

盐度对褐牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 幼鱼血浆渗透压和鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力的影响*

潘鲁青 唐贤明 刘泓宇 田景波

(中国海洋大学 海水养殖教育部重点实验室 青岛 266003)

(中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071)

提要 采用微型冰点渗透压仪和酶学分析的方法测定了褐牙鲆幼鱼由盐度 30 向低盐 (24、18、12、6) 适应过程中血浆渗透压和鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力的变化。结果表明, 盐度对褐牙鲆幼鱼血浆渗透压和鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力都有显著的影响 ($P < 0.05$)。盐度变化后, 各实验组褐牙鲆血浆渗透压、鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力均呈现出不同程度的下降趋势, 且随着盐度变化的增加而增大。在 6d 内, 盐度为 18、12 和 6 实验组血浆渗透压呈峰值变化, 在 3d 时达到最小值; 6d 后, 各实验组血浆渗透压趋于稳定; 而鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力在 6d 时达到最小值, 9d 后, 各实验组褐牙鲆鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力基本趋于稳定状态, 而且在高渗环境 ($S > 14.97$) 中鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力与外界盐度大小呈正比, 在低渗环境 ($S < 14.97$) 中与盐度呈反比。褐牙鲆幼鱼的等渗点盐度为 14.97, 等渗压为 425.8 mOsm/kg。

关键词 盐度, 褐牙鲆, 血浆渗透压, 鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$

中图分类号 S965

许多学者研究认为, 在自然环境中鱼类正常生理状态的内环境渗透压一般稳定在一个很窄的范围内, 相当于盐度为 10—15 的渗透浓度, 与外界水环境往往有很大的差别 (Holmes *et al.* 1969, Brett 1979)。国内外在鱼类的渗透调节方面已有许多相关的报道, 大多以鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 、血浆渗透压和离子浓度等作为评价鱼类渗透调节的指标, 并认为鱼类的鳃、肾脏在维持机体的渗透平衡及内环境的稳定上具有重要的作用 (Beyenbach *et al.* 1993, 林浩然, 1999)。由于鱼类种类繁多, 生活环境各异, 在鱼类渗透调节机制方面仍然存在着很大的分歧 (Hwang *et al.* 1989, Ramao *et al.* 2001, Van *et al.* 1997, Scott *et al.* 1999)。褐牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 是我国鲆鲽类集约化养殖的主要种类 (王伟等, 2004), 目前主要以海水、地下井水进行养殖, 而国内外有关其渗透调节的研究尚未见报道。作

者主要从血浆渗透压和鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 角度, 探讨了褐牙鲆的渗透调节机理, 这不仅为鲆鲽鱼类渗透生理的研究奠定了理论基础, 也为褐牙鲆养殖水环境调控提供了科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用褐牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 幼鱼于 2003 年 4 月购于威海海信海珍品养殖公司, 体色正常, 健康活泼, 全长 (10.98 ± 0.85) cm, 体重为 (11.90 ± 3.38) g。实验前暂养驯化 20d, 实验用水为青岛沿海的自然海水, 盐度为 30, pH 为 8.2, 温度为 (18 ± 0.5) °C, 连续充气, 日换水率 100%, 并投喂升索牌专用颗粒配合饲料 (山东升索渔用饲料研究中心生产), 日投饵量为幼鱼体重的 3%—4%。

1.2 实验梯度的设置

实验盐度设置为 30、24、18、12 和 6 五个梯

* 中国水产科学研究院基金项目, 1999-02-01 号; 中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室开放课题资助项目, 200415 号; 胜利油田管理局横向课题, 2005-7 号。潘鲁青, 博士, 教授, E-mail panlq@ouc.edu.cn

收稿日期: 2004-09-05 收修改稿日期: 2004-12-30

度。实验时,将暂养在盐度为 30海水中的褐牙鲆幼鱼分别放到 24、18、12、6中,各盐度梯度采用经曝气的自来水来调节;实验在 50cm × 40cm × 30cm 的塑料水槽内进行,各水槽分别放幼鱼 20尾,每个梯度设三个平行组,盐度 30的为对照组。实验期间的养殖管理与暂养期间的完全相同,换水时分别加入相对应盐度的养殖用水,实验期间幼鱼无死亡现象。实验的取样时间为 0h、12h、24h、3d、6d、9d、12d,每个水槽随机选取 2尾幼鱼,取血液和两侧鳃丝。

1.3 褐牙鲆血液样品的制备和渗透压的测定

用 1ml注射器(经冷却和肝素润洗)从褐牙鲆尾静脉插入抽取血液,血液抽出后立即置于 1.5ml离心管中,在高速冷冻离心机(0—1℃, 10000r/min)中离心 7min,吸取上清液,采用 Fiske210微型冰点渗透压仪测定渗透压。

1.4 褐牙鲆鳃丝 Na⁺-K⁺-ATPase活力的测定

1.4.1 酶液的制备 取褐牙鲆幼鱼的两侧鳃丝,用预冷蒸馏水(0—4℃)洗净、滤纸吸干后置于 10ml冰冷酶提取液(0.25mmol/L蔗糖, 6mmol/L EDTA-Na₂, 10mmol/L Tris, 0.1%脱氧胆酸钠, pH 7.5)中,用高速匀浆器在冰水浴中以 20000r/min转速匀浆 5min,匀浆液在高速冷冻离心机(0—1℃, 10000r/min)中离心 30min,取上清液再离心 10min,将所得上清液冷藏(0—2℃)保存,在 8h内测定 Na⁺-K⁺-ATPase活力。

1.4.2 Na⁺-K⁺-ATPase活力的测定 酶蛋白含量采用 Bradford(1976)方法测定。Na⁺-K⁺-ATPase活力测定参考 Whealy等(1987)的方法,通过测定全酶反应体系和 Na⁺-K⁺-ATPase活力

被抑制反应体系中底物 ATP-Na₂ 释放出无机磷(Pi)量的差值来计算,酶活力单位采用微摩尔无机磷/毫克蛋白/小时(μmolPi/mgpr•h)表示。

全酶反应体系为 0.1ml酶液 + 0.2ml A液(180mmol/L NaCl, 30mmol/L KCl, 6mmol/L MgCl₂, 40mmol/L Tris-HCl, pH 7.8); Na⁺-K⁺-ATPase活力被抑制反应体系为 0.1ml酶液 + 0.2ml B液(210mmol/L NaCl, 2.5mmol/L 乌本苷, 6mmol/L MgCl₂, 40mmol/L Tris-HCl, pH 7.8)。将上述两反应体系置于 30℃水浴中温浴 5min后,分别加入 0.4ml底物溶液(6mmol/L ATP-Na₂, 50mmol/L Tris-HCl, pH 7.8)并继续温浴 30min后,立即加入 0.1ml的 30%冷三氯乙酸(TCA)终止反应,用钼蓝法(Fisk et al 1925)测定两反应体系的 Pi释放量。

1.5 数据处理与分析

所得数据为 3个平行组数据的平均值 ±标准差(Means ±SE);所有数据分析均采用单因素方差分析(One-factor analysis of variance)和 Duncan检验法。

2 实验结果

2.1 盐度对褐牙鲆幼鱼血浆渗透压的影响

由表 1可知,盐度对褐牙鲆幼鱼血浆渗透压具有显著的影响(P < 0.05),血浆渗透压表现出随盐度的下降而下降的趋势。盐度变化后,各实验组褐牙鲆血浆渗透压呈现出不同程度的下降趋势,且随着盐度变化的增加而增大;在 6d内,盐度为 18、12和 6实验组血浆渗透压呈峰值变化,在 3d时达到最小值,6d后,各实验组血浆渗透压趋于稳定。

表 1 盐度对褐牙鲆幼鱼血浆渗透压 (mOsm/kg)的影响
Tab. 1 The effect of different salinities on plasma osmotic pressure (mOsm/kg) of juvenile Japanese flounder

时间 (d)	盐 度				
	30	24	18	12	6
0	449.2 ± 7.5 ^{a/A}	449.2 ± 7.5 ^{a/A}	449.2 ± 7.5 ^{a/A}	449.2 ± 7.5 ^{a/A}	449.2 ± 7.5 ^{a/A}
0.5	441.5 ± 6.3 ^{a/A}	449.0 ± 15.6 ^{a/A}	426.5 ± 4.9 ^{b/B}	429.5 ± 26.9 ^{b/B}	395.0 ± 21.2 ^{b/C}
1	442.0 ± 5.7 ^{a/A}	445.0 ± 7.5 ^{a/A}	428.0 ± 1.4 ^{b/B}	414.8 ± 13.8 ^{c/C}	386.0 ± 33.9 ^{c/D}
3	450.0 ± 28.5 ^{a/A}	440.7 ± 4.2 ^{a/b/A}	404.2 ± 52.1 ^{c/B}	399.0 ± 25.5 ^{d/B}	352.7 ± 23.1 ^{d/C}
6	459.0 ± 24.0 ^{a/A}	431.5 ± 20.5 ^{b/B}	419.0 ± 9.0 ^{c/B/C}	425.8 ± 30.8 ^{b/C}	395.0 ± 4.2 ^{b/c/D}
9	454.0 ± 18.0 ^{a/A}	436.0 ± 6.4 ^{b/B}	424.0 ± 10.2 ^{c/B/C}	426.0 ± 7.8 ^{b/C}	405.0 ± 13.5 ^{b/D}
12	435.5 ± 22.6 ^{a/A}	437.5 ± 2.1 ^{b/B}	426.5 ± 30.1 ^{c/C}	425.0 ± 22.6 ^{b/C}	414.3 ± 6.8 ^{b/D}

注:数据右上角的小写字母表示同一处理下不同时间对渗透压的影响,数据右上角的大写字母表示不同处理在同一时间下对渗透压的影响,具有相同字母的数据表示差异不显著(P > 0.05)

由图 1 看出, 选取盐度变化 12d 时, 各实验组血浆渗透压处于稳定状态的数值作图。褐牙鲆血浆渗透压曲线与海水渗透压标准曲线的交点即为褐牙鲆幼鱼的等渗点, 此时海水盐度为 14.97, 渗透压为 425.8 mOsm/kg

2.2 盐度对褐牙鲆幼鱼鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力的影响

表 2 表明, 盐度对褐牙鲆鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力有显著的影响 ($P < 0.05$)。在盐度变化 9d 内, 各实验组鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力呈现峰值变化, 在 6d 时达到最小值; 9d 后, 各实验组褐牙鲆鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力基本趋于稳定状态, 而且在高渗环境 ($S > 14.97$) 中鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力与外界盐度大小呈正比, 在低渗环境 ($S < 14.97$) 中与盐度呈反比。

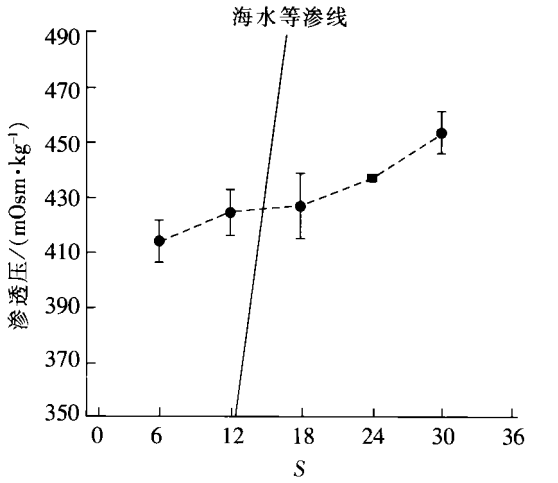


图 1 第 12 天时, 不同盐度下褐牙鲆幼鱼血浆渗透压
Fig 1 At Day 12, the plasma osmolality of Japanese flounder in different salinities

表 2 盐度对褐牙鲆幼鱼鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力 ($\mu\text{molPi/mgpr} \cdot \text{h}$) 的影响
Tab. 2 The effect of salinities on $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activity ($\mu\text{molPi/mgpr} \cdot \text{h}$) of juvenile Japanese flounder

时间 (d)	盐 度				
	30	24	18	12	6
0	$1.11 \pm 0.12^{a/A}$	$1.11 \pm 0.12^{a/A}$	$1.11 \pm 0.12^{a/A}$	$1.11 \pm 0.12^{a/A}$	$1.11 \pm 0.12^{a/A}$
0.5	$1.03 \pm 0.35^{a/A}$	$1.10 \pm 0.15^{a/A}$	$0.94 \pm 0.52^{a/A}$	$0.96 \pm 0.62^{a/A}$	$0.98 \pm 0.05^{b/A}$
1	$1.11 \pm 0.37^{a/A}$	$1.07 \pm 0.13^{a/A}$	$0.93 \pm 0.36^{a/B}$	$0.85 \pm 0.15^{b/C}$	$0.80 \pm 0.14^{c/C}$
3	$1.11 \pm 0.77^{a/A}$	$1.04 \pm 0.12^{a/A}$	$0.85 \pm 0.23^{b/B}$	$0.71 \pm 0.18^{c/C}$	$0.52 \pm 0.06^{d/D}$
6	$1.01 \pm 0.28^{a/A}$	$0.82 \pm 0.19^{b/B}$	$0.60 \pm 0.13^{c/C}$	$0.61 \pm 0.47^{c/C}$	$0.46 \pm 0.12^{d/D}$
9	$1.11 \pm 0.38^{a/A}$	$1.05 \pm 0.39^{a/A}$	$0.76 \pm 0.11^{b/B}$	$0.84 \pm 0.41^{b/B}$	$0.91 \pm 0.28^{c/B}$
12	$1.11 \pm 0.26^{a/A}$	$1.04 \pm 0.13^{a/A}$	$0.77 \pm 0.00^{b/B}$	$0.87 \pm 0.11^{b/C}$	$0.92 \pm 0.29^{a/C}$

注: 数据右上角的小写字母表示同一处理下不同时间对渗透压的影响, 数据右上角的大写字母表示不同处理在同一时间下对渗透压的影响, 具有相同字母的数据表示差异不显著 ($P > 0.05$)

3 讨论

3.1 盐度对褐牙鲆幼鱼血浆渗透压的影响

鱼类对盐度的适应过程, 许多学者已经进行过一些相关的研究, 从 Gavin 等 (2002) 对黑棘鲷 (*Acanthopagrus butcheri*)、Ilhan 等 (1998) 对墨西哥湾鲷 (*Acapenser oxyrinchus desotoi*)、Van 等 (1999) 对鲤鱼 (*Cyprinus carpio*) 以及 Handeland 等 (2003) 对大西洋鲑 (*Salmo salar*) 的研究可以看出, 这一过程主要分为两个阶段: 一是盐度变化后短期内, 鱼类血浆渗透压呈迅速下降的趋势, 这一变化随即刺激鱼机体渗透调节生理机制的改变; 二是渗透压向变化前状态的逐渐恢复的过程。在本实验中褐牙鲆幼鱼这个渗透适应过

程表现得非常明显, 在盐度突变 3d 内基本上是褐牙鲆被动的对外界环境进行适应的阶段, 而后期在进行了一系列生理调节后, 开始对渗透压进行主动性的恢复, 在 6d 时, 各处理组褐牙鲆血浆渗透压开始处于稳定状态, 这说明褐牙鲆对盐度的适应能力是非常强的; 同时在实验过程中, 各实验组褐牙鲆表现出良好的摄食和活跃程度也说明了这一点。对于鱼类渗透压变化的程度和恢复所需要的时间, 受种间差异、盐度变化范围的大小、水环境温度以及个体大小的影响, 如墨西哥湾鲷 (Ilhan *et al.* 1998), 由淡水向盐度 25 突变后 24h 即开始渗透压的恢复, 而 96h 后渗透压基本达到稳定状态, 大个体表现出比小个体有更

好的适应性,渗透压变化程度明显比小个体小。黑棘鲷 (Gavin *et al.* 2002) 由盐度 36 变化至 12、24、48、60, 3 个月后盐度 12、24、48 组即处于稳定状态, 而盐度为 6 处理组在 6 个月时才恢复。

真骨鱼类能够调节体内液体环境的离子浓度使之维持在一个很小的范围内 (Van *et al.* 1999), 广盐性鱼类在这方面表现得尤为明显。通常不同种类对内环境渗透压变化范围的要求略有不同, 但普遍符合血浆渗透压与盐度之间呈正相关这一关系, 本实验结果即是如此。前人对鲤鱼 (Van *et al.* 1999)、大西洋鲑 (Handeland *et al.* 2003)、黑棘鲷 (Gavin *et al.* 2002)、墨西哥湾鲷 (Ilhan *et al.* 1998) 的研究亦支持这一结论。

3.2 盐度对褐牙鲆幼鱼鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力的影响

对于盐度对鱼类鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力的影响, 近年来许多学者对银鲑 (*Oncorhynchus kisutch*)、*Fundulus heteroclitus*、河豚鱼 (*Cyprinodon salinus*) 等诸多种类上已做了大量的研究, 认为盐度对鱼类鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力有着显著的影响 (Hwang *et al.* 1989, Madsen *et al.* 1996), 且大多认为在等渗点鱼类鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力有一个最低值。而与此不同的是, Romao 等 (2001) 研究认为, 多鳍南极鱼 (*Notothenia negleei*) 由自然海水 (盐度 34—35) 过渡到半海水 (盐度 17), 在短期 (6h) 和长期 (10d) 后鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力没有显著的变化; Van 等 (1997) 和 Scott 等 (1999) 亦认为, 盐度对鱼类鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力无显著的影响。本实验结果与前者相似, 即盐度对褐牙鲆鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力表现出显著的影响, 各盐度的褐牙鲆鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力最后都达到相对稳定的值, 并且在高渗环境 ($S > 14.97$) 中鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力与外界盐度大小呈正比, 在低渗环境 ($S < 14.97$) 中与盐度呈反比。之所以出现这些不同的结论, 主要在于不同鱼类的渗透调节能力和调节方式有着不同甚至是很大的种间差异; 而影响鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力的外界环境因子亦起着关键性的作用, 如 Handeland 等 (2003) 对大西洋鲑 (*Salmo salar*) 以及 Scott 等 (1999) 对黑鲷 (*Myliomacrophalus*) 幼鱼的研究, 分别认为温度、摄食水平对鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力能够产生很大的影响。另外, 鱼类的渗透调节机制比较复杂, 除了鳃外, 肾、肠和膀胱等器官都是对内环

境稳定起着重要的作用 (Beyenbach *et al.* 1993, 林浩然, 1999)。

3.3 盐度对褐牙鲆幼鱼血浆渗透压和鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力的影响机制

众所周知, 鱼类渗透调节过程中离子的排出主要是由氯细胞完成的, 而氯细胞中 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 起着重要的作用。本实验结果表明, 在褐牙鲆对盐度的适应过程中, 鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 的变化与血浆渗透压的变化相比具有明显的滞后性, 这说明褐牙鲆的渗透调节并不是完全由鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 来完成的, 还有其他器官对渗透压进行调节。褐牙鲆向低盐环境适应的过程中, 血浆渗透压的变化是被动和主动结合的一个过程, 在短期 (几个小时) 内主要是鱼体与外界环境之间的水盐交换发生改变所致, 表现为鱼体吸收水分引起体重的增加; 但在长时间内 (几天), 鱼通过主动进行渗透调节, 逐渐改变这种不平衡的状态, 除了鳃的改变、减少或停止吞饮水、体表皮肤结构的变化外, 肾脏起着重要的作用如肾小球滤过率增大, 肾小管对水的渗透性降低, 从而减小对水分的重吸收, 排出稀薄的尿液等 (林浩然, 1999)。盐度对鱼类鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力的影响是鱼类对外界环境进行自主适应的一种生理上的表现, 其影响的原理与内分泌系统有着重要的联系, 可能是受到某种或某些激素 (生长激素、皮质醇、胰岛素样生长因子) 的控制 (Thomas *et al.* 2003)。

3.4 鱼类的等渗点及其在水产养殖上的意义

本实验结果表明, 褐牙鲆幼鱼的等渗点的盐度为 14.97, 等渗压为 425.8 mOsm/kg。不同的鱼类或是同一种类由于生活的水环境盐度、温度的不同以及个体大小的不同, 血浆渗透压范围有很大的差别, 故等渗点也有所不同。国内外有关盐度对鱼类生长的影响进行了详细的研究, 认为鱼类 (特别是广盐性鱼类) 一般有一个最适的生长盐度范围。而这个最适生长盐度与等渗点有着非常密切的关系, 人们普遍认为, 鱼类在接近于或稍高于等渗点的海水中, 鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 表现出较低的活力 (Renzis *et al.* 1984, Gaumet *et al.* 1995), 这在能量代谢上有很大的作用 (Kuhlmann *et al.* 1980, Febry *et al.* 1987, Gaumet *et al.* 1995), 在高于等渗点的高渗环境和低于等渗点的低渗环境, 鱼机体必须消耗一定的能量来维持水盐平衡, 这直接影响到营养分配和饵料的

利用效率。在养殖水环境的选择上考虑到这一点, 对于鱼类养殖的水环境调控具有非常重要的意义。

参 考 文 献

- 王伟, 尤 锋, 高天翔等, 2004. 山东近海牙鲈 (*Paralichthys olivaceus*) 自然和养殖群体 10 个微卫星基因座位的遗传多态性分析. 海洋与湖沼, 35 (6): 530—537
- 林浩然, 1999. 鱼类生理学. 广州: 广东教育出版社, 109—145
- 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, 72: 248—254
- Brett J R, 1979. Environmental Factors and Growth. In: Hoar W S, Randall D J ed. Fish Physiology, Vol 8. Academic Press, New York, 599—675
- Beyenbach K W, Freire C A, Kinner K H *et al.*, 1993. Epithelial transport of magnesium in the kidney of fish. Mineral and electrolyte Metabolism, 19: 241—249
- Febry R, Lutz P, 1987. Energy partitioning in fish: the activity-related cost of osmoregulation in euryhaline cichlid. J Exp Biol, 128: 63—65
- Fisk C H, SubbaRow Y, 1925. The colorimetric determination of phosphorus. J Biol Chem, 66: 375—400
- Gaumet E, Boeuf G, Sévère A *et al.*, 1995. Effects of salinity of the ionic balance and growth of juvenile turbot. J Fish Biol, 47: 865—867
- Gavin J Partridge, Greg I Jenkins, 2002. The effect of salinity on growth and survival of juvenile black bream (*Acanthopagrus butcheri*). Aquaculture, 210: 219—230
- Handeland S O, Björnsson B T, Arnesen A M *et al.*, 2003. Seawater adaptation and growth of post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*) of wild and farmed strains. Aquaculture, 220: 367—384
- Hwang P P, Sun C M, Wu S M *et al.*, 1989. Changes of plasma osmolality, chloride concentration and gill $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activity in tilapia *Oreochromis mossambicus* during seawater acclimation. Mar Biol, 100: 295—299
- Holmes W N, Donaldson E M, 1969. The Body Compartments and the Distribution of Electrolytes. In: Hoar W S, Randall D J ed. Fish, Vol. 1. Academic Press, New York, 275—343
- Ihlan Akinok, Sara M Galli, Frank A Chapman, 1998. Ionic and osmotic regulation capabilities of juvenile Gulf of Mexico sturgeon, *Acipenser oxyrinchus desotoi*. Comp Bio and Physiology Part A, 120: 609—616
- Kuhmann D, Quantz G, 1980. Some effects of temperature and salinity on the embryonic development in incubation time of the turbot *Scophthalmus maximus* L., from the Baltic Sea. Rep Mar Res, 28 (2—3): 172—178
- Madsen S S, Larsen B K, Jensen F B, 1996. Effects of freshwater to seawater transfer on osmoregulation, acid-base balance and respiration in river migration whitefish (*Coregonus lavaretus*). Journal of Comparative Physiology, 166B: 101—109
- Renzis De G, Bomancin M, 1984. Ion Transport and Gill ATPases. In: Hoar W S, Randall D J ed. Fish Physiology, Ion and Water Transport, Vol 10B. Academic Press, New York, 65—104
- Romão S, Freire C A, Fanta E, 2001. Ionic regulation and $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activity in gills and kidney of the Antarctic agglomerular cod icefish exposed to dilute seawater. Journal of Fish Biology, 59: 463—468
- Scott P Kelly, Ian N K Chow, Norman Y S Woo, 1999. Alterations in $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activity and gill chloride cell morphometrics of juvenile black sea bream (*Myllo macrocephalus*) in response to salinity and ration size. Aquaculture, 172: 351—367
- Thomas D, Singer R, Bengt Finstad *et al.*, 2003. Interactive effects of cortisol treatment and salmon smolts. Aquaculture, 222: 15—28
- Van der Heijden A J H, Verboost P M, Eygensteyn J *et al.*, 1997. Mitochondria-rich cells in gills of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) adapted to fresh water or seawater: quantification by confocal laser scanning microscopy. The Journal of Experimental Biology, 200: 55—64
- Van der Linden A, Vanaudenhove M, Verhoye M *et al.*, 1999. Osmoregulation of the common carp (*Cyprinus carpio*) when exposed to an osmotic challenge assessed *in vivo* and noninvasively by diffusion- and T_2 -weighted magnetic resonance imaging. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A, 124: 343—352
- Wheatly M G, Hentry R P, 1987. Branchial and antennal $\text{Na}^+ / \text{K}^+ - \text{ATPase}$ and carbonic anhydrase activity during salinity acclimation of the euryhaline crayfish *Pacifastacus leniusculus*. J Exp Biol, 133: 73—86

EFFECTS OF SALINITY ON PLASMA OSMOLALITY AND GILL $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ ACTIVITY OF JUVENILE JAPANESE FLOUNDER *PARALICHTHYS OLIVACEUS*

PAN Lu-Qing TANG Xian-Ming LU Hong-Yu TIAN Jing-Bo

(The Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao, 266003)

(Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao, 266071)

Abstract Changes in plasma osmolality and gill $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activity of juvenile Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) were studied in enzymology analysis at an abrupt change in salinity from 30 to 6 (at decrement of 6). The experiment was conducted in $50\text{m}^3 \times 30\text{m}^3 \times 40\text{m}^3$ plastic tanks, each contained 50L water. The sizes and weights of juvenile Japanese flounder were at $(10.98 \pm 0.85)\text{cm}$ and $(11.90 \pm 3.38)\text{g}$ respectively at the experimental condition of pH 8.2 and temperature $(18 \pm 0.5)^\circ\text{C}$. The salinity was adjusted by well-exposed tap water. Constant aeration was provided. Complete water exchange at the same temperature was conducted daily with the residual feed, excrement and dead animals removed. Daily bait was fed at 3% — 4% of the body weight. Each treatment tank contained 20 fish and triplicated. The control treatment was set in the salinity of 30. Sampling was conducted at 0h, 12h, 24h, 3d, 6d, 9d and 12d since the beginning. Samples were then stored at -20°C until enzymes were assayed. The results suggest that effects of the salinity on plasma osmolality and activity of gill $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ of the fish was significant ($P < 0.05$). Upon the salinity reduction, both plasma osmolality and gill $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activity showed slowly down trends. In overall, the bigger the salinity dropped, the more remarked trend appeared. In 6 days, peak values of plasma osmolality appeared at the salinity of 18, 12 and 6, and trough value appeared on the third day. 6 days after the experiment start, the plasma osmolality in every group reached their own stable state, and the enzyme activity dipped to the lowest level then resumed slowly to their previous level. At the end of the experiment, the $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activity in every group stabilized. The $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activity of gill showed a positive correlation to the salinity in hyperosmotic environment ($S > 14.97$), while a multiple correlation to the salinity in hypotonic environment ($S < 14.97$). The isosmotic point of flounder was at salinity of 14.97 (isosmotic pressure 425.8mOsm/kg). The juvenile Japanese flounder had a great capability of acclimatize to a low salinity setting. The acclimatization had closely relation to the time but independent of salinity. Changes in $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activity of gill (9d) was evidently lagged to the changes in plasma osmolality (6d), indicating that the osmoregulation of the flounder was not fully controlled by $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activity in gill, some other organs such as kidney may have contributed. It is proposed that the acclimatization could consist of two phases. Phase I: short time after salinity change, the plasma osmolality declined rapidly, triggering the change in organism osmoregulation. Phase II: the plasma osmolality reverted to the level before salinity change. In a short term of a few hours, the plasma osmolality was regulated by water-salt exchange between internal and external systems. The increase in weight was because of the absorption of water. While in a long term of several days, the flounder could regulate osmolality actively to adjust the imbalance by reducing or stopping water adsorption, and changing skin structure, etc., among which kidney played a significant role.

Key words Salinity *Paralichthys olivaceus*, Plasma osmolality, Gill $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$