

文章编号: 1000-0615(2018)11-1729-08

DOI: 10.11964/jfc.20171211081

肾上腺素对岩牡蛎幼虫变态的诱导

王涛¹, 李琪^{1,2*}

(1. 中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003;

2. 青岛海洋科学与技术国家实验室, 海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 山东 青岛 266200)

摘要: 为了得到壳型规则、大小均一的单体牡蛎, 本研究采用肾上腺素对岩牡蛎单体苗种生产的诱导条件进行研究, 阐明了岩牡蛎单体苗种的最适诱导浓度、诱导时间和诱导密度。结果显示, 肾上腺素能显著诱导岩牡蛎幼虫的不固着变态, 最适诱导浓度为 5×10^{-5} mol/L, 最适诱导时间为1 h, 提高诱导浓度和延长诱导时间导致岩牡蛎幼虫的不固着变态率、稚贝壳高和存活率显著降低; 肾上腺素对低于8个/mL幼虫密度的诱导效果差异不显著, 但稚贝壳高和存活率在8个/mL的培育密度下显著低于0.5~4个/mL, 研究表明利用肾上腺素诱导岩牡蛎单体时, 可大批量处理眼点幼虫, 但稚贝充气培养的最适培养密度应不高于4个/mL。

关键词: 岩牡蛎; 肾上腺素; 单体牡蛎; 变态

中图分类号: S 968.3

文献标志码: A

牡蛎隶属于软体动物门(Mollusca), 瓣鳃纲(Lamellibranchia), 珍珠贝目(Pterioidea), 其肉味鲜美、营养丰富, 具有极高的经济和药用价值, 是我国乃至世界上最重要的海产经济贝类。近年来, 随着养殖产量的大幅提升和养殖规模的不断扩大, 牡蛎养殖也面临诸多问题, 如品质下降、种质退化等^[1], 表现为牡蛎生长速率慢、个体差异大、壳型不规则等, 导致养殖牡蛎质量难以满足市场需求, 严重影响了我国牡蛎养殖业的持续稳定和健康发展。通过改善牡蛎的养殖方式, 引进新的牡蛎养殖品种, 能够使上述问题得到一定程度的解决, 对促进牡蛎养殖业的健康发展有重要意义。

单体牡蛎筏式养殖是一种较先进的养殖方式, 是将游离的、无附着基的单个牡蛎装入网笼内进行筏式吊养^[2]。与传统的牡蛎养殖方法相比, 单体牡蛎养殖不仅避免固着基的搬运、清洗和牡蛎分离等过程, 而且单体牡蛎不受饵料和生长空间的限制, 能够避免个体间生长同步性差的弊病^[3]; 单体牡蛎的单位水体产量高, 壳

型美观, 售价远高于普通牡蛎^[4]。单体牡蛎的早期生产方法是将固着在附着基上的稚贝剥离后培育^[5]。但这种生产方式费时费力, 效率低下, 死亡率极高。20世纪70年代, 随着对贝类幼虫附着变态机制的研究, 人们发现多种神经递质^[6-8], 尤其是肾上腺素能显著诱导海洋无脊椎动物幼虫的附着变态, 这为利用肾上腺素生产单体苗种提供了可能^[9]。但之后大量研究表明, 不同种间的最佳诱导条件和不同诱导条件下眼点幼虫的最高变态率都存在较大差异^[10-12]。因此, 利用肾上腺素诱导生产单体苗种, 必须确定该种的最适诱导条件和最适诱导条件下幼虫的最高变态率。

岩牡蛎(*Crassostrea nippona*)是自然分布于亚洲东部沿海地区的大型固着经济贝类^[13-14], 具有个体大、壳质坚硬、肉质细腻等特点^[15]。由于其产卵期在每年的8-9月, 较长牡蛎(*C. gigas*)晚, 且有分批多次排精产卵的特点^[16], 因此夏季的岩牡蛎肉质口感好, 肥满度高, 能够弥补由于长牡蛎肥满度低, 口感差所造成的市场空

收稿日期: 2017-12-11 修回日期: 2018-01-31

资助项目: 山东省科技发展计划项目(2016ZDJ06A06); 青岛市产业培育计划项目(17-3-3-64-nsh)

通信作者: 李琪, E-mail: qili66@ouc.edu.cn

缺,具有较高的市场价格和广阔的市场^[13]。目前,有关岩牡蛎的天然采苗技术、糖原含量的季节变化、染色体核型分析等方面的研究已有报道^[16-18],但有关肾上腺素对岩牡蛎单体苗种生产诱导条件的研究尚未见报道。本研究目的是确定肾上腺素对岩牡蛎单体苗种最适诱导浓度、诱导时间和诱导密度,为岩牡蛎单体苗种诱导和人工养殖提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 亲贝和幼虫培育

实验所用亲贝是2015年8月培育的岩牡蛎群体F₁。2017年5月将F₁群体从威海海区移至盛有过滤海水的室内水泥池中促熟培养。盐度32~33,水温24~28℃。每日投喂新月菱形藻(*Nischia closterium*)和球等鞭金藻(*Isochrysis galbana*) 1:1的混合饵料4次。每2 d全量换水1次,并用高锰酸钾对培育池进行消毒清洗。亲贝性腺发育成熟后,通过人工解剖获得精卵,洗卵、人工授精,获得受精卵。将受精卵置于500 L聚乙烯塑料桶中充气培养。培养期间盐度32~33,水温26~28℃,密度0.5~1个/mL。每天换水2次(换水量1/3),根据幼虫生长阶段适量投喂球等鞭金藻,显微观察记录幼虫生长发育情况。眼点幼虫比例>95%时,进行诱导变态处理。

1.2 实验设计

为探讨诱导浓度对单体岩牡蛎诱导效果的影响,设置5个浓度梯度(5×10^{-4} 、 1×10^{-4} 、 5×10^{-5} 、 1×10^{-5} 和 5×10^{-6} mol/L),每个梯度设3个平行。眼点幼虫在不同浓度下诱导1 h,幼虫密度为1个/mL。为探讨诱导时间对单体牡蛎诱导效果的影响,设置5个时间梯度(0.5、1、3、5和7 h),每个梯度设3个平行。采用确定的最适浓度处理眼点幼虫,幼虫密度为1个/mL。为探讨诱导密度对单体牡蛎诱导效果的影响,设置5个密度梯度(0.5、1、2、4和8个/mL),每个梯度设3个平行,诱导浓度和诱导时间分别采用以上确定的实验结果。

诱导结束后,流水冲洗幼虫1 h,然后将幼虫分别置于5 L的聚乙烯桶中充气培养。24 h后取10 mL样液,以次生壳长出、鳃发达、面盘消失和足部退化为变态标志,对变态幼虫进行计数

以测定不固着变态率;对幼虫总数及死亡数进行计数以测定幼虫的成活率。继续对不同浓度、时间、密度梯度处理组的幼虫进行培养,每天适量投喂球等鞭金藻4次,全量换水1次,每2 d随机测定单体稚贝壳高,记录存活率,比较观察后续11 d的生长情况。

1.3 数据处理

使用软件SPSS 18.0进行单因素ANOVA分析不同处理的诱导效果,利用LSD多重比较,分别检测各诱导浓度、诱导时间和诱导密度处理组间幼虫不固着变态率、稚贝壳高和存活率的差异。显著性水平设定为 $P<0.05$ 。

2 结果

2.1 不同肾上腺素浓度对幼虫不固着变态率、稚贝生长存活的影响

当受到肾上腺素的作用时,岩牡蛎眼点幼虫快速失去游泳能力并下沉至养殖槽底部。随诱导时间的延长,绝大部分幼虫始终在桶底保持静止状态,极少数用足爬行。

随肾上腺素浓度升高,幼虫不固着变态率先升高后降低(图1)。当浓度升高至 5×10^{-5} mol/L时,不固着变态率达到最大值,约为 $54.55\pm 6.06\%$,显著高于其他实验组($P<0.05$)。

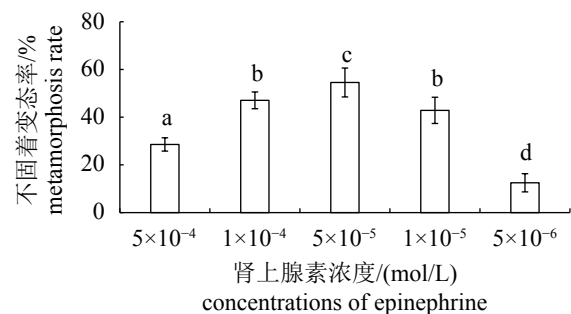


图1 不同诱导浓度下岩牡蛎眼点幼虫的不固着变态率

不同字母表示实验组间差异显著($P<0.05$),下同

Fig. 1 The metamorphosis rates of the eye-spot larvae of *C. nippona* at different epinephrine concentrations

Different digits denote significant differences ($P<0.05$), the same below

岩牡蛎单体稚贝在所有处理组均能生长(图2)。单因素方差分析结果显示,各处理组稚贝壳高在前7天差异不显著($P>0.05$)。第11天, 1×10^{-4} mol/L

处理组稚贝壳高最大 [(751.25±89.64) μm], 显著高于1×10⁻⁶和 5×10⁻⁶ mol/L处理组(P<0.05), 与5×10⁻⁴和5×10⁻⁵ mol/L处理组差异不显著 (P>0.05)。经过11 d的培育, 随肾上腺素浓度升高, 单体稚贝的存活率先升高后降低 (表1)。5×10⁻⁴ mol/L诱导的稚贝成活率最低, 显著低于其他实

验组 (P>0.05); 1×10⁻⁴和5×10⁻⁵ mol/L诱导的稚贝成活率最高, 两组间差异不显著(P>0.05)。

2.2 不同处理时间对幼虫不固着变态率、稚贝生长存活的影响

诱导1 h, 幼虫的不固着变态率最高(57.14%±6.10%) (图3), 显著高于其他时间组 (P<0.05); 提

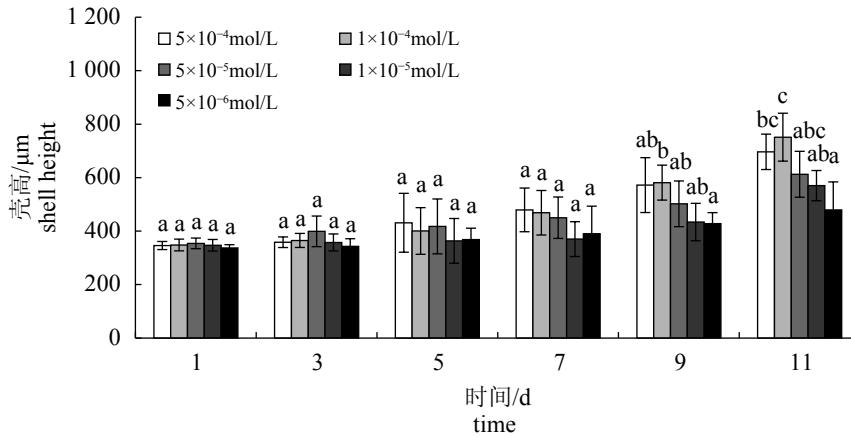


图 2 不同诱导浓度下岩牡蛎单体稚贝壳高的变化

Fig. 2 Changes in the shell height of *C. nippona* juveniles at different epinephrine concentrations

表 1 不同肾上腺素诱导条件及幼虫密度下的稚贝存活率

Tab. 1 The survival rates of *C. nippona* in different epinephrine treatments and larval stocking densities

处理组 control groups	1 d	3 d	5 d	7 d	9 d	11 d	%
浓度/(mol/L) concentration	5×10 ⁻⁴	100	100	62.5±2.3 ^e	62.5±3.8 ^a	36.4±1.3 ^d	8.6±0.4 ^c
	1×10 ⁻⁴	100	100	86.7±4.4 ^a	76.5±2.7 ^b	64.0±2.2 ^a	44.4±2.3 ^a
	5×10 ⁻⁵	100	100	88.9±3.5 ^a	66.7±3.2 ^a	52.9±3.4 ^b	42.9±2.8 ^a
	1×10 ⁻⁵	100	100	75.0±4.5 ^b	66.7±4.8 ^a	45.5±1.1 ^c	33.3±1.9 ^b
	5×10 ⁻⁶	100	100	83.3±3.6 ^a	61.5±5.8 ^a	60.0±5.1 ^a	35.6±3.2 ^b
时间/h time	0.5	100	100 ^a	85.7±6.2 ^a	61.5±1.4 ^a	33.3±1.7 ^c	21.7±2.6 ^c
	1	100	100 ^a	85.7±5.4 ^a	63.6±4.4 ^a	55.0±3.2 ^a	35.7±2.3 ^a
	3	100	100 ^a	75.0±2.5 ^b	58.3±3.1 ^{ab}	42.1±2.7 ^b	27.7±3.4 ^b
	5	100	87.5±2.4 ^b	69.2±3.6 ^{bc}	50.0±2.5 ^c	39.3±1.9 ^b	26.6±2.5 ^b
	7	100	77.8±4.3 ^c	66.7±1.3 ^c	54.5±1.6 ^{bc}	26.7±1.2 ^d	18.8±1.1 ^c
	8	100	77.8±4.3 ^c	66.7±1.3 ^c	54.5±1.6 ^{bc}	26.7±1.2 ^d	18.8±1.1 ^c
	11	100	77.8±4.3 ^c	66.7±1.3 ^c	54.5±1.6 ^{bc}	26.7±1.2 ^d	18.8±1.1 ^c
密度/(个/mL) density	0.5	100	100 ^a	81.8±2.8 ^b	45.5±6.1 ^d	40.0±5.4 ^b	36.6±4.3 ^a
	1	100	100 ^a	83.3±4.2 ^b	66.7±3.8 ^a	57.1±2.3 ^a	40.6±2.4 ^a
	2	100	100 ^a	92.3±3.6 ^a	77.8±3.7 ^b	41.8±3.6 ^b	34.8±4.5 ^a
	4	100	100 ^a	75.0±4.4 ^c	43.7±2.6 ^d	37.5±1.5 ^b	35.7±4.7 ^a
	8	100	95.3±4.3 ^b	73.2±2.5 ^c	58.1±4.6 ^c	27.5±1.7 ^c	20.8±3.2 ^b

注: 表格中同列肩标相同小写字母或无字母表示差异不显著(P>0.05), 不同小写字母表示差异显著(P<0.05)

Notes: in the same line, values with same small letter superscripts or no letter superscripts mean no significant differences (P>0.05), different small letter superscripts mean significant differences (P<0.05)

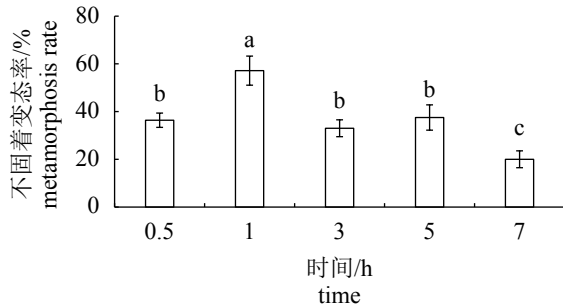


图3 不同诱导时间下岩牡蛎眼点幼虫的不固着变态率

Fig. 3 The metamorphosis rates of the eye-spot larvae of *C. nippona* at different induction times

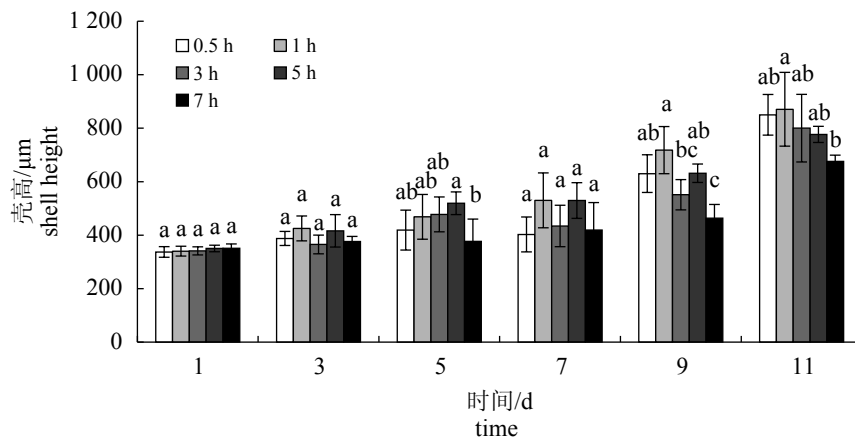


图4 不同诱导时间下岩牡蛎单体稚贝壳高的变化

Fig. 4 Changes in the shell height of *C. nippona* juveniles at different induction times

2.3 密度对幼虫不固着变态率、稚贝生长存活的影响

肾上腺素浓度 5×10^{-5} mol/L处理1 h, 幼虫密度与不固着变态率的关系如图5所示, 幼虫的培育密度梯度与不固着变态率差异不显著 ($P > 0.05$),

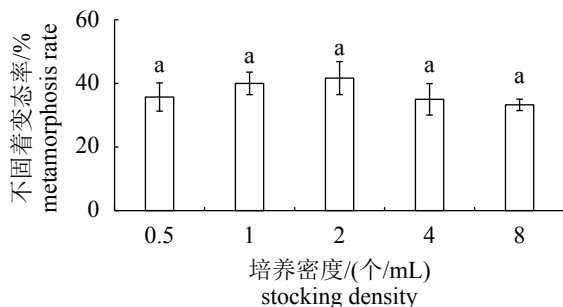


图5 不同培养密度下岩牡蛎眼点幼虫的不固着变态率

Fig. 5 The metamorphosis rates of the eye-spot larvae of *C. nippona* at different stocking densities

高或降低诱导时间, 不能提高幼虫的不固着变态率。

不同时间处理组单体稚贝的生长有显著差异 (图4)。单因素方差分析结果显示, 各时间组稚贝壳高在第1、3和7天差异不显著 ($P > 0.05$)。第11天, 诱导1 h的稚贝壳高最大 [$(870.71 \pm 137.99) \mu\text{m}$], 显著高于7 h时间组 ($P < 0.05$), 与其他时间组差异不显著 ($P > 0.05$)。诱导时间对稚贝存活也有显著影响 (表1)。第11天, 诱导时间1 h, 稚贝的存活率最高, 显著高于其他时间组 ($P < 0.05$), 且随诱导时间变化, 稚贝的存活率下降。

2个/mL处理组的变态率最高, 为 $41.67\% \pm 5.19\%$ 。

单因素方差分析结果显示, 各密度组稚贝壳高在第1、3、5和9天差异不显著 ($P > 0.05$) (图6)。第11天, 眼点幼虫密度为0.5个/mL的稚贝壳高最大 [$(930.00 \pm 21.66) \mu\text{m}$], 显著高于8个/mL密度组 ($P < 0.05$), 与其他密度组差异不显著 ($P > 0.05$)。第3天, 0.5~4个/mL密度组稚贝的存活率均为100%, 显著高于8个/mL密度组存活率(95.3%, $P < 0.05$), 但随着培育时间的延长, 各密度组稚贝的存活率显著下降 (表1)。第11天, 8个/mL密度处理下, 稚贝成活率最低, 与其他密度组差异显著 ($P < 0.05$), 0.5~4个/mL密度组间差异不显著 ($P > 0.05$)。

3 讨论

附着变态过程是贝类从幼虫向成体转变的一个重要发育阶段, 一般附着在前, 变态在后。幼虫发育到一定阶段便开始附着变态, 遇到合

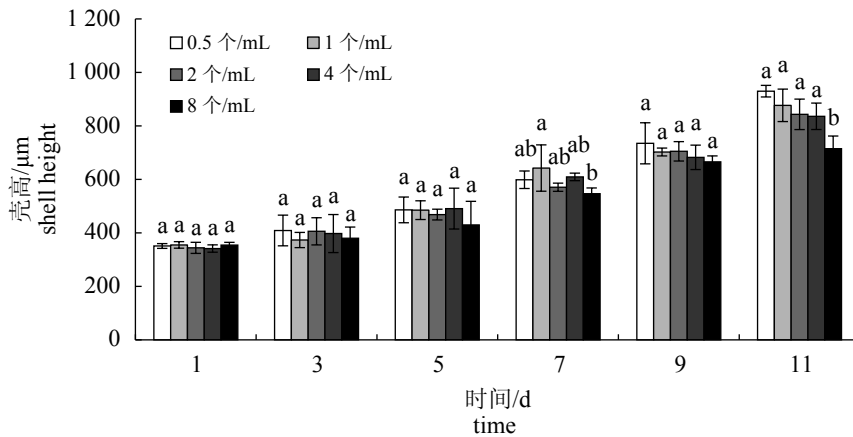


图 6 不同密度下单体稚贝壳高的变化

Fig. 6 Changes in the shell height of *C. nippona* juveniles at different stocking densities

适的附着基, 并在外界环境的刺激下, 完成附着变态^[19]。但如果当时环境条件不适宜而不能附着, 幼虫就会延长变态时间, 造成幼虫不能完成这一系列过程, 甚至大量死亡^[20]。因此在实际生产中, 幼虫附着变态率的高低是评价苗种培育成败的重要指标。

3.1 不同肾上腺素诱导浓度、诱导时间生产岩牡蛎单体苗种分析

肾上腺素是一种酪氨酸衍生物, 属于儿茶酚胺类物质。大量研究表明这种神经递质的作用广泛, 对褶牡蛎 (*C. plicatula*)^[21]、欧洲牡蛎 (*Ostrea edulis*)^[22]、艾氏牡蛎 (*C. iredalei*)^[23]、紫贻贝 (*Mytilus galloprovincialis*)^[22]、黑扇贝 (*Chlamys varia*)^[24]、耳鲍 (*Haliotis asinina*)^[25]、菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*)^[26]、象拔蚌 (*Panopea zelandica*)^[27] 等多种海洋贝类幼虫的变态有显著的诱导效果。本实验结果显示, 幼虫的不固着变态率在诱导浓度 5×10^{-5} mol/L、诱导时间 1 h 条件下最高, 达到 50% 以上; 且提高诱导浓度和延长诱导时间导致岩牡蛎幼虫的不固着变态率、稚贝壳高和存活率显著降低。这与 Coon 等^[6] 的研究结果相符, 他认为利用神经递质及其类似物诱导幼虫变态的最适浓度为 $10^{-4} \sim 10^{-5}$ mol/L, 最适诱导时间为 0.5~1 h, 提高诱导浓度、延长诱导时间会对幼虫产生毒害作用, 从而抑制幼虫的变态、生长和存活。Doroudi 等^[28] 在利用肾上腺素诱导黑唇珠母贝 (*Pinctada margaritifera*) 附着时发现, 幼虫在 10^{-3} mol/L 下的死亡率比在 10^{-5} mol/L 下高 70%。用 10^{-5} mol/L 的肾上腺素处理泥蚶

(*Tegillarca granosa*) 幼虫 3 h 效果最好, 超过 4 h 时, 变态率显著降低^[29]。因此, 将肾上腺素的诱导浓度和诱导时间控制在合理的范围, 是成功获得岩牡蛎单体苗种的关键。另外, 对于不同种类的牡蛎幼虫, 即使是相同的诱导条件, 肾上腺素的诱导效果也存在显著差异。例如, 熊本牡蛎 (*C. sikamea*) 幼虫在浓度 10^{-5} mol/L、诱导 1 h 下, 单体率仅为 5.2%^[12], 显著低于相同诱导条件下岩牡蛎幼虫的单体率 (42.9%); 长牡蛎幼虫在浓度 10^{-4} mol/L、诱导 1 h 下, 单体率达到 90.8%^[30], 显著高于相同诱导条件下岩牡蛎幼虫的单体率 (47.1%)。刘保忠等^[31] 认为不同物种的幼虫变态所需刺激强度的阈值是不同的, 阈值上的差异导致幼虫对肾上腺素浓度的敏感性不同, 进而影响诱导效果。除物种差异原因外, 诱导时机的不同, 温度、盐度、pH、光照等因子的变化也能影响幼虫的变态率^[32]。

3.2 不同培养密度生产岩牡蛎单体苗种分析

密度实验结果表明当幼虫密度低于 8 个/mL 时, 肾上腺素的诱导效果不显著, 因此最适诱导密度为 8 个/mL。之前的研究也表明长牡蛎眼点幼虫密度在 80 个/mL 以下时, 肾上腺素处理效果没有显著性差异^[3]。但不同诱导密度处理组后期稚贝的生长和存活率差异显著。本研究发现, 在 8 个/mL 的培育密度下, 稚贝壳高和存活率显著低于 0.5~4 个/mL。可能的原因是培育密度过大造成个体间对饵料竞争加剧, 影响了稚贝的生长。高密度导致幼虫的死亡率上升则可能是由水质引起的。本研究未利用上升流设备, 只靠

气阀的大量充气, 往往造成稚贝局部密度过大, 无法使单体稚贝分布均匀, 从而导致在稚贝的生长发育过程中代谢废物、残饵等逐渐增加。这些残饵粪便在分解过程中会败坏水质, 导致水体溶解氧含量下降, 水中致病原生物及细菌大量滋生, 从而影响稚贝的摄食和呼吸, 造成稚贝大量死亡^[33-34]。因此, 利用肾上腺素诱导岩牡蛎单体时, 可大批量处理眼点幼虫, 但稚贝充气培养的最适培养密度应不高于4个/mL。

3.3 肾上腺素对幼虫行为的影响

本研究还观察了肾上腺素诱导下的幼虫行为, 结果表明肾上腺素能显著诱导岩牡蛎幼虫变态, 但对幼虫附着的诱导效果不显著。相似的研究结果在熊本牡蛎、美洲牡蛎 (*C. virginica*)、近江牡蛎 (*C. ariakensis*) 等牡蛎幼虫中已有大量报道^[9, 12, 35]。但Teh等^[23]发现, 肾上腺素能显著诱导艾氏牡蛎幼虫附着。当艾氏牡蛎幼虫受到肾上腺素的作用时, 幼虫沿水层上下螺旋游动, 15~20 min后, 部分幼虫缓慢下沉至底部, 用足爬动, 遇到合适附着基后完成附着变态。若附着条件不适, 部分幼虫会恢复游泳能力, 继续沿水层上下螺旋游动。这种诱导结果的差异可能是肾上腺素对不同种牡蛎附着变态的生理和分子机制的不同造成的。目前, 有两个模型能够完整解释贝类幼虫附着变态机理: 一个是以红鲍 (*Haliotis rufescens*) 为代表的上行调节模型^[36], 另一个是以长牡蛎为代表的双调控模型^[7, 37]。但关于牡蛎种间附着变态机制的异同尚不明确, 仍需进一步研究。

参考文献:

- [1] 王庆志, 李琪, 刘世凯, 等. 长牡蛎成体生长性状的遗传参数估计[J]. 中国水产科学, 2012, 19(4): 700-706.
Wang Q Z, Li Q, Liu S K, *et al.* Estimates of genetic parameters for growth-related traits in adult *Crassostrea gigas*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2012, 19(4): 700-706(in Chinese).
- [2] 杨春, 苏秀榕, 李太武. 牡蛎养殖技术[J]. 水产科学, 2003, 22(5): 31-33.
Yang C, Su X R, Li T W. The cultural technique of Pacific oyster, *Crassostrea gigas*[J]. Fisheries Science, 2003, 22(5): 31-33(in Chinese).
- [3] 陈亨, 方军, 滕爽爽, 等. 单体牡蛎诱导变态的研究[J]. 海洋科学, 2016, 40(1): 10-17.
Chen H, Fang J, Teng S S, *et al.* The induction of metamorphosis in cultchless oysters (*Crassostrea angulata* and *Crassostrea gigas*)[J]. Marine Sciences, 2016, 40(1): 10-17(in Chinese).
- [4] 王昌勃. 熊本牡蛎单体苗种生产和养殖技术的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
Wang C B. Studies on single-seed oyster spat production and culture techniques of *Crassostrea Sikamea*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013(in Chinese).
- [5] 杨爱国, 牛锡端, 沈决奋, 等. 太平洋牡蛎单体苗种生产及养殖技术的研究[J]. 中国水产科学, 1995, 2(3): 29-35.
Yang A G, Niu X D, Shen J F, *et al.* Study on cultchless spat and culture techniques of Pacific oyster *Crassostrea gigas*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 1995, 2(3): 29-35(in Chinese).
- [6] Coon S L, Bonar D B, Weiner R M. Induction of settlement and metamorphosis of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg), by L-DOPA and catecholamines[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1985, 94(1-3): 211-221.
- [7] Bonar D B, Coon S L, Walch M, *et al.* Control of oyster settlement and metamorphosis by endogenous and exogenous chemical cues[J]. Bulletin of Marine Science, 1990, 46(2): 484-498.
- [8] Yu X J, He W H, Gu J D, *et al.* The effect of chemical cues on settlement of pearl oyster *Pinctada fucata martensii* (Dunker) larvae[J]. Aquaculture, 2008, 277(1-2): 83-91.
- [9] Coon S L, Bonar D B, Weiner R M. Chemical production of cultchless oyster spat using epinephrine and norepinephrine[J]. Aquaculture, 1986, 58(3-4): 255-262.
- [10] Searcy-Bernal R, Salas-Garza A E, Flores-Aguilar R A, *et al.* Simultaneous comparison of methods for settlement and metamorphosis induction in the red abalone (*Haliotis rufescens*)[J]. Aquaculture, 1992, 105(3-4): 241-250.
- [11] Beiras R, Widdows J. Induction of metamorphosis in larvae of the oyster *Crassostrea gigas* using neuroactive compounds[J]. Marine Biology, 1995, 123(2): 327-334.
- [12] 王昌勃, 李琪, 孔令锋, 等. 熊本牡蛎单体苗种生产技术研究[J]. 中国海洋大学学报, 2016, 46(11): 136-142,

186.
Wang C B, Li Q, Kong L F, *et al.* Establishment of single oyster (*Crassostrea sikamea*) seeds[J]. Periodical of Ocean University of China, 2016, 46(11): 136-142, 186(in Chinese).
- [13] Itoh N, Tun K L, Komiyama H, *et al.* An ovarian infection in the Iwagaki oyster, *Crassostrea nippona*, with the protozoan parasite *Marteilioides chungmuensis*[J]. *Journal of Fish Diseases*, 2004, 27(5): 311-314.
- [14] Yoon H S, Jung H T, Choi S D. Suminoe oyster (*Crassostrea ariakensis*) culture in Korea[J]. *Journal of Shellfish Research*, 2008, 27(3): 505-508.
- [15] 李文姬. 岩牡蛎的生物学及其养殖[J]. *水产科学*, 2007, 26(12): 689-690.
Li W J. Biology and cultivation of oyster *Crassostrea nippona*[J]. *Fisheries Science*, 2007, 26(12): 689-690(in Chinese).
- [16] Okumura T, Miura N, Semura H, *et al.* Seasonal changes in glycogen contents of the Iwagaki oyster, *Crassostrea nippona* from the coast of Toga Bay, Konoura, Tomari, and Oki Islands in the Sea of Japan[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 2005, 71(3): 363-368.
- [17] Tanaka M, Hisada T, Fujiwara M. Possibility of natural spat collection of 'Iwagaki' oyster *Crassostrea nippona* in western Wakasa Bay[J]. *Bulletin of the Kyoto Institute of Oceanic and Fishery Science*, 2010, 32: 17-22.
- [18] Adachi K, Yokoi T, Inoue K, *et al.* Karyotype revision in the Iwagaki oyster *Crassostrea nippona*[J]. *Chromosome Science*, 2014, 17(1-4): 9-10.
- [19] 王如才, 王昭萍. 海水贝类养殖学[M]. 青岛: 中国海洋大学出版社, 2008.
Wang R C, Wang Z P. Science of Marine Shellfish Culture[M]. Qingdao: Press of Ocean University of China, 2008(in Chinese).
- [20] 张涛, 阙华勇. 延迟变态对海洋无脊椎动物生长发育的影响[J]. *海洋科学*, 2001, 25(6): 28-30.
Zhang T, Que H Y. The effects of delayed metamorphosis on growth and development of invertebrates[J]. *Marine Sciences*, 2001, 25(6): 28-30(in Chinese).
- [21] 王昭萍, 王如才, 徐从先, 等. 单体褶牡蛎(*Crassostrea* sp.)的研究[J]. 青岛海洋大学学报, 1992, 22(2): 125-132.
Wang Z P, Wang R C, Xu C X, *et al.* Studies on cultchless oyster, *Crassostrea* sp.[J]. *Journal of Ocean University of Qingdao*, 1992, 22(2): 125-132(in Chinese).
- [22] Garcia-Lavandeira M, Silva A, Abad M, *et al.* Effects of GABA and epinephrine on the settlement and metamorphosis of the larvae of four species of bivalve molluscs[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2005, 316(2): 149-156.
- [23] Teh C P, Zulfigar Y, Tan S H. Epinephrine and L-DOPA promote larval settlement and metamorphosis of the tropical oyster, *Crassostrea iredalei* (Faustino, 1932): An oyster hatchery perspective[J]. *Aquaculture*, 2012, 338-341: 338-341.
- [24] Mesias-Gansbiller C, El Amine Bendimerad M, Román G, *et al.* Settlement behavior of black scallop larvae (*Chlamys varia*, L.) in response to GABA, epinephrine and IBMX[J]. *Journal of Shellfish Research*, 2008, 27(2261)-264.
- [25] Wang X B, Bai Y, Huang B. Effects of chemical cues on larval survival, settlement and metamorphosis of abalone *Haliotis asinina*[J]. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2010, 28(6): 1261-1265.
- [26] Lu S M, Bao Z M, Liu H F, *et al.* Effect of epinephrine on the settlement and metamorphosis of Manila clam larvae[J]. *Journal of Ocean University of China*, 2006, 5(2): 141-145.
- [27] Le D V, Young T, Alfaro A C, *et al.* Effect of neuroactive compounds on larval metamorphosis of New Zealand geoduck (*Panopea zelandica*)[J]. *Aquaculture Research*, 2017, 48(6): 3080-3090.
- [28] Doroudi M S, Southgate P C. The effect of chemical cues on settlement behaviour of blacklip pearl oyster (*Pinctada margaritifera*) larvae[J]. *Aquaculture*, 2002, 209(1-4): 117-124.
- [29] 方建光, 匡世焕, 孙慧玲, 等. 化学物质诱导泥蚶幼虫附着变态的研究[J]. *中国水产科学*, 1999, 6(3): 41-44.
Fang J G, Kuang S H, Sun H L, *et al.* Inducement of settlement and metamorphosis by chemical cues in *Tegillarca granosa* larvae[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 1999, 6(3): 41-44(in Chinese).
- [30] 吕晓燕. 熊本牡蛎人工繁育与长牡蛎单体苗种培育技术研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
Lü X Y. Studies on the techniques of artificial reproduction of the *Crassostrea sikamae* and cultivation of the cultchless spat of *Crassostrea gigas*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013(in Chinese).
- [31] 刘保忠, 张福绥, 何义朝. 几种神经活性物质对海湾扇

- 贝幼虫变态诱导作用的研究[J]. 海洋学报, 1998, 20(5): 55-60.
- Liu B Z, Zhang F S, He Y C. Study on induction of metamorphosis in larvae of bay scallop, *Argopecten irradians*, by some neuroactive compounds[J]. Acta Oceanologica Sinica, 1998, 20(5): 55-60(in Chinese).
- [32] 陈志. 波纹巴非蛤幼虫附着变态的诱导及幼贝生长的研究[D]. 福州: 福建师范大学, 2013.
- Chen Z. Studies on settlement and metamorphosis of larvae and the growth of shellfish larvae in *Paphia undulate*[D]. Fuzhou: Fujian Normal University, 2013(in Chinese).
- [33] Gruffydd L D, Beaumont A R. A method for rearing *Pecten maximus* larvae in the laboratory[J]. Marine Biology, 1972, 15(4): 350-355.
- [34] Velasco L A, Barros J. Experimental larval culture of the Caribbean scallops *Argopecten nucleus* and *Nodipecten nodosus*[J]. Aquaculture Research, 2008, 39(6): 603-618.
- [35] 丘广艳, 余忠明, 于瑞海, 等. 用肾上腺素诱导单体近江牡蛎苗的研究[J]. 海洋湖沼通报, 2016(3): 100-105.
- Qiu G Y, She Z M, Yu R H, et al. Studies on cultchless oyster, *Crassostrea ariakensis* induced by epinephrine[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2016(3): 100-105(in Chinese).
- [36] Baxter G, Morse D E. G protein and diacylglycerol regulate metamorphosis of planktonic molluscan larvae[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1987, 84(7): 1867-1870.
- [37] 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(3): 379-387.

The induction of metamorphosis in Iwagaki oyster (*Crassostrea nippona*)

WANG Tao¹, LI Qi^{1,2*}

(1. Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266200, China)

Abstract: The Iwagaki oyster *Crassostrea nippona*, is a large sessile oyster inhabiting intertidal hard grounds and reefs along the coast of East Asian. Because of its unique flavor, delicious taste and edibility during summer when other oyster species are unavailable, *C. nippona* is highly valued and has a broad market prospect. To obtain cultchless oyster with a regular shell shape and uniform size, epinephrine (EPI) was applied to *C. nippona* eye-spot larvae to induce cultchless metamorphosis. To determine optimum levels for *C. nippona*, the effect of EPI concentration, exposure time to EPI, and larval density were examined. The results demonstrate that EPI can significantly facilitate larval metamorphosis. 0.05 mmol/L and 1 h treatment were the optimum for single oyster seed production, and shell height and survival rates of cultchless spat showed a curve of descending with increasing EPI concentration and exposure time. However, there was no significant difference between EPI treatments at larval densities <8 larvae/mL. The growth of *C. nippona* was also examined in the following days, which showed that shell height and spat survival rates were higher in 0.5-4 larvae/mL than those in 8 larvae/mL. Therefore, 8 larvae/mL was the optimum for single oyster seed production, while a density of no more than 4 larvae/ml was the best for cultchless spat cultivation.

Key words: *Crassostrea nippona*; epinephrine; cultchless spat; metamorphosis

Corresponding author: LI Qi. E-mail: qili66@ouc.edu.cn

Funding projects: Key Research and Development Program of Shandong Province (2016ZDJS06A06); Industrial Development Projects Qingdao City (17-3-3-64-nsh)