



**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ**

Александра Милошковић

**ПРОСТОРНИ МОНИТОРИНГ ТЕШКИХ МЕТАЛА КОПНЕНИХ
ВОДА СРБИЈЕ НА ОСНОВУ БИОАКУМУЛАЦИЈЕ У РИБАМА**

Докторска дисертација

Проф. др Владица Симић, ментор

Крагујевац, 2016. година

I Аутор
Име и презиме: Александра Милошковић
Датум и место рођења: 18.12.1982. године, Офенбах, СР Немачка
Садашње запослење: Универзитет у Крагујевцу, Природно-математички факултет, Институт за биологију и екологију, звање истраживач-сарадник
II Докторска дисертација
Наслов: Просторни мониторинг тешких метала копнених вода Србије на основу биоакмулације у рибама
Број страница: 147
Број слика: 16 табела, 16 слика
Број библиографских података: 223
Установа и место где је рад израђен: Универзитет у Крагујевцу, Природно-математички факултет
Научна област (УДК): Биологија (57). Општа екологија, Биоценологија, Хидробиологија, Биогеографија (574).
Ментор: Проф. др Владица Симић, Универзитет у Крагујевцу, Природно-математички факултет
III Оцена и одбрана
Датум пријаве теме: 10.06.2015. године
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације:
Комисија за оцену подобности теме и кандидата:
<ol style="list-style-type: none"> 1. Др Владица Симић, редовни професор Природно-математичког факултета у Крагујевцу, ужа научна област: Екологија, биогеографија и заштита животне средине; 2. Др Весна Полексић, редовни професор Пољопривредног факултета у Београду, ужа научна област: Зоологија и примењено рибарство; 3. др Биљана Дојчиновић, виши научни сарадник Института за хемију, технологију и металургију у Београду, ужа научна област: Хемија животне средине
Комисија за преглед и одбрану докторске дисертације:
<hr/> <p>др Бранка Огњановић, редовни професор, Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу, ужа научна област: Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија</p> <hr/> <p>др Весна Полексић, редовни професор, Пољопривредни факултет, Универзитет у Београду, ужа научна област: Примењена зоологија и рибарство, председник комисије</p> <hr/> <p>др Биљана Дојчиновић, виши научни сарадник, Институт за хемију, технологију и металургију, Универзитет у Београду, ужа научна област: Хемија животне средине</p>
Датум одбране докторске дисертације:

Маријани и Биљи

Захвалница

Како ова дисертација представља резултат дугогодишњег рада, желим да се најискреније захвалим особама које су веровале у мене и подржавале ме свих ових година. Велико хвала,

Мом ментору, др Владици Симићу, редовном професору Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу, на великом поверењу које ми је указао, неисцрпним идејама, пажљивом и стрпљивом усмеравању у раду и професионалном развоју.

Др Бранки Огњановић, редовном професору Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу, и

Др Весни Полексић, редовном професору Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, хвала на коректној, професионалној сарадњи и корисним сугестијама, предлозима и корекцијама током писања докторске дисертације које су знатно помогле и унапредиле изглед овог рада.

Др Биљани Дојчиновић, вишем научном сараднику Института за хемију, технологију и металургију Универзитета у Београду, дугујем посебну захвалност на стрпљењу, изузетном залагању, безрезервној подршци и указаном поверењу од самог почетка.

Др Снежани Симић, ванредном професору Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу, хвала на интересовању за мој рад, конструктивним разговорима и саветима.

Драге колеге, Симона, Милена, Наташа, Ана, Невена, Тијана, Марко, Вито, Милоше и Бојане, хвала вам што сте ту, за лепе тренутке, осмехе и незаборавне успомене. Без вас и ваше подршке, сасвим сигурно би све било много теже.

На крају, велику захвалност дугујем мојој породици, родитељима и сестрама, на стрпљењу, разумевању, подршци и, пре свега, великој љубави коју ми пружају свих ових година. Зоћо, увек си ту за све и много ти хвала што си уз мене! Михаило, хвала ти што си увек и највише веровао у мене! Ви сте мој осланац и зато вам хвала на свему што сте ми пружили у животу!

Александра Милошковић

Просторни мониторинг тешких метала копнених вода Србије на основу биоакумулације у рибама

Резиме:

Акватични екосистеми се налазе под најинтензивнијим антропогеним утицајем који је довео до повећаног присуства загађујућих материја, па и великог броја токсичних загађивача, првенствено тешких метала, што захтева перманентни мониторинг.

Биоакумулацијски мониторинг (биомониторинг) је неопходан додатак хемијским анализама услед могућности интеграције утицаја на различите таксономске групе током дужег временског периода, тако да је бољи показатељ промена у акватичној средини. Рибе представљају један од најиндикативнијих фактора за процену загађења вода тешким металима, а то је важно не само у процесу заштите животне средине, већ и у процени квалитета меса и потенцијалног ризика за људску популацију.

Циљеви овог истраживања били су: анализа нивоа акумулације тешких метала у мишићном ткиву испитиваних врста риба, поређење акумулираних тешких метала у мишићном ткиву између различитих врста риба, веза између концентрација тешких метала акумулираних у мишићном ткиву испитиваних врста и концентрација тешких метала у води, избор потенцијално осетљиве рибље врсте за мониторинг студије тешких метала, могућност примене индекса загађења тешким металима (*енгл. Metal Pollution Index - MPI*) у процени загађења вода тешким металима, формирање прелиминарне мапе загађења вода тешким металима у Србији и поређење концентрација акумулираних тешких метала у мишићном ткиву испитиваних риба са максимално дозвољеним концентрацијама (МДК) прописаних законским регулативама ЕУ и Републике Србије.

Најважније комерцијалне врсте риба смуђ, сом, деверика, мрена, скобаљ и клен су проучаване у рекама, док су у акумулацијама проучаване смуђ, сом, деверика и бабушка. Такође, могућност употребе уклије као биоиндикатора контаминације вода тешким металима је такође испитана.

Анализе метала и металоида Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb и Zn су урађене ICP-OES Thermo Scientific iCAP 6500 Duo ICP (Thermo Fisher Scientific, Cambridge, United Kingdom) спектрометром.

Ова студија је указала на добар одговор риба на промене животне средине, што их чини погодним биоиндикаторима загађења вода тешким металима. Бентофагне врсте деверика и мрена, које се хране у близини дна, препознате су као осетљиви биоиндикатори загађења акватичних екосистема тешким металима. Предаторска врста сом, али и омниворна врста бабушка, такође, показују важан биоиндикаторски потенцијал.

Такође, јасно је показано да је *MPI* поуздан индекс за одређивање статуса загађења мишићног ткива тешким металима, представљајући јасну слику загађења акватичних екосистема тешким металима. Имајући то у виду, *MPI* индекс потенцијално може да буде укључен у комплексне програме мониторинга тешких метала у копненим водама Србије. Уз коришћење *MPI* вредности, предложена је класификација загађења вода тешким металима већих река и акумулација у Србији која указује на просторни распоред метала, што је довело до идентификације локалитета без утицаја директног загађења тешким металима, незнатно загађених и загађених локалитета. Као резултат ове класификације, формирана је мапа загађења вода тешким металима у Србији. Према овој класификацији, река Тиса може да буде категорисана као локалитет без утицаја директног загађења тешким металима, док Западна Морава и Пек могу да се категоришу као загађени екосистеми. Остали локалитети на рекама су незнатно загађени. Акумулације Гружа, Бован и Александровац могу да се сврстају у незнатно загађене екосистема.

Концентрације As, Fe, Cu и Zn у месу (мишићном ткиву) свих врста риба у овој студији су биле испод МДК прописаних од стране Европске Комисије (1881/2006/ЕС) и Републике Србије (Службени гласник РС 2011). Концентрације Hg, Cd и Pb биле су изнад МДК на више локалитета. Издваја се Pb са концентрацијама које су биле изнад МДК у месу врста клен, мрена и скобаљ на највише локалитета. Када су у питању акумулације, забележене су концентрације Cd изнад МДК у месу деверике из Александровца. Концентрације Pb су биле изнад МДК у месу деверике из акумулација Бован и Александровац, док је концентрација Fe била изнад МДК у месу смуђа из акумулације Бован. У уклији нису забележене концентрације метала изнад МДК.

Spatial monitoring of heavy metals in the inland waters of Serbia based on bioaccumulation in fish

Summary:

Aquatic ecosystems are under extremely intense anthropogenic pressure that has led to an increased presence of pollutants, primarily a large number of toxic pollutants, especially heavy metals, which requires permanent monitoring.

Bioaccumulation monitoring (biomonitoring) is a necessary addition to chemical analysis because it can be used to integrate impacts on different taxonomic groups over an extended period of time, so it is a better indicator of changes in the aquatic environment. Fish are one of the most indicative factors for the assessment of heavy metal water pollution, and they are important not only in the process of environmental protection, but also in assessing the quality of meat and the potential risk to the human population.

The objectives of this research were: to analyze the level of accumulation of heavy metals in the muscle tissue of the fish species examined; to compare the accumulated heavy metals in the muscle tissue of different fish species; to make a connection between the concentration of heavy metals in the muscle tissue of the fish species examined and the concentrations of heavy metals in the water, to select potentially sensitive fish species for monitoring the study of heavy metals, to investigate the possibility of applying the index of heavy metal pollution (*Metal Pollution Index - MPI*) to the assessment of heavy metal water pollution; to make a preliminary map of heavy metal water pollution in Serbia; and to compare the accumulated concentration of heavy metals in fish muscle tissue with the maximum permissible concentrations (MPC) established by EU and national legislation.

The most important commercial fish species, catfish, bream, barbel, nase and chub, were studied in rivers, while perch, catfish, bream and Prusian carp were studied in reservoirs. Bleak were also studied as bioindicators of water contaminated with heavy metals.

The analysis of metals and metaloids Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb and Zn was performed with an ICP-OES Thermo Scientific iCAP 6500 Duo ICP (Thermo Fisher Scientific, Cambridge, United Kingdom) spectrometer.

This study indicated a good response of fish to environmental changes, making them suitable bioindicators of heavy metal pollution in aquatic ecosystems. The benthophagous species bream and barbel, which feed near the bottom, were identified as sensitive bioindicators of heavy metal water pollution in aquatic ecosystems. The predatory fish species catfish and omnivorous fish species Prusian carp were also shown to have important bioindicator potential.

It was also shown that the *MPI* is a reliable index for expressing the status of heavy metal pollution in muscle tissue, presenting a clear picture of heavy metal pollution in aquatic ecosystems. With that in mind, the *MPI* index can be potentially included in complex programs of monitoring of heavy metals in freshwater ecosystems in Serbia. With the use of *MPI* values, a classification of heavy metal water pollution in the major rivers and reservoirs in Serbia was proposed, showing the spatial patterns of heavy metals. This led to the identification of sites unaffected by direct pollution with heavy metals, slightly affected and affected. As a result of this water quality classification, a map of heavy metal water pollution in Serbia was formed. According to this classification, the Tisa River can be categorized as a site unaffected by direct pollution with heavy metals, while the West Morava and Pek can be categorized as affected. Other rivers are slightly affected. The Gruža, Bovan and Aleksandrovac accumulations can be classified as slightly affected ecosystems.

The As, Fe, Cu, and Zn concentrations detected in all of the fish muscle were below the MPC established by both the EU and the Republic of Serbia. The concentrations of Hg, Cd and Pb were above the MPC at several locations. Pb stands out with concentrations above the MPC in chub, barbel and nase meat at most sites. Cd concentrations were above the MPC in bream meat from the Aleksandrovac accumulation. The Pb concentrations were above the MPC in bream meat from the Bovan and Aleksandrovac accumulations, while the Fe concentrations were above the MPC in perch meat from the Bovan accumulation. In the bleak meat, metal concentrations were not above the MPC.

САДРЖАЈ

1. Увод	1
1.1. Загађење вода.....	3
1.1.1. Врсте загађивача у акватичним екосистемима	3
1.2. Тешки метали у акватичним екосистемима	6
1.2.1. Карактеристике метала и металоида истраживаних у овој студији	10
1.2.1.1. Алуминијум (Al)	11
1.2.1.2. Арсен (As).....	12
1.2.1.3. Кадмијум (Cd)	12
1.2.1.4. Кобалт (Co).....	13
1.2.1.5. Хром (Cr)	14
1.2.1.6. Бакар (Cu)	14
1.2.1.7. Гвожђе (Fe)	15
1.2.1.8. Жива (Hg).....	16
1.2.1.9. Манган (Mn)	17
1.2.1.10. Никл (Ni).....	18
1.2.1.11. Олово (Pb).....	18
1.2.1.12. Цинк (Zn)	19
1.3. Мониторинг квалитета копнених вода.....	21
1.3.1. Различити приступи у мониторингу квалитета вода	21
1.3.2. Рибе као биоиндикатори квалитета вода.....	26
1.3.2.1. Биоиндикаторске врсте риба у овој студији.....	30
1.3.2.1.1. Смуђ <i>Sander lucioperca</i> (Linnaeus, 1758).....	31
1.3.2.1.2. Сом <i>Silurus glanis</i> (Linnaeus, 1758)	31
1.3.2.1.3. Деверика <i>Abramis brama</i> (Linnaeus, 1758)	32
1.3.2.1.4. Бабушка <i>Carassius gibelio</i> (Bloch, 1782).....	32
1.3.2.1.5. Клен <i>Squalius cephalus</i> (Linnaeus, 1758).....	32
1.3.2.1.6. Мрена <i>Barbus barbus</i> (Linnaeus, 1758).....	33
1.3.2.1.7. Скобаљ <i>Chondrostoma nasus</i> (Linnaeus, 1758)	33
1.3.2.1.8. Уклија <i>Alburnus alburnus</i> (Linnaeus, 1758).....	34
1.3.2.2. Избор одговарајућег ткива рибе за потребе мониторинг студија тешких метала у акватичним екосистемима	36
1.4. Преглед досадашњих истраживања у свету и Србији	38

2. Циљеви истраживања	42
3. Материјал и методе	45
3.1. Карактеристике подручја истраживања	46
3.1.1. Карактеристике истраживаних река	46
3.1.1.1. Дунав	46
3.1.1.2. Тиса	47
3.1.1.3. Сава	47
3.1.1.4. Велика Морава	48
3.1.1.5. Западна Морава	48
3.1.1.6. Јужна Морава	49
3.1.1.7. Дрина	49
3.1.1.8. Ибар	49
3.1.1.9. Колубара	50
3.1.1.10. Велики Тимок	50
3.1.1.11. Млава	50
3.1.1.12. Пек	51
3.1.2. Карактеристике истраживаних акумулација	51
3.1.2.1. Гружа	51
3.1.2.2. Бован	52
3.1.2.3. Александровац	52
3.1.2.4. Међувршје	53
3.1.2.5. Завој	53
3.1.2.6. Власина	54
3.2. Методе прикупљања узорака, карактеристике локалитета и период узорковања	55
3.3. Припрема узорака, лиофилизација и микроталасна дигестија	62
3.4. Инструментална анализа - метода индуктивно купловане плазме са оптичком емисионом спектрометријом (енг. <i>Inductively Coupled Plasma-Optic Emission Spectrometry - ICP-OES</i>)	65
3.5. Биоконцентрацијски фактор (енг. <i>Bioconcentration factor, BCF</i>) и индекс загађења металима (енг. <i>Metal Pollution Index, MPI</i>)	70
3.6. Законска регулатива о максимално дозвољеним концентрацијама метала (МДК) у месу риба	71
3.7. Статистичке анализе	71
4. Резултати	74

4.1. Концентрације тешких метала и металоида у води	74
4.2. Концентрације тешких метала и металоида у рибама	78
4.2.1. Валидација аналитичког процеса.....	78
4.2.2. Тотална дужина и маса риба.....	79
4.2.3. Концентрације тешких метала и металоида у рибама	81
4.3. Резултати биоконцентрацијског фактора (<i>BCF</i>) и индекса загађења металима (<i>MPI</i>)	100
4.4. Концентрације тешких метала у рибљем месу у односу на максимално дозвољене концентрације (МДК)	109
5. Дискусија	110
6. Закључци	122
7. Литература	126

Листа табела

Табела 1. Класификација елемената према токсичности и доступности (Wood, 1974).	10
Табела 2. Опис истраживаних локалитета, датум, начин узорковања и узорковане врсте	59
Табела 3. Инструментални операциони услови за ICP-OES снимање елемената	69
Табела 4. Концентрације тешких метала и металоида у води истраживаних река изражене у mg L^{-1}	75
Табела 5. Концентрације тешких метала и металоида у води истраживаних акумулација изражене у mg L^{-1}	77
Табела 6. Резултати анализе DORM-4 референтног материјала	78
Табела 7. Тотална дужина (у cm) и маса тела (у g) узоркованих врста риба по локалитету, изражена као средња вредност \pm стандардна девијација	79
Табела 8. Концентрације тешких метала и металоида у истраживаним рибама изражене у mg kg^{-1} (средња вредност \pm стандардна девијација) у већим рекама Србије, црвеном и плавом бојом су означене највише и најниже забележене концентрације	83
Табела 9. Концентрације тешких метала и металоида у мишићном ткиву истраживаних врста изражене у mg kg^{-1} (средња вредност \pm стандардна девијација) у акумулацијама, црвеном и плавом бојом су означене највише и најниже забележене концентрације	91
Табела 10. Груписане корелације између дискриминишућих варијабли и стандардизованих канонијских дискриминантних функција; канонијска дискриминантна анализа примењена на концентрације тешких метала и металоида у четири испитиване врсте у акумулацији Гружа (Слика 10)	92
Табела 11. Груписане корелације између дискриминишућих варијабли и стандардизованих канонијских дискриминантних функција; канонијска дискриминантна анализа примењена на концентрације тешких метала и металоида у четири испитиване врсте у акумулацији Бован (Слика 11)	94
Табела 12. Концентрације тешких метала и металоида у композитним узорцима уклице изражене у mg kg^{-1} (средња вредност \pm стандардна девијација) у изабраним акумулацијама у Србији	97
Табела 13. Груписане корелације између дискриминишућих варијабли и стандардизованих канонијских дискриминантних функција; канонијска дискриминантна анализа примењена на концентрације тешких метала и металоида у уклице из три акумулације (Слика 12).	98

Табела 14. Биоконцентрациски фактор (<i>BCF</i>) као однос средње вредности концентрација метала (изражене у mg kg^{-1}) у мишићном ткиву и средње вредности концентрација метала (изражене у mg L^{-1}) у води истраживаних река.....	101
Табела 15. Биоконцентрациски фактор (<i>BCF</i>) као однос средње вредности концентрација метала (изражене у mg kg^{-1}) у мишићном ткиву и средње вредности концентрација метала (изражене у mg L^{-1}) у води истраживаних акумулација	103
Табела 16. Класификација загађења вода тешким металима у Србији на основу <i>MPI</i> вредности	106

Листа слика

Слика 1. Образац кретања тешких метала из антропогених извора у акватичној средини (Chalermsupanimit, 2006)	7
Слика 2. Истраживане врсте риба у овој студији	35
Слика 3. Мапа истраживаних локалитета. Ознаке локалитета са називима река и акумулација дате су у Табели 2	56
Слика 4. Теренска истраживања - узорковање и дисекција	58
Слика 5. Микроталасна пећ (ETHOS 1, Advanced Microwave Digestion System, MILESTONE, Italy), лево и дигестациона „бомба“, десно. Фото: А. Милошковић	63
Слика 6. Дигестија узорака, лево и растворени узорци, десно. Фото: М. Милошковић	64
Слика 7. Апарат за индуктивно купловану плазму - оптичко емисиону спектрометрију (ICP-OES, Thermo Scientific iCAP 6500 Duo ICP, Thermo Fisher Scientific, Cambridge, United Kingdom). Фото: З. Александровић	67
Слика 8. Просечне концентрације метала које се значајно разликују између (а) смуђа, деверике и сома и (б) клена, мрене и скобаља	88
Слика 9. Просечне концентрације метала које се значајно разликују између локалитета за (а) смуђа, деверику и сома и (б) клена, мрену и скобаља	89
Слика 10. Резултати канонијске дискриминантне анализе примењене на концентрацијама тешких метала и металоида у четири испитиване врсте у акумулацији Гружа (елипсе показују 95% интервале поузданости), CV - канонијска функција	93
Слика 11. Резултати канонијске дискриминантне анализе примењене на концентрацијама тешких метала и металоида у четири испитиване врсте у акумулацији Бован (елипсе показују 95% интервале поузданости), CV - канонијска функција	95
Слика 12. Резултати канонијске дискриминантне анализе примењене на концентрацијама тешких метала и металоида у уклији у три испитиване акумулације (елипсе показују 95% интервале поузданости), CV - канонијска функција	99
Слика 13. Вредности индекса загађења металима (<i>MPI</i>) у истраживаним врстама, по локалитету у рекама	105
Слика 14. Вредности индекса загађења металима (<i>MPI</i>) у истраживаним врстама у акумулацијама	105
Слика 15. Вредности индекса загађења металима (<i>MPI</i>) за уклију у истраживаним акумулацијама	106

Слика 16. Мапа загађења вода тешким металима у Србији	108
--	-----

1. Увод

Загађење, проузроковано испуштањем загађујућих материја или енергије, природним процесима или антропогеним активностима, у ваздух, воду или земљиште може да изазове акутни (краткорочни) или хронични (дугорочни) утицај на квалитет животне средине. Загађујућа материја представља физичку, хемијску или биолошку супстанцу у животној средини и директно или индиректно је штетна за живе организме и хуману популацију.

Према загађење животне средине постоји вековима, значајнију пажњу је добило након индустријске револуције у XIX веку, што доводи до закључка да је људски фактор одлучујући у процесу загађења. Хиперпродукција људске популације са собом носи све већи број загађујућих материја. Када повећање количине загађујућих материја превазилази могућности капацитета животне средине, она постаје загађена. Индустријску револуцију и пораст загађујућих материја истовремено прати и развој природних наука, који је довео до бољег разумевања негативних ефеката загађења на животну средину.

Загађење животне средине јавља се у више различитих облика:

- загађење ваздуха,
- загађење воде,
- загађење земљишта,
- радиоактивно загађење,
- бука,
- топлотно/термално загађење,
- светлосно загађење.

Без обзира на облик загађења, питање квалитета животне средине постаје глобално сложено и тешко за решавање, како у развијеним земљама, тако и у земљама у развоју, па и у Србији.

1.1. Загађење вода

Акватични екосистеми се налазе под најинтензивнијим антропогеним утицајем. Загађивачи који се налазе у земљишту и ваздуху на крају доспевају у воду. Према су крајњи реципијенти различитих врста загађивача, акватични екосистеми су веома рањиви (Udosen, 2006).

Главни извори загађења вода, према просторном пореклу настанка и испуштања, деле се на тачкасте и нетачкасте (дифузне). Тачкасти извори загађења испуштају загађујуће материје на одређеној локацији кроз цеви или одводне канале у површинске воде. Нетачкасти извори, као што је отицање, су дифузни и наизменични, и под утицајем бројних фактора као што су коришћење земљишта, клима, хидрологија, топографија, вегетација и геологија. Уобичајени урбани нетачкасти извори загађења укључују отицање из улица или четврти; такво отицање садржи све врсте загађивача, од тешких метала до хемикалија и муља. Рурални извори нетачкастог загађења су углавном повезани са пољопривредом, рударством, или шумарством (Botkin & Keller, 2007). И тачкасти и дифузни извори загађења доприносе укупном оптерећењу вода загађивачима.

1.1.1. Врсте загађивача у акватичним екосистемима

Slobodnik (2013) наводи да у животну средину доспева око 150 000 различитих супстанци антропогеног порекла. Тај број се сваке године увећава за 400-500 нових једињења. Загађивачи вода могу широко да се класификују у главне категорије: органски, неоргански, суспендоване чврсте честице и седимент, тешки метали, радиоактивни материјали и топлота (Botkin & Keller, 2007).

Издавају се две групе загађивача - неорганске и органске супстанце. Један од доминантних еколошких притисака на акватичне екосистеме је присуство токсичних органских загађивача. Органски загађивачи могу грубо да се поделе у две групе: приоритентне полутанте и полутанте „нове генерације“ (Dalmacija & Agbaba, 2008).

У групи органских загађивача налазе се детерџенти, инсектициди, хербициди, полициклична ароматична једињења, полихлоровани бифенили, трихлоретилени и перхлорати, док код неорганских доминирају амонијак, фосфати, нитрати, нитрити и метали.

Једну од најзначајнијих група једињења у оквиру приоритетних органских загађивача чине перзистентни органски загађивачи (*енг. persistent organic pollutants, POP*) као што су полихлоровани бифенили (*енг. polychloro biphenyls, PCB*), оргонохлорни пестициди (*DDT* и њему слична једињења), али и низ других пестицида и полицикличних ароматичних угљоводоника (*енг. polyaromatic hydrocarbons, PAH*).

Перзистентни органски полутанти (*POP*) представљају претњу за акватичне екосистеме јер су отпорни на деградацију у животној средини биолошким, хемијским и фотолитичким механизмима и имају способност да се акумулирају у седименту и биоакумулирају у ткиву живих организама и људи и биомагнификују у ланцу исхране, на тај начин опстајући деценијама у животној средини (Hodgson, 2004). Постоји велики број *POP* и сви су синтетисани од стране људи. Основне карактеристике које их чине угрожавајућим за животну средину су велика хемијска и биолошка стабилност, ниска растворљивост у води и висока растворљивост у липидима. То их чини биоакумулативним у ткивима организама, полуиспарљивим, што им омогућава преношење на велике удаљености у атмосфери пре таложења, тако да се јављају у областима које никада нису биле изложене овим хемикалијама. Испаравају на вишим температурама а кондензују на нижим, достижући највише концентрације у хладнијим регионима света. *POP* су токсични за животну средину и организме, укључујући и хуману популацију (Sankar et al., 2006; Kasiotis, 2009).

Полихлоровани бифенили (*PCB*) су у широкој употреби од 1950-их и 1960-их због хемијске стабилности, добре топлотне проводљивости и електричних изолационих особина, што их чини идеалним за примену као течности за хлађење у трансформаторима и кондензаторима, пластификаторима, течности за пренос топлоте у машинама, средству за хидроизолацију, тако да се њихова употреба везује за урбане центре. Унос у животну средину достигао је врхунац 1960-их када је, услед забринутости за заштиту животне средине, и људско здравље дошло до озбиљних

ограничења употребе 1970-их. На крају је дошло до потпуне забране, мада је и даље у употреби опрема која садржи полихлороване бифениле.

Од почетка XX века концентрација полицикличних ароматичних угљоводоника (ПАХ) у животној средини стално је у порасту услед антропогене емисије, тако да су широко присутни у свим деловима животне средине, па и у акватичној. Антропогено порекло може да буде из пирогених или петрохемијских процеса. Када доспу у акватичну средину, врло брзо подлежу сорпцији на суспендованим честицама и/или седименту, услед тенденције да се вежу за чврсту материју, тако да у слободној води остаје око 33%.

Органски загађивачи генерално укључују и пестициде, посебно оне стабилне у животној средини, као основни проблем. „Пестициди“ је термин који се користи за широк спектар хемикалија, синтетичких или природних, које служе за контролу инсеката, гљивица, бактерија, корова, нематода, глодара и других штеточина (Izu-Iyawu et al., 2007). Са технолошким развојем и континуираним растом људске популације дошло је до проширења обима производње основних пољопривредних култура, чији узгој захтева примену хемикалија органског порекла. Пестициди се у пољопривреди широко користе за контролу штеточина, болести и корова који могу да утичу на квалитет и принос усева. Широка и честа употреба ових хемикалија је резултирала загађењем животне средине, доводећи до резидуа истих у храни (José et al., 2004).

Четрдесетих и педесетих година прошлог века дошло је до увођења инсектицида на бази хлорованих угљоводоника, као што су ДДТ (дихлор-дифенил-трихлоретан), метоксихлор, хлордан, хептахлор, алдрин, диелдрин, ендрин, токсафен, мирекс и линдан. ДДТ је био посебно ефикасан за контролу штеточина и искорењивање маларије широм света, али је седамдесетих његова употреба забрањена у целом свету услед перзистентности и штетних утицаја на животну средину (Hodgson, 2004; Darko et al., 2008).

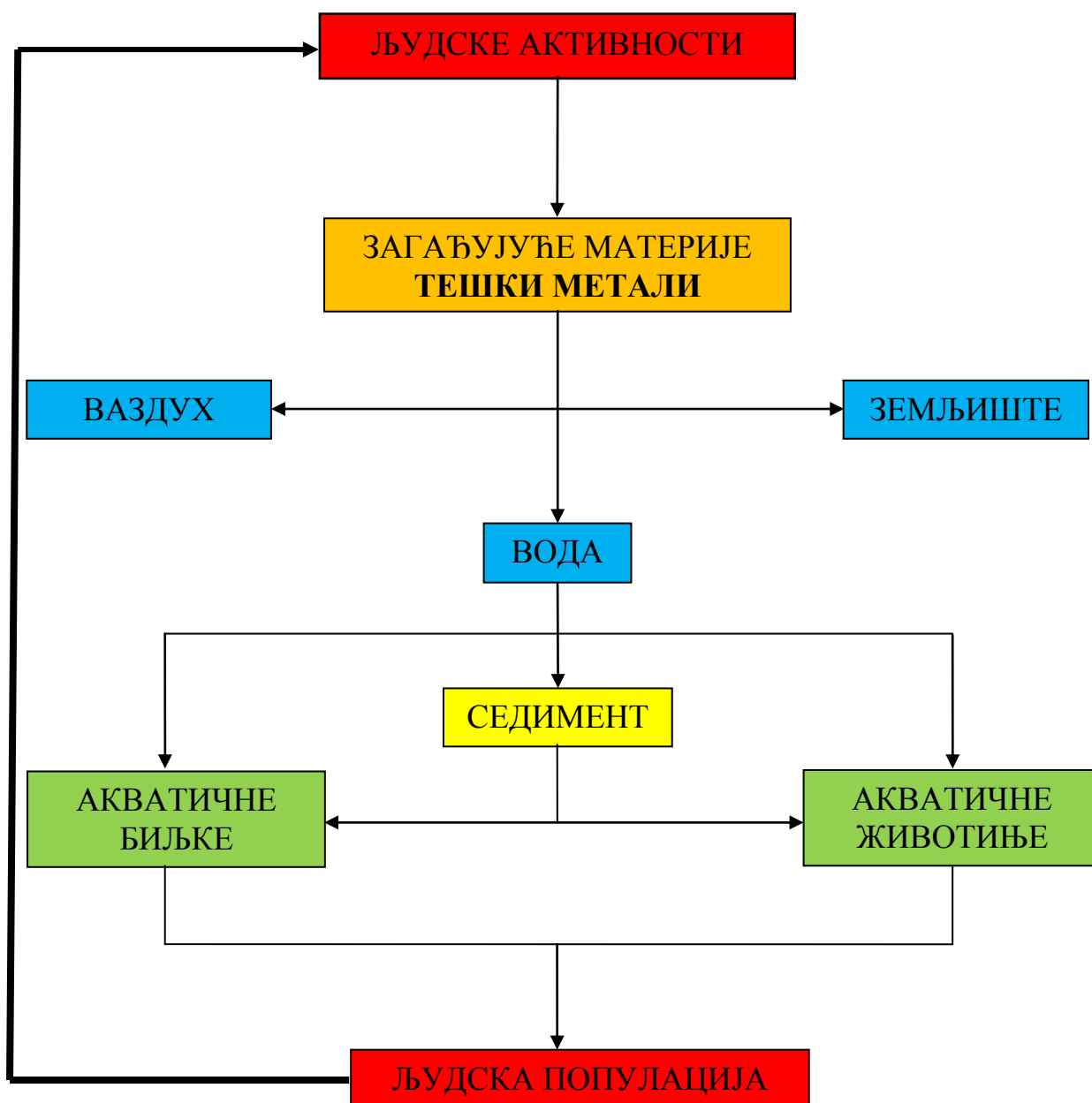
Комбинација токсичног органског отпада са металима или њиховим једињењима може да изазове проблеме због формирања токсичнијих загађивача (Ural et al., 2012).

1.2. Тешки метали у акватичним екосистемима

Тешки метали су различито дефинисани у академској заједници. Предложене су различите дефиниције - једне се заснивају на густини, друге на атомској тежини, а неке на хемијским својствима или токсичности. Углавном је општеприхваћено да се термин тешки метали односи на групу метала и металоида са атомском тежином већом од 4 g/cm^3 или 5 или више пута већом од воде (Duruibe et al., 2007). Такође су познати и као елементи у траговима, јер се јављају у ниским концентрацијама у биолошким системима. Тешки метали су међу загађивачима који су добили велику пажњу у свету. Сматрају се најопаснијом категоријом загађивача у слатким водама јер представљају посебан проблем због своје токсичности, перзистентности, широке распрострањености и биоакумулације у високим концентрацијама у акватичним организмима (Golovanova, 2008; Dragun et al., 2010).

Метали чине део Земљине коре и у животну средину углавном доспевају процесима као што су хемијско распадање стена и спирање земљишта. Стога, контаминација воде металима може да буде геолошког порекла, из руда и распаднутих стена, шумских пожара или вегетације (Fernandez & Olalla, 2000). Међутим, учесталост и интензитет контаминације воде тешким металима углавном зависи од људских активности и расте услед урбанизације, индустријализације, пољопривреде или рударства. Антропогени извори су углавном повезани са индустријским и отпадним водама из домаћинства, поплавним водама, оцедним водама и водама из рудника угља и руда (Zarazua et al., 2006). Испуштање отпадних вода из домаћинства може да повећа концентрације метала у акватичним екосистемима јер широк спектар производа, као што су средства за чишћење, пасте за зубе и козметика могу да садрже концентрације Zn, Pb и Fe у траговима (Sörme & Lagerkvist, 2002; Alloway, 2013). Такође, доспевајући из постројења за прераду отпадних вода, органске супстанце које садрже метале су подложне биолошкој деградацији, тако да су метали такође присутни у природним екосистемима (Maceda-Veiga et al., 2012). Спирање са суседних пољопривредних површина такође може да буде разлог појаве Zn, Cd, Hg и Pb, премада су ови метали често присутни у ђубривима или пестицидима (Alloway, 2013).

Генерално, тешки метали су међу најчешћим загађивачима животне средине, а њихова појава у води и живом свету указује на присуство природних или антропогених извора (Слика 1).



Слика 1. Образац кретања тешких метала из антропогених извора у акватичној средини (Chalermspanimit, 2006)

Тешки метали у слатким водама могу да се налазе у виду колоида, раствореном или суспендованом облику (Miller et al., 2003). Генерално, суспендоване честице су честице веће од 100 μm , колоидне 1-100 μm , а растворене су честице мање од 1 μm .

У зависности од биолошке улоге, метали могу да се поделе на есенцијалне метале, са познатом биолошком улогом, и неесенцијалне метале, са непознатом функцијом (Carvalho et al., 2005; Gao et al., 2010; Fallah et al., 2011). Чак и есенцијални метали, по мишљењу неких аутора, могу да постану штетни када се у организам унесу у већим количинама (Watanabe et al., 1997; Carvalho et al., 2005, Golovanova, 2008).

Тешки метали, такође, могу да буду категорисани као: потенцијално токсични, попут алуминијума, арсена, кадмијума, олова, живе и антимона, полу-есенцијални, попут никла, ванадијума, кобалта и есенцијални као што су бакар, цинк, гвожђе, селен и манган који су битни за животне процесе у живим организмима. Метали као што су бакар, цинк, кобалт и гвожђе не могу да представљају опасност за акватичне екосистеме и организме уколико не достигну високе концентрације јер су неопходни за нормално функционисање живих бића (Canli & Atli, 2003).

Насупрот томе, метали као што су кадмијум, жива и олово су увек токсични метали у организму (Amundsen et al., 1997; Koјadinović et al., 2007). Због екстремне токсичности органских облика, способности биоакумулације у акватичним организмима и постојаности у седименту, Hg (посебно растворљиви облик, метил-жива) се генерално сматра једним од главних загађивача у акватичној средини (Burger & Gochfeld, 2007). У двовалентном облику Pb је стабилни метал који се често биоакумулира у акватичним организмима. Познат је као канцерогени метал, како за акватичне организме тако и за човека (Malik et al., 2010). Генерални поредак токсичности метала може да се представи $\text{Hg} > \text{Ag} > \text{Cu} > \text{Cd} > \text{Zn} > \text{Ni} > \text{Pb} > \text{Cr} > \text{Sn}$ и тако даље (Luoma & Rainbow, 2008).

Тешки метали у акватичној средини могу да буду производ природног испирања из земљишта/стена, које је обично споро, на ниском нивоу и не изазива озбиљне и штетне ефекте на здравље људи. Метали из природних и антропогених извора константно доспевају у акватичну средину (Saygi et al., 2012), еколошки су свеprisутни, лако се растварају и транспортују у води и лако их усвајају акватични

организми (Alam et al., 2002). У акватичној средини, токсичност метала може да буде под утицајем различитих абиотичких фактора као што су кисеоник, тврдоћа, рН, алкалитет и температура воде (Ghillebaert et al., 1995; Adhikari et al., 2006). Утицај повишених концентрација метала у животној средини је додатно појачан немогућношћу разградње метала, што за последицу има биоакumulацију, биоконцентрацију, транспорт метала дуж ланца исхране и биомагнификацију појединих метала (Ciesielski et al., 2010).

Биоакumulација је општи термин који описује апсорпцију тешких метала из животне (акватичне) средине, на један или све могуће начине (тј. дисање, гутање и путем коже, из било ког извора у акватичној средини). Биоконцентрација је прецизнији термин који се користи за описивање апсорпције метала само из воде. Биомагнификација представља пораст концентрације метала у организму, од нижег ка вишем трофичком нивоу у оквиру истог ланца исхране, а услед биоакumulације из хране (McGeer et al., 2004).

Тешки метали у акватичној средини могу да остану у раствореном облику у води, могу де се исталоже и вежу за седимент или их акумулирају акватични организми. С обзиром да нису биоразградиви, тешки метали су штетни за биљке, акватичне животиње и здравље хумане популације на одређеном нивоу изложености (Mustafa & Nilgun, 2006). Тешки метали постају токсични када се не метаболишу у организму, па се самим тим акумулирају у меким ткивима, тако да постају озбиљна претња, услед карактеристика као што су перзистентност, биоакumulација и биомагнификација у ланцу исхране (Papagiannis et al., 2004).

Као што је случај и у другим организмима, тешки метали не могу да се неутралишу код човека. Уместо тога, они имају тенденцију да се акумулирају у телу, складиште у меким и тврдим ткивима као што су јетра, мишићи и кости и на тај начин угрожавају здравље људи. Практично сви метали могу да произведу токсичан ефекат када се у организам унесу у одређеним количинама, али постоје неки од њих који су посебно важни (као што су Hg, As, Pb, Co и Cd) јер производе токсичан ефекат и при ниским концентрацијама.

1.2.1. Карактеристике метала и металоида истраживаних у овој студији

Као што је напоменуто, тешки метали производе токсичан ефекат када се не метаболишу у организму и акумулирају се у меким и тврдим ткивима. Класификација елемената према токсичности и начину ресорпције и доступности организмима, приказана је у Табели 1.

Табела 1. Класификација елемената према токсичности и доступности (Wood, 1974)

Нетоксични	Токсични, делимично растворени или лако доступни	Веома токсични и лако доступни
Na, C, F, K, S, Sr, H, Cl	Ti, Ga, Hf, Rh, Nb, Ir	Be, As, Au, Cu, Pd, Pb
P, Li, Mg, Al, O, Br, Si	La, Zr, Os, Ta, Ru, Re	Co, Se, Hg, Zn, Ag, Sb
Fe, Rb, Ca, N	W	Ni, Te, Tl, Pt, Sn, Cd, Bi

Изабрани метали и металоиди у овој студији су: алуминијум (Al), арсен (As), кадмијум (Cd), кобалт (Co), хром (Cr), бакар (Cu), гвожђе (Fe), жива (Hg), манган (Mn), никл (Ni), олово (Pb) и цинк (Zn).

1.2.1.1. Алуминијум (Al)

Алуминијум је најзаступљенији елемент у земљиној кори (8.1%) и трећи најраспрострањенији елемент, после кисеоника и силицијума, али се ретко налази самостално у природи. Обично се налази у минералима алуминијум силиката, као што су боксит и криолит. Алуминијум је сребрно-бели метал са многобројним корисним карактеристикама.

У животну средину доспева из природних процеса и људских активности. Природни процеси чине већину алуминијума у животној средини, а резултат су спирања стена и минерала у којима је алуминијум присутан. Директно антропогено испуштање једињења алуминијума је углавном у ваздушну средину и повезано је са индустријским процесима (Krewski et al., 2007). Антропогена употреба алуминијума је већа од било ког другог метала (изузев гвожђа). Алуминијум лако формира легуре са елементима, као што су бакар, цинк, магнезијум, манган и силицијум. Са електричном проводљивошћу 60% од вредности електропроводљивости бакра и много мање густине, интензивно се користи за електричне далеководе. Чист алуминијум је мек и растегљив али може да се ојача мешањем, додавањем мале количине бакра, магнезијума и силицијума. Такође, алуминијум се користи за израду посуђа, за различите боје у козметици, храни и фармацији.

Излагање алуминијуму обично није штетно, међутим високе концентрације могу да изазову озбиљне здравствене проблеме, тако да овај метал припада групи потенцијално токсичних. Када је у питању акватична средина, алуминијум је, под одређеним условима, токсичан за велики број организама. Рибе су посебно осетљиве на токсичност алуминијума, знатно више него што је то случај са акватичним бескичмењацима (Dalmacija & Agbaba, 2008).

С обзиром да алуминијум није кориштан ни у једном биохемијском процесу у организму, има тенденцију да се акумулира у мозгу и, у мањој мери, костима. Знатно мање је токсичан од живе, арсена, олова и кадмијума али је перзистентнији од њих, тако да се опасност испољава након дужег временског периода.

1.2.1.2. Арсен (As)

Арсен је металоид који је присутан у животној средини, токсичан је за биљке, животиње и човека, међутим његова токсичност варира услед различитих хемијских облика (Devesa et al., 2008). Широко је распрострањен, јавља се у земљишту, води и ваздуху. У води се јавља у органском и неорганском облику, мада неоргански облик преовлађује (Vukašinović-Pešić et al., 2005).

Човек утиче на концентрације арсена у природи услед активности као што су употреба пестицида и ђубрива, сагоревање фосилних горива, одлагање комуналног, индустријског и другог отпада, наводњавање. Арсен је редокс-сензитивни елемент који се користи за ватромет, стакло, керамику, индустријске боје и у медицини (Dalmacija & Agbaba, 2008). Његова судбина, као и форма коју добија у животној средини је под утицајем рН вредности средине, редокс реакције, дистрибуције других јонских облика, хемизма воде и микробиолошке активности (Shih, 2005).

Генерално, изложеност људске популације арсену је углавном преко хране и воде за пиће. Само неколико процената од укупног арсена у рибама је у неорганском облику. Хронична изложеност неорганском арсену може да изазове озбиљне утицаје на периферни и централни нервни систем (Jägar, 2003).

Резултати показују да ја концентрација арсена ниска у већини риба, али да је увек највиша концентрација у мишићном ткиву (Has-Schon et al., 2006; Falco et al., 2006; Višnjić-Jeftić et al., 2010; Squadrone et al., 2013).

1.2.1.3. Кадмијум (Cd)

Кадмијум је уобичајена примеса сложених оксида, сулфида и карбоната у рудама цинка, олова и бакра, који се најчешће изолује приликом производње цинка. Неке руде цинка садрже до 1.4% кадмијума (Finkelman, 2005). Екстремно је токсичан за већину биљака и животиња, нарочито у форми слободних јона (Denton et al., 1997). Главни извори кадмијума укључују металуршку индустрију, отпадне воде из градова, канализациони муљ и отпад из рудника, фосилна горива и ђубрива која садрже фосфор.

У седименту, кадмијум се изгледа не везује за колоидне честице, али су органске материје главне за апсорпцију овог метала где се снажно апсорбују што може да буде изузетно опасно јер се повећава уносом хране. Кадмијум је мање мобилан у алкалним условима (Fergusson, 1990).

Из седимента биљке лакше усвајају кадмијум када се рН вредност повећа. Такође, кадмијум се биоакумулира у шкољкама, пужевама, раковима и рибама. Осетљивост акватичних организама на кадмијум варира и опште је познато да су морски организми отпорнији на тровање кадмијумом. Кадмијум се најпре транспортује у јетру путем крви, где се везује за протеине са којима формира комплексе који се транспортују до бубрега, где оштећују механизме филтрирања (Squadrone et al., 2013).

1.2.1.4. Кобалт (Co)

Кобалт је 33. најраспрострањенији елемент који је пронађен у различитим медијима, укључујући ваздух, површинске воде, оцедне воде са депонија опасог отпада, подземне воде, земљиште и седимент. Постојан је у чврстом стању на собној температури.

Извори кобалта и неорганских једињења кобалта могу да буду природни и антропогени. Природни извори су ветром разнесена прашина, распршена морска вода, вулкани, шумски пожари и биогена емисија. Антропогени извори укључују спаљивање фосилних горива, канализациони муљ, фосфатна ђубрива, руде кобалта у рударско-топионичарским процесима, прераду легуре кобалта и индустрију која користи једињења кобалта. Кобалт испуштен у атмосферу се таложи на тло, док кобалт испуштен у акватичну средину се везује за честице и таложи у седимент или се пак директно таложи у седимент.

Микроелемент кобалт је од суштинског значаја за човека и остале сисаре јер је саставни део комплекса витамина B₁₂. Недостатак код људи је сличан недостатку витамина B₁₂, са симптомима као што су анемија и поремећај нервног система (Gál et al., 2008). Међутим, у вишим концентрацијама Co је токсичан за биљке, животиње и човека (ATSDR, 2004).

1.2.1.5. Хром (Cr)

Хром је сјајан, тврд али крт метал. Због широке индустријске употребе, сматра се озбиљним загађивачем животне средине. Нестабилан је на ваздуху, одмах ствара танак слој оксида који не пропушта кисеоник при чему штити метал испод. Стабилни облици Cr су тровалентни Cr (III) и хексавалентни Cr (VI), али постоје и разне друге валенце које су нестабилне и краткоживеће у биолошким системима. Cr (VI) се сматра најтоксичнијом формом Cr. Cr (III) је мање мобилан, мање токсичан и углавном везан за органске материје у земљишту (Besquer et al., 2003).

Хром и његова једињења имају различите употребе у индустрији. Интензивно се користи у преради коже (Nriagu, 1988), у производњи ватросталних челика, у производњи хромне киселине и специјалним хемикалијама.

Умерено је токсичан за акватичне организме. Са друге стране, неке особе су изузетно осетљиве на Cr (VI) или Cr (III). Шестовалентни облик се сматра токсичном формом хрома јер лако пролази кроз ћелијске мембране. Унутар ћелије, шестовалентни облик се редукује у тровалентни који гради комплексе са интрацелуларним макромолекулама, укључујући и генетски материјал, а такође је и одговоран за токсичне и мутагене могућности Cr (Goyer & Clarksom, 2001). Главни разлог токсичности Cr (VI) је производ редукције Cr (V). Cr (V) је познати карценоген и може да се акумулира у ткивима, где формира канцерозне израстине (Cohen et al., 1993). Изложеност хрому представља растући проблем за квалитет акватичне средине (Squadrone et al., 2013).

1.2.1.6. Бакар (Cu)

Бакар је један од најчешће коришћених метала, савитљив, растегљив и изузетно добар проводник електричне и топлотне енергије. Користи се за производњу електричне опреме, изградњу, као што су покривање кровова и водовода, индустријска постројења, као што су измењивачи топлоте. Већи део једињења бакра се налази у ваздуху, земљишту и води где су чврсто везана за праšину или уграђена у минерале.

До акватичних екосистема доспева из антропогених извора као што су индустрија, рударство, коришћење бакарних соли за контролу водене вегетације или ђубрива која садрже бакар. Алгициди и боје против обрастања су идентификовани као кључни извори бакра у води. Бакар има висок афинитет према минералним фракцијама, посебно оним са богатим облогама које садрже органски угљеник и манган-оксид и као резултат често су локализовано повишене концентрације овог метала у седименту, код места уноса (Denton et al., 1997). Стога, слободни јони бакра се ретко налазе, осим у чистој, и у киселој и мекој води. Изложеност бакру је путем дисања, исхране или воде за пиће која садржи бакар, као и путем коже из производа који садрже бакар.

Бакар је есенцијални елемент за функционисање живих организама, укључујући и човека и мале количине овог елемента су неопходне у исхрани како би се осигурало добро здравље. Међутим, превише бакра може да изазове штетне ефекте на здравље човека, где може да буде у вези са оштећењем јетре и болести бубега.

1.2.1.7. Гвожђе (Fe)

Гвожђе је познато као 10. најраспрострањенији елемент и најраспрострањенији елемент Земљине коре. Тежак је сребрно сиви метал, сјајан, савитљив и растељив. Може да се јави у два оксидациона стања: феро (Fe^{2+}) и фери (Fe^{3+}). Феро гвожђе реагује са кисеоником стварајући токсичне хидроксил радикале који изазивају знатна оштећења ћелија, нападајући протеине, нуклеинске киселине, липиде и угљене хидрате (Hentze et al., 2004), док је фери гвожђе практично нерастворљиво у води.

Од свих метала, гвожђе се највише користи због чврстоће и ниске цене. Има широку примену, од посуда за храну до аутомобила, од шрафцигера до машина за прање веша, од теретних бродова до спајалица за папир. Најпознатија легура гвожђа је челик, а други облици гвожђа су сирово гвожђе, ливено гвожђе и ковано гвожђе.

Упркос токсичности, гвожђе је неопходно за неколико животних процеса, укључујући синтезу ДНК, као део хемоглобина за складиштење кисеоника и транспорта. Недостатак гвожђа у ћелији доводи до ћелијске смрти.

1.2.1.8. Жива (Hg)

Жива је један од најтоксичнијих метала у животној средини, укључујући литосферу, атмосферу, биосферу и хидросферу. Због екстремне токсичности органских облика, способности биоаккумуляције у воденим организмима и перзистентности у седименту, Hg (посебно растворљиви облик, метил-жива) се генерално сматра једним од главних загађивача у акватичној средини (Burger & Gochfeld, 2007).

Метил-жива (MeHg) је најзаступљенији облик живе. Производи се биолошком и хемијском метилацијом неорганске Hg и моћан је неуротоксикант код животиња и човека. Снажно се везује за протеине и стога се акумулира и задржава у биолошким ткивима (US EPA, 1997). Неорганску Hg и органску MeHg могу да апсорбују акватични организми, директно из воде или путем хране. Пропорција MeHg у односу на укупну концентрацију Hg повећава се кроз ланац исхране. Најнижа је у воденим биљкама, средње присутна у бескичмењацима, а највиша у предаторским врстама риба и писциворним птицама и сисарима (US EPA, 1997). Последњи акумулирају већи део Hg кроз исхрану. Концентрација Hg у рибама варира у зависности од врсте, не само у односу на положај у ланцу исхране, већ и услед биохемијских разлика између врста. Концентрација живе у организму расте са старошћу, као резултат дужег времена изложености. Овај елемент се изузетно биоаккумулира и биомагнификује кроз ланац исхране у води (Carrasco et al., 2011). Важни индикатори загађења живом у акватичној средини су рибе, где највише концентрације могу да се нађу углавном у мишићном ткиву (Čelechovská et al., 2007).

Најчешћи пут уноса живе у организам човека је употреба рибе из подручја загађеног живом у исхрани, а највећу опасност за здравље човека представља органски облик, тј. метил-жива (Clarkson, 1990; WHO, 1990; Shimshack et al., 2007). Из тог разлога, пажња је усмерена на рибе као главни извор људске изложености метил-живи. Метил-жива у телу негативно утиче на нервни, кардиоваскуларни и имуни систем. Како су рибе важан део људске исхране, неопходан је мониторинг укупне живе и њене органске форме метил-живе у мишићном ткиву риба (Sedláčková et al., 2013).

1.2.1.9. Манган (Mn)

Манган је беличасто-сиве боје, веома крт и у присуству кисеоника површински оксидирајући метал. У животној средини, манган се ретко јавља у слободној форми, већ углавном у комбинованом облику. У чистом стању манган је реактиван, а као прах гори у присуству кисеоника.

Манган се често налази у метаморфним, седиментним и магматским стенама. У индустрији има много примена, користи се за производњу фероманганског челика, као електролитички манган-диоксид у батеријама, легурама, катализаторима, пигментима, сушарама, средствима за заштиту дрвета. У ваздушну средину се углавном испушта у честичастом облику, а судбина и транспорт честица зависе од величине и густине, као и брзине и правца ветра. Нека једињења мангана су лако растворљива у води, тако да значајна изложеност, такође, може да се јави ингестијом контаминираних вода за пиће. Манган у копненим водама може да оксидира или да се веже за честице и исталожи у седимент.

Као есенцијални елемент у траговима, присутан је у свим живим организмима, али може да доведе до низа озбиљних токсичних реакција услед дужег излагања повишеним концентрацијама овог елемента. Токсични ефекти испољавају се у великој мери приликом рударских и производних активности због настанка честичних материја са овим елементом у ваздуху (Francis & Forsyth, 2005). Овај метал је често повезан са резервама гвожђа. У живим системима достиже знатно више концентрације у јетри него у мишићном ткиву услед његове функције кофактора за активацију једног броја ензима (Wagner & Voman, 2003). За неке животиње смртоносна концентрација овог елемента је прилично ниска, што значи да имају мале шансе да преживе чак и ниске концентрације мангана. Манган може да изазове сметње у функционисању плућа, јетре и васкуларног система, пад крвног притиска, недостатке у развоју животињских фетуса и оштећења мозга.

1.2.1.10. Никл (Ni)

Никл је релативно широко распрострањен у животној средини. Налази се у многим рудама као сулфид, арсенид, антимонид, силикат и оксид. Хемијском и физичком деградацијом стена и тла, атмосферским таложењем честица које садрже никл и испуштањем индустријских и комуналних отпадних вода ослобађа се у воду. Главни антропогени извори никла у води су примарна производња никла, металуршки процеси, сагоревање и спаљивање фосилних горива, као и хемијска и катализаторска производња (USEPA, 1986).

Никл је један од најмобилнијих метала у акватичној средини. Јони никла теже да се растворе при рН вредности испод 6.5, док изнад ове вредности углавном формира нерастворљиве никл хидроксиде. Загађење никлом у акватичној средини зависи углавном од падавина и сорбције хидроксида гвожђа и мангана. У копненим водама, седимент углавном садржи више никла него вода (Weiner, 2008).

У поређењу са већином метала, Ni је мање токсичан и растворљив. Када је у питању акватични свет, токсичност никла значајно варира између врста, али и услед различитих вредности рН и тврдоће воде. Никл је умерено токсичан за већину врста акватичних биљака, премда је најмање токсичан за бескичмењаке и рибе.

У малим количинама никл је есенцијални елемент који је неопходан у производњи црвених крвних зрнаца, али може да буде опасан по здравље човека у вишим концентрацијама.

1.2.1.11. Олово (Pb)

Олово је неесенцијални метал и уобичајени историјски и савремени загађивач широм света. Овај елемент је један од најзаступљенијих и најкориснијих метала који може да се нађе у практично свим деловима животне средине, као и у свим биолошким системима. Природно се јавља у животној средини, међутим велика количина овог метала је последица људских активности, као што је сагоревање оловних горива у аутомобилима. Сваке године, кроз индустријске активности се произведе око 2.5

милиона тона олова широм света. Већи део олова се користи за акумулаторе, док се остатак користи за облоге каблова, водоводне инсталације, муницију, производњу кристалног стакла и пестицида. Једном када се испусти у животну средину, циркулише у различитим облицима између ваздуха, воде, земљишта и живог света (Altindag & Yigit, 2005).

Олово доспева у акватичну средину као последица ерозије и испирања из земљишта, распадања оловне прашине, сагоревања бензина, испуштања комуналних индустријских отпадних вода, спирања наслага са улица и других површина, као и падавина. Вода углавном садржи ниске концентрације олова, чак и када су високе концентрације присутне у седименту, тако да храна представља значајан извор овог метала за рибе (Javed & Nayat, 1996; Clearwater et al., 2000).

Један од метала који има највише штетних ефеката на здравље човека је управо олово. У организам може да се унесе кроз храну, воду или ваздух а акумулира се у скелетном систему. Деца испод 6 година старости и труднице су најосетљивији на нежељене ефекате олова на здравље. Главни начин излагања олову за ширу популацију су храна и ваздух (Squadrone et al., 2013). Једном када се апсорбује, високе концентрације олова се акумулирају у костима, зубима, јетри, плућима, бубрезима, мозгу и слезини, пролазе кроз крвно-мождану баријеру и плаценту (Goyer & Clarksom, 2001; Gwaltney-Brant & Rumbeiha, 2002). Познато је да индукује смањени когнитивни развој и интелектуални развој код деце и повећава крвни притисак и кардиоваскуларне болести код одраслих (Commission of the European Communities, 2001).

1.2.1.12. Цинк (Zn)

Цинк је плавичасто бели, мекан метал, четврти по годишњој потрошњи у свету (иза Fe, Al и Cu). Веома је чест у животној средини и обично може да се нађе заједно са оловом и кадмијумом (Finkelman, 2005).

Главни извори цинка у акватичној средини обухватају испуштање отпадних вода, производне процесе који укључују метале и таложење из атмосфере. Приближно једна трећина емисије цинка у атмосферу је из природних извора, а остатак из

сагоревања горива и комуналног отпада, производње вештачких ђубрива и цемента. Токсичност цинка зависи од хемијских особина воде, укључујући концентрацију раствореног кисеоника, тврдоћу, рН и температуру. Висока температура и ниска концентрација кисеоника у води повећавају токсичност цинка, док пораст тврдоће воде редукује акутну смртност.

Цинк је есенцијални елемент за људску популацију, животињске врсте и поједине врсте биљака. Неопходан је за нормално функционисање имуног система, ћелијску деобу и синтезу протеина и колагена који је битан за зарастање рана и здраву кожу. Међутим, већи унос цинка може да изазове анемију и оштећење панкреаса (Finkelman, 2005).

1.3. Мониторинг квалитета копнених вода

Према дефиницији агенције Уједињених нација за заштиту животне средине (UNEP), мониторинг представља континуирано праћење, уз јасно дефинисане циљеве, једног или више хемијских или биолошких елемената, према утврђеном временском и просторном распореду, уз помоћ упоредивих и стандардизованих метода.

Према све веће загађење акватичних екосистема различитим природним и антропогеним загађивачима, међу којима су и тешки метали, постаје велика опасност за животну средину и здравље људске популације, мониторинг квалитета копнених вода је од изузетног значаја. Интензивна индустријализација и различити облици антропогеног утицаја довели су до повећаног присуства загађујућих материја у акватичним екосистемима, што захтева перманентни мониторинг присуства загађивача и њиховог утицаја (Nachev et al., 2010). Стога су пројекти мониторинга стања животне средине увек имали важну улогу како би се обезбедила научна сазнања у процени стања и одрживости екосистема (Tigano et al., 2009; Copat et al., 2012a,б; Tomasello et al., 2012). Мониторинг и превенција загађења тешким металима су најактуелније теме у истраживањима заштите животне средине.

1.3.1. Различити приступи у мониторингу квалитета вода

Постоји пет приступа у мониторингу стања животне средине који могу да се спроведу у циљу процене ризика од загађивача за организме и да се класификује квалитет животне средине:

- хемијски мониторинг који представља процену изложености загађивачима мерењем концентрација одабраног броја добро познатих загађивача у абиотичким деловима животне средине,
- биоакумулацијски мониторинг који представља процену изложености загађивачима мерењем концентрација загађивача у биотама или одређивање критичне дозе у критичном месту (биоакумулација),

- мониторинг биолошког ефекта који представља процену изложености и последице изложености загађивачима одређивањем раних нежељених промена које су делимично или потпуно реверзибилне (биомаркери),
- мониторинг здравственог стања који представља процену ефекта изложености загађивачима испитивањем појаве трајних болести или оштећења ткива у организмима,
- екосистемски мониторинг који представља процену стања читавог екосистема изложеног загађивачима пописивањем, на пример, врста, густине и разноликости.

Да би се процениле последице загађења отпадним водама на живи свет и људску популацију, у циљу повећања разумевања динамике загађивача у акватичним екосистемама, од кључног је значаја да се утврде разлике у концентрацијама загађивача у читавом екосистему као и између свих делова екосистема (Monroy et al., 2014). Једном када се нађу у акватичној средини, тешки метали се распоређују између различитих делова (вода, суспендоване материје, седимент и биота), тако да контаминација акватичних екосистема тешким металима може да се прати у абиотичким деловима животне средине (вода, седимент) и биотичким (живи организми) (Agarwal et al., 2007).

Први и најчешћи приступ у мониторингу тешких метала у води је хемијски мониторинг који обухвата узорковање воде у одређеним временским интервалима. Тренутна концентрација било које хемикалије може да варира, углавном услед протока воде, а самим тим и разблажења (Johnson, 2010). Понекад различите концентрације могу да се региструју чак и у једном дану, на пример због брзих промена протока током олуја или прилива канализационих и отпадних вода у току дана. Ова варијабилност може да се избегне поновним узорковањем и/или применом композитних узорака, који подразумевају додатне напоре и повећавају трошкове.

Већина суспендованих честица у води има висок афинитет везивања за метале, тако да се метали који се испуштају у воду таложе у седименту, формирајући комплексе са суспендованим честицама које омогућавају акумулацију метала у седименту (Yilmaz et al., 2007). Контаминирани седимент не остаје заувек заробљен на дну акватичног екосистема, већ процесима који доводе до узбуркавања воде може да се ресуспендује у слободну воду када сви, а не само бентосни организми, бивају директно изложени тешким металима. Такође, организми који у исхрани прерађују седимент могу да ресуспендују тешке метале из седимента у слободну воду. Услед тога што седимент акумулира метале чија је концентрација мање варијабилна него у води, седимент је погодан за дугорочно праћење таложења метала у екосистемима (MacDonald et al., 2000; Alloway, 2013).

Одређивањем концентрација метала у води или седименту не добијају се информације о ризику који настаје услед биоконцентрације, биоакумулације или биомагнификације метала (Ricart et al., 2010; Maceda-Veiga et al., 2013). Ови процеси се најпре покрећу расположивим металима за живи свет (биодоступност), што се односи на карактеристике воде, као што су рН, концентрација кисеоника, тврдоћа воде и температура, и карактеристике седимента, као што су садржај органског угљеника (Kotze et al., 1999; Canli & Atli, 2003; Adhikari et al., 2009). Особине врста, као што су трофички положај, старост, величина тела или распрострањење такође модификују образац биоакумулације метала (Mason et al., 2000; Gammons et al., 2006; Koјadinović et al., 2007), показујући да комбинација осетљивих врста са различитим еколошким својствима обезбеђује најбољу слику ризика од загађења тешким металима за жива бића (Jorgensen, 2011). Како наводи Golovanova (2008) акватични организми су у стању да акумулирају тешке метале до концентрација које су десет, па чак и хиљаду пута више од концентрација у акватичној животној средини.

Мониторинг квалитета акватичне животне средине скоро се у потпуности заснива на одређивању физичко-хемијских карактеристика, док су само повремено у мониторинг укључене и биолошке варијабле. Хемијски мониторинг има ограничења која укључују: пописни карактер, идентификовање ограниченог броја загађивача, и констатоване концентрације загађивача само у тренутку мерења. Још једно ограничење мониторинга акватичне животне средине које се базира на хемијским анализама је то

што не даје информације које су потребне за процену ефекта загађивача на организме на различитим нивоима биолошке организације, као што су, молекуларни, ћелијски, хистолошки, индивидуални, популацијски и екосистемски. Хемијске анализе животне средине, као што су анализа воде и седимента су најдиректнији приступи у откривању статуса загађења животне средине тешким металима, међутим не дају јасну слику о интегрисаном утицају и могућој токсичности таквог загађења на јединке и екосистем.

Биоакумулацијски мониторинг (биомониторинг) је неопходан додатак хемијским анализама услед могућности да интегрише утицаје на различите таксономске групе током дужег временског периода, тако да је бољи показатељ промена у акватичној средини. Ова научна техника за процену стања животне средине, укључујући изложеност људи природним и синтетичким хемикалијама, базирана је на узорковању и анализи ткива и течности појединачних организама. Због конзистенције између изабраних организама и одговарајуће животне средине, биомониторинг директно даје податке о интегрисаним, потенцијалним и стварним ефектима токсичности загађивача, одражавајући истовремено одговарајући степен загађења животне средине. Биолошки мониторинг тешких метала се такође широко примењује и препоручује јер је релативно јефтин и једноставан за примену.

Како наводи Burger (2006) најчешће коришћени биоиндикатори (преко 40%) за мониторинг загађења акватичне животне средине металима углавном укључују организме попут планктона, инсеката, мекушаца, риба, биљака, птица итд. Сваки од поменутих биоиндикаторских организама показује одређене особине које му дају предност у односу на друге организме у биомониторингу загађења акватичних екосистема тешким металима.

Алге, као примарни продуценти у води, играју кључну улогу у целом екосистему, тако да врсте алги и број заступљених јединки директно одражавају квалитет воде. Што је још важније, једном када акумулирају тешке метале, они улазе у ланац исхране и могу да представљају озбиљну претњу за животиње и људску популацију, а све услед процеса биомагнификације. Врста и степен загађења могу да се прецизно идентификују анализом врсте, бројности, физиолошког и биолошког одговора и садржаја метала у јединки. Имајући у виду све горе наведено, алге могу да

буду од значаја не само за студије биомониторинга већ и у процесу фиторемедијације услед високих биоакумулативних способности. Међутим, иако су добијени значајни резултати у биомониторингу уз помоћ ових врста, биолошке карактеристике попут сложених популација алги и ситних јединки, ограничено је њихово коришћење.

Седентарне макрофите имају предности у биоиндикацији загађења вода тешким металима као што су висока толеранција на загађење, велике су и једноставне за узорковање. Токсични ефекти у акватичним биљкама изложених тешким металима углавном обухватају ћелијске промене, инхибицију фотосинтезе, промене у дисању, инхибиције раста итд. Одређивање акумулираних метала у биљкама је обично обухваћено у биомониторингу загађења вода. Неки фактори, међутим, ограничавају примену макрофита као биоиндикатора. На пример, метаболичка активност изложених макрофита може да ослаби ефекте метала. Интеракције које се јављају између разних металних јона акумулираних у макрофитама могу да поремете очекиване реакције. Инхибиција раста макрофита изазвана тешким металима може у извесној мери да утиче на коначан закључак. Различит степен раста може да се јави код истих макрофитских врста у различитим областима, чиме слаби њихова способност у биомониторингу загађења металима у акватичној средини.

Зоопланктон који обухвата Protozoa, Crustacea, Amphipoda, Copepoda итд. обухвата важну компоненту акватичних екосистема. Многе зоопланктонске врсте могу да акумулирају и метаболишу загађиваче, тако да нуде могућност коришћења у биомониторингу загађења тешким металима.

Шкољке су препознате као биоиндикатори загађења вода тешким металима због тога што акумулирају високе концентрације тешких метала у ткивима у односу на доступност у акватичној средини. Познато је да шкољке, као филтрациони организми акумулирају метале који могу да произведу штетне ефекте. Широко распрострањење, доступност, седентарни начин живота, толерантност на промене у животној средини, отпорност на различите загађиваче, висок биоконцентрацијски фактор, велике и стабилне популације, релативно крупне јединке и слично, чине их добрим биоиндикаторима.

1.3.2. Рибе као биоиндикатори квалитета вода

Идеални биоиндикаторски организми треба да задовољавају следеће критеријуме (Zhou et al., 2008):

- акумулација одређених концентрација загађивача, без високе стопе морталитета,
- сесилни начин живота, или слаба покретљивост, како би добијени одговор био везан за одређен локалитет,
- широка распрострањеност тј. примењивост на ширем простору,
- довољно дуг животни век како би се дејство загађивача испољило,
- висока абунданца и/или довољно велике јединке како би се обезбедила довољна количина материјала (ткива), у количини потребној за анализе,
- једноставно узорковање,
- једноставан узгој у лабораторијским условима.

Рибе представљају један од најиндикативнијих фактора за процену загађења вода тешким металима (Alhas et al., 2009), а то је важно не само у процесу заштите животне средине, већ и за процену квалитета меса рибе и потенцијалног ризика, услед исхране, за људску популацију. Реагују веома осетљиво на повећање концентрација загађујућих материја (метали, органска загађења) у води. Акумулирани метали у органима и ткивима зависе од таксономске припадности рибљих врста, узрастне категорије, физичко-биохемијских карактеристика риба и хемијског статуса животне средине у којој живе (Meche et al., 2010). Лако их је сакупити у великим количинама, имају потенцијал да акумулирају метале, оптималне су величине за анализу и лако се узоркују (Batvari et al., 2007) тако да представљају добре биоиндикаторе. Концентрације тешких метала у риби зависе од више фактора, као што су начин исхране и понашање врсте приликом исхране (Obasohan & Oronsaye, 2004) и

трофички статус. Такође, извор одређеног метала, удаљеност организма од извора контаминације и присуство других јона у животној средини (Giesy & Wiener, 1977); биомагнификација и/или биодеградација одређеног метала (Barlas, 1999); доступност хране, металотионеина и других протеина за детоксикацију у телу животиње; температура, транспорт метала кроз мембране и метаболизам (Oronsaye, 1989). Такође, физичка и хемијска својства воде и сезонске промене утичу на концентрације тешких метала у риби. Капацитет рибе за прилагођавање великом оптерећењу воде тешким металима знатно утиче на концентрације тешких метала у телу рибе (Shah & Altindag, 2005).

Предности употребе риба у програмима биомониторинга су: добри су показатељи дугорочних ефеката (неколико година) и широких услова станишта јер су релативно дугоживећи и покретни; лако се прикупљају и идентификују до нивоа врсте; имају тенденцију да интегришу ефекте нижих трофичних нивоа тако да рибља заједница одражава целокупно стање животне средине (Barbour et al., 1999).

Тешки метали су посебно високог ризика за животну средину због дугог задржавања у природи и могуће биоакумулације и биомагнификације (Demirak et al., 2006; Ivančić et al., 2006; Agah et al., 2009; Uysal et al., 2009). Биоакумулација метала одражава количину метала унетих у организам, начин на који се метали распоређују између различитих ткива и у којој мери се задржавају у сваком ткиву. У рибама се одвија директно из воде и индиректно путем хране (Baron, 1990) и стога је индекс загађења одређеног акватичног екосистема такође и корисно средство за проучавање биолошке улоге повишених концентрација метала у акватичним организмима, нарочито рибама (Tarrío et al., 1991).

Постоје три начина уласка тешких метала у тело рибе: преко коже (површина тела), шкрга и гастроинтестиналног тракта (Dallinger et al., 1987). Још један могући начин је путем седимента (Bervoets et al., 2001) који представља најважнији резервоар метала и других отровних материја који доспевају у акватичну средину. Рибе које се хране бентосним организмима су директно изложене контаминираном седименту док су остали изложени токсичним материјама које се из седимента растварају у акватичној средини. Źarski et al. (1995) и Svobodova et al. (1999) закључили су да су

бентофагне врсте које се хране близу дна, у зависности од степена директне изложености контаминираним честицама и степена гутања седимента приликом исхране, осетљивији индикатори контаминације животне средине.

Биомагнификација представља пораст концентрација тешких метала у организму унутар ланца исхране, од нижег трофичког нивоа ка вишем, услед биоакумулације тешких метала из хране. Изражава се као однос концентрације у организму на вишем трофичком нивоу у односу на концентрацију у организму на нижем трофичком нивоу. Иако је претпоставка да се биомагнификација заснива на биоакумулацији само из хране, у ствари постоји више извора (вода, седимент) (McGeer et al. 2004). Процес биомагнификације који подразумева повећање концентрације метала у организмима на вишим нивоима ланца исхране највидљивији је у акватичној средини, стога се рибе као једна од крајњих карика у ланцу исхране сматрају добрим биоиндикаторима контаминације акватичне животне средине тешким металима (Spodniewska & Barski, 2013).

Путеви уласка метала у акватичне организме зависе од хемијских карактеристика воде, седимента и биолошких карактеристика акватичних организама. Међу биолошким карактеристикама које утичу на биодоступност метала, специфичне разлике између врста, као што су начин исхране и станиште могу да играју важну улогу. Поред тога, биодоступност метала може да буде модификована услед различитих карактеристика воде попут салинитета, температуре и рН вредности.

Есенцијални метали се обично налазе у ниским концентрацијама у животној средини и корисни су у концентрацијама у траговима. Количина есенцијалних метала у организму не прелази ниво који је неопходан за нормално функционисање ензима. Вишак унетих тешких метала у организам може да се регулише процесом хомеостазе, али ако су концентрације тешких метала у изворима снабдевања, као што су вода и храна превисоки, механизми хомеостазе престају да функционишу и есенцијални метали постају акутно или хронично токсични. Пораст есенцијалних метала у одређеним јединкама на загађеним локалитетима може, такође, да буде приписан учешћу Zn, Co и Fe у метаболичким функцијама (процеси детоксикације) како би се

избориле са последицама загађења (нпр. оксидативни стрес) (Bervoets & Blust, 2003; Çogun et al., 2006).

Постоје два различита приступа у биомониторингу, *in situ* и *ex situ*. У *in situ* студијама, мониторинг се спроводи директно у животној средини, на одређеном локалитету, док се у *ex situ* студијама проучавање утицаја одређених супстанци спроводи у лабораторијским условима.

У *in situ* студијама, примењују се стратегије пасивног или активног мониторинга. Код пасивног мониторинга, ефекат срединског стреса, тј. загађивача се одређује код јединки које насељавају одређени локалитет, док код активног мониторинга јединке које излажемо загађењу потичу из „чистих“, тј. минимално загађених средина или из лабораторијских услова који подразумевају одсуство загађивача.

Рибе из отворених вода се сматрају „дивљим“ јер не постоји могућност да се контролише састав животне средине у којој расту (Clarkson, 1998). Слободноживеће („дивље“) врсте риба акумулирају тешке метале из хране, воде, па и седимента током читавог животног циклуса. Оваква индикација се добија из просечних концентрација током неколико година и концентрације тешких метала су често много више у рибама него у води у којој живе, чинећи их лакшим за мерење упркос сложенијој матрици. Апсорпција тешких метала из загађене воде и хране и пурификација, када су вода и храна опет чисти, могући су, али ниједан од ових процеса није тренутан. Услед наведених процеса, где је често пурификација спорија него апсорпција, концентрације тешких метала у рибама нису у равнотежи са тренутним концентрацијама у води, нити су тачна мера просечне концентрације током читавог живота рибе, већ, ако не постоји значајан утицај загађене хране, пре негде између те две вредности.

Одређивање концентрација тешких метала код риба, како би се добила тачна концентрација у води стога није практичан предлог, међутим ако је разлог за мониторинг загађивача заштита слободноживећих врста риба од штетних ефеката загађивача, онда концентрације у води и седименту нису најважније, већ концентрације у ткивима риба. Постоје предности и мане свих стратегија у мониторингу тешких метала копнених вода и стога су сви приступи валидни у одређеним околностима.

Ово истраживање се заснива на пасивном мониторингу тешких метала у слободноживећим („дивљим“) врстама риба, тако да о другим приступима даље неће бити дискутовано.

1.3.2.1. Биоиндикаторске врсте риба у овој студији

Бројне студије су показале да је акумулација тешких метала у рибама под снажним утицајем концентрација истих у животној средини, води и седименту (Blevins & Pancorbo, 1986). Такође се у литератури наводи да више од једне врсте треба да буде укључено и анализирано у компаративним студијама животне средине услед значајних варијација у процесима загађења (Burger et al., 2002). Мултиспецијско поређење које покрива различите врсте исхране риба и широк спектар старосних категорија има потенцијал да направи разлику између недавне изложености и дугорочног оптерећења воде тешким металима.

Рибе могу да акумулирају различите количине тешких метала услед разлика у величини јединки, трофичком нивоу, станишту и начину исхране. Избор индикаторске врсте не треба да буде ограничен само на одређени ниво ланца исхране. Програми мониторинга раног упозорења треба да буду првенствено усмерени на топ предаторе ниже старосне категорије, али не занемарујући друге, углавном бентофагне врсте (Roméo et al., 1999; Mason et al., 2000; Dušek et al., 2005; Agarwal et al., 2007; Kojadinović et al., 2007; Yilmaz et al., 2007; Agah et al., 2009). Рибе које се хране бентосним организмима су директно изложене контаминираном седименту док су остале изложене тешким металима који се из седимента испирају у акватичну средину.

Имајући у виду све наведено, у оквиру овог истраживања коришћене су следеће врсте риба: смуђ *Sander lucioperca* (Linnaeus, 1758), сом *Silurus glanis* (Linnaeus, 1758), деверика *Abramis brama* (Linnaeus, 1758), бабушка *Carassius gibelio* (Bloch, 1782), клен *Squalius cephalus* (Linnaeus, 1758), мрена *Barbus barbus* (Linnaeus, 1758), скобаљ *Chondrostoma nasus* (Linnaeus, 1758) и уклија *Alburnus alburnus* (Linnaeus, 1758), које су уједно и комерцијалне и економски важне врсте риба у Србији (Слика 2).

1.3.2.1.1. Смуђ *Sander lucioperca* (Linnaeus, 1758)

Ова врста је широко распрострањена у водама Србије, у великим и мутним рекама и еутрофним језерима. Аутохтона је риба Дунавског слива и сливова Балтичког и Северног мора, али је успешно интродукована широм Европе. Статус угрожености је: мала забринутост (*eng. Least concern, LC*) (IUCN, 2012). Храни се у отвореним водама, ретко кад може да се нађе у литоралној зони обраслој вегетацијом (Vehanen & Lahti, 2003). Генерално је лутајући предатор који постаје облигатни писцивор у другој години (1⁺) живота (Vehanen & Lahti, 2003; Specziár, 2011). Као топ предатор широко се користи у мониторинг студијама тешких метала (Gül et al., 2011; Nabavi et al., 2012; Subotić et al., 2013а,б и други).

Као припадник I категорије квалитета, у Србији је врло цењена врста (Simonović, 2001).

1.3.2.1.2. Сом *Silurus glanis* (Linnaeus, 1758)

Сом је највећа европска слатководна риба, пореклом из Источне Европе и Западне Азије, најраспрострањенија у речним сливовима Дунава и Волге. Настањује литоралну зону великих и средњих равничарских река и добро обрасла језера (Kottelat & Freyhof, 2007). Статус угрожености је: LC.

Опортунистички је предатор, чија се исхрана често заснива на заступљеним рибама у станишту, што се одражава на доступност ових врста, а такође се храни водоземцима, птицама и мањим сисарима (Stolyarov, 1985). Има тенденцију да лови и да се храни рибом мањом него што би се очекивало за његову величину и усни отвор (Adámek et al., 1999; Wysujack & Mehner, 2005). Сом је ноћни предатор, у потрази за храном је у близини дна и у слободној води. Храни се раковима, рибом, водоземцима, воденим птицама и сисарима, највише после сумрака и пред зору.

Комерцијално је веома значајна риба.

1.3.2.1.3. Деверика *Abramis brama* (Linnaeus, 1758)

Насељава различите врсте језера и велике до средње велике реке. Током зиме формира јата, врло често са другим врстама (Kottelat & Freyhof, 2007). Статус угрожености је: LC.

Деверика је врста са релативно ниским захтевима када је у питању чистоћа воде и садржај кисеоника, тако да у таквим условима постаје доминантна и значајна врста у европским рекама (Žarski et al., 1995). Када је у питању исхрана, јувенили се хране углавном зоопланктоном док се одрасле јединке хране бентосним инвертебратама које ископавају из седимента, али и молускама (Simonović, 2001).

Има значај у привредном риболову као такозвана „бела риба“.

1.3.2.1.4. Бабушка *Carassius gibelio* (Bloch, 1782)

Бабушка је у воде Србије интродукована из Азије, а у водама Србије је инвазивна врста. Може да се нађе у мирним водама и равничарским рекама, где борави у субмерзној вегетацији. Врло је толерантна на недостатак кисеоника и загађење (Kottelat & Freyhof, 2007). Статус угрожености је: LC.

Омниворна је врста, храни се планктоном, бентосним инвертебратама, биљним материјалом и детритусом.

Бабушка има, као припадник категорије „бела риба“, одређен привредно-риболовни значај. Одабрана је као биоиндикаторска врста због ниске осетљивости и високе отпорности на неповољне услове животне средине.

1.3.2.1.5. Клен *Squalius cephalus* (Linnaeus, 1758)

Клен је честа слатководна ципринидна врста, најраспрострањенија у малим рекама и великим потоцима у зони мрене, такође дуж обале споротекућих равничарских река, чак и у веома малим планинским потоцима. Статус угрожености је: LC.

Јувенили се хране различитим биљним и животињским материјалом, док са повећањем масе тела њихова прождрљивост расте и постају претежно предатори који се хране мањим јединкама риба доступних у води.

Има знатан спортско-риболовни значај. Сматра се најпогоднијим моделом риба за мониторинг акумулације тешких метала у рекама јер настањује и чисте и загађене воде (Вагуš & Олива, 1995), јавља се дуж већине уздужних профила европских река Централне Европе и има тело довољно велико за узимање узорака мишићног ткива за аналитичке узорке. Осим тога, са практичне тачке гледишта, клен није заштићена врста, што је још један разлог за избор ове врсте у мониторинг студијама.

1.3.2.1.6. Мрена *Barbus barbus* (Linnaeus, 1758)

Мрена се јавља при дну акватичног екосистема, од планинских до равничарских, чистих, топлих, средњих до великих река, брзог тока и шљунковитог дна. Повремено се јавља у језерима. Статус угрожености је: LC.

Храни се широким спектром бентосних организама: ларве инсеката, рачићи, црви и мекушци. Понекад могу у исхрани да користе и алге.

Изузетно су атрактивне за спортски риболов. У мониторинг студијама тешких метала се широко користе услед начина живота који је везан за дно.

1.3.2.1.7. Скобаљ *Chondrostoma nasus* (Linnaeus, 1758)

Насељава средње до велике реке, умереног до брзог тока, каменитог и шљунковитог дна. Борави изнад дна, у јатима. Статус угрожености је: LC.

Ларве и јувенили се хране ситнијим бескичмењацима. Одрасле јединке се хране бентосним дијатомама и детритусом које скидају са камења.

У Србији, скобаљ је атрактивна риболовна врста, посебно у планинским рекама, док као припадник „беле рибе“ у равничарским рекама има привредно-риболовни значај (Simonović, 2001).

1.3.2.1.8. Уклија *Alburnus alburnus* (Linnaeus, 1758)

Настањује отворене воде језера и средњих до великих река. Борави близу површине воде, у јатима. Статус угрожености је: LC. Храни се планктонским рачићима, ларвама инсеката и инсектима са површине воде.

Има одређен привредно-риболовни значај у Србији.



Смуђ (*Sander lucioperca*)



Сом (*Silurus glanis*)



Деверика (*Abramis brama*)



Бабушка (*Carassius gibelio*)



Клен (*Squalius cephalus*)



Скобаљ (*Chondrostoma nasus*)



Уклија (*Alburnus alburnus*)

Слика 2. Истраживане врсте риба у овој студији

1.3.2.2. Избор одговарајућег ткива рибе за потребе мониторинг студија тешких метала у акватичним екосистемима

Доказано је да анализа рибљег ткива показује мање варијације него анализа параметара животне средине, па се сматра да је у циљу биомониторинга потребно, осим хемијских анализа воде, систематски пратити садржај акумулираних тешких метала у рибљем ткиву (Teodorović, 2000). Биоиндикацију је могуће спроводити на свим нивоима организације живих система, почевши од молекуларног, преко биохемијско-физиолошког, целуларног, индивидуалног, популационог, специјског, биоценолошког (екосистемског), биомског, па све до биосферног. Процена широког спектра промена у ћелијској или биохемијској компоненти, процесу, структури или функцији (биомаркери) у осетљивим организмима (биоиндикаторима) изазвана ксенобиотицима је веома важна у откривању потенцијалне токсичности загађивача. Најубедљивији разлог за коришћење биомаркера је тај што, сем што квантификују концентracије загађивача у животној средини, дају и информације о биолошким ефектима загађивача. Биоиндикатори и биомаркери могу ефикасно да се примене за слабо познате или мешовите загађиваче, што их чини идеалним за процену квалитета животне средине и процену ефекта сублеталних загађивача, како би се обезбедио систем за рано упозорење. Међутим, употреба биомаркера у мониторинг студијама показује присуство или одсуство загађивача, али не и којих јер је организам у акватичној средини изложен смеси загађивача.

Као што је раније поменуто, рибе које живе у загађеној акватичној средини имају тенденцију да акумулирају тешке метале у органима. Функција апсорпције и екскреције код риба одређује акумулацију метала, тако да до депоновања тешких метала у организму долази када је брзина усвајања знатно већа од брзине екскреције. Шкрге апсорбују метале из воде услед велике површине и непосредне близине са спољашњом средином. Представљају главно место размене гасова код готово свих врста риба. Поред респираторне функције, шкрге играју важну улогу у екскрецији одређених штетних материја као и у одржавању равнотеже соли у телу рибе. Шкрге риба се састоје од различитих врста епитела, врло велике површине секундарног епитела, који нема заштитни слој као кожа, што је и главни разлог за изражену

осетљивост шкрга код риба (Watson et al., 1987; Poleksić & Mitrović-Tutundžić, 1994; Wong et al., 2000; Garcia-Santos et al., 2006; Çinir et al., 2009).

Унутар организма, степен акумулације у различитим ткивима зависи од везивања метала и специфичних лиганата. Поред шкрга, и јетра као метаболички активни орган, је битна за акумулацију метала (Yilmaz et al., 2007), док је акумулација у мишићном ткиву нижа (Poleksić et al., 2010; Višnjić-Jeftić et al., 2010; Jarić et al., 2011). Јетра је најбољи акумулатор метала, изузев Hg (Farkas et al., 2002; Gammons et al., 2006; Çogun et al., 2006), а разлог за ово би могао да буде висок афинитет Hg према сулфхидрилним групама (R-SH) протеина (Miller et al., 1992; Mason et al., 2000), као и низак ниво везујућих протеина (односно металотионеина) у мишићима у односу на јетру (Roméo et al., 1999; Karadede et al., 2004; Kojadinović et al., 2007).

Мишићно ткиво је део рибе који човек углавном највише користи у исхрани. Глобално, слатководне рибе су највише експлоатисани водни ресурс, што представља око четвртину (око 20 милиона тона годишње) светске хране из воде (FAO, 2008), тако да је потребно да се провери да ли су концентрације загађивача попут тешких метала у оквиру препоручених граница за људску исхрану (Shinn, 2009).

Иако мишићи нису активно ткиво у акумулацији тешких метала (Amundsen et al., 1997; Tekin-Özan & Kir, 2008; Višnjić-Jeftić et al., 2010), обично су анализирани у литератури јер су основни део у људској исхрани и самим тим и значајни део здравственог ризика (Yilmaz & Doğan, 2008). Из свега наведеног, закључак је да мишићно ткиво најбоље одражава последице загађења металима у копненим водама, обухватајући уједно и здравствени ризик за човека (Monroy et al., 2014).

1.4. Преглед досадашњих истраживања у свету и Србији

Рибе су најчешће коришћене групе биоиндикатора у екотоксиколошким студијама. Екотоксиколошке студије које се спроводе уз употребу различитих врста риба, како би се утврдили токсични ефекти загађујућих хемикалија, пољопривредних и индустријских отпадних вода и студије загађења у рекама и језерима уведене су 1930-тих (Valavanidis & Vlachogianni, 2010).

Загађење копнених вода тешким металима разлог је велике забринутости последњих неколико деценија, не само због претње за водне залихе, већ и штете коју наносе живом свету у акватичној средини и људској популацији која се њима храни. Последњих деценија, проблем расветљавања процеса акумулације и биолошке улоге микроелемената у акватичним организмима, у условима загађења и антропогених трансформација акватичних екосистема, је привукло велику пажњу научника широм света, чинећи једну од најактуелнијих области у ихтиологији и екологији, са теоретским и практичним значајем.

Присуство тешких метала у акватичној средини и њихова акумулација у рибама су били значајни предмет пажње светске научне јавности (Dallinger et al., 1987; Kalay et al., 1999; Rashed, 2001; Demirak et al., 2006; Has-Schön et al., 2006; Yilmaz et al., 2007; Terra et al., 2008; Uysal et al., 2009; Kenšová et al., 2010; Ural et al., 2011; Maceda-Viega et al., 2013; Monroy et al., 2014 и многи други).

Један део досадашњих истраживања у Србији је првенствено био усмерен на одређивање концентрација тешких метала у води и седименту. Студија Milenković et al. (2005) је показала да постоји ризик за екосистем (река Дунав, 1 112 до 851 km тока) од истраживаних метала As, Cd, Cr, Cu, Fe, Pb и Mn у седименту али недовољно висок да би се предузеле одређене активности попут ремедијације. У студији Sakan et al. (2011), од истраживаних метала Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb, Ni, Zn, Be и V, констатоване су високе концентрације свих, посебно Cd, Pb, Cu и Zn у седименту истраживаних река Дунав, Сава, Тиса, Ибар, Велика Морава, Западна Морава, Јужна Морава, Нишава, Тамиш, канал ДТД, Колубара, Пек и Топлица.

Неке студије су се односиле и на утврђивање концентрација елемената у седименту и/или води и одређеним рибљим врстама. Једна од њих је студија Štrbac et al. (2014) где су Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Se, Sr и Zn анализирани у седименту и јетри врста штука (*Esox lucius*), кечига (*Acipenser ruthenus*), деверика (*Brama brama*) и шаран (*Cyprinus carpio*), узоркованих у реци Тиси. Резултати су показали да узорци седимента имају средње до значајан еколошки ризик, што доводи до озбиљне опасности по акватичне организме. Са друге стране, констатоване су само концентрације Pb и Cd изнад максимално дозвољених концентрација (МДК) у јетри шарана и кечиге. Још један од закључака студије је да омниворне (шаран) и бентиворне (кечига и деверика) врсте акумулирају више концентрације метала и елемената од писциворних (штука).

Morina et al. (2016) у студији елемената Al, As, B, Ba, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Sr и Zn у седименту река Дунав, Западна Морава и Јужна Морава и шкргама, мишићима, цревном тракту и јетри речне мрене (*Barbus barbus*), желели су да виде да ли ова врста може да буде потенцијални биоиндикатор квалитета седимента, када су у питању метали. Резултатати су потврдили могућност употребе ове врсте у мониторинг студијама метала у седименту.

Већи део студија у Србији је спроведен у циљу проналажења образаца акумулације метала у живом свету у акватичној средини, заједно са процесима биоконцентрације и биомагнификације. Разне врсте риба су ефикасно коришћене као биоиндикатори контаминације тешким металима. Доступна литература открива различите приступе за избор најадекватније врсте рибе и ткива за потребе мониторинг студија.

У студији Višnjić-Jeftić et al. (2010) анализирани су концентрације Al, As, Cd, Cu, B, Ba, Fe, Mg, Sr, Zn, Li, Co, Cr, Mn, Mo, Ni и Pb у мишићном ткиву, јетри и шкргама црноморске харинге (*Alosa immaculata* Bennet, 1835) на 863 km речног тока Дунава. Забележене су највише концентрације Al, Sr, Ba, Mg и Li у шкргама, Cd, Cu, Zn, Fe и B у јетри, док су највише концентрације As забележене у мишићном ткиву испитиване врсте, као и концентрације Cd и As изнад МДК.

Al, As, B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Sr и Zn анализирани су у јетри, шкргама, мишићима и гонадама у врстама сиви толстолобик (*Hypophthalmichthys molitrix*), деверика (*Abramis brama*), крупатица (*Blicca bjoerkna*), шаран (*Cyprinus carpio*) и сом (*Silurus glanis*) из Дунава у околини Београда. Дистрибуција метала и елемената између истраживаних ткива има исти образац међу врстама. Сиви толстолобик се издваја од других истраживаних врста по високим концентрацијама Al и Fe у јетри, а шаран са високим концентрацијама Zn у шкргама, мишићима и јетри. Констатоване су концентрације Fe и Zn изнад МДК у јетри и гонадама.

Subotić et al. (2013a), анализирајући концентрације Al, As, B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Sr и Zn у мишићном ткиву, јетри и шкргама врста смуђ (*Sander lucioperca*), сом (*Silurus glanis*), манић (*Lota lota*) и шаран (*Cyprinus carpio*) из Дунава (1 170 km речног тока), истакли су да постоји значајна разлика у акумулацији тешких метала и елемената између врста и ткива, наглашавајући да се писциворне врсте (смуђ и сом) истичу по знатно вишим концентрацијама Cr и Hg у јетри, Hg у шкргама, док се полифагне врсте (манић и шаран) истичу по знатно вишим концентрацијама B и Fe у шкргама и As у мишићном ткиву. Такође наглашавају да су знатно више концентрације Cd, Cu и Zn констатоване у јетри шарана у односу на друге истраживане врсте. Концентрације изнад МДК у овим врстама у овом делу Дунава нису констатоване.

Код врста смуђ (*Sander lucioperca*), сом (*Silurus glanis*), шаран (*Cyprinus carpio*) и главочи (*Neogobius gymnotrachelus*, *Neogobius melanostomus*) из Дунава код Београда анализирани су јетра, мишићи и компост читавог тела (у случају главоча) на присуство As, Cu, Fe, Hg, Mn и Zn у студији Subotić et al. (2013б). Аутори су желели да утврде однос тешких метала и елемената на релацији предатор-плен и предатор-предатор. Утврђено је да су концентрације Hg више у предаторским врстама (сом, смуђ) у односу на плен (шаран, главочи), што је доказ биомагнификације овог метала. Концентрације Cu, Fe, Mn и Zn су више у јетри него у мишићном ткиву код свих врста, док су вредности As и Hg једнаке (изузев код шарана, где су концентрације Hg ниже у јетри). Изнад МДК забележене су вредности само Hg и Zn.

Различита ткива и органи (мишићно ткиво, шкрге, слезина, јетра, бубрези, цревни тракт, желудац, срце, мозак, жучна кеса, рибљи мехур, пршљенови, оперкулуми и гонаде) сома (*Silurus glanis*) из Дунава (1 169 km речног тока) анализирани су на садржај As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Se и Zn у студији Jovičić et al. (2015). Константовано је да постоји разлика у акумулацији између ткива и органа, са највишим концентрацијама у пршљеновима, потом бубрезима и јетри. Све вредности метала су биле испод МДК.

Мали број студија у Србији односио се и на хистопатолошки одговор рибљих врста изложених загађењу тешким металима. Резултати једног таквог истраживања представљени су у студији Poleksić et al. (2010), где су аутори анализирали ефекте загађења тешким металима Cd, As, Pb, Cr, Hg, Cu, Ni, Fe, Mn и Zn на кечигу (*Acipenser ruthenus*) у сливу Дунава, као и предности употребе различитих органа и ткива као индикатора контаминације тешким металима. Анализа је, поред тешких метала у шкргама, мишићима, јетри и цревном тракту, укључивала и хистопатолошке анализе које су обухватале процену и степен интензитета промена у кожи, шкргама и ткиву јетре. Показано је значајно присуство сублеталних хистопатолошких промена, које су најизраженије у јетри и кожи и повећана акумулација тешких метала у јетри.

Rašković et al. (2015) су истраживали сличност хистопатолошког одговора на загађење у шкргама и јетри између две бентофагне врсте, речне мрене (*Barbus barbus*) и кечиге (*Acipenser ruthenus*) из Дунава (1 173 km речног тока) и упоређивали са концентрацијама As, B, Ba, Cd, Co, Cu, Fe, Hg, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Sr и Zn у јетри, шкргама и мишићима. Ова група аутора извела је закључак да су детектоване концентрације метала узрок различитих одговора ткива јетре и шкрга две истраживане врсте. Постоји јасна разлика између две врсте на основу акумулације метала и степена хистопатолошких промена у шкргама и јетри, стога ови аутори издвајају речну мрену као бољег показатеља загађења на специфичним, више уским локацијама, док је кечига бољи показатељ загађења већих акватичних површина. Концентрације метала биле су изнад МДК у великом броју анализираних узорака, што указује на значај ових врста у мониторингу.

Један део истраживања односио се и на проучавање присуства генотоксичних ефеката у рибама у присуству метала. Циљ студије Sunjog et al. (2012) био је да се анализира 16 елемената Al, As, B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, Sr и Zn у различитим ткивима мрене (*Barbus barbus*) из Дунава, у близини Београда, и детектује присуство генотоксичних ефеката у еритроцитима уз помоћ алкалног комета теста, јер је била претпоставка да је испуштање нетретираних комуналних вода у овом делу Дунава произвело негативне ефекте код риба. Резултати указују да су млађе јединке мрене погодније за мониторинг загађења акватичне животне средине.

2. Циљеви истраживања

Студија загађења воде и риба тешким металима је од виталног значаја за процену тренутног стања квалитета воде и потенцијалне претње које рибе оптерећене тешким металима представљају за здравље људи.

У Србији још увек не постоји студија која би дала свеобухватну слику о просторном загађењу копнених вода тешким металима. Циљеви овог истраживања су:

- анализа нивоа акумулације тешких метала у мишићном ткиву испитиваних врста риба и композитном узорку уклице,
- поређење акумулираних тешких метала у мишићном ткиву између различитих врста риба,
- веза између концентрација тешких метала акумулираних у мишићном ткиву испитиваних врста и концентрација тешких метала у води,
- избор потенцијално осетљиве рибе врсте за мониторинг студије тешких метала,
- могућност примене индекса загађења тешким металима (*енг. Metal Pollution Index - MPI*) у процени загађења вода тешким металима,
- формирање прелиминарне мапе загађења вода тешким металима у Србији,
- поређење концентрација акумулираних тешких метала у мишићном ткиву испитиваних риба са максимално дозвољеним концентрацијама прописаних законским регулативама.

3. Материјал и методе

3.1. Карактеристике подручја истраживања

Подручје истраживања у овој студији обухвата највеће и најважније реке Србије: Дунав, Тиса, Сава, Велика Морава, Западна Морава, Јужна Морава, Ибар, Дрина и Тимок, као и Колубара, Млава и Пек. Такође су укључене и акумулације: Гружа, Бован, Александровац, Међувршје, Завој и Власина.

3.1.1. Карактеристике истраживаних река

3.1.1.1. Дунав

Дунав је друга по величини река у Европи, са дужином 2 826 km и дужином тока кроз Србију од 588 km. Слив Дунава простире се на 87% територије Србије, што представља 11% укупне површине.

Река Дунав сакупља воду из деветнаест земаља (Sommerwerk et al., 2009), тако да је изложена приливу великих количина отпадних вода (Teodorović et al., 2000). Србија је једна од ретких подунавских земаља на чијој територији је квалитет воде Дунава знатно бољи него у другим земљама кроз које протиче. Овакво стање Дунава је резултат знатно мањег загађења на територији Србије, али и способности пречишћавања, посебно у акумулацији Ђердап, која делује попут великог таложника. Међутим, бројни индустријски центри (Milanović et al., 2010), као што су Нови Сад, Београд, Панчево и Бор, континуирано испуштају различите загађиваче у ток Дунава кроз Србију (Stanić et al., 2006). Неки елементи су велики проблем загађења копнених вода и седимента у Дунаву у Србији (Teodorović, 2009). Део реке између Новог Сада и Београда прима велику количину непречишћених или слабо пречишћених комуналних и индустријских отпадних вода. Седимент у близини Београда садржи повишене концентрације As, Cu и Hg, услед загађења које доноси река Сава и недовољно третираних отпадних вода из града (Babić-Mladenović et al., 2003; Crnković et al., 2008; Triebkorn et al., 2008). Загађење воде изазвано великом густином насељености и тешке индустријализације у сливу је главни проблем Дунава.

3.1.1.2. Тиса

Сливно подручје Тисе (966 km речног тока) простире се на територији пет земаља: Украјина (8%), Румунија (47%), Словачка (10%), Мађарска (29%) и Србија (6%). Кроз Србију протиче у дужини од 164 km и највећа је притока Дунава (Gavrilović & Đukić, 2002).

Антропогени утицај проузрокује перманентно загађење ове реке, тако да су међународне институције евидентирале чак 447 потенцијалних загађивача од којих су 42 врло ризична: у Румунији 24, Украјини 6, Словачкој 1 и Мађарској 11. Тиса је контаминирана кроз бројне индустријске акциденте из Карпатског планинског региона у Румунији, који има дугу традицију рударства, посебно злата (Au), сребра (Ag), олова (Pb), цинка (Zn), бакра (Cu), кадмијума (Cd) и мангана (Mn). Када томе додамо и наше потенцијалне загађиваче, као и градске фекалне канализације које немају постројења за пречишћавање, јасно је да је Тиса крајње угрожена загађивачима.

Веома развијена пољопривреда у панонском делу сливног подручја Тисе такође доприноси загађењу, тако да су еколошки услови лоши и ова река спада у најзагађеније токове у Србији.

3.1.1.3. Сава

Простире се 940 km дуж Југозападне Европе. Ток кроз Србију обухвата 204 km. Популација становништва у сливу Саве је око 8.2 милиона (46% од укупног становништва у четири земље које деле басен) и главни проблем представља велика количина отпадних вода које се у неким деловима прерађују док се у другим не прерађују уопште, услед различитих законских и економских стандарда земаља кроз које ова међународна река протиче.

Као пловна и транзитна река, Сава је у Србији нешто чистија од Дунава, а значајно је бољег квалитета од Тисе. Сава, као типична равничарска река и највећа притока Дунава, до 1990-их је била погођена тешким загађењем из индустрије: металургија, хемијска, индустрија коже, текстилна, хране, целулозе и индустрија

папира, као и пољопривредним активностима. Исто тако, Сава је главни реципијент отпадних вода из многих градова, али је и под утицајем загађене воде из притока.

3.1.1.4. Велика Морава

Велика Морава је највећа река која се целим својим током простире на територији Србије и представља веома значајну десну притоку Дунава. Настаје спајањем Јужне и Западне Мораве, а дуга је 185 km. Типична је равничарска река која протиче кроз најгушће насељене делове Србије.

Велика Морава протиче кроз најгушће насељену област Централне Србије-Поморавље, прима нетретиране или непотпуно третиране отпадне воде из урбаних подручја и животињских фарми, што доводи до озбиљног нарушавања квалитета воде. Последњих година Велика Морава има тенденцију даљег погоршања квалитета воде, јер се у њеном сливу налазе бројна насеља и индустријски комплекси. Пољопривреда је већ дуго главни ослонац привреде Србије. Пољопривредне површине заузимају скоро две трећине територије Србије. Иако је Србија један од највећих произвођача хране на Балкану, само 1-2% обрадивог земљишта се наводњава. Највећи део производног пољопривредног земљишта представља област Војводине и суседни нижи делови јужно од Саве и Дунава, укључујући и долину реке Мораве, што представља још један од фактора загађења ове реке.

3.1.1.5. Западна Морава

Спајањем Ђетиње и Голијске Моравице, настаје река Западна Морава дужине тока 308 km (мерено од извора Голијске Моравице), док је дужина саме Западне Мораве 208 km.

Слив Западне Мораве је богат рудама, тако да се ту налазе рудници тврдог угља, магнезијума, хрома итд. Као резултат, индустрија је веома развијена са низом врло индустријализованих градова: Пожега, Чачак, Краљево, Трстеник и Крушевац. У сливу Западне Мораве живи преко 1.5 милиона становника, где је регистровано преко 170

загађивача. Резултат свега наведеног је веома загађена река, а осетније загађење воде јавља се у Чачанској, Краљевачкој, Трстеничкој и Крушевачкој котлини.

3.1.1.6. Јужна Морава

Јужна Морава је дуга 295 km. Код Сталаћа, са Западном Моравом формира Велику Мораву. Јужна Морава је некада представљала дужу притоку Велике Мораве, међутим, данас је скраћена за скоро 30 km, тако да је постала краћа од Западне Мораве.

И поред краћег тока, вода Јужне Мораве је лошијег квалитета. Иако индустрија у овом делу Србије више није на нивоу на ком је некад била, због неконтролисаних излива непрерађених отпадних вода из домаћинства и индустрије, квалитет воде је знатно нарушен.

3.1.1.7. Дрина

Као највећа притока Саве, са дужином од 346 km, Дрина је некада била планински водоток са великим падом и великим потенцијалом аутопурификације. Међутим, у последњих неколико година, тешки метали (углавном гвожђе, арсен, манган, никл и олово) доспевају у Дрину из оштећених јаловина.

3.1.1.8. Ибар

Ибар, са дужином тока 272 km, је највећа десна притока Западне Мораве.

Иако је планински водоток са великим падовима и малом густином насељености слива, Ибар је један од загађенијих токова у Србији. Ибар се највише загађује из индустрије са Косова, посредством притоке Ситнице, која је веома загађена већ од ушћа Приштивке (водоток ван класе), а поготово из површинских рудника лигнита, термоелектрана у Обилићу и фабрика суперфосфата у Косовској Митровици. Ибар је под утицајем загађења оловом и цинком, пошто се у овој области налази велики део производње и производних погона рударско-металуршког система, Трепча-

девет рудника олова и цинка, три флотациона, два металургије, хемијске индустрије, као и фабрика акумулатора. Један део отпадних вода потиче из индустрије, део услед пољопривредних активности, део из индустријских и комуналних депонија на овом подручју, а део од санитарних, фекалних вода које се испуштају без третмана. Све ово утиче на квалитет воде Ибра и његових притока.

3.1.1.9. Колубара

Колубара је река у Западној Србији, дуга око 123 km, тако да припада рекама средње величине слива. Последња је притока Саве, пре улива у Дунав.

Колубара протиче кроз многобројна насеља, градска и сеоска, у којима прима фекалне и отпадне воде из индустрије, као што су површински копови и термоелектране, тако да је једна од река са највећим степеном деградације квалитета воде.

3.1.1.10. Велики Тимок

Ова река укупне дужине 88 km је последња десна притока Дунава у Србији.

Велики Тимок и његове притоке Бели и Црни Тимок су оптерећене отпадним водама, јер су под утицајем индустрије у Борском, Бољевачком, Зајечарском и Књажевачком басену. Последњих деценија река је знатно загађивана отпадним водама из Борског басена што је последично изазвало загађење Дунава оловом, бавром и кадмијумом.

3.1.1.11. Млава

Млава је река у Србији, дужине 158 km и десна је притока Дунава. Главни извори загађења комуналним и индустријским отпадним водама су градови Пожаревац (70 000 становника, у доњем току), Петровац на Млави (8 000 становника, у средњем току) и насеље Жагубица (2 600 становника, у горњем току). Термоелектрана „Костолац“ (ТЕ „Костолац“) и површински коп рудника угља „Дрмно“ се налазе у

доњем току реке, у близини њеног ушћа у Дунав, што утиче на квалитете воде реке услед улива отпадних вода. Осим тога, басен реке и сама река, посебно у средњем току, су погођени испирањем са пољопривредних земљишта и комуналним отпадним водама из бројних мањих насеља. Такви антропогени притисци су посебно тешки због преовлађујуће ниског водостаја у сливу (Manojlović et al., 2003).

3.1.1.12. Пек

Пек се убрја у највеће реке у североисточној Србији, укупне дужине тока 129 km.

Антропогени притисак на ову реку је велики. Велики негативан утицај има индустрија у овом делу Србије. Један од највећих загађивача Пека је рудник бакра у Мајданпеку.

3.1.2. Карактеристике истраживаних акумулација

3.1.2.1. Груза

Налази се у централној Србији, у близини града Крагујевца, на надморској висини од 269 m. Грузанска акумулација има запремину од 64.5 милиона m³, обим око 42 km, а ширине је од 300 до 2 800 m. Дужина акумулације је око 10 km а површина око 900 ha. Максимална дубина је 31 m и то код бране, док је просечна дубина 6.3 m. Вештачка акумулација Груза је формирана преграђивањем средњег тока реке Грузе, са примарном улогом у водоснабдевању водом за пиће становништва у овом региону, у сврху водопривреде, као заштита од поплава, задржавање наноса, али и како би се побољшао водни режим доњег тока реке Грузе у изузетно неповољним хидролошким условима.

Ова акумулација је под великим антропогеним притисцима. Формирање акумулације је захтевало изградњу нове инфраструктуре, па је за потребе одржавања несметаног саобраћаја изграђен мост на магистралном правцу Крагујевац-Чачак.

Земљиште око акумулације се интензивно обрађује уз употребу инвазивних агротехничких мера (претерана употреба пестицида, и то хербицида и фунгицида). У близини постоје и две фабрике, за прераду меса и хладњача за воће.

3.1.2.2. Бован

Бован је вештачка акумулација која се налази у средњем току Сокобањске Моравице, између Сокобање и Алексинца. Акумулација је дуга 8 km, највећа ширина је 500 m, а дубина 50 m. Изградња Бовна планирана је као мулти-функционални систем, са основним циљем регулисања слива реке Мораве и акумулације Ђердап II. Иако у почетку није била планирана за водоснабдевање, због великог потенцијала, додато је постројење за пречишћавање воде тако да акумулација снабдева пијаћом водом популацију у региону, град Алексинац.

Ова акумулација је под јаким утицајем човека. У Бован константно доспева значајна количина воде богате органским материјама из Сокобањске Моравице, као резултат директног испуштања непречишћених отпадних вода из домаћинства у реку. Земљиште око акумулације интензивно се обрађује уз употребу инвазивних агротехничких мера (прекомерна употреба пестицида, и то хербицида и фунгицида). Исто тако, ширење викенд насеља на обали акумулације, која генерално немају законом регулисано чување и испуштање отпадних вода, доприноси загађењу воде.

3.1.2.3. Александровац

Александровачка акумулација налази се у најјужнијем делу Србије, на 7-8 km југозападно од Врања. Дуга је 500 m, највећа ширина је 250 m, а површина износи око 2 km². Просечна дубина акумулације је око 2.5 m, а најдубља 4 m. Направљена је за потребе наводњавања по систему „кап по кап“ пољопривредног комбината „Пољопродукт“, које се првобитно старало о језеру. Касније је почело коришћење у спортске и рекреативне сврхе.

У више наврата је било великих помора рибе, више пута је санирана, према различитим техничким решењима, и порибљавана. Испражњена је 2009. године, а потпуно обновљена и напуњена 2010. године. Последњи велики помор рибе догодио се у децембру 2012. године, испод залеђеног језера.

3.1.2.4. Међувршје

Једна од најстаријих акумулација формирана на Западној Морави, налази се на изласку из Овчарско-кабларске клисуре. Највећа дубина акумулације је непосредно код темељног пропуста, око 20 m. Дно акумулације је муљевито-песковито.

Уз десну обалу акумулације протеже се магистрални пут, железничка пруга пролази на обе стране. Поред саобраћајних активности, екосистем угрожава већи број узводно лоцираних индустријских и урбаних загађивача. Хемијски квалитет воде одступа од квалитета, регистрована су оптерећења амонијаком, нитратима, тешким металима и другим полутантима. Испитивањем муља са дна, установљено је да у њему има доста мангана.

3.1.2.5. Завој

Акумулација Завој налази се у југоисточној Србији, на Старој планини, 17 km североисточно од Пирота, у средњем делу тока реке Височице. Настала је 1963. године, када је велико клизиште направило природну брану, која је касније надвишена изградњом вештачке бране. Садашња вештачка брана налази се око 1 km низводно од некадашњег села Завој, које је настанком акумулације потопљено, и по коме је и добило назив. Знатна количина воде из Завојске акумулације се подземним тунелом одводи до хидроелектране „Пирот“ за покретање генератора.

Готово ниједно село на подручју Пирота нема канализацију, није решен проблем отпадних вода из села. Проблем дивље градње на подручју Завојске акумулације решен је само делимично јер се у близини налази потпуно нелегално дивље викенд насеље чији отпад гравитира ка акумулацији. Све су ово угрожавајући антропогени фактори за квалитет воде Завоја.

3.1.2.6. Власина

Власина је вештачка акумулација на југоистоку Србије са површином од 15 km² и дубином до 35 m. Налази се на подручју општине Сурдулица. Власинска акумулација је формирана на некадашњим тресавама, познатим као Власинско блато. После изградње акумулације трећина језера је била под „пловећим острвима“, заправо деловима тресета, који се откинуо са новообразованог дна акумулације. Данас се на њој налази неколико јединствених „пловећих острва“ која доприносе лепоти и атрактивности Власине.

Недозвољеним активностима протеклих деценија Власина је знатно угрожена. У непосредној близини акумулације постоје интензивне пољопривредне активности, дивља викенд насеља, хотели, нерешен канализациони систем и велики број локалних путева.

3.2. Методе прикупљања узорака, карактеристике локалитета и период узорковања

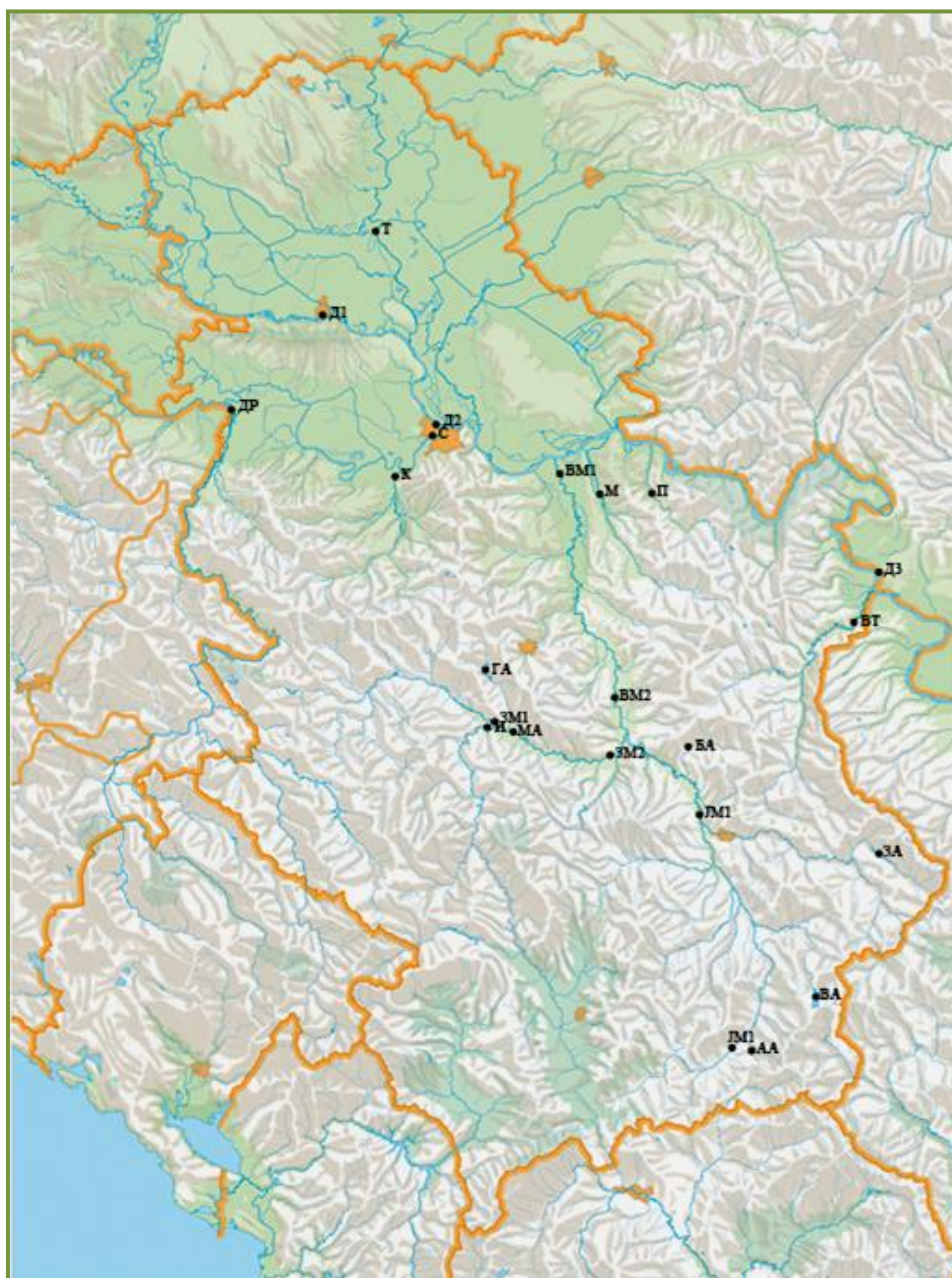
Републички хидрометеоролошки завод је био надлежни орган за званични мониторинг квалитета воде у Републици Србији до марта 2011. године када је ову надлежност преузела Агенција за заштиту животне средине (СЕПА) и дневни, недељни и годишњи извештаји, као и мрежа станица узорковања и списак параметара квалитета воде (са еколошким стандардима и критеријумима) су доступни јавности (<http://www.sepa.gov.rs/index.php>). Подаци за концентрације тешких метала у води које су мерене истог месеца, током рутинског мониторинга, на одабраним локалитетима, за потребе овог истраживања су преузети са овог сајта.

Целокупна теренска истраживања у оквиру ове докторске дисертације обављена су у периоду од 2011. до 2014. године, током исте сезоне мај-октобар. Изузетак је акумулација Александровац, где је риба узоркована након помора, у децембру 2012. године. Локалитети су бирани са циљем да се обухвате највеће и најзначајније реке у Србији, за које се претпоставља да су оптерећене тешким металима и акумулације за које се сматра да су различито оптерећене тешким металима. Изабрано је 17 локалитета распоређених дуж 12 великих река и 6 локалитета на акумулацијама (Слика 3).

Узорковање риба је спроведено различитим техникама у зависности од карактеристика изабраних локалитета (Табела 2).

Електрориболов је техника која се користи у научно-истраживачке сврхе и заснива се на примени електричног поља између електрода, створеног агрегатом са исправљачем или акумулатором са индуктором. Метода електрориболова је извршена уз помоћ електроагрегата „Aquatech“ IG 1300 (2.6 kW, 80-470 V).

Коришћене су и стационарне мреже „пливарице“ и повлачне мреже различитих дужина, дубина (висина) и пречника окаца у зависности од вода у којима се рибе лове. Један део узорака је сакупљен од привредних рибара и спортских риболоваца. Списак локалитета са координатама, датумима узорковања и начинима узорковања дати су у Табели 2.



Слика 3. Мапа истраживаних локалитета. Ознаке локалитета са називима река и акумулација дате су у Табели 2

Изложеност људи тешким металима се првенствено догађа исхраном, па је зато утврђивање контаминације тешким металима код комерцијално значајних рибљих врста од изузетног значаја (Erdogrul & Erbilir, 2007; Yilmaz et al., 2007; Meche et al., 2010). С друге стране, више од једне врсте треба да буде анализирано у компаративним студијама животне средине услед значајних варијација у процесима загађења (Burger et al., 2002).

Најважније комерцијалне врсте риба смуђ, сом, деверика, мрена, скобаљ и клен су проучаване у оквиру ове дисертације. У рекама Дунав, Сава и Тиса, узорковани су смуђ, сом и деверика јер представљају прву категорију квалитета (сом и смуђ) и другу категорију квалитета (врсте рода *Abramis*) риба коју изловљавају комерцијални рибари у овим рекама (Smederevac-Lalić et al., 2012). Последњих година број комерцијалних рибара је драстично смањен, док је број рекреативних риболоваца у порасту (Smederevac-Lalić et al., 2011). Стога су мрена, скобаљ и клен укључени у истраживање и узорковани у Великој Морави, Западној Морави, Јужној Морави, Дрини, Ибру, Великом Тимоку, Колубари, Млави и Пеку као врсте које су значајне у рекреативне сврхе. Када су акумулације у питању, у Грузи и Бовну су узорковани смуђ, сом, деверика и бабушка. Након помора рибе у децембру 2012. године, у Александровачкој акумулацији су узорковане само бабушка и деверика јер остале врсте риба у овој акумулацији не могу да се нађу. Могућност употребе уклије као биоиндикатора контаминације тешким металима је испитивана у акумулацијама Завој, Власина и Међувршје.

Након излова, измерене су тотална дужина (изражена у cm, тачност ± 0.1 cm) и маса (изражена у g, тачност ± 1 g) и одабране су јединке за даљу анализу, а у складу са комерцијалном величином (минимална величина јединки дозвољена за излов) на основу Закона о рибарству („Службени гласник РС“ бр. 35/94, 38/94, 101/05 - други закон). Потом је свака јединка испрана дестилованом водом и у свежем стању је извршена дисекција (Слика 4). Дорзално мишићно ткиво са десне стране леђног пераја (± 5 g) је издвојено деконтаминираним ножем и транспортовано у посебним пластичним „zipper“ кесама на леду, у преносном ручном фрижидеру у лабораторију, где су узорци замрзнути и чувани на температури -20 °C до даље анализе. Услед мале величине, свака појединачна јединка уклије је посебно самлевена у стерилном

лабораторијском хомогенизатору Sterilmixer 177 (International P.V.I. S.p.A.) у лабораторији и компост у посебним пластичним кесама замрзнут пре анализе.



Слика 4. Теренска истраживања - узорковање и дисекција

Табела 2. Опис истраживаних локалитета, датум, начин узорковања и узорковане врсте

Локалитет	Ознака локалитета	Координате	Датум узорковања	Начин узорковања	Узорковане врсте	Број узоркованих јединки
Дунав - Нови Сад	Д ₁	45°14'10" N 19°50'55" E	18.10.2013. год.	Риболовци	Смуђ	10
					Деверика	10
					Сом	10
Дунав - Земун	Д ₂	44°51'18" N 20°23'51" E	5.09.2013. год.	Мреже	Смуђ	10
					Деверика	10
					Сом	10
Дунав - Радујевац	Д ₃	44°16'23" N 22°40'39" E	18.09.2013. год.	Мреже	Смуђ	10
					Деверика	10
					Сом	10
Сава - Остружница	С	44°44'13" N 20°18'60" E	27.07.2013. год.	Мреже (привредни риболов)	Смуђ	10
					Деверика	10
					Сом	10
Тиса - Нови Бечеј	Т	45°35'30" N 20°07'60" E	19.10.2013. год.	Мреже (привредни риболов)	Смуђ	10
					Деверика	10
					Сом	10
Велика Морава - Љубичевски мост	ВМ ₁	44°35'08" N 21°07'53" E	20.10.2013. год.	Електрориболов	Клен	7
					Мрена	9
					Скобаљ	9

Велика Морава - Багрдан	ВМ ₂	44°05'00" N 21°11'26" E	20.10.2013. год.	Електрориболов	Клен Мрена Скобаљ	6 8 8
Западна Морава - Краљево	ЗМ ₁	43°43'53" N 20°44'39" E	15.06.2011. год.	Електрориболов	Клен Мрена Скобаљ	6 5 7
Западна Морава - Јасика	ЗМ ₂	43°36'38" N 21°17'56" E	24.08.2013. год.	Електрориболов	Клен Мрена Скобаљ	7 8 10
Јужна Морава - Ниш	ЈМ ₁	43°22'30" N 21°46'11" E	17.10.2013. год.	Електрориболов	Клен Мрена Скобаљ	6 5 7
Јужна Морава - Ристовац	ЈМ ₂	42°28'23" N 21°50'18" E	27.09.2013. год.	Електрориболов	Клен Мрена Скобаљ	7 7 7
Ибар - Краљево	И	43°43'08" N 20°41'26" E	15.06.2011. год.	Електрориболов	Клен Мрена Скобаљ	5 5 5
Дрина - Бадовинци	ДР	44°46'42" N 19°20'31" E	7.05.2013. год.	Риболовци	Клен Мрена Скобаљ	7 7 7
Колубара - Мислођин	К	45°14'10" N 19°50'55" E	28.07.2013. год.	Риболовци	Клен Мрена Скобаљ	5 3 5
Велики Тимок - Вражногрнац	ВТ	44°37'58" N 20°12'30" E	1.08.2013. год.	Риболовци	Клен Мрена Скобаљ	3 5 7

Млава - Братинац	М	44°38'42" N 21°13'12" E	8.07.2013. год.	Електрориболов	Клен Мрена Скобаљ	3 3 3
Пек - Нересница	П	44°26'42" N 21°40'49" E	8.07.2013. год.	Електрориболов	Клен Мрена Скобаљ Смуђ	3 3 3 10
Акумулација Гружа	ГА	43°55'19" N 20°41'20" E	8.07.2011. год.	Мреже	Сом Деверика Бабушка	10 10 10
Акумулација Бован	БА	43°38'46" N 20°42'28" E	4.05.2012. год.	Мреже	Смуђ Сом Деверика Бабушка	13 10 3 3
Акумулација Александровац	АА	42°29'22" N 21°53'58" E	22.12.2012. год.	Помор рибе	Деверика Бабушка	5 5
Акумулација Међувршје	МА	43°55'07" N 20°13'17" E	26.07.2014. год.	Мреже	Уклија	10
Акумулација Завој	ЗА	43°14'32" N 22°40'15" E	5.07.2014. год.	Мреже	Уклија	10
Акумулација Власина	ВА	42°42'27" N 22°20'32" E	28.06.2014. год.	Мреже	Уклија	10

3.3. Припрема узорака, лиофилизација и микроталасна дигестија

У лабораторији, узорци су најпре подвргнути процесу лиофилизације (Christ Alpha 2-4 LD, Harz, Germany), при чему је и пре и после лиофилизације мерена маса сваког узорка, како би се утврдио проценат губитка воде.

Највећи број аналитичких метода за одређивање концентрација тешких метала и металоида у узорку захтева да узорак буде растворен/минерализован, тако да су, након лиофилизације, узорци (~1.5 g) процесуирани у микроталасној пећи (Слика 5). Комплетним растварањем/минерализацијом узорка обезбеђује се комплетна доступност анализата. Систем за микроталасну дигестију се састоји од микроталасне пећнице, ротирајуће плоче са неколико дигестационих „бомби“ и система за вентилацију, са системом за контролу. Систем за контролу омогућава мониторинг и снимање температуре и притиска у кивети за дигестију. Кивете (запремине 100 ml) су направљене од полимера (тефлона) отпорног на високе температуре и могу да издрже висок притисак. Предности дигестије узорака у затвореним посудама (киветама) у микроталасној пећници су немогућност контаминације узорака прашином из вадуха, затворене кивете под притиском које умањују испаравање па је мање киселинског раствора потребно за дигестију што умањује слепу пробу, елиминација губитака лако испарљивих металних једињења, електронска контрола која омогућава контролу дигестије, аутоматизовани системи који не захтевају посебну пажњу оператера и контролисани испуст гасова који садрже паре киселина.

Систем је намењен за растварање/минерализацију узорака у јаким концентрованим неорганским киселинама у којима се касније анализирају метали. Јаке киселине које се користе могу да буду извор контаминације за узорке, тако да се у процесу дигестије користе искључиво киселине високе чистоће. Свака кивета има вентил за притисак који се отвара у прикључну цев. Пре употребе, кивете се чисте киселином и испирају дејонизованом водом.

Микроталасна дигестија:

Тип апарата: ETHOS 1, Advanced Microwave Digestion System, MILESTONE, Italy

Ротор: HPR-1000/10S high pressure segmented rotor

Узорак: ~1.5 g

Реагенси: 10 ml HNO₃ 65% (Suprapur®, Merck, Darmstadt, Germany)

2 ml H₂O₂ 30% (Suprapur®, Merck, Darmstadt, Germany)

Микроталасни програм: 20 минута на 200 °C



Слика 5. Микроталасна пећ (ETHOS 1, Advanced Microwave Digestion System, MILESTONE, Italy), лево и дигестациона „бомба“, десно. Фото: А. Милошковић

Питање потенцијалног присуства анализираних елемената у дестилованој води и хемикалијама које су коришћене за дигестију, решено је прављењем више контролних („бланк“) узорака. Након дигестије и хлађења до собне температуре и без филтрирања, раствор је разблажен до фиксне запремине (нормални суд, 25 ml) водом електропроводљивости од 0.055 $\mu\text{S cm}^{-1}$ (ultrapure, Barnstead™ GenPure™ Pro, Thermo Scientific, Germany) (Слика 6), пре анализе ICP-OES апаратом.



Слика 6. Дигестија узорака, лево и растворени узорци, десно. Фото: М. Милошковић

3.4. Инструментална анализа - метода индуктивно купловане плазме са оптичком емисионом спектрометријом (енг. *Inductively Coupled Plasma-Optic Emission Spectrometry - ICP-OES*)

Оптичке методе хемијске анализе се заснивају на међусобној интеракцији електромагнетног зрачења и испитиване супстанце. Једна од њих, индуктивно куплована плазма-оптичко емисиона спектрометрија (ICP-OES) има низ предности, као што су могућност симултане мултиелементарне анализе (више од 70 елемената), ниски детекциони лимити (1-100 ppb) и широк динамички опсег линеарности (4-6 редова величине) за многе елементе, анализе релативно кратко трају а мерења су високе тачности и прецизности.

ICP-OES оптичка метода се заснива на теорији атомске емисионе спектрометрије, где је таласна дужина емитоване светлости одређена специфичном структуром електронског омотача, па тако сваки елемент има карактеристичан линијски спектар који емитује. Само присуство елементарне атомске линије за испитивани елемент је доказ његовог присуства у анализираном узорку и представља принцип на коме се заснива квалитативна анализа. Квантитативна анализа се заснива на чињеници да је интензитет светлости атомске емисионе линије директно сразмеран броју честица у извору који емитује зрачење, односно концентрацији елемента у анализираном узорку.

ICP-OES је безелектродна плазма на атмосферском притиску и одржава се индуктивним спрезањем гаса са радиофреквентним електромагнетним пољем. Као и сваки племенити гас, аргон је моноатомски елемент са високом енергијом јонизације (15.76 eV) и хемијски је инертан, тако да нема формирања стабилног једињења између аргона и анализата. Плазма се формира у пламенику (*torch*-у), који се састоји од три концентричне кварцне цеви. Кроз унутрашњу-централну цев у плазму се уводе fine честице аеросола течног узорка које су ношене струјом аргона. Аргон за формирање плазме се уводи кроз средишњу цев. Кроз спољашњу, најширу цев се тангенцијално уводи аргон који служи за хлађење зидова кварцне цеви пламеника и за стабилизацију плазме. Око спољашње цеви пламеника обмотана су 3-4 навоја индуктивног калема, који су повезани са радиофреквентним генератором.

У зависности од типа узорка, матрикса, начина припреме, концентрације траженог елемента, вискозности, салинитета итд. ICP-OES је опремљен додацима за увођење узорака у плазму, а то су директно увођење течног узорка у плазму и хидридна техника. Хидридна техника се користи за мерење елемената у траговима (до 100 µg/l) који на собној температури и атмосферском притиску граде гасовите хидриде, а то су Hg, As, Pb, Se, Ge, Sn, Bi и Te.

Ефикасност увођења узорка у ICP је од огромне важности за прецизну и тачну детекцију елемената, јер утиче на ефикасност процеса атомизације/јонизације, а самим тим и на стабилност плазме. Систем за увођење узорка се стално унапређује, и то све у циљу повећања броја различитих врста анализата који долазе до извора (чиме се повећава осетљивост) и смањења шума који је карактеристичан за испитивани систем. Узорци који се анализирају на ICP-OES се углавном преводе у раствор, који се у облику аеросоли уводи у плазму. За течне узорке се најчешће користи систем који се састоји од небулајзера (распршивача) и спреј коморе (*chamber-a*).

Основна функција небулајзера (распршивача) је трансформација течног узорка у fine честице аеросола. У комори за распршивање у струји аргона се одвија сепарација капљица аеросола узорка по величини и дозвољава се унос у плазму само честица одговарајуће величине, које након уласка у централни канал неће нарушити стабилност плазме. Уколико би се узорак из небулајзера директно уводио у плазму, велике капљице би изазвале треперење плазме и непрецизност мерења, различите интерференце би се појавиле као последица хлађења плазме, а могуће је и гашење плазме.

На изласку из спреј коморе, честице аеросола пролазе кроз инјекциону цевчицу, која је саставни део ICP пламеника (*torch-a*) и улазе у базу плазме. У плазми постоје различите температурне зоне, па се тако у одређеним деловима одигравају различити процеси. На уласку у плазму долази до десолватације узорка, честице аеросоли се преводе у честице соли. Након тога, уласком у топлије делове плазме ове честице соли се разлажу на атоме и јоне и преводе у гасовито стање. Трансфер енергије на атоме и јоне води ка ексцитацији њихових електрона на више енергетске нивое. Како се електрони у побуђеном стању налазе веома кратко, јер су у енергетски нестабилнијој

позицији, врло брзо долази до њихове релаксације и враћања у основни енергетски ниво, при чему емитују електромагнетно зрачење ултраљубичастог и видљивог дела спектра.

Након емисије зрачења из плазме, потребан је спектрометар који ће издвојити аналитичку линију. Највећи број аналитичких линија елемената се налазе у опсегу од 190-450 nm, тако да су сви спектрометри који се користе код ICP-OES технике оптимизовани за рад у овом опсегу таласних дужина.

Након одвајања таласних дужина, за добијање спектралних информација, потребан је детектор. За детекцију у ICP-OES се користи уређај са куплованим наелектрисањем (CCD) и уређај са убризгавањем наелектрисања (CID). Њихова употреба омогућава високу осетљивост одређивања и покривање широког опсега таласних дужина у UV и видљивом делу спектра.



Слика 7. Апарат за индуктивно купловану плазму - оптичко емисиону спектрометрију (ICP-OES, Thermo Scientific iCAP 6500 Duo ICP, Thermo Fisher Scientific, Cambridge, United Kingdom). Фото: З. Александровић

ICP-OES анализа метала и металоида Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb и Zn је урађена Thermo Scientific iCAP 6500 Duo ICP (Thermo Fisher Scientific, Cambridge, United Kingdom) спектрометром (Слика 7) опремљеним са RACID86 Charge Injector Device (CID) детектором, пнеуматским распршивачем са концентричним протоком, кварцним пламеником и алуминијум-оксидним инјектором. Инструментални услови су оптимизовани како би се добила довољна осетљивост и прецизност и приказани су у Табели 3.

Када се направе стандардни раствори за калибрацију у опсезима који су очекивани за концентрације елемената у узорцима, креира се метода за калибрацију апарата и снимање узорка. Изаберу се елементи који се снимају и таласне дужине емисионе светлости тих елемената. Бирају се 2-3 емисионе линије светлости за један елемент где нема интерференције од очекиваних елемената који су присутни у мултистандарду или се очекују у узорку или су потврђени претходним снимањем квалитативне слике узорка и линије које имају различит релативни интензитет. Када се заврши са снимањем, анализира се како се свака мерена емисиона линија узорка односи према емисионим линијама стандардних раствора на истој таласној дужини (однос позадине и сигнала, положај сигнала, интензитет сигнала, ширина сигнала на полувисини сигнала). Потом се ради интеграљење сигнала.

Два мултиелементарна стандарда Multi-Element Plasma Standard Solution 4, Specpure®, 1000 µg/ml и Semiquantitative Standard 1, Specpure®, 10 µg/ml (Alfa Aesar GmbH & Co KG, Germany) су коришћени како би се направили калибрациони раствори за ICP-OES и HG-ICP-OES мерења.

Квалитет аналитичког процеса је контролисан анализом сертификованог референтног материјала (CRM) протеина рибе (DORM-4; National Research Council of Canada).

Концентрације сваког елемента у раствору се директно добијају са калибрационе праве у mg/L. На основу масе узорка која је растворена у познатој запремини (нормални суд) прерачунава се маса траженог елемента у јединичној маси узорка (mg kg^{-1}).

Табела 3. Инструментални операциони услови за ICP-OES снимање елемената

Параметар	Вредност
Снага радиофреквентног генератора (РФ)	1150 W
Оријентација плазме	Аксијално
Распршивач	Стандардни концентрични (стаклени)
Распршивачка комора	Стандардни циклонски (стаклени)
Црева за пумпу (Tygon)	Узорак (Наранџасто-бело) Отпад (Бело-бело)
Централна керамичка цев	2 mm
Носећи гас	Аргон
Проток аргона кроз распршивач	0.50 L/min
Проток аргона за формирање плазме	0.50 L/min
Проток аргона за хлађење	12 L/min
Време испирања	40 s
Број обртаја пумпе током анализе	50 rpm
Време интеграције	
Ниске (166-230 nm)	15 s
Високе (230-847 nm)	5 s
Брзина анализе	Брза (eng. speed)
Програм	iTEVA

3.5. Биоконцентрацијски фактор (енг. *Bioconcentration factor, BCF*) и индекс загађења металима (енг. *Metal Pollution Index, MPI*)

Биоконцентрацијски фактор (енг. *Bioconcentration factor, BCF*) се дефинише као резултат апсорпције, дистрибуције и елиминације супстанци у било ком организму након излагања путем воде (Lau et al., 1998). Рачуна се као однос средње концентрације метала у мишићном ткиву (C у риби), изражене као mg kg^{-1} свеже масе и концентрације метала у води (C у води), изражене као mg L^{-1} :

$$BCF = C_{\text{риба}} / C_{\text{вода}}$$

Индекс загађења металима (енг. *Metal Pollution Index, MPI*) се рачуна како би се упоредио укупан садржај метала у различитим врстама риба, као и укупан садржај метала на различитим локалитетима уз помоћ следеће једначине (Usero et al., 1997):

$$MPI = (cf_1 \times cf_2 \times cf_3 \times \dots \times cf_n)^{1/n}$$

где је Cf_n концентрација метала у n -том узорку.

MPI се користи како би се поједноставили подаци и добила јединствена вредност уместо многобројних средњих вредности концентрација метала.

3.6. Законска регулатива о максимално дозвољеним концентрацијама метала (МДК) у месу риба

Како би се утврдило да ли је месо испитиваних врста безбедно за употребу у људској исхрани, концентрације тешких метала и металоида у узорцима мишићног ткива риба се пореде са максимално дозвољеним концентрацијама (МДК) у рибљем месу за примену у људској исхрани, установљеним од стране Европске уније (ЕУ) и националног законодавства. Према прописима ЕУ (Регулатива Европске Комисије, 2006), МДК за Cd, Hg и Pb су 0.05, 0.50, 0.30 mg kg⁻¹ по јединици свеже масе. МДК за As, Cd, Hg и Pb у рибљем месу су 2.0, 0.1, 0.5, 1.0 mg kg⁻¹, док су МДК за Zn, Cu и Fe (за рибље производе у лименој амбалажи) 100.0, 30.0 и 30.0 mg kg⁻¹ по јединици свеже масе како је прописано националним законодавством (Службени гласник РС, 2011).

3.7. Статистичке анализе

Средње вредности и стандардне девијације су израчунате за сваки елемент за сваку врсту. Дистрибуција свих варијабли је анализирана Kolmogorov-Smirnov тестом нормалности дистрибуције. У зависности од дистрибуције варијабли, параметарски (ANOVA) или непараметарски (Kruskal-Wallis H) тестови су коришћени за поређење концентрација тешких метала и металоида између различитих врста у истраживаним акумулацијама. У паровима, сваке две групе даље су поређене Mann-Whitney U тестом.

Врсте су такође упоређиване и путем канонијске дискриминантне анализе, ради одређивања степена диференцираности четири анализираних врсте узорковане у акумулацијама у односу на нивое акумулација тешких метала и три акумулације у односу на нивое акумулација тешких метала у уклији. Као улазни подаци за анализу су коришћене основне вредности концентрација тешких метала и металоида у свакој врсти.

Анализа коваријанси (ANCOVA) је посебно коришћена за сваки метал како би се утврдило да ли се концентрације елемента разликују између врста из истраживаних река, где су концентрације метала и металоида зависне варијабле, врсте независне

варијабле а локалитети коваријабле (интеракција је значајна за $p \leq 0.05$). Хомогеност регресионих косина за концентрације метали-рибе и локалитет је тестирана пре ANCOVA-е. Најмање значајне разлике (LSD) post hoc тестова су коришћене у паровима поређења.

Како би се процениле значајне разлике између *BCF* и *MPI* вредности између врста и локалитета примењивани су параметарски (ANOVA) или непараметарски (Kruskal-Wallis H) тестови, у зависности од дистрибуције варијабле. Post hoc поређења *BCF* и *MPI* (између парова врста и локалитета) су урађена Mann-Whitney тестом за две независне вредности.

Све статистичке анализе су рађене у програму SPSS v. 16.0 (SPSS, Inc., Chicago, Illinois).

4. Результати

4.1. Концентрације тешких метала и металоида у води

На основу јавно доступних података Агенције за заштиту животне средине Републике Србије (СЕПА), у Табели 4 су приказане концентрације тешких метала и металоида у води на истраживаним локалитетима у рекама. Представљене концентрације тешких метала и металоида у води одређиване су истог месеца када су и узорковане различите врсте риба у овој студији и изражене у mg L^{-1} .

Подаци представљени у Табели 4 јасно показују да су забележене највише концентрације Fe у свим истраживаним рекама, сем на локалитету ЗМ₂ где су констатоване највише концентрације Al и Ni. Са друге стране, на локалитетима Д₁, Д₂, С, Т, ВМ₁, ВМ₂, ЗМ₁, ЈМ₁, Д, ВТ, М и П су забележене најниже концентрације Cd, а на локалитету Д₃ најнижа концентрација Hg.

Локалитет ЈМ₂ на Јужној Морави може да се издвоји по највећем броју највиших концентрација тешких метала и металоида (Al, Cr, Fe, Mn и Pb). Локалитет ЗМ₂ на Западној Морави се издваја са највишим концентрацијама Al, As, Cd, Co и Ni, док се река Тиса издваја са највишим концентрацијама Cu и Zn. Локалитети Д₂ на Дунаву, ВМ₁ на Великој Морави, И на Ибру и К на Колубари се издвајају са највишим концентрацијама Cr (Д₂ и И), Fe (ВМ₁) и Mn (К).

Концентрације Hg су уједначене у свим рекама, мада се локалитет Д₃ на Дунаву издваја са најнижим концентрацијама овог метала. Највећи број најнижих концентрација тешких метала и металоида забележен је у Дрини (Al, As, Co и Ni), затим на локалитету ЗМ₂ на Западној Морави (Fe, Mn, Pb и Zn), Великом Тимоку (Co, Cu и Ni), и Пеку (Al, As и Ni).

Табела 4. Концентрације тешких метала и металоида у води истраживаних река, изражене у mg L^{-1}

Река/Локалитет	Al	As	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	Mn	Ni	Pb	Zn
Дунав - Д ₁	0.15	0.001	0.00004	0.0005	0.002	0.006	0.26	0.0001	0.02	0.0014	0.0006	0.02
Дунав - Д ₂	0.15	0.0006	0.00002	0.0005	0.009	0.006	0.21	0.0001	0.03	0.003	0.0005	0.02
Дунав - Д ₃	0.08	0.002	0.00002	0.0005	0.007	0.006	0.08	0.00001	0.01	0.0009	0.0005	0.009
Сава - С	0.23	0.0006	0.00003	0.0007	0.0005	0.02	0.38	0.0001	0.02	0.001	0.0008	0.03
Тиса - Т	0.33	0.002	0.00005	0.0005	0.004	0.07	0.53	0.0001	0.05	0.02	0.002	0.34
Велика Морава - ВМ ₁	0.47	0.006	0.00005	0.001	0.003	0.008	0.94	0.0001	0.18	0.01	0.005	0.02
Велика Морава - ВМ ₂	0.17	0.005	0.00004	0.0008	0.002	0.005	0.31	0.0001	0.06	0.005	0.002	0.01
Западна Морава - ЗМ ₁	0.32	0.002	0.00003	0.0009	0.005	0.005	0.55	0.0001	0.05	0.0075	0.0008	0.01
Западна Морава - ЗМ ₂	0.6	0.25	0.05	0.005	0.002	0.01	0.0002	0.0001	0.003	0.65	0.0003	0.006
Јужна Морава - ЈМ ₁	0.13	0.004	0.00002	0.0005	0.001	0.005	0.29	0.0001	0.06	0.0013	0.0008	0.01
Јужна Морава - ЈМ ₂	0.59	0.009	0.0002	0.001	0.008	0.005	1.31	0.0001	0.29	0.004	0.01	0.03
Ибар - И	0.17	0.008	0.0001	0.0007	0.008	0.003	0.5	0.0001	0.04	0.006	0.006	0.02
Дрина - ДР	0.07	0.0005	0.00002	0.0005	0.002	0.004	0.11	0.0001	0.01	0.0005	0.0007	0.02
Колубара - К	0.33	0.03	0.0005	0.001	0.005	0.004	0.54	0.0001	0.27	0.006	0.001	0.01
Велики Тимок - ВТ	0.035	0.0024	0.00002	0.0005	0.005	0.002	0.08	0.0001	0.046	0.0005	0.0005	0.006
Млава - М	0.34	0.0024	0.00008	0.001	0.007	0.005	0.53	0.0001	0.01	0.0015	0.0007	0.007
Пек - П	0.05	0.0005	0.00006	0.001	0.0036	0.0063	0.073	0.0001	0.03	0.0005	0.0005	0.016

* црвеном и плавом бојом у табели су означене највише и најниже забележене концентрације метала у води

Премда нема података за концентрације метала и металоида у води у акумулацијама Бован, Међувршје, Завој и Власина за 2012. и 2014. годину, када су анализе присуства тешких метала и металоида у мишићном ткиву риба урађене у оквиру ове докторске дисертације, преузети су подаци Агенције за заштиту животне средине Републике Србије (СЕПА) за 2011. годину. У Табели 5 приказане су концентрације тешких метала и металоида у води горе наведених акумулација и изражене у mg L^{-1} . Анализе воде акумулације Александровац никада нису рађене у оквиру мониторинга квалитета вода Агенције за заштиту животне средине Републике Србије (СЕПА). Такође, у оквиру мониторинга квалитета воде у овим акумулацијама нису анализирани концентрације Al и Co.

Највише концентрације As констатоване су у води акумулације Бован, док су сличне концентрације забележене у акумулацијама Гружа и Међувршје. Знатно ниже концентрације забележене су у акумулацијама Завој и Власина. У води акумулације Међувршје забележене су највише концентрације Cd, док је у акумулацији Власина концентрација Cd била испод нивоа детекције. Концентрације Cr у води су биле приближне у свим акумулацијама ($\sim 0.00052 \text{ mg L}^{-1}$). Једино је у води акумулације Међувршје забележена концентрација 0.0008 mg L^{-1} . У води акумулације Бован концентрације Cu су биле највише, потом у акумулацији Гружа а најниже у води остале три акумулације ($\sim 0.00064 \text{ mg L}^{-1}$). У води акумулације Бован забележене су и највише концентрације Fe. Концентрације Hg су биле ниске у води, са вредностима испод $0.00001 \text{ mg L}^{-1}$ у Бовну и испод 0.0001 mg L^{-1} у осталим акумулацијама. Највиша концентрација Mn забележена је у води акумулације Власина (0.11 mg L^{-1}). Забележена концентрација Ni је била највиша у води акумулације Бован а најнижа у води акумулације Власина. Концентрације Pb су биле сличне у свим акумулацијама ($\sim 0.0005 \text{ mg L}^{-1}$). Zn је забележен у највишим концентрацијама у води акумулације Завој.

Табела 5. Концентрације тешких метала и металоида у води истраживаних акумулација изражене у mg L^{-1}

Акумулација	As	Cd	Cr	Cu	Fe	Hg	Mn	Ni	Pb	Zn
Гружа	0.0014	0.0004	< 0.0005	0.008	0.02	< 0.0001	0.04	0.0027	< 0.0005	0.012
Бован	0.002	0.0002	0.00052	0.0097	0.2	< 0.00001	0.03	0.003	0.00054	0.013
Међувршје	0.0013	0.0043	0.0008	0.0063	0.04	< 0.0001	0.01	0.0029	0.00051	0.0155
Завој	0.0005	0.0003	< 0.0005	0.0064	0.11	< 0.0001	0.01	0.0012	< 0.0005	0.019
Власина	0.00053	НД	< 0.0005	0.0064	0.04	< 0.0001	0.11	0.001	0.00051	0.014

* црвеном и плавом бојом су означене највише и најниже забележене концентрације метала у води

* НД - није детектован, испод границе детекције

4.2. Концентрације тешких метала и металоида у рибама

4.2.1. Валидација аналитичког процеса

Како би се обезбедила контрола квалитета, у циљу валидације аналитичког процеса, анализа DORM-4 референтног материјала је урађена и резултати су представљени у Табели 6. За Al, Co и Mn не постоје сертифициване вредности.

Табела 6. Резултати анализе DORM-4 референтног материјала

Елемент	Сертифицивана вредност (mg kg ⁻¹)	Очитана вредност (mg kg ⁻¹)	„Recovery“ (%)
As	6.80 ± 0.64	6.52 ± 0.33	95.88
Cd	0.306 ± 0.015	0.254 ± 0.54	83
Cr	1.87 ± 0.16	1.99 ± 0.45	106.42
Cu	15.9 ± 0.9	15 ± 0.65	94.34
Fe	341 ± 27	333.96 ± 25.87	97.93
Hg	0.354 ± 0.031	0.31 ± 0.087	87.57
Ni	1.36 ± 0.22	1.48 ± 0.17	108.82
Pb	0.416 ± 0.053	0.394 ± 0.023	94.71
Zn	52.2 ± 3.2	54.9 ± 2.8	105.17

Поновљена анализа референтног материјала показала је добру прецизност током анализе, уз „Recovery“ у распону од 83 до 108.82%.

4.2.2. Тотална дужина и маса риба

Тоталне дужине свих узоркованих врста риба биле су изнад минималне дозвољене дужине за излов прописане Законом о рибарству (Службени гласник РС бр. 35/94, 38/94 и 101/05-др. закон). Тотална дужина (средња вредност у cm \pm стандардна девијација) и маса тела јединки (средња вредност у g \pm стандардна девијација), анализираних у оквиру овог истраживања, приказане су у Табели 7.

Табела 7. Тотална дужина (у cm) и маса тела (у g) узоркованих врста риба по локалитету, изражена као средња вредност \pm стандардна девијација

Локалитет	Врста	Маса	Тотална дужина
Дунав - Д ₁	<i>смуђ</i>	506.67 \pm 121	41.66 \pm 1.041
	<i>деверика</i>	241.33 \pm 115.9	26.33 \pm 5.48
	<i>сом</i>	1 548 \pm 333	60.4 \pm 5.7
Дунав - Д ₂	<i>смуђ</i>	642 \pm 58	42.5 \pm 2.62
	<i>деверика</i>	953 \pm 178	42.5 \pm 6.5
	<i>сом</i>	1 777 \pm 296	69.8 \pm 6.3
Дунав - Д ₃	<i>смуђ</i>	570.33 \pm 26.65	40.5 \pm 1
	<i>деверика</i>	221.66 \pm 25.65	26.66 \pm 0.58
	<i>сом</i>	1 355 \pm 176.78	62.2 \pm 9.62
Тиса - Т	<i>смуђ</i>	1 085 \pm 493.87	50.167 \pm 5.48
	<i>деверика</i>	640 \pm 234.7	37.5 \pm 3.75
	<i>сом</i>	1 483.33 \pm 28.87	66 \pm 3.5
Сава - С	<i>смуђ</i>	603.4 \pm 25.9	42.8 \pm 2.52
	<i>деверика</i>	212.35 \pm 16.84	25.4 \pm 2.8
	<i>сом</i>	1 796.5 \pm 113.5	65.2 \pm 5.25
Колубара - К	<i>клен</i>	168.33 \pm 66.01	23.57 \pm 4.07
	<i>мрена</i>	163.33 \pm 9.24	25.56 \pm 4.07
	<i>скобаљ</i>	107 \pm 2.58	23 \pm 3.3
Велика Морава - ВМ ₁	<i>клен</i>	128.66 \pm 26.54	23.83 \pm 1.04
	<i>мрена</i>	373.66 \pm 72.42	37.83 \pm 1.44
	<i>скобаљ</i>	238 \pm 10.31	30 \pm 2.14
Велика Морава - ВМ ₂	<i>клен</i>	128.66 \pm 26.54	23.83 \pm 1.04
	<i>мрена</i>	743.33 \pm 50.33	45.73 \pm 3.11
	<i>скобаљ</i>	265.8 \pm 13.9	29.5 \pm 1.56

	<i>клен</i>	268 ± 48.13	29.23 ± 1.61
Јужна Морава - ЈМ ₁	<i>мрена</i>	361.33 ± 258.75	34.66 ± 8.52
	<i>скобаљ</i>	312.66 ± 153.96	30.83 ± 6.3
	<i>клен</i>	89.5 ± 2.1	21.5 ± 0.5
Јужна Морава - ЈМ ₂	<i>мрена</i>	174 ± 5.9	25.5 ± 0.5
	<i>скобаљ</i>	137 ± 3.5	25 ± 1.3
	<i>клен</i>	95 ± 4.33	28 ± 1.45
Западна Морава - ЗМ ₁	<i>мрена</i>	188 ± 47.57	31.66 ± 3.82
	<i>скобаљ</i>	476.33 ± 239.54	35.83 ± 5.53
	<i>клен</i>	230 ± 26.45	26.83 ± 1.26
Западна Морава - ЗМ ₂	<i>мрена</i>	202.5 ± 53.03	28 ± 1.41
	<i>скобаљ</i>	331.66 ± 171.78	34.5 ± 10.83
	<i>клен</i>	181.66 ± 90.4	25.3 ± 3.72
Ибар - И	<i>мрена</i>	519 ± 58	39 ± 3.4
	<i>скобаљ</i>	484 ± 23.7	37 ± 6.8
	<i>клен</i>	75 ± 2.4	20.8 ± 0.7
Тимок - Т	<i>мрена</i>	176.2 ± 5.8	26.5 ± 0.35
	<i>скобаљ</i>	101.4 ± 3.45	22.6 ± 3.9
	<i>клен</i>	186.66 ± 61.61	26 ± 3
Дрина - ДР	<i>мрена</i>	753 ± 151.43	39.6 ± 3.3
	<i>скобаљ</i>	145.66 ± 34.27	25.5 ± 1.8
	<i>клен</i>	307.33 ± 86.2	28.73 ± 2.8
Млава - М	<i>мрена</i>	228.7 ± 53.4	25.4 ± 3.8
	<i>скобаљ</i>	143.3 ± 63.41	25.1 ± 2.8
	<i>клен</i>	118.7 ± 6.31	23.5 ± 1.84
Пек - П	<i>мрена</i>	222.3 ± 7.99	25.6 ± 2.32
	<i>скобаљ</i>	156.33 ± 12.04	20.8 ± 1.74
	<i>смуђ</i>	595 ± 256.6	58 ± 8.3
Гружа акумулација - ГА	<i>сом</i>	1 120 ± 353.9	43 ± 2.87
	<i>деверика</i>	608 ± 205	38 ± 4.3
	<i>бабушка</i>	1 120 ± 389.8	43 ± 4.44
	<i>смуђ</i>	722.7 ± 348.8	44.6 ± 7.5
	<i>сом</i>	4 650 ± 3.934	83.2 ± 22
Бован акумулација - БА	<i>деверика</i>	585.33 ± 213.71	33 ± 3.04
	<i>бабушка</i>	883.66 ± 534.42	44.3 ± 10.25
	<i>деверика</i>	103 ± 3.4	18.5 ± 0.9
Александровац акумулација - АА	<i>бабушка</i>	200 ± 16.8	23.5 ± 1.7
Међувршје акумулација - МА	<i>уклија</i>	10.93 ± 0.56	6.9 ± 1.66
Завој акумулација - ЗА	<i>уклија</i>	12.46 ± 0.67	16.65 ± 3.56
Власина акумулација - ВА	<i>уклија</i>	12.36 ± 0.3	17.25 ± 3.14

4.2.3. Концентрације тешких метала и металоида у рибама

Концентрације тешких метала и металоида по врстама и локалитетима су сумиране и представљене у Табели 8 за врсте узорковане у већим рекама Србије, и Табели 9 за врсте узорковане у изабраним акумулацијама. Све вредности концентрација тешких метала и металоида изражене су у mg kg^{-1} свеже масе (средња вредност \pm стандардна девијација).

Анализа тешких метала и металоида у већим рекама у Србији (Табела 8) је показала да су на свим истраживаним локалитетима, код свих врста, заступљене највише концентрације Zn и Fe. Следећи метал који је акумулиран у највишим концентрацијама у свим врстама јесте Al. Са друге стране, најниже концентрације метала Cd, Co и Ni су забележене код свих врста. Концентрације Co су биле испод границе детекције (НД) у узорцима смуђа и сома из Дунава (локалитет Д₁), смуђа из Дунава (локалитет Д₂), мрене из Јужне Мораве (локалитети JM₁ и JM₂), Западне Мораве (локалитет ЗМ₁), Ибра и Колубаре и скобаља из Велике Мораве (локалитет ВМ₁), Колубаре и Пека. As је био испод прага детекције у узорцима клена и мрене из Млаве, Al у узорцима клена из Пека, док Hg није забележена у узорцима клена и скобаља из Пека.

Као што се види у Табели 8, не постоји јасан образац дистрибуције тешких метала и металоида између врста. Ипак, за одређене метале постоји правило да се акумулирају у највишим концентрацијама (означено црвеном бојом у Табели 8) у одређеним врстама, па су тако As и Cu акумулирани у највишим концентрацијама у деверици, Al у смуђу (изузев локалитета Д₁ на Дунаву) а Cd и Hg у сому на свим истраживаним локалитетима.

Такође, када су у питању најниже концентрације тешких метала и металоида (означено плавом бојом у Табели 8), јавља се образац за свега неколико тешких метала и металоида. Најниже концентрације Hg јављају се у деверици, As, Al (изузев локалитета Д₁ и Д₂ на Дунаву) и Pb (изузев локалитета Т на Тиси) у сому и Cd (изузев локалитета Д₂ на Дунаву) и Zn (изузев локалитета Д₂ и Д₃) у смуђу на свим истраживаним локалитетима.

Знатно мање образаца акумулације тешких метала и металоида је утврђено код врста клен, мрена и скобаљ (Табела 8). Cd (изузев локалитета JM₁ на Јужној Морави, ЗМ₁ на Западној Морави, ДР на Дрини и П на Пеку) и Co (изузев локалитета JM₂ на Јужној Морави, ЗМ₂ на Западној Морави, ДР на Дрини, М на Малви и П на Пеку) су акумулирани у највишим концентрацијама у клену (означено црвеном бојом у Табели 8). Hg и Mn (изузев локалитета VM₂ на Великој Морави и JM₂ на Јужној Морави) су акумулирани у највишим концентрацијама у мрени. Код скобаља није забележен ниједан образац акумулације тешких метала и металоида у највишим концентрацијама.

Када су у питању најниже концентрације тешких метала и металоида (означено плавом бојом у Табели 8), образац се јавља за Mn који је акумулиран у најнижим концентрацијама у клену на свим локалитетима (изузев локалитета ЗМ₂ на Западној Морави и ВТ на Великом Тимоку) и Hg која је акумулирана у најнижим концентрацијама код скобаља на свим локалитетима (изузев локалитета П на Пеку). Код мрене није регистрован образац акумулације тешких метала и металоида у најнижим концентрацијама.

Табела 8. Концентрације тешких метала и металоида у истраживаним рибама изражене у mg kg^{-1} (средња вредност \pm стандардна девијација) у већим рекама Србије, црвеном и плавом бојом су означене највише и најниже забележене концентрације

	Al	As	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	Mn	Ni	Pb	Zn
Дунав - Д₁												
смуђ	0.22 \pm 0.2	0.11 \pm 0.02	0.003 \pm 0.0007	НД	0.18 \pm 0.06	0.09 \pm 0.02	0.81 \pm 0.12	0.15 \pm 0.1	0.06 \pm 0.01	0.01 \pm 0.005	0.25 \pm 0.06	2.74 \pm 0.7
деверика	0.84 \pm 0.2	0.16 \pm 0.04	0.004 \pm 0.0007	0.004 \pm 0.001	0.23 \pm 0.06	0.2 \pm 0.04	2.31 \pm 1.23	0.16 \pm 0.03	0.17 \pm 0.08	0.02 \pm 0.02	0.21 \pm 0.03	3.15 \pm 0.024
сом	0.3 \pm 0.14	0.1 \pm 0.03	0.09 \pm 0.008	НД	0.145 \pm 0.06	0.07 \pm 0.03	0.95 \pm 0.08	0.33 \pm 0.1	0.09 \pm 0.009	0.074 \pm 0.009	0.17 \pm 0.05	7.62 \pm 0.6
Дунав - Д₂												
смуђ	0.6 \pm 0.3	0.13 \pm 0.04	0.04 \pm 0.06	НД	0.18 \pm 0.1	0.11 \pm 0.24	2.35 \pm 0.4	0.3 \pm 0.11	0.11 \pm 0.04	0.016 \pm 0.008	0.23 \pm 0.11	3.76 \pm 0.6
деверика	0.13 \pm 0.14	0.21 \pm 0.04	0.004 \pm 0.0004	0.005 \pm 0.005	0.2 \pm 0.06	0.14 \pm 0.03	2.32 \pm 1.2	0.08 \pm 0.02	0.17 \pm 0.08	0.02 \pm 0.02	0.25 \pm 0.02	3.9 \pm 0.44
сом	0.18 \pm 0.13	0.09 \pm 0.03	0.001 \pm 0.001	0.003 \pm 0.0007	0.13 \pm 0.12	0.07 \pm 0.02	1.33 \pm 0.24	0.2 \pm 0.01	0.09 \pm 0.004	0.016 \pm 0.023	0.18 \pm 0.06	2.97 \pm 0.02
Дунав - Д₃												
смуђ	1.93 \pm 2.1	0.15 \pm 0.035	0.002 \pm 0.0014	0.003 \pm 0.003	0.11 \pm 0.1	0.11 \pm 0.023	4.63 \pm 4.15	0.28 \pm 0.12	0.19 \pm 0.17	0.08 \pm 0.08	0.18 \pm 0.1	3.07 \pm 0.21
деверика	0.68 \pm 0.36	0.15 \pm 0.023	0.004 \pm 0.0003	0.002 \pm 0.003	0.26 \pm 0.015	0.17 \pm 0.005	1.66 \pm 0.5	0.15 \pm 0.1	0.16 \pm 0.07	0.05 \pm 0.02	0.23 \pm 0.04	4.64 \pm 0.7
сом	0.11 \pm 0.16	0.11 \pm 0.06	0.004 \pm 0.0001	0.008 \pm 0.006	0.14 \pm 0.09	0.07 \pm 0.008	0.55 \pm 0.13	0.62 \pm 0.4	0.08 \pm 0.006	0.03 \pm 0.005	0.16 \pm 0.03	3 \pm 0.4
Сава - С												
смуђ	0.33 \pm 0.4	0.19 \pm 0.11	0.006 \pm 0.002	0.003 \pm 0.002	0.1 \pm 0.06	0.2 \pm 0.07	1.33 \pm 0.26	0.17 \pm 0.006	0.09 \pm 0.01	0.05 \pm 0.01	0.26 \pm 0.06	3.7 \pm 0.31
деверика	0.69 \pm 0.45	0.18 \pm 0.07	0.006 \pm 0.002	0.005 \pm 0.002	0.11 \pm 0.09	0.22 \pm 0.09	1.46 \pm 0.07	0.06 \pm 0.04	0.16 \pm 0.05	0.08 \pm 0.07	0.21 \pm 0.07	3.76 \pm 0.43
сом	0.4 \pm 0.35	0.1 \pm 0.26	0.007 \pm 0.002	0.009 \pm 0.004	0.15 \pm 0.14	0.32 \pm 0.11	2.32 \pm 0.33	0.18 \pm 0.07	0.24 \pm 0.12	0.1 \pm 0.02	0.18 \pm 0.02	4.82 \pm 0.81

	Al	As	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	Mn	Ni	Pb	Zn
Тиса - Т												
<i>смуђ</i>	0.29 ± 0.39	0.15 ± 0.05	0.004 ± 0.0002	0.004 ± 0.007	0.14 ± 0.06	0.11 ± 0.02	0.9 ± 0.03	0.26 ± 0.02	0.07 ± 0.01	0.03 ± 0.02	0.2 ± 0.08	3.24 ± 0.3
<i>деверика</i>	0.26 ± 0.46	0.16 ± 0.08	0.005 ± 0.0005	0.005 ± 0.004	0.18 ± 0.03	0.14 ± 0.008	1.32 ± 0.1	0.14 ± 0.02	0.17 ± 0.08	0.06 ± 0.04	0.22 ± 0.06	3.97 ± 1.37
<i>сом</i>	0.08 ± 0.08	0.11 ± 0.04	0.006 ± 0.0008	0.006 ± 0.009	0.22 ± 0.12	0.12 ± 0.03	1.34 ± 0.12	0.28 ± 0.13	0.1 ± 0.009	0.05 ± 0.03	0.29 ± 0.03	4.26 ± 0.67
Велика Морава - ВМ₁												
<i>клен</i>	1.12 ± 0.42	0.14 ± 0.02	0.006 ± 0.0003	0.001 ± 0.001	0.28 ± 0.15	0.20 ± 0.08	3.48 ± 2.46	0.1 ± 0.01	0.2 ± 0.06	0.07 ± 0.02	0.15 ± 0.03	4.67 ± 0.69
<i>мрена</i>	0.49 ± 0.43	0.11 ± 0.02	0.004 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.29 ± 0.05	0.24 ± 0.05	3.52 ± 3.03	0.32 ± 0.17	0.29 ± 0.07	0.04 ± 0.009	0.22 ± 0.04	3.53 ± 0.2
<i>скобаљ</i>	0.07 ± 0.008	0.3 ± 0.05	0.006 ± 0.0007	НД	0.34 ± 0.15	0.27 ± 0.06	1.49 ± 0.98	0.05 ± 0.002	0.22 ± 0.08	0.04 ± 0.005	0.11 ± 0.003	4.32 ± 0.88
Велика Морава - ВМ₂												
<i>клен</i>	0.93 ± 0.81	0.1 ± 0.01	0.006 ± 0.0006	0.001 ± 0.001	0.23 ± 0.05	0.16 ± 0.04	1.23 ± 0.3	0.13 ± 0.04	0.11 ± 0.02	0.06 ± 0.04	0.21 ± 0.05	4.6 ± 0.8
<i>мрена</i>	0.28 ± 0.29	0.17 ± 0.11	0.005 ± 0.001	0.0002 ± 0.0002	0.28 ± 0.14	0.34 ± 0.21	1.74 ± 1.16	0.16 ± 0.003	0.29 ± 0.26	0.05 ± 0.01	0.27 ± 0.03	4.39 ± 0.76
<i>скобаљ</i>	1.33 ± 0.08	0.12 ± 0.01	0.005 ± 0.0006	0.0007 ± 0.0005	0.13 ± 0.01	0.35 ± 0.009	2.68 ± 0.58	0.004 ± 0.004	0.70 ± 0.05	0.01 ± 0.008	0.11 ± 0.007	8.16 ± 2.86
Јужна Морава - ЈМ₁												
<i>клен</i>	0.01 ± 0.02	0.15 ± 0.09	0.005 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.22 ± 0.06	0.27 ± 0.06	1.75 ± 0.32	0.19 ± 0.05	0.08 ± 0.03	0.03 ± 0.007	0.25 ± 0.03	5.01 ± 0.26
<i>мрена</i>	0.15 ± 0.26	0.08 ± 0.02	0.005 ± 0.0008	НД	0.35 ± 0.06	0.28 ± 0.01	2.86 ± 1.77	0.24 ± 0.06	0.40 ± 0.12	0.04 ± 0.02	0.23 ± 0.03	4.15 ± 0.65
<i>скобаљ</i>	0.3 ± 0.5	0.19 ± 0.1	0.005 ± 0.0008	0.0008 ± 0.0005	0.14 ± 0.04	0.26 ± 0.05	2.23 ± 0.56	0.05 ± 0.02	0.35 ± 0.18	0.04 ± 0.02	0.17 ± 0.11	4.58 ± 0.20

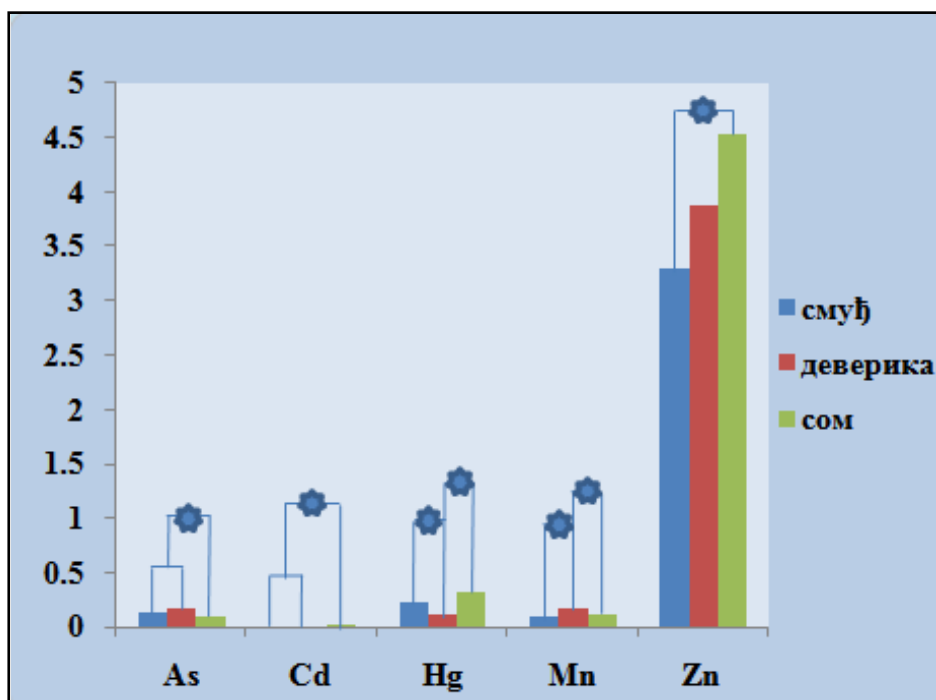
	Al	As	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	Mn	Ni	Pb	Zn
Јужна Морава												
- ЈМ₂												
клен	0.62 ± 0.07	0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.005 ± 0.002	0.002 ± 0.002	0.25 ± 0.12	3.04 ± 0.68	0.03 ± 0.01	0.38 ± 0.11	0.04 ± 0.02	0.21 ± 0.01	5.523 ± 0.57
мрена	0.46 ± 0.45	0.12 ± 0.02	0.006 ± 0.0002	НД	0.34 ± 0.06	0.33 ± 0.05	2.68 ± 0.96	0.11 ± 0.09	0.52 ± 0.1	0.04 ± 0.008	0.26 ± 0.06	5.9 ± 0.83
скобаљ	0.9 ± 0.35	0.16 ± 0.08	0.005 ± 0.0002	0.0006 ± 0.0001	0.20 ± 0.08	0.26 ± 0.01	4.22 ± 1.4	0.004 ± 0.006	0.76 ± 0.25	0.04 ± 0.001	0.24 ± 0.11	4.71 ± 0.82
Западна Морава												
- ЗМ₁												
клен	0.30 ± 0.56	0.15 ± 0.006	0.007 ± 0.0002	0.002 ± 0.0007	0.21 ± 0.06	0.21 ± 0.08	1.51 ± 0.63	0.07 ± 0.006	0.11 ± 0.02	0.007 ± 0.0008	0.32 ± 0.02	3.6 ± 0.47
мрена	0.34 ± 0.55	0.40 ± 0.58	0.024 ± 0.032	НД	1.41 ± 1.80	2.78 ± 4.18	25.03 ± 38.63	0.78 ± 0.99	1.86 ± 2.58	0.17 ± 0.22	0.82 ± 0.76	22.89 ± 30.56
скобаљ	0.76 ± 0.24	0.096 ± 0.06	0.005 ± 0.0007	0.002 ± 0.004	0.15 ± 0.09	0.26 ± 0.12	2.15 ± 1.19	0.05 ± 0.02	0.32 ± 0.2	0.07 ± 0.07	0.27 ± 0.09	5.22 ± 3.82
Западна Морава												
- ЗМ₂												
клен	0.92 ± 0.24	0.06 ± 0.006	0.006 ± 0.001	0.003 ± 0.002	0.29 ± 0.17	0.35 ± 0.26	3.5 ± 1.68	0.11 ± 0.03	0.36 ± 0.25	0.074 ± 0.022	0.35 ± 0.042	4.11 ± 0.66
мрена	0.61 ± 0.86	0.26 ± 0.15	0.007 ± 0.0007	0.009 ± 0.004	0.32 ± 0.02	0.9 ± 0.3	8.14 ± 3.58	0.17 ± 0.04	0.4 ± 0.02	0.11 ± 0.05	0.32 ± 0.008	7.34 ± 2.44
скобаљ	0.42 ± 0.1	0.07 ± 0.02	0.006 ± 0.0007	0.002 ± 0.002	0.27 ± 0.03	0.16 ± 0.05	1.7 ± 1.06	0.08 ± 0.02	0.13 ± 0.05	0.06 ± 0.03	0.31 ± 0.06	4.98 ± 0.85
Ибар												
- И												
клен	0.79 ± 0.47	0.06 ± 0.006	0.009 ± 0.001	0.001 ± 0.002	0.23 ± 0.15	0.21 ± 0.02	3.94 ± 1.70	0.07 ± 0.08	0.12 ± 0.04	0.07 ± 0.02	0.35 ± 0.11	4.39 ± 0.32
мрена	0.23 ± 0.03	0.13 ± 0.07	0.005 ± 0.002	НД	0.18 ± 0.006	0.42 ± 0.15	2.47 ± 0.85	0.13 ± 0.04	0.22 ± 0.008	0.31 ± 0.12	0.3 ± 0.07	4.38 ± 0.89
скобаљ	0.33 ± 0.10	0.08 ± 0.008	0.006 ± 0.0003	0.0005 ± 0.0001	0.29 ± 0.04	0.12 ± 0.07	1.36 ± 0.77	0.04 ± 0.006	0.13 ± 0.02	0.03 ± 0.004	0.22 ± 0.03	3.04 ± 0.7

	Al	As	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	Mn	Ni	Pb	Zn
Дрина - ДР												
клен	0.77 ± 0.33	0.12 ± 0.01	0.005 ± 0.0007	0.0005 ± 0.001	0.21 ± 0.1	0.24 ± 0.1	1.91 ± 0.61	0.08 ± 0.09	0.16 ± 0.04	0.02 ± 0.007	0.39 ± 0.07	5.73 ± 1.92
мрена	0.62 ± 0.5	0.10 ± 0.06	0.005 ± 0.0004	0.0003 ± 0.0005	0.24 ± 0.16	0.18 ± 0.05	1.8 ± 0.69	0.34 ± 0.4	0.28 ± 0.15	0.01 ± 0.01	0.27 ± 0.05	4.00 ± 1.37
скобаљ	0.31 ± 0.35	0.14 ± 0.14	0.006 ± 0.0005	0.004 ± 0.006	0.21 ± 0.01	0.50 ± 0.29	2.39 ± 0.87	0.04 ± 0.02	0.20 ± 0.05	0.04 ± 0.04	0.24 ± 0.11	5.18 ± 1.11
Колубара - К												
клен	0.01 ± 0.02	0.12 ± 0.01	0.006 ± 0.001	0.002 ± 0.002	0.21 ± 0.02	0.33 ± 0.06	2.23 ± 0.32	0.18 ± 0.07	0.11 ± 0.05	0.09 ± 0.04	0.03 ± 0.09	5.01 ± 1.07
мрена	0.34 ± 0.36	0.14 ± 0.08	0.006 ± 0.001	НД	0.31 ± 0.02	0.41 ± 0.12	3.00 ± 0.87	0.48 ± 0.12	0.58 ± 0.11	0.06 ± 0.01	0.20 ± 0.03	3.99 ± 1.18
скобаљ	0.33 ± 0.16	0.10 ± 0.001	0.005 ± 0.001	НД	0.22 ± 0.17	0.39 ± 0.006	2.36 ± 1.008	0.04 ± 0.004	0.31 ± 0.02	0.10 ± 0.06	0.19 ± 0.02	7.15 ± 2.86
Велики Тимок - ВТ												
клен	0.41 ± 0.37	0.12 ± 0.11	0.02 ± 0.01	0.003 ± 0.004	0.49 ± 0.4	0.38 ± 0.11	2.83 ± 0.75	0.01 ± 0.02	0.27 ± 0.28	0.03 ± 0.03	0.59 ± 0.27	15.75 ± 6.16
мрена	0.67 ± 0.58	0.1 ± 0.05	0.007 ± 0.006	0.002 ± 0.002	0.4 ± 0.2	0.46 ± 0.15	2.83 ± 0.55	0.07 ± 0.01	0.42 ± 0.41	0.06 ± 0.05	0.4 ± 0.1	12.32 ± 7.00
скобаљ	0.28 ± 0.33	0.06 ± 0.02	0.005 ± 0.0005	0.003 ± 0.005	0.25 ± 0.07	0.21 ± 0.02	2.23 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.25 ± 0.06	0.02 ± 0.01	0.21 ± 0.07	6.73 ± 1.08
Млава - М												
клен	0.41 ± 0.32	НД	0.005 ± 0.0002	0.005 ± 0.006	0.21 ± 0.11	0.25 ± 0.04	1.26 ± 0.40	0.06 ± 0.03	0.10 ± 0.04	0.04 ± 0.02	0.21 ± 0.10	3.99 ± 0.10
мрена	0.32 ± 0.08	НД	0.003 ± 0.0007	0.002 ± 0.001	0.15 ± 0.05	0.41 ± 0.8	2.49 ± 0.02	0.13 ± 0.10	0.19 ± 0.02	0.04 ± 0.02	0.21 ± 0.07	6.52 ± 0.83
скобаљ	0.37 ± 0.37	0.10 ± 0.17	0.004 ± 0.002	0.006 ± 0.004	0.18 ± 0.01	0.24 ± 0.02	1.37 ± 0.23	0.03 ± 0.04	0.13 ± 0.04	0.17 ± 0.26	0.13 ± 0.12	4.73 ± 0.54
Пек - П												
клен	НД	0.10 ± 0.01	0.005 ± 0.0002	0.003 ± 0.001	0.26 ± 0.06	0.24 ± 0.12	1.60 ± 0.6	НД	0.17 ± 0.04	0.55 ± 0.16	0.2 ± 0.08	4.58 ± 1.16
мрена	0.87 ± 0.41	0.13 ± 0.005	0.008 ± 0.002	0.005 ± 0.001	0.31 ± 0.009	0.48 ± 0.10	3.64 ± 0.77	0.007 ± 0.008	0.58 ± 0.11	0.25 ± 0.04	0.22 ± 0.07	8.55 ± 2.38
скобаљ	0.98 ± 0.36	0.23 ± 0.08	0.004 ± 0.0006	НД	0.38 ± 0.14	0.27 ± 0.04	2.15 ± 0.88	НД	0.38 ± 0.09	0.14 ± 0.05	0.33 ± 0.12	5.4 ± 1.88

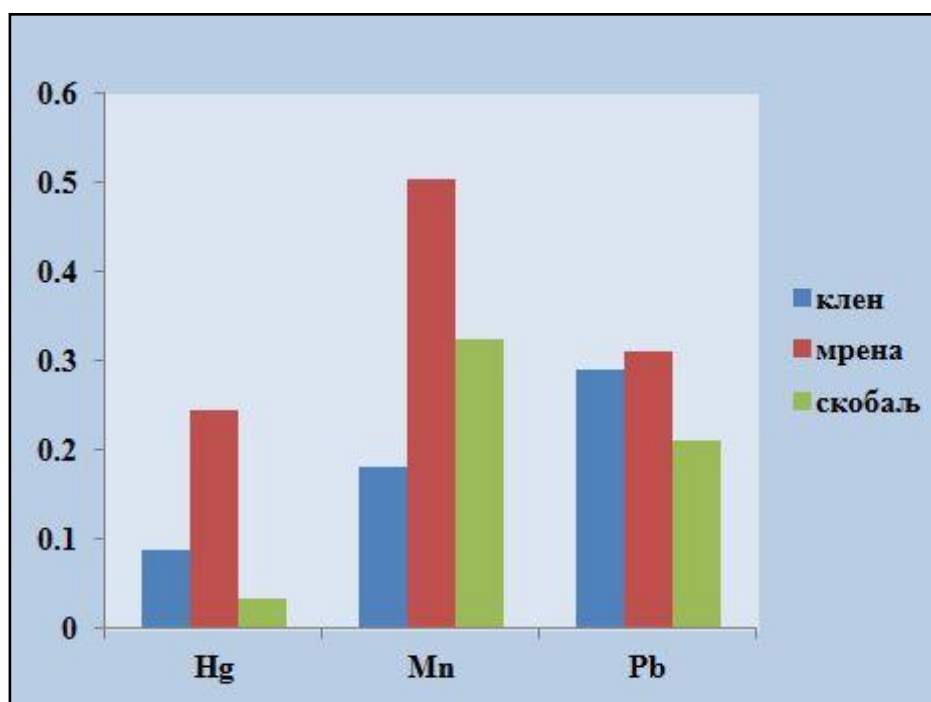
Резултати статистичке анализе ANCOVA су показали да су се у истраживаним рекама смуђ, деверика и сом значајно разликовали у погледу концентрација As ($F = 9.599, p = 0.00, \eta^2 = 0.319$), Cd ($F = 4.011, p = 0.026, \eta^2 = 0.164$), Hg ($F = 7.645, p = 0.002, \eta^2 = 0.272$), Mn ($F = 7.657, p = 0.001, \eta^2 = 0.272$) и Zn ($F = 3.803, p = 0.031, \eta^2 = 0.156$) (Слика 8а). Поред тога, концентрације Hg ($F = 11.194, p = 0.000, \eta^2 = 0.177$), Mn ($F = 4.267, p = 0.017, \eta^2 = 0.076$) и Pb ($F = 3.286, p = 0.041, \eta^2 = 0.059$) су значајно варирале између клена, мрене и скобаља (Слика 8б). Просторна варијабла је имала значајан ефекат (локалитет као коваријабла у ANCOVA анализи) на концентрације Cd, Co и Ni (Слика 9а,б). Када је из ANCOVA-а анализе искључена коваријабла (локалитет), највише концентрације As, Cr, Cu, Mn и Pb су забележене у мишићном ткиву деверике а концентрације Cu, Fe, Hg, Mn, Pb и Zn у мишићном ткиву мрене.

Генерално ANCOVA анализа је указала на то да је интензитет акумулације тешких метала био првенствено под утицајем врсте у којој је дошло до акумулације, а да је у далеко мањој мери био под утицајем локалитета на којем је сакупљање узорака обављено, односно под утицајем самих концентрација у акватичној средини.

а)

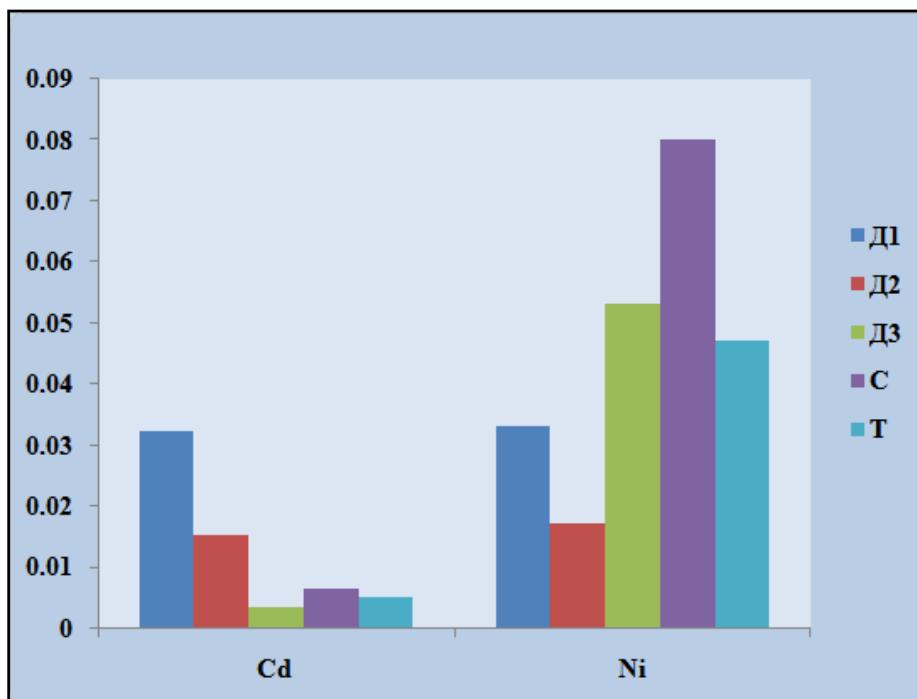


б)

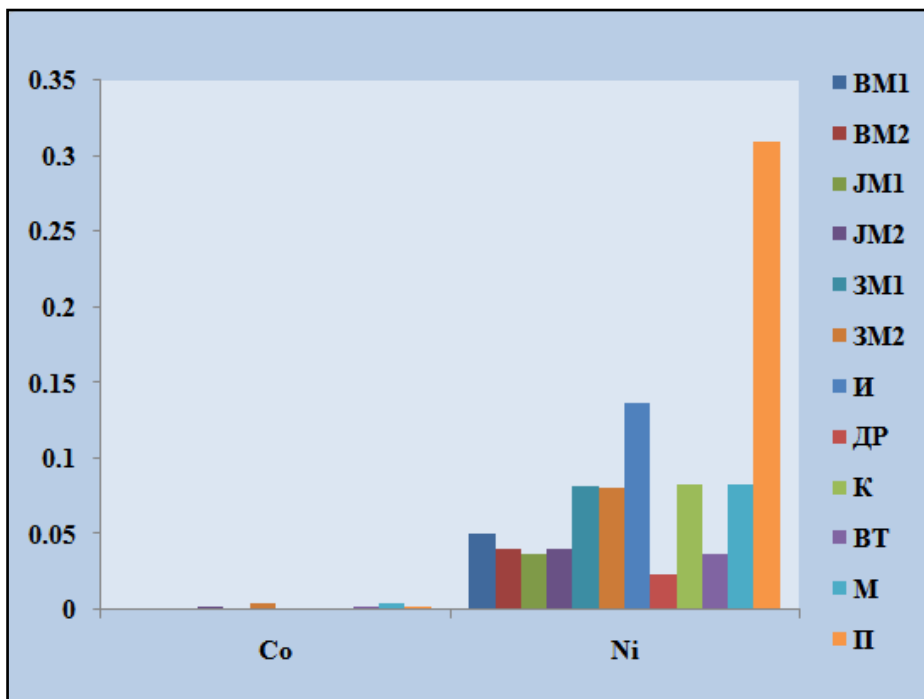


Слика 8. Просечне концентрације метала које се значајно разликују између (а) смуђа, деверике и сома и (б) клена, мрене и скобаља

а)



б)



Слика 9. Просечне концентрације метала које се значајно разликују између локалитета за (а) смуђа, деверику и сома и (б) клена, мрену и скобаља

Анализа тешких метала и металоида у изабраним акумулацијама (Табела 9) је показала да су у свим врстама, што је забележено и у рекама, акумулиране највише концентрације Fe, Zn и Al. Са друге стране, најниже концентрације Cd и Co су забележене у свим узорцима.

Забележено је свега неколико образаца када су у питању највише и најниже концентрације тешких метала и металоида (означено црвеном и плавом бојом у Табели 9) акумулираних у мишићном ткиву различитих врста истраживаних у акумулацијама.

Највише концентрације Co и Ni забележене су у деверици у свим акумулацијама, док су највише концентрације As забележене у бабушки у свим акумулацијама.

Када је у питању образац најнижих концентрација, јавља се за Cu код смуђа у обе акумулације, Al, Co и Cr код сома у обе акумулације, As и Hg код деверике у свим акумулацијама и Pb, Ni и Cd код бабушке у свим акумулацијама.

Могу да се издвоје Al и Hg који се јављају у најнижим концентрацијама код сома и деверике и у рекама и у акумулацијама. Са друге стране, најниже концентрације As се јављају код деверике у акумулацијама, што је супротно од забележеног у рекама где су концентрације As биле највише управо у овој врсти. Разлог можда лежи у чињеници да је у акумулацијама истраживана и бабушка која је акумулирала овај металоид у највишим концентрацијама услед првенствено планктиворног начина исхране, а опште је познато да се As акумулира у највишим концентрацијама код планктиворних организама.

Табела 9. Концентрације тешких метала и металоида у мишићном ткиву истраживаних врста изражене у mg kg^{-1} (средња вредност \pm стандардна девијација) у акумулацијама, црвеном и плавом бојом су означене највише и најниже забележене концентрације

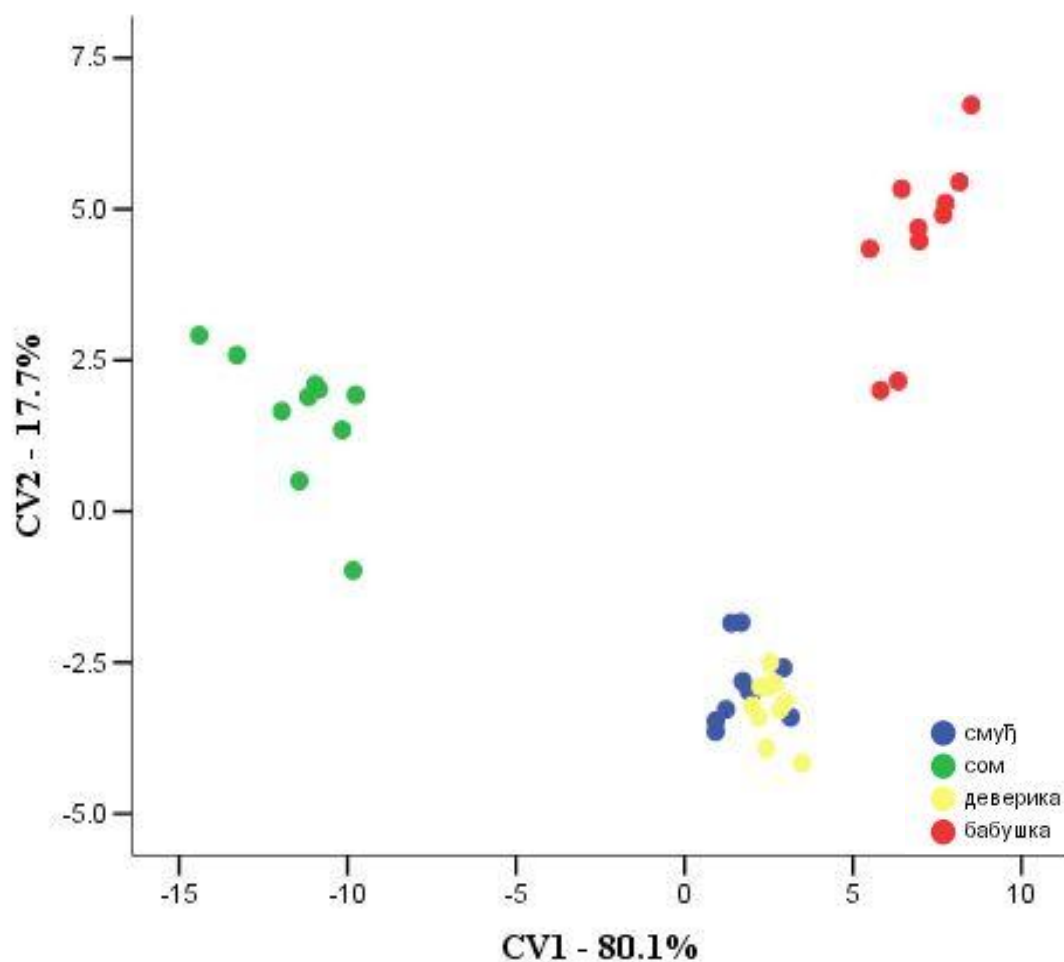
	Al	As	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	Mn	Ni	Pb	Zn
Гружа акумулација												
смуђ	3.348 \pm 1.71	0.01 \pm 0.02	0.003 \pm 0.0006	0.003 \pm 0.001	0.16 \pm 0.04	0.14 \pm 0.04	3.12 \pm 1.82	0.04 \pm 0.006	0.31 \pm 0.31	0.03 \pm 0.004	0.28 \pm 0.09	5.2 \pm 1.6
сом	2.42 \pm 0.58	0.1 \pm 0.05	0.003 \pm 0.0006	0.003 \pm 0.001	0.08 \pm 0.03	0.3 \pm 0.05	7.4 \pm 3.3	0.03 \pm 0.002	0.52 \pm 0.52	0.009 \pm 0.006	0.06 \pm 0.02	18.05 \pm 3.29
деверика	5.74 \pm 2.88	0.01 \pm 0.01	0.002 \pm 0.0005	0.027 \pm 0.003	0.19 \pm 0.08	0.15 \pm 0.02	2.83 \pm 0.64	0.02 \pm 0.001	1.28 \pm 1.03	0.03 \pm 0.02	0.14 \pm 0.07	4.5 \pm 1.26
бабушка	3.42 \pm 2.78	0.11 \pm 0.06	0.003 \pm 0.0006	0.005 \pm 0.001	0.1 \pm 0.03	0.37 \pm 0.12	7.53 \pm 4.02	0.04 \pm 0.003	0.51 \pm 0.24	0.03 \pm 0.01	0.18 \pm 0.12	14.49 \pm 6.4
Бован акумулација												
смуђ	2.493 \pm 3.410	0.003 \pm 0.006	0.003 \pm 0.004	0.004 \pm 0.009	0.012 \pm 0.035	0.151 \pm 0.102	42.899 \pm 145.374	0.253 \pm 0.061	0.749 \pm 2.144	0.049 \pm 0.033	0.065 \pm 0.025	2.475 \pm 0.996
сом	1.926 \pm 1.641	0.002 \pm 0.002	0.001 \pm 0.000	0.001 \pm 0.000	0.001 \pm 0.000	0.268 \pm 0.151	5.286 \pm 2.141	0.234 \pm 0.096	0.299 \pm 0.188	0.039 \pm 0.018	0.125 \pm 0.088	5.137 \pm 1.636
деверика	7.366 \pm 7.713	0.002 \pm 0.000	0.002 \pm 0.001	0.014 \pm 0.000	0.017 \pm 0.023	0.268 \pm 0.128	9.857 \pm 5.465	0.083 \pm 0.039	0.670 \pm 0.313	0.050 \pm 0.037	0.659 \pm 1.033	4.560 \pm 1.001
бабушка	2.682 \pm 1.499	0.003 \pm 0.001	0.001 \pm 0.000	0.003 \pm 0.004	0.005 \pm 0.006	0.726 \pm 0.212	18.880 \pm 5.263	0.160 \pm 0.171	0.345 \pm 0.080	0.038 \pm 0.010	0.053 \pm 0.012	12.836 \pm 6.441
Александровац акумулација												
деверика	0.76 \pm 0.56	0.11 \pm 0.05	0.07 \pm 0.003	0.003 \pm 0.003	0.27 \pm 0.05	0.19 \pm 0.08	4.83 \pm 1.72	0.0003 \pm 0.0005	0.48 \pm 0.07	0.026 \pm 0.008	0.33 \pm 0.14	6.48 \pm 1.16
бабушка	0.78 \pm 0.09	0.12 \pm 0.05	0.005 \pm 0.001	0.001 \pm 0.002	0.33 \pm 0.18	0.17 \pm 0.08	3.03 \pm 1.4	0.10 \pm 0.02	0.30 \pm 0.21	0.006 \pm 0.006	0.22 \pm 0.05	12.7 \pm 0.64

Поређење акумулације метала у различитим врстама у акумулацији Гружа је показало да су разлике у дистрибуцији међу врстама биле статистички значајне ($p < 0.05$) код Al, Cu, Hg, Mn и Zn (Табела 9). Највећи број највиших концентрација тешких метала и металоида је забележен у бабушки (As, Cd, Cu, Fe и Ni) и деверици (Al, Co, Cr и Mn). Највише концентрације Hg су забележене у предаторским врстама риба, првенствено у смуђу. Концентрације Cd и Co су биле униформне.

Канонијска дискриминантна анализа је указала на висок степен диференцијације четири анализиране врсте у односу на ниво акумулације тешких метала у акумулацији Гружа (Слика 10). Прве две канонијске функције (CV) су објашњавале 97.8% укупне варијабилности (CV1 - 80.1% и CV2 - 17.7%). Сом и бабушка су били издвојени од друге две врсте дуж прве канонијске функције, док су бабушка и деверика биле међусобно издвојене дуж друге канонијске функције. Бабушка је у највећој мери била диференцирана високом концентрацијом Cu, док је сом био диференциран ниском концентрацијом Pb (Табела 10).

Табела 10. Груписане корелације између дискриминишућих варијабли и стандардизованих канонијских дискриминантних функција; канонијска дискриминантна анализа примењена на концентрације тешких метала и металоида у четири испитиване врсте у акумулацији Гружа (Слика 10)

	Функција 1	Функција 2
Al	-0.089	-0.041
As	0.291	0.158
Cd	0.562	0.215
Co	0.181	0.021
Cr	0.304	-0.233
Cu	0.052	0.777
Fe	-0.999	-0.492
Hg	-0.909	0.433
Mn	0.214	0.290
Ni	-0.001	0.176
Zn	-0.121	-0.049
Pb	1.091	0.385



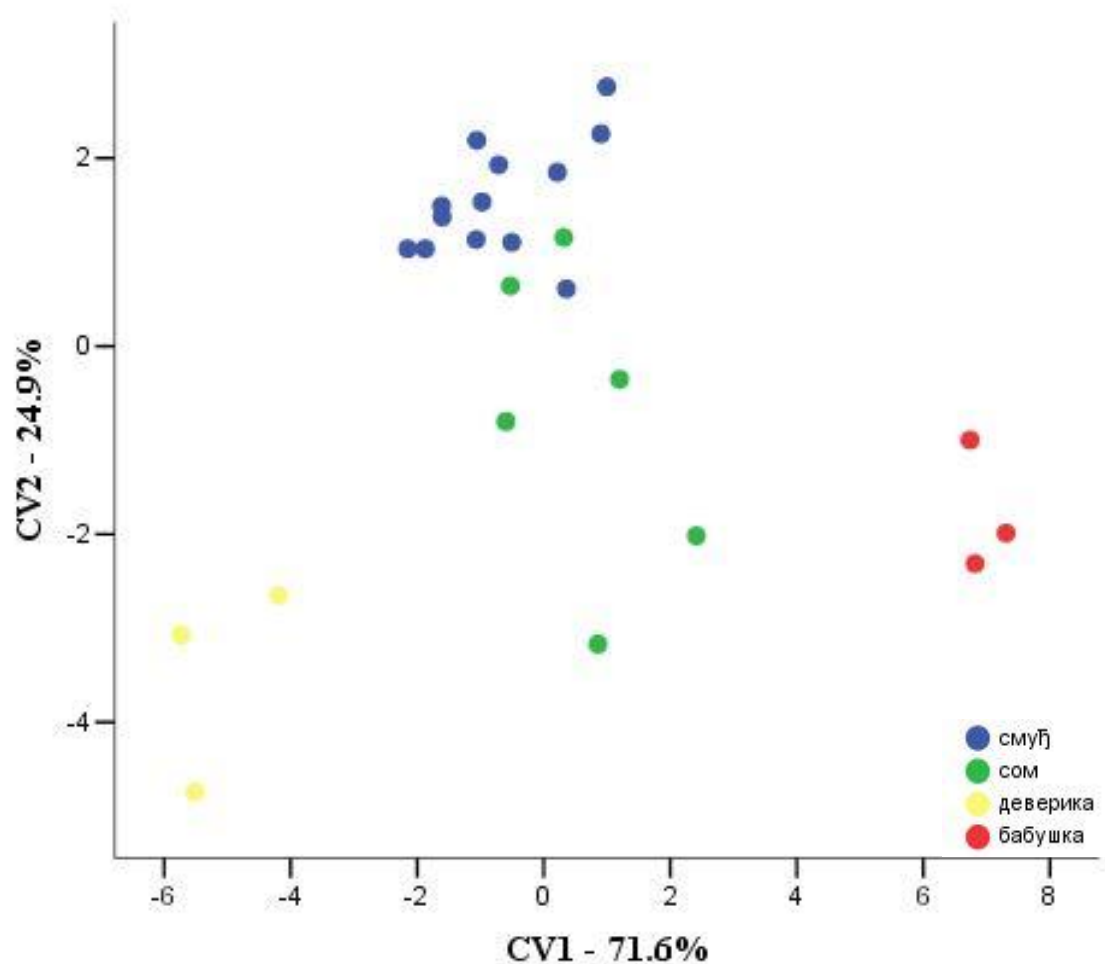
Слика 10. Резултати канонијске дискриминантне анализе примењене на концентрацијама тешких метала и металоида у четири испитиване врсте у акумулацији Гружа (елипсе показују 95% интервале поузданости), CV - канонијска функција

Утврђено је присуство значајних разлика у концентрацијама Cu, Fe, Mn и Zn између врста ($p < 0.05$) у акумулацији Бован (Табела 11). Деверика се издваја са највишим концентрацијама Al, Co, Cr, Mn, Ni и Pb, а бабушка са највишим концентрацијама As, Cu и Zn. Као што је случај и у акумулацији Гружа, предаторске врсте се и у овој акумулацији издвајају са највишим концентрацијама Hg, са највишим забележеним концентрацијама, такође, у смуђу.

У акумулацији Бован, канонијска дискриминантна анализа је такође указала на висок степен диференцијације четири анализирани врсте у односу на ниво акумулације тешких метала (Слика 11). Прве две канонијске функције (CV) су објашњавале 96.5% укупне варијабилности (CV1 - 71.6% и CV2 - 24.9%). Бабушка и деверика су биле издвојене од друге две врсте дуж прве канонијске функције, док су смуђ и деверика били међусобно издвојени дуж друге канонијске функције. Деверика је у највећој мери била диференцирана ниском концентрацијом Fe, док је смуђ био диференциран високом концентрацијом Mn (Табела 11).

Табела 11. Груписане корелације између дискриминишућих варијабли и стандардизованих канонијских дискриминантних функција; канонијска дискриминантна анализа примењена на концентрације тешких метала и металоида у четири испитиване врсте у акумулацији Бован (Слика 11)

	Функција 1	Функција 2
Al	0.102	-0.290
As	2.777	2.339
Cd	-1.224	2.769
Co	-1.411	-3.930
Cr	-0.153	-3.016
Cu	1.862	-0.397
Fe	13.734	16.579
Hg	1.204	0.189
Mn	-15.196	-15.428
Ni	0.663	1.343



Слика 11. Резултати канонијске дискриминантне анализе примењене на концентрацијама тешких метала и металоида у четири испитиване врсте у акумулацији Бован (елипсе показују 95% интервале поузданости), CV - канонијска функција

С обзиром да у акумулацији Александровац нису пронађене врсте смуђ и сом, анализирани су концентрације тешких метала и металоида у врстама које могу да се нађу у поменутој акумулацији, а то су деверика и бабушка. Највише концентрације Al, As, Cr, Hg и Zn су забележене у бабушки, док су највише концентрације Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Ni и Pb забележене у деверици. Издвајају се статистички значајне разлике у дистрибуцији Hg, Ni и Zn између деверике и бабушке ($p < 0.05$) (Табела 9).

Генерално гледано, када се узму у обзир све истраживане акумулације, може да се закључи да су највећи акумулатори тешких метала и металоида врсте бабушка и деверика. Са друге стране, предаторска врста смуђ се издваја као највећи акумулатор Hg.

У Табели 12 су представљене концентрације тешких метала и металоида у композитним узорцима уклије у изабраним акумулацијама. Анализа тешких метала и металоида у композитним узорцима уклије је показала да су концентрације Zn, Fe, Al и Mn (за разлику од осталих врста у другим акумулацијама) биле највише у свим узорцима у свим акумулацијама, док су концентрације Cd и Co биле најниже.

Уклија из акумулације Међувршје се изваја са највишим концентрацијама Cr, Ni и Zn, уклија из акумулације Завој са највишим концентрацијама Al, As и Pb, док су у уклији из акумулације Власина забележене највише концентрације Cu, Fe и Mn. Концентрације Cd и Co биле су исте у уклији из акумулација Завој и Власина и више од забележених концентрација у уклији из акумулације Међувршје.

Са друге стране, уклија из акумулације Међувршје се издваја са најнижим концентрацијама Al, As, Cd, Co, Fe и Pb, уклија из акумулације Завој са најнижим концентрацијама Cu, Mn и Ni, док су у уклији из акумулације Власина забележене најниже концентрације Cr, Ni, Pb и Zn.

Табела 12. Концентрације тешких метала и металоида у композитним узорцима уклије изражене у mg kg^{-1} (средња вредност \pm стандардна девијација) у изабраним акумулацијама у Србији

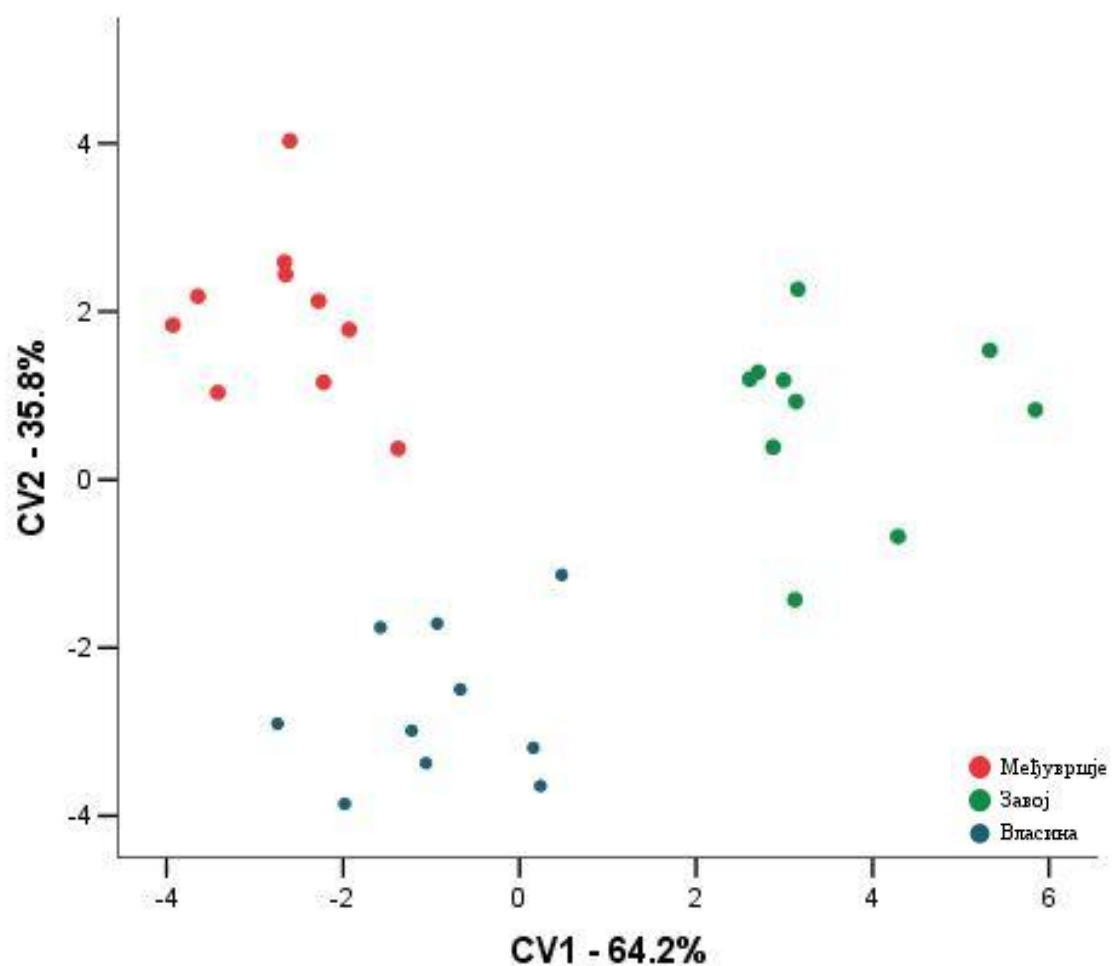
	Al	As	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	Mn	Ni	Pb	Zn
Међувршје акумулација	1.33 \pm 0.24	0.10 \pm 0.04	0.01 \pm 0.01	0.0007 \pm 0.0006	0.21 \pm 0.05	0.55 \pm 0.07	10.13 \pm 2.36	0.01 \pm 0.002	2.05 \pm 0.86	0.06 \pm 0.04	0.11 \pm 0.04	27.83 \pm 7.14
Завој акумулација	1.80 \pm 0.73	0.26 \pm 0.09	0.02 \pm 0.01	0.002 \pm 0.001	0.20 \pm 0.03	0.51 \pm 0.10	11.33 \pm 4.05	0.01 \pm 0.003	0.18 \pm 0.22	0.03 \pm 0.01	0.12 \pm 0.01	25.86 \pm 5.9
Власина акумулација	1.64 \pm 0.96	0.24 \pm 0.03	0.02 \pm 0.001	0.002 \pm 0.0006	0.16 \pm 0.03	0.6 \pm 0.15	13.35 \pm 6.12	0.01 \pm 0.002	2.31 \pm 1.16	0.03 \pm 0.03	0.11 \pm 0.02	24.00 \pm 10.10

* црвеном и плавом бојом су означене највише и најниже забележене концентрације метала

Канонијска дискриминантна анализа је указала на висок степен диференцијације три анализирани акумулације у односу на ниво акумулације тешких метала и металоида у уклији (Слика 12). Две канонијске функције (CV) заједно су објашњавале 100% укупне варијабилности (CV1 - 64.2%, CV2 - 35.8%). Акумулација Завој је била издвојена од друге две акумулације дуж прве канонијске функције, док су акумулације Међувршје и Власина међусобно биле издвојене дуж друге канонијске функције. Завој је у највећој мери био диференциран високом концентрацијом As, док је Власина била диференцирана високом концентрацијом Fe (Табела 13).

Табела 13. Груписане корелације између дискриминишућих варијабли и стандардизованих канонијских дискриминантних функција; канонијска дискриминантна анализа примењена на концентрације тешких метала и металоида у уклији из три акумулације (Слика 12).

	Функција 1	Функција 2
Al	0.581	1.312
As	1.192	-0.480
Cd	0.115	0.295
Co	0.456	-0.585
Cr	0.986	1.183
Cu	0.328	0.161
Fe	-0.852	-1.498
Hg	0.822	0.218
Mn	-0.825	-0.710
Ni	-0.628	0.208
Zn	-0.466	-0.318
Pb	0.445	0.330



Слика 12. Резултати канонијске дискриминантне анализе примењене на концентрацијама тешких метала и металоида у уклији у три испитиване акумулације (елипсе показују 95% интервале поузданости), CV - канонијска функција

4.3. Резултати биоконцентрацијског фактора (*BCF*) и индекса загађења металима (*MPI*)

У Табели 14 су дати резултати биоконцентрацијског фактора (*BCF*) за истраживане врсте у рекама. Највише вредности *BCF* фактора забележене су за метале Hg и Pb, док су најниже вредности *BCF* фактора забележене за Al, Co и Mn. У групи испитиваних врста риба смуђ, деверика и сом, *BCF* јасно показује да деверика и сом имају сличан афинитет за акумулацију метала Cd, Co, Ni и Zn тако да су и забележене вредности *BCF* фактора биле знатно више него за смуђа. Предаторске врсте, сом и смуђ, су имале знатно више вредности *BCF* фактора за Hg, где се издваја сом са највишим вредностима на свим локалитетима (изузев локалитета Д₂ на Дунаву). У другој групи испитиваних врста клен, мрена и скобаљ, доминантна врста за биоконцентрацију метала била је мрена.

Резултати биоконцентрацијског фактора (*BCF*) за врсте у акумулацијама дати су у Табели 15. Највише вредности *BCF* фактора забележене су за метале Hg и Zn, док су најниже вредности *BCF* фактора забележене за Cd. У акумулацијама Гружа и Бован, највише вредности *BCF* фактора забележене су за бабушку и деверику. Најниже вредности *BCF* фактора у поменутиим акумулацијама забележене су за врсту сом. Предаторска врста смуђ се издваја са највишим вредностима *BCF* фактора за Hg.

Када је у питању врста уклија (Табела 15), у свим акумулацијама највише вредности *BCF* фактора су забележене за метале Zn и As, а најниже за Ni и Cd. Знатно ниже вредности *BCF* фактора за Hg (и до 250 пута) забележене су за ову врсту.

Табела 14. Биоконцентрацијски фактор (*BCF*) као однос средње вредности концентрација метала (изражене у mg kg^{-1}) у мишићном ткиву и средње вредности концентрација метала (изражене у mg L^{-1}) у води истраживаних река

	Al	As	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	Mn	Ni	Pb	Zn
Д₁												
<i>смуђ</i>	1.5	110	75	/	90	15	3.2	1 500	3	7.1	416.7	137
<i>деверика</i>	5.6	160	100	8	115	33.3	8.9	1 600	8.5	14.33	350	154.5
<i>сом</i>	2	100	2 250	/	72.5	11.7	3.65	3 300	4.5	52.9	283.3	381
Д₂												
<i>смуђ</i>	4	330	2 000	/	20	18.3	11.2	3 000	3.7	5.3	460	188
<i>деверика</i>	0.9	350	200	10	22.2	23.3	11.05	800	5.7	6.7	500	195
<i>сом</i>	1.2	150	50	6	14.4	11.7	6.3	2 000	3	5.3	360	148.5
Д₃												
<i>смуђ</i>	24.1	75	100	6	15.7	18.3	57.9	28 000	19	88.9	360	341.1
<i>деверика</i>	8.5	75	200	10	37.1	28.3	20.8	15 000	16	55.6	460	515.6
<i>сом</i>	1.4	55	200	16	320	11.7	6.9	62 000	8	33.3	320	333.3
С												
<i>смуђ</i>	1.4	316.7	200	4.3	200	10	3.5	1 700	4.5	50	325	123.3
<i>деверика</i>	3	300	200	7.1	220	11	3.8	600	8	80	262.5	125.3
<i>сом</i>	1.7	166	233.3	12.9	300	16	6.1	1 800	12	100	225	160.7
Т												
<i>смуђ</i>	0.9	75	80	8	35	1.6	9 000	2 600	1.4	1.5	100	9.5
<i>деверика</i>	0.8	80	100	10	45	2	13 200	1 400	3.4	3	110	11.7
<i>сом</i>	0.2	55	120	12	55	1.7	13 400	2 800	2	2.5	145	12.5
ВМ₁												
<i>клен</i>	2.4	23.3	120	1	93.3	25	3.7	1 000	1.1	7	30	233.5
<i>мрена</i>	1.0	18.3	80	1	96.7	30	3.74	3 200	1.6	4	44	176.5
<i>скобаљ</i>	0.15	50	120	/	113.3	33.8	1.6	500	1.2	4	22	216
ВМ₂												
<i>клен</i>	0.08	37.5	250	2	220	54	6.03	1 900	1.33	23.1	312.5	501
<i>мрена</i>	0.16	20	250	/	350	56	9.86	2 400	6.7	30.1	287.5	415
<i>скобаљ</i>	2.31	47.5	250	1.3	140	52	7.7	500	5.8	30.1	212.5	458
ЈМ₁												
<i>клен</i>	0.08	37.5	250	2	220	50	10.5	300	6.3	30.8	262.5	552.3
<i>мрена</i>	1.2	20	250	/	350	66	9.2	1 100	8.7	30.8	325	590
<i>скобаљ</i>	2.3	47.5	250	1.6	140	52	14.6	40	12.7	30.8	300	471
ЈМ₂												
<i>клен</i>	1.0	11.1	500	5	0.25	50	2.3	300	1.3	100	21	184.1
<i>мрена</i>	0.8	13.3	30	/	42.5	66	2.0	100	1.8	100	26	196.7
<i>скобаљ</i>	1.5	17.8	25	0.6	25	52	3.2	40	2.6	100	24	157
ЗМ₁												
<i>клен</i>	1.07	75	233.3	2.22	42	42	2.7	700	2.2	0.9	400	360
<i>мрена</i>	1.06	200	800	/	282	556	45.5	7 800	37.2	22.7	1025	2 289
<i>скобаљ</i>	2.4	48	166.7	2.22	30	52	3.9	500	6.4	9.3	337.5	522
ЗМ₂												
<i>клен</i>	1.5	0.24	0.12	0.6	145	35	17 500	1 100	120	0.11	1 167	685
<i>мрена</i>	1.0	1.0	0.14	1.8	160	90	40 700	1 700	133	0.2	1 067	1 223
<i>скобаљ</i>	0.7	0.3	0.12	0.4	135	16	8 500	800	43.3	0.09	1 033	830

И												
клен	4.6	7.5	90	1.4	28.8	70	7.9	700	3	11.7	58.3	219.5
мрена	1.4	16.2	50	/	22.5	140	4.9	1 300	5.5	51.7	50	219
скобаљ	1.9	10	60	0.7	36.3	40	2.7	400	3.3	5	36.7	152
ДР												
клен	11	240	250	1	105	60	17.4	800	16	40	557.1	286.5
мрена	8.9	200	250	0.6	120	45	16.4	3 400	28	20	385.7	200
скобаљ	4.4	282	300	8	105	125	21.7	400	20	80	342.9	259
К												
клен	0.03	4	12	2	42	82.5	4.1	1 800	0.4	15	30	501
мрена	1.03	4.7	12	/	62	102.5	5.6	4 800	2.1	10	200	399
скобаљ	1	3.3	10	/	44	97.5	4.4	400	1.1	16.7	190	715
ВТ												
клен	11.7	50	1 000	6	98	190	35.4	100	5.9	60	1 180	2 625
мрена	19.1	41.7	350	4	80	230	35.4	700	9.1	120	800	2 053
скобаљ	8	25	250	6	50	105	27.9	100	5.4	40	420	1 121
М												
клен	1.2	/	62.5	5	30	50	2.4	600	10	26.7	300	570
мрена	0.9	/	37.5	2	21.4	82	4.7	1 300	19	26.7	300	931.4
скобаљ	1.1	41.7	50	6	25.7	48	2.6	300	13	113.3	185.7	675.7
П												
клен	/	200	83.3	3	72.2	38.1	254	/	5.7	1 100	400	286.3
мрена	17.4	260	133.3	5	86.1	76.2	577	70	19.3	500	440	5 354.4
скобаљ	19.6	460	66.7	/	105.5	42.9	341.3	/	12.7	280	660	337.5

Табела 15. Биоконцентрациски фактор (*BCF*) као однос средње вредности концентрација метала (изражене у mg kg^{-1}) у мишићном ткиву и средње вредности концентрација метала (изражене у mg L^{-1}) у води истраживаних акумулација

	As	Cd	Cr	Cu	Fe	Hg	Mn	Ni	Pb	Zn
Гружа										
<i>смуђ</i>	7.14	7.5	360	11	101	1 500	1.5	3.70	560	433.3
<i>сом</i>	71.4	7.5	160	37.5	370	300	13	3.3	120	1 504.2
<i>деверика</i>	7.14	5	380	18.75	141.5	200	32	11.11	280	375
<i>бабушка</i>	78.6	7.5	200	46.25	376.5	400	12.75	11.11	360	1 207.5
Бован										
<i>смуђ</i>	1.5	15	23.1	15.58	214.5	25 300	24.97	16.33	120.37	190.38
<i>сом</i>	1	5	1.92	27.63	26.43	23 400	9.97	13	231.48	395.2
<i>деверика</i>	1	10	32.7	27.63	49.3	8 300	22.3	16.67	1 220.4	35.08
<i>бабушка</i>	1.5	5	9.61	74.84	94.4	16 000	11.5	12.67	98.15	987.4
Међувршје										
<i>уклија*</i>	76.92	2.33	262.5	87.3	253.2	100	205	20.69	215.69	1 795.5
Завој										
<i>уклија*</i>	520	66.7	400	79.69	103	100	18	25	240	1 361
Власина										
<i>уклија*</i>	452.8	-	320	93.75	333.75	100	21	30	215.69	1 714.3

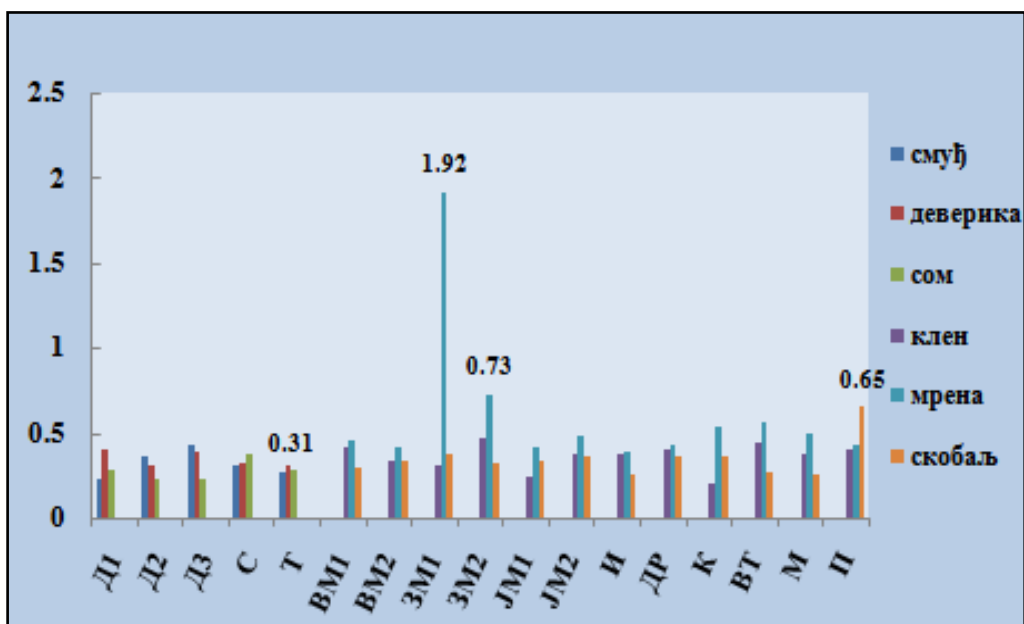
* *BCF* као однос средње вредности концентрација метала (изражене у mg kg^{-1}) у композитном узорку уклије и средње вредности концентрација метала (изражене у mg L^{-1}) у води истраживаних акумулација.

MPI вредности, забележене у овој студији, разликовале су се за различите врсте риба у рекама (Слика 13). Kruskal-Wallis тест је показао да не постоје статистички значајне разлике ($p < 0.05$) између *MPI* вредности за смуђа, деверику и сома. Са друге стране, забележена је статистички значајна разлика ($p < 0.05$) између вредности *MPI* за клена, мрену и скобаља. Mann-Whitney тест је показао да су вредности *MPI* за мрену значајно више него за друге врсте на свим локалитетима ($p < 0.05$), осим на реци Пек. Имајући у виду да не постоје статистички значајне разлике у *MPI* вредностима у првој групи истраживаних врста риба, највише вредности *MPI* могу да се сматрају релевантним за поређење локалитета. С обзиром да се у другој групи истраживаних врста, мрена статистички издваја са највишим вредностима *MPI* (сем реке Пек), вредности *MPI* за ову врсту су коришћене за даља поређења.

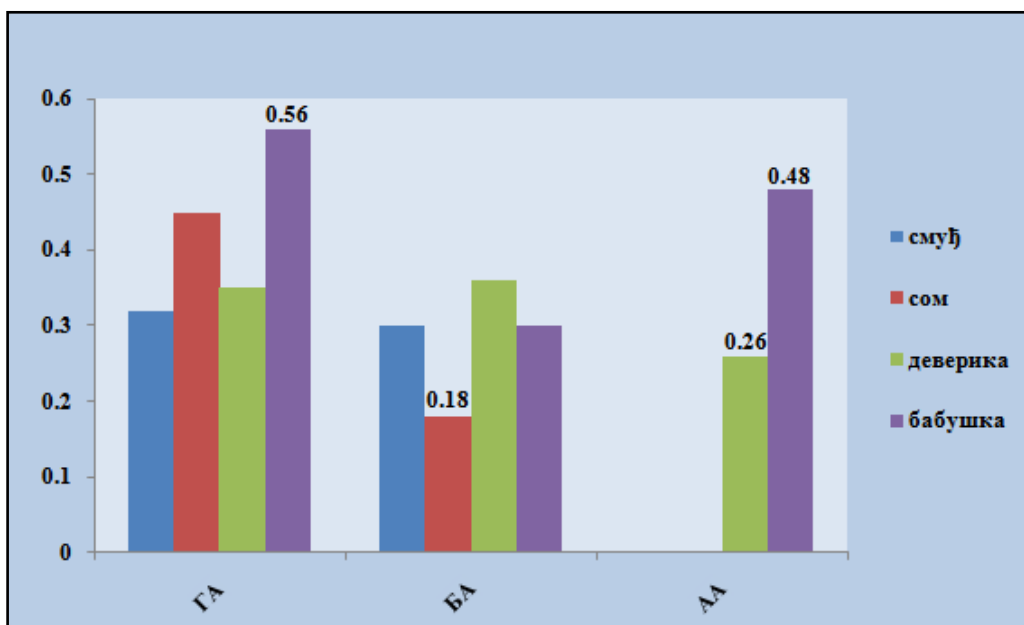
У акумулацијама Гружа и Александровац *MPI* вредности (Слика 14) су биле највише за бабушку, док је у акумулацији Бован највиша *MPI* вредност забележена за деверику. Kruskal-Wallis тест је показао да не постоје статистички значајне разлике ($p < 0.05$) за *MPI* вредности између врста у акумулацији Бован. Са друге стране, забележене су статистички значајне разлике ($p < 0.05$) између *MPI* вредности за врсте у акумулацијама Гружа и Александровац, где су вредности *MPI* за бабушку биле значајно више него за друге врсте ($p < 0.05$). Имајући све у виду, вредности *MPI* за бабушку се сматрају релевантним за даља поређења.

Вредности *MPI* за уклију су се разликовале у истраживаним акумулацијама, са највишим вредностима у акумулацији Власина и најнижим у акумулацији Завој. Kruskal-Wallis тест је показао да разлике нису статистички значајне ($p < 0.05$).

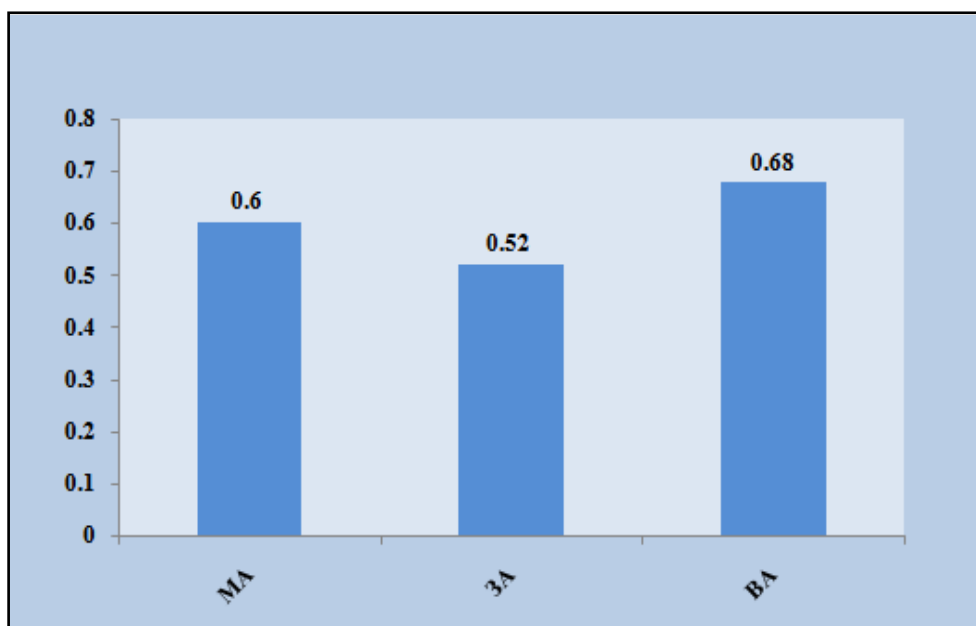
На основу израчунатих *MPI* вредности, један локалитет на Западној Морави је веома загађен ($3M_1$, $MPI = 1.92$), већина локалитета је средње загађена (MPI 0.36-0.73), док је локалитет на Тиси минимално погођен загађењем тешким металима ($MPI = 0.31$). Према забележеним *MPI* вредностима у акумулацијама, издваја се акумулација Бован која је минимално погођена загађењем ($MPI = 0.30$).



Слика 13. Вредности индекса загађења металима (MPI) у истраживаним врстама, по локалитету у рекама



Слика 14. Вредности индекса загађења металима (MPI) у истраживаним врстама у акумулацијама



Слика 15. Вредности индекса загађења металима (*MPI*) за уклију у истраживаним акумулацијама

Уз коришћење *MPI* вредности, предложили смо класификацију загађења вода тешким металима већих река и три акумулације у Србији (Табела 16). Класификација је показала просторни распоред метала, што је довело до идентификације локалитета без утицаја директног загађења, незнатно загађених и загађених локалитета.

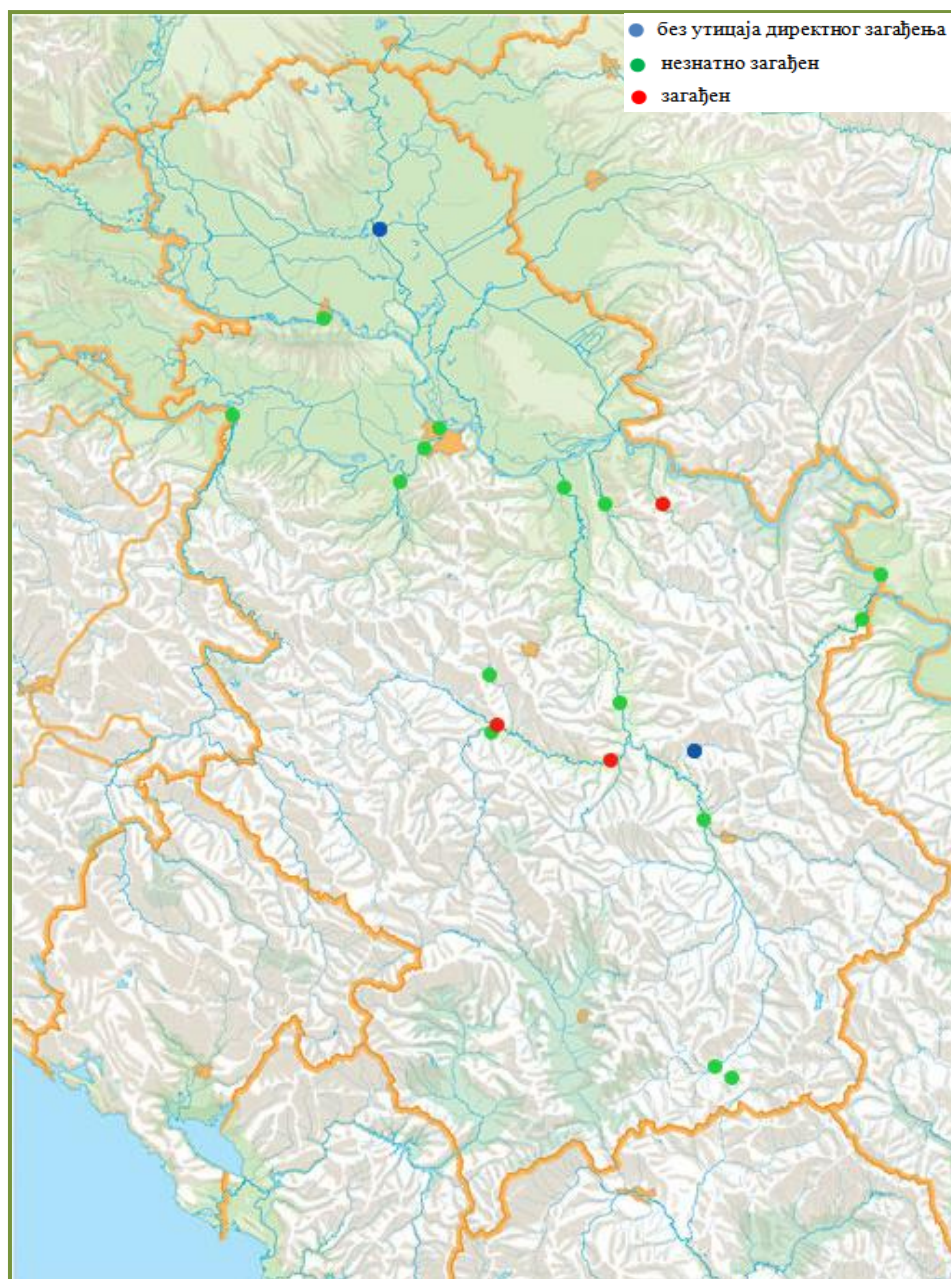
Табела 16. Класификација загађења вода тешким металима у Србији на основу *MPI* вредности

Класа загађења	Карактеристике	<i>MPI</i>
I	без утицаја директног загађења	< 0.3
II	незнатно загађен	0.3 - 0.6
III	загађен	> 0.6

Према овој класификацији, река Тиса може да буде категорисана као екосистем без утицаја директног загађења тешким металима, док Западна Морава и Пек могу да се категоришу као екосистеми загађени тешким металима. Остали локалитети су незнатно загађени.

Гружа, Бован и Александровац, према *MPI* вредностима, могу да се сврстају у незнатно загађене екосистема (са *MPI* вредностима између 0.3 и 0.6). Издваја се акумулација Гружа са највишим *MPI* вредностима (0.56), док је акумулација Бован, са *MPI* вредношћу 0.3, на граници две категорије, без утицаја директног загађења и незнатно загађена.

Као резултат ове класификације, формирана је мапа загађења вода тешким металима у Србији (Слика 16). Акумулације Међувршје, Завој и Власина нису категорисане зато што су тешки метали и металоиди очитани у композитном узорку уклије, тако да је претпоставка да су *MPI* вредности знатно више услед присуства и других органа у компосту (првенствено јетре и шкрга) који су, доказано, већи акумулатори тешких метала и металоида.



Слика 16. Мапа загађења вода тешким металима у Србији

4.4. Концентрације тешких метала у рибљем месу у односу на максимално дозвољене концентрације (МДК)

Концентрације As, Fe, Cu и Zn у месу (мишићном ткиву) свих врста риба у овој студији су биле испод МДК прописаних од стране Европске Комисије (1881/2006/ЕС) и Републике Србије (Службени гласник РС 2011). Концентрације Hg биле су изнад МДК само у месу сома (0.62 mg kg^{-1}) из Дунава (локалитет Д₃) и мрене (0.78 mg kg^{-1}) из Западне Мораве (локалитет ЗМ₁), док су концентрације Cd биле изнад МДК у месу сома (0.09 mg kg^{-1}) из Дунава (локалитет Д₁) и клена (0.1 mg kg^{-1}) из Јужне Мораве (локалитет ЈМ₂). Издваја се Pb са концентрацијама које су биле изнад МДК у месу мрене (локалитети ЗМ₁, ЗМ₂, И и ВТ), клена (локалитети ЗМ₁, ЗМ₂, И, ДР и ВТ) и скобаља (локалитети ЗМ₂ и П) са највишом концентрацијом у месу мрене (0.82 mg kg^{-1}) из Западне Мораве (локалитет ЗМ₁).

Када су у питању акумулације, забележена је концентрација Cd изнад МДК у месу деверике (0.07 mg kg^{-1}) из акумулације Александровац. Концентрација Pb је била изнад МДК у месу деверике из акумулације Бован (0.659 mg kg^{-1}) и из акумулације Александровац (0.33 mg kg^{-1}), док је концентрација Fe била изнад МДК у месу смуђа ($42.899 \text{ mg kg}^{-1}$) из акумулације Бован. У уклији, иако је за анализе коришћен компост јединки, нису забележене концентрације метала изнад МДК.

За остале тешке метале нису успостављене МДК вредности нити у регулативи Европске Уније (ЕУ) нити у законодавству Републике Србије.

5. Дискусија

Различити облици антропогеног утицаја, првенствено интензивна индустријализација, довели су до повећаног присуства загађујућих материја, па и великог броја токсичних загађивача, у акватичним екосистемима што захтева перманентни мониторинг (Nachev et al., 2010). Контаминација акватичних екосистема тешким металима може да се прати у води, седименту и живим организмима (Agarwal et al., 2007). Концентрације тешких метала у живом свету представљају релевантније податке за потребе мониторинг студија акватичне средине од концентрација истих у води или седименту.

С обзиром да су тешки метали део ланца исхране, међу акватичним врстама, рибе су организми који, позиционирани на врху ланца исхране, не могу да избегну штетно дејство ових полутаната, тако да се, као такви, успешно користе у мониторингу загађења ових екосистема тешким металима (Al-Yousuf & El-Shahawi, 1999; Farkas et al., 2002; Lenhardt et al., 2015). Рибе представљају један од најиндикативнијих фактора за процену загађења вода тешким металима (Alhas et al., 2009), а то је важно не само у процесу заштите животне средине, већ и у процесу процене квалитета рибљег меса у људској исхрани.

Избор индикаторске врсте не треба да буде ограничен само на одређени ниво ланца исхране. Мултиспецијско поређење које покрива различите начине исхране и широк спектар старосних категорија прави разлику између недавне изложености и дугорочног оптерећења тешким металима. Програми мониторинга раног упозорења треба да буду првенствено усмерени на топ предаторе ниже старосне категорије, али не занемарујући друге, углавном бентофагне врсте (Dušek et al., 2005).

Генерално, најосетљивија врста за биоиндикацију загађења тешким металима требало би да буде широко распрострањена, што је и случај са врстама у овој студији. С обзиром да интензивне активности у индустрији и пољопривреди неизбежно доводе до повећања концентрација тешких метала у отвореним водама (Tarras-Wahlberg et al., 2001; Jordao et al., 2002) важно је одредити концентрације тешких метала у комерцијално вредним рибљим врстама како би се проценио могући ризик за људско здравље (Cid et al., 2001; Монгоу et al., 2014). Изабране врсте риба у овој студији - смуђ, деверика и сом су комерцијално важне врсте риба у великим равничарским

рекама - Дунав, Сава и Тиса, док су врсте - клен, мрена и скобаљ комерцијално важне врсте у осталим истраживаним рекама у Србији (Simić et al., 2014).

Активни метаболизам пелагичних врста риба може да доведе до повећаног степена акумулације метала у односу на бентосне врсте риба (Kojadinović et al., 2007), тако да је истражена и могућност употребе бентопелагичне врсте уклије у биомониторинг студијама тешких метала.

Особине врста, као што су трофички положај, старост, величина тела или територија распрострањења такође модификују образац биоакумулације метала (Mason et al., 2000; Gammons et al., 2006; Kojadinović et al., 2007), показујући да комбинација осетљивих врста са различитим еколошким својствима обезбеђује најбољу слику ризика који представља загађење металима за жива бића (Jorgensen, 2011). Са друге стране, Монгоу et al. (2014) наводе да особине врсте имају мали утицај на концентрације већине метала, са изузетком Zn, Co и Fe, на чије концентрације маргинални утицај има пол јединке, али и да генерално не постоји јасан тренд примећен у концентрацијама метала између мужјака и женки одређене врсте.

Претходне студије су показале да су концентрације метала највише у врстама које живе у близини седимента или у врстама на вишим трофичким нивоима (Roméo et al., 1999; Mason et al., 2000; Agarwal et al., 2007; Kojadinović et al., 2007; Yilmaz et al., 2007; Agah et al., 2009). Због тога смо претпоставили да би бентосне и предаторске врсте риба требало да садрже највише концентрације метала.

Услед различитог афинитета органа риба за акумулацију тешких метала али и различитих детоксикационих процеса у органима, тешки метали се акумулирају у различитим концентрацијама у зависности од врсте органа (Scharenberg et al., 1994; Rao & Padmaja, 2000; Bervoets et al., 2001). Јетра и шкрге, као метаболички активни органи, су главна места акумулације метала (Yilmaz et al., 2007), за разлику од мишићног ткива које није активно ткиво у акумулацији тешких метала (Amundsen et al., 1997; Tekin-Özan & Kir, 2008; Shinn, 2009; Višnjić-Jeftić et al., 2010; Poleksić et al., 2010; Jarić et al., 2011) али се обично анализира у литератури јер је основни део људске исхране и самим тим значајни део здравственог ризика (Yilmaz & Doğan, 2008; Shinn, 2009).

Иако се у бројним студијама (Bervoets & Blust, 2003; Erdoğrul & Erbilir, 2007; Uysal et al., 2009) мишићно ткиво генерално сматра ткивом са не баш израженим потенцијалом за акумулацију тешких метала и металоида, у овој студији мишићно ткиво је изабрано за потребе биомониторинга, с обзиром да постоји законска регулатива о максимално дозвољеним концентрацијама тешких метала у рибљем месу (мишићном ткиву), а такође је и најважније ткиво у контексту употребе у људској исхрани. Подаци о присуству тешких метала и металоида у рибљем месу представљају и релевантне податке за поређење више екосистема али и за одрживо управљање акватичним екосистемима.

Тешки метали у води утичу на концентрације тешких метала у органима, па и мишићном ткиву риба, што су бројне студије и показале. Calta & Canpolat (2006), Poleksić et al. (2010) су истакли да концентрације тешких метала и металоида у органима риба управо зависе од загађења у акватичној средини у којој живе, тако да су оправдане студије о акумулацији тешких метала и металоида у ткивима риба које могу да укажу на тренутне концентрације тешких метала и металоида у акватичној средини. С друге стране, Andres et al. (2000) и Yi & Zhang (2012) наводе да директна пропорционалност не мора нужно да постоји између концентрација тешких метала и металоида у води и биоакумулираних тешких метала и металоида у акватичним организмима.

Рибе могу да усвајају тешке метале у директном контакту са загађеном водом преко шкрга, коже и дигестивног тракта, путем седимента који представља најважнији резервоар тешких метала и загађивача који доспевају у слободну воду (Bervoets et al., 2001) и исхраном другим акватичним организмима који су оптерећени тешким металима (Burger et al., 2002). С обзиром да је ослобађање метала из контаминираног седимента константан процес, негативни ефекти метала на акватичне организме могу да се очекују докле год су метали у могућности да се уграде у организам (MacDonald et al., 2000).

Статистичке анализе у овој студији су показале да су концентрације неколико метала значајно варирали између истраживаних врста у рекама. Subotić et al. (2013b) истичу да не постоје разлике у акумулацији As, Cu, Fe, Hg, Mn и Zn у мишићном ткиву

предаторских врста смуђ и сом, док су резултати у овој студији показали да се сом (*S. glanis*) издваја као врста која може адекватно да укаже на концентрације метала у акватичној средини, што се наводи и у студији Squadrone et al. (2013). За разлику од смуђа који се храни у отвореним водама и ретко може да се нађе у вегетацијом обраслој литоралној зони (Vehanen & Lahti, 2003), сом живи у литоралној зони нижих делова великих река и муљевитим језерима где је изложен и загађењу из седимента (Carol et al., 2007; Copp et al., 2009). Такође, сом има шири спектар исхране у односу на смуђа јер се храни организмима са дна, као што су шкољке, пужеви и други бентосни организми, тако да је начин исхране вероватно и разлог виших концентрација у овој предаторској врсти у односу на смуђа. Предаторске врсте, чак и јувенили, показују значајан индикаторски потенцијал за Hg, са максималним вредностима акумулираним у мишићном ткиву у односу на врсте са нижег трофичког нивоа (Farkas et al., 2005; Dušek et al., 2005; Čelechovská et al., 2007; Kenšová et al., 2010; Zrnčić et al., 2012; Zrnčić et al., 2013). Havelková et al. (2008) наводе да се у веома загађеној води Hg углавном акумулира у јетри, док се у мање загађеним водама акумулира у мишићном ткиву.

Резултати у овој студији су у складу са тврдњама Rincon-Leon et al. (1993) и Zrnčić et al. (2013) да није нужно правило да су предаторске врсте најбољи биоиндикатори. У овој студији издаваја се деверика са највишим концентрацијама As и Mn. Концентрације укупног As (неорганског и органског) у слатким водама могу да се разликују у зависности од локалне геохемијске средине и антропогених утицаја (Squadrone et al., 2013). Резултати многобројних студија (Has-Schon et al., 2006; Falco et al., 2006; Višnjić-Jeftić et al., 2010; Squadrone et al., 2013) показују да су концентрације арсена ниске у већини риба, али увек са највишим концентрацијама у мишићном ткиву.

Žarski et al. (1995) и Svobodova et al. (1999) закључили су да су бентофагне врсте које се хране близу дна осетљивији индикатори контаминације тешким металима, у зависности од степена гутања седимента и директне изложености контаминираним честицама. Farkas et al. (2003) наводе да деверика (*A. brama*) може да буде корисна у биоиндикацији загађења вода тешким металима, док Poleksić et al. (2010) и Sunjog et al. (2012) истичу да мрена (*B. barbatus*) има вредан биоиндикаторски потенцијал. Ове две

тврђе су у овој студији и потврђене. У мишићном ткиву мрене у овој студији су констатоване статистички значајно више концентрације Hg, Mn и Pb. У студији Maceda-Veiga et al. (2013) су такође констатоване високе концентрације Hg у мишићном ткиву мрене (*B. meridionalis*). Понекад је и сличан образац биоаккумуляције метала примећен у пелагичним и бентосним врстама јер све ове врсте могу да се хране дрифтом и инвертебратама дна, тако да приликом исхране могу да гутају седимент или суспендоване органске материје (Parenti, 1984; Vila et al., 2007).

Бабушка и деверика се издвајају као врсте са највећим бројем највиших концентрација метала у акумулацијама Гружа и Бован, док је у акумулацији Александровац већи број виших концентрација метала регистрован код деверике. Када се упореде две акумулације сличне трофије, Гружа и Бован, у мишићном ткиву смуђа из акумулације Гружа констатоване су више концентрације Pb и ниже концентрације Cd, Cu, Mn и Hg, док су у мишићном ткиву сома из исте акумулације констатоване више концентрације Cd, Cu и Mn и ниже концентрације Pb и Hg (Milošковић et al., 2014). Monroy et al. (2014) наводе да локалитет најзначајније утиче на биоаккумуляцију Hg али је и интеракција између врста и локалитета такође значајна за акумулацију већине елемената. У језерима са сличним оптерећењем воде тешким металима могу да се констатују рибе са врло различитим концентрацијама метала услед разлика у биолошким, геохемијским и другим чиниоцима животне средине који утичу на усвајање и акумулацију метала у рибама (Chen et al., 2000; Ward et al., 2012).

Уклија је активан и брз пливач, тако да брз метаболизам ове врсте може да доведе до концентрисања тешких метала и металоида више него код других врста (Serra et al., 1993; Kalay et al., 1999; Canli & Atli, 2003). У свим истраживаним акумулацијама у овој студији, Међувршје, Завој и Власина, уклија је акумулирала највише концентрације Zn, Fe, Mn и Al. Статистичка анализа је показала да се Завој издваја високом концентрацијом As, а Власина високом концентрацијом Fe. Merciai et al. (2014) су показали да од осталих истраживаних врста ципринида, уклија акумулира све испитиване метале и металоиде (Al, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd, Pb и As) што доказује висок биоаккумулятивни потенцијал ове врсте.

Литературни подаци о тешким металима и металоидима у риблим врстама у рекама у Србији показују да су многе врсте риба, ткива и органа до сада проучавани. Višnjić-Jeftić et al. (2010) истраживали су концентрације Al, As, Cd, Cu, B, Ba, Fe, Mg, Sr, Zn, Li, Co, Cr, Mn, Mo, Ni и P у мишићном ткиву, јетри и шкргама црноморске харинге (*Alosa immaculata* Benet 1835) и утврдили највише концентрације As у мишићном ткиву ове врсте и концентрације Cd и As изнад МДК вредности. Ткива кечиге (*Acipenser ruthenus*) јетра, шкрге, црева и мишићи су коришћени у студији Jarić et al. (2011) за анализу концентрација Ag, Al, As, B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Sr, Zn и Li, где је мишићно ткиво показало најмању тенденцију за акумулацију тешких метала и металоида, мада је концентрација Cd делимично била изнад МДК. Према наводима Subotić et al. (2013а,б) само су концентрације Hg и Zn биле изнад МДК у мишићном ткиву смуђа (*S. lucioperca*), сома (*S. glanis*), манића (*Lota lota*), шарана (*Cyprinus carpio*) и главоча (*Neogobius gymnotrachelus* и *Neogobius melanostomus*). У поређењу са врстама у овој студији, горе поменути аутори су забележили више концентрације скоро свих елемената (Al, As, Cd, Fe, Hg, Mn и Zn у узорцима смуђа и Al, As, Cd, Fe, Hg, Mn и Zn у узорцима сома). Jovičić et al. (2015) су у 14 ткива сома (*S. glanis*) анализирали концентрације As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Se и Zn и све концентрације су биле испод МДК. Концентрације As, Co, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni и Zn су биле више док су концентрације Cd и Pb биле ниже, а концентрације Cr приближне концентрацијама у овој студији. Највећи број врста, толстолобик (*Hypophthalmichthys molitrix*), деверика (*A. brama*), крупатица (*Blicca bjoerkna*), шаран (*C. carpio*) и сом (*S. glanis*) је обухваћен у студији Lenhardt et al. (2012) у којој су Al, As, B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Sr и Zn анализирани у јетри, мишићима, шкргама и гонадама, а констатоване су само концентрације Fe и Zn изнад МДК. Концентрације Al, Fe, Mn и Zn у мишићном ткиву деверике и Cu, Fe, Mn и Zn у мишићном ткиву сома су биле више од концентрација истих метала у истим врстама у овој студији. Ово је веома важан податак с обзиром да су дужине риба у горе наведеној студији биле мање од дужина риба у овој студији. Све поменуте студије су урађене у реци Дунав, углавном у близини главног града Београда. Постоји недостатак литературних података када је у питању садржај тешких метала и металоида у риблим врстама у акумулацијама.

Врста метала, метаболичке особине ткива и степен загађења животне средине тешким металима утичу на ниво биоакумулације метала код риба (Prosi, 1981). *BCF* фактор указује на то да, било да се магнификација одвија кроз трофички ланац, вредност већа од 1 указује на биоакумулацију (Rashed, 2001). Генерално у овој студији, вредности *BCF* фактора су у свим врстама за све метале (сем у неким узорцима за Со и Аl) биле више од 1. Као што је и очекивано, ова студија ја показала да су највише вредности *BCF* фактора констатоване за Hg (Табеле 14 и 15), што је такође потврђено и у студијама Dušek et al. (2005), Has-Schön et al. (2008), Nabavi et al. (2012) и Subotić et al. (2013a,б) који су потврдили да се Hg акумулира у највишим концентрацијама у мишићном ткиву. У овом истраживању *BCF* фактор је имао високе вредности за Fe у Западној Морави и Zn у Јужној Морави и рекама у Источној Србији, као што су Велики Тимок, Млава и Пек. Генерално, предаторске врсте су имале највише вредности *BCF* за Fe, што се може видети и у студији Subotić et al. (2013a). У акумулацијама Гружа и Бован *BCF* вредности су биле највише за бабушку и деверику, док је уклија показала највиши афинитет за биоакумулацију Zn и As, а најнижи за Cd и Ni. Арсен има значајну тенденцију акумулације у седименту (Smedley & Kinniburgh, 2002). Ипак, изгледа да организми који се хране планктонским организмима акумулирају више концентрације арсена, и то највише у мишићном ткиву (Falco et al., 2006; Višnjić-Jeftić et al., 2010), него предаторске врсте риба (Storelli et al. 2005).

MPI вредност је поузданији показатељ од *BCF* фактора у мониторинг студијама загађења вода тешким металима, с обзиром да, за разлику од *BCF*, узима у обзир све метале истовремено. Услед неседентарног начина живота, предатори се хране у мање загађеним подручјима, што резултује нижим вредностима *MPI*. *MPI* вредности за мишићно ткиво смуђа и сома (0.840 и 0.907) у овој студији (Слика 13) су биле ниже од вредности у студији Subotić et al. (2013б) за исте врсте, сличне дужине као и у овом истраживању, а које су израчунате на основу шест елемената (As, Cu, Fe, Hg, Mn и Zn). Исти аутори истичу да су више вредности *MPI* детектоване у шарану и главочу у односу на смуђа и сома услед детриворног начина исхране, узимајући у обзир да је ниво тешких метала у седименту реке Дунав повишен (Babić-Milanović et al., 2003; Crnković et al., 2008; Kristiforović-Ilić et al., 2009; Rowland et al., 2011). И у овој студији то је случај, тако да је чак у Дунаву (локалитет Д₃) и Тиси *MPI* вредност била највиша

за деверику. У студији Jovičić et al. (2015), *MPI* вредности за мишићно ткиво сома, исте дужине као у овом истраживању, израчунате за 11 елемената (As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb и Zn), биле су ниже од 0.1. Премда су *MPI* под утицајем елемената који се користе за његово рачунање, ово можда објашњава разлике између наше и две горе наведене студије. Још један од фактора који утиче на *MPI* вредности је маса рибе (Subotić et al., 2013а,б). И Саџадог et al. (2012) наводе да крупније јединке показују ниже вредности *MPI* (увек мање од 3) у поређењу са другим врстама.

Резултати *BCF* фактора и *MPI* индекса говоре у прилог да су деверика и мрена добри биоиндикатори за успостављање будућих мониторинг студија квалитета воде у рекама, док је бабушка добар биоиндикатор у акумулацијама. С обзиром да су концентрације тешких метала и металоида у акватичној средини биле релативно ниске, високе концентрације тешких метала и металоида у мишићном ткиву деверике, мрене и бабушке су још једна потврда да унос тешких метала и металоида из хране доминира (Dallinger & Kautzky, 1985).

Употребом *MPI* вредности, предложена је класификација загађења вода тешким металима за велике реке у Србији и три акумулације (Табела 16), а резултат ове класификације квалитета воде је формирана мапа загађења вода тешким металима у Србији (Слика 16).

Пољопривреда је већ дуго главни ослонац привреде Србије. Пољопривредне површине заузимају скоро две трећине територије Србије. Агротехничке мере уз неконтролисану употребу хемијских средстава, услед спирања са пољопривредних површина, доприносе загађењу акватичних површина у близини. Процењује се да се око 90% свих индустријских отпадних вода у Србији испушта у акватичну средину без претходног третмана (Milijašević et al., 2010). Река Дунав протиче кроз деветнаест земаља (Sommerwerk et al., 2009) тако да је изложена приливу великих количина отпадних вода (Teodorović et al., 2000). У Србији прима непречишћене отпадне воде из бројних индустријских објеката смештених дуж реке (Stanković, 2006; Milanović et al., 2010), посебно у близини великих градова (Stanić et al., 2006). Бројни индустријски центри (Milanović et al., 2010), као што су Нови Сад, Београд, Панчево и Бор, континуирано испуштају различите загађиваче у ток Дунава кроз Србију (Stanić et al.,

2006). Највећа појединачна „врха“ тачка („*hot spot*“) је индустријски комплекс у близини града Панчева-отпадне воде се испуштају у канализационе отпадне воде које се уливају у Дунав (Jovančević et al., 2005). Осим тога, седимент у Дунаву и његовим притокама, као што су Тиса и Сава, садржи повишен ниво Zn, Mn и Pb (Janković & Jovičić, 1994). На основу претходних студија, Teodorović (2009) који је издвојио тешке метале као главне загађиваче у Дунаву у Србији, посебно изражено између Новог Сада и Београда (два највећа града), и Sakan et al. (2013) који су указали на велику еколошку опасност и потребу за мониторингом стања животне средине у реци Тиси, подстичући развој ефикасне стратегије за смањење локалног загађења, очекивали смо висок ниво загађења риба тешким металима у овој студији. Седимент у близини Београда садржи повишене концентрације As, Cu и Hg, услед загађења које доноси река Сава и недовољно третиране отпадне воде из града (Babić-Mladenović et al., 2003; Crnković et al., 2008; Triebskorn et al., 2008). Река Тиса, притока Дунава, је такође загађена кроз бројне индустријске акциденте у региону Карпата, који има дугу традицију у рударству, посебно Au, Ag, Pb, Zn, Cu, Cd и Mn. И поред свега горе наведеног, мишићно ткиво риба из поменутих река је било незнатно или умерено загађено тешким металима у овој студији. Ипак, концентрације метала у ткивима риба су више него у води. Разлог за то је таложење и акумулирање метала у дубљим слојевима воде, тако да се ови метали акумулирају у ткивима и органима риба услед уноса из седимента или путем исхране.

Sakan et al. (2015) су забележили највеће загађење у узорцима седимената из Западне Мораве, а које потиче из индустријских постројења и рудника, и агротехничких средстава, углавном услед злоупотребе производа који садрже манган, као што су ђубрива и фунгициди. Све ово је вероватно довело до високих *MPI* вредности за мрену у овој реци и то је још један доказ да акумулација метала у рибама потиче из седимента који акумулира тешке метале и чије концентрације су често много пута више него концентрације у слободној води (Salomons & Förstner, 1980), али и организама из седимената који својим активностима могу да избаце неке метале из седимента у слободну воду.

У многим акумулацијама у централном делу Србије наилази се на проблем контаминираних седимената (Ivančev-Tumbas et al., 2004). Када се упореде акумулације Гружа и Бован, констатује се веће оптерећење тешким металима у акумулацији Гружа.

Разлог можда лежи у чињеници да је ова акумулација под већим антропогеним утицајем услед пољопривредних активности на самој обали, нелегалне градње али и магистралног пута који прелази преко акумулације (Milošković et al., 2013). Међутим, у акумулацији Бован забележене су концентрације Pb изнад МДК у месу деверике (0.659 mg kg^{-1}) (Milošković et al., 2014), док су концентрације Fe биле изнад МДК у месу смуђа ($42.899 \text{ mg kg}^{-1}$) (Milošković et al., 2015). Како наводе Wang et al. (2011), разлог је седимент који није само место акумулираних загађивача из воде, већ и секундарни извор загађења.

Слатководне рибе су највише експлоатисани водни ресурс, што представља око четвртину (око 20 милиона тона годишње) светске хране из воде (FAO, 2008). Рибе из отворених вода сматрају се „дивљим“ јер не постоји могућност контроле квалитета животне средине у којој расту (Clarkson, 1998). Такве рибе, као део ланца исхране, представљају највероватније пут изложености хумане популације различитим загађивачима, међу којима су и тешки метали.

Иако постоје различите нутритивне предности услед конзумације рибе, углавном због садржаја протеина високог квалитета (рибе обезбеђују 17% од укупних протеина животињског порекла и 6% од укупног уноса протеина), витамина и есенцијалних нутријената (Adeyeye, 2002; Zalloua et al., 2007; Ersoy & Celik, 2010), до данас није истражена равнотежа између користи и ризика услед конзумације загађеног рибљега меса хемијским загађивачима, а самим тим и тешким металима (Domingo et al., 2007).

У овој студији, забележена је концентрација Hg (0.62 mg kg^{-1}) изнад МДК вредности у мишићном ткиву сома у Дунаву (локалитет Д₃) (Milošković et al., 2016). Најчешћи пут уноса живе у људски организам је употреба у исхрани рибе из живом загађеног подручја, а највећу опасност по људско здравље представља органски облик, тј. метил-жива (Clarkson, 1990; WHO, 1990; Shimshack et al., 2007). Жива негативно утиче на нервни систем, кардиоваскуларни и имуни систем, тако да је неопходан мониторинг укупне живе и њене органске форме у мишићном ткиву риба (Sedláčková et al., 2013). У студији Subotić et al. (2013б) такође је констатована повишена концентрација Hg у мишићном ткиву сома. Концентрација Cd (0.09 mg kg^{-1}) изнад

МДК је констатована у Дунаву (локалитет Д₁). Jovičić et al. (2014) наводе да рибље месо са повишеним концентрацијама Hg и Cd из Дунава може да се користи у људској исхрани само у ограниченим количинама и да је неопходно да се успостави перманентни мониторинг у овој области. Пошто су концентрације Hg и Cd биле изнад МДК у Западној Морави (локалитет ЗМ₁) и Јужној Морави (локалитет ЈМ₂), односно концентрације Pb у Западној Морави (локалитети ЗМ₁ и ЗМ₂), Ибру, Дрини и Великом Тимоку предлажемо да риболов на овим рекама треба да се ограничи због потенцијалног ризика за здравље људи. Највеће загађење металима Pb (15.8 µg/L), Ni (41.11 µg/L) и Cd (0.8 µg/L) је констатовано у граду Крушевцу (Dević et al., 2013). Крушевац припада басену Западне Мораве која је изложена великим неконтролисаним уносом метала из антропогених извора (Sakan et al., 2011). Познато је да олово индукује смањени когнитивни развој и интелектуални учинак код деце и повећава крвни притисак и кардиоваскуларне болести код одраслих (Commission of the European Communities, 2001). Према су обично концентрације олова у води ниске, чак и када су високе концентрације у седименту, храна је значајан извор овог метала за рибе (Javed & Nayat, 1996; Clearwater et al., 2000). Када су у питању акумулације, забележена је концентрација Cd изнад МДК у месу деверике из акумулације Александровац (0.07 mg kg⁻¹). Концентрација Pb је била изнад МДК у месу деверике из акумулације Бован (0.659 mg kg⁻¹) и из акумулације Александровац (0.33 mg kg⁻¹), док је концентрација Fe била изнад МДК у месу смуђа (42.899 mg kg⁻¹) из акумулације Бован.

Ова студија остварила је свој примарни циљ, мапу загађења вода тешким металима у Србији, као основу за даља истраживања. Током протекле две деценије, у Србији није дошло до експанзије индустријских активности, што је резултирало једва приметним антропогеним уносом тешких метала у реке које се налазе у близини индустрије, тако да су велике реке данас незнатно загађене. С друге стране, Западна Морава и Пек могу да се означе као реке које су загађене када су у питању тешки метали. Претпоставка је да је загађење тешким металима 1990-тих заробљено у седименту, што је довело до повишених концентрација тешких метала и металоида у врстама које живе и хране се при дну. Стога, предложена мапа загађења вода тешким металима у Србији показује тренутно стање читавог екосистема. Ниво акумулације тешких метала у свакој од истраживаних врста вероватно представља последицу присуства ових полутаната у животној средини, како у води тако и у седименту.

6. Закључци

На основу резултата ових истраживања, могу да се изведу следећи закључци:

- Дobar одговор риба на промене животне средине чини их погодним биоиндикаторима загађења у интегрисаним системима заштите животне средине.
- Највише концентрације Zn, Fe и Al и најниже концентрације Cd, Co и Ni констатоване су у мишићном ткиву свих врста.
- Присутан је веома висок степен диференцијалне акумулације тешких метала и металоида међу различитим врстама у рекама. Деверика се издваја са највишим концентрацијама As и Cu, док се сом издваја са највишим концентрацијама Cd и Hg, а смуђ са највишим концентрацијама Al. Са друге стране, мрена се издваја са највишим концентрацијама Mn и Hg.
- У акумулацији Гружа издваја се бабушка са највишом концентрацијом Cu, док се сом издваја са највишом концентрацијом Pb.
- У акумулацији Бован издваја се деверика са највишом концентрацијом Fe, док се смуђ издваја са највишом концентрацијом Mn.
- У акумулацији Александровац забележене су статистички значајне разлике за Hg, Zn и Ni, са највишим концентрацијама Hg и Zn у бабушки и Ni у деверици.
- Уклија показује највећи афинитет за акумулацију Zn, Fe, Mn и Al а најмањи за Cd и Co. На основу акумулације тешких метала и металоида у композитним узорцима уклије, издваја се акумулација Завој са највишом концентрацијом As, док се Власина издваја са највишом концентрацијом Fe.
- *BCF* фактор указује на високу биоакумулативност, изузев Co и Al код неких узорака, свих тешких метала и металоида код свих врста. У рекама су забележене највише вредности *BCF* фактора за Hg и Pb, док су у акумулацијама констатоване највише вредности *BCF* фактора за Hg и Zn. Генерално се издвајају предаторске врсте са највишим вредностима *BCF* фактора за Hg.

- Бентофагне врсте деверика и мрена, које се хране у близини дна, препознате су као осетљиви биоиндикатори загађења воде тешким металима. Предаторска врста сом, али и омниворна врста бабушка, такође, показују важан биоиндикаторски потенцијал.
- Ова студија јасно показује да је *MPI* поуздан индекс за одређивање статуса загађења мишићног ткива тешким металима, представљајући јасну слику загађења акватичних екосистема тешким металима. Имајући то у виду, *MPI* индекс потенцијално може да буде укључен у комплексне програме мониторинга слатководних екосистема.
- Уз коришћење вредности *MPI* индекса, предложена је класификација загађења вода тешким металима већих река и акумулација у Србији која указује на просторни распоред метала, што је довело до идентификације локалитета без утицаја директног загађења тешким металима, незнатно загађених и загађених локалитета. Као резултат ове класификације, формирана је мапа загађења вода тешким металима у Србији.
- Према овој класификацији, река Тиса може да буде категорисана као локалитет без утицаја директног загађења тешким металима, док Западна Морава и Пек могу да се категоришу као загађени екосистеми. Остали локалитети на рекама су незнатно загађени.
- Гружа, Бован и Александровац, према *MPI* вредностима, могу да се сврстају у незнатно загађене екосистема (са *MPI* вредностима између 0.3 и 0.6). Издваја се акумулација Гружа са највишом *MPI* вредности (0.56), док је акумулација Бован са *MPI* вредности од 0.3 на граници две категорије, без утицаја директног загађења и незнатно загађена.
- Концентрације As, Fe, Cu и Zn у месу (мишићном ткиву) свих врста риба у овој студији су биле испод МДК прописаних од стране Европске Комисије (1881/2006/ЕС) и Републике Србије (Службени гласник РС 2011). Концентрације Hg биле су изнад МДК само у месу сома (0.62 mg kg^{-1}) са локалитета Д₃ и мрене (0.78 mg kg^{-1}) са локалитета ЗМ₁, док је концентрација Cd

била изнад МДК у месу сома (0.09 mg kg^{-1}) са локалитета Д₁ и клена (0.1 mg kg^{-1}) са локалитета ЈМ₂. Издваја се Рb са концентрацијама које су биле изнад МДК у месу мрене (локалитети ЗМ₁, ЗМ₂, И и ВТ), клена (локалитети ЗМ₁, ЗМ₂, И, ДР и ВТ) и скобаља (локалитети ЗМ₂ и П) са највишом концентрацијом у месу мрене (0.82 mg kg^{-1}) из Западне Мораве (локалитет ЗМ₁).

- Када су у питању акумулације, забележена је концентрација Cd изнад МДК у месу деверике из акумулације Александровац (0.07 mg kg^{-1}). Концентрација Рb је била изнад МДК у месу деверике из акумулације Бован (0.659 mg kg^{-1}) и из акумулације Александровац (0.33 mg kg^{-1}), док је концентрација Fe била изнад МДК у месу смуђа ($42.899 \text{ mg kg}^{-1}$) из акумулације Бован.
- У уклији, иако је за анализе коришћен компост јединки, нису забележене концентрације метала изнад МДК.
- С обзиром да за многе тешке метале још увек не постоје установљене максимално дозвољене концентрације, како у законодавству Републике Србије, тако и на међународном нивоу, у циљу успостављања квалитетнијег мониторинга животне средине и ефикасније контроле тешких метала у рибљем месу и производима од рибе, неопходно је да овај проблем буде решен у што скоријој будућности.
- У будућности ће бити важно и да се дефинише одговарајућа количина рибљег меса које може несметано да се користи у људској исхрани.

7. Литература

- Adámek Z., Fasaic K., Siddiqui M.A. (1999). Prey selectivity in wels (*Silurus glanis*) and African catfish (*Clarias gariepinus*). *Ribarstvo*, 57: 47-60.
- Adeyeye E.I. (2002). Determination of the chemical composition of the nutritionally valuable parts of male and female common west African fresh water crab *Sudananautes africanus africanus*. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 53: 189-196.
- Adhikari S., Ghosh L., Ayyappan S. (2006). Combined effects of water pH and alkalinity on the accumulation of lead, cadmium and chromium to *Labeo rohita* (Hamilton). *International Journal of Environmental Science and Technology*, 3(3): 289-296.
- Adhikari S., Ghosh L., Rai S.P., Ayyappan S. (2009). Metal concentrations in water, sediment, and fish from sewage-fed aquaculture ponds of Kolkata, India. *Environmental Monitoring and Assessment*, 159: 217-30.
- Agah H., Leemakers M., Elskens M., Fatemi S.M.R., Baeyens W. (2009). Accumulation of trace metals in the muscles and liver tissues of five fish species from the Persian Gulf. *Environmental Monitoring and Assessment*, 157: 499-514.
- Agarwal R., Kumar R., Behari J.R. (2007). Mercury and lead content in fish species from the River Gomti, Lucknow, India, as biomarkers of contamination. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 78: 118-122.
- Alam M.G., Allinson G., Stagnitti F., Tanaka A., Westbrooke M. (2002). Arsenic contamination in Bangladesh groundwater: a major environmental and social disaster. *International Journal of Environmental Health Residues*, 12: 235-253.
- Alhas E., Ahmet Oymak S., Karadede Akin H. (2009). Heavy metal concentrations in two barb, *Barbus xanthopterus* and *Barbus rajanorum mystaceus* from Atatürk Dam Lake, Turkey. *Environmental Monitoring and Assessment*, 148: 11-18.
- Alloway B.J. (2013). Heavy metals in soils: trace metals and metalloids in soils and their bioavailability. Netherlands: Springer, 3rd ed., pp 613.
- Altindag A. & Yigit S. (2005). Assessment of heavy metal concentrations in the food web of lake Beysehir, Turkey. *Chemosphere*, 60: 552-556.
- Al-Yousuf M.H. & El-Shahawi M.S. (1999). Trace metals in *Lethrinus lentjan* fish from the Arabian Gulf (Ras Al-Khaimah, United Arab Emirates): metal accumulation in kidney and heart tissues. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 62: 293-300.

- Amundsen P.A., Staldivik F.J., Lukin A.A., Kashulin N.A., Popova O.A., Reshetnikov I.S. (1997). Heavy metal contamination in freshwater fish from the border region between Norway and Russia. *Science of Total Environment*, 201: 211-224.
- ATSDR, A.f.T.S.a.D.R. (2003). Toxicological Profile for Cadmium. U.S. Department of Health and Humans Services, Public Health Service, Centres for Diseases Control, Atlanta, GA.
- Babić Mladenović M., Spasojević M., Damjanović M. (2003). Sedimentation Upstream from the Iron Gate Dam: Research Needs Expanding to the Danube Basin, Pre-print papers of ICCORES-UNESCO Workshop "From watershed slopes to coastal areas: sedimentation processes at different scales", Venice, Italy, 3-5.12.2003.
- Barbour M.T., Gerritsen J., Snyder B.D., Stribling J.B. (1999). Rapid bioassessment protocols for use in streams and wadeable rivers: periphyton, benthic macroinvertebrates and fish, EPA 841-B-99v002, Second Edition, U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington D.C.
- Barlas N. (1999). A pilot study of heavy metal concentration in various environments and fishes in the Upper Sakarya River Basin. *Turkey Environmental Toxicology*, 14: 367-373.
- Barron G. M. (1990). Bioconcentration. *Environmental Science and Technology*, 24: 1612-1618.
- Baruš V. & Oliva O. (1995). Fauna of the Czech and Slovak Republic-lampreys and fishes. Prague: Academia.
- Batvari B. P., Karmala D. S., Shanthi K., Krishnamoorthy R., Lee K. G., Jayaprakash M. (2007). Heavy metals in two fish species (*Carangoidel malabaricus* and *Belone stronglurus*) from Pulicat lake, North of Chennai, southeast India. *Environmental Monitoring and Assessment*, 79: 1800-1809.
- Becquer T., Quantin, C., Sicot M., Boudot J. P. (2003). Chromium availability in ultramafic soils from New Caledonia. *Science of Total Environment*, 301: 251-61.
- Bervoets L. & Blust R. (2003). Metal concentrations in water, sediments and gudgeon (*Gobio gobio*) from a pollution gradient: relationship with fish condition factor. *Environmental Pollution*, 126: 9-19.
- Bervoets L., Blust R., Verheyen R. (2001). Accumulation of metals in the tissues of three spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) from natural freshwaters. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 48: 117-127.

- Blevins R.D., Pancorbo O.C. (1986). Metal concentrations in muscle of fish from aquatic systems in East Tennessee, USA. *Water, Air, and Soil Pollution*, 29: 361-371.
- Botkin D. B. & Keller E. D. (1995). Environmental Science. Earth as a living planet. John of Qua Ibeo River in Southern Nigeria. *Journal Natural and Applied Science*, 2: 82-90.
- Burger J., Gaines K. F., Boring C. S., Stephens W. L., Snodgrass J., Dixon C., et al. (2002). Metal levels in fish from the Savannah River: potential hazards to fish and other receptors. *Environmental Research Section A*, 89: 85-97.
- Burger J. (2006). Bioindicators: Types, Development, and Use in Ecological Assessment and Research. *Environmental Bioindicators*, 1(1): 22-29.
- Caçador I., Costa J.L., Duarte B., Silva G., Medeiros J.P., Azeda C., Castro N., Freitas J., Pedro S, Almeida P.R., Cabral H., Costa M.J. (2012). Macroinvertebrates and fishes as biomonitors of heavy metal concentration in the Seixal Bay (Tagus Estuary): which species perform better? *Ecological Indicators*, 19: 184-190.
- Canli M. & Atli G. (2003). The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Environmental Pollution*, 121: 129-36.
- Carol J., Zamora L., García-Berthou E. (2007). Preliminary telemetry data on the movement patterns and habitat use of European catfish (*Silurus glanis*) in a reservoir of the River Ebro, Spain. *Ecology of Freshwater Fish*, 16: 450-456.
- Carrasco L., Barata C., Garcia-Berthou E., Tobias A., Bayona J.M., Diez S. (2011). Patterns of mercury and methylmercury bioaccumulation in fish species downstream of a long-term mercury-contaminated site in the lower Ebro River (NE Spain). *Chemosphere*, 84: 1642-1649.
- Carvalho M.L., Santiago S., Nunes M.L. (2005). Assessment of the essential element and heavy metal content of edible fish muscle. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 382: 426-432.
- Čelechovská O., Svobodová Z., Žlábek V., Macháračková B. (2007). Distribution of metals in tissues of the common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Veterinaria Brno*, 76: 93-100.
- Chalermspanimit S. (2006). Accumulation of heavy metals in water, sediment and aquatic plants in Snakeskin Gourami Fish Raising Pond at Amphawa Distric. Samut Songkhram Provision. M.Sc. Thesis. Faculty of Graduate Studies. Mahido University.

- Chen C.Y., Stemberger R.S., Klaue B., Blum J.D., Pickhardt P.C., Folt C.L. (2000). Accumulation of heavy metals in food web components across a gradient of lakes. *Limnology and Oceanography*, 45(7): 1525-1536.
- Cid B.P., Boia C., Pombo L., Rebelo E. (2001). Determination of trace metals in fish species of the Rio de Aveiro (Portugal) by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry*, 75: 93-100.
- Ciesielski T., Pastukhov M. V., Szefer P., Jenssen B. M. (2010). Bioaccumulation of mercury in the pelagic food chain of Lake Baikal. *Chemosphere*, 78: 1378-1384.
- Çınar K., Aksoy A., Emre Y., Aşti N.R. (2009). The histology and histochemical aspects of gills of the flower fish, *Pseudophoxinus antalyae*. *Veterinary Research Communications*, 33: 453-460.
- Clarkson T. W. (1990). Human health risks from methylmercury in fish. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 9: 957-961.
- Clarkson T. W. (1998). Human toxicology of mercury. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 11(2-3): 303-317.
- Clearwater S.J., Baskin S.J., Wood C.M., MacDonald D.G. (2000). Gastrointestinal uptake and distribution of copper in rainbow trout. *Journal of Experimental Biology*, 203: 2455-2466.
- Çogun H.Y., Yuzeroglu T.A., Firat O., Gök G., Kargin F. (2006). Metal concentrations in fish species from the northeast Mediterranean Sea. *Environmental Monitoring and Assessment*, 121: 431-438.
- Cohen M.D., Kargacin B., Klein C.B., Costa M. (1993). Mechanisms of cadmium cancerogenicity and toxicity. *Critical Reviews in Toxicology*, 23: 255-268.
- Commission of the European Communities (2001). Commission regulation (EC) No. 221/2002 of 6 February 2002 amending regulation (EC) No. 466/2002 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Communities, Brussels, 6 Feb 2002.
- Copat C., Maggiore R., Arena G., Lanzafame S., Fallico R., Sciacca S., Ferrante M. (2012a). Evaluation of a temporal trend heavy metals contamination in *Posidonia oceanica* (L.) Delile, (1813) along the western coastline of Sicily (Italy). *Journal of Environmental Monitoring*, 14: 187-192.

- Copat C., Brundo M.V., Arena G., Grasso A., Oliveri Conti G., Ledda C., Fallico R., Sciacca S., Ferrante M. (20126). Seasonal variation of bioaccumulation in *Engraulis encrasicolus* (Linneaus, 1758) and related biomarkers of exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 86: 31-37.
- Copp G.H., Britton J.R., Cucherousset J., García-Berthou E., Kirk R., Peeler E., Stakenas S. (2009). Voracious invader or benign feline? A review of the environmental biology of European catfish *Silurus glanis* in its native and introduced ranges. *Fish and Fisheries*, 10: 252-282.
- Crnković D.M., Crnković N.S., Filipović A.J., Rajaković Lj.V., Perić-Grujić A.A., Ristić M.Đ. (2008). Danube and Sava River sediment monitoring in Belgrade and its surroundings. *Journal of Environmental Science and Health A* 43(12): 1353-1360.
- Dalinger R. & Kautzky H. (1985). The importance of contaminated food uptake of heavy metals by rainbow trout (*Salmo gairdneri*): a field study. *Oecologia*, 67(1): 82-89.
- Dallinger R., Prosi F., Segner H., Back H. (1987). Contaminated food and uptake of heavy metals by fish: a review and a proposal for further research. *Oecologia*, 73: 91-98.
- Dalmacija B. & Agbaba J. Ed. (2008). Zagađujuće materije u vodenim ekosistemima i remedijacioni procesi. PMF, Departman za hemiju.
- Darko G., Akoto O., Oppong C. (2008). Persistent Organochlorine pesticide residues in fish, sediments and water from Lake Bosomtwi, Ghana. *Chemosphere*, 72: 21-24.
- Demirak A., Yilmaz F., Tuna L.A., Ozdemir N. (2006). Heavy metals in water, sediment and tissues of *Leuciscus cephalus* from a stream in southwestern Turkey. *Chemosphere*, 63: 1451-1458.
- Denton G.R.W., Wood H.R., Concepcion L.P., Siegrist H.G., Eflin V.S., Narcis D. K., Pangelinan G.T. (1997). Analysis of In-Place Contaminants in Marine Sediments from Four Harbor Locations on Guam: A Pilot Study, Water and Environmental Research Institute of the Western Pacific, Technical Report No. 87, University of Guam, Mangilao, Guam.
- Devesa V., Vélez D., Montoro R. (2008). Effect of thermal treatments on arsenic species contents in food. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 1-8.
- Domingo J.L., Bocio A., Falco G., Llobet J.M. (2007). Benefits and risks of fish consumption. Part I. A quantitative analysis of the intake of omega-3 fatty acids and chemical contaminants. *Toxicology*, 230: 219-226.

- Dragun Z., Erk M., Ivankovic D., Zaja R., Marijic Filipovic V., Raspor B. (2010). Assessment of low-level metal contamination using the Mediteranean mussel gills as the indicator tissue. *Environmental Science and Pollution Research*, 17: 977-986.
- Duruibe J. O., Ogwuegbu M.C., Egwurugwu J. N. (2007). Heavy metal pollution and human biotoxic effects. *International Journal of Physical Sciences*, 2: 112-118.
- Dušek L., Svobodová Z., Janoušková D., Vykusová B., Jarkovský J., Šmid R., Pavliš R. (2005). Bioaccumulation of mercury in muscle tissue of fish in the Elbe River (Czech Republic): multispecies monitoring study 1991-1996. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 61(2): 256-267.
- Erdoğan Ö. & Erbilir F. (2007). Heavy metal and trace elements in various fish samples from Sir Dam Lake, Kahramanmaraş, Turkey. *Environmental Monitoring and Assessment*, 130: 373-379.
- Ersoy B. & Celik M. (2010). The essential and toxic elements in tissues of six commercial demersal fish from Eastern Mediterranean Sea. *Food Chemistry and Toxicology*, 48: 1377-1382.
- European Commission Regulation (2006). Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Union No 1881/2006.
- Falco G., Llobet J.M., Bocio A., Domingo J.L. (2006). Daily intake of arsenic, cadmium, mercury, and lead by consumption of edible marine species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 6106-6112.
- Falco G., Llobet J.M., Bocio A., Domingo J.L. (2006). Daily intake of arsenic, cadmium, mercury, and lead by consumption of edible marine species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 6106-6112.
- Fallah A.A., Saei-Dehkordi S.S., Nematollahi A., Jafari T. (2011). Comparative study of heavy metal and trace element accumulation in edible tissues of farmed and wild rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using ICP-OES technique. *Microchemical Journal*, 98: 275-279.
- FAO/WHO (1998). Expert vitamin and mineral requirements in human nutrition: report of a joint FAO/WHO expert consultation. Bangkok, Thailand, 21-30 September 1998.
- Farkas A., Salánki J., Specziár A. (2002). Relation between growth and the heavy metal concentration in organs of bream *Abramis brama* L. populating Lake Balaton. *Archiv of Environmental Contamination and Toxicology*, 43: 236-243.

- Farkas A., Salánki J., Varanka I. (2005). Heavy metal concentrations in fish of Lake Balaton. *Lakes & Reservoirs Research & Management*, 5: 271-279.
- Farkas, A., Salánki, J., Specziár, A. (2003). Age-and size specific patterns of heavy metals in the organs of freshwater fish *Abramis brama* L. populating a low-contaminated site. *Water Research*, 37(5): 959-964.
- Fergusson J.E. (1990). *The Heavy Elements: Chemistry, Environmental Impact and Health Effects*, Pergamon Press, Oxford, England.
- Fernandez L. G., Olalla H. Y. (2000). Toxicity and bioaccumulation of lead and cadmium in marine protozoan communities. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 47(3): 266-276.
- Finkelman R.B. (2005). Sources and Health Effects of Metals and Trace Elements in our Environment: An Overview in T.A. Moore, A. Black, J.A. Centeno, J.S. Harding, D. A. Trumm (ed.), *Metal Contaminants in New Zealand*, Resolutionz Press, Christchurch, New Zealand, 25-46.
- Francis A. & Forsyth C. (2005). Toxicity profile of manganese. [<http://rais.ornl.gov/tox/profiles/mn.shtml>], (accessed February 2011).
- Gál J., Hursthouse A., Tatner P., Stewart F., Welton R. (2008). Cobalt and secondary poisoning in the terrestrial food chain: data review and research gaps to support risk assessment. *Environmental International*, 34: 821-838.
- Gammons C.H., Slotton D.G., Gerbrandt B., Weight W., Young C.A., Mc Nearnly R.L., et al. (2006). Mercury concentration of fish, river water, and sediment in the Río Ramis-Lake Titicaca watershed, Peru. *Science of Total Environment*, 368: 637-48.
- Gao Y., Feng Q., Ren D., Qiao L., Li S. (2010). The relationship between trace elements in fish otoliths of wild carp and hydrochemical conditions. *Fish Physiology and Biochemistry*, 36: 91-100.
- Garcia-Santos S., Fontainhas-Fernandes A., Wilson J.M. (2006). Cadmium tolerance in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) following acute exposure: assessment of some ionoregulatory parameters. *Environment Toxicology*, 21: 33-46.
- Gavrilović Lj. & Dukić D. (2002). *Reke Srbije*. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva.
- Ghillebaert F., Chaillou C., Deschamps F., Roubaud P. (1995). Toxic effects, at three pH levels, of two reference molecules on common carp embryo. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 32(1): 19-28.

- Giesy J.P., Wiener J.G. (1977). Frequency distribution of trace metal concentrations in five freshwater fishes. *Transactions of the American Fisheries Society*, 106: 393-403.
- Golovanova I.L. (2008). Effects of heavy metals on the physiological and biochemical status of fishes and aquatic invertebrates. *Inland Water Biology*, 1: 93-101.
- Goyer R.A. & Clarksom W.T. (2001). Toxic effects of metals. In: C.D. Klaassen (Ed.), Casarett and Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons, McGraw-Hill, NY, pp. 811-867.
- Gül A., Yılmaz M., Benzer S., Taşdemir L. (2011). Investigation of Zinc, Copper, Lead and Cadmium Accumulation in the Tissues of *Sander lucioperca* (L., 1758) Living in Hirfanlı Dam Lake, Turkey. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 87: 264-266.
- Gwaltney-Brant S.M. & Rumble W.K. (2002). Newer antidotal therapies. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 32: 323-339.
- Has-Schön E., Bogut I., Kralik G., Bogut S., Horvatić J., Cacić I. (2008). Heavy metal concentration in fish tissues inhabiting waters of "Buško Blato" reservoir (Bosna and Herzegovina). *Environmental Monitoring and Assessment*, 144(1-3): 15-22.
- Has-Schön E., Bogut I., Strelec I. (2006). Heavy metal profile in five fish species included in human diet, domiciled in the end flow of River Neretva (Croatia). *Archiv of Environmental Contamination and Toxicology*, 50: 545-551.
- Havelkova M., Dušek L., Nemethova D., Poleszczuk G., Svobodova Z. (2008). Comparison of mercury distribution between liver and muscle - A biomonitoring of fish from lightly and heavily contaminated localities. *Sensors*, 8: 4095-4109.
- Hentze M. W., Muckenthaler M. U., Andrews N. C. (2004). Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism. *Cell*, 117: 285-297.
- Hodgson E. (2004). A Text Book of Ecotoxicology (3rd ed.). John Wiley and Sons Inc. New York. pp 54-240.
- IUCN (2012). The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2012. <http://www.iucnredlist.org>. Downloaded on 17 October 2012.
- Ivančev-Tumbas I., Dalmacija B., Maljević E., Tričković J., Rončević S., Agbaba J. (2004). Sediment quality in Serbia-current state and the actions needed. In: 2nd European Conference on dredged sludge remediation, Amsterdam, The Netherlands.

- Ivančić T., Ivancic O., Klein D.J. (2006). Modelling the bioconcentration factors and bioaccumulation factors of polychlorinated biphenyls with posetic quantitative super structure/activity relationships (QSSAR). *Mol Divers*, 10: 133-145.
- Izu-Iyawu O.K., Asia I.O., Egwakhide P.A. (2007). Concentration of residues from organochlorine pesticides in water and fish from some rivers in Edo State Nigeria. *International Journal of Physical Sciences* 2(9): 237-241.
- Janković J. & Jovičić M. (1994). Concluding considerations. In *The Danube in Yugoslavia*, D. Janković and M. Jovičić, Eds., pp. 213-218, Institute for Biological Research, Belgrade, Serbia.
- Jarić I., Višnjić-Jeftić Ž., Cvijanović G., Gačić Z., Jovanović Lj., Skorić S., Lenhardt M. (2011). Determination of differential heavy metal and trace element accumulation in liver, gills, intestine and muscle of starlet (*Acipenser ruthenus*) from the Danube River in Serbia by ICP-OES. *Microchemical Journal*, 98: 77-81.
- Järup L. (2003). Hazards of heavy metal contamination. *British Medical Bulletin*, 68: 167-182.
- Javed M. & Hayat S. (1996). Planctonic productivity of river water as a bio-indicator of freshwater contamination by metals. *Proceedings of Pakistan Congress of Zoology*, 16: 298-383.
- Johnson A. C. (2010). Natural variations in flow are critical in determining concentrations of point source contaminants in rivers: an estrogen example. *Environmental Science & Technology*, 44(20): 7865-7870.
- Jordao C.P., Pereira M.G., Bellato C.R., Pereira J.L., Matos A.T. (2002). Assessment of water systems for contaminants from domestic and industrial sewages. *Environmental Monitoring and Assessment*, 79: 75-100.
- Jorgensen SE. (2011). Handbook of ecological models used in ecosystem and environmental management. Denmark: Copenhagen University.
- José L., Sánchez-Brunete C., Alberto B., Gonzalés L. (2004). Analysis of Pesticide Residues in Juice and Beverages. *Critical Reviews and Analytical Chemistry*, 34(2): 165-175.
- Jovančević B.S., Antić M.P., Solević T.M., Vrvić M.M., Kronimus A., Schwarzbauer J. (2005). Investigation of interactions between surface water and petroleum-type pollutants. *Environal Science and Pollution Research*, 12(4): 205-212.

- Jovičić K., Nikolić D.M., Višnjić-Jeftić Ž., Đikanović V., Skorić S., Stefanović S.M., Lenhardt M., Hegediš A., Krpo-Ćetković J., Jarić I. (2015). Mapping differential elemental accumulation in fish tissues: assessment of metal and trace element concentrations in wels catfish (*Silurus glanis*) from the Danube River by ICP-MS. *Environmental Science and Pollution Research International*, 22(5): 3820-3827.
- Kalay M., Ay Ö., Canli M. (1999). Heavy metal concentrations in fish tissues from the northeast Mediterranean Sea. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 63: 673-681.
- Karadede H., Oymak S.A., Ünlü E. (2004). Heavy metals in mullet *Liza abu*, and catfish, *Silurus triostegus* from the Atatürk Dam Lake (Euphrates), Turkey. *Environmental International*, 30: 183-188.
- Kasiotis K.M. (2009). Organochlorine pesticide residues in mussels of Greek island Evia. *International Journal of Chemistry*, 1(2): 1-6.
- Kenšová R., Čelechovská O., Doubravová J., Svobodová Z. (2010). Concentrations of metals in tissues of fish from the Věstonice Reservoir. *Acta Veterinaria Brno*, 79: 335-345.
- Kojadinović J., Potier M., Le Corre M., Cosson R.P., Bustamante P. (2007). Bioaccumulation of trace elements in pelagic fish from the Western Indian Ocean. *Environmental Pollution*, 146: 548-66.
- Kottelat M. & Freyhof J. (2007). Handbook of European freshwater fishes. Kottelat, Cornol, Switzerland and Freyhof, Berlin, Germany.
- Kotze P., du Preez H.H., van Vuren J.H.J. (1999). Bioaccumulation of copper and zinc in *Oreochromis mossambicus* and *Clarias gariepinus*, from the Olifants River, Mpumalanga, South Africa. *Water SA*, 25(1): 99-110.
- Krewski D., Yokel R.A., Nieboer E., Borchelt D., Cohen J., Harry J., Kacew S., Lindsay J., Amal M., Mahfouz A.M., Rondeau V. (2007). Human health risk assessment for aluminium, aluminium oxide, and aluminium hydroxide. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B: Critical Reviews*, 10(1): 1-269.
- Kristoforović-Ilić M., Bjelanović J., Ilić M., Vidović M. (2009). Arsenic contamination in environment in the region of Vojvodina. *Central European Journal of Public Health*, 17(3): 152-157.
- Lau S., Mohammed M.A., Yen T.C., Su'ut S. (1998). Accumulation of heavy metals in fresh water molluscs. *Science of Total Environment*, 214: 113-121.

- Lenhardt M., Jarić I., Višnjić-Jeftić Ž., Skorić S., Gačić Z., Pucar M., Hegediš A. (2012). Concentrations of 17 elements in muscle, gills, liver and gonads of five economically important fish species from the Danube River. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 407, 02.
- 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. Review Article. *Slovenian Veterinary Research*, 52 (1): 5-13.
- Luoma N. S. & Rainbow S.P. (2008). Metals Contamination in Aquatic Environments: Science and Lateral Mangement. Cambridge University press. UK.
- MacDonald D.D., Ingersoll C.G., Berger T.A. (2000). Development and evaluation of consensus-based sediment quality guidelines for freshwater ecosystems. *Archiv of Environmental Contamination and Toxicology*, 39: 20-31.
- Maceda-Veiga A., Monroy M., de Sostoa A. (2012). Metal bioaccumulation in the Mediterranean barbel (*Barbus meridionalis*) in a Mediterranean River receiving effluents from urban and industrial wastewater treatment plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 76: 93-101.
- Maceda-Veiga A., Monroy M., Navarro E., Viscor E., de Sostoa A. (2013). Metal concentrations and pathological responses of wild native fish exposed to sewage discharge in a Mediterranean river. *Science of Total Environment*, 449: 9-19.
- Malik N., Biswas A.K., Qureshi T.A., Borana K., Virha R. (2010). Bioaccumulation of heavy metals in fish tissues of a freshwater lake of Bhopal. *Environmental Monitoring and Assessment*, 160: 267-276.
- Manojlović P., Mustafić S., Mladenović B. (2012). Chemical and mechanical water erosion ratio in the Mlava River basin. *Glasnik Srpskog geografskog drustva*, 92(1): 27- 46.
- Mason R.P., Laporte J.M., Andres S. (2000). Factors controlling the bioaccumulation of mercury, methylmercury, arsenic, selenium, and cadmium by freshwater invertebrates and fish. *Archiv of Environmental Contamination and Toxicology*, 38: 283-97.
- McGeer J., Henningsen G., Lanno R., Fisher N., Sappington N., Drexler J. (2004). Issue paper on the bioavailability and bioaccumulation of metals. US Environmental Protection Agency Risk Assessment Forum. pp 126.
- Meche A., Martins M.C., Lofrano B.E.S.N., Hardaway C.J., Merchant M., Verdade L. (2010). Determination of heavy metals by inductively coupled plasma-optical

- emission spectrometry in fish from the Piracicaba River in Southern Brazil. *Microchemical Journal*, 94: 171-174.
- Merciai R., Guasch H., Kumar A., Sabater S., García-Berthou E. (2014). Trace metal concentration and fish size: Variation among fish species in a Mediterranean river. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 107: 154-161.
- Milanović A., Kovačević-Majkić J., Milivojević M. (2010). Water quality analysis of Danube River in Serbia-pollution and protection problems. *Glasnik Srpskog geografskog društva*, 90(2): 59-68.
- Milenković N., Damjanović M., Ristić M. (2005). Study of Heavy Metal Pollution in Sediments from the Iron Gate (Danube River), Serbia and Montenegro. *Polish Journal of Environmental Studies*, 6(14): 781-787.
- Milošković A., Branković S., Simić V., Kovačević S., Ćirković M., Manojlović D. (2013). The Accumulation and Distribution of Metals in Water, Sediment, Aquatic Macrophytes and Fishes of the Gruža Reservoir, Serbia. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 90(5): 563-569.
- Milošković A., Dojčinović B., Simić S., Pavlović M., Simić V. (2014). Heavy Metal and Trace Element Bioaccumulation in Target Tissues of Three Edible Predatory Fish Species from Bovan Reservoir (Serbia). *Fresenius Environmental Bulletin* 23(8A): 1884-1891.
- Milošković A., Simić V. (2015). Arsenic and Other Trace Elements in Five Edible Fish Species in Relation to Fish Size and Weight. Potential Health Risk for Human Consumption, Serbia. *Polish Journal of Environmental Studies* 24(1): 199-206.
- Milošković A., Dojčinović B., Kovačević S., Radojković N., Radenković M., Milošević Dj., Simić V. (2016) Spatial monitoring of heavy metals in the inland waters of Serbia: a multispecies approach based on commercial fish. *Environmental Science and Pollution Research* 23(10): 9918-9933.
- Milijašević D., Brankov J., Milanović A. (2010). Water quality in the Hydro-system Danube-Tisza-Danube. In *Proceedings of the BALWOIS Conference*, pp. 1-7, Ohrid, Macedonia.
- Miller C.V., Foster G.D., Majedi B.F. (2003). Baseflow and stormflow metal fluxes from two small agricultural catchments in the coastal plain of Chesapeake Bay Basin, United States. *Applied Geochemistry*, 18: 483-501.

- Miller P.A., Munckittrick K.R., Dixon D.G. (1992). Relationship between concentrations of copper and zinc in water, sediment, benthic invertebrates, and tissues of white sucker (*Catostomus commersoni*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 49: 978-984.
- Monroy M., Macedo-Veiga A., de Sostoa A. (2014). Metal concentration in water, sediment and four fish species from Lake Titicaca reveals a large-scale environmental concern. *Science of the Total Environment*, 487: 233-244.
- 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. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(7): 6723-6734.
- Mustafa S. & Nilgun D.E. (2006). Copper (II) - rubeanic acid co-precipitation system for separation - pre concentration of trace metal ions in environmental samples for their flame Atomic Absorption Spectrophotometer determinations. *Journal of Hazardous Materials*, B137: 1035-1041.
- Nabavi S.F., Nabavi S.M., Latifi A.M., Eslami S., Ebrahimzadeh M.A. (2012). Determination of trace elements level of pikeperch collected from Caspian Sea. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88: 401-405.
- Nachev M., Zimmermann S., Rigaud T., Sures B. (2010). Is metal accumulation in *Pomphorhynchus laevis* dependent on parasite sex or infrapopulation size? *Parasitology*, 137 (8): 1239-1248.
- Nriagu J.O. (1988). Production and uses of chromium. Chromium in natural and human environment. New York, USA7 John Wiley and Sons, p. 81-105.
- Obasohan E.E. & Oronsaye J.A.O. (2004). Bioaccumulation of heavy metal by some cichlials from Ogba River, Benin City, Nigeria. *Nigeria Annalytical Natural Science*, 5: 11-27.
- Oronsaye J.A. (1989). Histological changes in the kidneys and gills of the stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L, exposed to dissolved cadmium in hard water. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 17: 279-290.
- Papagiannis I., Kagalou I., Leonardos J., Petridis D., Kalfakakou V. (2004). Copper and zinc in four freshwater fish species from Lake Pamvotis (Greece). *Environmental International*, 30: 357-362.

- Parenti L. (1984). A taxonomic revision of the Andean killifish genus *Orestias* (Cyprinodontiformes, Cyprinodontidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 178(2): 107-214.
- Poleksić V. & Mitrović-Tutundžić V. (1994). Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. In: Müller, R., Lloyd, R. (Eds.), *Sublethal and Chronic Effects of Pollutants on Freshwater Fish*. FAO, Fishing News Books, Oxford, pp. 339-352.
- Poleksić V., Lenhardt M., Jarić I., Đorđević D., Gačić Z., Cvijanović G., Rašković B. (2010). Liver, gills, and skin histopathology and heavy metal content of the Danube starlet (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29 (3): 515-521.
- Prosi F. (1981). Heavy metals in aquatic organisms. In: Förstner U, Wittmann GTW (eds) Berlin. Springer, Heidelberg, New York, pp 271-323.
- Rao L.M. & Padmaja G. (2000). Bioaccumulation of heavy metals in *M. cyprinoids* from the harbor waters of Visakhapatnam. *Bulletin of Pure and Applied Sciences*, 19: 77-85.
- Rashed M.N. (2001). Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser lake. *Environmental International*, 27: 27-33.
- Rašković B., Poleksić V., Višnjić-Jeftić Ž., Skorić S., Gačić Z., Djikanović V., Jarić I., Lenhardt M. (2015). Use of histopathology and elemental accumulation in different organs of two benthophagous fish species as indicators of river pollution. *Environmental Toxicology*, 30(10): 1153-1161.
- Ricart M., Guasch H., Barceló D., Brix R, Conceição M.H., Geiszinger A., et al. (2010). Primary and complex stressors in polluted Mediterranean rivers: pesticide effects on biological communities. *Journal of Hydrology*, 383: 52-61.
- Rincon-Leon F., Zurera-Cosano G., Moreno-Rojas R., Amaro-Lopez M. (1993). Importance of eating habits and sample size in the estimation of environmental mercury contamination using biological indicators. *Environmental Monitoring and Assessment*, 27(3): 193-200.
- Roméo M., Siau Y., Sidoumou Z., Gnassia-Barelli M. (1999). Heavy metal distribution in different fish species from the Mauritania coast. *Science of Total Environment*, 232(3): 169-175.

- Rowland H., Omoregie E., Millot R., Jimenez C., Mertens J., Baciu C., Hug S., Berg M. (2011). Geochemistry and arsenic behavior in ground water resources of the Pannonian Basin (Hungary and Romania). *Applied Geochemistry*, 26: 1-17.
- Sakan S., Dević G., Relić D., Anđelković I., Sakan N., Đorđević D. (2015). Evaluation of sediment contamination with heavy metals: the importance of determining appropriate background content and suitable element for normalization. *Environmental Geochemistry Health*, 37(1): 97-113.
- Sakan S., Sakan N., Đorđević D. (2013). Trace element study in Tisa River and Danube alluvial sediment in Serbia. *Intional Journal of Sediment Research*, 28(2): 234-245.
- Sakan S., Djordjevic D., Devic G., Relic D., Andjelkovic I., Djuricic J. (2011). A study of trace element contamination in river sediments in Serbia using microwave-assisted aqua regia digestion and multivariate statistical analysis. *Microchemical Journal*, 99 (2): 492-502.
- Salomons W. & Förstner U. (1980). Trace metal analysis on polluted sediments. *Environmental Technology Letters*, 11(1): 506-511.
- Sankar V., Zynudheen A., Anandan R., Viswanathan G. (2006). Distribution of organochlorine pesticides and heavy metal residues in fish and shellfish from Calicut region, Kerala, India. *Chemosphere*, 65: 583-590.
- Saygi Y. & Yiğit S.A. (2012). Assessment of metal concentrations in two cyprinid fish species (*Leuciscus cephalus* and *Tinca tinca*) captured from Yeniçağa Lake, Turkey. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 89: 86-90.
- Scharenberg W., Gramann P., Pfeiffer W.H. (1994). Bioaccumulation of heavy metals and organochlorines in a lake ecosystem with special reference to bream (*Abramis brama* L.). *Science of Total Environment*, 155: 187-197.
- Serra R., Carpene E., Torresani G., Andreucci A., Grandini S. (1993). Concentrations of Zn, Cu, Fe, and Cd in *Liza ramada* and *Leuciscus cephalus*. *Archives of Veterinary*, 44: 166-174.
- Shah S.L. & Altindag A. (2005). Alterations in immunological parameters of tench (*Tinca tinca*) after acute lethal and chronic sublethal exposure to mercury, cadmium and lead treatments. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 29: 1163-1168.
- Shih M. C. (2005). An overview of arsenic removal by pressure-driven membrane processes. *Desalination*, 172, 85-97.

- Shimshack J.P., Ward M.B., Beatty T.K.M. (2007). Mercury advisories: Information, education, and fish consumption. *Journal of Environmental Economics and Management*, 53: 158-179.
- Shinn C., Dauba F., Grenouillet G., Guenard G., Lek S. (2009). Temporal variation of heavy metal contamination in fish of the river lot in southern France. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 1957-1965.
- Simić V., Simić S., Stojković-Piperac M., Petrović A., Milošević D. (2014). Commercial fish species of inland waters: a model for sustainability assessment and management. *Science of Total Environment*, 497-498: 642-650.
- Simonović P. (2001). Ribe Srbije, NNK International, Beograd.
- Slobodnik J. (2013). Emerging Environmental Pollutants in the Context of Risk Assessment of European River Basin. UNESCO Conference on Emerging Pollutants in Water, Belgrade, Serbia. Proceedings 35-38.
- Službeni glasnik RS (2005). Zakon o ribarstvu.
- Službeni glasnik RS (2011). Pravnik o količinama pesticida, metala i metaloida i drugih otrovnih supstancija, hemioterapeutika, anabolika i drugih supstancija koje se mogu nalaziti u namirnicama.
- Smederevac-Lalić M., Pešić R., Cvejić S., Simonović P. (2012). Socioeconomic features of commercial fishery in the bordering upper Danube River area of Serbia. *Environmental Monitoring and Assessment*, 184(5): 2633-2646.
- Smederevac-Lalić M., Višnjić-Jeftić Ž., Pucar M., Mićković B., Skorić S., Nikčević M., Hegediš A. (2011). Fishing circumstances on the Danube in Serbia. *Water Research and Management*, 1(4): 45-49.
- Smedley P.L., Kinniburgh D.G. (2002). A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry*, 17: 517-568.
- Sommerwerk N., Hein T., Schneider-Jakoby M., Baumgartner C., Ostojić A., Paunović M., Bloesch J., Siber R., Tockner K. (2009). The Danube River Basin. In: Tockner K., Robinson C.T., Uehlinger U. (Eds.), Rivers of Europe. Elsevier/Academic Press, SanDiego, pp. 59-113.
- Sörme L. & Lagerkvist R. (2002). Sources of heavy metals in urban wastewater in Stockholm. *Science of Total Environment*, 298: 131-145.

- Specziár A. (2011). Size-dependant prey selection in piscivorous pikeperch *Sander lucioperca* and Volga pikeperch *Sander volgensis* shaped by bimodal prey size distribution. *Journal of Fish Biology*, 79: 1895-1917.
- Spodniewska A. & Barski D. (2013). Concentration of some metals in the muscles of fish from selected lakes of Warmia and Mazury region (Poland). *Acta Veterinaria Brno*, 82: 067-071.
- Squadrone S., Prearo M., Brizio P., Gavinelli S., Pellegrino M., Scanzio T., Guarise S., Benedetto A., Abete M.C. (2013). Heavy metals distribution in muscle, liver, kidney and gill of European catfish (*Silurus glanis*) from Italian Rivers. *Chemosphere*, 90(2): 358-365.
- Stanić B., Andrić N., Zorić S., Grubor-Lajsić G., Kovačević R. (2006). Assessing pollution in the Danube River near Novi Sad (Serbia) using several biomarkers in starlet (*Acipenser ruthenus* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 65: 395-402.
- Stanković S. (2006). The physical and chemical characteristics of Danube water quality near Kovin (Vojvodina) in Serbia. In *Proceedings of the 36th International Conference of IAD*, pp. 399-403, Austrian Committee DanubeResearch/IAD, Vienna, Austria.
- Stolyarov I.A. (1985). Dietary features of catfish, *Silurus glanis*, and pike-perch, *Stizostedion lucioperca*, in Kizlyarsk Bay, northern Caspian Sea. *Journal of Ichthyology*, 25: 140-145.
- Storelli M.M., Giacomini-Stuffler R., Storelli A., Marcotrigiano G.O. (2005). Accumulation of mercury, cadmium, lead and arsenic in swordfish and bluefin tuna from the Mediterranean Sea: a comparative study. *Marine Pollution Bulletin*, 50: 1004-1007.
- Štrbac S., Šajnović A., Budakov Lj., Vasić N., Kašanin-Grubin M., Simonović P., Jovančićević B. (2014). Metals in the sediment and liver of four fish species from different trophic levels in Tisza River, Serbia. *Chemistry and Ecology*, 30(2): 169-186.
- Sunjog K., Gačić Z., Kolarević S., Višnjić-Jeftić Z., 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. *Scientific World Journal*, 2012: ID 351074, pp 6.

- Svobodova Z., Dušek L., Hejtmanek M., Vykusova B., Smid R. (1999). Bioaccumulation of mercury in various fish species from Orlik and Kamyk water reservoirs in Czech Republic. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 43(3): 231-240.
- Tarras-Wahlberg N.H., Flachier A., Lane S.N., Sangfors O. (2001). Environmental impacts and metal exposure of aquatic ecosystems in Rivers contaminated by small scale gold mining: the Puyango River basin, southern Ecuador. *Science of Total Environment*, 278: 239-261.
- Tarrio J., Jaffor M., Ashraf M. (1991). Levels of selected heavy metals in commercial fish from five freshwater lake Pakistan. *Toxicology and Environmental Chemistry*, 33: 133-140.
- Tekin-Özan S. & Kir I. (2008). Seasonal variations of heavy metals in some organs of carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) from Beyşehir Lake (Turkey). *Environmental Monitoring and Assessment*, 138: 201-206.
- Teodorović I. (2009). Ecotoxicological research and related legislation in Serbia. *Environmental Science and Pollution Research*, 16(1): 123-129.
- Teodorović I., Đukić N., Maletin S., Miljanović B., Jugovac N. (2000). Metal Pollution Index: proposal for freshwater monitoring based on trace metal accumulation in fish. *Tiscia*, 32: 55-60.
- Terra B.F., Araujo F.G., Calza C.F., Lopes R.T., Teixeira T.P. (2008). Heavy metal in tissues of three fish species from different trophic levels in a tropical Brazilian river. *Water Air Soil Pollution*, 187: 275-284.
- Tigano C., Tomasello B., Pulvirenti V., Ferrito V., Copat C., Carpinteri G., Mollica E., Sciacca S., Renis M. (2009). Assessment of environmental stress in *Parablennius sanguinolentus* (Pallas, 1814) of the Sicilian Ionian coast. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 1278-1286.
- Tomasello B., Copat C., Pulvirenti V., Ferrito V., Ferrante M., Renis M., Sciacca S., Tigano C. (2012). Biochemical and bioaccumulation approaches for investigating marine pollution using Mediterranean rainbow wrasse, *Coris julis* (Linnaeus 1798). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 86: 168-175.
- Triebkorn R., Telcean I., Casper H., Farkas A., Sandu C., Stan G., Colărescu O., Dori T., Köhler H.R. (2008). Monitoring pollution in River Mureş, Romania, part II: metal accumulation and histopathology in fish. *Environmental Monitoring and Assessment*, 141: 177-188.

- Udosen E. D. (2006). Determination of trace metals and fluxes in sediments along a segment
Wiley and son Inc. New York, USA. 7th ed, pp 410-476.
- Ural M., Uysal K., Cicek A., Kose E., Ali Turan Kocer M., Arca S., Ornekci G.N., Demiroglu F., Yuce S. (2011). Determination of trace element concentrations in water, sediment and fish species from the Atatürk Dam Lake (Euphrates), Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, 20: 2036-2040.
- Ural M., Yildirim N., Danabas D., Kaplan O., Yildirim N., Ozcelik M., Kurekci E. (2012). Some heavy metals accumulation in tissues in *Capoeta umbla* (Heckel, 1843) from Uzuncayir Dam Lake (Tunceli, Turkey). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88: 172-176.
- US EPA (United State Environmental Protection Agency), (1986). Health assessment document for nickel and nickel compounds. EPA Report 600/8-83/012FF. 460 pp.
- US EPA (1997). Mercury study report to Congress, vol. VI. An ecological assessment for anthropogenic mercury emissions in the United States. EPA-452/R-97-008, US Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- Usero J., González-Regalad E., Gracia I. (1997). Trace metals in the bivalve molluscs *Ruditapes decussatus* and *Ruditapes philippinarum* from the Atlantic Coast of Southern Spain. *Environmental International* 23(3): 291-298.
- Uysal K., Köse E., Bülbül M., Dönmez M., Erdogan Y., Koyun M., et al. (2009). The comparison of heavy metal accumulation ratios of some fish species in Enne Dame Lake (Kütahya/Turkey). *Environmental Monitoring and Assessment*, 157: 355-362.
- Valavanidis A. & Vlachogianni T. (2010). Metal pollution in ecosystems. Ecotoxicology studies and risk assessment in the marine environment. www.chem-tox-ecotox-org
- Vehanen T. & Lahti M. (2003). Movements and habitat use by pikeperch (*Stizostedion lucioperca* (L.)) in a hydropeaking reservoir. *Ecology of Freshwater Fish*, 12(3): 203-205.
- Vila I., Pardo R., Scott S. (2007). Freshwater fishes of the Altiplano. *Aquatic Ecosystem Health & Management* 10(2): 201-211.
- Višnjić-Jeftić Ž., Jarić I., Jovanović Lj., Skorić S., Smederevac-Lalić M., Nikčević M., Lenhardt M. (2010). Heavy metal and trace element accumulation in muscle, liver and gills of the Pontic shad (*Alosa immaculata* Bennet 1835) from the Danube River (Serbia). *Microchemical Journal*, 95: 341-344.

- Vukašinović-Pešić V., Okanović M., Blagojević N., Rajković L.J. (2005). The source, characteristics and distribution of arsenic in the environment. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 11(1): 44-48.
- Wagner A. & Boman J. (2003). Biomonitoring of trace elements in muscle and liver tissue of freshwater fish. *Spectrochimica Acta Part B*, 58: 2215-2226.
- Ward D.M., Mayes B., Sturup S., Folt C.L., Chen C.Y. (2012). Assessing element-specific patterns of bioaccumulation across New England lakes. *Science of Total Environment*, 421-422: 230-237.
- Watanabe T., Kiron V., Satoh S. (1997). Trace minerals in fish nutrition. *Aquaculture*, 151: 185-207.
- Watson C.F. & Benson W.H. (1987). Comparative activity of gill ATPase in three freshwater teleosts exposed to cadmium. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 14: 252-259.
- Weiner E. R. (2008). Application of Environmental Aquatic Chemistry. Taylor and Francis, LLC. USA. pp 109.
- WHO (1990). Methylmercury. In Environmental health criteria (101, pp. 1-145). Geneva: World Health Organisation.
- Wong C.K., Wong P.P., Chu L.M. (2001). Heavy metals concentrations in marine fishes collected from fish culture sites in Hong Kong. *Archiv of Environmental Contamination and Toxicology*, 40(1): 60-69.
- Wong C.K.C., Wong M.H. (2000). Morphological and biochemical changes in the gills of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) to ambient cadmium exposure. *Aquatic Toxicology*, 48: 517-527.
- Wood J.M. (1974). Biological cycles for toxic elements in the environment. *Science*, 183: 1046-1052.
- Wysujack K., Mehner T. (2005). Can feeding of European catfish prevent cyprinids from reaching a size refuge? *Ecology of Freshwater Fish*, 14: 87-95.
- Yilmaz A.B. & Doğan M. (2008). Heavy metals in water and in tissues of himri (*Carasobarbus luteus*) from Orontes (Asi) River, Turkey. *Environmental Monitoring and Assessment*, 144: 437-444.
- Yilmaz F., Özdemir N., Demiralp A., Tuna L. (2007). Heavy metal levels in two fish species *Leuciscus cephalus* and *Lepomis gibbosus*. *Food Chemistry*, 100: 830-835.

- Zalloua P.A., Hsu Y.H., Terwedow H., Zang T., Wu D., Tang G., Li Z., Hong X., Azar S.T., Wang B., Bouxsein M.L., Brain J., Cummings S.R., Rosen C.J., Xu X. (2007). Impact of seafood and fruit consumption on bone mineral density. *Maturitas*, 56: 1-11.
- Zarazua G., Avila- Perez P., Tejada S., Barcelo-Quintal I., Martinez T. (2006). Analysis of total and dissolved heavy metals in surface water of a Mexican polluted river by Total Reflection X-ray fluorescence spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 61(10-11): 1180-1184.
- Zhou Q., Zhang J., Fu J., Shi J., Jiang G. (2008). Biomonitoring: an appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analitica Chimica Acta*, 606: 135-150.
- Zrnčić S., Oraić D., Čaleta M., Mihaljević Ž., Zanella D., Bilandžić N. (2013). Biomonitoring of heavy metals in fish from the Danube River. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(2): 1189-1198.
- Žarski T. P., Debski B., Beseda I., Valka J. (1995). Mercury pollution of bream (*Abramis brama* L.) caught in the middle course of the Vistula River in 1990 and 1993. *Ekológia (Bratislava)*, 14(3): 317-321.

БИБЛИОТЕЧКА ДОКУМЕНТАЦИЈА



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ
ИНСТИТУТ ЗА БИОЛОГИЈУ И ЕКОЛОГИЈУ



Радоја Домановића 12, 34000 Крагујевац, Србија

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈА

Редни број	
Тип записа	Текстуални штампани материјал
Врста рада	Докторска дисертација
Аутор	Александра Милошковић
Ментор	Проф. Др Владица Симић
Наслов рада	Просторни мониторинг тешких метала копнених вода Србије на основу биоакумулације у рибама
Језик публикације	Српски (ћирилица)
Језик извода	Српски
Земља публиковања	Србија
Година публикације	2016.
Издавач	Ауторски репринт
Место и адреса	Радоја Домановића 12 34000 Крагујевац, Србија
Научна област	Биологија
Научна дисциплина	Хидробиологија
Предметна одредница/кључне речи	Тешки метали, слатководне рибе, мишићно ткиво, индекс загађења металима, мапа загађења вода тешким металима у Србији
Чува се	У библиотеци Природно-математичког факултета у Крагујевцу, Р. Домановића 12, 34000 Крагујевац, Србија
Важна напомена	
Извод	
Акватични екосистеми се налазе под најинтензивнијим антропогеним утицајем који је довео до повећаног присуства загађујућих материја, па и великог броја токсичних загађивача,	

првенствено тешких метала, што захтева перманентни мониторинг.

Биоакумулацијски мониторинг (биомониторинг) је неопходан додатак хемијским анализама услед могућности интеграције утицаја на различите таксономске групе током дужег временског периода, тако да је бољи показатељ промена у акватичној средини. Рибе представљају један од најиндикативнијих фактора за процену загађења вода тешким металима, а то је важно не само у процесу заштите животне средине, већ и у процени квалитета меса и потенцијалног ризика за људску популацију.

Циљеви овог истраживања били су: анализа нивоа акумулације тешких метала у мишићном ткиву испитиваних врста риба, поређење акумулираних тешких метала у мишићном ткиву између различитих врста риба, веза између концентрација тешких метала акумулираних у мишићном ткиву испитиваних врста и концентрације тешких метала у води, избор потенцијално осетљиве рибе врсте за мониторинг студије тешких метала, могућност примене индекса загађења тешким металима (*енгл. Metal Pollution Index - MPI*) у процени загађења вода тешким металима, формирање прелиминарне мапе загађења вода тешким металима у Србији и поређење концентрација акумулираних тешких метала у мишићном ткиву испитиваних риба са максимално дозвољеним концентрацијама (МДК) прописаним законским регулативама ЕУ и Републике Србије.

Најважније комерцијалне врсте риба смуђ, сом, деверика, мрена, скобаљ и клен су проучаване у рекама, док су у акумулацијама проучаване смуђ, сом, деверика и бабушка. Такође, могућност употребе уклије као биоиндикатора контаминације вода тешким металима је такође испитана.

Анализа метала и металоида Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb и Zn је урађена ICP-OES Thermo Scientific iCAP 6500 Duo ICP (Thermo Fisher Scientific, Cambridge, United Kingdom) спектрометром.

Ова студија је указала на добар одговор риба на промене животне средине, што их чини погодним биоиндикаторима загађења вода тешким металима. Бентофагне врсте деверика и мрена, које се хране у близини дна, препознате су као осетљиви биоиндикатори загађења акватичних екосистема тешким металима. Предаторска врста сом, али и омниворна врста бабушка, такође, показују важан биоиндикаторски потенцијал.

Такође, јасно је показано да је *MPI* поуздан индекс за одређивање статуса загађења мишићног ткива тешким металима, представљајући јасну слику загађења акватичних екосистема тешким металима. Имајући то у виду, *MPI* индекс потенцијално може да буде укључен у комплексне програме мониторинга тешких метала копнених вода. Уз коришћење *MPI* вредности, предложена је класификација загађења вода тешким металима већих река и акумулација у Србији која указује на просторни распоред метала, што је довело до идентификације локалитета без утицаја директног загађења тешким металима, незнатно загађених и загађених локалитета. Као резултат ове класификације, формирана је мапа загађења вода тешким металима у Србији. Према овој класификацији, река Тиса може да буде категорисана као локалитет без утицаја директног загађења тешким металима, док Западна Морава и Пек могу да се категоришу као загађени екосистеми. Остали локалитети на рекама су незнатно загађени. Акумулације Гружа, Бован и Александровац могу да се сврстају у незнатно

загађене екосистема.

Концентрације As, Fe, Cu и Zn у месу (мишићном ткиву) свих врста риба у овој студији су биле испод МДК прописаних од стране Европске Комисије (1881/2006/ЕС) и Републике Србије (Службени гласник РС 2011). Концентрације Hg, Cd и Pb биле су изнад МДК на више локалитета. Издваја се Pb са концентрацијама које су биле изнад МДК у месу врста клен, мрена и скобаљ на највише локалитета. Када су у питању акумулације, забележене су концентрације Cd изнад МДК у месу деверике из Александровца. Концентрације Pb су биле изнад МДК у месу деверике из акумулација Бован и Александровац, док је концентрација Fe била изнад МДК у месу смуђа из акумулације Бован. У уклји нису забележене концентрације метала изнад МДК.

**Датум прихватања теме од
стране ННВ**

Датум одбране

Чланови комисије

Проф. др Бранка Огњановић

Проф. др Весна Полексић, председник комисије

Виши научни сарадник др Биљана Дојчиновић



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ
ИНСТИТУТ ЗА БИОЛОГИЈУ И ЕКОЛОГИЈУ



Радоја Домановића 12, 34000 Крагујевац, Србија

KEY WORDS DOKUMENTATION

Accession number	
Type of record	Textual material, printed
Contents code	PhD thesis
Author	Aleksandra Milošković
Mentor	Prof. Dr Vladica Simić
Title	Spatial monitoring of heavy metals in the inland waters of Serbia based on bioaccumulation in fish
Language of text	Serbian (Roman) (scr)
Language of abstract	Serbian (Roman) / English
Country of publication	Serbia
Publication year	2014.
Publisher	Copyright reprint
Publisher place	Radoja Domanovića 12 34000 Kragujevac, Serbia
Scientific field	Biology
Scientific discipline	Hydrobiology
Key words	Heavy metals, freshwater fish, muscle tissue, metal pollution index, a map of heavy metal water pollution in Serbia
Holding data	In library of Faculty of Science, Kragujevac 34000 Kragujevac, Serbia, R. Domanovića 12
Note	

Abstract

Aquatic ecosystems are under extremely intense anthropogenic pressure that has led to an increased presence of pollutants, primarily a large number of toxic pollutants, especially heavy metals, which requires permanent monitoring.

Bioaccumulation monitoring (biomonitoring) is a necessary addition to chemical analysis because it can be used to integrate impacts on different taxonomic groups over an extended period of

time, so it is a better indicator of changes in the aquatic environment. Fish are one of the most indicative factors for the assessment of heavy metal water pollution, and they are important not only in the process of environmental protection, but also in assessing the quality of meat and the potential risk to the human population.

The objectives of this research were: to analyze the level of accumulation of heavy metals in the muscle tissue of the fish species examined; to compare the accumulated heavy metals in the muscle tissue of different fish species; to make a connection between the concentration of heavy metals in the muscle tissue of the fish species examined and the concentrations of heavy metals in the water, to select potentially sensitive fish species for monitoring the study of heavy metals, to investigate the possibility of applying the index of heavy metal pollution (*Metal Pollution Index - MPI*) to the assessment of heavy metal water pollution; to make a preliminary map of heavy metal water pollution in Serbia; and to compare the accumulated concentration of heavy metals in fish muscle tissue with the maximum permissible concentrations (MPC) established by EU and national legislation.

The most important commercial fish species, catfish, bream, barbel, nase and chub, were studied in rivers, while perch, catfish, bream and Prusian carp were studied in reservoirs. Bleak were also studied as bio-indicators of water contaminated with heavy metals.

The analysis of metals and metalloids Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb and Zn was performed with an ICP-OES Thermo Scientific iCAP 6500 Duo ICP (Thermo Fisher Scientific, Cambridge, United Kingdom) spectrometer.

This study indicated a good response of fish to environmental changes, making them suitable bioindicators of heavy metal pollution in aquatic ecosystems. The benthophagous species bream and barbel, which feed near the bottom, were identified as sensitive bioindicators of heavy metal water pollution in aquatic ecosystems. The predatory fish species catfish and omnivorous fish species Prusian carp were also shown to have important bioindicator potential.

It was also shown that the *MPI* is a reliable index for expressing the status of heavy metal pollution in muscle tissue, presenting a clear picture of heavy metal pollution in aquatic ecosystems. With that in mind, the *MPI* index potentially can be included in complex programs of monitoring freshwater ecosystems. With the use of *MPI* values, a classification of heavy metal water pollution in the major rivers and reservoirs in Serbia was proposed, showing the spatial patterns of heavy metals. This led to the identification of sites unaffected by direct pollution with heavy metals, slightly affected and affected. As a result of this water quality classification, a map of heavy metal water pollution in Serbia was formed. According to this classification, the Tisa River can be categorized as a site unaffected by direct pollution with heavy metals, while the West Morava and Pek can be categorized as affected. Other rivers are slightly affected. The Gruža, Bovan and Aleksandrovac accumulations can be classified as slightly affected ecosystems.

The As, Fe, Cu, and Zn concentrations detected in all of the fish muscle were below the MPC established by both the EU and the Republic of Serbia. The concentrations of Hg, Cd and Pb were above the MPC at several locations. Pb stands out with concentrations above the MPC in chub, barbel and nase meat at most sites. Cd concentrations were above the MPC in bream meat from the Aleksandrovac accumulation. The Pb concentrations were above the MPC in bream meat from the Bovan and Aleksandrovac accumulations, while the Fe concentrations were above the MPC in perch

meat from the Bovan accumulation. In the bleak meat, metal concentrations were not above the MPC.

Accepted by Scientific Board on	
Defended on	
Commission	Prof. dr Branka Ognjanović Prof. dr Vesna Poleksić, President of the Commission Scientific Associate dr Biljana Dojčinović

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Александра Милошковић, изјављујем да докторска дисертација под насловом:

Просторни мониторинг тешких метала копнених вода Србије на основу биоаккумуляције у рибама која је одбрањена на Природно-математичком факултету Универзитета у Крагујевцу представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,
- да умножени примерак докторске дисертације у штампаној и електронској форми у чијем се прилогу налази ова Изјава садржи докторску дисертацију истоветну одбрањеној докторској дисертацији.

У Крагујевцу, 5.11.2016. године,

А. Милошковић

потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, **Александра Милошковић,**

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

Просторни мониторинг тешких метала копнених вода Србије на основу биоаккумуляције у рибама која је одбрањена на **Природно-математичком факултету**, Универзитета у Крагујевцу, и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође

дозвољавам

не дозвољавам¹

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *CreativeCommons* лиценци:

¹Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *CreativeCommons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу, 5.11.2016. године,

A. Mironovitch

потпис аутора

²Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org.rs/>

Spatial monitoring of heavy metals in the inland waters of Serbia: a multispecies approach based on commercial fish

Aleksandra Milošković¹ · Biljana Dojčinović² · Simona Kovačević¹ ·
Nataša Radojković¹ · Milena Radenković¹ · Djuradj Milošević³ · Vladica Simić¹

Received: 24 September 2015 / Accepted: 29 January 2016 / Published online: 9 February 2016
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016

Abstract The study monitored the contamination of fish muscle tissue by elements Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, and Zn at 17 sampling sites, in order to assess the pollution status of the main rivers in Serbia. Of the six commercially important fish species included in the study (pikeperch *Sander lucioperca*, catfish *Silurus glanis*, bream *Abramis brama*, barbel *Barbus barbus*, chub *Squalius cephalus*, nase *Chondrostoma nasus*), the bioconcentration factor (BCF) indicated that benthivore bream and barbel and predatory catfish have the highest tendency toward the accumulation of elements. This study achieved its primary objective and produced a contamination map of Serbia as a basis for further research. The estimated metal pollution index (MPI) showed the Tisa River to be unaffected by direct pollution (with an MPI value of 0.31) and the West Morava and Pek rivers to be affected (with MPI values of 1.92 and 0.73 for the WM₁ and WM₂ sampling sites and 0.65 for the Pek sampling site). Over the past two decades, Serbia has not expanded its industrial activity, which has resulted in the barely noticeable anthropogenic input of heavy metals in the rivers close to industry, and the main rivers are mostly unaffected and

slightly affected. We assumed that pollution by heavy metals in the 1990s was trapped in the sediment, thus showing an increased concentration of elements in the species that live and feed on the bottom. Hg concentrations exceeded the maximum permitted concentrations (MPCs) only in catfish samples (0.62 mg kg⁻¹) from the Danube (D₃ sampling site) and barbel (0.78 mg kg⁻¹) from the West Morava (WM₁ sampling site), while Cd concentrations exceeded the MPC in catfish samples (0.09 mg kg⁻¹) from the Danube (D₁ sampling site) and chub samples (0.1 mg kg⁻¹) from the South Morava (SM₂ sampling site). The average concentrations of Pb exceeded the MPC in chub and barbel samples (0.32 and 0.82 mg kg⁻¹, respectively) from the West Morava (WM₁ sampling site); chub, barbel, and nase samples (0.35, 0.32, 0.31 mg kg⁻¹, respectively) from the West Morava (WM₂ sampling site); chub and barbel samples (0.35 and 0.3 mg kg⁻¹, respectively) from the Ibar; chub samples (0.39 mg kg⁻¹) from the Drina; chub and barbel samples (0.59 and 0.4 mg kg⁻¹, respectively) from the Great Timok; and nase samples (0.33 mg kg⁻¹) from the Pek. These results demonstrate that there is a need for future studies that would involve similar analyses and focus especially on smaller rivers that have been neglected so far.

Responsible editor: Philippe Garrigues

✉ Aleksandra Milošković
alekmil@kg.ac.rs

Keywords Commercial fish species · Main rivers in Serbia · Bioconcentration factor · Metal pollution index · Contamination map

Introduction

Heavy metal pollution in rivers has become a matter of great concern, not only because of the threat it poses to public water supplies but also because of the hazard to the human consumption of fishery resources (Terra et al. 2008). Water and/or sediment analysis may be inefficient at identifying the inherent

¹ Institute of Biology and Ecology, Faculty of Science, University of Kragujevac, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Serbia

² Institute of Chemistry, Technology and Metallurgy, University of Belgrade, Negoševa 12, 11000 Belgrade, Serbia

³ Department of Biology and Ecology, Faculty of Sciences and Mathematics, University of Niš, Višegradska 33, 18000 Niš, Serbia

variability of the flow and contaminant concentrations of metal inputs to fluvial systems (Ricart et al. 2010). Traditional toxicity tests and chemical-specific sensors cannot provide comprehensive real-time information relating to toxic events in an aquatic system. Aquatic organisms must be included as a major component of the assessment processes (van der Schalie et al. 2001), thereby providing a more effective diagnosis of environmental conditions. Fish are susceptible to toxins present in the water and are useful bioindicators for the determination of metal pollution in aquatic ecosystems (Chovanec et al. 2003; Alibabić et al. 2007; Lamas et al. 2007) because they occupy various trophic levels, they are the key species in trophic chains, they concentrate large amounts of some metals, and some are widely consumed by humans (Uysal et al. 2009; Burger et al. 2002). Since the discovery of Minamata disease caused by severe mercury poisoning, human health concerns related to consumption of fish polluted with heavy metals have long been recognized and studied (Uchida et al. 1961; FAO/WHO 1972; Hutton 1987).

Many biotic factors have been recognized to affect the bioaccumulation of metals in fish, such as variability in age/size, the size-specific metabolic rate of individuals (Phillips 1980), life cycle, life history, and the diet differences of species (Hardisty et al. 1974; Prosi 1981).

Dallinger and Kautzky (1985) stated that in low-level, chronic diffuse pollution, metal uptake in fish is predominantly from food. Studies from field and laboratory experiments have shown that the accumulation of heavy metals in fish tissue is mainly dependent upon concentrations of the metals in the surrounding water, in addition to the exposure period (Yi and Zhang 2012; Liu et al. 2011). The season of capture can also be one of the factors influencing metal tissue concentrations (McCoy et al. 1995). Independently of the season and how the exposure occurred, some fish organs have a greater affinity for accumulating some specific metals than others. The lipid content of tissues is an important variable affecting the concentration of metals accumulated in fish (Braune et al. 1999), especially for the bioaccumulation of Hg since this metal deposited mainly in the lipid fraction of fish (as methylmercury) has a very low elimination rate, and therefore, even in slightly polluted environments, the Hg concentration in fish continuously increases throughout the life span of the fish. Since Hg can accumulate more easily in muscle than the other organs (Čelechovská et al. 2007; Has-Schön et al. 2008) and thus put biota and, according to the food chain, humans at risk, edible muscle tissue should be analyzed.

Each fish species has a particular way of accumulating and/or eliminating metals when exposed to such contaminants. Hence, more than one fish species should be analyzed in comparative environmental studies due to substantial variations in pollution processes (Burger et al. 2002). Multispecies comparisons covering different feeding habits of fish and a wide range of age categories have the potential to distinguish recent exposure from long-term load (Dušek et al. 2005).

Some elements such as iron, copper, zinc, and manganese are essential for biological systems such as enzymatic activities; others like nickel and aluminum are nonessential, whereas arsenic, lead, and cadmium have no known important role in living organs and are toxic even in trace amounts (Fernandes et al. 2008). Accordingly, screening all elements which could possibly occur in food is important because they simultaneously play biological and toxicological roles.

Many studies have been carried out into the trace metal accumulation patterns in aquatic biota, along with the bioconcentration and biomagnification processes. In Serbia, various fish species have been effectively used for the bioindication of contamination (Visnjic-Jeftic et al. 2010; Poleksić et al. 2010; Jarić et al. 2011; Lenhardt et al. 2012; Subotić et al. 2013a, b; Jovičić et al. 2015). The cited references reveal diverse approaches to choosing the most appropriate fish group, species, and tissue for these kinds of monitoring studies. The main objective of any biomonitoring program is to assess the health of the aquatic ecosystem, so there is a need to establish standardized methods. The abovementioned studies were generally limited to various tissues of individual species in particular sections of rivers (mainly the Danube and Sava), so there is still no study that would give a comprehensive picture of the spatial pollution of the inland waters in Serbia. In this study, we recorded the Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, and Zn concentrations in the muscle tissue of six commercial fish species chosen as potentially sensitive species for monitoring studies and estimated the pollution status of the main rivers in Serbia. Based on this, the main objectives of this study were to highlight the importance of a multispecies approach in contaminant studies and to present a preliminary contamination map as a baseline for Serbia. Since in recent years fish consumption in Serbia has increased due to a public campaign on its health benefits through popular media, studying the potential impact of contaminated fish consumption on human health was also one of the study goals.

Materials and methods

Study area and sampling locations

The largest and the most important rivers that flow through Serbia are the Danube, Sava, Tisa, Great Morava, West Morava, South Morava, Ibar, Drina, and Timok. The Danube River is the second largest river in Europe, and as such, it is subjected to large amounts of wastewater input (Pawellek et al. 2002; Teodorović et al. 2000). Metals are considered to be among the major pollutants in the Danube in Serbia, especially in the area of the cities of Belgrade and Novi Sad (Teodorović 2009). The Sava River, as a typical lowland and the Danube's largest tributary, was affected until the 1990s by heavy pollution from the metallurgical, chemical, leather, textile, food, cellulose, and paper industries, as well as agricultural activities. Also, the Sava

is the main recipient of wastewater from many cities, and it is impacted by the polluted water from its tributaries. The largest tributary of the Sava, the Drina, as a mainly mountainous river with great power purification, used to be of high quality. However, in recent years, heavy metals (mainly iron, arsenic, manganese, nickel, and lead) have arrived in the Drina River from damaged tailings. The Kolubara, the right tributary of the Sava, is one of the flows with a higher degree of degradation of water as it flows through towns and villages, where it receives effluent and sewage from industry such as surface mines and a thermal power plant. The Tisa River, the second largest Danube tributary, is also contaminated through numerous industrial accidents from the Carpathian mountain region in Romania, which has a long tradition of mining, especially of gold (Au), silver (Ag), lead (Pb), zinc (Zn), copper (Cu), cadmium (Cd), and manganese (Mn) (Triebkorn et al. 2008). The Great Morava River, the largest Serbian river and also a significant right tributary of the Danube River, is created by the confluence of the South Morava and the West Morava rivers. As a typical lowland river, the Great Morava River flows through the most densely populated area of Central Serbia, the Morava River valley, receiving untreated or incompletely treated wastewater from urban areas and animal farms, which leads to serious degradation of the water quality. As the greatest right tributary of the West Morava, the Ibar River is affected with lead and zinc pollution, since in this area are a vast number of production and manufacturing plants of the mining-metallurgical system, Trepča-nine lead and zinc mines, three flotations, two of metallurgy, the chemical industry, and a battery factory. The right Danube tributaries, the Great Timok, Mlava, and Pek are the most important in East Serbia. The Great Timok and the Pek rivers partly drain the Bor and Majdanpek copper ore districts, respectively. Large average concentrations of calcium, manganese, and arsenic have been found in the Mlava river water (Djinovic and Popovic 2007).

The study region includes the main and the most important rivers in Serbia. The sampling locations are given in Fig. 1 for the Danube: Novi Sad (D₁), Zemun (D₂), and Radujevac (D₃); the Sava: Ostružnica (S); the Tisa: Novi Bečej (T); the Great Morava: Ljubičevski most (GM₁) and the Bagrdan (GM₂); the West Morava: Kraljevo (WM₁) and Jasika (WM₂); the South Morava: Niš (SM₁) and Ristovac (SM₂); the Ibar: Kraljevo (I); the Drina: Badovinci (DR); the Kolubara: Mislodín (K); the Great Timok: Vražognac (GT); the Mlava: Bratinac (M); and the Pek: Neresnica (P).

Sample collection, preparation, and determination of element concentrations by inductively coupled plasma optical emission spectrometry

A total of 361 fish belonging to six species were analyzed for the content of Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, and Zn in their muscle tissue. The most important commercial fish species were studied, namely pikeperch *Sander lucioperca*

(Linnaeus 1758), catfish *Silurus glanis* (Linnaeus 1758), bream *Abramis brama* (Linnaeus 1758), barbel *Barbus barbus* (Linnaeus 1758), nase *Chondrostoma nasus* (Linnaeus 1758), and chub *Squalius cephalus* (Linnaeus 1758). In the Danube, Sava, and Tisa rivers, pikeperch, catfish, and bream were sampled because the majority of first-grade quality fish species (e.g., catfish, pikeperch) and second-grade quality fish species (bream species *Abramis* spp.) are harvested by commercial fishermen in these rivers (Smederevac-Lalić et al. 2012). The number of commercial fishermen has decreased over recent years, while the number of recreational fisherman has increased (Smederevac-Lalić et al. 2011). Therefore, barbel, nase, and chub were included in this study and sampled in the Great Morava, West Morava, South Morava, Drina, Ibar, Great Timok, Kolubara, Mlava, and Pek, as fish caught substantially for recreational purposes. Thus, the term commercial fish species, in this study, applies not only to species harvested for profit purposes but also to species significant for recreational fishing.

Our field surveys were carried out between 2011 and 2013, during the same season (June–October). The electrofishing procedure was conducted at nine sampling stations: GM₁, GM₂, SM₁, SM₂, WM₁, WM₂, I, M, and P using the Aquatech DC electrofisher IG 1300 (2.6 kW, 80–470 V). Professional fishing nets of different lengths, widths, and mesh diameters were used for sampling at four sampling stations: D₂, D₃, S, and T, while at the other four sampling stations: D₁, DR, K, and GT, fish were collected from local fishermen. Fish were randomly selected for analysis in relation to their commercial consumption sizes, killed with a quick blow to the head, washed with distilled water, and transported on ice (in individual zipper bags) to the laboratory.

In the laboratory, the fish were measured for their total body length (to the nearest cm), weighed (to the nearest g), and subsequently dissected. The right dorsal muscle, below the dorsal fin (± 5 g), of each specimen was dissected with a decontaminated ceramic knife. After dissection, the muscle tissue was weighed using an electronic balance (± 0.1 g) and stored at -20 °C prior to analysis.

Muscle samples were submitted to the Analytical Chemistry Laboratory within the Institute of Chemistry at the Faculty of Chemistry, University of Belgrade, Serbia, for chemical analysis. The element concentrations (Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, and Zn) were determined by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES), using a Thermo Fisher Scientific iCAP 6500 Duo ICP (Cambridge, UK) equipped with a RACID86 Charge Injector Device (CID) detector, concentric type nebulizer, quartz torch, and alumina injector.

At first, the fish samples (~ 1.5 g) were dried in a lyophilizer (Christ Alpha 2-4 LD, Harz, Germany) and then digested in an Advanced Microwave Digestion System (ETHOS 1, Milestone, Italy) using a mixture of 65 % nitric acid and

Fig. 1 Sampling locations: the Danube: Novi Sad (D₁), Zemun (D₂), and Radujevac (D₃); the Sava: Ostružnica (S); the Tisa: Novi Bečej (T); the Great Morava: Ljubičevski most (GM₁) and the Bagrdan (GM₂); the West Morava: Kraljevo (WM₁) and Jasika (WM₂); the South Morava: Niš (SM₁) and Ristovac (SM₂); the Ibar: Kraljevo (I); the Drina: Badovinci (DR); the Kolubara: Mislodin (K); the Great Timok: Vražogmac (GT); the Mlava: Bratinac (M); and the Pek: Neresnica (P)



30 % hydrogen peroxide (Suprapur[®], Merck, Darmstadt, Germany, 10:2, v/v) at 200 °C for 20 min. After cooling to room temperature and without filtration, the solution was diluted to a fixed volume (volumetric flask, 25 mL) with ultra-pure water with a conductivity of 0.055 μS cm⁻¹ (Barnstead[™] GenPure[™] Pro, Thermo Scientific, Germany), before being analyzed by ICP-OES.

Blanks with no fish tissue were run with each batch of samples to monitor contamination by the reagents used. The standards for the instrument calibration were prepared on the basis of the multielement (SS-Low Level Elements ICV Stock, 10 mg L⁻¹) and mono-element (Hg Calibration Stock, 10 mg L⁻¹ Hg) certified reference solutions ICP Standard (VHG Labs, Inc-Part of LGC Standards, Manchester, NH 03103, USA) and analyzed to support quality assurance and control. The muscle standard reference material (DORM-4; National Research Council of Canada) was digested in triplicate and analyzed to support quality assurance and control.

The results of analyzing the elements in the water were provided by the Agency for Environmental Protection of Serbia and were measured in the same months as our study during routine monitoring at the selected sampling sites.

The bioconcentration factor and metal pollution index

The bioconcentration factor is defined as the net result of the absorption, distribution, and elimination of a substance in any organism after exposure via water (Lau et al. 1998). It was calculated as the ratio of the mean element level in the muscle tissue (C fish), expressed as mg kg⁻¹ wet weight (ww), and the element concentration in water (C water), expressed as mg L⁻¹:

$$BCF = C_{fish} / C_{water} \tag{1}$$

The metal pollution index (MPI) was calculated to compare the total metal content in the different fish species, as well as in the sampling sites using the following equation (Usero et al. 1997):

$$MPI = (cf_1 \times cf_2 \times cf_3 \times \dots cf_n)^{1/n} \quad (2)$$

where Cf_n is the concentration of the metal n in the sample

Statistics

The mean values and standard deviations were calculated for each element in each species. Prior to interpreting the heavy metal measurement data, the analysis of covariance (ANCOVA) was used separately for each element to determine if the element concentrations differed between species, with element concentrations as the dependent variable, species as the independent variable, and sampling sites as the covariate (interaction was significant at $p \leq 0.05$). The homogeneity of regression slopes for metal concentrations-fish species and sampling sites was tested before ANCOVA. The least significant difference (LSD) post hoc tests were conducted to pairwise comparisons. In order to assess any significant differences between the BCF and MPI values of fish species, the nonparametric Kruskal-Wallis test was applied. Post hoc intergroup comparisons of BCF and MPI (between pairs of species) were performed by the nonparametric Mann-Whitney test for two independent values. The statistical analyses were processed by the SPSS version 16.0 software (SPSS, Inc., Chicago, Illinois).

The concentrations in the fish muscle samples were also compared with the maximum permitted concentrations (MPCs) in fish meat for utilization in the human diet, established by the European Union (EU) and national legislation. According to EU legislation (European Commission Regulation 2006), the MPCs for Cd, Hg, and Pb are 0.05, 0.50, and 0.30 mg kg⁻¹ ww, respectively. The MPCs for As, Cd, Hg, Pb, Cu, Fe, and Zn in fish meat are 2.0, 0.1, 0.5, 1.0, 30.0, 30.0, and 100.0 mg kg⁻¹ ww, respectively, as prescribed by national legislation (Official Gazette of RS 2011).

Results

A replicate analysis of the reference material showed good accuracy during analysis, with recovery ranging from 85.80 to 106.48 %. All of the fish species examined were above the minimum length permitted for fishing prescribed by Fisheries law (Official Gazette of RS 2005). The biological data for the specimens per sampling site (number of examined fish samples, average length, and weight) are shown in Table 1. The element concentrations in water and the muscle samples for each examined fish species are presented in Table 2. The element

concentrations in the water were different at each sampling site, and there was no unique pattern of distribution of the elements in the fish species observed, but the average element concentration generally displayed a similar order at all sampling sites for each of fish species. In the muscles of all fish species, Zn, Fe, and Al concentrations were the highest, while Cd, Co, and Ni concentrations were the lowest.

The ANCOVA results revealed that pikeperch, bream, and catfish significantly differed in terms of the As ($F=9.599$, $p=0.00$, $\eta^2=0.319$), Cd ($F=4.011$, $p=0.026$, $\eta^2=0.164$), Hg ($F=7.645$, $p=0.002$, $\eta^2=0.272$), Mn ($F=7.657$, $p=0.001$, $\eta^2=0.272$), and Zn ($F=3.803$, $p=0.031$, $\eta^2=0.156$) (Fig. 2a). In addition, Hg ($F=11.194$, $p=0.000$, $\eta^2=0.177$) and Mn ($F=4.267$, $p=0.017$, $\eta^2=0.076$) as well as Pb ($F=3.286$, $p=0.041$, $\eta^2=0.059$) concentrations significantly varied between chub, barbel, and nase (Fig. 2b). The spatial variability of element concentrations had a significant effect (sampling sites as a covariate in ANCOVA) on the elements Cd, Co, and Ni (Fig. 3a, b). According to adjusted means from ANCOVA, with no spatial variability, the highest concentration of As, Cr, Cu, Mn, and Pb and concentrations of Cu, Fe, Hg, Mn, Pb, and Zn were recorded for bream and barbel, respectively.

The BCF results are given in Table 3. The estimated BCF values in the first group of fish species examined (pikeperch, bream, and catfish) confirmed that bream and catfish have a similar affinity for the elements Cd, Co, Ni, and Zn, which is distinctly higher than that observed for pikeperch. On the other hand, in the second group of species examined (chub, barbel, and nase), the dominant species for the bioconcentration of elements was barbel.

Since the ANCOVA showed that only the concentrations of Cd, Co, and Ni showed significant spatial variation, we decided to exclude those metals from any further calculations of MPI. The MPI values observed in this study were different between fish species (Fig. 4). The Kruskal-Wallis test revealed no significant differences between the MPI values calculated for pikeperch, bream, and catfish ($p < 0.05$). On the other hand, the MPI calculated for chub, barbel, and nase significantly differed ($p < 0.05$). The post hoc Mann-Whitney test showed that the level of MPI calculated for barbel was significantly higher at all sites ($p < 0.05$), except for site P. Having all of this in mind, since there were no statistically significant differences in the MPIs in the first group of fish species examined, the highest MPIs can be considered as relevant for comparison of the sampling sites. In the second group, according to the MPIs, barbel proved to have significantly higher MPI values for almost all of the sampling sites (except sampling site P), so the values for this fish species were used for comparison.

According to the computed MPI data, one site on the Morava River is highly polluted (WM₁, MPI=1.92), the majority of sites reveal intermediate pollution status (MPI 0.36–

Table 1 Number of species, total length, and weight (mean ± SD) of sampled fish per sampling site

Sampling site	Species	Number of individuals (<i>n</i>)	Total body length (cm) (mean ± SD)	Body weight (g) (mean ± SD)
Danube (D ₁)	Pikeperch	10	41.66 ± 1.041	506.67 ± 121
	Bream	10	26.33 ± 5.48	241.33 ± 115.90
	Catfish	10	60.40 ± 5.70	1548 ± 333
Danube (D ₂)	Pikeperch	10	42.50 ± 2.62	642 ± 58
	Bream	10	42.50 ± 6.50	953 ± 178
	Catfish	10	69.80 ± 6.30	1777 ± 296
Danube (D ₃)	Pikeperch	10	40.50 ± 1	570.33 ± 26.65
	Bream	10	26.66 ± 0.58	221.66 ± 25.65
	Catfish	10	62.20 ± 9.62	1355 ± 176.78
Sava (S)	Pikeperch	10	42.80 ± 2.52	603.40 ± 25.90
	Bream	10	25.40 ± 2.80	212.35 ± 16.84
	Catfish	10	65.20 ± 5.25	1796.50 ± 113.5
Tisa (T)	Pikeperch	10	50.167 ± 5.48	1085 ± 493.87
	Bream	10	37.50 ± 3.75	640 ± 234.7
	Catfish	10	66 ± 3.50	1483.33 ± 28.87
Great Morava (GM ₁)	Chub	7	23.83 ± 1.04	128.66 ± 26.54
	Barbel	9	37.83 ± 1.44	373.66 ± 72.42
	Nase	9	30 ± 2.14	238 ± 10.31
Great Morava (GM ₂)	Chub	6	23.83 ± 1.04	128.66 ± 26.54
	Barbel	8	45.73 ± 3.11	743.33 ± 50.33
	Nase	8	29.50 ± 1.56	265.80 ± 13.90
West Morava (WM ₁)	Chub	6	28 ± 1.45	95 ± 4.33
	Barbel	5	31.66 ± 3.82	188 ± 47.57
	Nase	7	35.83 ± 5.53	476.33 ± 239.54
West Morava (WM ₂)	Chub	7	26.83 ± 1.26	230 ± 26.45
	Barbel	8	28 ± 1.41	202.50 ± 53.03
	Nase	10	34.50 ± 10.83	331.66 ± 171.78
South Morava (SM ₁)	Chub	6	29.23 ± 1.61	268 ± 48.13
	Barbel	5	34.66 ± 8.52	361.33 ± 258.75
	Nase	7	30.83 ± 6.30	312.66 ± 153.96
South Morava (SM ₂)	Chub	7	21.50 ± 0.50	89.50 ± 2.10
	Barbel	7	25.50 ± 0.50	174 ± 5.90
	Nase	7	25 ± 1.30	137 ± 3.50
Ibar (I)	Chub	5	25.30 ± 3.72	181.66 ± 90.40
	Barbel	5	39 ± 3.40	519 ± 58
	Nase	5	37 ± 6.80	484 ± 23.70
Drina (DR)	Chub	7	26 ± 3	186.66 ± 61.61
	Barbel	7	39.60 ± 3.30	753 ± 151.43
	Nase	7	25.50 ± 1.80	145.66 ± 34.27
Kolubara (K)	Chub	5	23.57 ± 4.07	168.33 ± 66.01
	Barbel	3	25.56 ± 4.07	163.33 ± 9.24
	Nase	5	23 ± 3.30	107 ± 2.58
Great Timok (GT)	Chub	3	20.80 ± 0.70	75 ± 2.40
	Barbel	5	26.50 ± 0.35	176.20 ± 5.80
	Nase	7	22.60 ± 3.90	101.40 ± 3.45
Mlava (M)	Chub	3	28.73 ± 2.80	307.33 ± 86.20
	Barbel	3	25.40 ± 3.80	228.70 ± 53.40
	Nase	3	25.10 ± 2.80	143.30 ± 63.41
Pek (P)	Chub	3	23.50 ± 1.84	118.70 ± 6.31
	Barbel	3	25.60 ± 2.32	222.30 ± 7.99
	Nase	3	20.80 ± 1.74	156.33 ± 12.04

0.73), and the section designated on the Tisa River is minimally affected by metal pollution (MPI=0.31).

The As, Fe, Cu, and Zn concentrations detected in all of the fish muscle were below the MPC established by both the EU (EC 2006) and the Republic of Serbia (Official Gazette of RS 2011). Hg concentrations exceeded the MPC only in catfish samples (0.62 mg kg^{-1}) from D₃ and barbel (0.78 mg kg^{-1}) from WM₁ sampling sites, while Cd concentrations exceeded the MPC in catfish samples (0.09 mg kg^{-1}) from D₁ and chub samples (0.1 mg kg^{-1}) from SM₂ sampling sites. We would emphasize that the Pb level exceeded the MPC at most sampling sites (WM₁, WM₂, I, DR, and GT) with the highest concentration of Pb in barbel from WM₁ sampling site (0.82 mg kg^{-1}).

Discussion

The chosen species—pikeperch, bream, and catfish—are keystone populations of commercial fish species from large lowland rivers, the Danube, Sava, and Tisa, while chub, barbel, and nase are keystone populations from other rivers researched in Serbia (Simić et al. 2014). In our study, muscle was chosen as a target tissue since EU limits are fixed to heavy metal concentrations in fish muscle, which are most relevant in the context of fish consumption. Another reason we focused on muscle concentrations was to make the results relevant for comparable and sustainable management.

We hypothesized that the concentrations of heavy metals in the water would affect the heavy metal concentrations in the fish muscle. Poleksić et al. (2010) pointed out that elemental concentrations in fish organs depend on the actual level of pollution in the water body they inhabit, and studies of elemental accumulation in fish tissues are able to indicate the actual elemental levels in their environment. On the other hand, Andres et al. (2000) and Yi and Zhang (2012) stated that direct proportionality does not necessarily exist between water concentrations and bioaccumulation levels in aquatic organisms. The results of ANCOVA in our study showed that the concentrations of several elements varied markedly for the fish species examined. According to Dušek et al. (2005) and Zrnčić et al. (2013), predator species revealed important indicator potential even when young for the maximum content of Hg accumulated in muscle tissue, which is also seen in this study. Subotić et al. (2013b) stated that there was no difference in the concentration of any element examined (As, Cu, Fe, Hg, Mn, and Zn) between the pikeperch and catfish muscle for the fish of the same length as in our study, which was not the case here. Our study showed that, as a predatory fish, situated at the top of the food chain, catfish (*S. glanis*) can adequately reflect ambient metal concentrations as seen in the research of Squadrone et al. (2013). In biomonitoring studies of variations in heavy metal pollution,

bream (*A. brama*) proved to be a useful bioindicator species (Farkas et al. 2003). Generally, our findings support the thesis of Zrnčić et al. (2013) that it is not necessarily the case that predatory fish are the best indicator species. Poleksić et al. (2010) and Sunjog et al. (2012) confirmed the value of barbel as an indicator species for the status of water bodies. The best sentinel species should be the most abundant and ubiquitous ones, such as the species studied here. Additionally, our results concerning the bioaccumulation of elements and the MPI index pointed toward bream and barbel as good candidates for the further establishment of pollution monitoring. Since the element load of the water column from the sampling sites proved to be relatively low, the results for metal concentrations in bream and barbel are another confirmation that metal uptake from food is predominant (Dallinger and Kautzky 1985). It can be seen from the results that fish that feed on invertebrates which have absorbed elements from the water, and additionally from the sediment, have the highest tendency for the uptake of those elements.

A survey of the existing published data focusing on element concentrations in fish species in Serbia indicated that many fish species, tissues, and organs have been studied, so far. Visnjic-Jeftić et al. (2010) assessed Al, Cd, Cu, B, Ba, Fe, Mg, Sr, Zn, Li, Co, Cr, Mn, Mo, Ni, and P in the muscle, liver, and gills of pontic shad (*Alosa immaculata* Benet 1835) and found the highest As concentration in the muscle, and Cd and As above the MPC. Sterlet (*Acipenser ruthenus*) tissue liver, gills, intestines, and muscle were used in a study by Jarić et al. (2011), in which Ag, Al, As, B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Sr, Zn, and Li were analyzed, and the muscle showed the lowest tendency for element accumulation, although the level of Cd partly exceeded the MPC. According to Subotić et al. (2013a, b), only Hg and Zn concentrations were above the MPC in the muscle tissue of pikeperch (*S. lucioperca*), catfish (*S. glanis*), burbot (*Lota lota*), common carp (*Cyprinus carpio*), and gobies (*Neogobius gymnotrachelus* and *Neogobius melanostomus*). Compared with the same species in our study, those authors found higher concentrations for almost all of the elements (Al, As, Cd, Fe, Hg, Mn, Zn in pikeperch samples and Al, As, Cd, Fe, Hg, Mn, Zn in catfish samples). Jovičić et al. (2015) also used 14 tissues from catfish (*S. glanis*) of the same lengths as in our study for element estimations (As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Se, and Zn), but all of the element concentrations were below the MPC. The concentrations of As, Co, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, and Zn were higher; the concentrations of Cd and Pb were lower, while the concentration of Cr was approximate to the concentration in our study. The widest range of fish species, silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*), freshwater bream (*A. brama*), white bream (*Blicca bjoerkna*), common carp (*C. carpio*), and catfish (*S. glanis*), were used in a study by Lenhardt et al. (2012) in which the accumulation of Al, As, B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Sr, and Zn

Table 2 Concentrations of elements in water (in mg L⁻¹) and muscle tissue of the fish species examined (in mg kg⁻¹ wet weight ± SD) per sampling site

	Al	As	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	Mn	Ni	Pb	Zn
D₁												
Water	0.15	0.001	0.00004	0.0005	0.002	0.006	0.26	0.0001	0.02	0.0014	0.0006	0.02
Pikeperch	0.22 ± 0.2	0.11 ± 0.02	0.003 ± 0.0007	ND	0.18 ± 0.06	0.09 ± 0.02	0.81 ± 0.12	0.15 ± 0.1	0.06 ± 0.01	0.01 ± 0.005	0.25 ± 0.06	2.74 ± 0.7
Bream	0.84 ± 0.2	0.16 ± 0.04	0.004 ± 0.0007	0.004 ± 0.001	0.23 ± 0.06	0.2 ± 0.04	2.31 ± 1.23	0.16 ± 0.03	0.17 ± 0.08	0.02 ± 0.02	0.21 ± 0.03	3.15 ± 0.024
Catfish	0.3 ± 0.14	0.1 ± 0.03	0.09 ± 0.008	ND	0.145 ± 0.06	0.07 ± 0.03	0.95 ± 0.08	0.33 ± 0.1	0.09 ± 0.009	0.074 ± 0.009	0.17 ± 0.05	7.62 ± 0.6
D₂												
Water	0.15	0.0006	0.00002	0.0005	0.009	0.006	0.21	0.0001	0.03	0.003	0.0005	0.02
Pikeperch	0.6 ± 0.3	0.13 ± 0.04	0.04 ± 0.06	ND	0.18 ± 0.1	0.11 ± 0.24	2.35 ± 0.4	0.3 ± 0.11	0.11 ± 0.04	0.016 ± 0.008	0.23 ± 0.11	3.76 ± 0.6
Bream	0.13 ± 0.14	0.21 ± 0.04	0.004 ± 0.0004	0.005 ± 0.005	0.2 ± 0.06	0.14 ± 0.03	2.32 ± 1.2	0.08 ± 0.02	0.17 ± 0.08	0.02 ± 0.02	0.25 ± 0.02	3.9 ± 0.44
Catfish	0.18 ± 0.13	0.09 ± 0.03	0.001 ± 0.001	0.003 ± 0.0007	0.13 ± 0.12	0.07 ± 0.02	1.33 ± 0.24	0.2 ± 0.01	0.09 ± 0.004	0.016 ± 0.023	0.18 ± 0.06	2.97 ± 0.02
D₃												
Water	0.08	0.002	0.00002	0.0005	0.007	0.006	0.08	0.00001	0.01	0.0009	0.0005	0.009
Pikeperch	1.95 ± 2.1	0.15 ± 0.035	0.002 ± 0.0014	0.003 ± 0.003	0.11 ± 0.1	0.11 ± 0.023	4.63 ± 4.15	0.28 ± 0.12	0.19 ± 0.17	0.08 ± 0.08	0.18 ± 0.1	3.07 ± 0.21
Bream	0.68 ± 0.36	0.15 ± 0.023	0.004 ± 0.0003	0.002 ± 0.003	0.26 ± 0.015	0.17 ± 0.005	1.66 ± 0.5	0.15 ± 0.1	0.16 ± 0.07	0.05 ± 0.02	0.23 ± 0.04	4.64 ± 0.7
Catfish	0.11 ± 0.16	0.11 ± 0.06	0.004 ± 0.0001	0.008 ± 0.006	0.14 ± 0.09	0.07 ± 0.008	0.55 ± 0.13	0.62 ± 0.4	0.08 ± 0.006	0.03 ± 0.005	0.16 ± 0.03	3 ± 0.4
S												
Water	0.23	0.0006	0.00003	0.0007	0.0005	0.02	0.38	0.0001	0.02	0.001	0.0008	0.03
Pikeperch	0.33 ± 0.4	0.19 ± 0.11	0.006 ± 0.002	0.003 ± 0.002	0.1 ± 0.06	0.2 ± 0.07	1.33 ± 0.26	0.17 ± 0.006	0.09 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.26 ± 0.06	3.7 ± 0.31
Bream	0.69 ± 0.45	0.18 ± 0.07	0.006 ± 0.002	0.005 ± 0.002	0.11 ± 0.09	0.22 ± 0.09	1.46 ± 0.07	0.06 ± 0.04	0.16 ± 0.05	0.08 ± 0.07	0.21 ± 0.07	3.76 ± 0.43
Catfish	0.4 ± 0.35	0.1 ± 0.26	0.007 ± 0.002	0.009 ± 0.004	0.15 ± 0.14	0.32 ± 0.11	2.32 ± 0.33	0.18 ± 0.07	0.24 ± 0.12	0.1 ± 0.02	0.18 ± 0.02	4.82 ± 0.81
T												
Water	0.33	0.002	0.00005	0.0005	0.004	0.07	0.53	0.0001	0.05	0.02	0.002	0.34
Pikeperch	0.29 ± 0.39	0.15 ± 0.05	0.004 ± 0.0002	0.004 ± 0.007	0.14 ± 0.06	0.11 ± 0.02	0.9 ± 0.03	0.26 ± 0.02	0.07 ± 0.01	0.03 ± 0.02	0.2 ± 0.08	3.24 ± 0.3
Bream	0.26 ± 0.46	0.16 ± 0.08	0.005 ± 0.0005	0.005 ± 0.004	0.18 ± 0.03	0.14 ± 0.008	1.32 ± 0.1	0.14 ± 0.02	0.17 ± 0.08	0.06 ± 0.04	0.22 ± 0.06	3.97 ± 1.37
Catfish	0.08 ± 0.08	0.11 ± 0.04	0.006 ± 0.0008	0.006 ± 0.009	0.22 ± 0.12	0.12 ± 0.03	1.34 ± 0.12	0.28 ± 0.13	0.1 ± 0.009	0.05 ± 0.03	0.29 ± 0.03	4.26 ± 0.67
GM₁												
Water	0.47	0.006	0.00005	0.001	0.003	0.008	0.94	0.0001	0.18	0.01	0.005	0.02
Chub	1.12 ± 0.42	0.14 ± 0.02	0.006 ± 0.0003	0.001 ± 0.001	0.28 ± 0.15	0.20 ± 0.08	3.48 ± 2.46	0.1 ± 0.01	0.2 ± 0.06	0.07 ± 0.02	0.15 ± 0.03	4.67 ± 0.69
Barbel	0.49 ± 0.43	0.11 ± 0.02	0.004 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.29 ± 0.05	0.24 ± 0.05	3.52 ± 3.03	0.32 ± 0.17	0.29 ± 0.07	0.04 ± 0.009	0.22 ± 0.04	3.53 ± 0.2
Nase	0.07 ± 0.008	0.3 ± 0.05	0.006 ± 0.0007	ND	0.34 ± 0.15	0.27 ± 0.06	1.49 ± 0.98	0.05 ± 0.002	0.22 ± 0.08	0.04 ± 0.005	0.11 ± 0.003	4.32 ± 0.88
GM₂												
Water	0.17	0.005	0.00004	0.0008	0.002	0.005	0.31	0.0001	0.06	0.005	0.002	0.01
Chub	0.93 ± 0.81	0.1 ± 0.01	0.006 ± 0.0006	0.001 ± 0.001	0.23 ± 0.05	0.16 ± 0.04	1.23 ± 0.3	0.13 ± 0.04	0.11 ± 0.02	0.06 ± 0.04	0.21 ± 0.05	4.6 ± 0.8
Barbel	0.28 ± 0.29	0.17 ± 0.11	0.005 ± 0.001	0.0002 ± 0.0002	0.28 ± 0.14	0.34 ± 0.21	1.74 ± 1.16	0.16 ± 0.003	0.29 ± 0.26	0.05 ± 0.01	0.27 ± 0.03	4.39 ± 0.76
Nase	1.33 ± 0.08	0.12 ± 0.01	0.005 ± 0.0006	0.0007 ± 0.0005	0.13 ± 0.01	0.35 ± 0.009	2.68 ± 0.58	0.004 ± 0.004	0.70 ± 0.05	0.01 ± 0.008	0.11 ± 0.007	8.16 ± 2.86
SM₁												
Water	0.13	0.004	0.00002	0.0005	0.001	0.005	0.29	0.0001	0.06	0.0013	0.0008	0.01

Table 2 (continued)

	Al	As	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	Mn	Ni	Pb	Zn
Chub	0.01±0.02	0.15±0.09	0.005±0.001	0.001±0.001	0.22±0.06	0.27±0.06	1.75±0.32	0.19±0.05	0.08±0.03	0.03±0.007	0.25±0.03	5.01±0.26
Barbel	0.15±0.26	0.08±0.02	0.005±0.0008	ND	0.35±0.06	0.28±0.01	2.86±1.77	0.24±0.06	0.40±0.12	0.04±0.02	0.23±0.03	4.15±0.65
Nase	0.3±0.5	0.19±0.1	0.005±0.0008	0.0008±0.0005	0.14±0.04	0.26±0.05	2.23±0.56	0.05±0.02	0.35±0.18	0.04±0.02	0.17±0.11	4.58±0.20
SM ₂												
Water	0.59	0.009	0.0002	0.001	0.008	0.005	1.31	0.0001	0.29	0.004	0.01	0.03
Chub	0.62±0.07	0.10±0.01	0.10±0.01	0.005±0.002	0.002±0.002	0.25±0.12	3.04±0.68	0.03±0.01	0.38±0.11	0.04±0.02	0.21±0.01	5.523±0.57
Barbel	0.46±0.45	0.12±0.02	0.006±0.0002	ND	0.34±0.06	0.33±0.05	2.68±0.96	0.11±0.09	0.52±0.1	0.04±0.008	0.26±0.06	5.9±0.83
Nase	0.9±0.35	0.16±0.08	0.005±0.0002	0.0006±0.0001	0.20±0.08	0.26±0.01	4.22±1.4	0.004±0.006	0.76±0.25	0.04±0.001	0.24±0.11	4.71±0.82
WM ₁												
Water	0.32	0.002	0.00003	0.0009	0.005	0.005	0.55	0.0001	0.05	0.0075	0.0008	0.01
Chub	0.30±0.56	0.15±0.006	0.007±0.0002	0.002±0.0007	0.21±0.06	0.21±0.08	1.51±0.63	0.07±0.006	0.11±0.02	0.007±0.0008	0.32±0.02	3.6±0.47
Barbel	0.34±0.55	0.40±0.58	0.024±0.032	ND	1.41±1.80	2.78±4.18	25.03±38.63	0.78±0.99	1.86±2.58	0.17±0.22	0.82±0.76	22.89±30.56
Nase	0.76±0.24	0.096±0.06	0.005±0.0007	0.002±0.004	0.15±0.09	0.26±0.12	2.15±1.19	0.05±0.02	0.32±0.2	0.07±0.07	0.27±0.09	5.22±3.82
WM ₂												
Water	0.6	0.25	0.05	0.005	0.002	0.01	0.0002	0.0001	0.003	0.65	0.0003	0.006
Chub	0.92±0.24	0.06±0.006	0.006±0.001	0.003±0.002	0.29±0.17	0.35±0.26	3.5±1.68	0.11±0.03	0.36±0.25	0.074±0.022	0.35±0.042	4.11±0.66
Barbel	0.61±0.86	0.26±0.15	0.007±0.0007	0.009±0.004	0.32±0.02	0.9±0.3	8.14±3.58	0.17±0.04	0.4±0.02	0.11±0.05	0.32±0.008	7.34±2.44
Nase	0.42±0.1	0.07±0.02	0.006±0.0007	0.002±0.002	0.27±0.03	0.16±0.05	1.7±1.06	0.08±0.02	0.13±0.05	0.06±0.03	0.31±0.06	4.98±0.85
I												
Water	0.17	0.008	0.0001	0.0007	0.008	0.003	0.5	0.0001	0.04	0.006	0.006	0.02
Chub	0.79±0.47	0.06±0.006	0.009±0.001	0.001±0.002	0.23±0.15	0.21±0.02	3.94±1.70	0.07±0.08	0.12±0.04	0.07±0.02	0.35±0.11	4.39±0.32
Barbel	0.23±0.03	0.13±0.07	0.005±0.002	ND	0.18±0.006	0.42±0.15	2.47±0.85	0.13±0.04	0.22±0.008	0.31±0.12	0.3±0.07	4.38±0.89
Nase	0.33±0.10	0.08±0.008	0.006±0.0003	0.0005±0.0001	0.29±0.04	0.12±0.07	1.36±0.77	0.04±0.006	0.13±0.02	0.03±0.004	0.22±0.03	3.04±0.7
DR												
Water	0.07	0.0005	0.00002	0.0005	0.002	0.004	0.11	0.0001	0.01	0.0005	0.0007	0.02
Chub	0.77±0.33	0.12±0.01	0.005±0.0007	0.0005±0.001	0.21±0.1	0.24±0.1	1.91±0.61	0.08±0.09	0.16±0.04	0.02±0.007	0.39±0.07	5.73±1.92
Barbel	0.62±0.5	0.10±0.06	0.005±0.0004	0.0003±0.0005	0.24±0.16	0.18±0.05	1.8±0.69	0.34±0.4	0.28±0.15	0.01±0.01	0.27±0.05	4.00±1.37
Nase	0.31±0.35	0.14±0.14	0.006±0.0005	0.004±0.006	0.21±0.01	0.50±0.29	2.39±0.87	0.04±0.02	0.20±0.05	0.04±0.04	0.24±0.11	5.18±1.11
K												
Water	0.33	0.03	0.0005	0.001	0.005	0.004	0.54	0.0001	0.27	0.006	0.001	0.01
Chub	0.01±0.02	0.12±0.01	0.006±0.001	0.002±0.002	0.21±0.02	0.33±0.06	2.23±0.32	0.18±0.07	0.11±0.05	0.09±0.04	0.03±0.09	5.01±1.07
Barbel	0.34±0.36	0.14±0.08	0.006±0.001	ND	0.31±0.02	0.41±0.12	3.00±0.87	0.48±0.12	0.58±0.11	0.06±0.01	0.20±0.03	3.99±1.18
Nase	0.33±0.16	0.10±0.001	0.005±0.001	ND	0.22±0.17	0.39±0.006	2.36±1.008	0.04±0.004	0.31±0.02	0.10±0.06	0.19±0.02	7.15±2.86
GT												
Water	0.035	0.0024	0.00002	0.0005	0.005	0.002	0.08	0.0001	0.046	0.0005	0.0005	0.006
Chub	0.41±0.37	0.12±0.11	0.02±0.01	0.003±0.004	0.49±0.4	0.38±0.11	2.83±0.75	0.01±0.02	0.27±0.28	0.03±0.03	0.59±0.27	15.75±6.16
Barbel	0.67±0.58	0.1±0.05	0.007±0.006	0.002±0.002	0.4±0.2	0.46±0.15	2.83±0.55	0.07±0.01	0.42±0.41	0.06±0.05	0.4±0.1	12.32±7.00

Table 2 (continued)

	Al	As	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	Mn	Ni	Pb	Zn
M												
Nase	0.28 ± 0.33	0.06 ± 0.02	0.005 ± 0.0005	0.003 ± 0.005	0.25 ± 0.07	0.21 ± 0.02	2.23 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.25 ± 0.06	0.02 ± 0.01	0.21 ± 0.07	6.73 ± 1.08
Water	0.34	0.0024	0.00008	0.001	0.007	0.005	0.53	0.0001	0.01	0.0015	0.0007	0.007
Chub	0.41 ± 0.32	ND	0.005 ± 0.0002	0.005 ± 0.006	0.21 ± 0.11	0.25 ± 0.04	1.26 ± 0.40	0.06 ± 0.03	0.10 ± 0.04	0.04 ± 0.02	0.21 ± 0.10	3.99 ± 0.10
Barbel	0.32 ± 0.08	ND	0.003 ± 0.0007	0.002 ± 0.001	0.15 ± 0.05	0.41 ± 0.8	2.49 ± 0.02	0.13 ± 0.10	0.19 ± 0.02	0.04 ± 0.02	0.21 ± 0.07	6.52 ± 0.83
Nase	0.37 ± 0.37	0.10 ± 0.17	0.004 ± 0.002	0.006 ± 0.004	0.18 ± 0.01	0.24 ± 0.02	1.37 ± 0.23	0.03 ± 0.04	0.13 ± 0.04	0.17 ± 0.26	0.13 ± 0.12	4.73 ± 0.54
P												
Water	0.05	0.0005	0.00006	0.001	0.0036	0.0063	0.073	0.0001	0.03	0.0005	0.0005	0.016
Chub	ND	0.10 ± 0.01	0.005 ± 0.0002	0.003 ± 0.001	0.26 ± 0.06	0.24 ± 0.12	1.60 ± 0.6	ND	0.17 ± 0.04	0.55 ± 0.16	0.2 ± 0.08	4.58 ± 1.16
Barbel	0.87 ± 0.41	0.13 ± 0.005	0.008 ± 0.002	0.005 ± 0.001	0.31 ± 0.009	0.48 ± 0.10	3.64 ± 0.77	0.007 ± 0.008	0.58 ± 0.11	0.25 ± 0.04	0.22 ± 0.07	8.55 ± 2.38
Nase	0.98 ± 0.36	0.23 ± 0.08	0.004 ± 0.0006	ND	0.38 ± 0.14	0.27 ± 0.04	2.15 ± 0.88	ND	0.38 ± 0.09	0.14 ± 0.05	0.33 ± 0.12	5.4 ± 1.88

was analyzed in the liver, muscle, gills, and gonads, and only Fe and Zn concentrations were above the MPC. The levels of Al, Fe, Mn, and Zn in bream muscle and Cu, Fe, Mn, and Zn in catfish muscle were higher than in our study. This is very important since the length of the fish examined in the abovementioned study was lower than in our study. All of the studies mentioned here were conducted in the Danube River, mostly near the capital city of Belgrade.

The type of chemical, metabolic properties of the tissues and the degree of environmental pollution affect the bioaccumulation levels of fish (Prosi 1981). As expected, this study indicates the highest BCFs for Hg (Table 3), which was also confirmed in the studies by Subotić et al. (2013a, b), Dušek et al. (2005), Has-Schön et al. (2008), and Nabavi et al. (2012), who also stated that Hg is accumulated in the highest concentrations in muscle tissue. The research presented here has also shown that water was a good source of Fe in the West Morava River and Zn in the South Morava and rivers from East Serbia such as the Great Timok, Mlava, and Pek. Generally, predatory species had the highest BCF for Fe, as can be seen in a study by Subotić et al. (2013a).

The MPI is more reliable for expressing the contamination status of fish than the accumulation patterns since it considers all metals synchronously, unlike the BCF. The estimated MPI values for the muscle of pikeperch and catfish in the present study (Fig. 4) were lower than those reported by Subotić et al. (2013b) for the same species of the same length as in our study (0.840 and 0.907, respectively), which were estimated based on the analysis of six elements (As, Cu, Fe, Hg, Mn, and Zn). In a study by Jovičić et al. (2015), the MPI values for the muscle of catfish, of the same length as in our study, calculated for 11 elements (As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Zn), were lower than 0.1. Considering that the MPI is influenced by the elements that are used for its calculation, this might explain the differences between ours and the two studies mentioned above. One more of the factor affecting the MPI of fish is weight (Subotić et al. 2013a, b).

Using the MPI index, we proposed a water quality classification for the main rivers in Serbia (Table 4). The classification showed spatial patterns of the elements, which led to the identification of “site unaffected by direct pollution,” “slightly affected,” or “affected” sites among the main rivers in Serbia. According to this classification, the Tisa River can be categorized as site unaffected by direct pollution while the West Morava and Pek can be categorized as affected. Other rivers are slightly affected. As a result of this water quality classification, a contamination map of Serbia was formed (Fig. 5). Based on previous studies by Teodorović (2009) who stated that heavy metals are considered to be among the major pollutants in the Danube River in Serbia, especially pronounced between Novi Sad and Belgrade (the two largest cities), and Sakan et al. (2013) who demonstrated the high ecological risk and need for environmental monitoring in the Tisa River,

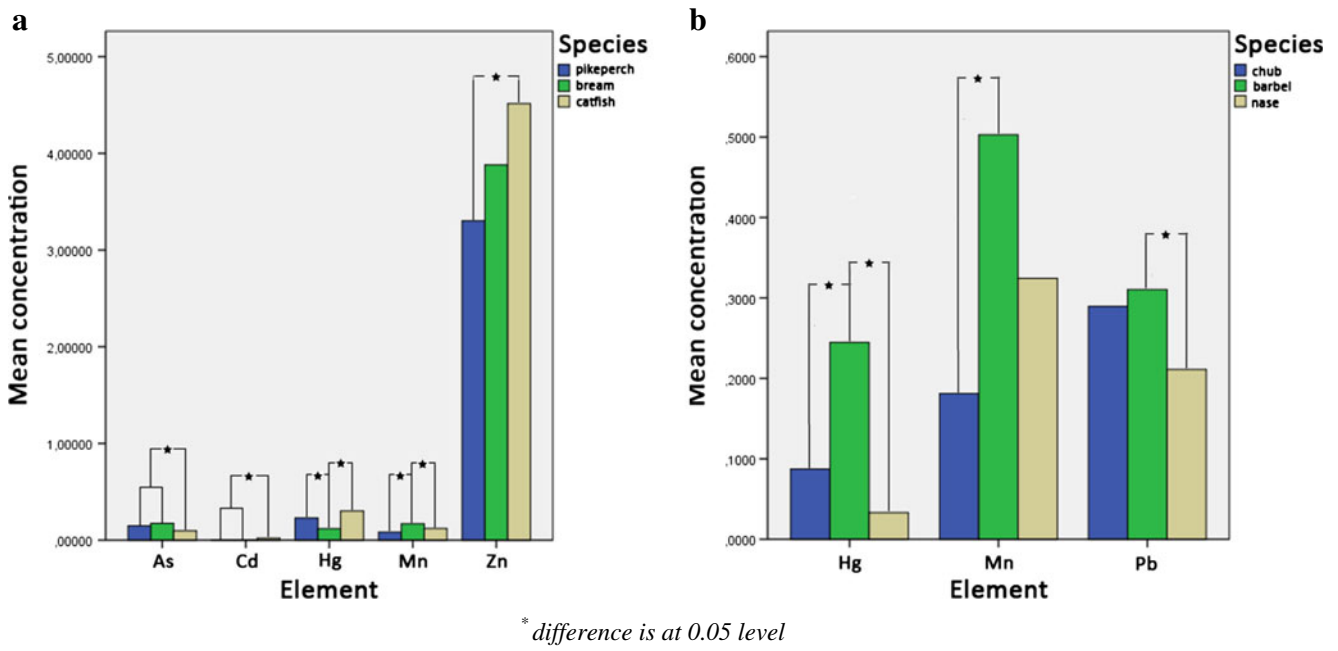


Fig. 2 Mean concentrations of elements which significantly differed between **a** pikeperch, bream, and catfish and **b** chub, barbel, and nase

supporting the development of an efficient strategy to reduce local pollution and contamination, we expected a high level of fish contamination in our study. Surprisingly, this was not the case, and those sites were slightly or moderately affected with metal pollution. Sakan et al. (2015) found that the most polluted sediment samples from the West Morava which originated from industrial plants and mines, and agricultural products, were mainly due to the use of manganese-containing products, such as fertilizer and fungicide. This has probably

led to the high MPI values of the barbel studied in this river, and it is another proof that the accumulation of elements in fish is mainly derived from sediment acting as an adsorptive sink with metal concentrations often being many times greater than in the water column (Salomons and Förstner 1980) and sediment-dwelling organisms, because they can scavenge some elements from sediment.

Our study showed that Hg concentrations exceeded the prescribed MPC in the Danube (sampling site D₃), which is in

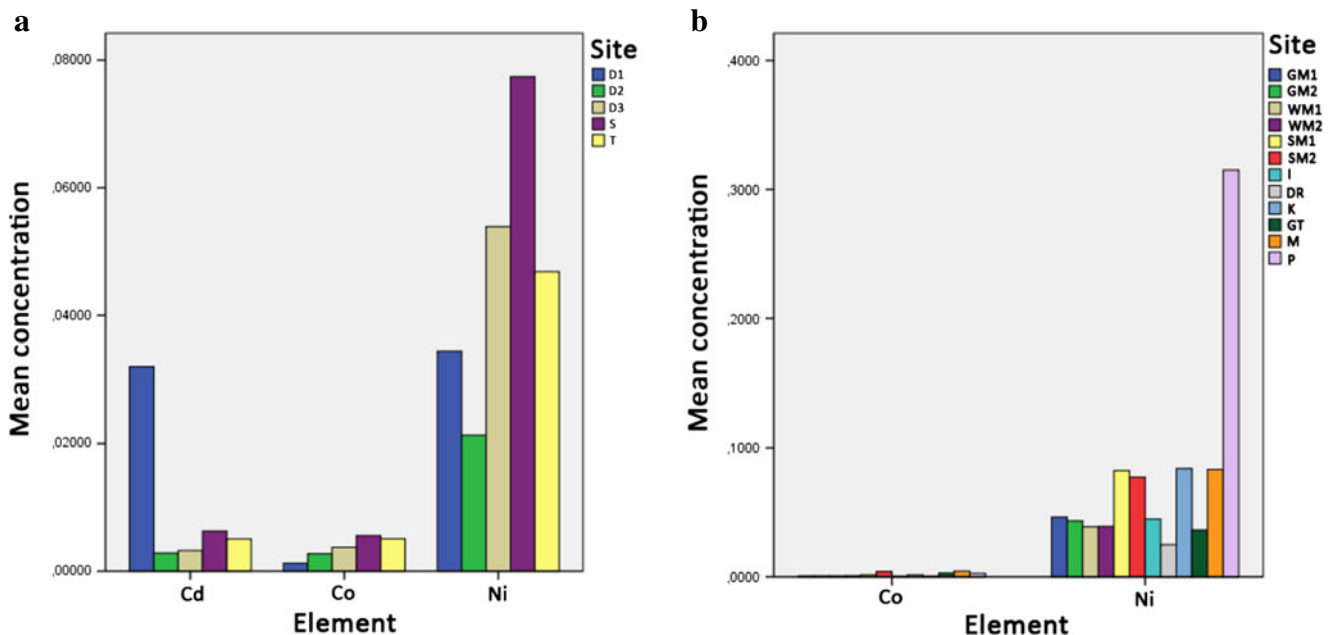


Fig. 3 Mean concentrations of elements which significantly differed between sampling sites for **a** pikeperch, bream, and catfish and **b** chub, barbel, and nase

Table 3 The BCF as ratio of mean element level (in mg kg⁻¹ ww) in muscle tissue to its mean concentration (in mg L⁻¹) in water, per sampling site

	Al	As	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	Mn	Ni	Pb	Zn
D₁												
Pikeperch	1.5	110	75	–	90	15	3.2	1500	3	7.1	416.7	137
Bream	5.6	160	100	8	115	33.3	8.9	1600	8.5	14.33	350	154.5
Catfish	2	100	2250	–	72.5	11.7	3.65	3300	4.5	52.9	283.3	381
D₂												
Pikeperch	4	330	2000	–	20	18.3	11.2	3000	3.7	5.3	460	188
Bream	0.9	350	200	10	22.2	23.3	11.05	800	5.7	6.7	500	195
Catfish	1.2	150	50	6	14.4	11.7	6.3	2000	3	5.3	360	148.5
D₃												
Pikeperch	24.1	75	100	6	15.7	18.3	57.9	28,000	19	88.9	360	341.1
Bream	8.5	75	200	10	37.1	28.3	20.8	15,000	16	55.6	460	515.6
Catfish	1.4	55	200	16	320	11.7	6.9	62,000	8	33.3	320	333.3
S												
Pikeperch	1.4	316.7	200	4.3	200	10	3.5	1700	4.5	50	325	123.3
Bream	3	300	200	7.1	220	11	3.8	600	8	80	262.5	125.3
Catfish	1.7	166	233.3	12.9	300	16	6.1	1800	12	100	225	160.7
T												
Pikeperch	0.9	75	80	8	35	1.6	9000	2600	1.4	1.5	100	9.5
Bream	0.8	80	100	10	45	2	13,200	1400	3.4	3	110	11.7
Catfish	0.2	55	120	12	55	1.7	13,400	2800	2	2.5	145	12.5
GM₁												
Chub	2.4	23.3	120	1	93.3	25	3.7	1000	1.1	7	30	233.5
Barbel	1.0	18.3	80	1	96.7	30	3.74	3200	1.6	4	44	176.5
Nase	0.15	50	120	–	113.3	33.8	1.6	500	1.2	4	22	216
GM₂												
Chub	0.08	37.5	250	2	220	54	6.03	1900	1.33	23.1	312.5	501
Barbel	0.16	20	250	–	350	56	9.86	2400	6.7	30.1	287.5	415
Nase	2.31	47.5	250	1.3	140	52	7.7	500	5.8	30.1	212.5	458
SM₁												
Chub	0.08	37.5	250	2	220	50	10.5	300	6.3	30.8	262.5	552.3
Barbel	1.2	20	250	–	350	66	9.2	1100	8.7	30.8	325	590
Nase	2.3	47.5	250	1.6	140	52	14.6	40	12.7	30.8	300	471
SM₂												
Chub	1.0	11.1	500	5	0.25	50	2.3	300	1.3	100	21	184.1
Barbel	0.8	13.3	30	–	42.5	66	2.0	100	1.8	100	26	196.7
Nase	1.5	17.8	25	0.6	25	52	3.2	40	2.6	100	24	157
WM₁												
Chub	1.07	75	233.3	2.22	42	42	2.7	700	2.2	0.9	400	360
Barbel	1.06	200	800	–	282	556	45.5	7800	37.2	22.7	1025	2289
Nase	2.4	48	166.7	2.22	30	52	3.9	500	6.4	9.3	337.5	522
WM₂												
Chub	1.5	0.24	0.12	0.6	145	35	17,500	1100	120	0.11	1167	685
Barbel	1.0	1.0	0.14	1.8	160	90	40,700	1700	133	0.2	1067	1223
Nase	0.7	0.3	0.12	0.4	135	16	8500	800	43.3	0.09	1033	830
I												
Chub	4.6	7.5	90	1.4	28.8	70	7.9	700	3	11.7	58.3	219.5
Barbel	1.4	16.2	50	–	22.5	140	4.9	1300	5.5	51.7	50	219
Nase	1.9	10	60	0.7	36.3	40	2.7	400	3.3	5	36.7	152
DR												

Table 3 (continued)

	Al	As	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	Mn	Ni	Pb	Zn
Chub	11	240	250	1	105	60	17.4	800	16	40	557.1	286.5
Barbel	8.9	200	250	0.6	120	45	16.4	3400	28	20	385.7	200
Nase	4.4	282	300	8	105	125	21.7	400	20	80	342.9	259
K												
Chub	0.03	4	12	2	42	82.5	4.1	1800	0.4	15	30	501
Barbel	1.03	4.7	12	–	62	102.5	5.6	4800	2.1	10	200	399
Nase	1	3.3	10	–	44	97.5	4.4	400	1.1	16.7	190	715
GT												
Chub	11.7	50	1000	6	98	190	35.4	100	5.9	60	1180	2625
Barbel	19.1	41.7	350	4	80	230	35.4	700	9.1	120	800	2053
Nase	8	25	250	6	50	105	27.9	100	5.4	40	420	1121
M												
Chub	1.2	–	62.5	5	30	50	2.4	600	10	26.7	300	570
Barbel	0.9	–	37.5	2	21.4	82	4.7	1300	19	26.7	300	931.4
Nase	1.1	41.7	50	6	25.7	48	2.6	300	13	113.3	185.7	675.7
P												
Chub	–	200	83.3	3	72.2	38.1	254	–	5.7	1100	400	286.3
Barbel	17.4	260	133.3	5	86.1	76.2	577	70	19.3	500	440	5354.4
Nase	19.6	460	66.7	–	105.5	42.9	341.3	–	12.7	280	660	337.5

accordance with Subotić et al. (2013b) who stated the same for catfish of a similar size to those in our study. Elevated concentrations of Cd were also found in the Danube (sampling site D₁). Jovičić et al. (2014) stated that fish with excess concentrations of Hg and Cd from the Danube can be utilized in the human diet only in limited quantities and that it is necessary to establish permanent monitoring of heavy metal concentrations in this area. Since Hg and Cd concentrations were above the MPC in West Morava (sampling site WM₁) and South Morava (sampling site SM₂), respectively, as were Pb concentrations in the West Morava (sampling sites WM₁ and WM₂), Ibar, Drina, and Great Timok, we suggest that fishing in these rivers should be limited, because of the potential health risk. Our findings also suggest that the current lack of legal limits for a number of metals

in European and Serbian legislation should be tackled as soon as possible, in order to enable more efficient control of contaminants in fish products. In the future, it will be important to focus efforts on defining the appropriate quantities of fish meat to be used in the human diet.

To conclude, this study clearly indicates that the MPI is a reliable index for expressing the contamination status of fish, giving a clear picture of pollution. Therefore, our opinion is that it is possible for MPI to be included in complex freshwater monitoring programs. Also, more than one fish species should be analyzed in comparative environmental studies due to substantial variations in pollution loads. The benthophagous species bream and barbel, preying close to the bottom, were recognized as susceptible indicators of the environmental gradient of element pollution. The predator species catfish revealed important indicator potential because it resides in muddy littoral. This study achieved its primary objective and produced a contamination map of Serbia as a

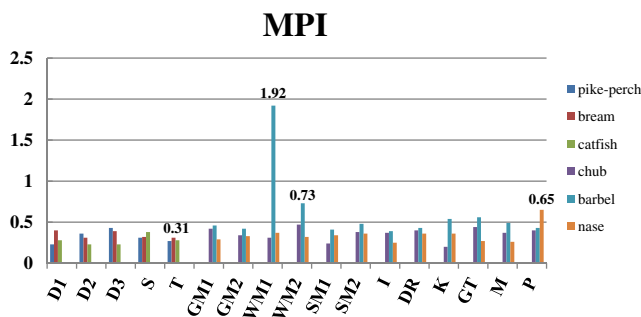


Fig. 4 Metal pollution index (MPI) values of the total metal accumulation levels in the fish species examined per sampling site

Table 4 Quality classification of Serbian rivers according to the metal pollution index

Class of contamination	Characteristics	MPI
I	Site unaffected by direct pollution	<0.3
II	Slightly affected site	0.3–0.6
III	Affected site	0.6

Fig. 5 Contamination map of Serbia



basis for further research. Over the past two decades, Serbia has not expanded its industrial activity, which has resulted in the barely noticeable anthropogenic input of heavy metals in the rivers close to industry, and the main rivers are mostly slightly affected. On the other hand, the West Morava River and Pek can be marked as polluted when it comes to heavy metals and elements. Also, we assumed that pollution by heavy metals in the 1990s was trapped in the sediment, resulting in an increased concentration of elements in the species that live and feed on the bottom. Therefore, the proposed contamination map presents the current state of the entire ecosystem. Future studies should involve similar analyses that would include more fish species and focus especially on smaller rivers that have been neglected so far.

Acknowledgments This study was supported by the Ministry of Education, Science, and Technological Development of the Republic of Serbia, Project No. TR31011.

References

Alibabić V, Vahčić N, Bajramović M (2007) Bioaccumulation of metals in fish of Salmonidae family and the impact of fish meat quality. *Environ Monit Assess* 131(1–3):349–364

Andres S, Ribeyre F, Tourencq J-N, Boudou A (2000) Interspecific comparison of cadmium and zinc contamination in the organs of four fish species along a polymetallic pollution gradient (Lot River, France). *Sci Total Environ* 248(1):11–25

Braune B, Muir D, DeMarch B, Gamberg W, Eamer J, Elkin B, Evans M, Grundy S, Hebert C, Johnstone R, Kidd K, Koenig B, Lockhart L, Marshall H, Reimer K, Sanderson J, Shutt L (1999) Spatial and temporal trends of contaminants in Canadian Arctic freshwater and terrestrial ecosystems: a review. *Sci Total Environ* 230:145–207

Burger J, Gaines KF, Boring CS, Stephens WL, Snodgrass J, Dixon C, McMahon M, Shukla S, Shukla T, Gochfeld M (2002) Metal levels in fish from the Savannah River: potential hazards to fish and other receptors. *Environ Res* 89(1):85–97

Čelechovská O, Svobodová Z, Žlábek V, Macharáčková B (2007) Distribution of metals in tissues of the common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Vet Brno* 76:S93–S100

Chovanec A, Hofer R, Schiemer F (2003) Fish as bioindicators. Trace metals and other contaminants in the environment 6. In: Markert

- BA, Breure AM, Zechmeister HG (eds) Bioindicators and biomonitors. Elsevier, Amsterdam, pp 639–677
- Dallinger R, Kautzky H (1985) The importance of contaminated food and uptake of heavy metals by rainbow trout (*Salmo gairdneri*): a field study. *Oecologia* 67:82–89
- Djinovic JM, Popovic AR (2007) In situ influence of coal ash dump on the quality of neighboring surface and ground waters by applying correlation statistic analysis. *Fuel* 86(1–2):218–226
- Dušek L, Svobodová Z, Janoušková D, Vykusová B, Jarkovský J, Šmíd R, Pavliš P (2005) Bioaccumulation of mercury in muscle tissue of fish in the Elbe River (Czech Republic): multispecies monitoring study 1991–1996. *Ecotoxicol Environ Saf* 6(2):256–267
- European Commission Regulation (2006) Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs, Official Journal of the European Union No 1881/2006
- Farkas A, Salánki J, Specziár A (2003) Age- and size-specific patterns of heavy metals in the organs of freshwater fish *Abramis brama* L. populating a low-contaminated site. *Water Res* 37(5):959–964
- Fernandes C, Fontainhas-Fernandes A, Cabral D, Salgado MA (2008) Heavy metals in water, sediment and tissues of *Liza saliens* from Esmoriz-Paramos lagoon, Portugal. *Environ Monit Assess* 136(1–3):267–275
- Food and Agriculture/World Health Organisation (FAO/WHO) (1972) Evaluation of certain food additives and the contaminants mercury, cadmium and lead, WHO Technical Report Series No. 505. WHO, Geneva
- Hardisty MW, Karta S, Sainsbury M (1974) Dietary habits and heavy metal concentrations in fish from Severn Estuary and Bristol Channel. *Mar Pollut Bull* 5:61–63
- Has-Schön E, Bogut I, Kralik G, Bogut S, Horvatić J, Cacić I (2008) Heavy metal concentration in fish tissues inhabiting waters of “Buško Blato” reservoir (Bosna and Herzegovina). *Environ Monit Assess* 144(1–3):15–22
- Hutton M (1987) Human health concerns of lead, mercury, cadmium and arsenic. In: Hutchinson TC, Meema KM (eds) Lead, mercury, cadmium and arsenic in the environment. Wiley, Chichester
- Jarić I, Višnjić-Jevtić Z, Cvijanović G, Lj J, Skorić S, Lenhardt M (2011) Determination of differential heavy metal and trace element accumulation in liver, gills, intestine and muscle of sterlet (*Acipenser ruthenus*) from Danube River in Serbia by ICP-OES. *Microchem J* 98(1):77–81
- Jovičić K, Lenhardt M, Višnjić-Jevtić Ž, Đikanović V, Skorić S, Smederevac-Lalić M, Jaćimović M, Gačić Z, Jarić I, Hegediš A (2014) Assessment of fish stocks and elemental pollution in the Danube, Sava and Kolubara Rivers on the Territory of the City of Belgrade. *Serbia Acta zool bulg* 7:179–184
- Jovičić K, Nikolić DM, Višnjić-Jevtić Ž, Đikanović V, Skorić S, Stefanović SM, Lenhardt M, Hegediš A, Krpo-Četković J, Jarić I (2015) Mapping differential elemental accumulation in fish tissues: assessment of metal and trace element concentrations in wels catfish (*Silurus glanis*) from the Danube River by ICP-MS. *Environ Sci Pollut Res* 22(5):3820–3827
- Lamas S, Fernández JA, Aboal JR, Carballeira A (2007) Testing the use of juvenile *Salmo trutta* L. as biomonitors of heavy metal pollution in freshwater. *Chemosphere* 67(2):221–228
- Lau S, Mohammed MA, Yen TC, Su'ut S (1998) Accumulation of heavy metals in fresh water molluscs. *Sci Total Environ* 214:113–121
- Lenhardt M, Jarić I, Višnjić-Jevtić Ž, Skorić S, Gačić Z, Pucar M, Hegediš A (2012) Concentrations of 17 elements in muscle, gills, liver and gonads of five economically important fish species from the Danube River. *Knowl Manag Aquatic Ecosyst* 407:02
- Liu J, Zhang XH, Tran H, Wang DQ, Zhu YN (2011) Heavy metal contamination and risk assessment in water, paddy soil, and rice around an electroplating plant. *Environ Sci Pollut Res* 18(9):1623–1632
- McCoy CP, O'Hara TM, Bent LW, Boyle CR (1995) Liver and kidney concentrations of zinc, copper and cadmium in Channel catfish (*Ictalurus punctatus*): variations due to size, season and health status. *Vet Human Toxicol* 37:11–15
- Nabavi SF, Nabavi SM, Latifi AM, Eslami S, Ebrahimzadeh MA (2012) Determination of trace elements level of pikeperch collected from the Caspian Sea. *Bull Environ Contam Toxicol* 88(3):401–405
- Official Gazette of RS (2005) Fisheries Law
- Official Gazette of RS (2011) Regulation on quantity of pesticides, metals, metalloids, and other toxic substances, chemotherapeutics, anabolics, and other substances which can be found in food. Official Gazette of RS No 28/2011
- Pawellek F, Frauenstein F, Veizer J (2002) Hydrochemistry and isotope geochemistry of the upper Danube River. *Geochim et Cosmochim Acta* 66(21):3839–3854
- Phillips DJH (ed) (1980) Quantitative aquatic biological indicators. Applied Science Publishers, London
- Poleksić V, Lenhardt M, Jarić I, Djordjević D, Gačić Z, Cvijanović G, Rašković B (2010) Liver, gills and skin histopathology and heavy metals content of the Danube sterlet (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758). *Environ Toxicol Chem* 29:515–521
- Prosi F (1981) Heavy metals in aquatic organisms. In: Förstner U, Wittmann GTW (eds) Berlin. Springer, Heidelberg, New York, pp 271–323
- Ricart M, Guasch H, Barceló D, Brix R, Conceição MH, Geiszinger A, de Alda MJL, López-Doval JC, Muñoz I, Postigo C, Romani AM, Villagrasa M, Sabater S (2010) Primary and complex stressors in polluted Mediterranean rivers: pesticide effects on biological communities. *J Hydrol* 383(1–2):52–61
- Sakan S, Sakan N, Đorđević D (2013) Trace element study in Tisa River and Danube alluvial sediment in Serbia. *Int J Sediment Res* 28(2): 234–245
- Sakan S, Dević G, Relić D, Anđelković I, Sakan N, Đorđević D (2015) Evaluation of sediment contamination with heavy metals: the importance of determining appropriate background content and suitable element for normalization. *Environ Geochem Health* 37(1):97–113
- Salomons W, Förstner U (1980) Trace metal analysis on polluted sediments: part II: evaluation of environmental impact. *Environmental Technology* 1(11):506–517
- Simić V, Simić S, Stojković Piperac M, Petrović A, Milošević D (2014) Commercial fish species of inland waters: a model for sustainability assessment and management. *Sci Total Environ* 497–498:642–650
- Smederevac-Lalić M, Višnjić-Jevtić Ž, Pucar M, Mićković B, Skorić S, Nikčević M, Hegediš A (2011) Fishing circumstances on the Danube in Serbia. *Water Research and Management* 1(4):45–49
- Smederevac-Lalić M, Pešić R, Cvejić S, Simonović P (2012) Socio-economic features of commercial fishery in the bordering upper Danube River area of Serbia. *Environ Monit Assess* 184(5):2633–2646
- Squadrone S, Prearo M, Brizio P, Gavinelli S, Pellegrino M, Scanzio T, Guarise S, Benedetto A, Abete MC (2013) Heavy metals distribution in muscle, liver, kidney and gill of European catfish (*Silurus glanis*) from Italian Rivers. *Chemosphere* 90(2):358–365
- Subotić S, Spasić S, Višnjić-Jevtić Z, Hegediš A, Krpo-Četković J, Mićković B, Skorić S, Lenhardt M (2013a) Heavy metal and trace element bioaccumulation in target tissues of four edible fish species from the Danube River (Serbia). *Ecotoxicol Environ Saf* 98:196–202
- Subotić S, Višnjić Jevtić Ž, Spasić S, Hegediš A, Krpo-Četković J, Lenhardt M (2013b) Distribution and accumulation of elements (As, Cu, Fe, Hg, Mn, and Zn) in tissues of fish species from different trophic levels in the Danube River at the confluence with the Sava River (Serbia). *Environ Sci Pollut Res* 20(8):5309–5317
- Sunjug K, Gačić Z, Kolarević S, Višnjić-Jevtić Z, 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* 2012:351074

- Teodorović I (2009) Ecotoxicological research and related legislation in Serbia. *Environ Sci Pollut Res* 16(1):S123–S129
- Teodorović I, Đukić N, Maletin S, Miljanović B, Jugovac N (2000) Metal pollution index: proposal for freshwater monitoring based on trace metal accumulation in fish. *Tiscia* 32:55–60
- Terra BF, Araújo FG, Calza CF, Lopes RT, Teixeira TP (2008) Heavy metal in tissues of three fish species from different trophic levels in a tropical Brazilian river. *Water Air Soil Pollut* 187:275–284
- Triebkorn R, Telcean I, Casper H, Farkas A, Sandu C, Stan G, Colărescu O, Dori T, Köhler HR (2008) Monitoring pollution in River Mureş, Romania, part II: metal accumulation and histopathology in fish. *Environ Monit Assess* 141(1–3):177–188
- Uchida M, Hirakawa Y, Inoue T (1961) Biochemical studies on Minamata disease IV. Isolation and chemical identification of the mercury compound in the toxic shellfish with special reference to the causal agent of the disease. *Kumamoto Medical Journal* 14:181–184
- Usero J, González-Regalad E, Gracia I (1997) Trace metals in the bivalve molluscs *Ruditapes decussatus* and *Ruditapes philippinarum* from the Atlantic Coast of Southern Spain. *Environ Int* 23(3):291–298
- Uysal K, Köse E, Bülbül M, Dönmez M, Erdoğan Y, Koyun M, Ömeroğlu C, Özmal F (2009) The comparison of heavy metal accumulation ratios of some fish species in Enne Dame Lake (Kütahya/Turkey). *Environ Monit Assess* 157:355–362
- van der Schalie WH, Shedd TR, Knechtges PL, Widder MW (2001) Using higher organisms in biologically early warning systems for real time toxicity detection. *Biosens Bioelectron* 16(7–8):457–465
- Visnjic-Jeftic Z, Jaric I, Lj J, Skoric S, Smederevac-Lalic M, Nikcevic M, Lenhardt M (2010) Heavy metal and trace element accumulation in muscle, liver and gills of the Pontic shad (*Alosa immaculate*, Bennet 1835) from the Danube River (Serbia). *Microchem J* 95(2):341–344
- Yi YJ, Zhang SH (2012) Heavy metal (Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Zn) concentrations in seven fish species in relation to fish size and location along the Yangtze River. *Environ Sci Pollut Res* 19(9):3989–3996
- Zrnčić S, Oraić D, Čaleta M, Mihaljević Ž, Zanella D, Bilandžić N (2013) Biomonitoring of heavy metals in fish from the Danube River. *Environ Monit Assess* 185(2):1189–1198

Arsenic and Other Trace Elements in Five Edible Fish Species in Relation to Fish Size and Weight and Potential Health Risks for Human Consumption

Aleksandra Milošković, Vladica Simić*

Faculty of Science, University of Kragujevac, R. Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Serbia

Received: 18 February 2014

Accepted: 9 May 2014

Abstract

The main objectives of study were to determine the concentrations of As and other trace elements (Al, Co, Fe, Ni, Sn, Se) in the muscle, liver, and gills of pikeperch (*Sander lucioperca*), catfish (*Silurus glanis*), and pike (*Esox lucius*), and in the muscle of Prussian carp (*Carassius gibelio*) and freshwater bream (*Abramis brama*), to identify relationships between element concentrations and total length and weight of the examined fish and studies of potential impact of contaminated fish consumption on human health. In the present study, the highest concentrations of As ($0.004 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), Sn ($0.154 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), and Co ($0.053 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) were observed in the liver of pikeperch. The highest concentrations of Ni ($0.051 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) and Fe ($162.17 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) were observed in gills and liver of pike, respectively, while the highest concentrations of Al ($22.65 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) and Se ($0.509 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) were observed in gills and liver of catfish, respectively. Freshwater bream diverged from the other four species based on element concentrations in muscle, while catfish diverged from the other predator species based on element concentrations in gills. This indicates that the element levels detected in organs seem to reflect the pollution level of sediment and its biota, rather than the prevailing pollution state of the water. We recorded the most correlations between element accumulation and fish size and weight in the tissues of pike, which could probably be explained by life histories, as well as by habitat of this species. Meat of studied species should be safe for utilization in human diet.

Keywords: arsenic, reservoir, fish, food safety

Introduction

The rapid development of industry and agriculture has resulted in an increase in pollution and, therefore, contamination of aquatic ecosystems (e.g. lakes, reservoirs, rivers, streams, etc.) has been receiving increased worldwide attention over the last few decades. Metals are considered to be the most important form of aquatic pollution because of their toxicity, long persistence, and accumulation by

aquatic organisms [1-3]. In addition to toxic elements (arsenic, As), essential trace elements (aluminum, Al; cobalt, Co; iron, Fe; nickel, Ni; tin, Sn; and selenium, Se) become toxic to living organisms when subjected to high concentrations [4].

Fish are constantly exposed to chemicals in polluted waters, so they could be used as excellent biological markers of elements in aquatic ecosystem [5]. Elements differ in their accumulation levels and patterns depending on fish species, as well as fish tissue [6, 7]. Gills are the primary site of element uptake from water, especially if elements are

*e-mail: simic@kg.ac.rs

bound to particulate matters [8], while the liver as metabolically active tissue (due to the presence of metal-binding proteins) is the accumulation location for elements [9, 10]. Muscles are not important tissue in metals agglomeration, except mercury, and the study of potential metals accumulations in this tissue of fish is justified because of human consumption [11]. However, since they are not always the best indicators of element contamination present in fish, the analysis of other tissues is recommended as well [12]. Also, element distribution between different tissues is determined mainly by their content in water and food, and therefore can serve as a pollution indicator of the environment [13].

Contaminated fish represent a potential risk for predatory fish, birds, and mammals that feed on them [14]. The pollutants accumulated by aquatic inhabitants (especially fish) subsequently transferred to humans through the food chain [15, 16] and it is generally accepted that consumption of fish and seafood is a major source of arsenic exposure for humans [17]. Because of high protein content and low saturated fats containing omega fatty acids and supporting good health and protecting the body against cardiovascular diseases, contaminated fish represent a serious food safety concern across the globe [18]. In recent years fish consumption has increased in Serbia primarily due to a public campaign on health benefits through popular media [19].

In general, health benefits and fish consumption are informed through different organizations but rarely is there insight into potential health risks [20-22]. Consequently, knowledge of element concentrations in fish is important both with respect to human consumption of fish and nature management [23].

Data and publications on element pollution in Serbia are still limited. Only a few studies on element content in organisms living in waters of Serbia have been carried out [6, 7, 24-27].

The main objectives of this study were:

- (1) To determine the concentrations of As and other trace elements (Al, Co, Fe, Ni, Sn, Se) in the muscle, liver and gills of pikeperch (*Sander lucioperca*), catfish (*Silurus glanis*), and pike (*Esox lucius*), and in the muscle of Prussian carp (*Carassius gibelio*) and freshwater bream (*Abramis brama*)
- (2) To examine if there were differences in tissue accumulation in three predatory fish species
- (3) To examine if there were differences in fish accumulation
- (4) To assess the relationships between element concentrations and total length and weight of the fish
- (5) To determine whether specific elements exceeded maximum permitted concentrations (MPC) for human consumption

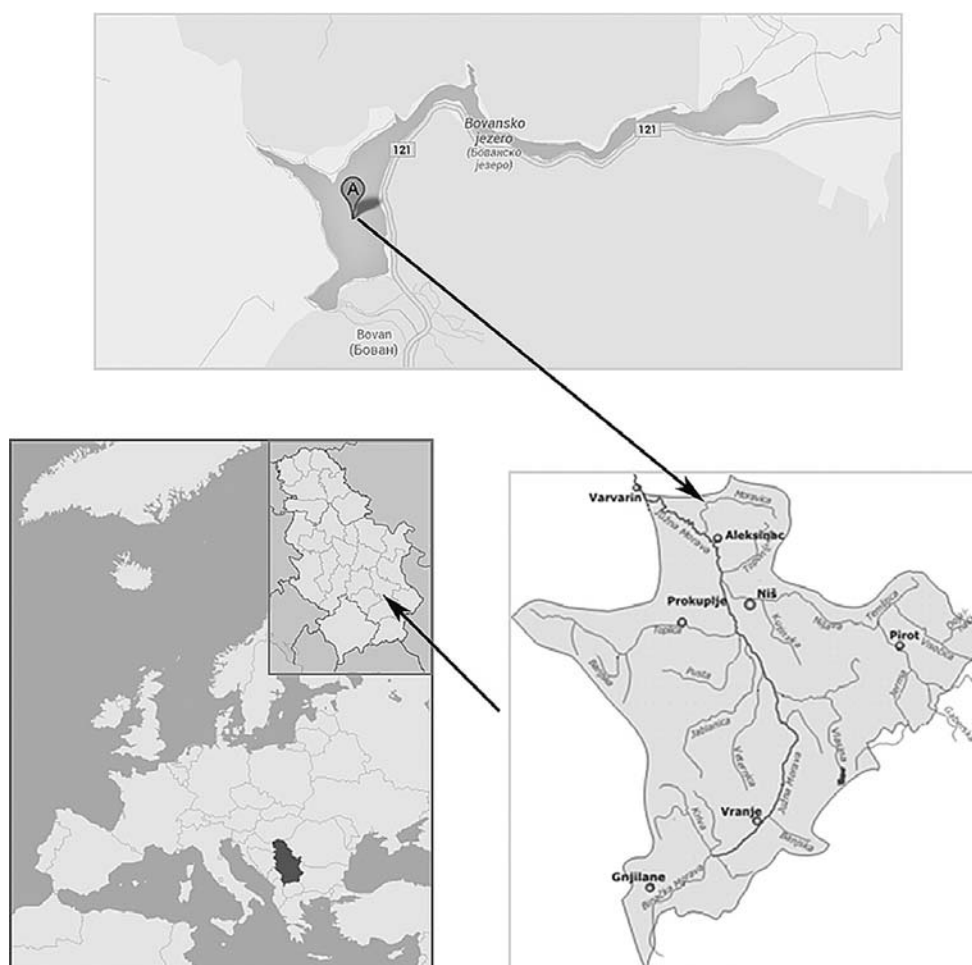


Fig. 1. Location map of the Bovan Reservoir near the city of Aleksinac, southeastern Serbia.

Material and Methods

Bovan is an artificial reservoir situated in the middle flow of the Sokobanjska Moravica River near the city of Aleksinac (Fig. 1) in southeast Serbia. The Bovan Reservoir was planned as a multi-functional system, with the primary aim of regulating the basin of the Morava River and protecting the Đerdap I Reservoir [28].

This reservoir has been under a strong anthropogenic influence. Bovan Reservoir continuously receives significant amounts of nutrient-rich water from the Sokobanjska Moravica River due to the direct discharge of untreated domestic wastewater into the river. The land around the reservoir is intensively processed with the use of invasive agricultural measures (excessive use of pesticides, herbicides, and fungicides). Also, constantly expanding cottage settlements on the coastal area of the reservoir, which generally have no prescribed way to regulate the storage and discharge of wastewater, contribute to the pollution of the reservoir.

The field work was conducted during May 2012. Five fish species: pikeperch (*S. lucioperca*, N = 13), catfish (*S. glanis*, N = 10), pike (*E. lucius*, N = 10), Prussian carp (*Carassius gibelio*, N = 10), and freshwater bream (*Abramis brama*, N = 10) were collected with portable lift nets of different lengths, widths, and mesh diameters. The select species were regular catches of fishermen in this area of Serbia. Pikeperch, catfish, pike, and freshwater bream are among the economically most valuable fish species and form the core of commercial fishing in reservoirs and rivers in Serbia (as well as Prussian carp, although it is a non-native species [29]).

Specimens were sacrificed with a quick blow to the head, measured for their total body length (cm) and weight (g), and subsequently dissected. Mean values (\pm SD) for total length and weight determined for species are pikeperch 44.6 \pm 7.5 cm and 722.7 \pm 348.8 g; catfish 82.2 \pm 22 cm and 4,650 \pm 3,934 g; pike 55.2 \pm 8.5 cm and 779.6 \pm 179.3 g; Prussian carp 44.33 \pm 10.25 cm and 883.66 \pm 534.42 g; and freshwater bream 33 \pm 3.04 cm and 585.33 \pm 213.71 g. Samples of pikeperch, catfish, and pike were removed from gills, liver, and the right dorsal muscle, while samples of Prussian carp and freshwater bream were removed only from the right dorsal muscle. All samples were washed with distilled water, transferred to the laboratory, and stored at -20°C prior to analysis.

In the laboratory fish samples (~1.5 g) were dried in a lyophilizer (Christ Alpha 2-4 LD, Harz, Germany), and then digested in an Advanced Microwave Digestion System (ETHOS 1, Milestone, Italy) using a mixture of 65% nitric acid and 30% hydrogen peroxide (Merck, Darmstadt, Germany, 10:2 v/v) at 220°C for 20 min. After cooling to room temperature and without filtration, the solution was diluted to a fixed volume (volumetric flask, 25 ml) with ultra-pure water (Milli-Q system, Millipore, Bedford, MA, USA). Concentrations of Al and Fe were measured in fish tissues in triplicate using a Thermo Scientific iCAP 6500 Duo ICP-OES instrument (Thermo Fisher Scientific, Cambridge, United Kingdom). Co, Ni, Sn, As, and Se deter-

mination in fish tissues was achieved with a Thermo Scientific iCAP Qc ICP-MS (Thermo Scientific, Bremen, Germany), with operational software Qtegra. Instrumental conditions were optimized to obtain sufficient sensitivity and precision. The potential presence of trace elements in chemicals used in sample preparation was resolved by using a number of blank samples. Standards for instrument calibration were prepared on the basis of multi element (SS-Low Level Elements ICV Stock, 10 mg/L) and mono element (Sn LSNH-100, 10 mg/L Sn) certified reference solution ICP Standard (VHG Labs, Inc- Part of LGC Standards, Manchester, NH 03103 USA). DORM 4 (NRCC, Canada) standard reference material was analyzed for elements. The detection limits for Al and Fe, analyzed by ICP-OES, were 0.1, 0.05 mg·kg⁻¹, respectively and detection limits for Co, Ni, Sn, As, and Se, analyzed by ICP-MS, were 0.00005, 0.007, 0.00027, 0.013, 0.00001 mg·kg⁻¹, respectively.

All concentrations were expressed as mg·kg⁻¹ wet weight (ww).

In order to assess significant differences between species and tissues, the non-parametric Kruskal-Wallis test was applied. Post hoc inter-group comparisons of element levels were performed by the non-parametric Mann-Whitney test for two independent samples. Correlations between the biological variables size and weight in relation to concentration of elements in species were evaluated by Spearman correlation. The level of significance was set at a probability lower than 0.05 (p<0.05). All statistical analysis of data was carried out using SPSS 16.0 statistical package programs for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

All obtained element levels in the studied fish were compared with maximum permitted concentrations (MPC) in fish meat intended for human consumption, as established by Serbian national legislation [30], and the European Union [31].

Results and Discussion

In order to check the validity of the measurements, DORM 4 reference material was used and certified, and observed values are given in Table 1. The recovery was between 93.25%-108.82%. Arsenic and trace element con-

Table 1. Certified element concentration in reference material DORM 4.

Element	Certified (mg·kg ⁻¹)	Observed (mg·kg ⁻¹)	Recovery (%)
As	6.80 \pm 0.64	6.52 \pm 0.33	95.88
Sn	0.056 \pm 0.010	0.06 \pm 0.064	107.14
Ni	1.36 \pm 0.22	1.48 \pm 0.17	108.82
Co	-	-	-
Al	-	-	-
Se	3.56 \pm 0.34	3.32 \pm 0.35	93.25
Fe	341 \pm 27	333.96 \pm 25.87	97.93

Table 2. Mean concentrations ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) and associated standard deviations (means \pm SD) of arsenic and other trace elements in the muscle (M), liver (L), and gills (G) of pikeperch, catfish, and pike, and in the muscle of Prussian carp and freshwater bream from Bovan Reservoir.

Elements	Tissues	Pikeperch (mean \pm SD)	Catfish (mean \pm SD)	Pike (mean \pm SD)	Prussian carp (mean \pm SD)	Freshwater bream (mean \pm SD)
As	M	0.003 \pm 0.006 ^{a A}	0.002 \pm 0.002 ^{aA}	0.001 \pm 0.000 ^{aA}	0.003 \pm 0.001 ^A	0.002 \pm 0.000 ^A
	L	0.004 \pm 0.003 ^{aB}	0.001 \pm 0.000 ^{aA}	0.002 \pm 0.001 ^{aA}	-	-
	G	0.002 \pm 0.002 ^{aA}	0.002 \pm 0.001 ^{aA}	0.002 \pm 0.000 ^{aA}	-	-
Sn	M	0.027 \pm 0.006 ^{aA}	0.032 \pm 0.008 ^{bA}	0.032 \pm 0.002 ^{a A}	0.026 \pm 0.001 ^A	0.028 \pm 0.015 ^A
	L	0.154 \pm 0.282 ^{bB}	0.041 \pm 0.008 ^{bA}	0.079 \pm 0.057 ^{aA}	-	-
	G	0.039 \pm 0.053 ^{aB}	0.008 \pm 0.006 ^{aA}	0.027 \pm 0.010 ^{aB}	-	-
Ni	M	0.049 \pm 0.033 ^{aA}	0.039 \pm 0.018 ^{aA}	0.026 \pm 0.005 ^{aA}	0.038 \pm 0.010 ^A	0.050 \pm 0.037 ^A
	L	0.036 \pm 0.013 ^{aA}	0.026 \pm 0.004 ^{aA}	0.037 \pm 0.017 ^{aA}	-	-
	G	0.042 \pm 0.014 ^{aA}	0.043 \pm 0.022 ^{aA}	0.051 \pm 0.017 ^{aA}	-	-
Co	M	0.004 \pm 0.009 ^{aA}	0.001 \pm 0.000 ^{aA}	0.001 \pm 0.000 ^{aA}	0.003 \pm 0.004 ^A	0.014 \pm 0.000 ^A
	L	0.053 \pm 0.027 ^{bB}	0.045 \pm 0.025 ^{bB}	0.007 \pm 0.003 ^{a A}	-	-
	G	0.002 \pm 0.003 ^{aA}	0.007 \pm 0.005 ^{aA}	ND	-	-
Al	M	2.49 \pm 3.41 ^{aC}	1.93 \pm 1.64 ^{aB}	0.361 \pm 0.188 ^{aA}	2.68 \pm 1.50 ^C	7.37 \pm 7.71 ^D
	L	3.73 \pm 5.923 ^{aA}	2.66 \pm 5.54 ^{aA}	12.38 \pm 13.22 ^{cB}	-	-
	G	7.81 \pm 6.66 ^{bA}	22.65 \pm 21.30 ^{bB}	7.34 \pm 2.60 ^{bA}	-	-
Se	M	0.091 \pm 0.052 ^{aA}	0.142 \pm 0.049 ^{aB}	0.170 \pm 0.022 ^{aB}	0.237 \pm 0.081 ^C	0.258 \pm 0.050 ^C
	L	0.306 \pm 0.112 ^{bA}	0.509 \pm 0.143 ^{bB}	0.348 \pm 0.090 ^{bA}	-	-
	G	0.143 \pm 0.038 ^{aA}	0.142 \pm 0.037 ^{aA}	0.158 \pm 0.033 ^{aA}	-	-
Fe	M	42.90 \pm 145.37 ^{bD}	5.29 \pm 2.14 ^{aA}	3.22 \pm 0.39 ^{aA}	18.88 \pm 5.26 ^C	9.86 \pm 5.47 ^B
	L	66.47 \pm 20.63 ^{cA}	57.84 \pm 16.28 ^{cA}	162.17 \pm 117.62 ^{cB}	-	-
	G	21.82 \pm 6.84 ^{aA}	32.76 \pm 12.63 ^{bB}	28.49 \pm 2.92 ^{bB}	-	-

Mean values in the same column with different superscripts (a, b, c) significantly differed ($p < 0.05$) between tissues.

Mean values in the same row (A, B, C) with different superscripts significantly differed ($p < 0.05$) between species.

concentrations in three analyzed tissues (muscle, liver, gills) of three predatory fish species (pikeperch, catfish, and pike) and in muscle tissue of Prussian carp and freshwater bream are presented in Table 2. There was no unique pattern of distribution of elements in the tissues of the three predatory fish species (pikeperch, catfish, and pike). The distribution pattern of As concentrations in tissues of three predatory fish species were liver > muscle > gills, muscle > gills > liver, and liver > gills > muscle for pikeperch, catfish, and pike, respectively. Sn levels of pikeperch follows the order liver > gills > muscle, whereas for catfish and pike the order was liver > muscle > gills. The distribution pattern of Ni was different with all three species: muscle > gills > liver; gills > muscle > liver; gills > liver > muscle for pikeperch, catfish and pike, respectively. In the study, Co accumulation was found to be liver > muscle > gills for pikeperch and pike, and liver > gills > muscle for catfish. The order of Cr accumulation was determined for pikeperch and catfish as gills > liver > muscle, whereas for pike the order was liver

> gills > muscle. In pikeperch Se had the order accumulation muscle > liver > gills, whereas distribution order in catfish and pike was liver > muscle > gills. Fe level of pikeperchs follow the order liver > muscle > gills, whereas for catfish and pike the order was liver > gills > muscle. As shown on Table 2, with the exception of Co, all the other elements have been accumulated in all three tissues that are studied in three predatory fish species. However, Co was absent in gills of pike. Concentrations of elements examined in muscle tissue (Table 2) showed that freshwater bream had the highest tendency for Ni, Co, Al, and Se accumulation, pikeperch had the highest tendency for As and Fe, while catfish and pike had the highest tendency for Sn accumulation.

The element concentrations in fish varied considerably among tissues in all three predatory species ($p < 0.05$) (Table 2). Al, Co, Fe, Sn, and Se varied among tissues in pikeperch and catfish, while Al, Se, and Fe varied among tissues of pike. However, element concentrations in muscle tissue

were generally lower than in the liver and gills. In the present study, the highest concentrations of As ($0.004 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), Sn ($0.154 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), and Co ($0.053 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) were observed in the liver of pikeperch. The highest concentrations of Ni ($0.051 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) and Fe ($162.17 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) were observed in gills and liver of pike, respectively, while the highest concentrations of Al ($22.65 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) and Se ($0.509 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) were observed in gills and liver of catfish, respectively. The highest element concentrations are accumulated in metabolically active tissues such as liver and gills, while muscles commonly have lower element concentrations. Such a pattern has been observed in a number of other studies covering a wide spectrum of fish species [3, 7, 25, 32-40].

In our study the highest concentration of As was determined in liver (only in pikeperch samples) which is in accordance with results of Lenhardt et al. [25] and Al Sayegh Petkovšek et al. [41], who found the highest concentrations of As in liver and gills. For other examined species As is uniformly distributed among tissues, as seen in study of Has-Shön et al. [42]. The detected concentrations of As in pikeperch muscle samples ($0.003 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ww) were higher than in samples from Gruža Reservoir (ND – not detected) [26], but lower than in samples from the Danube River ($0.17 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dw) [27] and ($0.032 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dw) [43]. As concentrations in catfish muscle samples ($0.002 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ww) were lower than in samples from Gruža Reservoir ($0.095 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ww) [26] and from the Danube ($0.22 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dw) [27] and ($0.22 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dw) [43]. Muscle samples from Prussian carp ($0.003 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ww) had lower As concentrations than samples from Gruža Reservoir ($0.106 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ww) [26] and from the Danube ($0.031 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dw) [43]. As concentrations in freshwater bream muscle samples ($0.002 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ww) were higher than in samples from Gruža Reservoir (ND – not detected) [26], but lower than in samples from Šalek lakes ($0.04 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ww) [41] and from the Danube ($0.035 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dw) [43].

Ni is essential for normal growth and reproduction in animals and humans, but shows a carcinogenic effect when consumed in high amounts. Ni concentrations were the highest in liver samples as in the studies of Jarić et al. [7], Nabavi et al. [44], and Yilmaz et al. [45]. The detected concentrations of Ni in pikeperch muscle samples ($0.049 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ww) were lower than in samples from the Caspian Sea ($1.77 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ww) [44]. The detected concentrations of Ni in Prussian carp muscle samples ($0.038 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ww) were lower than in samples from Işikli Dam Lake and Karacaören Dam Lake ($1.57 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dw) [46], but higher than in samples from Enne Dame Lake (ND – not detected) [10].

Yilmaz et al. [45] found the highest concentrations of Co in liver samples, as seen in our study. We observed that catfish had the highest concentrations of Co in gills compared to other species, which is in accordance with the findings of Subotić et al. [27]. Co concentrations in Prussian carp muscle samples ($0.003 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) were lower than in samples from Işikli Dam Lake and Karacaören Dam Lake ($2.80 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ dw) [46], but higher than in samples from Enne Dame Lake (ND – not detected) [10]. Muscle samples from pikeperch ($0.004 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ww) and

catfish ($0.003 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ww) had higher concentrations of Co than samples from the Danube ($0.001 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dw for both species) [27].

The highest Al concentrations were found in gills, which are in line with previous studies of Višnjić-Jeftić et al. [6], Jarić et al. [7], Lenhardt et al. [25], and Sunjog et al. [47], but not in line with Saygi et al. [48], who found the highest concentrations of Al in liver. Muscle samples from catfish ($1.93 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ww) had higher concentrations of Al than Danube samples (ND – not detected) [25], but lower than other samples from the Danube ($7.50 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dw) [27]. Al concentrations in freshwater bream ($7.37 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ww) were higher than in from Danube samples (ND – not detected) [25], while concentrations of Al in pikeperch muscle samples ($2.49 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ww) were lower than in Danube samples ($7.50 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dw) [27].

An essential trace element, selenium, is important for mammals, birds, and fish. Selenium compounds also are capable of protecting from the toxicity of heavy metals such as cadmium and mercury. Se reached the maximum concentrations in liver, which is in accordance with finding of Jarić et al. [7]. Our results for Se (observing the highest concentrations in liver of catfish compared to other species) contradict the findings of Subotić et al. [27], who found that pikeperch had the highest concentrations of Se of all analyzed species (pikeperch, catfish, common carp, gobies). We also detected concentrations of Se in pikeperch muscle samples ($0.091 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ww) and in catfish muscle samples ($0.142 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ww), which were lower than in pikeperch and catfish muscle samples from the Danube (0.83 and $0.68 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dw, respectively) [27]. Kenšová et al. [33] pointed to piscivorous fish species accumulating the highest concentrations of Se, which is not the case in our study. In contrast, in our study freshwater bream had the highest concentrations of Se in muscle ($0.258 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ww) compared to other fish.

Rajkowska et al. [37], Yilmaz et al. [45], and Szarek-Gwiazda and Amirowicz [49] pointed to the liver as a storage organ for Fe, and such is the case in our study. The detected concentrations of Fe in pikeperch muscle samples ($42.90 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ww) were higher than in samples from Gruža Reservoir ($3.12 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ww) [26], and from the Caspian Sea ($2.79 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ww) [44]. Fe concentrations in catfish muscle samples ($5.29 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ww) were lower than in samples from the Gruža Reservoir ($7.4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ww) [26], but higher than in Danube samples (ND – not detected) [25]. The detected concentrations of Fe in freshwater bream muscle samples ($9.86 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ww) were higher than in samples from Gruža Reservoir ($2.8 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ww) [26], and from Lake Insko and Wisola (1.5 and $1.3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ww, respectively) [37]. Muscle samples from pike had higher concentrations of Fe ($3.22 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) than samples from Lake Insko and Wisola (1.4 and $0.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ww, respectively) [37].

The Kruskal-Wallis test revealed significant differences between fish species with regard to element levels in muscle for Al, Se, and Fe ($p < 0.05$), in gills for Al, Sn, and Fe ($p < 0.05$), and in liver for As, Sn, Co, Al, Fe, and Se ($p < 0.05$) (Table 2). Post hoc inter-group comparisons between pairs of species for levels of elements in specific

tissues, performed by the non-parametric Mann-Whitney test, for muscle showed that freshwater bream had significantly higher levels of Al and Se, while pikeperch had significantly higher levels of Fe compared to other species. Gills showed the least differences for all tested elements. Catfish was different by the lowest levels of Sn and the highest levels of Al and Fe. For the liver, this test showed that pikeperch had significantly higher levels of As and Sn compared to other species. Pike had significantly higher levels of Al and Fe, but significantly lower levels of Co, while catfish had significantly higher levels of Se compared to other species. The accumulation patterns tend to vary among species based on their behavior and feeding habits [38], which are in accordance with the results in this study. Freshwater bream diverged from the other four species based on element concentrations in muscle, which could be a result of its diet (chironomid larvae and other benthic organisms). On the other hand, catfish diverged from the other predator species based on element concentrations in gills, which might be explained with its different behavioral patterns (situated in a littoral zone, in mud). This indicates that the element levels detected in organs seem to reflect the pollution levels of sediment and its biota, rather than the prevailing pollution state of the water.

Although Al-Yousuf et al. [50] reported that the concentrations of elements in fish tissues are generally related to the age of a fish and consequently its size and length, there were only a few significant correlations between element accumulation and fish size and weight in our study. In the muscle of pikeperch, Se had strong negative correlation with fish weight (correlation coeff. -0.648, $p < 0.05$). There were recorded the most correlations between the element accumulation and fish size and weight in the tissues of pike. As, Al, Ni in muscle, and As in liver of pike had a positive correlation with fish size and weight (correlation coeff. 1.00, $p < 0.05$), since Se, and Sn in liver, and Al in gills of pike had significantly negative correlation with fish size and weight (correlation coeff. -1.00, $p < 0.05$). In the muscle of catfish Ni had strong negative correlation with fish size (correlation coeff. -0.943, $p < 0.05$). Ni had a strong positive correlation with fish size and weight (correlation coeff. 1.00 and 1.00, respectively, $p < 0.05$), while Se had a strong negative correlation with fish size and weight (correlation coeff. -1.00 and -1.00, respectively, $p < 0.05$) in the muscle of freshwater bream. Fe and As were positively correlated with fish size and weight (correlation coeff. 1.00 and 1.00, respectively, $p < 0.05$) in the muscle of Prussian carp. Such differences in results could probably be explained by differences in life histories of assessed fish species, as well as by differences in their habitats. Canli and Atli [51] indicated that the negative relationships between fish size and element levels could be due to differences in metabolic activity between younger and older fish. Our findings were similar to previous studies on the same and other fish species. For instance, Rajkowska et al. [37] observed positive fish size dependent relationship for Fe in gills of pike (*Esox lucius*), whereas in the case of freshwater bream (*Abramis brama*) such dependence was observed in liver. According to Tekin-Özan et al. [52] sig-

nificant negative relationships were found between fish length and weight related to As and Fe concentrations in muscle, liver, and gills of carp (*Cyprinus carpio*). In a study by Lenhardt et al. [25], concentrations of Al in liver of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) increased with fish size and weight.

For most examined elements there are no national [30] and European [31] prescribed maximum permitted concentrations (MPC). The levels of As did not exceed the MPC prescribed by the National Regulation of the Republic of Serbia [30], which is $2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ ww}$. However, comparison of the national prescribed MPC for Fe ($30 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ ww}$) indicated that one sample of pikeperch muscle, all pikeperch, catfish, and pike liver samples, and two catfish, and pike gills samples had elevated concentrations. This indicates that the meat of studied species should be safe for utilization in human diet. However, other tissues, which are sometimes also utilized in human diet, should therefore be omitted.

Conclusions

The element concentrations in fish varied considerably among tissues in all three predatory species. However, element concentrations in muscle tissue were generally lower than in the liver and gills. Concentrations of elements examined in muscle tissue showed that freshwater bream had the highest tendency for Ni, Co, Al, and Se accumulation, pikeperch had the highest tendency for As, and Fe, while catfish and pike had the highest tendency for Sn accumulation. Freshwater bream diverged from the other four species based on element concentrations in muscle, which could be a result of its diet (chironomid larvae and other benthic organisms). On the other hand, catfish diverged from the other predatory species based on element concentrations in gills, which might be explained with its different behavioral patterns (situated in a littoral zone, in mud). This indicates that the element levels detected in organs seems to reflect the pollution level of sediment and its biota, rather than the prevailing pollution state of the water.

There were a few significant correlations between the element accumulation and fish size and weight in our study, with the most recorded correlations in the tissues of pike, which could probably be explained by life histories as well as by habitat of this species.

To conclude, the obtained results indicate that the Bovan Reservoir is polluted with Fe, accordingly posing a risk for the human consumption of these fish species. Regular analysis of fish meat quality is considered a very important measure because of the distribution of fish from this reservoir directly to consumers.

Acknowledgements

This investigation was supported by the Ministry of Science and Technological Development of the Republic of Serbia as part of project No. 31011.

References

1. PAPAGIANNIS I., KAGALOU I., LEONARDOS J., PETRIDIS D., KALFAKAKOU V. Copper and zinc in four freshwater fish species from Lake Pamvotis (Greece). *Environ. Int.* **30**, (3), 362, **2004**.
2. ASHRAF W., SEDDIGI Z., ABULKIBASH A., KHALID M. Levels of selected metals in canned fish consumed in Kingdom of Saudi Arabia. *Environ. Monit. Assess.* **117**, (1-3), 279, **2006**.
3. DURAL M., GÖKSU L.Z.M., ÖZAK A.A., DERİCİ B. Bioaccumulation of some heavy metals in different tissues of *Dicentrarchus labrax* L, 1758, *Sparus aurata* L, 1758 and *Mugil cephalus* L, 1758 from the Çamlık Lagoon of the Eastern Cost of Mediterranean (Turkey). *Environ. Monit. Assess.* **118**, 74, **2006**.
4. LÓPEZ ALONSO M., PRIETO MONTAÑA F., MIRANDA M., CASTILLO C., HERNÁNDEZ L., LUIS BENEDITO J. Interactions between toxic (As, Cd, Hg and Pb) and nutritional essential (Ca, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Se, Zn) elements in the tissues of cattle from NW Spain. *Biometals* **17**, (4), 397, **2004**.
5. BENSON N.U., ESSIEN J. P., WILLIAMS A.B., BASSEY D.E. Mercury accumulation in fishes from tropical aquatic ecosystems in the Niger Delta, Nigeria. *Curr. Scie.* **92**, (6), 785, **2007**.
6. VISNJIC-JEVTIĆ Z., JARIC I., JOVANOVIĆ LJ., SKORIC S., SMEDEREVAC-LALIC M., NIKCEVIC M., LENHARDT M. Heavy metal and trace element accumulation in muscle, liver and gills of the Pontic shad (*Alosa immaculata* Bennet 1835) from the Danube River (Serbia). *Microchem. J.* **95**, (2), 344, **2010**.
7. JARIĆ I., VIŠNJIĆ-JEVTIĆ Ž., CVIJANOVIĆ G., JOVANOVIĆ LJ., SKORIĆ S., LENHARDT M. Determination of differential heavy metal and trace element accumulation in liver, gills, intestine and muscle of starlet (*Acipenser ruthenus*) from Danube River in Serbia by ICP-OES. *Microchem. J.* **98**, (1), 81, **2011**.
8. KLAVINS M., POTAPOVICS O., RODINOV V. Heavy metals in fish from lakes in Latvia: concentrations and trends of changes. *B Environ. Contam. Tox.* **82**, (1), 100, **2009**.
9. PLOETZ D.M., FITTS B.E., RICE T.M. Differential accumulation of heavy metals in muscle and liver of marine fish, (King Mackerel, *Scomberomorus cavalla* Cuvier) from the Northern Gulf of Mexico, USA. *B. Environ. Contam. Tox.* **78**, 127, **2007**.
10. UYSAL K., KÖSE E., BÜLBÜL M., DÖNMEZ M., ERDOGAN Y., KOYUN M., OMEROGU C., OZMAL F. The comparison of heavy metal accumulation ratios of some fish species in Enne Dame Lake (Kütahya/Turkey). *Environ. Monit. Assess.* **157**, (1-4), 362, **2009**.
11. COSTA S.C., HARTZ S.M. Evaluation of trace metals (cadmium, chromium, copper and zinc) in tissues of a commercially important fish (*Leporinus obtusidens*) from Guaíba Lake, Southern Brazil. *Braz. Arch. Biol. Techn.* **52**, (1), 250, **2009**.
12. HAS-SCHÖN E., BOGUT I., STRELEC I. Heavy metal profile in five fish species included in human diet, domiciled in the end flow of river Neretva (Croatia). *Arch. Environ. Con. Tox.* **50**, (4), 551, **2006**.
13. FARKAS A., SALÁNKI J., VARANKA I. Heavy metal concentrations in fish of Lake Balaton. *Lakes and Reservoirs: Research and Management* **5**, (4), 279, **2000**.
14. JEZIERSKA B., WITESKA M. The metal uptake and accumulation in fish living in polluted waters. In: TWARDOWSKA I., ALLEN H.E., HÄGGBLOM M.M., STEFANIÁK E. (Eds) *Viable methods of soil and water pollution monitoring, protection and remediation*. Springer, New York, pp. 3-23, **2006**.
15. KORN M.G., DOS SANTOS G.L., ROSA S.M., TEIXEIRA L.S., DE OLIVEIRA P.V. Determination of cadmium and lead in cetacean Dolphnidae tissue from the coast of Bahia state in Brazil by GFAAS. *Microchem. J.* **96**, (1), 16, **2010**.
16. SAEI-DEHKORDI S.S., FALAH A.A. Determination of copper, lead, cadmium and zinc content in commercially valuable fish species from the Persian Gulf using derivative potentiometric stripping analysis. *Microchem. J.* **98**, (1), 162, **2011**.
17. AGAH H., LEEMAKERS M., GAO Y., FATEMI S. M., KATAL M. M., BAEYENS W., ELSKENS M. Mercury accumulation in fish species from the Persian Gulf and in human hair from fishermen. *Environ. Monit. Assess.* **169**, (1-4), 216, **2010**.
18. TUZEN M. Toxic and essential trace elemental contents in fish species from the Black Sea, Turkey. *Food Chem. Toxicol.* **47**, (8), 1790, **2009**.
19. LEKIC-ARANDJELOVIC I., KILIBARDA N., DIMITRIJEVIC M., KARABASIL N. Fish consumption in the world, the European Union and Serbia. *Proceedings and abstracts of the 20th veterinarian conference*, Zlatibor, Serbia, **97**, **2008**.
20. ANTONIJEVIC B., MATTHYS C., SIOEN I., BILAU M., VAN CAMP J., WILLEMS J.L., DE HENAUW S. Simulated impact of a fish based shift in the population n-3 fatty acids intake on exposure to dioxins and dioxin-like compounds. *Food Chem. Toxicol.* **45**, (11), 2286, **2007**.
21. PIENIAK Z., VERBEKE W., SCHOLDERER J. Health-related beliefs and consumer knowledge as determinants of fish consumption. *J Human Nutr Diet.* **23**, (5), 488, **2010**.
22. RUXTON C.H.S. The benefits of fish consumption. *Nutr. Bull.* **36**, 19, **2011**.
23. EBRAHIMPOUR M., MUSHRIFAH I. Seasonal variation of cadmium, copper, and lead concentrations in fish from a freshwater lake. *Biol. Trace Elem. Res.* **138**, (1-3), 201, **2010**.
24. POLEKSIĆ V., LENHARDT M., JARIC I., DJORDJEVIC D., GACIC Z., CVIJANOVIĆ G., RASKOVIC B. Liver, gills and skin histopathology and heavy metals content of the Danube starlet (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758). *Environ. Toxicol. Chem.* **29**, (3), 521, **2010**.
25. LENHARDT M., JARIĆ I., VIŠNJIĆ-JEVTIĆ Ž., SKORIĆ S., GAČIĆ Z., PUCAR M., HEGEDIŠ A. Concentrations of 17 elements in muscle, gills, liver and gonads of five economically important fish species from the Danube River. *Knowl. Managt. Aquatic Ecosyst.* 407, **2012**.
26. MILOŠKOVIĆ A., BRANKOVIĆ S., SIMIĆ V., KOVAČEVIĆ S., ČIRKOVIĆ M., MANOJLOVIĆ D. The accumulation and distribution of metals in water, sediment, aquatic macrophytes and fishes of the Gruža Reservoir, Serbia. *B. Environ. Contam. Tox.* **90**, (5), 569, **2013**.
27. SUBOTIĆ S., SPASIĆ S., VIŠNJIĆ-JEVTIĆ Ž., HEGEDIŠ A., KRPO-ČETKOVIĆ J., MIČKOVIĆ B., SKORIĆ S., LENHARDT M. Heavy metal and trace element bioaccumulation in target tissues of four edible fish species from the Danube River (Serbia). *Ecotoxicol Environ Saf.* **98**, 202, **2013**.

28. ZLATKOVIĆ S., ŠABIĆ D., MILINČIĆ M., KNEŽEVIĆ-VUKČEVIĆ J., STANKOVIĆ S. Geographical and biological analysis of the water quality of Bovan Lake, Serbia. *Arch. Biol. Sci.* **62**, (4), 1087, **2010**.
29. LENHARDT M., MARKOVIĆ G., HEGEDIS A., MALETIN S., CIRKOVIĆ M., MARKOVIĆ Z. Non-native and translocated fish species in Serbia and their impact on the native ichthyofauna. *Rev. Fish Biol. Fisher.* **21**, 421, **2011**.
30. Official Gazette of FRY, No. 28/2011. Regulation on quantity of pesticides, metals, metalloids, and other toxic substances, chemotherapeutics, anabolics, and other substances which can be found in food [In Serbian].
31. Official Journal of the European Communities. Commission Regulation (EC) No. 466/2001, of 8 March 2001. setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs.
32. ERDOĞRUL O., ERBILIR F. Heavy metals and trace elements in various fish samples from Sir Dam Lake, Kahramanmaraş, Turkey. *Environ. Monit. Assess.* **130**, (1-3), 379, **2007**.
33. KENŠOVÁ R., ČELECHOVSKÁ O., DOUBRAVOVÁ J., SVABODOVÁ Z. Concentrations of metals in tissue of fish from the Věstonice Reservoir. *Acta Vet. Brno* **79**, (2), 345, **2010**.
34. MALIK N., BISWAS A.K., QURESHI T.A., BORANA K., VIRHA R. Bioaccumulation of heavy metals in fish tissues of a freshwater lake of Bhopal. *Environ. Monit. Assess.* **160**, (1-4), 276, **2010**.
35. STORRELI M. M., BARONE G., STORELLI A., MARCOTRIGIANO G.O. Trace metals in tissues of Mugilids (*Mugil auratus*, *Mugil capito*, and *Mugil labrosus*) from the Mediterranean Sea. *B. Environ. Contam. Tox.* **77**, (1), 50, **2006**.
36. RASHED M.N. Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser Lake. *Environ Int.* **27**, (1), 33, **2001**.
37. RAJKOWSKA M., PROTASOWICKI M. Distribution of metals (Fe, Mn, Zn, Cu) in fish tissues in two lakes of different trophy in Northwestern Poland. *Environ. Monit. Assess.* **185**, (4), 3502, **2013**.
38. AGAH H., LEERMAKERS M., ELSKENS M., FATEMI S.M., BAEYENS W. Accumulation of trace metals in the muscle and liver tissues of five fish species from the Persian Gulf. *Environ. Monit. Assess.* **157**, (1-4), 514, **2009**.
39. CALTA M., CANPOLAT Ö. The comparison of three cyprinid species in terms of heavy metals accumulation in some tissues. *Water Environ. Res.* **78**, (5), 551, **2006**.
40. GÜL A., YILMAZ M., BENZER S., TAŞDEMİR L. Investigation of zinc, copper, lead and cadmium accumulation in the tissues of *Sander lucioperca* (L., 1758) living in Hirfanlı Dam Lake, Turkey. *B. Environ. Contam. Tox.* **87**, (3), 266, **2011**.
41. AL SAYEGH PETKOVŠEK S., MAZEJ GRUDNIK Z., POKORNY B. Heavy metals and arsenic concentrations in ten fish species from the Šalek lakes (Slovenia): assessment of potential human health risk due to fish consumption. *Environ. Monit. Assess.* **184**, (5), 2662, **2012**.
42. HAS-SCHÖN E., BOGUT I., RAJKOVIĆ V., BOGUT S., CACIĆ M., HORVATIĆ J. Heavy metal distribution in tissues of six fish species included in human diet, inhabiting freshwaters of the Nature Park "Hutovo Blato" (Bosnia and Herzegovina). *Arch. Environ. Con. Tox.* **54**, (1), 83, **2007**.
43. ZRNČIĆ S., ORAIĆ D., ČALETA M., MIHALJEVIĆ Ž., ZANELLA D., BILANDŽIĆ N. Biomonitoring of heavy metals in fish from the Danube River. *Environ. Monit. Assess.* **185**, (2), 1198, **2013**.
44. NABAVI S.F., NABAVI S.M., LATIFI A.M., ESLAMI S., EBRAHIMZADEH M.A. Determination of trace elements level of pikeperch collected from the Caspian Sea. *B. Environ. Contam. Tox.* **88**, (3), 405, **2012**.
45. YILMAZ A.B., SANGÜN M.K., YAĞLIOĞLU D., TURAN C. Metals (major, essential to non-essential) composition of the different tissues of three demersal fish species from İskenderun Bay, Turkey. *Food Chem* **123**, (2), 415, **2010**.
46. KALYONCU L., KALYONCU H., ARSLAN G. Determination of heavy metals and metals levels in five fish species from Işıklı Dam Lake and Karacaören Dam Lake (Turkey). *Environ. Monit. Assess.* **184**, (4), 2235, **2012**.
47. SUNJOG K., GAČIĆ Z., KOLAREVIĆ S., VIŠNJIĆ-JEFTIĆ Ž., JARIĆ I., KNEŽEVIĆ-VUKČEVIĆ J., VUKOVIĆ-GAČIĆ B., LENHARDT M. Heavy metal accumulation and the genotoxicity in barbel (*Barbus barbus*) as indicators of the Danube river pollution. *Sci. World J.* Article ID 351074, **6**, **2012**.
48. SAYGI Y., YİĞİT S. A. Assessment of metal concentrations in two cyprinid fish species (*Leuciscus cephalus* and *Tinca tinca*) captured from Yarıcağa Lake, Turkey. *B. Environ. Contam. Tox.* **89**, (1), 90, **2012**.
49. SZAREK-GWIAZDA E., AMIROWICH A. Bioaccumulation of trace elements in roach, silver bream, rudd, and perch living in an inundated opencast sulphur mine. *Aquat Ecol* **40**, 236, **2006**.
50. AL-YOUSUF M.H., EL-SHAHAWI M.S., AL-GHAIS S.M. Trace metals in liver, skin and muscle of *Lethrinus lentjan* fish species in relation to body length and sex. *Sci. Total Environ.* **256**, (2-3), 94, **2000**.
51. CANLI M., ATLI G. The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Environ. Pollut.* **121**, (1), 136, **2003**.
52. TEKİN-ÖZAN S., AKTAN N. Relationship of heavy metals in water, sediment and tissues with total length, weight and seasons of *Cyprinus carpio* L., 1758 from Işıklı Lake (Turkey). *Pak J. Zool.* **44**, (5), 1416, **2012**.

HEAVY METAL AND TRACE ELEMENT BIOACCUMULATION IN TARGET TISSUES OF THREE EDIBLE PREDATORY FISH SPECIES FROM BOVAN RESERVOIR (SERBIA)

Aleksandra Milošković¹, Biljana Dojčinović², Snežana Simić¹, Milena Pavlović¹ and Vladica Simić^{1,*}

¹ University of Kragujevac, Faculty of Science, Institute of Biology and Ecology, 34000 Kragujevac, Serbia

² University of Belgrade, Institute of Chemistry, Technology and Metallurgy, Center of Chemistry, 11000 Belgrade, Serbia

ABSTRACT

Pikeperch (*Sander lucioperca*), catfish (*Silurus glanis*) and pike (*Esox lucius*) were collected from the Bovan Reservoir (Southeast Serbia), and samples of muscle, liver and gills were analyzed for Cu, Zn, Pb, Cd, Hg, Cr and Mn using inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) to highlight the importance of predatory species and tissue selection in monitoring research, and studies of potential impact of contaminated fish consumption on human health. The element levels in fish varied considerably among tissues in all three species ($p < 0.05$), except Pb in catfish and Cd in pike. However, element levels in muscle tissue were generally lower than in the liver and gills. In the present study, the highest levels of Pb ($145.35 \text{ mg kg}^{-1}$) and Cd (0.031 mg kg^{-1}) were observed in pikeperch liver, and that of Cr (0.069 mg kg^{-1}) was observed in gills of pikeperch, while the highest levels of Zn and Mn were in gills of pike (110.29 and 1.86 mg kg^{-1} , respectively) and that of Cu was in liver of pike (6.29 mg kg^{-1}). Mercury was the only element that was accumulated in highest levels in muscle tissue in all three species (0.341 , 0.253 and 0.234 mg kg^{-1} for pike, pikeperch and catfish, respectively). The BCF showed that Pb and Zn were the most readily absorbed ones by fish. Liver had the highest affinity for bioconcentrations of Cu, Cd, and Zn, gills for Cr, Mn, and Pb, whereas muscle had the highest affinity for the bioconcentration of Hg. According to results in this study, all three predatory fish species can equally be used in monitoring of metal-polluted waters. None of the elements in fish muscle exceeded the maximum permitted concentrations (MPC) established by national legislation and the European Union. However, since Zn levels were above MPC in gills of pike, and Pb levels were above MPC in gills and liver of pike and pikeperch, the consumption of these parts of these fishes can be potentially hazardous for humans and should be excluded from the diet.

KEYWORDS: predatory fish, bioaccumulation, ICP-OES, ICP-MS, fish consumption

1. INTRODUCTION

The contamination of fresh waters with a wide range of pollutants has become a matter of great concern over the last few decades, not only the threat to the public water supplies, but also the damage caused to the aquatic life. Metals are considered to be the most important form of aquatic pollution because of their toxicity, long persistence and accumulation by aquatic organisms [1-3].

Aquatic organisms are widely used to biologically monitor variation in environmental levels of anthropogenic pollutants [4, 5]. Knowledge of metal concentrations in fish is important both with respect to nature management and human consumption of fish [6]. Apart from the nature of the chemical, factors that determine the hazard to human health are fish consumption preferences, meal size, fish species, and species variation in bioaccumulation [7]. Muscles are often a major tissue of interest for routine environmental monitoring. However, since they are not always the best indicators of element contamination present in fishes, the analysis of other tissues is recommended as well [8]. Gills are the primary site of metal uptake from water [9], especially if metals are bound to particulate matters [10], while the liver as metabolically active tissue is the accumulation place of metals [11]. Metals differ in their accumulation levels and patterns depending on fish species, as well as fish tissues [12, 13]. Special attention should be given to fish species that are able to accumulate higher levels of metals. Top predators (i.e., piscivorous fish) [14] and species with high lipid contents have been shown to be the most sensitive indicators of environmental contamination [15]. Piscivorous predators show higher levels of Hg in muscle and in liver than species from lower trophic levels [16-18].

Data and publications on metal pollution in Serbia are still limited. Only a few studies on metal content in organ-

* Corresponding author

isms living in Danube River in Serbia have been carried out [12, 13, 19, 20]. The main objective of the study was to highlight the importance of predatory fish species and tissue selection in monitoring research, and studies of potential impact of contaminated fish consumption on human health.

2. MATERIALS AND METHODS

Bovan is an artificial reservoir situated in the middle flow of the Sokobanjska Moravica River near the city of Aleksinac (Fig. 1), Southeast Serbia. The Bovan Reservoir was planned as a multi-functional system, with the primary aim of regulating the basin of the Morava River and protecting the Đerdap I Reservoir. Although initially it was not planned for water supply, due to great potential, a water treatment plant was added and a reservoir supplying drinking water for the population of the region [21].

This reservoir has been under a strong anthropogenic influence. Bovan Reservoir continuously receives significant amounts of nutrient-rich water from Sokobanjska Moravica River due to the direct discharge of untreated domestic wastewater into the river. The land around the reservoir is intensively processed with the use of invasive agricultural measures (excessive use of pesticides, herbicides and fungicides). Also, constantly expanding cottage settlements on the coastal area of the reservoir, which generally have no prescribed way to regulate the storage and discharge of wastewater, contributes to the pollution of the reservoir.

The field work was conducted during May 2012. Three fish species: pikeperch (*S. lucioperca*), catfish (*S. glanis*) and pike (*E. lucius*) were collected with portable lift nets of different lengths, widths and mesh diameters. Thirteen

pikeperch specimens were caught, with average length of 44.6 ± 7.5 cm (length range: 31-56 cm) and average weight of 722.7 ± 348.8 g (weight range: 270-1317 g). Ten catfish specimens were caught, with average length of 82.2 ± 22 cm (length range: 61-122 cm) and average weight of 4650 ± 3934 g (weight range: 2000-12,350 g). Ten pike specimens were also caught, with average length of 55.2 ± 8.5 cm (length range: 47-64 cm) and average weight of 779.65 ± 179.33 g (weight range: 586-940 g). Samples were removed from gills, liver and the right dorsal muscle, washed with distilled water, transferred to the laboratory, and stored at -20 °C prior to analysis.

In the laboratory, fish samples (~1.5 g) were dried in a lyophilizer (Christ Alpha 2-4 LD, Harz, Germany), and then digested in an Advanced Microwave Digestion System (ETHOS 1, Milestone, Italy) using a mixture of 65% nitric acid and 30% hydrogen peroxide (Merck, Darmstadt, Germany, 10:2, v/v) at 220 °C for 20 min. After cooling to room temperature and without filtration, the solution was diluted to a fixed volume (volumetric flask, 25 ml) with ultra-pure water (Milli-Q system, Millipore, Bedford, MA, USA). Concentrations of Zn and Mn were measured in fish tissues in triplicate using a Thermo Scientific iCAP 6500 Duo ICP-OES instrument (Thermo Fisher Scientific, Cambridge, United Kingdom). Cu, Pb, Cd, Hg, and Cr determination in fish tissues was achieved with a Thermo Scientific iCAP Qc ICP-MS (Thermo Scientific, Bremen, Germany). Details of the instrumental operating conditions are depicted in Table 1. The potential presence of trace elements in chemicals used in sample preparation was resolved by using a number of blank samples. Standards for the instrument calibration were prepared on the basis of multi-element (SS-Low Level Elements ICV Stock, 10 mg/L) and mono-element (Hg Calibration Stock, 10 mg/L Hg) certified reference solution ICP

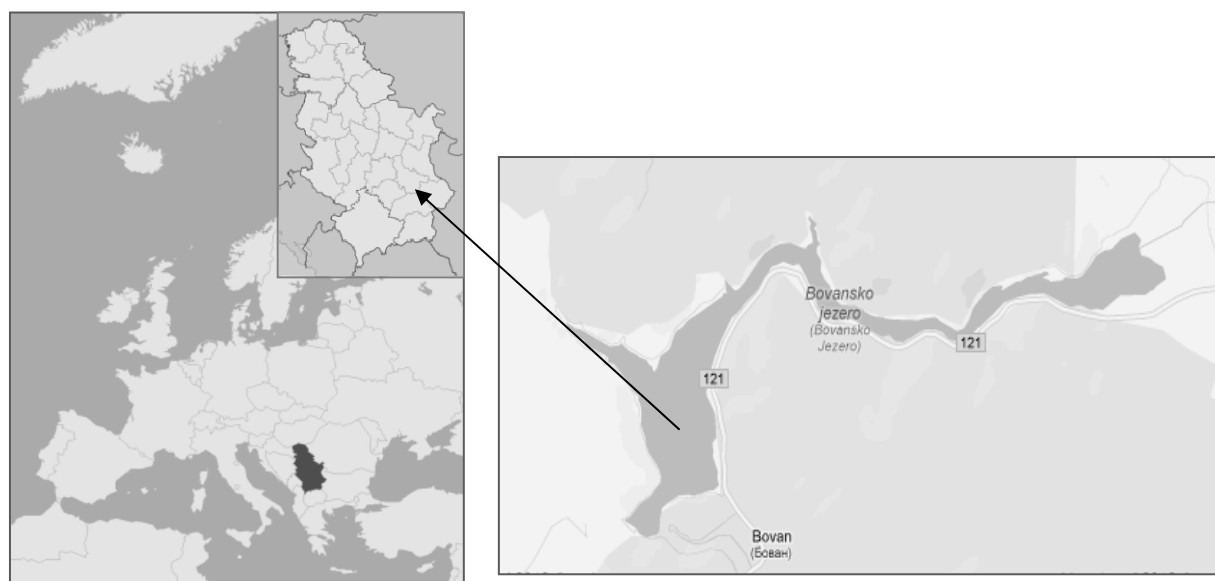


FIGURE 1 - Location map of the Bovan Reservoir near the city of Aleksinac, Southeast Serbia.

TABLE 1 - Experimental conditions used on ICP-MS and ICP-OES equipment to determine elements in fish tissues.

	Experimental conditions
ICP-OES	
Radio frequency power (RF)	1350 W
Plasma view	Axial
Nebulizer	Concentric nebulizer
Spray chamber	Standard glass cyclonic
Ceramic centre tube	2 mm
Purge gas	Argon
Nebulizer argon flow-rate	0.50 L min ⁻¹
Auxiliary argon flow-rate	0.50 L min ⁻¹
Coolant argon flow-rate	12.0 L min ⁻¹
Sample flush time	40 s
Analysis pump rate	50 rpm
Analysis mode	Speed
Software	iTEVA
ICP-MS	
Radio frequency power (RF)	1550 W
Nebulizer argon flow-rate	0.95 L min ⁻¹
Auxiliary argon flow-rate	0.80 L min ⁻¹
Coolant argon flow-rate	14.0 L min ⁻¹
CCT1-Helium	6.0 ml min ⁻¹
Dwell time	10 ms
Extraction	-50.00 V
Sample uptake rate	0.40 mL min ⁻¹
Spray chamber	Cyclonic
Nebulizer	Meinhard ESI MicroFlow PFA-ST
Software	Qtegra

Standard (VHG Labs, Inc-Part of LGC Standards, Manchester, NH 03103 USA). The detection limits for Mn, Zn, analyzed by ICP-OES, were 0.0025, and 0.109 mg kg⁻¹, respectively, and detection limits for Pb, Cd, Hg, Cr, and Cu, analyzed by ICP-MS, were 0.0093, 0.00047, 0.00027, 0.003, and 0.0028 mg kg⁻¹, respectively. The analytical process quality control, performed by the use of fish protein certified reference material for trace metals DORM 4 (NRCC, Canada), indicated that the resulting concentrations were within 87-105%. There was no certified value for Mn. Concentrations of all metals were expressed as mg kg⁻¹ wet weight (ww).

The bioconcentration factor (BCF) is a number that describes the bioconcentration as the ratio of the level of a chemical inside an organism to the level in the surrounding environment [22]. It was calculated as the ratio of the mean element level in the selected tissue (C_{fish}), to the element level in water (C_{water}) according to the equation: $BCF = C_{\text{fish}}/C_{\text{water}}$

In order to assess significant differences between the levels of 7 elements (Cu, Zn, Pb, Cd, Hg, Cr and Mn) in 3 different tissues (muscle, liver, and gills) of 3 predatory fish species (pikeperch, catfish, and pike), non-parametric Kruskal-Wallis test was applied. Post hoc inter-group comparisons of element levels (between pairs of species) were performed by the non-parametric Mann-Whitney test for 2 independent samples. Correlations between the biological variables size and weight in relation to level of elements in species were evaluated by Spearman correlation. All statistical analyses of data were carried out using SPSS 16.0 statistical package programs for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

All obtained element levels in the studied fish were compared with maximum permitted concentrations (MPC) in fish meat intended for human consumption, as established by national legislation [23], and the European Union [24].

3. RESULTS AND DISCUSSION

Average concentration (mg kg⁻¹ ww) of the elements found in the muscle, liver and gills of pikeperch, catfish and pike are summarized in Table 2, including a statistical analysis. There was no unique pattern of distribution of elements in the tissues of the 3 species. The distribution pattern of Cu and Cd in tissues of the 3 species was liver > gill > muscle and liver > muscle > gill, respectively. Zn level of pikeperch and catfish followed the order liver > gill > muscle, whereas for pike the order was gill > liver > muscle. The distribution pattern of Pb was different with all 3 species (liver > gill > muscle; muscle > gill > liver; gill > liver > muscle for pikeperch, catfish and pike, respectively). In the study, Hg accumulation in all 3 fish species was found to be muscle > liver > gill. The order of Cr accumulation was determined for pikeperch and catfish as gill > muscle > liver, whereas for pike the order was liver > gill > muscle. In pikeperch, Mn had the order accumulation liver > muscle > gill, whereas distribution order in catfish and pike was gill > liver > muscle. As shown in Table 2, with the exception of Cd, all the other elements have been accumulated in all 3 tissues studied in the 3 species. However, Cd was absent in gill of pikeperch.

The element concentrations in fish varied considerably among tissues in all 3 species ($p < 0.05$), except Pb in catfish as well as Cd and Cr in pike (Table 2). However, element concentrations in muscle tissue were generally lower than in the liver and gills. In the present study, the highest concentrations of Pb (145.35 mg kg⁻¹) and Cd (0.031 mg kg⁻¹) were observed in the liver of pikeperch, and the highest Cr amount (0.069 mg kg⁻¹) was found in gills of pikeperch, while the highest concentrations of Zn and Mn were in gills of pike (110.29 and 1.86 mg kg⁻¹, respectively) and that of Cu was in liver of pike (6.29 mg kg⁻¹). These results are in accordance with the findings of other authors, namely that the highest element concentrations are accumulated in metabolically active tissues such as liver and gills [3, 13, 17, 25-27], while muscles commonly have lower element concentrations [28, 29]. Since they are directly in contact with water and suspended materials, gills are primary site of metal uptake from the water, and reflect the concentrations of metals in surrounding water [30, 31]. According to Oymak et al. 2009 [32], the metals adsorption into the gill surface can affect the metal levels of the gill, which is common because of metal complexation with the mucus which is impossible to be completely eliminated from the lamellae prior to tissues and prepared for analysis. On the other hand, the liver is the storage place of metals [31]. According to Rashed [33], fish liver accumulates the highest Cu levels, since

Cu represents an inherent part of the enzymes localized in the liver [17], such as is the case herein, in all three predatory fish species. Mercury was the only element that was accumulated in highest levels in muscle tissue of all 3 species (0.341, 0.253 and 0.234 mg kg⁻¹ for pike, pikeperch and catfish, respectively). This result is in agreement with other authors [14, 17, 34, 35] who found that fish muscle accumulated the most Hg. On the other hand, the lowest concentration of all others metals were in muscle tissue. The lowest Cu, Zn and Pb levels were observed in the muscles of pikeperch (0.151, 2.48 and 0.065 mg kg⁻¹, respectively), and the lowest Mn (0.149 mg kg⁻¹) concentration in the muscle of pike, while the lowest Cd and Cr concentrations were observed in the muscle of pike and catfish (0.001 and 0.001 mg kg⁻¹, respectively). Lower concentrations of Cu, Mn and Zn detected in muscle could reflect the low levels of binding proteins in the muscle tissue.

The Kruskal-Wallis test revealed significant differences between fish species in regard to Zn, Pb, Cu and Cd concentrations in liver ($p < 0.05$). The post hoc Mann-Whitney test showed that levels of Zn and Cu were significantly higher ($p < 0.05$) in pike liver tissue. Concentrations of Pb and Cd in liver were significantly ($p < 0.05$) different between species, with higher values for both metals in pikeperch. Similar results were obtained with regard to element concentration in gills. The Kruskal-Wallis test showed that Zn and Pb amounts were significantly different among species ($p < 0.05$). According to the post hoc Mann-Whitney test, Zn value was significantly higher in

pike, while Pb value was significantly higher in pikeperch. The Kruskal-Wallis test also revealed significant differences between fish species with respect to Zn concentration in muscle ($p < 0.05$). The post hoc Mann-Whitney test showed that concentration of Zn was significantly higher in catfish than in pikeperch and pike muscle tissue. There were no differences in Hg, Cr and Mn concentrations among the species. As a generally wandering piscivorous predator that becomes obligate piscivore at age 1⁺ [36, 37], pikeperch forages in open waters and is seldomly found in vegetated littoral zone [37]. European catfish resides in littoral habitats of lower reaches of large rivers and muddy lakes [38, 39] feeding on fish fauna in its habitat, amphibians, birds and small mammals. Pike is a remarkably flexible piscivore and able to consume a diverse range of prey including salmonids, percids and cyprinids [40], to distribute itself within a lake in accordance with the ideal free distribution in response to changing conditions [41]. Although these 3 predatory fish species have overlapping diets but different habitat preference, this did not significantly affect the concentrations of elements in the tissues of these species; therefore, we considered that all 3 predatory fish species can equally be used as bio-indicators of metal-polluted waters.

Several other studies were conducted on the subject of element levels in tissues of lacustrine fish. In a previous study on the Gruža Reservoir, a reservoir of the same trophy in Serbia, Milošković et al. 2013 [42] observed higher levels of Pb but lower levels of Cd, Cu, Mn, and Hg in pikeperch muscle, as well as higher levels of Cd, Cu,

TABLE 2 - Concentrations of Cu, Zn, Pb, Cd, Hg, Cr, and Mn in muscle, liver, and gills (mg kg⁻¹ ww) of pikeperch, catfish, and pike (mean values ± standard deviation).

Tissue	Element	Pikeperch	Catfish	Pike
Muscle	Cu	0.151 ± 0.102 ^a	0.268 ± 0.151 ^a	0.182 ± 0.052 ^a
	Zn	2.475 ± 0.996 ^a	5.137 ± 1.636 ^b	3.818 ± 0.376 ^a
	Pb	0.065 ± 0.025 ^a	0.125 ± 0.088 ^a	0.068 ± 0.020 ^a
	Cd	0.003 ± 0.004 ^a	0.001 ± 0.000 ^a	0.001 ± 0.000 ^a
	Hg	0.253 ± 0.061 ^a	0.234 ± 0.096 ^a	0.341 ± 0.033 ^a
	Cr	0.012 ± 0.035 ^a	0.001 ± 0.000 ^a	0.001 ± 0.000 ^a
	Mn	0.749 ± 2.144 ^a	0.299 ± 0.188 ^a	0.149 ± 0.040 ^a
Liver	Cu	1.534 ± 0.696 ^a	2.176 ± 0.853 ^a	6.294 ± 1.368 ^b
	Zn	13.739 ± 2.292 ^a	14.043 ± 2.359 ^a	32.389 ± 4.681 ^b
	Pb	145.353 ± 368.572 ^a	0.050 ± 0.024 ^b	1.339 ± 2.242 ^b
	Cd	0.031 ± 0.013 ^a	0.023 ± 0.020 ^b	0.008 ± 0.006 ^b
	Hg	0.155 ± 0.036 ^a	0.108 ± 0.047 ^a	0.137 ± 0.038 ^a
	Cr	0.005 ± 0.007 ^a	0.001 ± 0.001 ^a	0.024 ± 0.027 ^a
	Mn	1.608 ± 0.452 ^a	1.578 ± 1.439 ^a	1.397 ± 0.369 ^a
Gills	Cu	0.280 ± 0.149 ^a	0.302 ± 0.024 ^a	0.328 ± 0.041 ^a
	Zn	7.107 ± 1.372 ^a	10.158 ± 1.542 ^a	110.286 ± 26.500 ^b
	Pb	27.113 ± 96.970 ^a	0.101 ± 0.078 ^b	7.399 ± 12.668 ^b
	Cd	ND ^a	0.001 ± 0.000 ^a	0.001 ± 0.000 ^a
	Hg	0.055 ± 0.014 ^a	0.065 ± 0.017 ^a	0.052 ± 0.010 ^a
	Cr	0.069 ± 0.056 ^a	0.025 ± 0.025 ^a	0.023 ± 0.020 ^a
	Mn	0.652 ± 0.204 ^a	1.823 ± 1.247 ^a	1.856 ± 0.535 ^a

ND - not detected; a value with different letter in the same row is different ($p < 0.05$)

TABLE 3 - The BCF as ratio of mean element level (mg kg⁻¹ ww) in the specific tissue to its mean concentration (mg L⁻¹) in water.

Element	Tissue	Pikeperch	Catfish	Pike
Cu	Muscle	14.80	26.27	17.84
	Liver	150.40	213.33	617.05
	Gills	27.45	29.60	32.15
Zn	Muscle	171.87	356.73	265.13
	Liver	954.10	975.20	2249.23
	Gills	493.54	705.41	7658.75
Pb	Muscle	118.18	227.27	123.64
	Liver	264,278.18	90.90	2434.54
	Gills	49,296.36	183.64	13,452.72
Cd	Muscle	11.32	3.77	3.77
	Liver	116.98	87.79	30.19
	Gills	-	3.77	3.77
Hg	Muscle	2530	2340	3410
	Liver	1550	1080	1370
	Gills	550	650	520
Cr	Muscle	20	1.67	1.67
	Liver	8.33	1.67	40
	Gills	115	41.67	38.33
Mn	Muscle	13.62	5.44	2.70
	Liver	29.24	28.69	25.40
	Gills	11.85	33.14	33.74

and Mn but lower levels of Pb, and Hg in catfish muscle. In comparison to pike samples from the lakes Ińsko and Wisola (Poland [43]), the samples in our study had lower levels of Mn and Zn in muscle and gills, lower levels of Zn in liver, and lower levels of Cu in gills but higher levels of Cu in muscle and gills, and Mn in liver. Gül et al. [27] found the highest levels of Zn, Cu, Cd, and Pb in liver of pikeperch living in Hirfanlı Dam Lake, Turkey, followed by muscle and gills, as seen in our study. Pikeperch from Caspian Sea [44] had higher levels of Cu, Zn, Pb, Cd, and Mn in muscle tissue, lower levels of Cu, Zn, Pb, Mn but higher levels of Cd in liver, and lower levels of Zn and Pb but higher levels of Cu, Cd, and Mn in gills. Compared to our results, Tabatabaie et al. [45] found lower levels of Hg in pikeperch muscle from Anzali and Gomishan Wetlands in the southern coast of the Caspian Sea. In comparison to catfish samples from the Danube River, Serbia [20], the samples of catfish in our study had higher levels of Cu and Mn in muscle and liver, but lower in gills, and higher levels of Zn in liver and gills, and lower ones in muscle. Compared with our results, Subotić et al. [46] found higher levels of Hg and Zn in muscle and liver of pikeperch and catfish in Danube River, Serbia.

In our study, there were no clear relationships observed between the fish size and weight with the metal accumulation. Hg had a positive correlation with fish size (correlation coeff. 0.643, $p < 0.05$) in the muscle of pikeperch, since Cd had a weak but significant positive correlation with fish size (correlation coeff. 0.569, $p < 0.05$) in

liver of the same species. In the liver of catfish, Zn had a strong positive correlation with fish size and weight (correlation coeff. 0.859 and 0.829, respectively, $p < 0.05$). The strongest correlations were recorded in the tissues of pike. Mn had a strong positive correlation with fish size and weight (correlation coeff. 1.00 and 1.00, respectively, $p < 0.05$) in the muscle. In the liver, Cu had a strong positive correlation with fish size (correlation coeff. 1.00, $p < 0.05$) and Pb had a strong negative correlation with fish size and weight (correlation coeff. - 1.00 and - 1.00, respectively, $p < 0.05$) in gills. Such findings were similar to previous studies on other fish species. For instance, Rajkowska et al. [43] observed positive fish size-dependent relationship for Cu in liver of bream (*Abramis brama*). According to Farkas et al. 2003 [4], concentrations of Cd, Cu in liver and Hg in liver, gills, and muscle of bream (*Abramis brama*) were positively correlated to fish size and age. The same authors also observed negative correlation to fish size and age for Cu, Pb, and Zn concentrations in gills and muscle of bream (*Abramis brama*). In a study by Tabatabaie et al. [45], concentration of Hg in muscle tissue of carp (*Cyprinus carpio*) increased with fish size and weight, while concentration of Hg in muscle tissue of pikeperch (*Sander lucioperca*) increased with fish weight.

The bioconcentration factor (BCF) results are given in Table 3. These results were calculated based on the data of water quality, provided by the Agency for Environmental Protection of the Republic of Serbia. The concentrations of elements in water were between the follow-

ing ranges (mg L^{-1}): Cu: 0.0057-0.0147, Zn: 0.0068-0.022, Pb: 0.0005-0.0006, Cd: 0.00004-0.00049, Hg: 0.0001, Cr: 0.0005-0.0007, and Mn: 0.01-0.1. Among examined elements, Pb and Zn were the most readily absorbed by fish. Based on the obtained BCF results, liver is the dominant organ for the bioconcentration of Cu, Cd, and Zn (except in pike samples). Gills are dominant organs for the bioconcentration of Cr, Mn (except in pikeperch samples) and Pb (except in pikeperch samples). Muscle is the dominant organ for the bioconcentration of Hg. Similar results for Cu, Zn, Cd, and Mn were presented by Subotić et al. [46].

The levels of Pb, Cd, Hg, Cu, and Zn did not exceed the MPC prescribed by the National Regulation of the Republic of Serbia [23], which are $0.3 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$ for Pb, $0.05 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$ for Cd, $0.5 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$ for Hg, $30 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$ (in tin containers) for Cu, and $100 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$ (in tin containers) for Zn, and those by the EU Regulation [24], which are $0.3 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$ for Pb, $0.05 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$ for Cd, and $0.5 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$ for Hg in any of the muscle samples. This indicates that the meat of the studied species should be safe for utilization in human diet. However, comparison of the prescribed MPC with the concentrations in the other tissues, which are sometimes also utilized in human diet, indicated that national MPC for Zn was slightly exceeding in gills of pike ($110.28 \text{ mg kg}^{-1}$). Furthermore, both national and EU MPC for Pb ($0.30 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$) were exceeded in pikeperch and pike liver (145.35 and 1.33 mg kg^{-1} , respectively), as well as in pikeperch and pike gills (27.11 and 7.40 mg kg^{-1} , respectively). Such tissues should be, therefore, omitted from human diet [8], and meals should be prepared without these organs (i.e., liver and gills) [47].

4. CONCLUSIONS

The results of this study showed that the level of Zn and Cu in liver, and Zn in gills was higher in pike, that of Pb and Cd in liver, and Pb in gills was higher in pikeperch, whereas the level of Zn in muscle was higher in catfish. Levels of Hg and Cd were positively correlated to fish size in muscle and liver of pikeperch, respectively. Zn level was positively correlated to fish size and weight in liver of catfish. Mn level was positively correlated to fish size and weight in muscle, Cu level was positively correlated to fish size in liver, whereas Pb was negatively correlated to fish size and weight of pike. The BCF showed that Pb and Zn were the most readily absorbed by fish. Liver had the highest affinity for the bioconcentration of Cu, Cd and Zn, gills for Cr, Mn and Pb, whereas muscle had the highest affinity for the bioconcentration of Hg. According to results in this study, all three predatory fish species can equally be used in monitoring of metal-polluted waters. None of the analyzed elements exceeded the prescribed MPC levels in the muscle of sampled fish. However, levels of Zn in gills of pike, and levels of Pb in gills and liver of pike and pikeperch were found to exceed

MPC, and, consequently, the consumption of these parts of fishes can be potentially hazardous for human health. Therefore, in the future, it is recommendable that monitoring studies are periodically performed to assess the human exposure to these elements through fish consumption.

ACKNOWLEDGEMENTS

This investigation was supported by the Ministry of Science and Technological Development of the Republic of Serbia as part of project number 31011, with the ICP-MS funded by Ministry of Education and Science of the Republic of Serbia as part of project number 172030.

The authors have declared no conflict of interest.

REFERENCES

- [1] Papagiannis, I., Kagalou, I., Leonardos, J., Petridis, D. and Kalfakakou, V. (2004) Copper and zinc in four freshwater fish species from Lake Pamvotis (Greece). *Environ. Int.* 30 (3), 357-362.
- [2] Ashraf, W., Seddigi, Z., Abulkibash, A. and Khalid, M. (2006) Levels of selected metals in canned fish consumed in Kingdom of Saudi Arabia. *Environ Monit Assess.* 117 (1-3), 271-279.
- [3] Dural, M., Göksu, L.Z.M., Özak, A.A. and Derici, B. (2006) Bioaccumulation of some heavy metals in different tissues of *Dicentrarchus labrax* L., 1758, *Sparus aurata* L., 1758 and *Mugil cephalus* L., 1758 from the Çamlık Lagoon of the Eastern Cost of Mediterranean (Turkey). *Environ Monit Assess.* 118, 65-74.
- [4] Farkas, A., Salánki, J. and Specziár, A. (2003) Age- and size-specific patterns of heavy metals in the organs of freshwater fish *Abramis brama* L. populating a low-contaminated site. *Water Res.* 37 (5), 959-964.
- [5] Tas, E.C., Filipuci, I., Cakir, D.T., Beyaztas, S., Sunlu, U., Togulga, M., Özeydin, O. and Arslan, O. (2011) Heavy metal concentrations in tissues of edible fish (*Mullus barbatus* L., 1758) from the Candarli Bay (Turkey). *Fresenius Environ. Bull.* 20 (11), 2834-2839.
- [6] Ebrahimpour, M. and Mushrifah, I. (2010) Seasonal variation of cadmium, copper, and lead concentrations in fish from a freshwater lake. *Biol Trace Elem Res* 138 (1-3), 190-201.
- [7] Watanabe, K.H., Desimone, F.W., Thiyagarajah, A., Hartley, W.R. and Hindrichs, A.E. (2003) Fish tissue quality in the lower Mississippi River and health risks from fish consumption. *Sci. Total Environ.* 302 (1-3), 109-126.
- [8] Has-Schön, E., Bogut, I. and Strelec, I. (2006) Heavy metal profile in five fish species included in human diet, domiciled in the end flow of river Neretva (Croatia). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 50 (4), 545-551.
- [9] Dogru, M.I., Orun, I., Dogru, A., Kandemir, S., Altas, L., Erdogan, K., Orun, G. and Polat, N. (2011) Evaluation of metal accumulation, oxidative stress, biochemical and hematological parameters in *Sander lucioperca* L., 1758 from Bafra (Samsun) Fish Lakes. *Fresenius Environ. Bull.* 20 (11), 2731-2736

- [10] Klavins, M., Potapovics, O. and Rodinov, V. (2009) Heavy metals in fish from lakes in Latvia: concentrations and trends of changes. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 82 (1), 96-100.
- [11] Yilmaz, F., Özdemir, N., Demirak, A., Levent Tuna, A. (2007) Heavy metal levels in two fish species *Leuciscus cephalus* and *Lepomis gibbosus*. *Food Chem* 100 (2), 830-835.
- [12] Visnjic-Jeftic, Z., Jaric, I., Jovanovic, L.J., Skoric, S., Smederevac-Lalic, M., Nikcevic, M. and Lenhardt, M. (2010) Heavy metal and trace element accumulation in muscle, liver and gills of the Pontic shad (*Alosa immaculate*, Bennet 1835) from the Danube River (Serbia). *Microchem. J.* 95 (2), 341-344.
- [13] Jarić, I., Višnjić-Jevtić, Z., Cvijanović, G., Jovanović, Lj., Skorić, S. and Lenhardt, M. (2011) Determination of differential heavy metal and trace element accumulation in liver, gills, intestine and muscle of sterlet (*Acipenser ruthenus*) from Danube River in Serbia by ICP-OES. *Microchem. J.* 98, 77-81.
- [14] Dušek, L., Svobodová, A., Janoušková, D., Vykusová, B., Jarkovský, J., Šmíd, R. and Pavliš, P. (2005) Bioaccumulation of mercury in muscle tissue of fish in the Elbe River (Czech Republic): multispecies monitoring study 1991-1996. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 61 (2), 256-267.
- [15] de Pinho, A.P., Guimaraes, J.R.D., Martins, A.S., Costa, P.A.S., Olavo, G. and Valentin, J. (2002) Total mercury in muscle tissue of five shark species from Brazilian offshore waters: effects of feeding habit, sex, and length. *Environ. Res.* 89 (3), 250-258.
- [16] Farkas, A., Salánki, J. and Varanka, I. (2000) Heavy metal concentrations in fish of Lake Balaton. *Lakes & Reservoirs: Research & Management* 5 (4), 271-279.
- [17] Kenšová, R., Čelechovská, O., Doubravová, J. and Svobodová, Z. (2010) Concentrations of metals in tissue of fish from the Věstonice Reservoir. *Acta Vet. Brno* 79, 335-345.
- [18] Zrnčić, S., Oraić, D., Čaleta, M., Mihaljević, Ž., Zanella, D. and Bilandžić, N. (2013) Biomonitoring of heavy metals in fish from the Danube River. *Environ Monit Assess.* 185 (2), 1189-1198.
- [19] Poleksić, V., Lenhardt, M., Jarić, I., Djordjević, D., Gačić, Z., Cvijanović, G. and Rašković, B. (2010) Liver, gills and skin histopathology and heavy metals content of the Danube starlet (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758). *Environ. Toxicol. Chem.* 29, 515-521.
- [20] Lenhardt, M., Jarić, I., Višnjić-Jevtić, Ž., Skorić, S., Gačić, Z., Pucar, M. and Hegediš, A. (2012) Concentrations of 17 elements in muscle, gills, liver and gonads of five economically important fish species from the Danube River. *Knowl. Managt. Aquatic Ecosyst.* 407, 02.
- [21] Zlatković, S., Šabić, D., Milinčić, M., Knežević-Vukčević, J. and Stanković, S. (2010) Geographical and biological analysis of the water quality of Bovan Lake, Serbia. *Arch. Biol. Sci.* 62 (4), 1083-1087.
- [22] Mackay, D. and Fraser, A. (2000) Bioaccumulation of persistent organic chemicals: mechanisms and models. *Environ. Pollut.* 110 (3), 375-391.
- [23] Anonymous (2009) Regulation on the maximum permitted residue levels of pesticides in food and animal feed and feed and animal feed for which maximum quantities of residues of pesticides are permitted (In Serbian). Resource document. Official Gazzete of Republic Serbia No 28/11. <http://www.tehnologijahrane.com/pravilnici/pravilnici-zabezbednosthrane>. Accessed 21 Sep 2012.
- [24] European Commission (2006) Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Brussels.
- [25] Erdoğan, O. and Elbilir, F. (2007) Heavy metals and trace elements in various fish samples from Sir Dam Lake, Kahramanmaraş, Turkey. *Environ Monit Assess.* 130 (1-3), 373-379.
- [26] Malik, N., Biswas, A.K., Qureshi, T.A., Borana, K. and Virha, R. (2010) Bioaccumulation of heavy metals in fish tissues of a freshwater lake of Bhopal. *Environ Monit Assess.* 160 (1-4), 267-276.
- [27] Gül, A., Yilmaz, M., Benzer, S. and Taşdemir, L. (2011) Investigation of zinc, copper, lead and cadmium accumulation in the tissues of *Sander lucioperca* (L., 1758) living in Hirfanlı Dam Lake, Turkey. *Bull Environ Contam Toxicol* 87 (3), 264-266.
- [28] Ploetz, D.M., Fitts, B.E. and Rice, T.M. (2007) Differential accumulation of heavy metals in muscle and liver of a marine fish (king mackerel, *Scomberomorus cavalla* Cuvier) from the Northern Gulf of Mexico, USA. *Bull Environ Contam Toxicol* 78 (2), 124-127.
- [29] Agah, H., Leermakers, M., Elskens, M., Fatemi, S.M.R. and Baeyens, W. (2009) Accumulation of trace metals in the muscle and liver tissues of five fish species from the Persian Gulf. *Environ Monit Assess* 157 (1-4), 499-514.
- [30] Bustamante, P., Bocher, P., Chérel, Y., Miramand, P. and Caurant, F. (2003) Distribution of trace elements in the tissues of benthic and pelagic fish from the Kerguelen Islands. *Sci Total Environ.* 313 (1-3), 25-39.
- [31] Tekin-Özan, S. and Kir, I. (2008) Seasonal variations of heavy metals in some organs of carp (*Cyprinus carpio* L. 1758) from Beyşehir Lake (Turkey). *Environ Monit Assess.* 138 (1-3), 201-206.
- [32] Oymak, S.A., Karadede-Akin, H. and Dogan, N. (2009) Heavy metal in tissues of *Tor grypus* from Atatürk Dam Lake, Euphrates River-Turkey. *Biologia* 64/1, 151-155.
- [33] Rashed, M.N. (2001) Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser Lake. *Environ Int.* 27 (1), 27-33.
- [34] Mazej, Z., Al Sayegh-Petkovšek, S., Pokorny, B. (2010) Heavy metal concentrations in food chain of Lake Velenjsko jezero, Slovenia: an artificial lake from mining. *Arch Environ Contam Toxicol.* 58 (4), 998-1007.
- [35] Al Sayegh Petkovšek, S., Mazej Grudnik, Z. and Pokorny, B. (2012) Heavy metals and arsenic concentrations in ten fish species from the Šalek lakes (Slovenia): assessment of potential human health risk due to fish consumption. *Environ Monit Assess.* 184 (5), 2647-2662.
- [36] Specziár, A. (2011) Size-dependent prey selection in piscivorous pikeperch *Sander lucioperca* and Volga pikeperch *Sander volgensis* shaped by bimodal prey size distribution. *J Fish Biol.* 79 (7), 1895-1917.
- [37] Vehanen, T. and Lahti, M., (2003) Movements and habitat use by pikeperch (*Stizostedion lucioperca* (L.)) in a hydropeaking reservoir. *Ecol. Freshw. Fish.* 12, 203-215.
- [38] Carol, J., Zamora, L. and García-Berthou, E. (2007) Preliminary telemetry data on the movement pattern and habitat use of European catfish (*Silurus glanis*) in a reservoir of the River Ebro, Spain. *Ecol. Freshw. Fish.* 16, 450-456.
- [39] Copp, G.H., Britton, J.R., Cucherousset, J., García-Berthou, E., Kirk, R., Peeler, E. and Stakénas, S. (2009) Voracious invader or benign feline? A review of the environmental biology of European catfish *Silurus glanis* in its native and introduced ranges. *Fish Fish* 10, 252-282.

- [40] Raat, A.J.P. (1988) Synopsis of biological data on the Northern pike *Esox lucius* Linnaeus, 1758. FAO Fisheries Synopsis No. 30 Rev. 2. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 178 pp.
- [41] Vehanen, T., Hyvärinen, P., Johansson, K. and Laaksonen, T. (2006) Patterns of movement of adult northern pike (*Esox lucius* L.) in a regulated river. *Ecol. Freshw. Fish.* 15, 154-160.
- [42] Milošković, A., Branković, S., Simić, V., Kovačević, S., Čirković, M. and Manojlović, D. (2013) The accumulation and distribution of metals in water, sediment, aquatic macrophytes and fishes of the Gruža Reservoir, Serbia. *Bull Environ Contam Toxicol* 90, 563-569.
- [43] Rajkowska, M. and Protasowicki, M. (2012). Distribution of metals (Fe, Mn, Zn, Cu) in fish tissues in two lakes of different trophy in Northwestern Poland. *Environ Monit Assess.* 185, 3493-3502.
- [44] Nabavi, S. F., Nabavi, S.M., Latifi, A.M., Eslami, S. and Ebrahimzadeh, M.A. (2012) Determination of trace elements level of pikeperch collected from the Caspian Sea. *Bull Environ Contam Toxicol.* 88, 401-405.
- [45] Tabatabaie, T., Ghomi, M.R., Amiri, F. and Zamani-ahmadmahmoodi, R. (2011) Comparative study of mercury accumulation in two fish species, (*Cyprinus carpio* and *Sander lucioperca*) from Anzali and Gomishan Wetlands in the Southern Coast of the Caspian Sea. *Bull Environ Contam Toxicol.* 87, 674-677.
- [46] Subotić, S., Spasić, S., Višnjić-Jeftić, Z., Hegediš, A., Krpo-Četković, J., Mićković, B., Skorić, S. and Lenhardt, M. (2013) Heavy metal and trace element bioaccumulation in target tissues of four edible fish species from the Danube River (Serbia). *Ecotoxicol Environ Saf.* 98, 196-202.
- [47] Has-Schön, E., Bogut, I., Rajković, V., Bogut, S., Cacić, M. and Horvatić, J. (2008) Heavy metal distribution in tissues of six fish species included in human diet, inhabiting freshwaters of the Nature park "Hutovo blato" (Bosnia and Herzegovina). *Arch Environ Contam Toxicol.* 54, 75-83.

Received: November 28, 2013

Accepted: February 19, 2014

CORRESPONDING AUTHOR

Vladica Simić

University of Kragujevac

Faculty of Science

Institute of Biology and Ecology

Radoja Domanovića 12

34000 Kragujevac

SERBIA

Phone: +381 34 336223 ex. 241

Fax: +381 34 335040

E-mail: simic@kg.ac.rs

The Accumulation and Distribution of Metals in Water, Sediment, Aquatic Macrophytes and Fishes of the Gruža Reservoir, Serbia

Aleksandra Milošković · Snežana Branković ·
Vladica Simić · Simona Kovačević ·
Miroslav Ćirković · Dragan Manojlović

Received: 28 June 2012 / Accepted: 4 February 2013 / Published online: 15 February 2013
© Springer Science+Business Media New York 2013

Abstract The concentrations of iron, lead, cadmium, copper, manganese, mercury and arsenic were measured in water, sediment, five macrophytes (*Typha angustifolia*, *Iris pseudacorus*, *Polygonum amphibium*, *Myriophyllum spicatum* and *Lemna gibba*) and five fish species (*Sander lucioperca*, *Abramis brama*, *Carassius gibelio*, *Silurus glanis* and *Arystictys nobilis*) in the Gruža Reservoir, used for water supply and recreational fishing. The concentrations of all examined elements were higher in sediment than in water. The values of the ratio between element concentrations in the sediment and those in the water were the highest for Fe and As. Among the five plant species, the highest concentrations of Pb and Mn were observed in *T. angustifolia*, while the highest concentrations of Fe, Cu and Hg were in *L. gibba*. *I. pseudacorus* and *P. amphibium*

had the highest concentrations of Cd and As, respectively. Among the fish species, *C. gibelio* showed the highest tendency of element accumulation (Fe, Cd, Cu), followed by *S. lucioperca* (Pb, Hg), *A. brama* (Mn) and *A. nobilis* (As). The average concentrations of elements in fish muscle, except for As in *A. nobilis* ($2.635 \pm 0.241 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$), were below the limits that are considered safe for human consumption in accordance with the European Commission Regulation and Official Gazette of Serbia.

Keywords Elements · Bioaccumulation · Macrophytes · Fishes

Water contamination with metals is a very important problem in the contemporary world, and their presence in the aquatic environment is a serious issue that threatens not only the aquatic ecosystems but also human health (Jianguo et al. 2007). Metals from natural and anthropogenic sources are continually being released into aquatic ecosystems, and they are a serious threat because of their toxicity, long persistence and capacity for bioaccumulation (Papagiannis et al. 2003). The manufacture, traffic, utilization and disposal of many products cause the release of trace metals into the aquatic environment, and increased attention is being paid to possible effects upon humans (Yildirim et al. 2008).

Elements such as Fe, Cu and Mn are essential elements, since they play an important role in biological systems; whereas Hg, Pb, Cd and As are non-essential. Non-essential elements can be very harmful, even at low concentration, when ingested over a long period. Essential elements can also produce toxic effects when their intake is elevated excessively. The bioavailability of the various metals depends upon the nature of the aquatic ecosystem, including

A. Milošković (✉) · S. Branković · V. Simić · S. Kovačević
Faculty of Science, Institute of Biology and Ecology, University
of Kragujevac, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac,
Serbia
e-mail: alekmil@kg.ac.rs

S. Branković
e-mail: pavsnz@yahoo.co.uk

V. Simić
e-mail: simic@kg.ac.rs

S. Kovačević
e-mail: simonakovacevic@gmail.com

M. Ćirković
Faculty of Agriculture, University of Novi Sad, 21000 Novi Sad,
Serbia
e-mail: miroslavcirkovic@yahoo.com

D. Manojlović
Center of Chemistry, Institute of Chemistry, Technology and
Metallurgy, University of Belgrade, 11000 Belgrade, Serbia
e-mail: manojlo@chem.bg.ac.rs

the pH, redox conditions and the presence of competing ligands that occur naturally (McGeer et al. 2004; Miretzky et al. 2004).

The concentrations of metals in sediment and in long-lived organisms reflect accumulation over a period of time, and are only weakly related to their content in water, which depends on a short-term factor (Mazej et al. 2010). Generally, species in relatively low trophic levels are exposed to comparatively lower concentration, although macrophytes can accumulate high levels of metals (Terra et al. 2008). On the other hand, McGeer et al. (2004) state that, with exception of methylmercury, biomagnification rarely occurs with metals.

The aim of the present study was to assess the concentration status, accumulation and distribution of seven elements (Fe, Pb, Cd, Cu, Mn, Hg and As) in water, sediment,

native aquatic macrophytes and fishes of the Gruža Reservoir. This reservoir was very hyper-eutrophic in the nineties, and therefore was treated with copper sulfate over a 10-year period to prevent algal blooms. Another goal was to determine if elevated copper residues remained in the reservoir. Moreover, the element loading in fish muscle was determined to assess the risk to humans from the consumption of fish.

Materials and Methods

The Gruža Reservoir is situated in Central Serbia, near the city of Kragujevac, at an altitude of 269 m, with a surface area of 9.34 km² and a maximum depth of 31 m (Fig. 1). It was formed in 1985 to supply drinking water to the

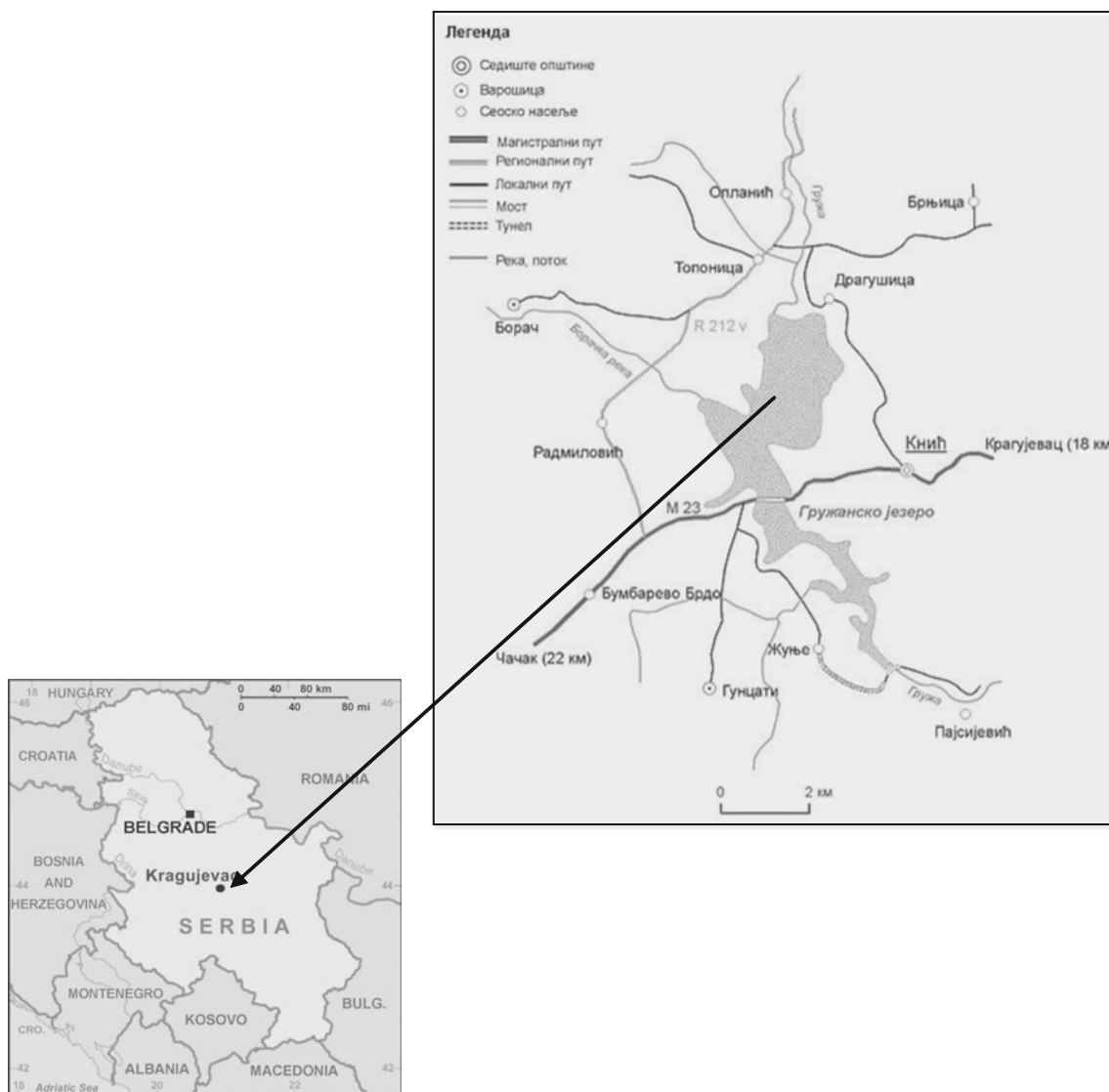


Fig. 1 Location of the Gruža Reservoir near the city of Kragujevac, Central Serbia

population of the region, and also for recreational purposes. Hence, it is essential to know the risk due to contaminants from the consumption of water and fish, and from skin contact during swimming.

This reservoir has been under a strong anthropogenic influence. A municipal transit road passes over the reservoir. The land around the reservoir is intensively processed with the use of invasive agrotechnical measures (excessive use of pesticides, herbicides and fungicides). Also, near the reservoir there are two factories for meat processing and mushroom cultivation. The field work was conducted during the summer of 2011. Samples of surface water and sediment were collected from various areas of the reservoir at a maximum depth of 1 m. Soon after collection, the water samples were filtered through 0.45 μm (pore size) Millipore filters. The sediment was taken with a grab, at a depth from 0 to 10 cm, after which it was preserved in bottles, labeled carefully and brought to the laboratory for further analysis.

Macrophytes *Typha angustifolia*, *Iris pseudacorus*, *Polygonum amphibia*, *Myriophyllum spicatum* and *Lemna gibba*, and fish species *Carassius gibelio*, *Abramis brama*, *Silurus glanis*, *Sander lucioperca* and *Arystichthys nobilis* were included in the study. The macrophytes were collected by hand, washed with lake water to remove loosely attached periphyton and sediment, and preserved with lake water in plastic bottles. Fish were collected with nets of different lengths, widths and mesh diameters. The total length (mm) and weight (g) of each fish was measured before dissection. Arithmetic mean values for total length and weight of fishes were: 580 mm and 595 g for *S. lucioperca*; 380 mm and 608 g for *A. brama*; 430 mm and 1,120 g for *C. gibelio*; 900 mm and 5,250 g for *S. glanis*; 865 mm and 12,350 g for *A. nobilis*, respectively. A muscle sample of approximately 5 g was collected from above the lateral line, washed with distilled water, packed into a polyethylene bag, and stored at -20°C prior to analysis.

In the laboratory, the sediment samples were dried in an oven and stone pieces were removed. Sediment samples were digested at 95°C for 1 h using a mixture of $\text{HCl-HNO}_3\text{-H}_2\text{O}$ (6 mL of mixture of 1/1/1 for 1 g). The identified plant material was rinsed in distilled water, and dried at room temperature, followed by drying for 24 h at 105°C in a dryer (Binder/Ed 15053, Tuttlingen, Germany). Water and plants were prepared for chemical analysis according to standard procedures (APHA 1993). Fish samples (~ 1.5 g) were dried in a lyophilizer (Christ Alpha 2-4 LD, Harz, Germany), and then digested in an Advanced Microwave Digestion System (ETHOS 1, Milestone, Italy) using a mixture of 65 % nitric acid and 30 % hydrogen peroxide (Merck, Darmstadt, Germany, 10:2 v/v) at 220°C for 20 min. After cooling to room temperature and without

filtration, the solution was diluted to a fixed volume (volumetric flask, 25 mL) with deionized water.

Concentrations of Fe, Pb, Cd, Cu, Mn, Hg and As were measured in water, sediment, plants and fish in triplicate using a Thermo Scientific iCAP 6500 Duo ICP instrument (Thermo Fisher Scientific, Cambridge, United Kingdom). Concentrations of As and Hg were measured by hydride technique (HG-ICP-OES) in order to increase the sensitivity and lower the threshold for detection limits. The potential presence of trace elements in chemicals used in sample preparation was resolved by using a number of blank samples. Two multi-elemental plasma standard solutions, Multi-Element Plasma Standard Solution 4, Specpure[®], 1,000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and Semiquantitative Standard 1, Specpure[®], 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ certified by Alfa Aesar GmbH & Co KG, Germany, were used to prepare calibration solutions for ICP-OES and HG-ICP-OES measurements, respectively. The detection limits for Fe, Mn, Cu, Pb, Cd, Hg and As in water were: 0.0100, 0.0070, 0.0030, 0.0100, 0.0100, 0.0010, 0.0010 mg L^{-1} , respectively. The detection limits for Fe, Mn, Cu, Pb, Cd, Hg and As in sediment were: 0.0056, 0.0089, 0.0030, 0.0076, 0.0065, 0.0010, 0.0010 mg kg^{-1} , respectively. The detection limits for Fe, Mn, Cu, Pb, Cd, Hg and As in plant material were: 0.0053, 0.0030, 0.0027, 0.0056, 0.0051, 0.000335, 0.000129 mg kg^{-1} , respectively. The detection limits for Fe, Pb, Cd, Cu, Mn, Hg and As in fish muscle were: 0.0018, 0.0093, 0.00047, 0.0028, 0.0025, 0.00027, 0.00022 mg kg^{-1} , respectively.

Concentrations of elements in water were expressed as mg L^{-1} , whereas in sediment, plant materials and fish tissue as mg kg^{-1} of dry weight (dw). Element concentrations in fish muscle tissue were also expressed as mg kg^{-1} wet weight (ww), for comparison with the maximum permitted concentrations for human consumption by the European Commission Regulation (1881/2006/EC) and Official Gazette of Serbia (Anonymous 2009a).

Mean values and standard deviations were calculated for each group. Differences in mean concentrations of elements in plants and fishes were analyzed by one-way ANOVA. The Pearson's correlation coefficient was used to test the correlation between the concentrations of elements in different fish species. Statistical analysis of data was carried out using SPSS 16.0 statistical package programs for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Results and Discussion

Of the different environmental matrices that were analyzed (water, sediment, macrophytes and fishes) the mean concentrations of Fe, Pb, Cd, Hg and As were the highest in the sediment (Table 1). Four of five macrophyte species had higher mean concentrations of Cu than the sediment,

Table 1 Concentrations of elements in water (mg L^{-1}), sediment, aquatic macrophytes and fish muscles (mg kg^{-1} dw) in the Gruža Reservoir

Subject	Number of samples	Element concentration							
		Fe	Pb	Cd	Cu	Mn	Hg	As	
Water	3	0.097 ± 0.001	ND	ND	0.004 ± 0.001	0.025 ± 0.001	0.016 ± 0.001	0.259 ± 0.009	
Sediment	3	5,320 ± 0.50	30.9 ± 0.007	2.53 ± 0.002	10.53 ± 0.006	623 ± 0.178	280 ± 0.24	11,120 ± 23.51	
<i>T. angustifolia</i> ^a	5	2,610 ± 87.38	7.75 ± 0.28	1.5 ± 0.054	11.35 ± 0.17	1,240 ± 11.025	27.8 ± 1.00	4,273 ± 142.3	
<i>I. pseudacorus</i> ^a	8	1,864 ± 60.23	2.2 ± 0.08	1.6 ± 0.053	26.9 ± 0.67	330.7 ± 5.10	182.6 ± 3.79	3,440 ± 110	
<i>P. amphibiium</i> ^a	6	1,490 ± 15.17	0.700 ± 0.015	0.200 ± 0.002	6.45 ± 0.01	223 ± 1.76	165 ± 1.03	4,280 ± 69.2	
<i>M. spicatum</i> ^a	6	1,610 ± 41.75	2.65 ± 0.10	0.350 ± 0.014	11.6 ± 0.30	352 ± 14.0	124 ± 32.7	1,185 ± 53.75	
<i>L. gibba</i> ^a	11	3,280 ± 27.31	3.4 ± 0.04	0.500 ± 0.000	55.5 ± 0.30	641 ± 3.19	279 ± 3.53	2,719 ± 14.71	
<i>S. luciopecca</i> ^b	10	10.6 ± 6.19	0.935 ± 0.324	0.007 ± 0.004	0.478 ± 0.153	1.04 ± 1.06	0.147 ± 0.021	ND	
<i>A. brama</i> ^b	10	3.12 ± 1.82*	0.275 ± 0.095*	0.002 ± 0.0005*	0.140 ± 0.452*	0.306 ± 0.312*	0.043 ± 0.006*	ND*	
<i>C. gibelio</i> ^b	10	6.8 ± 1.53	0.331 ± 0.157	0.005 ± 0.001	0.354 ± 0.060	3.08 ± 2.48	0.053 ± 0.003	ND	
		2.8 ± 0.64*	0.138 ± 0.065*	0.002 ± 0.0005*	0.147 ± 0.250*	1.28 ± 1.03*	0.022 ± 0.001*	ND*	
		18.1 ± 9.65	0.437 ± 0.287	0.008 ± 0.001	0.877 ± 0.286	1.23 ± 0.59	0.084 ± 0.007	0.255 ± 0.150	
<i>S. glanis</i> ^b	10	7.53 ± 4.02*	0.182 ± 0.119*	0.003 ± 0.0005*	0.365 ± 0.119*	0.512 ± 0.244*	0.035 ± 0.002*	0.106 ± 0.062*	
		17.5 ± 7.77	0.150 ± 0.039	0.007 ± 0.001	0.704 ± 0.112	1.24 ± 1.22	0.078 ± 0.004	0.225 ± 0.119	
		7.4 ± 3.29*	0.063 ± 0.016*	0.003 ± 0.0006*	0.296 ± 0.048*	0.524 ± 0.518*	0.033 ± 0.002*	0.095 ± 0.050*	
<i>A. nobilis</i> ^b	10	2.28 ± 0.20	0.099 ± 0.010	0.003 ± 0.000	0.089 ± 0.011	0.028 ± 0.002	0.024 ± 0.001	3.45 ± 0.317	
		1.74 ± 0.15*	0.076 ± 0.007*	0.002 ± 0.0004*	0.068 ± 0.008*	0.021 ± 0.001*	0.018 ± 0.0009*	2.635 ± 0.241*	

Values are mean ± SD

ND not detected

^a Macrophytes, ^b Fishes* Concentrations of elements in fish muscles expressed as mg kg^{-1} ww

and two of five macrophytes had higher Mn concentrations than the sediment. The concentrations of elements in fish muscle tissue were almost always considerably lower than their concentrations in sediment or macrophytes. One exception to this was noted for Pb in *P. amphibium* and *S. lucioperca*. The concentration of As in water was by far the highest of all elements at 0.259 mg L^{-1} .

One way ANOVA revealed that the mean element concentrations were significantly different with different plant species at the 0.05 level ($p < 0.05$). In this study, a significant difference in Cu levels was found between fish species *S. glanis* and *A. nobilis* at the 0.05 level. Concentrations of As varied significantly between *A. nobilis* and all other species. Also, a significant difference in Hg was found between *A. nobilis* and all other fish species, *A. brama* and *C. gibelio*, and *A. brama* and *S. glanis* at the 0.05 level. Different fish species differed in their capabilities to take up and accumulate elements. A positive correlation was characteristic for Fe between *A. brama* and *C. gibelio* ($r = 0.99$; $p = 0.03$), Pb between *S. lucioperca*

and *A. nobilis* ($r = 0.99$; $p = 0.02$), Cd between *S. lucioperca* and *C. gibelio* ($r = 0.99$; $p = 0.02$), Cu between *A. brama* and *S. glanis* ($r = 1.00$; $p = 0.005$), and Mn between *S. lucioperca* and *S. glanis* ($r = 0.99$; $p = 0.01$). On the other hand, negative correlations were characteristic for Fe between *C. gibelio* and *A. nobilis* ($r = -0.99$; $p = 0.04$) and Cu between *C. gibelio* and *A. nobilis* ($r = 0.99$; $p = 0.03$). In contrast, no significant correlations were obtained between fish species for Hg and As.

The ratios for element concentrations in sediment over water were the highest for Fe and As (Fig. 2a). Lead and cadmium were not detected in the water, due to the fact that their concentrations were lower than the detection limit of the method. The element concentrations in water followed the order: $\text{As} > \text{Fe} > \text{Mn} > \text{Hg} > \text{Cu}$. High concentration of As in water may be due to overuse of pesticides on agricultural areas around the reservoir. Low concentrations of soluble elements recorded in the lake water might be the result of their binding to particulate matter, which then settles onto sediment, and to uptake by plankton (Mazej et al. 2010). Generally, the

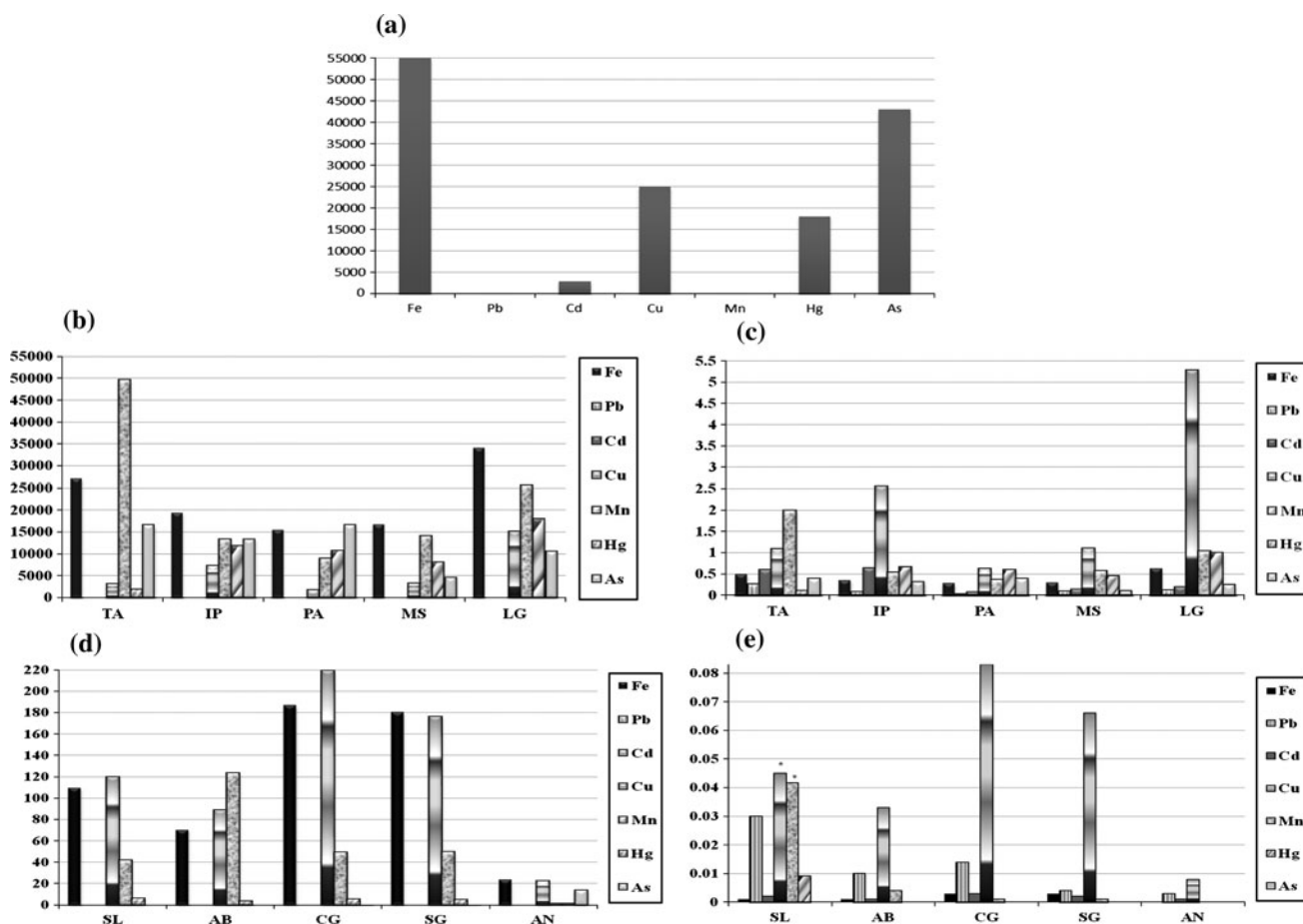


Fig. 2 The ratio of elements in the Gruža Reservoir: **a** sediment/water, **b** macrophytes/water, **c** macrophytes/sediment, **d** fishes/water, **e** fishes/sediment. TA, *T. angustifolia*; IP, *I. pseudacorus*; PA, *P. amphibium*; MS, *M. spicatum*; LG, *L. gibba*; SL, *S. lucioperca*;

AB, *A. brama*; CG, *C. gibelio*; SG, *S. glanis*; AN, *A. nobilis*. *Because of very large differences between the element concentrations, the concentration was expressed as g kg^{-1}

results of our research showed the mean concentrations of investigated elements were far higher in the sediment than those calculated for the same elements in the lake water (Table 1), which is in accordance with previous findings by others (Samecka-Cymerman and Kempers 2001; Demirezen and Aksoy 2004; Pajević et al. 2008; Branković et al. 2010). In sediment, the order of concentration of elements was: As > Fe > Mn > Hg > Pb > Cu > Cd. The element accumulation in sediment is the result of long-term exposure, whereas element concentrations in water are mainly the result of recent contamination (Baldantoni et al. 2005).

Among the five plant species, the highest concentrations of Pb and Mn were observed in *T. angustifolia*, which has a highly developed root system by which the above mentioned elements accumulate from sediment. The highest concentrations of Cd were in *I. pseudacorus*, while the highest concentrations of Fe, Cu and Hg were in *L. gibba*. *P. amphybiun* had the highest concentrations of As. The comparison of element content in macrophytes is often difficult because of the difference in the age of plants and presence of different pollution sources over time (Vardayan and Ingole 2006). Tolerant plants tend to restrict soil-root and root-shoot transfer, and therefore have much less accumulation in their biomass, while hyperaccumulators facilitate active uptake and translocation of these elements into their above-ground biomass (Ahmad et al. 2010). The ratio between concentration of investigated elements in plant and water was the highest for Mn for *T. angustifolia* and Fe for *L. gibba* (Fig. 2b). This might be the result of high accumulative capacity of these plants. The ratio between concentration of elements in plants and sediment was the highest for Cu for *L. gibba* (Fig. 2c).

Recently, considerable attention has been paid to determination of element concentrations in fish, due to their possible toxic effects in humans (Turan et al. 2009). In this study, concentrations of elements were measured in muscle tissue, since humans in this area consume only this part of the fish.

The concentrations of measured elements in fishes followed the order: *S. lucioperca* Fe > Mn > Pb > Cu > Hg > Cd > As; *A. brama* Fe > Mn > Cu > Pb > Hg > Cd > As; *C. gibelio* Fe > Mn > Cu > Pb > As > Hg > Cd; *S. glanis* Fe > Mn > Cu > As > Pb > Hg > Cd and *A. nobilis* As > Fe > Pb > Cu > Mn > Hg > Cd (Table 1). According to the present study, *C. gibelio* showed the highest tendency of element accumulation overall, followed by *S. glanis*, *S. lucioperca*, *A. brama* and *A. nobilis*. Mercury was accumulated most highly in the predatory *S. lucioperca*, which represented the highest trophic level amongst the five fish species. This result is in agreement with Dušek et al. (2005), who found that predators accumulated the most Hg, followed by benthophagous species, whereas omnivorous and planktivorous species contained the lowest concentrations of Hg. The species

S. lucioperca also had the highest mean concentration of Pb. The values of the ratio between element concentrations in fishes and those in the sediment were the highest for Mn and Hg for this fish species (Fig. 2e). The omnivorous species, *C. gibelio* had the highest mean concentration of Cu. This is in agreement with Simić (2005), who also found that the highest concentration of Cu was accumulated in muscles of this species in the Gruža reservoir. This species also had the highest concentrations of Fe and Cd, which may result from the high concentrations of these elements in sediment and macrophytes. Also, the values of the ratio between element concentrations in fishes and those in the water were the highest for Cu and Fe for *C. gibelio*, which is in accordance with the nutrition of the species (Fig. 2d). The highest mean concentration of As was in *A. nobilis* which is in accordance with the statements of Storelle et al. (2005), that organisms feeding on algae and crustaceans appear to retain higher As concentrations than piscivorous species.

To compare observed concentrations of elements with the maximum permitted concentrations (MPC) in fish meat provided by the EU and the Official Gazette of Serbia, all concentrations were also expressed as mg kg⁻¹ ww (Table 1). According to the European Commission Regulation (1881/2006/EC) the MPC concentrations for Pb, Cd and Hg in fish meat for human consumption are, respectively, 0.3, 0.05 and 0.5 mg kg⁻¹ ww. There is no regulation in EU for maximum levels of most of the other elements. The maximum permitted concentration levels laid down in the Official Gazette of Serbia (Anonymus 2009a) for Pb, Cd, Hg, As, Fe (in tin containers) and Cu (in tin containers) are, respectively, 0.3, 0.05, 0.5, 2.0, 30.0, 30.0 mg kg⁻¹ ww. Meat of *A. nobilis* had As values (2.635 ± 0.241 mg kg⁻¹ ww) above the maximum permitted concentrations provided by the Official Gazette of Serbia. Meat of all other examined fishes can be safely utilized in human diet. Concentrations of As (0.259 ± 0.01 mg L⁻¹) and Hg (0.016 ± 0.001 mg L⁻¹) in water exceeded MPC for drinking water provided by the Official Gazette of Serbia (Anonymous 2009b) (As, 0.01 mg L⁻¹; Hg, 0.001 mg L⁻¹). Since the mean concentrations for As and Hg in water and for As in *A. nobilis* exceeded the maximum permitted concentration levels laid down in the Official Gazette of Serbia, continued monitoring of elements in water and fish meat is needed.

Acknowledgments This investigation was supported by the Ministry of Science and Technological Development of the Republic of Serbia as part of Project Number 31011, with the macrophyte portion funded by Snežana Branković.

References

- Ahmad A, Ghufuran R, Zularisam AW (2010) Phytosequestration of metals in selected plants growing on a contaminated Okhla Industrial Areas, Okhla, New Delhi, India. *Water Air Soil Pollut* 217(1–4):255–266

- Anonymous (2009a) Regulation on the maximum permitted residue levels of pesticides in food and animal feed and feed and animal feed for which maximum quantities of residues of pesticides are permitted (In Serbian). Off Gazz Rep Serbia No 28/11. <http://www.tehnologijahrane.com/pravilnici/pravilnici-za-bezbednost-hrane>. Accessed 21 Sep 2012
- Anonymous (2009b) Regulations on hygienic safety of water (In Serbian) Off Gazz Rep Serbia No 42/98 and 44/99. <http://www.tehnologijahrane.com/pravilnik/pravilnik-o-higijenskoj-ispravnosti-vode-i>. Accessed 13 Dec 2012
- APHA (1993) Standard methods for the examination of water and wastewaters. American Public Health Association, Washington, DC
- Baldantoni D, Maisto G, Bartoli G, Alfani A (2005) Analyses of three native aquatic plant species to assess spatial gradients of lakes trace element contamination. *Aquat Bot* 83:48–60
- Branković S, Pavlović-Muratspahić D, Topuzović M, Glišić R, Stanković M (2010) Concentration of some heavy metals in aquatic macrophytes in reservoir near city Kragujevac (Serbia). *Biotechnol Biotechnol Equip* 24:223–227
- Demirezen D, Aksoy A (2004) Accumulation of heavy metal in *Typha angustifolia* (L.) and *Potamogeton pectinatus* (L.) living in Sultan Marsh (Kayseri, Turkey). *Chemosphere* 56:685–696
- Dušek L, Svobodová A, Janoušková D, Vykusová B, Jerkovský J, Šmíd R, Pavliš P (2005) Bioaccumulation of mercury in muscle tissue of fish in the Elbe River (Czech Republic): multispecies monitoring study 1991–1996. *Ecotoxicol Environ Saf* 61:256–267
- European Commission (2006) Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Brussels
- Jianguo L, Yuan D, Hai X, Wang D, Jiakuan X (2007) Accumulation of Cu, Pb and Zn by 19 wetland plant species in constructed wetland. *J Hazard Mater* 147:947–953
- Mazej Z, Al Sayegh-Petkovšek S, Pokorný B (2010) Heavy metal concentrations in food chain of Lake Valenjsko Jezero, Slovenia: an artificial lake from mining. *Arch Environ Contam Toxicol* 58:998–1007
- McGeer J, Henningsen G, Lanno R, Fisher N, Sappington N, Drexler J (2004) Issue paper on the bioavailability and bioaccumulation of metals. US Environmental Protection Agency Risk Assessment Forum. 126 p
- Miretzky P, Saralegui A, Cirelli AF (2004) Aquatic macrophytes potential for the simultaneous removal of heavy metals (Buenos Aires, Argentina). *Chemosphere* 57:997–1005
- Pajević S, Borisev M, Rončević S, Vukov D, Igić R (2008) Heavy metal accumulation of Danube River aquatic plants-indication of chemical contamination. *Cent Eur J Biol* 3(3):285–294
- Papagiannis I, Kagalou I, Leonardos J, Petridis D, Kalfakakou V (2003) Copper and zinc in four freshwater fish species from Lake Pamvotis (Greece). *Environ Int* 30:357–362
- Samecka-Cymerman A, Kempers AJ (2001) Concentration of heavy metals and plant nutrients in water, sediments and aquatic macrophytes of anthropogenic lakes (former open cut brown coal mine) differing in stage of acidification. *Sci Total Environ* 281:87–98
- Simić V (2005) The fauna of macrozoobenthos in the Gruža Reservoir. In Čomić Lj, Ostojić A (eds) *The Reservoir Gružamonography*. Faculty of Science, Kragujevac, pp 99–110
- Storelle MM, Giacominielle-Stuffler R, Storelli A, Marcotrigiano GO (2005) Accumulation of mercury, cadmium, lead and arsenic in swordfish and bluefin tuna from the Mediterranean Sea: a comparative study. *Mar Pollut Bull* 48:1145–1167
- Terra B, Araújo F, Calza C, Lopes R, Teixeira T (2008) Heavy metal in tissues of three fish species from different trophic levels in a tropical Brazilian river. *Water Air Soil Pollut* 187:275–284
- Turan C, Dural M, Oksuz A, Ozturk B (2009) Levels of heavy metals in some commercial fish species captured from the Black Sea and Mediterranean coast of Turkey. *Bull Environ Contam Toxicol* 82:601–604
- Vardayan LG, Ingole BS (2006) Studies on heavy metal accumulation in aquatic macrophytes from Sevan (Armenia) and Carabolim (India) lake system. *Environ Int* 32:208–218
- Yildirim Y, Gonulalan Z, Narin I, Soylak M (2008) Evaluation of trace heavy metal levels of some fish species sold at retail in Kayseri, Turkey. *Environ Monit Assess* 149:223–228