

文章编号:1000-0615(2009)01-0070-08

越冬期饥饿对河川沙塘鳢雌鱼卵巢发育的影响

赵晓勤^{1,2}, 陈立侨¹, 顾志敏³, 李二超¹, 姚茜¹

(1. 华东师范大学生命科学学院, 上海 200062;

2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

3. 浙江省淡水水产研究所, 浙江 湖州 313001)

摘要:以投喂鲜活中华米虾(*Cardina sinensis*)作为正常对照,对处于越冬期的雌性河川沙塘鳢(*Odontobutis potamophila*)进行了为期一个月的饥饿试验。至试验结束时,与对照组相比,饥饿组鱼的体重、肝体指数发生了显著($P < 0.05$)和极显著的下降($P < 0.01$);卵巢内可供继续发育形成成熟卵子的3时相中、后期卵母细胞数量骤减,卵巢整体发育程度仅到达Ⅲ期,滞后于正常投喂组的Ⅳ期卵巢,提示饥饿对越冬雌性亲鱼的性腺发育造成了不良影响。试验同时发现,饥饿组的性腺指数在28 d内未发生显著变化($P > 0.05$);饥饿组卵巢中卵黄脂磷蛋白的含量、肝脏中卵黄蛋白原的基因表达量及血清中的卵黄蛋白原含量都呈现出先降后升的变化趋势,其中前两项指标在28 d时分别回升到了(14.31 ± 1.11) $\mu\text{g}/\text{mg}$ 和 2081.08 ± 124.86 的水平,与对照组已无显著差异($P > 0.05$);组织切片观察发现,饥饿组卵巢中退化卵子的卵黄崩解产物被重吸收,细胞质中只剩余大量小泡。研究结果提示,饥饿状态下雌性河川沙塘鳢体内可能启动了一种性腺发育补偿机制,且该机制有多种表现形式,能使机体通过消耗自身贮能来保证子代繁殖任务的完成。

关键词:河川沙塘鳢;饥饿;卵巢发育;越冬期

中图分类号:Q 579.1; S 917

文献标识码:A

饥饿是普遍存在于大多数鱼类生命过程中的一种胁迫状态,并以其对生命活动诸多环节产生的影响而备受关注^[1-2]。较之近年来聚焦颇多的仔稚幼鱼饥饿生长生理领域,有关鱼类饥饿繁殖生理方面的研究相对较少^[3-8],而其中涉及淡水种类报道更为匮乏^[9]。已有的研究主要偏重于对一些终点指标如产卵次数、产卵量、卵径值和卵巢发育程度的测定,以阐明饥饿胁迫对繁殖造成的不良后果,而对于亲体在饥饿状态下自身的动态变化及其内在机制的探索则很少涉及。

河川沙塘鳢(*Odontobutis potamophila*)隶属虾虎鱼亚目、塘鳢科,在我国分布于长江、钱塘江和闽江等水系,为一种淡水小型底栖肉食性鱼类,以其肉嫩味美在江、浙、沪一带深受欢迎,具有广阔的开发利用前景。但是目前人工试养的沙塘鳢尚

存在亲本越冬成活率低,群体成熟同步性差等亟待突破的问题。

本研究以投喂鲜活中华米虾(*Cardina sinensis*)作为正常对照,对处于越冬期的雌性河川沙塘鳢进行了为期一个月的饥饿试验,籍以探讨一系列与卵巢发育密切相关的指标在饥饿状态下的变化规律,旨在为河川沙塘鳢人工养殖难点的解决提供理论支持,同时也为淡水鱼类饥饿繁殖生理的进一步研究积累资料。

1 材料与方法

1.1 实验动物

实验动物系浙江省淡水水产研究所用2005年3月自南太湖捕获的野生河川沙塘鳢亲鱼,于该所养殖基地池塘中自然交配孵化的当年0龄幼

收稿日期:2007-10-26

修回日期:2008-01-19

资助项目:浙江省重点科研农业项目资助(2004C22020)

通讯作者:陈立侨, Tel: 021-62233637, E-mail: lqchen@bio.ecnu.edu.cn

鱼。实验鱼取回后,先在华东师范大学水生动物养殖室的循环水池内暂养两周。期间每天投喂 2 次鲜活中华米虾至饱食状态。暂养与饥饿试验期间均采用自然水温,温度范围 4 ~ 10 °C, 试验用充分曝气后的自来水。

1.2 实验方法

选取平均体长(6.41 ± 0.23) cm、平均体重(3.44 ± 0.54) g 的健康雌鱼 240 尾,分为试验和对照两个处理组。对照组每日饲以饱食量的鲜活中华米虾,饥饿组则不投喂任何食物,直至实验结束。实验用鱼随机抽取后以每箱 10 尾的密度放入 24 个无毒聚乙烯塑料箱中。每箱规格均为 50 cm × 38 cm × 25 cm,盛水 34 L,水深 18 cm。每组设三平行,每个平行 40 尾。

1.3 取样

实验于 2005 年 12 月 - 2006 年 1 月进行,为时一个月。分别于 0 d、3 d、7 d、14 d、21 d 和 28 d 时各取样一次。每次每组随机采集雌鱼 20 尾,先擦干体表水分,测定体长、体重,再取围心腔血液置 4 °C 静置备用,然后于解剖镜下迅速取出卵巢和肝脏,分别称重,除留下少量卵巢鲜样用于卵径测量及组织切片固定外,其余样品置 -70 °C 保存备用。最后测定鱼体空壳重。

1.4 卵径测量

于 ×40 倍光镜下用目微尺随机测定每尾 30 个已积累卵黄的卵子直径,计算平均卵径。

1.5 组织切片与观察

用 Bouin 氏液固定各次取样的卵巢组织,常规石蜡包埋切片,HE 染色,切片厚度 5 ~ 6 μm。

OLYMPUS BX51 显微镜观察并摄影。

卵巢发育期的划分,基本上采用 Meïen^[10] 的分期标准。

1.6 血清中的卵黄蛋白原 (Vtg) 浓度及卵巢内的卵黄脂磷蛋白 (LV) 浓度的 ELISA 测定

将 4 °C 下静置 4 ~ 6 h 血样以 15 000 r/min 离心 5 min 分离出血清, -20 °C 保存。血清 Vtg 含量的检测按照李康等^[11] 的方法进行。

卵巢内的 LV 含量检测采用顾建华等^[12] 的方法进行。

1.7 肝脏中卵黄蛋白原基因 (VTG) 表达量的实时荧光定量 PCR 检测

每组随机选取 6 个样品进行研究。采用 Trizol 试剂提取总 RNA,提取物经 RNasin 处理后,采用 M-MLV 反转录酶合成 cDNA。

根据文献[13]序列,使用 Primer Express 软件设计目的基因 (VTG) 和内参基因 (β-actin) 的引物及探针如表 1 所示,并交由上海闪晶分子生物科技有限公司合成。

荧光定量 PCR 反应液: 5 × PCR buffer 6 μL, 25 pmol/μL 上下游引物各 0.6 μL, 25 pmol/μL 荧光探针 0.3 μL, 10 mmol/L dNTPs 1 μL, 5 U/μL Taq 酶 0.3 μL, 25 mmol/L Mg²⁺ 4 μL, cDNA 反应液 1 μL, 加 DEPC 水至 30 μL。PCR 反应条件为 94 °C 保持 4 min, 40 个循环: 94 °C 15 s, 60 °C 25 s。反应在上海枫岭生物科技公司 FTC2000 型荧光定量 PCR 仪上进行。实验结果以目标基因与内参基因的 mRNA 拷贝数比值表示。

表 1 实时荧光定量 PCR 反应的引物和探针

Tab.1 Primer pairs and probes of real-time fluorescence quantitative RT-PCR

基因 gene	引物 primer pairs	探针 probe
目的基因 VTG	F: 5'-AGTATCTTTTACATCAATGACGCA-3' R: 5'-CACTTCTGACTCCAACCTCCA-3'	fam + CCCAAAAGTGTG TGGCAAAGACC + tamra
内参基因 β-actin	F: 5'-GGATCCGGTATGTGCAAAGC-3' R: 5'-ACCAACCATGACACCCTGATG-3'	fam + CTTCCCATCCATCG TGGGTCGC + tamra

1.8 数据分析

对于每一指标的各次取样数据,先进行单向方差分析 (One-way ANOVA), 如方差分析存在显著性差异,则进一步做最小显著差值 (LSD) 法多重比较,以确定各取样组之间的均数差异。对

于每一指标的同次取样数据,则进行独立样本 *t* 检验 (Independent-Samples T Test) 以确定对照组与饥饿组之间的均数差异。显著性水平均设为 0.05。

卵径数据除上述两类分析之外再进行频数分

布分析(Frequencies),结果用直方图表示。

2 结果

2.1 饥饿过程中河川沙塘鳢雌鱼的体重变化

饥饿过程中河川沙塘鳢雌鱼的体重变化如图1所示,在整个实验周期中饥饿组的体重呈现缓慢下降趋势,而对照组则与之相反。统计分析结果显示,试验延续至21 d以后两组体重值开始产生显著性差异($P < 0.05$)。

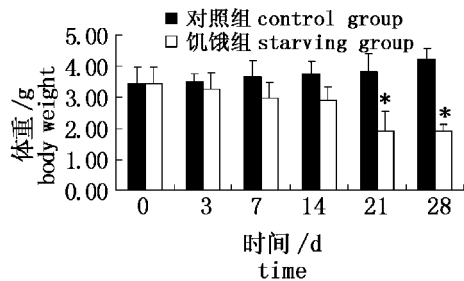


图1 饥饿过程中河川沙塘鳢雌鱼的体重变化

* 代表与对照组有显著性差异($P < 0.05$; t -test)

Fig.1 The body weight variations in female *O. potamophila* during starving period

asterisks indicate significant differences with respect to the control group ($P < 0.05$; t -test)

2.2 饥饿过程中河川沙塘鳢雌鱼性腺指数和肝体指数的变化

性腺指数(GSI)和肝体指数(HSI)两项指标在饥饿过程中呈现出两种不同的变化趋势,分别如图2和图3所示。

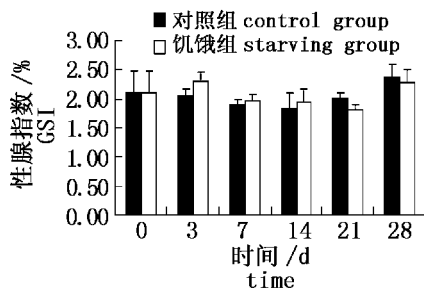


图2 饥饿过程中河川沙塘鳢雌鱼性腺指数的变化

Fig.2 The gonadosomatic index variations in female *O. potamophila* during starving period

28 d的实验期间,对照组和饥饿组鱼的GSI值无论在组间还是在组内均没有显著性差异($P > 0.05$),即始终保持在一个相对稳定的范围之内。而HSI则不然,饥饿组鱼的该指标在7 d时降至

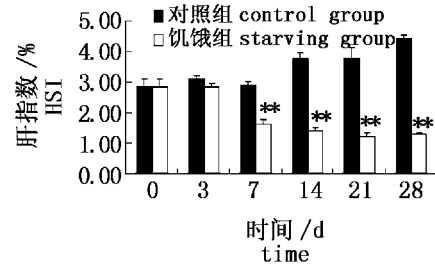


图3 饥饿过程中河川沙塘鳢雌鱼肝体指数的变化

** 代表与对照组有极显著性差异($P < 0.01$; t -test)

Fig.3 The hepatopancrea somatic index variations in female *O. potamophila* during starving period

asterisks indicate extremely significant differences with respect to the control group ($P < 0.01$; t -test)

1.64% \pm 0.13%,与对照组的2.88% \pm 0.16%相比有极显著的差异($P < 0.01$),这种急降趋势与对照组的缓慢上升形成鲜明对比,并持续至实验结束。

2.3 饥饿过程中河川沙塘鳢雌鱼卵巢组织结构及卵径的变化

从卵径的测定结果来看,第0、14、28天时对照组的卵径分别为(507.41 \pm 108.27) μm 、(708.15 \pm 268.94) μm 、(747.24 \pm 163.94) μm ,呈现出不断上升趋势,而饥饿组的对应值分别为(507.41 \pm 108.27) μm 、(441.72 \pm 85.76) μm 、(492.10 \pm 190.73) μm ,呈先下降而后升高的趋势。

进一步分析每个取样时间点的卵径直方图,可发现导致饥饿组14 d时平均卵径下降的主要原因是该组雌鱼卵巢中600 μm 以上的卵母细胞在这一时期发生了骤减(图4-c),与此同时,对照组600 μm 以上的卵母细胞数量却在不断增加(图4-b),结果使两组卵径平均值产生了极显著性差异($P < 0.01$)。而引起饥饿组28 d平均卵径上升的主要原因仍然在于600 μm 以上卵母细胞在这一时期的重新出现,但由于其时该组卵径频率主峰依旧处在362~524 μm 之间(图4-e)与对照组917 μm 左右的主峰不同(图4-d),所以平均卵径提高的幅度不大,不过已与0 d值无显著性差异($P > 0.05$)。

再从各个取样时间点的卵巢组织结构图中获取细节信息。14 d时对照组卵巢内,卵母细胞大多处于3时相中、后期,且均发育正常(图5-1)。而在饥饿组的卵巢中却发现许多处在不同退化阶

段的卵母细胞。从其中一个尚处退化早期阶段的细胞来看,退化发生时它正处于第3时相中后期(图5-2)。28 d时对照组卵巢发育程度已基本到达IV期,内部充满着卵黄颗粒逐渐融合的第4时相卵母细胞群,间有部分第3时相卵母细胞(图

5-3)。而在饥饿组的卵巢内,发育最快的卵母细胞仅达到第3时相后期,大多数细胞正处于第3时相前、中期。此外除了一些退化卵母细胞的遗迹,在第3时相卵母细胞间隙中还能观察到一定数量的小卵径2时相细胞群的出现(图5-4)。

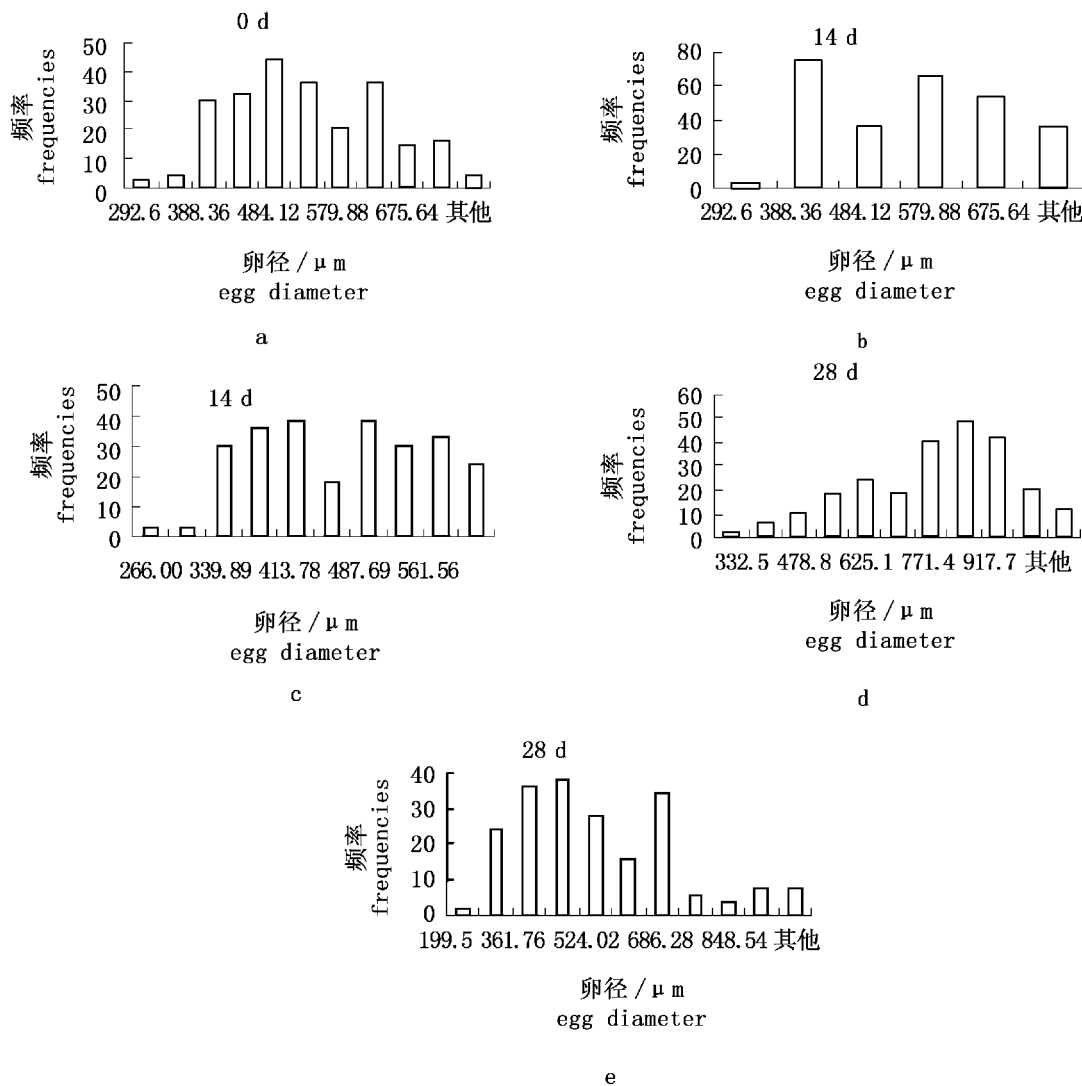


图4 饥饿过程中河川沙塘鳢雌鱼卵径的变化

a、b、d为对照组;c、e为饥饿组

Fig.4 The egg diameter variations in female *O. potamophila* during starving period

a, b, d represent control group; c, e represent starving group

2.4 饥饿过程中河川沙塘鳢雌鱼卵巢LV浓度及血清Vtg浓度的变化

在试验周期内,用酶联免疫吸附技术对沙塘鳢卵黄蛋白的主成分LV作了连续的含量检测。结果如图6所示,对照组卵巢内的LV浓度一直波动在15.55~16.83 μg/mg范围内没有发生显

著性变化($P>0.05$)。而饥饿组的LV浓度在实验前期呈现缓慢下降态势,至21 d达到其最低值(5.11 ± 0.48) μg/mg,与对照组相比有显著的差异($P<0.05$)。随后饥饿组鱼的LV浓度明显回升,至28 d时重新恢复到与对照组无显著差别($P>0.05$)的(14.31 ± 1.11) μg/mg浓度水平。

用同样的技术对血清中的LV前体物质Vtg进行检测,结果如图7所示。对照组鱼的Vtg浓度随试验时间的推迟而不断升高,至实验结束时达到 $(290.35 \pm 27.38) \mu\text{g/mL}$ 。饥饿组的Vtg浓度则在低水平起伏,7 d时已极显著($P < 0.01$)下降到 $(2.21 \pm 0.11) \mu\text{g/mL}$,并在21 d出现最低值 $(1.62 \pm 0.09) \mu\text{g/mL}$ 。与LV浓度变化表现相似的是,该值在试验后期也有所回升,至28 d时达到与0 d无显著差异($P > 0.05$)的 $(9.32 \pm 0.50) \mu\text{g/mL}$,但该值与对照组相比仍有极显著差异($P < 0.01$)。

2.5 饥饿过程中河川沙塘鳢雌鱼肝脏VTG基因表达量的变化

应用实时荧光定量PCR技术,对VTG基因在肝脏中的表达量进行了研究,结果如图8所示。从图8中可发现其形态与图7大致相同:对照组鱼肝脏中mRNA的表达水平随试验时间的推移而持续上升,而在饥饿组内则表现为先降后升。与图7所不同的是,饥饿组的mRNA表达水平在21~28 d期间的增高幅度,不但是21 d时其值 45.52 ± 3.19 的近5倍,还达到了与对照组相当的 2081.08 ± 124.86 ($P > 0.05$)。

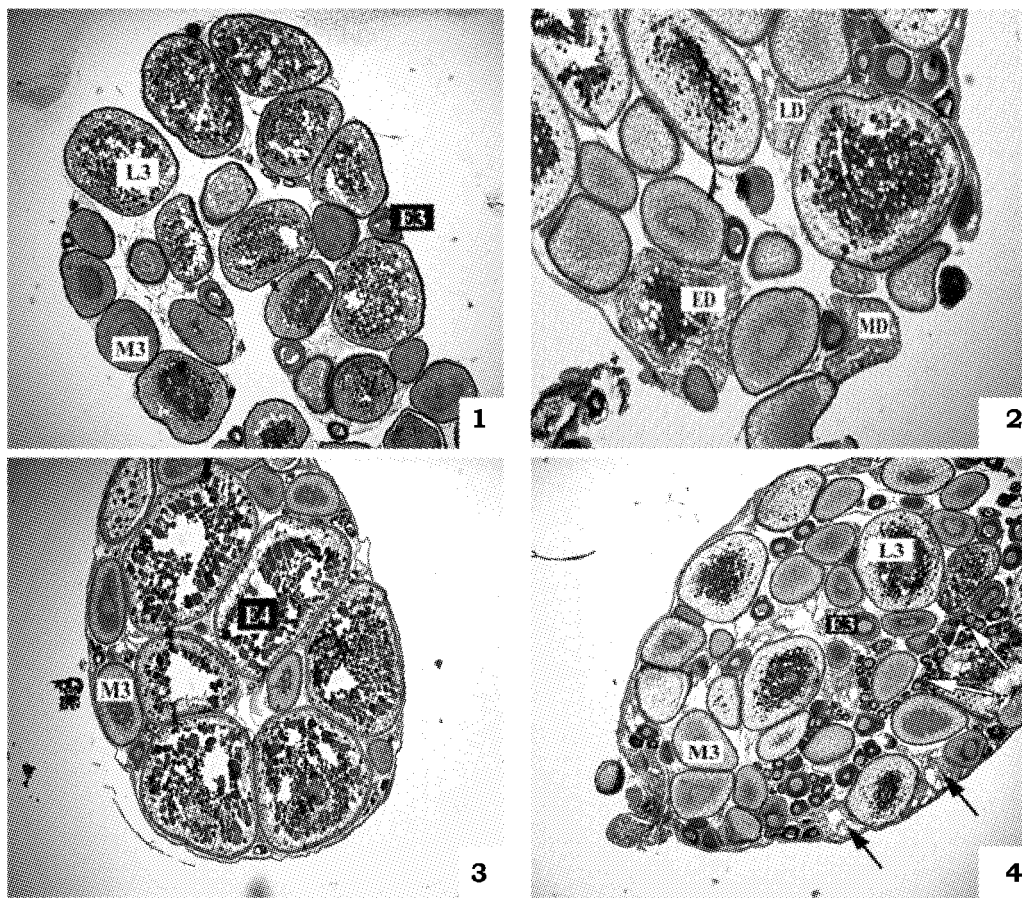


图5 饥饿过程中河川沙塘鳢雌鱼卵巢组织结构的变化

1. 14d时对照组的卵巢结构,示3时相早期初级卵母细胞(E3),3时相中期初级卵母细胞(M3),3时相晚期初级卵母细胞(L3), $\times 40$; 2. 14d时饥饿组的卵巢结构,示退化早期阶段的卵母细胞(ED),退化中期阶段的卵母细胞(MD),退化后期阶段的卵母细胞(LD), $\times 40$; 3. 28d时对照组的卵巢结构,示4时相早期初级卵母细胞(E4),3时相中期初级卵母细胞(M3), $\times 40$; 4. 28d时饥饿组的卵巢结构,示3时相中期初级卵母细胞(M3),3时相晚期初级卵母细胞(L3),退化后期阶段的卵母细胞(黑色箭头),2时相卵母细胞(白色箭头), $\times 40$

Fig. 5 The ovary structure variations in female *O. potamophila* during starving period

1. the ovary structure of control group after fourteen days, showing early phase 3 oocyte I (E3), middle phase 3 oocyte I (M3), late phase 3 oocyte I (L3), $\times 40$; 2. the ovary structure of starving group after fourteen days, showing oocyte in the early degenerating phase (ED), oocyte in the middle degenerating phase (MD), oocyte in the late degenerating phase (LD), $\times 40$; 3. the ovary structure of control group after twenty eight days, showing early phase 4 oocyte I (E4), middle phase 3 oocyte I (M3), $\times 40$; 4. the ovary structure of starving group after twenty eight days, showing middle phase 3 oocyte I (M3), late phase 3 oocyte I (L3), oocytes in the late degenerating phase (black arrows), phase 2 oocytes (white arrows), $\times 40$

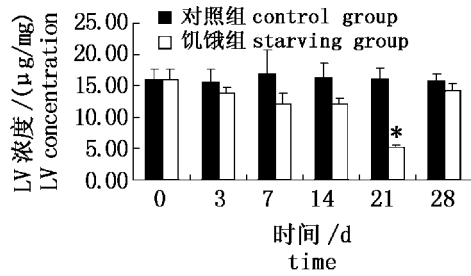


图6 饥饿过程中河川沙塘鳢雌鱼卵巢LV浓度的变化
* 代表与对照组有显著性差异($P < 0.05$; t -test)

Fig.6 The variations in ovary lipovitellin concentration of female *O. potamophila* during starving period
asterisk indicates significant difference with respect to the control group ($P < 0.05$; t -test)

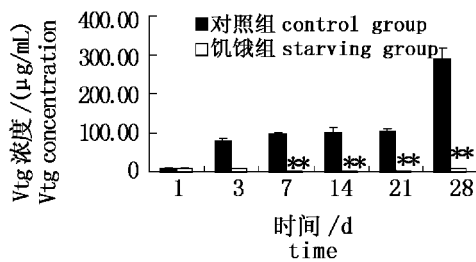


图7 饥饿过程中河川沙塘鳢雌鱼血清Vtg浓度的变化
** 代表与对照组有极显著性差异($P < 0.01$; t -test)

Fig.7 The variations in serum vitellogenin concentration of female *O. potamophila* during starving period
asterisks indicate extremely significant differences with respect to the control group ($P < 0.01$; t -test)

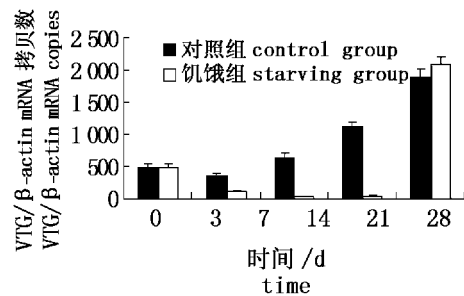


图8 饥饿过程中河川沙塘鳢雌鱼
肝脏VTG基因表达量的变化

Fig.8 The variations of VTG gene expression in livers of female *O. potamophila* during starving period

3 讨论

3.1 饥饿状态下河川沙塘鳢卵巢的发育方式

由于自然界中食物供给在时间上的不连续性,冬季的食物短缺是进入繁殖期前亲鱼经常遭遇的一种饥饿胁迫状态。而它们在这种状态中以怎样的方式保持自身生存和子代繁殖两者之间的平衡,一直是研究者们关心的问题。有资料表

明,在一些海水鱼类中,性腺发育成熟的完成需要其身体的贮能量达到一个临界阈值(critical threshold energy level)^[5],贮能量低于阈值的个体,在下一个繁殖季节中就有可能不能正常交配产卵^[8],而贮能量超过阈值的个体则可以使其卵巢达到成熟,但在产卵起始时间和产卵量及产卵批次等方面与饱食鱼仍有所差异^[6-8]。也就是说,对于后者个体而言,其体内启动了一种性腺发育的饥饿补偿机制,使机体能够通过消耗自身贮能来保证子代繁殖任务的完成。我们的研究发现,历经28 d饥饿的河川沙塘鳢雌鱼在肝体指数和体重两项指标上均与对照组产生了极显著($P < 0.01$)和显著性($P < 0.05$)差异,即亲鱼体内组织贮存的物质和能量被大量消耗,但其性腺指数却并未发生显著性改变($P > 0.05$),提示从形态学水平上来看,当受到饥饿胁迫时,鱼体性腺发育的饥饿补偿机制在河川沙塘鳢这一淡水鱼类中同样存在。

卵黄是鱼类子代在早期发育过程中唯一可以利用的物质和能量来源。本试验以其主要成分卵黄脂磷蛋白的产生、转运和积累作为评价指标,进一步分析两组雌鱼的性腺发育状况。结果显示,无论是卵巢中卵黄脂磷蛋白的含量,还是其前体物质——卵黄蛋白原在肝脏中的基因表达量和在血清中的含量,均随着试验的进行呈现出先降后升的变化趋势,其中卵巢中卵黄脂磷蛋白的含量和卵黄蛋白原在肝脏中的基因表达量在28 d时均回升至对照组的水平($P > 0.05$)。这一方面从生化与分子水平上再次佐证了上述性腺发育饥饿补偿机制的存在,另一方面也暗示了在河川沙塘鳢中这一补偿机制可能以多途径存在。因为如从血清卵黄蛋白原含量方面分析,实验结束时饥饿组的该指标值并未同样提升到对照组的水平,甚至还存在着极显著差异($P < 0.01$),在这种情形下单依靠血液运输的卵黄蛋白原似乎并不足以维持饥饿组的卵巢发育。

在饥饿组的卵巢组织切片中,我们发现部分处于3时相的卵母细胞发生了退化,这种退化从细胞外围开始逐步向内推进,至末期阶段,卵母细胞中的卵黄颗粒全部崩解(这种崩解所造成的物质构型改变致使卵巢中能被测定到的LV含量明显下降),崩解产物被重吸收,细胞质中只剩余大量小泡,这与Kjesbu等^[4]对饥饿大西洋鳕卵巢组

织结构的观察结果基本一致。此外,统计结果表明,试验中期(14 d左右)从饥饿组卵巢中消减的细胞群主要由卵径在 600 μm 以上的 3 时相中后期卵母细胞构成。关于卵黄崩解产物被重吸收后的用途,从试验后期的卵巢组织结构来看,估计有两种可能,其一是作为剩余 3 时相卵母细胞继续发育的物质基础,使得实验结束时饥饿组卵巢发育程度可以趋近 III 期末(同时,卵黄颗粒的重新合成也使得卵巢 LV 含量再次回升),另一是用作产生实验后期出现的 2 时相细胞群的能源,使得饥饿组卵巢在外界条件好转时有继续发育的余地。换言之,饥饿组卵巢内部分卵母细胞发生的萎缩退化,很可能是一种性腺发育的内源补偿形式^[4],该补偿形式通过对卵巢内物质积累和能源利用模式的重新调整来实现其作用。

综上所述,推测与海水鱼相似,饥饿状态下河川沙塘鳢的卵巢发育启动了一种性腺发育的饥饿补偿机制。而这一补偿机制可能以多途径存在,其中包括提高肝脏卵黄蛋白原基因的表达量,增加血液对卵巢卵黄蛋白原供应的外源形式,和卵巢内部分 3 时相卵母细胞发生萎缩退化,利用其卵黄崩解产物维持卵巢整体继续慢速发育的内源形式。

3.2 越冬亲鱼的投喂管理

根据孙帼英等^[14]的先期研究,在自然状况下河川沙塘鳢雌鱼以 III—IV 期卵巢越冬,且卵巢发育的速度存在明显的个体差异。而从本试验的多项结果中均可看到,对于即将进入第一个繁殖期的河川沙塘鳢 0 龄雌鱼而言,越冬期饥饿所造成的影响是非常明显的。其中最直接的负面后果表现为,饥饿导致卵巢内可供继续发育形成成熟卵子的 3 时相中后期卵母细胞数量骤减,卵巢整体发育程度明显滞后于正常投喂的对照组。可以推测,随着食物短缺的延续,饥饿组的卵巢成熟将会滞后,首次繁殖的开始时间会相应推迟,产卵量也会减少,至于在产卵次数方面有无影响则有待进一步实验确证。同时值得注意的还有,与多数越冬期间摄食活动减少的鱼类不同,河川沙塘鳢是一种冬季摄食个体比例反高于其他季节的淡水鱼类^[15]。因此,在现阶段该鱼尚不能很好摄食人工配合饲料的情况下,保证冬季鲜活饵料的供给应该引起生产者的足够重视。

参考文献:

- [1] Navarro I, Gutiérrez J. Fasting and starvation [M]// Hochachka P W, Mommsen T P. (Eds.). *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes*, vol. 4. *Metabolic Biochemistry*. Elsevier, Amsterdam, 1995: 393 - 434.
- [2] 谢小军, 邓利, 张波. 饥饿对鱼类生理生态学影响的研究进展[J]. *水生生物学报*, 1998, 22 (2): 181 - 188.
- [3] Thorpe J E, Talbot C, Miles M S, et al. Control of maturation in cultured Atlantic salmon, *Salmo salar*, in pumped seawater tanks, by restricting food intake [J]. *Aquaculture*, 1990, 86: 315 - 326.
- [4] Kjesbu O S, Klungsoyr J, Kryvi H, et al. Fecundity atresia and egg size of captive Atlantic cod *Gadus morhua* in relation to proximate body composition [J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1991, 48 (12): 2333 - 2343.
- [5] Rowe D K, Thorpe J E, Shanks A M. The role of fat stores in the maturation of male Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr [J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1991, 48: 405 - 413.
- [6] Reimers E, Kjørrefjord A H, Stavøstrand S M. Compensatory growth and reduced maturation in second winter farmed Atlantic salmon following starvation in February and March [J]. *J Fish Biol*, 1993, 43: 805 - 810.
- [7] Kjesbu O S, Holm J C. Oocyte recruitment in first-time spawning Atlantic cod (*Gadus morhua*) in relation to feeding regime [J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1994, 51 (8): 1893 - 1898.
- [8] Karlsten O, Holm J C, Kjesbu O S. Effects of periodic starvation of reproductive investment in first-time spawning Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) [J]. *Aquaculture*, 1995, 133 (2): 159 - 170.
- [9] 沈文英, 张利红, 郑永萍, 等. 饥饿对银鲫血液组分和卵巢发育的影响[J]. *动物学研究*, 2003, (6): 441 - 444.
- [10] Мейен В А. К вопросу о годовом цикле изменений яичников костистых рыб [J]. *цв АН СССР Биол*, 1939, 3: 389 - 420.
- [11] 李康, 周忠良, 于静, 等. 鲫鱼 (*Carassius auratus*) 卵黄蛋白原的 ELISA 检测[J]. *中国环境*

- 科学, 2003, 23(3): 276-280.
- [12] 顾建华, 孟艳玲, 吕军开, 等. 河川沙塘鳢卵母细胞发育过程中卵黄脂磷蛋白的变化[J]. 水产科学, 2007, (1): 43-47.
- [13] 任 华. 斑马鱼 (*Danio rerio*)、河川沙塘鳢 (*Odontobutis potamophila*) 卵黄蛋白原 mRNA 特性研究及其在环境监测中的应用[D]. 上海: 华东师范大学, 2005: 36.
- [14] 孙帼英, 郭学彦. 太湖河川沙塘鳢的生物学研究[J]. 水产学报, 1996, 20(3): 193-202.
- [15] 朱邦科, 谢从新, 王明学, 等. 保安湖沙塘鳢的食性、繁殖、年龄及生长的研究[J]. 水生生物学报, 1999, 23(4): 316-323.

Effects of starvation on ovarian development in female *Odontobutis potamophila* during over-wintering period

ZHAO Xiao-qin^{1,2}, CHEN Li-qiao¹, GU Zhi-min³, LI Er-chao¹, YAO Qian¹

(1. School of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200062, China;

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. Institute of Freshwater Fisheries, Zhejiang Province, Huzhou 313001, China)

Abstract: A one-month starvation experiment was conducted to investigate its influence on the female *Odontobutis potamophila* during over-wintering period. The control group was fed with satisfaction of living *Cardina sinensis*. By the end of the experiment, a significant decrease in the body weight ($P < 0.05$) and an extremely significant decrease in the hepatopancrea somatic index ($P < 0.01$) were observed respectively in the starving group. The percentage of the middle phase 3 oocytes and the late phase 3 oocytes which had potential to become maturation eggs soon had reduced sharply in ovaries of the starving group. And their ovaries had also developed more slowly than those phase IV ovaries of control group, just reaching middle phase III. All those results showed the negative effects of starvation on gonadic development of female *O. potamophila* over-wintering. On the other hand, there was no significant difference ($P > 0.05$) found in the gonadosomatic index of the starving group within 28 d. The variations of the ovary lipovitellin concentration, the VTG gene expression in livers and the serum vitellogenin concentration of the starving group entirely showed high-low-high trend, and in 28 d the values of the ovary lipovitellin concentration and the VTG gene expression reached $(14.31 \pm 1.11) \mu\text{g}/\text{mg}$ and $2\ 081.08 \pm 124.86$ respectively in the starving group, showing no significant difference ($P > 0.05$) compared to the full-fed control. Resorbing and reusing evidences of the degraded yolk granules were observed in the starving fish's ovaries. Those results suggested that there was a compensatory mechanism existing in the starving female *O. potamophila*, just like in some seawater fishes, to ensure reproductive success by consuming its energy deposition, and that the compensatory mechanism was characterized in several ways.

Key words: *Odontobutis potamophila*; starvation; ovarian development; over-wintering period