



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การเจริญพัฒนาของลูกหอยเป่าฮื้อ
(*Haliotis asinina*)

โดย ศาสตราจารย์มาลียา เครือตราฐ และคณะ

31 ตุลาคม 2544

5



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การเจริญพัฒนาของลูกหอยเป่าฮื้อ (*Halotis asinina*)

โดย ศาสตราจารย์มาลีสา เครือตราชู และคณะ

วันที่	- 9 ก.ค. 2546
เลขทะเบียน	00147
เลขเรียกหนังสือ	BR6 43

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)
31 ตุลาคม 2544
อาคาร 9/17-21 ถนนพหลโยธิน แขวงสามเสนใน
เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10400
โทร. 298-0455 โทรสาร 298-0476
Home page : <http://www.trf.or.th>
E-mail : trf-info@trf.or.th



Scan

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การเจริญพัฒนาของลูกหอยเป่าฮื้อ (*Haliotis asinina*)

1. ศาสตราจารย์มาลียา เครือตราฐ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
2. ศาสตราจารย์สุชาติ อุปถัมภ์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
และ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
3. รองศาสตราจารย์ เขียวลักษณ์ จิตรามวงศ์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยมหิดล
4. ดร.เสาวภา สวัสดิ์พีระ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา
5. ดร.อัมพร ทองกู้เกียรติกุล ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว) เป็นอย่างมากที่ให้การสนับสนุนในการทำวิจัยครั้งนี้ และขอขอบคุณคุณทวี โรจนสารัมภกิจ (ผู้อำนวยการศูนย์เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์) คุณสกล แสงประดับ คุณธเนศ พุ่มทอง และคุณศิริวรรณ หนูแข่ง ศูนย์เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ในความเอื้อเฟื้อตัวอย่างหอยเป่าฮือเป็นจำนวนมากที่ใช้ในการวิจัย การช่วยฝึกอบรมนักวิจัยของโครงการในการเพาะเลี้ยงหอยเป่าฮือ ตลอดจนเอื้อเฟื้อสถานที่ให้ทำการทดลองด้วย

สารบัญ

	หน้า
Executive summary	1
บทนำ	4
วัตถุประสงค์ของโครงการ	6
การดำเนินงานในรอบ 2 ปี	6
ผลการดำเนินงานของโครงการ	7
บรรณานุกรม	126
ผลงานวิจัย	134
การประยุกต์ใช้ผลงานวิจัย	135
ภาคผนวก	136

EXECUTIVE SUMMARY

1. วัตถุประสงค์

- 1.1 เพื่อศึกษาการเจริญพัฒนาของตัวอ่อนหอยเป่าฮื้อ *Haliotis asinina*
- 1.2 เพื่อศึกษาอัตราการลงเกาะและเมแทมอร์โฟซิสของตัวอ่อนหอยเป่าฮื้อโดยกระตุ้นด้วยไดอะตอมและสาร GABA
- 1.3 เพื่อศึกษานิเวศวิทยาสำหรับลูกหอยเป่าฮื้อภายหลังการลงเกาะที่จะให้อัตราการเติบโต และการรอดสูงสุด
- 1.4 เพื่อศึกษารูปร่างลักษณะของเปลือกและแรดูลาในลูกหอยเป่าฮื้อตั้งแต่อายุ 1-12 เดือน โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน
- 1.5 เพื่อศึกษาผลกระทบของโลหะหนัก (แคดเมียมและตะกั่ว) ที่มีต่อระบบทางเดินอาหารของลูกหอยเป่าฮื้อ

2. ผลการดำเนินงาน

2.1 การศึกษาการเจริญพัฒนาของตัวอ่อนหอยเป่าฮื้อ *H. asinina*

2.1.1 การเจริญพัฒนาของตัวอ่อนหอยเป่าฮื้อ

การเจริญพัฒนาของตัวอ่อนแบ่งออกได้เป็น 42 ระยะ ตั้งแต่ระยะปฏิสนธิจนถึงระยะที่มีการสร้างท่อที่สืบเนฟาลิกเหนือเคลิล (ระยะที่ 42) ใช้เวลาประมาณ 40-41 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28-35°C หลังจากนั้นตัวอ่อนก็เริ่มลงเกาะโดยในวันแรกมีการว่ายน้ำด้วยเวล์มที่ลงเกาะ วันที่สองเริ่มสลัดเวล์ม และคลานกับพื้นเพื่อลงเกาะ เมื่อตัวอ่อนลงเกาะแล้ว (อายุ 5-8 วัน) ก็มีการสร้างเปลือกอ่อน เปลือกอ่อนมีขนาดใหญ่มากขึ้นตามลำดับในลูกหอยอายุ 10-20 วัน ผิวของเปลือกอ่อนมีลักษณะเป็นเส้นหยัก มีลวดลายของเส้นการเติบโตทั้งแนวนอนและแนวตั้ง เมื่อลูกหอยอายุได้ 30 วัน หรือ 1 เดือนมีการสร้างรูหายใจบนเปลือก

2.1.2 การเจริญพัฒนาของระบบต่างๆ ในลูกหอยเป่าฮื้อ

การพัฒนาของระบบต่างๆ ในลูกหอยเป่าฮื้ออายุ 1-12 เดือน เป็นดังนี้ มีการพัฒนาของระบบประสาท ระบบทางเดินอาหาร และแรดูลา เมื่อลูกหอยอายุ 1 เดือน ในลูกหอยอายุ 2 เดือนพบต่อมไฮโปแบรเกียล เรกตัม ไต และหัวใจ อวัยวะในระบบเหล่านี้ปรากฏชัดเจนเมื่อลูกหอยอายุ 2-4 เดือน นอกจากนี้ยังพบออสเฟรเดียมซึ่งทำหน้าที่รับสัมผัสทางเคมีอีกด้วย เมื่อลูกหอยอายุ 5-8 เดือน ระบบต่างๆ มีการพัฒนาอย่างสมบูรณ์ ได้แก่ ระบบประสาท ระบบทางเดินอาหาร ระบบขับถ่าย และระบบลำเลียง ส่วนระบบสืบพันธุ์นั้นเริ่มปรากฏเมื่อลูกหอยมีอายุ 7-8 เดือน ในลูกหอยอายุ 9-12 เดือนจะมีการพัฒนาของทุกระบบอย่างสมบูรณ์ และอยู่ในวัยเจริญพันธุ์ สามารถนำไปเป็นพ่อแม่พันธุ์ได้

2.2 การศึกษารูปร่างลักษณะเปลือกและชนิดของแร่ธาตุของลูกหอยเป่าอื้อ

ทำการศึกษาผิวเปลือกของลูกหอยอายุ 1-12 เดือน โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (SEM) พบว่าลักษณะเปลือกประกอบด้วยเส้นการเติบโตในแนวนอน เส้นการเติบโตในแนวตั้ง รูหอยใจ ลูกหอยอายุ 1 เดือนมีรูหอยใจเดียว เส้นการเติบโตมีลักษณะเป็นหยัก เมื่อมีอายุ 2 เดือนสร้างรูหอยใจ 7 รู แต่รูที่ 1-4 ปิดเหลือเพียงรูที่ 5-7 ยังเปิดเพื่อให้เอพิโพเดียมยื่นออกมา รูหอยใจนี้จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมื่อลูกหอยมีอายุมากขึ้น ในลูกหอยอายุ 12 เดือนมีรูหอยใจ 24 รู โดยรูหอยใจที่ 1-20 จะปิด ส่วนรูหอยใจที่ 21-24 จะเปิดเพื่อให้เอพิโพเดียมยื่นออกมา

ชนิดของแร่ธาตุที่พบเป็นปริมาณมากบนเปลือกลูกหอยอายุ 1-12 เดือนคือ ธาตุคาร์บอน ออกซิเจน และแคลเซียม ส่วนแร่ธาตุชนิดอื่นๆ ที่พบเป็นปริมาณน้อยคือ โซเดียม คลอไรด์ อะลูมิเนียม แมกนีเซียม ซิลิกา และซัลเฟอร์ ธาตุคาร์บอนมีปริมาณมากในลูกหอยอายุ 1-8 เดือน ลดลงเมื่ออายุ 7-11 เดือนและเพิ่มขึ้นเมื่ออายุ 12 เดือน ธาตุออกซิเจนพบมีปริมาณเท่ากันในลูกหอยอายุ 1-12 เดือน ธาตุแคลเซียมพบมีปริมาณมากในลูกหอยอายุ 1-9 เดือน และลดลงเมื่ออายุ 10-12 เดือน

2.3 การศึกษารูปร่างลักษณะของแร่ธาตุของลูกหอยเป่าอื้อ

แร่ธาตุของลูกหอย (อายุ 1-12 เดือน) มีลักษณะเป็นแถบยาว ประกอบด้วยฟอสฟอรัส 1 ซี ฟอสฟอรัส 5 ซี ฟอสฟอรัสจำนวนมาก ฟอสฟอรัสมีลักษณะกว้างสั้นและปลายมน ฟอสฟอรัสที่กว้างและสั้น ฟอสฟอรัสมีลักษณะเป็นก้านยาว เมื่อลูกหอยอายุมากขึ้นแร่ธาตุจะมีขนาดใหญ่ขึ้น โดยจำนวนซี ฟอสฟอรัสจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ

2.4 การศึกษาอัตราการงอกของลูกหอยเป่าอื้อ

ไดอะตอม ทำการแยกไดอะตอมบริสุทธิ์ 5 ชนิด คือ *Navicula* sp.1, *Navicula* sp.2, *Navicula* sp.3, *Navicula* sp.4 และ *Nitzschia* sp. ทดลองเรื่องการงอกโดยใช้ตัวอ่อนอายุ 44-48 ชั่วโมง และเปรียบเทียบอัตราการงอกโดยใช้ไดอะตอม 5 ชนิด พบว่าอัตราการงอกของตัวอ่อนที่เริ่มลงสู่พื้นหรืออายุ 2 วันหลังการปฏิสนธิไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนอัตราการงอกเมื่อตัวอ่อนเริ่มมีเมแทมอร์โฟซิสหรืออายุ 6-7 วัน มีค่าสูงสุดในตัวอ่อนที่เลี้ยงด้วย *Navicula* sp.3 และ sp.4 และ *Nitzschia* sp.

GABA ทำการทดลองโดยใช้สาร GABA ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน คือ 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} และ 10^{-3} เปรียบเทียบอัตราการงอกพบว่า GABA ที่ความเข้มข้น 10^{-6} ให้เปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุด (73.5%)

การเติบโตและการรอดภายหลังการงอก ทำการทดลองเพื่อศึกษาการเติบโตและการรอดของลูกหอยเป่าอื้อภายหลังการงอก (อายุประมาณ 7-8 วัน) โดยเลี้ยงด้วยไดอะตอม *Nitzschia* sp., *Navicula* sp.2 และ *Navicula* sp.4 เป็นเวลา 114 วันพบว่าลูกหอยที่เลี้ยงด้วย *Nitzschia* sp. และ *Navicula* sp.2 มีอัตราการเติบโตดีที่สุดโดยมีอัตราการเพิ่มความยาวเปลือก 85.81 ไมครอน/วัน และ 78.60 ไมครอน/วันตามลำดับ ส่วนลูกหอยที่เลี้ยงด้วย *Navicula* sp.4 มีอัตราการรอดสูงสุด (0.76%)

2.5 การศึกษาอัตราการเติบโตและอัตราการรอดของลูกหอยเป่าฮือโดยให้อาหารสำเร็จรูปที่มีชนิดโปรตีนต่างกัน

ผลการทดลองเมื่อทำการเลี้ยงลูกหอยเป่าฮือ *H. asinina* ด้วยสูตรอาหารที่มีชนิดโปรตีน (ร้อยละ 30) ต่างกันคือ กากถั่วเหลือง รำละเอียด เคซีน และปลาป่นโดยมีกลุ่มที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายสีแดง *Acanthophora* เป็นกลุ่มควบคุมเป็นเวลา 90 วันพบว่าลูกหอยเป่าฮือที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่มีเคซีนมีอัตราการเติบโตสูงสุด โดยมีอัตราการเพิ่มความยาวเปลือกใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม (93.33 และ 95.58 ไมครอน/วัน) และอัตราการเพิ่มน้ำหนักมากกว่ากลุ่มควบคุม (84.44 และ 85.56 มก./วัน) ส่วนกลุ่มลูกหอยที่เลี้ยงด้วยกากถั่วเหลืองมีอัตราการรอดสูงสุดเท่ากับกลุ่มควบคุม (83.33%) รองลงมาคือกลุ่มที่เลี้ยงด้วยเคซีน (80%)

2.6 การศึกษาผลกระทบของโลหะหนักที่มีต่อลูกหอยเป่าฮือ

ระบบทางเดินอาหารของลูกหอยเป่าฮือที่ได้รับโลหะหนัก (ตะกั่วและแคดเมียม) มีการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนเมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน หลอดอาหารมีเซลล์มีวักซ์เพิ่มขึ้นและมีการหลั่งสารเมือกออกมา เซลล์และนิวเคลียสมีการบวมพอง เซลล์คอแลมน์มีจำนวนไมโทคอนเดรียลดลง มีการบวมพองของ RER ในลำไส้ เซลล์คอแลมน์มีซิลเลียลดลง ไชโทพลาสซึมมีแวคิวโอลขนาดใหญ่ นิวเคลียสมีการบวมพอง การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างละเอียดคือ ไมโทคอนเดรียและ RER มีจำนวนลดลง RER สูญเสียไรโบโซมและบวมพอง แกรนูลเซครีทอรีมีจำนวนน้อยลง เยื่อรองรับฐานหนาขึ้นและมีรอยพับมากขึ้น ในต่อมย่อยอาหาร เซลล์ย่อยอาหารและเซลล์หลั่งน้ำย่อยมีการสลายตัว การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างละเอียดคือ เซลล์สลายตัวและไชโทพลาสซึมถูกหลั่งออกไปในลูเมนปะปนกับไมโครริไล

บทนำ

หอยเป้าชื่อ หอยโข่งทะเล หรือหอยร้อรู (abalone) เป็นหอยชนิดหนึ่งที่ชาวจีนและชาวญี่ปุ่นนิยมนำมาปรุงเป็นอาหารเป็นเวลานานกว่า 1500 ปี แต่เริ่มมีความสำคัญทางเศรษฐกิจในประเทศต่างๆ ทั่วโลกเมื่อประมาณ 30 กว่าปีที่ผ่านมา

หอยเป้าชื่อเป็นหอยกาบเดียว มีประมาณ 100 สปีชีส์ พบแพร่กระจายอยู่ตามชายฝั่งทะเลของทวีปต่างๆ ในเขตร้อน เขตอบอุ่น และเขตหนาว โดยทั่วไปหอยเป้าชื่อที่อาศัยอยู่ในเขตอบอุ่นและเขตหนาวมักมีขนาดใหญ่และสปีชีส์ที่อาศัยอยู่ในเขตร้อนมักมีขนาดเล็ก (Ino, 1980; Uki, 1989; Hahn, 1989) หอยเป้าชื่อที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมีอยู่ประมาณ 20 สปีชีส์ ส่วนใหญ่มีขนาดใหญ่และถูกจับจากแหล่งอาศัยธรรมชาติ เช่น ประเทศญี่ปุ่น ออสเตรเลีย เม็กซิโก สหรัฐอเมริกา นิวซีแลนด์ และแอฟริกาใต้ (Uki, 1989)

หอยเป้าชื่อเป็นหอยที่มีราคาแพง และมีความต้องการทั้งในประเทศและต่างประเทศมาก เนื้อส่วนเท้าของหอยเป้าชื่อเป็นส่วนที่นำมาปรุงเป็นอาหาร ในประเทศญี่ปุ่นหอยเป้าชื่อ *Haliotis discus hannai* มีราคาประมาณกิโลกรัมละ 2,000-2,400 บาท (Singhagruiwan, 1989) และในประเทศสหรัฐอเมริกา *H. rufescens* มีราคาประมาณกิโลกรัมละ 1,000-1,850 บาท หอยเป้าชื่อที่ตลาดต่างประเทศต้องการมีขนาดประมาณ 7-12 เซนติเมตร ซึ่งมีน้ำหนักประมาณ 200-230 กรัม การบริโภคหอยเป้าชื่อในประเทศสหรัฐอเมริกามีมูลค่าประมาณ 750 ล้านบาทต่อปี แต่ในเอเชียการบริโภคหอยเป้าชื่อมีมูลค่าสูงที่สุดประมาณ 7,500-10,000 ล้านบาทต่อปี โดยมีตลาดใหญ่อยู่ในประเทศญี่ปุ่น ผลิตหอยเป้าชื่อ ทั่วโลกมีประมาณ 14,500 ตันต่อปี (Nash, 1991) เนื่องจากการนิยมนำบริโภคหอยเป้าชื่อกันอย่างแพร่หลาย การทำประมงหอยเป้าชื่อจากแหล่งอาศัยธรรมชาติอย่างเดียวจึงไม่เพียงพอต่อความต้องการของประชากรโลก เนื่องจากปริมาณของหอยเป้าชื่อในแหล่งอาศัยธรรมชาติมีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ จึงมีความจำเป็นต้องมีการเพิ่มผลผลิตของหอยเป้าชื่อ โดยการพัฒนาการเพาะเลี้ยงเพื่อสนองความต้องการของตลาดโลก ในปัจจุบันมีหลายประเทศที่ได้ประกอบกิจการเพาะเลี้ยงหอยเป้าชื่อสายพันธุ์ต่างๆ ที่มีศักยภาพในเชิงเศรษฐกิจ หอยเป้าชื่อที่นักวิจัยสนใจศึกษาและมีข้อมูลเผยแพร่ได้แก่ *H. rufescens* จากประเทศสหรัฐอเมริกา และ *H. discus hannai* จากประเทศญี่ปุ่น

ประเทศที่มีการประกอบกิจการเพาะเลี้ยงหอยเป้าชื่อในระดับอุตสาหกรรมและดำเนินการนำเข้าและส่งออกหอยเป้าชื่อเป็นจำนวนมากได้แก่ประเทศญี่ปุ่น โดยการนำเข้าหอยเป้าชื่อในรูปเนื้อสดแช่แข็ง หอยกระป๋อง และหอยแปรรูป ในขณะที่เดียวกันก็มีการส่งออกหอยเป้าชื่อตากแห้งไปที่ประเทศไต้หวันและฮ่องกง หอยเป้าชื่อที่มีขนาดใหญ่สามารถนำมาบริโภคในลักษณะเป็นแผ่นสเต็กเป็นชิ้นบางๆ หรือตัดเป็นชิ้นเล็กๆ สำหรับหอยเป้าชื่อที่มีขนาดเล็กนั้น (โดยเฉพาะอย่างยิ่งสายพันธุ์ที่มีแหล่งอาศัยอยู่ในเขตร้อน) สามารถนำมา บริโภคในลักษณะ "cocktail-sized abalone" ได้ ชาวไต้หวันนิยมบริโภคหอยเป้าชื่อที่มีขนาดเล็ก เนื่องจากมีรสชาติดีกว่าหอยเป้าชื่อที่มีขนาดใหญ่ มีราคาถูกกว่า และมีขนาดเหมาะสมกว่าต่อการนำมาปรุงเป็นอาหารในงานเลี้ยงต่างๆ (Chen, 1984, 1989)

ในน่านน้ำไทยซึ่งอยู่ในเขตร้อนพบหอยเป่าชื่อสามชนิดคือ *H. asinina*, *H. ovina* และ *H. varia* (Nateewathana and Hylleberg, 1988 Nateewathana and Bussawarit, 1988) *H. asinina* พบที่จังหวัดชลบุรี จังหวัดระยอง จังหวัดตราด และที่ทะเลฝั่งอันดามัน เปลือกมีลักษณะบางยาวเรียว ผิวเรียบ สีเขียวมะกอกหรือสีเขียวปนน้ำตาล มีความยาวเฉลี่ย 8 เซนติเมตร และความกว้างเฉลี่ย 4 เซนติเมตร *H. ovina* พบที่จังหวัดชลบุรี จังหวัดระยอง จังหวัดตราด และที่ทะเลฝั่งอันดามัน เปลือกมีลักษณะค่อนข้างแข็ง กลมรี สีม่วงหรือสีเขียวมะกอก มีความยาวเฉลี่ย 5 เซนติเมตร และความกว้างเฉลี่ย 4 เซนติเมตร *H. varia* พบที่เกาะภูเก็ตและที่ทะเลฝั่งอันดามัน เปลือกมีลักษณะกลมรี ค่อนข้างแข็ง ผิวขรุขระ สีเขียวมะกอกหรือสีน้ำตาลแดง มีความยาวเฉลี่ย 4 เซนติเมตร และความกว้างเฉลี่ย 3 เซนติเมตร *H. asinina* มีขนาดใหญ่ที่สุด หอยเป่าชื่อเป็นสัตว์ที่เคลื่อนไหวช้า กินพืชประเภทสาหร่ายสีแดงเป็นอาหาร และหากินในเวลากลางวัน *H. asinina* พบอาศัยอยู่ตามโขดหินและซากปะการัง ส่วน *H. ovina* และ *H. varia* พบอาศัยอยู่ตามซอกของโขดหิน หอยเป่าชื่อทั้งสามชนิดพบในระดับน้ำขึ้นน้ำลงจนถึงระดับ 1-7 เมตร

ในการเพาะเลี้ยงหอยเป่าชื่อ การกระตุ้นให้เกิดการเกาะของลูกหอยเป่าชื่อเป็นขั้นตอนที่สำคัญที่สุด โดยปกติแล้วอัตราการรอดของลูกหอยจากระยะไซโกต (zygote) จนถึงระยะเวลิจีเวอร์พร้อมที่จะเกาะเป็นถึงร้อยละ 95 แต่อัตราการเกาะของลูกหอยค่อนข้างต่ำมาก ในธรรมชาติหอยเป่าชื่อเพศเมียสามารถวางไข่ได้ถึงประมาณหนึ่งล้านฟอง (Hahn, 1989) เมื่อตัวอ่อนหอยเป่าชื่อเริ่มเข้าสู่ระยะคืบคลาน ก็จะใช้แผ่นล่อลูกหอยซึ่งเป็นแผ่นพลาสติก แผ่นล่อลูกหอยนี้อาจจะถูกเคลือบด้วยไดอะตอม สารเมือกหรือสารเคมีบางชนิด เช่น GABA ซึ่งมีคุณสมบัติในการกระตุ้นให้เกิดการเกาะของตัวอ่อน (Seki and Kan-no, 1981)

ข้อมูลเกี่ยวกับการเจริญเติบโตและปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของหอยเป่าชื่อมีความสำคัญมากต่อการจัดการและการเพาะเลี้ยงเชิงพาณิชย์ จากการศึกษาทั้งในแหล่งธรรมชาติและในห้องปฏิบัติการพบว่าอัตราการเจริญเติบโตของหอยเป่าชื่อแตกต่างกันมาก ขึ้นอยู่กับปริมาณและคุณภาพของสาหร่ายทะเลและอาหารสำเร็จรูป (artificial diet) ที่หอยกินเป็นอาหาร คุณภาพน้ำทะเล อุณหภูมิ และ ฤดูกาล เป็นต้น (Hahn, 1989; Day and Fleming, 1992)

ในการเพาะเลี้ยงหอยเป่าชื่อเชิงพาณิชย์นั้นนิยมเลี้ยงลูกหอยที่ลงเกาะและเมแทมอร์โฟซิสแล้ว (weaning stage) ด้วยไดอะตอมชนิดต่างๆ จนกระทั่งลูกหอยมีขนาดประมาณ 5-10 มิลลิเมตร จึงเปลี่ยนอาหารเป็นสาหร่ายทะเลขนาดใหญ่หรืออาหารสำเร็จรูป (Hooker and Morse, 1985; Hahn, 1989) ดังนั้นในระยะ weaning นี้ จึงต้องมีการผลิตไดอะตอมเป็นปริมาณมากเพื่อเป็นอาหารของลูกหอย อัตราการเติบโตของลูกหอยในระยะนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณและคุณภาพของไดอะตอมเป็นสำคัญ (Ebert and Houk, 1984; Hahn, 1989) ในประเทศญี่ปุ่นได้มีการพัฒนาสูตรอาหารสำเร็จรูปสำหรับลูกหอยเป่าชื่อ *H. discus hannai* ในระยะนี้ (Ogino and Ohta, 1983; Ogino and Kato, 1984; Sagara and Sakai, 1974; Fallu, 1991) Wagatsuma and Nakamura (1977) รายงานอัตราการรอดของลูกหอยเป่าชื่อที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่สูงกว่าลูกหอยที่เลี้ยงด้วยไดอะตอม ส่วนในประเทศอิตาลีได้มีการศึกษาเกี่ยวกับอัตราการเติบโตของลูกหอยเป่าชื่อ *H. midae* ขนาด

ประมาณ 3-11 มิลลิเมตร ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูป (Knauer et al., 1998) สูตรอาหารนี้ประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 35.5 (จากเคซีน ปลาป่น และสาหร่าย *Spirulina*) ไขมันร้อยละ 7 (จากน้ำมันปลา และน้ำมันเมล็ดทานตะวัน) สารคาร์โบไฮเดรต (จากเด็กซ์ทรีนและแป้ง) วิตามินและเกลือแร่ นอกจากนี้ Knauer et al. (1998) ยังได้ปรับปรุงสูตรอาหารโดยใช้ปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นในอัตราที่ใกล้เคียงกับปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นที่วิเคราะห์ได้จากเนื้อหอยเป่าอีกด้วย ผลการทดลองนี้สรุปว่าลูกหอยที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปมีอัตราการเติบโตใกล้เคียงกับลูกหอยที่เลี้ยงด้วยไดอะตอม แต่มีการใช้ประโยชน์จากอาหารสูงกว่า

อาหารสำเร็จรูปสำหรับหอยเป่าฮาลิโอในปัจจุบันส่วนใหญ่มีองค์ประกอบหลักๆ ไม่แตกต่างกันมากนัก ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต เซลลูโลส ไขมัน และเส้นใย ซึ่งโดยทั่วไปองค์ประกอบที่พบว่ามีปริมาณค่อนข้างสูง ได้แก่ โปรตีน (20-50%) หรือโดยเฉลี่ยประมาณร้อยละ 30 และคาร์โบไฮเดรต (30-60%) ส่วนไขมัน (1.5-5.3%) และเส้นใย (0-3%) เป็นองค์ประกอบที่มีปริมาณค่อนข้างต่ำ (Fleming et al., 1998)

จากที่ได้กล่าวมาจะเห็นได้ว่า ข้อมูลงานวิจัยเกี่ยวกับ *H. asinina* โดยเฉพาะเรื่องการเจริญพัฒนาของตัวอ่อน การกระตุ้นการลงเกาะ ชนิดอาหารสำเร็จรูปสำหรับลูกหอยเป่าฮาลิโอนั้นยังขาดอีกมาก นอกจากนี้ข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเปลือกและแรดูลาในการเติบโตของหอยก็ยังไม่มียุติกันเลย ข้อมูลสำคัญอีกอย่างคือผลกระทบของโลหะหนักที่มีต่อลูกหอยเป่าฮาลิโอ เนื่องจากบริเวณอ่าวไทยอาจมีการสะสมของโลหะหนักและเป็นอันตรายกับหอยเป่าฮาลิโอได้ ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงได้ทำงานวิจัยเพื่อให้ได้มาซึ่งข้อมูลดังกล่าวข้างต้น โดยมีรายละเอียดเกี่ยวกับวัตถุประสงค์หลัก การดำเนินงานในรอบ 2 ปี (2542-2544) และผลการดำเนินงานดังนี้

1. วัตถุประสงค์ของโครงการ

- 1.1 เพื่อศึกษาการเจริญพัฒนาของตัวอ่อนหอยเป่าฮาลิโอ *Haliotis asinina*
- 1.2 เพื่อศึกษาอัตราการลงเกาะและเมแทบอลิซึมของตัวอ่อนหอยเป่าฮาลิโอโดยกระตุ้นด้วยไดอะตอม และสาร GABA
- 1.3 เพื่อศึกษาชนิดอาหารสำหรับลูกหอยเป่าฮาลิโอภายหลังการลงเกาะที่จะให้อัตราการเติบโต และการรอดสูงสุด
- 1.4 เพื่อศึกษารูปร่างลักษณะของเปลือกและแรดูลาในลูกหอยเป่าฮาลิโอตั้งแต่อายุ 1-12 เดือน โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน
- 1.5 เพื่อศึกษาผลกระทบของโลหะหนัก (แคดเมียมและตะกั่ว) ที่มีต่อระบบทางเดินอาหารของลูกหอยเป่าฮาลิโอ

2. การดำเนินงานในรอบ 2 ปี

- 2.1 ข้อมแบบห้องทดลองที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา
- 2.2 การศึกษาการเจริญพัฒนาของตัวอ่อนหอยเป่าฮาลิโอ *H. asinina*
 - 2.2.1 การศึกษาการเจริญพัฒนาของตัวอ่อนหอยเป่าฮาลิโอด้วยกล้องจุลทรรศน์

- 2.2.2 การศึกษาการเจริญพัฒนาของระบบต่างๆ ในลูกหอยเป่าอื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์
- 2.3 การศึกษารูปร่างลักษณะเปลือกและชนิดของแร่ธาตุของลูกหอยเป่าอื้อ
- 2.4 การศึกษารูปร่างลักษณะของแรดูลาในลูกหอยเป่าอื้อ
- 2.5 การศึกษาอัตราการลงเกาะของลูกหอยเป่าอื้อ
 - 2.5.1 การเพาะเลี้ยงและขยายพันธุ์ไดอะตอม
 - 2.5.2 การเหนี่ยวนำให้ลูกหอยลงเกาะโดยใช้ไดอะตอมและ GABA
- 2.6 การศึกษาอัตราการเติบโตและอัตราการรอดของลูกหอยเป่าอื้อวัยอ่อนโดยให้อาหารสำเร็จรูปชนิดต่างๆ
- 2.7 การศึกษาผลกระทบของโลหะหนักที่มีต่อลูกหอยเป่าอื้อ

3. ผลการดำเนินงานของโครงการ

3.1 การซ่อมแซมห้องทดลองที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

คณะผู้วิจัยได้ดำเนินการต่อเติมหลังคาในบริเวณหน่วยเพาะเลี้ยง สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเล (รูปที่ 1) เพื่อใช้เป็นที่วางถังไฟเบอร์ขนาดยาว (0.50x1x0.30 เมตร) ที่ใช้เพาะเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์แม่พันธุ์หอยเป่าอื้อ (*Haliotis asinina*) (รูปที่ 2) ในบริเวณนี้จะสามารถวางถังไฟเบอร์ได้ประมาณ 10 ถัง นอกจากจะใช้สำหรับเพาะเลี้ยงหอยพ่อแม่พันธุ์แล้ว ยังใช้ถังเหล่านี้ในการทดลองเพาะเลี้ยงตัวอ่อนและลูกหอยเป่าอื้อด้วย

3.2 การศึกษาการเจริญพัฒนาของตัวอ่อนหอยเป่าอื้อ *H. asinina*

การเพาะเลี้ยงหอยพ่อแม่พันธุ์จากแหล่งธรรมชาติ

ได้ดำเนินการซื้อหอยเป่าอื้อพ่อแม่พันธุ์จากจังหวัดระยอง หอยพ่อแม่พันธุ์ (รูปที่ 3) มีขนาดเฉลี่ย ดังนี้หอยเพศผู้มีขนาด 37.0 x 80.3 มม. (กว้าง x ยาว) และมีน้ำหนักเฉลี่ย 135.8 กรัม (รูปที่ 5) และหอยเพศเมียมีขนาด 37.8 x 82.2 มม. และมีน้ำหนักเฉลี่ย 130.5 กรัม (รูปที่ 6) มีหอยพ่อแม่พันธุ์อยู่ 100 ตัว ซึ่งได้ทำการเลี้ยงในถังไฟเบอร์แบบระบบปิด อาหารที่เลี้ยงหอยคือสาหร่ายสีแดง (*Gracilaria* spp) (รูปที่ 4)

การเตรียมหอยพ่อแม่พันธุ์ให้สมบูรณ์พร้อมที่จะผสมพันธุ์

ได้เตรียมหอยเป่าอื้อ *H. asinina* พ่อแม่พันธุ์ที่เก็บมาให้สมบูรณ์โดยการให้อาหารอย่างเต็มที่ และเปลี่ยนเวลาการออกไข่และสเปิร์มจากเวลากลางคืนเป็นเวลากลางวัน นั่นคือโดยปกติแล้ว หอยเป่าอื้อ *H. asinina* กินอาหารและผสมพันธุ์ในเวลากลางคืน ซึ่งทำให้ไม่สะดวกในการทำงาน ดังนั้นจึงทำการควบคุมการให้แสงเพื่อให้หอยมีการผสมพันธุ์ โดยมีระยะเวลาการให้แสงตั้งแต่ 6 โมงเช้า ถึง 6 โมงเย็น โดยใช้วิธีคลุมถังไฟเบอร์ที่เลี้ยงหอยให้มืดในเวลากลางวัน กรรมวิธีดังกล่าวจะทำให้หอยกินอาหารได้มากขึ้นและมีการปล่อยไข่และสเปิร์มในเวลากลางวัน

การผสมพันธุ์หอยเป่าอื้อให้ได้ตัวอ่อน

ในแต่ละเดือน ทำการตรวจความพร้อมของอวัยวะสืบพันธุ์ (gonad maturation) ของหอยเป่าอื้อพ่อแม่พันธุ์ โดยการวัดขนาดและการดูสีของอวัยวะสืบพันธุ์ (Ebert and Houk, 1984) เมื่ออวัยวะสืบพันธุ์มีการเจริญถึงระยะ 2-3 (Ebert and Houk, 1984) ได้นำหอยเป่าอื้อพ่อแม่พันธุ์มาใส่ถังไฟเบอร์เพื่อผสมพันธุ์

ทำการแยกหอยเป่าอื้อเพศผู้และเพศเมียที่มีความพร้อมโดยแต่ละถังมีหอยประมาณ 50-80 ตัว นำมาไว้ในห้องที่ได้มีการควบคุมการให้แสง จากการทดลองดังกล่าวพบว่า หอยเป่าอื้อเพศผู้ปล่อยสเปิร์มระหว่างเวลาประมาณ 12.15 - 13.30 น. และหอยเพศเมียวางไข่ระหว่างเวลาประมาณ 12.30-13.30 น. ทำการเก็บไข่และสเปิร์มโดยเก็บแยกกัน นำมาผสมกันในถังผสมพันธุ์เนื่องจากหอยเป่าอื้อมีการปฏิสนธิภายนอก (external fertilization) การปฏิสนธิจะเกิดขึ้นภายใน 30 นาที ภายหลังจากที่หอยมีการปล่อยไข่และสเปิร์ม อัตราส่วนของไข่ : สเปิร์มคือ 1: 100,000

3.2.1 การศึกษาการเจริญพัฒนาของตัวอ่อนหอยเป่าอื้อ ด้วยกล้องจุลทรรศน์

การศึกษาการเจริญพัฒนาของตัวอ่อนหอยเป่าอื้อ *H. asinina* ตั้งแต่ระยะปฏิสนธิไปจนถึงการเริ่มลงเกาะ ได้อ้างอิงระยะต่างๆ ของการพัฒนาจากข้อมูลของ Seki and Kan-no (1977) และ Seki (1997) ที่ได้ศึกษาการเจริญพัฒนาของตัวอ่อนหอยเป่าอื้อ *H. discus hannai* ในประเทศญี่ปุ่น จากข้อมูลดังกล่าวการเจริญพัฒนาของตัวอ่อนหอยเป่าอื้อแบ่งออกเป็น 41 ระยะ

วิธีการทดลอง

เมื่อไข่มีการปฏิสนธิแล้วก็ได้ถูกแยกออกมาในอ่างเล็ก ๆ แต่ละอ่างมีความหนาแน่นของไข่ประมาณ 5 ฟอง/มล. นำอ่างเหล่านี้ไปไว้ในอุณหภูมิต่างกันคือ 25° และ 28° ข (ในห้องควบคุมอุณหภูมิ), 24° และ 31° ข (ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ) และที่อุณหภูมิห้อง (28-35°ข) ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม ทำซ้ำ 3 ครั้ง ทำการศึกษาการพัฒนาของไข่ทุกๆ 5 นาที ด้วยกล้องสเตอริโอจนกระทั่งตัวอ่อนมีการพัฒนาถึงระยะที่ 10 หรือระยะแกสตรูลา (gastrula stage) หลังจากนั้นทำการศึกษาการเจริญพัฒนาด้วยกล้องสเตอริโอต่อไปทุก ๆ 30 นาที จนกระทั่งตัวอ่อนมีการพัฒนาเข้าสู่ระยะที่ 41 ซึ่งเป็นระยะสุดท้าย ต่อจากนั้นการศึกษการเจริญพัฒนาจะกระทำเพียงวันละครั้งภายหลังจากการลงเกาะจนกระทั่งลูกหอยเริ่มมีการสร้างรูหายใจแรก (first respiratory pore)

ผลการทดลอง

ขนาดของตัวอ่อน ไข่ของหอยเป่าอื้อมีสีเขียวแก่ โดยมีเม็ดตรงควัตุในบริเวณขั้วเวเจทัล (vegetal pole) ส่วนบริเวณขั้วแอนิมัล (animal pole) มีสีครีม ไข่ที่ยังมิได้ปฏิสนธิมีขนาดประมาณ 88.0 ± 8.0 ไมครอน (กว้าง), 102.4 ± 3.6 ไมครอน (ยาว) และมีนิวเคลียสยาว 70.4 ± 6.7 ไมครอน (ตารางที่ 1)

ภายหลังจากการปฏิสนธิ ขนาดของไข่เพิ่มขึ้นคือกว้าง 126.4 ± 17.1 ไมครอน ยาว 148.2 ± 10.4 ไมครอน และขนาดของนิวเคลียส 99.5 ± 18.3 ไมครอน (ตารางที่ 1) ขนาดของไข่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงจนถึงระยะฟักเป็นตัวอ่อน

ตารางที่ 1 แสดงขนาดของไข่และตัวอ่อนที่มีการเปลี่ยนแปลงในระยะพัฒนา ไข่ที่ปฏิสนธิแล้วจะฟักออกมาเป็นตัวอ่อนระยะโทรโคฟอร์ (trochophore) ซึ่งมีขนาดกว้าง 105.3 ± 4.1 ไมครอน และยาว 130.7 ± 4.8 ไมครอน ภายหลังจากที่ตัวอ่อนมีการสร้างเปลือกอ่อน ขนาดจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนักจนกระทั่งเข้าสู่ระยะที่มีการหลั่งสารที่เป็นเปลือกไข่ ระยะตัวอ่อนที่มีการสร้างรูหายใจแรกมีขนาดกว้าง 1142.4 ± 94.8 ไมครอน และยาว 1530.2 ± 140.7 ไมครอน (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ขนาดของตัวอ่อนหอยเป่าฮือ *H. asinina* ตั้งแต่ระยะปฏิสนธิจนถึงระยะที่มีการสร้างรูหายใจแรก

ระยะ	ขนาด (ไมครอน)	
	ความกว้าง	ความยาว
ไข่ที่ไม่ได้ปฏิสนธิ	88.0 ± 8.0	102.4 ± 3.6
ไข่ที่ปฏิสนธิแล้วจนถึงระยะฟักเป็นตัวอ่อน	126.4 ± 17.1	148.2 ± 10.4
ระยะโทรโคฟอร์	105.3 ± 4.1	130.7 ± 4.8
ระยะที่มีเวลัมสมบูรณ์	108 ± 3.8	135.3 ± 2.9
ระยะที่มีกล้ามเนื้ออีแรทเรเตอร์	110.7 ± 4.1	139.5 ± 4.2
ระยะที่มีเปลือกอ่อนสมบูรณ์	174.5 ± 8.2	242.0 ± 6.4
ระยะที่สร้างโอเพอร์คิวลัม (แผ่นปิดปากเปลือก)	175.5 ± 6.3	239.8 ± 5.9
ระยะที่สร้างท่อที่ 4 บน เซฟาสิกเทนท์เคิล	178.3 ± 5.2	245.7 ± 4.6
ระยะที่ลงเกาะ (วันแรก)	178.8 ± 5.8	147.7 ± 2.5
ระยะที่มีการสร้างรูหายใจแรก	1142.4 ± 94.8	1530.2 ± 140.7

อัตราการเจริญพัฒนาของตัวอ่อน การเจริญพัฒนาของตัวอ่อนหอยเป่าฮือ *H. asinina* แบ่งออกได้เป็น 42 ระยะ (ตารางที่ 2, รูปที่ 7-10) ระยะเวลาในการเจริญพัฒนาขึ้นอยู่กับอุณหภูมิในอ่างเลี้ยง (ตารางที่ 2) นั่นคือ ที่อุณหภูมิ 25°C ใช้เวลา 85 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28°C ใช้เวลา 49 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 31°C และ 34°C ใช้เวลา 41 ชั่วโมง ในกลุ่มควบคุม ($28-35^{\circ}\text{C}$) ใช้เวลา 40-41 ชั่วโมง

ตารางที่ 2 ระยะต่างๆ ของการเจริญพัฒนาในตัวอ่อนหอยเป่าชื่อ *H. asinina* ที่อุณหภูมิต่างๆ กัน

ระยะที่	ระยะการเจริญพัฒนา	ระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาที่อุณหภูมิต่างๆ กัน				
		25°ซ	28°ซ	31°ซ	34°ซ	28-35°ซ
1	Fertilization	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	First polar body	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25-0.33
3	Second polar body	0.33	0.33	0.42	0.33	0.25-0.42
4	First cleavage (2 cells)	0.50	0.50	0.42	0.50	0.33-0.58
5	Second cleavage (4 cells)	1.00	0.92	0.83	0.92	0.75-1.00
6	Third cleavage (8 cells)	1.33	1.25	1.00	1.17	1.00-1.17
7	Fourth cleavage (12 cells)	1.42	1.33	1.25	1.25	1.17-1.33
8	Fifth cleavage (16 cells)	1.50	1.42	1.33	1.33	1.33-1.50
9	Morula (32 cells)	2.83	2.42	1.83	2.00	2.00-2.50
10	Blastula	3.83	3.17	2.83	3.00	2.50-3.00
11	Gastrula	5.50	4.00	3.50	3.50	3.00-4.00
12	Prototrochal cilia	6.00	5.00	4.17	4.00	4.50-5.00
13	Stomodeum	7.00	5.50	4.50	4.50	5.00-5.50
14	Prototrochal girdle	8.00	3.50	5.00	5.00	5.00-5.50
15*	Hatch out	9.50	7.50	6.00	6.00	5.50-7.00
16	Beginning of larval shell	10.50	8.00	6.50	7.00	6.00-7.00
17	Completion of velum	12.00	9.50	8.00	8.00	7.50-8.00
18*	Larval retractor muscle	13.50	11.00	9.00	9.00	10.00-11.00
19	Integumental attachment	14.50	11.50	10.50	10.50	10.50-12.00
20	Protrusion of foot mass	16.00	12.50	10.50	10.50	11.00-12.50
21	Completion of larval shell	16.50	13.50	11.00	11.00	11.00-13.00
22*	Torsion (90° twisting)	18.00	14.00	11.50	11.50	12.00-14.00
23	180° rotation of foot mass	21.00	18.00	13.50	13.50	13.00-15.00
24	OPERCULUM	25.00	22.50	16.00	16.00	16.00-18.50
25	Long spines on end of metapodium	29.00	23.00	18.50	17.00	18.00-19.00
26	Fine cilia on foot	30.50	25.00	20.50	20.50	19.00-20.00
27	Vertical groove in velum	35.00	27.00	21.00	21.00	21.00-22.50
28	Eye spot	40.00	28.00	21.00	21.00	21.00-23.00
29	Prododium	41.00	29.50	24.00	24.00	24.00-24.50
30	Cephalic tentacle	43.50	30.50	25.00	24.00	24.00-25.50
31	Cilia on propodium	45.00	32.00	26.50	26.00	25.00-27.00
32*	First epidodial tentacle	45.50	36.00	28.00	28.00	27.00-29.00
33	Cilia in mantle cavity	48.00	36.00	30.00	29.00	31.00-32.00
34	Apophysis on propodium	51.00	39.00	30.00	30.00	32.00-33.00
35	Otolith	55.00	41.00	34.00	33.00	32.00-33.00
36	Short spine on cephalic tentacle	57.00	42.00	34.00	34.00	33.00-34.00
37	Two tubules on cephalic tentacle	59.00	42.00	35.00	35.00	34.00-35.00
38	Third tubule on cephalic tentacle	60.00	43.00	37.00	36.00	36.00-37.00
39	Snout protrusion	62.00	45.00	39.00	38.50	38.00-39.00
40	Ciliary process in mantle cavity	64.00	46.00	40.00	38.50	39.00-41.00
41	Retractor muscle drawn in mantle cavity	64.00	47.00	40.00	40.00	40.00-42.00
42*	Fourth tubule on cephalic tentacle	65.00	49.00	41.00	41.00	42.00-44.00

*the stage used for calculating the biological zero point.

การเจริญพัฒนาในระยะลงเกาะ ภายหลังจาก 44 ชั่วโมง เมื่อตัวอ่อนหอยเป่าฮือมีการสร้างท่อที่สี่ (fourth tubule) บนเซฟาสิกเทนท์เคิล (cephalic tentacle) แล้ว จะถูกแยกออกมาใส่ในถังที่ใช้ในการลงเกาะ (settlement) ซึ่งมีแผ่นล่อที่อาบด้วยไดอะตอมฟิล์มที่เป็นอาหารของหอย

การศึกษาการเจริญพัฒนาของตัวอ่อนในระยะลงเกาะมีดังนี้ ในวันแรกของการลงเกาะ ตัวอ่อนยังอยู่ในระยะสำรวจเพื่อหาที่ลงเกาะโดยสังเกตว่ามีการว่ายน้ำด้วยเวลัม (velum) และคลานไปบนแผ่นล่อที่มีไดอะตอม ในวันที่สองตัวอ่อนจะเริ่มสลับเวลัมและมีการเคลื่อนที่ของเยื่อแมนเทิล (mantle membrane) ไปสู่บริเวณขอบเปลือก บางตัวก็เริ่มมีการหลั่งสารสร้างเปลือก ตัวอ่อนที่ลงเกาะแล้วจะมีการสร้างท่อที่ 5 และ 6 บนเซฟาสิกเทนท์เคิล และมีการสร้างซิเลีย (cilia) ใกล้เคียง กับเซฟาสิกเทนท์เคิลข้างขวา ในระยะนี้จะพบตัวอ่อนคลานบนแผ่นล่อ ภายในช่องแมนเทิล ซิเลียที่อยู่บนผนังแมนเทิลจะเริ่มโบกพัดเพื่อช่วยให้มีการไหลเวียนของน้ำและในขณะเดียวกันก็ทำหน้าที่เป็นเหงือก (ctenidium) ช่วยในการหายใจของตัวอ่อนในระยะนี้

ในวันที่สามของการลงเกาะ ลูกหอยมีการเพิ่มขนาดของเปลือกอ่อนและเริ่มมีการสร้างต่อมย่อยอาหาร (digestive gland) มีการสร้างปากโดยสมบูรณ์และเริ่มมีการสร้างแรดูลา (radula) ซึ่งเป็นอวัยวะที่ใช้ในการกินอาหาร ตัวอ่อนระยะนี้กินไดอะตอมบนแผ่นล่อเป็นอาหารโดยใช้แรดูลาขูดออกมา ในวันที่สี่ของการลงเกาะ มีการสร้างหัวใจและเริ่มมีการเต้นของหัวใจ บนผนังแมนเทิลจะมีการสร้างเมือกที่แท้จริง เปลือกเริ่มมีขนาดยาวขึ้น

ในวันที่แปด ตัวอ่อนจะสร้างเอพิโพเดียม (epipodium) คู่ที่ 2 และสร้างท่อบนเซฟาสิกเทนท์เคิลเพิ่มขึ้น ตาเริ่มมีการพัฒนา จากวันที่เก้าถึงวันที่ 24 ตัวอ่อนจะสร้างเหงือกและเอพิโพเดียมเพิ่มขึ้น และมีเปลือกที่ยาวขึ้นเรื่อยๆ ในวันที่ 24-30 จะมีการสร้างรูหายใจแรกบนเปลือก

3.2.2 การศึกษาการเจริญพัฒนาของตัวอ่อนหอยเป่าฮือด้วยกล้องจุลทรรศน์

ธรรมดาและ อิเล็กตรอน (SEM)

วิธีการทดลอง

ก. ทำการศึกษาการเจริญพัฒนาของตัวอ่อนหอยเป่าฮือระยะตั้งแต่ไข่ที่ยังไม่ได้ปฏิสนธิจนถึงระยะที่สร้างท่อบนเซฟาสิกเทนท์เคิล ระยะนี้ตัวอ่อนเริ่มจะลงเกาะซึ่งถือว่าเป็นระยะสุดท้ายของการเป็นตัวอ่อน นำตัวอ่อนของหอยเป่าฮือระยะต่างๆ มาใส่ใน 5% $MgCl_2$ เพื่อป้องกันการหดตัวแล้วใส่ในสารละลาย 3% glutaraldehyde เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ล้างออกด้วยสารละลาย 0.1% phosphate buffer แล้วแช่ใน 1% osmium tetroxide (OsO_4) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ล้างด้วย 0.1% phosphate buffer แล้วทำการเอาน้ำออกจากเนื้อเยื่อหอย (dehydration) โดยใส่ในสารละลายแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้นต่างๆ จากนั้นนำไปเข้าเครื่อง critical point dryer เพื่อเอาน้ำออกจากตัวอย่างให้หมด นำมาติดลงบน stub ที่มีกาวสองหน้าติดอยู่นำไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (SEM) ที่ 15KV

ข. ทำการศึกษาการเจริญพัฒนาของตัวอ่อนโดยใช้กล้องจุลทรรศน์โดยนำตัวอ่อนระยะต่างๆ มาใส่ในน้ำยาบูแอง (Bouin's fixative) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ล้างน้ำยาออกด้วยน้ำกลั่น แล้วทำการเอาน้ำออกจากเนื้อเยื่อ โดยใส่ในแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้นต่างๆ ทำให้ใสโดยใส่ในไดออกเซน (dioxan) ฝังเนื้อเยื่อในพาราฟิน ตัดเนื้อเยื่อที่ความหนา 3 ไมครอน ย้อมสีด้วย PAS (Periodic acid-Schiff)

ผลการทดลอง

ไข่ของหอยเป่าอื้อที่ยังไม่ได้ปฏิสนธิจะมีสีเขียวแก่ และมีเยื่อหุ้มอยู่ (รูปที่ 11A, 11B) และเมื่อปฏิสนธิแล้วจะเริ่มแบ่งตัวเป็น 2 เซลล์ (first cleavage) (รูปที่ 11C, 11D) และจะแบ่งตัวเป็น 4, 8, 12, 16 เซลล์ตามลำดับ จนถึงระยะที่แบ่งเซลล์ได้ 32 เซลล์ ซึ่งเป็นระยะ morula ซึ่งจะเป็นกลุ่มเซลล์ ลักษณะคล้ายผลน้อยหน่า (รูปที่ 12A, 12B) และเริ่มพัฒนาเป็นระยะ blastula ซึ่งจะคล้ายกับระยะ morula แต่มีการแบ่งเซลล์มากกว่า (รูปที่ 12C, 12D) จากนั้นก็เข้าสู่ระยะ gastrula (รูปที่ 13A) และพัฒนาขึ้นเรื่อยๆ จนเริ่มฟักออกจากเยื่อหุ้มไข่ และเข้าสู่ระยะที่เริ่มสร้างเปลือกของตัวอ่อน ตัวอ่อนจะเริ่มมีเวล์มซึ่งเป็นอวัยวะที่ใช้ในการว่ายน้ำมีขี้เลื่อยอยู่ด้านบน และบริเวณกลางลำตัวเริ่มเว้าคอด ส่วนล่างเริ่มยื่นออก (รูปที่ 13B) ระยะต่อมาคือระยะที่สร้างเวล์ม สมบูรณ์ ด้านบนของตัวอ่อนเริ่มแบนลงและมีขี้เลื่อยยาวมากขึ้นเพื่อใช้ในการว่ายน้ำด้านล่างของตัวอ่อนยื่นออกมาลักษณะคล้ายงูเห่า (รูปที่ 13C) ต่อจากนั้นก็พัฒนาเป็นตัวอ่อนที่ว่ายน้ำเป็นอิสระและเข้าสู่ระยะที่มีการพัฒนาแผ่นเท้า (foot mass) คือเริ่มมีปุ่มยื่นออกมาเพื่อจะพัฒนาต่อไปเป็นแผ่นเท้า (รูปที่ 13D) จากนั้นเป็นระยะที่มีการสร้างเปลือกของตัวอ่อนที่สมบูรณ์ (รูปที่ 14A) โดยมีการขูดของเปลือกแต่ยังมีขี้เลื่อยอยู่ด้านบน ระยะที่มีการบิดตัว 180° (torsion) ลักษณะตัวอ่อนจะคล้ายปากนกและมีแผ่นปิดปากเปลือก (operculum) ไว้ปิดเปลือกเพื่อป้องกันตัว ระยะที่เริ่มมีเขลาฟักแทนเทเคิล ระยะต่อมาที่ได้ทำการศึกษา คือ ระยะเริ่มสร้างเอพิโพเดียลแทนเทเคิลอันแรก และระยะที่สร้าง สเนท์ (snout) ซึ่งเอพิโพเดียลจะอยู่ติดกับแผ่นปิดปากเปลือกและสเนท์จะอยู่ใต้เวล์ม ระยะสุดท้ายที่ยังคงเป็นระยะตัวอ่อนของหอยเป่าอื้อ คือ ระยะที่มีการสร้างท่อที่สืบเชื้อสายฟาลกแทนเทเคิล (รูปที่ 14B, 14C) หลังจากระยะนี้ลูกหอยเป่าอื้อก็จะลงเกาะต่อไป

เมื่อลูกหอยเป่าอื้อลงเกาะแล้วก็จะสลัดเวล์มและเมแทมอร์โฟซิสเพื่อเข้าสู่ระยะวัยอ่อน เมื่อลูกหอยอายุได้ 5-8 วันจะเริ่มมีการสร้างเปลือกอ่อน (juvenile shell) ซึ่งต่อออกมาจากเปลือกตัวอ่อน (embryonic shell) เมื่อลูกหอยอายุได้ 10 วัน เปลือกอ่อนมีขนาดใหญ่ขึ้น (รูปที่ 15A) ลักษณะผิวของเปลือกทั้งสองชนิดนี้แตกต่างกัน คือเปลือกตัวอ่อนมีลวดลายค่อนข้างละเอียด (รูปที่ 15B) เมื่อลูกหอยอายุได้ 20 วัน เปลือกอ่อนขยายขนาดใหญ่ขึ้น (รูปที่ 15C) ผิวของเปลือกอ่อนมีลักษณะเป็นเส้นหยัก โดยมีลวดลายของเส้นการเติบโต (growth ring) ทั้งในแนวนอนและแนวตั้ง (รูปที่ 15D)

การศึกษาการเจริญพัฒนาของระบบต่างๆ ในลูกหอยอายุ 20-30 วันพบว่ามีการพัฒนาของระบบประสาทซึ่งได้แก่ปมประสาทต่าง ๆ (รูปที่ 16A) และระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ ต่อมย่อยอาหารหรือตับและกระเพาะอาหารซึ่งมีขนาดใหญ่มาก (รูปที่ 16B)

3.2.3 การศึกษาการเจริญพัฒนาของระบบต่าง ๆ ของลูกหอยเป่าชื่อด้วยกล้องจุลทรรศน์

วิธีการทดลอง

ทำการศึกษาการเจริญพัฒนาของระบบต่างๆ ในลูกหอยเป่าชื่อ *H. asinina* ที่มีอายุตั้งแต่ 1-12 เดือน โดยนำลูกหอยอายุต่างๆ มาใส่ในสารละลาย 5% HNO_3 เพื่อสลายเปลือกและแร่ธาตุ นำตัวลูกหอยใส่น้ำยาบูแองเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ล้างน้ำยาบูแองออกด้วยน้ำกลั่น แล้วทำการเอาน้ำออกจากเนื้อเยื่อหอย โดยใส่ในสารละลายแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้นต่างๆ นำไปทำให้ใสโดยใช้ไดออกเซนฝังเนื้อเยื่อในพาราฟิน ทำการตัดเนื้อเยื่อด้วยเครื่องตัดเนื้อเยื่อ (microtome) ที่ความหนา 5-8 ไมครอน ทำการย้อมสีสไลด์ด้วยฮีมาทอกซึลีนและอีโอซิน (hematoxylin - eosin) และ PAS นำไปศึกษาและบันทึกภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์ Olympus Vanox

ผลการทดลอง

ในลูกหอยอายุ 1 เดือนมีการพัฒนาของระบบประสาท ระบบทางเดินอาหารและแร่ธาตุ (รูปที่ 17) ระบบประสาทของหอยเป่าชื่อประกอบด้วยปมประสาทหลายคู่ ได้แก่ ปมประสาทเซรีบรัล (cerebral ganglion) ปมประสาทพลูโรพีดัล (pleuropedal ganglion) ปมประสาทวิสเซอร์ลัล (viseral ganglion) และปมประสาทแบรงเคียล (branchial ganglion) เป็นต้น ปมประสาทที่ปรากฏเด่นชัดในระยะนี้คือปมประสาทพิดัลที่อยู่ในแผ่นเท้าของลูกหอย (รูปที่ 18) ปมประสาทนี้ประกอบด้วยเซลล์ประสาท (neuron) และนิวโรฟิล (neuropil)

ในลูกหอยอายุ 2 เดือน มีการเจริญของปมประสาทพิดัลซึ่งอยู่เป็นคู่ในแผ่นเท้า และเริ่มมีอวัยวะต่างๆ ที่ชัดเจนขึ้น (รูปที่ 19) เช่น ต่อมไฮโพแบรงเคียล (hypobranchial gland) หลอดอาหาร (esophagus) กระเพาะอาหาร ลำไส้ เรกตัม (rectum) และไต ตลอดจนพบหัวใจเวนทริเคิล (ventricle) ที่หุ้มอยู่รอบ ๆ เรกตัม (รูปที่ 20) เนื้อเยื่อบุผิวของระบบทางเดินอาหารเป็นแบบคอลัมน์นารี (simple columnar epithelium) คือเซลล์เป็นรูปทรงสูง มีนิวเคลียสอยู่ที่ฐานของเซลล์ และมักมีขลิบ (รูปที่ 21) ไตข้างขวาเริ่มมีการพัฒนาแต่เซลล์ยังไม่มีขอบเขตที่ชัดเจน (รูปที่ 22)

ในลูกหอยอายุ 3-4 เดือน มีการพัฒนาของระบบต่างๆ ค่อนข้างจะสมบูรณ์ ได้แก่ ระบบประสาทพบปมประสาทเซรีบรัล 1 คู่ และปมประสาทพลูโรพีดัล ซึ่งมีการรวมกัน (รูปที่ 23) รอบ ๆ แร่ธาตุมีกระดูกอ่อนโอdontophore (รูปที่ 23) ไตข้างขวามีขนาดใหญ่ขึ้น (รูปที่ 24) ระบบทางเดินอาหารมีการพัฒนามากขึ้น พบถุงหลอดอาหาร (esophageal pouch) ชัดเจน บริเวณนี้เป็นที่กักเก็บอาหารและย่อยก่อนที่จะผ่านเข้าไปในกระเพาะอาหาร เหงือกมีลักษณะเป็นแผ่น บริเวณเหนือเหงือกพบต่อมไฮโพแบรงเคียล (รูปที่ 25) เริ่มพบไตข้างซ้ายที่มีขนาดเล็ก (รูปที่ 26)

เหงือกเป็นแบบไบเพกทิเนต (bipectinate) มีขนาดยาวและกว้าง ประกอบด้วยแผ่นเหงือก (filament) ซึ่งมีเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวแบบแบนบาง (squamous epithelium) ตรงปลายแผ่นเหงือกมีแผ่นกระดูกอ่อน (skeletal rod) เพื่อช่วยยึดพยุงเหงือก เซลล์บริเวณปลายสุดของแผ่นเหงือกเป็นเซลล์หลั่งสารเมือก (mucous cell) (รูปที่ 27)

ต่อมไฮโปแบรเกียลมีหน้าที่ผลิตสารเมือกมิวโคพอลิแซ็กคาไรด์ (mucopolysaccharide) มีเซลล์หลายชนิดด้วย (รูปที่ 28) ได้แก่ เซลล์เมือกที่มีไซโทพลาสซึมลักษณะเป็นเส้นยาว ๆ เข้าใจว่าทำหน้าที่ผลิตสารมิวโคพอลิแซ็กคาไรด์ เซลล์ที่มีไซโทพลาสซึมเป็นเม็ดเล็ก ๆ เข้าใจว่ามีหน้าที่ผลิตสารไกลโคโปรตีน (glycoprotein)

นอกจากนี้ในลูกหอยอายุ 3-4 เดือน ยังพบออสเฟรเดียม (ospharadium) ซึ่งทำหน้าที่รับสัมผัสทางเคมีตรวจสอบคุณภาพน้ำที่จะเข้ามาที่เหงือก (รูปที่ 29) ออสเฟรเดียมประกอบด้วยเนื้อเยื่อบุผิวแบบคอลัมน์ที่มีขิเลียซึ่งเป็นเซลล์รับสัมผัสทางเคมี (sensory cell) และมีเซลล์ผลิตสารเมือกแบบกอบเล็ต (mucous goblet cell) (รูปที่ 30)

หลอดอาหารแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายที่ต่อกับกระเพาะอาหาร ส่วนกลางคือถุงหลอดอาหารที่มีขนาดใหญ่และเห็นเด่นชัดมากในลูกหอยอายุ 3 เดือน (รูปที่ 31) เป็นส่วนที่แผ่ขยายออกของหลอดอาหารส่วนต้น ผนังของถุงหลอดอาหารมีการม้วนพับมากมายซึ่งเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิว ประกอบด้วยเซลล์ที่สร้างและหลั่งสารเมือก (secretory cell) และเซลล์ที่มีเม็ดสีอยู่ภายในไซโทพลาสซึม (รูปที่ 32) มีชั้นคิวทิเคิล (cuticle) หุ้มเซลล์เหล่านี้ซึ่งประกอบด้วยสารมิวโคพอลิแซ็กคาไรด์และเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเทส (alkaline phosphatase) จากหลอดอาหารก็จะพบกระเพาะอาหารซึ่งมักพองออกเป็นถุง (crop) ลำไส้ และเรกตัมตามลำดับ

อวัยวะในระบบทางเดินอาหารที่สำคัญและพบเด่นชัดในลูกหอยอายุ 3 เดือน คือ ต่อมย่อยอาหาร หรือตับ (digestive gland) (รูปที่ 33) มีลักษณะเป็นพูประกอบด้วยเซลล์ที่ทำหน้าที่สร้างและหลั่งน้ำย่อย และเซลล์ที่ทำหน้าที่ย่อยอาหาร (digestive cell) (รูปที่ 34)

ในลูกหอยอายุ 3-4 เดือน ไตข้างขวามีขนาดใหญ่ขึ้น (รูปที่ 35) ไตข้างซ้ายเริ่มปรากฏแต่มีขนาดเล็ก ไตข้างขวาประกอบด้วยเนื้อเยื่อบุผิวที่มีรูปร่างแบนบางหรือรูปเหลี่ยมลูกบาศก์ มีนิวเคลียสชัดเจน และไซโทพลาสซึมมีเม็ดสีน้ำตาลเล็กๆ อยู่มากมาย (รูปที่ 36) ขอบเขตของเซลล์ยังไม่ปรากฏชัดเจน

เมื่อลูกหอยอายุประมาณ 5-6 เดือน มีการพัฒนาของระบบต่างๆ เด่นชัดขึ้น ได้แก่ ระบบทางเดินอาหาร ระบบประสาท ระบบขับถ่าย และระบบลำเลียง พบหัวใจส่วนเวนทริเคิลรอบๆ เรกตัม (รูปที่ 37) หัวใจส่วนนี้มีกล้ามเนื้อขนาดใหญ่ ทำหน้าที่สูบฉีดเลือด (รูปที่ 38) ไตข้างขวาและซ้ายมีขนาดใหญ่ขึ้น ไตข้างซ้ายประกอบด้วยเซลล์บุผิวรูปเหลี่ยมลูกบาศก์ มีนิวเคลียสชัดเจนและมีเม็ดสีน้ำตาลในไซโทพลาสซึม รูปร่างของเซลล์มักไม่คงที่ (รูปที่ 39,40) ส่วนไตข้างขวานั้นมีลักษณะเป็นท่อ (tubule) ที่ประกอบด้วยเนื้อเยื่อบุผิวรูปคอลัมน์หรือเหลี่ยมลูกบาศก์ (รูปที่ 41) มีนิวเคลียสชัดเจน เซลล์เหล่านี้ทำหน้าที่กรองและดูดซึมของเสีย (รูปที่ 42)

ระบบทางเดินอาหารและระบบประสาทของลูกหอยอายุ 5-6 เดือน มีการพัฒนาของเซลล์ดีขึ้น (รูปที่ 43) เนื้อเยื่อบุผิวของถุงหลอดอาหารประกอบด้วยเซลล์รูปคอลัมน์ทำหน้าที่หลั่งสาร และมีชั้นคิวทิเคิลหนา (รูปที่ 44) ตับมีขนาดใหญ่ขึ้น (รูปที่ 45) ประกอบด้วยเซลล์สร้างน้ำย่อย และเซลล์ย่อยอาหาร (รูปที่ 46) เนื้อเยื่อบุผิวของกระเพาะและลำไส้เป็นเนื้อเยื่อบุผิวชนิดคอลัมน์ที่มีขิเลีย มีเซลล์สองชนิดคือ เซลล์ที่ทำหน้าที่หลั่งสารและเซลล์สร้างสารเมือก (รูปที่ 47)

เมื่อหอยเป่าอ้อมีอายุประมาณ 7-8 เดือน พบการพัฒนาของระบบประสาทค่อนข้างจะสมบูรณ์ (รูปที่ 48) นอกจากนี้ยังเริ่มมีการปรากฏของระบบสืบพันธุ์อีกด้วย ได้แก่ อัณฑะ (testis) และรังไข่ (ovary) (รูปที่ 49) อัณฑะมีสเปิร์มบรรจุอยู่มากมาย (รูปที่ 50) อวัยวะสืบพันธุ์นี้จะโอบอยู่รอบตัวรังไข่ (รูปที่ 51) มีแต่ไข่ระยะโอโอโกเนียม (oogonium) และโอโอไซต์ (oocyte) ระยะที่ 1 (รูปที่ 52)

ในลูกหอยอายุ 9-12 เดือน มีการเจริญพัฒนาของทุกระบบโดยสมบูรณ์ (รูป 53-59) หอยเป่าอ้อมีการหายใจโดยใช้เหงือกซึ่งมีลักษณะคล้ายขนนก (รูปที่ 53A) ประกอบด้วยแผ่นเหงือกซึ่งมีเซลล์บุผิวแบบแบนบางที่มีขี้เลื่อยตรงปลายแผ่นเหงือกมีแผ่นกระดูกอ่อนเพื่อช่วยพยุง บริเวณปลายสุดของแผ่นเหงือกเป็นเซลล์หลังสารเมือก (รูปที่ 53A) บริเวณที่ติดกับเหงือกจะพบต่อมไฮโพแบรเกียล ซึ่งมีหน้าที่ผลิตสารเมือก ประกอบด้วยเซลล์หลายชนิด (รูปที่ 53B)

ระบบทางเดินอาหารของลูกหอยอายุ 9-12 เดือน ประกอบด้วยหลอดอาหาร ถุงหลอดอาหาร กระเพาะอาหาร ลำไส้ เรกตัม และตับหรือต่อมย่อยอาหาร ระบบทางเดินอาหารบุด้วยเนื้อเยื่อบุผิวแบบคอลัมน์ (รูปที่ 54A) ที่ประกอบด้วยเซลล์หลังสารและเซลล์สร้างสารเมือก ส่วนต้นของทางเดินอาหารคือหลอดอาหารและถุงหลอดอาหารนั้นมีส่วนที่พับไปมา (fold) เป็นจำนวนมากโดยเฉพาะในถุงหลอดอาหาร (รูปที่ 54B) เซลล์คอลัมน์เหล่านี้มีขนาดสูงและมีขี้เลื่อยเพื่อพัดโบกอาหาร ส่วนกระเพาะอาหารประกอบด้วยเซลล์คอลัมน์ที่มีขนาดเตี้ยและมีขี้เลื่อยน้อย (รูปที่ 54C) ส่วนลำไส้ประกอบด้วยเซลล์คอลัมน์ที่มีขนาดสูงและมีขี้เลื่อย (รูปที่ 54D) ส่วนสุดท้ายคือเรกตัมนั้นถูกโอบหุ้มโดยเยื่อหุ้มหัวใจ ประกอบด้วยเนื้อเยื่อบุผิวแบบคอลัมน์เช่นกัน (รูปที่ 55A)

ต่อมย่อยอาหารหรือตับมีขนาดใหญ่ที่สุดในระบบทางเดินอาหาร มีลักษณะเป็นพู (รูปที่ 55A) ประกอบด้วยเซลล์ที่ทำหน้าที่สร้างและหลั่งน้ำย่อยและเซลล์ย่อยอาหาร (รูปที่ 55B)

ระบบลำเลียงของลูกหอยอายุ 9-12 เดือนมีหัวใจซึ่งประกอบด้วยออริเคิลและเวนทริเคิล (รูปที่ 56A) ส่วนเวนทริเคิลมีกล้ามเนื้อ (รูปที่ 56B) ทำหน้าที่สูบฉีดเลือดไปหล่อเลี้ยงส่วนต่างๆ ของร่างกาย

ระบบขับถ่ายของเสียประกอบด้วยไตข้างขวาและข้างซ้ายโดยไตขวามีขนาดใหญ่กว่าไตซ้ายมาก (รูปที่ 57A) ไตขวาประกอบด้วยเนื้อเยื่อบุผิวรูปเหลี่ยมลูกบาศก์หรือรูปคอลัมน์ลักษณะเป็นท่อ (รูปที่ 57B) ส่วนไตซ้ายประกอบด้วยเนื้อเยื่อบุผิวรูปเหลี่ยมลูกบาศก์หรือแบบแบนบาง (รูปที่ 57C, 57D)

ระบบสืบพันธุ์เป็นระบบที่มีการพัฒนาช้าที่สุด ในลูกหอยอายุ 7-8 เดือนจะพบอวัยวะสืบพันธุ์คืออัณฑะและรังไข่ที่อยู่รอบตัว แต่เป็นชั้นที่บางมาก ภายในมีเซลล์สืบพันธุ์ที่ยังอ่อนอยู่ในลูกหอยอายุ 9-12 เดือนมีระบบสืบพันธุ์ที่สมบูรณ์เต็มที่ (รูปที่ 58, 59) ในลูกหอยเพศผู้จะพบอัณฑะที่เป็นชั้นที่หนาแน่นโอบอยู่รอบตัว ภายในมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันหรือทราเบคูลี (trabeculae) ที่แบ่งอัณฑะออกเป็นส่วนๆ (รูปที่ 58A) เซลล์สืบพันธุ์ที่ยังอ่อนอยู่ เช่น ระยะสเปอร์มาโทโกเนียม (spermatogonium) หรือระยะสเปอร์มาโทไซต์ (spermatocyte) ยังคงติดอยู่กับทราเบคูลี ส่วนเซลล์สเปอร์มาทิด (spermatid) และสเปอร์มาโทซัว (spermatozoa) นั้นจะหลุดออกมาอยู่ในช่องว่างของอัณฑะ (รูปที่ 58B)

ในลูกหอยเพศเมียจะพบรังไข่โอบหุ้มอยู่รอบตัวเช่นกัน รังไข่มีความหนาแน่น ภายในมีทราเบคูลีเช่นกัน (รูปที่ 59A) ไข่ที่ปรากฏในลูกหอยระยะนี้มักเป็นระยะที่ยังอ่อนอยู่ เช่น ระยะโอโอโก

นิยมหรือโอโอไฮต์ระยะ 1-3 ซึ่งยังติดอยู่กับทราเบคูลี (รูปที่ 59B) ไม่พบไปที่เจริญเต็มที่ (โอโอไฮต์ระยะ 4 และ 5)

สรุปผลการทดลอง

การเจริญพัฒนาของตัวอ่อนหอยเป่าอื้อตั้งแต่ระยะปฏิสนธิจนถึงระยะที่มีการสร้างรูหายใจแรกแบ่งออกได้เป็นระยะโทรโคฟอร์ ระยะที่มีเวล์มสมบูรณ์ ระยะที่มีกล้ามเนื้อแรกเตอร์ ระยะที่มีเปลือกอ่อนสมบูรณ์ ระยะที่สร้างโอพอร์คิวลัม ระยะที่สร้างท่อที่ 4 บนเซฟาสิกเทนเทเคิล ระยะที่ลงเกาะ และระยะที่มีการสร้างรูหายใจแรก

การเจริญพัฒนาในระยะแรก คือ เมื่อไข่ได้รับการปฏิสนธิจะพัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะต่างๆ โดยแบ่งออกได้เป็น 42 ระยะ ใช้เวลาในการเจริญประมาณ 40-44 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 28-35°C จนถึงระยะที่มีการสร้างท่อที่ 4 บนเซฟาสิกเทนเทเคิล ภายหลังจาก 44 ชั่วโมง ตัวอ่อนก็จะเริ่มลงเกาะซึ่งใช้เวลาประมาณ 2-3 วัน ในวันแรกของการลงเกาะตัวอ่อนว่ายน้ำโดยใช้เวล์ม ในวันที่สองของการลงเกาะตัวอ่อนเริ่มสลัดเวล์มและมีการสร้างเปลือก ในวันที่สามของการลงเกาะ ตัวอ่อนสร้างเปลือกเพิ่มขึ้นและเริ่มมีระบบทางเดินอาหาร ในวันที่สี่ของการลงเกาะตัวอ่อนมีการสร้างหัวใจและสร้างเมือกบนแมนเทิล ในวันที่ 5-8 ตัวอ่อนสร้างเอพิโพเดียมและท่อเซฟาสิกเพิ่มขึ้น มีการพัฒนาของตา ในวันที่ 9-24 ตัวอ่อนสร้างเหงือกและเอพิโพเดียมเพิ่มขึ้น และสร้างเปลือกยาวขึ้นเรื่อยๆ ในวันที่ 24-30 มีการสร้างรูหายใจแรกบนเปลือก

การเจริญพัฒนาของระบบต่างๆ ในลูกหอยเป่าอื้อสรุปได้ดังนี้ ในลูกหอยอายุ 1 เดือนเริ่มมีการพัฒนาของระบบประสาท ระบบทางเดินอาหาร และแร่ตุลา ลูกหอยอายุ 2 เดือนมีการเจริญของปมประสาทพิตัล ต่อมไฮโปแบรงเคียล หลอดอาหาร กระเพาะอาหาร ลำไส้ เรกตัม และไต มีการพัฒนาของหัวใจเวนทริเคิล ในลูกหอยอายุ 3-6 เดือน ระบบประสาท ระบบทางเดินอาหาร ระบบขับถ่าย และระบบลำเลียงมีการพัฒนาอย่างสมบูรณ์ ในลูกหอยอายุ 7-8 เดือน เริ่มมีการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์ได้แก่อวัยวะและรังไข่ ส่วนในลูกหอยอายุ 9-12 เดือนมีการเจริญพัฒนาของทุกระบบโดยสมบูรณ์

บทวิจารณ์

หอยเป่าอื้อมีเพศแยกโดยทั้งหอยเพศผู้จะปล่อยสเปิร์ม และหอยเพศเมียจะปล่อยไข่ลงไปในน้ำ การปฏิสนธิเกิดขึ้นในน้ำทะเล วงจรการสืบพันธุ์ของหอยเป่าอื้อแต่ละสปีชีส์จะแตกต่างกัน ส่วนใหญ่หอยเป่าอื้อในเขตอบอุ่นมีขนาดใหญ่และมีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์เพียงครั้งเดียวในรอบปี ส่วนหอยเป่าอื้อในเขตร้อน (*Haliotis asinina* และ *H. ovina*) มีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ 2 ครั้งในรอบปี (Jarayabhand et al., 1994 ; Kruatrachue et al., 2000) *H. asinina* ปล่อยไข่เป็นจำนวนประมาณ 200,000 - 600,000 ฟอง และระยะเวลาที่ใช้ในการปล่อย (เป็นระยะ ๆ) คือ 12-28 วัน (Singhagraiwan and Doi, 1993) ส่วนหอยเป่าอื้อในเขตอบอุ่นซึ่งมีขนาดใหญ่กว่ามากนั้น สามารถปล่อยไข่ได้ถึง 10 ล้านฟองในระยะเวลาหลาย ๆ สัปดาห์ (Newman, 1976; Poore, 1973; Tutschulte and Connell, 1981; McShane et al., 1986, 1988) ไข่ของหอยเป่าอื้อจมลงสู่ก้นอ่างและฟักเป็นตัวอ่อนภายใน 24 ชั่วโมง (Mottet, 1978; Singhagraiwan and Doi 1993)

ในการวิจัยได้ศึกษาการเจริญของตัวอ่อนหอยเป่าชื่อ *H. asinina* ตั้งแต่ระยะปฏิสนธิจนถึงระยะลงเกาะคือ มีการสร้างท่อที่สืบบนเซฟาสิกเทนเทเคิลแบ่งออกได้เป็น 42 ระยะ โดยใช้เวลาประมาณ 41-44 ชั่วโมงขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ส่วนในหอยเป่าชื่อสปีชีส์อื่นนั้นแบ่งระยะการพัฒนาก่อนตัวอ่อนออกเป็น 41 ระยะ เช่น ใน *H. discus hannai* (Seki and Kan-no, 1977), *H. diversicolor supertexta* (Oba, 1964), *H. sieboldi* (Ino, 1952) และ *H. discus* (Ino, 1952) ส่วนใน *H. rufescens* นั้นมีเพียง 32 ระยะเท่านั้น (Hahn, 1989) ข้อแตกต่างที่พบระหว่าง *H. asinina* และหอยเป่าชื่อสปีชีส์อื่นๆ พอสรุปได้ดังนี้ (1) ใน *H. asinina* คลีเวลเจอร์ระยะที่ 4 แบ่งได้ 12 เซลล์ และคลีเวลเจอร์ระยะที่ 5 แบ่งได้ 16 เซลล์ ส่วนในสปีชีส์อื่นๆ พบเฉพาะคลีเวลเจอร์ระยะที่ 4 ซึ่งแบ่งได้ 16 เซลล์ (2) ตัวอ่อน *H. asinina* มีขีลเยียนขนาดยาวและสันบนเซลล์โพโรโทโรคัล ในขณะที่ตัวอ่อนของสปีชีส์อื่นพบเฉพาะขีลเยียนขนาดยาวเท่านั้น (3) ตัวอ่อน *H. sinina* ไม่มีท่ขีลเยียนที่ส่วนหัวในขณะที่ตัวอ่อนสปีชีส์อื่นมีท่ขีลเยียน ส่วนการเจริญของตัวอ่อนตั้งแต่ระยะโทรโคฟอร์จนถึงระยะที่มีการบิตตัวนั้นเหมือนกันทั้งใน *H. asinina*, *H. discus hannai*, *H. sieboldi*, *H. discus* และ *H. diversicolor supertexta* การเจริญของตัวอ่อนตั้งแต่ระยะที่มีการบิตตัวจนถึงเมแทมอร์โฟซิสนั้นมีความแตกต่างกัน เช่น ใน *H. asinina* และ *H. discus hannai* มีการสร้างเปลือกตัวอ่อนก่อนการบิตตัว (Seki and Kan-no, 1977) ส่วนใน *H. sieboldi* นั้น การบิตตัวเกิดขึ้นก่อนการสร้างเปลือกตัวอ่อน (Ino, 1952)

ตัวอ่อนของหอยเป่าชื่อเป็นแบบเลซิโทโทรฟิก (lecithotrophic) คือกินอาหารที่สะสมภายใน (Strathmann, 1985) ตัวอ่อนหอยเป่าชื่อว่ายน้ำรวดเร็วมากเป็นระยะสั้นๆ พฤติกรรมของตัวอ่อนหอยเป่าชื่อทุกสปีชีส์จะเหมือนกันรวมทั้ง *H. asinina* ด้วย (Ino, 1952; Yano and Ogawa, 1977; Seki and Kan-no, 1986; Ebert and Houk, 1984) ไข่ฟักออกมาเป็นตัวอ่อนโทรโคฟอร์ ว่ายน้ำขึ้นสู่น้ำซึ่งอาจจะเป็นเพราะเพื่อหลีกเลี่ยงศัตรูผู้ล่าที่อยู่ใต้น้ำ (Thorson, 1964; Mileikovsky, 1971; Crisp, 1974) จากนั้นก็พัฒนาเป็นตัวอ่อนเวลิจอร์ซึ่งว่ายน้ำลงมาใต้น้ำ (Thorson, 1964) ระยะการพัฒนาก่อนตัวอ่อนขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ซึ่งจะสั้นลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น (Ino, 1952; Leighton, 1972, 1974) ตัวอ่อนโทรโคฟอร์และเวลิจอร์ดำรงชีวิตแบบแพลงก์ตอนอยู่ที่ผิวน้ำ หลังจากนั้นตัวอ่อนเวลิจอร์จะเริ่มเปลี่ยนพฤติกรรมจากการล่องลอยเป็นการคลานอยู่บนพื้นใต้น้ำเมื่อมีการสร้างเอพิโพเดียมเทเคิล (ประมาณ 1 วันหลังการปฏิสนธิ) ระยะนี้เรียกเพดิเวลิจอร์ (pediveliger) ซึ่งใช้เวลาประมาณ 1-3 วัน ตัวอ่อนพยายามจะหาที่ลงเกาะ (Singhagraiwan and Doi, 1993) ตัวอ่อนเพดิเวลิจอร์มีโอโทลิท ขีลเยียนและกล้ามเนื้อที่แทรกเตอร์ในแมนเทิล และมีการสร้างท่อที่สืบบนเซฟาสิกเทนเทเคิลเมื่อตัวอ่อนพบพื้นที่เหมาะสมก็จะคลานอยู่ระยะหนึ่งและเริ่มติดตัวเองกับหินหรือซากปะการังโดยใช้สารเมือกจากแผ่นเท้า เรียกพฤติกรรมการลงเกาะ ตัวอ่อนที่ลงเกาะเริ่มกินไดอะตอม หลังการสร้างเปลือกและมีเมแทมอร์โฟซิสเป็นหอยวัยอ่อน เรียก แพลนทิเกรด (plantigrade juvenile) (Singhagraiwan and Doi, 1993) เมแทมอร์โฟซิสได้แก่การสลัดเวล์ม แมนเทิลเริ่มสร้างเปลือก ในวันที่สามของการลงเกาะมีการพัฒนาของปาก แรดูลา และอวัยวะในระบบทางเดินอาหาร ในวันที่สี่ของการลงเกาะเริ่มมีหัวใจและเหงือก ในวันที่ 8 ของการลงเกาะสร้างเอพิโพเดียมเทเคิลและตา ในวันที่ 9-24 เปลือกมี

ขนาดยาวขึ้นและจำนวนของเอพิโพเดียมและหิวบูลมีมากขึ้น
เปลือกเมื่อลูกหอยอายุได้ 24-30 วัน

จนกระทั่งมีการสร้างรูหายใจที่หนึ่งบน

3.3 การศึกษารูปร่างลักษณะเปลือกและชนิดของแร่ธาตุของลูกหอยเป่าชื่อด้วยกล้องจุลทรรศน์ อิเล็กตรอน (SEM)

3.3.1 การศึกษารูปร่างลักษณะเปลือกของลูกหอยเป่าชื่อ

วิธีทดลอง

นำลูกหอยเป่าชื่อ *H. asinina* อายุ 1-12 เดือนมาศึกษารูปร่างลักษณะเปลือกโดยวัดขนาดความยาวเปลือก จำนวนลูกหอยที่ศึกษาคือ 10 ตัวในแต่ละเดือน นำลูกหอยมาทำให้สลบด้วย 5% $MgCl_2$ และเกล็ดเมนทอล แยกส่วนเปลือกออก ทำความสะอาดผิวเปลือกด้วยฟู่กัน นำเปลือกหอยมาวางบน stub ทิ้งไว้ให้แห้งในโถดูดความชื้นประมาณ 1-2 สัปดาห์ เคลือบด้วยพลาสมาเคลือบ แล้วนำไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (SEM) ที่ 15 KV

ผลการทดลอง

ความยาวเปลือก ลูกหอยที่มีอายุ 1 เดือนมีความยาวเปลือกประมาณ 1-2 มม. ลูกหอยที่มีอายุ 2 เดือนมีความยาวเปลือกประมาณ 3-8 มม. ลูกหอยที่มีอายุ 3 เดือนมีความยาวเปลือกประมาณ 8-10 มม. ลูกหอยที่มีอายุ 4 เดือนมีความยาวเปลือกประมาณ 12-13 มม. ลูกหอยที่มีอายุ 5 เดือนมีความยาวเปลือกประมาณ 15-17 มม. ลูกหอยที่มีอายุ 6 เดือนมีความยาวเปลือกประมาณ 17-19 มม. ลูกหอยที่มีอายุ 7 เดือนมีความยาวเปลือกประมาณ 21-22 มม. ลูกหอยที่มีอายุ 8 เดือนมีความยาวเปลือกประมาณ 24-25 มม. ลูกหอยที่มีอายุ 9 เดือนมีความยาวเปลือกประมาณ 26-28 มม. ลูกหอยอายุ 10 เดือน มีความยาวเปลือกประมาณ 27-29 มม. ลูกหอยอายุ 11 เดือนมีความยาวเปลือกประมาณ 27-29 มม. ลูกหอยอายุ 12 เดือนมีความยาวเปลือกประมาณ 30-33 มม.

ลักษณะเปลือก เปลือกของลูกหอยประกอบด้วยสวดลายเปลือกส่วน embryonic shell เส้นการเติบโต (growth ring) ทั้งในแนวตั้งและแนวนอนและรูหายใจ (respiratory pore) ของ juvenile shell จากการศึกษพบว่าส่วนที่เหมือนกันของเปลือกหอยเป่าชื่อที่อายุต่างกันคือสวดลายของเปลือกส่วน embryonic shell สวดลายของเส้นการเติบโตในแนวนอนของ spire whorl ก่อนมีการสร้างรูหายใจของ juvenile shell ส่วน embryonic shell จะไม่เรียงมีลักษณะเป็นตุ่มที่มีสวดลายไม่แน่นอน เส้นการเติบโตในแนวนอนส่วนบนและส่วนกลางของ juvenile shell ที่บริเวณก่อนสร้างรูหายใจจะมีลักษณะเป็นเส้นหยัก ส่วนเส้นการเติบโตในแนวนอนส่วนล่างจะค่อนข้างเรียบและเป็นสันหนา ส่วนเส้นการเติบโตในแนวตั้งนั้นจะมีลักษณะเป็นเส้นบาง (รูปที่ 80-88) ลักษณะเปลือกที่ต่างกันของลูกหอยเป่าชื่ออายุระหว่าง 1-12 เดือนคือ จำนวนรูหายใจ ลูกหอยอายุ 1 เดือนจะมีรูหายใจเพียงรูเดียว (รูปที่ 80) ลูกหอยอายุประมาณ 2 เดือนสร้างรูหายใจขึ้นมาจำนวน 7 รู แต่รูหายใจที่ 1-4 จะปิดเหลือเพียงรูที่ 5-7 ที่ยังเปิดอยู่ (รูปที่ 81) เพื่อให้ส่วน epipodium ยื่นออกมาได้ ลูกหอยอายุ 3 เดือนจะมีรูหายใจจำนวน 10 รู แต่รูที่ 1-7 จะปิดไปเหลืออยู่อีกสามรูสุดท้ายคือรูที่

8-10 ยังเปิดอยู่ (รูปที่ 62) ลูกหอยอายุ 4 เดือนจะมีรูหายใจจำนวน 15 รู แต่รูที่ 1-11 จะปิดไป ส่วนรูที่ 12 ปิดไปครึ่งรู และรูหายใจที่ 13-15 ยังเปิดอยู่ (รูปที่ 63) ลูกหอยอายุ 5 เดือนจะมีรูหายใจ 18 รู รูหายใจที่ 1-14 จะปิดเหลือเพียงรูที่ 15-18 ที่ยังเปิดอยู่ (รูปที่ 64) ลูกหอยอายุ 6 เดือนจะมีรูหายใจ 19 รู รูหายใจที่ 1-15 เปิดอยู่ (รูปที่ 64) ลูกหอยอายุ 6 เดือนจะมีรูหายใจ 19 รู รูหายใจที่ 1-15 จะปิดเหลือเพียงรูที่ 16-19 ที่ยังเปิดอยู่ (รูปที่ 65) ลูกหอยอายุ 7 เดือนจะมีรูหายใจ 21 รู รูหายใจที่ 1-17 จะปิดเหลือเพียงรูที่ 18-21 ที่ยังเปิดอยู่ (รูปที่ 66) ลูกหอยอายุ 8 เดือนจะมีรูหายใจ 22 รู รูหายใจที่ 1-18 จะปิดเหลือเพียงรูที่ 19-22 ที่ยังเปิดอยู่ (รูปที่ 66) และลูกหอยอายุ 9 เดือนจะมีรูหายใจ 23 รู รูหายใจที่ 1-18 จะปิด ส่วนรูที่ 19 จะเปิดไปครึ่งรู และรูหายใจที่ 20-23 จะยังเปิดอยู่ (รูปที่ 67) ลักษณะของรูหายใจจะเป็นรูปร่างรี ขอบหนา ลักษณะขอบเป็นโดมเตี้ย (รูปที่ 60-68) ลูกหอยอายุ 10 เดือนจะมีรูหายใจ 23 รู รูหายใจที่ 1-19 จะปิด ส่วนรูที่ 20-23 จะเปิด (รูปที่ 68) ลูกหอยอายุ 11 เดือนจะมีรูหายใจ 23.5 รู รูหายใจที่ 1-19 จะปิด ส่วนรูที่ 20-23.5 จะเปิด (รูปที่ 68) ลูกหอยอายุ 12 เดือนจะมีรูหายใจ 24 รู รูหายใจที่ 1-20 จะปิด ส่วนรูหายใจที่ 21-24 จะเปิด (ตารางที่ 3) (รูปที่ 68)

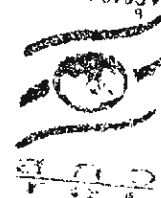
ตารางที่ 3 แสดงจำนวนรูหายใจในลูกหอยอายุ 1-12 เดือน

อายุ (เดือน)	จำนวนรูหายใจ	รูที่ปิด
1	1	-
2	7	รูที่ 1-4
3	10	รูที่ 1-7
4	15	รูที่ 1-11
5	18	รูที่ 1-14
6	19	รูที่ 1-15
7	21	รูที่ 1-17
8	22	รูที่ 1-18
9	23	รูที่ 1-19
10	23	รูที่ 1-19
11	23.5	รูที่ 1-19
12	24	รูที่ 1-20

3.3.2 การศึกษานิตของแร่ธาตุในเปลือกลูกหอยเป่าสีด้วยกล้องจุลทรรศน์ SEM

วิธีการทดลอง

ลูกหอยเป่าสีที่นำมาศึกษามีอายุ 1-12 เดือน จำนวนลูกหอยที่ศึกษาคือ 10 ตัวในแต่ละช่วงอายุ นำส่วนเปลือกของลูกหอยในแต่ละช่วงอายุมาทำความสะอาดด้วยฟู่กันแล้วล้างด้วยน้ำกลั่น



นำเปลือกหอยมาวางบน stub ที่มีเทปขาวสองหน้าติดอยู่โดยให้เปลือกด้านที่ต้องการจะศึกษาหงายขึ้น หิ้งไว้ให้แห้งในโถดูดความชื้นประมาณ 1-2 สัปดาห์ แล้วนำไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ Jeol JSM-6400 Scanning and Detector ของ EDX บริเวณเปลือกหอยในแต่ละช่วงอายุที่ศึกษาจะถูกแบ่งเป็น 3 บริเวณคือ ส่วนต้นหรือส่วนหน้า (บริเวณที่มี apex และบริเวณใกล้เคียง) ส่วนกลาง (บริเวณช่วงกลางของความยาวเปลือก) และส่วนปลายหรือส่วนท้าย (บริเวณท้ายเปลือก)

ผลการทดลอง

ชนิดของแร่ธาตุที่พบปริมาณมากบนเปลือกหอยอายุ 1-12 เดือน คือ ธาตุ C O และ Ca ดังแสดงในตารางที่ 4-8 ส่วนแร่ธาตุชนิดอื่นๆ ที่พบคือ Na, Cl, Al, Mg, Si, S เป็นต้น ในลูกหอยอายุ 1 เดือน ปริมาณ (%) ของ C ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายตามลำดับดังนี้ 21.17, 17.44, 16.85 ปริมาณ (%) ของ O ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายตามลำดับดังนี้ 60.33, 58.32, 58.33 ปริมาณ (%) ของ Ca ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายตามลำดับดังนี้ 17.58, 25.16, 23.85 ในลูกหอยอายุ 2 เดือน ปริมาณ (%) ของ C ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายตามลำดับดังนี้ 42.02, 34.68, 29.33 ปริมาณ (%) ของ O ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายตามลำดับดังนี้ 51.69, 58.48, 59.37 ปริมาณ (%) ของ Ca ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลาย ตามลำดับดังนี้ 5.57, 6.10, 10.57 ในลูกหอยอายุ 3 เดือน ปริมาณ (%) ของ C ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายตามลำดับดังนี้ 38.97, 46.62, 41.71 ปริมาณ (%) ของ O ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายตามลำดับ ดังนี้ 59.25, 50.12, 52.21 ปริมาณ (%) ของ Ca ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายตามลำดับดังนี้ 0.73, 1.58, 4.40 ในลูกหอยอายุ 4 เดือน ปริมาณ (%) ของ C ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายตามลำดับดังนี้ 37.12, 43.36, 39.34 ปริมาณ (%) ของ O ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายตามลำดับดังนี้ 61.37, 54.16, 56.20 ปริมาณ (%) ของ Ca ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายตามลำดับดังนี้ 0.43, 1.10, 2.58 ในลูกหอยอายุ 5 เดือน ปริมาณ (%) ของ C ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายตามลำดับดังนี้ 43.59, 49.23, 43.16 ปริมาณ (%) ของ O ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลาย ตามลำดับดังนี้ 55.91, 49.95, 52.41 ปริมาณ (%) ของ Ca ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายตามลำดับดังนี้ 0.03, 0.13, 3.89 ในลูกหอยอายุ 6 เดือน ปริมาณ (%) ของ C ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายตามลำดับดังนี้ 39.50, 42.80, 74.77 ปริมาณ (%) ของ O ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายตามลำดับดังนี้ 56.11, 55.25, 23.48 ปริมาณ (%) ของ Ca ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายตามลำดับดังนี้ 3.19, 1.37, 1.70 ในลูกหอยอายุ 7 เดือน ปริมาณ (%) ของ C ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายตามลำดับดังนี้ 21.97, 18.17, 22.16 ปริมาณ (%) ของ O ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายตามลำดับดังนี้ 58.64, 54.85, 48.55 ปริมาณ (%) ของ Ca ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายตามลำดับดังนี้ 18.51, 26.30, 28.85 ในลูกหอยอายุ 8 เดือน ปริมาณ (%) ของ C ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายตามลำดับดังนี้ 18.71, 22.40, 22.64 ปริมาณ (%) ของ O ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายตามลำดับดังนี้ 48.95, 55.58, 56.17

ปริมาณ (%) ของ Ca ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายตามลำดับดังนี้ 31.83, 21.29, 20.46 ในลูกหอยอายุ 9 เดือน ปริมาณ (%) ของ C ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายตามลำดับดังนี้ 21.20, 19.78, 22.78 ปริมาณ (%) ของ O ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายตามลำดับดังนี้ 80.35, 54.88, 55.96 ปริมาณ (%) ของ Ca ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลางและส่วนปลายตามลำดับดังนี้ 17.79, 24.82, 20.81 ค่าเฉลี่ยของ C ที่พบบนเปลือกหอยอายุ 6 เดือน จะมีค่าสูงสุด และค่าเฉลี่ยต่ำสุดพบที่เปลือกหอยอายุ 1 เดือน ค่าเฉลี่ยของ O ที่พบบนเปลือกหอยอายุ 1 เดือนจะมีค่าสูงสุด และค่าเฉลี่ยต่ำสุดพบที่เปลือกหอยอายุ 6 เดือน ส่วนค่าเฉลี่ยของ Ca ที่พบบนเปลือกหอยอายุประมาณ 7-8 เดือนจะมีค่าสูงสุดและค่าเฉลี่ยต่ำสุดพบที่เปลือกหอยอายุ 5 เดือน

ในลูกหอยอายุ 10 เดือน ปริมาณ (%) ของ C ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง ส่วนปลาย มีค่าตามลำดับดังนี้ 11.13, 40.44, 26.31 ปริมาณ (%) ของ O ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง ส่วนปลาย มีค่าตามลำดับดังนี้ 48.48, 58.02, 59.37 ปริมาณ (%) ของ Ca ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง ส่วนปลาย มีค่าตามลำดับดังนี้ 35.47, 0.88, 13.03 ในลูกหอยอายุ 11 เดือน ปริมาณ (%) ของ C ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง ส่วนปลาย มีค่าตามลำดับดังนี้ 29.56, 41.30, 12.76 ปริมาณ (%) ของ O ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง ส่วนปลาย มีค่าตามลำดับดังนี้ 60.39, 57.32, 45.39 ปริมาณ (%) ของ Ca ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง ส่วนปลาย มีค่าตามลำดับดังนี้ 7.72, 0.52, 39.93 ในลูกหอยอายุ 12 เดือน ปริมาณ (%) ของ C ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง ส่วนปลายมีค่าตามลำดับดังนี้ 36.09, 46.19, 41.80 ปริมาณ (%) ของ O ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง ส่วนปลาย มีค่าตามลำดับดังนี้ 55.75, 53.15, 53.80 ปริมาณ (%) ของ Ca ที่เปลือกส่วนต้น ส่วนกลาง ส่วนปลาย มีค่าตามลำดับดังนี้ 8.05, 0.14, 3.32

ตารางที่ 4 ตารางเปรียบเทียบแสดงปริมาณ (เป็น %) ของ C ที่บริเวณต่างๆ ของส่วนเปลือกลูกหอย
อายุ 1-12 เดือน

อายุ (เดือน)	ตำแหน่งของเปลือก			
	ส่วนต้น	ส่วนกลาง	ส่วนปลาย	ค่าเฉลี่ย
1	21.17	17.44	16.85	18.49
2	42.02	34.66	29.33	35.34
3	38.97	46.62	41.71	42.43
4	37.12	43.36	39.34	39.94
5	43.59	49.23	43.16	45.33
6	39.50	42.80	74.77	52.36
7	21.97	16.17	22.16	20.77
8	16.71	22.40	22.64	21.25
9	21.20	19.76	22.76	21.25
10	11.13	40.44	26.31	25.96
11	29.56	41.30	12.76	27.87
12	36.09	46.19	41.60	41.36

ตารางที่ 5 ตารางเปรียบเทียบแสดงปริมาณ (เป็น %) ของ O ที่บริเวณต่างๆ ของส่วนเปลือกลูกหอย
อายุ 1-12 เดือน

อายุ (เดือน)	ตำแหน่งของเปลือก			
	ส่วนต้น	ส่วนกลาง	ส่วนปลาย	ค่าเฉลี่ย
1	60.33	56.32	56.33	56.33
2	51.69	56.48	59.37	56.51
3	59.25	50.12	52.21	53.86
4	61.37	54.16	56.20	57.24
5	55.91	49.95	52.41	52.76
6	56.11	55.25	23.46	44.94
7	56.64	54.65	46.55	54.01
8	46.95	55.58	56.17	53.57
9	60.35	54.66	55.96	57.06
10	46.48	56.02	59.37	55.29
11	60.39	57.32	45.93	54.55
12	55.76	53.15	53.60	54.18

ตารางที่ 8 ตารางเปรียบเทียบแสดงปริมาณ (เป็น %) ของ Ca ที่บริเวณต่างๆ ของส่วนเปลือกลูกหอย อายุ 1-12 เดือน

อายุ (เดือน)	ตำแหน่งของเปลือก			
	ส่วนต้น	ส่วนกลาง	ส่วนปลาย	ค่าเฉลี่ย
1	17.58	25.16	23.85	22.19
2	5.57	6.10	10.57	7.41
3	0.73	1.58	4.40	2.24
4	0.43	1.10	2.58	1.37
5	0.03	0.13	3.89	1.28
6	3.19	1.37	1.70	2.09
7	18.51	26.30	26.85	24.49
8	31.83	21.29	20.46	24.53
9	17.79	24.62	20.81	21.01
10	35.47	0.68	13.03	16.39
11	7.72	0.52	39.83	16.02
12	6.05	0.14	3.32	3.17

สรุปผลการทดลอง

1. ธาตุ C - ลูกหอยอายุ 1-6 เดือนมีธาตุ C เพิ่มขึ้น (18.5 - 52.4%) เริ่มลดลงเมื่อลูกหอยมีอายุ 7-11 เดือน (20.8 - 27.9 %) และเพิ่มขึ้นในลูกหอยอายุ 12 เดือน (41.4%)
2. ธาตุ O - ลูกหอยอายุ 1-12 เดือนมีปริมาณธาตุ O ไม่แตกต่างกันมากนัก (53-58%) ยกเว้นในลูกหอยอายุ 6 เดือนที่มีปริมาณ O น้อยที่สุด (45%)
3. ธาตุ Ca - ลูกหอยอายุ 1,7,8 และ 9 เดือนมีปริมาณธาตุ Ca สูง (21-24%) ส่วนลูกหอยอายุ 2-6 เดือนมีปริมาณ Ca ค่อนข้างต่ำ (1-7%) ปริมาณ Ca นี้จะลดลงในลูกหอยอายุ 10-12 เดือน (3-16%)

สรุปผลการทดลอง

เปลือกของลูกหอยเป่าสี้ออายุ 1 เดือนประกอบด้วยสวดลายเปลือกตัวอ่อน และเปลือกตัวเต็มวัยที่มีเส้นการเติบโตทั้งในแนวตั้งและแนวนอน และรูหายใจ ส่วนเปลือกของลูกหอยอายุ 2-12 เดือนจะเป็นเปลือกตัวเต็มวัยเพียงอย่างเดียว ความยาวเปลือกเฉลี่ยของลูกหอยอายุ 1-12 เดือนคือ 1.5, 4.5, 9, 12.5, 16, 18, 21.5, 24.5, 27, 28, 28 และ 31.5 มม. ตามลำดับ เปลือกตัวอ่อนไม่เรียบมีลักษณะเป็นตุ่ม ส่วนเปลือกตัวเต็มวัยนั้นมีเส้นการเติบโตแนวนอนส่วนบนและส่วนกลางมีลักษณะเป็น

หัยัก ส่วนในแนวนอนส่วนล่างค่อนข้างเรียบและเป็นสันหนา เส้นการเติบโตแนวตั้งเป็นเส้นบาง ลักษณะที่แตกต่างกันของเปลือกของลูกหอยอายุต่างๆ กันคือ จำนวนรูหายใจที่เริ่มสร้างขึ้นในลูกหอย อายุ 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%)

บทวิจารณ์

เปลือกของตัวอ่อนหอยเป่าชื่อสร้างขึ้นโดยต่อมสร้างเปลือก (shell gland) ที่เป็นกลุ่มของเซลล์ในเอมบริโอ (Ino, 1952) ส่วนเปลือกของลูกหอยและหอยตัวเต็มวัยสร้างขึ้นโดยกลุ่มเซลล์ที่ผิวนอกของแมนเทิล ลักษณะของผิวเปลือกของ *H. asinina* มีความคล้ายคลึงกับผิวเปลือกหอยเป่าชื่อชนิดอื่น เช่น *H. tuberculata* (Crofts, 1929), *H. rufescens* (Bevelander, 1988) นั่นคือมีวงสไปร์ (spire whorl) ที่มีขนาดเล็กและมีวงลำตัว (body whorl) ใหญ่มากซึ่งมีรูเปิด (aperture) ขนาดใหญ่ ด้านบนของเปลือกมีลักษณะโค้งและมีรอยแตกของเส้นการเติบโต เส้นการเติบโตนี้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมในระหว่างการสร้างเปลือกของหอย (Sakai, 1980) เช่น การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ความสมบูรณ์ของอาหาร เป็นต้น สีของเปลือก *H. asinina* เป็นสีเขียวอมน้ำตาล Leighton and Boolootian (1983) รายงานว่าสีของเปลือกเปลี่ยนแปลงได้ขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารที่หอยกิน เพราะรงควัตถุที่ผิวเปลือกเป็นผลิตภัณฑ์ของของเสียจากเมแทบอลิซึม (Comfort, 1951)

ลักษณะที่เด่นของหอยเป่าชื่อ *Halotis* ทุกปีชีส์คือรูหายใจบนเปลือก ลูกหอยสร้างรูหายใจแรกเมื่อแมนเทิลแยกตัวออกจากส่วนเปลือกด้านหน้าเกิดเป็นร่องที่ให้กำเนิดรูหายใจบนเปลือก (Bevelander, 1988) ภายหลังจากที่ลูกหอยสร้างรูหายใจเพิ่มขึ้นเป็น 4-5 รู รูหายใจแรกจะปิดเนื่องจากรูหายใจเหล่านี้เป็นทางผ่านของน้ำและออกซิเจนไปสู่เหงือก เมื่อลูกหอยมีเปลือกยาวขึ้น รูหายใจแรกก็มีได้อยู่ตรงกับเหงือกอีกต่อไปจึงปิดลง จากการศึกษารูหายใจบนผิวเปลือกของ *H. asinina* พบว่ามีลักษณะใกล้เคียงกับที่พบใน *H. tuberculata* (Crofts, 1929) และ *H. rufescens* (Bevelander, 1988) คือ มีจำนวนเพิ่มขึ้นเมื่อลูกหอยมีอายุมากขึ้น แต่จะปิดลงเรื่อย ๆ จนเมื่อเติบโตเต็มที่จะมีรูหายใจเปิดเพียง 4-5 รูเท่านั้น

เปลือกของหอยเป่าชื่อวัยอ่อนประกอบด้วยแร่ธาตุแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) ซึ่งอยู่ในชั้นคอนคิโอไลน์ (conchiolin) (Bevelander and Nakahara, 1988; Nakahara and Bevelander, 1970) ส่วนเปลือกของหอยตัวเต็มวัยนั้นมี 3 ชั้นคือ (1) ชั้นเพริออสเทรคัม (periostracum) เป็นเยื่อหุ้มชั้นนอกประกอบด้วยสารอินทรีย์ (2) ชั้นปริสมาติก (prismatic) ซึ่งประกอบด้วยผลึกของแคลไซต์ (calcite) และอะราโกไนต์ (aragonite) ซึ่งก็คือผลึกของ CaCO_3 นั้นเอง และ (3) ชั้นเนครีเยส (nacreous) ซึ่งเป็นเปลือกชั้นใน

การศึกษาองค์ประกอบของแร่ธาตุในหอยเป่าอื้อยังมีน้อยมากโดยเฉพาะในลูกหอยวัยต่างๆ กัน ใน *H. asinina* เราพบว่าแร่ธาตุที่พบเป็นปริมาณมากคือ C, O และ Ca ซึ่งแท้ที่จริงแล้วคือ CaCO_3 นั่นเองซึ่งก็ตรงกับองค์ประกอบของเปลือกในหอยเป่าอื้อสปีชีส์อื่นๆ เช่น *H. rufescens* (Bevelander, 1988), *H. tuberculata* (Crofts, 1929), *H. iris* (Gray, 2000) และ *H. discus hannai* (He and Mai, 2000) ส่วนแร่ธาตุที่มีเป็นปริมาณน้อยคือ Na, Cl, Al, Mg, Si และ S Gray (2000) รายงานว่าเปลือกหอยเป่าอื้อ *H. iris* มีผลึกของ CaCO_3 2 แบบคือ แคลไซต์และอะราโกไนต์ ซึ่งมีสูตรเคมีเหมือนกันแต่แตกต่างกันที่รูปผลึกซึ่งทำให้สมบัติทางกายภาพและเคมีแตกต่างกัน ในประชากรหอยเป่าอื้อพบความแปรผันมากมายในปริมาณของผลึกทั้งสองชนิดนี้ ซึ่งอาจเกิดจากปัจจัยทางสภาวะแวดล้อม เช่น คลื่น อุณหภูมิ น้ำ และความเค็ม (Gray, 2000) He and Mai (2000) ศึกษาองค์ประกอบของแร่ธาตุในหอยเป่าอื้อ *H. discus hannai* ที่มีขนาดต่างๆ กัน (8, 14, 25 และ 55 มม) พบว่านอกจากเปลือกจะมีผลึกของแคลไซต์และอะราโกไนต์แล้วยังมีโดโลไมต์ ($\text{dolomite}, \text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$) อีกด้วย เปลือกขนาดเล็ก 8 มม. ไม่มีแคลไซต์ และจะเพิ่มขึ้นจาก 1.8-13.6% ในเปลือกขนาด 14-55 มม. ส่วนอะราโกไนต์จะลดลงจาก 95.3% เป็น 83.9% เมื่อเปลือกมีขนาดใหญ่มากขึ้น โดยทั่วไปเปลือกขนาด 8-25 มม. มีปริมาณ Mg, Mn และ Fe เพิ่มขึ้นในขณะที่ปริมาณของ Zn และ Cu ลดลง ส่วนปริมาณ Al และ Na นั้นเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเท่านั้น

3.4 การศึกษารูปร่างลักษณะของแร่ธาตุในลูกหอยเป่าอื้อ

วิธีการทดลอง

นำลูกหอยเป่าอื้ออายุ 1-12 เดือน จำนวน 10 ตัวในแต่ละช่วงอายุมาทำให้สลบด้วย 5% MgCl_2 และเกล็ดเมนทอลโดยใช้เวลาประมาณ 3-4 ชั่วโมง แกะเปลือกออก นำตัวหอยมาใส่ในจานผ่าตัดที่มี 0.6% NaCl ฉาบบริเวณส่วนหัวถึงเอาส่วน buccal mass ออกมาต้มในสารละลาย 10% NaOH ประมาณ 15 นาที นำแร่ดูลามาล้างด้วยน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง จัดวางส่วนแร่ดูลาบน stub ที่มีเทปกาวยสองหน้าติดอยู่โดยให้ด้านบนของแร่ดูลาหงายขึ้น นำแร่ดูลามาส่งในโถดูดความชื้นประมาณ 7-10 วัน เคลือบด้วยพลาเดียม แล้วนำไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (SEM) ที่ 15 KV

ผลการทดลอง

แร่ดูลาของลูกหอยเป่าอื้อมีลักษณะเป็นแถบยาว ในแต่ละแถววางประกอบด้วยซี่ฟันจำนวนมาก ลักษณะของซี่ฟันในแต่ละแถววางประกอบด้วยฟันกลาง (central tooth) จำนวน 1 ซี่ ฟันข้าง (lateral tooth) ที่ขนานอยู่ทางด้านซ้ายและขวาของฟันกลางข้างละ 5 ซี่ และฟันริม (marginal tooth) ที่อยู่ถัดจากฟันข้างทั้งทางซ้ายและขวาก้างละจำนวนมาก

ฟันกลาง ฟันกลางมีลักษณะกว้าง ล้นและปลายฟันมน ฐานฟันกลางจะกว้างและโค้งมนตรงกลาง (รูปที่ 72A, 73A, 74A) ขนาดของฐานฟันกลางจะใหญ่ขึ้นตามอายุของหอย หอยอายุ 1 เดือนมีฐานฟันกว้าง 35 ไมครอน (รูปที่ 69A) หอยอายุ 2 เดือนมีฐานฟันกว้าง 43 ไมครอน (รูปที่ 69D) หอยอายุ 3 เดือนมีฐานฟันกว้าง 70 ไมครอน (รูปที่ 70A) หอยอายุ 6 เดือนมีฐานฟันกว้าง 85 ไมครอน (รูปที่ 71A) หอยอายุ 7 เดือนมีฐานฟันกว้าง 98 ไมครอน หอยอายุ 8 เดือนมีฐาน

พินกว้าง 119 ไมครอน หอยอายุ 9 เดือนมีฐานพินกว้าง 123 ไมครอน หอยอายุ 10 เดือนมีฐานพินกว้าง 128 ไมครอน (รูปที่ 72A) หอยอายุ 11 เดือน 170 ไมครอน (รูปที่ 73A) และหอยอายุ 12 เดือน 180 ไมครอน (รูปที่ 74A)

พินข้าง พินข้างคู่ที่ 1 ที่อยู่ติดกับพินกลาง ลักษณะขี้นพินจะกว้าง สั้น และฐานพินกว้างคล้ายพินกลาง แต่ฐานพินตรงกลางไม่โค้งมน (รูปที่ 72B, 73B, 74B) พินข้างคู่ที่ 2 ลักษณะเป็นก้าน รูปร่างพินแคบและยาวและปลายพินโค้งมน พินข้างคู่ที่ 3-5 ลักษณะคล้ายกัน คือพินขี้นกลางมีขนาดใหญ่ และปลายแหลม ในหอยอายุ 1-3 เดือนด้านข้างซ้ายและขวาของขี้นพินขนาดใหญ่จะมีพินขนาดเล็กประมาณข้างละ 2-3 ขี้น (รูปที่ 69A,D; 70C) ส่วนในหอยอายุ 6 เดือนด้านข้างซ้ายและขวาของขี้นพินขนาดใหญ่จะมีพินขนาดเล็กประมาณข้างละ 1-2 ขี้น (รูปที่ 71C) ในหอยอายุ 1 เดือนพินขี้นกลางของพินข้างที่ 3-5 จะมีลักษณะยาวเรียว แต่เมื่ออายุมากขึ้นพินขี้นกลางของพินข้างที่ 3-5 จะกว้างและสั้นลง (รูปที่ 69A,D; 72C,71A,B,C) ในหอยอายุ 7-10 เดือนด้านข้างซ้ายและขวาของขี้นพินขนาดใหญ่จะมีพินขนาดเล็กประมาณข้างละ 2-3 ขี้น (รูปที่ 72C) ส่วนในหอยอายุ 11-12 เดือนด้านข้างซ้ายและขวาของขี้นพินขนาดใหญ่จะมีพินขนาดเล็กที่ลดขนาดลงประมาณข้างละ 1 ขี้นหรือไม่มีเลย (รูปที่ 73C,74C)

พินริม พินริมจะมีจำนวนมาก พินริมส่วนที่อยู่ถัดจากพินข้างที่ 5 จะมีจำนวนพินน้อยกว่าพินริมส่วนที่อยู่นอกสุด ลักษณะของพินริมจะเป็นก้านยาว ขี้นพินประกอบด้วยพินกลางขนาดใหญ่ พินกลางมีรูปร่างยาวเรียวและปลายมน พินริมบริเวณใกล้พินข้างจะมีพินขี้นเล็ก ๆ ข้างละ 2-3 ขี้นอยู่ข้างพินกลาง ส่วนพินริมบริเวณถัดออกไปจะมีพินขี้นเล็ก ๆ ข้างพินกลางเป็นจำนวนมาก (รูปที่ 69B,C; 70D; 71D)

เมื่ออายุของลูกหอยเพิ่มขึ้น พินริมก็จะมียาวมากขึ้น ก้านพินยาวเพิ่มขึ้น พินริมส่วนที่อยู่ถัดจากพินข้างขี้นที่ 5 ในลูกหอยอายุ 9-12 เดือนจะมีลักษณะโค้งมน และขนาดยาวขึ้น (รูปที่ 72D, 73D, 74D)

สรุปผลการทดลอง

แรดูลาของลูกหอยเป่าฮืออายุ 1-12 เดือนมีลักษณะเป็นแถบยาว ในแต่ละแถวขวางประกอบด้วยขี้นพินจำนวนมากซึ่งประกอบด้วยพินกลาง 1 ขี้น พินข้างที่ขนานอยู่สองข้างของพินกลางข้างละ 5 ขี้น และพินริมที่อยู่ถัดจากพินข้างทั้งขวาและซ้ายข้างละจำนวนมาก ในลูกหอยอายุ 1-2 เดือน พินกลางและพินข้างจะประกอบด้วยหลายยอด (multicuspoid) ในขณะที่ลูกหอยอายุ 3-12 เดือนมีพินกลางและพินข้างที่มียอดเดียว (unicuspoid) พินข้างคู่แรกมีรูปร่างเหมือนพินกลางแต่ฐานของพินไม่โค้ง พินข้างคู่ที่สองยาวและเรียวกว่า พินข้างคู่ที่สามคู่ที่สี่และคู่ที่ห้ามีรูปร่างเหมือนพินข้างคู่ที่สองแต่มีขอบที่เป็นพินตัด พินริมมีก้านและมีหลายยอด ลักษณะของแรดูลาที่แตกต่างกันของลูกหอยอายุ 1-12 เดือนคือ (1) ขนาดของฐานพินกลางที่เพิ่มขึ้น (35-180 ไมครอน) (2) ลักษณะพินข้างที่ยาวเรียวในลูกหอยวัยอ่อน (1-6 เดือน) และกว้างและสั้นขึ้นในหอยตัวเต็มวัย (7-12 เดือน) และ (3) พินริมที่มีขนาดใหญ่ขึ้นและมีจำนวนมากขึ้น

บทวิจารณ์

ลักษณะของพืชน้ำต่างๆ ในแตรดูลาที่มีความสำคัญเกี่ยวกับชนิดของอาหารที่หอยกินเพราะหอยเป่าอื้อใช้แตรดูลาในการขุดไถอะตอม และฉีกกัดสาหร่ายทะเลที่เป็นอาหาร *Halictis* มีแตรดูลาแบบที่เรียกว่าโรไฟโดกลอสซาน (Crofts, 1929; Fretter and Graham, 1962; Burch, 1962; Hickman, 1964; Herbert, 1990; Gregor, 1996; Chitramvong et al., 1998) *H. asinina* ก็มีแตรดูลาแบบโรไฟโดกลอสซานเหมือนกับ *H. ovina* (Chitramvong et al., 1998), *H. tuberculata* (Crofts, 1929), *H. rugosa* (Herbert, 1990), *H. rufescens* (Hickman, 1964) และ *H. unilateralis* (Geiger, 1996) ส่วนรายละเอียดของพืชน้ำต่างๆ นั้นมีความแตกต่างกันเล็กน้อยในหอยเป่าอื้อสปีชีส์ต่างๆ เช่น จำนวนของพืชน้ำ *H. asinina* มีพืชน้ำ 108-128 ซี่ ส่วน *H. ovina* มีพืชน้ำ 214-236 ซี่ (Chitramvong et al., 2000) Crofts (1929) และ Herbert (1990) ได้รายงานว่าใน *H. tuberculata* และ *H. rugosa* ก็มีจำนวนพืชน้ำมากมายเหมือนกัน

ในการเจริญเติบโตของลูกหอย *H. asinina* 1-12 เดือนนั้นแตรดูลา มีขนาดใหญ่ขึ้นและมีจำนวนพืชน้ำมากขึ้น ในลูกหอยอายุ 1-12 เดือน พืชน้ำกลางและพืชน้ำข้างมีหลายยอด ส่วนในลูกหอยอายุ 3-12 เดือนพืชน้ำกลางและพืชน้ำข้างมียอดเดียว ผลการศึกษานี้ตรงกับการศึกษาในหอยตัวเต็มวัย *H. asinina* และ *H. ovina* (Chitramvong et al., 2000), *H. tuberculata* (Crofts, 1929), *H. rufescens* และ *H. unilateralis* (Geiger 1996) ส่วนกลางของฐานพืชน้ำกลางนั้นมีรูปร่างแตกต่างกันคือมีลักษณะโค้งใน *H. asinina* และมีลักษณะเป็นตุ่มใน *H. ovina* (Chitramvong et al., 2000) ส่วนพืชน้ำข้างและพืชน้ำริมนั้นมีรูปร่างคล้ายกันในหอยเป่าอื้อทุกสปีชีส์ที่ศึกษา

ความแตกต่างของโครงสร้างของแตรดูลา และจำนวนพืชน้ำในแต่ละแถวขางนั้นอาจเป็นตัวบ่งชี้ถึงความสามารถของแตรดูลาในการรวบรวมและฉีกกัดอาหาร Mathews and Cook (1995) รายงานว่าหอยเป่าอื้อวัยอ่อน (*H. midae*) มักขุดกินไถอะตอมเป็นอาหารโดยใช้พืชน้ำของแตรดูลาในขณะที่หอยตัวเต็มวัยใช้แตรดูลาในการฉีกกัดสาหร่ายทะเลขนาดใหญ่ (Fallu, 1991) Crofts (1929) ให้ความเห็นว่าหอยเป่าอื้อใช้แตรดูลาที่มีพืชน้ำข้างที่แข็งแรงในการจับอาหาร ในขณะที่พืชน้ำริมที่มีจำนวนมากมีลักษณะโค้งมนและมียอดเป็นจำนวนมากเหมือนกันเลื่อนนั้นถูกใช้ในการกวาดอาหารเข้าไปในช่องปาก

3.5 การศึกษาอัตราการลงเกาะของลูกหอยเป่าอื้อ

3.5.1 การเพาะเลี้ยงไถอะตอมชนิดต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ

ก. การแยกชนิดของไถอะตอม

ทำการแยกไถอะตอมพวกที่เกาะพื้น (benthic diatom) จากน้ำทะเลโดยนำตัวอย่างน้ำที่มีไถอะตอมหลายชนิดปนอยู่หยดลงบนสไลด์ ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เมื่อพบชนิดที่ต้องการ ดูดเซลล์ไถอะตอมออกมาหยดลงบนสไลด์ที่มีหยดน้ำทะเลที่ผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้ว ทำซ้ำ 12 ครั้ง

ชุดเซลล์ 1 เซลล์ใส่ลงในหลอดแก้วที่มีอาหารเหลวสำหรับเพาะเลี้ยง (ตารางที่ 7 และ 8) จำนวน 1 เซลล์/หลอด นำไปเพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25°C ความเข้มแสง 1500 ลักซ์ ให้แสงสว่าง 12 ชั่วโมง ใช้เวลาประมาณ 3-8 สัปดาห์ (รูปที่ 76) หลังจากนั้นนำมาเพาะบนจานวุ้นโดยวิธี streaking method และเลี้ยงภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ใช้เวลาประมาณ 2-4 สัปดาห์ (รูปที่ 77)

ตารางที่ 7 สูตรอาหารเลี้ยงดื้อต่อของ Conway (Stein, 1973)

สาร	ปริมาณสารในอาหาร 1 ลิตร (มก./ล)	สารละลายเข้มข้น สต็อก (Stock)	ปริมาตรที่ใช้ต่อ อาหาร 1 ลิตร (มล./ล)
ธาตุอาหารหลัก (Macronutrient)		กรัม/1,000 มล. ($\times 10^3$)	
โพแทสเซียมไนเตรด (KNO_3)	100.0	100.0	1 มล.
ไดโซเดียมอีดีทีเอ ($\text{Na}_2 \text{EDTA}$)	45.0	45.0	
กรดบอริก (H_3BO_3)	33.6	33.6	
โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	20.0	20.0	
เฟอร์ริกคลอไรด์ ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	1.3	1.3	
แมงกานีสคลอไรด์ ($\text{Mn Cl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	0.36	0.36	
ธาตุอาหารรอง (Micronutrient)		มก./1,000 มล. ($\times 10^3$)	
ซิงค์คลอไรด์ (ZnCl_2)	0.021	21.0 (21.0 กรัม)	1 มล. ***
คอปเปอร์ (II) ซัลเฟต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	0.02	20.0 (20.0 กรัม)	
แอมโมเนียมโมลิบเดต ($(\text{NH}_4)_6 \text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	0.009	9.0 (9.0 กรัม)	
โคบอลต์คลอไรด์ ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	0.02	20.0 (20.0 กรัม)	
วิตามิน (Vitamin)	(ไมโครกรัม/ลิตร)	มก./ 100 มล. ($\times 10^4$)	100 ไมโครลิตร
ไทอะมีน (Thiamine-HCl (B_1))	200.0	200.0	
ไซยาโนโคบาลามิน [Cyanocobalamin (B_{12})]	10.0	10.0	
สำหรับเพาะเลี้ยงดื้อต่อ		กรัม/1,000 มล. ($\times 10^3$)	
โซเดียมซิลิเกต (Na_2SiO_3)	15.0	15.0	1 มล.

pH 6.5 – 6.8

*** อาจเตรียม $\times 10^5$ คือตัวเลขในวงเล็บโดยเติม 1 มล. ลงในสต็อกของธาตุอาหารหลัก 1,000 มล.

เวลาใช้ธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารจะรวมอยู่ในสต็อกขวดเดียวกัน ปริมาตรที่ใช้ 1 มล. ต่อลิตร

ตารางที่ 8 สูตรอาหารเลี้ยงไตอะตอมของ Guillard (1975)

สาร	ปริมาณสารใน อาหาร 1 ลิตร (มก./ล)	สารละลายเข้มข้น สต็อก (Stock)	ปริมาตรที่ใช้ต่อ อาหาร 1 ลิตร (มล./ล)
ธาตุอาหารหลัก (Macronutrient)		กรัม/1,000 มล. ($\times 10^3$)	
โซเดียมไนเตรด (NaNO_3)	75.0	75.0	1 มล.
โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	5.0	5.0	1 มล.
ธาตุอาหารรอง (Micronutrient)		มก./1,000 มล. ($\times 10^3$)	
ไดโซเดียมเอทิลีนไดอะไมน์เททราอะซิเตต ($\text{Na}_2\text{-EDTA}$)	4.36	4.36	
เฟอร์ริกคลอไรด์ ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	3.15	3.15	
คอปเปอร์ (II) ซัลเฟต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	0.01\1	0.01	
ซิงค์ซัลเฟต ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.022	0.022	1 มล.
โคบอลต์คลอไรด์ ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	0.01	0.01	
แมงกานีสคลอไรด์ ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	0.18	0.18	
โซเดียมโมลิบเดต ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0.006	0.006	
วิตามิน (Vitamin)	(ไมโครกรัม/ลิตร)	มก./ 200 มล. ($\times 10^4$)	
ไทอะมิน (Thiamine-HCl (B_1))	100.0	200.0	100 ไมโครลิตร
ไซยาโนโคบาลามิน (Cyanocobalamin (B_{12}))	0.5	1.0	
ไบโอติน (Biotin)	0.5	1.0	
สำหรับเพาะเลี้ยงไตอะตอม		กรัม/1,000 มล. ($\times 10^3$)	
โซเดียมซิลิเกต (Na_2SiO_3)	15.0	15.0	1 มล.

pH 7.8

ข. การขยายพันธุ์ไดอะตอม

นำน้ำที่ผ่านการกรองแล้วมาปรับความเค็มให้ได้ 28-30 ส่วนในพันส่วน นำมาต้มที่อุณหภูมิ 70-80 °ซ นาน 20-30 นาที นำมาใส่ในขวดพลาสติกที่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้ว (รูปที่ 78) หรือในโหลแก้วที่มีความจุ 10 ลิตร (รูปที่ 79) โดยการเติมสารละลายมีเดียที่ไต้สมแล้ว (ตารางที่ 7 และ 8) เติมหิวเชื้อไดอะตอม โดยตรวจนับเซลล์หรือสังเกตจากสี จำนวนเซลล์ที่พอเหมาะคือ 5×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ให้อากาศตลอดเวลา ระยะเวลาการให้แสง 12 ชั่วโมง ประมาณ 4-5 วัน สามารถนำหิวเชื้อไดอะตอมมาขยายต่อได้

ค. ชนิดของไดอะตอม

ได้ทำการแยกไดอะตอมไว้ 5 ชนิดได้แก่ (รูปที่ 81)

1. *Navicula* sp. 1 (ขนาด 8 x 3 ไมครอน) (รูปที่ 81A)
2. *Navicula* sp. 2 (ขนาด 13 x 8 ไมครอน) (รูปที่ 81B)
3. *Navicula* sp. 3 (ขนาด 18 x 3 ไมครอน) (รูปที่ 81C)
4. *Navicula* sp. 4 (ขนาด 38 x 3 ไมครอน) (รูปที่ 81D)
5. *Nitzschia* sp. (ขนาด 38 x 12 ไมครอน) (รูปที่ 81E)

ง. การขยายพันธุ์ไดอะตอมชนิดต่าง ๆ ในระดับมหมวล

เมื่อสามารถขยายไดอะตอมได้ปริมาณมากเพียงพอที่จะนำไปขยายต่อให้ได้ขนาดมหมวล เตรียมถังไฟเบอร์ขนาด 500 ลิตร ที่มีแผ่นล่อไดอะตอม ทำการขยายไดอะตอมในถังเพาะ (รูปที่ 80) โดยใช้ปุ๋ยสูตรซาโต (Sato) และเซริกาวา (Serikawa) ปุ๋ยยูเรีย และปุ๋ย N:P:K 16:16:0 สำหรับปุ๋ยยูเรียและปุ๋ย N:P:K ให้เติมขลิเกดเสริมในความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อดูประสิทธิภาพในการเกาะแผ่นล่อ ซึ่งจะได้นำไปทดลองเลี้ยงหอยเป่าอีกต่อไป (รูปที่ 75)

สูตรอาหารของซาโตและเซริกาวา (Stein, 1973)

โปแตสเซียมไนเตรต (KNO_3)	100.0	กรัม
ไดโซเดียมไฮโดรเจนออร์โธฟอสเฟต ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	10.0	กรัม
โซเดียมเมตาซิลิเกต 9 - ไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$)	5.0	กรัม
เฟอร์ริกคลอไรด์ (FeCl_3)	2.5	กรัม
น้ำทะเล	1	ตัน

วิธีเตรียมอาหาร

ในการเตรียมอาหารเพื่อขยายพันธุ์ไดอะตอมปริมาณมาก ๆ นั้นไม่จำเป็นต้องใส่สารเฟอร์ริกคลอไรด์เนื่องจากน้ำทะเลมีสารประกอบเหล็กมากเพียงพอแล้ว เวลาเตรียมอาหารให้ชั่งเกลือไนเตรต และไดโซเดียมไฮโดรเจนออร์โธฟอสเฟตละลายในน้ำจืดสักเล็กน้อย เวลาจะใช้ให้สาธการลงในถังขยายพันธุ์ ส่วนเกลือโซเดียมเมตาซิลิเกตนั้นควรละลายน้ำแยกต่างหาก ค่อย ๆ เกลงในถัง

บริเวณที่มีฟองอากาศพุ่งขึ้นมาเพื่อช่วยให้โซเดียมเมตาซิลิเกตกระจายไปทั่วถึงขยายพันธุ์ในขณะที่เทเกลือลงไปจะเกิดตะกอนปูนขาว

3.5.2 การเหนี่ยวนำให้เกิดการลงเกาะโดยใช้ไดอะตอมและ GABA

3.5.2.1 ไดอะตอมชนิดต่างๆ

ทำการทดสอบเรื่องการเหนี่ยวนำให้เกิดการลงเกาะของตัวอ่อนหอยเป่าชื่อ โดยใช้ตัวอ่อนที่มีอายุประมาณ 2 วัน (44-48 ชั่วโมง) ปัจจัยที่ใช้ในการเหนี่ยวนำคือไดอะตอม 5 ชนิดที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการจากการแยกเชื้อที่บริสุทธิ์ ไดอะตอมเหล่านี้ได้แก่

1. *Navicula* sp. 1 (ขนาด 8x8 ไมครอน)
2. *Navicula* sp. 2 (ขนาด 13x8 ไมครอน)
3. *Navicula* sp. 3 (ขนาด 18x8 ไมครอน)
4. *Navicula* sp. 4 (ขนาด 38x8 ไมครอน)
5. *Nitzschia* sp. (ขนาด 38x12 ไมครอน)

วิธีการทดลอง

ทำการดูดตัวอ่อนหอยเป่าชื่อที่มีอายุประมาณ 2 วัน มาใส่ในโถแก้วขนาดความจุ 800 มิลลิลิตรที่มีน้ำสะอาด 200 มิลลิลิตรเป็นจำนวน 100 ตัวต่อโถแก้ว หยดไดอะตอม (5 มิลลิลิตร) แต่ละชนิดลงไปในแต่ละโถแก้วที่มีตัวอ่อนหอย ตัวอ่อนในโถแก้วที่ไม่มีไดอะตอมคือกลุ่มควบคุม ปิดฝาโถแก้ว (รูปที่ 82) ใช้ตัวอ่อนหอยเป่าชื่อทั้งหมด 800 ตัวต่อการทดลองหนึ่งชุด ทำการทดลองซ้ำสามชุด ภายในเวลา 1-2 วันพบว่ามีการเกาะของไดอะตอมตามผนังของโถแก้ว ทำการถ่ายน้ำดูดตัวอ่อนที่ตายหรือเปลือกออก บันทึกจำนวนตัวอ่อนที่มีการเปลี่ยนแปลงระยะต่างๆ ทุกวันโดยใช้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอซุม การทดลองกระทำที่อุณหภูมิประมาณ 25-28°C ระยะเวลาของการทดลอง 13 วัน

ผลการทดลอง

ก. อัตราการรอดของตัวอ่อนหอยเป่าชื่อในวันแรกที่เริ่มลงสู่พื้นหรืออายุ 2 วันหลังการปฏิสนธิ

เมื่อตัวอ่อนมีอายุ 2-4 วันหลังการปฏิสนธิพบว่าหลังจากพัฒนาจนถึงระยะที่ 42 ตัวอ่อนมีพฤติกรรมลงพื้นและพฤติกรรมว่ายน้ำและคืบคลานสลับกันเป็นระยะ ๆ (รูปที่ 83) เมื่อเติมไดอะตอมซึ่งเป็นอาหารลงไปในทุกชุดการทดลองพบว่าตัวอ่อนบางตัวมีพฤติกรรมหยุดกินไดอะตอมบนพื้น อัตราการรอดของตัวอ่อนในวันแรกที่เริ่มลงสู่พื้นนี้ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 9)

ข. อัตราการรอดของตัวอ่อนเป่าชื่อที่เริ่มต้นมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง หรืออายุ 6 วันหลังการปฏิสนธิ

เมื่อตัวอ่อนอายุ 6 วันหลังการปฏิสนธิพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงขนาดของเปลือก และส่วนใหญ่มีพฤติกรรมหยุดนิ่ง บางตัวไม่มีเวลล์เหลืออยู่ (รูปที่ 84) สำหรับตัวอ่อนในชุดควบคุม

คุมที่ไม่ได้ใส่ไดอะตอมตายหมดเมื่ออายุ 6 วันหลังการปฏิสนธิ และอัตราการรอดของตัวอ่อนในวันที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างนี้ พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยแบ่งเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มที่มีอัตราการรอดสูงสุด ได้แก่ *Navicula* sp.2 (13.50%) *Navicula* sp. 4 (12.00%) *Navicula* sp.1 (11.00%) รองลงมาคือ *Nitzschia* sp. (7.75%) อัตราการรอดต่ำที่สุด *Navicula* sp.3 (3.25%) (ตารางที่ 9)

ค. อัตราการรอดของตัวอ่อนหอยเป่าอื้อหลังจากที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างวันแรก หรืออายุ 7 วันหลังการปฏิสนธิ

เมื่อตัวอ่อนมีอายุ 7 วันหลังการปฏิสนธิพบว่าอัตราการตายสูง และตัวอ่อนที่เหลือจะมีพฤติกรรมการคืบคลานและการขุดกินอาหาร และบางตัวเริ่มมีการสร้างเปลือก (รูปที่ 84) อัตราการรอดของตัวอ่อนระยะนี้พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยอัตราการรอดแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีอัตราการรอดสูงสุด ได้แก่ *Navicula* sp.4 (1.75%), *Navicula* sp.1 (1.25%) รองลงมาคือ *Nitzschia* sp. (1.00%) อัตราการรอดต่ำที่สุด *Navicula* sp. 3 (0.25%) (ตารางที่ 9)

ง. อัตราการรอดของตัวอ่อนหอยเป่าอื้อเมื่อสิ้นสุดการทดลองหรืออายุ 13 วันหลังการปฏิสนธิ

เมื่อตัวอ่อนมีอายุ 13 วันหลังการปฏิสนธิพบว่ามีการสร้างเปลือกก่อนที่มีขนาดใหญ่ขึ้น (รูปที่ 85) ตัวอ่อนที่เลี้ยงด้วย *Navicula* sp. 3 และ *Nitzschia* sp. ตายหมด (ตารางที่ 9) ส่วนขุดทดลองที่ยังคงมีตัวอ่อนอยู่ พบว่าตัวอ่อนที่เลี้ยงด้วย *Navicula* sp.4 มีขนาดใหญ่กว่าตัวอ่อนที่เลี้ยงด้วย *Navicula* sp.1

ตารางที่ 9 แสดงอัตราการรอดหลังการปฏิสนธิของตัวอ่อนเป่าอื้อ *H. asinina*

ชนิดไดอะตอม	อัตราการรอดหลังการปฏิสนธิ (% การรอด $\pm$ SE)			
	อายุ 2 วัน	อายุ 6 วัน	อายุ 7 วัน	อายุ 13 วัน
Control	92.00 $\pm$ 2.20 ^a	0	0	0
<i>Navicula</i> sp. 1	94.25 $\pm$ 0.25 ^a	11.00 $\pm$ 0.95 ^a	1.25 $\pm$ 0.48 ^a	0.25 $\pm$ 0.25 ^a
<i>Navicula</i> sp. 2	91.50 $\pm$ 1.93 ^a	13.50 $\pm$ 0.95 ^a	0	0
<i>Navicula</i> sp.3	90.50 $\pm$ 21.04 ^a	3.25 $\pm$ 0.85 ^a	0.25 $\pm$ 0.25 ^b	0
<i>Navicula</i> sp.4	94.25 $\pm$ 10.79 ^a	12.00 $\pm$ 1.22 ^a	1.75 $\pm$ 0.48 ^a	0.25 $\pm$ 0.25 ^a
<i>Nitzschia</i> spp.	89.75 $\pm$ 0.63 ^a	7.75 $\pm$ 2.75 ^b	1.00 $\pm$ 0.71 ^b	0

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันตามแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ

3.5.2.2 GABA

วิธีการทดลอง

ทำการทดลองเรื่องการเหนี่ยวนำให้เกิดการลงเกาะของตัวอ่อนหอยเป่าชื่อ โดยใช้สาร GABA (Gamma aminobutyric acid) ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน คือ กลุ่มควบคุม น้ำทะเล, 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} และ 10^{-3} ตัวอ่อนหอยเป่าชื่อที่ทดลองมีอายุประมาณ 2 วัน (44-48 ชั่วโมง)

ทำการดูดตัวอ่อนหอยเป่าชื่อมาใส่ในโถแก้วขนาดความจุ 800 มิลลิลิตรที่มีน้ำทะเลและสารละลาย GABA 200 มิลลิลิตร เป็นจำนวน 100 ตัวต่อโถแก้ว ทำการนับจำนวนตัวอ่อนหอยเป่าชื่อเมื่อครบ 48 ชั่วโมง โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

ผลการทดลอง

ผลการทดลองสรุปได้ว่า GABA ที่ความเข้มข้น 10^{-5} ให้เปอร์เซ็นต์การลงเกาะสูงสุด (73.5) (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 เปอร์เซ็นต์การลงเกาะและการตายของตัวอ่อนหอยเป่าชื่อ *H. asinina*

ความเข้มข้นของ GABA (M)	เปอร์เซ็นต์การลงเกาะ	เปอร์เซ็นต์การตาย	เปอร์เซ็นต์การว่ายน้ำ
0	47.0 ± 1.8	53.0 ± 3.2	0
10^{-6}	73.5 ± 7.8	23.0 ± 9.2	3.5 ± 1.7
10^{-5}	51.4 ± 10.9	46.1 ± 11.4	2.5 ± 0.8
10^{-4}	50.2 ± 7.9	47.3 ± 8.5	2.5 ± 2.2
10^{-3}	12.8 ± 9.5	87.2 ± 9.5	0

3.5.2.3 การศึกษารูปร่างลักษณะเปลือกของตัวอ่อนหอยเป่าชื่อที่ลงเกาะด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (SEM)

วิธีการทดลอง

นำตัวอ่อนหอยเป่าชื่อที่ลงเกาะอายุประมาณ 12-14 วันมาศึกษารูปร่างลักษณะเปลือกโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน SEM ทำความสะอาดผิวเปลือก วางบน stub และหึงไว้ให้แห้งในโถดูดความชื้นประมาณ 1-2 สัปดาห์ เคลือบด้วยพลาสมาเตรียม นำไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (SEM) ที่ 15 KV

ผลการทดลอง

รูปที่ 8B แสดงลักษณะเปลือกตัวอ่อนหอยเป่าอื้อ (อายุประมาณ 12-14 วัน) ที่เลี้ยงด้วยไดอะตอมชนิดต่างๆ ได้แก่ *Navicula* (รูปที่ 8BA, 8BB, 8BC) และ *Nitzschia* (รูปที่ 8B D) ตัวอ่อนที่เลี้ยงด้วย *Navicula* มีการสร้างเปลือกอ่อน (juvenile shell) ที่สมบูรณ์กว่าตัวอ่อนที่เลี้ยงด้วย *Nitzschia* ตัวอ่อนหอยเป่าอื้อมีการสร้างเปลือก 2 ชนิดคือ เปลือกตัวอ่อน (embryonic shell) และเปลือกอ่อน (juvenile shell) นิวเปลือกตัวอ่อนมักมีลักษณะเรียบ (รูปที่ 8BA, 8BB) ส่วนนิวเปลือกอ่อนจะมีลวดลายของเส้นการเติบโตทั้งในแนวนอนและแนวตั้ง (รูปที่ 8BC)

3.5.2.4 การศึกษาอัตราการรอดและอัตราการเติบโตของลูกหอย (ระยะหลังลงเกาะ) ที่เลี้ยงด้วยไดอะตอมชนิดต่างๆ

วิธีการทดลอง

นำลูกหอยเป่าอื้อระยะหลังลงเกาะ (ความยาวเปลือกประมาณ 0.1 มม.) ซึ่งมีอายุประมาณ 7-8 วันมาทดลองเลี้ยงด้วยไดอะตอมชนิดต่างๆที่ให้ผลดีจากการทดลองในหัวข้อ 3.5.2.1 ได้แก่ *Navicula* sp.2 และ *Navicula* sp.4 โดยมีกลุ่มควบคุมคือ ลูกหอยที่เลี้ยงด้วย *Nitzschia* sp. โดยใส่ลูกหอยประมาณ 80,000 ตัวลงในอ่างไฟเบอร์ขนาดใหญ่ที่มีแผ่นล่อที่อาบด้วยไดอะตอมแต่ละชนิด ใช้ระบบน้ำไหลผ่านตลอดเวลา (flow-through system) ทำการทดลองสามซ้ำ ไม่มีการให้อาหารอย่างอื่นหรือไดอะตอมเพิ่มเป็นระยะเวลา 1 เดือน ซึ่งในระยะนี้จะมองเห็นลูกหอยขนาดเล็กเกาะอยู่ตามแผ่นล่อ สุ่มตัวอย่างลูกหอยประมาณ 50 ตัวมาวัดขนาด (ความกว้างและความยาว) ทุกสองสัปดาห์เป็นเวลา 114 วัน ส่วนน้ำหนักของลูกหอยนั้นไม่สามารถชั่งได้จนลูกหอยอายุได้ประมาณ 3 เดือน จึงได้ทำการชั่งน้ำหนักทุกสัปดาห์จนครบ 114 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองนับจำนวนลูกหอยที่รอดในการทดลองต่างๆ และคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์หรืออัตราการรอด

จากผลการทดลอง (ตารางที่ 11,12,13) พบว่าลูกหอยเป่าอื้อที่เลี้ยงด้วย *Nitzschia* sp. (กลุ่มควบคุม) และที่เลี้ยงด้วย *Navicula* sp.2 มีความกว้างและความยาวใกล้เคียงกันโดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) คือลูกหอยที่เลี้ยงด้วย *Nitzschia* sp. มีความกว้าง 5.89 มม. และยาว 9.86 มม. ในขณะที่ลูกหอยที่เลี้ยงด้วย *Navicula* sp. 4 มีความกว้าง 5.82 มม. และยาว 9.08 มม. ส่วนลูกหอยที่เลี้ยงด้วย *Navicula* sp.4 นั้นมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) (กว้าง 3.66 มม.และยาว 5.91 มม) สำหรับการทดลองเรื่องน้ำหนักนั้นพบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในทั้งสามกลุ่มการทดลอง ($P \geq 0.05$) คือ *Nitzschia* sp. 0.18 กรัม *Navicula* sp.2 0.11 กรัม และ *Navicula* sp.4 0.09 กรัม

ตารางที่ 11 แสดงความกว้างของเปลือกลูกหอยเป่ายี่ห้อที่เลี้ยงด้วยไดอะตอมชนิดต่างๆ เป็นเวลา 114 วัน

ชนิดไดอะตอม	ความกว้าง (ชม.) (mean $\pm$ S.D.)							
	วันที่ 0	วันที่ 30	วันที่ 44	วันที่ 58	วันที่ 72	วันที่ 86	วันที่ 100	วันที่ 114
<i>Nitzschia</i>	0.10 $\pm$ 0.09	0.21 $\pm$ 0.03	0.45 $\pm$ 0.06	0.68 $\pm$ 0.10	1.15 $\pm$ 0.24	5.07 $\pm$ 0.92	6.72 $\pm$ 0.85	5.89 $\pm$ 1.85
<i>Navicula</i> sp. 2	0.10 $\pm$ 0.05	0.17 $\pm$ 0.02	0.50 $\pm$ 0.05	0.65 $\pm$ 0.08	0.93 $\pm$ 0.20	4.33 $\pm$ 0.81	4.90 $\pm$ 0.80	5.62 $\pm$ 1.80
<i>Navicula</i> sp. 4	0.10 $\pm$ 0.02	0.24 $\pm$ 0.04	0.43 $\pm$ 0.06	0.68 $\pm$ 0.07	0.78 $\pm$ 0.11	3.25 $\pm$ 1.39	4.36 $\pm$ 0.36	3.66 $\pm$ 2.74

ตารางที่ 12 แสดงความยาวของเปลือกลูกหอยเป่ายี่ห้อที่เลี้ยงด้วยไดอะตอมชนิดต่างๆ เป็นเวลา 114 วัน

ชนิดไดอะตอม	ความยาว (ชม.) (mean $\pm$ S.D.)							
	วันที่ 0	วันที่ 30	วันที่ 44	วันที่ 58	วันที่ 72	วันที่ 86	วันที่ 100	วันที่ 114
<i>Nitzschia</i>	0.10 $\pm$ 0.02	0.25 $\pm$ 0.04	0.55 $\pm$ 0.10	0.92 $\pm$ 0.10	1.63 $\pm$ 0.34	7.82 $\pm$ 1.573	6.72 $\pm$ 0.85	9.86 $\pm$ 3.312
<i>Navicula</i> sp. 2	0.10 $\pm$ 0.04	0.21 $\pm$ 0.11	0.63 $\pm$ 0.10	0.88 $\pm$ 0.12	1.25 $\pm$ 0.30	6.30 $\pm$ 1.26	4.70 $\pm$ 2.16	9.06 $\pm$ 3.30
<i>Navicula</i> sp. 4	0.10 $\pm$ 0.12	0.27 $\pm$ 0.04	0.50 $\pm$ 0.09	0.91 $\pm$ 0.12	1.15 $\pm$ 0.21	3.25 $\pm$ 1.39	10.86 $\pm$ 1.68	5.91 $\pm$ 4.72

ตารางที่ 13 แสดงน้ำหนักของลูกหอยเป่าอื้อที่เลี้ยงด้วยไดอะตอมชนิดต่างๆ เป็นเวลา 114 วัน

ชนิดไดอะตอม	น้ำหนัก (กรัม)							
	(mean $\pm$ S.D.)							
	วันที่ 0	วันที่ 30	วันที่ 44	วันที่ 58	วันที่ 72	วันที่ 88	วันที่ 100	วันที่ 114
<i>Nitzschia</i>	0	0	0	0	0	0.06 $\pm$ 0.03	0.17 $\pm$ 0.07	0.18 $\pm$ 0.09
<i>Navicula</i> sp.2	0	0	0	0	0	0.08 $\pm$ 0.13	0.09 $\pm$ 0.03	0.11 $\pm$ 0.08
<i>Navicula</i> sp.4	0	0	0	0	0	0.02 $\pm$ 0.02	0.03 $\pm$ 0.01	0.09 $\pm$ 0.12

ตารางที่ 14 แสดงอัตราการรอดและอัตราการเติบโตของลูกหอยเป่าอื้อที่เลี้ยงด้วยไดอะตอมชนิดต่างๆ เป็นเวลา 114 วัน

ชนิดไดอะตอม	อัตราการรอด (%)	ความยาวเปลือก (ขม.)		น้ำหนัก (กรัม)		อัตราการเติบโต	
		เริ่มต้น	สิ้นสุด	เริ่มต้น	สิ้นสุด	ความยาวเปลือก (ไมครอน/วัน)	น้ำหนัก (มก./วัน)
<i>Nitzschia</i> sp.	0.21	0.10 $\pm$ 0.02	9.86 $\pm$ 3.31	0	0.18 $\pm$ 0.09	85.61	1.58
<i>Navicula</i> sp.2	0.58	0.10 $\pm$ 0.05	9.08 $\pm$ 3.30	0	0.11 $\pm$ 0.08	78.60	0.98
<i>Navicula</i> sp.4	0.78	0.10 $\pm$ 0.02	5.91 $\pm$ 4.72	0	0.09 $\pm$ 0.12	50.96	0.79

เมื่อทำการคำนวณหาอัตราการเติบโตคิดเป็นการเพิ่มความยาวเปลือก (ไมครอน/วัน) และการเพิ่มน้ำหนัก (มก./วัน) พบว่าลูกหอยที่เลี้ยงด้วย *Nitzschia* sp. มีอัตราการเติบโตดีที่สุด (ความยาวเปลือก 85.61 ไมครอน/วัน และน้ำหนัก 1.58 มก./วัน) รองลงมาคือ *Navicula* sp.2 (ความยาวเปลือก 78.60 ไมครอน/วัน และน้ำหนัก 0.98 มก./วัน) สำหรับอัตราการรอดนั้นปรากฏว่า *Navicula* sp.4 ให้ผลดีที่สุด (0.78%) (ตารางที่ 14)

สรุปผลการทดลอง

การทดลองเรื่องการเหนี่ยวนำให้เกิดการลงเกาะโดยใช้ไดอะตอม 5 ชนิด คือ *Navicula* sp.1, sp.2, sp.3, sp.4 และ *Nitzschia* sp. และ GABA พบว่าตัวอ่อนหอยเป่าอื้อเริ่มลงเกาะเมื่ออายุ 2 วันหลังการปฏิสนธิ อัตราการรอดของตัวอ่อนที่ให้ไดอะตอมชนิดต่างๆ และกลุ่มควบคุม (น้ำสะอาด) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \geq 0.05$) (90-94%) ส่วนอัตราการรอดของตัวอ่อนอายุ 8 วันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) โดยตัวอ่อนที่เลี้ยงด้วย *Navicula* sp.2 มีอัตราการรอดสูงสุด (13.5%) ใน

ตัวอ่อนอายุ 7 วัน มีอัตราการรอดสูงสุดเมื่อเลี้ยงด้วย *Navicula* sp.4 (1.75%) ส่วนผลการทดลองการเหนี่ยวนำโดยใช้ GABA อย่างเดียวนั้นพบว่า GABA ที่ความเข้มข้น 10^{-6} ให้เปอร์เซ็นต์การลงเกาะ (หรืออัตราการรอด) สูงสุด (73.5%)

การทดลองเรื่องอัตราการเติบโตและอัตราการรอดของลูกหอยเป่าอี้อะระยะหลังลงเกาะ (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 (0.78%)

บทวิจารณ์

การที่ตัวอ่อนหอยเป่าอี้อลงเกาะนั้นอาจเกิดจากการชักนำของไดอะตอมชนิดต่างๆ แบคทีเรีย สารเคมี หรือสารเมือกของหอยเป่าอี้อเองก็ได้ (Morse and Morse, 1984) แต่อย่างไรก็ตามบางครั้งไดอะตอมก็อาจไม่มีผลต่อการชักนำการลงเกาะของตัวอ่อนเป่าอี้อดังเช่นการศึกษาของ Daume et al. (1998) ที่พบว่าไดอะตอม และสาหร่ายสีแดงไม่มีผลต่อการชักนำการลงเกาะของตัวอ่อนหอยเป่าอี้อ *H. rubra* แต่มีผลต่อการชักนำการลงเกาะของตัวอ่อนหอยเป่าอี้อ *H. laevigata* เช่นเดียวกับการศึกษาในครั้งนี้พบว่า ไดอะตอมทั้งห้าชนิดที่ใช้ในการทดลองไม่มีผลต่อการชักนำการลงเกาะของตัวอ่อนหอยเป่าอี้อ *H. asinina* ดังนั้นการตอบสนองต่อปัจจัยที่จะชักนำการลงเกาะของตัวอ่อนหอยเป่าอี้อส่วนหนึ่งจะขึ้นอยู่กับชนิดของหอยเป่าอี้อ

Seki และ Kan-no (1981) ได้ทำการศึกษาการเจริญพัฒนาของตัวอ่อนหอยเป่าอี้อ *H. discus* และรายงานว่า หลังจากตัวอ่อนเจริญพัฒนาจนถึงระยะลงเกาะจะไม่มีการกินอาหาร หลังจากลงเกาะจะเริ่มต้นมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเข้าสู่วัยอ่อนทันที แต่ในการศึกษานี้พบว่าตัวอ่อนเป่าอี้อ *H. asinina* หลังจากลงสู่พื้นจะยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเข้าสู่ระยะหลังวัยอ่อนทันที แต่จะมีพฤติกรรมการดูดกินอาหารอย่างต่อเนื่อง โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงขนาดของเปลือกแต่จะมีการเจริญพัฒนาของเทเคิลคู่หน้ามากขึ้น โดยพบว่าเทเคิลคู่หน้ามีจำนวนท่อเล็ก ๆ มากขึ้นและความยาวเพิ่มขึ้น ดังนั้นอาหารสะสมก่อนจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอ่อนหอยเป่าอี้อ *H. asinina* น่าจะมาจากไดอะตอมที่ลูกหอยดูดกินเป็นอาหารก่อนมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง และยังมีผลต่ออัตราการรอดของตัวอ่อนหอยเป่าอี้อ *H. asinina* หลังจากที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง ส่วนตัวอ่อนหอยเป่าอี้อ *H. discus* ในระหว่างการเปลี่ยนแปลงรูปร่างน่าจะได้อาหารสะสมจากไข่แดงเป็นส่วนใหญ่

คุณค่าทางโภชนาการของอาหารจะมีผลต่อการเจริญ และอัตราการรอดของสัตว์น้ำต่างๆ รวมทั้งหอยเป่าอี้อ (Streffens, 1989) อัตราการเจริญของตัวอ่อนหอยเป่าอี้อระยะ post - larvae จะให้ผลดีขึ้นขึ้นอยู่กับคุณภาพและคุณสมบัติของอาหารที่ใช้ในการเลี้ยง (Tomohiko et al., 1998) ซึ่งในการทดลองครั้งนี้พบว่าไดอะตอมทั้งห้าชนิดมีผลต่ออัตราการรอดของตัวอ่อนหอยเป่าอี้อ *H. asinina* หรือจากเปลี่ยนรูปร่างเข้าสู่ระยะหลังวัยอ่อนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่อย่างไรก็ตามอัตราการรอดของตัวอ่อนหอยเป่าอี้อ *H. asinina* หลังการเปลี่ยนแปลงรูปร่างค่อนข้างต่ำ สาเหตุหนึ่งอาจเนื่องมา

จากในระหว่างที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง ตัวอ่อนจะเกาะนิ่งอยู่กับที่ ทำให้ความสามารถในการป้องกันตัวเองน้อย จึงมีโอกาสที่จะถูกรบกวนจากโปรโตซัวทำให้อ่อนแอ และมีอัตราการตายสูงได้เช่นกัน

จากผลการทดลองที่ความเข้มข้น GABA 10^{-6} M เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดใน การทดลองชักนำการลงเกาะของตัวอ่อนหอยเป่าอื้อ โดยสามารถชักนำการลงเกาะได้ร้อยละ 74 แต่ถ้าให้ GABA ความเข้มข้นสูงก็เกิดการเป็นพิษต่อตัวอ่อนได้ พฤติกรรมการลงเกาะของตัวอ่อนหอย เป่าอื้อ *H. asinina* จะเริ่มคืบคลานเมื่อเวลาออกจากไข่ได้รับการผสมแล้ว 26 ชั่วโมง ตัวอ่อนมีระยะ คืบคลาน 2 วัน เพราะฉะนั้นการใช้ GABA ก็มีส่วนช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการลงเกาะและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างได้เร็วขึ้นดังรายงานของ Baloun and Morse (1984) พบเปอร์เซ็นต์การลงเกาะของตัว อ่อน *H. rufescens* ที่ใช้ GABA ความเข้มข้น 4×10^{-7} M โดยใช้เวลา 40 ชั่วโมง เท่ากับ 40-80 เปอร์เซ็นต์ การลงเกาะและเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอ่อนหอยเป่าอื้อ ถูกชักนำโดย GABA สอด คล้องกับรายงานของ Bryan and Qian (1998) พบว่า GABA ที่ความเข้มข้น 10^{-3} M และ 10^{-4} M ไม่เป็นพิษต่อตัวอ่อน เพราะว่าหลังลงเกาะตัวอ่อนมีเปอร์เซ็นต์การตายน้อยกว่าชุดควบคุม

จากรายงานของ Morse et al. (1979) ทดลองชักนำการลงเกาะของตัวอ่อนหอยเป่าอื้อ (*H. rufescens*) โดยสาร GABA ในสภาพที่ปลอดสารชักนำจะไม่มีกรลงเกาะเลย หากเติมสาร GABA ความเข้มข้น 10^{-3} M ตัวอ่อนจะลงเกาะหมด 100 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 7 นาที ที่ความเข้มข้น 10^{-6} M การลงเกาะจะช้าลง แต่พบว่าเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการชักนำการลงเกาะ

ในการทดลองนี้ตัวอ่อนหอยเป่าอื้อวัยอ่อนลงเกาะได้ไม่ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ดังรายงาน ของ Morse et al. (1979) เพราะว่าหอยเป่าอื้อที่ทดลองเป็นคนละชนิดกัน และกระทำในสภาพแวดล้อม ที่แตกต่างกัน และในแต่ละการทดลองมีเปอร์เซ็นต์การตายที่สูงเพราะว่าเมื่อใช้ GABA ในปริมาณความ เข้มข้นที่สูงจะเกิดการเป็นพิษต่อตัวอ่อนทำให้ตายได้ และชุดที่ไม่ได้ใส่ GABA ก็มีเปอร์เซ็นต์การตายที่ สูงในสภาพธรรมชาติ จากการศึกษาโครงสร้างทางเคมี พบว่าสารชักนำจะประกอบด้วย carboxyl groups เป็นหมู่สำคัญ การเพิ่มหรือลดความยาวของโครงสร้างสารคล้าย GABA จะทำให้ประสิทธิ ภาพของสารนั้นต่อการชักนำการลงเกาะของตัวอ่อนหอยเป่าอื้อลดลงตามลำดับ จากการตรวจสอบ สารสกัดจากสาหร่ายสีแดงที่มีหินปูนเป็นองค์ประกอบ (crustose red algae) พบว่ามีสาร GABA ใน ปริมาณความเข้มข้นสูง โดยฟอร์มพันธะโควาเลนต์กับโปรตีน

อาหารและการเติบโตของหอยเป่าอื้อเป็นปัจจัยที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงหอยเป่าอื้อเชิง พาณิชย์ หอยเป่าอื้อโดยเฉพาะในเขตอบอุ่นมีอัตราการเติบโตประมาณ 2-3 ซม./ปี (ตารางที่ 15) ดังนั้นจึงต้องใช้เวลาประมาณ 2-5 ปีกว่าจะนำออกสู่ตลาด (7.5-10 ซม) ประสิทธิภาพการแลกเปลี่ยน อาหาร (FCE, food conversion efficiency) อาจเป็น 5-10% จนถึง 15% (Kikuchi et al., 1987)

ไดอะตอมเป็นอาหารหลักของลูกหอยเป่าอื้อตั้งแต่ระยะลงเกาะจนถึงระยะที่มีความยาว เปลือกประมาณ 7-8 มม. ซึ่งจะเปลี่ยนอาหารเป็นสาหร่ายขนาดใหญ่ การเพาะเลี้ยงส่วนใหญ่มักใช้ไดอะตอมที่มีอยู่ในธรรมชาติ *Navicula* และ *Nitzschia* เป็นไดอะตอมที่นิยมใช้ในการเลี้ยงลูกหอย เป่าอื้อเพราะมีอยู่ทั่วไป และลูกหอยเจริญเติบโตเร็ว (ตารางที่ 16) ซึ่งมีอัตราการเติบโตที่สูงกว่าได

อะตอมสปีชีส์อื่นๆ เมื่อเลี้ยงชนิดเดียว อัตราการเติบโตของลูกหอยจะเร็วขึ้นเมื่อเลี้ยงด้วยไดอะตอมสองชนิดขึ้นไป (ตารางที่ 1B)

สำหรับลูกหอยเป้าฮื้อ *H. asinina* ที่เลี้ยงด้วย *Nitzschia* sp. และ *Navicula* 2 สปีชีส์ นั้นพบว่ามีอัตราการเติบโตช้ากว่าลูกหอยเป้าฮื้อ *H. discus hannai* คือ *H. asinina* มีการเพิ่มความยาวเปลือก 85.81 ไมครอน/วันเมื่อเลี้ยงด้วย *Nitzschia* ในขณะที่ *H. discus hannai* มีการเพิ่มความยาวเปลือก 220-221 ไมครอน/วัน และ *H. asinina* มีการเพิ่มความยาวเปลือก 78.80 ไมครอน/วัน เมื่อเลี้ยงด้วย *Navicula* sp.2 ในขณะที่ *H. discus hannai* มีการเพิ่มความยาวเปลือก 200 ไมครอน/วัน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะลูกหอยสองชนิดนี้เริ่มต้นที่ความยาวเปลือกต่างกัน คือ *H. asinina* ที่ 0.10 ซม. ในขณะที่ *H. discus hannai* ที่ 1 ซม. ซึ่งในระยษนี้อาจเป็นระยะที่มีอัตราการเติบโตเร็วกว่า ส่วนการทดลองของ Daume et al.(2000) ที่เลี้ยงลูกหอย *H. rubra* ด้วยไดอะตอมชนิดต่างๆ นั้นพบว่า ลูกหอยที่เลี้ยงด้วย *Navicula* sp. ได้อัตราการเติบโตดีที่สุดโดยคิดเป็นการเพิ่มความยาวเปลือก 99 ± 4 ไมครอน/วัน ซึ่งนับว่าน้อยกว่า *H. asinina* ที่เลี้ยงด้วย *Nitzschia* sp. และ *Navicula* sp. 2 แสดงว่า *H. rubra* มีอัตราการเติบโตช้ากว่า *H. asinina* มาก

ตารางที่ 15 แสดงอัตราการเติบโตโดยเฉลี่ยของหอยเป่าอีชนิดต่างๆ

สปีชีส์	อัตราการเติบโต (ชม/ปี)	เอกสารอ้างอิง
<i>H. corrugata</i>	2.5	Barge <i>et al.</i> , 1975
<i>H. cracherodii</i>	3.0	Leighton & Boolootian, 1963
<i>H. discus hannai</i>	2.4	Kawamura <i>et al.</i> , 1970
	3.6	Momma, 1984
<i>H. diversicolor supertexta</i>	2.5	Oba <i>et al.</i> , 1968
	4.3	Peon, 1980
<i>H. fulgens</i>	2.5	Barge <i>et al.</i> , 1975
<i>H. iris</i>	2.0	Poore, 1973
<i>H. kamtschatkana</i>	2.0	Quayle, 1971
	1.5	Norman-Boudreau, 1965
	1.3	Caldwell, 1981
	2.0	Olsen, 1983
<i>H. laevigata</i>	4.5	Shepherd & Hearn, 1963
<i>H. lamellosa</i>	2.6	Forster, 1967
<i>H. midae</i>	2.7	Newman, 1966
<i>H. rufescens</i>	2.4	Ebert & Houk, 1984
	2.5	Hooker & Morse, 1983
<i>H. tuberculata</i>	1.6	Clavier & Richard, 1986
<i>H. asinina</i>	1.8	Forster, 1967

ตารางที่ 18 แสดงอัตราการเติบโตของลูกหอยเป่าฮือ (10 มม) *H. discus hannai* ที่เลี้ยงด้วยไดอะตอมชนิดเดียวและสองชนิดที่อุณหภูมิ 20°C

สปีชีส์ของไดอะตอม	อัตราการเติบโต (ไมครอน/วัน)	เอกสารอ้างอิง
<i>Navicula britanica</i>	200	Uki & Kikuchi, 1979
<i>N. ulvacea</i>	200	"
<i>Nitzschia divergens</i>	221	"
<i>N. pseudohybrida</i>	220	"
<i>Platymonias</i> sp.	23	"
<i>Prasimocaldus marinas</i>	126	"
<i>Nitzschia divergens</i> and <i>Navicula agnita</i>	270	Uki et al., 1986
<i>N. divergens</i> and <i>Amphora</i> sp.	260	"

3.6 การศึกษาอัตราการเติบโตและอัตราการรอดของลูกหอยเป่าฮือวัยอ่อนโดยให้อาหารชนิดต่างๆ

3.6.1 การทดลองเบื้องต้นในระบบปิด

วิธีการทดลอง

นำลูกหอยเป่าฮือ *H. asinina* ขนาดความยาวเปลือก 0.5-0.8 ซม. (รูปที่ 87) มาทำการทดลองในอ่างเลี้ยงขนาดความจุประมาณ 30 ลิตร ที่มีระบบน้ำไหลเวียนแบบปิด (รูปที่ 89,90) จำนวนลูกหอยที่ใช้ในการทดลองแต่ละสูตรอาหารคือ 30 ตัว (ตารางที่ 17) โดยทำการทดลองซ้ำสามครั้งให้อาหารวันละครั้งเวลาเย็น ปริมาณอาหารที่ให้ประมาณร้อยละ 5-10 ของน้ำหนักตัว เก็บอาหารตอนเช้า ชั่งน้ำหนักอาหารที่ให้และน้ำหนักอาหารที่เหลือทุกวัน วัดความเค็ม อุณหภูมิ และความเป็นกรด-ด่างทุกวัน กลุ่มควบคุมให้อาหารสาหร่ายสีแดง (รูปที่ 88)

ตารางที่ 17 สูตรอาหารสำหรับลูกหอยเปาชื่อ *H. asinina* ที่มีแหล่งโปรตีนต่าง ๆ กัน

ส่วนผสม	เปอร์เซ็นต์			
	เคซีน	ปลาป่น	กากถั่วเหลือง	รำละเอียด
เคซีน	25	-	-	-
ปลาป่น	-	39	-	-
กากถั่วเหลือง	-	-	68	-
รำละเอียด	-	-	-	68
เชลลูโลส	21.5	14.5	0	0
น้ำสาหร่าย	150	150	150	150
เด็กซ์ทรีน	21.5	14.5	9	0
วิตามิน	5	5	5	5
แร่ธาตุ	5	5	5	5
น้ำมันตับปลา	2.5	2.5	2.5	2.5
น้ำมันพืช	2.5	2.5	2.5	2.5
โซเดียมแอลจีเนต	16	16	16	16
แคลเซียมคลอไรด์	1	1	1	1
รวม	100	100	100	100

* น้ำสาหร่าย = สาหร่าย *Acanthophora* 150 กรัม + น้ำกลั่น 100 มล.

วิธีการเตรียมอาหาร นำส่วนผสมทั้งหมดยกเว้นน้ำมันและโซเดียมแอลจีเนตผสมให้เข้ากัน เติมน้ำมันพืชและน้ำมันตับปลาลงในสารอาหาร ผสมให้เข้ากัน นำโซเดียมแอลจีเนตใส่น้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร ต้มให้ละลายที่อุณหภูมิ 70-80°C เมื่อละลายแล้วลงในสารอาหารส่วนแรกจนวัดให้เข้ากัน คลึงให้เป็นแผ่นแบนหนาประมาณ 3-5 มิลลิเมตร เมื่ออาหารเย็นแล้วตัดออกเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาด 1.5 x 1.5 เซนติเมตร (กว้าง x ยาว) เก็บแช่ตู้เย็นไว้

การทดลองครั้งนี้เป็นการทดลองเบื้องต้นเพียง 2 สัปดาห์ เนื่องจากต้องการทดลองเปรียบเทียบระหว่างระบบน้ำหมุนเวียนแบบปิด (closed flow - through system) และระบบน้ำนิ่ง (static system)

การให้อาหารให้อาหารวันละ 1 ครั้ง ในเวลาประมาณ 16.00 น. และเก็บอาหารออกในตอนเช้า เวลาประมาณ 8.30 น.

การเปลี่ยนน้ำ ในระบบน้ำนิ่งจะทำการเปลี่ยนน้ำ 100 เปอร์เซ็นต์ทุกวันหลังจากเก็บอาหารออก ในระบบน้ำหมุนเวียนแบบปิดจะทำการเปลี่ยนน้ำ 50 เปอร์เซ็นต์ทุกวันหลังจากเก็บอาหารออก

ผลการทดลอง

ผลการทดลองพบว่าในระบบน้ำนิ่ง น้ำในถังลูกหอยจะขุ่นเนื่องจากอาหารบางส่วนละลายลงไปและมีการถ่ายน้ำน้อย ส่วนลูกหอยมีลักษณะไม่แข็งแรงโดยไม่ยึดเกาะกับวัสดุ ส่วนในระบบน้ำหมุนเวียนแบบปิดน้ำจะมีความขุ่นที่มาจากอาหารน้อยกว่า และลูกหอยมีลักษณะแข็งแรงกว่า

ในระยะสองสัปดาห์พบว่าลูกหอยทุกกลุ่มการทดลองมีน้ำหนักลดลงยกเว้นกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 18) แต่อย่างไรก็ตามในชุดทดลองที่เป็นอาหารปลาพบว่ามีลูกหอยบางตัวมีความยาวเปลือกเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 18 อัตราการเจริญเติบโตของลูกหอยเป่าอื้อเมื่อให้สูตรอาหารสำเร็จรูปที่มีชนิดโปรตีนต่างกัน

ชนิดโปรตีนในอาหารสำเร็จรูป	น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น ($\pm$ S.D.)	น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย ($\pm$ S.D.)	อัตราการเติบโต ($\pm$ S.D.)
กากถั่วเหลือง	13.06 $\pm$ 1.04	11.95 $\pm$ 0.47	-1.11 $\pm$ 1.49
รำ	12.20 $\pm$ 2.22	11.01 $\pm$ 1.75	-1.18 $\pm$ 0.49
ปลาป่น	14.54 $\pm$ 1.33	12.53 $\pm$ 0.51	-2.00 $\pm$ 1.43
เคซีน	11.82 $\pm$ 2.12	9.94 $\pm$ 0.99	-1.88 $\pm$ 1.17
สำหรับ (กลุ่มควบคุม)	12.04 $\pm$ 2.07	13.33 $\pm$ 2.31	$\pm$ 0.24

3.8.1 การทดลองอาหารสำเร็จรูปสูตรต่างๆ

วิธีการทดลอง

นำลูกหอยเป่าอื้อ *H. asinina* ขนาดความยาวเปลือก 0.54 – 0.56 ซม. และความกว้างเปลือก 0.33-0.35 ซม. มาทำการทดลองในอ่างเลี้ยงขนาดความจุประมาณ 30 ลิตรที่มีระบบน้ำไหลเวียนแบบปิดโดยให้อาหารสำเร็จรูปที่มีชนิดของโปรตีนแตกต่างกัน คือ เคซีน ปลาป่น กากถั่วเหลือง รำละเอียด (ตารางที่ 17) ปริมาณของโปรตีนในอาหารสำเร็จรูปร้อยละ 30 จำนวนลูกหอยที่ใช้ในการทดลองแต่ละสูตรอาหารคือ 30 ตัว ทำการทดลองสามซ้ำ ให้อาหารวันละครั้งเวลาเย็น ปริมาณอาหารที่ให้ประมาณร้อยละ 5-10 ของน้ำหนัก เก็บอาหารตอนเช้า ชั่งน้ำหนักอาหารที่ให้ และน้ำหนักอาหารที่เหลือทุกวัน วัดความเค็ม อุณหภูมิ และความเป็นกรด-ด่างทุกวัน กลุ่มควบคุมให้อาหารเป็นสาหร่ายสีแดง (*Acanthophora* sp.) ทดลองเป็นเวลา 90 วัน ทำการชั่งน้ำหนัก วัดขนาด (ความยาวและความกว้างของเปลือก) และนับจำนวนลูกหอยทุก 14 วัน

ผลการทดลอง

ตารางที่ 19 แสดงความกว้างเปลือกลูกหอยเป่าอื้อที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่มีโปรตีนต่างชนิดกันเป็นเวลา 90 วัน

ชนิดโปรตีน	ความกว้างเปลือก (ซม.)				
	(mean $\pm$ S.D.)				
	วันที่ 0	วันที่ 14	วันที่ 30	วันที่ 60	วันที่ 90
<i>Acanthophora</i>	0.34 $\pm$ 0.05	0.35 $\pm$ 0.05	0.41 $\pm$ 0.08	0.64 $\pm$ 0.13	0.80 $\pm$ 0.14
กากถั่วเหลือง	0.36 $\pm$ 0.05	0.45 $\pm$ 0.06	0.45 $\pm$ 0.09	0.61 $\pm$ 0.09	0.70 $\pm$ 0.11
รำละเอียด	0.34 $\pm$ 0.05	0.38 $\pm$ 0.06	0.40 $\pm$ 0.10	0.53 $\pm$ 0.07	0.60 $\pm$ 0.10
ปลาป่น	0.35 $\pm$ 0.05	0.45 $\pm$ 0.06	0.40 $\pm$ 0.08	0.60 $\pm$ 0.08	0.70 $\pm$ 0.12
เคซีน	0.33 $\pm$ 0.05	0.46 $\pm$ 0.06	0.46 $\pm$ 0.13	0.67 $\pm$ 0.11	0.81 $\pm$ 0.12

ตารางที่ 20 แสดงความยาวเปลือกลูกหอยเป่าอื้อที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่มีโปรตีนต่างชนิดกันเป็นเวลา 90 วัน

ชนิดโปรตีน	ความยาวเปลือก (ซม.)				
	(mean $\pm$ S.D.)				
	วันที่ 0	วันที่ 14	วันที่ 30	วันที่ 60	วันที่ 90
<i>Acanthophora</i>	0.54 $\pm$ 0.05	0.67 $\pm$ 0.08	0.77 $\pm$ 0.16	1.07 $\pm$ 0.20	1.40 $\pm$ 0.28
กากถั่วเหลือง	0.56 $\pm$ 0.05	0.75 $\pm$ 0.07	0.86 $\pm$ 0.17	1.04 $\pm$ 0.14	1.17 $\pm$ 0.19
รำละเอียด	0.54 $\pm$ 0.05	0.67 $\pm$ 0.07	0.80 $\pm$ 0.20	0.86 $\pm$ 0.13	0.98 $\pm$ 0.18
ปลาป่น	0.55 $\pm$ 0.05	0.75 $\pm$ 0.10	0.82 $\pm$ 0.16	1.00 $\pm$ 0.13	1.18 $\pm$ 0.20
เคซีน	0.53 $\pm$ 0.05	0.76 $\pm$ 0.07	0.95 $\pm$ 0.23	1.14 $\pm$ 0.16	1.37 $\pm$ 0.21

ตารางที่ 21 แสดงน้ำหนักลูกหอยเป่าที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่มีโปรตีนต่างชนิดกันเป็นเวลา 90 วัน

ชนิดโปรตีน	น้ำหนัก (กรัม)				
	(mean $\pm$ S.D.)				
	วันที่ 0	วันที่ 14	วันที่ 30	วันที่ 60	วันที่ 90
<i>Acanthophora</i>	0.04 $\pm$ 0.01	0.07 $\pm$ 0.02	0.11 $\pm$ 0.04	0.26 $\pm$ 0.11	0.63 $\pm$ 0.29
กากถั่วเหลือง	0.05 $\pm$ 0.01	0.10 $\pm$ 0.02	0.14 $\pm$ 0.05	0.24 $\pm$ 0.09	0.35 $\pm$ 0.17
รำละเอียด	0.04 $\pm$ 0.01	0.08 $\pm$ 0.02	0.12 $\pm$ 0.04	0.15 $\pm$ 0.05	0.19 $\pm$ 0.08
ปลาป่น	0.05 $\pm$ 0.01	0.09 $\pm$ 0.03	0.12 $\pm$ 0.05	0.22 $\pm$ 0.09	0.33 $\pm$ 0.17
เคซีน	0.05 $\pm$ 0.01	0.10 $\pm$ 0.02	0.15 $\pm$ 0.05	0.33 $\pm$ 0.14	0.81 $\pm$ 0.12

ตารางที่ 22 แสดงอัตราการรอดของลูกหอยเป่าที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่มีโปรตีนต่างชนิดกันเป็นเวลา 90 วัน

ชนิดโปรตีน	อัตราการรอด (%)				
	วันที่ 0	วันที่ 14	วันที่ 30	วันที่ 60	วันที่ 90
<i>Acanthophora</i>	100.0	98.89	95.56	87.78	83.33
กากถั่วเหลือง	100.0	100.0	95.0	88.33	83.33
รำละเอียด	100.0	94.44	88.89	83.33	77.78
ปลาป่น	100.0	95.56	93.33	80.0	70.0
เคซีน	100.0	97.78	90.0	81.11	80.0

จากผลการทดลองพบสรุปได้ว่าลูกหอยเป่าที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่มีเคซีนมีความกว้างเปลือกสูงสุด (0.81 ซม.) โดยใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม (0.80 มม.) และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) จากกลุ่มที่เลี้ยงด้วยกากถั่วเหลือง (0.70 ซม.) รำละเอียด (0.60 ซม.) และปลาป่น (0.70 ซม.) (ตารางที่ 19) สำหรับความยาวเปลือกนั้นให้ผลใกล้เคียงกัน คือ ลูกหอยที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่มีเคซีนมีความยาวเปลือกใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมโดยไม่มี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (1.37 และ 1.40 ซม.) แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) จากกลุ่มที่เลี้ยงด้วยกากถั่วเหลือง (1.17 ซม.) รำละเอียด (0.98 ซม.) และปลาป่น (1.18 ซม.) (ตารางที่ 20) ส่วนผลของน้ำหนักลูกหอยที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารต่างๆ พบว่า ลูกหอยที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่มีเคซีนมีน้ำหนักมากที่สุด (0.81 กรัม) และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) กับกลุ่มควบคุม (0.63 กรัม) กลุ่มที่เลี้ยงด้วยกากถั่วเหลือง (0.35 กรัม) รำละเอียด (0.19 กรัม) และปลาป่น (0.33 กรัม) (ตารางที่ 21)

สำหรับอัตราการรอดนั้นพบว่าลูกหอยที่เลี้ยงด้วย *Acanthophora* และกากถั่วเหลืองมีอัตราการรอดสูงสุด (83.33%) รองลงมาคือเคซีน (80.0%) รำละเอียด (77.78%) และปลาป่น (70.0%) ตามลำดับ (ตารางที่ 22)

ตารางที่ 23 แสดงอัตราการรอดและอัตราการเติบโตของลูกหอยเป่าฮื้อที่เลี้ยงด้วยโปรตีนต่างชนิดกัน เป็นเวลา 90 วัน

ชนิดโปรตีน	อัตราการรอด (%)	ความยาวเปลือก		น้ำหนัก (กรัม)		อัตราการเติบโต	
		เริ่มต้น	สิ้นสุด	เริ่มต้น	สิ้นสุด	ความยาวเปลือก (ไมครอน/วัน)	น้ำหนัก (มก./วัน)
<i>Acanthophora</i>	83.33	0.54 ± 0.05	1.40 ± 0.28	0.04 ± 0.01	0.83 ± 0.28	95.58	85.58
กากถั่วเหลือง	83.33	0.58 ± 0.05	1.17 ± 0.19	0.05 ± 0.01	0.35 ± 0.17	87.78	33.33
รำละเอียด	77.78	0.54 ± 0.05	0.98 ± 0.18	0.04 ± 0.01	0.19 ± 0.08	48.89	18.88
ปลาป่น	70.0	0.55 ± 0.05	1.18 ± 0.20	0.05 ± 0.01	0.33 ± 0.17	70.0	31.11
เคซีน	80.0	0.53 ± 0.05	1.37 ± 0.21	0.05 ± 0.01	0.81 ± 0.12	83.33	84.44

จากผลการทดลองวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาอัตราการเติบโตโดยคิดเป็นอัตราการเพิ่มความยาวเปลือก (ไมครอน/วัน) และอัตราการเพิ่มน้ำหนัก (มก./วัน) นั้นพบว่า สูตรอาหารที่มีเคซีนเป็นแหล่งโปรตีนให้ผลใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *Acanthophora* (95.58 ไมครอน/วัน) คือ มีอัตราการเติบโตคิดเป็นอัตราการเพิ่มความยาวเปลือก 93.33 ไมครอน/วัน (ตารางที่ 23) ส่วนอัตราการเติบโตที่คิดเป็นอัตราการเพิ่มน้ำหนักนั้นคือ 84.44 มก./วันนั้นมีค่าสูงกว่าของกลุ่มควบคุม (85.58 มก./วัน) อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ส่วนอัตราการรอดของกลุ่มที่เลี้ยงด้วยเคซีนนั้นใกล้เคียงกับของกลุ่มควบคุม (80.0 และ 83.33%) (ตารางที่ 23)

สรุปผลการทดลอง

เมื่อทำการเลี้ยงลูกหอยเป่าฮื้อ *H. asiina* (ความยาวเปลือก 0.53 – 0.58 ซม.) ด้วยสูตรอาหารที่มีชนิดโปรตีน (ร้อยละ 30) ต่างกันคือ กากถั่วเหลือง รำละเอียด เคซีน และปลาป่นโดยมีกลุ่มที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายสีแดง *Acanthophora* เป็นกลุ่มควบคุมพบว่าลูกหอยเป่าฮื้อที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่มีเคซีนมีอัตราการเติบโตสูงสุด โดยมีอัตราการเพิ่มความยาวเปลือกใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม (93.33 และ 95.58 ไมครอน/วัน) และอัตราการเพิ่มน้ำหนักมากกว่ากลุ่มควบคุม (84.44 และ 85.58 มก./วัน)

ส่วนการร่อนนั้นกลุ่มลูกหอยที่เลี้ยงด้วยกากถั่วเหลืองมีอัตราการรอดสูงสุดเท่ากับกลุ่มควบคุม (83.33%) รองลงมาคือ กลุ่มที่เลี้ยงด้วยเคซีน (80%)

บทวิจารณ์

โดยปกติแล้ว อาหารในธรรมชาติของหอยเป่าฮื้อ (*Haliotis*) คือสาหร่ายทะเลและไดอะตอม การเพาะเลี้ยงหอยเป่าฮื้อ (*H. asinina*) ในประเทศไทยนิยมใช้สาหร่ายสีแดง (*Gracilaria* sp.) เพราะให้อัตราการเติบโตและอัตราการรอดที่ดีที่สุด (Upatham et al., 1998) แต่ปัญหาของสาหร่ายคือ ยังไม่สามารถเพาะเลี้ยงให้มีปริมาณมาก ๆ ตลอดปีได้ ดังนั้นอาหารสำเร็จรูปจึงน่าจะเป็นทางเลือกที่ดีกว่าในการเพาะเลี้ยงหอยเป่าฮื้อเชิงพาณิชย์เพราะเก็บง่ายกว่า มีตลอดปี และมีราคาถูกกว่าสาหร่าย (Hahn, 1989) อย่างไรก็ตามอาหารสำเร็จรูปที่มีอยู่ในปัจจุบันมักมีราคาสูงและมีปัญหาเรื่องเกี่ยวกับน้ำเสียตามมา ในระยะเวลาที่ผ่านมา ได้มีการวิจัยเกี่ยวกับสูตรอาหารสำเร็จรูปที่เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงหอยเป่าฮื้อเชิงพาณิชย์มากมาย เพื่อแทนที่สาหร่ายหรือเป็นอาหารเสริม (Fleming et al., 1998) โดยทั่วไปแล้ว อาหารสำเร็จรูปประกอบด้วยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ลิพิด เกลือแร่และวิตามินโดยมีปริมาณที่แตกต่างกัน และมีแหล่งโปรตีนต่างๆ กันด้วยเช่น ปลาป่น รำละเอียด กากถั่วเหลือง เคซีน เป็นต้น (Bardach et al., 1972; Uki and Watanabe, 1992; Knauer et al., 1993; Viana et al., 1993; Uki et al., 1995; Fleming et al., 1998) Uki et al. (1995) พบว่า *H. discus hannai* มีอัตราการเติบโตดีที่สุดในการอาหารสำเร็จรูปที่มีเคซีนร้อยละ 30 โดยมีอัตราการเพิ่มความยาวเปลือก 110 ไมครอน/วัน สำหรับ *H. asinina* ในการทดลองก็ได้เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่มีเคซีนร้อยละ 30 ก็ให้ผลดีที่สุดเหมือนกัน คือมีอัตราการเพิ่มความยาวเปลือก 93.33 ไมครอน/วัน และมีอัตราการเพิ่มน้ำหนัก 84.44 มก/วัน ซึ่งสูงกว่า *H. asinina* ที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายสีแดง *G. tenuistipitata* (ความยาวเปลือก 70.3 ไมครอน/วัน, น้ำหนัก 23.8 มก/วัน) (Upham et al., 1998) หรือสูตรอาหารสำเร็จรูปที่มีสาหร่ายสีแดง *G. tenuistipitata* (แห้ง) (ความยาวเปลือก 35.8 ไมครอน/วัน, น้ำหนัก 6.4 มก/วัน) (Kruatrachue et al., 2000) หรือสูตรอาหารสำเร็จรูปที่มีปลาป่นหรือกากถั่วเหลือง (โปรตีนร้อยละ 27) (ความยาวเปลือก 29 ไมครอน/วัน, น้ำหนัก 38 มก/วัน) (Lopez and Tyler, 2000) แต่เมื่อเปรียบเทียบอัตราการเติบโตของ *H. asinina* กับ *H. tuberculata* แล้วพบว่า *H. asinina* มีอัตราการเติบโตช้ากว่ามาก เพราะ *H. tuberculata* ขนาดใกล้เคียงกัน (0.4 – 0.8 ซม.) ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีเคซีนหรือปลาป่นมีอัตราการเพิ่มความยาวเปลือกถึง 136 ไมครอน/วัน และอัตราการเพิ่มน้ำหนัก 309 มก/วัน

3.7 การศึกษามลกระทบของโลหะหนักที่มีต่อลูกหอยเป่าฮื้อ

วิธีการทดลอง

เนื่องจากในอ่าวไทยซึ่งเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของหอยเป่าฮื้อมีการสะสมโลหะหนักเช่น ตะกั่ว แคดเมียม จากของเสียโรงงานอุตสาหกรรมบริเวณชายทะเลอ่าวไทย จึงเป็นที่น่าสนใจที่จะศึกษามลกระทบของโลหะหนักเหล่านี้ต่อระบบต่างๆ ของหอยเป่าฮื้อ โดยในการทดลองจะใช้โลหะหนัก

2 ชนิดคือ ตะกั่ว (lead nitrate) และแคดเมียม (cadmium chloride) ที่ความเข้มข้นต่ำ โดยทดลองเป็นระยะเวลาประมาณ 1 สัปดาห์ หอยเป่าซึ่งที่ทดลองเป็นลูกหอย F₁ มีอายุประมาณ 12 เดือน โดยใช้ความเข้มข้นของโลหะหนักดังต่อไปนี้

ตะกั่ว ความเข้มข้น 1.4, 1.7 และ 2.0 ppm

แคดเมียม ความเข้มข้น 0.04, 0.17 และ 0.30 ppm

จากนั้นนำลูกหอยเป่าซึ่งมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อและเซลล์ในระบบทางเดินอาหารด้วยกล้องจุลทรรศน์และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (TEM)

ในการศึกษาเนื้อเยื่อด้วยกล้องจุลทรรศน์นั้น นำลูกหอยทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง (ตะกั่วและแคดเมียม) มาอย่างละ 5 ตัว ทำให้สลบ และผ่าตัดเอาอวัยวะในระบบทางเดินอาหารออกมาได้แก่ หลอดอาหาร ลำไส้ และต่อมย่อยอาหาร ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ และใส่ในน้ำยาบูแองเป็นเวลา 5 ชั่วโมง ล้างน้ำยาออกด้วย 70% แอลกอฮอล์ เอาน้ำออกโดยใช้แอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แล้วนำไปฝังในพาราฟิน ตัดเนื้อเยื่อที่ความหนา 5-8 ไมครอน และย้อมสีด้วย PAS - ฮีมาทอกซาลิน

ในการศึกษาเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน นำเนื้อเยื่อชิ้นเล็ก ๆ (ตามวิธีข้างต้น) มาใส่ใน 2.5% กลูเทอรลดีไฮด์ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.4) ที่ 4°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ล้างด้วยบัฟเฟอร์และนำมาใส่ใน 1% OsO₄ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เอาน้ำออกโดยใช้เอธิลแอลกอฮอล์และนำไปฝังในเรซิน Araldite ตัดเนื้อเยื่อที่ความหนา 300-400 Å และย้อมสีด้วยยูเรนิลอะซิเตตและเลดซิเทรต

ผลการทดลอง

การศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์

หลอดอาหาร หลอดอาหารบุด้วยเนื้อเยื่อบุผิวแบบคอลัมน์ที่มีวิลเลียและมียอยพับ (fold) มาก (รูปที่ 91A) ประกอบด้วยเซลล์สองชนิดคือ เซลล์คอลัมน์ที่มีนิวเคลียสอยู่ที่ฐาน นิวเคลียสมีขนาดเล็กและมีเฮเทอโรโครมาทินมาก (รูปที่ 91B) เซลล์อีกชนิดคือ เซลล์มีวักส์ที่แทรกอยู่ในเซลล์คอลัมน์ ในลูกหอยที่ได้รับโลหะหนักมีเซลล์มีวักส์เพิ่มขึ้นและมีการหลั่งสารเมือกออกมาตามบริเวณขอบเซลล์ (รูปที่ 92A) เซลล์คอลัมน์มีการบวมพอง และมีจำนวนแวคิวโอลเพิ่มขึ้นมาก นิวเคลียสมีขนาดใหญ่ขึ้นเพราะมีการบวมพองและการสูญเสียเฮเทอโรโครมาทิน (รูปที่ 92B)

ลำไส้ ลำไส้บุด้วยเนื้อเยื่อบุผิวแบบคอลัมน์เหมือนกันแต่มีจำนวนวิลเลียมากกว่า มีมียอยพบน้อยกว่า (รูปที่ 93A) เซลล์มีการเรียงตัวแบบซ้อนกันหลายชั้น (pseudostratified) ประกอบด้วยเซลล์สองชนิดเหมือนกันคือ เซลล์คอลัมน์ที่มีเป็นจำนวนมาก และเซลล์มีวักส์ที่แทรกอยู่ (รูปที่ 93B) ในลูกหอยที่ได้รับโลหะหนัก มีจำนวนเซลล์มีวักส์เพิ่มขึ้นและหลั่งสารเมือกออกมาในลูเมน (รูปที่ 94A) จำนวนวิลเลียลดลงในบางบริเวณ เซลล์มีการบวมพองและมีแวคิวโอลขนาดใหญ่ นิวเคลียสมีการบวมพองและสูญเสียเฮเทอโรโครมาทิน (รูปที่ 94B)

ต่อมย่อยอาหาร ต่อมย่อยอาหารมีลักษณะเป็นพู มีขนาดใหญ่ (รูปที่ 95A) เนื้อเยื่อบุผิวประกอบด้วยเซลล์หลังน้ำย่อย และเซลล์ย่อยอาหาร (รูปที่ 95B) เซลล์หลังน้ำย่อยมีขนาดเล็ก มีแกรนูลในไซโทพลาสซึม ส่วนเซลล์ย่อยอาหารมีขนาดใหญ่กว่าและมีจำนวนมากกว่า มีแวคิวโอล

อาหารเป็นจำนวนมาก (รูปที่ 95B) ในลูกหอยที่ได้รับโลหะหนักพบว่าต่อมย่อยอาหารมีการบวมพอง (รูปที่ 96A) เซลล์มีแวคิวโอลที่ใหญ่ขึ้นและมีการสลายตัวของไซโทพลาสซึมและนิวเคลียสซึ่งถูกหลั่งออกมาในลูเมน (รูปที่ 96B)

การศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์

หลอดอาหาร เซลล์คอลัมน์าร์ของหลอดอาหารมีไมโครวิลไลที่บริเวณส่วนปลายของเซลล์ และมีไมโทคอนเดรียเป็นจำนวนมาก (รูปที่ 97A) นอกจากนั้นในไซโทพลาสซึมยังมี RER โรโบโซมอิสระเป็นจำนวนมาก นิวเคลียสมีขนาดใหญ่พบที่บริเวณฐานของเซลล์ (รูปที่ 97B) นิวเคลียสมีเยื่อเอนโดโครมาทินอยู่ตามบริเวณขอบของเยื่อหุ้มนิวเคลียส (รูปที่ 97B) ในลูกหอยที่ได้รับโลหะหนัก เซลล์คอลัมน์าร์มีการเปลี่ยนแปลงหลายอย่างได้แก่ การสูญเสียไมโครวิลไล (รูปที่ 98A) ไซโทพลาสซึมมีความเข้มข้นน้อยลงเนื่องจากการรวมตัวของ RER และโรโบโซม (รูปที่ 98B) นิวเคลียสมีสารเยื่อเอนโดโครมาทินเพิ่มขึ้น (รูปที่ 98B) RER มีการสูญเสียโรโบโซมและมีการบวมพอง (รูปที่ 98B,C) จำนวนไมโทคอนเดรียลดลง (รูปที่ 98D) มีเมดิโอฟิลเพิ่มขึ้น (รูปที่ 98A)

ลำไส้ เซลล์คอลัมน์าร์ของลำไส้มีไมโครวิลไลเป็นจำนวนมากแต่มีขนาดสั้นกว่าของหลอดอาหาร (รูปที่ 99A) บริเวณใต้ไมโครวิลไลมีไมโทคอนเดรียเป็นจำนวนมากที่จับกันเป็นกลุ่ม นอกจากนั้นก็มีไมโทคอนเดรียกระจายทั่วไปในเซลล์ (รูปที่ 99B) ไซโทพลาสซึมมีโรโบโซมอิสระและไซโมเจนแกรนูล (รูปที่ 99A, B) นิวเคลียสมีเยื่อเอนโดโครมาทินบริเวณขอบเยื่อหุ้มนิวเคลียสและตรงกลาง RER มีปริมาณมากในบริเวณฐานของเซลล์ที่ตั้งอยู่บนเยื่อรองรับฐานที่ค่อนข้างบางและเรียบ (รูปที่ 99 C,D) ในลูกหอยที่ได้รับโลหะหนักมีไมโครวิลไลลดลง (รูปที่ 100A) ไซโมเจนแกรนูลมีขนาดและจำนวนลดลง (รูปที่ 100A) นิวเคลียสมีเยื่อเอนโดโครมาทินลดลง (รูปที่ 100B) ไซโทพลาสซึมมีไลโซโซมเพิ่มขึ้น (รูปที่ 100B) การเปลี่ยนแปลงที่เห็นเด่นชัดคือ เยื่อรองรับฐานหนาขึ้นและมีรอยพับเพิ่มขึ้น (รูปที่ 100C)

ต่อมย่อยอาหาร เซลล์ของต่อมย่อยอาหารมีไมโครวิลไลและมีไซโทพลาสซึมค่อนข้างเข้มข้น (รูปที่ 101A) ซึ่งประกอบด้วยไมโทคอนเดรีย RER เป็นจำนวนมาก (รูปที่ 101B) นอกจากนี้ยังมีแวคิวโอลขนาดต่างๆ กันด้วย (รูปที่ 100A) นิวเคลียสประกอบด้วยสารเยื่อเอนโดโครมาทินบริเวณขอบนิวเคลียสและตรงกลางและยูโครมาทินที่กระจายอยู่ทั่วนิวเคลียส (รูปที่ 101B) ในลูกหอยที่ได้รับโลหะหนัก พบว่าเซลล์ในต่อมย่อยอาหารมีการสลายตัว นิวเคลียสมีขนาดเล็กลงมากและเข้มข้น (รูปที่ 102A) เยื่อหุ้มเซลล์สลายตัวและไซโทพลาสซึมถูกหลั่งออกมาในลูเมนร่วมกับไมโครวิลไลที่สลายตัวเหมือนกัน (รูปที่ 102B) RER สูญเสียโรโบโซมและซ้อนกันเป็นชั้น (whorl) (รูปที่ 102C) นอกจากนี้ภายในเซลล์ยังมีแวคิวโอลที่มีสารต่างๆ อยู่ภายในเป็นจำนวนมาก (รูปที่ 102C)

สรุปผลการทดลอง

ระบบทางเดินอาหารของลูกหอยเป่าอื้อที่ได้รับโลหะหนัก (ตะกั่วและแคดเมียม) มีการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนเมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน หลอดอาหารมีเซลล์มีวักซ์เพิ่มขึ้นและมีการหลั่งสารเมือกออกมา เซลล์และนิวเคลียสมีการบวมพอง เซลล์

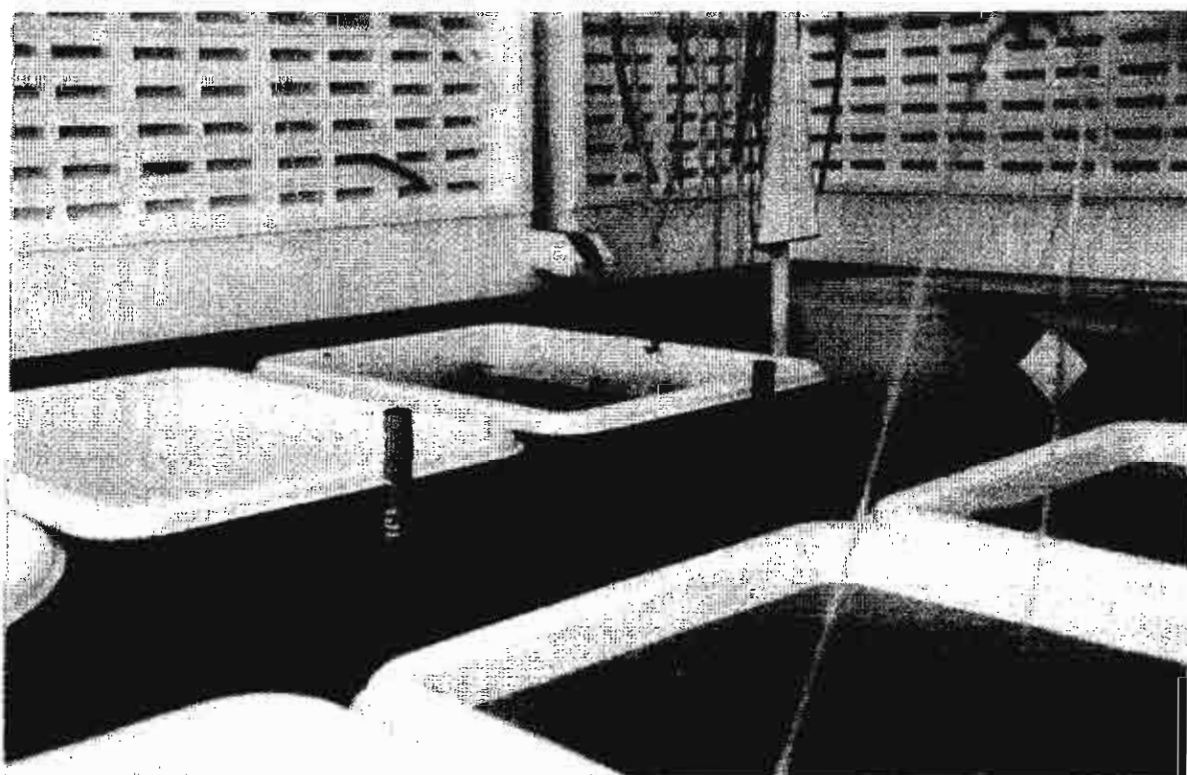
คอแลมน์มีจำนวนไมโทคอนเดรียลดลง มีการบวมพองของ RER ในลำไส้ เซลล์คอแลมน์มีซีเลียลดลง ไซโทพลาสซึมมีแวคิวโอลขนาดใหญ่ นิวเคลียสมีการบวมพอง การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างละเอียดคือ ไมโทคอนเดรียและ RER มีจำนวนลดลง RER สูญเสียไรโบโซม ไซโมเจนแกรนูลมีจำนวนน้อยลง เยื่อรองรับฐานหนาขึ้นและมีรอยพับมากขึ้น ในต่อมย่อยอาหาร เซลล์ย่อยอาหารและเซลล์หลังน้ำย่อยมีการสลายตัว การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างละเอียดคือ เซลล์สลายตัวและไซโทพลาสซึมถูกหลั่งออกไปในลูเมนปะปนกับไมโครวิลไล

บทวิจารณ์

ผลกระทบของโลหะหนัก (ตะกั่วและแคดเมียม) ต่อระบบทางเดินอาหารของลูกหอย เป้าข้อก่อนข้างจะเป็นงานใหม่ที่มีผู้ได้ศึกษามาก่อน การศึกษาผลกระทบของสารพิษ เช่น ยาฆ่าหอย ต่อระบบทางเดินอาหารของหอยชนิดอื่น ๆ เช่น *Deroceras*, *Indoplanorbis*, *Arion*, *Biomphalaria* ได้มีการรายงานกันพอสมควร (Triebkorn, 1989, 1991; Triebkorn and Kunast, 1990; Bode et al., 1996; Kruatrachue et al., 1998) และได้พบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์และเนื้อเยื่อที่คล้ายกัน เช่น การเพิ่มจำนวนของเซลล์มีคัสและการหลั่งสารเมือกเข้าไปในลูเมน การหลั่งสารเมือกเป็นกลไกการป้องกันตัวของหอยเมื่อได้รับสารพิษหรือถูกกระตุ้น สารเมือกจะช่วยให้การเจือจางสารพิษและอาจช่วยในการลดความเป็นพิษได้ (Triebkorn, 1989) สารพิษหรือโลหะหนักที่เข้าไปในตัวหอยมีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์ และเมมเบรนในเซลล์ต่างๆ โดยจะเห็นได้จากการที่เซลล์และโครงสร้างต่างๆ (ER, นิวเคลียส) มีการบวมพองขึ้น นั่นคือ เยื่อต่างๆ ของเซลล์ถูกทำลายโดยสารพิษและทำให้ไอออนต่างๆ เข้าไปในเซลล์มากขึ้น (Sparks, 1972) ออร์แกนัลหรือโครงสร้างของเซลล์ที่ได้รับผลกระทบจากสารพิษที่เห็นเด่นชัดที่สุด คือ RER ซึ่งสูญเสียไรโบโซมและมีการบวมพอง ไมโทคอนเดรียที่มีจำนวนลดลง และนิวเคลียสที่มีการสูญเสียเยื่อหุ้มโครมาติน การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ก็พบในหอยชนิดอื่นๆ เหมือนกัน นอกจากนั้นการที่เยื่อรองรับฐานของเซลล์ในเนื้อเยื่อทางเดินอาหารมีความหนาขึ้นและมีรอยพับมากขึ้นก็ได้รับการสันนิษฐานว่าเป็นการป้องกันสารพิษที่จะเข้าไปในระบบทางเดินอาหาร (Triebkorn and Kunast, 1990)



รูปที่ 1 บริเวณที่ตักเดิมเพื่อการเพาะเลี้ยงหอยเป่าสี *H. asinina*



รูปที่ 2 ถังไฟเบอร์ที่ใส่เพาะเลี้ยงหอยเป่าสีพ่อแม่พันธุ์



รูปที่ 3 หอยเป่าสี *H. asinina* พ่อแม่พันธุ์ที่เก็บจากแหล่งธรรมชาติ



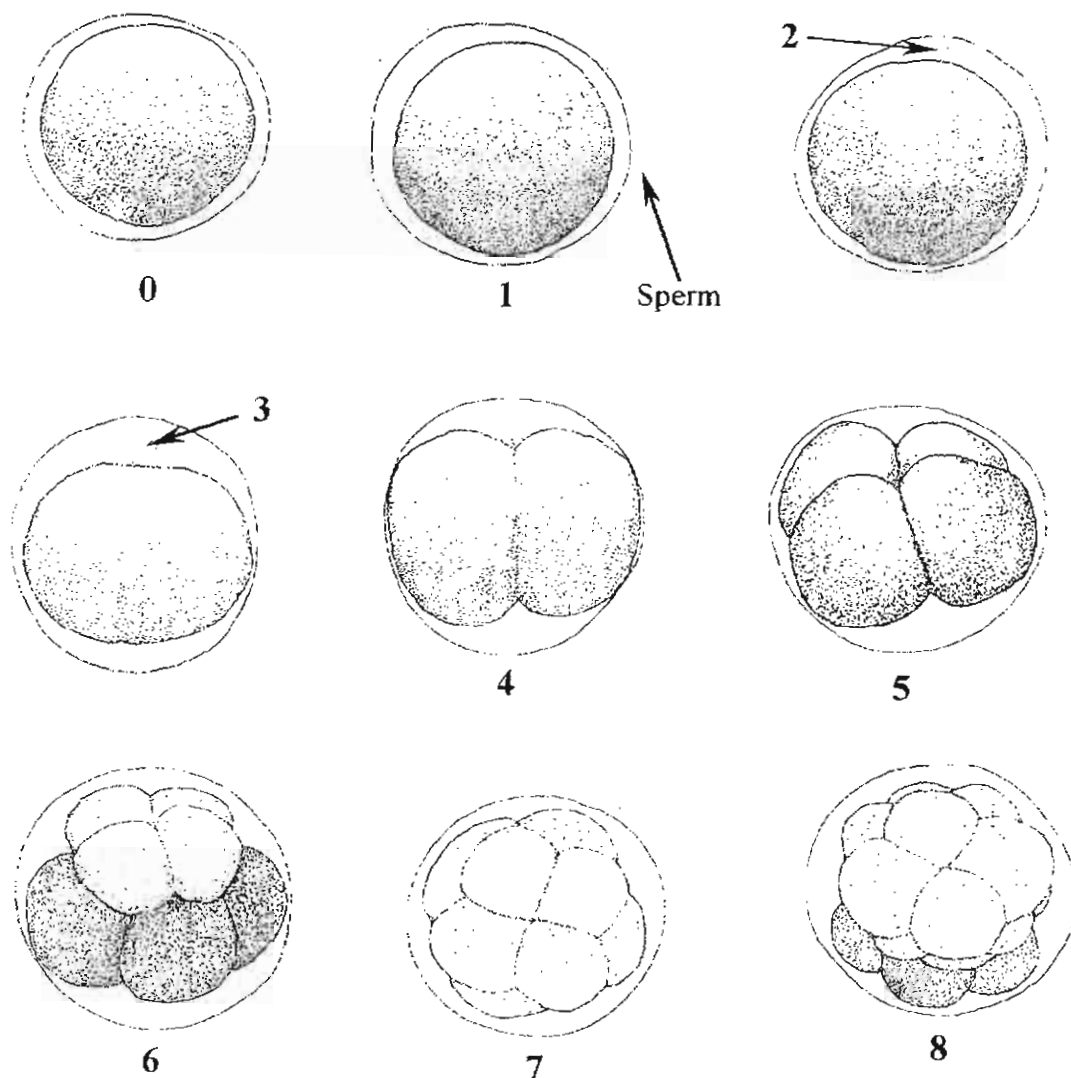
รูปที่ 4 สาหร่ายสีแดง (*Gracilaria* spp.) ที่เลี้ยงหอยเป่าสี



รูปที่ ๕ หอยงาสีเทาค้นพบที่สงขลา

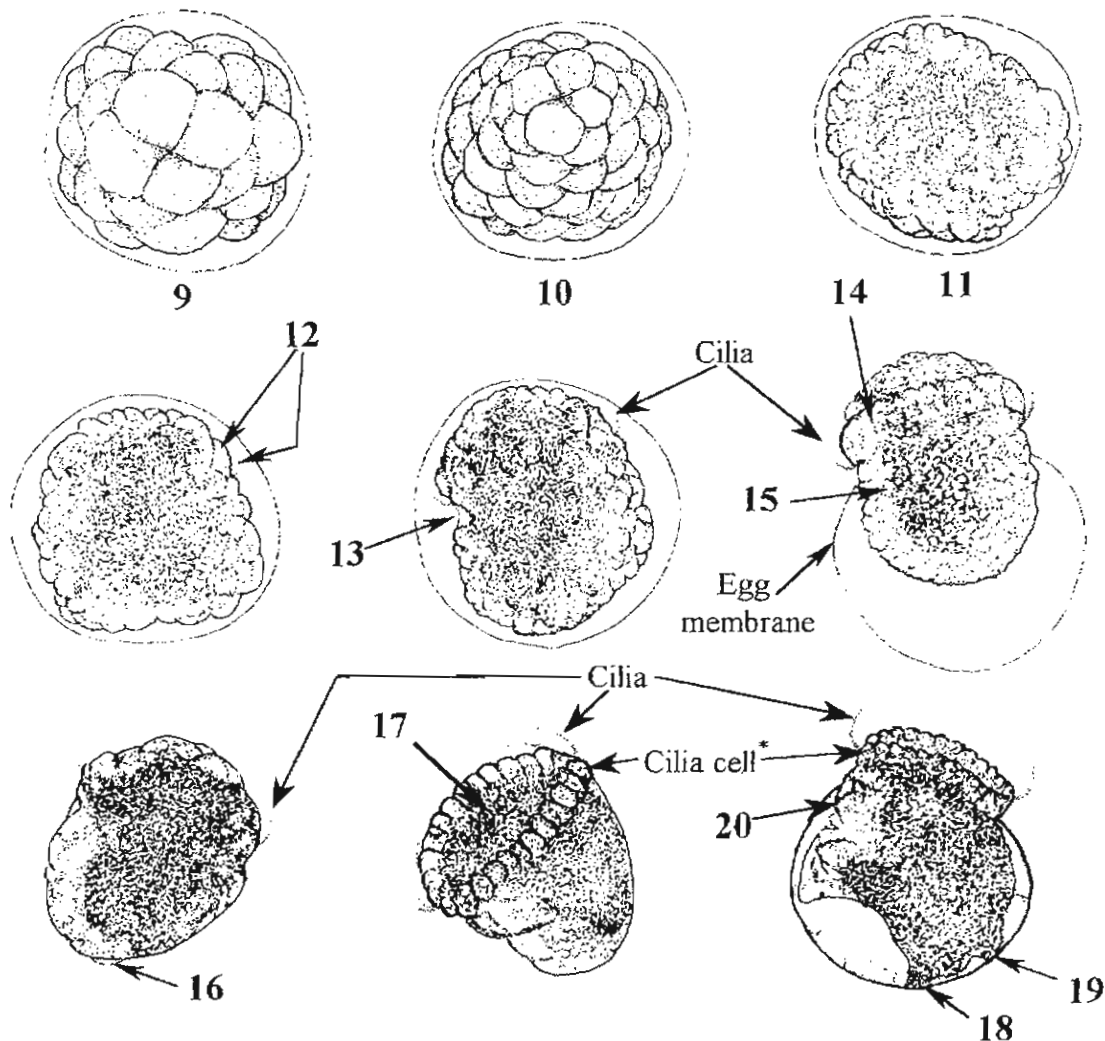


รูปที่ ๖ หอยงาสีเทาค้นพบที่สงขลา



รูปที่ 7 การเจริญพัฒนาของตัวอ่อนหอยงาที่เกิดจากระยะ 0-8

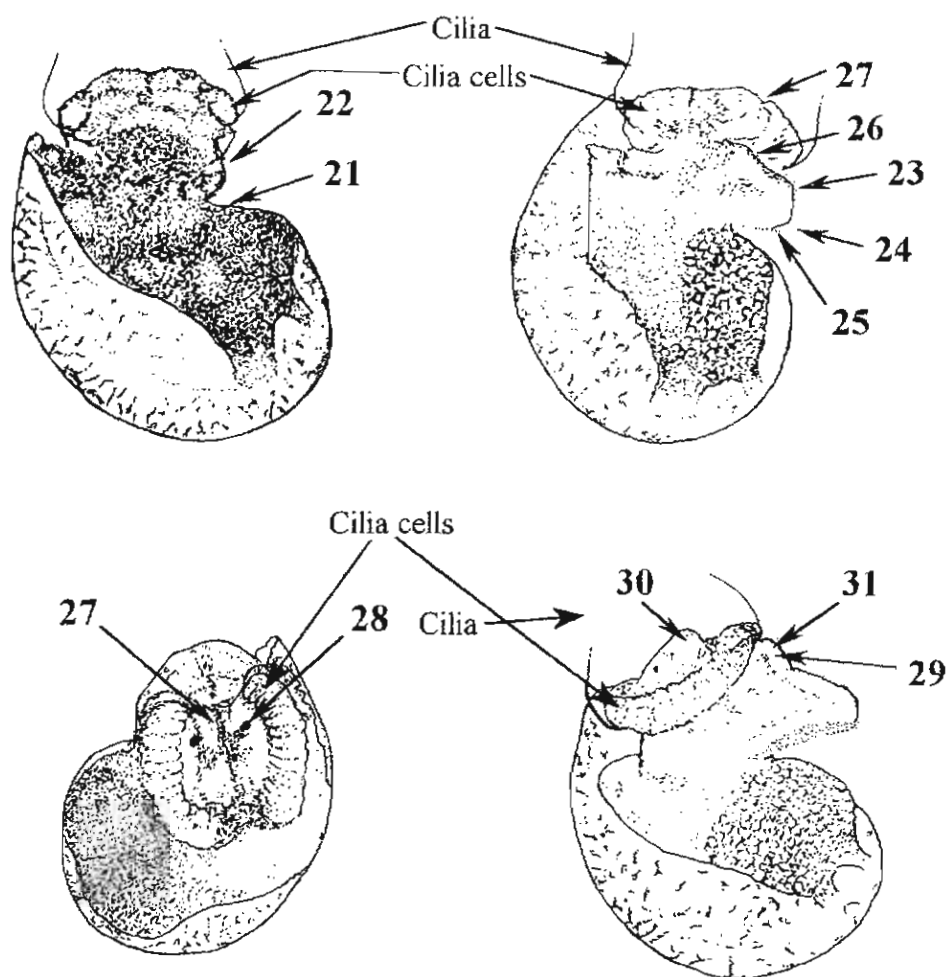
- | | |
|------------------------------------|---|
| 0 = Unfertilized egg | 4 = First cleavage (2 cells) |
| 1 = Fertilized egg | 5 = Second cleavage (4 cells) |
| 2 = Discharge of first polar body | 6 = Third cleavage (8 cells) |
| 3 = Discharge of second polar body | 7 = Fourth cleavage (12 cells) (top view) |
| | 8 = Fifth cleavage (16 cells) |



รูปที่ 8 การเจริญพัฒนายาวงตัวก่อนลอกเปลือกจากระยะ 9-20

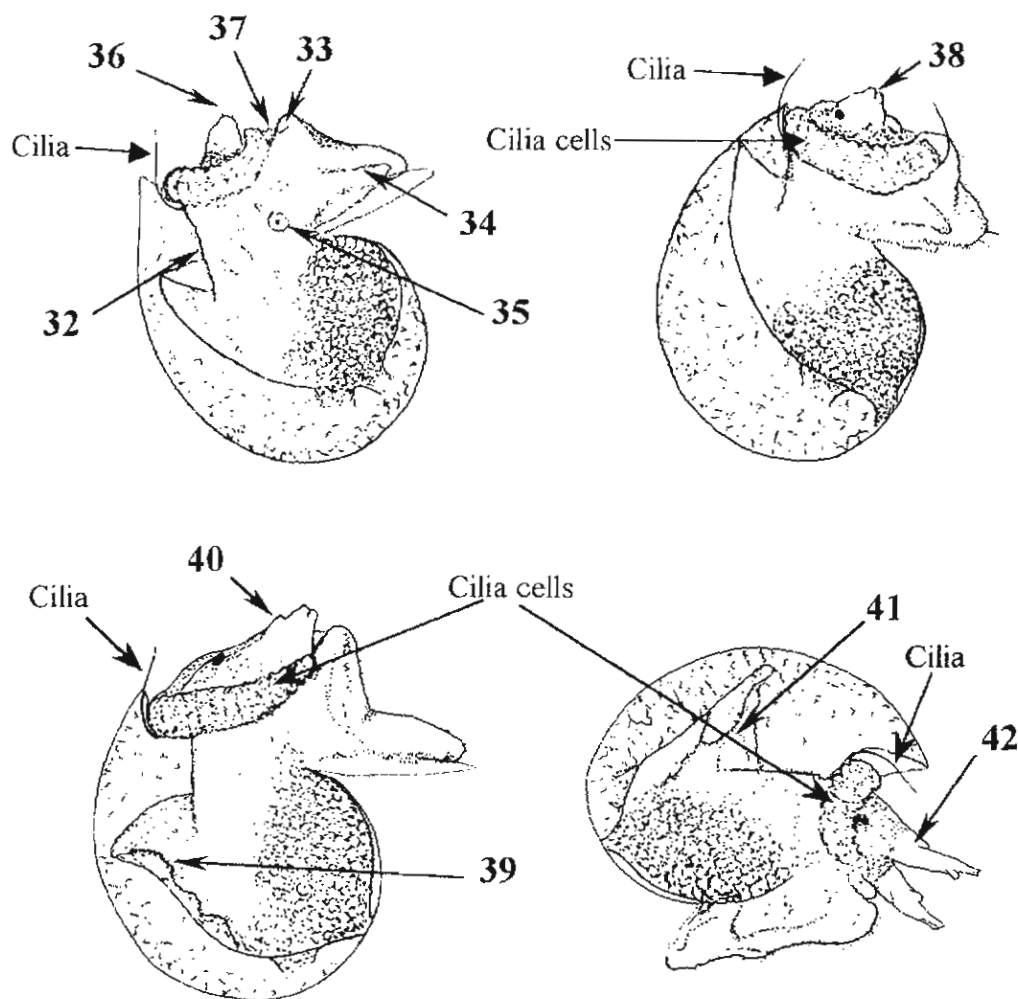
- | | |
|---|--|
| 9 = Morula | 15 = Hatch out |
| 10 = Blastula | 16 = Beginning of larval shell formation |
| 11 = Gastrula | 17 = The apical region becomes flats and the velum is completely developed with long cilia present |
| 12 = Appearance of prototrochal girdle and cilia along the prototrochal girdle* | 18 = Appearance of larval retractor muscle |
| 13 = Appearance of stomodeum (rotation) | 19 = Appearance of integumental attachment |
| 14 = Prototrochal girdle and cilia along the prototrochal are completely formed.* | 20 = Development of foot mass. |

* There are 24 cilia cell surrounds the velum along the prototrochal girdle.



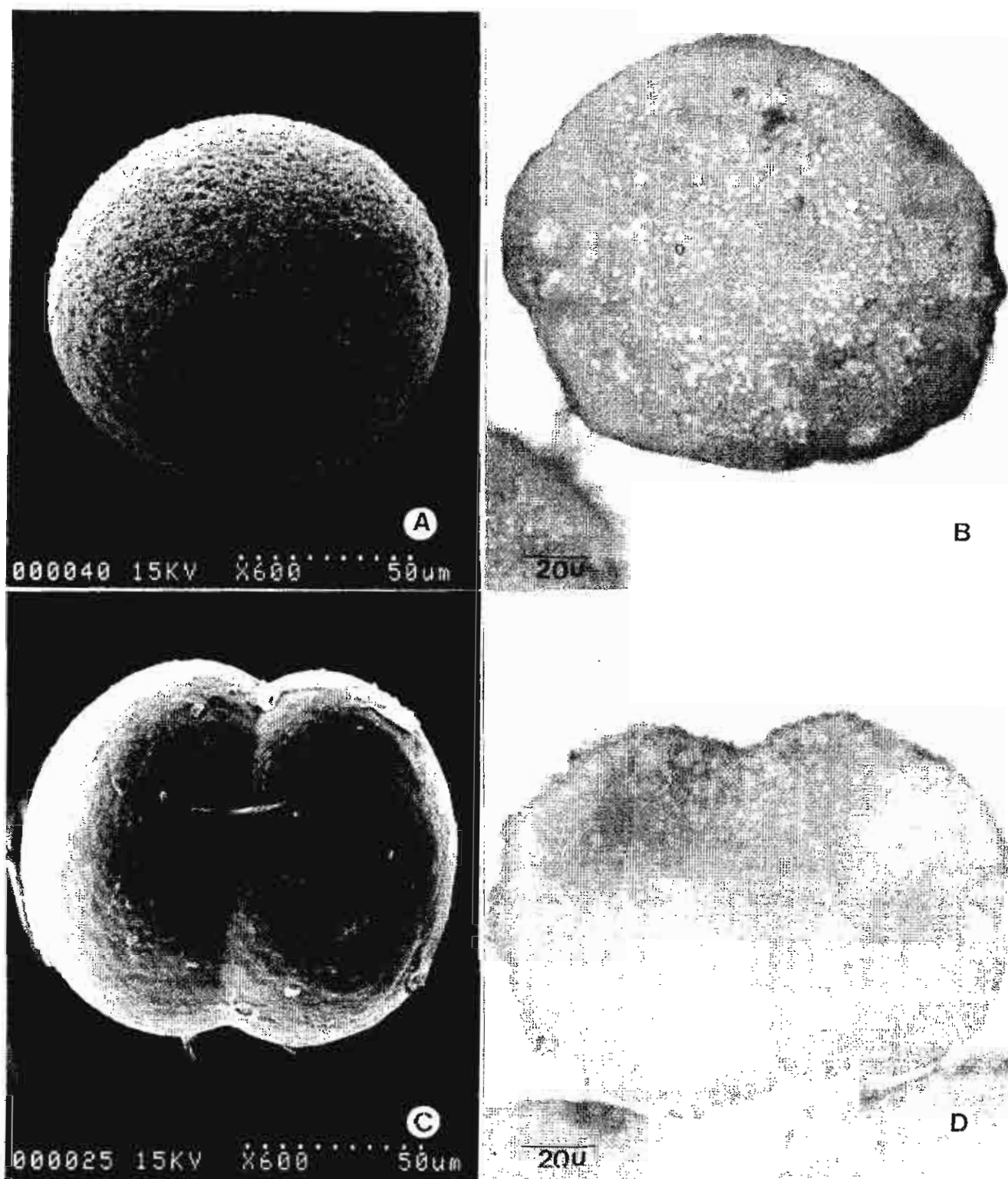
รูปที่ ๑ การเจริญพัฒนาดังกล่าวก่อนหย่อนไข่สีจากกระเพาะ 21-31

- 21 = Completion of larval shell
- 22 = Cephalo-pedal mass 90° torsion
- 23 = Foot muscle 180° torsion
- 24 = Appearance of spine on metapodium end
- 25 = Operculum
- 26 = Appearance of fine cilia on foot sole
- 27 = Vertical groove formation in velum
- 28 = Appearance of eye spot
- 29 = Appearance of propodium
- 30 = Appearance of cephalic tentacles
- 31 = Appearance of cilia on the propodium

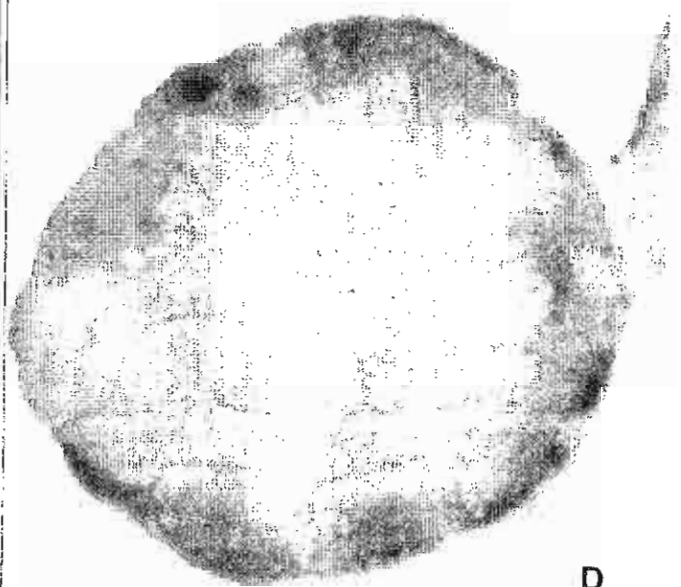
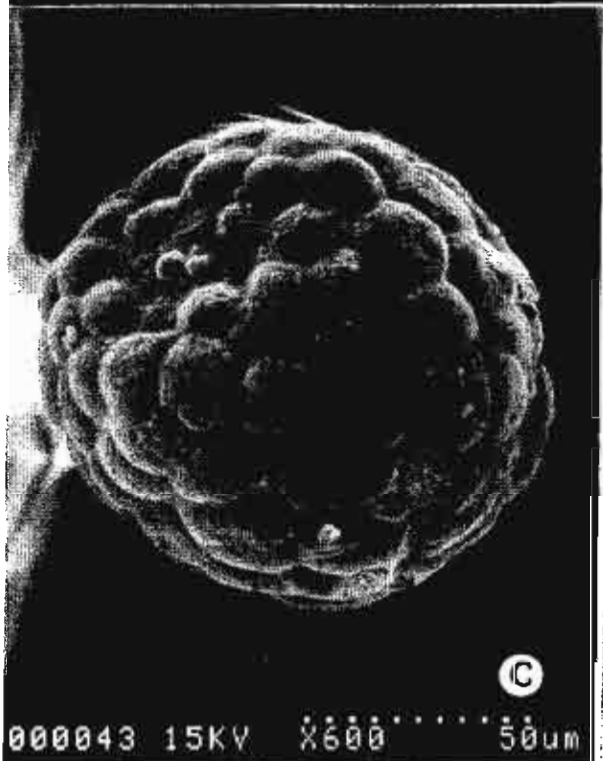
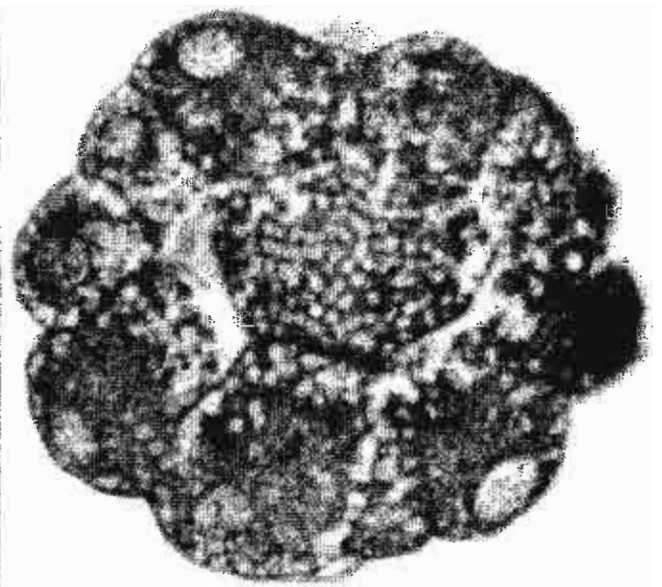
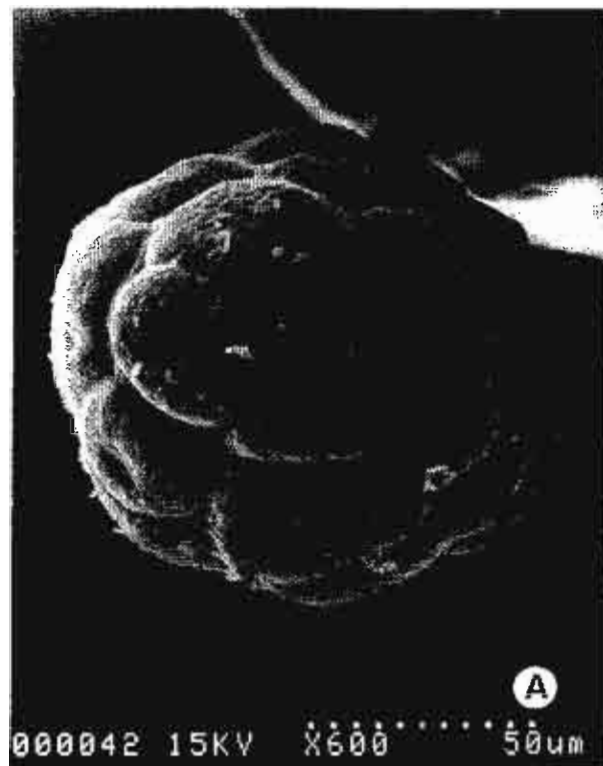


รูปที่ 10 การเจริญพัฒนาของตัวอ่อนหอยน้ำจืดจากระยะ 32-42

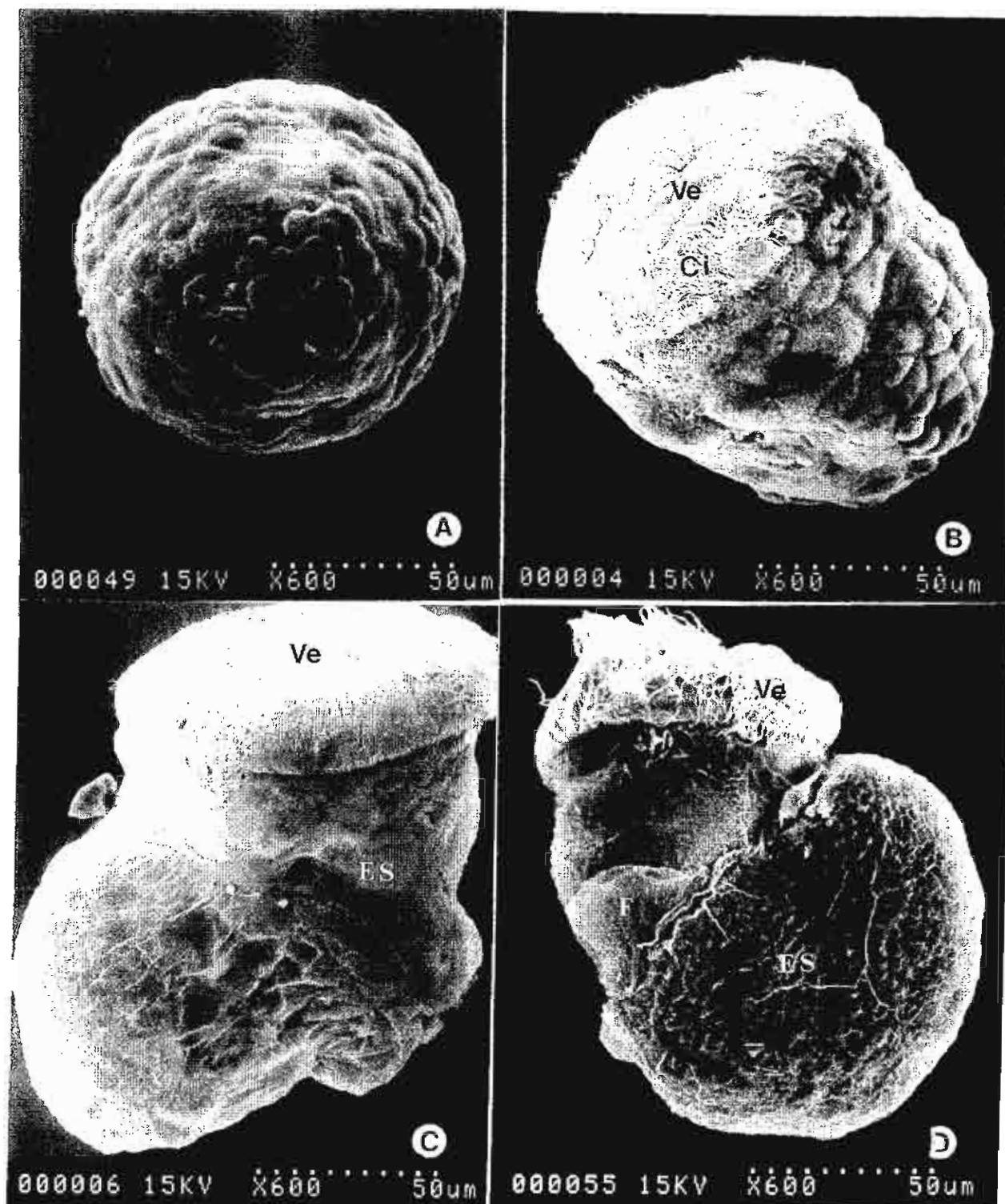
- 32 = Appearance of cilia in mantle cavity up to the anterior edge of the velum
- 33 = Formation of apophysis on propodium
- 34 = Formation of first epipodial tentacle
- 35 = Appearance of otolith
- 36 = Appearance of spine on cephalic tentacles
- 37 = Protrusion of snout underneath the velum
- 38 = Appearance of two tubules on cephalic tentacle
- 39 = Ciliary process forms on the roof of the mantle cavity
- 40 = Third tubule appearance on cephalic tentacle
- 41 = The retractor muscle attached to the larval shell and draws the enlarged mantle cavity toward the back of the she shell
- 42 = Fourth tubule appearance on cephalic tentacles



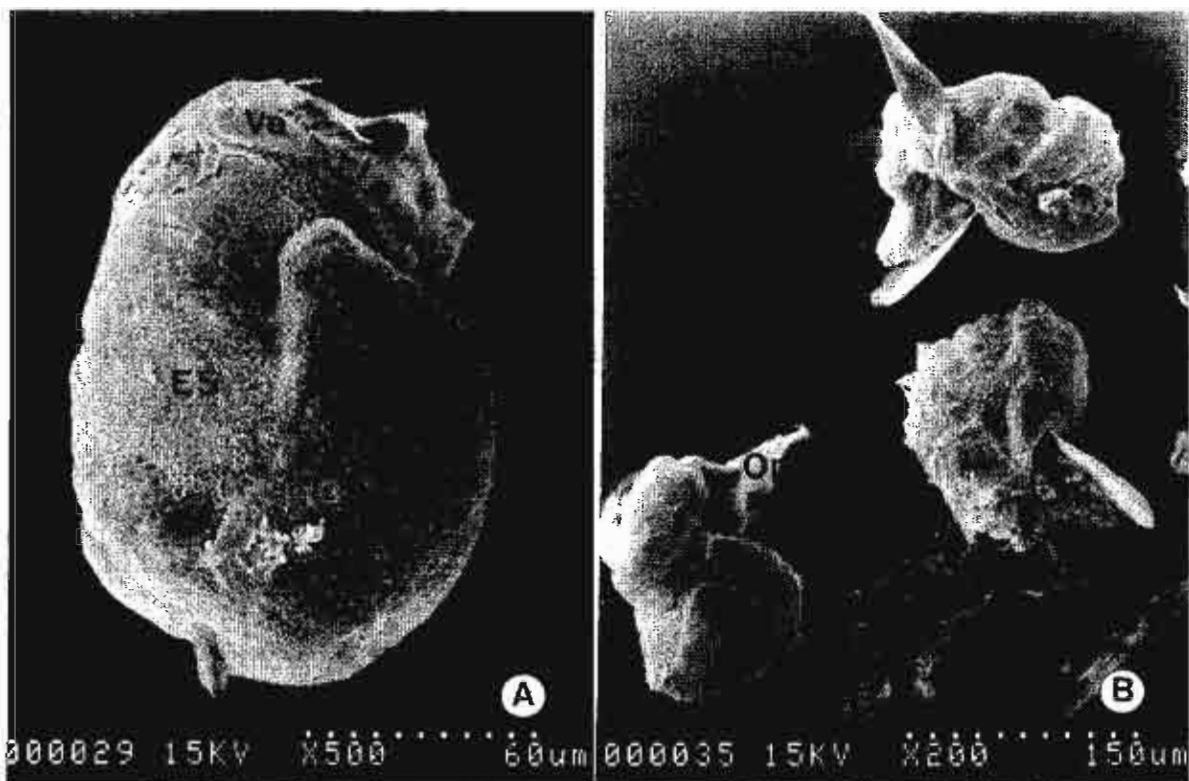
รูปที่ 11 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (SEM) (A,C) และกล้องจุลทรรศน์ (B,D) แสดง
 ระยะต่างๆ ของการพัฒนาในตัวอ่อนหอยแครง
 (A,B) ไข่ที่ยังไม่ได้รับการปฏิสนธิ
 (C,D) ไข่ที่ปฏิสนธิแล้ว อยู่ในระยะแบ่งเป็น 2 เซลล์ (first cleavage)

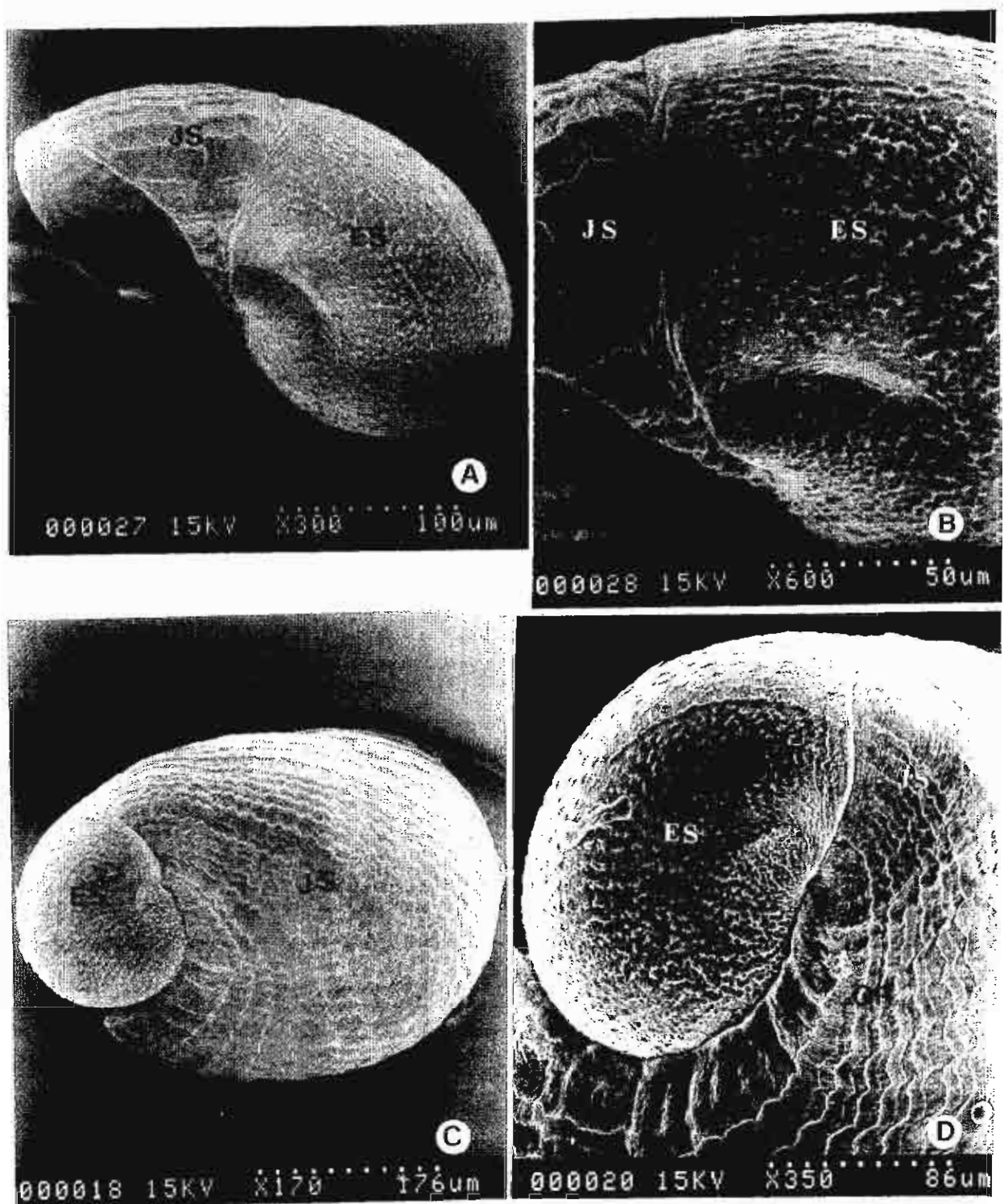


รูปที่ 12 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (SEM) (A,C) และกล้องจุลทรรศน์ (B,D) แสดงการพัฒนาของตัวอ่อนหอยเปา คือ
(A,B) ระยะ morula มีการแบ่งหลายครั้งจนเป็นกลุ่มเซลล์ลักษณะคล้ายบอลหิมะ
(C,D) ระยะ blastula มีการแบ่งเซลล์นี้ขึ้น



รูปที่ 13 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (SEM) แสดงการพัฒนาของตัวก่อนหอยเข้าสู่อีก
 (A) ระยะ gastrula มีการแบ่งเซลล์เพิ่มขึ้น
 (B) ระยะเริ่มสร้างเปลือกตัวก่อน ในขณะที่ตัวก่อนเริ่มสร้างเวล์ม (Ve) ที่
 ประกอบด้วยจันเลีย (Cl)
 (C) ระยะที่สร้างเวล์ม (Ve) โดยสมบูรณ์ เปลือกตัวก่อน (ES) มีขนาดใหญ่ขึ้น
 (D) ระยะที่มีการพัฒนาของแผ่นเท้า (F) Ve = velum, ES = embryonic shell



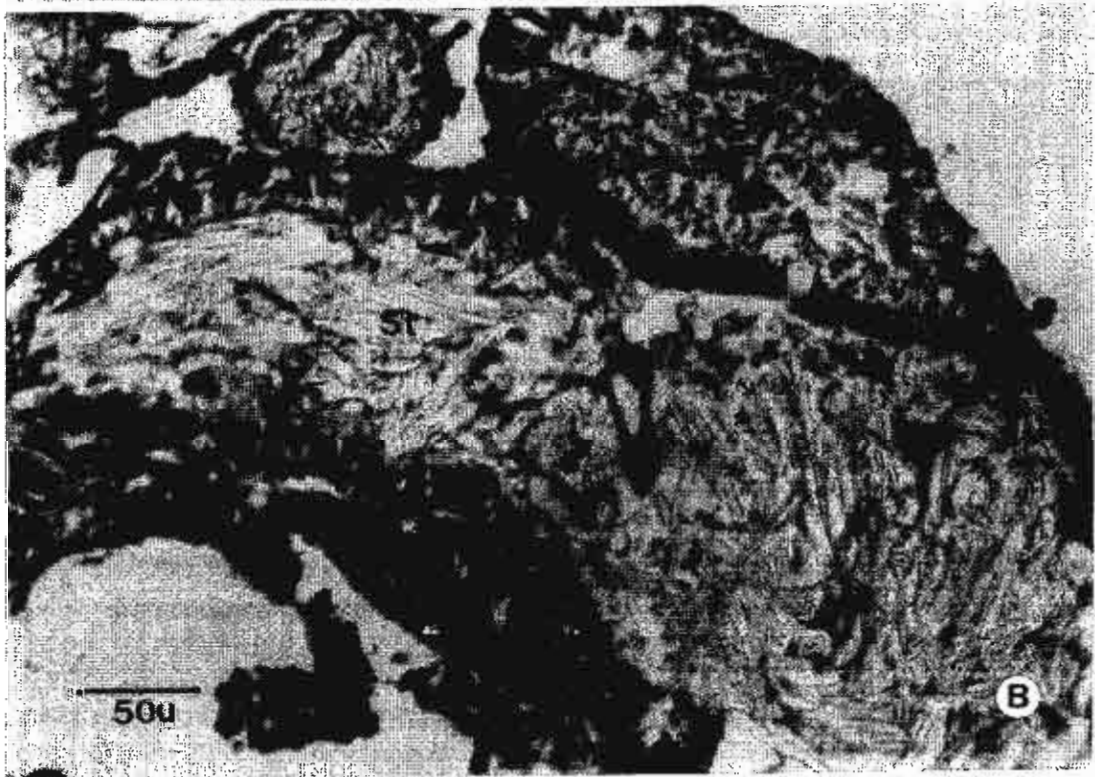


รูปที่ 15 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (SEM) แสดงตัวอ่อนหอยเป่าอีกที่มีอายุ 10 วัน (A,B) และ 20 วัน (C,D) ตัวอ่อนระยะนี้มีการสร้างเปลือกอ่อน (JS) ซึ่งขยายขนาดขึ้นเรื่อยๆ เมื่อมีอายุมากขึ้น สังเกตเปลือกตัวอ่อน (ES) ที่งอกขึ้นข้างเรียบหรือมีลักษณะเอียง ส่วนเปลือกอ่อนมีลักษณะเป็นเส้นหัก มีเส้นการเติบโต (GR) ทั้งในแนวตั้งและแนวนอน

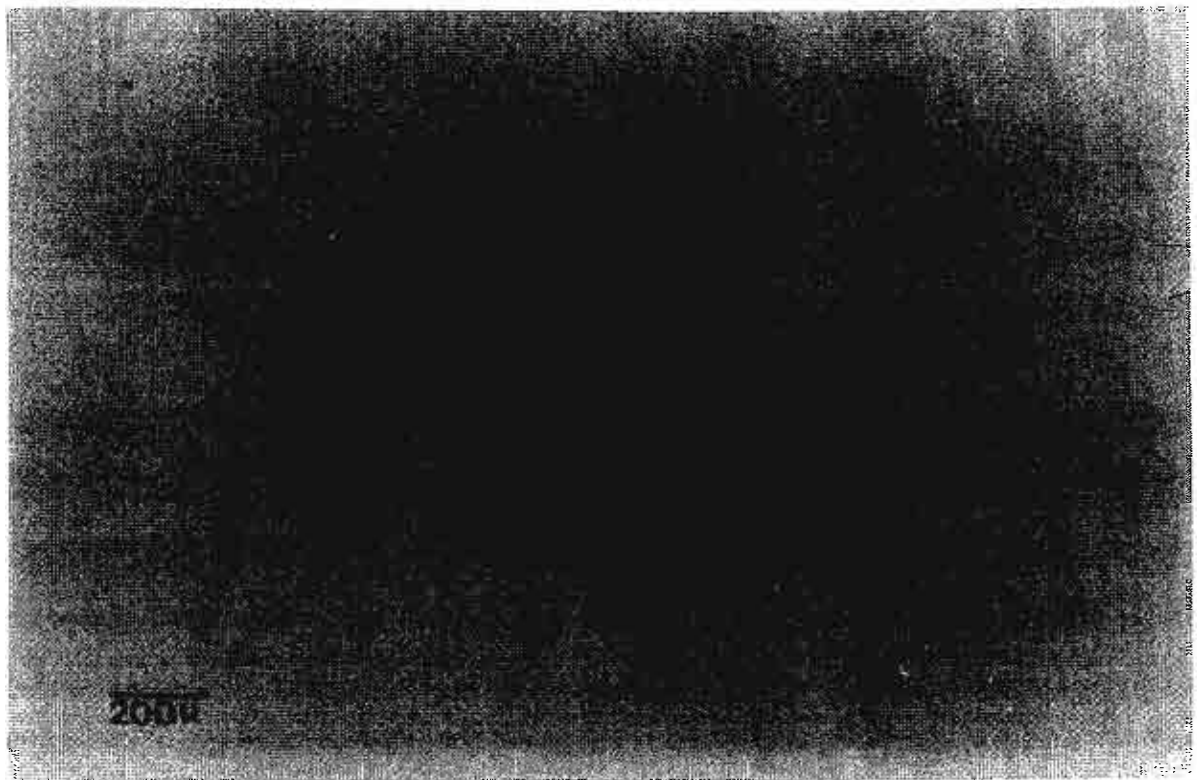
รูปที่ 14 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (SEM) (A,B) และกล้องจุลทรรศน์ (C)
แสดงตัวอ่อนระยะต่างๆ

(A) ระยะที่สร้างเปลือกตัวอ่อน (ES) สมบูรณ์โดยคลุมส่วนลำตัวหมด เหลือแต่
ส่วนเว้า (Ve)

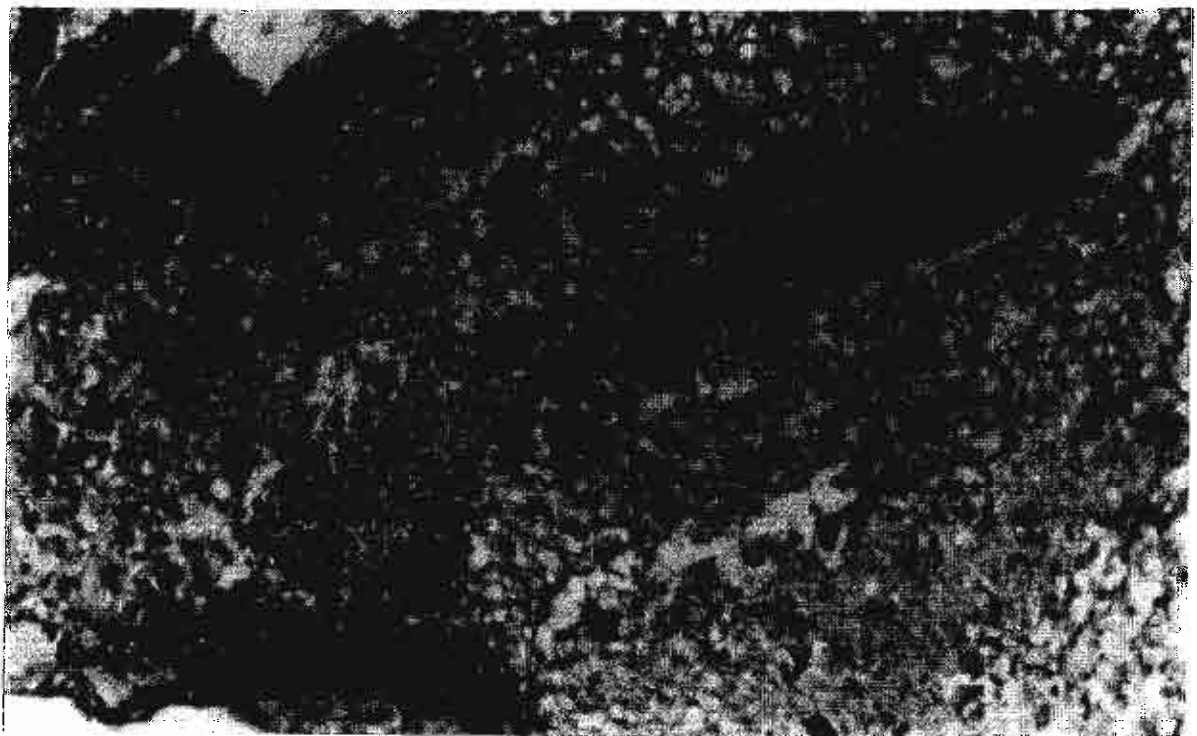
(B,C) ระยะที่มีการสร้างท่อเล็ก ๆ บนเซฟาเลีย เทนเทเคิล ตัวอ่อนระยะนี้มีแผ่นปิดปาก
เปลือก (Op) อวัยวะภายในที่ปรากฏคือต่อมย่อยอาหาร (DG) และระบบทางเดิน
อาหาร (DS)



รูปที่ 16 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แสดงการพัฒนาของระบบต่างๆ ในลูกหอยเป่าอี้อายุ 20-30 วัน
 (A) แสดงการพัฒนาของระบบประสาท คือ มีปมประสาท (NG) เกิดขึ้น
 (B) ภาพขยายแสดงระบบทางเดินอาหารที่ประกอบด้วยต่อมย่อยอาหาร (DC) และกระเพาะอาหาร (SI) ที่มีไดอะตอมบรรจุอยู่



รูปที่ 17 ภาพตัดตามยาวของลูกหอยเป่าอาย 1 เดือน มีการพัฒนาของระบบประสาทโดยเฉพาะปมประสาทพิตัล (PG) ในแผ่นเท้า (F) ส่วนที่เหลือเป็นระบบทางเดินอาหาร (DS)



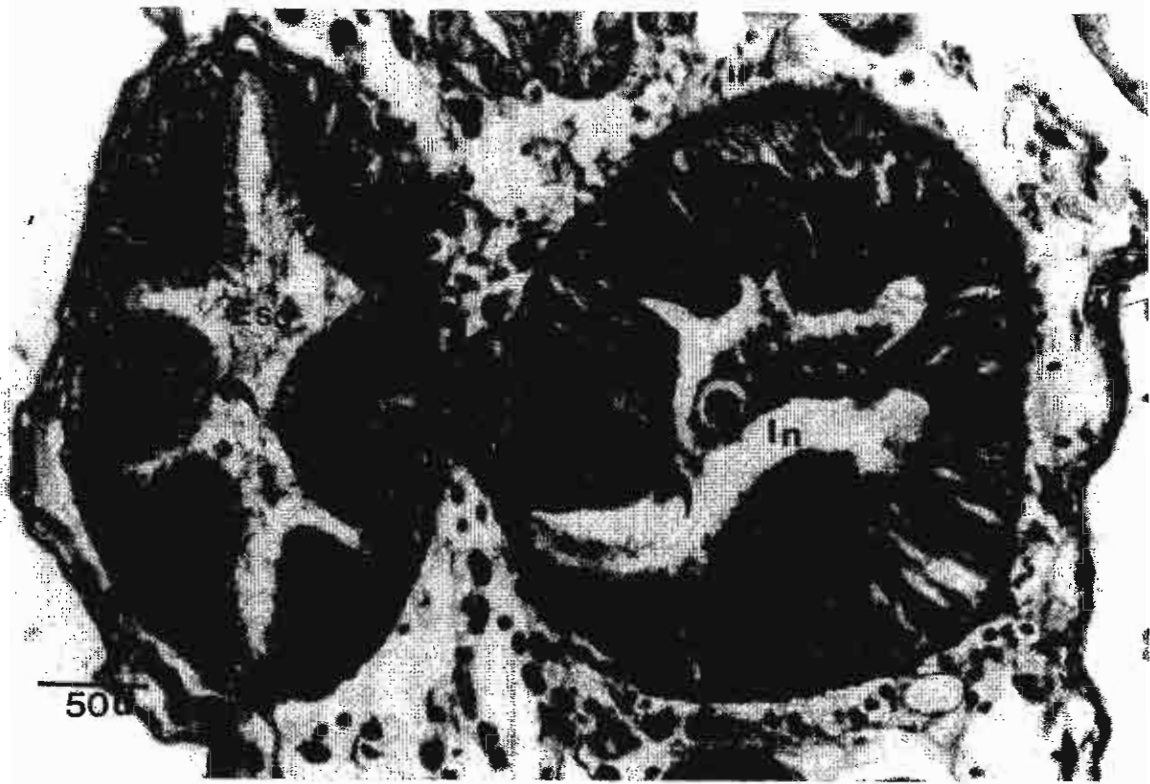
รูปที่ 18 ภาพตัดตามยาวของปมประสาทพิตัล (PG) ที่มีเซลล์ประสาท (NR) ในส่วนคอร์เทกซ์และนิวโรฟิล (NP) ในส่วนเมดัลลา



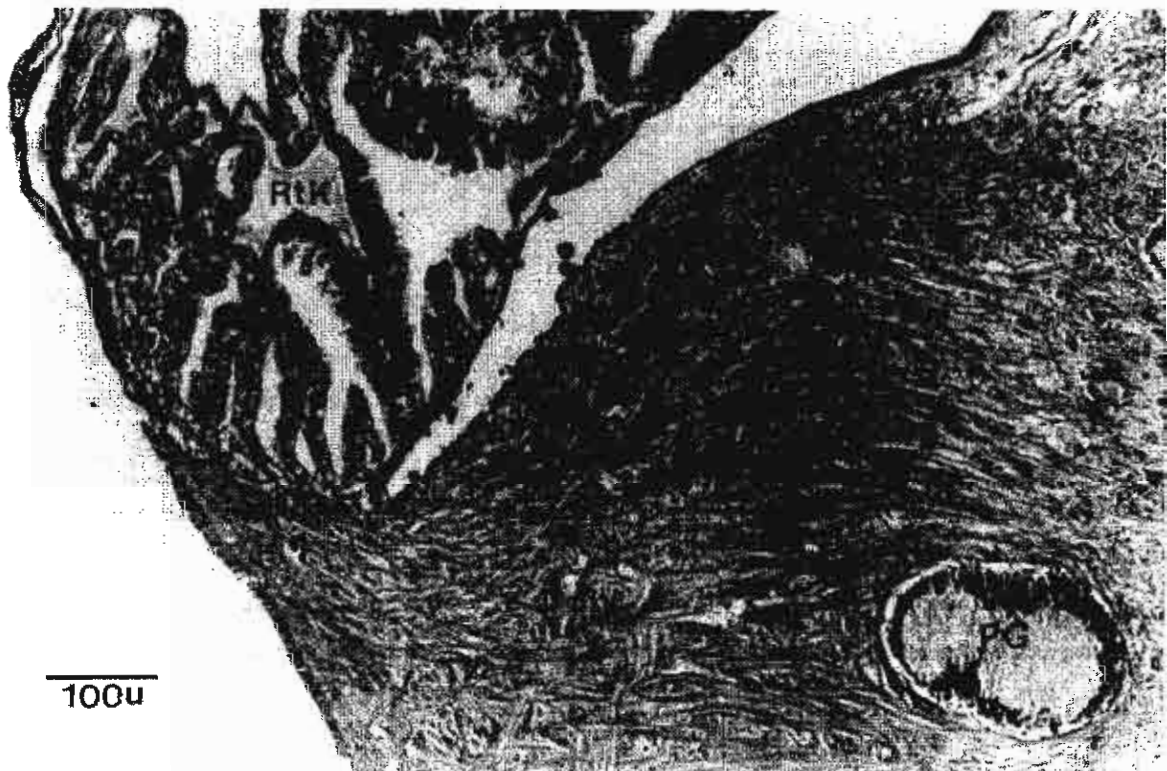
รูปที่ 19 ภาพตัดตามยาวของลูกหอยที่มีอายุ 2 เดือน มีการเจริญพัฒนาของปมประสาทพิตัล (PG) เป็นคู่ในแผ่นเท้า (F)



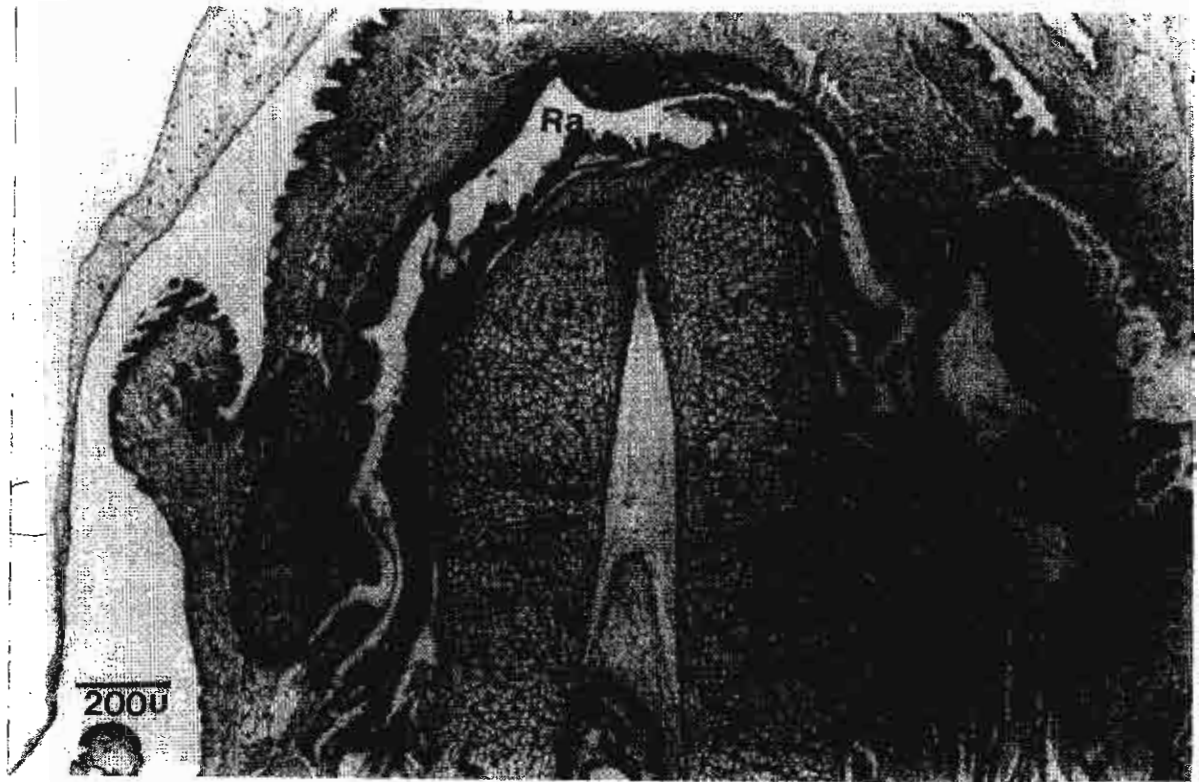
รูปที่ 20 ภาพขยายของรูปที่ 19 แสดงอวัยวะในระบบต่างๆ ในลูกหอยอายุ 2 เดือน คือ ระบบทางเดินอาหารพบหลอดอาหาร (Eso) กระเพาะอาหาร (St) ลำไส้ (In) และเรกตัม (R) ระบบลำเลียงพหั่วใจ (H) กลู่รอบเรกตัม ต่อมไฮโปแบรังก์เคียล (HG) ระบบขับถ่ายพบไตข้างขวา (RIK)



รูปที่ 21 ภาพขยายของรูปที่ 19 แสดงเนื้อเยื่อของหลอดอาหาร (Eso) และลำไส้ (In) ซึ่งประกอบด้วยเซลล์คอลิมนาร์ที่มีขี้เลื่อย (ลูกศร)



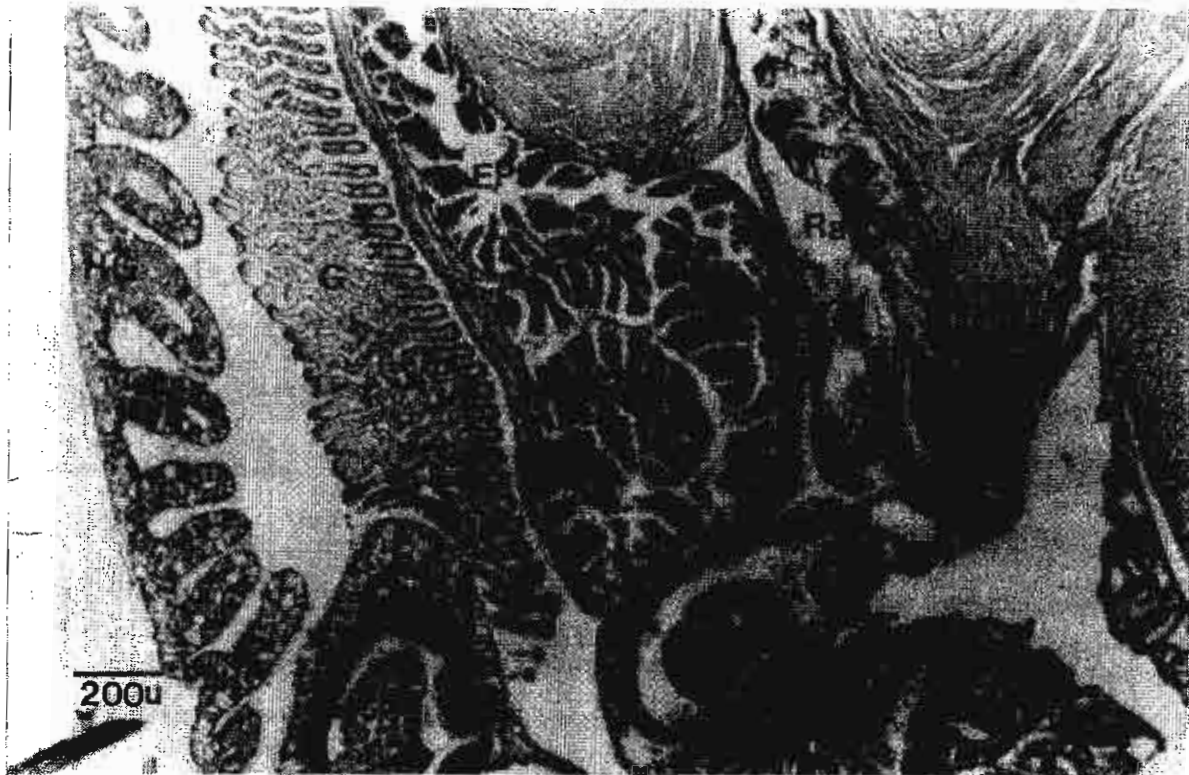
รูปที่ 22 ภาพขยายของรูปที่ 19 แสดงไตข้างขวา (RtK) PG = ปมประสาทพิตัล, F = เยื่อหุ้ม



รูปที่ 23 ภาพตัดตามยาวของลูกหอยที่มีอายุ 3-4 เดือน ลูกหอยมีขนาดใหญ่มากและมี
อวัยวะต่างๆ ที่พัฒนาดีขึ้นได้แก่ ปมประสาทเซรีบรัล (CG) 1 คู่ อยู่บริเวณส่วนหัวใกล้
กับแตรดูลา (Ra) และโอดอนโทฟอร์ (Od) ปมประสาทพิตัลและปมประสาทพลูรัลมา
รวมกันเป็นปมประสาทพลูโรพิตัล (PPG)



รูปที่ 24 ภาพตัดตามยาวของลูกหอยอายุ 3-4 เดือน แสดงกระเพาะอาหาร (Si) และไตข้าง
ขวา (RIK)



รูปที่ 25 ภาพตัดตามยาวของลูกหอยอายุ 3-4 เดือน แสดงต่อมไฮโปแบรินเคิล (HG) เหงือก (G) ถุงหลอดอาหาร (EP) แรตุลา (Ra) และไตข้างขวา (RiK)



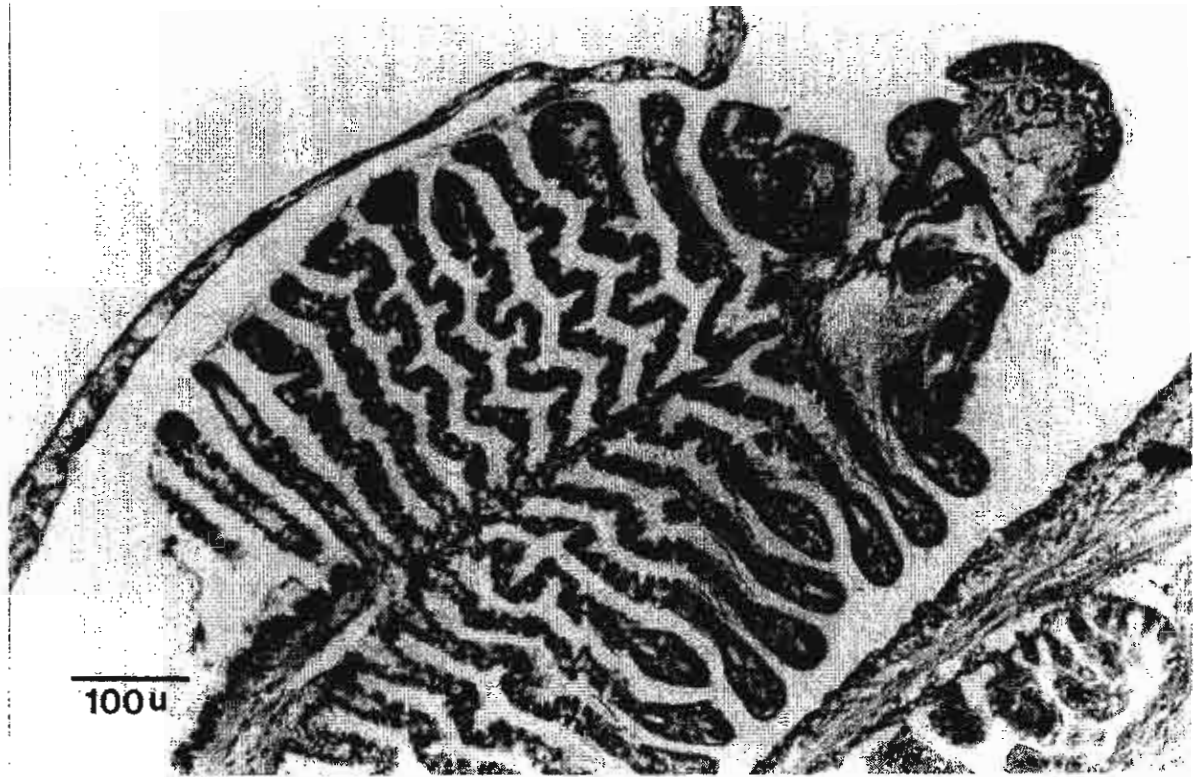
รูปที่ 26 ภาพตัดตามยาวของลูกหอยอายุ 3-4 เดือน แสดงไตข้างซ้าย (LiK) และไตข้างขวา (RiK)



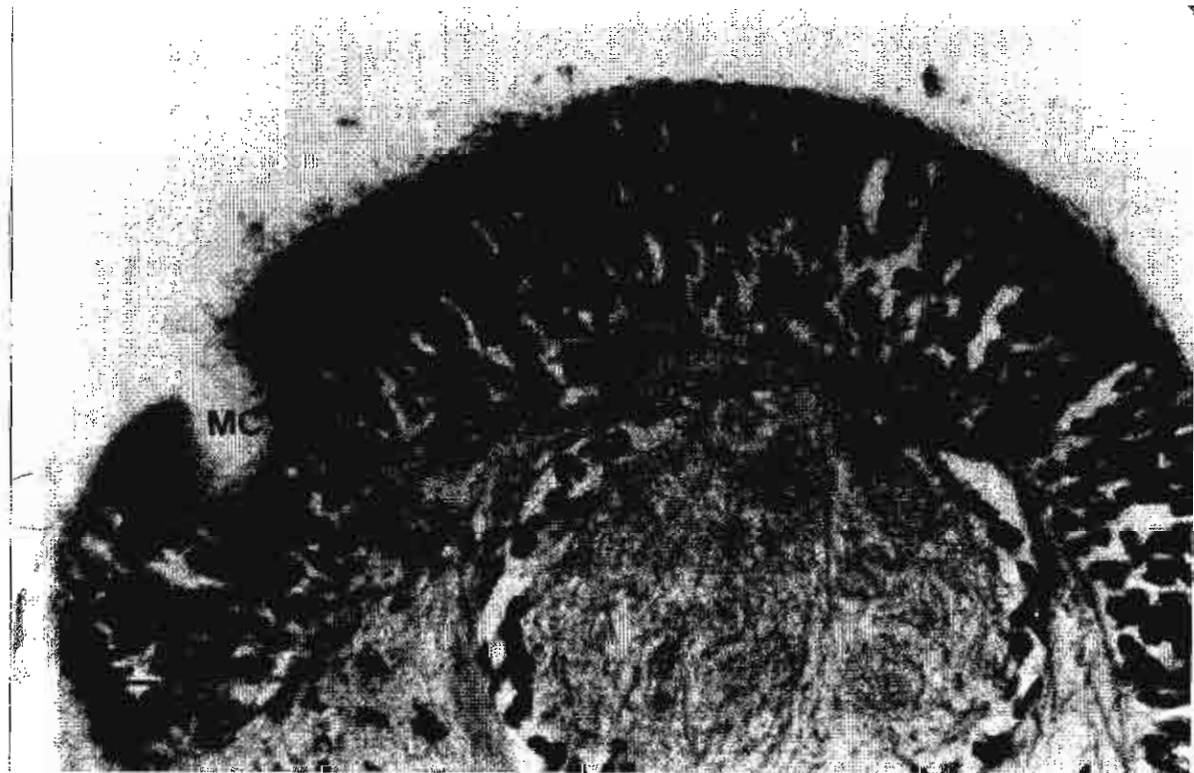
รูปที่ 27 ภาพขยายของเหงือกในลูกหอยอายุ 3-4 เดือน มีลักษณะเป็นแผ่น หรือฟิลาเมนต์ (Fi) มีเนื้อเยื่อชนิดแบนบาง (Epi) ส่วนปลายมีแผ่นกระดูกอ่อน (SR) และเซลล์สร้างสารเมือก (MC)



รูปที่ 28 ภาพขยายของต่อมไฮโปแบริงเคิลในลูกหอยอายุ 3-4 เดือน ประกอบด้วยเซลล์สร้างสารเมือก (MC) และเซลล์สร้างสารไกลโคโปรตีน (GC)



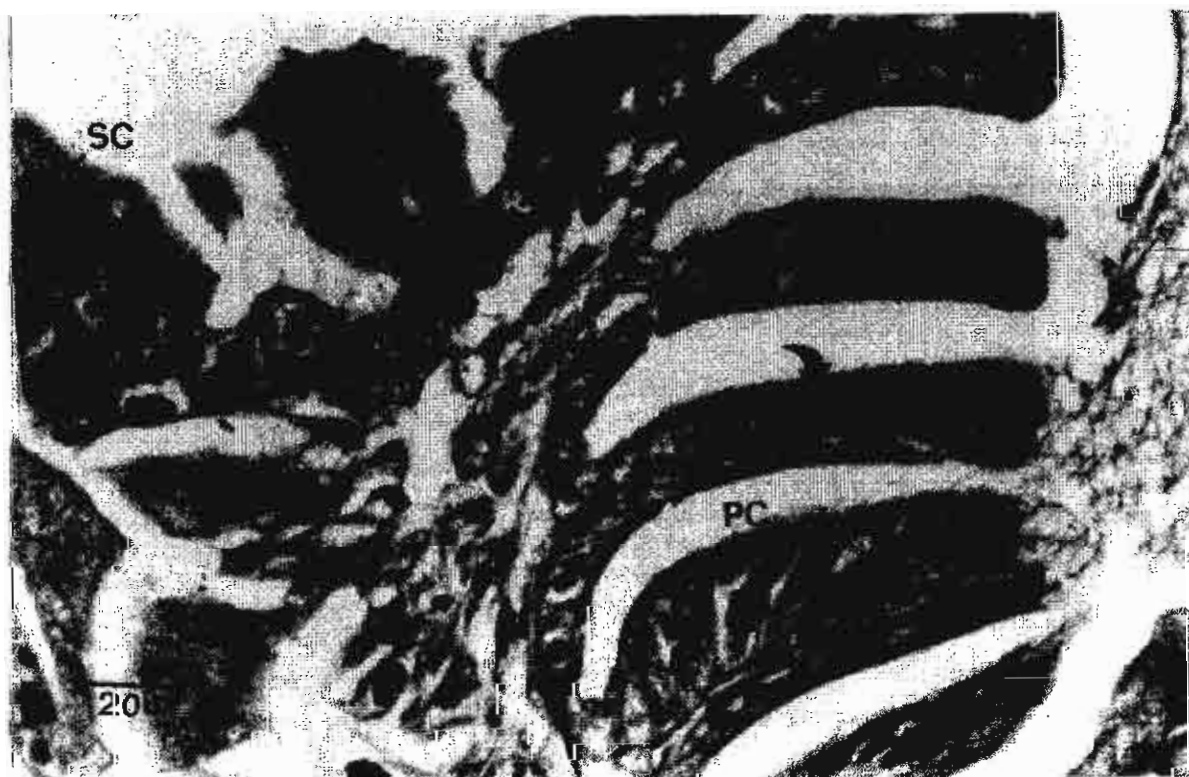
รูปที่ 29 ภาพตัดตามยาวของเหงือกของลูกหอยอายุ 3-4 เดือน แสดงออสเฟรเดียม (Os)



รูปที่ 30 ภาพขยายของออสเฟรเดียม (Os) แสดงเซลล์บุผิวที่เป็นเซลล์รับสัมผัสทางเคมี (SrC) และเซลล์สร้างสารเมือก (MC)



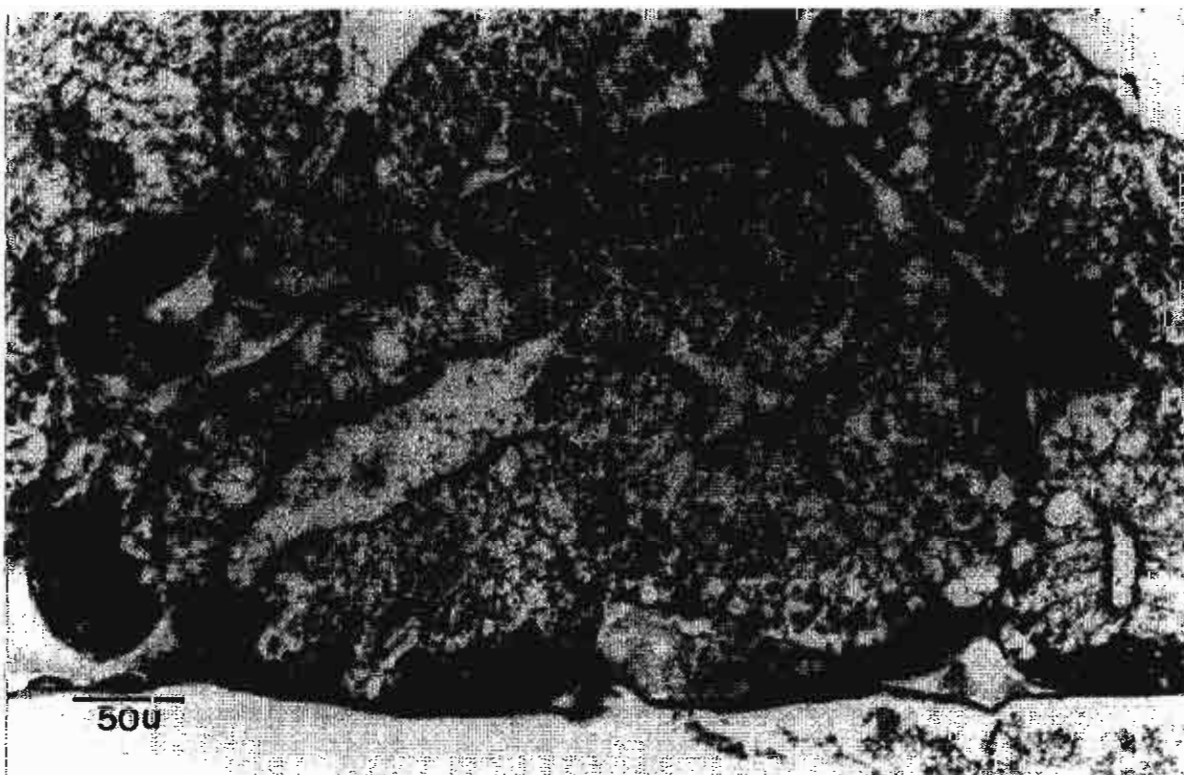
รูปที่ 31 ภาพขยายของถุงหลอดอาหาร (EP) ในลูกหอยอายุ 3 เดือนที่มีขนาดใหญ่มาก Ra = แรตุลา



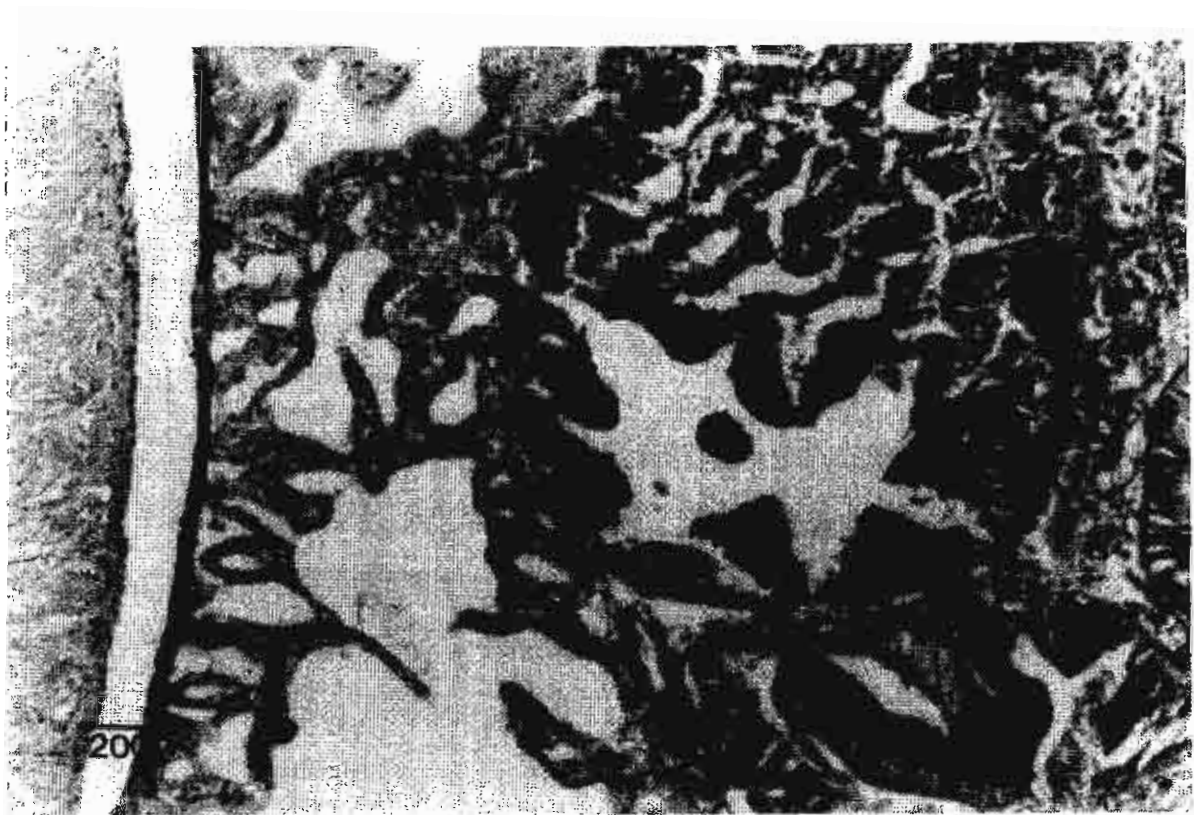
รูปที่ 32 ภาพขยายของเนื้อเยื่อที่บุหลอดอาหาร ประกอบด้วยเซลล์คล้มนาร์ที่ทำหน้าที่หลั่งสาร (SC) และเซลล์ที่มีเมดสี (PC) สังเกตชั้นคิวทิเคิลที่หนา (ลูกศร)



รูปที่ 33 ภาพตัดตามยาวของดับ (DG) ในลูกหอยอายุ 3-4 เดือน มีลักษณะเป็นพู



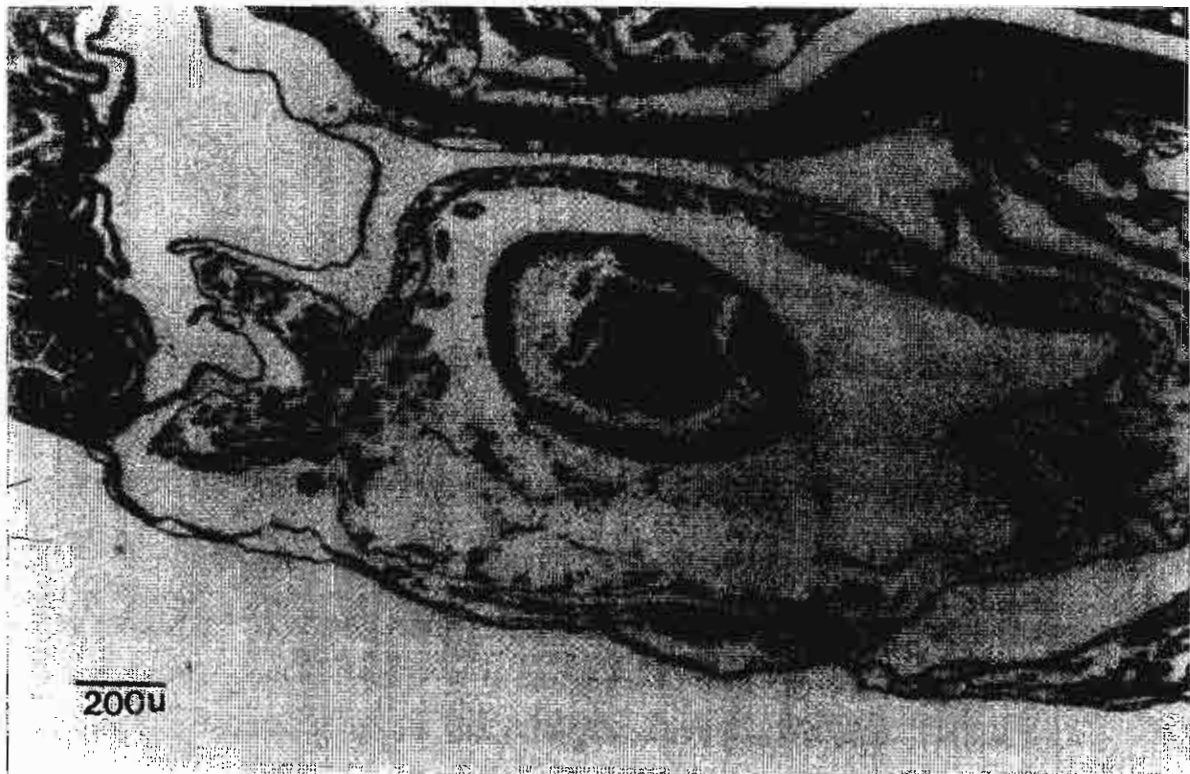
รูปที่ 34 ภาพหายากของดับแสดงเนื้อเยื่อของดับที่ประกอบด้วยเซลล์หลังน้ำย่อย (SC) ที่มีสีเข้ม และเซลล์ย่อยอาหาร (DC)



รูปที่ 35 ภาพตัดตามยาวของไตข้างขวา (Rik) ในลูกหอยอายุ 3-4 เดือน



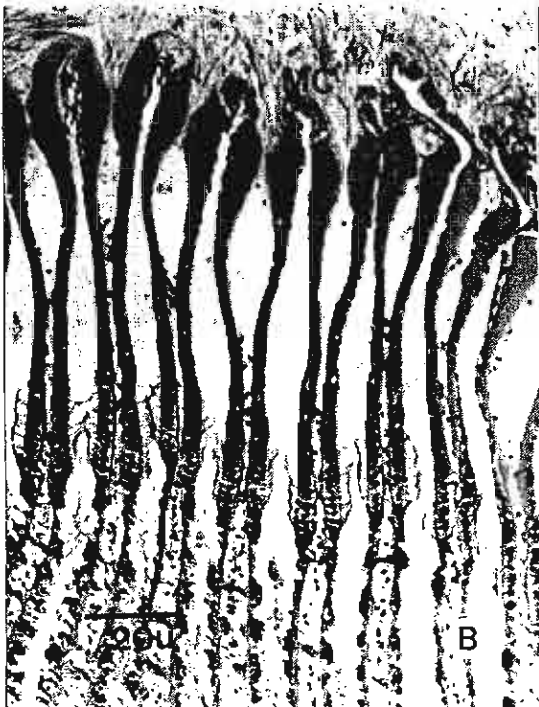
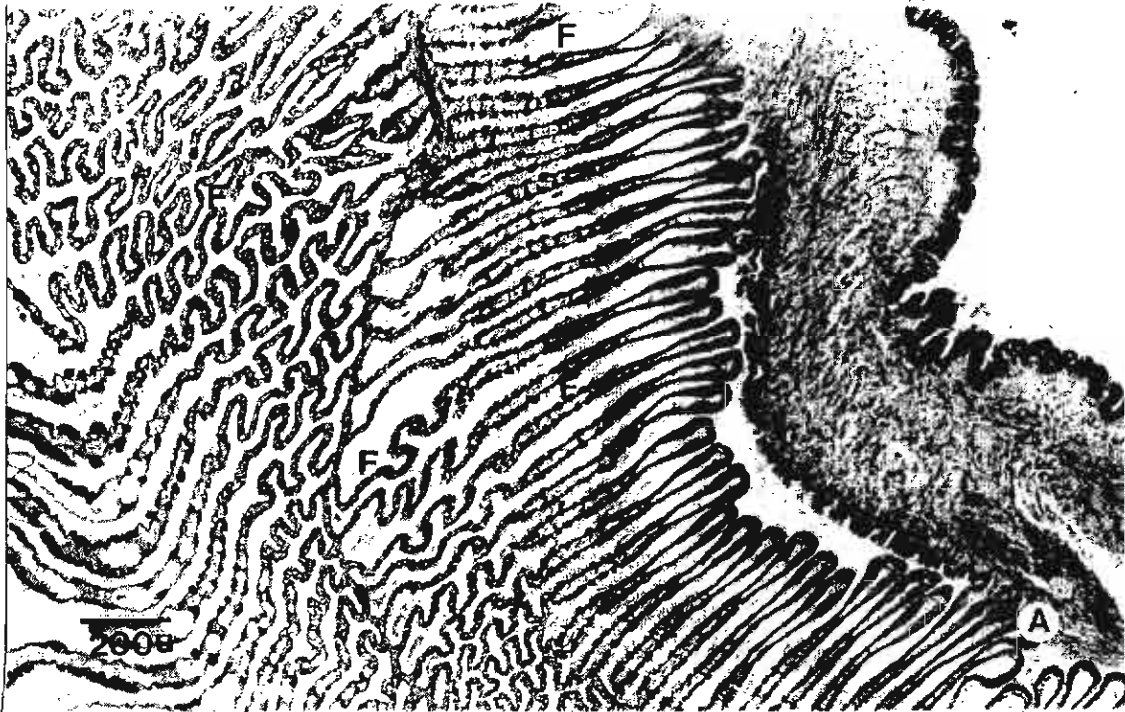
รูปที่ 36 ภาพขยายของเนื้อเยื่อที่บุไตข้างขวา (Epi) ประกอบด้วยเซลล์รูปร่างสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ที่มีเม็ดสีอยู่ภายใน

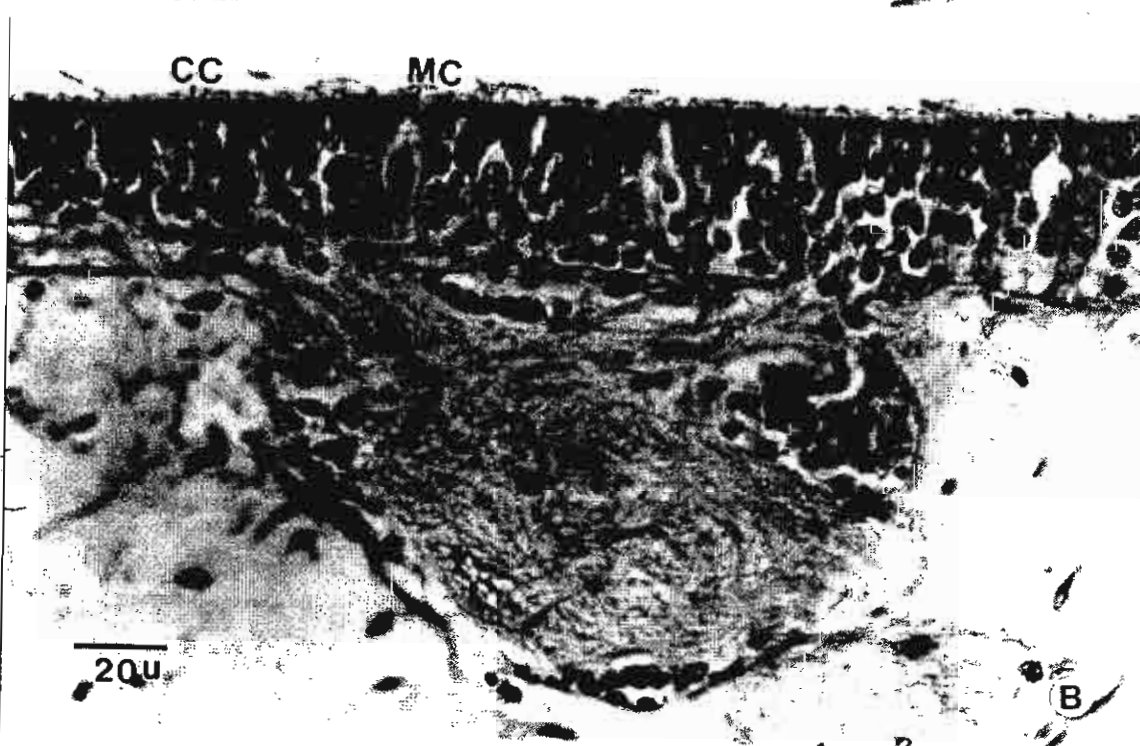
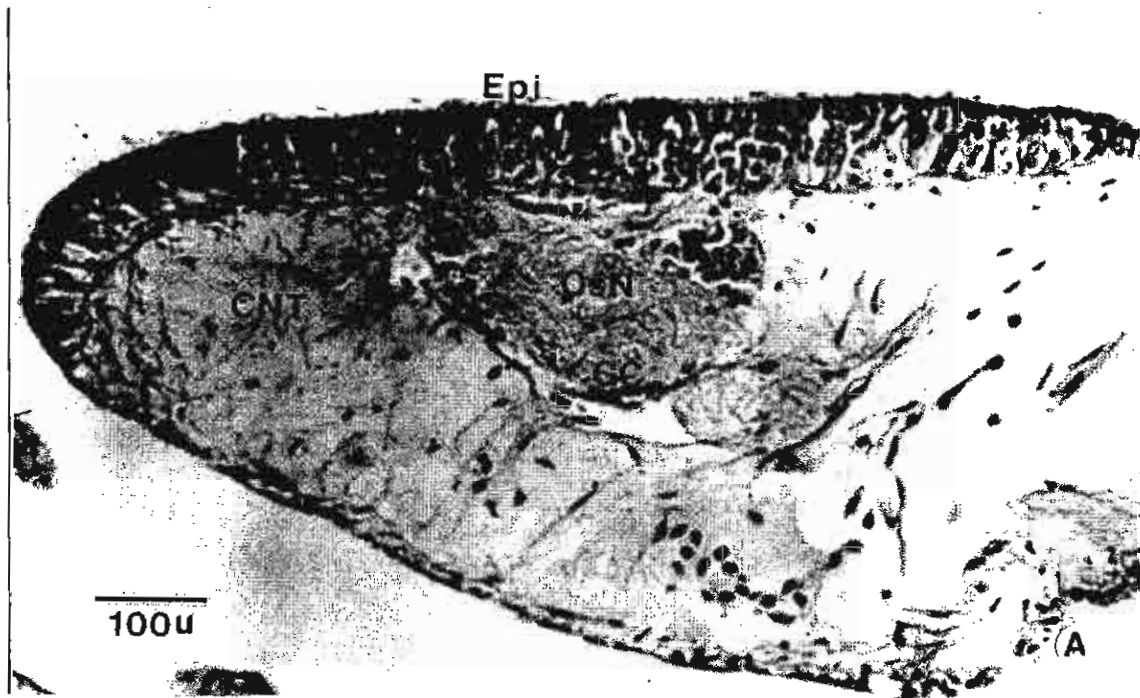


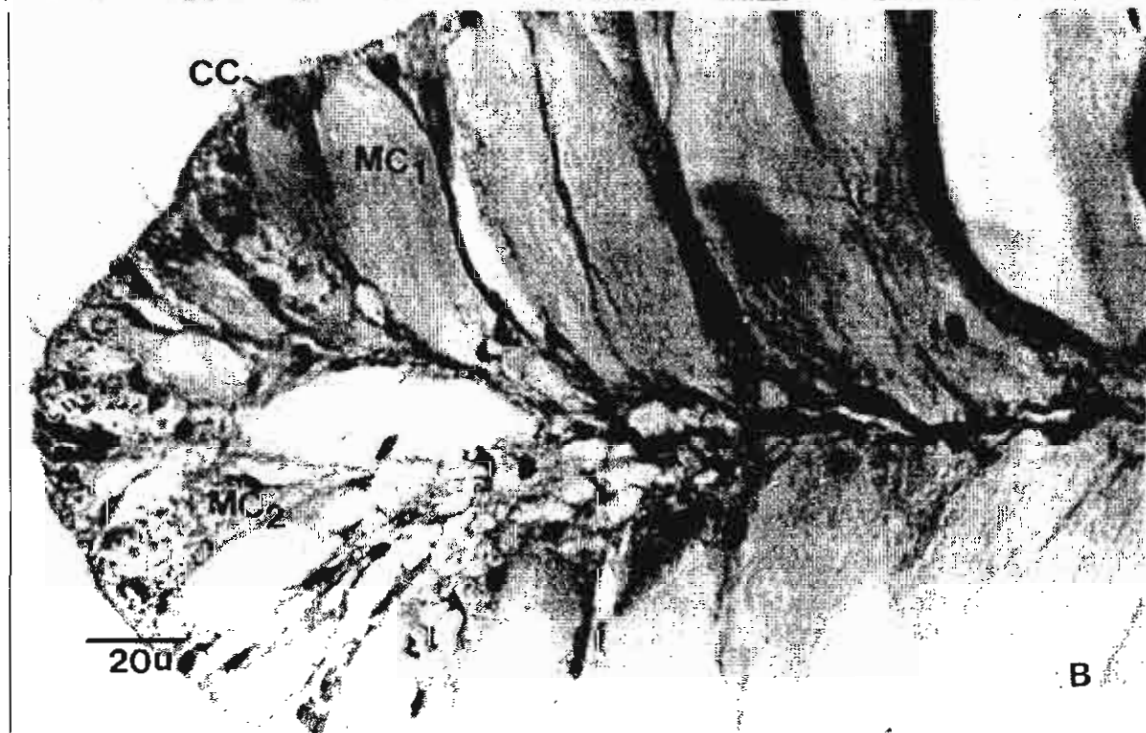
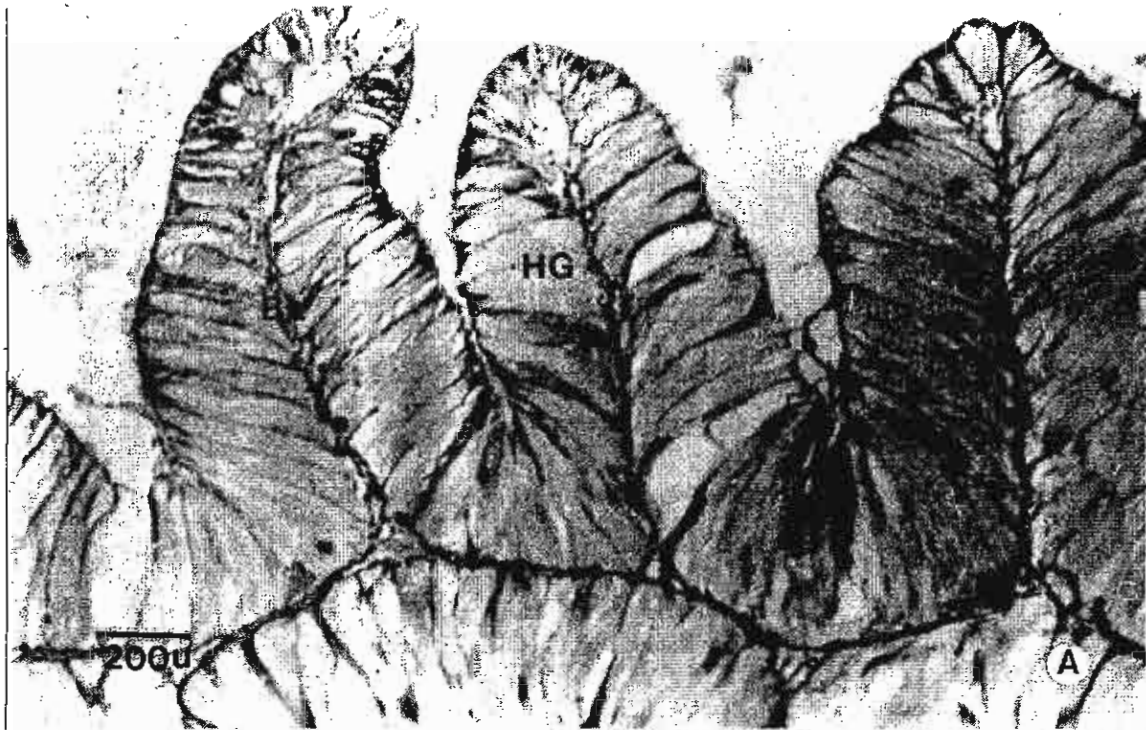
รูปที่ 37 ภาพตัดตามยาวของลูกหอยอายุ 5-6 เดือน แสดงหัวใจส่วนเวนทริเคิล (H) ที่โอบอยู่รอบเรกตัม (R)

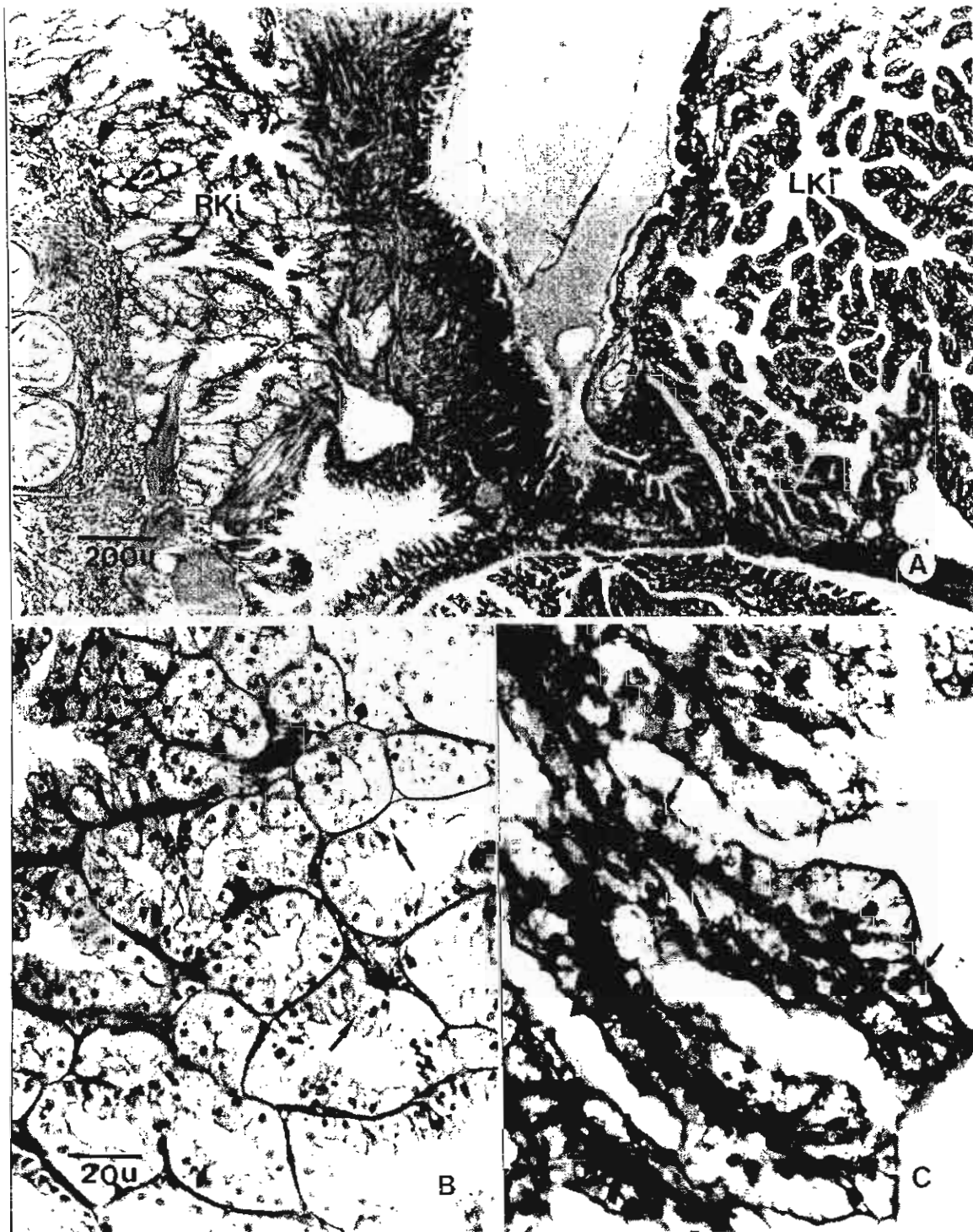


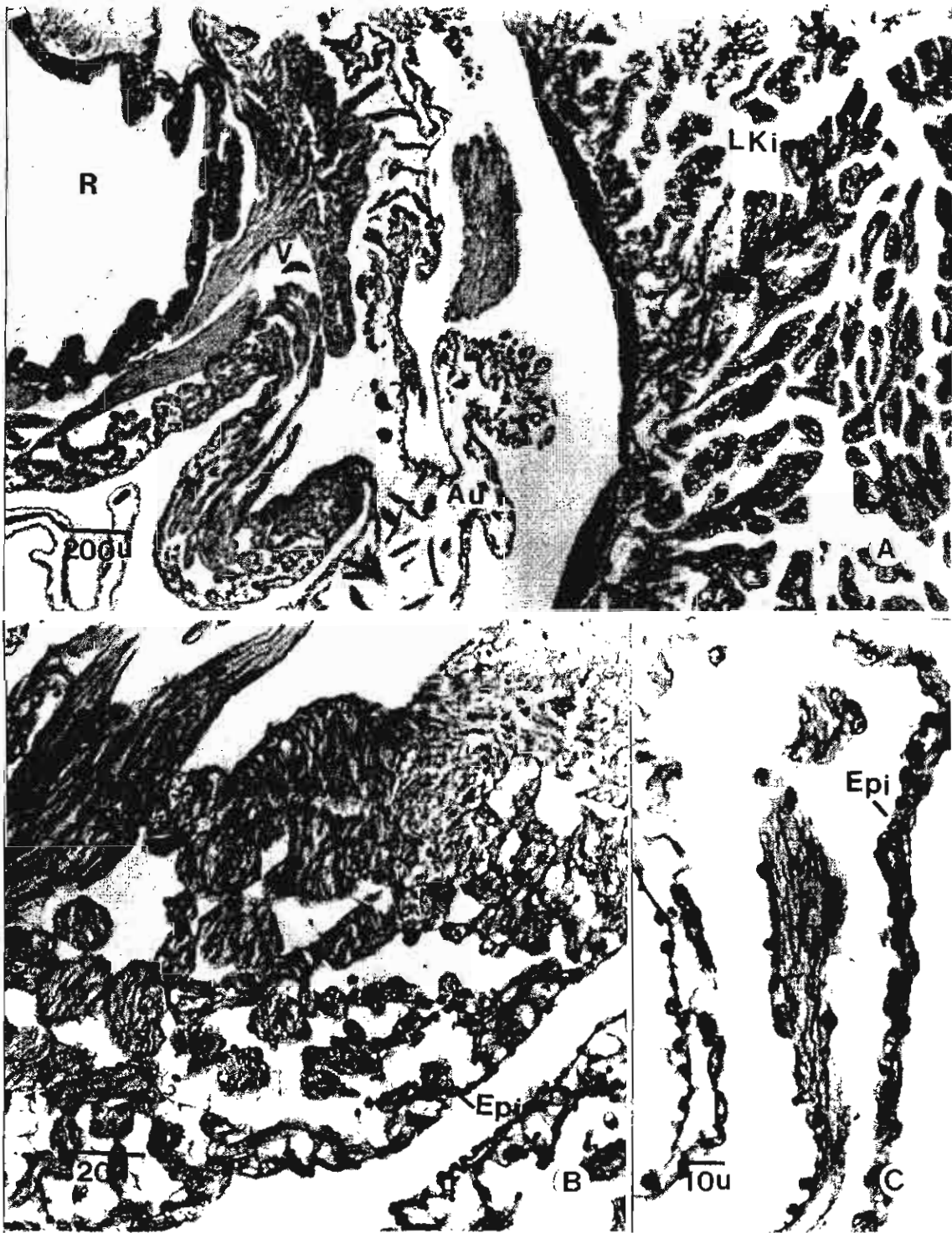
รูปที่ 38 ภาพฉายของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ (M) ในเวนทริเคิล Epi = เนื้อเยื่อบุผิวของลำไส้











REFERENCES

1. Crofts DR (1929) *Haliotis*. *Liverpool Mar. Biol. Committee Memoirs Typical Br Mar Plants Animals* 29, 1-174.
2. Bevelander G (1988) *Abalone Gross and Fine Structure*. The Boxwood Press, Pacific Grove, California.
3. Russell CW and Evans BK (1989) Cardiovascular anatomy and physiology of the black-lip abalone, *Haliotis ruber*. *J Exp Zool* 252, 105-117.
4. Ricardo L and Simone L (1998) Morphology of the Western Atlantic Haliotidae (Gastropoda, Vetigastropoda) with description of a new species from Brazil. *Malacologia* 39(1-2), 59-75.
5. Hunt B S (1973) Fine structure of the secretory epithelium in the hypobranchial gland of the prosobranch gastropod mollusc *Buccinum undatum*, L. *J Mar Biol Assoc UK* 53, 59-71.
6. Newell P F and Brown A C (1977) The fine structure of the osphradium of *Bullia digitalis* Meuschen (Gastropoda, Prosobranchia). *Malacologia* 16(1), 197-205.
7. Brown A C and Noble R G (1960) Function of the osphradium in *Bullia* (Gastropoda). *Nature* 188 (4755), 1045.
8. Garton D W, Roller R A and Caprio J (1984) Fine structure and vital straining of osphradium of the southern oyster drill, *Thais haemastoma canaliculata*. *Biol Bull* 167, 310-321.
9. Haszprunar G (1985) The fine morphology of the osphradial sense organs of the mollusc. I. Gastropoda, Prosobranchia. *Phil Trans R Soc Lond B* 307, 457-496.

บ. ผลงานวิจัยที่กำลังเตรียมและบทคัดย่อ

Early juvenile growth of the abalone *Haliotis asinina* fed artificial diets

Maleeya Kruatrachue¹, Saowapa Sawatpeera², Yaowaluk Chitramvong¹, E.Suchart Upatham³ and Sakon Sangprodub⁴

¹Department of Biology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, Thailand

²Institute of Marine Science, Burapha University, Chonburi 20131, Thailand

³Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131, Thailand

⁴Coastal Aquaculture Development Center, Prachuap Khiri Khan 77000, Thailand

Abstract

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 $\mu\text{m}/\text{day}$). 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 manuscript is in preparation to be submitted to the *Nautilus*.

Settlement and early growth of abalone larvae (*Haliotis asinina*) in response to diatoms

Maleeya Kruatrachue¹, Saowapa Sawatpeera², Yaowaluk Chitramvong¹, E.Suchart Upatham³ and Tanate Poomthong⁴

¹Department of Biology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

²Institute of Marine Science, Burapha University, Chonburi 20131, Thailand

³Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131, Thailand

⁴Coastal Aquaculture Development Center, Prachuap Khiri Khan 77000, Thailand

Abstract

Five benthic diatom species were isolated and maintained in culture (*Navicula* sp.1 (8x3 µm), *Navicula* sp.2 (13x8 µm), *Navicula* sp.3 (18x3 µm), *Navicula* sp.4 (38x3 µm) and *Nitzschia* sp. (38x12 µm). 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 µm/day, W 1.58 mg/day) and *Navicula* sp. 2 (SL 78.60 µm/day, W 0.96 mg/day).

The manuscript is in preparation to be submitted to *Aquaculture International*
Light and electron microscopic studies of the toxic effects of heavy metals (lead and cadmium) on the abalone, *Haliotis asinina*

Light and electron microscopic studies of the toxic effects of heavy metals (lead and cadmium) on the abalone, *Haliotis asinina*

Maleeya Kruatrachue¹, Amporn Thongkukiatkul², Yaowaluk Chitramvong¹, E.Suchart Upatham³, Thawee Rojanasarampakit⁴ and Sombat Singhakaew¹

¹Department of Biology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

²Department of Biology, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131, Thailand

³Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131, Thailand

⁴Coastal Aquaculture Development Center, Prachuap Khiri Khan 77000, Thailand

Abstract

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.

The manuscript is in preparation to be submitted to *Journal of the Malacological Society of Australia*.

Scanning electron microscopic study on shell sculpture and radula of juvenile abalone
Haliotis asinina Linnaeus

Yaowaluk Chitramvong¹, Voranath Kaewkamthong¹, Maleeya Kruatrachue¹,
E.Suchart Upatham², Krissana Parkpoomkamol¹ and Siriwan Nooseng³

¹Department of Biology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, Thailand

²Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131, Thailand

³Coastal Aquaculture Development Center, Prachuap Khiri Khan 77000, Thailand

Abstract

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.

The manuscript is in preparation to be submitted to *Molluscan Research*