

翡翠贻贝幼体附着和变态的离子控制*

柯才焕 李少菁 李复雪 郑重

(厦门大学海洋系亚热带海洋研究所 厦门 361005)

摘要 于1993年5—12月在厦门大学海滨实验场,以人工培养的翡翠贻贝幼体作为实验材料,在人工海水中添加3—15mmol/L K^+ 或通过离子替代减少4.0—48.5mmol/L Mg^{2+} 而设计成一系列检测介质,在作用72—120h后分别观察幼体在检测介质中附着和变态反应结果;同时采用药理学检测法就翡翠贻贝幼体附着和变态的离子控制机制进行探讨。结果表明:在人工海水中增加6—12mmol/L K^+ 或减少16.0—33.5mmol/L Mg^{2+} 可有效诱导幼体的附着和变态,添加12mmol/L K^+ 可诱导幼体48.0%附着率和50.0%变态率,而减少23mmol/L Mg^{2+} 可诱导41.6%附着率和52.1%变态率。细胞膜 K^+ 通道阻滞剂TEA,可以阻抑增加 K^+ 或减少 Mg^{2+} 对幼体附着和变态的诱导作用,而阴离子交换阻滞剂SITS,却无阻抑作用;说明幼体一些可兴奋细胞在附着和变态过程中起重要作用。此外,在自然海水中添加9mmol/L K^+ 和12mmol/L K^+ 可分别诱导幼体较高的附着率(43.1%)和变态率(57.0%),这一实验结果可应用于翡翠贻贝人工育苗技术的改进。

关键词 翡翠贻贝 幼体 附着 变态 离子控制

学科分类号 S968.31

有关海洋底栖无脊椎动物幼体附着和变态的离子控制已引起人们的高度重视,并被作为探讨幼体附着和变态机制的重要手段(Chia, 1978; Morse, 1990; 柯才焕, 1993)。已有研究表明,水介质中添加一定量的 K^+ 可以诱导多种海洋底栖动物尤其是腹足类幼体完成变态(Baloun *et al*, 1984; Pechenik *et al*, 1987, 柯才焕, 1996)。但在双壳类,这方面的研究却显得很不足, Eyster等(1987)确认了 K^+ 对紫贻贝(*M. edulis*)幼体附着和变态的诱导无效。柯才焕(1995)已报道儿茶酚胺及其类似物对翡翠贻贝幼体附着和变态的诱导效应。本文着重研究人工海水介质中添加 K^+ 或减少 Mg^{2+} 以及在自然海水中添加 K^+ 对翡翠贻贝幼体附着和变态的诱导作用,同时检验与诱导作用相关的可兴奋细胞膜 K^+ 通道特性,以期为进一步探讨翡翠贻贝幼体附着和变态机制以及为该种人工育苗技术的改进提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

翡翠贻贝 [*Perna viridis* (Linnaeus)] 亲贝于1993年5月取自厦门港海区,眼点幼

* 国家自然科学基金资助项目, 39400021号; 国家教委博士点基金资助项目, 9238401号。柯才焕, 男, 出生于1962年9月, 博士, 讲师

收稿日期: 1994-12-26, 收修改稿日期: 1997-05-19

体的获得参照柯才焕(1995)的方法。

1.2 人工海水的配制

采用伍兹霍尔海洋生物实验室 MBL 配方 (Baloun *et al.*, 1984) 配制人工海水, 所用化合物均为分析纯, 二次去离子水配制。

1.3 介质离子浓度改变对幼体附着和变态的诱导检验

1.3.1 人工海水中金属离子浓度改变 添加 Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , K^+ , Cu^{2+} , Fe^{3+} 6 种离子, 离子替代采用 Na^+ 置换相同离子浓度的 Mg^{2+} , 实验设计见表 1。实验幼体平均壳长为 $425.2\mu\text{m}$ ($SD = 32.3$)。作用 120h 观察幼体的附着率和变态率。

1.3.2 人工和自然海水中添加 K^+ 人工海水添加 K^+ 的浓度梯度设计为: 对照组 (+0), +3, +6, +9, +12, +15 mmol / L, 实验幼体平均壳长为 $456.4\mu\text{m}$ ($SD = 36.9$)。幼体的附着率和变态率分别在作用后 72h 和 120h 观察。自然海水添加 K^+ 的浓度梯度设计为: 对照组 (+0), +3, +6, +9, +12, +15, +18, +21 mmol / L, 实验幼体平均壳长为 $473.1\mu\text{m}$ ($SD = 43.1$), 作用 120h 观察幼体的附着率和变态率。

1.3.3 人工海水中减少 Mg^{2+} 为保持介质离子浓度不变, 以相当离子浓度的 Na^+ 替代 Mg^{2+} , 形成减少 Mg^{2+} 的浓度梯度; 同时通过减少 MgSO_4 附带检验 SO_4^{2-} 对幼体的影响。实验幼体平均壳长为 $466.3\mu\text{m}$ ($SD = 37.4$)。实验设计和观察时间见表 2。

1.3.4 幼体附着和变态离子控制的神经药理学检验 在人工海水中, 使用细胞膜 K^+ 通道阻滞剂 TEA ($5 \times 10^{-5} \text{mol} / \text{L}$) 与 +9 mmol / L K^+ 共同作用于幼体; 使用阴离子交换阻滞剂 SITS ($1 \times 10^{-5} \text{mol} / \text{L}$) 和 TEA ($5 \times 10^{-5} \text{mol} / \text{L}$) 与 -23 mmol / L Mg^{2+} 共同作用于幼体; 依次在 24, 48, 72, 96 和 120h 时观察幼体的附着率和变态率, 以探讨添加 K^+ 和减少 Mg^{2+} 诱导幼体附着和变态的作用机制。TEA 和 SITS 系 Fluke 公司产品。实验幼体平均壳长为 $425.2\mu\text{m}$ ($SD = 32.3$)。

上述 4 个实验的其它方法和实验条件是: 容器为 60ml 的玻璃结晶皿, 实验水体 30ml, 海水经 $0.22\mu\text{m}$ 超滤膜过滤, 各实验浓度均设置 3 杯重复, 每杯幼体数 25—100 只, 各杯加入 10mg / L 青霉素以抗菌。水温在 $29.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 。自然海水盐度为 27.6。

1.4 确定幼体附着和变态的依据

翡翠贻贝幼体附着 (attachment) 是指幼体分泌大量足丝粘附在基底上; 变态 (metamorphosis) 依照 Bayne(1971) 对紫贻贝的研究主要标志, 为面盘消失和新壳长出。

2 结果

2.1 人工海水中 6 种金属离子浓度的改变对翡翠贻贝幼体附着和变态的影响

从表 1 可见, 在人工海水中添加 12 mmol / L K^+ 可诱导幼体 48.0% 附着率和 50.0% 变态率, 而减少 23 mmol / L Mg^{2+} 可诱导 41.6% 附着率和 52.1% 变态率。添加 20—40 mmol / L 的 Na^+ , 10—20 mmol / L Mg^{2+} 和 6 mmol / L Ca^{2+} 的, 对幼体附着和变态没有诱导作用; 添加 12 mmol / L 的 Ca^{2+} , 诱导作用不明显。若在添加 12 mmol / L K^+ 的同时减少 23 mmol / L Mg^{2+} , 则不能诱导幼体变态, 幼体活力也明显下降。此外, 外加 3.2—15.8 mmol / L 的 Cu^{2+} 和外加 89.6 mmol / L 的 Fe^{3+} , 均不能诱导幼体附着和变态。人工海水中 K^+ 和 Ca^{2+} 的缺乏, 均致幼体死亡。

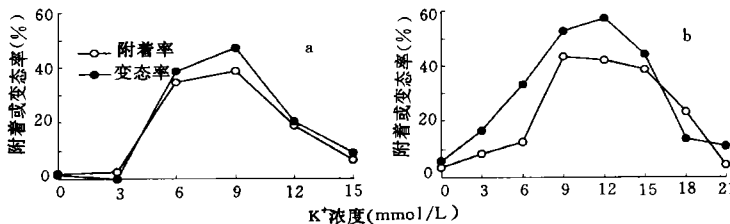
表1 人工海水中6种金属离子浓度(mmol/L)改变对翡翠贻贝幼体附着和变态的影响

Tab.1 Effects of six metal ions in artificial seawater on the attachment and metamorphosis of *P.viridis* larvae

离子增加			离子减少			附着	变态
化合物	离子	浓度	化合物	离子	浓度	(%±SD)	(%±SD)
NaCl	Na ⁺	20	—	—	—	0	0
	Na ⁺	40	—	—	—	0	0
MgCl ₂	Mg ²⁺	10	—	—	—	0	0
	Mg ²⁺	20	—	—	—	0	0
CaCl ₂	Ca ²⁺	6	—	—	—	0	0
	Ca ²⁺	12	—	—	—	0	3.5±2.0
KCl	K ⁺	12	—	—	—	48.0±5.2	50.0±7.7
NaCl	Na ⁺	46	MgCl ₂	Mg ²⁺	23	41.6±10.9	52.1±10.2
KCl	K ⁺	12	MgCl ₂	Mg ²⁺	23	3.6±2.1	0
CuCl ₂	Cu ²⁺	3.2	—	—	—	0	0
	Cu ²⁺	7.8	—	—	—	0	0
	Cu ²⁺	15.8	—	—	—	0	0
FeCl ₃	Fe ³⁺	89.6	—	—	—	0	0
—	—	—	KCl	K ⁺	9.0	0	0
—	—	—	CaCl ₂	Ca ²⁺	9.3	0	0
对 照		(人工海水)				0	0

2.2 人工和自然海水中添加 K⁺对翡翠贻贝幼体附着和变态的影响

从图 1a 可知,在人工海水中添加 6—12mmol/L K⁺显著地诱导幼体附着和变态,其中以 9mmol/L 诱导效果最好,附着率和变态率分别达 37%,48%,但 K⁺添加至 15mmol/L 时附着率和变态率急降。添加不同浓度 K⁺,诱导幼体的附着率和变态率趋势基本相似。在自然海水中添加一定量的 K⁺,也可有效地诱导幼体附着和变态(图 1b)。在 120h 内诱导幼体附着率以添加 9mmol/L 的为最高,达 43.1%;其它依次是 12,15,18,6 和 3mmol/L 的。但当外加 K⁺达 21mmol/L 时,幼体活力明显下降。在诱导变态率方面,以添加 12mmol/L 的效应最强,达 57.0%;其它依次为 9,15,6,3 和 18mmol/L 的,与诱导附着率略有不同。

图 1 人工海水(a)和自然海水(b)中添加 K⁺对翡翠贻贝幼体附着和变态的影响Fig.1 Effects of increasing K⁺ concentrations in artificial seawater (a) and natural seawater (b) on attachment and metamorphosis of *P.viridis* larvae

2.3 人工海水中减少 Mg²⁺对翡翠贻贝幼体附着和变态的影响

在人工海水中设计减少 Mg²⁺浓度梯度,其诱导幼体附着和变态的实验结果见表 2。减少 28.5mmol/L Mg²⁺诱导幼体的附着率和变态率最高;其次是 Mg²⁺减少 23, 33.5mmol/L 时的;而 Mg²⁺减少 0—12mmol/L 时诱导效应不明显。Mg²⁺减少

28.5mmol/L 以内各试验组诱导完全变态的幼体次生壳长出明显,而当 Mg^{2+} 减少在 33.5mmol/L 以上时,完全变态的幼体次生壳较不明显,说明有不良反应。不含 $MgSO_4$ 的人工海水虽可诱导 51.3% 的幼体变态,但幼体活力弱,次生壳不明显,证实了 SO_4^{2-} 的重要性。可见,在人工海水中 Mg^{2+} 减少 23—28.5mmol/L 是诱导幼体附着和变态的最佳浓度,当 Mg^{2+} 减少达 38.5mmol/L 时便对幼体有毒害效应(120h 持续作用)。

表2 人工海水中减少 Mg^{2+} 浓度对翡翠贻贝幼体附着和变态的影响

Tab.2 Effects of decreasing magnesium concentrations in artificial seawater on attachment and metamorphosis of *P.viridis* larvae

MgCl ₂ (mmol/L)	MgSO ₄ (mmol/L)	NaCl (mmol/L)	附着 (%±SD)			变态(%±SD)		
			72h	96h	120h	72h	96h	120h
-0	-0	+0	0	3.0±1.6	3.0±1.6	0	3.0±1.6	3.0±1.6
-4	-0	+8	0	0	7.4±3.5	0	0	7.4±3.5
-8	-0	+16	8.5±3.1	2.8±2.0	9.0±3.3	5.8±1.5	5.8±1.5	8.5±4.0
-12	-0	+24	0	3.7±1.8	3.7±1.8	0	7.6±4.5	11.5±3.7
-16	-0	+32	0	7.0±4.2	7.0±4.2	19.6±3.3	19.6±3.3	25.8±6.7
-23	-0	+46	37.9±6.5	31.6±4.6	24.2±7.1	41.4±9.6	51.7±10.0	65.5±8.6
-23	-5.5	+57	46.7±7.2	43.5±7.7	50.2±9.4	61.5±9.5	69.5±8.6	76.8±8.7
-23	-10.5	+67	7.8±1.5	14.8±6.7	18.5±3.2	37.0±6.3	51.9±8.3	51.9±8.7
-23	-15.5	+77	0	0	0	21.4±5.7	23.0±7.0	25.0±9.3
-23	-20.5	+87	—	—	—	—	—	—
-23	-25.5	+97	—	—	—	—	—	—
-0	-25.5	+51	31.2±6.7	33.5±9.9	26.7±8.1	40.0±8.7	40.0±8.7	51.3±4.5

表3 神经药理学试剂 (TEA和SITS) 对添加 K^+ 或减少 Mg^{2+} 诱导翡翠贻贝幼体附着和变态的影响

Tab.3 Effects of a K^+ -channel blocker (TEA) and an anion exchange blocker (SITS) on the induction of attachment and metamorphosis of *P.viridis* larvae by increasing K^+ or decreasing Mg^{2+} in artificial seawater

幼体 反应	观察 时间 (h)	+9mmol/L K^+		-23mmol/L Mg^{2+}			对照组 (人工海水)
		+TEA (5×10^{-5} mol/L)	无TEA	+TEA (5×10^{-5} mol/L)	+SITS (10^{-5} mol/L)	无TEA	
附着率 (%±SD)	24	0	4.4±2.2	0	0	17.4±4.5	0
	48	0	39.1±5.2	0	15.2±5.3	17.4±4.5	0
	72	0	26.3±7.3	0	15.6±3.1	18.5±7.8	0
	96	died	41.0±7.5	died	60.0±5.2	52.1±13.5	0
	120	—	43.5±6.5	—	54.6±8.6	50.2±9.0	0
变态率 (%±SD)	24	0	0	0	0	0	0
	48	0	4.6±3.0	0	5.0±2.5	8.7±4.4	0
	72	0	5.0±0.5	0	19.4±6.6	17.2±6.9	0
	96	died	43.0±4.5	died	45.2±5.4	41.0±2.2	0
	120	—	43.0±4.5	—	45.2±5.4	41.0±2.2	0

2.4 翡翠贻贝幼体附着和变态离子控制的神经药理学检验结果

使用细胞膜 K^+ 通道阻滞剂 TEA 和阴离子交换阻滞剂 SITS, 对人工海水中添加 K^+ 和减少 Mg^{2+} 诱导幼体附着和变态的离子控制的结果见表 3。添加 9mmol/L K^+ 或减少 23mmol/L Mg^{2+} 诱导幼体附着和变态均被 5×10^{-5} mol/L 的 TEA 所抑制,

可以判定控制幼体附着和变态的 K^+ 通道是一种对 TEA 敏感的通道。但是 SITS 对减少 Mg^{2+} 诱导幼体附着和变态在 24h 后并无抑制效应。此外,对经诱导附着的幼体进行观察,发现已附着的幼体被人为切断足丝后,在 24h 内大多数能再次分泌足丝附着在玻璃基底上。

3 讨论与结论

本研究结果表明,人工海水中添加 K^+ 可有效诱导翡翠贻贝幼体附着和变态。由于 K^+ 是维系神经细胞静息电位的主要离子,添加细胞外 K^+ 浓度可使可兴奋细胞膜去极化 (Hodgkin *et al*, 1959),这提示了提高环境 K^+ 浓度诱导翡翠贻贝幼体附着和变态是通过使附着或变态通路中可兴奋细胞膜去极化而启动的。这种可兴奋细胞很可能是幼体的神经细胞,这在腹足类和棘皮动物已取得了若干证据 (Bonar, 1976; Burke, 1983)。但 K^+ 作用于幼体的部位和可兴奋细胞被兴奋之后的信号转导过程都有待进一步研究。

本研究中,添加 K^+ 可以诱导翡翠贻贝幼体附着率和变态率分别达到 48.0% 和 50.0%,其诱导效果远高于商品牡蛎 (*S. commercialis*) (Nell *et al*, 1986),而 K^+ 对紫贻贝 (*M. edulis*) 幼体附着和变态却无诱导活性 (Eyster *et al*, 1987)。迄今已发现 K^+ 能诱导水螅类 (Chia *et al*, 1978)、腹足类 (Baloun *et al*, 1984; Pechenik *et al*, 1987; Hubbard, 1988; 柯才焕等, 1995)、多毛类和苔藓虫类 (Stricke, 1989) 幼体 90% 以上或接近 90% 完成变态,但 K^+ 对布纹藤壶幼体附着和变态并无诱导作用。可见, K^+ 诱导幼体附着和变态,在海洋无脊椎动物不同类群中并没有普遍性。在贝类中腹足类和双壳类幼体对添加 K^+ 的反应性也有较大差异:在腹足类普遍高效,在双壳类效果较差或无效。

从表 1 和表 3 知道,人工海水中添加 K^+ 诱导翡翠贻贝幼体附着和变态的效果与减少 Mg^{2+} 相当,但当减少 Mg^{2+} 达到 38.5mmol/L 时致使幼体活力下降,可见维持一定量的 Mg^{2+} 对幼体生理功能的正常运行是必需的。Baloun 等 (1984) 在研究红鲍幼体附着和变态的离子控制时发现,人工海水介质中 23mmol/L Mg^{2+} 被 46mmol/L Na^+ 取代后可以诱导与 $4 \times 10^{-7} \text{mol} / \text{L}$ γ -氨基丁酸相同的附着率,但相对于 K^+ (9—18mmol / L) 取代 Na^+ 和 Mg^{2+} 诱导的附着率明显较低,本研究结果与之不同,他们未对减少 Mg^{2+} 进行浓度梯度实验。

细胞膜 K^+ 通道阻滞剂 TEA ($5 \times 10^{-5} \text{mol} / \text{L}$) 抑制了添加 9mmol / L K^+ 诱导翡翠贻贝幼体附着和变态的作用 (表 3),这与对红鲍幼体的研究结果一致 (Baloun *et al*, 1984)。本研究还发现,TEA 同样抑制减少 Mg^{2+} 的诱导作用 (表 3),再从添加 K^+ 和减少 Mg^{2+} 诱导效果相近这一事实来看,可推论添加 K^+ 与减少 Mg^{2+} 诱导翡翠贻贝幼体附着和变态的机制可能相同,均与细胞膜 K^+ 通道有关。由于翡翠贻贝为开放式循环,水环境减少 Mg^{2+} 势必相应减少血浆中的 Mg^{2+} ,从而导致可兴奋细胞膜内外离子的不平衡,膜内 K^+ 外流,使膜电位去极化 (卡夫勒, 1977),进一步引起一系列生化和生理变化,最终导致幼体的附着和变态。与儿茶酚胺及其类似物相比 (柯才焕, 1995),添加 K^+ 或减少 Mg^{2+} 诱导幼体附着率和变态率明显较高,可见两者的诱导作用机制不同。

在自然海水中添加 K^+ 同样可以有效地诱导翡翠贻贝幼体附着和变态,这进一步证实了在人工海水中的实验结果。但由于自然海水成分很复杂, K^+ 与其它化合物间的缔合、吸附等作用 (赖利, 1974) 使 K^+ 的活度有所下降,故添加 K^+ 诱导幼体附着和变态的最佳浓度在自然海水要高于人工海水。由于添加 6—12mmol / L K^+ 于海水中可有效诱导翡翠

贻贝眼点幼体附着和变态, 这为该种人工育苗技术的改进开辟了新途径, 建议经进一步试验后推广应用。

参 考 文 献

- 柯才焕, 1993. 海洋贝类幼体附着和变态的化学诱导研究进展. 海洋通报, 12(3): 107—116
- 柯才焕, 1995. 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, 34(6): 975—981
- 柯才焕, 1996. 两种东风螺幼虫附着和变态的化学诱导研究. 海洋学报, 18(4): 93—99
- 卡夫勒 SW, 1977. 范世藩译, 1984. 外周神经系统电生理学——神经生理学手册(1). 上海: 上海科技出版社. 74—114
- 赖利 JP, 斯基罗 G 主编, 1974. 刘光译, 1982. 化学海洋学. 北京: 海洋出版社. 47—344
- Baloun A J, Morse D E, 1984. Ionic control of settlement and metamorphosis in larval *Haliotis rufescens* (Gastropoda). Biol Bull, 167: 124—138
- Bayne B, 1971. 4th Europ Mar Biol Symp. London: Cambridge University Press. 259—280
- Bonar D B, 1976. Molluscan metamorphosis: A study in tissue transformation. Am Zool, 16: 573—591
- Burke R D, 1983. Neural control of metamorphosis in *Dendraster excentricus*. Biol Bull, 164: 176—188
- Chia F S, 1978. Settlement and metamorphosis of marine invertebrate larvae. New York: Elsevier. 1—12, 283—286
- Eyster L S, Pechenik J A, 1987. Attachment of *Mytilus edulis* L. larvae on algal and byssal filaments is enhanced by water agitation. J Exp Mar Biol Ecol, 114: 99—110
- Hodgkin A L, Horowicz P, 1959. The influence of potassium and chloride ions on the membrane potential of single muscle fibres. J Physiol, 148: 127—160
- Hubbard E J A, 1988. Larval growth and the induction of metamorphosis of a tropical sponge-eating nudibranch. J Moll Stud, 54: 249—269
- Morse D E, 1990. Recent progress in larval settlement and metamorphosis: closing the gaps between molecular biology and ecology. Bull Mar Sci, 46: 465—483
- Nell J A, Holliday J E, 1986. Effect of potassium and copper on the settling rate of Sydney rock eyster (*Saccostrea commercialis*) larvae. Aquaculture, 58: 263—267
- Pechenik J A, Heyman W D, 1987. Using KCl to determine size at competence for larvae of the marine gastropod *Crepidula fornicata* (L.). J Exp Mar Biol Ecol, 112: 27—38
- Stricke S A, 1989. Settlement and metamorphosis of the marine bryozoan *Membranipora membranacea*. Bull Mar Sci, 95: 139—152

IONIC CONTROL OF ATTACHMENT AND METAMORPHOSIS IN THE GREEN MUSSEL *PERNA VIRIDIS* (LINNAEUS) LARVAE

KE Cai-huan, LI Shao-jing, LI Fu-xue, ZHENG Zhong

(Department of Oceanography, Institute of Subtropical Oceanography, Xiamen University, Xiamen, 361005)

Abstract From May to December 1993, an artificially cultivated green mussel, *Perna viridis* (Linnaeus) larvae, were used as experimental material to study the effects of changes in ionic concentrations of environmental media on larval attachment and metamorphosis, and to discuss the mechanisms of ionic control on these two events using methods of pharmacology. This study was undertaken in a seashore experimental field of Xiamen University.

The settling and metamorphic responses of the larvae were observed after 72—120h of cultivation in a series of detecting media, namely, artificial seawater designed by adding 3—15 mmol / L K^+ or decreasing 4.0—48.5mmol / L Mg^{2+} through ionic substitution. The results were as follow. Attachment and metamorphosis of the larvae were effectively induced by increasing 6—12 mmol / L K^+ or decreasing 16.0—33.5mmol / L Mg^{2+} in the artificial seawater. The addition of 6—12mmol / L K^+ induced 48% attachment and 50% metamorphosis; these were reduced by 41.6% and 52.1% in response to a decrease of 23mmol / L in Mg^{2+} . At 24h, 48h, 72h and 120h intervals, the attachment and metamorphic rates of the larvae were examined for a joint action of cell membrane K^+ - channel blocker TEA (tetraethylammonium chloride) (5×10^{-5} mol / L) and the addition of 9mmol / L K^+ , or for a combination of anion exchange blocker SITS (4-acetamido-4-isothiocyanostilbene-2,2-disulfonate) (1×10^{-5} mol / L), TEA (5×10^{-5} mol / L) and a 23 mmol / L Mg^{2+} decrease in the artificial seawater. The results show that the action of increasing K^+ or decreasing Mg^{2+} in inducing those two events is inhibited by the K^+ - channel blocker TEA, whilst the anion exchange blocker SITS has no inhibition, indicating that some K^+ - channels in the cell membrane play an important role on excitable cells sensitive to TEA in the process of attachment and metamorphosis. In addition, a higher attachment rate (43.1 percent) was achieved as a result of a supplement of 9mmol / L K^+ or 12mmol / L K^+ , suggesting that the experimental methods can be applied to improving the technology of the artificial seed breeding of this species.

The inductive effect of the addition of K^+ on *Perna viridis* larvae, which resulted in 48% attachment and 50% metamorphosis in this experiment, was much greater than on *Saccostrea commercialis* larvae, and K^+ had no induction on attachment and metamorphosis of *M. edulis* larvae. However, such an effect was significantly lower for *Perna viridis* larvae than in marine gastropod larvae studied previously elsewhere. Based on these results, compared to marine gastropod larvae, settling and metamorphic responses of marine bivalve larvae have a low sensitivity to the addition of K^+ .

Key words *Perna viridis* Larva Attachment Metamorphosis Ionic control

Subject classification number S968.31