

Genetische Analysen von Fischbeständen: Populationsgenetik und eDNA

Genetische Methoden können fischökologische Managementmaßnahmen und Monitoring-Projekte wesentlich unterstützen: Populationsgenetische Studien, wie z. B. die Analyse und Differenzierung von danubischen und atlantischen Bachforellenpopulationen, liefern einen wesentlichen Beitrag für gezielte Besatzprogramme und Artenschutzprojekte. Eine neue – nicht invasive – Methode ermöglicht Artnachweise anhand von eDNA (environmental DNA, Umwelt DNA), was ein vielversprechendes Instrument für Monitoringprogramme darstellt.

Steven Weiss, Kristy Deiner, Jeffrey A. Tuhtan, Clemens Gumpinger und Martin Schletterer

1 Populationsgenetik

1.1 Einleitung

Die Bachforellen (*Salmo trutta*) aus dem Gossenköllesee sind aufgrund ihres isolierten und abgelegenen Vorkommens eine der wenigen in Tirol dokumentierten rein donau-stämmigen Populationen. Bereits 2001 konnten in diesem See rein danubische Bachforellen nachgewiesen werden [1], was den ersten derartigen Nachweis in Österreich darstellt. Der Hauptgrund für die Seltenheit solcher Populationen in Österreich ist auf Besatzmaßnahmen mit atlantischstämmigen Bachforellen aus Zuchtbetrieben zurückzuführen. Die Bachforellen des Gossenköllees wurden bereits mehrmals genetisch untersucht [1], [2]. Allerdings wurde damals nur die mtDNA-Kontrollregion analysiert. Um die österreichische Bachforelle zu analysieren, wurde ein Protokoll mit höherer genetischer Auflösung entwickelt, welches Mikrosatelliten verwendet [3], [4]. Dies erlaubt die Abschätzung des Grades der Inzucht (Introgression) in einer Population, die sowohl Erbgut der danubischen als auch der atlantischen Linie besitzt, und spiegelt die bi-parentale Vererbung, also die Geschichte des mütterlichen und väterlichen Erbguts, wider. 2009 konnte die Reinheit der Bachforellenpopulation des Gossenköllees erstmals durch Baric et al. [5] anhand von Mikrosatelliten (10 loci und 17 Individuen) bestätigt werden.

Zwar wurde in der Arbeit von Baric et al. [5] ein hochauflösendes Mikrosatellitenprotokoll verwendet, die Analysen wurden aber mit keiner ausreichenden Probengröße durchge-

führt. Folglich liegt der Fokus der gegenständlichen Arbeit darauf, die Frage zu beantworten, ob es sich bei dieser Seepopulation wirklich um autochthone Individuen handelt, und um einen Einblick über ihren Inzuchtgrad zu erhalten.

1.2 Untersuchungsgebiet

Der Gossenköllesee (**Bild 1a**) liegt auf 2 413 m Höhe in den Stubaier Alpen (47° 13' 46" N, 11° 0' 50" E). Der See ist ein Relikt aus der letzten Eiszeit und hat eine Größe von 1,5 ha und eine maximale Tiefe von 9 m. Seit 1977 befindet sich dort eine limnologische Station der Universität Innsbruck. Von 1977-2014 war der See UNESCO-Biosphärenreservat und gehört seit 2015 zum Global Lake Ecological Observation Network (GLEON), in dem Langzeitstudien hinsichtlich der Entwicklung dieses Ökosystems unter dem Aspekt des Klimawandels durchgeführt werden.

Der Gossenköllesee ist sieben bis acht Monate im Jahr mit Eis bedeckt und liegt weit über dem natürlichen Verbreitungsgebiet der Bachforelle (ca. 1 800 m ü. A.). Der See wird von kleinen ephemeren Quellzuflüssen gespeist und hat keinen oberirdischen Abfluss. Vermutlich gelangte die Bachforelle im 15. Jh. unter der Herrschaft von Kaiser Maximilian I. durch Besatz in den Gossenköllesee. Kaiser Maximilian war ein begeisterter Jäger und Angler und ließ viele alpine Seen mit Bachforellen und Seesaiblingen (*Salvelinus alpinus*) besetzen. Da es keine Hinweise darauf gibt, dass dieser See in der jüngeren Vergangenheit erneut mit Bachforellen besetzt wurde, ist davon auszugehen, dass die Population genetisch homogen ist.

1.3 Methodik

Für die genetische Charakterisierung der Bachforellen aus dem Gossenköllesee (**Bild 1b**; Beprobung 2015) wurden drei verschiedene Marker-Sets herangezogen: (1) Analyse eines Abschnitts (500 Basenpaare) der Kontrollregion mitochondrialer DNA, (2) das LDH-C1*-Gen als phylogeographischer Marker und (3) Allelvariationen an 8 Mikrosatelliten-Loci. Eine detaillierte Methodik und Beschreibung dieser Marker findet sich in Lercetau-Köhler et al. [3], [4].

1.4 Ergebnisse & Diskussion

Die Untersuchungen brachten folgende Ergebnisse:

Kompakt

- Populationsgenetische Untersuchungen sind die Basis für nachhaltige Besatzmaßnahmen der Bachforelle (danubisch vs. atlantisch).
- eDNA (Umwelt DNA) wird in Fließgewässern akkumuliert und kann wertvolle Informationen für ein Biodiversitätsmonitoring liefern.
- Der Einsatz der eDNA-Methodik ermöglicht die gezielte Suche nach Arten.

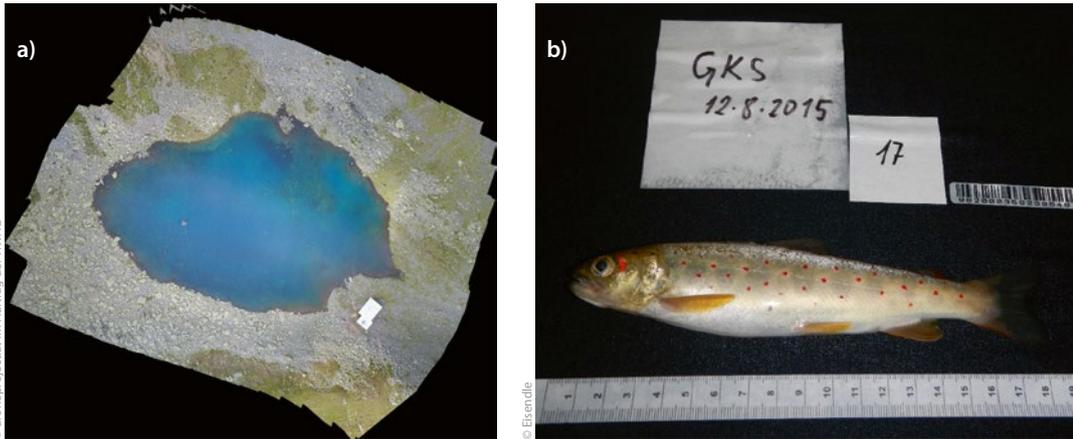


Bild 1: a) Drohnen-Aufnahme des Gossenkölleseees 2016 b) eine am 12.08.2015 im Gossenköllesee gefangene Bachforelle

- *mtDNA der einzelnen Proben:* Alle 17 sequenzierten Individuen konnten der danubischen Haplotypenlinie zugeordnet werden. Der einzige Haplotyp entspricht dem Haplotyp „Da1“, so wie es schon zuvor in Weiss et al. [1] für diese Population beschrieben wurde.
- *LDH-C1*:* Alle 17 sequenzierte Proben sind homozygot für den LDH-C1* 100 Allel, das entspricht dem Genotyp 100*/100*.
- *Mikrosatellitenanalyse der einzelnen Proben:* Bei einem Datenset von 50 Individuen hat unser Mikrosatellitenprotokoll bei 49 Proben funktioniert. In der vorliegenden Studie wurde zum ersten Mal nachgewiesen, dass mehrere Loci nicht variabel sind, was unterstreicht, dass die Population des Gossenkölleseees eine sehr kleine effektive Populationsgröße besitzt. Tatsächlich umfasst die totale Anzahl der Allele über alle Loci 18. Die erwartete Heterozygotität über alle Loci betrug 0,193, was den niedrigsten Wert bedeutet, den die Autoren je beobachtet haben. Typische Populationen in größeren Flüssen oder in niedriger liegenden Gebieten haben eine durchschnittliche erwartete Heterozygotität von 0,7 bis 0,8. Mit Hilfe einer multivariaten Analyse (Faktorielle Korrespondenzanalyse, FCA) wurden die aktuellen Proben des Gossenkölleseees mit neun Referenzpopulationen verglichen (**Tabelle 1**). Von diesen Referenzen repräsentieren drei rein danubischstämmige Populationen, drei repräsentieren atlantische Zuchtpopulationen und drei repräsentieren Wild-Populationen der atlantischen Linie aus bayrischen Flüssen, die natürlichen Ursprungs sind.

Bild 2 veranschaulicht die generelle Divergenz der Populationen entlang der zwei Hauptkomponenten der PCA, die auf den Allelfrequenzen der Mikrosatelliten basiert. Die X-Achse trennt die danubischen Populationen (ETR, KOT, WOL, GOS) und die atlantischen Populationen (HAR, DLZ, AND, GOL, FOR, HAA) klar auf. Die zweite Achse (Y-Achse) unterscheidet (auf der rechten Hälfte des Graphs) zwischen atlantischen Zuchtpopulationen (AND, DLZ, HAA) und natürlichen Populationen aus Bayern (GOL, FOR, HAR). Die Trennung zwischen GOL und anderen danubischen Populationen ist typisch und deckt sich mit unseren Erwartungen, da natürliche danubische Populationen so einzigartig sind und sich die GOS-Population in einem weit entfernten Einzugsgebiet verglichen mit jenen Populationen aus der Steiermark und jener aus Kärnten befindet.

Die untersuchte Population wurde einer Struktur-Analyse nach Pritchard et al. unterzogen, um zu erfahren, zu welchen der Referenzpopulationen die untersuchten Proben basierend auf ihrer Genetik, gruppieren. Cluster 1 (grün) umfasst hierbei die danubischen Wildpopulationen, zu welchen auch die untersuchten Populationen gruppieren. Der zweite Cluster (rot) umfasst sowohl die atlantischen Zuchtpopulationen als auch die Wildpopulationen (**Bild 3**).

Die Gossenköllesee Proben (100 % grün) zeigen keine Anzeichen von Introgression mit der atlantischen Linie (rot). Dies untermauert sowohl die Resultate der mtDNA-Analyse als auch der PCA. Da nur sehr wenige Populationen so eine Struktur aufweisen unterstützen die Resultate die Annahme, dass diese einzigartige Population zu einer Zeit entstanden ist (vermutlich im Mittelalter), als alle in Frage kommenden möglichen Ursprungspopulationen in der Nähe auch rein danubisch waren.

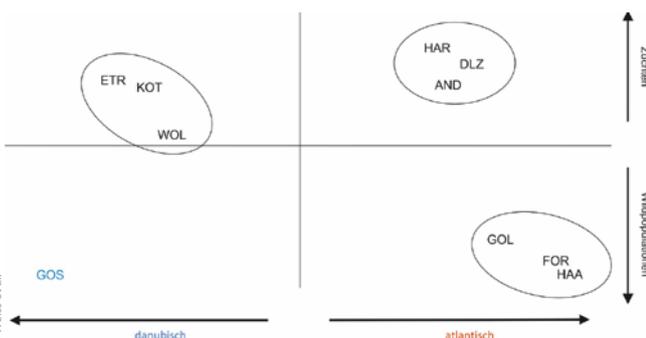


Bild 2: Ergebnis einer Hauptkomponentenanalyse der Mikrosatelliten auf Populationsniveau inklusive Gossenköllesee und neun weiteren Referenzpopulationen

2 eDNA

2.1 Einleitung

Die Detektion von aquatischen Makro-Organismen durch Spuren ihrer DNA im Wasser stellt eine sehr vielversprechende nicht-invasive Methode im Gewässermanagement dar. Aus einer Wasserprobe können anhand von DNA-Stücken, welche von allen im und am Wasser lebenden Organismen abgesondert werden, der sogenannten eDNA (environmental DNA, Umwelt-DNA), Artennachweise erbracht werden. Anwendungsbeispiele unterstreichen

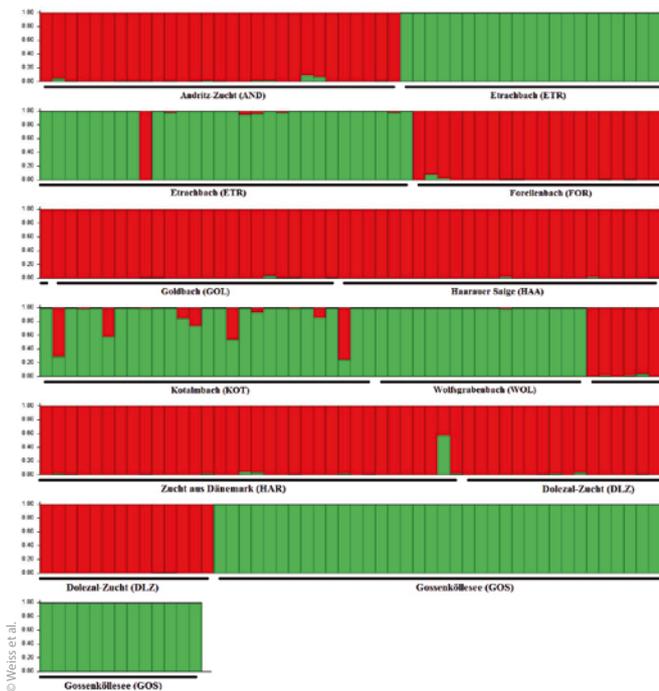


Bild 3: Ergebnisse der Struktur-Analyse der untersuchten Populationen, jeder Balken entspricht einem Individuum, die Y-Achse zeigt den Anteil der Zugehörigkeit zu den zwei Gruppen (atlantisch = rot, danubisch = grün)

die Breite an ökologischen Fragestellungen, in denen eDNA-Detektion angewendet wird [6], [7], [8]. Beispielsweise wurde gezeigt, dass die Methode zur Bestimmung der Biodiversität Vorteile im Vergleich zu klassischen Methoden zur Biodiversitäts-Bestimmung bietet [9]. Diese Anwendung kann Informationen zur vorkommenden Artengemeinschaft sowie invasiven Arten mit einer einzigen nicht-invasiven Probenahme liefern [10].

Das Forschungsprojekt „E + eDNA“ [11] wurde mit dem Ziel gestartet, mögliche Vorkommen von seltenen Kleinfischarten im Einzugsgebiet der Isel flussauf von Lienz sowie im in die Drau mündenden Debantbach zu erheben. Die Erhebungen erfolgten auch mittels konventionellen Elektrofischungen. Diese Studie soll einen qualitativen Überblick über etwaig vorkommende Kleinfischpopulationen geben und stellt die erste Anwendung der eDNA zum Nachweis von Fischarten in Österreich dar.

2.2 Untersuchungsgebiet

Die Isel ist der längste Fluss Osttirols und entwässert auf einer Länge von 57,3 km ein Einzugsgebiet von 1 203,4 km², von dem 70 km² vergletschert sind.

Neben der Isel und ihren Zuflüssen wurde auch der Debantbach untersucht. Der Debantbach ist ein linksufriger Zufluss der Drau mit einer Lauflänge von 21,2 km und entwässert ein 97,2 km² großes Einzugsgebiet. Insgesamt wurden 29 Gewässerabschnitte im Einzugsgebiet der Isel und des Debantbachs beprobt (Bilder 4 und 5). Das Vorkommen naturkundlich schützenswerter Arten, wie etwa der im Anhang II der Flora-Fauna-Habitat-Richtlinie angeführten Koppe (*Cottus gobio*), bzw. deren obere Verbreitungsgrenze ist insbesondere im Nationalpark Hohe Tauern von großem Interesse.

Sämtliche Untersuchungsstandorte wurden verortet und die Grafik bietet zudem eine Übersicht der Fisch- und Bioregionen in den Einzugsgebieten (Bilder 5 bis 7).

2.3 Methodik

Die qualitative Befischung der Strecken erfolgte von 13.10. bis 15.10.2015 wadend mittels Elektrofischung. Insgesamt wurden 25 Gewässerabschnitte mit einer Länge von mindestens 50 m qualitativ befischt, die potenzielle Lebensräume für Kleinfischarten bieten. Es wurde selektiv auf Kleinfischarten gefischt. Insgesamt wurden neun Fischarten nachgewiesen: Äsche, Aitel, Bachforelle, Bachschmerle, Elritze, Gründling und Koppe sowie die allochthonen Fischarten Bachsaibling (*Salvelinus fontinalis*) und Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*). Zusätzlich wurden weitere aktuelle Befischungsergebnisse aus der Region berücksichtigt.

Die eDNA-Probenahmen wurden etwa einen Monat danach am 12.11 und am 18.11.2015 bei günstigen Witterungsbedingungen (kein Niederschlag) durchgeführt. Parallel dazu wurden die hydrologischen Bedingungen erhoben: neben der Messung von Vor-Ort-Parametern (Temperatur, pH-Wert, Leitfähigkeit und Sauerstoffgehalt) wurden Wasserproben zur physikochemischen Analyse entnommen. Für die eDNA-Analyse wurden an jeder Stelle zwei Wasserproben (jeweils 0,5 l) am unteren und oberen Ende der Befischungsstrecke entnommen und innerhalb von 24 h auf Glasfaser-Filter (GF-C bzw. GF-F) filtriert und in Puffer-Lösung (Longmire’s solution) bei Raumtemperatur gelagert (s. [12]). Die weiteren Laborarbeiten erfolgten im Lodge Lab an der University of Notre Dame. Die Extraktion von eDNA aus gefilterten Wasserproben erfolgt mittels des DNeasy Blood & Tissues Kits (Qiagen GmbH, Hilden Deutschland) mit Modifikationen [13]. Anschließend wurden die drei Marker (12S, 16S, Cytb) mittels Fisch-spezifischer Metabarcoding-Primer amplifiziert. Eine Metabarcoding-Library wurde unter Verwendung des Nextera XT DNA 96 Kits mit geringfügigen Modifikationen [13] erstellt. Paired-end-Sequenzierungen wurden auf einem Illumina-MiSeq-Sequenzierer durchgeführt (s. [14]). Nach der OTU-Generierung und -Analyse [15] und der HMMER-Filterung [16] erfolgte die Art-Zuordnung, wobei Referenzsequenzen aus GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) verwendet wurden. Es wurde für einen positiven Art-nachweis definiert, dass mindestens zwei DNA-Abschnitte mit entsprechenden Sequenzen in einem oder mehreren Gen-Markern in mindestens einer der beiden Proben (vom oberen bzw. unteren Ende der Untersuchungsstrecke) detektiert werden müssen. Die – in der gegenständlichen Studie generierten Sequenzen – sind im „Sequence Read Archive“ (SRA; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/>) archiviert.

2.4 Ergebnisse & Diskussion

Mittels Elektro-Befischungen wurde die Bachforelle an den meisten Untersuchungsstandorten nachgewiesen. Die allochthone Regenbogenforelle wurde in acht Streckenabschnitten dokumentiert. Äsche, Bachsaibling und Koppe wurden an je drei Standorten gefangen. Aitel, Bachschmerle, Elritze und Gründling wurden ausschließlich in der Probestrecke im Wartschenbach gefangen. Im Zuge dieser Untersuchung

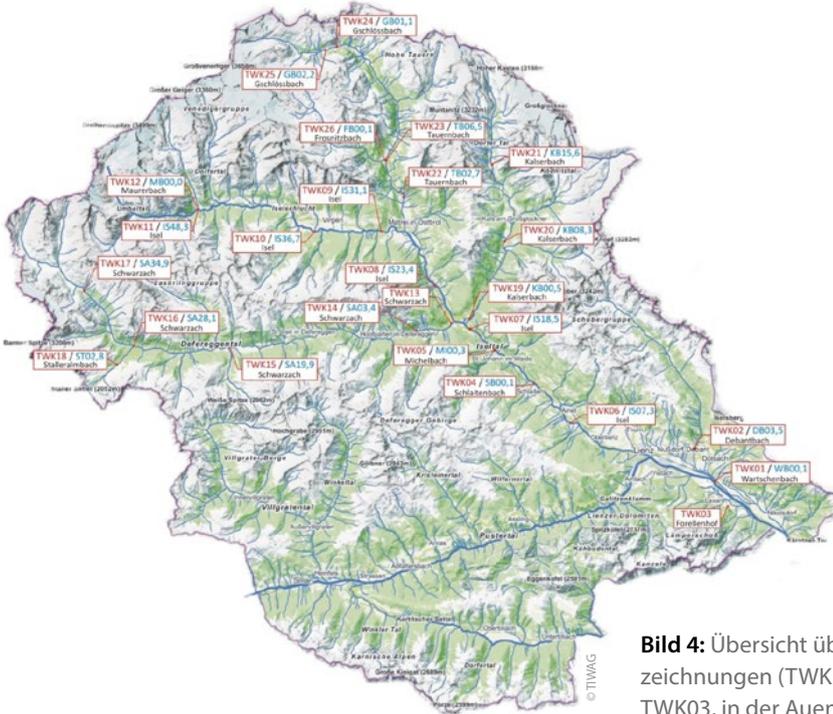


Bild 4: Übersicht über die Probenstellen und die verwendeten Bezeichnungen (TWK27/28/29 befinden sich alle im Nahbereich von TWK03, in der Auenlaue und werden nicht gesondert dargestellt)

konnten insgesamt vier der als Zielarten definierten Kleinfischarten an vier Untersuchungsstandorten im Einzugsgebiet der Isel und des Debantbachs nachgewiesen werden. Hierbei handelt es sich um die Arten Koppe, Bachschmerle, Elritze und Gründling. Anhand der Elektro-Befischungen wurden vier Koppen im Michlbach nachgewiesen. Jeweils zwei Koppen konnten im Schlaitenbach sowie im Debantbach dokumentiert werden und im Wartschenbach wurden neben einer Bachschmerle und 15 Gründlingen 66 Elritzen gefangen. Im Rahmen der gegenständlichen Studie wurden keine Elektro-Befischungen in der Auenlaue durchgeführt (TWK03/27/28/29),

allerdings liegen Befischungsdaten aus dem Jahr 2014 sowie Beobachtungen vor, so dass der Fischbestand in der Auenlaue gut dokumentiert ist.

Eine Übersicht der gefangenen bzw. nachgewiesenen Fischarten an den verschiedenen Untersuchungsstandorten findet sich in **Tabelle 2**.

Insgesamt konnten 14 Arten nachgewiesen werden. Somit konnten mehr Arten als bei den qualitativen Elektrofischungen dokumentiert werden. Dies erklärt sich nicht zuletzt durch die Art der Elektro-Befischung, die qualitativ in potenziell geeigneten Habitaten von Kleinfischarten erfolgte. Allerdings konnten

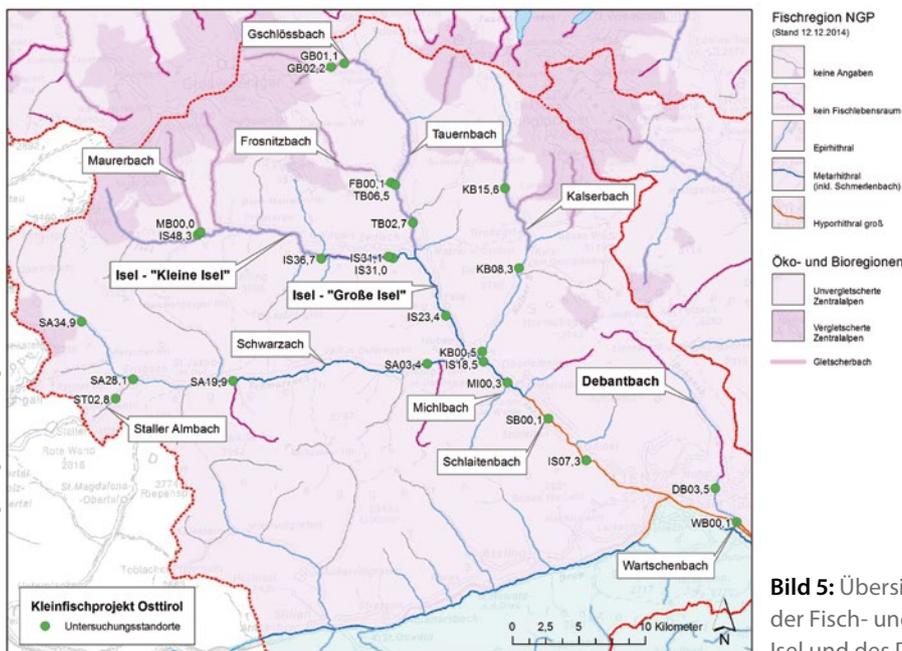


Bild 5: Übersicht der Untersuchungsstandorte sowie der Fisch- und Bioregionen in den Einzugsgebieten der Isel und des Debantbachs



Bild 6: Befischter Streckenabschnitt der Kleinen Isel (IS48,3 links) und des Maurerbachs (MB00,0 rechts)

auch mit der eDNA-Methodik nicht alle vorkommenden Arten nachgewiesen werden, so fehlen Nachweise von Hecht (*Esox lucius*), Huchen (*Hucho hucho*) und Strömer (*Telestes souffia*). Gründe dafür sind eventuell in der geringen Populationsgröße oder im Probenvolumen zu suchen. Im Folgenden werden die Ergebnisse hinsichtlich der selteneren Arten analysiert.

Die Nachweise des Aitel (*Squalius cephalus*) sind plausibel, bis auf den Nachweis im Bereich Kalserbach/Lana (TWK20). In diesen Abschnitt (Epirithral), der zudem vom Vorfluter durch natürlich Kontinuumsunterbrechungen getrennt ist, scheint ein Vorkommen des Aitel nicht plausibel. Dennoch konnte diese Dokumentation verifiziert werden: so wurden in diesem Abschnitt vor einigen Jahren im Zuge von Fischbesatzmaßnahmen Aitel besetzt.

Die Funde der Kleinfischarten (Bachschmerle, Elritze, Gründling) im Wartschenbach konnten von beiden Methoden bestätigt werden, zudem konnte im Mündungsbereich des Kalserbaches die Bachschmerle (*Barbatula barbatula*) mit Hilfe der eDNA nachgewiesen werden. Bemerkenswert ist der Nachweis des Gründlings (*Gobio gobio*) im Bereich Schwarzach/Seebachbrücke (TWK17), was mit hoher Wahrscheinlichkeit darauf zurückzuführen ist, dass die Art in einem See im Einzugsgebiet vorkommt.

Die im Michelbach (TWK05) und Schlaitenbach (TWK04) mittels Elektrofischung nachgewiesenen Koppfen (*Cottus gobio*) konnten durch die eDNA möglicherweise aufgrund zu geringer Populationsgröße bzw. zu geringen Probenvolumens nicht nachgewiesen werden. Eine gute Übereinstimmung beider Methoden gab es dagegen im Debantbach, mittels eDNA konnte die Koppe zusätzlich im Wartschenbach nachgewiesen werden. Die weiteren Nachweise in der Auenlaue decken sich mit den Erfahrungen der

Fischereiberechtigten, allerdings wurden hier im Zuge der vorliegenden Studie keine Elektrofischungen durchgeführt. Überraschend ist der Nachweis der Koppfen im Stalleralmbach (TWK18), allerdings bestätigte der Fischereiberechtigte die wiederholte Beobachtung von Koppfen in diesem Gewässer in den letzten Jahren. Inwiefern die eDNA-Methode hier evtl. eine Koppfenpopulationen im See, aus dem der Stalleralmbach herausfließt, detektierte, die mittels Elektrofischerei natürlich nicht im Bach nachgewiesen werden kann, ist noch zu klären.

Die Nachweise des Sonnenbarsches (*Lepomis gibbosus*) sind mehr als überraschend, da diese an den Untersuchungsstellen keine geeigneten Habitate finden können. Dies zeigt allerdings, dass eDNA auch von weiter entfernten Stillgewässern eingetragen werden kann. Im Frosnitz-Bach ist ein kleiner Teich im Bereich Gruben vorhanden, in dem Sonnenbarsche vorkommen. Betreffend des Nachweises im Stalleralmbach könnte sich theoretisch ein Vorkommen im Obersee befinden (wobei dieser auf ca. 2 000 m liegt).

Der Nachweis des Moderlieschens (*Leucaspius delineatus*) stellt unseres Wissens – nach dem Nachweis der Art am Mieminger Badesees – den 2. Nachweis in Tirol dar, wobei hierzu anzumerken ist, dass das Moderlieschen (das in Aquaristik-Geschäften regelmäßig angeboten wird) sicherlich „unentdeckt“ in vielen Gartenteichen schwimmt. Der Nachweis im Schlaitenbach (TWK04) bezieht sich somit vermutlich auch auf einen Teich im Einzugsgebiet.

Die Nachweise der Aalrutte (*Lota lota*) sind allesamt plausibel, außer der Nachweis in der Schwarzach (TWK16). Möglicherweise wurde auch diese Art in den Obersee eingesetzt, an der Untersuchungsstelle selbst findet die Aalrutte jedenfalls keinen geeigneten Lebensraum.

Bild 7: Gestreckter Verlauf des Gschlössbaches im befischten Streckenabschnitt (GB02,2 links). Linksufrige Schotterbank im Bereich der weiter flussabwärts situierten Probe-strecke (GB01,1 rechts)



Tabelle 1: Referenzpopulationen: vier atlantische Zuchtlinien, drei natürliche atlantische Populationen aus Bayern und drei rein danubische Populationen aus der Steiermark und Kärnten (Quelle: Weiss)

Probensetkürzel	Befischungsstelle	Zugehörigkeit
AND	Andritz-Zucht	atlantische Zucht
ETR	Etrachbach	autochthon danubisch
FOR	Forellenbach	autochthon atlantisch
GOL	Goldbach	autochthon atlantisch
HAA	Haarauer Saige	autochthon atlantisch
KOT	Kotalmbach	autochthon danubisch
WOL	Wolfsgرابenbach	autochthon danubisch
HAR	Zucht aus Dänemark	atlantische Zucht
DLZ	Dolezal-Zucht	atlantische Zucht

Der Nachweis des Zanders (*Sander lucioperca*) im Debantbach ist auf Teiche im Einzugsgebiet zurückzuführen. Nachweise des Welses (*Silurus glanis*) im Wartschenbach und Schlaitenbach sind überraschend, konnten aber insofern verifiziert werden, als dass von lokalen Fischern auf einen Besatz mit Welsen in der Vergangenheit hingewiesen wurde.

Die vorliegende Pilotstudie zur Anwendung der eDNA-Methodik in alpinen Einzugsgebieten (Deiner et al. 2016) konnte einen wesentlichen Beitrag zur methodischen Herangehensweise liefern. So wurde gezeigt, dass sich bei Bearbeitung der Proben (Filtrierung der gekühlten Proben innerhalb von 24 h im Labor) keine Auffälligkeiten hinsichtlich der Detektierbarkeit von Fischarten ergeben. Weiters wurde die Sensibilität der Methode durch verifizierbare Nachweise von Kleinfischarten aus Teichen im Einzugsgebiet untermauert. Zudem zeigen sich gute Ergebnisse, d. h. eine (meist) vollständige Erfassung der vorkommenden Fischarten in den Oberläufen und kleineren Gewässern, während in den größeren Vorflutern – insbesondere der Isel – einige Arten fehlen, so zum Beispiel der Huchen (*Hucho hucho*), bzw. die Faunenzusammensetzung an einer Untersuchungsstelle nicht vollständig abgebildet wird. Dies lässt darauf schließen, dass ab einer bestimmten Gewässergröße das Probenvolumen bzw. die Probenanzahl erhöht werden muss.

3 Resümee und Ausblick

Der vorliegende Artikel präsentiert zwei Anwendungen genetischer Methoden zur Charakterisierung heimischer Fischbestände. Die populationsgenetischen Untersuchungen haben sich zu einer Standard-Methode entwickelt. Der Einsatz dieser Methoden insbesondere in Zusammenhang mit der Zucht von Urforellen (danubische Forellen) ist essentiell, um Artenschutz-

Tabelle 2: Übersichtstabelle der nachgewiesenen Fischarten (eDNA = blauer Punkt; Elektrofischung = roter Punkt; Farbcodes siehe Legende) in den Probestrecken sowie Einstufung der Fischregion (Quelle: Weiss et al.)

Code / Probestrecke	Gewässer	Stelle	Fischregion	Bleizula baranzula	Bachschmerle	Cottus gobio	Koppe	Esok lucius	Hecht	Gobio gobio	Grundling	Hucho hucho	Huchen	Lepomis gibbosus	Gemeiner Sonnenbarsch	Lota lota	Aalrutte	Leiscapus delinectus	Medlerleschen	Oncorhynchus mykiss	Regenbogenforelle	Phoxinus phoxinus	Eritze	Salmotrout fario	Bachforelle	Salvelinus fontinalis	Bachsaibling	Sander lucioperca	Zander	Silurus glanis	Europäische Weihe	Squalius cephalus	Äitel	Telosteius souffia	Störmer	Thymallus thymallus	Europäische Äsche			
TWK01 / WB00,1	Wartschenbach	Unterlauf	keine Angabe**																																					
TWK02 / DB03,5	Debantbach	u. h. KW-Klocker	Epirithral																																					
TWK03	Forellenhof	Moosbrunnquelle																																						
TWK04 / SB00,1	Schlaitenbach	Unterlauf	keine Angabe**																																					
TWK05 / MI00,3	Michlbach	Teich bis Brücke Landesstr.	Epirithral																																					
TWK06 / IS07,3	Isel	gegenüber Schottergrube Zeiner	Hyporhithral groß																																					
TWK07 / IS18,5	Isel	350m o.h. KW-Kaiserbach	Metarhithral																																					
TWK08 / IS23,4	Isel	300 m nach Galerie Feld	Metarhithral																																					
TWK09 / IS31,1	Isel	vor Anstieg Landesstraße nach Virgen	Epirithral																																					
TWK10 / IS36,7	Isel	Virgen, Bereich Niedermauern	Epirithral																																					
TWK11 / IS48,0	Isel	Ströden	Epirithral																																					
TWK12 / MB00,0	Maurerbach	Ströden	keine Zuordnung*																																					
TWK13	Schwarzach	o.h. Geschlebesperre	Metarhithral																																					
TWK14 / SA03,4	Schwarzach	u. h. Erlachgalerie	Metarhithral																																					
TWK15 / SA19,9	Schwarzach	Brücke zu Jeseralch	Metarhithral																																					
TWK16 / SA28,1	Schwarzach	Mündung Stalleralmbach	Epirithral																																					
TWK17 / SA34,9	Schwarzach	Seebachbrücke	Epirithral																																					
TWK18 / ST02,8	Stalleralmbach	Stalleralmbach	keine Zuordnung*																																					
TWK19 / KB00,5	Kaiserbach	Hotel Sportland	Epirithral																																					
TWK20 / KB08,3	Kaiserbach	Lana / Unterlesach	Epirithral																																					
TWK21 / IS,6	Kaiserbach	im Dorfertal	Epirithral																																					
TWK22 / TB02,7	Tauernbach	Prosegg	Epirithral																																					
TWK23 / TB06,5	Tauernbach	Gruben	Epirithral																																					
TWK24 / GB01,1	Gschlossbach	Ausserschlöss	keine Zuordnung*																																					
TWK25 / GB02,2	Gschlossbach	Innerschlöss	keine Zuordnung*																																					
TWK26 / FB00,1	Frosnitzbach	100m vor Mündung Tauernb.	Epirithral																																					
TWK27	Auenlaue	P1 Greiter Laue	Metarhithral																																					
TWK28	Auenlaue	P2 u. h. Mündung Frauenb.	Metarhithral																																					
TWK29	Auenlaue	P3 Unterlauf	Metarhithral																																					

* Kein Vermerk im Wasserinformationssystem Austria bezüglich Fischlebensraum und Fischregion.
 ** Kein Fischlebensraum zugeordnet aufgrund mangelnder Datenlage oder potenzieller Fischlebensraum oder künstliches Gewässer.

aktueller Nachweis durch: ● eDNA ● Elektrofischung x Vorkommen bekannt
 ●● aktueller Nachweis durch eDNA und Befischung bzw. "Vorkommen bekannt" (n = 59)
 ● aktueller Nachweis durch eDNA (n = 67)
 ●● aktueller Nachweis durch Befischung (n = 2)
 x Vorkommen bekannt, aber kein aktueller Nachweis (n = 17)

projekte sinnvoll zu gestalten und Besatzmaßnahmen nachhaltig durchführen zu können.

Der Einsatz von eDNA unter Verwendung der Möglichkeiten, die sich aus der NGS-Technologie ergeben, stellt ein vielversprechendes Instrument für Monitoringprogramme dar. Diese können eine wertvolle Ergänzung zu den konventionellen Methoden (Beprobung, taxonomische Bearbeitung) sein, denn die Entnahme von Wasserproben und Analyse (Nachweis von Arten über Bruchstücke aus deren DNA) kann die Monitoringfrequenz und Dichte deutlich erhöht werden.

Über entsprechende Monitoringdaten können z. B. Renaturierungsmaßnahmen evaluiert werden, wobei durch eine hochaufgelöste Probenahme auch zeitliche sowie räumliche Aspekte der Besiedelung analysiert werden können. Zudem kann gezielt nach naturschutzfachlich interessanten Arten gesucht werden. Aber die eDNA-Methodik bietet auch eine gute Möglichkeit die Habitate sensibler Zielarten (z. B. Flussperlmuschel, Flusskrebse) abzugrenzen bzw. zu erfassen. Weiters können mit Hilfe dieser Methodik Neozoen detektiert bzw. deren Ausbreitung dokumentiert werden.

Für Monitoringprogramme stellt die Methodik eine robuste und objektive Möglichkeit dar, Biozönosen und deren Habitate zu charakterisieren und Langzeitentwicklungen zu evaluieren. Wesentlich ist die weitere Grundlagenforschung bspw. betreffend der Ausbreitungsdistanzen von eDNA (z. B. Traugott et al. in diese Ausgabe der WasserWirtschaft [17]), aber auch in Hinblick auf Fragen betreffend Proben-Volumina (abhängig vom Gewässertyp) und der verwendeten Methodik, so dass die eDNA-Methode praxistauglich etabliert und eingesetzt werden kann. Es ist davon auszugehen, dass bereits in einigen Jahren eine kosten-effektive Methode etabliert sein wird, welche das Monitoring und damit die Grundlage für Management von aquatischen Systemen wesentlich unterstützt.

4 Danksagung

Die populationsgenetische Untersuchung der Bachforellenpopulation wurde von der TIWAG-Tiroler Wasserkraft AG (WK 198-0013) finanziert. Wir danken Dr. Nikolaus Medgyesy und Daniel Eisendle für die Beschaffung des Probenmaterials, was im Zuge der Diplomarbeit von Herrn Eisendle (Fischökologische Untersuchung im oligotrophen hochalpinen Gossenköllesee – Genotypisierung, Populationscharakterisierung und Nahrungsspektrum der Bachforelle; in Arbeit) erfolgte.

Die Studie „E + eDNA“ ist als F&E-Projekt durch die TIWAG-Tiroler Wasserkraft AG finanziert worden (WK 196-0050) und in enger in Kooperation mit dem Projekt „Erfassung von Beständen ausgewählter Kleinfischarten mit Schwerpunkt auf der Koppe (*Cottus gobio*) in den Einzugsgebieten der Isel und des Debantbachs“ abgewickelt worden. Letzteres Projekt wurde vom Büro blattfisch e. U. bearbeitet und von der Tiroler Umweltschutzanstalt, dem Tiroler Fischereiverband und dem Nationalpark Hohe Tauern finanziert. Spezieller Dank gilt Franz Unterlercher, Erwin Ritscher und Ing. Wolfgang Würtenberger, die sämtliche Feldarbeiten in Osttirol mit großem Engagement unterstützten.

Autoren

Assoc. Prof. Dr. Steven Weiss

Institut für Zoologie
Karl-Franzens-Universität Graz
Universitätsplatz 2
8010 Graz, Österreich
steven.weiss@uni-graz.at

Dr. Kristy Deiner

Department of Ecology and Evolutionary Biology
Cornell University
(ehemals University of Notre Dame)
Corson Hall A406A, 215 Tower Rd.
Ithaca, NY 14850, USA
alpinedna@gmail.com

Dr. Jeffrey A. Tuhtan

Centre for Biorobotics
Tallinn University of Technology
Akadeemia tee 15A-111
12618 Tallinn, Estland
jetuht@ttu.ee

DI Clemens Gumpinger

Blattfisch e. U.
Gabelsbergerstraße 7
4600 Wels, Österreich
gumpinger@blattfisch.at

Mag. Dr. Martin Schletterer

TIWAG-Tiroler Wasserkraft AG
Eduard-Wallnöfer-Platz 2
6020 Innsbruck, Österreich
martin.schletterer@tiwag.at

Literatur

- [1] Weiss, S.; Schlötterer, C.; Waidbacher, H.; Jungwirth, M.: Haplotype (mtDNA) diversity of brown trout *Salmo trutta* in tributaries of the Austrian Danube: massive introgression of Atlantic basin fish – by man or nature? In: *Molecular Ecology* 10 (2001), S. 1 241-1 246.
- [2] Duftner, N.; Weiss, S.; Medgyesy, N.; Sturmbauer, C.: Enhance phylogeographic information about Austrian brown trout populations derived from complete mitochondrial control region sequences. In: *Journal of Fish Biology* 62 (2003), S. 427-435.
- [3] Lercetau-Köhler, E.; Weiss, S.: Development of a multiplex PCR microsatellite assay in brown trout *Salmo trutta*, and its potential application for the genus. In: *Aquaculture* 258 (2006), S. 641-645.

Steven Weiss, Kristy Deiner, Jeffrey A. Tuhtan,
Clemens Gumpinger and Martin Schletterer

Genetic analyses of fish stocks: population genetic and eDNA

Genetic based tools can be used to answer applied questions in fisheries management and conservation. We present two such applications: (1) a population genetic analysis and (2) environmental DNA (eDNA) used to non-invasively detect the presence of species. In the first study, we confirmed that brown trout in Gossenköllesee represent one of very few pure Danubian strain populations in the region. As the lake is above the natural colonization zone of the species, it is presumed that trout were first stocked here in the Middle Ages. Extremely low heterozygosity underscores a small effective population size reflecting a genetic bottleneck. This highly unique population should be protected. In the second study, a total of 14 fish species across 29 sites was detected with a meta-barcoding eDNA approach. The results demonstrated the high sensitivity of eDNA as several species that could only occur in artificial ponds or nearly lakes were also detected in the rivers.

- [4] Lercetau-Köhler, E.; Schliwen, U.; Kopun, T.; Weiss, S.: Genetic variation in brown trout *Salmo trutta* across the Danube, Rhine, and Elbe headwaters: a failure of the phylogeographic paradigm? In: *BMC Evolutionary Biology* 13 (2013), S. 176.
- [5] Baric, S.; Riedl, A.; Meraner, A. et al.: Alpine headwater streams as reservoirs of remnant populations of the Danubian clade of brown trout. In: *Freshwater Biology* 55 (2009), Nr. 4, S. 866-880.
- [6] Rees, H. C.; Maddison, B. C.; Middleditch, D. J.; Patmore, J. R. M.; Gough, K. C.: REVIEW: The detection of aquatic animal species using environmental DNA – a review of eDNA as a survey tool in ecology. In: *J. Appl. Ecol.* 51 (2014), S. 1 450-1 459.
- [7] Goldberg, C. S.; Strickler, K. M.; Pilliod, D. S.: Moving environmental DNA methods from concept to practice for monitoring aquatic macroorganisms. In: *Biol. Conserv.* 183 (2015), S. 1-3.
- [8] Lawson Handley, L.: How will the “molecular revolution” contribute to biological recording? In: *Biol. J. Linn. Soc.* 115 (2015), S. 750-766.
- [9] Thomsen, P. F.; Willerslev, E.: Environmental DNA – An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. In: *Biol. Conserv.* 183 (2015), S. 4-18.
- [10] Biggs, J.; Ewald, N.; Valentini, A. et al.: Using eDNA to develop a national-citizen science-based monitoring programme for the great crested newt (*Triturus cristatus*). In: *Biol. Conserv.* 183 (2015), S. 19-28.
- [11] Deiner, K.; Tuhtan, J. A.; Weiss, S.; Schletterer, M.: E + eDNA – comparison of conventional electrofishing with species tracking using eDNA in alpine catchments (Tyrol, Austria). Oral presentation (by M. Schletterer): Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Limnologie und der SIL Austria, 26.-30.09.2016, Universität für Bodenkultur Wien.
- [12] Renshaw, M. A.; Olds, B. P.; Jerde, C. L.; McVeigh, M. M.; Lodge, D. M.: The room temperature preservation of filtered environmental DNA samples and assimilation into a phenol-chloroform-isoamyl alcohol DNA extraction. In: *Molecular Ecology Resources* 15 (2015), Nr. 1, S. 168-176.
- [13] Deiner, K.; Walser, J.-C.; Mächler, E.; Altermatt, F.: Choice of capture and extraction methods affect detection of freshwater biodiversity from environmental DNA. In: *Biol. Conserv.* 183 (2015), S. 53-63.
- [14] Nguyen, N. H.; Smith, D.; Peay, K.; Kennedy, P.: Parsing ecological signal from noise in next generation amplicon sequencing. In: *New Phytologist*, 205 (2015), S. 1 389-1 393.
- [15] Edgar, R. C.: UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. In: *Nature methods*, 10 (2013), S. 996-998.
- [16] Wheeler, T. J.; Eddy, S. R.: DNA homology search with profile HMMs. *Bioinformatics*, btt403. (2013).
- [17] Thalinger, B.; Sint, D.; Zeisler, C. et al.: Quantifizierung von Fischbeständen mittels eDNA in alpinen Fließgewässern. In: *WasserWirtschaft* 108 (2018), Heft 2-3, S. 30.



Weitere Empfehlungen aus
www.springerprofessional.de:

Populationsgenetik

Nentwig, W.; Bacher, S.; Brandl, R.: *Lebensgemeinschaften*. In: *Ökologie kompakt*. 4. Auflage. Berlin Heidelberg: Springer Spektrum, 2017.
www.springerprofessional.de/link/13201998

Körner, Chr.: *Populations- und Vegetationsökologie*. In: *Strasburger – Lehrbuch der Pflanzenwissenschaften*. 37. Auflage. Berlin Heidelberg: Springer Spektrum, 2014.
www.springerprofessional.de/link/10490136

PLATTFORM FÜR ENERGIE- UND UMWELTTHEMEN

Der Verein für Ökologie und Umweltforschung (VÖU) ist eine Plattform für den Interessensaus-tausch zwischen Energiewirtschaft und Experten der angewandten Forschung im Bereich Ökologie. Ziel ist es, den Ausgleich zwischen ökologischen und ökonomischen Anforderungen zu fördern.

NEUES WISSEN SCHAFFT ZUKUNFT

Aktuell fördert der Verein wissenschaftliche Projekte mit den Schwerpunkten „Wasserwirt-schaft“ und „Energiegewinnung aus erneuer-baren Energien“. Er vermittelt Erkenntnisse und aktuelle Fragen in Workshops, Publikationen, in seiner jährlich stattfindenden Umwelttagung und bei Expertentagen zu speziellen Themen.

INTERDISZIPLINÄRE ZUSAMMENARBEIT

Zur Erfüllung der Vereinsaufgaben steht ein Expertenkreis zur Verfügung, der sich aus externen und internen Fachleuten zusammensetzt. Komplexe Energie- und Umweltthemen fordern interdisziplinäre Lösungszugänge – das ist das Markenzeichen des VÖU.



VEREIN FÜR
ÖKOLOGIE UND
UMWELTFORSCHUNG

KONTAKT

Verein für Ökologie und Umweltforschung
1020 Wien, Malzgasse 3, Österreich
+43/1/218 57 78 • office@voeu.co.at
www.voeu.co.at