

## USPOREDBA HISTOLOŠKIH PROMJENA U ORGANIMA KLENA (*Squalius cephalus*) S BROJEM HETEROTROFNJIH I KOLIFORMNIH BAKTERIJA U VODI RIJEKE SAVE

B. Kurtović<sup>1</sup>, D. Kapetanović<sup>1</sup>, Ž. Matašin<sup>2</sup>

### Sažetak

Za naše istraživanje uzorkovano je ukupno 157 klenova na 5 postaja od slovensko–hrvatske granice do utoka rijeke Une u Savu. Dvije postaje bile su uzvodno, a preostale tri nizvodno od grada Zagreba i glavnih izvora onečišćenja vode. Jetra, slezenu, bubreg, škrge i crijevo uzorkovali smo kod svih klenova i izradili histološke preparate koje smo obojili hematoksilin eozinom. Istodobno je uzorkovana voda i određen broj heterotrofnih i koliformnih bakterija.

Na osnovi rezultata ovog rada možemo zaključiti da bi histološke promjene u organima klena mogle poslužiti kao pokazatelj onečišćenja vode. Razlike intenziteta histoloških promjena bile su sukladne razlici u broju heterotrofnih i koliformnih bakterija na pojedinim postajama. Histološke promjene, kao rezultat kumulativnoga djelovanja, vjernije su nego broj heterotrofnih i koliformnih bakterija odražavale kakvoću vode. U svim organima utvrđen je barem jedan histološki pokazatelj s visokom pozitivnom korelacijom sa stupnjem onečišćenja vode. Škrge su bile organ s najbrojnijim histološkim pokazateljima koji su bili u korelaciji s promjenom kakvoće vode.

**Ključne riječi:** histologija, klen, koliformne bakterije, heterotrofne bakterije, kakvoća vode

---

Dr. sc. Božidar Kurtović; Damir Kapetanović, dr. vet. med.; Institut »Ruđer Bošković«, Zavod za istraživanje mora i okoliša, Laboratorij za istraživanje i razvoj akvakulture, Bijenička c. 54, Zagreb.

Doc. dr. sc. Željka Matašin, Zavod za biologiju i patologiju riba i pčela, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Heinzelova 55, Zagreb

## UVOD

Onečišćenje vode ima kao posljedicu i promijenjeno zdravstveno stanje organizama koji u njoj žive. Zbog toga zdravstveno stanje faune često odražava stanje ekosustava (Robinson, 1996). Riba je izložena brojnim štetnim tvarima otopljenima u vodi ili sadržanima u hrani. Osim toga što izravno negativno djeluju na ribu, mnoge tvari riba i kumulira u organizmu. Stoga riba može poslužiti kao pokazatelj onečišćenja okoliša (Whitfield i Elliott, 2002).

Histopatologija proučava promjene na staničnoj razini. Histopatološke promjene prikladan su pokazatelj za utvrđivanje i lokalizaciju toksičnih učinaka pojedinih tvari, ali promjene, u pravilu, nisu specifične za pojedini kemijski spoj ili skupinu spojeva (Bernet i sur., 2004).

Rijeka Sava dužine 945 km najduža je rijeka u Hrvatskoj. Na izlasku iz Slovenije već pripada II. do III. kategoriji kakvoće voda. Onečišćenje je najveće nizvodno od Zagreba. U tom je dijelu voda rijeke Save svrstana u III. do V. kategoriju kakvoće (Vouk i Malus, 2005).

Većina međunarodnih pravilnika uključuje ukupne koliforme kao zakonom propisani mikrobiološki pokazatelj kakvoće vode (Schraft i Watterworth, 2005). Uz to utvrđuje se ukupan broj heterotrofnih bakterija, što se smatra općim pokazateljem stanja vode (Stevens i sur., 2003). Uredba o klasifikaciji voda u Republici Hrvatskoj također uključuje ukupne koliforme i heterotrofne bakterije (NN, 1998).

Cilj je ovog rada bio utvrditi mogu li se pojedine histološke promjene u istraživanim organima koristiti kao pokazatelji onečišćenja vode, kao i odrediti odnos intenziteta histoloških promjena u organima i broja bakterija u vodi.

## MATERIJAL I METODE RADA

Uzorkovano je ukupno 157 klenova na 5 postaja od slovensko–hrvatske granice do utoka rijeke Une u Savu. Dvije su lokacije (Otok Samoborski i Sava kod Jaruna) uzvodno, a preostale 3 (Oborovo, Lukavec Posavski i Jasenovac) nizvodno od grada Zagreba i glavnih izvora onečišćenja vode. Uzorkovanje je provedeno dvokratno, u jesen 2005. i u proljeće 2006. godine, električnim agregatom sukladno standardu HRN EN 14011:2005.

Uzorci jetara, slezene, bubrega, škrge i crijeva uzeti su od svih riba i fiksirani u 10 %-tnom formalinu. Načinjeni su rezovi debljine 5 $\mu$ m i obojeni hematoksilin-eozinom.

Uzorkovanje vode za određivanje ukupnoga broja heterotrofnih i koliformnih bakterija obavljeno je istodobno s uzorkovanjem ribe. Dobiveni su rezultati izraženi kao srednja vrijednost za razdoblje od rujna 2005. do svibnja 2006. godine. Za određivanje ukupnoga broja aerobnih bakterija uzorci vode inokulirani su na hranjivoj podlozi Yeast extract agar prema ISO 622:1999 (Whitman i MacNail, 2004). Nakon inkubacije do 5 dana na 22 °C

izrasle su kolonije prebrojene i rezultat izražen kao cfu/ml (cfu — *colony forming units*). Ukupan broj koliformnih bakterija određen je s pomoću Colilert® testa (IDEXX Laboratories, Inc., SAD). Nakon inkubacije od 24 sata na 35 °C rezultat je izražen kao najvjerojatniji broj (MPN — *most probable number*) u 100 ml uzorka.

Za statistička obradu rezultata primijenjen je program SigmaStat (SigmaStat for Windows Version 1.0, Jandel Corporation 1992–1994). Razina značajnosti za sve testove postavljena je na 5 % ( $p < 0,05$ ).

## REZULTATI I RASPRAVA

### *Bakteriološka pretraga vode*

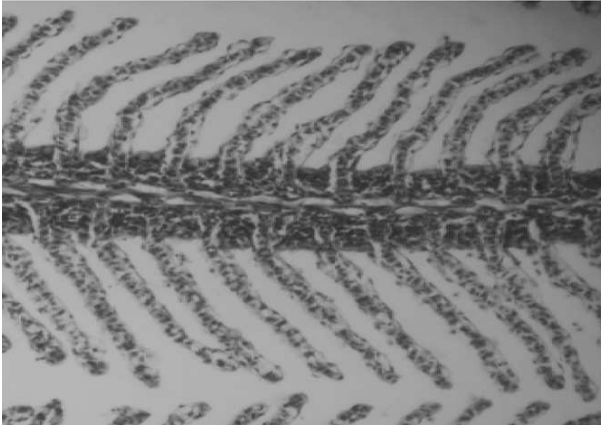
U rujnu 2005. godine heterotrofnih je bakterija bilo najviše na postaji Oborovo, a najmanje na postaji Jasenovac. U travnju/svibnju 2006. godine heterotrofnih je bakterija bilo najviše na postaji Jasenovac, a najmanje na postaji Jarun. Razlika između dvaju uzorkovanja nije bila statistički značajna ( $T = 36,0$ ,  $p > 0,05$ ). Prosječan broj heterotrofnih bakterija za cijelo ispitivano razdoblje najveći je bio na postaji Oborovo, a najmanji na postaji Otok Samoborski. U vodi uzorkovanoj u travnju/svibnju 2006. koliformnih je bakterija najviše bilo na postaji Jasenovac, a najmanje na postaji Otok Samoborski. Prosječan broj koliformnih bakterija za cijelo ispitivano razdoblje najveći je bio na postaji Oborovo, a najmanji na postaji Otok Samoborski. Broj heterotrofnih i koliformnih bakterija pri jednokratnim uzorkovanjima bio je nepravilan uzmemo li razlike između pojedinih postaja i između sezona uzorkovanja. Odnos je potpuno drukčiji ako se u obzir uzme prosječan broj za čitavo razdoblje.

### *Histološka pretraga riba*

U škragama (Slika 1) su određeni hiperplazija škržnog epitela i fuzija sekundarnih lamela, proširenje krvnih prostora i otećenje (clubbing) sekundarnih lamela. U crijevu (Slika 5) je određen broj vrčastih i štapićastih stanica u sluznici. U slezeni (Slika 7) je određen broj MMC-a, stupanj punokrvnosti i prisutnost granulomatoznih promjena. U bubregu (Slika 11) je utvrđen broj novostvorenih tubula, broj MMC-a i prisutnost granulomatoznih promjena. U jetrima (Slika 14) su utvrđeni broj MMC-a, prisutnost granulomatoznih promjena, proliferacija žučnih kanalića i nakupljanje upalnih stanica.

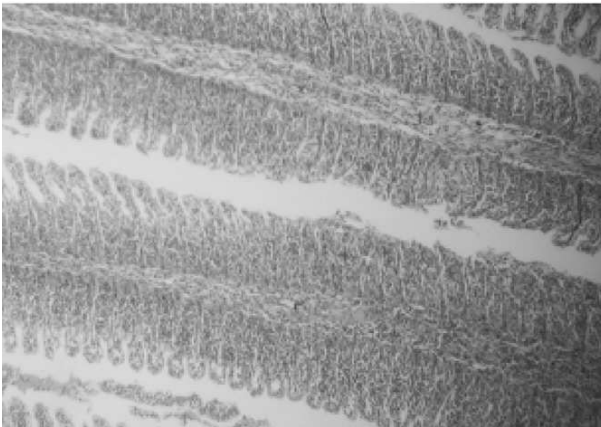
### *Škrge*

S obzirom na normalan izgled škrge (Slika 1), ustanovljena je hiperplazija epitela (Slika 2) koja je bila najjače izražena na postaji Oborovo, a najslabije na postaji Otok Samoborski. Razlika je bila značajna ( $H = 25,5$ ;  $p < 0,05$ ). Otećenje sekundarnih lamela (Slika 3) bilo je najjače izraženo na postaji



*Slika 1. Škrge klena, normalan izgled. H i E, 200 puta.*

*Fig 1: European chub, normal gills. H and E, 200 X.*



*Slika 2. Škrge klena, hiperplazija epitela s fuzijom lamela. H i E, 100 puta.*

*Fig 2: European chub gills. Epithelial hyperplasia with lamellar fusion. H and E, 100 X*

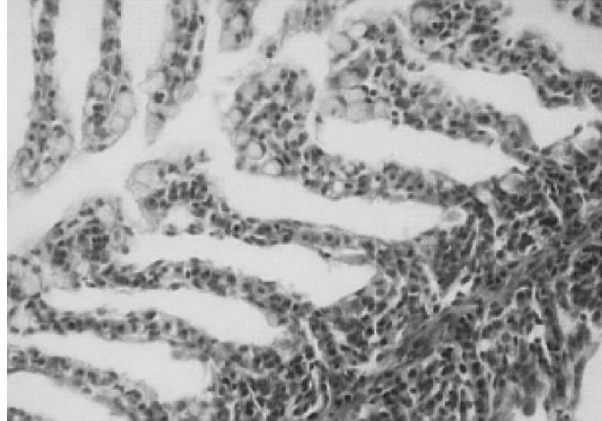
Oborovo, a najslabije na postaji Otok Samoborski. Razlika je bila statistički značajna ( $F=18,4$ ;  $p<0,05$ ). Teleangiektazije (Slika 4) bile su najjače izražene na postaji Oborovo, a najslabije na postaji Otok Samoborski. Razlika je bila statistički značajna ( $F=9,47$ ;  $p<0,05$ ). Rezultati ovog istraživanja pokazali su da su škrge organ s najjačim odgovorom na promjenu kakvoće vode. To je sukladno podacima iz literature (Mallat, 1985). Brojni su se autori promjenama na škragama koristili kao pokazateljem onečišćenja vode (Couillard i sur., 1988; Brueggemann i sur., 1995).

#### *Crijevo*

Broj vrčastih stanica (Slika 5) bio je najveći na postaji Oborovo, a najmanji na postaji Otok Samoborski. Razlika je bila statistički značajna ( $F=6,28$ ;  $p<0,05$ ). Broj štapićastih stanica (Slika 5) za 2005. godinu najveći je bio na postaji Otok

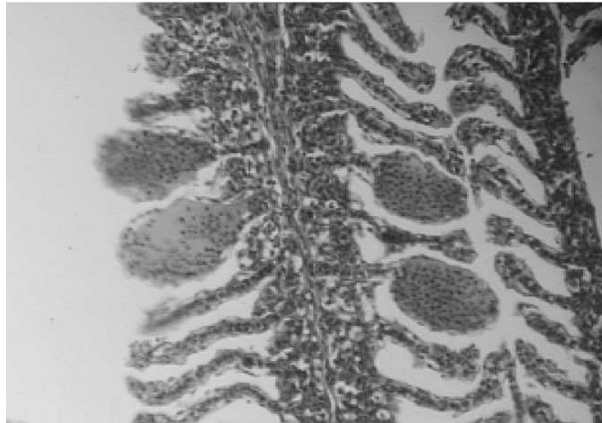
*Slika 3. Škrge klena, otečenje lamela. H i E, 400 puta.*

*Fig 3. European chub gills. Lamellar swelling. H and E, 400 X.*

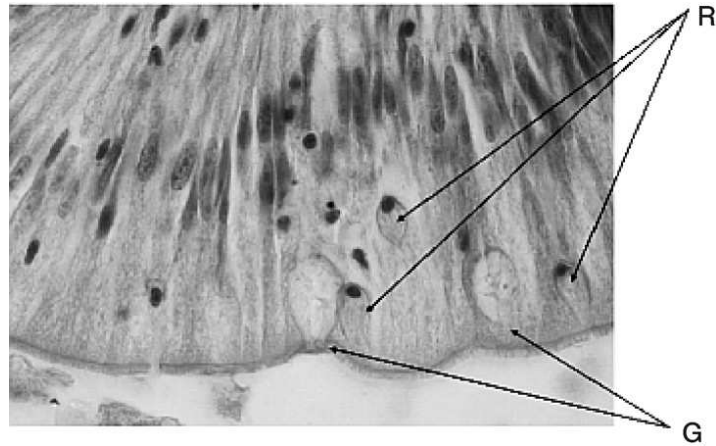


*Slika 4. Škrge klena, aneurizme. H i E, 200 puta.*

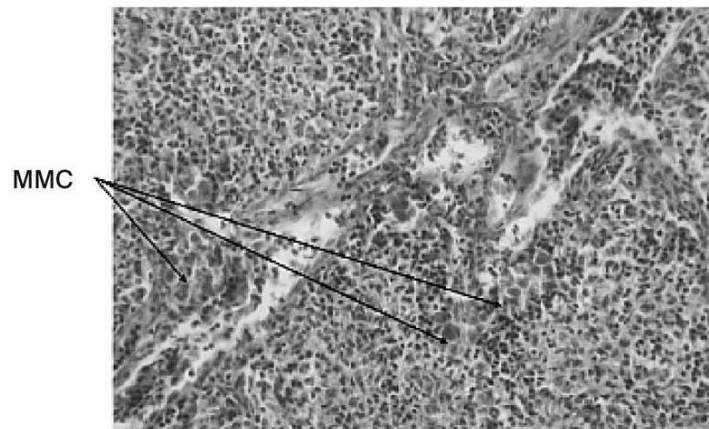
*Fig 4: European chub, aneurisma in gills. H and E, 200 X.*



Samoborski, a najmanji na postaji Lukavec Posavski. Razlika je bila statistički značajna ( $F=4,05$ ;  $p<0,05$ ). Za godinu 2006. broj je štapićastih stanica najveći bio na postaji Lukavec Posavski, a najmanji na postaji Jarun. Razlika nije bila statistički značajna ( $F=1,60$ ;  $p>0,05$ ). Razlika između dviju sezona uzorkovanja na pojedinim je postajama bila značajna. Promjene u crijevu nisu bile izražene kao u škragama. Povećani broj vrčastih stanica na postajama s većim onečišćenjem u skladu je s podacima iz literature (Hawkes, 1980; Kratichue i sur., 2003). Naprotiv, razlike broja štapićastih stanica između pojedinih postaja, kao i između dviju sezona uzorkovanja nisu pokazivale pravilnost. Broj je bio veći uzvodno od Zagreba. U dostupnoj literaturi ne postoji jedinstveno mišljenje o ulozi tih stanica u ribi. Jedni ih povezuju s onečišćenjem iz okoliša (Smith i sur., 1995; Iger i Abraham, 1997) dok su s druge strane brojni zagovornici njihove uloge u obrani organizma od parazita (Manera i sur., 2001; Dezfuli i sur., 2003).



*Slika 5. Crijevo klena, vrčaste (G) i štapićaste (R) stanice. H i E, 1000 puta.*  
*Fig 5: European chub intestine. Goblet (G) and rodlet (R) cells. H and E, 1000 X.*



*Slika 6. Slezena klena, MMC-i. H i E, 200 puta.*  
*Fig 6: MMC in European chub spleen. H and E, 200 X.*

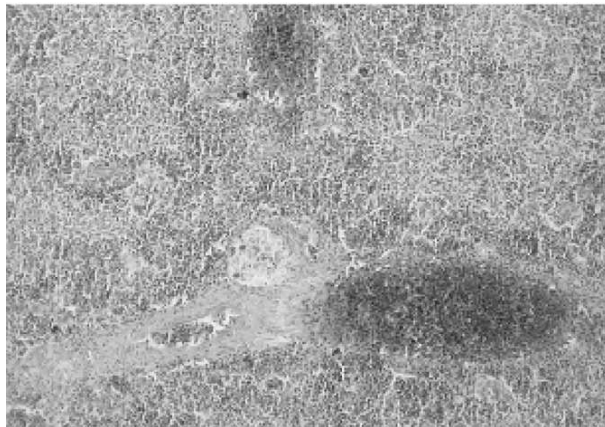
### *Slezena*

Broj MMC-a (Slika 6) u slezeni bio je najveći na postaji Oborovo, a najmanji na postaji Jasenovac. Razlika je bila statistički značajna ( $F=7,47$ ;  $p<0,05$ ). Punokrvnost slezene (Slika 7) za godinu 2005. najvišeg je stupnja bila na postaji Lukavec Posavski, a najnižeg na postaji Jasenovac. Razlika je bila

statistički značajna ( $H=12,3$ ;  $p<0,05$ ). Za 2006. godinu punokrvnost slezene najjače je bila izražena na postaji Oborovo, a najnižeg stupnja na postaji Jasenovac. Razlika je bila statistički značajna ( $H=12,1$ ;  $p<0,05$ ). Razlika između dviju sezona uzorkovanja na pojedinim je postajama bila značajna. Granulomatozne promjene (Slika 8) utvrđene su na svim postajama. Učestalost je bila najveća na postaji Lukavec Posavski (60%), a najmanja na postaji Oborovo (18%). Razlika je bila statistički značajna ( $\chi^2=18,15$ ;  $p<0,05$ ). Od histoloških pokazatelja u slezeni samo se broj MMC-a mijenjao usporedo sa stupnjem onečišćenja. To je sukladno podacima iz literature. Veći broj MMC-a opisan je u riba izloženih onečišćenju u usporedbi s kontrolnom skupinom (Couillard i Hodson, 1996; Teh i sur., 1997). U dostupnoj su literaturi malobrojni podaci o odnosu onečišćenja i stupnja punokrvnosti slezene. Pojedini su autori (Teh i sur., 1997) utvrdili viši stupanj punokrvnosti slezene u ribi iz onečišćene vode. Naprotiv, Couillard i suradnici (1999) nisu našli značajnu razliku u punokrvnosti slezene između riba nizvodno i uzvodno od

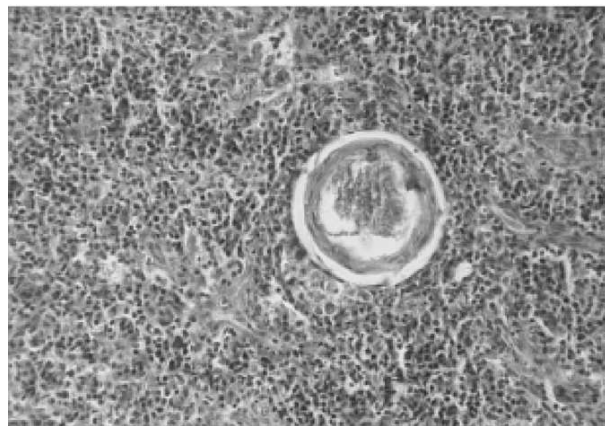
*Slika 7. Slezena klena, punokrvnost. H i E, 100 puta.*

*Fig 7: Congestion in European chub spleen. H and E, 100 X.*



*Slika 8. Slezena klena, granulom. H i E, 100 puta.*

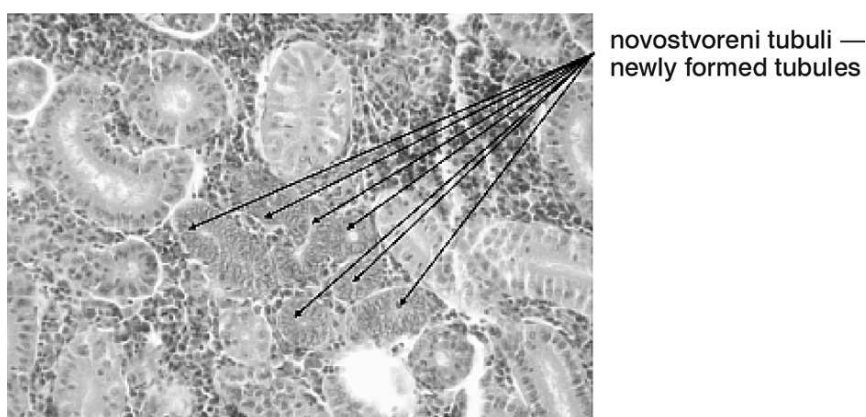
*Fig 8: Granuloma in European chub spleen. H and E, 100X*



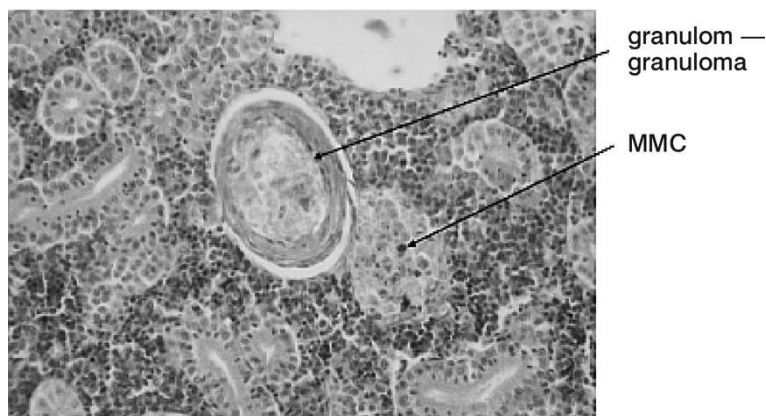
otpuštanja otpadne vode. Učestalost granuloma u slezeni nismo mogli dovesti u odnos sa stupnjem onečišćenosti vode. U dostupnoj su literaturi malobrojni podaci o granulomatoznim promjenama u slezeni ribe kao posljedici onečišćenja vode. Većina autora dovodi ih u vezu s parazitarnim invazijama (Sakanari i sur., 1984).

### *Bubreg*

Broj novostvorenih tubula (Slika 9) u bubregu bio je najveći na postaji Oborovo, a najmanji na postaji Otok Samoborski. Razlika je bila statistički značajna ( $F=16,30$ ;  $p<0,05$ ). Broj MMC-a za godinu 2005. najveći je bio na postaji Otok Samoborski, a najmanji na postaji Jarun. Razlika je bila statistički

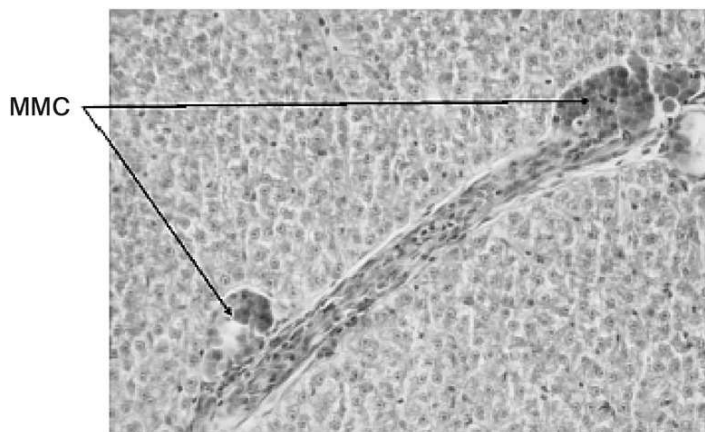


*Slika 9. Bubreg klena, normalan izgled. H i E, 400 puta.*  
*Fig 9: European chub, normal kidney. H and E, 400 X.*



*Slika 10. Bubreg klena, MMC i granulom. H i E, 400 puta.*  
*Fig 10: European chub kidney, MMC and granuloma. H and E, 400 X.*





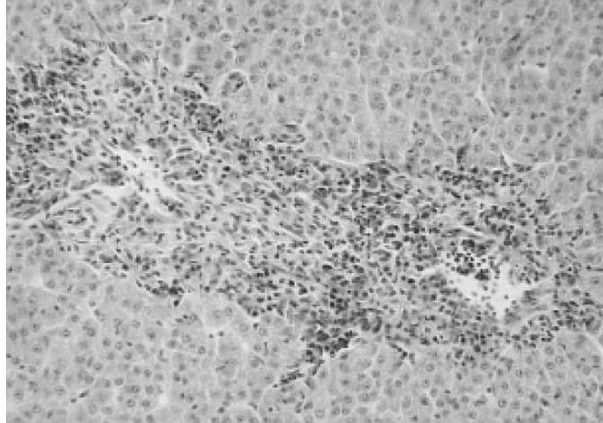
Slika 11. Jetra klena, MMC — i. H i E, 400 puta.

Fig 11: European chub liver, MMC. H and E, 400 X.

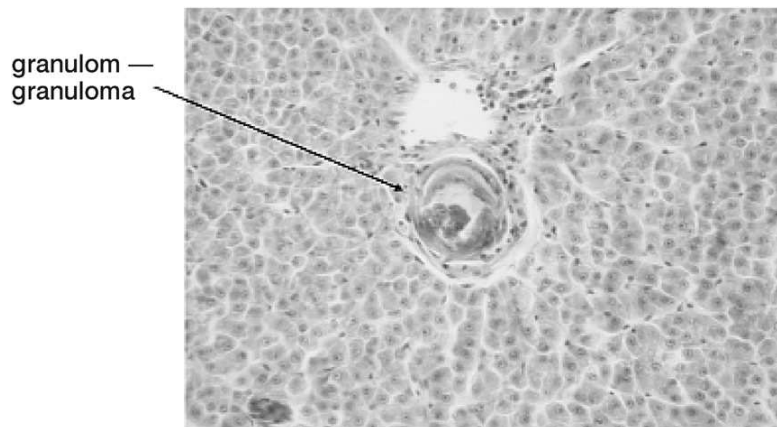
značajna ( $F=7,24$ ;  $p<0,05$ ). Za godinu 2006. broj MMC-a (Slika 10) bio je najveći na postaji Jasenovac, a najmanji na postaji Oborovo. Razlika je bila statistički značajna ( $F=6,60$ ;  $p<0,05$ ). Razlika između dviju sezona uzorkovanja na pojedinim je postajama bila značajna. Granulomatozne promjene (Slika 10) utvrđene su na svim postajama. Učestalost je za 2005. godinu bila najveća na postaji Lukavec Posavski (80%), a najmanja na postaji Otok Samoborski (27%). Razlika je bila značajna ( $\chi^2=16,05$ ;  $p<0,05$ ). Za godinu 2006. učestalost je bila najveća na postaji Jasenovac (67%), a najmanja na postaji Otok Samoborski (20%). Razlika nije bila statistički značajna ( $\chi^2=7,51$ ;  $p>0,05$ ). Razlika između dviju sezona uzorkovanja na pojedinim je postajama bila značajna. Od histoloških pokazatelja u bubregu samo se broj novostvorenih tubula mijenjao usporedo sa stupnjem onečišćenja. To je sukladno podacima iz literature (Reimschuessel i Gonzales, 1998; Koponen i sur., 2001). Zanimljiv je rezultat dobiven za broj MMC-a u bubregu. Razlika između svih pet postaja bila je značajna u objema sezonama uzorkovanja. Odnos između broja MMC-a i broja bakterija u vodi je bio gotovo potpuno negativan, što je suprotno podacima u literaturi (Wolke, 1992). Učestalost granuloma u bubregu nismo mogli dovesti u odnos sa stupnjem onečišćenja vode. U dostupnoj su literaturi malobrojni podaci o granulomima u bubregu. Couillard i Hodson (1996) nisu našli razliku u učestalosti granuloma u bubregu riba na postajama s različitim stupnjem onečišćenja.

#### Jetra

Broj MMC-a (Slika 11) u jetrima najveći je bio na postaji Oborovo, a najmanji na postaji Otok Samoborski. Razlika nije bila statistički značajna ( $F=1,94$ ;  $p>0,05$ ). Nakupljanje upalnih stanica (Slika 12) za godinu 2005. bilo je najjače izraženo na postaji Lukavec Posavski, a najslabije izraženo na postaji Jaseno-

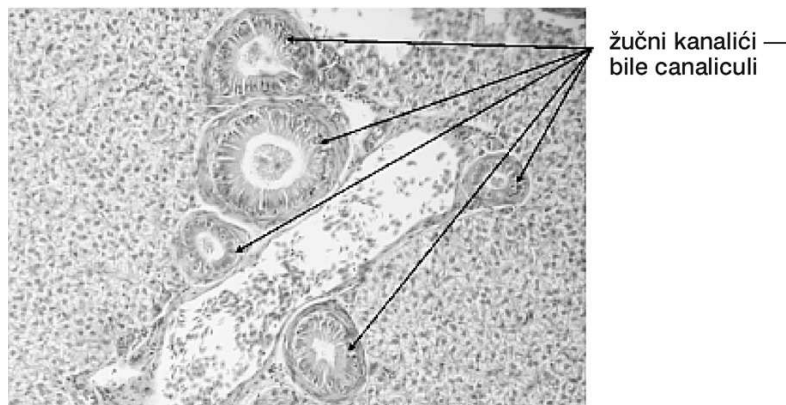


*Slika 12. Jetra klena, nakupljanje upalnih stanica, H i E, 400 puta.*  
*Fig 12: European chub liver, accumulaton of inflammatory cells. H and E, 400 X.*



*Slika 13. Jetra klena, granulom. H i E, 400 puta.*  
*Fig 13: European chub liver, granuloma. H and E, 400 X.*

vac. Razlika nije bila statistički značajna ( $H=5,74$ ;  $p>0,05$ ). Za godinu 2006. nakupljanje upalnih stanica bilo je najjače izraženo na postaji Oborovo, a najslabije na postajama Lukavec Posavski i Otok Samoborski. Razlika nije bila statistički značajna ( $H=7,43$ ;  $p>0,05$ ). Razlika između dviju sezona uzorkovanja na pojedinim je postajama bila statistički značajna. Granulomatozne promjene (Slika 13) utvrđene su na svim postajama. Učestalost je bila najveća na postaji Lukavec Posavski (53%), a najmanja na postaji Oborovo (18%).



Slika 14. Jetra klena, proliferacija žučnih kanalića. H i E, 200 puta.

Fig 14: European chug liver, bile canaliculi proliferation. H and E, 200X.

Razlika je bila statistički značajna ( $\chi^2=12,31$ ;  $p<0,05$ ). Proliferacija žučnih kanalića (Slika 14) bila je najjače izražena na postaji Oborovo, a najslabije na postaji Otok Samoborski. Razlika je bila statistički značajna ( $H=14,8$ ;  $p<0,05$ ). Od histoloških pokazatelja u jetrima razlika u broju MMC-a i različiti intenzitet proliferacije žučnih kanalića bili su u skladu sa stupnjem onečišćenja vode. MMC-i u jetrima zajedno s MMC-ima iz slezene često su iskorišteni kao pokazatelji onečišćenja vode (Wolke, 1992). Teh i sur. (1997) utvrdili su proliferaciju žučnih kanalića samo u ribi iz onečišćene vode, dok je u ribi iz vode koja nije bila onečišćena nisu utvrdili.

#### *Odnos histoloških pokazatelja u organima klena i broja bakterija u vodi*

Hiperplazija epitela sekundarnih lamela, otećenje sekundarnih lamela i teleangiektazije u škragama, broj vrčastih stanica u crijevu, broj MMC-a u slezeni, broj novostvorenih tubula u bubregu, broj MMC-a i proliferacija žučnih kanalića u jetrima imaju pozitivan odnos s brojem bakterija u vodi. Za ostale pokazatelje nismo utvrdili pravilan odnos.

#### **ZAKLJUČAK**

Histološke promjene u organima klena mogu poslužiti kao pokazatelj onečišćenja vode. Razlike histoloških pokazatelja između dviju sezona uzorkovanja nisu bile izražene. U svim je organima utvrđen barem jedan histološki pokazatelj s visokom korelacijom u odnosu na stupanj onečišćenosti vode. Škrge su bile organ s najbrojnijim histološkim pokazateljima koji su bili u skladu s brojem heterotrofnih i koliformnih bakterija u vodi.

## Summary

### COMPARISON OF THE HISTOLOGICAL CHANGES IN ORGANS OF CHUB (*Leuciscus cephalus*) WITH THE NUMBER OF BACTERIA IN THE WATER OF SAVA RIVER

B. Kurtović<sup>1</sup>, D. Kapetanović<sup>1</sup>, Ž. Matašin<sup>2</sup>

In this study we sampled 157 chubs on 5 sites from slovenian–croatian border through to the inflow of river Una in Sava. Two sites were upstream while the remaining were downstream from the city of Zagreb. Gills, intestine, spleen, kidney and liver were sampled from all fish. Histological slides were stained with haematoxylin and eosin and examined under the light microscope. At the same time, water was sampled for the counting of coliforms and heterotrophic bacteria.

According to the results of this study we can conclude that fish histology is a valuable indicator of water pollution. The intensity of histological parameters was in correlation with the number of bacteria in water. Furthermore, fish histology proved to be more reliable method than water microbiology as differences between two sampling seasons were not significant for histological indices while being significant for bacteria counts. At least one histological parameter highly correlated with water quality was found in every organ. Of the organs examined, response in the gills correlated best with changes in water quality.

**Key words:** histology, chub, coliforms, heterotrophic bacteria, water quality

## LITERATURA

- Bernet, D., Schmidt-Posthaus, H., Wahli, T., Burkhardt-Holm, P. (2004): Evaluation of Two Monitoring Approaches to Assess Effects of Waste Water Disposal on Histological Alterations in Fish. *Hydrobiologia*, 524, 53–66.
- Brueggemann, R., Schwaiger, J., Negele, R. D. (1995): Applying hasse diagram technique for the evaluation of toxicological fish tests. *Chemosphere*, 30, 1767–1780.

---

1 Dr. sc. Božidar Kurtović; Damir Kapetanović, DVM; Rudjer Bošković Institute, Division for Marine and Environmental Research, Laboratory for Aquaculture, Bijenička c. 54, Zagreb.

2 Doc. dr. sc. Željka Matašin, Veterinary faculty, Department of biology and pathology of fishes and bees, Heinzelova 55, Zagreb

- Couillard, C. M., Barman, R. A., Panisset, J. C. (1988): Histopathology of rainbow trout exposed to a bleached kraft pulp mill effluent. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 17, 319–323.
- Couillard, C. M., Hodson, P. V. (1996): Pigmented macrophage aggregates: a toxic response in fish exposed to bleached-Kraft mill effluent? *Environmental toxicology and Chemistry*, 15, 1844–1854.
- Couillard, C. M., Williams, P. J., Courtenay, S. C. (1999): Histopathological evaluation of Atlantic tomcod (*Microgadus tomcod*) collected at estuarine sites receiving pulp and paper mill effluent. *Aquatic Toxicology*, 44, 263–278.
- Dezfuli, B. S., Giari, L., Simoni, E., Palazzi, D., Manera, M. (2003): Alteration of rodlet cells in chub caused by the herbicide Stam(R) M-4 (Propanil). *J. Fish Biol.*, 63, 232–239.
- Hawkes, J. W. (1980): The effects of xenobiotics on fish tissues: Morphological studies. *Fed. Proc.*, 39, 3230–3236.
- Iger, Y., Abraham, M. (1997): Rodlet cells in the epidermis of fish exposed to stressors. *Tissue and Cell*, 29, 431–438.
- Koponen, K., Myers, M. S., Huuskonen, S. E., Lindström-Seppä, P. (2001): Histopathology of Feral Fish from a PCB-Contaminated Freshwater Lake. *Ambio*, 30, 122–126.
- Kruatrachue, M., Rangsayatorn, N., Pokethitiyook, P., Upatham, E. S., Singhakaew, S. (2003): Histopathological Changes in the Gastrointestinal Tract of Fish, *Puntius gonionotus*, Fed on Dietary Cadmium. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 71, 561–569.
- Maitland, P. S., Campbell, R. N. (1992): *Freshwater fishes of the British Isles*. HarperCollins Publishers, London.
- Mallatt, J. (1985): Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 42, 630–648.
- Manera, M., Simoni, E., Dezfuli, B. S. (2001): The effect of dexamethasone in the occurrence and ultrastructure of rodlet cells in goldfish. *J. Fish Biol.*, 59, 1239–1248.
- Muus, B. J., Dahlstrom, P. (1999): *Freshwater fish*. Hedeusene: Gads Forlag
- NN (1998): Uredba o klasifikaciji voda. *Narodne novine 77/98*, Zagreb.
- Reimschuessel, R., Gonzalez, C. M. (1998): Renal alterations following sublethal mercury toxicity: A fish model for aquatic environmental contamination. U: Salem, H., Katz, S. A. (eds): *Alternatives for Safety and Efficacy Testing*. Taylor and Francis. 399–401.
- Robinson, J. (1996): Evaluation of a health assessment index with reference to bioaccumulation of metals in *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852) and aspects of the morphology of *Lernaea cyprinacea*, Linnaeus, 1758. M. Sc. Thesis, Rand Afrikaans University, South Africa.
- Sakanari, J. A., Moser, A., Reilly, C. A. (1984): Effects of sublethal concentrations of zinc and benzene on striped bass, *Morone saxatilis* (Walbaum), infected with larval *Anisakis* nematodes. *J. Fish Biol.*, 24, 553–563.
- Schraft, H., Watterworth, L. A. (2005): Enumeration of heterotrophs, fecal coliforms and *Escherichia coli* in water: comparison of 3MTM Petrifilm™ plates with standard plating procedures. *Journal of Microbiological Methods*, 60, 335–342.

- Smith, S. A., Caceci, T., Marei, H. E-S., El-Habback, H. A. (1995): Observations on rodlet cells found in the vascular system and extravascular space of angelfish (*Pterophyllum scalare*). *J. Fish Biol.*, 46, 241–254.
- Stevens, M., Ashbolt, N., Cunliffe, D. (2003): Review of Coliforms: As Microbial Indicators of Drinking Water Quality. Biotext Pty Ltd, Canberra.
- Teh, S. J., Adams, S. M., Hinton, D. E. (1997): Histopathologic biomarkers in feral freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress. *Aquatic Toxicology* 37, 51–70.
- Vouk, D., Malus, D. (2005): Impact of the Zagreb Wastewater Treatment and Disposal on Sava River. U: Jugovic, C. J. (ed): Water Management and Hydraulic Engineering/ Nachtnebel, Wien, Austria. 323–332.
- Whitfield, A. K., Elliott, M. (2002): Fishes as indicators of environmental and ecological changes within estuaries: a review of progress and some suggestions for the future. *J. Fish Biol.*, 61 (Supplement 1), 220–250.
- Whitman, K. A., MacNail, N. G. (2004): Fish and shellfish bacteriology manual techniques and procedures. Blackwell Publishing company, Iowa State press. 193–195.
- Wolke, R. E. (1992): Piscine macrophage aggregates: a review. *Annu. Rev. Fish Dis.*, 2, 91–108.

Primljeno: 13. 9. 2007.  
Prihvaćeno: 28. 12. 2007.