



## **ẢNH HƯỞNG CỦA ION ĐỒNG ( $\text{Cu}^{2+}$ ) LÊN HÌNH THÁI VÀ NHỊP TIM CỦA ẤU TRÙNG CÁ NGỰA VẪN – *Danio rerio* HAMILTON, 1822 GIAI ĐOẠN 1-6 NGÀY TUỔI**

**Trần Thị Phương Dung\*, Trần La Giang**

*Khoa Sinh học – Trường Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh*

\*Tác giả liên hệ: Trần Thị Phương Dung – Email: tpdung2007@gmail.com

Ngày nhận bài: 11-5-2019; ngày nhận bài sửa: 24-5-2019; ngày duyệt đăng: 13-6-2019

### **TÓM TẮT**

Nghiên cứu được tiến hành nhằm đánh giá tác động của ion đồng ( $\text{Cu}^{2+}$ ) ở các nồng độ  $0\mu\text{g/L}$ ;  $500\mu\text{g/L}$ ;  $1000\mu\text{g/L}$ ;  $2000\mu\text{g/L}$  lên quá trình phát triển tim cá Ngựa vằn (*Danio rerio* Hamilton, 1822) giai đoạn ấu trùng sau nở từ 1-6 ngày tuổi. Kết quả nghiên cứu cho thấy, nồng độ  $\text{Cu}^{2+}$  càng cao thì không chỉ gây dị hình ở tim mà còn làm ảnh hưởng đến chức năng sinh lý của tim như tăng nhịp tim cá ấu trùng.

**Từ khóa:** ion đồng, nhiễm độc kim loại nặng, cá ấu trùng, cá Ngựa vằn.

### **1. Mở đầu**

Hiện nay, các hợp chất kim loại nặng tác động tới môi trường nước và gây ảnh hưởng trực tiếp tới các động vật sống trong môi trường nước. Kim loại nặng hiện diện và tích tụ ở nhiều nồng độ khác nhau và có tính bền vững cao. Một trong những kim loại nặng gây ô nhiễm trong môi trường nước hiện nay chính là ion đồng ( $\text{Cu}^{2+}$ ). Ở Việt Nam, các nghiên cứu về độc chất đang tiến hành tập trung về kim loại nặng trong môi trường nước nhằm thử nghiệm độc tính của kim loại nặng đối với sự phát triển của cá; từ đó đưa ra kiến nghị để đánh giá nồng độ độc chất tối đa có thể chấp nhận được cho động vật ở dưới nước và cung cấp dữ liệu cho việc thiết lập tiêu chuẩn chất lượng nước hiện nay (Lê Huy Bá, 2008). Ngoài việc quan trắc ô nhiễm kim loại nặng trực tiếp bằng các phương pháp lí hóa thì việc sử dụng các thủy sinh vật chỉ thị, cụ thể là cá Ngựa vằn (*Danio rerio* Hamilton, 1822), loài cá nước ngọt được coi là mô hình động vật có xương sống nổi bật trong các nghiên cứu về di truyền, sinh lý và sự phát triển bệnh lí, là một mô hình *in vivo* là khá phổ biến trong nghiên cứu khoa học và mang lại nhiều ý nghĩa cho thực tiễn. Nghiên cứu này cơ bản đánh giá được sự gây hại của ion đồng ( $\text{Cu}^{2+}$ ) lên sự phát triển hình thái của tim cá Ngựa vằn giai đoạn ấu trùng (1-6 ngày tuổi) qua các kiểu dị tật, tỉ lệ dị tật tim và chức năng sinh lý tim thông qua nhịp tim của cá.

## 2. Vật liệu và phương pháp

### 2.1. Vật liệu

Vật liệu sử dụng nghiên cứu gồm:

- Các dụng cụ thủy tinh được rửa sạch và hấp, sấy khử trùng trước khi sử dụng;
- Hệ thống kính hiển vi đảo ngược được gắn phần mềm chụp ảnh NIS Elements Fpackage version 3.2;
- Dung dịch ion đồng (trong loại muối NaCl, KCl, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, CaCl<sub>2</sub>, MgSO<sub>4</sub>, NaHCO<sub>3</sub>) sau khi pha được đựng trong chai Duran sạch. Sử dụng Stock này để pha ra 4 nồng độ thí nghiệm;
- Hệ thống 4 máy sục khí cho các bể nuôi cá;
- Rong dùng để nuôi cá được nuôi sục khí 24/24 giờ và loại bỏ rong chết hàng ngày;
- Thức ăn nuôi cá bao gồm thức ăn thương phẩm dạng viên nhỏ. Ngoài ra, Bobo (*Moina* sp.) cũng được sử dụng làm thức ăn cho cá;
- Cá Ngựa vằn ở giai đoạn ấu trùng (1-6 ngày tuổi) được nuôi trong môi trường Hank ở các nồng độ khác nhau.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### Bố trí thí nghiệm

- Phôi cá được nuôi trong môi trường Hank dành cho phôi. Môi trường có chứa ion đồng tương ứng các nồng độ khảo sát. Ấu trùng cá Ngựa vằn sau khi nở được chuyển vào môi trường Hank dành cho cá ấu trùng có chứa ion đồng tương ứng các nồng độ khảo sát.
- Cá Ngựa vằn giai đoạn mới nở thành cá ấu trùng được nuôi trong bể kính 29cm x 18cm x 18cm, dung tích 3 lít có chứa ion Cu<sup>2+</sup>, tương ứng các nồng độ khác nhau trong môi trường chuẩn là môi trường Hank nuôi cá nhằm hạn chế sự chênh lệch nhiệt độ giữa môi trường nước nuôi và môi trường bên ngoài.
- Bố trí bể nuôi ở nơi có ánh sáng vừa phải. Cá được nuôi theo quang chu kì là 14giờ/10 giờ. Đo pH và nhiệt độ nước 2 lần/ngày. Thường xuyên theo dõi độ ẩm và nhiệt độ phòng nuôi.
- Bể nuôi có gắn máy sục khí để cung cấp lượng oxy cần thiết cho cá. Trên miệng bể nuôi có tấm chắn để tránh các động vật khác rơi vào hoặc cá nhảy ra ngoài do đặc tính bơi lội nhanh và sự nhạy cảm của cá với môi trường bên ngoài.
- Rong được cho vào bể để làm thức ăn cho cá và tạo môi trường nuôi.
- Ba ngày sau khi cá thoát nang, cho cá ăn động vật phù du sinh và ấu trùng có trong rong.
- Thay nước cho cá 2 ngày/lần (thay nước mỗi bể 1/3 thể tích nước trong bể).
- Tất cả ấu trùng cá Ngựa vằn sau khi nở được quan sát dưới kính hiển vi soi nổi để ghi nhận những phát triển bất thường về hình thái của tim.
- Ảnh hưởng của ion đồng lên nhịp tim được khảo sát bằng cách quay phim dưới kính hiển vi soi nổi và từ đó ghi nhận tỉ lệ bất thường và nhịp tim cá ấu trùng tại các nồng độ khảo sát. Mỗi nồng độ, quan sát 20 cá ấu trùng, thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

*Gây nhiễm ion đồng ở các nồng độ khảo sát*

- Chọn 30 ấu trùng khỏe mạnh chuyển vào môi trường Hank theo các nồng độ tương ứng của  $\text{Cu}^{2+}$ : 500; 1000, 2000  $\mu\text{g/L}$  và đối chứng (0  $\mu\text{g/L}$ ). Theo dõi giai đoạn ấu trùng (1-6 ngày tuổi), ghi nhận sự thay đổi của chúng qua từng ngày nuôi.

*Phương pháp khảo sát về dị tật ở tim trên ấu trùng cá Ngựa vằn*

- Quan sát các dị tật tim dưới kính hiển vi, ghi nhận các dạng dị tật tim ở các nồng độ khảo sát bằng kính hiển vi soi nổi và kính hiển vi đảo ngược, đếm tỉ lệ cá ấu trùng bị dị tật so với tổng số cá ấu trùng trong từng lô thí nghiệm, thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

*Xử lý số liệu*

Tất cả số liệu của đề tài được xử lý theo các thuật toán xác suất thống kê bằng phần mềm SPSS 22. Các số liệu trung bình được trình bày ở dạng  $\bar{X} \pm SE$ . Mức ý nghĩa được sử dụng để kiểm định sai khác có ý nghĩa giữa các nghiệm thức là 0,05 ( $p$ -value < 0,05 thì sự sai khác có ý nghĩa thống kê) thông qua phân tích phương sai một yếu tố.

**3. Kết quả và bàn luận****3.1. Ảnh hưởng của ion đồng lên nhịp tim ở giai đoạn cá ấu trùng (1-6 ngày tuổi)**

Nhịp tim là một chỉ số đáng tin cậy của tỉ lệ trao đổi chất của phát triển ấu trùng cá. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã ghi nhận sự thay đổi nhịp tim của cá ấu trùng ở các nồng độ gây nhiễm  $\text{Cu}^{2+}$  khảo sát được trình bày ở Bảng 1.

**Bảng 1.** Nhịp tim của cá ở giai đoạn cá ấu trùng (1-6 ngày tuổi) tại các nồng độ  $\text{Cu}^{2+}$  khảo sát

Ngày	Nhịp tim (lần/phút)			
	0 $\mu\text{g/L}$	500 $\mu\text{g/L}$	1000 $\mu\text{g/L}$	2000 $\mu\text{g/L}$
1	211,80 ± 3,772 <sup>a.α</sup>	221,40 ± 3,397 <sup>a.α</sup>	246,00 ± 6,217 <sup>b.α</sup>	275,10 ± 3,570 <sup>c.γ</sup>
	292,2 ± 5,134 <sup>a.b.γ</sup>	288,6 ± 12,875 <sup>a.β</sup>	319,8 ± 4,222 <sup>b.c.δ</sup>	332,6 ± 5,367 <sup>c.ε</sup>
3	<b>383,10</b> ± <b>6,747<sup>b.c.ε</sup></b>	<b>358,5</b> ± <b>4,306<sup>a.b.γ</sup></b>	<b>389,4</b> ± <b>11,425<sup>c.ε</sup></b>	<b>351,9</b> ± <b>7,076<sup>a.ε</sup></b>
	333,6 ± 6,819 <sup>c.γ</sup>	279,00 ± 6,390 <sup>a.β</sup>	292,20 ± 4,670 <sup>a.b.γ</sup>	304,2 ± 7,272 <sup>b.α.δ</sup>
5	291,00 ± 5,067 <sup>c.γ</sup>	277,50 ± 5,329 <sup>c.β</sup>	257,4 ± 3,312 <sup>b.α.β</sup>	227,10 ± 5,174 <sup>a.α</sup>
	255,3 ± 6,132 <sup>b.β</sup>	237,9 ± 4,136 <sup>a.α</sup>	240,00 ± 3,286 <sup>a.b.α</sup>	226,8 ± 2,368 <sup>a.α</sup>

*a, b, c: thể hiện sự khác biệt theo hàng ở độ tin cậy 95%*

*α, β, γ, σ, ε: thể hiện sự khác biệt theo cột ở độ tin cậy 95%*

Kết quả Bảng 1 cho thấy:

Nhịp tim cá ấu trùng tăng tuyến tính theo nồng độ từ ngày 1 đến ngày 3 ở tất cả các nghiệm thức nhiễm  $\text{Cu}^{2+}$  khảo sát. Ngày thứ 3, nhịp tim lần lượt ở nghiệm thức đối chứng là  $383,1 \pm 6,747$  lần/phút; nồng độ 500  $\mu\text{g/L}$  là  $358,5 \pm 4,306$  lần/phút; nồng độ 1000  $\mu\text{g/L}$  là  $389,4 \pm 11,425$  lần/phút; ở nồng độ 2000  $\mu\text{g/L}$   $351,9 \pm 7,076$  lần/phút. Ngày thứ 3 được xem là ngày nhạy cảm của ấu trùng cá khi tiếp xúc với  $\text{Cu}^{2+}$ . Nguyên nhân được giải thích là do khi cá ấu trùng ra ngoài môi trường trong giai đoạn đầu không còn sự bao bọc của lớp màng như giai đoạn phôi nữa nên cá sẽ gặp nhiều yếu tố bất lợi từ môi trường và phải chủ động tìm nguồn thức ăn nên dẫn đến tăng quá trình trao đổi chất kéo theo sự tăng nhịp tim.

Khi nồng độ  $\text{Cu}^{2+}$  tăng làm cho nhịp tim cá ấu trùng tăng tuyến tính. Ấu trùng đã được tiếp xúc với kim loại nặng  $\text{Cu}^{2+}$  có tỉ lệ nhịp tim cao hơn so với nhóm đối chứng. Kết quả được giải thích như sau: 1) kim loại nặng gây ra sự căng thẳng cho cá dẫn đến sự gia tăng cường độ trao đổi chất và tăng cường hoạt động của tim cá. Do đó, sự gia tăng trong tỉ lệ trao đổi chất dẫn đến sự gia tăng nhịp tim có thể là một phản ứng thích nghi của cá ấu trùng; 2) cá ấu trùng tiếp xúc với  $\text{Cu}^{2+}$  gây tăng phản ứng căng thẳng trong cơ thể dẫn đến tăng nhịp đập của tim (Barton, 1997); 3) ngoài ra, một trong những cơ chế gây độc chủ yếu của  $\text{Cu}^{2+}$  là sự gián đoạn các quá trình ion hoá, điển hình là sự ức chế Na, K-ATPase (protein màng không thể thiếu trong việc vận chuyển  $\text{Na}^+$  và  $\text{K}^+$  qua màng sinh chất để thẩm thấu và khuếch tán qua màng) (Toxicology, 1996; Christian Skou & Mikael Esmann, 1992; Wood, 2001)

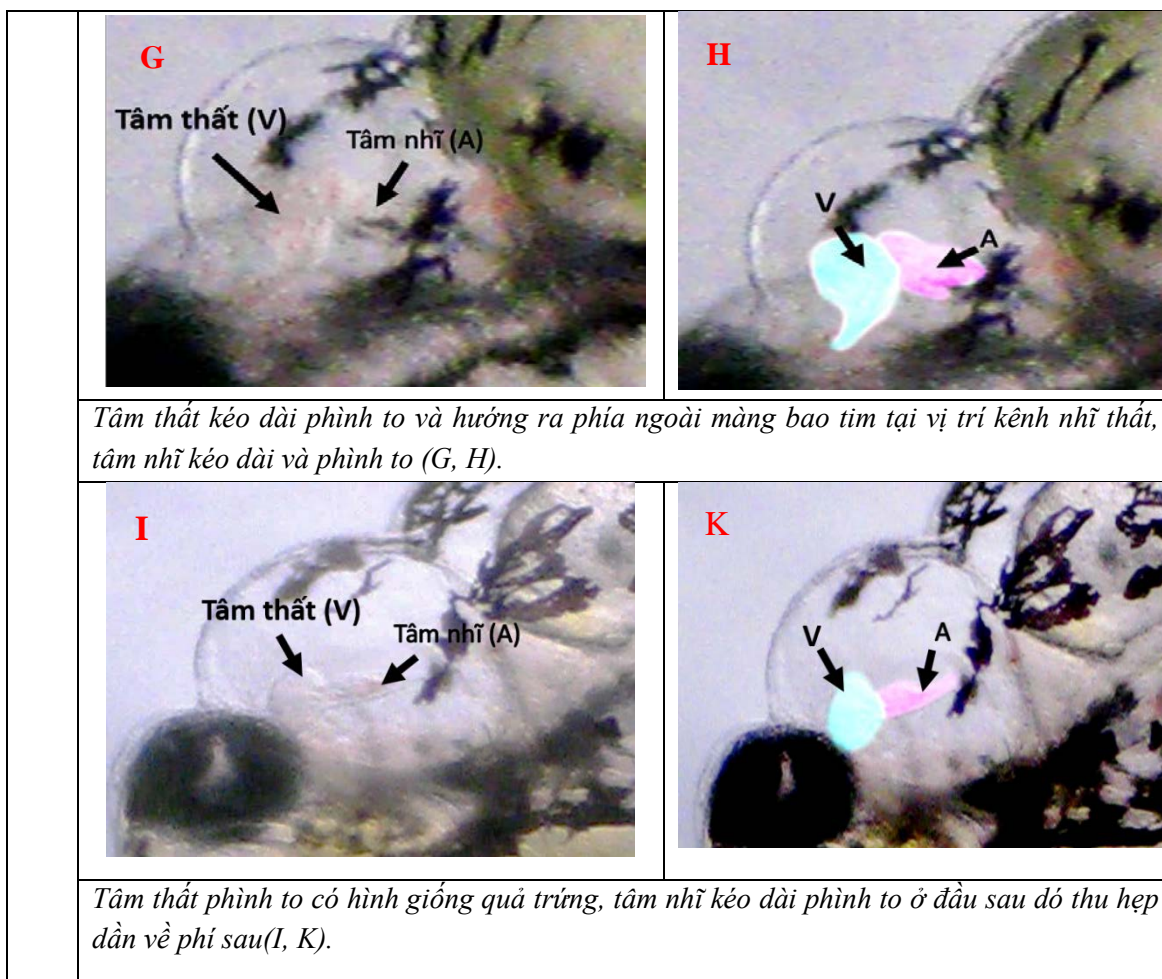
Quá trình ức chế hoạt tính của chất trao đổi  $\text{Na}^+$  làm tăng nồng độ  $\text{Ca}^{2+}$  nội bào làm tăng cường độ co bóp tim (Handy et. al, 2002; Lamb, 1990; Toxicology, 1996). Nồng độ  $\text{Cu}^{2+}$  tăng lên dẫn đến sự tăng quá trình apoptosis, tương ứng với sự suy giảm hoạt tính Na, K-ATPase và nồng độ  $\text{Na}^+$  (Li J. et.al, 1998). Vì vậy, ảnh hưởng của  $\text{Cu}^{2+}$  như một chất ức chế hoạt tính Na, K-ATPase, sẽ dẫn đến sự tăng nhịp tim (Shu X. et.al., 2003).

Từ ngày thứ 4 đến ngày thứ 6 thì nhịp tim cá ấu trùng ở lô đối chứng và nồng độ 500 $\mu\text{g/L}$  nhịp tim có giảm nhưng giảm nhẹ hơn so với nồng độ 1000 $\mu\text{g/L}$  và 2000  $\mu\text{g/L}$ . Nguyên nhân là  $\text{Cu}^{2+}$  vào cơ thể cá gây nên hoạt động của gen *abcc5* tạo ra những phân tử protein *MRP5* vận chuyển  $\text{Cu}^{2+}$  ra ngoài hay vận chuyển đến gan để giải độc và bài tiết ra ngoài cơ thể để giúp việc thích nghi, bảo vệ cơ thể cá tránh tác động của  $\text{Cu}^{2+}$  (Sabri et.al., 2013).

### 3.1. Ảnh hưởng của $\text{Cu}^{2+}$ lên dị tật của tim ở giai đoạn cá ấu trùng 1-6 ngày tuổi

Không chỉ tác động lên hoạt động của tim cá ấu trùng gây rối loạn nhịp tim,  $\text{Cu}^{2+}$  còn tác động lên hình dạng của tim, làm xuất hiện dị tật trong cấu trúc của tim. Trong quá trình khảo sát tại mỗi nồng độ gây nhiễm  $\text{Cu}^{2+}$ , tại các nghiệm thức nhiễm  $\text{Cu}^{2+}$  khảo sát xuất hiện dị dạng của tim cá ấu trùng. Bốn kiểu dị dạng bất thường trong cấu trúc tâm nhĩ và tâm thất của tim cá ấu trùng tại các nồng độ gây nhiễm  $\text{Cu}^{2+}$  ở Hình 1.

<b>Cấu trúc của tim cá bị dị tật</b>	
<b>Đối chứng</b>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p><b>A</b></p> </div> <div style="text-align: center;"> <p><b>B</b></p> </div> </div>
	<p><i>Tâm thất và tâm nhĩ phát triển bình thường, gồm 2 buồng phát triển có kích thước tương đương nhau. Không có sự phù nề ở màng bao tim (A,B)</i></p>
<b>Cu<sup>2+</sup> gây nhiễm</b>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p><b>C</b></p> </div> <div style="text-align: center;"> <p><b>D</b></p> </div> </div>
	<p><i>Màng bao tim phù lên, sự phù của của màng ngoài kéo dài đến thân cá. Tâm thất và tâm nhĩ không có dạng uốn cong thành hình chữ S mà phát triển theo hướng kéo dài các cơ quan. Tâm thất dị dạng kéo dài và phình ra ở phía kênh nhĩ thất, tiếp đến là sự kéo dài của tâm thất (C, D).</i></p>
	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p><b>E</b></p> </div> <div style="text-align: center;"> <p><b>F</b></p> </div> </div>
<p><i>Tâm thất và tâm nhĩ không có không uốn cong mà hình thành gần như song song nhau, tâm thất và tâm nhĩ hình thành dạng ống dài. Màng bao tim bị phù lên từ vị trí dưới mắt cho đến hết tim (E, F).</i></p>	



**Hình 1.** Một số kiểu dị tật của cá ấu trùng giai đoạn 1-6 ngày tuổi (X40)

Kết quả thực nghiệm khi khảo sát tỉ lệ xuất hiện các dị tật của ấu trùng cá Ngựa vằn tại các nghiệm thức nhiễm ion đồng trong 6 ngày sau khi thoát nang cho thấy tại nghiệm thức đối chứng không có ấu trùng cá nào xuất hiện dị tật. Tuy nhiên, ở các nồng độ  $\text{Cu}^{2+}$  gây nhiễm ấu trùng cá Ngựa vằn bắt đầu xuất hiện dị tật ở nồng độ  $500 \mu\text{g/L}$  với tỉ lệ cá dị tật là  $11,67\% \pm 1,667$ ; ở nồng độ  $1000 \mu\text{g/L}$  tỉ lệ cá dị tật chiếm  $8,33\% \pm 4,410$ , ở nồng độ  $2000 \mu\text{g/L}$  tỉ lệ dị tật ở cá cao nhất chiếm  $16,67\% \pm 1,667$ ; sự khác biệt tỉ lệ dị tật giữa các nồng độ nhiễm  $\text{Cu}^{2+}$  so với đối chứng đều có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

**Bảng 2.** Tỷ lệ (%) cá dị tật ở giai đoạn 1-6 ngày tuổi tại các nồng độ  $\text{Cu}^{2+}$  khảo sát

Lô thí nghiệm	Tỷ lệ (%) số cá thể dị tật của Ngựa vằn ở các nồng độ $\text{Cu}^{2+}$ khảo sát			
	0 $\mu\text{g/L}$	500 $\mu\text{g/L}$	1000 $\mu\text{g/L}$	2000 $\mu\text{g/L}$
Lô 1	0 (0/20con)	10 (2/20con)	15 (3/20con)	15 (3/20con)
Lô 2	0 (0/20con)	10 (2/20con)	10 (2/20con)	20 (4/20con)
Lô 3	0 (0/20con)	15 (3/20con)	0 (0/20con)	15 (3/20con)
Trung bình	0 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	11,67 $\pm$ 1,667 <sup>b</sup>	8,33 $\pm$ 4,410 <sup>ab</sup>	16,67 $\pm$ 1,667 <sup>b</sup>

*a, b, c: thể hiện sự khác biệt theo hàng ở độ tin cậy 95%*

Cá thể dị tật ở cá Ngựa vằn xuất hiện ở nồng độ 500  $\mu\text{g/L}$  và có xu hướng giảm khi khảo sát ở nồng độ 1000  $\mu\text{g/L}$ , tại nồng độ 2000  $\mu\text{g/L}$  tỷ lệ cá dị tật lại tăng lên và chiếm tỷ lệ cao nhất (đạt  $16,67 \pm 1,67\%$ ). Điều này chứng tỏ khi gây nhiễm  $\text{Cu}^{2+}$  cấu trúc tim của cá sẽ xuất hiện dị tật, tỷ lệ cá dị tật thay đổi tùy thuộc vào nồng độ  $\text{Cu}^{2+}$  gây nhiễm và đạt tỷ lệ cao nhất tại nồng độ nhiều  $\text{Cu}^{2+}$  nhất (2000  $\mu\text{g/L}$ ).

*Nguyên nhân:*

Tại giai đoạn cá ấu trùng (1-6 ngày tuổi) của cá Ngựa vằn, tim đã hình thành tâm thất và tâm nhĩ, đồng thời tim của cá ở giai đoạn này chịu sự chi phối của các gen *Nkx2.5* và *nkx2.7* diễn ra mạnh mẽ cần thiết cho sự phát triển và hoạt động của tim. Ion  $\text{Cu}^{2+}$  tác động làm hạn chế sự biểu hiện ở gen *Nkx2.5* và *nkx2.7* (Chen & Fishman, 1996; Mohammadbakir, 2016; Tu et al., 2009).

Sự phát triển của tim được kiểm soát bởi thời gian cụ thể để biểu hiện của các gen đặc biệt. Các protein do một số gen tạo ra sẽ là nhân tố kích thích sự hình thành và phát triển của tim, thông qua việc điều chỉnh các protein đặc trưng của tế bào tim. Đối với cá Ngựa vằn, chỉ gen *nkx2.5* và *nkx2.7* tạo ra sự khác biệt cơ tim (Chen et al., 1996) và tạo hình tim (Tu et al., 2009). Mặc dù phiên mã của gen *nkx2.7* sớm hơn gen *nkx2.5*, cả hai đều có vai trò trong quá trình hình thành tim. Gen *nkx2.7* đóng một vai trò quan trọng trong việc điều hòa sự hình thành cơ tim thông qua việc điều chỉnh sự biểu hiện của các gen khác như *tbx5* và *tbx20*, có vai trò trong sự phát triển của ống tim giai đoạn đầu (Tu et al., 2009), trong khi gen *nkx2.5* dường như có một ảnh hưởng rõ rệt trong giai đoạn đầu của phôi thai để bắt đầu sự điều chỉnh định hướng sợi cơ tim và hình dạng của tim (Chen & Fishman, 1996; Tu et al., 2009; Mohammadbakir, 2016).

#### 4. Kết luận

Trong nghiên cứu này ghi nhận được tại các nồng độ ion  $Cu^{2+}$  khảo sát từ 500-2000 $\mu$ g/L có bốn kiểu hình dị tật ở tâm nhĩ và tâm thất của tim cá Ngựa vằn giai đoạn ấu trùng. Ngoài ra, ion  $Cu^{2+}$  còn làm tăng tỉ lệ dị tật trong quá trình hình thành tim ở giai đoạn cá ấu trùng từ 1-6 ngày tuổi. Ngoài việc làm tăng tỉ lệ dị tật, ion  $Cu^{2+}$  còn là nhân tố khi gây nhiễm trong môi trường nước tác động trực tiếp làm thay đổi nhịp tim ở cá ấu trùng.

❖ **Tuyên bố về quyền lợi:** Các tác giả xác nhận hoàn toàn không có xung đột về quyền lợi.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Lê Huy Bá. (2018). *Độc học môi trường cơ bản*. NXB Đại học Quốc gia TPHCM.
- Barbara Jezierska. (2002). The effect of temperature and heavy metals on heart rate changes in common carp cyprinus carpio l. and grass carp ctenopharyngodon idella (val.) during embryonic development. *Archives of Polish Fisheries*, 153-165.
- Barton, B.A. (1997). Stress in fin fish: past, present and future—a historical perspective. *Fish Stress and Health in Aquaculture*, Cambridge, 1-33.
- Chen, J.N., & Fishman, M.C. (1996). Zebrafish tinman homolog demarcates the heart field and initiates myocardial differentiation. *Development*, 122, 3809-3816,
- Dalia M. Sabri, Tarik Rabie, Ashraf I. Ahmed, Saad Zakaria & Jean-Paul Bourdineaud. (2013). Zebrafish ABCC5 gene expression in relation to metallic contamination and presence of Tubifex worms. *Biol. & Fish.*, 17(1), 1-12.
- Richard, Handy., Brian, Eddy., & H.Baines. (2002). Sodium-dependent copper uptake across epithelia: a review of rationale with experimental evidence from gill and intestine. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1566, 104-115.
- Lamb, J. (1990). Regulation of the abundance of sodium pumps in isolated animal cells. *International Journal of Biochemistry*, 22, 1365-1370.
- Li J, Lock RA, Klaren PH, Swarts HG, Schuurmans Stekhoven FM, Wendelaar Bonga SE, & Flik G. (1996). Kinetics of  $Cu^{2+}$  inhibition of  $Na^+ K^+$ -ATPase. *Toxicology*, 31-38.
- Li J, Quabius ES, Wendelaar Bonga SE, Flik G, & Lock RAC. (1998). Effects of water-borne copper on branchial chloride cells and  $Na^+/K^+$ -ATPase activities in Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Aquat Toxicol*, 43,1-11.
- Sahib mohammad hussain mohammadbakir. (2016). *Impacts of waterborne copper and silver on the early life stage (ELS) of zebrafish (Danio rerio): physiological, biochemical and molecular responses*. School of Biological Sciences.



- Shu, X., Cheng, K., Patel, N., Chen, F., Joseph, E., Tsai, H.-J., & Chen, J.-N. (2003). Na, K-ATPase is essential for embryonic heart development in the zebrafish. *Development*, 130, 6165-6173.
- Jens Christian, Skou., & Mikael, Esmann. (1992). The Na, K-ATPase. *Journal of bioenergetics and biomembranes*, 24, 249-261.
- Chi-Tang Tu, Tzu-Ching Yang, & Huai-Jen Tsai. (2009). Nkx2. 7 and Nkx2. 5 function redundantly and are required for cardiac morphogenesis of zebrafish embryos. *PloS one*, 4, e4249.
- Wood, C.M. (2001). Toxic responses of the gill. *Target Organ Toxicity in Marine and Freshwater Teleosts*. London, 1-89.

---

**THE EFFECT OF COPPER ION ON THE HEART'S SHAPE AND RATE  
OF *DANIO RERIO HAMILTON*, 1822 FROM 1 TO 6 DAYS OLD**

***Tran Thi Phuong Dung\**, *Tran La Giang***

*Department of Biology, Ho Chi Minh City University of Education*

*\* Corresponding author: Tran Phuong Dung – Email: tpdung2007@gmail.com*

*Received: 11/5/2019; Revised: 24/5/2019; Accepted: 13/6/2019*

**ABSTRACTS**

*The research estimated influences of the copper ( $Cu^{2+}$ ) at concentrations of 0  $\mu g/L$ ; 500  $\mu g/L$ ; 1000  $\mu g/L$ ; 2000  $\mu g/L$  up on heart' development of Zebrafish during the period of 1-6 days post hatching. The result shows that the higher concentrations of  $Cu^{2+}$  not only causes heart deformities, but also affect heart' funtion by increasing heart' rate of larval fish.*

**Keywords:** Ion copper ( $Cu^{2+}$ ), poisoned by heavy metal, larval fish, Zebrafish.