

บทคัดย่อ

การเจริญพัฒนาของตัวอ่อนหอยเป่าฮื้อตั้งแต่ระยะปฏิสนธิจนถึงระยะที่มีการสร้างรูหายใจครั้งแรกแบ่งออกได้ 42 ระยะ ใช้เวลาในการเจริญประมาณ 40-44 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 28-35°C จนถึงระยะที่มีการสร้างท่อที่ 4 บนเซฟาสิกเทนเทคิล ภายหลังจาก 44 ชั่วโมง ตัวอ่อนก็จะเริ่มลงเกาะซึ่งใช้เวลาประมาณ 2-3 วัน ในวันแรกของการลงเกาะตัวอ่อนว่ายน้ำโดยใช้เวลัม ในวันที่สองของการลงเกาะตัวอ่อนเริ่มสลัดเวลัมและมีการสร้างเปลือก ในวันที่สามของการลงเกาะ ตัวอ่อนสร้างเปลือกเพิ่มขึ้นและเริ่มมีระบบทางเดินอาหาร ในวันที่สี่ของการลงเกาะตัวอ่อนมีการสร้างหัวใจและสร้างเมือกบนแมนเทิล ในวันที่ 5-8 ตัวอ่อนสร้างเอพิไธเดียมและท่อเซฟาสิกเพิ่มขึ้น มีการพัฒนาของตา ในวันที่ 9-24 ตัวอ่อนสร้างเหงือกและเอพิไธเดียมเพิ่มขึ้น และสร้างเปลือกยาวขึ้นเรื่อยๆ ในวันที่ 24-30 มีการสร้างรูหายใจแรกบนเปลือก การเจริญพัฒนาของระบบต่างๆ ในลูกหอยเป่าฮื้อสรุปได้ดังนี้ ในลูกหอยอายุ 1 เดือนเริ่มมีการพัฒนาของระบบประสาท ระบบทางเดินอาหาร และแรดูลา ลูกหอยอายุ 2 เดือนมีการเจริญของปมประสาทพิดัลต่อมไฮโปแบรงเคียล หลอดอาหาร กระเพาะอาหาร ลำไส้ เรกตัม และไต มีการพัฒนาของหัวใจเวนทริเคิล ในลูกหอยอายุ 3-6 เดือน ระบบประสาท ระบบทางเดินอาหาร ระบบขับถ่าย และระบบลำเลียงมีการพัฒนาอย่างสมบูรณ์ ในลูกหอยอายุ 7-8 เดือน เริ่มมีการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์ได้แก่อวัยวะและรังไข่ ส่วนในลูกหอยอายุ 9-12 เดือนมีการเจริญพัฒนาของทุกระบบโดยสมบูรณ์

เปลือกของลูกหอยเป่าฮื้ออายุ 1 เดือนประกอบด้วยลวดลายเปลือกตัวอ่อน และเปลือกตัวเต็มวัยที่มีเส้นการเติบโตทั้งในแนวตั้งและแนวนอน และรูหายใจ ส่วนเปลือกของลูกหอยอายุ 2-12 เดือนจะเป็นเปลือกตัวเต็มวัยเพียงอย่างเดียว เปลือกตัวอ่อนไม่เรียบมีลักษณะเป็นตุ่ม ส่วนเปลือกตัวเต็มวัยนั้นมีเส้นการเติบโตแนวนอนส่วนบนและส่วนกลางมีลักษณะเป็นหยัก ส่วนในแนวนอนส่วนล่างค่อนข้างเรียบและเป็นสันหนา เส้นการเติบโตแนวตั้งเป็นเส้นบางลักษณะที่แตกต่างกันของเปลือกของลูกหอยอายุต่างๆ กันคือ จำนวนรูหายใจที่เริ่มสร้างขึ้นในลูกหอยอายุ 1 เดือน (มีรูเดียว) จนถึงระยะ 12 เดือน (24 รู) ชนิดของแร่ธาตุที่พบเป็นปริมาณมากบนเปลือกลูกหอยอายุ 1-12 เดือน คือ ธาตุ C O และ Ca ส่วนที่พบเป็นส่วนน้อยคือ Na, Cl, Al, Mg, Si, และ S ในการสร้างเปลือกของลูกหอยพบว่าธาตุ C มีปริมาณเพิ่มขึ้น (18.5-41.4%) ธาตุ O มีปริมาณไม่แตกต่างกันมากนัก (53-58%) และธาตุ Ca จะลดลงเมื่อลูกหอยมีอายุมากขึ้น (22.2-3.2%)

แรดูลาของลูกหอยเป่าฮื้ออายุ 1-12 เดือนมีลักษณะเป็นแถบยาว ในแต่ละแถวขวางประกอบด้วยซี่ฟันจำนวนมากซึ่งประกอบด้วยฟันกลาง 1 ซี่ ฟันข้างที่ขนานอยู่สองข้างของฟันกลาง ข้างละ 5 ซี่ และฟันริมที่อยู่ถัดจากฟันข้างทั้งขวาและซ้ายข้างละจำนวนมาก ในลูกหอยอายุ 1-2 เดือน ฟันกลางและฟันข้างจะประกอบด้วยหลายยอด ในขณะที่ลูกหอยอายุ 3-12 เดือนมีฟันกลางและฟันข้างที่มียอดเดียว ฟันข้างคู่แรกมีรูปร่างเหมือนฟันกลางแต่ฐานของฟันไม่โค้ง ฟันข้างคู่ที่สองยาวและเรียวกว่า ฟันข้างคู่ที่สามคู่ที่สี่และคู่ที่ห้ามีรูปร่างเหมือนฟันข้างคู่ที่สองแต่มีขอบที่เป็นฟันตัด ฟันริมมีก้านและมีหลายยอด ลักษณะของแรดูลาที่แตกต่างกันของลูกหอยอายุ 1-12 เดือนคือ (1) ขนาดของฐานฟันกลางที่เพิ่มขึ้น (35-180 ไมครอน) (2) ลักษณะฟันข้างที่ยาวเรียวในลูกหอยวัยอ่อน (1-6 เดือน)

และกว้างและสั้นขึ้นในหอยตัวเต็มวัย (7-12 เดือน) และ (3) ฟันริมที่มีขนาดใหญ่ขึ้นและมีจำนวนมากขึ้น

การทดลองเรื่องการเหนียวทำให้เกิดการลงเกาะโดยใช้ไดอะตอม 5 ชนิด คือ *Navicula* sp.1, sp.2, sp.3, sp.4 และ *Nitzschia* sp. และ GABA พบว่าตัวอ่อนหอยเป่าอื้อเริ่มลงเกาะเมื่ออายุ 2 วันหลังการปฏิสนธิ อัตราการรอดของตัวอ่อนที่ให้ไดอะตอมชนิดต่างๆ และกลุ่มควบคุม (น้ำสะอาด) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (90-94%) ส่วนอัตราการรอดของตัวอ่อนอายุ 6 วันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยตัวอ่อนที่เลี้ยงด้วย *Navicula* sp.2 มีอัตราการรอดสูงสุด (13.5%) ในตัวอ่อนอายุ 7 วัน มีอัตราการรอดสูงสุดเมื่อเลี้ยงด้วย *Navicula* sp.4 (1.75%) ส่วนผลการทดลองการเหนียวโดยใช้ GABA อย่างเดียวนั้นพบว่า GABA ที่ความเข้มข้น 10^{-5} ให้เปอร์เซ็นต์การลงเกาะสูงสุด (73.5%)

การทดลองเรื่องอัตราการเติบโตและอัตราการรอดของลูกหอยเป่าอื้อระยะหลังลงเกาะ (อายุประมาณ 7-8 วัน) เป็นเวลา 114 วัน พบว่าลูกหอยที่เลี้ยงด้วย *Nitzschia* sp. และ *Navicula* sp.2 ให้ผลดีที่สุดโดยมีอัตราการเติบโตสูงสุด นั่นคือ *Nitzschia* (ความยาวเปลือก 85.81 ไมครอน/วัน, น้ำหนัก 1.58 มก/วัน) และ *Navicula* sp. 2 (ความยาวเปลือก 78.60 ไมครอน/วัน, น้ำหนัก 0.98 มก/วัน) ส่วนอัตราการรอดนั้นพบว่า *Navicula* sp.4 ให้ผลดีที่สุด (0.76%)

ระบบทางเดินอาหารของลูกหอยเป่าอื้อที่ได้รับโลหะหนัก (ตะกั่วและแคดเมียม) มีการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนเมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน หลอดอาหารมีเซลล์มีวักซ์เพิ่มขึ้นและการหลั่งสารเมือกออกมา เซลล์และนิวเคลียสมีการบวมพอง เซลล์คอลัมน์มีจำนวนไมโทคอนเดรียลดลง มีการบวมพองของ RER ในลำไส้ เซลล์คอลัมน์มีซีเลียลดลง ไซโทพลาสซึมมีแวคิวโอลขนาดใหญ่ นิวเคลียสมีการบวมพอง การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างละเอียดคือ ไมโทคอนเดรียและ RER มีจำนวนลดลง RER สูญเสียไรโบซอม ไซโมเจนแกรนูลมีจำนวนน้อยลง เยื่อรองรับฐานหนาขึ้นและมีรอยพับมากขึ้น ในต่อมย่อยอาหาร เซลล์ย่อยอาหารและเซลล์หลังน้ำย่อยมีการสลายตัว การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างละเอียดคือ เซลล์สลายตัวและไซโทพลาสซึมถูกหลั่งออกไปในลูเมนปะปนกับไมโครวิลไล

คำหลัก : *Haliotis asinin*, การพัฒนาของตัวอ่อน, ลักษณะเปลือก, แร่ธาตุ, แร่ดูลา, การลงเกาะ, การเติบโตของตัวอ่อน, อัตราการเติบโต, อัตราการรอด, การเติบโตของลูกหอย, อาหารสำเร็จรูป, พิษ, แคดเมียม, ตะกั่ว, ระบบทางเดินอาหาร, โครงสร้างละเอียด

ABSTRACT

The larval development of *Haliotis asinina* was observed from fertilization to the formation of the fourth tubules on cephalic tentacle under water temperatures of 25, 28, 31 and 34°C. The larvae had 42 stages of development. The time period for larval development depended on the water temperature, lasting 65, 49, 41 and 41 hours at water temperatures of 25, 28, 31 and 34°C, respectively. After settlement, the development of postlarvae through to the formation of the first respiratory pore was observed under room temperature (28-35°C). The velum was shed and the mantle began to secrete a new shell. Mouth, radula and digestive organs were developed on the third day after settlement. The heart was seen on the fourth day. A prominent structure apparent on the roof of the mantle cavity was the ctenidium. The second pair of epipodial tentacles began to form and the eye stalks were completely developed by the eighth day after settlement. Between days 9 and 24, the postlarvae increased in shell size and number of epipodia and tubules on the cephalic tentacles. The ctenidium was more developed. The first respiratory pore began to form between day 24 and day 30, depending on the temperature, diatom type and larval density in the settlement tank. The development of nervous system, digestive system and radula was observed in 1-month-old abalone. In 2-month-old abalone, pedal ganglia, hypobranchial gland, esophagus, intestine, rectum, kidney and ventricle were observed. In 3-to 6-month-old abalone, nervous system, digestive system, excretory system and circulatory system were completed. In 7-to 8-month-old abalone, small testis and ovary were observed surrounding the digestive gland. The reproductive system was completed in 9- to 12-month-old abalone.

The shell sculpture of juvenile abalone, *H. asinina*, of 1-12 months old were observed with a SEM and the shell mineral composition was analyzed by EDS-X-ray microanalysis. The shell lengths of 1- to 12-month-old abalone were 1.5, 4.5, 9, 12.5, 16, 18, 21.5, 24.5, 27, 28, 28 and 31.5 mm, respectively. One-month-old abalone still retained the wrinkled embryonic shell while 2-to 12-month-old abalone had juvenile shell, which was composed of fine transverse, and strong and wavy spiral growth lines. The distinct structure on abalone shell was respiratory pore which was increased in number as the abalone got older (1 pore in one-month-old, 24 pores in 12-month-old). The major elements in abalone shell were C, O and Ca and the minor elements were Na, Cl, Al, Mg, Si and S. As abalone aged, there was an increase in C and a decrease in Ca; O remained rather constant during shell growth.

The radula of 1- to 12-month-old abalone, *H. asinina*, were observed under a SEM. In each transverse row, there were 1 central tooth, 5 pairs of lateral teeth and numerous marginal teeth at both sides of the central tooth. The central tooth had a broad and curved base and a broad and blunt end. The central tooth of 1-to 2-month-old abalone was multicuspid, while that of 3- to 12-month-old abalone was unicuspid. As the snail got older, the base of the central tooth was wider. In 1-to 2-month-old abalone, the lateral teeth were multicuspid while those of 3-to 12-month-old abalone were unicuspid. The first lateral tooth was similar to the central tooth but its base was uncurved. The second lateral tooth was moderately long and slender. The third to fifth lateral teeth were similar in shape with pointed cutting edge. The marginal teeth

were stalked and multicuspid laterally. As the snails got older, the marginal teeth were longer and larger.

Five benthic diatom species were isolated and maintained in culture (*Navicula* sp.1 (8x3 μ m), *Navicula* sp.2 (13x8 μ m), *Navicula* sp.3 (18x3 μ m), *Navicula* sp.4 (38x3 μ m) and *Nitzschia* sp. (38x12 μ m). The species were grown on small bowls and tested in settlement experiments with abalone, *H. asinina* larval. Settlement was very high in two-day-old larvae fed five species of diatoms (89.8-94.3%). Survival rates declined when the larvae were older (6-7 days). The highest survival rates were found in larvae fed *Navicula* sp. 4 (1.75%). A flow-through system with large fiberglass tanks was developed to compare growth and survival of post-larvae feeding on diatoms, *Navicula* sp.2, *Navicula* sp.4 and *Nitzschia* sp. (control) for 114 days. The shell length of post-larvae was measured once every two weeks. The best growth rate was obtained with post-larvae fed *Nitzschia* sp. (SL 85.61 μ m/day, W 1.58 mg/day) and *Navicula* sp. 2 (SL 78.60 μ m/day, W 0.96 mg/day).

Juvenile *H. asinina* with mean initial shell length of 0.53-0.56 cm were fed artificial diets for 90 days. Diets contained 30% protein from different sources : casein, fish meal, soybean meal and rice bran. The diets were fed to abalone at 2.5% body weight once daily in the afternoon. Abalone fed *Acanthophora* sp. served as control. The results showed that the abalone fed fresh *Acanthophora* sp. had the highest growth rate in shell length (95.56 μ m/day). Those fed diet containing casein showed the highest growth rate in weight (84.44 mg/day). The best survival rate was found in abalone fed *Acanthophora* sp. and casein (83.33% and 80%, respectively).

The effects of low -level lead (2.0 ppm) and cadmium (0.3 ppm) exposure on the structure of digestive organs of abalone, *H. asinina* were observed. At the light microscopic level, the columnar epithelial cells of the esophagus and intestine showed reduction of cilia, increase in mucus secretion, dilation of cells and enlargement of vacuoles. In addition, the nuclei became dilated and lost most of their heterochromatin. The histological alterations of digestive gland were increase of mucus secretion, lysis of some acini, enlargement of vacuoles and a breakdown of cell apices. At the electron microscopic level, in the columnar epithelium of the esophagus and intestine, there were an increase in the number of mucus-secreting goblet cells and proliferation of basement membrane. In addition, dilation of RER, reduction of ribosomes on RER and abnormal mitochondria were observed. In the digestive gland, the digestive cells showed destruction of membranes such as cell membrane, RER and digestive vacuoles. There was lysis of cells and the contents were released into the lumen.

Keywords: *Haliotis asinina*, larval development, shell sculpture, mineral composition, radula, settlement, post-larval growth, growth rate, survival rate, juvenile growth, artificial diet, toxicity, cadmium, lead, digestive system, ultrastructure