

## PERKEMBANGAN EMBRIO DAN LARVA IKAN PATIN NASUTUS (*Pangasius nasutus* Bleeker, 1863) (Pangasiidae; Pisces)\* [Embryonic and Larval Development of Patin Nasutus (*Pangasius nasutus* Bleeker, 1863) (Pangasiidae; Pisces)]

Bambang Iswanto<sup>✉</sup> dan Evi Tahapari

Balai Penelitian Pemuliaan Ikan

Jln Raya 2 Sukamandi, Subang Jawa Barat 41263; Telp. (0260) 520500 Fax. (0260) 520662

E-mail: bambang.is031@kkp.go.id

### ABSTRACT

Patin nasutus (*Pangasius nasutus* Bleeker, 1863) (Pangasiidae; Pisces) is a potential pangasiid catfish species to be cultured in Indonesia. Many efforts have been done to explore the potency of *P. nasutus* for aquaculture purposes. However, basic knowledge is still very rare such as its embryonic and larval development. The present study aimed to understand the embryonic and larval development of *P. nasutus* resulted from induced spawning of *P. nasutus* brooders at Research Institute for Fish Breeding, Sukamandi. Those embryonic and larval development were observed microscopically. The results showed that diameter of the ovulated oocytes ranged 1.40-1.65 mm and fertilized eggs ranged 1.90-2.15 mm. The embryogenesis consisted of several stages as follow: morula, blastula, gastrula, organ developments and newly hatched larvae occurred within periods of (minutes) 20-200, 190-220, 210-660, 600-1,140 and 1,800-2,160 after fertilization at water temperature of 28-29°C. Total length of the newly hatched larvae ranged 4.80-5.10 mm with anterior, posterior and dorsal parts of the yolk sac coloured black pigmentation. On caudal peduncle, the black spot existed since 36 hours after hatching was a strong character for *P. nasutus* larvae. Volume of the yolk sac was  $2.65 \pm 0.14 \text{ mm}^3$ , for which 50% absorbed at 36 hours after hatching and relative fully absorbed at 78 hours after hatching. The larvae have complete morphology as adult after seven days. During early developmental stage, larvae showed cannibalism since the third day, corresponding to the first exogenous feeding.

**Keywords:** embryo, larvae, *Pangasius nasutus* Bleeker, 1863 (Pangasiidae; Pisces).

### ABSTRAK

Patin nasutus (*Pangasius nasutus* Bleeker, 1863) (Pangasiidae; Pisces) merupakan salah satu spesies ikan yang potensial sebagai kandidat baru komoditas perikanan budidaya. Upaya pengembangan budidaya patin nasutus memerlukan informasi-informasi biologis dasar berkaitan dengan perkembangan embrio dan larvanya. Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan perkembangan embrio dan larva patin nasutus. Embrio dan larva diperoleh melalui pemijahan buatan induk-induk patin nasutus koleksi Balai Penelitian Pemuliaan Ikan, Sukamandi. Pengamatan perkembangan embrio dan larva tersebut dilakukan secara mikroskopis. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa diameter oosit terovulasi patin nasutus berkisar 1,40-1,65 mm dan telur terfertilisasi berkisar 1,90-2,15 mm. Perkembangan embrio patin nasutus untuk tahap morulasi, blastulasi, gastrulasi, organogenesis dan penetasan terjadi dalam periode waktu (menit) 20-200, 190-220, 210-660, 600-1.140 dan 1.800-2.160, setelah pembuahan pada suhu media inkubasi 28-29°C. Panjang total larva yang baru menetas berkisar 4,80-5,10 mm dengan bagian anterior, posterior dan dorsal kantung kuning telur telah berpigmen hitam, dan sebuah noktah hitam pada pangkal batang ekor merupakan karakteristik khas dari larva patin nasutus sejak berumur 36 jam. Volume kantung kuning telur sekitar  $2,65 \pm 0,14 \text{ mm}^3$ , yang terserap sekitar 50% pada umur 36 jam dan relatif habis terserap pada umur 78 jam. Larva menyerupai ikan patin nasutus dewasa pada umur tujuh hari. Larva patin nasutus menunjukkan sedikit perilaku kanibal sejak umur tiga hari, bertepatan dengan saat awal memerlukan pakan dari luar.

**Kata kunci:** embrio, larva, *Pangasius nasutus* Bleeker, 1863 (Pangasiidae; Pisces).

### PENDAHULUAN

Ikan patin (*Pangasius nasutus* Bleeker, 1863) (Pangasiidae; Pisces), merupakan salah satu komoditas perikanan yang diprioritaskan pengembangannya oleh Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP, 2010), terutama sebagai komoditas pendukung program industrialisasi dan sebagai komoditas ekspor. Indonesia dilaporkan memiliki 14 spesies dari 28 spesies ikan patin yang telah diidentifikasi, dan patin nasutus (*Pangasius nasutus* Bleeker, 1863) merupakan salah satu spesies yang potensial untuk dikembangkan sebagai

komoditas unggulan perikanan budidaya (Gustiano, 2009). Namun demikian, spesies patin yang telah berhasil dibudidayakan di Indonesia barulah patin siam (*Pangasianodon hypophthalmus* Sauvage, 1878) dan patin jambal (*Pangasius djambal* Bleeker, 1846) (Legendre, 2008; Gustiano, 2009).

Patin nasutus terdapat di sungai Kahayan, Kapuas, Barito, Batang Rajang, Batang Hari, Musi dan Indragiri (Pouyaud *et al.*, 1999; Gustiano, 2009). Patin nasutus merupakan pemakan segala (omnivora), memakan bentos, biji-bijian, tanaman dan ikan (Roberts dan Vidhayanon, 1991;

\*Diterima: 10 Juli 2013 - Disetujui: 16 September 2013

Gustiano dan Pouyaud, 2006; Gustiano, 2009). Karakteristik patin nasutus ditandai dengan mulut yang terletak di bagian bawah (inferior) dengan moncong yang panjang dan sangat menonjol (meruncing, *pointed*), deretan gigi rahang atas seluruhnya terlihat ketika mulutnya tertutup, gigi-gigi rahangnya sangat tajam dan runcing, matanya kecil (diameternya 6,6-13% panjang kepala), batang ekor ramping (tingginya 5,8-8% panjang standar), lebar badan 16,9-21,7% panjang standar dan tapis insang pada lengkung insang pertama kurang dari 27 (berkisar 16-24) (Roberts dan Vidthayanon, 1991; Gustiano *et al.*, 2003; Gustiano dan Pouyaud, 2006; Gustiano, 2009).

Patin nasutus pertama kali berhasil dipijahkan pada tahun 2000 di Balai Penelitian Perikanan Air Tawar (sekarang Balai Penelitian Pemuliaan Ikan) Sukamandi melalui proyek *Catfish Asia* (Gustiano, 2009). Selanjutnya, upaya domestikasi patin nasutus mulai dilakukan dan teknis pemijahan buatannya telah berhasil dilakukan dengan hasil yang bagus dan fekunditasnya lebih tinggi daripada patin jambal, sehingga potensial untuk dikembangkan sebagai komoditas perikanan budidaya (Tahapari *et al.*, 2008; Tahapari *et al.*, 2011). Pengembangan patin nasutus sebagai komoditas baru perikanan budidaya memerlukan informasi-informasi berkaitan upaya produksi massalnya, termasuk di dalamnya perkembangan embrio dan larvanya. Informasi-informasi tersebut belum tersedia. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan informasi tentang perkembangan embrio dan larva patin nasutus.

## BAHAN DAN CARA KERJA

### Pemijahan Buatan

Induk-induk betina dan jantan patin nasutus yang digunakan dalam penelitian ini dipelihara dalam kolam tanah berukuran 200 m<sup>2</sup> di Balai Penelitian Pemuliaan Ikan (BPPI) Sukamandi. Pakan yang diberikan selama pemeliharaan berupa pelet komersial dengan kadar protein 28% sebanyak 2% biomassa perhari, diberikan pada pagi dan sore hari.

Pemijahan patin nasutus pada penelitian ini dilakukan pada bulan Maret 2011, dengan mengacu pada teknis pemijahan buatan yang dilakukan oleh Tahapari *et al.* (2008; Tahapari *et al.*, 2011). Seleksi kematangan gonad induk betina dilakukan melalui pengambilan sampel oosit intraovarian dengan cara kanulasi (*intraovarian biopsy*) menggunakan kateter khusus. Sampel oosit intraovarian diamati dan diukur dengan mikroskop binokuler yang dilengkapi mikrometer okuler. Induk betina yang dipilih memiliki oosit dengan modus diameter lebih dari 1,3 mm. Induk jantan dipilih yang telah matang gonad, yakni dapat mengeluarkan cairan sperma ketika dilakukan sedikit pengurutan (*stripping*) pada papila genitalia.

Induksi hormonal dilakukan terhadap induk betina dan jantan yang terpilih. Penyuntikan pertama induk betina dilakukan melalui penyuntikan hormon *human chorionic gonadotrophine* dengan dosis 500 IU/kg induk. Selang 24 jam kemudian, dilanjutkan dengan penyuntikan kombinasi hormon *gonadotrophine releasing hormone analogue* dan *domperidone* dengan dosis 0,6 mL/kg induk betina dan 0,2 mL/kg induk jantan.

Pengambilan sperma melalui pengurutan induk jantan dilakukan terlebih dahulu, dilakukan delapan jam setelah induksi hormonal. Sperma hasil pengurutan ditampung dalam botol dan diencerkan dengan larutan 0,9% NaCl fisiologis, dengan perbandingan volume sperma dan volume NaCl fisiologis sebanyak 1:100, kemudian disimpan dalam lemari es dengan suhu sekitar 4°C. Selanjutnya, dilakukan pengambilan oosit-osit induk betina melalui pengurutan. Fertilisasi dilakukan dengan metode kering (*dry method*). Aktivasi proses fertilisasi dilakukan menggunakan air mineral. Inkubasi dilakukan dalam corong penetasan fiberglass (*MacDonald jar*) dengan air media inkubasi yang tersirkulasi.

### Identifikasi Perkembangan Embrio dan Larva

Definisi istilah embrio dan larva yang digunakan pada penelitian ini mengikuti definisi yang

diberikan oleh Blaxter (1988) dan Fuiman (2002). Embrio merupakan periode perkembangan telur sejak terbuahi hingga menetas, sedangkan larva merupakan periode perkembangan sejak penetasan hingga berakhirnya perubahan-perubahan morfologis (metamorfosis) sehingga telah memiliki kelengkapan organ-organ menyerupai ikan dewasa. Pengamatan perkembangan embrio dilakukan dengan menggunakan mikroskop stereo yang dilengkapi kamera digital. Pengamatan dilakukan secara terus-menerus sejak fertilisasi sampai terjadinya penetasan.

Larva patin nasutus hasil penetasan dipelihara dalam bak fiberglass berukuran 500 liter di dalam ruangan pemeliharaan larva (*indoor hatchery*), dengan kepadatan 20 ekor larva perliter. Selama pemeliharaan diberikan pakan berupa nauplii *Artemia* sp. sejak hari kedua hingga hari kelima, selanjutnya secara bertahap diganti dengan kutu air (*Moina* sp.) beku dan larva cacing darah (*Chironomus* sp.) beku yang dicincang hingga hari kesepuluh, setelah itu secara bertahap diberikan cacing sutera (*Tubifex* sp.) hingga umur 12 hari, kemudian mulai diperkenalkan dengan pakan buatan komersial bentuk remah (*crumble*) berkadar protein 40%.

Pengamatan perkembangan larva dilakukan secara terus-menerus sejak larva menetas hingga larva telah memiliki kelengkapan organ seperti pada ikan patin dewasa (maksimum selama 10 hari). Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop stereo yang dilengkapi dengan mikrometer okuler dan kamera digital.

## HASIL

Hasil pengamatan perkembangan embrio dan perkembangan larva patin nasutus secara mikroskopis yang diperoleh dari kegiatan pemijahan secara buatan pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

### Perkembangan Embrio

Diameter oosit patin nasutus yang dirangsang secara hormonal dan dipergunakan dalam penelitian

ini berkisar 1,30-1,60 mm (modus 1,50 mm) dan diameter oosit terovulasi (hasil *stripping*) berkisar 1,40-1,65 mm (modus 1,55 mm). Oosit terovulasi patin nasutus berbentuk bulat, berwarna kuning keputihan, permukaannya menjadi bersifat lengket setelah terkena air.

Sesaat setelah terbuahi, telur berkembang membentuk ruang perivitelin yang memisahkan telur dari membran telur, dan diameter telur menjadi berkisar 1,90-2,15 mm (modus 2,00 mm). Selanjutnya telur akan melakukan pembelahan secara bertahap menjadi fase morula, blastula, gastrula, embrio dan kelengkapan organ sebelum menetas. Hasil pengamatan proses perkembangan telur hingga embrio patin nasutus pada suhu inkubasi 28-29 °C hingga menetas pada penelitian ini disajikan pada Gambar 1.

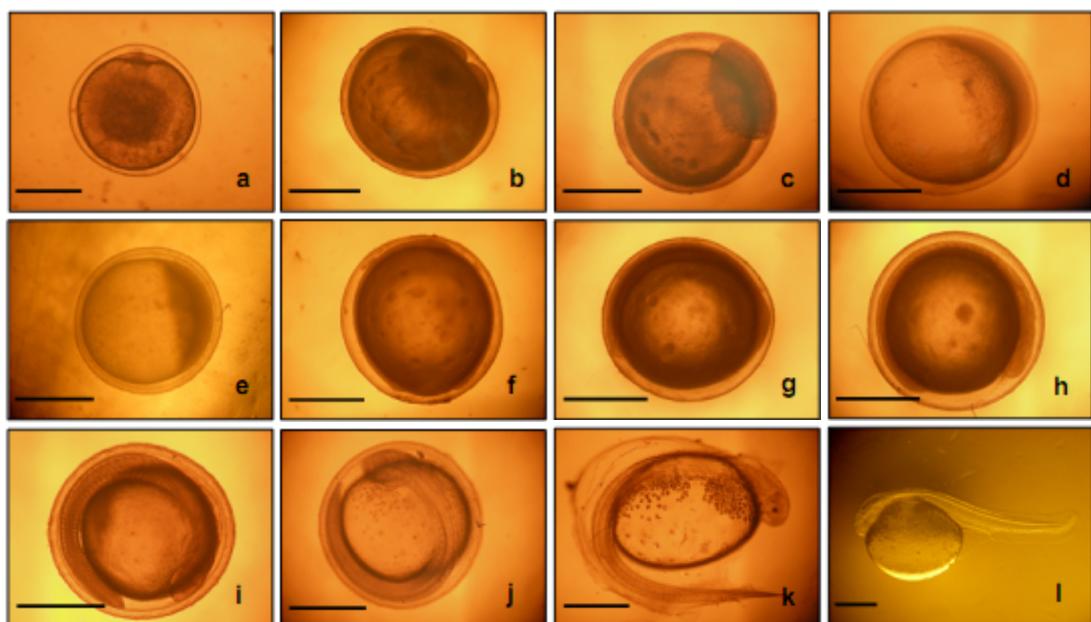
Tahap perkembangan satu sel ditandai dengan terbentuknya sel tunggal (*blastodisc*) pada salah satu sisi (kutub animal) telur yang tampak lebih padat dibandingkan bagian kuning telur (pada kutub vegetal) (Gambar 1a), terjadi dalam periode 20-60 menit setelah pembuahan. Perkembangan selanjutnya adalah tahap-tahap pembelahan sel, diawali dengan terjadinya pembelahan mitosis sel tunggal menghasilkan dua buah sel yang berukuran lebih kecil dan sama (Gambar 1b) terjadi dalam periode 60-90 menit setelah pembuahan. Tahap-tahap perkembangan selanjutnya terjadi pembelahan-pembelahan sel menghasilkan sel-sel (*blastomer*) dengan jumlah dua kali lipat (duplicasi), sehingga terbentuk banyak sel berukuran kecil-kecil (Gambar 1c) dan dalam bentuk susunan yang berkelompok (morula) yang tampak lebih padat dibandingkan bagian kuning telur (Gambar 1d), terjadi dalam periode 80-200 menit setelah pembuahan. Tahap perkembangan selanjutnya adalah blastulasi, ditandai dengan terjadinya invasi bagian kuning telur menghasilkan cincin germinal (*germinal ring*) dan sebagian kuning telur masih belum tertutupi blastomer (Gambar 1e), terjadi dalam periode 190-220 menit setelah pembuahan. Kemudian terjadi gastrulasi, ditandai dengan terjadinya proses perluasan dan penutupan kuning telur oleh blastomer

ke arah blastopora (*blastopore closure*) hingga seluruh bagian kuning telur telah tertutupi oleh blastomer (Gambar 1f), terjadi dalam periode 210-660 menit setelah pembuahan. Setelah itu dilanjutkan dengan tahap organogenesis, diawali dengan terbentuknya bakal kepala dan ekor yang terjadi dalam periode 600-900 menit setelah pembuahan (Gambar 1g dan 1h), pembentukan kepala, ekor, ruas-ruas tulang belakang, bakal mata, jantung dan organ-organ lainnya yang terjadi dalam periode 840-1.140 menit setelah pembuahan (Gambar 1i dan 1j) dan

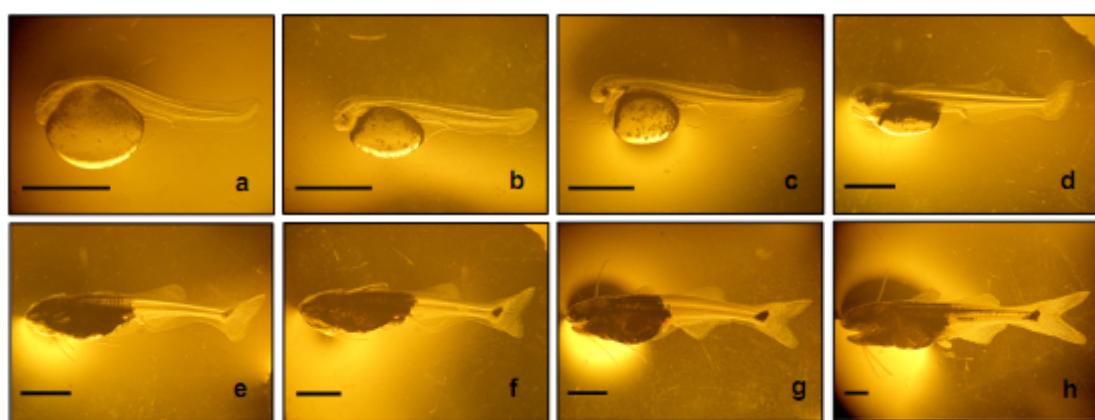
penetasan (Gambar 1k) menghasilkan larva patin nasutus yang terjadi dalam periode 1.800-2.160 menit setelah pembuahan (Gambar 1l).

### Perkembangan Larva

Hasil pengamatan mikroskopis perkembangan larva patin nasutus sampai umur 10 hari dengan suhu media pemeliharaan 27-29 °C pada penelitian ini disajikan pada Gambar 2. Ringkasan perkembangan ontogeni larvanya disajikan pada Tabel 1.



**Gambar 1.** Perkembangan telur dan embrio (a-j), larva menetas (k) dan larva patin nasutus yang baru menetas (l) (skala batang = 1 mm).



**Gambar 2.** Perkembangan larva patin nasutus sampai umur 10 hari (skala batang = 2 mm).

**Tabel 1.** Perkembangan ontogeni larva patin nasutus.

Karakter	Keterangan
Ukuran larva baru menetas	4,80-5,10 mm
Pigmentasi	Menetas dengan kantung kuning telur berpigmen pekat. Pangkal batang ekor mulai bernoktah hitam umur 66 jam.
Rahang atas	Mulai terbentuk umur 18 jam
Rahang bawah	Mulai terbentuk umur 24 jam
Gigi rahang atas	Mulai terbentuk umur 24 jam, mulut terbuka
Gigi rahang bawah	Mulai terbentuk umur 30 jam
Pergerakan mulut	Membuka secara pasif mulai umur 30 jam, aktif mulai umur 36 jam
Sungut rahang atas	Mulai terbentuk umur 24 jam
Sungut rahang bawah	Mulai terbentuk umur 36 jam
Sirip lemak	Mulai terbentuk umur 24 jam
Sirip ekor	Mulai bercagak umur 78 jam
Jari-jari sirip ekor	Mulai terbentuk umur 36 jam
Sirip dada	Mulai terbentuk umur 60 jam
Sirip punggung	Mulai terbentuk umur 48 jam
Jari-jari sirip punggung	Mulai terbentuk umur 110 jam
Duri sirip punggung	Mulai terbentuk umur 132 jam
Sirip dubur	Mulai terpisah dari sirip ekor umur 156 jam
Jari-jari sirip dubur	Mulai terbentuk umur 66 jam
Sirip perut	Mulai terbentuk umur 102 jam
Sirip preanal ( <i>abdominal keel</i> )	Menghilang (rudimenter) umur 168 jam
Lambung	Mulai terbentuk umur 60 jam

Larva patin nasutus yang baru menetas rata-rata berukuran panjang total  $4,90 \pm 0,08$  mm (berkisar 4,80-5,10 mm). Tubuh larva tampak bersegmen, transparan dengan pigmen (melanofor) pada bagian anterior, posterior dan dorsal kantung kuning telur (*yolk sac*). Siripnya baru berupa bakal sirip ekor dan bakal sirip anal yang masih menyatu serta sirip preanal (*preanal fin fold, abdominal keel*) pada perut di depan anus. Mulutnya belum membuka. Saluran pencernaannya berupa saluran pendek (*alimentary canal*) dari ujung belakang kantung kuning telur sampai pangkal bakal sirip anal (Gambar 2a).

Pigmentasi pada mata larva patin nasutus mulai terjadi 12 jam setelah menetas (Gambar 2b). Pigmentasi juga mulai terjadi pada tubuh bagian depan dan kepala pada umur 30 jam (Gambar 2d) dan pada periode berikutnya terus meluas ke arah belakang sehingga sebagian tubuh bagian depan mulai dari kepala sampai bagian dorsoventral serta pada pangkal batang ekor telah berpigmen (Gambar 2f). Pigmentasi yang berupa sebuah noktah hitam pada batang ekor merupakan salah satu karakteristik khas larva patin nasutus sejak berumur 36 jam (Gambar 2e sampai 2h).

Bakal sirip ekor (*caudal fin fold*) dan sirip anal (*anal fin fold*) yang masih menyatu merupakan organ pergerakan awal larva patin nasutus yang baru menetas. Bakal sirip lemak (*adipose fin*) mulai terbentuk pada umur 18 jam (Gambar 2c). Bakal sirip anal (*anal fin*) mulai terbentuk pada umur 36 jam (Gambar 2d). Jari-jari sirip ekor (*caudal fin rays*) mulai terbentuk pada umur 36 jam (Gambar 2d) dan mulai bersegmen pada umur 66 jam (Gambar 2e). Bagian bawah sirip ekor mulai terbentuk pada umur 78 jam, sehingga sirip ekor mulai bercagak (*forked*) (Gambar 2g), dan panjang bagian bawah sirip ekor hampir sama dengan bagian atas pada umur 102 jam (Gambar 2g). Bakal sirip punggung (*dorsal fin*) mulai terbentuk pada umur 48 jam (Gambar 2d), jari-jari sirip punggung (*dorsal fin rays*) mulai terbentuk pada umur 110 jam dan duri sirip punggung (*dorsal spine*) terbentuk pada umur 132 jam (Gambar 2g). Bakal sirip dada (*pectoral fins*) mulai terbentuk pada umur 60 jam dan jari-jari keras sirip dada (*pectoral spine*) mulai terbentuk pada umur 168 jam. Sirip perut (*ventral fins*) mulai terbentuk pada umur 102 jam (Gambar 2g). Jari-jari sirip anal (*anal fin rays*) mulai terbentuk pada umur 66 jam dan mulai bersegmen pada umur 78 jam (Gambar 2e dan 2f). Sirip anal mulai terpisah dari sirip ekor pada umur 156 jam dan benar-benar terpisah pada umur 180 jam (Gambar 2g dan 2h). Sirip preanal (*preanal finfold, abdominal keel*) yang ada sejak larva menetas mulai mengalami rudimenter hingga menjadi tidak ada lagi pada umur 204' jam (Gambar 2h).

Kantung kuning telur larva patin nasutus yang baru menetas rata-rata berukuran  $2,65 \pm 0,14$  mm<sup>3</sup>. Kantung kuning telur tersebut mengalami penyerapan sekitar 50% pada umur 36 jam, dan relatif habis terserap pada umur 78 jam (Gambar 2d dan 2f).

Sungut rahang atas larva patin nasutus mulai tumbuh pada umur 24 jam (Gambar 2c). Sungut rahang bawah mulai tumbuh pada umur 36 jam (Gambar 2d). Rahang atas mulut patin nasutus mulai terbentuk 18 jam setelah menetas dan kedua rahang

terbentuk 24 jam setelah menetas dengan mulut yang selalu terbuka dan belum bisa menutup (Gambar 2c). Gigi-gigi rahang atas mulai terbentuk 24 jam setelah menetas, selanjutnya gigi-gigi rahang bawah mulai terbentuk 30 jam setelah menetas (Gambar 2c dan 2d). Mulut mulai aktif bergerak membuka dan menutup pada umur 36 jam, tetapi belum merespon pakan alami (nauplii *Artemia* sp.) yang diberikan (Gambar 2d). Larva mulai merespon pakan alami dengan baik pada umur 60 jam (Gambar 2e).

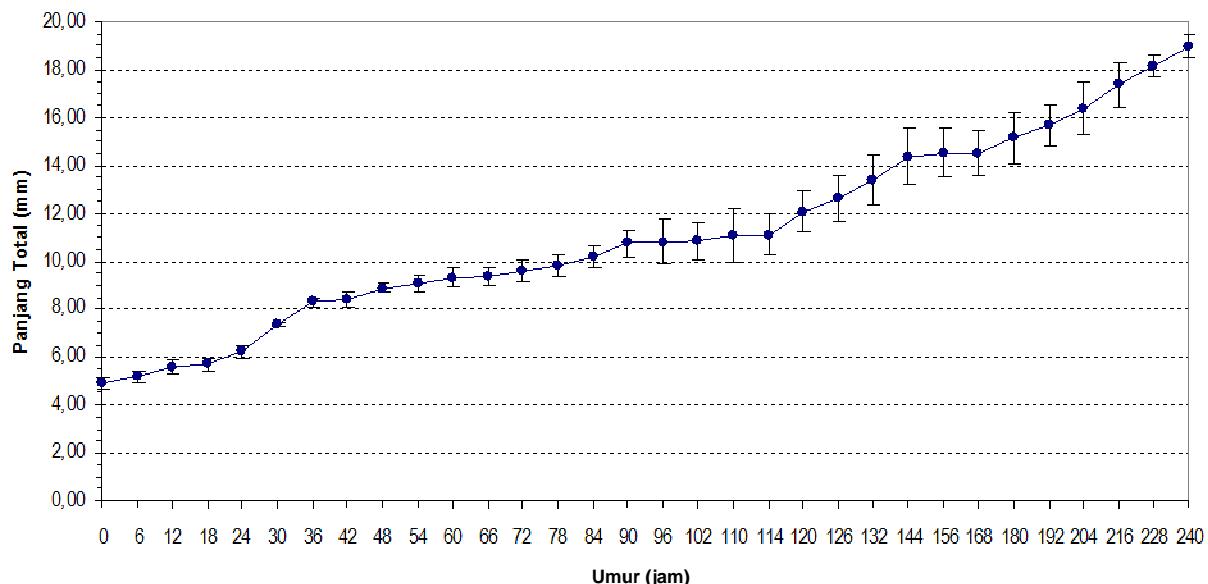
Saluran pencernaan larva patin nasutus yang awalnya berupa saluran pendek, pada larva umur 36 jam bagian anterior saluran mulai membesar dan mulai berdiferensiasi menjadi bakal lambung dan usus pendek. Selanjutnya, lambung mulai terbentuk dan berfungsi pada 60 jam setelah menetas berukuran 0,27-0,59 mm<sup>3</sup>, dan usus sepanjang 1,13-1,25 mm (Gambar 2d dan 2e).

Larva patin nasutus menunjukkan perilaku kanibalisme. Kanibalisme tersebut terjadi sejak larva berumur 72 jam, yakni ketika kedua rahangnya telah terbentuk lengkap beserta gigi-giginya dan mulut telah aktif membuka dan menutup serta lambung dan ususnya telah terbentuk dan berfungsi.

Perkembangan panjang total larva patin nasutus selama 10 hari masa pemeliharaan larva berdasarkan pengukuran secara mikroskopis pada penelitian ini disajikan pada Gambar 3.

## PEMBAHASAN

Permukaan oosit terovulasi patin nasutus menjadi bersifat lengket setelah terkena air. Sifat lengket tersebut merupakan karakteristik yang umum dan banyak dilaporkan pada telur spesies-spesies patin (Pangasiidae). Telur patin siam (*P. hypophthalmus*) banyak dilaporkan bersifat lengket (Hardjamulia *et al.*, 1981; Cacot, 1999; Campet *et al.*, 1999; Kristanto *et al.*, 1999; Chattopadhyay *et al.*, 2002; Islam, 2005). Telur patin jambal (*P. djambal*) (Legendre *et al.*, 2000a), patin *Pangasius gigas* Chevey, 1930 (Mattson *et al.*, 2002), patin *Pangasius bocourti* Sauvage, 1880 (Cacot, 1999; Cacot *et al.*, 2002) dan patin *Pangasius pangasius*



Gambar 3. Perkembangan panjang total larva selama 240 jam (10 hari) masa pemeliharaan.

Hamilton, 1882 (Khan dan Mollah, 2004; Goswami *et al.*, 2007) juga dilaporkan bersifat lengket. Permukaan telur yang bersifat lengket juga banyak dilaporkan pada spesies-spesies ikan berkumis (Siluriformes, *catfish*) yang lain (direview oleh Adriaens dan Vandewalle, 2003).

Telur-telur hasil fertilisasi buatan yang permukaannya bersifat lengket memerlukan penanganan secara khusus dalam proses inkubasinya. Sifat lengket permukaan telur tersebut umumnya dihilangkan terlebih dahulu sebelum diinkubasi. Sifat lengket telur ikan-ikan patin umumnya dihilangkan dengan larutan tanah liat (Kristanto *et al.*, 1999; Legendre *et al.*, 2000a; Slembruck *et al.*, 2003b) atau larutan susu (Chattopadhyay *et al.*, 2002). Sifat lengket telur patin nasutus pada penelitian ini dihilangkan dengan larutan tanah liat, seperti halnya yang umum dilakukan pada telur-telur patin siam dan patin jambal di Sukamandi.

Diameter oosit intraovarian patin nasutus yang digunakan dalam pemijahan buatan pada penelitian ini berkisar 1,30-1,60 mm, diameter oosit terovulasi berkisar 1,40-1,65 mm dan diameter telur terfertilisasi berkisar 1,90-2,15 mm. Diameter telur diantara spesies-spesies patin (Pangasiidae)

menunjukkan adanya variasi. Oosit intraovarian patin siam yang digunakan dalam upaya peningkatan keberhasilan pemijahan buatan di Delta Mekong (Vietnam) berdiameter 1,0 mm, oosit terovulasi dan telur terfertilisasi berukuran 1,1-1,3 mm (Cacot, 1999; Cacot *et al.*, 2002). Oosit intraovarian patin siam yang digunakan dalam upaya peningkatan keberhasilan pemijahan buatan di Sukamandi (Indonesia) berdiameter  $1,0 \pm 0,05$  mm dan oosit terovulasi berukuran 1,04-1,20 mm (Legendre *et al.*, 1999b; Legendre *et al.*, 2000b). Diameter telur terfertilisasi patin siam di Kazan (Rusia) berkisar 1,2-1,8 mm (Islam, 2005). Ukuran diameter oosit dan telur patin siam di tempat yang berbeda tersebut menunjukkan adanya variasi. Perbedaan atau variasi tersebut tentunya dikarenakan adanya perbedaan asal/tempat (strain, sejarah), kondisi (iklim/musim, kualitas air), umur, ukuran dan terutama perbedaan suplai pakan induk yang diberikan selama proses oogenesis. Diameter oosit intraovarian patin *P. bocourti* berukuran 1,9 mm, oosit terovulasi dan telur terfertilisasi berukuran 1,8-2,0 mm (Cacot, 1999; Cacot *et al.*, 2002). Diameter oosit intraovarian patin *Pangasius conchophilus* Roberts & Vidhayanon, 1991 di Delta Mekong dilaporkan berukuran 1,12-

1,20 mm (Xuan dan Liem, 1999). Diameter oosit terovulasi ikan patin jambal yang pertama kali digunakan dalam upaya pemijahan buatan di Jambi dan Sukamandi (Indonesia) dilaporkan berkisar 1,8-1,9 mm ( $1,85 \pm 0,11$  mm) (Legendre *et al.*, 1999a; Legendre *et al.*, 2000a). Diameter telur terfertilisasi patin *P. pangasius* di Assam (India) berkisar 1,0-1,2 mm (Goswami *et al.*, 2007) dan di Bengal (India) dilaporkan berkisar 0,98-1,21 mm (Sarkar *et al.*, 2006), sedangkan diameter oosit terovulasi patin (yang dalam publikasi tersebut secara salah diidentifikasi sebagai) *P. pangasius* di Sungai Musi (Indonesia) berkisar 1,4-1,6 mm (Arifin, 1987). Diameter oosit dan telur diantara spesies-spesies ikan Siluriformes yang lain juga bervariasi (direview oleh Adriaens dan Vandewalle, 2003).

Ukuran diameter oosit dan telur merupakan salah satu karakteristik yang khas dan bervariasi diantara spesies-spesies ikan patin, sehingga dapat digunakan sebagai salah satu kunci identifikasi. Patin jambal dan *P. bocourti* merupakan spesies-spesies patin yang dilaporkan memiliki ukuran diameter oosit dan telur terbesar diantara famili Pangasiidae (Legendre *et al.*, 1999a). Diameter telur patin nasutus pada penelitian ini sedikit lebih kecil daripada telur patin jambal dan patin *P. bocourti*. Berdasarkan ukuran diameter oosit terovulasinya yang berkisar 1,4-1,6 mm, Legendre *et al.* (1999a) menyatakan bahwa spesies patin di Sungai Musi yang oleh Arifin (1987) secara salah disebut sebagai *P. pangasius* bukan patin jambal, karena diameter oositnya sedikit lebih kecil, dan jika dibandingkan dengan diameter telur terfertilisasi patin *P. pangasius* di Assam dan Bengal (India) yang bahkan berukuran lebih kecil, yakni berkisar 1,0-1,2 mm (Goswami *et al.*, 2007) dan 0,98-1,21 mm (Sarkar *et al.*, 2006), maka dapat dipastikan bahwa keduanya adalah spesies yang berbeda. Tetapi, jika dibandingkan dengan diameter oosit terovulasi patin nasutus pada penelitian ini ternyata menunjukkan adanya kesamaan (1,4-1,6 mm dibandingkan 1,40-1,65 mm), maka sangat mungkin spesies patin tersebut sebenarnya adalah patin nasutus. Terlebih lagi, hasil-

hasil penelitian menunjukkan bahwa patin nasutus juga terdapat di sungai Musi (Pouyaud *et al.*, 1999; Gustiano, 2009).

Proses perkembangan embrio patin nasutus serupa dengan perkembangan embrio patin siam di Cibalagung (Indonesia) (Hardjamulia *et al.*, 1981), patin siam di Kazan (Rusia) (Islam, 2005), patin *P. pangasius* di Assam dan Bengal (India) (Goswami *et al.*, 2007; Sarkar *et al.*, 2006), patin (yang dalam publikasi tersebut secara salah disebut sebagai *P. pangasius*) di Sungai Musi (Indonesia) (Arifin, 1987) maupun spesies-spesies ikan Siluriformes yang lain (direview oleh Adriaens dan Vandewalle, 2003). Namun demikian, periode masing-masing tahap perkembangan embrio diantara spesies-spesies ikan tersebut berbeda, tergantung suhu dan juga diameter oositnya (Fuiman, 2002; Teletchea *et al.*, 2009).

Periode inkubasi telur antara spesies-spesies patin menunjukkan adanya variasi. Boonbrahm (1968) melaporkan bahwa penetasan patin siam (yang nama ilmiahnya dalam publikasi tersebut ditulis sebagai *Pangasius pangasius* Hamilton) di Thailand pada suhu media inkubasi 26,5-31,0°C terjadi 27-33 jam setelah fertilisasi, di Cibalagung (Bogor) pada suhu media inkubasi 24,0-26,5°C terjadi 29-31 jam setelah fertilisasi (Hardjamulia *et al.*, 1981), di Delta Mekong pada suhu media inkubasi 27,7-31,0°C terjadi 19,33-22,67 jam setelah fertilisasi dan pada suhu media inkubasi 29-30°C terjadi 19-22 jam setelah fertilisasi (Cacot, 1999), di Sukamandi (Jawa Barat) mulai terjadi 19-20 jam setelah fertilisasi pada suhu media inkubasi 27-30°C (Kristanto *et al.*, 1999; Legendre *et al.*, 2000b), di Bengal pada suhu media inkubasi 30-32°C dilaporkan mulai terjadi 24 jam setelah fertilisasi (Chattopadhyay *et al.*, 2002) dan di Kazan terjadi 24-36 jam setelah fertilisasi pada suhu media inkubasi 20-30°C (Islam, 2005). Larva patin *P. gigas* menetas 42 jam setelah fertilisasi pada suhu 25°C (Mattson *et al.*, 2002). Penetasan larva patin *P. bocourti* terjadi 25-30 jam setelah fertilisasi pada suhu 26,3-30,7°C (Cacot *et al.*, 2002). Periode inkubasi patin jambal berkisar 28,5-36 jam pada suhu inkubasi 27-30°C

(Legendre *et al.*, 1999a, Legendre *et al.*, 2000a). Penetasan patin *P. pangasius* di Mymensingh dilaporkan terjadi 28-32 jam setelah fertilisasi pada suhu media inkubasi 26-28°C (Khan dan Mollah, 2004), sedangkan di Bengal pada suhu media inkubasi 30-31°C mulai menetas 25 jam setelah fertilisasi (Sarkar *et al.*, 2006) dan di Assam menetas 24-26 jam setelah fertilisasi pada suhu media inkubasi 28-31°C (Goswami *et al.*, 2007). Penetasan patin (yang dalam publikasi tersebut secara salah disebut sebagai *P. pangasius*) di sungai Musi mulai terjadi 28 jam setelah fertilisasi pada suhu media inkubasi 26-28°C (Arifin, 1987), hampir sama dengan periode inkubasi patin nasutus pada penelitian ini. Hal tersebut juga memperkuat dugaan bahwa spesies patin di Sungai Musi tersebut mungkin sebenarnya adalah patin nasutus. Periode inkubasi diantara spesies patin yang berbeda maupun di tempat dan suhu yang berbeda tersebut menunjukkan adanya perbedaan. Teletchea *et al.* (2009) menyatakan bahwa periode inkubasi sangat tergantung suhu dan bervariasi diantara spesies yang berbeda. Selain dipengaruhi oleh suhu media inkubasi, perbedaan periode inkubasi spesies-spesies patin tersebut juga dipengaruhi oleh perbedaan ukuran diameter oositnya, semakin besar diameter oosit, semakin lama periode inkubasinya (direview oleh Fuiman, 2002; Teletchea *et al.*, 2009).

Ukuran panjang total larva yang baru menetas relatif berbeda diantara spesies patin yang berbeda. Larva patin siam di Cibalagung yang baru menetas rata-rata berukuran panjang total 3,01 mm (Hardjamulia *et al.*, 1981), di Delta Mekong rata-rata berukuran panjang total 2,4 mm (Cacot, 1999) dan di Kazan berkisar 2,98-3,10 mm (Islam, 2005). Larva patin *P. gigas* yang baru menetas berukuran panjang total 3,8 mm (Roberts dan Vidhayanon, 1991). Legendre *et al.* (1999a; Legendre *et al.*, 2000a) melaporkan bahwa larva patin jambal yang baru menetas rata-rata berukuran panjang total  $4,7 \pm 0,2$  mm. Larva patin *P. bocourti* yang baru menetas berukuran panjang total 6-7 mm (Cacot *et al.*, 2002). Panjang total larva patin *P. pangasius* yang baru

menetas di Mymensingh dilaporkan berkisar 6,5-8,0 mm (Khan dan Mollah, 2004) dan di Assam dilaporkan berkisar 6,4-7,8 mm (Goswami *et al.*, 2007). Perbedaan ukuran panjang total larva-larva patin yang baru menetas tersebut tentunya berkaitan dengan ukuran diameter oositnya, semakin besar diameter oosit, semakin besar pula ukuran larvanya, sedangkan perbedaan ukuran diameter oosit tentunya sangat dipengaruhi oleh perbedaan spesies, tempat asal (strain, sejarah), kondisi (iklim, musim, kualitas air), umur, ukuran dan suplai pakan induk yang digunakan selama proses oogenesis.

Perkembangan morfologis larva patin nasutus pada penelitian ini serupa dengan perkembangan larva patin jambal (Legendre *et al.*, 2000a; Slembruck *et al.*, 2003a), patin siam (Islam, 2005), patin *P. pangasius* (Goswami *et al.*, 2007) serta ikan-ikan Siluriformes yang lain (direview oleh Adriaens dan Vandewalle, 2003) maupun ikan-ikan Teleostei yang lain (direview oleh Blaxter, 1988; Fuiman, 2002). Secara umum, perkembangan sirip tunggal berlangsung lebih awal dibandingkan sirip berpasangan, dengan sirip perut berkembang paling akhir. Kantung kuning telur habis terserap dua hingga empat hari setelah menetas. Larva mulai makan sebelum kantung kuning telur habis terserap.

Pigmentasi pada tahap awal perkembangan larva merupakan salah satu kunci identifikasi larva patin karena pola pigmentasi larva diantara jenis patin yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan. Larva patin siam yang baru menetas hampir tidak memiliki pigmen (Legendre *et al.*, 2000a; Islam, 2005), sedangkan larva patin *P. bocourti* yang baru menetas memiliki pigmentasi berupa bintik-bintik hitam pada kantung kuning telur (Cacot *et al.*, 2002), serupa dengan larva patin jambal (Legendre *et al.*, 2000a; Slembruck *et al.*, 2003a) maupun patin nasutus. Larva patin (yang dalam publikasi tersebut secara salah diidentifikasi sebagai) *P. pangasius* di Sungai Musi yang baru menetas berwarna kehitaman karena telah memiliki pigmen (Arifin, 1987), sedangkan larva patin *P. pangasius* (yang sebenarnya) yang baru menetas di Mymensingh dan

Assam tampak transparan dan tidak memiliki pigmen (Khan dan Mollah, 2004; Goswami *et al.*, 2007). Patin di sungai Musi yang oleh Arifin (1987) disebut sebagai *P. pangasius* tersebut sangat mungkin sebenarnya adalah patin nasutus, karena larva-larvanya yang baru menetas memiliki pigmentasi yang serupa dengan larva patin nasutus pada penelitian ini, yakni memiliki pigmen berupa bintik-bintik hitam yang relatif pekat di bagian anterior, posterior dan dorsal kantung kuning telur. Pada perkembangan pigmentasi selanjutnya hingga ketika telah mulai memiliki kelengkapan organ menyerupai ikan dewasa (umur 168 jam) larva patin nasutus menunjukkan pola pigmen yang pekat dan merata pada sebagian tubuh bagian depan (kecuali bagian ekor), serupa dengan larva patin jambal. Tetapi, sejak umur 36 jam larva patin nasutus telah memiliki pigmen berupa noktah hitam pada batang ekor yang merupakan karakteristik khasnya, sehingga dapat digunakan untuk membedakannya dari larva patin jambal.

Larva patin nasutus menunjukkan sedikit perilaku kanibalisme sejak hari ketiga. Sifat tersebut mungkin didukung oleh gigi-gigi rahangnya yang berbentuk runcing. Larva spesies-spesies patin yang lain juga banyak dilaporkan bersifat kanibal. Larva patin siam banyak dilaporkan bersifat kanibal (Boonbrahm, 1968; Hardjamulia *et al.*, 1981; Subagja *et al.*, 1999; Chattopadhyay *et al.*, 2002; Islam, 2005; Slembrouck *et al.*, 2009; Baras *et al.*, 2010b; Baras *et al.*, 2011). Larva patin *P. gigas* (Roberts dan Vidthayanon, 1991; Mattson *et al.*, 2002) dan larva patin (yang dalam publikasi tersebut secara salah diidentifikasi sebagai) *P. pangasius* di Sungai Musi (Arifin, 1987) serta larva patin *P. pangasius* di Assam (Goswami *et al.*, 2007) juga bersifat kanibal. Larva patin *P. bocourti* hanya sedikit bersifat kanibal (Hung *et al.*, 1999a; Hung *et al.*, 1999b; Hung *et al.*, 2002) dan larva patin jambal hampir tidak bersifat kanibal (Legendre *et al.*, 1999a; Legendre *et al.*, 2000a; Baras *et al.*, 2010a). Sifat kanibal larva patin yang oleh Arifin (1987) disebut sebagai *P. pangasius* di sungai Musi tersebut juga semakin memperkuat dugaan bahwa spesies patin

tersebut sangat mungkin sebenarnya adalah patin nasutus.

Lama penyerapan kantung kuning telur diantara ikan-ikan Siluriformes menunjukkan adanya variasi. Kantung kuning telur larva patin nasutus terserap 50% pada umur 36 jam dan relatif habis terserap pada umur 78 jam. Kantung kuning telur larva ikan patin jambal habis terserap dalam 2-3 hari pada suhu 28-29 °C (Legendre *et al.*, 1999a; Legendre *et al.*, 2000a), kantung kuning telur larva patin *P. pangasius* relatif habis terserap pada hari keempat (Khan dan Mollah, 2004; Goswami *et al.*, 2007) dan kantung kuning telur larva patin siam dilaporkan terserap 90% pada akhir hari ketiga (Islam, 2005). Perbedaan lamanya penyerapan kuning telur tersebut selain dipengaruhi oleh suhu juga dipengaruhi oleh diameter telur (direview oleh Heming dan Buddington, 1988).

## KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa proses perkembangan embrio dan larva patin nasutus secara umum hampir serupa dengan spesies-spesies patin (Pangasiidae) lainnya maupun ikan-ikan berkumis (Siluriformes) yang lain. Ukuran diameter oosit dan telur, periode inkubasi, ukuran larva yang baru menetas dan pigmentasinya menunjukkan adanya perbedaan, sehingga dapat digunakan sebagai kunci-kunci identifikasi. Pada hari ketiga larva mulai merespon pakan alami, penyerapan kantung kuning telur mulai berakhir dan kanibalisme mulai dapat terjadi. Pemeliharaan pada saat larva patin nasutus berumur tiga hari memerlukan pengelolaan secara tepat agar dapat diperoleh hasil yang optimum.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada Ika Nurlaela, Kamlawi dan seluruh pembantu peneliti komoditas penelitian ikan patin Balai Penelitian Pemuliaan Ikan Sukamandi atas bantuan teknisnya selama kegiatan seleksi induk, pemijahan buatan dan pemeliharaan larva.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adriaens D and P Vandewalle.** 2003. Embryonic and larval development in catfishes. In: *Catfishes*, 639-666. G Arratia, B Kapoor, M Chardon and R Diogo (editors). Science Publisher, Inc. USA.
- Arifin Z.** 1987. Pembenihan ikan patin (*Pangasius pangasius*) dengan rangsangan hormon. *Buletin Penelitian Perikanan Darat* **6**, 42-47.
- Baras E, R Hafnaridewi, J Slembrouck, A Priyadi, Y Moreau, L Pouyaud and M Legendre.** 2010a. Why is cannibalism so rare among cultured larvae and juveniles of *Pangasius djambal*? Morphological, behavioural and energetic answers. *Aquaculture* **305**, 42-51.
- Baras E, J Slembrouck, C Cochet, D Caruso and M Legendre.** 2010b. Morphological factors behind the early mortality of cultured larvae of the Asian catfish, *Pangasianodon hypophthalmus*. *Aquaculture* **298**, 211-219.
- Baras E, T Raynaud, J Slembrouck, D Caruso, C Cochet and M Legendre.** 2011. Interaction between temperature and size on the growth, size heterogeneity, mortality and cannibalism in cultured larvae and juveniles of the Asian catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage). *Aquaculture Research* **42**, 260-276.
- Blaxter JHS.** 1988. Patern and variety in development. In: *Fish Physiology Volume XI, The Physiology of Developing Fish Part A, Eggs and Larvae*, 1-58. WS Hoar and DJ Randall (Editors). Academic Press, Inc. San Diego.
- Boonbrahm M.** 1968. Induced spawning by pituitary hormones injection of pond-reared fishes. *Indo-Pacific Fisheries Council Proceedings 13th Session, Section II Technical Papers*, Brisbane-Queensland, Australia 14-25 October 1968. Anonymous, 162-170. IPFC Secretariat, FAO Regional Office for Asia and the Far East.
- Cacot P.** 1999. Description of the sexual cycle related to the environment and set up of the artificial propagation in *Pangasius bocourti* (Sauvage, 1880) and *Pangasius hypophthalmus* (Sauvage, 1878) reared in floating cages and ponds in the Mekong Delta. *Proceeding of The Mid-Term Workshop of the Catfish Asia Project*, Cantho - Vietnam 11-15 May 1998. M Legendre and A Parisele (Editors), 71-89. The Biological Diversity and Aquaculture of Clariid and Pangasiid Catfishes in South-East Asia.
- Cacot P, M Legendre, TQ Dan, LT Hung, PT Liem, C Mariojouls and J Lazard.** 2002. Induced ovulation of *Pangasius bocourti* (Sauvage, 1880) with a progressive hCG treatment. *Aquaculture* **213**, 199-206.
- Campet M, P Cacot, J Lazard, TQ Dan, DT Muon and PT Liem.** 1999. Egg quality of an Asian catfish of the Mekong River (*Pangasius hypophthalmus*) during the process of maturation induced by hCG injections. *Proceeding of The Mid-Term Workshop of the Catfish Asia Project*, Cantho, Vietnam 11-15 May 1998. M Legendre and A Parisele (Editors), 113-116. The Biological Diversity and Aquaculture of Clariid and Pangasiid Catfishes in South-East Asia.
- Chattopadhyay NR, B Mazumder and B Mazumdar.** 2002. Induced spawning of *Pangasius sutchi* with pituitary extract. *Aquaculture Asia* **VII(1)**, 43-44.
- Fuiman LA.** 2002. Special consideration of fish eggs and larvae. In: *Fishery Science: The Unique Contributions of Early Life Stages*, 1-32. LA Fuiman and RG Werner (Editors). Blackwell Publishing Company. Oxford.
- Goswami MM, R Hazarika and BJ Saud.** 2007. Induced spawning, embryonic and larval development of *Pangasius pangasius* (Hamilton-Buchanan). *Journal of Inland Fisheries Society of India* **39(2)**, 1-9.
- Gustiano R.** 2009. Pangasiid catfishes of Indonesia. *Buletin Plasma Nutfah* **15(2)**, 91-100.
- Gustiano R and L Pouyaud.** 2006. Diversity of pangasiid catfish from Sumatera. *Buletin Plasma Nutfah* **12(2)**, 83-88.
- Gustiano R, Sudarto and L Pouyaud.** 2003. How to recognize *Pangasius djambal*? In: *Technical Manual for Artificial Propagation of the Indonesian Catfish, Pangasius djambal*, 3-14. J Slembrouck, O Komarudin, Maskur and M Legendre (Editors). Karya Pratama. Jakarta.
- Hardjamulia A, R Djajadiredja, S Atmawinata dan D Idris.** 1981. Pembenihan jambal siam (*Pangasius sutchi*) dengan suntikan ekstrak kelenjar hipofisa ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Buletin Penelitian Perikanan* **I(2)**, 183-190.
- Heming TA and RK Buddington.** 1988. Yolk absorption in embryonic and larval fishes. In: *Fish Physiology Volume XI, The Physiology of Developing Fish Part A, Eggs and Larvae*, 408-446. WS Hoar and DJ Randall (Editors). Academic Press, Inc. San Diego.
- Hung LT, AT Nguyen, VH Nguyen and P Cacot.** 1999a. Larval rearing of the Asian catfish, *Pangasius bocourti* (Siluriformes, Pangasiidae): Artemia alternative feeding and weaning time. *Proceeding of The Mid-Term Workshop of the Catfish Asia Project*, Cantho, Vietnam 11-15 May 1998. M Legendre and A Parisele (Editors), 127-136. The Biological Diversity and Aquaculture of Clariid and Pangasiid Catfishes in South-East Asia.
- Hung LT, BM Tam, P Cacot and J Lazard.** 1999b. Larval rearing of the Mekong catfish, *Pangasius bocourti* (Pangasiidae, Siluroidei): substitution of Artemia nauplii with live and artificial feed. *Aquatic Living Resources* **12 (3)**, 229-232.
- Hung LT, AT Nguyen, P Cacot and J Lazard.** 2002. Larval rearing of the Asian catfish, *Pangasius bocourti* (Siluroidei, Pangasiidae): alternative feeds and weaning time. *Aquaculture* **212**, 115-127.
- Islam A.** 2005. Embryonic and larval development of Thai Pangas (*Pangasius sutchi* Fowler, 1937). *Development, Growth and Differentiation* **47**, 1-6.
- Khan MHK and MFA Mollah.** 2004. Further trials on induced breeding of *Pangasius pangasius* (Hamilton) in Bangladesh. *Asian Fisheries Science* **17**, 135-146.
- KKP.** 2010. *Rencana Strategis Kementerian Kelautan dan Perikanan 2010-2014*, 84. Kementerian Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia. Jakarta.
- Kristanto AH, J Subagja, J Slembrouck and M Legendre.** 1999. Effect of eggs incubation technique on hatching rate, hatching kinetic and survival of larvae in the Asian catfish *Pangasius hypophthalmus* (Siluriformes, Pangasiidae). *Proceeding of The Mid-Term Workshop of the Catfish Asia Project*, Cantho - Vietnam 11-15 May 1998. M Legendre and A Parisele (Editors), 107-111. The Biological Diversity and Aquaculture of Clariid and Pangasiid Catfishes in South-East Asia.
- Legendre M.** 2008. Characterisation, utilisation and maintenance of biological diversity for the diversification and sustainability of catfish culture in South-East Asia. In: *Catalogue of Synopses of International S&T Cooperative (INCO) Projects on Challenges in Fisheries, Coastal Zones, Wetlands and Aquaculture*. N Estrella Santos and CE Nauen (Editors), **17**, 206-207. ACP-EU Fisheries Resources Report.
- Legendre M, J Slembrouck and J Subagja.** 1999a. First result on growth and artificial propagation of *Pangasius djambal* (Siluriformes, Pangasiidae) in Indonesia. *Proceeding of The Mid-Term Workshop of the Catfish Asia Project*, Cantho - Vietnam 11-15 May 1998. M Legendre and A Parisele (Editors), 97-102. The

- Biological Diversity and Aquaculture of Clariid and Pangasiid Catfishes in South-East Asia.
- Legendre M, J Slembrouck, J Subagja and AH Kristanto. 1999b.** Effect of varying latency period on the in vivo survival of ova after Ovaprim- and hCG-induced ovulation in the Asian catfish *Pangasius hypophthalmus* (Pangasiidae, Siluriformes). *Proceeding of The Mid-Term Workshop of the Catfish Asia Project*, Cantho - Vietnam 11-15 May 1998. M Legendre and A Parisele (Editors), 119-125. The Biological Diversity and Aquaculture of Clariid and Pangasiid Catfishes in South-East Asia.
- Legendre M, L Pouyaud, J Slembrouck, R Gustiano, AH Kristanto, J Subagja, O Komarudin, Sudarto and Maskur. 2000a.** *Pangasius djambal*: a new candidate species for fish culture in Indonesia. *Indonesian Agricultural Research and Development Journal* **22** (1), 1-14.
- Legendre M, J Slembrouck, J Subagja and AH Kristanto. 2000b.** Ovulation rate, latency period and ova viability after GnRH- or hCG-induced breeding in the Asian catfish *Pangasius hypophthalmus* (Siluriformes, Pangasiidae). *Aquatic Living Resources* **13**, 145-151.
- Mattson NS, K Buakhavongsa, N Sukumasavin, T Nguyen and O Vibol. 2002.** The role of giant fish species in managing the Mekong ecosystem. *International Symposium on Biodiversity Management and Sustainable Development in the Lancang-Mekong River Basin*, Xishuangbanna - China 4-7 December 2001. C Min, HB Hu and LM Li (Compilers), 78-86. Biodiversity Management and Sustainable Development: Lancang-Mekong River in the New Millennium.
- Pouyaud L, R Gustiano and M Legendre. 1999.** Phylogenetic relationship among pangasiid catfish species (Siluriformes, Pangasiidae) and new insights on their zoogeography. *Proceeding of The Mid-Term Workshop of the Catfish Asia Project*, Cantho - Vietnam 11-15 May 1998. M Legendre and A Parisele (Editors), 49-56. The Biological Diversity and Aquaculture of Clariid and Pangasiid Catfishes in South-East Asia.
- Roberts TR and C Vidhayanon. 1991.** Systematic revision of the Asian catfish family Pangasiidae, with biological observations and description of three new species. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* **143**, 97-144.
- Sarkar UK, SK Paul, D Kapoor, PK Deepak and SP Singh. 2006.** Captive breeding of pangasid catfish *Pangasius pangasius* with Ovaprim - an attempt towards sustainable seed production and conservation of wild populations. *Aquaculture Asia* **X(3)**, 8-10.
- Slembrouck J, E Baras, J Subagja, LT Hung and M Legendre. 2009.** Survival, growth and food conversion of cultured larvae of *Pangasianodon hypophthalmus*, depending on feeding level, prey density and fish density. *Aquaculture* **294**, 52-59.
- Slembrouck J, W Pamungkas, J Subagja, W Hadie and M Legendre. 2003a.** Biology of the larvae. In: *Technical Manual for Artificial Propagation of the Indonesian Catfish, Pangasius djambal*, 95-103. J Slembrouck, O Komarudin, Maskur and M Legendre (Editors). Karya Pratama. Jakarta.
- Slembrouck J, J Subagja, D Day, Firdausi and M Legendre. 2003b.** Artificial fertilization and egg incubation technique. In: *Technical Manual for Artificial Propagation of the Indonesian Catfish, Pangasius djambal*, 73-93. J Slembrouck, O Komarudin, Maskur and M Legendre (Editors). Karya Pratama. Jakarta.
- Subagja J, J Slembrouck, LT Hung and M Legendre. 1999.** Larval rearing of an Asian catfish *Pangasius hypophthalmus* (Siluroidei, Pangasiidae): Analysis of precocious mortality and proposition of appropriate treatments. *Aquatic Living Resources* **12(1)**, 37-44.
- Tahapari E, B Iswanto dan Sularso. 2008.** Keragaan reproduksi patin nasutus (*Pangasius nasutus*) dan pertumbuhan anakannya. *Laporan Teknis Hasil Penelitian Tahun Anggaran 2008*. Loka Riset Pemuliaan dan Teknologi Budidaya Perikanan Air Tawar. Sukamandi.
- Tahapari E, B Iswanto dan Sularso. 2011.** Keragaan reproduksi ikan patin nasutus (*Pangasius nasutus* Bleeker, 1863) sebagai kandidat ikan patin budidaya. *Jurnal Riset Akuakultur* **6(1)**, 17-30.
- Teletchea F, JN Gardeur, E Kamler and P Fontaine. 2009.** The relationship of oocyte diameter and incubation temperature to incubation time in temperate freshwater fish species. *Journal of Fish Biology* **74**, 652-668.
- Xuan LN and PT Liem. 1999.** Preliminary results on the induced spawning of two catfish species, *Pangasius conchophilus* and *Pangasius* sp1. in the Mekong Delta, Vietnam. *Proceeding of The Mid-Term Workshop of the Catfish Asia Project*, Cantho - Vietnam 11-15 May 1998. M Legendre and A Parisele (Editors), 103-106. The Biological Diversity and Aquaculture of Clariid and Pangasiid Catfishes in South-East Asia.