

УДК 597.553.2.591.147.046

СОДЕРЖАНИЕ КОРТИЗОЛА И АКТИВНОСТЬ Na^+/K^+ -АТФАЗЫ ПРИ АДАПТАЦИИ МОЛОДИ ГОРБУШИ *ONCORHYNCHUS GORBUSCHA* (SALMONIDAE) К ИЗМЕНЕНИЮ СОЛЁНОСТИ СРЕДЫ

© 2021 г. Н. Н. Немова¹, Е. И. Кяйвяряйнен¹, Н. Л. Рендаков^{1, *},
К. М. Никерова², Д. А. Ефремов¹

¹Институт биологии Карельского научного центра РАН – ИБ КарНЦ РАН, Петрозаводск, Россия

²Институт леса Карельского научного центра РАН – ИЛ КарНЦ РАН, Петрозаводск, Россия

*E-mail: nltrend@mail.ru

Поступила в редакцию 16.10.2020 г.

После доработки 28.10.2020 г.

Принята к публикации 02.11.2020 г.

В эксперименте получены новые данные об изменении активности Na^+/K^+ -АТФазы и уровня кортизола у покинувшей нерестовые гнёзда (р. Ольховка, бассейн Белого моря) молоди горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* при перемещении её из пресной воды в морскую (25‰) и обратно. Развитие устойчивости к повышенной солёности у молоди горбуши сопровождается активацией Na^+/K^+ -АТФазы через 1 и 24 ч пребывания в морской воде и повышением содержания кортизола через 1 ч данной экспозиции с последующим возвращением к исходному уровню через 24 ч. Полученные результаты свидетельствуют о готовности молоди горбуши к покатной миграции в морскую среду сразу после выхода из нерестовых гнёзд. При последующем перемещении рыб из солёной воды в пресную через 24 ч активность Na^+/K^+ -АТФазы и содержание кортизола у них снижается, что может свидетельствовать о пластичности осморегуляторной реакции смолтов горбуши.

Ключевые слова: горбуша *Oncorhynchus gorbuscha*, солёность среды, смолтификация, кортизол, Na^+/K^+ -АТФаза, Белое море.

DOI: 10.31857/S0042875221050131

Возраст, в котором разные виды лососёвых (Salmonidae) начинают покатную миграцию, значительно различается. Большинство анадромных видов лососёвых после вылупления проводят в реке от одного года до нескольких лет, пока не достигнут длины 10–15 см (McCormick, Saunders, 1987). Горбуша *Oncorhynchus gorbuscha* и кета *O. keta* относятся к видам, для которых характерна ранняя смолтификация; они приобретают устойчивость к солёной среде ко времени выхода из гнёзд и вскоре после рассасывания желточного мешка мигрируют в морскую воду (Sackville et al., 2012; Gallagher et al., 2013; McCormick, 2013).

Кортизол обладает как глюко-, так и минералокортикоидной активностью (Bern, Madsen, 1992; Sturm et al., 2005) и участвует в регуляции широкого спектра физиологических процессов рыб, включая осморегуляцию (Mommensen et al., 1999; Das et al., 2018). У лососёвых рыб при смолтификации установлена гиперактивность интерренальных клеток, вырабатывающих кортизол (McCormick, 2013), который приводит к повышению активности Na^+/K^+ -АТФазы (НКА) и устойчивости к изменению солёности (Varsamos et al.,

2005). Повышение активности НКА при смолтификации необходимо для поддержания ионного гомеостаза и, соответственно, для выживания рыб в гиперосмотических условиях (Folmar, Dickhoff, 1980; Blanco, Mercer, 1998). В жабрах рыб НКА локализуется в основном в мембранах специализированных клеток (ионоцитов) и состоит из субъединиц, по-разному реагирующих на осмотические изменения и акклимацию к солёности (Richards et al., 2003; Liao et al., 2009; Madsen et al., 2009). Так, субъединица $\alpha 1a$ НКА лососёвых преимущественно экспрессируется в пресной воде, а $\alpha 1b$ – в морской (Richards et al., 2003; McCormick et al., 2009). Дифференцировка ионоцитов в жабрах регулируется кортизолом (Wong, Chan, 2001; Sakamoto, McCormick, 2006; Cruz et al., 2013), который у эвригалинных видов рыб участвует в адаптации как к солёной, так и к пресной воде (Wendelaar Bonga, 1997; McCormick, 2001).

Цель данной работы – изучить изменения уровня кортизола и активности Na^+/K^+ -АТФазы у молоди горбуши при переносе её из пресной воды в морскую и обратно, а также выявить способ-

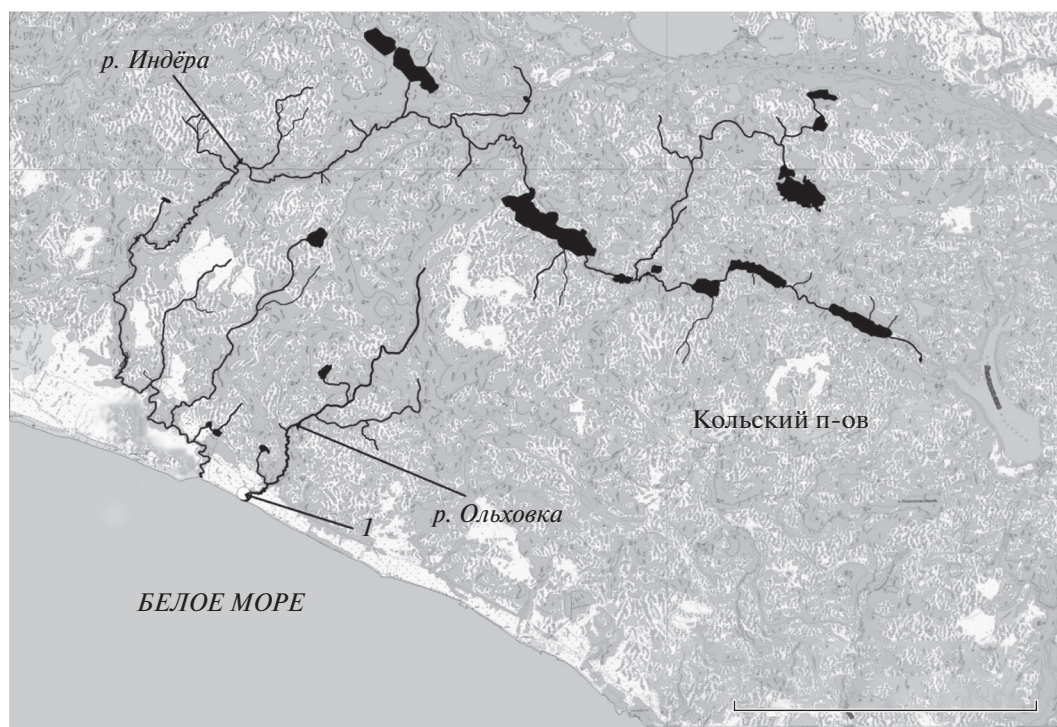


Рис. 1. Карта-схема района проведения исследований: 1 — место отлова мальков горбуши *Oncorhynchus gorbuscha*. Масштаб: 10 км.

ность к гипоосморегуляции, необходимой для обитания молоди в морской среде.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Схема эксперимента. Ювенильных особей (смолтов) горбуши с остатками желточного мешка отловили 20.06.2019 г. в р. Ольховка (рис. 1) и поместили в установленный в русле садок. На следующий день из садка отобрали контрольную пробу (20 экз.), которую, как и последующие, зафиксировали в жидком азоте и хранили в лаборатории при -80°C до начала анализа. Остальных рыб поместили в ёмкость с морской водой из Белого моря (25‰). Через 1 и 24 ч после перевода в морскую воду отловили и заморозили по 20 экз.

Длина и масса молоди горбуши *Oncorhynchus gorbuscha*, использованной в эксперименте (число рыб — 10 экз.)

Группа	Длина (TL), см	Масса, г
Контроль (пресная вода)	3.20 ± 0.03	0.140 ± 0.004
Эксперимент:		
– морская вода, 1 ч	3.16 ± 0.03	0.140 ± 0.002
– морская вода, 24 ч	3.18 ± 0.04	0.140 ± 0.009
– пресная вода, 24 ч	3.20 ± 0.02	0.140 ± 0.001

Оставшихся мальков пересадили в ёмкость с пресной водой и через 24 ч взяли пробу для анализа.

Перемещение рыб из одной среды в другую осуществляли при минимальном стрессовом воздействии с учётом методических рекомендаций при проведении исследований (Guidelines..., 2014). На дне каждой ёмкости находилась сетка, которую аккуратно поднимали, чтобы доставить к поверхности всех рыб и переместить необходимое их количество в соседнюю ёмкость. Для предотвращения механического травмирования к границам ёмкостей был присоединён пластиковый “мост”, погружённый в воду ёмкости-приемника (эта ёмкость находилась под наклоном). В ходе эксперимента в ёмкости с мальками горбуши подавали воздух с помощью компрессора Sera air 275R. Гибель рыб в процессе эксперимента не наблюдали. Измерение общей длины (TL) и массы проводили у половины особей из каждой экспериментальной группы (у той её части, которая была использована для определения активности Na^+/K^+ -АТФазы). Во всех выборках особи имели сходную длину и массу (таблица).

Определение концентрации кортизола проводили индивидуально у 10 особей из каждой экспериментальной группы. Не размораживая, 1 экз. горбуши помещали в пластиковую пробирку объёмом 2 мл, в которую предварительно наливали 1 мл смеси для экстракции кортизола (этилацетат : эта-

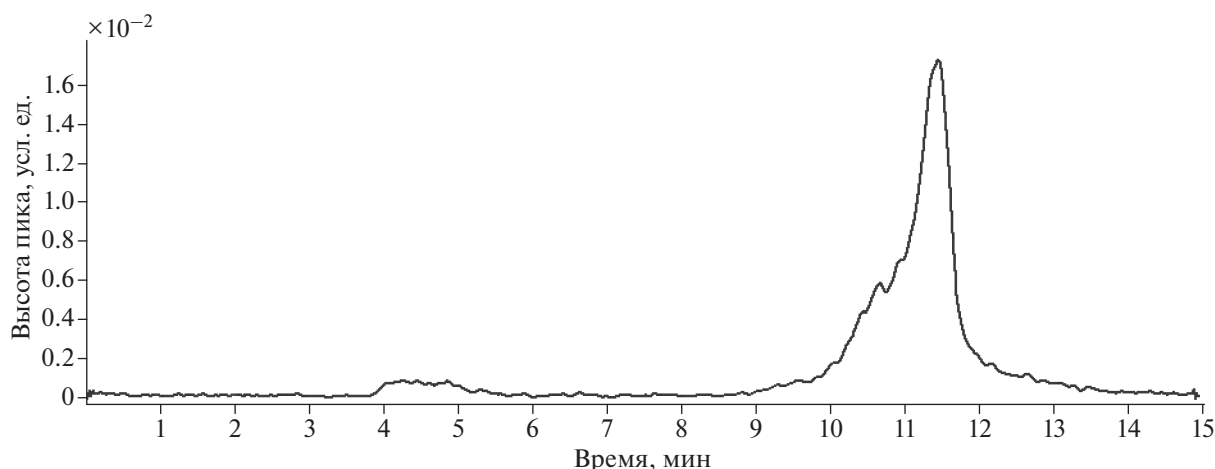


Рис. 2. Хроматограмма кортизола.

нол, 1 : 1 по объёму) для разрушения комплексов стероидов с белками и перевода стероидов в раствор. Образцы гомогенизировали в течение 1 мин при 50 Гц в аппарате TissueLyser LT (“QIAGEN”, ФРГ), затем смесь встряхивали в течение 30 мин при 2500 об/мин с помощью Disruptor Genie (“Scientific Industries”, США) и центрифугировали при 3000 g в течение 5 мин. Супернатант (0.8 мл) переносили в пробирку и упаривали экстракт при комнатной температуре, а затем растворяли сухой остаток в 0.1 мл ацетонитрила (подвижная фаза) (Hauser et al., 2008).

Содержание кортизола в экстрактах определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием жидкостного хроматографа Agilent 1200 с времяпролетным масс-спектрометрическим детектором 6210 (“Agilent Technologies”, США). Разделение проводили на колонке ZORBAX Eclipse XDB-C18 5 мкм, 4.6×150 мм с предколонкой ZORBAX XDB-C18 5 мкм, 12.5×4.6 мм (“Agilent Technologies”, США). Температуру колонки поддерживали на уровне 30°C . Подвижную фазу, состоящую из ацетонитрила — А (“Криохром”, осч) и 0.1%-ного раствора муравьиной кислоты (“Ленреактив”, имп) в бидистиллированной воде — В (бидистиллятор GFL 2102, ФРГ) подавали со скоростью 0.4 мл/мин. Для подвижной фазы был подобран следующий градиент по воде (канал В): 90—90—50—50—90—90% за 0—0.5—4.0—5.8—6.0—15 мин, причём остаточное время при этом градиенте использовали для промывки колонки. Общее время анализа составляло 15 мин. Объём инъекции 100 мкл. Поглощение регистрировали в ультрафиолетовой области при 244 нм.

Рабочие калибровочные растворы получали путём разведения в ацетонитриле стандарта кортизола (1 мг/мл в метаноле, С-106 Cerilliant, “Sigma Aldrich”, США) в диапазоне концентраций

1—50 нг/мл. Для проверки точности калибровочной прямой использовали рабочий калибровочный раствор 25 нг/мл. Ошибка не превышала 5% среднего значения.

Работу масс-спектрометра осуществляли при ионизации электроспреем (Dual-ESI) в режиме регистрации положительных ионов. Условия работы источника ионизации: температура 350°C , напряжение на капилляре 4 кВ, давление газа-небулайзера 172.37 кПа, скорость потока осушающего газа 10 л/мин. Диапазон регистрируемых значений отношения массы к заряду (m/z) составил 100—3000. Масс-спектрометр ежедневно калибровали с использованием смеси для калибровки ВЭЖХ-МС ESI-L Low Concentration Tuning Mix (“Agilent Technologies”, США) в диапазоне значений m/z : 118.086255—2721.894829. Результаты анализа ВЭЖХ-МС обрабатывали с помощью программы Agilent MassHunter Qualitative Analysis.

Время удерживания кортизола в градуировочных растворах и в образцах составило 11.44 мин (рис. 2). Кортизол был обнаружен в виде положительного иона $(M + H)^+$, m/z 363.216—363.217 (рис. 3), что согласуется с базой данных (Agilent METLIN Personal Metabolite Database). Регистрируемая ошибка при определении составила не более 3%. Концентрацию кортизола в образцах определяли по уравнению линейной зависимости концентрации кортизола от площади пика: $y = 0.009x + 1.783$, $R^2 = 0.997$ (рис. 4).

Активность Na^+/K^+ -АТФазы (КФ 3.6.1.3) определяли индивидуально в осадке после гомогенизации и центрифугирования отобранных на анализ особей горбуши (по 10 экз. из каждой экспериментальной группы) (Елаев, Семенов, 1974). Предварительно рыб размораживали, измеряли их длину и массу, затем измельчали ножницами. Осадок ресуспендировали в буфере для гомогени-

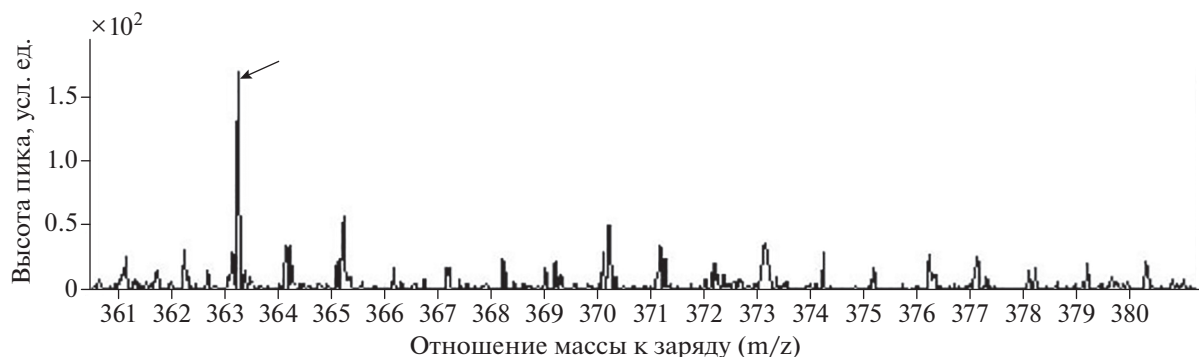


Рис. 3. Масс-спектр кортизола: (←) — пик, соответствующий протонированной форме кортизола $(M + H)^+$, m/z 363.216.

зации в соотношении 1 : 3 (г/мл) и добавляли 2%-ный раствор дезоксихолата натрия до конечной концентрации 0.2%. Приготовленный раствор выдерживали при 4°C в течение 2 ч. Суспензию центрифугировали при 15000 g в течение 30 мин. В полученном супернатанте оценивали активность НКА по разнице неорганического фосфата (Pi) в инкубационной среде (субстратный буфер) и среде без Na^+ и K^+ в присутствии ингибитора убаина (10^4 M). Полная инкубационная среда для определения активности фермента содержала 0.01 M NaCl, 0.02 M KCl, 0.002 M $MgCl_2$, 3 mM АТФ. В контроль добавляли убаин до конечной концентрации 10^3 M, вместо субстратного буфера использовали буфер Трис-НС1 (pH 7.55) без добавления солей. Реакцию проводили при 37°C в течение 30 мин и останавливали добавлением равного объема 10%-ной трихлоруксусной кислоты. После центрифугирования (6000 g в течение 20 мин) в надосадочной жидкости определяли Pi (Kahovcová, Odavić, 1969). Содержание Pi в пробе определяли по величине экстинкции по калибровочной кривой. Активность НКА оценивали по разности содержания Pi в полной среде и

в среде без Na^+ и K^+ в присутствии убаина за 30 мин реакции в расчёте на концентрацию белка и выражали в условных единицах (усл. ед.), соответствующих мкг Pi/мг белка за 30 мин реакции.

У рыб ионо- и осморегуляция осуществляется в жабрах, почках и кишечнике, при этом у взрослых рыб — в основном в жабрах, которые непосредственно контактируют с внешней средой и обеспечивают большую часть трансэпителиального ионного обмена (Evans et al., 2005; Takei et al., 2014; Guh et al., 2015; Yan, Hwang, 2019). В нашем эксперименте были исследованы особи смолтов горбуши (длиной около 3 см), которые уже обладают функциональными жабрами (Sullivan et al., 1983).

Количественное содержание белка в исследуемом материале определяли методом Бредфорда (Bradford, 1976). В качестве стандарта для построения калибровочной кривой использовали бычий сывороточный альбумин в физрастворе.

Статистическая обработка результатов. Межгрупповые различия оценивали с помощью критерия Вилкоксона—Манна—Уитни. Исследования выполнены на оборудовании Центра коллективного пользования КарНЦ РАН.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Концентрация кортизола в тканях молоди горбуши контрольной группы составила 9.22 ± 2.36 нг/г (рис. 5а). Через 1 ч после воздействия морской воды уровень кортизола в образцах превысил контрольные значения более чем в три раза и составил 32.09 ± 2.80 нг/г ткани ($p < 0.001$). Через 1 сут после перемещения молоди горбуши в морскую воду концентрация кортизола возвращалась к исходному уровню. При последующем перемещении рыб в пресную воду уровень кортизола у них через 1 сут несколько снизился, однако от контроля достоверно не отличался.

Перенос мальков из пресной воды в морскую через 1 ч индуцировал увеличение активности НКА примерно в 1.5 раза ($p < 0.01$) относительно

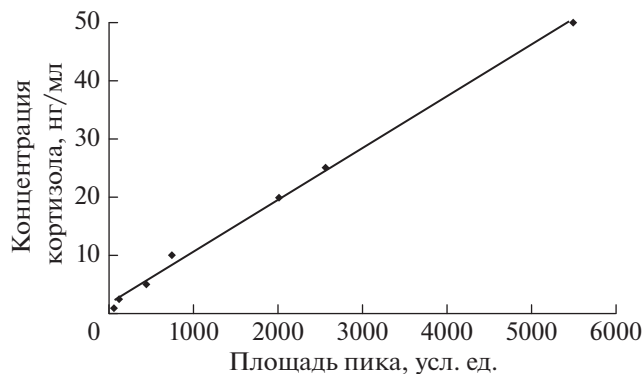


Рис. 4. Калибровочный график зависимости концентрации кортизола от площади пика: $y = 0.009x + 1.783$, $R^2 = 0.997$.

контроля (рис. 5б). Через 24 ч пребывания молоди горбуши в морской воде активность НКА повысилась в 2.5 раза ($p < 0.001$) по сравнению с контролем. Последующее перемещение рыб в пресную воду привело через 24 ч воздействия к незначительному снижению активности НКА, при этом уровень активности фермента был выше контрольных значений в два раза ($p < 0.001$).

ОБСУЖДЕНИЕ

В рассматриваемом эксперименте воздействие морской воды (солёность 25‰, характерная для Белого моря) на молодь горбуши в течение 1 ч привело к осмотическому (солевому) стрессу, сопровождающемуся значительным повышением содержания кортизола и активности НКА. Известно, что для поддержания гомеостаза при стрессе, в данном случае осмотическом, у рыб активируется нейроэндокринная система – гипоталамо-гипофизарно-интерреналовая ось, что приводит к высвобождению катехоламинов и кортизола из соответствующих железистых тканей и повышению уровня этих гормонов в крови (Wendelaar Bonga, 1997; Gorissen, Flik, 2016). Синхронное повышение изученных биохимических показателей у молоди горбуши через 1 ч пребывания в морской воде может быть связано с регулирующим влиянием кортизола на активность НКА, что может обеспечивать устойчивость к повышенной солёности. Ранее было показано, что при акклимации к морской воде атлантического лосося, кумжи и кижуча НКА в жабрах стимулируется синергическим действием кортизола, соматотропина и инсулиноподобного фактора роста I (Madsen, 1990a; McCormick, 2001; Varsamos et al., 2005). В культуре ткани жаберных лепестков (gill culture) атлантического лосося кортизол участвует в индукции морской изоформы НКА – $\text{NKA}\alpha\text{1b}$ (Kiilerich et al., 2007; Bernier et al., 2009). Быстрая активация НКА при акклимации к морской воде солёностью 30‰ ранее была обнаружена также у таких эвригалинных видов рыб, как лобан *Mugil cephalus* (через 3 ч воздействия) (Hossler, 1980), обыкновенный фундулюс *Fundulus heteroclitus* (1.5 ч воздействия) (Towle et al., 1977; Mancera, McCormick, 2000) и мозамбикская тиляпия *Oreochromis mossambicus* (3 ч воздействия) (Hwang et al., 1989).

Через 1 сут пребывания в морской воде первоначальное повышение содержания кортизола у молоди горбуши сменилось его снижением до контрольного уровня (рис. 5а). Подобный характер изменения уровня кортизола при остром стрессовом воздействии в эксперименте был описан для молоди чавычи (Maule et al., 1989): уровень кортизола достигал максимума через 4 ч после стрессового воздействия и возвращался к норме через 24 ч. Изменения солёности среды, которые воздействовали на молодь горбуши в на-

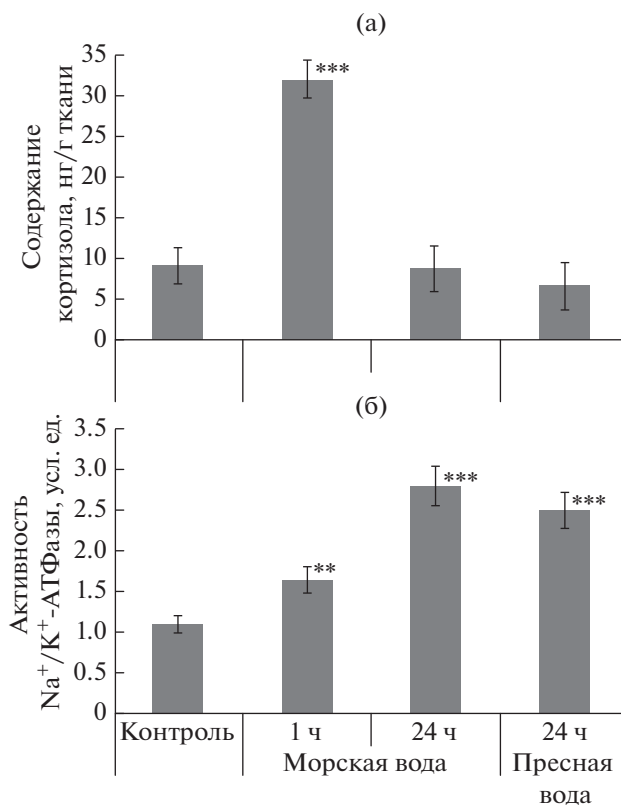


Рис. 5. Содержание кортизола (а) и активность Na^+/K^+ -АТФазы (б) у молоди горбуши *Oncorhynchus gorbusha* при адаптации к морской и пресной воде; отличия от контроля достоверны при $p: ** < 0.01, *** < 0.001$.

шем эксперименте, вызывали у рыб стрессовую реакцию (так называемый солевой стресс) и, соответственно, приводили к изменению уровня кортизола. Возвращение уровня кортизола через 24 ч после переноса молоди горбуши в морскую воду к исходным значениям является, по-видимому, нормальной физиологической реакцией, свидетельствующей о переходе острой стрессовой реакции в фазу адаптации.

В нашем эксперименте через 24 ч пребывания молоди горбуши в морской воде наблюдалось дальнейшее повышение активности НКА, что согласуется с данными, полученными ранее на мальках горбуши массой 0.2 г (Grant et al., 2010). Можно полагать, что увеличение активности НКА у мальков горбуши после 24-часовой акклимации к морской воде может быть связано с дифференциальной регуляцией изоформ этого фермента и с увеличением числа ионов. Кортизол, будучи одним из основных биохимических показателей стрессовой реакции, может участвовать в её запуске, возвращаясь в дальнейшем к исходному уровню. По этой причине считается, что уровень кортизола и степень выраженности стрессовой реакции необязательно коррелируют

друг с другом (Schreck, Tort, 2016; Magnoni et al., 2019). Возможно, именно этим объясняется отсутствие синхронности между содержанием кортизола и активностью НКА в нашем эксперименте через 24 ч экспозиции смолтов в солёной воде.

Последующий перенос мальков горбуши в пресную воду привёл через 24 ч к некоторому снижению активности НКА и уровня кортизола (на 25%). Возможно, уровень кортизола повышается только в первые минуты воздействия пресной воды, что приводит к перестройке осморегуляторных органов (Wendelaar Bonga, 1997; McCormick, 2001; Takei, McCormick, 2012). Например, при перемещении эвригалинного буропятнистого группера *Epinephelus fuscoguttatus* из морской воды (31‰) в солоноватую ($\leq 5‰$) уровень кортизола у рыб повышается до максимальных значений в первые 5 мин после перемещения, а через 2 ч он снижается до контрольных значений (Tahir et al., 2018). На разных видах рыб показано, что при стрессовых воздействиях вначале наблюдается острая реакция, которая через несколько часов проходит (Davis, McEntire, 2009).

Имеются данные, что специфическую адаптацию к пресной воде у рыб совместно с кортизолом обеспечивает гормон пролактин (McCormick, 2001; Sakamoto, McCormick, 2006). Можно предположить, что снижение активности НКА в пресной воде у молоди горбуши в нашем эксперименте было опосредовано пролактином. Например, введение пролактина уменьшало активность НКА в жабрах гипофизэктомированных фундулюсов, обитающих в пресной воде (Pickford et al., 1970).

В нашем эксперименте гибель смолтов горбуши при их переносе из пресной воды в морскую и обратно не наблюдалась, а уровень кортизола, несмотря на его повышение, находился в физиологических границах, выявленных для смолтов кеты (de Jesus, Hirano, 1992). Из этого следует, что стрессовое воздействие на рыб в данных условиях не было экстремальным, и молодь горбуши хорошо адаптирована к резким изменениям солёности. Устойчивость молоди горбуши к морской воде, по-видимому, связана с повышением активности НКА, что обеспечивает эффективное поддержание водно-солевого обмена и 100%-ную выживаемость. Результаты эксперимента свидетельствуют о готовности осморегуляторной системы горбуши, вышедшей из гнезда, к активному функционированию в морской среде. Для сравнения можно отметить, что резкое перемещение в морскую воду пестряток-годовиков кумжи, вида с поздней смолтификацией, приводит к их гибели из-за осмотического стресса (Madsen, 1990b; McCormick, 2013).

Таким образом, воздействие изменения солёности на молодь горбуши при перемещении её из пресной воды в морскую и обратно можно рассматривать как развитие стрессовой реакции, что

подтверждается данными о повышении уровня кортизола у исследуемых особей уже через 1 ч экспозиции в морской воде солёностью 25‰. При этом возрастание уровня кортизола было в физиологических границах, характерных для молоди кеты — вида сходной биологии в раннем онтогенезе. Изменения в осморегуляторной системе исследуемых рыб с участием НКА и кортизола при резких изменениях солёности среды обитания на фоне отсутствия смертности особей в проведённом эксперименте свидетельствуют об адаптивной пластичности молоди горбуши. Результаты нашего эксперимента согласуются с тем известным фактом, что смолтификация у горбуши происходит сравнительно рано, уже на стадии выхода молоди из нерестовых гнёзд.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование финансировалось из средств государственного бюджета, выделенных по темам №0218-2019-0076, 0218-2019-0081.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Елаев Н.П., Семенов Е.В. 1974. Изменение активности мембранных АТФаз мозга при воздействии холино- и адреномиметических веществ // Биохимия. Т. 39. № 3. С. 42–46.
- Bern H.A., Madsen S.S. 1992. A selective survey of the endocrine system of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with emphasis on the hormonal regulation of ion balance // Aquaculture. V. 100. № 1–3. P. 237–262. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(92\)90384-W](https://doi.org/10.1016/0044-8486(92)90384-W)
- Bernier N.J., Flik G., Klaren P.H.M. 2009. Regulation and contribution of the corticotropic, melanotropic and thyrotropic axes to the stress response in fishes // Fish Physiology. V. 28. Fish Neuroendocrinology / Eds. Bernier N.J. et al. London: Academic Press. P. 235–311. [https://doi.org/10.1016/S1546-5098\(09\)28006-X](https://doi.org/10.1016/S1546-5098(09)28006-X).
- Blanco G., Mercer R.W. 1998. Isozymes of the Na-K-ATPase: heterogeneity in structure, diversity in function // Amer. J. Physiol. Renal Physiol. V. 275. № 5. P. F633–F650. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.1998.275.5.F633>
- Bradford M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. V. 72. P. 248–254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
- Cruz S.A., Chao P.-L., Hwang P.-P. 2013. Cortisol promotes differentiation of epidermal ionocytes through Foxi3 transcription factors in zebrafish (*Danio rerio*) // Comp. Biochem. Physiol. V. 164A. № 1. P. 249–257. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2012.09.011>
- Das C., Thraya M., Vijayan M.M. 2018. Nongenomic cortisol signaling in fish // Gen. Comp. Endocrinol. V. 265. P. 121–127. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2018.04.019>
- Davis K.B., McEntire M. 2009. Comparison of the cortisol and glucose stress response to acute confinement among white bass, *Morone chrysops*, striped bass, *Morone saxatilis*,

- and sunshine bass, *Morone chrysops* X *Morone saxatilis* // J. World Aquacult. Soc. V. 40. № 4. P. 567–572.
<https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2009.00275.x>
- de Jesus E.G.T., Hirano T. 1992. Changes in whole body concentrations of cortisol, thyroid hormones, and sex steroids during early development of the chum salmon, *Oncorhynchus keta* // Gen. Comp. Endocrinol. V. 85. № 1. P. 55–61.
[https://doi.org/10.1016/0016-6480\(92\)90171-F](https://doi.org/10.1016/0016-6480(92)90171-F)
- Evans D.H., Piermarini P.M., Choe K.P. 2005. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste // Physiol. Rev. V. 85. № 1. P. 97–177.
<https://doi.org/10.1152/physrev.00050.2003>
- Folmar L.C., Dickhoff W.W. 1980. The parr-smolt transformation (smoltification) and seawater adaptation in salmonids // Aquaculture. V. 21. № 1. P. 1–37.
[https://doi.org/10.1016/0044-8486\(80\)90123-4](https://doi.org/10.1016/0044-8486(80)90123-4)
- Gallagher Z.S., Bystriansky J.S., Farrell A.P., Brauner C.J. 2013. A novel pattern of smoltification in the most anadromous salmonid: pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) // Can. J. Fish. Aquat. Sci. V. 70. № 3. P. 349–357.
<https://doi.org/10.1139/cjfas-2012-0390>
- Gorissen M., Flik G. 2016. The endocrinology of the stress response in fish: an adaptation-physiological view // Fish Physiology. V. 35. Biology of stress in fish / Eds. Schreck C.B. et al. London: Acad. Press. P. 75–111.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802728-8.00003-5>
- Grant A.M., Gardner M., Hanson L.M. et al. 2010. Early life stage salinity tolerance of wild and hatchery-reared juvenile pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha* // J. Fish Biol. V. 77. № 6. P. 1282–1292.
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2010.02747.x>
- Guh Y.-J., Lin C.-H., Hwang P.-P. 2015. Osmoregulation in zebrafish: ion transport mechanisms and functional regulation // EXCLI J. V. 14. P. 627–659.
<https://dx.doi.org/10.17179%2Fexcli2015-246>
- Guidelines for the use of fishes in research. 2014. Bethesda: Am. Fish. Soc., 90 p.
- Hauser B., Deschner T., Boesch C. 2008. Development of a liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the determination of 23 endogenous steroids in small quantities of primate urine // J. Chromatogr. V. 862B. № 1–2. P. 100–112.
<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2007.11.009>
- Hossler F.E. 1980. Gill arch of the mullet, *Mugil cephalus* III. Rate of response to salinity change // Amer. J. Physiol. V. 238. № 3. P. R160–R164.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.1980.238.3.R160>
- Hwang P.P., Sun C.M., Wu S.M. 1989. Changes of plasma osmolality, chloride concentration and gill Na-K-ATPase activity in tilapia *Oreochromis mossambicus* during seawater acclimation // Mar. Biol. V. 100. № 3. P. 295–299.
<https://doi.org/10.1007/BF00391142>
- Kahovcová J., Odavić R. 1969. A simple method for the quantitative analysis of phospholipids separated by thin layer chromatography // J. Chromatogr. V. 40. № 1. P. 90–96.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)96622-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)96622-1)
- Kiilerich P., Kristiansen K., Madsen S.S. 2007. Cortisol regulation of ion transporter mRNA in Atlantic salmon gill and the effect of salinity on the signaling pathway // J. Endocrinol. V. 194. № 2. P. 417–427.
<https://doi.org/10.1677/JOE-07-0185>
- Liao B.-K., Chen R.-D., Hwang P.-P. 2009. Expression regulation of Na⁺-K⁺-ATPase α 1-subunit subtypes in zebrafish gill ionocytes // Amer. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. V. 296. № 6. P. R1897–R1906.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00029.2009>
- Madsen S.S. 1990a. Enhanced hypoosmoregulatory response to growth hormone after cortisol treatment in immature rainbow trout, *Salmo gairdneri* // Fish Physiol. Biochem. V. 8. № 4. P. 271–279.
<https://doi.org/10.1007/BF00003422>
- Madsen S.S. 1990b. The role of cortisol and development of hypoosmoregulatory mechanisms in sea trout parr (*Salmo trutta trutta*) // Gen. Comp. Endocrinol. V. 79. № 1. P. 1–11.
[https://doi.org/10.1016/0016-6480\(90\)90082-W](https://doi.org/10.1016/0016-6480(90)90082-W)
- Madsen S.S., Kiilerich P., Tipsmark C.K. 2009. Multiplicity of expression of Na⁺, K⁺-ATPase α -subunit isoforms in the gill of Atlantic salmon (*Salmo salar*): cellular localisation and absolute quantification in response to salinity change // J. Exp. Biol. V. 212. № 1. P. 78–88.
<https://doi.org/10.1242/jeb.024612>
- Magnoni L.J., Novais S.C., Eding E. et al. 2019. Acute stress and an electrolyte-imbalanced diet, but not chronic hypoxia, increase oxidative stress and hamper innate immune status in a rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) isogenic line // Front. Physiol. V. 10. P. 453.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00453>
- Mancera J.M., McCormick S.D. 2000. Rapid activation of gill Na⁺, K⁺-ATPase in the euryhaline teleost *Fundulus heteroclitus* // J. Exp. Zool. V. 287. № 4. P. 263–274.
[https://doi.org/10.1002/1097-010X\(20000901\)287:4%3C263::AID-JEZ1%3E3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/1097-010X(20000901)287:4%3C263::AID-JEZ1%3E3.0.CO;2-I)
- Maule A.G., Tripp R.A., Kaattari S.L., Schreck C.B. 1989. Stress alters immune function and disease resistance in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) // J. Endocrinol. V. 120. № 1. P. 135–142.
<https://doi.org/10.1677/joe.0.1200135>
- McCormick S.D. 2001. Endocrine control of osmoregulation in teleost fish // Amer. Zoologist. V. 41. № 4. P. 781–794.
<https://doi.org/10.1093/icb/41.4.781>
- McCormick S.D. 2013. Smolt physiology and endocrinology // Euryhaline fishes / Eds. McCormick S.D. et al. Oxford: Acad. Press. P. 199–251.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396951-4.00005-0>
- McCormick S.D., Saunders R.L. 1987. Preparatory physiological adaptations for marine life of salmonids: osmoregulation, growth, and metabolism // Amer. Fish. Soc. Symp. V. 1. P. 211–229.
- McCormick S.D., Regish A.M., Christensen A.K. 2009. Distinct freshwater and seawater isoforms of Na⁺/K⁺-ATPase in gill chloride cells of Atlantic salmon // J. Exp. Biol. V. 212. № 24. P. 3994–4001.
<https://doi.org/10.1242/jeb.037275>
- Mommsen T.P., Vijayan M.M., Moon T.W. 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation // Rev. Fish Biol. Fish. V. 9. № 3. P. 211–268.
<https://doi.org/10.1023/A:1008924418720>
- Pickford G.E., Griffith R.W., Torretti J. et al. 1970. Branchial reduction and renal stimulation of (Na⁺, K⁺)-ATPase by prolactin in hypophysectomized killifish in fresh water //

- Nature. V. 228. № 5269. P. 378–379.
<https://doi.org/10.1038/228378a0>
- Richards J.G., Semple J.W., Bystriansky J.S., Schulte P.M. 2003. Na⁺/K⁺-ATPase α -isoform switching in gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during salinity transfer // J. Exp. Biol. V. 206. Pt. 24. P. 4475–4486.
<https://doi.org/10.1242/jeb.00701>
- Sackville M., Wilson J.M., Farrell A.P., Brauner C.J. 2012. Water balance trumps ion balance for early marine survival of juvenile pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) // J. Comp. Physiol. V. 182B. № 6. P. 781–792.
<https://doi.org/10.1007/s00360-012-0660-0>
- Sakamoto T., McCormick S.D. 2006. Prolactin and growth hormone in fish osmoregulation // Gen. Comp. Endocrinol. V. 147. № 1. P. 24–30.
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2005.10.008>
- Schreck C.B., Tort L. 2016. The concept of stress in fish // Fish Physiology. V. 35. Biology of stress in fish / Eds. Schreck C.B. et al. London: Acad. Press. P. 1–34.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802728-8.00001-1>
- Sturm A., Bury N., Dengreville L. et al. 2005. 11-Deoxycorticosterone is a potent agonist of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) mineralocorticoid receptor // Endocrinology. V. 146. № 1. P. 47–55.
<https://doi.org/10.1210/en.2004-0128>
- Sullivan C.V., Brewer S.D., Johnston G.P., Dickhoff W.W. 1983. Plasma thyroid-hormone concentrations and gill (Na + K)-ATPase activities in postemergent pink salmon // Trans. Am. Fish. Soc. V. 112. № 6. P. 825–829.
[https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1983\)112<825:PTCAGN>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1983)112<825:PTCAGN>2.0.CO;2)
- Tahir D., Shariff M., Syukri F., Yusoff F.M. 2018. Serum cortisol level and survival rate of juvenile *Epinephelus fuscoguttatus* following exposure to different salinities // Vet. World. V. 11. № 3. P. 327–331.
<https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.327-331>
- Takei Y., McCormick S.D. 2012. Hormonal control of fish euryhalinity // Euryhaline fishes / Eds. McCormick S.D. et al. Oxford: Acad. Press. P. 69–123.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396951-4.00003-7>
- Takei Y., Hiroi J., Takahashi H., Sakamoto T. 2014. Diverse mechanisms for body fluid regulation in teleost fishes // Amer. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. V. 307. № 7. P. R778–R792.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00104.2014>
- Towle D.W., Gilman M.E., Hempel J.D. 1977. Rapid modulation of gill Na⁺ + K⁺-dependent ATPase activity during acclimation of the killifish *Fundulus heteroclitus* to salinity change // J. Exp. Zool. V. 202. № 2. P. 179–185.
<https://doi.org/10.1002/jez.1402020206>
- Varsamos S., Nebel C., Charmantier G. 2005. Ontogeny of osmoregulation in postembryonic fish: a review // Comp. Biochem. Physiol. V. 141A. № 4. P. 401–429.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2005.01.013>
- Wendelaar Bonga S.E. 1997. The stress response in fish // Physiol. Rev. V. 77. № 3. P. 591–625.
<https://doi.org/10.1152/physrev.1997.77.3.591>
- Wong C., Chan D. 2001. Effects of cortisol on chloride cells in the gill epithelium of Japanese eel, *Anguilla japonica* // J. Endocrinol. V. 168. № 1. P. 185–192.
<https://doi.org/10.1677/joe.0.1680185>
- Yan J.-J., Hwang P.-P. 2019. Novel discoveries in acid-base regulation and osmoregulation: a review of selected hormonal actions in zebrafish and medaka // Gen. Comp. Endocrinol. V. 277. P. 20–29.
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2019.03.007>