ผลของอุณหภูมิที่มีต่อ

การเจริญเติบโตของลูกหอยนางรมวัยอ่อน *Crassostrea lugubris*

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

นายเฉลิมศักดิ์ จารยะพันธุ์

001789

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2522

I16580758

EFFECT OF TEMPERATURE ON
THE DEVELOPMENT OF OYSTER LARVAE *Crassostrea lugubris*

Mr. Pardermsak Jarrayabandhu

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
Department of Marine Science
Graduate School
Chulalongkorn University
1979

Thesis Title : Effect of Temperature on the Development of Oyster Larvae Crassostrea lugubris.

By : Mr. Pardermsak Jarrayabandhu

Department : Marine Science

Thesis Advisor : Assistant Professor Piamsak Menasveta , Ph.D

Accepted by the Graduate School , Chulalongkorn University in partial fulfillment of the requirements for the Master's degree.

S. Bunnag ....Dean of Graduate School

(Associate Professor Supradit Bunnag , Ph.D)

Thesis Committee

Manuwadi Hungspreugs ....Chairman

(Assistant Professor Manuwadi Hungspreugs , Ph.D)

..............................Member

(Assistant Professor Piamsak Menasveta , Ph.D)

Suraphol Sudara ....Member

(Assistant Professor Suraphol Sudara , Ph.D)

Nittharatana Paphavasit...Member

(Mrs. Nittharatana Paphavasit)

Copyright of the Graduate School , Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการเจริญเติบโตของลูกหอยนางรมวัยอ่อน
ชื่อ นายเผดิมศักดิ์ จารยะพันธุ์
อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต
แผนกวิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล
ปีการศึกษา ๒๕๒๑

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

ปัญหามลภาวะทางอุณหภูมิเป็นปัญหาที่มีความสำคัญมากในภูมิภาคเขตร้อน ประกอบกับข้อมูลเกี่ยวกับเรื่องนี้มีอยู่น้อยมาก ดังนั้นการศึกษาถึงผลของอุณหภูมิที่มีต่อการพัฒนาการตัวอ่อนของหอยนางรมพันธุ์ใหญ่ <u>Crassostrea</u> <u>lugubris</u> จึงมีประโยชน์ในการที่จะช่วยให้เข้าใจถึงผลของมลภาวะทางอุณหภูมิที่มีต่อสิ่งมีชีวิตในทะเล และยังเป็นแนวทางพื้นฐานในการที่จะใช้การพัฒนาการตัวอ่อนของหอยนางรมพันธุ์ใหญ่มาเป็นตัวชี้ในการศึกษาทางด้าน Bioassay ทั้งนี้เพื่อที่จะนำผลที่ได้มาเป็นมาตรฐานในการควบคุมมลภาวะในทะเลต่อไปในอนาคต ตลอดจนอาจจะนำเอาวิธีการที่ใช้ทดลองมาดัดแปลงเพื่อนำไปใช้ในการพัฒนาการเพาะเลี้ยงหอยนางรมพันธุ์ใหญ่ให้ได้ผลที่ดีขึ้น

ได้ทำการศึกษาโดยการกระตุ้นหอยนางรมพันธุ์ใหญ่เกิดการปฏิสนธิภายนอกด้วยอุณหภูมิ จากนั้นนำไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิแล้วมาทำการทดลองตามหัวข้อต่างๆต่อไป พบว่าในการพัฒนาการขั้นต้นของไข่หอยนางรมพันธุ์ใหญ่ที่ได้รับการปฏิสนธิแล้วจนถึงขั้น D-shaped นั้นสามารถแบ่งออกได้เป็น ๑๔ ระยะ

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อการพัฒนาการขั้นต้นของไข่หอยนางรมพันธุ์ใหญ่ พบว่าการพัฒนาการจะเร็วขึ้นเมื่ออุณหภูมิที่ใช้ฟักมีค่าสูงขึ้น . ไข่ของหอยนางรมพันธุ์ใหญ่ที่ได้รับการปฏิสนธิแล้วจะมีจำนวนร้อยละเฉลี่ยของการฟักเป็นตัวอ่อนเพิ่มขึ้นจาก ๕๗.๙๘ ± ๒.๔๔ เป็น ๙๕.๔๑ ± ๑.๐๓ เมื่ออุณหภูมิที่ใช้ฟักมีค่าเพิ่มขึ้นจาก ๒๓.๕ องศาเซลเซียส เป็น ๓๒.๕ องศาเซลเซียส . จำนวนร้อยละเฉลี่ยของการพัฒนาการที่ผิดปกติของไข่หอยนางรมพันธุ์ใหญ่ที่ได้รับการปฏิสนธิแล้วมีค่าเพิ่มขึ้นจาก ๕.๘๒ ± ๒.๙๑ เป็น ๘.๖๒ ± ๔.๕๖ เมื่ออุณหภูมิที่ใช้ฟักมีค่าเพิ่มขึ้นจาก ๒๓.๕ องศาเซลเซียส

เป็น ๓๒.๕ องศาเซลเซียส และจำนวนร้อยละเฉลี่ยของไข่หอยนางรมพันธุ์ใหญ่ที่ได้รับการปฏิสนธิแล้วแต่ไม่มีการพัฒนาลดลงจาก ๒๑.๘๙ ± ๑๔.๑๗ เป็น ๐.๒๒ ± ๐.๔๔ เมื่ออุณหภูมิที่ใช้ฟักมีค่าเพิ่มขึ้นจาก ๒๓.๕ องศาเซลเซียส เป็น ๓๒.๕ องศาเซลเซียส

อุณหภูมิฟักที่สูงจนไข่หอยนางรมพันธุ์ใหญ่ที่ได้รับการปฏิสนธิแล้วไม่สามารถฟักเป็นตัวอ่อนได้มีค่า ๓๕.๕ องศาเซลเซียส

จากการศึกษาเพื่อหาค่าของอุณหภูมิวิกฤตสูงสุดของตัวอ่อนระยะ moving blastula ที่อุณหภูมิที่ใช้ฟัก ๓ ระดับพบว่าค่าของอุณหภูมิวิกฤตสูงสุดที่ได้มีค่า ๔๘.๕ องศาเซลเซียส เหมือนกันหมด จากผลที่ได้แสดงว่าไม่มีความสัมพันธ์กันระหว่างค่าของอุณหภูมิวิกฤตสูงสุดของตัวอ่อนกับระดับของอุณหภูมิฟัก ส่วนค่าอุณหภูมิวิกฤตสูงสุดของตัวอ่อนในขั้น D-shaped ที่อุณหภูมิเลี้ยง ๒๓.๕ และ ๒๘.๐ องศาเซลเซียสมีค่า ๔๘.๑๗ ± ๐.๒๙ องศาเซลเซียส ส่วนที่เลี้ยงที่อุณหภูมิเลี้ยง ๓๒.๕ องศาเซลเซียสนั้นค่าอุณหภูมิวิกฤตสูงสุดของตัวอ่อนในขั้น D-shaped มีค่า ๔๘.๕ องศาเซลเซียสจากผลที่ได้แสดงว่า น่าจะมีความสัมพันธ์กันบ้างระหว่างค่าของอุณหภูมิวิกฤตสูงสุดของตัวอ่อนในระยะนี้กับระดับของอุณหภูมิที่ใช้ฟัก

ค่า $12\ hr-Lt_{50}$ ของตัวอ่อนในขั้น D-shaped ที่อุณหภูมิเลี้ยง ๒๓.๕ , ๒๘.๐ และ ๓๒.๕ องศาเซลเซียสมีค่า ๓๔.๙๕ , ๓๗.๙๕ และ ๓๗.๙๕ องศาเซลเซียส ตามลำดับ ส่วนค่า $24\ hr-Lt_{50}$ ของตัวอ่อนในขั้น D-shaped ที่อุณหภูมิเลี้ยง ๒๓.๕ , ๒๘.๐ และ ๓๒.๕ องศาเซลเซียสมีค่า ๓๔.๕ , ๓๗.๔๕ และ ๓๗.๖ **องศาเซลเซียส** ตามลำดับ จากผลที่ได้ แสดงว่าทั้ง $12\ hr-Lt_{50}$ และ $24\ hr-Lt_{50}$ จะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิที่ใช้เลี้ยงมีค่าเพิ่มขึ้น

Thesis Title Effect of Temperature on the Development of Oyster Larvae *Crassostrea lugubris*.

Name Mr. Pardermsak Jarrayabandhu

Thesis Advisor Assistant Professor Piamsak Menasveta , Ph.D

Department Marine Science

Academic year 1978

ABSTRACT

Thermal pollution problem is an important problem in tropical zone and there is a very limited information regarding the thermal pollution in this region. The studying about the effect of temperature on the development of oyster larvae(C. *lugubris*) is one of several methods lean about the effect of thermal pollution on marine organisms. The data obtained from this experiment can be used as base-line informations. The development of oyster larvae can be used as an indicator in bioassay technique and the establishing of the water quality criteria for controlling the marine pollution may be evaluated. Furthermore , the information gained from this investigation can also be used for the improvement of oyster culture in Thailand.

By thermal stimulation , the external fertilization of gravid oysters were induced and the fertilized eggs were obtained. Early development of C. *lugubris* was studied. Each stage of the early development was observed and divided into 14 stages. It was found that the time required for every stage of the development was decreased

with the increase of incubation temperature. The average percentage of the hatchability of oyster larvae increased from 57.18 ± 2.44 to 95.41 ± 1.03 when the acclimation temperature increased from 23.5°C to 32.5°C. The average percentage of abnormally developed eggs increased from 5.82 ± 2.91 to 8.26 ± 4.56 when the acclimation temperature increased from 23.5°C to 32.5°C. The average percentage of undeveloped eggs decreased from 21.89 ± 14.17 to 0.22 ± 0.44 when the acclimation temperature increased from 23.5°C to 32.5°C. The highest temperature that prevented the hatchability was at 35.5°C. The critical thermal maximum of the blastula swimming stage of oyster larvae at three levels of acclimation temperature were all the same at 48.5°C. The CTM of D-shaped larvae acclimated at 23.5°C , 28.0°C and 32.5°C were 48.17 ± 0.29°C , 48.17 ± 0.29°C and 48.5°C respectively. The obtained data showed only a very slight relationship between the CTM and acclimation temperature. The 12 hr-Lt_{50} of D-shaped larvae acclimated at 23.5°C , 28.0°C and 32.5°C were 34.95°C , 37.95°C and 37.95°C respectively. The 24 hr-Lt_{50} of D-shaped larvae acclimated at 23.5°C , 28.0°C and 32.5°C were 34.5°C , 37.45°C and 37.6°C respectively. The obtained data showed that both I2 hr-Lt_{50} and 24 hr-Lt_{50} increased with the increase of the acclimation temperatures.

ACKNOWLEDGEMENTS

I wish to acknowledge Assistant Professor Dr. Piamsak Menasveta , my academic and thesis advisor , for obtaining fund from the Electricity Generating Authority of Thailand(EGAT) , for his corrections and suggestions in preparing the manuscript of this thesis.

I would like to thank to Mrs. Nittharatana Paphavasit for her suggestions throughout this thesis.

I am also thank to Mr. Sittipundh Sirirattanachai for collection of the oyster samples. To Miss Momtana Piromnim , Miss Jarunee Junpramuk , Miss Chongkolnee Chamchang and Mrs. Srisuda Jarrayabandhu , I would like to express my gratitude for their help in counting preserved samples. I am grateful for the assistanceship of Mr. Chalit Vatanasriroj in laboratory works.

I am also in great debt to EGAT for the sponsorship on this thesis.

Finally , I am gratful to Mr. Sirichai Dharmvanij for his assistance on preparing the final typing work of this thesis.

Table of content

page

Abstract (in Thai).. iv

Abstract.. vi

Acknowledgement... viii

List of Tables x

List of Figures... xii

Glossary.. xiv

Chapter

1. Introduction... 1

Literature review 4

General Anatomy................................... 4

Environmental factors and the oysters............. 14

2. Materials and Methods.................................. 21

3. Results.. 30

4. Disscuesion.. 60

5. Conclusions and Recommendations........................ 73

Conclusions....................................... 73

Recommendations................................... 75

References.. 78

Vita.. 86

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

List of Tables

Table page

1 The time required for developement of fertilized eggs of O. *gigas* 17

2 The time required for developement of fertilized eggs of C. *virginica*.. 17

3 Effect of water temperature on developement of young O. *gigas* 19

4 Effect of salinity on developement of O. *gigas* 19

5 Time required for early developement of fertilized eggs of C. *lugubris* 41

6 The percentage of each stage of early developement of C. *lugubris* at23.5 C.. 42

7 The percentage of each stage of early developement of C. *lugubris* at 28.0 C.. 43

8 The percentage of each stage of early developement of C. *lugubris* at 32.5 C.. 44

9 Cumulative percentage of abnormal developement.......... 48

10 Cumulative percentage of undeveloped eggs............... 50

11 The average percentage of undeveloped eggs,abnormal developement and hatchability........................ 51

12 The critical thermal maximum of blastula swimming stage.. 54

13 The critical thermal maximum of D-shaped larvae.......... 54

Table		page
14	The number of dead larvae at each peroid of time ..	55
15	The 12 & 24 hr-Lt_{50} of D-shaped larvae of C. lugubris	58
16	Size of mature eggs of various oyster species........	64

List of Figures

Figure		page
1	The general anatomy of tropical oyster (C. lugubris)....	5
2	Developement of O. denselamellosa (larviparous species)..	7
3	Developement of O. gigas (oviparous species)...........	8
4	Unfertilized egg of C. virginica.......................	9
5	Unfertilized egg of C. virginica in spherical form......	9
6	Fertilized egg of C. virginica.........................	10
7	Fertilized egg of C. virginica after the formation of two polar bodies...	10
8	First cleavage division of the egg of C. virginica	11
9	Third division of fertilized egg of C. virginica........	12
10	Fourth cleavage of egg of C. virginica..................	12
11	Fifth cleavage of egg of C. virginica..................	12
12	Formation of Sterroblastula in C. virginica egg.........	13
13	The early straight-hinge stage larvae of C.virginica...	13
14	The acclimation tank.................................	22
15	The spawning tank....................................	22
16	The fertilization tank................................	24
17	Plankton netting of two different mesh sizes...........	24
18	The incubation tank..................................	26
19	The experimental tank................................	26
20	The newly released unfertilized egg of C. lugubris	31

page

21 Globula form of egg of C. lugubris 31

22 The first polar body stage of C. lugubris egg 32

23 The second polar body stage of C. lugubris egg 32

24 The first cleavage stage of C. lugubris egg 33

25 The of the first cleavage stage of C. lugubris egg 33

26 The second cleavage stage of egg of C. lugubris 34

27 The third cleavage stage of egg of C. lugubris 34

28 The fourth cleavage stage of egg of C. lugubris 36

29 The fifth cleavage stage of egg of C. lugubris 36

30 The sixth cleavage stage of egg of C. lugubris 37

31 The moving blastula of C. lugubris 37

32 The trochophore larvae of C. lugubris 38

33 The veliger larvae of C. lugubris 38

34 The straight-hinge stage of C. lugubris 39

35 Graph show % hatchability of the egg of C. lugubris 47

36 Graph show cumulative percentage of abnormal development of the egg of C. lugubris 47

37 Graph show cumulative percentage of unfertilized egg of C. lugubris 49

38 Graph show 24 hr-Lt_{50} of D-shaped of C. lugubris 57

39 Graph show 12 hr-Lt_{50} of D-shaped of C. lugubris 58

40 Graph show the relationship between 12 hr-Lt_{50} , 24 hr-Lt_{50} and the acclimation temperature 59

41 Live spermatozoan of C. virginica 61

42 Live sperm of C. lugubris 62

43 The diagram of thermal effect study of C. lugubris 77

GLOSSARY

Acclimation temperature : The temperature to which larvae become adjusted over a period of time.

Cleavage : The division of zygote within their membrane and the resulting cells are called blastomeres.

Critical thermal maximum(CTM) : The temperature which caused instantaneous death.

Dextrotropic direction : Clockwise direction.

Epibolic gastrulation : The formation of inner and outer sheets of cells follow the sterroblastula stage.

Lethal temperature 50 % (Lt_{50}) : The temperature which caused 50 % mortality in a specified time.

Levotropic direction : Counter clockwise direction.

Sterroblastula : Solid ball of cells resulted from the spiral cleavage.