

PERKEMBANGAN EMBRIO DAN LARVA IKAN NILEM (*Osteochilus hasselti* C.V.) PADA BERBEGAI TEMPERATUR

Gratiana E. Wijayanti¹, Sugiharto¹, Priyo Susatyo¹ dan Agus Nuryanto²

¹ Laboratorium Struktur dan Perkembangan Hewan, Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Indonesia
bugrat_1@yahoo.co.uk

² Laboratorium Taksonomi Hewan, Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Indonesia

Abstrak

Temperatur merupakan faktor lingkungan utama yang mempengaruhi berbagai proses selama perkembangan embrio ikan. Oleh karenanya penelitian untuk menentukan temperatur optimal bagi perkembangan embrio dan larva ikan senantiasa dilakukan pada berbagai jenis ikan baik untuk kepentingan keilmuan maupun budidaya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui: 1) pengaruh media inkubasi terhadap perkembangan embrio dan larva ikan nilem, 2) keberhasilan penetasan dan 3) kelangsungan hidup larva pada masing-masing temperatur uji. Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan menginkubasi telur yang telah dibuahi pada temperatur 23-24°, 26-27°, 28-29°, 30-31° dan 32 °C. Variabel yang diamati berupa waktu kumulatif untuk mencapai stadium morula, blastula, gastrula, neurula dan penetasan; persentase kecacatan embrio, persentase penetasan dan kelangsungan hidup larva. Data dianalisis dengan uji F. Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu perkembangan embrional yang diperlukan pada temperatur 23-24 °C adalah 48 jam sedangkan pada 26-27°, 28-29° dan 30-31 adalah 25-27 jam. Embrio yang diinkubasi pada temperatur 32°C berkembang paling cepat namun diikuti kematian secara serempak setelah stadium blastula. Persentase penetasan pada temperatur 23-24°, 26-27°, 28-29° dan 30-31°C sebesar 80%, 98%, 95% dan 92%. Larva hasil inkubasi pada temperatur 23-24°C hanya bertahan hingga hari kedua, larva hasil inkubasi 26-27°C dan 28-29°C bertahan hingga hari kesepuluh dengan SR masing-masing 97% dan 95% sedangkan larva hasil inkubasi pada temperatur 30-31°C 60% mati pada hari kelima. Embrio yang diinkubasi pada temperatur 23-24°C dan 32°C memiliki persentase embrio cacat lebih tinggi dibandingkan dengan temperatur 26-31°C. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa temperatur inkubasi yang paling mendukung perkembangan embrio nilem berkisar antara 26-29°C.

Kata kunci: perkembangan embrio ikan, *Osteochilus hasselti* C.V., temperature lingkungan, penetasan

1. Pendahuluan/Pengantar

Perubahan iklim yang terjadi dalam beberapa dasawarsa terakhir menuntut perubahan strategi dalam pembenihan ikan, agar penyediaan benih sepanjang tahun dapat dilaksanakan. Salah satu pendekatan yang mulai banyak dilakukan adalah dengan pembuahan buatan atau pembuahan induksi. Guna mendukung upaya tersebut diperlukan pemahaman yang memadai tentang biologi perkembangan ikan termasuk ikan nilem (*Osteochilus hasselti* C.V.). Ikan nilem termasuk salah satu ikan konsumsi yang banyak dibudidayakan. Di Kabupaten Banyumas ikan nilem merupakan salah satu komoditi perikanan air tawar yang diunggulkan (BRKP, 2009). Dalam kondisi laboratorium, ikan nilem dapat bereproduksi dan embrionya dapat berkembang dan menetas dengan baik pada temperatur 27-28°C (Wijayanti *et al.*, 1995).

Keberhasilan pembuahan buatan sangat dipengaruhi oleh kualitas oosit dan spermatozoa yang dibuahkan dan kualitas medium yang digunakan untuk pembuahan dan inkubasi embrio. Perbaikan penanganan induk dan penyempurnaan metode induksi-stripping memungkinkan tersedianya oosit dan spermatozoa berkualitas baik dalam jumlah besar (Wijayanti dan Simanjuntak, 2005, Wijayanti dan Sugiharto 2006). Apabila kualitas oosit dan spermatozoa yang baik telah tersedia maka perkembangan embrio hasil fertilisasi sangat dipengaruhi oleh medium inkubasi. Beberapa parameter media inkubasi yang menentukan perkembangan dan kelangsungan embrio dan larva ikan diantaranya oksigen terlarut, karbondioksida bebas, pH dan temperatur (Stickney, 1994; Barrionuevo & Burggren, 1999; Mihaela, *et al.*, 2007). Ketersediaan oksigen dapat dipenuhi melalui pemberian aerasi sehingga kebutuhan oksigen selama perkembangan embrio dapat tercukupi.

Temperatur merupakan faktor lingkungan utama yang mempengaruhi berbagai proses selama perkembangan embrio dan larva ikan (Rombough, 1996; Ojanguren *et al.*, 1999). Sebagai hewan poikilotherm, laju metabolisme pada ikan dalam berbagai stadia sangat tergantung pada temperatur

lingkungan. Hal ini mengakibatkan kecepatan perkembangan yang berbeda pada temperatur inkubasi yang berlainan (Saat dan Virsalu, 1995). Embrio ikan Rainbow trout yang diinkubasi pada temperatur 5,7°C menetas dalam waktu 14 hari sedangkan pada temperature 12,9° dan 17,6° berturut-turut menetas dalam waktu 6 dan 3 hari (Lagler, *et al.*, 1977). Meskipun secara umum pengaruh temperatur terhadap hewan poikilotherm memiliki pola yang sama, akan tetapi setiap spesies memiliki batas toleransi yang berbeda terhadap temperatur (Stickney, 1994).

Disamping dipengaruhi oleh perbedaan spesies, toleransi terhadap temperatur juga dipengaruhi oleh ukuran tubuh yang biasanya terkait dengan umur dan tingkat perkembangan dalam siklus hidupnya. Ikan dengan ukuran tubuh lebih besar pada umumnya lebih tahan terhadap perubahan temperatur (Goddard, 1996). Batas toleransi temperatur terendah dan tertinggi yang sesuai untuk embrio dan larva tidak sebesar temperatur yang dapat ditolelir oleh juvenile maupun ikan dewasa (Stickney, 1994; Saat dan Virsalu, 1995).

Temperatur berpengaruh secara langsung terhadap embrio dan larva dengan mempengaruhi aktivitas enzim. Di samping itu temperatur dapat berpengaruh terhadap embrio secara tidak langsung dengan mempengaruhi parameter kualitas air lainnya. Kandungan oksigen terlarut menurun seiring dengan meningkatnya temperatur air (Goddard, 1996; Barrionuevo dan Burggren, 1999). Pengaruh temperatur terhadap kualitas perkembangan embrional menentukan kualitas perkembangan larva dan pada gilirannya akan menentukan kualitas hidup ikan dewasanya. Memperhatikan peranan temperatur yang sangat vital dalam perkembangan embrio dan larva ikan maka penelitian untuk menentukan kisaran temperatur optimal pada berbagai spesies dan stadia perkembangan senantiasa dilakukan. Informasi tentang kisaran temperatur terendah dan tertinggi yang masih dapat ditolelir oleh embrio dan larva ikan nilam masih terbatas. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui: 1) pengaruh media inkubasi terhadap perkembangan embrio dan larva ikan nilam, 2) keberhasilan penetasan dan 3) kelangsungan hidup larva pada masing-masing temperatur uji.

2. Materi dan Metode

Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan menginkubasi embrio pada temperatur 23-24°, 26-27°, 28-29°, 30-31° dan 32 °C. Tiga unit ulangan masing-masing berisi 500 oosit disediakan untuk setiap temperatur uji. Embrio diperoleh melalui pemijahan induksi menggunakan GnRH analog (Ovaprim, Syndel lab. Vancouver Canada) dengan dosis 0,5mL.kg⁻¹. Oosit dan milt hasil striping dibuahkan dengan metode basah. Setelah pencucian untuk menghilangkan sisa milt, oosit dimasukkan ke dalam tempat inkubasi berupa bak plastik berukuran 40x60x30cm yang telah dilengkapi dengan aerasi. Temperatur 23-24°C dipertahankan dengan meletakkan *ice pack* yang diganti setiap 4 jam, temperatur 26-27°C adalah temperatur kontrol pada saat penelitian sedangkan temperatur 28-29°, 30-31° dan 32°C dipertahankan dengan thermostat yang set sesuai dengan temperatur uji.

Evaluasi keberhasilan pembuahan dilakukan satu jam setelah pencampuran oosit dan milt. Oosit yang terbuahi ditandai dengan warna *yolk* yang tajam, oolema tampak utuh ruang perivitellin jernih dan pada kutub animalis terdapat blastomer (Wijayanti dan Simanjuntak, 2005). Persentase oosit yang dibuahi (*Fertilisation rate* = FR) ditentukan dengan rumus sebagai berikut.

$$FR = (\sum \text{oosit yang terbuahi} \div \sum \text{oosit yang dibuahkan}) \times 100\%$$

Evaluasi perkembangan embrio dilakukan dengan mengambil 20 embrio secara acak pada waktu-waktu tertentu dari semua unit ulangan dan mengamatinya di bawah mikroskop cahaya. Batasan tahapan perkembangan embrio ditentukan dengan kriteria sebagai berikut (Wijayanti dan Simanjuntak, 2005). Stadium morula ditandai dengan jumlah blastomer lebih dari 32 sel, luas permukaan kontak antar blastomer mencapai maksimal sehingga batas antar blastomer menjadi kurang tegas. Blastula ditandai dengan meningkatnya jumlah blastomer dan batas antar blastomer tampak kembali dengan lapisan *sinsitial* masih tampak datar. Gastrula ditandai dengan perubahan pada lapisan *sinsitial* yang mulai melengkung melingkupi *yolk* sebagai indikasi mulai berlangsungnya epiboli. Neurula ditandai dengan perubahan morfologi embrio dari bulat menjadi agak oval. Stadium menetas ditandai dengan keluarnya seluruh tubuh embrio dari *chorion* sehingga sumbu anterior-posterior tubuh tampak lurus. Waktu yang

diperlukan oleh 70% embrio untuk mencapai stadium tertentu ditetapkan sebagai waktu kumulatif untuk mencapai tahapan yang bersangkutan. Embrio yang tidak memenuhi kriteria di atas dikategorikan sebagai embrio cacat. Persentase embrio cacat dihitung dengan rumus berikut.

$$\% \text{ embrio cacat} = (\sum \text{embrio cacat} \div \sum \text{embrio normal}) \times 100\%$$

Persentase penetasan larva (*hatching rate* = HR) dihitung dengan rumus berikut.

$$HR = (\sum \text{embrio yang menetas} \div \sum \text{embrio yang diinkubasi}) \times 100\%$$

Larva dipelihara selama 10hari dengan kondisi yang sama dengan inkubasi embrio. Selama lima hari pertama, larva tidak diberi pada karena masih memiliki yolk. Mulai hari ke enam setelah penetasan larva diberi pakan berupa emulsi kuning telur ayam yang telah direbus. Penyiponan dan penambahan air bersih dilakukan setiap hari sebelum pemberian pakan. Kelangsungan hidup (*survival rate* =SR) larva hingga hari tertentu dihitung dengan rumus berikut.

$$SR = (\sum \text{larva yang menetas} \div \sum \text{larva hidup di hari pengamatan}) \times 100\%$$

Laju penyerapan yok diukur di bawah mikroskop cahaya dengan menghitung luas area kantung yolk menggunakan *eye-piece graticle* yang telah dikalibrasi. Pengukuran dilakukan setiap hari hingga seluruh yolk terserap.

Data kuantitatif dianalisis dengan uji F untuk mengetahui temperatur yang paling berpengaruh terhadap perkembangan embrio, penetasan dan kelangsungan hidup larva.

Hasil dan Pembahasan

Oosit yang digunakan dalam penelitian ini berkualitas baik ditandai dengan mudahnya oosit keluar saat dilakukan stripping, tidak bergerombol, memiliki diameter seragam, warna yolk tajam dan tidak memiliki ruang perivitelin. Milt dihasilkan dalam jumlah banyak dengan konsistensi normal dan jumlah spermatozoa yang memadai (Wijayanti dan Sugiharto, 2006; Wijayanti dan Simanjuntak, 2006). FR mencapai 98%. Perkembangan embrio pada tahap pembelahan segmentasi tampak normal pada semua kisaran temperatur, namun pewaktuannya bervariasi (Tabel 1.).

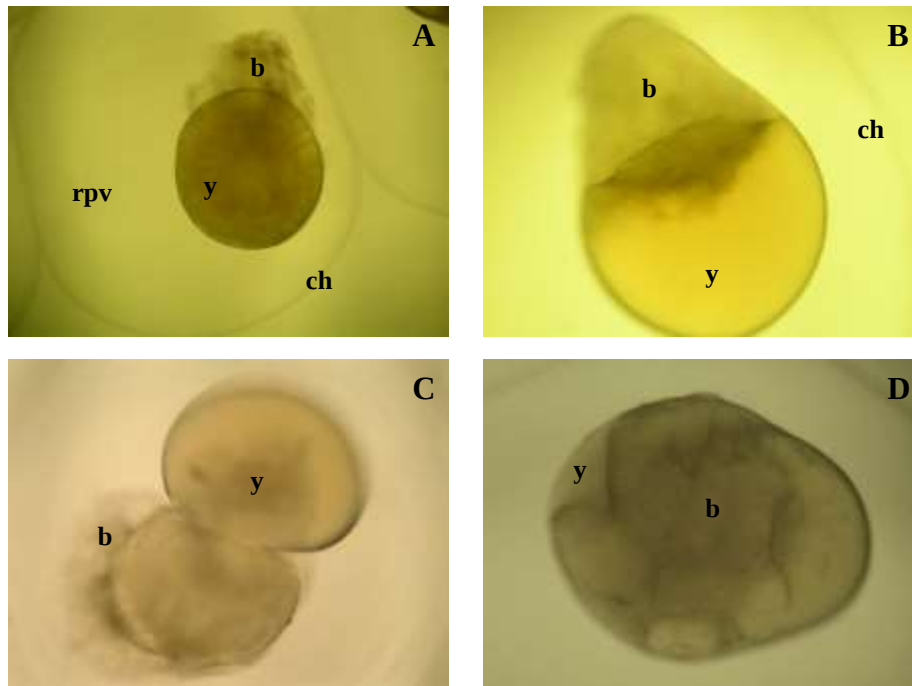
Tabel 1. Waktu kumulatif perkembangan embrio nilem pada temperatur 23-31°C

Stadium Perkembangan	Waktu kumulatif (menit) ± SD				
	23-24°C	26-27°C	28-29°C	30-31°C	32°C
2-sel	48±7	40±8	38±6	36±7	20±5
4-sel	59±10	50±9	47±12	49±9	25±5
8-sel	72±11	60±9	59±5	56±10	30±10
16-sel	88±13	68±11	68±7	62±10	35±9
32-sel	99±14	75±9	77±8	67±12	40±10
Morula	110±13	80±10	88±10	78±14	50±11
Blastula	117±11	90±16	99±12	91±16	60±13
Gastrula	136±15	130±15	128±10	111±18	100±15
Neurula	555±16	337±14	310±12	350±17	td
Head-tail	730±18	389±16	365±13	410±19	td
Penetasan	2860±45	1560±35	1560±30	1560±25	td

Keterangan: td = tidak dapat diukur

Embrio yang diinkubasi pada temperatur 23-24°C membutuhkan waktu lebih lama untuk mencapai masing-masing stadium perkembangan dibandingkan dengan embrio yang diinkubasi pada temperatur 26-32°C. Sebagai hewan poikiloterm temperatur tubuh ikan dan embrionya dipengaruhi oleh temperatur lingkungan, sebagai konsekuensinya laju metabolisme juga berubah mengikuti pola perubahan temperatur (Pipe dan Walker, 1987; Yang dan Chen, 2005). Pada temperatur rendah, metabolisme dan proses

enzimatis yang mendukung diferensiasi sel dan jaringan berjalan dengan lambat sehingga perkembangan embrio juga lambat (Ojanguren *et al.*, 1999). Perkembangan embrio menjadi semakin lambat setelah memasuki stadium gastrula. Meskipun perkembangan embrio berjalan lambat, morfologi embrio menunjukkan perkembangan normal hingga stadium morula awal. Mulai memasuki stadium morula akhir dan blastula, pada beberapa embrio terlihat adanya sebagian blastomer yang terlepas dari kelompoknya sehingga berserakan di ruang perivitelin (Gambar 1.A.), disamping itu juga dijumpai blastula yang peyot (Gambar 1.B.). Embrio dengan morfologi demikian tidak dapat berkembang lebih lanjut dan akhirnya mati. Hal ini diduga karena embrio tidak mampu mentolerir temperatur yang terlalu rendah sehingga timbul *cold shock*. Gejala serupa juga sering dijumpai pada stadium morula dari spesies ikan lain yang mengalami tekanan mekanik (Waynarovich dan Hovart, 1980).



Gambar 1. Beberapa contoh bentuk kecacatan embrio ikan nilem yang diinkubasi pada temperatur 23-24°C (a, b) dan temperatur 30-31°C (c,d)
Keterangan, b. blastomer; ch. Chorion; rpv. ruang perivitellin; y. yolk

Embrio yang diinkubasi pada temperatur 26-27°C dan 28-29°C membutuhkan waktu kumulatif yang relatif sama. Embrio yang diinkubasi pada temperatur 30-31°C memerlukan waktu yang lebih singkat untuk mencapai stadium gastrula (Tabel 1.). Perkembangan tercepat terjadi pada embrio yang diinkubasi pada temperatur 32°C. Perbedaan kecepatan perkembangan mulai tampak pada stadium 4-sel, namun segera setelah memasuki tahap gastrula perkembangan embrio menjadi tidak normal. Yolk pada sebagian embrio membentuk struktur seperti pembelahan mitosis tahap telofase (Gambar 1.C.), sebagian lagi membentuk struktur seperti buah *pear* dan lainnya membentuk struktur tak beraturan (Gambar 1.D.). Sekitar 2jam setelah fertilisasi embrio secara serempak mengalami kematian. Penyebab kematian tersebut belum diketahui dengan pasti. Temperatur mempengaruhi perkembangan embrio dalam berbagai aspek. Pada ikan cod *Gadus morhua* L., temperatur berpengaruh terhadap penutupan blastoporus (Hall dan Johnston, 2003). Pada ikan zebra *Danio rerio* temperatur mempengaruhi pola ekspresi spesifik salah satu prototip galectin pada notochorda (Ahmed *et al.*, 2004). Penutupan blastoporus dan perkembangan notochorda merupakan rangkaian proses yang menentukan keberhasilan organogenesis pada ikan. Oleh karenanya sangat dimungkinkan bahwa gangguan pada proses tersebut akan menghambat perkembangan embrio pada tahap berikutnya.

Tabel 2. Perkembangan embrio dan larva ikan nilam pada temperature 23-32°C

Aspek perkembangan yang diamati	Temperatur inkubasi embrio dan pemeliharaan larva				
	23-24°C	26-27°C	28-29°C	30-31°C	32°C
Kecacatan embrio (%)	2,00±1,73	0,58±0,33	0,61±0,42	1,40±0,98	2,00±1,00
Penetasan (%)	80±2,64 ^c	98±1,73 ^a	95±1,00 ^a	92±1,73 ^b	0
Kelangsungan hidup hingga hari ke10 (%)	0 (mati kari ke 2)	(97%)	(95%)	0 (mati hari ke5)	td
Penyerapan yolk	Penuh hari ke2	Habis hari ke7	habis hari ke5	Habis hari ke 4	td

Keterangan: td= tidak dapat diukur

Perbedaan kecepatan perkembangan pada periode embrional mengakibatkan waktu kumulatif yang diperlukan untuk mencapai stadium menetas dan kelangsungan hidup larvanya juga berbeda. Pada temperatur 23-24°C, waktu kumulatif yang diperlukan untuk menyelesaikan perkembangan hingga menetas mendekati dua kali lipat waktu kumulatif yang diperlukan oleh embrio yang diinkubasi pada temperatur 26-29°C. Penghambatan perkembangan embrio pada temperatur rendah juga dijumpai pada beberapa spesies misalnya brook char *Salvelinus fontinalis* (Benfey dan Bennet, 2009), Atlantic salmon *Salmo salar* L. (Ojanguren, *et al.*, 1999; Macqueen, *et al.*, 2008), Ide *Leuciscus idus* L. (Rechulicz, 2001). Larva dari embrio yang diinkubasi pada temperatur 23-24°C hanya mampu bertahan hingga 2hari setelah penetasan dengan ukuran kantung yolk sama seperti hari pertama penetasan.

Embrio yang diinkubasi pada temperatur 26-31°C menetas dalam waktu relatif sama (Tabel 1.) tetapi persentase penetasan dan kelangsungan hidup larvanya berbeda. Penetasan tertinggi diperoleh pada embrio yang diinkubasi pada temperatur 26-27°C diikuti 28-29°C dan 30-31°C (Tabel 2.). Pada Tabel 2 tampak bahwa di atas 27°C, persentase penetasan menurun seiring dengan meningkatnya temperatur inkubasi. Pola serupa juga dijumpai pada ikan lain misalnya darkbarble catfish *Pelteobagrus vachelli* (Lunqiang *et al.*, 2005), summer flounder *Paralichthys dentatus* (Johns dan Howel, 1990) dan beberapa ikan dari genus *Leuciscus* (Kupren *et al.*, 2008).

Peran temperatur terhadap perkembangan larva telah diteliti pada beberapa ikan. Salah satu peran adalah percepatan penyerapan yolk sebagaimana yang dilaporkan pada ikan *Paralichthys dentatus* (John dan Howel, 1980) dan *Salmo salar* (Ojanguren *et al.*, 1999). Meningkatnya penyerapan yolk menyediakan energi dan komponen struktural yang diperlukan untuk perkembangan dan pertumbuhan embrio dan larva. Argumentasi ini didukung oleh hasil penelitian pada ikan *Salmon salar* yang menunjukkan bahwa pada temperatur tinggi dalam kisaran normalnya, embrio memiliki kemampuan miogenik yang lebih baik dibandingkan pada temperatur rendah (Stickland *et al.*, 1988). Peningkatan kemampuan miogenik tersebut diduga karena pada temperatur tinggi energi dan komponen struktural dikonversi salah satunya menjadi jaringan otot oleh hormon pertumbuhan. Pada *Onchoryncus mykiss* peningkatan temperatur meningkatkan ekspresi reseptor hormon pertumbuhan (Gabilard *et al.*, 2006). Pada *Salvelinus fontinalis* peningkatan temperatur meningkatkan denyut jantung (Benfey dan Bennet, 2009). Kondisi ini secara kolektif mengakibatkan perkembangan embrio dan larva yang diinkubasi pada temperatur tinggi dalam batas normalnya berkembang lebih cepat.

Pengaruh temperatur terhadap perkembangan embrio dan larva ikan bersifat parabolik. Hasil penelitian pada berbagai ikan menunjukkan bahwa meskipun embrio dan larva dapat hidup dan berkembang pada kisaran temperatur tertentu, namun perkembangan optimal hanya diperoleh pada temperatur median dari kisaran yang dapat ditolelir (Pipe dan Walker, 1987; Saat dan Virsalu, 1995). Dalam penelitian ini perkembangan embrio masih berjalan pada kisaran temperatur 23-31°C. Akan tetapi larva dari embrio yang diinkubasi pada temperatur 23-24°C mati pada hari kedua setelah penetasan sedangkan larva dari embrio yang diinkubasi pada temperatur 30-31°C mati pada hari kelima setelah penetasan. Kondisi ini mengindikasikan bahwa temperatur 23-24°C dan 30-31°C kurang sesuai untuk perkembangan embrio dan larva ikan nilam. Temperatur inkubasi 26-29° memberi peluang embrio untuk berkembang dengan normal sebagaimana terlihat dari rendahnya persentase embrio cacat, tingginya persentase penetasan dan kelangsungan hidup larva (Tabel 2.). Dengan demikian temperatur 26-29°C dapat dikatakan sebagai temperatur yang paling sesuai untuk mendukung perkembangan embrio dan larva

ikan nilem. Informasi tentang temperatur optimum untuk perkembangan embrio dan larva ikan sangat bermanfaat baik bagi para praktisi maupun peneliti yang bergerak dibidang ekologi dan konservasi.

Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada Dwi Indah Kurniawati dan Heny Wahyuningsih atas bantuannya dalam pencatatan waktu kumulatif pada tahap *cleavage*.

Daftar pustaka

- [1] Pusat Riset Perikanan Budidaya (2009) Budidaya ikan nilem di Kabupaten Banyumas (sekilas tinjauan dari aspek social ekonomi). *Showcase Iptekmas Budidaya Ikan Nilem*, Badan Riset Kelautan dan Perikanan, Departemen Kelautan dan Perikanan, Purwokerto 9 Desember 2009
- [2] Wijayanti G.E., Soeminto, S.B.I. Simanjuntak, P. Susatyo & A.E. Pulungsari (1995) Studi pendahuluan untuk peningkatan mutu benih ikan nilem (*Osteochilus hasselti* C.V.) melalui seleksi induk dan penetasan dalam akuarium. Laporan Penelitian. Fakultas Biologi UNSOED, Purwokerto.
- [3] Wijayanti G.E. & S.B.I. Simanjuntak (2005) Viabilitas embrio dan larva ikan nilem (*Osteochilus hasselti* C.V.) pasca *chorion puncture*. *Jurnal Biologi Indonesia* **III**(10), 411-419
- [4] Wijayanti G.E. & Sugiharto (2006) Aktivitas testis ikan nilem selama satu siklus pemijahan. *Omni Akuatika* **2**(1), 37-43
- [5] Barrionuevo, W.R. & W.W. Burggren (1999) O₂ consumption and heart rate in developing zebra fish (*Danio rerio*) influence of temperature and ambient O₂. *American Journal of Physiology, Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **276**,505-513
- [6] Mihaela, B., A. Grosea and I. Banatean-Dunea (2007). Study on embryo development in zebra fish (*Danio rerio*) depending on different pH leves. *Zootechnie si Biotehnologii* **4**(2).
- [7] Rombough, GH. 1996. The effect of temperature on embryonic and larval development. in *Global Warming-Implication for Freshwater and marine Fishes*. Editors McDonal D.G. and C.M. Wood. Cambridge University Press. Cambridge.
- [8] Ojanguren A.F., G. Reyes-Gavilan & R.R. Munoz (1999) Effect of temperature on growth and efficiency of yolk utilisation in eggs and pre-feeding larval stages of Altantic salmon. *Aquaculture International* **7**, 81-87
- [9] Saat, T. & A. Virsalu (1995) The rate of early development in Perch, *Perca fluviatilis* L., and *Gymnocephalus cernuus* (L.) at different temperature. *Ann. Zool. Vennici* **13**: 693-698
- [10] Lagler, K.F., J.E. Bardach & R.R. Miller (1977). *Ichthyology*. John Willey & Son Inc. New York.
- [11] Goddard, S. (1996) *Feed Management in Intensive Aquaculture*. Chapman and Hall. New York.
- [12] Wijayanti G.E. & S.B.I. Simanjuntak (2006) Viabilitas sperma ikan nilem (*Osteochilus hasselti* C.V.) setelah disimpan dalam larutan ringer. *Jurnal Perikanan* **VIII**(2), 207-214
- [13] Pipe, R.K. & P. Walker (1987) The effect of temperature on development and hatching of scad, *Trachurus trachurus* L., egg. *Journal of Fish Biology*, **31**(5), 675-682

- [14] Yang Z. & Y. Chen (2005) The effect of temperature on incubation period and hatching success of obscure puffer, *Takifugu obscurus* (Abe) egg. *Aquaculture* **246**(1-4), 173-179
- [15] Waynarovich E. & L. Hovarth (1980) The artificial propagation of warmwater fish: A manual for extensive. FAO Fisheries Tech Paper 201. Rome.
- [16] Hall T.E. & I.A. Johnston (2003) Temperature and developmental plasticity during embryogenesis in Atlantic cod *Gadus morhua* L. *Marine Biology* **142**, 833-840
- [17] Ahmed H., S-J. Du, N. O'Leary & G.R. Vasta (2004) Biochemical and molecular characterisation of galectin from Zebra fish (*Danio rerio*) notochord-specific expression of a prototype galectin during early embryogenesis. *Glycobiology* **14**(3), 219-232
- [18] Benfey T.J. & L.E. Bennet (2009) Effect of temperature on heart rate in diploid and triploid brook charr, *Salvelinus fontinalis* embryo and larvae. *Comp. Biochem. And Physiol. Part A: Molecular and Integrative Physiology* **52**(2), 203-206.
- [19] Macqueen D.J., D.H.F. Roob, T. Olsen, L. Melstveit, C.G.M. Paxton & I.A. Johnston (2008) Temperature until the eyed stages of embryogenesis programmes the growth trajectory and muscle phenotype of adult Atlantic salmon. *Biol. Lett* **4**, 294-298
- [20] Lunqiang Y., X. Xiao-Jun, C. Zhen-Dong & L. Yi-Ping (2005) Effect of temperature on embryonic development of the darkbarbel catfish *Pelteobagrus vachelli*. *Current Zoology* **51**(4), 753-757
- [21] Kupren K., A. Mamcarz, D. Kucharczyk, M. Prusinka & S. Krejszeff (2008) Influence of water temperature on egg incubation time and embryonic development of fish from genus *Leuciscus*. *Pol. J. Natur. Sc.* **23**(2), 461-481 (DOI: 10.2478/v10020-008-0036-9)
- [22] Johns D.M. & W.H. Howel (1980) Yolk utilisation in summer flounder, (*Paralichthys dentatus*) embryos and larvae reared at two different temperatures. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **2**, 1-8
- [23] Stickland N.C., R.N. White, P.E. Mescall, A.R. Crook, & J.E. Thorpe (1988) The effect of temperature on myogenesis in embryonic development of the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Anat. Embryol.* **178**, 253-257
- [24] Gabilard J-C., K. Yao, M. Vandeputte, J. Gutierrez & P-Y. Le Bail (2006) Differential expression of two GH receptor mRNAs following temperature change in rainbow trout (*Onchoryncus mykiss*) *J. Endocrinology* **190**, 29-37