

R. Erben, I. Munjko, V. Jovanović i L. Štilinović
Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu
Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada — Zagreb

UTJECAJ AKUMULACIJE FENOLA NA PREŽIVLJAVANJE
PUŽEVA PREDNJOŠKRŽNJAKA (*PROSOBRANCHIA* —
GASTROPODA) IZ KOPNENIH VODA

INFLUENCE OF PHENOL ACCUMULATION UPON
THE SURVIVAL OF FRESHWATER SNAILS

A b s t r a c t

In this paper we tried to investigate the effect of phenol accumulation upon the survival of freshwater snails. The following species were examined: *Amphimelania holandri* Fér., *Fagotia esperi* Fér. and *Sadleriana fluminensis* A. Schm. It was recorded that the mortality of the species depends a great deal upon the quantity of the accumulated phenol in organism, its concentration in water and on the time of exposure. The amount of the accumulated phenol is particularly high in the acute conditions of intoxication. It can cause sudden death of the animals but they often survive these initial doses. In the chronic conditions of the intoxication, even small quantities of the accumulated phenol were fatal. The examined species were rather good indicators of phenol toxicity, moreover, they have been present in the water ecosystem in the neighbourhood of Zagreb, where frequent cases of phenol intoxication have been recorded.

UVOD

Dosadašnja ispitivanja o djelovanju fenola na pojedine vrste i skupine beskralješnjaka iz kopnenih voda odnose se samo na ustanovljenje mortaliteta, dok akumulacija fenola u tim organizmima nije analizirana (Ellis, 1937, Ebeling, 1939, Anderson, 1944, Bruun, 1948, Patrick et al. 1968, Liepolt, 1953).

Naša ispitivanja stoga se upravo odnose na određivanje akumulacije fenola u organizmima i posljedice koje on izaziva na preživljavanje nekih slatkovodnih vrsta puževa.

Zagađenja vodenih biotopa u Zagrebu i njegovoj okolini vrlo su česta upravo fenolima (Munjk o, 1976). Životinje koje su izabrane za ispitivanje nastanjuju vodene biotope uže i šire okolice Zagreba. Organizmi koje smo izabrali za pokus su puževi prednjoškržnjaci: *Amphimelania holandri*, Fér., *Fagotia esperi*, Fér. i *Sadleriana fluminensis*, A. Schm. Uz akumulaciju fenola mjereni su i neki fizičko-kemijski parametri vode koji mogu biti povezani s toksičkim djelovanjem fenola (Herbert, 1962, Hammerstingl, 1952, Pickering i Henderson, 1966).

MATERIJAL I METODE

Životinje su sakupljene u rijeci Mrežnici (*A. holandri* i *F. esperi*) i rijeci Tounjčici (*S. fluminensis*). Nakon dopremanja u laboratorij životinje su stavljene u staklene kadice od dvije litre po 20 jedinki. Životinje su ostavljene 24 sata da bi se adaptirale na laboratorijske uvjete. Koncentracije fenola kretale su se u pokusima od 25-300 mg/l u rasponima od 25 mg/l. Svaki je pokus ukupno trajao 6 dana, a identični pokusi ponavljani su 3 do 5 puta. Kod raspoređivanja životinja u kadice pazilo se da budu približno iste veličine, da budu dobro pokretne i da normalno reagiraju na podražaj iglom. U svim pokusima uvedeno je prozračivanje, a životinje su držane bez hranjenja. Tijekom pokusa mjereni su: temperatura vode, količina otopljenog kisika, ukupna tvrdoća vode, pH vrijednost, titar saprofitnih bakterija, koncentracija fenola otopljenog u vodi i akumuliranog u životinjama. Svaki dan je ustanovljen broj živih i uginulih jedinki, a akumulacija fenola određivana je i u živim i u uginulim organizmima. Životinje su osušene filter papirom, vagane (Kawatski et al. 1974, Rye i Louis, 1976), a zatim stavljene na iskuhavanje u 500 ml destilirane vode kojoj je s fosforom kiselinom podešen pH na 4. Iskuhavanjem životinja u destilatu određena je koncentracija fenola spektrofotometrijski, JUS. H. Z1 147 Službeni list SFRJ br. 49/1971. Koncentracije akumuliranog fenola u organizmima izražene su u μg na gram tjelesne težine. Ostali parametri određivani su uobičajenim metodama (APHA, 1967).

REZULTATI

Rezultati akumuliranog fenola u tijelu životinja prikazani su u tablicama od 1-3 i grafički na slikama od 1-3.

Temperatura vode u pokusima za sve vrste životinja bila je 21°C. Vrijednost pH kretale su se između 7 i 8 dok je ukupna tvrdoća vode bila od 300 do 400 mg CaCO_3 na litru. Vrijednost tvrdoće vode lagano opadaju prema kraju pokusa. Koncentracija kisika također je opadala u svim pokusima. Na početku je vrijednost iznosila 6-8 mg kisika na l vode, a na kraju pokusa je koncentracija

bila između 4 i 6 mg O₂/l. Titar saprofitnih bakterija, izražen redom veličine, u svim je pokusima bio u porastu, od 10⁻³ do 10⁻⁹.

Koncentracija otopljenog fenola u vodi opadala je u svim pokusima, tako da je od početne vrijednosti pala i do 90%.

Brojčane vrijednosti akumulacije bilježe neočekivane skokove i padove u svih ispitivanih vrsta. U osjetljivijoj vrsti, *S. fluminensis*, te su promjene jače izražene, dok su u manje osjetljivih vrsta promjene ujednačenije. Najveća količina akumuliranog fenola u živim jedinkama bila je u vrsti *A. holandri*, a iznosila je 306 µg/g tjelesne težine, dok je najmanja akumulacija bila 12 µg/g tjelesne težine, na kraju šestog dana pokusa. Uginule jedinke najviše fenola akumuliraju drugog dana pokusa, 221 µg/g, a najmanja količina akumuliranog fenola ustanovljena šestog dana pokusa iznosila je 7 µg/g. LD₅₀ postignut je kod koncentracije fenola u vodi od 275 mg/l već drugog dana pokusa, trećeg dana kod koncentracije od 200 mg/l, a šestog dana u svim primjenjenim koncentracijama smrtnost je bila veća od 50%.

Akumulacija fenola u živim i uginulim jedinkama najujednačenija je kod vrste *F. esperi*. Razlike u akumulaciji fenola zabilježene u živim i mrtvim jedinkama tijekom istoga dana samo izuzetno prelaze 15%. Žive jedinke akumulirale su već drugog dana pokusa 130 µg/g u koncentraciji fenola u vodi od 275 µg/l, a uginule jedinke u istoj koncentraciji vode akumulirale su 115 µg/g tjelesne težine. Najmanje razlike nađene su šestoga dana i u živim i u uginulim životinjama. U živim je iznosila akumulacija 26 µg/g, a u uginulim 27 µg/g. Koncentracija fenola u vodi veća od 225 µg/l može biti za ispitivane životinje 100% smrtonosna. Smrtnost u koncentracijama fenola u vodi od 100-250 µg/l iznosi od 35 do 85%, ako djeluju 5 dana.

Najkarakterističnije za vrstu *S. fluminensis* bila je vrlo visoka akumulacija fenola u živim jedinkama u prva dva dana pokusa kada je čak zabilježena vrijednost od 622 µg/g tjelesne težine. Nakon dva dana akumulacija fenola naglo pada i od četvrtog do petog dana iznosi 60 do 87 µg/g, a šestog dana tamo gdje je bilo jedinki, ta je koncentracija iznosila od 3 do 22 µg/g. Akumulacija fenola izmjerena u uginulim životinjama iznosila je najviše 140 µg/g, opet drugog dana pokusa, a šestog dana je izmjereno 12 µg fenola na g tjelesne težine. Smrtnost životinja dostiže 100% već drugog dana pokusa u svim koncentracijama većim od 125 mg fenola na litru vode.

Tab. 1. Akumulacija fenola po gramu tjelesne težine u živim i uginulim jedinkama vrste *Amphimelania holandri*, u ovisnosti s vremenom, postotkom smrtnosti i koncentracijom fenola u vodi

Tab. 1. Phenol accumulation per gramme of bodyweight in the alive and dead individuals of the species *Amphimelania holandri* depending on time, death rate and phenol concentration in the water

Vrijeme Time of exposure	Koncentracije fenola mg/l Phenol concentrations	Postotak smrtnosti Death rate %	Akumulacije fenola u $\mu\text{g/g}$ živi uginuli Phenol accumulation $\mu\text{g/g}$ alive dead	
1. dan day	75	0	28,93	
	100	0	48,87	
	125	0	18,69	
	150	0	57,82	
	175	0	195,5	
	200	0	151,16	
	225	0	225,07	
	250	0	141,08	
	275	0	121,97	
	Kontrola	0	0	
2. dan day	75	20	90,05	46,46
	100	0	78,8	
	125	5	40,2	221,59
	150	10	210,81	60,60
	175	30	306,6	56,26
	200	25	201,32	67,99
	225	30	183,9	68,87
	250	35	82,82	80,09
	275	50	159,02	89,51
	Kontrola	0	0	
3. dan day	75	35	28,57	2,63
	100	30	73,60	38,98
	125	10	62,26	2,7
	150	45	77,07	69,67
	175	70	83,61	69,83
	200	55	110,90	34,02
	225	80	88,75	42,74
	250	75	129,50	81,65
	275	100		
	Kontrola	0	0	

	75	65	17,25	25,34
	100	45	56,74	34,05
	125	15		
	150	75	52,70	72,45
4. dan	175	85	88,35	58,82
day	200	65	77,89	82,97
	225	90	100,0	34,13
	250	90	68,74	93,21
	275	100		
	Kontrola	0	0	
5. dan	Nije bilo ugibanja No dying established			
	75	65	12,46	
	100	55	20,46	7,46
	125	40	24,34	57,18
	150	90	32,29	51,96
6. dan	175	100	126,17	47,20
day	200	80	57,56	45,18
	225	100		
	250	100		24,07
	275	100		
	Kontrola	0	0	

Tab. 2. Akumulacija fenola po gramu tjelesne težine u živim i uginulim jedinkama vrste *Fagotia esperi*, u ovisnosti s vremenom, postotkom smrtnosti i koncentracijom fenola u vodi

Tab. 2. Phenol occumulation per gramme of bodyweight in the alive and dead individuals of the species *Fagotia esperi* depending on time, death rate and phenol concentration in the water

Vrijeme Time of exposure	Koncentracije fenola mg/l Phenol concentrations	Postotak smrtnosti Death rate %	Akumulacije fenola u μ g/g živi uginuli Phenol accumulation μ g/g alive dead	
	50	0	16,61	
	75	10	26,71	33,96
	100	25	22,24	56,60
	125	40	30,73	41,25
	150	35	31,11	40,84
1. dan	175	40	54,52	34,67
day	200	30	73,75	64,37

	225	30	60,0	56,68
	250	5	79,73	95,0
	275	35	109,26	93,92
	Kontrola	0	0	
2. dan day	50	0	30,36	
	75	20	57,77	63,51
	100	35	47,11	39,71
	125	60	131,72	12,37
	150	45	71,72	17,60
	175	50	52,48	18,13
	200	35	83,81	
	225	35	85,13	
	250	20	98,88	9,54
	275	50	130,58	115,42
	Kontrola	0	0	
3. day day	50	0		
	75	60	104,16	27,68
	100	40		
	125	65		
	150	55	53,74	80,91
	175	55		
	200	40		
	225	60	84,72	100,78
	250	50	128,79	108,05
	275	85	72,33	109,36
	Kontrola	0	0	
4. dan day	50	10		
	75	100	70,65	35,79
	100	40		
	125	80	30,40	50,47
	150	65	33,52	51,82
	175	60	36,87	45,34
	200	55	107,51	82,89
	225	80	84,78	105,31
	250	85	76,97	107,49
	275	90		
	Kontrola	0	0	
5. dan day	50	10	60,0	
	75	100		
	100	40	22,4	
	125	80	28,2	
	150	65	118,6	
	175	60	90,0	
	200	55	34,8	

	225	80	22,6	
	250	85		
	275	90		
	Kontrola	0	0	
6. dan day	50	10	3,22	
	75	100		
	100	40	26,79	
	125	80	61,31	
	150	75	70,24	35,37
	175	60	56,15	
	200	75	88,97	72,33
	225	90	77,25	27,72
	250	100		60,05
	275	100		44,95
	Kontrola	0	0	

Tab. 3. Akumulacija fenola po gramu tjelesne težine u živim i uginulim jedinkama vrste *Sadleriana fluminensis*, u ovisnosti s vremenom, postotkom smrtnosti i koncentracijom fenola u vodi

Tab. 3. Phenol accumulation per gramme of bodyweight in the alive and dead individuals of the species *Sadleriana fluminensis* depending on time, death rate and phenol concentration in the water

Vrijeme Time of exposure	Koncentracije fenola mg/l Phenol concentrations	Postotak smrtnosti Death rate %	Akumulacije fenola u μ g/g živi uginuli Phenol accumulation μ g/g alive dead	
1. dan day	25	0	50,0	
	50	15	52,63	39,68
	75	35	190,24	53,57
	100	60	107,2	30,72
	125	80	397,9	16,51
	150	95	622,34	82,10
	175	95	198,41	60,0
	200	75	51,54	1,25
	225	100		111,79
	Kontrola	0	0	
2. dan day	25	0	288,46	
	50	30	622,0	173,33
	75	40	17,71	140,62
	100	70	140,62	178,21
	125	90	835,7	30,33
	150	100		
	175	100		

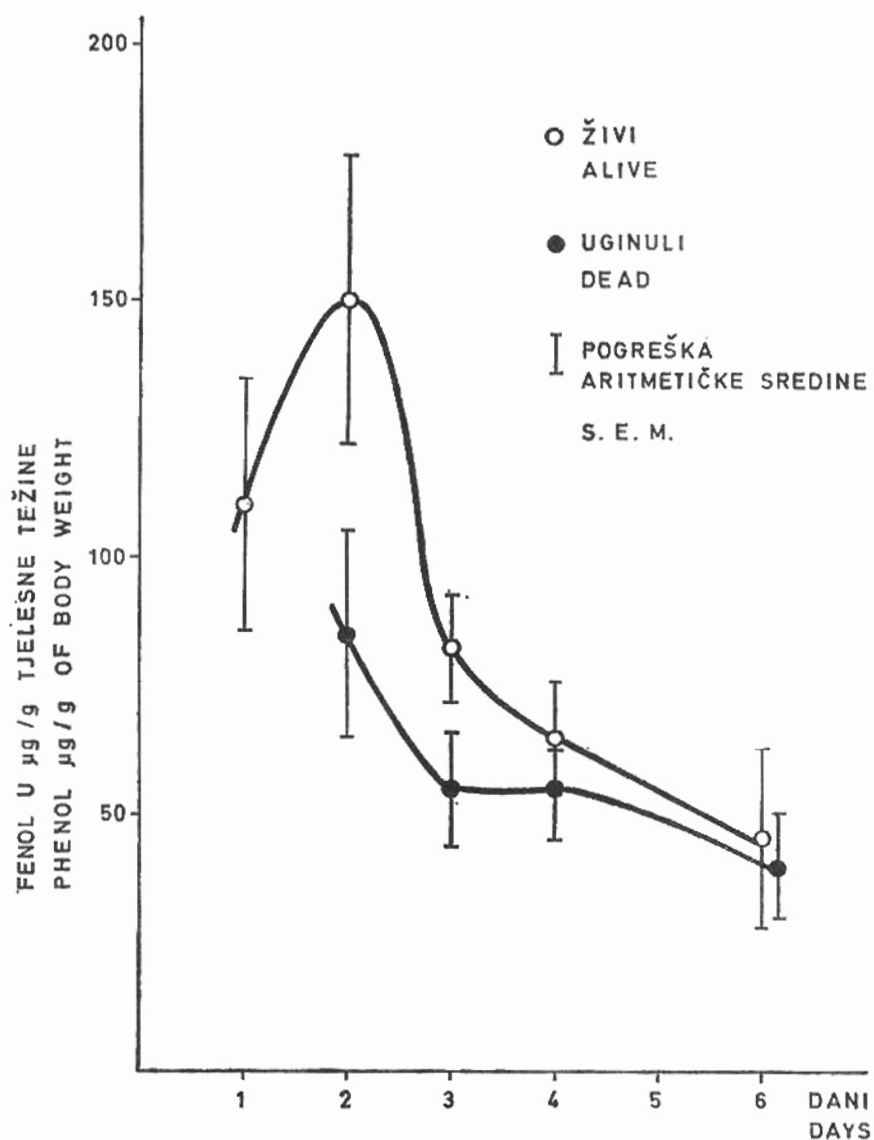
	200	100		
	225	100		
	Kontrola	0	0	
	25	0		
	50	30	68,49	87,71
	75	70	60,2	80,2
	100	80	67,5	78,4
3. dan	125	100		80,32
day	150	100		
	175	100		
	200	100		
	225	100		
	Kontrola	0	0	
4. dan	Nije bilo ugibanja			
day	No dying established			
5. dan	Nije bilo ugibanja			
day	No dying established			
	25	0	3,82	
	50	30	22,14	
	75	70	4,16	
	100	90	21,08	12,88
	125	100		
6. dan	150	100		
day	175	100		
	200	100		
	225	100		
	Kontrola	0	0	

U kontrolnoj postavi nije bilo ugibanja kroz cijelo vrijeme trajanja pokusa. Fizičko-kemijski parametri nisu se mnogo razlikovali, od onih u kojima su bile koncentracije fenola. Također nije zabilježena nikakva akumulacija fenola u kontrolnim životinjama.

DISKUSIJA

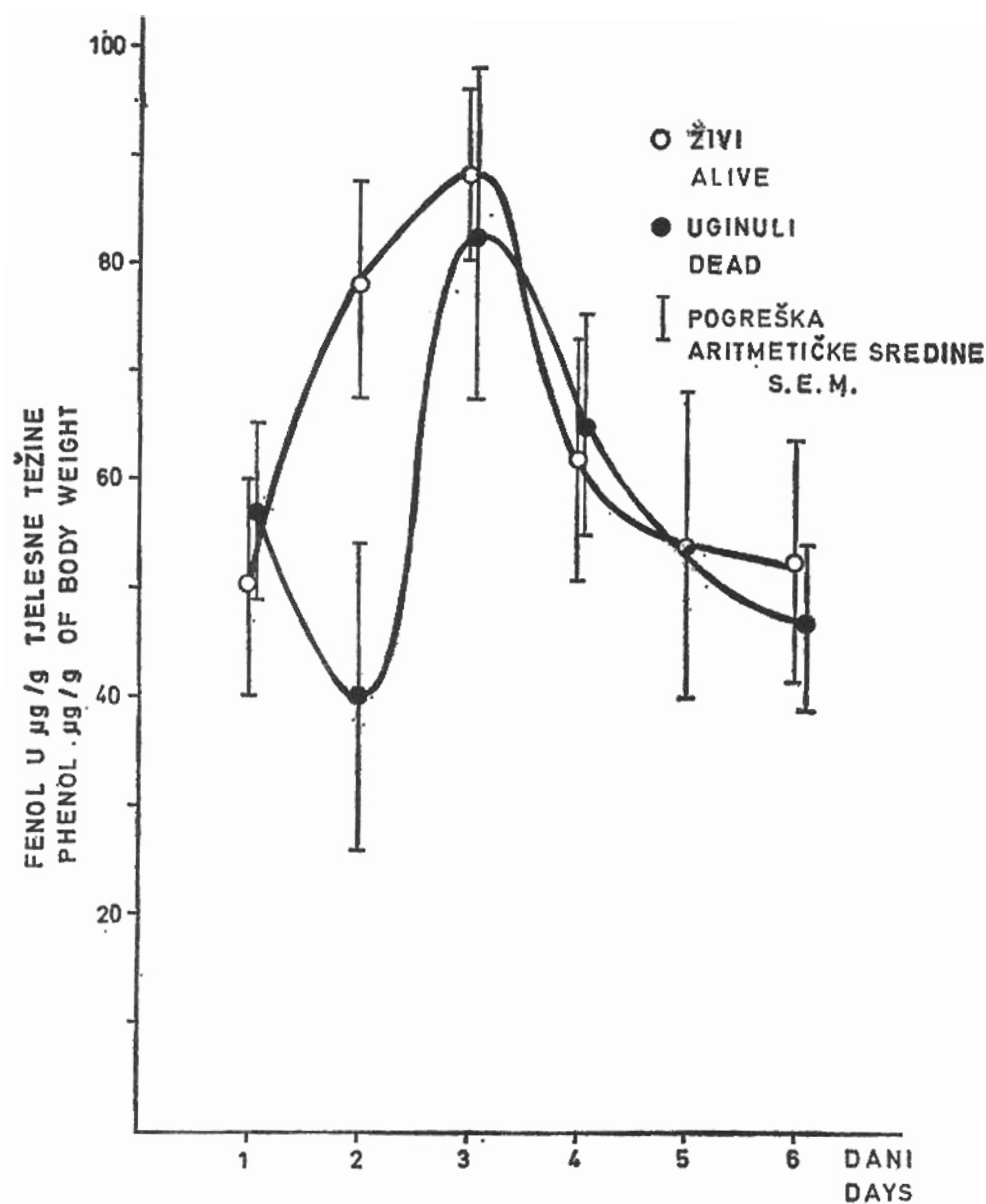
Teško je točno odrediti otpornost životinja na toksično djelovanje fenola. Moguće je da se jedinke iste vrste različito ponašaju što je posljedica njihovog općeg stanja. To individualno ponašanje zapazili smo u našim pokusima.

Smatra se, da fenol djeluje kao nervnopalitički otrov, da smanjuje oksidativnu fosforilizaciju i uništava spojeve bogate energijom (Flerov, 1977). I u našim pokusima zapaženo je nervnopalitičko djelovanje fenola koje se ispoljavalo u ubrzanom, a zatim u usporenom kretanju životinja, paralizi pojedinih lokomotornih organa, grčevitim pokretima i sličnim simptomima. Najveću osjetljivost zapazili smo kod vrste *S. fluminensis*, a zatim *A. holandri* i *F.*



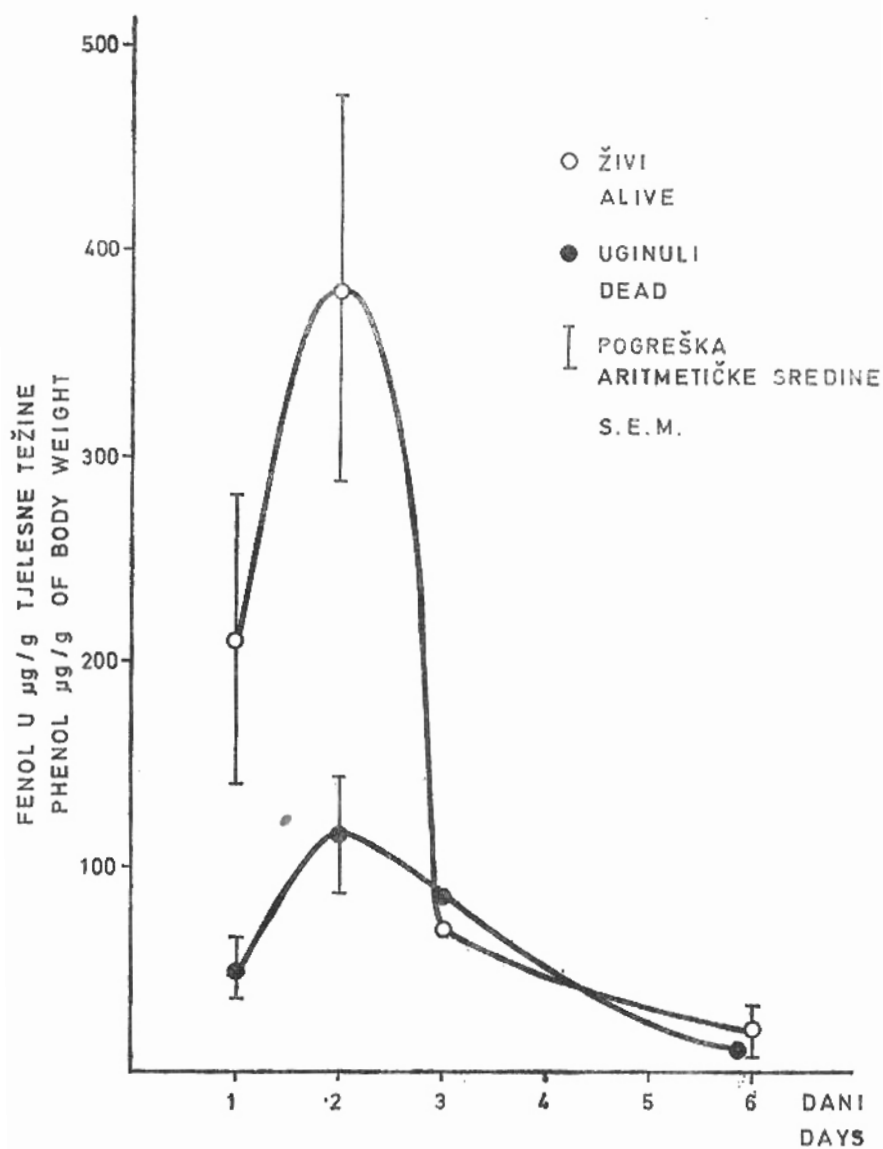
SL. 1 AKUMULACIJA FENOLA U PUŽEVIMA AMPHIMELANIA
HOLANDRI

Fig.1 PHENOL ACCUMULATION IN SNAILS AMPHIMELANIA
HOLANDRI



SL. 2 AKUMULACIJA FENOLA U PUŽEVIMA FAGOTIA ESPERI

Fig.2 PHENOL ACCUMULATION IN SNAILS FAGOTIA ESPERI



SL.3 AKUMULACIJA FENOLA U PUŽEVIMA SADLERIANA FLUMINENSIS

Fig.3 PHENOL ACCUMULATION IN SNAILS SADLERIANA FLUMINENSIS

esperi. Vrsta *S. fluminensis* u prirodi živi u čistim vodama, a inače su to male životinje nježne građe, pa je vjerovatno to uzrok zapažene osjetljivosti. Vrsta *A. holandri* podnosi veće koncentracije fenola vjerovatno zbog toga što ima debelu kućicu koju može zatvoriti poklopcem, pa joj to pruža stanovitu zaštitu. Vrsta *F. esperi* ispoljila je relativno veliku izdržljivost na toksično djelovanje fenola. Vrijednosti akumulacije nisu izuzetno velike ni u jednoj koncentraciji fenola u vodi tijekom pokusa. Takovo ponašanje upućuje na relativno ujednačen i ne suviše brz metabolizam.

U svih ispitivanih životinja bilo je povećanje akumuliranog fenola osobito drugog dana pokusa. Od drugog do šestog dana ta se količina smanjuje. U živim jedinkama uvijek je ustanovljeno više akumuliranog fenola nego u uginulim životinjama. To je osobito izraženo u vrste *S. fluminensis*. Akumulacije fenola u akutnim uvjetima trovanja bile su drugačije od onih koje smo dobili u kroničnim uvjetima. U kroničnim uvjetima vrijednosti akumuliranog fenola u živim i uginulim jedinkama se izjednačuju, a kod vrsta *S. fluminensis* i *F. esperi* vrijednosti se i isprepliću.

Čini se, što neka od životinja ima veće mogućnosti izbjegavanja oštećenja kod akutnog trovanja, to će i pad akumulacije fenola prema kraju pokusa biti manji. To smo zapazili osobito kod vrste *F. esperi* kod koje je LD_{100} tek kod relativno visoke koncentracije fenola u vodi od 225 mg/l. Akumulacija u akutnim uvjetima iznosi svega 85 μ g/g dok je u kroničnim uvjetima 77 μ g/g. Činjenica, da je stupanj akumulacije fenola u početku pokusa veći, može se objasniti time da je životinja u stanju apsorbirati veće količine fenola nego što ga izlučuje. Smanjenje sadržaja fenola u tijelu pri kraju pokusa može se objasniti pojačanim procesom izlučivanja zbog agonije, tako, da je unošenje manje od izlučivanja. Svakako da tom procesu pridonosi i pad koncentracije fenola u vodi pri kraju pokusa. Za taj pad vjerovatno su najodgovornije bakterije (Stolbunov, 1976). Zanimljivo je da puževi apsorbiraju određenu količinu fenola, padnu u agoniju i u tom stanju ostaju dugo, osobito pri nižim koncentracijama, sve dok ih određena akumulacija fenola djelujući duže vrijeme ne usmrti. Zbog toga se i dešava da u nizu koncentracija nema promjene u postotku smrtnosti, a tada u najvišim koncentracijama dolazi do povećanja mortaliteta. Često se taj porast mortaliteta zbiva naglo, osobito kod vrste *S. fluminensis*. U slučajevima naglog ugibanja moguće je zabilježiti visoke vrijednosti akumuliranog fenola, a našla se i po koja niska vrijednost. U slučajevima polagane agonije možemo očekivati manje vrijednosti akumulacije fenola, jer organizam za to vrijeme više izlučuje u okolinu nego što apsorbira iz okoline. Neke životinje su tijekom pokusa bile prividno mrtve, a stavljanjem u svjež u vodu one su se oporavljale. Takvih je slučajeva ipak bilo malo i te su životinje nakon oporavka ubrzo ugibale.

Fizičko kemijski parametri nisu pokazali značajne korelacije s rezultatima intoksikacije u našim pokusima. Smatra se, da se promjenom pH i povećanjem tvrdoće vode ionizira više fenola i stvaraju se fenolati (Kawatski et al. 1977), čime se smanjuje toksičnost. U našim pokusima nismo ispitivali ionizirani i neionizirani fenol.

Kao što je već napomenuto vrlo važan faktor u našim ispitivanjima bile su saprofitne bakterije za koje je poznato da smanjuju koncentraciju fenola u vodi.

Isto smo tako ustanovili da saprofitne bakterije sudjeluju u razgradnji životinja kad one zapadnu u veliku agoniju. Pitanje je koliki je udio bakterija u raspadanju životinja, a koliko to ubrzava djelovanje fenola. U kontrolnim postavama životinje su normalno ugibale nakon vremena dužeg od 6 dana, već i zbog toga što u tim pokusima nisu hranjene (Aleksiev i Uspenskaja, 1974). Međutim, razgradnja organizma nakon uginuća tekla je sporije nego u eksperimentalnim postavama, a i zamućenje je bilo mnogo manje. Kisik je vanredno važan parametar, pa njegov manjak smanjuje reakcije životinja na podražaje i izaziva brže ugibanje životinja.

Promatrajući ugibanje ispitivanih vrsta puževa, može se zaključiti, da se ono odvija u nekoliko faza:

1. Životinje pužu po dnu i stijenkama posude.
2. Aktivnost pokreta raste i životinje pokušavaju pobjeći iz posude. Pojačano izlučivanje sluzi.
3. Uvlačenje tijela u kućicu.
4. Ponovo izlaženje iz kućice, a na podražaj iglom se opet uvlače.
5. Okretanje stopala prema gore, a na mehanički podražaj reagiraju slabim pokretima tijela
6. Potpuni gubitak osjetljivosti, a neki izbacuju tijelo iz kućice.
7. Smrt.

ZAKLJUČCI

1. Od ispitivanih vrsta puževa prednjoškržnjaka najveću osjetljivost na toksično djelovanje fenola pokazala je vrsta *S. fluminensis*, a zatim *A. holandri* i na kraju *F. esperi*.

2. U prvih 48 sati ekspozicije dolazi do velike akumulacije fenola iz vode u životinje, a zatim količina akumuliranog fenola opada.

3. Uginule jedinke manje akumuliraju od živih u akutnim uvjetima trovanja. U kroničnim uvjetima te se koncentracije izjednačuju.

4. Smrtnost životinja ovisna je o početnoj koncentraciji fenola u vodi, o brzini pada koncentracije u vodi, veličini akumulacije i vremenu djelovanja fenola.

5. Akumulacija je u prosjeku veća kod viših koncentracija fenola u vodi.

R. Erben, I. Munjko, V. Jovanović, L. Štilinović

INFLUENCE OF PHENOL ACCUMULATION UPON THE SURVIVAL OF FRESHWATER SNAILS

Summary

Phenole accumulation in the freshwater invertebrates has not been treated until now. Therefore we set a task of questioning the effect of phenole accumulation on the survival of some kinds of which we consider indicative for performing these kinds of experiments. The following species were chosen: *Amphimelania holandri* Fér., *Fagotia esperi* Fér. and *Sadleriana fluminensis* A. Schm.

We tried to establish the phenole poisoning rate for these animals, as well as the influence of the eventual accumulation of phenole in the organisms on the death rate.

Along with the phenole activity certain physico-chemical parameters, considered to be connected with the toxic effect of phenole, have been followed, such as: water temperature, the dissolved oxygen quantity, total hardness and pH. Beside these parameters, the concentration of phenole in the examined settings and the number of the saprophyte bacteria supposed to have a share in the demolishing of this compound, have been followed as well.

The following was established: The death rate of the examined animals depends upon the concentration of phenole, the declining rate of the concentration in the water, accumulation magnitude and exposure to phenole.

LITERATURA

- APHA, (1967): Standard methods for the examination of water and waste. Elventh Edition, APHA, New York.
- Anderson, B. G. (1944): The toxicity thresholds of various substances found in industrial as determinated by the use of *Daphnia magna*. Sew. Works Journ. 16 (cit. H. Liebman, 1960).
- Alekseev, B. A., Uspenskaja, N. E. (1974): Toksikologičeskaja karakteristika ostrogo fenoljnovo atravljenjija njekatorih prjesnavodnih červjeje. *Gidrobiologičeskij žurnal* 10, 4, 48-55.
- Bruun, A. F. (1948): Afsluttende Beretning vedrorende undersogelse of og Afvaargelse of ubemperne fra sugensasanlaeg. Acad. tekn. Vid. Beretning, 9.
- Ellis, M. M. (1937): Deection and measurement of stream pollution. Bull. V. S. Sur. Fish 48, 22, 365-437.

- Ebeling, G. (1939-40): Versuche über die Wirkung phenolhaltiger Abwässer im Zusammenhang mit Rheinuntersuchungen auf der Strecke von Mainz bis Emmerich in den Jahren 1935-1937. Vom Wasser 14 (cit. H. Liebmann, 1960).
- Flerov, B. A. (1977): Fiziologičeskiye mehanizmi dejstviya taksičeskih rješčestv i puspasabljenija k njim vodnih životnih. Gidrobiologičeskij žurnal 13, 4, 80-86.
- Hammerstingl, J. (1952): Untersuchungen über die Giftigkeit von Phenol bei verschiedenen karbonat — Härtegraden der Versuchslösung auf Karpfen und Schleien. Inang. Diss. Tierärztl. Fakultät., München (cit. H. Liebmann, 1960).
- Herbert, D. W. M. (1962): The toxicity to rainbow trout of spent still liquors from the distillation of coal. Ann. Appl. Biol. 50, 755-777.
- Kawatski, J. A., Dawson, V. K. and Renvers, M. (1974): Effect of TFM and Bayer 73 on in vivo oxygen consumption of the aquatic midge *Chironomus tentans*. Trans. Amer. Fish. Soc. 3, 551-556.
- Liepolt, R. (1953): Fish poisoning by waste waters in the Murz. — Österr. Wasserwirtsch. 5 — (Ref.: Sew. and Ind. Wastes, 27, 1955).
- Munjko, I. (1976): Određivanje ulja i fenola u vodama SR Hrvatske, te njihov ekološki utjecaj na kopnene i vodene organizme. Disertacija, Sveučilište Zagreb.
- Patrick, R., Cairns, J. Jr. and Scheier, A. (1968): The relative sensitivity of diatoms, snails and fish to twenty common constituents of industrial waste. Prog. Fish Cult. 30, 137-140.
- Pickering, P., H. and Henderson, C. (1966): Acute toxicity of some important petrochemicals to fish. J. Water Pollut. Control Fed. 38, 1419-1429.
- Rye, R. P. Jr. and Louis King, E. Jr. (1976): Acute toxic effects of two lampricides to twenty — one freshwater invertebrates. Trans. Am. Fish. Soc. 2, 322-326.
- Stolbunov, A. K. (1976): O mikrobioljnih procesah raspada fenolov v r. Volge iz vodohraniliščah. Gidrobiologičeskij žurnal 12, 1, 33-39.