



Check for updates

Экспериментальные статьи

УДК 574.24

EDN JRZNLZ

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2026-7-2-254-266>

Влияние предварительного содержания молоди радужной форели *Parasalmo (Oncorhynchus) mykiss* в щелочной и кислой средах на динамику осмолярности и уровень активности Na^+/K^+ -АТФазы в гомогенатах жабр и почек в процессе последующей адаптации к гиперосмотической среде

О. Г. Семенова¹, А. В. Вьюшина^{✉1}, [Л. С. Краюшкина](#)²

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Россия, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

² Санкт-Петербургский государственный университет,
199034, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9

Сведения об авторах

Ольга Геннадьевна Семенова, SPIN-код: 6628-6563, e-mail: semenovaog@infran.ru

Анна Вадимовна Вьюшина, SPIN-код: 6914-4224, e-mail: vyushinaav@infran.ru

[Людмила Сергеевна Краюшкина](#), SPIN-код: 4762-1950

Для цитирования: Семенова, О. Г., Вьюшина, А. В., [Краюшкина, Л. С.](#) (2026) Влияние предварительного содержания молоди радужной форели *Parasalmo (Oncorhynchus) mykiss* в щелочной и кислой средах на динамику осмолярности и уровень активности Na^+/K^+ -АТФазы в гомогенатах жабр и почек в процессе последующей адаптации к гиперосмотической среде. *Интегративная физиология*, т. 7, № 2, с. 254–266. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2026-7-2-254-266> EDN JRZNLZ

Получена 27 марта 2026; прошла рецензирование 28 мая 2026; принята 29 мая 2026.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 15-04-06553.

Права: © О. Г. Семенова, А. В. Вьюшина, [Л. С. Краюшкина](#) (2026). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях [лицензии CC BY 4.0](#).

Аннотация. Исследовали особенности адаптации молоди радужной форели *Parasalmo (Oncorhynchus) mykiss* к гиперосмотической среде после предварительного содержания в пресной воде с различным уровнем pH. У рыб в пресной воде и через различные промежутки времени после перевода в искусственную морскую воду соленостью 15,3 ‰ определяли следующие показатели: осмолярность сыворотки крови методом криоскопии, концентрацию Na^+ в сыворотке крови методом пламенной фотометрии, активность фермента Na^+/K^+ -АТФазы в ткани жабр и почек спектрофотометрически. Результаты исследования показали, что в пресноводных условиях кислая среда (pH = 5,0) нарушает механизмы осмо- и ионорегуляции, которые при переводе молоди форели в гиперосмотическую среду восстанавливаются. Одновременно сохранение у этих особей функциональной активности транспортных ферментов, особенно Na^+/K^+ -АТФазы, обуславливает возможность перехода рыб в морской среде на гипоосмотический тип регуляции. Содержание молоди форели в щелочной среде (pH = 9,0) не влияет на их осмо- и ионорегуляцию в пресной воде, но снижает активность транспортных ферментов, что впоследствии не позволяет рыбам полноценно адаптироваться к морской среде. Вывод: закисление и защелачивание пресноводной среды обитания молоди радужной форели *Parasalmo (Oncorhynchus) mykiss* оказывает патологическое влияние на осмо- и ионорегуляторные способности в пресной и морской воде, но механизмы этого влияния различны и основаны на разных морфофункциональных изменениях эффекторных органов.

Ключевые слова: осмолярность, pH воды, Na^+/K^+ -АТФаза, жабры, почки, гиперосмотическая среда, адаптация, радужная форель

Effect of freshwater pH on osmolarity and gill and kidney Na⁺/K⁺-ATPase activity in juvenile rainbow trout during seawater adaptation

O. G. Semenova¹, A. V. Vyushina^{✉1}, L. S. Krayushkina²

¹ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences,
6 Makarova Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

² Saint-Petersburg State University, 7/9 Universitetskaya Emb., Saint-Petersburg 199034, Russia

Authors

Olga G. Semenova, SPIN: 6628-6563, e-mail: semenovaog@infran.ru

Anna V. Vyushina, SPIN: 6914-4224, e-mail: vyushinaav@infran.ru

Lyudmila S. Krayushkina, SPIN: 4762-1950

For citation: Semenova, O. G., Vyushina, A. V., Krayushkina, L. S. (2026) Effect of freshwater pH on osmolarity and gill and kidney Na⁺/K⁺-ATPase activity in juvenile rainbow trout during seawater adaptation. *Integrative Physiology*, vol. 7, no. 2, pp. 254–266. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2026-7-2-254-266> EDN JRZNLZ

Received 27 March 2026; reviewed 28 May 2026; accepted 29 May 2026.

Funding: This study was supported by the Russian Foundation for Basic Research, grant No. 15-04-06553.

Copyright: © O. G. Semenova, A. V. Vyushina, L. S. Krayushkina (2026). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY License 4.0.

Abstract. The article discusses adaptation of juvenile rainbow trout *Parasalmo (Oncorhynchus) mykiss* to a hyperosmotic environment after initial exposure to freshwater with varying pH levels. The study determined the following parameters in fish in freshwater and at various time intervals after their transfer to artificial seawater with a salinity of 15.3‰: serum osmolarity by cryoscopy, serum Na⁺ concentration by flame photometry, and Na⁺/K⁺-ATPase activity in gill and kidney tissue by spectrophotometry. The study showed that in freshwater, an acidic environment (pH = 5.0) disrupts osmo- and ion regulation mechanisms, which are restored when juvenile trout are transferred to a hyperosmotic environment. At the same time, the preserved functional activity of transport enzymes, particularly Na⁺/K⁺-ATPase, in these individuals enables the fish to transition to a hypoosmotic type of regulation in a marine environment. Maintenance of juvenile trout in an alkaline environment (pH = 9.0) does not affect their osmo- and ion regulation in freshwater but does reduce the activity of transport enzymes, which subsequently prevents the fish from fully adapting to the marine environment. The study concludes that acidification and alkalization of the freshwater habitat of juvenile rainbow trout *Parasalmo (Oncorhynchus) mykiss* have a pathological effect on osmotic and ion regulatory capacities in freshwater and seawater, but the mechanisms underlying this effect are different and are based on different morphological and functional changes in the effector organs.

Keywords: osmolarity, water pH, Na⁺/K⁺-ATPase, gill, kidney, hyperosmotic environment, adaptation, rainbow trout

Введение

У костистых рыб в основе поддержания гомеостаза внутренней среды лежат физиологические механизмы ионной и осмотической регуляции. Механизмы эти взаимосвязаны и реализуются многокомпонентной и многоуровневой системой (Breves, Shaughnessy 2024; Krayushkina 1983; Seale, Breves 2022; Wendelaar-Bonga 1997). Пресноводные костистые осуществляют гиперосмотический тип регуляции, направленный на сохранение уровня ионов во внутренней среде организма и препятствующий гипергидратации (Evans 2008; Griffith 2017). Основная нагрузка по выведению избытка воды и удержанию солей ложится на почки. Одно-

временно жабры абсорбируют дефицитные ионы Ca²⁺ и Na⁺ из пресной воды через апикальную мембрану с участием молекулярных переносчиков ионов (Griffith 2017; Marshall 2002). Морские костистые из-за потери воды по осмотическому градиенту вынуждены преодолевать дегидратацию организма, поглощая морскую воду, а затем опресняя ее в результате удаления избытка ионов через жабры, кишечник и почки (Esbaugh, Cutler 2016; Evans 2008; Takei 2021).

Проходные рыбы в течение жизненного цикла при переходе из пресной воды в морскую меняют гиперосмотический тип регуляции на гипоосмотический. Это происходит благодаря наличию у них физиологических механизмов, способных изменять осмо- и ионорегуляцию,

чтобы поддерживать постоянство состава внутренней среды (Breves, Shaughnessy 2024; Lee et al. 2020). В жабрах и почках экскреция и сорбция ионов (Hyodo et al. 2014; Inokuchi et al. 2022; Sardet et al. 1979; Takvam et al. 2021) на биохимическом уровне осуществляются комплексом ферментов и ионных каналов.

Среди таких переносчиков ионов наибольшее внимание исследователями уделяется ряду АТФаз: Na^+/K^+ -АТФаза, Ca^{2+} -АТФаза, H^+ -АТФаза и анион-АТФаза (Marshall 2002). Изменение осмолярности связано главным образом с концентрацией Na^+ в крови, поэтому Na^+/K^+ -АТФаза (переносчик Na^+ , имеющий универсальное значение в животном мире) играет важную роль в регуляции ионного состояния. При адаптации к солености происходит значительное увеличение активности Na^+/K^+ -АТФазы, что связано как с активацией геномного синтеза, так и с изменением фосфолипидного компонента мембраны ионоцитов (Lança et al. 2015; Nobata et al. 2022; Wong et al. 2016; 2019; 2023; Zhu et al. 2018).

Согласно современным представлениям главный физиологический эффект низких и высоких значений pH среды обитания заключается в нарушении кислотно-щелочного баланса и ионной регуляции. Изменение pH среды обитания рыб происходит в результате как воздействия антропогенных факторов, так и естественных процессов (снеготаяние, взаимодействие воды с аллювием различного минерального состава и т. п.). Различные виды костистых рыб отличаются по значению оптимальной для их жизнедеятельности концентрации ионов водорода в воде (Allmon, Esbaugh 2017; Chang et al. 2021; Kwong et al. 2014; Li et al. 2024). Лососевые рыбы особо чувствительны к изменению pH среды. Оптимальный интервал pH для них составляет 6,5–7,1 (Nieminen et al. 1982).

В кислой ($\text{pH} < 5,0$) и щелочной ($\text{pH} > 9,0$) средах наблюдалась гибель рыб в течение нескольких часов (Nieminen et al. 1982). При закислении среды обитания отмечается интенсивное вымывание ионов из организма в связи с изменением свойств жаберного эпителия (Gonzalez et al. 2002; Matey 1996; Perry et al. 2003). При защелачивании среды обитания исследователи обнаруживают в почках и жабрах рыб структурные нарушения (Wen et al. 2023), а также изменения фосфолипидного состава клеточных мембран (Bystriansky, Ballantyne 2007; Lanca et al. 2015). Было также обнаружено, что перенос рыб в щелочную пресную воду из нейтральной способствует повышению активности Na^+/K^+ -АТФазы в жабрах (Chang et al. 2021).

Таким образом, главный физиологический эффект активной реакции среды вне оптимального диапазона состоит в нарушении ионной регуляции, а основными ферментами, регулирующими ионное равновесие у рыб, являются транспортные АТФазы, особенно Na^+/K^+ -АТФаза.

В связи с этим цель данной работы — оценить по физиологическим показателям (осмолярность и концентрация ионов Na^+ в сыворотке крови) и по ферментативной активности гомогенатов осморегулирующих органов (жабр и почек) влияние закисления или защелачивания пресноводной среды обитания радужной форели на дальнейшую адаптацию этих рыб к морской воде соленостью 15,3 ‰.

Материал и методы исследования

Исследования проведены на радужной форели *Parasalmo (Oncorhynchus) mykiss*, которая является пресноводной формой стальноголового лосося и способна адаптироваться к гиперосмотической среде средней солености (15–25 ‰) (Bahmet et al. 2017). Были использованы неполовозрелые особи, прошедшие стадию смолтификации, массой 118 ± 25 г, длиной 20 ± 5 см, выращенные в пресной воде при $\text{pH} = 7,0$ в рыбобпитомнике «Ропша» Федерального селекционно-генетического центра рыбоводства. Экспериментальная работа была проведена на базе лаборатории ихтиологии Биологического НИИ СПбГУ. Эксперименты с участием животных были выполнены согласно требованиям и рекомендациям государственного стандарта Р-33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», «Директивы Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/EU» о защите животных, используемых для научных целей от 22.09.2010 г.

В соответствии с целью работы рыбы были разделены на три группы, каждая из которых содержалась в течение 30 дней в пресной воде при различных значениях pH: первая группа 34 шт. — в нормальной среде ($\text{pH} = 6,9$); вторая группа 39 шт. — в щелочной среде ($\text{pH} = 9,0$); третья группа 20 шт. — в кислой среде ($\text{pH} = 5,0$). Для наполнения бассейнов использовали водопроводную воду, которая отстаивалась в течение 10 суток, расход воды на одну рыбу — 15 л. По уровню pH (6,9) эта вода соответствует нейтральной среде. Для получения щелочной среды в пресную воду добавляли NaHCO_3 до достижения $\text{pH} = 9,0$. Кислую среду готовили, добавляя в пресную воду раствор H_2SO_4 до достижения $\text{pH} = 5,0$. Уровень pH во всех средах контролировали один раз в сутки на протяжении всего

периода содержания в пресной воде с помощью рН-метра РВ-11 фирмы Sartorius (Германия). Для аэрации и фильтрации воды к системе бассейнов были подключены внешние фильтры фирмы Eheim (Германия).

Для изучения особенностей осмотической и ионной регуляции молоди форели в гиперосмотической среде после предварительного содержания ее в средах с различным уровнем рН определяли уровень осмолярности и концентрации Na^+ сыворотки крови у особей после перевода их в гиперосмотическую среду соленостью $S = 15,3 \text{ ‰}$ (493 мОсм/л) через различные промежутки времени (12, 24, 72, 144, 216 часов). Состав гиперосмотической среды (г/л): $\text{NaCl} — 11,75$; $\text{CaCl}_2 — 0,55$; $\text{NaHCO}_3 — 0,2$; $\text{MgCl}_2 — 2,5$; $\text{KCl} — 0,33$.

Пробы крови отбирали шприцем из хвостовой вены и после сворачивания центрифугировали. Осмолярность анализируемых сыворотки крови и воды определяли криоскопическим методом при использовании криоскопа ОСКР-1 (Россия). Для определения концентрации Na^+ сыворотку крови разбавляли дистиллированной водой в 100 раз. Определение концентрации Na^+ производили с помощью пламенного фотометра «Flapho-4» («Karl Ceis», Германия) при сжигании проб в воздушно-пропановом пламени. Активности Na^+/K^+ -АТФазы и суммарной фракции убаинрезистентных АТФаз в жабрах и почках определяли по методу Заугга (Zaugg 1982). Пробы тканей жабр (лепестки с обеих сторон) и почек помещали в криопробирки с 1 мл раствора Заугга, которые содержали в морозильной камере при -70 °C до последующего определения активности ферментов спектрофотометрическим методом (СФ-46, Россия).

Статистическая обработка результатов была проведена с использованием пакета программ STATISTICA 8.0 (StatSoft Inc.). Оценка нормальности распределения значений в выборках была проведена с помощью критерия Шапиро — Уилка. Сравнения проводили с использованием t-теста с поправкой Бонферрони для множественных различий. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ для сравнений каждой точки с контролем в каждой из групп, а также при сравнении показателей в тканях жабр и почек в каждой из временных точек и в контроле, при $p < 0,01$ для множественных сравнений в группе 1, $p < 0,012$ для множественных сравнений в группе 2, $p < 0,017$ для множественных сравнений в группе 3. Данные представлены в виде среднего $\pm$ стандартное отклонение.

Результаты

После 30-дневного содержания молоди форели в пресной воде у рыб группы 1 ($\text{pH} = 6,9$) (рис. 1а) и группы 2 ($\text{pH} = 9,0$) (рис. 1б) значения осмолярности и концентрации Na^+ в сыворотке крови совпадают, тогда как в кислой среде ($\text{pH} = 5,0$) у рыб из группы 3 осмолярность и концентрация Na^+ в сыворотке крови (рис. 1с) были достоверно ниже, чем у особей из групп 1 и 2.

Активность Na^+/K^+ -АТФазы в жабрах форели, содержащейся при $\text{pH} = 5,0$ (группа 3), превышала этот показатель у рыб из нейтральной (группа 1) и щелочной (группа 2) пресной воды (табл. 1). При этом у всех рыб в пресной воде наблюдалась более высокая активность Na^+/K^+ -АТФазы в почках ($p < 0,05$), чем в жабрах (табл. 1). В то же время активность суммарной фракции убаинрезистентных АТФаз в жабрах и почках у рыб в каждой исследованной группе не различалась. Однако необходимо отметить, что у форели из щелочной среды этот показатель был ниже, по сравнению с рыбами, находящимися в нейтральной и кислой средах (табл. 1).

После перевода молоди форели из пресной воды с $\text{pH} = 6,9$ (группа 1) в искусственную морскую воду соленостью $15,3 \text{ ‰}$ осмолярность сыворотки крови повышается ($p < 0,05$) в течение 12 ч на 15%, оставаясь ниже осмолярности среды обитания на 35% (рис. 1а). Этот уровень осмолярности сохраняется в последующие 12 ч опыта, но затем через 72 ч опыта он снижается и к 144 ч достигает исходного уровня, который наблюдался при содержании рыб в нейтральной пресной воде. Концентрация Na^+ в сыворотке крови этих рыб повысилась ($p < 0,05$) в течение первых 12 ч опыта на 11,8%, оставаясь ниже концентрации этого иона в среде (190 мэкв/л) на 11,7% (рис. 1а). Через 72 ч после перевода молоди форели группы 1 в искусственную морскую воду было обнаружено снижение этого показателя, по сравнению со значениями через 12 ч опыта, а к концу опыта содержание Na^+ в сыворотке крови не отличалось от этого показателя в пресной воде.

Форель из группы 2 на перевод в искусственную морскую воду тоже отреагировала повышением ($p < 0,05$) осмолярности и концентрации Na^+ (рис. 1б) в сыворотке крови в течение первых 12 ч опыта. Однако снижение ($p < 0,05$) этих показателей, по сравнению со значениями, достигнутыми через 24 ч опыта, наблюдалось только через 216 ч. Осмолярность сыворотки крови снизилась до $350,0 \pm 1,5 \text{ мОсм/л}$, а концентрации Na^+ — до $159,8 \pm 0,8 \text{ мэкв/л}$,

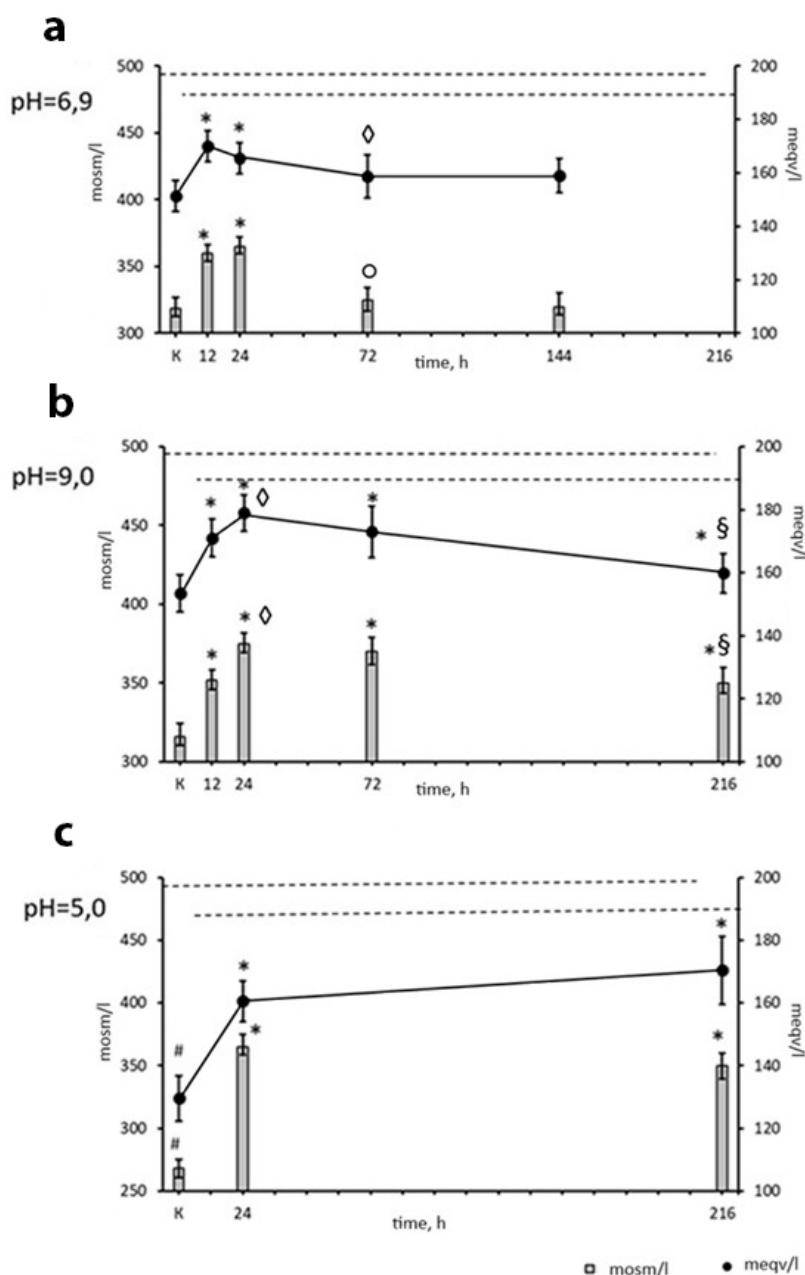


Рис. 1. Изменение осмолярности (мосм/л, столбики) и концентрации Na^+ (мэкв/л, линии) сыворотки крови молоди радужной форели в процессе адаптации к гиперосмотической среде соленостью 15,3 ‰. Пунктирные линии (осмолярность — 493 мосм/л, Na^+ — 190 мэкв/л); по оси абсцисс — длительность адаптации, ч.; К — контроль (в пресной воде). а — после 30-дневного содержания в пресной воде с pH = 6,9; б — после 30-дневного содержания в пресной воде с pH = 9,0; в — после 30-дневного содержания в пресной воде с pH = 5,0. * — $p < 0,01$ — по сравнению с контролем; ◇ — $p < 0,01$ — по сравнению с показателем для 12 ч; ○ — $p < 0,01$ — по сравнению с показателем для 24 ч; § — $p < 0,01$ — по сравнению с показателем для 72 ч; # — $p < 0,01$ — по сравнению с показателем для контроля группы 1

Fig. 1. Changes in osmolarity (mOsm/l, bars) and Na^+ concentration (mEq/l, lines) in the blood serum of juvenile rainbow trout of different groups during adaptation to hyperosmotic environment with a salinity of 15.3‰. Dashed lines: osmolarity — 493 mOsm/l, Na^+ — 190 mEq/l. The abscissa axis shows the duration of adaptation in hours. K is the control value (in freshwater). a — after 30 days of maintenance in freshwater with pH = 6.9; b — after 30 days of maintenance in freshwater with pH = 9.0; c — after 30 days of maintenance in freshwater with pH = 5.0. * — $p < 0.01$ compared with the control; ◇ — $p < 0.01$ compared with the value at 12 h; ○ — $p < 0.01$ compared with the value at 24 h; § — $p < 0.01$ compared with the value at 72 h; # — $p < 0.01$ compared with the value for control group 1

Табл. 1. Изменение активности Na^+/K^+ -АТФазы и активности суммарной фракции убаинрезистентных АТФаз у молоди радужной форели различных групп в течение адаптации к гиперосмотической среде соленостью 15,3 ‰ (493 мосм/л)

Группы рыб и период воздействия гиперосмотической среды (час)	Активность Na^+/K^+ -АТФазы (мкМ Рi/мг белка/ч)		Активность суммарной фракции убаинрезистентных АТФаз (мкМ Рi/мг белка/ч)	
	жабры	почки	жабры	почки
Группа 1 Контроль в пресной воде (рН = 6,9)	0,52 ± 0,08[7]	2,69 ± 0,46 ^G [6]	5,36 ± 0,12[7]	5,76 ± 1,96[6]
Адаптация к среде: S = 15,3 ‰ (493 мосм/л)				
12	0,47 ± 0,011[7]	2,96 ± 0,70[7]	3,37 ± 0,71*[7]	—
24	5,35 ± 0,85*[7]	3,25 ± 0,65[7]	10,63 ± 2,88*[7]	8,16 ± 0,11[6]
72	1,58 ± 0,39*[7]	2,79 ± 0,42[7]	5,81 ± 1,66[7]	6,43 ± 1,80[6]
144	0,76 ± 0,19[6]	1,11 ± 0,17**[7]	6,37 ± 2,15[6]	2,82 ± 0,55[6]
Группа 2 Контроль в пресной воде (рН = 9,0)	0,56 ± 0,06[8]	1,52 ± 0,19 ^{&G} [8]	1,66 ± 0,10*[8]	1,30 ± 0,08*[8]
Адаптация к среде: S = 15,3 ‰ (493 мосм/л)				
12	1,39 ± 0,31*[8]	1,47 ± 0,36[8]	12,76 ± 0,88*[8]	8,87 ± 0,53 ^{*G} [8]
24	—	3,53 ± 0,66*[8]	13,38 ± 0,48*[7]	6,47 ± 0,53 ^{*G} [8]
72	0,55 ± 0,13[7]	2,00 ± 0,29 ^G [7]	—	—
144				
216	1,28 ± 0,30*[8]	3,76 ± 0,94 ^{*G} [8]	12,84 ± 0,84*[8]	9,18 ± 1,11 ^{*G} [8]
Группа 3 Контроль в пресной воде (рН = 5,0)	1,29 ± 0,32 ^{&} [7]	3,15 ± 0,44 ^{\$G} [6]	4,72 ± 1,96[7]	4,83 ± 2,79[6]
Адаптация к среде: S = 15,3 ‰ (493 мосм/л)				
12				
24	0,34 ± 0,08*[7]	3,21 ± 0,80 ^G [7]	3,32 ± 0,41[7]	3,77 ± 2,17[7]
72				
144				
216	2,44 ± 0,21*[6]	3,15 ± 0,78[6]	12,9 ± 2,63*[6]	6,28 ± 1,68[6]

Примечание: среднее ± SEM; различия достоверны: * — $p < 0,05$ — по сравнению с контролем в пресной воде для каждой группы, G — $p < 0,05$ — по сравнению с жабрами, # — $p < 0,01$ — по сравнению с показателем для 24 ч, & — $p < 0,017$ — по сравнению с показателем для группы 1, \$ — $p < 0,017$ — по сравнению с показателем для группы 2; в квадратных скобках — количество рыб.

Table 1. Changes in Na⁺/K⁺-ATPase activity and the activity of the total fraction of ouabain-resistant ATPases in juvenile rainbow trout of different groups during adaptation to a hyperosmotic environment with a salinity of 15.3‰ (493 mosm/l)

Fish groups and period of exposure to hyperosmotic environment (hours)	Na ⁺ /K ⁺ -ATPase activity (μM Pi/mg protein/h)		Activity of the total fraction of ouabain-resistant ATPases (μM Pi/mg protein/h)	
	gills	kidneys	gills	kidneys
Group 1 Control in freshwater (pH 6.9)	0.52 ± 0.08[7]	2.69 ± 0.46 ^G [6]	5.36 ± 0.12[7]	5.76 ± 1.96[6]
Adaptation to the environment: S = 15.3‰ (493 mOsm/L)				
12	0.47 ± 0.011[7]	2.96 ± 0.70[7]	3.37 ± 0.71*[7]	—
24	5.35 ± 0.85*[7]	3.25 ± 0.65[7]	10.63 ± 2.88*[7]	8.16 ± 0.11[6]
72	1.58 ± 0.39*[7]	2.79 ± 0.42[7]	5.81 ± 1.66[7]	6.43 ± 1.80[6]
144	0.76 ± 0.19[6]	1.11 ± 0.17**[7]	6.37 ± 2.15[6]	2.82 ± 0.55[6]
Group 2 Control in freshwater (pH 9.0)	0.56 ± 0.06[8]	1.52 ± 0.19 ^{&G} [8]	1.66 ± 0.10 ^{&} [8]	1.30 ± 0.08 ^{&} [8]
Adaptation to the environment S = 15.3‰ (493 mOsm/L)				
12	1.39 ± 0.31*[8]	1.47 ± 0.36[8]	12.76 ± 0.88*[8]	8.87 ± 0.53 ^G [8]
24	—	3.53 ± 0.66*[8]	13.38 ± 0.48*[7]	6.47 ± 0.53 ^G [8]
72	0.55 ± 0.13[7]	2.00 ± 0.29 ^G [7]	—	—
144				
216	1.28 ± 0.30*[8]	3.76 ± 0.94 ^G [8]	12.84 ± 0.84*[8]	9.18 ± 1.11 ^G [8]
Group 3 Control in freshwater (pH 5.0)	1.29 ± 0.32 ^{&} [7]	3.15 ± 0.44 ^{\$G} [6]	4.72 ± 1.96[7]	4.83 ± 2.79[6]
Adaptation to the environment: S = 15.3‰ (493 mOsm/L)				
12				
24	0.34 ± 0.08*[7]	3.21 ± 0.80 ^G [7]	3.32 ± 0.41[7]	3.77 ± 2.17[7]
72				
144				
216	2.44 ± 0.21*[6]	3.15 ± 0.78[6]	12.9 ± 2.63*[6]	6.28 ± 1.68[6]

Note: mean ± SEM; differences are significant: * — p < 0.05 compared to the freshwater control for each group, G — p < 0.05 compared to gills, # — p < 0.01 compared to the 24 h value, & — p < 0.017 compared to the value for group 1, \$ — p < 0.017 compared to the value for group 2; the number of fish is given in square brackets.

оставаясь выше исходного значения на 11% и 4% соответственно.

Перевод в искусственную морскую воду рыб, предварительно содержащихся в кислой пресной воде (группа 3), был сопряжен с повышением ($p < 0,05$) в первые 24 ч осмолярности и концентрации Na^+ в сыворотке крови на 33% и 23% соответственно (рис. 1с). Далее эти показатели в течение всего опыта оставались на достигнутом уровне, ниже осмолярности среды на 40% и ниже концентрации Na^+ в среде на 12%. В конце опыта и осмолярность, и концентрация Na^+ в сыворотке крови превышали показатели этой же группы в пресной воде на 30%.

Na^+/K^+ -АТФазная активность в жабрах молоди форели группы 1 через 24 ч после перевода в искусственную морскую воду увеличилась в 10 раз, после чего начала снижаться и к концу опыта достигла значений, наблюдаемых при обитании рыб в пресной воде (табл. 1). Активность суммарной фракции убаинрезистентных АТФаз в жабрах увеличилась через 24 ч после перевода рыб группы 1 в искусственную морскую воду, но к концу опыта этот показатель снизился до значений, наблюдаемых у группы 1 в пресной воде. В почках активности всех исследованных транспортных АТФаз к концу опыта уменьшились в два раза, по сравнению с исходными значениями, наблюдаемыми у молоди форели, содержащейся в нейтральной пресной среде (табл. 1).

У рыб группы 2 активность Na^+/K^+ -АТФазы в жабрах через 12 ч пребывания в морской воде достоверно увеличилась в два раза, а через 72 ч уменьшилась до уровня, наблюдаемого у этих рыб в пресной воде. К концу опыта (216 ч) этот показатель опять увеличился (табл. 1). Сходная динамика активности Na^+/K^+ -АТФазы наблюдалась в почках этих рыб: через 24 ч после перевода в искусственную морскую воду активность Na^+/K^+ -АТФазы в почках увеличилась в два раза, затем снизилась через 72 ч, а к концу опыта вновь увеличилась, в два раза превышая активность этого фермента в почках рыб, содержащихся в пресной щелочной воде. Активности суммарной фракции убаинрезистентных АТФаз в жабрах и почках после перевода рыб группы 2 в морскую воду увеличились примерно в 10 раз и оставались на высоком уровне до конца опыта.

У рыб из группы 3 через 24 ч после перевода в морскую воду активность Na^+/K^+ -АТФазы в жабрах снизилась в четыре раза, но к концу опыта, через 216 ч содержания в искусственной морской воде, активность фермента в два раза превысила исходное значение, наблюдаемое

у форели при содержании в кислой пресной среде (табл. 1). Одновременно в жабрах к концу опыта в три раза возросла активность суммарной фракции убаинрезистентных АТФаз. В почках на протяжении всего опыта активность всех транспортных АТФаз не менялась.

Обсуждение

В пресноводных условиях работа осморегуляторной системы костистых рыб направлена на предотвращение гипергидратации организма и сохранение осмотического и ионного гомеостаза внутренней среды (Evans 2008; Griffith 2017). По результатам наших исследований у молоди радужной форели, содержащейся в пресной воде $\text{pH} = 6,9$, активность Na^+/K^+ -АТФазы в почках выше, чем в жабрах, как и у других видов рыб в пресноводных условиях (Krayushkina et al. 2006). Высокая активность фермента в почках, вероятно, обусловлена активной реабсорбцией ионов в почечных канальцах (Natochin 1996). После содержания в нейтральной пресной воде ($\text{pH} = 6,9$) молодь радужной форели адаптируется к искусственной морской воде соленостью 15,3 ‰ (493 мОсм/л) в течение трех суток, демонстрируя характерную для солевой адаптации двухфазную динамику (Krayushkina 1983) осмолярности и концентрации Na^+ сыворотки крови (рис. 1а).

Повышение осмолярности и концентрации Na^+ в сыворотке крови наблюдалось через 12 ч после перевода рыб группы 1 в искусственную морскую воду (1-я фаза адаптации). Начало уменьшения этих параметров через 24 ч опыта (начало 2-й фазы адаптации) совпало с увеличением в это время активности исследованных в нашем опыте транспортных АТФаз в жабрах (табл. 1). В почках к концу опыта было обнаружено достоверное снижение активности Na^+/K^+ -АТФазы, что согласуется с данными литературы о снижении активности этого фермента в почках рыб в связи с изменением типа регуляции (Natochin 1996). Одновременно была обнаружена тенденция к снижению активности убаинрезистентных АТФаз в почках (табл. 1). Таким образом, молодь форели из группы 1 меняет гиперосмотический тип осморегуляции на гипоосмотический через трое суток адаптации к искусственной морской воде.

Как показали результаты наших исследований, защелачивание пресной воды ($\text{pH} = 9,0$) не повлияло на уровень осмолярности сыворотки крови рыб, что согласуется с результатами, полученными другими исследователями (Li et al. 2024). По нашим данным, уровень Na^+

в сыворотке крови у рыб из нейтральной и щелочной пресной воды не отличается. Активность Na^+/K^+ -АТФазы в жабрах у рыб группы 2 на 30-й день экспозиции в щелочной пресной воде не отличается от показателей рыб группы 1. Однако, по сравнению с молодью форели из нейтральной среды, у особей, содержащихся в щелочной пресной воде, было обнаружено снижение активности Na^+/K^+ -АТФазы в почках и суммарной фракции убаинрезистентных АТФаз в жабрах и почках (табл. 1). Причинами такого снижения убаинрезистентной АТФазной активности может быть влияние повышенного содержания OH^- ионов в воде (Geng et al. 2016), а также изменение фосфолипидного состава клеточных мембран в жабрах и почках при защелачивании среды (Bystriansky, Ballantyne 2007; Lança et al. 2015).

Адаптация к гиперосмотической среде рыб из группы 2 также представляет собой двухфазный процесс (рис. 1b). Однако, хотя первая фаза этого процесса (повышение осмолярности и концентрации Na^+ в сыворотке крови) наблюдается через 12 ч после перевода рыб в морскую воду, но во второй фазе даже к концу опыта эти показатели не достигли исходных значений, было обнаружено только снижение их, по сравнению с 72 ч опыта. Возможно, одной из причин затрудненной адаптации рыб группы 2 к гиперосмотической среде является нарушение процессов, направленных на увеличение количества хлоридных клеток в жаберном эпителии и переход их в экскреторное состояние. Активности Na^+/K^+ -АТФазы в жабрах и в почках после перевода рыб из щелочной пресной воды в искусственную морскую воду в течение опыта постоянно изменяются (табл. 1).

К концу опыта активность Na/K -АТФазы в жабрах и почках была в два раза выше, чем у рыб этой группы в пресной воде. Это свидетельствует о том, что в почках продолжает сохраняться высокий уровень сорбции ионов из мочи, результатом чего может быть высокое содержание ионов в сыворотке крови и трудность их выведения при пониженной активности Na^+/K^+ -АТФазы в жабрах. Для сравнения, у рыб из группы 1 активность Na^+/K^+ -АТФазы в жабрах увеличивается в 10 раз через 24 ч после перевода в морскую воду, а в почках ее активность не превышает контрольные значения на протяжении всего опыта и снижается через 144 ч в 2,5 раза. Одновременно убаинрезистентная АТФазная активность в жабрах и почках рыб из группы 2 повышается уже через 12 ч после перевода молоди в искусственную морскую воду (в 7,5 раз, по сравнению с уровнем фермента-

тивной активности при содержании рыб в щелочной пресной воде) и держится на этом уровне на протяжении экспозиции рыб в гиперосмотической среде.

Известно (Lewy et al. 1973), что Na^+/K^+ -АТФаза, участвует в переносе только 40% всего транспортируемого Na^+ . В остальных случаях Na^+ транспортируется как элемент, сопутствующий переносу других ионов. По-видимому, резкое увеличение активности суммарной фракции убаинрезистентных АТФаз может быть одной из причин регуляции этими рыбами осмолярности и концентрации Na^+ внутренней среды при переносе рыб группы 2 в искусственную морскую воду. В то же время компенсаторная работа суммарной фракции убаинрезистентных АТФаз на протяжении всего опыта высокоактивна, но не продуктивна. По-видимому, при переходе рыб группы 2 на гипоосмотический тип регуляции в искусственной морской среде происходит дискоординация в работе транспортных АТФаз в жабрах и почках.

Данные наших опытов показали, что при закислении пресной среды обитания ($\text{pH} = 5,0$) осмолярность и концентрация Na^+ в сыворотке крови уменьшаются. Вероятно, это происходит вследствие вымывания ионов Ca^{2+} и увеличения проницаемости контактов между клетками, что приводит к свободному выходу ионов во внешнюю среду по градиенту концентрации (Breves, Shaughnessy 2024; Matey 1996). Одновременно у этих рыб наблюдается высокая активность Na^+/K^+ -АТФазы не только в почках, но и в жабрах (табл. 1), что соотносится с фактом увеличения количества хлоридных клеток жабр для повышения сорбционной способности при закислении среды обитания и для регулирования кислотно-щелочного равновесия (Evans 2008; Wood, Eom 2021). Как показали наши опыты, убаинрезистентная АТФазная активность в жабрах и почках не снижается при закислении среды обитания, что может демонстрировать способность к сопротивлению потери ионов в организме (Gonzalez et al. 2002). Осмолярность и концентрации ионов в крови исследуемых рыб уменьшаются, но остаются в допустимых границах жизнеспособности (рис. 1c).

После перевода молоди форели в искусственную морскую воду в целях поддержания водного баланса рыбы начинают заглатывать морскую воду, насыщенную одновалентными и двухвалентными ионами. Прекращается утечка ионов и начинается их восполнение. Одновременно, вероятно, начинает восстанавливаться структура плотных межклеточных контактов. Прекращается утечка ионов и начинается их

восполнение. В результате осмолярность и концентрация Na^+ в крови исследуемых рыб повышаются. Однако критического значения, необходимого для включения механизмов гипоосмотической регуляции при обитании в морской среде, концентрация Na^+ в сыворотке крови этой группы достигает только к концу опыта, через 216 ч после перевода в искусственную морскую воду. В то же время у особей из группы 1 критический пик концентрации Na^+ (170 мэкв/л) наблюдается уже через 12 ч после перевода в морскую воду. У рыб из группы 3 к концу опыта мы также наблюдали резкое повышение активностей Na^+/K^+ -АТФазы и суммарной фракции убаинрезистентных АТФаз в жабрах этих рыб. Возможно, что предварительное содержание рыб в кислой среде с дальнейшим переводом в морскую воду отодвинуло на восемь суток процесс смены гиперосмотического на гипоосмотический тип регуляции внутренней среды.

Как показали наши опыты, при защелачивании среды снижение общей активности транспортных ферментов не влияет на способность молоди радужной форели регулировать осмолярность и ионный состав внутренней среды в пресноводных условиях и сохранять жизнеспособность на границе зоны толерантности, что согласуется с результатами, полученными другими исследователями (Li et al. 2024). Существует множество видов, обитающих в естественных пресноводных щелочных водоемах, и есть интерес к товарному выращиванию рыбы в хозяйствах с использованием пресных водоемов различного солевого состава и щелочности (Li et al. 2024; Wang et al. 2024; Zhou et al. 2023).

Для развития прудовых рыбных хозяйств с использованием таких водоемов это может иметь большое практическое значение. Однако снижение общей активности транспортных ферментов, вероятно вследствие деструктивных изменений клеточных мембран, не позволяет этим рыбам полноценно адаптироваться к искусственной морской воде. Нарушение осморегуляторных механизмов у форели, содержащейся в пресной щелочной среде, происходит, возможно, вследствие деструктивных изменений клеточных мембран (Geng et al. 2016; Lança et al. 2015), что серьезно ухудшает осморегуляторные способности рыб и не позволяет им полноценно адаптироваться к искусственной морской воде.

Опасность закисления пресной среды связана с потерей ионов при гипергидратации организма. В результате нарушения механизмов осмо- и ионорегуляции происходит увеличение на жаберных лепестках популяции хлоридных

клеток, необходимых для регулирования ионного и кислотно-щелочного равновесия в организме, что влечет за собой снижение респираторной функции жабр (Wood, Eom 2021). Однако способности к осморегуляции в гипертонической среде сохраняются, так как при переводе рыб в искусственную морскую среду происходит естественное устранение причин нарушения плотности межклеточных контактов и недостатка ионов. По-видимому, сохранение структуры клеточных мембран обуславливает нормальную функциональную активность транспортных ферментов, и в первую очередь Na^+/K^+ -АТФазы. Следовательно, сохраняется возможность перехода на гипоосмотический тип регуляции, хотя и за более продолжительный период времени.

Таким образом, закисление и защелачивание пресноводной среды обитания оказывает патологическое влияние на способность молоди форели к осморегуляции в пресной воде и на ее последующую адаптацию в гиперосмотической среде, однако механизмы и последствия этого влияния различаются в пресной воде с низким и высоким рН.

Выводы

1. Содержание молоди форели в кислой пресной среде (рН = 5,0) значительно, но обратимо нарушает осмотическую и ионную регуляцию.
2. Сохранение функциональной активности транспортных ферментов, в первую очередь Na^+/K^+ -АТФазы, у рыб, содержащихся в пресной воде при рН = 5,0, позволяет им в гиперосмотической среде после восстановительного периода переходить на гипоосмотический тип регуляции.
3. Содержание молоди форели в щелочной среде (рН = 9,0) не влияет на осмотическую и ионную регуляцию в пресной воде.
4. На фоне снижения активности транспортных ферментов в жабрах и почках молоди форели, содержащейся в щелочной пресной воде, после перевода рыб в гиперосмотическую среду, в пределах экспозиции нашего опыта, было обнаружено ухудшение их осморегуляции.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Соответствие принципам этики

Работа была проведена в соответствии с международными принципами исследований с использованием животных согласно требованиям и рекомендациям государственного стандарта Р-33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», «Директивы Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/EU».

Ethics Approval

The work was carried out in accordance with international principles for research using animals in accordance with the requirements and recommendations of state standard R-33044-2014 Principles of Good Laboratory Practice, and Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council.

Вклад авторов

а. Семенова Ольга Геннадьевна — сбор и обработка данных, написание рукописи, редактирование рукописи;

б. Вьюшина Анна Вадимовна — сбор и обработка данных, написание рукописи, редактирование рукописи;

в. [Краюшкина Людмила Сергеевна] — идея работы и планирование эксперимента, сбор и обработка данных.

Author Contributions

a. Olga G. Semenova — study conception and design, data acquisition and analysis, drafting and critical revision of the manuscript;

b. Anna V. Vyushina — study conception and design, data acquisition and analysis, drafting and critical revision of the manuscript;

c. [Lyudmila S. Krayushkina] — conception and design of the study, acquisition and analysis of data.

References

- Allmon, E. B., Esbaugh, A. J. (2017) Carbon dioxide induced plasticity of branchial acid-base pathways in an estuarine teleost. *Scientific Reports*, vol. 7, article 45680. <https://doi.org/10.1038/srep45680> (In English)
- Bahmet, I. N., Kuchko, T. Yu., Kuchko, Ya. A. (2017) The features of rainbow trout (*Parasalmo mykiss*) farming in the White Sea conditions. *Proceedings of Petrozavodsk State University*, no. 6 (167), pp. 62–66. (In Russian)
- Breves, J. P., Shaughnessy, C. A. (2024) Endocrine control of gill ionocyte function in euryhaline fishes. *Journal of Comparative Physiology B*, vol. 194, no. 5, pp. 663–684. <https://doi.org/10.1007/s00360-024-01555-3> (In English)
- Bystriansky, J. S., Ballantyne, J. S. (2007) Gill Na⁺-K⁺-ATPase activity correlates with basolateral membrane lipid composition in seawater but not freshwater-acclimated Arctic char (*Salvelinus alpinus*). *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, vol. 292, no. 2, pp. R1043–R1051. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00189.2005> (In English)
- Chang, Y. M., Zhao, X. F., Liew, H. J. et al. (2021) Effects of bicarbonate stress on serum ions and gill transporters in alkali and freshwater forms of Amur ide. (*Leuciscus waleckii*). *Frontiers in Physiology Section Aquatic Physiology*, vol. 12, article 676096. <http://doi.org/10.3389/fphys.2021.676096> (In English)
- Esbaugh, A. J., Cutler, B. (2016) Intestinal Na⁺, K⁺, 2Cl cotransporter 2 plays a crucial role in hyperosmotic transitions of a euryhaline teleost. *Physiological Reports*, vol. 4, no. 22, article e13028. <https://doi.org/10.14814/phy2.13028> (In English)
- Evans, D. H. (2008) Teleost fish osmoregulation: what have we learned since August Krogh, Homer Smith, and Ancel Keys. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, vol. 295, no. 2, pp. R704–R713. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.90337.2008> (In English)
- Geng, L., Tong, C., Jiang, H., Xu, W. (2016) Effect of salinity and alkalinity on *Luciobarbus capito* gill Na⁺/K⁺-ATFase enzyme activity, plasma ion concentration, and osmotic pressure. *Biomed Research International*, vol. 2016, article 4605839. <https://doi.org/10.1155/2016/4605839> (In English)
- Gonzalez, R. J., Wilson, R. W., Wood, C. M. et al. (2002) Diverse strategies for ion regulation in fish collected from the ion-poor, acidic Rio Negro. *Ecological and Evolutionary Physiology*, vol. 75, no. 1, pp. 37–47. <https://doi.org/10.1086/339216> (In English)
- Griffith, M. B. (2017) Toxicological perspective on the osmoregulation and ionoregulation physiology of major ions by freshwater animals: Teleost fish, crustacea, aquatic insects, and mollusca. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 36, no. 3, pp. 576–600. <https://doi.org/10.1002/etc.3676> (In English)
- Hyodo, S., Kakumura, K., Takagi, W. et al (2014) Morphological and functional characteristics of the kidney of cartilaginous fishes: With special reference to urea reabsorption. *American journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, vol. 307, no. 12, pp. R1381–R1395. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00033.2014> (In English)

- Inokuchi, M., Hiroi, J., Kaneko, T. (2022) Why can Mozambique tilapia acclimate to both freshwater and seawater? Insights from the plasticity of ionocyte functions in the euryhaline teleost. *Frontiers in Physiology Section Aquatic Physiology*, vol. 13, article 914277. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.914277> (In English)
- Krayushkina, L. S. (1983) Development of the osmoregulatory function in early salmonid ontogenesis. In: *Biological foundations of salmon farming development in waters of Soviet Union*. Moscow: Nauka Publ., pp. 56–72. (In Russian)
- Krayushkina, L. S., Semenova, O. G., Vyushina, A. V. (2006) Level of serum cortisol and Na⁺/K⁺-ATP-ase activity of gills and kidneys in different acipenserids. *Journal of Applied Ichthyology*, vol. 22, pp. 182–187. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2007.00948.x> (In English)
- Kwong, R. W. M., Kumai, Y., Perry, S. F. (2014) The physiology of fish at low pH: The zebrafish as a model system. *The Journal of Experimental Biology*, vol. 217, no. 5, pp. 651–662. <https://doi.org/10.1242/jeb.091603> (In English)
- Lança, M. J., Machado, M., Ferreira, A. F. et al. (2015) Structural lipid changes and Na⁺/K⁺-ATPase activity of gill cells' basolateral membranes during saltwater acclimation in sea lamprey (*Petromyzon marinus*, L.) juveniles. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, vol. 189, pp. 67–75. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2015.07.018> (In English)
- Lee, S. Y., Lee, H. J., Kim, Y. K. (2020) Comparative transcriptome profiling of selected osmotic regulatory proteins in the gill during seawater acclimation of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) fry. *Scientific Reports*, vol. 10, article 1987. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58915-6> (In English)
- Lewy, P. R., Quintanilla, A., Levin, N. W. et al (1973) Renal energy metabolism and sodium reabsorption. *Annual Review of Medicine*, vol. 24, pp. 365–384. <https://doi.org/10.1146/annurev.me.24.020173.002053> (In English)
- Li, L., Luo, W., Chen, P. et al. (2024) Study on the physiological responses and tolerance mechanisms to subchronic carbonate alkalinity exposure in the gills of *Paramisgurnus dabryanus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 287, article 117319. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.117319> (In English)
- Marshall, W. S. (2002) Na⁺, Cl⁻, Ca²⁺ and Zn²⁺ transport by fish gills: Retrospective review and prospective synthesis. *Journal of Experimental Zoology*, vol. 293, no. 3, pp. 264–283. <http://doi.org/10.1002/jez.10127> (In English)
- Matey, M. E. (1996) *Gills of freshwater bony fishes: Morphofunctional organization, adaptation, evolution*. Saint Petersburg: Nauka Publ., 204 p. (In Russian)
- Natochin, Y. V. (1996) Evolutionary aspects of renal function. *Kidney International*, vol. 49, no. 6, pp. 1539–1542. <https://doi.org/10.1038/ki.1996.220> (In English)
- Nieminen, M., Korhonen, I., Latinen, M. (1982) Effects of pH on the gill ATPase activity and blood composition of whitefish (*Coregonus peled*) and trout (*Salmo trutta fario*). *Comparative Biochemistry and Physiology. A, Comparative Physiology*, vol. 72, no. 4, pp. 637–642. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(82\)90141-4](https://doi.org/10.1016/0300-9629(82)90141-4) (In English)
- Nobata, S., Iino, Y., Kawakami, N. et al. (2022) Significance of sea entry pathway of chum salmon *Oncorhynchus keta* fry, inferred from the differential expressions of Na⁺/K⁺-ATPase α -subunit genes in the gills. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, vol. 269, article 111224. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2022.111224> (In English)
- Perry, S. F., Shahsavariani, A., Georgalis, T et al. (2003) Channels, pumps, and exchangers in the gill and kidney of freshwater fishes: Their role in ionic and acid-base regulation. *Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology*, vol. 300, no. 1, pp. 53–62. <https://doi.org/10.1002/jez.a.10309> (In English)
- Sardet, C., Pisam, M., Maetz, J. (1979) The surface epithelium of teleostean fish gills. Cellular and junctional adaptations of the chloride cell in relation to salt adaptation. *The Journal of Cell Biology*, vol. 80, no. 1, pp. 96–117. <https://doi.org/10.1083/jcb.80.1.96> (In English)
- Seale, A. P., Breves, J. P. (2022) Endocrine and osmoregulatory responses to tidally-changing salinities in fishes. *General and Comparative Endocrinology*, vol. 326, article 114071. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2022.114071> (In English)
- Takei, Y. (2021) The digestive tract as an essential organ for water acquisition in marine teleosts: Lessons from euryhaline eels. *Zoological Letters*, vol. 7, no. 1, article 10. <https://doi.org/10.1186/s40851-021-00175-x> (In English)
- Takvam, M., Wood, C. M., Kryvi, H. et al. (2021) Ion transporters and osmoregulation in the kidney of teleost fishes as a function of salinity. *Frontiers in Physiology Section Aquatic Physiology*, vol. 12, article 664588. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.664588> (In English)
- Wang, M., Yan, Y., Liu, W. et al (2024) Proline metabolism is essential for alkaline adaptation of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Animal Science and Biotechnology*, vol. 15, article 142. <https://doi.org/10.1186/s40104-024-01100-w> (In English)
- Wen, J., Chen, S.-L., Xu, W.-Y. et al. (2023) Effects of high NaHCO₃ alkalinity on growth, tissue structure, digestive enzyme activity, and gut microflora of grass carp juvenile. *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 30, pp. 85223–85236. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-28083-x> (In English)
- Wendelaar-Bonga, S. E. (1997) The stress response in fish. *Physiological Reviews*, vol. 77, no. 3, pp. 591–625. <https://doi.org/10.1152/physrev.1997.77.3.591> (In English)
- Wong, M. K., Nobata, S., Hyodo, S. (2019) Enhanced osmoregulatory ability marks the smoltification period in developing chum salmon (*Oncorhynchus keta*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, vol. 238, article 110565. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2019.110565> (In English)

- Wong, M. K., Pipil, S., Ozaki, H. et al. (2016) Flexible selection of diversified Na⁺/K⁺-ATPase α-subunit isoforms for osmoregulation in teleosts. *Zoological Letters*, vol. 2, article 15. <https://doi.org/10.1186/s40851-016-0050-7> (In English)
- Wong, M. K., Tsuneoka, Y., Tsukada, T. (2023) Subcellular localization of Na⁺/K⁺-ATPase isoforms resolved by *in situ* hybridization chain reaction in the gill of chum salmon at freshwater and seawater. *Fish Physiology and Biochemistry*, vol. 49, pp. 751–767. <https://doi.org/10.1007/s10695-023-01212-6> (In English)
- Wood, C. M., Eom, J. (2021) The osmorepiratory compromise in the fish gill. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, vol. 254, article 110895. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2021.110895> (In English)
- Zaugg, W. S. A. (1982) A simplified preparation for adenosine triphosphatase determination in gill tissue. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, vol. 39, pp. 215–217. <https://doi.org/10.1139/f82-027> (In English)
- Zhou, Z., Yang, J., Lv, H. et al. (2023) The adaptive evolution of *Leuciscus waleckii* in lake Dali Nur and convergent evolution of Cypriniformes fishes inhabiting extremely alkaline environments. *Genome Biology and Evolution*, vol. 15, no. 5, article evad082. <https://doi.org/10.1093/gbe/evad082> (In English)
- Zhu, H., Liu, Z., Gao, F. et al. (2018) Characterization and expression of Na⁺/K⁺-ATPase in gills and kidneys of the teleost fish *Oreochromis mossambicus*, *Oreochromis urelepis hornorum* and their hybrids in response to salinity challenge. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, vol. 224, pp. 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2018.05.017> (In English)