

การประยุกต์การใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพสิ่งแวดล้อมทางน้ำในลุ่มน้ำปิง



ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2564

การประยุกต์การใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพสิ่งแวดล้อมทางน้ำในลุ่มน้ำปิง



คู่มือฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ

สำนักบริหารและพัฒนาระบบการศึกษา มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2564

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

การประยุกต์การใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพสิ่งแวดล้อมทางน้ำในลุ่มน้ำปิง

ฐานันท์ ผลดี

ดุษฎีนิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ

พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

(รองศาสตราจารย์ ดร.อภิรักษ์ สุวรรณรักษ์)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บัญญัติ มนเทียรอาสน์)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร.จงกล พรหมยะ)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร

(รองศาสตราจารย์ ดร.ชนกันต์ จิตมนัส)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ)

รองอธิการบดี ปฏิบัติการแทน

อธิการบดี มหาวิทยาลัยแม่โจ้

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

ชื่อเรื่อง	การประยุกต์การใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพสิ่งแวดล้อมทางน้ำในลุ่มน้ำ ปิง
ชื่อผู้เขียน	นางสาวฐาปณีย์ ผลดี
ชื่อปริญญา	ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	รองศาสตราจารย์ ดร.อภิรักษ์ สุวรรณรักษ์

บทคัดย่อ

ในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้แบ่งออกเป็น 3 ส่วน ดังนี้ 1) การศึกษาทางด้านชีววิทยา 2) การประยุกต์ใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพสิ่งแวดล้อมทางน้ำ (Fish-IBI) และ 3) การประยุกต์ใช้วิธีการอิตีเอ็นเอเพื่อตรวจติดตามประเมินการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมทางน้ำ (eDNA) การศึกษาชีววิทยา การสืบพันธุ์ของปลาพลวง *Neolissochilus stracheyi* (Day, 1871) (ผลงานวิจัย Proceeding) ผลการศึกษาพบว่าฤดูวางไข่ แบ่งออกเป็น 2 ช่วง คือช่วงเดือน ธันวาคม-มกราคม และมิถุนายน ความตกไข่ $1,404.55 \pm 651.51$ ฟอง ความสัมพันธ์ระหว่างความตกไข่กับความยาวและน้ำหนัก คือ $F=121.1TL-2100$ ($r=0.874$) และ $F=4.535+128.78$ ($r=0.839$)

การประยุกต์ปลาเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพสิ่งแวดล้อมทางน้ำ แหล่งน้ำนิ่งคือ เขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล (ผลงานวิจัยตีพิมพ์เผยแพร่ที่ 1; P1) แหล่งน้ำไหลคือแม่น้ำแม่แตง (ผลงานวิจัยตีพิมพ์เผยแพร่ที่ 2; P2) โดยประยุกต์ตัวแปรชีวภาพตาม Karr(1981) และอ้างอิงงานวิจัยฉบับอื่น ๆ จัดกลุ่มปลาตามคุณลักษณะหลักที่เปลี่ยนแปลงเมื่อได้รับผลกระทบจากสิ่งแวดล้อมรวม 18 เมทริก การศึกษาครั้งนี้ใช้ข้อมูลจากอดีตมาทำการประเมินค่าคะแนนเป็นคะแนนอ้างอิง และทำการสำรวจในปี 2562 พบประชากรปลาในแหล่งเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล 10 วงศ์ 20 ชนิด และแม่น้ำแม่แตง จำนวน 13 วงศ์ 32 ชนิด ทำการประเมินค่าคะแนนโดยเปรียบเทียบกับค่าอ้างอิงในแต่ละเมทริก โดยใช้เกณฑ์ให้คะแนนระดับ 5, 4, 3, 2 และ 1 คะแนน ผลรวมของเมทริกของเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชลและแม่น้ำแม่แตง มีค่าเท่ากับ 38 และ 53 คะแนน ตามลำดับ จัดอยู่ในเกณฑ์ระดับปานกลาง แสดงว่าผลกระทบจากกิจกรรมของมนุษย์ต่อจำนวนปลาเพิ่มขึ้น ความสมดุลของระบบนิเวศเริ่มสูญเสีย สิ่งมีชีวิตที่มีความอ่อนไหวจำนวนลดลง สัดส่วนโครงสร้างตามการกินอาหารเริ่มเปลี่ยนแปลง

การประยุกต์ใช้วิธีการอิตีเอ็นเอเพื่อตรวจติดตามประเมินการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมทางน้ำ ในแม่น้ำแม่แจ่ม (ผลงานวิจัยตีพิมพ์เผยแพร่ที่ 3; P3) และเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล (ผลงานวิจัยตีพิมพ์เผยแพร่ที่ 4; P4) โดยการใช้เทคนิคทางชีววิทยาระดับโมเลกุลเพิ่มปริมาณยีน 12S rRNA ด้วย

เทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะคือ 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') และ 806R (5'-GGACTACHVHHHTWTCTAAT-3') โดยใช้วิธีการจัดหาลำเบสแบบใหม่เพื่อศึกษาหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของสารพันธุกรรมทั้งหมดของสิ่งมีชีวิตที่สนใจ สามารถตรวจพบดีเอ็นเอปลาตกค้างในแม่น้ำแม่แจ่ม 12.51 เปอร์เซ็นต์ และในเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล 25.62 เปอร์เซ็นต์ และการศึกษาไมโทคอนเดรียจีโนม เพื่อเป็นต้นทางของการเรียนรู้เรื่องการศึกษาหาลำดับพันธุกรรมในสภาพแวดล้อม โดยทำการศึกษาในปลากระสูบสาละวิน (*Hampala salweenensis*) (ผลงานวิจัยตีพิมพ์เผยแพร่ที่ 5; P5) โดยจีโนมไมโทคอนเดรียมีขนาด 16,913 คู่เบส ประกอบด้วย 37 ยีน เป็นยีนที่ถอดรหัสเป็น Transfer RNA (tRNA) จำนวน 22 ยีน เป็น ribosomal RNA (rRNA) จำนวน 2 ยีน และยีนที่แปลรหัสเป็นโปรตีนจำนวน 13 ยีน และ control region (CR) จำนวน 1 ยีน

คำสำคัญ : ดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพ, เมทริก, ชีววิทยา, ดีเอ็นเอบาร์โค้ด, วิเคราะห์ลำดับเบส NGS, ความหลากหลายชนิดปลา, ไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ



Title	APPLICATION OF FISH-BASED INDEX OF BIOTIC INTEGRITY (FIBI) FOR AQUATIC RESOURCES ENVIRONMENT IN PING RIVER BASIN
Author	Miss Thapanee Pholdee
Degree	Doctor of Philosophy in Fisheries Technology and Aquatic Resources
Advisory Committee Chairperson	Associate Professor Dr. Aphinun Suvarnaraksha

ABSTRACT

This study is divided into 3 phases including life history of brook trout or *Neolissochilus stracheyi*, application of a fish-based index of biotic integrity to evaluate the effect of anthropogenic stress, and species detection using environmental DNA from water samples. Firstly, the study of some aspects of life history of *N. stracheyi* in Thailand was conducted monthly in a year (proceeding). The spawning seasons were twice a year, between December to January and June. Fecundity average was $1,404.55 \pm 651.513$ eggs. The fecundity relationships with length and weight were $F = 121.1TL - 2100$ ($r = 0.874$) and $F = 4.535W + 128.78$ ($r = 0.839$), respectively.

Secondly, the application of a fish-based index of biotic integrity to evaluate the effect of anthropogenic stress was studied. It was divided into 2 main locations viz., stagnant water; Mae Ngad reservoir (Publication 1; P1) and lotic water; Maetang River (Publication 2; P2). Modifications were done and Karr's index of biotic integrity (IBI) was adapted. We designed and applied 18 metrics due to the differences between the fish faunas of Thailand. Then, the fish data of this study surveyed in 2019 was used as dataset for all metrics with the criteria and score range of 5-4-3-2-1 system. The fish diversities of Mae Ngad reservoir include 20 species under 10 families and in Maetang River with 32 species under 13 families. Results for F-IBI in the Mae Ngad reservoir and Maetang River showed score at 38 and 53 which ranked as the fair level for both areas. This score indicated that the anthropogenic stress was increasing, the variance of the ecosystem, decreased of intolerant species, and the ratio of omnivores increased. This

study is a great reference for water resources management and ecosystem restoration in the tropical water bodies

Lastly, environmental DNA (eDNA) was used to detecting fish diversity in aquatic biota. This study is divided into 2 areas viz., lotic water; Maechaem River (Publication 3; P3) and stagnant water; Mae Ngad reservoir (Publication 4; P4). For sequencing, 12S rRNA gene was amplified by PCR using genomic DNA as a template with primers 12S (5'-ACTGGGATTAGATACCCC-3' and 5'-TAGAACAGGCTCCTCTAG-3'). The fish diversity of Maechaem River was found 12.51% and 25.62 % for Mae Ngad reservoir. *Hampala salweenensis*, an endemic species in Thailand was found. Complete mitogenome and phylogenetic implication were analyzed and described (Publication 5; P5). The whole circular mitogenome was 16,913 bp in total length that consists 13 protein coding genes, 2 ribosomal RNA genes 22 transfer RNAs, and 1 control region (CR).

Keywords : Index of Biotic Integrity (IBI), metrics, biology, DNA barcoding, next-generation sequencing, fish diversity, Mitochondrial DNA

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.อภิรักษ์ สุวรรณรักษ์ ผู้ที่ให้ความเมตตา กรุณา ช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ และให้ความรู้แก่ข้าพเจ้าอย่างดีที่สุด ในการทำวิทยานิพนธ์มาโดยตลอด จนกระทั่งข้าพเจ้าเข้าใจกระบวนการวิจัยในระดับปริญญาเอก และขอบคุณอาจารย์ I-Sheung Chen สำหรับคำแนะนำในการศึกษางานด้านชีวโมเลกุล และให้คำแนะนำตลอดจนอำนวยความสะดวกใน ขณะที่พักอาศัยในต่างประเทศ

ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บัญญัติ มนเทียรอาสา ร่องศาสตราจารย์ ดร.จกมล พรหมยะ กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้เสียสละเวลา ให้ความรู้ และให้คำแนะนำตลอดการศึกษาและ ตรวจสอบวิทยานิพนธ์ให้มีความถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น และขอบคุณอาจารย์ชัชมิตร นิธิกาจณ์พานิช ที่ กรุณาให้คำปรึกษาและแนะนำข้อคิดในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

ขอขอบคุณเพื่อนร่วมงาน Mr.Tonisman Harefa และเพื่อนๆในห้องปฏิบัติการชีววิทยาใน Institute of marine biology, National Taiwan Ocean University ที่ คอยให้ คำแนะนำ และ ช่วยเหลือ และขอบคุณกัลยาณมิตรทั้งหลาย ได้แก่คุณตลนภัส กันธะลี (ผู้ที่สนับสนุนทุก ๆ ด้านที่ขาด เหลือ และไปเก็บตัวอย่างเป็นเพื่อน) นายทศพล ชำนิวิทย์พงษ์ (ช่วยทุกอย่างที่พี่ร้องขอ) รวมทั้งพี่ น้อง มิตรสหาย ที่มีได้เอ่ยนาม ที่ช่วยเหลืองานในส่วนวิทยานิพนธ์เล่มนี้

ขอขอบคุณโครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก ภายใต้สำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย ที่ สนับสนุนทุนการศึกษาที่ PHD/0132/2558

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และพี่สาวทั้งสอง ที่ให้ความรักอย่าง เหลือล้น คอยเตือนสติ คอยให้กำลังใจ และสนับสนุนในทุก ๆ เรื่องจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

ฐาปนีย์ ผลดี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ช
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ.....	ฅ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	4
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร.....	6
2.1 ข้อมูลพื้นฐานของกลุ่มน้ำปิง.....	7
2.1.1 แม่น้ำแม่แตง.....	7
2.1.2 เขื่อนแม่งัดสมบูรณ์ชล.....	8
2.1.3 แม่น้ำแม่แจ่ม.....	9
2.1.4 แม่น้ำน่าน.....	9
2.2 การจำแนกสถานภาพลุ่มน้ำในประเทศไทย.....	9
2.2.1 ความหมายของการจำแนกสถานภาพลุ่มน้ำ.....	9
2.2.2 โครงสร้างและหน้าที่ของระบบนิเวศลุ่มน้ำ.....	10
2.2.3 ดัชนีสถานภาพลุ่มน้ำ (Watershed Condition Indicators).....	11
2.3 การประยุกต์ใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพแหล่งน้ำ (Fish-IBI).....	12

2.3.1 ความหมายของดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพ	14
2.3.2 ประวัติ.....	14
2.3.3 ทำไมต้องเลือกปลาเป็นดัชนีชี้วัด.....	17
2.3.4 ชีววิทยาบางประการของปลา	19
2.3.5 การพัฒนาและการประยุกต์ใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัด.....	20
2.3.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	24
2.4 เทคโนโลยีการตรวจหาร่องรอยทางดีเอ็นเอของปลาในสิ่งแวดล้อม (Environmental DNA (eDNA))	27
2.4.1 DNA คืออะไร	29
2.4.2 ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ (Mitochondrial DNA; mtDNA).....	30
2.4.3 การตรวจหาสิ่งมีชีวิตด้วย eDNA	31
2.4.4 DNA Barcode	32
2.4.5 วิธีการวิเคราะห์ eDNA.....	33
2.4.6 เทคโนโลยี Next generation sequencing.....	35
2.4.7 ข้อดีและประโยชน์ของการทำดีเอ็นเอบาร์โค้ด	38
2.4.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องจากการใช้ประโยชน์ด้าน eDNA	41
2.4.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องจากการใช้ประโยชน์ด้านไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ	42
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ	44
3.1 การศึกษาทางด้านชีววิทยา	44
3.2 ดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพของระบบนิเวศแหล่งน้ำโดยใช้ปลาเป็นตัวชี้วัด	45
3.3 เทคโนโลยีการตรวจหาร่องรอยทางดีเอ็นเอของปลาในสิ่งแวดล้อม (eDNA).....	49
3.3.1 ขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอปลาจากตัวอย่างน้ำ.....	49
3.3.2 การตรวจสอบคุณภาพและปริมาณการสกัดดีเอ็นเอ.....	50
3.3.3 การตรวจสอบการเพิ่มปริมาณยีน	50

3.3.4 การตรวจสอบผลการทำ PCR.....	51
3.3.5 ส่งวิเคราะห์การวิเคราะห์.....	51
3.4 การศึกษางานด้าน Mitochondrial	52
3.5 การศึกษาชีววิทยาปลา <i>Neolissochilus stracheyi</i>	52
3.6 สถานที่.....	52
บทที่ 4 ผลการศึกษา.....	61
4.1 การศึกษาทางด้านชีววิทยา	62
4.1.1 ด้านชีววิทยาชีวประวัติปลาพลวง.....	62
4.2 การประยุกต์ใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพสิ่งแวดล้อมทางน้ำ	72
4.2.1 การคัดเลือกตัวแปรทางชีวภาพของปลา	72
4.2.2 จัดกลุ่มของปลาตามลักษณะทางชีววิทยา.....	78
4.2.3 การพัฒนาเมทริก.....	85
4.2.4 ผลการประเมินสถานะสุขภาพในพื้นที่น้ำนิ่งและน้ำไหล	109
4.2.5 การกำหนดคะแนนของเมทริก.....	119
4.2.6 การรวมคะแนนเมทริกและผลรวมดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพ.....	121
4.3 การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีตรวจหาร่องรอยดีเอ็นเอเพื่อติดตามประเมินและเตือนผลกระทบ ของการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมทางน้ำ	122
4.3.1 การศึกษาไมโทคอนเดรีย จีโนม อย่างสมบูรณ์ของปลากระสูบสาละวินพร้อมกับแผนผัง วิวัฒนาการ	122
4.3.2 การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีตรวจหาร่องรอยดีเอ็นเอเพื่อติดตามประเมินและเตือน ผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมต่อระบบนิเวศน้ำไหล กรณีศึกษาลุ่มน้ำ แม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่	125
4.3.3 การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีตรวจหาร่องรอยดีเอ็นเอเพื่อติดตามประเมินและเตือน ผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมต่อระบบนิเวศน้ำนิ่ง กรณีศึกษา เขื่อน แม่จัดสมบูรณ์ชล จังหวัดเชียงใหม่	134

บทที่ 5	วิจารณ์ผล.....	219
5.1	การประยุกต์ใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพสิ่งแวดล้อมทางน้ำ (NTFIBI).....	219
5.2	การประยุกต์ใช้วิธีการดีเอ็นเอเพื่อตรวจติดตามประเมินการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมทางน้ำ (Environmental DNA).....	230
บทที่ 6	สรุป	237
6.1	การประยุกต์ใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพสิ่งแวดล้อมทางน้ำ.....	237
6.2	การประยุกต์ใช้วิธีการดีเอ็นเอเพื่อตรวจติดตามประเมินการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมทางน้ำ (Environmental DNA).....	238
6.3	ข้อเสนอแนะ	240
บรรณานุกรม	241
ประวัติผู้วิจัย	263



สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 คุณสมบัติของปลาสำหรับการประเมินดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพ.....	19
ตารางที่ 2 รายชื่อเมทริกที่นิยมใช้	21
ตารางที่ 3 การพิจารณาประสิทธิภาพด้านต้นทุนของการตรวจสอบทางชีวภาพด้วย eDNA และการสำรวจทางสัณฐานวิทยาโดยกว้าง ๆ ประมาณการต้นทุนตามสัดส่วนสำหรับแต่ละพื้นที่	41
ตารางที่ 4 ตำแหน่งของสถานีที่ทำการเก็บตัวอย่างปลาใน เขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล จ.เชียงใหม่.....	57
ตารางที่ 5 ตำแหน่งของสถานีที่ทำการเก็บตัวอย่างปลาใน ลุ่มน้ำแม่แตง จ.เชียงใหม่.....	57
ตารางที่ 6 ตำแหน่งของสถานีที่ทำการเก็บตัวอย่างปลาใน ลุ่มน้ำแม่แตง จ.เชียงใหม่.....	58
ตารางที่ 7 ตำแหน่งของสถานีที่สำรวจปลาในแม่น้ำแม่แตง และเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ จ.เชียงใหม่.....	59
ตารางที่ 8 ตำแหน่งของสถานีที่ทำการเก็บตัวอย่างน้ำใน ลุ่มน้ำแม่แจ่ม จ.เชียงใหม่.....	59
ตารางที่ 9 ค่าดัชนีความสัมพันธ์ของอวัยวะสืบพันธุ์ (gonadosomatic index, GSI) ของปลาพลวงในลุ่มน้ำว้า จังหวัดน่าน ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554.....	63
ตารางที่ 10 การกำหนดกลุ่มตัวแปรทางชีวภาพ หรือเมทริก	77
ตารางที่ 11 จัดจำแนกตามคุณลักษณะทางชีววิทยาและบทบาทในระบบนิเวศสำหรับกลุ่มปลาน้ำนิ่ง	79
ตารางที่ 12 จัดจำแนกตามคุณลักษณะทางชีววิทยาและบทบาทในระบบนิเวศสำหรับกลุ่ม.....	83
ตารางที่ 13 ค่าคะแนนเมทริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลาด้วยวิธีการให้คะแนนแบบแยกและเกณฑ์การให้คะแนนในแหล่งน้ำนิ่งข้อมูลปี 2545 - 2546	88
ตารางที่ 14 ค่าคะแนนเมทริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลาด้วยวิธีการให้คะแนนแบบแยกและเกณฑ์การให้คะแนนของแหล่งน้ำไหลปี 2543-2544	89
ตารางที่ 15 ค่าคะแนนของเมทริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และผลการประเมินพื้นที่แม่จัดสมบูรณ์ชล จังหวัดเชียงใหม่ ในฤดูฝน	90
ตารางที่ 16 ค่าคะแนนของเมทริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และผลการประเมินพื้นที่แม่จัดสมบูรณ์ชล จังหวัดเชียงใหม่ ในฤดูหนาว	91

ตารางที่ 17 ค่าคะแนนของเมทริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และผลการประเมินพื้นแม่ จัดสมบูรณ์ชล จังหวัดเชียงใหม่ ในฤดูร้อน	92
ตารางที่ 18 ค่าคะแนนของเมทริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลาด้วยวิธีการให้คะแนนแบบ แยก และเกณฑ์การให้คะแนนของพื้นที่พื้นที่เวียงแหงในฤดูฝน	93
ตารางที่ 19 ค่าคะแนนของเมทริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลาด้วยวิธีการให้คะแนนแบบ แยก และเกณฑ์การให้คะแนนของพื้นที่พื้นที่เมืองคองในฤดูฝน	94
ตารางที่ 20 ค่าคะแนนของเมทริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และเกณฑ์การให้คะแนน ของพื้นที่พื้นที่สบแม่แตง-แม่ปิงในฤดูฝน	95
ตารางที่ 21 ค่าคะแนนของเมทริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และเกณฑ์การให้คะแนน ของพื้นที่พื้นที่เวียงแหงในฤดูหนาว	96
ตารางที่ 22 ค่าคะแนนของเมทริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และเกณฑ์การให้คะแนน ของพื้นที่พื้นที่เมืองคองในฤดูหนาว	97
ตารางที่ 23 ค่าคะแนนของเมทริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และเกณฑ์การให้คะแนน ของพื้นที่พื้นที่สบแม่แตง-แม่ปิง ในฤดูหนาว	98
ตารางที่ 24 ค่าคะแนนของเมทริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และเกณฑ์การให้คะแนน ของพื้นที่พื้นที่เวียงแหงในฤดูร้อน	99
ตารางที่ 25 ค่าคะแนนของเมทริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และเกณฑ์การให้คะแนน ของพื้นที่พื้นที่เมืองคองในฤดูร้อน	100
ตารางที่ 26 ค่าคะแนนของเมทริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และเกณฑ์การให้คะแนน ของพื้นที่พื้นที่สบแม่แตง-แม่ปิง ในฤดูร้อน	101
ตารางที่ 27 ค่าคะแนนของเมทริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และเกณฑ์การให้คะแนน ของพื้นที่พื้นที่เวียงแหง ทุกฤดูกาล	102
ตารางที่ 28 ค่าคะแนนของเมทริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และเกณฑ์การให้คะแนน ของพื้นที่พื้นที่เมืองคอง ทุกฤดูกาล	103
ตารางที่ 29 ค่าคะแนนของเมทริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และเกณฑ์การให้คะแนน ของพื้นที่พื้นที่สบแม่ปิง-แม่แตง ทุกฤดูกาล	104

ตารางที่ 30 ค่าคะแนนของเมทริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลาและเกณฑ์การให้คะแนนรวมทุกพื้นที่ (เวียงแหง เมืองคอง และสบแม่แตง-แม่ปิง) ฤดูแล้ง	105
ตารางที่ 31 ค่าคะแนนของเมทริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลาและเกณฑ์การให้คะแนนรวมทุกพื้นที่ (เวียงแหง เมืองคอง และสบแม่แตง-แม่ปิง) ฤดูหนาว	106
ตารางที่ 32 ค่าคะแนนของเมทริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และเกณฑ์การให้คะแนนรวมทุกพื้นที่ (เวียงแหง เมืองคอง และสบแม่แตง-แม่ปิง) ฤดูร้อน	107
ตารางที่ 33 ผลการประเมินสุขภาวะพื้นที่เขื่อนแม่งัดสมบูรณ์ชล ปี 2563	111
ตารางที่ 34 ผลการประเมินโดยใช้ชุดเมทริกพื้นที่เวียงแหง เมืองคอง และเชียงดาว เฉพาะฤดูแล้ง ใช้ข้อมูลช่วงเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม ปี 2563	114
ตารางที่ 35 ผลการประเมินโดยใช้ชุดเมทริกพื้นที่เวียงแหง เมืองคอง และเชียงดาว เฉพาะฤดูหนาว ใช้ข้อมูลช่วงเดือนพฤศจิกายน 2562-กุมภาพันธ์ 2563	115
ตารางที่ 36 ผลการประเมินโดยใช้ชุดเมทริกพื้นที่เวียงแหง เมืองคอง และเชียงดาว เฉพาะฤดูร้อน ใช้ข้อมูลช่วงเดือนมีนาคม-มิถุนายน ปี 2563	116
ตารางที่ 37 ผลการประเมินโดยใช้ชุดเมทริกพื้นที่เวียงแหง เมืองคอง และเชียงดาว ใช้ข้อมูลปี 2563	117
ตารางที่ 38 ผลการประเมินโดยใช้ชุดเมทริกพื้นที่แม่น้ำแม่แตง ใช้ข้อมูลทุกฤดูกาล ปี 2563	118
ตารางที่ 39 ผลการประเมินพื้นที่แม่น้ำแม่แตง โดยใช้ข้อมูล ปี 2563	119
ตารางที่ 40 ผลรวมผลรวมดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพ	121
ตารางที่ 41 จีโนมไมโทคอนเดรียของปลา <i>Hampala salweenensis</i>	122
ตารางที่ 42 การแบ่งกลุ่มปลาตามแหล่งที่กำเนิด ระดับการกินอาหาร ความอดทน ที่อยู่อาศัย และสถานะใน IUCN ของปลาในกลุ่มน้ำแม่แจ่ม	132

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 แนวความคิดและกระบวนการ.....	5
ภาพที่ 2 การกระจายทางภูมิศาสตร์ของการศึกษาการใช้ข้อมูลชีวภาพประเมินสิ่งแวดล้อมเมื่อแบ่งตามลักษณะของกลุ่มระบบนิเวศ.....	13
ภาพที่ 3 การแพร่กระจายของการศึกษาที่พัฒนาหรือประยุกต์ใช้ MMI ตามประเภทของสิ่งมีชีวิต.....	13
ภาพที่ 4 แนวโน้มการเพิ่มขึ้นของการศึกษางานเกี่ยวกับการใช้ข้อมูลชีวภาพในการประเมินสิ่งแวดล้อม.....	15
ภาพที่ 5 โครงสร้างของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ.....	30
ภาพที่ 6 NGS applications.....	37
ภาพที่ 7 ตำแหน่งของสถานีที่ทำการเก็บตัวอย่างปลาใน เขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล จ.เชียงใหม่.....	53
ภาพที่ 8 ตำแหน่งของสถานีที่ทำการเก็บตัวอย่างปลาใน ลุ่มน้ำแม่แตง จ.เชียงใหม่.....	54
ภาพที่ 9 ตำแหน่งของสถานีที่ทำการเก็บตัวอย่างน้ำใน เขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล จ.เชียงใหม่.....	55
ภาพที่ 10 ตำแหน่งของสถานีที่ทำการเก็บตัวอย่างน้ำใน ลุ่มน้ำแม่แจ่ม จ.เชียงใหม่.....	56
ภาพที่ 11 กรอบวิจัยและแนวความคิด.....	60
ภาพที่ 12 ขั้นตอนการทำงาน eDNA.....	60
ภาพที่ 13 การเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีความสัมพันธ์ของอวัยวะสืบพันธุ์ (gonadosomatic index, GSI) ของปลาพลวงในลุ่ม น้ำว่า จังหวัดน่าน ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554.....	62
ภาพที่ 14 ค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ (K) ของปลาพลวงเพศผู้และเพศเมีย ในลุ่มน้ำว่า จังหวัดน่าน ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554.....	64
ภาพที่ 15 ปริมาณร้อยละระยะเจริญพันธุ์ของปลาพลวง ในลุ่มน้ำว่า จังหวัดน่าน ระหว่างเดือน ตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554.....	65
ภาพที่ 16 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณของในแต่ละระยะของปลาพลวงตัวอย่างทีพบในแม่น้ำว่า จ. น่าน ในช่วงเดือน ตุลาคม 2553 - เดือนกันยายน 2554.....	66

ภาพที่ 17	ระยะพัฒนาการเจริญพันธุ์ของปลาพลวงเพศเมีย โดยการตรวจสอบทางเนื้อเยื่อวิทยา (histology) ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554	67
ภาพที่ 18	ระยะพัฒนาการเจริญพันธุ์ของปลาพลวงเพศผู้ โดยการตรวจสอบทางเนื้อเยื่อวิทยา (histology) ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554	67
ภาพที่ 19	ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักตัวปลากับความตกลูกของไข่ปลาพลวง ในลุ่มน้ำว่า จังหวัดน่าน ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554	68
ภาพที่ 20	ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวตัวปลากับความตกลูกของไข่ปลาพลวง ในลุ่มน้ำว่า จังหวัดน่าน ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554	69
ภาพที่ 21	ความแตกต่างองค์ประกอบนิสัยการกินอาหารของปลาในแหล่งน้ำนิ่ง.....	75
ภาพที่ 22	ความแตกต่างองค์ประกอบแหล่งที่อยู่อาศัยของปลาในแหล่งน้ำนิ่ง	76
ภาพที่ 23	แผนการพัฒนาเมตริกกลุ่มน้ำแม่แดง	87
ภาพที่ 24	คะแนนของดัชนีชีวภาพแต่ละเมตริกที่ประเมินด้วยชุดเมตริกแยกตามฤดูกาล	110
ภาพที่ 25	คะแนนของดัชนีชีวภาพที่ประเมินด้วยชุดเมตริกแยกตามฤดูกาล	110
ภาพที่ 26	คะแนนของดัชนีชีวภาพเมื่อประเมินด้วยชุดเมตริกแยกแต่ละพื้นที่และฤดูกาล	112
ภาพที่ 27	คะแนนของดัชนีชีวภาพเมื่อประเมินด้วยชุดเมตริกแยกเป็นพื้นที่.....	113
ภาพที่ 28	คะแนนของดัชนีชีวภาพเมื่อประเมินด้วยชุดเมตริกแยกเป็นฤดูกาล	113
ภาพที่ 29	แผนภาพการจัดกลุ่มจากข้อมูล mtDNA (subfamily Smiliogastrinae) ด้วยวิธี Maximum Likelihood.....	124
ภาพที่ 30	หน่วยอนุกรมวิธานเชิงปฏิบัติการของกลุ่มประชากรที่พบในแม่น้ำแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่	127
ภาพที่ 31	กลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่พบในลุ่มน้ำแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ จากการศึกษาครั้งนี้.....	127
ภาพที่ 32	กลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่พบในลุ่มน้ำแม่แจ่มตามระดับความสูงจากระดับน้ำทะเลของแม่น้ำแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่	128
ภาพที่ 33	ความหลากหลายชนิดของปลาในแต่ละระดับความสูงของแม่น้ำแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่.....	128
ภาพที่ 34	การแพร่กระจายของกลุ่มปลาตามระดับความสูงแต่ละพื้นที่ในแม่น้ำแม่แจ่ม	130

ภาพที่ 35 การแพร่กระจายของกลุ่มปลาตามระดับความสูงแบ่งตามกลุ่ม ในแม่น้ำแม่แจ่ม จังหวัด เชียงใหม่.....	131
ภาพที่ 36 แผนภูมิต้นไม้ชนิดปลาในแม่น้ำแม่แจ่ม ที่พบโดยวิธีการ Environmental DNA.....	131
ภาพที่ 37 หน่วยอนุกรมวิธานเชิงปฏิบัติการของกลุ่มประชากรที่พบในเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล.....	135
ภาพที่ 38 กลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่พบในกลุ่มน้ำแม่แจ่มตามระดับความสูงจากระดับน้ำทะเลของแม่น้ำแม่ แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่	136
ภาพที่ 39 ความหลากหลายชนิดของปลาในเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล จังหวัดเชียงใหม่ (A) จุดเก็บตัวอย่างใน ลำน้ำสาขาไหลลงสู่เขื่อน (B) จุดเก็บตัวอย่างบริเวณในตัวเขื่อน (C) จุดเก็บตัวอย่างท้ายเขื่อนไหลลงสู่ แม่น้ำปิง	136
ภาพที่ 40 แผนภูมิความร้อนแสดงถึงการแพร่กระจายของกลุ่มปลาระยะพื้นที่เก็บตัวอย่าง ในเขื่อนแม่ จัดสมบูรณ์ชลมาจังหวัดเชียงใหม่.....	137
ภาพที่ 41 การแพร่กระจายของกลุ่มปลาในแต่ละจุดเก็บตัวอย่าง เขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล จังหวัด เชียงใหม่.....	138

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ประเทศไทยเป็นอีกหนึ่งประเทศในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูงมากจุดหนึ่งของโลกโดยเฉพาะปลา (Suvarnaraksha, 2011) โดยเฉพาะแม่น้ำปิงเป็นแม่น้ำสายหลักสายหนึ่งของแม่น้ำเจ้าพระยา ที่มีพื้นที่ทั้งหมด 33,896 ตร.กม. โดยมีพื้นที่อยู่ในเขต 5 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ ลำพูน ตาก กำแพงเพชร และนครสวรรค์ (อภิรักษ์, 2559) มีแหล่งกำเนิดจากเทือกเขาผีปันน้ำ ทางทิศตะวันตก และเทือกเขาถนนธงชัยตะวันออก ซึ่งขนานอยู่ในแนวเหนือลงใต้ และตอนเหนือสุดบรรจบเทือกเขาแดนลาว อันเป็นเขตรัฐฉาน ประเทศสาธารณรัฐสังคมนิยมแห่งสหภาพพม่า แนวเทือกเขาทั้งสองจะหักโค้งมาทางทิศตะวันออกบริเวณบ้านปิงโค้ง พื้นที่ส่วนใหญ่จะเป็นภูเขา ซึ่งมีความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลางระหว่าง 300 – 2,190 เมตร จากการที่แม่น้ำมีการไหลผ่านในพื้นที่ต่าง ๆ ในภูมิภาคที่แตกต่างกัน ย่อมมีความหลากหลายของปลาเหมือนกัน ซึ่งพบไม่น้อยกว่า 204 ชนิดและในความหลากหลายชนิดดังกล่าวบ่งบองถึงระบบนิเวศที่อุดมสมบูรณ์ของแหล่งน้ำ เพราะการที่มีชนิดปลาที่มีความหลากหลายชนิดมากหมายถึงความอุดมสมบูรณ์ของอาหารปลาที่ชุกชุมด้วย ซึ่งแหล่งอาหารปลานั้นก็มาจากสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก แพลงก์ตอน สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ซึ่งทั้งหมดทั้งมวลคือห่วงโซ่อาหาร หากส่วนใดส่วนหนึ่งขาดหายไปบ่งบอกถึงความเสื่อมโทรมของระบบนิเวศกำลังจะมาและขาดความสมดุลทั้งหมด (อภิรักษ์, 2559) ความหลากหลายและความอุดมสมบูรณ์ของปลา สามารถเป็นตัวชี้วัดถึงระดับความเสื่อมโทรมที่เกิดจากกิจกรรมมนุษย์เกือบทุกประเภท เช่น การขุดลอกเพื่อปรับภูมิทัศน์ การเปลี่ยนแปลงการใช้ที่ดินและการทำการเกษตร การใช้สารเคมีในพื้นที่เกษตรกรรม การท่องเที่ยว การทำการประมงเกินกำลังผลิตของแหล่งน้ำ จึงก่อให้เกิดความเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำไม่ว่าจะเป็น การสูญเสียแหล่งที่อยู่อาศัยและการเสื่อมโทรมแหล่งที่อยู่อาศัยของสิ่งมีชีวิตในน้ำ เกิดการรุกรานของสัตว์ต่างถิ่น การสูญเสียพันธุ์ต่อเนื่องของชนิดพันธุ์หลักบางชนิดแล้วมีผลต่อการสูญพันธุ์ของชนิดอื่น ๆ รวมทั้งมลพิษทางเคมีและชีวภาพ เป็นต้น (Suvarnaraksha, 2011) ดังนั้นการประเมินและการตรวจติดตามคุณภาพแหล่งน้ำมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการพัฒนาทางด้านการอนุรักษ์สิ่งแวดล้อมแหล่งน้ำตลอดจนการรักษาสุขภาพของมนุษย์ (สิทธิพัฒน์ และคณะ 2553) ซึ่งการติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำทำให้ทราบถึงคุณภาพของแหล่งน้ำนั้นมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ประโยชน์เพื่อวัตถุประสงค์ใด เช่น การอุปโภค การบริโภค การคมนาคม หรือการเกษตรกรรม เป็นต้น ซึ่งการติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ ทางกายภาพ ทางเคมี และทางชีวภาพ (Ngamsnae, 2011)

การติดตามการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแหล่งน้ำ (Biomonitoring) คือ การใช้สิ่งมีชีวิตในการติดตามและตรวจสอบติดตามการเปลี่ยนแปลงของสภาวะโดยสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ จะเป็นตัวบ่งชี้ หรือตัวชี้วัด (bioindicator) ถึงสถานการณ์ของคุณภาพแหล่งน้ำ วิธีการดังกล่าวถือว่ามีประสิทธิภาพและสามารถสะท้อนผลกระทบของแหล่งน้ำโดยตรงได้อย่างแท้จริง อีกทั้งยังสามารถบ่งบอกคุณภาพของแหล่งน้ำตั้งแต่ในอดีตจนถึงปัจจุบันได้ ซึ่งแตกต่างจากวิธีการทางกายภาพและทางเคมีที่เป็นการบ่งชี้คุณภาพแหล่งน้ำ ณ เวลาที่ทำการตรวจวัดหรือตรวจวิเคราะห์ เท่านั้น (พรรณทิพย์, 2560) ซึ่งในปัจจุบันนี้ดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพหลายชนิดกำลังได้รับความนิยมอย่างสูงในการสนับสนุนข้อมูลทางวิชาการด้านการจัดการ การประเมินผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (สมศักดิ์ และ ปราณีต, 2562) การกำหนดคุณลักษณะของสิ่งมีชีวิตที่เปลี่ยนแปลงแบบทิศทางที่คาดคะเนได้เมื่อได้รับผลกระทบจากกิจกรรมมนุษย์ เรียกว่าเมตริก และคะแนนรวมเมตริกที่ได้ คือ ดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพ (Index of Biological Integrity, หรือ IBI) (สมศักดิ์ และ ปราณีต, 2562) การติดตามตรวจประเมินคุณภาพน้ำทางชีวภาพสามารถเลือกใช้ตัวชี้วัดคุณภาพน้ำที่มีความหลากหลายทั้งจุลินทรีย์ พืช และสัตว์ โดยเฉพาะปลา เป็นดัชนีชีวภาพถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางเพื่อประเมินคุณภาพทางนิเวศวิทยาของแม่น้ำ โดยเริ่มตั้งแต่ปี 1981 โดย ดร. เจมส์ คาร์ และมีการแพร่หลายมากขึ้นจนถึงปัจจุบัน ซึ่งการกำหนดเมตริกนั้นแตกต่างกันไปตามภูมิภาค และส่วนใหญ่จะมีการอ้างอิงและปรับเปลี่ยนตามแบบของ ดร. เจมส์ คาร์ (Karr, 1981) เหตุผลที่เลือกปลาเนื่องจากเป็นดัชนีชี้วัดขนาดใหญ่ สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในถิ่นอาศัยที่หลากหลาย สามารถจำแนกได้ถึงระดับชนิด รวมถึงช่วงอายุที่ยาวนานกว่าสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นในน้ำ (สมศักดิ์ และ ปราณีต, 2562) และเนื่องจากรูปแบบการทำงานด้านความหลากหลาย ต้องมีการสำรวจและเก็บตัวอย่างปลาจำเป็นต้องใช้บุคลากรที่มีความรู้เฉพาะในด้านดังกล่าว รวมถึงการเปลี่ยนแปลงของสภาพสิ่งแวดล้อมทางน้ำที่รวดเร็ว เกิดความยากลำบากต่อการทำงานและงบประมาณ (Borja and Elliott, 2013) และเมื่อข้อจำกัดปลาบางชนิดที่หายากหรือใกล้จะสูญพันธุ์ทำให้เกิดความเสี่ยงที่จะรบกวนในแหล่งที่อยู่อาศัย และในแหล่งน้ำในบางพื้นที่ที่มีขนาดลำธารกว้างและมีขนาดลึก ซึ่งไม่มีเครื่องมือใดที่มีความเหมาะสมในการสุ่มเก็บตัวอย่าง (Zajicek and Wolter, 2018) หรือการใช้กระแสไฟฟ้าเก็บตัวอย่างสามารถใช้ในเฉพาะแหล่งขนาดเล็กเท่านั้น (Pont *et al.*, 2018) ดังนั้น จึงจำเป็นต้องผสมผสานเครื่องมือหลากหลายประเภทเพื่อประเมินความอุดมสมบูรณ์ได้อย่างสมบูรณ์มากขึ้น (Casselmann *et al.*, 1990; Zajicek and Wolter, 2018) ซึ่งรูปแบบเดิมนี้อาจมีปัญหสำหรับนักวิจัยตลอดมา เนื่องจากไม่สามารถรวบรวมข้อมูลสำคัญในบางเมตริกคือ กลุ่มปลาที่มีความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลง กลุ่มปลาเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์หรือกลุ่มสัตว์เฉพาะถิ่นนั่นเอง (Guareschi *et al.*, 2017; Poos and Jackson, 2012) โดยเมตริกดังกล่าวหมายถึงความอุดมสมบูรณ์ของชนิดปลาที่มีความไวต่อการสูญพันธุ์และหากไม่สามารถประเมินเมตริกในกลุ่มนี้ได้จะมีผลต่อคะแนนรวมสุดท้ายอย่างมีนัยสำคัญ (Wan *et al.*, 2010) เพื่อลดปัญหาดังกล่าวจึงมีการ

ประยุกต์ใช้วิธีการสำรวจความหลากหลายและความชุกชุมของปลาในรูปแบบใหม่ ที่ประหยัดเวลา ค่าใช้จ่าย และยังสามารถเก็บรวบรวมตัวอย่างที่ครอบคลุมมากขึ้นรวมทั้งมีบวกรต่อแหล่งที่อยู่อาศัยของปลา นั่นคือ การใช้ร่องรอยทางสิ่งแวดล้อม (Environmental DNA (eDNA)) เพื่อตรวจหาความหลากหลายชนิดและความชุกชุมของปลา

Environmental DNA (eDNA) คือ ร่องรอยทางดีเอ็นเอของสัตว์ที่หลงเหลืออยู่ในสิ่งแวดล้อม ทั้งจากเซลล์ผิวของเสียจากร่างกาย และสารอินทรีย์อื่น ๆ (Barnes and Turner, 2016; Ficetola *et al.*, 2008) โดยรูปแบบการทำงานคือการตรวจสามารถตรวจจับและจำแนกชนิดพันธุ์ซึ่งได้มาจากผิวหนัง เมือก และร่างกายที่เน่าเปื่อยของสิ่งมีชีวิตขนาดใหญ่ในแหล่งน้ำ (Barnes and Turner, 2016; Bohmann *et al.*, 2014; Taberlet, Coissac, Hajibabaei *et al.*, 2012) สามารถจัดแยกและระบุชนิดสายพันธุ์จำนวนมากพร้อม ๆ กันด้วยการวิเคราะห์เพียง ครั้งเดียว Taberlet, Coissac, Hajibabaei *et al.*, 2012) ซึ่งสามารถประเมินความสัมพันธ์และความหลากหลายของกลุ่มประชากรปลาในแหล่งน้ำได้อย่างรวดเร็ว (Bohmann *et al.*, 2014; Thomsen and Willerslev, 2015; Valentini *et al.*, 2016) ซึ่งการศึกษาหาลำดับเบสทั้งหมดของสารพันธุกรรมดีเอ็นเอ (DNA sequence) มีความก้าวหน้าอย่างมาก มีการพัฒนาเทคนิคใหม่ๆทำให้สามารถหาลำดับเบสได้รวดเร็วยิ่งขึ้น (กิตติพัฒน์ และคณะ 2558) และหนึ่งในเทคโนโลยีดังกล่าวที่นำมาใช้คือ Next generation sequencing (NGS) เป็นเทคโนโลยีการหาลำดับเบสที่พัฒนาขึ้นมาใหม่ ที่สามารถหาลำดับเบสทั้งจีโนมของสิ่งมีชีวิตด้วยวิธีการหาลำดับเบสแบบขนานที่ทำได้อย่างรวดเร็ว และมีประสิทธิภาพทำให้ได้ข้อมูลลำดับเบสจำนวนมากที่มีต้นทุนค่าใช้จ่ายที่ถูกลง และเป็นเทคนิคที่นำมาใช้สำหรับงานวิจัยปัจจุบันอย่างแพร่หลาย เพื่อศึกษาหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของสารพันธุกรรมทั้งหมดของสิ่งมีชีวิตที่สนใจ ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญที่สุดในการศึกษาทางด้านจีโนมิกส์ (Genomic) (Wilantho *et al.*, 2012) ดังนั้นการใช้เทคโนโลยีดังกล่าวสามารถลดระยะเวลาและผลกระทบต่อแหล่งน้ำได้เป็นอย่างดี ถึงแม้ว่าวิธีการดังกล่าวเป็นวิธีการสำรวจแบบใหม่และไม่สามารถตอบโจทย์เรื่องทางชีววิทยาของสิ่งมีชีวิตได้ทั้งหมด แต่มีประโยชน์อย่างมากในการตรวจสอบหาชนิดที่ใกล้สูญพันธุ์ และกลุ่มสัตว์ต่างถิ่นได้เป็นอย่างดี (Zou *et al.*, 2019) ด้วยวิธีการสมัยใหม่เหมาะสมสำหรับการเปลี่ยนแปลงที่รวดเร็วของสภาพแหล่งน้ำที่เปลี่ยนแปลงไป และสามารถเป็นข้อมูลเพื่อพัฒนาต่อในการจัดการดูแลสิ่งแวดล้อมทางน้ำและการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1. เพื่อประยุกต์ใช้ปลา เพื่อการติดตามตรวจสอบคุณภาพสิ่งแวดล้อมในแหล่งน้ำนิ่ง และแหล่งน้ำไหล

1.2.2. จัดทำคะแนนมาตรฐานดัชนีความสมบูรณ์ของแหล่งน้ำภาคเหนือด้วยชนิดปลาไทย (Fish Index of Biotic Integrity of the northern Thailand; FIBINT) สำหรับแหล่งน้ำนิ่ง และแหล่งน้ำไหล

1.2.3. เพื่อประยุกต์ใช้เทคโนโลยีการตรวจหาร่องรอยทางดีเอ็นเอที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมสำหรับตรวจสอบความชุกชุมของปลาในแหล่งน้ำ

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

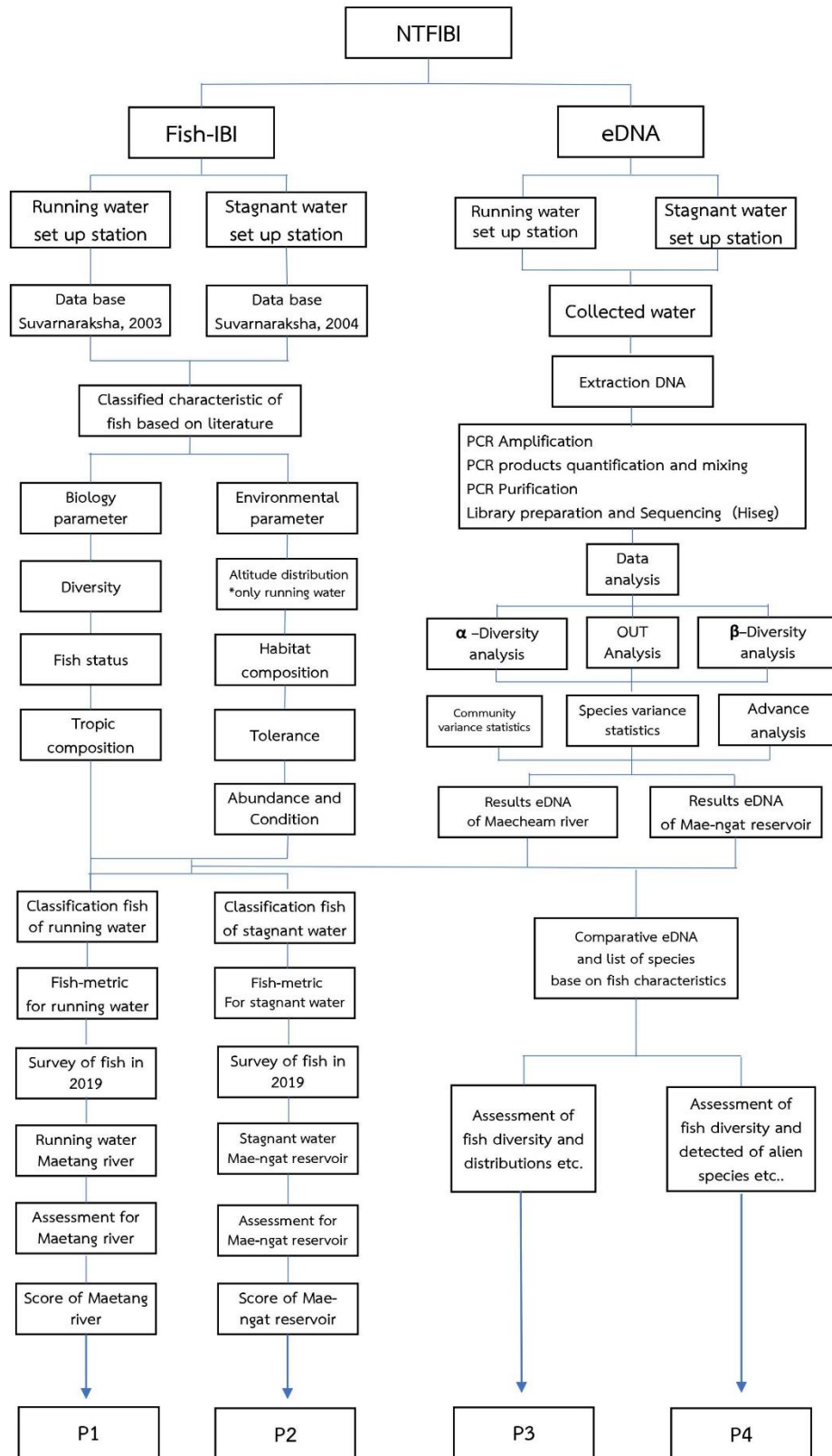
1.3.1. ประยุกต์ใช้ปลากลุ่มต่าง ๆ ที่มีความสัมพันธ์กับสภาพแวดล้อมทางธรรมชาติ เพื่อการติดตามตรวจสอบคุณภาพสิ่งแวดล้อมได้

1.3.2. ได้ข้อมูลทางชีววิทยาการสืบพันธุ์ของปลาพลวงไปสู่แนวทางการแบ่งกลุ่มคุณลักษณะตัวแปรชีวภาพที่แม่นยำยิ่งขึ้นและเป็นแนวทางในการประยุกต์การใช้ปลาชนิดอื่น ๆ เพื่อเป็นดัชนีความสมบูรณ์ของแหล่งน้ำได้อย่างถูกต้อง

1.3.3. ได้คะแนนมาตรฐานดัชนีความสมบูรณ์ของแหล่งน้ำด้วยปลาของไทย (Fish Index of Biotic Integrity of the northern Thailand; FIBINT)

1.3.4. ได้วิธีการประเมินและการตรวจสอบความหลากหลายและความชุกชุมของปลาโดยใช้ร่องรอยทาง eDNA ในแหล่งน้ำ เพื่อเป็นข้อมูลในการจัดการสิ่งแวดล้อมทางน้ำอย่างยั่งยืน

แนวความคิดและกระบวนการ



ภาพที่ 1 แนวความคิดและกระบวนการ

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

จากการศึกษาเรื่อง การประยุกต์ใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพสิ่งแวดล้อมในลุ่มน้ำปิง ได้ทำการตรวจเอกสารแบ่งออกเป็น 4 ส่วนดังนี้

2.1 ข้อมูลพื้นฐานของลุ่มน้ำปิง

2.1.1 แม่น้ำแม่แตง

2.1.2 เขื่อนแม่งัดสมบูรณ์ชล

2.1.3 แม่น้ำแม่แจ่ม

2.1.4 แม่น้ำน่าน

2.2 การจำแนกสถานภาพลุ่มน้ำในประเทศไทย

2.2.1 ความหมายของการจำแนกสถานภาพลุ่มน้ำ

2.2.2 โครงสร้างและหน้าที่ของระบบนิเวศลุ่มน้ำ

2.2.3 ดัชนีสถานภาพลุ่มน้ำ

2.3 การประยุกต์ใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพแหล่งน้ำ (Fish-IBI)

2.3.1 ความหมายของดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพ

2.3.2 ประวัติ

2.3.3 ทำไมต้องเลือกปลาเป็นดัชนีชี้วัด

2.3.4 การพัฒนาและการประยุกต์ใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัด

2.3.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.4 เทคโนโลยีการตรวจหาร่องรอยทางดีเอ็นเอของปลาที่หลงเหลืออยู่ในสิ่งแวดล้อม (Environmental DNA (eDNA))

2.4.1 DNA คืออะไร

2.4.2 การตรวจหาสิ่งมีชีวิตด้วย eDNA

2.4.3 DNA Barcode

2.4.4 วิธีการวิเคราะห์ eDNA

2.4.5 เทคโนโลยี Next generation sequencing

2.4.6 ข้อดีและประโยชน์ของการทำดีเอ็นเอบาร์โค้ด

2.4.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องจากการใช้ประโยชน์ด้าน eDNA

2.1 ข้อมูลพื้นฐานของกลุ่มน้ำปิง

“กลุ่มน้ำปิง” เปรียบได้กับต้นทางแห่งสายธาร มีต้นกำเนิดในทิวเขาผีปันน้ำ ในเขตอำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ จึงเป็นแหล่งต้นน้ำลำธารที่หล่อเลี้ยงพื้นที่ภาคเหนือและเป็นต้นทางของแม่น้ำเจ้าพระยาที่หล่อเลี้ยงแผ่นดินไทย ความยั่งยืนแห่งภาคเหนือตอนบน (อภิรักษ์, 2559) เป็นพื้นที่ของปลาต้นน้ำเป็นส่วนใหญ่ ระบบนิเวศสามารถแบ่งออกเป็น 4 ส่วนด้วยกัน กล่าวคือ พื้นที่ต้นน้ำ พื้นที่ดินเขา พื้นที่รอยต่อ และพื้นที่ที่ราบลุ่ม แม่น้ำปิงมีความยาว 658 กิโลเมตร พื้นที่ลุ่มน้ำ 44,688 ตารางกิโลเมตร กลุ่มน้ำปิงมีพื้นที่รับน้ำฝน 34,536.83 ตารางกิโลเมตร (Suvarnaksha, 2011) สภาพภูมิประเทศตอนบนของกลุ่มน้ำปิงเป็นเทือกเขาสลับซับซ้อนปกคลุมด้วยป่าไม้ จากต้นน้ำไหลจากทิศเหนือลงมาทิศใต้ผ่านพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน ตาก มาบรรจบที่แม่น้ำวังที่จังหวัดตาก และไหลผ่านจังหวัดกำแพงเพชรไปบรรจบกับแม่น้ำน่านที่ปากน้ำโพ จังหวัดนครสวรรค์ ครอบคลุมพื้นที่ใน 6 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ ลำพูน แม่ฮ่องสอน ตาก กำแพงเพชร และนครสวรรค์ โดยมีเขื่อนภูมิพลที่อำเภอสางเภา จังหวัดตากเป็นแนวกำหนดพื้นที่ลุ่มน้ำปิงตอนบนและตอนล่าง โดยลุ่มน้ำปิงตอนบนประกอบด้วย 14 กลุ่มน้ำสาขา ได้แก่ กลุ่มน้ำแม่ปิงตอนบน แม่จัด แม่แดง แม่ปิงส่วนที่ 2 แม่กวัง แม่ริมแม่ชาน แม่ลี แม่กลาง แม่ปิง ส่วนที่ 3 แม่แจ่มตอนบน แม่แจ่มตอนล่าง แม่หาด และแม่ตื่น และลุ่มน้ำปิงตอนล่าง ประกอบด้วย 6 กลุ่มน้ำสาขา ได้แก่ กลุ่มน้ำคลองวังเจ้า คลองสวนหมาก คลองแม่ระกา ห้วยแม่ท้อ แม่ปิงส่วนที่ 4 และแม่ปิงตอนล่าง โดยพื้นที่ส่วนใหญ่ของกลุ่มน้ำปิงอยู่ในเขตชั้นคุณภาพ 1 เอ เป็นพื้นที่ 7,632,106.25 ไร่ หรือ 12,211.37 ตร.กม. คิดเป็นร้อยละ 35.42 ของพื้นที่ลุ่มน้ำ ซึ่งเป็นพื้นที่ต้นน้ำลำธารมีสภาพเป็นป่าไม้และยังมีความอุดมสมบูรณ์ของทรัพยากรป่าไม้ที่ควรมีการอนุรักษ์ไว้เป็นพื้นที่ต้นน้ำลำธาร เนื่องจากมีลักษณะที่อาจจะมีผลกระทบทางสิ่งแวดล้อมจากการเปลี่ยนแปลงการใช้ที่ดินได้ง่ายและรุนแรงหากไม่มีป่าปกคลุม (สำนักนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 2560) ด้วยการที่เป็นพื้นที่ที่มีความหลากหลายมากทางนิเวศวิทยา เป็นผลต่อเนื่องให้เกิดความหลากหลายทางชีวภาพ

2.1.1 แม่น้ำแม่แดง

แม่น้ำแม่แดงเป็นแม่น้ำสาขาหนึ่งของแม่น้ำปิงตอนบน มีต้นกำเนิดในเทือกเขาแดนลาวในอำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ประเทศไทยใกล้กับชายแดนติดกับประเทศพม่า จากนั้นไหลผ่านอำเภอดอยสะเก็ดและอำเภอดอยเต่าโดยแยกเทือกเขาถนนธงชัยออกจากเทือกเขาแดนลาวไปยังแม่น้ำปิง ($19^{\circ} 10' - 19^{\circ} 45' N$ and $98^{\circ} 27' - 98^{\circ} 55' E$) (Suvarnaksha, 2011) พื้นที่รับน้ำฝนมีลักษณะเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า ยาว 80 กิโลเมตร ตามแนวเหนือ-ใต้ และกว้าง 40 กิโลเมตร ตามแนวตะวันออก-ตก ด้านเหนือสุดจดชายแดนพม่า ลำน้ำแม่แดงไหลมาสมทบกับลำน้ำปิงที่สบแดง ที่ตำบลสันมหาพน

อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งห่างจากที่ตั้งที่ว่าการอำเภอแม่แตงประมาณ 2 กิโลเมตร และห่างจากฝายแม่แตงประมาณ 5 กิโลเมตร ลำน้ำมีความยาวทั้งสิ้น 151 กิโลเมตร ความจุของลำน้ำ 300 ลบ.ม./วินาที มีพื้นที่รับน้ำ 1,9053.90 ตารางกิโลเมตร หรือ 1,221,189.44 ไร่ คือเป็น 5.66 เปอร์เซ็นต์ของกลุ่มน้ำปิง (สำนักนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 2560)

2.1.2 เขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล

เขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล เป็นเขื่อนที่สร้างขึ้นตามพระราชดำริของพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว เดิมชื่อว่า เขื่อนแม่จัด ตัวเขื่อนสร้างปิดกั้นลำน้ำแม่จัด ที่บ้านใหม่ ตำบลช่อแล อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ (<https://www.egat.co.th>) อยู่ที่พักัดละติจูด 19° 09' 29" ลองติจูด 99° 02' 23" ความยาวของเขื่อนประมาณ 94 กิโลเมตร สันเขื่อนเป็นแกนดินเหนียวมีความยาวประมาณ 1,950 เมตร สูง 59 เมตร พื้นที่รับน้ำฝน 1,281 ตารางกิโลเมตร มีความจุสูงสุด 325 ล้านลูกบาศก์เมตร มีระดับกักเก็บ 265 ล้านลูกบาศก์เมตร และระดับกักเก็บต่ำสุด 16 ล้านลูกบาศก์เมตร เริ่มดำเนินการก่อสร้างโดยชลประทานในปี 2520 สร้างแล้วเสร็จเมื่อปี พ.ศ. 2527 มีและทางการไฟฟ้าฝ่ายผลิตได้เข้ามาก่อสร้างโรงไฟฟ้าพลังน้ำในปี 2528 มีกำลังผลิตรวม 9,000 กิโลวัตต์ (ระวีเวช, 2557) ส่งน้ำให้พื้นที่เกษตรกรรมรวมพื้นที่ 280,000 ไร่ นอกจากนี้ยังมีประโยชน์หลากหลายด้าน เช่น การผลิตกระแสไฟฟ้า การประมง การทำน้ำประปา

จากการศึกษาความหลากหลายของชนิดปลาในเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล ชนิดปลาที่พบ 68 ชนิด อยู่ใน 21 วงศ์ องค์ประกอบของชนิดปลาในแต่ละฤดูกาลนั้นพบว่าในฤดูฝนและฤดูหนาวใกล้เคียงกัน ไม่มีความแตกต่างกันมากนัก ส่วนฤดูร้อนแตกต่างกันเล็กน้อย โดยเฉลี่ยชนิดปลาที่พบมากที่สุดคือกลุ่มปลาตะเพียน รองลงมาคือกลุ่มปลาอื่น ๆ ปลาหนัง ปลาค้อ และปลารากกล้วย ตามลำดับ สัตว์บกกินอาหารของปลาพบกลุ่มปลากินแมลงมากที่สุด รองลงมาคือกลุ่มปลากินพืชและสุดท้ายคือกลุ่มปลา กินเนื้อ ผลผลิตปลามีค่าเฉลี่ย 10.61 กิโลกรัมต่อไร่ (อภิรักษ์ และคณะ 2547) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงความหลากหลายทางชีวภาพของแพลงก์ตอนพืชและสาหร่ายยืดเกาะและสหสัมพันธ์เชิงอาหารในปลากินพืชบางชนิด (พรศิริ, 2544) ศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพน้ำกับความหลากหลายของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังขนาดใหญ่ จากการสำรวจทั้งหมดที่พบ 22,529 ตัว ใน 12 อันดับ ละ 85 วงศ์ (นิชนันท์, 2557) ความหลากหลายของแพลงก์ตอนพืชและคุณภาพน้ำในอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล (ธารรงค์, 2542) เป็นต้น จากข้อมูลในอดีตที่ผ่านมายังคงมีความรู้ที่เกี่ยวกับระบบนิเวศโดยรวมของเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชลไม่เพียงพอ ยังขาดข้อมูลอีกมากสำหรับศึกษาข้อมูลทั้งหมดเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการจัดการสิ่งแวดล้อมทางน้ำในเขื่อนที่มนุษย์สร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ที่ยั่งยืนในอนาคต

2.1.3 แม่น้ำแม่แจ่ม

น้ำแม่แจ่ม ตั้งอยู่ทางด้านทิศตะวันตกของจังหวัดเชียงใหม่เป็นลำน้ำสาขาของกลุ่มน้ำปิง (Suvarnaksha, 2011) อยู่ฝั่งตะวันตกของดอยอินทนนท์ มีต้นน้ำอยู่ที่ดอยกิ่วป่าก้าง ตำบลบ้านจันทร์ อำเภอแม่แจ่ม ไหลจากทางเหนือลงมาทางใต้ เป็นลำน้ำที่เกิดจากห้วยแม่แจ่ม ห้วยแม่แจ่มน้อย ห้วยตอง ไหลรวมกับลำธารอื่น ๆ ทางด้านทิศใต้ของบ้านแจ่มหลวง ในเขตตำบลแจ่มหลวง อำเภอแม่แจ่ม และรับน้ำเพิ่มเติมจากลำน้ำสาขาอื่น ๆ ที่ไหลจากลาดเขาด้านตะวันตกของเทือกเขาถนนธงชัยตะวันออกและรวมน้ำที่รับเพิ่มเติมจากลำน้ำสาขาอื่น ๆ ที่ไหลจากลาดเขาด้านตะวันออกของเทือกเขาถนนธงชัยกลาง ได้แก่ ลำน้ำสาขาต่าง ๆ คือ ลำน้ำแม่เอาะ ลำน้ำแม่ตะละ ลำน้ำแม่สะงะ ลำน้ำแม่หยอด ลำน้ำแม่ปาน ลำน้ำแม่ศึก ลำน้ำแม่แรก และลำน้ำแม่แดด เป็นต้น ลำน้ำแม่แจ่มไหลลงสู่ลำน้ำปิง บริเวณบ้านสบแจ่ม อำเภอฮอด จังหวัดเชียงใหม่ มีขนาดของพื้นที่ลุ่มน้ำ 3,853 ตารางกิโลเมตร มีความยาวของลำน้ำทั้งสิ้น 170 กิโลเมตร มีพื้นที่ลุ่มน้ำแม่แจ่มส่วนใหญ่ ตั้งอยู่ในเขตอำเภอแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ (18° 06' - 19° 10' N และ 98° 04' - 98° 34' E) (Suvarnaksha, 2011) และมีพื้นที่บางส่วนด้านตะวันตกเฉียงใต้ของกลุ่มน้ำ ตั้งในเขตพื้นที่อำเภอแม่ลาน้อย จังหวัดแม่ฮ่องสอน นอกจากนี้ยังมีพื้นที่บางส่วนทางด้านใต้ของกลุ่มน้ำ ตั้งในเขตพื้นที่อำเภอฮอด และอำเภอจอมทอง จังหวัดเชียงใหม่

2.1.4 แม่น้ำน่าน

แม่น้ำน่านมีต้นกำเนิดมาจากเทือกเขาหลวงพระบาง ซึ่งเป็นเส้นแบ่งเขตแดนไทย-ลาว ไหลผ่านที่ราบระหว่างหุบเขาในเขตอำเภอเมือง และอำเภอเวียงสา จังหวัดน่าน หุบเขาทางด้านตะวันตกและตะวันออกทั้งสองด้านนี้เป็นต้นกำเนิดของลำน้ำสาขาหลายสาย และจากนั้นแม่น้ำน่านจะไหลผ่านหุบเขาสูงสู่อ่างเก็บน้ำสิริกิติ์ พื้นที่ตอนล่างของกลุ่มน้ำน่านจะเป็นที่ราบสองฝั่งแม่น้ำ ซึ่งจัดได้ว่าเป็นทุ่งราบผืนใหญ่ที่สำคัญที่สุดของประเทศไทยจากจังหวัดพิษณุโลก แม่น้ำน่านจะไหลเคียงคู่กับแม่น้ำยมลงมาจนบรรจบกับอำเภอชุมแสง จังหวัดนครสวรรค์ จากนั้นจะไหลผ่านบึงบอระเพ็ดทางฝั่งซ้าย ก่อนจะบรรจบกับแม่น้ำปิง อำเภอเมือง จังหวัดนครสวรรค์ ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นของแม่น้ำเจ้าพระยา โดยกลุ่มน้ำน่านมีพื้นที่ลุ่มน้ำรวมทั้งสิ้น 34,908.11 ตารางกิโลเมตร (สำนักนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 2560)

2.2 การจำแนกสถานภาพลุ่มน้ำในประเทศไทย

2.2.1 ความหมายของการจำแนกสถานภาพลุ่มน้ำ

ลุ่มน้ำ (Watershed) หมายถึง หน่วยของพื้นที่หนึ่ง ที่เกี่ยวข้องกับการจัดการน้ำโดยเฉพาะ มีขนาดตามความต้องการของแต่ละบุคคลและประเภทการศึกษา โดยที่หน่วยพื้นที่หนึ่งประกอบด้วยทรัพยากรกายภาพ ทรัพยากรชีวภาพ ทรัพยากรที่มนุษย์สร้างขึ้นเน้นคุณค่าการใช้ประโยชน์ของ

มนุษย์และทรัพยากรคุณภาพชีวิต ด้านสังคมสิ่งแวดล้อม (สำนักนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 2560)

สถานภาพลุ่มน้ำ (Watershed condition) หมายถึง สภาพการคงอยู่ของโครงสร้าง (structure) และหน้าที่/การทำงาน (Function) ของสรรพสิ่งในระบบลุ่มน้ำ รวมทั้ง ระบบที่บ่งบอกถึงความอุดมสมบูรณ์ ความเสื่อมโทรม และความแข็งแกร่ง โดยมีสาเหตุของการเกิดสภาพเช่นนี้ขึ้นอย่าง เป็นรูปธรรม หรือพบว่าโครงสร้าง/องค์ประกอบของระบบ มีการเปลี่ยนแปลง เพิ่มหรือลดลง เกี่ยวกับ ชนิด/ความหลากหลายชนิด (Species Diversity) ปริมาณของแต่ละชนิด สัดส่วนระหว่างชนิด และการกระจายของแต่ละชนิดเป็นไปตามธรรมชาติ หรือผิดไปจากธรรมชาติอย่างไรซึ่งก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลง หรือการไม่ทำหน้าที่/การทำงานของระบบที่เคยเป็นมา ซึ่งหากวิเคราะห์แล้วพบว่าสรรพสิ่งในระบบและตัวระบบเองนั้นเกิดการเปลี่ยนไปจากธรรมชาติ หรือค่ามาตรฐานสิ่งแวดล้อม จนทำให้ การทำงาน/หน้าที่ของระบบบกพร่อง หรือมีประสิทธิภาพด้อยลงไปแล้ว ระบบจะอยู่ในสภาวะใด เช่น สมดุล หรือวิกฤต เป็นต้น เพื่อให้ทราบสถานภาพลุ่มน้ำว่าอยู่ในสภาวะหรือสถานภาพใด จึงได้มีการ ประเมินสถานภาพลุ่มน้ำโดยประยุกต์ใช้ข้อมูลทางนิเวศเป็นพื้นฐานพิจารณาจากโครงสร้าง/ องค์ประกอบ และการทำงาน/หน้าที่ของระบบลุ่มน้ำ ความสมดุลชนิด ปริมาณ สัดส่วน และการกระจายของสรรพสิ่งภายในระบบลุ่มน้ำ (เกษม, 2539) การประเมินสถานภาพลุ่มน้ำจึงเป็นการ ดำเนินการวิเคราะห์ลุ่มน้ำใดลุ่มน้ำหนึ่ง ณ เวลาหนึ่ง เพื่อให้ทราบศักยภาพของลุ่มน้ำในด้านต่าง ๆ ว่ามีองค์ประกอบของระบบลุ่มน้ำในปัจจุบันเป็นอย่างไร เกิดการเปลี่ยนแปลงไปในด้านใดบ้าง เพื่อ ใช้เป็นข้อมูลและแนวทางในการจัดการพื้นที่ลุ่มน้ำ นอกจากนี้ ยังทำให้ทราบถึงปัญหาและแหล่งของ ปัญหาของทรัพยากรด้านต่าง ๆ ภายในพื้นที่ลุ่มน้ำนำไปสู่การวางแผนและจัดการ วิธีการป้องกัน และการแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นในพื้นที่ลุ่มน้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืนต่อไป (สำนักนโยบายและ แผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 2560)

2.2.2 โครงสร้างและหน้าที่ของระบบนิเวศลุ่มน้ำ

การศึกษาระบบนิเวศใดระบบนิเวศหนึ่งนั้น จะต้องศึกษาถึงลักษณะโครงสร้าง (Structure) และหน้าที่ (Function) ต่าง ๆ ของระบบนิเวศนั้น ๆ ซึ่งจะแตกต่างกันไปตามความสลับซับซ้อนของ ระบบนิเวศแต่ละระบบซึ่งไม่เหมือนกัน สำหรับระบบนิเวศลุ่มน้ำมีโครงสร้างที่สำคัญคือ โครงสร้าง ด้านสัณฐานธรณีของลุ่มน้ำ ลักษณะโครงสร้างของดินและป่าไม้หรือสิ่งปกคลุมดิน ลักษณะสภาพของ ลำธารและระบบการระบายน้ำ ลักษณะทางกายภาพอื่น ๆ ตลอดจนจนลักษณะการใช้ประโยชน์ที่ดิน และการดำเนินกิจกรรมต่าง ๆ ของมนุษย์ที่อาศัยอยู่ในลุ่มน้ำนั้น (สำนักนโยบายและแผน ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 2560)

2.2.3 ดัชนีสถานภาพลุ่มน้ำ (Watershed Condition Indicators)

ระบบการจำแนกสถานภาพลุ่มน้ำ ประกอบด้วย 12 ดัชนี พร้อมคำอธิบายที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการลุ่มน้ำ ดัชนีและคำอธิบายเป็นตัวแปรที่เป็นตัวแทนของพันธกิจระบบนิเวศ และกระบวนการที่มีผลต่อพันธกิจดินและน้ำ ซึ่งดัชนีระบบสถานภาพลุ่มน้ำมี 12 ปัจจัย ได้แก่ (1) คุณภาพน้ำ (Water Quality) (2) ปริมาณน้ำ (Water Quantity) (3) แหล่งอาศัยสิ่งมีชีวิตในน้ำ (Aquatic Habitat) (4) ชนิดสิ่งมีชีวิตในน้ำ (Aquatic Biota) (5) การเกษตร/พืชชุ่มน้ำ (Riparian/Wetland Vegetation) (6) ถนน และ ทางเดิน (Roads and Trails) (7) ดิน (Soils) (8) ระบบไฟป่าและสัตว์ป่า (Fire Regime and Wildlife) (9) พื้นที่ปกคลุมด้วยป่าไม้ (Forest Cover) (10) พืชพรรณทุ่งหญ้า (Rangeland Vegetation) (11) พันธุ์ต่างถิ่นบนบก (Terrestrial Invasive Species) (12) สุขภาพป่าไม้ (Forest Health)

วิธีการประเมินโดยใช้ตัวชี้วัดความยั่งยืนน้ำที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน คือ Water Poverty Index (WPI) พัฒนาโดย Sullivan (2002), Canadian Water Sustainability Index (CWSI) พัฒนาโดย Policy Research Initiative: PRI (2007), Watershed Sustainability Index (WSI) (Chaves and Alipaz, 2007) และ West Java Water Sustainability Index (WJWSI) (Juwana *et al.*, 2010) โดยทุกวิธีเน้นให้ข้อมูลสถานภาพทรัพยากรน้ำเป็นเครื่องมือช่วยตัดสินใจในระดับนโยบาย และจัดลำดับความสำคัญในเรื่องที่เกี่ยวกับทรัพยากรน้ำ จะมีเพียงแต่วิธี Watershed Sustainability Index (WSI) ที่ได้พัฒนาตัวชี้วัดด้วยการรวมค่าตัวชี้วัดด้านอุทกวิทยา (Hydrology) สิ่งแวดล้อม (Environment) รวมมาด้วย โดยวิเคราะห์สาเหตุใน 3 ประเด็น คือ (1) ความกดดันที่เกิดขึ้น (Pressure) จากการกระทำของมนุษย์ต่อสิ่งแวดล้อม (2) ความกดดันที่เกิดขึ้นส่งผลกระทบต่อสถานภาพ (State) ของระบบธรรมชาติ และ (3) การตอบสนอง (Response) โดยรัฐบาลหรือชุมชนเข้ามาแก้ไขปัญหาสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนไป โดยใช้นโยบาย หรือระเบียบข้อบังคับต่าง ๆ

เกษม (2551) ได้การประเมินสถานภาพลุ่มน้ำของไทย สามารถจำแนกได้ 2 ลักษณะ คือ

1) การประเมินสถานภาพโดยรวมของกลุ่มน้ำ ทำได้โดยให้น้ำหนักดัชนีของแต่ละทรัพยากรตามความสำคัญ ซึ่งพิจารณาจากผลกระทบจากแต่ละชนิดทรัพยากร แล้วทำการประเมินสถานภาพรวมของกลุ่มน้ำจากสถานภาพของทรัพยากรแต่ละชนิด แล้วคิดคะแนนรวมเฉลี่ยตามน้ำหนักของทรัพยากร

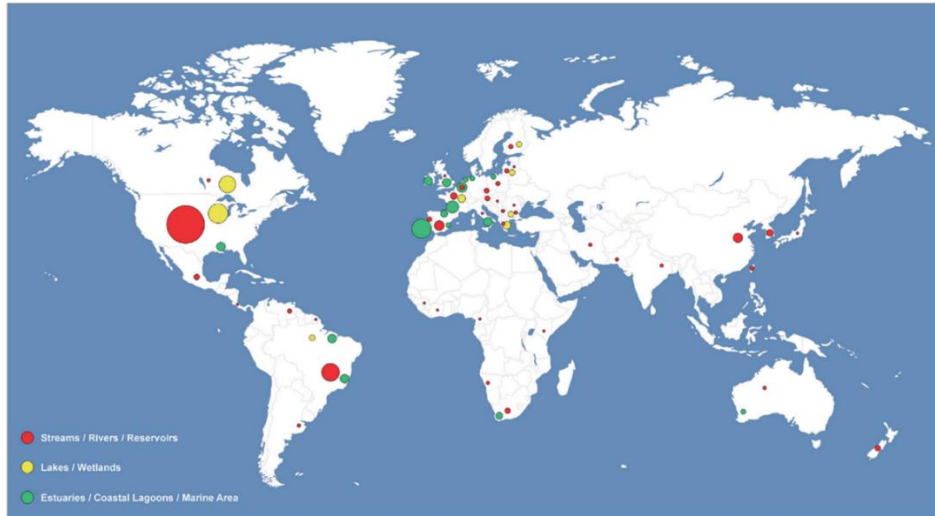
2) การประเมินสถานภาพของแต่ละทรัพยากร โดยเลือกดัชนีชี้วัดที่สำคัญพร้อมทั้งกำหนดเกณฑ์ในแต่ละระดับ โดยการเปรียบเทียบลักษณะเด่นของแต่ละทรัพยากร ที่จะก่อให้เกิดผลดีหรือผลกระทบต่อภาวะแวดล้อมว่าอยู่ในระดับใด โดยการพิจารณาจากสภาพลักษณะทางธรรมชาติ ปริมาณ การกระจาย ความหนาแน่น ความอุดมสมบูรณ์ คุณภาพของทรัพยากรนั้น ๆ ว่ามีความ

สมบูรณ์มากเพียงใด และอาจพิจารณาเปรียบเทียบจากพื้นที่อื่น ๆ ที่มีลักษณะทางธรรมชาติคล้ายคลึงกันตลอดจนความคงทนของทรัพยากรจากอดีตถึงปัจจุบันว่ามีความมั่นคงมากเพียงใด

2.3 การประยุกต์ใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพแหล่งน้ำ (Fish-IBI)

การจัดการคุณภาพลุ่มน้ำของประเทศไทยยังขาดแคลนข้อมูลชีวภาพเพื่อประกอบการกำหนดนโยบายเพื่อการจัดการแหล่งน้ำ ซึ่งทรัพยากรน้ำเป็นสิ่งที่สำคัญและได้รับผลกระทบอย่างต่อเนื่องจากกิจกรรมของมนุษย์ ดังนั้นการกำหนดมาตรฐานหรือวิธีการตรวจสอบที่เป็นสิ่งสำคัญสำหรับหลายประเทศและทำให้ข้อมูลระบบนิเวศและความสมบูรณ์ทางชีวภาพทางน้ำได้รับความสนใจมากขึ้น (Borja *et al.*, 2008) คำว่าคุณภาพทางนิเวศวิทยาและความสมบูรณ์ทางชีวภาพมีความหมายแตกต่างกันเล็กน้อย ตามที่ Karr อธิบายไว้ (Karr, 1986) ความสมบูรณ์ทางชีวภาพคือความสามารถของระบบนิเวศทางน้ำในการรักษาความสมดุลและการปรับตัวของชุมชนสิ่งมีชีวิตที่มีองค์ประกอบโครงสร้างหรือหน้าที่และความหลากหลายให้ยังคงดำเนินกิจกรรมไปได้ และมีความสัมพันธ์กับลักษณะทางกายภาพ (เช่นสภาพที่อยู่อาศัย) และ เคมี (Novotny *et al.*, 2005) สถานะคุณภาพทางนิเวศวิทยาทางน้ำจะพิจารณาจากองค์ประกอบ 3 กลุ่มดังนี้ (1) ข้อมูลทางชีวภาพ (2) ลักษณะทางอุทกวิทยาและ (3) ลักษณะทางกายภาพและเคมี (Voulvoulis *et al.*, 2017) จากลักษณะพื้นฐาน 3 ข้อ สามารถบ่งชี้ได้ถึงคุณภาพและลักษณะของนิเวศวิทยาที่ดีได้ คือ เป็นระบบนิเวศวิทยาที่ปราศจากแรงกดดันจากมนุษย์ (Souza and Vianna, 2020)

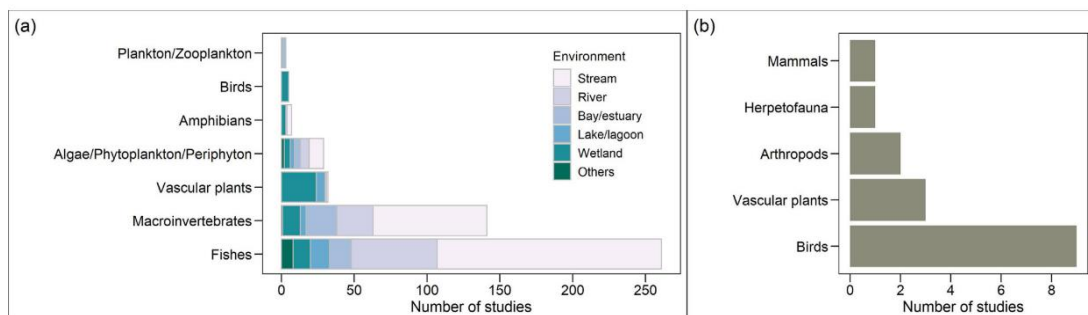
การพัฒนาเมตริก หรือคุณลักษณะของสิ่งมีชีวิตที่เปลี่ยนแปลงแบบมีทิศทางที่คาดคะเนได้เมื่อมีการรบกวนจากกิจกรรมของมนุษย์ (Rayan and Ngamsnae, 2014) นั้น มักพิจารณาจากองค์ประกอบต่างๆของระบบนิเวศ ที่สามารถบ่งบอกถึงความสมดุลของระบบและเอื้อต่อการดำรงชีวิตต่อไปทั้งใน ระบบนิเวศน้ำจืด น้ำทะเล แม่น้ำขนาดใหญ่ หรือน้ำกร่อย เป็นต้น (ภาพ 2) (Alvarez *et al.*, 2013; Martinho *et al.*, 2015) เนื่องจากองค์ประกอบทางชีวภาพที่แตกต่างกันรวมทั้งเกี่ยวข้องกับข้อมูลทางเคมีฟิสิกส์และมลพิษ (Borja *et al.*, 2008) ทำให้โครงสร้างชุมชนระบบนิเวศมีความซับซ้อนมากขึ้น ดังนั้น จึงมีการพัฒนาตัวชี้วัดหรือเมตริกอย่างต่อเนื่องเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพให้มากขึ้น (Borja *et al.*, 2008; Kennard *et al.*, 2006; Monaghan, 2016; Mostafavi *et al.*, 2015)



ภาพที่ 2 การกระจายทางภูมิศาสตร์ของการศึกษาการใช้ข้อมูลชีวภาพประเมินสิ่งแวดล้อมเมื่อแบ่งตามลักษณะของกลุ่มระบบนิเวศ

(1) ลำธารแม่น้ำและอ่างเก็บน้ำ (วงกลมสีแดง) (2) ทะเลสาบและพื้นที่ชุ่มน้ำ (วงกลมสีเหลือง) และ (3) ปากแม่น้ำทะเลสาบชายฝั่งและพื้นที่ชายฝั่งทะเล (วงกลมสีเขียว) โดยขนาดวงกลมอ้างอิงถึงเปอร์เซ็นต์ของการศึกษาต่อกลุ่มระบบนิเวศ (Souza and Vianna, 2020)

จากข้อมูลของ Harrison and Whitfield (2004) ดัชนีเมทริกเป็นเครื่องมือประเมินคุณภาพทางนิเวศวิทยาที่มีข้อมูลเฉพาะเจาะจงเป็นรายชนิด หมายถึงกลุ่มสิ่งมีชีวิตหลากหลายที่สามารถนำมาเป็นเมทริกได้ เช่น แพลงก์ตอน สัตว์เลื้อยคลาน สาหร่าย พืช สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ปลา หรือ สัตว์บกอย่างนก เป็นต้น (ภาพที่ 3) ข้อมูลเหล่านี้ล้วนแต่สามารถเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพของสิ่งแวดล้อมได้ ดัชนีเหล่านี้ส่วนใหญ่ได้รับการพัฒนาทั่วโลก



ภาพที่ 3 การแพร่กระจายของการศึกษาที่พัฒนาหรือประยุกต์ใช้ MMI ตามประเภทของสิ่งมีชีวิต คือ (a) สิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ และ (b) สิ่งมีชีวิตบนบก (Souza and Vianna, 2020)

ในประเทศไทยเมื่อกล่าวถึง การประเมินตรวจวัดคุณภาพของแหล่งน้ำ มีการใช้วิธีตรวจวัดคุณภาพน้ำทั้งทางกายภาพและเคมีมายาวนาน และหากพูดถึงการใช้ข้อมูลทางชีวภาพส่วนใหญ่จะใช้สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง และเริ่มมีการใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดในแหล่งน้ำนิ่ง (Rayan and Ngamsnae, 2014) และลุ่มน้ำทางภาคตะวันออก (สิทธิพัฒน์ และคณะ 2553) เป็นต้น

2.3.1 ความหมายของดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพ

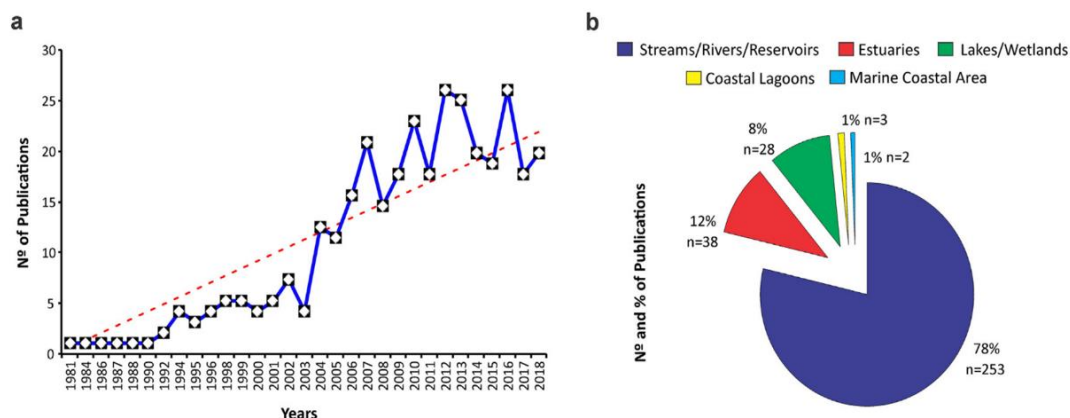
ดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพ (Index of Biological Integrity, หรือ (IBI) คือ การใช้สิ่งมีชีวิตในการประเมินคุณภาพสิ่งแวดล้อม โดยการใช้องค์ประกอบทางด้านชีววิทยาและสังคมของสิ่งมีชีวิตมาเป็นตัวประเมินและติดตามคุณภาพสิ่งแวดล้อม หรืออีกนัยหนึ่งคือ ค่าคะแนน ที่ได้จากระบบการประเมินผลกระทบของกิจกรรมต่าง ๆ ที่เป็นผลจากการกระทำของมนุษย์ ที่ก่อให้เกิดมลภาวะในแหล่งน้ำไม่ว่าจะเป็นลำธาร แม่น้ำ ทะเลสาบ หรือพื้นที่ชุ่มน้ำ (Ngamsnae, 2011; Rayan and Ngamsnae, 2014)

2.3.2 ประวัติ

การเริ่มต้นสำหรับการใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดความสมบูรณ์ของแหล่งน้ำเริ่มตั้งแต่ราวปี 1900 เริ่มจาก ดร. เจมส์ คาร์ ได้เริ่มต้นการใช้ดัชนีชีวภาพเพื่อใช้ในการอธิบายสภาพแหล่งน้ำ และประเมินคุณภาพสิ่งแวดล้อมของแหล่งน้ำในเขต Indiana and Illinois ในสหรัฐอเมริกา (Karr, 1981) เริ่มต้นระบบเมตริกกลุ่มชนิดปลาสำหรับการประเมินดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพ มีจำนวน 12 เมตริกที่ประกอบด้วย กลุ่มเมตริกองค์ประกอบความหลากหลาย (fish species richness and composition) กลุ่มเมตริกตัวชี้วัดเพื่อประเมินความหนาแน่นของประชากรปลา (number and abundance of indicator species) กลุ่มเมตริกองค์ประกอบด้านการกินอาหาร (trophic organization and function) กลุ่มเมตริกด้านสภาพแวดล้อมที่อยู่อาศัย (reproductive behavior) และกลุ่มเมตริกตามสภาพเงื่อนไข (condition of individual fish) (Karr, 1986)

ต่อจากนั้นวิธีการนี้ได้ถูกพัฒนาอย่างต่อเนื่องโดยองค์กร (Epa, 1988) เพื่อนำมาสร้างแผนการจัดการแหล่งน้ำและประเมินคุณภาพแหล่งน้ำในลำธาร ซึ่งวิธีการดังกล่าว เป็นการผสมผสานองค์ประกอบทางด้านนิเวศวิทยารวมถึงสมมุติฐานทางด้านนิเวศวิทยาเพื่อการทำนายความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและสังคมของปลาและปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อมและถูกพัฒนามาอย่างต่อเนื่องในหลายประเทศ (Hallett *et al.*, 2012; Joy and Death, 2004; Mostafavi *et al.*, 2015; Tableau *et al.*, 2013; Vile and Henning, 2018) ซึ่งแต่ละพื้นที่ จะมีความแตกต่างกันในเรื่องขององค์ประกอบของปลาและสิ่งมีชีวิตแต่วิธีการนี้ยังคงไว้ซึ่งสมมุติฐานและแนวความคิดทางการพัฒนา

ปรับปรุงให้เหมาะสมกับสภาพเงื่อนไขสิ่งแวดล้อมและภูมิประเทศอย่างรวดเร็วมากในช่วง 20 ปีที่ผ่านมา (Souza and Vianna, 2020) (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 แนวโน้มการเพิ่มขึ้นของการศึกษางานเกี่ยวกับการใช้ข้อมูลชีวภาพในการประเมินสิ่งแวดล้อม

(a) แสดงปีต่อการตีพิมพ์ (เส้นสีแดงแสดง แนวโน้มที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตลอดระยะเวลา 38 ปี) และ (b) แยกตามลักษณะตามระบบนิเวศ: ลำธาร / แม่น้ำ / อ่างเก็บน้ำปากแม่น้ำทะเลสาบ / พื้นที่ชุ่มน้ำทะเลสาบชายฝั่งและชายฝั่งทะเล ที่มา (Souza and Vianna, 2020)

โดยเบื้องต้นการกำหนดดัชนีชี้คุณภาพแหล่งน้ำ มีค่าตั้งแต่ 12 ถึง 60 (Karr, 1981) แสดงถึงผลคะแนนที่สามารถระบุบอกระดับคุณภาพแหล่งน้ำนั้น จากผลกระทบของมนุษย์ และในแต่ละรูปแบบการให้คะแนนเหล่านี้มีโครงสร้างและตัวแปรแตกต่างจากรูปแบบดั้งเดิม (Cai *et al.*, 2020; Pont *et al.*, 2007) เกิดความนิยมแพร่กระจายอย่างกว้างขวางทั่วโลกทั้งในอเมริกา แคนาดา นิวซีแลนด์ แอฟริกาและในยุโรป (Cunico *et al.*, 2011; Hocutt *et al.*, 1994; Hugueny *et al.*, 1996; Joy and Death, 2004; Launois *et al.*, 2011; Petriki *et al.*, 2017; Seilheimer and Chow-Fraser, 2006; Stevens and Council, 2008; Toham and Teugels, 1999; Zogaris *et al.*, 2018) สำหรับในโซนเอเชียมีแพร่หลายในหลายประเทศเช่นกัน เช่นใน ปากีสถาน จีน ไต้หวัน อิหร่าน (Chen *et al.*, 2015; Li, F. *et al.*, 2018; Li, T. *et al.*, 2018; Mostafavi *et al.*, 2015; Qadir and Malik, 2009; Wu *et al.*, 2014) สำหรับประเทศไทยมีรายงานการในแหล่งน้ำหนึ่งที่หนองหาร จังหวัดสกลนคร และ ในแหล่งน้ำทางภาคตะวันออก (Rayan and Ngamsnae, 2014; สิทธิพัฒน์ และคณะ 2553)

การประยุกต์ใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพแหล่งน้ำ เริ่มนำมาใช้ในประเทศไทยตั้งแต่ ปี 2553 สำหรับเป็นโมเดลในการติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำในเขตลุ่มน้ำทางภาคตะวันออกของประเทศไทย (สิทธิพัฒน์ และคณะ 2553) โดยใช้การวิเคราะห์ความสัมพันธ์กับปัจจัยสิ่งแวดล้อมกับการแพร่กระจายของปลาโดยวิธี Canonical Correspondence Analysis (CCA) พบว่าครอบครัวปลาตะเพียนมีความสัมพันธ์กับสิ่งแวดล้อมทั้งหมด 8 ปัจจัย คือ ขนาดของซับสเตอร์ท ความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ค่าความนำไฟฟ้าในแหล่งน้ำ ค่าความกระด้างของน้ำ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ระดับอุณหภูมิ อัตราการไหลของน้ำ และความเข้มข้นของซิลิกา ส่วนกลุ่มปลาค้อมีความสัมพันธ์สิ่งแวดล้อมทั้งหมด 4 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของแอมโมเนีย ความเข้มข้นของซิลิกา ขนาดของซับสเตอร์ท และความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายในน้ำ โดยสามารถสร้างองค์ประกอบของโมเดลในการประเมินคุณภาพน้ำทั้งหมด 6 เมทริก คือ จำนวนชนิด (Species richness) ความชุกชุมของครอบครัวปลาตะเพียน (Cyprinidae abundance) ความชุกชุมของครอบครัวปลาค้อ (Balitoridae abundance) ความชุกชุมรวมของปลาทุกชนิด (Total fish abundance) ชนิดไวต่อการเปลี่ยนแปลง (Sensitive species) ชนิดที่ทนต่อการเปลี่ยนแปลง (Tolerant species) และภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีการประยุกต์ใช้ดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพของปลาเพื่อประเมินคุณภาพพื้นที่ชุ่มน้ำหนองหาร เพื่อประเมินสภาพความกดดันเนื่องจากกิจกรรมต่างๆของมนุษย์ต่อประชาคมปลา โดยใช้ข้อมูลชนิดปลาจากรายงานปี 2511-2548 โดยแบ่งกลุ่มปลาตามคุณลักษณะหลักที่เปลี่ยนแปลงเมื่อได้รับผลกระทบจากสิ่งแวดล้อม 4 ด้าน ตามแนวทางของ ได้แก่ ความหลากหลายชนิดและองค์ประกอบทางอนุกรมวิธาน ประกอบด้วยเมทริก องค์ประกอบถิ่นที่อยู่อาศัย พฤติกรรมการกินอาหาร และองค์ประกอบตามความชุกชุมและสุขภาวะรวมเป็น 12 เมทริกเป็นค่าอ้างอิงเปรียบเทียบ เป็นค่าอ้างอิงเปรียบเทียบ โดย 10 เมทริกดัดแปลงมาจาก (Karr, 1981) ได้แก่ จำนวนชนิดปลาพื้นถิ่น, ร้อยละของปลาชนิดเด่น, จำนวนชนิดปลาที่มีความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลงของแหล่งน้ำ, ค่าร้อยละของปลากลุ่มที่มีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมในแหล่งน้ำได้สูงค่าร้อยละของจำนวนปลาที่มีพฤติกรรมการกินอาหารได้ทั้งพืชและสัตว์, ค่าร้อยละของจำนวนปลาที่มีพฤติกรรมการกินอาหารที่เป็นสัตว์หน้าดิน, ค่าร้อยละของจำนวนตัวของปลาที่กินสัตว์ลบด้วยจำนวนตัวของปลาที่กินสัตว์ที่มีความทนทานสูง, ค่าร้อยละของจำนวนตัวปลาที่มีพฤติกรรมการผสมพันธุ์วางไข่บนพื้นหิน ไม่รวมปลาที่มีความทนทานสูงจำนวนชนิดปลาที่เจริญพันธุ์ซ้ำ และค่าร้อยละของจำนวนปลาที่มีลักษณะผิดปกติ ส่วนอีก 2 เมทริก ได้จากการปรับปรุง ให้เหมาะสมกับปลาในประเทศเขตร้อน ได้แก่ จำนวนปลาที่มีพฤติกรรมหาอาหารตามพื้นน้ำ และจำนวนปลาที่อาศัยกลางน้ำ โดยใช้เกณฑ์คะแนน

5, 3 และ 1 และพบว่าผลรวมดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพที่ใช้ปลาเป็นตัวชี้วัดมีค่าเท่ากับ 38 คะแนน ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ปานกลาง (Rayan and Ngamsnae, 2014)

ดังนั้นการบริหารจัดการทั้งด้านปริมาณและคุณภาพของแหล่งน้ำจึงเป็นเรื่องที่ต้องให้ความสำคัญและต้องมีการทำงานที่รวดเร็วเพื่อการดูแลรักษาและเฝ้าระวังทรัพยากรธรรมชาติทางแหล่งน้ำ รวมถึงวิธีการที่ง่ายขึ้นจากเดิมมีการใช้สารเคมี และเป็นการลดต้นทุนอีกด้วย จึงต้องมีการพัฒนาเทคนิค วิธี Fish Index of Biotic integrity approach (FIBI) มาใช้เพื่อประเมินความอุดมสมบูรณ์ทางด้านชีววิทยาและคุณภาพของสิ่งแวดล้อมของลำธารและแม่น้ำเพื่อเป็นแนวทางในการดูแลทรัพยากรทางน้ำอย่างยั่งยืน

2.3.3 ทำไมต้องเลือกปลาเป็นดัชนีชี้วัด

มีการใช้ปลาเป็นตัวบ่งชี้การเปลี่ยนแปลงระบบนิเวศทางน้ำ สาเหตุหลักมาจากการรวบรวมการจัดการและการระบุตัวตนที่ง่ายตลอดจนความไวต่อการสูญเสียที่อยู่อาศัยและผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ ตามตาราง 1 (Breine *et al.*, 2015; Harrison and Whitfield, 2004; Martinho *et al.*, 2015) การใช้ปลาเป็นดัชนีบ่งบอกได้ถึงแนวโน้มในการเปลี่ยนแหล่งน้ำที่ได้รับผลกระทบสูง เช่น ปากแม่น้ำและทะเลสาบชายฝั่ง (Elliott and Quintino, 2007; Kennish, 2002; Whitfield and Elliott, 2002) ซึ่งประชากรและความอุดมสมบูรณ์ของปลาสามารถเป็นตัววัดถึงความอุดมสมบูรณ์ของแหล่งน้ำและระบบนิเวศ โดยที่ความอุดมสมบูรณ์ของประชากรและความหลากหลายจะลดลงเมื่อได้รับผลกระทบจากกิจกรรมของมนุษย์ เช่น การตัดไม้ทำลายป่า การเพิ่มพื้นที่ทางด้านการเกษตรกรรม และการพัฒนาของชุมชนเมือง จากการปนเปื้อนและปัจจัยภายนอกและการเปลี่ยนแปลงของแหล่งที่อยู่อาศัยของลำธารและแม่น้ำ (สิทธิพัฒน์ และคณะ 2553) จากการเปลี่ยนแปลงที่รวดเร็ว หมายถึงการเสื่อมโทรมของแหล่งต้นน้ำ การเปลี่ยนแปลงของลำธาร การชะล้างหน้าดิน การเกิดตะกอนดินทับถม ส่งผลต่อสภาพแวดล้อม แหล่งที่อยู่อาศัย การขาดแคลนแหล่งอาหารของปลาที่ชัดเจน เกิดผลกระทบต่อทั้งระบบโครงสร้างระบบนิเวศทางน้ำ ความอุดมสมบูรณ์ของปลาลดลง โครงสร้างประชาคมของปลาลดลง จำนวนความหลากหลายชนิดและโครงสร้างของสังคมปลาก็จะลดน้อยลงด้วย ดังนั้น การเชื่อมโยงของปัจจัยทั้งหมดเป็นตัวบ่งบอกถึงสุขภาพของระบบนิเวศแหล่งน้ำและคุณภาพของสิ่งแวดล้อม เช่น จากการศึกษาของ (Greenfield and Bart, 2005) ได้รายงานไว้ในลำธาร Elevenmile ในประเทศฟลอริดา ซึ่งได้รับผลกระทบจากน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตกระดาษ ผลที่ตามมาคือจำนวนประชากรน้อยมากเมื่อเทียบกับลำธารอื่น ๆ ที่ไม่ได้รับผลกระทบ และส่งผลกระทบต่อชนิดปลาที่อาศัยอยู่ และจากรายงาน Pérez-Domínguez *et al.* (2012) ได้ทำการศึกษาและตรวจสอบคุณลักษณะเกี่ยวกับปลาสำหรับใช้ในการประเมินสถานะคุณภาพทางนิเวศวิทยาได้ แสดงรายการเมทริกถึง 17 เมทริก โดยดัชนีส่วนใหญ่ได้รับการพัฒนาในสหรัฐอเมริกา และยุโรป

ถึงแม้จะมีการพัฒนาดัชนีที่แตกต่างกัน แต่ความเหมาะสมและความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มปลารวมทั้งความสามารถของแต่ละดัชนีและตัวชี้วัดในการตอบสนองต่อแรงกดดันจากกิจกรรมของมนุษย์แตกต่างกัน (Pasquaud *et al.*, 2013) ดังนั้นจึงมีการปรับปรุงเพิ่มเติมเพื่อเชื่อมโยงแรงกดดันกับการตอบสนองของดัชนีต่างๆ (Pérez-Domínguez *et al.*, 2012) และมีการพัฒนาต่อเนื่องตลอดหลายปีที่ผ่านมา (Lepage *et al.*, 2016) แต่ยังไม่มีการพัฒนามากนักสำหรับภูมิภาคเขตร้อน และยังไม่มีความชัดเจน (Souza and Vianna, 2020) เนื่องจากขาดการศึกษางานด้านนี้ ดังนั้น จำเป็นต้องมีเครื่องมือตรวจสอบที่มีประสิทธิภาพโดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศกำลังพัฒนาในเขตร้อนขึ้นเนื่องจากพื้นที่เหล่านี้มีความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากมนุษย์ (da Silva Jr *et al.*, 2016; Kennish, 2002)

โดยสรุปคือเหตุผลในการเลือกใช้ปลา เพื่อเป็นตัวแทนของการประเมินความอุดมสมบูรณ์ของแหล่งน้ำ เนื่องจาก ปลา เป็นสิ่งมีชีวิตที่ขนาดใหญ่ในแหล่งน้ำ มองเห็นชัดเจน มีอายุยาวนาน มีการเคลื่อนที่ และมีคุณสมบัติหลายอย่างที่สามารถเป็นตัวชี้วัดคุณภาพแหล่งน้ำ มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อได้รับผลกระทบจากกิจกรรมของมนุษย์ บ่งบอกถึงความสมบูรณ์ทางชีวภาพได้ รวมถึงความสามารถในการตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงที่คาดการณ์ได้ทั้งปัจจัยที่ไม่สามารถทำได้เช่นที่อยู่อาศัยและคุณภาพน้ำ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 คุณสมบัติของปลาสำหรับการประเมินดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพ

เป้าหมาย	คุณสมบัติ
การประเมินที่ถูกต้อง	<ul style="list-style-type: none"> - กลุ่มประชากรแต่ละกลุ่มยังคงอยู่ในพื้นที่เดียวกันในฤดูร้อน - กลุ่มประชากรมีการเปลี่ยนแปลงน้อยหรือฟื้นคืนกลับเร็วจากการรบกวนของธรรมชาติ - สามารถเปรียบเทียบแต่ละกลุ่มในขนาดที่แตกต่างกันในแต่ละช่วงเวลาได้ - ปลาที่มีขนาดใหญ่และมีความเสี่ยงจากการเปลี่ยนแปลงของแหล่งที่อยู่อาศัย น้อยกว่าสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก ทำให้ปลามีประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับการประเมินความแตกต่างแต่ละพื้นที่และที่อยู่อาศัย - ปลาส่วนใหญ่มีช่วงชีวิตที่ยืนยาว (2-10 + ปี) และสามารถสะท้อนคุณภาพน้ำทั้งในระยะยาวและปัจจุบัน - ปลาอาศัยอยู่ในน้ำ ที่มีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพและชีวภาพตลอดเวลา - ปลามีความอดทนสูงและตอบสนองต่อการย่อยสลายทางเคมีกายภาพและชีวภาพ
ความชัดเจน	<ul style="list-style-type: none"> - ปลาเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดใหญ่ในแหล่งน้ำ สังเกตเห็นได้ง่าย - ชนิดของปลาสามารถกำหนดกฎเกณฑ์ในการอนุรักษ์หรือการใช้ประโยชน์ได้
ความสะดวกในการใช้	<ul style="list-style-type: none"> - ง่ายในกว่าการใช้สิ่งมีชีวิตที่อายุสั้น - การจำแนกตัวอย่างง่ายเพราะมีขนาดใหญ่ ซึ่งสามารถจำแนกชนิดได้ในพื้นที่

ดัดแปลงจาก (Plafkin, 1989)

2.3.4 ชีววิทยาบางประการของปลา

ข้อมูลชีววิทยาบางประการของปลาน้ำจืดมีความสำคัญต่อการนำไปใช้ประโยชน์ในการจัดการทรัพยากรแหล่งน้ำ และเนื่องในปัจจุบันความต้องการใช้ทรัพยากรปริมาณเพิ่มขึ้น รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงค่านิยมและพฤติกรรมที่มีต่อสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะในประเทศในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ที่เร่งพัฒนาสาธารณูปโภคพื้นฐานโดยเฉพาะมีการถมดินและพัฒนาแหล่งพลังงานที่ได้จากน้ำ ทำให้เกิดปัญหาการบุกรุกพื้นที่ทำการเกษตร ที่อยู่อาศัย ก่อให้เกิดการทำลายทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม เกิดปัญหาเสื่อมโทรมทางด้านชีวภาพ เกิดการเปลี่ยนแปลงแหล่งแหล่งที่อยู่อาศัยของปลา จำนวนชนิดปลาลดลง เสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ของชนิดหลักบางชนิดที่ส่งผลต่อการสูญพันธุ์ชนิดอื่น ๆ ด้วย (Suvarnaksha, 2011) ดังนั้น การศึกษาข้อมูลชีววิทยาบางประการของปลาที่ยังคงมีน้อยและยังขาดข้อมูลพื้นฐานทางการศึกษาในด้านดังกล่าวค่อนข้างมาก ซึ่งในส่วนของชนิดปลาทุกภูมิภาคของประเทศไทยแต่ละชนิดต่างก็มีความน่าสนใจและยังไม่มีข้อมูลหลายๆด้าน จำเป็นต้องมีการศึกษาข้อมูลพื้นฐานชีววิทยา เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานที่จะสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการจัดการทรัพยากรได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

ปลาพลวงเป็นปลาที่มีการพบในน้ำจืดตามภูมิภาคต่างๆ ของทวีปเอเชีย มีขนาดใหญ่ที่ปรับตัวอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำที่ไหลแรงได้ดี ลำตัวเรียวยาวแบนข้าง หัวเล็ก จะงอยปากยาว และหนวดที่ขากรรไกร

ยาว มักอาศัยอยู่ในบริเวณน้ำตก ต้นน้ำที่มีกระแสน้ำ และในปัจจุบันปลาพลวงเป็นปลาที่มีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจปลาสวยงาม ด้านการบริโภค และการท่องเที่ยว ในทั้ง 3 ด้านนี้ เป็นเหตุให้ชนิดของปลาพลวงมีจำนวนลดลง ส่วนในสถานที่ท่องเที่ยวพฤติกรรมบางอย่างก็มีการเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศของความหลากหลายของชนิดปลาในประเทศไทย (พกา มาศ, 2556)

2.3.5 การพัฒนาและการประยุกต์ใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัด

การกำหนดเมตริกและการประยุกต์ใช้เมตริกสำหรับเป็นดัชนีชี้วัด (Index Biotic Integrity; IBI) ในแหล่งน้ำนิ่ง เช่น อ่างเก็บน้ำ ประเทศในยุโรปซึ่งเป็นกลุ่มแรกที่พัฒนาดัชนีที่ใช้ประเมินสิ่งแวดล้อมทางน้ำในอ่างเก็บน้ำ ซึ่งคำนึงถึงระบบนิเวศที่แตกต่าง เช่น Reservoir Fish Assemblage Index (Jennings *et al.*, 1995) สำหรับอ่างเก็บน้ำที่มนุษย์สร้างขึ้น ซึ่งในประเทศฝรั่งเศสเป็นประเทศแรกในการพัฒนาใช้ ดัชนีปลา (FBI) สำหรับน้ำนิ่ง (Oberdorff *et al.*, 2002) และตามด้วย European Fish Index (Pont *et al.*, 2006; Pont *et al.*, 2007) และมีการพัฒนาตามมาอีกหลายๆ ประเทศ เช่น Fish Assemblage Integrity Index (Kleyhans, 1999) ในแอฟริกาใต้

การประเมินสิ่งแวดล้อมทางทะเล มีการประเมินโดยกำหนดและพัฒนาเมตริกดัชนีชุมชนปลาทะเล (MFCI) ในโปรตุเกส (Henriques *et al.*, 2008) ซึ่งมีความละเอียดอ่อน จึงมีการศึกษาตามลักษณะของระบบนิเวศนั้น ๆ เช่น การประเมินสถานะทางนิเวศวิทยาของแนวหินที่ได้รับผลกระทบจากอิทธิพลของความร้อนและเมืองในบราซิลตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งถือว่าเป็นต้นแบบการประเมินในพื้นที่ขนาดใหญ่และสามารถนำไปใช้ประเมินได้ในเขตภูมิภาคใกล้เคียงกัน (Teixeira-Neves *et al.*, 2016)

ตารางที่ 2 รายชื่อเมตริกที่นิยมใช้

ดัดแปลงมาจาก Ergönül *et al.* (2018) และ Schinegger *et al.* (2013)

Ecological function	metrics	Explanation	Response	References
Species richness and composition	Shannon–Wiener	Diversity index	↓	Stirn <i>et al.</i> (1971)
	Pilou-Evenness		↓	Bellan-Santini (1980)
	Dominance Simpson's Index		↓	Simpson (1949)
	Camargo Index		↓	Camargo (1992)
	Number of species	Number of species caught	↓	Breine <i>et al.</i> (2004)
Condition and abundance	Number of individuals	Expressed as numbers/m ²	↓↑	Breine <i>et al.</i> (2004)
	Biomass	Expressed as g/m ²	↓↑	Breine <i>et al.</i> (2004)
	Age structure	Presence of different length classes	↓	Breine <i>et al.</i> (2004)
Habitat	Benthic	Bottom dwelling species	↓	Hughes <i>et al.</i> (2002)
	Rheophilic	Species preferring flowing water	↓	Breine <i>et al.</i> (2004)
	Eurytopic	Generalistic fish that are tolerant to a wide range of conditions and are found in a broad range of habitats	↑	Pont <i>et al.</i> (2006)
	Limnophilic	Fish preferring stagnant water	↑	Pont <i>et al.</i> (2006)
Residency status	Native	Species naturally occurring and self-sustaining population	↓	Schinegger <i>et al.</i> (2013)
	Invasive	Alien species having a negative effect on native species	↑	Lodge (1993)
	Exotic	Alien species	↑	Schinegger <i>et al.</i> (2013)
Tolerance/resistance	Tolerant to oxygen deficiency	Fish species that can withstand periods of low oxygen concentrations	↑	Belpaire <i>et al.</i> (2000)
	Intolerant to oxygen deficiency	Fish species that always need high oxygen concentrations ([6 mg/l)	↓	Didier (1997)
	Species that need shelter	Habitat should be diverse (pools and riffles, debris, etc.)	↓	Belpaire <i>et al.</i> (2000)
	Species that are habitat sensitive	Sensitive to channelisation, bank protection, dredging, etc.	↓	Mostafavi <i>et al.</i> (2015)

ตารางที่ 2 (ต่อ)

Ecological function	metrics	Explanation	Response	References
Di	Omnivorous	Ingest both plant and animal material by feeding mainly on macrophytes, periphyton, epifauna and filamentous algae	↑	Pont <i>et al.</i> (2006)
	Piscivores	Feed mainly on fish but may include large nektonic invertebrates	↓	Pont <i>et al.</i> (2006)
	Planktivores	Feed predominantly on zooplankton and occasionally on phytoplankton in the water column, mainly by filter feeding.	↓	Hart (1992)
	Hyperbenthivores/ Zooplanktivores	Feed just over the bottom, predominantly either on smaller mobile invertebrates living over the bottom and zooplankton	↓	Pont <i>et al.</i> (2006)
	Hyperbenthivores/Piscivores	Feed just over the bottom, predominantly either on larger mobile invertebrates living over the bottom and fish	↓	Pont <i>et al.</i> (2006)
	Detrivores	Feed on all the small organisms in or on the surface layer of the substratum and associated organic matter	↑	Khalaf and Kochzius (2002)

ตารางที่ 2 (ต่อ)

Ecological function	metrics	Explanation	Response	References
Diet	Omnivorous	Ingest both plant and animal material by feeding mainly on macrophytes, periphyton, epifauna and filamentous algae	↑	Pont <i>et al.</i> (2006)
	Piscivores	Feed mainly on fish but may include large nektonic invertebrates	↓	Pont <i>et al.</i> (2006)
	Planktivores	Feed predominantly on zooplankton and occasionally on phytoplankton in the water column, mainly by filter feeding.	↓	Hart (1992)
	Hyperbenthivores/ Zooplanktivores	Feed just over the bottom, predominantly either on smaller mobile invertebrates living over the bottom and zooplankton	↓	Pont <i>et al.</i> (2006)
	Hyperbenthivores/Piscivores	Feed just over the bottom, predominantly either on larger mobile invertebrates living over the bottom and fish	↓	Pont <i>et al.</i> (2006)
	Detritivores	Feed on all the small organisms in or on the surface layer of the substratum and associated organic matter	↑	Khalaf and Kochzius (2002)
	Microbenthivores	Feed mainly on benthic, epibenthic and hyperbenthic fauna, with prey size <1cm	↓	Gabriels <i>et al.</i> (2010)
	Macrobenthivores Reproductive	Feed mainly on benthic, epibenthic and hyperbenthic fauna, with prey size >1cm	↓	Gabriels <i>et al.</i> (2010)
	Herbivores	Graze predominantly on living macroalgal, macrophyte material	↓	Pont <i>et al.</i> (2006)
			↓ ↑	

ตารางที่ 2 (ต่อ)

Ecological function	metrics	Explanation	Response	References
Reproductive mode	Lithophils	Spawning over gravel without preparing a nest or parental care	↓	Oberdorff and Hughes (1992)
	Phytophils	Fish needing plants to deposit adhesive eggs	↓↑	Pont <i>et al.</i> (2006)
	Ostracophils	Shell dwellers using empty shells for breeding	↓	Didier (1997)
	Phytolithophils	Adhesive eggs released over plants	↓↑	Growns (2004)
	Pelagophils	Free-floating eggs	↓↑	Perkin <i>et al.</i> (2015)
	Polyphils	Non-specialized spawners no preferred habitat	↓	Breine <i>et al.</i> (2008)
	Ariadnophilic	Adhesive eggs deposited within glued nest	↑	Kruk <i>et al.</i> (2017)
Migration guilds	Short range migrations within river “zones”	Freshwater migrants	↓	Pont <i>et al.</i> (2006)
	Intermediate range migrations between river “zones” but within river basin	Freshwater migrants	↓	Pont <i>et al.</i> (2006)
			↓	

หมายเหตุ Response คือ แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของสิ่งมีชีวิตเมื่อได้รับผลกระทบจากกิจกรรมที่ส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศ

แม้ว่าการพัฒนาดัชนีชี้วัดที่แตกต่างกันไปตามแต่ละภูมิภาค แต่ก็ยังมีข้อกังขาเรื่องความเหมาะสมและความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อมนั้นมีการตอบสนองแตกต่างกันจากอิทธิพลของมนุษย์ (Souza and Vianna, 2020)

2.3.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การใช้ดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพจากปลา (F-IBI) ความสำคัญอย่างยิ่งต่อการฟื้นฟูและปกป้องระบบนิเวศในการประเมินสุขภาพของแม่น้ำและทะเลสาบ เช่น การใช้องค์ประกอบของชุมชนปลาตรวจสอบสุขภาพของแหล่งน้ำในทะเลสาบ Shihoudian พบปลาทั้งหมด 30 ชนิด โดย Cyprinidae มี 21 ชนิดคิดเป็น 70% ของจำนวนปลาทั้งหมด โดยทดลองเมทริกทั้งหมด 30 เมทริก

และทดลองใน 3 ฤดูกาล ได้ผลคือฤดูใบไม้ร่วงและฤดูใบไม้ผลิ คะแนนเมตริกแสดงให้เห็นว่า "ดี" ตรงกันข้ามในฤดูร้อนแสดงให้เห็นว่า "ไม่ดี" โดยให้เหตุผลถึงสาเหตุที่ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มประชากรปลา คือการตกปลามากเกินไป มลพิษทางน้ำและสภาพอากาศที่รุนแรง แนวทางแก้ไขคือ ควรมีการกำหนดเขตห้ามจับปลาและฤดูการจับปลา เป็นต้น (Shi *et al.*, 2020)

Liu *et al.* (2020) บ่งชี้ว่าปลาและสัตว์มีกระดูกสันหลังจะถูกใช้เป็นตัวบ่งชี้การเปลี่ยนแปลงเชิงพื้นที่ในระบบนิเวศทางน้ำได้ดีในเขตพื้นที่ เกษตรกรรม agricultural land (AL) รวมทั้งมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงกับคุณภาพน้ำ Total nitrogen (TN), total phosphorus (TP) and chemical oxygen demand (COD) แสดงให้เห็นว่าปลาเป็นดัชนีชี้วัดต่อการเปลี่ยนแปลงเชิงพื้นที่ได้อย่างเพียงพอ เช่นการเปลี่ยนแปลงประเภทการใช้ที่ดินในลุ่มแม่น้ำ Wei River ในประเทศจีน

Cooper *et al.* (2018) ใช้ข้อมูลปลาที่รวบรวมมานานกว่า 5 ปีสำหรับพื้นที่ชุ่มน้ำชายฝั่ง Great Lakes 470 แห่งเพื่อพัฒนาดัชนีหลายเมตริกของความสมบูรณ์ทางชีวภาพ (IBI) โดยการพัฒนา IBI ถูกแบ่งชั้นตามชนิดของพืชในพื้นที่ชุ่มน้ำแต่ละแห่งเพื่ออธิบายถึงความแตกต่างของที่อยู่อาศัย ใช้ชุดข้อมูลแยกต่างหากสำหรับการพัฒนาและทดสอบ IBI ประกอบด้วย 10–11 เมตริก คะแนนของ IBI ทั้งหมดมีความสัมพันธ์อย่างดีกับดัชนีการรบกวน

Petriki *et al.* (2017) ในกรณีศึกษาได้เลือกทะเลสาบธรรมชาติ 11 แห่งที่ตั้งอยู่ทางตอนเหนือและตะวันตกของกรีซ การสำรวจปลาโดยใช้ตาข่าย และเครื่องช็อตไฟฟ้า โดยเมตริกที่เลือกใช้คือ Fish species richness, abundance, trophic, reproductive and habitat functional จัดเมตริกได้ทั้งหมด 107 เมตริกในเบื้องต้น เมื่อวิเคราะห์ดูความเกี่ยวข้องระหว่างเมตริกและพารามิเตอร์ของแหล่งน้ำ เช่น พื้นที่ทะเลสาบความสูงและความลึกสูงสุด ความเป็นกรดต่าง และแรงกดดันจากมนุษย์ (พื้นที่ระบายน้ำที่สร้างขึ้น (NNLC) ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสทั้งหมดในน้ำ (TP) คะแนนการปรับเปลี่ยนที่ทะเลสาบ (LHMS) มีค่าตัวชี้วัด 2 ตัวที่มีผลเชิงตัวเลขสัมพันธ์สอดคล้องกับสภาพแวดล้อมนั้นๆคือ introduced species และ omnivorous species ตอบสนองต่อ LHMS และ TP ตามลำดับ

Breine *et al.* (2015) ได้มีการพัฒนาดัชนีชีวภาพหลายเมตริกโดยใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดสำหรับประเมินอ่างเก็บน้ำโดยวิธีการสุ่มตัวอย่างปลาในวิธีแตกต่างกันจุดมุ่งหมายหลักคือการนำเสนอแนวทางที่สามารถนำไปใช้กับชุดข้อมูลใดก็ได้ เมตริกที่เลือกมีความเกี่ยวข้องเพื่อให้สามารถประเมินผลกระทบจากมนุษย์ที่มีต่อชุมชนปลาได้อย่างเหมาะสมและไม่ซ้ำซ้อน

Wu *et al.* (2014) ประเมินระบบนิเวศลุ่มน้ำ Wei River จาก 40 เมตริกที่ศึกษาพบว่ามี 6 เมตริกที่ไวต่อสิ่งแวดล้อมที่เสื่อมโทรม คือ จำนวนชนิด (number of species), มวลชีวภาพทั้งหมด (total biomass), number of Cobitidae species, proportion of species in the middle and

low tiers, สัดส่วนปลาที่มีความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลง (the proportion of individuals that were classified as sensitive species), number of individuals in the sample.

Schinegger *et al.* (2013) ศึกษาเมตริกของปลาที่มีคุณสมบัติในการแสดงการตอบสนองต่อแรงกดดันที่เฉพาะเจาะจงในแหล่งน้ำที่แตกต่างกันจาก 129 เมตริกที่มีความอดทนและอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลง กับแหล่งที่อยู่อาศัย (habitat) การอพยพ (migration) คุณภาพน้ำที่เสื่อมลง (water quality sensitivity) การสืบพันธุ์ (reproduction) ระดับชั้นน้ำ (trophic level) และ ความหลากหลายทางชีวภาพ (biodiversity) พบว่ามี 17 เมตริกที่ตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อมที่กำหนด 4 เมตริกมีผลต่อคุณภาพน้ำ และ 13 เมตริก เฉพาะสำหรับแม่น้ำแต่ละประเภท จึงจำเป็นต้องเปิดเผยกระบวนการและผลกระทบจากแรงกดดันของมนุษย์ที่มีต่อชุมชนสัตว์น้ำ

Olin *et al.* (2013) ศึกษาการพัฒนาและการประเมินวิธีการจำแนกปลาในทะเลสาบจากฟินแลนด์ โดยเป็นการพัฒนารูปแบบการประเมินแบบเก่าและแบบใหม่ ของ EQR (ecological quality ratio) พบว่ารูปแบบใหม่มีประสิทธิภาพมากกว่าแบบเดิม

Lopa *et al.* (2011) ศึกษาหาวิธีที่เหมาะสมที่สุดในการประเมินสภาพแวดล้อมของแม่น้ำ โดยสำรวจสัตว์น้ำและสภาพแวดล้อมทางกายภาพเพื่อประเมินสภาพสิ่งแวดล้อมของแม่น้ำในแม่น้ำ Kamisaigo เมือง Fukutsu ประเทศญี่ปุ่น โดยใช้ดัชนีปลาที่พัฒนาสำหรับใช้ฟื้นฟูเพื่อปรับปรุงคุณภาพสิ่งแวดล้อมของแม่น้ำ ดัชนีที่ใช้ 16 ตัวโดยกำหนดจากข้อมูลพฤติกรรมและประวัติชีวิต (เช่น อัตราการไหลที่ต้องการสิ่งแวดล้อม การวางไข่) และใช้เมตริกเพื่อเป็นพื้นฐานในโครงการปรับปรุงและฟื้นฟูของแหล่งน้ำที่ เพื่อยังคงประโยชน์รักษาพื้นที่วางไข่ของปลา

Ormerod *et al.* (2010) อธิบายถึงแรงกดดันหลาย ๆ ด้านต่อระบบนิเวศน้ำจืด โดยทั่วไปกรณีศึกษาเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าน้ำจืดอาจมีความเสี่ยงจากกิจกรรมทั้งหลายรูปแบบ ทั้งการใช้ประโยชน์จากน้ำโดยตรง รวมถึงแรงกดดันอื่น ๆ จากกิจกรรมของมนุษย์ ล้วนแล้วส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศทำให้เกิดการศึกษาที่หลากหลายที่เป็นผลกระทบต่อระบบนิเวศน้ำจืดเพื่อทำความเข้าใจตัวการและแนวทางจัดการ

Orrego *et al.* (2009) ความอุดมสมบูรณ์และความหลากหลายของปลาสอดคล้องกับพื้นที่ต่างระดับกัน โดยการศึกษาแบ่งพื้นที่ออกเป็น ส่วนคือ Epirithron Metarithron และ Hyporithron ในส่วนระดับความสูงมากที่สุดจะมีค่าความหลากหลายต่ำและมีสายพันธุ์ที่ไม่อดทนต่อมลพิษ โครงสร้างชุมชนปลาเหล่านี้ได้รับอิทธิพลอย่างมากจากการรบกวนของมนุษย์โดยเฉพาะบริเวณตอนล่างของแม่น้ำ การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่ามีความสำคัญความสัมพันธ์ระหว่างพารามิเตอร์ทั้งหมดที่เป็นได้รับอิทธิพลอย่างมากจากการกำจัดสิ่งปฏิจุลของเมือง Chillan (Fecal Coliforms, ฟอสฟอรัส, ไนโตรเจน, COD, ค่าการนำไฟฟ้า และอุณหภูมิ) ก่อให้เกิดตัวบ่งชี้ทางชีวภาพที่สำคัญการตอบสนองในปลา

Hu *et al.* (2007) ใช้เมตริกเพื่อประเมินสภาพของแหล่งน้ำ กระแสน้ำ ในพื้นที่ที่มีการเปลี่ยนแปลงหรือพัฒนาจากแหล่งน้ำแบบเดิมของอาจารย์ Nan-Shih ในประเทศไต้หวัน โดยใช้ข้อมูลทั้งปลา (IBI) แมลงน้ำ (FBI) และสาหร่าย (GI) เป็นดัชนี โดยปลาเป็นดัชนีหลัก จากนั้นจึงนำดัชนีข้างต้นไปใช้กับดัชนีสภาพกระแสน้ำ (ดัชนี ISC) เพื่ออธิบายสภาพแม่น้ำโดยรวมได้คะแนน ISC คือ 33.89 เป็นค่าต่ำที่บ่งชี้ถึงผลกระทบของโครงสร้างของการปรับปรุงแม่น้ำนั้นที่มีผลต่อการไหลของน้ำอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจาก ความเสื่อมโทรมของที่อยู่อาศัยเกิดขึ้นจากการปรับเปลี่ยนการไหลของน้ำจากการเปลี่ยนแปลงพื้นที่หรือผลกระทบโดยตรงต่อโครงสร้างที่อยู่อาศัยทางกายภาพ

Seilheimer and Chow-Fraser (2006) การพัฒนาและการใช้ดัชนีปลาในพื้นที่ชุ่มน้ำเพื่อประเมินคุณภาพของพื้นที่ชุ่มน้ำชายฝั่งในทะเลสาบ Laurentian Great Lakes โดยใช้ข้อมูลปลาจากพื้นที่ชุ่มน้ำ 40 แห่งของ Laurentian Great Lakes เพื่อพัฒนา Wetland Fish Index (WFI) ซึ่งเป็นเครื่องมือที่สามารถใช้ในการประเมินคุณภาพของบึงชายฝั่งได้ และถือว่าดัชนี WFI มีประโยชน์มากกว่าฟังก์ชันอื่นในฐานะตัวบ่งชี้ผลกระทบจากมนุษย์ต่อความหลากหลายและความสมบูรณ์ของสายพันธุ์

Araujo *et al.* (2003) กำหนดเมตริกเพื่อประเมินคุณภาพ แม่น้ำปารากวัยทางใต้-ตะวันออกของประเทศบราซิล ไหลผ่านความยาว 1,120 กม. กำหนด 11 เมตริก ที่คิดว่ามีผลกระทบเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม คือกลุ่ม Native species, Alien species, Omnivorous, Carnivorous, Intolerant, Tolerant และพบว่ามีความสัมพันธ์กับสิ่งแวดลอมล้อม

2.4 เทคโนโลยีการตรวจหาร่องรอยทางดีเอ็นเอของปลาในสิ่งแวดล้อม (Environmental DNA (eDNA))

โครงสร้างกลุ่มชุมชนปลาสามารถตอบสนองการรบกวนจากกิจกรรมมนุษย์ได้เกือบทุกประเภทรวมถึงการเสื่อมลงของคุณภาพน้ำและการเปลี่ยนแปลงที่อยู่อาศัย (Ormerod, 2003) เริ่มตั้งแต่ทศวรรษ 1970 ดัชนีชีวภาพจากปลาหลายชนิดถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางเพื่อประเมินคุณภาพทางนิเวศวิทยาของแม่น้ำและส่วนใหญ่จะขึ้นอยู่กับดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพ (Karr, 1981) การใช้ดัชนีชี้วัดหรือเมตริกกับสภาวะอ้างอิงเป็นแนวทางเบื้องต้น โดยเมตริกแต่ละภูมิภาคมีความแตกต่างกันตามโครงสร้างของปลาในระบบนิเวศนั้น ๆ การประเมินคะแนนแต่ละครั้งคะแนนที่ได้สะท้อนถึงสุขภาพทางนิเวศวิทยา (Harrison and Whitfield, 2006; Schmutz *et al.*, 2007) เนื่องจากลักษณะทางชีววิทยาและดัชนีปลาส่วนใหญ่ที่นำไปใช้สอดคล้องกับข้อกำหนดของ WFD ในยุโรป (Costa and Schulz, 2010) และปลาก็เป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถระบุชนิดได้อย่างรวดเร็วแตกต่างจากกลุ่มสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง (Pont *et al.*, 2021) การสุ่มตัวอย่างด้วยวิธีแบบดั้งเดิม เช่น Electrofishing ซึ่งเป็นวิธีการสุ่มตัวอย่างที่แนะนำอย่างเป็นทางการสำหรับสำรวจปลาในแม่น้ำแม่น้ำ

โดย WFD (Pont *et al.*, 2021) แต่วิธีการดังกล่าวต้องใช้พนักงานจำนวนมากและบุคลากรต้องมีคุณสมบัติเหมาะสม อีกทั้งมีค่าใช้จ่ายสูง (Borja and Elliott, 2013) นอกจากนี้วิธีการ Electrofishing ไม่สามารถเกิดขึ้นได้ในน้ำที่มีการนำไฟฟ้าต่ำ (Allard *et al.*, 2014)

Electrofishing เป็นวิธีการล่าสัตว์อย่างที่มีประสิทธิภาพและเป็นที่ยอมรับ แต่มีข้อจำกัดเรื่องความยากลำบากในการล่าสัตว์และความน่าจะเป็นในการตรวจจับสิ่งมีชีวิตที่หายาก (MacKenzie *et al.*, 2005) หากเป็นแม่น้ำสายเล็กวิธีการดังกล่าวมีความเหมาะสม (Pont *et al.*, 2021) หากเป็นแม่น้ำที่มีขนาดกว้างใหญ่นั้น ไม่มีเครื่องมือชนิดใดที่เหมาะสมสำหรับการล่าสัตว์อย่างเชิงปริมาณในแหล่งที่อยู่อาศัยทั้งหมดที่มีอยู่ หากจะใช้วิธีการแบบเดิมจะสามารถเก็บตัวอย่างในพื้นที่บริเวณต้นเขินหรือบริเวณชายฝั่งเท่านั้น (Zajicek and Wolter, 2018) ซึ่งแสดงถึงงบประมาณหรือค่าใช้จ่ายที่สูงสำหรับวิธีการแบบเดิม (Pont *et al.*, 2018; Zajicek and Wolter, 2018) ปัจจุบันการทำ Electrofishing ถือเป็นวิธีการที่เหมาะสมที่สุด แต่ในทางปฏิบัติจำเป็นต้องมีการผสมผสานของเครื่องมือหลายประเภทเพื่อประเมินความอุดมสมบูรณ์ของสายพันธุ์ทั้งหมดในแหล่งน้ำนั้นได้อย่างถูกต้อง (Casselmann *et al.*, 1990; Zajicek and Wolter, 2018) และเพิ่มค่าใช้จ่ายอย่างมากเช่นกัน (Pont *et al.*, 2021)

การประเมินความสมบูรณ์ของแหล่งน้ำโดยใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดนั้นต้องพยายามล่าสัตว์อย่างถูกต้องและแม่นยำ (Pont *et al.*, 2021) การล่าสัตว์อย่างในสายพันธุ์ที่หายากยังคงเป็นประเด็นที่ถกเถียงกันถึงความสามารถในการเก็บตัวอย่างที่ขัดแย้งในการอนุรักษ์ไว้ (Guareschi *et al.*, 2017; Poos and Jackson, 2012) โดยเฉพาะเมทริกกลุ่มปลาที่มีความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลงและกลุ่มปลาหายากนั้น มีความยากและมีปริมาณน้อยต่อการล่าสัตว์อย่างมีผลต่อคะแนนสุดท้ายของ IBI โดยเฉพาะในแหล่งน้ำขนาดใหญ่ยิ่งต้องมีความพยายามอย่างมากในการล่าสัตว์อย่างปลาเหล่านี้ (Dolph *et al.*, 2010; Wan *et al.*, 2010) เนื่องจากกลุ่มปลาเหล่านี้มีความสำคัญต่อการประเมินทางชีวภาพ (Pont *et al.*, 2021)

Environmental DNA (eDNA) คือ ร่องรอยทางดีเอ็นเอของสัตว์ที่หลงเหลืออยู่ในสิ่งแวดล้อม ทั้งจากเซลล์ผิวของเสียจากร่างกาย และสารอินทรีย์อื่น ๆ (Barnes and Turner, 2016; Ficetola *et al.*, 2008) ในสภาพสิ่งแวดล้อมทางน้ำ eDNA จะมีความเจือจางและกระจายตามกระแสน้ำในแหล่งน้ำนั้น ๆ ขึ้นอยู่กับกิจกรรมตลอดจนชีววิทยา ชีวประวัติของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ (Barnes and Turner, 2016; Goldberg *et al.*, 2016) และจะใช้เวลาประมาณ 7-21 วัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อม (Dejean *et al.*, 2011) การได้รับรังสี UVB ความเป็นกรด ความร้อน และสามารถทำให้ eDNA เสื่อมสลายลงไปได้ ดังนั้น eDNA สามารถตรวจจับและจำแนกชนิดพันธุ์ซึ่งได้มาจากผิวหนัง เมือก และร่างกายที่เน่าเปื่อยของสิ่งมีชีวิตขนาดใหญ่ (Barnes and Turner, 2016; Bohmann *et al.*, 2014; Taberlet *et al.*, Coissac *et al.*, Hajibabaei *et al.*, 2012) ถึงแม้ว่าวิธีการ

ดังกล่าวเป็นวิธีการสำรวจแบบใหม่ แต่ eDNA นั้นมีศักยภาพมหาศาลในการตรวจสอบงานทางชีววิทยา (Zou *et al.*, 2019) และมีความก้าวหน้าเพียงพอที่จะอนุญาตให้มีการประยุกต์ใช้ในการประเมินระบบนิเวศวิทยาต่าง ๆ ที่ใช้ eDNA (Pont *et al.*, 2021)

การศึกษางานด้านความหลากหลายและความอุดมสมบูรณ์ทางชีวภาพแบบเดิมคือการสำรวจโดยใช้เครื่องมือทางการประมงแบบดั้งเดิม เช่น ตาข่าย อวนลาก หรือกระแสไฟฟ้า เป็นต้น ซึ่งวิธีการดังกล่าวทำให้เกิดการรบกวนหรือทำลายที่อยู่อาศัยของสิ่งมีชีวิตทั้งหมดในแหล่งน้ำ และด้วยวิธีการนี้สามารถกำหนดเป้าหมายสิ่งมีชีวิตที่แตกต่างกันไปตามความต้องการศึกษาได้ (Pont *et al.*, 2021) นอกจากนี้ eDNA ยังสามารถตรวจจับสิ่งมีชีวิตที่หายากแต่ยังไม่สามารถระบุข้อมูลคุณภาพของกลุ่มประชากร เช่น อัตราส่วนเพศ ขนาด วัย หรืออื่น ๆ ได้ ซึ่งข้อมูลด้านชีววิทยาชีวประวัติ การศึกษาแบบดั้งเดิมจะมีความเหมาะสมมากกว่า (Goldberg *et al.*, 2016) ถึงแม้ว่าการใช้ประโยชน์จากวิธีการ eDNA จะไม่สามารถตอบโจทย์เรื่องทางชีววิทยาของสิ่งมีชีวิตได้ทั้งหมด แต่มีประโยชน์อย่างมากในการตรวจสอบหาชนิดที่ใกล้สูญพันธุ์ และกลุ่มสัตว์ต่างถิ่นได้เป็นอย่างดี (Zou *et al.*, 2019)

2.4.1 DNA คืออะไร

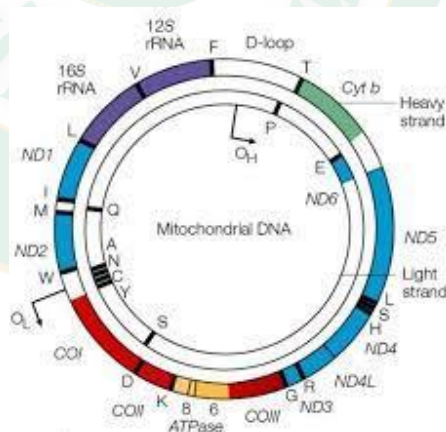
ดีเอ็นเอ (Deoxyribonucleic acid: DNA) คือ ชื่อย่อของสารพันธุกรรม ที่พบในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด ทำหน้าที่ในการเก็บข้อมูลทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่ง ๆ เอาไว้ ซึ่งมีลักษณะที่มีการผสมผสานมาจากสิ่งมีชีวิตรุ่นก่อน ซึ่งก็คือ รุ่นพ่อและแม่ ทั้งยังสามารถถ่ายทอดลักษณะไปยังสิ่งมีชีวิตรุ่นถัดไป ซึ่งก็คือรุ่นลูก หรือรุ่นหลาน สารพันธุกรรมทั้งหมดที่อยู่ภายในเซลล์ (Genome) เป็นข้อมูลทางพันธุกรรมที่ทำให้สิ่งมีชีวิตนั้นดำรงชีพอยู่ได้อย่างเป็นระบบโดยหน่วยพื้นฐานทางพันธุกรรมที่ถูกถอดรหัสสำหรับการสร้างโปรตีนเรียกว่า ยีน (Gene)

ดีเอ็นเอ (DNA) เป็นสารประกอบเป็นสารประกอบพวกกรดนิวคลีอิก (Nucleic acid) พบภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด ได้แก่ พืช สัตว์ มนุษย์ และแบคทีเรีย ภายในเซลล์ของพืชและสัตว์จะพบดีเอ็นเอได้ 2 แหล่ง คือ ดีเอ็นเอในนิวเคลียส (Nuclear DNA) และดีเอ็นเอที่อยู่ภายนอกนิวเคลียสซึ่งเป็นดีเอ็นเอที่พบในไมโทคอนเดรีย โดยสัตว์มีดีเอ็นเออยู่ในไมโทคอนเดรีย (Mitochondria) (ศิวกพร, 2555) โครงสร้างดีเอ็นเอ (DNA) มีลักษณะคล้ายบันไดเวียน (Double Helix) โดยมีพอลินิวคลีโอไทด์ (Polynucleotide) 2 สาย เรียงตัวในแนวที่ตรงกันข้ามกัน พอลินิวคลีโอไทด์ (Polynucleotide) สายหนึ่งเรียงตัวในทิศทางจาก 3' ไป 5' ส่วนอีกสายเรียงตัวในทิศทาง 5' ไป 3' โดยทั้ง 2 สายนี้ เอาส่วนที่เป็นน้ำตาลดีออกซีไรโบส (Deoxyribose Sugar) ไว้ด้านนอก หันส่วนที่เป็นเบสเข้าหากัน โดยเบสที่อยู่ตรงข้ามกันต้องเป็นเบสที่เข้าคู่กันได้ (Complementary) ทำให้ดีเอ็นเอ (DNA) มีลักษณะคล้ายบันไดลิงที่บิดตัวทางขวา ราวของบันไดแต่ละข้างก็คือการเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์ (Nucleotide) ซึ่งเป็นโมเลกุลที่ประกอบด้วยน้ำตาลดีออกซีไรโบส (Deoxyribose Sugar), หมู่ฟอสเฟต (Phosphate Group) (ซึ่งประกอบด้วยฟอสฟอรัสและออกซิเจน) และไนโตร

จีนัสเบส (Nitrogenous Base) โดยเบสในนิวคลีโอไทด์มีอยู่ 4 ชนิด คือ อะดีนีน (Adenine, A) , กัวนีน (Guanine, G) ซึ่งเป็นสารประกอบพวกพิวรีน (Purine) ส่วนอีกพวกเป็นสารประกอบพวกไพริมิดีน (Pyrimidine) คือ ไซโตซีน (Cytosine, C), ไทมิน (Thymine, T) และซาหรือราวของบันไดสองข้างถูกเชื่อมด้วยเบส โดยที่ A จะเชื่อมกับ T ด้วยพันธะไฮโดรเจนแบบพันธะคู่ (Double Bonds) และ C จะเชื่อมกับ G ด้วยพันธะไฮโดรเจนแบบพันธะสาม (Triple Bonds) (www.thaibiotech.info)

2.4.2 ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ (Mitochondrial DNA; mtDNA)

ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ คือ ดีเอ็นเอที่อยู่ในไมโทคอนเดรีย มีลักษณะเป็นวงกลมปลายปิดสายคู่ (Circular Double-Stranded) เป็นดีเอ็นเอที่มีขนาดเล็ก ซึ่งไมโทคอนเดรียทำหน้าที่เหมือนเป็นโรงงานผลิตพลังงานสำหรับใช้ภายในเซลล์จากกระบวนการหายใจระดับเซลล์ (Cellular respiration) ในเซลล์ของมนุษย์และในสัตว์ส่วนใหญ่ ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอมีความยาวประมาณ 16,568 คู่เบส หรือประมาณร้อยละ 0.001 ของดีเอ็นเอทั้งหมดในเซลล์หนึ่งเซลล์ที่มีจำนวนคู่เบสทั้งหมดถึง 3 ล้านคู่เบส ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ 1 วง มีทั้งบริเวณที่ทำหน้าที่ในการถอดรหัสยีนทำหน้าที่ในกระบวนการหายใจระดับเซลล์ และส่วนที่ไม่มีการถอดรหัส ที่เรียกว่า D-loop หรือคอนโทรล รีเจียล (Control region) ในส่วนของยีนที่ทำหน้าที่ในการถอดรหัสนั้นสามารถถอดรหัสได้ทั้งหมด 37 ยีน ในจำนวนนี้มี 13 ยีน ที่สามารถแปลรหัสไปเป็นโปรตีน เช่น ยีนไซโตโครม บี (Cytochrome b) ไซโตโครม อ อ ก ซี เด ส (Cytochrome oxidase) และ เอ ที พี ซิน เทส (ATP synthase) (ภาพที่ 2.4) (สุทัศน์, 2554)



ภาพที่ 5 โครงสร้างของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ

ที่มา: (Taylor and Turnbull, 2005)

ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอมีคุณสมบัติที่แตกต่างจากนิวเคลียร์ดีเอ็นเอ (Nuclear DNA) หลายประการ ซึ่งในไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ มีความแปรผันสูงกว่านิวเคลียร์ดีเอ็นเอจึงพบความหลากหลายของนิวคลีโอไทด์ในไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอสูงระหว่างสิ่งมีชีวิตต่างชนิดกัน ใน

ขณะเดียวกันความผันแปรเหล่านั้นเกิดขึ้นน้อยมากระหว่างสมาชิกของสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกัน เนื่องจากกลไกธรรมชาติในการควบคุมความผันแปรในลำดับเบสส่วนนี้เพื่อรักษาสภาพและองค์ประกอบของโปรตีนให้คงที่และไม่ให้ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต คุณสมบัติดังกล่าวนี้มีความสำคัญในการนำมาใช้จำแนกสิ่งมีชีวิตต่างชนิดออกจากกันได้อย่างน่าเชื่อถือ นอกจากนี้ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอมีจำนวนชุดต่อเซลล์มาก ในขณะที่นิวเคลียร์ดีเอ็นเอมีเพียง 2 ชุด (Diploid Cell) ทั้งนี้จำนวนชุดของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ ในแต่ละเซลล์ยังมีความแตกต่างกันด้วย ขึ้นอยู่กับ ประเภทของเซลล์นั้น ๆ ในเซลล์ที่ต้องการพลังงานมากจะมีไมโทคอนเดรียมาก ส่งผลให้จำนวน ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอมากขึ้นด้วยเป็นสัดส่วน เช่น เซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย จำนวนไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอมีมากกว่า 100,000 ชุด เซลล์ร่างกายมีประมาณ 200-1,700 ชุด เป็นต้น แต่โดยเฉลี่ยแล้วในเซลล์ หนึ่ง ๆ จะมีจำนวนไมโทคอนเดรียลจำนวนประมาณ 400-500 ชุด ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมภายนอกมากกว่านิวเคลียร์ดีเอ็นเอ จึงถูกรักษาสภาพได้ดีกว่าและมีอัตราการเสื่อมสภาพน้อยกว่า ทั้งนี้ เนื่องจากโครงสร้างของไมโทคอนเดรียที่เป็นเยื่อหุ้มสองชั้นช่วยในการป้องกันการเสื่อมสภาพของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ (ฐิติกา และ ภูวดล, 2556)

Environmental DNA (eDNA) สามารถสกัดจากตัวอย่างสิ่งแวดล้อมได้ เช่นในดิน น้ำ และอากาศ โดยไม่แยกสิ่งมีชีวิตเป้าหมายหรือชิ้นส่วนออกจากตัวอย่าง eDNA สามารถมีได้ในหลายสถานะตามความต่อเนื่องจากสิ่งมีชีวิตทั้งหมด (เช่นตัวอ่อนของจุลินทรีย์หรือจุลินทรีย์เซลล์เดี่ยว) ไปจนถึงโมเลกุลดีเอ็นเอที่เป็นเยื่อหุ้มพิเศษที่ "อิสระ" ซึ่งไม่ผูกติดกับอนุภาคอื่น ๆ (Turner *et al.*, 2015)

2.4.3 การตรวจหาสิ่งมีชีวิตด้วย eDNA

eDNA ถูกสร้างขึ้นโดยการรวมกันของการผลิตเซลล์ผิวหนึ่ง การขับถ่ายหรือการสลายตัวของสิ่งมีชีวิตที่ตายแล้ว DNA นี้สามารถอยู่ภายในเซลล์ (ยังคงมีอยู่ภายในเซลล์ซึ่งประกอบด้วย eDNA ที่สามารถตรวจพบได้ หรือ ปล่อยออกมาจากเซลล์ การที่ DNA จะถูกย่อยสลายขึ้นอยู่กับปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม โดย eDNA ถูกขนส่งหรือล่องลอยไปรอบ ๆ ในสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่ไหลเร็วเช่นในน้ำ ดังนั้นจึงมีการศึกษาและทำความเข้าใจว่ามีร่องรอย eDNA หลงเหลือในแหล่งน้ำหรือทะเลสาบ มีความมากน้อยขนาดไหน ซึ่งการวิจัยเบื้องต้นชี้ให้เห็นว่า eDNA สามารถเคลื่อนที่ไปมาได้ระหว่างไม่กี่เมตรและอาจจะหลายกิโลเมตรภายใต้เงื่อนไขบางประการในสภาพแวดล้อมที่มีการแพร่กระจายมันจะยากที่จะแยกออก ชนิดจากการขนส่ง eDNA จากแหล่งที่อยู่ต้นน้ำเวกเตอร์อื่น ๆ ของการขนส่ง eDNA อาจรวมถึงสัตว์น้ำหรือเรือที่มนุษย์สร้างขึ้นเช่นเรือ (Littlefair *et al.*, 2021)

การคงอยู่ของ eDNA ไม่ว่าจะเกิดจากผลกระทบของจุลินทรีย์ ความร้อน UV เอนไซม์และความเป็นกรด ล้วนเร่งการย่อยสลายของ eDNA ซึ่งในการหาปริมาณอัตราการย่อยสลายได้มีการศึกษาในห้องปฏิบัติการที่กำจัดสิ่งมีชีวิตออก (mesocosms) และการตรวจวัดหาสายพันธุ์ใน

ภายหลังด้วย eDNA รวมทั้งมีการศึกษาในสภาพแวดล้อมทางน้ำที่มีการควบคุม เช่น ในบ่อทดลอง ชี้ให้เห็นว่า eDNA ยังคงอยู่เป็นเวลา 2 สัปดาห์ถึง 2 เดือน และเมื่อสิ่งมีชีวิตสูญพันธุ์ไปแล้วนั้นพบ eDNA อยู่ในตะกอนและดินได้นานกว่าในน้ำ ดังนั้น นอกจากการหลงเหลือดีเอ็นเอในแหล่งน้ำแล้วยังพบในตะกอนดินที่มีปริมาณที่มากเช่นกัน

2.4.4 DNA Barcode

เครื่องหมายดีเอ็นเอบาร์โค้ด (DNA barcodes) คือ การใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เรียงตัวอยู่บนบริเวณดีเอ็นเอมาตรฐานหรือบริเวณอนุรักษ์หรือในยีนบางชนิดของสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดสั้น ๆ มาช่วยในการสนับสนุนการจัดจำแนกชนิดของสิ่งมีชีวิต (ตุจฤติ, 2556) นอกจากนี้ความคล้ายคลึงหรือความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์จากสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ยังมีความเชื่อมโยงกับความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ เหล่านั้น ถูกต้อง (พรณรงค์, 2554) ซึ่งการทำ DNA barcode มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้เป็นเครื่องมือช่วยในการระบุสิ่งมีชีวิต และมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีนักอนุกรมวิธานในการสร้างระบบอ้างอิงที่ถูกต้อง (พรณรงค์, 2554) และสำหรับบริเวณที่ใช้เป็น DNA barcode นั้นต้องมี คุณสมบัติ 3 ประการ ได้แก่

1. ลำดับนิวคลีโอไทด์ของจีโนมที่มีความแตกต่างมากพอที่จะทำให้แยกสิ่งมีชีวิตต่างชนิดกันออกจากกันได้แต่ต้องมีความแตกต่างภายในชนิดเดียวกันต่ำมากหรือไม่มีเลย
2. เป็นดีเอ็นเอที่มีบริเวณอนุรักษ์ที่สามารถให้ไพรเมอร์ที่เป็น universal primer เข้ามาจับเพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณนั้นด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ได้
3. มีขนาดที่เหมาะสมประมาณ 500 - 800 คู่เบส (base pair; bp)

โดยหลักการของดีเอ็นเอบาร์โค้ด เริ่มจากการศึกษาของการเรียงตัวสารพันธุกรรมพื้นฐานของสิ่งมีชีวิต หรือนิวคลีโอไทด์ 4 แบบ ได้แก่ อะดีนีน (Adenine, A), ไทมีน (Thymine, T), ไซโตซีน (Cytosine, C) และกัวนีน (Guanine, G) โดยการจัดเรียงนิวคลีโอไทด์พื้นฐานเพียงสี่แบบหรือยีนส์ (gene) ที่แตกต่างกันไป ทำให้เกิดความหลากหลายของรหัสพันธุกรรม จนเป็นที่มาของการทำรหัสบาร์โค้ด โดยช่วงดีเอ็นเอที่จะใช้เป็นบาร์โค้ดนั้นต้องเป็นช่วงดีเอ็นเอที่ผ่านการตกลงและยอมรับ (standardized genetic loci) ให้เป็นบาร์โค้ดของสิ่งมีชีวิต เช่น COI (cytochrome c oxidase subunit1) ได้รับการยอมรับให้เป็น universal DNA barcode สำหรับสัตว์ (พรณรงค์, 2554) ปัจจุบันดีเอ็นเอบาร์โค้ดกลายเป็นเครื่องมือสำคัญอย่างหนึ่งที่น่ามาประยุกต์ใช้กับงานหรือการศึกษาทางด้านความหลากหลายทางชีวภาพ (biodiversity)

กระบวนการทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดมีขั้นตอนโดยสรุปดังนี้

1. การเก็บตัวอย่างที่ต้องการทำบาร์โค้ด นำมาตรวจสอบยืนยันสปีชีส์ (reference)
2. กระบวนการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอส่วนบาร์โค้ดด้วยเทคนิค PCR และการวิเคราะห์ลำดับเบสของดีเอ็นเอบาร์โค้ดในห้องทดลอง

3. การเตรียมฐานข้อมูลสำหรับจัดเก็บและเชื่อมโยงระหว่างซีเอสพีซีส์กับดีเอ็นเอบาร์โค้ด
4. การวิเคราะห์ลำดับเบสของตัวอย่างที่ต้องการศึกษา แล้วนำไปเปรียบเทียบกับบาร์โค้ดในฐานข้อมูลเพื่อหาซีเอสพีซีส์ที่มีลำดับเบสใกล้เคียงที่สุด

2.4.5 วิธีการวิเคราะห์ eDNA

2.4.5.1) การเก็บตัวอย่าง

วิธีที่นิยมใช้มากคือการแยก eDNA จากตัวอย่างน้ำโดยการกรองและตกตะกอน ซึ่งการตกตะกอนเกี่ยวข้องกับการเก็บน้ำที่ทำการเก็บมีปริมาณเล็กน้อยถึงปริมาณที่มากขึ้นอยู่กับแหล่งน้ำ โดยผ่าน ผ่านเซลลูโลสไนเตรต หรือกระดาษกรองใยแก้ว

2.4.5.2) การสกัดดีเอ็นเอ

การสกัดดีเอ็นเอมีการใช้ชุดเครื่องมือในการสกัดดีเอ็นเอรวม เช่น Qiagen Blood และ Tissue และชุด Powersoil และ Powerwater จาก MoBio รวมทั้งการสกัดโดย CTAB-chloroform และ phenol-chloroform ยังมีการใช้เช่นเดียวกันเนื่องจากมีราคาถูกสามารถลดต้นทุนได้

2.4.5.3) เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)

ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอไรเซชัน หรือ polymerase chain reaction (PCR) เป็นเทคนิคพื้นฐานทางอณูชีววิทยา (molecular biology) ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม หรือ DNA ในหลอดทดลอง จากปริมาณ DNA ที่ใช้เป็นแม่แบบ (DNA template) เพียงเล็กน้อย จนได้ผลผลิตเป็นพันล้านโมเลกุล (สมาคมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทย และสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2548) โดยอาศัยองค์ประกอบต่าง ๆ ได้แก่ ดีเอ็นเอแม่แบบ (DNA template) deoxynucleotide triphosphate (dNTPs) ทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ อะดีนีน (adenine, A) กัวนีน (guanine, G) ไซโตซีน (cytosine, C) ไธมีน (thymine, T) ดีเอ็นเอสายเริ่มต้นขนาดสั้นๆ (primer) แมกนีเซียมคลอไรด์ (MgCl₂) บัฟเฟอร์ เอนไซม์ดีเอ็นเอพอลิเมอไรเซชัน (DNA polymerase)

ในส่วนของปฏิกิริยาการสังเคราะห์ดีเอ็นเอจะเป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นต่อเนื่องซ้ำ ๆ กันหลายรอบ โดยแต่ละ รอบมี 3 ขั้นตอน ดังนี้

(1) การแยกสาย DNA แม่แบบ (denaturation) ใช้อุณหภูมิสูง 94-95 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 30-60 วินาที เพื่อให้ DNA คลายเกลียวคู่ออกจากกันเป็นสายเดี่ยว และทำหน้าที่เป็นแม่แบบในการสังเคราะห์ DNA

(2) การจับของสายไพรเมอร์ (primer annealing) ใช้อุณหภูมิประมาณ 50-65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา ประมาณ 30-60 วินาที เพื่อให้ไพรเมอร์เข้าจับกับ DNA แม่แบบในบริเวณที่ลำดับเบสคู่กัน

(3) การสังเคราะห์ DNA สายใหม่โดยการต่อสายไพรเมอร์ (primer extension) ใช้อุณหภูมิ 70-75 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 30-120 วินาที ขึ้นอยู่กับความยาวของ DNA ที่ต้องการเพิ่มจำนวน ขั้นตอนนี้ เอนไซม์ DNA polymerase จะทำหน้าที่นำเบส (A, T, C, G) ที่เข้าคู่กับ DNA แม่แบบมาต่อเข้าที่ปลายของสายไพรเมอร์ทั้งสองเพื่อให้ได้ DNA สายใหม่ ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นซ้ำ ๆ ประมาณ 25-40 รอบ โดยสาย DNA ที่สังเคราะห์ขึ้นในแต่ละรอบจะถูกใช้เป็นแม่แบบในการสังเคราะห์ DNA สายใหม่ในรอบต่อ ๆ ไป ซึ่งเกิดขึ้นโดย การนำหลอดทดลองที่มีส่วนผสมของสารดังกล่าวข้างต้นเข้า “เครื่องเพิ่มปริมาณ DNA อัตโนมัติ” Thermal cycle หรือ PCR machine ผลผลิต DNA ที่ได้หลังจบปฏิกิริยาจะเพิ่มเป็นทวีคูณตามจำนวนรอบ ซึ่งคำนวณได้ เท่ากับ 2^n โดย n เท่ากับจำนวนรอบที่ทำปฏิกิริยา (สมาคมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทยและสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2548)

2.4.5.4) การตรวจวัดปริมาณดีเอ็นเอ (DNA Quantification)

การตรวจวัดปริมาณดีเอ็นเอโดยการใช้เครื่อง NanoDrop spectrophotometer อาศัยหลักการแรงดึงดูด ทำให้ตรงสารตัวอย่างไว้ระหว่าง Optical Surface ด้านบนและด้านล่างเพื่อให้แสงผ่านสารตัวอย่าง สามารถ วัดการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นไม่น้อยกว่า 190-840 นาโนเมตร

สามารถวิเคราะห์โดยหดยดสาร ตัวอย่าง 1-2 ไมโครลิตร เครื่องจะคำนวณ และแสดงผลการตรวจวัดทันที วัดสารละลายดีเอ็นเอที่ความยาวคลื่น 260 nm โดยทั่วไปความเข้มข้นของ Double strand DNA 50 ug/ml จะดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 nm (A_{260}) = 1 โดยมี Blank เป็นสารละลายที่ใช้ละลายดีเอ็นเอ

การตรวจความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอ (DNA purity) สามารถหาได้จากค่า การดูดกลืนแสง A_{260} / A_{280} ค่าความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอ ควรมีค่าอยู่ไม่ต่ำกว่า 1.8-2.0 ซึ่งถ้าต่ำกว่านี้แสดงว่ามีการปนเปื้อนของโปรตีนสูง หรือค่าสูง กว่า 2.0 แสดงถึงการปนเปื้อน RNA ซึ่งอาจต้องนำดีเอ็นเอนี้ไปทำ purify ซ้ำอีกครั้ง

การแยกขนาดดีเอ็นเอโดยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส (Gel Electrophoresis) คือ เป็นเทคนิคที่ใช้แยกโมเลกุลของสารที่มีประจุออกจากกันโดยใช้ กระแสไฟฟ้า โดยให้สารที่มีประจุนั้นเคลื่อนที่ผ่านตัวกลางชนิดหนึ่งในสารละลาย สารที่ประจุต่างกันจะเคลื่อนที่ไปในทิศทางตรงกันข้าม นอกจากประจุแล้วอัตราการเคลื่อนที่ก็ยังขึ้นอยู่กับขนาด รูปร่างโมเลกุลแรงเคลื่อนไฟฟ้าและตัวกลางที่ใช้ด้วย ซึ่งโมเลกุลของดีเอ็นเอประกอบด้วยหมู่ฟอสเฟตจำนวนมาก สารละลายของดีเอ็นเอจึงมีประจุเป็นลบที่ pH เป็นกลาง เมื่ออยู่ในสนามไฟฟ้าโมเลกุลของดีเอ็นเอจะเคลื่อนที่จากขั้วลบไปยังขั้วบวก เนื่องจากหมู่ฟอสเฟตเป็นส่วนประกอบของนิวคลีโอไทด์ทุกชนิด ดีเอ็นเอที่มีขนาดโมเลกุลเล็กจะมีหมู่ฟอสเฟตอยู่น้อยกว่าโมเลกุลขนาดใหญ่ ดังนั้นจะพบว่าประจุต่อมวลโมเลกุลของดีเอ็นเอทุกขนาดมีค่าเท่ากัน ความเร็วในการเคลื่อนที่ของโมเลกุลดีเอ็นเอจึงขึ้นอยู่กับขนาดเป็นส่วนใหญ่อย่างไรก็ตามมีปัจจัยอื่นที่มีผลต่อการเคลื่อนที่ของโมเลกุลดีเอ็นเอด้วย

2.4.5.5) ลำดับดีเอ็นเอ (DNA Sequencing)

กระบวนการอ่านลำดับของนิวคลีโอไทด์ภายในโมเลกุลดีเอ็นเอการจัดลำดับเมตาบาร์โค้ดจะเกิดขึ้นบนแพลตฟอร์มการจัดลำดับปริมาณงานสูง (เช่น IonTorrent, Illumina, PacBio) บางครั้งเรียกอีกอย่างว่าเทคโนโลยีการจัดลำดับรุ่นต่อไปแพลตฟอร์ม Illumina สร้าง การอ่านประมาณ 25 ล้านครั้งต่อการรันและหารด้วยจำนวนตัวอย่างที่มีอยู่ดังนั้นการเพิ่มจำนวนตัวอย่างในการรันจะลดความครอบคลุมของการจัดลำดับซึ่งหมายความว่าอาจพลาดลำดับที่หายากได้

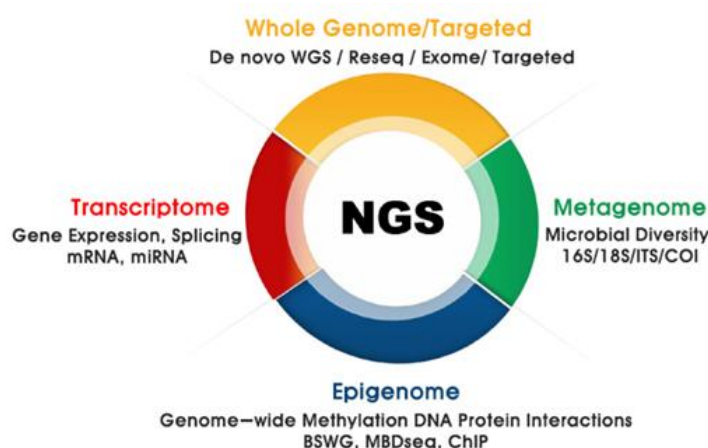
2.4.6 เทคโนโลยี Next generation sequencing

ในปัจจุบันการศึกษาหาลำดับเบสทั้งหมดของสารพันธุกรรมดีเอ็นเอ (DNA sequence) มีความก้าวหน้าอย่างมาก มีการพัฒนาเทคนิคใหม่ๆทำให้สามารถหาลำดับเบสได้รวดเร็วยิ่งขึ้น (กิตติพัฒน์ และคณะ 2558) การตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing) โดยทั่วไปจะใช้เทคนิคการตรวจที่อาศัยหลักการของ Sanger sequencing (first generation sequencing) ซึ่งถูกค้นพบในปี 1977 (ณัฐณี, 2556) เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ (output) ไม่สูง ถึงแม้ว่าจะมีความถูกต้อง (accuracy) สูงก็ตาม เนื่องจากใช้เวลาในการตรวจนานและไม่สามารถตรวจลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน

มาก ๆ พร้อมกันได้ เพราะการทำ Sanger sequencing สามารถทำได้ทีละ 1 ตัวอย่างของดีเอ็นเอสายสั้น ๆ ถ้าต้องการตรวจหลายตัวอย่างหรือดีเอ็นเอหลายตำแหน่ง (หลาย exon หรือ หลายยีน) จำเป็นต้องทำ sequencing หลาย ๆ ครั้ง ทำให้ค่าใช้จ่ายสูงขึ้นตามจำนวนการตรวจ (ณัฐินี, 2556) ดังนั้นในช่วง 10 ปีที่ผ่านมา จึงมีการพัฒนาและนำเอาวิธีการจัดลำดับเบสแบบใหม่มาใช้ ซึ่งวิธีใหม่นี้มีความสามารถในการหาลำดับเบส ในปริมาณที่มากกว่า (high-throughput) ทำได้หลายตัวอย่างในเวลาเดียวกัน (multiplexing) และ มีความไวในการตรวจหาการกลายพันธุ์ของ DNA สูงกว่า (high sensitivity) ซึ่งวิธีนี้เรียกรวม ๆ ว่า Next Generation Sequencing (NGS) หรือ second generation sequencing หรือเทคนิควิเคราะห์ลำดับเบสรุ่นใหม่ (Grada and Weinbrecht, 2013; ณัฐินี, 2556) วิธีการนี้เป็นเทคโนโลยีการหาลำดับเบสที่พัฒนาขึ้นมาใหม่ ซึ่งมีความสามารถในการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งจีโนม (genome) ของสิ่งมีชีวิตได้อย่างรวดเร็วภายในครั้งเดียว และมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้วิธีการนี้ยังสามารถหาลำดับนิวคลีโอไทด์โดยไม่ต้องรู้ลำดับนิวคลีโอไทด์มาก่อนได้ ทำให้ได้ข้อมูลลำดับเบสจำนวนมากที่มีต้นทุนค่าใช้จ่ายที่ถูกลง และเป็นเทคนิคที่นำมาใช้สำหรับงานวิจัยปัจจุบันอย่างแพร่หลาย เพื่อศึกษาหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของสารพันธุกรรมทั้งหมดของสิ่งมีชีวิตที่สนใจ ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญที่สุดในการศึกษาทางด้านจีโนมิกส์ (Genomic) (Wilantho *et al.*, 2012) เทคโนโลยี NGS มีการพัฒนาด้วยวิธีการหลากหลาย เช่น การเพิ่มจำนวนสายดีเอ็นเอแบบ PCR โดยไม่ต้องหยุดกระบวนการใช้ chain termination แบบ Sanger sequencing แต่ทำให้การอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์เกิดขึ้นไปพร้อม ๆ กับการสร้างสาย DNA ด้วย PCR ส่งผลให้การอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์เกิดขึ้นได้ตลอดเวลา เกิดขึ้นพร้อม ๆ กัน และเกิดขึ้นจำนวนมากหลายตำแหน่งในเวลาเดียวกัน (massively paralleled sequencing)) จากคลังดีเอ็นเอ (DNA library) ต้นแบบที่เตรียมโดยปฏิกิริยา PCR ทำให้ได้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวนมากในเวลาอันรวดเร็ว (อารีย์รัตน์)

Next generation sequencing (NGS) ที่ใช้ในปัจจุบันได้แก่ การหาลำดับเบสของ RNA คือ Transcriptome (RNA-sequencing), การศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรีย Metagenomic sequencing (Metagenome) การหาลำดับเบสของสารพันธุกรรมทั้งหมด Whole genome sequencing (WGS), การเลือกอ่านเฉพาะลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วน เช่น Exome sequencing, Targeted Sequencing และ panel sequencing และรูปแบบ NGS มีหลากหลายขึ้นกับบริษัทที่พัฒนาเทคโนโลยี โดยเครื่องมือต่าง ๆ มีหลักการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันไป เช่น LifeTechnologies Ion Torrent Personal Genome Machine (PGM), Illumina MiSeq.454/Roche, และ SOLiD/Life Technology (ABI) (Wilantho *et al.*, 2012) ซึ่งแต่ละรูปแบบจะเหมาะต่อการนำไปใช้ในงานที่แตกต่างกัน โดยแต่ละรูปแบบจะแตกต่างในเรื่องการเตรียมคลังดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA library preparation), การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอสำหรับวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์, ความแตกต่างของข้อมูลความยาวลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ และอัตราความผิดพลาด (error

rate) ของข้อมูลที่ได้ (อารีย์รัตน์) เทคโนโลยี NGS เป็นเทคนิคที่นำมาใช้ในงานวิจัยปัจจุบันอย่างแพร่หลาย เพื่อศึกษาหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของสารพันธุกรรมทั้งหมดของสิ่งมีชีวิตที่สนใจ ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญที่สุดในการศึกษาทางด้านจีโนมิกส์ (genomic) เทคโนโลยี NGS ที่ใช้ในปัจจุบันได้แก่



ภาพที่ 6 NGS applications

(<https://www.gibthai.com>) (ภาพจาก NGS applicatios)

(1) Whole Genome Sequencing (WGS) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งจีโนม (genome) ในสิ่งมีชีวิต ซึ่งประกอบด้วยทั้งส่วน coding region (exon) และ non-coding region ใช้ในการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สมบูรณ์ในสิ่งมีชีวิต (complete DNA) ไม่ว่าจะเป็น chromosomal DNA ที่มีส่วนประกอบของ DNA จาก mitochondria ที่ได้จากสัตว์ หรือส่วนของ chloroplast ที่ได้จากพืช โดยใช้ข้อมูลที่อ่านได้มาวิเคราะห์หาความสมบูรณ์ของข้อมูลและนำไปวิเคราะห์หา species ต่อไป แต่ปัจจุบันการทำ WGS ยังมีค่าใช้จ่ายสูงมาก ข้อมูลที่ได้มีจำนวนมากจึงต้องใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์ข้อมูลนาน และข้อมูลที่ได้โดยเฉพาะการเปลี่ยนแปลงของลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วน non-coding region ซึ่งส่วนมากมักอธิบายความสำคัญค่อนข้างยากเนื่องจากเป็นส่วนของดีเอ็นเอที่ไม่ได้ถูกแปลรหัสไปเป็นโปรตีน

(2) Transcriptome sequencing (RNA-seq) เป็นการศึกษาลำดับ RNA ทั้ง coding อย่าง mRNA และ non coding RNA เช่น small RNA อย่าง miRNA, siRNA, piwiRNA ของสิ่งมีชีวิต โดยเป็นการศึกษาการทำงานที่หลากหลายของยีน เช่น mRNA sequencing เป็นการเปรียบเทียบรูปแบบการแสดงออกของยีน, การจำแนก regulatory RNA และ gene fusion, การวิเคราะห์หา SNPs ในการศึกษา transcriptome resequencing หรือการค้นหาตำแหน่งของยีนที่ไม่ทราบมาก่อน เป็นต้น ปัจจุบันเทคนิค RNA-seq นำมาใช้ประโยชน์หลัก ๆ ได้แก่ เพื่อจัดแบ่งกลุ่ม transcript

ทั้งหมดในเซลล์ตามชนิดของสิ่งมีชีวิต ซึ่งครอบคลุมถึง mRNA, non-coding RNA และ small RNA, เพื่อจำแนกโครงสร้างของยีนในระดับ transcription ในส่วนของตำแหน่ง promoter ของยีนในรูปแบบของ splicing และการเกิด post-transcriptional modification และเพื่อศึกษาปริมาณระดับการแสดงออกของยีน ในระดับ transcription

(3) Epigenomic sequencing เป็นการตรวจสอบ epigenetic modification ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงที่มีผลต่อการแสดงออกของยีน แต่ไม่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของลำดับ DNA ด้วยสมบัติของ epigenetic modification ส่วนใหญ่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ DNA methylation และ histone รวมถึงการควบคุมแสดงออกของยีน

(4) Metagenome Sequencing เป็นการศึกษาจีโนมของจุลินทรีย์ทั้งหมดที่มีอยู่ในแหล่งที่อยู่ตามธรรมชาติ เช่น จุลินทรีย์ในดิน จุลินทรีย์ในน้ำ เป็นต้น โดยไม่จำเป็นต้องแยกและเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แต่ละชนิดขึ้นมา ข้อมูลที่ได้นี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการศึกษาความหลากหลายและความสัมพันธ์ของจุลินทรีย์ เพื่อนำไปสู่การค้นพบสารหรือยีนใหม่

เทคโนโลยี NGS แม้จะทำให้การตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ทำได้อย่างรวดเร็วและลดค่าใช้จ่ายทั้งหมดเมื่อเปรียบเทียบกับเทคนิค Sanger sequencing ซึ่งต้องตรวจทีละส่วนของดีเอ็นเอ แต่อย่างไรก็ตามเทคโนโลยี NGS ยังมีข้อจำกัด คือเครื่องมือมีราคาแพง ต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญในการวิเคราะห์ผล และไม่สามารถตรวจการขาดหายหรือเกินมาขนาดใหญ่ได้เช่นเดียวกับข้อจำกัดของเทคนิค Sanger sequencing รวมทั้งยังมีผลบวกและผลลบปลอมได้เนื่องจากเทคโนโลยี NGS จำเป็นต้องมีการเพิ่มจำนวนของดีเอ็นเอตัวอย่างด้วยวิธี PCR ให้มากพอก่อน ซึ่งการทำ PCR มีโอกาสที่จะทำให้เกิดความผิดพลาดของลำดับนิวคลีโอไทด์และทำให้ผลการตรวจไม่ถูกต้องได้ และหลักการของเทคโนโลยี NGS ยังมีข้อผิดพลาดของการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ค่อนข้างสูง ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตรวจพบด้วยเทคโนโลยี NGS จะต้องยืนยันผลด้วยเทคนิค Sanger sequencing เสมอ (อารีรัตน์) ประโยชน์โดยรวมหลักของการใช้ NGS เมื่อเทียบกับวิธีเก่าคือ ค่าใช้จ่ายที่ ลดลงในระยะยาวและข้อมูลที่เพิ่มขึ้นต่อตัวอย่าง ซึ่งค่าใช้จ่ายเฉลี่ยของการหาลำดับเบสโดยใช้ NGS ต่อ ตัวอย่างจะยิ่งต่ำลงอีกเมื่อมีจำนวนตัวอย่างที่มากขึ้นต่อการทำงานของเครื่องหนึ่งครั้ง แต่ปริมาณข้อมูลที่มากขึ้นก็อาจทำให้เกิดปัญหาในการวิเคราะห์ข้อมูลและแปลผลได้ (ณัฐณี, 2556)

2.4.7 ข้อดีและประโยชน์ของการทำดีเอ็นเอบาร์โค้ด

(1) ชิ้นส่วนดีเอ็นเอ (eDNA) สามารถคงอยู่ได้เป็นเวลาหลายวันถึงหลายพันปีขึ้นอยู่กับความเข้มข้นเริ่มต้นและสภาวะการย่อยสลาย (Levy-Booth *et al.*, 2007) เช่น Dejean *et al.* (2011) รายงานว่าชิ้นส่วนดีเอ็นเอของปลา sturgeon ขนาด 98 bp คงสภาพที่ 8–11°C นานกว่า 1 เดือน ซึ่งมีการศึกษาก่อนหน้านี้แสดงให้เห็นว่าชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ 400 bp อยู่รอดได้ถึง 7 วัน ที่ อุณหภูมิ 18 °

C (Matsui *et al.*, 2001) และโดยปกติขนาดชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ 100-200 bp สามารถที่จะตรวจสอบกลุ่มสิ่งมีชีวิตได้ (Thomsen and Willerslev, 2015)

- (2) ระยะหรืออายุของตัวอย่างไม่มีผล
- (3) สามารถจำแนกสิ่งมีชีวิตที่มีลักษณะคล้ายกันแต่ต่างสปีชีส์ออกจากกันได้โดยง่าย
- (4) ช่วยการค้นพบสิ่งมีชีวิตสปีชีส์ใหม่ ๆ

(5) การตรวจหาร่องรอยของสัตว์น้ำประจำถิ่นหรือสัตว์น้ำใกล้สูญพันธุ์ ซึ่งการใช้เทคโนโลยีการตรวจหาร่องรอยทางดีเอ็นเอของสัตว์ที่หลงเหลืออยู่ในสิ่งแวดล้อม หรือ eDNA เพื่อศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของสัตว์น้ำจากตัวอย่างน้ำ สามารถทราบถึงจำนวนสิ่งมีชีวิตที่ต้องการทราบว่ายังคงมีอยู่ในแหล่งน้ำนั้น ๆ และทำให้พบการดำรงอยู่ของปลาที่พบเฉพาะถิ่นที่มีความเสี่ยงขั้นวิกฤติต่อการสูญพันธุ์ (Critically endangered) ที่จำเป็นต่อการศึกษาเพื่อทำความเข้าใจถึงแหล่งที่อยู่อาศัยและการแพร่กระจายของชนิดพันธุ์ดังกล่าวเพื่อทำการอนุรักษ์พันธุ์อย่างเร่งด่วน ซึ่งสิ่งมีชีวิตทุกชนิดพันธุ์จะมีการทิ้งร่องรอยสารพันธุกรรมหรือดีเอ็นเอไว้ในสิ่งแวดล้อม ทั้งจากเซลล์ผิวของเสียจากร่างกาย และสารอินทรีย์อื่น ๆ และด้วยการตรวจหาร่องรอยทางดีเอ็นเอของเทคโนโลยี eDNA จากตัวอย่างน้ำ และนำมาเปรียบเทียบกับข้อมูลในฐานข้อมูลทางพันธุกรรมและสามารถสร้างแผนภาพแสดงความหลากหลายทางชีวภาพบริเวณลุ่มแม่น้ำนั้น ๆ ในแต่ละช่วงเวลาและสถานที่ของการเก็บตัวอย่างได้ในที่สุด

- (6) การตรวจหาร่องรอยของสัตว์น้ำต่างถิ่นหรือรุกราน

eDNA เป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพในการตรวจจับสัตว์น้ำที่มีผลกระทบต่อสัตว์น้ำท้องถิ่นโดยมิได้มีการศึกษาในกลุ่มปลาคาร์พ ในเอเชีย (Jerde *et al.*, 2011) และ American bullfrogs (Dejean *et al.*, 2012) นอกจากนี้ยังมีการใช้ ใช้เทคโนโลยี eDNA ในการตรวจสอบชนิดพันธุ์ปลา คือ bighead (*Hypophthalmichthys nobilis*) และปลา silver (*Hypophthalmichthys molitrix*) ซึ่งเป็นปลาที่มีผลกระทบต่อสัตว์น้ำท้องถิ่นใน Great Lakes ตั้งแต่ปีพ. ศ. 2552 มีการรวบรวมตัวอย่าง 2822 ตัวอย่าง จากอ่างเก็บน้ำเพื่อจำกัด และจากการตรวจสอบร่องรอยของดีเอ็นเอจากปลาดังกล่าวเพื่อที่จะเฝ้าระวัง และปกป้องปลาท้องถิ่นไม่ให้สูญพันธุ์นั่นเอง (Jerde *et al.*, 2011) เทคโนโลยีดังกล่าวนี้มีประสิทธิภาพการตรวจหาร่องรอยดีเอ็นเอ ของพันธุ์หายากรวมทั้งสายพันธุ์พื้นเมืองที่ใกล้สูญพันธุ์ และตรวจสอบความหนาแน่นของประชากร การกระจายตัว ทำให้สามารถระบุและปกป้องแหล่งที่อยู่ รวมทั้งแหล่งวางไข่ ที่มีความสำคัญต่อการอยู่รอดของปลา (Jerde *et al.*, 2011)

(7) ดีเอ็นเอบาร์โค้ดสามารถนำไปใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของปลา โดยการสร้างแผนภูมิต้นไม้ (Phylogenetic tree) จากลำดับนิวคลีโอไทด์ ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ต่างๆ เช่น โปรแกรม MEGA, Genetyx, PHYLIP ด้วยวิธี Neighbour-joining (NJ), Unweighted

Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA), Maximum Parsimony (MP), Maximum Likelihood (ML) หรือ Bayesian Analysis ซึ่งผลที่ได้สามารถจำแนกปลาออกเป็นกลุ่มๆ สอดคล้องกับระบบอนุกรมวิธาน และยังมีการนำไปศึกษาการใช้ ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน COI และ 12S rRNA ในการจำแนกชนิดปลาในแม่น้ำอะเมซอนที่มีชื่อท้องถิ่น เรียกต่างกัน พบว่า ยีนทั้งสองนี้มีประสิทธิภาพสูงในการจำแนกชนิด และทำให้ทราบชื่อวิทยาศาสตร์ของปลาได้และความสามารถของยีน 12S rRNA สามารถจำแนกได้ถึงชนิดย่อย (intraspecies) (Ardura *et al.*, 2010)



ตารางที่ 3 การพิจารณาประสิทธิภาพด้านต้นทุนของการตรวจสอบทางชีวภาพด้วย eDNA และการสำรวจทางสิ่งแวดล้อมวิทยาโดยกว้าง ๆ ประเมินการต้นทุนตามสัดส่วนสำหรับแต่ละพื้นที่

Cost efficiency	considerations eDNA	Morphological survey
ต้นทุน	ค่าใช้จ่ายสูงสำหรับเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์ สามารถลดค่าใช้จ่ายโดยร่วมมือกับหน่วยงานรัฐ หรือเอกชน	รูปแบบเฉพาะ ค่าใช้จ่ายสูงในการเตรียมการสำหรับพื้นที่ห่างไกล
ตัวอย่าง	ราคาไม่แพง และขึ้นอยู่กับวิธีการเก็บตัวอย่างว่าเก็บน้ำหรือเก็บตัวอย่างดิน	ปานกลาง
การประมวลผลตัวอย่าง	ปานกลาง - สูง. ขึ้นอยู่กับวัสดุสิ้นเปลือง ต้นทุนในการจัดลำดับดีเอ็นเอ และการวิเคราะห์ผลที่จำเป็นต้องใช้ข้อมูลมหาศาล	อาจจะราคาไม่แพงสำหรับสารเก็บตัวอย่างและอุปกรณ์ที่ใช้ในเก็บรักษาตัวอย่าง การประมวลผลตัวอย่างคือ ไม่เสียค่าใช้จ่าย
บุคลากร	ปานกลาง ขึ้นอยู่กับความเชี่ยวชาญ	ปานกลาง - สูงขึ้นอยู่กับความเชี่ยวชาญเฉพาะด้านและต้องมีความละเอียดทางอนุกรมวิธาน

ดัดแปลงมาจาก Littlefair *et al.* (2021)

2.4.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องจากการใช้ประโยชน์ด้าน eDNA

Li, F. *et al.* (2018) ประยุกต์ใช้ Metabarcoding ของ DNA เพื่อสำรวจแรงกดดันจากกิจกรรมของมนุษย์ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างชุมชน โดยมีความแม่นยำ 97% ซึ่งการศึกษาครั้งนี้สามารถบอกองค์ประกอบสิ่งมีชีวิตในน้ำที่มีผลต่อโครงสร้างสัมพันธ์กัน คือ กลุ่ม bacteria, protist, metazoan และ combine แสดงให้เห็นว่าวิธีการ eDNA สามารถใช้เพื่อประเมินโปรคาริโอตและยูคาริโอตได้หลากหลายจากสภาพแวดล้อมที่หลากหลาย

Valentini *et al.* (2016) ได้ทดสอบประสิทธิภาพการใช้ metabarcoding DNA (eDNA) เปรียบเทียบกับการสำรวจแบบดั้งเดิมหรือข้อมูลในอดีต โดยวิธีดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงความน่าจะเป็นในการตรวจจับที่ดีกว่ามาก คือสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกความน่าจะเป็นในการตรวจจับด้วย eDNA metabarcoding คือ 0.97 (CI = 0.90–0.99) เทียบกับ 0.58 (CI = 0.50–0.63) สำหรับการสำรวจแบบเดิม ส่วนปลา 89% ของพื้นที่เก็บตัวอย่างมีประสิทธิภาพในการตรวจจับชนิดได้ดีกว่าวิธีแบบดั้งเดิมเช่นกัน และยืนยันว่าแนวทางที่ใช้ดีเอ็นเอมีศักยภาพที่จะกลายเป็นเครื่องมือสำหรับการศึกษาทางนิเวศวิทยาและการตรวจสอบความหลากหลายทางชีวภาพที่เป็นมาตรฐานในระบบนิเวศทางน้ำที่หลากหลายได้ดี

Evans *et al.* (2016) ทดสอบประสิทธิภาพของการใช้ eDNA โดยการทดลองในระบบปิดในปลาและสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำที่เป็นตัวบ่งชี้สุขภาพของระบบนิเวศและวิธีการจัดลำดับความสำคัญและประเมินกลยุทธ์การจัดการเปรียบเทียบกับวิธีการประเมินทางชีวภาพทางน้ำแบบดั้งเดิมที่อาศัยการจับสิ่งมีชีวิตผ่านอวนกับดักและอุปกรณ์ตกปลาโดยทั่วไปมีความน่าจะเป็นในการตรวจจับสัตว์น้ำหายากต่ำและส่งผลกระทบต่อสัตว์คุ้มครอง โดยใช้ยีน 6 ยีน จัดลำดับโดย Illumina เพื่อวัดความหลากหลายของสายพันธุ์ได้

Turner *et al.* (2015) ทดสอบสมมติฐานที่ว่าร้อยละดีเอ็นเอ มีความเข้มข้นในตะกอนผิวดินมากกว่าในน้ำ โดยการวัดความเข้มข้นของ eDNA ในบ่อทดลองและแม่น้ำธรรมชาติ พบว่าดีเอ็นเอตกตะกอนสะสมในดินเมื่อวัดปริมาณมาปริมาณมากกว่าในน้ำถึง 5 เท่าของน้ำ เพื่อเป็นแนวทางใหม่ในการศึกษาการเก็บตัวอย่างที่ได้ปริมาณมาก

Chen *et al.* (2015) การตรวจประเมินความหลากหลายของปลาในกลุ่มน้ำสาละวิน (Salween River) ที่เชื่อมต่อกับแม่น้ำจูเจียง (Nujiang River) จากจีน โดยใช้ eDNA ในการตรวจจับ โดยได้ตัวอย่างดีเอ็นเอบาร์โค้ด 1139 ตัวอย่าง 5 orders, 10 families, 31 genera และ 46 species แบ่งเป็นกลุ่ม 16 endemic species, 9 exotic invasive species และกลุ่มที่มีการแพร่กระจายวงกว้าง การศึกษาครั้งนี้สามารถสร้างไลบรารีโค้ดดีเอ็นเอที่เชื่อถือได้ และทราบความหลากหลายของปลาประจำถิ่นสามารถเป็นรูปแบบในการพัฒนาในการจัดการสิ่งแวดล้อมของกลุ่มน้ำ Nujiang River ต่อในอนาคต

Deiner *et al.* (2015) ใช้เมตาบาร์โค้ดของความหลากหลายทางชีวภาพโดยใช้ 16S สำหรับยูแบคทีเรียและไซโตโครมซีออกซิเดส I (COI) สำหรับยูคาริโอต โดยใช้เทคโนโลยี next generation sequencing ซึ่งเปรียบเทียบการสกัดด้วย ในรูปแบบการสกัดดีเอ็นเอเพื่อดูประสิทธิภาพสำหรับรูปแบบการเก็บและสกัดตัวอย่าง

Minamoto *et al.* (2012) ใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลสำหรับเป็นแนวทางใหม่ลดค่าแรงและมีประสิทธิภาพสำหรับ การดูแลสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะองค์ประกอบของปลาในแหล่งน้ำจืด โดยทดลองเก็บตัวอย่างในอควาเรียม โดยใช้ไพรมอร์และการขยาย eDNA ด้วยไพรมอร์ที่ย่อยสลายแล้วนำมาประยุกต์ใช้ในพื้นที่จริง แต่มีสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ อีกมากมายควรอาศัยอยู่ในพื้นที่ตัวอย่างและต้องปรับปรุงวิธีการเพื่อตรวจจับสิ่งมีชีวิตมากขึ้นโดยการผสมผสานเทคนิคอื่น ๆ เช่น DGGE, T-RFLP, microarray หรือ high-throughput sequencing นอกจากนี้ในสภาพแวดล้อมที่น้ำไหลสิ่งมีชีวิตที่ปล่อยดีเอ็นเออาจอาศัยอยู่ในบริเวณที่ห่างไกลจากสถานที่เก็บตัวอย่าง

2.4.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องจากการใช้ประโยชน์ด้านไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ

จิรพรรณ และคณะ (2560) ศึกษาการระบุชนิดสัตว์ด้วยไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ D-loop โดยใช้ไพรมอร์ที่ออกแบบด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์เปรียบเทียบกับบริเวณอนุรักษ์ในไมโตคอนเดรีย

ของสัตว์ คือ 12S และ 16S พบว่าสามารถเพิ่มขึ้นส่วนของดีเอ็นเอได้เฉพาะ 12S และ 16S สามารถนำมาใช้ในการระบุชนิดของสัตว์ได้

อรจิรา (2556) ศึกษาจีโนมไมโทคอนเดรียของปลากัดป่าภาคกลาง *Betta splendens* พบจีโนมไมโทคอนเดรียมีขนาด 16,982 คู่เบส ประกอบด้วย 13 ยีน ที่ แพลรหัสเป็นโปรตีน, 2 ยีนอาร์อาร์เอ็นเอ, 1 control region และ 22 ยีนที่อาร์เอ็นเอ ผลการวิเคราะห์ยีนที่แพลรหัสเป็นโปรตีนทั้งหมดพบว่า ปลากัดป่าภาคกลางมีความหลากหลายของโคดอนตั้งต้น (start codon) มากกว่าปลาในกลุ่มปลาช่อน *Channa argus* และ *C. maculata* ซึ่งเป็นชนิดใกล้เคียงกันอยู่ในอันดับย่อย Channoidei ความหลากหลายของโคดอนตั้งต้นนี้อาจเกิดขึ้นในอันดับย่อย Anabantoidei แยกจากบรรพบุรุษร่วมกับอันดับย่อย Channoidei นอกจากนี้การเปรียบเทียบความเหมือนกันของลำดับนิวคลีโอไทด์ใน 13 ยีน ที่แพลรหัสเป็นโปรตีน ระหว่างปลากัดป่าและปลาช่อนทั้ง 2 ชนิด พบว่ายีน ATPase8 มีความเหมือนกันในระดับต่ำที่สุด ดังนั้น ยีน ATPase8 สามารถนำมาใช้ในการแยกกลุ่มอันดับย่อย Anabantoidei และอันดับย่อย Channoidei ได้

ประดิพันธ์ (2556) ทำการหาลำดับเบสลำดับนิวคลีโอไทด์ของจีโนมไมโทคอนเดรียในปลาการ์ตูนอานม้า (*Amphiprion polymnus*) ซึ่งมีความยาว 16,903 คู่เบส ประกอบด้วย ยีนที่แพลรหัสเป็นโปรตีน 13 ยีน โรโบโซมอลอาร์เอ็นเอ 2 ยีน และทรานสเฟอรัอาร์เอ็นเอ 22 ยีน โดยมีลำดับของยีนบนจีโนมไมโทคอนเดรียเหมือนกับปลาในวงศ์ Pomacentridae เมื่อเปรียบเทียบความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์กับปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) และปลาการ์ตูนสองแถบ (*A. bicinctus*) พบว่ายีน ND6 มีลำดับนิวคลีโอไทด์แตกต่างมากที่สุด ส่วนยีน COIII มีลำดับนิวคลีโอไทด์เหมือนกันมากที่สุด จึงแสดงว่ายีน ND6 อาจใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ของปลาในวงศ์ Pomacentridae ได้เหมาะสมที่สุด

Zhong *et al.* (2018) ทำการหาลำดับเบสลำดับนิวคลีโอไทด์ของจีโนมไมโทคอนเดรียในปลาบู *R. cliffordpopei* ซึ่งมีความยาว 16,511 คู่เบส ประกอบด้วย ยีนที่แพลรหัสเป็นโปรตีน 13 ยีน ทรานสเฟอรัอาร์เอ็นเอ 22 ยีน และโรโบโซมอลอาร์เอ็นเอ 2 ยีน และส่วน control region โดยมีลำดับของยีนบนจีโนมไมโทคอนเดรียเหมือนกับปลาบู *R. giurinus* ที่อยู่ในสกุลเดียวกัน

Zeng *et al.* (2019) การหาลำดับเบสลำดับนิวคลีโอไทด์ของจีโนมไมโทคอนเดรียในปลาที่ใกล้สูญพันธุ์ *Anabarilius liui yalongensis* ขนาด 16,608 bp และยีนทั้งหมดแสดงการจัดเรียงยีนตามแบบฉบับที่สอดคล้องสัตว์มีกระดูกสันหลัง ลำดับ cytochrome c oxidase subunit I (COI) ของ *A. liui yalongensis* และ 21 สายพันธุ์จาก 14 สกุลถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์สายวิวัฒนาการใกล้เคียงกัน *A. grahami*

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 การศึกษาทางด้านชีววิทยา

3.1.1 การเก็บตัวอย่างปลาพลวงจากแม่น้ำว่า จังหวัดน่าน ระยะเวลา 1 ปี และผ่าตรวจดูอวัยวะภายในช่อง เพื่อศึกษาความแตกต่างระหว่างเพศ และอัตราส่วนระหว่างเพศ ตามวิธีการของ (Snedecor and Cochran, 1969) และนำตัวอย่างของอวัยวะสืบพันธุ์ที่คัดเลือกไว้มาเตรียมตามวิธีมาตรฐานของ (Humason, 1962) โดยนำตัวอย่างที่แช่ในสารละลายของ bouin อย่างน้อย 24 ชั่วโมงมาตัดเนื้อเยื่อ ความหนาของเนื้อเยื่อที่ใช้ไม่เกิน 0.5 เซนติเมตร ในกรณีที่เนื้อเยื่อมีส่วนของกระดูกแทรกอยู่จะนำมาแช่น้ำยา decalcification solution นาน 1-3 ชั่วโมง จากนั้นนำมาล้างน้ำประปาไหลนาน 20-30 นาทีจึงนำไปแช่ในน้ำยา Na_2SO_4 ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลานาน 4-5 ชั่วโมง เพื่อปรับความเป็นกรดต่างแล้วนำไปผ่านน้ำไหลอีกครั้งประมาณ 10 นาทีจึงนำไปสู่ขั้นตอนการดึงน้ำออกจากเนื้อเยื่อโดยใช้แอลกอฮอล์และไซลีน และตรึงเนื้อเยื่อของตัวอย่างในพาราฟินด้วยเครื่อง Tissue processor จากนั้นนำตัวอย่างที่แช่เย็นจนเนื้อพาราฟินแข็งตัวมาตัดด้วยเครื่องมือโครโตมโดยให้ความหนาของตัวอย่างประมาณ 3-6 ไมครอน นำแผ่นตัวอย่างไปลอยน้ำที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ใช้แผ่นสไลด์ซ้อนตัวอย่างที่สมบูรณ์ไปวางบนเครื่องอุ่นสไลด์ทิ้งไว้อย่างน้อย 3 ชั่วโมงก่อนนำไปย้อมสี hematoxylin และ eosin และ mounting สไลด์ ทำการศึกษาวัยวะสืบพันธุ์โดยกล้องจุลทรรศน์

3.1.2 การศึกษาความตลกของไข่ ทำการนำไข่มาชั่งน้ำหนักและตรวจนับจำนวนไข่ เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดปลาต่อความตลกของไข่ โดยการนำตัวอย่างปลาที่ทำการชั่งน้ำหนักและวัดความยาวเหยียดมาทำการผ่าท้องและตัดเอารังไข่ออกมาทำการชั่งน้ำหนัก แล้วเก็บรักษาในน้ำยาฟอร์มอลิน 5% เพื่อนำไปศึกษาความตลกของไข่ตามวิธีของ (Venkataramanujam and Ramanathan, 1994) โดยแบ่งไข่ปลา 10% ของจำนวนทั้งหมดมาทำการชั่งน้ำหนักและนับจำนวนไข่ จากนั้นนำจำนวนไข่ที่นับได้ไปคูณกลับจากจำนวนทั้งหมด ดังสมการ

$$\text{จำนวนไข่ทั้งหมด} = \frac{\text{น้ำหนักไข่ทั้งหมด} \times \text{จำนวนไข่ที่สุ่มนับ}}{\text{น้ำหนักไข่ที่สุ่มได้}}$$

3.1.3 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความตลกของไข่ต่อความยาวและน้ำหนักปลา

นำไข่ที่ทำการนับจำนวนไข่ มาหาความสัมพันธ์ระหว่างความตลกของไข่ต่อความยาวและน้ำหนักปลา ดังสมการ

$$F = aL_t^b \text{ หรือ } = aW_t^b$$

โดย F = ความตลกของไข่
 W_t = น้ำหนักตัวปลา
 L_t = ความยาวเหยียด
 a, b = ค่าคงที่

3.1.4 การศึกษาความแตกต่างระหว่างเพศและสัดส่วนเพศ เป็นการนำตัวอย่างปลาพลวงที่เก็บรวบรวมได้ในแต่ละเดือนมาทำการชั่งน้ำหนัก วัดความยาวเหยียด และศึกษาลักษณะความแตกต่างระหว่างเพศผู้และเพศเมีย โดยสังเกตจากลักษณะภายนอกและผ่าท้องเพื่อดูเพศของปลา โดยดูจากรังไข่และถุงน้ำเชื้อ ตามวิธีของ (Nikolsky and Birkett, 1963)

3.1.5 การศึกษาขนาดปลาเมื่อแรกเริ่มเจริญพันธุ์และฤดูวางไข่ โดยศึกษาขนาดปลาเมื่อแรกเริ่มเจริญพันธุ์ โดยทำการศึกษาระยะการเจริญพันธุ์ของปลาพลวงที่สุ่มตัวอย่างได้ โดยตรวจสอบระยะการเจริญพันธุ์ เพื่อศึกษาว่าปลาที่พบมีการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ถึงระยะการเจริญพันธุ์ (ระยะ Spawning) มีขนาดเล็กที่สุด

3.1.6 ค่าดัชนีความสัมพันธ์ของอวัยวะสืบพันธุ์ (Gonadosomatic index; GSI) โดยนำตัวอย่างปลาที่เก็บรวบรวมได้ในแต่ละเดือนมาทำการชั่งน้ำหนักตัวและน้ำหนักของอวัยวะสืบพันธุ์ เพื่อคำนวณค่าดัชนีความสัมพันธ์เพศ (GSI) จากสูตร

$$\text{ดัชนีความสัมพันธ์เพศ (GSI)} = \frac{\text{น้ำหนักของอวัยวะเพศ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวปลา}}$$

3.1.7 ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ของปลาแต่ละเพศ (Coefficient of condition, K) โดยใช้ข้อมูลจากความสัมพันธ์ระหว่างความยาวและน้ำหนักตัว ตามวิธีของ Wootton (1990) ดังสมการ

$$K = 100 W/L^3$$

โดยที่ K = ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ของปลาแต่ละเพศ
 W = น้ำหนักของตัวปลา
 L = ความยาวเหยียด

3.2 ดัชนีความสัมพันธ์ทางชีวภาพของระบบนิเวศแหล่งน้ำโดยใช้ปลาเป็นตัวชี้วัด

ตัวแทนแหล่งน้ำนิ่ง (ภาพที่ 7) คือเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล จ. เชียงใหม่ ตั้งอยู่บนลำน้ำแม่จัดสาขาแม่น้ำปิง ตำบลช่อแล อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ และยังตั้งอยู่ในอุทยานแห่งชาติศรีลานนา ที่ละติจูด พิกัด อยู่ทีพิกัด ละติจูด $19^{\circ} 09' 29''$ ลองจิจูด $99^{\circ} 02' 23''$ พื้นที่สูงจากระดับน้ำทะเล 412-

425 เมตร (Suvarnaraksha, 2011) โดยใช้ข้อมูลจากการเก็บตัวอย่าง 11 สถานี ในปี 2004 (Suvarnaraksha, 2004) เพื่อเป็นข้อมูลตั้งต้นในการกำหนดเมตริก หรือเป็นพื้นที่สภาวะอ้างอิง และทำการสำรวจเก็บตัวอย่าง ใช้ข้อมูลจากกรมประมง (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2553) และสอบถามชาวประมง เพื่อเป็นข้อมูลประเมินเปรียบเทียบกับสภาวะอ้างอิงในปี 2653

ตัวแทนน้ำไหล (ภาพที่ 8) คือ แม่น้ำแม่แตงซึ่งเป็นลำน้ำสาขาของแม่น้ำปิง แม่น้ำแตงประกอบด้วยพื้นที่ปกคลุมด้วยหุบเขาและป่าไม้ 72.1 เปอร์เซ็นต์ แหล่งพื้นที่เกษตรกรรม 25.4 เปอร์เซ็นต์ และชุมชนเมือง 0.3 เปอร์เซ็นต์ พิกัด $19^{\circ} 10''$ ถึง $19^{\circ} 45''$ เหนือ และ $98^{\circ} 10''$ ถึง $19^{\circ} 45''$ ตะวันออก มีความยาว 135 กิโลเมตร ต้นน้ำมาจากตอยบุงป่าแฝกขุนแม่แตงในเขตอำเภอเวียงแหง ไหลผ่านอำเภอแม่แตง ลงสู่แม่น้ำปิงฝั่งขวาที่ตำบลสันมหาพน อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ มีอัตราการไหลเฉลี่ย 300 ลบ.ม./วินาที และมีระดับความสูงจากน้ำทะเล 338-1342 เมตร โดยใช้ข้อมูลตั้งต้นในการกำหนดเมตริก จากการเก็บตัวอย่าง 31 สถานี ในปี 2003 (Suvarnaraksha, 2003) ใช้ข้อมูลจากกรมประมง (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2553) และสอบถามชาวประมงเพื่อเป็นข้อมูลประเมินเปรียบเทียบกับสภาวะอ้างอิง ในปี 2563

การเก็บตัวอย่างปลาและการแยกชนิดตามลักษณะชีววิทยาของปลาเพื่อเป็นดัชนีชี้วัด อยู่ใน P1 และ P2 นั้น เป็นตัวแทนของแหล่งน้ำนิ่งคือ เขื่อนแม่จันทสมบูรณ์ชล (P1) และ ตัวแทนน้ำไหลในพื้นที่แม่น้ำแม่แตง ครอบคลุม 3 พื้นที่คือเขตเวียงแหง เมืองคอง และ สบแม่แม่น้ำปิง (P2) ซึ่งการจำแนกชนิดปลาตามคู่มือในการวิเคราะห์พรรณปลาของ อภินันท์ (2559), อภินันท์ (2546), Vidthayanon (2017), So *et al.* (2018), Nelson *et al.* (2016), Froese *et al.* (2019), Jayaram (1999), Kottelat *et al.* (1993), Kottelat (2001b), Kottelat (2001a) และ Smith (1945) และเอกสารอ้างอิงที่เกี่ยวข้อง โดยดัชนีที่ทำการวิเคราะห์ได้แก่ กลุ่มและชนิดปลาพื้นถิ่น ปลาต่างถิ่น ปลาที่มีพฤติกรรมกินอาหารที่แตกต่างตามถิ่นที่อยู่อาศัย ความหนาแน่น และความหลากหลาย ฯลฯ

ดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพ (Fish Index of Biotic Integrity, Fish-IBI) ของระบบนิเวศแหล่งน้ำโดยใช้ปลาเป็นตัวชี้วัด เราทำการพัฒนาเพื่อใช้เป็นเครื่องมือการกำหนดคุณภาพแหล่งน้ำและแหล่งที่อยู่อาศัยของสัตว์น้ำโดยใช้คุณลักษณะของปลาเป็นตัวกำหนดจากข้อมูลทางวิชาการที่เกี่ยวข้อง (IUCN, 2020; Rayan and Ngamsnae, 2014; Suvarnaraksha, 2003, 2004; Vidthayanon, 2017) ซึ่งสามารถบอกทิศทางการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมทางน้ำที่เกิดจากกิจกรรมของมนุษย์ ซึ่งคุณลักษณะของปลาดังกล่าวเราจะเรียกว่า เมตริก (Metric) ดังนั้นเมื่อเรากำหนดเมตริกได้แล้ว การตรวจสอบคุณภาพแหล่งน้ำนั้นก็จะสามารถนำมาใช้เปรียบเทียบกับตัวอย่างปัจจุบันที่เราสำรวจมาได้ โดยเรากำหนดเมตริกน้ำนิ่งและน้ำไหลแตกต่างกันตามข้อมูลเดิมที่เก็บมา

เมื่อปี 2003-2004 โดยการกำหนดตัวแปรชีวภาพ หรือ เมทริก ถูกรวบรวมและพัฒนาโดย Karr (Karr, 1981) และดัดแปลงจากจากรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ดังนี้

(1) กลุ่มความหลากหลายชนิด (Species diversity) กลุ่มตัวชี้วัดนี้เป็นการประเมินความหลากหลายชนิดของปลาในพื้นที่ประเมินเปรียบเทียบกับพื้นที่อ้างอิง ประกอบด้วย จำนวนชนิดของสิ่งมีชีวิตที่พบทั้งหมด (Number of species richness) ดัดแปลงมาจาก Li, T. *et al.* (2018) ค่าดัชนีความหลากหลายทางชีวภาพ (Shannon-Weiner biodiversity index) ดัดแปลงมาจาก Wu *et al.* (2020) และกลุ่มปลาชนิดเด่น (Dominant species) ดัดแปลงมาจาก Vile and Henning (2018)

(2) กลุ่มสถานะของปลา (Fish status) กลุ่มตัวชี้วัดนี้เป็นการประเมินการเปลี่ยนแปลงของปลาเฉพาะถิ่นและการแทนที่ของปลาต่างถิ่นในพื้นที่ประเมินเปรียบเทียบกับพื้นที่อ้างอิง ประกอบด้วย เพอร์เซ็นต์ปลาเฉพาะถิ่น (Native species) ดัดแปลงมาจาก Lyons (2006) เพอร์เซ็นต์ชนิดพันธุ์ต่างถิ่น (Alien species) ดัดแปลงมาจาก Zhu and Chang (2008) และร้อยละจำนวนปลาลูกผสม (Hybrid species) ดัดแปลงมาจาก Karr (1981) และ Krause *et al.* (2012)

(3) พฤติกรรมการกินอาหาร (Trophic composition) กลุ่มตัวชี้วัดกลุ่มนี้สามารถประเมินจากพื้นฐานการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้าง และชุมชนปลาที่กินอาหารในระบบห่วงโซ่อาหารของแหล่งน้ำ โดยจะมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของชุมชนปลาในแหล่งน้ำที่เกิดมลภาวะเพิ่มขึ้น ประกอบด้วย เพอร์เซ็นต์ปลาที่กินทั้งพืชและสัตว์เป็นอาหาร (omnivores) ดัดแปลงมาจาก Wu *et al.* (2020) เพอร์เซ็นต์ปลาที่กินแมลงเป็นอาหาร (insectivores) ดัดแปลงมาจาก Wu *et al.* (2014) และเพอร์เซ็นต์ปลาที่เป็นผู้ล่า (carnivores) ดัดแปลงมาจาก Wu *et al.* (2020)

(4) องค์ประกอบของถิ่นอาศัย (Habitat) กลุ่มตัวชี้วัดกลุ่มนี้สามารถประเมินการเปลี่ยนแปลงจำนวนของโครงสร้างประชากรปลากับพื้นที่แหล่งอาศัยที่เปลี่ยนไป ประกอบด้วย ระดับที่อยู่อาศัยผิวน้ำ (Percentage of Pelagic species) ดัดแปลงมาจาก Wu *et al.* (2020) ระดับที่อยู่อาศัยกลางน้ำ (Percentage of Water column) ดัดแปลงมาจาก Zogaris *et al.* (2018) ระดับที่อยู่อาศัยพื้นน้ำ (Percentage of Bottom species) ดัดแปลงมาจาก Zogaris *et al.* (2018) ระดับที่อยู่อาศัยพื้นน้ำบนโขดหิน (Percentage of rocky and stone) ระดับที่อยู่อาศัยพื้นท้องน้ำบนทรายและกรวด (Percentage of sandy and gravel) ระดับที่อยู่อาศัยบนกรวดขนาดเล็กและโคลน (Percentage of silty to muddy)

(5) ปลาที่มีความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลง (Tolerant) ดัดแปลงมาจาก Li, T. *et al.* (2018) และ Krause *et al.* (2012) ประกอบด้วยเพอร์เซ็นต์ปลาที่มีความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลง (Percent of intolerant species) เพอร์เซ็นต์ปลาที่อดทนต่อการเปลี่ยนแปลง (Percentage of Tolerant species)

(6) องค์ประกอบตามความชุกชุมและสุขภาพ (Fish health) ดัดแปลงมาจาก Wu *et al.* (2014) กลุ่มตัวชี้วัดนี้จะใช้เพื่อประเมินความหนาแน่นของประชากรปลาในแหล่งน้ำ และตัวชี้วัดปลาที่แสดงอาการผิดปกติการเพิ่มขึ้นของปลาที่มีอาการผิดปกติบ่งชี้ถึงผลกระทบจากความเสื่อมโทรม คือ ปลาที่มีลักษณะผิดปกติ (Number of disease health)

(7) ความสัมพันธ์ของการกระจายตัวตามระดับความสูงกับการกระจายตัวของปลา (Altitude distribution) ใช้เป็นเมตริกเฉพาะของพื้นที่น้ำไหลเท่านั้น เนื่องจากเราใช้ข้อมูลตาม Suvarnaksha (2011) และ Suvarnaksha *et al.* (2012) ที่อธิบายถึงความสัมพันธ์แหล่งน้ำตามระดับความสูงมีความสัมพันธ์และสามารถแยกกลุ่มปลาเด่นบางชนิดได้ ประกอบด้วย ปลาภูเขา (Percentage of Mountainous species), ปลาตีนเขา (Percentage of Piedmont species), ปลารอยต่อ (Percentage of Transitory species) และปลาพื้นราบ (Percentage of Lowland species)

การรวมเมตริกและการแปลผลดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพ โดยหลังจากที่เรากำหนดเมตริกและจะสามารถรวมคะแนนและแปรผลได้ทันที โดยการศึกษาครั้งนี้ทั้งเมตริกน้ำนิ่งและน้ำไหลทำการกำหนดเมตริก 18 เมตริก โดยมีคะแนนตั้งแต่ 18-90 คะแนน ผลการประเมินสถานภาพของแหล่งน้ำจะกำหนดเกณฑ์การประเมินสถานะอ้างอิงเป็น 5 เกณฑ์อ้างอิงตามการรวมคะแนนเมตริก (Fausch *et al.*, 1990; Karr, 1981, 1986; Li, F. *et al.*, 2018; Li, T. *et al.*, 2018; Shi *et al.*, 2020) ดังนี้ ระดับยอดเยี่ยม (Excellent) 73-90 คะแนน ระดับดี (Good) 55-72 คะแนน ระดับปานกลาง (Fair) 37-54 คะแนน ระดับเสื่อมโทรม (Poor) 19-36 คะแนน และระดับ เสื่อมโทรมมาก (Very poor) 18 คะแนน ผลระดับยอดเยี่ยมแสดงถึง ความอุดมสมบูรณ์ของแหล่งน้ำนั้นมีลักษณะใกล้เคียงทั้งแหล่งที่อยู่อาศัยของสัตว์น้ำและระบบนิเวศโดยรวมมีความใกล้เคียงกับพื้นที่อ้างอิงที่เรา กำหนด ผลระดับดีแสดงถึงการลดลงของความหลากหลายชนิดปลาในพื้นที่และมีการเปลี่ยนแปลงของจำนวนปลาที่มีความอ่อนไหวลดลงหรือหายไปจากระบบนิเวศซึ่งเกิดจากผลกระทบที่เกิดขึ้น ผลระดับปานกลางแสดงถึงความสมดุลของระบบนิเวศเริ่มสูญเสีย จำนวนปลาที่มีความอ่อนไหวลดลงมาก โครงสร้างประชากรปลามีการเปลี่ยนแปลง และจำนวนชนิดปลาเริ่มลดลง ผลระดับเสื่อมโทรมแสดงถึงการลดลงของความหลากหลายชนิดของปลาในพื้นที่ เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของประชากรปลามากโดยเฉพาะสัดส่วนปลาที่มีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำและที่อยู่อาศัย การเพิ่มขึ้นของปลาที่กินอาหารทั้งพืชและสัตว์ มีการเพิ่มขึ้นของปลาต่างถิ่น และผลระดับเสื่อมโทรมมาก แสดงถึงการสูญเสียความหลากหลายชนิดของปลาในพื้นที่ พบปลาต่างถิ่นมากและปลาที่มีความทนทานก็มากด้วยเช่นกัน (Karr, 1981)

3.3 เทคโนโลยีการตรวจหาร่องรอยทางดีเอ็นเอของปลาในสิ่งแวดล้อม (eDNA)

กำหนดพื้นที่ในการเก็บตัวอย่างแบ่งออกเป็น 2 พื้นที่เช่นเดียวกับหัวข้อการใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดทางน้ำ โดยใช้ เขื่อนแม่งัดสมบูรณ์ชล จังหวัดเชียงใหม่ เป็นตัวแทนในแหล่งน้ำนิ่งคือ (ภาพที่ 9) โดยเก็บตัวอย่างจำนวน 9 สถานี โดยกำหนดพื้นที่เป็นลำน้ำสาขาที่ไหลลงสู่เขื่อน 3 สถานี ส่วนในตัวเขื่อนอีก 3 สถานี และท้ายเขื่อนอีก 3 สถานี ส่วนตัวแทนน้ำไหลได้เก็บตัวอย่างที่ลุ่มน้ำแม่แจ่ม (ภาพที่ 10) โดยแบ่งตามระดับความสูงจากน้ำทะเล (Suvarnaraksha, 2011) โดยแบ่งพื้นที่ ที่เก็บตัวอย่างน้ำ เป็นทั้งหมด 12 สถานี ในความสูงที่แตกต่างกัน ดังนี้ ในระดับความสูงมากกว่า 1,001 เมตรจากระดับน้ำทะเล เก็บตัวอย่างน้ำจาก 3 สถานี ดังนี้ จุดห้วยทรายเหลือง จุดห้วยผา และห้วยขมิ้น ในระดับความสูงที่ 801-1,000 เมตรจากระดับน้ำทะเล เก็บตัวอย่างน้ำจาก 3 สถานี ดังนี้ สถานีโรงเรียนบ้านสันม่วง สถานีบ้านเด่น สถานีบ้านแม่ละอูบ ในระดับความสูงที่ 601-800 เมตรจากระดับน้ำทะเล เก็บตัวอย่างน้ำจาก 3 สถานี ดังนี้ สถานีแม่ซา สถานีแม่ศึก สถานีแม่นาจร และในระดับความสูงน้อยกว่า 600 เมตร เก็บตัวอย่างน้ำจาก 3 สถานี ดังนี้ สถานีกม. 4 สถานีออบหลวง สถานีสบน้ำแม่ปิง การเก็บตัวอย่างเบื้องต้นในพื้นที่ คือนำกระดาษกรองขนาด 0.7 μm . กรองน้ำจำนวน 2 ลิตร/แผ่น ด้วยเครื่องกรองระบบสุญญากาศ หลังจากนั้น เก็บกระดาษกรองในถุงซิปล็อคพร้อมตัวดูดความชื้น แช่ไว้ในกล่องความคุมอุณหภูมิ เพื่อดำเนินการในห้องปฏิบัติการต่อไป โดยเมื่อถึงห้องปฏิบัติการนำตัวอย่างเย็น -20°C (Creer *et al.*, 2016; Goldberg *et al.*, 2016) การเก็บรักษาตัวอย่างในพื้นที่เป็นสิ่งสำคัญเพื่อหลีกเลี่ยงการย่อยสลาย รวมถึงการสัมผัสกับแสง (Barnes and Turner, 2016) (Strickler *et al.*, 2015; Tsuji *et al.*, 2017) รายละเอียดอยู่ใน P3 และ P4

3.3.1 ขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอปลาจากตัวอย่างน้ำ

การสกัดดีเอ็นเอปลาจากตัวอย่างน้ำโดยใช้ชุดสกัด Nucleo Spi Blood and Tissue Qagent ในขั้นตอนดังนี้

1. นำกระดาษกรองขนาด 0.7 μm . ที่กรองน้ำจำนวน 2 ลิตร/แผ่น จากสถานีที่เก็บตัวอย่างล้างด้วยแล้วล้างด้วย 10% Cholox ต่อด้วยน้ำกลั่น 2 รอบ แล้วผึ่งที่อุณหภูมิห้องนาน 3 ชั่วโมง
2. นำกระดาษกรองดังกล่าวตัดเป็นแผ่นขนาด 0.5X0.5 เซนติเมตร จำนวน 40 ชิ้น/แผ่น ลงหลอด 1.5 ml
3. เติม Proteinase K ปริมาตร 20 ไมโครลิตร และสารละลายบัฟเฟอร์ ATL ปริมาตร 180 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย (Vortex) เป็นเวลา 10 – 20 วินาที จากนั้นนำไปบ่มควบคุม อุณหภูมิที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส นานค้างคืน ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ
4. นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000xg เป็นเวลา 2 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เก็บส่วนใสเหนือตะกอน (Supernatant) ใส่หลอดใหม่

5. เติมสารละลายบัฟเฟอร์ AL ปริมาตร 200 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปปั่นควบคุม อุณหภูมิที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที
6. เติม Ethanol 96% ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และทำการผสมโดยกลับหลอดไปมาเบา ๆ เพื่อให้สารละลายเข้ากัน (invert) 3-4 ครั้ง
7. นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 xg เป็นเวลา 1 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทิ้ง Supernatant เก็บ pellet
8. เติมบัฟเฟอร์ AW1 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 xg เป็นเวลา 1 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทิ้ง Supernatant เก็บ pellet
9. เติมบัฟเฟอร์ AW2 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 xg เป็นเวลา 1 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทิ้ง Supernatant เก็บ pellet
10. Dry pellet
11. Elute DNA
12. เก็บสารละลายดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้งานต่อไป

3.3.2 การตรวจสอบคุณภาพและปริมาณการสกัดดีเอ็นเอ

การตรวจสอบคุณภาพและปริมาณการสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง (Optical density) ด้วยเครื่อง Nanodrop Spectrophotometry เมื่อสกัดดีเอ็นเอแล้วทำการตรวจสอบด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Optical density) ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร และ 280 นาโนเมตร ส่วนการวัดปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ (Nucleic Acid concentration) ในหน่วย ng/ μ l มีขั้นตอนดังนี้

1. นำสารละลายดีเอ็นเอที่สกัดได้ ทำการผสมให้เข้ากันโดยการตีคั่นหลอด ในเวลา 30 วินาที แล้ว ปั่นตกตะกอน 10 วินาที
2. วัดค่า Optical density (OD) ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร และ 280 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัด Nanodrop โดยน้ำ (dH_2O) เป็น Blank ซึ่งใช้ตัวอย่างในการวัดปริมาตร 2 μ l (หรือ 1 μ l)

3.3.3 การตรวจสอบการเพิ่มปริมาณ

1. คำนวณปริมาตรสารละลายที่ต้องใช้ในหนึ่งปฏิกิริยา
2. เตรียมสารละลายรักษาอุณหภูมิด้วยการแช่น้ำแข็ง
3. เติมสารละลายตามที่คำนวณได้ลงใน PCR tube
4. ผสมให้เข้ากัน และหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่อง spin down
5. เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ forward; 5'ACTGGGATTAGATACCCC3' และไพรเมอร์ Reverse; 5'TAGAACAGGCTCCTCTAG3' โดยมีขนาดของผลิตภัณฑ์ PCR คือ 160-185 bp

Miya *et al.* (2015) จากนั้นเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Thermo cycle ใช้สภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยใช้วิธี PCR ชุด Quick Taq HS DyeMix (Toyobo, Japan) ใส่สารดังนี้

Quick Taq Dye Mix	5.0	µl
5 µM Primer Forward	1.0	µl
5 µM Primer Reverse	1.0	µl
dH ₂ O	2.0	µl
DNA Template	1.0	µl
ปริมาตรรวม	10.0	µl

3.3.4 การตรวจสอบผลการทำ PCR

1. การทำอิเล็กโตรโฟรีซิส นำดีเอ็นเอที่ได้จากการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ปริมาตร 10 µl มาแยกขนาดด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส โดยใช้วุ้นอะกาโรสความเข้มข้น 1.5 % ในบัฟเฟอร์ 1xTBE (45 mM Tris, 45 mM Boric acid, 1 mM EDTA) ทำอิเล็กโตรโฟรีซิสโดยใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลาประมาณ 30 นาที โดยมีดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp (DNA Marker) สำหรับเปรียบเทียบขนาด

2. การย้อมสีดีเอ็นเอในแผ่นวุ้น โดยการนำแผ่นวุ้นที่ผ่านการลอมละลาย แล้วเติมสีเอธิดีมโบรไมด์ซึ่งมีความเข้มข้น 10 mg/ml ในปริมาตร 5µl/100 ml ก่อนเจลแข็งตัว โดยผลิตภัณฑ์ PCR ถูกย้อมสีในขณะที่ทำอิเล็กโตรโฟรีซิส

3. บันทึกภาพการตรวจวัดคุณภาพดีเอ็นเอจากเจลด้วยเครื่อง Gel document (gene genius, Germany)

3.3.5 ส่งวิเคราะห์การวิเคราะห์

การส่งวิเคราะห์การวิเคราะห์ 12G ของ Novogene เป็นการใช้นิเทศทางชีววิทยาโมเลกุล โดย Environmental DNA แล้วนำมาสกัดดีเอ็นเอ และเพิ่มปริมาณยีนด้วย 12S rRNA ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะคือ 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGTAA-3') และ 806R (5'-GGACTACHVHHHTWTCTAAT-3') ดีเอ็นเอจะถูกเพิ่มปริมาณด้วยวิธี PCR ด้วยเครื่อง Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix (New England Biolabs) จากนั้นทำบริสุทธิ์ดีเอ็นเอด้วย Qiagen Gel Extraction Kit (Qiagen, Germany) ส่วนการเตรียมดีเอ็นเอต้นแบบใช้วิธีการของ NEBNext® Ultra DNA Library Pre Kit (Illumina) และทำการวัดความเข้มข้นสารพันธุกรรมด้วยเครื่อง Qubit® 2.0 Fluorometer (Thermo Scientific) หลังจากนั้นประเมินคุณภาพต้นแบบด้วยเครื่อง

Agilent2100 BioAnalyzer (www.my454.com) และเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล GenBank รายละเอียดอยู่ใน P3 และ P4

3.4 การศึกษางานด้าน Mitochondrial

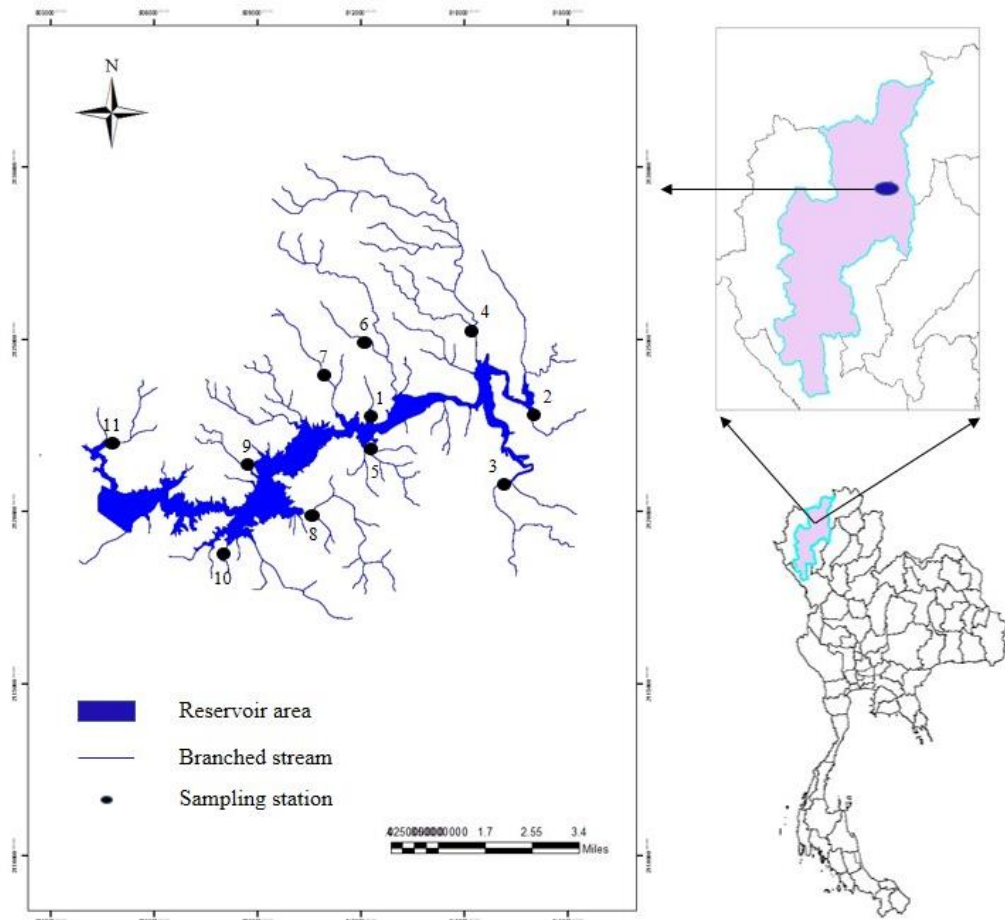
การศึกษางานด้านโมเลกุลเพิ่มเติมจากขอบเขตงานวิจัยแต่มีความเกี่ยวเนื่องกันและเป็นพื้นฐานที่ต้องศึกษาเพื่อประยุกต์ใช้ในงานด้านอนุกรมวิธานและการใช้ประโยชน์ในด้านการแสดงออกของยีนเพื่อการจัดการสิ่งแวดล้อมต่อไป โดยได้ศึกษาเกี่ยวกับ Whole genome ของปลา และการแยกชนิดปลาโดยใช้ DNA Barcode รายละเอียดอยู่ใน P5

3.5 การศึกษาชีววิทยาปลา *Neolissochilus stracheyi*

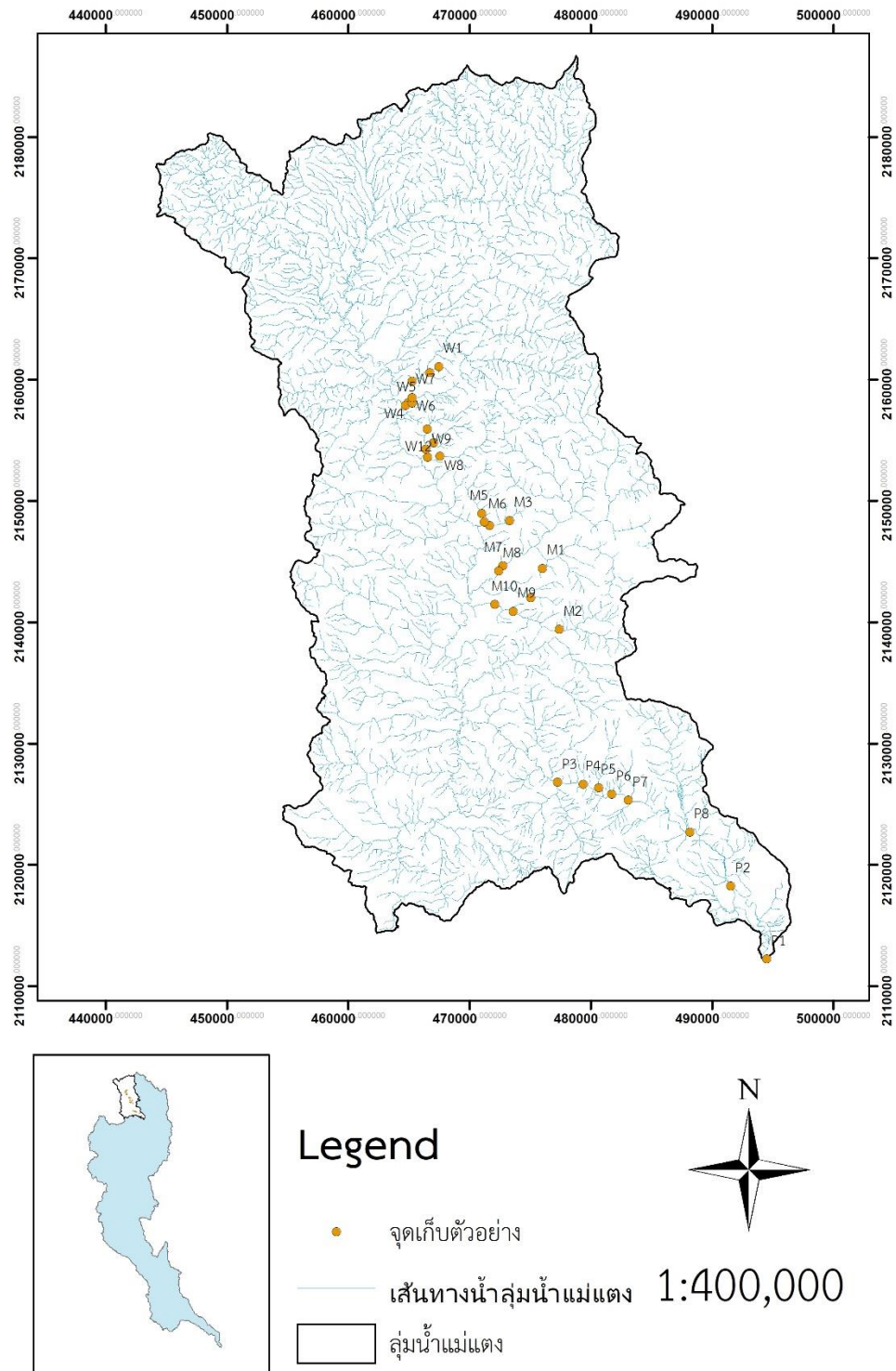
การศึกษาข้อมูลชีววิทยาบางประการในเรื่องของความสมบูรณ์ของไข่ ในปลา *Neolissochilus stracheyi* เพื่อตอบโจทย์สำหรับ เมทริกกลุ่ม Reproductive เนื่องจากในการกำหนดเมทริกสำหรับปลาในแหล่งน้ำนิ่งและน้ำไหลนี้ยังขาดข้อมูลชีววิทยาการสืบพันธุ์ และจากการศึกษาข้อมูลของปลาแต่ละชนิดต้องใช้เวลารอบ 1 ปี เพื่อความสมบูรณ์ รายละเอียดอยู่ใน Proceeding ซึ่งในแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันทั้ง ฤดูกาลวางไข่ ลักษณะของไข่ รวมถึงความสมบูรณ์ของไข่ในรอบ 1 ปี อาจมีมากกว่า 1 ครั้ง จึงทำให้ไม่สามารถระบุเมทริกดังกล่าวลงเพื่อกำหนดเมทริกได้ เพราะยังขาดข้อมูล

3.6 สถานที่

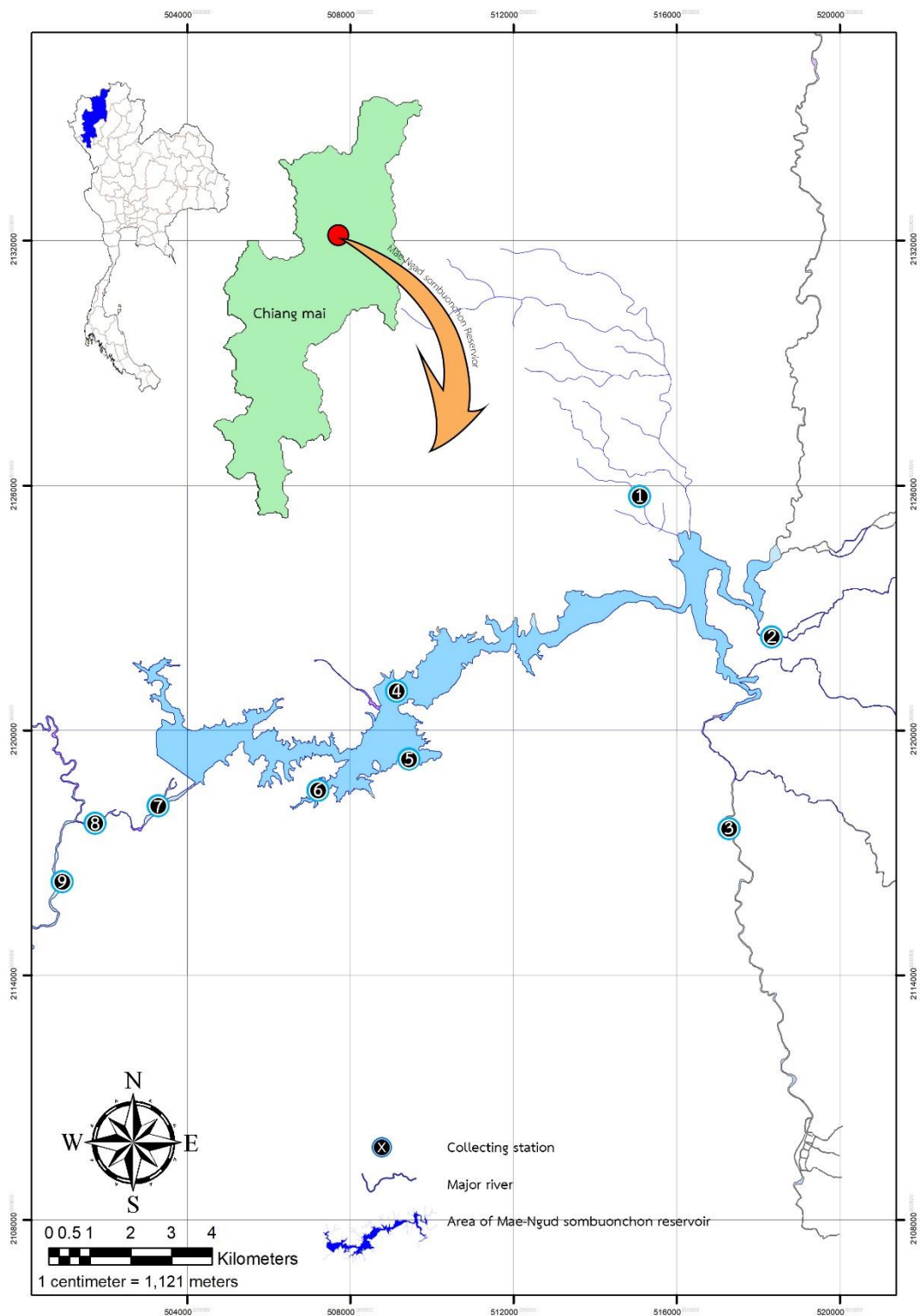
1. คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
2. ห้องปฏิบัติการของสถาบันตรวจสอบคุณภาพและมาตรฐานผลิตภัณฑ์ (IQS) มหาวิทยาลัยแม่โจ้
3. ห้องปฏิบัติการกลาง สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ อาคารแม่โจ้ 60ปี
4. ห้องปฏิบัติการ 2407 สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ อาคาร 60 ปี คณะวิทยาศาสตร์
5. มหาวิทยาลัย National Taiwan Ocean University ประเทศไต้หวัน



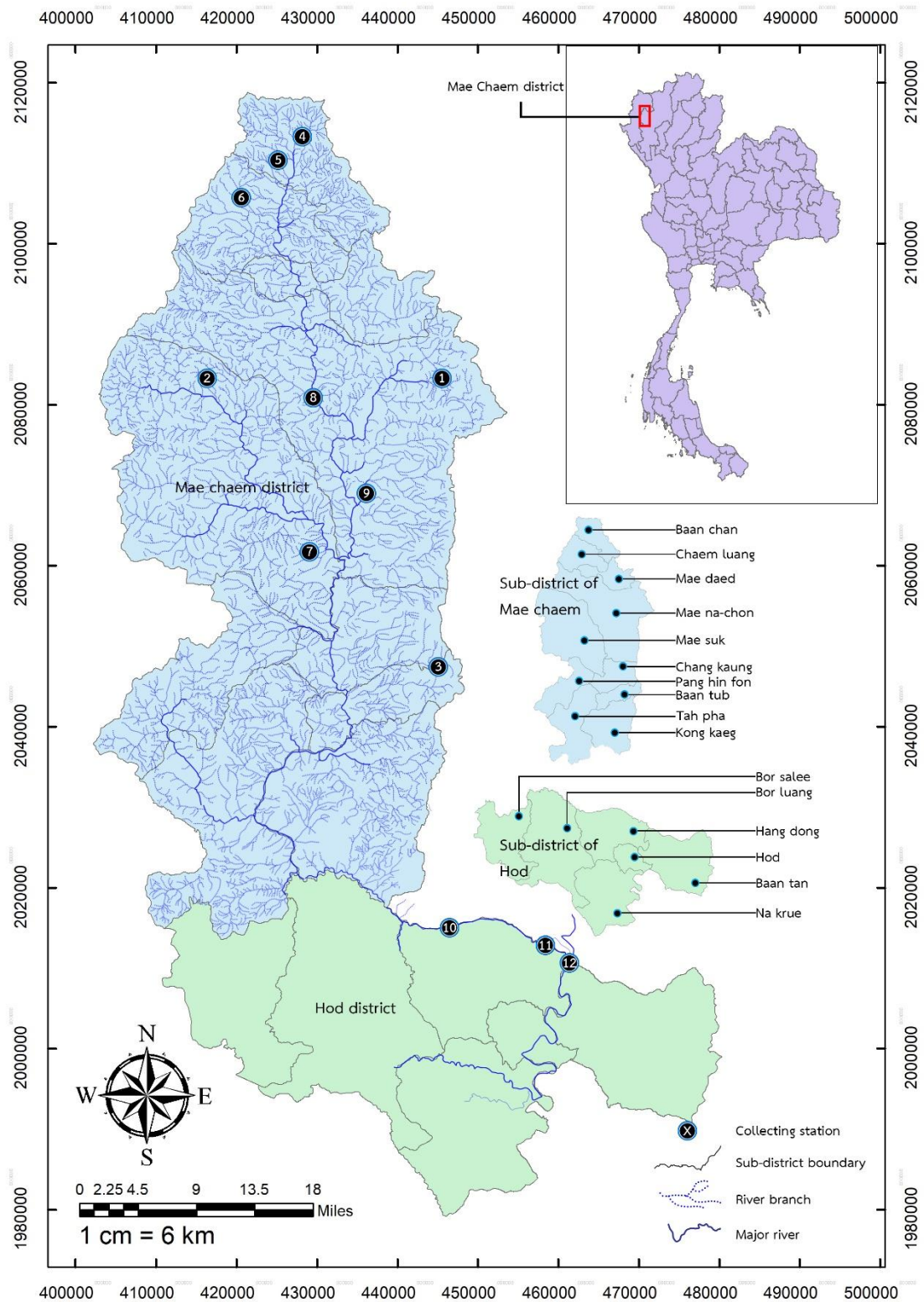
ภาพที่ 7 ตำแหน่งของสถานีที่ทำการเก็บตัวอย่างปลาใน เขื่อนแม่งัดสมบูรณ์ชล จ.เชียงใหม่
 หมายเหตุ ดัดแปลงมาจาก Google map (2020) และโปรแกรม ArcGIS



ภาพที่ 8 ตำแหน่งของสถานีที่ทำการเก็บตัวอย่างปลาใน ลุ่มน้ำแม่แตง จ.เชียงใหม่
 หมายเหตุ ดัดแปลงมาจาก Google map (2020) และโปรแกรม ArcGIS



ภาพที่ 9 ตำแหน่งของสถานีที่ทำการเก็บตัวอย่างน้ำใน เขื่อนแม่งัดสมบูรณ์ชล จ.เชียงใหม่
 หมายเหตุ ดัดแปลงมาจาก Google map (2020) และโปรแกรม ArcGIS



ภาพที่ 10 ตำแหน่งของสถานที่ทำการเก็บตัวอย่างน้ำใน ลุ่มน้ำแม่แจ่ม จ.เชียงใหม่
 หมายเหตุ ดัดแปลงมาจาก Google map (2020) และโปรแกรม ArcGIS

ตารางที่ 4 ตำแหน่งของสถานีที่ทำการเก็บตัวอย่างปลาใน เขื่อนแม่งัดสมบูรณ์ชล จ.เชียงใหม่ (อภิรักษ์, 2546)

สถานี	ชื่อ	พิกัด	ความสูง	พื้นที่ถองน้ำ
1	แพป่าทิพย์ (Paeplatip)	19° 11' 55.7"N 99° 07' 07.6"E	417	M, S
2	ห้วยแม่สุ่น (Huay maesoon)	19° 14' 46.8"N 99° 10' 15.5"E	425	S, G
3	ห้วยแม่ชอด (Huay maecord)	19° 09' 54.7"N 99° 04' 54.1"E	415	S, G
4	ห้วยแม่แพง (Huay maepaeng)	19° 14' 33.9"N 99° 08' 58.8"E	416	M
5	ห้วยแม่กัวะ (Huay mae-gwua)	19° 11' 12.7"N 99° 07' 03.6"E	423	M
6	ห้วยตันตอง (Huay ton-tong)	19° 12' 46.6"N 99° 07' 28.6"E	418	S
7	ห้วยตันยาง (Huay tonyang)	19° 12' 01.3"N 99° 06' 23.7"E	421	R
8	ห้วยแม่จอก (Huay maejok)	19° 10' 04.9"N 99° 05' 45.5"E	420	M, S
9	ห้วยผากับ (Huay pha-gup)	19° 10' 52.1"N 99° 04' 47.8"E	419	R, G, S
10	ห้วยปันวา (Huay punwa)	19° 09' 25.6"N 99° 04' 22.3"E	415	M, S
11	ห้วยชมพู (Huay chomphu)	19° 11' 16.9"N 99° 02' 05.7"E	415	S, G

หมายเหตุ S (Sand) =ทราย, G(Gravel) =กรวด, R(Rock)=ก้อนหิน, M(Mud) = โคลน

ตารางที่ 5 ตำแหน่งของสถานีที่ทำการเก็บตัวอย่างปลาใน ลุ่มน้ำแม่แตง จ.เชียงใหม่ (อภิรักษ์ และคณะ 2547)

สถานี	ชื่อ	พิกัด	ความสูง	พื้นที่ถองน้ำ
1	ห้วยแม่แตง (หน่วยแม่แตง)	19°32'56.41"N 98°39'24.72"E	849	S, G, R
2	ห้วยแม่แตง	19°32'55.54"N 98°39'11.94"E	791	G, S, M
3	สบห้วยแม่แตง+แม่แตง	19°32'40.2"N 98°38'49.0"E	751	G, R
4	ห้วยหญ้าไซ	19°31'21.78"N 98°41'4.04"E	732	S
5	สบห้วยหญ้าไซ+น้ำแม่แตง	19°30'19.0"N 98°39'33.0"E	733	S, G, M
6	ห้วยหวาย	19°31'4.97"N 98°41'16.71"E	794	S, R
7	ห้วยหละ	19°31'44.27"N 98°42'11.57"E	751	G, S, R
8	ห้วยหนองคาย (ห้วยขี้เหล็ก)	19°29'07.5"N 98°43'19.1"E	781	G, S, M
9	ห้วยหนองคาย + ห้วยตันตอง	19°28'35.0"N 98°40'53.1"E	700	R, S
10	ห้วยตันตอง (ต้น)	19°30'39.01"N 98°42'35.31"E	793	R
11	ห้วยตันตอง	19°28'55.4"N 98°40'37.4"E	737	R, S
12	ต้นน้ำแม่คอง	19°29'35.1"N 98°48'39.6"E	1342	R
13	ห้วยแม่ปลาซ่า	19°24'35.27"N 98°48'4.80"E	759	S, G
14	ห้วยบ้าน	19°20'53.7"N 98°47'05.2"E	831	R, S, G

ตารางที่ 6 ตำแหน่งของสถานีที่ทำการเก็บตัวอย่างปลาใน ลุ่มน้ำแม่แตง จ.เชียงใหม่
(อภินันท์ และคณะ 2547)

สถานี	ชื่อ	พิกัด	ความสูง	พื้นที่ถองน้ำ
14	ห้วยบ้าน	19°20'53.7"N 98°47'05.2"E	831	R, S, G
15	ห้วยหก	19°25'36.83"N 98°44'26.26"E	812	R, S
16	สบห้วยหก+น้ำแม่แตง	19°25'34.54"N 98°44'7.67"E	718	S
17	ห้วยหกหลวง	19°27'11.1"N 98°42'46.8"E	790	R, S
18	ห้วยหกหลวง+น้ำแม่แตง	19°25'40.7"N 98°43'32.3"E	735	G, S
19	น้ำแม่คอง	19°24'36.10"N 98°45'50.00"E	665	G, S
20	น้ำคอง (ล่างฝาย)	19°23'19.20"N 98°44'7.00"E	669	S
21	ห้วยแม่หมื่น	19°20'29.81"N 98°43'21.69"E	699	G, S
22	สบห้วยแม่หมื่น+น้ำแม่แตง	19°21'04.3"N 98°42'22.3"E	654	G, S
23	ห้วยแม่เมิน	19°21'25.1"N 98°45'31.5"E	763	R, G, S
24	ห้วยแม่เมิน	19°21'25.1"N 98°45'31.5"E	763	R, G, S
25	สบแม่ปิง-แม่แตง	19°06'10.4"N 98°56'51.8"E	338	G, S, M
26	น้ำแม่แตง	19°09'26.2"N 98°55'10.3"E	384	G, S, M
27	กีดช้าง ต้น	19°14'04.1"N 98°47'01.2"E	596	G, S, M
28	กีดช้าง ปลาย	19°13'58.9"N 98°48'14.1"E	549	G, S, M
29	ห้วยกุกกิบ	19°13'49.5"N 98°48'57.6"E	623	G, S, M
30	แม่น้ำแม่แตง (กลาง)	19°13'32.3"N 98°49'34.2"E	551	G, S, M
31	แม่น้ำแม่แตง (ปลาย)	19°13'16.2"N 98°50'21.0"E	501	G, S, M

หมายเหตุ S (Sand) =ทราย, G(Gravel) =กรวด, R(Rock)=ก้อนหิน, M(Mud) = โคลน

ตารางที่ 7 ตำแหน่งของสถานีที่สำรวจปลาในแม่น้ำแม่แตง และเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ จ.เชียงใหม่ (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2553)

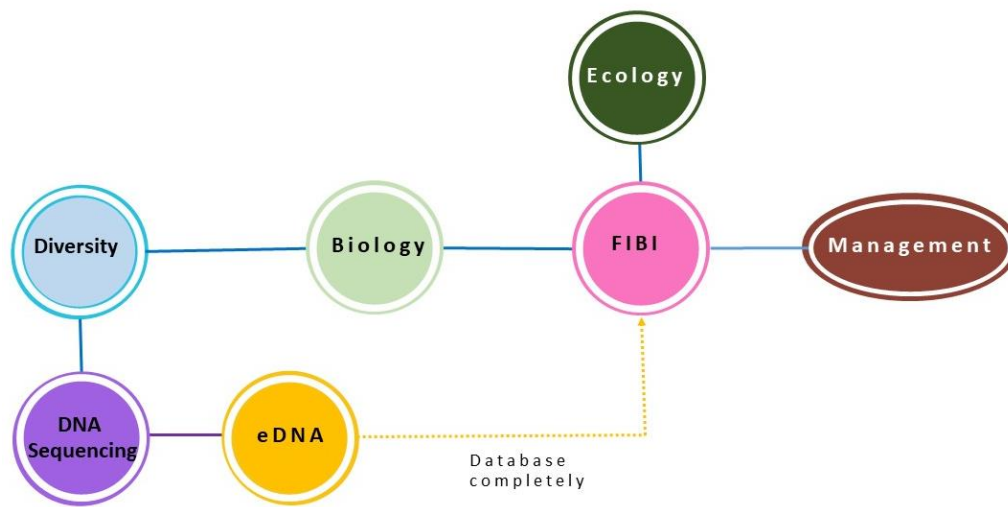
สถานี	ชื่อ	พิกัด	ความสูง	พื้นที่ต่อน้ำ
1	จุดเก็บตัวอย่างที่ 1 น้ำแม่แตง ตำบลกืตช้าง บริเวณเหนือประตูระบายน้ำทุ่งป่าซาง	19°13'33.5"N 98°50'01.1"E	484	G, S, M
2	จุดเก็บตัวอย่างที่ 2 น้ำแม่แตง ตำบลกืตช้าง บริเวณสร้างฝายกั้นน้ำแม่แตง	19°10'46.9"N 98°54'49.1"E	361	G, S, M
3	จุดเก็บตัวอย่างที่ 3 น้ำแม่แตง ตำบลกืตช้าง บริเวณประตูระบายน้ำแม่ตะมาน	19°12'44.4"N 98°52'13.1"E	458	G, S, M
4	จุดเก็บตัวอย่างที่ 4 แม่น้ำปิง ตำบลอินทขิล	19°13'49.1"N 98°58'20.6"E	382	G, S, M
5	อำเภอแม่แตง บริเวณจุดที่แนวอุโมงค์ลอดผ่าน	19°10'46.3"N 99°01'57.8"E	460	G, S, M
6	จุดเก็บตัวอย่างที่ 5 อ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล	19°09'39.5"N 99°04'13.0"E	394	G, S, M

หมายเหตุ S (Sand) =ทราย, G(Gravel) =กรวด, R(Rock)=ก้อนหิน, M(Mud) = โคลน

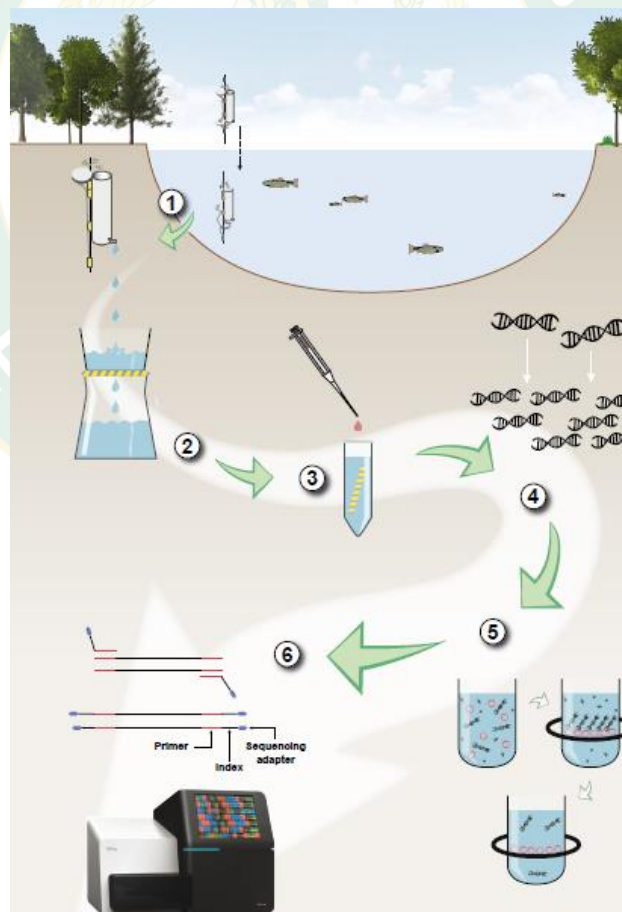
ตารางที่ 8 ตำแหน่งของสถานีที่ทำการเก็บตัวอย่างน้ำใน ลุ่มน้ำแม่แจ่ม จ.เชียงใหม่

สถานี	ชื่อ	พิกัด	ความสูง	พื้นที่ต่อน้ำ
1	ห้วยขมิ้น (Huay Kamin)	18°48'47.87"N 98°31'43.01"E	1,244	S, G, M
2	ห้วยผา (Huay pha)	18°51'52.30"N 98°13'19.33"E	1,088	S, G, M
3	ห้วยทรายเหลือง (Huay sai lueng)	18°31'27.66"N 98°27'17.32"E	1,057	G, R
4	ห้วยครก (Huay krog)	19°6'0"N 98°18'20"E	988	S, G, M
5	บ้านเด่น (Baan daen)	19°03'47.62"N 98°17'48.10"E	970	S, G, M
6	ห้วยแม่ละอูบ (Huay mae la oob)	19° 1'43.13"N 98°15'58.06"E	990	S, G, M
7	คลองแม่หอย (Klong mae hoy)	18°45'50.97"N 98°19'33.40"E	725	S, G, M
8	บ้านแม่สา (Baan mae sa)	18°48'49"N 98°19'53"E	632	S, G, M
9	แม่นาจร (Mae na jom)	18°41'05.13"N 98°22'33.87"E	540	S, G, M
10	อุทยานแห่งชาติออบหลวง (Obluang)	18°13'27.6"N 98°28'55.1"E	343	S, G, R
11	กม. 4 (KM 4)	18°12'26.6"N 98°35'25.1"E	285	S, M
12	สบแม่ปิง (Maeping junction)	18°11'20.1"N 98°37'59.2"E	260	S, M

หมายเหตุ S (Sand) =ทราย, G(Gravel) =กรวด, R(Rock)=ก้อนหิน, M(Mud) = โคลน



ภาพที่ 11 กรอบวิจัยและแนวความคิด



ภาพที่ 12 ขั้นตอนการทำงาน eDNA

(Littlefair *et al.*, 2021)

บทที่ 4

ผลการศึกษา

หัวข้อสำหรับการศึกษาค้นคว้านี้ แบ่งออกเป็น 3 ส่วน ประกอบด้วย

4.1 การศึกษาทางด้านชีววิทยา

4.1.1 ชีววิทยาการสืบพันธุ์ของปลาพลวงหินจากภาคเหนือของประเทศไทย (Aspects of the reproductive biology of Brook trout *Neolissochilus stracheyi* (Day, 1871) in Northern, Thailand)

4.2 การประยุกต์ใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพสิ่งแวดล้อมทางน้ำ ประกอบด้วย

4.2.1 การประยุกต์ใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพสิ่งแวดล้อมทางน้ำนิ่ง กรณีศึกษาเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล จังหวัดเชียงใหม่ (Development of a fish-based Index of Biological Integrity for assessment of Tropical Reservoir: Mae Ngad Somboonchoon reservoir, Chiang Mai)

4.2.2 การประยุกต์ใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพสิ่งแวดล้อมทางน้ำไหล กรณีศึกษาลุ่มน้ำแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ (Modified fish-based index to assess biological integrity for evaluation for Running water in Northern Thailand)

4.3 การประยุกต์ใช้วิธีการดีเอ็นเอเพื่อตรวจติดตามประเมินการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมทางน้ำ (Environmental DNA)

4.3.1 การศึกษาไมโทคอนเดรีย จีโนม อย่างสมบูรณ์ของปลากระสูละวีนพร้อมกับแผนผังวิวัฒนาการ (Complete mitochondrial genome of the *Hampala salweenensis* (Cypriniformes: Cyprinidae), with phylogenetic implication)

4.3.2 การพัฒนาวิธีการดีเอ็นเอเพื่อติดตามประเมินและเตือนผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมต่อระบบนิเวศน้ำไหล กรณีศึกษาลุ่มน้ำแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ (Development of eDNA method for monitoring evaluation on the freshwater ecosystem: Maechem basin, Chiang Mai)

4.3.3 การพัฒนาวิธีการดีเอ็นเอเพื่อติดตามประเมินและเตือนผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมต่อระบบนิเวศน้ำนิ่ง กรณีศึกษาเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล จังหวัดเชียงใหม่ (Development of eDNA method for monitoring evaluation on the freshwater ecosystem: Mae Ngad Somboonchoon reservoir, Chiang Mai)

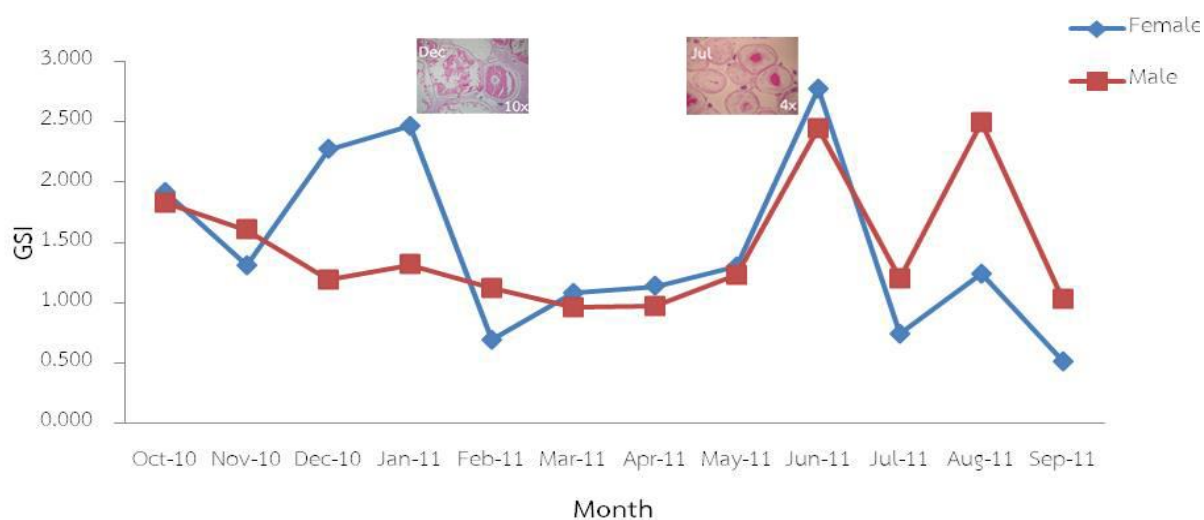
4.1 การศึกษาทางด้านชีววิทยา

4.1.1 ด้านชีววิทยาชีวประวัติปลาพลวง

การศึกษาด้านชีวประวัติปลาพลวง ทำการศึกษาโดยเก็บตัวอย่างปลาในแม่น้ำว่า จังหวัดน่าน โดยเริ่มทำการเก็บตัวอย่างในเดือน ตุลาคม 2553 ถึงเดือน กันยายน 2554 รวมทั้งสิ้น 12 เดือน ได้จำนวนปลาทั้งสิ้น 1,208 ตัวอย่าง

4.1.1.1) การประเมินค่าดัชนีความสัมพันธ์ของอวัยวะสืบพันธุ์ (gonadosomatic index, GSI)

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของค่าดัชนีความสัมพันธ์ของอวัยวะสืบพันธุ์ของปลาพลวงเพศเมียจำนวน 469 ตัวอย่าง พบว่าค่าดัชนีความสัมพันธ์ของอวัยวะสืบพันธุ์ของอวัยวะสืบพันธุ์มีค่าอยู่ระหว่าง 0.515–2.776 โดยค่าสูงในรอบปีแบ่งออกเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงแรกระหว่างเดือนธันวาคมถึงเดือนมกราคม ส่วนรอบสองจะเป็นเดือนมิถุนายนที่มีค่าสูงที่สุดในรอบปีมากกว่าเดือนอื่น ส่วนเดือนที่มีค่าต่ำสุดจะอยู่ในเดือนกันยายน สำหรับปลาพลวงเพศผู้จำนวน 362 ตัวอย่างพบว่าค่าดัชนีความสัมพันธ์ของอวัยวะสืบพันธุ์ของอวัยวะสืบพันธุ์มีค่าอยู่ระหว่าง 0.975–2.498 โดยค่าสูงในเดือนมิถุนายน และเดือนสิงหาคม (ตารางที่ 10 และภาพที่ 13)

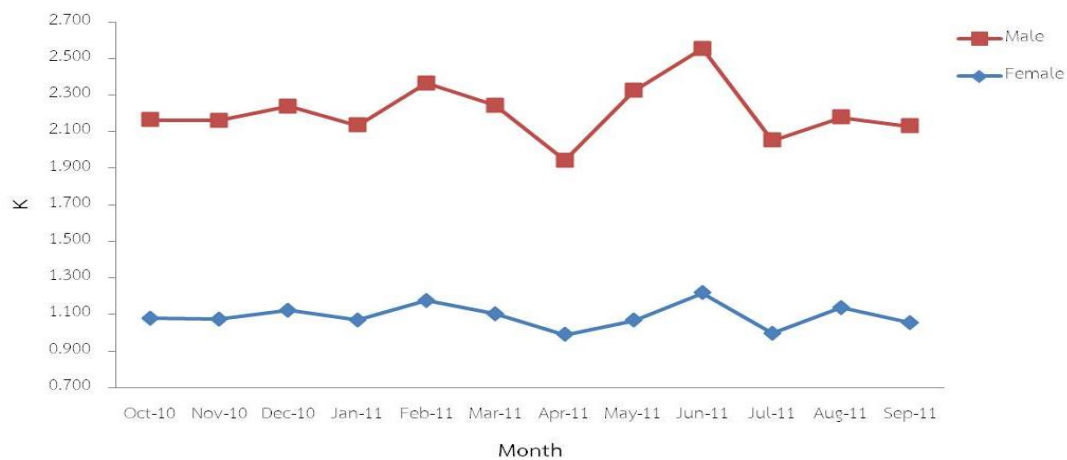


ภาพที่ 13 การเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีความสัมพันธ์ของอวัยวะสืบพันธุ์ (gonadosomatic index, GSI) ของปลาพลวงในกลุ่ม น่าน จังหวัดน่าน ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554

ตารางที่ 9 ค่าดัชนีความสัมพันธ์ของอวัยวะสืบพันธุ์ (gonadosomatic index, GSI) ของปลาพลวง ในลุ่มน้ำว่า จังหวัดน่าน ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554

เดือนที่เก็บตัวอย่าง	เพศเมีย		เพศผู้	
	จำนวน (ตัว)	GSI	จำนวน (ตัว)	GSI
ตุลาคม	45	1.919	21	1.826
พฤศจิกายน	32	1.311	34	1.604
ธันวาคม	38	2.271	24	1.191
มกราคม	23	2.465	13	1.315
กุมภาพันธ์	36	0.694	32	1.121
มีนาคม	36	1.081	28	0.960
เมษายน	59	1.136	43	0.975
พฤษภาคม	54	1.297	31	1.233
มิถุนายน	36	2.776	27	2.450
กรกฎาคม	26	0.745	28	1.205
สิงหาคม	49	1.239	34	2.498
กันยายน	35	0.515	47	1.028

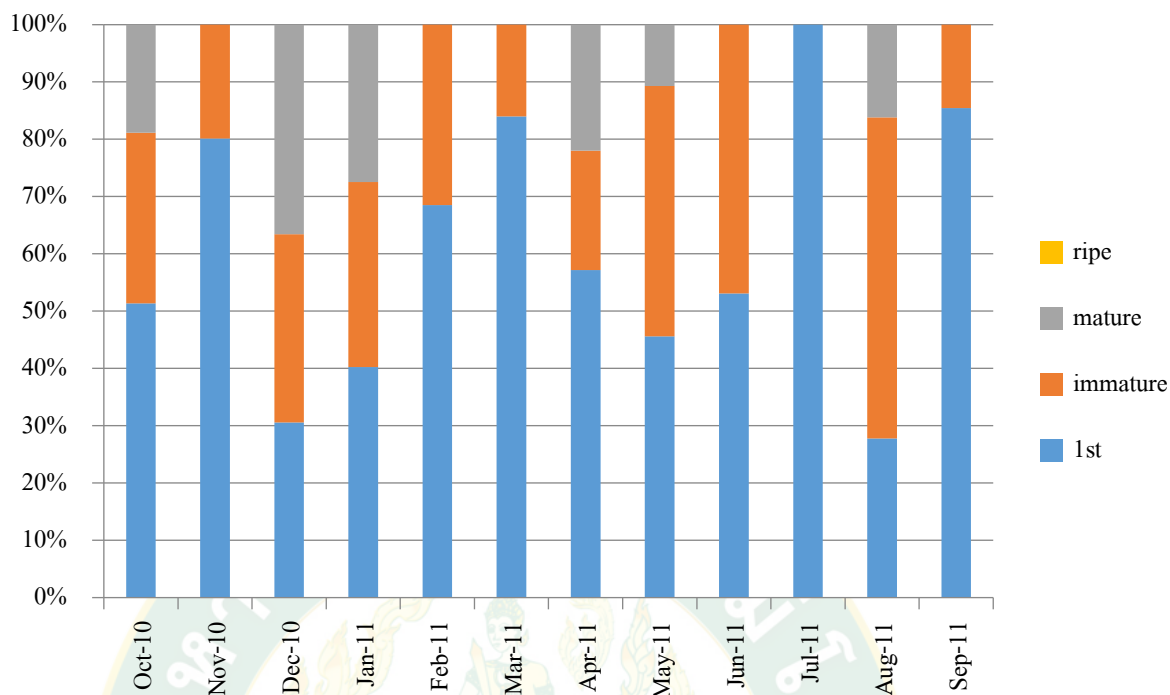
4.1.1.2) การประเมินค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ของปลา (coefficient of condition, K) ผลการประเมินค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ปลาจากตัวอย่างปลาพลวงเพศผู้จำนวน 362 ตัว และตัวอย่างปลาพลวงเพศเมีย จำนวน 469 ตัว พบว่าเพศผู้มีค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ปลาอยู่ระหว่าง 0.955-1.337 โดยในช่วงเดือนมิถุนายน มีค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์สูงสุดเท่ากับ 1.337 และในเดือนเมษายน มีค่าสัมประสิทธิ์ต่ำสุดเท่ากับ 0.955 ส่วนค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ปลาจากตัวอย่างปลาพลวงเพศเมีย พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ปลาอยู่ระหว่าง 0.988 -1.218 โดยในช่วงเดือนมิถุนายน มีค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์สูงสุดเท่ากับ 1.218 และในเดือนเมษายน มีค่าสัมประสิทธิ์ต่ำสุดเท่ากับ 0.988 ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ปลาของปลาเพศเมียและเพศผู้ในรอบ 12 เดือนการเปลี่ยนแปลงไม่แตกต่างกันมากนักและไม่มีแนวโน้มที่แสดงความสัมพันธ์ของการเปลี่ยนแปลงผันแปรไปตามการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ตาม ตารางที่ 10 และ ภาพที่ 14



ภาพที่ 14 ค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ (K) ของปลาพลวงเพศผู้และเพศเมีย ในลุ่มน้ำว่า จังหวัดน่าน ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554

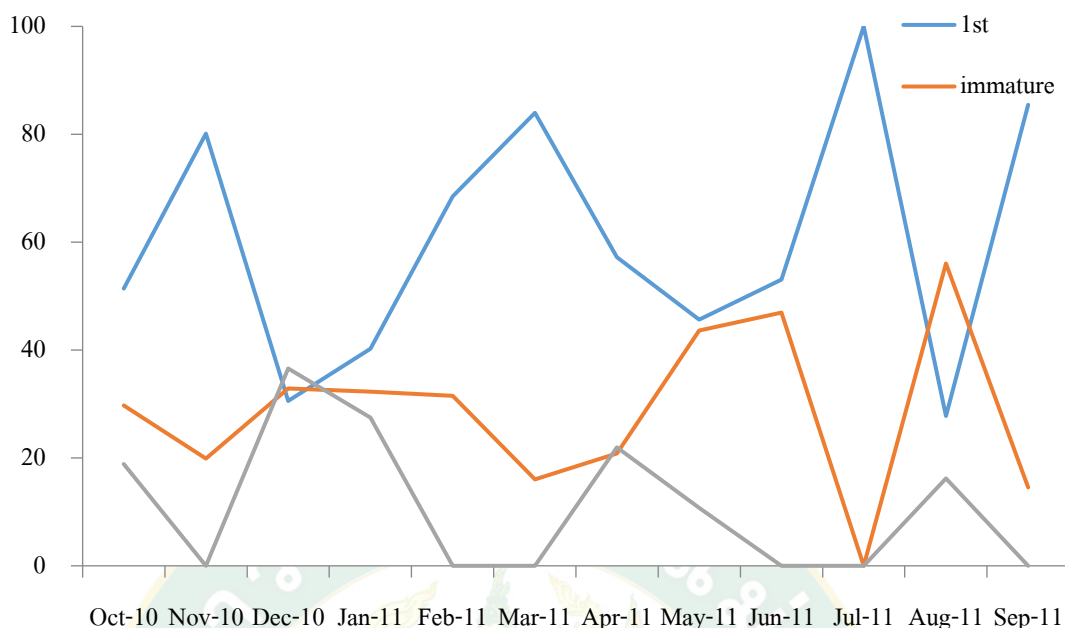
4.1.1.3) ฤดูวางไข่และขนาดปลาเมื่อแรกเริ่มเจริญพันธุ์

4.1.1.3(1) โดยทำการประเมินช่วงฤดูวางไข่ จากการศึกษาและวิเคราะห์ข้อมูลพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ของปลาพลวง จากการประเมินเบื้องต้นในช่วง 12 เดือน คือระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2554 ซึ่งแสดงตามภาพที่ 4.2 แสดงปริมาณร้อยละระยะเจริญพันธุ์ของปลาพลวง ซึ่งในแต่ละเดือนปลาจะมีระยะความสมบูรณ์ที่ต่างกันโดยปลาพลวงเพศเมียจะมีระยะไข่เกือบทุกระยะ ตั้งแต่ระยะที่เริ่มพัฒนาจนถึงระยะที่พร้อมจะวางไข่ โดยในระยะเริ่มต้นที่ไข่มีการพัฒนา ในรอบ 1 ปี ที่ทำการศึกษาคาดว่าจะมี 3 ช่วงที่ไข่มีแต่ระยะที่กำลังพัฒนาโดยจะไม่มีไข่ที่มีความพร้อมสมบูรณ์ คือในช่วงเดือน กุมภาพันธ์ถึงมีนาคม และช่วงเดือน มิถุนายนถึงกรกฎาคม และเดือนกันยายน ทั้ง 3 ช่วงดังกล่าวจะไม่พบไข่ที่มีความพร้อมสมบูรณ์เลย จะพบเห็นแต่ไข่ที่ขนาดเล็กที่กำลังจะพัฒนา ส่วนเดือนที่ไข่ที่มีความพร้อมที่พัฒนาแล้ว จะมี 3 ช่วง คือเดือนธันวาคม-มกราคม และเมษายนถึงพฤษภาคม และเดือนตุลาคม ซึ่งข้อมูลดังกล่าวนี้ทำให้มีการคาดการณ์เกี่ยวกับการวางไข่ในแต่ละฤดูกาลของปลาพลวงว่าอาจจะมากกว่า 2 ครั้งในรอบปี ซึ่งจากการสังเกตระยะของไข่จะมีขนาดของไข่ปลาพลวงเกือบทุกระยะในทุกเดือน ซึ่งจะแตกต่างกันเพียงปริมาณ และขนาดของไข่เท่านั้น ดังภาพที่ 15-16



ภาพที่ 15 ปริมาณร้อยละระยะเจริญพันธุ์ของปลาพลวง ในลุ่มน้ำว้า จังหวัดน่าน ระหว่างเดือน ตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554

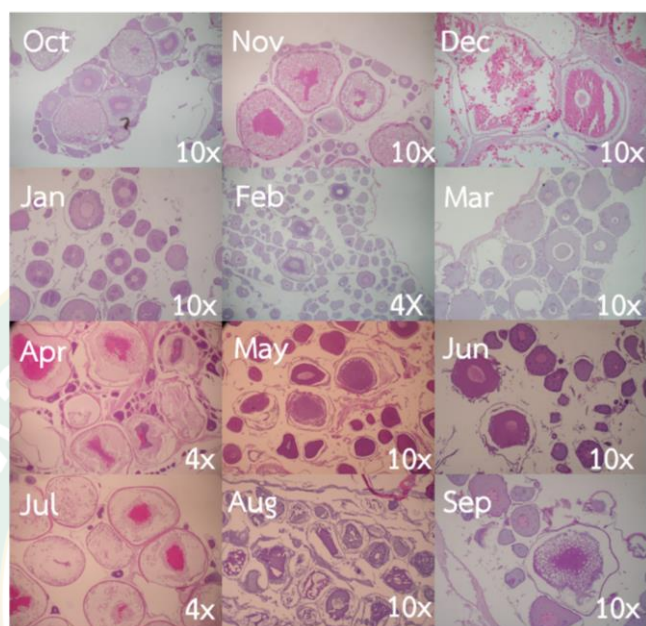
จากภาพที่ 15 และ 16 จะเห็นได้ว่าไข่ปลาพลวงที่เข้าใกล้ระยะสมบูรณ์จะลดปริมาณลงจนเหลือ 0 เปอร์เซ็นต์ 3 ช่วง ได้แก่ช่วงเดือนพฤศจิกายน ช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนมีนาคม และช่วงเดือนมิถุนายน ถึงเดือนกรกฎาคม โดยทั้ง 3 ช่วงจะมีการเพิ่มขึ้นของไข่ในระยะแรกอย่างเห็นได้ชัดเจน โดยในช่วงเดือนกรกฎาคมยังพบอีกว่าไข่ในช่วงกลางจะมีการลดจำนวนลงจนเหลือ 0 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในช่วงดังกล่าวน่าจะเป็นช่วงฤดูกาลวางไข่หลักของปลาพลวง ในลุ่มน้ำว้า จ.น่าน ซึ่งเมื่อผ่านช่วงดังกล่าว พบว่าไข่ในระยะแรกจะลดปริมาณลงสวนทางกับไข่ในระยะ mature ที่เพิ่มปริมาณมากขึ้นตามลำดับ ซึ่งน่าจะเป็นผลจากการที่ปลาสามารถวางไข่ได้หลายช่วงในรอบปี โดยแต่ละรอบของการวางไข่จะมีระยะพักตัว 1 - 2 เดือน จึงวางไข่ในครั้งต่อไป



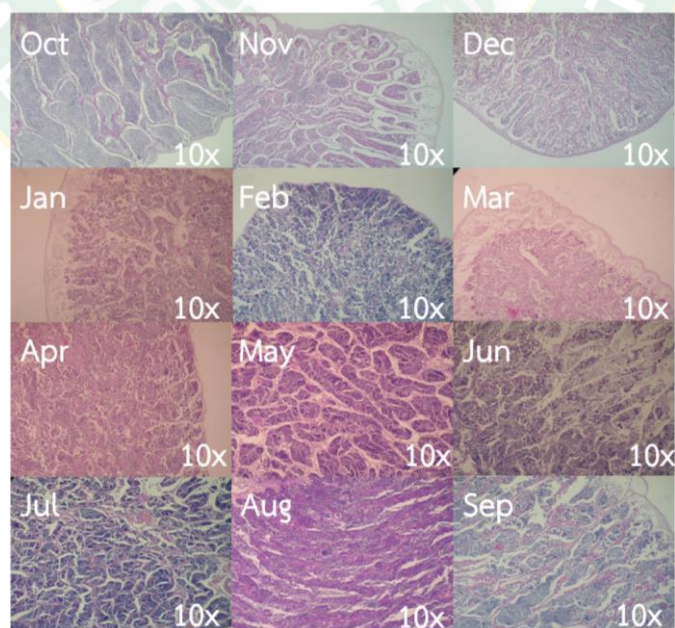
ภาพที่ 16 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณของในแต่ละระยะของปลาพลวงตัวอ่อนที่พบในแม่น้ำว่า จ. น่าน ในช่วงเดือน ตุลาคม 2553 - เดือนกันยายน 2554

4.1.1.3(2) การศึกษาด้านเนื้อเยื่อวิทยา (histology) การศึกษาข้อมูลระยะเจริญพันธุ์ของปลาพลวง ในลุ่มน้ำว่า จังหวัดน่าน ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 เป็นระยะเวลา 12 เดือน จากภาพที่ 4.5 แสดงให้เห็นถึงความชัดเจนของการพัฒนาของรังไข่ของปลาพลวง โดยจะเห็นได้ว่าในเดือนตุลาคม พฤศจิกายน และเดือนธันวาคม จะเห็นการเปลี่ยนแปลงที่ต่อเนื่อง ระยะทางการเจริญพันธุ์มีความสมบูรณ์ ไข่จะมีตั้งแต่ระยะ immature maturing และระยะ mature จนถึงระยะ ripe ซึ่งในระยะ mature จะพบมากในเดือน พฤศจิกายน และในระยะ ripe จะพบมากในเดือน ธันวาคม ส่วนในเดือน มกราคมจะพบเกือบทุกระยะที่มีปริมาณใกล้เคียงกัน ส่วนในเดือนกุมภาพันธ์ จะพบระยะ immature น้อยส่วนมากไข่จะยังไม่มีการพัฒนาส่วนในเดือนมีนาคม จะยังคงเห็นกลุ่มระยะ immature มากกว่าเดือนกุมภาพันธ์ ในเดือนเมษายนจะพบไข่ในระยะ mature มากกว่าเดือนพฤษภาคม และมิถุนายน และจะเห็นได้ว่าไข่ปลาพลวงในเดือนพฤษภาคมและมิถุนายนมีระยะ immature และ maturing โดยในเดือนกรกฎาคมจะพบไข่ระยะ mature มากขึ้น และจะลดลงในทุกุกระยะไข่ช่วงเดือนสิงหาคมถึงเดือนกันยายน แต่ก็จะมีระยะ immature กระจาย ซึ่งจากการศึกษาในระหว่าง 12 เดือน มีแนวโน้มว่าปลาจะมีระยะทางการเจริญพันธุ์ระยะ immature อย่างต่อเนื่องตั้งแต่เดือนตุลาคม จนถึงเดือนธันวาคม และจะมีน้อยลงในเดือน มกราคม และกุมภาพันธ์ และเริ่มมีระยะ immature ให้เห็นในเดือนมีนาคม และเดือนเมษายน และจะพบระยะ mature ในเดือนกรกฎาคม และลดลงช่วงเดือนสิงหาคม ตามภาพที่ 17 ในส่วนการตรวจสอบ

ระยะทางการเจริญพันธุ์ของปลาพลวงเพศผู้ ก็เช่นเดียวกัน เป็นการศึกษาในระยะเวลา 12 เดือน ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 โดยจากภาพที่ 18 แสดงให้เห็นถึงการพัฒนาของ ฤกษ์น้ำเชื้อ นั้นมีระดับการเปลี่ยนแปลงที่ไม่แตกต่างกันมากคือมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องเพิ่มขึ้นและ ลดลงบ้างเล็กน้อยในแต่ละเดือน



ภาพที่ 17 ระยะพัฒนาการเจริญพันธุ์ของปลาพลวงเพศเมีย โดยการตรวจสอบทางเนื้อเยื่อวิทยา (histology) ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554



ภาพที่ 18 ระยะพัฒนาการเจริญพันธุ์ของปลาพลวงเพศผู้ โดยการตรวจสอบทางเนื้อเยื่อวิทยา (histology) ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554

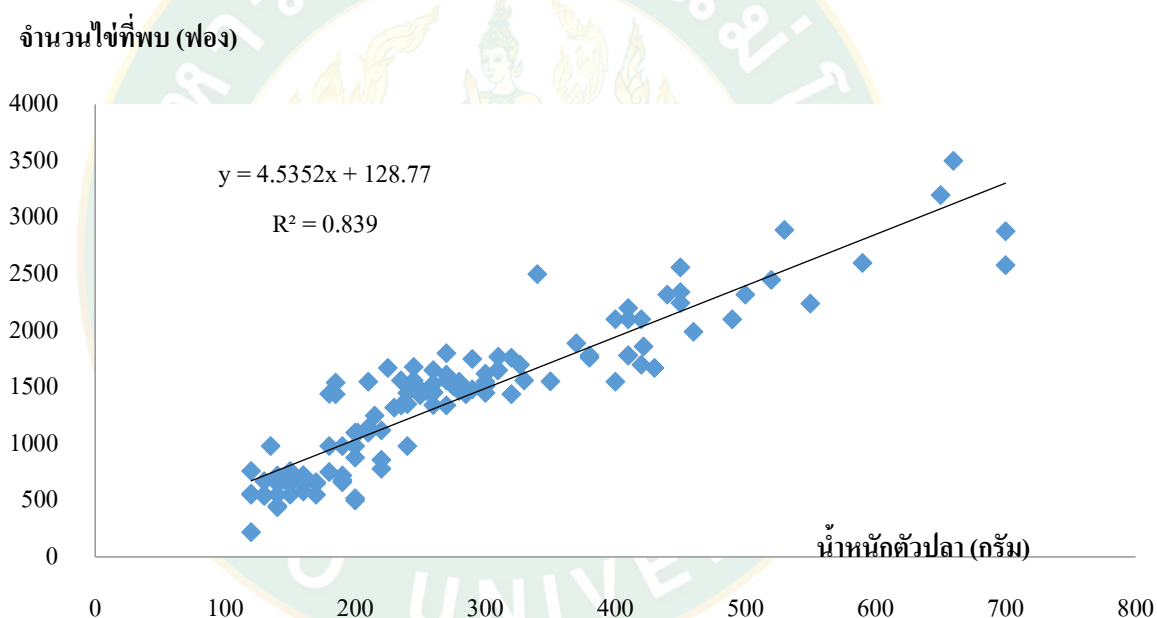
4.1.1.4 ความตกของไข่และความสัมพันธ์ระหว่างความตกของไข่ต่อน้ำหนักและความยาวตัวปลา

จากการศึกษาตัวอย่างปลาพลวง จำนวน 119 ตัว ที่มีความยาวช่วง 17.8 – 49.2 เซนติเมตร น้ำหนักอยู่ระหว่าง 120 – 700 กรัม พบว่าปลาพลวงมีจำนวนไข่เฉลี่ยที่ได้เท่ากับ 1404.55 ± 651.51 ฟอง และความสัมพันธ์ระหว่างความตกของไข่กับน้ำหนักตัวปลา ตามสมการความสัมพันธ์ดังนี้ (ภาพที่ 19)

$$F = 4.5352W + 128.77$$

$$\text{มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R}^2\text{)} = 0.839$$

$$N = 119$$



ภาพที่ 19 ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักตัวปลากับความตกของไข่ปลาพลวง ในลุ่มน้ำว้า จังหวัดน่าน ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554

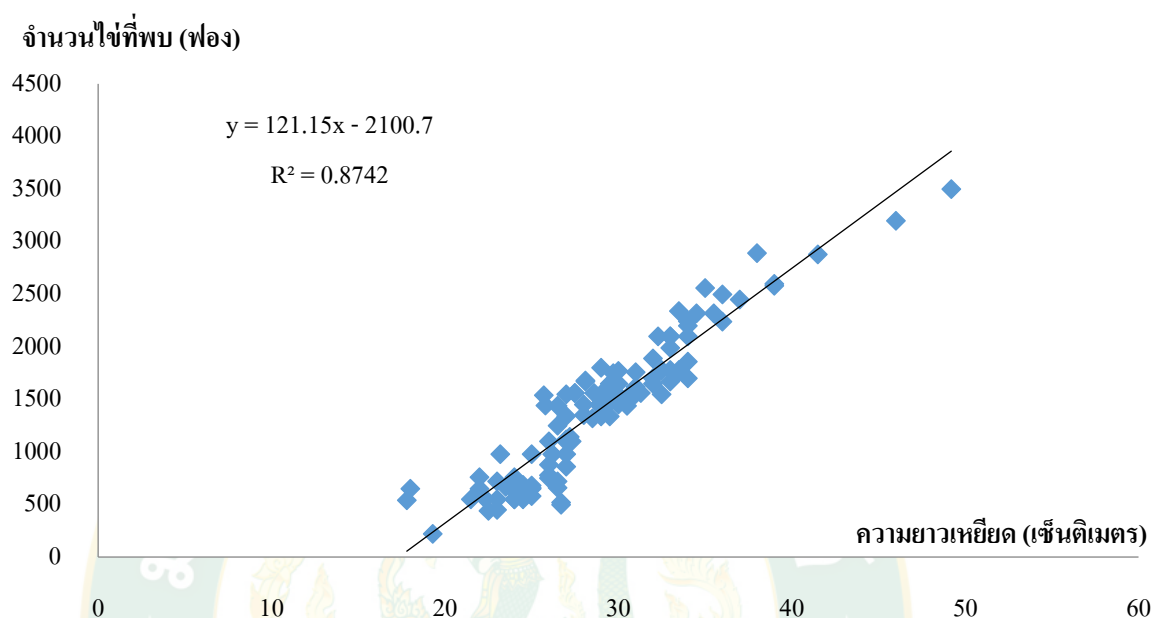
และความสัมพันธ์ระหว่างความตกของไข่กับความยาวของปลาพลวง ตามสมการความสัมพันธ์ ดังนี้ (ภาพที่ 20)

$$F = 121.15L - 2100.7$$

$$\text{มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R}^2\text{)} = 0.874$$

$$N = 119$$

ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ของน้ำหนักตัวปลาและความยาวตัวปลา เท่ากับ 0.844 และ 0.887 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ปริมาณความตกลูกของไขปลาพลวงมีความผันแปรตามการเปลี่ยนแปลงของขนาดความยาวมากกว่าน้ำหนักตัวปลา



ภาพที่ 20 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวตัวปลากับความตกลูกของไขปลาพลวง ในลุ่มน้ำว้า จังหวัดน่าน ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554

Aspects of the reproductive biology of Brook trout
Neolissochilus stracheyi (Day, 1871) in Northern, Thailand

Proceeding

Thapanee pholdee^a and Apinun Suvamaraksha^a

The JSFS 85th

Anniversary-Commemorative International Symposium

“Fisheries Science for Future Generations”

Date 22-24, 2017

Tokyo University of Marine Science and Technology, Shinagawa, Tokyo, Japan

Original article

Aspects of the reproductive biology of Brook trout *Neolissochilus stracheyi* (Day, 1871) in Northern, Thailand

Thapanee Pholdee and Apinun Suvarnaraksha *

Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, San sai, Chiang Mai, 50290, Thailand

* Correspondence: Apinun@mju.ac.th; Tel: +66932365515

Keywords: Reproductive biology; *Neolissochilus stracheyi*; In Northern; Thailand.

Received: 18 July 2017 / Accepted: 4 September 2017
© 2017 by the authors.

Introduction

Neolissochilus stracheyi (Day, 1871) is a riverine large cyprinid species and widely distribution from India through Southeast Asia e.g. Myanmar, Laos, Vietnam, Cambodia, Malaysia and Thailand [1,2]

The reproductive cycle and the factors affecting it are important issues in fish and fisheries biology [2,3]. Studies of teleost reproductions are often reported in commercial or valuable native species [4-7]. Although some studies on the reproductive biology of *Neolissochilus* have been reported from India, Nepal and Malaysia [8,9] information regarding the reproductive biology of *N. stracheyi* is poorly reported. As this fish is highly market demand in the aquarium trade in Thailand and eatable in Malaysia. Also, the information on the reproductive biology would be important for conserving its stock. The purpose of this paper was to consider aspects of biology, including the length-weight relationship, gonadosomatic index, fecundity, spawning season of *N. stracheyi* in Northern, Thailand.

Materials and methods

Collection of specimens

The study site was a rocky stream of Wa River Maejarim District, Nan Province. Fish were collected monthly from October 2010 to September 2011 by using gillnet. A total of 821 individuals were sampled and immediately preserved in 10% formalin.

Laboratory procedures and data collection

All fish were measured to the nearest 1 mm. in the total length (TL) and weighted to the nearest 0.1 g. Data were used to establish the length-weight relationship $W = aL^b$, Where a and b are specific constant values. Gonads of the fish were examined under a dissecting microscope for its external features color in order to determine a maturity stage [10].

Fecundity estimates and relative fecundity

Fecundity was estimated on the basis of total weight of ovaries. The fecundity was obtained by using the following equation [11]:

$$F = \frac{\text{No. of samples eggs} \times \text{Gonad weight}}{\text{Sample weight}}$$

Temporal reproductive cycle

Paired gonads were weighed individually in our study to the nearest 0.01 g. Gonadosomatic Index (GSI) was determined monthly by the equation: $GSI = (GW/SW) \times 100$ [12,13]. The condition factor (K) was calculated monthly with the formula $K = (W/L^3) \times 100$ [14]. Six mature gonad (i.e. 3 testes and 3 ovaries) per month were used for histological studies. Maturity classification of our study specimens is followed of seven- macroscopic stages adapted from [14-16].

Results and discussion

Length-weight relationship

Ranging from 7.4–61 (23.32 ± 5.91) cm, 821 samples. There were 353 males that had fish samples there were 8.5–45.1 cm of TL (22.36 ± 5.91cm) and 468 females that had 7.4 ± 61 cm of TL (24.04 ± 7.09 cm). The relationships equation between total length and weight was $W = 0.008TL^{3.064}$ ($r^2 = 0.940$) for total fish, $W = 0.007TL^{3.107}$ ($r^2 = 0.946$) for females and $W = 0.010TL^{3.003}$ ($r^2 = 0.930$) for males.

Fecundity estimates and relative fecundity

The absolute fecundity ranged from 220 to 3,500 eggs per female, with an average of 1404.55 ± 651.51 eggs. The relationships between fecundity and total length revealed $F = 121.1TL - 2100$ ($r = 0.874$, $N = 119$) and relationships between fecundity and weight revealed $F = 4.535 + 128.78$ ($r = 0.839$, $N = 119$). This result means that fecundity increase with body length at a constant rate.

The JSFS 85th Anniversary-Commemorative International Symposium
"Fisheries Science for Future Generations"

Symposium Proceedings, No. 02007

Temporal reproductive cycle

The mean GSI of shows three peaks throughout a year (Fig. 1). The first peak was in month of January (GSI = 2.465) followed by June (MGSI = 2.776) which the highest peak. Then the last peak was in August (GSI = 1.239) (Fig. 1). The histology of the gonads (Fig. 2) confirmed that *N. stracheyi* has two spawned. The mean gonad weight and GSI of females and males of *N. stracheyi* in the area increased gradually from maturing virgin stage to the peak value at the gravid stages and decreased to the lowest value at the spent stage).

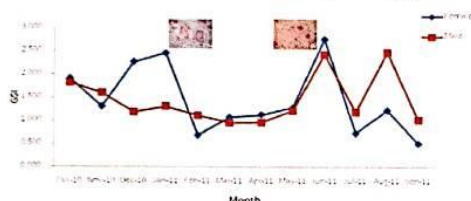


Fig. 1. Average monthly gonadosomatic index (GSI) of *N. stracheyi* in Wa River, Thailand from October 2010 to September 2011.



Fig. 2. (A) Histological appearance of ovary maturation, *N. stracheyi*. (a) Immature ovary; (b) mature or rebuilding ovary; (c) mature ovary; (d) fully mature or ripe ovary; (e) mature ovary; (f) spent ovary: LV, lipid vesicle; N, nucleus; YV, yolk vesicle. (B) Histological appearance of testis maturation, *N. stracheyi*. (a) Immature testis; (b) mature or rebuilding testis; (c) mature testis; (d) fully mature or ripe testis; (e) mature testis; (f) spent or resting testis: SP, spermatozoa; SG, spermatogonia; PN, pycnotic nets of degenerating cells.

Conclusions

The spawning season occurred in January to August, while spawning of *N. soroides* high rainfall distribution during November and April [9] and Swar and Craig [17] studied on the reproductive biology of *N. hexagonolepis* were found to have a prolonged breeding season from April to October. The history of the gonad confirmed that *N. stracheyi* has multiple spawners. Protracted multiple spawners, usually take their spawning cues from extrinsic factors such as rainfall, water level, temperature and photoperiod. In tropical regions, such as in Thailand, temperatures, day length photoperiod and annual rainfall distribution may have small seasonal variation and probably had little effect on the fish breeding activities [18,19].

Acknowledgements

The study was financially by the Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources Maejo University.

References

1. Rainboth WJ (1996) FAO Species Identification Field Guide for Fishery Purposes. FAO, Rome, 265 p
2. Turkmen M, Haliloglu HI, Erdoğan O, Yıldırım A (1999) Turk J Zool 23: 355–364
3. Suvamaraksha A, Lek S, Lek-Ang S, Jatagat T (2011) J Appl Ichthyol 27: 995–1000
4. Rainboth WJ (1991) Cyprinid Fishes – Systematics, Biology and Exploitation (Winfield J, Nelson JS eds). Chapman and Hall, London
5. Appleford P, Anderson TA, Gooley GJ (1998) Mar Freshwater Res 49: 163–169
6. Fowler AJ, McLeay L, Short DA (1999) Mar Freshwater Res 50: 1–14
7. Smith BB, Walker KF (2004) J Fish Biol 64: 336–354
8. Ahmad N (1948) Proc Natl Inst Sci India 14: 21–28
9. Khaironizam MZ, Zakaria-Ismail M (2013) Turk J Zool 37: 65–72
10. Simon KD, Bakar Y, Mazlan AG, Zaidi CC, Samat A et al. (2012) Environ Biol Fish 93: 491–503
11. Le Cren ED (1951) J Anim Ecol 20: 201–219
12. Solomon FN, Ramnarine IW (2007) Fish Res 88: 133–138
13. Ozvarol ZAB, Balci BA, Tasli MGA, Kaya Y, Pehlivan M (2010) J Anim Vet Adv 9: 939–945
14. Biswas SP (1993) Manual of Methods in Fish Biology. South Asian Pub, New Delhi
15. Patnaik S (1970) Curr Sci 36: 33–61
16. Selman K, Wallace RA (1989) Zool Sci 6: 211–231
17. Swar DB, Craig JF (2002) Cold Water Fisheries in the Trans-Himalayan Countries (Petr T, Swar SB eds). FAO Technical Paper – No. 431, Rome, pp. 293–301
18. Pongsirijun S, Boongarm J, Pongjanyakul T (2002) Technical paper No. 4/2002, Inland fisheries division, Department of fisheries. 44 p
19. Pongcharean S, Meksumpun C (2006) Proceedings of 44th Kasetsart University Annual Conference: Fisheries, pp. 21–28

4.2 การประยุกต์ใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพสิ่งแวดล้อมทางน้ำ

4.2.1 การคัดเลือกตัวแปรทางชีวภาพของปลา

การประยุกต์ใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพสิ่งแวดล้อมทางน้ำแบ่งกรณีศึกษาออกเป็น 2 แหล่งน้ำ คือ ตัวแทนระบบนิเวศน้ำนิ่ง และ น้ำไหล โดยกรณีน้ำนิ่ง พื้นที่ศึกษาคือ เขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล จังหวัดเชียงใหม่ (P1) โดยใช้ข้อมูลตั้งแต่ปี 2545 ถึงปี 2546 ส่วนกรณีน้ำไหล พื้นที่ศึกษา คือ กลุ่มน้ำแม่แตง จ.เชียงใหม่ (P2) ใช้ข้อมูลตั้งแต่ปี 2543 ถึงปี 2544 โดยการเลือกเมทริกที่เป็นองค์ประกอบของดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพของแต่ละพื้นที่จะขึ้นอยู่กับคุณลักษณะของชุมชนสิ่งมีชีวิตในพื้นที่นั้น ๆ ก็มีความแตกต่างกันตามพื้นที่แต่โดยหลักประกอบด้วย 2 ปัจจัยคือ ปัจจัยด้านชีวภาพ (Biological parameters) ประกอบด้วยความหลากหลายชนิด (Species diversity) สถานะของปลา (Fish status) และ พฤติกรรมการกินอาหาร (Trophic composition) ที่บ่งบอกถึงรูปแบบของอาหารที่สำคัญของสิ่งมีชีวิตในแต่ละชนิดนั้นที่มีลักษณะที่แตกต่างกันออกไปตามข้อมูลชีววิทยาของชนิดนั้น ๆ ส่วนปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม (Environmental parameters) โดยปัจจัยชีวภาพ ประกอบด้วยองค์ประกอบของถิ่นอาศัย (Habitat composition) โดยในกลุ่มนี้จะมีความหลากหลายในแหล่งน้ำนิ่งเราสามารถแยกได้ถึง 6 กลุ่มในแหล่งน้ำนิ่ง (ภาพที่ 22) เนื่องจากสภาพของเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชลนั้นมีการไหลเข้าของสายน้ำย่อย ๆ ที่เป็นเสมือนต้นน้ำไหลเข้าสู่อ่างเก็บน้ำ กลุ่มปลาที่มีความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลง (Tolerant) องค์ประกอบตามความชุกชุมและสุขภาพ (Fish health) และกลุ่มปลาที่มีการกระจายตัวตามระดับความสูง (Altitude distribution) จัดเป็นเมทริกใหม่สำหรับการประเมินดัชนีความสมบูรณ์ของแหล่งน้ำไหล รวมทั้ง 2 แหล่งน้ำ ประกอบด้วย 18 เมทริก ดังนี้

4.2.1.1) จำนวนชนิดของสิ่งมีชีวิตที่พบทั้งหมด (Species richness) หมายถึง จำนวนปลาทั้งหมดที่พบในพื้นที่ดังกล่าวในช่วงระยะเวลาที่ศึกษา (ซุกีรี, 2551) และเป็นเมทริกที่นิยมนำมาใช้เพื่อบอกลึกว่าจำนวนชนิดปลาจะลดลงตามความเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำ โดยการศึกษาครั้งนี้ประยุกต์ตาม Li, F. *et al.* (2018)

4.2.1.2) ค่าดัชนีความหลากหลายทางชีวภาพ (Diversity index) เป็นค่าที่ใช้วิเคราะห์ความหลากหลายของชุมชนปลาในพื้นที่ หากพบว่ามีความสูงหมายถึงว่าพื้นที่นั้นมีความหลากหลายของปลาสูง (ซุกีรี, 2551) เมทริกนี้สามารถบอกลึกถึงผลกระทบหรือความเสื่อมโทรมของระบบนิเวศได้ เนื่องจากค่าดัชนีความหลากหลายทางชีวภาพ จะลดลงตามความเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำ โดยการศึกษาครั้งนี้ประยุกต์ตาม Wu *et al.* (2020)

4.2.1.3) กลุ่มปลาชนิดเด่น (Dominant species) แสดงกลุ่มปลาชนิดเด่นที่พบมากที่สุด ในแหล่งน้ำที่ประเมินและจะมีเปอร์เซ็นต์ลดลงตามความเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำ โดยการศึกษาครั้งนี้ประยุกต์ตาม Vile and Henning (2018)

4.2.1.4) ร้อยละปลาเฉพาะถิ่น (Native species) จำนวนชนิดปลาพื้นถิ่นจะลดลงตามความเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำ (Cai *et al.*, 2020; Lyons, 2006)

4.2.1.5) จำนวนชนิดพันธุ์ต่างถิ่น (Alien species) ค่าดัชนีความหลากหลายทางชีวภาพจะลดลงขึ้นตามสภาพแวดล้อมที่เสื่อมโทรมตาม โดยการศึกษาครั้งนี้ประยุกต์ตาม Zhu and Chang (2008)

4.2.1.6) ร้อยละจำนวนปลาผสม (Hybrid species) ร้อยละจำนวนปลาผสมจะเพิ่มขึ้นตามสภาพแวดล้อมที่เสื่อมโทรมตาม Karr (1981) ซึ่งจะใช้เป็นเมตริกเฉพาะในแหล่งน้ำนิ่งเท่านั้น เนื่องจากตัวอย่างที่เราศึกษาเมื่อปี 2545 ถึงปี 2546 มีการพบกลุ่มนี้ด้วย แต่ในผืนน้ำไหลไม่พบกลุ่มดังกล่าว

4.2.1.7) เพอร์เซ็นต์ปลาที่กินทั้งพืชและสัตว์เป็นอาหาร (Omnivores) แสดงถึงกลุ่มปลาที่มีพฤติกรรมการกินอาหารได้ทั้งพืชและสัตว์ (Argillier *et al.*, 2013) และสามารถปรับตัวได้ดีตามสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งมีความสามารถกินอาหารได้หลากหลาย โดยค่าร้อยละของกลุ่มน้ำจะเพิ่มขึ้นตามสภาพแวดล้อมที่เสื่อมโทรม โดยการศึกษาครั้งนี้ประยุกต์ตาม Wu *et al.* (2020)

4.2.1.8) ร้อยละปลาที่กินแมลงเป็นอาหาร (Insectivores) ร้อยละของจำนวนปลาที่มีพฤติกรรมการกินอาหารเป็นกลุ่มสัตว์หน้าดิน รวมถึงกลุ่มที่กินสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังเป็นอาหาร เป็นกลุ่มที่กินแมลงเป็นอาหารถึง 75 เปอร์เซ็นต์ (Argillier *et al.*, 2013) จำนวนร้อยละของกลุ่มนี้จะลดลงตามความเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำ โดยการศึกษาครั้งนี้ประยุกต์ตาม Wu *et al.* (2014)

4.2.1.9) ร้อยละปลาที่เป็นผู้ล่า (Carnivores) แสดงถึงกลุ่มปลาที่มีพฤติกรรมการกินสัตว์อื่นเป็นอาหาร (Argillier *et al.*, 2013) สามารถใช้แยกความแตกต่างของแหล่งน้ำที่มีคุณภาพยอดเยี่ยมกับคุณภาพปานกลาง โดยค่าร้อยละของกลุ่มน้ำจะลดลงตามสภาพแวดล้อมที่เสื่อมโทรม โดยการศึกษาครั้งนี้ประยุกต์ตาม Wu *et al.* (2020)

4.2.1.10) ระดับที่อยู่อาศัยผิวน้ำ (Pelagic species) เมตริกกลุ่มนี้เป็นกลุ่มปลาที่อาศัยในและหากินในระดับผิวน้ำ พฤติกรรมการกินอาหารที่มีการเคลื่อนตัวขึ้นลงระหว่างผิวน้ำและกลางน้ำ จำนวนร้อยละของกลุ่มนี้จะลดลงตามความเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำประยุกต์ตาม Wu *et al.* (2020)

4.2.1.11) ระดับที่อยู่อาศัยกลางน้ำ (Water column) เป็นตัวแปรที่พัฒนาเริ่มต้นจากเมตริก Number of sunfish species (Karr, 1981) เนื่องจากเป็นกลุ่มปลาที่อาศัยในน้ำนิ่ง มีพฤติกรรมการกินอาหารที่มีการเคลื่อนตัวขึ้นลงระหว่างผิวน้ำและพื้นที่ท้องน้ำ โดยมีความสามารถในการหาอาหารได้หลากหลายในทุกระดับ เช่นกลุ่ม Cyprinidae บางกลุ่ม (สมศักดิ์ และ ปราณีต, 2562) จำนวนร้อยละของกลุ่มนี้จะเพิ่มขึ้นหรือยังคงอยู่ถึงแม้ว่ามีการเปลี่ยนแปลงหรือจากความสัมพันธ์ในระบบนิเวศ โดยการศึกษาครั้งนี้ประยุกต์ตาม Zogaris *et al.* (2018)

4.2.1.12) อยู่อาศัยพื้นน้ำ (Bottom species) ตัวแปรชีวภาพพัฒนาเริ่มมาจากเมตริก Number of Darter specie (Karr, 1981) และมีการใช้อย่างแพร่หลายในเมตริกนี้ (Zogaris *et al.*, 2018) ซึ่งเป็นกลุ่มปลาที่มีพฤติกรรมการหากินอาหารและอาศัยอยู่บริเวณพื้นที่ท้องน้ำส่วนใหญ่ มีความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลงของพื้นที่ท้องน้ำ โดยการศึกษาครั้งนี้ประยุกต์ตาม Zogaris *et al.* (2018)

4.2.1.13) ระดับที่อยู่อาศัยพื้นน้ำบนโขดหิน (Percentage of rocky and stone) ซึ่งจะใช้เป็นเมตริกเฉพาะในแหล่งน้ำนิ่งเท่านั้น โดยการศึกษาครั้งนี้ประยุกต์ตาม Suvarnaraksha (2003)

4.2.1.14) ระดับที่อยู่อาศัยพื้นท้องน้ำบนทรายและกรวด (Percentage of sandy and gravel) ซึ่งจะใช้เป็นเมตริกเฉพาะในแหล่งน้ำนิ่งเท่านั้น โดยการศึกษาครั้งนี้ประยุกต์ตาม Suvarnaraksha (2003) ระดับที่อยู่อาศัยบนกรวดขนาดเล็กและโคลน (Percentage of silty to muddy) ซึ่งจะใช้เป็นเมตริกเฉพาะในแหล่งน้ำนิ่งเท่านั้น โดยการศึกษาครั้งนี้ประยุกต์ตาม Suvarnaraksha (2003)

4.2.1.15) เพอร์เซ็นต์ปลาที่มีความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลง (Percent of intolerant species) แสดงถึงกลุ่มปลาที่มีความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลงของแหล่งน้ำ และจะเป็นกลุ่มแรกที่ย้ายไปจากแหล่งน้ำหากได้รับผลกระทบจนเกิดการเปลี่ยนแปลงของแหล่งน้ำ ดัดแปลงตาม (Li, T. *et al.*, 2018)

4.2.1.16) เพอร์เซ็นต์ปลาที่อดทนต่อการเปลี่ยนแปลง (Percentage of tolerant species) กลุ่มนี้แสดงค่าร้อยละของกลุ่มปลาที่มีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของแหล่งน้ำได้สูง โดยมักจะมีการเพิ่มปริมาณที่มากขึ้นมาแทนที่กลุ่มปลาที่มีความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลง ดัดแปลงมาตาม (Li, T. *et al.*, 2018)

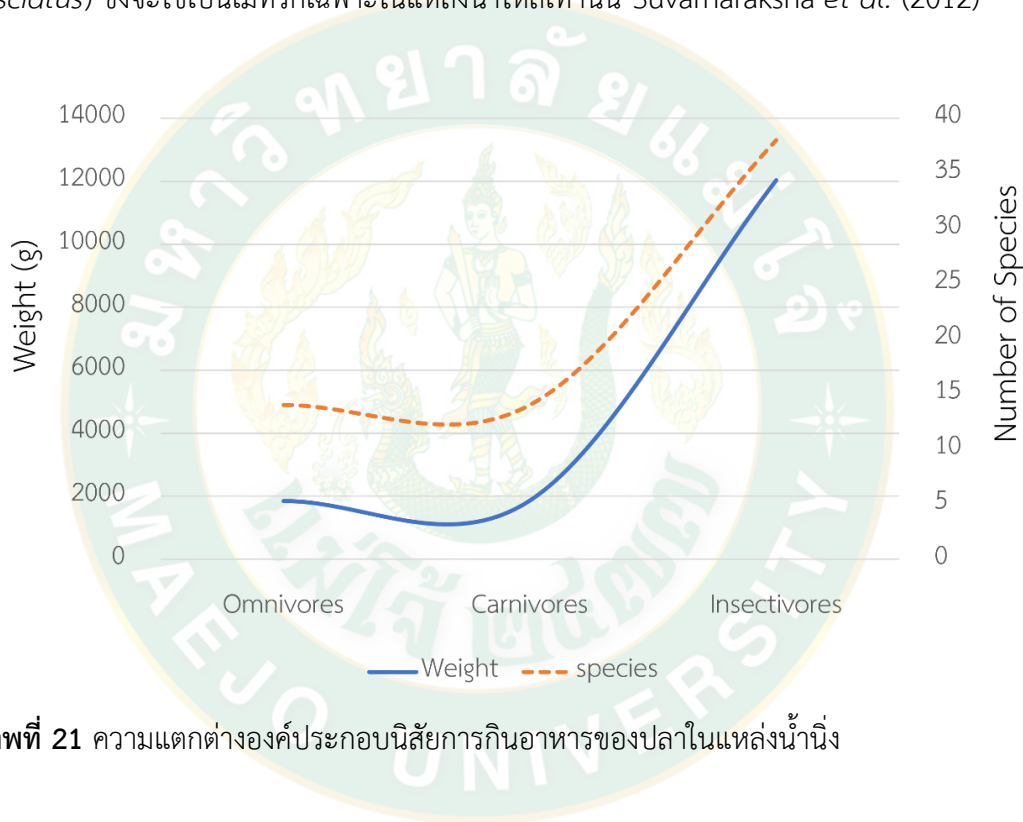
4.2.1.17) ปลาที่มีลักษณะผิดปกติ (Number of disease health) ร้อยละของปลากลุ่มที่มีลักษณะผิดปกติที่สามารถสังเกตได้ เช่น ตัวบวม ครีบบวม มีแผลตามร่างกาย ตัวแปรชีวภาพนี้จะแสดงให้เห็นถึงสภาวะทางสุขภาพของแหล่งน้ำ ปลาที่มีลักษณะปกติจะไม่พบในพื้นที่แหล่งน้ำอ้างอิง

4.2.1.18) ค่าร้อยละของกลุ่มปลาภูเขา (Percentage of Mountainous species) เป็นกลุ่มที่จำกัดอยู่ในพื้นที่สูงที่มีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิต่ำและมีกระแสน้ำไหลแรงซึ่งกลุ่มนี้จะอาศัยในลำธารขนาดเล็กในพื้นที่สูง เช่น ปลาคางคาว (*Oreoglanis siamensis*) เป็นต้น โดยเมตริกนี้จะนำไปประเมินเฉพาะในแหล่งน้ำไหลเท่านั้น Suvarnaraksha *et al.* (2012)

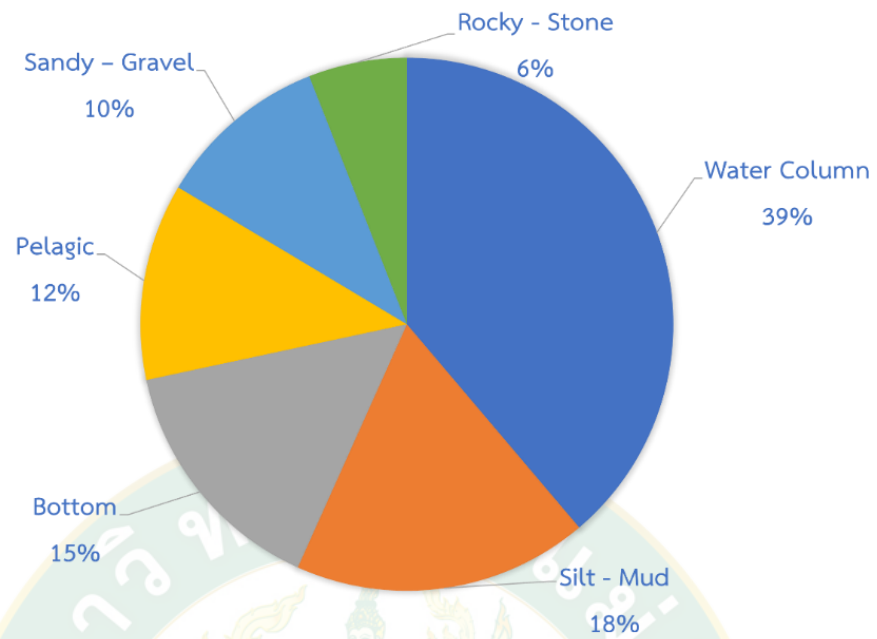
4.2.1.19) ค่าร้อยละของกลุ่มปลาเชิงเขา (Percentage of Piedmont species) เป็นกลุ่มปลาที่อาศัยในพื้นที่ที่มีความสูงน้อยกว่ากลุ่มปลาภูเขา เช่น ปลาอืด (*Lepidocephalichthys hasseltii*) โดยเมตริกนี้จะนำไปประเมินเฉพาะในแหล่งน้ำไหลเท่านั้น Suvarnaraksha *et al.* (2012)

4.2.1.20) ค่าร้อยละของกลุ่มปลารอยต่อ (Percentage of Transitory species) เป็นกลุ่มปลาที่อาศัยอยู่ในส่วนล่างของกลุ่มน้ำ ที่มีความกว้างของลำธารและความลึกของลำธารมากกว่ากลุ่มปลาภูเขา กลุ่มปลาเชิงเขา เช่น ปลาแก้มขี้ (Systemus rubripinnis) ซึ่งจะใช้เป็นเมตริกเฉพาะในแหล่งน้ำไหลเท่านั้น Suvarnaraksha *et al.* (2012)

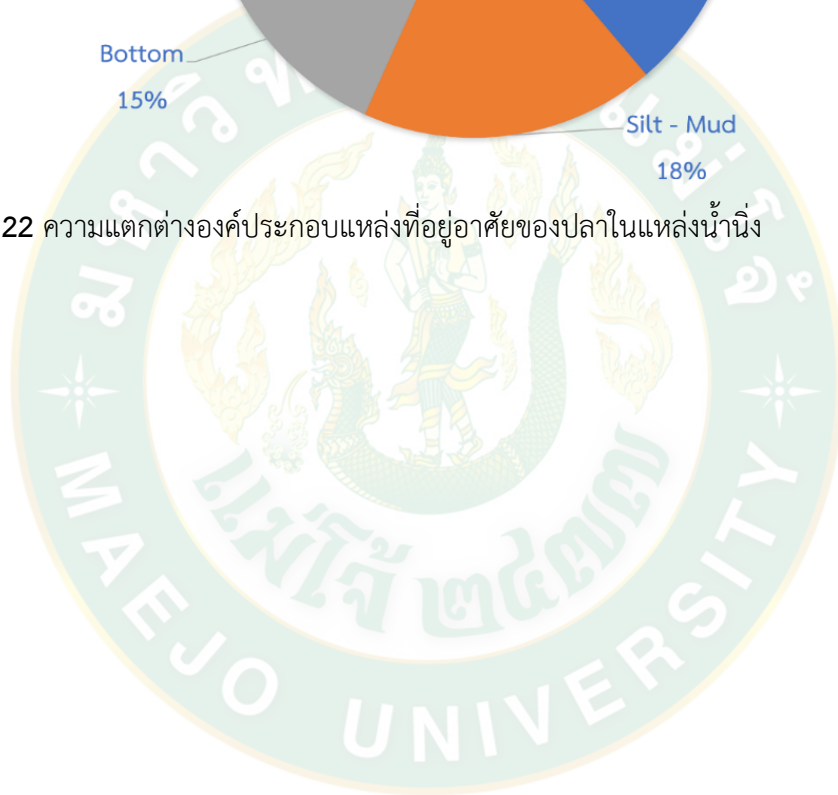
4.2.1.21) ค่าร้อยละของกลุ่มปลาพื้นราบ (Percentage of Lowland species) เป็นกลุ่มปลาที่อาศัยอยู่ในส่วนล่างของกลุ่มน้ำ ที่มีความกว้างของลำธารและความลึกของลำธารน้ำมากกว่าทั้ง 3 กลุ่ม (กลุ่มปลาภูเขา,กลุ่มปลาเชิงเขาและกลุ่มปลารอยต่อ) เช่น ปลาหมอช้างเหยียบ (*Pristolepis fasciatus*) ซึ่งจะใช้เป็นเมตริกเฉพาะในแหล่งน้ำไหลเท่านั้น Suvarnaraksha *et al.* (2012)



ภาพที่ 21 ความแตกต่างองค์ประกอบนิสัยการกินอาหารของปลาในแหล่งน้ำนี้



ภาพที่ 22 ความแตกต่างองค์ประกอบแหล่งที่อยู่อาศัยของปลาในแหล่งน้ำนิ่ง



ตารางที่ 10 การกำหนดกลุ่มตัวแปรทางชีวภาพ หรือเมตริก

Attributes	Metrics	Metric น้ำนิ่ง	Metric น้ำไหล	Response to river health	Reference
Species diversity	Number of species richness	M1	M1	Decrease	Li, T. <i>et al.</i> (2018)
	Shannon-Weiner biodiversity index	M2	M2	Decrease	Wu <i>et al.</i> (2020)
	Dominant Simpson's index	M3	M3	Decrease	Vile and Henning (2018)
Fish status	Percentage of native species	M4	M4	Decrease	Lyons (2006)
	Number/Percentage of alien species	M5	M5	Increase	Zhu and Chang (2008)
	Percentage of hybrid species	M6	-	Increase	Karr (1981)
Trophic composition	Percentage of omnivores	M7	M6	Increase	Wu <i>et al.</i> (2020)
	Percentage of insectivores	M8	M7	Decrease	Wu <i>et al.</i> (2014)
	Percentage of carnivores	M9	M8	Decrease	Wu <i>et al.</i> (2020)
Altitude distribution	% of lowland specie	-	M9	Increase	Suvarnaksha <i>et al.</i> (2012)
	% of transitory species	-	M10	Increase	
	% of piedmont species	-	M11	Decrease	Suvarnaksha <i>et al.</i> (2012)
	% of mountainous species	-	M12	Decrease	Suvarnaksha <i>et al.</i> (2012) Suvarnaksha <i>et al.</i> (2012)
Habitat composition	% of pelagic	M10	M13	Decrease	Wu <i>et al.</i> (2020)
	% of water column	M11	M14	Increase	Zogaris <i>et al.</i> (2018)
	% of bottom	M12	M15	Decrease	Zogaris <i>et al.</i> (2018)
	% of rocky and stone	M13	-	Decrease	Suvarnaksha (2003)
	% of sandy and gravel	M14	-	Decrease	Suvarnaksha (2003)
	% of silty to muddy	M15	-	Decrease	Suvarnaksha (2003)
Tolerant	% of intolerant species	M16	M16	Decrease	Li, T. <i>et al.</i> (2018)
	% of tolerant species	M17	M17	Increase	Li, T. <i>et al.</i> (2018)
Abundance and condition	Number of disease health	M18	M18	Increase	Wu <i>et al.</i> (2014)

4.2.2 จัดกลุ่มของปลาตามลักษณะทางชีววิทยา

4.2.2.1) องค์ประกอบของปลาน้ำจืดในแหล่งน้ำนิ่ง

ในพื้นที่การศึกษาเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล พบปลาทั้งหมด 67 ชนิด 22 ครอบครัว (ตารางที่ 11) จัดจำแนกตามคุณลักษณะทางชีววิทยาและบทบาทในระบบนิเวศ ตามตารางที่ 11 พบว่า กลุ่มปลาที่มีความอดทนต่อการเปลี่ยนแปลง (intolerant) 44 ชนิด และกลุ่มปลาที่มีความอดทนต่อการเปลี่ยนแปลง (tolerant) มี 23 ชนิด เมื่อแบ่งตามการกินอาหาร (ภาพที่ 21) พบว่า กลุ่มที่มากที่สุดคือ กลุ่มปลาที่กินแมลงและสัตว์พื้นท้องน้ำเป็นอาหาร (insectivores) มีมากถึง 35 ชนิด เช่น *Lepidocephalichthys hasselti* ส่วนกลุ่มปลาที่กินได้ทั้งพืช (omnivores) และสัตว์และปลาที่กินสัตว์เป็นอาหาร (carnivores) มีเท่ากันคืออย่างละ 16 ชนิด ในกลุ่มน้ำนิ่งจะมีการแบ่งกลุ่มที่ในระบับการว่ายน้ำหาอาหารและอาศัยอยู่แตกต่างกันถึง 6 เมทริก (ภาพที่ 22) คือ กลุ่มปลาผิวน้ำ (pelagic) 8 ชนิด ปลุ่มปลาว่ายน้ำไปมาระหว่างผิวน้ำ และพื้นท้องน้ำ (water column) 26 ชนิด กลุ่มที่อาศัยอยู่ที่พื้นไม่ระบุลักษณะพื้นท้องน้ำ (bottom) 10 ชนิด กลุ่มที่อาศัยหากินบริเวณโขดหินและก้อนหินขนาดเล็ก (rocky and stone) 4 ชนิด กลุ่มที่อาศัยและหากินบริเวณที่มีทรายและกรวด (sandy and gravel) 7 ชนิด เช่น *Homalopteroides smithi* และกลุ่มที่อาศัยอยู่ในทรายหรือหินละเอียดและโคลน (silty to muddy) 12 ชนิด และในแหล่งน้ำนิ่งยังกำหนดกลุ่มปลาถูกผสมลงไปด้วยซึ่งพบเพียง 2 ชนิด คือ *Clarias hybrid* และ *Oreochromis hybrid* ส่วนกลุ่มปลาท้องถิ่นที่มีมากที่สุดอยู่ที่ 56 ชนิด และกลุ่มปลาต่างถิ่นพบมากถึง 8 ชนิด คือ *Oreochromis niloticus*, *Oreochromis hybrid*, *Clarias hybrid*, *Cyprinus carpio*, *Labeo rohita*, *Pterygoplichthys disjunctivus* และอีก 2 ชนิดที่ไม่ได้มีถิ่นฐานในอ่างเก็บน้ำมาก่อนคือ *Pangasianodon hypophthalmus* และ *Pangasianodon gigas* และมากกว่านั้นปลาต่างถิ่นที่ไม่เคยพบและรายงานก่อนหน้านั้นคือ *Channa micropeltes* และ *Leptobarbus rubipinnis*

4.2.2.2) องค์ประกอบของปลาน้ำจืดในแหล่งน้ำไหล

ในพื้นที่การศึกษา แม่น้ำแม่แตงพบทั้งหมด 52 ชนิด 17 ครอบครัว ครอบครัวที่พบมากที่สุดคือ กลุ่มปลาตะเพียน โดยในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่เป็นกลุ่มปลาท้องถิ่น และได้นำไปจัดจำแนกตามคุณลักษณะทางชีววิทยาและบทบาทในระบบนิเวศ ตามตาราง 12 สามารถแบ่งกลุ่มปลาออกเป็น 5 กลุ่ม ประกอบด้วย Fish status ที่พบปลาต่างถิ่น 4 ชนิด คือ *Pterygoplichthys disjunctivus*, *Clarias hybrid*, *Oreochromis niloticus*, *Gambusia affinis* และกลุ่มปลาที่แบ่งตามลักษณะการกินอาหารพบกลุ่มปลาที่กินแมลงและสัตว์พื้นท้องน้ำเป็นอาหารนั้นมีปริมาณมากที่สุด insectivores (35 ชนิด) เช่น *Devario maetaengensis* รองลงมาคือกลุ่มปลาที่กินได้ทั้งพืชและสัตว์ omnivores (9 ชนิด) เช่น *Neolissochilus stracheyi* และกลุ่มปลาที่กินกลุ่มสัตว์ด้วยกันเป็นอาหาร คือ carnivores (8 ชนิด) เช่น *Channa gachua* และสามารถแบ่งกลุ่มตามลักษณะแหล่งที่อยู่อาศัยใน

แหล่งน้ำไหลเราแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มด้วยกัน คือ กลุ่มที่พบมากที่สุดคือปลาที่อยู่และหาอาหารตามพื้นท้องน้ำ (Bottom) 30 ชนิด เช่น *Ceratogarra cambodgiensis* รองลงมาคือกลุ่มปลาที่มีการว่ายน้ำขึ้นหาอาหารผิวน้ำและลงมาอยู่พื้นท้องน้ำสลับไปมามี 14 ชนิด (water column) เช่น *Mystacoleucus obtusirostris* ส่วนกลุ่มสุดท้ายคือกลุ่มปลาที่มักจะอยู่ผิวน้ำคือ pelagic (8 ชนิด) เช่น *Barilius pulchellus* สำหรับกลุ่มปลาที่มีความอดทนต่อการเปลี่ยนแปลงมีมากถึง 34 ชนิด (intolerant) ส่วนกลุ่มที่มีความอดทนต่อการเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อม (tolerant) พบ 18 ชนิด ในการศึกษาครั้งนี้ได้กำหนดเมทริกใหม่ขึ้นมาอีก 4 เมทริก ที่เป็นความสัมพันธ์ระหว่างความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลางและการแพร่กระจายของชนิดปลา (altitude distribution) (Suvarnaraksha *et al.*, 2012) สามารถแบ่งออกได้เป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มแรกเป็นกลุ่มที่ถูกจำกัดอยู่ในพื้นที่สูงที่มีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิที่ต่ำและมีกระแสน้ำไหลแรงหรือเรียกว่า ปลาภูเขา (mountain species) พบ 6 ชนิด เช่น *Oreoglanis siamensis* และ *Glyptothorax trilineatus* กลุ่มที่ 2 กลุ่มปลาที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ที่มีความสูงน้อยกว่าปลากลุ่มแรกหรือเรียกว่า ปลาเชิงเขา (piedmont species) พบ 32 ชนิด เช่น *Barilius pulchellus* และ *Discherodontus schroederi* ปลากลุ่มที่ 4 คือ ปลาที่อยู่ส่วนพื้นที่ราบของลุ่มน้ำที่มีความกว้างของลำธารใหญ่และมีความลึกของแหล่งน้ำมากกว่ากลุ่มแรกหรือเรียกว่า ปลาพื้นราบ (lowland species) พบ 9 ชนิด เช่น *Trichopodus trichopterus* และ *Trichopsis vittata* และกลุ่มปลารอยต่อระหว่างกลุ่มที่ 2 และกลุ่มที่ 4 หรือเรียกกลุ่มปลาชั่วคราว transitory species พบ 5 ชนิด เช่น *Mystacoleucus obtusirostris* และ *Systemus rubripinnis* เป็นต้น

ตารางที่ 11 จัดจำแนกตามคุณลักษณะทางชีววิทยาและบทบาทในระบบนิเวศสำหรับกลุ่มปลาน้ำนิ่ง

No.	Family/ Species	Origin	Trophic group	Tolerance	Habitat	IUCN status
	Osteoglossiformes					
	Notopteridae					
1	<i>Notopterus notopterus</i> (Pallas, 1769)	Na ⁷	CA ^{1, 2, 3, 5}	TO ²	WC ³	LC
	Cypriniformes					
	Cyprininae					
2	<i>Barilius koratensis</i> (Smith, 1931)	Na ⁷	IN ^{1, 2, 3}	Π ⁷	PG ³	LC
3	<i>Barilius pulchellus</i> (Smith, 1931)	Na ⁷	IN ^{1, 2, 3}	Π ⁶	PG ³	LC
4	<i>Danio albolineatus</i> (Blyth, 1860)	Na ⁷	IN ^{1, 2, 3}	TO ⁷	PG ³	LC
5	<i>Esomus metallicus</i> Ahl, 1923	Na ⁷	IN ^{1, 2, 3}	Π ⁷	PG ³	LC
6	<i>Rasbora myersi</i> (Bleeker, 1851)	Na ⁷	IN ^{1, 2, 3}	Π ⁷	PG ³	-
7	<i>Rasbora paviana</i> Tirant, 1885	Na ⁷	IN ^{1, 2, 3}	Π ⁷	PG ³	LC
8	<i>Barbonymus altus</i> (Günther, 1868)	Na ⁷	ON ^{1, 2, 3, 5}	TO ²	WC ³	LC
9	<i>Barbonymus gonionotus</i> (Bleeker, 1850)	Na ⁷	ON ^{1, 2, 3, 5}	Π ⁷	WC ^{3, 5}	LC
10	<i>Cirrhinus cirrhosa</i> (Blotch, 1975)	Al ^{2, 5}	IN ³	Π ⁷	WC ⁵	VU
11	<i>Labiobarbus lineata</i> (Sauvage, 1878)	Na ⁵	ON ^{1, 2, 5}	Π ⁷	WC ⁵	-

ตารางที่ 11 (ต่อ)

No.	Family/ Species	Origin	Trophic group	Tolerance	Habitat	IUCN status
12	<i>Cyclocheilichthys armatus</i> (Valenciennes, 1842)	Na ⁷	ON ^{1,2,5}	Π ⁷	WC ⁵	LC
13	<i>Cyprinus carpio</i> Linnaeus, 1758	Al ^{1,2,3}	ON ^{1,2,3}	Π ⁷	WC ³	VU
14	<i>Discherodontus schroederi</i> (Smith, 1945)	Ed ⁴	IN ^{1,2}	Π ⁷	WC ⁷	LC
15	<i>Ceratogarra cambodgiensis</i> (Tirant, 1884)	Na ⁷	ON ^{1,2,3}	Π ⁶	RS ⁷	LC
16	<i>Hampala macrolepidota</i> Kuhl & van Hasselt, 1823	Na ⁷	CA ^{1,2,3,5}	Π ⁷	WC ³	LC
17	<i>Henicorhynchus siamensis</i> (Sauvage 1881)	Na ⁷	ON ^{1,2,5}	Π ⁷	WC ^{3,5}	-
18	<i>Labeo chrysophekadion</i> (Bleeker, 1849)	Na ⁷	ON ^{1,2}	Π ⁷	BT ³	LC
19	<i>Labeo rohita</i> (Hamilton, 1822)	Al ^{1,2,3,5}	IN ^{1,2,5}	Π ⁷	BT ³	LC
20	<i>Mystacoleucus obtusirostris</i> (Valenciennes, 1842)	Na ⁷	IN ^{2,3}	TO ^{3,6}	WC ³	LC
21	<i>Neolissochilus stracheyi</i> (Day, 1871)	Na ⁷	ON ^{1,2}	Π ⁶	WC ³	LC
22	<i>Puntioplites proctozysron</i> (Bleeker, 1865)	Na ⁷	ON ^{1,2,5}	Π ⁷	WC ^{3,5}	-
23	<i>Pethia stoliczkana</i> (Day, 1871)	Na ⁷	IN ²	Π ⁷	WC ³	-
24	<i>Puntius brevis</i> (Bleeker, 1849)	Na ⁷	IN ^{1,2,5}	Π ⁷	WC ^{3,5}	LC
25	<i>Systemus rubripinnis</i> (Valenciennes, 1842)	Na ⁷	IN ^{1,2,5}	Π ⁵	WC ^{3,5}	-
	Botiidae					
26	<i>Syncrossus beauforti</i> (Smith, 1931)	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	Π ⁷	SM ⁷	NT
27	<i>Yasuhikotakia morleti</i> (Tirant, 1885)	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	Π ⁷	SM ⁷	LC
	Cobitidae					
28	<i>Aperioptus gracilentus</i> (Smith, 1945)	Na ⁷	IN ³	Π ⁷	SM ⁷	LC
29	<i>Acantopsis runghthipae</i> Boyd, et al., 2017	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	Π ⁷	SM ⁷	LC
30	<i>Acantopsis thiemmedhi</i> Sontirat, 1999	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	Π ⁶	SM ⁷	DD
31	<i>Lepidocephalichthys hasselti</i> (Valenciennes, 1842)	Na ⁷	IN ^{2,3}	TO ²	SM ⁷	LC
32	<i>Pangio anguillaris</i> (Vallant, 1902)	Na ⁷	IN ^{1,3}	Π ⁷	SM ⁷	-
	Balitoridae					
33	<i>Homalopteroides smithi</i> (Hora 1932)	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	Π ⁶	RS ³	LC
34	<i>Balitoropsis zollingeri</i> (Bleeker 1853)	Na ⁷	IN ^{1,2}	Π ⁶	RS ⁷	LC
	Nemacheilidae					
35	<i>Tuberoschistura baenzigeri</i> (Kottelat, 1983)	Na ⁷	IN ^{1,2}	Π ⁶	SM ⁷	LC
36	<i>Nemacheilus binotatus</i> Smith, 1933	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	Π ⁶	SG ³	DD
37	<i>Schistura poculi</i> (Smith, 1945)	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	Π ⁶	SM ⁷	LC
38	<i>Schistura sexcauda</i> (Fowler, 1937)	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	Π ⁶	SM ⁷	LC
39	<i>Schistura waltoni</i> (Fowler, 1937)	Ed ⁴	IN ^{2,3}	Π ⁶	SM ⁷	DD
	Siluriformes					
	Loricariidae					
40	<i>Pterygoplichthys disjunctivus</i> Smith, 1933	Al ^{2,3}	ON ³	TO ⁷	BT ³	-
	Pangasiidae					
41	<i>Pangasianodon hypophthalmus</i> (Sauvage, 1878)	Al ¹	ON ¹	Π ⁷	BT ³	EN
42	<i>Pangasianodon gigas</i> Chevey, 1931	Al ^{1,2}	ON ¹	Π ⁶	BT ³	CR
	Bagridae					
43	<i>Hemibagrus spilopterus</i> Ng & Rainboth, 1999	Na ⁷	CA ³	Π ⁷	BT ³	LC
44	<i>Pseudomystus siamensis</i> Regan, 1913	Na ⁷	CA ^{1,2,3}	Π ⁷	BT ³	LC
45	<i>Mystus mysticetus</i> Roberts, 1992	Na ⁷	CA ^{1,2,3,5}	Π ⁷	BT ³	LC
46	<i>Mystus singaringan</i> (Bleeker, 1846)	Na ⁷	CA ^{1,2,3,5}	TO ²	BT ³	LC
	Amblycipitidae					

ตารางที่ 11 (ต่อ)

No.	Family/ Species	Origin	Trophic group	Tolerance	Habitat	IUCN status
47	<i>Amblyceps foratum</i> Ng & Kittlelet, 2000	Na ⁷	CA ^{3,3}	IT ⁷	SG ³	LC
	Sisoridae					
48	<i>Glyptothorax trilineatus</i> Blyth, 1860	Na ⁷	CA ^{1,2}	IT ²	RS ⁷	LC
	Clariidae					
49	<i>Clarias batrachus</i> (Linnaeus, 1758)	Na ⁷	CA ^{1,2,5}	TO ⁵	SG ⁷	LC
50	<i>Clarias</i> hybrid	Hy ¹ & Al ^{2,5}	CA ^{1,2}	TO ⁷	SG ⁷	-
	Gobiiformes					
	Eleotridae					
51	<i>Oxyeleotris marmorata</i> (Bleeker, 1852)	Na ⁷	CA ²	IT ^{5,6}	WC ³	LC
	Cichliformes					
	Cichlidae					
52	<i>Oreochromis niloticus</i> (Linnaeus, 1758)	Al ^{1,2,3,5}	ON ^{1,2}	TO ⁵	WC ⁵	LC
53	<i>Oreochromis</i> hybrid	Hy ¹ & Al ^{1,2}	ON ^{1,2}	TO ⁷	WC ⁵	-
	Beloniformes					
	Belonidae					
54	<i>Xenentodon cancila</i> (Hamilton, 1822)	Na ⁷	CA ^{1,3,5}	IT ⁷	PG ³	LC
	Synbranchiformes					
	Synbranchidae					
55	<i>Monopterus albus</i> (Zieuew, 1793)	Na ⁷	IN ^{2,3}	TO ^{2,3}	SM ³	LC
	Mastacembelidae					
56	<i>Macrogathus siamensis</i> (Günther, 1861)	Na ⁷	IN ^{1,2,3,5}	TO ⁵	SG ³	LC
57	<i>Mastacembelus armatus</i> (Lacepède, 1800)	Na ⁷	IN ^{1,2,5}	TO ⁵	SG ⁷	LC
58	<i>Mastacembelus tinwini</i> Britz, 2007	Na ⁷	IN ²	TO ⁷	SG ³	LC
	Anabantiformes					
	Anabantidae					
58	<i>Anabas testudineus</i> (Bloch, 1792)	Na ⁷	CA ^{1,2,3}	TO ⁵	WC ⁵	DD
	Osphronemidae					
60	<i>Osphronemus goramy</i> Lacepède, 1801	Na ⁷	ON ^{1,2,3}	TO ⁷	WC ³	LC
61	<i>Trichopsis vittata</i> (Cuvier, 1831)	Na ⁷	IN ^{1,2}	TO ⁷	PG ⁷	LC
62	<i>Trichopodus trichopterus</i> (Pallas, 1770)	Na ⁷	IN ^{1,2,3,5}	TO ⁵	WC ^{3,5}	LC
	Channidae					
63	<i>Channa gachua</i> (Hamilton, 1822)	Na ⁷	CA ^{1,2,3}	TO ²	WC ³	LC
64	<i>Channa striata</i> (Bloch, 1793)	Na ⁷	CA ^{1,2,3}	TO ⁵	WC ³	LC
	Pristolepis					
65	<i>Pristolepis fasciata</i> (Bleeker, 1851)	Na ⁷	IN ^{2,3,5}	TO ^{2,3,5}	WC ^{3,5}	LC
	Perciformes					
	Ambassidae					
66	<i>Parambassis siamensis</i> (Fowler, 1937)	Na ⁷	IN ^{1,2,5}	TO ⁵	WC ³	LC
	Tetraodontiformes					
	Tetraodontidae					

ตารางที่ 11 (ต่อ)

No.	Family/ Species	Origin	Trophic group	Tolerance	Habitat	IUCN status
67	<i>Pao cochinchinensis</i> (Steindachner, 1866)	Na ⁷	CA ^{1, 3, 5}	IT ⁷	BT ³	LC

Origin: Na=Native species, Ed=Endemic species, Al=Alien species, and Hy=Hybrid species.

Trophic group: ON=omnivores, IN=insectivores, and CA=carnivores.

Tolerance: IT=intolerant species, TO=tolerant species.

Habitat: PG=pelagic species, WC=water column species, BT=bottom species. RS=rocky and stone, SG=sandy and gravel, SM=silty to muddy.

IUCN red list status: DD=Data deficient, LC=Least concern, NT=near threatened, VU=Vulnerable, EN=endangered, CR=critically endangered

Note: The number in exponent corresponds to the following reference

1. Suvarnaksha (2004)
2. Suvarnaksha (2011)
3. Suvarnaksha (2017)
4. Vithayanon (2017)
5. Rayan and Ngamsnae (2014)
6. IUCN red list (2019)
7. Information from expert



ตารางที่ 12 จัดจำแนกตามคุณลักษณะทางชีววิทยาและบทบาทในระบบนิเวศสำหรับกลุ่มปลาหน้าไหล

No.	Family/ Species	Origin	Trophic group	Tolerance	Habitat	Altitude distribution	IUCN status
	Cypriniformes						
	Cyprininae						
1	<i>Barilius pulchellus</i> (Smith, 1931)	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	PG ³	PM	LC
2	<i>Danio albolineatus</i> (Blyth, 1860)	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	TO ⁷	PG ³	MT	LC
3	<i>Devario maetaengensis</i> (Fang 1997)	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	TO ⁷	PG ³	MT	LC
4	<i>Esomus metallicus</i> Ahl, 1923	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁷	PG ³	LL	LC
5	<i>Rasbora myersi</i> (Bleeker, 1851)	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁷	PG ³	PM	LC
6	<i>Rasbora paviana</i> Tirant, 1885	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁷	PG ³	TS	LC
7	<i>Bangana sinkleri</i> (Fowler 1934)	Na ⁷	IN ²	IT ⁷	BT ³	PM	DD
8	<i>Discherodontus schroederi</i> (Smith, 1945)	Na ⁷	IN ^{1,2}	IT ⁷	WC ⁷	PM	LC
9	<i>Ceratogarra cambodgiensis</i> (Tirant 1884)	Na ⁷	ON ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	PM	LC
10	<i>Garra fuliginosa</i> Fowler, 1934	Na ⁷	ON ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	PM	LC
11	<i>Mystacoleucus obtusirostris</i> (Valenciennes, 1842)	Na ⁷	IN ^{2,3}	TO ^{3,6}	WC ³	TS	LC
12	<i>Neolissochilus stracheyi</i> (Day, 1871)	Na ⁷	ON ^{1,2}	IT ⁶	WC ³	PM	LC
13	<i>Onychostoma gerlachi</i> (Peters 1881)	Na ⁷	ON	IT ⁶	WC	PM	NT
14	<i>Poropuntius bantamensis</i> (Rendahl, 1920)	Na ⁷	ON	IT ⁶	WC	PM	LC
15	<i>Pethia stoliczkana</i> (Day, 1871)	Na ⁷	IN ²	IT ⁷	WC ³	PM	LC
16	<i>Puntius brevis</i> (Bleeker, 1849)	Na ⁷	IN ^{1,2,5}	IT ⁷	WC ^{3,5}	TS	LC
17	<i>Scaphiodonichthys acanthopterus</i> (Fowler 1934)	Na ⁷	IN ³	IT ²	BT	PM	LC
18	<i>Systemus rubripinnis</i> (Valenciennes, 1842)	Na ⁷	IN ^{1,2,5}	IT ⁵	WC ^{3,5}	TS	DD
19	<i>Tor tambroides</i> (Bleeker, 1854)	Na ⁷	ON ^{1,2}	IT ⁶	WC ³	PM	DD
	Gyrinocheilidae						
20	<i>Gyrinocheilus aymonieri</i> (Tirant, 1884)	Na ⁷	IN ³	TO ⁷	BT ³	PM	LC
	Cobitidae						
21	<i>Aperioptus gracilentus</i> (Smith, 1945)	Na ⁷	IN ³	IT ⁷	BT ³	PM	LC
22	<i>Lepidocephalichthys berdmorei</i> (Blyth, 1860)	Na ⁷	IN ^{2,3}	TO ²	BT ³	PM	LC
23	<i>Lepidocephalichthys hasselti</i> (Valenciennes, 1842)	Na ⁷	IN ^{2,3}	TO ²	BT ³	PM	LC
	Balitoridae						
24	<i>Balitora Brucei</i> Gray, 1830	Na ⁷	IN ³	IT ³	BT ³	PM	NT
25	<i>Homalopteroides smithi</i> (Hora 1932)	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT	PM	LC
26	<i>Pseudohomaloptera leonardi</i> (Hora, 1941)	Na ⁷	IN ³	IT ³	BT	PM	LC
	Nemacheilidae						
27	<i>Schistura breviceps</i> (Smith, 1945)	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ^{3,6}	PM	DD
28	<i>Schistura bucculenta</i> (Smith, 1945)	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	PM	LC
29	<i>Schistura geisleri</i> Kottelat, 1990	Na ⁷	IN ³	IT ⁶	BT ³	PM	LC
30	<i>Schistura menanensis</i> (Smith, 1945)	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	PM	DD
31	<i>Schistura mahnerti</i> Kottelat, 1991	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	PM	LC
32	<i>Schistura obeini</i> Kottelat 1999	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	PM	LC
33	<i>Schistura poculi</i> (Smith, 1945)	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	PM	LC

ตารางที่ 12 (ต่อ)

No.	Family/ Species	Origin	Trophic group	Tolerance	Habitat	Altitude distribution	IUCN status
34	<i>Schistura spilota</i> (Fowler, 1934)	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	PM	DD
35	<i>Schistura waltoni</i> (Fowler, 1937)	Na ⁷	IN ^{2,3}	IT ⁶	BT ³	PM	DD
	Siluriformes						
	Loricariidae						
36	<i>Pterygoplichthys disjunctivus</i> Smith, 1933	Al ^{2,3}	ON ³	TO ⁷	BT ³	LL	-
	Amblycipitidae						
37	<i>Amblyceps foratum</i> Ng & Kittlelet, 2000	Na ⁷	CA ^{3,3}	IT ⁷	BT ³	MT	LC
	Sisoridae						
38	<i>Oreoglanis siamensis</i> Smith, 1933	Na ⁷	IN ³	IT ⁶	BT ³	MT	EN
39	<i>Glyptothorax trilineatus</i> Blyth, 1860	Na ⁷	CA ^{1,2,3}	IT ²	BT ³	MT	LC
40	<i>Glyptothorax lampris</i> Fowler, 1934	Na ⁷	CA ^{1,2,3}	IT ²	BT ³	MT	LC
	Clariidae						
41	<i>Clarias batrachus</i> (Linnaeus, 1758)	Na ⁷	CA ^{1,2,3,5}	TO ⁵	BT ³	PM	LC
42	<i>Clarias</i> hybrid (<i>C. macrocephalus</i> X <i>C. gariepinus</i>)	Al ^{2,5}	CA ^{1,2}	TO ⁷	BT ³	LL	-
	Cichliformes						
	Cichlidae						
43	<i>Oreochromis niloticus</i> (Linnaeus, 1758)	Al ^{1,2,3,5}	ON ^{1,2}	TO ⁵	WC ⁵	LL	LC
	Cyprinodontiformes						
	Poeciliidae						
44	<i>Gambusia affinis</i> (Baird and Girard, 1853)	Al ³	ON ³	TO ⁷	PG ³	PM	LC
	Synbranchiformes						
	Synbranchidae						
45	<i>Monopterus albus</i> (Zieuew, 1793)	Na ⁷	IN ^{2,3}	TO ^{2,3}	BT ³	LL	LC
	Mastacembelidae						
46	<i>Mastacembelus tinwini</i> Britz, 2007	Na ⁷	IN ^{1,2,5}	TO ⁵	BT ³	TS	LC
	Gobiiformes						
	Gobiidae						
47	<i>Rhinogobius chiengmaiensis</i> Fowler, 1934	Na ⁷	IN ^{1,2,5}	IT ²	BT ³	PM	LC
	Anabantiformes						
	Anabantidae						
48	<i>Anabas testudineus</i> (Bloch, 1792)	Na ⁷	CA ^{1,2,3}	TO ⁵	WC ⁵	LL	DD
	Osphronemidae						
49	<i>Trichopsis vittata</i> (Cuvier, 1831)	Na ⁷	IN ^{1,2}	TO ⁷	PG ⁷	LL	LC
50	<i>Trichopodus trichopterus</i> (Pallas, 1770)	Na ⁷	IN ^{1,2,3,5}	TO ⁵	WC ^{3,5}	LL	LC
	Channidae						

ตารางที่ 12 (ต่อ)

No.	Family/ Species	Origin	Trophic group	Tolerance	Habitat	Altitude distribution	IUCN status
51	<i>Channa gachua</i> (Hamilton, 1822)	Na ⁷	CA ^{1,2,3}	TO ²	WC ³	PM	LC
52	<i>Channa striata</i> (Bloch, 1793)	Na ⁷	CA ^{1,2,3}	TO ⁵	WC ³	LL	LC

Origin: Na=Native species and Al. = Alien species

Trophic group: ON= omnivores, IN= insectivores, and CA= carnivores.

Tolerance: IT=intolerant species, TO=tolerant species.

Habitat: PG = pelagic species. WC= water column species. BT= bottom species

Altitude distribution (Suvarnaksha, 2011): MT= mountainous species, PM=piedmont species, TS= transitory species, LL= lowland species.

IUCN red list status: DD=Data deficient, LC= Least concern, NT= Near threatened, VU= Vulnerable, EN= endangered, CR= critically endangered

Note: The number in exponent corresponds to the following reference

1. Suvarnaksha (2004)
2. Suvarnaksha (2011)
3. Suvarnaksha (2017)
4. Vidthayanon (2017)
5. Rayan andNgamsnae (2014)
6. IUCN (2020)
7. Information from expert

4.2.3 การพัฒนาเมทริก

4.2.3.1) การพัฒนาเมทริกเพื่อประเมินดัชนีความสมบูรณ์น้ำนิ่ง

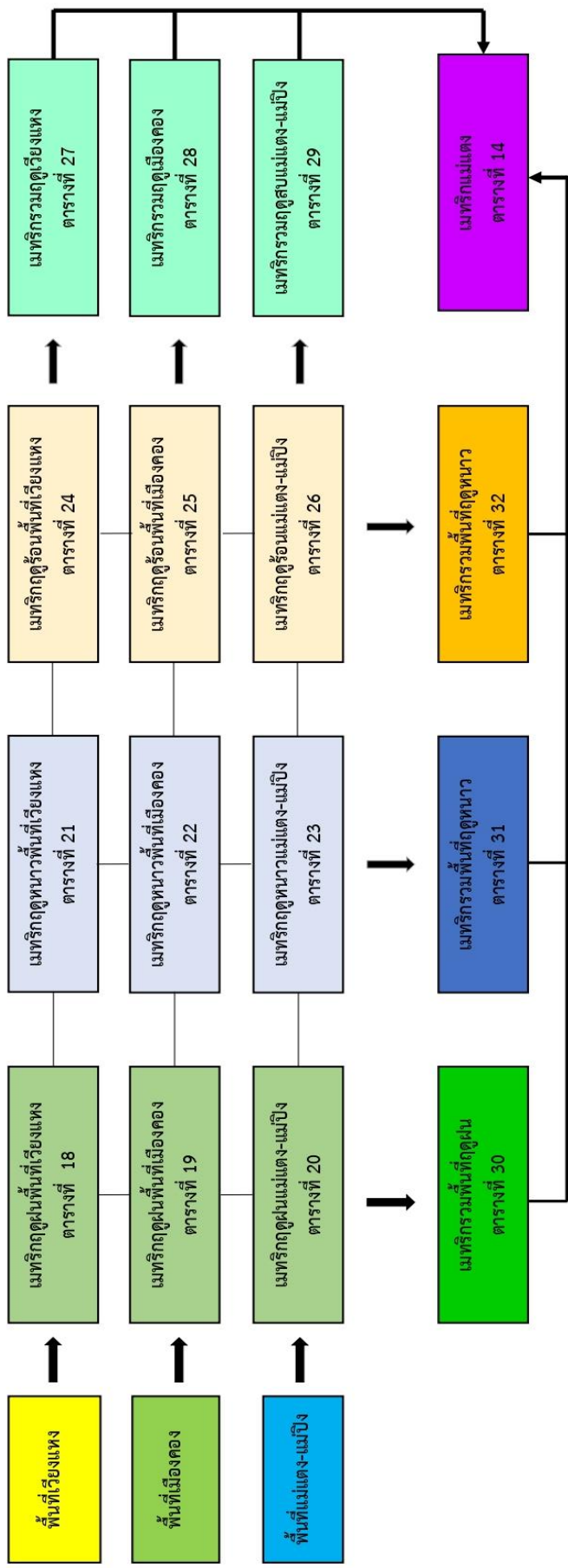
การพัฒนาคะแนนเมทริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลาด้วยวิธีการให้คะแนนแบบแยกและเกณฑ์การให้คะแนนของพื้นที่ในแหล่งน้ำนิ่ง โดยเมื่อนำข้อมูลจำนวนปลาในเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล ทั้งหมด 67 ชนิด 22 ครอบครัว จากรายงานปี 2004 (ตารางที่ 11) โดยทดลองพัฒนาเกณฑ์การให้คะแนนเมทริกแยกตามฤดูกาล คือ ฤดูฝน ฤดูร้อน และฤดูหนาว ทั้งหมด 3 ชุดเมทริก (ตารางที่ 15-17) หลังจากนั้นนำข้อมูลจากการสำรวจในปี 2018 นำมาประเมินผลโดยแยกลักษณะทางชีวภาพตามตารางที่ 11 และทำการประเมินในเมทริกทั้ง 3 ฤดูกาลเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่าง แล้วสามารถรวมเป็นเมทริกสุดท้ายคือ เมทริกสำหรับประเมินดัชนีความสมบูรณ์เขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล เพียง 1 ชุดเมทริก (ตารางที่ 13)

4.2.3.2) การพัฒนาเมทริกเพื่อประเมินดัชนีความสมบูรณ์น้ำไหล

การพัฒนาคะแนนเมทริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลาด้วยวิธีการให้คะแนนแบบแยกและเกณฑ์การให้คะแนนของพื้นที่ในแหล่งน้ำไหล โดยเมื่อนำข้อมูลจำนวนปลาในแต่ละพื้นที่ในปี 2003 แบ่งออกเป็น 3 พื้นที่ย่อยคือ เวียงแหง เมืองคอง และ สบแม่ น้ำแม่แตง-แม่ปิง เพื่อหาเกณฑ์คะแนนที่เหมาะสมจึงได้ทำการพัฒนาเมทริกโดยแบ่งแต่ละพื้นที่ออกเป็นฤดูฝน ฤดูร้อน และฤดูหนาว ในแต่ละพื้นที่ รวมทุกฤดูกาลในแต่ละพื้นที่ และรวมพื้นที่ทั้ง 3 พื้นที่ในแต่ละฤดูกาล (ภาพที่ 23)

ทั้งหมด 15 ชุดเมทริก แล้วสามารถรวมเป็นชุดเมทริกสุดท้ายคือ ชุดเมทริกสำหรับประเมินดัชนีความสมบูรณ์แม่น้ำแม่แตง (ตารางที่ 14)





ภาพที่ 23 แผนการพัฒนาเมทริกกลุ่มน้ำแม่แตง

ตารางที่ 13 ค่าคะแนนเมตริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลาด้วยวิธีการให้คะแนนแบบแยกและเกณฑ์การให้คะแนนในแต่ละช่วงน้ำนิ่งข้อมูลปี 2545 - 2546

Category and Metrics	Descriptive data					Scoring criteria				
	Min	25 th	Mean	75 th	Max	5	4	3	2	1
1 Species richness	22	26	36	37	47	>47.00	37-47	27-36	22-26	<22
2 Diversity index	2.22	2.29	2.56	2.64	2.93	>2.93	2.65-2.93	2.57-2.64	2.30-2.56	<2.29
3 Dominant index	0.24	0.24	0.28	0.28	0.33	<0.24	0.25-0.26	0.27-0.28	0.29-0.33	>0.33
4 % Native species	65.98	77.11	95.62	98.21	99.67	>99.67	98.22-99.67	95.63-98.21	65.99-95.62	<65.98
5 % Alien species	0.33	1.79	4.49	4.52	17.01	<1.79	1.80-4.49	4.50-4.52	4.53-17.01	>17.01
6 % Hybrid species	1.33	1.98	2.66	3.91	5.71	<1.33	1.33-2.65	2.66-3.90	3.91-5.71	>5.71
7 % Omnivores	0.39	0.85	3.71	5.36	12.50	<0.85	0.85-3.71	3.72-5.36	5.37-112.5	>12.5
8 % Insectivores	20.22	63.64	75.14	87.97	95.89	>95.89	87.98-95.89	75.15-87.97	63.65-75.14	<63.64
9 % Carnivores	1.51	4.22	18.13	27.23	86.67	>86.67	27.24-86.67	18.14-27.23	4.23-18.13	<4.22
10 % pelagic	0.30	5.66	16.06	27.51	65.50	>65.50	27.52-65.50	16.07-27.51	5.67-16.07	<5.66
11 % water column	7.69	34.49	55.31	77.57	98.63	<34.49	34.48-55.31	55.32-77.57	77.58-98.63	>98.63
12 % bottom	0.22	0.77	2.14	2.79	8.73	>19.64	2.99-19.64	2.84-2.99	0.78-2.83	<0.77
13 % rocky and stone	0.39	1.96	10.03	17.82	35.44	>35.44	17.83-35.44	10.04-17.82	1.97-10.03	<1.96
14 % sandy and gravel	0.36	6.90	25.02	40.41	77.93	>77.93	40.42-77.93	25.03-40.41	6.91-25.02	<6.90
15 % silty to muddy	0.30	0.83	3.04	4.44	13.33	>13.33	4.45-13.33	3.05-4.44	0.84-3.04	<0.83
16 % of intolerant species	10.95	47.6	63.52	78.24	97.26	>97.26	78.16-97.26	63.52-78.15	47.60-63.51	<47.59
17 % of tolerant species	2.74	22.26	37.51	52.52	89.94	<22.25	22.26-37.50	37.51-52.51	52.52-88.93	>88.94
18 Number of disease health	1	2	3	4	5	<1	1.0-2.0	3	4	>4

ตารางที่ 14 ค่าคะแนนเมตริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีสุขภาพของปลาด้วยวิธีการให้คะแนนแบบแยก และเกณฑ์การให้คะแนนของแหล่งน้ำไหลปี 2543-2544

Category and Metrics	Descriptive data					Scoring criteria				
	Min	25 th	Mean	75 th	Max	5	4	3	2	1
1 Species richness	1.00	4.75	8.64	12.25	19.00	>19	12-19	9-11	5-8	>5
2 Diversity index	0.00	1.18	1.48	2.00	2.26	>2.26	2.00-2.26	1.48-1.99	1.18-1.47	>1.18
3 Dominant species	0.00	0.12	0.25	0.39	0.56	>0.56	0.39-0.56	0.25-0.38	0.12-0.24	>0.12
4 % Native species	2.13	9.04	18.26	27.13	40.43	>40.43	27.13-40.43	18.26-27.12	9.04-18.25	>9.04
5 Alien species	1.00	2.00	3.00	4.00	5.00	<1	1-2	3	4	>4
6 % Omnivores	0.00	11.11	17.28	22.22	44.44	<11.11	11.11-17.27	17.28-22.21	22.22-44.44	>44.44
7 % Insectivores	2.94	8.82	18.63	26.47	38.24	>38.24	27.21-38.24	19.20-27.20	8.82-19.19	>8.82
8 % Carnivores	0.00	3.13	6.25	12.50	25.00	>25.00	12.50-25.00	6.25-10.49	3.13-6.24	>3.13
9 % Lowland species	2.17	10.33	17.81	23.91	36.96	<10.33	10.34-17.81	17.82-23.91	23.92-36.96	>36.96
10 % Transitory species	2.78	13.19	23.77	31.25	52.78	<13.19	13.19-23.77	23.78-31.25	31.26-52.78	>52.78
11 % Piedmont species	0.00	20.14	40.28	50.00	85.00	>85.00	50.00-85.00	40.28-49.99	20.14-40.27	>20.14
12 % Mountainous species	0.00	20.14	40.28	50.00	85.00	>85.00	50.00-85.00	40.28-49.99	20.14-40.27	>20.14
13 % Pelagic	0.00	12.50	17.36	25.00	37.50	>37.50	25.00-37.50	17.36-24.99	12.50-17.35	>12.50
14 % Water column	0.00	7.14	16.47	42.86	28.57	<7.14	7.14-16.47	16.48-28.57	28.58-42.86	>42.86
15 % Bottom	0.00	10.34	16.86	22.41	41.38	>41.38	22.41-41.38	16.86-22.40	10.34-16.85	>10.34
16 % of intolerant species	3.03	11.36	21.55	30.30	48.48	>48.48	30.30-48.48	21.55-30.29	11.36-21.54	>11.36
17 % Tolerant species	0.00	4.17	8.18	11.11	27.78	<4.17	4.17-8.17	8.18-11.10	11.11-27.78	>27.78
18 Number of disease health	1.00	2.00	3.00	4.00	5.00	<1	2	3	4	>4

ตารางที่ 15 ค่าคะแนนของเมตริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และผลการประเมินพื้นที่แมงกัตุสมบูรณ์ของจังหวัดเชียงใหม่ ในฤดูฝน

Category and Metrics	Descriptive data						Max	Scoring criteria					Score
	Min	25 th	Mean	75 th	5	4		3	2	1			
1 Species richness	2	5	9	13	19	>19	13-19	9-12	5-8	<5	4		
2 Diversity index	0.54	0.87	1.40	1.99	2.41	>2.41	1.99-2.41	1.40-1.98	0.87-1.39	<0.87	5		
3 Dominant index	0.07	0.17	0.31	0.43	0.65	>0.65	0.43-0.65	0.31-0.42	0.17-0.30	<0.17	2		
4 % Native species	0.00	7.76	15.00	21.55	32.76	>32.76	21.55-32.76	15.00-21.54	7.76-14.99	<7.76	5		
5 % Alien species	0.00	3.57	4.76	10.72	14.29	<3.57	3.57-4.75	4.76-10.71	10.72-14.29	>14.29	1		
6 % Hybrid species	1.33	1.98	2.66	3.91	5.71	<1.33	1.32-2.65	2.66-3.90	3.91-5.71	>5.71	3		
7 % Omnivores	0.00	6.25	8.93	12.50	18.75	<6.25	6.25-8.92	8.93-12.49	12.50-18.75	>18.75	3		
8 % Insectivores	0.00	8.57	16.26	23.57	37.14	>37.14	23.57-37.14	16.26-8.56	8.57-16.25	<8.57	5		
9 % Carnivores	0.00	12.50	17.24	25.00	50.00	>50.00	25-50	17.42-24.99	12.50-17.23	<12.50	3		
10 % pelagic	0.00	3.13	13.33	25.00	37.50	>37.50	25-37.50	13.33-24.99	3.13-13.32	<3.13	3		
11 % water column	3.85	11.54	16.67	22.12	34.62	<11.54	11.54-16.66	16.67-22.11	22.12-34.62	>34.62	1		
12 % bottom	0.00	10.00	11.88	12.50	20.00	>20.00	12.50-20.00	11.88-22.49	10-11.87	<10.00	1		
13 % rocky and stone	0.00	14.29	40.00	50.00	75.00	>75	50-75	40-49.99	14.29-39.99	<14.29	1		
14 % sandy and gravel	0.00	14.29	20.00	28.57	42.86	>42.86	28.57-42.86	20-28.56	14.29-19.99	<14.29	1		
15 % silty to muddy	0.00	16.67	20.42	25.00	50.00	>50	25-50	20.42-24.99	16.67-20.41	<16.67	2		
16 % of intolerant species	2.27	7.39	14.17	19.89	31.82	>31.82	19.89-31.82	14.17-19.89	7.39-14.16	<7.39	5		
17 % of tolerant species	0.00	4.35	12.75	17.39	26.09	<4.35	4.35-12.74	12.75-17.38	17.39-26.09	>26.09	1		
18 Number of disease health	1	2	3	4	5	<1	1-2	3	4	>4	1		
Total IBI score												47	
Results												Fair	

ตารางที่ 16 ค่าคะแนนของเมตริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และผลการประเมินพื้นที่แมงกีสตัมบูรณ์ จังหวัดเชียงใหม่ ในฤดูหนาว

Category and Metrics	Descriptive data						Max	Scoring criteria					Score
	Min	25 th	Mean	75 th	5	4		3	2	1			
1 Species richness	3	13	16	20	>31	31	20-31	16-19	13-15	<13	4		
2 Diversity index	0.97	1.76	2.04	2.37	>2.79	2.79	2.37-2.79	2.04-2.36	1.76-2.03	<1.76	4		
3 Dominant index	0.01	0.13	0.22	0.30	>0.55	0.55	0.30-0.55	0.22-0.29	0.13-0.21	<0.13	3		
4 % Native species	0.00	19.83	26.32	36.21	>53.45	53.45	36.21-53.45	26.32-36.20	19.83-26.31	<19.83	5		
5 % Alien species	0.00	3.57	4.76	10.72	<3.57	14.29	3.57-4.75	4.76-10.71	10.72-14.29	>14.29	1		
6 % Hybrid species	1.33	1.98	2.66	3.91	<1.33	5.71	1.32-2.65	2.66-3.90	3.91-5.71	>5.71	4		
7 % Omnivores	0.00	3.77	5.03	6.25	<3.77	43.75	3.77-5.02	5.03-6.24	6.25-43.75	>43.75	4		
8 % Insectivores	0.00	25.00	32.38	40.71	>65.71	65.71	40.71-65.71	32.38-40.70	25-32.37	<25	5		
9 % Carnivores	6.25	12.50	20.83	25.00	>43.75	43.75	25-43.75	20.83-24.99	12.50-20.82	<12.50	2		
10 % pelagic	12.50	25.00	40.97	50.00	>62.50	62.50	50-62.50	40.97-50.00	58-40.98	<25	1		
11 % water column	7.69	19.23	25.32	31.73	<19.23	53.85	13.23-25.31	25.32-31.72	31.73-53.85	>53.85	1		
12 % bottom	0.00	4.78	6.39	10.00	>20.00	20.00	10.00-20.00	6.39-9.99	4.78-6.38	<4.78	1		
13 % rocky and stone	0.00	23.95	31.94	75.00	100	100	75.00-99	31.94-75	23.95-31.93	<23.95	1		
14 % sandy and gravel	0.00	11.01	14.68	14.29	>57.14	57.14	14.29-57.14	14.68-14.28	11.01-14.68	<11.01	1		
15 % silty to muddy	0.00	14.58	26.39	35.42	>75.00	75.00	35.42-75.00	26.39-35.41	14.5-26.38	<14.58	2		
16 % of intolerant species	2.27	19.89	25.82	34.09	>47.73	47.73	34.09-47.73	25.52-34.08	19.89-25.81	<19.89	4		
17 % of tolerant species	8.70	13.04	20.05	26.09	<13.04	43.48	13.04-20.04	20.05-26.08	26.09-43.48	>43.48	1		
18 Number of disease health	1	2	3	4	<1	5	1-2	3	4	>4	1		
Total IBI score												45	
Results												Fair	

ตารางที่ 17 ค่าคะแนนของเมทริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และผลการประเมินพื้นที่แมงตสมปูลงในจังหวัดเชียงใหม่ ในฤดูร้อน

Category and Metrics	Descriptive data						Max	Scoring criteria					Score
	Min	25 th	Mean	75 th	5	4		3	2	1			
1 Species richness	4	10	14	17	>26	17-26	26	14-16	10-13	<10	4		
2 Diversity index	0.86	1.53	1.83	2.13	>2.67	2.13-2.67	2.67	1.83-2.12	1.53-1.82	<1.53	4		
3 Dominant index	0.08	0.20	0.28	0.35	>0.45	0.35-0.44	0.45	0.28-0.35	0.20-0.27	<0.20	2		
4 % Native species	0.00	15.52	22.16	27.59	>44.83	27.59-44.83	44.83	22.16-27.58	15.52-22.15	<15.52	5		
5 % Alien species	0.00	3.57	4.29	10.72	<3.57	3.57-4.28	14.29	4.29-10.71	10.72-14.29	>14.29	5		
6 % Hybrid species	1.33	1.98	2.66	3.91	<1.33	1.32-2.65	5.71	2.66-3.90	3.91-5.71	>5.71	4		
7 % Omnivores	0	12.5	15	25	<12.50	12.5-14.99	31.25	15-24.99	25-31.25	>31.25	5		
8 % Insectivores	0.00	16.43	22.86	31.43	>54.29	31.43-54.29	54.29	22.86-31.42	16.4-22.85	<16.43	5		
9 % Carnivores	6.25	12.50	18.13	20.31	>37.50	20.31-37.50	37.50	18.13-20.30	12.50-18.12	<12.50	2		
10 % pelagic	0.00	21.88	26.88	37.50	>50	37.50-50	50.00	26.88-37.49	21.88-26.87	<21.88	1		
11 % water column	11.54	19.23	29.42	38.46	<19.23	19.23-29.41	50.00	29.42-38.45	38.46-50	>50	1		
12 % bottom	0.00	4.12	5.50	10.00	>30	10-30	30.00	5.5-9.99	4.12-5.49	<4.12	1		
13 % rocky and stone	0.00	25.00	40.00	43.75	>75	43.75-75	75.00	40-43.74	25.00-39.99	<25	1		
14 % sandy and gravel	0.00	14.29	21.43	28.57	>42.86	28.75-42.86	42.86	21.43-28.56	14.29-21.42	<14.29	1		
15 % silty to muddy	0.00	8.33	19.17	27.08	>58.33	27.08-58.33	58.33	19.17-27.07	8.33-19.16	<8.33	3		
16 % of intolerant species	4.55	17.61	21.70	26.14	>40.91	26.14-40.91	40.91	21.70-26.70	17.61-21.69	<17.61	3		
17 % of tolerant species	4.35	8.70	18.48	26.09	<8.70	8.70-18.47	34.78	18.48-26.08	26.09-34.77	>34.78	1		
18 Number of disease health	1	2	3	4	<1	1-2	5	3	4	>4	1		
Total IBI score													
49													
Results													
Fair													

ตารางที่ 18 ค่าคะแนนของเมตริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลาด้วยวิธีการให้คะแนนแบบแยก และเกณฑ์การให้คะแนนของพื้นที่ชุ่มน้ำที่เรียงแหล่งในฤดูฝน

Category and Metrics	Descriptive data						Scoring criteria				
	Min	25 th	Mean	75 th	Max		4	5	3	2	1
1 Species richness	1	4	7	9	12		9-12	>12	7-8	4-6	<4
2 Diversity index	0.00	0.81	1.21	1.73	1.92		1.73-1.92	>1.92	1.21-1.72	0.81-1.20	<0.81
3 Dominant species	0.00	0.12	0.27	0.47	0.56		0.47-0.56	>0.56	0.27-0.46	0.12-0.26	<0.12
4 % Native species	2.13	8.51	14.01	19.15	25.53		19.15-25.53	>25.53	14.01-19.14	8.51-14.00	<8.51
5 Alien species	1	2	3	4	5		1-2	<1	3	4	>4
6 % Omnivores	22.22	17.59	12.96	8.33	0.00		8.33-12.95	<8.33	12.96-17.58	17.59-22.22	>22.22
7 % Insectivores	4.00	11.00	20.67	20.59	29.41		20.59-29.41	>29.41	14.71-20.58	8.09-14.70	<8.09
8 % Carnivores	0.00	1.56	3.13	7.81	12.50		7.81-12.50	>12.50	3.13-7.80	1.56-3.12	<1.56
9 % Lowland species	2.17	8.70	13.95	17.93	26.09		8.70-13.94	<8.70	13.95-17.92	17.93-26.09	>26.09
10 % Transitional species	2.78	11.11	18.06	25.00	30.56		11.11-18.05	<11.11	18.06-24.99	25.00-30.56	>30.56
11 % Piedmont species	0.00	14.58	29.17	50.00	85.00		50.00-85.00	>85.00	29.17-49.99	14.58-29.16	<14.58
12 % Mountainous species	0.00	14.58	29.17	50.00	85.00		50.00-85.00	>85.00	29.17-49.99	14.58-29.16	<14.58
13 % Pelagic	0.00	12.50	15.63	25.00	37.50		25.00-37.50	>37.50	15.63-24.99	12.50-15.62	<12.50
14 % Water column	0.00	7.14	14.29	23.21	35.71		7.14-14.28	<7.14	14.29-23.20	23.21-35.71	>35.71
15 % Bottom	0.00	6.90	11.49	15.52	24.14		15.52-24.14	>24.14	11.49-15.51	6.90-11.48	<6.90
16 % of intolerant species	3.03	8.33	16.41	21.21	33.33		21.21-33.33	>33.33	16.41-21.20	8.33-16.40	>8.33
17 % Tolerant species	0.00	3.24	6.48	11.11	22.22		3.24-6.47	<3.24	6.48-11.10	11.11-22.22	>22.22
18 Number of disease health	1	2	3	4	5		1-2	<1	3	4	>4

ตารางที่ 19 ค่าคะแนนของเมตริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลาด้วยวิธีการให้คะแนนแบบแยก และเกณฑ์การให้คะแนนของพื้นที่ชุ่มน้ำเมืองคอนในฤดูฝน

Category and Metrics		Descriptive data						Scoring criteria				
		Min	25 th	Mean	75 th	Max	5	4	3	2	1	
1	Species richness	0.33	4.00	10.24	14.00	22.00	>22	16-22	12-15	8-11	<8	
2	Diversity index	1.21	1.60	1.71	1.89	2.35	>2.35	1.89-2.35	1.71-1.88	1.60-1.70	<1.60	
3	Dominant species	0.13	0.17	0.24	0.31	0.48	>0.48	0.31-0.47	0.24-0.30	0.17-0.23	<0.17	
4	% Native species	8.51	17.02	24.89	34.57	46.81	>46.81	34.57-46.81	24.89-34.56	17.02-24.88	>17.02	
5	Alien species	1	2	3	4	5	<1	1-2	3	4	>4	
6	% Omnivores	0.00	13.89	25.56	41.67	44.44	<13.89	13.89-25.55	25.56-41.66	41.67-44.44	>44.44	
7	% Insectivores	44.12	31.62	24.41	17.65	8.82	>44.12	31.62-44.12	24.41-31.61	17.65-24.40	<17.65	
8	% Carnivores	37.50	12.50	13.75	12.50	0.00	>37.50	25.62-37.50	13.75-25.61	12.50-13.74	<12.50	
9	% Lowland species	8.70	17.39	23.04	29.35	45.65	<17.39	17.39-23.03	23.04-29.34	29.35-45.65	>45.65	
10	% Transitory species	11.11	22.22	31.94	43.06	58.33	<22.22	22.22-31.93	31.94-43.05	43.06-58.33	>58.33	
11	% Piedmont species	0.00	25.00	50.00	67.50	85.00	>85	67.5-85.00	50.00-67.50	25.00-49.99	<25.00	
12	% Mountainous species	0.00	25.00	50.00	67.50	85.00	>85	67.5-85.00	50.00-67.50	25.00-49.99	<25.00	
13	% Pelagic	12.50	12.50	17.50	25.00	25.00	>25.00	21.25-25.00	17.50-21.24	12.50-17.49	<12.50	
14	% Water column	7.14	7.14	27.86	35.71	64.29	<7.14	7.14-27.85	27.86-35.70	35.71-64.29	>64.29	
15	% Bottom	6.90	9.48	22.07	31.03	41.38	>41.38	31.03-41.38	22.07-31.02	9.48-22.06	<9.48	
16	% of intolerant species	6.06	16.67	29.09	43.18	57.58	>57.58	43.18-57.58	29.09-43.17	16.67-29.08	<16.67	
17	% Tolerant species	5.56	11.11	11.67	11.11	22.22	<11.11	11.11-11.66	11.67-15.82	15.83-22.22	>22.22	
18	Number of disease health	1	2	3	4	5	<1	1-2	3	4	>4	

ตารางที่ 20 ค่าคะแนนของเมตริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และเกณฑ์การให้คะแนนของพื้นที่ที่สับสนแบบแฉ่ง-แมงป่องในฤดูฝน

Category and Metrics	Descriptive data						Scoring criteria				
	Min	25 th	Mean	75 th	Max		4	3	2	1	
1 Species richness	2	5	7	9	12		9-12	7-8	5-6	<5	
2 Diversity index	0.69	1.30	1.55	1.81	2.22		1.81-2.22	1.55-1.80	1.30-1.54	<1.30	
3 Dominant species	0.00	0.10	0.13	0.18	0.24		0.18-0.24	0.13-0.17	0.10-0.12	<0.10	
4 % Native species	4.26	10.11	11.70	13.30	19.15		13.30-19.15	11.70-13.29	10.11-11.69	<10.11	
5 Alien species	1	2	3	4	5		1-2	3	4	>4	
6 % Omnivores	0.00	5.56	11.11	16.65	22.22		5.56-11.11	11.11-16.64	16.65-22.22	>22.22	
7 % Insectivores	0.00	8.09	12.13	18.38	23.53		18.38-23.53	12.13-18.37	8.09-12.12	<8.09	
8 % Carnivores	0.00	16.42	21.88	25.00	37.50		25.00-37.50	21.88-24.99	21.88-21.87	<21.88	
9 % Lowland species	4.35	8.70	14.13	17.93	23.91		8.70-14.12	14.13-17.92	17.93-23.91	>23.91	
10 % Transitory species	0.00	2.78	5.56	6.95	8.33		2.78-5.55	5.56-6.94	6.95-8.33	>8.33	
11 % Piedmont species	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		0	0	0	0	
12 % Mountainous species	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		0	0	0	0	
13 % Pelagic	0.00	25.00	34.38	37.50	50.00		42.19-49.99	34.38-42.18	25.00-34.37	<25.00	
14 % Water column	14.29	19.64	22.32	23.21	35.71		19.64-22.31	22.32-23.20	23.21-35.71	>35.71	
15 % Bottom	0.00	1.73	3.45	5.17	10.34		5.17-10.34	3.45-5.16	1.73-3.44	<1.73	
16 % of intolerant species	0.00	3.03	6.06	9.09	12.12		9.09-12.12	6.06-9.08	3.03-6.05	<3.03	
17 % Tolerant species	11.11	16.67	27.08	34.72	50.00		16.67-27.07	27.08-34.71	34.72-50.00	>50.00	
18 Number of disease health	1	2	3	4	5		1-2	3	4	>4	

ตารางที่ 21 ค่าคะแนนของเมตริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และเกณฑ์การให้คะแนนของพื้นที่ชุ่มน้ำที่เรียงกันในฤดูหนาว

Category and Metrics	Descriptive data					Scoring criteria				
	Min	25 th	Mean	75 th	Max	4	5	3	2	1
1 Species richness	3	6	10	13	19	13-19	>19	10-12	6-9	<6
2 Diversity index	0.67	1.26	1.63	2.07	2.26	2.07-2.26	>2.26	1.63-2.06	1.26-1.62	<1.26
3 Dominant species	0.08	0.14	0.25	0.36	0.44	0.36-0.44	>0.44	0.25-0.35	0.14-0.24	<0.14
4 % Native species	6	12	21	28	40	28.19-40.42	>40.43	21.45-28.18	12.23-21.44	<12.23
5 Alien species	1	2	3	4	5	1-2	<1	3	4	>4
6 % Omnivores	0.00	11.11	21.30	33.33	44.44	11.11-21.29	<11.11	21.30-33.32	33.33-44.44	>44.44
7 % Insectivores	0.00	11.03	21.32	30.15	38.24	30.15-38.24	>38.24	21.32-30.14	11.03-21.31	<11.03
8 % Carnivores	0.00	4.16	8.33	15.63	25.00	15.63-25.00	>25.00	8.33-15.62	4.16-8.32	<4.16
9 % Lowland species	6.52	12.50	20.83	28.26	36.96	12.50-20.82	<12.50	20.83-28.25	28.26-36.95	>36.96
10 % Transitory species	8.33	15.97	28.01	36.81	52.78	15.97-28.00	<15.97	28.01-36.80	36.81-52.77	>52.78
11 % Piedmont species	0.00	37.50	45.83	50.00	85.00	50.00-85.00	>85.00	45.83-49.99	37.50-45.82	<37.50
12 % Mountainous species	0.00	37.50	45.83	50.00	85.00	50.00-85.00	>85.00	45.83-49.99	37.50-45.82	<37.50
13 % Pelagic	0.00	12.50	19.79	28.13	37.50	28.13-37.50	>37.50	19.79-28.12	12.50-19.78	<12.50
14 % Water column	0.00	5.36	18.45	28.57	42.86	5.36-18.44	<5.36	18.45-28.56	28.57-42.86	>42.86
15 % Bottom	0.00	10.34	20.40	24.14	41.38	24.14-41.38	>41.38	20.40-24.13	10.34-20.40	<10.34
16 % of intolerant species	9.09	12.12	25.25	33.33	48.48	33.33-48.47	>48.48	25.25-33.32	12.12-25.24	<12.12
17 % Tolerant species	0.00	5.56	9.72	16.67	16.67	5.56-9.71	<5.56	9.72-13.18	13.19-16.67	>16.67
18 Number of disease health	1	2	3	4	5	1-2	<1	3	4	>4

ตารางที่ 22 ค่าคะแนนของเมตริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และเกณฑ์การให้คะแนนของพื้นที่ชุ่มน้ำเมืองคองในฤดูหนาว

Category and Metrics		Descriptive data						Scoring criteria				
		Min	25 th	Mean	75 th	Max	5	4	3	2	1	
1	Species richness	2.00	6.00	7.30	9.75	12.00	>12	10-12	7-9	6-7	<6	
2	Diversity index	0.38	1.39	1.50	1.81	1.89	>1.89	1.81-1.89	1.50-1.80	1.39-1.49	<1.39	
3	Dominant species	0.04	0.12	0.21	0.25	0.46	>0.46	0.25-0.46	0.21-0.24	0.12-0.20	<0.12	
4	% Native species	4.26	12.77	15.53	20.74	25.53	>25.53	20.74-25.53	15.53-20.73	12.77-15.52	<12.77	
5	Alien species	1	2	3	4	5	<1	1-2	3	4	>4	
6	% Omnivores	0.00	25.00	27.78	33.33	44.44	<25.00	25.00-27.77	27.78-33.32	33.33-44.44	>44.44	
7	% Insectivores	5.88	9.56	14.12	17.65	26.47	>26.47	17.65-26.47	14.12-17.64	9.56-14.11	<9.56	
8	% Carnivores	1.00	3.00	7.30	11.75	20.00	>20.00	11.76-20.00	7.31-11.75	3.00-7.30	<3.00	
9	% Lowland species	4.35	10.87	14.57	19.02	26.09	<10.87	10.87-14.56	14.57-19.01	19.02-26.09	>26.09	
10	% Transitory species	5.56	16.67	19.44	25.00	30.56	<16.67	16.67-19.43	19.44-24.99	25.00-30.56	>30.56	
11	% Piedmont species	0.00	22.50	45.00	47.50	50.00	>50.00	47.50-50.00	45.00-47.50	22.5-44.99	<22.5	
12	% Mountainous species	0.00	12.50	20.00	25.00	50.00	>50.00	47.50-50.00	45.00-47.50	22.5-44.99	<22.5	
13	% Pelagic	0.00	12.50	20.00	25.00	50.00	>50.00	25.00-50.00	20.00-24.99	12.50-19.99	<12.50	
14	% Water column	0.00	21.43	23.57	33.93	35.71	<21.42	21.43-23.56	23.57-33.92	33.93-35.71	>35.71	
15	% Bottom	3.45	6.90	8.28	10.34	13.79	>13.79	10.34-13.79	8.28-10.33	6.90-8.27	<6.90	
16	% of intolerant species	30.30	26.52	18.48	12.88	3.03	>30.30	26.52-30.30	18.48-26.51	12.88-18.47	<12.88	
17	% Tolerant species	0.00	5.56	6.67	9.72	11.11	<5.56	5.56-6.66	6.67-9.71	9.72-11.11	>11.11	
18	Number of disease health	1	2	3	4	5	<1	1-2	3	4	>4	

ตารางที่ 23 ค่าคะแนนของเมตริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และเกณฑ์การให้คะแนนของพื้นที่ที่สเปคแมนแมปป์ ในฤดูหนาว

Category and Metrics	Descriptive data						Scoring criteria					
	Min	25 th	Mean	75 th	Max		5	4	3	2	1	
1 Species richness	3	5	6	7	8		>8	7-8	6	5	<5	
2 Diversity index	1.10	1.42	1.55	1.71	1.92		>1.92	1.71-1.92	1.55-1.70	1.42-1.54	<1.42	
3 Dominant species	0.00	0.07	0.10	0.13	0.20		>0.20	0.13-0.20	0.10-0.12	0.07-0.09	<0.07	
4 % Native species	6.38	8.51	10.64	12.77	14.89		>14.89	12.77-14.89	10.64-12.76	8.51-10.63	<8.51	
5 Alien species	1	2	3	4	5		<1	1-2	3	4	>4	
6 % Omnivores	0	4.16	8.33	13.89	22.22		<4.16	4.16-8.32	8.33-13.88	13.89-22.22	>22.22	
7 % Insectivores	2.94	8.09	11.03	13.24	17.65		>17.65	13.24-17.65	11.03-13.23	8.09-11.02	<8.09	
8 % Carnivores	0.00	12.50	18.75	25.00	37.50		>37.50	25.00-37.50	18.75-24.99	12.50-18.74	<12.50	
9 % Lowland species	6.52	9.78	11.96	15.22	17.39		<9.78	9.78-11.95	11.96-15.21	15.22-17.39	>17.39	
10 % Transitional species	2.78	4.86	5.56	6.25	8.33		<4.86	4.86-5.55	5.56-6.24	6.25-8.33	>8.33	
11 % Piedmont species	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		0	0	0	0	0	
12 % Mountainous species	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		0	0	0	0	0	
13 % Pelagic	12.50	21.88	28.13	37.50	50.00		>50.00	37.50-50.00	28.13-37.49	21.88-28.12	<21.88	
14 % Water column	14.29	14.29	20.54	23.21	35.71		<14.29	14.29-20.53	20.54-23.20	23.21-35.71	>35.71	
15 % Bottom	0.00	1.51	3.02	5.17	6.90		>6.90	5.17-6.90	3.02-5.16	1.51-3.01	<1.51	
16 % of intolerant species	0.00	4.55	5.68	7.38	9.09		>9.09	7.38-9.09	5.68-7.37	4.55-5.67	<4.55	
17 % Tolerant species	16.67	16.67	22.92	27.78	33.33		<16.67	16.67-22.91	22.92-27.77	27.78-33.33	>33.33	
18 Number of disease health	1	2	3	4	5		<1	1-2	3	4	>4	

ตารางที่ 24 ค่าคะแนนของเมตริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และเกณฑ์การให้คะแนนของพื้นที่เสี่ยงแห่งในฤดูร้อน

Category and Metrics	Descriptive data						Scoring criteria				
	Min	25 th	Mean	75 th	Max		5	4	3	2	1
1 Species richness	2	5	9	11	18		>18	11-18	9-10	5-8	<5
2 Diversity index	0.67	1.21	1.57	2.06	2.15		>2.15	2.06-2.15	1.57-20.5	1.21-1.56	<1.21
3 Dominant species	0.03	0.12	0.23	0.32	0.47		>0.47	0.32-0.47	0.23-0.31	0.12-0.22	<0.12
4 % Native species	6.38	10.64	19.33	23.94	38.30		>38.30	23.94-38.30	19.33-23.93	10.64-19.32	<10.64
5 Alien species	1	2	3	4	5		<1	1-2	3	4	>4
6 % Omnivores	0.00	8.33	17.59	25.00	44.44		<8.33	8.33-17.58	17.59-24.99	25.00-44.44	>44.44
7 % Insectivores	0.00	11.03	19.61	27.21	35.29		>35.29	27.21-35.29	19.61-27.20	11.03-19.60	<11.03
8 % Carnivores	0.00	3.64	7.29	12.50	25.00		>25.00	12.50-25.00	7.29-12.49	3.64-7.28	<3.64
9 % Lowland species	6.52	10.87	18.66	23.91	36.96		<10.87	10.87-18.66	18.66-23.90	23.91-36.96	>36.96
10 % Transitory species	8.33	13.89	25.23	31.25	50.00		<13.89	13.89-25.22	25.23-31.24	31.25-50.00	>50.00
11 % Piedmont species	0.00	22.91	45.83	50.00	85.00		>85.00	50.00-85.00	45.83-49.99	22.91-45.82	<22.91
12 % Mountainous species	0.00	22.91	45.83	50.00	85.00		>85.00	50.00-85.00	45.83-49.99	22.91-45.82	<22.91
13 % Pelagic	0.00	9.38	16.67	25.00	37.50		>37.50	25.00-37.50	16.67-24.99	9.38-16.66	<9.38
14 % Water column	0.00	5.36	16.67	23.21	42.86		<5.36	5.36-16.66	16.67-23.20	23.21-42.85	>42.86
15 % Bottom	10.34	10.34	18.68	24.14	31.03		>31.03	24.14-31.03	18.68-24.13	10.34-18.67	<10.34
16 % of intolerant species	9.09	11.36	22.98	31.06	39.39		>39.39	31.06-39.39	22.98-31.05	11.36-22.97	<11.36
17 % Tolerant species	0.00	4.17	8.33	11.11	27.78		<4.17	4.17-8.32	8.33-11.10	11.11-27.78	>27.78
18 Number of disease health	1	2	3	4	5		<1	1-2	3	4	>4

ตารางที่ 25 ค่าคะแนนของเมตริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และเกณฑ์การให้คะแนนของพื้นที่ที่มีเมืองคองในฤดูร้อน

Category and Metrics	Descriptive data						Scoring criteria				
	Min	25 th	Mean	75 th	Max		5	4	3	2	1
1 Species richness	3	10	11	12	17		>17	12-17	11	10	<10
2 Diversity index	0.81	1.86	1.84	1.99	2.31		>2.31	1.99-2.31	1.84-1.98	1.86-1.83	<1.86
3 Dominant species	0.14	0.19	0.21	0.25	0.26		>0.26	0.25-0.26	0.21-0.24	0.19-0.20	<0.19
4 % Native species	6.38	21.28	23.88	25.53	36.17		>36.17	25.53-36.17	23.88-25.52	21.28-23.87	<21.28
5 Alien species	1	2	3	4	5		<1	1-2	3	4	>4
6 % Omnivores	0.00	11.11	19.75	22.22	33.33		<11.11	11.11-19.74	19.75-22.21	22.22-33.33	>33.33
7 % Insectivores	5.88	23.53	25.16	26.47	41.18		>41.18	26.47-41.18	25.16-26.46	23.53-25.15	<23.53
8 % Carnivores	0.00	12.50	11.11	12.50	25.00		>25	18.75	12.49-18.75	11.11-12.49	<11.11
9 % Lowland species	6.52	19.57	23.19	26.09	34.78		<19.75	19.57-23.18	23.19-26.08	26.09-34.78	>34.78
10 % Transitional species	8.33	27.78	30.86	33.33	47.22		<27.78	27.78-30.85	30.86-33.32	33.33-47.22	>47.22
11 % Piedmont species	0.00	16.65	33.33	50.00	85.00		>85.00	50.00-85.00	33.33-49.99	16.65-33.32	<16.65
12 % Mountainous species	0.00	16.65	33.33	50.00	85.00		>85.00	50.00-85.00	33.33-49.99	16.65-33.32	<16.65
13 % Pelagic	0.00	12.50	19.44	25.00	25.00		>25.00	22.22-25.00	19.44-22.21	12.50-19.43	<12.50
14 % Water column	7.14	21.43	26.19	35.71	50.00		<21.43	21.43-26.19	26.19-35.70	35.71-49.99	>50.00
15 % Bottom	3.45	17.24	20.69	25.00	34.48		>34.48	25.00-34.48	20.69-24.99	17.24-20.68	<17.24
16 % of intolerant species	3.03	27.27	27.61	30.30	39.39		>39.39	30.30-39.39	27.61-30.29	27.27-27.60	<27.27
17 % Tolerant species	0.00	5.56	11.11	16.65	22.22		<5.56	5.56-11.10	11.11-16.65	16.66-22.22	>22.22
18 Number of disease health	1	2	3	4	5		<1	1-2	3	4	>4

ตารางที่ 26 ค่าคะแนนของเมตริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และเกณฑ์การให้คะแนนของพื้นที่ที่สับสนแม่แดง-แม่ปิง ในฤดูร้อน

Category and Metrics	Descriptive data						Scoring criteria				
	Min	25 th	Mean	75 th	Max		5	4	3	2	1
1 Species richness	2	4	5	6	8		>8	6-8	5	4	<4
2 Diversity index	0.69	1.23	1.44	1.76	1.84		>1.84	1.76-1.84	1.44-1.75	1.23-1.43	<1.23
3 Dominant species	0.00	0.01	0.05	0.07	0.12		>0.12	0.07-0.12	0.05-0.06	0.01-0.04	<0.01
4 % Native species	4.26	5.85	8.51	11.17	12.77		>12.77	11.17-12.77	8.51-11.16	5.85-8.50	<5.85
5 Alien species	1	2	3	4	5		<1	1-2	3	4	>4
6 % Omnivores	0.00	4.16	8.33	13.89	22.22		<4.16	4.16-8.32	8.33-13.88	13.89-22.22	>22.22
7 % Insectivores	2.94	5.88	8.82	11.76	17.65		>17.65	11.76-17.65	8.82-11.75	5.88-8.81	<5.88
8 % Carnivores	0.00	9.38	15.63	25.00	25.00		>25.00	20.31-25.00	15.63-20.30	9.38-15.62	<9.38
9 % Lowland species	4.35	6.52	10.05	13.59	15.22		<6.52	6.52-10.04	10.05-13.58	13.59-15.22	>15.22
10 % Transitory species	0.00	2.78	4.17	5.56	8.33		<2.78	2.78-4.16	4.17-5.55	5.56-8.33	>8.33
11 % Piedmont species	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
12 % Mountainous species	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
13 % Pelagic	12.50	12.50	25.00	28.13	50.00		>50.00	28.13-50.00	25.00-28.12	12.50-24.99	<12.50
14 % Water column	7.14	12.50	16.07	21.43	28.57		>28.57	21.43-28.57	16.07-21.42	12.50-16.06	<12.49
15 % Bottom	0.00	1.29	2.59	3.45	6.90		>6.90	3.45-6.90	2.59-3.44	1.29-2.58	<1.29
16 % of intolerant species	0.00	2.27	4.55	6.06	9.09		>9.09	6.06-9.09	4.55-6.05	2.27-4.54	<2.27
17 % Tolerant species	5.56	15.28	19.44	23.61	27.78		<15.28	15.28-19.43	19.44-23.60	23.61-27.78	>27.78
18 Number of disease health	1	2	3	4	5		<1	1-2	3	4	>4

ตารางที่ 27 ค่าคะแนนของเมตริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และเกณฑ์การให้คะแนนของพื้นที่เรียงแหล่ง ทุภคฤดูกาล

Category and Metrics	Descriptive data						Scoring criteria				
	Min	25 th	Mean	75 th	Max		4	3	2	1	
1 Species richness	1	5	9	12	19		12-19	9-11	5-8	<5	
2 Diversity index	0	1.18	1.48	2	2.26		2.00-2.26	1.48-1.99	1.18-1.47	<1.18	
3 Dominant species	0.03	0.13	0.26	0.39	0.56		0.39-0.56	0.25-0.38	0.12-0.24	<0.12	
4 % Native species	2.13	9.04	18.26	27.13	40.43		27.13-40.43	18.26-27.12	9.04-18.25	<9.04	
5 Alien species	1	2	3	4	5		1-2	3	4	>4	
6 % Omnivores	0	11.11	17.28	22.22	44.44		11.11-17.27	17.28-22.21	22.22-44.44	>44.44	
7 % Insectivores	2.94	8.82	19.2	27.21	38.24		27.21-38.24	19.20-27.20	8.82-19.19	<8.82	
8 % Carnivores	0	3.16	6.25	12.5	25		12.50-25.00	6.25-10.49	3.13-6.24	<3.13	
9 % Lowland species	2.17	10.33	17.81	23.91	36.96		10.34-17.81	17.82-23.91	23.92-36.96	>36.96	
10 % Transitory species	2.78	13.19	23.77	31.25	52.78		13.19-23.77	23.78-31.25	31.26-52.78	>52.78	
11 % Piedmont species	0	20.14	40.28	50	100		50.00-85.00	40.28-49.99	20.14-40.27	<20.14	
12 % Mountainous species	0	20.14	40.28	50	100		50.00-85.00	40.28-49.99	20.14-40.27	<20.14	
13 % Pelagic	0	12.5	17.36	25	37.5		25.00-37.50	17.36-24.99	12.50-17.35	<12.50	
14 % Water column	0	7.14	16.47	28.57	42.86		7.14-16.46	16.47-28.56	28.57-42.86	>42.86	
15 % Bottom	0	10.34	16.86	22.41	41.38		22.41-41.38	16.86-22.40	10.34-16.85	<10.34	
16 % of intolerant species	3.03	11.36	21.55	30.3	48.48		30.30-48.48	21.55-30.29	11.36-21.54	<11.36	
17 % Tolerant species	0	4.17	8.18	11.11	27.78		4.17-8.17	8.18-11.10	11.11-27.78	>27.78	
18 Number of disease health	1	2	3	4	5		1-2	3	4	>4	

ตารางที่ 28 ค่าคะแนนของเมตริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และเกณฑ์การให้คะแนนของพื้นที่ชุ่มน้ำเมืองคอน ทุกฤดูกาล

Category and Metrics	Descriptive data					Scoring criteria				
	Min	25 th	Mean	75 th	Max	5	4	3	2	1
1 Species richness	3	9	11	14	22	>22	14-22	11-13	9-10	<9
2 Diversity index	0.81	1.59	1.73	1.98	2.35	>2.35	1.98-2.35	1.73-1.97	1.59-1.72	<1.59
3 Dominant species	0.13	0.18	0.25	0.29	0.48	>0.48	0.29-0.48	0.25-0.28	0.18-0.24	<0.18
4 % Native species	6.38	19.15	24.32	29.79	46.81	>17.02	10.64-17.01	6.08-10.63	3.04-6.07	<3.04
5 Alien species	1	2	3	4	5	<1	1-2	3	4	>4
6 % Omnivores	0	11.11	23.81	33.33	44.44	<11.11	11.11-23.80	23.81-33.32	33.33-44.44	>44.44
7 % Insectivores	5.88	20.59	24.65	29.41	44.12	>44.12	29.41-44.12	24.65-29.40	20.59-24.64	<20.59
8 % Carnivores	0	5.66	11.31	12.5	37.5	>37.50	12.50-37.50	11.31-12.49	5.66-11.30	<5.66
9 % Lowland species	6.52	17.39	23.08	26.09	45.65	<17.39	17.39-23.07	23.08-26.08	26.09-45.65	>45.65
10 % Transitional species	8.33	25	31.08	38.89	58.33	<25.00	25.00-31.07	31.08-38.88	38.89-58.33	>58.33
11 % Piedmont species	0	50	42.86	50	100	>85.00	50.00-85.00	42.86-49.99	21.43-42.85	<21.43
12 % Mountainous species	0	50	42.86	50	100	>85.00	50.00-85.00	42.86-49.99	21.43-42.85	<21.43
13 % Pelagic	0	12.5	20.24	25	50	>50.00	25.00-50.00	20.24-24.99	12.50-20.23	<12.50
14 % Water column	7.14	7.14	27.55	35.71	64.29	<7.14	7.14-27.54	27.55-35.70	35.71-64.29	>64.29
15 % Bottom	3.45	13.79	20.53	27.59	41.38	>41.38	27.59-41.38	20.53-27.58	13.79-20.52	<13.79
16 % of intolerant species	3.03	21.21	28.43	36.36	57.58	>57.58	36.36-57.58	28.43-36.35	21.21-28.42	<21.21
17 % Tolerant species	5.56	11.11	11.38	11.11	22.22	<8.47	8.47-11.37	11.38-16.79	16.80-22.22	>22.22
18 Number of disease health	1	2	3	4	5	<1	1-2	3	4	>4

ตารางที่ 29 ค่าคะแนนของเมตริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และเกณฑ์การให้คะแนนของพื้นที่ที่สเปซแมปิง-แม่แดง ทุกฤดูการ

Category and Metrics	Descriptive data					Scoring criteria				
	Min	25 th	Mean	75 th	Max	4	5	3	2	1
1 Species richness	2	4	6	8	12	8-12	>12	6-7	4-5	<4
2 Diversity index	0	1.27	1.44	1.79	2.22	1.79-2.22	>2.22	1.44-1.78	1.27-1.43	<1.27
3 Dominant species	0	0.03	0.13	0.12	1.22	0.68-1.22	>1.22	0.13-0.67	0.03-0.12	<0.03
4 % Native species	4.26	8.51	10.28	12.77	19.15	12.77-19.15	>19.15	10.28-12.76	8.51-10.27	<8.51
5 Alien species	1	2	3	4	5	1-2	<1	3	4	>4
6 % Omnivores	0	4.62	9.26	22.22	22.22	4.63-9.25	<4.63	9.26-15.73	15.74-22.22	>22.22
7 % Insectivores	0	5.88	10.66	13.24	23.53	13.24-23.53	>23.53	10.66-13.23	5.88-10.65	<5.88
8 % Carnivores	0	12.5	18.75	25	37.5	25-37.5	>37.5	18.75-24.99	12.50-17.74	<12.50
9 % Lowland species	4.35	8.15	12.05	15.22	23.91	8.15-12.04	<8.15	12.05-15.21	15.22-23.90	>23.91
10 % Transitional species	0	2.78	5.09	6.25	8.33	2.78-5.08	<2.78	5.09-6.24	6.25-8.033	>8.33
11 % Piedmont species	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12 % Mountainous species	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13 % Pelagic	0	21.88	29.17	37.5	50	37.50-50.00	>50.00	29.17-37.49	21.88-29.16	<21.88
14 % Water column	7.14	14.29	18.45	21.43	35.71	14.29-18.44	<14.29	18.45-21.42	21.43-35.71	>35.71
15 % Bottom	0	1.75	3.45	6.9	10.34	6.90-10.34	>10.34	3.45-6.89	1.72-3.44	<1.72
16 % of intolerant species	0	3.03	5.43	9.09	12.12	9.09-12.12	>12.12	5.43-9.08	3.03-5.42	<3.03
17 % Tolerant species	5.56	16.67	23.15	27.78	50	16.67-23.14	<16.67	23.15-27.77	27.78-50.00	>50.00
18 Number of disease health	1	2	3	4	5	1-2	<1	3	4	>4

ตารางที่ 30 ค่าคะแนนของเมตริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลาและเกล็ดที่การใช้คะแนนรวมทุกพื้นที่ (เรียงแหล่ง เมืองคอง และสเปนแดง-แมบิง) ฤดูฝน

Category and Metrics		Descriptive data						Scoring criteria				
		Min	25 th	Mean	75 th	Max	5	4	3	2	1	
1	Species richness	1	4	9	12	22	>22	12-22	9-11	4-8	<4	
2	Diversity index	0	1.21	1.42	1.81	2.35	>2.35	1.81-2.35	1.42-1.80	1.21-1.41	<1.21	
3	Dominant species	0.08	0.13	0.27	0.33	0.56	>0.56	0.33-0.56	0.26-0.32	0.13-0.25	<0.13	
4	% Native species	2.13	8.51	18.96	25	46.81	>46.81	25-46.80	18.96-24.99	8.51-18.95	<8.51	
5	Alien species	1	2	3	4	5	<1	1-2	3	4	>4	
6	% Omnivores	0	11.11	18.69	22.22	44.44	<11.11	11.11-18.68	18.69-22.21	22.22-44.44	>44.44	
7	% Insectivores	0	8.82	18.05	27.21	44.12	>44.12	29.41-44.12	19.39-29.40	8.82-19.38	<8.82	
8	% Carnivores	0	3.97	7.95	12.5	37.5	>37.50	12.50-37.50	7.95-12.49	3.97-7.94	<3.97	
9	% Lowland species	2.17	8.7	18.08	25.54	45.65	<8.70	8.70-18.07	18.08-25.54	25.54-45.65	>45.65	
10	% Transitory species	2.78	11.11	24.37	30.56	58.33	<11.11	11.11-24.36	24.37-30.55	30.56-58.33	>58.33	
11	% Piedmont species	0	19.32	38.64	50	85	>85.00	50.00-85.00	38.64-49.99	19.32-38.63	<19.32	
12	% Mountainous species	0	19.32	38.64	50	85	>85.00	50.00-85.00	38.64-49.99	19.32-38.63	<19.32	
13	% Pelagic	0	12.5	16.48	25	37.5	>37.50	25.00-37.50	16.48-24.99	12.50-16.47	<12.50	
14	% Water column	0	7.14	20.45	28.57	64.29	<7.14	7.14-20.44	20.45-28.56	28.57-64.29	>64.29	
15	% Bottom	0	6.9	16.3	20.69	41.38	>41.38	20.69-41.38	16.30-20.68	6.90-16.29	<6.90	
16	% of intolerant species	3.03	9.85	22.18	32.58	57.58	>57.58	32.58-57.58	22.18-32.57	9.85-22.17	<9.85	
17	% Tolerant species	0	5.56	8.84	11.11	22.22	<5.56	5.56-8.83	8.84-11.10	11.11-22.22	>22.22	
18	Number of disease health	1	2	3	4	5	<1	1-2	3	4	>4	

ตารางที่ 31 ค่าคะแนนของเมตริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลาและเกณฑ์การให้คะแนนรวมทุกพื้นที่ (เรียงแหล่ง เมืองคอง และสบบแมแดง-แมบึง) ฤดูหนาว

Category and Metrics		Descriptive data						Scoring criteria				
		Min	25 th	Mean	75 th	Max	5	4	3	2	1	
1	Species richness	3	7	10	13	19	>19	13-19	10-12	7-9	<7	
2	Diversity index	0.67	1.26	1.59	2.07	2.26	>2.26	2.07-2.26	1.59-20.6	1.26-1.58	<1.26	
3	Dominant species	0.08	0.15	0.28	0.42	0.44	>0.43	0.34-0.43	0.19-0.33	0.08-0.18	<0.08	
4	% Native species	6.38	14.36	21.73	27.66	40.43	>40.43	27.66-40.43	21.73-27.65	14.36-21.72	<14.36	
5	Alien species	1	2	3	4	5	<1	1-2	3	4	>4	
6	% Omnivores	0	11.11	21.43	30.56	44.44	<11.11	11.11-21.42	21.43-30.55	30.56-44.44	>44.44	
7	% Insectivores	5.88	13.24	22.69	29.41	38.24	>38.24	29.41-38.24	22.69-29.40	13.24-22.65	<13.24	
8	% Carnivores	0	3.57	7.14	12.5	25	>25.00	12.50-25.00	7.14-12.49	3.57-7.13	<3.57	
9	% Lowland species	6.52	14.67	21.27	27.72	36.96	<14.67	14.67-21.26	21.27-27.71	27.72-36.96	>36.96	
10	% Transitory species	8.33	18.75	28.17	36.11	52.78	<18.75	18.75-28.16	28.17-36.10	36.11-52.78	>52.78	
11	% Piedmont species	0	19.32	38.64	50	85	>85.00	50.00-85.00	42.86-49.99	12.50-42.85	<12.50	
12	% Mountainous species	0	19.32	38.64	50	85	>85.00	50.00-85.00	42.86-49.99	12.50-42.85	<12.50	
13	% Pelagic	0	12.5	19.64	25	37.5	>37.50	25.00-37.50	19.64-24.99	12.50-19.63	<12.50	
14	% Water column	0	8.93	19.9	28.57	42.86	<8.93	8.93-19.89	19.90-28.56	28.57-42.86	>42.86	
15	% Bottom	10.34	11.21	20.2	24.14	41.38	>41.38	24.14-41.38	20.20-24.13	11.21-20.19	<11.21	
16	% of intolerant species	9.09	15.15	26.19	33.33	48.48	>48.48	33.33-48.48	26.19-33.32	15.15-26.18	<15.15	
17	% Tolerant species	0	5.56	8.73	15.28	16.67	<5.56	5.56-8.72	8.73-15.27	15.28-16.67	>16.67	
18	Number of disease health	1	2	3	4	5	<1	1-2	3	4	>4	

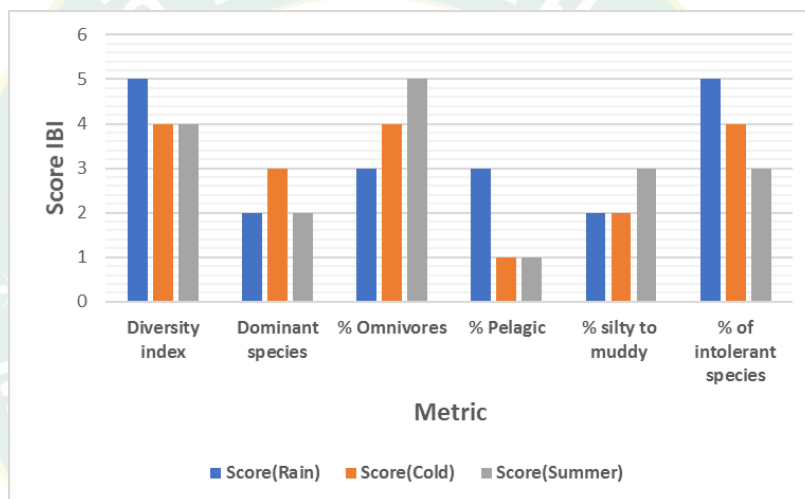
ตารางที่ 32 ค่าคะแนนของเมตริกที่ใช้ในการพัฒนาดัชนีชีวภาพของปลา และเกณฑ์การให้คะแนนรวมทุกพื้นที่ (เรียงแหล่ง เมืองทอง และสบบแมแตง-แมปิ้ง) ฤดูร้อน

Category and Metrics	Descriptive data						Scoring criteria				
	Min	25 th	Mean	75 th	Max		5	4	3	2	1
1 Species richness	3	7	10	12	18		>18	12-118	10-11	7-9	<7
2 Diversity index	0.67	1.31	1.69	2	2.31		>2.31	2.00-2.31	1.69-1.99	1.31-1.68	<1.31
3 Dominant species	0.03	0.18	0.22	0.26	0.47		>0.47	0.26-0.47	0.22-0.25	0.18-0.21	<0.18
4 % Native species	6.38	14.89	21.28	25.53	38.3		>38.30	25.53-38.30	21.28-25.52	14.89-21.27	<14.89
5 Alien species	1	2	3	4	5		<1	1-2	3	4	>4
6 % Omnivores	0	11.11	18.52	22.22	44.44		<11.11	11.11-18.51	18.52-22.21	22.22-44.44	>44.44
7 % Insectivores	5.88	17.65	22.41	26.47	41.18		>41.18	26.47-41.18	22.41-26.46	17.65-22.40	<17.65
8 % Carnivores	0	4.46	8.93	12.5	25		>25.00	12.50-25.00	8.93-12.49	4.46-8.92	<4.46
9 % Lowland species	6.52	15.22	20.6	26.09	36.96		<15.22	15.22-20.59	20.60-26.08	26.09-36.96	>36.96
10 % Transitory species	8.33	19.44	27.65	33.33	50		<19.44	19.44-27.64	27.65-33.32	33.33-50.00	>50.00
11 % Piedmont species	0	19.32	38.64	50	85		>85.00	50.00-85.00	40.48-49.99	20.24-40.47	<20.24
12 % Mountainous species	0	19.32	38.64	50	85		>85.00	50.00-85.00	40.48-49.99	20.24-40.47	<20.24
13 % Pelagic	0	12.5	17.86	25	37.5		>37.50	25.00-37.50	17.86-24.99	12.50-17.85	<12.50
14 % Water column	0	7.14	20.75	28.57	50		<7.14	7.14-20.74	20.75-28.56	28.57-50.00	>50.00
15 % Bottom	3.45	13.79	19.54	25	34.48		>34.48	25.00-34.48	19.54-24.99	13.79-19.53	<13.79
16 % of intolerant species	3.03	21.21	24.96	30.3	39.39		>39.39	30.30-39.39	24.96-30.29	21.21-24.95	<21.21
17 % Tolerant species	0	5.56	9.79	11.11	27.78		<5.56	5.56-9.78	9.79-11.10	11.11-27.78	>27.78
18 Number of disease health	1	2	3	4	5		<1	1-2	3	4	>4

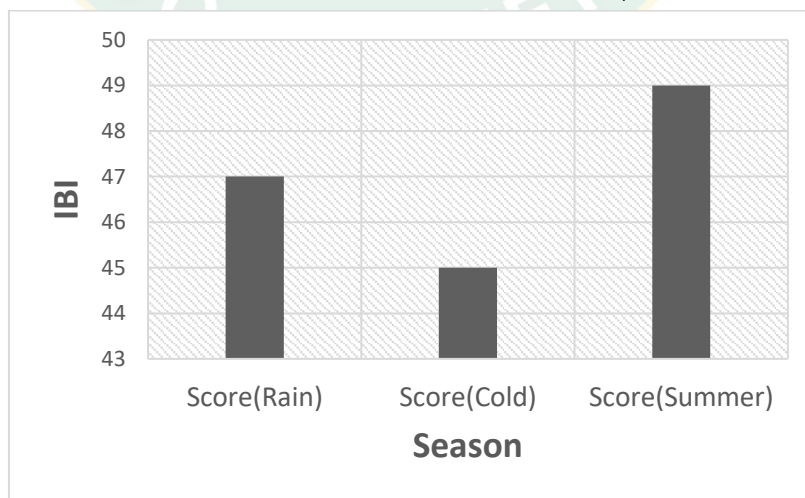
4.2.4 ผลการประเมินสถานะสุขภาพะพื้นที่น้ำนิ่งและน้ำไหล

4.2.4.1) ผลการประเมินสถานะสุขภาพะพื้นที่น้ำนิ่งเขื่อนแม่งัดสมบูรณ์ชล จังหวัดเชียงใหม่ จากการใช้ข้อมูลเมื่ออดีตเพื่อกำหนดพื้นที่อ้างอิงหรือสภาวะอ้างอิงนั้น และสามารถนำมาเป็นเกณฑ์ประเมินและอธิบายถึงระดับของผลกระทบหรือการรบกวนที่เกิดจากกิจกรรมของมนุษย์ (Karr, 1986; สมศักดิ์ และ ปราณีต, 2562) ในการศึกษาครั้งนี้ได้เกณฑ์สำหรับการประเมินแหล่งน้ำนิ่ง และเมื่อนำข้อมูลจำนวนตัวปลาในการศึกษาครั้งนี้ในปี 2019 นำมาจัดจำแนกตามลักษณะชีววิทยา (ตารางที่ 11) นำมาจัดผลค่าตัวแปรทางชีวภาพของแต่ละเมทริกแล้วทำการเปรียบเทียบกับเกณฑ์คะแนนที่พัฒนา (ตารางที่ 13) แปลงค่าร้อยละของตัวแปรทางชีวภาพ (ตารางที่ 11 และ 13) โดยแบ่งชุดเมทริกแยกเป็นฤดูกาล ประกอบด้วย ฤดูฝน ฤดูหนาว และฤดูร้อน และใช้ข้อมูลปัจจุบันเมื่อประเมินออกมาคะแนนในบางเมทริกมีความแตกต่างกัน (ภาพที่ 24) คือ เมทริกค่าดัชนีความหลากหลายทางชีวภาพในฤดูฝนมีคะแนนถึง 5 คะแนนมากกว่าฤดูหนาวและฤดูร้อน ที่มี 4 คะแนน เมทริกปลากินทั้งพืชและสัตว์มีคะแนนมากที่สุดที่ฤดูร้อน 5 คะแนน รองลงมาคือ ฤดูหนาว 4 คะแนน และฤดูฝน 3 คะแนน เมทริกปลาที่อยู่อาศัยบริเวณผิวน้ำมีคะแนนมากสุดในฤดูฝน 3 คะแนน ส่วนฤดูหนาวและฤดูร้อนได้คะแนน 1 คะแนนเท่ากัน เมทริกปลาที่อยู่อาศัยบนกรวดขนาดเล็กและโคลน มีคะแนนในฤดูร้อนมากที่สุด 3 คะแนน ส่วนฤดูหนาวและร้อนได้ 2 คะแนนเท่ากัน และเมทริกปลาที่มีความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลงมีคะแนนในฤดูฝนมากที่สุด 5 คะแนน รองลงมาคือฤดูหนาว 4 คะแนนและฤดูร้อน 3 คะแนน และเมื่อรวมคะแนนรวมของแต่ละฤดูกาลพบว่าค่าดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพมีค่าเท่ากับ 47 45 และ 49 คะแนนในฤดูฝน ฤดูหนาวและฤดูร้อนตามลำดับ (ภาพที่ 25) อยู่ในเกณฑ์ระดับปานกลางเหมือนกันทั้งหมด ดังนั้นเราจึง เลือกเมทริกประเมินเป็นเมทริกรวมไม่แยกฤดูกาล เพื่อประเมินสถานะสุขภาพะพื้นที่เขื่อนแม่งัดสมบูรณ์ชล ได้ผลคะแนนเมทริกและผลรวมดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพของปี 2019 โดยพบว่าค่าดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพมีค่าเท่ากับ 38 คะแนน จาก 18 เมทริก สุขภาพะหรือความสมบูรณ์ของเขื่อนแม่งัดสมบูรณ์ชล อยู่ในเกณฑ์ระดับปานกลาง แสดงถึงความสมดุลของระบบนิเวศมีการเปลี่ยนแปลงไปในทางที่แย่ง และผลกระทบจากกิจกรรมของมนุษย์มีผลต่อการเปลี่ยนของประชากรปลา จำนวนปลาอ่อนไหวลดลง โครงสร้างแหล่งที่อยู่อาศัยและพฤติกรรมการกินอาหารมาการเปลี่ยนแปลง (ตารางที่ 33) โดยจากผลการศึกษาครั้งนี้พบค่าคะแนนเมทริกที่ 16 (% of intolerant species) ประเมินได้ 2 คะแนน ส่วนเมทริกที่ 17 (% Tolerant species) ประเมินได้ 3 คะแนน แสดงถึงการแทนที่ของกลุ่มปลาที่มีความอดทนต่อการเปลี่ยนแปลงส่งผลต่อโครงสร้างกลุ่มปลาที่มีความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลงลดลงเช่นเดียวกับคุณลักษณะกลุ่มปลาตามโครงสร้างพฤติกรรมการกินอาหารมีการเปลี่ยนแปลงจากผลของกลุ่มปลาที่สามารถกินได้ทั้งพืชและสัตว์ (% Omnivores) เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากกลุ่มนี้จะสามารถปรับตัวหรือเปลี่ยนแปลงอาหารที่กินตามการเปลี่ยนแปลงของแหล่งน้ำปลากลุ่มนี้จึงสามารถอยู่รอดได้ดีกว่ากลุ่ม

ที่กินอาหารเฉพาะซึ่งการศึกษาครั้งนี้ประเมินได้ 4 คะแนน ได้ค่าคะแนนเท่ากับเมตริกกลุ่มปลาที่กินแมลงเป็นอาหาร (% Insectivores) แต่กลุ่ม น้อยสุดได้ 2 คะแนนคือ ปลาที่เป็นผู้ล่าที่กินสัตว์อื่นเป็นอาหาร (Carnivores) ส่วนกลุ่มเมตริก Species richness และ Diversity index มีค่าคะแนนน้อยได้ 1 คะแนน เป็นเมตริกนี้จะมีปริมาณลดลงตามความเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำ แสดงถึงทรัพยากรในแหล่งน้ำเริ่มเสียมอดและได้รับผลกระทบจากกิจกรรมต่าง ๆ ของมนุษย์ ส่วนคะแนนกลุ่ม Fish status ประเมินได้ค่าเท่ากันที่ 2 คะแนน โดยกลุ่มปลาต่างถิ่น (% Alien species) โดยจากการศึกษาครั้งนี้พบชนิดปลา ชะโด (*Channa micropeltes*) ที่ไม่มีรายงานว่าพบในปี 2004 แต่จากการสำรวจในปัจจุบันพบปริมาณมากขึ้นเป็นกลุ่มปลาที่กินสัตว์อื่นเป็นอาหารและมีความอดทนต่อการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมได้ดี



ภาพที่ 24 คะแนนของดัชนีชีวภาพแต่ละเมตริกที่ประเมินด้วยชุดเมตริกแยกตามฤดูกาล



ภาพที่ 25 คะแนนของดัชนีชีวภาพที่ประเมินด้วยชุดเมตริกแยกตามฤดูกาล

ตารางที่ 33 ผลการประเมินสุขภาวะพื้นที่เขื่อนแม่งัดสมบูรณ์ชล ปี 2563

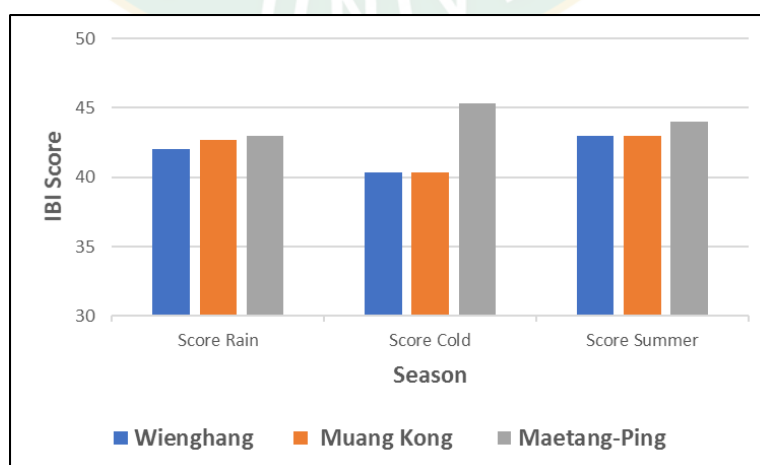
Category and Metrics		Scoring criteria (แม่งัด)					Score
		5	4	3	2	1	
	<u>Diversity parameters</u>						
1	Species richness	>47.00	37-47	27-36	22-26	<22	1
2	Diversity index	>2.93	2.65-2.93	2.57-2.64	2.30-2.56	<2.29	1
3	Dominant index	<0.24	0.25-0.26	0.27-0.28	0.29-0.33	>0.33	5
	<u>Fish status</u>						
4	% Native species	>99.67	98.22-99.67	95.63-98.21	65.99-95.62	<65.98	2
5	% Alien species	<1.79	1.80-4.49	4.50-4.52	4.53-17.01	>17.01	2
6	% Hybrid species	<1.33	1.33-2.65	2.66-3.90	3.91-5.71	>5.71	2
	<u>Trophic composition</u>						
7	% Omnivores	<0.85	0.85-3.71	3.72-5.36	5.37-112.5	>12.5	4
8	% Insectivores	>95.89	87.98-95.89	75.15-87.97	63.65-75.14	<63.64	4
9	% Carnivores	>86.67	27.24-86.67	18.14-27.23	4.23-18.13	<4.22	2
	<u>Habitat composition</u>						
10	% pelagic	>65.50	27.52-65.50	16.07-27.51	5.67-16.07	<5.66	1
11	% water column	<34.49	34.48-55.31	55.32-77.57	77.58-98.63	>98.63	2
12	% bottom	>19.64	2.99-19.64	2.84-2.99	0.78-2.83	<0.77	2
13	% rocky and stone	>35.44	17.83-35.44	10.04-17.82	1.97-10.03	<1.96	2
14	% sandy and gravel	>77.93	40.42-77.93	25.03-40.41	6.91-25.02	<6.90	1
15	% silty to muddy	>13.33	4.45-13.33	3.05-4.44	0.84-3.04	<0.83	1
	<u>Fish health and abundance</u>						
16	% of intolerant species	>97.26	78.16-97.26	63.52-78.15	47.60-63.51	<47.59	2
17	% of tolerant species	<22.25	22.26-37.50	37.51-52.51	52.52-88.93	>88.94	3
18	Number of disease health	<1	1.0-2.0	3	4	>4	1
Total IBI score							38
Results							Fair

4.2.4.2) ผลการประเมินสถานะสุขภาวะพื้นที่น้ำไหล กลุ่มน้ำแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่

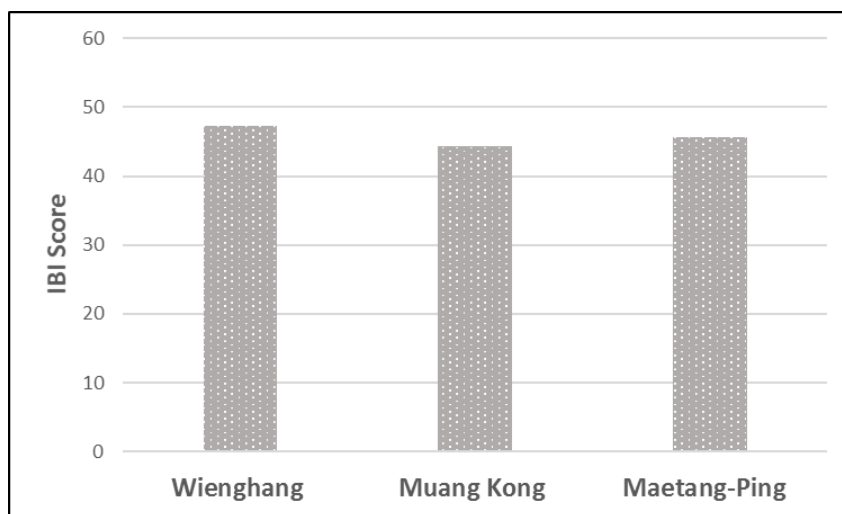
ตามการจำแนกลักษณะทางชีววิทยา (ตารางที่ 12) นำมาจัดผลค่าตัวแปรทางชีวภาพของแต่ละเมตริกโดยในการศึกษาคั้งนี้ได้ใช้ข้อมูลปี 2003 ในการออกแบบชุดเมตริกหลายๆชุดเพื่อใช้ประเมินดัชนีความสมบูรณ์ชีวภาพ คือ พื้นที่เวียงแหง เมืองคอง และสบแม่แตง-แม่ปิง ในการพัฒนาเกณฑ์การให้คะแนนซึ่งในแต่ละพื้นที่ยังแบ่งออกเป็นช่วงฤดูฝน ฤดูแล้ง และฤดูร้อนในแต่ละพื้นที่ และรวม

ฤดูกาลเฉพาะพื้นที่นั้น ๆ เป็นต้น เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของแต่ละพื้นที่และแต่ละฤดูกาล เมื่อเปรียบเทียบกับเกณฑ์คะแนนที่พัฒนา ได้ผลคะแนนเมตริกและผลรวม ดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพของแต่ละพื้นที่ พบว่าค่าดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพในพื้นที่ เวียงแหง เมืองคอง และสบแม่แตง-แม่ปิง เฉพาะฤดูฝน ฤดูหนาว และฤดูร้อน (ตารางที่ 34-36 และภาพที่ 26) มีค่าระหว่าง 41-44, 37-46, 42-46 ตามลำดับ ได้ผลการประเมินของสุขภาวะจัดอยู่ในลำดับปานกลาง (Fair) และเมื่อลองประเมินโดยใช้เมตริกชุดแยกพื้นที่ พบว่า ค่าดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพในพื้นที่ เวียงแหง เมืองคอง และสบแม่แตง-แม่ปิง (ตารางที่ 37 และภาพที่ 27) มีค่าระหว่าง 45-50, 47-45 และ 45-47 ตามลำดับ ได้ผลการประเมินของสุขภาวะจัดอยู่ในลำดับปานกลาง (Fair) และเมื่อลองประเมินโดยใช้เมตริกชุดแยกฤดูกาล พบว่า ค่าดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพในพื้นที่ช่วงฤดูฝน ฤดูหนาว และฤดูร้อน (ตารางที่ 38 และภาพที่ 28) มีค่าระหว่าง 41-44, 43-47, 42-43 ตามลำดับ ได้ผลการประเมินของสุขภาวะจัดอยู่ในลำดับปานกลาง (Fair)

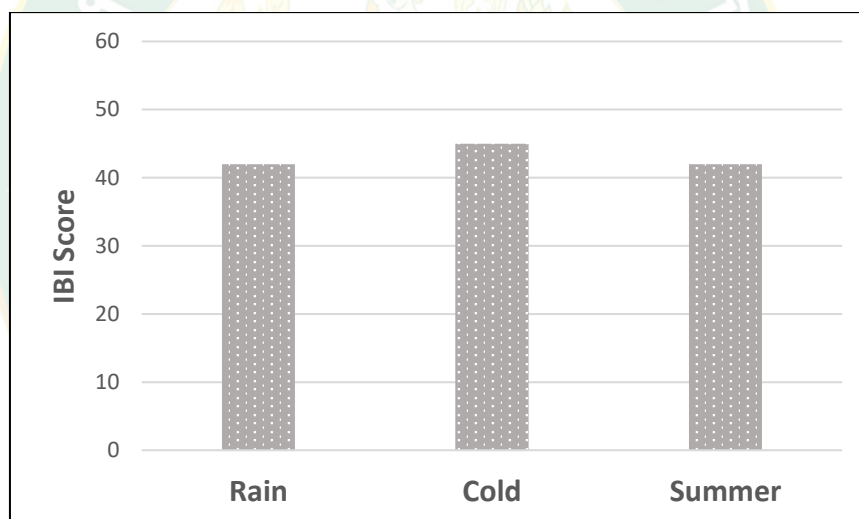
การพัฒนาเกณฑ์การให้คะแนนสำหรับน้ำแม่แตงทั้งหมดมีชุดเมตริก 15 ชุดเมตริกเมื่อทำการประเมินดัชนีความสมบูรณ์ของชีวภาพแหล่งน้ำแล้ว มีผลไม่แตกต่างกันและผลที่ประเมินได้จัดอยู่ในลำดับปานกลาง (Fair) ดังนั้น จึงพัฒนาเมตริกรวมทุกพื้นที่และฤดูกาลเพื่อให้เป็นชุดเมตริกของกลุ่มน้ำแม่แตงเพียง 1 ชุดเมตริก เพื่อง่ายต่อการประเมินและใช้ประโยชน์ (ตารางที่ 14) และเมื่อใช้ข้อมูลปัจจุบัน (ปี 2019) ทำการประเมินชุดเมตริกนี้ พบว่าได้ผลคะแนนเมตริกและผลรวมดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพเท่ากับ 53 คะแนน และคะแนนที่ได้จัดอยู่ในเกณฑ์ปานกลาง บ่งบอกถึงความสมดุลของระบบนิเวศมีการเปลี่ยนแปลงไปในทางที่แยกลง การเปลี่ยนแปลงของแหล่งน้ำและผลกระทบจากกิจกรรมของมนุษย์มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของประชากรปลา จำนวนปลาอ่อนไหวลดลง โครงสร้างแหล่งที่อยู่อาศัยและพฤติกรรมการกินอาหารมีการเปลี่ยนแปลง (ตารางที่ 40)



ภาพที่ 26 คะแนนของดัชนีชีวภาพเมื่อประเมินด้วยชุดเมตริกแยกแต่ละพื้นที่และฤดูกาล



ภาพที่ 27 คะแนนของดัชนีชีวภาพเมื่อประเมินด้วยชุดเมตริกแยกเป็นพื้นที่



ภาพที่ 28 คะแนนของดัชนีชีวภาพเมื่อประเมินด้วยชุดเมตริกแยกเป็นฤดูกาล

ตารางที่ 34 ผลการประเมินโดยใช้ชุดเมตริกพื้นที่เวียงแหง เมืองคอง และเชียงดาว เฉพาะฤดูฝน ใช้ข้อมูลช่วงเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม ปี 2563

Category and Metrics		Scoring of Wienghang			Scoring of Muang Kong			Scoring of Maetang-Ping		
		St. 1	St. 2	St. 3	St. 1	St. 2	St. 3	St. 1	St. 2	St. 3
	<u>Diversity parameters</u>									
1	Species richness	1	2	1	1	2	1	1	3	1
2	Diversity index	1	3	1	1	1	1	1	2	1
3	Dominant species	1	3	2	1	4	2	1	5	4
	<u>Fish status</u>									
4	%Native species	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5	Alien species	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	<u>Tropic composition</u>									
6	% Omnivores	4	2	5	4	3	5	4	1	5
7	% Insectivores	1	4	1	1	2	1	1	5	1
8	% Carnivores	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	<u>Altitude distribution</u>									
9	% Lowland species	5	1	5	5	3	5	5	1	5
10	% Transitory species	5	4	5	5	5	5	4	1	3
11	% Piedmont species	1	1	1	1	1	1	1	1	1
12	% Mountainous species	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	<u>Habitat composition</u>									
13	% Pelagic	5	5	1	5	5	1	3	3	1
14	% Water column	5	1	4	5	2	4	5	1	5
15	% Bottom	1	5	1	1	5	1	1	5	1
	<u>Tolerant</u>									
16	% of intolerant species	1	2	1	1	1	1	2	4	1
17	% Tolerant species	2	1	4	2	1	5	5	2	5
	<u>Fish health</u>									
18	Number of disease health	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	Total IBI score	42	43	41	42	44	42	43	43	43
	Results	Fair	Fair	Fair	Fair	Fair	Fair	Fair	Fair	Fair

หมายเหตุ St 1 คือ จุดเก็บตัวอย่างน้ำแม่แตง ตำบลกีดช้าง บริเวณเหนือประตูระบายน้ำทุ่งป่าซาง

St 2 คือ น้ำแม่แตง ตำบลกีดช้าง บริเวณสร้างฝายกั้นน้ำแม่แตง

St 3 คือ น้ำแม่แตง ตำบลกีดช้าง บริเวณประตูระบายน้ำแม่ตะมาน

ตารางที่ 35 ผลการประเมินโดยใช้ชุดเมตริกพื้นที่เวียงแหง เมืองคอง และเชียงดาว เฉพาะฤดูหนาว
ใช้ข้อมูลช่วงเดือนพฤศจิกายน 2562-กุมภาพันธ์ 2563

Category and Metrics		Scoring of Wienghang			Scoring of Muang Kong			Scoring of Maetang-Ping		
		St. 1	St. 2	St. 3	St. 1	St. 2	St. 3	St. 1	St. 2	St. 3
	<u>Diversity parameters</u>									
1	Species richness	1	2	1	1	1	1	1	2	2
2	Diversity index	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3	Dominant species	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	<u>Fish status</u>									
4	%Native species	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5	Alien species	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	<u>Tropic composition</u>									
6	% Omnivores	4	3	5	4	5	5	4	1	5
7	% Insectivores	2	2	2	2	4	3	3	5	4
8	% Carnivores	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	<u>Altitude distribution</u>									
9	% Lowland species	5	3	5	5	2	5	5	1	5
10	% Transitory species	5	4	5	5	4	5	5	1	1
11	% Piedmont species	1	1	1	1	1	1	1	1	1
12	% Mountainous species	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	<u>Habitat composition</u>									
13	% Pelagic	5	5	1	4	4	1	4	4	1
14	% Water column	1	4	2	1	3	1	1	4	1
15	% Bottom	1	4	1	1	5	3	3	5	5
	<u>Tolerant</u>									
16	% of intolerant species	1	2	1	1	2	1	3	5	5
17	% Tolerant species	3	1	4	1	1	4	5	4	5
	<u>Fish health</u>									
18	Number of disease health	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	Total IBI score	40	42	39	37	43	41	46	44	46
	Results	Fair	Fair	Fair	Fair	Fair	Fair	Fair	Fair	Fair

หมายเหตุ St 1 คือ จุดเก็บตัวอย่างน้ำแม่แตง ตำบลกิตติช่วง บริเวณเหนือประตูระบายน้ำทุ่งป่าซาง

St 2 คือ น้ำแม่แตง ตำบลกิตติช่วง บริเวณสร้างฝายกั้นน้ำแม่แตง

St 3 คือ น้ำแม่แตง ตำบลกิตติช่วง บริเวณประตูระบายน้ำแม่ตะมาน

ตารางที่ 36 ผลการประเมินโดยใช้ชุดเมตริกพื้นที่เวียงแหง เมืองคอง และเชียงดาว เฉพาะฤดูร้อน ใช้ข้อมูลช่วงเดือนมีนาคม-มิถุนายน ปี 2563

Category and Metrics		Scoring of Wienghang			Scoring of Muang Kong			Scoring of Maetang-Ping		
		St. 1	St. 2	St. 3	St. 1	St. 2	St. 3	St. 1	St. 2	St. 3
	<u>Diversity parameters</u>									
1	Species richness	1	2	1	1	1	1	1	3	1
2	Diversity index	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3	Dominant species	1	5	3	1	5	5	1	5	5
	<u>Fish status</u>									
4	%Native species	1	1	1	1	1	1	1	2	1
5	Alien species	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	<u>Tropic composition</u>									
6	% Omnivores	4	3	5	4	3	5	4	1	5
7	% Insectivores	1	3	1	1	1	1	2	5	1
8	% Carnivores	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	<u>Altitude distribution</u>									
9	% Lowland species	5	3	5	5	4	5	5	1	5
10	% Transitory species	5	4	5	5	4	5	3	1	2
11	% Piedmont species	1	1	1	1	1	1	1	1	1
12	% Mountainous species	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	<u>Habitat composition</u>									
13	% Pelagic	5	5	2	5	5	1	4	5	1
14	% Water column	5	2	4	5	4	5	5	2	5
15	% Bottom	1	4	1	1	3	1	1	5	1
	<u>Tolerant</u>									
16	% of intolerant species	1	1	1	1	1	1	2	5	2
17	% Tolerant species	2	1	4	3	1	5	5	1	5
	<u>Fish health</u>									
18	Number of disease health	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	Total IBI score	42	44	43	43	43	46	44	46	44
	Results	Fair	Fair	Fair	Fair	Fair	Fair	Fair	Fair	Fair

หมายเหตุ St 1 คือ จุดเก็บตัวอย่างน้ำแม่แตง ตำบลกีดช้าง บริเวณเหนือประตูระบายน้ำทุ่งป่าซาง

St 2 คือ น้ำแม่แตง ตำบลกีดช้าง บริเวณสร้างฝายกั้นน้ำแม่แตง

St 3 คือ น้ำแม่แตง ตำบลกีดช้าง บริเวณประตูระบายน้ำแม่ตะมาน

ตารางที่ 37 ผลการประเมินโดยใช้ชุดเมตริกพื้นที่เวียงแหง เมืองคอง และเชียงดาว ใช้ข้อมูลปี 2563

Category and Metrics		Scoring of Wienghang			Scoring of Muang Kong			Scoring of Maetang-Ping		
		St. 1	St. 2	St. 3	St. 1	St. 2	St. 3	St. 1	St. 2	St. 3
	<u>Diversity parameters</u>									
1	Species richness	1	2	2	1	1	1	1	3	2
2	Diversity index	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3	Dominant species	5	5	5	5	5	5	4	4	4
	<u>Fish status</u>									
4	%Native species	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5	Alien species	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	<u>Tropic composition</u>									
6	% Omnivores	4	3	5	4	3	5	4	1	5
7	% Insectivores	2	3	2	1	1	1	3	4	4
8	% Carnivores	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	<u>Altitude distribution</u>									
9	% Lowland species	5	2	5	5	3	5	1	1	1
10	% Transitory species	5	4	4	5	4	5	1	1	1
11	% Piedmont species	1	1	1	1	1	1	1	1	1
12	% Mountainous species	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	<u>Habitat composition</u>									
13	% Pelagic	5	5	1	4	4	1	4	4	1
14	% Water column	5	2	4	5	3	4	5	2	5
15	% Bottom	1	4	1	1	4	1	3	5	4
	<u>Tolerant</u>									
16	% of intolerant species	1	2	2	1	1	1	3	5	4
17	% Tolerant species	2	2	4	4	1	5	5	4	5
	<u>Fish health</u>									
18	Number of disease health	1	1	5	1	1	1	1	1	1
	Total IBI score	47	45	50	47	41	45	45	45	47
	Results	Fair	Fair	Fair	Fair	Fair	Fair	Fair	Fair	Fair

หมายเหตุ St 1 คือ จุดเก็บตัวอย่างน้ำแม่แตง ตำบลกีดช้าง บริเวณเหนือประตูระบายน้ำทุ่งป่าซาง

St 2 คือ น้ำแม่แตง ตำบลกีดช้าง บริเวณสร้างฝายกั้นน้ำแม่แตง

St 3 คือ น้ำแม่แตง ตำบลกีดช้าง บริเวณประตูระบายน้ำแม่ตะมาน

ตารางที่ 38 ผลการประเมินโดยใช้ชุดเมตริกพื้นที่น้ำแม่แตง ใช้ข้อมูลทุกฤดูกาล ปี 2563

Category and Metrics		Scoring of Rain			Scoring of Cold			Scoring of Summer		
		St. 1	St. 2	St. 3	St. 1	St. 2	St. 3	St. 1	St. 2	St. 3
	<u>Diversity parameters</u>									
1	Species richness	1	2	1	1	1	1	1	1	1
2	Diversity index	1	2	1	1	1	1	1	1	1
3	Dominant species	1	3	2	4	4	4	1	5	4
	<u>Fish status</u>									
4	%Native species	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5	Alien species	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	<u>Tropic composition</u>									
6	% Omnivores	4	3	5	4	3	5	4	3	5
7	% Insectivores	1	3	1	2	2	2	1	2	1
8	% Carnivores	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	<u>Altitude distribution</u>									
9	% Lowland species	5	2	5	5	3	5	5	4	5
10	% Transitory species	5	4	5	5	4	5	5	4	5
11	% Piedmont species	1	1	1	1	1	1	1	1	1
12	% Mountainous species	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	<u>Habitat composition</u>									
13	% Pelagic	5	5	1	5	5	1	5	5	1
14	% Water column	5	2	4	5	4	5	5	2	4
15	% Bottom	1	5	1	1	4	1	1	3	1
	<u>Tolerant</u>									
16	% of intolerant species	1	2	1	1	1	1	1	1	1
17	% Tolerant species	2	1	4	3	1	4	2	1	4
	<u>Fish health</u>									
18	Number of disease health	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	Total IBI score	42	44	41	47	43	45	42	42	43
	Results	Fair	Fair	Fair	Fair	Fair	Fair	Fair	Fair	Fair

หมายเหตุ St 1 คือ จุดเก็บตัวอย่างน้ำแม่แตง ตำบลกีดช้าง บริเวณเหนือประตูระบายน้ำทุ่งป่าซาง

St 2 คือ น้ำแม่แตง ตำบลกีดช้าง บริเวณสร้างฝายกั้นน้ำแม่แตง

St 3 คือ น้ำแม่แตง ตำบลกีดช้าง บริเวณประตูระบายน้ำแม่ตะมาน

ตารางที่ 39 ผลการประเมินพื้นที่แม่น้ำแม่แตง โดยใช้ข้อมูล ปี 2563

Category and Metrics		Scoring criteria					Score
		5	4	3	2	1	
	<u>Diversity parameters</u>						
1	Species richness	>22	12-22	9-11	5-9	<5	5
2	Diversity index	>2.35	2.00-2.35	1.61-1.99	1.26-1.60	<1.26	5
3	Dominant species	>0.56	0.26-0.56	0.19-0.25	0.08-0.18	<0.08	2
	<u>Fish status</u>						
4	%Native species	>42.31	23.08-42.31	16.98-23.07	9.62-16.97	<9.62	3
5	Alien species	0	1	2	3	>4	5
	<u>Tropic composition</u>						
6	% Omnivores	<10.38	10.38-16.59	16.60-22.21	22.22-44.44	>44.44	1
7	% Insectivores	>42.86	25.71-42.86	18.55-25.70	11.43-18.54	<11.43	5
8	% Carnivores	>37.50	12.50-37.50	11.11-12.49	8.32-11.10	<8.32	4
	<u>Altitude distribution</u>						
9	% Lowland species	<16.24	16.24-21.67	21.67-33.32	33.33-88.89	>88.89	1
10	% Transitory species	<23.88	23.88-31.84	31.85-59.99	60.00-80.00	>80.00	1
11	% Piedmont species	>50.00	28.13-49.99	19.06-28.13	9.38-19.05	<9.38	3
12	% Mountainous species	>33.33	16.67-33.33	12.14-16.66	9.10-12.014	<9.10	3
	<u>Habitat composition</u>						
13	% Pelagic	>75.00	37.50-75.00	27.47-37.49	12.50-27.46	<12.50	5
14	% Water column	<7.14	7.14-20.01	20.02-28.56	28.57-64.29	>64.29	1
15	% Bottom	>40.00	20.00-40.00	13.25-19.99	6.67-13.24	<6.67	4
	<u>Tolerant</u>						
16	% of intolerant species	>55.88	29.41-55.88	13.39-29.40	11.76-19.38	<11.76	3
17	% Tolerant species	<4.17	4.17-8.18	8.19-11.11	11.12-27.78	>27.78	1
	<u>Fish health</u>						
18	Number of disease health	0	1	2	3	>4	1
Total IBI score							53
Results							Fair

4.2.5 การกำหนดคะแนนของเมตริก

การกำหนดค่าคะแนนของแต่ละเมตริก หลังจากการสำรวจจำนวนชนิดปลา ตามที่กำหนดเมตริกแล้วนั้น รูปแบบเดิมตาม Karr (1981) ใช้ระบบคะแนน 5, 3 หรือ 1 คะแนน โดยอิงตามความ

เปลี่ยนแปลงคุณลักษณะเปรียบเทียบกับแหล่งน้ำในบริเวณหรือภูมิภาคเดียวกันที่รับผลกระทบที่น้อยที่สุด (Minimally disturbed) ดัชนี Fish-IBI เป็นผลจากการผนวกค่าคะแนนทั้ง 12 Metrics ที่รวมเอาลักษณะทางอนุกรมวิธาน พฤติกรรม การกินอาหาร ความชุกชุม และเงื่อนไขของประชาคมปลาในพื้นที่ศึกษา มาเป็นดัชนีโดยรวม (Multiple parameters indices) เพื่อนำไปใช้ในการประเมินความสมบูรณ์ทางชีวภาพของแหล่งน้ำ (สมศักดิ์ และ ปราณิต, 2562) ซึ่งคะแนนเมตริกสามารถบอกถึงคุณภาพน้ำตามหลักที่ว่า หากเมตริกที่ได้คะแนน 5 หมายถึง ความอุดมสมบูรณ์มากที่สุดเทียบสภาวะอ้างอิงที่มีความสมบูรณ์ทางธรรมชาติ รองลงมาคือ 3 ที่แสดงให้เห็นถึง มีสิ่งมีชีวิตเบี่ยงเบน หรือแตกต่างจากสถานอ้างอิง และ 1 ความอุดมสมบูรณ์แตกต่างมากเมื่อเทียบกับสภาวะอ้างอิงที่มีความสมบูรณ์ทางธรรมชาติ

ดังที่กล่าวมาแล้วการกำหนดเมตริกว่าดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพโดยใช้ปลาเป็นตัวชี้วัดเกิดจากแนวคิดแบบเมตริกวมถูกพัฒนาโดย Karr (1981) และในแต่ละภูมิภาคก็ได้ปรับเปลี่ยนและพัฒนาให้มีความเหมาะสมในแต่ละลุ่มน้ำดังนั้นการพิจารณาระบบเมตริกในแหล่งน้ำในประเทศไทยซึ่งมีข้อมูลที่น้อยมาก ในที่นี้ ได้ใช้ข้อมูลปริมาณมากและมีการเก็บตัวอย่างเมื่อ 20 ปีที่แล้ว เพื่อต่อย้ำถึงความอุดมสมบูรณ์ของแหล่งน้ำนั้น ๆ มีการพิจารณาจากเมตริกที่เป็นองค์ประกอบต่าง ๆ ของประชาคมปลาในระบบนิเวศแหล่งน้ำที่ศึกษาที่มีคุณลักษณะที่จะบ่งบอกถึงความความสมดุลของระบบ และเอื้อต่อการดำรงชีวิตต่อไปได้อย่างยั่งยืน

ดังนั้น การกำหนดคะแนนแต่ละเมตริกของแหล่งน้ำนิ่งและน้ำไหล คือ ระบบคะแนน 5, 4, 3, 2 และ 1 คะแนน และผลคะแนนรวมมีตั้งแต่ 18 ถึง 90 โดยเกณฑ์การประเมินสถานภาพของแหล่งน้ำจะกำหนดเป็น 5 ระดับตามแนวทางของ (Chen *et al.*, 2020; Fausch *et al.*, 1990; Karr, 1981; Krause *et al.*, 2012; Li, T. *et al.*, 2018; Sangpradub and Hanjavanit, 2017; Shi *et al.*, 2020; Souza and Vianna, 2020; Wu *et al.*, 2014; Zogaris *et al.*, 2018) โดยการเปรียบเทียบ ช่วงค่าคะแนนระหว่างกลุ่มสถานอ้างอิงและกลุ่มสถานทดสอบในแต่ละช่วงเวลาพิจารณาเปรียบเทียบกับร้อยละที่ 25 ค่ากลาง และร้อยละที่ 75 ของกลุ่มสถานอ้างอิงของแต่ละเมตริก (Barbour, 1999; สมศักดิ์ และ ปราณิต, 2562) ซึ่งสำหรับการศึกษารั้งนี้มีการใช้คะแนนเปรียบเทียบร้อยละที่ละเอียดยิ่งขึ้น คือหากมีคะแนนน้อยกว่าร้อยละ 25 คือ กำหนดที่ 1 คะแนน หากคะแนนมากกว่าร้อยละ 25 และน้อยกว่าค่ากลาง กำหนดคะแนนที่ 2 คะแนน และหากได้คะแนนระหว่างกลางร้อยละ 25 และ 75 กำหนดคะแนนอยู่ที่ 3 คะแนน และหากมีคะแนนมากกว่าค่ากลางแต่มีคะแนนน้อยกว่าร้อยละ 75 กำหนดคะแนนที่ 4 และหากได้คะแนนมากกว่าร้อยละ 75 กำหนดคะแนนที่ 5 คะแนน

4.2.6 การรวมคะแนนเมตริกและผลรวมดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพ

วิธีการคิดผลรวมผลรวมดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพ ดัดแปลงมาจาก (Breine *et al.*, 2004; Hughes *et al.*, 2002; Karr, 1981; Pont *et al.*, 2006; Schinegger *et al.*, 2013; สมศักดิ์ และ ปราณีต, 2562) เมื่อคะแนนแต่ละเมตริกแล้วนำมารวมกัน และจากการศึกษาครั้งนี้กำหนดรูปแบบเมตริก 18 เมตริก คะแนนและผลคะแนนรวมมีตั้งแต่ 18 ถึง 90 โดยเกณฑ์การประเมินสถานภาพของแหล่งน้ำจะกำหนดเป็น 5 ระดับ (ตารางที่ 40)

ระดับดีเยี่ยม 73-90 คะแนน ระดับดี 55-72 คะแนน ระดับปานกลาง 37-54 คะแนน ระดับเสื่อมโทรม 19-36 คะแนน และระดับเสื่อมโทรมมาก น้อยกว่าหรือเท่ากับ 18 คะแนน

ค่าคะแนนที่ได้ 73-90 แสดงถึงระดับยอดเยี่ยม หมายถึงแสดงถึงการมีจำนวนสิ่งมีชีวิตที่มีความหลากหลายชนิดใกล้เคียงกับสถานี่อ้างอิงมาก แสดงว่าระบบนิเวศมีสมดุล หรือได้รับผลกระทบจากกิจกรรมของมนุษย์น้อยมาก

ค่าคะแนนที่ได้ 55-72 แสดงถึงระดับดี หมายถึงแสดงถึงการลดลงของความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำโดยเฉพาะการลดลงของสิ่งมีชีวิตที่มีความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลงชนิด และขนาดของสิ่งมีชีวิตลดลง ความชุกชุมและการแพร่กระจายเปลี่ยนแปลง เริ่มมีผลกระทบที่เพิ่มขึ้น

ค่าคะแนนที่ได้ 37-54 แสดงถึงระดับปานกลาง แสดงถึงความสมดุลของระบบนิเวศเริ่มสูญเสีย สิ่งมีชีวิตที่มีความอ่อนไหวจำนวนลดลง สัดส่วนโครงสร้างตามการกินอาหารเริ่มเปลี่ยนแปลง และแสดงถึงการปรับตัวของสิ่งมีชีวิตที่อ่อนไหวเริ่มเพิ่มขึ้น

ค่าคะแนนที่ได้ 19-36 แสดงถึงระดับเสื่อมโทรม แสดงถึง ความหลากหลายของชนิดที่ปรับตัวง่ายลดลง การกินอาหารที่หลากหลาย มีความทนทานมากขึ้นจนเกิดเป็นชนิดเด่น รวมทั้งเกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านรูปร่างของปลา หรือเริ่มมีอาการป่วยค่าคะแนนที่ได้ น้อยกว่าหรือเท่ากับ 18 แสดงถึงระดับเสื่อมโทรมมาก แสดงถึงความหลากหลายของชนิดลดลงมาก พบชนิดต่างถิ่นที่มากขึ้น และสามารถพบสิ่งมีชีวิตที่เป็นโรคหรือป่วยชัดเจน

ตารางที่ 40 ผลรวมผลรวมดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพ

ระดับคุณภาพแหล่งน้ำ	คะแนน IBI
ระดับดีเยี่ยม (Excellent: E)	73-90
ระดับดี (Good:G)	55-72
ระดับปานกลาง (Fair: F)	37-54
ระดับเสื่อมโทรม (Poor: P)	19-36
ระดับเสื่อมโทรมมาก (Very poor: VP)	≤18

4.3 การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีตรวจหาจีโนมเพื่อติดตามประเมินและเตือนผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมทางน้ำ

4.3.1 การศึกษาไมโทคอนเดรีย จีโนม อย่างสมบูรณ์ของปลากระสูบสาละวินพร้อมกับแผนผังวิวัฒนาการ

การศึกษาไมโทคอนเดรีย จีโนม เพื่อเป็นต้นทางของการเรียนรู้เรื่องการศึกษารหัสพันธุกรรมในสภาพแวดล้อม โดยทำการศึกษาในปลากระสูบสาละวิน ซึ่งได้ผลดังนี้ การศึกษาจีโนมไมโทคอนเดรียของปลากระสูบสาละวิน (*Hampala salweenensis*) ซึ่งเป็นตัวแทนของอันดับย่อย Cyprinidae โดยจีโนมไมโทคอนเดรียมีขนาด 16,913 คู่เบส (GeneBank accession No. MW548258) ประกอบด้วย 37 ยีน เป็นยีนที่ถอดรหัสเป็น Transfer RNA (tRNA) จำนวน 22 ยีน เป็น ribosomal RNA (rRNA) จำนวน 2 ยีน และยีนที่แปลรหัสเป็นโปรตีน จำนวน 13 ยีน และ control region (CR) จำนวน 1 ยีน (ตารางที่ 29) จีโนมไมโทคอนเดรียมีขนาด 16,913 คู่เบส ประกอบด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ A 33.6%, T 26.3%, G 25.4%, C 14.7% และ AT 59%. สำหรับยีนที่อาร์เอ็นเอส่วนใหญ่อยู่บนสาย H ยกเว้นอีก 8 ยีนที่อยู่บนเส้น L คือ tRNA-Gln, tRNA-Ala, tRNA-Asn, tRNA-Cys, tRNA-Tyr, tRNA-Ser, tRNA-Glu และ tRNA-Pro ส่วนยีนอาร์อาร์เอ็นเอ ประกอบด้วย 12S rRNA มีความยาว 953 bp และ 16S rRNA ที่มีความยาว 1681 bp

ตารางที่ 41 จีโนมไมโทคอนเดรียของปลา *Hampala salweenensis*.

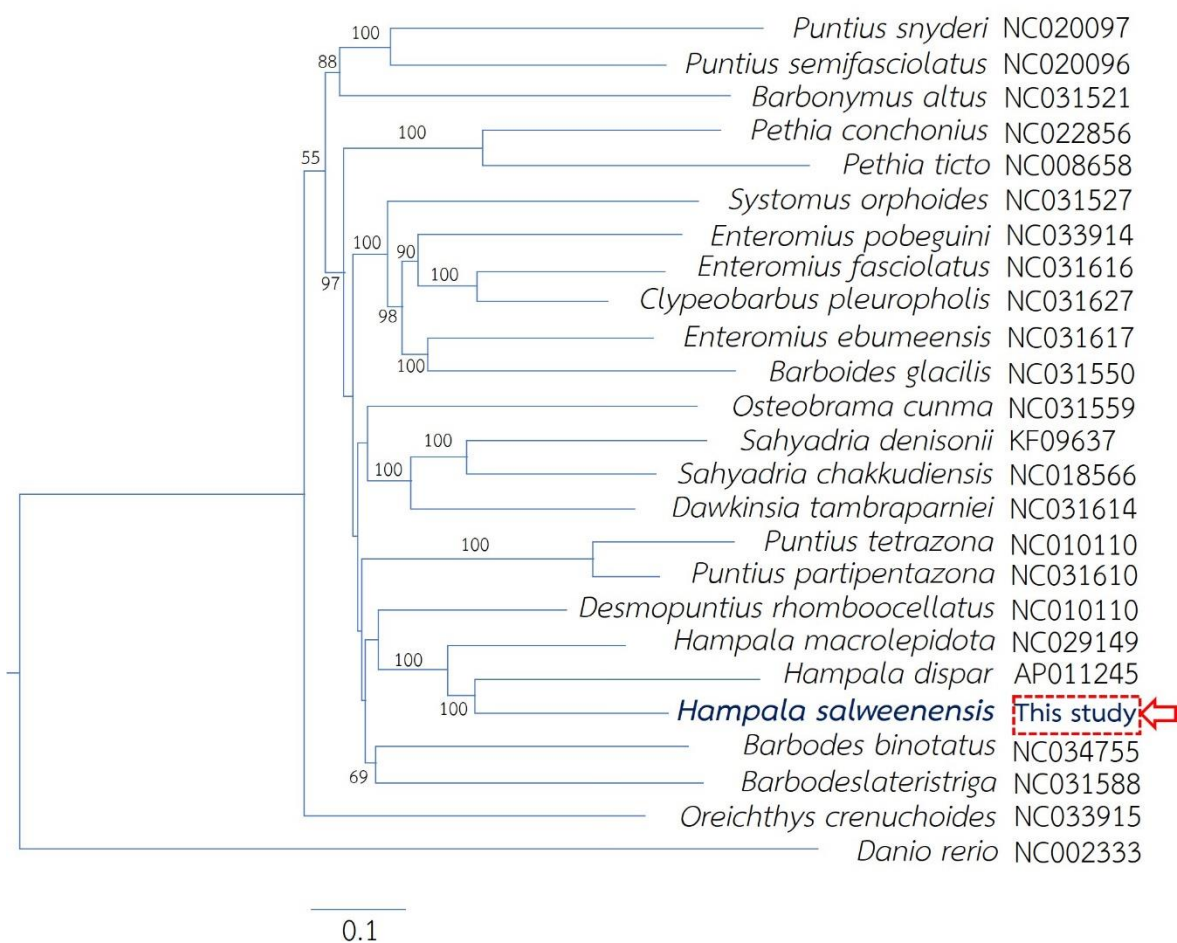
Gene/element	From	To	Length (bp)	Start codon	Stop codon	Anticodon	Intergenic nucleotides	Strand
tRNA-Phe	1	69	69			GAA		H
12SrRNA	70	1022	953					H
tRNA-Val	1023	1093	71			TAC		H
16SrRNA	1094	2767	1681					H
tRNA-Leu1(UAA)	2768	2842	75			TAA	1	H
ND1	2844	3818	975	ATG	TAA		5	H
tRNA-Ile	3824	3895	72			GAT	-2	H
tRNA-Gln	3894	3964	71			TTG	1	L
tRNA-Met	3966	4034	69			CAT		H
ND2	4035	5079	1045	ATG	T--			H
tRNA-Trp	5080	5151	72			TCA		H
tRNA-Ala	5152	5220	69			TGC	1	L
tRNA-Asn	5222	5294	73			GTT		L
OL	5295	5329	35					
tRNA-Cys	5330	5396	67			GCA	1	L
tRNA-Tyr	5398	5463	66			GTA	1	L
COI	5465	7015	1551	GTG	TAA			H
tRNA-Ser1 (UGA)	7016	7086	71			TGA	2	L
tRNA-Asp	7089	7158	70			GTC	5	H
COII	7164	7854	691	ATG	T--			H

ตารางที่ 41 (ต่อ)

Gene/element	From	To	Length (bp)	Start codon	Stop codon	Anticodon	Intergenic nucleotides	Strand
tRNA-Lys	7855	7930	76			TTT	1	H
ATPase8	7932	8096	166	ATG	TAA		-7	H
ATPase6	8090	8773	684	ATG	TAA		-1	H
COIII	8773	9558	786	ATG	TAA			H
tRNA-Gly	9559	9630	72			TCC		H
ND3	9631	9976	346	ATG	T--			H
tRNA-Arg	9977	10046	70			TCG		H
ND4L	10047	10343	297	ATG	TAA		-7	H
ND4	10337	11717	1381	ATG	T--			H
tRNA-His	11718	11786	69			GTG		H
tRNA-Ser2(GCU)	11787	11854	68			GCT		H
tRNA-Leu2(UAG)	11855	11924	74			TAG	4	H
ND5	11933	13753	1824	ATG	TAA		-4	H
ND6	13750	14271	522	ATG	TAA			L
tRNA-Glu	14272	14341	70			TTC	5	L
Cytb	14347	15483	1137	ATG	TAA		4	H
tRNA-Thr	15488	15559	72			TGT	-2	H
tRNA-Pro	15558	15628	71			TGG		L
D-Loop(CR)	15629	16913	1285					H

จากข้อมูลลำดับเบสบริเวณ D-loop ของ mtDNA เมื่อนำมาวิเคราะห์จำแนกกลุ่มปลา *Hampala* โดยในประเทศไทยมีรายงานปลาชนิดนี้ อยู่เพียง 3 ชนิดคือ *H. dispar*, *H. macrolepidota* และ *H. salweenensis* โดยในลำดับนิวคลีโอไทด์อ้างอิง มีรายงานเพียง 2 ชนิด ยกเว้น *H. salweenensis* ซึ่งไม่มีรายงานมาก่อน จากภาพที่ 29 สามารถอธิบายได้ถึงความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันระหว่าง *H. dispar* และ *H. salweenensis* มีพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกันมากกว่า *H. macrolepidota*

ดังนั้นการศึกษาคความหลากหลายทางพันธุกรรมสามารถใช้ในการศึกษาคความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบ mtDNA พิจารณาในการจัดจำแนกกลุ่มปลาได้อย่างถูกต้องและแม่นยำยิ่งขึ้น



ภาพที่ 29 แผนภาพการจัดกลุ่มจากข้อมูล mtDNA (subfamily Smiliogastrinae) ด้วยวิธี Maximum Likelihood

4.3.2 การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีตรวจหาร่องรอยดีเอ็นเอเพื่อติดตามประเมินและเตือนผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมต่อระบบนิเวศน้ำไหล กรณีศึกษาลุ่มน้ำแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมต่อระบบนิเวศน้ำต้องอาศัยข้อมูลด้านชีวภาพของสิ่งมีชีวิตในน้ำ และใช้เวลานาน เนื่องจากข้อมูลที่น้อยมาก รวมทั้งมีความหลากหลายทางชีวภาพค่อนข้างมากและมีความแตกต่างกันในแต่ละสภาพภูมิประเทศ งานวิจัยครั้งนี้เป็นการเริ่มต้นครั้งแรกสำหรับการพัฒนาวิธีการดีเอ็นเอเพื่อติดตามประเมินและเตือนผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมต่อระบบนิเวศน้ำ ซึ่งการนำเอาเทคนิค environmental DNA หรือ eDNA มาประยุกต์ใช้เพื่อการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมเพื่อให้เป็นทางเลือกใหม่ และเพื่อให้งานศึกษาทางด้านนี้ในประเทศไทยก้าวทันโลก ซึ่งความสัมพันธ์ที่เห็นได้ชัดระหว่างการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศและการเจริญเติบโตของชีวมวล โดยใช้พื้นที่ในแหล่งน้ำนิ่งและน้ำไหล โดยใช้พื้นที่การศึกษาอยู่ที่แม่น้ำแม่แจ่มที่มีความสำคัญต่อลุ่มน้ำปิงเป็นตัวแทนของแหล่งน้ำไหล และพื้นที่การศึกษาในเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล เป็นตัวแทนของแหล่งน้ำนิ่ง

จากผลการศึกษาความหลากหลายของชนิดปลาในแหล่งน้ำแม่แจ่ม โดยการใช้เทคนิคทางชีววิทยาระดับโมเลกุลโดยเทคโนโลยี Environmental DNA แล้วนำมาสกัดดีเอ็นเอ และเพิ่มปริมาณยีน 12S rRNA ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะคือ 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') และ 806R (5'-GGACTACHVHHTWTCTAAT-3') จากนั้นทำบริสุทธิ์ดีเอ็นเอด้วย Qiagen Gel Extraction Kit (Qiagen, Germany) และเตรียมดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA library) ใช้วิธีการของ NEBNext[®] Ultra DNA Library Pre Kit ด้วยเครื่องมือ Illumina (New England Biolabs) และวัดความเข้มข้นดีเอ็นเอต้นแบบด้วยเครื่อง Qubit[®] 2.0 Fluorometer (Thermo Scientific) จากนั้นประเมินคุณภาพดีเอ็นเอต้นแบบด้วยเครื่อง Agilent BioAnalyzer 2100 และเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล GenBank

พบว่าสามารถตรวจพบดีเอ็นเอตกค้างในแหล่งน้ำทั้งหมดแบ่งเป็นหลากหลายสิ่งมีชีวิต ซึ่งข้อมูลประชากรทั้งหมดที่นำมาวิเคราะห์มีมากถึง 142,337 tags โดยพบสิ่งมีชีวิตทั้งหมดมากถึง 139,079 tags และพบตัวอย่างที่มีความพิเศษเฉพาะตัว (Unique Tags) อยู่ที่ 223 tags แต่ไม่สามารถแบ่งแยกได้ (Unclassified tags) 3,035 tags โดยจัดกลุ่มที่มีรูปแบบเหมือนกันให้เป็น operational taxonomic units (OTUs) ได้เฉลี่ยอยู่ที่ 170 tags (ภาพที่ 30) จากภาพที่ 30 เมื่อแบ่งกลุ่มพื้นที่เก็บตัวอย่าง พบว่า เขตพื้นที่ Mountain zone (MZ1-MZ3) มีค่า operational taxonomic units (OTUs) ที่ 182-474 tags (ค่าเฉลี่ยที่ 286.34) และมีมากที่สุดอยู่ที่ 474 tags ในสถานีเก็บตัวอย่างห้วยทรายเหลือง (MZ1) กลุ่มรองลงมา คือ กลุ่ม Lowland zone (LZ1-LZ3) มีค่า operational taxonomic units (OTUs) ที่ 125-167 tags (ค่าเฉลี่ยที่ 141.34) มีค่าใกล้เคียงกับ

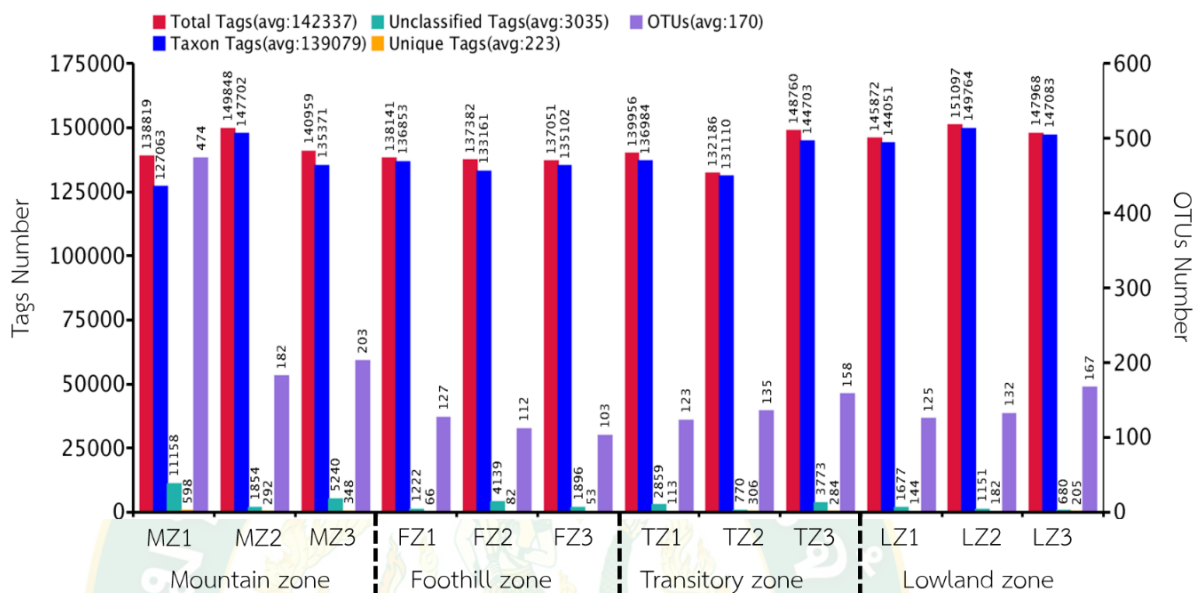
กลุ่ม Transitory zone ที่ 123-158 tags (ค่าเฉลี่ยที่ 138.67) และกลุ่มสุดท้าย คือ Foothill zone มีค่าอยู่ที่ 103-127 tags (ค่าเฉลี่ยที่ 114)

กลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่พบในกลุ่มน้ำแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ (ภาพที่ 31) แบ่งออกเป็น 4 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มปลา (Actinopterygii) กลุ่มสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ (Amphibia) กลุ่มสัตว์ปีก (Aves) และกลุ่มสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Mammalia) โดยในกลุ่มสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Mammalia) เป็นกลุ่มที่พบมากที่สุด มีอยู่ประมาณ 61.35 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ กลุ่มปลา (Actinopterygii) มีอยู่ถึงประมาณ 12.51 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ (Amphibia) และกลุ่มสัตว์ปีก (Aves) มีประมาณ 1.37, 0.12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งปริมาณของกลุ่มปลาที่พบ สามารถแบ่งออกเป็น 3 อันดับด้วยกัน คือ อันดับ Siluriformes (8.37%) พบชนิดสกุลเดียว ได้แก่ *Oreoglanis* ส่วน Cypriniformes (4.05%) พบชนิดปลา 4 สกุล โดยพบปริมาณมากที่สุดในกลุ่มนี้ได้แก่ *Raiamas* รองลงมาคือ *Mystacoleucus*, *Pethai* และ *Devario* ตามลำดับ และสุดท้ายคืออันดับ Gobiiformes (0.09%) พบชนิดสกุลเดียวคือ *Rhinogobius*

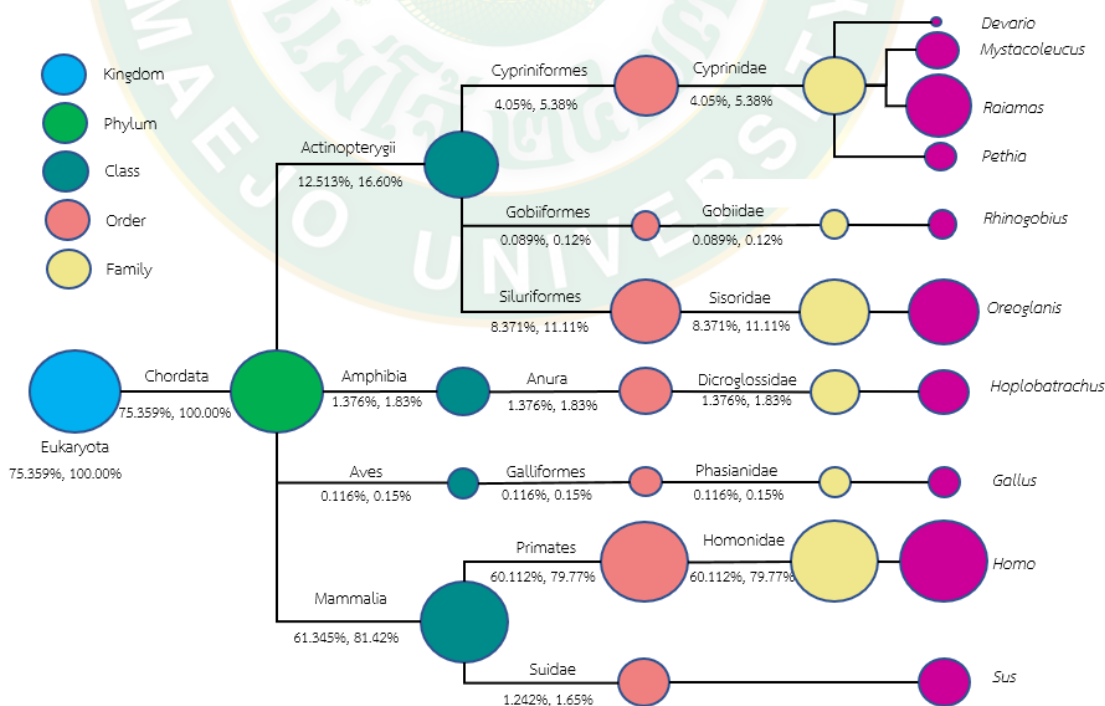
โดยแต่ละแหล่งน้ำสามารถแสดงถึงความแตกต่างกันในกลุ่มชนิดปลาตามเปอร์เซ็นต์การพบหลักฐานทางดีเอ็นเอของแต่ละกลุ่มสิ่งมีชีวิตแตกต่างกันออกไป เมื่อแบ่งแหล่งน้ำตามระดับความสูงจากน้ำทะเล พบว่ากลุ่มสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นมีมากถึง 70.67 เปอร์เซ็นต์ ส่วนร่องรอย eDNA ที่พบในกลุ่มของปลาพบ 23.276 เปอร์เซ็นต์ และสามารถบอกได้ถึงการแพร่กระจายในแหล่งน้ำแต่ละระดับความสูงมากน้อยเพียงใด (ภาพที่ 32) ได้แก่ อันดับ Cypriniformes ที่มีมากถึง 17.584% ประกอบด้วย *Devario* (0.849%) แพร่กระจายในพื้นที่ Mountain zone มากที่สุดรองลงมาคือ Foothill zone, Transitory zone และ Lowland zone ตามลำดับ ส่วน *Mystacoleucus* (14.562%) มีการแพร่กระจายและปรับตัวได้ดีในทุกพื้นที่ใกล้เคียงกัน และ *Systemus* (1.860%) พบแพร่กระจายมากและโดดเด่นในพื้นที่ Foothill zone แตกต่างจาก *Raiamas* (0.313%) ที่มีการแพร่กระจายโดดเด่นในพื้นที่ Mountain zone เท่านั้น ส่วนอันดับ Perciformes (4.986%) พบสกุล *Rhinogobius* แพร่กระจายในทุกพื้นที่ใกล้เคียงกันแต่โดยมากที่สุดในพื้นที่ Transitory zone และ อันดับ Siluriformes (0.707%) พบสกุล *Oreoglanis* โดยมีการแพร่กระจายในพื้นที่ Mountain zone ที่ในระดับความสูงจากน้ำทะเลที่มากกว่า 1,000 เมตร และสอดคล้องกับข้อมูลชีววิทยาปลาชนิดนี้ที่พบในแหล่งน้ำที่มีกระแสน้ำไหลแรง และสภาวะออกซิเจนที่เพียงพอ

ภาพที่ 33 ความหลากหลายชนิดของปลาในแต่ละระดับความสูง ของแม่น้ำแม่แจ่ม โดยพบว่ามีความหลากหลายทางชีวภาพในพื้นที่ Mountain zone ส่วนอีก 3 พื้นที่มีความหลากหลายใกล้เคียงกัน ซึ่งจากพื้นที่การเก็บตัวอย่างและลักษณะของน้ำที่ทำการเก็บตัวอย่าง ในพื้นที่ต้นน้ำที่มีความสูงมากกว่า 1,000 เมตร มีลักษณะที่ใส และกรองได้ง่ายกว่าไม่มีฝุ่นตะกอนมากนักเมื่อเปรียบเทียบกับพื้นที่ Transitory zone และ Lowland zone ที่มีลักษณะพื้นที่ กว้างมีการ

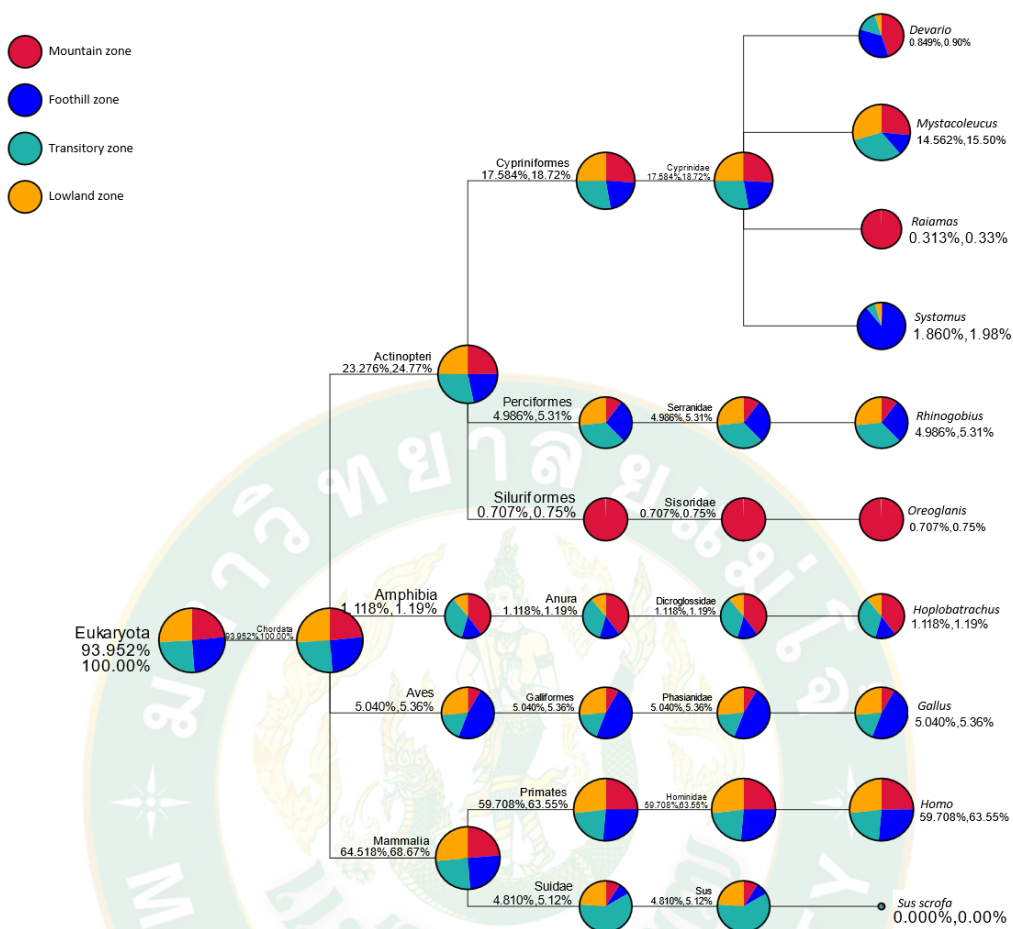
เปลี่ยนแปลงของแหล่งน้ำและเกิดกิจกรรมของมนุษย์ส่งผลต่อระบบนิเวศเกิดการเปลี่ยนแปลงของสิ่งมีชีวิตที่มีการเคลื่อนที่หรือไม่อยู่ในพื้นที่เดิมได้ ร่องรอยดีเอ็นเอที่หายไปปริมาณมากส่งผลต่อการสกัดดีเอ็นเอ เกิดผลของการคลาดเคลื่อนได้



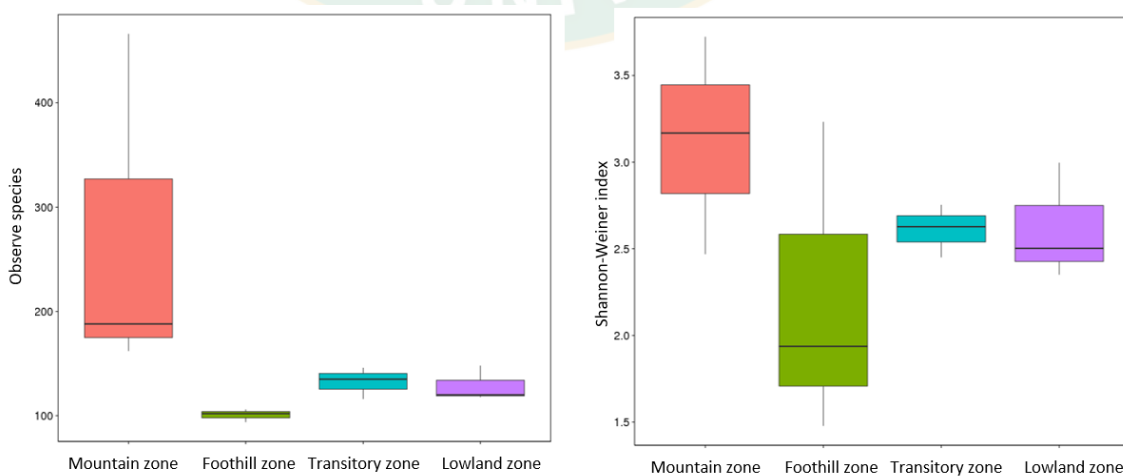
ภาพที่ 30 หน่วยอนุกรมวิธานเชิงปฏิบัติการของกลุ่มประชากรที่พบในแม่น้ำแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่



ภาพที่ 31 กลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่พบในกลุ่มน้ำแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ จากการศึกษาครั้งนี้
หมายเหตุ ขนาดของวงกลมบอกจำนวนดีเอ็นเอที่พบ



ภาพที่ 32 กลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่พบในกลุ่มน้ำแม่แจ่มตามระดับความสูงจากระดับน้ำทะเลของแม่น้ำแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่

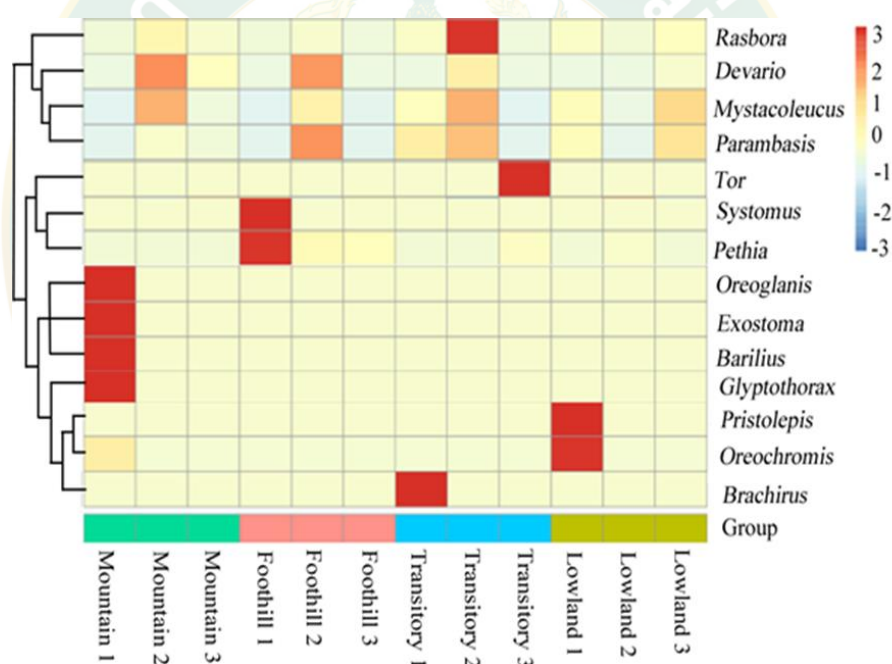


ภาพที่ 33 ความหลากหลายชนิดของปลาในแต่ละระดับความสูงของแม่น้ำแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่

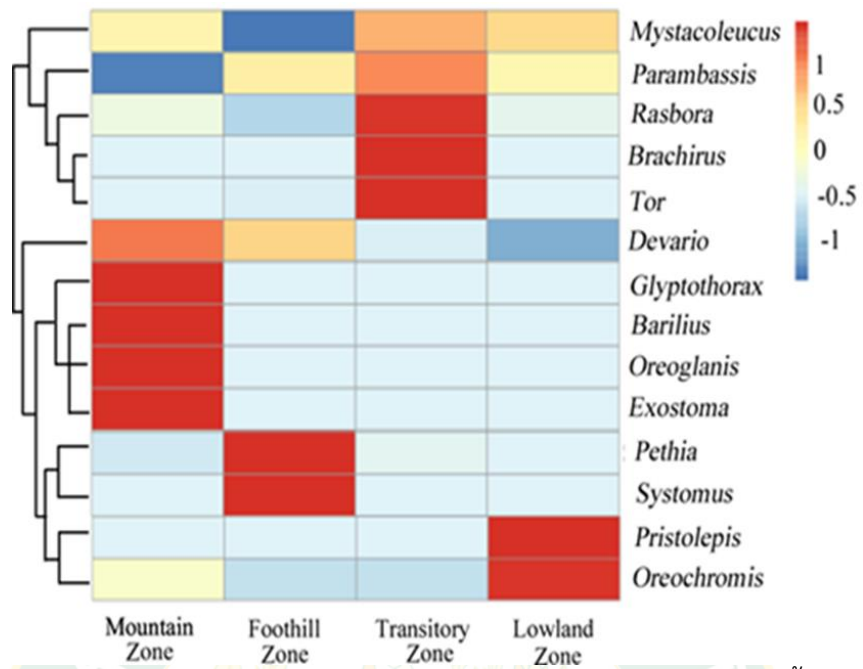
แผนภูมิการแพร่กระจายของกลุ่มปลาตามระดับความสูงซึ่งมีจำนวนทั้งหมดที่แสดงผลชัดเจนทั้งหมด 14 สกุล (ภาพที่ 34) คือ *Rasbora*, *Devario*, *Mystacoleucus*, *Parambassis*, *Tor*, *Systemus*, *Pethia*, *Oreoglanis*, *Exostoma*, *Barilius*, *Glyptothorax*, *Pristolepis*, *Oreochromis* และ *Brachirus*

โดยในกลุ่มแรก โชนปลาภูเขา (Mountainous species) พบปลาชนิดเด่นที่เจอในแหล่งน้ำตกห้วยทรายเหลือง (Mountain 1) ซึ่งอยู่ในเขตอุทยานแห่งชาติอินทนนท์ในสถานีเก็บตัวอย่างนี้ พบปลาเด่น ๆ 4 สกุล คือ *Oreoglanis*, *Exostoma*, *Barilius* และ *Glyptothorax* ส่วนอีก 2 จุด คือ ห้วยผา (Mountain 2) และห้วยขมิ้น (Mountain 3) เป็นพื้นที่ที่อยู่ในเขตพื้นที่สูงเช่นกันแต่มีกลุ่มคนอาศัยและทำการเกษตรในแหล่งดังกล่าวสามารถพบปลากลุ่ม *Devario*, *Mystacoleucus* และ *Rasbora* (ภาพ 34) โดยชนิดปลาที่เคยมีรายงานในลุ่มน้ำแม่แจ่ม คือ *Oreoglanis* (*O. siamensis*), *Exostoma* (*E. peregrinator*), *Barilius* (*B. pulchellus*) และ *Glyptothorax* (*G. trilineatus* และ *G. lampris*) โดยเฉพาะ *O. siamensis* และ *E. peregrinator* เป็น 2 ชนิดที่พบในพื้นที่จำกัดโดยชนิดแรกมีรายงานแค่ในพื้นที่ดอยอินทนนท์ ส่วนชนิดที่ 2 สามารถพบได้เฉพาะลุ่มน้ำแม่แจ่มเท่านั้น ชนิดที่พบสอดคล้องกับสภาพแวดล้อมที่มีคือการแสน้ำแรง ออกซิเจนสูง มีอาหารกลุ่มแมลงและสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ซึ่งเป็นอาหารสำหรับชนิดปลาเหล่านี้ (ตารางที่ 42) ต่อมาคือกลุ่มที่ 2 คือ ส่วนระดับที่ 2 ปลาเชิงเขา (Foothill species) พบปลาทั้งหมด 5 สกุล คือ *Systemus*, *Pethia*, *Devario*, *Parambassis*, และ *Mystacoleucus* และ ซึ่งมีชนิดเด่นอยู่ 2 สกุลคือ *Pethia* และ *Systemus* โดยชนิดปลาที่เคยมีรายงานในลุ่มน้ำแม่แจ่ม คือ *Pethia stiliczkanus* และ *Systemus rubripinnis* โดยทั้ง 2 ชนิด มีการเคลื่อนที่ขึ้นลงระหว่างผิวน้ำและกลางน้ำและกินกลุ่มแมลงขนาดเล็กเป็นอาหาร (ตารางที่ 42) และกลุ่มที่ 3 ปลาชั่วคราว (transitory species) พบปลาทั้งหมด 6 สกุล คือ *Brachirus*, *Tor*, *Rasbora*, *Parambassis*, *Mystacoleucus* และ *Devario* ซึ่งมีชนิดเด่นอยู่ 3 สกุลคือ *Rasbora*, *Tor* และ *Brachirus* โดยชนิดปลาที่เคยมีรายงานในลุ่มน้ำแม่แจ่มและแม่น้ำปิง คือสกุล *Rasbora* (*R. paviana*), *Tor* (*T. tambroides*) และ *Brachirus* (*B. harmandi*) เป็นสามสกุลเด่นในพื้นที่นี้ จากข้อมูลชีววิทยาชนิดแรกเป็นชนิดเดียวที่กินแมลงเป็นอาหาร (Insectivores) ส่วนอีก 2 ชนิดหลังสามารถกินได้ทั้งพืชและสัตว์เป็นอาหาร (Omnivores) และจากลักษณะการหาอาหารและถิ่นที่อยู่อาศัยก็มีความแตกต่างกันทั้ง 3 ชนิด (ตารางที่ 42) คือ *Rasbora* (*R. paviana*) เป็นปลาที่อาศัยบริเวณผิวน้ำ อาศัยกินแมลงเป็นอาหาร *Tor* (*T. tambroides*) เป็นชนิดที่มีการเคลื่อนที่ไปมาระหว่างผิวน้ำและพื้นที่ตื้นน้ำมีการกินอาหารที่หลากหลายและ *Brachirus* (*B. harmandi*) อาศัยอยู่พื้นที่ตื้นน้ำตามรูปร่างลักษณะและสามารถกินอาหารที่หลากหลายเช่นกัน และสุดท้ายคือกลุ่มปลาพื้นราบ (Lowland species) พบ 5 สกุล คือ ปลากลุ่ม *Pristolepis*, *Oreochromis*, *Mystacoleucus*, *Parambassis* และ *Rasbora* โดยพื้นที่ที่กว้างขวางและมีขนาดลึก

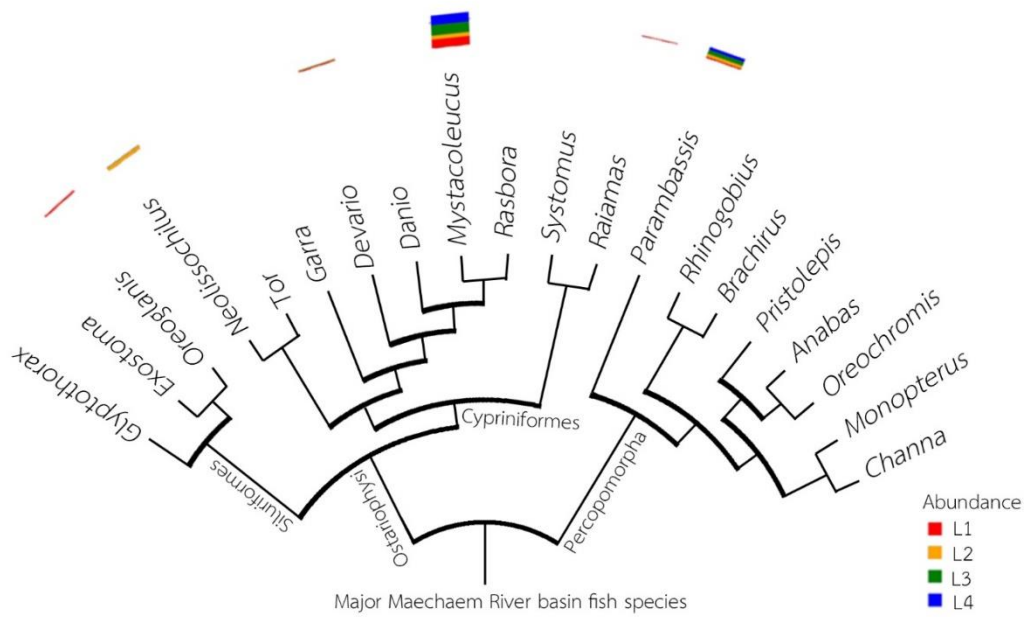
ในพื้นที่ราบส่วนใหญ่จะพบปลาขนาดใหญ่ ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้พบสกุลที่โดดเด่นอยู่ 2 ชนิด คือ *Pristolepis fasciatus* และ *Oreochromis niloticus* ทั้ง 2 เป็นปลาที่มีการเคลื่อนที่ขึ้นลงตลอดเวลาและมีความอดทนต่อการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมได้ดี ปรับตัวได้ดีทั้งเรื่องอาหารที่กินได้หลากหลาย สำหรับปลา *O. niloticus* เป็นปลาต่างถิ่นที่นำเข้ามาเพื่อการเพาะพันธุ์และมีการแพร่กระจายทั่วไปพบเห็นได้ง่าย และในส่วนของปลาสกุล *Mystacoleucus* (*M. obtusirostris*) สามารถพบได้ในทุกสถานที่ เป็นปลาที่มีความอดทนต่อการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมได้ดี ในขณะที่สกุล *Devario* (*D. annandalei*) มีการแพร่กระจายในเขตภูเขา (Mountain zone) ถึงเขตรอยต่อ (Transitory zone) เป็นชนิดที่อาศัยบริเวณผิวน้ำ อาศัยแมลงเป็นอาหาร ถือว่ามีความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลง (ตารางที่ 42) สำหรับสกุล *Parambassis* (*P. siamensis*) ไม่มีใน Mountainous zone และพบสกุล *Rasbora* ได้น้อยในบริเวณภูเขาเช่นกัน (ภาพที่ 35-36)



ภาพที่ 34 การแพร่กระจายของกลุ่มปลาตามระดับความสูงแต่ละพื้นที่ในแม่น้ำแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่



ภาพที่ 35 การแพร่กระจายของกลุ่มปลาตามระดับความสูงแบ่งตามกลุ่ม ในแม่น้ำแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่



ภาพที่ 36 แผนภูมิต้นไม้ชนิดปลาในแม่น้ำแม่แจ่ม ที่พบโดยวิธีการ Environmental DNA

ตารางที่ 422 การแบ่งกลุ่มปลาตามแหล่งที่กำเนิด ระดับการกินอาหาร ความอดทน ที่อยู่อาศัย และสถานะใน IUCN ของปลาในลุ่มน้ำแม่แจ่ม

No.	Family/ Species	Origin	Trophic group	Tolerance	Habitat	IUCN status
	Osteoglossiformes					
	Notopteridae					
1	<i>Chitala ornata</i> (Gray, 1831)	Na ³	CA ^{3,7}	TO	WC ³	LC
2	<i>Notopterus notopterus</i> Pallas, 1769	Na ³	CA ^{1,2,3,5}	TO ²	WC ³	LC
	Cypriniformes					
	Cyprininae					
3	<i>Paralabruca typus</i> Bleeker, 1865	Na ³	IN ^{3,6}	IT ⁶	PG ³	LC
4	<i>Barilius pulchellus</i> (Smith, 1931)	Na ⁸	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	PG ³	LC
5	<i>Devario annandalei</i> (Chaudhuri, 1908)	Na ⁷	IN ⁷	IT ⁶	PG ^{6,7}	LC
6	<i>Discherodontus schroederi</i> (Smith, 1945)	Na ⁸	ON ^{1,2,3}	IT ⁸	WC ³	LC
7	<i>Riama guttatus</i> (Day, 1870)	Na ³	CA ³	IT ⁷	PG ³	LC
8	<i>Rasbora paviana</i> Tirant, 1885	Na ⁸	IN ^{1,2,3}	IT ⁸	PG ³	LC
9	<i>Amblyrhynchichthys truncates</i> (Bleeker, 1850)	Na ³	IN ^{3,7}	IT ⁷	WC ³	NE
10	<i>Barbonymus gonionotus</i> (Bleeker, 1849)	Na ³	ON ^{1,2,3,5}	TO ^{6,7}	WC ^{3,5}	LC
11	<i>Barbonymus schwanenfeldii</i> (Bleeker, 1854)	Na ³	ON ³	TO ^{6,7}	WC ³	LC
12	<i>Cyclocheilichthys repasson</i> (Bleeker, 1853)	Na ³	IN ³	IT ⁶	WC ³	LC
13	<i>Garra cambodgiensis</i> (Tirant, 1884)	Na ⁸	ON ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	LC
14	<i>Hampala macrolepidota</i> Kuhl & van Hasselt, 1823	Na ³	CA ^{1,2,3,5}	TO ⁷	WC ³	LC
15	<i>Henicorhynchus siamensis</i> (Sauvage, 1881)	Na ³	ON ^{1,2,5}	IT ⁷	WC ³	LC
16	<i>Labeo chrysophekadion</i> (Bleeker, 1849)	Na ³	ON ^{3,7}	IT ⁷	BT ³	LC
17	<i>Labiobarbus leptocheilus</i> (Valenciennes, 1842)	Na ³	ON ³	IT ⁷	BT ³	LC
18	<i>Mystacoleucus obtusirostris</i> (Valenciennes, 1842)	Na ⁸	IN ^{2,3}	TO ^{3,6}	WC ³	LC
19	<i>Neolissochilus stracheyi</i> (Day, 1871)	Na ⁸	ON ^{1,2}	IT ⁶	WC ³	LC
20	<i>Poropuntius bantamensis</i> (Rendahl, 1920)	Na ³	ON ³	IT ⁶	WC ³	LC
21	<i>Puntioplites proctozysron</i> (Bleeker, 1864)	Na	ON ^{1,2,5}	IT	WC ^{3,5}	LC
22	<i>Puntius brevis</i> (Bleeker, 1849)	Na ⁸	IN ^{1,2,5}	IT ⁸	WC ^{3,5}	LC
23	<i>Systemus rubripinnis</i> (Valenciennes, 1842)	Na ⁸	IN ^{1,2,5}	IT ⁵	WC ^{3,5}	DD
24	<i>Pethia stoliczkana</i> (Day, 1871)	Na ⁸	IN ²	IT ⁷	WC ³	LC
25	<i>Scaphiodonichthys acanthopterus</i> (Fowler, 1934)	Na ⁸	IN ³	IT ²	BT ³	LC
26	<i>Tor tambroides</i> (Bleeker, 1854)	Na ⁸	ON ^{1,2,3}	IT ⁶	WC ³	DD
	Botiidae					
27	<i>Syncrossus beauforti</i> (Smith, 1931)	Na ³	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	NT
	Balitoridae					
28	<i>Balitora Brucei</i> Gray, 1830	Na ⁸	IN ³	IT ³	BT ³	NT
29	<i>Homalopteroides smithi</i> (Hora, 1932)	Na ⁸	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	LC
30	<i>Pseudohomaloptera leonardi</i> (Hora, 1941)	Na ⁸	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	LC
	Nemacheilidae					
31	<i>Physoschistura chulabhornae</i> Suvannaraksha, 2013	Na	ON	IT	BT	LC
32	<i>Schistura breviceps</i> (Smith, 1945)	Na ⁸	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ^{3,6}	DD
33	<i>Schistura bucculenta</i> (Smith, 1945)	Na ⁸	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	LC
34	<i>Schistura geisleri</i> Kottelat, 1990	Na ⁸	IN ³	IT ⁶	BT ³	LC
35	<i>Schistura spilota</i> (Fowler, 1934)	Na ⁸	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	DD
36	<i>Schistura waltoni</i> (Fowler, 1937)	Na ⁸	IN ^{2,3}	IT ⁶	BT ³	DD

ตารางที่ 42 (ต่อ)

No.	Family/ Species	Origin	Trophic group	Tolerance	Habitat	IUCN status
37	<i>Schistura maejotigrina</i> Suvamaraksha, 2012	En ³	IN ^{2,3}	IT ⁶	BT ³	LC
38	<i>Schistura pridii</i> Vidthayanon, 2003	En ³	IN ^{2,3}	IT ⁶	BT ³	EN
	Siluriformes					
	Siluridae					
39	<i>Kryptopterus cryptopterus</i> (Bleeker 1851)	Na ³	IN ³	IT	WC ³	LC
40	<i>Phalacrotonus bleekeri</i> (Günther, 1864)	Na ³	CA ^{3,7}	IT	PC ³	LC
41	<i>Wallago attu</i> (Bloch & Schneider, 1801)	Na ³	CA ^{3,6}	IT ⁶	WC ³	NT
	Pangasiidae					
42	<i>Pangasius macronema</i> Bleeker, 1850	Na ³	ON ³	IT	WC ³	LC
43	<i>Pangasius polyuranodon</i> Bleeker, 1852	Na ³	ON ^{3,7}	IT	WC ³	LC
	Bagridae					
44	<i>Hemibagrus spilopterus</i> Ng & Rainboth, 1999	Na ³	CA ³	TO	BT ³	LC
45	<i>Mystus singaringan</i> (Bleeker, 1846)	Na ³	CA ^{1,2,3,5}	TO ²	BT ³	LC
	Sisoridae					
46	<i>Bağarius yarrelli</i> Sykes, 1839	Na ³	CA ³	IT	BT ³	NT
47	<i>Exostoma peregrinator</i> Ng & Vidthayanon, 1014	En ³	IN ³	IT ³	BT ³	DD
48	<i>Oreoglanis siamensis</i> smith, 1933	Na ⁸	IN ³	IT ⁶	BT ³	EN
49	<i>Glyptothorax trilineatus</i> Blyth, 1860	Na ⁸	CA ^{1,2,3}	IT ²	BT ³	LC
50	<i>Glyptothorax lampris</i> Fowler, 1934	Na ⁸	CA ^{1,2,3}	IT ²	BT ³	LC
	Gobiiformes					
	Ambassidae					
51	<i>Parambassis siamensis</i> (Fowler, 1937)	Na ⁸	CA ^{1,2,3,5}	TO ⁵	WC ³	LC
	Cichliformes					
	Cichlidae					
52	<i>Oreochromis niloticus</i> (Linnaeus, 1758)	AL ^{1,2,3,5}	ON ^{1,2}	TO ⁵	WC ⁵	LC
	Cyprinodontiformes					
	Poeciliidae					
53	<i>Gambusia affinis</i> (Baird & Girard, 1853)	Al ³	ON ³	TO ⁷	PG ³	LC
	Synbranchiformes					
	Synbranchidae					
54	<i>Monopterus albus</i> (Zieuew, 1793)	Na ⁸	IN ^{2,3}	TO ^{2,3}	BT ³	LC
	Mastacembelidae					
55	<i>Macroganathus siamensis</i> (Günther, 1861)	Na	IN ^{1,2,3,5}	TO ⁵	BT ³	LC
56	<i>Macroganathus taeniagaster</i> (Fowler, 1935)		IN		BT	LC
57	<i>Mastacembelus armatus</i> (Sykes, 1839)	Na ⁸	IN ^{1,2,5}	TO ⁵	BT ³	LC
	Gobiiformes					
	Gobiidae					
58	<i>Rhinogobius chiengmaiensis</i> Fowler, 1934	Na	IN ^{1,2}	IN	BT	LC
	Eleotridae					
59	<i>Oxyeleotris marmorata</i> (Bleeker, 1852)	Na	ON ^{2,3}	IN	BT	LC
	Anabantiformes					
	Osphronemidae					
60	<i>Trichopsis vittata</i> (Cuvier, 1831)	Na ⁸	IN ^{1,2}	TO ⁷	PG ⁷	LC
	Channidae					
61	<i>Channa gachua</i> (Hamilton, 1822)	Na ⁸	CA ^{1,2,3}	TO ²	WC ³	LC

ตารางที่ 42 (ต่อ)

No.	Family/ Species	Origin	Trophic group	Tolerance	Habitat	IUCN status
62	<i>Channa striata</i> (Bloch, 1793)	Na ⁸	CA ^{1, 2, 3}	TO ⁵	WC ³	LC
	Pistolepididae					
63	<i>Pristolepis fasciatus</i> (Bleeker, 1851)	Na ⁸	ON ^{2, 3}	TO ⁵	WC ³	LC
	Pleuronectiformes					
	Soleidae					
64	<i>Brachilus hamandi</i> (Sauvage, 1878)	Na ³	ON ^{3, 7}	IT	BT ³	LC
	Perciformes					
	Toxotidae					
65	<i>Toxotes siamensis</i> Kottelat & Tan, 2018	Na ³	IN ³	IT ⁶	PC ³	LC

Remark: Origin (En= endemic species, Na= Native species and AL = Alien species), Trophic group (ON= omnivores, IN= insectivores, and CA= carnivores), Tolerance (IT=intolerant species, TO=tolerant species), Habitat (PG = pelagic species. WC= water column species. BT= bottom species), Altitude distribution (MT= mountainous species, PM=piedmont species, TS= transitory species, LL= lowland species) IUCN red list status (DD=Data deficient, LC= Least concern, NT= Near threatened, VU= Vulnerable, EN= endangered, CR= critically endangered, NE=not evaluated)

Note: The number in exponent corresponds to the following reference; 1. Suvarnaksha (2003); 2. Suvarnaksha (2011); 3.

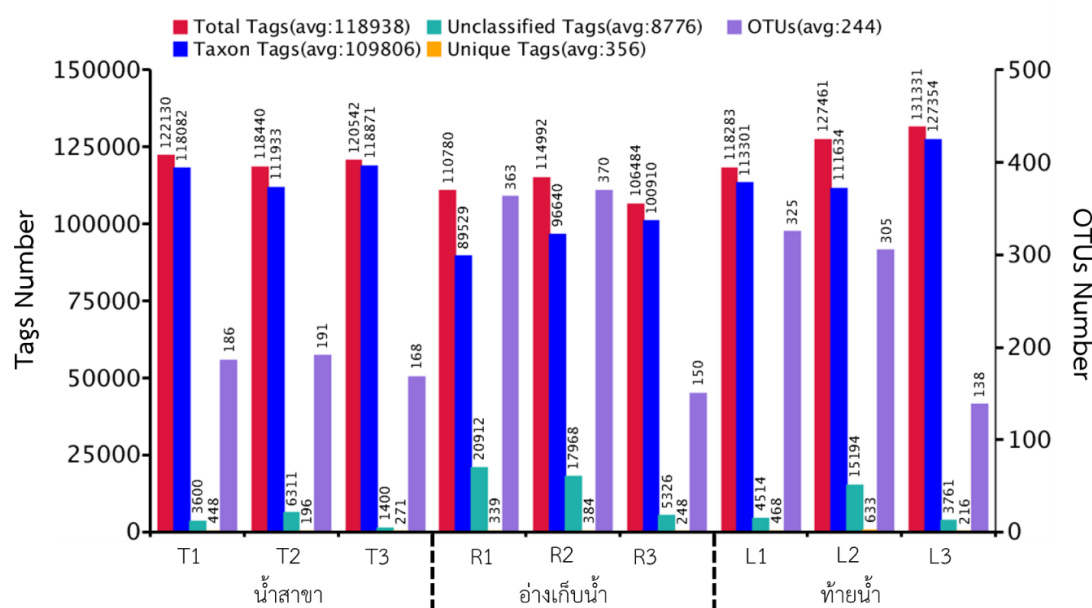
Suvarnaksha (2017); 4. Vidthayanon (2017); 5. Rayan and Ngamsnae (2014); 6. IUCN (2020); 7. Fishbase and 8. Information from expert

4.3.3 การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีตรวจหาร่องรอยดีเอ็นเอเพื่อติดตามประเมินและเตือนผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมต่อระบบนิเวศน้ำนิ่ง กรณีศึกษา เขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล จังหวัดเชียงใหม่

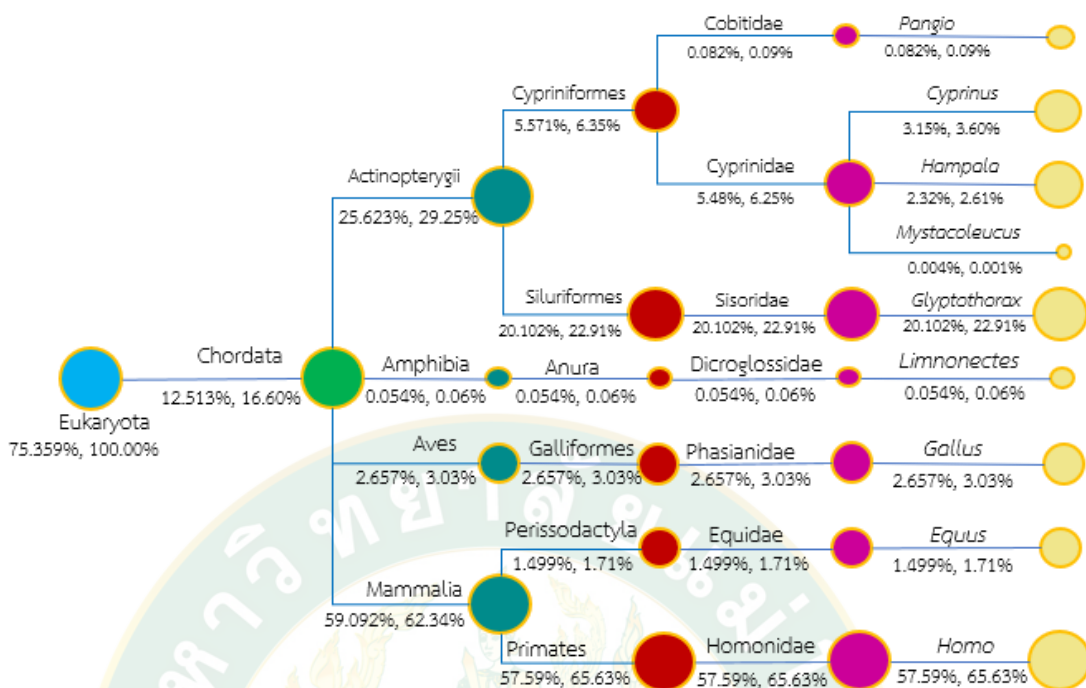
จากผลการศึกษาความหลากหลายของชนิดปลาในเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล จังหวัดเชียงใหม่ โดยเก็บตัวอย่างทั้งหมด 9 สถานี ในพื้นที่ลำน้ำสาขา (Tributary, T) ในบริเวณเขื่อนแม่จัด (In Reservoir, R) และทำนบกั้นน้ำบรรจบแม่น้ำปิง (Low Reservoir, L) อย่างละ 3 สถานี โดยเก็บตัวอย่างน้ำและนำมาสกัดดีเอ็นเอ ซึ่งวิธีการเดียวกันกับพื้นที่แม่แจ่ม และพบดีเอ็นเอตกค้างในแหล่งน้ำทั้งหมด แบ่งเป็นหลากหลายสิ่งมีชีวิตซึ่งข้อมูลประชากรทั้งหมดที่นำมาวิเคราะห์มีมากถึง 118,938 tags โดยพบสิ่งมีชีวิตทั้งหมดได้มากถึง 109,806 tags และพบตัวอย่างที่มีความพิเศษเฉพาะตัว (Unique Tags) อยู่ที่ 356 tags แต่ไม่สามารถแยกได้ (Unclassified tags) 8,776 tags และจัดกลุ่มที่มีรูปแบบเหมือนกันให้เป็น operational taxonomic units (OTUs) สามารถเฉลี่ยที่ 244 tags (ภาพที่ 37) จากภาพที่ 37 เมื่อแบ่งกลุ่มพื้นที่เก็บตัวอย่างพบว่า ส่วนกลุ่มที่มีปริมาณ operational taxonomic units (OTUs) มากที่สุดคือ ในบริเวณเขื่อนแม่จัด (In Reservoir) มีค่า OTUs ระหว่าง 150-370 tags (ค่าเฉลี่ยที่ 294.33) มีค่าใกล้เคียงกับกลุ่มทำนบกั้นน้ำ (Low Reservoir) มีค่า OTUs ระหว่าง 138-325 tags (ค่าเฉลี่ยที่ 256) และกลุ่มสุดท้ายคือเขตพื้นที่ Tributary (T1- T3) มีค่า operational taxonomic units (OTUs) ที่ 168-191 tags (ค่าเฉลี่ยที่ 181.67)

กลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่พบในในเขื่อนแม่งัดสมบูรณ์ชล (ภาพที่ 38) แบ่งออกเป็น 4 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มปลา (Actinopterygii) กลุ่มสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ (Amphibia) กลุ่มสัตว์ปีก (Aves) และกลุ่ม สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Mammalia) โดยในกลุ่มสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Mammalia) เป็นประเภทที่มีพบ มากสุดมีอยู่ถึงประมาณ 59.09 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ กลุ่มปลา (Actinopterygii) มีอยู่ถึงประมาณ 25.623 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกลุ่มกลุ่มสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ (Amphibia) สัตว์ปีก (Aves) มีอยู่ประมาณ 0.054, 2.657 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยพบปริมาณของกลุ่มปลาแบ่งออกเป็น 2 อันดับด้วยกัน คือ อันดับ Cypriniformes (5.571%) พบ 2 ครอบครัวได้แก่ Cobitidae พบเพียง 1 สกุลคือ *Pangio* (0.082%) และ Cyprinidae พบ 3 สกุล ได้แก่ *Cyprinus* (3.15%), *Hampala* (2.32%) และ *Mystacoleucus* (0.004%) ส่วนอันดับ Siluriformes (20.102%) พบในวงศ์ Sisoridae พบชนิด สกุลเดียวคือ *Glytothorax*

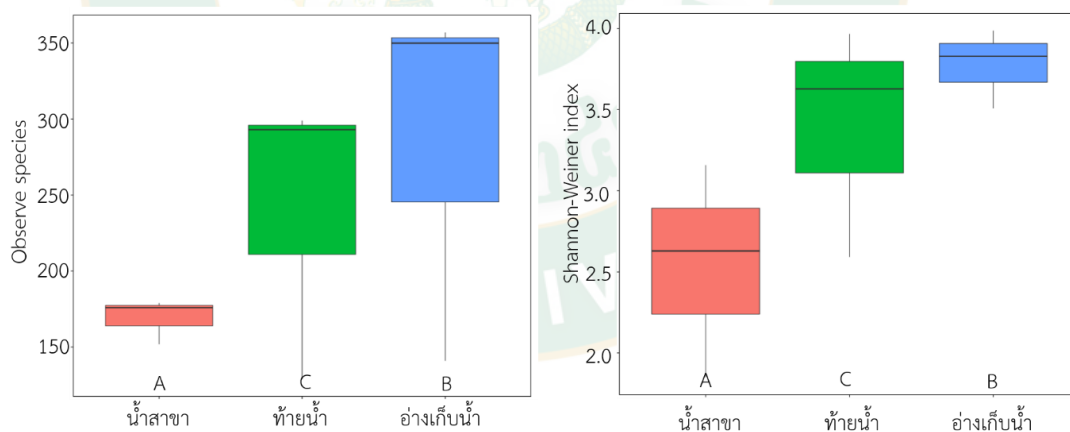
จากภาพที่ 39 หลากหลายชีวภาพของปลาในจุดเก็บตัวอย่างในเขื่อนแม่งัดสมบูรณ์ชล (B) มากที่สุด รองลงมาคือจุดเก็บตัวอย่าง (C) บริเวณจุดเก็บตัวอย่างท้ายเขื่อนไหลลงสู่แม่น้ำปิง และ มีความหลากหลายชนิดน้อยที่สุด บริเวณ (A) จุดเก็บตัวอย่างในลำน้ำสาขาไหลลงสู่เขื่อน



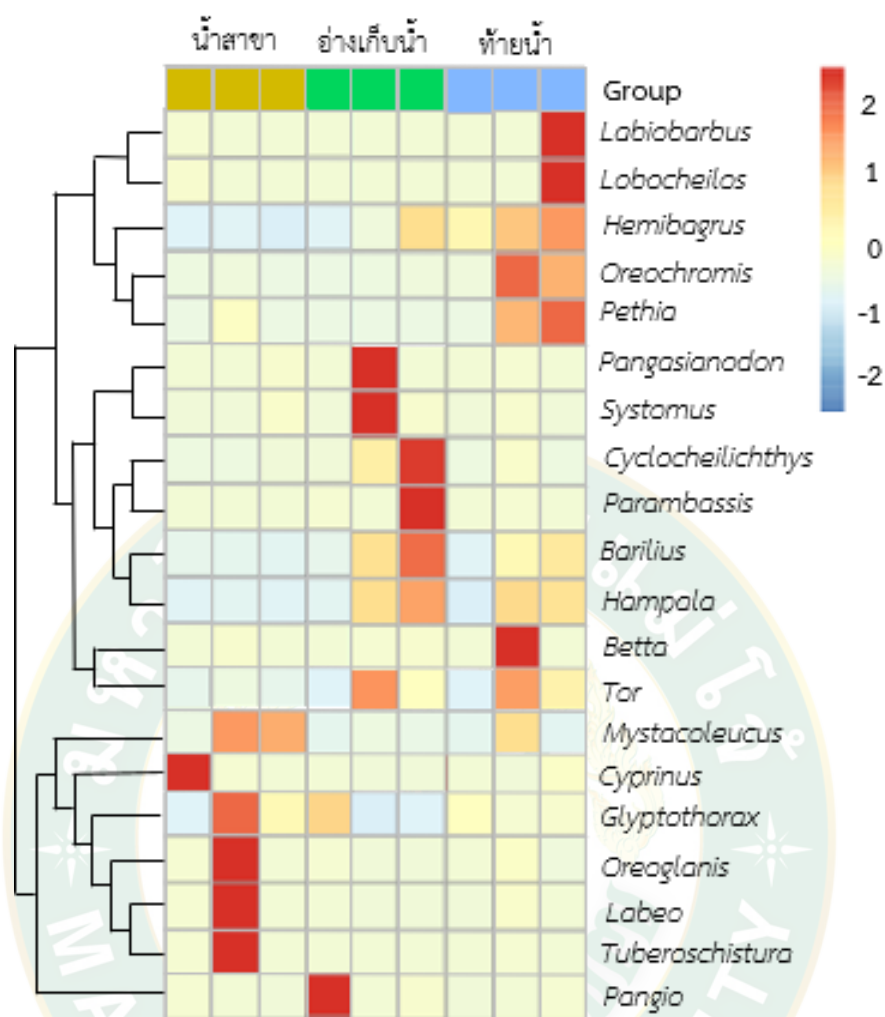
ภาพที่ 37 หน่วยอนุกรมวิธานเชิงปฏิบัติการของกลุ่มประชากรที่พบในเขื่อนแม่งัดสมบูรณ์ชล จังหวัดเชียงใหม่



ภาพที่ 38 กลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่พบในกลุ่มน้ำแม่แจ่มตามระดับความสูงจากระดับน้ำทะเลของแม่น้ำแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่



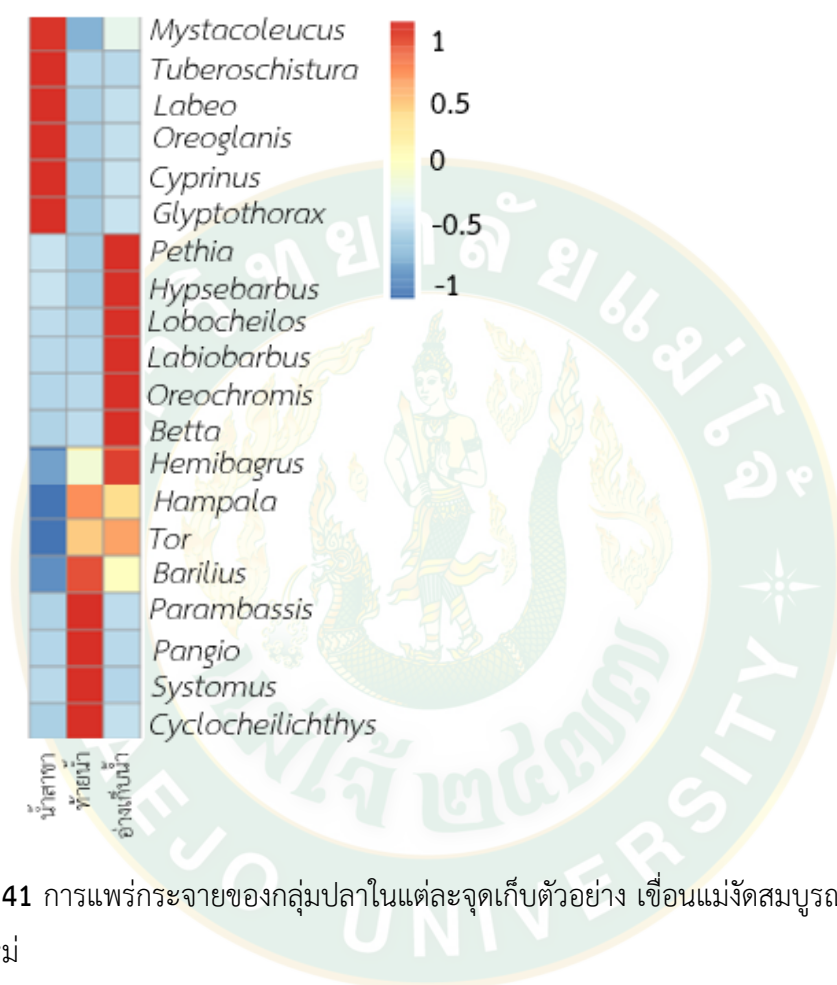
ภาพที่ 39 ความหลากหลายชนิดของปลาในเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล จังหวัดเชียงใหม่ (A) จุดเก็บตัวอย่างในลำน้ำสาขาไหลลงสู่เขื่อน (B) จุดเก็บตัวอย่างบริเวณในตัวเขื่อน (C) จุดเก็บตัวอย่างท้ายเขื่อนไหลลงสู่แม่น้ำปิง



ภาพที่ 40 แผนภูมิความร้อนแสดงถึงการแพร่กระจายของกลุ่มปลาในพื้นที่เก็บตัวอย่าง ในเขื่อนแม่งัดสมบูรณ์ชลมาจังหวัดเชียงใหม่

แผนภูมิการแพร่กระจายของกลุ่มปลาแต่ละจุดในเขื่อนแม่งัดสมบูรณ์ชล ซึ่งมีจำนวนทั้งหมดที่แสดงผลชัดเจนทั้งหมด 20 สกุล (ภาพที่ 40) ได้แก่ *Labiobarbus*, *Lobocheilos*, *Hemibagrus*, *Oreochromis*, *Pethia*, *Pangasianodon*, *Systemus*, *Cyclocheilichthys*, *Parambassis*, *Barilius*, *Hampala*, *Betta*, *Tor*, *Myatacoleucus*, *Cyprinus*, *Glyptothorax*, *Oreoglanis*, *Labeo*, *Tuberoschistura* และ *Pangio* โดยในกลุ่มแรกพื้นที่ลำน้ำสาขา (Tributary, T) พบปลาเด่น ๆ 4 สกุล ได้แก่ *Cyprinus*, *Glyptothorax*, *Oreoglanis* และ *Labeo* ส่วนอีก 2 ชนิดที่พบได้แต่พบปริมาณที่น้อยกว่า คือ *Tuberoschistura* และ *Myatacoleucus* (ภาพที่ 41) ในบริเวณเขื่อนแม่งัด (In Reservoir, R) พบปลาเด่น ๆ 5 สกุล คือ *Pangasianodon*, *Systemus*, *Cyclocheilichthys*, *Parambassis* และ *Pangio* ส่วนอีก 5 สกุลที่พบได้แต่พบปริมาณที่น้อยกว่าคือ *Barilius*, *Tor*,

Hemibragrus, *Glyptothorax* และ *Hampala* และทำนน้ำบรจบแม่ น้ำปิง (Low Reservoir, L) พบปลาเด่น ๆ 5 สกุล คือ *Labiobarbus*, *Lobocheilos*, *Hemibragrus*, *Oreochromis*, *Pethia* และ *Betta* ส่วนอีก 3 สกุลที่พบได้แต่พบปริมาณที่น้อยกว่าคือ *Barilius*, *Hampala* และ *Tor*



ภาพที่ 41 การแพร่กระจายของกลุ่มปลาในแต่ละจุดเก็บตัวอย่าง เขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล จังหวัด เชียงใหม่

P1

Development of a fish-based Index of Biological Integrity for assessment of Tropical
Reservoir: Mae Ngad Somboonchon reservoir, Chiang Mai

Thapanee Pholdee¹, Bunyat Montien-art¹, Jongkon Promya¹ and Apinun Suvarnaraksha¹

Maejo International Journal of Science and Technology
(Submitted)

*Corresponding author: Thapanee Pholdee.

Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources,
Maejo University
63 M 4, Nong Han, Sansai District,
Chiang Mai 50290, Thailand
Tel. +66-53-875100-3
Fax. +66-53-875100-3
E-mail: pondeeloei@gmail.com

Maejo International
Journal of Science and Technology

ISSN 1905-7873

Available online at www.mijst.mju.ac.th

Full Paper, Review **(Type of Paper)**

*Development of a fish-based Index of Biological Integrity for assessment of Tropical
Reservoir: Mae Ngad Somboonchon reservoir, Chiang Mai*

**Thapanee Pholdee¹, Bunyat Montien-art¹, Jongkon Promya¹ and Apinun
Suvarnaraksha¹**

¹ Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang
Mai, Thailand

* Corresponding author, e-mail: pondeeloei@gmail.com

Received: / Accepted: / Published:

Abstract: A fish-based index of biotic Integrity (Fish-IBI) was developed for the aquatic resource's environment of a tropical reservoir: case of Mae Ngad reservoir, Chiang Mai province. A survey of the fish assemblage was conducted in 2002 to 2003 and 2019 by using a variety of methods, including electro-fishing devices and gillnet of various mesh sizes. In total, 14,505 fish specimens were collected, belonging to 67 species of 10 orders and 22 families. We designed and applied 18 metrics due to the differences between the fish faunas of Thailand and other regions including species richness and composition, tolerant, trophic composition, abundance and individual condition. Scores for each of the 18 metrics were summed to provide an index value ranging from 18 (worst) to 90 (best) for each fish community sample, which can be used to determine the relative health of the site. Results for F-IBI in the Mae Ngad reservoir in 2019 showed score at 38 which is fair. The fish-based index presented herein could serve as a tool for assessing the ecological quality of natural lakes at broad geographical scale and also in reservoirs with similar hydromorphological characteristics

Keywords: Ecological indicators, metrics, fish assemblages, species richness indicator, habitat quality

INTRODUCTION

Anthropogenic disturbances within watersheds, streams, and lakes such as urbanization, and agriculture have altered Thailand waters and waters worldwide (NEL et al., 2010; Strayer & Dudgeon, 2010). Determination of water quality has historically been primarily determined from measures of chemical and physical characteristics [3], but such assessments may not be an adequate reflection of the impact of human disturbance on the biotic integrity of such systems (Beck & Hatch, 2009; Karr, 1981; D. T. Nelson, 2017). The monitoring of biological communities was encouraged mainly

after the acceptance that; (a) biological communities respond to long-term environmental conditions and reflect more accurately the “health” of the ecosystem determined by chemical, physical and biological parameters and (b) biological communities respond to the effects of the synergy of many pressures (Petriki et al., 2017).

The Index of Biotic Integrity (IBI) has developed as an effective tool for monitoring aquatic ecosystem health. It was the first to be generated using fish-based indices to numerically express the “health” of aquatic ecosystems. The IBI describes associations between human influences and biological attributes (Lopa et al., 2011) and is useful for estimating ecosystem health because the structures of resident communities principally reflect abiotic conditions which assemble over time (Cooper et al., 2018). The IBI, as introduced, has developed as an effective indicator for monitoring aquatic ecosystem health. Although its origin was as a tool for biological monitoring of running waters, the IBI has recently seen increased modification and adaptation for its use as an assessment tool for lake or reservoir monitoring (Beck & Hatch, 2009). The IBI was first created using fish-based indices to numerically express the “health” of aquatic ecosystems. Fish are particularly advantageous as biological indicators for several reasons. Fish communities are a reflection of the cumulative effects of natural and human-caused influences on rivers and other water resources. Fish communities are composed of a wide array of trophic guilds and can indicate watershed impairments to aquatic food webs (D. T. Nelson, 2017), responding predictably to changes in many abiotic factors, for example, organic enrichment, habitat transition, chemical toxicity, and transformed landscape structure (Beck & Hatch, 2009; Karr, 1981; Karr et al., 1986).

To date, most IBIs have been created for lotic systems due to the relative ease of their development and application (D. T. Nelson, 2017). These indices are created based on what fish communities would be expected under relatively undisturbed conditions (D. T. Nelson, 2017; Whittier, 1999). The IBI was first used to assess the biotic integrity of surface water in Midwestern streams and rivers (Karr, 1981). This was the first development of a multimetric procedure to assess the biotic integrity of aquatic ecosystems. The IBI includes metrics concerning number, composition, tolerance, and health of the species assessed (Souza & Vianna, 2020). In early studies, the IBI was

modified for regional usage, and is now considered an acceptable tool for the evaluation of ecosystem health. It has also been widely modified for usage internationally (Lydy et al., 2000). Most fish-based indices are derived from the original IBI and are popular in America (Cooper et al., 2018; Krause et al., 2013; Lenhardt et al., 2009; D. T. Nelson, 2017; Seilheimer & Chow-Fraser, 2006) Canada (Stevens & Council, 2008), New-Zealand (Joy & Death, 2004), Africa (Hocutt et al., 1994; Hugueny et al., 1996; Kamdem Toham & Teugels, 1999), Brazil (Terra & Araújo, 2011), Argentina (Hued & Bistoni, 2005) and Europe (Argillier et al., 2013; Franco et al., 2009; L. Launois et al., 2011; Lionel Launois et al., 2011; Lenhardt et al., 2009; Olin et al., 2013; Petriki et al., 2017). In Asia, the fish-based index is available only from Pakistan (Qadir & Malik, 2009), Iran (Mostafavi et al., 2015), Turkey (Ergönül et al., 2018), Japan (Lopa et al., 2011), China (Chen et al., 2020; Huang et al., 2013; T. Li et al., 2015; SHI et al., 2020; Wu et al., 2014), Taiwan (Hu et al., 2007) and Thailand (Rayan & Ngamsnae, 2014). Most adaptations are based on the suggestions of Karr (Karr, 1981; Karr et al., 1986), where alterations were used in the composition of fish assemblages to assess effects of anthropogenic perturbations (Bozzetti & Schulz, 2004).

The Mae Ngad Somboonchon reservoir is a small artificial reservoir in Cho Lae Sub-district, Mae Taeng District, Chiang Mai Province. The reservoir is of earth-fill type. It was constructed during the time from 1977 to 1984 on the Mae Ngad River (Thapanya et al., 2015). The development of a lentic fish-based IBI is timely in Mae Ngad Somboonchon reservoir for several reasons. First, it has not been made in the development of lotic IBI for reservoirs in northern Thailand before. Secondly, recent watershed land use changes may be influencing water quality in the reservoir. Presently, reservoirs designated for fishery and aquatic life have beneficial uses. Continued watershed degradation is influenced by urban and agriculture activities and tourism, increasing consumption of water resources as well as natural processes. The Mae Ngad reservoir of northern Thailand has great economic and biological values, but it is being degraded at an accelerating rate. An investigation of fish assemblages in the Mae Ngad Somboonchon reservoir was conducted in 2004 (Suvarnaraksha, 2004) and the study focused on the diversity of fish. No studies have evaluated the ecosystem health based on fish assemblages.

The aim of the present study is to develop and apply the fish index of biotic integrity for the assessment of the ecological health quality for a stagnant water ecosystem health and provide a baseline for future water quality assessments.

MATERIALS AND METHODS

Study area

The Mae Ngad Somboonchon reservoir is in Mae Taeng District, Chiang Mai province of Northern Thailand (19° 15'.18 N, 099° 03.35E to 19° 15.25N, 099° 17.43E). It was dammed across a first order stream, the Mae Ngad, for multiple purposes such as hydroelectric power and irrigation. Its elevation ranges from 412 to 425 m ASL with a catchment area of 1309 km². The dam is 59 m high and 1,950 m long, and the reservoir covers the area of 16 square km. The mean water depth of the reservoir area is 30 m with a mix of clay and silt at the bottom (Suvarnaraksha, 2004).

Fish data

The databases at the Maejo Aquatic Resources Natural Museum (MARNM), containing fish community data from Mae Ngad reservoir, were used to select metrics, estimate reference values, and set scoring criteria for the deviation from reference conditions. Fish data were collected from 11 different sites of the Mae Ngad Reservoir (Fig. 1 and Table 1). Surveys occurred between October 2002 and September 2003 (development data) (Suvarnaraksha, 2004) and in 2019 (independent validation data).

Fish assemblage data were obtained by electric fishing (Honda EM 650, DC 220 V. 550VA 450VA, 1.5-2 A, 50 Hz.) in 100 m² per sampling site and from fishermen using gillnet of various mesh sizes of (6, 15, 30) cm. Collected fishes were identified in the field, measured for total length (mm.), counted, and living fishes were put back into the water. Species that could not be identified in the field were preserved in 10% formalin for a month and transferred to serial diluted ethanol (30% 50%) and finally preserved in 70% ethanol (Suvarnaraksha, 2011). Specimens were deposited at the MARNM for re-checking before being taxonomically identified into species. The specimens were identified following Smith (Smith, 1945), Robert (Roberts, 1993),

Rainboth (Rainboth, 1996), Kottelat (Kottelat, 1985, 2013), Taki (Taki, 1974), Vidthayanon (Vidthayanon et al., 1997), Nelson (J. S. Nelson et al., 2016), So (So et al., 2018), and Suvarnaraksha (Suvarnaraksha, 2004, 2011, 2017, 2018; Suvarnaraksha et al., 2012).

Development and application of fish index

Fish were attributed to guilds based on a literature review and were categorized according to their origins, trophic composition, habitat composition and tolerance to environmental degradation (Table 2). The classification of species as 'native' and 'exotic or local alien' was based on historical and archaeological records. They were defined according to Suvarnaraksha (Suvarnaraksha, 2004) and Vithayanon (Vidthayanon, 2017). Species were categorised according to their tolerance for oxygen deficiency and habitat structure degradation such as shoreline bank modifications (Breine et al., 2015). For trophic composition, it was divided into three groups: (1) omnivore, diet usually more than 25% plant material and more than 25% animal material (Karr, 1981; Karr et al., 1986; Lenhardt et al., 2009; Raburu & Masese, 2012); (2) insectivore, eat nymph insect or small organisms in or on the surface layer of the substratum and associated organic matter (Khalaf & Kochzius, 2002) and (3) carnivore, diet usually more than 75% animal material (Lenhardt et al., 2009; Raburu & Masese, 2012). Habitat composition included pelagic species, water column species, bottom species, and rocky and stone, sandy and gravel and silty to muddy species based on direct observation and also on literature (Lenhardt et al., 2009; Rayan & Ngamsnae, 2014; Suvarnaraksha, 2011, 2017). Information on tolerance and intolerance also relied on literature (IUCN, 2020; Rayan & Ngamsnae, 2014; Suvarnaraksha, 2011, 2017).

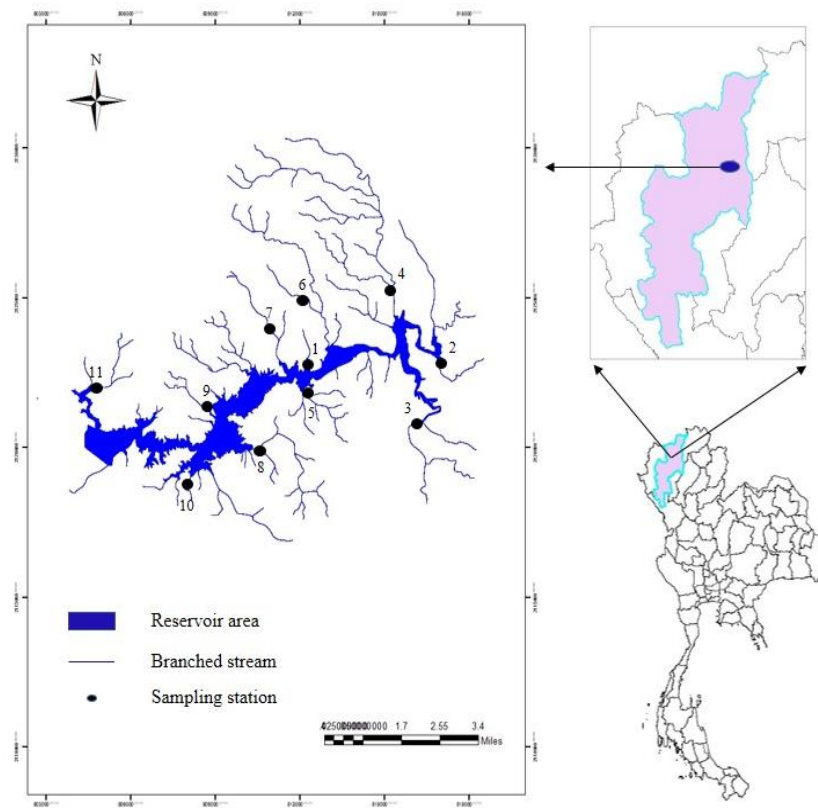


Figure 1. The 11 sampling sites in the Mae Ngad Somboonchon Reservoir

Table 1 Description of the sampling sites in the Mae Ngad Somboonchon Reservoir (Suvarnaraksha, 2004)

No.	Site code.	Coordinates	Description of substrates	Elevation (m a.s.l.)
1.	Paeplatip	19° 11' 55.7"N 99° 07' 07.6"E	M, S	417
2.	Huay maesoon	19° 14' 46.8"N 99° 10' 15.5"E	S, G	425
3.	Huay maecord	19° 09' 54.7"N 99° 04' 54.1"E	S, G	415
4.	Huay maepaeng	19° 14' 33.9"N 99° 08' 58.8"E	M	416
5.	Huay mae-gwua	19° 11' 12.7"N 99° 07' 03.6"E	M	423
6.	Huay ton-tong	19° 12' 46.6"N 99° 07' 28.6"E	S	418
7.	Huay tonyang	19° 12' 01.3"N 99° 06' 23.7"E	R	421
8.	Huay maejok	19° 10' 04.9"N 99° 05' 45.5"E	M, S	420
9.	Huay pha-gup	19° 10' 52.1"N 99° 04' 47.8"E	R, G, S	419
10.	Huay punwa	19° 09' 25.6"N 99° 04' 22.3"E	M, S	415
11.	Huay chomphu	19° 11' 16.9"N 99° 02' 05.7"E	S,G	415

Note Bottom type: R=Rocky, G=Gravel, S =Sand, M=Muddy

Fish-IBI metric

The original metric IBI was calculated for each sample site and scored from Maximum Species Richness Lines (MSRL) (Karr et al., 1986). Metrics were scored as 5, 3, or 1 if their data deviated slightly from, or were markedly different from reference conditions. Fish-IBI metric for Mae Ngad reservoir was an adaptation of Karr's (Karr, 1981) original IBI and required deletion adjustment or inclusion of new metrics more appropriate for subtropical conditions, but the IBI conceptual model is suited to such modification (Hughes & Oberdorff, 1998).

Scoring

In the studies of Karr (Karr, 1981; Karr et al., 1986), Fausch (Fausch et al., 1990), Liu (T. Li et al., 2015), and Shi (SHI et al., 2020) the scores were classified into 6 grades indicating “Excellent” to “No fish” from high score to low score where the score values ranged from 0 to 60. In this case, the underlying concepts of the hypothetical reference score method (Chen et al., 2020; HaRa et al., 2019; Krause et al., 2013; T. Li et al., 2015; Lyons, 2006; Sapounidis et al., 2017; Souza & Vianna, 2020; Wu et al., 2014; Zogaris et al., 2018) was used.

RESULTS

Fish assemblages

During the survey, 14,505 individuals of fishes belonging to 22 families, 10 order and 67 species were collected. The survey found tolerance (23 species), intolerance (44 species), omnivores (16 species), insectivores (35 species), carnivores (16 species), pelagic (8 species), water column (26 species), bottom (10 species), rocky and stone (4 species), sandy and gravel (7 species), silty to muddy (12 species), hybrid species (2 species), native species (56 species), and alien species (8 species) (Table 2)

Fish-IBI metric for Mae Ngad reservoir

The metric was designed from our characterizations of the 67 fish species (Table 2) and used separated assemblage metrics and two categories based on biological parameters and environmental parameters. The biological parameters comprised

diversity parameters i.e. species richness, diversity index, and dominant index; fish status i.e. hybrid species, native species and alien species; trophic composition i.e. percent of omnivores, insectivores and carnivores. Environmental parameters included habitat composition i.e. pelagic species, water column species, bottom species, rocky and stone species, sandy and gravel species and silty to muddy species; fish health i.e. intolerant species, tolerant species and disease health or anomalies, and in total 18 metrics were constructed as the reference conditions. Eleven metrics; i.e. species richness, hybrid species, native species, omnivores, insectivores, carnivores, water column, bottom species, intolerant species, tolerant species and disease health or anomalies from Karr (Karr, 1981) were adopted. Seven new modified metrics i.e. dominant species, diversity index, alien species, pelagic species, rocky and stone bottom species, sandy and gravel bottom species and silty to muddy bottom species were then added into the 18 metrics.

Scoring of Mae Ngad reservoir

In this study, we used a 1, 2, 3, 4, and 5 scaling system. For these metrics, a frequency distribution of value was generated. The values of the 75th percentiles (for a metric in which high value indicated high quality) or 25th percentiles (for a metric in which low value indicated high quality) were identified. The values less than the 25th percentiles were scored as “1” to represent very poor, values over the 25th percentiles but less than the mean were scored as “2” to represent poor, values between the 25th and 75th percentiles were scored as “3” to represent fair, values over the mean but less than 75th percentiles were scored as “4” to represent good, and values greater than or equal to the 75th percentile were scored as “5” to represent excellent.

Finally, scored metrics were summed and then scaled as necessary to produce an index with scores ranging from 18 (worst) to 90 (best). As a guide to interpreting the final scores, the scoring classes for environmental quality were: 18, very poor condition; 19-36, poor condition; 37-54, fair condition; 55-72, good condition; and 73-90, very good condition. Therefore, the classification of biological integrity and their attributes corresponding to F-IBI scores based on the sum ratings was obtained as shown in Table 3.

Fish-IBI evaluation

F-IBI index systems were established for the Mae Ngad reservoir, based on the data of Table 2, and the scoring method was as introduced above. Table 4 shows the evaluation results.

1) Species richness reflected degradation of natural, or from activity of human for example a low species richness in the high altitude reflects the low variability of food supplies Suvarnaksha (Suvarnaksha, 2011). The results showed a species richness at 20 species, scoring is 1.

2) Diversity index result showed a diversity index at 0.67, scoring is 1.

3) Dominant index. The result showed a dominant index at 0.78, scoring is 5.

4) Percentage of native species included 56 species e.g. *Barilius koratensis* and *Danio albolineatus*. This study found the percentage of native species at 90.38 %, scoring as 2.

5) Percentage of alien species included 2 groups 1) exotic alien species i.e. *Oreochromis niloticus*, *Oreochromis* hybrid, *Clarias* hybrid, *Cyprinus carpio*, *Labeo rohita* and *Pterygoplichthys disjunctivus* and 2) local alien species (released species) to the reservoir i.e. *Leptobarbus rubripinnis*, *Pangasianodon hypophthalmus* and *Pangasianodon gigas* for food and *Channa micropeltes* for game fish. This study found the percentage of alien species at 5.56 %, scoring as 2. *Channa micropeltes* was the largest carnivorous fish in the reservoir.

6) Percentage of hybrid species included these 2 i.e. *Clarias* hybrid and *Oreochromis* hybrid from aquaculture. This study found the percentage of hybrid species at 4.07%, scoring as 2.

7) Percentage of omnivore species included 16 species e.g. *Barbonymus gonionotus*, *Labiobarbus lineata*, *Henicorhynchus siamensis* and *Puntioplites proctozysron*. This study found the percentage of omnivore species at 2.94 %, and the score is 4.

8) Percentage of insectivores included 35 species e.g. *Barilius koratensis*, *Discherodontus schroederi*, *Lepidocephalichthys hasselti*, *Pseudohomaloptera*

sexmaculata and *Schistura poculi*. This study found the percentage of insectivore species was 84.14 % scoring as 4.

9) Percentage of carnivores included 16 species e.g. *Notopterus notopterus*, *Hampala macrolepidota*, *Hemibagrus spilopterus*, *Clarias batrachus*, *Anabas testudineus*, and *Channa striata*. This study found the percentage of carnivore species at 12.92 %, and the score is 2.

10) Percentage of pelagic species included 8 species e.g. *Barilius koratensis*, *Danio albolineatus*, *Esomus metallicus*, *Rasbora myersi*, *Rasbora paviana*, *Xenentodon cancila*. This study found the percentage of pelagic species at 2.98 %, scoring as 1.

11) Percentage of water column species included 26 species e.g. *Cirrhinus cirrhosa*, *Labiobarbus lineata*, *Cyclocheilichthys armatus*, *Hampala macrolepidota*, *Henicorhynchus siamensis*, *Mystacoleucus marginatus*, *Neolissochilus stracheyi* and *Puntioplites proctozysron*. The percentage of water column species was 90.06 %, and the score is 2.

12) Percentage of bottom species included 10 species e.g. *Labeo chrysophekadion*, *Labeo rohita*, *Pterygoplichthys disjunctivus*, *Hemibagrus spilopterus*, *Pseudomystus siamensis*, *Mystus mysticetus* and *Mystus singaringan*. The percentage of bottom species was 0.98 %, and scoring is 2.

13) Percentage of rocky and stone species included 4 species i.e. *Garra cambodgiensis*, *Homalopteroides smithi*, *Balitoropsis zollingeri* and *Glyptothorax trilineatus*. This study found the percentage of rocky and stone species as 3.37 %, scoring as 2.

14) Percentage of sandy and gravel species included 7 species e.g. *Nemacheilus binotatus*, *Amblyceps foratum*, *Macrognathus siamensis*, *Mastacembelus armatus* and *Mastacembelus tinwini*. The percentage of sandy and gravel species was 1.94 %, and the score is 1.

15) Percentage of silty to muddy species included 12 species e.g. *Syncrossus beauforti*, *Aperioptus gracilentus*, *Acantopsis thiemmedhi*, *Lepidocephalichthys hasselti* and *Pangio anguillaris*. The percentage of silty to muddy species was reported as 0.68 %, scoring as 1.

16) Percentage of intolerant species included 44 species e.g. *Barilius koratensis*, *Discherodontus schroederi*, *Garra cambodgiensis*, *Neolissochilus stracheyi*, and *Homalopteroides smithi*. In this study, percentage of intolerant species was 23.11 %, and the score is 2.

17) Percentage of tolerant species included 23 species e.g. *Notopterus notopterus*, *Barbonymus altus*, *Clarias batrachus*, *Oreochromis niloticus*, *Monopterus albus* and *Parambassis siamensis*. In this study, percentage of tolerant species was 76.89 %, scoring as 3.

18) This study found that the number of disease health was 4, and the score is 2.

The IBI values for Mae Ngad reservoir was 36, which meant it was dominated by omnivores, alien species, and pollution-tolerant forms, habitat generalists, growth rate, and condition factors commonly depressed. The condition can be evaluated as “fair” (Table 4).

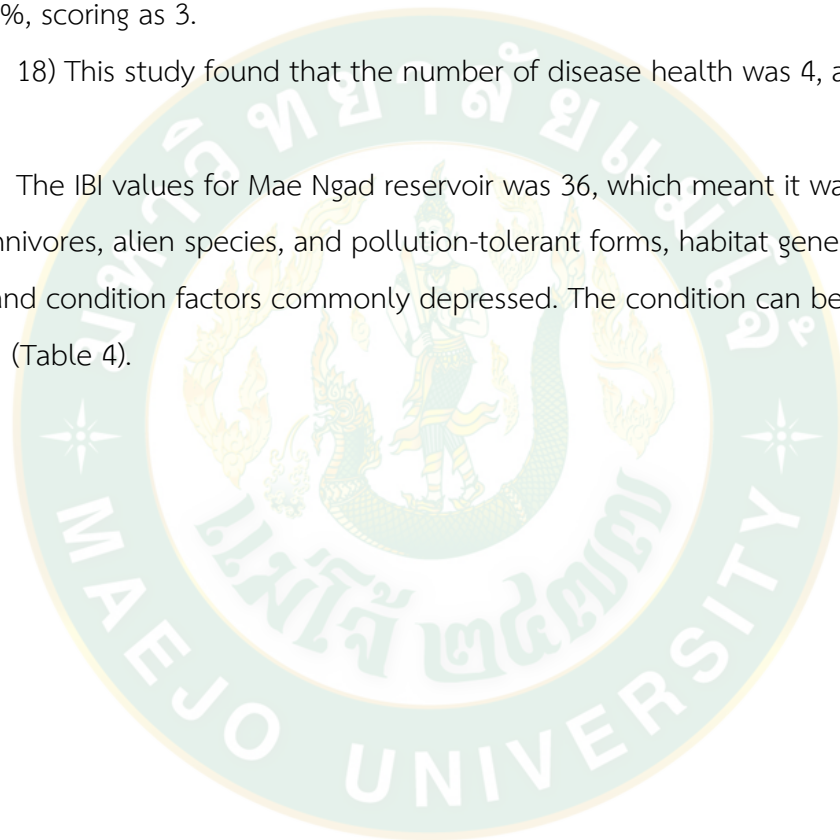


Table 2. Classification of fish assemblages encountered during the study in terms of origin, trophic group, tolerance and habitat

Family /Species	Origin	Trophic group	Tolerance	Habitat	IUCN status
Osteoglossiformes					
Notopteridae					
<i>Notopterus notopterus</i> (Pallas, 1769)	Na ⁷	CA ^{1,2,3,5}	TO ²	WC ³	LC
Cypriniformes					
Cyprininae					
<i>Barilius koratensis</i> (Smith, 1931)	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁷	PG ³	LC
<i>Barilius pulchellus</i> (Smith, 1931)	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	PG ³	LC
<i>Danio albolineatus</i> (Blyth, 1860)	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	TO ⁷	PG ³	LC
<i>Esomus metallicus</i> Ahl, 1923	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁷	PG ³	LC
<i>Rasbora myersi</i> (Bleeker, 1851)	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁷	PG ³	-
<i>Rasbora paviana</i> Tirant, 1885	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁷	PG ³	LC
<i>Barbonymus altus</i> (Günther, 1868)	Na ⁷	ON ^{1,2,3,5}	TO ²	WC ³	LC
<i>Barbonymus gonionotus</i> (Bleeker, 1850)	Na ⁷	ON ^{1,2,3,5}	IT ⁷	WC ^{3,5}	LC
<i>Cirrhinus cirrhosa</i> (Blotch, 1975)	Al ^{2,5}	IN ³	IT ⁷	WC ⁵	VU
<i>Labiobarbus lineata</i> (Sauvage, 1878)	Na ⁵	ON ^{1,2,5}	IT ⁷	WC ⁵	-
<i>Cyclocheilichthys armatus</i> (Valenciennes, 1842)	Na ⁷	ON ^{1,2,5}	IT ⁷	WC ³	LC
<i>Cyprinus carpio</i> Linnaeus, 1758	Al ^{1,2,3}	ON ^{1,2,3}	IT ⁷	WC ³	VU
<i>Discherodontus schroederi</i> (Smith, 1945)	Ed ⁴	IN ^{1,2}	IT ⁷	WC ⁷	LC
<i>Garra cambodgiensis</i> (Tirant, 1884)	Na ⁷	ON ^{1,2,3}	IT ⁶	RS ⁷	LC
<i>Hampala macrolepidota</i> Kuhl & van Hasselt 1823	Na ⁷	CA ^{1,2,3,5}	IT ⁷	WC ³	LC
<i>Henicorhynchus siamensis</i> (Sauvage 1881)	Na ⁷	ON ^{1,2,5}	IT ⁷	WC ^{3,5}	-
<i>Labeo chrysophekadion</i> (Bleeker, 1849)	Na ⁷	ON ^{1,2}	IT ⁷	BT ³	LC
<i>Labeo rohita</i> (Hamilton, 1822)	Al ^{1,2,3,5}	IN ^{1,2,5}	IT ⁷	BT ³	LC
<i>Mystacoleucus marginatus</i> (Valenciennes, 1842)	Na ⁷	IN ^{2,3}	TO ^{3,6}	WC ³	LC
<i>Neolissochilus stracheyi</i> (Day, 1871)	Na ⁷	ON ^{1,2}	IT ⁶	WC ³	LC
<i>Puntioplites proctozyron</i> (Bleeker, 1865)	Na ⁷	ON ^{1,2,5}	IT ⁷	WC ^{3,5}	-
<i>Pethia stoliczka</i> (Day, 1871)	Na ⁷	IN ²	IT ⁷	WC ³	-
<i>Puntius brevis</i> (Bleeker, 1849)	Na ⁷	IN ^{1,2,5}	IT ⁷	WC ^{3,5}	LC
<i>Systomus rubripinnis</i> (Valenciennes, 1842)	Na ⁷	IN ^{1,2,5}	IT ⁵	WC ^{3,5}	-
Botiidae					
<i>Syncrossus beauforti</i> (Smith, 1931)	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁷	SM ⁷	NT
<i>Yasuhikotakia morleti</i> (Tirant, 1885)	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁷	SM ⁷	LC
Cobitidae					
<i>Aperiopsis gracilentus</i> (Smith, 1945)	Na ⁷	IN ³	IT ⁷	SM ⁷	LC
<i>Acantopsis runghthipae</i> Boyd, et al., 2017	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁷	SM ⁷	LC
<i>Acantopsis thiemmedhi</i> Sontirat, 1999	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	SM ⁷	DD
<i>Lepidocephalichthys hasselti</i> (Valenciennes, 1842)	Na ⁷	IN ^{2,3}	TO ²	SM ⁷	LC
<i>Pangio anguillar</i> (Vailant, 1902)	Na ⁷	IN ^{1,2}	IT ⁷	SM ⁷	-
Balitoridae					
<i>Homalopteroides smithi</i> (Hora 1932)	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	RS ³	LC
<i>Balitoropsis zollingeri</i> (Bleeker 1853)	Na ⁷	IN ^{1,2}	IT ⁶	RS ⁷	LC
Nemacheilidae					
<i>Tuberoschistura baenzigeri</i> (Kottelat, 1983)	Na ⁷	IN ^{1,2}	IT ⁶	SM ⁷	LC
<i>Nemacheilus binotatus</i> Smith, 1933	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	SG ³	DD
<i>Schistura poculi</i> (Smith, 1945)	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	SM ⁷	LC
<i>Schistura sexcauda</i> (Fowler, 1937)	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	SM ⁷	LC
<i>Schistura waltoni</i> (Fowler, 1937)	Ed ⁴	IN ^{2,3}	IT ⁶	SM ⁷	DD
Siluriformes					
Loricariidae					
<i>Pterygoplichthys disjunctivus</i> Smith, 1933	Al ^{2,3}	ON ³	TO ⁷	BT ³	-
Pangasiidae					
<i>Pangasianodon hypophthalmus</i> (Sauvage, 1878)	Al ¹	ON ¹	IT ⁷	BT ³	EN
<i>Pangasianodon gigas</i> Chevey, 1931	Al ^{1,2}	ON ¹	IT ⁶	BT ³	CR
Bagridae					
<i>Hemibagrus spilopterus</i> Ng & Rainboth, 1999	Na ⁷	CA ³	IT ⁷	BT ³	LC

<i>Pseudomystus siamensis</i> Regan, 1913	Na ⁷	CA ^{1,2,3}	IT ⁷	BT ³	LC
<i>Mystus mysticetus</i> Roberts, 1992	Na ⁷	CA ^{1,2,3,5}	IT ⁷	BT ³	LC
<i>Mystus singaringan</i> (Bleeker, 1846)	Na ⁷	CA ^{1,2,3,5}	TO ²	BT ³	LC
Amblycipitidae					
<i>Amblyceps foratum</i> Ng & Kittlelet, 2000	Na ⁷	CA ^{3,3}	IT ⁷	SG ³	LC
Sisoridae					
<i>Glyptothorax trilineatus</i> Blyth, 1860	Na ⁷	CA ^{1,2}	IT ²	RS ⁷	LC
Clariidae					
<i>Clarias batrachus</i> (Linnaeus, 1758)	Na ⁷	CA ^{1,2,5}	TO ⁵	SG ⁷	LC
<i>Clarias hybrid</i>	Hy ¹ and Al ^{2,5}	CA ^{1,2}	TO ⁷	SG ⁷	-
Gobiiformes					
Eleotridae					
<i>Oxyeleotris marmorata</i> (Bleeker, 1852)	Na ⁷	CA ²	IT ^{5,6}	WC ³	LC
Cichliformes					
Cichlidae					
<i>Oreochromis niloticus</i> (Linnaeus, 1758)	Al ^{1,2,3,5}	ON ^{1,2}	TO ⁵	WC ⁵	LC
<i>Oreochromis hybrid</i>	Hy ¹ and Al ^{1,2}	ON ^{1,2}	TO ⁷	WC ⁵	-
Beloniformes					
Belonidae					
<i>Xenentodon cancila</i> (Hamilton, 1822)	Na ⁷	CA ^{1,3,5}	IT ⁷	PG ³	LC
Synbranchiformes					
Synbranchidae					
<i>Monopterus albus</i> (Zieuew, 1793)	Na ⁷	IN ^{2,3}	TO ^{2,3}	SM ³	LC
Mastacembelidae					
<i>Macrogonathus siamensis</i> (Günther, 1861)	Na ⁷	IN ^{1,2,3,5}	TO ⁵	SG ³	LC
<i>Mastacembelus armatus</i> (Lacepède, 1800)	Na ⁷	IN ^{1,2,5}	TO ⁵	SG ⁷	LC
<i>Mastacembelus tinwini</i> Britz, 2007	Na ⁷	IN ²	TO ⁷	SG ³	LC
Anabantiformes					
Anabantidae					
<i>Anabas testudineus</i> (Bloch, 1792)	Na ⁷	CA ^{1,2,3}	TO ⁵	WC ⁵	DD
Osphronemidae					
<i>Osphronemus goramy</i> Lacepède, 1801	Na ⁷	ON ^{1,2,3}	TO ⁷	WC ³	LC
<i>Trichopsis vittata</i> (Cuvier, 1831)	Na ⁷	IN ^{1,2}	TO ⁷	PG ⁷	LC
<i>Trichopodus trichopterus</i> (Pallas, 1770)	Na ⁷	IN ^{1,2,3,5}	TO ⁵	WC ^{3,5}	LC
Channidae					
<i>Channa gachua</i> (Hamilton, 1822)	Na ⁷	CA ^{1,2,3}	TO ²	WC ³	LC
<i>Channa striata</i> (Bloch, 1793)	Na ⁷	CA ^{1,2,3}	TO ⁵	WC ³	LC
Pristolepis					
<i>Pristolepis fasciata</i> (Bleeker, 1851)	Na ⁷	IN ^{2,3,5}	TO ^{2,3,5}	WC ^{3,5}	LC
Perciformes					
Ambassidae					
<i>Parambassis siamensis</i> (Fowler, 1937)	Na ⁷	IN ^{1,2,5}	TO ⁵	WC ³	LC
Tetraodontiformes					
Tetraodontidae					
<i>Pao cochinchinensis</i> (Steindachner, 1866)	Na ⁷	CA ^{1,3,5}	IT ⁷	BT ³	LC

Origin :Na=Native species, Ed=Endemic species, Al=Alien species, and Hy=Hybrid species ;Trophic group :ON=omnivores, IN=insectivores, and CA=carnivores ;Tolerance : IT=intolerant species, TO=tolerant species ;Habitat :PG=pelagic species, WC=water column species, BT=bottom species. RS=rocky and stone, SG=sandy and gravel, SM=silty to mud ;IUCN red list status :DD=Data deficient, LC=Least concern, NT=near threatened, VU=Vulnerable, EN=endangered, CR=critically endangered.

Note :The number in exponent corresponds to the following reference 1 .Suvarnaraksha (Suvarnaraksha, 2004), 2 .Suvarnaraksha (Suvarnaraksha, 2011), 3 .Suvarnaraksha (Suvarnaraksha, 2017), 4 .Vithayanon (Vidhayanon, 2017), 5 .Rayan and Ngamsnae (Rayan & Ngamsnae, 2014), 6 .IUCN red list (IUCN, 2020) and 7 .Information from expert

Table 3. Detailed attributes of biological integrity associated with each of the IBI categories.

Categories	IBI Score	Attributes
Excellent	73-90	Similar to unimpacted sites in the region with minimal or no human activity in the reservoir.
Good	55-72	Species richness somewhat below expectation, loss of most intolerant forms.
Fair	37-54	Signs of additional deterioration include fewer intolerant forms.

Poor	19-36	Dominated by omnivores, alien species, and pollution -tolerant forms, habitat generalists, growth rate, and condition factors commonly depressed.
Very poor	18	Few fish present, mostly alien species or very tolerant forms.

Table 4. Metric score of Mae Ngad Reservoir, Chiang Mai, Thailand

Metric	Scoring					Results	Score
	5	4	3	2	1		
No. of. Species richness	>47.00	37-47	27-36	22-26	<22	20	1
Diversity index	>2.93	2.65-2.93	2.57-2.64	2.30-2.56	<2.29	0.67	1
Dominant index	>0.33	0.29-0.33	0.27-0.28	0.25-0.26	<0.24	0.78	5
%Native species	>99.67	98.22-99.67	95.63-98.21	65.99-95.62	<65.98	90.38	2
%Alien species	<1.79	1.80-4.49	4.50-4.52	4.53-17.01	>17.01	5.56	2
% Hybrid species	<1.33	1.33-2.65	2.66-3.90	3.91-5.71	>5.71	4.07	2
% Omnivores	<0.85	0.85-3.71	3.72-5.36	5.37-112.5	>12.5	2.94	4
% Insectivores	>95.89	87.98-95.89	75.15-87.97	63.65-75.14	<63.64	84.14	4
% Carnivores	>86.67	27.24-86.67	18.14-27.23	4.23-18.13	<4.22	12.92	2
% Pelagic	>65.50	27.52-65.50	16.07-27.51	5.67-16.07	<5.66	2.98	1
% Water column	<34.49	34.48-55.31	55.32-77.57	77.58-98.63	>98.63	90.06	2
% Bottom	>19.64	2.99-19.64	2.84-2.99	0.78-2.83	<0.77	0.98	2
% rocky and stone	>35.44	17.83-35.44	10.04-17.82	1.97-10.03	<1.96	3.37	2
% sandy and gravel	>77.93	40.42-77.93	25.03-40.41	6.91-25.02	<6.90	1.94	1
% silty to muddy	>13.33	4.45-13.33	3.05-4.44	0.84-3.04	<0.83	0.68	1
% of intolerant species	>88.94	52.52-88.93	37.51-52.51	22.26-37.50	<22.25	23.11	2
% tolerant species	<47.59	47.60-63.51	63.52-78.15	78.16-97.26	>97.26	76.89	3
Number of disease health	<1	1-2	3	4	>4	6	1
IBI score							38

DISCUSSION

Biological integrity of aquatic ecosystems can be evaluated with the help of fish indicator species present in the community. Integrity of lake or reservoir ecosystems have used a fish index which integrates structural, compositional, and ecological characteristics (Karr, 1981; Karr et al., 1986). Studies of integrity using fish indices for reservoirs were less evident. The present study envisaged the application of a fish index of biotic integrity (F-IBI) of the health of Mae Ngad reservoir, Chiang Mai, Thailand. The present study gave a better picture of the community structure of fish and fish assemblages which could act as an indicator of anthropogenic stress and its impacts on the reservoir.

Metric 1-3, diversity. The result of this study gave score “1”, which was lower than in the past, which means low species richness and reflects the low variability of food supplies, and low diversity index also reflects degradation via natural or activity of human (Suvarnaraksha, 2011). This metric was used in several works for lakes e.g. Shihoudian Lake in China (SHI et al., 2020).

Metric 4, percentage of native species. The result of this study gave score “2”, lower than in the past similarly to Rayan and Ngamsnae (Rayan & Ngamsnae, 2014), who researched fish IBI of Nong Han Wetland, where the score of native species was 3. The native species decrease with increasing degradation, and non-native species represent biological degradation. They feed and reproduce in benthic habitat with stone, rocks, and gravel and surrounded by large rock (Suvarnaksha, 2011). This metric was found in several works e.g. biotic indicators for Great Lakes coastal wetlands (Cooper et al., 2018) Araujo (Gerson Araujo et al., 2003), Raburu and Masese (Raburu & Masese, 2012), and Pinto and Araújo (Teixeira Pinto & Araújo, 2007).

Metric 5-6, percentage of alien species and hybrid species. These metrics are an estimate of environmental degradation increase, where the percent of hybrids and alien species also increase (Suvarnaksha, 2011) with preying on eggs and juveniles of native fish species, These species have had a great impact on native fish assemblages (Lenhardt et al., 2009). In this study, we separated alien species and hybrid species into two metrics, instead of Karr's (Karr, 1981) percent hybrid individuals. Alien species (*Clarias* hybrid (*C. macrocephalus* x *C. gariepinus*) and *Oreochromis* hybrid) are mostly accidentally released from fish farms (Gerson Araujo et al., 2003). The result of this study gave score “2”. The increase in the number of alien species was in accordance with the findings of Wolter (Wolter et al., 2000), suggesting that such changes result from prolonged anthropogenic effect on the fish community structure (Lenhardt et al., 2009).

Metric 7-9, trophic composition. This group is an important category in assessing the biotic integrity using the feeding habitat (Gerson Araujo et al., 2003; Teixeira Pinto & Araújo, 2007). In this study we selected 3 metrics; omnivores, insectivores and carnivores following Karr' 1981. The study result gave score “4” for percentage of omnivore species, “4” for insectivore species and “2” for carnivore species. The omnivore species was found in high abundance at the polluted sites since these fish species use a wide range of food, both plants and animals, and detritus or organic matter (Teixeira Pinto & Araújo, 2007). Disruptions in the food base caused by degradation has been found to lead to a higher percentage of omnivores and a decrease in the proportions of insectivores and carnivores (Hu et al., 2007; Raburu &

Masese, 2012; Rayan & Ngamsnae, 2014). This group of metrics was also found in several works such as Pinto and Araújo (Teixeira Pinto & Araújo, 2007), Raburu and Masese (Raburu & Masese, 2012), Hu (Hu et al., 2007), Khalaf and Kochzius (Khalaf & Kochzius, 2002) and Lenhardt (Lenhardt et al., 2009).

Metric 10-15, Habitat composition. The percentage of pelagic species is identified by the species living on the surface which feed on surface insects and are active swimmers. The low percentage of water column species explained that some species decrease with increased degradation (Karr et al., 1986). The percentage of bottom species, percentage rocky and stone species, percentage sandy and gravel species and percentage silty to muddy species, show that some species are sensitive to degradation resulting from siltation and benthic oxygen depletion because they feed and reproduce in benthic habitats (Bozzetti & Schulz, 2004). The result of this study gave score “1” for percentage of pelagic species, “2” for water column species, “2” for bottom species, “2” for rocky and stone species, “1” for sandy and gravel species and “1” for silty to muddy species. The use of benthic species in the development of lake indices is less common (Argillier et al., 2013). The benthic species are sensitive to poor water quality, low oxygen concentrations and toxic substances deposited in sediment, since they use this compartment to feed and spawn and margin erosion also provokes impairment to benthic species through the substrate homonization (Teixeira Pinto & Araújo, 2007). Many smaller species live on the rock and they feed on algae and on insects or invertebrates that grow on the rocks or pebbles e.g. *Garra cambodgiensis*, *Pseudohomaloptera sexmaculata* and *Schistura sexcauda*.

Metric 16, percentage of intolerance species. The result gave score “2”, which was a lower score than in the past. This means the intolerant species decrease when the water in the reservoir has poor quality. This metrics using intolerance species did not show a relationship with pressure. The catchability of many intolerant species is relatively low, especially in benthic species because of the relatively low mobility of many intolerant species (Argillier et al., 2013). We use intolerance species for evaluating the health of the reservoir for the first in time Thailand, due to the base of data collected in 2003, where there were many intolerance species (Suvarnaraksha, 2004).

Metric 17, percentage of tolerance species. The result of this study gave a score “3” similar to Nong Han Wetland, where the score of tolerance species was 1 (Rayan & Ngamsnae, 2014), which means the tolerance species increased when the reservoir water was poor in quality because of degradation of habitat of insects or invertebrates which are food for other species. For example, tolerant species *Mystacoleucus marginatus* is well adaptive to impound waters (IUCN, 2020; Suvarnaraksha, 2017) and Genus *Oreochromis* is generally considered to be tolerant to physico-chemical changes and *Clarias* are known to be tolerant to pollution (Raburu & Masese, 2012), while the *Lepidocephalichthys hasselti* increase in the upstream, it means the river was of poor quality because of degradation of substrate where habitat of insects or invertebrates that are food of another species (Suvarnaraksha, 2011). Tolerance species were widely distributed from the upper reaches to the lower reaches, making them useful indicators of poor water and environmental quality (Raburu & Masese, 2012).

Metric 18, number of disease health or anomalies. This metric depicts the health and condition of individual fish. These conditions occur infrequently or are absent from minimally impacted reference sites but do occur frequently below contaminant point sources and in areas where toxic chemicals are concentrated. They are excellent measures of the subacute effects of chemical pollution and the aesthetic value of game and nongame fish (Barbour et al., 1999). The result of this study gave score “2” different from Nong Han Wetland, where score of number of disease health was 5 (Rayan & Ngamsnae, 2014).

The IBI has proven to be responsive to a wide variety of disturbances that affect fish assemblage stability [34] and fish communities have also proven to be an excellent indicator of aquatic ecosystem health [14] thus the IBI could be used to characterize the status of the reservoir.

CONCLUSIONS

The present study envisaged the application and development of a fish index of biotic integrity (F-IBI) for evaluation of the health of a stagnant river for a case study of Mae Ngad reservoir, Chiang Mai. We used fish data gathered from annual report of 2004. Fish-IBI metrics were designed with 18 metrics in two main categories based on

biological parameters and environmental parameters. The ability of the proposed IBI as a tool for detecting environmental degradation is strengthened by these results (Lenhardt et al., 2009). This study shows that the IBI can be used to characterize the state of these reservoirs and can make a step for management aspects and to some extent for conservation. As a bioassessment tool, the fish index was found useful as the basis for long-term monitoring of stagnant waters in northern Thailand.

ACKNOWLEDGEMENTS

T. Pholdee is grateful to the Royal Golden Jubilee Program of the Thailand Research Fund for supporting his Ph.D. study (Grant PHD/0132/2558). The Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University was also very helpful in providing laboratory facilities. Many thanks to A. Suvarnaraksha for help with species-metric allocations and with data extraction.

REFERENCES

1. J. L. Nel, D. J. Roux, R. Abell, P. J. Ashton, R. M. Cowling, J. V. Higgins, M. Thieme and J. H. Viers, "Progress and challenges in freshwater conservation planning", *Aquat Conserv*, **2010**, 19, 474–485.
2. D. L. Strayer and D. Dudgeon, "Freshwater biodiversity conservation: Recent progress and future challenges", *J. N. Am. Benthol. Soc.*, **2010**, 29, 344–358.
3. D. T. Nelson, "Development and application of a fish-based index of biotic integrity for lakes in eastern South Dakota", *Master Thesis*, **2017**, South Dakota State University, United states.
4. J. R. Karr, "Assessment of Biotic Integrity Using Fish Communities", *Fisheries*, **1981**, 6, 21–27.
5. M. W. Beck, L. K. Hatch, "A review of research on the development of lake indices of biotic integrity", *Environ Rev.*, **2009**, 17, 21–44.
6. O. Petriki, M. Lazaridou and D. C. Bobori, "A fish-based index for the assessment of the ecological quality of temperate lakes", *Ecol. Indic.*, **2017**,

- 78, 556–565.
7. R. Lopa, H. Hayashi, Y. Shimatani and J. Nakazima, “Applying a fish biological integrity index to a restoration plan in a small-sized river: Case study in the Kamisaigo River”, *WIT Trans. Ecol. Environ.*, **2011**, 145, 113–124.
 8. M. J. Cooper, G. A. Lamberti, A. H. Moerke, C. R. Ruetz III, D. A. Wilcox, V. J. Brady, L. B. Johnson, T. N. Brown, J. J. H. Ciborowski, J. P. Gathman, G. P. Grabas, D. G. Uzarski, “ An expanded fish-based index of biotic integrity for Great Lakes coastal wetlands”, *Environ Monit Assess*, **2018**, 190, 580.
 9. J. R. Karr, K. D. Fausch, P. L. Angermeier, P. R. Yant and I. J. Schlosser, “Assessing biological integrity in running waters A method and its rationale”, *Illinois Natural History Survey Special Publication*. **1986**. pp. 1–28.
 10. T. R. Whittier. “Development of IBI metrics for lakes in southern New England Assessing the sustainability and biological integrity of water resource quality using fish communities”, Florida: CRC Press, Boca Raton, **1999**, pp. 563–584.
 11. G. B. G. Souza and M. Vianna, “Fish-based indices for assessing ecological quality and biotic integrity in transitional waters: A systematic review”, *Ecol. Indic.*, **2020**, 109: 105665.
 12. M. J. Lydy, A. J. Strong and T. P. Simon, “Development of an index of biotic integrity for the Little Arkansas River Basin, Kansas”, *Arch Environ Contam Toxicol.*, **2000**, 39, 523–530.
 13. T. S. Seilheimer and P. Chow-Fraser, “Development and use of the Wetland Fish Index to assess the quality of coastal wetlands in the Laurentian Great Lakes”, *Can. J. Fish. Aquat.*, **2006**, 63, 354–366.
 14. M. Lenhardt, G. Markovic and Z. Gacic, “Decline in the index of biotic integrity of the fish assemblage as a response to reservoir aging”, *Water Resour. Res.*, **2009**, 23, 1713–1723.
 15. J. R. Krause, K. N. Bertrand, A. Kafle and N. H. Troelstrup, “A fish index of biotic integrity for South Dakota’s Northern Glaciated Plains Ecoregion”, *Ecol. Indic.*, **2013**, 34, 313–322.
 16. C. Stevens and T. A., “Council Fish-based Index of Biological Integrity for Assessing River Condition in Central Alberta”, Alberta, Canada, **2008**, pp. 1-44.

17. M. K. Joy and R. G. Death, “Application of the Index of Biotic Integrity Methodology to New Zealand Freshwater Fish Communities”, *Environ. Manage.*, **2004**, 34, 415–428.
18. B. Hugueny, S. Camara, B. Samoura and M. Magassouba, “Applying an index of biotic integrity based on fish assemblages in a West African river”, *Hydrobiologia*, **1996**, 331, 71–78.
19. C. H. Hocutt, P. N. Johnson, C. Hay and B. J. Zyl van. Biological basis of water quality assessment: the Kavango River, Namibia. *Hydrobiol. Trop.*, **1994**, 27, 361–384.
20. A. K. Toham and G. G. Teugels, “First data on an Index of Biotic Integrity (IBI) based on fish assemblages for the assessment of the impact of deforestation in a tropical West African river system”, *Hydrobiologia*, **1999**, 397, 29–38.
21. B. D. F. Terra and F. G. Araújo, “A preliminary fish assemblage index for a transitional river-reservoir system in southeastern Brazil”, *Ecol. Indic.*, **2011**, 11, 874–881.
22. A. C. Hued, M. de los Ángeles Bistoni, “Development and validation of a Biotic Index for evaluation of environmental quality in the central region of Argentina”, *Hydrobiologia*, **2005**, 543, 279–298.
23. A. Franco, P. Torricelli and P. Franzoi, “A habitat-specific fish-based approach to assess the ecological status of Mediterranean coastal lagoons”, *Mar. Pollut. Bull.*, **2009**, 58, 1704–1717.
24. L. Launois, J. Veslot, P. Irz and C. Argillier, “Selecting fish-based metrics responding to human pressures in French natural lakes and reservoirs: Towards the development of a fish-based index (FBI) for French lakes”, *Ecol. Freshw. Fish.*, **2011**, 20, 120–132.
25. L. Launois, J. Veslot, P. Irz and C. Argillier, “Development of a fish-based index (FBI) of biotic integrity for French lakes using the hindcasting approach”, *Ecol. Indic.*, **2011**, 11, 1572–1583.
26. C. Argillier, S. Caussé, M. Gevrey, S. Pédrón, J. De Bortoli, S. Brucet, M. Emmrich, E. Jeppesen, T. Lauridsen, T. Mehner, M. Olin and M. Rask, “Development of a fish-based index to assess the eutrophication status of

- European lakes”, *Hydrobiologia*. **2013**, 704, 193–211.
27. M. Olin, M. Rask, J. Ruuhijärvi and J. Tammi, “Development and evaluation of the Finnish fish-based lake classification method”, *Hydrobiologia*, 2013, 713, 149–166.
 28. A. Qadir and R. N. Malik, “Assessment of an index of biological integrity (IBI) to quantify the quality of two tributaries of river Chenab, Sialkot, Pakistan”, *Hydrobiologia*, **2009**, 127–153.
 29. H. Mostafavi, R. Schinegger, A. Melcher, K. Moder, C. Mielach and S. Schmutz, “A new fish-based multi-metric assessment index for cyprinid streams in the Iranian Caspian Sea Basin”, *Limnologica*. **2015**, 51, 37–52.
 30. M. B. Ergönül, J. Breine, E. Van den Bergh, “A technical guide to develop a statistically valid fish-based index in compliance with the water framework directive: an evaluation for Turkish freshwaters”, *International Aquatic Research*, **2018**, 10, 303–319.
 31. K. Chen, Y. Jia , X. Xiong, H. Sun, R. Zhu and Y. Chen, “Integration of taxonomic distinctness indices into the assessment of headwater streams with a high altitude gradient and low species richness along the upper Han River, China”, *Ecol. Indic.*, **2020**, 112, 106106.
 32. W. Wu, Z. Xu, X. Yin and D. Zuo, “Assessment of ecosystem health based on fish assemblages in the Wei River basin, China”, *Environ. Monit. Assess.*, **2014**, 186, 3701–3716.
 33. T. Li, X. Huang, X. Jiang and X. Wang, “Assessment of ecosystem health of the Yellow River with fish index of biotic integrity”, *Hydrobiologia*, **2015**, 814, 31–43.
 34. L. Shi, H. Zhu, S-W. Ye, P-Z. Wang, J-S. Liu, X-G. Liu and Z-J Li, “Fish assemblage and biotic integrity assessment in Shihoudian Lake. *Chinese J. Ecol.*, **2020**, 39, 2646–2656.
 35. L. L. Huang, Z. Q. Wu and J. H. Li, “Fish fauna, biogeography and conservation of freshwater fish in Poyang Lake Basin, China”, *Environ. Biol. Fishes.*, **2013**, 96, 1229–1243.
 36. T. J. Hu, H. W. Wang and H. Y. Lee, “Assessment of environmental conditions

- of Nan-Shih stream in Taiwan”, *Ecol. Indic.*, **2007**, 7, 430–441.
37. S. Rayan and P. Ngamsnae, “Application of Fish Index of Biotic Integrity (Fish-IBI) for Quality Evaluation of Nong Han Wetland”, *Bur. Sci. J.*, **2014**, 23, 928–943.
 38. M. Bozzetti and U. H. Schulz, “An index of biotic integrity based on fish assemblages for subtropical streams in southern Brazil”, *Hydrobiologia*, **2004**, 133–144.
 39. D. Thapanya, P. Bunlue and P. Chantaramongkol, “Adult caddisfly assemblages from upstream and downstream of the Mae Ngat Adult caddisfly assemblages from upstream and downstream of the Mae Ngat Dam , Chiang Mai , northern Thailand”, *Biol Int Wat Suppl.*, **2015**, 2, 151–156.
 40. A. Suvarnaraksha, “Fish Diversity in Mae Ngad somboonchon reservoir, Maetang Districtt, Chiangmai province”, Report annual, **2004**, Maejo University, Chiang Mai.
 41. A. Suvarnaraksha, “Biology of two keystone fish species and fish assemblage patterns and modeling approaches in tropical river basin: Case study of Ping River Basin, Thailand”, *PhD Thesis*, **2011**, Toulouse III Paul Sabatier, France and Ubon Ratchathani University, Thailand.
 42. H. M. Smith, “The fresh-water fishes of Siam or Thailand”, *Bulletin of the United States National Museum*, **1945**, pp. 1–622.
 43. T. R. Roberts, “Systematic revision of the southeast Asian cyprinid fish genus *Labiobarbus* (Teleostei: Cyprinidae)”, *Raffles. B. Zool.*, **1993**, 41, 315–329.
 44. W. J. Rainboth, “Fishes of the Cambodian Mekong”, Rome: Foodand agriculture organization of the United Nations. **1996**.
 45. M. Kottelat, “Fresh-water fishes of Kampuchea”, *Hydrobiologia*, **1985**, 121, 249–279.
 46. M. Kottelat, “Fishes of the Lao Mekong Basin”, U.S. Agency for International Development, Mission to Laos, Agriculture Division, **2013**.
 47. Y. Taki, “Fishes of the Lao Mekong Basin”, United States Agency for International Development Mission to Laos Agriculture Division, **1974**.
 48. C. Vidthayanon, J. Karnasuta and J. Nabhitabhata, “Diversity of Freshwater Fish

- in Thailand”, Bangkok, Office of Environmental Policy and Planning, **1997**, pp. 102.
49. J. S. Nelson, T. C. Grande and M. V. H. Wilson, “Fish of the world”, 5th ed., USA., **2016**.
 50. N. So, K. Utsugi, K. Shibukawa, P. Thach, S. Chhuoy, S. Kim, D. Chin, P. Nen. and P. Chheng, “Fishes of Cambodian Freshwater Bodied”, Phnom Penh, Cambodian: Inland Fisheries Research and Development Institute, Fisheries Administration, **2018**. pp. 197.
 51. A. Suvarnaraksha, S. Lek, S. Lek-Ang and T. Jutagate, “ Fish diversity and assemblage patterns along the longitudinal gradient of a tropical river in the Indo-Burma hotspot region (Ping-Wang River Basin, Thailand)”, *Hydrobiologia*, **2012**, 694, 153–169.
 52. A. Suvarnaraksha, “Fish of the Ping basin”, 2nd ed., The Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiangmai, **2017**, pp 292.
 53. A. Suvarnaraksha, “Ichthyology”, 2nd End, The Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiangmai, **2018**, pp 464.
 54. C. Vidthayanon, “Checklist of freshwater fish in Thailand”, Bangkok, Office of Natural Resources and Environmental Policy and Planning, **2017**, pp 305.
 55. J. Breine, G. Van Thuyne and L. De Bruyn, “Development of a fish-based index combining data from different types of fishing gear A case study of reservoirs in Flanders (Belgium)”, *Belg. J. Zool.*, **2015**, 145, 17–39.
 56. P. O. Raburu and F. O. Masese, “ Development of a fish-based index of biotic integrity (FIBI) for monitoring riverine ecosystems in the lake victoria drainage basin, Kenya”, *River. Res. Appl.*, **2012**, 38, 23–38.
 57. M. A. Khalaf and M. Kochzius, “Changes in trophic community structure of shore fishes at an industrial site in the Gulf of Aqaba, Red Sea”, *Mar. Ecol. Prog.*, **2002**, 239: 287–299.
 58. IUCN, “Assessment approaches for estimating biological integrity using fish assemblages”, 2020, <http://www.iucnredlist.org>. (Accessed: September 2020).
 59. R. M. Hughes and T. Oberdorff, “Applications of IBI Concepts and Metrics to Waters Outside the United States and Canada”, 1st ed, Assessing the

Sustainability and Biological Integrity of Water Resources Using Fish Communities. Lewis. Boca Raton, **1998**. pp. 79–93.

60. K. D. Fausch, J. Lyons and J. R. Karr and P. L. Angermeier, “ Fish communities as indicators of environmental degradation”, *Am. Fish. Soc. Symp.*, **1990**, 8, 123–144.
61. S. Zogaris, V. Tachos, A. N. Economou, Y. Chatzinikolaou, N, Koutsikos and S. Schmutz, “A model-based fish bioassessment index for Eastern Mediterranean rivers: Application in a biogeographically diverse area”, *Sci. Total. Environ.*, **2018**, 622–623.
62. J. HaRa, M. Mamun and K. G. An, “Ecological river health assessments using chemical parameter model and the index of biological integrity model”, *Water*, **2019**, 11.
63. J. Lyons, “A fish-based index of biotic integrity to assess intermittent headwater streams in Wisconsin, USA”, *Environ. Monit. Assess.*, **2006**, 122, 239–258.
64. A. S. Sapounidis, E. T. Koutrakis and I. D. Leonardos, “Ecohydrology & Hydrobiology Fish-based River Integrity Index : A first attempt in developing a water quality index for the assessment of the Greek rivers”, *Ecohydrol. Hydrobiol.*, **2017**, 9, 620–628.
65. F. G. Araujo, I. Fichberg, B. C. T. Pinto and M. G. Peixoto, “A Preliminary Index of Biotic Integrity for Monitoring the Condition of the Rio Paraiba do Sul, Southeast Brazil”, *J. Environ. Manage.*, **2003**. 516–526.
66. B. C. Teixeira Pinto and F. G. Araújo, “Assessing of biotic integrity of the fish community in a heavily impacted segment of a tropical river in Brazil”, *Braz. Arch. Biol. Technol.*, **2007**, 50, 489–502.
67. C. Wolter, J. Minow, A. Vilcinskas and U. A. Grosch, “Long-term effects of human influence on fish community structure and fisheries in Berlin waters: An urban water system”, *Fish. Manag. Ecol.*, **2000**, 7, 97–104.



P2

Modified fish-based index to assess biological integrity for evaluation of Running water in Northern Thailand.

Thapanee Pholdee^{1*} and Apinun Suvarnaraksha²

Khon Kaen Agriculture Journal.

(Accepted)

*Corresponding author: Thapanee Pholdee.

Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources,
Maejo University

63 M 4, Nong Han, Sansai District,

Chiang Mai 50290, Thailand

Tel. +66-53-875100-3

Fax. +66-53-875100-3

E-mail: pondeeloei@gmail.com

Modified fish-based index to assess biological integrity for evaluation of Running water in Northern Thailand.

Thapanee Pholdee^{1*} and Apinun Suvarnaraksha¹

¹ Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand

ABSTRACT

The fish-based index of biotic integrity (F-IBI) is widely used to assess river ecosystems. We have adapted modification and used Karr's index of biotic integrity

(IBI) and also literature for the running water, including 18 metrics in seven categories. With survey data from the Maetang River fishery resources in 2003 and 2019, species richness and composition, tolerant, trophic composition, abundance, individual condition and altitude distribution in the river's Maetang River were examined. These metrics were used in the final IBI, which ranged from 18 (worst) to 90 (best). The healthy conditions indicated by F-IBI scores in 2019 were "good" and this study will become a great reference for water resources management and ecosystem restoration in the running river.

Keywords: Ecological indicators, metrics, fish assemblages, species richness indicator, habitat quality.

INTRODUCTION

Freshwater ecosystems are important components for all creatures living in the rivers which provide important ecosystem services. However, these important ecological features are being altered, degraded, and even destroyed and threatened due to anthropogenic pressures and experiencing declines in biodiversity (Riecki et al., 2020). Biological assessments are crucial tools for measuring the ecological integrity of freshwater ecosystems and for protecting aquatic life (Aparicio et al., 2011). Fish are considered sensitive indicators of stream habitat since they were well studied and easy to identify. Even small and fish communities also represented several trophic levels and they have long been used as indicators of stream ecosystem health, collectively grouped under the term "index of biotic integrity" (IBI) (Capmourteres et al., 2018). Most fish-based indices are derived from the original IBI and are popular in the world, but not appear in Thailand.

Maetang River in Chiangmai Province, which is a rapidly developing tourist region located in the upper Ping River basin have become degraded in recent decades. All of the above changes have led to a marked deterioration in the ecosystem function. The investigation of fish assemblages in the Maetang river was conducted in 2000 (Suvarnaksha, 2003) and the study focused on the diversity of fish. There were no studies that have evaluated the ecosystem health based on fish assemblages. The main objective of the study is to develop and apply the fish index of biotic integrity for

used assess running ecosystem health and provide a baseline for future water quality assessment in the running water.

MATERIALS AND METHODS

2.1 Study area

The Maetang River is a tributary of the Ping River in Chiang Mai Province, covered by mountains and forests, agricultural areas, and urban; 72.1 %, 25.4 %, and 0.3% respectively. The location of the Maetang river is bounded by coordinates 19° 10' to 19° 45' N and 98° 27' to 98° 55' E and the river mainstream is 135 km. long and drains an area of approximately 223.51 km² (Suvarnaraksha, 2011). The elevation range of the Maetang River is 338-1342 m. above sea level. The Maetang River is fast-flowing and clear water with rocks, gravels and pebbles as its sandy bottom are covered by forest canopy (Suvarnaraksha, 2011). Fish data are collected from 31 stations along the Maetang River (Figure 1).

2.2 Data sources and sampling protocols

1. Previous data: the data was conducted from August 2000 to June 2001 with electric-fishing with an AC shocker (Honda EM 650, DC 220 V. 550BA 450VA, 1.5-2 A, 50 Hz.) together with block nets and scoop nets (100 m² per sampling site) (preserved). Fish were identified to species and preserved followed (Suvarnaraksha, 2018). The specimens were identified followed (So et al., 2018; Suvarnaraksha, 2003, 2017, 2018; Vidthayanon et al., 1997). Physicochemical water quality samples were collected from 31 stations was then measured by YSI 556 in the field. Meanwhile, the substrate types were recorded i.e. rocky, sandy and gravel (Suvarnaraksha, 2003).

2. Present data: fish specimens were collected from tributaries of Meatang River from May 2019 to April 2020 by using push-net and gill net. Fishes were identified and classified followed (Suvarnaraksha, 2003, 2011, Vidthayanon, 2017; Froese & Pauly, 2019).

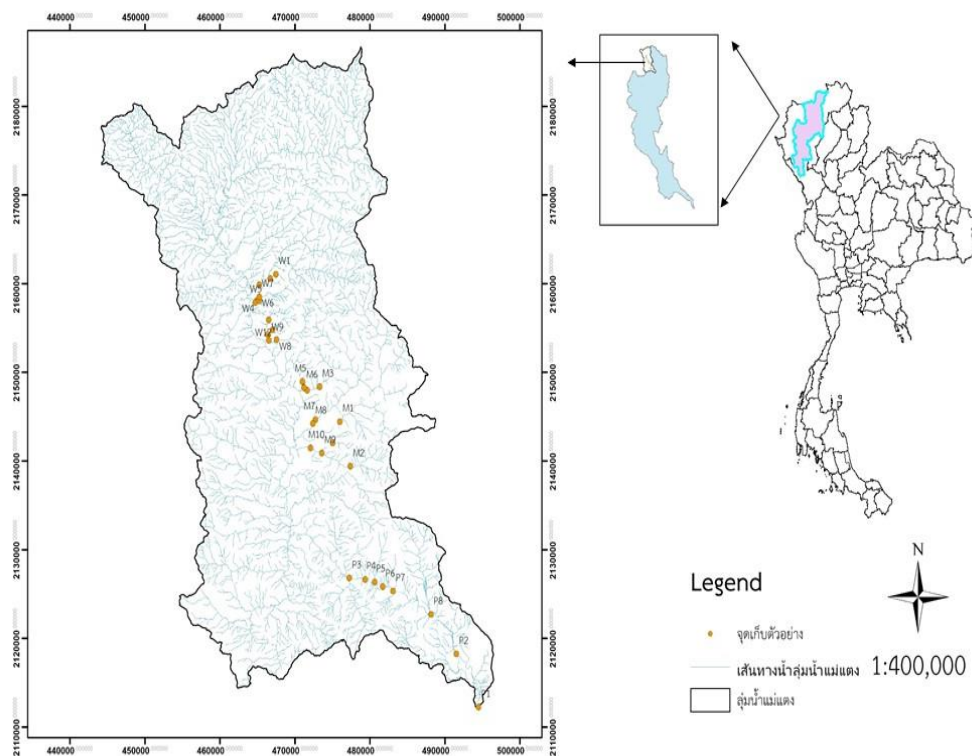


Figure 1. Map of Maetang River, Chiang Mai province.

2.3 Development the fish index

We applied metrics of running water by based on literature (Karr et al., 1986; Lyons, 2006; Zhu & Chang, 2008; Suvarnaraksha et al., 2012; Wu et al., 2014; Li et al., 2015; Vile & Henning, 2018 and Zogaris et al., 2018)

In the studies of Karr (Karr, 1981; Karr et al., 1986; Li et al., 2015) the scores were classified into 6 grades indicating “Excellent” to “No fish” from high score to low score when the score values range from 0 to 60. In this case, the underlying ideas of the hypothetical reference score method (Chen et al., 2020; HaRa et al., 2019; Sapounidis et al., 2017; Van Oosterhout & Van Der Velde, 2015; Wu et al., 2014; Zogaris et al., 2018) are used.

RESULTS

3.1 Fish assemblages

A total of 51 fish species under 16 families were recorded from 31 stations of the Maetang River. The characteristics of assemblages of Maetang River had been described including fish status, habitats, trophic guilds, and altitude distribution appearance in investigations, based on the data provided from (Suvarnaraksha, 2003). The classified fish for evaluation are given in Table 1; family Cyprinidae dominated in the river, and most of them are native species while there are only four alien species (Table 1). The trophic composition was dominated by the insectivores (34 species), the omnivores (9 species), and the carnivores (8 species), respectively. The altitude distribution was dominated by piedmont species (31 species), lowland species (9 species), mountain species (6 species), and transitory species (5 species), respectively. The habitat composition was dominated by the bottom (29 species), water column (14 species), and pelagic (8 species), respectively. The last group is fish health, the intolerant species (33 species), tolerant species (18 species), and fish health (dependent on the area).

3.2 Developing the running water IBI's

Finally, 18 metrics were selected according to these seven attributes combined with the practical circumstance of the Maetang River. The total number of fish species reflects the biodiversity of the river (Karr, 1981). Generally, the smaller number of fish species, the more destructed habitat it is. The habit composition in the water body reflects the ecological health degree of the habitat (Li et al., 2015). Tolerance and intolerance groups reflect species sensitivity (Pont et al., 2006), intolerant species are those that first decline with environmental degradation (Oberdorff et al., 2002) while the percentage of tolerant fish species would increase (Lyons, 2012; Schleiger, 2000). Carnivorous and insectivorous will tend to decrease in response to an alteration of their habitat (HaRa et al., 2019). In contrast, a metric based on omnivorous species will tend to increase in response to disturbance as omnivorous species can adapt their trophic regime in response to an alteration of river food webs (Pont et al., 2006). Alien species was intended to reflect the number of alien species established as well as the proportional abundance of alien individuals concerning native fish (Aparicio et al., 2011). The classification of four fish assemblages from the headwater to the

lowland river reaches is important, in explaining variation in fish community structure along the longitudinal gradient of a large, tropical river (Suvarnaraksha et al., 2012).

Table 1. Classification of fish assemblages encountered during the study in terms of origin (Na= Native species and Al = Alien species), trophic group (ON= omnivores, IN= insectivores, and CA= carnivores), tolerance (IT=intolerant species, TO=tolerant species), Ad; altitude distribution (MT= mountainous species, PM=piedmont species, TS= transitory species, LL= lowland species) and habitat (PG = pelagic species. WC= water column species. BT= bottom species).

No.	Family/ Species	Origin	Trophic group	Tolerance	Habitat	Ad.	IUCN
1	<i>Barilius pulchellus</i>	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	PG ³	PM	LC
2	<i>Danio albolineatus</i>	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	TO ⁷	PG ³	MT	LC
3	<i>Devario maetaengensis</i>	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	TO ⁷	PG ³	MT	LC
4	<i>Esomus metallicus</i>	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁷	PG ³	LL	LC
5	<i>Rasbora myersi</i>	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁷	PG ³	PM	LC
6	<i>Rasbora paviana</i>	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁷	PG ³	TS	LC
7	<i>Bangana sinkleri</i>	Na ⁷	IN ²	IT	BT ³	PM	DD
8	<i>Discherodontus schroederi</i>	Na ⁷	IN ^{1,2}	IT ⁷	WC ⁷	PM	LC
9	<i>Ceratogarra cambodgiensis</i>	Na ⁷	ON ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	PM	LC
10	<i>Garra fuliginosa</i>	Na ⁷	ON ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	PM	LC
11	<i>Mystacoleucus obtusirostris</i>	Na ⁷	IN ^{2,3}	TO ^{3,6}	WC ³	TS	LC
12	<i>Neolissochilus stracheyi</i>	Na ⁷	ON ^{1,2}	IT ⁶	WC ³	PM	LC
13	<i>Onychostoma gerlachi</i>	Na	ON	IT ⁶	WC	PM	NT
14	<i>Poropuntius bantamensis</i>	Na	ON	IT ⁶	WC	PM	LC
15	<i>Pethia stoliczkan</i>	Na ⁷	IN ²	IT ⁷	WC ³	PM	LC
16	<i>Puntius brevis</i>	Na ⁷	IN ^{1,2,5}	IT ⁷	WC ^{3,5}	TS	LC
17	<i>Scaphiodonichthys acanthopterus</i>	Na ⁷	IN ³	IT ²	BT	PM	LC
18	<i>Systemus rubripinnis</i>	Na ⁷	IN ^{1,2,5}	IT ⁵	WC ^{3,5}	TS	DD
19	<i>Tor tambroides</i>	Na ⁷	ON ^{1,2}	IT ⁶	WC	PM	DD
20	<i>Gyrinocheilus aymonieri</i>	Na ⁷	IN ³	TO ⁷	BT ³	PM	LC
21	<i>Aperioptus gracilentus</i>	Na ⁷	IN ³	IT ⁷	BT ³	PM	LC
22	<i>Lepidocephalichthys berdmorei</i>	Na ⁷	IN ^{2,3}	TO ²	BT ³	PM	LC
23	<i>Lepidocephalichthys hasselti</i>	Na ⁷	IN ^{2,3}	TO ²	BT ³	PM	LC
24	<i>Balitora Brucei</i>	Na ⁷	IN ³	IT ³	BT ³	PM	NT
25	<i>Homalopteroides smithi</i>	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT	PM	LC
26	<i>Pseudohomaloptera leonardi</i>	Na	IN*	IT	BT	PM	LC
27	<i>Schistura breviceps</i>	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ^{3,6}	PM	DD
28	<i>Schistura bucculenta</i>	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	PM	LC
29	<i>Schistura geisleri</i>	Na ⁷	IN ³	IT ⁶	BT ³	PM	LC
30	<i>Schistura menanensis</i>	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	PM	DD
31	<i>Schistura mahnerti</i>	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	PM	LC
32	<i>Schistura obeini</i>	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	PM	LC

33	<i>Schistura poculi</i>	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	PM	LC
34	<i>Schistura spilota</i>	Na ⁷	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	PM	DD
35	<i>Schistura waltoni</i>	Na ⁷	IN ^{2,3}	IT ⁶	BT ³	PM	DD
36	<i>Pterygoplichthys disjunctivus</i>	Al ^{2,3}	ON ³	TO ⁷	BT ³	LL	-
37	<i>Amblyceps foratum</i>	Na ⁷	CA ^{3,3}	IT ⁷	BT ³	MT	LC
38	<i>Oreoglanis siamensis</i>	Na ⁷	IN ³	IT ⁶	BT ³	MT	EN
39	<i>Glyptothorax trilineatus</i>	Na ⁷	CA ^{1,2,3}	IT ²	BT ³	MT	LC
40	<i>Glyptothorax lampris</i>	Na ⁷	CA ^{1,2,3}	IT ²	BT ³	MT	LC
41	<i>Clarias batrachus</i>	Na ⁷	CA ^{1,2,3,5}	TO ⁵	BT ³	PM	LC
42	<i>Clarias hybrid</i>	Al ^{2,5}	CA ^{1,2}	TO ⁷	BT	LL	-
43	<i>Oreochromis niloticus</i>	Al ^{1,2,3,5}	ON ^{1,2}	TO ⁵	WC ⁵	LL	LC
44	<i>Gambusia affinis</i>	Al ³	ON ³	TO ⁷	PG ³	PM	LC
45	<i>Monopterus albus</i>	Na ⁷	IN ^{2,3}	TO ^{2,3}	BT	LL	LC
46	<i>Mastacembelus tinwini</i>	Na ⁷	IN ^{1,2,5}	TO ⁵	BT	TS	LC
47	<i>Anabas testudineus</i>	Na ⁷	CA ^{1,2,3}	TO ⁵	WC ⁵	LL	DD
48	<i>Trichopsis vittata</i>	Na ⁷	IN ^{1,2}	TO ⁷	PG ⁷	LL	LC
49	<i>Trichopodus trichopterus</i>	Na ⁷	IN ^{1,2,3,5}	TO ⁵	WC ^{3,5}	LL	LC
50	<i>Channa gachua</i>	Na ⁷	CA ^{1,2,3}	TO ²	WC ³	PM	LC
51	<i>Channa striata</i>	Na ⁷	CA ^{1,2,3}	TO ⁵	WC ³	LL	LC

Note: The number in exponent corresponds to the following reference; 1. Suvarnaksha (2003); 2. Suvarnaksha (2011); 3. Suvarnaksha (2017); 4. Vidhayanon (2017); 5. Rayan and Ngamsnae (2014); 6. IUCN red list (2020) and 7. Information from expert

3.3 Fish-IBI metric for the Maetang River

We designed from separate assemblage metrics in the main two categories based on biological parameters and environmental parameters. The biological parameters consist of 3 parts i.e. 1) species diversity (M1-M3); 2) fish status (M4-M5); and 3) trophic composition (M6-M8). The environmental parameters consist of 4 groups i.e. 1) altitude distribution (M9-M12); 2) habitat composition (M13-M15); 3) tolerance (M16-M17), and 4) fish health (M18). The new metrics are altitude distribution classified based on Suvarnaksha (2012). The lowland species (M9) mean the fishes are inhibited in a larger watershed close to agricultural and urban areas, which have high phosphorus loadings such as *Trichopodus trichopterus* and *Trichopsis vittata*. The transitory species (M10) mean the fishes in assemblages live in the lower portion of the river course, where the river width and depth were more than the previous two assemblages such as *Mystacoleucus obtusirostris*, and *Systemus rubripinnis*. The piedmont species (M11) mean species inhabiting the lower altitude area mountainous species such as *Barilius pulchellus* and *Discherodontus schroederi*. The mountainous species (M12) mean species inhabiting the small stream in high altitude area with low temperature, high water current velocity, and non-polluted, which concludes *Oreoglanis siamensis* and *Glyptothorax trilineatus*. For example, the Siamese bat catfish (*O. siamensis*) was a high level of dissolved oxygen and well adapted to special habitat (Suvarnaksha et al., 2012).

Table 2 Metric Score for Maetang River

Metric	Scoring					Results	Score
	5	4	3	2	1		
No. of. Species richness	>19	12-19	9-11	5-8	>5	20.00	5
Diversity index	>2.26	2.00-2.26	1.48-1.99	1.18-1.47	>1.18	2.54	5
Dominant index	>0.56	0.39-0.56	0.25-0.38	0.12-0.24	>0.12	0.15	2

%Native species	>40.43	27.13-40.43	18.26-27.12	9.04-18.25	>9.04	20.00	3
Alien species	<1	1-2	3	4	>4	0	5
% Omnivores	<11.11	11.11-17.27	17.28-22.21	22.22-44.44	>44.44	83.33	1
% Insectivores	>38.24	27.21-38.24	19.20-27.20	8.82-19.19	>8.82	56	5
% Carnivores	>25.00	12.50-25.00	6.25-10.49	3.13-6.24	>3.13	16.67	4
% Lowland species	<10.33	10.34-17.81	17.82-23.91	23.92-36.96	>36.96	57.58	1
% Transitory species	<13.19	13.19-23.77	23.78-31.25	31.26-52.78	>52.78	36.36	1
% Piedmont species	>85.00	50.00-85.00	40.28-49.99	20.14-40.27	>20.14	50	3
% Mountainous species	>85.00	50.00-85.00	40.28-49.99	20.14-40.27	>20.14	50	3
% Pelagic	>37.50	25.00-37.50	17.36-24.99	12.50-17.35	>12.50	100	5
% Water column	<7.14	7.14-16.47	16.48-28.57	28.58-42.86	>42.86	55	1
% Bottom	>41.38	22.41-41.38	16.86-22.40	10.34-16.85	>10.34	43	4
% of intolerant species	>48.48	30.30-48.48	21.55-30.29	11.36-21.54	>11.36	32	3
% Tolerant species	<4.17	4.17-8.17	8.18-11.10	11.11-27.78	>27.78	55.56	1
Number of disease health	<1	1-2	3	4	>4	5	1
IBI score							53

The scoring criteria were developed for each of the 18 metrics and the sum of the metrics scores restricted to the range of 18 (worst) to 90 (best), which was the overall IBI score. Scoring criteria were established for the remaining metrics. For each metric, threshold values between "good" and "fair" values and between "fair" and "poor" values were defined based on the 75th and 25th percentile values for the least- and strongly impacted groups (Lyons, 2012). The classification of biological integrity and their attributes corresponding to F-IBI scores based on the sum ratings is obtained as shown in Table 3.

Table 3. The F-IBI class boundaries and description adjusted according to the Maetang river fish characteristics

F-IBI value	Characteristics	Integrity classes
73-90	Comparable to the best situations without influence or no human activity.	Excellent
55-72	Largely natural with few modifications. A change in community characteristics may have taken place but species richness and presence of intolerant species indicate little modification.	Good
37-54	Moderately modified. A lower than expected species richness and presence of most intolerant species.	Fair
19-36	Largely modified. Dominated by omnivores and lowered presence of intolerant and moderately intolerant species also habitat generalists and condition factors commonly depressed	Poor
≤18	Seriously modified. A strikingly lower than expected species richness and the general absence of intolerant, mostly introduced, or very tolerant forms. Impairment of health may become very evident.	Very poor

3.4 Fish IBI evaluation

Five F- IBI index systems were established for the Maetangriverand the scoring method was introduced above. The IBI values were 5 3scores (Tables 2). And they can be evaluated as ‘‘fair’’.

DISCUSSION

The fish index developed here consists of 18 metrics, which are the new metrics for Thailand. It delineates the differences in biotic integrity among different sites. Although the Fish IBI was developed to assess lake (Rayan&Ngamsnae, 2014), no information for assessing rivers is reported. Thus, the metric for assessing a river case study of the Maetang River is a new model for assessing the rivers in Thailand.

Species diversity and fish status were assessed using 5 metrics designed to monitor overall fish diversity and habitat-specific fish assemblages. The Metric 1-3 (M1-M3) adapted by (Vile & Henning, 2018; Wu et al., 2014; Zogaris et al., 2018) was not used previously in developing fish indices in Thailand. Additionally, we applied each of the 2 metrics to support the part of diversity, which is M4-M5 adapted (Lyons, 2006) and (Zhu & Chang, 2008). In contrast (Rayan&Ngamsnae, 2014) created this group including numbers of native species and benthic species. The native species are important as they increase their numbers can reflect natural abundance. For

example, the *D. maetaengensis* is a native species inhabiting endemic to Maetangriver, and also the *O. siamensis* is a red list vulnerable benthic species inhabiting endemic to Inthanon Mountain. The fish have to well adapt to the special habitats with flatten belly, adhesive maxillary barbel and pair fins, streamline body shape, and aerodynamic dorsal part. They are also feeding on the small invertebrates and aquatic insect larva on the rock (Suvarnaraksha, 2011).

Trophic composition metrics evaluate integrity associated with functional (food chain) conditions, which are reflected in the structural changes in trophic composition (Karr et al., 1986). In the studies, three of the original metrics (M6-M8) were adapted (Wu et al., 2014) similar (Zhu & Chang, 2008; Raburu&Masese, 2012 and Pont et al., 2006). We choose omnivores because they tolerate poor conditions. Top carnivorous adults eat other predominant fishes or large invertebrates for assessing loss of trophic diversity and keystone species (Zhu & Chang, 2008). Altitude distribution (M9-M12) is the new metric in Thailand. They are used to explain variation in fish community structure along a river gradient in the large-scale whole basin (Suvarnaraksha et al., 2012). Habitat composition, two of the original metrics (M14-M15) adapted (Zogaris et al., 2018). The new metric is the percentage of water pelagic species for this area and is applied (Wu et al., 2014). It identifies some species living on the surface and feed on surface insect and an active swimmer.

Tolerant, abundance, and condition are divided into 3 metrics (M16-M18). We adapted (M16-M18) followed (Van Oosterhout& Van Der Velde, 2015) which usually has been in another country (Jia et al., 2013; Raburu&Masese, 2012). Some countries used only the % of tolerance individuals (Zhu & Chang, 2008). The number of metrics of disease health or anomalies (M18) depicts the health and condition of individual fish.

This study was defined based on the 75th and 25th percentile values for the least- and strongly impacted groups (Lyons, 2012), different from (Jia et al., 2013). The sites with the observation values falling within 25-75% quartiles were scored ‘‘3’’, scoring rang 18-90, similar to (Li et al., 2015). The Maetangriver had scores as 53, which is a fair level. Similar in Nong Han wetland to scoring 38 (Rayan&Ngamsnae, 2014) which ranked as fair level. The results are different depending on the areas and human activities in the past to the present. Any human activity that disturbs the pool-rifle structure, such as

changes to the flow regime, increases in sediment load, and makes an anoxic condition would affect this assemblage (Suvarnaraksha et al., 2012).

Acknowledgements

T. Pholdee is grateful to the Royal Golden Jubilee Program of the Thailand Research Fund for supporting her Ph.D. study (Grant PHD/0132/2558). The Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University was also very helpful in providing laboratory facilities. Much thank A. Suvarnaraksha for help with species-metric allocations and with data extraction.

7. Reference

- Aparicio, E., G. Carmona-Catot, P. B. Moyle, and E. García-Berthou. 2011. Development and evaluation of a fish-based index to assess biological integrity of Mediterranean streams. In *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*. Vol.21, Issue 4: 324-337.
- Capmourteres, V., N. Rooney, and M. Anand. 2018. Assessing the causal relationships of ecological integrity: a re-evaluation of Karr's iconic Index of Biotic Integrity. *Ecosphere*, 9(3), e02168.
- Chen, K., Y. Jia, X. Xiong, H. Sun, R. Zhu, and Y. Chen, 2020. Integration of taxonomic distinctness indices into the assessment of headwater streams with a high-altitude gradient and low species richness along the upper Han River, China. *Ecological Indicators*, 112(October 2019), 106106.
- Froese, R., and D. Pauly. 2019. Froese, R. and D. Pauly.2019. FishBase. World Wide Web electronic publication. Available: [http:// www.fishbase.se/summary/Barilius-pulchellus.html](http://www.fishbase.se/summary/Barilius-pulchellus.html). Accessed Sep.15,2019.
- HaRa, J., M. Mamun, and K. G. An. 2019. Ecological river health assessments using chemical parameter model and the index of biological integrity model. *Water (Switzerland)*, 11(8).
- IUCN. 2020. Assessment approaches for estimating biological integrity using fish assemblages. Available: [http:// www.iucnredlist.org/species/15459/4587978](http://www.iucnredlist.org/species/15459/4587978). Accessed Sep.15,2019.
- Jia, Y., X. Sui, and Y. Chen, 2013. Development of a fish-based index of biotic

- integrity for wadeable streams in Southern China. *Environmental Management*, 52(4): 995-1008.
- Karr, J. R. 1981. Assessment of Biotic Integrity Using Fish Communities. *Fisheries*, 6(6): 21-27.
- Karr, J. R., K. D. Fausch, P. L. Angermeier, P. R. Yant, and I. J. Schlosser. 1986. Assessing biological integrity in running waters. A method and its rationale. In *Illinois Natural History Survey Special Publication (Vol. 5, Issue September: 1-28)*.
- Li, T., X. Huang, X. Jiang, and X. Wang. 2015. Assessment of ecosystem health of the Yellow River with fish index of biotic integrity. *Hydrobiologia*, 814(1): 31-43.
- Lyons, J. 2006. A fish-based index of biotic integrity to assess intermittent headwater streams in Wisconsin, USA. *Environmental Monitoring and Assessment*, 122(1-3): 239-258.
- Lyons, J. 2012. Development and validation of two fish-based indices of biotic integrity for assessing perennial coolwater streams in Wisconsin, USA. *Ecological Indicators*, 23: 402-412.
- Oberdorff, T., D. Pont, B. Hugueny, and J. P. Porcher. 2002. Development and validation of a fish-based index for the assessment of "river health" in France. *Freshwater Biology*, 47(9): 1720-1734.
- Pont, D., B. Hugueny, U. Beier, D. Goffaux, A. Melcher, R. Noble, C. Rogers, N. Roset, and S. Schmutz. 2006. Assessing river biotic condition at a continental scale: A European approach using functional metrics and fish assemblages. *Journal of Applied Ecology*, 43(1): 70-80.
- Raburu, P. O., and F. O. Masese. 2012. Development of a fish-based index of biotic integrity (FIBI) For monitoring riverine ecosystems in the lake victoria drainage basin, Kenya. *River Research and Applications*, 38(July 2010): 23-38.
- Rayan, S., and P. Ngamsnae. 2014. Application of Fish Index of Biotic Integrity (Fish-IBI) for Quality Evaluation of Nong Han Wetland. *Burapha Science Journal*, 23(2): 928-943.
- Riecki, L. O., L. O. Riecki, and S. M. P. Sullivan, 2020. Coupled fish-hydrogeomorphic responses to urbanization in streams of Columbus, Ohio, USA. *PLoS ONE*, 15(6): 1-29.

- Sapounidis, A. S., E. T. Koutrakis, and I. D. Leonardos, 2017. Ecohydrology & Hydrobiology Fish-based River Integrity Index: A first attempt in developing a water quality index for the assessment of the Greek rivers. *Ecohydrology and Hydrobiology*, 9: 620-628.
- Schleiger, S. L. (2000). Use of an Index of Biotic Integrity to Detect Effects of Land Uses on Stream Fish Communities in West-Central Georgia. *Transactions of the American Fisheries Society*, 129(5): 1118-1133.
- So, N., K. Utsugi, K. Shibukawa, P. Thach, S. Chhuoy, S. Kim, D. Chin, P. Nen, and P. Chheng, 2018. Fishes of Cambodian Freshwater Boded. Inland Fisheries Research and Development Institute, Fisheries Administration.
- Suvarnaraksha, A. 2003. Fish Diversity of Chiang Dao Wild Life and Sanctuary.
- Suvarnaraksha, A. 2011. Biology of two keystone fish species and fish assemblage patterns and modeling approaches in tropical river basin: Case study of Ping River Basin, Thailand. Ph.D. Thesis. Ubon Ratchathani University, Ubon Ratchathani.
- Suvarnaraksha, A., S. Lek, S. Lek-Ang, and T. Jutagate, 2012. Fish diversity and assemblage patterns along the longitudinal gradient of a tropical river in the Indo-Burma hotspot region (Ping-Wang River Basin, Thailand). *Hydrobiologia*, 694(1): 153-169.
- Suvarnaraksha, A. 2017. Fish of the Ping basin (2nd ed.). The Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University.
- Suvarnaraksha, A. 2018. Ichthyology (2nd ed.). The Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University.
- Van Oosterhout, M. P., and G. Van Der Velde. 2015. An advanced Index of Biotic Integrity for use in tropical shallow lowland streams in Costa Rica: Fish assemblages as indicators of stream ecosystem health. *Ecological Indicators*, 48: 687-698.
- Vidthayanon, C., J. Karnasuta, and J. Nabhitabhata, 1997. Diversity of Freshwater Fish in Thailand. Office of Environmental Policy and Planning.
- Vidthayanon, C. 2017. Checklist of freshwater fish in Thailand. Office of Natural Resources and Environmental Policy and Planning.
- Vile, J. S., & B. F. Henning. 2018. Development of indices of biotic integrity for high-gradient wadeable rivers and headwater streams in New Jersey. *Ecological*

Indicators, 90(March): 469-484.

Wu, W., Z. Xu, X. Yin, and D. Zuo. 2014. Assessment of ecosystem health based on fish assemblages in the Wei River basin, China. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186(6): 3701-3716.

Zhu, D., and J. Chang, 2008. Annual variations of biotic integrity in the upper Yangtze River using an adapted index of biotic integrity (IBI). *Ecological Indicators*, 8(5): 564-572.

Zogaris, S., V. Tachos, A. N. Economou, Y. Chatzinikolaou, N. Koutsikos, and S. Schmutz. 2018. A model-based fish bioassessment index for Eastern Mediterranean rivers: Application in a biogeographically diverse area. *Science of the Total Environment*, 622- 623: 676-689.



P3

Using Environmental DNA to estimate the fish diversity in the reservoir, case study Maengud Somboonchon Reservoir, Chiangmai, Thailand.

Thapanee Pholdee^a and Apinun Suvarnaraksha^a

^a Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai, Thailand

Abstract

Environmental DNA (eDNA) can be used to assess fish biodiversity in aquatic systems. In this study, we collected three biological replicates of small volume water samples (2 L) of the 9 stations. We amplified fish DNA using a universal primer set. We obtained 118,939 high-quality Illumina sequence reads from the environmental samples. We showed a relative abundance of indicative OTUs data that can be used to predict the fish distribution status. The eDNA survey identified 20 species at the study sites. The use of eDNA monitoring is the first being adopted in Thailand for ecological surveys. Knowledge of species distribution is critical to ecological management and conservation biology.

Key word: DNA barcoding, ecosystem management, next-generation sequencing, PRC, fish diversity, monitoring, water sampling.

1. Introduction

The assessment of biodiversity is necessary for several disciplines such as conservation biology and ecology (Margurran, 2004). However, several species are difficult to detect, especially during particular time periods, potentially biasing study outcomes (Ficetola et al., 2008). The extraction of DNA from an environmental sample used to obtain DNA water or soil samples. Stressors such as overfishing, travel business, pollution, and changes in surface temperature can cause loss of biodiversity and shifts in species distributions within freshwater environments. The environmental DNA (eDNA) method is a detection technique that is rapidly gaining credibility as a sensitive tool

useful in the surveillance and monitoring of invasive and threatened species (Hinlo et al., 2017). The efficiency of eDNA has a highly sensitive detection capability and increasingly appeared to be a promising non-invasive method for improving aquatic biomonitoring and the short DNA sequences may be present at high density in the environment, their potential for the study of present-day communities of macro-organisms (Ficetola et al., 2008; Lawson Handley, 2018; Li et al., 2018). eDNA captured on a filter from water samples can be PCR-amplified using either species-specific or “universal” primers (e.g. targeting the mitochondrial 12S rRNA gene, 16S rRNA gene, 18S rRNA gene) then sequenced using next-generation sequencing for freshwater biomonitoring is already being realized (Andruszkiewicz et al., 2017)

The present study uses eDNA metabarcoding to assess the distribution of fish species in the Maengud Somboonchon Reservoir, is a multi-purpose hydroelectric dam in the Mae Taeng District of Chiang Mai Province. It impounds the Mae Ngud River, a tributary of the Ping River. The irrigation area spreads over 20,000 Rai to the right and 10,000 to the left of the basin. Maengud Somboonchon Reservoir has contributed much to the well-being of local people in the irrigation area, where agriculture is the main source of income. In addition, also helps relief the problem of inundation around Mae Ping Basin. Moreover, it is a location for marine life farming; for example, fish, where local people can earn a second income through inland fisheries. In the past, the fish diversities included 68 species, in 12 families and the fishes compositions are cyprinids, catfishes, stream loaches and cobitid, respectively (Suvarnaraksha, 2003). The rate of species extinction is higher today than it was in past and the introduction of invasive species has changed the structure and function of ecosystems (Andruszkiewicz et al., 2017). Knowledge of fish abundance and distributions are important to the community structure of the ecosystem, while the methods using electricity and nets, in some cases can be harmful to species or habitats. New data collection methods are needed to better understand changes in organismal abundance, biodiversity, and community structure over shorter time scales. Thus, the eDNA metabarcoding studies for investigating the distribution of fish species are the new method for Thailand, therefore, the main purposes of our study are to survey the

distribution of fish using eDNA data, which also indicates the potential of the method for use in future fish assessments.

2. Methods

2.1 Study area and eDNA sampling

The Mae Ngad Somboonchon reservoir is a small artificial reservoir of upper Ping river in Chiangmai province (19° 15'.18 N, 099° 03.35 E to 19° 15.25N, 099° 17.43E) (Suvarnaksha, 2011). It was of earth-fill type, constructed during the time from 1977 to 1984 on the Mae Ngad River (Thapanya et al., 2015). It was dammed across a first order stream, the Mae Ngad, for multiple purposes such as hydroelectric power and irrigation. Its elevation ranges from 336 to 425 m ASL with a catchment area of 1,309 km². The dam is 59 m high and 1,950 m long, and the reservoir covers the area of 16 square km. The mean water depth of the reservoir area is 30 m and there are various bottom types (i. e. rock, gravel, sand, silt and mud) along the stream gradient. Meanwhile, the depth of the tributary streams, connected to the reservoir, ranges between 0.25-2.0 m (Suvarnaksha, 2004, 2011)

Nine sites were sampled from the Mae Ngad Somboonchon reservoir on November 2018. We collected water samples by a boat in 3 sites at reservoir (Ping 2.1, Ping 2.2 and Ping 2.3), where in center of reservoir, were carefully collected toward the upstream sites from the downstream sites for protected mixing of ambient water at 3 sampling site by movement of the boat (Li et al., 2018). In 3 site, these sites are located in tributaries of the head water of reservoir (Ping 1.1-1.3), that mean important for agriculture. The last group site, where are the tributaries of Ping river (Ping 3.1-3.3), therefore the last group is near village, urban and more activity form human more another site. At the midpoint of each survey, collected a 3-L water sample at 1 m above the bottom for eDNA using sterile bottles (Thermo Fisher Scientific, U.S.A.) (Rees et al., 2014) and immediately transferred on ice (Li et al., 2018). Collection bottles were closed underwater once full and not opened again until in the laboratory for water filtration (Port et al., 2016). The collected water samples were immediately taken to the laboratory and filtration of collection onto 47-mm diameter glass-fibre filters (nominal pore size, 0.7 µm; Whatman, Maidstone, UK). After the filtration, used

decontaminated forceps, fold filter paper in one-half four times and stored at -20°C before eDNA extraction (Ushio et al., 2018).

Table 1 Description of the sampling in the Mae Ngad Somboonchon reservoir.

Station	Site name	Site code.	Coordinates	Elevation (m a.s.l.)	Description of substrates
1	Maepaeng	Ping 1.1	19°14'1.13"N 99° 8'42.69"E	435	S,G
2	Maesoon	Ping 1.2	19°11'30.31"N 99°10'19.21"E	419	S,G
3	Maecord	Ping 1.3	19° 9'28.73"N 99° 9'54.42"E	420	S,G
4	In reservoir 1	Ping 2.1	19° 10'53.94"N 99° 5'6.32"E	393	S,M
5	In reservoir 2	Ping 2.2	19° 9'57.84"N 99° 5'28.00"E	402	S,M
6	In reservoir 3	Ping 2.3	19° 9'32.40"N 99° 4'6.99"E	400	S,M
7	Bridge	Ping 3.1	19°09'22.9"N 99°01'52.0"E	346	M
8	Riversidehomestay	Ping 3.2	19°09'09.5"N 99°01'02.2"E	346	M
9	Cholae	Ping 3.3	19°08'50.0"N 99°00'29.2"E	343	M

2.2 DNA extraction and PCR amplification

We extracted DNA from each filter using DNeasy blood and tissue kit (Qiagen, Hilden, Germany), for which we followed the manufacturer's protocol. The 12S rRNA gene was amplified by PCR using genomic DNA as a template with primers 12S (5'-ACTGGGATTAGATACCCC-3' and 5'-TAGAACAGGCTCCTCTAG-3') (Miya et al., 2015), amplifying a ca. 160-185 bp gene fragment. PCR reactions were carried out using 1 μL DNA extract (1:10 dilutions), 5 μL HotStarTaq Plus Master Mix (Qiagen, USA), 1 μL of each primer (1 μL) and 2 μL molecular-biology-grade water (Sigma-Aldrich, USA). The PCR was done in a MODEL 2700 or 9700 thermal cycler (Perkin-Elmer). Thermal conditions for PCR were 94 $^{\circ}\text{C}$ for 30 seconds followed by 35 cycles of 94 $^{\circ}\text{C}$ for 35 s, 45 $^{\circ}\text{C}$ for 35 s and 68 $^{\circ}\text{C}$ for 35 s and storage at 4 $^{\circ}\text{C}$. The amplified DNA was fractionated by electrophoresis in 1 % low-melting-temperature agarose gel and stained with ethidium bromide for band characterization under ultraviolet trans-illumination.

2.3 DNA Sequencing and analysis

The full-length 12S rRNA gene was amplified using the universal primers 12S. The PCR reactions were carried out with Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix (New England Biolabs, Beverly, MA, United States). Then PCR products were separated by 2% (w/v) agarose gel electrophoresis and purified with the Qiagen Gel Extraction Kit (Qiagen, Germany). The sequenced libraries of bacterial were generated for high-throughput sequencing using TruSeq® DNA PCR-Free Sample Preparation Kit (Illumina, San Diego, CA, United States) following the manufacturer's recommendations and index codes were added. The library quality was assessed on the Qubit® 2.0 Fluorometer (Invitrogen, Thermo Scientific, CA, United States) and Agilent Bioanalyzer 2100 system (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, United States). Then, the library was sequenced on an Illumina HiSeq2500 platform (Illumina, San Diego, CA, United States) by Novogene Bioinformatics Technology Co., Ltd. (Beijing, China).



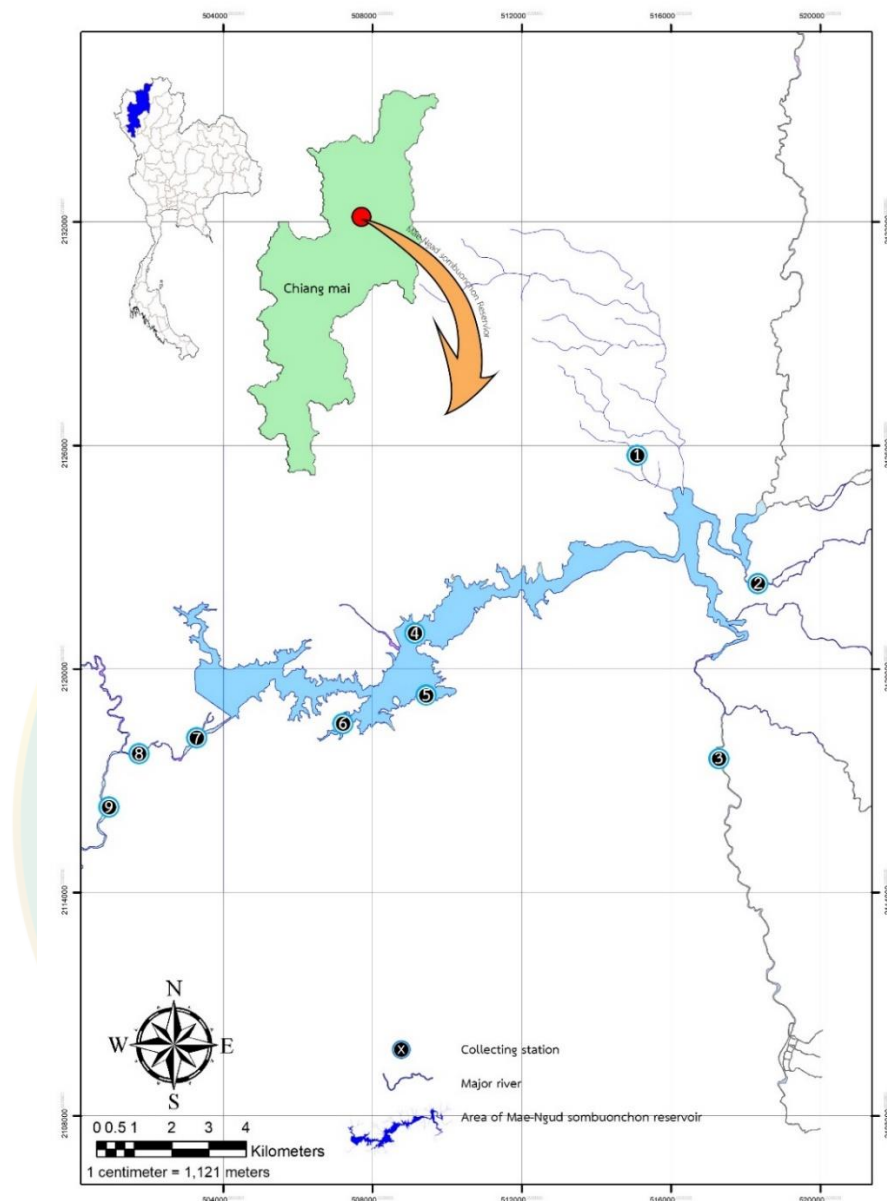


Fig 1. Map of locations sampled in this study. The numbers of the locations refer to 1) Maepaeng, 2) Maesoon, 3) Maecord, 4) In reservoir 1, 5) In reservoir 2, 6) In reservoir 3, 7) Bridge, 8) Riversidehomestay, 9) Cholae. The location detail is provided in Table 1. Map was created in the ArcGIS version 10.1 and modified in Microsoft Office.

2.4 Bioinformatic and statistical analyses

Quality filtering on the raw tags were performed under specific filtering conditions to obtain the high-quality clean tags (Bokulich et al., 2013) according to the QIIME(V1.7.0) (Caporaso et al., 2010) quality controlled process. Then, Paired-end reads

was assigned to samples based on their unique barcode and truncated by cutting off the barcode and primer sequence. Paired-end reads were merged using FLASH (V1.2.7) (Magoč & Salzberg SL, 2011). The tags were clustered into OTUs (operational taxonomic units) by using USEARCH algorithm (Version 7.0.1001) (Edgar et al., 2011) with were compared with the reference database (Gold database) using UCHIME algorithm (Edgar et al., 2011) to detect chimera sequences, and then the chimera sequences were removed (Haas et al., 2011). The taxonomic assignment of OTU sequences was mapped to the NT database downloaded from the National Center for Biotechnology Information (NCBI) GenBank database by using the Blastn tool with $\geq 97\%$ similarity were assigned to the same OTUs. OTUs abundance information were normalized using a standard of sequence number corresponding to the sample with the least sequences. The relative abundances of species were calculated from the OTU abundance table for each taxonomic rank and the species count table.

Results

The fish species diversity of Mae Ngad Somboonchon reservoir in reservoir, Low Reservoir and Tributary were found 150-370 tags (mean 294.33), 138-325 tags (mean 256) 168-191 tags (mean 181.67) Operation Taxonomic Units (OTUs) respectively. OTUs belonging to 2 groups included of Cypriniformes and Siluriformes (Fig 2) . The Cypriniformes (5.571%) were found Cobitidae and Cyprinidae. The Cobitidae we found only 1 genus is *Pangio* (0.082%) and Cyprinidae include 3 genus viz., *Cyprinus* (3.15%), *Hampala* (2.32%) and *Mystacoleucus* (0.004%). The Siluriformes (20.102%), we found genus Sisoridae (*Glytothorax*) (Fig 3)

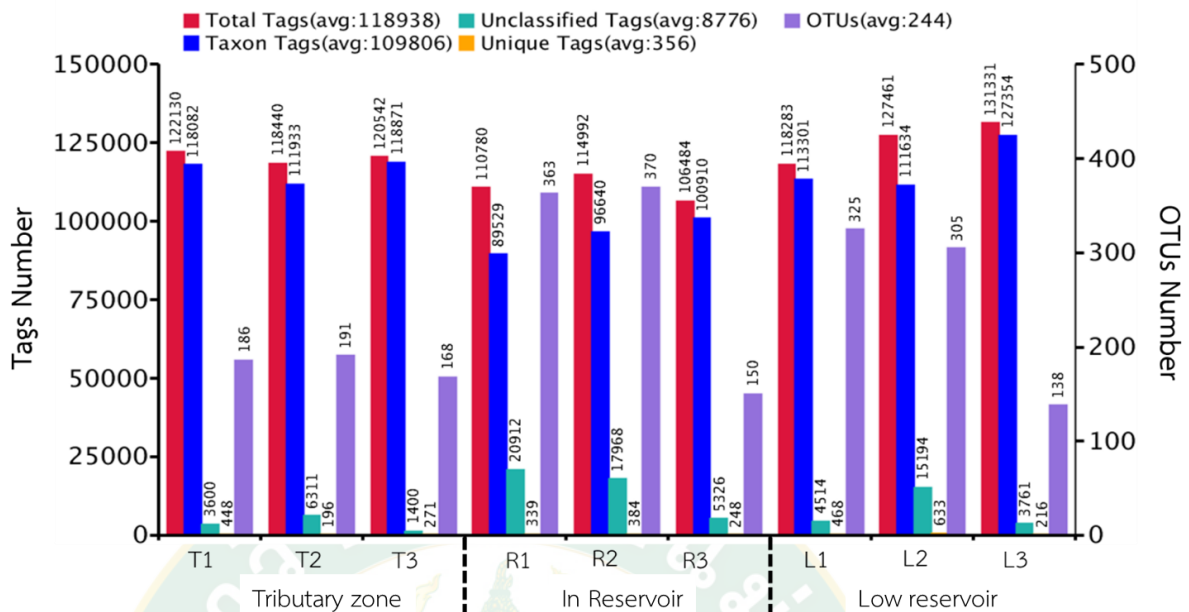


Fig 2. Statistic analysis of the tags and OTUs number of each samples

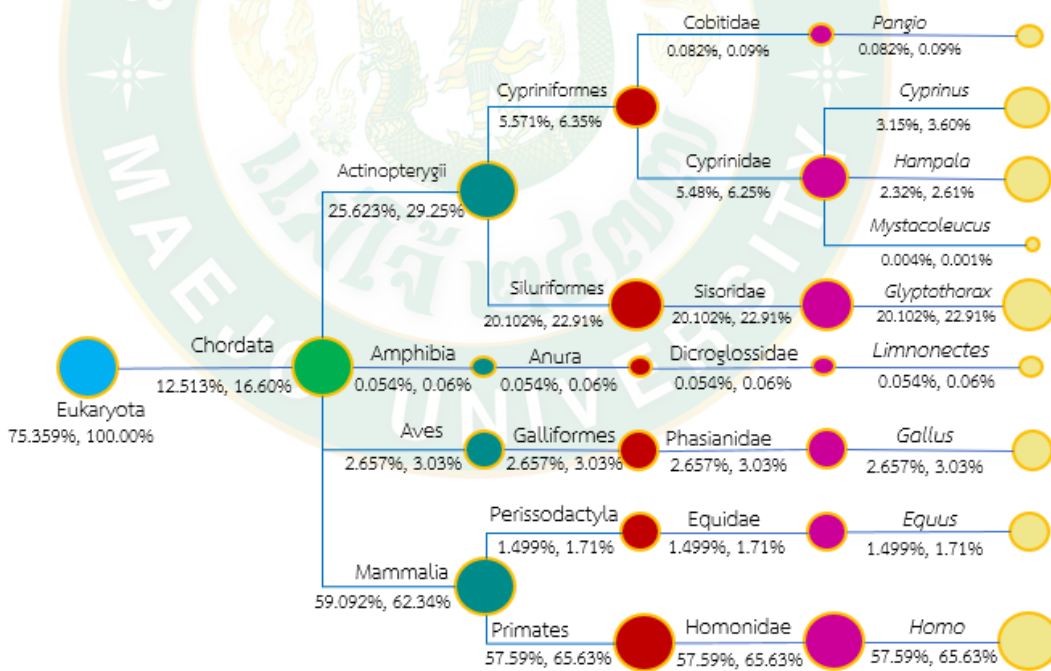


Fig 3. Taxonomy tree in groups

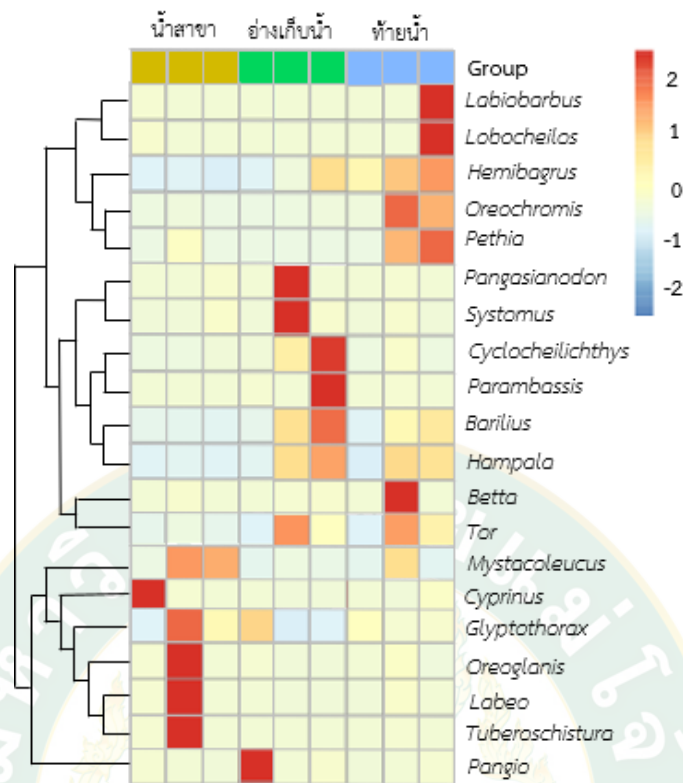


Fig 4. The abundance distribution of fish species in different sampling site.

The heat map (Fig 4) shows abundance distribution of the dominant 20 genera among all samples from 3 zone viz. , *Labiobarbus*, *Lobocheilos*, *Hemibagrus*, *Oreochromis*, *Pethia*, *Pangasianodon*, *Systemus*, *Cyclocheilichthys*, *Parambassis*, *Barilius*, *Hampala*, *Betta*, *Tor*, *Myatacoleucus*, *Cyprinus*, *Glyptothorax*, *Oreoglanis*, *Labeo*, *Tuberoschistura* and *Pangio*.

Tributary zone, mean species inhabiting in small stream with gravel, rock and sand bottom. This location with agriculture i.e., longan field and vegetable garden. It was found that includes genus viz. , *Cyprinus*, *Glyptothorax*, *Oreoglanis*, *Labeo*, *Tuberoschistura* and *Myatacoleucus*. In Reservoir, mean species inhabiting in the river is wider and deeper. It was found that includes genus viz., *Pangasianodon*, *Systemus*, *Cyclocheilichthys*, *Parambassis*, *Pangio*, *Barilius*, *Tor*, *Hemibagrus*, *Glyptothorax* and *Hampala*. Low reservoir were the fishes in assemblages living in the lower portion of the river course and inhabit a larger watershed close to agricultural and urban areas,

with sand, mud and large river. It was found that includes genus viz., *Labiobarbus*, *Lobocheilos*, *Hemibragrus*, *Oreochromis*, *Pethia*, *Betta*, *Barilius*, *Hampala* and *Tor*.

Discussion

The past in 2004, fish diversity in Maengud Somboonchon reservoir was studied, using traditional methods, such as electrofishing and net fishing. The fish diversity include 68 species, including cyprinid, catfishes, stream loaches and cobits respectively (Suvarnaraksha, 2004). The present, these rivers are exposed to various sources of anthropogenic pollutants, such as the activity of human, tourism, overfishing, and agriculture filed, it made decrease of species of fish also other species in the ecosystem (Andruszkiewicz et al., 2017), which the fish diversity constitutes a key indicator in the present-day monitoring of aquatic ecosystem health, while we cannot catch all fish species in the short time. Therefore, we chose the application of eDNA metabarcoding, which is the new way to studies of fish diversity and can use monitor water pollution, in which the assess biodiversity is at the forefront of the available methods in the toolboxes of ecologists and conservation scientists (Zou et al., 2020) and the methods have overcome the limitations of conventional survey methods, substantially reducing the stress to captured fish and the disruption of habitats (Gillet et al., 2018; Zou et al., 2020).

We were able using a 7.0 μm filter for collected sample. In contrast, Takahara et al. (Takahara et al., 2012) use of the 0.3 μm filters, that able to process large sample volumes and obtain sufficient eDNA more using a 7.0 μm filter because of the 0.7-0.8 μm filters have to necessitated pre-filtration with a 12.0 μm filter to avoid clogging of the filter and was thus more labor-intensive (Takahara et al., 2012). (Li et al., 2018). Previously, Li et al. (Li et al., 2018) and Port et al. (Port et al., 2016) used a 0.22-mm filter to concentrate 10-L water samples collected from the river and seawater. However, the suspended solids in lentic environments such as lagoons and ponds are more than the river. The suspended solids or sediments will clog filters with small pore sizes (Takahara et al., 2012). We choose a 0.7 mm filter that was suitable for the collection of eDNA from a lentic environment, similar Ushio et al. (Ushio et al., 2018) and Zou et al. (Zou et al., 2020), using 0.7-0.8 mm filter, while Takahara et al. (Takahara

et al., 2012) using 0.3 mm filter in the freshwater lagoon. We collect the water sample 1-2 liter similar Takahara et al. (Takahara et al., 2012, 2013), according to the standard of the stream is 1 liters (Rees et al., 2014). In the marine, can collect water 20 liters (Zou et al., 2020) to 100-liter (Valentini et al., 2016) depended on the size of the water ecosystem. While filtration using cellulose nitrate filter paper preserved in ethanol or stored in a -20°C freezer and extracted with the Qiagen DNeasy kit outperformed other combinations in terms of cost and efficiency of DNA recovery (Andruszkiewicz et al., 2017).

Short DNA fragments can persist a long time under dry cold conditions and in the absence of light (Ficetola et al., 2008) and may persist up to one week at 188C in lake water (Matsui et al. 2001). These techniques dealing with the detection of DNA traces requires several precautions (Taberlet et al. 1996; Cooper & Poinar 2000). First, it is difficult to evaluate how long DNA fragments persist in water, and Second, several factors could affect the amount of DNA in samples, such as volume of water, size, and density of the organism (Ficetola et al., 2008).

The present study of eDNA methods, including ours, is focused primarily on a survey of fish species present. The absence of species is difficult to confirm by sampling (Takahara et al., 2013). Although we were able to detect at least one copy of DNA using our present protocol, we only collected water sample 1 L for analysis, the results may be the absence of species is a significant issue for programs that monitor populations and predict their distribution (Stephanie et al., 2001). The reservoir was a littoral zone where most of the fish occupied (Prchalová et al., 2003, Brosse et al., 2007). Meanwhile, the central area of the lake is a steep shore and very deep and very few samples are expected. This study showed the abundance and relative of species in each area.

Conclusion

In summary, we use an eDNA-based method to estimate the diversity of freshwater fish species in the reservoir. Using this method can be estimated more easily and rapidly than using traditional methods and used to aid management plans for the conservation of populations, communities, and ecosystems. The first time of the eDNA method in the reservoir and river in Thailand used to monitor or predict fish diversity,

which explains for reproduction, feeding, and refuge of a target species in the future. However, the database is important for using the eDNA method. In a case study in Maengud, we collected fish at only 9 stations in the winter and the results not different from each site and the OTUs report cannot showed the total species of fish, which means no database supports this method. To improve the accuracy of this method, future experiments should focus on collecting more field data and comparing this method with other estimation methods. To improve the accuracy of this method, the future should focus on collecting more field data to create a big database of stream or lake ecosystem and comparing this method with other estimation methods.

Acknowledge

The authors thank the Thailand Research Fund and Nation Research Council of Thailand for providing a Royal Golden Jubilee Ph.D. Program (Grant PHD/0132/2558). The Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources and the Faculty of Science Technology, Maejo University was also very helpful in providing laboratory facilities.

Reference

- Allard, L. (2014). Electro fishing efficiency in low conductivity neotropical streams: towards a non-destructive fish sampling method. *Fisheries Management and Ecology*, 21, 234–243.
- Andruszkiewicz, E. A., Starks, H. A., Chavez, F. P., Sassoubre, M., Block, B. A., & Boehm, A. B. (2017). Biomonitoring of marine vertebrates in Monterey Bay using eDNA metabarcoding. *PLoS ONE*, 12(4), e0176343.
- Bokulich, N. A., Subramanian, S., Faith, J. J., Gevers, D., Gordon, J. I., Knight, R., Mills, D. A., & Caporaso, J. G. (2013). Quality-filtering vastly improves diversity estimates from Illumina amplicon sequencing. *Nature Methods*, 10.1(December), 57–59.
- Caporaso, J. G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F. D., Costello, E. K., Fierer, N., Peña, A. G., Goodrich, J. K., Gordon, J. I., Huttley, G. A., Kelley, S. T., Knights, D., Koenig, J. E., Ley, R. E., Lozupone, C. A., McDonald, D., Muegge, B. D., Pirrung, M., ... Knight, R. (2010). QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Publishing Group*, 7(5), 335–336.
- Cilleros, K., Valentini, A., Allard, L., Dejean, T., Etienne, R., Grenouillet, G., Iribar, A., Taberlet, P., Vigouroux, R., & Brosse, S. (2019). Unlocking biodiversity and

- conservation studies in high-diversity environments using environmental DNA (eDNA): A test with Guianese freshwater fishes. *Molecular Ecology Resources*, 19(1), 27–46.
- Edgar, R. C., Haas, B. J., Clemente, J. C., Quince, C., & Knight, R. (2011). UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics*, 27(16), 2194–2200.
- Haas, B. J., Gevers, D., Earl, A. M., Haas, B. J., Gevers, D., Earl, A. M., Feldgarden, M., Ward, D. V, Giannoukos, G., Ciulla, D., Tabbaa, D., Highlander, S. K., Desantis, T. Z., Sodergren, E., Methe, B., Human, T., Consortium, M., & Petrosino, J. F. (2011). Chimeric 16S rRNA sequence formation and detection in Sanger Chimeric 16S rRNA sequence formation and detection in Sanger and 454-pyrosequenced PCR amplicons. *Genome Research*, 21(3), 494–504.
- Lawson Handley, L. (2018). How will the ‘molecular revolution’ contribute to biological recording? *Biological Journal of the Linnean Society*, 115(October), 750–766.
- Li, F., Peng, Y., Fang, W., Altermatt, F., Xie, Y., Yang, J., & Zhang, X. (2018). Application of Environmental DNA Metabarcoding for Predicting Anthropogenic Pollution in Rivers. *Environmental Science and Technology*, 52(20), 11708–11719.
- Magoč, T., & Salzberg SL. (2011). FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics*, 27(21), 2957–2963.
- Miya, M., Sato, Y., Fukunaga, T., Sado, T., Poulsen, J. Y., Sato, K., Minamoto, T., Yamamoto, S., Yamanaka, H., Araki, H., Kondoh, M., & Iwasaki, W. (2015). MiFish , a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes : detection of more than 230 subtropical marine species. *Royal Society Open Science*, 2(7), 150088.
- Pawlowski, J., Kelly-Quinn, M., Altermatt, F., Apothéloz-Perret-Gentil, L., Beja, P., Boggero, A., Borja, A., Bouchez, A., Cordier, T., Domaizon, I., Feio, M. J., Filipe, A. F., Fornaroli, R., Graf, W., Herder, J., van der Hoorn, B., Iwan Jones, J., Sagova-Mareckova, M., Moritz, C., ... Kahlert, M. (2018). The future of biotic indices in the ecogenomic era: Integrating (e)DNA metabarcoding in biological assessment of aquatic ecosystems. *Science of the Total Environment*, 637–638, 1295–1310.

- Pont, D., Valentini, A., Rocle, M., Maire, A., Delaigue, O., Jean, P., & Dejean, T. (2019). The future of fish-based ecological assessment of European rivers: from traditional EU Water Framework Directive compliant methods to eDNA metabarcoding-based approaches. *Journal of Fish Biology*, December 2019.
- Port, J. A., O'Donnell, J. L., Romero-Maraccini, O. C., Leary, P. R., Litvin, S. Y., Nickols, K. J., Yamahara, K. M., & Kelly, R. P. (2016). Assessing vertebrate biodiversity in a kelp forest ecosystem using environmental DNA. *Molecular Ecology*, 25(2), 527–541.
- Rees, H. C., Maddison, B. C., Middleditch, D. J., Patmore, J. R. M., & Gough, K. C. (2014). The detection of aquatic animal species using environmental DNA – a review of eDNA as a survey tool in ecology. *Journal of Applied Ecology*, 51, 1450–1459.
- Ruppert, K. M., Kline, R. J., & Rahman, M. S. (2019). Past, present, and future perspectives of environmental DNA (eDNA) metabarcoding: A systematic review in methods, monitoring, and applications of global eDNA. *Global Ecology and Conservation*, 17, e00547.
- Stat, M., John, J., Dibattista, J. D., Bunce, M., Harvey, E. S., & Newman, S. J. (2019). Combined use of eDNA metabarcoding and video surveillance for the assessment of fish biodiversity. *Conservation Biology*, 33(1), 196–205.
- Stephanie, M., Ceri, W. H., & S.J., O. (2001). Evaluating presence – absence models in ecology: the need to account for prevalence. *Journal of Applied Ecology*, 38, 921–931.
- Suvarnaksha, A. (2004). Fish Diversity in Mae Ngad somboonchon reservoir, Maetang Districtt, Chiangmai province. In Maejo University.
- Suvarnaksha, A. (2011). Biology of two keystone fish species and fish assemblage patterns and modeling approaches in tropical river basin: Case study of Ping River Basin, Thailand. Ubon Ratchathani University (Thailand).
- Suvarnaksha, A. (2018). *Ichthyology (2nd ed.)*. The Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University.
- Taberlet, P., Coissac, E., Hajibabaei, M., & Rieseberg, H. Loren. (2012). Environmental DNA. *Molecular Ecology*, 21, 1789–1793.

- Takahara, T., Minamoto, T., & Doi, H. (2013). Using Environmental DNA to Estimate the Distribution of an Invasive Fish Species in Ponds. *PLoS ONE*, 8(2).
- Takahara, T., Minamoto, T., Yamanaka, H., Doi, H., & Kawabata, Z. (2012). Estimation of fish biomass using environmental DNA. *PLoS ONE*, 7(4), 3–10.
- Thapanya, D., Bunlue, P., & Chantaramongkol, P. (2015). Adult caddisfly assemblages from upstream and downstream of the Mae Ngat Adult caddisfly assemblages from upstream and downstream of the Mae Ngat Dam, Chiang Mai , northern Thailand. *Biol. Int. Wat. Suppl*, 2, 151–156.
- Ushio, M., Murakami, H., Masuda, R., Sado, T., Miya, M., Sakurai, S., Yamanaka, H., Minamoto, T., & Kondoh, M. (2018). Quantitative monitoring of multispecies fish environmental DNA using high-throughput sequencing. *Metabarcoding and Metagenomics*, 2, 1–15.
- Valentini, A., Taberlet, P., Miaud, C., Civade, R., Herder, J., Thomsen, P. F., Bellemain, E., Besnard, A., Coissac, E., Boyer, F., Gaboriaud, C., Jean, P., Poulet, N., Roset, N., Copp, G. H., Geniez, P., Pont, D., Argillier, C., Baudoin, J. M., ... Dejean, T. (2016). Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. *Molecular Ecology*, 25(4), 929–942.
- Zou, K., Chen, J., Ruan, H., Li, Z., Guo, W., Li, M., & Liu, L. (2020). eDNA metabarcoding as a promising conservation tool for monitoring fish diversity in a coastal wetland of the Pearl River Estuary compared to bottom trawling. *Science of the Total Environment*, 702(November), 134704.

P4

Environmental DNA (eDNA) metabarcoding: assessment of the fish distribution in
Maechaem River, Chiang Mai, Thailand.

Thapanee Pholdee^{1*}, Chamaiphorn Nithikadphanich^b and Apinun Suvarnaraksha²

ScienceAsia

(Submitted)

*Corresponding author: Thapanee Pholdee.

Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources,
Maejo University
63 M 4, Nong Han, Sansai District,
Chiang Mai 50290, Thailand
Tel. +66-53-875100-3
Fax. +66-53-875100-3
E-mail: pondeeloei@gmail.com

Environmental DNA (eDNA) metabarcoding: assessment of the fish distribution
in Maechaem River, Chiang Mai, Thailand.

Thapanee Pholdee^{a*}, Chamaiphorn Nithikadphanich^b and Apinun
Suvarnaraksha^a

^a Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiangmai
50290, Thailand

^b Faculty of Science, Maejo University, Chiangmai 50290, Thailand

ABSTRACT: Environmental DNA (eDNA) is an effective approach for detecting fish diversity estimation of aquatic biota. Currently, this method is fast growing and widely applied. This study employed eDNA to survey the fish fauna in Maechaem basin, Thailand to assess the fish distribution from the unique high-altitude mountain to the lowland area with the additional goal of assessing the possibility that can be used for

monitoring and evaluating freshwater ecosystem by the use of fish characteristics on different habitat. Water samples were collected on three occasions over a 6-month interval in the twelve stations of Maechaem River tributaries. Bioinformatics analysis of MiSeq fastq files detected eDNA with 24% of fish species including 18.72% Cypriniformes, 5.31% Perciformes, and 0.75 % Siluriformes. We showed a relative abundance of indicative OTUs data that can be used to predict the fish distribution status. It was found that fish diversity differs from upstream to downstream, as predicted between high-altitude locations, where highland species are more than lowland species. Also, there were specific habitats that support some native species. Thus, our study gives a novel approach to the assessment of fish distribution in rivers by eDNA data. From the present study, we can use this method to estimate fish diversity and can be helpful in the future to establish a baseline data for an effective management of the river resources.

KEYWORDS: Environmental DNA, fish, monitoring, wildlife management

INTRODUCTION

Indo-Burma hotspot is the rich in biological diversity area, but the less information on the biology and life history, fish assemblage and are considered to be among the most productive ecosystems [1]. In Thailand, there are have 3,000 fish species include 800-1,000 species of freshwater and 2,000 species of seawater [2], and indeed fish diversity is able to a key indicator in the present-day monitoring of the aquatic ecosystem health [3].

Fish communities respond to almost all types of anthropogenic disturbances [4]. The various fish-based biotic indices have been widely used to evaluate the ecological quality of rivers since the 1970s, and most of them are based on the index of biotic integrity (IBI; Karr, 1981) [4]. The monitoring of fish diversity in river ecosystems has depended largely on methods such as gill netting and electrofishing. Those methods have always been limited by their low sampling dexterity, strict reliability on taxonomic expertise and require a large and qualified staff, and are expensive [3,5]. Furthermore, electrofishing cannot be performed in low-conductivity waters [6].

Therefore, we have to new method to save cost-effective, rapid, dependable, and continuous investigations for monitoring and evaluating fish diversity are crucial for the well-timed and effective management and conservation of river ecosystems. Consequently, the application of environmental DNA (eDNA) metabarcoding for fish diversity analysis has emerged and proposed a new avenue to access the distribution of fish diversity in river ecosystems [3].

Environmental DNA (eDNA) metabarcoding is a novel method of assessing biodiversity wherein samples are taken from the environment via water, which DNA is extracted, and then amplified using universal primers in polymerase chain reaction and sequenced using next-generation sequencing to generate thousands to millions of reads [7], large collections of taxa can now be identified with a single analysis [8]. The eDNA provides a fast and efficient way to disclose biodiversity information. This new method provides a new way to detect individual species or biological communities in aquatic ecosystem [9]. The efficiency of eDNA has a highly sensitive detection capability and increasingly appeared to be a promising non-invasive method for improving aquatic biomonitoring [9] [10]. Many Researchers successfully applied eDNA metabarcoding to monitor fish diversity samples, where different habitats in freshwater and seawater, particularly in the ecosystems of rivers and oceans. The results from these studies have provided evidence that eDNA metabarcoding is a sound biomonitoring tool for use in the management, assessment, and conservation of aquatic ecosystems [11–14]

Here, we used eDNA metabarcoding to assess the distribution of fish species in Maechaem river. The Maechaem basin is one of Mae Ping River, where are important of northern Thailand, and serves as an indispensable water resources for agriculture and industry in northern Thailand. Due to the disproportionate consumption of river ecological resources and various anthropogenic activities, the Maechaem basin ecosystem has been badly damaged, and its biodiversity has seriously declined, especially among the fish community. To investigate the distribution of fish species in this area, and eDNA metabarcoding studies are the new method for Thailand, hence we surveyed and conducted at 12 different sampling sites, by assign stations follow from literature [1]. Large amounts of population growth and human activities like,

industrial development, expansion of agricultural irrigation, and other factors are the main reasons for pollutants discharged into the river in recent decades make the study of these rivers a high priority for fish diversity. Therefore, the main purposes of our study are to survey the distribution of fish along which river structure changes based on the altitude from seawater using eDNA data and able to use data to the applied assessment of fish integrity index.

MATERIALS AND METHODS

Sampling sites and collection

The Maechaem watershed is located in the West of Inthanon mountain composed a large tributary of Ping River basin, in the upper Chao Phraya River drainage, Chiang Mai Province, Thailand [15]. The Maechaem River originates from the Thanon Thongchai Mountain in Maechaem District and running through Chom Thong District straight into the Ping River at the spot where Chom Thong and Hot Districts meet. It is about 117 kilometres south-western of Chiangmai city. The Maechaem sub-basin is bounded by and has catchment area of 3,853 km² and shape is narrow and long as shown in Figure 1. The Maechaem sub-basin is bounded by coordinates 18° 06' - 19°10' N and 98°04' - 98°34' E [1]. The area consists of high mountainous regions with elevations ranging from approximately 650 m above mean sea level (m.s.l.) near the city of Maechaem, to more than 2500 m above m.s.l. on the slopes of Mt. Inthanon, which is Thailand's highest peak [16]. The average annual temperature ranges from 20°C to 34°C and the rainy season is from May to October [1].

The total sampling site was divided into 12 sites (Table 1), which were selected to cover the main river and tributaries of the Maechaem River. The sampling was decided on the base of elevation [1, 32], which was relationships to fish distribution include mountainous zone (3 sites, >1001 (m.s.l.), where are were headwater (waterfall, high flow, low temperature, low turbidity) site on the West River far from Doi Inthanon, where the high peak of the river. Piedmont zone (3 sites, 801-1000 (m.s.l.), where locations were next headwater near the village, where are near the forest (moderate flow, low temperature, low turbidity).

Transitory zone (3 sites, 600-800 (m.s.l.), where locations were near agriculture in the high land and near the village (small river, moderate flow, moderate temperature, and turbidity) and the last group is lowland zone (3 sites, <600 (m.s.l.), where locations were near urban and tourist destination (Large river, low flow, high temperature, and turbidity) site on the low elevation of Maechaem river also in the conjunction of Ping river in the last station. eDNA from water samples was amplified with vertebrate-specific 12S mtDNA primers and sequenced on an Illumina MiSeq. We then measured physicochemical water quality i.e. water temperature (°C), conductivity (mg/l), total dissolved solids (mg/l), dissolved oxygen (mg/l), pH which were then measured by YSI 556 (multi-probe system) in the field. And other parameters i.e. nitrite (mg/l), ammonia (mg/l), phosphorus (mg/l), alkalinity (mg/l), hardness (mg/l) were tested in the laboratory according to standards [17] from various habitat.

In each of 12 sites, water collected by surface and submerging 1- 2 L using sterile bottles (Thermo Fisher Scientific, U.S.A.) [18] just below the surface near the shore of the study site. Waters samples followed by filtration of collection onto 0.7 µm pore size glass fiber filters (Nalgene) and used decontaminated forceps, fold filter paper in one-half four times. Place folded filter in a vial filled with molecular-grade ethanol for preservation and storage and store vials in a cool place away from light exposure [19], The samples were transported to the lab post-cruise on dry ice and stored at -80°C until extraction within 2 months of collection [13]

DNA extraction and PCR

The environmental DNA (eDNA) was extracted from water samples by DNeasy blood and tissue kit (Qiagen, Hilden, Germany), for which we followed the manufacturer's protocol. Polymerase chain reaction (PCR) amplification was performed with universal Primer 12S (5'-ACTGGGATTAGATACCCC-3' and 5'-TAGAACAGGCTCCTCTAG-3') [20]. The PCR was done in a MODEL 2700 or 9700 thermal cycler (Perkin-Elmer). The PCR was carried out in total reaction volumes of 10 µL reaction volume contained 2 µL of sterile distilled water, 5 µL of Mixed buffer, 1 µL of each primer and 1 µL of template. The thermal cycler profile was as follows: denaturation at 94°C for 30 seconds, annealing at 45°C for 30 seconds and extension at 68°C for 30 seconds, followed by a final

extension at 68°C for 10 min and storage at 4 °C. A negative control without template was carried out for each run of PCR. The amplified DNA was fractionated by electrophoresis in 1.5% low-melting-temperature agarose gel and stained with ethidium bromide for band characterization under ultraviolet trans-illumination.

DNA Sequencing and analysis

The PCR products showing the target bands were mixed in equal amounts, followed by mix same volume of 1X loading buffer (contained SYB green) with PCR products and operate electrophoresis on 2% agarose gel for detection. Samples with bright main strip between 400-450bp were chosen for further experiments. PCR products was mixed in equidensity ratios. Then, mixture PCR products was purified with Qiagen Gel Extraction Kit (Qiagen, Germany). Sequencing libraries were generated using NEBNext® Ultra DNA Library Pre Kit for Illumina, following manufacturer's recommendations and index codes were added. The library quality was assessed on the Qubit® 2.0 Fluorometer (Thermo Scientific) and Agilent Bioanalyzer 2100 system. At last, the library was sequenced on an Illumina platform and 250 bp paired-end reads were generated.

Bioinformatic and statistical analyses

Quality filtering on the raw tags were performed under specific filtering conditions to obtain the high-quality clean tags [21] according to the QIIME (V1.7.0) [22] quality-controlled process. Then, Paired-end reads was assigned to samples based on their unique barcode and truncated by cutting off the barcode and primer sequence. Paired-end reads were merged using FLASH (V1.2.7) [23]. The tags were clustered into OTUs (operational taxonomic units) by using USEARCH algorithm (Version 7.0.1001) [24] with were compared with the reference database (Gold database) using UCHIME algorithm [24] to detect chimera sequences, and then the chimera sequences were removed [25]. The taxonomic assignment of OTU sequences was mapped to the NT database downloaded from the National Center for Biotechnology Information (NCBI) GenBank database by using the Blastn tool with $\geq 97\%$ similarity were assigned to the same OTUs. OTUs abundance information were normalized using a standard of sequence

number corresponding to the sample with the least sequences. The relative abundances of species were calculated from the OTU abundance table for each taxonomic rank and the species count table.

Data sources of fish characteristics

The characteristics of assemblages of Ping river had been described including fish status, habitats, trophic guilds, and altitude distribution appearance in investigations, based on the data provided from [1, 26–28]. The classified fish for evaluation are given in Table 2.

RESULTS

The Bioinformatic analysis of MiSeq fastq files detected eDNA from 24% fish species, that show Cypriniformes 18.72% , Perciformes 5.31% , and Siluriformes 0.75 % respectively.

The heat map show abundance distribution of the dominant 14 genera among all samples from 4 zone (figure 2A, B). Mountainous species, mean species inhabiting the small stream in high altitude area with low temperature, high water current velocity, and non-polluted. We find mountain 1 (Huai Sai lueng) includes genus *Oreoglanis*, *Exostoma*, *Barilius* and *Glyptothorax*. mountain 2 (Huai Pha) include genus *Devario* *Mystacoleucus* and *Rasbora*, while mountain 3 (Huai Kamin) find only *Devario*. Piedmont or foothill species, mean species inhabiting the lower altitude area mountainous species where are located near the village and the wide of land use of agriculture also animal farm. We find foothill.1 (Huai Krog) includes the genus *Systemus* and *Pethia*. foothill 2 (Baan Den) includes the genus *Devario*, *Parambassis*, *Mystacoleucus* and *Pethia*. foothill 3 (Huai Mae La-oob) includes the genus find only *Pethia*. The transitory species, mean the fishes in assemblages live in the lower portion of the river course, where the river width and depth were more than the previous two assemblages. This location with agriculture i.e. potato field and corn field. Transitory 1 (Baan Maesa) includes the genus *Brachirus*, *Parambassis*, *Mystacoleucus* and *Rasbora*. Transitory 2 (Klong Maehoy) includes the genus *Rasbora*, *Mystacoleucus*, *Parambassis* and *Devario*. Transitory 3 (Mae Najorn) only genus *Tor*. The lowland species mean the fishes are inhibited in a larger watershed close to agricultural and urban areas, which

have sand and mud and a large river. Lowland 1 (KM. 4) include the genus *Pristolepis*, *Oreochromis*, *Mystacoleucus*, *Parambassis* and *Rasbora*. While, lowland 3 (Maeping junction) include the genus *Mystacoleucus*, *Rasbora* and *Parambassis*. Absent fish from lowland 2 (Obluang), where is a national park.

Fig. 2B, the 12s eDNAs matching genus with declining or threatened populations were observed in Mountainous zone, including *Oreoglanis*, *Exostoma*, *Barilius*, and *Glyptothorax*, while foothill zone, there are showed dominant genus are *Systemus*, *Pethia*, *Devario*, and *Mystacoleucus*. The transitory zone, have dominant genus are *Brachirus*, *Tor*, *Parambassis*, and *Rasbora*. The genus *Pristolepis*, *Oreochromis*, there are shown in the lowland zone. However, we found a general of genus *Mystacoleucus* in all locations (fig. 3), while the general of genus *Devario* could found in Mountainous zone to Transitory zone, there are could not found in Lowland zone. For the genus *Parambassis*, there are absent in Mountainous zone (fig. 3) and the genus *Rasbora* could not found in foothill zone. The majority of taxonomic lineages at the species of fish, the relative abundance of these taxa was also disproportionally high (fig. 3). By using different PCR assays, a wide taxonomic lineage including genus *Oreoglanis*, *Neolissochilus*, *Devario*, *Mystacoleucus*, *Raiamas*, and *Parambassis* were recovered from the samples.

DISCUSSION

Thailand ranked among the top in the diversity of freshwater fish species [1,29,30]. Although, has been documented at more than 200 species [30] in Ping river, the lack of data and information on fish is very poor, especially in this region [1,29]. Moreover, freshwater ecosystem, where various freshwater ecosystems including waterfall and mountainous habitats, shooting flow stream in the first-order stream, Secondary order stream with rock and gravel bed was located in the mountainous stream, secondary order stream with sandy bottom was located in lowland area and river mainstream [1], it's difficult collect fish also deferent of ecology effect to biodiversity. In the past, have received much less focus in terms of conservation prioritization exercises [1]. Molecular analysis of environmental DNA (eDNA) can be used to assess fish diversity and overcome the limitations of conventional survey methods, substantially reducing the stress to captured fish and the disruption of habitats [3,31]. On the other hand, the

traditional fishing method viz., gillnet, trawling, fisherman, and electrophoresis fishing, etc. affect all aquatic habitat, and these methods require the precise identification of species morphology, nevertheless, fish diversity is still not yet investigated and presents a high level of endemism in some areas [3].

In this study, we demonstrate that the detection river eDNA correlates with fish diversity and distribution as determined by a literature review [1,32] and differs by native species with a special habitat, which the most used eDNA to study of survey fish abundance or detect rare species also predicting anthropogenic pollution [3,9,33,34]. The diversity index and species richness of tropical fishes was depending on altitude, water depth, stream width, and distance from the sea and six physicochemical parameters i.e. DO, water temperature, pH, conductivity, phosphorus, and alkalinity were relationships to diversity parameters [1]. To our knowledge, this is the first time used eDNA detect fish diversity in Thailand, which we used for a survey of fish diversity and distribution in Maechaem River, these results support eDNA for freshwater fish assessment and highlight limitations and aspects needing further study

To date, very limited studies have been conducted on the fish diversity of the Maechaem River, and lack of data on fish diversity [1]. In the present study, we investigated the fish diversity of the Maechaem river ecosystem with used eDNA metabarcoding for confirm the database, and we present the results that eDNA can be used to monitor fish diversity or distribution of aquatic ecosystem. For Maechaem area, we decided on the base of elevation [1, 32], where was relationships to fish distribution and too much of ingredients in the river of this area, it makes it difficult to filtration, therefore we choose collected water sample on the surface and submerged. We collect the water sample 1-2 liter of standard of the stream [18] similar another author [13,31,33], but for the marine used 20 liters [3] to 100-liter [12] depended on the size of the water ecosystem. Besides, some area such as Nam Theun River is a case study the river connection the dam, the sample water was collected in 3 different depths (bottom, middle, and surface). In addition, we use the pore size 0.7 μm fitter similar Nansha wetland used 0.8 μm , in contrast, they are using 0.22-0.45 μm pore size [13,33].

This study showed fish species distributed of Mountainous zone viz. , *Oreoglanis*, *Exostoma*, *Barilius (Barilius)* and *Glyptothorax*, which relatively correlate

low water temperature, fast-flowing, with swift currents and stony to rocky substrate species, where are habitat this group [35]. These groups are intolerant species and benthic species (Table 2), they have to well adapt to the special habitats with flattened belly, adhesive maxillary barbel and pair fins, streamline body shape, and aerodynamic dorsal part, according to Wootton [36], fish in the environment must be adapted to cope with the variable water flows. They are also feeding on the small invertebrates (Table 2) and aquatic insect larva on the rock [1]. Indeed, especially genus *Oreoglanis* (*O. siamensis*), inhabiting endemic to Inthanon mountain and sensitive to any anthropogenic perturbations which disrupt stream flows of the extended period and there were according relationships of fish assemblage was negatively correlated to inhabited in the mountainous zone [32], also genus *Exostoma*, particularly *E. peregrinator* (Table 2), inhabiting endemic to Maechaem river [30]. However, we find alien species viz, *Oreochromis* (*O. niloticus*) relative of tourism destination, impacts of them on biodiversity conservation of less concern than impacts from changes in the ecosystem [35].

Foothill zone, the dominant genus are *Systemus*, *Pethia*, *Devario*, and *Mystacoleucus*. they are intolerant species and insectivore, except genus *Mystacoleucus* (*M. obtusirostris*), they are tolerant species (Table 2). The genus *Mystacoleucus*, is the most widely-distributed species, small to larger streams with substrates of gravels, boulders, and sand, and often present in rock and boulder-filled headwater streams [15,30]. The Mountain zone could find in high altitude elevation at 600-900 (m.s.l.) [15], different from this study, the distribution of them showing from the mountainous zone to lowland zone (Fig. 2-3), they can move between areas, i.e. upper and lower sections of the river system due to their opportunistic reproductive behavior and feeding habit [35].

Transitory zone, this study area showed genus *Brachirus*, *Tor*, *Rasbora* and *Parambassis*, there are dominant of this zone. This appear tolerant species i.e *Mystacoleucus*, similar foothill zone. The genus *Parambassis* (*P. siamensis*) is a tolerant species and carnivore (Table 2), the habitats were rich in dietary organisms regardless of seasons and faster growth to be attributable to the higher temperature [37], implying

that the adapted relative to change environmental, the survival well than another species.

Lowland zone, this study area showed dominant genus *Pristolepis* and *Oreochromis*. The genus *Pristolepis* (*P. fasciatus*), which are tolerant species and carnivorous species (Table 2), inhabits slow running or still waters in reservoirs, marshes, swamps, and rivers and the varies of food with the season, depending on the environment where fish live at any particular time [38]. Meanwhile the genus *Oreochromis*, which are alien species, tolerant species and omnivorous (Table 2), this species is distributed of Thailand.

CONCLUSION

Environmental DNA analysis demonstrated the performance and fast becoming an important tool for ecological studies and for aquatic biodiversity. Although the results of eDNA were showed dominant species for this study, some species in the area, that exhibits high endemism, are still unknown in DNA databases. Therefore, the database of species of DNA is important for the case study. In the future, the reference libraries must continue to improve the taxonomic assignment quality when using the promising eDNA. These results are of broader interest because of an increasing anthropogenic human activity in the ecosystem and the new methods for assessing fish diversity without disrupting to stream and save cost. We believe that the eDNA is represented as a next-generation tool for efficient, and standardized monitoring of aquatic biodiversity in river ecosystems also can be used assessment ecology health based on fish characters. Thus, this approach can therefore deliver key data for applied research and evaluation for ecology in the future.

Acknowledgements: The authors thank the Thailand Research Fund and Nation Research Council of Thailand for providing a Royal Golden Jubilee Ph.D. Program (Grant PHD/0132/2558). The Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources and the Faculty of Science Technology, Maejo University was also very helpful in providing laboratory facilities.

REFERENCES

1. Suvarnaraksha A (2011) Biology of two keystone fish species and fish assemblage patterns and modelling approaches in tropical river basin: Case study of Ping River Basin, Thailand, Ubon Ratchathani University, pp 36-169.
2. Suvarnaraksha A (2018) Ichthyology, The Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, pp 330-390.
3. Zou K, Chen J, Ruan H, Li Z, Guo W, Li M et al. (2020) eDNA metabarcoding as a promising conservation tool for monitoring fish diversity in a coastal wetland of the Pearl River Estuary compared to bottom trawling. *Sci Total Environ* **702**, 134704.
4. Pont D, Valentini A, Rocle M, Maire A, Delaigue O, Jean P, Dejean T (2019) The future of fish-based ecological assessment of European rivers: from traditional EU Water Framework Directive compliant methods to eDNA metabarcoding-based approaches. *J Fish Biol.*
5. Pawlowski J, Kelly-Quinn M, Altermatt F, Apothéoz-Perret-Gentil L, Beja P, Boggero A et al. (2018) The future of biotic indices in the ecogenomic era: Integrating (e)DNA metabarcoding in biological assessment of aquatic ecosystems. *Sci Total Environ* **637–638**, 1295–1310.
6. Allard L (2014) Electro fishing efficiency in low conductivity neotropical streams: towards a non-destructive fish sampling method. *Fish Manag Ecol* **21**, 234–243.
7. Ruppert KM, Kline RJ, Rahman MS (2019) Past, present, and future perspectives of environmental DNA (eDNA) metabarcoding: A systematic review in methods, monitoring, and applications of global eDNA. *Glob Ecol Conserv* **17**: e00547.
8. Taberlet P, Coissac E, Hajibabaei M, Rieseberg H Loren (2012) Environmental DNA. *Mol Ecol* **21**, 1789–1793.
9. Li F, Peng Y, Fang W, Altermatt F, Xie Y, Yang J, Zhang X (2018) Application of Environmental DNA Metabarcoding for Predicting Anthropogenic Pollution in Rivers. *Environ Sci Technol* **52**, 11708–11719.
10. Lawson Handley L (2018) How will the ‘molecular revolution’ contribute to biological recording ?. *Biol J Linn Soc* **115**: 750–766.

11. Stat M, John J, Dibattista JD, Bunce M, Harvey ES, Newman SJ (2019) Combined use of eDNA metabarcoding and video surveillance for the assessment of fish biodiversity. *Conserv Biol* **33**: 196–205
12. Valentini A, Taberlet P, Miaud C, Civade R, Herder J, Thomsen PF et al. (2016) Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. *Mol Ecol* **25**: 929–942.
13. Andruszkiewicz EA, Starks HA, Chavez FP, Sassoubre M, Block BA, Boehm AB (2017) Biomonitoring of marine vertebrates in Monterey Bay using eDNA metabarcoding. *PLoS ONE* **12**: e0176343.
14. Cilleros K, Valentini A, Allard L, Dejean T, Etienne R, Grenouillet G, et al. (2019) Unlocking biodiversity and conservation studies in high-diversity environments using environmental DNA (eDNA): A test with Guianese freshwater fishes. *Mol Ecol Resour* **19**: 27–46.
15. Suvarnaraksha A (2003) Fish Diversity of Chiang Dao Wild Life and Sanctuary, Maejo University, Chiang Mai; pp 22-25.
16. Ekkawatpanit C, Kazama S, Sawamoto M, Sarukkalige PR (2013) Evaluation of the inequality of water resources. *Water Manag* **166**: 303–314.
17. APHA (1992) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Washington DC: American Public Health Association.
18. Rees HC, Maddison BC, Middleditch DJ, Patmore JRM, Gough KC (2014) The detection of aquatic animal species using environmental DNA – a review of eDNA as a survey tool in ecology. *J Appl Ecol* **51**: 1450–1459
19. Barnes MA, Turner CR (2016) The ecology of environmental DNA and implications for conservation genetics. *Conserv Genet* **17**: 1–17
20. Miya M, Sato Y, Fukunaga T, Sado T, Poulsen JY, Sato K, et al. (2015) MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species. *R Soc Open Sci* **2**: 150088.
21. Bokulich NA, Subramanian S, Faith JJ, Gevers D, Gordon JI, Knight R, Mills DA, Caporaso JG (2013) Quality-filtering vastly improves diversity estimates from Illumina amplicon sequencing. *Nat Methods* **10**: 57–59.

22. Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK et al. (2010) QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods* **7(5)**: 335-336.
23. Magoč T, Salzberg SL (2011) FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics* **27**: 2957–2963.
24. Edgar RC, Haas BJ, Clemente JC, Quince C, Knight R (2011) UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics* **27**: 2194–2200.
25. Haas BJ, Gevers D, Earl AM, Haas BJ, Gevers D, Earl AM, et al. (2011) Chimeric 16S rRNA sequence formation and detection in Sanger Chimeric 16S rRNA sequence formation and detection in Sanger and 454-pyrosequenced PCR amplicons. *Genome Res* **21(3)**: 494–504
26. Vidthayanon C (2017) Checklist of freshwater fish in Thailand. Office of Natural Resources and Environmental Policy and Planning, Bangkok, pp. 38-204.
27. Froese R, Pauly D. Froese, R. and D. Pauly (2019) FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, version (12/2019). www.fishbase.org [20 September 2019].
28. IUCN 2020. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2020-3. <https://www.iucnredlist.org>. Downloaded on [20 September 2019].
29. Vidthayanon C, Karnasuta J, Nabhitabhata J (1997) Diversity of Freshwater Fish in Thailand. Office of Environmental Policy and Planning, Bangkok, pp 28-57.
30. Suvarnaraksha A (2017) Fish of the Ping basin. The Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, pp 17-256.
31. Gillet B, Cottet M, Destanque T, Kue K, Descloux S, Chanudet V, Hughes S (2018) Direct fishing and eDNA metabarcoding for biomonitoring during a 3-year survey significantly improves number of fish detected around a South East Asian reservoir. *PLoS ONE* **13**: 1–25.
32. Suvarnaraksha A, Lek S, Lek-Ang S, Jutagate T (2012) Fish diversity and assemblage patterns along the longitudinal gradient of a tropical river in the Indo-Burma hotspot region (Ping-Wang River Basin, Thailand). *Hydrobiologia* **694**: 153–169.

33. Stoeckle MY, Soboleva L, Charlop-Powers Z (2017) Aquatic environmental DNA detects seasonal fish abundance and habitat preference in an urban estuary. *PLoS ONE* **12**: 1–15.
34. Chen W, Ma X, Shen Y, Mao Y, He S (2015) The fish diversity in the upper reaches of the Salween River, Nujiang River, revealed by DNA barcoding. *Sci. Rep* **5**: 1–12.
35. Jutagate T, Sa-Nguansin J, Deein G, Udduang S (2011) Fish distribution in a river basin in the lower northern of Thailand and a strategy for conservation following river damming. *Chiang Mai J Sci* **38**: 485–502.
36. Wootton JR (1992) Fish ecology. Blackie Academic Professional. London: Blackie Academic Professional, pp. 25-44.
37. Okutsu T, Morioka S, Shinji J, Chanthasone P (2011) Growth and reproduction of the glassperch *Parambassis siamensis* (Teleostei: Ambassidae) in Central Laos. *Ichthyol Explor Freshwaters* **22**: 97–106.
38. Sangpradub N, Hanjavanit C (2017) Diet composition of *Pristolepis fasciata* (Bleeker, 1851) (family Nandidae) and *Puntius brevis* (Bleeker, 1849) (family Cyprinidae) in Kaeng Lawa, Thailand. *Chiang Mai J Sci* **44**: 839–846.

Total Figures and Tables.

Table 1 Description of the sampling in the Maechaem River

Station	Site code.	Coordinates	Elevation
1	Huai Sailuang	18°31'27.66"N 98°27'17.32"E	1,057 m.
2	Huai Pha	18°51'52.30"N 98°13'19.33"E	1,088 m.
3	Huai Kamin	18°48'47.87"N 98°31'43.01"E	1,244 m.
4	Huai Krog	19°6'0"N 98°18'20"E	988 m.
5	Baan Den	19°03'47.62"N 98°17'48.10"E	970 m.
6	Huai Maela-oob	19° 1'43.13"N 98°15'58.06"E	990 m.
7	Klong Maehoy	18°45'50.97"N 98°19'33.40"E	725 m.
8	Baan Maesa	18°48'49"N 98°19'53"E	632 m.
9	Mae Najorn	18°41'05.13"N 98°22'33.87"E	540 m.
10	Maechaem (Obluang)	18°13'27.6"N 98°28'55.1"E	343 m.
11	Maechaem (KM 4)	18°12'26.6"N 98°35'25.1"E	285 m.
12	Maeping junction	18°11'20.1"N 98°37'59.2"E	260 m.

Table 2 Classification of fish assemblages in terms of origin, trophic group, tolerance, altitude distribution and habitat of Maechaem River.

No.	Family/ Species	Origin	Trophic group	Tolerance	Habitat	IUCN status
	Osteoglossiformes					
	Notopteridae					
1	<i>Chitala ornata</i> (Gray, 1831)	Na ³	CA ^{3,7}	TO	WC ³	LC
2	<i>Notopterus notopterus</i> Pallas, 1769	Na ³	CA ^{1,2,3,5}	TO ²	WC ³	LC
	Cypriniformes					
	Cyprininae					
3	<i>Paralabuca typus</i> Bleeker, 1865	Na ³	IN ^{3,6}	IT ⁶	PG ³	LC
4	<i>Barilius pulchellus</i> (Smith, 1931)	Na ⁸	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	PG ³	LC
5	<i>Devario annandalei</i> (Chaudhuri, 1908)	Na ⁷	IN ⁷	IT ⁶	PG ^{6,7}	LC
6	<i>Discherodontus schroederi</i> (Smith, 1945)	Na ⁸	ON ^{1,2,3}	IT ⁸	WC ³	LC
7	<i>Riama guttatus</i> (Day, 1870)	Na ³	CA ³	IT ⁷	PG ³	LC
8	<i>Rasbora paviana</i> Tirant, 1885	Na ⁸	IN ^{1,2,3}	IT ⁸	PG ³	LC
9	<i>Amblyrhynchichthys truncates</i> (Bleeker, 1850)	Na ³	IN ^{3,7}	IT ⁷	WC ³	NE
10	<i>Barbonymus gonionotus</i> (Bleeker, 1849)	Na ³	ON ^{1,2,3,5}	TO ^{6,7}	WC ^{3,5}	LC
11	<i>Barbonymus schwanenfeldii</i> (Bleeker, 1854)	Na ³	ON ³	TO ^{6,7}	WC ³	LC
12	<i>Cyclocheilichthys repasson</i> (Bleeker, 1853)	Na ³	IN ³	IT ⁶	WC ³	LC
13	<i>Garra cambodjensis</i> (Tirant, 1884)	Na ⁸	ON ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	LC
14	<i>Hampala macrolepidota</i> Kuhl & van Hasselt, 1823	Na ³	CA ^{1,2,3,5}	TO ⁷	WC ³	LC
15	<i>Henicorhynchus siamensis</i> (Sauvage, 1881)	Na ³	ON ^{1,2,5}	IT ⁷	WC ³	LC
16	<i>Labeo chrysophekadion</i> (Bleeker, 1849)	Na ³	ON ^{3,7}	IT ⁷	BT ³	LC
17	<i>Labiobarbus leptocheilus</i> (Valenciennes, 1842)	Na ³	ON ³	IT ⁷	BT ³	LC
18	<i>Mystacoleucus obtusirostris</i> (Valenciennes, 1842)	Na ⁸	IN ^{2,3}	TO ^{3,6}	WC ³	LC
19	<i>Neolissochilus stracheyi</i> (Day, 1871)	Na ⁸	ON ^{1,2}	IT ⁶	WC ³	LC
20	<i>Poropuntius bantamensis</i> (Rendahl, 1920)	Na ³	ON ³	IT ⁶	WC ³	LC
21	<i>Puntioplites proctozyron</i> (Bleeker, 1864)	Na	ON ^{1,2,5}	IT	WC ^{3,5}	LC
22	<i>Puntius brevis</i> (Bleeker, 1849)	Na ⁸	IN ^{1,2,5}	IT ⁸	WC ^{3,5}	LC
23	<i>Systemus rubripinnis</i> (Valenciennes, 1842)	Na ⁸	IN ^{1,2,5}	IT ⁵	WC ^{3,5}	DD
24	<i>Pethia stoliczkana</i> (Day, 1871)	Na ⁸	IN ²	IT ⁷	WC ³	LC
25	<i>Scaphiodonichthys acanthopterus</i> (Fowler, 1934)	Na ⁸	IN ³	IT ²	BT ³	LC
26	<i>Tor tambroides</i> (Bleeker, 1854)	Na ⁸	ON ^{1,2,3}	IT ⁶	WC ³	DD
	Botiidae					
27	<i>Syncrossus beauforti</i> (Smith, 1931)	Na ³	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	NT
	Balitoridae					
28	<i>Balitora brucei</i> Gray, 1830	Na ⁸	IN ³	IT ³	BT ³	NT
29	<i>Homalopteroides smithi</i> (Hora, 1932)	Na ⁸	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	LC
30	<i>Pseudohomaloptera leonardi</i> (Hora, 1941)	Na ⁸	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	LC
	Nemacheilidae					
31	<i>Physoschistura chulabhornae</i> Suvamaraksha, 2013	Na	ON	IT	BT	LC
32	<i>Schistura breviceps</i> (Smith, 1945)	Na ⁸	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ^{3,6}	DD
33	<i>Schistura bucculenta</i> (Smith, 1945)	Na ⁸	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	LC
34	<i>Schistura geisleri</i> Kottelat, 1990	Na ⁸	IN ³	IT ⁶	BT ³	LC
35	<i>Schistura spilota</i> (Fowler, 1934)	Na ⁸	IN ^{1,2,3}	IT ⁶	BT ³	DD
36	<i>Schistura waltoni</i> (Fowler, 1937)	Na ⁸	IN ^{2,3}	IT ⁶	BT ³	DD
37	<i>Schistura maejotigrina</i> Suvamaraksha, 2012	En ³	IN ^{2,3}	IT ⁶	BT ³	LC

38	<i>Schistura pridii</i> Vidthayanon, 2003	En ³	IN ^{2,3}	IT ⁶	BT ³	EN
	Siluriformes					
	Siluridae					
39	<i>Kryptopterus cryptopterus</i> (Bleeker 1851)	Na ³	IN ³	IT	WC ³	LC
40	<i>Phalacrotonus bleekeri</i> (Günther, 1864)	Na ³	CA ^{3,7}	IT	PC ³	LC
41	<i>Wallago attu</i> (Bloch & Schneider, 1801)	Na ³	CA ^{3,6}	IT ⁶	WC ³	NT
	Pangasiidae					
42	<i>Pangasius macronema</i> Bleeker, 1850	Na ³	ON ³	IT	WC ³	LC
43	<i>Pangasius polyuranodon</i> Bleeker, 1852	Na ³	ON ^{3,7}	IT	WC ³	LC
	Bagridae					
44	<i>Hemibagrus spilopterus</i> Ng & Rainboth, 1999	Na ³	CA ³	TO	BT ³	LC
45	<i>Mystus singaringan</i> (Bleeker, 1846)	Na ³	CA ^{1,2,3,5}	TO ²	BT ³	LC
	Sisoridae					
46	<i>Bağarius yarrelli</i> Sykes, 1839	Na ³	CA ³	IT	BT ³	NT
47	<i>Exostoma peregrinator</i> Ng & Vidthayanon, 1014	En ³	IN ³	IT ³	BT ³	DD
48	<i>Oreoglanis siamensis</i> smith,1933	Na ⁸	IN ³	IT ⁶	BT ³	EN
49	<i>Glyptothorax trilineatus</i> Blyth, 1860	Na ⁸	CA ^{1,2,3}	IT ²	BT ³	LC
50	<i>Glyptothorax lampris</i> Fowler, 1934	Na ⁸	CA ^{1,2,3}	IT ²	BT ³	LC
	Gobiiformes					
	Ambassidae					
51	<i>Parambassis siamensis</i> (Fowler, 1937)	Na ⁸	CA ^{1,2,3,5}	TO ⁵	WC ³	LC
	Cichliformes					
	Cichlidae					
52	<i>Oreochromis niloticus</i> (Linnaeus, 1758)	AL ^{1,2,3,5}	ON ^{1,2}	TO ⁵	WC ⁵	LC
	Cyprinodontiformes					
	Poeciliidae					
53	<i>Gambusia affinis</i> (Baird & Girard, 1853)	Al ³	ON ³	TO ⁷	PG ³	LC
	Synbranchiformes					
	Synbranchidae					
54	<i>Monopterus albus</i> (Zieuew, 1793)	Na ⁸	IN ^{2,3}	TO ^{2,3}	BT ³	LC
	Mastacembelidae					
55	<i>Macroganathus siamensis</i> (Günther, 1861)	Na	IN ^{1,2,3,5}	TO ⁵	BT ³	LC
56	<i>Macroganathus taeniagaster</i> (Fowler, 1935)		IN		BT	LC
57	<i>Mastacembelus armatus</i> (Sykes, 1839)	Na ⁸	IN ^{1,2,5}	TO ⁵	BT ³	LC
	Anabantiformes					
	Osphronemidae					
58	<i>Trichopsis vittata</i> (Cuvier, 1831)	Na ⁸	IN ^{1,2}	TO ⁷	PG ⁷	LC
	Channidae					
59	<i>Channa gachua</i> (Hamilton, 1822)	Na ⁸	CA ^{1,2,3}	TO ²	WC ³	LC
60	<i>Channa striata</i> (Bloch, 1793)	Na ⁸	CA ^{1,2,3}	TO ⁵	WC ³	LC
	Pistolepididae					
61	<i>Pistolepis fasciatus</i> (Bleeker, 1851)	Na ⁸	ON ^{2,3}	TO ⁵	WC ³	LC
	Pleuronectiformes					
	Soleidae					
62	<i>Brachilus hamandi</i> (Sauvage, 1878)	Na ³	ON ^{3,7}	IT	BT ³	LC
	Perciformes					
	Toxotidae					

63	<i>Toxotes siamensis</i> Kottelat & Tan, 2018	Na ³	IN ³	IT ⁶	PC ³	LC
----	---	-----------------	-----------------	-----------------	-----------------	----

Origin (En= endemic species, Na= Native species and Al. = Alien species), Trophic group (ON= omnivores, IN= insectivores, and CA= carnivores), Tolerance (IT=intolerant species, TO=tolerant species), Habitat (PG = pelagic species. WC= water column species. BT= bottom species), Altitude distribution (MT= mountainous species, PM=piedmont species, TS= transitory species, LL= lowland species) IUCN red list status (DD=Data deficient, LC= Least concern, NT= Near threatened, VU= Vulnerable, EN= endangered, CR= critically endangered, NE=not evaluated)

Note: The number in exponent corresponds to the following reference; 1. Suvarnaraksha (2003); 2. Suvarnaraksha (2011); 3.

Suvarnaraksha (2017); 4. Vithayanon (2017); 5. Rayan and Ngamsnae (2014); 6. IUCN red list (2020); 7. Fishbase and 8.

Information from expert



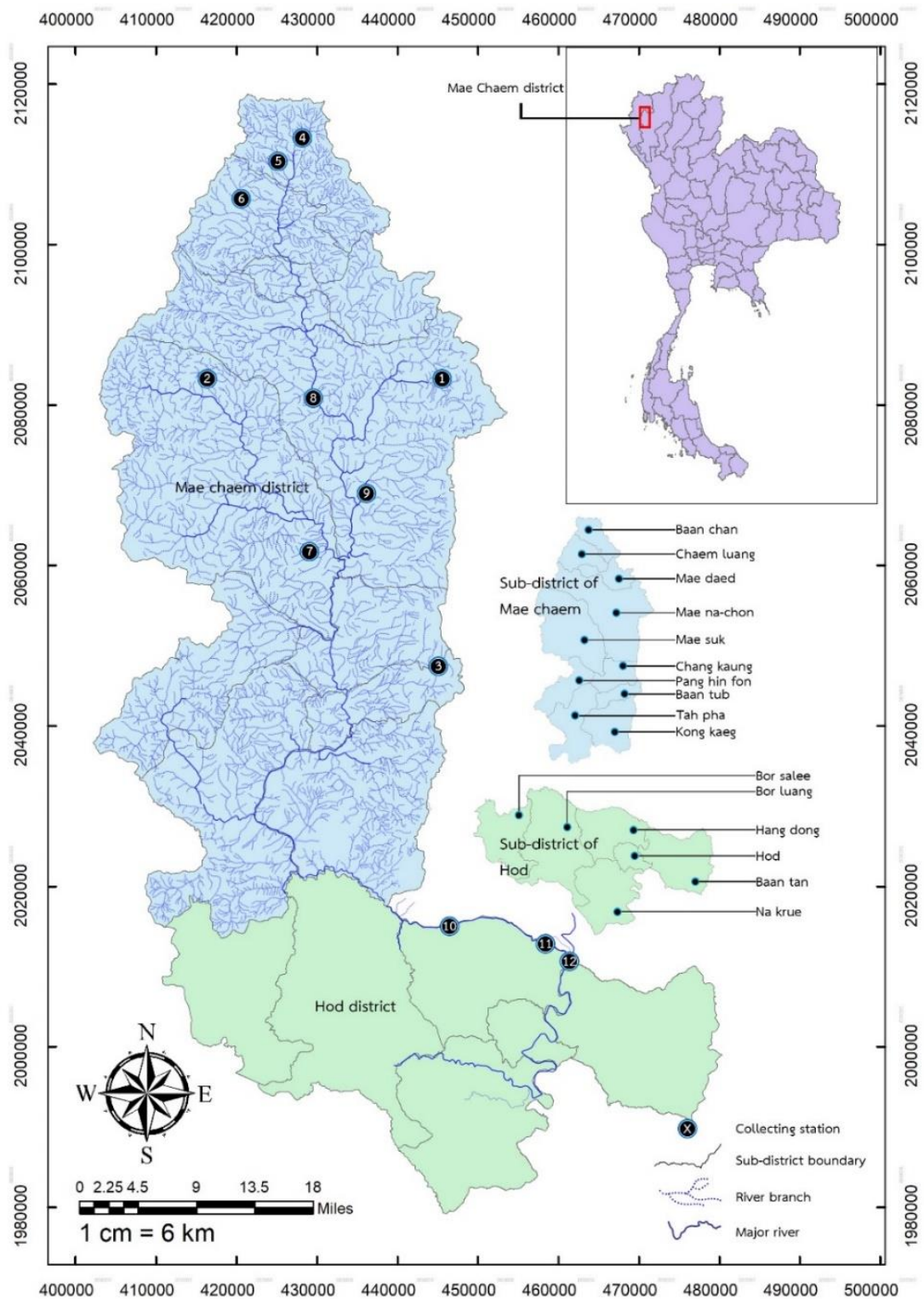


Fig. 1 Map of locations sampled in this study. The location detail is provided in Table 1. Map was created in the ArcGIS version 10.1 and modified in Microsoft Office.

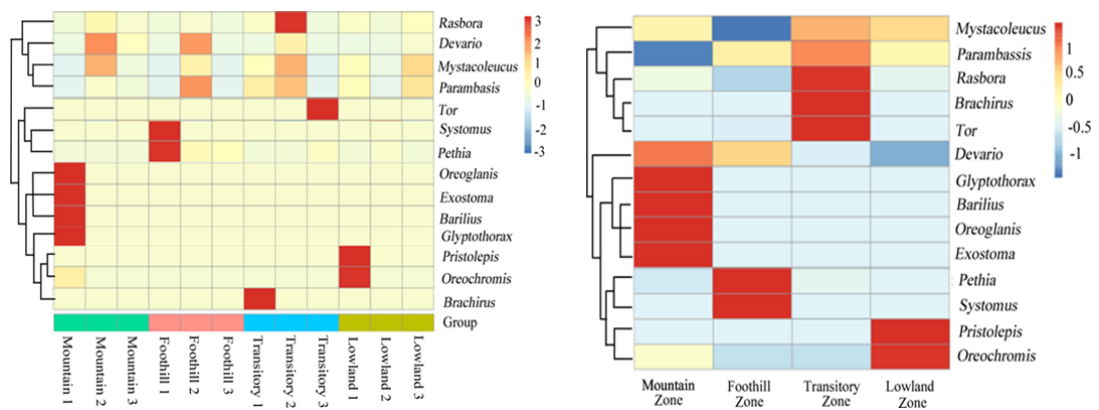


Fig. 2 (A) The abundance distribution of fish species in different sampling site.
 (B) The abundance distribution of fish in the widespread movement of high to low elevation.

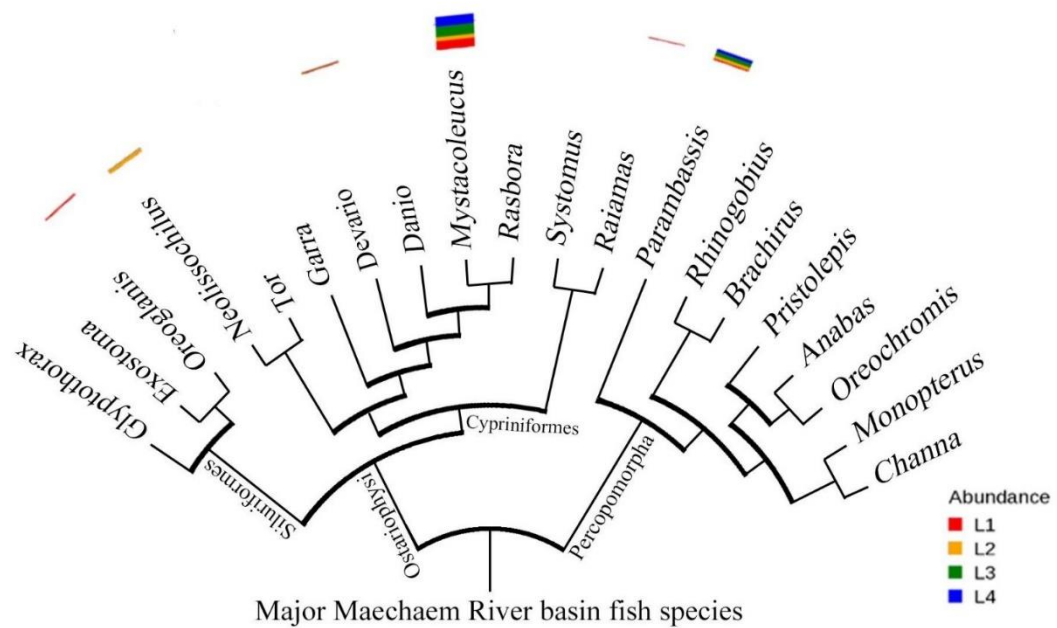


Fig. 3 Taxonomic phylogenetic tree, built using “tree of life” metabarcoding, and bar graphs showing the fish abundance in each zone (red color: mountainous zone; yellow color: foothill zone; green color: transitory zone and blue color: lowland zone).

P5

Complete mitochondrial genome of the *Hampala salweenensis*
(Cypriniformes: Cyprinidae), with phylogenetic implication

Thapanee pholdee^a Tonisman Harefa^b I-Shiung Chen^b Apinun Suvarnaraksha^{a*}

(Submitted)

^aFaculty of fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai, 4 Thailand

^bInstitute of Marine Biology, National Taiwan Ocean University, Keelung, Taiwan, ROC

*Author correspondence:

Apinun Suvarnaraksha (apinun@mju.ac.th)

Orchid ID

Apinun Suvarnaraksha <https://orcid.org/0000-0002-9186-9523>

Thapanee pholdee <https://orcid.org/0000-0002-5485-4584>

Tonisman Harefa <https://orcid.org/0000-0003-2308-8669>

Abstract

Hampala salweenensis, is an endemic species in Thailand. Present study, complete mitogenome and phylogenetic implication was analyzed and described. The whole circular mitogenome is 16,913 bp in total length, consist 13 protein coding genes, 2 ribosomal RNA genes 22 transfer RNAs, and 1 control region (CR). The overall of base composition was 33.6% for A, 26.3% for C, 25.3% for T and 14.7% for G. A maximum phylogenetic tree showed *H. salweenensis* is closer to *H. dispar*. This result expected to be contributed for further molecular and phylogenetic analysis within cyprinid fish.

Keywords: *Hampala salweenensis*, Smiliogastrinae, complete genome, phylogenetic analysis.

1. Introduction

The cyprinid fish genus *Hampala* consist 7 currently recognized species that widely distributed in the Southeastern Asia (Kotellat 2013). All species member showed a unique variation in coloration due to geographical distribution (Doi and Taki 1994; Ryan and Esa 2006). Among members of the genus, only complete mitochondrial genome of *H. macrolepidota* has been full determined (Liu et al. 2015). The fish *H. salweenensis* is an endemic species that distributed in the Salween river basin Northwestern Thailand (Doi and Taki, 1994; Suvarnaraksha, 2010). Detail of life history of *H. salweenensis* is still unknown to date. Present study aimed to describe complete mitochondrial genome and reconstruct phylogeny relationship of some members of subfamily Smiliogastrinae that will contribute for further understanding of genetic analysis of cyprinid group.

The fish specimens of *Hampala salweenensis* were collected from Mae Ngao River, middle reach of Moei River, Mae Hong Son Province, Northwestern Thailand (geographic location: 17°50'36.0"N 97°58'39.3"E). All fish sample for molecular DNA analysis was preserved in ethanol 95% and deposited at Maejo University (www.global.mju.ac.th, Apinun Suvarnaraksha, apinun@mju.ac.th) with voucher number MARNM006504. Genomic DNA was extracted from fin and muscle tissues. Long Polymerase Chain Reaction (PCR) technique (Miya and Nishida, 1999) was employed to amplify the complete mitochondrial genome.

The complete mitochondrial genome of *H. salweenensis* is determined to be 16,913 bp in length containing 37 genes including 13 protein-coding genes (PCGs), 2 ribosomal RNA (rRNA) genes, 22 transfer RNA (tRNA) genes, 1 light-strand replication origin (OL) and 1 control region (D-loop) gene. Typical gene arrangement was found similar with vertebrate mitochondrial genomes (Chen et al. 2014; Liu et al. 2016). The nucleotide composition was 33.6% for A, 26.3% for C, 25.4% for T, and 14.7% for G with slightly tend to AT content 59%. Most identified PCGs were encoded in H-strand, except for ND6. Among PCGs, only COI start with typical codon GTG, while remaining genes started with codon ATG. For tRNA genes, most of the them were located on the H-strand except eight others (tRNA-Gln, tRNA-Ala, tRNA-Asn, tRNA-Cys, tRNA-Tyr, tRNA-Ser, tRNA-Glu and tRNA-Pro), which are located on the L-strand. The two ribosomal

RNA genes, including 12S rRNA with 953 bp and 16S rRNA with 1681 bp in length. The non-coding regions included a short noncoding region with 35 bp in length and control region (also known D-loop region with 1285 bp in length, each gene located between WANCY region (region for five tRNA: Trp, Ala, Asn, Cys. and Tyr) and between tRNA Pro and tRNA Phe, respectively.

Phylogenetic relationship was reconstructed using 13 PCGs of 23 species of Smiliogastrinae and *Danio rerio* as an outgroup that selected from NCBI. Phylogenetic analysis was performed in standard RAxML (Stamatakis, 2016) with 1000 replicates. Model GTR+G+I used as substitution model based on Akaike Information Criterion (AIC) estimated by MrModeltest (Nylander, 2004). Maximum likelihood tree result presented that *H. salweenensis* is closer to *H. dispar*. Similar with previous study, genus *Clypeobarbus* and *Barboides* were found in one clade with *Enteromius* (Yang *et al.*, 2015). Further studies using others taxon within Smiliogastrinae subfamily is necessary to give more insight of their evolution and biogeography within cyprinid fish.

Declaration of interest

The authors declare no conflict of interest of this manuscript. The authors are responsible for the content and writing of this paper.

Acknowledgment

This work was supported by the Royal Golden Jubilee Program of the Thailand Research Fund (Grant PHD/0132/2558) to the first author.

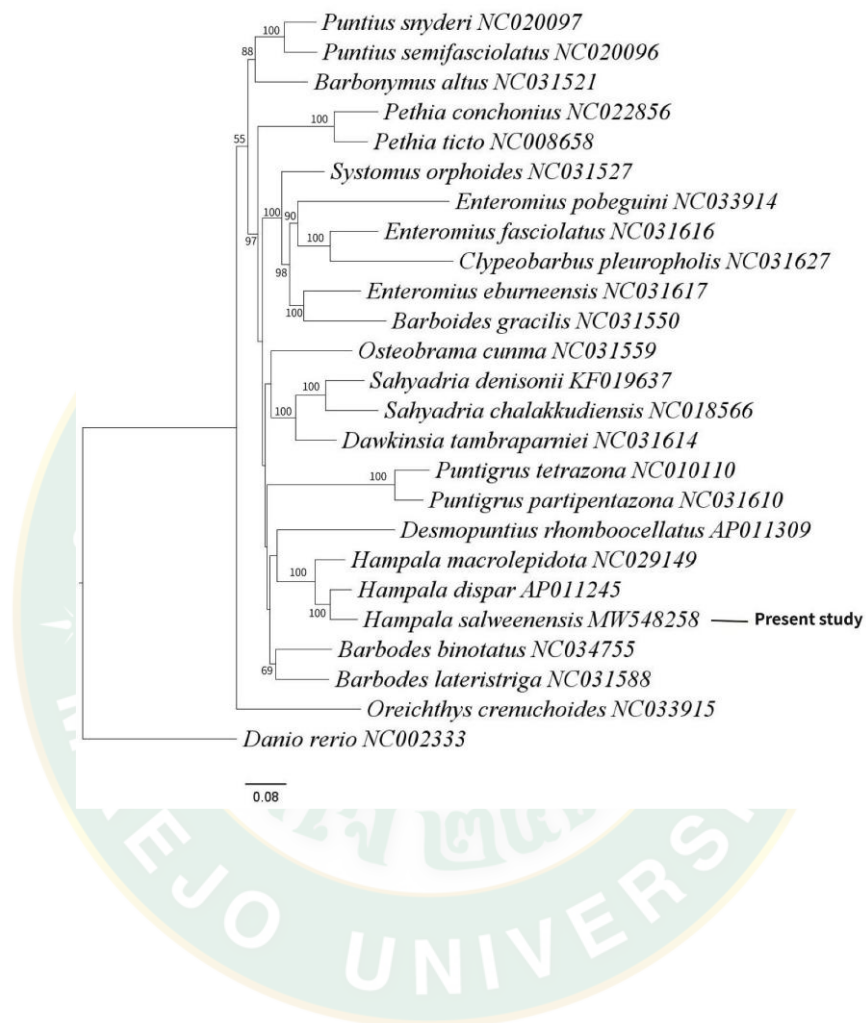
Data availability statement

Mitochondrial genome sequence can be accessed via accession number MW548258 in GenBank of NCBI at <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Reference

- Chen IS, Wen ZH, Liao CR, Shen CN. 2014. The complete mitochondrial genome of *Plesiomyzon baotingensis* Zheng & Chen (Cypriniformes: Balitoridae). *Mitochondrial DNA A* 26: 899-901. doi:10.3109/19401736.2013.861450
- Doi A, Taki Y. 1994. A new cyprinid fish, *Hampala salweenensis* from the Mae Pai River85 system, Salween Basin, Thailand. *Japan J Ichtyol* 40: 405-412.
- Kotellat M. 2013. The fishes of the inland waters of southeast Asia: A catalogue and core bibliography of the fishes known to occur in freshwater, mangroves and estuaries. *Raffles bull zool. Supp* 27: 1-663.
- Liu GD, Chen IS, Zhu JQ, Shen CN. 2016 The complete mitochondrial genome of Chinese rod gudgeon *Abbotina rivularis* (Cypriniformes, Cyprinidae). *Mitochondrial DNA A* 27:523-524 doi:10.3109/19401736.2014.905838
- Liu M, Huang F, Liu S. 2015. The complete genome of *Hampala macrolepidota* (Cypriniformes, Cyprinidae). *Mitochondrial DNA A* 26: 807-808. doi:10.3109/19401736.2013.855903 95
- Miya M, Nishida M. 1999. Organization of the mitochondrial genome of a deep-sea fish, *Gonostoma gracile* (Teleostei: Stomiiformes): First example of transfer RNA gene arrangement in bony fish. *Mar Biotechnol* 1: 416-426
- Nylander JAA. 2004. MrModeltest v2. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre Uppsala University, Uppsala.
- Ryan JRJ, Esa YB. 2006. Phylogenetic analysis of *Hampala* fishes (Subfamily Cyprininae) in Malaysia inferred from partial mitochondrial cytochrome b DNA sequences. *Zoological sciences* 23: 893-901. doi:10.2108/zsj.23.893
- Stamatakis A. 2016. RAxML Version 8: A tool for phylogenetic analysis and post analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30: 1312-1313.
- Suvarnaraksha A. 2010. Fish diversity in Salween watershed in Thai Water. Maejo University, Chiang Mai, 78p.
- Yang L, Sado T, Hirt MV, Pasco-Viel E, Arunachalam M, Li J, Wang X, Freyhof J, Saitoh K, Simons AM, Miya M, He S, Mayden RL. 2015. Phylogeny and polyploidy: Resolving the classification of cyprinine fishes (Teleostei: Cypriniformes). *Mol Phylogenet Evol* 110 85: 97-116.

Figure 1. Phylogenetic tree of subfamily Smiliogastrinae species based on maximum likelihood (ML) using 13 PCGs. Bootstrap support values less than 50% are not shown. The 115 number after species name is the GenBank accession number.



บทที่ 5

วิจารณ์ผล

5.1 การประยุกต์ใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพสิ่งแวดล้อมทางน้ำ (NTFIBI)

ระบบนิเวศวิทยาของแหล่งน้ำในเขตร้อนขึ้นมีความซับซ้อนสูงมากโดยเฉพาะปลา ด้วยลักษณะตามแหล่งที่อยู่อาศัยที่หลากหลาย มีผลต่อรูปร่าง พฤติกรรม และชีววิทยาบางประการของปลาในเขตร้อน (Suvarnaksha, 2011) การเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมทางน้ำตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันนี้มีการเปลี่ยนแปลงไปทั้งทางกายภาพและชีวภาพ และปลายังสามารถปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมได้ดี ในขณะที่ลักษณะสัณฐานวิทยาและนิเวศวิทยาได้เปลี่ยนแปลงไป (Suvarnaksha, 2011) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของลำน้ำทางภูมิศาสตร์และสัณฐานวิทยา เป็นปัจจัยที่ควบคุมกลุ่มของปลาในแง่ความร่ำรวยชนิดและการแพร่กระจายของแต่ละชนิด (Suvarnaksha, 2011) เช่น ในระบบนิเวศวิทยาน้ำไหล องค์ประกอบชนิดปลาได้รับอิทธิพลอย่างสูงจากหลายปัจจัย เช่น ความเร็วและกระแสน้ำ อุณหภูมิ ระดับความสูง (Orrego *et al.*, 2009; Suvarnaksha, 2011) และการเปลี่ยนแปลงในแหล่งน้ำนิ่ง เช่นการสร้างเขื่อนกั้นส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศโดยรวม เนื่องจากปลาแต่ละชนิดมีความต้องการอาหารและที่อยู่อาศัยแตกต่างกัน เช่น ลักษณะของพื้นที่ท้องน้ำเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างยิ่งที่จะบ่งชี้ถึงชนิดของสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะกลุ่มสัตว์หน้าดินหรือสิ่งมีชีวิตที่ต้องพึ่งพาอาศัยสัตว์หน้าดินเป็นอาหาร (ซุกรี, 2551)

ลักษณะข้อมูลชีววิทยา ความหลากหลายและความอุดมสมบูรณ์ของปลา สามารถเป็นตัวชี้วัดถึงระดับความเสื่อมโทรมที่เกิดจากกิจกรรมมนุษย์เกือบทุกประเภททำให้เกิดความเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำโดยเฉพาะการสูญเสียแหล่งที่อยู่อาศัยของสิ่งมีชีวิตในน้ำ เกิดการรุกรานของสัตว์ต่างถิ่น การสูญเสียพันธุ์ต่อเนื่องของชนิดพันธุ์หลักบางชนิดแล้วมีผลต่อการสูญเสียพันธุ์ของชนิดอื่น ๆ รวมทั้งมลพิษทางเคมีและชีวภาพ เป็นต้น (Orrego *et al.*, 2009; Suvarnaksha, 2011) ผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อมและที่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมของมนุษย์ หากพูดถึงความหลากหลายทางชีวภาพที่ผ่านมาและปัจจุบันย่อมมีความแตกต่างกันได้ชัดเจนถึงปริมาณและจำนวนที่ลดลง เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวที่กล่าวมานั้นมีผลกระทบต่อแหล่งที่อยู่อาศัยและแหล่งอาหารของสิ่งมีชีวิตทุกระดับในห่วงโซ่อาหารตั้งแต่ตัวอ่อนขนาดเล็กในแหล่งน้ำที่ต้องอาศัยพื้นที่ท้องน้ำและคุณภาพน้ำที่เหมาะสมรวมทั้งแมลงที่ต้องมีต้นไม้อาศัยเพื่อการเจริญเติบโต และเหล่านี้คืออาหารของปลาที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำเพราะอาหารมีความสำคัญต่อการอยู่รอดของปลา หากมีภาวะวิกฤตการขาดแคลนอาหารย่อมส่งผลต่อการลดลงของประชากรปลา (Suvarnaksha, 2011) นอกจากอาหารแหล่งที่อยู่หรือพื้นที่ท้องน้ำที่แตกต่างกันมีส่วนเกี่ยวข้องอย่างมากต่อการดำรงชีวิตของปลา ปลาแต่ละชนิดต้องการถิ่น

ที่อยู่อาศัยแตกต่างกัน ลักษณะรูปร่างของปลาสามารถบอกถึงสภาพแวดล้อมที่อยู่ได้ เช่น มีการพัฒนาอวัยวะสำหรับยึดเกาะ ซึ่งสามารถนำมาใช้ในการยึดเกาะก้อนหินซึ่งเป็นบริเวณที่แหล่งน้ำมีกระแสไหลค่อนข้างแรงจะพบเจอในกลุ่ม Balitoridae และเป็นกลุ่มเด่นในแหล่งน้ำที่มีลักษณะดังกล่าว เป็นต้น ดังนั้นการประเมินและการตรวจติดตามคุณภาพแหล่งน้ำมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการดูแลและจัดการสิ่งแวดล้อมแหล่งน้ำตลอดจนการรักษาสุขภาพของมนุษย์ (สิทธิพัฒน์ และคณะ 2553) ซึ่งการการติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำทำให้ทราบถึงคุณภาพของแหล่งน้ำนั้นมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ประโยชน์โดยมีวิธีการตรวจสอบหรือประเมินสิ่งแวดล้อมทางน้ำได้หลายวิธี ได้แก่ ทางกายภาพ ทางเคมี และทางชีวภาพ (Ngamsnae, 2011) และวิธีที่ถือว่ามีประสิทธิภาพและสามารถสะท้อนผลกระทบของแหล่งน้ำโดยตรงและสามารถบอกคุณภาพของแหล่งน้ำตั้งแต่ในอดีตจนถึงปัจจุบันได้ ซึ่งแตกต่างจากวิธีการทางกายภาพและทางเคมีที่เป็นการบ่งชี้คุณภาพแหล่งน้ำ ณ เวลาที่ทำการตรวจวัดหรือตรวจวิเคราะห์ เท่านั้น คือการใช้สิ่งมีชีวิตในการติดตามและตรวจสอบติดตามการเปลี่ยนแปลงของสภาวะโดยสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ จะเป็นตัวบ่งชี้ หรือตัวชี้วัด (bioindicator) ถึงสถานการณ์ของคุณภาพแหล่งน้ำ (Rayan and Ngamsnae, 2014)

ดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพ (Fish Index of Biotic Integrity, Fish-IBI) ถูกพัฒนาเริ่มต้นโดย Karr (Karr, 1981) และมีการใช้อย่างแพร่หลายทั้งน้ำนิ่ง และน้ำไหล (Araujo *et al.*, 2003; Pinto and Araújo, 2007; Schinegger *et al.*, 2013) น้ำกร่อย (Das and Samanta, 2006; Harrison and Whitfield, 2006) ทะเลสาบ (Argillier *et al.*, 2013) และทะเล สำหรับประเทศไทย เริ่มมีรายงานเกี่ยวข้องอยู่ 2 แหล่งน้ำคือพื้นที่ชุ่มน้ำหนองหาร (Rayan and Ngamsnae, 2014) และเขตลุ่มน้ำตะวันออก (สิทธิพัฒน์ และคณะ 2553) ซึ่งเมทริกของปลาที่มีคุณสมบัติในการแสดงการตอบสนองต่อแรงกดดันที่เฉพาะเจาะจงในแหล่งน้ำที่แตกต่างกัน (Schinegger *et al.*, 2013) ซึ่งการใช้ที่ดิน การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ การสะสมสารพิษและสิ่งมีชีวิตต่างถิ่นเข้ามาแทนที่พันธุ์ปลาพื้นเมืองโดยสิ่งเหล่านี้มีผลต่อการเลือกหรือกำหนดเมทริกสำหรับพัฒนาต่อไปในอนาคต (Hering *et al.*, 2006) ดังนั้นเพื่อหาวิธีการจัดการหรือระบุเมทริกต่าง ๆ ผลกระทบจากแรงกดดันมีต่อประชากรของสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศต้องมีความเข้าใจธรรมชาติหลายด้าน (Ormerod *et al.*, 2010) เช่น ที่อยู่อาศัย (habitat) การอพยพ (migration) คุณภาพน้ำที่เสื่อมลง (water quality sensitivity) การสืบพันธุ์ (reproduction) ระดับชั้นน้ำ (trophic level) และ ความหลากหลายทางชีวภาพ (biodiversity) เป็นต้น (Schinegger *et al.*, 2013)

ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ เป็นการนำข้อมูลลักษณะทางชีววิทยาของปลาเพื่อแบ่งกลุ่มลักษณะ และสามารถนำมากำหนดเป็นกลุ่มเมทริกเพื่อประเมินความเสี่ยงโทรมของแหล่งน้ำได้ โดยการกำหนดสภาวะอ้างอิงที่ใช้ข้อมูลเมื่ออดีตมาเป็นฐานการประเมิน แล้วสามารถใช้ข้อมูลปลาในปัจจุบันมาเปรียบเทียบเพื่อประเมินผล โดยการกำหนดพื้นที่ตัวอย่างเบื้องต้นสำหรับน้ำนิ่ง และน้ำไหล เพราะ

สภาพระบบนิเวศมีความแตกต่างกัน ซึ่งในปัจจุบันจากรายงานมีการใช้ตัวอย่างทางชีวภาพอยู่ 2 พื้นที่ คือ หนองหาร (Rayan and Ngamsnae, 2014) และ ลุ่มน้ำภาคตะวันออกเฉียง (สิทธิพัฒน์ และคณะ 2553) แต่ในส่วนของภาคเหนือทั้งระบบน้ำนิ่งและน้ำไหลยังไม่เคยพบรายงานมาก่อน แต่มีการศึกษาทางด้านความหลากหลายทางชีวภาพของปลาทั้งในแหล่งน้ำนิ่ง ในเขื่อนแม่จันทสมบูรณ์ชล จังหวัด เชียงใหม่ (Suvarnaraksha, 2004) และแหล่งน้ำไหลในเขตอนุรักษ์พันธุ์สัตว์ป่าเชียงดาว จังหวัด เชียงใหม่ (Suvarnaraksha, 2003) ซึ่งเป็นข้อมูลที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อพัฒนาดัชนีชี้วัดความ สมบูรณ์ชีวภาพได้ ถือว่าเป็นสภาวะอ้างอิงได้ดี เพื่อนำมาเป็นมาตรฐานของชุดเมทริกโดยใช้ปลาเป็น ดัชนีได้ ในครั้งนี้

จากการศึกษาการใช้ข้อมูลปลาในแหล่งน้ำนิ่ง คือ เขื่อนแม่จันทสมบูรณ์ชล จ. เชียงใหม่ (Suvarnaraksha, 2004) เพื่อเป็นเมทริกชุดต้นแบบโดยทดลองทำชุดเมทริกสำหรับน้ำนิ่งโดยแบ่ง ตามฤดูกาลคือ ฤดูฝน ฤดูหนาว และฤดูร้อน และใช้ตัวอย่างจากการสำรวจในปี 2562-2563 (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2553) เพื่อทำการประเมิน และผลการประเมินสุขภาพหรือความ สมบูรณ์พื้นที่แม่จันทสมบูรณ์ชล ได้คะแนน 47, 45 และ 49 ตามลำดับ ผลคะแนนจัดอยู่ในเกณฑ์ปาน กลาง (Medium หรือ Fair) คะแนนมีความแตกต่างกันเล็กน้อยและจัดในกลุ่มเดียวกัน ดังนั้นจึงทำ การจัดชุดเมทริกสำหรับการประเมินแหล่งน้ำนิ่ง กรณีศึกษาเขื่อนแม่จันทสมบูรณ์ชล จ. เชียงใหม่ เหลือเพียง 1 ชุดโดยข้อมูลทุกฤดูกาลเป็น 1 ปี และทำค่าคะแนนของเมทริกและเกณฑ์การให้คะแนน ใหม่ สามารถประเมินค่าความสมบูรณ์ของแหล่งน้ำตามเมทริกที่ได้ ค่าที่เป็นกลาง (38 คะแนน) สอดคล้องกับรายงานการประเมินความสมบูรณ์ทางชีวภาพโดยการใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดในพื้นที่ชุ่มน้ำ หนองหาร จ.สกลนคร ที่ประเมินผลความสมบูรณ์ในระดับปานกลางเช่นกันโดยจากผลการศึกษาพบ คะแนนกลุ่มปลาที่อ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลงลดลง (% intolerant species) และมีกลุ่มปลาที่ อดทนต่อการเปลี่ยนแปลง (% tolerant species) มากกว่าสอดคล้องกับรายงานของการประเมินใน พื้นที่หนองหาร (Rayan and Ngamsnae, 2014) และมีปริมาณโครงสร้างพฤติกรรมการกินอาหาร ปลาของกลุ่มที่กินได้ทั้งพืชและสัตว์ (% Omnivores) ที่เพิ่มขึ้นแสดงถึงสภาพแวดล้อมที่เสื่อมลงส่งผล ต่อสัดส่วนอาหารที่เปลี่ยนแปลงกลุ่มที่สามารถปรับตัวได้ดีคือกลุ่มปลาที่สามารถกินอาหารได้ หลากหลาย (Karr, 1981) นอกจากนี้จากการศึกษาครั้งนี้พบชนิดปลา ชะโด (*Channa micropeltes*) ที่ไม่มีรายงานพบในปี 2004 (Suvarnaraksha, 2004) และจากการสำรวจในปัจจุบัน (กระทรวง เกษตรและสหกรณ์, 2553) พบปริมาณมากขึ้นเป็นกลุ่มปลาที่มีขนาดใหญ่กินสัตว์อื่นเป็นอาหารและมีความ อดทนต่อการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมได้ดี

สำหรับพื้นที่น้ำไหล ตัวอย่างข้อมูลเดิม (Suvarnaraksha, 2003) นำมาจัดผลค่าตัวแปรทาง ชีวภาพของแต่ละเมทริกโดยในการศึกษานี้ได้แบ่งพื้นที่ย่อยออกเป็น 3 พื้นที่ คือเวียงแหง เมือง คอง และสบแม่แตง-แม่ปิง เพื่อเปรียบเทียบดูความแตกต่างของแต่ละพื้นที่และแต่ละฤดูกาล เมื่อ

เปรียบเทียบกับเกณฑ์คะแนนที่พัฒนา ได้ผลคะแนนเมตริกและผลรวมดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพของแต่ละพื้นที่ พบว่า ค่าดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพในทุกพื้นที่ ทุกฤดูกาล มีค่าระหว่างคะแนนระหว่าง 37-50 และผลการประเมินของสุขภาพจะจัดอยู่ในลำดับปานกลาง (Fair) ดังนั้น จึงพัฒนาเมตริกรวมทุกพื้นที่ย่อยและแต่ละฤดูกาลให้เป็นพื้นที่รวมของกลุ่มน้ำแม่แดงเพียง 1 ชุดเมตริก เพื่อง่ายต่อการประเมินและใช้ประโยชน์ และได้ผลคะแนนเมตริกและผลรวมดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพของปี 2019 โดยพบว่าค่าดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพมีค่าเท่ากับ 53 คะแนน พบว่าคะแนนที่สามารถประเมินได้อยู่ในเกณฑ์ที่ปานกลาง บ่งบอกถึงการเปลี่ยนแปลงของแหล่งน้ำและผลกระทบจากกิจกรรมของมนุษย์มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของประชากรปลา สำหรับข้อมูลน้ำไหลยังไม่มีรายงานในประเทศไทยในการจัดเมตริกและการประเมินผลมาก่อน ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้ถือว่าเป็นการศึกษาเบื้องต้นและสามารถนำไปพัฒนาได้เพื่อประสิทธิภาพที่ดีขึ้นไป

โดยเมตริกสำหรับการประเมินแหล่งน้ำทั้งน้ำนิ่งและน้ำไหล มีทั้งหมด 18 เมตริกโดยใช้คุณลักษณะของปลาเป็นตัวกำหนดจากข้อมูลทางวิชาการที่เกี่ยวข้อง (IUCN, 2020; Rayan and Ngamsnae, 2014; Suvarnaraksha, 2003, 2004; Vidthayanon, 2017) เช่นเดียวกับ Das และ Samanta (Das and Samanta, 2006) ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้แสดงการตอบสนองต่อแรงกดดันจากกิจกรรมของมนุษย์ และสามารถบอกทิศทางการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมทางน้ำได้ ซึ่งคุณลักษณะของปลาดังกล่าวเราจะเรียกว่า เมตริก (Metric) จากการศึกษาการกำหนดเมตริกสามารถแบ่งได้ 2 หลักใหญ่ๆ ปัจจัยด้วยชีวภาพ (Biological parameters) และปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม (Environmental parameters) โดยแบ่งเมตริกสำหรับน้ำนิ่ง เป็น 6 กลุ่ม คือ Species diversity (ความหลากหลายชนิด), Fish status (สถานะของปลา), Trophic composition (พฤติกรรมการกินอาหาร), Habitat composition (องค์ประกอบของถิ่นอาศัย), Tolerant (ปลาที่มีความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลง) ส่วนเมตริกประเมินแหล่งน้ำไหลจะมี 7 กลุ่มโดยเพิ่มเมตริกกลุ่ม Altitude distribution (ความสัมพันธ์ของการกระจายตัวตามระดับความสูง กับการกระจายตัวของปลา) ซึ่งเป็นเมตริกใหม่เข้าไปด้วย (Suvarnaraksha, 2011)

กลุ่มเมตริก Diversity index ประกอบด้วย เมตริก number of species richness, Shanon-weiner biodiversity index และ dominant Simpson's index ดัดแปลงมาจากงานวิจัย (Karr, 1981; Vile and Henning, 2018; Wu *et al.*, 2014; Zogaris *et al.*, 2018) ซึ่งเมตริก Diversity index เริ่มนิยมใช้ในภายหลัง เช่น นำไปใช้ Shihoudian Lake ในประเทศจีน (Shi *et al.*, 2020) การประเมินผลกลุ่มน้ำนิ่งมีค่าคะแนน 1 คะแนน แสดงถึงการเสียความสมดุลของระบบนิเวศแหล่งน้ำโดยรวม ของอาหารและที่อยู่อาศัยส่งผลต่อหมายถึงความอุดมสมบูรณ์ของสิ่งมีชีวิตที่ต่ำ และสะท้อนถึงความแปรปรวนของอาหารที่ต่ำและดัชนีความหลากหลายต่ำยังสะท้อนถึงการย่อยสลายทางธรรมชาติ กิจกรรมของมนุษย์ เมตริกนี้ถูกใช้ในงานต่าง ๆ สำหรับทะเลสาบ

เมตริก number of species richness เป็นเมตริกที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเมตริกนี้เป็นตัวบ่งบอกโครงสร้างกลุ่มประชากรที่เปลี่ยนแปลงเมื่อได้รับผลกระทบจากกิจกรรมของมนุษย์ (Li, T. *et al.*, 2018; Schinegger *et al.*, 2013) จำนวนชนิดปลาจะลดลงตามความเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำ (Krause *et al.*, 2012)

เมตริก Shannon-Weiner biodiversity index ค่าดัชนีความหลากหลายทางชีวภาพ จะลดลงตามความเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำ (Wu *et al.*, 2020) มีการนำมาใช้ในแม่น้ำ Wei River ในประเทศจีน (Wu *et al.*, 2014) นอกจากนี้เมตริกนี้ยังมีอีกหลายเมตริกที่เคยนำมาใช้ (Ergönül *et al.*, 2018) เช่น Piloni-Evenness Dominance, Simpson's Index, Camargo Index เป็นต้น

เมตริก Dominant Simpson's index เป็นเมตริกแสดงถึงกลุ่มปลาชนิดเด่นที่พบมากที่สุด ในแหล่งน้ำที่ประเมินและจะมีเปอร์เซ็นต์ลดลงตามความเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำตาม ดัดแปลงมาจาก (Vile and Henning, 2018)

กลุ่มเมตริก Fish status ประกอบด้วย เมตริก native species (Lyons, 2006), alien species (Zhu and Chang, 2008) และ hybrid species (Hu *et al.*, 2007) โดยเฉพาะกลุ่ม Native species คือ ชนิดปลาพื้นถิ่นที่มีความสำคัญเนื่องจากการเพิ่มจำนวนสามารถสะท้อนถึงความอุดมสมบูรณ์ตามธรรมชาติ โดยจะลดลงตามความเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำ (Cai *et al.*, 2020; Jenkins and Burkhead, 1994) ตัวอย่างเช่น *D. maetaengensis* เป็นสายพันธุ์พื้นเมืองที่อาศัยอยู่เฉพาะถิ่นสามารถพบได้ในแม่น้ำแม่แตงเท่านั้น (Suvarnaksha, 2017) และ *O. siamensis* เป็นปลาที่อาศัยเฉพาะแหล่งน้ำที่พิเศษต้องมีคุณภาพน้ำดี อุณหภูมิต่ำและกระแสไหลแรง มีความเสี่ยงที่จะสูญพันธุ์ได้ง่าย (Suvarnaksha, 2011)

เมตริก Native species เป็นเมตริกที่นิยมใช้มานานตั้งแต่เริ่มต้น Karr (1981) เป็นเมตริกที่แยกปลาพื้นถิ่นออกจากปลาต่างถิ่น (Rayan and Ngamsnae, 2014) การประเมินผลจากเมตริกดังกล่าวที่ส่งผลต่อกลุ่มโครงสร้างประชากรลดลง สอดคล้องกับรายงาน ในการทดสอบประสิทธิภาพเมตริกในน้ำในยุโรป (Cai *et al.*, 2020; Schinegger *et al.*, 2013) ในประเทศนิวซีแลนด์ (Joy and Death, 2004) ใช้เมตริกนี้แบ่งออกเป็น 2 เมตริกคือ เป็นการนับจำนวน และสัดส่วนเปอร์เซ็นต์ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสำคัญของเมตริกนี้ สอดคล้องกับในแม่น้ำ Sinos ของบราซิลเคยใช้เมตริกนี้ (Pinto and Araújo, 2007) ก่อนที่จะถูกรวมเมตริกดังกล่าวในกลุ่มเมตริก Species richness แทน (Costa and Schulz, 2010) แต่ต่างจากแม่น้ำ Wei ในประเทศจีน ที่ไม่ใช่เมตริกนี้แต่หากเป็นการแยกชนิดกลุ่มตามอันดับของปลาแทนเมตริกดังกล่าว (Wu *et al.*, 2014) และนิยมใช้กันมาอย่างต่อเนื่อง เช่น Great Lakes coastal wetlands (Araujo *et al.*, 2003; Cooper *et al.*, 2018; Raburu and Masese, 2012) สำหรับประเทศไทยมีรายงานการใช้เมตริกดังกล่าวในพื้นที่ชุ่มน้ำหนองหาร (Rayan and Ngamsnae, 2014)

ส่วนเมทริก Alien species ประยุกต์มาจาก (Zhu and Chang, 2008) เป็นเมทริกที่สะท้อนและบอกถึงความสัมพันธ์ของกลุ่มปลา Native species กับปลา Alien species ได้ดี (Aparicio *et al.*, 2011) ซึ่งหมายถึงการทดแทนที่ของปลาต่างถิ่นส่งผลต่อกลุ่มปลาพื้นเมืองที่ลดลง (Schinegger *et al.*, 2013) รวมถึงการเปลี่ยนแปลงจำนวนชนิดปลากลุ่มนี้ที่เพิ่มมากขึ้นหมายถึงความเสี่ยงของระบบนิเวศเกิดขึ้น (Krause *et al.*, 2012) การใช้อย่างต่อเนื่องทั้งในบราซิล (Araujo *et al.*, 2003) ยุโรป (Aparicio *et al.*, 2011; Schinegger *et al.*, 2013) (Krause *et al.*, 2012) หรือในประเทศจีน ใช้เป็นค่าร้อยละที่เจอสำหรับเป็นเมทริกของแม่น้ำ Weihe (Wu *et al.*, 2020) ซึ่งในอดีตแม่น้ำสายนี้เคยพัฒนาเมทริกมาก่อนแต่ไม่มีเมทริกกลุ่มปลาต่างถิ่น (Wu *et al.*, 2014) โดยได้ปรับเปลี่ยนและนำมากำหนดเมทริกดังกล่าวในปี 2020 ส่วนในประเทศไทยเองไม่มีรายงานในการใช้เมทริกดังกล่าว

ส่วนเมทริก Hybrid species ประยุกต์มาจาก (Argillier *et al.*, 2013; Hu *et al.*, 2007) สำหรับการศึกษาครั้งนี้ใช้เมทริกนี้ในกลุ่มน้ำนิ่งเท่านั้น เมทริกนี้เริ่มใช้มาตั้งแต่ยุคแรกๆ (Karr, 1986) พบรายงานบางแหล่งน้ำเช่นใน Nan-shih ในไต้หวัน (Hu *et al.*, 2007) และไม่พบในรายงานการใช้ในประเทศไทย (Rayan and Ngamsnae, 2014; สิริพิพัฒน์ และคณะ 2553) การประเมินผลในแหล่งน้ำไหลของเมทริก Native species ได้ผลการประเมินน้อย โดยเมื่อแบ่งการประเมินออกเป็น 3 พื้นที่ คือ เวียงแหง เมืองคอง และรอยต่อแม่น้ำแม่แตงกับแม่น้ำปิง มีคะแนน 3, 2 และ 1 คะแนน เมื่อเปรียบเทียบกับอดีตในสถานะอ้างอิงที่เรากำหนด พบเจอจำนวนปลาที่น้อยลง การเปลี่ยนแปลงของลำน้ำทางภูมิศาสตร์ จากการเปลี่ยนแปลงที่ดิน หรือ การรบกวนพื้นที่อยู่อาศัยของปลา มีผลต่อการลดจำนวนลงของปลา (Suvarnaksha, 2011) เนื่องระบบนิเวศวิทยาน้ำไหลมีองค์ประกอบหลากหลายที่ส่งผลต่อการสืบพันธุ์และการอยู่รอดของปลา (Orrego *et al.*, 2009; Suvarnaksha, 2011) ส่วนในแหล่งน้ำนิ่งได้คะแนนคือ 2 น้อยกว่าผลการประเมินในหนองหาร (3 คะแนน) ที่เป็นอ่างเก็บน้ำเช่นกัน แต่ในหนองหารไม่มีการลดลงของปลากลุ่มนี้มากนักเมื่อเทียบกับสถานะอ้างอิง (Rayan and Ngamsnae, 2014) ในกลุ่มเมทริกนี้สามารถสรุปได้ว่าการเปลี่ยนแปลงหรือผลกระทบจากกิจกรรมของมนุษย์ส่งผลต่อปริมาณความหลากหลายชนิดของสัตว์น้ำ สำหรับเมทริก Hybrid (Hu *et al.*, 2007) ใช้ในแหล่งน้ำนิ่งเท่านั้นเนื่องจากในอดีตการสำรวจความหลากหลายของชนิดปลาเมื่อปี 2004 พบกลุ่มปลา (Clarias hybrid (*C. macrocephalus* x *C. gariepinus*) and *Oreochromis* hybrid) ซึ่งกลุ่มนี้ สามารถสะท้อนจำนวนสปีชีส์ต่างถิ่น (Alien species) ที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นแทนที่กลุ่มปลาพื้นเมือง นิ่งหมายถึงสามารถอธิบายถึงรูปแบบระบบนิเวศที่เปลี่ยนแปลงไป ที่ (Aparicio *et al.*, 2011) ดังนั้นจึงมีการกำหนดเมทริกดังกล่าว ซึ่งจะไม่พบในกลุ่มเมทริกที่สำหรับประเมินแหล่งน้ำไหล แต่ในน้ำนิ่ง เช่นในทะเลสาบเมทริกนี้ (Alien species) สามารถบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงไปของระบบนิเวศได้ (Petriki *et al.*, 2017) การเพิ่มจำนวนของสิ่งมีชีวิตเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลง

ดังกล่าวเป็นผลมาจากผลกระทบจากมนุษย์ที่มีต่อโครงสร้างชุมชนปลาเป็นเวลานาน (Wolter *et al.*, 2000)

เมทริกกลุ่มพฤติกรรมการกินอาหาร (Tropic composition) มีการใช้เริ่มต้นตั้งแต่ยุคแรก (Karr, 1981, 1986) ซึ่งกลุ่มนี้มีความสำคัญอย่างมากซึ่งสะท้อนให้เห็นในการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างขององค์ประกอบทางโภชนาการ (Karr, 1986) สำหรับการศึกษาครั้งนี้ แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มหลักคือ omnivores, insectivores และ carnivores สอดคล้องกับรายงานที่ผ่านมาที่นิยมใช้หลักๆ 3 เมทริกนี้ (Araujo *et al.*, 2003; Cai *et al.*, 2020; Pinto and Araújo, 2007; Pont *et al.*, 2006; Raburu and Masese, 2012; Wu *et al.*, 2014; Zhu and Chang, 2008) คือ (1) เพอร์เซ็นต์ปลาที่กินทั้งพืชและสัตว์เป็นอาหาร (omnivores) เป็นปลาที่กินอาหารไม่เลือกไม่ว่าจะพืชหรือสัตว์ ขึ้นอยู่กับขนาด อายุ ฤดูกาล โอกาส ปริมาณและความสามารถในการหาอาหาร (Suvarnaksha, 2017) จากพฤติกรรมการกินอาหารได้หลากหลายและสามารถปรับตัวได้ดีต่อสภาพแวดล้อมที่เสื่อมลงจะมีปริมาณชนิดดังกล่าวมากขึ้น (Rayan and Ngamsnae, 2014) (Wu *et al.*, 2020) (2) เพอร์เซ็นต์ปลาที่กินแมลงเป็นอาหาร (insectivores) จากลักษณะปากเป็นตัวบ่งบอกถึงการกินอาหารคือปากเฉียงขึ้นบนและมีปมเป็นตะขอที่ส่วนขากรรไกรล่าง เช่น ปลาชิวไบไฟ (Suvarnaksha, 2017) ทำให้เมทริกนี้อยู่ในแหล่งที่จำเพาะหากเกิดการเปลี่ยนแปลงของแหล่งที่อยู่อาศัยย่อมส่งผลต่อปริมาณที่ลดลง (Schinegger *et al.*, 2013; Wu *et al.*, 2014) และ (3) เพอร์เซ็นต์ปลาที่เป็นผู้ล่า (carnivores) ลักษณะลำตัวเพรียวน้ำ แข็งแรง ว่ายน้ำเร็ว ฟันคมและแข็งแรง มีลักษณะลำไส้สั้นและมีผนังช่องท้องสีขาว (Suvarnaksha, 2017) ลักษณะเหล่านี้ทำให้ต้องล่าเหยื่อหรือกินกลุ่มสัตว์เป็นอาหาร หากเกิดโครงสร้างสัดส่วนของชนิดปลาลดลงย่อมส่งผลให้กลุ่มนี้ลดลงไปด้วย เป็นเมทริกที่ดัดแปลงมาจาก (Schinegger *et al.*, 2013) สอดคล้องกับการรายงานใน Sinos river ในประเทศบราซิล ที่ใช้กลุ่มเมทริกทั้ง 3 ชนิดนี้ เช่นกัน (Costa and Schulz, 2010) สอดคล้องกับรายงาน (Wu *et al.*, 2020) แบ่งเมทริกกลุ่มพฤติกรรมการกินอาหารออกเป็น 4 เมทริกโดย 2 ใน 4 นั้นคือ omnivores และ carnivores เช่นเดียวกับการศึกษาครั้งนี้ ส่วนอีก 2 เมทริกที่แตกต่างคือเมทริก Herbivores และ Filler Feeding จากระบบนิเวศและชนิดปลาที่แตกต่างกัน ดังนั้นการศึกษากลุ่มนี้ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมและโครงสร้างกลุ่มปลาในพื้นที่นั้น ๆ การศึกษาเรื่องการกินอาหารของปลาเพื่อเป็นหลักในการประเมินความสัมพันธ์ในระบบนิเวศทางน้ำ (Amarasinghe *et al.*, 2008; Suvarnaksha, 2011) จากสาเหตุความแตกต่างของรูปร่าง พฤติกรรม และคุณลักษณะข้อมูลชีววิทยาของแต่ละชนิดที่อาจมีความสัมพันธ์กับขนาดของปลา ฤดูกาล และตำแหน่งที่อยู่ในแหล่งน้ำ (Pusey *et al.*, 1995; Suvarnaksha, 2011) นอกจากนี้แล้ว ยังมีรายงานเกี่ยวกับรูปแบบเมทริกแยกตามประเภทการกินอาหารอีก เช่น Planktivorous (Argillier *et al.*, 2013) Piscivores (Argillier *et al.*, 2013; Pont *et al.*, 2006), Hyperbenthivores/Zooplanktivores

(Pont *et al.*, 2006), Hyperbenthivores/Piscivores (Pont *et al.*, 2006), Detrivores (Khalaf and Kochzius, 2002), Microbenthivores (Gabriels *et al.*, 2010), Herbivores (Pont *et al.*, 2006; Wu *et al.*, 2020) ในประเทศไทยรายงานการใช้เมทริกทั้ง 3 เมทริก โดยแตกต่างตรงเมทริกกลุ่ม Carnivore มีเงื่อนไขไม่รวมกลุ่มปลาอดทนร่วมด้วยโดยแนะนำว่าเมทริกดังกล่าวสามารถแยก ระดับคุณภาพน้ำยอดเยี่ยมกับปานกลางออกจากกันได้ (Rayan and Ngamsnae, 2014) แต่ไม่พบเมทริกดังกล่าวในการประเมินแหล่งน้ำในลุ่มน้ำทางภาคตะวันออก (สิทธิพัฒน์ และคณะ 2553) ดังนั้นเมทริกกลุ่มนี้จะสัมพันธ์กัน คือ กลุ่มปลาที่กินทั้งพืชและสัตว์ที่มากขึ้นส่งผลต่อปลาที่กินได้ในชนิดอาหารที่จำกัด เช่น กลุ่มปลากินแมลง เป็นต้น หรือ หากมีกลุ่มปลาที่กินสัตว์ปริมาณมากจะส่งผลต่อสัตว์ขนาดเล็กเช่นกัน การหยุดชะงักของอาหารที่เกิดจากการย่อยสลายทำให้เปอร์เซ็นต์สัตว์กินพืชลดลงและสัดส่วนของสัตว์กินพืชและสัตว์กินเนื้อลดลง (Bozzetti and Schulz, 2004) และการเปลี่ยนแปลงของที่อยู่อาศัยยังมีผลกระทบต่อปริมาณของกลุ่มนี้ด้วย เช่น สัตว์กินเนื้อ (carnivores) และแมลง (insectivores) และมีแนวโน้มลดลงตามการเปลี่ยนแปลงที่อยู่อาศัยของพวกมัน (Hara *et al.*, 2019) ในทางตรงกันข้ามกับเมทริก omnivores มีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นเพื่อตอบสนองต่อการรบกวนเนื่องจากสัตว์ที่กินไม่เลือกสามารถปรับระบบรูปแบบชนิดอาหารที่มีการเปลี่ยนแปลงเพื่อตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของชนิดอาหารในแหล่งน้ำ (Zhu and Chang, 2008) และเมทริก omnivores ยังสามารถบอกถึงปริมาณฟอสฟอรัสที่สูงขึ้นในทะเลสาบได้ (Petriki *et al.*, 2017) นอกจากนี้ 3 กลุ่มนี้ยังนิยมใช้เมทริก planktivorous และ piscivorous (Argillier *et al.*, 2013)

กลุ่มเมทริกที่อยู่อาศัยในแหล่งน้ำสะท้อนถึงระดับสุขภาพของนิเวศการกินอาหารและลักษณะของอาหาร (Li, T. *et al.*, 2018) ซึ่งลักษณะของพื้นที่ท้องน้ำ เป็นปัจจัยที่เป็นตัวแทนการเสื่อมลงของระบบนิเวศได้ (สิทธิพัฒน์ และคณะ 2553) โดยเฉพาะในแหล่งน้ำไหลเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะภูมิศาสตร์หรือรูปร่าง หรือเกิดการสร้างเขื่อน ทำให้เกิดการตกตะกอน เกิดความเสียหายของการไหลตามธรรมชาติและขัดขวางการอพยพของปลาและส่งผลต่อที่อยู่อาศัยทั้งระบบในระบบนิเวศ (Hu *et al.*, 2007) สำหรับเมทริกในแหล่งน้ำนิ่งและน้ำไหล กำหนดเมทริกเหมือนกันอยู่ 3 เมทริก ได้แก่ pelagic species, water column species และ bottom species โดยเมทริก pelagic species คือ ปลาที่อาศัยระดับที่อยู่อาศัยผิวน้ำ ซึ่งกินแมลงบนผิวน้ำและเป็นนกว่ายน้ำที่ว่องไว เมทริกนี้จะลดลงเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงทางสิ่งแวดล้อม ดัดแปลงมาจาก Wu *et al.*, 2020 เมทริกนี้มีการเริ่มใช้มากขึ้น เช่นในประเทศจีน (Wu *et al.*, 2014) จนถึงแม่น้ำบราซิล นิวซีแลนด์ (Costa and Schulz, 2010; Joy and Death, 2004) ไม่พบรายงานการใช้เมทริกดังกล่าวในประเทศไทย

สำหรับเมทริก water column species คือกลุ่มปลาที่อาศัยอยู่บริเวณกลางน้ำมีการเคลื่อนที่ขึ้นลงบ้าง ดัดแปลงมาจาก (Wu *et al.*, 2020; Wu *et al.*, 2014; Zogaris *et al.*, 2018) กลุ่มนี้จะมีจำนวนลดลงหากมีการเปลี่ยนแปลงของแหล่งหลบซ่อนในพื้นที่น้ำนิ่ง (Rayan and

Ngamsnae, 2014) เมทริกนี้มีการใช้หลากหลายทั้งในแม่น้ำบราซิล (Costa and Schulz, 2010) และในการประเมินแหล่งน้ำที่มีการขุดลอกคลองพบว่าผลกระทบต่อปริมาณปลาที่อาศัยระหว่างกลางน้ำและพื้นที่ตื้นน้ำที่ลดลงในบริเวณแม่น้ำ Zeeschelde ประเทศเบลเยียม (Breine *et al.*, 2010) ในประเทศไทยมีรายงานใช้เมทริกดังกล่าวในพื้นที่ชุ่มน้ำหนองหาร โดยส่วนใหญ่เป็นกลุ่มปลาตะเพียนจะจัดอยู่ในเมทริกนี้ (Rayan and Ngamsnae, 2014)

ส่วนเมทริก bottom species คือกลุ่มปลาที่มีพฤติกรรมอาศัยและหากินอยู่บริเวณพื้นที่ตื้นน้ำ อ้างอิงจากงานวิจัย (Karr, 1986; Lyons, 2012; Wu *et al.*, 2020; Zogaris *et al.*, 2018) เป็นเมทริกแสดงให้เห็นว่าสิ่งมีชีวิตบางชนิดมีความไวต่อการย่อยสลายซึ่งเป็นผลมาจากการตกตะกอนและการสูญเสียออกซิเจนในหน้าดินเนื่องจากพวกมันกินอาหารและแพร่พันธุ์ในที่อยู่อาศัยหน้าดิน (Bozzetti and Schulz, 2004) สัตว์หน้าดินมีความไวต่อคุณภาพน้ำที่ไม่ดีความเข้มข้นของออกซิเจนต่ำและสารพิษที่สะสมอยู่ในตะกอนเนื่องจากพวกมันใช้พื้นที่บริเวณดังกล่าวในการวางไข่ (Pinto and Araújo, 2007) สิ่งมีชีวิตขนาดเล็กจำนวนมากอาศัยอยู่บนหินและกินสาหร่ายและแมลงหรือสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่เติบโตบนหินหรือก้อนกรวดเช่น *Ceratogarra cambodgiensis*, *Pseudohomaloptera sexmaculata* และ *Schistura sexcauda* ส่วนลักษณะทางรูปร่างสามารถบอกถึงแหล่งที่อยู่อาศัย เช่น กลุ่ม *Homaloptera* ssp., *Balitora* spp. และ *Glyptothorax* spp. (Kottelat, 2013) รวมถึง *Oreoglanis siamensis* ปลาเหล่านี้พบในแหล่งน้ำไหลแรง เมทริกนี้มีการใช้หลากหลายทั้งในแม่น้ำบราซิล (Costa and Schulz, 2010) ในประเทศไทยมีรายงานใช้เมทริกดังกล่าวในพื้นที่ชุ่มน้ำหนองหาร (Rayan and Ngamsnae, 2014) แต่ใช้ชื่อเมทริกนี้ว่า Number of darter species ตามแบบเดิม (Karr, 1986) และความต่างของเมทริกน้ำนิ่งคือมีแบ่งย่อยเพิ่มอีก 3 เมทริก ตามข้อมูลลักษณะพื้นที่ตื้นน้ำในการสำรวจความหลากหลายทางชีวภาพของปลาในเขื่อนแม่จันทน์สมบูรณ์ชล (Suvararaksha, 2004) มีการเก็บตัวอย่างทุกจุดที่สำคัญ และสามารถแบ่งชนิดของพื้นที่ตื้นน้ำแตกต่างกันออกไป 12 สถานี ดังนี้

การตัดสินใจในการกำหนดเมทริกเพิ่มขึ้นอีก 3 เมทริกคือ rocky and stone species, sandy and gravel species และ silty to muddy species นั้นมีความแตกต่างในส่วนของแหล่งน้ำไหล เนื่องจากแหล่งน้ำไหลมีเพียงแค่ 3 ระดับเท่านั้น จากการศึกษาผลคะแนนน้ำนิ่ง ทั้ง 6 เมทริกที่เกี่ยวข้องกับพื้นที่ตื้นน้ำคะแนนไม่มีความแตกต่างกัน อยู่ที่คะแนน 1-2 เท่านั้น ผลคะแนนสามารถอธิบายถึงการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ตื้นน้ำที่เปลี่ยนไป การลดปริมาณของปลาทุกระดับนั้นสามารถบ่งบอกชัดเจนซึ่งพบได้น้อยมากสำหรับเมทริกนี้ที่ใช้ในแหล่งน้ำนิ่ง (Argillier *et al.*, 2013)

กลุ่ม Tolerance การใช้เมทริกกลุ่มนี้เริ่มตั้งแต่ปี 1981 (Karr, 1981) เป็นกลุ่มสะท้อนความอ่อนไหวของชนิดปลา (Pont *et al.*, 2006) แบ่งออกเป็น 2 เมทริก คือปลาที่มีความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลง (Percent of intolerant species) และ เปอร์เซ็นต์ปลาที่อดทนต่อการเปลี่ยนแปลง

(Percentage of tolerant species) สำหรับเมทริกกลุ่มนี้เป็นกลุ่มปลาที่เริ่มใช้ตั้งแต่ยุคแรก (Araujo *et al.*, 2003; Karr, 1981) และมีการนำมาใช้อย่างกว้างขวางเกือบทุกภูมิภาค (Costa and Schulz, 2010; Jia *et al.*, 2013; Joy and Death, 2004; Li, F. *et al.*, 2018; Li, T. *et al.*, 2018; Raburu and Masese, 2012; Van Oosterhout and Van Der Velde, 2015; Wu *et al.*, 2020; Wu *et al.*, 2014) และเป็นเมทริกที่มีความไวต่อสิ่งแวดล้อมที่เสื่อมโทรม (Das and Samanta, 2006; Krause *et al.*, 2012; Wu *et al.*, 2014) โดยปลากลุ่มชนิดที่ไม่อดทนนั้นจะหายไปกลุ่มแรกจากสภาพแวดล้อมที่เสื่อมโทรมลง (Oberdorff *et al.*, 2002) ในขณะที่เปอร์เซ็นต์ของพันธุ์ปลาที่มีความอดทนจะเพิ่มขึ้น (Lyons, 2012; Schleiger, 2000) โดยปกติปลากลุ่มนี้จะมีประมาณร้อยละ 5-10 ของปลาที่มีความอดทนโดยปลากลุ่มนี้จะมีจำนวนมากขึ้นเมื่อแหล่งน้ำมีการเปลี่ยนแปลงทั้งทางเคมีแลทางกายภาพและกลายเป็นชนิดเด่นมาแทนที่กลุ่มที่ไม่มีความอดทนทันที (สมศักดิ์ และ ปราณีต, 2562) เมทริกกลุ่มนี้ใช้ได้ทั้งในเขตร้อนชื้นและเขตกึ่งเขตร้อนในพื้นที่ Northern Glaciated (Argillier *et al.*, 2013) ในแม่น้ำ Weihe ในประเทศจีน (Wu *et al.*, 2020) รวมทั้งสำหรับน้ำกร่อยกึ่งนิ่มใช้เช่นเดียวกัน เช่นในบริเวณปากแม่น้ำ Hooghly ในประเทศอินเดีย (Das and Samanta, 2006) นอกจากนี้ 2 เมทริกนี้แล้ว ยังมีรายงานเกี่ยวกับรูปแบบเมทริกแยกตามประเภทความอดทนต่อการเปลี่ยนแปลงอีกเช่น Tolerant to oxygen deficiency (Belpaire *et al.*, 2000), Intolerant to oxygen deficiency (Didier, 1997), Species that need shelter (Belpaire *et al.*, 2000), Species that are habitat sensitive (Mostafavi *et al.*, 2015) สำหรับประเทศไทยพบรายงานการใช้เมทริกทั้ง 2 เมทริกในกลุ่มน้ำของภาคตะวันออกของไทย (สิทธิพัฒน์ และคณะ 2553) และพื้นที่ชุ่มน้ำหนองหาร (สมศักดิ์ และ ปราณีต, 2562) สำหรับการศึกษาครั้งนี้ผลคะแนนรวมของเมทริกกลุ่มนี้ในแหล่งน้ำนิ่งจัดอยู่ในระดับปานกลางมีความใกล้เคียงกันกับพื้นที่ชุ่มน้ำหนองหาร แสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์อดทน เพิ่มขึ้นเมื่อน้ำมีความเสื่อมของแหล่งน้ำ ส่งผลกระทบต่อแหล่งวางไข่ของแมลง หรือที่อยู่ของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังซึ่งเป็นอาหารของสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กและชนิดที่จำเพาะต่ออาหารดังกล่าว มีการใช้ชนิดปลาเป็นตัวบ่งชี้วัดคุณภาพของแหล่งน้ำในเขตภูมิภาคตะวันออก 3 ชนิดคือ *Esomus metallicus*, *Labiobarbus leptocheilus* และ *Barbodes gonionotus* โดยพบว่าทั้ง 3 ชนิดสามารถพบในแหล่งน้ำที่ค่อนข้างเสื่อมโทรมได้ ในขณะที่ *Lepidocephalichthys hasselti* เพิ่มขึ้น ในต้นน้ำหมายความว่าแม่น้ำมีคุณภาพไม่ดี (Suvarnaksha, 2011) และสกุล *Oreochromis* และสกุล *Clarias* เป็นชนิดมีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและฟิสิกส์สามารถทนต่อมลภาวะได้ (Raburu and Masese, 2012) รวมถึง *Parambasis siamensis* ถือเป็นชนิดที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีโดยไม่ขึ้นตรงต่อฤดูกาล (Okutsu *et al.*, 2011) สายพันธุ์ที่ทนต่อการแพร่กระจายอย่างกว้างขวางตั้งแต่ต้นน้ำจนถึงต้นน้ำลำธารทำให้มีประโยชน์ในการบ่งชี้คุณภาพน้ำและสิ่งแวดล้อมที่ไม่ดี (Khalaf and Kochzius, 2002) เช่น *Mystacoleucus marginatus* สามารถ

ปรับตัวได้ดีกับน้ำนิ่ง และสามารถอยู่รอดได้ดีในการเปลี่ยนแปลงแหล่งน้ำได้ดี (IUCN, 2020; Suvarnaraksha, 2017)

กลุ่มปลาที่มีลักษณะผิดปกติ (Number of disease health) (Wu *et al.*, 2014) เป็นเมทริกที่แสดงถึงสุขภาพและสภาพของปลาแต่ละตัว เจื่อนไขเหล่านี้เกิดขึ้นไม่บ่อยนักหรือไม่อยู่ในไซต์อ้างอิงที่ได้รับผลกระทบน้อยที่สุด แต่มักเกิดขึ้นในแหล่งที่มีสารปนเปื้อนและในบริเวณที่มีสารเคมีที่เป็นพิษ เป็นมาตรการเฝ้าระวัง (Barbour, 1999) จากการศึกษาสำหรับแหล่งน้ำนิ่งมีคะแนน "2" แตกต่างจากพื้นที่ชุ่มน้ำหนองหารโดยที่คะแนนสุขภาพของแหล่งน้ำเท่ากับ 5 (Rayan and Ngamsnae, 2014)

เมทริกใหม่ 4 เมทริกสำหรับแหล่งน้ำไหลเท่านั้น ยังไม่มีรายงานมาก่อน คือเมทริกที่แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างความสูงจากระดับน้ำทะเลและระยะห่างจากทะเลเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อความร่ำรวยชนิดและโครงสร้างของชุมชนปลาในแม่น้ำ (altitude distribution) ประยุกต์จาก (Suvarnaraksha, 2011; Suvarnaraksha *et al.*, 2012) ประกอบด้วย (1) ปลาภูเขา (Percentage of Mountainous species) การศึกษาครั้งนี้เรากำหนดกลุ่มนี้มีระดับความสูงมากกว่า 1001 เมตรจากระดับน้ำทะเล ส่วนใหญ่ปลากลุ่มนี้จะอาศัยอยู่ในที่มีน้ำกระแสไหลแรง เช่นกลุ่มปลาแค้ดิดหินในวงศ์ Sisorids (*O. siamensis* และ *G. trilineatus*) และกลุ่มวงศ์ปลาค้อ (สกุล Schistura และ สกุล Homaloptera) มีการปรับตัวในเรื่องรูปร่างที่มีลักษณะลู่หน้าและโครงสร้างของปากที่ช่วยยึดเกาะกับวัสดุใต้น้ำ (Suvarnaraksha, 2011) (2) ปลาตีนเขา (Percentage of Piedmont species) การศึกษาครั้งนี้เรากำหนดกลุ่มนี้มีระดับความสูงระหว่าง 801-1,000 เมตรจากระดับน้ำทะเล เช่น *Opsarius pulchellus* และ *Discherodontus schroederi* (3) ปลารอยต่อ (Percentage of Transitory species) กลุ่มปลาชั่วคราว (transitory species) การศึกษาครั้งนี้เรากำหนดกลุ่มนี้มีระดับความสูงระหว่าง 601-800 เมตรจากระดับน้ำทะเลเลพบ 5 ชนิด เช่น *Mystacoleucus obtusirostris* และ *Systemus rubripinnis* และ (4) ปลาพื้นราบ (lowland species) หมายถึงปลาที่ถูกขังอยู่ในลุ่มน้ำขนาดใหญ่ใกล้กับพื้นที่เกษตรกรรมและในเมืองซึ่งมีฟอสฟอรัสสูง การศึกษาครั้งนี้เรากำหนดกลุ่มนี้มีระดับความสูงน้อยกว่า 600 เมตรจากระดับน้ำทะเล เช่น *Trichopodus trichopterus* และ *Trichopsis vittatus*

องค์ประกอบชนิดปลาเหล่านี้เป็นตัวแทนการติดตามการเปลี่ยนแปลงระบบนิเวศแหล่งน้ำได้ เพราะเป็นการเอาข้อมูลองค์ประกอบโครงสร้างของกลุ่มประชากรปลาในอดีตที่ถือว่าเป็นสถานะอ้างอิง ที่ได้รับผลกระทบหรือแรงกดดันจากกิจกรรมของมนุษย์น้อยมาเป็นต้นแบบเพื่อสร้างมาตรฐานของข้อมูลเพื่อประยุกต์ใช้สำหรับประเมินแหล่งน้ำพื้นที่เหล่านี้ในปัจจุบัน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบชนิด การเพิ่มหรือลดลงในแต่ละเมทริก 18 เมทริก เป็นตัวบ่งชี้ถึงความอุดมสมบูรณ์แหล่งน้ำได้อย่างชัดเจน

5.2 การประยุกต์ใช้วิธีการดีเอ็นเอเพื่อตรวจติดตามประเมินการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมทางน้ำ (Environmental DNA)

ปลาเป็นสัตว์มีกระดูกสันหลังกลุ่มแรกของโลกที่ถือกำเนิดมาไม่น้อยกว่า 500 ล้านปี โดยมีจำนวนไม่น้อยกว่า 33,190 ชนิด (Nelson, 2017) ซึ่งปัจจุบันยังคงมีชนิดปลาที่ถูกค้นพบขึ้นมากเรื่อย ๆ อีกทั้งยังมีการศึกษาทางด้านชีววิทยาของปลาเนื่องจากความสำคัญของปลากับการดำรงอยู่ของมนุษย์มีความสำคัญและสัมพันธ์ต่อกัน ทั้งเป็นอาหาร เพื่อการพักผ่อน เพื่อการอนุรักษ์และอื่น ๆ (Suvarnaksha, 2018) หากพูดถึงความหลากหลายชนิดของปลาในลุ่มน้ำปิงที่มีมากกว่า 200 ชนิด (อภิรักษ์, 2559) และแน่นอนว่าการเปลี่ยนแปลงสภาพของแหล่งน้ำมีผลต่อการโครงสร้างประชากรปลา ดังนั้น โครงสร้างและความหลากหลายของปลาถือเป็นตัวบ่งชี้สำคัญในการใช้เป็นเครื่องมือตรวจสอบสุขภาพของระบบนิเวศทางน้ำในปัจจุบันที่มีความรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ ด้วยเหตุนี้การประยุกต์ใช้วิธีการดีเอ็นเอเพื่อตรวจติดตามประเมินการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมทางน้ำจึงเป็นแนวทางที่น่าสนใจและสามารถระบุชนิดและบอกความหลากหลายของปลาในระบบนิเวศนั้น ๆ (Zou *et al.*, 2020) และเป็นที่ยอมรับในหลาย ๆ พื้นที่ (Evans *et al.*, 2016; Shaw *et al.*, 2016; Stat *et al.*, 2019) ผลจากการศึกษาเหล่านี้ได้แสดงหลักฐานว่าร่องรอยดีเอ็นเอเป็นเครื่องมือตรวจสอบทางชีวภาพที่ดีที่สุดสำหรับการอนุรักษ์และจัดการระบบนิเวศทางน้ำ (Andruszkiewicz *et al.*, 2017; Cilleros *et al.*, 2019; Stat *et al.*, 2019; Thomsen and Willerslev, 2015; Valentini *et al.*, 2016; Yamamoto *et al.*, 2017) การศึกษารุ่นนี้จึงนำเครื่องมือดังกล่าวเป็นอีกแนวทางเพื่อลดระยะเวลาและค่าใช้จ่ายสำหรับสำรวจปลาหรือสามารถนำไปตรวจสอบสิ่งมีชีวิตอย่างอื่นได้เช่นกัน

วิธีการตรวจสอบร่องรอยดีเอ็นเอ สามารถเก็บได้ทั้งในน้ำ ดิน และอากาศ เช่น สามารถรวบรวมจุลินทรีย์และละอองเรณูจากอากาศได้อย่างง่าย หรือเก็บจากไบโอฟิล์ม (biofilm) ด้วยการขูด หรือเก็บจากน้ำด้วยการกรองน้ำ เป็นต้น (Creer *et al.*, 2016) สำหรับตัวอย่างน้ำควรใช้น้ำปริมาณมากและการเก็บในหลายจุด โดยการกรอง โดยขนาดกระดาษกรองน้ำขึ้นอยู่กับตัวอย่างเป้าหมาย (Creer *et al.*, 2016; Deiner *et al.*, 2015) สิ่งมีชีวิตเนื่องจากมีโอกาสปนเปื้อนสูงต้องระวังเรื่องความสะอาดของอุปกรณ์ (Goldberg *et al.*, 2016) ส่วนใหญ่วิธีการสกัดตัวอย่างดีเอ็นเอ มักใช้ชุดสกัดสำเร็จรูปที่มีประสิทธิภาพและมีความแม่นยำสูง และมีประสิทธิภาพแตกต่างกันอยู่กับ DNA เป้าหมาย เมื่อเทียบกับวิธีการสกัดแบบเดิมคือ การสกัดด้วยฟีนอลคลอโรฟอร์ม (Phenol chloroform) ก็มีประสิทธิภาพเช่นกันและอาจแยกสารพันธุกรรมได้มากกว่าวิธีอื่นในบางสถานการณ์ (Creer *et al.*, 2016; Deiner *et al.*, 2015) ดังนั้นสำหรับเทคนิคการเก็บตัวอย่างได้ทำการทดลองเปรียบเทียบกระดาษกรองใช้กระดาษกรองที่มีขนาด 0.7 μm . สามารถทำการเก็บตัวอย่างน้ำได้มา

กว่าขนาด 0.45 μm . สอดคล้องกับรายงานที่ใช้ขนาด 0.8 μm . ในพื้นที่ Nansha wetland (Zou *et al.*, 2019) เนื่องจากความขุ่นใสของน้ำในแต่ละภูมิภาค ในแต่ละประเทศแตกต่างกันบางพื้นที่สามารถใช้ขนาดกรองที่มีรูขนาดเล็กมากถึง 0.22-0.45 μm . (Andruszkiewicz *et al.*, 2017; Stoeckle *et al.*, 2017) ในการศึกษาลุ่มน้ำแม่แจ่มจึงเลือกเก็บตัวอย่างในบริเวณผิวน้ำและกลางน้ำคือ 1-2 ลิตร (Andruszkiewicz *et al.*, 2017; Gillet *et al.*, 2018; Rees *et al.*, 2014; Stoeckle *et al.*, 2017) เนื่องจากขนาดของแม่น้ำไม่ได้มีขนาดใหญ่มากนักซึ่งแตกต่างกับแม่น้ำขนาดใหญ่ เช่น แม่น้ำเทิน (Nam Theun river) ประเทศจีน ที่ทำการเก็บตัวอย่าง 3 ระดับคือพื้นผิว กลางน้ำ และพื้นท้องน้ำ ตามระดับความลึก จึงมีความสามารถแยกการเก็บน้ำตามระดับความลึกได้ชัดเจนกว่า (Gillet *et al.*, 2018) นอกจากนี้จัดแล้วสำหรับตัวอย่างน้ำทะเลมีความสามารถเก็บรวบรวมน้ำผ่านกระดาษกรองมากถึง 20-30 ลิตร (Valentini *et al.*, 2016)

การศึกษาข้อมูลด้าน eDNA แบ่งออกเป็น 2 พื้นที่โดยใช้ลุ่มน้ำแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่เป็นตัวแทนของน้ำไหลเป็นการศึกษาที่เก็บสำรวจความหลากหลายของชนิดกลุ่มปลาโดยแบ่งพื้นที่ตามระดับความสูงสามารถดูการแพร่กระจายของกลุ่มประชากรปลาตามระดับความสูงได้ (Suvarnaksha *et al.*, 2012) และเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล จังหวัดเชียงใหม่เป็นตัวแทนของแหล่งน้ำนิ่ง เป็นการศึกษาชนิดปลาที่สำรวจพบโดยวิธีการใหม่ น้ำซึ่งวิธีการดังกล่าวนี้ไม่ส่งผลกระทบต่อแหล่งที่อยู่อาศัยของปลาหรือเกิดผลกระทบเมื่อเทียบกับการทำประมงแบบเดิม (Gillet *et al.*, 2018; Zou *et al.*, 2020)

จากการรายงานการแพร่กระจายของปลาที่แบ่งตามระดับความสูงแบ่งกลุ่มปลาเป็น 4 กลุ่มคือกลุ่มพื้นที่อาศัยอยู่บนภูเขา พื้นที่ลาดชันเขา พื้นที่ลาดชันคว่ำและ พื้นที่ราบ (Suvarnaksha, 2011; Suvarnaksha *et al.*, 2012) การศึกษารุ่นนี้เก็บตัวอย่างในแต่ละระดับเพื่อสกัดดีเอ็นเอและวิเคราะห์ผลเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลพบว่าสามารถตรวจพบดีเอ็นเอตกค้างในแหล่งน้ำทั้งหมดแบ่งเป็นหลากหลายสิ่งมีชีวิต ซึ่งข้อมูลประชากร จัดกลุ่มเป็น operational taxonomic units (OTUs) ได้เฉลี่ยอยู่ที่ 170 tags กลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่พบในลุ่มน้ำแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ พบกลุ่มปลา (Actinopterygii) 61.35 เปอร์เซ็นต์ แบ่งออกเป็น 3 อันดับ คืออันดับ Siluriformes (8.37%) พบชนิดสกุลเดียว ได้แก่ *Oreoglanis* ส่วน Cypriniformes (4.05%) พบชนิดปลา 4 สกุล โดยพบปริมาณมากที่สุดในกลุ่มนี้ได้แก่ *Raiamas* รองลงมาคือ *Mystacoleucus*, *Pethai* และ *Devario* ตามลำดับ และสุดท้ายคืออันดับ Gobiiformes (0.09%) พบชนิดสกุลเดียวคือ *Rhinogobius* เนื่องจากความหลากหลายชนิดของปลาในโซนเขตร้อนมีปริมาณและยังขาดข้อมูลพื้นฐานในฐานข้อมูลออนไลน์ (GenBank) จึงเกิดช่องว่างไม่สามารถระบุชนิดหรือกลุ่มปลาได้ (Stoeckle *et al.*, 2017) โดยจากการศึกษารุ่นนี้สำหรับน้ำนิ่งมีจำนวนทั้งหมดที่แสดงผลชัดเจนทั้งหมด 14 สกุล คือ *Oreoglanis*, *Exostoma*, *Barilius*, *Glyptothorax*, *Devario*, *Mystacoleucus*, *Rasbora*,

Systemus, *Parambassis*, *Pethia*, *Brachirus*, *Tor*, *Pristolepis* และ *Oreochromis* จากข้อมูล ความหลากหลายของชนิดปลาที่พบในเขตภูเขา (Mountainous zone) โดยเขตนี้มีสภาพแวดล้อม ประกอบด้วยป่าไม้และมีลักษณะพื้นที่ตื้นน้ำที่ประกอบด้วยกรวดและก้อนหินรวมทั้งการระบายน้ำที่ไหล แรงสอดคล้องกับปลาที่พบคือ *Oreoglanis* (*O. siamensis*), *Exostoma* (*E. peregrinator*) และ *Glyptothorax* (*Glyptothorax trilineatus* และ *G. lampris*) เป็นกลุ่มปลาที่มีลักษณะทางชีววิทยา คือ ปลาในกลุ่มที่ไม่อดทนต่อการเปลี่ยนแปลง (Intolerant) ส่วนรูปร่างมีการพัฒนาตามแหล่งที่อยู่อาศัย โดยมีอวัยวะยึดเกาะเพื่อทรงตัวต่อกระแส น้ำที่ไหลแรง รวมทั้งปากอยู่ตำแหน่งล่างเพื่อกิน อาหารพวกตัวอ่อนแมลงน้ำที่ยึดติดกับก้อนหินนั่นเอง (Suvarnaksha, 2003, 2011, 2017) สอดคล้องกับรายงาน Wootton ที่กล่าวว่า ปลาจะต้องปรับตัวเพื่อรับมือกับกระแส น้ำที่แปรปรวนใน สภาพแวดล้อม (Casatti and Castro, 2006; Wootton, 1991) ชนิดปลาที่มีความสำคัญ เช่น สกุล *Oreoglanis* (*O. siamensis*) เป็นปลาเฉพาะถิ่นซึ่งอาศัยอยู่เฉพาะอินทนนท์และเป็นปลาดินน้ำที่ไม่ พบในบริเวณพื้นที่ราบ มีข้อจำกัดเรื่องอาหารกับการเจริญเติบโต และอาศัยในน้ำที่อยู่ในระดับความ สูงระหว่าง 500-1200 เมตร จากระดับน้ำทะเลปานกลาง (Suvarnaksha, 2011; Suvarnaksha et al., 2012) นอกจากนี้ยังมีสกุล *Exostoma* โดยเฉพาะ *E. peregrinator* เป็นปลาเฉพาะถิ่นซึ่ง อาศัยอยู่เฉพาะถิ่นที่แม่น้ำแม่แจ่ม (Suvarnaksha, 2017) เท่านั้น อีกชนิดที่พบคือ *Barilius* (*B. puchellus*) มีรายงานว่าอาศัยในแหล่งน้ำขนาดเล็กถึงขนาดกลางของบริเวณต้นน้ำ (Suvarnaksha, 2011) นอกจากนี้ยังมีพบ สกุล *Devario* (*D. annandalei*), *Mystacoleucus* (*M. obtusirostris*) และ *Rasbora* (*R. paviana*)

ในพื้นที่ตีนเขา (Piedmont or foothill species) พบปลาทั้งหมด 5 สกุล คือ *Systemus*, *Pethia*, *Devario*, *Mystacoleucus* ตามรายชื่อชนิดปลาที่พบในกลุ่มน้ำแม่แจ่ม จากจำนวน 5 สกุล ได้แก่ *Systemus rubripinnis*, *Pethia stoliczkana*, *Devario annandalei* และ *Mystacoleucus obtusirostris* เป็นกลุ่มปลาที่กินแมลงเป็นอาหาร (Insectivore) และไม่มีความอดทนต่อการ เปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อม (Intolerant) (Froese et al., 2019; Rayan and Ngamsnae, 2014; Suvarnaksha, 2003, 2011, 2017) ยกเว้นสกุล *Mystacoleucus* (*M. obtusirostris*) เป็นสาย พันธุ์ที่ปรับตัวได้ดีในแหล่งน้ำที่มีคุณภาพต่ำ (IUCN, 2020; Suvarnaksha, 2017) และเป็นกลุ่ม ปลาที่มีการปรับตัวและอาศัยได้ในทุกสภาพแวดล้อม (Suvarnaksha, 2011) รวมทั้งมีการเคลื่อนที่ ไปมาเพื่อหาอาหารและเพื่อการสืบพันธุ์ (Jutagate et al., 2011) ซึ่งการศึกษาทางด้าน eDNA สามารถศึกษาถึงพฤติกรรมของปลาแต่ละชนิดได้ เนื่องจาก ปลาบางชนิดมีการเคลื่อนที่จากน้ำเค็มไป ยังน้ำจืดตามฤดูกาลวางไข่ ปริมาณของ DNA จึงมีความแตกต่างกันและเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาล (Stoeckle et al., 2017) และสามารถคงอยู่ได้เป็นเวลาหลายวันถึงหลายพันปีขึ้นอยู่กับความเข้มข้น เริ่มต้นและสภาวะการย่อยสลาย (Levy-Booth et al., 2007)

ในพื้นที่รอยต่อ (Transitory zone) พบปลาทั้งหมด 6 สกุล คือ *Brachirus*, *Parambassis*, *Rasbora*, *Tor*, *Devario* และ *Mystacoleucus* ตามรายชื่อชนิดปลาที่พบในกลุ่มน้ำแม่แจ่ม จากจำนวน 6 สกุล ได้แก่ *Brachirus harmandi*, *Parambassis siamensis*, *Rasbora paviana*, *Tor tambroides*, *Devario annandalei* และ *Mystacoleucus obtusirostris* ซึ่งมีลักษณะเด่นของโชนันเป็นสายพันธุ์ที่อดทนต่อการเปลี่ยนแปลง (Tolerant) นอกจากพบกลุ่ม *Mystacoleucus* ที่การเคลื่อนที่ไปมาระหว่างแหล่งน้ำและปลาที่มีความอดทนและแพร่กระจายได้ดีไม่แพ้กันคือ สกุล *Parambassis* (*P. siamensis*) เป็นกลุ่มปลากินเนื้อ และไม่นิยมบริโภคทำให้การเจริญเติบโตได้ผลการเปลี่ยนแปลงของฤดูกาลไม่มีผลกระทบต่อชนิดนี้ถึงแม้อุณหภูมิสูงขึ้นในฤดูร้อนก็ตาม (Okutsu *et al.*, 2011) ซึ่งหมายความว่า การปรับตัวเมื่อเทียบกับการเปลี่ยนแปลง สิ่งแวดล้อมความอยู่รอดได้ดีกว่าสายพันธุ์อื่น

ในพื้นที่ราบ (Lowland zone) พบชนิดปลา 5 สกุล คือ *Pristolepis*, *Oreochromis*, *Mystacoleucus*, *Parambassis* และ *Rasbora* โดยสกุลที่ไม่พบในโชนันพื้นที่อื่น ๆ คือ *Pristolepis* (*P. fasciatus*) ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่อดทนส่วนใหญ่มักอาศัยในพื้นที่อ่างเก็บน้ำหนองบึงหนองน้ำและอาหารที่แตกต่างกันไปตามฤดูกาลขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมที่ปลาอาศัยอยู่ในช่วงเวลาใดเวลาหนึ่ง (Sangpradub and Hanjavanit, 2017) ในขณะที่เดียวกันพบปลาสกุล *Oreochromis* (*O. niloticus*) ซึ่งเป็นพันธุ์ต่างที่นำเข้ามาในประเทศไทยด้วยวัตถุประสงค์เพื่อใช้เป็นอาหาร มีลักษณะอดทนต่อการเปลี่ยนแปลงได้ดีและกระจายตัวอยู่ทั่วภูมิภาคในประเทศไทยแต่ไม่มีรายงานว่า มีผลกระทบทางลบต่อสิ่งมีชีวิตและสภาพแวดล้อมสำหรับระบบนิเวศแหล่งน้ำมากนัก (Jutagate *et al.*, 2011; Suvarnaksha, 2011) แตกต่างจากกลุ่มปลากินยุงที่มีรายงานว่า มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมเนื่องจากพฤติกรรมการกินอาหารและอาหาร ปลากินแมลงน้ำและลูกปลาขนาดเล็กของปลาชนิดอื่นเป็นอาหาร (Vitule *et al.*, 2009) และเป็นปลาต่างถิ่นที่มีความอดทนต่อมลพิษทางน้ำได้ดี (Orrego *et al.*, 2009) จะส่งผลกระทบต่อความหลากหลายของปลาในพื้นที่ต้นน้ำ (Suvarnaksha, 2011)

การศึกษาร่องรอยดีเอ็นเอในน้ำนิ่ง ในพื้นที่เขื่อนแม่จันทสมบูรณ์ชล จังหวัดเชียงใหม่ เก็บตัวอย่างในแต่ละระดับเพื่อสกัดดีเอ็นเอและวิเคราะห์ผลเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลพบว่าสามารถตรวจพบดีเอ็นเอตกค้างในแหล่งน้ำทั้งหมดแบ่งเป็นหลากหลายสิ่งมีชีวิต ซึ่งข้อมูลประชากร จัดกลุ่มเป็น operational taxonomic units (OTUs) ได้เฉลี่ยอยู่ที่ 224 tags กลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่พบในกลุ่มเขื่อนแม่จันทสมบูรณ์ชล จังหวัดเชียงใหม่ พบกลุ่มปลา (Actinopterygii) 25.623 เปอร์เซ็นต์ โดยพบปริมาณของกลุ่มปลาแบ่งออกเป็น 2 อันดับด้วยกัน คืออันดับ Cypriniformes (5.571%) พบ 2 ครอบครัว ได้แก่ Cobitidae พบเพียง 1 สกุลคือ *Pangio* (0.082%) และ Cyprinidae พบ 3 สกุล ได้แก่ *Cyprinus* (3.15%), *Hampala* (2.32%) และ *Mystacoleucus* (0.004%) ส่วนอันดับ Siluriformes (20.102%) พบในวงศ์ Sisoridae พบชนิดสกุลเดียวคือ *Glythorax* โดยจาก

การศึกษาครั้งนี้สำหรับน้ำนิ่งมีจำนวนทั้งหมดที่แสดงผลชัดเจนทั้งหมด ทั้งหมด 20 สกุล ได้แก่ *Labiobarbus*, *Lobocheilos*, *Hemibragrus*, *Oreochromis*, *Pethia*, *Pangasianodon*, *Systemus*, *Cyclocheilichthys*, *Parambassis*, *Barilius*, *Hampala*, *Betta*, *Tor*, *Myatacoleucus*, *Cyprinus*, *Glyptothorax*, *Oreoglanis*, *Labeo*, *Tuberoschistura* และ *Pangio*

การพบร่องรอยดีเอ็นเอมีความสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ของเขื่อนแม่งัดสมบูรณ์ชล ทั้งการพัฒนาเชิงท่องเที่ยว การประมงที่มากขึ้นไป ส่งผลต่อการลดลงของปริมาณชนิดปลาที่สามารถบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงสภาวะของเขื่อนแม่งัดต่างจากอดีตเมื่อการเปลี่ยนแปลงของแหล่งน้ำทั้งลำน้ำสาขาที่มีพื้นที่ทำการเกษตร การใช้สารเคมี ย่อมส่งผลกระทบต่อจำนวนชนิดปลาที่ลดลง กลุ่มแรกที่หายไปเป็นกลุ่มปลาอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลง จากการรายงานครั้งนี้ชนิดที่พบในแหล่งน้ำขนาดเล็กและไม่อดทนต่อการเปลี่ยนแปลงที่ยังคงหลงเหลืออยู่คือ *Tuberoschistura* (*Tuberoschistura baenzigeri*), *Glyptothorax* (*Glyptothorax trilineatus*) และเป็นชนิดที่ต้องการพื้นที่จำเพาะชอบอาศัยบริเวณที่มีพื้นที่ท้องน้ำประกอบด้วยโชดหิน กรวดและทราย การศึกษาครั้งนี้พบร่องรอยดีเอ็นเอ 2 ชนิดนี้และพบในพื้นที่ลำน้ำสาขาสอดคล้องกับรายงานเดิมที่พบในพื้นที่ลำน้ำสาขาที่ไหลลงสู่เขื่อนแม่งัด (Suvarnaksha, 2004) ซึ่งลักษณะชีววิทยาของปลาชนิดนี้มักอาศัยอยู่บริเวณต้นน้ำที่มีกระแสน้ำไหลแรง อาศัยอยู่บริเวณพื้นที่ท้องน้ำ และเป็นกลุ่มที่กินทั้งแมลงและสัตว์เป็นอาหาร (Suvarnaksha, 2004, 2017) สามารถอพยพลงมาจากแหล่งหากินในพื้นที่สูงสู่พื้นที่ต่ำกว่า (Dahanukar *et al.*, 2011) และเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์จากการสร้างเขื่อนที่จะไปปิดกั้นการไหลของน้ำ และทำให้ระบบนิเวศในพื้นที่ดั้งเดิมเปลี่ยนแปลงไปในรูปแบบไม่เหมาะสมต่อการปรับตัวของปลาได้ (ทศพล, 2562) และยังพบชนิดที่มีความอดทนต่อการเปลี่ยนแปลงอีก 1 ชนิดคือ *Myatacoleucus* (*M. marginatus*) ชอบอาศัยในทุกแหล่งน้ำทั้งบริเวณต้นน้ำลำธาร แม่น้ำสายหลัก และลำธารที่ราบต่ำ (Vidthayanon, 2017) เป็นปลาที่มีความอดทนต่อการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมได้ดี (Suvarnaksha, 2017)

ในบริเวณเขื่อนแม่งัด เป็นพื้นที่ทำการประมงและธุรกิจการท่องเที่ยวส่วนใหญ่ ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้พบร่องรอยดีเอ็นเอของกลุ่มปลาที่อาศัยในแหล่งน้ำนิ่งที่มีการเคลื่อนที่ไปมาระหว่างผิวน้ำและพื้นที่ท้องน้ำ กินอาหารได้ทั้งพืชและสัตว์ เช่น *Labiobarbus* (*L. lineata*) และอีก 2 ชนิดที่เป็นกลุ่มปลาที่มีพฤติกรรมกินสัตว์ด้วยกันเป็นอาหาร เช่น *Hemibragrus* (*H. spilopterus*) *Hampala* (*H. macrolepidota*) เนื่องจากเป็นปลาขนาดใหญ่ มีการว่ายน้ำตลอดเวลาพบได้ในเขื่อนแม่งัดและลุ่มน้ำปิง (Suvarnaksha, 2004, 2017) รวมทั้งมีรายงานพบในทุกแหล่งน้ำทั้งบริเวณต้นน้ำลำธาร แม่น้ำสายหลัก หนองบึง ที่ราบท่วมถึง และ ลำธารที่ราบต่ำ (Vidthayanon, 2017) และพบชนิด *Pethia* (*Pethia stoliczkana*) สอดคล้องกับรายงานเดิมที่พบในพื้นที่ท้องน้ำประกอบด้วยกรวด ทราย หินปนทราย รวมถึงโคลน มีการเคลื่อนที่ไปมาระหว่างผิวน้ำและพื้นที่ท้องน้ำ

(Suvarnaraksha, 2004, 2017) ตรงข้ามกับ (Vidthayanon, 2017) รายงานถึงสภาพแหล่งที่อยู่อาศัยมักพบบริเวณต้นน้ำลำธารที่มีความลาดชันที่มีกระแสไหลเชี่ยวในฤดูฝนและอาจจะแห้งแล้งในฤดูแล้ง พื้นท้องน้ำประกอบด้วยกรวดและทรายเท่านั้นจากการศึกษาสามารถบอกได้ว่าปลาแต่ละชนิดมีการแพร่กระจายในวงกว้างไม่ได้อาศัยอยู่เฉพาะพื้นที่ใดพื้นที่หนึ่ง นอกจากนี้ในพื้นที่กลางเขื่อนยังพบชนิดปลาต่างถิ่นแพร่กระจายอยู่ คือ *Oreochromis (O. niloticus)* เป็นสัตว์น้ำต่างถิ่นที่ขึ้นทะเบียนชนิดพันธุ์สัตว์น้ำต่างถิ่นที่ควรป้องกัน ควบคุม และกำจัดของประเทศไทยที่มีผลกระทบต่อสัตว์ น้ำพื้นเมืองและ ระบบนิเวศ (สุวิมล, 2563) เป็นกลุ่มปลาที่ปรับตัวได้ดีมีความอดทนต่อการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อม (Rayan and Ngamsnae, 2014) และสามารถกินอาหารได้หลากหลาย (Suvarnaraksha, 2017) ผลกระทบจากการที่มีสัตว์ต่างถิ่นเข้ามาในระบบนิเวศแหล่งน้ำนั้น ขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์สำหรับปลานิลมีการปนเปื้อนเข้ามาในระบบนิเวศที่ยาวนาน แต่ยังไม่ได้มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมมากนักสำหรับชนิดดังกล่าว (Jutagate *et al.*, 2011)

บริเวณท้ายเขื่อนไปบรรจบแม่น้ำปิงเป็นพื้นที่ที่อยู่อาศัยและการเกษตร ชุมชนเมือง จากรายงานครั้งนี้พบ *Systemus (Systemus rubripinnis)*, *Cyclocheilichthys (C. armatus)*, *Pangio (P. anguillaris)*, *Parambasis (P. siamensis)*, *Hampala (H. macrolepidota)* *Barilius (B. koratensis)*, *B. pulchellus*, *Tor sp.* เป็นชนิดที่พบได้ในแม่น้ำปิงและในเขื่อนแม่จัดสอดคล้องกับรายงานในอดีต (Suvarnaraksha, 2004, 2017)

โดยในอดีตมีรายงานสำหรับกลุ่มปลาที่ไม่อดทนต่อการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมมากถึง 44 ชนิด (Suvarnaraksha, 2004, 2017) จากการศึกษาพบว่าปริมาณชนิดของปลากลุ่มนี้ลดลงอย่างชัดเจน รวมถึงการเปลี่ยนแปลงแหล่งที่อยู่อาศัย การพบร่องรอยดีเอ็นเอของสกุล *Cobitidae* มีเปอร์เซ็นต์ที่น้อยมากสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของลำน้ำสาขาที่หายไปเกี่ยวข้องกับแหล่งที่อยู่อาศัยของปลาในกลุ่มนี้เคยมีรายงานถึง 5 ชนิด (Suvarnaraksha, 2017) คือ *Aperioptus gracilentus*, *Acantopsis rungthipae*, *A. thiemmedhi*, *Lepidocephalichthys hasselti* และ *Pangio anguillaris* ซึ่งทั้งหมดนี้เป็นกลุ่มปลาที่อาศัยเฉพาะพื้นท้องน้ำที่มีกรวดและทรายละเอียดในแหล่งน้ำขนาดเล็กและอาศัยกลุ่มแมลงน้ำกินเป็นอาหาร (Suvarnaraksha, 2017) โดยการศึกษาครั้งนี้พบเพียงชนิดเดียวคือ *Pangio (P. anguillaris)* เท่านั้น ซึ่งกลุ่มปลาดังกล่าวมีความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมต่อกิจกรรมของมนุษย์ที่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพน้ำทำให้ปริมาณที่พบเจอน้อยลง (Suvarnaraksha, 2011; Suvarnaraksha *et al.*, 2012) และบางชนิดไม่มีรายงานมาก่อน แต่พบจากการศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ *Tor*, *Lobocheilos*, *Clupiosoma* และ *Betta* (Suvarnaraksha, 2004)

จากการศึกษาโครงสร้างประชากรปลาในแหล่งน้ำนิ่งและน้ำไหลสามารถอธิบายได้ถึงกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่เป็นกลุ่มประชากรขนาดใหญ่หรือมีจำนวนเยอะหรือน้อยสามารถดูจากเปอร์เซ็นต์ที่พบได้ ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการประเมินสุขภาวะหรือความสมบูรณ์ทางชีวภาพได้ในอนาคต



บทที่ 6

สรุป

6.1 การประยุกต์ใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพสิ่งแวดล้อมทางน้ำ

การศึกษาในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้ศึกษารูปแบบทางเลือกใหม่ในการประเมินความสำเร็จของแหล่งน้ำโดยใช้ปลาเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพทางน้ำด้วยร่วมด้วยเทคนิคที่ลดระยะเวลาและต้นทุนในการสำรวจอีกทั้งยังมีประสิทธิภาพมากกว่าการศึกษความหลากหลายของปลาเพื่อตอบโจทก์สถานะภาพของทรัพยากรทางน้ำคือการใช้ข้อมูลชีวภาพของปลาเป็นตัวประเมิน (Fish index integrity) ร่วมกับการใช้ข้อมูล Environmental DNA (eDNA) ได้นำข้อมูลทั้งทางชีววิทยาและชีวประวัติรวมทั้งระบบนิเวศของปลาทั้งในน้ำนิ่งและน้ำไหล โดยใช้พื้นที่ในการศึกษาเขตแม่น้ำปิง โดยใช้ตัวอย่างข้อมูลเมื่อปี 2003 สำหรับในแหล่งน้ำนิ่ง คือ เขื่อนแม่จันทน์สมบูรณ์ชล จังหวัดเชียงใหม่ (อภิรักษ์, 2546) และในแหล่งน้ำไหลใช้ตัวอย่างข้อมูลจากการสำรวจเมื่อปี 2004 (อภิรักษ์ และคณะ 2547) จากทั้ง 2 ข้อมูลเดิมเมื่อ 20 ปีที่แล้วนั้นสามารถแบ่งกลุ่มชนิดปลาออกตามหมวดหมู่ลักษณะชีววิทยาโดยอาศัยข้อมูลจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (1. Suvarnaraksha (2003); 2. Suvarnaraksha (2011); 3. Suvarnaraksha (2017); 4. Vidthayanon (2017); 5. Rayan and Ngamsnae (2014); 6. IUCN (2020); 7. Fishbase and 8. Information from expert) แบ่งตามเมตริก 18 เมตริก อ้างอิงจากงานวิจัยอื่น ๆ โดยในแหล่งน้ำนิ่งและน้ำไหลมีเมตริกที่แตกต่างกันอยู่ 4 เมตริกคือ สำหรับแหล่งน้ำไหลจะใช้เมตริกใหม่ที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อนมาเป็น 4 เมตริก ที่แบ่งตามระดับความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลางกับการแพร่กระจายตัวของปลาที่แตกต่างกัน คือ ปลาภูเขา (Percentage of Mountainous species) การศึกษาครั้งนี้เรากำหนดกลุ่มนี้มีระดับความสูงมากกว่า 1001 เมตรจากระดับน้ำทะเล (2) ปลาตีนเขา (Percentage of Piedmont species) การศึกษาครั้งนี้เรากำหนดกลุ่มนี้มีระดับความสูงระหว่าง 801-1,000 เมตรจากระดับน้ำทะเล (3) ปลารอยต่อ (Percentage of Transitory species) กลุ่มปลาชั่วคราว (transitory species) การศึกษาครั้งนี้เรากำหนดกลุ่มนี้มีระดับความสูงระหว่าง 601-800 เมตรจากระดับน้ำทะเล และ (4) ปลาพื้นราบ (lowland species) การศึกษาครั้งนี้เรากำหนดกลุ่มนี้มีระดับความสูงน้อยกว่า 600 เมตรจากระดับน้ำทะเล ส่วนเมตริกของน้ำนิ่ง มีชนิดปลากลุ่มผสมเป็นเมตริกที่ไม่มีในการประเมินแหล่งน้ำไหล รวมทั้งแหล่งที่อยู่อาศัยของปลาในแหล่งน้ำนิ่งยังเพิ่มมา 3 เมตริกที่ไม่มีในแหล่งน้ำไหล คือ (1) rocky and stone species, (2) sandy and gravel species และ (3) silty to muddy species เมื่อได้เมตริกที่มีความเหมาะสมแล้ว ขั้นตอนต่อไปคือการกำหนดคะแนนและรูปแบบการอ่านผล ตามการกำหนดคะแนนแต่ละเมตริกของแหล่งน้ำนิ่งและน้ำไหล คือระบบคะแนน 5 4 3 2 และ 1 คะแนน และผลคะแนนรวมมีตั้งแต่ 18 ถึง 90 โดยเกณฑ์การประเมิน

สภาพภาพของแหล่งน้ำจะกำหนดเป็น 5 ระดับตามแนวทางของ (Chen *et al.*, 2020; Fausch *et al.*, 1990; Karr, 1981; Krause *et al.*, 2012; Li, F. *et al.*, 2018; Li, T. *et al.*, 2018; Sapounidis *et al.*, 2019; Shi *et al.*, 2020; Souza and Vianna, 2020; Wu *et al.*, 2014; Zogaris *et al.*, 2018) และการประเมินดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพของพื้นที่น้ำนิ่งและน้ำไหล แบ่งออกเป็น 5 ระดับ คือ ระดับดีเยี่ยม 73-90 คะแนน ระดับดี 55-72 คะแนน ระดับปานกลาง 37-54 คะแนน ระดับเสื่อมโทรม 19-36 คะแนน และระดับเสื่อมโทรมมาก น้อยกว่าหรือเท่ากับ 18 คะแนน หลังจากนั้นการสำรวจปลาเพื่อเปรียบเทียบกับสถานะอ้างอิง โดยการใช้ข้อมูลการสำรวจของกรมประมง (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2553) และจากการสอบถามชาวบ้าน(ประมงพื้นบ้าน) แล้วทำการประเมินผลเปรียบเทียบกับสถานะอ้างอิงที่กำหนด พบว่า ผลการประเมินสำหรับแหล่งน้ำนิ่งของเขื่อนแม่งัดสมบูรณ์ชล จังหวัดเชียงใหม่ ได้คะแนน 38 คะแนน มีสถานะเป็นกลาง ส่วนน้ำไหลรวม 3 เขต พื้นที่ เขตเวียงแหง เมืองคอง และสบแม่แตงแม่ปิง รวมกันประเมินได้คะแนน 53 มีสถานะเป็นกลาง แต่คะแนนใกล้เคียงกับสถานะที่ดี มีความหมายว่า แสดงถึงความสมดุลของระบบนิเวศเริ่มสูญเสียสิ่งมีชีวิตที่มีความอ่อนไหวจำนวนลดลง สัดส่วนโครงสร้างตามการกินอาหารเริ่มเปลี่ยนแปลง และแสดงถึงการปรับตัวของสิ่งมีชีวิตที่อ่อนไหวเริ่มเพิ่มขึ้น

6.2 การประยุกต์ใช้วิธีการดีเอ็นเอเพื่อตรวจติดตามประเมินการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมทางน้ำ (Environmental DNA)

การศึกษาข้อมูลด้าน eDNA แบ่งออกเป็น 2 พื้นที่โดยใช้ลุ่มน้ำแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่เป็นตัวแทนของน้ำไหลเป็นการศึกษาที่เก็บสำรวจความหลากหลายของชนิดกลุ่มปลาโดยแบ่งพื้นที่ตามระดับความสูงสามารถดูการแพร่กระจายของกลุ่มประชากรปลาตามระดับความสูงได้ (Suvarnaraksha *et al.*, 2012) และเขื่อนแม่งัดสมบูรณ์ชล จังหวัดเชียงใหม่เป็นตัวแทนของแหล่งน้ำนิ่ง เป็นการศึกษาชนิดปลาที่สำรวจพบโดยวิธีการใหม่ น้ำซึ่งวิธีการดังกล่าวนี้ไม่ส่งผลกระทบต่อแหล่งที่อยู่อาศัยของปลาหรือเกิดผลกระทบมากนักเมื่อเทียบกับการทำประมงแบบเดิม (Gillet *et al.*, 2018; Zou *et al.*, 2019) จากการศึกษาแพร่กระจายของปลากับความสูงจากระดับน้ำทะเลที่ใช้เทคนิค eDNA พบความสอดคล้องกับชนิดปลาและลักษณะของแหล่งที่อยู่อาศัย พบชนิดที่มีการแพร่กระจายตามระดับความสูงแบ่งออกเป็น 4 ระดับ มีจำนวนทั้งหมด 14 สกุล คือ *Oreoglanis*, *Exostoma*, *Barilius*, *Glyptothorax*, *Devario*, *Mystacoleucus*, *Rasbora*, *Systemus*, *Parambassis*, *Pethia*, *Brachirus*, *Tor*, *Pristolepis* และ *Oreochromis* โดยปลาที่พบในเขตภูเขา (Mountainous zone) มีความจำเพาะกับพื้นที่ และมีความสำคัญต่อระบบนิเวศในลุ่มน้ำ สามารถใช้เป็นดัชนีชี้วัดความเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำคือกลุ่มปลา *Oreoglanis*, *Exostoma*, *Barilius* และ *Glyptothorax* เนื่องจากการสูญเสียไปจากการทำลายป่าเพื่อการเกษตรหรือที่อยู่อาศัย การจับปลารวมชาติจาก

แหล่งต้นน้ำเพื่อธุรกิจปลาสวยงาม นั้นเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลเสียต่อแหล่งที่อยู่อาศัยของกลุ่มปลา โดยเขตนี้มีสภาพแวดล้อมประกอบด้วยป่าไม้และมีลักษณะพื้นที่ท้องน้ำที่ประกอบด้วยกรวดและก้อนหิน รวมทั้งการระส่ำน้ำที่ไหลแรงและเหมาะสมสำหรับการดำรงชีวิตของปลากลุ่มนี้ได้ดี ส่วนกลุ่มปลาต่างถิ่นสามารถพบได้ในพื้นที่ราบและเป็นปลาที่มีการเคลื่อนที่ขึ้นลงตลอดเวลาและมีความอดทนต่อการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมได้ดีปรับตัวได้ดีทั้งเรื่องอาหารที่กินได้หลากหลาย ได้แก่ *Oreochromis* (*Oreochromis niloticus*) และ *Mystacoleucus* (*M. obtusirostris*) สามารถพบได้ในทุกสถานที่ เป็นปลาที่มีความอดทนต่อการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมได้ดี อาศัยในทุกแหล่งน้ำทั้งบริเวณต้นน้ำ ลานธาร แม่น้ำสายหลัก และลำธารที่ราบต่ำ เป็นต้น ส่วนการศึกษาร่องรอยดีเอ็นเอ ในเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล จ. เชียงใหม่ ซึ่งเป็นวิธีการตรวจหาร่องรอยดีเอ็นเอ เช่นเดียวกับในการตรวจสอบในแม่น้ำแม่แจ่ม และพบดีเอ็นเอตกค้างในแหล่งน้ำ ทั้งหมด 20 สกุล ได้แก่ *Labiobarbus*, *Lobocheilos*, *Hemibragrus*, *Oreochromis*, *Pethia*, *Pangasianodon*, *Systemus*, *Cyclocheilichthys*, *Parambassis*, *Barilius*, *Hampala*, *Betta*, *Tor*, *Myatacoleucus*, *Cyprinus*, *Glyptothorax*, *Oreoglanis*, *Labeo*, *Tuberoschistura* และ *Pangio* การพบร่องรอยดีเอ็นเอมีความสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ของเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล ทั้งการพัฒนาเชิงท่องเที่ยว การประมงที่มากเกินไป ส่งผลต่อการลดลงของปริมาณชนิดปลาที่สามารถบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงสภาวะของเขื่อนแม่จัดต่างจากอดีตเมื่อการเปลี่ยนแปลงของแหล่งน้ำทั้งลำน้ำสาขาที่มีพื้นที่ทำการเกษตร การใช้สารเคมี ย่อมส่งผลกระทบต่อจำนวนชนิดปลาที่ลดลง

จากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้นำเสนอรูปแบบใหม่ในการรวมการประยุกต์การใช้ข้อมูลทางชีววิทยาของปลาและงานเทคนิค eDNA มารวมกัน เพื่อง่ายต่อการนำไปใช้ประโยชน์และทันต่อสถานการณ์การเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมในปัจจุบัน การเปลี่ยนแปลงทั้งการลดลงของปริมาณป่าไม้ การรบกวนจากกิจกรรมของมนุษย์ การรบกวนแหล่งที่อยู่อาศัยของสัตว์น้ำ การทำลายระบบนิเวศต้นน้ำ ทั้งทางตรงและทางอ้อม ส่งผลต่อทรัพยากรทางน้ำ เนื่องจากป่าไม้คือที่อยู่อาศัยของแมลง แมลงคือหนึ่งในความสำคัญต่อระบบนิเวศแหล่งน้ำ การวางไข่ การเจริญเติบโตของแมลงจะเกิดขึ้นโดยอาศัยแหล่งที่อยู่อาศัยคือต้นไม้ และแหล่งน้ำ มีพื้นที่ท้องน้ำที่เป็นแหล่งหลบซ่อนหรือยึดเกาะของตัวอ่อนให้สามารถเจริญเติบโต และถือเป็นจุดสำคัญเป็นอาหารของเหล่าปลานานาชนิดที่อาศัยในแหล่งต้นน้ำที่มีกระแสน้ำไหลมีตัวอ่อนแมลงเป็นอาหารหลัก (Tongnunui and Beamish, 2009) นอกจากป่าไม้ที่ลดลง การทำลายล้างอีกอย่างคือการใช้สารเคมีสำหรับเกษตรกรรม ก่อให้เกิดความเสื่อมโทรมของแหล่งที่อยู่อาศัยที่มีผลต่อความหลากหลายชนิดปลาลดลง ดังนั้นการศึกษาดังนี้จะมีประโยชน์สำหรับการนำรูปแบบไปใช้ในการประเมินแหล่งน้ำโดยไม่รบกวนแหล่งนั้นนั้น ๆ ถึงแม้ว่าจะสามารถนำมาใช้ได้แต่เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพให้ดียิ่งขึ้นยังต้องศึกษาข้อมูลของปลาทุกชนิดให้ครอบคลุมมากกว่านี้

ปัญหาการจัดการทรัพยากรแหล่งน้ำคือการไม่มีฐานข้อมูลของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ ที่ชัดเจน การศึกษาข้อมูลดังกล่าวมีความสำคัญในทิศทางการจัดการทรัพยากรแหล่งน้ำอย่างยั่งยืน

6.3 ข้อเสนอแนะ

การประเมินแหล่งน้ำโดยใช้ข้อมูลคุณลักษณะชีววิทยาของปลาเพื่อจัดเป็นเมทริกเพื่อประเมินความสมบูรณ์ทางชีวภาพ จำเป็นต้องใช้องค์ความรู้ด้านอนุกรมวิธาน และชีววิทยาของปลา ดังนั้นข้อมูลทางด้านชีววิทยาของปลาจึงมีความสำคัญที่จะสามารถอธิบายได้ถึงระบบนิเวศในแหล่งน้ำนั้น ๆ เนื่องจากมีความเกี่ยวข้องและเชื่อมโยงกัน จึงต้องมีข้อมูลที่ชัดเจนทุกชนิดทั้งในระบบน้ำนิ่งและน้ำไหล เพื่อเป็นฐานข้อมูลสำหรับการพัฒนาการประเมินความสมบูรณ์ทางชีวภาพต่อไป

การศึกษาการประยุกต์ใช้วิธีการดีเอ็นเอเพื่อตรวจติดตามประเมินการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมทางน้ำ (Environmental DNA) เป็นแนวทางใหม่สำหรับนำมาใช้เพื่อศึกษาถึงโครงสร้างกลุ่มประชากรและการแพร่กระจายของปลาในแหล่งน้ำนิ่งและน้ำไหล การศึกษาข้อมูลดังกล่าวจำเป็นต้องใช้ฐานข้อมูลชนิดปลาทั้งหมดเพื่อสามารถอ่านผลได้อย่างครอบคลุม แต่ข้อมูลฐานชีวภาพเกือบทุกชนิดของสิ่งมีชีวิตยังคงมีข้อมูลน้อยทำให้การศึกษาครั้งนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานเบื้องต้นสำหรับวิธีการใหม่และทางเลือกใหม่ที่นำมาใช้ศึกษากลุ่มประชากรในแหล่งน้ำนั้น ๆ ณ เวลาใดเวลาหนึ่งได้ เพื่อเป็นฐานข้อมูลสำหรับการพัฒนาการประเมินความสมบูรณ์ทางชีวภาพควบคู่กับการใช้ดัชนีวัดความสมบูรณ์ทางชีวภาพโดยใช้ปลาเป็นตัวชี้วัดต่อไป

บรรณานุกรม

- Allard, L., Grenouillet, G., Khazraie, K., Tudesque, L., Vigouroux, R. & Brosse, S. 2014. Electrofishing efficiency in low conductivity neotropical streams: towards a non-destructive fish sampling method. **Fisheries Management and Ecology**, 21(3), 234-243.
- Alvarez, M. C., Franco, A., Pérez-Domínguez, R. & Elliott, M. 2013. Sensitivity analysis to explore responsiveness and dynamic range of multi-metric fish-based indices for assessing the ecological status of estuaries and lagoons. **Hydrobiologia**, 704(1), 347-362.
- Amarasinghe, U. S., Weliang, W. S., Kakkao, M., Villanueva, M. C. & Moreau, J. 2008. Diel feeding pattern and food consumption of selected fish populations in Asian reservoirs. **Aquatic ecosystem and development: Comparative Asian perspectives. Leiden, the Netherlands: Biology of Inland Waters, Backhuys Publishers**, 249-263.
- Andruszkiewicz, E. A., Starks, H. A., Chavez, F. P., Sassoubre, L. M., Block, B. A. & Boehm, A. B. 2017. Biomonitoring of marine vertebrates in Monterey Bay using eDNA metabarcoding. **PLoS One**, 12(4), e0176343.
- Aparicio, E., Carmona-Catot, G., Moyle, P. B. & García-Berthou, E. 2011. Development and evaluation of a fish-based index to assess biological integrity of Mediterranean streams. **Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems**, 21(4), 324-337.
- Araujo, F. G., Fichberg, L., Pinto, B. C. T. & Peixoto, M. G. 2003. A preliminary index of biotic integrity for monitoring the condition of the Rio Paraíba do Sul, southeast Brazil. **Environmental Management**, 32(4), 516-526.
- Ardura, A., Linde, A. R., Moreira, J. C. & Garcia-Vazquez, E. 2010. DNA barcoding for conservation and management of Amazonian commercial fish. **Biological Conservation**, 143(6), 1438-1443.
- Argillier, C., Caussé, S., Gevrey, M., Pédrón, S., De Bortoli, J., Brucet, S., Emmrich, M., Jeppesen, E., Lauridsen, T. & Mehner, T. 2013. Development of a fish-based

- index to assess the eutrophication status of European lakes. *Hydrobiologia*, 704(1), 193-211.
- Barbour, M. T. 1999. **Rapid bioassessment protocols for use in wadeable streams and rivers: periphyton, benthic macroinvertebrates and fish.** US Environmental Protection Agency, Office of Water.
- Barnes, M. A. & Turner, C. R. 2016. The ecology of environmental DNA and implications for conservation genetics. *Conservation Genetics*, 17(1), 1-17.
- Bellan-Santini, D. 1980. Relationship between populations of amphipods and pollution. *Marine Pollution Bulletin*, 11(8), 224-227.
- Belpaire, C., Smolders, R., Auweele, I. V., Ercken, D., Breine, J., Van Thuyne, G. & Ollevier, F. 2000. An Index of Biotic Integrity characterizing fish populations and the ecological quality of Flandrian water bodies. *Hydrobiologia*, 434(1), 17-33.
- Bohmann, K., Evans, A., Gilbert, M. T. P., Carvalho, G. R., Creer, S., Knapp, M., Douglas, W. Y. & De Bruyn, M. 2014. Environmental DNA for wildlife biology and biodiversity monitoring. *Trends in Ecology and Evolution*, 29(6), 358-367.
- Borja, A., Bricker, S. B., Dauer, D. M., Demetriades, N. T., Ferreira, J. G., Forbes, A. T., Hutchings, P., Jia, X., Kenchington, R. & Marques, J. C. 2008. Overview of integrative tools and methods in assessing ecological integrity in estuarine and coastal systems worldwide. *Marine Pollution Bulletin*, 56(9), 1519-1537.
- Borja, A. & Elliott, M. (2013). **Marine monitoring during an economic crisis: the cure is worse than the disease:** Pergamon-Elsevier Science LTD.
- Bozzetti, M. & Schulz, U. H. 2004. An index of biotic integrity based on fish assemblages for subtropical streams in southern Brazil. *Hydrobiologia*, 529(1), 133-144.
- Breine, J., Maes, J., Stevens, M., Simoens, I., Elliott, M., Hemingway, K. & Van den Bergh, E. 2008. **Habitat needs to realise conservation goals for fish in estuaries: case study of the tidal Schelde.** Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek; Nr. INBO.R.2008.3: Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek.
- Breine, J., Quataert, P., Stevens, M., Ollevier, F., Volckaert, F. A., Van den Bergh, E. & Maes, J. 2010. A zone-specific fish-based biotic index as a management tool for the Zeeschelde estuary (Belgium). *Marine Pollution Bulletin*, 60(7), 1099-1112.

- Breine, J., Simoens, I., Goethals, P., Quataert, P., Ercken, D., Van Liefferinghe, C. & Belpaire, C. 2004. A fish-based index of biotic integrity for upstream brooks in Flanders (Belgium). **Hydrobiologia**, 522(1), 133-148.
- Breine, J., Van Thuyne, G. & De Bruyn, L. 2015. Development of a fish-based index combining data from different types of fishing gear. A case study of reservoirs in Flanders (Belgium). **Belgian Journal of Zoology**, 145(1).
- Cai, W., Zhou, Z., Xia, J., Wang, W., Dou, C. & Zeng, Z. 2020. An advanced index of ecological Integrity (IEI) for assessing ecological efficiency of restoration revetments in river plain. **Ecological Indicators**, 108(105762).
- Camargo, J. A. 1992. New diversity index for assessing structural alterations in aquatic communities. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 48(3), 428-434.
- Casatti, L. & Castro, R. 2006. Testing the ecomorphological hypothesis in a headwater riffles fish assemblage of the rio São Francisco, southeastern Brazil. **Neotropical Ichthyology**, 4(203-214).
- Casselmann, J. M., Penczak, T., Carl, L., Mann, R. H. K., Holcik, J. & Woitowich, W. A. 1990. An evaluation of fish sampling methodologies for large river systems. **Polish Archives of Hydrobiology**, 37(4), 521-551.
- Chaves, H. M. L. & Alipaz, S. 2007. An integrated indicator based on basin hydrology, environment, life, and policy: the watershed sustainability index. **Water Resources Management**, 21(5), 883-895.
- Chen, K., Jia, Y., Xiong, X., Sun, H., Zhu, R. & Chen, Y. 2020. Integration of taxonomic distinctness indices into the assessment of headwater streams with a high altitude gradient and low species richness along the upper Han River, China. **Ecological Indicators**, 112(106106).
- Chen, W., Ma, X., Shen, Y., Mao, Y. & He, S. 2015. The fish diversity in the upper reaches of the Salween River, Nujiang River, revealed by DNA barcoding. **Scientific Reports**, 5(1), 1-12.
- Cilleros, K., Valentini, A., Allard, L., Dejean, T., Etienne, R., Grenouillet, G., Iribar, A., Taberlet, P., Vigouroux, R. & Brosse, S. 2019. Unlocking biodiversity and conservation studies in high-diversity environments using environmental DNA

- (eDNA): A test with Guianese freshwater fishes. **Molecular Ecology Resources**, 19(1), 27-46.
- Cooper, M. J., Lamberti, G. A., Moerke, A. H., Ruetz, C. R., Wilcox, D. A., Brady, V. J., Brown, T. N., Ciborowski, J. J. H., Gathman, J. P. & Grabas, G. P. 2018. An expanded fish-based index of biotic integrity for Great Lakes coastal wetlands. **Environmental Monitoring and Assessment**, 190(10), 1-30.
- Costa, P. F. & Schulz, U. H. 2010. The fish community as an indicator of biotic integrity of the streams in the Sinos River basin, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, 70(1195-1205).
- Creer, S., Deiner, K., Frey, S., Porazinska, D., Taberlet, P., Thomas, W. K., Potter, C. & Bik, H. M. 2016. The ecologist's field guide to sequence-based identification of biodiversity. **Methods in Ecology and Evolution**, 7(9), 1008-1018.
- Cunico, A. M., Allan, J. D. & Agostinho, A. A. 2011. Functional convergence of fish assemblages in urban streams of Brazil and the United States. **Ecological Indicators**, 11(5), 1354-1359.
- da Silva Jr, D. R., Paranhos, R. & Vianna, M. 2016. Spatial patterns of distribution and the influence of seasonal and abiotic factors on demersal ichthyofauna in an estuarine tropical bay. **Journal of Fish Biology**, 89(1), 821-846.
- Dahanukar, N., Diwekar, M. & Paingankar, M. 2011. Rediscovery of the threatened Western Ghats endemic sisorid catfish *Glyptothorax poonaensis* (Teleostei: Siluriformes: Sisoridae). **Journal of Threatened Taxa**, 3(7).
- Das, M. K. & Samanta, S. 2006. Application of an index of biotic integrity (IBI) to fish assemblage of the tropical Hooghly estuary. **Indian Journal of Fisheries**, 53(1), 47-57.
- Deiner, K., Walser, J. C., Mächler, E. & Altermatt, F. 2015. Choice of capture and extraction methods affect detection of freshwater biodiversity from environmental DNA. **Biological Conservation**, 183(53-63).
- Dejean, T., Valentini, A., Duparc, A., Pellier-Cuit, S., Pompanon, F., Taberlet, P. & Miaud, C. 2011. Persistence of environmental DNA in freshwater ecosystems. **PloS one**, 6(8), e23398.

- Dejean, T., Valentini, A., Miquel, C., Taberlet, P., Bellemain, E. & Miaud, C. 2012. Improved detection of an alien invasive species through environmental DNA barcoding: the example of the American bullfrog *Lithobates catesbeianus*. **Journal of Applied Ecology**, 49(4), 953-959.
- Didier, J. 1997. **Indice biotique d'intégrité piscicole pour évaluer la qualité écologique des écosystèmes lotiques**. Docteur en Sciences. Université de Namur.
- Dolph, C. L., Sheshukov, A. Y., Chizinski, C. J., Vondracek, B. & Wilson, B. 2010. The Index of Biological Integrity and the bootstrap: Can random sampling error affect stream impairment decisions? **Ecological Indicators**, 10(2), 527-537.
- Elliott, M. & Quintino, V. 2007. The estuarine quality paradox, environmental homeostasis and the difficulty of detecting anthropogenic stress in naturally stressed areas. **Marine pollution bulletin**, 54(6), 640-645.
- Epa, O. 1988. Biological criteria for the protection of aquatic life. **Ohio Environmental Protection Agency, Division of Water Quality Monitoring and Assessment, Surface Water Section, Columbus, Ohio, USA**.
- Ergönül, M. B., Breine, J. & Van den Bergh, E. 2018. A technical guide to develop a statistically valid fish-based index in compliance with the water framework directive: an evaluation for Turkish freshwaters. **International Aquatic Research**, 10(4), 303-319.
- Evans, N. T., Olds, B. P., Renshaw, M. A., Turner, C. R., Li, Y., Jerde, C. L., Mahon, A. R., Pfrender, M. E., Lamberti, G. A. & Lodge, D. M. 2016. Quantification of mesocosm fish and amphibian species diversity via environmental DNA metabarcoding. **Molecular Ecology Resources**, 16(1), 29-41.
- Fausch, K. D., Lyons, J., Karr, J. R. & Angermeier, P. L. 1990. **Fish communities as indicators of environmental degradation**. Bethesda.
- Ficetola, G. F., Miaud, C., Pompanon, F. & Taberlet, P. 2008. Species detection using environmental DNA from water samples. **Biology Letters**, 4(4), 423-425.
- Froese, R., Pauly, D., Froese, R. & Pauly, D. 2019. **FishBase**. [Online]. Available www.fishbase.org.

- Gabriels, W., Lock, K., De Pauw, N. & Goethals, P. L. M. 2010. Multimetric Macroinvertebrate Index Flanders (MMIF) for biological assessment of rivers and lakes in Flanders (Belgium). **Limnologica - Ecology and Management of Inland Waters**, 40(3), 199-207.
- Gillet, B., Cottet, M., Destanque, T., Kue, K., Descloux, S., Chanudet, V. & Hughes, S. 2018. Direct fishing and eDNA metabarcoding for biomonitoring during a 3-year survey significantly improves number of fish detected around a South East Asian reservoir. **PloS one**, 13(12), e0208592.
- Goldberg, C. S., Turner, C. R., Deiner, K., Klymus, K. E., Thomsen, P. F., Murphy, M. A., Spear, S. F., McKee, A., Oylar-McCance, S. J. & Cornman, R. S. 2016. Critical considerations for the application of environmental DNA methods to detect aquatic species. **Methods in Ecology and Evolution**, 7(11), 1299-1307.
- Grada, A. & Weinbrecht, K. 2013. Next-generation sequencing: methodology and application. **Journal of Investigative Dermatology**, 133(8), e11.
- Greenfield, D. I. & Bart, H. L. 2005. Long-term fish community dynamics from a blackwater stream receiving kraft mill effluent between 1973 and 1988. **Hydrobiologia**, 534(1), 81-90.
- Growns, I. 2004. A numerical classification of reproductive guilds of the freshwater fishes of south-eastern Australia and their application to river management. **Fisheries Management and Ecology**, 11(6), 369-377.
- Guareschi, S., Laini, A. & Sanchez-Montoya, M. M. 2017. How do low-abundance taxa affect river biomonitoring? Exploring the response of different macroinvertebrate-based indices. **Journal of Limnology**, 76(Suppl 1), 9-20.
- Hallett, C. S., Valesini, F. J., Clarke, K. R., Hesp, S. A. & Hoeksema, S. D. 2012. Development and validation of fish-based, multimetric indices for assessing the ecological health of Western Australian estuaries. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, 104(102-113).
- Hara, J., Mamun, M. & An, K.-G. 2019. Ecological River Health Assessments Using Chemical Parameter Model and the Index of Biological Integrity Model. **Water**, 11(8), 1729.

- Harrison, T. D. & Whitfield, A. K. 2004. A multi-metric fish index to assess the environmental condition of estuaries. **Journal of Fish Biology**, 65(3), 683-710.
- . 2006. Application of a multimetric fish index to assess the environmental condition of South African estuaries. **Estuaries and Coasts**, 29(6), 1108-1120.
- Hart, R. C. 1992. Experimental studies of food and suspended sediment effects on growth and reproduction of six planktonic cladocerans. **Journal of Plankton Research**, 14(10), 1425-1448.
- Henriques, S., Pais, M. P., Costa, M. J. & Cabral, H. 2008. Development of a fish-based multimetric index to assess the ecological quality of marine habitats: the Marine Fish Community Index. **Marine Pollution Bulletin**, 56(11), 1913-1934.
- Hering, D., Feld, C. K., Moog, O. & Ofenböck, T. (2006). Cook book for the development of a Multimetric Index for biological condition of aquatic ecosystems: experiences from the European AQEM and STAR projects and related initiatives. In **The Ecological Status of European Rivers: Evaluation and Intercalibration of Assessment Methods** (pp. 311-324): Springer.
- Hocutt, C. H., Johnson, P. N., Hay, C. & Van Zyl, B. J. 1994. Biological basis of water quality assessment: the Kavango River, Namibia.
- Hu, T. J., Wang, H. W. & Lee, H. Y. 2007. Assessment of environmental conditions of Nan-Shih stream in Taiwan. **Ecological Indicators**, 7(2), 430-441.
- Hughes, J. E., Deegan, L. A., Weaver, M. J. & Costa, J. E. 2002. Regional application of an index of estuarine biotic integrity based on fish communities. **Estuaries**, 25(2), 250-263.
- Hugueny, B., Camara, S., Samoura, B. & Magassouba, M. 1996. Applying an index of biotic integrity based on fish assemblages in a West African river. **Hydrobiologia**, 331(1), 71-78.
- Humason, G. L. 1962. Animal Tissue Techniques. **Animal Tissue Techniques**.
- IUCN. 2020. The IUCN Red List of Threatened Species.
- Jayaram, K. C. 1999. The freshwater fishes of the Indian region.
- Jenkins, R. E. & Burkhead, N. M. (1994). **Freshwater fishes of Virginia**. American Fisheries Society, Bethesda, MD.

- Jennings, M. J., Fore, L. S. & Karr, J. R. 1995. Biological monitoring of fish assemblages in Tennessee Valley reservoirs. **Regulated Rivers: Research & Management**, 11(3-4), 263-274.
- Jerde, C. L., Mahon, A. R., Chadderton, W. L. & Lodge, D. M. 2011. "Sight-unseen" detection of rare aquatic species using environmental DNA. **Conservation Letters**, 4(2), 150-157.
- Jia, Y., Sui, X. & Chen, Y. 2013. Development of a fish-based index of biotic integrity for wadeable streams in Southern China. **Environmental Management**, 52(4), 995-1008.
- Joy, M. K. & Death, R. G. 2004. Application of the index of biotic integrity methodology to New Zealand freshwater fish communities. **Environmental Management**, 34(3), 415-428.
- Jutagate, T., Sa-nguansin, J., Deenin, G. & Udduang, S. 2011. Fish distribution in a river basin in the lower Northern of Thailand and strategy for conservation following river damming. **Chiang Mai Journal of Science**, 38(485-502).
- Juwana, I., Perera, B. J. C. & Muttill, N. 2010. A water sustainability index for West Java. Part 1: Developing the conceptual framework. **Water Science and Technology**, 62(7), 1629-1640.
- Karr, J. R. 1981. Assessment of biotic integrity using fish communities. **Fisheries**, 6(6), 21-27.
- . 1986. Assessing biological integrity in running waters: a method and its rationale. **Illinois Natural History Survey Special Publication no. 05**.
- Kennard, M. J., Harch, B. D., Pusey, B. J. & Arthington, A. H. 2006. Accurately defining the reference condition for summary biotic metrics: a comparison of four approaches. **Hydrobiologia**, 572(1), 151-170.
- Kennish, M. J. 2002. Environmental threats and environmental future of estuaries. **Environmental Conservation**, 29(1), 78-107.
- Khalaf, M. A. & Kochzius, M. 2002. Changes in trophic community structure of shore fishes at an industrial site in the Gulf of Aqaba, Red Sea. **Marine Ecology Progress Series**, 239(287-299).

- Kleynhans, C. J. 1999. The development of a fish index to assess the biological integrity of South African rivers. **Water Sa-Pretoria**, 25(265-278).
- Kottelat, M. 2001a. Fishes of Laos. Colombo. **Colombo: Wildlife Heritage Trust Publications.**
- . 2001b. Freshwater fishes of Northern Vietnam: a preliminary check-list of the fishes known or expected to occur in northern Vietnam with comments on systematics and nomenclature.
- . 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 Bulletin of Zoology.**
- Kottelat, M., Whitten, A. J., Kartikasari, S. N. & Wirjoatmodjo, S. 1993. Freshwater fishes of western Indonesia and Sulawesi: Ikan Air Tawar Indonesia Bagian Barat dan Sulawesi. **Periplus, Jakarta.**
- Krause, J., Bertrand, K., Kafle, A. & Jr, N. 2012. A fish index of biotic integrity for South Dakota's Northern Glaciated Plains Ecoregion. **Ecological Indicators**, 34(313–322).
- Kruk, A., Cieplucha, M., Zięba, G., Błońska, D., Marszał, L., Tybulczuk, S., Tszydel, M. & Penczak, T. 2017. Disturbed fish fauna zonation as an indicator of large-scale human impact: A case study (2011–2012) of the large, lowland Warta River, Poland. **Journal of Applied Ichthyology**, 33(2), 174-188.
- Launois, L., Veslot, J., Irz, P. & Argillier, C. 2011. Selecting fish-based metrics responding to human pressures in French natural lakes and reservoirs: towards the development of a fish-based index (FBI) for French lakes. **Ecology of Freshwater Fish**, 20(1), 120-132.
- Lepage, M., Harrison, T., Breine, J., Cabral, H., Coates, S., Galván, C., García, P., Jager, Z., Kelly, F. & Mosch, E. C. 2016. An approach to intercalibrate ecological classification tools using fish in transitional water of the North East Atlantic. **Ecological Indicators**, 67(318-327).
- Levy-Booth, D. J., Campbell, R. G., Gulden, R. H., Hart, M. M., Powell, J. R., Klironomos, J. N., Pauls, K. P., Swanton, C. J., Trevors, J. T. & Dunfield, K. E. 2007. Cycling of

- extracellular DNA in the soil environment. **Soil Biology and Biochemistry**, 39(12), 2977-2991.
- Li, F., Peng, Y., Fang, W., Altermatt, F., Xie, Y., Yang, J. & Zhang, X. 2018. Application of environmental DNA metabarcoding for predicting anthropogenic pollution in rivers. **Environmental Science and Technology**, 52(20), 11708-11719.
- Li, T., Huang, X., Jiang, X. & Wang, X. 2018. Assessment of ecosystem health of the Yellow River with fish index of biotic integrity. **Hydrobiologia**, 814(1), 31-43.
- Littlefair, J. E., Hrenchuk, L. E., Blanchfield, P. J., Rennie, M. D. & Cristescu, M. E. 2021. Thermal stratification and fish thermal preference explain vertical eDNA distributions in lakes. **Molecular Ecology**, 30(13), 3083-3096.
- Liu, L., Xu, Z., Yang, F., Yin, X., Wu, W. & Li, J. 2020. Comparison of Fish, Macroinvertebrates and Diatom Communities in Response to Environmental Variation in the Wei River Basin, China. **Water**, 12(12), 3422.
- Lodge, D. M. 1993. Biological invasions: lessons for ecology. **Trends in Ecology and Evolution**, 8(4), 133-137.
- Lopa, R., Hayashi, H., Shimatani, Y. & Nakazima, J. 2011. Applying a fish biological integrity index for restoration plan in small sized river: a case study in the Kamisaigo River. **Water Resources Management**, 6(113-124).
- Lyons, J. 2006. A fish-based index of biotic integrity to assess intermittent headwater streams in Wisconsin, USA. **Environmental Monitoring and Assessment**, 122(1), 239-258.
- . 2012. Development and validation of two fish-based indices of biotic integrity for assessing perennial coolwater streams in Wisconsin, USA. **Ecological Indicators**, 23(402-412).
- MacKenzie, D. I., Nichols, J. D., Sutton, N., Kawanishi, K. & Bailey, L. L. 2005. Improving inferences in population studies of rare species that are detected imperfectly. **Ecology**, 86(5), 1101-1113.
- Martinho, F., Nyitrai, D., Crespo, D. & Pardal, M. A. 2015. Efficacy of single and multi-metric fish-based indices in tracking anthropogenic pressures in estuaries: An 8-year case study. **Marine Pollution Bulletin**, 101(1), 153-162.

- Matsui, K., Honjo, M. & Kawabata, Z. 2001. Estimation of the fate of dissolved DNA in thermally stratified lake water from the stability of exogenous plasmid DNA. **Aquatic Microbial Ecology**, 26(1), 95-102.
- Minamoto, T., Yamanaka, H., Takahara, T., Honjo, M. N. & Kawabata, Z. 2012. Surveillance of fish species composition using environmental DNA. **Limnology**, 13(2), 193-197.
- Miya, M., Sato, Y., Fukunaga, T., Sado, T., Poulsen, J. Y., Sato, K., Minamoto, T., Yamamoto, S., Yamanaka, H. & Araki, H. 2015. MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species. **Royal Society Open Science**, 2(7), 150088.
- Monaghan, K. A. 2016. Four reasons to question the accuracy of a biotic index; the risk of metric bias and the scope to improve accuracy. **PloS one**, 11(7), e0158383.
- Mostafavi, H., Schinegger, R., Melcher, A., Moder, K., Mielach, C. & Schmutz, S. 2015. A new fish-based multi-metric assessment index for cyprinid streams in the Iranian Caspian Sea Basin. **Limnologica**, 51(37-52).
- Nelson, D. T. 2017. **Development and Application of a Fish-Based Index of Biotic Integrity for Lakes in Eastern South Dakota**. South Dakota State University.
- Nelson, J. S., Grande, T. C. & Wilson, M. V. H. 2016. **Fishes of the World**. Wiley; 5th edition (March 28, 2016).
- Ngamsnae, P. 2011. Monitoring and bio-indicators for assessment of freshwater ecosystems. **Department of Fisheries. Faculty of Agriculture. Ubon Ratchathani University.**
- Nikolsky, G. V. & Birkett, L. 1963. **The ecology of fishes**. Academic Press London.
- Novotny, V., Bartošová, A., O'Reilly, N. & Ehlinger, T. 2005. Unlocking the relationship of biotic integrity of impaired waters to anthropogenic stresses. **Water Research**, 39(1), 184-198.
- Oberdorff, T. & Hughes, R. M. 1992. Modification of an index of biotic integrity based on fish assemblages to characterize rivers of the Seine Basin, France. **Hydrobiologia**, 228(2), 117-130.

- Oberdorff, T., Pont, D., Hugueny, B. & Porcher, J. P. 2002. Development and validation of a fish-based index for the assessment of river health in France. **Freshwater Biology**, 47(9), 1720-1734.
- Okutsu, T., Morioka, S., Shinji, J. & Chanthasone, P. 2011. Growth and reproduction of the glassperch *Parambassis siamensis* (Teleostei: Ambassidae) in Central Laos. **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, 22(2), 97.
- Olin, M., Rask, M., Ruuhijärvi, J. & Tammi, J. 2013. Development and evaluation of the Finnish fish-based lake classification method. **Hydrobiologia**, 713(1), 149-166.
- Ormerod, S. J. 2003. Restoration in applied ecology: editor's introduction. **Journal of Applied Ecology**, 40(1), 44-50.
- Ormerod, S. J., Dobson, M., Hildrew, A. G. & Townsend, C. R. (2010). **Multiple stressors in freshwater ecosystems**: Wiley Online Library.
- Orrego, R., Adams, S. M., Barra, R., Chiang, G. & Gavilan, J. F. 2009. Patterns of fish community composition along a river affected by agricultural and urban disturbance in south-central Chile. **Hydrobiologia**, 620(1), 35-46.
- Pasquaud, S., Courrat, A., Fonseca, V. F., Gamito, R., Gonçalves, C. I., Lobry, J., Lepage, M., Costa, M. J. & Cabral, H. 2013. Strength and time lag of relationships between human pressures and fish-based metrics used to assess ecological quality of estuarine systems. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, 134(119-127).
- Pérez-Domínguez, R., Maci, S., Courrat, A., Lepage, M., Borja, A., Uriarte, A., Neto, J. M., Cabral, H., Raykov, V. S. & Franco, A. 2012. Current developments on fish-based indices to assess ecological-quality status of estuaries and lagoons. **Ecological Indicators**, 23(34-45).
- Perkin, J. S., Gido, K. B., Cooper, A. R., Turner, T. F., Osborne, M. J., Johnson, E. R. & Mayes, K. B. 2015. Fragmentation and dewatering transform Great Plains stream fish communities. **Ecological Monographs**, 85(1), 73-92.
- Petriki, O., Lazaridou, M. & Bobori, D. C. 2017. A fish-based index for the assessment of the ecological quality of temperate lakes. **Ecological Indicators**, 78(556-565).

- Pinto, B. C. T. & Araújo, F. G. 2007. Assessing of biotic integrity of the fish community in a heavily impacted segment of a tropical river in Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 50(3), 489-502.
- Plafkin, J. L. 1989. **Rapid bioassessment protocols for use in streams and rivers: benthic macroinvertebrates and fish**. United states Environmental protection Agency, Office of Water.
- Pont, D., Hugueny, B., Beier, U., Goffaux, D., Melcher, A., Noble, R., Rogers, C., Roset, N. & Schmutz, S. 2006. Assessing river biotic condition at a continental scale: a European approach using functional metrics and fish assemblages. **Journal of Applied Ecology**, 43(1), 70-80.
- Pont, D., Hugueny, B. & Rogers, C. 2007. Development of a fish-based index for the assessment of river health in Europe: the European Fish Index. **Fisheries Management and Ecology**, 14(6), 427-439.
- Pont, D., Rocle, M., Valentini, A., Civade, R., Jean, P., Maire, A., Roset, N., Schabuss, M., Zornig, H. & Dejean, T. 2018. Environmental DNA reveals quantitative patterns of fish biodiversity in large rivers despite its downstream transportation. **Scientific Reports**, 8(1), 10361.
- Pont, D., Valentini, A., Rocle, M., Maire, A., Delaigue, O., Jean, P. & Dejean, T. 2021. The future of fish-based ecological assessment of European rivers: from traditional EU Water Framework Directive compliant methods to eDNA metabarcoding-based approaches. **Journal of Fish Biology**, 98(2), 354-366.
- Poos, M. S. & Jackson, D. A. 2012. Addressing the removal of rare species in multivariate bioassessments: The impact of methodological choices. **Ecological Indicators**, 18(82-90).
- Pusey, B. J., Read, M. G. & Arthington, A. H. 1995. The feeding ecology of freshwater fishes in two rivers of the Australian wet tropics. **Environmental Biology of Fishes**, 43(1), 85-103.
- Qadir, A. & Malik, R. N. 2009. Assessment of an index of biological integrity (IBI) to quantify the quality of two tributaries of river Chenab, Sialkot, Pakistan. **Hydrobiologia**, 621(1), 127-153.

- Raburu, P. O. & Masese, F. O. 2012. Development of a fish-based index of biotic integrity (FIBI) for monitoring riverine ecosystems in the Lake Victoria drainage Basin, Kenya. **River Research and Applications**, 28(1), 23-38.
- Rayan, S. & Ngamsnae, P. 2014. Application of Fish Index of Biotic Integrity (Fish-IBI) for Quality Evaluation of Nong Han Wetland. **Burapha Science Journal**, 23), 928–943.
- Rees, H. C., Maddison, B. C., Middleditch, D. J., Patmore, J. R. M. & Gough, K. C. 2014. REVIEW: The detection of aquatic animal species using environmental DNA – a review of eDNA as a survey tool in ecology. **Journal of Applied Ecology**, 51(5), 1450-1459.
- Sangpradub, N. & Hanjavanit, C. 2017. Diet Composition of *Pristolepis fasciata* (Bleeker, 1851)(Family Nandidae) and *Puntius brevis* (Bleeker, 1849)(Family Cyprinidae) in Kaeng Lawa, Thailand. **Chiang Mai Journal of Science**, 44(3), 839-846.
- Sapounidis, A. S., Koutrakis, E. T. & Leonardos, I. D. 2019. Fish-based River Integrity Index: A first attempt in developing a water quality index for the assessment of the Greek rivers. **Ecohydrology and Hydrobiology**, 19(4), 620-628.
- Schinegger, R., Trautwein, C. & Schmutz, S. 2013. Pressure-specific and multiple pressure response of fish assemblages in European running waters. **Limnologica**, 43(5), 348-361.
- Schleiger, S. L. 2000. Use of an index of biotic integrity to detect effects of land uses on stream fish communities in west-central Georgia. **Transactions of the American Fisheries Society**, 129(5), 1118-1133.
- Schmutz, S., Cowx, I. G., Haidvogel, G. & Pont, D. 2007. Fish-based methods for assessing European running waters: a synthesis. **Fisheries Management and Ecology**, 14(6), 369-380.
- Seilheimer, T. S. & Chow-Fraser, P. 2006. Development and use of the Wetland Fish Index to assess the quality of coastal wetlands in the Laurentian Great Lakes. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 63(2), 354-366.

- Shaw, J. L. A., Clarke, L. J., Wedderburn, S. D., Barnes, T. C., Weyrich, L. S. & Cooper, A. 2016. Comparison of environmental DNA metabarcoding and conventional fish survey methods in a river system. **Biological Conservation**, 197(131-138).
- Shi, L., Zhu, H., Ye, S. W., Wang, P. Z., Liu, J. S., Liu, X. G. & Li, Z. J. 2020. Fish assemblage and biotic integrity assessment in Shihoudian Lake. **Chinese Journal of Ecology**, (39), 2646-2656.
- Simpson, E. H. 1949. Measurement of diversity. **Nature**, 163(4148), 688-688.
- Smith, H. M. 1945. **The Fresh-Water Fishes of Siam, or Thailand**. Washington: United States Government Printing Office.
- Snedecor, C. & Cochran, M. 1969. **Statistical methods 6th ed.** Iowa State University Digital Press, Iowa, USA.
- So, N., Utsugi, K., Shibukawa, K., Thach, P., Chhuoy, S., Kim, S., Chin, D., Nen, P. & Chheng, P. 2018. Fishes of Cambodian Freshwater Boded. **Inland Fisheries Research and Development Institute, Fisheries Administration. Cambodian**.
- Souza, G. B. G. & Vianna, M. 2020. Fish-based indices for assessing ecological quality and biotic integrity in transitional waters: A systematic review. **Ecological Indicators**, 109(105665).
- Stat, M., John, J., DiBattista, J. D., Newman, S. J., Bunce, M. & Harvey, E. S. 2019. Combined use of eDNA metabarcoding and video surveillance for the assessment of fish biodiversity. **Conservation Biology**, 33(1), 196-205.
- Stevens, C. & Council, T. 2008. **A fish-based index of biological integrity for assessing river condition in central Alberta**. Alberta Conservation Association.
- Stirn, J., Avcin, A. J., Kerzan, I., Marcotte, B. M., Meith-Avcin, N., Vrizer, B. & Vukovic, S. 1971. Selected biological methods for assessment of pollution. **Marine Pollution and Waste Disposal; Pearson, EA, Defraja, E., Eds**, 307-328.
- Stoeckle, M. Y., Soboleva, L. & Charlop-Powers, Z. 2017. Aquatic environmental DNA detects seasonal fish abundance and habitat preference in an urban estuary. **PloS one**, 12(4), e0175186.
- Sullivan, C. 2002. Calculating a water poverty index. **World Development**, 30(7), 1195-1210.

- Suvarnaraksha, A. 2003. Fish Diversity of Chiang Dao Wild Life and Sanctuary. **Maejo University, Chiang Mai.**
- . 2004. Fish Diversity in Mae Ngad somboonchon reservoir, Maetang District, Chiangmai province. **Maejo University, Chiang Mai.**
- . 2011. **Biology of two keystone fish species and fish assemblage patterns and modeling approaches in tropical river basin: Case study of Ping River Basin, Thailand.** Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier.
- . 2017. Fish of the Ping basin. **The Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University.**
- . 2018. **Ichthyology.** The Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University.
- Suvarnaraksha, A., Lek, S., Lek-Ang, S. & Jutagate, T. 2012. Fish diversity and assemblage patterns along the longitudinal gradient of a tropical river in the Indo-Burma hotspot region (Ping-Wang River Basin, Thailand). **Hydrobiologia**, 694(1), 153-169.
- Taberlet, P., Coissac, E., Hajibabaei, M. & Rieseberg, L. H. (2012). **Environmental DNA:** Wiley Online Library.
- Taberlet, P., Coissac, E., Pompanon, F., Brochmann, C. & Willerslev, E. 2012. Towards next-generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding. **Molecular Ecology**, 21(8), 2045-2050.
- Tableau, A., Drouineau, H., Delpech, C., Pierre, M., Lobry, J., Le Pape, O., Breine, J. & Lepage, M. 2013. A fish-based index of estuarine ecological quality incorporating information from both scientific fish survey and experts knowledge. **Ecological Indicators**, 32(147-156).
- Taylor, R. W. & Turnbull, D. M. 2005. Mitochondrial DNA mutations in human disease. **Nature Reviews Genetics**, 6(5), 389-402.
- Teixeira-Neves, T. P., Neves, L. M. & Araújo, F. G. 2016. The development of a preliminary rock reef fish multimetric index for assessing thermal and urban impacts in a tropical bay. **Marine Pollution Bulletin**, 109(1), 290-300.

- Thomsen, P. F. & Willerslev, E. 2015. Environmental DNA—An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. **Biological Conservation**, 183(4-18).
- Toham, A. K. & Teugels, G. G. 1999. First data on an Index of Biotic Integrity (IBI) based on fish assemblages for the assessment of the impact of deforestation in a tropical West African river system. **Hydrobiologia**, 397(29-38).
- Tongnunui, S. & Beamish, F. W. H. 2009. Habitat and relative abundance of fishes in small rivers in eastern Thailand. **Environmental Biology of Fishes**, 85(3), 209-220.
- Turner, C. R., Uy, K. L. & Everhart, R. C. 2015. Fish environmental DNA is more concentrated in aquatic sediments than surface water. **Biological Conservation**, 183(93-102).
- Valentini, A., Taberlet, P., Miaud, C., Civade, R., Herder, J., Thomsen, P. F., Bellemain, E., Besnard, A., Coissac, E. & Boyer, F. 2016. Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. **Molecular ecology**, 25(4), 929-942.
- Van Oosterhout, M. P. & Van Der Velde, G. 2015. An advanced Index of Biotic Integrity for use in tropical shallow lowland streams in Costa Rica: Fish assemblages as indicators of stream ecosystem health. **Ecological Indicators**, 48(687-698).
- Venkataramanujam, K. & Ramanathan, N. 1994. Manual of Finfish Biology. **New Delhi: Oxford & IBH**, 110.
- Vidthayanon, C. 2017. Checklist of freshwater fish in Thailand. **Bangkok: Office of Natural Resources and Environmental Policy and Planning**.
- Vile, J. S. & Henning, B. F. 2018. Development of indices of biotic integrity for high-gradient wadeable rivers and headwater streams in New Jersey. **Ecological Indicators**, 90(469-484).
- Vitule, J. R. S., Freire, C. A. & Simberloff, D. 2009. Introduction of non-native freshwater fish can certainly be bad. **Fish and Fisheries**, 10(1), 98-108.

- Voulvoulis, N., Arpon, K. D. & Giakoumis, T. 2017. The EU Water Framework Directive: From great expectations to problems with implementation. **Science of The Total Environment**, 575(358-366).
- Wan, H., Chizinski, C. J., Dolph, C. L., Vondracek, B. & Wilson, B. N. 2010. The impact of rare taxa on a fish index of biotic integrity. **Ecological Indicators**, 10(4), 781-788.
- Whitfield, A. K. & Elliott, M. 2002. Fishes as indicators of environmental and ecological changes within estuaries: a review of progress and some suggestions for the future. **Journal of Fish Biology**, 61(229-250).
- Wilantho, A., Praditsup, O., Charoenchim, W., Kulawonganuchai, S., Assawamakin, A. & Tongsim, S. 2012. Next generation sequencing (NGS) technologies and their applications in omics-research. **Genomics and Genetics**, 5(2), 104-129.
- Wolter, C., Minow, J., Vilcinskis, A. & Grosch, U. A. 2000. Long-term effects of human influence on fish community structure and fisheries in Berlin waters: An urban water system. **Fisheries Management and Ecology**, 7(97-104).
- Wootton, R. J. 1991. **Fish ecology**. Springer Science & Business Media.
- Wu, J., Mao, R., Li, M., Xia, J., Song, J., Cheng, D. & Sun, H. 2020. Assessment of aquatic ecological health based on determination of biological community variability of fish and macroinvertebrates in the Weihe River Basin, China. **Journal of environmental management**, 267(110651).
- Wu, W., Xu, Z., Yin, X. & Zuo, D. 2014. Assessment of ecosystem health based on fish assemblages in the Wei River basin, China. **Environmental Monitoring and Assessment**, 186
- Yamamoto, S., Masuda, R., Sato, Y., Sado, T., Araki, H., Kondoh, M., Minamoto, T. & Miya, M. 2017. Environmental DNA metabarcoding reveals local fish communities in a species-rich coastal sea. **Scientific Reports**, 7(1), 1-12.
- Zajicek, P. & Wolter, C. 2018. The gain of additional sampling methods for the fish-based assessment of large rivers. **Fisheries Research**, 197
- Zeng, L., Yang, K., Wen, A., Xie, M., Yao, Y., Xu, H., Zhu, G., Wang, Q., Jiang, Y., He, T. & Wu, J. 2019. Complete mitochondrial genome of the Endangered fish *Anabarilius liui yalongensis* (Teleostei, Cyprinidae, Cultrinae). **Mitochondrial DNA B Resource Journal**, 4(1), 21-22.

- Zhong, L., Wang, M., Li, D., Tang, S., Zhang, T., Bian, W. & Chen, X. 2018. Complete mitochondrial genome of freshwater goby *Rhinogobius cliffordpopei* (Perciformes, Gobiidae): genome characterization and phylogenetic analysis. **Genes Genomics**, 40(11), 1137-1148.
- Zhu, D. & Chang, J. 2008. Annual variations of biotic integrity in the upper Yangtze River using an adapted Index of Biotic Integrity (IBI). **Ecological Indicators**, 8(564-572).
- Zogaris, S., Tachos, V., Economou, A. N., Chatzinikolaou, Y., Koutsikos, N. & Schmutz, S. 2018. A model-based fish bioassessment index for Eastern Mediterranean rivers: Application in a biogeographically diverse area. **The Science of the Total Environment**, 622-623(676-689).
- Zou, K., Chen, J., Ruan, H.-t., Li, Z., Guo, W., Li, M. & Liu, L. 2019. eDNA metabarcoding as a promising conservation tool for monitoring fish diversity in a coastal wetland of the Pearl River Estuary compared to bottom trawling. **The Science of the total environment**, 702(134704).
- กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2553. การวิเคราะห์ผลกระทบสิ่งแวดล้อม โครงการเพิ่มปริมาณน้ำในอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวางอุดมธารา จังหวัดเชียงใหม่.
- กิตติพัฒน์ อุโฆษกิจ, มาริสา รักสุขสมบัติ และสุภาภรณ์ ขานโบ. 2558. เทคโนโลยีการวิเคราะห์ลำดับเบสยุงที่สองและสาม. **Thai Science and Technology Journal**, 633-650.
- เกษม จันทร์แก้ว. 2539. หลักการจัดการลุ่มน้ำ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ คณะวนศาสตร์ ภาควิชาอนุรักษ์วิทยา.
- . 2551. หลักการจัดการลุ่มน้ำ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาลัยสิ่งแวดล้อม.
- จิรพรรณ สดศักดิ์กรี, รัชดาภรณ์ เบญจวัฒน์นนท์, ธาธิณี ทิมาบุตร, ปวีณา พงษ์ดนตรี และแสนสุข บุญสืบ. 2560. การระบุชนิดสัตว์ด้วยไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ D-loop สำหรับงานนิติวิทยาศาสตร์. การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยบัณฑิตศึกษา ระดับชาติและนานาชาติ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 552-557.
- ชุกกรี หะยีสาแม. 2551. นิเวศวิทยาของปลา : ทฤษฎีและการประยุกต์ใช้ = **Fish ecology : theory and application**. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- ฐิติกา กิจพิพิธ และภูวดล ธนะเกียรติไกร. 2556. การตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอเพื่อระบุชนิดของสัตว์ป่าในงานนิติวิทยาศาสตร์. วารสาร วิชาการ พระจอมเกล้า พระนครเหนือ, 23(3)(727-740).
- ณัฐินี จินาวัฒน์. 2556. การใช้เทคโนโลยี Next Generation Sequencing ในการวินิจฉัยรักษา และวิจัยโรคมะเร็ง **Genomics and Genetics**, 6(62-65).

- ดุจฤดี ปานพรหมมินทร์. 2556. ดีเอ็นเอบาร์โค้ดในปลาและการประยุกต์ใช้. วารสารนเรศวรพะเยา, 6(3)(174-184.
- ทศพล ชำนิวิทย์พงศ์. 2562. สถานะทางอนุกรมวิธานของปลาแค้ตติหินสกุล **Glytothorax** ที่พบในประเทศไทย และความสามารถในการปรับตัวของปลาแค้ตติหินสามแถบ (**Glytothorax trilineatus** Blyth, 1860) เพื่อดำรงชีวิตในกระแสน้ำที่ไหลแรง. มหาคณิศ. มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- ธำรงค์ ประจักษ์ฤดี. 2542. ความหลากหลายของแพลงก์ตอนพืชและคุณภาพน้ำในอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล. เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- นิชนันท์ ทองแดง. 2557. ความสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพน้ำกับความหลากหลายของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังขนาดใหญ่ บริเวณเหนือและท้ายเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล จังหวัดเชียงใหม่. เชียงใหม่ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ประดิพันธ์ ทองแถม ณ ออยุธยา. 2556. โครงสร้างจีโนมไมโทคอนเดรียของปลาการ์ตูนอานม้า (*Amphiprion polymnus*). **Genomics and Genetics**, 6(343-346.
- ผกามาศ ผลดี. 2556. การย้อมบรรยายลักษณะของปลาในสกุล **Neolissochilus** ที่พบในประเทศไทย และชีวประวัติบางประการของปลาพลวง **Neolissochilus stracheyi**(Day, 1871) ในแม่น้ำว้า. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- พรณรงค์ สิริปิยะสิงห์. 2554. ดีเอ็นเอ บาร์ โค้ด เพื่อ การ ระบุ ชนิด ของ สิ่ง มี ชีวิต กรณี ศึกษา: จีน Cytochrome c Oxidase I (COI) ใน สัตว์ ; DNA Barcode for Identification of Living Species: Case Studies of Cytochrome c Oxidase I (COI) in Animals. **Rajabhat Maha Sarakham University Journal**, 5(2)(205-210.
- พรณทิพย์ กาหยี. 2560. การติดตามตรวจสอบสิ่งแวดล้อมโดยวิธีทางชีวภาพ. วารสารสิ่งแวดล้อม, 21(3), 53-60.
- พรศิริ ตู้อารักษ์. 2544. ความหลากหลายทางชีวภาพของแพลงก์ตอนพืชและสาหร่ายยืดเกาะและ สหสัมพันธ์เชิงอาหารในปลากินพืชบางชนิดในอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล. เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ .
- ระวีเวช จาติเกตุ. 2557. การพยากรณ์ปริมาณน้ำไหลเข้าฝายแม่แตงเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล และ เขื่อนแม่กวางอุดมธาราภายใต้โครงการเพิ่มปริมาณน้ำในอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวางอุดมธารา. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ศิวพร อินตะหล่อ. 2555. การระบุดีเอ็นเอของสุกรด้วยการวิเคราะห์ยีนไซโครมบีในไมโทคอนเดรีย. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

- สมศักดิ์ ระยัน และปราณีต งามเสนห์. 2562. ดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพของระบบนิเวศแหล่งน้ำจืดโดยใช้ปลาเป็นตัวชี้วัด. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา, 23(2), 928-943.
- สมาคมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทยและสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2548. สำนักนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. 2560. เอกสารประกอบการประชุมรับฟังความคิดเห็นต่อผลการประเมินสถานภาพพื้นที่ลุ่มน้ำภาคเหนือ โครงการประเมินสถานภาพลุ่มน้ำโดยการมีส่วนร่วม : ลุ่มน้ำภาคเหนือ. 133.
- สิทธิพัฒน์ แผ้วฉำ, สัมพันธ์ ทองหนู้อย, ศุทธิณี เมฆประยูร, วิญญู ภักดี, สนธยา กุลกัลยา และคณิตสร ล้อมเมตตา. 2553. การใช้ปลาเพื่อเป็นดัชนีชี้วัดทางชีวภาพประยุกต์โดยวิธีการ Index of Biotic Integrity (IBI) สำหรับเป็นโมเดลในการติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำในเขตลุ่มน้ำทางภาคตะวันออกเฉียงของประเทศไทย. มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี.
- สุทัศน์ ดวงจิตร. 2554. ไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอและการประยุกต์ใช้ในงานนิติวิทยาศาสตร์. วารสารนิติเวชศาสตร์, 4(1)(53-65).
- สุวิมล สีหิรัญวงศ์. 2563. คู่มือการจัดการชนิดพันธุ์สัตว์น้ำต่างถิ่น ในประเทศไทย: กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. Document Number)
- อภิรักษ์ สุวรรณรักษ์. 2546. ความหลากหลายของชนิดปลาในเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าเชียงดาว. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. Document Number)
- . 2559. ปลาลุ่มน้ำปิง. คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- อภิรักษ์ สุวรรณรักษ์, ทิพย์สุคนธ์ พิมพ์พิมล, เทพรัตน์ อึ้งเศรษฐพันธ์, จงกล พรมยะ และสมชาติ ธรรมชั้นธา. 2547. ความหลากหลายของชนิดปลาในเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. Document Number)
- อรจิรา ประคองชีพ. 2556. การศึกษาจีโนมไมโทคอนเดรียของปลากัดป่าภาคกลาง *Betta splendens* (Mitochondrial Genome Analysis of Siamese Fighting Fish *Betta splendens*). **Thai Journal of Genetics**, 5.1(119).
- อารีรัตน์ หนูนวล. **Molecular genetic testing techniques- DNA sequencing and Next generation sequencing.** [Online].

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวธัญญาปณีย์ ผลดี	
เกิดเมื่อ	15 มิถุนายน 2523	
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2539 มัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนเลยพิทยาคม จังหวัดเลย	
	พ.ศ. 2542 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนเลยพิทยาคม จังหวัดเลย	
	พ.ศ. 2546 ปริญญาตรี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาการประมง (ชีววิทยาประมง)	
	พ.ศ. 2556 ปริญญาโท มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการประมง	
	ประวัติการทำงาน	พ.ศ. 2547-2548 องค์การพิพิธภัณฑวิทยาาสตร์แห่งชาติ อาสาสมัครพิพิธภัณฑธรรมชาติวิทยา
		พ.ศ. 2549-2550 บริษัท ภูเก็ตควาเรียม ซัพพลาย จำกัด เจ้าหน้าที่ดูแลสัตว์น้ำ
พ.ศ. 2551-2553 บริษัท มารีน สเคป (ประเทศไทย) จำกัด ผู้จัดการเจ้าหน้าที่สารสนเทศ		
พ.ศ. 2559-2560 เป็นผู้ช่วยวิจัยในโครงการ “โครงการการเรียนรู้เพื่อ ชีวิตที่ดีงาม (อาหาร ยา ผ้า บ้าน)		
พ.ศ. 2556-2558 ผู้ช่วยวิจัยในโครงการ “โครงการพัฒนาป่าต้นน้ำ ต้นแบบเพื่อการอนุรักษ์อย่างยั่งยืน (ดิน น้ำ ป่า อาหาร อาชีพ)”		