

L-DOPA 对西施舌眼点幼虫附着变态诱导的研究

刘文彪, 高如承, 黄振彬, 骆 轩, 罗彩林, 王 静

(福建师范大学 生物工程学院, 福建 福州 350007)

摘要: 采用试验水体中添加化学诱导物的方法研究 L-DOPA (L-多巴) 对西施舌 (*Coelomctra antiquata*) 眼点幼虫附着变态的诱导作用。结果表明, L-DOPA 能诱导西施舌眼点幼虫变态, 但对其附着的诱导效果不明显。用直径小于 1 mm 的细沙为附着基质, 1×10^{-6} mol/L 的 L-DOPA 处理西施舌眼点幼虫 12 h, 变态率为 73.3%, 对照组为 62.6%。浓度为 1×10^{-7} mol/L 的 L-DOPA 处理西施舌幼虫 12 h, 生长速率为 25.6%, 对照组为 14.7%, 表明适当浓度的 L-DOPA 能促进西施舌幼虫的生长。在无沙附着的条件下, 西施舌幼虫可正常附着变态, 但生长速率较低且变态后死亡率高。

关键词: 西施舌 (*Coelomactra antiquata*); 附着; 变态; L-DOPA

中图分类号: S968.3

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2006)02-0026-04

西施舌 (*Coelomactra antiquata*) 俗称“海蚌”, 隶属于瓣鳃纲帘蛤目蛤蛎科。其眼点幼虫变态后营埋栖生活。因其味道鲜美且营养丰富而具有较高的经济价值。我国从 20 世纪 60 年代始研究西施舌人工育苗技术, 现已取得重大突破。但在人工育苗生产过程中, 在附着变态阶段常常发生大量幼体死亡及变态延迟的现象, 使附着变态成为制约人工育苗大批量生产的瓶颈之一。因此, 附着变态是西施舌人工育苗的关键技术之一。

国内外有关海产贝类附着变态化学诱导的报道颇多。文献资料报道, 在众多的化学药品中, L-DOPA 的诱导效果相对较好。L-DOPA 对太平洋牡蛎 (*Crassostrea gigas* Thurnbery)^[1]、翡翠贻贝 (*Perna viridis*)^[2]、长牡蛎 (*Ostrea gigas*)^[3]、僧帽牡蛎 (*Ostrea cucullata*)^[3]、海湾扇贝 (*Argopecten irradians*)^[4] 等的附着变态均有诱导作用。但有关 L-DOPA 对西施舌眼点幼虫附着变态诱导的研究尚未见报道。作者研究了有附着基及无附着基两种条件下, L-DOPA 对西施舌眼点幼虫附着变态的诱导效应, 以期以西施舌人工育苗技术研究提供理论依据, 也为探讨西施舌附着变态的机理提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 眼点幼虫培育

西施舌亲贝于 2004 年 7 月购自福建省长乐市漳港, 暂养 2~3 d 后进行人工授精。静置使受精卵孵化。D 形幼虫后开始充气投饵。开口饵料为湛江叉

鞭金藻 (*Dicrateria zhanjiangensis*), 后期投喂亚心形扁藻 (*Platymonas subcordiformis*) 和云微藻 (*Chlorrella* sp.) 混合饵料。养殖用水经沙滤, 水温 25~27℃, 盐度 30~32, pH 7.8~8.2, 溶解氧 5.6~6.9 mg/L, 每天换水 2 次, 换水量为 1/2。经 8 d 培育发育至眼点幼虫。

1.2 实验方法

L-DOPA 为 Sigma 公司产品, 用含 0.005 mol/L 的 HCl 去离子水配成母液, 现用现配, 按实验浓度添加到各实验组。实验浓度设置为 1×10^{-4} , 1×10^{-5} , 1×10^{-6} , 1×10^{-7} mol/L 及 1 个对照组。药物处理时间为 12 h。实验在避光条件下进行。有附着基组铺直径小于 1 mm 的细沙, 沙子经煮沸消毒。无附着基组则不加沙。实验期间, 幼虫培育在盛水 300 mL 玻璃杯中。每杯投放眼点幼虫 300 个, 幼虫密度 1 个/mL。培育温度恒定于 25℃。每次换水之前调节海水盐度至 30。药物处理后, 每天换水 2 次, 换水量为 1/2, 换水后每组投同质等量饵料。各浓度设 2

收稿日期: 2004-10-20; 修回日期: 2005-01-05

基金项目: 国家 863 计划 (2004AA603140); 科技部农业科技成果转化资金项目 (02EFN213501104); 福建省科技重大项目 (2003N020); 国家农业综合开发科技推广示范项目 [国农办 (2002343)]

作者简介: 刘文彪 (1980), 男, 江西寻乌人, 硕士研究生, E-mail: hi9913@163.com; 高如承, 通讯作者, 硕士生导师, E-mail: rcgao@fjnu.edu.cn

组平行,对照组 2 杯。有附着基组在药物处理后培育 3 d 再观察统计,无附着基组则每 24 h 观察统计一次,共 3 次。

眼点幼虫附着变态判断标准:以幼虫足基部出现明显的眼点为开始实验的标志,幼虫伸足在基底爬行为附着的标志,面盘脱落或出现明显的鳃组织或出现单水管为变态的标志。

1.3 计算公式

附着率= [(附着而未变态的幼虫数+ 变态的幼虫数)/ 实验幼虫总数] × 100%

变态率= [变态的幼虫数/ 实验幼虫总数] × 100%

生长速率= [(实验后幼虫壳长- 实验前幼虫壳长)/ 实验前幼虫壳长] × 100%

存活率= [存活的幼虫数/ 实验前幼虫总数] × 100%

2 结果

2.1 在有附着基条件下, L-DOPA 对西施舌眼点幼虫附着变态的影响

实验结果表明, L-DOPA 对有附着基条件下西施舌眼点幼虫附着率和变态率的影响效果不同。当 L-DOPA 浓度为 1×10^{-6} mol/L 时,西施舌眼点幼虫附着效果最好,附着率达 84.9%。其次为浓度 1×10^{-7} mol/L,附着率为 82.8%,对照组为 82.3%。当浓度为 1×10^{-5} mol/L 时,附着率仅为 4.0%。见表 1。

表 2 无附着基条件下不同浓度 L-DOPA 对西施舌眼点幼虫附着变态和生长的影响

Tab. 2 Effects of different concentrations of L-DOPA on settlement and metamorphosis of *Coelomactra antiquata* juveniles without sand

药物浓度 (mol/L)	附着率(%)			变态率(%)		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
1×10^{-6}	94.1	90.0	46.2	83.5	87.6	31.1
对照	92.2	89.3	45.3	75.0	82.6	29.7

2.3 不同浓度 L-DOPA 对西施舌眼点幼虫生长速率的影响

测量药物处理前后西施舌幼虫的壳长,结果表明, L-DOPA 对幼虫的生长速率具有明显的影响。同时,附着基质也会影响幼虫的生长速率。底质铺沙

表 1 不同浓度 L-DOPA 对西施舌眼点幼虫附着变态的影响

Tab. 1 Effects of different concentrations of L-DOPA on settlement and metamorphosis of *Coelomactra antiquata* juveniles

L-DOPA 浓度 (mol/L)	附着率(%)	变态率(%)
1×10^{-5}	4.0	2.5
1×10^{-6}	84.9	73.3
1×10^{-7}	82.8	65.5
对照	82.3	62.6

表 1 表明,不同浓度 L-DOPA 对西施舌眼点幼虫变态的诱导效果显著。其中效果最理想的为浓度 1×10^{-6} mol/L 的 L-DOPA,处理幼虫 12 h,西施舌眼点幼虫变态率达 73.3%。其次为 L-DOPA 浓度 1×10^{-7} mol/L,眼点幼虫变态率为 65.5%,对照组为 62.6%。变态率的研究各组的统计差异显著 ($P < 0.05$)。

2.2 无附着基条件下 L-DOPA 对西施舌眼点幼虫附着变态的影响

实验选用较为理想的 L-DOPA 浓度 1×10^{-6} mol/L,并且每 24 h 观察统计 1 次。结果表明,在 48 h 内,西施舌眼点幼虫的附着率和变态率普遍较高。L-DOPA 对幼虫变态的诱导效果显著,而对附着的影响相对较小。24 h 时, 1×10^{-6} mol/L L-DOPA 组的附着率为 94.1%,与对照组 92.2% 相近;变态率为 83.5%,比对照组 75.0% 要高。48 h 时,附着率为 90.0%,与对照组 89.3% 相近;变态率为 87.6%,比对照组 82.6% 要高。72 h 时,因幼虫存活率低,故药物组和对照组的附着变态率都比较低,结果相近,见表 2。

时,浓度 1×10^{-7} mol/L 的 L-DOPA 对西施舌眼点幼虫的生长有明显的促进作用,3 d 的生长速率为 25.6%,差异显著 ($P < 0.05$)。而对照组为 14.7%。浓度 1×10^{-6} mol/L 时幼虫生长速率为 11.2%,而浓度 1×10^{-5} mol/L 时幼虫生长速率仅为 9.0% (图 1)。

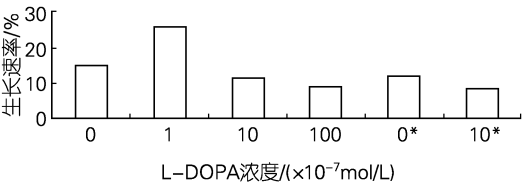


图1 不同浓度 L-DOPA 对西施舌眼点 幼虫生长速率的影响

Fig.1 Effects of different concentrations of L-DOPA on growth rate of *Coelomactra antiquata* juveniles
* 为无沙组
* means without sand for settlement

在相同条件下,无附着基组的幼虫生长速率和存活率比有附着基组略低。 1×10^{-6} mol/L(无沙)生长速率为 8.5%,而 1×10^{-6} mol/L(有沙)为 11.2%;对照(无沙)生长速率为 12.0%,而对照(有沙)为 14.7%(图 1)。

2.4 不同浓度 L-DOPA 对西施舌眼点 幼虫存活率的影响

L-DOPA 对西施舌幼体的存活率有重要影响。当 L-DOPA 浓度高于 1×10^{-4} mol/L,处理时间为 12 h, 24 h 内全部死亡,存活率为 0。浓度为 1×10^{-5} mol/L 时存活率也很低,仅为 6.5%;当 L-DOPA 浓度低于 1×10^{-6} mol/L 时,对幼虫的影响减小。浓度为 1×10^{-6} mol/L 时,存活率为 86.1%,略高于对照组 82.3%;浓度为 1×10^{-7} mol/L 时,存活率为 82.8%,与对照组相近。72 h 时, 1×10^{-6} mol/L(无沙)存活率为 46.2%,而 1×10^{-6} mol/L(有沙)高达 86.1%;对照(无沙)存活率为 45.3%,而对照(有沙)高达 82.3%(表 3)。

3 讨论

3.1 不同浓度 L-DOPA 对有附着基(有沙)条件下的西施舌眼点 幼虫附着变态及生长的影响

从表 1 中可以看出,L-DOPA 对西施舌眼点幼虫的变态过程有显著的诱导作用,而对其附着的诱导效果并不明显。用 10^{-6} mol/L 的 L-DOPA 处理幼虫 12 h,可使其变态率达 73.3%,比对照组 62.6%高十几个百分点,同时其附着率、存活率都略高于对照组。方琦^[3]的研究认为 10^{-6} mol/L 的 L-DOPA 对长牡蛎及僧帽牡蛎附着的诱导快速而有效,但对它们变态的诱导作用不明显。在自然条件下,牡蛎需固着,而西施舌没有这种特性。这种习性的不同可能是它们对同一药物有不同反应的主要原因。柯才焕的研究

结果认为 L-DOPA 对僧帽牡蛎的有效诱导浓度范围在 $2.5\times 10^{-6}\sim 1\times 10^{-5}$ mol/L 之间。这一结果与本实验结果相近。但他们的最佳诱导浓度为 1×10^{-5} mol/L,与本实验结果的 1×10^{-6} mol/L 有些差异。这可能是种类的不同或实验条件、方法的差别引起的。

表 3 不同浓度 L-DOPA 对西施舌眼点幼虫存活率的影响
Tab 3 Effects of different concentrations of L-DOPA on the survival rate of eyebot larvae of *Coelomactra antiquata*

L-DOPA 浓度 (mol/L)	时间 (h)	存活率 (%)
1×10^{-4}	24	0
1×10^{-5}	72	6.5
1×10^{-6}	72	86.1
1×10^{-7}	72	82.8
对照	72	82.3
1×10^{-6} *	24	94.2
1×10^{-6} *	48	90.0
1×10^{-6} *	72	46.2
对照*	24	95.7
对照*	48	89.3
对照*	72	45.3

注: * 为无沙组

图 1 表明, L-DOPA 对西施舌眼点幼虫的生长有重大影响。西施舌幼虫对高浓度的 L-DOPA 耐受性差。当浓度高于 1×10^{-4} mol/L,处理时间长于 12 h 时,幼体在 24 h 内全部死亡,存活率为 0。而低浓度的 L-DOPA 对西施舌幼体有明显的促进作用。浓度为 1×10^{-7} mol/L L-DOPA 处理 12 h,3 d 的生长速率达 25.6%,而对照组仅为 14.7%,且存活率也略高于对照组。目前尚未发现有类似的报道,其作用机理有待作进一步研究。

3.2 不同浓度 L-DOPA 对无附着基(无沙)条件下西施舌眼点 幼虫附着变态及生长的影响

本实验设置两个无附着基(无沙)组,进行连续观察。结果表明,在无附着基条件下,L-DOPA 亦能有效提高西施舌幼体的变态率,但对其附着率的影响不明显。这一结果与有附着基条件下所得结果相似。24 h 时,幼虫附着率及变态率都比较高。药物组与对照组的附着率分别为 94.1%和 92.2%,结果相近;而它们的变态率分别为 83.5%和 75.0%,药物组明显比对照组高。48 h 时,附着率有所下降,药物组与

对照组分别为 90.0% 和 89.3%, 结果也相似; 它们的变态率分别为 87.6% 和 82.6%。附着率下降的原因主要是因为大部分幼虫已经附着, 而存活率也有所下降。72 h 时, 幼虫存活率很低, 药物组和对照组分别为 46.2% 和 45.3%, 从而导致它们的附着率和变态率急剧下降, 降至 45% 左右。这一结果表明, 西施舌眼点幼虫在无附着基条件下能正常附着变态, 但在变态后的培育过程中存活率低。这与陈素文的研究结果有相似之处^[5]。他们用不同的附着基进行附着变态实验, 发现对照组也可以附着变态。

无沙条件下西施舌幼虫生长速率较对应药物浓度有沙条件下略低, 对照无沙时的生长速率为 12.0%, 而对照有沙时为 14.7%; 无沙时经 10^{-6} mol/L L-DOPA 处理生长速率为 8.5%, 而有沙时处理生长速率则为 11.2%。表明对营埋栖生活的西施舌来说, 无沙条件对其幼体的生长有抑制作用。

综上所述, 西施舌眼点幼虫在有附着基及无附着基条件下可以正常附着变态, 在附着变态期间对附着基质的要求并不严格, 沙子并非是其附着变态的必要物质, 而只是给变态后的幼体提供一个合适的生活环境。西施舌的附着变态对沙子并没有明显

的依赖性。目前西施舌人工育苗主要采用铺沙附着, 沙子内易积聚排泄物及其他有害物质, 不易清除, 常导致水质恶化, 而且造成采苗的困难。如果用药物诱导, 可以克服附着基带来的困难, 实现西施舌的无沙附着变态, 该技术应用于人工育苗生产上还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Coon S L, Bonar D B. Induction of settlement and metamorphosis of the Pacific oyster, (*Crassostrea gigas* Thurnbery), by L-dopa and catecholamines [J]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 1985, 94: 211-221.
- [2] 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.
- [3] 方琦, 林笔水, 方永强. 几种化学物质对两种牡蛎幼虫附着和变态的诱导[J]. 台湾海峡, 2001, 20(1): 20-26.
- [4] 刘保忠, 张福绥, 何朝义, 等. 几种活性物质对海湾扇贝幼虫变态诱导作用研究[J]. 海洋学报, 1998, 20(5): 55-60.
- [5] 陈素文, 陈瑞雯, 吴进锋, 等. 西施舌稚贝附着基质的初步研究[J]. 中国水产科学, 1999, 6(2): 125-126.

Study on the induction of eyebot larval settlement and metamorphosis of *Coelomactra antiquata* using L-DOPA

LIU Weirbiao, GAO Rucheng, HUANG Zhenbin, LUO Xuan, Luo Cairlin, WANG Jing

(Bioengineering College, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China)

Received: Oct., 20, 2004

Key words: *Coelomactra antiquata*; settlement; metamorphosis; L-DOPA

Abstract: Eyebot larvae of *Coelomactra antiquata* were induced to settle and metamorphose by exposure to L-DOPA. The results indicated that L-DOPA was effective to induce eyebot larvae of *C. antiquata* metamorphosis. The experiment was carried out with L-DOPA concentrations of 1×10^{-4} , 1×10^{-5} , 1×10^{-6} , and 1×10^{-7} mol/L, with some sand in the beaker. The highest metamorphosis rate of the larvae was 73.3% when the concentration of L-DOPA was 1×10^{-6} mol/L, while it was 62.6% in the control condition. When the concentration of L-DOPA was 1×10^{-7} mol/L, the growth rate of eyebot larvae was 25.6%, while it was 14.7% in the control condition. The larvae of *C. antiquata* can settle and metamorphose normally without sand, but the growth rate was lower and the death rate was higher than that of the larvae living in the beaker with some sand.

(本文编辑: 张培新)