

## ZDRAVSTVENO STANJE KLENA (*Squalius cephalus*) U ODNOSU NA KVALITETU VODE RIJEKE SAVE\*

B. Kurtović<sup>1</sup>, I. Vardić, D. Valić, D. Kapetanović,  
Z. Teskeredžić, E. Teskeredžić

### Sažetak

Voda kao životni okoliš organizama koji u njoj žive svojom kvalitetom utječe na njihovo zdravstveno stanje. U dostupnoj je literaturi malo podataka o pokazateljima zdravstvenoga stanja klena, osobito iz rijeke Save. Zbog toga je svrha ovog istraživanja bila procijeniti zdravstveno stanje klena kao pokazatelja kvalitete vode, te odrediti odnos histoloških i parazitoloških pokazatelja prema broju bakterija u vodi. Istraživanje je provedeno na ukupno 289 klenova s pet postaja od slovensko-hrvatske granice do utoka rijeke Une u Savu. Uzorci organa klena uzeti su za parazitološku i histološku pretragu. Istodobno je uzorkovana voda i određen broj heterotrofnih i koliformnih bakterija. Razlike u količini bakterija u vodi bile su izražene među pojedinim postajama. Najviša je vrijednost utvrđena na postaji Oborovo, a najniža na postaji Otok Samoborski. Intenzitet histoloških promjena bio je u korelaciji s mikrobiološkom kakvoćom vode. U svim uzorkovanim organima utvrđen je barem jedan histološki pokazatelj u visokoj korelaciji s mikrobiološkom kakvoćom vode. Od parazitarne invazije samo su ihtiofitirijaza i trihodinijaza pokazale visoku negativnu korelaciju s mikrobiološkom kvalitetom vode. U sklopu parazitološke pretrage primijenjivane su i molekularne metode u svrhu identifikacije crijevnih parazita iz grupe Acanthocephala.

**Ključne riječi:** klen, Sava, mikrobiologija, parazitologija, histologija, koliformne bakterije, heterotrofne bakterije

Dr. sc. Božidar Kurtović; mr. sc. Irena Vardić; mr. sc. Damir Valić; Damir Kapetanović, dr.vet.med.; dr. sc. Zlatica Teskeredžić, dr. sc. Emin Teskeredžić; Institut Ruđer Bošković, Zavod za istraživanje mora i okoliša, Laboratorij za istraživanje i razvoj akvakulture, Bijenička c. 54, 10000 Zagreb, tel./faks +3851 4680 943, e-mail: bkurtovi@irb.hr

\* Rad je prezentiran na 3. Međunarodnom savjetovanju o slatkovodnom ribarstvu u Vukovaru održanom 16. i 17. 4. 2009.

## UVOD

Onečišćenost 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 se tvari i nakupljaju u organizmu. Stoga riba može poslužiti kao pokazatelj onečišćenosti okoliša (Whitfield i Elliott, 2002).

Većina međunarodnih pravilnika uključuje ukupne koliforme kao zakonom propisani mikrobiološki pokazatelj kakvoće vode (Schraft i Watterworth, 2005). Uz to se utvrđuje ukupan broj heterotrofnih bakterija, što se smatra općim pokazateljem stanja vode (Stevens i sur., 2003).

Histopatologija proučava promjene na staničnoj razini. Histopatološke su promjene prikladan 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).

Paraziti riba osjetljivi su na onečišćenost vode i stoga bi intenzitet parazitarne invazije riba mogao upućivati na intenzitet onečišćenosti vode (Poulin, 1992).

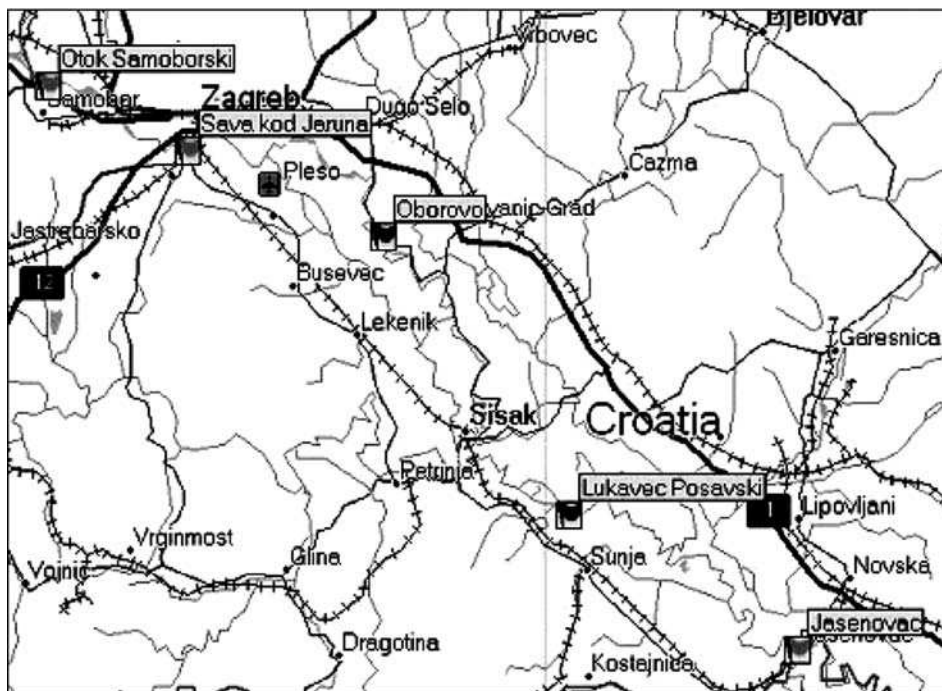
Klen (*Squalius cephalus* L.) uobičajena je vrsta u Europi, koja živi u rijekama, jezerima i bočatoj vodi, a rasprostranjen je od pastrvskih do šaranskih voda (Muus i Dahlstrom, 1999). Hrani se algama, biljem, sjemenkama, mekušcima, rakovima, ličinkama kukaca i manjim ribama (Maitland i Campbell, 1992).

Budući da je to vrsta koja obitava i u rijeci Savi, a ta je rijeka bila dio međunarodnoga projekta SARIB (Sava River Basin) u sklopu FP6 programa, za naša smo se istraživanja odlučili za tu vrstu kao predstavnika naših rijeka. Rijeka Sava, dužine 945 km najduža je rijeka u Hrvatskoj. Na izlasku iz Slovenije već pripada II. do III. kategoriji kakvoće voda. Najveća je onečišćenost nizvodno od Zagreba. U tom je dijelu voda rijeke Save svrstana u III. do V. kategoriju kakvoće (Vouk i Malus, 2005).

Svrha je ovog rada bila utvrditi može li zdravstveno stanje klena poslužiti kao pokazatelj onečišćenosti vode, kao i odrediti odnos histoloških i parazitoloških pokazatelja prema broju bakterija u vodi.

## MATERIJAL I METODE RADA

Uzorkovano je ukupno 289 klenova na 5 postaja (Slika 1) od slovensko-hrvatske granice do utoka rijeke Une u Savu. Dvije su lokacije (Otok Samoborski i Sava kod Jaruna) uzvodno, a preostale tri (Oborovo, Lukavec Posavski i Jasenovac) nizvodno od grada Zagreba i glavnih izvora onečišćenosti vode. Uzorkovanje ribe provedeno je 4 puta u razdoblju od ožujka 2005. do listopada 2006.



Slika 1. Lokacije uzorkovanja klena na rijeci Savi

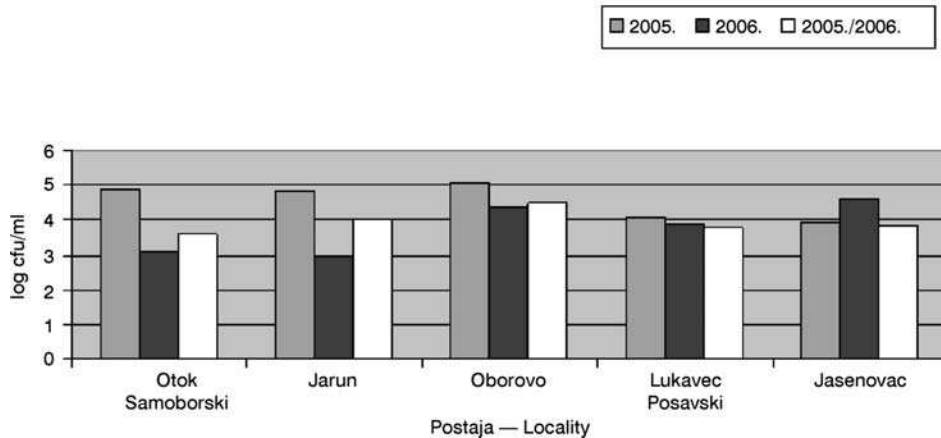
Fig. 1. Sampling sites on the Sava river where chub were sampled.

godine, upotrebom električnog agregata sukladno standardu HRN EN 14011:2005.

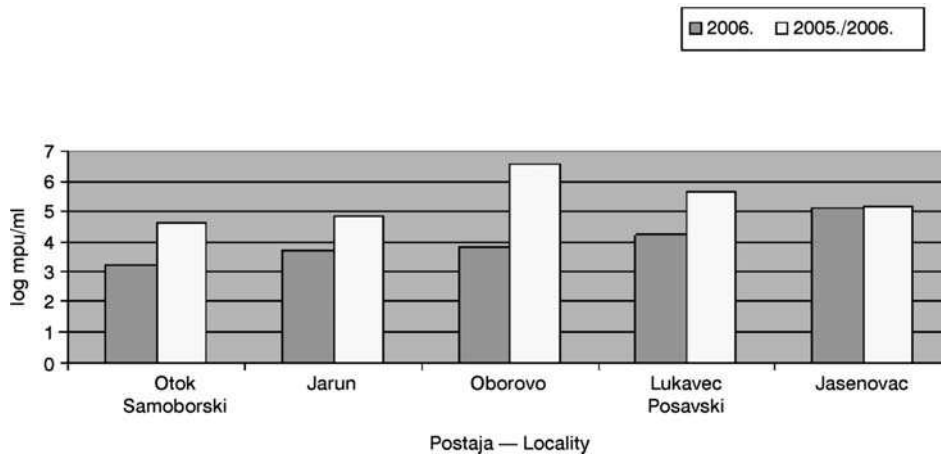
Od svih su riba uzeti uzorci jetre, škrge i crijeva i fiksirani u 10 %-tnom formalinu. Načinjeni su rezovi debljine  $5\ \mu\text{m}$  i obojeni hematoksilin eozinom.

Parazitološka je pretraga provedena kao pregled nativnih preparata škrge, kože i peraja pod svjetlosnim mikroskopom, te makroskopskim pregledom crijeva tijekom razudbe. U sklopu parazitološke pretrage provedena je identifikacija crijevnih parazita primjenom PCR-a i određivanja nukleotidnih sljedova specifičnih regija DNA: podjedinice i citokrom oksidaza (650 pb), 18S rDNA (1724 pb) i ITS (626 pb).

Za određivanje ukupnoga broja heterotrofnih bakterija voda je uzorkovana u rujnu godine 2005. i travnju/svibnju godine 2006. na svim postajama istodobno s uzorkovanjem ribe. Za određivanje broja koliformnih bakterija voda je uzorkovana samo u travnju/svibnju 2006. godine. Uzorci su vode uzeti s 20 cm ispod površine vode u 1 L sterilne polietilenske boce i u prijenosnom hladnjaku dopremljeni u laboratorij. Vrijeme između uzorkovanja i obradbe uzorka bilo je šest do osam sati. Da bi se dobio bolji uvid u mikrobiološku kakvoću vode rijeke Save provedena su dva dodatna uzorkovanja vode na svakoj

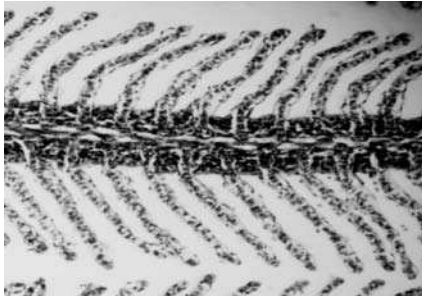


Slika 2. Broj heterotrofnih bakterija u vodi rijeke Save (log cfu/ml)  
 Fig. 2. Number of heterotrophic bacteria in the water of Sava river (log cfu/ml)

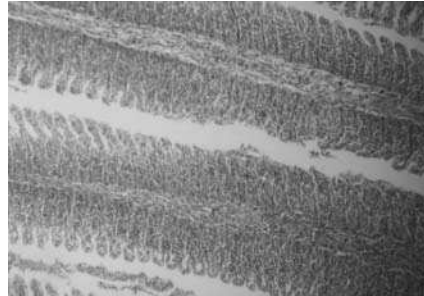


Slika 3. Broj koliformnih bakterija u vodi rijeke Save (log mpu/ml)  
 Fig. 3. Number of coliforms in the water of Sava river (log mpu/ml)

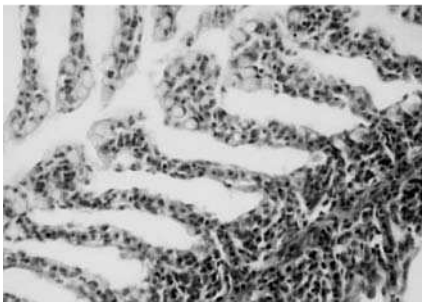
postaji u razdoblju između dvaju uzorkovanja ribe. Dobiveni su rezultati izraženi kao srednja vrijednost za čitavo istraživano razdoblje. Za određivanje ukupnoga broja aerobnih bakterija uzorci vode inokulirali su na hranjivoj podlozi Yeast extract agar prema ISO 622:1999 (Whitman i MacNail, 2004). Nakon inkubacije do pet dana na 22 °C izrasle su kolonije prebrojene i rezultat izražen kao cfu/ml (cfu — colony forming units). Ukupan broj koliformnih bakterija određen je pomoću Colilert® testa (IDEXX Laboratories,



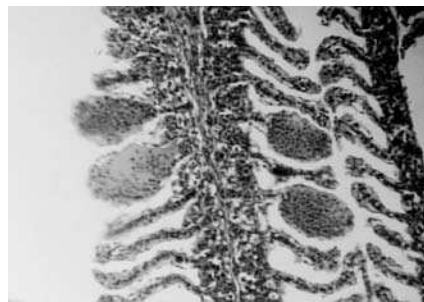
Slika 4. Škrge klena. H&E, 200 X  
Fig. 4. European chub, normal gills. H and E, 200 X.



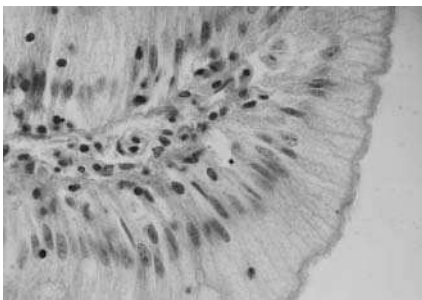
Slika 5. Škrge klena, hiperplazija epitela i fuzija lamela. H&E, 100 X  
Fig. 5. European chub gills. Epithelial hyperplasia with lamellar fusion. H and E, 100 X



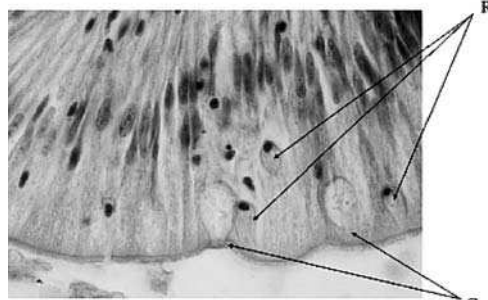
Slika 6. Škrge klena, otečenost vršaka sekundarnih lamela. H&E, 400 X.  
Fig. 6. European chub gills. Lamellar swelling. H and E, 400 X.



Slika 7. Škrge klena, teleangiektazije. H&E, 200 X.  
Fig. 7. European chub, teleangiectasia in gills. H and E, 200 X.



Slika 8. Crijevo klena. H&E. 200 X.  
Fig. 8. European chub, normal intestine. H and E, 200 X.



Slika 9. Crijevo klena, vrčaste (G) i štapičaste (R) stanice. H&E, 400 X.  
Fig. 9. European chub intestine. Goblet (G) and rodlet (R) cells. H and E, 400 X.

Inc., SAD). Nakon inkubacije od 24 sata na 35 °C rezultat je izražen kao najvjerojatniji broj (most probable number — MPN) u 100 mL uzorka.

Za statističku obradbu 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*

Pri jednokratnim uzorkovanjima razlika u broju bakterija između postaja/sezona bila je nepravilna (Slika 2). U godini 2005. heterotrofnih je bakterija bilo najviše na postaji Oborovo, a najmanje na postaji Jasenovac. U 2006. godini heterotrofnih je bakterija bilo najviše na postaji Jasenovac, a najmanje na postaji Jarun. Razlika između dvaju uzorkovanja nije bila statistički značajna ( $T = 36,0$ ,  $p > 0,05$ ). Potpuno drukčiji odnos dobiven je za čitavo razdoblje, pri čemu je prosječan broj heterotrofnih bakterija bio najveći na postaji Oborovo, a najmanji na postaji Otok Samoborski.

U vodi uzorkovanoj u 2006. godini koliformnih je bakterija (Slika 3) najviše bilo na postaji Jasenovac, a najmanje na postaji Otok Samoborski. Prosječan broj koliformnih bakterija za cijelo ispitivano razdoblje bio je najveći na postaji Oborovo, a najmanji na postaji Otok Samoborski.

### *Biometrija*

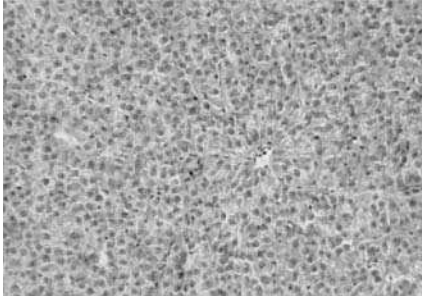
Svim ulovljenim ribama određene su njihova masa i dužina, a vrijednosti su izražene kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija. Klenovi su bili težine  $75,90 \pm 52,90$  g, a dužine  $18,8 \pm 4,0$  cm. Faktor kondicije bio je  $0,99 \pm 0,10$ .

### *Histološka pretraga riba*

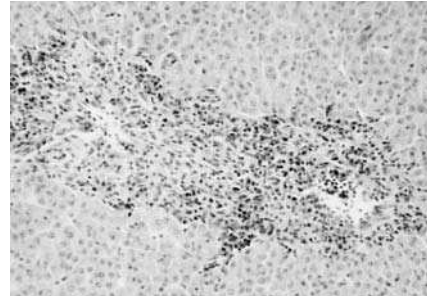
#### *Škrge*

U škragama (Slika 4) određeni su hiperplazija škržnog epitela i fuzija sekundarnih lamela, proširenje krvnih prostora i otećenje sekundarnih lamela.

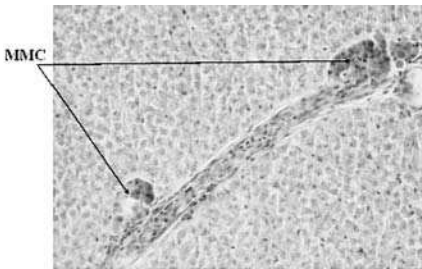
Hiperplazija epitela (Slika 5) bila je najjače izražena na postaji Oborovo, a najslabije na postaji Otok Samoborski. Razlika je bila značajna ( $H = 25,5$ ;  $p < 0,05$ ). Otečenost sekundarnih lamela (Slika 6) bila je najjače izražena na postaji Oborovo, a najslabije na postaji Otok Samoborski. Razlika je bila statistički značajna ( $F = 18,4$ ;  $p < 0,05$ ). Teleangiektazije (Slika 7) 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 mikrobiološke kakvoće vode. U dostupnoj je literaturi navedeno da su se brojni autori prom-



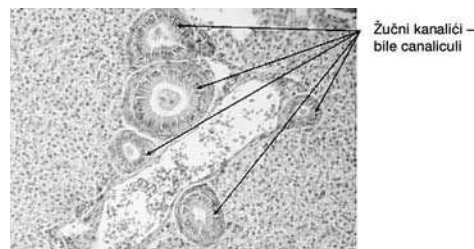
Slika 10. Jetra klena. H&E, 200 X.  
 Fig. 10. European chub, normal liver. H and E, 400 X.



Slika 12. Jetra klena, nakupljanje upalnih stanica. H&E, 200 X.  
 Fig. 12. European chub liver, accumulation of inflammatory cells. H and E, 400 X.



Slika 11. Jetra klena, melanomakrofagni centri (MMC). H&E, 200 X.  
 Fig. 11. European chub liver, MMC. H and E, 400 X.



Slika 13. Jetra klena, proliferacija žučnih kanalića. H&E, 200 X.  
 Fig. 13. European chug liver, bile canaliculi proliferation. H and E, 200X.

jenama na škragama koristili kao pokazateljem kemijske onečišćenosti vode (Couillard i sur., 1999; Brueggemann i sur., 1995). Međutim, ovo je prvi put da histološke promjene na škragama služe kao pokazatelj mikrobiološke onečišćenosti vode.

### Crijevo

U crijevnoj sluznici (Slika 8) određen je broj vrčastih i štapićastih stanica, a broj vrčastih stanica (Slika 9) 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 9) u godini 2005. bio je najveći na postaji Otok 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 bio najveći 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. Povećan broj vrčastih stanica na postajama s većom kemijskom onečišćenošću često je opisan u literaturi (Hawkes, 1980; Kruatrachue i sur., 2003). Naprotiv, u dostupnoj literaturi nema podataka o povećanom broju vrčastih stanica kao pokazatelja mikrobiološke onečišćenosti vode. Razlike u broju 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 ovih stanica u ribama. Jedni ih povezuju s kemijskom onečišćenošću 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).

#### Jetra

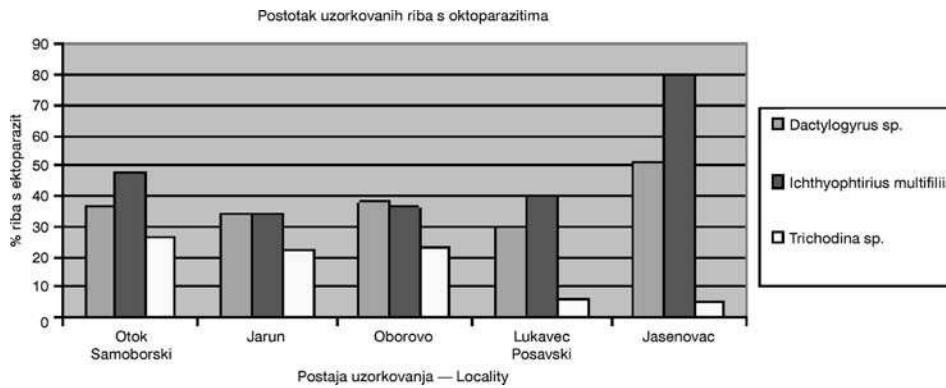
U jetri (Slika 10) je utvrđen broj melanomakrofagnih centara (MMC) (Slika 11), nakupljanje upalnih stanica (Slika 12), te proliferacija žučnih kanalića (Slika 13). Broj MMC-a je u jetri bio je najveći na postaji Oborovo, a najmanji na postaji Otok Samoborski. Razlika nije bila statistički značajna ( $F=1,94$ ;  $p>0,05$ ). Nakupljanje upalnih stanica (Slika 12) za 2005. godinu bilo je najjače izraženo na postaji Lukavec Posavski, a najslabije izraženo na postaji Jasenovac. Razlika nije bila statistički značajna ( $H=5,74$ ;  $p>0,05$ ). U godini 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. Proliferacija žučnih kanalića (Slika 13) 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 jetri razlika u broju MMC-a i različiti intenzitet proliferacije žučnih kanalića bili su u skladu sa stupnjem mikrobiološke onečišćenosti vode. MMC-i u jetri su zajedno s MMC-ima iz slezene često iskorišteni kao pokazatelji kemijske onečišćenosti vode (Wolke, 1992). Međutim, u dostupnoj literaturi nema podataka o MMC-ima kao pokazateljima mikrobiološke onečišćenosti vode. Teh i suradnici (1997) utvrdili su proliferaciju žučnih kanalića samo u ribama iz kemijski onečišćene vode, dok je u ribama iz vode koja nije bila onečišćena nisu utvrdili. U ovom je istraživanju prvi put opisana proliferacija žučnih kanalića kao pokazatelj mikrobiološke onečišćenosti vode.

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

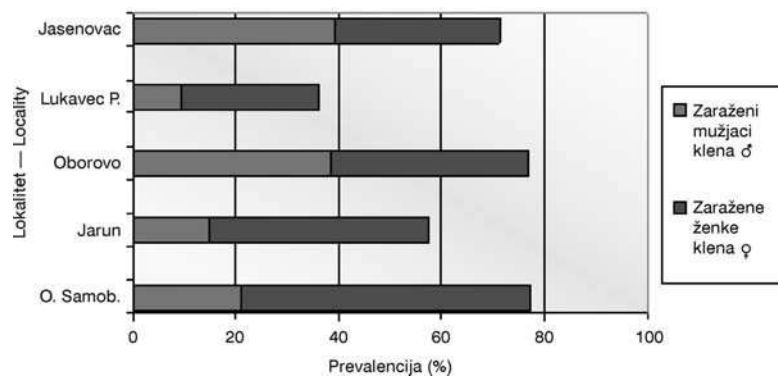
Hiperplazija epitela sekundarnih lamela, otečenosti sekundarnih lamela i teleangiektazije u škragama, broj vrčastih stanica u crijevu, broj MMC-a i prolifera-



Ribarstvo, 67, 2009, (2), 63—75  
B. Kurtović i sur.: Zdravstveno stanje klena iz rijeke Save



Slika 14. Invazija klena ektoparazitima  
Fig. 14. Infection of chub with ectoparasites



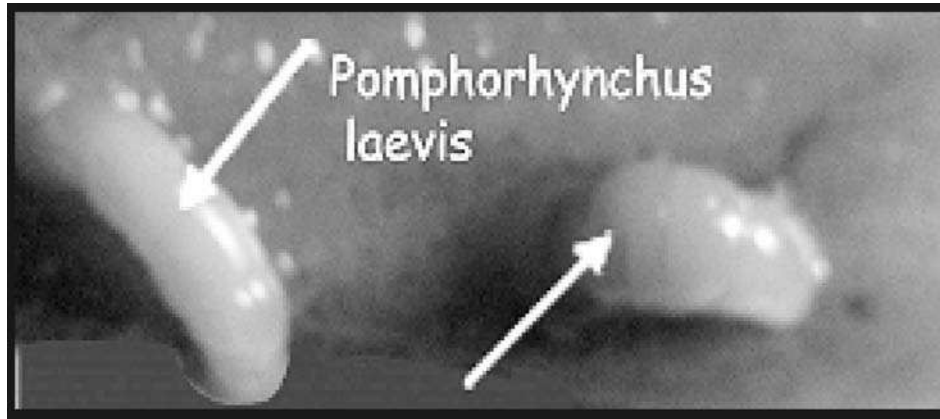
Slika 15. Invazija endoparazitima te odnos broja invadiranih ženki i mužjaka klena  
Fig. 15. Infection with endoparasites and ratio of invaded females and male of the chub

racija žučnih kanalića u jetri imaju pozitivan odnos s brojem bakterija u vodi. Za ostale pokazatelje nismo utvrdili pravilan odnos.

#### Parazitološka pretraga

Učestalost invazije klena ektoparazitima i endoparazitima na pojedinim postajama prikazana je na Slikama 14 i 15. Od svih parazitarnih invazija jedino je kod ihtioftirijaze i trihodinijaze utvrđena visoka negativna korelacija s brojem bakterija u vodi.

Određivanjem nukleotidnih sljedova specifičnih regija DNA crijevnih parazita utvrdili smo da je riječ o vrsti *Pomphorhynchus laevis* (Slika 16).



Slika 16. *Pomphorhynchus laevis* pričvršćen za sluznicu crijeva klena, nativni preparat

Fig. 16. *P. laevis* attached to the gut mucosa of the chub, fresh sample

Sarlb sample	1	ATGTATGTTTGGTGGTGTGTGAGGGGGGCTAATGGGGTTTTCTATAAGACTACTAATT	60
Gen Bank	1	ATGTATGTTTGGTGGTGTGTGAGGGGGGCTAATGGGGTTTTCTATAAGACTATTAAAT	60
	61	CGATTAGAAATAGGGAGAGGAGGGGTTTGGATGGGAGAGAGGCTGTGTATAATGTTTA	120
	61	CGATTAGAAATAGGGAGAGGAGGGGTTTGGATAGGAGAGAGGCTGTGTATAATGTTTA	120
	121	GTAACCAGACACCGCTGTTATAAATGGTATTTTTCTAGTAATACCAGTATTTATGGGAGGA	180
	121	GTAACCAGACACCGCTGTTATAAATGGTATTTTTCTAGTAATACCAGTATTTATGGGAGGC	180
	181	TTGGGTAATTGACTCATGCCAGTGATGTTAGGGTTGAGGGATATAGCCCTCCCCGGCTG	240
	181	TTGGGTAATTGACTCATGCCAGTGATGTTAGGGTTGAGGGATATAGCCCTCCCCGGACTG	240

Slika 17. Usporedba nukleotidnoga slijeda odsječka gena COI iz *P. laevis* pronađenog u klenovima sa slijedom iz baze podataka GenBank

Fig. 17. Comparison of the nucleotide sequence of the COI gene from the *P. laevis* found in chubs with the sequence in the data base GenBank

Na osnovi sljedova nukleotida gena COI iz *P. laevis* u bazi podataka Gen-Bank (Slika 17) provedeno je genogrupiranje identificiranog parazita te je utvrđeno da se *P. laevis* iz Hrvatske nalazi u grupi s parazitima iz Mađarske i Francuske. Genogrupiranje nije geografski specifično (jedinke iz iste populacije u različitim su genogrupama).

## ZAKLJUČAK

Na osnovi rezultata ovog istraživanja možemo zaključiti da je mikrobiološka kvaliteta vode bila najlošija na postaji Oborovo, što je neposredna posljedica utjecaja otpadnih voda gradova Zagreba i Velike Gorice. Od parazitarnih invazija jedino su ihtiofirijaza i trihodinijaza bile u korelaciji sa stupnjem mikrobiološke onečišćenosti vode. Naprotiv, intenzitet histoloških promjena bio je u korelaciji s mikrobiološkom kvalitetom vode. U svakom je organu utvrđen barem jedan parametar koji je visoko korelirao s mikrobiološkom onečišćenošću vode, pri čemu su promjene u škragama najbolje korelirale s promjenama u mikrobiološkoj kvaliteti vode.

## ZAHVALA

Ovaj je rad izrađen u sklopu FP6 programa: Sava River Basin (SARIB-INCO-CT-2004-509160).

## Summary

### HEALTH STATUS OF CHUB (*Squalius cephalus*) IN RELATION TO WATER QUALITY OF SAVA RIVER

B. Kurtović, I. Vardić, D. Valić, D. Kapetanović,  
Z. Teskeredžić, E. Teskeredžić

Water quality has influence on the health status of the organisms living in it. In the available literature, there is only a few reports on the health status of chub, particularly in the Sava river. The aim of this study was to estimate health status of chub as indicator of water quality. Furthermore we aimed at relating fish histology and parasitology to the number of bacteria in the water. We sampled 289 chubs for parasitological and histological examination. Fish were sampled on five sites from slovenian-croatian border through to the inflow of river Una in Sava. At the same time, water was sampled for the counting of coliforms and heterotrophic bacteria. The difference in the number of bacteria in the water was pronounced at different locations, with Oborovo and Otok Samoborski having the highest and the lowest values respectively.

DSc Božidar Kurtović; MSc Irena Vardić; MSc Damir Valić; Damir Kapetanović, DVM; DSc Zlatica Teskeredžić, DSc Emin Teskeredžić; Ruđer Bošković Institute, Department for marine and environmental research, Laboratory for aquaculture, Bijenička c. 54, 10000 Zagreb, tel/fax +3851 4680 943, e-mail: bkurtovi@irb.hr

The intensity of histological parameters was in correlation with the number of bacteria in water. At least one histological parameter highly correlating with the water quality was found in every organ. Regarding parasite invasions, only ichthyophthiriasis and trichodiniasis showed high negative correlation with microbiological quality of the water. As part of parasitological examination, molecular methods were used for the identification of Acanthocephala.

**Key words:** chub, Sava river, parasitology, histology, coliforms, heterotrophic bacteria.

### 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. , 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.
- 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. 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.
- 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.
- 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
- Poulin, R. (1992): Toxic pollution and parasitism in freshwater fish. *Parasitology Today*, 8, 58–61.
- 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.

- Schraft, H., Watterworth, L.A. (2005): Enumeration of heterotrophs, fecal coliforms and *Escherichia coli* in water: comparison of 3M™ 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: 20. 5. 2009.  
Prihvaćeno: 5. 6. 2009.