

การพัฒนาของตัวอ่อนและความหนาแน่นที่เหมาะสมในการอนุบาลลูกปลาน้ำหมึกวัยรุ่น

Larval development and optimum density for nursing Mackerel barb juvenile, *Opsarius pulchellus*

เกรียงไกร สีตะพันธ์^{1*}
Kriengkrai Seetapan^{1*}

บทคัดย่อ: การพัฒนาของตัวอ่อนลูกปลาน้ำหมึก, *Opsarius pulchellus* (Smith, 1931) ทดลองที่มหาวิทยาลัยพะเยา ทำการเพาะพันธุ์ด้วยวิธีผสมเทียม พบว่า มีอัตราการปฏิสนธิเฉลี่ย อัตราการฟักเฉลี่ยร้อยละ และอัตราการรอดตายเฉลี่ยร้อยละ มีค่า 68.61 ± 5.04 , 82.15 ± 2.81 และ 73.66 ± 1.35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ใช้เวลาฟักเป็นตัวเวลา 37 ชั่วโมง 9 นาที มีความยาวเฉลี่ย 5.32 ± 0.03 มม. และมีลักษณะเหมือนตัวเต็มวัยเมื่ออายุ 60 วัน การอนุบาลลูกปลาน้ำหมึกวัยรุ่น (3.80 ± 0.09 ซม./ตัว และ 0.45 ± 0.01 ก./ตัว) ทำในตู้กระจกขนาด $45 \times 90 \times 45$ ซม. ระดับน้ำลึก 30 ซม. ในอัตราความหนาแน่นที่ต่างกัน คือ 300, 600, 900 และ 1,200 ตัว/ลบ.ม. ให้อาหารสำเร็จรูปบดระดับโปรตีน 40 % อัตราการให้อาหารเท่ากับ 5%/น.ตัว ทดลองนาน 60 วัน พบว่า ลูกปลาน้ำหมึกที่อนุบาลที่ความหนาแน่น 300 ตัว/ลบ.ม. มีความยาวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (5.10 ± 0.90 ซม./ตัว) ความยาวที่เพิ่มขึ้น (1.27 ± 0.32 ซม./ตัว) น้ำหนักเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (0.86 ± 0.07 ก./ตัว) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (0.41 ± 0.07 ก./ตัว) ร้อยละของน้ำหนักเพิ่มขึ้น (92.42 ± 7.19 %) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (1.08 ± 0.15 %/วัน) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (4.56 ± 0.62) และอัตราการรอด (100.00 ± 0.00 %) ดีกว่าลูกปลาน้ำหมึกในกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างกับลูกปลาที่อนุบาลที่ความหนาแน่น 600 ตัว/ลบ.ม. ($P > 0.05$) ดังนั้นจึงสรุปว่าระดับความหนาแน่นที่เหมาะสมสำหรับการอนุบาลลูกปลาน้ำหมึกคือ 600 ตัว/ลบ.ม.

คำสำคัญ: ปลาน้ำหมึก, การเพาะ, การอนุบาล, ความหนาแน่น

ABSTRACT: Larval development of mackerel barb, *Opsarius pulchellus* (Smith, 1931), was carried out at University of Phayao. The brooders were bred by artificial breeding method. The results showed that the means of fertilization, hatching, and survival rates were 68.61 ± 5.04 %, 82.15 ± 2.81 %, and 73.66 ± 1.35 %, respectively. The duration to complete development process until hatching was 37 h 9 min. The average length of fish larvae was 5.32 ± 0.03 mm. The complete metamorphosis was at the age of 60 days. The nursing of mackerel barb juvenile (3.80 ± 0.09 cm/fish and 0.45 ± 0.01 g/fish) was performed in $45 \times 90 \times 45$ cm glass aquarium with 30 cm of water depth and at different stocking densities of 300, 600, 900 and 1,200 fish/m³. Fish were fed in the rate of 5%/body weight with crushed commercial fish feed containing 40 % protein for 60 days. The results showed that the

Received December 12, 2018

Accepted June 12, 2019

¹ สาขาวิชากรมประมง คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา พะเยา 56000

Department of Fishery, School of Agriculture and Natural Resources, University of Phayao, Phayao 56000

* Corresponding author: kook82@hotmail.com

fish nursing at density of 300 fish/m³ had the final length (5.10±0.90 cm/fish), length gain (1.27±0.32 cm/fish), final weight (0.86±0.07 g/fish), weight gain (0.41±0.07 g/fish), percentage weight gain (92.42±7.19 %), specific growth rate (1.08±0.15 %/day), feed conversion ratio (4.56±0.62) and survival rate (100.00±0.00 %) increased and significantly higher than the densities of 900 and 1,200 fish/m³. However, the results were not significantly different from the nursing density of 600 fish/m³. This study can be concluded that the suitable density for nursing mackerel barb juvenile is 600 fish/m³.
Keywords: *Opsarius pulchellus*, breeding, nursing, stocking density

บทนำ

ปลาน้ำหมึกเป็นปลาน้ำจืดขนาดเล็ก มีชื่อสามัญ Mackerel barb หรือ Butterfly barb หรือ Green-barred danio หรือ Royal Opsarius หรือ Yellow Baril พบอาศัยตามลำธารน้ำไหลสะอาด มีกรวด หิน และพรรณไม้ บนที่สูงถึงเชิงเขา บางชนิดพบในแม่น้ำสายใหญ่ จัดอยู่ในวงศ์ Cyprinidae สกุล Opsarius ปลาในสกุลนี้พบแพร่กระจายในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Southeast Asia) ทั้งหมด 11 ชนิด (Kottelat, 2013) โดยปลาน้ำหมึก (*Opsarius pulchellus*) เป็นชนิดหนึ่งที่สามารถพบแพร่กระจายในภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย สารบบแม่น้ำเจ้าพระยา และแม่น้ำโขง แต่ไม่พบในแม่น้ำสาละวิน (ซวลิต, 2547; อภินันท์, 2560; Rainboth, 1996) ปลาชนิดนี้มีสีสันสวยงาม และในต่างประเทศนิยมเลี้ยงเป็นปลาสวยงาม จากการตรวจสอบราคาซื้อขายปลาสวยงาม online ของ Practical Fishkeeping (2012) พบว่ามีราคาตัวละ £15 (ประมาณ 620.52 บาท/ตัว) Tropical Fish Finder (2018) พบว่ามีราคาตัวละ £14.95 (ประมาณ 618.46 บาท/ตัว) และ AquaBid (2018) พบว่า 3 ตัวราคา รวม \$36.00 (ประมาณ 390.64 บาท/ตัว) จากสาเหตุดังกล่าวจึงส่งผลให้มีการรวบรวมปลาชนิดนี้จากแหล่งน้ำธรรมชาติเพื่อนำไปขายเพิ่มมากขึ้น อีกทั้งปัจจุบันสภาวะแวดล้อมมีการเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ไม่เหมาะสม และพื้นที่อาศัยที่เป็นป่าต้นน้ำถูกเปลี่ยนแปลงเป็นพื้นที่เกษตรกรรม จึงส่งผลให้ประชากรปลาน้ำหมึกในธรรมชาติมีแนวโน้มลดลง และที่สำคัญยังไม่มีรายงานทางวิชาการที่กล่าวถึงการเพาะขยายพันธุ์ปลาน้ำหมึกเลย จึงน่าเป็นห่วงว่าปลาน้ำหมึกอาจสูญพันธุ์ได้

ปัจจุบันการเพาะขยายพันธุ์ปลาด้วยวิธีผสมเทียมสามารถทำได้ทั้งปลาที่เลี้ยงในสถานที่

กักขัง และปลาที่รวบรวมจากธรรมชาติ วิธีการเพาะพันธุ์ดังกล่าวนิยมใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ busserelin acetate (Bus) ที่มีชื่อทางการค้าว่า Suprefact® ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ domperidone (Dom) ที่มีชื่อทางการค้าว่า Motilium ปริมาณที่นิยมใช้ในการเพาะพันธุ์ปลาคือฉีด Bus 10 – 15 ไมโครกรัม ร่วมกับ Dom 10 มก.ต่อน้ำหนักแม่พันธุ์ 1 กก. และปลาเพศผู้ฉีด Bus 5 ไมโครกรัม ร่วมกับ Dom 5 มก.ต่อน้ำหนัก 1 กก. ดังรายงานในปลาชิวควายแถบดำ (*Rasbora pavie*) ปลาชิวหนวดยาว (*Esomus metallicus*) ปลาชิวใบไม้ (*Devario regina*) (สุริยะ, 2550) ปลาจาดน้ำตก (*Poropuntius laoensis*) (พงษ์พันธ์ และคณะ 2553) และปลาตะเพียนจุด (*Puntius binotatus*) (ศิริฉัตร และคณะ 2554) นอกจากการเพาะพันธุ์แล้วการศึกษาพัฒนาการของลูกปลาวัยอ่อนยังถือเป็นอีกหนึ่งข้อมูลที่สำคัญต่อการวางแผนการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำให้ประสบความสำเร็จ (Ortiz-Delgado et al., 2003; Rangsin et al., 2012) รวมถึงความหนาแน่นในการเลี้ยงและอนุบาลลูกปลายังเป็นอีกปัจจัยที่สำคัญ เนื่องปัจจัยดังกล่าวส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโต อัตรารอดสุขภาพปลา คุณภาพน้ำ การให้อาหาร และผลผลิตปลาที่ได้ของปลาหลายชนิด (Haylor, 1991) ดังนั้นการวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาการเพาะพันธุ์ปลาน้ำหมึกด้วยฮอร์โมนสังเคราะห์ (Bus) ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ (Dom) พร้อมทั้งศึกษาพัฒนาการของลูกปลาน้ำหมึกตั้งแต่แรกเกิดจนถึงระยะที่มีการเจริญของอวัยวะครบเหมือนตัวเต็มวัย และศึกษาผลของความหนาแน่นที่เหมาะสมที่ส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตและอัตรารอดของลูกปลาน้ำหมึกวัยรุ่นเพื่อปล่อยกลับคืนสู่แหล่งอาศัยตามธรรมชาติ นอกจากนี้ยังสามารถถ่ายทอดความรู้ที่ได้ให้กับผู้สนใจจะพัฒนาเป็นปลาสวยงามต่อไป

วิธีการศึกษา

การรวบรวมพ่อแม่พันธุ์ปลาน้ำหมึก

ขออนุญาตดำเนินการวิจัยจากคณะกรรมการจรรยาบรรณการใช้สัตว์ มหาวิทยาลัยพะเยา และได้รับอนุญาตโดยมีรับเลขที่รับรองโครงการ 58-01-04-0001 จากนั้นรวบรวมพ่อแม่พันธุ์ปลาน้ำหมึกจากแหล่งน้ำธรรมชาติ ในเดือนพฤศจิกายน 2560 จำนวน 50 ตัว มีความยาวลำตัวทั้งหมดและน้ำหนัก 6.49 ± 0.84 ซม./ตัว และ 3.05 ± 1.53 ก./ตัว ตามลำดับ นำมาเลี้ยงรวมกันในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 1,000 ล. จำนวน 2 ถัง ระดับน้ำสูง 20 ซม. ปล่อยน้ำไหลผ่านตลอดเวลาและให้อากาศผ่านหัวทรายจำนวน 4 จุดตลอดเวลา ให้อาหารวันละ 2 ครั้ง (08:00 และ 16:00 น.) ในปริมาณที่กินพอ

การเพาะพันธุ์ปลาน้ำหมึก

ทำการเพาะพันธุ์เดือนธันวาคม 2560 คัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ปลาน้ำหมึกที่มีความสมบูรณ์เพศ โดยแม่พันธุ์ปลามีลักษณะท้องอูม ดึงเพศชายใหญ่ปลายมน จำนวน 10 ตัว มีความยาวลำตัวทั้งหมดและน้ำหนัก 6.57 ± 0.57 ซม./ตัว และ 3.15 ± 1.24 ก./ตัว ตามลำดับ พ่อพันธุ์ปลามีรูปร่างเพรียว สีสันสดใสกว่าเพศเมีย มีขนาดใหญ่กว่าเพศเมีย และดึงเพศมีลักษณะเรียวยาวแหลม จำนวน 10 ตัว มีความยาวลำตัวทั้งหมดและน้ำหนัก 7.22 ± 0.71 ซม./ตัว และ 4.06 ± 1.86 ก./ตัว ตามลำดับ นำพ่อแม่พันธุ์ปลามาฉีดกระตุ้นด้วยฮอร์โมนสังเคราะห์ (Bus) เข็มกล้ำมเนื้อบริเวณโคนครีบหลัง โดยปลาเพศเมียฉีด Bus 10 ไมโครกรัม ร่วมกับ Dom 10 มก. ต่อน้ำหนักแม่พันธุ์ 1 กก. สำหรับพ่อพันธุ์ฉีดด้วย Bus 5 ไมโครกรัม ร่วมกับ Dom 5 มก. ต่อน้ำหนักพ่อพันธุ์ 1 กก. หลังจากฉีดฮอร์โมนปล่อยพ่อแม่พันธุ์ปลาน้ำหมึกลงในตู้กระจกขนาด $45 \times 5 \times 60 \times 50$ ซม. ระดับน้ำสูง 25 ซม. ให้อากาศผ่านหัวทราย 2 จุด ปล่อยปลาตู้ละ 2 คู่ เมื่อแม่พันธุ์พร้อมตกไข่ (การตกไข่ หมายถึง แม่ปลาสามารถรัดไข่ได้) จึงนำน้ำเชื้อพ่อพันธุ์รวมกัน เจือจางด้วยน้ำเกลือ (NaCl) 0.9 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วน 1:1 ปิดด้วยแผ่นพาราฟิล์ม (parafilm) เก็บไว้ในกล่องโฟมที่มีน้ำแข็ง จากนั้นจึงรัดไข่ของแม่พันธุ์แต่ละตัวรวมกัน นำไข่ที่

ได้ไปผสมกับน้ำเชื้อเพื่อผสมเทียมด้วยวิธีแห้งแบบดัดแปลง (modified dry method) จากนั้นนำไข่ไปโรยลงตู้กระจกตามเดิม และสุ่มไข่ปลาน้ำหมึกมาฟักในตู้ขนาด $20 \times 40 \times 20$ ซม. จำนวน 3 ตู้ ๆ ละ 100 ฟอง สำหรับประเมินอัตราการปฏิสนธิ (fertilization rate) อัตราฟัก (hatching rate) และอัตราการรอด (survival rate) ตามวิธีของ อุทัยรัตน์ (2538) ดังนี้

$$\begin{aligned} \text{อัตราการปฏิสนธิ (เปอร์เซ็นต์)} &= \left(\frac{\text{ไข่ที่เจริญถึงระยะแกสตรูลา}}{\text{ไข่ทั้งหมด}} \times 100 \right) \\ \text{อัตราการฟัก (เปอร์เซ็นต์)} &= \left(\frac{\text{ลูกปลาที่ฟักเป็นตัว}}{\text{ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิ}} \times 100 \right) \\ \text{อัตราการรอด (เปอร์เซ็นต์)} &= \left(\frac{\text{ลูกปลาหลังฟักไข่แดงยุบ}}{\text{ลูกปลาที่ฟักเป็นตัว}} \times 100 \right) \end{aligned}$$

ศึกษาพัฒนาการของลูกปลาน้ำหมึกวัยอ่อน

ศึกษาพัฒนาการของลูกปลาน้ำหมึกวัยอ่อนตั้งแต่ฟักออกจากไข่จนถึงระยะที่มีการเจริญของอวัยวะครบเหมือนตัวเต็มวัย โดยเก็บตัวอย่างลูกปลาครั้งละ 20 ตัว ดองในฟอร์มาลินความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (อภิชาติ, 2546) จากนั้นนำตัวอย่างดังกล่าวมาศึกษาที่ห้องปฏิบัติการ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำที่มีอุปกรณ์ถ่ายภาพเพื่อบันทึกการเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอกของลูกปลา หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างลูกปลาดังกล่าวไว้ในแอลกอฮอล์เข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์

ผลของความหนาแน่นที่เหมาะสมสำหรับการอนุบาลลูกปลาน้ำหมึกวัยรุ่น

นำลูกปลาน้ำหมึกจากการเพาะพันธุ์ในข้อ 2 มาอนุบาลในตู้กระจกขนาด $45 \times 60 \times 50$ ซม. ระดับน้ำสูง 25 ซม. ให้ไรแดงมีชีวิตเป็นอาหารวันละ 2 เวลา คือ 08:00 และ 16:00 น. ระหว่างอนุบาลลูกปลามีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ 50 เปอร์เซ็นต์ ของระดับน้ำที่เลี้ยงทุกสัปดาห์ และให้อากาศผ่านหัวทรายตลอดการอนุบาล เมื่อลูกปลาอายุครบ 40 วัน เริ่มฝึกให้กินอาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ดสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อนโปรตีนไม่น้อยกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ แบบบดละเอียดร่วมกับไรแดง จนลูกปลาอายุได้ 60 วัน หรือมีความยาวลำตัวทั้งหมดและน้ำหนัก 3.80 ± 0.09 ซม./ตัว และ 0.45 ± 0.01 ก./ตัว ตามลำดับ ทำการแยกปลาใส่ตู้กระจกสำหรับทำการ

ศึกษาต่อไป

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) มี 4 ชุดการทดลอง (treatments) ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ (replications) อนุบาลในตู้กระจกขนาด 45 x 90 x 45 ซม. ระดับน้ำสูง 30 ซม. ที่ระดับความหนาแน่นแตกต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ 300, 600, 900 และ 1,200 ตัว/ลบ.ม. ให้อาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ดสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อนโปรตีนไม่น้อยกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ นำมาบดจากนั้นนำอาหารที่ผ่านการบดแล้วมาร่อนผ่านตะแกรงกรอง (sieve) หมายเลข 10 และ 16

(10 Mesh และ 16 Mesh) เพื่อให้ได้อาหารจมน้ำที่มีขนาดอยู่ระหว่าง 1.18 - 2.00 มม. ให้กินจนอิ่ม (ค่อยๆ ให้ทีละน้อยเพื่อไม่ให้มีเศษอาหารเหลือหรือให้เหลือน้อยที่สุด) วันละ 2 ครั้ง (08:00 และ 16:00 น.) ดูดตะกอนที่บริเวณก้นตู้ทดลองในช่วงเวลา 14.00 น. ของทุกวัน และเติมน้ำใหม่ให้ได้ระดับเดิม 4.3 เก็บข้อมูลด้านน้ำหนัก และความยาว ของปลาทุกชุดการทดลองทุก 15 วัน จนถึงสิ้นสุดการทดลอง และนับจำนวนลูกปลาที่รอดเมื่อสิ้นสุดการทดลอง นำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณหาค่าต่าง ๆ ดังนี้

ก) ความยาวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น (Length gain (LG) : ซม./ตัว)
 = ความยาวปลาเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (ซม.) - ความยาวปลาเฉลี่ยเมื่อเริ่มการทดลอง (ซม.)

ข) น้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น (Weight gain (WG) : ก./ตัว)
 = น้ำหนักปลาเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (ก.) - น้ำหนักปลาเฉลี่ยเมื่อเริ่มการทดลอง (ก.)

ค) ร้อยละของน้ำหนักเพิ่มขึ้น (Percentage weight gain (PWG): เปอร์เซ็นต์)
 = $100 \times \frac{\text{น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นการทดลอง}}{\text{น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นการทดลอง}}$

ง) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate (SGR) : เปอร์เซ็นต์/วัน)
 = $100 \times \frac{(\ln \text{น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \ln \text{น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นการทดลอง})}{\text{จำนวนวันที่ทดลอง}}$

จ) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion rate (FCR))
 = $\frac{\text{ปริมาณน้ำหนักเฉลี่ยของอาหารที่ปลาแต่ละตัวกินในแต่ละตู้เมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}{\text{น้ำหนักเฉลี่ยของปลาแต่ละตัวที่เพิ่มขึ้นในแต่ละตู้เมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}$

ฉ) อัตรารอด (Survival rate : เปอร์เซ็นต์)
 = $\frac{\text{จำนวนปลาที่เหลือรอดในตู้เมื่อสิ้นสุดการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนปลาที่ปล่อยในตู้เมื่อเริ่มต้นการทดลอง}}$

นำค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่ได้จากการทดลอง ได้แก่ การเจริญเติบโตด้านน้ำหนักและความยาวเพิ่มเฉลี่ย น้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นต่อวัน ร้อยละของน้ำหนักเพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตาย ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (One Way

Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS Version 22

ผลและวิจารณ์การศึกษา

อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก และอัตราการรอดตาย

จากการฉีดกระตุ้นแม่พันธุ์ปลาน้ำหมึกจำนวน 10 ตัว ความยาวลำตัวทั้งหมดและน้ำหนัก 6.57 ± 0.57 ซม./ตัว และ 3.15 ± 1.24 ก./ตัว ตามลำดับ ครั้งเดียวด้วย Bus 10 ไมโครกรัม ร่วมกับ

Dom 10 มก. ต่อน้ำหนักแม่พันธุ์ 1 กก. สำหรับพ่อพันธุ์ จำนวน 10 ตัว ความยาวเฉลี่ย 7.22 ± 0.71 ซม./ตัว น้ำหนักตัวเฉลี่ย 4.06 ± 1.86 ก./ตัว ฉีดด้วย Bus 5 ไมโครกรัม ร่วมกับ Dom 5 มก. ต่อน้ำหนักพ่อพันธุ์ 1 กก. พบว่า มีอัตราการปฏิสนธิเฉลี่ย 68.61 ± 5.04 เปอร์เซ็นต์ อัตราการฟักเฉลี่ย 82.15 ± 2.81 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการรอดเฉลี่ย 73.66 ± 1.35 เปอร์เซ็นต์ (Table 1)

Table 1 Means and standard deviations of fertilization, hatching, and survival rates of *Opsarius pulchellus* bred by artificial fish breeding

Index	Result
fertilization rate (%)	68.61 ± 5.04
hatching rate (%)	82.15 ± 2.81
survival rate (%)	73.66 ± 1.35

ความคอกของไข่

ศึกษาความคอกของไข่ของปลาน้ำหมึกเพศเมีย จำนวน 10 ตัวอย่าง มีความยาวลำตัวทั้งหมดและน้ำหนัก 6.57 ± 0.57 ซม./ตัว และ 3.15 ± 1.24

ก./ตัว ตามลำดับ พบว่า น้ำหนักไข่เฉลี่ยต่อแม่เท่ากับ 0.43 ± 0.09 ก. จำนวนไข่ต่อน้ำหนักไข่ 0.1 ก. เท่ากับ 98.38 ± 34.44 ฟอง และจำนวนไข่เฉลี่ยต่อแม่ เท่ากับ 402.90 ± 114.99 ฟอง (Table 2)

Table 2 Means and standard deviations of fecundity of female brooders (n=10)

Index	Result
egg weight/female (g)	0.43 ± 0.09
number of egg/0.1 g (egg)	98.38 ± 34.44
average number of egg/female (egg)	402.90 ± 114.99

พัฒนาการคัพภะและลูกปลาน้ำหมึกวัยอ่อน

ไข่ปลาน้ำหมึกมีลักษณะกลม เหลืองใส กระจายจมติดกับพื้น ก่อนปฏิสนธิไข่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 1.26 ± 0.05 มม./ฟอง หลังปฏิสนธิไข่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 1.49 ± 0.09 มม./ฟอง ไข่ปลาน้ำหมึกมีการพัฒนาของคัพภะในระยะต่าง ๆ หลังจากไข่ได้รับการผสมกับน้ำเชื้อ ใช้เวลาฟักจนเป็นตัวเวลา 37 ชั่วโมง 9 นาที มีความยาวเหยียด (total length) 5.32 ± 0.03 มม./ตัว ซึ่งพบว่านานกว่าปลาน้ำหมึกโคราช (*O. koratensis*) ที่ใช้เวลาฟักเป็นตัวเวลา 12 ชั่วโมง แต่ปลาน้ำหมึกโคราชมีขนาดเล็กกว่า คือ 3.7 มม. (Termvidchakorn and Hortle, 2013) ในส่วนพัฒนาการของลูกปลาน้ำหมึกจากการศึกษาครั้งนี้ พบว่า อวัยวะต่างๆ

ของลูกปลา มีพัฒนาการเปลี่ยนแปลงไปตามระยะเวลาที่แตกต่างกัน ดังนี้

ลูกปลาอายุ 1 วัน มีลำตัวใส มีถุงไข่แดง (yolk sac) ตอนหน้าไปฟองเป็นรูปกลมและลดขนาดลงไปกับความยาวลำตัว มีช่องเปิดท่อทางเดินอาหารอยู่ด้านท้ายของลำตัว ปากยังไม่พัฒนา และมีฟินโฟลด์ (fin fold) หุ้มลำตัวในแนวตั้งคลุมส่วนท้ายของลำตัวทั้งด้านบนและด้านล่าง ซึ่งฟินโฟลด์นี้จะพัฒนาไปเป็นครีบต่าง ๆ ต่อไป (Figure 1A) ลูกปลาอายุ 5 วัน มีความยาวเหยียด 7.50 ± 0.09 มม./ตัว เริ่มมีรงควัตถุสีดํา (pigment) กระจายทั่วตัว เห็นถุงลม (gas bladder หรือ swim bladder) ชัดเจน ถุงไข่แดงยุบหมด ลูกปลากินอาหารได้ดี ระบบทางเดินอาหาร และตาเจริญดี ฟินโฟลด์

บริเวณครีบหลังและครีบท้องพัฒนามากขึ้น ลูกปลาสามารถว่ายน้ำได้ดี (Figure 1B)

ลูกปลาอายุ 15 วัน มีความยาวเฉลี่ย 8.90 ± 0.12 มม./ตัว ปากพัฒนาสมบูรณ์ รังควัตถุสีดำบนหัวและหลังลูกตาเพิ่มมากขึ้น เส้นข้างตัว (lateral line) ปรากฏชัดเจนโดยจะมีรังควัตถุสีดำเล็กๆ เป็นแนวยาวถึงโคนหาง ครีบหลัง (dorsal fin) และครีบกัน (anal fin) เริ่มแยกจากครีบหาง (caudal fin) อย่างชัดเจน แต่ยังไม่มีส่วนที่เป็นฟินโฟลด์อยู่ ครีบหางมีก้านครีบชัดเจน และเริ่มว่ายน้ำเป็น 2 แฉก (Figure 1C)

ลูกปลาอายุ 30 วัน มีความยาวเฉลี่ย 15.30 ± 0.41 มม./ตัว รูปร่างเริ่มสมดุลง ลูกปลาเริ่มอวัยวะครบถ้วนเหมือนตัวเต็มวัย ครีบทุกครีบมีการพัฒนากันครีบจนสมบูรณ์ แต่ยังไม่ปรากฏฟินโฟลด์อีกเล็กน้อยบริเวณส่วนหน้าครีบกันถึงส่วนหน้าครีบท้อง ครีบหางง่าลึกชัดเจน เริ่มปรากฏแถบรังควัตถุ

สีดำขวางลำตัว 1 แถบ (black bar) บริเวณครีบอก (Figure 1D)

ลูกปลาอายุ 45 วัน มีความยาวเฉลี่ย 24.37 ± 0.52 มม./ตัว พบแถบรังควัตถุสีดำขวางลำตัวเข้มขึ้นมี 2 แถบ บริเวณหลังแผ่นปิดเหงือกและครีบอก ในปลาที่มีชีวิตโคนครีบหลังและครีบกันเริ่มมีแต้มสีแดงเรื่อ ๆ ครีบทุกครีบพัฒนาดีคล้ายตัวเต็มวัย (Figure 1E)

ลูกปลาอายุ 60 วัน มีความยาวเฉลี่ย 31.20 ± 0.73 มม./ตัว ปรากฏแถบรังควัตถุสีดำขวางลำตัวชัดเจนจำนวน 10 แถบ ยาวตั้งแต่หลังแผ่นปิดเหงือกจนถึงโคนหาง ในปลาที่มีชีวิตโคนครีบหลังและครีบกันมีสีแดงชัดเจนขึ้น และมีรูปร่างลักษณะทั่วไปเหมือนปลาที่โตเต็มวัย (juvenile) (Figure 1F) ซึ่งช้ากว่าปลาน้ำหมึกโคราช ที่รายงานว่าใช้เวลา 40 วัน จะมีลักษณะเหมือนตัวเต็มวัย (Termvidchakorn and Hortle, 2013)

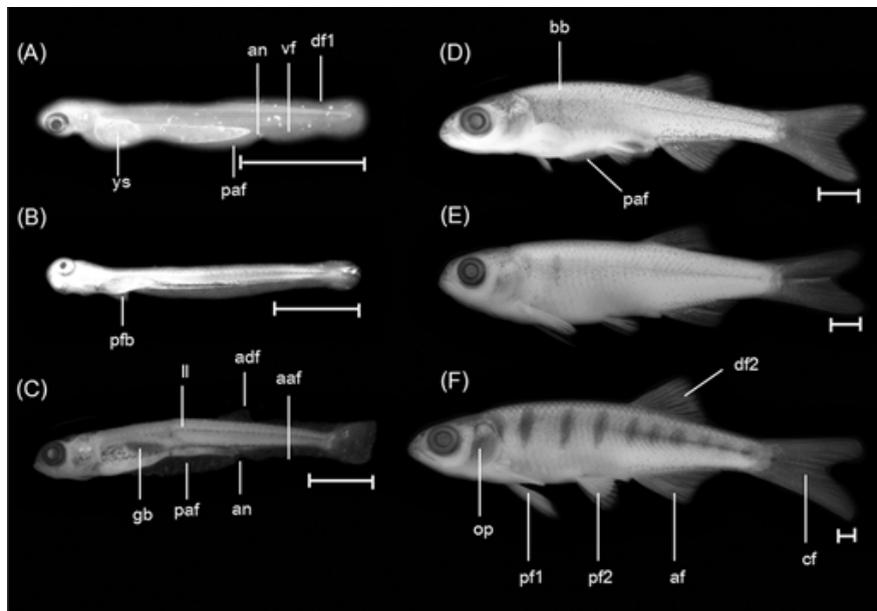


Figure 1 Development of *Opsarius pulchellus*, (A) 1 day, (B) 5 days, (C) 15 days, (D) 30 days, (E) 45 days, (F) 60 days, ys: yolk sac, paf: preanal finfold, an: anus, vf: ventral finfold, df1: dorsal finfold, df2: dorsal fin, pfb: pectoral fin bud, gb: gas bladder, ll: lateral line, adf: anlage of dorsal fin, aaf: anlage of anal fin, bb: black bar, op: opercle, pf1: pectoral fin, pf2: pelvic fin, af: anal fin, cf: caudal fin, scale bars indicate 2 mm.

ผลของความหนาแน่นที่เหมาะสมต่อการอนุบาลลูกปลาน้ำหมึกวัยรุ่น

การศึกษาผลของความหนาแน่นที่แตกต่างกัน 4 ระดับ (300, 600, 900 และ 1,200 ตัว/ลบ.ม.) ต่ออัตราการเจริญเติบโต (ความยาวสุดท้าย ความยาวที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ร้อยละของน้ำหนักเพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ) และอัตราการรอดของลูกปลาน้ำหมึกวัยรุ่น ทำการวัดความยาว และชั่งน้ำหนัก ของลูกปลาทุก 15 วัน นาน 60 วัน เมื่อสิ้นสุดการศึกษา พบว่า ระดับความหนาแน่นที่แตกต่างกันส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดของลูกปลาน้ำหมึกวัยรุ่นในแต่ละชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) (Table 3) โดยลูกปลาที่อนุบาลที่ความหนาแน่น 300 ตัว/ลบ.ม. มีอัตราการเจริญเติบโต ได้แก่ ความยาวสุดท้าย และความยาวที่เพิ่มขึ้น (5.10 ± 0.90 และ 1.27 ± 0.32 ซม./ตัว ตามลำดับ) สูงกว่าทุกชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) รองลงมาคืออนุบาลที่ความหนาแน่น 600, 900 และ 1,200 ตัว/ลบ.ม. ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่า น้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ร้อยละของน้ำหนักเพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ของชุดการทดลองที่อนุบาลที่ความหนาแน่น 300 ตัว/ลบ.ม. (0.86 ± 0.07 ก./ตัว, 0.41 ± 0.07 ก./ตัว, 92.42 ± 7.19 % และ 1.08 ± 0.15 %/วัน ตามลำดับ) มีค่าสูงกว่าทุกชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างกับชุดการทดลองที่อนุบาลที่ความหนาแน่น 600 ตัว/ลบ.ม. ($P > 0.05$) และการอนุบาลที่ความหนาแน่น 1,200 ตัว/ลบ.ม. มีค่าต่ำที่สุด (0.62 ± 0.02 ก./ตัว, 0.18 ± 0.02 ก./ตัว, 40.72 ± 5.09 % และ 0.57 ± 0.06 %/วัน ตามลำดับ) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ที่กล่าวว่า ปัจจัยเรื่องความหนาแน่นมีความสำคัญโดยตรงที่ส่งผลต่ออัตราการ

เจริญเติบโตของลูกปลา (Barton, 2002; Lupatsch et al., 2010) ทั้งนี้ในสภาวะที่ความหนาแน่นสูงจะส่งผลให้ลูกปลาสูญเสียพลังงานที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตไปกับการแย่งกันกินอาหาร แย่งพื้นที่อยู่อาศัย และการหลบหนีจากปลาที่มีพฤติกรรมก้าวร้าว จึงทำให้อัตราการเจริญเติบโตของลูกปลาลดลง (Rahman et al., 2005; Sangiao-Alvarellos et al., 2005) ผลการทดลองนี้เป็นไปในแนวทางเดียวกันกับการอนุบาลลูกปลาหลายชนิดก่อนหน้านี้ ได้แก่ ปลา *Tor putitora* (Islam, 2002; Rahman et al., 2005) ปลา *Acipenser schrenckii* (Yang et al., 2011) ปลา *Schilbe intermedius* (Tossavi et al., 2017) และปลาหมึก (*Anabas testudineus*) (วรพงษ์ และสายชล, 2562) นอกจากนี้ การเลี้ยงปลาที่ความหนาแน่นสูง ยังส่งผลทำให้ปลาเกิดภาวะเครียด (stress) สูงกว่าปลาที่เลี้ยงที่ความหนาแน่นต่ำ โดยภาวะเครียดที่เกิดขึ้นจะมีผลกระทบต่อกระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolism) ของปลา และส่งผลต่อการเจริญเติบโตของปลาในทางลบ (Yengkokpam et al., 2008) นอกจากนี้ ความหนาแน่นที่เพิ่มสูงขึ้นยังส่งผลกระทบต่อความสามารถในการรองรับที่จำกัดของสภาพแวดล้อมที่เลี้ยง (carrying capacity) ทำให้ระดับความหนาแน่นที่เพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้การเจริญเติบโตของลูกปลาลดลง (Ayllón et al., 2012)

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ พบว่า มีค่าอยู่ในช่วง 4.56 ± 0.62 - 8.38 ± 0.71 โดยลูกปลาที่อนุบาลที่ความหนาแน่น 300 ตัว/ลบ.ม. มีค่าดีที่สุด (4.56 ± 0.62) ซึ่งไม่แตกต่างกับการอนุบาลที่ความหนาแน่น 600 ตัว/ลบ.ม. (4.89 ± 0.39) ทั้งนี้ทั้ง 2 การทดลองนี้มีค่าแตกต่างกับชุดการทดลองที่อนุบาลลูกปลาที่ความหนาแน่น 1,200 ตัว/ลบ.ม. (8.38 ± 0.71) อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยทั้ง 3 ชุดการทดลองไม่แตกต่างกับชุดการทดลองที่อนุบาลที่ความหนาแน่น 900 ตัว/ลบ.ม.

Table 3 Growth and survival rate of *Opsarius pulchellus* juveniles under different density after 60 days rearing.

Parameters	Treatments				P-Value
	300 fish/m ³	600 fish/m ³	900 fish/m ³	1,200 fish/m ³	
IL (cm/fish)	3.72±0.81	3.75±0.82	3.82±0.33	3.91±0.45	0.390
FL (cm/fish)	5.10±0.90 ^a	4.65±0.94 ^b	4.70±0.74 ^b	4.48±0.88 ^b	0.009
LG (cm/fish)	1.27±0.32 ^a	0.87±0.32 ^b	0.67±0.29 ^b	0.58±0.36 ^b	0.025
IW (g/fish)	0.45±0.06	0.44±0.19	0.45±0.02	0.44±0.02	0.987
FW (g/fish)	0.86±0.07 ^a	0.78±0.05 ^{ab}	0.68±0.03 ^{bc}	0.62±0.02 ^c	0.000
WG (g/fish)	0.41±0.07 ^a	0.34±0.38 ^{ab}	0.23±0.06 ^{bc}	0.18±0.02 ^c	0.024
PWG (%)	92.42±7.19 ^a	77.92±7.92 ^{ab}	50.65±7.46 ^{bc}	40.72±5.09 ^c	0.028
SGR (%/day)	1.08±0.15 ^a	0.96±0.08 ^{ab}	0.68±0.08 ^{bc}	0.57±0.06 ^c	0.021
FCR	4.56±0.62 ^b	4.89±0.39 ^b	6.78±0.83 ^{ab}	8.38±0.71 ^a	0.011
SR (%)	100.00±0.00 ^a	97.78±2.22 ^{ab}	90.56±4.75 ^{bc}	81.67±2.89 ^c	0.006

Abbreviations: Means (± SE) followed by different letters in the same row are significantly different by Duncan's New Multiple Range Test (P < 0.05). IL: Initial length, FL: Final length, LG: Length gain, IW: Initial weight, FW: Final weight, WG: Weight gain, PWG: Percentage weight gain, SGR: Specific growth rate, FCR: Feed conversion ratio, SR: Survival rate.

(6.78±0.83) (P > 0.05) (Table 3) สาเหตุที่ลูกปลาที่อนุบาลที่ความหนาแน่นสูงมีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อสูง เนื่องจากลูกปลาจะสูญเสียพลังงานไปกับกิจกรรมต่าง ๆ ในร่างกายสูง เช่น การสูญเสียพลังงานในการเคลื่อนไหวเพื่อหลบหนีศัตรู การแย่งอาหาร การแย่งที่อยู่อาศัย นอกจากนี้ลูกปลาที่อนุบาลที่ความหนาแน่นสูงยังแสดงพฤติกรรมก้าวร้าว และกัดกันเอง จึงส่งผลให้เกิดบาดแผลตามร่างกายของตัวปลา จากสิ่งที่เกิดขึ้นข้างต้นจึงส่งผลให้ลูกปลาสูญเสียพลังงานไปกับพฤติกรรมต่างๆ เหล่านี้ แทนที่ลูกปลาจะดึงเอาพลังงานจากการกินอาหารมาใช้ในการเจริญเติบโต (Sangiao-Alvarellos et al., 2005; Lupatsch et al., 2010; Salas-Leiton et al., 2010)

อัตราการรอดของลูกปลาที่เลี้ยงที่ความหนาแน่น 300 ตัว/ลบ.ม. มีค่าสูงที่สุด (100 %) แตกต่างกับลูกปลาที่เลี้ยงที่ความหนาแน่น 900 และ 1,200 ตัว/ลบ.ม. (90.56±4.75 และ 81.67±2.89 % ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญ (P < 0.05) แต่ไม่แตกต่าง

กับลูกปลาที่เลี้ยงที่ความหนาแน่น 600 ตัว/ลบ.ม. (97.78±2.22 %) (Table 3) สอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ที่ระบุว่า ปัจจัยเรื่องความหนาแน่นสามารถส่งผลโดยตรงต่ออัตราการรอดของลูกปลาหลายชนิด (Li et al., 2003; Mohanty, 2004) โดยระดับความหนาแน่นที่เพิ่มสูงขึ้นจะทำให้ลูกปลาเกิดความเครียดเพิ่มมากขึ้น และส่งผลทำให้อัตราการลดลง (Wang et al., 2000; Rowland et al., 2006) ซึ่งสามารถพบได้ในการอนุบาลลูกปลาหลายชนิด ได้แก่ ปลา *Plecoglossus altivelis* (Iguchi et al., 2003) ปลา *Oncorhynchus mykiss* (Moradyan et al., 2012) และปลา *Fundulus grandis* (Ofori-Mensah et al., 2013) เป็นต้น

สรุป

การเพาะพันธุ์ปลาน้ำหมึกโดยการฉีดกระตุ้นแม่พันธุ์ (3.15 ± 1.24 ก./ฟอง) ด้วย Bus 10 ไมโครกรัม ร่วมกับ Dom 10 มม. ต่อน้ำหนักแม่พันธุ์

1 กก. และพื้พันธุ์ (4.06 ± 1.86 ก./ฟอง) ซีดด้วย Bus 5 ไมโครกรัม ร่วมกับ Dom 5 มม.ต่อน้ำหนักพื้พันธุ์ 1 กก. พบว่า มีอัตราการการปฏิสนธิเฉลี่ย อัตราการฟักเฉลี่ย และอัตราการรอดเฉลี่ย เท่ากับ 68.61 ± 5.04, 82.15 ± 2.81 และ 73.66 ± 1.35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ด้านความตกไข่ พบว่า น้ำหนักไข่เฉลี่ยต่อแม่ จำนวนไข่ต่อน้ำหนักไข่ 0.1 ก. และจำนวนไข่เฉลี่ยต่อแม่ เท่ากับ 0.43 ± 0.09 ก., 98.38 ± 34.44 ฟอง และ 402.90 ± 114.99 ฟอง ตามลำดับ ไข่ปลาใช้เวลาฟักจนเป็นตัวเวลา 37 ชั่วโมง 9 นาที และพัฒนาต่อจนมีลักษณะเหมือนปลาที่โตเต็มวัยเมื่ออายุ 60 วัน

การอนุบาลลูกปลาน้ำหมึกวัยรุ่นมีความยาวลำตัวทั้งหมดและน้ำหนัก 3.80±0.09 ซม. และ 0.45±0.01 ก. ตามลำดับ ที่ระดับความหนาแน่นแตกต่างกัน ได้แก่ 300, 600, 900 และ 1,200 ตัว/ลบ.ม. นาน 60 วัน พบว่า ลูกปลาน้ำหมึกที่อนุบาลที่ความหนาแน่น 300 ตัว/ลบ.ม. มีอัตราการเจริญเติบโต (น้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ร้อยละของน้ำหนักเพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ) และอัตราการรอดดีที่สุด แต่ไม่แตกต่างกับลูกปลาน้ำหมึกที่อนุบาลที่ความหนาแน่น 600 ตัว/ลบ.ม. ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการอนุบาลลูกปลาน้ำหมึกวัยรุ่นที่ความหนาแน่น 600 ตัว/ลบ.ม. มีความเหมาะสมมากที่สุด ซึ่งข้อมูลที่ได้สามารถนำไปพัฒนาใช้สำหรับเพาะพันธุ์ปลาน้ำหมึกทั้งเพื่อการอนุรักษ์และเป็นอาชีพเสริมสำหรับผู้สนใจจะพัฒนาเป็นปลาสวยงามต่อไปได้

เอกสารอ้างอิง

ชวลิต วิทยานนท์. 2547. คู่มือปลาน้ำจืด. สำนักพิมพ์สารคดี, กรุงเทพมหานคร.
พงษ์พันธ์ สุนทรวิภาต สิริฉัตร สุนทรวิภาต เมธา

คชาภิชาติ และอภิชาติ เดิมวิซชากร. 2553. การเพาะและอนุบาลปลาจากน้ำตก. เอกสารวิชาการฉบับที่ 15/2553. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

วรวงษ์ นลินานนท์ และสายชล เลิศสุวรรณ. 2562. ผลของระดับความหนาแน่นต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและคุณภาพน้ำในการเลี้ยงปลาหมอด้วยชุดถังเลี้ยงปลา ระบบน้ำหมุนเวียน. แก่นเกษตร 47 (ฉบับพิเศษ 1): 1155 – 1162.

สิริฉัตร สุนทรวิภาต พงษ์พันธ์ สุนทรวิภาต วิวัฒน์ ปรารมภ์ และอภิชาติ เดิมวิซชากร. 2554. การเพาะและอนุบาลปลาตะเพียนจุด. เอกสารวิชาการฉบับที่ 34/2554. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

สุริยะ จันทรแก้ว. 2550. การอนุบาลปลาชิวควาย แถบดำ ปลาชิวหนวดยาว และปลาชิวใบไม้. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง 1(2): 130 – 138.

อภิชาติ เดิมวิซชากร. 2546. ลูกปลาน้ำจืดวัยอ่อน. สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรประมงน้ำจืด กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

อภิรักษ์ สุวรรณรักษ์. 2560. ปลากลุ่มน้ำปิง. พิมพ์ครั้งที่ 2. คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่.

อุทัยรัตน์ ณ นคร. 2538. การเพาะขยายพันธุ์ปลา. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

AquaBid. 2018. 3 Royal Butterfly Danio Opsarius pulchellus WILD. Available: <http://www.aquabid.com/cgi-bin/>

- [auction/closed.cgi?view_closed_item&fwcypnids1545265815](#). Accessed Dec. 29, 2018.
- Ayllón, D., A. Almodóvar, G.G. Nicola, I. Parra, and B. Elvira. 2012. Modelling carrying capacity dynamics for the conservation and management of territorial salmonids. *Fish. Res.* 134 - 136: 95 - 103.
- Barton, B.A. 2002. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integ. Comp. Biol.* 42: 517 - 525.
- Haylor, G.S., 1991. Controlled hatchery production of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822): growth and survival of fry at high stocking density. *Aquac. Fish. Manage.* 22: 405 - 422.
- Iguchi, K., K. Ogawa, M. Nagae, and F. Ito. 2003. The influence of rearing density on stress response and disease susceptibility of ayu (*Plecoglossus altivelis*). *Aquaculture* 220: 515 - 523.
- Islam, M.S. 2002. Evaluation of supplementary feeds for semi-intensive pond culture of mahseer, *Tor putitora* (Hamilton). *Aquaculture* 212: 263 - 276.
- Kottelat, M. 2013. The Fishes of the Inland Waters of Southeast Asia: A Catalogue and Core Bibliography of the Fishes Known to Occur in Freshwaters, Mangroves and Estuaries. *Raffles Bull. Zool.* 27: 1 - 663.
- Li, M.H., B.B. Manning, and E.H. Robinson. 2003. Effect of dietary protein concentration and stocking density on production characteristics of pond-raised channel catfish *Ictalurus punctatus*. *World Aqua. Soc.* 34: 147 - 155.
- Lupatsch, I., G.A. Santos, J.W. Schrama, and J.A.J. Verreth. 2010. Effect of stocking density and feeding level on energy expenditure and stress responsiveness in European sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 298: 245 - 250.
- Mohanty, R.K. 2004. Density-dependent growth performance of Indian major carps in rainwater reservoirs. *Appl. Ichthyol.* 20: 123 - 127.
- Moradyan, H., H. Karimi, H.A. Gandomkar, M.R. Sahraeian, S. Ertefaat, and H.H. Sahafi. 2012. The effect of stocking density on growth parameters and survival rate of rainbow trout alevins (*Oncorhynchus mykiss*). *World J. Fish Marine Sci.* 4 (5): 480 - 485.
- Ofori-Mensah, S., C.C. Green, and F.K.E. Nunoo. 2013. Growth and survival of juvenile gulf killifish *Fundulus grandis* in recirculating aquaculture systems. *N. Am. J. Aqua.* 75: 436 - 440.
- Ortiz-Delgado, J.B., M.J. Darias, J.P. Cañavate, M. Yúfera, and C. Sarasquete. 2003. Organogenesis of the digestive tract in the white seabream, *Diplodus sargus* Histological and histochemical approaches. *Histol. Histopathol.* 18: 1141 - 1154.
- Practical Fishkeeping. 2012. Mackerel barb,

- Opsarius pulchellus. Available: <https://www.practicalfishkeeping.co.uk/features/articles/Mackerel%20barb,%20Opsarius%20pulchellus>. Accessed Dec. 29, 2018.
- Rahman, M.A., M.A. Mazid, M.R. Rahman, M.N. Khan, M.A. Hossain, and M.G. Hussain. 2005. Effect of stocking density on survival and growth of critically endangered mahseer, *Tor putitora* (Hamilton) in nursery ponds. *Aquaculture* 249: 275 - 284.
- Rainboth, W. J. 1996. Fishes of the Cambodian Mekong. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Rangsin, W., N. Areechon, and R. Yoonpundh. 2012. Digestive enzyme activities during larval development of Striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage, 1878). *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 46: 217 - 228.
- Rowlanda, S.J., C. Mifsud, M. Nixon, and P. Boyd. 2006. Effects of stocking density on the performance of the Australian freshwater silver perch (*Bidyanus bidyanus*) in cages. *Aquaculture* 253: 301 - 308.
- Salas-Leiton, E., V. Anguis, B. Martín-Antonio, D. Crespo, J.V. Planas, C. Infante, J.P. Cañavate, and M. Manchado. 2010. Effects of stocking density and feed ration on growth and gene expression in the Senegalese sole (*Solea senegalensis*): potential effects on the immune response. *Fish Shellfish Immunol.* 28, 296 - 302.
- Sangiao-Alvarellos, S., J.M. Guzmán, R. Láiz-Carrión, J.M. Míguez, M.P. Martín Del Río, J.M. Mancera, and J.L. Soengas. 2005. Interactive effects of high stocking density and food deprivation on carbohydrate metabolism in several tissues of gilthead sea bream *Sparus auratus*. *J. Exp. Zool. Part A: Comp. Exp. Biol.* 303: 761 - 775.
- Termvidchakorn, A. and K.G. Hortle. 2013. A guide to larvae and juveniles of some common fish species from the Mekong River Basin. MRC Technical Paper No. 38. Mekong River Commission, Phnom Penh.
- Tossavi, C.E., A.S.M. Djissou, N.I. Ouattara and E.D. Fiogbe. 2017. Effects of stocking density on growth, survival and feed utilization of Silver catfish *Schilbe intermedius* (Rüppel, 1832) fingerlings reared in circular concrete tanks. *Intern. J. Fish. Aqua. Stud.* 5(1): 162 - 166.
- Tropical Fish Finder. 2018. Stream Barilius *Opsarius pulchellus*. Available: <https://www.tropicalfishfinder.co.uk/stores/productsinfo?store=54&prod=5481>. Accessed Dec. 29, 2018.
- Wang, N., R.S. Hayward, and D.B. Noltie. 2000. Effects of social interaction on growth of juvenile hybrid sunfish held at two densities. *N. Am. J. Aqua.* 62(3):161 - 167.

- Yang, D.G., Y.J. Zhu, Y.P. Luo, J.H. Zhao, and J.W. Chen. 2011. Effect of stocking density on growth performance of juvenile Amur Sturgeon (*Acipenser schrenckii*). *J. Appl. Ichthyol.* 27: 541 - 544.
- Yengkokpam, S., A.K. Pal, N.P. Sahu, K.K. Jain, R. Dalvi, S. Misra, and D. Dehnath. 2008. Metabolic modulation in *Labeo rohita* fingerlings during starvation: hsp70 expression and oxygen consumption. *Aquaculture* 285: 234 - 237.