

**STRATEGI KONSERVASI MELALUI PENDEKATAN ANALISIS
mt-DNA : KASUS PADA IKAN LELE (*Clarias batrachus*)
DI PULAU JAWA
(The conservation strategy doing with mt-DNA analysis : case study
from *Clarias batrachus* in Java Island)**

Wartono Hadie¹⁾, Laurent Pouyaud²⁾, dan Lies Emmawati Hadie¹⁾

¹⁾ Peneliti Balai Penelitian Perikanan Air Tawar, Inlitkanwar Pasar Minggu

²⁾ Peneliti IRD, Ex. ORSTOM, Catfish Asia-Project, Perancis

ABSTRAK

Lele (*Clarias batrachus*) di perairan Pulau Jawa sudah jarang karena terjadi perusakan habitatnya pada dasawarsa yang terakhir. Hal ini menunjukkan bahwa variabilitas genetik sebagai suatu populasi yang luas adalah sangat rentan. Karena nilai ekonomi ikan ini tinggi, upaya untuk meningkatkan keragamannya akan berguna bagi pendapatan petani dan keanekaragaman hayati. DNA-mitokondria (mt-DNA) digunakan untuk mempelajari variasi populasi *Clarias batrachus*. Konsensus dihitung lebih dari 24 matrik parsimi yang menunjukkan bahwa mt-DNA terdistribusi secara geografis dalam dua kelaster yang berbeda. Klaster pertama terdiri dari populasi Bangladesh, Malaysia, Dataran Tinggi Sumatera dan Pulau Nias. Klaster kedua disusun oleh populasi dari Vietnam, Thailand dan lainnya. Populasi lele Jawa mempunyai heterosigositas rendah karena dipengaruhi oleh aktivitas manusia seperti akuakultur, jumlah ukuran populasi efektif (N_e) yang rendah dan laju silang dalam. Pemulihan sebagai suatu upaya konservasi populasi ini diusulkan dengan unit konservasi operasional dan introduksi metapopulasi baru terutama dari Samarinda yang mempunyai tingkat heterosigositas tinggi sebagai suatu sumber populasi awal ke dalam sistem sungai besar di Jawa.

ABSTRACT

Walking catfish (*Clarias batrachus*) become to be rare that Java island due to the distructing of the habitat that was happened in last decade. It will be show in retaining the genetic variability as a extent population is very low. Because of the economic value of this fish, the effort to increase populations is usefull both of the income and biodiversity. The mitochondrial DNA (mtDNA) was used to study variation of *Clarias batrachus* populations. The consensus calculated from 24 more parsimoious network showed that mtDNA are geographically distributed in two well differentiated clusters. The first cluster is composed by population of Bangladesh, Malaysia, Sumatra highland and Nias island. The second cluster is composed by populations from Vietnam, Thailand and the others. Java population of *Clarias batrachus* have low heterozygosity due to the human activity influenced such as aquaculture, low number of effective population size (N_e), and inbreeding rate. The recovery as a conservation effort of that population proposed with the operational conservation unit and introduce new meta population mainly from Samarinda which have high heterozygosity as a source of founder population in to big river system in Java.

PENDAHULUAN

Hal yang menarik dari keanekaragaman ikan di Indonesia adalah bahwa dari 24.168 species ikan di dunia, Indonesia memiliki 8.000 species ikan yang tersebar dari pulau Sumatra hingga Irian Jaya masuk ke dalam 482 famili (Bapenas, 1990). Dengan demikian 30% dari species ikan dunia ada di Indonesia dengan habitat air tawar, payau dan laut. Dari jumlah tersebut khususnya ikan air tawar berjumlah 9.966 spesies dan baru dieksploitasi sebanyak 1.606 spesies, baik melalui penangkapan di perairan umum maupun dalam usaha budidaya. Menurut Kottelat dan Whitten (1996) keanekaragaman ikan dunia saat ini mencapai

± 24.168 species, 40% daripadanya merupakan species ikan air tawar dan 3000 diantaranya *indigenous species* di perairan umum Indonesia. Beberapa jenis punah bersama rusaknya habitat, dan beberapa jenis lagi mengalami penurunan mutu genetik sebagai akibat dari *founder effect*, *genetic drift*, dan *inbreeding*. Walaupun demikian dengan eksplorasi dan ekspedisi, banyak jenis baru akan ditemukan (Pauly dan Froese, 1991). Hal ini sejajar pula dengan Leopold (1949) yang menyatakan bahwa peradaban manusia menunjukkan biodiversitas tertentu, dan perusakan peradaban (pembakaran perpustakaan dll) akan memusnahkan biodiversitas, dalam arti informasinya.

Sampai saat ini jumlah spesies yang digunakan untuk kebutuhan manusia di Indonesia diperkirakan \pm 65 famili dari laut dan \pm 27 famili dari perairan tawar dan yang dibudidayakan \pm 25 jenis (Dirjen Perikanan, 1993). Beberapa lembaga perikanan dunia telah peduli dengan keanekaragaman ikan ini, diantaranya Pauly dan Froese (1990); Agustin *et al* (1993) yang telah mencoba membuat data dasar yang disebut ICLARM-FAO Fish Base, kemudian REFF-BASE suatu database menyeluruh mengenai terumbu karang dan sumberdayanya (Froese dan Pauly, 1994).

Berdasarkan pengamatan pustaka (studi pustaka) yang dilakukan oleh Roberts (1993) jumlah spesies ikan di pulau Jawa yang pernah diidentifikasi 1820-1823 jumlahnya mencapai 312 spesies. Tentu hal ini akan bertambah lagi setelah adanya ekspedisi yang dilakukan oleh de Beauford (1913).

Perusakan habitat yang terjadi pada dekade terakhir ini, mengakibatkan hilangnya beberapa sumberdaya genetik (species) baik di darat maupun di perairan. Hal tersebut berpengaruh terhadap keragaman genetik populasi tersisa (extent population) pada masa selanjutnya. Kecilnya populasi tersisa tersebut akan mengarah kepada *founder effect*, yakni terjadinya silang dalam yang berakibat pada rusaknya keragaman genetika. Tidak adanya penambahan maetri gen baru dari populasi lain yang akhirnya akan mengacu kepada penghanyutan genetik (*genetic drift*). Konservasi baik *ex-situ* maupun *in situ* perlu mempertimbangkan keragaman genetik dan juga sejarah distribusinya.

Plasma nutfah perikanan sangat rentan terhadap kepunahan speciesnya karena merupakan muara dari seluruh kegiatan manusia di darat. Kerusakan di darat berakibat langsung pada kondisi perairan sebagai daerah aliran sungai. Latar belakang yang mendasari fakta tersebut adalah adanya laju konversi hutan dan tanah pertanian untuk keperluan lain. Laju kerusakan hutan mencapai 600.000 – 1,3 juta ha/th, sementara laju konversi lahan pertanian untuk kebutuhan lain mencapai 70.000 ha/th. Ini semua merupakan ancaman serius pada ekosistem sumberdaya perikanan.

Aktivitas manusia dalam memanfaatkan lingkungan seringkali berada di luar batas daya dukung lestarinya. Hal ini berakibat pada hilangnya suatu populasi (spesies) dan secara berantai berakibat kepada jenis lainnya. Eksploitasi tanpa batas berdampak pada rusaknya habitat dan hilangnya spesies dari suatu daerah.

Populasi ikan lele di Indonesia tersebar hampir di seluruh kepulauan, kecuali sebelah timur dari garis Wallacea. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Pouyaud *et al* (1998), terlihat bahwa penyebaran ikan lele meliputi Sumatra, Kalimantan, dan Jawa (kepulauan besar di sebelah barat Wallacea). Keberadaan ikan lele di sebelah timur Wallacea, adalah melalui introduksi. Di Sumatra terdiri dari dua kelompok berdasar keragamannya yakni Pulau Nias dan Bulit Tinggi (dataran tinggi), dan daerah lain di Sumatra (dataran rendah). Sementara daerah Jawa dan Sumatra dataran rendah, merupakan sebaran populasi yang berasal dari Kalimantan.

Seperti diketahui bahwa sentra budidaya ikan lele berada di pulau Jawa, yang sumber daya alam populasi lele sudah sangat jarang. Oleh karena itu pembentukan populasi dasar untuk pengembangan selanjutnya sangat dibutuhkan. Untuk mendukung *breeding program* yang berkelanjutan pada ikan lele, maka ditempuh program seleksi dengan memanfaatkan potensi dari masing-masing koleksi dalam bentuk populasi sintesa.

Populasi sintesa dibentuk dengan tujuan untuk meningkatkan variasi aditif dan variasi dominan, terutama untuk trait yang mempunyai nilai ekonomi tinggi. Pada lele trait yang perlu diseleksi adalah pertumbuhan dan sintasan, sehingga akan meningkatkan preferensi masyarakat dalam membudidayakan ikan tersebut. Populasi sintesa yang dibentuk berasal dari koleksi Lampung dan Lamongan (Jawa Timur). Diharapkan bahwa populasi sintesa yang terbentuk akan memiliki konfigurasi gen yang lengkap dan dapat saling berinteraksi secara bebas, karena berasal dari unggun gen yang sama, yakni Kalimantan (Pouyaud, *et al*. 1998).

KONDISI IKAN LELE LOKAL SAAT INI

Kondisi populasi ikan lele lokal (*Clarias batrachus*) di alam dirasakan cukup rendah, bahkan dapat dikategorikan jarang (*rare*) terutama di pulau Jawa. Kondisi tersebut sebagai akibat adanya pertumbuhan penduduk, perusakan habitat (hilangnya fungsi hutan dan fragmentasi), hilangnya rawa dan sungai yang makin kecil, dan terakhir yang tidak kalah pentingnya adalah aplikasi pestisida di lahan pertanian.

Selama ini ancaman terhadap organisme karismatik di darat seperti mamalia, burung, anggrek, atau pengrusakan habitat seperti hutan hujan tropis, telah menyita banyak perhatian dan yang tak dapat dikatakan adalah perusakan

habitat air tawar yang berada di bawah pengaruh ancaman itu, atau sejumlah besar organisme perairan di dalamnya menuju kepunahan. (Breverton, 1992; Moyle & Leidy, 1992; Wilcove dan Bean, 1994; Abramowitz, 1995; Naiman, dkk. 1995 a/b).

Demikian pula halnya terhadap populasi ikan lele lokal di pulau Jawa. Pengumpulan koleksi pada tahun terakhir ini sangat sulit diperoleh, dan walaupun didapatkan populasinya tidak memenuhi syarat untuk sebuah hatchery dalam mempertahankan keragaman genetiknya ($N_e = 100$). Hatchery demikian menghasilkan benih yang mutunya kurang baik yang ditandai dengan lambat tumbuh, dan ketahanan penyakit rendah, sehingga sintasanya rendah pula.

Mengingat ikan lele lokal ini mempunyai nilai ekonomi yang cukup tinggi di pulau Jawa, maka pemulihan stok alami (di sungai dan perairan umum lainnya) perlu dilakukan sebagai upaya konservasi in-situ. Hal ini sangat penting mengingat di pulau Jawa populasi alami hanya tinggal di beberapa tempat yang umumnya dikeramatkan dan beberapa di taman nasional atau cagar alam (misalnya di Telaga Ranjing, Bumiayu, Jawa Tengah), sehingga tidak teresedia bagi masyarakat umum.

HASIL ANALISIS mt-DNA

Analisis pada tingkat molekuler yang dilakukan terhadap populasi ikan lele lokal yang diambil dari Vietnam (Can Tho), Thailand

(Sophisat), Sumatra (Tegineneng, Palembang, Jambi, Bukit tinggi, Nias, Teluk Kuantan, Muara Tebo), Kalimantan (Samarinda), Jawa (sungai Brantas, Bengawan Solo, Sukamandi), memperlihatkan pola yang cenderung tersebar seara geografi (Tabel 1).

Jika dilihat dari haplotipe yang diperoleh dan diinterpretasikan ke dalam distribusi geografi, maka diperoleh dua kelompok nenek moyang populasi yang datang dari Thailand masuk ke daerah Kalimantan, yang kemudian berpindah ke Jawa dan Sumatra dataran rendah. Kelompok kedua diperkirakan datang dari India melalui pantai barat Asia melalui Malaysia ke Sumatra yang kemudian yang *survive* hanya populasi di dataran tinggi dan pulau Nias. Dalam waktu yang lama populasi dataran tinggi dan Nias ini tidak terjadialiran gen (gen flow) dengan populasi yang datang belakangan dari Kalimantan (Pouyaud, *et al*, 1998).

Dari analisa kromosom diperoleh adanya perbedaan jumlah kromosom antara kedua populasi nenek moyangnya (tetua). Tetua dari India mempunyai jumlah kromosom $2n = 54$, sedangkan tetua dari Thailand (menjadi populasi Vietnam, Kalimantan, Jawa, Sumatra dataran rendah) mempunyai jumlah kromosom $2n = 98-100$ (Garcia-Franco, 1993). Hal ini sekali lagi menegaskan adanya kemungkinan dua kali kolonisasi ikan lele ke Indonesia yang satu dengan lainnya tidak berasal dari tetua yang sama (polifiletik).

Tabel 1. Haplotipe mt-DNA untuk *Clarias batrachus* yang menunjukkan keragaman genetik (Pouyaud *et al*, 1998).

| LOKASI | Hinfl | Hin6I | MvaI | MspI | HaeIII | BamHI | Nde2 | DraI |
|---------------|-------|-------|------|------|--------|-------|------|------|
| Tegineneng | A | B | C | A | C | B | C | B |
| Jambi | B | A | C | A | C | A | A | B |
| Sophisat | C | A | A | A | A | A | A | A |
| Bukit tinggi | D | B | B | A | B | A | A | B |
| Nias | D | B | B | A | B | A | B | B |
| Teluk kuantan | E | A | C | A | C | A | A | B |
| Palembang 1 | B | A | C | A | C | A | A | B |
| Palembang 2 | F | A | C | A | C | A | A | B |
| Samarinda 1 | B | A | D | A | D | A | A | C |
| Samarinda 2 | B | A | D | A | D | A | A | B |
| Samarinda 3 | E | A | D | A | D | A | A | C |
| Samarinda 4 | E | B | D | A | D | B | A | B |
| Can Tho | G | A | A | A | A | A | A | B |
| Jawa | E | A | C | A | C | A | A | B |
| Muara tebo | E | A | C | A | C | A | A | B |

STRATEGI KONSERVASI

Tujuan dari konservasi adalah membiarkan proses evolusi species pada habitat alamnya sebagai evolutionary significant unit (ESU), oleh karena itu pengelolaan individu dari populasi spesifik dan secara menyeluruh perlu dilakukan pada unit konservasi yang terprogram dan *management unit* (MU). Dengan demikian maka konsep konservasi ditujukan pada konservasi gen. Mengapa konservasi gen? Tidak lain adalah karena **pertama**, gen merupakan teori fundamental dari seleksi alam, **kedua**, kesepakatan pakar bahwa heterozigoositas atau variasi gen berhubungan langsung dengan fitness, **ketiga** adalah bahwa gene pools merupakan informasi menyeluruh dari proses biologi, dan **keempat** bahwa variasi genetik diukur pada individu dan diasumsikan ke dalam populasi.

Konservasi *in-situ* mencakup pengelolaan DAS, konservasi daerah mangrove, terumbu karang, rasionalisasi penangkapan dan restorasi daerah reservat. Sementara konservasi *ex-situ* adalah mencakup memelihara populasi jenis yang terancam (*threatened*) atau yang masuk ke dalam *red data book* menurut keputusan IUCN. Kegiatan ini mencakup domestikasi, pengelolaan gen yang memperhatikan ukuran populasi, *inbreeding rate*, dan *genetic drift*.

Suatu kenyataan bahwa perairan tawar suatu ekosistem yang sangat rentan terhadap pengaruh aktivitas manusia di darat, karena sumanya bermuara ke dalam ekosistem perairan (sungai, danau, dsb). Sebagai contoh di eropa tengah polusi, kegiatan perikanan, perikanan (*engineering*) sungai ataupun danau adalah merupakan faktor penting utama yang menurunkan ppulasi ikan di alam (Balon *et al*, 1986). Sementara itu di Eropa selatan, kekeringan pada sungai, danau, dan introduksi species baru dari luar (*exotic species*) adalah penyebab utama menurunnya populasi ikan (Rincon *et al*, 1990, Granado-Lorencio, 1991).

Dengan demikian diperlukan suatu ukuran manajemen (management measures) untuk tujuan pemilihan populasi (*recovery*) ataupun konservasi (Perdices *et al*, 1996). Tingkat variasi genetik yang tinggi dan perbedaan diantara populasi ikan lele lokal yang diteliti memperlihatkan bahwa program pemulihan populasi harus dilakukan dengan populasi alami secara *in-situ* untuk mencegah kehilangan variasi genetik paa populasi lokal (Leberg, *et al*, 1994). Jika populasi masih tersedia (Vrijenhoek, 1994), maka pelepasan populasi lain tidak dianjurkan

dalam program restorasi, karena populasi asli sudah mengembangkan adaptasi lokal terhadap lingkungan setempat yang lebih baik.

Dalam program pemulihan ataupun konservasi ikan lele lokal di pulau Jawa, sebagai tujuan akhirnya adalah melimpahnya populasi di alam, maka diperlukan suatu wadah yang disebut operation conservation unit (OCU) seperti yang dikembangkan oleh Doadrio *et al*, 1996. Dalam hal ini, diperlukan suatu unit pembenihan sebagai upaya untuk restocking yang tentu saja harus memerhitungkan faktor genetik dan pengetahuan tentang ikan lele lokal (*Clarias batrachus*). Ini berarti bahwa induk-induk yang digunakan harus memenuhi syarat ukuran populasi efektif (N_e) untuk mencegah *founder effect*. Pengaruh dari penggunaan induk yang kecil ($N_e < 10$) akan mengakibatkan penurunan genetik yang terlihat dalam heterosigositas yang rendah sebagai konsekuensi populasi sedikit (Leberg, *et al*, 1992).

Dipihak lain OCU harus pula didampingi oleh aksi promosi pemulihan (restorasi) habitat, karena jika habitat alami rusak, maka program ini tidak dapat berjalan. Demikian pula pelepasan ikan dari unit pembenihan harus dikontrol untuk menghindari akibat yang tidak diinginkan, seperti hilangnya populasi yang mempunyai gen adaptasi lokal (Perdices, *et al*, 1996). Walaupun demikian aktivitas manusia termasuk kegiatan budidaya ikan secara keseluruhan, mempunyai pengaruh negatif terhadap keanekaragaman akuatik. Tidak seriusnya perhatian tentang hal ini, berpengaruh terhadap level genetik, dan tidak kalah pentingnya dengan kompleksitas secara umum dri keanekaragaman hayati (Beardmore *et al*, 1997).

PEMULIHAN POPULASI

Dua pilihan utama yang harus ditetapkan sewaktu akan melakukan restorasi atau konservasi, adalah populasi lokal atau populasi lain dari metapopulasi. Hal ini sesuai dengan prinsip yang dilakukan oleh Savolainen (1994) bahwa variasi genetik adalah suatu informasi yang dimunculkan dalam struktur populasi dan sejarah yang merupakan komponen penting dalam konservasi keragaman genetik, karena berhubungan langsung dengan adaptasi.

Pilihan pertama adalah populasi lokal karena menyangkut gen-gen adaptasi lokal yang telah berkembang, sedangkan pilihan kedua adalah mendatangkan metapopulasi lain dengan pertimbangan keragaman genetik yang lebih baik. Berdasarkan hasil penelitian (Hadie *et al*, 1998) populasi ikan lele lokal di Jawa mempunyai heterosigositas yang rendah dibandingkan dengan

populasi Sumatra. Hal ini dapat kita saari mengingat populasi di Jawa telah lama berinteraksi dengan aktivitas budidaya. Kegiatan budidaya ikan lele lokal baru berkurang pada dekade terakhir ini karena alasan penurunan mutu benih yang berakibat pada lambat tumbuh dan tidak tahan terhadap serangan penyakit. Alasan ini masuk akal dan benar karena unit pembenihan yang ada tidak pernah memperhatikan keragaman genetik. Para produsen benih umumnya menggunakan induk yang sangat sedikit (<10 pasang) atau tidak memperhatikan asal induk, sehingga inbreeding tidak dapat dicegah. Individu yang mempunyai heterosigositas rendah ini lepas ke perairan umum dan persilangannya dengan populasi alami berakibat menurunnya keragaman. Dengan demikian populasi ikan lele lokal telah mempunyai keragaman genetik yang rendah, jika ini digunakan dalam program pemulihan, maka populasi di masa mendatang secara progresif heterosigositasnya cenderung menurun yang akan diikuti pula dengan rendahnya daya tahan (*fitness*).

Pilihan kedua adalah pemulihan populasi ikan lele lokal dengan menggunakan metapopulasi lain. Hasil penelitian (Pouyaud, *et al*, 1998, Hadie *et al*, 2000, inpress) memperlihatkan bahwa populasi di Jawa adalah hasil kolonisasi dari Kalimantan, dan populasi Kalimantan mempunyai heterosigositas yang lebih tinggi. Dan untuk keberlanjutan usaha budiaya populasi Kalimantan akan akan lebih baik (Hadie *et al*, 1998). Oleh karean itu berdasarkan pertimbangan sejarah (kolonisasi) dan atas dasar kenyataan (heterosigositas tinggi) maka populasi Kalimantan (Samarinda) adalah pilihan yang paling realistis untuk tujuan pemulihan populasi ikan lele lokal di Jawa.

Implementasi dari konsep demikian harus direalisasikan dalam dalam suatu rancang tindak dengan menyediakan dan mengaktifkan OCU. Aktivitas harus ditujukan pada ekosistem (sungai yang besar, dan relatif stabil misal nya sungai Brantas, Bengawan Solo, sungai serayu, sungai Citanduy, dsb.

KESIMPULAN

1. Populasi ikan lele lokal (*Clarias batrachus*) di pulau Jawa mempunyai heterosigositas rendah, karena pengaruh kegiatan budidaya, penggunaan induk sedikit, dan tekanan inbreeding.
2. Recovery (konservasi) populasinya dapat dilakukan dengan pembuatan OCU, dengan menggunakan populasi ikan lele lokal

Samarinda (Kalimantan Timur) yang mempunyai heterosigositas tinggi sebagai sumber *founder population Clarias batrachustion*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abramovitz, J.N. 1995. Freshwater failures: the crises on five continents World Watch 8(5):26-35.
- Agustin, L.Q., R. Froese, A.E. Eknath. And R.S.V. Pullin. 1993. Documentation of genetics resources for aquaculture-the role of Fishbase. In. D. Penman, N. Roongratri. And R. McAndrew (Eds), International Workshop on Genetics in aquaculture and Fisheries Management, Bangkok, Thailand: 63-68p.
- Balon, E.K., S.S. Crawford. and A. Lelek. 1986. Fish community of the upper Danube River (Germany, Austria) prior to the new Rhein-Main-Donau connection. Environmental Biology of Fishes 15: 243-271.
- Beardmore, J.A., G.C. Mair, and R.I. Lewis. 1997. Biodiversity in aquatic systems in relation to aquaculture. Aquaculture Research 28:829-839.
- Beverton, R.J.H. 1992. Fish resources: Threats and protection. Neth. J. Zool. 42: 139-175.
- Doadrio, I., A. Perdices. and A. Machordom. 1996. Allozymic variation of the endangered Killifish *Aphanius iberus* and its application to conservation. Environmental biology of Fishes. 45:259-271.
- Garcia-Franco, M. 1993. Intra and inter-specific relationship of the Clariids catfish *Clarias batrachus*. Theses submitted to Tokyo University of Fisheries 78pp.
- Granado-Lorencio, C. 1991. The effect of man on the fish fauna of the river Guadalquivir, Spain. Fisheries Research. 12 : 91-100.
- Hadie, W., L. Pouyaud, and L.E. Hadie. 1998. Implementasi genetika molekuler pada ikan lele *Clarias batrachus* untuk keberlanjutan usaha budidayanya. J. Penel. Sains dan Teknologi. Edisi Khusus. FMIPA, UNILA. 350-355.
- Hadie, W., L. Pouyaud, and Sudarto. 2000. Genetic diversity of the Asia walking catfish *Clarias batrachus* (Linn.1758). Submitted in the Biodiversity and aquaculture of South-East Asian Catfishes, Final meeting of the Catfish Asia Project, Bogor.
- Kottelat, M. and T. Whitten. 1996. Freshwater biodiversity in Asia with special reference to

- fish. World Bank Technical paper No. 343. Washington DC. 59 pp.
- Leberg, P.L., P.W. Stangel, H.O. Hillestad, R.L. Marchinton, and M.H. Smith. 1994. Genetics structure of reintroduced wild Turkey and white tailed deer populations. *The Journal of Wildlife Management* 58: 698-711.
- Leopold, A. 1949. *A Sand County Almanac and Sketches Here and There*. Oxford University Press, New York (1,2,8). In *Principles of Conservation Biology*, Meffe, G.K., and C.R. Carroll (Eds). Sinauer Associates, Inc. Sunderland.
- Moyle, P.B. and R.A. Leidy. 1992. Loss of biodiversity in aquatic ecosystems: evidence from fish fauna. In Fielder P.L. and S.K. Jain (eds). *Conservation Biology*. Chapman and Hall, New York. pp.127-169.
- Naiman, R.J. *et al.* 1995a. Freshwater ecosystem and their management: a national initiative. *Science*, 270:584-586.
- Naiman, R.J. 1995b. *The freshwater imperative: a research agenda*. Island press, Washington DC.
- Perdices, A., A. Machordom, and I. Doadrio. 1996. Allozymic variation and relationships of the endangered Cyprinidontid genus Valencia and its implication for conservation. *J. of Fish Biology* 49:1112-1127.
- Pouyaud, L., W. Hadie, and Sudarto. 1998. Mitochondrial DNA differentiation of populations *Clarias batrachus* from South East Asia. Proc Midterm meeting of ORSTOM-Catfish Asia Project, Cantho University, Vietnam. 5pp.
- Rincon, P.A., J.C. Velasco, N. Gonzales-Sanchez, and C. Pollo. 1990. Fish assemblages in small streams in western Spain: the influence of an introduced predator. *Archiv fur Hydrobiologie* 118:81-91.
- Roberts, T.R. 1993. Artisanal fisheries and fish ecology below the great waterfalls of the Mekong river in Southern Laos and Northeastern Laos. *Nat. Hist. Bull. Siam.Soc.* 41: 31-62, 22 fig.
- Savolainen, O. 1994. Genetic variations and fitness: Conservation lessons for pines. *Conservation genetics*. Loeschcke, V., J. Tomiuk, and S.K. Jain. (Eds). Basel, Boston, Berlin. 27-36p.
- Vrijenhoek, R.C. 1994. Genetics diversity and fitness in small populations. *Conservation genetics*. Loeschcke, V., J. Tomiuk, and S.K. Jain. (Eds). Basel, Boston, Berlin. 37-54p.
- Wilcove, D.S. and M.J. Bean. 1994. *The big kill: Declining biodiversity in American's lakes and rivers*. Environmental Defense Fund. Washington D.C.