

Zaburzenia rozwojowe larw jazia (*Leuciscus idus* L.) wywołane przez miedź i kadm

Katarzyna Ługowska[#], Elżbieta Kondera

Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, Instytut Nauk Biologicznych,
Prusa 14, 08-110 Siedlce, Polska

Zarodki jazia inkubowano w 0,1 mg dm³ Cu, Cd lub w czystej wodzie wodociągowej (kontrola). Oba metale znacznie zmniejszyły pęcznienie jaj. Miedź i kadm zmniejszyły tempo rozwoju embrionalnego i tempo wykluwania. U larw bezpośrednio po wykluciu stwierdzono sześć typów wad rozwojowych: skrzywienie kręgosłupa, wygięcie ciała w kształcie litery C, deformację głowy, deformację woreczka żółtkowego, obrzęk serca i skrócenie ciała. W kontroli zaobserwowano tylko pierwsze dwa rodzaje deformacji, natomiast po ekspozycji na Cu i Cd stwierdzono występowanie bardziej skomplikowanych zaburzeń. Miedź wywierała niekorzystny wpływ na zarodki jazia głównie podczas ich rozwoju (pęcznienie ikry i tempo rozwoju), podczas gdy efekty toksyczne powodowane przez kadm były bardziej znaczące po wykluciu – u nowo wyklutych larw. Zaobserwowane podczas doświadczeń deformacje larw mogą być przydatne jako bioindykator zanieczyszczenia wód metalami ciężkimi.

SŁOWA KLUCZOWE: ryby, metal, toksyczność, embriony, larwy

WSTĘP

Jaź (*Leuciscus idus* L.) jest rybą szeroko rozpowszechnioną, żyjącą zarówno na obszarze Europy, jak i Azji Zachodniej (Robins i in. 1991; Witkowski i in., 1997; Nico i Fuller, 2008). Jest to duża ryba słodkowodna: długość jej ciała wynosi średnio 30 cm, a maksymalnie może osiągać 85 cm, waga dochodzi do 4 kg, dożywać może 18 lat (Wüstemann i Kammerad 1995; Kottelat i Freyhof 2007). Jaź zwykle zamieszkuje duże rzeki nizinne i jeziora bogate w składniki odżywcze, o zakresie temperatur: 4°C – 20°C (Riehl i Baensch 1991). Osobniki dorosłe żyją samotnie, w odróżnieniu od stadiów młodocianych. Jaź żeruje na różnych zwierzętach wodnych i lądowych oraz materiale roślinnym, ale większe osobniki żywią się głównie rybami. Larwy aktywnie żerujące i osobniki młodociane żyją w strefach przybrzeżnych i dopiero większe osobniki migrują do głębszych wód (Kottelat i Freyhof 2007). Jaź ma duże znaczenie gospodarcze w wielu krajach, w tym także w Polsce, gdzie jest hodowany w celach konsumpcyjnych, ale i rekreacyjnych – dla wędkarzy amatorów (Targonska i in., 2011; Froese i Pauly 2015). W Polsce przykładowo produkcja jazi letnich do zarybiania i jednorocznych ryb wynosiła 69% i 91% całkowitej produkcji rzecznych

[#]Autor korespondencyjny mail: katarzyna.lugowska@uph.edu.pl

Wpłynęło do redakcji: 12.03.2020

Przyjęto do druku: 22.08.2020

karpiovatych w latach 2000 i 2002 (Krejszeff i in., 2009). Niestety stan ekologiczny tego gatunku jest uznawany za „podatny na zagrożenie” (Lelek 1987; Schiemer i Spindler 1989; Lusk i in., 2004), a zatem dzikie populacje wymagają ochrony i wsparcia.

Miedź i kadm są jednymi z najbardziej znaczących, trudnych do eliminacji toksykantów, które nadal są wykrywane w wysokich stężeniach w wielu zbiornikach wodnych (Iger i in., 1994; Meybeck i in., 2007), przez co ciągle mają szkodliwy wpływ na organizmy żywe (Zheng i in., 2007).

Miedź jest niezbędnym dla wszystkich zwierząt mikroelementem, kofaktorem enzymów komórkowych, takich jak: oksydaza, tyrozynaza, lakaza i ceruloplazmina (Fleming i Trevors 1989; Bieniarz i Epler 1994). Stanowi część około 30 enzymów i glikoprotein, jest ważna dla funkcjonowania układu pokarmowego i nerwowego oraz jest niezbędna do syntezy hemoglobiny (Sorensen 1991). Miedź występuje naturalnie w wodach słodkich w stężeniach od 0,0002 do 0,03 mg/dm³ (US EPA 2007). Zanieczyszczenie wody miedzią wiąże się głównie z górnictwem, produkcją nawozów, ściekami komunalnymi i przemysłowymi oraz stosowaniem soli miedzi jako wodnych herbicydów, algicydów, fungicydów i bakteriobójców (Michael 1986; Boyd 1990; Newman i Unger 2003). Nadmiar miedzi jest toksyczny dla organizmów żywych (Moore i Ramamoorthy 1984), a metal ten jest uważany za drugi najbardziej toksyczny dla ryb po rtęci, z typową wartością LC50 dla 96 godzin w zakresie od 0,017 do 1,0 mg/dm³ dla większości gatunków ryb słodkowodnych (Moore i Ramamoorthy 1984). W wysokich stężeniach Cu jest inhibitorem ATPazy Na⁺/K⁺ w błonie skrzeli (Lauren i McDonald 1986; Morgan i in., 1995), a jej główne działanie toksyczne polega na zaburzaniu homeostazy sodu (Lauren i McDonald 1986). Narządem najbardziej narażonym na toksyczne działanie miedzi u ryb są skrzela: miedź wytrąca się w śluzie skrzelowym, co ostatecznie może skutkować uduszeniem (Karan i in., 1998; Stokes 1979). Długotrwała ekspozycja na miedź uszkadza również inne narządy, takie jak wątroba, nerki czy narządy zmysłów (Baker 1969; Gardner i LaRoche 1973).

Kadm jest ksenobiotykiem występującym w wodach w wyniku procesów naturalnych i antropogenicznych (Asagba i in., 2008; Bouraoui i in., 2008; Czeczot i Skrzycki 2010). Metal ten jest kluczowym składnikiem w produkcji baterii, pigmentów i galwanizacji (Smith i in. 1999; Scoullou i in., 2001). Głównym mechanizmem toksyczności Cd jest antagonistyczna interakcja między wychwytem Ca²⁺ i Cd²⁺, która zakłóca wchłanianie Ca²⁺ i homeostazę (McGeer i in., 2011). Kadm gromadzi się głównie w wątrobie, nerkach i skrzelach (McGeer i in., 2011). Może on zakłócać życie ryb, wpływając na różne procesy biochemiczne i fizjologiczne (Drağ-Kozak i in., 2019). Powoduje anemię i złamania kręgow (Larsoon 1977), hipokalcemię, hipokaliemię i hiperglikemię (Sorensen 1991), obniża wydolność trawienną (Sastry i Gupta 1979), wpływa na wrażliwość węchową (Scott i in. 2003). Kadm jest również uważany za substancję zaburzającą funkcjonowanie układu hormonalnego, a jego działanie może zachodzić poprzez osie podwzgórze-przysadka-nadnercza (HPI) i podwzgórze-przysadka-gonady (HPG) (Szczerbik i in., 2006; Lizardo-Daudt i in., 2007; Sandhu i Vijayan 2011; Drağ-Kozak i in., 2018).

Generalnie w ontogenezie ryb wrażliwość na metale maleje wraz z wiekiem, chociaż za najbardziej wrażliwe uważa się larwy (von Westernhagen 1988; Hwang i in., 1995; Jezierska i Witeska 2001). Dane uzyskane przez różnych autorów pokazują niekorzystny wpływ miedzi i kadmu, zwłaszcza na sukces wykluwania (Calta 2001; Gonzales-Doncel i in., 2003), tempo rozwoju (Hodson i in., 1978; Jezierska i Słomińska 1997; Johnson i in., 2007), przeżywalność

i zaburzenia morfologiczne (Cheng i wsp. 2000; Chow i Cheng 2003; Hallare i wsp. 2005; Fraysse i in., 2006; Zhu i in., 2013; Sfakianakis i in., 2015). Wpływ miedzi i kadmu na wczesne stadia rozwoju wielu gatunków ryb karpiowatych został dobrze udokumentowany (Jeziarska i in., 2009), ale dane dotyczące toksyczności obu metali dla zarodków i larw jazi są nadal niekompletne.

Celem pracy było zbadanie wpływu miedzi i kadmu obecnych w wodzie w trakcie rozwoju zarodkowego na deformacje ciała nowo wyklutych larw jazia.

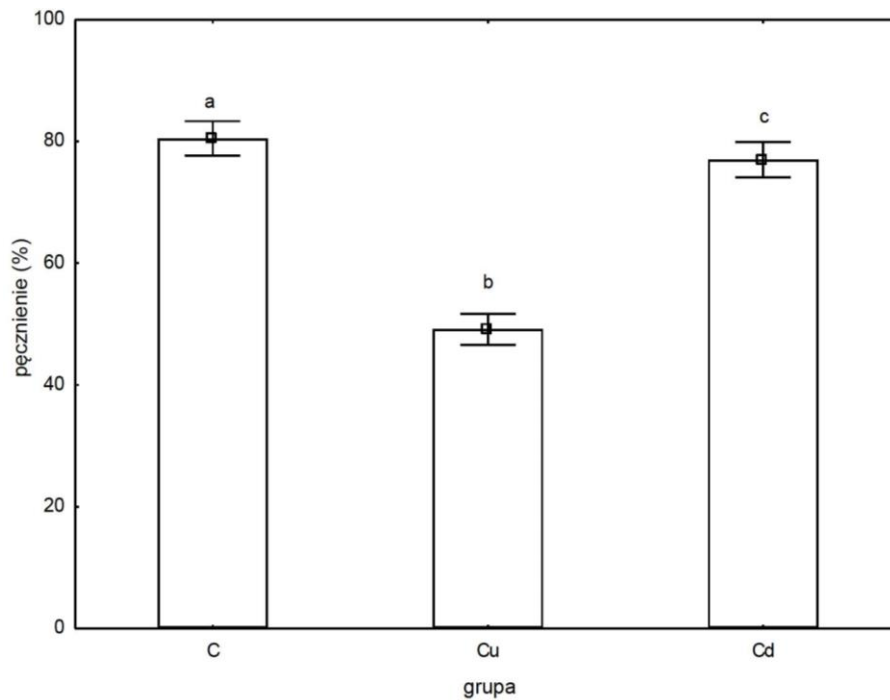
MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na zarodkach i świeżo wyklutych larwach jazia poddawanych w okresie rozwoju embrionalnego działaniu miedzi lub kadmu. Jaja (od 5 samic) oraz plemniki (od 5 samców) uzyskano podczas sztucznie stymulowanego tarła w Gospodarstwie Rybackim „Samokłęski” w Kamionce. Materiał przetransportowano w temperaturze 5°C do laboratorium Zakładu Fizjologii Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczo-Humanistycznego w Siedlcach. Jaja zapłodniono około 2 godzinach od pobrania, a następnie umieszczono na szalkach Petriego (a te w 2l akwariach) i podzielono na trzy grupy badawcze (4 powtórzenia po 160 jaj w każdej): kontrola – czysta woda wodociągowa, Cu – roztwór Cu o stężeniu 0,1 mg/dm³ (otrzymany z soli CuSO₄) i Cd – roztwór Cd o stężeniu 0,1 mg/dm³ (uzyskany z soli CdCl₂). Woda (o temperaturze 16°C) była codziennie wymieniana i stale napowietrzana. Po 2 godzinach od zapłodnienia zmierzono średnice 25 całych jaj i żółtek w każdej grupie (powiększenie 12x1,6). Procent pęcznienia obliczono posługując się wzorem: $S = (c - d) \times 100 / d$, gdzie S – pęcznienie (przyrost średnicy jaja), c – średnica jaja, d – średnica żółtka. Jaja jazia w początkowym okresie rozwoju były nieprzezroczyste, co spowodowało, że ocenę tempa rozwoju embrionalnego można było prowadzić dopiero od etapu formowania ciała zarodka. Larwy bezpośrednio po wykluciu oglądano i liczone, oceniano ich morfologię, a osobniki u których stwierdzono zaburzenia klasyfikowano przy pomocy katalogów deformacji Jeziarskiej i in. (2000) oraz Lugowskiej i Kubik (2011). Obliczono odsetek każdego rodzaju deformacji wśród wszystkich zdeformowanych larw w każdej grupie. Podczas badań zarodki i larwy obserwowano i fotografowano codziennie za pomocą komputerowego systemu analizy obrazu MultiScan i mikroskopu stereoskopowego połączonego z aparatem. Zdjęcia posłużyły do stworzenia katalogu deformacji larw jazia.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą program STATISTICA 10. Normalność rozkładu badano za pomocą testu Shapiro-Wilka, a jednorodność wariancji za pomocą testu Levene'a. Wyniki pęcznienia jaj oraz tempo rozwoju zarodkowego wykazały normalny rozkład, w związku z czym analizowano je za pomocą ANOVA, a następnie testu post-hoc Tukey'a. Dla częstotliwości występowania typów deformacji larw (dane, które nie spełniały założeń ANOVA) przeprowadzono nieparametryczny test Kruskal-Wallis'a. Poziom istotności ustalono na $P \leq 0,05$. Dane przedstawiono jako średnie \pm SD.

WYNIKI

Po 120 minutach od zapłodnienia (Fig. 1) najbardziej napęczniała ikra w grupie kontrolnej (81%), podczas gdy w grupach poddawanych działaniu każdego z metali procent pęcznienia był znacząco niższy, przy czym proces pęcznienia znacząco bardziej zahamowała miedź (odpowiednio: 49% w grupie Cu i 77% w grupie Cd).



Rys 1. Wpływ miedzi i kadmu na pęcznienie ikry jазia (test post-hoc Tukey'a; n=25, średnie oznaczone różnymi literami a, b, c różnią się istotnie przy $P \leq 0,05$).

Oba metale zmniejszyły tempo rozwoju embrionalnego, zwłaszcza na etapie pojawienia się ruchów ciała zarodków, które nastąpiło około 44 godziny później niż w grupie kontrolnej. Skutkowało to opóźnieniem procesu wykluwania (tab. 1). Wpływ obu metali na samo wykluwanie był różny: Cu nieznacznie wydłużyła proces (do 22 godzin), natomiast obecność Cd skróciła go do 16 godzin, w porównaniu do 21 godzin w grupie kontrolnej.

Tabela 1

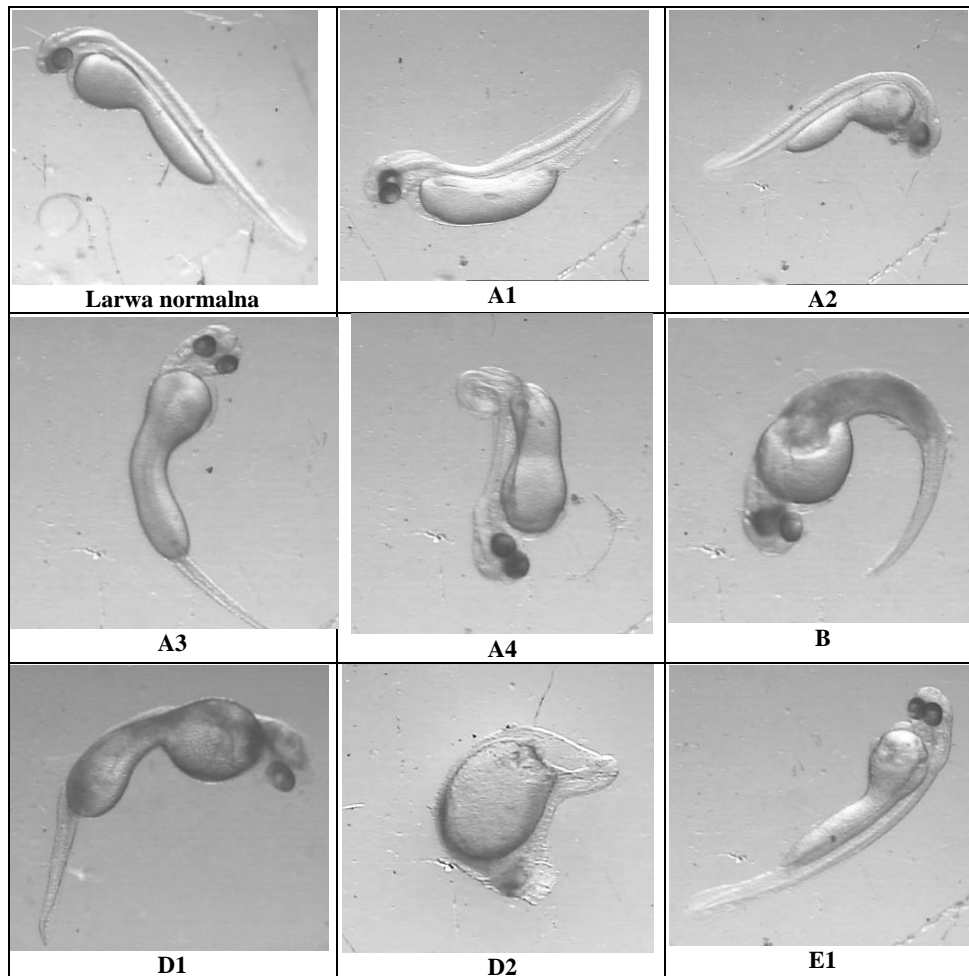
Wpływ miedzi i kadmu na tempo rozwoju embrionalnego jазia (test post-hoc Tukey'a; n=25)

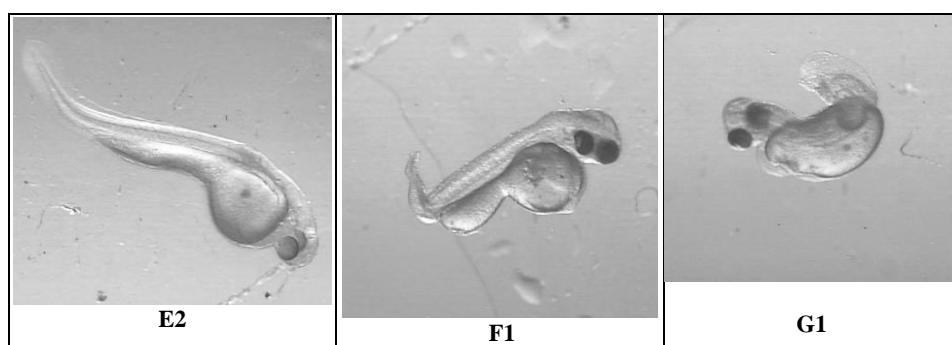
Etap	Kontrola	Cu	Cd
Blastula drobnokomórkowa	2,0 ±0,07 ^a	5,0 ±0,25 ^b	2,5 ±0,35 ^c
Formowanie ciała zarodka	19 ±0,07 ^a	24 ±0,28 ^b	21 ±0,35 ^c
Pigmentacja oka	65 ±1,37 ^a	72 ±2,12 ^b	68 ±2,12 ^c
Ruchy ciała	71 ±1,41 ^a	115 ±1,78 ^b	115 ±1,86 ^b
Początek wykluwania	114 ±0,71 ^a	128 ±2,12 ^b	125 ±1,79 ^c
Koniec wykluwania	135 ±0,56 ^a	150 ±1,99 ^b	141 ±1,71 ^c

Średnie w wierszach oznaczone różnymi literami a, b, c różnią się istotnie, przy $P \leq 0,05$

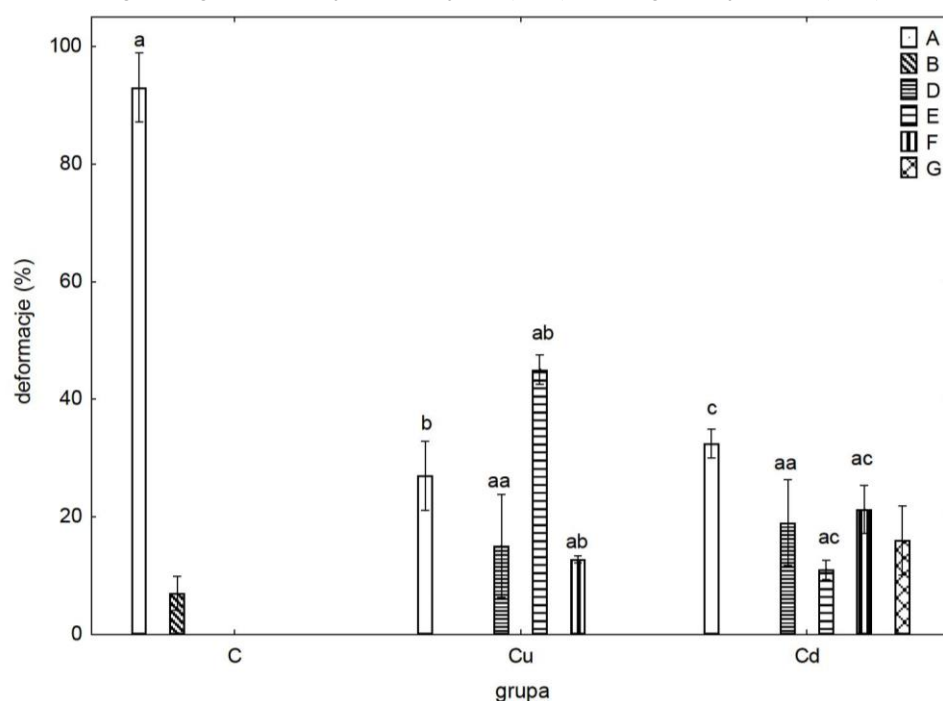
Tabela 2

Typy deformacji larw jазia: A – skrzywienie kręgosłupa (A1 – lordoza, A2 – kifoza, A3 – skolioza w okolicy ogona, A4 – skolioza w okolicy ogonowej i brzusznej); B – larwa w kształcie litery; C wykazująca skrócenie ciała, skrzywienie kręgosłupa i deformację woreczka żółtkowego; D – deformacja głowy z towarzyszącym skrzywieniem kręgosłupa i deformacją woreczka żółtkowego (D1 – częściowy brak pigmentacji oczu, D2 – brak oczu); E – zniekształcenie woreczka żółtkowego z towarzyszącą skoliozą w okolicy brzusznej (E1 – obrzęk ogonowej części woreczka żółtkowego, E2 – powiększona ogonowa część woreczka żółtkowego – w kształcie groszku); F – obrzęk serca (F1 – obrzęk serca i skrzywienie kręgosłupa w okolicy ogonowej i brzusznej, któremu towarzyszą zniekształcenia woreczka żółtkowego i zakrzepy w naczyniach woreczka żółtkowego); G – skrócone ciało (G1 – skrócone ciało, któremu towarzyszy złożone skrzywienie kręgosłupa, obrzęk i zniekształcenie woreczka żółtkowego).





Larwę jазia o prawidłowej budowie morfologicznej cechuje prosty kręgosłup, woreczek żółtkowy szerszy w przedniej części a zwężający się stopniowo ku tyłowi (Tab. 2). Świeżo wyklute larwy жазia o nieprawidłowej morfologii, wykazywały sześć głównych typów wad rozwojowych ciała według katalogów deformacji Jezierskiej i in. (2000) oraz Ługowskiej i Kubik (2011).



Rys 2. Wpływ miedzi i kadmu na częstotliwość występowania różnych typów deformacji larw жазia (test Kruskal-Wallis'a); $P \leq 0,05$; różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie pomiędzy grupami; A – skrzywienie kręgosłupa; B – larwa w kształcie litery C wykazująca skrócenie ciała, skrzywienie kręgosłupa i deformację woreczka żółtkowego; D – deformacja głowy z towarzyszącym skrzywieniem kręgosłupa i deformacją woreczka żółtkowego; E – zniekształcenie woreczka żółtkowego z towarzyszącą skoliozą w okolicy brzusznej; F – obrzęk serca; G – skrócone ciało.

W grupie kontrolnej większość zdeformowanych larw wykazywała skrzywienie kręgosłupa, a tylko 7% z nich miała ciało w kształcie litery C – typ B (Fig. 2). W grupach Cu i Cd deformacje kręgosłupa zaobserwowano u około 30% larw, natomiast nie stwierdzono deformacji typu B. Bardziej złożone wady rozwojowe (typy D – G) obserwowano tylko w grupach eksponowanych na metale. Deformacje głowy (typ D) w obu grupach Cu i Cd stwierdzono u około 17% zdeformowanych osobników. Wady pęcherza żółtkowego (E) występowały znacząco częściej w grupie Cu, podczas gdy obrzęk serca (F) częściej notowano w grupie Cd. Larwy o skróconym ciele (G) obserwowano tylko w grupie Cd.

DYSKUSJA

Różnego rodzaju zaburzenia rozwojowe mogą być również spowodowane przez stres oksydacyjny wywołany metalami, w tym peroksydację lipidów, uszkodzenie DNA i karbonylację białek lub upośledzoną ekspresję genów, które zakłócają funkcje komórkowe (Cavas, 2008; Cavas et al., 2005; Grygoryev et al., 2008; Jia et al., 2011).

Chorion to gruba, wielowarstwowa osłonka, całkowicie okrywająca dojrzały oocyt ryb (Cotelli i in., 1988). Pełni ona dwie podstawowe funkcje: po pierwsze w procesie zapłodnienia zapobiega polispermii i prawdopodobnie dostarcza sygnały rozpoznawcze z interakcji gamet, a po drugie – stanowi barierę ochronną między zarodkiem a środowiskiem zewnętrznym, po napełnieniu ikry (Mizell i in., 1996; von Westernhagen, 1988; Weis i Weis, 1991; Gellert i Heinrichsdorff, 2001). Proces pęcznienia ikry rozpoczyna się w momencie pierwszego kontaktu ikry z wodą. Przepuszczalna osłona jaja pozwala wodzie i jonom wnikać do wnętrza jaja. Proces ten zachodzi w wyniku wysokiego ciśnienia osmotycznego wytwarzanego przez koloidy białkowe. Są one uwalniane do przestrzeni okołożółtkowej przez błonę żółtkową i zatrzymywane przez chorion (Hoar i Randall, 1969; Peterson i Martin-Robichaud, 1982). Pęcznienie ikry jest możliwe tylko w okresie przepuszczalności chorionu, tj. przed stwardnieniem. Według Hoar i Randall (1969) utwardzanie jest spowodowane wewnętrzną warstwą glikoproteinową chorionu oraz jonami wapnia, fosfolipidami i enzymami utwardzającymi, obecnymi w płynie okołożółtkowym. W pełni utwardzony chorion chroni zarodek zarówno przed urazami mechanicznymi, jak i dostępem toksycznych substancji ze środowiska.

W prezentowanych badaniach oba metale znacząco zmniejszyły pęcznienie ikry jazia. Dane dotyczące wpływu czynników środowiskowych na pęcznienie jaj ryb są bardzo skąpe. Zmniejszone pęcznienie badano tylko u karpia w różnych stężeniach miedzi: 0,05 mg/dm³ i 0,2 mg/dm³ (Jezierska i Słomińska, 1997) oraz kadmu: 0,001-0,01 mg/dm³ (Witeska i in., 1995), 5-50 mg/dm³ (Calta 2001) i 0,2-0,7 mg/dm³ (Sikorska i Lugowska 2005).

Podczas pęcznienia jony metali przenoszone przez wodę mogą z łatwością przenikać do wnętrza jaja, ale po stwardnieniu chorionu proces ten jest utrudniony (Nguyen i in., 1998; Williams i Holdway 2000; Kong i in., 2013). Według Beattie i Pascoe (1978) metale gromadzą się głównie w osłonce jajowej – po 22 godzinach ekspozycji jaj *Salmo salar* na 10 mg/dm³ Cd, 98% metalu związało się z osłonką jaja, 1,8% zakumulowało się w zarodku, a 0,2% w woreczku żółtkowym. Bardzo podobne wyniki kumulacji kadmu w tym samym stężeniu uzyskał Michibata (1981) dla jaj *Oryzias latipes*. Zanieczyszczenie wody metalami ciężkimi podczas pęcznienia może wpłynąć na dalszy rozwój zarodków w dwojaki sposób: przez nieefektywne twardnienie chorionu,

co umożliwi dalsze przenikanie metali do wnętrza jaja (Gonzales-Doncel i in., 2003) lub przez zahamowanie pęcznienia.

Prawdopodobną przyczyną zahamowania pęcznienia przez metale jest ich gromadzenie się w chorionie oraz wnikanie do wnętrza jaja. Stouthart i in., (1994) sugerowali, że ołów wiąże się z mukopolisacharydami osłonki jajowej, zmieniając jej przepuszczalność, co powoduje zaburzenia wymiany jonowej między płynem okołozółtkowym a środowiskiem zewnętrznym. Metale mogą również wpływać na właściwości fizyczne powierzchni jaja. Benoit i Holcombe (1978) stwierdzili, że poddawane działaniu cynku tuż po tarle jaja *Pimephales promelas* stały się lepkie i dość łamliwe. Według Korwin-Kossakowskiego (1996) w niedostatecznie napęczniałym jaju zarodek nie może zmieniać swojej pozycji w końcowej fazie rozwoju embrionalnego (co 5-10 sekund), co jest niezbędne do prawidłowego rozwoju i prawidłowego przebiegu wykluwania.

W prezentowanych badaniach metale opóźniły rozwój embrionalny, szczególnie etap pojawienia się ruchów ciała zarodka, co skutkowało opóźnionym początkiem wylęgu. W grupie eksponowanej na Cu wylęg trwał o godzinę dłużej, a w grupie Cd o sześć godzin krócej w porównaniu z kontrolą. Opóźnienie rozwoju embrionalnego, jako efekt inkubacji w wodzie zanieczyszczonej różnymi metalami, obserwowali także Rask (1983), Cleveland i in., (1986), Jezierska i Słomińska (1997) oraz Ługowska i Jezierska (2000).

Zahamowanie tempa wykluwania może być spowodowane różnymi mechanizmami, np.: zmniejszoną ruchliwością zarodków i nieprawidłową aktywnością lub dystrybucją enzymu wyklucia – chorionazy (Rosenthal i Alderrazy 1976), toksycznym działaniem metali (Hagenmaier 1974) lub trudnościami w przerwaniu niewystarczająco nadtrawionej enzymem wyklucia osłonki jajowej (Sinha i Kanamadi 2000). Wzrost tempa wykluwania pod wpływem metali obserwowany w prezentowanej pracy, mógł być związany z uszkodzeniem przez nie gruczołów wyklucia (Miś i in., 1995, 1996; Miś i Bigaj, 1997), co mogło skutkować wcześniejszym uwalnianiem chorionazy lub wzrostem jej wydzielania pod wpływem stresu.

W prezentowanej pracy wyróżniono 6 typów deformacji ciała larw jazia spowodowanych inkubacją jaj w wodzie zawierającej metale ciężkie: skrzywienie kręgosłupa (A), wygięcie ciała w kształt litery C (B), deformacja głowy (D), deformacja woreczka żółtkowego (E), obrzęk serca (F) i skrócenie ciała (G). Z wyjątkiem typu B, wszystkie zaobserwowano u larw narażonych na kontakt z metalem. Anomalie te były podobne do opisywanych dla innych gatunków ryb po ekspozycji na różne metale: np. *Cyprinus carpio* (Jezierska i in., 2000; Ługowska i Witeska, 2004; Ługowska, 2007), *Ctenopharyngodon idella* (Ługowska i in., 2002; Ługowska i Kubik, 2011) lub *Danio rerio* (Cheng i in., 2000).

Etiologia wad rozwojowych ciała nie jest jednak do końca jasna. Korwin-Kossakowski (1996) uważał opóźnienie pęcznienia jaj za możliwą przyczynę deformacji ciała zarodków. Przestrzeń wewnątrz niewystarczająco napęczniałych jaj nie była dostatecznie duża dla prawidłowego rozwoju zarodka, co skutkowało wadami rozwojowymi widocznymi u wyklutej larwy. Za kolejną możliwą przyczynę deformacji ciała larw uważa się zaburzenia wymiany jonowej. Konkurencja między Cd^{2+} lub Cu^{2+} i Ca^{2+} (oraz wypieranie Ca^{2+} z połączeń pozakomórkowych i białek wiążących Ca^{2+}) jest jednym z mechanizmów toksycznego działania tych metali na błony komórkowe stabilizowane przez Ca^{2+} (Nieboer i Richardson, 1980). Niyogi i Wood (2004) opisali hamowanie wychwytu Ca^{2+} w wyniku konkurencji między Cd^{2+} i Ca^{2+} . Według Verboost i in. (1988), Cd^{2+} spowodował zahamowanie transportu Ca^{2+} , zajmując miejsce dla transportu Ca^{2+} w Ca^{2+} -ATPazie.

Schoenmakers i in. (1992) potwierdzają, że hamowanie Ca^{2+} jest jednym z mechanizmów, poprzez które Cd^{2+} hamuje wchłanianie wapnia w jelitach i zaburza homeostazę wapnia u ryb. Te zaburzenia transportu Ca^{2+} i homeostazy mogą skutkować nieprawidłowościami w szkielecie. Muramoto (1981) podał obniżenie poziomu wapnia i fosforu jako przyczynę uszkodzenia kręgosłupa karpia wywołanego przez Cd. Niektórzy autorzy proponowali możliwe przyczyny określonych typów wad rozwojowych wywołanych metalami. Na przykład obrzęk miałby swoją przyczynę w nieszczelności naczyń śródbłonna zaopatrujących woreczek żółtkowy w wyniku dysfunkcji sercowo-naczyniowej (Guiney i in., 1990) lub można go było interpretować jako wynik zaburzeń metabolicznych lub osmotycznych, prawdopodobnie spowodowanych nieprawidłowym funkcjonowaniem mitochondriów (Sinha i Kanamadi, 2000). Cheng i in. (2000) przypisali deformacje kręgosłupa zmniejszeniu tworzenia się zarówno miozyny, jak i miotomu, niezbędnych do prawidłowego rozwoju zdrowego układu mięśniowo-szkieletowego. Wady rozwojowe ogona, takie jak deformacja i skrzywienie ogona, można wyjaśnić genetycznie – jako wynikające z niezdolności zarodków poddawanych działaniu Cd do ekspresji genu EVX1, co ma znaczenie podczas wydłużania ogona (Cheng i in., 2000) lub rozwojowo – przez zaburzoną migrację komórek prekursorowych mezodermy somatycznej (Ho i Kane 1990). Przykurcz mięśni podczas wylęgu można uznać za możliwą przyczynę deformacji szkieletu (Holcombe i in., 1976).

WNIOSKI

Ekspozycja zarodków jазia na pierwiastki Cu i Cd podczas rozwoju zarodkowego miała znaczący wpływ na ich rozwój:

1. Oba metale znacząco zmniejszyły pęcznienie jaj, tempo rozwoju (zwłaszcza pojawienie się ruchów ciała) oraz opóźniły wykluwanie, podczas gdy sam czas wylęgu był nieznacznie wydłużony pod wpływem Cu i skrócony w obecności Cd (w porównaniu z kontrolą). Oba metale spowodowały wystąpienie podobnych typów wad rozwojowych larw, ale obecność kadmu spowodowała wystąpienie zaburzeń bardziej skomplikowanych.

2. Porównanie toksyczności obu metali podczas embrionalnego rozwoju jазi pokazuje, że miedź wywiera większy wpływ podczas embriogenezy (obrzęk i tempo rozwoju), podczas gdy toksyczne skutki powodowane przez kadm były bardziej widoczne dopiero u świeżo wylutych larw.

3. Zaburzenia morfologiczne larw mogą służyć jako bioindykator zanieczyszczenia wód metalami ciężkimi.

PIŚMIENNICTWO

- Asagba S.O., Eriyamremu G.E., Emudainohwo J.O.T, Okoro I. (2008). Oxidative enzymes in tissues of the catfish (*Clarias gariepinus*) exposed to varying levels of cadmium. *Environmentalist*, 30: 260-266. (DOI:10.1007/s10669-010-9272-y).
- Baker J.T.P. (1969). Histological and electron microscopical observations on copper poisoning in the winter flounder (*Pseudopleuranectes americanus*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 26: 2785-2739.
- Beattie J.H., Pascoe D. (1978). Cadmium uptake by rainbow trout, *Salmo gairdneri* eggs and alevins. *Journal of Fish Biology*, 1: 631-637. (DOI:10.1111/j.1095-8649.1978.tb03477.x).

- Benoit D.A., Holcombe G.W. (1978) The effects of zinc on fathead minnows *Pimephales promelas*. *Journal of Fish Biology*, 13: 701-708.
- Bieniarz K., Epler, P. (1994). Wpływ miedzi na ryby [in Polish]. *Komunikaty Rybackie*, 4: 17-19.
- Bouraoui, Z., Banni, M., Ghedira, J., Clerandau, H., Guerbej, H., Narbonne, J.F., Bousseta, H. (2008). Acute effects of cadmium on liver phase I and II enzymes and metallothionein accumulation on sea bream *Sparus aurata*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 34(3): 201-207.
- Boyd C.E. (1990). *Water quality in ponds for aquaculture*. Agriculture Experiment Station, Auburn University, Alabama.
- Calta M. (2001). Effect of aqueous cadmium on embryos and larvae of mirror carp. *Indian Journal of Animal Sciences*, 71: 885-888.
- Cheng S.H., Wing Kong Wai A., Hung So C., Shiu Sun Wu R. (2000). Cellular and molecular basis of cadmium-induced deformities in zebrafish embryos. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19(12): 3024-3031.
- Chow E.S.H., Cheng S.H. (2003) Cadmium affects muscle type development and axon growth in zebrafish embryonic somitogenesis. *Toxicological Sciences*, 73: 149-159.
- Cleveland L., Little E.E., Hamilton S.J, Buckler D.R, Hunn J.B. (1986). Interactive toxicity of aluminum and acidity to early life stages of brook trout. *Transactions of the American Fisheries Society*, 115: 610-620.
- Cotelli F., Andronico F., Brivio M., Lamia C.L. (1988) Structure and Composition of the Fish Egg Chorion (*Carassius auratus*). *Journal of Ultrastructure and molecular structure research*, 9: 70-78.
- Czczot H., Skrzycki M. (2010). Kadm – pierwiastek całkowicie zbędny dla organizmu. [in Polish: Cadmium – element completely unnecessary for the body]. *Postępy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej*, 64: 38-49.
- Drąg-Kozak E. , Socha M. , Gosiewski G., Łuszczek-Trojnar E., Chyb J., Popek W. (2018). Protective effect of melatonin on cadmium-induced changes in some maturation and reproductive parameters of female Prussian carp (*Carassius gibelio* B.). *Environmental Science and Pollution Research* 25(10):9915-9927. (DOI: 10.1007/s11356-018-1308-8).
- Drąg-Kozak E. , Pawlica-Gosiewska D. , Gawlik K. , Socha M. , Gosiewski G., ŁuszczekTrojnar E., Solnica B., Popek W. (2019) Cadmium-induced oxidative stress in Prussian carp (*Carassius gibelio* Bloch) hepatopancreas: ameliorating effect of melatonin. *Environmental Science and Pollution Research* 26(12):12264-12279. (DOI: 10.1007/s11356-019-04595-3).
- Fleming C.A., Trevors J.T. (1989). Copper toxicity and chemistry in environment, a review. *Water, Air and Soil Pollution*, 44: 143-158.
- Fraysse B., Mons R., Garric J. (2006). Development of zebrafish 4-day embryo-larval bioassay to assess toxicity of chemicals. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 63: 253-267.
- Froese R., Pauly D. (2015). *Leuciscus idus* (Linnaeus, 1758) Ide. *Fish Base*. Available: <http://www.fishbase.org/summary/2801>.
- Gardner G.R., LaRoche G. (1973). Copper Induced Lesions in Estuarine Teleosts. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 30(3): 363-368. (DOI:10.1139/f73-066).
- Gellert G., Heinrichsdorff J. (2001) Effect of age on the susceptibility of zebrafish eggs to industrial wastewater. *Water Research*, 35: 3754-3757.

- Gonzales-Doncel M., Larrea M., Sanchez-Fortun S., Honton D.E. (2003). Influence of water hardening of the chorion on cadmium accumulation in medaka *Oryzias latipes* eggs. *Chemosphere*, 52: 75-83.
- Guiney P.D., Walker M.K., Peterson R.E. (1990). The edema in TCDD-exposed lake trout sac fry is an ultrafiltrate of blood, Abstracts. Society of Environmental Toxicology and Chemistry Meeting, Arlington, VA, USA 11-15.
- Hagenmaier H.E. (1974). The hatching process in fish embryos. *Wilhelm Roux' Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen*, 175(2): 157-162.
- Hallare A.V., Schirling M., Luckenbach T., Kohler H.R., Triebkorn R. (2005). Combined effects of temperature and cadmium on developmental parameters and biomarker responses in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *The Journal of Thermal Biology*, 30: 7-17. (DOI:10.1016/j.jtherbio.2004.06.002).
- Ho R.K., Kane D.A. (1990). Cell-autonomous action of zebrafish spt-1 mutation in specific mesodermal precursors. *Nature*, 348: 728-730.
- Hoar W.S., Randall D.J. (1969). *Fish physiology*. Academic Press, New York and London.
- Hodson P.V., Blunt B.R., Spry D.J. (1978). Chronic toxicity of waterborne and dietary lead to rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in lake Ontario water. *Water Research*, 12: 869-878.
- Holcombe G.W., Benoit D.A., Leonard E.N., McKim J.M. (1976). Long-term effects of lead exposure on three generations of brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Journal of the Biological Board of Canada*, 33: 1731-1741.
- Hwang P.P., Lin S.W., Lin H.C. (1995). Different sensitivities to cadmium in tilapia larvae (*Oreochromis mossambicus*; Teleostei). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 29: 1-7.
- Iger Y., Lock R.A.C., Van Der M., Wendelaar Bonga S.E. (1994). Effects of water-borne cadmium on the skin of the common carp (*Cyprinus carpio*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 26: 342-350.
- Jeziarska B., Słomińska I. (1997). The effect of copper on common carp (*Cyprinus carpio* L.) during embryonic and postembryonic development. *Polskie Archiwum Hydrobiologii*, 44: 261-272.
- Jeziarska B., Witeska M. (2001) Metal toxicity to fish. *Wydawnictwo AP, Siedlce*, pp. 318.
- Jeziarska B., Ługowska K., Witeska, M. (2009). The effects of heavy metals on embryonic development of fish (a review). *Fish Physiology and Biochemistry*, 35: 625-640.
- Jeziarska B., Ługowska K., Witeska M., Sarnowski P. (2000). Malformations of newly hatched common carp larvae. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, 3(2).
- Johnson A., Carew E., Sloman K.A. (2007). The effects of copper on the morphological and functional development of zebrafish embryos. *Aquatic Toxicology*, 84: 431-438.
- Karan V., Vitorovic S., Tutundzic V., Poleksic V. (1998). Functional enzymes activity and gill histology of carp after copper sulfate exposure and recovery. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 40: 49-55.
- Kong X., Jiang H., Wang S., Wu X., Fei W., Li L., Nie G., Li X. (2013). Effects of copper exposure on the hatching status and antioxidant defense at different developmental stages of embryos and larvae of goldfish *Carassius auratus*. *Chemosphere*, 92: 1458-1464. (DOI:10.1016/j.chemosphere.2013.04.004).

- Korwin-Kossakowski M. (1996). Inhibition of eggs swelling – one of possible causes of carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae deformation. Conference Fish Reproduction, Ceske Budejovice.
- Kottelat M., Freyhof J. (2007). Handbook of European freshwater fishes. Publications Kottelat, Cornol and Freyhof, Berlin.
- Krejszef S., Targońska K., Żarski D., Kucharczyk D. (2009). Domestication affects spawning of the ide (*Leuciscus idus*) – preliminary study. Aquaculture, 295: 145-147.
- Larsson A. (1977). Some experimentally induced biochemical effects of cadmium on fish from the Baltic Sea. Ambio Spec. Rep., 5: 1-67.
- Lauren D.J., McDonald D.A. (1986). Influence of water hardness, pH and alkalinity on the mechanisms of copper toxicity in juvenile rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 43: 1488-1496.
- Lelek A. (1987). The freshwater fishes of Europe (9) AULA-Verlag, Wiesbaden. development and present status. Folia Zoologica, 53: 215-226.
- Lizardo-Daudt H.M., Bains O.S., Singh C.R., Kennedy C.J. (2007). Biosynthetic capacity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) interrenal tissue after cadmium exposure. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 52 (1): 90-96. (DOI:10.1007/s00244-005-0155-z).
- Ługowska K. (2007). The effect of cadmium and cadmium/copper mixture during the embryonic development of deformed common carp larvae. Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, 10(4).
- Lusk S., Hanel L., Luskova V. (2004) Red list of the ichthyofauna of the Czech Republic:
- Ługowska K., Jezierska B. (2000). Effect of copper and lead on common carp embryos and larvae at two temperatures. Folia Universitatis Agriculturae Stetinensis 205, Piscaria, 2: 29-38.
- Ługowska K., Kubik J. (2011). Malformations of barbel (*Barbus barbus*) larvae induced by copper and cadmium. Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych, 48: 170-178.
- Ługowska K., Witeska M. (2004). The effect of copper exposure during embryonic development on deformations of newly hatched common carp larvae, and further consequences. Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, 7(2).
- Ługowska K., Jezierska B., Witeska M., Sarnowski P. (2002). Deformations of newly hatched grass carp larvae. Acta Scientiarum Polonorum, Piscaria, 1: 15-21.
- McGeer J.C., Niyogi S., Scott Smith D. (2011). Homeostasis and Toxicology of Non-Essential Metals. In: Wood CM, Farrell AP, Brauner CJ (Eds.) Cadmium of the Fish Physiology, 31B. Academic Press, New York, USA, Elsevier Inc., pp. 125-184.
- Meybeck M., Lestel L., Bonte P., Moilleron R., Collin J.L., Rousselot O., Herve D., de Ponteves C., Grosbois C., Thevenot D.R. (2007). Historical perspective of heavy metals contamination (Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Zn) in the Seine River basin (France) following a DPSIR approach (1950-2005). Science of The Total Environment, 375: 204-231.
- Michibata H. (1981). Uptake and distribution of cadmium in the egg of the teleost, *Oryzias latipes*. Journal of Fish Biology, 19: 691-696.
- Michael P. (1986). Ecological methods for field and laboratory investigations. TATA McGraw-Hill Publishing Company Ltd., New Delhi.

- Miś J., Bigaj J. (1997). Hatching glands of carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos from the eggs incubated at various concentrations of zinc or copper. Polish Archives of Hydrobiology, 44: 153-155.
- Miś J., Bieniarz K., Epler P., Sokołowska-Mikołajczyk M., Chyb J. (1995). Incubation of fertilized common carp (*Cyprinus carpio* L.) eggs in different concentrations of copper. Polish Archives of Hydrobiology, 42: 269-276.
- Miś J., Bieniarz K., Epler P., Sokołowska-Mikołajczyk M. (1996). Incubation of fertilized common carp (*Cyprinus carpio* L.) eggs in different concentrations of zinc. Polish Archives of Hydrobiology, 43: 79-86.
- Mizell M., Romig E., Stegeman J., Smolowit R., Katayani R. (1996). Zebrafish embryo monitoring of the aquatic environment: Dose response synergism revealed in combinations of pollutant chemical mixtures. Biology Bulletin, 191: 292-294.
- Moore J.W., Ramamoorthy S. (1984). Heavy Metals in Natural Waters: Applied Monitoring and Impact Assessment. Springer-Verlag New York Inc., New York.
- Morgan D.L., Gill H.S., Potter I.C. (1995). Life cycle, growth and diet of Balston's pygmy perch in its natural habitat of acidic pools. Journal of Fish Biology, 47: 808-825.
- Muramoto S. (1981). Vertebral column damage and decrease of calcium concentration in fish exposed experimentally to cadmium. Environmental Pollution Series, 24: 125-133. (DOI:10.1016/0143-1471(81)90074-X)
- Newman M.C., Unger M.A. (2003). Fundamentals of Ecotoxicology. 2nd ed. Lewis Publishers, Boca Raton.
- Nguyen V.H., Schmid B., Trout J., Connors S.A., Ekker M., Mullins M.C. (1998). Ventral and lateral regions of the zebrafish gastrula, including the neural crest progenitors, are established by a bmp2b/swirl pathway of genes. Developmental Biology, 199: 93-110.
- Nico L., Fuller P. (2008). Acanthogobius flavimanus. USGS Non-indigenous Aquatic Species Database, Gainesville, Florida.
- Nieboer E., Richardson H.S. (1980). The replacement of the nondescript term heavy metals by a biologically and chemically significant of metal ions. Environmental Pollution, 1: 3-26.
- Niyogi S., Wood C.M. (2004). Kinetic analyses of waterborne Ca and Cd transport and their interactions in the gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and yellow perch (*Perca flavescens*), two species differing greatly in acute waterborne Cd sensitivity. The Journal of Comparative Physiology, B174:n 243-253.
- Peterson R.H., Martin-Robichaud D.J. (1982). Water uptake by Atlantic salmon ova as affected by low pH. Transactions of the American Fisheries Society, 111: 772-774.
- Rask M. (1983). The effect of low pH on perch, *Perca fluviatilis* L. I. Effects of low pH on the development of eggs of perch. Annales Zoologici Fennici, 20: 73-76.
- Riehl R., Baensch H.A. (1991). Aquarien Atlas. Band. 1. Melle: Mergus, Verlag für Natur-und Heimtierkunde, Germany.
- Robins C.R., Bailey R.M., Bond C.E., Brooker J.R., Lachner E.A., Lea R.N., Scott W.B. (1991). World fishes important to North Americans, exclusive of species from the continental waters of the United States and Canada. American Fisheries Society, Special Publication 21, Bethesda, Maryland.

- Rosenthal I.I., Alderdice D. (1976). Sublethal effects of environmental stressors, natural and pollutional, on marine fish eggs and larval. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 33: 2047-2655.
- Sastry K.V., Gupta P.K. (1979). Effect of cadmium on the digestive system of the teleost fish, *Heteropneustes fossilis*. *Environmental Research*, 19(2): 221-230.
- Sandhu N., Vijayan M.M. (2011). Cadmium-mediated disruption of cortisol biosynthesis involves suppression of corticosteroidogenic genes in rainbow trout. *Aquatic Toxicology*, 103 (1-2): 92-100. (DOI:10.1016/j.aquatox.2011.02.011)
- Schiemer F., Spindler T. (1989). Endangered fish species of the Danube River in Austria. *Regulated Rivers: Research Management*, 4: 397-407.
- Schoenmakers T.J.M., Klaren P.H.M., Flik G., Lock R.A.C., Pang P.K.T., Wendelaar Bonga S.E. (1992). Actions of cadmium on basolateral plasma membrane proteins involved in calcium uptake by fish intestine. *Journal of Membrane Biology*, 127: 161-172.
- Scoullou M.G., Vonkeman I., Thornton Z., Makuch Z. (2001). EUPHEMET – Towards an integrated EU policy for heavy metals. For EU DG12 – Research Directorate-General, Brussels. Kluwer, Dordrecht (in press).
- Scott G.R., Sloman K.A., Rouleau C., Wood C.M. (2003). Cadmium disrupts behavioural and physiological response to alarm substance in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Experimental Biology*, 206: 1779-1790.
- Sfakianakis D.G., Renieri E., Kentouri M., Tsatsakis A.M. (2015). Effect of heavy metals on fish larvae deformities: A review. *Environmental Research*, 13: 246-255.
- Sikorska J., Ługowska K. (2005). The effect of cadmium on embryonic development of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Komunikaty Rybackie*, 3: 6-8.
- Sinha P., Kanamadi R. (2000). Effect of mercurial fungicide emisan-6 on the embryonic developmental stages of zebrafish, *Brachydanio rerio*. *Journal of Advanced Zoology*, 21 (1): 12-18.
- Smith R.C., Ainley D, Baker K., Domack E., Emslie S., Fraser B., Kennett J., Leventer A., Mosley-Thompson E., Stammerjohn S., Vernet M. (1999). Marine ecosystem sensitivity to climate change. *Bioscience*, 49: 393-404.
- Sorensen E.M. (1991). Metal poisoning in fish. CRC Press, Boca Raton, USA.
- Stokes P.M. (1979) Copper accumulations in aquatic biota. In: JO Nriagu (ed.) *Copper in the environment. Part 1 Ecological cycling*. New York, United States of America, Wiley, pp. 358-381.
- Stouthart A.J.H.X., Spanings F.A.T., Lock R.A.C., Wendelaar Bonga S.E. (1994). Effects of low water pH on lead toxicity to early life stages of the common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquatic Toxicology*, 30: 137-151.
- Szczerbik P., Mikołajczyk T., Sokolowska-Mikołajczyk M., Socha M., Chyb J., Epler P. (2006). Influence of long-term exposure to dietary cadmium on growth, maturation and reproduction of goldfish (subspecies: Prussian carp *Carassius auratus gibelio* B). *Aquatic Toxicol.* 77, 126-135.
- Targońska K., Kupren K., Żarski D., Król R, Kucharczyk D. (2011). Influence of thermal conditions on successful ide (*Leuciscus idus* L.) artificial reproduction during spawning season. *Italian Journal of Animal Sciencem*, 10: 209-212. (DOI:10.4081/ijas.2011.e50).

- US EPA (2007) ECOTOX Database. Published by the United States Environmental Protection Agency under <http://cfpub.epa.gov/ecotox/>.
- Verboost P.M., Flik G., Lock R.A.C., Wenedlaar Bonga S.E. (1988). Cadmium inhibits plasma membrane calcium transport. *Journal of Membrane Biology*, 102: 97-104.
- Von Westernhagen H. (1988). In *Fish Physiology, The Physiology of Developing Fish*; Hoar, W. S.; Randall, D. J., Eds.; Academic Press, London, pp. 253-330.
- Weis P., Weis J.S. (1991). The developmental toxicity of metals and metalloids in fish. In: *Metal Ecotoxicology: Concepts and Applications* (M. C. Newman and A. W. McIntosh, Eds.) Lewis Publishers, Chelsea, U.K.
- Williams N.D., Holdway D.A. (2000). The effects of pulse-exposed cadmium and zinc on embryo hatchability, larval development, and survival of Australian crimson spotted rainbow fish (*Melanotaenia fluviatilis*). *Environmental Toxicology*, 15: 165-173. (DOI:10.1002/1522-7278(2000)15:3o165::AID-TOX343.0.CO;2-Q).
- Witeska M., Jezierska B., Chaber J. (1995). The influence of cadmium on common carp embryos and larvae. *Aquaculture*, 129: 129-132.
- Witkowski A., Metzeltin D., Lange-Bertalot H., Bafana G. (1997). *Fogedia* gen. nov. (Bacillariophyceae), a new naviculoid genus from the marine littoral. *Nova Hedwigia*, 65(1-4): 79-98.
- Wüstemann O., Kammerad B (1995). *Der Hassel. Leuciscus leuciscus*. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.
- Zheng N., Wang Q.C., Zheng D.M. (2007). Health risk of Hg, Pb, Cd, Zn, and Cu to the inhabitants around Huludao Zinc Plant in China via consumption of vegetables. *Science of The Total Environment*, 38(3): 81-89.
- Zhu B., Liu T.Q., Wang G.X. (2013). Developmental toxicity of 3,4-dichloroaniline on Rare minnow (*Gobiocypris rarus*) embryos and larvae. *Chemosphere*, 90: 1132-1139.

Praca finansowana z badań statutowych Nr 387/14/S.

Katarzyna Ługowska, Elżbieta Kondera

Developmental anomalies in ide (*Leuciscus idus* L.) larvae caused by copper and cadmium

S u m m a r y

Embryos of ide were incubated at 0.1 mg dm³ of Cu, Cd or in clean tap water. Both metals significantly decreased swelling of eggs. Metals reduced the rate of embryonic development and rate of hatching. Newly hatched larvae showed six types of body malformations: spine curvature, C-shaped body, head deformation, yolk sac deformation, heart edema, and body shortening. In the control only first two types of deformations were observed, whereas after Cu and Cd exposures more severe malformations were found. During embryonic development copper affected more processes during the embryogenesis (swelling and rate of development) whereas toxic effects caused by cadmium were more significant after hatching in newly hatched larvae. Larval body deformities may be used as bioindicator of aquatic pollution with heavy metals.

KEY WORDS: fish, metal, toxicity, embryos, larvae