

The background of the cover is a close-up, microscopic view of fish scales. The scales are arranged in a roughly hexagonal pattern. Each scale shows distinct concentric growth rings, with a darker outer ring and a lighter inner ring, indicating the age and growth of the fish. The overall color palette is a mix of dark blues, greys, and light blues, with some highlights from the lighting.

Małgorzata Bonisławska

**Przebieg wczesnej ontogenezy
wybranych gatunków ryb
w wodach o zróżnicowanym zasoleniu**

Szczecin 2014

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

MAŁGORZATA BONISŁAWSKA

**Przebieg wczesnej ontogenezy
wybranych gatunków ryb
w wodach o zróżnicowanym zasoleniu**

SZCZECIN 2014

Recenzenci

TERESA OSTASZEWSKA

KRYSTYNA DEMSKA-ZAKĘŚ

Opracowanie redakcyjne

ALICJA BERNER

WYDANO ZA ZGODĄ

REKTORA ZACHODNIOPOMORSKIEGO UNIwersYTETU TECHNOLOGICZNEGO W SZCZECINIE

ISBN 978-83-7663-179-0

Wydawnictwo Uczelniane Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie

70-311 Szczecin, al. Piastów 48, tel. 091 449-47-60, e-mail: wydawnictwo@zut.edu.pl

Druk PPH Zapol, Dmochowski, Sobczyk Sp.j., 71-062 Szczecin, al. Piastów 42, tel. 091 434-10-21

e-mail: zarzad@zapol.com.pl

SPIS TREŚCI

| | |
|--|----|
| Wstęp | 5 |
| 1. Przegląd literatury | 9 |
| 1.1. Charakterystyka wód | 9 |
| 1.2. Przyczyny wzrostu zasolenia wód słodkich | 11 |
| 1.3. Zasolenie wód a ryby | 12 |
| 2. Cel pracy | 19 |
| 3. Materiał i metody | 21 |
| 3.1. Zapłodnienie i inkubacja jaj | 21 |
| 3.2. Analiza przebiegu embriogenezy badanych gatunków ryb | 22 |
| 3.3. Metodyka pomiarów jaj, larw i sporządzania preparatów osłonek jajowych | 23 |
| 3.4. Badania hydrochemiczne | 25 |
| 3.5. Analiza statystyczna | 26 |
| 4. Wyniki | 29 |
| 4.1. Wielkości charakteryzujące jaja badanych gatunków ryb inkubowanych w zróżnicowanych warunkach zasolenia wody | 29 |
| 4.2. Przebieg i czas trwania embriogenezy badanych gatunków ryb w zróżnicowanych warunkach zasolenia wody | 38 |
| 4.3. Charakterystyka larw badanych gatunków ryb wylęgniętych z jaj inkubowanych w zróżnicowanych warunkach zasolenia wody | 43 |
| 5. Dyskusja | 51 |
| 5.1. Zasolenie wody a przebieg embriogenezy | 51 |
| 5.2. Zasolenie wody a czas trwania embriogenezy i proces wylęgu | 63 |
| 5.3. Wpływ zasolenia wody na wielkość wylęgu i zniekształcenia ciała | 66 |
| 6. Podsumowanie i wnioski | 69 |
| Literatura | 71 |
| Summary | 81 |
| Zusammenfassung | 83 |

Wstęp

Najważniejszym etapem życia większości organizmów zwierzęcych (w tym ryb) jest etap wczesnej ontogenezy, czyli embriogeneza. Pojęcie to stosowane jest w odniesieniu do pierwszego etapu rozwoju osobniczego zwierząt wielokomórkowych rozmnażających się płciowo. Inaczej mówiąc, embriogeneza to mechanizmy rozwoju zarodkowego od zapłodnienia komórki jajowej do powstania organizmu zdolnego do samodzielnego bytowania poza osłonami jajowymi (u jajorodnych) lub poza układem rozrodczym samicy (u żyworodnych) – Jura i Klag (2005). Embriogeneza to procesy biologiczne zachodzące podczas formowania się zarodka w optymalnych warunkach otoczenia. W trakcie rozwoju zarodkowej komórki otrzymują sygnały, a następnie je przetwarzają i odpowiadając na nie, osiągają ostateczny etap zróżnicowania i położenia w tworzącym się wielokomórkowym organizmie (Molekularne mechanizmy rozwoju... 2002).

Oddziaływanie abiotycznych i biotycznych czynników środowiska (w tym zasolenia wody) na przebieg embriogenezy warunkuje sukces rozrodczy danego gatunku ryb, a względna ich stałość i stabilność zapewniają optymalne warunki życia. Rozwój zarodkowy różnorodnych gatunków ryb jajorodnych przebiega w wodach charakteryzujących się zróżnicowanym składem chemicznym, zróżnicowaną temperaturą, ciśnieniem, oświetleniem, zawartością tlenu, szybkością przepływu wody.

Zapłodniona ikra ryb może unosić się w wodzie, może być przytwierdzona do podłoża (np. kamieni) lub roślinności. Ryby tarła jesienno-zimowego, takie jak sieja *Coregonus lavaretus* (Linnaeus, 1758) i sielawa *Coregonus albula* (Linnaeus, 1758), składają ikrę na dnie jezior – sieja w litoralu na dnie piaszczystym lub żwirowo-kamienistym, zaś sielawa – na stokach jezior na roślinności lub piaszczystym dnie (Szczerbowski 2000a, b). Gatunki ryb tarła wiosenno-letniego z reguły mają ikrę kleistą i składają ją na roślinności (gatunki fitofilne), np. karp *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758), krąp *Blicca bjoerkna* (Linnaeus, 1758) i szczupak *Esox lucius* (Linnaeus, 1758) (Bryliński 2000a; Brylińska i Tadażewska 2000; Załachowski 2000). Ikra okonia *Perca fluviatilis* (Linnaeus, 1758) również składana jest na roślinności podwodnej oraz na różnorodnych przedmiotach, jednakże przyjmuje ona postać długich charakterystycznych wstęg (Terlecki 2000). Natomiast jaż *Leuciscus idus* (Linnaeus, 1758) i miętus *Lota lota* (Linnaeus, 1758) uznawane są za gatunki ryb litofitofilnych, co oznacza, że składają jaja zarówno na roślinności zanurzonej, pniach, jak i na kamieniach, żwirze i piasku (Bryliński 2000a; Tadażewska 2000). Ikra również może znajdować się w gniazdach pod opieką rodziców, np. ciernik *Gasterosteus aculeatus* (Linnaeus, 1758) lub może być inkubowana w jamie gębowej rodziców. Zjawisko to ma miejsce u ryb morskich z rodziny ariusowatych (*Ariidae*). U *Galeichtys felis* (Linnaeus, 1897/1898) ikrę inkubuje samiec, u *Arius commersoni* (Lacépède, 1803) – samica. Natomiast u słodkowodnych ryb z rodziny pielęgnicowatych (*Cichlidae*) zapłodnioną ikrę w pysku przeważnie przechowuje samica – stąd potoczna nazwa tej rodziny: pyszczaki (Merriman 1940; Tilney i Hecht 1993; Załachowski 1997).

Zjawiska geologiczne, zachodzące na Ziemi w poszczególnych erach i ich okresach (w drugiej połowie dewonu, w triasie, pod koniec okresu kredowego, w miocenie), spowodowały, z jednej strony, powstawanie, a z drugiej – zanikanie pewnych grup ryb. Ryby migrowały pomiędzy ekosystemami słodkowodnymi i morskimi (Nikolski 1970). Na przestrzeni wieków rozsiadanie poszczególnych gatunków ryb ulegało i wciąż ulega zmianom. W związku z zasiedlaniem przez ryby wszystkich typów wód na globie ziemskim musiały one, stając wśród innych kręgowców bardzo liczną grupę – ponad 30 tys. gatunków (Załachowski 1999), przystosować się do otaczającego środowiska i stworzyć z nim pewną „jedność”.

Ryby obecnie zamieszkują różnorodne akweny, poczynając od zimnych, wartkich strumieni górskich, a kończąc na abysalu (morskich głębinach), nie wyłączając okresowo wysychających słonych bagien (marszy) lub zarośli mangrowych, gdzie ryby narażone są na duże wahania zasolenia, temperatury i tlenu rozpuszczonego w wodzie.

Współczesny postęp techniczny i związana z nim antropopresja wymuszają niejako na niektórych gatunkach ryb podejmowanie wciąż nowych prób adaptacji do zmienionego w wyniku działalności ludzkiej środowiska wodnego. Dodatkowo rozwój akwakultury na świecie, spowodowany rosnącym zapotrzebowaniem na cenny składnik naszej diety, jakim jest mięso ryb, powoduje, że podejmowane są próby chowu i hodowli ryb w wodach charakteryzujących się warunkami nie zawsze optymalnymi dla bytowania danego taksonu. Wydaje się zatem, że zasadne jest, aby zachodzące w zmieniających się warunkach ekologicznych procesy embriofizjologiczne objąć pojęciem *ekofizjoembriologia ryb*.

W tym miejscu stwierdzić należy, że jednym z najbardziej oddziałujących czynników na procesy fizjologiczne ryb (oprócz temperatury i tlenu) jest zasolenie wody. Istotne jest, że wraz ze wzrostem zasolenia wody maleje rozpuszczalność gazów w wodzie, w tym tlenu – pierwiastka niezbędnego do przebiegu wszelkich procesów życiowych (choć ilość rozpuszczonych gazów w wodzie zależy również od intensywności procesów chemicznych i biologicznych w niej zachodzących).

Pomimo ogromu informacji na temat wpływu mineralizacji wody na bytowanie, rozwój, rozród i wzrost ryb nie wszystkie zjawiska zostały poznane i wyjaśnione. A zatem w celu poznania przyczyn zaburzeń w występowaniu pewnych gatunków ryb w ich naturalnych siedliskach (np. taksonów wrażliwych na zasolone wody w wyniku zanieczyszczeń), a także w celu uzyskania wartościowych rezultatów prac związanych z produkcją materiału zarybieńniowego, należy zebrać i uporządkować dane na ten temat, które stanowiąc będą cenne źródło informacji. Na podkreślenie zasługuje fakt, że wrażliwość na biotyczne i abiotyczne czynniki środowiska (w tym na zasolenie) maleje wraz z rozwojem, ze wzrostem i z dojrzewaniem organizmu. Dlatego tak istotne jest poznanie mechanizmów zachodzących już na etapie rozwoju zarodkowego ryb. Mechanizmy te, w późniejszym okresie rozwoju, umożliwiają prawidłowe funkcjonowanie organizmu w otoczeniu charakteryzującym się niekiedy nieco odmiennymi warunkami oraz wyznaczają zakresy potencjałów plastyczności decydujące o granicach adaptacji w sensie zarówno strukturalnym, jak i funkcjonalnym.

Niniejsza praca zawiera dwie zasadnicze części. W pierwszej części przedstawiono warunki abiotyczne środowiska bytowania, w tym warunki rozrodu wybranych gatunków ryb. W drugiej zaś – eksperymentalnej części – przedstawiono oddziaływanie wód o niewielkim zasoleniu – w zakresie od 1 do 5 PSU (Practical Salinity Unit – jednostka zasolenia równo-

ważna 1 ‰ lub $1,0 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$) na wybrane etapy embriogenezy ośmiu taksonów ryb słodkowodnych. Uzyskane wyniki, skonfrontowane z bogatą wiedzą licznych autorów, tworzą zrozumiały i jasny obraz zjawisk zachodzących na tym etapie ontogenezy ryb i związanych z nimi zmian, które na przestrzeni wieków na drodze ewolucji mogą przyczyniać się do powstawania nowych taksonów.

1. PRZEGLĄD LITERATURY

1.1. Charakterystyka wód

Wody powierzchniowe są bardzo zróżnicowane pod względem jakości i składu. Ze względu na skład jonowy Lityński (1952) wyróżnił dwa podstawowe rodzaje wód – wody słodkie i morskie. W wodach słodkich dominującymi jonami są: kation wapnia (Ca^{2+}) oraz aniony węglanowe (CO_3^{2-}) lub wodorowęglanowe (HCO_3^-). Natomiast w wodach morskich notuje się wysokie koncentracje anionów chlorkowych (Cl^-), siarczanowych (SO_4^{2-}), węglanowych oraz kationów, takich jak: sód (Na^+), potas (K^+), magnez (Mg^{2+}) i glin (Al^{3+}).

Bardziej szczegółowa wydaje się klasyfikacja Alekina (1956), według której wody naturalne dzieli się na trzy klasy, w zależności od anionu, który występuje w najwyższym stężeniu. W związku z tym wyróżnia się klasy wód: wodorowęglanowe, siarczanowe i chlorkowe. W obrębie ww. klas wyróżniono grupy: wapniową, magnezową i sodową, w zależności od kationu, którego stężenie jest najwyższe. Biorąc powyższe pod uwagę, klasa wód wodorowęglanowych to wody w małym stopniu zmineralizowane i wykazujące nadmiar jonów wodorowęglanowych w odniesieniu do ogólnej liczby jonów metali ziem alkalicznych ($\text{HCO}_3^- > [\text{Ca}^{2+}] + [\text{Mg}^{2+}]$). Wody siarczanowe (II klasa) to wody podziemne, rzeczne i jeziorne w małym stopniu zmineralizowane ($[\text{HCO}_3^-] < [\text{Ca}^{2+}] + [\text{Mg}^{2+}] < [\text{HCO}_3^-] + [\text{SO}_4^{2-}]$). Trzecia klasa to wody silnie zmineralizowane – wody oceanów i mórz oraz wody podziemne ($[\text{HCO}_3^-] + [\text{SO}_4^{2-}] < [\text{Ca}^{2+}] + [\text{Mg}^{2+}]$, inaczej: $[\text{Cl}^-] > [\text{Na}^+]$) – Alekin (1956).

Wody słone

Zasoby soli w morzach i oceanach, jak się przypuszcza, są tak stare jak sam wszechocean, a ich pierwotnymi źródłami są skorupa i wnętrze Ziemi. Kationy występujące w wodzie morskiej wcześniej wchodziły w skład skalnej skorupy Ziemi. Do wód trafiły w wyniku długotrwałego procesu wietrzenia skał magmowych. Następnie opady wypłukiwały z nich jony, które trafiały do mórz. Uważa się, że aniony, które są obecne we wnętrzu Ziemi, już podczas tworzenia się skorupy ziemskiej przedostawały się do pierwotnej atmosfery. Wówczas z wnętrza Ziemi wydostawały się związki chemiczne w stanie gazowym (w wyniku erupcji wulkanicznych – np. siarczek wodoru, chlor, ditlenek siarki), a następnie rozpuszczając się w wodzie opadowej lub rzecznej, były znoszone do mórz w postaci anionów Cl^- lub SO_4^{2-} . Z kolei woda ze zwiększoną zawartością ww. jonów ma odczyn kwaśny, może więc powodować erozję i rozpuszczanie skał, po których przepływa, czego efektem jest uwalnianie się kationów (Demel 1969; Duxbury i in. 2002). Badania, dotyczące zarówno składu chemicznego skał, jak i pokładów soli, wykazały, że przez ostatnie 1,5 mld lat zasolenie wód oceanów nie zmieniło się (Duxbury i in. 2002).

Główne właściwości wód słonych to: znaczny stopień mineralizacji (35 PSU), względna jednorodność i stałość składu, duża bezwładność składu jonowego, w stosunku do zmian w czasie i przestrzeni (Alekin 1956). Wody morskie, w zależności od wielu czynników, w tym głównie klimatycznych, mogą mieć większe lub mniejsze zasolenie niż przeciętnie podawane 35 PSU. Innym układem zasolenia (mniejszymi wartościami zasolenia, uwarstwieniem) charakteryzują się morza wewnętrzne (słonowodny Bałtyk), a także morza stref umiarkowanych i zimnych, w których występuje dodatni bilans wód słodkich dzięki przewadze opadów nad parowaniem, oraz duże dopływy rzek do mórz, np. Morza Białe, Azowskie, Bałtyckie, Czarne (Róžańska 1999).

Wody według stanu zasolenia Lityński (1952) podzielił na wody: oligohalinowe (słodkie) o zawartości soli poniżej $0,5 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$, mezohalinowe (słonawe) o zawartości soli $0,5\text{--}16,0 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$, polihalinowe (słone) o zawartości soli $16,0\text{--}47,0 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$, hiperhalinowe (wody mineralne) o zawartości soli powyżej $47,0 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$.

Wody śródlądowe

Skład wód rzecznych zależy od wielu czynników otoczenia, w tym od kontaktu wody na obszarze dorzecza ze skałami, szybkości przepływu, nasłonecznienia, spływów substancji rozpuszczonych, a także od doprowadzanych zanieczyszczeń. Te czynniki powodują, że wody rzeczne charakteryzują się niską mineralizacją, szybką zmiennością pod wpływem warunków hydrometeorologicznych, słabym wpływem procesów biologicznych na skład jonowy i gazowy, jak również znaczną zawartością substancji organicznych. Charakteryzują się ponadto stałą obecnością rozpuszczonych w wodzie gazów obecnych w atmosferze i znikomą ilością tych, które w atmosferze nie występują (Alekin 1956). Wody rzeczne na podstawie stopnia mineralizacji możemy podzielić na: wody o niskim stopniu mineralizacji – do $0,2 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$, wody o średniej mineralizacji – $0,2\text{--}0,5 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$, wody o podwyższonej mineralizacji – $0,5\text{--}1,0 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ i wody o wysokiej mineralizacji – ponad $1,0 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$. Na kuli ziemskiej przeważają wody o niskim i średnim stopniu mineralizacji (Alekin 1956).

W wodach jeziornych, podobnie jak w rzecznych, a także podziemnych, skład chemiczny zależy od warunków fizyczno-geograficznych, od składu wód dopływających, wód podziemnych oraz od czynników klimatycznych, hydrologicznych lub glebowych. Jeziora to akweny, które – w odróżnieniu od rzek – charakteryzują się zwolnioną wymianą wody, co może sprzyjać podwyższeniu mineralizacji (poprzez parowanie). Warunki klimatyczne w większym stopniu, niż w przypadku wód płynących, mogą oddziaływać na skład wód jeziornych i na stopień mineralizacji. Na przykład wody jeziora Onega zawierają ok. $0,03 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ (woda prawie destylowana) związków jonowych, zaś w wodach jeziora Kuczuk (na Syberii) jest ich aż $260,0 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ (260,0 PSU). Należy jednak zwrócić uwagę na zróżnicowany skład jonowy wód tych jezior. W jeziorze Onega przeważają jony HCO_3^- i Ca^{2+} , natomiast w jeziorze Kuczuk – jony Cl^- i Na^+ (jony charakterystyczne dla wód morskich). Przyjmuje się, że wody jeziorowe o stopniu mineralizacji do $0,5 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ to wody wodorowęglanowo-wapniowe, zaś gdy mineralizacja wody przekracza $0,5 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$, dominują aniony Cl^- i SO_4^{2-} oraz kationy Na^+ , rzadziej Ca^{2+} (Alekin 1956; Hammer 1986). Jeziora typowo słone, zwane też mineralnymi, mogą mieć

pochodzenie morskie lub typowo lądowe. Mogą to być relikty mórz, które powstały w wyniku ruchów tektonicznych, lub oddzielone od morza zatoki. Zasolenie w tego typu jeziorach może być bardzo zróżnicowane, np. w Wielkim Jeziorze Słonym w zachodniej części USA stężenie soli waha się, w zależności od poziomu wód, od $50,0 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ do $270,0 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ (Hammer 1986).

1.2. Przyczyny wzrostu zasolenia wód słodkich

Wzrastający w sposób nienaturalny w wodach śródlądowych poziom zasolenia wpływa na biocenozę danego akwenu, może także ograniczać wykorzystanie gospodarcze zasobów wodnych. Na przykład w Polsce do głównych źródeł zasolenia wód należą: górnictwo (79,0%), przemysł chemiczny (12,0%), zasolenie obszarowe (7,0%), hutnictwo żelaza i metali nieżelaznych (1,5%) oraz energetyka (0,5%) – Szymańska (1990). Największy ładunek soli mają wody z kopalni węgla kamiennego wypompowywane na powierzchnię podczas odwadniania wyrobisk górniczych. Wody te dzielimy na cztery grupy: I – wody pitne (po uzdatnieniu) – o zasoleniu mniejszym niż $0,6 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$, II – wody przemysłowe – o zasoleniu $0,6\text{--}1,8 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$, III – wody o zasoleniu $1,8\text{--}42,0 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$; IV – solanki – powyżej $42,0 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ (Szymańska 1990; Borowski 2010).

Zanieczyszczenie wód dwóch największych polskich rzek – Wisły i Odry w postaci zwiększonego zasolenia (wyrażone w stężeniach chlorków i siarczanów) jest spowodowane właśnie procesami odwodnienia kopalni na Górnym Śląsku. Kopalnie, takie jak „Piast”, „Ziemowit” i „Czeczoł”, prawie wszystkie wody zasolone (należące do III i IV grupy) odprowadzają do wód zlewni tych dwóch rzek w ich górnych biegach (Borowski 2010).

Szymańska (1990) wskazuje na znaczne zasolenie ściekami kopalnianymi wód Odry oraz jej prawych dopływów. W przekrojach ujściowych Olzy, Rudy, Bierawki i Kłodnicy odnotowano wielokrotne przekroczenia dopuszczalnego stężenia chlorków (Cl^-) – ponad $4,0 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ (4 PSU) i siarczanów (SO_4^{2-}) – $0,3 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ (Szymańska 1990). Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Środowiska z dnia 9 listopada 2011 r. w sprawie sposobu klasyfikacji stanu jednolitych części wód powierzchniowych oraz środowiskowych norm jakości dla substancji priorytetowych w wodach należących do I klasy czystości zawartość chlorków powinna być mniejsza niż $0,20 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$, zaś siarczanów – mniejsza niż $0,15 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$. Prognozy Szymańskiej (1990) na 2005 rok wykazywały w przekrojach zrzutu wód zasolonych stężenie chlorków wynoszące $3,3 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ (powyżej 3 PSU), zaś siarczanów – $0,48 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$.

Zwiększenie poziomu zasolenia w wodach rzek może być również spowodowane nawadnianiem gruntów. W Stanach Zjednoczonych wody rzek Kolorado i Rio Grande nawadniają ziemię uprawne pustynnego południowego zachodu. Wody te, niekiedy wielokrotnie wykorzystywane do nawodnień, są zanieczyszczane, przepływając przez obszary charakteryzujące się suchym klimatem i silnie zasolonymi glebami (ich zasolenie przekracza $0,8 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$) – Duxbury i in. (2002).

Inne bardzo istotne źródła wzrastającego zasolenia wód słodkich to nieoczyszczone ścieki przemysłowe, gospodarki komunalnej i rolnictwa. Zasolone ścieki powstają w wielu zakła-

dach przemysłowych w Polsce, ale największe ładunki tego typu ścieków pochodzą z zakładów sodowych. Inne zakłady przemysłowe wprowadzające ścieki zasolone to: kotłownie, elektrownie i elektrociepłownie oraz huty (ścieki powstające przy zmiękczeniu i demineralizacji wody w celach technologicznych). Natomiast zasolenie ścieków komunalnych jest spowodowane zasoleniem wody pitnej oraz wprowadzaniem soli do ścieków przez mieszkańców. Również rolnictwo poprzez nawożenie i stosowanie pestycydów wprowadza do gleby znaczne ilości różnorodnych soli, które przechodzą do wód powierzchniowych w wyniku przesiąkania i spływania (Lipiński 1990; Szymańska 1990). Często odnotowuje się również wzrost zasolenia wód (głównie wzrost zawartości Cl^- w wodzie) w okresie zimowym i wczesnowiosennym w wyniku stosowania soli do oczyszczania dróg z zamrożonego śniegu i lodu.

Biorąc pod uwagę to, że wody rzeczne to w większości wody o niskim (0,2 PSU) i średnim (0,2–0,5 PSU) zasoleniu oraz analizując powyższe informacje dotyczące ich zanieczyszczeń, postanowiono w badaniach zastosować zasolenie wody w zakresie od 1 do 5 PSU, czyli takie, jakie może się pojawić w ściekach pochodzących z ww. źródeł.

1.3. Zasolenie wód a ryby

Stopień zasolenia wód decyduje o rozprzestrzenianiu się ryb. Dlatego najliczniejsza obecnie grupa tych kręgowców musiała na przestrzeni wieków ewoluować, aby opanować zarówno wody o niskiej zawartości jonów – wody słodkie, jak i wody bardzo zasolone – 80,0–142,4 PSU (Kinne 1964; Parry 1966).

Stężenie rozpuszczonych soli w wodzie jest bardzo ważne dla gospodarki jonowej organizmu, bowiem jeżeli ciśnienie osmotyczne w komórce i na zewnątrz komórki jest identyczne, organizm wobec wody morskiej jest izotoniczny. Organizmy morskie są poikiloosmotyczne, co oznacza, że ciśnienie osmotyczne płynów ciała zmienia się w bardzo wąskim zakresie, zgodnie ze zmianami ciśnienia w środowisku; zwierzęta te nie tolerują silnych wahań zasolenia wody. Do zasiedlania wód słodkich i zasolonych są przystosowane organizmy, w tym ryby, mające właściwości osmoregulacyjne. Sporadycznie spotykane są organizmy homoosmotyczne charakteryzujące się ciśnieniem osmotycznym na stałym poziomie, niezależnie od otoczenia (np. śluzice *Mixini*). Najczęściej występują organizmy, w tym ryby, charakteryzujące się regulacją hipertoniczną (ciśnienie osmotyczne płynów jest wyższe niż otoczenia), zapobiegającą wnikaniu nadmiernej ilości wody do komórki i ucieczce jonów z komórki (np. morskie i słodkowodne ryby chrząstnoszkieletowe *Chondrichthyes*, słodkowodne ryby kostnoszkieletowe *Teleostei*), lub regulacją hipotoniczną (ciśnienie płynów ciała jest niższe niż otoczenia), mającą na celu powstrzymanie utraty wody i aktywne usuwanie jonów poza komórkę (np. morskie ryby kostnoszkieletowe) – Opuszyński (1983).

Kostnoszkieletowe ryby wędrownie (dwuśrodowiskowe) są hipotoniczne w stosunku do środowiska morskiego i hipertoniczne w stosunku do wody słodkiej (Opuszyński 1983; Lampert i Sommer 1996).

Ponad 8 tys. gatunków ryb słodkowodnych (40% wszystkich gatunków ryb, jakie istnieją) żyje w wodach śródlądowych, które stanowią mniej niż 3% powierzchni globu. Natomiast

w morzach i oceanach, stanowiących około 96–97% wody obecnej w formie ciekłej na powierzchni Ziemi, żyje około 58% wszystkich gatunków ryb (2% to gatunki wędrujące) – Hesse i Przybyszewski (1993), Załachowski (1997). Tak ogromne różnice w ilości taksonów ryb słodkowodnych i morskich mogą wskazywać na szybciej przebiegające procesy ewolucyjne w wodach śródlądowych, w wyniku których powstawały nowe gatunki ryb słodkowodnych; część z nich opuściła wody słodkie i w toku ewolucji opanowała oceany. Dowodem jest fakt, że słodkowodne *Teleostei* mają bardziej skoncentrowane płyny wewnętrzne ciała, zaś morskie *Teleostei* mają niższe ciśnienie osmotyczne płynów ciała niż otaczające środowisko, co może pośrednio wskazywać na ich wtórne pochodzenie w morzu.

Śledząc drogę przejścia ryb kostnoszkieletowych z wód słodkich do słonych, należy spojrzeć daleko wstecz. W sylurze ryby kostnoszkieletowe były to tylko ryby słodkowodne, zaś już w środkowym i wczesnym dewonie liczba morskich ryb kostnoszkieletowych przeważała nad słodkowodnymi. Należy przypuszczać, że podczas migracji poszczególnych rodzin ryb pierwotnie słodkowodnych do wód bardziej zasolonych nastąpiło olbrzymie ich różnicowanie poprzez różnorodne zmiany przystosowawcze do nowych warunków życia. W wodach słodkich pozostały formy gatunków, które nie wykształciły mechanizmów pozwalających na życie w morzach (Demel 1969). Nikolski (1970) podaje, że zjawisko migracji ryb morskich i słodkowodnych było zróżnicowane w zależności od etapów rozwoju skorupy ziemskiej. Wzmoczona migracja ryb z wód słodkich do mórz następowała w okresach wygładzania się wypiętrzeń (z przewagą nizin), zaś w okresie zjawisk górotwórczych (wówczas, gdy fauna nizinna zmuszona była do zmian i przeobrażania się) nasilała się migracja ryb morskich do wód słodkich (Nikolski 1970). Te okresy rozsiedlania i rozprzestrzeniania się ryb powodowały wykształcenie się mechanizmów przystosowawczych do nowych warunków środowiskowych (życia w określonych strefach geograficznych); tym samym zachodziły wówczas nasilone procesy sprzyjające powstawaniu nowych taksonów.

Występowanie i rozsiedlenie poszczególnych gatunków ryb w wodzie o zróżnicowanym zasoleniu jest uzależnione od ich zdolności do utrzymania stałego ciśnienia osmotycznego płynów ciała. Za utrzymanie stałego składu i stężenia płynów ustrojowych ryb odpowiedzialne są nerki i skrzela. Wśród poszczególnych gatunków ryb żyjących w wodach o zróżnicowanym zasoleniu wyróżnia się gatunki stenohalinowe i euryhalinowe. Te pierwsze znoszą niewielkie wahania zasolenia wody; są to takie gatunki, jak: śliz *Barbatula barbatula* (Linnaeus, 1758), jelec *Leuciscus leuciscus* (Linnaeus, 1758), brzana *Barbus barbus* (Linnaeus, 1758). Natomiast gatunki ryb mogące żyć w warunkach znacznego zasolenia wody to gatunki euryhalinowe, np. babka kaukaska *Knipowitschia caucasica* (Berg, 1916) żyjąca w wodach o zasoleniu od 0,3 do ponad 38,0 PSU (Puczkow 1962).

Ryby morskie, w zależności od gatunku, charakteryzują się zróżnicowaną, aczkolwiek większą niż ryby słodkowodne, tolerancją na zmiany wartości mineralizacji wody.

Zasolenie wód może działać modulująco na organizmy wodne, co zaobserwowano w procesie karłowacenia pewnych gatunków ryb żyjących w „rozcieńczonych” wodach morskich, np. gatunków ryb żyjących w Bałtyku. Ze względu na niskie zasolenie wód tego morza ryby są mniejsze niż ryby zamieszkujące wody mórz o optymalnym (wyższym) stopniu minerali-

zacji. Jest to swego rodzaju przystosowanie typowo morskich gatunków ryb do życia i rozrodu w wodzie o niższym zasoleniu.

Bardziej wrażliwe na wszelkie zmiany otaczającego środowiska, w tym na zasolenie wody, są ikra, larwy, osobniki juwenalne i młodociane poszczególnych gatunków ryb słodkowodnych i morskich. Jak wykazały wcześniejsze badania (Hayes 1949; Holliday 1960; Holliday i Blaxter 1960; Solemdal 1967; Kjörsvik i in. 1984; Davenport i in. 1986), komórki rozrodcze ryb mogą być izotoniczne lub lekko hipoosmotyczne w stosunku do płynów ciała. Podczas tarła w momencie kontaktu z wodą są one jednak narażone na szok osmotyczny. Solemdal (1967), przenosząc samice storni *Pleuronectes flesus* (Linnaeus, 1758) na kilka tygodni przed tarłem z wody o wyższym zasoleniu do wody o niższym zasoleniu, stwierdził, że zmiana wartości zasolenia wody wpływa na wielkość jaj i ich ciśnienie osmotyczne.

Oddziaływanie wód o podwyższonym lub znacznie obniżonym zasoleniu na przebieg embriogenezy było tematem wielu badań na gatunkach ryb morskich, takich jak: śledź *Clupea harengus* L. (Linnaeus, 1758), gładzica *Pleuronectes platessa* (Linnaeus, 1758), tasza *Cyclopterus lumpus* (Linnaeus, 1758), dorada *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758), kulbak czerwony *Sciaenops ocellatus* (Linnaeus, 1766), *Takifugu obscurus* (Abe, 1949), dorsz *Gadus morhua* (Linnaeus, 1758) (Kryżanowski 1956; Holliday i Blaxter 1960; Oven 1960; Holliday i Jones 1965; 1967; Alderdice i in. 1979; Rykova 1981; Kjörsvik i in. 1984; Westin i Nissling 1991; Ponwith i Neill 1995; Tandler i in. 1995; Yang i Chen 2006).

U morskich ryb kostnoszkieletowych zdolności osmoregulacyjne pojawiają się wcześniej w rozwoju zarodkowym. U śledzi pełna regulacja zostaje osiągnięta na etapie zaoczkowania – pojawienia się pigmentu w oczach zarodka (Holliday i Jones 1965), zaś u gładzicy jeszcze wcześniej – tuż po zapłodnieniu (Holliday i Jones 1967).

Szczególne osiągnięcia w badaniach dotyczących wpływu zasolenia wód na przebieg embriogenezy u ryb słodkowodnych mają naukowcy rosyjscy. Już w latach 40. ubiegłego stulecia Olifan (1940, 1941), prowadząc badania nad wpływem zróżnicowanego zasolenia wody na rozwój zarodkowy dzikiego karpia (sazana) *Cyprinus carpio carpio* (Linnaeus, 1758), leszcza *Abramis brama* (Linnaeus, 1758), płoci kaspijskiej (wobły) *Rutilus rutilus caspicus* (Jakovlev, 1870) i sandacza *Stizostedion lucioperca* (Linnaeus, 1758), stwierdziła, że każdy gatunek ryby ma wyznaczone granice zasolenia wody, w której rozwój zarodkowy i larwalny przebiega bez zakłóceń. Zarodki ww. gatunków ryb charakteryzują się określoną wrażliwością na zasolenie wody, w zależności od etapu embriogenezy (Olifan 1940, 1941).

Wpływem zasolonych roztworów (opartych na płynie Ringera: 12, 15, 16, 18 PSU) na poszczególne stadia rozwoju zarodkowego okonia, leszcza, sandacza i jazgarza *Gymnocephalus cernuus* (Linnaeus, 1758) zajmowała się Vernidub (1947). Wyniki jej badań wskazują, że roztwory zasolone w największym stopniu oddziałują na rozwijające się jaja na etapie gastrulacji, a także w trakcie formowania i wzrostu zarodka, czego efektem jest różnica w wymiarach osobników wylęgniętych z jaj inkubowanych w wodzie o zróżnicowanym zasoleniu (Vernidub 1947).

Inkubację jaj stynki *Osmerus eperlanus* (Linnaeus, 1758) oraz siei wołchowskiej *Coregonus lavaretus bäeri* (Kessler, 1864) i ładoskiej *Coregonus lavaretus ludoga* (Poljakov, 1874) w roztworach zasolonych (sporządzonych z płynu Ringera: 5,5, 11, 16,5, 22, 27,5, 33 PSU)

przeprowadziła Pietrova (1950). Zarodki stynki rozwijały się prawidłowo w wodzie o zasoleniu do 5,5 PSU, zaś zarodki dwóch form siei były bardziej wytrzymałe, gdyż zaobserwowano pojedyncze wylęgi z jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu wynoszącym nawet 11,0 PSU (Pietrova 1950).

Rykova (1964) prowadziła badania na jajach amura białego *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes, 1844) i tołpygi białej *Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes, 1844). Prawidłowy rozwój zarodkowy tych dwóch gatunków ryb przebiegał w wodzie morskiej (z Morza Czarnego) o zasoleniu 1,9–4,9 PSU; powyżej 6,3 PSU rozwój był zakłócony, zaś przy zasoleniu 9,4 PSU zarodki w jajach obumierały (Rykova 1964). Dwa lata później Rykova (1966) stwierdziła, że wraz ze wzrostem zasolenia wody malała przestrzeń okołozółtkowa w jajach amura białego oraz tołpygi białej, inkubowanych właśnie w wodzie zasolonej. Tę prawidłowość, dotyczącą zmian wielkości przestrzeni okołozółtkowej w jajach karpia i tołpygi białej, inkubowanych w wodzie o zasoleniu 1, 3, 5, 6, 9, 12, 20 i 30 PSU, zaobserwował również Soin (1977). Jednakże w przypadku jaj karpia przestrzeń perywitellarna w jajach umieszczonych w wodzie słonej zwiększała się wraz z rosnącym zasoleniem do wartości 5–9 PSU, a następnie malała, zaś w przypadku tołpygi białej wraz ze wzrostem zasolenia wody wielkość jaj, a tym samym przestrzeni okołozółtkowej, malała (Soin 1977).

Vetemaa i Saat (1996) badali wpływ wody o zróżnicowanym zasoleniu (1–11 PSU) na rozwijające się jaja jazgarza zamieszkującego wody słodkie, jak i jazgarza bytującego w słonych wodach Zatoki Parnawskiej. Stwierdzili, że prawidłowo rozwinięte larwy jazgarza, pochodzącego z wód słodkich, wylęgały się z jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu od 1 do 6 PSU. Natomiast zarodki jazgarza, pochodzącego z zatoki, były mniej wrażliwe na zasolenie – prawidłowo rozwinięte osobniki wylęgały się z jaj inkubowanych w wodzie o wyższym zasoleniu – 7, 8 i 9 PSU. Ich maksymalna długość ciała była większa, niż osobników pochodzących z wody słodkiej (Vetemaa i Saat 1996).

Swanson (1996) prowadził badania na rybie mleczej *Chanos chanos* (Forsskål, 1775) występującej w otwartych wodach oceanicznych (Oceanów Indyjskiego, Spokojnego, Morza Czerwonego). Tarło tego gatunku ryby odbywa się w czystej wodzie w pobliżu raf koralowych, zaś wylęgnięte larwy podążają do estuariów i zatok za pokarmem. W trakcie doświadczenia jaja inkubowane były w wodzie o zasoleniu 15, 20, 35, 50, 55 PSU. Przebieg rozwoju zarodkowego w wodzie o ww. wartościach zasolenia jednoznacznie wskazał na zasolenie 35 PSU jako optymalne dla tego gatunku ryby (Swanson 1996). Ciekawe jest to, że ryba mlecza jest gatunkiem zaliczanym do rzędu *Gonorynchiformes*, który stanowi pośrednie ogniwo ewolucyjne pomiędzy śledziokształtnymi a karpiokształtnymi. To spowodowało, że osobniki młodociane tego gatunku ryby charakteryzują się bardzo dużą tolerancją na zasolenie wody – mogą występować zarówno w wodzie słodkiej, jak i zasolonej (nawet do 40 PSU) – Załachowski (1997).

Bohlen w 1999 roku na podstawie badań prowadzonych na kozie *Cobitis taenia* (Linnaeus, 1758) stwierdził, że niskie zasolenie wody 0,1–4,8 PSU nie wpływa na przebieg embriogenezy tego gatunku ryby. Jednakże wyższe zasolenie – w zakresie od 6 do 12 PSU, zastosowane w badaniach, nie było wskazane. Dodatkowo autor ten, analizując wyniki badań innych naukowców, prowadzonych na różnych gatunkach ryb, potwierdza, że ryby wtórnie słodkowodne, takie jak: miętus, ciernik, ryby łososiowate, mają wyższą granicę tolerancji na zasolenie

niż koza, choć – w porównaniu z typowymi rybami słodkowodnymi z tej samej rodziny (karpiowatych) – koza charakteryzuje się zbliżonym poziomem tolerancji na zasolenie do karpia i leszcza, a wyższym niż płoć (Bohlen 1999).

Badania suma afrykańskiego *Heterobranchus longifilis* (Valenciennes, 1840), którego rozwój embrionalny przebiegał w wodzie o zasoleniu od 0 do 15 PSU, prowadzili Fashina-Bombata i Busari (2003). Zasolenie wody w zakresie od 0,0 do 7,5 PSU pozwalało na uzyskanie wylęgu suma, jednakże wraz ze wzrostem zasolenia następował znaczny spadek odsetka wylęgniętych larw – z 71–75% (przy zasoleniu 1,5 i 3,0 PSU) do 41% (przy zasoleniu 7,5 PSU) – Fashina-Bombata i Busari (2003).

Szczegółową analizę wpływu zasolenia wody (7,5, 15, 20, 25 PSU) na embriogenezę, przeżywalność, wzrost zarodków tilapi nilowej *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) przeprowadzili Fridman i in. (2012). Uzyskane wyniki wskazują, że w wodzie o zasoleniu 15, 20, i 25 PSU malał odsetek wylęgniętych larw, których śmiertelność w kolejnych dniach ich wzrostu zwiększała się. Zaobserwowano również negatywny wpływ zwiększających się wartości zasolenia wody na metabolizm woreczka żółtkowego larw i wzrost zużycia przez nie tlenu w kolejnych dobach rozwoju postembrionalnego (Fridman i in. 2012).

Wędrownie ryby łososiowate, spływające do rzek na czas rozrodu, charakteryzują się zróżnicowaną wrażliwością jaj na zasolenie wód podczas rozwoju zarodkowego. Black (1951) stwierdził, że zasolenie 3 PSU działa hamująco na proces twarzenia osłonek jajowych kety *Oncorhynchus keta* (Walbaum, 1792) i kizuczka *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum, 1792). Xingfu i in. (1989) prowadzili badania, podczas których inkubowano jaja łososia *Salmo salar* (Linnaeus, 1758) w wodzie słodkiej i mieszanej z morską o zasoleniu 1, 2, 3, 5 i 10 PSU. Stwierdzono, że wzrastające zasolenie wody działa hamująco na tworzenie się przestrzeni perywitellarnej o odpowiedniej wielkości i charakteryzującej się odpowiednim składem jonowym. Badacze ci wskazali na rolę pomiaru objętości przestrzeni perywitellarnej (z ang. *perivitelline space* PVS) w celu analizy oddziaływania wody o zróżnicowanej koncentracji jonów i różnej wartości pH (Xingfu i in. 1989).

Późniejsze badania na jajach i plemnikach troci morskiej *Salmo trutta* (Linnaeus, 1758) wykazały, że możliwe jest zapłodnienie jaj w wodzie o największej wartości zasolenia wynoszącej 5 PSU, pomimo że plemniki wykazywały ruchliwość w wodzie o wyższym zasoleniu – 6,7, 10, 12 i 14 PSU (Landergrén i Vallin 1998). Stwierdzono także, że rozwój zarodkowy troci przebiegał prawidłowo w wodzie słodkiej (przy 90% przeżycia), zaś górna granica zasolenia wody, w której przebiegała embriogeneza wynosiła 4 PSU – wówczas procent przeżycia wynosił tylko 1,3 (Landergrén i Vallin 1998). Natomiast Bonisławska (2009) w wodzie o zasoleniu 3 PSU nie uzyskała wylęgu troci.

Albert i in. (2004) podają, że proces zapłodnienia jaj siei pejpuskiej *Coregonus lavaretus maraenoides* (Poljakow, 1874) przebiegał prawidłowo w wodzie o zasoleniu w zakresie 0,2–3,3 PSU; próba ta charakteryzowała się wysokim odsetkiem jaj zapłodnionych (97–99%), zaś w wodzie o zasoleniu 4,0–6,2 PSU odsetek jaj zapłodnionych był niższy i wynosił 85–75%.

W Polsce badania nad wpływem zasolonych wód Zalewu Wiślanego (około 3 PSU) oraz wód o wyższym zasoleniu (3,7, 5,6 i 11 PSU) na ruchliwość plemników, zapłodnienie i rozwój zarodkowy leszcza, prowadziła Dziekońska (1956, 1958). Stwierdziła ona, że plemniki

leszcza wykazywały ruch w wodzie o zasoleniu 5,6 PSU, jednak nie dochodziło już do prawidłowego zapłodnienia komórki jajowej (Dziekońska 1958).

Dwadzieścia lat później Wiktor (1973, 1974) i Szymelfenig (1977, 1979) prowadzili badania nad możliwością rozrodu dwóch gatunków ryb łososiowatych – pstrąga tęczowego *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) i troci wędrownej *Salmo trutta* m. *trutta* (Linnaeus, 1758) w wodzie słonej pochodzącej z Morza Bałtyckiego. Szymelfenig (1979) stwierdziła, że w wodzie o zasoleniu 4,0–7,4 PSU wydłuża się czas ruchliwości plemników obu gatunków ryb, w porównaniu z czasem ich ruchliwości w wodzie słodkiej. Autorka ta zaproponowała przeprowadzenie procesu zapłodnienia jaj troci właśnie w wodzie słonej (4,0–7,4 PSU), a następnie umieszczenie jaj w wodzie słodkiej w celu prawidłowego przebiegu procesu ich pęcznienia. W wodzie o wartości zasolenia 8–10 PSU uzyskano larwy, a także przeprowadzono podchów pstrągów tęczowych, jednakże u młodocianych osobników stwierdzono zmiany chorobowe układu pokarmowego (Szymelfenig 1983).

Przeprowadzona analiza wyników uzyskanych przez ww. badaczy wykazuje często pewne odstępstwa, a czasem niezgodności, które mogły być spowodowane zróżnicowaną metodyką badań stosowaną przez autorów, a w szczególności zmiennością składu chemicznego wody zasolonej stosowanej w doświadczeniach. Często do badań stosowano roztwory zasolone oparte na płynie Ringera (Vernidub 1947; Pietrova 1950; Soin 1977), odparowaną lub rozcieńczoną wodę morską (Dziekońska 1958; Oven 1960; Xingfu i in. 1989; Swanson 1996). W najnowszych badaniach, także w badaniach niniejszych roztwory zasolone sporządzano z soli morskiej i wody destylowanej (Bohlen 1999; Fashina-Bombata i Busari 2003; Bonisławska 2009; Fridman i in. 2012).

Do badań wybrano gatunki ryb charakteryzujące się zróżnicowaną wrażliwością na czynniki środowiskowe i należące do różnych ekologicznie grup rozrodczych. Powszechnie wiadomo, że czynniki klimatyczne, geograficzne i geologiczne kształtowały i kształtują skład naszej rodzimej ichtiofauny; w przypadku wód Polski skład ichtiofauny ukształtował się ostatecznie po okresie polodowcowym. Gatunki autochtoniczne (rodzime), które po zlodowaceniu powracały do naszych wód, to np. szczupak, miętus, okoń, ciernik (Krağłouste i ryby 1962). Właśnie te trzy pierwsze gatunki ryb to gatunki, które występują na obu półkulach i wykazują dużą plastyczność w odniesieniu do zmieniających się czynników środowiska, w tym do zasolenia wody. W przypadku okonia Hellawell (1989) podaje zakres optymalnej dla jego życia temperatury wody – w granicach 8,0–27,0°C (temperatura krytyczna 36,0°C); tarło może według niego odbywać się w wodzie o temperaturze od 5,0 do 19,0°C. Optimum pH wody dla tego gatunku ryby mieści się w zakresie 5,0–9,0, a jego dolna granica wynosi 3,5 (Hellawell 1989). Podobnie szczupak, odznaczający się wysoką tolerancją termiczną wody (4,0–23,0°C; temperatura letalna wynosi 30,0°C), cechuje się dużą odpornością na zasolenie wody, a zakres pH dla tego gatunku wynosi 3,7–9,5 (Raaf 1988). Natomiast miętus to gatunek ryby występujący w rzekach (począwszy od ich górnego biegu, a kończąc na przyujściowych wodach estuariowych), a także w jeziorach i zbiornikach zaporowych. Często żeruje w przybrzeżnych strefach mórz, gdzie zasolenie wody wynosi od 1 do 6 PSU. W przeciwieństwie do okonia i szczupaka gatunek ten zamieszkuje wody chłodne (temperatura poniżej 15°C); rozród odbywa się w temperaturze od 0,0 do 4,5°C. Miętus preferuje wody czyste i dobrze natlenione

(Bryliński 2000b). Ryby karpowate, takie jak: jaź, karp i krap, podobnie jak szczupak, są gatunkami ciepłolubnymi i rozradzają się w okresie letnim. Bytują one również w strefach przybrzeżnych zalewów, słonawych ujść rzek i wysłodzonych zatokach morskich. Należy zaznaczyć, że rząd: karpiokształtne *Cypriniformes* jest najliczniejszy w gatunki zamieszkujące tylko wody śródlądowe. Pomimo że osobniki dorosłe występują w wodach słonawych (estuariowych), rozród karpia jest ograniczony do wód o względnie niskim zasoleniu. Karp jako gatunek hodowlany odznacza się najmniejszą wrażliwością na zmiany temperatury (23,0–29,0°C; temperatura letalna wynosi 40,6°C), zawartości tlenu (3,0–5,0 mg·dm⁻³) i wahań pH (6,0–9,0) – Bryliński (2000a). Krap natomiast preferuje wody dobrze natlenione (8,0–12,0 mg·dm⁻³), a jego optymalne pH wynosi 7,4–7,9 (Neuman 1983; Som i in. 1983). Wśród badanych gatunków ryb karpowatych najbardziej wymagający pod względem ww. czynników środowiska jest jaź, który przebywa w rzekach o niedużym prądzie, gdzie woda jest czysta i zimna (Tadajewska 2000).

Gatunki ryb najbardziej wrażliwe na zmiany warunków środowiska to gatunki zimnolubne, czyli troć, sieja i sielawa, które charakteryzują się bardzo małą tolerancją na zmiany temperatury, pH czy zawartości tlenu. Są to gatunki ryb żyjące w wodzie o niskiej temperaturze i dobrze natlenionej. Dla troci, temperatura optymalna mieści się w granicach 7,0–17,0°C, pH wody jest obojętne bądź lekko zasadowe, natomiast dla siei i sielawy temperatura nie powinna być wyższa od 20,0°C, a ubytki tlenu nie powinny przekraczać 4,0 mg·dm⁻³ (Bartel 2000; Szczerbowski 2000a, b).

2. CEL PRACY

Z przeglądu piśmiennictwa, dotyczącego problemu oddziaływania wód zasolonych na przebieg embriogenezy wybranych gatunków ryb słodkowodnych, wynika, że zagadnienie to, pomimo że analizowane było przez wielu badaczy, nie zostało w pełni wyjaśnione.

W niniejszej pracy podjęto próbę znalezienia odpowiedzi na pytanie, w jakim stopniu i w jaki sposób zasolenie wody oddziałuje na przebieg embriogenezy oraz wylęg wybranych gatunków ryb słodkowodnych i bytujących w wodach lekko zasolonych (estuariowych). Pojawiające się okresowo lub stałe niewielkie wahania wartości zasolenia wód słodkich, tolerowane i niepowodujące drastycznych zmian w organizmach osobników dorosłych, mogą wpływać na cykl rozrodczy i niektóre etapy wczesnej ontogenezy ryb. Zbadanie oddziaływania wody o względnie niskim zasoleniu (1, 2, 3, 4, 5 PSU), aczkolwiek wyższym niż wód słodkich, na przebieg rozwoju zarodkowego ośmiu gatunków ryb słodkowodnych pochodzących z różnych rodzin, których okres tarła i rozwoju embrionalnego przebiega zarówno w sezonie jesienno-zimowym (sieja, sielawa, miętus), jak i w sezonie wiosenno-letnim (okoń, szczupak, jaź, karp, krąp), pomoże wyjaśnić mechanizmy i sposoby regulacji osmotycznej (osmoregulacji) w trakcie rozwoju zarodkowego ww. gatunków. Mechanizmy te stanowią pewnego rodzaju zabezpieczenie mające na celu umożliwienie przebiegu embriogenezy w mniej sprzyjających warunkach otoczenia (w tym wypadku jest to podwyższona mineralizacja wody).

Wydaje się, że uzyskane wyniki, poza realizacją założonego celu, rzucą dodatkowe światło na mechanizmy oddziaływań biosfery na rozwijające się zarodki ryb, z możliwością swoistego „wpisania” do ultrastruktur materiału genetycznego pewnych „zdobyczy” strukturalnych i funkcjonalnych, stanowiących o najdrobniejszych nowych cechach, które decydują o przebiegu embriogenezy i które następnie przekazywane są w postaci zbioru doświadczeń, czyli mają określony wpływ na filogenezę.

3. MATERIAŁ I METODY

3.1. Zapłodnienie i inkubacja jaj

Badania prowadzono w latach 2005–2011 na ośmiu wybranych gatunkach ryb słodkowodnych. Przywiezione do laboratorium tarlarki badanych gatunków ryb ważono oraz przeprowadzono pomiary ich całkowitej długości ciała (*longitudo totalis* – *l.t.*) – tab. 1.

Tabela 1. Charakterystyka tarlaków badanych gatunków ryb w poszczególnych sezonach badawczych

| Gatunek | Sezon badawczy | Pochodzenie tarlaków | Płeć | Wymiary tarlaków średnia zakres | |
|---|-----------------------|---------------------------------|-----------------|---------------------------------------|-------------------------|
| | | | | długość ciała (<i>l.t.</i>) [cm] | masa ciała [g] |
| Sieja <i>Coregonus lavaretus</i> (Linnaeus, 1758) | XII 2006 –III 2007 | jezioro Miedwie | samice n = 2 | 41,0 39,6–42,3 | 913,0 855,4–970,5 |
| | | | samce n = 6 | 35,4 31,2–40,1 | 785,8 750,1–805,3 |
| Sielawa <i>Coregonus albus</i> (Linnaeus, 1758) | XII 2010 –III 2011 | jezioro Miedwie | samice n = 2 | 20,4 19,8–21,0 | 99,6 94,2–105,0 |
| | | | samce n = 5 | 15,5 13,2–18,5 | 67,2 57,2–74,8 |
| Miętus <i>Lota lota</i> (Linnaeus, 1758) | I–III 2009 | jezioro Dąbie | samice n = 2 | 30,6 28,6–32,5 | 274,1 250,1–298,0 |
| | | | samce n = 5 | 28,3 23,6–34,2 | 251,0 235,0–305,1 |
| Jaź <i>Leuciscus idus</i> (Linnaeus, 1758) | IV 2007 | rzeka Rega | samice n = 2 | 23,2 21,5–25,3 | 287,5 260,0–315,0 |
| | | | samce n = 9 | 21,3 18,5–24,0 | 249,4 190,2–290,0 |
| Karp <i>Cyprinus carpio</i> (Linnaeus, 1758) | V 2005 | rzeka Odra – ciepły kanał | samice n = 2 | 43,1 40,6–45,6 | 3055,4 2860,2–3250,6 |
| | | | samce n = 5 | 36,7 32,7–40,6 | 1712,3 1265,0–2054,0 |
| Krap <i>Blicca bjoerkna</i> (Linnaeus, 1758) | V 2005 VI 2011 | rzeka Odra – ciepły kanał | samice n = 2 | 19,2 18,3–21,0 | 181,5 168,0–195,0 |
| | | | samce n = 7 | 12,49 10,1–16,3 | 96,4 53,5–120,0 |
| Okoń <i>Perca fluviatilis</i> (Linnaeus, 1758) | IV 2009 | rzeka Odra – ciepły kanał | samice n = 1 | 20,8 | 153,0 |
| | | | samce n = 5 | 13,9 12,5–15,8 | 83,4 63,4–95,0 |
| Szczupak <i>Esox lucius</i> (Linnaeus, 1758) | IV 2011 | rzeka Regalica | samice n = 2 | 56,8 52,4–61,2 | 1757,5 1692,0–1823,5 |
| | | | samce n = 7 | 41,5 32,4–45,2 | 699,9 350,0–858,0 |

Produkty płciowe (jaja i plemniki) ww. gatunków ryb pozyskiwano od dojrzałych osobników, a następnie dokonywano zapłodnienia metodą „na sucho”. Do badań użyto mieszaną

ikrę od samic i zmieszana spermę od samców poszczególnych gatunków ryb. Podczas procesu zapłodnienia jaj badanych gatunków ryb do aktywacji używano wody:

- wodociągowej – wcześniej gromadzonej w akwariach (przez 3–4 dni), a następnie poddawanej procesowi napowietrzania. Wody tej użyto do aktywacji i inkubacji ikry wszystkich ośmiu gatunków ryb; stanowiła ona próby kontrolne;
- rzecznej – pochodzącej z rzeki Wiśniówka – drugorzędowego dopływu rzeki Ina w woj. zachodniopomorskim. Punkt poboru wody znajdował się przed wylęgarnią ryb należącą do Ośrodka Zarybieniowo-Hodowlanego w Goleniowie. Wodę przewożono w pojemnikach (o pojemności 20 dm³) do laboratorium, a następnie używano jej do aktywacji i inkubacji jaj trzech gatunków ryb: siei, szczupaka, jazia. Próby z wykorzystaniem tej wody traktowane były jako dodatkowe próby kontrolne. Utworzono je w celu porównania przebiegu inkubacji jaj wybranych gatunków ryb (tarła jesienno-zimowego i wiosenno-letniego) w wodzie rzecznej (pobranej z naturalnych miejsc rozrodu) i w wodzie wodociągowej (uzdatnianej), która w doświadczeniach stanowiła próbę kontrolną;
- zasolonej – o wartości 1, 2, 3, 4, 5 PSU. Roztwory wody słonej sporządzono z soli morskiej (HW Meersalz Professional, Wiegandt GmbH, Krefeld, Germany) i wody dejonizowanej (ultraczystej). Podczas sporządzania roztworów w celu rozpuszczenia soli stosowano mieszadło magnetyczne (MS HS firmy Vigo Polska). Podczas badań, prowadzonych w latach 2005–2007, zastosowano zasolenie wynoszące od 1 do 3 PSU. Uzyskane wówczas wyniki wskazywały, że można zwiększyć zakres zasolenia wody, dlatego w latach 2009–2011 zastosowano wyższe stężenie soli w sporządzanych roztworach (od 1 PSU do 5 PSU).

Po zakończonym procesie wchłaniania wody przez jaja („uwodnieniu jaj”) umieszczano je w szklanych krystalizatorach o pojemności 1 dm³ z wodą wodociągową i rzeczną (próby kontrolne) oraz zasoloną (o wartości zasolenia takiej samej jak podczas procesu zapłodnienia).

Krystalizatory wypełnione wodą, w których przebiegał proces inkubacji jaj były wyposażone w napowietrzacze zapewniające odpowiednią zawartość tlenu w wodzie, zaś woda była systematycznie wymieniana w trakcie embriogenezy. Podczas inkubacji jaj w temperaturze 3,0, 5,0 i 13,0°C woda była wymieniana raz na dobę, natomiast w temperaturze 17,0 i 19,0°C – dwa razy na dobę. Inkubacja prowadzona była w laboratorium izotermicznym Katedry Anatomii, Hydrobiologii i Biotechnologii Rozrodu Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie w optymalnych temperaturach charakterystycznych dla badanych gatunków.

W roku 2011 nie uzyskano wylęgu krąpia z powodu infekcji jaj spowodowanej pleśniawką, która pojawiła się na etapie formowania ciała zarodków. Dlatego brakuje wyników dotyczących wielkości wylęgniętych osobników krąpia z tego roku.

3.2. Analiza przebiegu embriogenezy badanych gatunków ryb

Przyżyciową obserwację i rejestrację rozwoju zarodkowego badanych gatunków ryb (w wodzie słodkiej i zasolonej) przeprowadzano za pomocą dwóch zestawów badawczych.

Zestaw I składał się z mikroskopu stereoskopowego NIKON (SMZ 1500) wraz z mikroprocesorowym regulatorem (Trol-8100/9100), z kolorowej kamery cyfrowej (Nikon DS. Fi-1.), monitora (LG), magnetowidu (JVC-HR-S7700) i komputera (PC); zestaw ten był stosowany w latach 2005–2008. Zestaw II obejmował mikroskop świetlny Nikon ECLIPSE TE-2000S ze stolikiem chłodzącym zapewniającym optymalną stałą temperaturę podczas obserwacji, aparat fotograficzny Nikon Coolpix 5400, kolorową kamerę cyfrową SONY oraz komputer; zestaw był stosowany w latach 2009–2011.

Czas trwania rozwoju zarodkowego badanych gatunków ryb ustalono, stosując jednostki termiczne stopniodni D° lub stopniogodziny H° (iloczyn liczby dni lub godzin trwania embriogenezy przez średnią temperaturę dobową wody). Stopniodni zastosowano w przypadku gatunków ryb tarła jesienno-zimowego, których rozwój zarodkowy trwa długo (2–3 miesiące), gdyż odbywa się w wodzie o niskiej temperaturze wynoszącej 3,0–5,0°C. Natomiast stopniogodziny zastosowano w przypadku gatunków ryb tarła wiosenno-letniego, których czas trwania embriogenezy jest krótki (3–15 dni), gdyż przebiega w wodzie o temperaturze 13,0–19,0°C.

Tempo przebiegu embriogenezy ww. gatunków ryb analizowano u około 60% badanych osobników z danej próby, na podstawie wyznaczonych etapów rozwoju zarodkowego, takich jak: morula drobnocząsteczkowa, morula grubocząsteczkowa, zamknięcie blastoporu, początek pracy serca zarodka, pojawienie się pigmentu w oczach zarodków („zaoczkowanie”); wylęganie się osobników z jaj: pierwsze wylęgi, 50% wylęgu, koniec wylęgu.

Procent zapłodnienia jaj obliczano w poszczególnych próbach na etapie zamykania blastoporu, poddając analizie 100 jaj. W ten sam sposób obliczano odsetek jaj nienapęczniałych – pozbawionych przestrzeni okołóółtkowej.

Przeżywalność określano po zakończeniu procesu klucia. Wyznaczono ją jako odsetek wylęgniętych larw z grupy zapłodnionych 100 jaj (wybranych na etapie zamykania blastoporu). Jeżeli procent zapłodnienia był niski, przeżywalność obliczano, biorąc pod uwagę wszystkie zapłodnione jaja ($n < 100$).

Ilość wylęgniętych larw przedstawiano jako odsetek osobników z badanej próby jaj, zaś procent larw zniekształconych wyznaczono z grupy wszystkich wylęgniętych larw w danej próbie.

3.3. Metodyka pomiarów jaj, larw i sporządzania preparatów osłonek jajowych

Pomiary jaj

Po zakończonym procesie uwodnienia jaj nagrywano ich obrazy za pomocą programu MultiScan Base v. 13.01 (w latach 2005–2008) i NIS Elements Br (w latach 2009–2011), a następnie poddawano analizie (30 jaj). Mierzono dwie średnice (Bartel 1971), a następnie obliczano objętość (V) jaj wg wzoru:

$$V = 4/3 \cdot \pi \cdot r^3 \text{ [mm}^3\text{]}$$

W taki sam sposób analizowano zawarte we wnętrzu jaja kule żółtkowe.

W przypadku jaj okonia, ze względu na występowanie dodatkowej osłonki galaretowatej, pomiary przeprowadzano w 40 H° (stadium dwóch blastomerów) i 1700 H° (stadium ukształtowanego zarodka aktywnie wykonującego ruchy). Mierzono wówczas średnice kul żółtkowych, średnice jaj i grubość osłonki galaretowatej, jak również średnicę całego kompleksu, czyli jaja wraz z osłonką galaretowatą.

Wielkość przestrzeni okołożółtkowej wyliczano z różnicy objętości jaja i objętości komórki jajowej, a następnie wyrażono procentowo jako stosunek objętości przestrzeni perywitelarniej do objętości całego jaja.

Pomiary larw

Wylęgnięte larwy badanych gatunków ryb w pierwszych godzinach po opuszczeniu osłonek poddawane były precyzyjnym pomiarom za pomocą programu MultiScan v. 13.01 w latach 2005–2008 i NIS Elements w latach 2009–2011. Mierzono 20 larw, natomiast w przypadku niskiego procentu przeżycia brano pod uwagę wszystkie zdrowe osobniki. Przeprowadzano pomiary długości całkowitej ciała (*longitudo totalis* – *l.t.*) i pomiary woreczka żółtkowego.

Ze względu na zróżnicowany kształt woreczka żółtkowego u larw badanych gatunków ryb do obliczania jego objętości zastosowano:

- wzór na objętość elipsoidy wydłużonej (V_e) – u siei, szczupaka, miętusa, okonia, sielawy (Blaxter i Hemple 1963):

$$V_e = \pi/6 \cdot l \cdot h^2 \text{ [mm}^3\text{]}$$

gdzie:

- l – długość woreczka żółtkowego [mm],
- h – wysokość woreczka żółtkowego [mm],

- wzór (V_s) na objętość elipsoidy wydłużonej (V_e) i objętość walca (V_w), gdyż u wylęgniętych ryb z rodziny karpowatych (karp, krap i jaź) obserwuje się charakterystyczny kształt woreczka żółtkowego (w postaci dwóch oddziałów) – Bonisławska (2001):

$$V_s = V_e + V_w$$

$$V_e = \pi/6 \cdot l_1 \cdot h_1^2 \text{ [mm}^3\text{]} \quad V_w = \pi \cdot (h_2/2)^2 \cdot l_2 \text{ [mm}^3\text{]}$$

$$V_s = (\pi/6 \cdot l_1 \cdot h_1^2) + (\pi \cdot (h_2/2)^2 \cdot l_2) \text{ [mm}^3\text{]}$$

gdzie:

- l_1 – długość pierwszego oddziału woreczka żółtkowego – elipsoida [mm],
- h_1 – wysokość pierwszego oddziału woreczka żółtkowego – elipsoida [mm],
- l_2 – długość drugiego oddziału woreczka żółtkowego – walec [mm],
- h_2 – wysokość drugiego oddziału woreczka żółtkowego – walec [mm].

Metodyka utrwalania osłonek jajowych jазia. Analiza SEM

W trakcie prowadzonych badań dodatkowo wykonano zdjęcia osłonek jajowych jазia (zewnątrznej i wewnętrznej strony) pod mikroskopem skaningowym (FEI Quanta 200). W tym celu po zapłodnieniu pobierano 5 jaj i przygotowywano preparaty osłonek jajowych. Do konserwacji jaj stosowano 4-procentowy formaldehyd, następnie próbki odwadniano w szeregu alkoholowym o wzrastającym stężeniu i w acetonie. Jaja wysuszone za pomocą płynnego CO₂ w tzw. punkcie krytycznym zostały przymocowane do podstawek i napyłone cienką warstwą stopu złota i palladu (napyłarką Quorum Technologies SC7620Mini Sputter Coater). Następnie przygotowane preparaty obserwowano pod mikroskopem skaningowym i wykonywano dokumentację fotograficzną.

3.4. Badania hydrochemiczne

W laboratorium Zakładu Sozologii Wód Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie określano wartości wskaźników, takich jak: temperatura i odczyn wody (pehametrem z termometrem firmy Elmetron CP-103 Polska), zawartość tlenu rozpuszczonego w wodzie (metodą Winklera), zasolenie (solomierzem firmy Elmetron CC-103 Polska), oraz wskaźników charakteryzujących warunki biogenne: azot azotanowy(III) N-NO₂⁻ (oznaczano z sulfanilamidem ($\lambda = 543$ nm)), azot amonowy N-NH₄⁺ (metodą indofenolową ($\lambda = 63$ nm)), fosforany P-PO₄³⁻ (metodą molibdenianową z kwasem askorbinowym jako reduktorem ($\lambda = 882$ nm)), siarczany SO₄²⁻ (metodą z chlorkiem baru ($\lambda = 420$ nm)). W metodach kolorymetrycznych stosowano spektrofotometr UV-VIS Spectroquant Pharo 300 firmy Merck, Germany. Warunki fizykochemiczne wody używanej do doświadczeń były analizowane zgodnie z zaleceniami Standards Methods (APHA 1995).

Natomiast wartości pozostałych wskaźników jakości wody (jonów: litu Li⁺, sodu Na⁺, magnezu Mg²⁺, wapnia Ca²⁺, potasu K⁺, bromkowych Br⁻, fluorkowych F⁻, chlorkowych Cl⁻), oznaczano w Zakładzie Hydrochemii i Ochrony Wód Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie na chromatografie jonowym firmy Dionex ICS 3000 Thermo Scientific.

Najistotniejsze wskaźniki jakości wody wpływające na przebieg embriogenezy u ryb, czyli temperatura, pH i zawartość tlenu były pod stałą kontrolą. Temperaturę i odczyn wody mierzone codziennie. Woda podczas inkubacji była stale napowietrzana, dlatego zawartość tlenu określano w zależności od gatunku ryby co tydzień (sieja, sielawa, miętus) lub na początku, w trakcie i pod koniec embriogenezy (pozostałe gatunki).

Uśrednione wartości ww. wskaźników dla poszczególnych gatunków ryb zamieszczono w tab. 2.

Woda podczas inkubacji jaj była systematycznie wymieniana (w zależności od temperatury – raz lub dwa razy na dobę), w związku z czym nie była zanieczyszczona, dlatego wartości pozostałych wskaźników jakości wody używanej do doświadczeń były analizowane tylko na początku rozwoju zarodkowego badanych gatunków ryb w celu wykazania różnic w zawarto-

ści poszczególnych jonów. Uśrednione wartości badanych wskaźników wody używanej do inkubacji jaj badanych gatunków zestawiono w tab. 3.

Tabela. 2. Średnia temperatura, pH wody i zawartość tlenu [$\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$] w wodzie słodkiej i zasolonej podczas badań

| Gatunek | Temperatura [$^{\circ}\text{C}\pm 0,2$] | Odczyn | | | | | | | Zawartość tlenu [$\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$] | | | | | | |
|----------|--|--------------|------------------|---------------------|-----|-----|-----|-----|--|------------------|---------------------|------------|------------|------------|------------|
| | | woda rzeczna | woda wodociągowa | woda zasolona [PSU] | | | | | woda rzeczna | woda wodociągowa | woda zasolona [PSU] | | | | |
| | | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Sieja | 5,0 | 7,6 | 7,4 | 7,3 | 7,5 | 8,1 | – | – | 12,9 | 13,1 | 12,7 | 12,9 | 12,8 | – | – |
| Sielawa | 4,5 | – | 7,4 | 7,3 | 7,5 | 8,1 | 8,3 | 8,2 | – | 12,6 | 12,9 | 12,6 | 12,6 | 12,0 | 12,2 |
| Miętus | 3,0 | – | 7,5 | 7,5 | 7,8 | 8,0 | 7,9 | 7,8 | – | 13,2 | 13,0 | 12,7 | 12,7 | – | – |
| Jaź | 13,0 | 8,2 | 7,4 | 7,3 | 7,5 | 7,8 | – | – | 10,9 | 11,2 | 10,8 | 10,8 | 10,6 | – | – |
| Karp | 19,0 | – | 7,6 | 7,7 | 7,9 | 7,8 | – | – | – | 10,6 | 9,9 | 9,8 | 9,3 | – | – |
| Krąp | 19,0 17,0 | – – | 7,4 | 7,8 | 7,5 | 7,8 | 7,9 | 8,2 | – – | 10,6 10,9 | 9,9 9,9 | 9,8 9,6 | 9,3 9,2 | 9,1 9,2 | 9,1 9,0 |
| Okoń | 14,0 | – | 7,5 | 7,6 | 7,5 | 7,8 | 8,1 | 8,2 | – | 11,3 | 11,1 | 10,8 | 10,6 | 10,3 | 10,2 |
| Szczupak | 13,0 | 7,5 | 7,3 | 7,3 | 7,5 | 7,8 | 8,1 | 8,2 | 10,6 | 11,0 | 11,0 | 10,9 | 10,8 | 10,5 | 10,0 |

Tabela 3. Średnia wartość wybranych wskaźników wody używanej do inkubacji jaj badanych gatunków ryb

| Jony | Woda rzeczna | Woda wodociągowa | Woda zasolona | | | | |
|--|--------------|------------------|---------------|---------|---------|---------|---------|
| Wartość zasolenia [PSU] | 0,35 | 0,3 | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 4,0 | 5,0 |
| Li [$\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$] | 0,006 | 0,087 | 0,115 | 0,128 | 0,135 | 0,151 | 0,185 |
| Na ⁺ [$\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$] | 13,83 | 42,58 | 392,69 | 532,62 | 809,14 | 1131,74 | 1320,62 |
| Mg ²⁺ [$\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$] | 10,13 | 14,89 | 26,34 | 33,55 | 46,58 | 51,46 | 62,73 |
| Ca ²⁺ [$\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$] | 63,64 | 68,62 | 13,61 | 21,98 | 31,53 | 42,29 | 49,97 |
| K ⁺ [$\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$] | 1,47 | 4,89 | 9,34 | 15,55 | 26,58 | 35,46 | 42,73 |
| Br ⁻ [$\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$] | 4,63 | 0,27 | 1,20 | 2,45 | 4,67 | 5,73 | 8,11 |
| F ⁻ [$\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$] | 0,23 | 0,22 | 0,08 | 0,09 | 0,10 | 0,12 | 0,17 |
| Cl ⁻ [$\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$] | 20,07 | 51,81 | 548,29 | 1045,76 | 1578,68 | 2024,99 | 2346,98 |
| N-NH ₄ ⁺ [$\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$] | 0,048 | 0,097 | 0,133 | 0,159 | 0,151 | 0,149 | 0,143 |
| N-NO ₂ ⁻ [$\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$] | 0,007 | 0,008 | 0,009 | 0,008 | 0,008 | 0,008 | 0,009 |
| SO ₄ ²⁻ [$\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$] | 55,80 | 26,38 | 31,88 | 45,12 | 72,62 | 87,56 | 108,22 |
| P-PO ₄ ³⁻ [$\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$] | 0,005 | 0,008 | 0,005 | 0,010 | 0,011 | 0,013 | 0,008 |

3.5. Analiza statystyczna

Wyniki badań opracowano statystycznie w programie Statistica 8.0 PL software (StatSoft Poland). W celu stwierdzenia różnic statystycznie istotnych pomiędzy parametrami wielko-

ściowymi jaj, kul żółtkowych, przestrzeni perywitellarniej oraz wyznaczonymi parametrami wielkościami świeżo wylęgniętych larw z jaj inkubowanych w zróżnicowanych warunkach zasolenia wody zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA, $p < 0,01$). Następnie użyto testu post-hoc Duncana ($p < 0,01$) w celu porównania średnich parametrów jaj, kul żółtkowych, przestrzeni perywitellarniej oraz parametrów wielkościowych larw pochodzących z jaj inkubowanych w próbie kontrolnej i w wodzie o zróżnicowanym zasoleniu. Test ten zastosowano również w celu przedstawienia różnic międzygrupowych w przypadku odsetka zapłodnionych jaj i jaj bez przestrzeni perywitellarniej (nienapęczniałych), odsetka żywych larw i osobników zniekształconych wylęgniętych w próbie kontrolnej i w próbach z wodą zasoloną.

4. WYNIKI

4.1. Wielkości charakteryzujące jaja badanych gatunków ryb inkubowanych w zróżnicowanych warunkach zasolenia wody

Rodzina: łososiowate (*Salmonidae*)

Gatunki: sieja *Coregonus lavaretus* (L.), sielawa *Coregonus albula* (L.)

Uzyskane wyniki pomiarów jaj i zawartych w ich wnętrzu kul żółtkowych siei i sielawy wykazały brak różnic statystycznie istotnych ($p > 0,01$) pomiędzy jajami, których embriogeneza przebiegała w wodzie słodkiej a jajami, których embriogeneza przebiegała w wodzie słonej. Dotyczy to zarówno średnicy (a tym samym objętości jaj) oraz kul żółtkowych, jak i wielkości powstałej przestrzeni okołożółtkowej w jajach w poszczególnych wariantach doświadczenia (tab. 4, 5).

Tabela 4. Charakterystyka jaj siei inkubowanych w wodzie rzecznej, wodociągowej i zasolonej

| Parametry | Woda rzeczna | Woda wodociągowa | Woda zasolona [PSU] | | |
|--|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | | | 1,0 | 2,0 | 3,0 |
| Średnica jaj [mm] | 2,69 ^a ±0,03 | 2,69 ^a ±0,08 | 2,72 ^a ±0,05 | 2,68 ^a ±0,08 | 2,67 ^a ±0,06 |
| Średnica kul żółtkowych [mm] | 2,20 ^a ±0,02 | 2,19 ^a ±0,08 | 2,18 ^a ±0,04 | 2,19 ^a ±0,06 | 2,20 ^a ±0,14 |
| Objętość jaj [mm ³] | 10,25 ^a ±0,35 | 10,36 ^a ±0,89 | 10,52 ^a ±0,47 | 10,08 ^a ±0,89 | 10,03 ^a ±0,62 |
| Objętość kul żółtkowych [mm ³] | 5,59 ^a ±0,14 | 5,54 ^a ±0,60 | 5,45 ^a ±0,29 | 5,51 ^a ±0,44 | 5,57 ^a ±0,45 |
| Przeźródność perywitellarna [%] | 45,42 ^a ±1,33 | 46,28 ^a ±2,29 | 48,00 ^a ±2,50 | 45,24 ^a ±3,21 | 45,66 ^a ±3,74 |
| Zapłodnienie [%] | 87,0 ^c | 85,0 ^c | 89,0 ^c | 75,0 ^b | 50,0 ^a |
| Liczba jaj | 260 | 245 | 290 | 286 | 277 |

W tabeli podano wartości średnie i odchylenie standardowe (SD). Analiza wariancji ANOVA $p < 0,01$; dla poszczególnych prób wartości średnie w rzędach, oznaczone zróżnicowanym indeksem górnym, różnią się statystycznie istotnie przy $p < 0,01$ – test post-hoc Duncana.

Przeźródność perywitellarna, stanowiąca środowisko życia rozwijającego się zarodka, w jajach siei wynosiła od 45,24% (przy zasoleniu 2 PSU) do 48,00% (przy zasoleniu 1 PSU) objętości całych jaj, jednakże analiza statystyczna wykazała brak różnic statystycznie istotnych ($p > 0,01$) w wielkości przestrzeni perywitellarniej w badanych próbach (tab. 4).

W przypadku jaj sielawy również stwierdzono brak różnic statystycznie istotnych, dotyczących wielkości przestrzeni okołożółtkowej jaj inkubowanych w wodzie słodkiej i zasolonej. Wielkość przestrzeni perywitellarniej stanowiła od 52,51% do 53,66% objętości jaja (tab. 5).

Tabela 5. Charakterystyka jaj sielawy inkubowanych w wodzie wodociągowej i zasolonej

| Parametry | Woda wodociągowa | Woda zasolona [PSU] | | | | |
|--|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 4,0 | 5,0 |
| Średnica jaj [mm] | 1,98 ^a ±0,10 | 2,00 ^a ±0,13 | 1,97 ^a ±0,15 | 1,97 ^a ±0,15 | 1,99 ^a ±0,14 | 2,02 ^a ±0,15 |
| Średnica kul żółtkowych [mm] | 1,54 ^a ±0,07 | 1,53 ^a ±0,07 | 1,53 ^a ±0,06 | 1,52 ^a ±0,06 | 1,54 ^a ±0,07 | 1,55 ^a ±0,07 |
| Objętość jaj [mm ³] | 4,17 ^a ±0,57 | 4,25 ^a ±0,80 | 4,06 ^a ±0,90 | 4,05 ^a ±0,91 | 4,23 ^a ±0,87 | 4,38 ^a ±0,90 |
| Objętość kul żółtkowych [mm ³] | 2,04 ^a ±0,25 | 1,90 ^a ±0,29 | 1,87 ^a ±0,22 | 1,86 ^a ±0,25 | 1,92 ^a ±0,26 | 1,95 ^a ±0,27 |
| Przestrzeń perywitellarna [%] | 52,51 ^a ±2,60 | 52,78 ^a ±3,62 | 52,25 ^a ±5,01 | 53,66 ^a ±4,56 | 52,60 ^a ±4,69 | 53,46 ^a ±4,32 |
| Zapłodnienie [%] | 98,0 ^{bc} | 99,0 ^c | 97,0 ^{bc} | 95,0 ^{ab} | 95,0 ^{ab} | 93,0 ^a |
| Liczba jaj | 460 | 363 | 303 | 338 | 480 | 457 |

Objaśnienia oznaczeń zob. tab. 4.

Odsetek zapłodnionych jaj siei był najwyższy w próbach, w których inkubacja jaj odbywała się w wodzie wodociągowej, rzecznej i zasolonej o wartości 1 PSU (tab. 4). Podobnie było w przypadku jaj sielawy. Wysoki odsetek zapłodnionych jaj (97,0–99,0%) odnotowano w próbach, w których rozwój zarodkowy przebiegał w wodzie wodociągowej oraz zasolonej o wartościach 1 i 2 PSU (tab. 5).

Rodzina: dorszowate (*Gadidae*)

Gatunek: miętus *Lota lota* (L.)

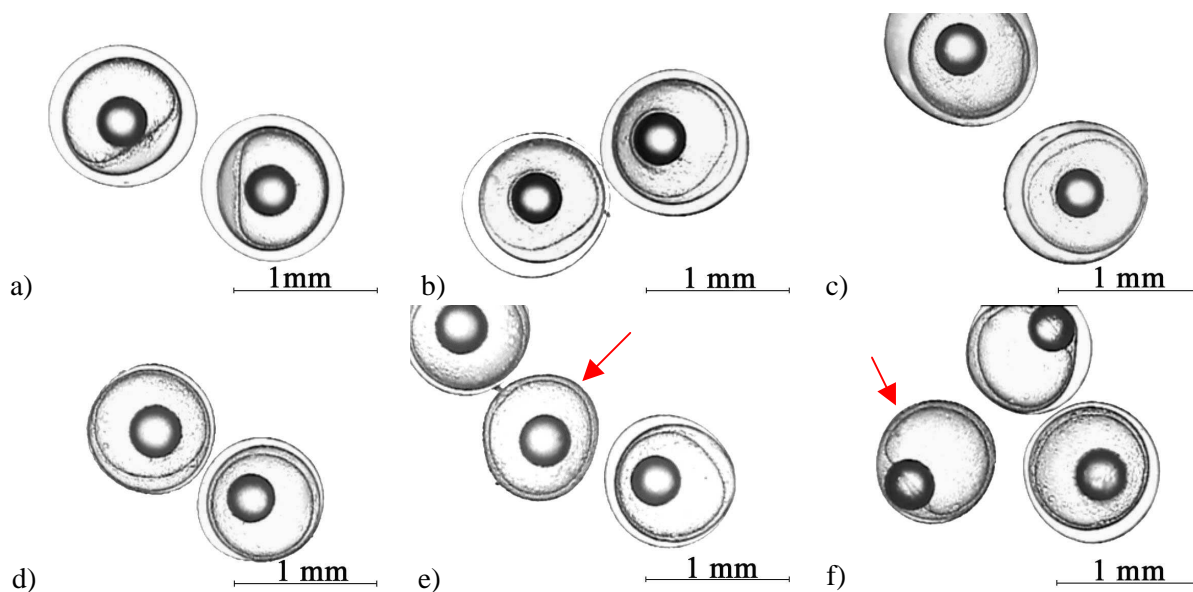
Przeprowadzone pomiary wykazały, że jaja miętusa, których inkubacja odbywała się w wodzie słodkiej (wodociągowej) i w wodzie o najniższym zasoleniu (1 i 2 PSU), były większe o ok. 0,1 mm (średnica a tym samym objętość), niż inkubowane w wodzie o wyższym zasoleniu – 3–5 PSU ($p < 0,01$) – tab. 6.

Tabela 6. Charakterystyka jaj miętusa inkubowanych w wodzie wodociągowej i zasolonej

| Parametry | Woda wodociągowa | Woda zasolona [PSU] | | | | |
|--|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 4,0 | 5,0 |
| Średnica jaj [mm] | 0,97 ^b ±0,05 | 0,98 ^b ±0,02 | 0,97 ^b ±0,02 | 0,88 ^a ±0,05 | 0,88 ^a ±0,01 | 0,88 ^a ±0,03 |
| Średnica kul żółtkowych [mm] | 0,71 ^a ±0,05 | 0,72 ^a ±0,02 | 0,72 ^a ±0,03 | 0,71 ^a ±0,02 | 0,70 ^a ±0,01 | 0,70 ^a ±0,03 |
| Objętość jaj [mm ³] | 0,49 ^b ±0,07 | 0,49 ^b ±0,03 | 0,49 ^b ±0,04 | 0,37 ^a ±0,06 | 0,35 ^a ±0,02 | 0,36 ^a ±0,03 |
| Objętość kul żółtkowych [mm ³] | 0,19 ^a ±0,04 | 0,19 ^a ±0,02 | 0,20 ^a ±0,02 | 0,19 ^a ±0,03 | 0,18 ^a ±0,01 | 0,18 ^a ±0,02 |
| Przestrzeń perywitellarna [%] | 59,76 ^b ±5,01 | 60,50 ^b ±4,73 | 57,27 ^b ±4,49 | 47,21 ^a ±2,52 | 48,28 ^a ±2,65 | 49,83 ^a ±3,20 |
| Nienapęczniałe jaja [%] | 0,0 ^a | 0,0 ^a | 0,0 ^a | 23,0 ^b | 24,0 ^b | 23,0 ^b |
| Zapłodnienie [%] | 82,0 ^d | 63,0 ^c | 56,0 ^{bc} | 46,0 ^{ab} | 41,0 ^a | 43,0 ^a |
| Liczba jaj | 784 | 755 | 771 | 860 | 788 | 742 |

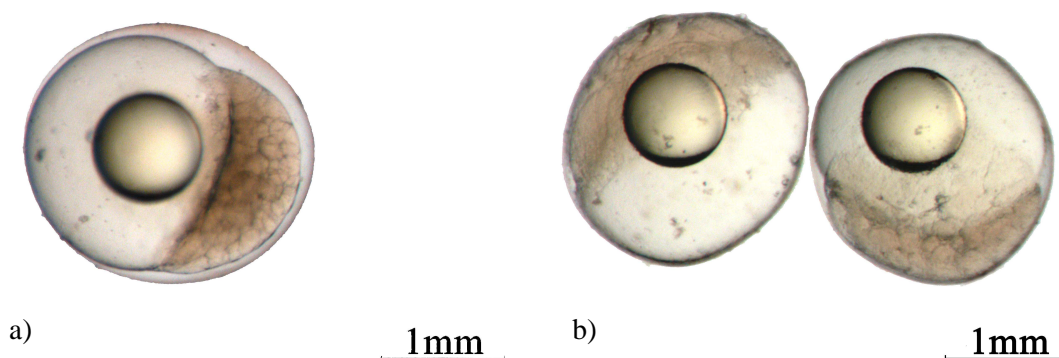
Objaśnienia oznaczeń zob. tab. 4.

Średnice kul żółtkowych we wnętrzu jaj we wszystkich wariantach doświadczenia wynosiły średnio 0,70–0,71 mm (objętość 0,18–0,20 mm³); stwierdzono brak różnic statystycznie istotnych pomiędzy wariantami (tab. 6). Pomiary wielkości przestrzeni perywitellarniej wykazały różnice statystycznie istotne ($p < 0,01$) pomiędzy ich wielkością w jajach inkubowanych w wodzie wodociągowej i w wodzie o zasoleniu wynoszącym 1 i 2 PSU (57,27–60,50%) a wielkością przestrzeni perywitellarniej w jajach inkubowanych w wodzie o zasoleniu wynoszącym 3–5 PSU (47,21–49,83 %) – tab. 6, ryc. 1.



Ryc. 1. Zmiany wielkości jaj i przestrzeni okołożółtkowych w jajach miętusa (stadium – wzgórek przyjęcia – 9 H°) inkubowanych w wodzie: a) wodociągowej, b) o wartości 1 PSU, c) o wartości 2 PSU, d) o wartości 3 PSU, e) o wartości 4 PSU, f) o wartości 5 PSU; czerwone strzałki wskazują jaja bez przestrzeni perywitellarniej

W próbie jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu 3, 4 i 5 PSU odnotowano 23–24% jaj, w których nie powstała przestrzeń perywitellarna (tab. 6; ryc. 1e, f). W jajach tych, pomimo braku przestrzeni okołożółtkowej, obserwowano początkowo rozwój, który zatrzymywał się w stadium powstawania moruli grubocząsteczkowej (ryc. 2).



Ryc. 2. Jaja miętusa na etapie moruli grubocząsteczkowej, inkubowane w wodzie: a) wodociągowej, b) o wartości 4 PSU – brak przestrzeni okołożółtkowej

Najwyższym odsetkiem zapłodnionych jaj (82%) charakteryzowała się próba, w której embriogeneza przebiega w wodzie wodociągowej; przy zasoleniu 4–5 PSU zapłodnienie wynosiło już tylko 41–43% (tab. 6).

Rodzina: karpowate (*Cyprinidae*)

Gatunki: jaź *Leuciscus idus* (L.), karp *Cyprinus carpio* L., krap *Blicca bjoerkna* (L.)

Wśród badanych gatunków ryb z rodziny karpowatych jaź charakteryzował się największymi rozmiarami jaj, których średnica mieściła się w przedziale 2,10–2,21 mm. Jaja o średnicy 2,10 mm (objętości 4,88 mm³) odnotowano w trzech próbach, w których inkubacja odbywała się w wodzie rzecznej, wodociągowej oraz w wodzie o najwyższym zasoleniu wynoszącym 3 PSU. Największe rozmiary ($\varnothing = 2,21$ mm, $v = 5,72$ mm³) miały jaja rozwijające się w wodzie o zasoleniu 1 i 2 PSU (tab. 7).

Tabela 7. Charakterystyka jaj jazia inkubowanych w wodzie rzecznej, wodociągowej i zasolonej

| Parametry | Woda rzeczna | Woda wodociągowa | Woda zasolona [PSU] | | |
|--|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | | | 1,0 | 2,0 | 3,0 |
| Średnica jaj [mm] | 2,10 ^a ±0,08 | 2,10 ^a ±0,07 | 2,21 ^b ±0,06 | 2,21 ^b ±0,05 | 2,10 ^a ±0,05 |
| Średnica kul żółtkowych [mm] | 1,27 ^a ±0,04 | 1,29 ^a ±0,04 | 1,30 ^a ±0,05 | 1,30 ^a ±0,02 | 1,29 ^a ±0,03 |
| Objętość jaj [mm ³] | 4,88 ^a ±0,50 | 4,88 ^a ±0,50 | 5,72 ^b ±0,50 | 5,72 ^b ±0,66 | 5,10 ^a ±0,36 |
| Objętość kul żółtkowych [mm ³] | 1,10 ^a ±0,08 | 1,13 ^a ±0,11 | 1,16 ^a ±0,12 | 1,16 ^a ±0,05 | 1,11 ^a ±0,11 |
| Przeźroczność perywitellarna [%] | 78,68 ^a ±2,54 | 76,64 ^a ±3,23 | 79,71 ^b ±2,05 | 79,32 ^b ±2,78 | 78,22 ^a ±2,46 |
| Zapłodnienie [%] | 95,0 ^b | 96,0 ^b | 93,0 ^{ab} | 90,0 ^a | 93,0 ^{ab} |
| Liczba jaj | 275 | 219 | 291 | 350 | 329 |

Objaśnienia oznaczeń zob. tab. 4.

W związku z występującymi w badanych próbach różnicami statystycznie istotnymi ($p < 0,01$) pomiędzy wielkościami jaj w badanych próbach i brakiem różnic ($p > 0,01$) pomiędzy wielkością kul żółtkowych przestrzeni perywitellarna w jajach jazia, inkubowanych w wodzie o zasoleniu 1 i 2 PSU, była większa od przestrzeni perywitellarniej w jajach inkubowanych w wodzie rzecznej, wodociągowej i o zasoleniu 3 PSU (różnice statystycznie istotne) – tab. 7.

We wszystkich próbach procent zapłodnionych jaj był wysoki i wynosił ponad 90; najwyższy procent (96%) odnotowano w próbie jaj inkubowanych w wodzie wodociągowej (tab. 7).

Obserwacje i przeprowadzone pomiary średnic jaj i wielkości przestrzeni perywitellarniej wykazały w doświadczeniach, dotyczących dwóch pozostałych badanych gatunków ryb z rodziny karpowatych – karpia i krapia, wzrost wielkości jaj wraz ze zwiększającym się zasoleniem wody, w której przebiegała inkubacja (tab. 8, 9).

Tabela 8. Charakterystyka jaj karpia inkubowanych w wodzie wodociągowej i zasolonej

| Parametry | Woda wodociągowa | Woda zasolona [PSU] | | |
|--|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | | 1,0 | 2,0 | 3,0 |
| Średnica jaj [mm] | 1,37 ^a ±0,07 | 1,40 ^a ±0,06 | 1,47 ^b ±0,07 | 1,53 ^c ±0,05 |
| Średnica kul żółtkowych [mm] | 1,00 ^a ±0,06 | 1,03 ^a ±0,04 | 1,01 ^a ±0,05 | 1,04 ^a ±0,06 |
| Objętość jaj [mm ³] | 1,34 ^a ±0,13 | 1,44 ^a ±0,18 | 1,66 ^b ±0,16 | 1,89 ^c ±0,20 |
| Objętość kul żółtkowych [mm ³] | 0,53 ^a ±0,08 | 0,56 ^a ±0,04 | 0,54 ^a ±0,07 | 0,59 ^a ±0,10 |
| Przestrzeń perywitellarna [%] | 60,35 ^a ±5,05 | 60,08 ^a ±3,97 | 67,12 ^b ±3,50 | 68,37 ^b ±5,77 |
| Zapłodnienie [%] | 73,0 ^b | 70,0 ^{ab} | 67,0 ^{ab} | 63,0 ^a |
| Liczba jaj | 255 | 248 | 260 | 254 |

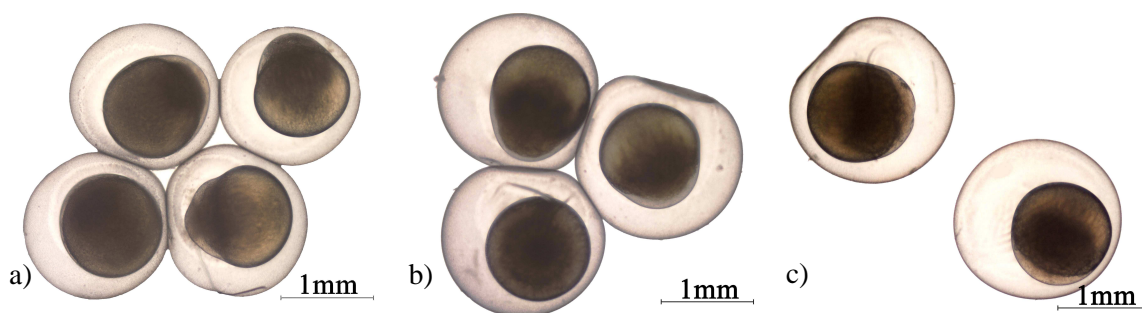
Objaśnienia oznaczeń zob. tab. 4.

Tabela 9. Charakterystyka jaj krąpia inkubowanych w wodzie wodociągowej i zasolonej. Sezon 2005 i 2011

| Sezon 2005 | | | | | | |
|--|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Parametry | woda wodociągowa | woda zasolona [PSU] | | | | |
| | | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 3,0 | |
| Średnica jaj [mm] | 1,53 ^a ±0,06 | 1,51 ^a ±0,06 | 1,57 ^b ±0,07 | 1,56 ^b ±0,06 | 1,56 ^b ±0,06 | |
| Średnica kul żółtkowych [mm] | 0,95 ^a ±0,05 | 0,94 ^a ±0,06 | 0,93 ^a ±0,06 | 0,94 ^a ±0,06 | 0,94 ^a ±0,04 | |
| Objętość jaj [mm ³] | 1,88 ^a ±0,24 | 1,85 ^a ±0,25 | 2,04 ^b ±0,30 | 1,99 ^b ±0,25 | 1,99 ^b ±0,25 | |
| Objętość kul żółtkowych [mm ³] | 0,46 ^a ±0,08 | 0,45 ^a ±0,09 | 0,43 ^a ±0,09 | 0,44 ^a ±0,06 | 0,44 ^a ±0,06 | |
| Przestrzeń perywitellarna [%] | 75,68 ^a ±4,02 | 75,33 ^a ±3,77 | 79,00 ^b ±3,92 | 77,47 ^b ±8,73 | 77,47 ^b ±8,73 | |
| Zapłodnienie [%] | 67,0 ^a | 67,0 ^a | 71,0 ^a | 64,0 ^a | 64,0 ^a | |
| Liczba jaj | 250 | 262 | 254 | 264 | 264 | |
| Sezon 2011 | | | | | | |
| Parametry | woda wodociągowa | woda zasolona [PSU] | | | | |
| | | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 4,0 | 5,0 |
| Średnica jaj [mm] | 1,56 ^a ±0,05 | 1,60 ^a ±0,09 | 1,67 ^b ±0,08 | 1,69 ^b ±0,08 | 1,77 ^c ±0,08 | 1,76 ^c ±0,05 |
| Średnica kul żółtkowych [mm] | 1,05 ^a ±0,04 | 1,06 ^a ±0,04 | 1,05 ^a ±0,04 | 1,05 ^a ±0,05 | 1,05 ^a ±0,05 | 1,05 ^a ±0,05 |
| Objętość jaj [mm ³] | 1,99 ^a ±0,20 | 2,19 ^a ±0,36 | 2,44 ^b ±0,36 | 2,55 ^b ±0,37 | 2,92 ^c ±0,38 | 2,86 ^c ±0,23 |
| Objętość kul żółtkowych [mm ³] | 0,61 ^a ±0,07 | 0,62 ^a ±0,07 | 0,61 ^a ±0,07 | 0,62 ^a ±0,08 | 0,61 ^a ±0,08 | 0,61 ^a ±0,09 |
| Przestrzeń perywitellarna [%] | 68,95 ^a ±5,12 | 70,97 ^a ±5,15 | 74,33 ^b ±4,06 | 75,11 ^b ±6,30 | 78,81 ^c ±4,55 | 78,08 ^c ±4,84 |
| Zapłodnienie [%] | 60,0 ^c | 62,0 ^c | 62,0 ^c | 58,0 ^{bc} | 50,0 ^{ab} | 45,0 ^a |
| Liczba jaj | 260 | 255 | 270 | 271 | 265 | 249 |

Objaśnienia oznaczeń zob. tab. 4.

Średnice kul żółtkowych i wyliczona na ich podstawie objętość, zarówno w próbach jaj karpia, jak i krąpia (inkubowanych w wodzie słodkiej i w zróżnicowanych warunkach zasoleniowych), były zbliżone (brak różnic statystycznie istotnych $p > 0,01$). Efektem wzrostu wielkości jaj w wodzie zasolonej i jego braku w przypadku kul żółtkowych jest zwiększająca się przestrzeń życiowa dla zarodka w postaci przestrzeni perywitellarniej (tab. 8, 9). W przypadku karpia największą wartość (67,12–68,37%) osiągała ona w jajach, których rozwój przebiegał w wodzie o zasoleniu 2 i 3 PSU (tab. 8). Podobnie w przypadku jaj krąpia w roku 2005 największą przestrzenią perywitellarną (77,47–79,00%) charakteryzowały się jaja inkubowane w wodzie o zasoleniu 2 i 3 PSU (tab. 9). Zastosowanie wody o zwiększonej mineralizacji (4 i 5 PSU) w sezonie 2011 w doświadczeniu z ikrą krąpia sprawiło, że zmiany w wielkości jaj i przestrzeni okołożółtkowych były bardziej widoczne (różnice statystycznie istotne) – tab. 9; ryc. 3.



Ryc. 3. Zmiany wielkości jaj i przestrzeni okołożółtkowych w jajach krąpia inkubowanych w wodzie: a) wodociągowej, b) o wartości 3 PSU, c) o wartości 5 PSU

Zapłodnienie jaj karpia było najwyższe (73%) w wodzie wodociągowej, natomiast w wodzie o wartości 3 PSU wynosiło 63% (tab. 8). W przypadku jaj krąpia największy procent zapłodnionych jaj, czyli 71%, odnotowano w wodzie zasolonej o wartości 2 PSU w sezonie 2005 i 62% w wodzie o wartości 1 PSU w sezonie 2011 (tab. 9). Wraz ze wzrostem mineralizacji wody odsetek jaj zapłodnionych malał; największy spadek obserwowano w przypadku jaj krąpia w wodzie o zasoleniu 5 PSU; wynosił on ponad 15% (tab. 9).

Rodzina: okoniowate (*Percidae*)

Gatunek: okoń *Perca fluviatilis* L.

Badania wykazały, że w przypadku jaj okonia wraz ze wzrostem zasolenia wody, zastosowanej do inkubacji, następowało zmniejszenie wielkości kompleksu, w skład którego wchodziło jajo wraz z osłonką galaretowatą, zmniejszenie wielkości jaj (średnicy, objętości), przestrzeni perywitellarniej i grubości osłonki galaretowatej. Obserwowano to w dwóch badanych etapach rozwoju zarodkowego – na etapie bruzdkowania (pojawienia się dwóch blastomerów – 40 H°) oraz na etapie, w którym w oczach zarodka widoczne są soczewki i w którym zarodek wykonuje ruchy – 1700 H° (tab. 10).

Wielkość kul żółtkowych w jajach będących w stadium dwóch blastomerów (w 40 H°) we wszystkich była bardzo zbliżona (brak różnic statystycznie istotnych; $p > 0,01$) i wynosiła od

1,01 do 1,02 mm, a objętość – od 0,54 do 0,55 mm³; w późniejszym stadium (ukształtowanego zarodka w 1700 H°) ze względu na wzrost i rozwój zarodka parametr ten nie był badany.

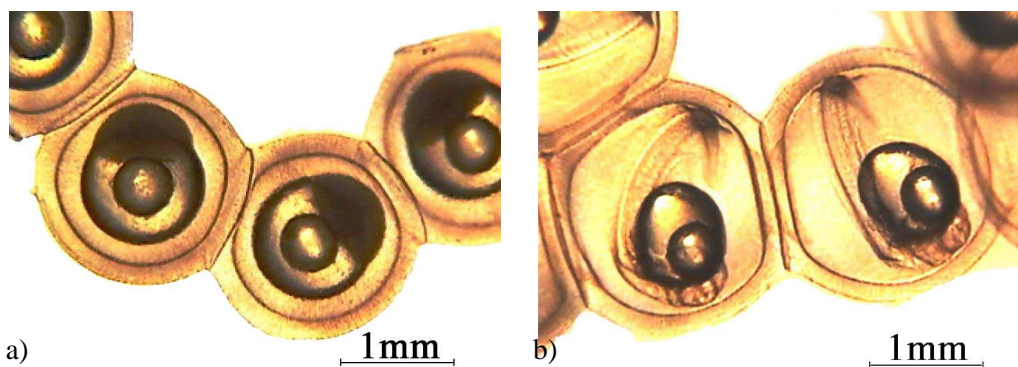
Grubość osłonki galaretowatej jaj okonia, mierzona w 40 i 1700 H° embriogenezy, była zróżnicowana. W próbach jaj inkubowanych w wodzie wodociągowej i o wartości 1 PSU była ona największa i wynosiła średnio 0,38–0,40 mm, natomiast w próbie jaj inkubowanych w wodzie o wartości 5 PSU była najmniejsza i wynosiła 0,32–0,34 mm (tab. 10).

Tabela 10. Charakterystyka jaj okonia inkubowanych w wodzie wodociągowej i zasolonej. Pomiar w 40 H° i 1700 H°

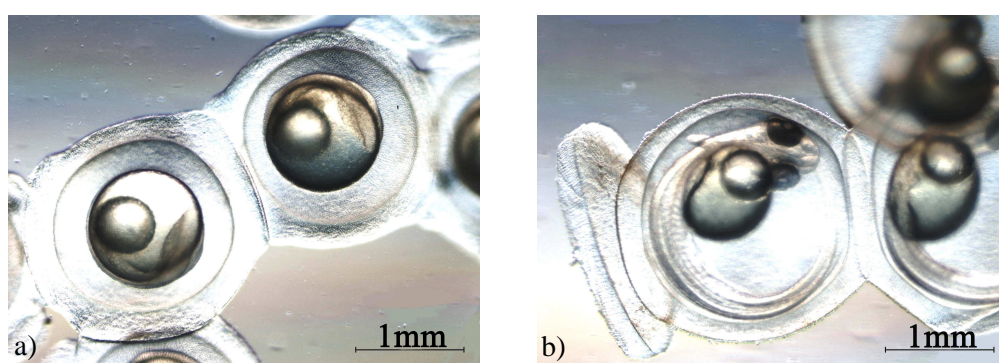
| Parametry | Woda wodociągowa | Woda zasolona [PSU] | | | | |
|--|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 4,0 | 5,0 |
| 40 H° | | | | | | |
| Średnica kompleksu [mm] | 1,80 ^e ±0,04 | 1,76 ^d ±0,03 | 1,72 ^c ±0,03 | 1,65 ^b ±0,04 | 1,64 ^{ab} ±0,03 | 1,62 ^a ±0,04 |
| Średnica jaj [mm] | 1,39 ^e ±0,02 | 1,37 ^d ±0,02 | 1,35 ^c ±0,02 | 1,30 ^b ±0,03 | 1,29 ^a ±0,03 | 1,29 ^a ±0,03 |
| Średnica kul żółtkowych [mm] | 1,02 ^a ±0,02 | 1,01 ^a ±0,02 | 1,01 ^a ±0,03 | 1,01 ^a ±0,03 | 1,01 ^a ±0,02 | 1,01 ^a ±0,03 |
| Objętość kompleksu [mm ³] | 2,99 ^e ±0,14 | 2,88 ^d ±0,15 | 2,68 ^c ±0,14 | 2,37 ^b ±0,16 | 2,31 ^{ab} ±0,14 | 2,25 ^a ±0,16 |
| Objętość jaj [mm ³] | 1,41 ^e ±0,07 | 1,35 ^d ±0,07 | 1,29 ^c ±0,07 | 1,16 ^b ±0,07 | 1,13 ^a ±0,07 | 1,12 ^a ±0,07 |
| Objętość kul żółtkowych [mm ³] | 0,54 ^a ±0,03 | 0,54 ^a ±0,02 | 0,55 ^a ±0,04 | 0,55 ^a ±0,03 | 0,55 ^a ±0,03 | 0,55 ^a ±0,03 |
| Grubość osłonki galaretowatej [mm] | 0,40 ^d ±0,02 | 0,39 ^d ±0,02 | 0,37 ^c ±0,02 | 0,35 ^b ±0,03 | 0,35 ^b ±0,02 | 0,34 ^a ±0,03 |
| Przestrzeń perywitellarna [%] | 59,46 ^d ±2,75 | 59,53 ^d ±2,53 | 57,34 ^c ±3,62 | 52,60 ^b ±4,48 | 50,93 ^a ±4,03 | 50,30 ^a ±5,25 |
| 1700 H° | | | | | | |
| Średnica kompleksu [mm] | 2,53 ^e ±0,09 | 2,23 ^d ±0,05 | 2,19 ^{cd} ±0,08 | 2,14 ^{bc} ±0,08 | 2,12 ^b ±0,07 | 2,02 ^a ±0,05 |
| Objętość kompleksu [mm ³] | 8,50 ^e ±0,91 | 5,80 ^d ±0,43 | 5,53 ^{cd} ±0,56 | 5,17 ^{bc} ±0,54 | 4,97 ^b ±0,47 | 4,29 ^a ±0,36 |
| Średnica jaj [mm] | 2,13 ^d ±0,11 | 1,85 ^c ±0,04 | 1,84 ^c ±0,08 | 1,81 ^{bc} ±0,09 | 1,77 ^b ±0,07 | 1,69 ^a ±0,06 |
| Objętość jaj [mm ³] | 5,13 ^d ±0,70 | 3,31 ^c ±0,24 | 3,27 ^c ±0,43 | 3,12 ^{bc} ±0,45 | 2,90 ^b ±0,36 | 2,54 ^a ±0,27 |
| Grubość osłonki galaretowatej [mm] | 0,39 ^c ±0,05 | 0,38 ^c ±0,02 | 0,35 ^b ±0,03 | 0,34 ^{ab} ±0,03 | 0,34 ^{ab} ±0,02 | 0,32 ^a ±0,02 |
| Zapłodnienie [%] | 84,0 ^c | 82,0 ^c | 66,0 ^b | 64,0 ^b | 57,0 ^a | 55,0 ^a |
| Liczba jaj | 353 | 350 | 351 | 333 | 335 | 339 |

Objaśnienia oznaczeń zob. tab. 4.

Zaobserwowano, że wraz z postępującym rozwojem zarodkowym okonia, zarówno w wodzie słodkiej (wodociągowej), jak i w wodzie zasolonej, następował wzrost wielkości jaja, a tym samym całego kompleksu, natomiast szerokość osłonki galaretowatej w poszczególnych próbach nie ulegała zmianie lub nieznacznie malała (tab. 10; ryc. 4, 5).



Ryc. 4. Zmiany wielkości jaj i grubości osłonki galaretowatej okonia w wybranych etapach embriogenezy przebiegającej w wodzie o zasoleniu wynoszącym 3 PSU: a) morula drobnocząsteczkowa (230 H°), b) ukształtowany zarodek –1700 H°



Ryc. 5. Zmiany wielkości jaj i grubości osłonki galaretowatej okonia w wybranych etapach embriogenezy przebiegającej w wodzie wodociągowej: a) kształtowanie się konturów ciała zarodka – 570 H°, b) zarodek z wyraźną pigmentacją oczu – 2300 H°

Wysokim odsetkiem jaj zapłodnionych (w granicach 82–84%) charakteryzowała się próba, w której jaja inkubowane były w wodzie słodkiej (wodociągowej) i zasolonej o wartości 1 PSU; w wodzie o wartości 5 PSU procent zapłodnienia wynosił tylko 55 (tab.10).

Rodzina: szczupakowate (*Esocidae*)

Gatunek: szczupak *Esox lucius* L.

Jak wykazały badania, jaja szczupaka, inkubowane w wodzie słodkiej (wodociągowej, rzecznej) i zasolonej o wartości 1–5 PSU, charakteryzowały się zmiennymi parametrami wielkościami, w zależności od rodzaju wody, w której przebiegała embriogeneza (tab. 11).

Jaja o najmniejszej objętości to jaja inkubowane w wodzie rzecznej i wodociągowej. Wymiary jaj, inkubowanych w wodzie wodociągowej, a także w wodzie o zasoleniu 1 i 2 PSU, były zbliżone; stwierdzono brak różnic statystycznie istotnych (tab. 11). Wraz ze wzrastającym zasoleniem wody notowano wzrost wartości średnic (a tym samym objętości) jaj oraz wzrost wielkości przestrzeni okołożółtkowej ($p < 0,01$) – tab. 11; ryc. 6.

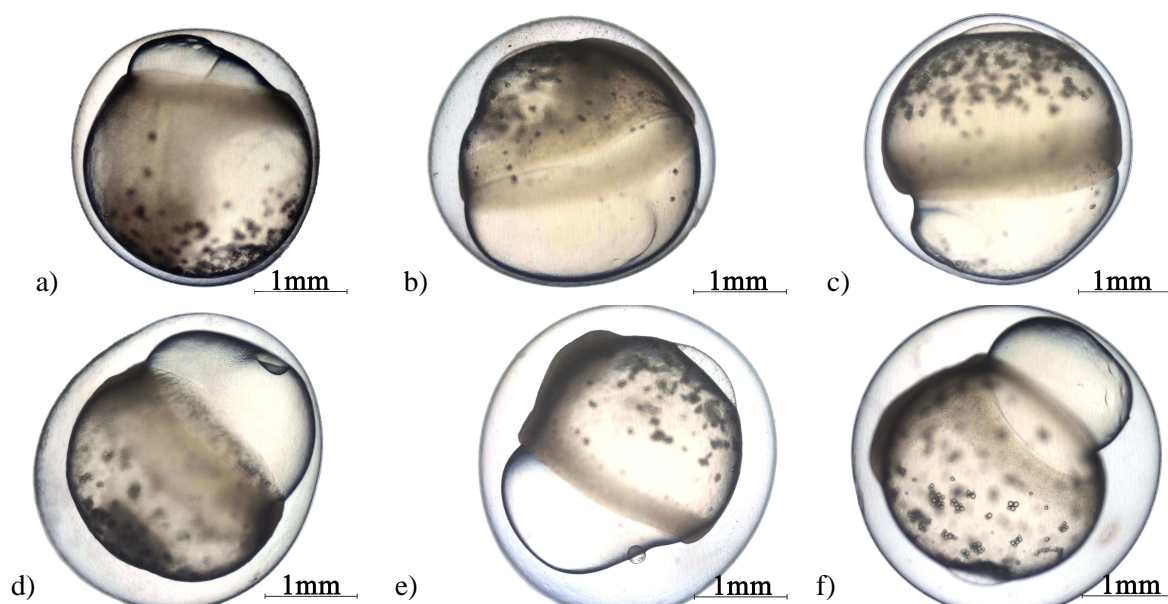
W przypadku średnic i objętości kul żółtkowych, zawartych w jajach inkubowanych w wodzie słodkiej i zasolonej, nie stwierdzono różnic statystycznie istotnych (tab. 11). Podczas inkubacji jaj w wodzie o zasoleniu 3, 4 i 5 PSU zaobserwowano jaja nienapęczniałe

(brak przestrzeni perywitellarnej). Liczba tych jaj zwiększała się w próbach wraz ze wzrostem zasolenia – aż do 79% w wodzie o zasoleniu 5 PSU (tab. 11; ryc. 7). W jajach tych nie postępował rozwój zarodkowy. Pomimo to jaja bez przestrzeni perywitellarnej nie pokrywały się pleśnią ani nie „bielały” (ryc. 7).

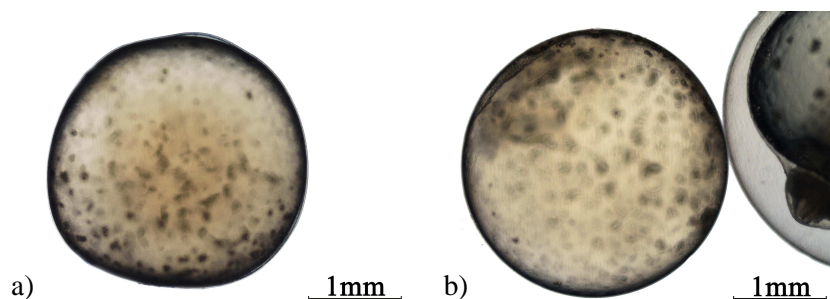
Tabela 11. Charakterystyka jaj szczupaka inkubowanych w wodzie rzecznej, wodociągowej i zasolonej

| Parametry | Woda rzeczna | Woda wodociągowa | Woda zasolona [PSU] | | | | |
|--|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | | | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 4,0 | 5,0 |
| Średnica jaj [mm] | 2,82 ^a ±0,09 | 2,88 ^{ab} ±0,04 | 2,91 ^b ±0,05 | 2,93 ^b ±0,04 | 3,07 ^c ±0,09 | 3,31 ^d ±0,07 | 3,38 ^e ±0,09 |
| Średnica kul żółtkowych [mm] | 2,55 ^a ±0,10 | 2,57 ^a ±0,08 | 2,57 ^a ±0,06 | 2,58 ^a ±0,06 | 2,56 ^a ±0,07 | 2,57 ^a ±0,10 | 2,61 ^a ±0,10 |
| Objętość jaj [mm ³] | 11,77 ^a ±1,07 | 12,45 ^a ±0,53 | 13,11 ^b ±0,62 | 13,19 ^b ±0,55 | 15,18 ^c ±1,55 | 18,95 ^d ±1,32 | 20,32 ^e ±1,63 |
| Objętość kul żółtkowych [mm ³] | 8,76 ^a ±1,03 | 8,90 ^a ±0,77 | 8,95 ^a ±0,66 | 8,98 ^a ±0,61 | 8,78 ^a ±0,77 | 8,96 ^a ±0,85 | 9,32 ^a ±0,76 |
| Przestrzeń perywitellarna [%] | 31,63 ^b ±5,08 | 28,57 ^a ±4,69 | 31,74 ^b ±3,51 | 31,91 ^b ±3,39 | 42,03 ^c ±3,31 | 52,49 ^d ±5,27 | 53,95 ^d ±4,04 |
| Nienapęczniałe jaja [%] | 0,0 ^a | 0,0 ^a | 0,0 ^a | 2,0 ^a | 13,0 ^b | 35,0 ^c | 79,0 ^d |
| Zapłodnienie [%] | 86,0 ^{cd} | 89,0 ^d | 98,0 ^e | 91,0 ^{cd} | 81,0 ^c | 54,0 ^b | 20,0 ^a |
| Liczba jaj | 256 | 248 | 258 | 245 | 236 | 253 | 265 |

Objaśnienia oznaczeń zob. tab. 4.



Ryc. 6. Zmiany wielkości jaj szczupaka (stadium 1/2–2/3 obrastania żółtka) inkubowanych w wodzie: a) wodociągowej, b) o zasoleniu 1 PSU, c) o zasoleniu 2 PSU, d) o zasoleniu 3 PSU, e) o zasoleniu 4 PSU, f) o zasoleniu 5 PSU



Ryc. 7. Nienapęczniejące jaja szczupaka inkubowane w wodzie o zasoleniu 5 PSU: a) w 30 D°, b) w 78 D°

Najwięcej jaj zapłodnionych uzyskano w próbie jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu 1 PSU (98,0%), niewiele mniej w próbie jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu 2,0 PSU (91,0%) oraz w wodzie wodociągowej (89,0%) i rzecznej (86,0%), zaś najmniej w próbie jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu 5 PSU – tylko 20% (tab. 11).

4.2. Przebieg i czas trwania embriogenezy badanych gatunków ryb w zróżnicowanych warunkach zasolenia wody

Rodzina: łososiowate (*Salmonidae*)

Gatunki: sieja *Coregonus lavaretus* (L.), sielawa *Coregonus albula* (L.)

W próbie jaj siei i sielawy, inkubowanych w wodzie wodociągowej, rzecznej i zasolonej o wartości 1–3 PSU (sieja) i 1–5 PSU (sielawa), nie zaobserwowano różnic w tempie rozwoju zarodkowego. Poszczególne wybrane etapy embriogenezy (moruła grubocząsteczkowa, drobnocząsteczkowa, zamknięcie blastoporu, pigment w oczach) zarodki osiągały po upływie tej samej liczby stopniodni (tab. 12, 13).

Tabela 12. Wybrane etapy i czas trwania embriogenezy, przebieg wylęgu oraz przeżywalność zarodków siei inkubowanych w wodzie rzecznej, wodociągowej i zasolonej

| Wyszczególnienie | Woda rzeczna | Woda wodociągowa | Woda zasolona [PSU] | | |
|---------------------------|-------------------|-------------------|---------------------|-------------------|------------------|
| | | | 1,0 | 2,0 | 3,0 |
| Etapy embriogenezy [D°] | | | | | |
| Moruła grubocząsteczkowa | 16,0 | 16,0 | 16,0 | | |
| Moruła drobnocząsteczkowa | 22,0 | 22,0 | 22,0 | | |
| Zamknięcie blastoporu | 65,0 | 65,0 | 65,0 | | |
| Pigment w oczach | 150,0 | 150,0 | 150,0 | | |
| Przebieg wylęgu [D°] | | | | | |
| Początek wylęgu | 305,5 | 315,0 | 315,0 | 292,5 | 288,0 |
| 50% wylęgu | 395,0 | 360,0 | 364,5 | 346,0 | 337,0 |
| Koniec wylęgu | 466,0 | 490,0 | 484,0 | 458,0 | 462,0 |
| Liczba dni inkubacji | 67,8–103,5 | 70–108,8 | 70–107,5 | 65,0–101,7 | 64,0–102,7 |
| Przeżywalność [%] | 46,0 ^b | 50,0 ^b | 45,0 ^b | 37,0 ^b | 9,0 ^a |

Analiza wariancji ANOVA $p < 0,01$; dla poszczególnych prób wartości średnie w rzędach, oznaczone zróżnicowanym indeksem górnym, różnią się statystycznie istotnie przy $p < 0,01$ – test post-hoc Duncana.

Tabela 13. Wybrane etapy i czas trwania embriogenezy, przebieg wylęgu oraz przeżywalność zarodków sielawy inkubowanych w wodzie wodociągowej i zasolonej

| Wyszczególnienie | Woda wodociągowa | Woda zasolona [PSU] | | | | |
|---------------------------|-------------------|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 4,0 | 5,0 |
| Etapy embriogenezy [D°] | | | | | | |
| Morula grubocząsteczkowa | 9,0 | 9,0 | | | | |
| Morula drobnocząsteczkowa | 18,0 | 18,0 | | | | |
| Zamknięcie blastoporu | 63,0 | 63,0 | | | | |
| Pigment w oczach | 157,0 | 157,0 | | | | |
| Przebieg wylęgu [D°] | | | | | | |
| Początek wylęgu | 419 | 405 | 396 | 396 | 387 | 387 |
| 50% wylęgu | 454 | 450 | 445 | 432 | 427,5 | 423 |
| Koniec wylęgu | 481 | 473 | 455 | 432 | 455 | 455 |
| Liczba dni inkubacji | 93–107 | 90–105 | 88–103 | 88–101 | 86–101 | 86–101 |
| Przeżywalność [%] | 79,0 ^a | 81,0 ^a | 79,0 ^a | 76,0 ^a | 73,0 ^a | 73,0 ^a |

Objaśnienia oznaczeń zob. tab. 12.

Pierwsze osobniki, zarówno siei, jak i sielawy, wylęgały się z jaj inkubowanych w wodzie o najwyższym zasoleniu. Po 64–65 dniach pojawił się pierwszy wylęg siei z jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu 3 PSU, natomiast po 86 dniach obserwowano wylęg sielawy z jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu wynoszącym 4–5 PSU (tab. 12, 13). Około 5–7 dni później nastąpił wylęg osobników siei i sielawy z jaj, których embriogeneza przebiegała w wodzie wodociągowej (w przypadku siei również w wodzie rzecznej) – tab. 12, 13.

Przeżycie rozwijających się zarodków w jajach w przypadku siei było niskie – na poziomie 50% w wodzie słodkiej i tylko 9% w wodzie o zasoleniu 3 PSU (tab. 12).

W przypadku sielawy we wszystkich próbach odnotowano wysoki procent żywych zarodków (powyżej 70%). Najwyższy procent przeżycia stwierdzono wśród zarodków pochodzących z jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu 1 PSU (aż 81%), niewiele niższy (79%) w wodzie wodociągowej i o zasoleniu 2 PSU (tab. 13).

Rodzina: dorszowate (*Gadidae*)

Gatunek: miętus *Lota lota* (L.)

W trakcie rozwoju zarodkowego miętusa w pierwszych etapach nie odnotowano zmian w jego tempie w jajach umieszczonych w wodzie wodociągowej i zasolonej. W późniejszych etapach embriogenezy zaobserwowano w próbach wody o zasoleniu 3–5 PSU opóźnienie w pojawieniu się pigmentu w oczach zarodków (tab. 14).

Zarodki miętusa najdłużej przebywały osłonkach jajowych podczas inkubacji w wodzie o zasoleniu 4 i 5 PSU. Jednocześnie w tych próbach jaj procent przeżycia był najniższy i wynosił odpowiednio 21–27. Procent przeżycia zarodków był znacznie wyższy podczas inkubacji jaj w wodzie wodociągowej i o zasoleniu 1 i 2 PSU (wynosił odpowiednio 65, 58, 61%), w porównaniu z zarodkami wylęgającymi się z jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu 3, 4 i 5,0 PSU (tab. 14.)

Zaobserwowano też, że w przypadku tych trzech prób jaj (inkubowanych w wodzie wodociągowej oraz o zasoleniu 1 i 2 PSU) proces wylęgu rozpoczął się najwcześniej (tab. 14).

Tabela 14. Wybrane etapy i czas trwania embriogenezy, przebieg wylęgu oraz przeżywalność zarodków miętusa inkubowanych w wodzie wodociągowej i zasolonej

| Wyszczególnienie | Woda wodociągowa | Woda zasolona [PSU] | | | | |
|---------------------------|-------------------|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 4,0 | 5,0 |
| Etapy embriogenezy [D°] | | | | | | |
| Morula drobnocząsteczkowa | 6,1 | 6,1 | | | | |
| Zamknięcie blastoporu | 30,1 | 30,1 | | | | |
| Pigment w oczach | 74,5 | 74,5 | | 77,5 | | |
| Przebieg wylęgu [D°] | | | | | | |
| Początek wylęgu | 118,0 | 118,0 | 119,1 | 122 | 126,6 | 126,6 |
| 50% wylęgu | 140,5 | 126,1 | 122,0 | 147,0 | 151,0 | 167,0 |
| Koniec wylęgu | 182,5 | 180,0 | 168,5 | 196,5 | 196,5 | 207,5 |
| Liczba dni inkubacji | 39,3–60,8 | 39,3–60,0 | 39,7–56,2 | 40,7–65,5 | 42,2–65,5 | 42,2–69,2 |
| Przeżywalność [%] | 65,0 ^b | 58,0 ^b | 61,0 ^b | 24,0 ^a | 21,0 ^a | 27,0 ^a |

Objaśnienia oznaczeń zob. tab. 12.

Rodzina: karpowate (*Cyprinidae*)**Gatunki: jaź *Leuciscus idus* (L.), karp *Cyprinus carpio* L., krąp *Blicca bjoerkna* (L.)**

Analizowane etapy embriogenezy (morula drobnocząsteczkowa, zamknięcie blastoporu, podział woreczka żółtkowego, początek pracy serca, pigment w oczach) w przypadku jaj jазia, karpia i krąpa były osiągnięte w tym samym czasie (wartości charakterystyczne dla poszczególnych gatunków ryb), bez względu na poziom zasolenia wody (tab. 15, 16, 17).

Tabela 15. Wybrane etapy i czas trwania embriogenezy, przebieg wylęgu oraz przeżywalność zarodków jазia inkubowanych w wodzie rzecznej, wodociągowej i zasolonej

| Wyszczególnienie | Woda rzeczna | Woda wodociągowa | Woda zasolona [PSU] | | |
|-----------------------------|-------------------|-------------------|---------------------|-------------------|-------------------|
| | | | 1,0 | 2,0 | 3,0 |
| Etapy embriogenezy [D°] | | | | | |
| Morula drobnocząsteczkowa | 182,0 | 182,0 | 182,0 | | |
| Zamknięcie blastoporu | 550,5 | 550,5 | 550,5 | | |
| Podział woreczka żółtkowego | 1170,5 | 1170,5 | 1170,5 | | |
| Początek pracy serca | 1313,0 | 1313,0 | 1313,0 | | |
| Pigment w oczach | 1636,0 | 1636,0 | 1636,0 | | |
| Przebieg wylęgu [D°] | | | | | |
| Początek wylęgu | 1902,5 | 1902,5 | 1844,0 | 1844,0 | 1844,0 |
| 50% wylęgu | 3120,0 | 2644,0 | 2058,0 | 1908,0 | 1980,0 |
| Koniec wylęgu | 4680,0 | 3235,0 | 3235,0 | 2923,0 | 2923,0 |
| Liczba dni inkubacji | 6,2–15,0 | 6,2–10,5 | 5,9–10,5 | 5,9–9,4 | 5,9–9,4 |
| Przeżywalność [%] | 30,0 ^a | 38,0 ^a | 30,0 ^a | 31,0 ^a | 31,0 ^a |

Objaśnienia oznaczeń zob. tab. 12.

Tabela 16. Wybrane etapy i czas trwania embriogenezy, przebieg wylęgu oraz przeżywalność zarodków karpia inkubowanych w wodzie wodociągowej i zasolonej

| Wyszczególnienie | Woda wodociągowa | Woda zasolona [PSU] | | |
|-----------------------------|--------------------|---------------------|-------------------|-------------------|
| | | 1,0 | 2,0 | 3,0 |
| Etapy embriogenezy [D°] | | | | |
| Morula drobnocząsteczkowa | 133,0 | 133,0 | | |
| Zamknięcie blastoporu | 366,0 | 366,0 | | |
| Podział woreczka żółtkowego | 656,0 | 656,0 | | |
| Początek pracy serca | 836,0 | 836,0 | | |
| Pigment w oczach | 931,0 | 931,0 | | |
| Przebieg wylęgu [D°] | | | | |
| Początek wylęgu | 1520,0 | 1500,0 | 1406,0 | 1406,0 |
| 50% wylęgu | 1890,0 | 1671,0 | 1587,0 | 1577,0 |
| Koniec wylęgu | 2261,0 | 1862,0 | 1805,0 | 1824,0 |
| Liczba dni inkubacji | 3,3–4,9 | 3,2–4,1 | 3,1–3,9 | 3,1–4,0 |
| Przeżywalność [%] | 45,0 ^{bc} | 57,0 ^c | 40,0 ^b | 21,0 ^a |

Objaśnienia oznaczeń zob. tab. 12.

Tabela 17. Wybrane etapy i czas trwania embriogenezy, przebieg wylęgu oraz przeżywalność zarodków karpia inkubowanych w wodzie wodociągowej i zasolonej

| Wyszczególnienie | Woda wodociągowa | Woda zasolona [PSU] | | |
|-----------------------------|-------------------|---------------------|-------------------|-------------------|
| | | 1,0 | 2,0 | 3,0 |
| Etapy embriogenezy [D°] | | | | |
| Morula drobnocząsteczkowa | 128,0 | 128,0 | | |
| Zamknięcie blastoporu | 275,0 | 275,0 | | |
| Podział woreczka żółtkowego | 637,0 | 637,0 | | |
| Początek pracy serca | 720,0 | 720,0 | | |
| Przebieg wylęgu [D°] | | | | |
| Początek wylęgu | 1400,0 | 1120,0 | 1120,0 | 1080,0 |
| 50% wylęgu | 1500,0 | 1400,0 | 1420,0 | 1440,0 |
| Koniec wylęgu | 1540,0 | 1500,0 | 1480,0 | 1480,0 |
| Liczba dni inkubacji | 3,0–3,4 | 2,5–3,3 | 2,5–3,2 | 2,4–3,2 |
| Przeżywalność [%] | 29,0 ^b | 63,0 ^c | 31,0 ^b | 13,0 ^a |

Pigment w oczach zaobserwowano po wylęgu.

Objaśnienia oznaczeń zob. tab. 12.

Proces wylęgu karpia i karpia rozpoczął się najszybciej w jajach inkubowanych w wodzie o najwyższym zasoleniu, wynoszącym 2 i 3 PSU (w 1406 H° w przypadku karpia i 1080 H° w przypadku karpia) – tab. 15, 16. Natomiast w przypadku jазia początek wylęgu nastąpił jednocześnie w jajach inkubowanych w wodzie o zasoleniu 1, 2 i 3 PSU, w 1844 H° (tab. 17).

Najwyższym procentem żywych zarodków w przypadku jазia charakteryzowała się próba jaj inkubowanych w wodzie wodociągowej (38%), zaś w przypadku karpia i karpia – próba jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu 1 PSU (odpowiednio 57 i 63%) – tab. 15, 16, 17.

Rodzina: okoniowate (*Percidae*)**Gatunek: okoń *Perca fluviatilis* L.**

Czas trwania embriogenezy okonia był najkrótszy w przypadku jaj inkubowanych w wodzie o najwyższym zasoleniu (5 PSU). W tej próbie pierwsze wylęgi pojawiły się w 2282 H°, nieco później jednocześnie rozpoczął się proces wylęgu z jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu 1, 2, 3 i 4 PSU. Natomiast najpóźniej wylęg nastąpił w próbie jaj inkubowanych w wodzie wodociągowej – rozpoczął się w 2064 H° (tab.18).

W przypadku jaj okonia inkubowanych w wodzie słodkiej (wodociągowej) i słonej nie zaobserwowano różnic w tempie rozwoju zarodkowego do momentu zaoczkowania (pojawienia się wyraźnego pigmentu w oczach zarodków), który nastąpił w 2000 H° w wodzie wodociągowej i w wodzie o zasoleniu od 1 do 4 PSU. W wodzie o zasoleniu 5 PSU pigment w oczach nie pojawił się u zarodków przebywających wewnątrz osłonek jajowych (tab. 18).

Tabela 18. Wybrane etapy i czas trwania embriogenezy, przebieg wylęgu oraz przeżywalność zarodków okonia inkubowanych w wodzie wodociągowej i zasolonej

| Wyszczególnienie | Woda wodociągowa | Woda zasolona [PSU] | | | | |
|---------------------------|-------------------|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| | | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 4,0 | 5,0 |
| Etapy embriogenezy [D°] | | | | | | |
| Morula drobnocząsteczkowa | 231,0 | 231,0 | | | | |
| Zamknięcie blastoporu | 391,0 | 391,0 | | | | |
| Początek pracy serca | 1638,0 | 1638,0 | | | | |
| Pigment w oczach | 2000,0 | 2000,0 | | | | brak |
| Przebieg wylęgu [D°] | | | | | | |
| Początek wylęgu | 2604,0 | 2450,0 | 2450,0 | 2450,0 | 2450,0 | 2282,0 |
| 50% wylęgu | 3052,0 | 3598,0 | 3990,0 | 3990,0 | 3990,0 | 3598,0 |
| Koniec wylęgu | 4242,0 | 4942,0 | 4991,0 | 4991,0 | 4606,0 | 4606,0 |
| Liczba dni inkubacji | 7,75–12,63 | 7,29–14,71 | 7,29–14,85 | 7,29–14,85 | 7,29–13,71 | 6,79–13,71 |
| Przeżywalność [%] | 70,0 ^c | 66,0 ^c | 63,0 ^c | 36,0 ^b | 15,0 ^a | 8,0 ^a |

Objaśnienia oznaczeń zob. tab. 12.

Najniższym procentem wylęgniętych larw (8%) charakteryzowała się próba jaj inkubowanych w wodzie o najwyższym zasoleniu (5 PSU); w próbie jaj inkubowanych w wodzie słodkiej (wodociągowej) odsetek wylęgniętych larw był najwyższy (70%) – tab. 18.

Dodatkowo zaobserwowano, że w jajach inkubowanych w wodzie o zasoleniu 4 i 5 PSU zarodki przed wylęgiem masowo obumierały wewnątrz osłonek jajowych i wypadały z nich martwe.

Rodzina: szczupakowate (*Esocidae*)**Gatunek: szczupak *Esox lucius* L.**

Tempo embriogenezy w jajach szczupaka, aż do etapu pojawienia się pigmentu w oczach zarodków (78 D°), było takie samo w próbach jaj inkubowanych w wodzie wodociągowej,

rzecznej oraz w wodzie o zasoleniu od 1 do 3 PSU (tab. 19). Natomiast w jajach inkubowanych w wodzie o najwyższym zasoleniu (4 i 5 PSU) pigment w oczach zarodków pojawił się dopiero dwa dni po opuszczeniu przez nie osłonek jajowych (tab. 19).

Tabela 19. Wybrane etapy i czas trwania embriogenezy, przebieg wylęgu oraz przeżywalność zarodków szczupaka inkubowanych w wodzie rzecznej, wodociągowej i zasolonej

| Wyszczególnienie | Woda rzeczna | Woda wodociągowa | Woda zasolona [PSU] | | | | |
|---------------------------|-------------------|-------------------|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | | | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 4,0 | 5,0 |
| Etapy embriogenezy [D°] | | | | | | | |
| Morula drobnocząsteczkowa | 10,0 | 10,0 | 10,0 | | | | |
| Zamknięcie blastoporu | 30,0 | 30,0 | 30,0 | | | | |
| Początek pracy serca | 65,0 | 65,0 | 65,0 | | | | |
| Pigment w oczach | 78,0 | 78,0 | 78,0 | | | brak | brak |
| Przebieg wylęgu [D°] | | | | | | | |
| Początek wylęgu | 104,0 | 104,0 | 99,5 | 99,5 | 96,0 | 96,0 | 96,0 |
| 50% wylęgu | 125,0 | 130,0 | 117,0 | 110,0 | 110,0 | 110,0 | 110,0 |
| Koniec wylęgu | 140,5 | 137,0 | 130,0 | 130,0 | 130,0 | 130,0 | 130,0 |
| Liczba dni inkubacji | 8,0–10,8 | 8,0–10,5 | 7,7–10,0 | 7,7–10,0 | 7,4–10,0 | 7,4–10,0 | 7,4–10,0 |
| Przeżywalność [%] | 83,0 ^c | 85,0 ^c | 89,0 ^c | 84,0 ^c | 36,0 ^b | 32,0 ^b | 19,0 ^a |

Objaśnienia oznaczeń zob. tab. 12.

Zaobserwowano, że podobnie jak w przypadku innych badanych gatunków ryb, najszybciej proces wylęgu rozpoczął się w próbach jaj umieszczonych w wodzie o zasoleniu 3, 4 i 5 PSU (96 D°); w próbie z wodą wodociągową i z wodą o zasoleniu 1 PSU pierwsze larwy wylęły się w ósmej dobie rozwoju zarodkowego (104 D°) – tab. 19.

Wysoki procent przeżycia zarodków (na poziomie 83–89%) odnotowano w jajach inkubowanych w wodzie o słodkiej (wodociągowej, rzecznej) oraz w wodzie o zasoleniu 1 i 2 PSU; w wodzie o zasoleniu 5 PSU przeżycie zarodków wynosiło tylko 19% (tab. 19).

4.3. Charakterystyka larw badanych gatunków ryb wylęgniętych z jaj inkubowanych w zróżnicowanych warunkach zasolenia wody

Rodzina: łososiowate (*Salmonidae*)

Gatunki: sieja *Coregonus lavaretus* (L.), sielawa *Coregonus albula* (L.)

Wylęgnięte osobniki siei z jaj inkubowanych w wodzie rzecznej, wodociągowej i o zasoleniu 1 i 2 PSU nie różniły się pod względem średniej długości całkowitej ciała, jak również pod względem średniej objętości woreczka żółtkowego (brak różnic statystycznie istotnych ($p > 0,01$)). Natomiast larwy najkrótsze (12,01 mm), z największym woreczkiem żółtkowym (1,44 mm³), pochodziły z jaj inkubowanych w wodzie o najwyższym zasoleniu – 3 PSU (różnice statystycznie istotne) – tab. 20. Najwięcej larw wykuło się z jaj inkubowanych w wodzie

rzecznej, wodociągowej i o zasoleniu 1 PSU, natomiast najmniej – z jaj inkubowanych w wodzie o najwyższym zasoleniu (tab. 20).

Tabela 20. Charakterystyka larw siei, których embriogeneza odbywała się w wodzie rzecznej, wodociągowej i zasolonej

| Parametry | Woda rzeczna | Woda wodociągowa | Woda zasolona [PSU] | | |
|---|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | | | 1,0 | 2,0 | 3,0 |
| Długość całkowita larw [mm] | 12,15 ^b ±0,14 | 12,17 ^b ±0,24 | 12,19 ^b ±0,21 | 12,17 ^b ±0,27 | 12,01 ^a ±0,45 |
| Objętość woreczka żółtkowego [mm ³] | 1,38 ^a ±0,54 | 1,41 ^a ±0,60 | 1,40 ^a ±0,59 | 1,39 ^a ±0,45 | 1,44 ^b ±0,45 |
| Wylęgnięte larwy [%] | 39,1 ^c | 43,5 ^c | 40,0 ^c | 27,6 ^b | 4,7 ^a |
| Zniekształcone larwy [%] | 22,1 ^a | 24,0 ^a | 35,3 ^a | 62,2 ^b | 61,5 ^b |

W tabeli podano wartości średnie i odchylenie standardowe (SD).

Analiza wariancji ANOVA $p < 0,01$; dla poszczególnych prób wartości średnie w rzędach, oznaczone różnicowym indeksem górnym, różnią się statystycznie istotnie przy $p,0,01$ – test post-hoc Duncana.

Larwy sielawy wylęgnięte z jaj inkubowanych w zróżnicowanych warunkach zasolenia wody, tzn. zarówno w wodzie słodkiej (wodociągowej), jak i zasolonej, nie różniły się statystycznie istotnie ($p > 0,01$) pod względem długości całkowitej ciała, jednakże objętość woreczków żółtkowych była mniejsza o około 0,10 mm³ w przypadku osobników wylęgniętych z jaj, których inkubacja przebiegała w wodzie o zasoleniu 2, 3, 4 i 5 PSU (tab. 21, ryc. 8a).

Tabela 21. Charakterystyka larw sielawy, których embriogeneza odbywała się w wodzie wodociągowej i zasolonej

| Parametry | Woda wodociągowa | Woda zasolona [PSU] | | | | |
|---|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 4,0 | 5,0 |
| Długość całkowita larw [mm] | 9,41 ^a ±0,57 | 9,42 ^a ±0,37 | 9,38 ^a ±0,44 | 9,43 ^a ±0,41 | 9,44 ^a ±0,47 | 9,42 ^a ±0,68 |
| Objętość woreczka żółtkowego [mm ³] | 0,78 ^b ±0,13 | 0,74 ^b ±0,13 | 0,71 ^a ±0,16 | 0,69 ^a ±0,12 | 0,68 ^a ±0,08 | 0,68 ^a ±0,11 |
| Wylęgnięte larwy [%] | 77,4 ^{bc} | 80,4 ^c | 76,6 ^{bc} | 72,2 ^b | 69,4 ^{ab} | 67,8 ^a |
| Zniekształcone larwy [%] | 3,7 ^a | 4,5 ^a | 5,2 ^a | 5,4 ^a | 5,4 ^a | 5,5 ^a |

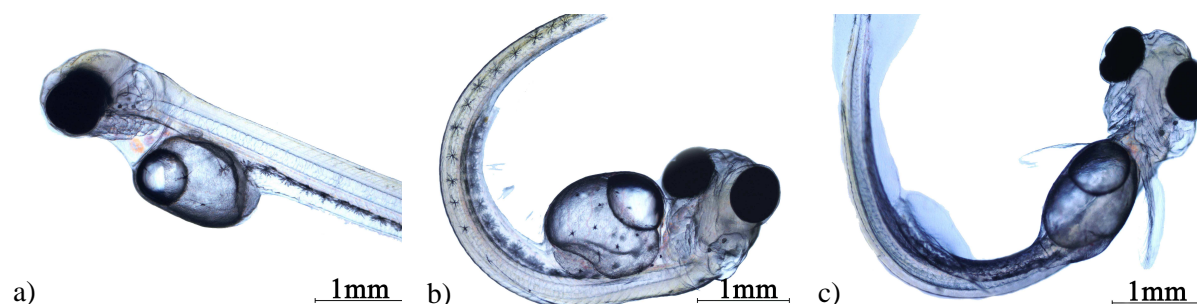
Objaśnienia oznaczeń zob. tab. 20.

Najwięcej larw siei i sielawy odnotowano w próbie jaj inkubowanych w wodzie wodociągowej, nieco mniej – w wodzie o zasoleniu 1 PSU i w wodzie rzecznej w przypadku siei oraz w wodzie o zasoleniu 1 PSU w przypadku sielawy (tab. 20, 21).

Najwyższy procent zniekształceń larw siei obserwowano po wylęgu z jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu 2 i 3 PSU. Był on prawie trzykrotnie wyższy niż w próbie kontrolnej i wynosił odpowiednio 62,2 i 61,5% (tab. 20).

Natomiast w przypadku sielawy we wszystkich próbach odnotowano niewielki procent osobników zniekształconych – w granicach 3,7–5,5% (tab. 21). Najwyższy ich procent odnotowano w grupie osobników wylęgniętych z jaj, których embriogeneza przebiegała w wodzie

o zasoleniu 3–5 PSU (tab. 21). Były to głównie deformacje ciała w formie „larwa w kształcie litery C” (ryc. 8b, c).



Ryc. 8. Larwy sielawy wylęgnięte z jaj inkubowanych w wodzie: a) wodociągowej, b, c) o zasoleniu 5 PSU

Rodzina: dorszowate (*Gadidae*)

Gatunek: miętus *Lota lota* (L.)

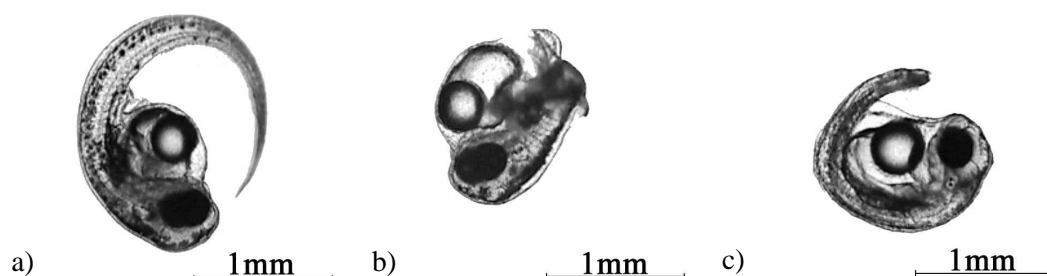
W przypadku miętusa pomiary osobników wylęgniętych z jaj inkubowanych w wodzie słodkiej i w wodzie o zróżnicowanym zasoleniu oraz ich analiza statystyczna wskazują na brak różnic statystycznie istotnych ($p > 0,01$) w całkowitej długości ciała pomiędzy larwami pochodzącymi z poszczególnych wariantów eksperymentu (tab. 22).

Tabela 22. Charakterystyka larw miętusa, których embriogeneza odbywała się w wodzie wodociągowej i zasolonej

| Parametry | Woda wodociągowa | Woda zasolona [PSU] | | | | |
|---|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 4,0 | 5,0 |
| Długość całkowita larw [mm] | 3,78 ^a ±0,15 | 3,77 ^a ±0,15 | 3,77 ^a ±0,09 | 3,78 ^a ±0,11 | 3,79 ^a ±0,10 | 3,80 ^a ±0,08 |
| Objętość woreczka żółtkowego [mm ³] | 0,10 ^c ±0,02 | 0,09 ^c ±0,02 | 0,09 ^c ±0,02 | 0,08 ^b ±0,02 | 0,06 ^a ±0,01 | 0,06 ^a ±0,02 |
| Wylęgnięte larwy [%] | 53,3 ^c | 36,6 ^b | 34,2 ^b | 11,1 ^a | 8,6 ^a | 11,6 ^a |
| Zniekształcone larwy [%] | 16,3 ^a | 16,3 ^a | 35,2 ^b | 35,8 ^b | 64,7 ^d | 53,5 ^c |

Objaśnienia oznaczeń zob. tab. 20.

Odnotowano natomiast różnice statystycznie istotne w wielkości woreczków żółtkowych (tab. 22). Osobniki wylęgnięte z jaj inkubowanych w wodzie wodociągowej oraz w wodzie o zasoleniu 1 i 2 PSU miały największe woreczki żółtkowe – o wielkości 0,09–0,10 mm³; nieco mniejsze stwierdzono u osobników wyklutych z jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu 3 PSU (0,08 mm³). Natomiast najmniej substancji zapasowych w woreczku żółtkowym (0,06 mm³) miały larwy miętusa wylęgnięte z jaj, których embriogeneza przebiegała w wodzie o najwyższym zasoleniu, wynoszącym 4 i 5 PSU (tab. 22). Również w tych dwóch próbach jaj odnotowano najmniej wylęgniętych larw – w wodzie o zasoleniu 4,0 PSU – 8,6%, w wodzie o zasoleniu 5 PSU – 11,6%. Wśród wylęgniętych osobników pojawiło się ponad 50% osobników z różnego typu zniekształceniami – ze skoliozą, ze skróconym ciałem (tab. 22; ryc. 9).



Ryc. 9. Zniekształcenia ciała larw miętusa wylęgniętych z jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu: a) 3 PSU, b) 4 PSU, c) 5 PSU

Rodzina: karpowate (*Cyprinidae*)

Gatunki: jaź *Leuciscus idus* (L.), karp *Cyprinus carpio* L., krąp *Blicca bjoerkna* (L.)

Wśród badanych gatunków ryb karpowatych (jazia, karpia, krąpia) obserwowano wpływ zasolenia wody na wielkość wylęgniętych osobników. Wraz ze wzrostem mineralizacji wody, w której odbywał się rozwój zarodkowy, wylęgające się larwy miały coraz mniejszą średnią długość całkowitą ciała i większy woreczek żółtkowy (tab. 23, 24, 25).

Larwy jazia pochodzące z jaj inkubowanych w wodzie rzecznej i wodociągowej były o ponad 0,5 mm dłuższe od larw z jaj inkubowanych w wodzie o największej wartości zasolenia (3 PSU) – tab. 23. Jednocześnie larwy te miały woreczek żółtkowy o mniejszej objętości – w próbie w wodzie rzecznej jego objętość wynosiła 0,47 mm³, w próbie w wodzie wodociągowej – 0,46 mm³, natomiast w próbie w wodzie o zasoleniu 3 PSU – aż 0,55 mm³ (tab. 23).

Tabela 23. Charakterystyka larw jazia, których embriogeneza odbywała się w wodzie rzecznej, wodociągowej i zasolonej

| Parametry | Woda rzeczna | Woda wodociągowa | Woda zasolona [PSU] | | |
|---|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | | | 1,0 | 2,0 | 3,0 |
| Długość całkowita larw [mm] | 6,58 ^c ±0,39 | 6,62 ^c ±0,29 | 6,36 ^b ±0,38 | 6,24 ^b ±0,36 | 5,96 ^a ±6,33 |
| Objętość woreczka żółtkowego [mm ³] | 0,47 ^a ±0,06 | 0,46 ^a ±0,05 | 0,49 ^a ±0,08 | 0,48 ^a ±0,06 | 0,55 ^b ±0,08 |
| Wylęgnięte larwy [%] | 28,4 ^a | 36,5 ^b | 27,8 ^a | 28,0 ^a | 28,9 ^a |
| Zniekształcone larwy [%] | 3,8 ^a | 3,8 ^a | 6,2 ^{ab} | 9,2 ^{ab} | 12,7 ^b |

Objaśnienia oznaczeń zob. tab. 20.

Tabela 24. Charakterystyka larw karpia, których embriogeneza odbywała się w wodzie wodociągowej i zasolonej

| Parametry | Woda wodociągowa | Woda zasolona [PSU] | | |
|---|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | | 1,0 | 2,0 | 3,0 |
| Długość całkowita larw [mm] | 5,23 ^c ±0,21 | 5,18 ^c ±0,33 | 4,96 ^b ±0,18 | 4,65 ^a ±0,31 |
| Objętość woreczka żółtkowego [mm ³] | 0,28 ^a ±0,05 | 0,26 ^a ±0,04 | 0,36 ^b ±0,07 | 0,36 ^b ±0,07 |
| Wylęgnięte larwy [%] | 32,9 ^{bc} | 39,9 ^c | 26,9 ^b | 13,4 ^a |
| Zniekształcone larwy [%] | 8,3 ^a | 14,1 ^{ab} | 20,0 ^{ab} | 23,8 ^b |

Objaśnienia oznaczeń zob. tab. 20.

Tabela 25. Charakterystyka larw karpia, których embriogeneza odbywała się w wodzie wodociągowej i zasolonej

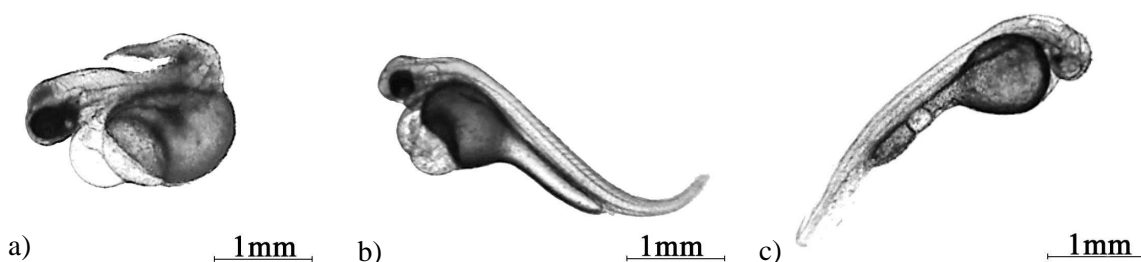
| Parametry | Woda wodociągowa | Woda zasolona [PSU] | | |
|---|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| | | 1,0 | 2,0 | 3,0 |
| Długość całkowita larw [mm] | 4,32 ^b ±0,18 | 4,19 ^b ±0,12 | 4,06 ^b ±0,14 | 3,72 ^a ±0,59 |
| Objętość woreczka żółtkowego [mm ³] | 0,30 ^a ±0,04 | 0,32 ^{ab} ±0,05 | 0,35 ^{bc} ±0,04 | 0,36 ^c ±0,05 |
| Wylęgnięte larwy [%] | 19,6 ^b | 42,4 ^c | 22,0 ^b | 8,3 ^a |
| Zniekształcone larwy [%] | 8,6 ^a | 11,7 ^{ab} | 25,0 ^{bc} | 36,4 ^c |

Objaśnienia oznaczeń zob. tab. 20.

W przypadku karpia długość całkowita larw wylęgniętych z jaj inkubowanych w wodzie wodociągowej wynosiła 4,32 mm; larwy te najmniej substancji zapasowych miały w woreczku żółtkowym o objętości 0,28 mm³ (tab. 24).

Podobne rezultaty uzyskano w przypadku larw karpia. Osobniki pochodzące z jaj inkubowanych w wodzie wodociągowej, były najdłuższe. Średnia długość całkowita ich ciała wynosiła 4,32 mm, przez co były one o ponad 0,5 mm dłuższe od larw z jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu 3 PSU. Miały one w największym stopniu zresorbowany woreczek żółtkowy, o objętości 0,36 mm³ (tab. 25). Jeśli chodzi o liczbę larw tych trzech gatunków ryb, pochodzących z poszczególnych prób, odnotowano różnice statystycznie istotne pomiędzy jajami inkubowanymi w wodzie słodkiej a jajami inkubowanymi w wodzie zasolonej. W przypadku jazia różnice te występowały głównie pomiędzy próbą jaj inkubowanych w wodzie wodociągowej a pozostałymi próbami, zaś w przypadku karpia i karpia najwięcej larw wylęgło się z jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu 1 PSU (tab. 23, 24, 25).

Z jaj inkubowanych w wodzie o najwyższym zasoleniu odnotowano najwyższy odsetek zniekształconych larw, który wynosił w przypadku jazia 12,7%, w przypadku karpia – 23,8%, w przypadku karpia – 36,4% (tab. 23, 24, 25). Były to różnorodne zniekształcenia typu: osiowa i boczna krzywizna kręgosłupa, obrzęk serca, deformacje woreczka żółtkowego (ryc. 10).



Ryc. 10. Zniekształcenia ciała larw: a) jazia, b) karpia, c) karpia, wylęgniętych z jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu 3 PSU

Rodzina: okoniowate (*Percidae*)

Gatunek: okoń *Perca fluviatilis* L.

Przeprowadzone pomiary wylęgniętych osobników okonia i ich analiza wskazują na wpływ zasolenia wody na parametry ich ciała.

Larwy okonia, których rozwój embrionalny odbywał się w wodzie wodociągowej, były najdłuższe – ich średnia długość ciała wynosiła 6,42 mm. Nieznacznie krótsze larwy wylęgały się z jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu w zakresie 1–4 PSU (brak różnic statystycznie istotnych) – tab. 26. Natomiast różnice statystycznie istotnie, dotyczące średniej długości całkowitej ciała larw, odnotowano pomiędzy osobnikami z ww. grup a osobnikami pochodzącymi z jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu 5 PSU. Larwy te były krótsze o ponad 1 mm od larw z wody wodociągowej i miały woreczek żółtkowy o największej objętości (0,17 mm³) – tab. 26.

Tabela 26. Charakterystyka larw okonia, których embriogeneza odbywała się w wodzie wodociągowej i zasolonej

| Parametry | Woda wodociągowa | Woda zasolona [PSU] | | | | |
|---|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 4,0 | 5,0 |
| Długość całkowita larw [mm] | 6,42 ^b ±0,21 | 6,39 ^b ±0,22 | 6,40 ^b ±0,14 | 6,38 ^b ±0,22 | 6,40 ^b ±0,19 | 5,35 ^a ±0,34 |
| Objętość woreczka żółtkowego [mm ³] | 0,13 ^a ±0,03 | 0,13 ^a ±0,03 | 0,12 ^a ±0,02 | 0,12 ^a ±0,02 | 0,13 ^a ±0,02 | 0,17 ^b ±0,03 |
| Wylęgnięte larwy [%] | 58,9 ^d | 54,0 ^d | 43,6 ^c | 23,1 ^b | 8,7 ^a | 7,4 ^a |
| Zniekształcone larwy [%] | 4,3 ^a | 15,3 ^{ab} | 16,3 ^{ab} | 27,3 ^{bc} | 37,1 ^c | 60,0 ^d |

Objaśnienia oznaczeń zob. tab. 20.

Wraz ze wzrostem zasolenia wody, w której przebiegała inkubacja jaj, bardzo wyraźnie malała liczba wylęgniętych osobników oraz wzrastał procent różnego rodzaju zniekształceń ich ciała. W wodzie wodociągowej wartość tego parametru wynosiła tylko 4,3% i wzrastała aż do 60,0% w wodzie o najwyższym zasoleniu (5 PSU) – tab. 26; ryc. 11. Zniekształcenia ciała typu: skoliozy, obrzęk serca (pęcherzyk wokół serca) obserwowano u larw pochodzących z jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu w zakresie 2–5 PSU (ryc. 11).



Ryc. 11. Zniekształcenia ciała larw okonia wylęgniętych z jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu: a) 2 PSU, b) 3 PSU, c) 5 PSU

Rodzina: szczupakowate (*Esocidae*)

Gatunek: szczupak *Esox lucius* (L.)

W przypadku szczupaka odnotowano różnice statystyczne istotne ($p < 0,01$) pomiędzy całkowitą długością ciała i objętością woreczka żółtkowego larw wylęgniętych z jaj inkubowa-

nych w wodzie wodociągowej, rzecznej i zasolonej o wartościach 1 i 2 PSU, w odniesieniu do larw wylęgniętych z jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu 3 i 4 PSU oraz wylęgniętych z jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu wynoszącym 5 PSU. Osobniki pochodzące z jaj inkubowanych w wodzie wodociągowej były dłuższe średnio o około 3,0 mm od osobników z jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu 5 PSU (różnice statystycznie istotne) – tab. 27, ryc. 12.

Tabela 27. Charakterystyka larw szczupaka, których embriogeneza odbywała się w wodzie rzecznej, wodociągowej i zasolonej

| Parametry | Woda rzeczna | Woda wodociągowa | Woda zasolona [PSU] | | | | |
|---|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-------------------------------------|
| | | | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 4,0 | 5,0 |
| Długość całkowita larw [mm] | 8,60 ^c ±0,23 | 8,85 ^c ±0,28 | 8,62 ^c ±0,28 | 8,58 ^c ±0,44 | 7,64 ^b ±0,80 | 7,22 ^b ±0,43 | 5,95 ^a ±0,88 n = 6 |
| Objętość woreczka żółtkowego [mm ³] | 5,22 ^a ±0,44 | 5,21 ^a ±0,44 | 5,24 ^a ±0,53 | 5,37 ^a ±0,37 | 5,92 ^b ±0,86 | 6,03 ^b ±0,65 | 5,99 ^b ±0,29 n = 6 |
| Wylęgnięte larwy [%] | 71,5 ^d | 75,8 ^d | 87,2 ^e | 76,3 ^d | 29,2 ^c | 17,4 ^b | 3,8 ^a |
| Zniekształcone larwy [%] | 4,9 ^a | 6,4 ^a | 3,6 ^a | 4,8 ^a | 24,6 ^b | 29,5 ^{bc} | 40,0 ^c |

Objaśnienia oznaczeń zob. tab. 20.

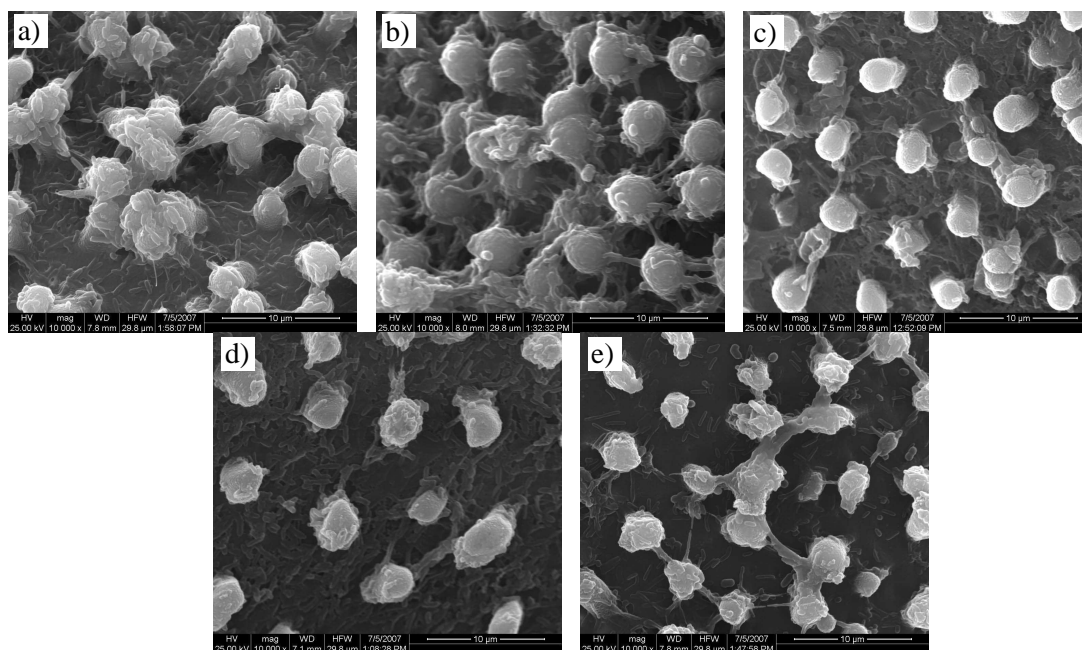


Ryc. 12. Larwy szczupaka wylęgnięte z jaj inkubowanych w wodzie: a) wodociągowej, b) o zasoleniu 3 PSU, c) o zasoleniu 5 PSU

W próbach jaj inkubowanych w wodzie słodkiej (rzecznej i wodociągowej) oraz w wodzie o zasoleniu 1 i 2 PSU odnotowano największy odsetek wylęgniętych larw (brak różnic statystycznie istotnych pomiędzy tymi próbami; $p > 0,01$). Wraz ze wzrostem zasolenia wody malała liczba wylęgniętych osobników w poszczególnych próbach, wśród których odnotowano najwyższy odsetek zniekształceń. W wodzie o zasoleniu 3 PSU wynosił on 26,4%, w wodzie o zasoleniu 4 PSU – 29,5%, zaś w wodzie o zasoleniu 5 PSU – aż 40% (tab. 27). Były to różnorodne zniekształcenia, głównie skrzywienia kręgosłupa, brak pigmentacji lub bardzo słaba pigmentacja oczu i ciała larw (ryc. 12).

Ultrastruktura zewnętrznej powierzchni osłonek jaj jазia

Zdjęcia zewnętrznej powierzchni osłonek jaj jазia, inkubowanych w wodzie wodociągowej i w wodzie o zasoleniu 1–3 PSU, wskazują na występowanie różnej wielkości kulistych tworów, w zależności od wody, w jakiej przebiegała inkubacja (ryc. 13).



Ryc. 13. Zewnętrzna strona osłonki jaja jazia inkubowanego w wodzie: a) wodociągowej, b) rzecznej, c) o zasoleniu 1 PSU, d) o zasoleniu 2 PSU, e) o zasoleniu 3 PSU

Zaobserwowano, że wraz ze wzrostem zasolenia wody na powierzchni osłonek jajowych jazia maleje liczba tych kulistych tworów, a także liczba bakterii (ryc. 13).

5. DYSKUSJA

5.1. Zasolenie wody a przebieg embriogenezy

W wyniku przeprowadzonych badań, dotyczących wpływu zasolenia wody na proces zapłodnienia, wielkość jaj, kul żółtkowych i wielkość utworzonej przestrzeni periwitellarnej, zaobserwowano wiele charakterystycznych zjawisk występujących podczas embriogenezy u poszczególnych gatunków ryb o różnej filogenezie.

Proces zapłodnienia w jajach badanych gatunków ryb przebiegał bez większych zakłóceń we wszystkich wariantach eksperymentu – nawet w wodzie o najwyższym zasoleniu, wynoszącym 3–5 PSU, mimo że w próbach tych nie zawsze uzyskiwano wylęg.

Jak wiadomo, odsetek zapłodnionych jaj ryb zależy od wielu czynników, między innymi od genetycznych właściwości tarlaków, ich stanu fizjologicznego (wieku, kondycji), gotowości do tarła, jak również od warunków fizykochemicznych wody, w której przebiega tarło. Mając powyższe na uwadze, zadbano, aby tarlaki, od których pobierano produkty płciowe, były w dobrej kondycji i aby tarło poszczególnych gatunków zostało przeprowadzone wówczas, gdy gonady były w V stadium dojrzałości (Sakun i Bucka 1968). Dzięki temu można było wykluczyć zaburzenia w embriogenezie spowodowane złą jakością produktów płciowych.

Wyniki badań wskazują, że – pomimo podwyższonego zasolenia wody, mogącego stwarzać niekorzystne warunki – sam akt zapłodnienia jest możliwy i dopiero w dalszych etapach embriogenezy uwidaczniają się efekty oddziaływania zasolenia na tworzący się organizm.

Możliwość taka związana jest najprawdopodobniej ze swoistymi właściwościami komórek płciowych. Z badań Ivleva (1940), Dziekońskiej (1956, 1958) i Szymelfenig (1979) wynika, że za samo uniemożliwienie lub ograniczenie zapłodnienia jaj w wodzie zasolonej nie są odpowiedzialne plemniki. Ich aktywność wraz z zasoleniem wody nie zmniejsza się, np. u leszcza kaspijskiego jaja nie są zdolne do zapłodnienia w wodzie o zasoleniu 8 PSU, podczas gdy plemniki wykazują żywotność jeszcze przy zasoleniu wody 11 PSU (Ivlev 1940). Szymelfenig (1979) podaje, że w przypadku plemników pstrąga tęczowego i troci wędrowniej w wodzie o zasoleniu 4,0–7,4 PSU plemniki wykazują ruchliwość, natomiast proces wchłaniania wody przez jaja tych dwóch gatunków jest możliwy w wodzie zasolonej o wartościach mniejszych niż 4,0 PSU. Badania prowadzone na troci w latach 2005–2007 wykazały, że w wodzie o zasoleniu 3,0 PSU odsetek zapłodnionych jaj tego gatunku ryby był bardzo wysoki i wynosił aż 83% (Bonisławska 2009). Jednakże, jak wykazały badania Landergrena i Vallina (1998), zastosowanie wyższego zasolenia wody w przypadku troci (5 PSU) spowodowało, że zapłodnionych jaj było bardzo niewiele – tylko 22,8%, zaś w wodzie o zasoleniu 6,7 PSU i wyższym proces zapłodnienia nie zachodził. Pomimo to plemniki wykazywały ruchliwość nawet przy zasoleniu wody wynoszącym 14 PSU (tylko ruch drgający); przy wyższym stężeniu soli w wodzie, wynoszącym 16 i 18 PSU, nie odnotowano ruchu plemników (Landergren i Vallin 1998).

Podobne zależności, dotyczące ruchliwości plemników szczupaka w wodzie słonej, Lindroth zaobserwował już w 1946 roku i stwierdził również, jak ww. autorzy, że plemniki

szczupaka przy zbyt wysokim zasoleniu wody (30 PSU) nie ruszają się, podczas gdy w wodzie o zasoleniu 4–7 PSU ich aktywność i ruch jest na takim samym poziomie jak w wodzie jeziorowej.

Z czego więc może wynikać tak bardzo zróżnicowana wrażliwość komórek płciowych (jaj i plemników) ryb słodkowodnych na mineralizację otaczającej wody?

Na początku należy zwrócić uwagę na ogólnie znany fakt, że plemniki większości ryb słodkowodnych są zdolne do ruchu w wodzie słodkiej przez ok. 2–3 minuty (wyjątek stanowią plemniki ryb jesiotrowatych i piskorza, które poruszają się nawet przez kilka godzin), natomiast plemniki ryb morskich wykazują ruch trwający od kilkunastu minut do kilkunastu godzin (w przypadku śledzi nawet 4–5 dób) – Ginzburg (1968). Autor ten zwraca również uwagę, że krótszy czas żywotności plemników w wodzie słodkiej niż w wodzie słonej jest związany również z utratą ich zdolności do zapłodnienia (Ginzburg 1968).

Badania prowadzone w ostatnich latach, z zastosowaniem nowoczesnego systemu komputerowej analizy ruchu plemników (CASA), pozwalają w sposób bardzo szczegółowy analizować poszczególne parametry ruchu plemników; na ich podstawie wiadomo, jak bardzo zróżnicowana jest ruchliwość plemników u poszczególnych gatunków ryb (Kime i in. 2001; Alavi i Cosson 2006; Dziewulska i in. 2011; Szulc i in. 2011).

Wydaje się, że obserwowane już dawno zjawisko wzrastającej w czasie ruchliwości plemników ryb słodkowodnych w wodzie słonej (do pewnej wartości) wynika z korzystniejszych warunków otoczenia (z większego stężenia soli w wodzie), bo przecież na skutek hipotoniczności wody słodkiej w stosunku do plemników następuje ich pęcznienie i rozpad. W plemniku jako komórce, w której zawarty jest płyn o wyższym stężeniu niż otaczająca go woda, występuje większa różnica ciśnień osmotycznych, niż w komórce jajowej, w której funkcję regulacji ciśnienia pełnią przestrzeń okołożółtkowa i osłony jajowe.

Plemnik natomiast nie posiada takiego mechanizmu regulacyjnego. Wydaje się, że nie jest on mu potrzebny, ponieważ jego zadaniem jest osiągnięcie jedyne go celu, jakim jest dotarcie do jaja i dostarczenie DNA. Dlatego jego metabolizm to przede wszystkim procesy kataboliczne (rozkładu); zmagazynowana energia wykorzystywana jest do ruchu wici plemnika. Krótki czas ruchliwości plemników ryb to efekt szybkiego zużycia energii – wyczerpania ATP (Cosson i in. 1999). Rekompensatą dla tak krótkiego czasu żywotności plemników jest ich duża liczba, a tym samym większa szansa na dotarcie jednego z nich do jaja i na zapłodnienie.

Jajo pełni funkcję miejsca, w którym przebiega bardzo ważny etap rozwoju każdego gatunku zwierzęcia – rozwój embrionalny. Ma ono bardziej złożoną budowę i, oprócz materiału genetycznego, zawiera wiele innych substancji, a przede wszystkim dużo substancji zapasowych zapewniających prawidłowy rozwój zarodka.

Z powyższych stwierdzeń wynika, że jajo jest bardziej wrażliwe na czynniki otoczenia, w tym na zasolenie, dlatego w wodzie o podwyższonym zasoleniu, pomimo że plemniki wykazują ruchliwość, traci ono zdolność do zapłodnienia. W jajach inkubowanych w wodzie o podwyższonej mineralizacji proces zapłodnienia może nie nastąpić bądź jeżeli nastąpi i jeżeli rozwój zarodkowy będzie postępował, to w chwili, gdy osłonka jajowa wykaże większą przepuszczalność, nastąpi obumieranie zarodków. Tego typu zjawisko obserwowano w przypadku jaj troci w wodzie o zasoleniu 3 PSU (Bonisławska 2009).

Biorąc pod uwagę powyższe, w badaniach stosowano względnie niskie zasolenie wody przeznaczonej do aktywacji i inkubacji jaj (1–5 PSU), dlatego proces zapłodnienia przebiegał we wszystkich próbach, choć oczywiście z różnym skutkiem.

Z przeprowadzonych badań wynika, że wysoką tolerancją na zasolenie wody (w granicach 1–3 lub 1–5 PSU) podczas aktywacji jaj i procesu zapłodnienia charakteryzowały się prawie wszystkie badane gatunki ryb, w tym sieja i sielawa oraz ryby z rodziny karpowatych: karp, krąp i jaź (tab. 4, 5, 7, 8, 9). Mniejszą tolerancję na zasolenie wody na tym etapie wykazywały: miętus, okoń i szczupak (tab. 6, 10, 11). Jednakże należy zaznaczyć, że w przypadku każdego gatunku ryb w wodzie o zasoleniu 3 PSU i powyżej znacznie malał odsetek jaj zapłodnionych. Wyjątek stanowiła sielawa, w przypadku której odsetek jaj zapłodnionych w wodzie zasolonej (o największej wartości wynoszącej 5 PSU) był tylko o 5% niższy niż w wodzie słodkiej (wodociągowej) – wynosił aż 93% (tab. 5). Również tak wysoki odsetek jaj zapłodnionych w wodzie słonej w przypadku siei pejpuskiej uzyskali Albert i in. (2004). W wodzie o zasoleniu 0,2–3,3 PSU uzyskali 97–99% zapłodnionych jaj, zaś w wodzie o zasoleniu 4,0–6,2 PSU – 75–85% (Albert i in. 2004).

Przeprowadzone badania wykazały, że wraz ze wzrostem mineralizacji wody, w której przebiega inkubacja ikry, maleje odsetek jaj zapłodnionych u wszystkich gatunków badanych ryb, co w większości przypadków stanowi potwierdzenie ustaleń wcześniejszych badaczy (Bohlen 1999; Fashina-Bombata i Busari 2003; Albert in. 2004; Bonisławska i in. 2012).

Istnieją jednak pewne rozbieżności. Olifan (1940, 1941) podaje wartości zasolenia wód, wynoszące 8–10 PSU, jako górną granicę możliwości rozwoju zarodkowego leszcza, płoci, sandacza i karpia, podczas gdy Chlebovič (1977), analizując wyniki badań prowadzonych przez wielu naukowców, stwierdza, że zasolenie wód wynoszące 8 PSU jest maksymalnym zasoleniem, przy którym możliwy jest proces zapłodnienia jaj słodkowodnych ryb kostnoszkieletowych. Przeczą temu wyniki Dziekońskiej (1958), która zapłodnienie i normalny przebieg embriogenezy leszcza (z Zalewu Wiślanego) uzyskała w wodzie o zasoleniu 1,4 i 2,8 PSU; w wodzie o zasoleniu 3,7 i 5,6 PSU proces ten nie zachodził. Również dane Brylińskiego (2000a) wskazują na to, że rozród karpia jest ograniczony do wód o zasoleniu 2 PSU; narybek stwierdzano w wodach o zasoleniu do 7 PSU (populacje karpia z Mórz Czarnego, Kaspijskiego i Aralskiego). Natomiast dorosłe osobniki krąpia żerują w przybrzeżnej strefie Morza Bałtyckiego, gdzie zasolenie wynosi 7 PSU, zaś rozwój zarodkowy przebiega normalnie w wodzie o zasoleniu 0,5–1,5 PSU (Neuman 1983; Som i in. 1983).

Z powyższych danych wynika, że należy brać pod uwagę fakt, że górna granica zasolenia, przy której możliwy jest proces zapłodnienia, zależy od populacji ryb z poszczególnych zbiorników, ich odporności na zasolenie, bo np. u leszcza z Morza Kaspijskiego proces zapłodnienia może przebiegać w wodzie o zasoleniu 7–10 PSU (Ivlev 1940; Olifan 1941), u leszcza z Morza Aralskiego – przy zasoleniu 8,6–10,0 PSU (Biervald 1949; Gostiejeva 1954), u leszcza z Morza Azowskiego – przy zasoleniu 10 PSU (Olifan 1940), zaś u leszcza z Zalewu Wiślanego – tylko przy zasoleniu 1,4–2,8 PSU (Dziekońska 1958).

Zjawisko to można zaobserwować również w przypadku szczupaka. Raat (1988) podaje, że osobniki dorosłe szczupaka z populacji północnej mogą bytować w wodzie o zasoleniu 15 PSU, jednakże proces zapłodnienia może przebiegać w wodzie o zasoleniu do 7 PSU. Na-

tomiaś duńscy naukowcy, Jørgensen i in. (2010), prowadząc badania na populacji szczupaka pochodzącego z wód zasolonych (z zachodniego Bałtyku), podają, że zapłodnienie jaj szczupaka było możliwe nawet w wodzie o zasoleniu 8,5 PSU. Populacje bytujące w różnych zbiornikach (odmienny skład wody) mogą zatem wykazywać większą lub mniejszą tolerancję na zasolenie.

Z kolei badania prowadzone przez Landergrena i Vallina (1998) wykazały, że granica zasolenia wody pobranej u wybrzeży wyspy Gotland, w której dochodzi do zapłodnienia jaj troci, wynosiła 5 PSU (wówczas zapłodnienie wynosiło 22,8%), jednakże w próbie tej rozwój zarodkowy został zahamowany i nie uzyskano wylęgu. Larwy wylęgały się w próbie jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu 4 PSU (Landergren i Vallin 1998). Natomiast wyniki uzyskane przez Bonisławską (2009) wykazują, że 2 PSU jest największą wartością zasolenia wody, w której proces embriogenezy troci kończy się pomyślnie i w której uzyskuje się wylęg. W wodzie o zasoleniu 3 PSU – pomimo że proces zapłodnienia charakteryzował się wysokim odsetkiem jaj zapłodnionych (83%) – zarodki w stadium przed wylęgiem masowo obumierały (Bonisławska 2009).

Zjawisko wysokiej tolerancji na zasolenie wody należy zatem tłumaczyć tym, że na tak wczesnym etapie embriogenezy niekorzystny czynnik środowiska, jakim jest zwiększona mineralizacja wody, nie oddziałuje tak silnie, aby zahamować proces zapłodnienia. Być może jest to spowodowane brakiem przepuszczalności osłonek jajowych chroniących rozwijający się organizm lub bardzo niską przepuszczalnością, o czym będzie mowa w dalszej części rozprawy dotyczącej osłonek jajowych.

Ażeby w pełni wyjaśnić i zrozumieć możliwości przebiegu procesu zapłodnienia w zróżnicowanych warunkach zasolenia wody, należy przeanalizować pierwsze jego etapy, w których następuje fuzja komórki jajowej z plemnikiem, prowadząca do połączenia się błony ziaren korowych znajdujących się w cytoplazmie komórki jajowej z jej błoną komórkową. Efektem tego połączenia jest przeniknięcie zawartości ziaren korowych do szpary pomiędzy błoną jajową a osłonką żółtkową – wówczas rozpoczyna się proces tworzenia przestrzeni perywitellarej (okołożółtkowej) – Depêche i Billard (1994), Twyman (2003), Jura i Klag (2005). Podczas procesu tworzenia się przestrzeni okołożółtkowej (przebiegającego zarówno w jajach zapłodnionych, jak i niezapłodnionych), w wyniku uwalniania się z alveoli korytkalnych hydrofilowych koloidów (mukopolisacharydów, polisacharydów, białek, kwasów mukopolisacharydowych) – Yamamoto (1939, 1940), Yamamoto (1956a, b), Laale (1980), Iwasaki i in. (1990), powstaje w ww. szparze płyn o wysokim ciśnieniu osmotycznym, co powoduje swoiste zasysanie wody z zewnątrz przez błonę jajową – wówczas tworzy się przestrzeń perywitellarna (Bogucki 1930; Yamamoto 1939, 1940; Zotin 1953, 1954; Depêche i Billard 1994). Powstały w jajach hydrofilny płyn nie przepuszcza wody do cytoplazmy i żółtka jaja, a także nie wypuszcza elektrolitów z jaja do wody.

Powyższy proces, zwany reakcją korową (korytkalną), rozpoczyna się od biegunu animalnego i zmierza ku biegunowi wegetatywnemu; przebiega on przy współudziale cytoplazmatycznego wapnia (Ca^{2+}), który sprawia, że z alveoli korytkalnych następuje egzocytoza glikoprotein (PSGP – polisialoglikoprotein), hialin, proteaz oraz transglutaminaz do przestrzeni okołożółtkowej (Laale 1980; Inoue i Inoue 1986; Webb i Miller 2000; Gilbert 2006). W pro-

cesie zasysania potrzebnej ilości wody do wnętrza jaja osłonka rozprostowuje się, napina, a jajo „twardnieje”, osiągając określoną wielkość i wymagany turgor (Bogucki 1930; Zotin 1953, 1954, 1961; Winnicki 1967; Gilkey 1981; Depêche i Billard 1994; Długosz 1994; Fausto i in. 2004).

Proces twardnienia osłonki jajowej jest katalizowany przez transglutaminazę, która łączy glutaminę i resztki lizyny (tworzy wiązania poprzeczne) pomiędzy α , β , i γ białkami strefowymi, powodując uwolnienie jonów NH_4^+ (Kusa 1956; Zotin 1958; Yamamoto 1984; Oppen-Berntsen i in. 1990a, b). Jak wykazali Oppen-Berntsen i in. (1990a, b), proces ten wymaga również obecności zewnętrznego wapnia (Ca^{2+}); zawartość tego jonu w badanych próbach wody słodkiej i zasolonej była zróżnicowana (tab. 3). W wodzie zasolonej zawartość wapnia rosła wraz ze wzrostem wartości zasolenia. Jednakże woda o zasoleniu 5 PSU zawierała około 15–19 mg $\text{Ca}^{2+} \cdot \text{dm}^{-3}$ mniej niż woda rzeczna lub wodociągowa (tab. 3). Różnice w zawartości tego jonu w wodzie, w której przebiegał rozwój zarodkowy badanych gatunków ryb, mogą powodować zaburzenia w procesie twardnienia osłonki, a przez to zachwianie kształtującej się wewnątrz jaja homeostazy.

Mechanizmy, których efektem jest między innymi osiągnięcie jednakowego turgoru hydrostatycznego w jajach, związane są również z właściwościami płynu okołozóltkowego, powstałego w szparze wewnątrz jaja. Płyn perywitellarny jest swego rodzaju „pułapką jonową”; ma także, jak wykazały pomiary jego pH, właściwości buforujące. Zdolność regulacji jonowej w jajach ryb łososiowatych może zmniejszać niekorzystny wpływ wody zakwaszonej na rozwój zarodkowy, a przez to na sukces rozrodczy tej rodziny ryb (Peterson i in. 1980; Eddy i Talbot 1983; Kügel i Peterson 1989). Przestrzeń perywitellarna (z ang. *perivitelline space*, PVS) stanowi dla rozwijającego się wewnątrz osłonek zarodka swego rodzaju otulinę zapewniającą optymalne warunki – zarówno odżywcze, oddechowe, jak i „ruchowe”. Z tego powodu Xingfu i in. (1989) nazwali ją fenomenem w jajach ryb – zarówno słodkowodnych, jak i morskich. Tworząc układ z osłonką jajową (chorionem), może „oferować” zawieszonemu w płynie okołozóltkowym zarodkowi mechanizmy ochronne przed urazami mechanicznymi (Laale 1980), oddziaływaniem jonów metali i wody zakwaszonej (Peterson i Martin-Robichaud 1984; Eddy i Talbot 1985), a także ogranicza utratę jonów (Eddy i Talbot 1983), umożliwia transport tlenu ze środowiska zewnętrznego do zarodka i pozbywanie się produktów przemiany materii, w tym CO_2 (Alderdice i in. 1984).

O tym, jak ważną i kluczową rolę odgrywa ta przestrzeń wypełniona płynem o odpowiednim składzie i ciśnieniu, już w 1956 roku pisał Domurat. Dowiódł on (badając przebieg pierwszych etapów embriogenezy troci, szczupaka i płoci w wodzie i środowisku bezwodnym – w oleju parafinowym), że wchłonięty zapas wody w trakcie tworzenia się przestrzeni perywitellarniej wystarczył, by całkowity rozwój zarodkowy przebiegł prawidłowo, jednakże w próbie z olejem w przypadku troci i szczupaka nie uzyskano wylęgu (Domurat 1956).

Należy przy tym pamiętać, że płyn perywitellarny wypełniający jajo, a właściwie jego skład i ciśnienie, są zróżnicowane u różnych gatunków ryb (Depêche i Billard 1994); dlatego oddziaływanie roztworów zasolonych jest zróżnicowane gatunkowo. Prescott (1955) stwierdził (na podstawie badań suchej i mokrej masy jaj ryb łososiowatych), że ilość wody zassanej do jaja po zapłodnieniu stanowi 12–20% jego masy. Podobnie Hamor i Garside (1977) poda-

ją, że w jajach łososia płyn perywitellarny stanowi 29 mg świeżej masy, a masa całego jaja wynosi 138 mg. Natomiast w przypadku jaj karpia (rodzina: *Cyprinidae*) woda w całym jajku stanowi aż 64–75%; reszta to białka, lipidy i popiół (Ginzburg 1968; Kisielew 1980).

W tym miejscu nasuwa się uwaga, że proces uwodnienia jaj jest związany ze zmianą w czasie przepuszczalności osłonki jajowej. Badacze podają, że małe molekuly, takie jak woda, jony NH_4^+ oraz gazy oddechowe, łatwo przechodzą przez pory w osłonce jajowej (Peterson 1984; Peterson i Martin-Robichaud 1984; Peterson i Martin-Robichaud 1993). Natomiast Lönning i Davenport (1980) podają, że drobiny większe niż 500 Da = 500 u ($1 \text{ Da} = 1,67 \cdot 10^{-24} \text{ g}$) przez osłonkę już nie przechodzą. Jony zawarte w wodzie zasolonej są mniejsze od 500 Da.

Biorąc pod uwagę powyższe, można domniemywać, że w okresie pęcznienia jaja osłonka jajowa powinna również przepuszczać jony zawarte w wodzie. Jednakże ze względu na to, że jony te mogą w wodzie w trakcie procesu zapłodnienia tworzyć kompleksy, zwiększa się ich wielkość, a tym samym maleje szansa ich wniknięcia do wnętrza jaja. Być może dlatego w prowadzonych badaniach proces pęcznienia i zapłodnienia jaj przebiegał we wszystkich próbach. Jednakże wraz ze wzrostem stężenia jonów soli w roztworze coraz więcej jonów wnikało do wnętrza jaj, powodując zaburzenia prowadzące do zmniejszenia odsetka zapłodnionych jaj.

W późniejszym etapie embriogenezy, gdy zarodek jest już ukształtowany – tuż przed wylęgiem (w zależności od struktury i budowy osłonki danego gatunku ryby), następuje zwiększenie przepuszczalności osłonki; wówczas jony mogą swobodnie wnikać do wnętrza jaja, a przestrzeń perywitellarna się powiększa (np. w jajach okonia). Prawdopodobnie w zależności od stadium, w jakim znajduje się zarodek, może być on bardziej lub mniej wrażliwy na roztwory zasolone. Jest to prawdopodobnie zależne od zdolności osmoregulacyjnych zarodka, które mogą wykształcać się, w zależności od gatunku, na różnych etapach embriogenezy – tak jak obserwowano to u ryb morskich (Holliday i Jones 1965, 1967). Dlatego, zgodnie z uzyskanymi wynikami badań, zarodki w roztworach o najwyższym zasoleniu albo obumierają we wnętrzu jaj – tak jak w przypadku troci w wodzie o zasoleniu 3 PSU (Bonisławska 2009) lub okonia w wodzie o zasoleniu 4–5 PSU (tab. 18), albo następuje wcześniejszy wylęg osobników, np. siei, sielawy, karpia, krąpia, szczupaka (tab. 12, 13, 16, 17, 19), albo – jak w przypadku miętusa – larwy wylęgają się z opóźnieniem w stosunku do larw z jaj inkubowanych w wodzie słodkiej (tab. 14).

Wielkość przestrzeni okołozótkowej, wyrażona w procentach jako stosunek jej objętości do objętości całego jaja, jak wykazały badania, w grupach jaj inkubowanych w wodzie o zróżnicowanym zasoleniu była stała lub się zmieniała. W przypadku ryb z rodziny łososiowatych – siei i sielawy (tab. 4, 5) oraz troci (Bonisławska 2009) zaobserwowano brak różnic w wielkości jaj zapłodnionych i inkubowanych w wodzie zasolonej oraz w wodzie słodkiej. Zaburzenia w wielkości jaj, a tym samym w wielkości przestrzeni perywitellarniej (spadek) wraz ze wzrostem zasolenia, w stosunku do wody słodkiej (wodociągowej), zaobserwowano u miętusa oraz okonia (tab. 6, 10), zaś u ryb karpiowatych (karpia, krąpia, mniej wyraźne u jazia), a także u szczupaka odnotowano bardzo wyraźny wzrost wielkości jaj i przestrzeni okołozótkowej w wodzie bardziej zmineralizowanej (tab. 7, 8, 9, 11).

Czym mogą być zatem spowodowane tak odmienne reakcje zachodzące w jajach badanych gatunków ryb podczas procesu wchłaniania wody zasolonej i słodkiej?

Uzyskane wyniki wskazują na pewne zaburzenia w procesie „uwodnienia” jaj w przypadku badanych sześciu gatunków ryb słodkowodnych wówczas, gdy do wnętrza jaja przedostaje się woda słona.

Jaja badanych trzech gatunków ryb łososiowatych, a mianowicie: troci (Bonisławska 2009) oraz siei i sielawy, nie zmieniały swej wielkości w zależności od zasolenia wody stanowiącej środowisko rozwoju. Jednakże Bogucki (1930), a później Zotin (1953, 1954) pisali o zahamowaniu tworzenia się przestrzeni perywitellarnej w rozwijających się jajach ryb (w tym łososiowatych) pod wpływem roztworów zasolonych. Zjawisko to tłumaczyli hamującym działaniem roztworu soli na proces wydzielania przez pęcherzyki korowe hydrofilowych koloïdów, a tym samym na nieprawidłowe tworzenie się przestrzeni perywitellarnej u ryb łososiowatych, tj. łososia jeziorowego *Salmo salar morpha sebago* (Girard, 1853) i pstrąga jeziorowego *Salmo trutta morpha lacustris* (Linnaeus, 1758) oraz ryb jesiutowatych (Zotin 1953, 1954). Należy przy tym zwrócić uwagę na fakt, że badania te były prowadzone przez Zotina (1954) na gatunku ryb z rodziny łososiowatych, ale był to gatunek słodkowodny. Być może dlatego w przypadku tego taksonu proces zapłodnienia nie zachodził, w przeciwieństwie troci wędrownej – gatunku anadromicznego badanego przez Bonisławską (2009). Wynika z tego, że ze względu na warunki środowiskowe, w jakich żyją poszczególne gatunki ryb z tej rodziny, ewoluowały one w bardzo różnych kierunkach. Ryby łososiowate to nie tylko gatunki anadromiczne, dwuśrodowiskowe, wędrujące z morza do rzek na tarło, ale również gatunki, które żyją w jeziorach, w których mają swoje miejsce żerowania; na tarło wędrują w górę rzek wpadających do jeziora (Załachowski 1997).

Potts i Rudy (1969), analizując skład jonowy wody użytej do inkubacji jaj łososia atlantyckiego, uzyskali dane wskazujące na silne zmniejszenie się przestrzeni perywitellarnej wraz z koncentracją jonów Ca^{2+} lub Na^{+} . Późniejsze badania prowadzone przez Xingfu i in. (1989) na ikrze łososia potwierdzały fakt, że wzrastające zasolenie wody działa hamująco na tworzenie się przestrzeni perywitellarnej o odpowiedniej wielkości i charakteryzującej się odpowiednim składem jonowym. Obserwowano spadek zawartości jonów Cl^{-} i Na^{+} μl /jajo w płynie okołozółtkowym w jajach inkubowanych w wodzie o wyższym zasoleniu (Xingfu i in. 1989). Być może, jak wykazały wcześniejsze badania, jest to spowodowane również tym, że jaja ryb łososiowatych mają zdolność regulacji jonowej, która może nie tylko w przypadku wody zakwaszonej, ale również w przypadku wody zasolonej łagodziła jej szkodliwe oddziaływanie na rozwój zarodkowy (Peterson i in. 1980; Eddy i Talbot 1985; Kügel i Peterson 1989).

Wyniki niniejszych badań, dotyczące przedstawiciela rodziny dorszowatych – miętusa, wykazują hamujące oddziaływanie zasolenia wody (o wartości 3–5 PSU) na wzrost przestrzeni okołozółtkowej; w próbach tych odnotowano zwiększający się odsetek jaj pozbawionych tej przestrzeni (tab. 6, rys. 1, 2). Podwyższona mineralizacja wody powodowała zakłócenia w trakcie „uwodnienia” jaj; wówczas proces zasysania wody do tworzącej się szpary nie przebiegał prawidłowo. Wzrastające do 3–5 PSU zasolenie wody musiało spowodować za-

kłócenia już na etapie reakcji kortykalnej, skoro zaobserwowano w próbie jaja pozbawione przestrzeni okołozótkowej (tab. 6; ryc. 1).

Uzyskane wyniki, dotyczące jaj ryb z rodziny karpiowatych, wskazują na wzrost wielkości przestrzeni okołozótkowej o około 13% w jajach karpia inkubowanych w wodzie o najwyższym zasoleniu, wynoszącym 3 PSU, i w jajach krapia inkubowanych w wodzie o zasoleniu 5 PSU (tab. 8, 9). Wyniki te są zgodne z danymi uzyskanymi przez Soina (1977). Jego badania również wykazały, że jaja karpia, inkubowane w wodzie o zasoleniu do 9 PSU, zwiększały swoją objętość. W wodzie słodkiej średnica jaj wynosiła średnio 1,62 mm, zaś w wodzie zasolonej (do 9 PSU) następował wzrost średnicy jaj do 1,9 mm. W wodzie o zasoleniu powyżej 9 PSU średnica napęczniałej ikry była mniejsza i wynosiła już tylko 1,65 mm (Soin 1977). W niniejszych badaniach zaobserwowano podobne zjawisko w przypadku ikry jazia. Po wzroście wielkości jaj (a tym samym przestrzeni okołozótkowej), inkubowanych w wodzie o zasoleniu 2 PSU, nastąpił ponowny jej spadek w wodzie o zasoleniu 3 PSU (tab. 7).

Tymczasem wyniki badań Rykovej (1964, 1966, 1970, 1981) i Soina (1977) wskazują na zahamowanie tworzenia się przestrzeni okołozótkowej w pelagicznych jajach wyjątkowo dużych rozmiarów (jak na ryby z rodziny karpiowatych), inkubowanych w wodzie zasolonej, a mianowicie w jajach tołpygi białej (o średnicy napęczniałego jaja 3,5–4,5 mm), tołpygi pstrej (o średnicy napęczniałego jaja 4,5–5,5 mm) i amura białego (o średnicy napęczniałego jaja 3,9–5,3 mm) – Krzywosz (2000a, b, c).

Z czego zatem wynika fakt pojawienia się odmiennych reakcji zachodzących w jajach ww. gatunków ryb karpiowatych w trakcie procesu pęcznienia w wodzie zasolonej?

Należy zwrócić uwagę na różnice w wielkości jaj i ekologii tych gatunków ryb pochodzących z jednej rodziny, a jednak bardzo zróżnicowanych. W „uwodnionych” jajach tołpygi pstrej, białej i amura białego, zapłodnionych i inkubowanych w wodzie słodkiej, powstaje duża przestrzeń perywitellarna, stanowiąca ok. 97–98% objętości całego jaja (Makeeva i Pavlov 2000). Natomiast w jajach badanych trzech gatunków ryb wielkość przestrzeni tworzonej w warunkach optymalnych wynosi w przypadku jazia 78%, w przypadku karpia – ok. 60%, w przypadku krapia – 68–75% (tab. 7, 8, 9). Hamujący wpływ roztworów zasolonych na wielkość przestrzeni okołozótkowej Rykova (1971, 1981) tłumaczyła powolniejszą reakcją tworzenia się „światlistego kręgu” z rozpadających się alveoli kortykalnych. W wodzie słodkiej krąg pojawiał się po 1–2 min po kontakcie jaja z wodą, zaś w wodzie zasolonej tworzył się po 7 min i nie był w pełni wykształcony (Rykova 1971, 1981).

W przypadku jaj okonia, gatunku ryby należącego do rodziny okoniokształtnych, należy zwrócić uwagę na fakt, że ikra mająca dodatkową osłonkę galaretowatą (Jelly Layer) składana jest w postaci długich ażurowych wstęg (Flügel 1966; Korzelecka i in. 1998; Riehl i Patzner 1998). W jajach tego gatunku ryby (podobnie jak w przypadku miętusa), inkubowanych w wodzie o zasoleniu 1–5 PSU, zaobserwowano zmniejszanie się wielkości przestrzeni perywitellarniej wraz z rosnącym zasoleniem wody, w której odbywał się rozwój zarodkowy. Objętość jaj w wodzie o zasoleniu 4–5 PSU była mniejsza o około 20% od objętości jaj inkubowanych w wodzie wodociągowej. Malą również grubość osłonki galaretowatej (tab. 10). W przypadku jaj tego gatunku ryb, w celu sprawdzenia oddziaływania mineralizacji wody na osłonkę galaretowatą okonia, przeprowadzono ponownie pomiary jaj i całego kompleksu

w 1700 H°. Przeprowadzone ponownie pomiary jaj na etapie ukształtowanego zarodka, z pigmentem w oczach, wykazały, że we wszystkich próbach jaja nadal zwiększały swoją objętość: – w wodzie słodkiej o ponad 350%, a w zasolonej – o ponad 200% (tab. 10; ryc. 4, 5). Grubość osłonki galaretowatej tylko nieznacznie zmalała. Tak duży wzrost wielkości jaj we wszystkich próbach na tym etapie embriogenezy jest zjawiskiem, które może być spowodowane wzrostem zarodka, a tym samym jego wzmożoną ruchliwością, a także zwiększoną przepuszczalnością osłonek jajowych oraz spadkiem ich wytrzymałości w okresie przed wyłęciem (Nakano 1956; Davenport i in. 1986).

W jajach szczupaka, inkubowanych w wodzie o zwiększonej mineralizacji, podobnie jak w przypadku jaj ryb z rodziny karpowatych, zaobserwowano bardzo wyraźny wzrost wielkości przestrzeni okołozótkowej (tab. 11; ryc. 6) – nawet o 47% w przypadku jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu 5 PSU, w porównaniu z wielkością przestrzeni okołozótkowej jaj inkubowanych w wodzie wodociągowej i o 22%, w porównaniu z wielkością przestrzeni okołozótkowej jaj inkubowanych w wodzie rzecznej. Dodatkowo wśród jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu 3, 4, 5 PSU zaobserwowano jaja bez przestrzeni okołozótkowej. W próbie jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu 5 PSU odnotowano aż 79% takich jaj (tab. 11; ryc. 7).

Jak wskazują uzyskane wyniki badań, mineralizacja wody może już podczas tworzenia się przestrzeni okołozótkowej wpływać na reakcje zachodzące wewnątrz jaj, powodując zakłócenia przebiegu reakcji kortykowej.

Skąd mogą wynikać tak zróżnicowane reakcje na roztwory zasolone w jajach badanych gatunków ryb?

Wzrost lub zmniejszenie wielkości przestrzeni okołozótkowej może być też spowodowane różnorodnym (w zależności od gatunku ryb) oddziaływaniem kationów i anionów, zawartych w wodzie zasolonej, na przepuszczalność osłonek jajowych.

Do podobnych wniosków doszli badacze, analizując pojawiający się spadek wielkości przestrzeni okołozótkowej w jajach różnych gatunków ryb pod wpływem metali ciężkich (w zależności od ich koncentracji) zawartych w wodzie (Stouthart i in. 1994, 1995, 1996; Metin 2001; Sikorska i Ługowska 2005; Jezierska i in. 2009a). Na przykład Stouthart i in. (1994, 1996) w badaniach prowadzonych na jajach karpia zaobserwowali, że ołów (Pb) może łączyć się z uwalnianymi w trakcie reakcji kortykowej mukopolisacharydami, hamując w ten sposób przebieg tej reakcji. Wówczas proces pęcznienia jaja jest zakłócony i mniejsza ilość wody jest zassana do przestrzeni perywitellaryjnej. Badacze ci stwierdzają również, że wnika do wnętrza jaja miedź (Cu) może zmieniać przepuszczalność osłonki jajowej, a tym samym doprowadzać do zakłóceń w wymianie kationów pomiędzy płynem perywitellaryjnym a wodą pochodzącą ze środowiska zewnętrznego (Stouthart i in. 1994, 1996).

Wcześniejsze badania wskazują jednak, że metale ciężkie w dużej ilości kumulują się w osłonce jajowej różnych gatunków ryb – kadm (Cd) w osłonce jajowej łososia w ilości 98% (Beattie i Pascoe 1978), a w osłonce jajowej *Oryzias latipes* – w ilości 94,4% (Michibata 1981), cynk (Zn) w osłonce jajowej śledzia – w ilości od 30 do 50% (Somasundaram i in. 1984). Również badania Stoutharta i in. (1995) na jajach karpia wykazują, że chrom (Cr) kuluje się głównie w osłonce jajowej. Rozważania prowadzą do wniosku, że większość metali ciężkich kumulowana jest właśnie w osłonce jajowej, a tylko pewna ich ilość dostaje się do

płynu perywitellarnego, zaś śladowe ilości kumulują się w ciele zarodka. Jednakże nawet tak niewielkie ilości metali ciężkich wpływają niekorzystnie na tempo i przebieg embriogenezy (Ługowska i Jezierska 2000; Jezierska i in. 2009b).

Podobnie może być w przypadku jonów zawartych w roztworach zasolonych, w których sód, potas i chlor w wodzie o zasoleniu 5 PSU występują w stężeniu nawet 100-krotnie wyższym niż w wodzie słodkiej (tab. 3). Eddy i Talbot (1983) silne hamowanie tworzenia się przestrzeni okołozółtkowej stwierdzili podczas oddziaływania jonów Al^{3+} (w ilości 1 mM), natomiast częściowe – w obecności jonów dwuwartościowych Zn^{2+} , Mg^{2+} , SO_4^{2-} (w ilości 5 mM) bądź przy wyższych stężeniach Na^+ . Zwiększona zawartość jonów powoduje hamowanie depolimeryzacji glikoprotein (PSGP) w trakcie reakcji kortykalnej (Peterson 1984; Inoue i in. 1987) i prawdopodobnie w przypadku badań prowadzonych na miętusie i okoniu taka reakcja zaszła i spowodowała zahamowanie procesu pęcznienia jaj (tab. 6, 10).

Biorąc pod uwagę powyższe, należy stwierdzić, że jony zawarte w roztworach zasolonych mogą bądź kumulować się w osłonce jajowej i wówczas utrudniać proces zasysania wody do tworzącej się szpary, bądź wnikać do wnętrza jaja i zaburzać reakcję kortykalną, co również może wpływać na tworzenie się płynu perywitellarnego i „uwodnienie” jaj, a tym samym na wielkość przestrzeni okołozółtkowej.

Kaneko i Hiroi (2008), prowadząc badania na jajach kety *Oncorhynchus keta* (Walbaum, 1792) w stadium zaoczkowania, przenosząc je z wody słodkiej do słonej, zauważyli, że jaja ponownie chłoną wodę (pęcznieją), w związku z czym stwierdzili, że osłonka jajowa nie ma zdolności osmoregulacyjnych i że woda wnika do wnętrza jaj. Zarodki są wówczas ekspozowane na niekorzystne czynniki środowiska zewnętrznego, jakie stanowi zasolenie (Kaneko i Hiroi 2008). Należy zaznaczyć, że o zjawisku przepuszczalności osłon jajowych ryb pisali już w 1967 roku Winnicki i Bartel. Stwierdzili oni, że wymiana wody pomiędzy wnętrzem jaja a środowiskiem zewnętrznym może następować nie tylko po aktywacji jaja, ale również w późniejszym okresie, a sam proces twardnienia osłonek jajowych, a właściwie jego koniec, nie jest równoznaczny z zakończeniem procesu wchłaniania wody przez jajo, jak wcześniej twierdził Zotin (1961). Twierdzenie zatem, że osłonka jajowa w pełni izoluje rozwijający się zarodek od czynników zewnętrznych (w tym przypadku zasolenia) i stanowi barierę dla różnego typu substancji toksycznych wnikających do wnętrza jaja, jest mylne, gdyż osłonka może pełnić jedynie funkcję niskoselektywnej membrany, dzięki której zachodzi wymiana substancji pomiędzy środowiskiem wewnętrznym a zewnętrznym (Winnicki 1968; Sadowski 2004; Kaneko i Hiroi 2008).

Nieco inne działanie na przepuszczalność osłon jajowych, niż metale ciężkie, stwierdzono w przypadku czynnika środowiska, jakim jest pole magnetyczne (Sadowski i in. 2007; Formicki 2008; Smaruj 2010). Przepuszczalność błon cytoplazmatycznych zwiększa się pod jego wpływem, a tym samym zwiększa się objętość jaj miętusa i szczupaka (Smaruj 2010). Czynnikiem ten wpłynął również na strukturę osłonki jajowej, powodując amorficzność strukturalną osłonki. Również wraz ze wzrostem wartości pola magnetycznego zwiększała się jej grubość w przypadku siei, miętusa i okonia. W przypadku troci wędrownej pole magnetyczne powodowało zwiększenie ilości otwartych kanałów zewnętrznej osłonki promienistej (łac. *zona radiata externa*) – Smaruj (2010).

Z powyższego wynika, że dzięki zróżnicowanej budowie osłon jajowych ryb, będącej wynikiem przystosowań do warunków środowiskowych, w jakich rozwija się ikra, proces oddziaływania roztworów zasolonych na rozwijający się wewnątrz jaj zarodek może być pośrednio zależny od grubości, budowy i właściwości osłonki, która stanowi mechaniczną barierę przed niekorzystnymi czynnikami zewnętrznymi. Należy zaznaczyć, że roztwory o zasoleniu od 1 do 5 PSU pozbawiały jaja w różnym stopniu turgoru i kleistości.

W przypadku okonia ikra składana jest w postaci charakterystycznych wstęp; istotne wydaje się to, że „system mikrotubularny”, stanowiący rurkowate twory przenicowujące galaretowatą otoczkę jajową okonia (osłona II rzędowa – wytwór jajowodu) według Formickiego i in. (2009), pełni funkcję szkieletową, jak również funkcję „czepną” dzięki „przyssawkom”, które stanowią otwory wlotowe do systemu mikrotubularnego. Można zatem sądzić, że jony zawarte w wodzie zasolonej mogą zakłócać prawidłowe funkcjonowanie tych struktur i że wówczas mogą wystąpić zakłócenia procesu aktywacji i zapłodnienia, czego wynikiem może być malejący odsetek jaj zapłodnionych w wodzie o zwiększającym się zasoleniu. Wydaje się, że jony zawarte w wodzie zasolonej mogą w trakcie kontaktu z osłonką galaretowatą niekorzystnie wpływać na rurkowate tubule, które dzięki hydrofilności wypełniających je kolidów tworzą turgor. Jak wykazały wyniki niniejszych badań, wraz ze wzrostem zasolenia wody grubość osłonki galaretowatej malała, co oznacza, że osłonka ta nie uzyskiwała wymaganego turgoru.

Natomiast w przypadku jaj jazia, karpia, krąpia i szczupaka, które wykazują specyficzną kleistość, roztwory zasolone, stosowane w badaniach, zmniejszyły lub całkowicie pozbawiły je tej właściwości. Swego rodzaju kleistość w warunkach naturalnego tarła zapewnia ikrze, przytwierdzonej do określonego podłoża, optymalne warunki środowiskowe, a przede wszystkim korzystne warunki tlenowe. Kleista warstwa, występująca niekiedy na powierzchni jaj (głównie ryb karpiowatych), i osłony drugorzędowe (np. u okonia) pełnią, oprócz funkcji czepnej, również funkcję ochronną – bakteriostatyczną (Morrison i in. 1999; Szulc i in. 2006). Pomimo występowania flory bakteryjnej na kleistych osłonkach jaj taszy *Cyclopterus lumpus* (Linnaeus, 1758) i lina *Tinca tinca* (Linnaeus, 1758) nie zaobserwowano wzrostu śmiertelności zarodków w jajach (Szulc i in. 2006), choć wiadomo, że zbyt duża liczba bakterii może być wynikiem braku warstwy kleistej (bakteriostatycznej), co może powodować utrudnienia w wymianie gazowej pomiędzy rozwijającym się wewnątrz jaja embrionem a środowiskiem zewnętrznym.

Wyniki badań, prowadzonych na osłonkach jajowych jazia, wykazały, że wraz ze wzrostem zasolenia wody, w której przebiegała inkubacja jaj, malała liczba kulistych tworów występujących na zewnętrznej stronie osłonki (ryc. 13).

Podobne kuliste twory zaobserwowała Szulc (2006) w przypadku jaj krąpia. Stwierdziła, że jako swego rodzaju „przyłgi” stanowią one powierzchnię czepną w celu przytwierdzenia jaj do podłoża. Dzięki nim powstaje przestrzeń pomiędzy jajem a podłożem, która sprzyja zachodzącym procesom wymiany gazowej (Szulc 2006).

Zmniejszająca się liczba tych kulistych tworów na zewnętrznej stronie osłonki jaj badanego jazia może wskazywać na mniejszą zdolność przytwierdzenia jaj do podłoża, a tym samym na zakłócenia w wymianie gazowej pomiędzy jajem a otoczeniem. Zaobserwowano również,

że wraz ze wzrostem zasolenia wody, w której przebiegał proces embriogenezy, malała liczba bakterii występujących na powierzchni jaj (ryc. 13).

Biorąc pod uwagę powyższe rozważania, dotyczące jaj tylko jednego badanego gatunku, należy nawiązać do ogólnej charakterystyki osłon jajowych, a właściwie do ich budowy, która może mieć kluczowe znaczenie w procesach przepuszczalności jonów zawartych w wodzie.

Nowoczesne badania (z użyciem mikroskopu skaningowego) wykazały, że osłona promienista (*zona radiata*), zbudowana z dwóch warstw – zewnętrznej (*zona radiata externa* – ZRE) i wewnętrznej (*zona radiata interna* – ZRI), w zależności od rodziny i gatunku ryb, wykazuje zmienność w budowie (Lönning 1972; Mayer i Shackley 1988; Li i in. 2000; Andrade i in. 2001). Wiadomo, że budowa ultrastrukturalna osłonki jest odzwierciedleniem przystosowania do warunków, w jakich składana jest ikra. Jak wykazały badania Zotina (1953) i Smaruj (2010), grubość osłonek jajowych ryb była zróżnicowana i wynosiła w przypadku troci 37,0–50,0 μm , sielawy – 29,0 μm , siei – 14,0 μm , szczupaka – 7,0 μm , okonia – 4,0 μm , miętusa – 3,5 μm , karpia – 1,5 μm . Należy zaznaczyć, że występuje bardzo wyraźna różnica w budowie osłon jajowych ryb łososiowatych i osłon jajowych pozostałych gatunków ryb. Zewnętrzna warstwa tych osłon jest gładka i nie ma struktur, które występują np. u szczupaka (struktury w postaci plastra miodu) lub u jazia (struktury w postaci kulistych tworów). Natomiast wewnętrzna warstwa osłonki jaj ryb łososiowatych jest grubsza, niż u innych gatunków ryb, i poprzebijana kanalikami (prostopadłymi do powierzchni) – Vorobieva i in. (1986).

W wyniku aktywacji i zapłodnienia zmienia się grubość osłonki, jak również jej struktura (Gajdusek i Rubcov 1983). W związku z tym, że większa grubość osłonki stanowi większą barierę oraz że wytrzymałość osłon jajowych wyraźnie zależy od grubości jednorzędowych osłonek jajowych i jest większa u ryb litofilnych (łososiowatych) niż u ryb fitofilnych (szczupaka, okonia, karpowatych), zaobserwowano, że w przypadku troci (Bonisławska 2009) i sielawy proces zapłodnienia przebiegał prawie bez zakłóceń w wodzie zasolonej. Dopiero dłuższa ekspozycja jaj na roztwory zasolone i zmiana przepuszczalności osłonek w trakcie embriogenezy spowodowała szkodliwe oddziaływanie zwiększonej zawartości jonów na zarodki.

Informacje powyższe wskazują, że podobnie jak metale ciężkie, które są toksyczne nawet w śladowych ilościach, roztwory zasolone (choć nie tak niebezpieczne) mogą działać bezpośrednio, np. wnikać do wnętrza jaj, kumulować się w osłonkach jajowych, płynie okołozótkowym, a także w rozwijającym się embrionie – wówczas mogą zakłócać procesy wzrostu i rozwoju zarodka lub pośrednio (tak jak w przypadku pola magnetycznego) zmieniać przepuszczalność błon, a tym samym objętość jaj i grubość osłonki jajowej (Sadowski i in. 2007; Smaruj 2010).

Reasumując, należy zwrócić uwagę na oddziaływanie roztworów zasolonych na wielkość tworzącej się przestrzeni okołozótkowej, bo wszelkie jej zmiany są równoznaczne ze zmianami w rozwoju zarodkowym, który nie może przebiegać prawidłowo przy ograniczonej przestrzeni życiowej.

5.2. Zasolenie wody a czas trwania embriogenezy i proces wylęgu

Wyniki przeprowadzonych badań i obserwacji wskazują, że w przypadku jaj wszystkich badanych gatunków ryb wyznaczone etapy rozwoju zarodkowego, tj. morula grubocząsteczkowa, drobnocząsteczkowa, zamknięcie blastoporu, podział woreczka żółtkowego (u ryb karpiowatych), początek pracy serca, charakteryzowały się jednakową liczbą stopniodni lub stopniogodzin, w których były osiągnane, bez względu na mineralizację wody, w której przebiegał proces inkubacji jaj (tab. 12–19).

Różnice w czasie przebywania wewnątrz jaj rosnących zarodków pojawiały się dopiero po osiągnięciu kluczowych etapów embriogenezy – wówczas, gdy embrion, choć niekiedy mniejszych rozmiarów, posiadający dużo materiału zapasowego w postaci woreczka żółtkowego, a niekiedy jeszcze bez pigmentu w oczach, jest już przystosowany do opuszczenia osłonek jajowych. Przy osiągniętej gotowości zarodka do wylęgu proces opuszczania osłonek jajowych rozpoczynał się szybciej w próbach jaj inkubowanych w wodzie zasolonej niż w próbach kontrolnych, czyli w tych, w których jaja inkubowane były w wodzie wodociągowej lub rzecznej (tab. 12, 13, 15–19); wyjątek stanowił miętus (tab. 14).

Należy przypuszczać, że czynnik środowiskowy (w tym wypadku zasolenie) spowodował szybsze opuszczanie wnętrza jaj przez zarodki i wydostawanie się ich na zewnątrz. Jest to zbieżne z oddziaływaniem innych czynników środowiskowych, takich jak temperatura i zawartość tlenu w wodzie, na przebieg embriogenezy ryb.

Wzrost temperatury wody (od wartości temperatury optymalnej) powoduje skrócenie czasu trwania rozwoju zarodkowego zarówno w przypadku ryb tarła jesienno-zimowego, jak i wiosenno-letniego (Embry 1934; Peñaż i in. 1983; Kucharczyk i in. 1997, 1998; Bonisławska 2001; Bonisławska i in. 2004). Wiadomo, że szybkość procesów chemicznych i biochemicznych zachodzących w organizmie, również w rozwijającym się zarodku, wzrasta 2–4-krotnie wraz ze wzrostem temperatury o 10,0°C (reguła van't Hoffa) – Embry (1934), Ljubitzkij (1934), Ivlieva (1981), Vinberg (1987). Zjawisko to zaobserwowano we wszystkich etapach embriogenezy w przypadku ryb rozradzających się w okresie wiosenno-letnim, co powodowało skrócenie wszystkich etapów rozwoju zarodkowego; w przypadku ryb rozradzających się w okresie jesienno-zimowym (troci, siei, sielawy) odnotowano względnie stałą liczbę stopniodni potrzebną do osiągnięcia etapu ½ epibolii i zamknięcia blastoporu (Bonisławska 2001). Badania wykazały, że temperatura wpływa na szybkość tworzenia się przestrzeni perywitellarnej (Zotin 1961), rozwój komórek mięśniowych (Usher i in. 1994; Pavlov i Šadrin 1998), motorykę embrionalną (Klinkhardt i in. 1987; Korzelecka 1999), rozwój gruczołów wyklucia (Rechulicz 2000), liczbę kręgów, promieni w płetwach, wyrostków filtracyjnych (Kokurewicz i Witkowski 1993; Pavlov i Šadrin 1998).

Kolejny ważny czynnik środowiskowy to zawartość tlenu rozpuszczonego w wodzie, który wpływa na przebieg procesu embriogenezy u ryb i czas jego trwania. W przypadku niskiej zawartości tego gazu w wodzie rozwijający się zarodek po osiągnięciu kluczowych etapów rozwoju szybciej opuszcza wnętrze jaja (Winnicki 1967; Hamor i Garside 1976). Wiadomo również, że rozpuszczalność tlenu w wodzie zmniejsza się wraz ze wzrostem zasolenia; aż do stężenia wynoszącego 35 PSU jest to zależność liniowa (Dojlido 1995). Analiza zawartości

tlenu w napowietrzanej (za pomocą sztucznych aeratorów) wodzie wodociągowej i zasolonej (w temperaturze 19,0°C i 5,0°C), przeznaczonej do inkubacji ikry, wykazała odpowiednią zawartość tego niezbędnego dla procesów oddechowych pierwiastka (tab. 2). Stwierdzono nieznaczne wahania w średniej zawartości tlenu (malejące w wodzie zasolonej). Różnica w stężeniu O₂ pomiędzy wodą słodką a wodą o zasoleniu 5 PSU, w temperaturze 5,0°C, wynosiła poniżej 1 mg·dm⁻³, zaś w temperaturze 19,0°C różnica wynosiła już około 1,5 mg·dm⁻³. Chociaż były to niewielkie różnice i zawartość tlenu w wodzie nadal była na poziomie optymalnym dla rozwoju zarodkowego badanych ryb, to mogły one stanowić dodatkowy czynnik wpływający na czas trwania embriogenezy, a tym samym na wielkość wylęgniętych osobników.

Jak wynika z przeprowadzonych badań i powyższych rozważań, niesprzyjające warunki otoczenia, w jakich przebiega proces rozwoju zarodkowego, w tym podwyższone zasolenie wody, pośrednio działają na proces wylęgu, przyspieszając go. Jak można przypuszczać, zarodek wylęga się wcześniej, gdyż daje mu to możliwość opuszczenia niesprzyjającego środowiska; próbuje osiągnąć swobodę ruchu i odnaleźć bardziej dogodne warunki.

Należy jednak zwrócić uwagę, że w próbach jaj inkubowanych w wodzie zasolonej wraz ze wzrostem zasolenia wody raptownie maleje procent przeżycia osobników rozwijających się w tych warunkach, a nawet, tak jak w przypadku troci, wylęg nie następuje (Landergren i Vallin 1998; Bonisławska 2009). Również takie wyniki uzyskali badacze, analizując wpływ zasolenia wody na embriogenezę innych gatunków ryb, takich jak: koza (Bohlen 1999), sum afrykański (Fashina-Bombata i Busari 2003) czy sieja pejpuska (Albert i in. 2004).

Zastosowane w badaniach zasolenie wody, wynoszące 5 PSU w przypadku okonia i szczupaka, spowodowało, że procent przeżycia (czyli odsetek zdrowych wylęgniętych larw) był bardzo niski i wynosił odpowiednio 8 i 19% (tab. 18, 19), natomiast w przypadku miętusa – 27%, a w przypadku sielawy – aż 73% (tab. 13, 14). Być może wyższa temperatura wody podczas inkubacji ikry, charakterystyczna dla ww. gatunków ryb (14,0°C dla okonia, 13,0°C dla szczupaka), kompleksowo zadziałała wraz z podwyższonym zasoleniem wody, co dało efekt w postaci tak niskiego procentu przeżycia. Natomiast niższa temperatura inkubacji jaj, charakterystyczna dla sielawy (5,0°C), jak również dla miętusa (3,0°C), wydłużając czas trwania embriogenezy, dodatkowo stwarzała większe możliwości i „dawała” czas rozwijającemu się zarodkowi, aby mógł się przystosować do nowych warunków otoczenia, w tym wypadku do zasolenia wody.

Inaczej było w przypadku kolejnych dwóch gatunków ryb tarła jesienno-zimowego, a mianowicie troci i siei. W wodzie o najwyższym zastosowanym zasoleniu (3 PSU) nie uzyskano wylęgu troci (Bonisławska 2009), zaś w przypadku siei procent przeżycia wynosił tylko 9 (tab. 12).

Reasumując, podczas przebiegu rozwoju zarodkowego ryb, należących do gatunków zimnolubnych i ciepłolubnych, w wodzie o zasoleniu 1 PSU procent przeżycia był jednakowy, a niekiedy nawet wyższy niż w próbie kontrolnej – w przypadku troci (Bonisławska 2009), siei, karpia, krąpia, szczupaka (tab. 13, 16, 17, 19). Ta wartość zasolenia wody, z jednej strony, zadziałała antybakteryjnie na ikrę ww. gatunków ryb, z drugiej strony spowodowała zmniejszenie kleistości jaj (głównie ryb karpiowatych), co zapobiegło obumieraniu jaj w tworzących się po zapłodnieniu „konglomeratach”, w których procesy oddechowe były utrudnio-

ne. Jednakże w środowisku naturalnym pozbawienie kleistości ikry ryb karpiowatych jest równoznaczne z opadaniem jej na dno i narażeniem na niekorzystne warunki środowiskowe oraz na niebezpieczeństwo ze strony drapieżników, dla których ikra na dnie jest bardziej widoczna niż na roślinności.

Należy również zwrócić uwagę na pośredni wpływ podwyższonej mineralizacji wody na przebieg procesu wylęgu. Już Olifan (1940, 1941) stwierdził, że podwyższone zasolenie wody zatrzymuje proces wylęgania się larw z jaj takich gatunków ryb, jak: leszcz, sazan, ukleja. Rykova w 1970 roku również zaobserwowała to u amura białego i tołpygi pstrej. Jako przyczynę zakłóceń procesu wylęgu u ww. gatunków ryb podała zwiększoną wytrzymałość osłonek jajowych (Rykova 1970).

Czym mogą być one spowodowane? Zwiększona mineralizacja wody może powodować zakłócenia w przebiegu procesu wylęgu poprzez wpływ jonów zawartych w wodzie zasolonej na prawidłowe działanie enzymu wyklucia wcieranego przez poruszający się wewnątrz jaja zarodek w osłonkę jajową. Prawidłowo rozprowadzony enzym wyklucia powoduje nadtrawianie osłonki jajowej, a tym samym zmniejszenie jej wytrzymałości. Zasolenie wody być może pośrednio wpłynęło na proces wylęgu, a konkretnie na aktywność proteolityczną enzymu zwanego chorionazą, syntetyzowanego i gromadzonego w komórkach gruczołów wyklucia, który jest odpowiedzialny za działanie proteolityczne na błonę jajową (Yamamoto i Yamagami 1975; Yamagami 1981; Lee i in. 1994). Aktywność tego enzymu u różnych gatunków ryb jest zależna od czynników środowiska, takich jak temperatura i pH (Łuczyński 1985). Natomiast badania Yamagami (1973), a później Luberdy i in. (1990) wykazały, że aktywność enzymu wyklucia, ponieważ jest on metaloenzymem, może być regulowana przez jony metali. U ryżówki japońskiej *Oryzias latipes* (Temminck i Schlegel, 1846) i pelugi *Coregonus peled* (Gmelin, 1788) aktywność tego enzymu zmniejszała się wraz ze wzrostem stężenia jonów: Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} . W przypadku pelugi aktywność chorionazy zahamowana została przy stężeniu Na^+ i K^+ wynoszącym ok. 10^{-3} M; w przedziale 10^{-5} – 10^{-4} M efektywność enzymu wzrastała (Luberda i in. 1990).

Niniejsze badania wykazały, że woda zasolona zawierała duże ilości ww. jonów. W związku ze wzrastającą przepuszczalnością osłonki jajowej przed wylęgiem (Nakano 1956; Davenport i in. 1986; Smaruj 2010) istnieje bardzo duże prawdopodobieństwo wniknięcia tych jonów do wnętrza jaj. Wówczas mogą pojawić się zaburzenia w aktywności enzymu wyklucia, a proces wylęgu może być zahamowany lub opóźniony.

Dodatkowo zaobserwowano, że wraz ze wzrostem mineralizacji wody następował nieznaczny wzrost pH wody (tab. 3). Badania wykazały, że różne są wartości optymalne pH wody, przy których aktywność proteolityczna enzymu wyklucia poszczególnych gatunków ryb jest maksymalna (Yamagami 1973; Hagenmaier i in. 1976; DiMichele i Taylor 1981).

Luberda-Bieńkowska (1995) stwierdziła, że przy pH 8,4–9,2 enzym wyklucia koregonidów (sieja, sielawa) wykazuje maksymalną aktywność w temperaturze $25,0^{\circ}\text{C}$, jednakże w temperaturze o wiele niższej, wynoszącej $3,0$ – $4,0^{\circ}\text{C}$, enzym ten wykazuje już tylko aktywność 20%, w stosunku do wartości maksymalnej. Niniejsze doświadczenia na siei i sielawie przeprowadzone były w wodzie słodkiej i zasolonej w stałej temperaturze wynoszącej $4,5$ – $5,0^{\circ}\text{C}$ i być może właśnie temperatura dodatkowo spowodowała utrudnienia w wylęgu,

a tym samym spadek (do 50% w wodzie słodkiej) odsetka żywych larw, głównie siei (tab. 12). Również w przypadku łososia i pstrąga tęczowego aktywność tego enzymu zmniejszała się wraz z malejącym odczynem wody (Hagenmaier 1973; Haya i Waiwood 1981).

Badania prowadzone przez Ostaszewską (1998), dotyczące enzymu wyklucia ryb karpio-watych, wskazują na opóźnienie procesu wylęgu w przypadku zmiany wartości pH wody w stosunku do wartości optymalnej. Hagenmaier (1973, 1974) wykazał, że przy pH wody wynoszącym 5,2 aktywność proteolityczna enzymu wyklucia u pstrąga tęczowego maleje do 10%. Natomiast w przypadku łososia wartości pH w zakresie 4,0–5,5, a w przypadku okonia wartości w zakresie 5,0–5,5 (dotyczące wody zakwaszonej) powodowały hamowanie, a nawet uniemożliwienie wylęgu (Runn i in. 1977; Peterson i in. 1980; Haya i Waiwood 1981).

W niniejszych badaniach odnotowano niewielkie zmiany pH wody w zależności od jej zasolenia, w związku z czym można sądzić, że nie powodowały one widocznych w zaburzeń w aktywności enzymu wyklucia u badanych gatunków ryb.

Proces wylęgu prawidłowo przebiegał u badanych gatunków ryb w próbach z wodą słodką i o niskim zasoleniu (1–2 PSU). W próbach, w których ikra była inkubowana w wodzie o najwyższym zasoleniu (3–5 PSU), proces opuszczania osłonek przez larwy był nieco skrócony lub nieco wydłużony. Luberda i in. (1992) stwierdzili, prowadząc badania nad aktywnością chorionazy siei i sielawy w różnych stężeniach NaCl, że aktywność tego enzymu malała wraz ze wzrostem stężenia NaCl. Jednakże zastosowane zasolenie w tym doświadczeniu było bardzo wysokie – w zakresie 2,9–55,1‰ NaCl (2,9–55,1 PSU), przy którym aktywność proteolityczna enzymu wyklucia ze 100% w wodzie o zasoleniu 2,9 PSU spadła do 20% w wodzie o zasoleniu 55,1 PSU NaCl (Luberda i in. 1992).

Biorąc jednak pod uwagę fakt wypadania obumarłych zarodków okonia z jaj inkubowanych w wodzie o najwyższym zasoleniu (4–5 PSU), można wnioskować, że enzym wyklucia zadziałał prawidłowo na strukturę osłonki, jednakże jony, które wniknęły do wnętrza jaj, spowodowały śmierć zarodków.

5.3. Wpływ zasolenia wody na wielkość wylęgu i zniekształcenia ciała

Jak wynika z przeprowadzonych badań, zasolenie wody, oddziałując bezpośrednio na procesy zachodzące w trakcie rozwoju zarodkowego badanych gatunków ryb, pośrednio wpłynęło na wielkość wylęgniętych larw. Skrócony czas trwania embriogenezy, będący skutkiem działania roztworów zmineralizowanych, spowodował, że wyklute osobniki badanych gatunków ryb (poza gatunkami tarła jesienno-zimowego) były krótsze i miały większe woreczki żółtkowe. Jest to zgodne z teorią mówiącą, że ryby wtórnie słodkowodne (w przypadku niniejszych badań są to miętus i gatunki z rodziny łososiowatych – sieja i sielawa) mają wyższą granicę tolerancji na zasolenie niż inne ryby słodkowodne (Jäger i in. 1981; Klinkhardt i Winkler 1989), stąd brak lub występowanie niewielkich różnic statystycznie istotnych w wielkości wylęgniętych osobników pochodzących z jaj inkubowanych w wodzie o zróżnicowanym zasoleniu w przypadku troci (Bonisławska 2009), siei, sielawy i miętusa (tab. 20–22). Natomiast w przypadku ryb z rodziny karpio-watych odnotowano wyraźne zmniejszenie dłu-

gości ciała wylęgniętych osobników z jaj inkubowanych w wodzie o najwyższym zasoleniu. Zjawisko to zaobserwowali również Olifan (1940) i Vernidub (1947) u leszcza, Rykova (1970) u amura białego i tołpygi pstrej, Bohlen (1999) u kozy, zaś Fashina-Bombata i Busari (2003) u suma afrykańskiego.

Jak już zauważono, zawartość tlenu w wodzie jest, w przypadku niniejszych badań, nieznacznie zmniejszona w roztworach zasolonych (tab. 2). Nieco gorsze warunki tlenowe, występujące podczas embriogenezy w roztworach zasolonych, mogą wpływać na spowolnienie procesów zachodzących w jajach – przebiegają one mniej sprawnie, w związku z czym rozwijający się zarodek może być mniejszy i pod koniec rozwoju może szybciej podjąć próbę zmiany warunków na bardziej korzystne poprzez wydostanie się z jaja na zewnątrz.

Vernidub (1947), prowadząc badania nad wpływem roztworów zasolonych o bardzo dużych wartościach (płynu Ringera o wartości 10 PSU i 20 PSU) na jaja okonia, leszcza, sandacza i jazgarza, stwierdziła, że działanie tych roztworów obniża pH ciała zarodka do 7. Zmiana ta powoduje wzrost zapotrzebowania zarodka na tlen (Vernidub 1947). Swanson (1996) stwierdził, że pod koniec embriogenezy ryby mlecznej zużycie tlenu przez zarodki w wodzie o najwyższym zasoleniu (50–55 PSU) i najniższym (15–20 PSU) było mniejsze niż przez zarodki rozwijające się w wodzie o zasoleniu 35 PSU. W związku z tym osobniki z wody o zasoleniu 35 PSU (optymalna wartość zasolenia wody) były najdłuższe i miały woreczek żółtkowy o najmniejszej objętości (Swanson 1996).

Wśród larw we wszystkich analizowanych grupach doświadczalnych zaobserwowano zniekształcenia ciała, jednak były one szczególnie liczne w grupie larw pochodzących z jaj, których rozwój zarodkowy przebiegał w wodzie o zasoleniu 3, 4 i 5 PSU. Uzyskane wyniki nie odbiegają od wyników badań Ovena (1960), prowadzonych na jajach sułtanki czarnomorskiej, i badań Rykowej (1970), prowadzonych na jajach tołpygi. Stwierdzili oni, że w przypadku zarodków rozwijających się w jajach inkubowanych w wodzie o podwyższonym zasoleniu występują u wylęgniętych osobników liczne różnorodne deformacje ciała: „wyciekanie” żółtka, skrzywienia kręgosłupa, puchlina woreczka żółtkowego, słaba pigmentacja ciała i oczu, a nawet zatrzymanie rozwoju aparatu szczękowego.

W wyniku przeprowadzonych badań zaobserwowano zniekształcenia różnego typu: osiową i boczną krzywiznę kręgosłupa, obrzęki serca, deformacje woreczka żółtkowego, puchlinę woreczka, deformacje ciała – „larwa w kształcie litery C”, skrócenie ciała, słaby pigment w oczach i na ciele (ryc. 8–11). Tego typu zniekształcenia zaobserwowano również u larw ryb wylęgniętych z jaj poddanych działaniu metali ciężkich (takich jak: ołów, miedź, kadm i rtęć): u *Fundulus heteroclitus* (Weis i Weis 1977), u *Oryzias latipes* (Heisinger i Greek 1974) i u karpia (Jeziarska i Słomińska 1997; Ługowska i Jeziarska 2000; Ługowska i Witeska 2004; Ługowska 2007).

Wzrost stężenia soli w wodzie, w której przebiegał rozwój zarodkowy badanych gatunków ryb, spowodował zmiany w wielkości larw, a także zwiększył stopień różnorodnych deformacji ich ciała.

Najbardziej wrażliwe na wzrost zasolenia wody okazały się zarodki okonia, gdyż w przypadku tego gatunku ryby odnotowano aż 15-krotny wzrost odsetka zdeformowanych larw wylęgniętych z jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu 5 PSU (tab. 26). W przypadku jazia,

krąpia i szczupaka odnotowano około pięciokrotny wzrost odsetka zdeformowanych larw w próbie osobników pochodzących z jaj inkubowanych w wodzie o najwyższej zastosowanej wartości zasolenia (tab. 23, 25, 27). Ponad trzykrotny wzrost odsetka zdeformowanych larw w próbie osobników, pochodzących z jaj inkubowanych w wodzie o najwyższej zastosowanej wartości zasolenia, odnotowano w przypadku siei (tab. 20, 22), a dwukrotny wzrost odsetka zdeformowanych larw karpia w próbie osobników pochodzących z jaj inkubowanych w wodzie o zasoleniu 3 PSU (tab. 24). Natomiast najmniej wrażliwe na wzrost zasolenia wody okazały się zarodki sielawy. Nie odnotowano różnic statystycznie istotnych pomiędzy liczbą zdeformowanych larw sielawy, wylęgniętych z jaj inkubowanych w wodzie wodociągowej a liczbą zdeformowanych larw, wylęgniętych z jaj inkubowanych w wodzie zasolonej o wartości 1–5 PSU (tab. 21)

Analizując powyższe wyniki, należy zwrócić uwagę na to, że w przypadku siei i ryb z rodziny karpowatych najwyższe zastosowane zasolenie wynosiło 3 PSU. Pierwsze badania, dotyczące wpływu zasolenia wody na przebieg embriogenezy ryb, prowadzone były w latach 2005–2007; wówczas zastosowano zasolenie w przedziale od 1 do 3 PSU. W latach 2009–2011 zastosowano już wyższe stężenie soli w wodzie (od 1 PSU do 5 PSU). Prawdopodobnie w przypadku jaj gatunków ryb badanych w pierwszym okresie, poddanych działaniu roztworów o zwiększonym zasoleniu (tzn. powyżej 3 PSU), wzrósłby wówczas odsetek deformacji ciała wylęgniętych osobników.

Otrzymane wyniki wskazują, że już w pierwszych etapach embriogenezy zakłócenia w wielkości przestrzeni życiowej rozwijającego się zarodka (wielkości przestrzeni okołozółtkowej), a później w czasie rozwoju zarodkowego są przyczyną powstania bardzo licznych niekształceń w przypadku bardziej wrażliwych gatunków ryb.

7. PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Przeprowadzone badania wykazały, że zakłócenia procesów zachodzących w jajach pod wpływem mineralizacji wody mogą występować w różnych okresach embriogenezy, w zależności od wartości zasolenia wody i gatunku ryby. W związku z tym zasolenie wody może działać albo jednostronnie, zmieniając przepuszczalność osłonki jajowej, albo – co jest bardziej prawdopodobne – wielostronnie, wpływając początkowo na przepuszczalność osłonki jajowej, a następnie wnikając do wnętrza jaja i zaburzając przebieg reakcji kortykalnej, czego efektem może być zwiększenie, zmniejszenie, a nawet brak przestrzeni okołozółtkowej. Wraz z postępującą embriogenezą wnikające jony mogą powodować zaburzenia dotyczące rozwoju i wzrostu ciała zarodka. Jak wykazały badania, może również nastąpić zwiększenie odsetka zniekształceń zarodków pochodzących z jaj inkubowanych w wodzie zasolonej. Również podczas procesu wylęgania się, w wyniku działania jonów zawartych w roztworach zasolonych, zmieniona może być aktywność proteolityczna enzymu wyklucia. Wszystkie wyżej wymienione niekorzystne oddziaływania podwyższonej mineralizacji wody powodują zwiększoną śmiertelność zarodków.

Z powyższych rozważań można wysnuć kilka podstawowych wniosków:

1. Podczas procesu aktywacji jaj występują zakłócenia spowodowane zwiększonym zasoleniem wody, w wyniku których odsetek jaj zapłodnionych wyraźnie maleje. Ponieważ mineralizacja wody wpływa na przepuszczalność osłonki jajowej i na procesy przemiany wodnej, efektem tych zmian jest wzrost wielkości przestrzeni okołozółtkowej jaj szczupaka, karpia, krupia i jazia bądź jej zmniejszenie u okonia i miętusa, a także pojawienie się jaj pozbawionych przestrzeni okołozółtkowej u szczupaka i miętusa (przy zasoleniu wody wynoszącym 5 PSU). W przypadku siei i sielawy nie zaobserwowano zmian w wielkości przestrzeni perywitellarnej. Być może było to związane z budową osłonek jajowych ryb, która moduluje sprawność przenikania i kumulowania jonów z roztworów zasolonych – zarówno w osłonkach jajowych, jak i w płynie periwitellarnym.
2. Zarodki badanych gatunków ryb, zarówno w jajach inkubowanych w wodzie słodkiej, jak i zasolonej, wczesne etapy embriogenezy (np. zamknięcie blastoporu) osiągają przy takiej samej ilości jednostek termicznych (stopniodni lub stopniogodzin). Natomiast w końcowym etapie rozwoju zarodkowego (wówczas, gdy zarodek przygotowany jest już do opuszczenia osłonek jajowych) zwiększona mineralizacja otaczającego środowiska powoduje zauważalne zmiany, takie jak przyśpieszenie wylęgu i różnice w wymiarach wykluwających się larw. Proces szybszego opuszczania osłonek jajowych przez zarodki rozwijające się w jajach inkubowanych w wodzie zasolonej może być spowodowany specyficznym oddziaływaniem jonów zawartych w wodzie na proteolityczną sprawność enzymu wyklucia.
3. Wrażliwość na zasolenie jest mniejsza w przypadku siei, sielawy, a także miętusa, na co wskazują wyniki niniejszych badań. Fakt ten można tłumaczyć tym, że są to gatunki wtórnie słodkowodne i z tego właśnie wynika możliwość ich większej tolerancji na zasolenie,

w porównaniu z innymi rybami słodkowodnymi. Również szczupak jest gatunkiem mało wrażliwym na mineralizację wód. Jego rozwój zarodkowy w wodzie o zasoleniu 3 PSU przebiega bez zakłóceń, a uzyskany wylęg nie różni się statystycznie istotnie pod względem wielkości od uzyskanego w wodzie słodkiej.

Wszystkie powyższe stwierdzenia i fakty wskazują na to, że stopień oddziaływania wody zasolonej na przebieg rozwoju zarodkowego ryb, jakkolwiek zależny od stężenia soli w stosowanych roztworach, jest zróżnicowany i określa wrażliwość gatunkową jaj badanych ryb słodkowodnych.

Biorąc pod uwagę powyższe stwierdzenia, również dotyczące ekologicznych uwarunkowań do życia w mniej lub bardziej sprzyjających warunkach osobników dorosłych poszczególnych gatunków ryb, można sądzić, że ich mniejsza lub większa wrażliwość w trakcie embriogenezy na zasolenie wody jest ewolucyjnym osiągnięciem gatunku, kształtującym się na przestrzeni milionów lat w wyniku zmian otaczającego środowiska, które zmuszały ryby do wielokrotnych migracji z wód słodkich do słonych i odwrotnie. Można stwierdzić, że historia ewolucji przedstawionych w pracy taksonów ryb, czyli ich przemiany dziedziczne, zapisane jako łańcuch pamięci genetycznej, spowodowały zaobserwowane zróżnicowane reakcje na zmiany warunków otoczenia, które w tym przypadku stanowiło zasolenie wody.

LITERATURA

- Alavi S.M.H., Cosson J. 2006, Sperm motility in fishes. (II) Effects of ions and osmolality: A review. *Cell Biol. Int.* 30 (1), 1–14.
- Albert A., Vetemaa M., Saat T. 2004, Effects of salinity on the development of Peipsi whitefish *Coregonus lavaretus maraenoides* Poljakow embryos. *Ann. Zool. Fennici.* 41, 85–88.
- Alderdice D.F., Rao T.R., Rosenthal H. 1979, Osmotic responses of eggs and larvae of the Pacific herring to salinity and cadmium. *Helgol. Wiss. Meer.* 32, 508–538.
- Alderdice D.F., Jensen J.O.T., Velsen F.P.J. 1984, Measurements of hydrostatic pressure in salmonid eggs. *Can. J. Zool.* 62, 1977–1987.
- Alekin O.A. 1956, *Podstawy hydrochemii*. Warszawa, Wydaw. Geologiczne.
- Andrade R.F., Bazzoli N., Rizzo E., Sato Y. 2001, Continuous gametogenesis in the neotropical freshwater teleost, *Bryconops affinis* (Pisces: Characidae). *Tissue Cell.* 33 (5), 524–532.
- APHA 1995, *Standard methods*. 19th edition. Washington DC, American Public Health Association.
- Bartel R. 1971, Pomiary średnicy jaj pstrąga tęczowego (*Salmo gairdneri* Rich.). *Rocz. Nauk. Rol.* 93-H-3, 7–17.
- Bartel R. 2000, Troć *Salmo trutta*, w: *Ryby słodkowodne Polski*, red. M. Brylińska. Warszawa, Wydaw. PWN, 415–421, ISBN 83-01-13100-4.
- Beattie J.H., Pascoe D. 1978, Cadmium uptake by rainbow trout, *Salmo gairdneri* eggs and alevins. *J. Fish Biol.* 13, 631–638.
- Biervald E.A. 1949, Osnovy nierestovoj biologii osnovnykh promyslowykh ryb Aralskogo Moria. *Zoolog. Žurn.* 28, 4.
- Black V.S. 1951, Changes in body chloride, density, and water content of chum (*Oncorhynchus keta*) and coho (*O. kisutch*) salmon fry when transferred from fresh water to sea water. *J. Fish. Res. Board Can.* 8, 161–177.
- Blaxter J.H.S. Hemple G., 1963, The influence of egg size on herring larvae (*Clupea harengus*). *J. Cons. Int. Explor. Mer.* 28, 211–240.
- Bohlen J. 1999, Influence of salinity on early development in the spined loach. *J. Fish Biol.* 55, 189–198.
- Bogucki M. 1930, Recherches sur la perméabilité des membranes et sur la pression osmotique des oeufs salmonides. *Protoplasma* 9, 334–369.
- Bonisławska M. 2001, *Wpływ temperatury na tempo i przebieg embriogenezy u ryb*, praca doktorska. Szczecin, Akademia Rolnicza w Szczecinie (komputeropis).
- Bonisławska M., Korzelecka-Orkisz A., Winnicki A., Formicki K., Szaniawska D. 2004, Morphophysiological aspects of the embryonic development of ruffe, *Gymnocephalus cernuus* (L.) under different thermal conditions. *Acta Ichth. Piscat.* 34 (1), 51–72.
- Bonisławska M. 2009, Effects of salinity on the duration and course of embryogenesis in sea trout (*Salmo trutta* L.). *Electron. J. Pol. Agric. Univ.* 2 (4). <http://www.ejpau.media.pl/volume12/issue4/art-07.html>.
- Bonisławska M., Tański A., Formicki K. 2012, Effects of water salinity on fertilization and size of eggs of the asp (*Aspius aspius* L.), in: Analiz i prognozowanie systemów zarządzania. Trudy XIII Międzynarodowej naukowo-praktycznej konferencji młodych uczonych, studentów i aspirantów. Sankt Petersburg, Izd. PGUPS, 141–152, ISBN 978-5-7641-0328-0.
- Borowski G. 2010, *Leksykon ekoinżynierii*. Warszawa, Polskie Towarzystwo Inżynierii Ekologicznej, ISBN 978-83-89263-33-9.
- Brylińska M., Tadażewska M. 2000, Krap *Abramis bjoerkna*, w: *Ryby słodkowodne Polski*, red. M. Brylińska. Warszawa, Wydaw. PWN, 249–256, ISBN 83-01-13100-4.

- Bryliński E. 2000a, Karp *Cyprinus carpio*, w: *Ryby słodkowodne Polski*, red. M. Brylińska. Warszawa, Wydaw. PWN, 193–200, ISBN 83-01-13100-4.
- Bryliński E. 2000b, Miętus *Lota lota*, w: *Ryby słodkowodne Polski*, red. M. Brylińska. Warszawa, Wydaw. PWN, 431–435, ISBN 83-01-13100-4.
- Chlebovič I.A. 1977, Osmotičeskije i solenostnye otnošeníâ v ontogeneze. Moskva, Izd. Nauka, 256–292.
- Cosson J., Billard R., Cibert C., Dreanno C., Suquet M. 1999, Ionic factors regulating the motility of fish sperm, in: *The male gamete from basic science to clinical applications cache river*, ed. C. Gagnon. Vienna, Press Vienna, 161–186.
- Davenport J., Lönning S., Kjörsvik E. 1986, Some mechanical and morphological properties of the chorion of marine teleost eggs. *J. Fish Biol.* 29, 289–301.
- Demel K. 1969, *Życie morza*. Gdańsk, Wydaw. Morskie, 460.
- Depêche J., Billard R. 1994, *Embryology in fish: a review*. Paris, Société Française d'Ichtyologie, 123.
- DiMichele L., Taylor M.H. 1981, The mechanism of hatching in *Fundulus heteroclitus*: development and physiology. *J. Exp. Zool.* 217 (1), 73–79.
- Długosz M. 1994, Oogeneza VI. Oogeneza u ryb kostnoszkieletowych, w: *Ultrastruktura i funkcja komórki*, red. S. Biliński, Z. Bielańska-Osuchowska, J. Kawiak, A. Przełęcka. Warszawa, Wydaw. PWN, 10, 115–132, ISBN 8301-11-450-9.
- Dojlido J.R. 1995, *Chemia wód powierzchniowych*. Białystok, Wydaw. Ekonomia i Środowisko, 141–149, ISBN 83-85792-22-8.
- Domurat J. 1956, Rozwój embrionalny troci (*Salmo trutta* L.), szczupaka (*Esox lucius* L.) i płoci (*Rutilus rutilus* L.) w środowisku bezwodnym. *Pol. Arch. Hydrobiol.* 3, 167–173.
- Duxbury A.C., Duxbury A.B., Sverdrup K.A. 2002, *Oceany świata*. Warszawa, Wydaw. PWN, 192–200, ISBN 83-01-13780-0.
- Dziekońska J. 1956, Badania nad wczesnymi stadiami rozwojowymi ryb. I. Badania nad rozwojem embrionalnym leszcza (*Abramis brama* L.) z Zalewu Wiślanego. *Pol. Arch. Hydrobiol.* 3, 291–305.
- Dziekońska J. 1958, Badania nad wczesnymi stadiami rozwojowymi ryb. II Wpływ niektórych warunków środowiska na rozwój embrionalny leszcza (*Abramis brama* L.) w Zalewie Wiślanym. *Pol. Arch. Hydrobiol.* 4, 194–206.
- Dziewulska K., Rzemieniecki A., Domagała J. 2011, Sperm motility characteristics of wild Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and sea trout (*Salmo trutta m. trutta* L.) as a basis for milt selection. *J. Appl. Ichthyol.* 27, 1047–1051.
- Eddy F.B., Talbot C. 1983, Formation of the perivitelline fluid in Atlantic salmon eggs (*Salmo salar*) in fresh water and in solutions of metal ions. *Comp. Biochem. Physiol., Part C* 75, 1–7.
- Eddy F.B., Talbot C. 1985, Sodium balance in eggs and dechorionated embryos of the Atlantic Salmon (*Salmo salar*) expose to zink, aluminium and acid waters. *Comp. Biochem. Physiol., Part C* 81, 259–266.
- Emboly G.C. 1934, Relation of temperature to the incubation periods of eggs of four species of trout. *Trans. Am. Fish. Soc.* 64, 281–192.
- Fausto A.M., Picchietti S., Taddei A.R., Zeni C., Scapigliati G., Mazzini M., Abelli L. 2004, Formation of the egg envelope of a teleost, *Dicentrarchus labrax* (L.): immunochemical and cytochemical detection of multiple components. *Anat. Embryol.* 208 (1), 43–53.
- Fashina-Bombata H.A., Busari A.N. 2003, Influence of salinity on the developmental stages of African catfish *Heterobranchus longifilis* (Valenciennes, 1840). *Aquaculture* 224, 213–222.
- Flügel H. 1966, Elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Hüllen der Oozyten und Eier des Flussbarsches *Perca fluviatilis*. *Cell Tissue Res.* 77 (2), 244–256.
- Formicki K. 2008, Magnetoreception. Chapter 14, in: *Fish larval physiology*, ed. R.N. Finn, B.G. Kapoor, Enfield USA, Science Publisher, 461–491, ISBN 978-1-57808-388-6.

- Formicki K., Smaruj I., Szulc J., Winnicki A. 2009, Microtubular network of the gelatinous egg envelope within the egg ribbon of European perch, *Perca fluviatilis* L. *Acta Ichthyol. Piscat.* 39 (2), 147–151.
- Fridman S., Bron J., Rana K. 2012, Influence of salinity on embryogenesis, survival, growth and oxygen consumption in embryos and yolk-sac larvae of the Nile tilapia. *Aquaculture* 334–337, 182–190.
- Gajdusek J., Rubcov V. 1983, Investigation on the microstructure of egg membranes in pike, *Esox lucius* L. *Folia Zool.* 32 (2), 145–152.
- Gilbert S.F. 2006, *Developmental biology*, 8th edition. Sunderland (MA), Sinauer Associates INC., 325–372, ISBN 0-87893-243-7.
- Gilkey J.C. 1981, Mechanisms of fertilization in fishes. *Am. Zool.* 21, 359–375.
- Ginzburg A.S. 1968, *Oplodotvorenije u ryb i problema polispermii*. Moskva, Izd. Nauka, 70–93.
- Gostiejeva M.H. 1954, Razvitie aralskovo lešča w morskoj vodje. *Rybn. Choziastvo* 6, 8–15.
- Hagenmaier H.E. 1973, The hatching process in fish embryos. IV. The enzymological properties of a highly purified enzyme (chorionase) from the hatching fluid of the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Rich. *Comp. Biochem. Physiol., Part B* 49, 313–324.
- Hagenmaier H.E. 1974, The hatching process in fish embryos. V. Characterization of the hatching protease (chorionase) from the from the peryviteline fluid of the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Rich. as metalloenzyme. *Roux. Arch. Dev. Biol.* 175, 157–162.
- Hagenmaier H.E., Schmitz I., Föhler J. 1976, Zum Vorkommen von Isopeptidbindungen in der Eihüle der Regenbogenforelle (*Salmo gairdneri* Rich.). H-S *Z. Physiol. Chem.* 357, 1435–1438.
- Hammer U.T. 1986, *Saline lake ecosystems of the world*. Vol. 59. Dordrecht, Netherlands, Springer, 109, ISBN 90-6193-535-0.
- Hamor T., Garside E.T. 1976, Developmental rates of embryos of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in response to various levels of temperature, dissolved oxygen, and water exchange. *Can. J. Zool.* 54, 1912–1917.
- Hamor T., Garside E.T. 1977, Quantitative composition of the fertilized ovum and constituent parts in the Atlantic salmon *Salmo salar* L. *Can. J. Zool.* 55, 1650–1655.
- Haya K., Waiwood B.A. 1981, Acid pH and chorionase activity of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) eggs. *B. Environ. Conatm. Tox.* 27, 7–12.
- Hayes F.R. 1949, The growth, chemistry and temperature relations of salmonid eggs. *Q. Rev. Biol.* 24 (4), 281–308.
- Heese T., Przybyszewski C. 1993, *Życie ryb*. Koszalin, Wydaw. WSInż. 351, ISBN 83-900510-6-0.
- Heisinger J.F., Greek W. 1974, Mercuric chloride uptake by eggs of the ricefish and resulting teratogenic effects. *B. Environ. Conatm. Tox.* 14, 665–673.
- Hellawell J.M. 1989, *Biological indicators of freshwater pollution and environmental management*. London, Elsevier.
- Holliday F.G.T. 1960, Osmoregulation in marine teleost eggs and larvae. *Cal. Coop. Ocean. Fish.* 10, 89–95.
- Holliday F.G.T., Blaxter J.H.S. 1960, The effects of salinity on the developing eggs and larvae of the herring. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 39, 591–603.
- Holliday F.G.T., Jones M.P. 1965, Osmotic regulation in the embryo of the herring (*Clupea harengus*). *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 45, 305–311.
- Holliday F.G.T., Jones M.P. 1967, Some effects off salinity on the developing eggs and larvae of the plaice (*Pleuronectes platessa*). *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 47, 39–48.
- Inoue S., Inoue Y. 1986, Fertilization (activation) – induced 200 to 9kD depolymerization of polysialoglycoprotein, a distinct component of cortical alveoli of rainbow trout eggs. *J. Biol. Chem.* 261, 5256–5261.

- Inoue S., Kitajima K., Inoue Y., Kudo S. 1987, Localization of polysialoglycoprotein as a major glycoprotein component in cortical alveoli of the unfertilized eggs of *Salmo gairdneri*. *Dev. Biol.* 123, 442–454.
- Ivlieva I.V. 1981, *Temperatura sriedy i skorost' energetičeskogo obmienu u vodnych žyvtynych*. Kiev, Naukova Dumka.
- Ivlev V. 1940, Vlijanie solienosti na oplodotvorenije i razvitie ikry niekatorych kaspjiskich poluprochodnych ryb. *Zool. Žurn.* 21, 3.
- Iwasaki M., Inoue S., Troy F.A. 1990, A new sialic-acid analog, 9-O-acetyl-deaminated neuraminic acid, and alpha-2,8-linked O-acetylated poly(N-glycolylneuraminy) chains in a novel polysialoglycoprotein from salmon eggs. *J. Biol. Chem.* 265, 2596–2602.
- Jäger T., Nellen W., Schöfer W., Shodjai F. 1981, *Influence of salinity and temperature on early life stages of Coregonus albula, C. lavaretus, R. rutilus, and L. lota. Rapports et Proces-verbaux des Réunions*. Copenhagen, Conseil Permanent International pour l'Exploration de la Mer 178, 345–348.
- Jeziarska B., Słomińska I. 1997, The effect of copper on common carp (*Cyprinus carpio* L.) during embryonic and postembryonic development. *Pol. Arch. Hydrobiol.* 44, 261–272.
- Jeziarska B., Sarnowski P., Witeska M., Ługowska K. 2009a, Disturbances of early development of fish caused by heavy metals (a review). *Electron. J. Ichthyol.* 2, 76–96.
- Jeziarska B., Ługowska K., Witeska M. 2009b, The effects of heavy metals on embryonic development of fish (a review). *Fish Physiol. Biochem.* 35, 625–640.
- Jørgensen A.T., Hansen B.W., Vismann B., Jacobsen L., Skov C., Berg S., Bekkevold D. 2010, High salinity tolerance in eggs and fry of brackish *Esox lucius* population. *Fisheries Manag. Ecol.* 17, 554–560.
- Jura Cz., Klag J. 2005, *Podstawy embriologii zwierząt i człowieka*. Warszawa, Wydaw. PWN, ISBN 83-01-14463-7.
- Kaneko T., Hiroi J. 2008, Osmo- and ionoregulation. in: *Fish larval physiology*, ed. R.N. Finn, B.G. Kapoor. Enfield USA, Science Publisher, 163–183.
- Kinne O. 1964, The effects of temperature and salinity on marine and brackish water animals: II. Salinity and temperature-salinity combinations. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 2, 281–339.
- Kime D.E., Van Look K.J.W., McAllister B.G., Huyskens G., Rurangwa E., Ollevier E.F. 2001, Computer-assisted sperm analysis CASA as a tool for monitoring sperm quality in fish. *Comp. Biochem. Physiol., Part C* 130 (4), 425–433.
- Kisielev I.V. 1980, *The biological background of fertilization and incubation of fish eggs*. Kiev, Naukova Dumka, 296.
- Kjörsvik E., Davenport J., Lønning S. 1984, Osmotic changes during the development of eggs and larvae of the lump sucker. *Cyclopterus lumpus* L. *J. Fish. Biol.* 24, 311–321.
- Klinkhardt M.B., Stroganov A.A., Pavlov D.A. 1987, Motoricity of Atlantic salmon embryos (*Salmo salar* L.) at different temperatures. *Aquaculture* 64, 219–236.
- Klinkhardt M.B., Winkler H.M. 1989, Einfluß der Salinität auf die Befruchtungs- und Entwicklungsfähigkeit der Eier von vier Süßwasserfischarten Plötze (*Rutilus rutilus*), Barsch (*Perca fluviatilis*), Kaulbarsch (*Gymnocephalus cernua*) und Zander (*Stizostedion lucioperca*). *Wiss. Zeits. Univ. Rostock* 38, 23–30.
- Kokurewicz B., Witkowski A. 1993, The effect of constant incubation temperature on the number of vertebrae in the tench *Tinca tinca* (L.), roach *Rutilus rutilus* (L.) and perch *Perca fluviatilis* L. *Zool. Pol.* 38, 107–122.
- Korzelecka A., Bonisławska M., Winnicki A. 1998, Structure, size and spatial distribution of perch (*Perca fluviatilis* L.) egg components during incubation. *Electron. J. Pol. Agric. Univ.* 1 (1), <http://www.ejpau.media.pl/Journal/english/series/1998/fisheries/art-05.html>.
- Korzelecka A. 1999, *Motoryka embrionalna u ryb kostnoszkieletowych*, praca doktorska. Szczecin, Akademia Rolnicza w Szczecinie (komputeropis).

- Kręglouste i ryby – Cyclostomi et Pisces. Klucze do oznaczania kręgowców Polski. 1962. Cz. I, red. M. Gąsowska. Warszawa, Wydaw. PWN.
- Kryžanovski S.G. 1956, Razvitie salaki v vodie povyšenoj solennosti. *Vopr. Ichtiol.* 6, 35–37.
- Krzywosz T. 2000a, Amur biały *Ctenopharyngodon idella*, w: *Ryby słodkowodne Polski*, red. M. Brylińska. Warszawa, Wydaw. PWN, 214–220, ISBN 83-01-13100-4.
- Krzywosz T. 2000b, Tołpyga biała *Hypophthalmichthys molitrix*, w: *Ryby słodkowodne Polski*, red. M. Brylińska. Warszawa 2000, Wydaw. PWN, Warszawa, 288–291, ISBN 83-01-13100-4.
- Krzywosz T. 2000c, Tołpyga pstra *Aristichthys nobilis*, w: *Ryby słodkowodne Polski*, red. M. Brylińska. Warszawa, Wydaw. PWN, 291–294, ISBN 83-01-13100-4.
- Kucharczyk D., Łuczyński M., Kujawa R., Czerkies P. 1997, Effect of temperature on embryonic and larval development of bream (*Abramis brama* L.). *Aquat. Sci.* 59, 214–224.
- Kucharczyk D., Łuczyński M., Kujawa R., Kamiński R., Ulikowski D., Brzuzan P. 1998, Influences of temperature and food on early development of bream (*Abramis brama* L.). *Arch. Hydrobiol.* 141 (2), 243–256.
- Kusa M. 1956, Studies on cortical alveoli in some teleostean eggs. *Embryologia* 3 (2), 105–129.
- Kügel B., Peterson R.H. 1989, Perivitelline fluid pH of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs in relation to ambient pH. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 46 (12), 2070–2073.
- Laale H.W. 1980, The peryvitelline space and eggs envelopes of bony fishes: a review. *Copeia* 2, 210–226.
- Lampert W., Sommer U. 1996, *Ekologia wód śródlądowych*. Warszawa, Wydaw. PWN, 440, ISBN 83-01-11960-8.
- Landergren P., Vallin L. 1998, Spawning of sea trout, *Salmo trutta* L., in brackish waters – lost effort or successful strategy? *Fish. Res.* 35, 229–236.
- Lee K.S., Yasumasu S., Nomura K., Iuchi I. 1994, HCE, a constituent of the hatching enzymes of *Oryzias latipes* embryos, releases unique proline-rich polypeptides from its natural substrate, the hardened chorion. *FEBS Letters* 339, 281–284.
- Li Y.H., Wu C.C., Yang J.S. 2000, Comparative ultrastructural studies of the zona radiata of marine fish eggs in three genera in Perciformes. *J. Fish Biol.* 56, 615–621.
- Lindroth A. 1946, Zur Biologie der Befruchtung und Entwicklung beim Hecht. *Mitt. Anst. Binnenfischerei Drottningholm.* 24, 1–173.
- Lipiński K. 1990, Ochrona wód przed zasoleniem. *Pr. Nauk. PSzczec.* 428 (37), 9–35.
- Lityński A. 1952, *Hydrobiologia ogólna*. Warszawa, Wydaw. PWN. 544.
- Ljubitzkij A.J. 1934, Zur erforschung des Temperatureffekts in der Morphogenese. II. Einfluss der Temperatur auf die Entwicklungsgeschwindigkeit und wachstum des Embryos von *Salmo trutta* m. fario L. *Zool. Jahrb. Allg. Zool.* 54, 405–422.
- Lønning S. 1972, Comparative electron microscopic studies of teleostean eggs with special reference to the chorion. *Sarsia* 49, 41–48.
- Lønning S., Davenport J. 1980, The swelling egg of the long rough dab, *Hippoglossoides platessoides limandoides* (Bloch). *J. Fish Biol.* 17, 359–378.
- Luberda Z., Strzeżek J., Łuczyński M. 1990, The influence of metal ions and some inhibitors on the activity of the proteinase isolated from the hatching liquid of *Coregonus peled*. *Acta Biochim. Pol.* 37, 197–200.
- Luberda Z., Strzeżek J., Łuczyński M. 1992, The influence of chosen physico-chemical factors on the proteolytic activity of the hatching liquid of *Coregonus albula* and *Coregonus lavaretus*. *Acta Biochim. Pol.* 39, 59–64.
- Luberda-Bieńkowska Z. 1995, Właściwości enzymu wyklucia zarodków ryb głąbielowatych (*Coregonidae*). *Acta Acad. Agricult. Tech. Olszt., Ser. Zootechnica* 42 Suppl. A, 27–29.
- Łuczyński M. 1985, *Fizjologia ryb. Z.1. Wykluwanie się ryb*. Olsztyn, Wydaw. ART, 1–24.

- Ługowska K., Jezierska B. 2000, Effect of copper and lead on common carp embryos and larvae at two temperatures. *Folia Univ. Agric. Stetin.* 205 (26), 29–38.
- Ługowska K., Witeska M. 2004, The effect of copper exposure during the embryonic development on deformations on newly hatched common carp larvae, and further consequences. *Electron. J. Pol. Agric. Univ.* 7 (2), <http://www.ejpau.media.pl/volume7/issue2/art-01.html>.
- Ługowska K. 2007, The effect of cadmium and cadmium/copper mixture during the embryonic development on deformed common carp larvae. *Electron. J. Pol. Agric. Univ.* 10 (4), <http://www.ejpau.media.pl/volume10/issue4/art-11.html>.
- Makeeva A.P., Pavlov D.S. 2000, Morfologičeskaâ charakteristika i osnovnyje priznaki dla opriedeleniâ ikry ryb priesnych vod Rosiji. *Vopr. Ichtiol.* 40 (6), 780–791.
- Mayer S., Shackley E. 1988, Aspects of the reproductive biology of the bass *Dicentrarchus labrax*. I. A histological and histochemical study of oocyte development. *J. Fish Biol.* 33, 609–622.
- Merriman D. 1940, Morphological and embriological studiem on two species of marine catfish. *Bagre marinus* and *Galeichtys felis*. *Zoologica N.Y.* 25 (13), 221–248.
- Metin C. 2001, Effects of aqueous cadmium on embryos and larvae of mirror carp. *Indian J. Anim. Sci.* 71, 885–888.
- Michibata H. 1981, Labeling fish with an activable element through their diet. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 38, 1281–1282.
- Molekularne mechanizmy rozwoju zarodkowego.* 2002, red. H. Krzanowska, W. Sokół-Misiak W. Warszawa, Wydaw. PWN, 405, ISBN 83-01-13689-8.
- Morrison C., Bird C., O'Neil D., Leggiadro C., Martin-Robichaud D., Rommens M., Waiwood K. 1999, Structure of the egg envelope of the haddock, *Melanogrammus aeglefinus*, and effects of microbial colonization during incubation. *Can. J. Zool.* 77, 890–901.
- Nakano E. 1956, Changes in the eggs membrane of the fish egg during fertilization. *Embriologia* 3 (1), 89–103.
- Neuman E. 1983, Thermal discharge and fish fauna in Sweden. *Water Sci. Technol.* 15, 67–87.
- Nikolski G. 1970, *Ichtiologia szczegółowa.* Warszawa, Wydaw. PWRiL, 546.
- Olifan V.I. 1940, Vlijanie soliennosti na ranije stadii razvitiâ azovskogo lešča, sudaka i volžskoj seldi. *Zool. Žurn.* 19 (1), 73–79.
- Olifan V.I. 1941, Vlijanie soliennosti na ikru i ličinki kaspjskovo sazana (*Cyprinus carpio*), volby (*Rutilus rutilus*) i lešča (*Abramis brama*). *Trudy VNIRO* 16, 159–162.
- Oppen-Berntsen D.O., Helvik J.V., Walther B.T. 1990a, The major structural proteins of cod (*Gadus morhua*) eggshells and protein crosslinking during teleost hardening. *Dev. Biol.* 137, 258–265.
- Oppen-Berntsen D.O., Bogsnes A., Walther B.T. 1990b, The effects of hypoxia, alkalinity and neurochemicals on hatching of Atlantic salmon (*Salmo salar*) eggs. *Aquaculture* 86, 417–430.
- Opuszyński K. 1983, *Podstawy biologii ryb.* Warszawa, Wydaw. PWRiL, 123–132.
- Ostaszewska T. 1998, Development of unicellular hatching glands in carp (*Cyprinus carpio* L.). *Ann. Warsaw Agricult. Univ., Ser. Anim. Sci.* 34, 19–28.
- Oven L.S. 1960, Viživaniye i razvitiye ikry i ličinok čiernomorskoj sultanki (*Mullus barbatus ponticus* Essipov) v vode z različnoj solennostju. *Trudy Karadagskoj Biologičeskoj Stancii Akademii Nauk Ukrainskoj CCP* 16, 30–42.
- Parry G. 1966. Osmotic adaptation in fishes. *Biol. Rev. Camb. Philos.* 41, 392–444.
- Pavlov D.A., Šadrin A.M. 1998, Formirovaniye izmienčvosti čisla miomierov i pozvonkov v rannem ontogenezie bielomorskoj seldi *Clupea pallasii marisalbi* pod vlijanijem tiempieratury. *Vopr. Ichtiol.* 38 (2), 241–251.
- Peňáz M., Prokeš M., Kouřil J., Hamáčková J. 1983, Early development of the carp *Cyprinus carpio*. *Acta Sci. Nat. Brno* 17 (2), 1–39.

- Peterson R.H. 1984, Influence of varying pH and some inorganic cations on the perivitelline potential of eggs of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 41, 1066–1069.
- Peterson R.H., Daye P.E., Metcalfe J.L. 1980, Inhibition of Atlantic salmon (*Salmo salar*) hatching at low pH. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 37, 770–774.
- Peterson R.H., Martin-Robichaud D.J. 1984, Perivitelline and vitelline potentials in teleost eggs as influenced by ambient ionic strength, natal salinity, and electrode electrolyte, and the influence of these potentials on cadmium dynamics whitening the eggs. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 43, 1440–1450.
- Peterson R.H., Martin-Robichaud D.J. 1993, Rates of ionic diffusion across the egg chorion of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Physiol. Zool.* 66, 289–306.
- Petrova Z.I. 1950, Procesy rosta i differencirovki u zarodyszey niekotorych ryb, razvivajuščichsa v usloviach povyszennoj solennosti. *Učenyje Zapiski LGU* 23 (133), 119–122.
- Ponwith B.J., Neill W.H. 1995, The influence of incubation salinity on the duoyancy of red drum eggs and yolk sac larvae. *J. Fish. Biol.* 46, 955–960.
- Potts W.T.W., Rudy P.P. 1969, Water balance in the eggs of the Atlantic salmon *Salmo salar*. *J. Exp. Biol.* 50, 223–237.
- Prescott D. 1955, Effect of activation on the water permeability of salmon eggs. *J. Cell. Compar. Physl.* 45 (1), 1–12.
- Puczkow N.W. 1962, *Fizjologia ryb*. Warszawa, Wydaw. PWN, 137–140.
- Raat A.J. 1988, Synopsis of the biological data on the northern pike *Esox lucius* (Linnaeus, 1758). *FAO Fish. Synopsis* 30 (2), 78–79.
- Rechulicz J. 2000, *Wpływ temperatury inkubacji na rozwój gruczołów wyklucia i wybrane parametry hodowlane u jazia – Leuciscus idus (L.)*, praca doktorska. Lublin, Akademia Rolnicza w Lublinie (komputeropis).
- Riehl R., Patzner R.A. 1998, Mini review: The modes of eggs attachment in teleost fishes. *Ital. J. Zool.* 65, 415–420.
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 9 listopada 2011 r. w sprawie sposobu klasyfikacji stanu jednolitych części wód powierzchniowych oraz środowiskowych norm jakości dla substancji priorytetowych*. DzU z 2011 r., nr 257, poz. 1545.
- Różańska Z. 1999, *Ekologia środowiska morskiego*. Olsztyn, Wydaw. ART, 148.
- Runn P., Johansson N., Milbrink G. 1977, Some effects of low pH on the hatchability of eggs of perch. *Perca fluviatilis* L. *Zoon.* 5, 115–125.
- Rykova T.I. 1964, O soleuctojčivosti kitajskich rastitelnojadlych ryb na rannyh stadiach razvitâ. *Trudy VNIRO* 55, 195–196.
- Rykova T.I. 1966, Soleustojčivost i nekotoryje osobienosti pelagičeskoj ikry i ličinok belovo amura i tolstolobika. in: *Biol. Rybn. Choz-va na vodoemach Srednej Azji i Kazachstana*. Alma-Ata, Nauka, 214–217.
- Rykova T.I. 1970, Niekotoryje aspekty diejstviâ solevogo faktora v ontogenezie piestrovu tolstolobika. *Trudy VNIRO* 74, 197–221.
- Rykova T.I. 1971, Kortykalnye izmenienija u jajc bielogo amura, bielogo i piestrogu tolstolobikov v priestnoj i solenoj vode. *Trudy VNIRO* 81, 160–178.
- Rykova T.I. 1981 *Izučeniye vliâniâ solennosti sriedy na ryb w ranniem ontogenezie. Issliedovaniye razmnoženija i razvitia ryb*. Moskva, Izd. Nauka.
- Sadowski M. 2004, *Morfo-funkcjonalne skutki oddziaływań polichlorowanych bifenyli i detergentu na przebieg embriogenezy ryb i modulujący wpływ pola magnetycznego na te procesy*, praca doktorska. Szczecin, ZUT (komputeropis).
- Sadowski M., Winnicki A., Formicki K., Sobociński A., Tański A. 2007, The effect of magnetic field on permeability of egg shells of salmonid fishes. *Acta Ichthiol. Piscat.* 37 (2), 129–135.
- Sakun O.F., Bucka N.A. 1968, *Opredelenie stadii zrelosti i izučenie polovych ciklov ryb*. Murmansk, Izd. Min. Ryb. Choz. SSSR.

- Sikorska J., Ługowska K. 2005, Wpływ kadmu na rozwój embrionalny karpia (*Cyprinus carpio* L.). *Kom. Ryb.* 3, 6–8.
- Smaruj I. 2010, *Morfomechaniczne podłoże zjawiska turgoru podczas embriogenezy u ryb w polu magnetycznym*, praca doktorska. Szczecin, Wydaw. ZUT (komputeropis).
- Soin S.G. 1977, O niektórych osobiennostiach razvitia karpia *Cyprinus carpio* L. v sviazi z inkubaciej ego ikry v zavidskih uslovâch. *Vopr. Ichthiol.* 17 (5), 900–911.
- Solemdal P. 1967, The effect of salinity on buoyancy, size and development of flounder eggs. *Sarsia* 29, 431–442.
- Som S.G., Danilčennko O.P., Volodin V.M. 1983, *Problemy rannego ontogeneza u ryb*. Kaliningrad, [b.w.].
- Somasundaram B., King P.E., Shackley S. 1984, The effects of zinc on postfertilization development in eggs of *Clupea harengus* L. *Aquat. Toxicol.* 5, 167–178.
- 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*). *Aquat. Toxicol.* 30, 137–151.
- Stouthart A.J.H.X., Spanings F.A.T., Lock R.A.C., Wendelaar Bonga S.E. 1995, Effects of water pH on chromium toxicity to early lifestage of the common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquat. Toxicol.* 32, 31–42.
- Stouthart A.J.H.X., Haans J.L.M., Lock R.A.C., Wendelaar Bonga S.E. 1996, Effects of water pH on copper toxicity to early life stages of the common carp (*Cyprinus carpio*). *Environ. Toxicol. Chem.* 15, 376–383.
- Swanson C. 1996, Early development of milkfish: effects of salinity on embryonic and larval metabolism, yolk absorption and growth. *J. Fish Biol.* 48, 405–421.
- Szczerbowski J. 2000a, Sieja *Coregonus lavaretus*, w: *Ryby słodkowodne Polski*, red. M. Brylińska. Warszawa, Wydaw. PWN, 381–386, ISBN 83-01-13100-4.
- Szczerbowski J. 2000b, Sielawa *Coregonus albula*, w: *Ryby słodkowodne Polski*, red. M. Brylińska. Warszawa, Wydaw. PWN, 376–380, ISBN 83-01-13100-4.
- Szulc J. 2006, *Ultrastrukturalne osobliwości budowy osłon jajowych ryb na tle warunków ich naturalnego rozwoju*. praca doktorska, Szczecin, AR (komputeropis).
- Szulc J., Formicki K., Winnicki A. 2006, Występowanie bakterii na powierzchni jaj ryb, w: *Rozród, podchów, profilaktyka ryb karpiowatych i innych gatunków*, red. Z. Zakęś, K. Demska-Zakęś, J. Wolnicki. Olsztyn, Wydaw. IRS, 69–78, ISBN 978-83-60111-05-5.
- Szulc J., Biernaczyk M., Formicki K., Tański A., Bonisławska M., Korzelecka-Orkisz A., Sobociński A., Potkański Ł. 2011, Ruchliwość plemników certy (*Vimba vimba* L.), w: *Nowe gatunki w akwakulturze. Rozród, podchów, profilaktyka*, red. Z. Zakęś, K. Demska-Zakęś, A. Kowalska. Olsztyn, Wydaw. IRS, 223–228, ISBN 978-83-60111-55-0.
- Szymańska H. 1990, Wpływ słonych wód z kopalń węgla kamiennego na jakość wód Odry. *Gosp. Wodna* 5, 116–122.
- Szymelfenig M. 1977, *Influence of different sea water salinities on rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich. 1836) and sea trout (*Salmo trutta trutta* L. 1758) spermatozoons and eggs*. Gdynia, Poland, Sea Fisheries Institute.
- Szymelfenig M. 1979, Wpływ wody morskiej o różnych zasoleniach na plemniki i jaja pstrąga tęczowego (*Salmo gairdneri* Rich. 1836) i troci wędrownej (*Salmo gairdneri* Rich. 1836). *Zesz. Nauk. Wyzd. Biol. Nauk Ziemi Uniw. Gdańskiego, Ser. Oceanografia* 6, 129–146.
- Szymelfenig M. 1983, *The incubation and Elary breeding of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich) in brackish water*. Gdynia, Poland, Sea Fisheries Institute.
- Tadajewska M. 2000, Jaź *Leuciscus idus*, w: *Ryby słodkowodne Polski*, red. M. Brylińska. Warszawa, Wydaw. PWN, 314–318, ISBN 83-01-13100-4.

- Tandler A., Anav F., Choshniak A. 1995, The effect of salinity on growth rate, survival and swim-bladder inflation in gilthead seabream, *Sparus arata*, larvae. *Aquaculture* 135, 343–353.
- Terlecki J. 2000, Okoń *Perca fluviatilis*, w: *Ryby słodkowodne Polski*, red. M. Brylińska. Warszawa, Wydaw. PWN, 455–460. ISBN 83-01-13100-4.
- Tilney R.L., Hecht T. 1993, Early ontogeny of *Galeichthys feliceps* from the south east coast of South Africa. *J. Fish Biol.* 43, 183–212.
- Twyman R.M. 2003, *Krótkie wykłady. Biologia rozwoju*. Warszawa, Wydaw. PWN, 570. ISBN 83-01-14021-6.
- Usher M.L., Stickland N.C., Thorpe J.E. 1994, Muscle development in Atlantic salmon (*Salmo salar*) embryos and the effect of temperature on muscle cellularity. *J. Fish Biol.* 44, 953–964.
- Weis J.S., Weis P. 1977, Effects of heavy metals on development of the killifish, *Fundulus heteroclitus*. *J. Fish Biol.* 11, 49–54.
- Webb S.E., Miller A.L. 2000, Calcium signalling during zebrafish embryonic development. *Bioessays* 22, 113–123.
- Westin L., Nissling A. 1991, Effect of salinity on spermatozoa motility, percentage of fertilized eggs and egg development of Baltic cod (*Gadus morhua*), and implications for cod stock fluctuations in the Baltic. *Mar. Biol.* 108, 5–9.
- Wiktor J. 1973, *Experiments on breeding of steelhead trout (Salmo gairdneri) roe in Baltic Sea Water*. Gdynia, Poland, Sea Fisheries Institute.
- WIKTOR J. 1974. *The incubation of eggs and rearing of fry of sea trout (Salmo trutta trutta) I Baltic Sea Water*. Gdynia, Poland, Sea Fisheries Institute.
- Winnicki A. 1967, Embryonic development and growth of *Salmo trutta* L. and *Salmo gairdneri* Rich. in conditions unfavourable to respiration. *Zool. Pol.* 17, 45–58.
- Winnicki A., Bartel R. 1967, The effect of limited water intake on the strength of coverings in the salmonid fishes. *Zool. Pol.* 16, 351–364.
- Winnicki A. 1968. *Rola i właściwości osłonek jajowych ryb łososiowatych*, praca habilitacyjna. Olsztyn, Wydaw. WSR (maszynopis).
- Vernidub M.F. 1947, O specificznosti diejstvija solievych raztvorov na razvivajuščijesja jajca ryb. *Dokl. AN SSSR* 58 (3), 493–496.
- Vetemaa M., Saat T. 1996, Effects of salinity on the development of fresh- water and brackish- water ruffe *Gymnocephalus cernuus* (L.) embryos. *Ann. Zool. Fenn.* 33, 687–691.
- Vinberg G.G. 1987, Zavisimost' skorosti ontogenetičeskogo razvitiâ ot temperatury. in: *Produkcionno-gidriobiologičeskie Issledovanija Vodnyh Ekosistem*, red. A.F. Alimov. *Tr. Zool. In-ta AN SSSR* 165, 5–34.
- Vorobieva E.I., Rubcov V.V., Markov K.P. 1986, *Vliânije vniešnih faktorov na mikrostrukturu oblocek ikry ryb*. Moskva, Izd. Nauka.
- Xingfu L., Jenssen E., Jørgen F. 1989, Effect of salinity on egg swelling in Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 76, 317–334.
- Yamagami K. 1973, Some enzymological properties of a hatching enzyme (chorionase) isolated from the fresh-water teleost, *Oryzias latipes*. *Comp. Biochem. Physiol., Ser. B* 46, 603–616.
- Yamagami K. 1981, Mechanisms of hatching in fish: Secretion of hatching enzyme and enzymatic choriolysis. *Am. Zool.* 21 (2), 459–471.
- Yamamoto T. 1939, Mechanism of membrane elevation in the egg of *Oryzias latipes* at the time of fertilization. *Proc. Imp. Acad. Tokyo* 15 (8), 272–274.
- Yamamoto T. 1940, The change in volume of the fish egg at fertilization. *Proc. Imp. Acad. Tokyo* 16 (9), 482–485.
- Yamamoto K. 1956a, Studies of the formation of fish eggs. VII. The fate of the yolk vesicle in the oocyte of the herring, *Clupea pallasii*, during vitellogenesis. *Annot. Zool. Japon.* 29, 91–96.

- Yamamoto K. 1956b, Studies of the formation of fish eggs. VIII. The fate of the yolk vesicle in the oocyte of the smelt, *Hypomesus japonicus*, during vitellogenesis. *Embriologia* 3, 131–138.
- Yamamoto M., Yamagami K. 1975, Electron microscopic studies on choriolysis by the hatching enzyme of the teleost, *Oryzias latipes*. *Dev. Biol.* 43, 313–321.
- Yamamoto T.S. 1984, Ammonia release by chum salmon eggs at the initiation of their embryonic development. *Dev. Growth Differ.* 26, 95–104.
- Yang Z., Chen Y. 2006, Salinity tolerance of embryos of obscure puffer *Takifugu obscurus*. *Aquaculture* 253, 393–397.
- Załączowski W. 1997, *Ryby*. Warszawa, Wydaw. PWN, ISBN 83-01-12286-2.
- Załączowski W. 2000. Szczupak *Esox lucius*, w: *Ryby słodkowodne Polski*, red. M. Brylińska. Warszawa, Wydaw. PWN, 362–367, ISBN 83-01-13100-4.
- Zotin A.I. 1953, Načalnyje stadii procesa zatvedevanija oboloček jajc losesovych ryb. *Dokl. AN SSSR* 89, 573–576.
- Zotin A.I. 1954, Mechanizm obrazowania perivitellinowego prostranstwa u jajc lososevych ryb. *Dokl. AN SSSR* 96, 421–424.
- Zotin A.I. 1958, The membrane hardening enzyme of salmon eggs. *Dokl. AN SSSR* 121, 1105–1108.
- Zotin A.I. 1961 *Fiziologija vodnogo obmiena u zarodyšej ryb i kruglorotych*. Moskva, Izd. AN SSSR, 17–149.

The course of early ontogenesis of selected fish species in waters characterized by different salinities

Summary

Water of low salinity can occur in rivers periodically or permanently (estuarine waters). Increasing salinity of inland waters as an adverse anthropogenic factor may be associated with mining waters, industrial and communal waste. Since the small salinity of the water used in this study (1-5 PSU) is tolerated by adult fish individuals, an attempt was made to follow the effect of water mineralization on early ontogeny of 8 species of freshwater fishes. They included both autumn-winter (whitefish, vendace, burbot) and spring-summer (perch, pike, ide, carp, silver bream) spawners.

Based on the studies it was found that the different water salinity had an effect on various stages of ontogeny. Fertilisation of the studied species in the water of 1-5 PSU varied in effectiveness: the fertilised rate decreased with increasing salinity (even to 20% in the case of pike eggs at 5 PSU). In the samples treated with saline water during egg hydration formation of perivitelline space was disturbed, and as a result it was larger (pike, carp, silver bream, ide) or smaller (perch and burbot); also eggs with no perivitelline space appeared (pike and burbot at 5 PSU). No changes in the size of perivitelline space were observed in the case of whitefish and vendace, which was probably associated with the structure of their egg envelopes.

Early stages of embryogenesis in the studied fish species proceeded at the same number of thermal units (degree-days – D° or degree-hours – H°) in both fresh and saline water. At the end of embryogenesis the eggs incubated in saline water were quicker to hatch, probably as a result of the effect of ions contained in the water on the proteolytic activity of the hatching enzyme. The early-hatched individuals of the studied species (except autumn-winter spawners) were shorter and had smaller yolk sacs. The proportion of anomalies was higher among the larvae hatched from eggs incubated in saline water.

The effect of salt solutions on the fish embryogenesis depended on the salinity; the embryos of the studied species developing inside eggs were less sensitive to salinity which may result from the fact that they belonged to secondarily freshwater species.

Verlauf der frühen Ontogenese von gewählten Fischarten in Gewässern mit verschiedener Salinität

Zusammenfassung

In den Untersuchungen wurden relativ niedrige Salzgehalte angewendet – im Bereich von 1 bis 5 PSU, die im Wassermilieu periodisch oder dauerhaft (Ästuarergewässer) auftreten können. Die Zunahme der Salinität von Binnengewässern als ein ungünstiger anthropogener Faktor kann einen Zusammenhang mit bergbaulichen Gewässern, dem Industrie- und Kommunalabwasser haben. Weil die in den vorliegenden Untersuchungen verwendeten geringen Wassersalinitäten von den erwachsenen Fischindividuen toleriert werden, versuchte man, die Einwirkung der Wassermineralisation in den Etappen der frühen Ontogenese von acht Süßwasserfischarten zu überprüfen. Es handelte sich dabei sowohl um die Arten, die zur Gruppe der Herbst- und Winterlaicher gehören (Maräne, kleine Maräne, Quappe), als auch um Frühling- und Sommerlaicher (Barsch, Hecht, Aland, Karpfen, Güster).

Auf Grundlage von durchgeführten Untersuchungen stellte man fest, dass die differenzierte Wassersalinität die einzelnen Etappen der Embryogenese beeinflusst. Der Prozess der Befruchtung der Eier der untersuchten Fischarten im Wasser mit einem Salzgehalt von 1-5 PSU verlief mit unterschiedlichen Ergebnissen; mit steigender Wassersalinität verringerte sich der Prozentsatz von befruchteten Eiern (sogar bis 20% im Fall des Hechtes im Wasser mit dem Salzgehalt von 5 PSU). In Proben im salzhaltigen Wasser traten während der Hydratation von Eiern Störungen im Prozess der Herausbildung des Perivitellin-Raumes auf, welches zur Zunahme seiner Größe (im Fall des Hechtes, Karpfens, Güsters, Alands) oder zur Verringerung seiner Größe (im Fall des Barsches und der Quappe), oder auch zum Herausbilden von Eiern ohne Perivitellin-Raum (in der Gruppe von Hecht- und Quappeeiern im Wasser mit einem Salzgehalt von 5 PSU) führte. Es wurden dagegen keine Änderungen der Größe des Perivitellin-Raumes im Fall der Maräne und der kleinen Maräne beobachtet, welches wahrscheinlich mit dem Aufbau der Eischalen von diesen Fischen zusammenhängt.

Die frühen Etappen der Embryogenese der untersuchten Fischarten verliefen bei einer gleichen Anzahl von thermischen Einheiten (Gradtage – D° oder Gradstunden – H°) sowohl im Süß- als auch im salzhaltigen Wasser. Dagegen in der Endetappe der embryonalen Entwicklung, aus Eiern, die in salzhaltigen Lösungen inkubiert wurden, erfolgte das Ausbrüten schneller, welches wahrscheinlich die Folge der Einwirkung von den im salzhaltigen Wasser enthaltenen Ionen auf die proteolytische Aktivität des Schlupfenzym war. Die eher ausgebrüteten Individuen von untersuchten Fischarten (außer den Arten aus der Gruppe der Herbst- und Winterlaicher) waren kürzer und hatten größere Gallenblasen. Man verzeichnete auch einen größeren Prozentsatz von deformierten Larven aus Eiern, die im salzhaltigen Wasser inkubiert wurden.

Wie die in der vorliegenden Arbeit vorgestellten Untersuchungen nachgewiesen haben, hängt die Einwirkung von salzhaltigen Lösungen auf den Verlauf der Embryogenese von Fischen vom verwendeten Salzgehalt ab, weil die sich in den Eiern entwickelnden Embryo-

nen von untersuchten Fischarten weniger empfindlich gegen den Umweltfaktor – die Salinität – waren, welches unter anderem daraus resultieren kann, dass sie zu sekundären Süßwasserfischen gehören.