

## 胆碱受体化合物对厚壳贻贝幼虫变态的调控作用

杨金龙<sup>1,2\*</sup>, 陈芋如<sup>1</sup>, 郭行磐<sup>1</sup>, 李一峰<sup>1</sup>, 徐 灿<sup>1</sup>, 李家乐<sup>1</sup>

(1. 上海海洋大学省部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306;

2. 上海海洋大学海洋科学研究院, 上海 201306)

**摘要:** 为研究胆碱受体在厚壳贻贝幼虫变态发育过程中的作用, 通过药理学手段调查胆碱类神经递质乙酰胆碱、氯甲酰胆碱及其拮抗剂六甲双铵和阿托品对厚壳贻贝幼虫变态发育调控作用。结果显示: 在 24 h 暴露实验中, 氯甲酰胆碱在  $10^{-5} \sim 10^{-4}$  mol/L 浓度表现出诱导活性, 乙酰胆碱则无诱导活性。在持续暴露实验中, 氯甲酰胆碱在  $10^{-5} \sim 10^{-4}$  mol/L 浓度表现出诱导活性, 乙酰胆碱在  $10^{-6} \sim 10^{-4}$  mol/L 浓度表现出诱导活性。在拮抗剂实验中, 在  $10^{-4}$  mol/L 氯甲酰胆碱或  $10^{-4}$  mol/L 乙酰胆碱存在时, N 型胆碱受体拮抗剂六甲双铵对厚壳贻贝幼虫的变态均无抑制效果, 表明 N 型胆碱受体可能并不在幼虫的变态发育过程发挥主导作用。M 型胆碱受体拮抗剂阿托品在  $10^{-4}$  mol/L 氯甲酰胆碱存在时表现出抑制作用, 且测试液中幼虫的变态率降为 0%, 表明 M 型胆碱受体可能参与调控厚壳贻贝幼虫变态发育过程。在整个药理学实验过程中无死亡幼虫出现, 因而氯甲酰胆碱和乙酰胆碱可作为有效诱导物来促进厚壳贻贝幼虫的变态发育, 尝试应用于该种的水产养殖过程; 同时本研究为厚壳贻贝变态发育调控机制的研究提供有效理论依据。

**关键词:** 厚壳贻贝; 胆碱受体; 幼虫变态; 化学诱因

**中图分类号:** Q 178.1; S 968.3

**文献标志码:** A

厚壳贻贝 (*Mytilus coruscus*), 隶属于软体动物门 (Mollusca), 双壳纲 (Bivalvia), 贻贝目 (Mytilodia), 贻贝科 (Mytilidae), 是我国重要的海水养殖贝类, 分布于黄海、渤海和东海沿岸<sup>[1]</sup>, 其中以浙江沿海资源量最大, 舟山嵊泗县是厚壳贻贝的主要产区。和许多海洋无脊椎动物一样, 厚壳贻贝在生活史中具浮游幼虫阶段, 而后是由浮游到底栖生活习性和身体结构发生转变这一关键过程, 即附着变态。附着变态是海洋无脊椎动物生活史中的关键时期, 是幼虫向成体转变的重要环节, 大部分海洋无脊椎动物的幼虫只有在外界环境因子的影响下才能完成附着变态<sup>[2]</sup>。在人工育苗过程中, 处于附着变态阶段的幼虫常常未完成变态就大量死亡, 因而附苗技术成为厚壳贻贝人工育苗的难关之一<sup>[3-4]</sup>。

近年来, 研究表明化学诱因在许多海洋无脊椎动物幼虫变态发育过程中发挥重要作用<sup>[2]</sup>。其中, 化学信号物质源于微生物被膜、大型海藻、摄食物种、同物种附着个体, 这些天然诱因能吸引幼虫到基质上完成附着变态过程<sup>[2,5-7]</sup>。与此同时, 不同类型的神经递质能调控海洋无脊椎动物幼虫附着和随后的变态过程<sup>[8-9]</sup>。特别是肾上腺素受体化合物等单胺类神经递质对幼虫的附着变态研究受到了广泛的关注<sup>[4-5,8-9]</sup>。通过调查神经递质对海洋贝类幼虫变态发育的调控作用, 可发现促进幼虫变态发育的有效诱导物, 从而提高苗种附着率和稚贝成活率。

乙酰胆碱是由胆碱合成的一种重要的神经递质, 主要分布于神经-肌肉接头处, 起到桥梁的作用, 同时也分布于中枢神经系统。本实验主要调

收稿日期: 2014-08-30 修回日期: 2014-10-14

资助项目: 国家自然科学基金(31101885); 上海高校水产学一流学科建设项目; 上海市教委创新重点项目(14ZZ143)

通信作者: 杨金龙, E-mail: jlyang@shou.edu.cn

查胆碱受体激动剂和拮抗剂对厚壳贻贝幼虫变态发育的影响,旨在为深入研究厚壳贻贝幼虫变态机理提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 人工受精和幼虫培育

厚壳贻贝亲贝采自浙江省嵊泗县枸杞岛附近海域。本实验依据 Yang 等<sup>[10]</sup>所述方法进行人工受精和幼虫培育。

### 1.2 化学物质母液配制

本次实验所调查的化学物质包括:肾上腺素、氯甲酰胆碱,乙酰胆碱、六甲双胺、阿托品(表 1)。乙酰胆碱、氯甲酰胆碱、六甲双胺、阿托品以及肾上腺素等母液的配置,先用蒸馏水或 1 M HCl 将药品溶解,然后用过滤的灭菌海水(Autoclaved filtered sea water, AFSW)稀释,调节母液的 pH 值至 7.8~8.2 待用。母液和测试溶液均在实验当天进行配制(表 1)。

表 1 实验所用的化学物质、生产厂家、母液浓度以及测试液浓度

Tab. 1 Chemical compounds used in the assay and their respective manufacturers and concentrations of stock and tested solutions

化学物质 chemical compound	制造商 manufacture	浓度/(mol/L) concentration			
		母液浓度 stock solution		测试浓度 test concentration	
氯甲酰胆碱 carbamylmethylcholine	Sigma( St Louis, Mo)	$10^{-3}$	$10^{-6}$	$10^{-5}$	$10^{-4}$
乙酰胆碱 acetylcholine chloride	Sigma( St Louis, Mo)	$10^{-3}$	$10^{-6}$	$10^{-5}$	$10^{-4}$
六甲双胺 hexamethonium bromide	Sigma( St Louis, Mo)	$10^{-3}$	$10^{-6}$	$10^{-5}$	$10^{-4}$
阿托品 atropine	Sigma( St Louis, Mo)	$10^{-3}$	$10^{-6}$	$10^{-5}$	$10^{-4}$
肾上腺素 epinephrine	Sigma( St Louis, Mo)	$10^{-3}$	-	-	$10^{-4}$

### 1.3 幼虫变态实验

幼虫变态实验参照 Yang 等<sup>[10]</sup>的方法进行。每 20 个眼点幼虫放入每个含有 20 mL 测试溶液的玻璃培养皿(60 mm 直径×15 mm 高)。在胆碱受体激动剂 24 h 暴露实验时,将厚壳贻贝幼虫放入不同浓度的测试液中,24 h 暴露处理后,用 AFSW 冲洗 3 次,再将幼虫转移至盛有 20 mL AFSW 的培养皿中。持续暴露实验时,将幼虫置于各浓度测试液中直至 96 h。在胆碱受体拮抗剂实验中,每 20 个幼虫被放置于不同浓度的受体拮抗剂测试液中暴露 15 min,然后加入终浓度为  $10^{-4}$  mol/L 乙酰胆碱或氯甲酰胆碱。24 h 后,AFSW 冲洗 3 次,再将幼虫转移至盛有 20 mL AFSW 培养皿中。实验开始后 72 及 96 h 后分别观察幼虫的变态和死亡。实验过程中,每个培养皿中仅含 20 个幼虫和 20 mL AFSW 作为负对照组,每个培养皿中含有 20 个幼虫、20 mL  $10^{-4}$  mol/L 肾上腺素作为正对照组。

### 1.4 数据分析

在统计分析前,所有数据进行了正态分布检验。如满足正态分布,且方差相同,则通过单因素方差分析方法(One-Way ANOVA)进行分析。如不满足正态分布,则通过 Kruskal-Wallis Test 检验

进行评估检验。分析采用 JMP 10.0 统计软件, $P < 0.05$  作为差异显著。

## 2 结果

### 2.1 胆碱受体激动剂对厚壳贻贝幼虫变态的影响

在 24 h 暴露试验中,空白对照组中未观察到幼虫变态。72 h 后氯甲酰胆碱和乙酰胆碱测试液中均观察到幼虫变态(图 1-a)。与空白对照组相比,仅肾上腺素( $P < 0.01$ )、 $10^{-4}$  mol/L 和  $10^{-5}$  mol/L 氯甲酰胆碱( $P < 0.01$ )表现出诱导活性(图 1-a)。相比 72 h 结果,96 h 后氯甲酰胆碱作用下的幼虫变态率无明显变化(图 1-b)。然而乙酰胆碱( $P > 0.05$ )在 96 h 后,仍无诱导效果。在 24 h 暴露实验中,氯甲酰胆碱和乙酰胆碱测试液中无幼虫死亡。

在氯甲酰胆碱和乙酰胆碱持续暴露实验中,72 h 后, $10^{-5} \sim 10^{-4}$  mol/L 氯甲酰胆碱( $P < 0.01$ )和  $10^{-5} \sim 10^{-4}$  mol/L 乙酰胆碱( $P < 0.01$ )均表现出诱导活性(图 2-a)。96 h 后,氯甲酰胆碱作用下的幼虫变态率无显著变化,乙酰胆碱作用下的幼虫变态率增高,其中  $10^{-4}$  mol/L 浓度下的变态率达到 23%(图 2-b)。整个持续暴露实验中,均未出现幼虫死亡现象。

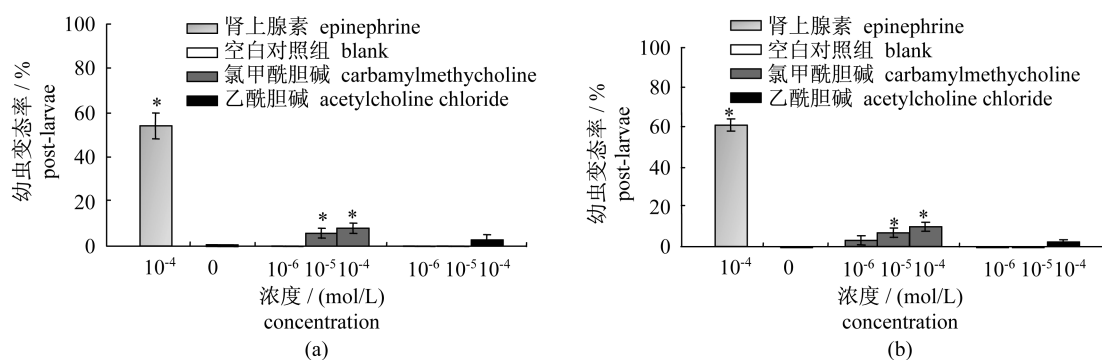


图1 24 h 暴露实验时,胆碱受体激动剂氯甲酰胆碱和乙酰胆碱在 72 (a) 及 96 h (b) 后诱导厚壳贻贝幼虫变态率 \* . 差异显著 ( $P < 0.05$ )。以下同此

Fig. 1 Percentages of *M. coruscus* post-larvae on carbamylmethylcholine and acetylcholine chloride after 72 (a) and 96 h (b) at various concentrations in 24-h exposure assays

\* .  $P < 0.05$ . The following below are the same

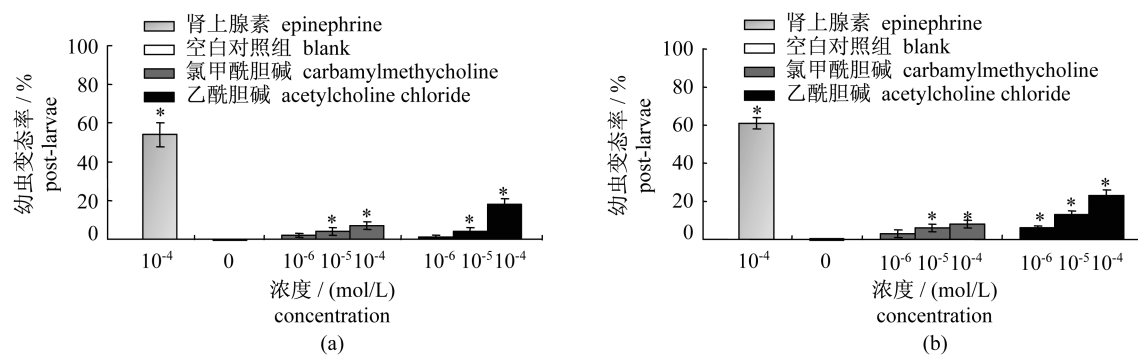


图2 持续暴露实验时,胆碱受体激动剂氯甲酰胆碱和乙酰胆碱在 72 (a) 及 96 h (b) 后诱导厚壳贻贝幼虫变态率

Fig. 2 Percentages of *M. coruscus* post-larvae on carbamylmethylcholine and acetylcholine chloride after 72 (a) and 96 h (b) at various concentrations in continuous exposure assays

## 2.2 胆碱受体拮抗剂对厚壳贻贝幼虫变态的影响

在 10<sup>-4</sup> mol/L 氯甲酰胆碱作用下,72 和 96 h 后,六甲双胺对幼虫的变态均无抑制作用 ( $P > 0.05$ ,图 3-a)。72 h 后,阿托品对幼虫的变态有

显著抑制作用 ( $P < 0.05$ ),幼虫变态率降为 0% (图 3-b)。在仅添加六甲双胺和阿托品时,无任何变态幼虫出现。实验过程中,幼虫的死亡率为 0%。

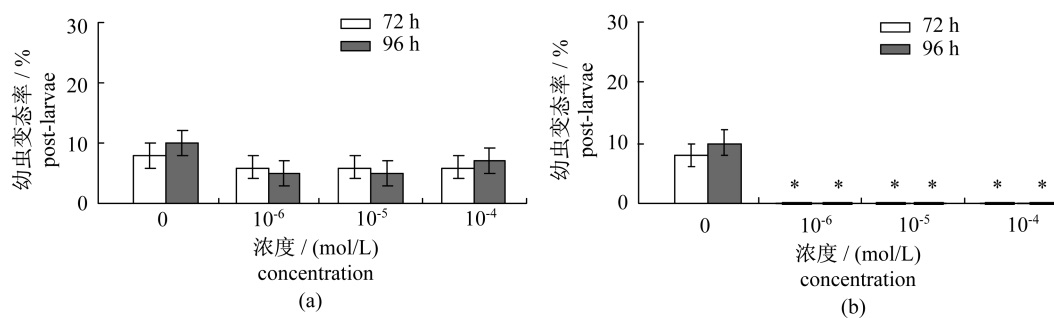


图3 在氯甲酰胆碱作用时,胆碱受体拮抗剂六甲双胺 (a) 和阿托品 (b) 在 72 及 96 h 后对厚壳贻贝幼虫的变态率影响

Fig. 3 Percentages of *M. coruscus* post-larvae after 72 and 96 h obtained by exposure to different concentrations of the two antagonists hexamethonium bromide (a) and atropine (b) in the presence of 10<sup>-4</sup> mol/L carbamylmethylcholine

在  $10^{-4}$  mol/L 乙酰胆碱作用下,72 h 后,六甲双胺 ( $P > 0.05$ ),阿托品 ( $P > 0.05$ ) 均无抑制作用。96 h 后,六甲双胺和阿托品两种拮抗剂对幼虫的变态仍无抑制作用。乙酰胆碱诱导幼虫的变态率仅为 3%,而在  $10^{-6}$  mol/L 阿托品和乙酰

胆碱共同作用下,幼虫的变态率显著升高至 7% (图 4)。在无乙酰胆碱的条件下,拮抗剂六甲双胺和阿托品在各测试浓度下均没有出现幼虫变态的现象。实验中,幼虫均无死亡现象出现。

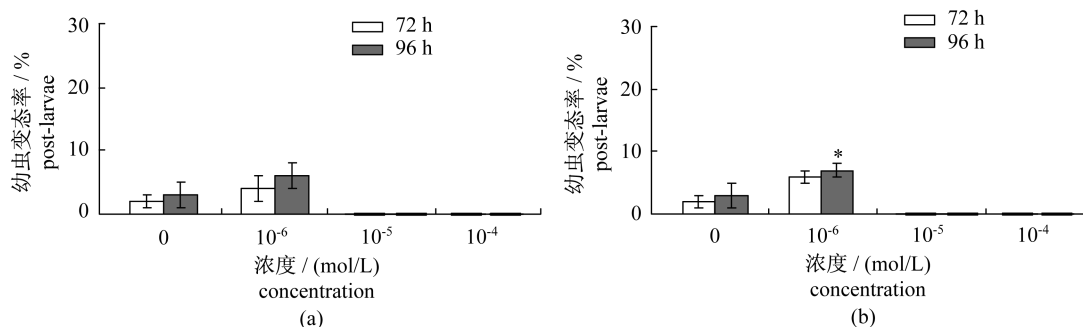


图 4 在乙酰胆碱作用时,胆碱受体拮抗剂六甲双胺 (a) 和阿托品 (b) 在 72 及 96 h 后对厚壳贻贝幼虫的变态率影响  
Fig. 4 Percentages of *M. coruscus* post-larvae after 72 and 96 h obtained by exposure to different concentrations of the two antagonists hexamethonium bromide (a) and atropine (b) in the presence of  $10^{-4}$  mol/L acetylcholine chloride

### 3 讨论

化学物质能够参与调控许多海洋无脊椎动物幼虫变态发育过程。在众多化学物质中,神经递质类化合物诱导海洋无脊椎动物幼虫的变态发育作用最为突出,如肾上腺素、GABA 和 5-羟色胺等。许多药理学实验中化学物质对海洋无脊椎动物幼虫的变态有很好的诱导或者抑制效果,这些研究一方面旨在阐明海洋无脊椎动物变态发育的机理<sup>[11-12]</sup>,同时旨在为水产养殖的苗种附着技术改良和海洋防污技术发展提供更多有价值信息<sup>[10]</sup>。

乙酰胆碱是最早发现的一种神经递质,几乎存在于所有动物体内<sup>[13]</sup>。在海洋无脊椎动物研究中,乙酰胆碱可能在幼虫附着变态过程中发挥重要作用。Faimali 等<sup>[14]</sup>报道在纹藤壶 (*Balanus amphitrite*) 幼虫体内存在一个功能性的胆碱分子,而且乙酰胆碱在藤壶幼虫的附着过程中起到一个神经递质或神经调质的作用。乙酰胆碱在  $10^{-4}$  mol/L 能诱导长牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 幼虫变态<sup>[15]</sup>。Yu 等<sup>[16]</sup>发现乙酰胆碱的浓度为  $10^{-4}$  mol/L 时,对马氏珠母贝 (*Pinctada martensii*) 的诱导作用较为显著,并且对幼虫无毒性副作用。在贻贝研究方面,以往研究表明乙酰胆碱能有效诱导紫贻贝 (*Mytilus edulis*)、*Aulacomya maoriana*、新西兰贻贝 (*Perna*

*canaliculus*) 等幼虫附着变态过程<sup>[17-19]</sup>。与此同时,本研究结果表明乙酰胆碱能够有效促进厚壳贻贝幼虫的变态,且在各浓度测试液中均无死亡幼虫出现,表明乙酰胆碱可作为诱导该种幼虫变态的有效诱导物。因而,乙酰胆碱可能在许多种海产贻贝幼虫附着变态过程中均发挥重要作用,这需要进行进一步验证。

胆碱及其衍生物影响许多海洋无脊椎动物幼虫附着变态发育过程。氯乙酰胆碱作为胆碱受体激动剂中的一种,已被报道对海洋无脊椎动物幼虫的附着变态产生影响。目前,本研究发现氯乙酰胆碱在  $10^{-5}$  mol/L 和  $10^{-4}$  mol/L 浓度时有效促进厚壳贻贝幼虫的变态发育。这一发现与以往氯乙酰胆碱在同样浓度能诱导地中海贻贝 (*Mytilus galloprovincialis*) 幼虫变态的研究相一致<sup>[20]</sup>。然而,氯乙酰胆碱对管栖多毛类加州篱帚毛虫 (*Phragmatopoma lapidosa californica*) 的变态无任何诱导效果<sup>[21]</sup>。此外,在本研究中,氯乙酰胆碱不仅能有效促进厚壳贻贝幼虫变态发育成为稚贝,且在各浓度测试液中均未出现幼虫死亡现象,表明氯乙酰胆碱可以作为诱导该种幼虫变态的诱导物,应用于水产养殖过程。

在目前研究中,M 胆碱受体拮抗剂阿托品能有效抑制厚壳贻贝幼虫的变态,表明胆碱类神经递质与 M 胆碱受体相结合,进而参与调控该种幼虫的变态发育过程。相比较言,N 胆碱受体拮抗

剂六甲双铵对厚壳贻贝幼虫的变态无任何抑制效果,表明 N 胆碱受体可能在厚壳贻贝幼虫的变态发育过程并不发挥决定性调控作用。然而,胆碱类神经递质究竟如何作用于 M 胆碱受体影响调控幼虫变态的信号通路仍未得知,需进一步深入研究。

综上所述,本研究首次利用药理学手段揭示胆碱类神经递质对厚壳贻贝幼虫变态发育的调控作用影响。同时,胆碱受体作为 G 蛋白偶联受体中的一种,如何与其他 G 蛋白偶联受体如肾上腺素受体的相互作用,进而调控幼虫变态发育过程仍有待解析。本研究为厚壳贻贝幼虫变态发育相关的 G 蛋白偶联胆碱受体调控作用机制提供了药理学证据,同时也有助于厚壳贻贝人工育苗中的苗种生产技术改善。

#### 参考文献:

- [ 1 ] Li T W. Marine biology [ M ]. Beijing: China Ocean Press, 2013. [ 李太武. 海洋生物学 [ M ]. 北京: 海洋出版社, 2013. ]
- [ 2 ] McClinoock J B, Baker J B. Marine chemical ecology [ M ]. Boca Raton: CRC Press, 2001: 431 - 461.
- [ 3 ] Yang J L, Li S H, Liu Z W, et al. Primary study on neuronal development of the embryo and early larvae of the mussel *Mytilus coruscus* [ J ]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37 ( 4 ): 512 - 519. [ 杨金龙, 李树恒, 刘志伟, 等. 厚壳贻贝胚胎和早期幼虫神经系统发育的初步研究. 水产学报, 2013, 37 ( 4 ): 512 - 519. ]
- [ 4 ] Yang J L, Li S H, Li Y F, et al. Effects of neuroactive compounds, ions and organic solvents on larval metamorphosis of the mussel *Mytilus coruscus* [ J ]. Aquaculture, 2013, 396 - 399: 106 - 112.
- [ 5 ] Ke C H, Feng D Q. Researches on larval settlement and metamorphosis of marine benthos [ J ]. Journal of Xiamen University: Natural Science, 2006, 45 ( 2 ): 77 - 82. [ 柯才焕, 冯丹青. 海洋底栖动物浮游幼体附着和变态的研究. 厦门大学学报: 自然科学版, 2006, 45 ( 2 ): 77 - 82. ]
- [ 6 ] Yang J L, Wang C, Gu Z Q, et al. A review on the role of marine biofilms on larval settlement and metamorphosis of marine invertebrates [ J ]. Marine Science, 2012, 36 ( 8 ): 116 - 121. [ 杨金龙, 王冲, 顾忠旗, 等. 微生物膜对海洋无脊椎动物幼体附着变态的影响研究. 海洋科学, 2012, 36 ( 8 ): 116 - 121. ]
- [ 7 ] Yang J L, Satuito C G, Bao W Y, et al. Larval settlement and metamorphosis of the mussel *Mytilus galloprovincialis* on different macroalgae [ J ]. Marine Biology, 2007, 152 ( 5 ): 1121 - 1131.
- [ 8 ] Zhang T. Advancements in research of settlement and metamorphosis of marine invertebrate larvae. I. Impact factor [ J ]. Marine Science, 2000, 24 ( 1 ): 25 - 29. [ 张涛. 海洋无脊椎动物幼虫附着变态研究进展 I. 影响因子. 海洋科学, 2000, 24 ( 1 ): 25 - 29. ]
- [ 9 ] Li Y F, Yang J L, Bao W Y, et al. A review on artificial inducers influencing larval settlement and metamorphosis of marine invertebrates [ J ]. Marine Science, 2011, 35 ( 8 ): 102 - 107. [ 李一峰, 杨金龙, 包卫洋, 等. 人工诱导物影响海洋无脊椎动物幼体附着变态的研究. 海洋科学, 2011, 35 ( 8 ): 102 - 107. ]
- [ 10 ] Yang J L, Satuito C G, Bao W Y, et al. Induction of metamorphosis of pediveliger larvae of the mussel *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 using neuroactive compounds, KCl, NH<sub>4</sub>Cl and organic solvents [ J ]. Biofouling, 2008, 24 ( 6 ): 461 - 470.
- [ 11 ] Pawlik J R. Chemical ecology of the settlement benthic marine invertebrates [ J ]. Oceanography and Marine Biology: An Annual Review, 1992, 30: 273 - 335.
- [ 12 ] Tran C, Hadfield M G. Are G-protein-coupled receptors involved in mediating larval settlement and metamorphosis of coral planulae [ J ]. The Biological Bulletin, 2012, 222 ( 2 ): 128 - 136.
- [ 13 ] Squire L R. Encyclopedia of neuroscience [ M ]. Beijing: Science Press, 2010. [ Squire L R. 神经科学百科全书. 北京: 科学出版社, 2010. ]
- [ 14 ] Faimali M, Falugi C, Gallus L, et al. Involvement of acetyl choline in settlement of *Balanus amphitrite* [ J ]. Biofouling, 2003, 19 ( suppl. 1 ): 213 - 220.
- [ 15 ] Coon S L, Bonar D B, Weiner R M. Induction of settlement and metamorphosis of the pacific oyster, *Crassostera gigas* ( Thunberg ), by L-DOPA and catecholamines [ J ]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1985, 94 ( 1 - 3 ): 211 - 221.
- [ 16 ] 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.
- [ 17 ] Dobretsov S V, Qian P Y. Pharmacological induction of larval settlement and metamorphosis in the blue mussel *Mytilus edulis* L. [ J ]. Biofouling, 2003, 19

- (1):57-63.
- [18] Alfaro A C, Young T, Ganesan A M. Regulatory effects of mussel (*Aulacomya maoriana* Iredale 1915) larval settlement by neuroactive compounds, amino acids and bacterial biofilms [J]. *Aquaculture* 2011,322-323:158-168.
- [19] Young T, Alfaro A C, Robertson J. Effect of neuroactive compounds on the settlement of mussel (*Perna canaliculus*) [J]. *Aquaculture*, 2011, 319 (1-2):277-283.
- [20] Satuito C G, Natoyama K, Yamazaki M, *et al.* Induction of metamorphosis in the pediveliger larvae of the mussel *Mytilus galloprovincialis* by neuroactive compounds [J]. *Fisheries Science*, 1999, 65(3):384-389.
- [21] Pawlik J R. Natural and artificial induction of metamorphosis of *Phragmatopoma lapidosa californica* (Polychaeta: Sabellariidae), with a critical look at the effects of bioactive compounds on marine invertebrate larvae [J]. *Bulletin of Marine Science*, 1990,46(2):512-536.

## Effects of cholinergic compounds on larval metamorphosis of the mussel *Mytilus coruscus*

YANG Jinlong<sup>1,2\*</sup>, CHEN Yuru<sup>1</sup>, GUO Xingpan<sup>1</sup>, LI Yifeng<sup>1</sup>, XU Chan<sup>1</sup>, LI Jiale<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Shanghai Ocean University, Ministry of Education, Shanghai 201306, China;

2. Institutes of Marine Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** The metamorphosis responses of mussel (*Mytilus coruscus*) larvae to cholinergic compounds were investigated through a series of bioassays in order to obtain the information on muscarinic and nicotinic cholinergic in mediating larval metamorphosis in this species. In the inducing effect of the agonist, pediveliger larvae were exposed to the test solution either in 24-h exposure bath or in continuous exposure throughout the experiment. In the inhibitive effect of the antagonist, pediveliger larvae were exposed to the test solution in the absence or presence of the agonist. In the 24 h exposure assays, carbamylmethylcholine induced larval metamorphosis at  $10^{-5}$  to  $10^{-4}$  mol/L concentrations, while acetylcholine showed no inducing activity. In continuous exposure assays, carbamylmethylcholine showed inducing activity at  $10^{-5}$  to  $10^{-4}$  mol/L concentrations, and acetylcholine induced larval metamorphosis at  $10^{-6}$  to  $10^{-4}$  mol/L concentrations. Nicotinic cholinergic antagonist hexamethonium bromide did not inhibit larval metamorphosis in the presence of carbamylmethylcholine or acetylcholine. In contrast, muscarinic cholinergic antagonist atropine, inhibited larval metamorphosis in the presence of carbamylmethylcholine. In addition, no larval mortality was observed at all test concentrations. Thus, carbamylmethylcholine and acetylcholine can be used as non-toxic and useful inducers of larval metamorphosis in this species, and can improve *M. coruscus* larval production for aquaculture. The present study provides a novel insight into the mechanism modulating the metamorphosis of larval of the mussel *M. coruscus*.

**Key words:** *Mytilus coruscus*; cholinergic; larval metamorphosis; chemical cue

**Corresponding author:** YANG Jinlong. E-mail: jlyang@shou.edu.cn