

海洋无脊椎动物幼虫附着变态研究进展

I. 影响因素*

ADVANCEMENTS IN RESEARCH ON SETTLEMENT AND METAMORPHOSIS OF MARINE INVERTEBRATE LARVAE

I . FACTORS

张 涛

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

当前,附着变态的研究可分为生态水平、生理水平和分子水平。生物因子和非生物因子在不同的时间和空间尺度上影响着海洋无脊椎动物幼虫的附着变态。将这3个水平有机地结合起来对于阐明这些因子在不同水平和不同时间对许多海洋无脊椎动物幼虫的附着或(和)募集补充的模式有重要作用。

1 影响海洋无脊椎动物幼虫附着变态的因子

许多研究表明,海洋无脊椎动物幼虫的附着变态是在一定因子的诱导下完成的,有时附着和变态的诱导因子是不同的。影响海洋无脊椎动物幼虫附着变态的因子如表1所示。

表1 海洋无脊椎动物幼虫附着变态影响因子

影响因子	举例
物理因子	温度、盐度、溶解氧、流速、光照 附着基表面粗糙程度、颜色
化学因子	
自然诱导物	同种个体分泌物 微生物膜 饵料分泌物
人工诱导物	神经递质(如 GABA 和儿茶酚胺) 神经递质前体(如胆碱) 金属阳离子(如 K^+ 和 Ca^{2+}) 不饱和脂肪酸(如棕榈油酸和花生四烯酸等) 影响细胞内 cAMP 的物质(如 db-cAMP 和 IBMX)
生物因子	幼虫行为、生理状况

1.1 物理因子

能够影响海洋无脊椎动物幼虫附着变态的物理因

素主要是温度、盐度、附着基表面粗糙程度和颜色、溶解氧、流速和光照等。

温度和盐度不仅影响海洋无脊椎动物幼虫的生长和存活,对幼虫的附着变态也有明显影响。温度和盐度能够影响 *Crepidula plana* 幼虫变态能力的获得。在相同发育时间情况下,高温(29℃)培育的幼虫获得变态能力的比例明显高于低温(20℃)培育的幼虫。幼虫的壳长并不能作为识别幼虫是否具有变态能力的最终依据。29℃时培育的 *Crepidula plana* 幼虫具有变态能力时的壳长要小于20℃时培育的幼虫。墨西哥湾扇贝变态的最适温度为28~30℃,当温度高于31℃时,变态率急剧下降,在23.4~27.5℃的温度范围内,变态率变化并不明显。海湾扇贝幼虫变态的盐度范围相当狭窄,大于60%的变态率仅发生在23.8~26.8范围内,30%的变态率的盐度范围约为22~31,在19.8和33.2的盐度中,仅有10%的变态率。墨西哥湾扇贝幼虫在18.9~44.0的盐度范围内均能够变态,最适变态盐度约为23.5~28.0,适宜盐度范围为23.5~32.4(幼虫变态率大于35%),在21.6~41.3范围内,幼虫变态率均大于10%,当盐度为16.3和48时,变态率接近于零^[7]。

温度和盐度对文蛤^[3]、缢蛏和热带牡蛎(*Crassostrea belcheri*)^[9]幼虫附着变态都有影响。温度和盐度不但单独对幼虫附着变态有影响,两者之间还有协同作用^[3]。当温度或盐度处于不适范围时,盐度或温度适宜范围缩小。

* 国家自然科学基金资助项目 39970588 号; 国家科委攀登计划 B 资助项目 PDB6-3-2 专题 F12940733 号; 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 3591 号。

收稿日期:1998-09-30; 修回日期:1999-03-10

另外,光照、流速、溶解氧、附着基表面粗糙程度和颜色均影响幼虫附着变态。附着基的动、静情况也能影响贝类幼虫的附着。张福绥等 1985 年发现同池中垂动苗帘对贻贝的附苗效果要好于静置苗帘,他们认为垂动苗帘与贻贝幼虫接触的几率高,因此附苗效果较好。

1.2 化学因子

1.2.1 自然诱导物

1.2.1.1 同种个体的分泌物 研究表明,贝类、多毛类、缢虫纲、海胆纲、藤壶的同种个体的分泌物均能促进其幼虫的附着。同种个体分泌物促进幼虫的附着变态有重要的生态学意义。它能使附着型或固着型海洋无脊椎动物产生群聚行为,增加受精率,提高繁殖的成功率。同种个体的聚集能够提高个体的自我保护能力、竞争能力和滤食效率,同时减少幼虫和成体的死亡率。

鲍的成体和幼体分泌物能够促进其幼虫的附着变态。皱纹盘鲍成体粘液的诱导作用均高于 40 mmol/L 的 K^+ 和 1 μmol 的 GABA^[11]。Rodriguez 等 1993 年认为 *Concholepas concholepas* 成体粘液中的肝素结合生长因子诱导了 *C. concholepas* 幼虫的附着变态。

多毛类 *Phragmatopoma lapidisa californica* 幼虫对从成体管中的砂子和固着基中分离出的脂肪酸(如棕榈油和亚油酸)起反应。这种反应有严格的特异性,严格限制在 *Phragmatopoma* 中。

沙蚕 *Dendroaster excentricus* 成体分泌的低分子量 (< 10 000 D) 肽类和沙蚕死尸的一些成分能够促进其幼虫附着变态。藤壶的成体分泌物也能够诱导其幼虫附着变态。分子量在 500 ~ 1 000 D 之间的太平洋牡蛎成体分泌物和 *Echinorachnius parma* 成体分泌物均能诱导各自幼虫附着变态。

另外,有些海洋无脊椎动物成体能够分泌激素或激素类似物诱导各自幼虫变态。

1.2.1.2 微生物膜 微生物膜对于许多海洋无脊椎动物幼虫的附着变态有重要作用。现已证明,硅藻膜、蓝细菌膜和细菌膜均能促进幼虫的附着变态。细菌壁上的细胞外多糖类和糖蛋白以及菌膜分泌的一些可溶性物质均能促进幼虫附着变态。

Kirchman 等 1982 年发现 *Janua (Dexiospira) brasiliensis* 幼虫体表的外源凝集素(Lectins)与细菌细胞膜上的多糖或糖蛋白等物质结合,诱导其附着变态。糖能够抑制菌膜对 *J. (Dexiospira) brasiliensis* 幼虫的诱导,这可能是糖与外源凝集素竞争性结合碳水化合物结合位点的缘故。

Leitz 和 Wagner 1993 年认为海洋细菌 *Alteromonas*

espejana 细胞壁上的脂多糖或脂蛋白能够激活 *Hydractinia echinata* 幼虫细胞内类似于蛋白激酶 C 的酶,诱导其附着变态。

细菌对幼虫附着变态的诱导还与细菌的发育阶段有关。只有 10 % 的太平洋牡蛎面盘幼虫对早期细菌的上清液起反应,而有 30 % ~ 90 % 的太平洋牡蛎面盘幼虫对恒定期和后期细菌的上清液起反应,并且对细菌上清液的反应类似于对 L-DOPA 的反应。

菌膜除了分泌可溶性诱导物外,细菌所排泄的铵也与牡蛎幼虫的附着变态有关。Fitt 和 Coon 1992 年发现 NH_3 能够促进美洲牡蛎和太平洋牡蛎幼虫的附着。因此,他们认为 NH_3 可能是自然界中促使美洲牡蛎和太平洋牡蛎幼虫完成附着变态的一个重要因素。Coon 和 Walsh 等 1990 年还发现在 pH = 8.0 时,2.5 mmol/L 以上的 NH_4Cl 能够促进太平洋牡蛎幼虫附着变态。他们认为 NH_4Cl 的作用是使细胞内 pH 升高,进而诱导幼虫完成附着变态。

1.2.1.3 饵料分泌物 许多海洋无脊椎动物成体所摄食的海藻能够诱导它们的幼虫完成附着变态,包括鲍、螺、贝瑁、海胆、海星。这种现象具有重要的生态学意义,对于提高幼虫和成体的成活率有重要作用。

海藻的诱导作用可能与它们所含有的藻胆蛋白有关,这些诱导物是类似于 GABA 的单肽物质。海藻细胞壁上的粘多糖也有一定作用。能够促进幼虫附着变态的海藻主要是具壳珊瑚藻和叶状藻。

1.2.2 人工诱导物

诱导海洋无脊椎动物幼虫附着变态的化学物质主要包括金属阳离子、儿茶酚胺化合物、氨基酸类化合物、胆碱及其衍生物、脂肪酸和影响细胞内 cAMP 浓度的化合物 6 大类。

1.2.2.1 金属阳离子 K^+ , Ca^{2+} , Rb^+ 和 Cs^+ 对海洋无脊椎动物幼虫的附着变态均有一定的诱导作用。特别是 K^+ 的作用效果明显,作用范围广,价格便宜,受到人们的普遍关注,研究也比较深入,在经济贝类的苗种生产上有很大的应用价值。

一般认为, K^+ 是通过直接影响细胞膜的电势,使细胞膜去极化,从而诱导幼虫变态。Baloun 和 Morse 1984 年发现减少 K^+ 浓度能够抑制 GABA 对红鲍幼虫变态的诱导。SITS(一种阴离子阻断剂)能够抑制 GABA 的诱导作用,但并不影响 K^+ 的诱导作用,而 TEA(一种 K^+ 通道阻断剂)能够抑制 K^+ 的诱导作用,并不影响 GABA 的诱导作用。他们因此认为 GABA 和 K^+ 的诱导作用依赖于离子的跨膜运动。*Phostillula sibogae* 和 *Phragmatopoma lapidosa californica* 幼虫对 SITS 和 TEA 并不敏

感,因此 K^+ 对它们的诱导途径可能与红鲍不同。另外, GABA 和 K^+ 对红鲍的诱导作用对外界 Ca^{2+} 的变化比较敏感,说明 Ca^{2+} 也参与了变态过程中信号的传递。 Ca^{2+} 单独也能够诱导贝类幼虫变态。10 mmol/L 的 CaCl₂ 能够提高海湾扇贝幼虫变态率 21%, 15 和 20 mmol/L 的 CaCl₂ 能够提高 17% 和 9%, 而 25 mmol/L 的 CaCl₂ 对海湾扇贝幼虫产生毒害作用(处理时间均为 6 d)^[4]。

K^+ 对红鲍、诗博加蓑海牛 (*Phestiilla sibogae*)、大凤螺 (*Strombus gigas*)、多毛类 *Phragmatopoma lapidosa californica*、翡翠贻贝^[2]、海湾扇贝^[4]、硬壳蛤和墨西哥湾扇贝幼虫的变态均有诱导作用。但对贻贝 (*Mytilus edulis*) 幼虫的诱导作用不大。

1.2.2.2 L-DOPA 和儿茶酚胺 L-DOPA 和儿茶酚胺(肾上腺素、去甲肾上腺素和多巴胺)都是酪氨酸衍生物,均为神经递质。

L-DOPA 和儿茶酚胺对太平洋牡蛎、虾夷扇贝、翡翠贻贝^[1]、魁蚶^[5]、热带牡蛎 (*Crassostrea belcheri*)^[10]、海湾扇贝^[4]、硬壳蛤和墨西哥湾扇贝幼虫的附着变态均有诱导作用。

Bonar 等 1990 年认为 L-DOPA 并不直接诱导幼虫附着变态,而是先被幼虫吸收,在幼虫体内转化为多巴胺,多巴胺再作用于多巴胺受体,引起幼虫附着变态。Pawlik 1990 年发现 *Phragmatopoma lapidosa californica* 幼虫对 L-DOPA 的反应要迟几小时,这说明 L-DOPA 并不直接作用于外部上皮化学受体。

Coon 和 Bonar 1985 年发现 L-DOPA 既能诱导太平洋牡蛎幼虫附着又能诱导太平洋牡蛎幼虫的变态,而肾上腺素和去甲肾上腺素只能诱导太平洋牡蛎幼虫的变态,不能诱导附着。太平洋牡蛎幼虫具有对 L-DOPA 产生附着行为的能力要早于对肾上腺素产生的变态能力。

Coon 和 Bonar 1986 年测定了太平洋牡蛎幼虫体内肾上腺素、去甲肾上腺素和多巴胺含量,发现去甲肾上腺素在幼虫早期发育阶段含量较少,随着幼虫的发育含量逐渐增加,在变态前达到最高。而多巴胺在体内的含量变化并不大,因此幼虫体内去甲肾上腺素可能参与了太平洋牡蛎幼虫变态调节。但从许多实验结果来看,去甲肾上腺素对贝类幼虫变态的诱导效果并不稳定,没有肾上腺素的效果好^[1]。去甲肾上腺素的诱导机理有待进一步研究。

Coon 和 Bonar 1987 年通过药理学研究认为儿茶酚胺对太平洋牡蛎幼虫变态的诱导是通过 α -1 肾上腺素能受体起作用的,这就意味着信号的传递是通过磷酸肌醇级联放大途径。但这还需要进一步验证。

1.2.2.3 GABA 和 5-羟色胺 (5-HT) GABA 和

5-HT 也是神经递质。GABA 是谷氨酸脱羧基以后形成的,能够提高突触后膜对 K^+ 的通透性,因此 GABA 能够驱动膜电势离开引起动作电势的阈值,是一个抑制性传导介质。但在一些情况下,它能刺激细胞膜产生去极化的氯离子流。GABA 的诱导作用依赖于 GABA 敏感细胞的去极化,并受净氯离子或其他阴离子外流去极化的调节。过高氯离子浓度或阴离子通道阻断剂(如 SITS)能够抑制 GABA 的诱导作用,说明氯离子外流在 GABA 信号传导过程中有重要作用。

Ca^{2+} 浓度的增加能够抑制 GABA 的诱导作用,可能是因为 Ca^{2+} 激活了 Ca^{2+} 调节的 K^+ 通道,产生净超极化的缘故。Baloun 和 Morse 1984 年还发现 K^+ 浓度减少能够抑制 GABA 的诱导作用,这可能是 K^+ 浓度减少产生的超极化抵销了 GABA 引起的去极化。阴离子通道的激活依赖于蛋白激酶 A(PKA) 产生的磷酸化,蛋白激酶的激活依赖于 cAMP。cAMP 水平的提高是通过诱导物和受体结合后激活 cAMP 酶来实现的。

有两条途径控制着红鲍幼虫形态发生途径的敏感性:上行调节和下行调节。在上行调节中,当有低浓度的赖氨酸或相关氨基酸时,红鲍幼虫对诱导物(如 GABA) 的敏感性增加。赖氨酸或相关氨基酸与受体结合后,激活 G 蛋白,G 蛋白再激活磷脂酶 C (PLC),磷脂酶 C 将磷脂酰肌醇 4, 5-二磷酸 (PIP₂) 分解为三磷酸肌醇 (IP₃) 和甘油二酯 (DG),三磷酸肌醇和甘油二酯作为第二信使激活蛋白激酶 C,磷酸化有关蛋白质,打开有关离子通道,提高了红鲍幼虫对诱导物的敏感性。下行调节,即红鲍幼虫对 GABA 反应敏感性的降低。将不具有变态能力的红鲍幼虫提前用 GABA 处理,当幼虫具有变态能力时,对 GABA 的敏感性降低,但对能提高细胞内 cAMP(如 IBMX)或使细胞产生去极化的物质(如 KCl)则反应正常。因此,红鲍幼虫的下行调节可能是可利用的 GABA 受体减少的缘故。

GABA 除了对鲍幼虫附着变态具有明显的诱导作用外,对其他贝类如鬃毛石鳖 (*Mopalia*)、芋螺 (*Conus*)、船蛆 (*Teredo*, *Bankia*)、海兔 (*Aplysia*) 和硬壳蛤 (*Mercenaria mercenaria*) 幼虫变态也有一定诱导作用,但对硬壳蛤幼虫的诱导效果并不稳定。

5-HT 也能够诱导一些海洋无脊椎动物幼虫附着变态。McCauley 1997 年研究发现 5-HT 能够诱导 *Phialidium gregarium* 幼虫变态,认为 5-HT 是通过三磷酸肌醇 (IP₃) 和甘油二酯 (DAG) 作为第二信使来传递变态信号的。5-HT 作用于 5-HT 靶细胞,封闭了 K^+ 渗漏通道,引起细胞膜去极化,激活 Ca^{2+} 电位门控通道,使 Ca^{2+} 进入细胞内,与甘油二酯一起激活蛋白激酶 C,由蛋白激酶 C 引

发幼虫变态^[8]。Couper 和 Leise 1996 年认为 5-HT 通过 5-HT 能神经元诱导腹足类 *Ilyanassa obsoleta* 幼虫变态, 而不是通过上皮化学受体^[6]。5-HT 对硬壳蛤幼虫变态也有明显的诱导作用, 但 5-HT 对虾夷扇贝幼虫变态不起作用。

1.2.2.4 胆碱及其衍生物 胆碱是乙酰胆碱和磷脂酰胆碱的前体。琥珀酰胆碱和胆碱均能诱导诗博加蓑海牛 (*Phestilla sibogae*) 和 *Ilyanassa obsoleta* 幼虫附着变态。诗博加蓑海牛 (*P. sibogae*) 幼虫胆碱和自然诱导物受体是不同的。胆碱衍生物并不是作用于 *Phragmatopoma lapidosa californica* 幼虫外部受体, 而是直接作用于神经系统。这是因为 *P. lapidosa californica* 能从介质中吸收一定量的胆碱。胆碱可能通过 3 种途径诱导幼虫附着变态: (1) 直接作用于胆碱受体; (2) 作为乙酰胆碱合成的前体; (3) 刺激合成和分泌儿茶酚胺化合物。

1.2.2.5 脂肪酸类 一些脂肪酸, 特别是不饱和脂肪酸能够诱导一些海洋无脊椎动物幼虫附着变态。棕榈油酸 (16:1)、亚油酸 (18:2)、亚麻酸 (18:3)、EPA (20:5)、DHA (22:6) 和花生四烯酸 (20:4) 均能诱导 *Phragmatopoma lapidosa californica* 幼虫附着变态。不饱和脂肪酸的诱导效果与它们的分子结构有关: 至少有一个顺式双键; 通过增加顺式双键增加乙酰链的分子保护; 含有羧基。

脂肪酸的诱导效果与温度相关。16℃时棕榈油的诱导效果明显高于 12℃时。这可能是温度影响了细胞膜流动性或渗透性, 高温时脂肪酸渗透性强。Jensen 等 1990 年提出一个脂肪酸诱导 *Phragmatopoma lapidosa californica* 幼虫附着变态模型。他们认为脂肪酸能够影响细胞内 K⁺ 和 cAMP 的浓度。脂肪酸能够调节由儿茶酚胺激活的腺苷酸环化酶, 影响 ATP 转化为 cAMP。同时, 棕榈油、亚油酸和花生四烯酸能够激活 K⁺ 通道, 影响细胞膜电位, 诱导幼虫变态。

1.2.2.6 影响细胞内 cAMP(环化腺苷酸)的物质 在激素的 4 种作用方式中, 第二信使学说是较普遍的一种作用方式, 其中的第二信使就是 cAMP。激素与受体结合后, 激活 G 蛋白, G 蛋白中的 α 亚基与 GTP 结合成 G_s-GTP 复合物, 此复合物再激活细胞膜上的腺苷酸环化酶, 腺苷酸环化酶催化 ATP 形成 cAMP, cAMP 作

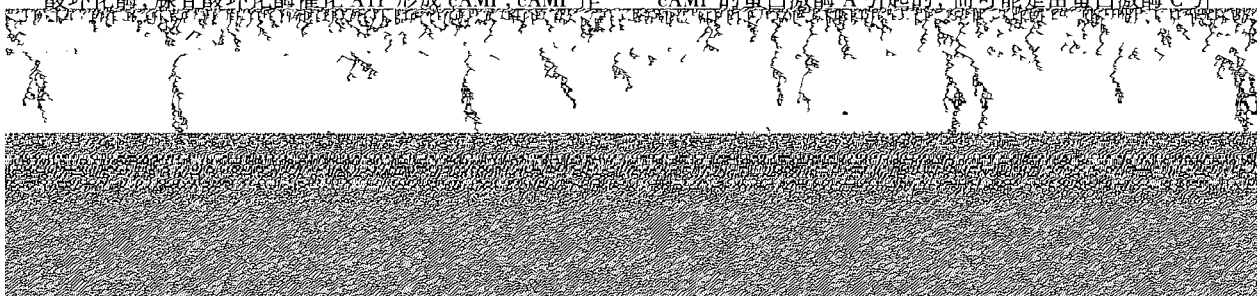
MX) 和霍乱毒素。


db-cAMP 是 cAMP 衍生物, 是磷酸二酯酶(能够降解 cAMP) 的抑制剂, 它能够穿透细胞膜进入细胞影响细胞内 cAMP 浓度, db-cAMP 能够影响 Ca²⁺ 和 Na⁺ 流, 能够增加细胞内酶的活性和脂类的生物合成。Morse 等 1980 年发现用 5 mDb-cAMP 处理红鲍幼虫 30 min, 变态率可达 24%, 但是明显对幼虫产生毒害作用。db-cAMP 对诗博加蓑海牛 (*Phestilla sibogae*) 和 *Phragmatopoma lapidosa californica* 幼虫的附着变态并没有影响。

黄嘌呤化合物如 IBMX、茶碱和咖啡因增加细胞内 cAMP 浓度的途径主要有两条: 一条途径是通过直接抑制磷酸二酯酶降解 cAMP; 另一条途径是通过增加细胞内 Ca²⁺ 浓度间接增加 cAMP 浓度。5 × 10⁻⁵ ~ 1.2 × 10⁻⁴ mol/L 的 IBMX 对红鲍幼虫的附着变态有明显的诱导作用, 这些学者据此认为 cAMP 参与了红鲍幼虫的附着变态过程, 但他们并没有测定 cAMP 浓度的变化, 并且忽略了 IBMX 对 Ca²⁺ 的转运作用, Ca²⁺ 对红鲍幼虫的附着变态也有一定的影响。另外, 1.0 × 10⁻⁵ ~ 1.0 × 10⁻⁴ mol/L 的 IBMX 对 *Phestilla lapidosa californica* 幼虫附着变态也有明显的诱导作用。

G 蛋白是细胞膜上一种十分重要的蛋白质, 它参与了许多种信号传导过程。霍乱毒素作用于 G 蛋白的 α 亚基, 阻止 α 亚基上的 GTP 形成 GDP, 使 G 蛋白处于激活状态, 从而增加细胞内 cAMP 浓度。20 μ g/ml 的霍乱毒素能够使 24% 的腔肠动物 *Cassiopea andromeda* 幼虫变态 (对照组变态率为零)。霍乱毒素并不直接诱导红鲍幼虫变态, 但能够促进 GABA 对红鲍幼虫变态的诱导。

cAMP 是否参与了幼虫的附着变态过程对于不同幼虫现在还存在争议。Fitt 等 1987 年认为虽然在 *Cassiopea andromeda* 幼虫变态过程中 cAMP 有变化, 但是变化缓慢, 并不象哺乳动物细胞那样 cAMP 的急剧变化伴随着由 cAMP 调节的生化反应的急剧变化, 因此他们认为 *C. andromeda* 幼虫变态过程中虽然有 cAMP 变化, 但 cAMP 并不是引起幼虫变态的原因。Inestrosa 等 1993 年发现虽然 *Concholepas concholepas* 幼虫变态前后 cAMP 浓度减少 20 倍, 但是变态后蛋白质的磷酸化却增加了, 因此他们认为幼虫变态后磷酸化的增加不是由依赖于 cAMP 的蛋白激酶 A 引起的, 而可能是由蛋白激酶 C 引



大部分情况下,这些因子并不是单独起作用的,而是综合起作用的。到目前为止,对单独因子的诱导作用研究比较多,而多因子的综合效应和作用方式则研究较少,今后应加强这方面的研究,使我们对海洋无脊椎动物幼虫附着变态生物学有一个比较全面和深入的认识。

主要参考文献

- 1 柯才焕、李少菁等。厦门大学学报(自然科学版),1995,34(6):975~981
- 2 柯才焕、李少菁等。海洋与湖沼,1998,29(2):128~133
- 3 林君卓、许振祖。福建水产,1997,1:27~33
- 4 刘保忠、张福绥等。海洋学报,1998,20(5):55~60
- 5 刘保忠。海洋科学集刊。北京:科学出版社,1997。39:81~84
- 6 Couper, J. M., E. M. Leise. *Biol. Bull.*, 1996, 191: 178~186
- 7 He Yi-Chao, Zhang Fusui. *Chin. J. Oceanol. Limnol.*, 1998, 16(1): 91~96
- 8 McCauley, D. W.. *Dev. Biol.*, 1997, 190: 229~240
- 9 Shau-Hwai Tan, Tat-Meng Wong. *Aquaculture*, 1996, 145: 129~139
- 10 Shau-Hwai Tan, Tat-Meng Wong. *J. Shellfish Res.*, 1995, 14(2): 435~438
- 11 Yang Yu, Wu Bao-Ling. *Chin. J. Oceanol. Limnol.*, 1995, 13(1): 71~77