

化学物质对墨西哥湾扇贝幼虫变态的诱导*

张涛^① 阙华勇^① 盖明礼^② 杨红生^① 何义朝^① 张福绥^①

(^①中国科学院海洋研究所 青岛 266071; ^②山东海洋工程研究院 青岛 266071)

摘要: 用 KCl、肾上腺素、去甲肾上腺素和氯化胆碱进行了墨西哥湾扇贝 (*Argopecten irradians concentricus*) 幼虫变态的诱导作用实验。结果表明, KCl、肾上腺素、去甲肾上腺素和氯化胆碱对墨西哥湾扇贝幼虫变态均有显著诱导作用。KCl 在处理时间为 12 ~ 48 h 范围内均有诱导作用, 13.42 mmol/L 和 20.13 mmol/L 的 KCl 诱导效果较好, 变态率均提高 10% 以上。1.0 ~ 50 $\mu\text{mol/L}$ 的肾上腺素在处理时间为 1 ~ 12 h 较适宜, 此时变态率均提高 10% 以上。1.0 ~ 50 $\mu\text{mol/L}$ 的去甲肾上腺素在处理时间为 1 ~ 24 h 都较适宜, 变态率均提高 10% 以上, 最高可提高 31.07%。10 ~ 100 $\mu\text{mol/L}$ 氯化胆碱的适宜诱导时间为 12 ~ 48 h, 变态提高率均超过 10%, 在 10.37% ~ 16.40% 之间。1000 $\mu\text{mol/L}$ 的氯化胆碱在处理时间为 12 h 时诱导效果较明显, 变态率可以提高 19.14%, 超过 12 h, 变态率明显下降。10000 $\mu\text{mol/L}$ 的氯化胆碱明显产生毒害作用, 幼虫变态率均为零, 而幼虫的死亡率均为 100%。

关键词: 墨西哥湾扇贝; 变态; 诱导; 化学物质

中图分类号: S968.31 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2003)04-66-06

Induction of Metamorphosis of the Southern Bay Scallop *Argopecten irradians concentricus* Larvae by Chemical Cues

ZHANG Tao^① QUE Hua-Yong^① GAI Ming-Li^② YANG Hong-Sheng^①
HE Yi-Chao^① ZHANG Fu-Sui^①

(^①Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071)

(^②Shandong Marine Science and Technology Academy, Qingdao 266071, China)

Abstract: The induction of metamorphosis of larvae of the southern bay scallop *Argopecten irradians concentricus* by KCl, epinephrine (EPI), norepinephrine (NE) and choline chloride were studied. The results suggest that KCl, EPI, NE and choline chloride are all active inducers of metamorphosis and the concentrations and duration of exposure to these compounds affect their inductive effect. KCl can increase metamorphosis at all concentrations (6.71 – 33.56 mmol/L) and durations of exposure (12 – 48 h). When exposed to 13.42 mmol/L and 20.13 mmol/L KCl for 12 – 48 h, percentage metamorphosis increments were all > 10%. The better inductive effect of EPI was archived at 1.0 – 50 $\mu\text{mol/L}$ and an exposure duration of 1 – 12 h, which resulted in percentage metamorphosis increments > 10%. The optimal induction doses of NE were 1.0 – 50 $\mu\text{mol/L}$ and the optimum exposure duration was 1 – 24 h, giving percentage metamorphosis increments > 10% and the highest

* 国家自然科学基金(No. 30200214, 39970588), 国家 863 项目(No. 2001AA628040)资助;

第一作者介绍 张涛, 32 岁, 男, 博士; 主要从事贝类繁殖发育生物学和实验生态学的研究; E-mail: tzhang@ms.qdio.ac.cn.

收稿日期: 2003-04-20

percentage metamorphosis increment of 31.07% . The percentage metamorphosis increment of choline chloride did not vary significantly with duration of exposure from 12 – 48 h at 10 – 100 $\mu\text{mol/L}$ (10.37% – 16.40%) . Exposure to 1 000 $\mu\text{mol/L}$ choline chloride for 12 h was sufficient to increase metamorphosis by 19.14% , but metamorphosis decreased significantly if larvae were exposed for > 12 h . Choline chloride was toxic at 10 000 $\mu\text{mol/L}$, causing 0 metamorphosis and 100% mortality .

Key words: *Argopecten irradians concentricus* ; Metamorphosis ; Induction ; Chemical cues

许多海洋无脊椎动物如双壳贝类、腹足类、苔藓虫、腔肠动物、棘皮动物和多毛类,在其发育过程中,都要经过一个附着变态过程。变态过程是这些动物从幼虫向成体转变的一个重要发育阶段。附着变态的成功与否对这些动物的种群变动将产生重要影响。一些重要经济贝类如鲍、牡蛎和扇贝等,附着变态的成功与否将决定苗种生产的成败。研究墨西哥湾扇贝幼虫的变态,对于促进其增养殖的发展有重要的理论和实践意义。

墨西哥湾扇贝 (*Argopecten irradians concentricus*) 是海湾扇贝 (*Argopecten irradians*) 的南方亚种,原产于美国北卡罗来罗那州至佛罗里达州沿岸,是美国南方的重要经济贝类。墨西哥湾扇贝 1991 年由中国科学院海洋研究所引入我国以来,经过在我国南方几个省份的试养,已呈现出良好的发展前景^[1], 现已在广西形成产业化养殖。但有关其幼虫变态研究国内外还未见报道。本文着重研究了 KCl、肾上腺素、去甲肾上腺素和氯化胆碱不同浓度和不同处理时间对墨西哥湾扇贝幼虫变态的诱导,力求找到提高墨西哥湾扇贝幼虫变态率的有效方法,为其增养殖的发展奠定良好的基础。

1 材料与方 法

1.1 幼虫来源 墨西哥湾扇贝幼虫由中国科学院海洋研究所贝类实验生态组培育。海水温度为 23 ~ 24 $^{\circ}\text{C}$, 盐度为 31 ~ 32, 幼虫培育密度为 2 ~ 3 个/ml, 培育期间投喂等鞭藻 (*Isochrysis galbana*), 幼虫发育前期投喂密度为 2 ~ 3 万个/ml, 随着幼虫的发育投喂密度逐渐加大, 当到达眼点幼虫时, 投喂密度为 6 ~ 8 万个/ml。

当眼点幼虫百分数达到 96%, 壳长为 (185.50 \pm 6.88) μm 时, 开始用药品诱导幼虫。

1.2 药品母液配制 为了防止肾上腺素和去甲肾上腺素的儿茶酚部分被氧化, 两种诱导物均用去蒸馏水配制成 10 倍于诱导浓度的母液。为了操作方便, 氯化胆碱也配制成 10 倍于诱导浓度的母液, KCl 配制成 1 342 mol/L 的母液。所有诱导物母液均放入冰箱中冷藏保存 (-4 ~ 0 $^{\circ}\text{C}$), 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。将一定量的诱导物母液加入盛有幼虫的过滤海水中并用过滤海水稀释成所需的诱导浓度。由于诱导物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去蒸馏水, 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。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 试剂 (每个处理组均设 3 个平行) KCl 为分析纯, 上海远东化工厂所产, 肾上腺素和去甲肾上腺素为法国 Fluka 公司所产, 氯化胆碱为上海试剂三厂所产。

KCl 的诱导浓度分别为 6.71、13.42、20.13、24.16、26.85 和 33.56 mmol/L, 处理时间为 12、24 和 48 h; 肾上腺素和去甲肾上腺素的诱导浓度分别为 1.0、2.5、10、50、100 和 500 $\mu\text{mol/L}$, 处理时间为 1、12 和 24 h; 氯化胆碱的诱导浓度分别为 1.0、10、100、1 000 和 10 000 $\mu\text{mol/L}$, 处理时间为 12、24、36 和 48 h。

1.5 指标计算(本实验以次生壳的生成作为幼虫变态标志)

变态率 = (变态幼虫数/总幼虫数) × 100%

死亡率 = (死亡幼虫数/总幼虫数) × 100%

变态提高率 = 实验组幼虫变态率 - 对照组幼虫变态率

死亡提高率 = 实验组幼虫死亡率 - 对照组幼虫死亡率

2 结果

2.1 KCl对墨西哥湾扇贝幼虫变态率和死亡率的影响 浓度和处理时间均影响着 KCl 对墨西哥湾扇贝幼虫的变态率和死亡率。13.42 mmol/L 和 20.13 mmol/L 的 KCl 诱导效果较好, 变态率均提高 10% 以上, 其中最佳诱导浓度为 20.13 mmol/L, 在 12 ~ 48 h 处理时间范围内, 变态提高率在 12.24% ~ 15.82% 之间(表 1)。当处理时间为 48 h 时, 随着诱导浓度的增加, KCl 表现出轻微的毒性作用, 幼虫死亡率随浓度的增加有所增大, 33.56 mmol/L 时死亡率达到最高, 为 67.00%, 比对照组提高 57.30%。但当处理时间为 12 ~ 24 h 时, 幼虫死亡提高率并没有明显增加, 最高为 19.50%(表 2)。墨西哥湾扇贝幼虫的变态和死亡的提高率对 KCl 的浓度和处理时间均表现出极高的依赖性, 方差分析显示 P 值均小于 0.01。

表 1 不同浓度 KCl 在不同处理时间对墨西哥湾扇贝幼虫变态的提高率(%)

浓度 (mmol/L)	处理时间 (h)		
	12	24	48
6.71	7.57	-1.00	6.73
13.42	10.71	11.23	13.10
20.13	15.82	12.24	13.40
24.16	12.12	8.19	8.95
26.85	8.00	6.40	7.60
33.56	5.02	3.48	5.68

2.2 肾上腺素对墨西哥湾扇贝幼虫变态率和死亡率的影响 肾上腺素对墨西哥湾扇贝幼虫的变态具有明显的诱导作用。肾上腺素的适宜诱导浓度为 1.0 ~ 50 $\mu\text{mol/L}$, 在此浓度范围内, 1 ~ 12 h 的处理时间均较适宜, 变态率提高较

大, 为 12.87% ~ 25.02%(表 3), 而当处理时间为 24 h 时, 幼虫变态提高率变动较大, 同时幼虫死亡提高率明显增加(表 3, 4)。当肾上腺素浓度为 500 $\mu\text{mol/L}$, 处理时间为 12 h 和 24 h 时, 幼虫变态率几乎为零, 而死亡率却高达 100%, 说明此时肾上腺素对幼虫产生了明显的毒害作用。肾上腺素浓度对幼虫变态和死亡提高率均产生明显影响, 方差分析表明, P 值均小于 0.01, 为极显著。

表 2 不同浓度 KCl 在不同处理时间对墨西哥湾扇贝幼虫死亡的提高率(%)

浓度 (mmol/L)	处理时间 (h)		
	12	24	48
6.71	0.30	3.70	8.30
13.42	-1.50	0.84	12.30
20.13	-1.10	9.50	21.28
24.16	0.30	15.00	21.93
26.85	9.20	15.95	45.20
33.56	18.90	19.50	57.30

表 3 不同浓度肾上腺素在不同处理时间对墨西哥湾扇贝幼虫变态的提高率(%)

浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	处理时间 (h)		
	1	12	24
1.0	14.96	15.74	6.07
2.5	18.11	25.02	12.80
10	24.57	21.80	5.94
50	18.57	12.87	11.86
100	5.37	-3.58	5.56
500	0.65	-18.20	-8.03

表 4 不同浓度肾上腺素在不同处理时间对墨西哥湾扇贝幼虫死亡的提高率(%)

浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	处理时间 (h)		
	1	12	24
1.0	-0.49	8.35	37.70
2.5	0.80	23.20	52.80
10	-0.82	26.10	71.36
50	9.74	36.90	61.40
100	3.95	56.30	77.20
500	33.46	94.50	90.30

2.3 去甲肾上腺素对墨西哥湾扇贝幼虫变态率和死亡率的影响 去甲肾上腺素对墨西哥湾扇贝幼虫的变态有显著的诱导作用。1.0 ~ 50 $\mu\text{mol/L}$ 的去甲肾上腺素在处理时间为 1 ~ 24 h

都较适宜,变态率均提高 10% 以上,最高可提高 31.07% (表 5)。去甲肾上腺素在浓度为 1.0 $\mu\text{mol/L}$ 时,不同处理时间对幼虫死亡率影响不大,而当浓度超过 2.5 $\mu\text{mol/L}$ 时,幼虫死亡率随处理时间的延长而增加,特别当浓度超过 100 $\mu\text{mol/L}$,处理时间为 12 和 24 h 时,死亡率急剧上升,在 500 $\mu\text{mol/L}$ 时死亡率却高达 100%,死亡提高率分别为 94.7% 和 90.3%,而此时幼虫变态率为零,说明去甲肾上腺素对幼虫产生了明显的毒害作用(表 5,6)。

表 5 不同浓度去甲肾上腺素在不同处理时间对墨西哥湾扇贝幼虫变态的提高率(%)

浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	处理时间 (h)		
	1	12	24
1.0	11.12	31.07	14.20
2.5	10.04	21.80	11.02
10	14.74	17.41	16.22
50	14.57	14.32	13.90
100	17.93	-2.83	-0.93
500	4.29	-18.20	-8.70

表 6 不同浓度去甲肾上腺素在不同处理时间对墨西哥湾扇贝幼虫死亡的提高率(%)

浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	处理时间 (h)		
	1	12	24
1.0	7.50	15.70	2.30
2.5	-1.03	18.70	17.80
10	2.70	19.45	25.00
50	9.20	25.10	27.20
100	11.50	28.31	40.20
500	26.50	94.70	90.30

2.4 氯化胆碱对墨西哥湾扇贝幼虫变态率和死亡率的影响 氯化胆碱对墨西哥湾扇贝幼虫的变态有明显的诱导作用。1.0 $\mu\text{mol/L}$ 氯化胆碱的适宜诱导时间为 36~48 h,变态提高率为 18.19% 和 14.07%; 10~100 $\mu\text{mol/L}$ 氯化胆碱的适宜诱导时间为 12~48 h,变态提高率均超过 10%,在 10.37%~16.40% 之间; 1000 $\mu\text{mol/L}$ 氯化胆碱的适宜诱导时间为 12 h,变态率可以提高 19.14%,超过 12 h,变态率明显下降(表 7)。幼虫的变态提高率对氯化胆碱的浓度有明显的依赖性,对处理时间没有明显的依赖性。幼虫的死亡提高率对氯化胆碱的浓度和处理时间均

有明显的依赖性,其中对浓度的依赖性较强,而对处理时间的依赖性较弱。10 000 $\mu\text{mol/L}$ 的氯化胆碱明显产生毒害作用,幼虫变态率均为零,而幼虫的死亡率均为 100% (表 7,8)。

表 7 不同浓度氯化胆碱在不同处理时间对墨西哥湾扇贝幼虫变态的提高率(%)

浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	处理时间 (h)			
	12	24	36	48
1.0	9.93	9.05	18.19	14.07
10	10.37	14.27	16.40	11.45
100	11.00	12.79	14.77	10.64
1000	19.14	2.03	4.65	-2.48
10000	-12.60	-9.20	-4.80	-5.08

表 8 不同浓度氯化胆碱在不同处理时间对墨西哥湾扇贝幼虫死亡的提高率(%)

浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	处理时间 (h)			
	12	24	36	48
1.0	-11.13	9.25	11.62	11.40
10	-8.61	0.90	-1.36	9.63
100	1.17	7.09	0.33	18.27
1000	3.30	41.67	55.33	56.63
10000	64.57	72.79	68.00	65.40

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是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应用^[2];肾上腺素和去甲肾上腺素已经被用来生产单体牡蛎^[3];虽然目前 KCl 只是被用来检测贝类幼虫是否具有变态能力^[4],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 对红鲍^[5,6]、皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai*)^[7]、杂色鲍(*H. diversicolor*)^[8]、翡翠贻贝^[9]、台湾东风螺(*Babylonis formosae*)和方斑东风螺(*B. aerolata*)^[10]等幼虫的变态均有诱导作用。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^[5,6]。从本实验的结果来看,KCl 对墨西哥湾

扇贝幼虫变态的诱导作用与浓度和处理时间均有关。KCl 对墨西哥湾扇贝幼虫变态的适宜诱导浓度为 13.42 ~ 20.13 mmol/L, 最佳诱导浓度为 20.13 mmol/L。KCl 对于不同贝类幼虫的最佳诱导浓度是不同的, 红鲍、诗博加蓑海牛 (*Phestilla sibogae*) 和 *Astraea undosa* 幼虫的最佳诱导浓度分别为 10 mmol/L、20 mmol/L 和 10 mmol/L^[6], 而皱纹盘鲍 (*H. d. hannai*) 幼虫的最佳诱导浓度高达 40 mmol/L^[7], 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^[11] 发现用 20 mmol/L 的 KCl 诱导的腹足类 *C. fornicata* 幼虫变态 14 d 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。作者的结果与他们的相似。虽然我们并没有测定墨西哥湾扇贝稚贝的生长率、呼吸率和摄食率, 但从幼虫死亡率指标看, 20.13 mmol/L 的 KCl 对于墨西哥湾扇贝幼虫来说, 是最佳诱导浓度, 也是安全诱导浓度。在此浓度下, 幼虫平均变态提高率可达 13.82%, 而死亡提高率平均却低于 10%, 为 9.89% (处理时间为 12 ~ 48 h), 在 24 h 范围内, 死亡提高率只有 4.2%, 12 h 范围内对幼虫的死亡率基本没有影响 (表 1, 2)。

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 (*Crassostrea gigas*)^[12, 13]、热带牡蛎 (*C. belcheri*)^[14]、食用牡蛎 (*Ostrea edulis*)^[15]、翡翠贻贝^[16]、魁蚶^[17]、虾夷扇贝^[18] 以及大风螺 (*Strombus gigas*)^[19] 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 1.0 ~ 50 $\mu\text{mol/L}$, 适宜处理时间为 1 ~ 12 h, 浓度过大或处理时间过长都将对墨西哥湾扇贝幼虫产生毒害作用, 变态率降低, 死亡率增加。肾上腺素和去甲肾上腺素的浓度对墨西哥湾扇贝幼虫的变态提高率有极明

显的影响, 而处理时间对变态提高率却没有明显影响。这与其它学者的研究结果相似。Martinez 等^[20] 就发现肾上腺素对扇贝 *Argopecten purpuratus* 幼虫变态的诱导作用是浓度依赖型的, 而非时间依赖型。

胆碱是神经递质乙酰胆碱的前体, 在脊椎动物中, 它有许多生物学作用, 在体外或细胞外, 高浓度的胆碱能够激活乙酰胆碱受体; 在体内或细胞外, 胆碱能够促进乙酰胆碱的合成和释放^[21]。胆碱的类似物氯化胆碱对腹足类 *Phestilla*^[22]、多毛类 *Phragmatopoma lapidosa californica* 和诗博加蓑海牛 (*P. sibogae*)^[23] 幼虫的变态均有诱导作用, 因此可以设想氯化胆碱可能对双壳贝类幼虫的变态也有诱导作用。从本实验的结果看, 氯化胆碱对墨西哥湾扇贝幼虫的变态有明显的诱导作用。当处理时间为 12 ~ 48 h 时, 其适宜诱导浓度为 10 ~ 100 $\mu\text{mol/L}$, 此时变态率均提高 10% 以上; 当处理时间为 12 h 时, 最佳诱导浓度为 1 000 $\mu\text{mol/L}$, 此时变态率提高 19.14%。10 000 $\mu\text{mol/L}$ 的氯化胆碱已经超出墨西哥湾扇贝幼虫的耐受限度, 幼虫的变态率为零, 死亡率为 100%。作者的结果与其他学者的结果有所不同。氯化胆碱对腹足类 *Phestilla* 幼虫的最佳诱导浓度为 3 750 $\mu\text{mol/L}$, 处理时间为 2 ~ 3 d, 此时幼虫变态率可达 70%^[22]。氯化胆碱对多毛类 *P. l. californica* 幼虫变态的最佳诱导浓度为 40 000 $\mu\text{mol/L}$, 处理时间则需 3 ~ 4 d^[23]。幼虫种类不同, 诱导所需浓度不同, 但有一个共同特点, 即诱导所需时间较长, 从已有结果看, 一般需 0.5 ~ 3 d。从这一点可以推测, 氯化胆碱可能不是通过幼虫体表受体而起作用。Pawlik^[23] 认为胆碱类化合物对多毛类 *P. l. californica* 和诗博加蓑海牛幼虫变态的诱导作用是通过体内神经系统来完成的。胆碱类化合物诱导幼虫变态需要神经系统的参与在诗博加蓑海牛^[22] 和 *Adalaria proxima*^[24] 上得到了证实。胆碱分子较大, 且水溶性, 很难通过细胞膜进入体内 (细胞内), 因此胆碱要进入体内 (细胞内) 需要通过主动运输来实现。Hadfield 和 Pennington^[25] 应用同位素标记的方法研

究表明,诗博加蕤海牛幼虫能够主动从海水中吸收大量的胆碱进入体内,海水中的胆碱浓度越高,吸收到幼虫体内的胆碱量就越大,体内胆碱浓度就越高;同时,如果将幼虫移入含有胆碱的海水中 24 h,体内同位素标记的胆碱浓度即达到较高浓度,48 h 后体内胆碱的浓度不再升高,达到稳定状态,这与胆碱诱导所需时间基本一致。

从总的结果来看,KCl、肾上腺素、去甲肾上腺素和氯化胆碱对墨西哥湾扇贝幼虫变态的诱导效果均较好,但因为 KCl 较便宜,因此在生产上具有更大的应用潜力。

参 考 文 献

- [1] 张福绥,何义朝,元铃欣等. 墨西哥湾扇贝的引种和子一代苗种培育. 海洋与湖沼,1994,25(4):372~377.
- [2] Morse D E. Biochemical and genetic engineering for improved production of abalones and other valuable molluscs. *Aquaculture*, 1984, 39: 263~282.
- [3] Coon S L, Bonar D B, Weiner R M. Chemical production of cultchless oyster spat using epinephrine and norepinephrine. *Aquaculture*, 1986, 58:255~262.
- [4] Pechenik J A, Heyman W D. Using KCl to determine size at competence for larvae of the marine gastropod *Crepidula fornicata* (L.). *J Exp Biol Ecol*, 1987, 112:27~38.
- [5] Baloun A J, Morse D E. Ionic control of settlement and metamorphosis in larvae *Haliotis rufescens* (Gastropoda). *Biol Bull*, 1984, 167:124~138.
- [6] Yool A J, Grau S M, Handfield M G, et al. Excess potassium induces larval metamorphosis in four marine invertebrate species. *Biol Bull*, 1986, 170: 255~266.
- [7] Yang Y, Wu B L. Induction of larval settlement and metamorphosis of *Haliotis discus hannai* Ino (Gastropoda, Mollusca). *Chin J Oceanol Limnol*, 1995, 13(1): 71~77.
- [8] Bryan P J, Qian P Y. Induction of larval attachment and metamorphosis in the abalone *Haliotis diversicolor* (Reeve). *J Exp Biol Ecol*, 1998, 223: 39~51.
- [9] 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. 海洋与湖沼,1998,29(2):128~133.
- [10] 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. 海洋学报,1996, 18(1):90~95.
- [11] Eyster L S, Pechenik L A. Comparison of growth, respiration, and feeding of juvenile *Crepidula fornicata* (L.) follow natural or KCl-triggered metamorphosis. *J Exp Biol Ecol*, 1988, 118:269~279.
- [12] Coon S L, Bonar D B. Induction of settlement and metamorphosis of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg), by L-DOPA and catecholamines. *J Exp Biol Ecol*, 1985, 94:211~221.
- [13] Beiras R, Widdows J. Induction of metamorphosis in larvae of the oyster *Crassostrea gigas* using neuroactive compounds. *Marine Biology*, 1995, 123 (2): 327~334.
- [14] Shau-Hwal Tan, Tat-Meng Wong. Induction of settlement and metamorphosis in the tropical oyster, *Crassostrea belchiri* (Sowerby), by neuroactive compounds. *J Shellfish Res*, 1995, 14 (2):435~438.
- [15] Shpigel M, Coon S L, Kleinet P. Growth and survival of cultchless spat of *Ostrea edulis* Linnaeus, 1750 produced using epinephrine and shell chips. *J Shellfish Res*, 1989, 8: 355~357.
- [16] 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. 厦门大学学报(自然科学版), 1995,34(6):975~981.
- [17] 刘保忠. 儿茶酚胺对魁蚶幼虫变态诱导作用的初步研究. 海洋科学集刊,1997,39:81~84.
- [18] Kingzett B C, Bourne N, Leask K. Induction of metamorphosis of the Japanese scallop *Patinopecten yessoensis* Jay. *J Shellfish Res*, 1990, 9(1):119~124.
- [19] Davis M, Heyman W D, Harvey W, 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 Shellfish Res*, 1990, 9(1):67~73.
- [20] Martinez G, Aguilera C, Campos E O. Induction of settlement and metamorphosis of the scallop *Argopecten purpuratus* Lamarck by excess K⁺ and epinephrine: energetic costs. *J Shellfish Res*, 1999, 18(1): 41~46.
- [21] Blusztajn J K, Wurtman R J. Choline and cholinergic neurons. *Science*, 1983, 221: 614~620.
- [22] Hirata K Y, Handfield M G. The role of choline in metamorphic induction of *Phestilla* (Hastropoda, Nudibranchia). *Comp Biochem Physiol*, 1986, 84C: 15~21.
- [23] Pawlik J R. Natural and artificial induction of metamorphosis of *Phragmatopoma lapidosa californica* (Polychaeta: Scabellariidae) with a critical look at the effects of bioactive compounds on marine invertebrate larvae. *Bull Mari Sci*, 1990, 46(2):512~536.
- [24] Todd C D, Bentley M G, Havenhand J N. Larval metamorphosis of the Opisthobranch mollusc *Adalaria proxima* (Gastropoda: Nudibranchia): the effects of choline and elevated potassium ion concentration. *J Mar Biol Ass UK*, 1991, 71: 53~72.
- [25] Hadfield M G, Pennington J T. Nature of the metamorphic signal and its internal transduction in larvae of the nudibranch *Phestilla sibogae*. *Bull Mari Sci*, 1990, 46(2):455~464.