

# 海洋无脊椎动物幼虫附着变态研究进展

## II:附着变态模型及人工诱导物在经济贝类苗种生产中的应用\*

### ADVANCEMENTS IN RESEARCH ON SETTLEMENT AND METAMORPHOSIS OF MARINE INVERTEBRATE LARVAE II: MODELS AND APPLICATION

张 涛

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

#### 1 海洋无脊椎动物幼虫附着变态机理模型

目前为止,对一些重要经济贝类如鲍和牡蛎的附着变态机理研究比较深入,已经到达神经生物学和细胞生物学水平。目前,有关海洋无脊椎动物幼虫附着变态机理模型主要有3个:以太平洋牡蛎(*Cmsostrea gigas*)幼虫附着变态为代表的双调控模型、以红鲍(*Haliotis rufescens*)幼虫附着变态为代表的上行调节模型以及以多毛类 *Phragmatopoma californica* 幼虫附着变态为代表的脂肪酸调控模型。

Bonar 等 1990 年和 Coon 和 Fitt 等 1990 年从生态和生理水平探讨了牡蛎幼虫附着变态机理,认为牡蛎幼虫体内存在两条控制附着变态的途径:多巴胺行为途径和肾上腺素能形态途径。适宜的环境(化学)因子通过幼虫表皮受体刺激神经末梢分泌多巴胺,激活行为途径。对于牡蛎幼虫来说,这些环境因子包括微生物产生的大分子物质如多糖和(或)其他细菌代谢物。行为阶段的激活导致幼虫对外界微环境(对附着基表面结构、外界化学因子、水流、光照和水压等感觉信息)敏感性的增加,导致幼虫对环境适宜性感觉的累加。当幼虫感觉到外界环境适宜时,体内就会分泌去甲肾上腺素或肾上腺素,作用于靶组织中的  $\alpha-1$  型肾上腺素能受体,激活形态发生,诱导幼虫变态。他们认为 L-DOPA 并不直接诱导牡蛎幼虫变态,而是先被幼虫吸收,在体内转化为多巴胺,作用于多巴胺受体,诱导幼虫变态。Coon 和 Bonar 1986 年发现太平洋牡蛎幼虫体内含有去甲肾上腺素和多巴胺,并且随着幼虫

的发育去甲肾上腺素含量不断增加,在变态前达到最高。这为 Bonar 等和 Coon, Fitt 等的模型提供了有力的科学证据。Bonar 等以及 Coon 和 Fitt 等提出的模型如图 1 所示。

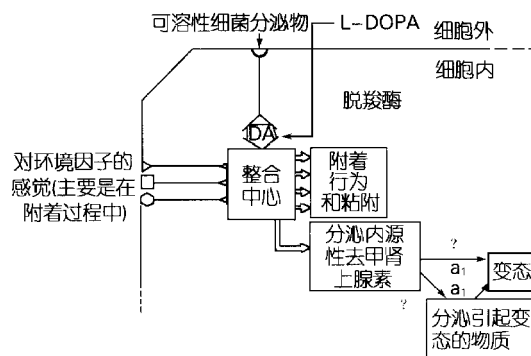


图 1 太平洋牡蛎(*C. gigas*)幼虫附着变态模型  
DA:多巴胺  $\alpha-1$ : $\alpha-1$ 型肾上腺素能受体

Baxter 和 Morse 1987 年从细胞生物学和分子生物学角度研究了红鲍幼虫的附着变态机理。他们认为红鲍幼虫体内附着变态发生有两条控制途径:形态发生途径和调控途径。形态发生途径是以 cAMP 为第二信使,激活蛋白激酶 A,打开离子通道,使细胞产生去极

\* 国家攀登计划 B (PDB632 专题) 和国家自然科学基金资助项目 39970588 号;中国科学院海洋研究所调查研究报告第 3765 号。

收稿日期:1998-09-30;修回日期:1999-03-10

化;而调控途径是以 DG和 IB 为第二信使,激活蛋白激酶 C,打开离子通道,使细胞产生去极化。两者相互配合,极大地促进了幼虫对外界诱导物的敏感性。G 蛋白和诱导物受体相偶联,参与了形态发生途径和调控途径。如图 2 所示。

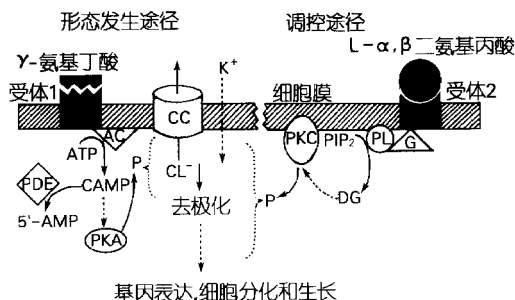


图 2 红鲍 (*H. rufescens*) 幼虫附着变态机理模型

AC:腺苷酸环化酶;PDE:磷酸二酯酶;PKA:蛋白激酶 A;PKC:蛋白激酶 C;G:G 蛋白;PL:磷脂酶;DG:甘油二酯;PIB:磷脂酰肌醇 4,5 二磷酸;P:磷酸化;DAPA:L $\alpha$ , $\alpha$ -二氨基丙氨酸;R1, R2:受体;CC:氯离子通道;实线代表催化反应,虚线代表激活反应

Baxter 和 Morse 的模型有许多有力的科学证据:(1)腺苷酸环化酶(催化 ATP 形成 cAMP)的激活物和磷酸二酯酶(降解 cAMP)的阻遏物能够诱导幼虫附着变态,说明 cAMP 可能参与了幼虫变态过程。(2)霍乱毒素能够阻止 GTP 从 G 蛋白上分离下来形成 GDP,从而使 G 蛋白保持活性。霍乱毒素能够有效地增强 GABA( $\gamma$ -氨基丁酸)的诱导效应,说明 G 蛋白可能参与了此过程。(3)Wodicka 和 Morse 1991 年已经从红鲍幼虫的纤毛中分离出了 G $\alpha$  信号转导蛋白。(4)DAG 和 IB 参与了 *Hymenochirus echinata* 幼虫的变态过程。(5)蛋白激酶 C 参与了藤壶 *Balanus amphitrite* 幼虫变态过程<sup>31</sup>。

这个模型可能对腹足类贝类是合适的,但对于其他海洋无脊椎动物幼虫则不一定适合。如 GABA 对贻贝(*Mytilus edulis*)的变态不起诱导作用。

除了以上两种模型外,还可能存在着另一种途径,即脂肪酸调控途径。如图 3 所示。

这个模型是 Jensen 等 1990 年根据脂肪酸对多毛类 *Phragmatopom* 幼虫变态的诱导结果提出来的,他们认为幼虫细胞内的不饱和脂肪酸如花生四烯酸在

脂肪氧合酶的作用下,分解为小分子物质,这些小分子物质作为第二信使,激活细胞膜上的 K<sup>+</sup> 通道,诱导幼虫变态。Leitz 等 1994 年发现花生四烯酸和 EPA 参与了 *Hymenochirus echinata* 幼虫的附着变态过程,花生四烯酸的代谢产物 8-HETE 和 12-HETE 可能诱导了其幼虫的附着变态,为以上模型提供了有力的证据。这个模型对于贝类幼虫是否合适目前还未见报道,但有证据表明许多贝类幼虫在变态过程中要消耗一定量的脂类。Ferreiro 等 1990 年认为食用牡蛎(*Crassostrea edulis*)幼虫在变态过程中消耗的能量大部分来自脂类。Uriarte 和 Castilla 1998 年也发现智利扇贝 *Argopecten purpuratus* 幼虫在变态过程中脂类含量由 20% 下降为 7.4%,变态后脂类含量又逐渐增加到 22%<sup>21</sup>。扇贝 *Crassostrea gigantea* 幼虫在变态过程中要消耗全身能量的 26.6%,其中这些能量有 59.9% 来源于脂类。贝类幼虫除了利用脂类提供的能量外,是否能够利用细胞内的酶(如磷脂酶 A)将不饱和脂肪酸如 DHA、EPA 和花生四烯酸分解为小分子物质,诱导幼虫附着变态,还未见报道。

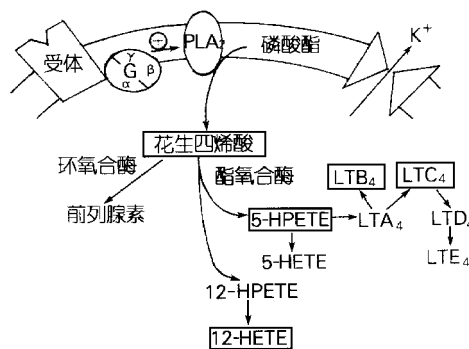


图 3 *Phragmatopom californica* 幼虫附着变态脂肪酸调控途径

G:G 蛋白;G $\alpha$ :G 蛋白  $\alpha$  亚基;G $\beta\gamma$ :G 蛋白  $\beta\gamma$  亚基;PLA<sub>2</sub>:磷脂酶 A

即使对于多毛类 *Phragmatopom californica* 幼虫来说,脂肪酸调控模型存在一定的缺陷,如果按图 3 所示的那样,K<sup>+</sup> 离子通道开放,K<sup>+</sup> 离子由细胞内流出,应该引起细胞的超极化,而非去极化。脂肪酸对多毛类幼虫变态的诱导可能是通过另外途径,如通过调节腺苷酸环化酶影响细胞内 cAMP 浓度,或者直接调节细胞内 cAMP 浓度,诱导多毛类幼虫变态。

## 2 人工诱导物在经济贝类苗种生产中的应用

在经济贝类(如鲍、牡蛎、扇贝)苗种生产中,幼虫附着变态的成功与否往往决定着出苗量和育苗的成败。幼虫在附着变态阶段对外界环境因子的变化比较敏感,最易引起幼虫大批量死亡。怎样提高幼虫的附着变态率,缩短幼虫附着变态时间,减少死亡率成为一个亟待解决的问题。用化学诱导的方法诱导幼虫附着变态比较成功地解决了这一问题。

### 2.1 GABA在鲍苗种生产中的应用

鲍是一种重要的经济贝类,用人工诱导的方法促进其幼虫附着变态具有十分重要的现实意义。GABA因对鲍幼虫附着变态有十分明显的诱导作用而在鲍的育苗过程中得到广泛应用。GABA对以下鲍幼虫的变态具有明显的诱导作用,并在生产中得到应用,如表1所示。

表1 GABA在生产中得到应用的鲍种类

拉丁文名称	俗称	产地
<i>Haliotis rufescens</i>	红鲍	美国
<i>H. fulgens</i>	绿鲍	美国、墨西哥
<i>H. currugata</i>	桃红鲍	美国、墨西哥
<i>H. cracherodii</i>	黑鲍	美国、墨西哥
<i>H. kantschatkana</i>	杂色鲍	美国、加拿大
<i>H. tuberculata</i>	Ormer	爱尔兰、法国、英国
<i>H. midae</i>	非洲鲍	南非
<i>H. iris</i>	蓝鲍	新西兰
<i>H. australis</i>	黄足鲍	新西兰
<i>H. virginea</i>	白足鲍	新西兰
<i>H. ruber</i>	黑唇鲍	澳大利亚
<i>H. discus hannai</i>	皱纹盘鲍	日本、中国

用GABA促进鲍幼虫附着变态加入GABA时鲍幼虫发育时间和GABA的浓度是关键。因为鲍幼虫对GABA的反应存在下行调节,所以只有当幼虫发育到具有附着变态能力时加入GABA才有诱导作用,过早则有抑制作用,为了避免处理时间过早,可经常取样检查幼虫对GABA的反应。鲍幼虫具有附着变态的发育时间因不同种类和培育温度而有所不同,一般在受精后4~10 d。在15±0.5℃培育温度条件下,红鲍幼虫在受精后7~10 d具有完全附着变态能力,此时用GABA处理较好。受精后7 d的红鲍幼虫加入GABA

后24 h内就有100%的幼虫附着,受精后10 d的幼虫加入GABA后2~4 h内100%的幼虫产生附着行为并发生变态。GABA处理浓度也是关键。对于大部分鲍幼虫,GABA的最佳处理浓度为10<sup>-6</sup> mol/L。高于10<sup>-6</sup> mol/L,鲍幼虫虽然能够附着,但变态受到抑制,死亡率升高。用10<sup>-6</sup> mol/L GABA处理过的鲍幼虫不但附着变态率高,而且健康,死亡率低,生长快。

### 2.2 肾上腺素和去甲肾上腺素在牡蛎苗种生产中的应用

单体牡蛎具有明显的优点:个体大,规格一致,便于运输和剥离,不用附着基;方便科学研究;便于测量其体重,测其生化成分时可防止附着基的污染。肾上腺素和去甲肾上腺素只诱导牡蛎幼虫变态,而不诱导附着,因此可用来生产单体牡蛎。肾上腺素对太平洋牡蛎和美洲牡蛎幼虫的诱导效果要好于去甲肾上腺素。肾上腺素和去甲肾上腺素的最佳处理浓度为10<sup>-4</sup> mol/L,处理时间短可在1 h之内,长可达24~48 h。用10<sup>-4</sup> mol/L的肾上腺素处理太平洋牡蛎幼虫24 h,90%以上的幼虫发生变态,变态幼虫幼虫中90%以上成为单体牡蛎,化学诱导的单体牡蛎和用人工方法剥离的牡蛎在生长发育方面并没有明显差异,但如果浓度超过10<sup>-4</sup> mol/L且处理时间达数日或更长,则获得的单体牡蛎生长会被抑制,但死亡率并没有增加。


### 2.3 KCl在贝类苗种生产中的应用

KCl因其价格便宜,作用效果明显,在贝类苗种生产中逐渐受到人们的重视。虽然到目前为止KCl只是被用来检测贝类幼虫是否具有变态能力,但由于KCl与GABA、肾上腺素和去甲肾上腺素等诱导物相比具有价格上的优势,在生产上具有很大的应用前景。KCl的诱导浓度一般为10~40 mmol/L<sup>[4]</sup>。最适浓度因不同种类而有所不同。KCl的作用时间较长,一般需2~3 d时间。

### 2.4 菌膜在贝类苗种生产中的应用

菌膜在贝类苗种生产中的应用还刚刚起步。Weiner等1985年已将海洋细菌诱导牡蛎幼虫附着变态应用于生产。菌膜在贝类苗种生产中具有很大的潜力,比GABA和KCl具有更大的优点。GABA和KCl虽然诱导效果明显,但在诱导过程中幼虫沉入底部,并不能实现幼虫的定向附着。定向附着对于在苗种生产过程中用悬浮附着基(如网片)的贝类(如扇贝)特别重要。利用菌膜就可能实现幼虫的定向附着。从长远来看,利用生物工程技术选育出具有明显诱导作用的

## 研究综述 REVIEWS



高效菌株,将会大大促进经济贝类养殖业的发展。

海洋无脊椎动物幼虫附着变态是一个重要的生态学问题,只有把幼虫附着变态的分子生物学机理和生态学原理有机的结合起来,才能更全面地了解掌握幼虫在自然海区的募集补充规律和幼虫的种群数量变动规律,国外学者已经开展了许多这方面的研究。海洋无脊椎动物幼虫附着变态机理研究具有重要的理论和应用价值。用分子生物学技术和方法探讨海洋无脊椎动物幼虫附着变态机理,能够为受体学和受体进化理论研究提供许多新资料;用化学物质诱导幼虫的附着变态,对于提高经济贝类的附着变态率,增加经济贝类苗种生产中的出苗量有重要的现实意义;用化学物质阻止一些海洋无脊椎动物(如船蛆、海鞘、藤壶等)幼虫的附着变态,可以减少这些动物在轮船和

扇贝笼上的附着,对于提高船速和保护船体,提高扇贝对海区饵料的利用率以及促进扇贝的生长有重要作用。

### 主要参考文献

- 1 Bryan, P. J. and Pei Yuan Qian. *J. Exp. Biol. Ecol.*, 1998, 223: 39 ~ 51
- 2 Uriarte, A. F. and J. C. Castilla. *Aquaculture*, 1998, 166: 37 ~ 47
- 3 Yamamoto, H., Okino, T. and Yoshimura, E.. *The Journal of Experimental Zoology*, 1997, 278: 349 ~ 355
- 4 Yang Yu and Wu Bao-Ling. *Chin. J. Oceanol. Limnol.*, 1995, 13(1): 71 ~ 77

(本文编辑:李本川)