

SPAWNING BEHAVIOUR AND CHEMICAL
COMMUNICATION OF TROPICAL DONKEY'S-EAR
/ ABALONE *Haliotis asinina* Linnaeus 1758

HUA THAI NHAN

MASTER OF SCIENCE
UNIVERSITI MALAYSIA TERENGGANU
MALAYSIA

2009

**SPAWNING BEHAVIOUR AND CHEMICAL COMMUNICATION OF
TROPICAL DONKEY'S-EAR ABALONE
Haliotis asinina Linnaeus 1758**

HUA THAI NHAN

November 2009

Supervisor : Prof. Dr. Wong Ahn Ai, Ph.D.

Member : Mr. Ya Sang, Ph.D.

Member : Institute of Tropical Aquaculture

HUA THAI NHAN

**Thesis Submitted in Fulfillment of the Requirement for the
Degree of Master of Science in the Institute of Tropical Aquaculture
Universiti Malaysia Terengganu**

November 2009

Abstract of thesis presented to the Senate of Universiti Malaysia Terengganu
in fulfillment of the requirement for the degree of Master of Science.

**SPAWNING BEHAVIOUR AND CHEMICAL COMMUNICATION OF
TROPICAL DONKEY'S-EAR ABALONE *Haliotis asinina* Linnaeus 1758**

HUA THAI NHAN

November 2009

Chairperson : Professor Mohd Azmi Ambak, Ph.D.

Member : Hii Yii Siang, Ph.D.

Institute : Institute of Tropical Aquaculture

This study aims to reveal spawning behaviors and chemical communication of the tropical donkey's ear abalone, *Haliotis asinina* Linnaeus 1758. *H. asinina* is a broadcast spawner, they would aggregate before the mass-spawning. Chemical communication plays an important role in the spawning of this mollusc. Results showed that sexually matured females *H. asinina* were strongly attracted to the matured males abalone. There is no significant interaction among male – male, immatured male - female abalones. Mating behaviors of the matured *H. asinina* can be distinguished by three distinctive behaviours: (1) orientation, (2) tentacles contacts and (3) body position. The chemical communication of the matured abalones was hypothetically driven by conspecific chemical stimulant which present in the matured gonad. The hypothesis was proven when the matured testes extract stimulated obvious pre-spawning behaviour of the matured female. There is a weak communication among the abalones with same sex, the chemical stimulant

served as the signals that called for mass-aggregation in the environment. The chemical communication of the *H. asinina* was affected by water temperature. The highest number of positive responses was recorded at 31 °C. The water temperature also prolonged the time taken for the female abalone to communicate with the male abalone. The chemical stimulant was sensitive to temperature and degraded after 24 hours. The function of the chemical stimulant degraded significantly after 72 hours. It is interesting to find that the chemical communication among the abalones was a linear dose–respond type of relationship. Higher concentration of the testes extract would trigger a greater response from the matured female abalone. The chemical stimulant contained in the testes extract was precipitated by using ammonium sulfate, and isolated by using RP-HPLC, SDS-PAGE and two dimensional gel. Results revealed that the chemical stimulant in matured *H. asinina* testes was a 50 kDa protein compound. The compound was analyzed by using MALDI-TOF and N-terminal sequencing. However, there is no close hit from the NCBL library. This compound is a novel protein which required further investigation.

Abstrak tesis yang dikemukakan kepada Senate Universiti Malaysia
Terengganu
sebagai memenuhi keperluan untuk ijazah Master Sains.

**TABIAT PEMBIAKAN DAN KOMUNIKASI KIMIA ABALON TROPIKA
TELINGA KELEDAI *Haliotis asinina* Linnaeus 1758**

HUA THAI NHAN

November 2009

Pengerusi : Professor Mohd Azmi Ambak, Ph.D.

Ahli : Hii Yii Siang, Ph.D.

Institut : Institut Akuakultur Tropika

Kajian ini bertujuan untuk mengkaji tabiat pembiakan dan komunikasi kimia abalon tropika telinga keledai *Haliotis asinina* Linnaeus 1758. *H. asinina* merupakan sejenis molaska yang membiak secara sebar-luas. Abalon ini akan berkumpul sebelum melepaskan sperma dan telur secara besar-besaran. Komunikasi kimia memainkan peranan yang penting dalam tabiat pembiakan molaska ini. Keputusan kajian ini menunjukkan bahawa abalon betina yang telah mencapai kematangan seks amat tertarik kepada abalon jantan yang matang. Tiada interaksi yang jelas diperhatikan antara jantan – jantan dan antara pasangan abalon yang belum matang. Tabiat pengawanan *H. asinina* boleh dibezakan melalui tiga ciri yang nyata iaitu: (1) orientasi, (2) sentuhan tentakel dan (3) posisi badan. Komunikasi kimia antara abalon yang matang secara hipotesisnya didorong oleh stimulan kimia konspesifik yang wujud dalam testis yang matang. Hipotesis ini terbukti, apabila ekstrak testis juga menunjukkan tarikan yang kuat terhadap abalon betina. Walaupun

hubungan seks di antara abalon sesama seks adalah lemah, komunikasi ini berfungsi sebagai petanda untuk pengumpulan besar-besaran dalam persekitaran semula jadinya. Komunikasi kimia *H. asinina* adalah dipengaruhi oleh suhu air. Abalon mempunyai respon positif yang tertinggi pada 31 °C. Suhu air menyebabkan abalon betina mengambil masa yang lebih lama untuk berkomunikasi dengan abalon jantan. Stimulan kimia yang diekstrak daripada gonad jantan yang matang adalah peka dan merosot selepas 24 jam pada 4°C. Selepas 72 jam, fungsi stimulan kimia tersebut menunjukkan kemerosotan yang sangat nyata. Kajian ini turut mendapati bahawa komunikasi kimia antara abalon menunjukkan hubungan selanjara antara kepekatan – respon. Ekstrak testis pada kepekatan yang tinggi akan mencetuskan gerakbalas yang lebih tinggi daripada abalon betina yang matang. Stimulan kimia yang wujud dalam ekstrak testis kemudiannya dimendakkan dengan menggunakan ammonium sulfat, dan diasingkan dengan menggunakan RP-HPLC dan SDS-PAGE. Keputusan kajian ini turut menunjukkan bahawa stimulan kimia dalam testis *H. asinina* yang matang adalah sebatian protein yang mempunyai berat molekul 50 kDa. Sebatian ini telah dianalisis dengan menggunakan MALDI-TOF and *N-terminal sequencing*. Walau bagaimanapun, carian melalui pengkalan data NCBLnr tidak menemukan rujukan yang berpadan. Sebatian ini merupakan protein baru yang memerlukan kajian lanjutan.