

化学物质对硬壳蛤幼虫变态的诱导

张涛, 杨红生, 周毅, 何义朝, 张福绥

(中国科学院海洋研究所, 山东青岛 266071)

摘要:用 KCl、肾上腺素(EPI)、去甲肾上腺素(NE)、L-DOPA 和 GABA(γ -氨基-酸)进行了不同浓度不同处理时间对硬壳蛤(*Mercenaria mercenaria* L.)幼虫变态诱导实验。结果表明, KCl、肾上腺素、去甲肾上腺素和 L-DOPA 对硬壳蛤幼虫的变态均有诱导作用, 而 GABA 的诱导作用不显著。KCl 的最佳诱导浓度随处理时间不同而有所不同。处理时间为 1~24, 48, 72 h 时 KCl 的最佳诱导浓度分别为 33.56, 20.13~26.85, 13.42 mmol/L。肾上腺素和去甲肾上腺素的诱导作用与浓度和处理时间均有关。肾上腺素的最佳处理浓度为 100 μ mol/L, 最佳处理时间均为 8 h, 此时幼虫变态率提高最大, 为 36.97 个百分点。当去甲肾上腺素的诱导浓度为 100 μ mol/L, 处理时间为 8~16 h 时, 幼虫变态率提高也较大, 均大于 18 个百分点, 死亡率增加, 但均低于 30 个百分点, 当去甲肾上腺素诱导浓度为 500 μ mol/L 时, 虽然在 8~16 h 的处理时间范围内, 幼虫变态提高率也较大, 均大于 18 个百分点, 但当处理时间超过 8 h, 在 16~48 h 范围内, 幼虫死亡率提高明显增大, 均大于 50 个百分点。L-DOPA 的适宜诱导浓度为 10~50 μ mol/L, 适宜处理时间为 8~24 h, 此时幼虫变态率均提高 30 个百分点以上, 最高可提高 79.43 个百分点。GABA 的诱导作用较弱, 最佳诱导浓度随处理时间的不同而有所不同, 处理时间为 24 h 和 48 h 时, 最佳诱导浓度为 0.1 μ mol/L; 处理时间为 0.5~16 h 时, 最佳诱导浓度为 100 μ mol/L。

关键词:化学物质; 硬壳蛤(*Mercenaria mercenaria* L.); 变态; 诱导

中图分类号:S968.3 **文献标识码:**A **文章标号:**1000-3096(2005)12-0059-09

硬壳蛤(*Mercenaria mercenaria* L.)是美国产的一种重要的浅海滩涂贝类, 个体较大, 体质量可达 200 g 以上。自 1997 年由中国科学院海洋研究所首次引入我国以来, 中国科学院海洋研究所的有关科技人员对其生态习性和苗种生产进行了研究, 并进行了养殖推广。目前在山东省莱州市和潍坊市昌邑市推广养殖面积约 80 hm² (1 200 亩), 并在江苏省赣榆县、山东省海阳市和福建省连江县进行了试养, 均获成功, 2004 年和 2005 年又分别在辽宁省大连市和山东省青岛市进行了推广养殖。从养殖的情况看, 硬壳蛤在我国的发展潜力很大。硬壳蛤对环境具有较强的适应能力, 适合我国大部分的滩涂和虾池养殖, 在砂质、泥砂质和泥质底质中均能存活和生长, 硬壳蛤对温度和盐度具有很强的耐受力, 其耐受的温度范围为 -2℃~35℃, 生长温度范围为 9~30℃, 适宜生长温度范围为 18~28℃, 耐受的盐度范围为 18~48, 最适生长盐度范围为 18~36。硬壳蛤在我国大部分海区 1~2 年便可长成商品规格, 壳长达 5.0 cm 以上, 体质量达 50 g 以上。

有关硬壳蛤亲贝培养和幼虫发育研究国外已有报道^[1,2], 国内也有其生态习性和苗种生产方面的研究报道^[3-6], 但有关其幼虫变态诱导的研究国内外还

未见报道。本实验着重研究了不同浓度的 KCl、肾上腺素、去甲肾上腺素、L-DOPA 和 GABA 在不同处理时间时对硬壳蛤幼虫变态的诱导, 以求寻找提高其幼虫变态率的有效手段, 为其增养殖的发展奠定良好的基础。

1 材料和方法

1.1 幼虫来源

硬壳蛤幼虫由中国科学院海洋研究所徐家麦岛实验基地培育。培育温度为 23~24℃, 盐度为 32。取受精后 12d, 平均壳长为 187.00 \pm 7.63 μ m 的幼虫作为实验材料。

收稿日期: 2005-04-06; 修回日期: 2005-06-06

基金项目: 国家“863”项目(2004A A603810); 国家自然科学基金项目(30200214); 国家级星火计划项目(2004EA 741014);

山东省科技兴海项目“硬壳蛤工厂化育苗与养殖产业化开发”; 青岛市重大科技项目“硬壳蛤工厂化人工育苗与示范”

作者简介: 张涛(1971-), 男, 博士, 副研究员, 主要从事贝类繁殖发育生物学和贝类实验生态学方面的研究工作, E-mail: tzhang@ms.qdio.ac.cn

1.2 诱导物母液配制

5种诱导物均现用现配。首先用蒸馏水将诱导物配成10倍于目标浓度的母液备用。

1.3 实验步骤

实验用海水经Whatman GF/C玻璃纤维滤膜(孔径约为1 μm)过滤。将一定量的药品母液加入盛有幼虫的过滤海水中并用过滤海水稀释成药品的目标浓度。由于药品母液的加入而使海水盐度降低1%~10%，对照组中加入相当量的蒸馏水，以保持与处理组盐度一致。幼虫经过预定处理时间后，用250目筛绢滤出，并用过滤海水将药品冲洗干净，放入6孔细胞培养板中完成剩余实验周期。6孔细胞培养板每孔海水体积约为10 mL，幼虫50~100个。实验结束后48~72 h后用碘液固定幼虫，在解剖镜下检查幼虫变态率和死亡率。

1.4 KCl 肾上腺素、去甲肾上腺素、L-DOPA 和 GABA 浓度和处理时间设计

KCl 为上海远东化工试剂厂所产，肾上腺素和去甲肾上腺素为Fluka公司所产，L-DOPA 和 GABA 为上海试剂三厂所产。

KCl 的诱导浓度为 6.71, 13.42, 20.13, 26.85, 33.56 mmol/L，处理时间为 1, 8, 16, 24, 48, 72 h；肾上腺素的诱导浓度为 2.5, 10, 50, 100, 500 μmol/L，处理时间为 0.5, 8, 16, 24, 48 h；去甲肾上腺素的诱导浓度为 2.5, 10, 50, 100, 500 μmol/L，处理时间为

0.5, 8, 16, 24, 36, 48 h；L-DOPA 的诱导浓度为 1.0, 2.5, 10, 50, 100 μmol/L，处理时间为 0.5, 1, 8, 16, 24, 48 h；GABA 的诱导浓度为 0.1, 10, 100, 1 000 μmol/L，处理时间为 0.5, 1, 8, 16, 24, 48 h。每个处理组均设3个平行组。

1.5 变态标志

本实验以硬壳蛤幼虫次生壳和鳃棒的形成作为变态标志。

2 实验结果

2.1 KCl 对硬壳蛤幼虫变态率和死亡率的影响

KCl 对硬壳蛤幼虫变态的诱导作用与浓度和处理时间有关，最佳诱导浓度随处理时间的延长而有所降低。当处理时间为 1~24 h 时，KCl 的最佳诱导浓度为 33.56 mmol/L，此时幼虫变态率均提高 24 个百分点以上，当处理时间为 48 h 时，KCl 的最佳诱导浓度为 20.13~26.85 mmol/L，此时幼虫变态率提高 21 个百分点以上，处理时间为 72 h 时，最佳诱导浓度为 13.42 mmol/L，此时幼虫变态率提高 30.42 个百分点(图 1)。KCl 的诱导作用对浓度的依赖性较显著 ($P < 0.05$)，但对处理时间的依赖性并不显著 ($P > 0.05$)。同时，方差分析显示，在所有的实验浓度和处理时间范围内，KCl 对硬壳蛤幼虫的死亡率并没有明显影响 ($P > 0.05$, 图 2)。

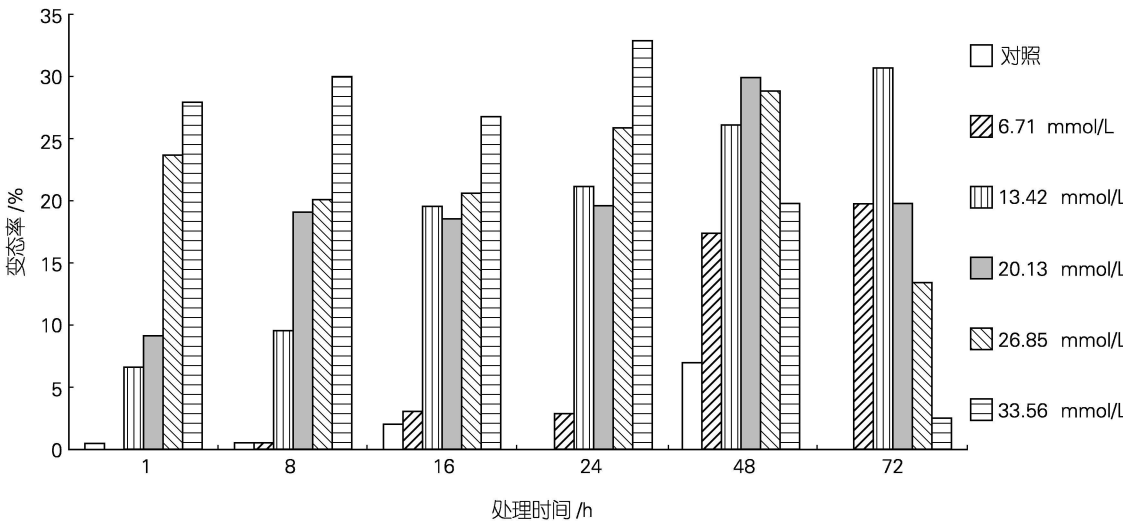


图 1 KCl 对硬壳蛤幼虫变态的诱导

Fig. 1 Induction of metamorphosis of larvae of the hard clam *M. mercenaria* by KCl at different concentrations and exposure times

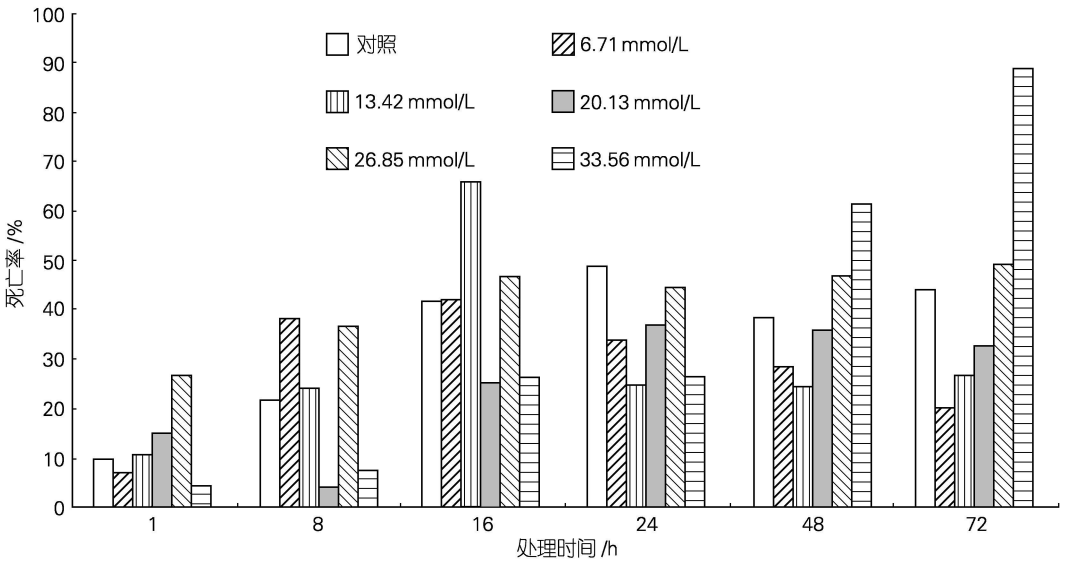


图2 KCl对硬壳蛤幼虫死亡率的影响

Fig. 2 Effect of KCl at different concentrations and exposure time on the mortality of larvae of the hard clam *M. mercenaria*

2.2 肾上腺素对硬壳蛤幼虫变态率和死亡率的影响

肾上腺素对硬壳蛤幼虫的变态有明显的诱导作用,其诱导作用与浓度和处理时间均有关。肾上腺素的最佳处理浓度为 $100 \mu\text{mol/L}$, 最佳处理时间均为 8 h, 此时幼虫变态率提高最大,为 36.97 个百分点。肾

上腺素的诱导效果对浓度的依赖性较强,而对于处理时间则较弱(图 3)。肾上腺素对硬壳蛤幼虫的死亡率有明显影响,诱导浓度和处理时间对幼虫死亡率均有显著影响 ($P < 0.05$), 幼虫死亡率随浓度加大和处理时间延长而明显升高(图 4)。

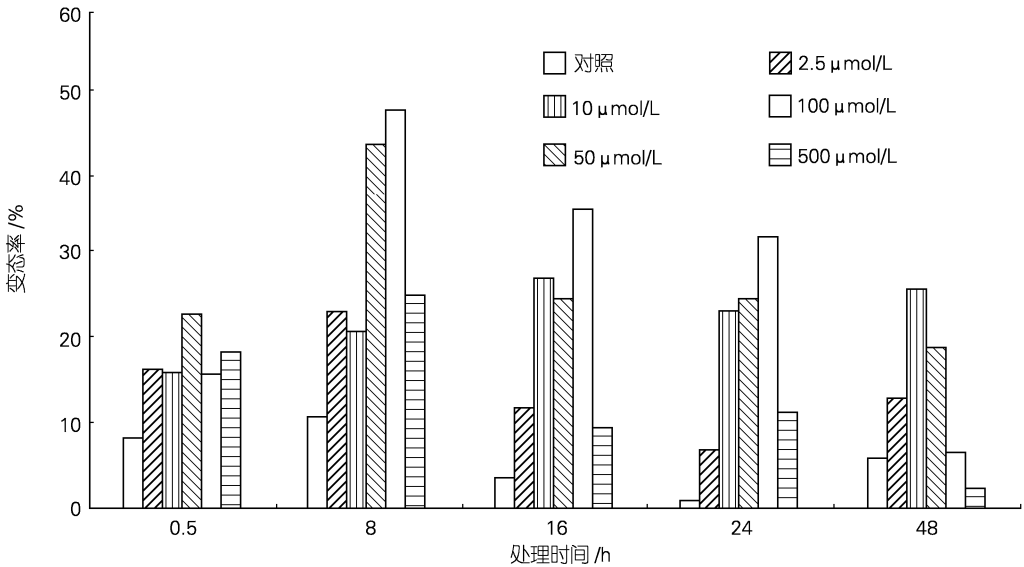


图3 肾上腺素对硬壳蛤幼虫变态的诱导

Fig. 3 Induction of metamorphosis of larvae of the hard clam *M. mercenaria* by EPI at different concentrations and exposure time

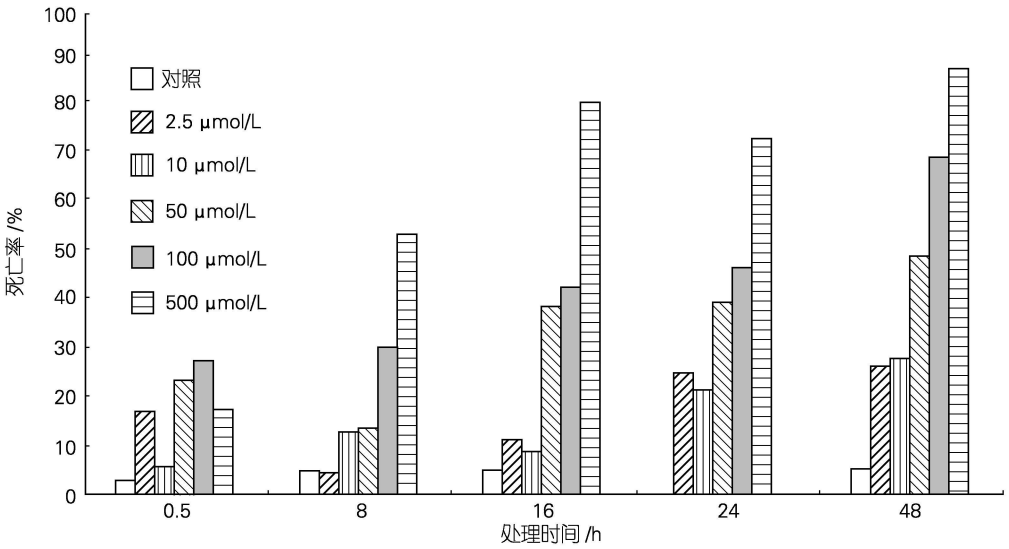


图4 肾上腺素对硬壳蛤幼虫死亡率的影响

Fig. 4 Effect of EPI at different concentrations and exposure time on the mortality of larvae of the hard clam *M. mercenaria*

2.3 去甲肾上腺素对硬壳蛤幼虫变态率和死亡率的影响

去甲肾上腺素对硬壳蛤幼虫的变态也有明显的诱导作用。当去甲肾上腺素的诱导浓度为 100 μmol/L, 处理时间为 8~16 h 时, 幼虫变态率提高较大, 均大于 18 个百分点, 死亡率增加均低于 30 个百分点, 当去甲肾上腺素诱导浓度为 500 μmol/L 时, 虽然在 8~16 h 的处理时间范围内, 幼虫变态率提高也较大, 均大于 18 个百分点, 但当处理时间超过 8 h, 在 16~48 h 范围内, 幼虫死亡率明显升高, 比对照组提高 50 个百分点(图 6)。因此, 综合变态提高率和死

亡提高率指标, 作者认为, 当处理时间为 8 h 时, 去甲肾上腺素的适宜诱导浓度为 100~500 μmol/L, 当处理时间为 16 h 时, 去甲肾上腺素的适宜诱导浓度为 100 μmol/L。去甲肾上腺素的诱导效果对浓度和处理时间均有明显的依赖性(图 5)。方差分析表明, 浓度对幼虫变态率的影响为极显著($P < 0.01$), 处理时间对幼虫变态率的影响为显著($P < 0.05$)。去甲肾上腺素对幼虫的死亡率也有影响(图 6), 方差分析表明, 浓度对幼虫死亡率有极明显的影响($P < 0.01$), 处理时间的影响为显著($P < 0.05$)。

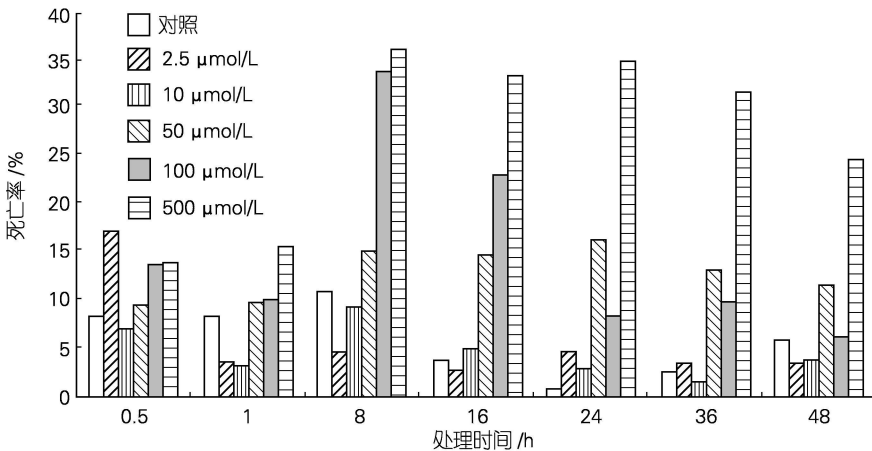


图5 去甲肾上腺素对硬壳蛤幼虫变态的诱导

Fig. 5 Induction of metamorphosis of larvae of the hard clam *M. mercenaria* by NE at different concentrations and exposure time

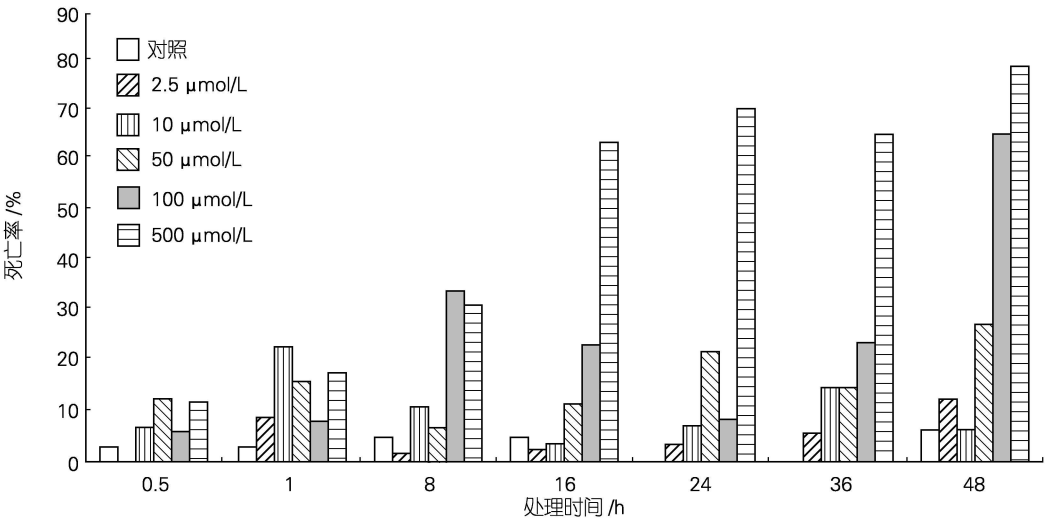


图6 去甲肾上腺素对硬壳蛤幼虫死亡率的影响

Fig. 6 Effect of NE at different concentrations and exposure time on the mortality of larvae of the hard clam *M. mercenaria*

2.4 L-DOPA 对硬壳蛤幼虫变态率和死亡率的影响

L-DOPA 对硬壳蛤幼虫的变态有明显的诱导作用。L-DOPA 的适宜诱导浓度为 10~ 50 μmol/L, 适宜处理时间为 8~ 24 h, 此时幼虫变态率均提高 30 个百分点以上, 最高可提高 79.43 个百分点(图 7)。

方差分析显示, 幼虫变态率对 L-DOPA 的浓度和处理时间均有极明显的依赖性 ($P < 0.01$), 而幼虫

死亡率只对浓度有明显的依赖性 ($P < 0.05$), 对处理时间的依赖性并不明显 ($P > 0.05$), 1.0~ 50 μmol/L 的 L-DOPA 在 0.5~ 48 h 的处理时间范围内, 对幼虫死亡率并没有明显的影响, 只有当 L-DOPA 的浓度达到 100 μmol/L, 处理时间超过 1h 时, 幼虫死亡率才明显增加, 当处理时间为 48 h 时, 幼虫死亡率与对照组相比提高 44.88 个百分点(图 8)。

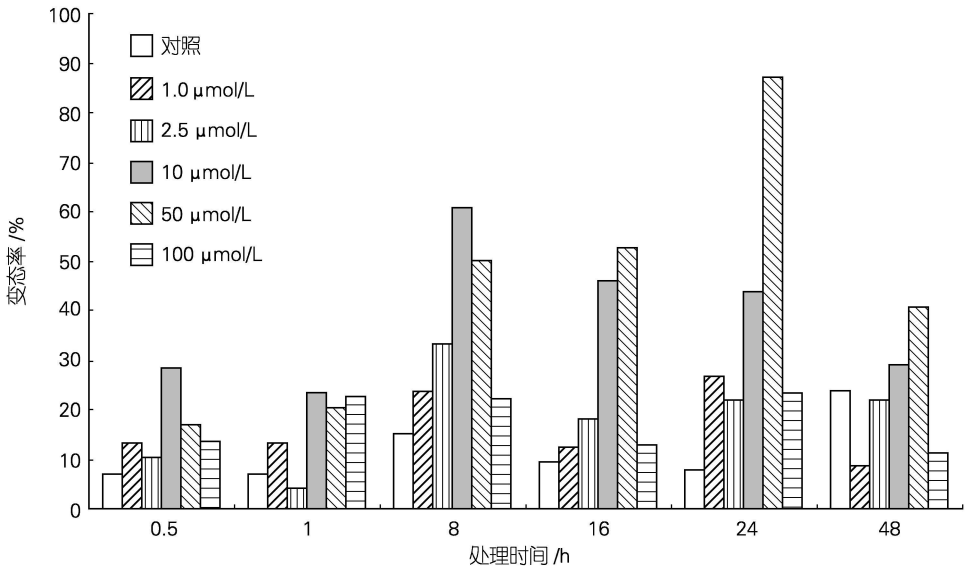


图7 L-DOPA 对硬壳蛤幼虫变态的诱导

Fig. 7 Induction of metamorphosis of larvae of the hard clam *M. mercenaria* by L-DOPA at different concentrations and exposure time

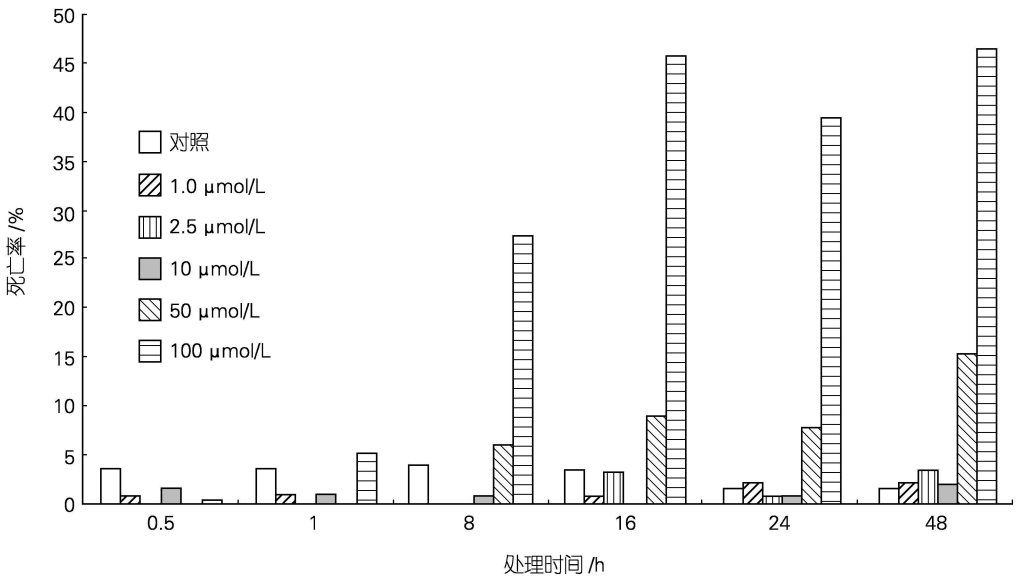


图 8 L-DOPA 对硬壳蛤幼虫死亡率的影响

Fig. 8 Effect of L-DOPA at different concentrations and exposure time on the mortality of larvae of the hard clam *M. mercenaria*

2.5 GABA 对硬壳蛤幼虫变态率和死亡率的影响

GABA 对硬壳蛤幼虫变态有一定的诱导作用, 但结果并不理想, 幼虫变态率提高幅度变动较大, 对浓度和处理时间的依赖性不大($P > 0.0$, 图 9)。

BA 对幼虫的死亡率有一定影响, 但幼虫死亡率对浓度和处理时间的依赖性不大($P > 0.05$), 只有当浓度为 $100 \mu\text{mol/L}$ 和 $1000 \mu\text{mol/L}$, 处理时间为 24 h 和 48 h 时, 幼虫死亡率才有明显增加, 此时幼虫死亡率比对照组提高 40 个百分点以上(图 10)。

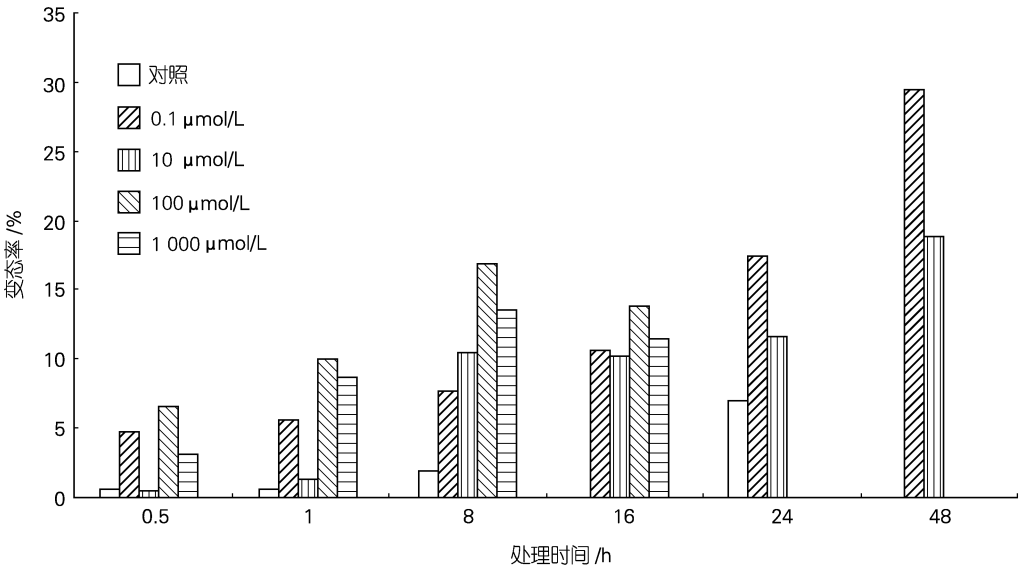


图 9 GABA 对硬壳蛤幼虫变态的诱导

Fig. 9 Induction of metamorphosis of larvae of the hard clam *M. mercenaria* by GABA at different concentrations and exposure time

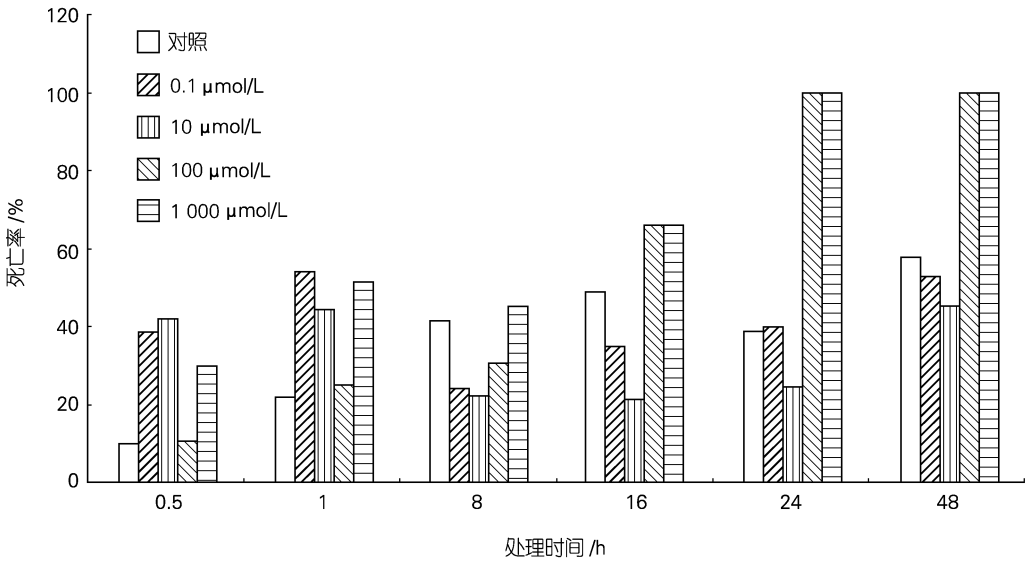


图 10 GABA 对硬壳蛤幼虫死亡率的影响

Fig. 10 Effect of GABA at different concentrations and exposure time on the mortality of larvae of the hard clam *M. mercenaria*

3 讨论

附着变态是海洋经济贝类发育过程中一个重要阶段,是制约经济贝类苗种生产的决定性因素之一,怎样有效提高幼虫附着变态率成为一个亟待解决的问题。用化学物质作为诱导物促进经济贝类幼虫附着变态是一种有效的方法。目前,GABA(γ-氨基丁酸)已经在鲍的苗种生产中得到广泛应用^[7];肾上腺素和去甲肾上腺素已经被用来生产单体牡蛎^[8];虽然现在 KCl 只是被用来检测 *Crepidula fornicata* 幼虫是否具有变态能力^[9],但因为 KCl 作用范围广,诱导效果明显,价格便宜,越来越受到人们的重视。

KCl 的诱导作用主要是通过 K⁺ 直接影响细胞膜电位,使细胞膜去极化,从而诱导幼虫变态^[10, 11]。KCl 对红鲍^[10, 11]、皱纹盘鲍 (*Haliotis discus han-nai*)^[12]、杂色鲍 (*H. diversicolor*)^[13]、翡翠贻贝^[14]、台湾东风螺 (*Babylonis formosae*) 和方斑东风螺 (*B. aerolata*)^[15] 等幼虫的变态均有诱导作用。从本实验的结果来看,KCl 对硬壳蛤幼虫的变态也有明显的诱导作用,其诱导作用与浓度和处理时间有关。KCl 的最佳诱导浓度随处理时间不同而有所不同,最佳诱导浓度随处理时间的延长而有所降低。当处理时间为 1~24 h 时,KCl 的最佳诱导浓度为 33.56 mmol/L,此时幼虫变态率均提高 24 个百分点以上,当处理时间为 48 h 时,KCl 的最佳诱导浓度为 20.13~26.85 mmol/L,此时幼虫变态率提高 21 个百分点以上;处

理时间为 72 h 时,最佳诱导浓度为 13.42 mmol/L,此时幼虫变态率提高 30.42 个百分点。KCl 对于不同贝类幼虫的最佳诱导浓度是不同的,红鲍、诗博加囊海牛 (*Phestilla sibogae*) 和 *Astraea undosa* 幼虫的最佳诱导浓度分别为 10、20 和 10 mmol/L^[11],而皱纹盘鲍幼虫的最佳诱导浓度高达 40 mmol/L^[12],这可能是种间差别所致,或者与处理时间不同有关。

KCl 不但诱导的贝类种类广泛,而且毒副作用小。Eyster 和 Pechenik^[16]发现用 20 mmol/L 的 KCl 诱导的腹足类 *Crepidula fornicata* 幼虫变态 14d 后的稚贝与正常变态的稚贝相比,其生长率、呼吸率和摄食率并没有明显的变化,因此,20 mmol/L 的 KCl 对于 *C. fornicata* 幼虫是安全的诱导浓度。虽然作者没有测定硬壳蛤稚贝的生长率、呼吸率和摄食率,但从幼虫死亡率指标看,33.56 mmol/L 的 KCl 在 1~24 h 处理时间范围内对于硬壳蛤幼虫来说,是最佳诱导浓度,也是安全诱导浓度。

肾上腺素和去甲肾上腺素均为酪氨酸衍生物,属于儿茶酚胺类物质,它们的诱导种类也较广泛,对长牡蛎 (*C. gigas*)^[17, 18]、热带牡蛎 (*C. belcheri*)^[19]、食用牡蛎 (*Ostrea edulis*)^[20]、翡翠贻贝^[21]、魁蚶^[22]、虾夷扇贝 (*Patinopecten yessoensis*)^[23] 以及大凤螺 (*Strombus gigas*)^[24] 等幼虫的变态均有诱导作用,并且对于不同贝类幼虫,肾上腺素和去甲肾上腺素的最佳诱导浓度和处理时间是不同的。从本实验的结果看,肾上腺素和去甲肾上腺素的适宜诱导浓度均为

100 $\mu\text{mol/L}$, 适宜处理时间为 8~16 h, 浓度过大或处理时间过长都将对硬壳蛤幼虫产生毒害作用, 变态率降低, 死亡率增加。肾上腺素和去甲肾上腺素的诱导浓度对硬壳蛤幼虫的变态率和死亡率均有明显的影响。综合变态率和死亡率指标, 在利用肾上腺素和去甲肾上腺素诱导硬壳蛤幼虫变态时, 不但要控制好诱导浓度, 而且还要控制好处理时间。

L-DOPA 为酪氨酸衍生物, 属于神经递质。现已证明, L-DOPA 对长牡蛎^[17,18]、热带牡蛎^[9]和虾夷扇贝^[23]等幼虫变态均有明显的诱导作用。L-DOPA 的最佳诱导浓度随种类不同而有所不同。L-DOPA 对长牡蛎幼虫的最佳诱导浓度为 25 $\mu\text{mol/L}$, 超过 100 $\mu\text{mol/L}$ 则导致很高的死亡率, 幼虫变态率为零; 对于热带牡蛎, 在处理时间为 1 h 时, L-DOPA 的最佳诱导浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$, 而当处理时间为 24 h 时, 最佳诱导浓度则均为 1.0 $\mu\text{mol/L}$, 处理时间越长, 最佳诱导浓度越小^[19]。从作者的实验结果来看, 对于硬壳蛤幼虫, L-DOPA 的适宜诱导浓度为 10~50 $\mu\text{mol/L}$, 适宜处理时间为 8~24 h, 此时幼虫变态率均提高 30 个百分点以上, 同时此诱导浓度和处理时间范围也是硬壳蛤幼虫的安全诱导浓度和处理时间范围, 在此范围内, 幼虫死亡率升高不明显, 均低于 10 个百分点, 最高也仅为 6.22 个百分点。Bonar 等^[25]和 Coon 等^[26]认为 L-DOPA 并不直接诱导长牡蛎幼虫的附着变态, 而是先进入幼虫体内转化为多巴胺, 由多巴胺诱导幼虫附着变态。作者认为这种诱导途径可能也同样存在于硬壳蛤幼虫体内。从作者实验的结果看, L-DOPA 的诱导效果是诱导浓度和处理时间依赖型的, 最佳诱导效果所需要的浓度较高, 处理时间较长, 分别为 10~50 $\mu\text{mol/L}$ 和 8~24 h。这与上面的假设是相符的。在实验中, 作者也观察到幼虫的面盘上经常粘有黑色的沉淀。

GABA 是抑制性氨基酸类神经递质。Morse 等^[27]首次发现 GABA 能够有效地诱导红鲍 (*Haliotis rufescens*) 幼虫附着变态。此后又有学者陆续发现 GABA 也能够诱导其他海洋无脊椎动物幼虫的附着变态。目前 GABA 已经成功地应用于鲍的苗种生产中, 产生了良好的经济效益^[7]。但是, GABA 并不是对所有的贝类幼虫附着变态有诱导作用, GABA 对贻贝 (*Mytilus edulis*)^[28]和海湾扇贝^[29]幼虫的附着变态并没有诱导作用。从作者实验的结果看, GABA 对硬壳蛤幼虫变态的诱导效果并不像对红鲍幼虫的诱导那样理想, 硬壳蛤幼虫变态率的提高普遍较低。这就提示我们, 双壳贝类(如贻贝、海湾扇贝和硬壳蛤)幼虫的附着变态机理可能与腹足类(如红鲍等)幼虫的附着变态机理存在一定的差异。

参考文献:

[1] Manzi J J, Hadley N H, Maddox M B. Seed clam,

Mercenaria mercenaria, culture in an experimental-scale upflow nursery system[J]. *Aquaculture*, 1986, 54: 301-311.

- [2] Gallanger S M, Mann R. Growth and survival of larvae of *Mercenaria mercenaria* L. and *Crassostrea virginica* Gmelin relative to broodstock conditioning and lipid content of eggs[J]. *Aquaculture*, 1986, 56: 105-121.
- [3] 常亚青, 王喜福. 硬壳蛤的人工育苗技术[J]. 中国水产科学, 2002, 9(1): 43-47.
- [4] 林志华, 柴雪良. 硬壳蛤对环境因子适应性试验[J]. 宁波大学学报, 2002, 15(1): 19-22.
- [5] 张涛, 杨红生, 刘保忠, 等. 硬壳蛤 (*Mercenaria mercenaria*) 稚贝中间培育模式的初步研究[J]. 海洋与湖沼, 2003a, 34(6): 648-655.
- [6] 张涛, 杨红生, 刘保忠, 等. 环境因子对硬壳蛤 *Mercenaria mercenaria* 稚贝成活率和生长率的影响[J]. 海洋与湖沼, 2003b, 34(2): 142-149.
- [7] Morse D E. Biochemical and genetic engineering for improved production of abalones and other valuable molluscs[J]. *Aquaculture*, 1984, 39: 263-282.
- [8] Coon S L, Bonar D B, Weiner R M. Chemical production of cultchless oyster spat using Epinephrine and Norepinephrine[J]. *Aquaculture*, 1986, 58: 255-262.
- [9] Pechenik J A, Heyman W D. Using KCl to determine size at competence for larvae of the marine gastropod *Crepidula fornicata* (L.) [J]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 1987, 112: 27-38.
- [10] Baloun A J, Morse D E. Ionic control of settlement and metamorphosis in larvae *Haliotis rufescens* (Gastropoda) [J]. *Biol Bull*, 1984, 167: 124-138.
- [11] Yool A J, Grau S M. Excess potassium induces larval metamorphosis in four marine invertebrate species [J]. *Biol Bull*, 1986, 170: 255-266.
- [12] Yang Yu, Wu Bao-Ling. Induction of larval settlement and metamorphosis of *Haliotis discus hannai* Ino (Gastropoda, Mollusca) [J]. *Chin J Oceanol Limnol*, 1995, 13(1): 71-77.
- [13] Bryan P J, Qian Pe-yuan. Induction of larval attachment and metamorphosis in the abalone *Haliotis diversicolor* (Reeve) [J]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 1985, 223: 39-51.
- [14] 柯才焕, 李少菁, 李复雪, 等. 翡翠贻贝幼体附着和变态的离子控制[J]. 海洋与湖沼, 1998, 29(2): 128-133.
- [15] 柯才焕, 李少菁, 李复雪, 等. 两种东风螺幼虫附着和变态的化学诱导研究[J]. 海洋学报, 1996, 18(1): 90-95.
- [16] Eyster L S, Pechenik L A. Comparison of growth, respiration, and feeding of juvenile *Crepidula fornicata* (L.) follow natural or KCl triggered metamorphosis [J]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 1988, 118: 269-279.
- [17] Coon S L, Bonar D B. Induction of settlement and metamorphosis of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg), by L-DOPA and catecholamines

- [J]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 1985, **94**: 211-221.
- [18] Beiras R, J. Induction of metamorphosis in larvae of the oyster *Crassostrea gigas* using neuroactive compounds[J]. *Marine Biology*, 1995, **123** (2): 327-334.
- [19] Tan Shau-Hwal, Wong Tat-Meng. Induction of settlement and metamorphosis in the tropical oyster, *Crassostrea belchiri* (Sowerby), by neuroactive compounds[J]. *J Shellfish Res*, 1995, **14**(2): 435-438.
- [20] Shpigel M, Coon S L, Kleinot P. Growth and survival of cultchless spat of *Ostrea edulis* Linnaeus, 1750 produced using epinephrine and shell chips[J]. *J Shellfish Res*, 1989, **8**: 355-357.
- [21] 柯才焕, 李少菁, 李复雪, 等. 儿茶酚胺对翡翠贻贝幼体附着和变态的诱导[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 1995, **34**(6): 975-981.
- [22] 刘保忠. 儿茶酚胺对魁蚶幼虫变态诱导作用的初步研究[A]. 中国科学院海洋研究所. 海洋科学集刊[C]. 北京: 科学出版社, 1997. 81-84.
- [23] Kingzett B C, Bourne N, Leask K. Induction of metamorphosis of the Japanese scallop *Patinopecten yessoensis* Jay[J]. *J Shellfish Res*, 1990, **9**(1): 119-124.
- [24] Davis M, Heyman W D, Harvey W C, *et al.* A comparison of two inducers, KCl and Laurencia extracts, and techniques for the commercial scale induction of metamorphosis in queen conch *Strombus gigas* Linnaeus, 1785 larvae[J]. *J Shellfish Res*, 1990, **9**(1): 67-73.
- [25] Bonar D B, Coon S L. Control of oyster settlement and metamorphosis by endogenous and exogenous chemical cues[J]. *Bull of Mar Sci*, 1990, **46**(2): 484-498.
- [26] Coon S L, Fitt W K, Bonar D B. Competence and delay of metamorphosis in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* [J]. *Marine Biology*, 1990, **106**: 379-387.
- [27] Morse D E, Hooker N, Duncan H. γ -Aminobutyric acid, a neurotransmitter, induces planktonic abalone larvae to settlement and begin metamorphosis [J]. *Science*, 1979, **204**: 407-410.
- [28] Cooper K. A model to explain the induction of settlement and metamorphosis of planktonic eye&pediveligers of the blue mussel *Mytilus edulis* L. by chemical and tactile cues[J]. *J Shellfish Res*, 1982, **2**: 117.
- [29] 赵锡光. 海湾扇贝幼虫附着变态机理的研究[D]. 青岛: 青岛海洋大学, 1998.

Induction of metamorphosis of the hard clam *Mercenaria mercenaria* larvae by chemical cues

ZHANG Tao, YANG Hong-sheng, ZHOU Yi, HE Yi-chao, ZHANG Fu-sui

(Institute of Oceanology, the Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

Received: Apr. , 6, 2005

Key words: chemical cues; *Mercenaria mercenaria*; metamorphosis; induction

Abstract: The abilities of KCl, epinephrine (EPI), norepinephrine (NE), L-DOPA, and GABA (γ -aminobutyric acid) to induce metamorphosis of *Mercenaria mercenaria* L. larvae were studied. Results suggested that KCl, EPI, NE, L-DOPA were active inducers of metamorphosis, whilst GABA was less effective. Optimum concentration of KCl varied with different exposure time, and was 33.56 mmol/L when the exposure time was 1~ 24h, with metamorphosis rate increments all > 24 percentage. The optimum concentrations of KCl were 20.13~ 26.85 mmol/L and 13.42 mmol/L when the exposure time lasted 48h and 72 h, respectively. The inductive effects of EPI and NE were dose- and time-dependent. The optimum concentration of EPI was 100 μ mol/L at 8h exposure time, with the highest metamorphosis rate increment being 36.97 percentage. The metamorphosis rate increment was > 18 percentage when the larvae were exposed to 100 μ mol/L NE for 8~ 16h, with the mortality rate increment all < 30 percentage. Exposure to 500 μ mol/L NE for 8~ 16 h was also sufficient for the larvae to increase metamorphosis rate > 18 percentage, but prolonged exposure time (16~ 48 h) caused toxic effect, with the mortality rate increasing significantly, all > 50 percentage. The better inductive effects of L-DOPA were archived when the larvae were exposed in 10 μ mol/L and 50 μ mol/L for 8~ 24 h, with the metamorphosis rate increment > 30 percentage.

(本文编辑:张培新)