

Ispitivanje sadržaja olova u divljim zečevima sakupljenih u blizini autoputa E70 na području Sremskog okruga

Petrović Zoran¹, Milićević Dragan¹, Vranić Danijela¹, Đinović-Stojanović Jasna¹, Nikolić Dragica¹, Lukić Mirjana¹, Milijašević Milan¹

S a d r ž a j: Ukupno je analizirano 66 uzoraka (33 bubrega i 33 jetre) tkiva divljeg zeca (*Lepus europaeus*) ekstrahovanih iz trupova 33 odstreljene jedinke iz pretežno poljoprivrednih područja Srema, u neposrednoj blizini Autoputa E70. Neparametrijskom statističkom analizom (Kruskal-Wallis i Post hoc Man-Whitney test) nisu registrovane statistički značajne razlike medijan vrednosti ($p > 0,05$) izmerenih koncentracija olova između bubrega i jetre, kako po starosnim grupama, tako i između lokaliteta. Zabeleženo je, brojčano i procentualno, smanjenje slučajeva registrovanog olova u bubrezima i jetri sa porastom vazdušne distance od Autoputa E70. U bubrezima, olovo nije registrovano u 23% ispitana uzorka (limit detekcije metode 0,05 mg/kg) dok u jetri olovo nije registrovano u 45% uzoraka. Analizom dobijenih podataka ustanovljena je bioindikacija prisustva olova koje potiče iz životne sredine, kao i da su registrovane vrednosti u ispitanim tkivima na niskom nivou. Samo u jednom uzorku jetre izmerena vrednost za olovo (0,63 mg/kg) premašila je maksimalno dozvoljenu količinu za iznutrice životinja.

Ključne reči: olovo, divlji zec, bubrež, jetra.

Uvod

U životnoj sredini, u atmosferi, hidrosferi, litoferi i biosferi, se pojavljuje različiti broj toksičnih supstanci, što zavisi od izvora zagađenja (industrija, energetika, saobraćaj, poljoprivreda itd.). Često dolazi do međureakcija i stvaranja sekundarnih zagađivača u životnoj sredini (Đurić i Petrović, 1996). Prisustvo teških metala u životnoj sredini je veoma zastupljeno. Ono potiče iz prirodnih i antropogenih resursa. Neki metali su veoma značajni za rast biljaka, zdravlje životinja i ljudi. Ukoliko su prisutni u povećanim koncentracijama, tada imaju toksičan efekat na biljni i životinjski svet i, posledično, na ljude. U određenim slučajevima, teški metali, pored svoje stabilnosti, imaju potencijal da se akumuliraju u kopnenim i vodenim ekosistemima, u visokim koncentracijama i da izazivaju narušavanje zdravlja životinja i ljudi, preko zemljišta (aerodepozicija), unošenjem hrane, udisanjem prašine i zagađenog vazduha, ili preko kože (Adriano, 2001).

Akumulacija olova u zemljištu i površinskim vodama zavisi od mnogih faktora, od kojih su najvažniji pH, kompozicija minerala i količina i tip organske materije. Olovo u zemljištu se transferiše u

useve. Korenov sistem biljke sadrži više olova u odnosu na stabljiku i lišće, dok semenke i voće sadrže najmanje koncentracije (Davies i dr., 1987).

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

U prošlosti su transportne aktivnosti u kojima su učestvovala motorna vozila bili glavni izvor emisije olova u vazduh. Veći deo antropogenih izvora olova je tokom godina eliminisan gašenjem industrije ili tehničko-tehnološkim zahvatima. Ovo se odnosi, pre svega, na eliminaciju olova iz motornih benzina, boja, pesticida, municije (De Jonghe i dr., 1981).

Imajući u vidu perzistenciju olova, njegovu bioakumulativnu prirodu i toksičnost, kao cilj ovog rada postavljeno je da se utvrdi sadržaj olova iz životne sredine u bubrezima i jetri divljeg zeca sa lokalnih poljoprivrednih područja, u neposrednoj blizini autoputa E70. Zatim je predviđeno da se utvrdi

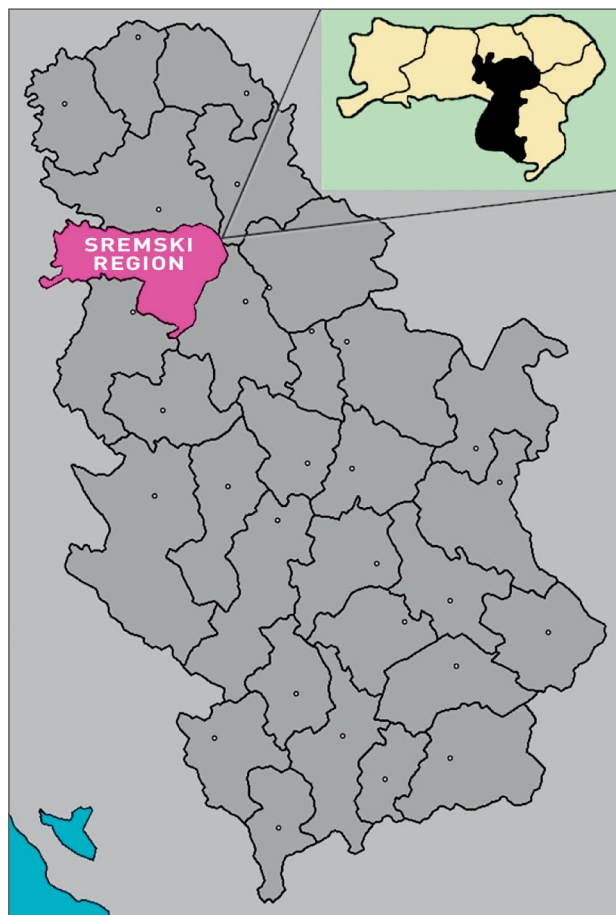
¹Institut za hihijenu i tehnologiju mesa, Kačanskog 13, 11000 Beograd, Republika Srbija.

postojanje eventualnih razlika u koncentracijama olova u oba organa, u zavisnosti od starosti životinja, i korelira sa udaljenjem od autoputa. Takođe, projektovani cilj je bio i da se, na osnovu dobijenih rezultata, na posredan način, korišćenjem uzoraka tkiva tokom regularne lovne sezone, preko dozimetrije ciljnih tkiva, utvrdi da li postoji bioindikacija prisustva olova na područjima sa kojih su uzorci sakupljeni.

Materijal i metode

Sakupljanje uzoraka

Uzorci tkiva divljeg zeca (*Lepus europaeus*) su sakupljeni tokom regularne lovne sezone jesen-zima 2010/2011. godine sa teritorija lovačkih udruženja (LU) Voganj, Mali Radinci, Putinci, Budanovci i Nikinci. Ukupno je bilo sakupljeno 33 uzorka bubrega i 33 uzorka jetre, što ukupno čini 66 uzoraka tkiva.



Slika 1. Područje Sremskog okruga sa kojeg su sakupljeni uzorci tkiva divljeg zeca

Figure 1. Srem district from which hare samples were collected

Određivanje starosti jedinki divljeg zeca

Starost sakupljenih zečeva određena je merenjem mase očnog sočiva (*Lens cristallina*). Kriterijumi za svrstavanje u starosne grupe su bili: starost 3–6 meseci (100–200 mg), 12 meseci (200–280 mg), 12–24 meseca (280–310 mg), 24–36 meseci (310–370 mg) i stariji od 36 meseci (>370 mg).

Priprema uzoraka za instrumentalno određivanje olova

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

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

Uzorci za ispitivanje su razarani u uređaju MILESTONE TC (Touch Control, EVISA, EU), sa referentnom sondom za kontrolu temperature, uz korišćenje segmentnog rotora HPR-1000/10S. Program spaljivanja u uređaju bio je podešen u dva koraka, prema uputstvu proizvođača MILESTONE Application Note HPR-CL-02 – Animal Tissue. Spaljivanje uzoraka je obavljano metodom kisele mikrota-lasne digestije, u zatvorenim teflonskim kivetama, pod pritiskom, uz korišćenje temperature kontrole

mikrotalasnog zagrevanja sa automatskim podešavanjem snage i pritiska (US EPA METOD 3052).

Nakon razaranja uzoraka obavljeno je kvantitativno prenošenje sadržaja iz kivete u normalne sudove od 50 ml, koji su dopunjavani do crte dejonizovanom vodom. Dejonizovana voda je pripravljena na uređaju ELGA Purelaboption DV 35, sa provodljivošću 0,067 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Instrumentalno određivanje olova

Za određivanje sadržaja olova (Pb) korišćena je atomska apsorpciona spektrometrija, grafitna tehnika – GFAAS (Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometry), interna šifra metode 02R.01.033, uz upotrebu autosemplera, na aparatu VARIAN SpectrAA 220 i grafitne peći, model VARIAN GTA 110. Olovo je očitavano na 283,3 nm, LOD (Limit of determination) = 0,05 mg/kg.

Instrumentalna metoda određivanja teških metala je akreditovana od strane Akreditacionog tela Srbije (ATS).

Kalibracioni standardi za ispitivane elemente su pripremani od komercijalnih matičnih standarda (Merck KGaA, Germany), sledljivih do SRM materijala po NIST-u, koncentracije 1,000 mg/l u 0,2% rastvoru azotne kiseline. Matični standardi su čuvani u frižideru na 5–7°C. Radni rastvori standarda su, nakon pripreme, čuvani na temperaturi frižidera do 5 dana, a kalibracioni standardi su pripremani od njih, neposredno pred određivanje, korišćenjem klipne mikropipete BRAND, zapreminskog opsega 100–1000 μl . Tačnost merenja je proveravana korišćenjem standardnog referentnog materijala i „rikaveri“ (*recovery*) testa, uz primenu fortifikovanih (spajkovanih) uzoraka.

Kvantifikacija je vršena korišćenjem kalibracionih standarda različitih koncentracija, odabranih na način da kalibraciona prava pokriva opseg koncentracija toksičnih metala u uzorcima koji su normalno ispitivani (linearni opseg registrovanih koncentracija). Kontaminacija instrumenta je kontrolisana analizom slepe probe u svakoj seriji ispitivanih uzoraka (20). Slepe probe su sadržavale iste količine reagensa, odnosno prolazile su ceo analitički postupak, na isti način, kao i uzorci.

Prinos pojedinačnih ispitanih metala je određen dodavanjem poznate količine standarda u slepe probe (analitički „spajk“) radi provere interferencije matriksa sa merenim signalom ispitivanog jedinjenja u uzorku. Obogaćeni uzorci su pripremani na dan ispitivanja, uz dodatak poznate količine standarda, u prethodno ispitane uzorke za koje je ustanovljeno da ne sadrže jedinjenje od interesa („matriks spajk“). Obogaćeni uzorak je analiziran u svakoj

seriji uzoraka sličnog matriksa (bubreg i jetra). Prinos za olovo je iznosio 83–89%, u jetri i 98–112%, u bubregu.

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

Plan kontrole kvaliteta je predvideo i upotrebu sertifikovanog referentnog materijala (liofilizovan bubreg svinje u formi homogenizovanog praha, BCR No.186), sa sertifikovanim vrednostima za koncentracije toksičnih elemenata. Očitane vrednosti teških metala u referentnom materijalu su iznosile $\pm 10\%$ od sertifikovanih srednjih vrednosti. Čuvanje i postupanje sa sertifikovanim referentnim materijalom je bilo u skladu sa uputstvom za rukovanje. Za pripremu kontrolnih standarda odmeravano je 200 mg sertifikovanog referentnog materijala. Očitavanje standarda u okviru analize pojedinačnih metala vršeno je na kraju svake serije od 20 uzoraka. RSD vrednosti (%) tri očitavanja za sve uzorke iznad limita detekcije korišćene metode za olovo su iznosile 3,2%.

Merna nesigurnost metode je procenjena u skladu sa uputstvom U-034-00, dokumentovanog sistema kvaliteta Laboratorije za biotehnoška istraživanja i kontrolu bezbednosti i kvaliteta hrane, Instituta za higijenu i tehnologiju mesa, koja je akreditovana prema zahtevima SRPS ISO/IEC 17025:2006 i sertifikovana prema zahtevima standarda SRPS ISO 9001:2008. Proširena merna nesigurnost za ispitani element (Pb) je iznosila 6,6%

Statistička obrada

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

Podaci za sadržaj olova su grupisani u skladu sa vrstom tkiva i teritorija sa kojih su uzorci sakupljeni. Pre izbora odgovarajućeg statističkog testa, vršeno je određivanje individualne distribucije dobijenih vrednosti, korišćenjem *Anderson-Darling*-testa ispitivanja normaliteta raspodele.

Nakon određivanja distribucije podataka, analizom *Anderson-Darling*ovih koeficijenata, izabran je neparametrijski test (*Kruskal Wallis test*) analize varijanse sa *Post hoc Mann-Whitney* testom, koji je korišćen u drugom stepenu za utvrđivanje postojanja razlika između pojedinih vrsta tkiva po lokalitetima. Značajnost korelacionih povezanosti između ispitanih metala u okviru istog ili različitog tkiva je određena računanjem *Pirsonovog* (*Pearson*) korelacionog koeficijenta (*Ps*). Statistička značajnost je podeljena za p vrednost manju od 0,05 (nivo poverenja

od 95%). Izmerene koncentracije olova su prikazane preko medijan i srednjih vrednosti, minimalnih i maksimalnih vrednosti. Za grafički prikaz dobijenih podataka, za sve ispitane uzorke po lokalitetima, korišćeni su pravougaoni (*box-plot*) dijagrami.

Rezultati i diskusija

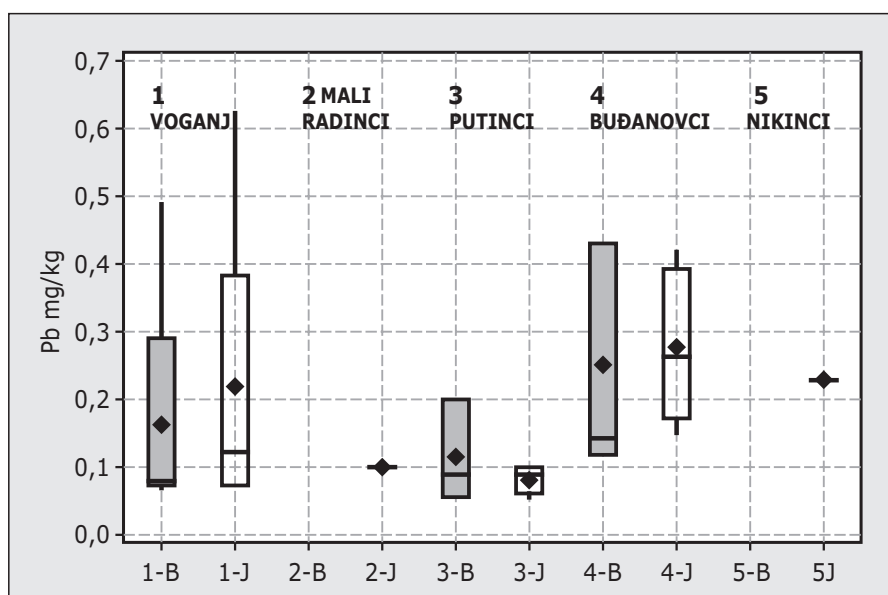
Statističkom analizom dobijenih podataka o koncentraciji olova u tkivima divljeg zeca sa teritorija lovačkih udruženja sa kojih su sakupljeni uzorci ustanovljeno je da nisu registrovane statistički značajne razlike ($p > 0,05$) u pogledu sadržaja olova u bubrežima i jetri između pojedinih lokaliteta. Posmatrano na sve ispitane uzorke, utvrđena je statistički značajna srednja pozitivna korelaciona povezanost između sadržaja olova u bubregu i jetri ($P_s = 0,65$; $p = 0,001$; P_s – Pearson-ov korelacioni koeficijent).

U pregledanim radovima koji su razmatrali sadržaj olova u tkivu divljeg zeca (*Tataruch i Kierdorf*, 1984; *Kleiminger i Holm*, 1985) utvrđen je veći sadržaj olova u jetri, uglavnom kod starijih jedinki, i data je procena da nema razlike između sadržaja olova u bubrežima između mladih i starijih životinja, što je u saglasnosti sa dobijenim rezultatima u okviru naših ispitivanja, posmatrajući starosnu strukturu prikupljenih jedinki divljeg zeca.

U istraživanju nivoa toksičnih metala u organima divljeg zeca sa teritorije zapadne, ravničarske, Slovačke *Massányi i dr.* (2003) su prikazali sezonske varijacije sadržaja olova u bubrežima i jetri. Takođe je izvršeno poređenje sadržaja olova u

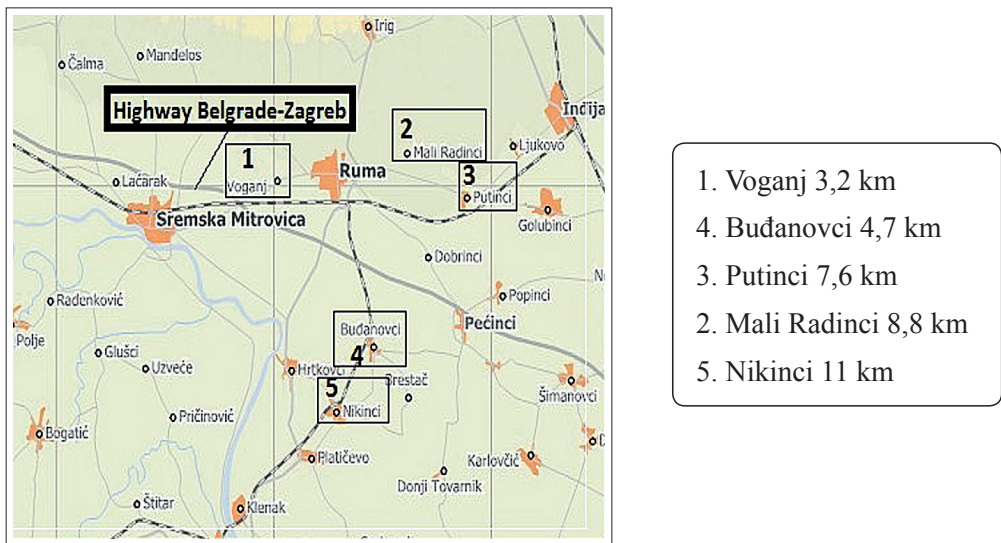
zavisnosti od starosne dobi i saopšteno je da su koncentracije olova u jetri i bubrežima bile slične, bez statistički značajnih razlika, što je u saglasnosti sa našim rezultatima. Nivo srednjih vrednosti akumuliranog olova u odnosu na pol jedinki koje su ovi autori saopštili iznosio je, u jetri mužjaka, 0,22 mg/kg i bio viši u odnosu na jetru ženki (0,13 mg/kg). Druga grupa autora iz Slovačke (*Kramárová i dr.*, 2005) saopštila je podatke za olovo u tkivu divljači i poredila bioakumulaciju olova u jetri evropskog divljeg zeca (0,221 mg/kg) i jelenske divljači (1,904 mg/kg), odnosno u bubrežima divljeg zeca (0,115 mg/kg) i jelenske divljači (0,561 mg/kg). Saopšteni rezultati koji se odnose na divlje zečeve iz Slovačke su u saglasnosti sa srednjom vrednošću za olovo u bubrežima zečeva sa teritorije Srbije, Sremski okrug, dok su srednje vrednosti olova u jetri evropskog divljeg zeca sa teritorije Srbije skoro duplo veće.

Gledano na sve ispitane uzorke, u bubrežima olovo nije registrovano u 23% ispitana uzorka, dok je procenat uzoraka jetri u kojima olovo nije detektovano iznosio 45%. Iz dobijenih rezultata može da se stekne utisak da je njihov nalaz posledica lokalne izloženosti olovu na pojedinim područjima. Ilustracija ovog zapažanja može se sagledati razmatranjem rezultata izmerenih vrednosti za olovo u bubrežima i jetri zečeva sakupljenih u Sremskom regionu – Voganj, Mali Radinci, Putinci, Buđanovci i Nikinci (dijagram 1), u neposrednoj blizini autoputa E70 (Beograd–Zagreb), kao i gradova Sremska Mitrovica i Ruma (slika 2). Prikazane vazdušne distance od autoputa su izračunate pomoću Google Earth



Dijagram 1. Sadržaj olova u organima divljih zečeva – Sremski okrug

Diagram 1. Lead content in hare organs – Srem district



Slika 2. Lokaliteti (1–5) u zoni Autoputa E70 i vazdušna udaljenja (km) sa kojih su sakupljeni uzorci
Figure 2. Sampling localities (1–5) nearby highway E 70, with air distances

aplikacije. Područje najbliže autoputu, LU Voganj, je u vazdušnoj liniji udaljeno oko 7,3 km od industrijske zone Sremske Mitrovice.

Pregledom rezultata prikazanih u tabeli 1 može da se konstatuje da je procenat registrovanog olova u bubrezima i jetri najveći u organima divljih zečeva sakupljenih u rejonu Vognja, a, takođe, i maksimalne izmerene vrednosti za olovo u oba organa, ali bez registrovanih statistički značajnih razlika između lokaliteta ($p > 0,05$).

Sa povećanjem vazdušne udaljenosti od autoputa (slika 2) primećuje se trend smanjenja broja uzoraka u kojima je registrovano olovo kao i sniženje vrednosti maksimalno izmerenih količina, izuzev u slučaju LU Putinci (3), gde je olovo registrovano u svim uzorcima jetri, ali su srednja i maksimalna izmerena vrednost u oba organa sa teritorije ovog lovnog područja manje u odnosu na lokacije 1 (LU Voganj) i 4 (LU Buđanovci), koje su u vazdušnoj liniji najbliže autoputu. U tkivima zečeva

Tabela 1. Sadržaj olova i distribucija registrovanih vrednosti u tkivima zečeva sakupljenih sa područja lovačkih udruženja uz Autoput E70

Table 1. Lead content and distribution of registered values in hare tissues from hunting grounds

	n=33	N	N _{reg}	N*	%	sr. vred.	Min	Max
1	Pb B	6	5	1	83.3	0.16	0.07	0.49
1	Pb J	6	6	0	100	0.22	0.07	0.63
4	Pb B	6	3	3	50.0	0.25	0.12	0.43
4	Pb J	6	4	2	66.7	0.28	0.15	0.43
3	Pb B	6	3	3	50.0	0.12	0.06	0.20
3	Pb J	6	6	0	100.0	0.08	0.06	0.10
2	Pb B	6	nije registrovano u bubrezima/not registered in lead					
2	Pb J	6	1	5	16.7	0.10	0.10	0.10
5	Pb B	9	nije registrovano u bubrezima/not registered in lead					
5	Pb J	9	1	8	11.1	0.23	0.23	0.23

Legenda/Legend: n – ukupan broj uzoraka/total samples; N – broj uzoraka po lokalitetu/number pf samples per location;
 N_{reg} – broj uzoraka sa registrovanim olovom na lokalitetu/Number of samples with registered lead content on a location;
 N* – broj uzoraka u kojima nije registrovano olovo/Number of samples with no registered lead;
 % – procenat uzoraka sa registrovanim olovom/Percentage of samples with registered lead;

sakupljenih sa područja označenih lokacijskim brojevima 2 (LU Mali Radinci) i 5 LU Nikinci), koja su najudaljenija od autoputa, od ukupno 6, odnosno 9, ispitanih uzoraka tkiva, olovo je registrovano samo u po jednom uzorku jetre, dok u bubrezima nije registrovano (tabela 1).

Herbivore, konzumacijom biljaka koje su kontaminirane olovom, u organizam unose olovo preko probavnog trakta, pri čemu se resorbuje 5–10% neorganskih jedinjenja olova prisutnih u hrani biljnog porekla. Olovo prisutno u obliku sitnih čestica i aerosola u vazduhu se unosi u disajni trakt, gde je moguća resorpcija i do 40% (Đurić i Petrović, 1996). Dobijeni rezultati iz regiona Srema, se mogu dovesti u vezu sa aerodepozicijom olova na biljke koje zečevi koriste za ishranu i zemljište na kome one rastu, kao rezultat atmosferskog transporta, što predstavlja glavni izvor unosa olova za herbivornu divljač (Kalas i dr., 2000). Većina biljnih vrsta kojima se herbivore hrane akumuliraju veoma malu količinu olova iz zemljišta (Kabata-Pendias i Pendias, 1984; Sheppard i Sheppard, 1991; Manninen i Tanskanen, 1993; Underwood i Suttle, 1999; Rous i Jelinek, 2000; Saičić i Janković, 2004; Kalinova i dr., 2007).

Incidentni unos olova prisutnog u zemljištu ingestijom je malo verovatan, odnosno postoji očekivanje da u područjima u kojima nema značajnije aerodepozicije olova herbivore pokazuju nizak nivo akumulacije u tkivima (Mulvey i Diamond, 1991), što je i bio slučaj, uglavnom, neregistrovanja olova u tkivima zečeva sa područja LU Nikinci (5). Do sličnih saznanja došli su i Krelowska i dr. (1994), koji su poredili sadržaj olova u bubrezima i jetri divljih zečeva poreklom iz industrijskih i nezagađenih oblasti, pri čemu je uočeno da je sadržaj olova nekoliko

puta veći u tkivima zečeva prikupljenih u blizini industrijskih zagađivača.

Zaključak

Na osnovu dobijenih rezultata za olovo i pregledanih podataka iz literature može da se konstatuje da, bez obzira na nepostojanje statističkih razlika u sadržaju olova u organima zečeva između lovnih terena sa kojih su sakupljeni uzorci, postoji određena bioindikacija njegovog prisustva na pojedinim područjima.

Viši procenat prisustva olova je zabeležen u bubrezima (77%), dok je u jetri olovo registrovano u 55% uzoraka.

Ako se posmatraju svi ispitani uzorci bubrega i jetre, nisu registrovane statistički značajne razlike između izmerenih koncentracija olova u bubrezima u odnosu na jetru ($p > 0,05$).

Generalno, nivo olova u ispitanim uzorcima bubrega divljeg zeca sa područja Srema je na niskom, ili sličnom nivou kao i u drugim evropskim regionima, za koje postoje raspoloživi podaci. Blizina autoputa ima određeni uticaj na procentualni udeo i srednje vrednosti registrovanog, odnosno neregistrovanog, sadržaja olova u oba organa. Sa povećanjem vazdušne udaljenosti od autoputa opada procenat uzoraka u kojima je registrovano olovo kao i koncentracije olova u ispitanim uzorcima.

Količine olova, u ispitanim organima divljih zečeva, veće od maksimalno dozvoljene vrednosti od 0,5 mg/kg su registrovane samo u jednom uzorku jetre (područje LU Voganj), u odnosu na ukupan broj ispitanih uzoraka (33), dok, u svim ispitanim uzorcima bubrega, tamo gde je olovo registrovano, izmerene količine nisu premašivale maksimalno dozvoljenu vrednost.

Literatura

- Adriano D. C., 2001. Trace Elements in the Terrestrial Environment, 2nd edition, Springer-Verlag, New York.
- Davies D. J., Watt J. M., Thornton I., 1987. Lead levels in Birmingham dusts and soils. Science of Total Environment 67, 177–185.
- De Jonghe W. R. A., Chakraborti D., Adams F. C., 1981. Identification and determination of individual tetra-alkyl lead species in air. Environ Sci Technol 15, 1217–1222.
- Đurić B. D., Petrović Lj. J., 1996. Zagađenje životne sredine i zdravlje čoveka – Ekotoksikologija. Velarta, Beograd, 312–324.
- <http://publications.gc.ca/collections/Collection/CW69-5-337E.pdf>
- Kabata-Pendias, A., Pendias H., 1984. Trace Elements in Soil and Plants. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Kalas J. A., Steinnes E., Lierhagen S., 2000. Lead exposure of small herbivorous vertebrates from atmospheric pollution. Environment Pollution 107, 21–29.
- Kalinova J. E., Černuha I. M., Vostrikova N. L., Iljina T. V., Orlova O. N., 2007. Monitoring toksičnih elemenata (kadmijum, olovo) u tkivima i organima svinja iz regiona Rostov i Lipec Ruske Federacije. Tehnologija mesa 49, 183–190.
- Kleiminger J., Holm J., 1985. Constructing a cause-oriented system for monitoring the contamination of game by harmful substances. 4. Choosing a suitable bioindicator of harmful substances. Fleischwirtschaft 65, 394–399.

- Kramárová M., Massányi P., Slamečka J., Tataruch F., Jančová A., Gasparik J., Fabis M., Kovacik J., Toman R., Galová J., Jurcik R., 2005.** Distribution of Cadmium and Lead in Liver and Kidney of Some Wild Animals in Slovakia. *J Environment Science Healthy* 40, 593–600.
- Krelowska-Kulas M., Kudelka W., Stalinski Z., Bieniek J., 1994.** Content of metals in rabbit tissues. *Nahrung* 38, 393–396.
- Manninen S., Tanskanen N., 1993.** Transfer of lead from shotgun pellets to humus and three plant species in a Finnish shooting range. *Archive Environmental Contamination and Toxicology* 24, 410–414.
- Massányi P., Tataruch F., Slamečka J., Toman R., Jurčík R., 2003.** Accumulation of lead, cadmium, and mercury in liver and kidney of the brown hare (*Lepus europaeus*) in relation to the season, age, and sex in the West Slovakian Lowland. *Journal of Environment Science Health A*, 38, 1299–1309.
- Mulvey M., Diamond S. A., 1991.** Genetic factors and tolerance acquisition in populations exposed to metal and metalloids. In: Newman, M.C., McIntosh, A.W. (Eds.), *Metal Ecotoxicology: Concepts and Applications*. Lewis Publishers, Chelsea, MI, 301–321.
- Neugebauer E. A., Sans Cartier G. L., Wakeford B. J., 2000.** Methods for the Determination of Metals in Wildlife Tissues Using Various Atomic Absorption Spectrophotometry Techniques. Technical Report Series No. 337E. Canadian Wildlife Service, Headquarters, Hull, Québec, Canada.
- Rous P., Jelinek P., 2000.** The effect of increased soil contamination with heavy metals on their content in some rabbit tissues. *Czech Journal of Animal Science*, 45, 319–324.
- Saičić S., Janković S., 2004.** Sadržaj toksičnih elemenata u ciljnim tkivima svinja i goveda u periodu 1982–2001. *Tehnologija mesa* 45, 1–2, 33–37.
- Sheppard S. C., Sheppard M. I., 1991.** Lead in boreal soils and food plants. *Water Air Soil Pollution*, 57–58, 79–91.
- Tataruch F., Kierdorf H., 2003.** Trace Metals and other Contaminants in the Environment. In: *Bioindicators & Biomonitoring – Principles, Concepts and Applications*, Chapter 20, Volume 6, 737–772.
- Teodorović V., Dimitrijević M., 2011.** Hemijski i fizički zagadivači namirnica animalnog porekla, Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Naučna KMD, d.o.o., Beograd.
- Underwood E. J., Suttle N. F., 1999.** The mineral nutrition of livestock. 3rd ed. New York: CABI Publishing. NY.

Investigation of lead content in hare organs collected from the areas near by highway E70 – Srem county

Petrović Zoran, Milićević Dragan, Vranić Danijela, Đinović-Stojanović Jasna, Nikolić Dragica, Lukić Mirjana, Milijašević Milan

S u m m a r y: The total of 66 samples of hare tissue (33 kidney and 33 liver) were extracted from 33 carcasses of individual animals shot in predominately agricultural terrains of Srem county, nearby Highway E70, passing through the area from which samples were collected. Non parametric statistical analysis (Kruskal-Wallis and Post hoc Man-Whitney test) used for data processing showed no statistically significant differences between median values ($p > 0.05$) of lead levels in kidney and liver collected from different locations as well as between different age groups of hares. There was obvious decrease in the number of cases where lead in kidney and liver was detected with air- distance increase from the highway path. In kidney, lead was not registered in 23%, of the total examined samples, while in liver it was not registered in 45% of the examined samples. The data analysis showed a bioindication of lead presence with origin from the surrounding environment. The registered levels of lead were low. The measured concentration of lead exceeding MRL for animal organs (0.5mg/kg) was registered only in one singular liver sample (0.63 mg/kg).

Key words: lead, hare, kidney, liver.

Rad je primljen: 18.03.2014.

Rad prihvaćen: 25.03.2014.