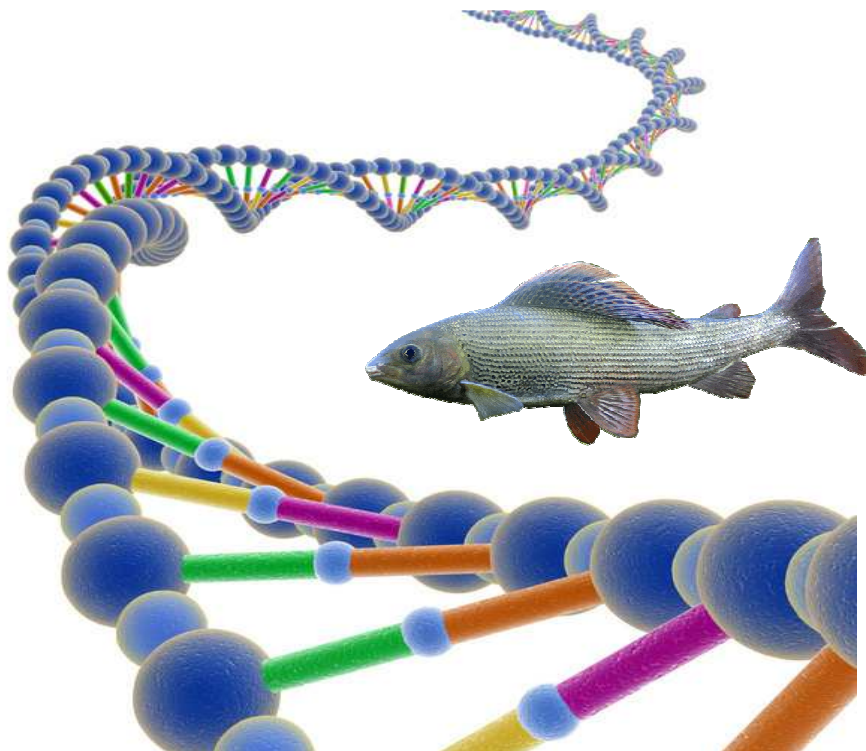


# **ERFOLGSKONTROLLE BESATZMASSNAHMEN UND POPULATIONSGENETISCHE UNTERSUCHUNG DER ÄSCHEN IM KANTON AARGAU**

---



## Impressum

### Auftraggeber

Departement Bau, Verkehr und Umwelt  
Abteilung Wald, Sektion Jagd und Fischerei  
Entfelderstrasse 22  
5001 Aarau  
Tel.: 062 835 28 50  
Fax: 062 835 28 59  
E-Mail:[jagd\\_fischerei@ag.ch](mailto:jagd_fischerei@ag.ch)

### Auftragnehmer

Aquabios GmbH  
Rte de Payerne 18  
CH-1553 Châtonnaye  
Tel: +41 (0)26 658 12 44  
Fax: +41 (0)26 658 12 44  
<http://www.aquabios.ch>

### Autoren

Pascal Vonlanthen: [p.vonlanthen@aquabios.ch](mailto:p.vonlanthen@aquabios.ch)  
Daniel Schlunke: [d.schlunke@aquabios.ch](mailto:d.schlunke@aquabios.ch)

**Zitiervorschlag:** Volanthen, P. & Schlunke, D. 2015. Erfolgskontrolle Besatzmassnahmen und Populationsgenetische Untersuchung der Äschen im Kanton Aargau. Aquabios GmbH, Auftraggeber: Departement Bau, Verkehr und Umwelt, Sektion Jagd und Fischerei, Kanton Aargau.

**DNS Foto Titelseite:** <http://truthfall.com/big-brother-DNS-database-swells-with-innocent-people/>

### Verdankungen

Wir bedanken uns bei der Sektion Jagd und Fischerei vom Kanton Aargau für den Auftrag, Germain Dellay für die Hilfe bei den Feldarbeiten, Guy Périat und Jennifer Vonlanthen-Heuck für die kritische Durchsicht des Dokumentes.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>AUSGANGSLAGE UND FRAGESTELLUNG .....</b>	<b>5</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>7</b>
3.1	PROBENAHME .....	7
3.2	AUSWAHL DER GENETISCHEN MARKER .....	7
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>8</b>
4.1	ERFOLGSKONTROLLE BESATZMASSNAHMEN UND GENETISCHE DIFFERENZIERUNG DER POPULATIONEN .....	8
4.2	RESULTATE BASISANALYSEN – GENETISCHE VARIABILITÄT INNERHALB DER POPULATIONEN .....	12
4.3	VERGLEICH MIT DER GESAMTSCHWEIZERISCHEN STUDIE .....	15
<b>5</b>	<b>DEFINITION DER BEWIRTSCHAFTUNGSEINHEITEN.....</b>	<b>17</b>
<b>6</b>	<b>SCHLUSSFOLGERUNGEN .....</b>	<b>19</b>
<b>7</b>	<b>GLOSSAR .....</b>	<b>21</b>
<b>8</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>23</b>
<b>9</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>25</b>
9.1	ALLGEMEINES ZUR METHODE .....	25
9.2	AUSWAHL DER MARKER.....	26
9.3	DNS EXTRAKTION.....	27
9.4	POLYMERASE-KETTENREAKTION (PCR) .....	27
9.5	SEQUENZIEREN .....	28
9.6	IDENTIFIKATION DER ALLELE .....	28
9.7	INTERKALIBRIERUNG DER DATEN MIT DER GESAMTSCHWEIZERISCHEN STUDIE .....	28
9.8	ANZAHL PRO STANDORT BEPROBTE ÄSCHEN.....	30
9.9	RESULTATE DER STRUCTURE ANALYSE .....	31
9.10	RESULTATE DER FAKTORIELLEN KORRESPONDENZANALYSE .....	32
9.11	MANTEL KORRELEATION TABELLE .....	32
9.12	F <sub>ST</sub> ALLE ÄSCHENPOPULATIONEN DER SCHWEIZ .....	33

## 1 ZUSAMMENFASSUNG

Das von der Fischereikommission 2011 verabschiedete Besatzkonzept sieht einen Fischeinsatz von standortgerechten Besatzfischen vor, gemäss der geltenden Gesetzgebung des Bundes. Die Fischereiverwaltung des Kantons Aargau nahm bisher an, dass es sich bei den Äschen im Aargau um eine einzige Population handelt. Ein Besatz mit Äschen aus dem Rheineinzugsgebiet, auch aus deutschem Raum wurde als standortgerechte Herkunft im Sinne der Gesetzgebung betrachtet. Diese Untersuchung sollte prüfen, ob die bisherigen Besatzmassnahmen der Äsche erfolgreich sind und der Fischeinsatz gemäss dem Besatzkonzept und der geltenden Gesetzgebung mit standortgerechtem Besatzmaterial ausgeführt wird.

Um diese Fragen zu klären, wurden 404 Äschen aus dem Rhein, der Aare, der Limmat, der Reuss und vier Fischzuchten genetisch untersucht. Die Resultate zeigen, dass sich die Äschen von drei Fischzuchten Bachofner, Pfyn und Rueppel stark von den in den Flüssen lebenden Äschen unterscheiden. Das Äschenbesatzmaterial der Fischzucht Nadler ist mit den Äschen aus dem Rhein zwar näher verwandt, aber trotzdem signifikant unterschiedlich. Diese Fische sind somit nur mit Vorbehalt und aufgrund des Ursprungs aus dem Rhein für Besatzmassnahmen im Rhein geeignet. Die Äschen der drei Fischzuchten Pfyn, Bachofner, und Rüppel eignen sich gemäss Gesetzgebung und Besatzkonzept nicht für den Besatz der Gewässer im Kanton Aargau.

Weiter zeigen die Resultate, dass in den einzelnen Gewässern (Aare, Reuss, Rhein und Limmat) genetisch unterscheidbare Populationen leben. Im Bereich der Aare- Limmat- und Reussmündung (Wasserschloss) vermischen sich diese Populationen teilweise. Die Ergebnisse passen gut zu den Resultaten einer gesamtschweizerischen Äschenstudie. Basierend auf den vorliegenden Erkenntnissen können für die Bewirtschaftung der Äschen im Kanton Aargau folgende Bewirtschaftungseinheiten definiert werden:

- Aare
- Reuss
- Rhein
- Limmat

Es wird deshalb empfohlen, auf weitere Besatzmassnahmen mit Äschen aus nicht einmischen Populationen aller vier privaten Fischzuchten zu verzichten. Sollten Besatzmassnahmen weiterhin durchgeführt werden, dann sollte Besatzmaterial aus den vier Bewirtschaftungseinheiten gewonnen werden.

## 2 AUSGANGSLAGE UND FRAGESTELLUNG

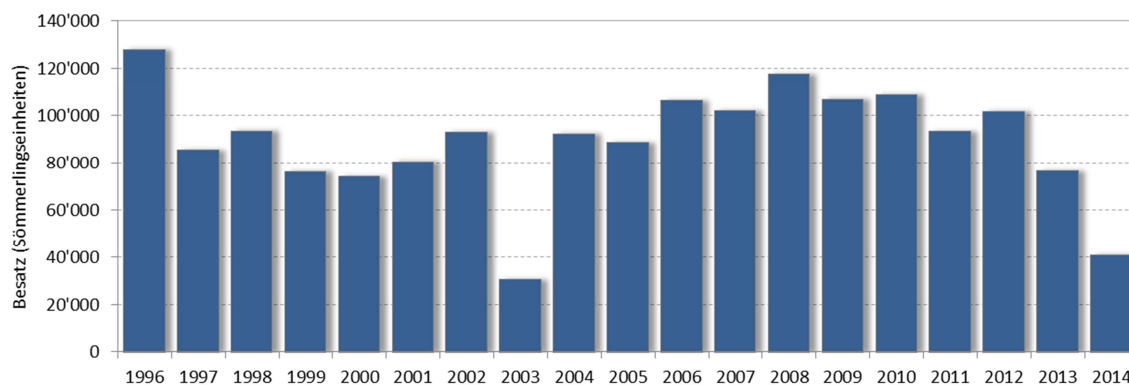
Die europäische Äsche (*Thymallus thymallus*) gehört zur Familie der lachsartigen Fische (*Salmonidae*) und zur Gattung der Äschen (*Thymallus*). In der Schweiz ist sie in Mittellandgewässern in allen vier Einzugsgebieten (Rhein, Rhône, Donau und Po) natürlich vertreten [1]. Äschen bevorzugen Fließgewässer (sie kommen zum Teil auch in Seen vor, insbesondere in Nordeuropa) mit einer relativ hohen Fließgeschwindigkeit, einem Gefälle zwischen 0.2% und 0.7% und ab einem minimalen mittleren Jahresabfluss von ca. 1m<sup>3</sup>/sec [2-4]. Sie benötigen sauerstoffreiches und sauberes Wasser, das im Sommer eine Temperatur von 23-26°C nicht übersteigt [3, 5]. Äschen ernähren sich grösstenteils von benthischen Insekten (Krebstiere und Mollusken), ältere Tiere auch von kleinen Fischen [6]. Die Fortpflanzung findet im Frühling von März bis Juni statt. Vor der Fortpflanzung können Äschen kurze Distanzen wandern, die üblicherweise im Bereich von einigen 100 Metern bis mehreren Kilometern liegt. Dabei steigen sie auch in Zuflüsse auf [7]. Die Migration wird durch eine Erhöhung der Wassertemperatur ausgelöst [3]. Beim Laichvorgang dringen die Weibchen durch starke Schüttelbewegungen des Körpers leicht in feines Kiessubstrat ein und legen die Eier ab. Äschen sind schnellwüchsige Fische, die nach einem Jahr bereits 14-18cm gross sein können und mit 3 Jahren eine Grösse von 25-40cm erreichen [8].

Die Äsche ist in der roten Liste der bedrohten Fischarten der Schweiz als verletzlich eingestuft (VU) [1]. Die Bestände sind in vielen Flüssen rückläufig und werden deshalb verbreitet durch Besatzmassnahmen gestützt. Es wird davon ausgegangen, dass die Populationsgrössen der natürlichen oder durch die Fischerei verursachten schwankenden Jahrgangsstärken durch Besatzmassnahmen stabilisiert und dadurch in bestimmten Gewässern die fehlende und/oder beeinträchtigte natürliche Reproduktion kompensiert wird [9]. Der Erfolg dieser Massnahmen ist sowohl national [9, 10] als auch international sehr unterschiedlich [11, 12]. Darüber hinaus werden mehr und mehr auch die negativen Auswirkungen erkannt, die der Besatz auf die Fitness, das Überleben, die genetische Vielfalt und auf die Erhaltung von lokalen Anpassungen der Populationen haben kann [13-18]. Weiter ist bekannt, dass in der Schweiz zum Teil sehr ausgeprägte und genetisch stark differenzierte Äschenpopulationen existieren, welche sich im Lauf der Evolution an die unterschiedlichen Lebensräume der verschiedenen Gewässer spezifisch angepasst haben [16, 19].

Üblicherweise werden in der Schweiz nur die für die Fischerei relevanten Fischarten besetzt [20]. Im Kanton Aargau sind dies hauptsächlich Bachforellen, Äschen, Felchen und Hechte [21]. Dass dabei möglichst lokal angepasste Fische mit genügender genetischer Variabilität eingesetzt werden sollten, ist durch heutige Kenntnisse über Erfolgskontrollen von Besatzmassnahmen, Genetik und lokaler Anpassung erwiesen. Der Besatz mit standortfremden Fischen, welche mit der Population ihres Einsatzortes genetisch nicht ausreichend verwandt sind ist oft nicht erfolgreich und gesetzlich ebenfalls untersagt (Art. 6 Abs. 2 VBGF). Oft liegen dem Bewirtschafter die notwendigen genetischen Grundlagen jedoch nicht vor, um Bewirtschaftungseinheiten definieren zu können und einen Besatz mit standortgerechten Fischen gemäss der geltenden Gesetzgebung zu vollziehen. Zudem wird der Fischbesatz allgemein als erfolgreiche Massnahme betrachtet und es wird nur selten eine Erfolgskontrolle durchgeführt.

Das von der Fischereikommission des Kanton Aargaus 2011 verabschiedete Besatzkonzept sieht einen Fischeinsatz von standortgerechten Besatzfischen vor, gemäss der geltenden Gesetzgebung des Bundes. Die Fischereiverwaltung des Kantons Aargau nahm bisher an, dass es sich bei den Äschen im Aargau um eine einzige Population handelt. Ein Besatz mit Äschen aus dem Rheineinzugsgebiet, auch aus deutschem Raum wurde als standortgerechte Herkunft im Sinne der Gesetzgebung betrachtet. Die Sektion Jagd und Fischerei des Kantons Aargau setzt Äschen in die grossen Flüsse Aare, Limmat, Reuss und Rhein ein (Abbildung 2-1). In den letzten Jahren wurden stets Sömmerlinge aus 4 Fischzuchten eingesetzt. Die Herkunft der eingesetzten Äschen ist nur bei einer Fischzucht (Nadler) genau bekannt, welche Brütlinge aus einem Äschen-Laichfischfang im Rhein aus dem Kanton Thurgau bezieht.

Diese Untersuchung sollte einerseits prüfen, ob die bisherigen Besatzmassnahmen der Äsche im Kanton Aargau erfolgreich sind und der Fischeinsatz gemäss dem Besatzkonzept und der geltenden Gesetzgebung mit standortgerechtem Besatzmaterial ausgeführt wird.



**Abbildung 2-1.** Äschenbesatzzahlen des Kantons Aargau in Sömmerlingseinheiten. Die Umrechnung in Sömmerlingseinheiten erfolgte nach [22].

#### Folgende Fragestellungen standen im Fokus dieser Arbeit:

- Gibt es zwischen Äschen der verschiedenen Flüsse im Kanton Aargau genetische Unterschiede? (Definition von Bewirtschaftungseinheiten der Äsche im Kanton Aargau).
- Sind die aus den privaten Fischzuchten stammenden Äschen für Besatzmassnahmen geeignet? (Bezogen auf die Gesetzgebung und das Besatzkonzept?)
- Können die wilden Äschen aus Anglerfängen und dem Äschenmonitoring (teilweise) dem Besatzmaterial zugeordnet werden?
- Können negative genetische Konsequenzen der bisher durchgeführten Besatzmassnahmen festgestellt werden?
- Passen die Ergebnisse der untersuchten Äschen dieser Studie aus dem Kanton Aargau zur schweizweiten Äschengenetikstudie des Bundes?

### 3 MATERIAL UND METHODEN

#### 3.1 PROBENAHEME

Die Probenahme der Äschen aus den kantonalen Gewässern (Abbildung 3-1) wurde im Rahmen des Äschenlarvenmonitorings und durch Angelfischer in den Jahren 2013 und 2014 durchgeführt. Die vier Fischzuchten, die dem Kanton Aargau Äschen für den Besatz liefern, wurden im Jahr 2013 beprobt. Insgesamt wurden 404 Äschen genetisch untersucht. Für bestimmte Auswertungen (Kapitel 4.3) wurden zusätzlich Referenzpopulationen der gesamten Schweiz hinzugezogen, die im Rahmen einer nationalen Äschengenetikstudie des Bafu bereits untersucht wurden [19].

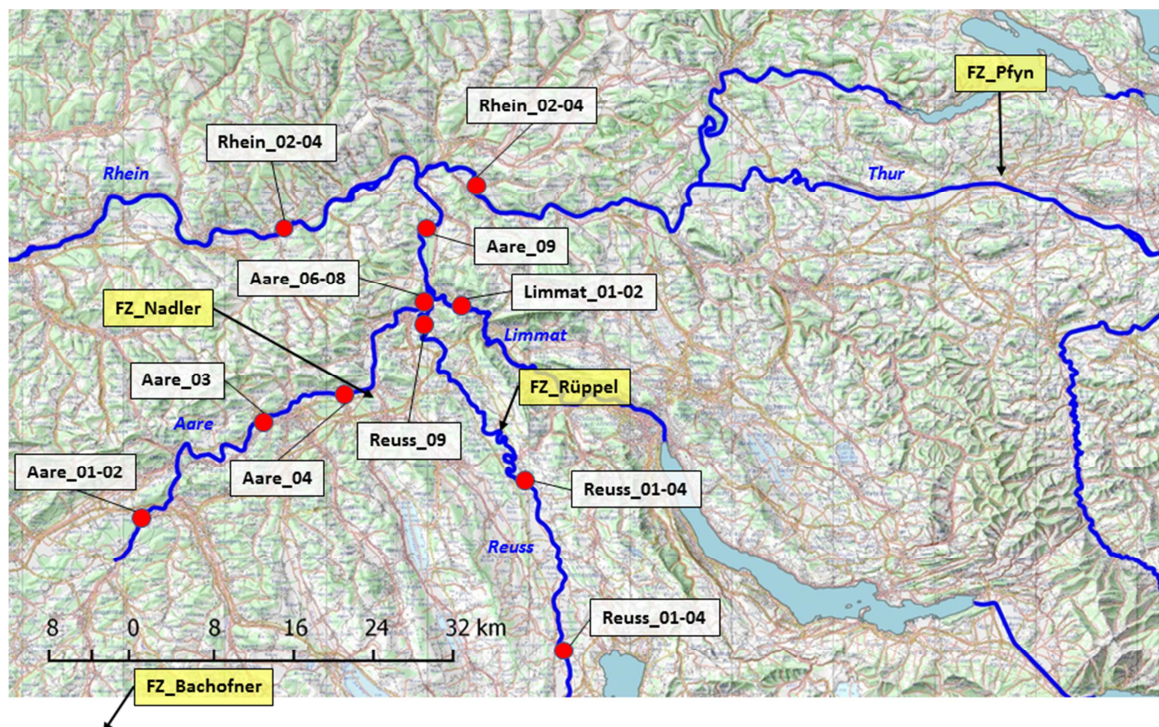


Abbildung 3-1. Standorte der Äschenprobenahme in den Fließgewässern.

#### 3.2 AUSWAHL DER GENETISCHEN MARKER

Um die genetischen Unterschiede und Verwandtschaften zwischen verschiedenen Populationen zu untersuchen, wurden Mikrosatellitenmarker verwendet. Diese sind für populationsgenetische Untersuchungen nützlich, da sie selektiv meist neutral sind. Sie weisen zudem eine hohe Mutationsrate auf und können daher auch rezente Ereignisse im Erbgut reflektieren. In der vorliegenden Studie wurden 12 solcher Mikrosatelliten-Loci untersucht. Die Details zu den Laborarbeiten sind im Anhang aufgeführt.

## 4 ERGEBNISSE

### 4.1 ERFOLGSKONTROLLE BESATZMASSNAHMEN UND GENETISCHE DIFFERENZIERUNG DER POPULATIONEN

Die Auswertung der genetischen Daten der beprobten Äschen im Kanton Aargau und den vier privaten Fischzuchten zeigt, dass sich die Äschen der Fischzuchten Bachofner, Pfyn und Rüppel stark von den in den Flüssen lebenden Äschen unterscheiden. Das Äschenbesatzmaterial der Fischzucht Nadler ist mit den Äschen aus dem Rhein zwar näher verwandt, aber trotzdem signifikant unterschiedlich. Die Äschen der drei Fischzuchten Bachofner, Pfyn und Rüppel eignen sich somit nicht für den Besatz der Gewässer im Kanton Aargau

Weiter zeigen die Resultate, dass in den einzelnen Gewässern (Aare, Reuss, Rhein und Limmat) genetisch unterscheidbare Populationen leben. Im Bereich der Aare- Limmat- und Reussmündung (Wasserschloss) vermischen sich diese Populationen teilweise.

Schliesslich korreliert die Gewässerdistanz zwischen den Standorten signifikant mit der genetischen Differenzierung. Die Distanz spielt somit bei der Isolation der Populationen

Das meistangewandte Mass für die genetische Differenzierung zwischen Populationen ist der  $F_{ST}$ -Wert (oder  $F_{ST}$ -Index). Dieser kann Werte zwischen 0 (keine Differenzierung) und 1 (vollständig verschieden) annehmen. Die  $F_{ST}$ -Werte wurden im Programm ARLEQUIN v. 3.1 [23] berechnet. Die Resultate zeigen, dass zwischen den verschiedenen Äschenpopulationen meistens signifikante genetische Unterschiede vorliegen (Abbildung 4-1, Tabelle 4-1). Die Unterschiede zwischen Standorten innerhalb der einzelnen Gewässer sind aber mit der Ausnahme der Reuss eher klein (Abbildung 4-1).

**Tabelle 4-1.**  $F_{ST}$ -Werte, die zwischen den verschiedenen Äschenpopulationen beobachtet wurden.

Population	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1 Aare_01-02	-	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	***	***	**	*	n.s.	***	***	***	***
2 Aare_3	-0.001	-	n.s.	*	n.s.	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
3 Aare_04	0.000	0.000	-	**	**	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
4 Aare_06-08	0.014	0.007	0.010	-	n.s.	**	***	***	***	**	***	***	***	***	***
5 Aare_09	0.005	0.005	0.012	0.004	-	**	***	*	***	*	*	***	***	***	***
6 Limmat_01_02	0.012	0.016	0.018	0.008	0.008	-	***	***	***	***	***	***	***	***	***
7 Reuss_01-04	0.052	0.060	0.058	0.041	0.027	0.031	-	*	***	***	***	***	***	***	***
8 Reuss_05-07	0.033	0.040	0.041	0.028	0.013	0.019	0.008	-	***	***	***	***	***	***	***
9 Reuss_09	0.056	0.054	0.056	0.060	0.056	0.047	0.093	0.079	-	***	***	***	***	***	***
10 Rhein_02-04	0.020	0.017	0.019	0.011	0.007	0.013	0.034	0.019	0.063	-	n.s.	***	***	***	***
11 Rhein_05-06	0.010	0.016	0.017	0.018	0.008	0.016	0.039	0.025	0.062	0.002	-	***	***	***	***
12 FZ_Bachofner	0.210	0.208	0.205	0.197	0.203	0.215	0.211	0.195	0.246	0.199	0.206	-	***	***	***
13 FZ_Nadler	0.044	0.033	0.044	0.043	0.038	0.041	0.102	0.075	0.068	0.052	0.051	0.246	-	***	***
14 FZ_Pfyn	0.110	0.128	0.132	0.107	0.108	0.122	0.125	0.115	0.155	0.117	0.125	0.113	0.154	-	***
15 FZ_Rüppel	0.186	0.197	0.201	0.169	0.166	0.187	0.165	0.169	0.217	0.175	0.187	0.245	0.221	0.133	-

n.s. Nicht Signifikant; \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$



Auffallend ist allerdings, dass die genetischen Unterschiede zwischen den in Gewässern beprobten wilden Äschen und den Zuchten Rüppel, Pfynd und Bachofner jeweils sehr gross sind (Abbildung 4-1, Tabelle 4-1). Die Unterschiede zur Fischzucht Nadler (Herkunft Äschenlaichfischfang Rhein Kanton Thurgau) sind kleiner aber dennoch hochsignifikant. Die Besatzäschchen unterscheiden sich also stark von den Äschen, welche in den Flüssen des Kantons Aargau vorkommen. **Die Äschen der vier Fischzuchten eignen sich somit nicht für den Besatz der Gewässer im Kanton Aargau.**

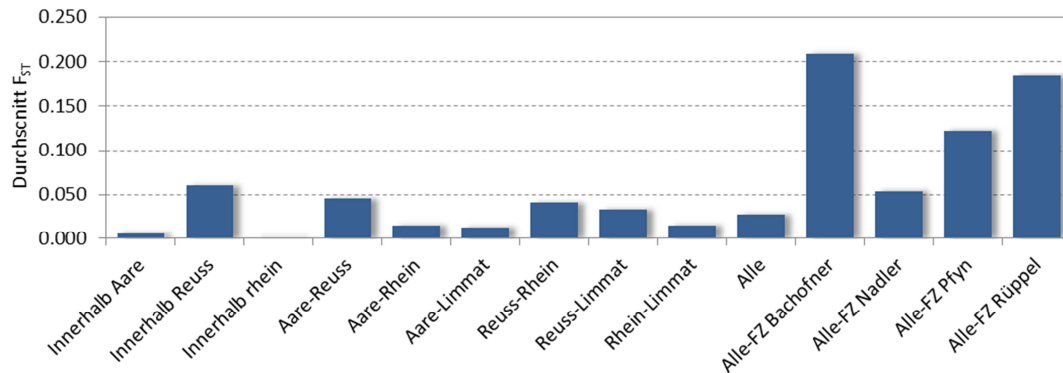


Abbildung 4-1. Durchschnittliche genetische Unterschiede zwischen den Populationen.

Aufbauend auf dieser Erkenntnis stellt sich die Frage, ob überhaupt einzelne in den letzten Jahren besetzte Äschen in den Gewässern überleben konnten und ob genetisch eventuell doch teilweise eine genetische Durchmischung der wilden Populationen mit den eingesetzten Äschen nachweisbar ist. Um dies zu klären wurden die Daten aller Individuen in einer STRUCTURE Analyse [24] zusammengefasst und untersucht. Mit dieser Analyse kann die Anzahl genetischer Gruppen, die sich voneinander unterscheiden, bestimmt werden. Die einzelnen Individuen werden dann anhand der genetischen Information den einzelnen Gruppen zugeteilt. Die Analyse ergab, dass insgesamt 7 genetische Einheiten differenziert werden konnten ( $K=7$ : Abbildung 4-2).

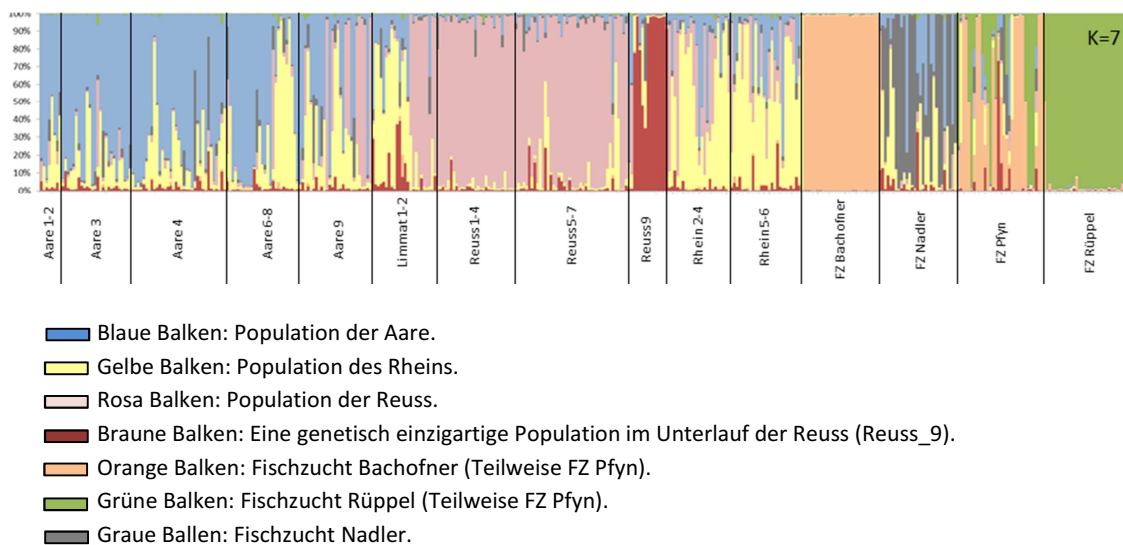


Abbildung 4-2. Resultate der Zuweisungsanalyse für sieben hypothetische Populationen ( $K=7$ ). Die verschiedenen genetischen Gruppen, die identifiziert wurden, sind in unterschiedlichen Farben dargestellt. Jeder vertikale Balken entspricht einem Individuum.

Aus dieser Analyse geht hervor, dass drei genetische Cluster den Gewässern Aare, Reuss, Limmat und Rhein zugeordnet werden können (Blau → Aare, Rosa → Reuss Oberlauf, Gelb → Rhein). In der unteren Aare und im Rhein kann eine genetische Durchmischung der verschiedenen Populationen festgestellt werden. Die beprobten Äschen der Limmat zeigen Anteile von Rhein (Gelb), Reuss Oberlauf (Rosa) sowie etwas Reuss Unterlauf (Rot) auf. Die Äschen der Limmat sind genetisch nah verwandt mit dem Rhein und der Reuss und werden in der Structure Analyse nicht als eigenständiges Cluster aufgetrennt. Wie die paarweisen Vergleiche zeigen, sind die Äschen der jedoch Limmat signifikant von den Äschen der Reuss und des Rheins differenziert (Tabelle 4-1). Die Reuss\_9 Population schliesslich wird als eigene genetische Einheit eingeteilt und ist von allen Aare-, Rhein- und Reusspopulationen relativ stark differenziert (Tabelle 4-1). Auch aus den weiteren Untersuchungen bleibt unklar, weshalb diese Population genetisch so verschieden ist. Es kommen vor allem Familieneffekte in Frage (Vgl. Kapitel 4.2). Wichtig ist die Tatsache, dass es sich beim Sample Reuss\_9 lediglich um 14 Individuen handelt und diese Resultate entsprechend mit Vorsicht zu behandeln sind.

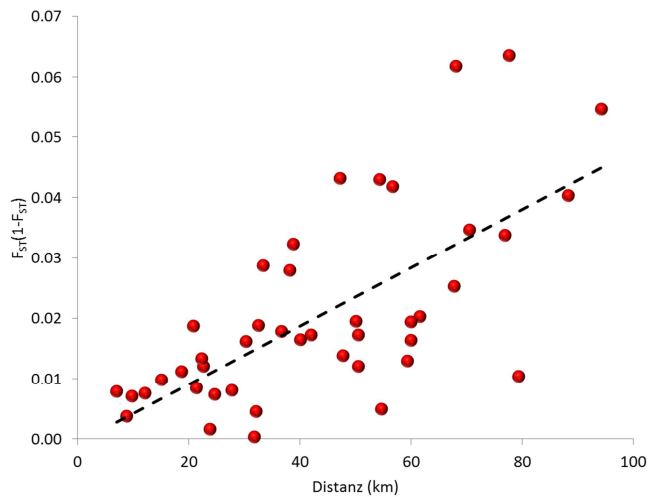
Von den sieben genetisch unterscheidbaren Populationen im gesamten Datensatz können zwei nur in den Zuchten beobachtet werden (Fischzucht Rüppel → Grün und Fischzucht Bachofner → Orange). Die Äschen der Fischzucht Pfyf werden in dieser Analyse der Fischzucht Rüppel und Bachofner zugewiesen. Solche Fische konnten in keiner natürlichen Population nachgewiesen werden, auch keine Hybride oder F2 Nachkommen mit wilden Fischen. Es darf deshalb davon ausgegangen werden, dass besetzte Äschen aus diesen drei Zuchten in den Fließgewässern nicht überleben konnten. Eine einzelne nur mit den Zuchtfischen durchgeführte Analyse zeigt allerdings dass es sich dabei um ein Artefakt der Analyse (weil  $K=7$  a priori festgelegt) handelt. Effektiv sind die Äschen der Fischzucht Pfyf von allen anderen Zuchten stark verschieden und bestehen nicht aus einzelnen Individuen der beiden Fischzuchten Bachofner und Rueppel (Abbildung 9-4).

Schliesslich sind die Äschen der Fischzucht Nadler genetisch den wilden Populationen viel näher verwandt als die anderen Zuchtpopulationen. Dieses Resultat überrascht nicht, da die Elterntiere von einem Laichfischfang im Thurgauer Rhein stammen. Dies ist auch bei der genetischen Zuweisung der einzelnen Besatzfische zu erkennen (gelbe, rote und blaue Balken). Die „grauen“ Individuen, die in der Zucht dominant vertreten sind, sind in den Flüssen des Kantons Aargau jedoch selten und konnten keiner natürlichen Population zugewiesen werden. Es kann hier nicht genau eruiert werden woher die genetischen Unterschiede zu den natürlichen Rheinpopulationen stammen. Diese Äschen eignen sich somit nur für den Besatz wenn tatsächlich nur Elterntiere aus dem Rhein als Elterntiere genutzt werden und Inzuchteffekte (zu wenige gestreifte Elterntiere) verhindert werden.

Da das Äschenbesatzmaterial der Fischzucht Nadler zu einem grossen Teil aus Individuen bestehen, die genetisch nicht mit den im Kanton Aargau einheimischen Äschen verwandt sind (Tabelle 4-1) und zusätzlich aus einer Mischung von Äschen mit unterschiedlichem Ursprung bestehen, eignen sich auch diese nicht für Besatzmassnahmen in Aargauer Gewässern.

Weiter zeigen die Resultate, dass in den einzelnen Gewässern (Aare, Reuss, Rhein und Limmat) genetisch unterscheidbare Populationen leben, die bei der Definition von Bewirtschaftungseinheiten berücksichtigt werden sollten. Im Bereich der Aare-, Limmat- und Reussmündung

(Wasserschloss) vermischen sich diese Populationen allerdings. Eine solche Vermischung im Bereich von Mündungen tritt natürlicherweise auf, aufgrund der kurzen geografischen Distanz zwischen den Probestandorten (Abbildung 3-1). Über alle paarweisen genetischen Vergleiche (ausgenommen Reuss\_09 Sample; N=14) kann eine klare Korrelation zwischen der geografischen Distanz und den jeweiligen genetischen Unterschieden festgestellt werden (Abbildung 4-3).



**Abbildung 4-3.** Mantel Korrelation zwischen der genetischen Distanz und der Gewässerdistanz aller natürlichen/wilden Populationen. Die Reuss\_09 Population wurde bei dieser Analyse ausgenommen (siehe Text).

## 4.2 RESULTATE BASISANALYSEN – GENETISCHE VARIABILITÄT INNERHALB DER POPULATIONEN

**Die Resultate der Basisanalysen zeigen, dass die Fischzuchten Bachofner, Nadler und Rüppel im Vergleich zu den natürlichen Populationen eine geringe genetische Vielfalt aufweisen.**

Als Erstes wurden die erwartete ( $H_E$ ) und beobachtete Heterozygotität ( $H_O$ ) in ARLEQUIN v. 3.5 [23] berechnet. Dabei wird für jeden Locus und über alle Loci für jede Population der Anteil an heterozygoten Individuen berechnet (d.h. Individuen, die zwei verschiedene Allele an einem Locus aufweisen). Anschliessend wird die Abweichung von diesem Erwartungswert (Hardy-Weinberg-Gleichgewicht [25]) für jeden Locus und jede Population in GENEPOP v. 4.2 berechnet [26]. Diese Berechnung überprüft, ob in einer Population zu viele oder zu wenige Heterozygote vorkommen. Die Resultate zeigen, dass die beobachtete Heterozygotität ( $H_O$ ) zwischen 0.559 und 0.829 und die erwartete Heterozygotität ( $H_E$ ) zwischen 0.683 bis 0.859 liegt (Tabelle 4-2). Diese liegen somit leicht höher als in anderen Schweizer Populationen [14]. Wichtig ist, dass vier der untersuchten Populationen signifikant vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWE) abweichen (Limmat\_01-02, Reuss\_01-04, FZ\_Bachofner, FZ\_Pfyn). Da die beobachtete Heterozygotität kleiner war als die erwartete Heterozygotität bedeutet dies, dass entweder die Populationen aus mehreren genetischen Einheiten bestehen (Substruktur innerhalb der Populationen), Null-Allele (aufgrund der Methode nicht beobachtete Allele, die jedoch in Wirklichkeit vorhanden sind) vorliegen, oder dass ein Inzuchtproblem vorliegt.

**Tabelle 4-2.** Basisanalysen der genetischen Daten. N entspricht dem Stichprobenumfang, der untersucht wurde;  $A_N$  entspricht der durchschnittlichen Anzahl beobachteter Allele pro Locus;  $A_R$  entspricht der für den Stichprobenumfang korrigierten durchschnittlichen Anzahl beobachteter Allele pro Locus;  $H_O$  ist die beobachtete und  $H_E$  die erwartete Heterozygotität mit dem dazugehörigen P-Wert für die Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht,  $F_{IS}$  entspricht dem Inzuchtkoeffizient mit dem dazugehörigen P-Wert; Die geschätzte Anzahl nicht beobachteter Allele (Null-Allele), die Anzahl Geschwisterpaare (Vollgeschwister/Halbgeschwister), LD entspricht der Anzahl statistisch signifikanten Assoziationen zwischen den verschiedenen Mikrosatelliten-Loci.

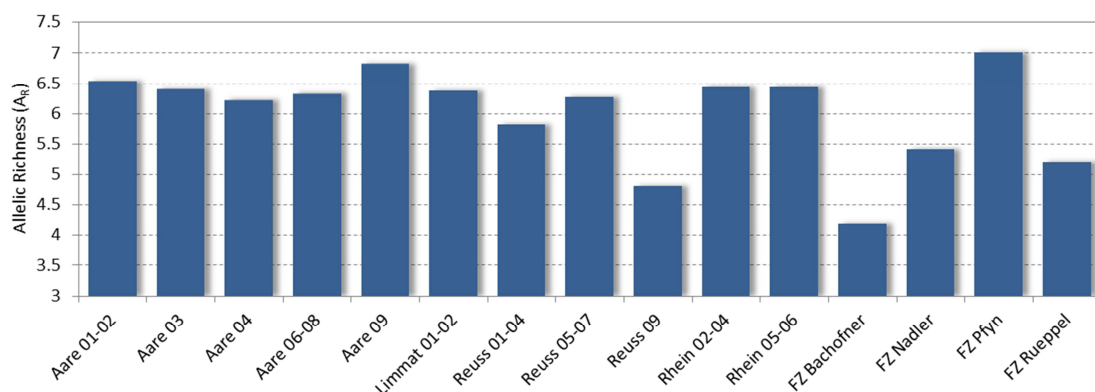
Population	N	$A_N$	$A_R$	$H_O$	$H_E$	P-Wert	$F_{IS}$	P-Wert	Null-Allele	Halbgeschwister		LD (p<0.05)
										p>0.8	p>0.8	
1 Aare_01-02	7	7	6.54	0.771	0.774	0.832	0.004	0.488	0.013	0 (0%)	0 (0%)	4 (8.8%)
2 Aare_03	27	12.5	6.40	0.763	0.768	0.621	0.007	0.418	0.046	14 (3.7%)	0 (0%)	4 (8.8%)
3 Aare_04	35	12.9	6.23	0.740	0.762	0.289	0.029	0.090	0.020	22 (3.49%)	1 (0.16%)	1 (2.2%)
4 Aare_06-08	26	12.5	6.33	0.823	0.799	0.245	-0.03	0.127	0.048	15 (4.27%)	6 (1.71%)	14 (31.1%)
5 Aare_09	28	13.8	6.82	0.783	0.802	0.316	0.024	0.168	0.022	12 (2.96%)	0 (0%)	3 (6.7%)
6 Limmat_01-02	25	12.1	6.37	<b>0.741</b>	<b>0.773</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.035</b>	<b>&lt;0.05</b>	0.031	12 (3.69%)	0 (0%)	3 (6.7%)
7 Reuss_01-04	28	10.3	5.83	<b>0.771</b>	<b>0.778</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.009	0.397	0.008	22 (5.42%)	6 (1.48%)	7 (15.5%)
8 Reuss_05-07	42	13.6	6.27	0.793	0.797	0.328	0.005	0.428	0.114	23 (2.55%)	2 (0.22%)	6 (13.3%)
9 Reuss_09	14	6.7	<b>4.81</b>	0.829	0.713	0.170	<b>-0.169</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.004	1 (0.95%)	<b>10 (9.52%)</b>	<b>20 (44.4%)</b>
10 Rhein_02-04	24	12.3	6.44	0.792	0.793	0.501	0.001	0.517	0.033	11 (3.67%)	0 (0%)	3 (6.7%)
11 Rhein_05-06	26	12.8	6.43	0.761	0.785	0.378	0.032	0.092	0.007	13 (3.7%)	0 (0%)	3 (6.7%)
12 FZ_Bachofner	29	6	<b>4.19</b>	<b>0.559</b>	<b>0.683</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.185</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.000	30 (6.9%)	1 (0.23%)	14 (31.1%)
13 FZ_Nadler	29	10	<b>5.42</b>	0.734	0.718	0.325	-0.023	0.219	0.004	<b>42 (9.66%)</b>	12 (2.76%)	14 (31.1%)
14 FZ_Pfyn	32	14.7	<b>7.00</b>	<b>0.653</b>	<b>0.858</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.243</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.027	26 (4.92%)	1 (0.19%)	44 (97.8%)
15 FZ_Rüppel	32	8.9	<b>5.21</b>	0.747	0.759	0.084	0.016	0.307	0.000	34 (6.44%)	4 (0.76%)	10 (22.2%)
<b>TotaI/Mittel</b>	<b>404</b>	<b>11.1</b>	<b>6.019</b>	<b>0.751</b>	<b>0.771</b>		<b>0.025</b>		<b>0.025</b>			<b>179 (26.5%)</b>

Aufgrund dieses Resultats ist auch nachvollziehbar, dass der Inzuchtkoeffizient ( $F_{IS}$ ) [27], der mit der Software FSTAT v. 2.9.3 [28] berechnet wurde, für die Populationen Limmat 01-02,

FZ\_Bachofner und FZ\_Pfyn positiv und signifikant war. Zusätzlich ist auch der  $F_{IS}$  der Reuss\_09 Population signifikant, aber negativ. Dies weist auf einen Heterozygotie-Überschuss hin, was als Hinweis auf Auszüchtung (Kreuzen mit genetisch fremden Fischen, also das umgekehrte der Inzucht) gewertet werden könnte. Da die Stichprobe in dieser Population klein ist, ist dieses Resultat jedoch mit Vorsicht zu interpretieren. Um zu wissen, ob Null-Allele für die Abweichungen vom Hardy Weinberg Gleichgewicht verantwortlich sind, wurde eine statistische Schätzung der Null-Allele [29] durchgeführt. Diese ergab, dass mit Ausnahme der Reuss\_09 nur wenige Null-Allele vorliegen könnten. Dies kann die starken Abweichungen vom Hardy Weinberg Gleichgewicht in den Zuchtpopulationen nicht erklären und muss deshalb als Hypothese zurückgewiesen werden. Somit sind die Abweichungen von Hardy Weinberg Gleichgewicht entweder auf Inzuchteffekte oder auf Substruktur zurückzuführen.

Weiter wurde überprüft, ob die verschiedenen Mikrosatelliten-Loci physisch auf dem Erbgut assoziiert sind (Linkage disequilibrium, LD). Eine physische Assoziation ist vorhanden, wenn zwei oder mehr Loci nah zueinander auf dem DNS-Strang liegen. Diese Assoziation müsste in diesem Fall in allen Populationen ersichtlich sein. Wenn dies der Fall ist, dann beinhalten gelinkte Loci die gleiche populationsgenetische Information und nur ein Locus dürfte für weitere Auswertungen verwendet werden. Diese Analyse ist aber ebenfalls sensitiv, wenn Substruktur oder Familieneffekte in einer Population vorhanden sind. Dann sollten die Abweichungen jedoch nur in den Populationen mit Substruktur, Inzucht oder Familieneffekten beobachtet werden. Diese Berechnung wurde im Programm ARLEQUIN v 3.5 [23] durchgeführt. Ein gehäuftes Auftreten von LD konnte in den vier Zuchten, in der Aare\_06-08 und in der Reuss\_09 beobachtet werden (Tabelle 4-2). Die Abweichungen können in der Tat überwiegend auf **Familieneffekte (Reuss\_09, Fischzucht Nadler) und Substruktur (Fischzucht Nadler, Fischzucht Pfyn, Aare\_06-08) und Inzucht (FZ Bachofner, FZ Pfyn)** zurückgeführt werden (Tabelle 4-2). Es bestand daher kein Anlass einen Locus aus den Auswertungen auszuschliessen.

Anschliessend wurde die genetische Variabilität innerhalb der Populationen mit zwei verschiedenen Methoden bestimmt. Erstens wurde für jede Population die durchschnittliche Anzahl der pro Locus beobachteten Allele bestimmt ( $A_N$ ) und zweitens wurde diese Anzahl für die unterschiedlichen Stichprobenumfänge korrigiert ( $A_R$ ). Die Anzahl beobachteter Allele ( $A_N$ ) reichten von 6 bis 14.7 und die korrigierte Anzahl Allele ( $A_R$ ) von 4.189 bis 7.005 (Tabelle 4-2, Abbildung 4-4). Auffällig ist, dass die **genetische Variabilität in den Zuchten Bachofner, Nadler und Rüppel niedriger ist als in den natürlichen Populationen (Ausnahme Reuss\_09)**.



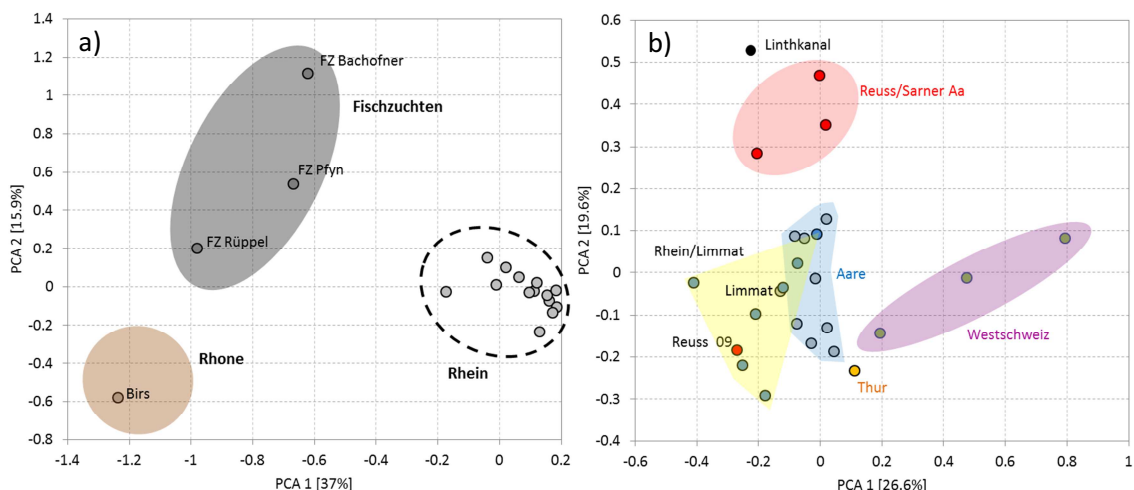
**Abbildung 4-4.** Anzahl Allele korrigiert für die Stichprobenzahl (Allelic Richness  $A_R$ ) für die verschiedenen Populationen.

Schliesslich wurde anhand der genetischen Daten die Anzahl Vollgeschwister (gleiche Eltern) und Halbgeschwister (ein Elternteil gleich) geschätzt. Dabei hat sich herausgestellt, dass die **Anzahl Vollgeschwister in der Reuss-09 Population sehr hoch** war. Dies könnte demzufolge die aussergewöhnlichen Structure Resultate (eigenes genetisches Cluster) und die signifikanten genetischen Unterschiede zu den anderen Reuss Samples erklären. Weiter sind in vielen Populationen aber auch in den Zuchten die Anzahl Halbgeschwister relativ hoch. Dies überrascht allerdings weder in den Zuchten noch in den wilden Populationen da vorwiegend Jungfische untersucht wurden und stellt in diesem Ausmass ausser bei der Reuss\_09 kein Problem dar.

### 4.3 VERGLEICH MIT DER GESAMTSCHWEIZERISCHEN STUDIE

**Der Vergleich mit anderen Schweizer Populationen bestätigt, dass die drei Fischzuchten Bachofner, Pfynd und Rüppel mit Äschen arbeiten, die nicht aus dem Schweizer Einzugsgebiet stammen und somit für Besatzmassnahmen ungeeignet sind und gemäss geltender Gesetzgebung und dem Besatzkonzept des Kantons Aargau nicht zulässig sind. Die Resultate bestätigen auch, dass im Kanton Aargau verschiedene genetisch identifizierbare Äschenpopulationen leben und sich die Ergebnisse der vorliegenden Studie sehr gut in die Resultate der schweizweiten Äschengenetikstudie des Bundes einfügen.**

Für den Vergleich mit den Daten aus der gesamtschweizerischen Äschenstudie [14] wurden die Häufigkeiten der Allele aller Loci in einer Hauptkomponentenanalyse (PCA) untersucht. Dargestellt werden die ersten 2 Achsen, die den grössten genetischen Unterschieden zwischen den Populationen entsprechen. Die Varianz der Allelfrequenzen, die durch die ersten zwei Hauptkomponenten erklärt wird, ist in Prozent angegeben. Die Analyse bestätigt, dass die drei Fischzuchten Bachofner, Pfynd und Rüppel mit Äschen arbeiten, die nicht aus dem Schweizer Einzugsgebiet stammen und somit für Besatzmassnahmen ungeeignet und gemäss geltender Gesetzgebung (Art. 6 Abs. 2 VBGF) und dem Besatzkonzept des Kantons Aargau nicht zulässig sind (Abbildung 4-5a). Die Positionen der natürlichen Populationen fügen sich gut in die Nähe (d.h. nah verwandt) mit den Referenzpopulationen des Rheineinzugsgebiets der nationalen Äschengenetikstudie des Bafu ein (Abbildung 4-5a). Die auffallende Position (grosse genetische Distanz) der Birspopulation lässt sich dadurch erklären, dass dieser obere Birsabschnitt, in welchem keine ursprünglichen einheimischen Äschen mehr vorkamen, mit Äschen des nahegelegenen Doubs aus dem Rhoneeinzugsgebiet besetzt wurden [15].

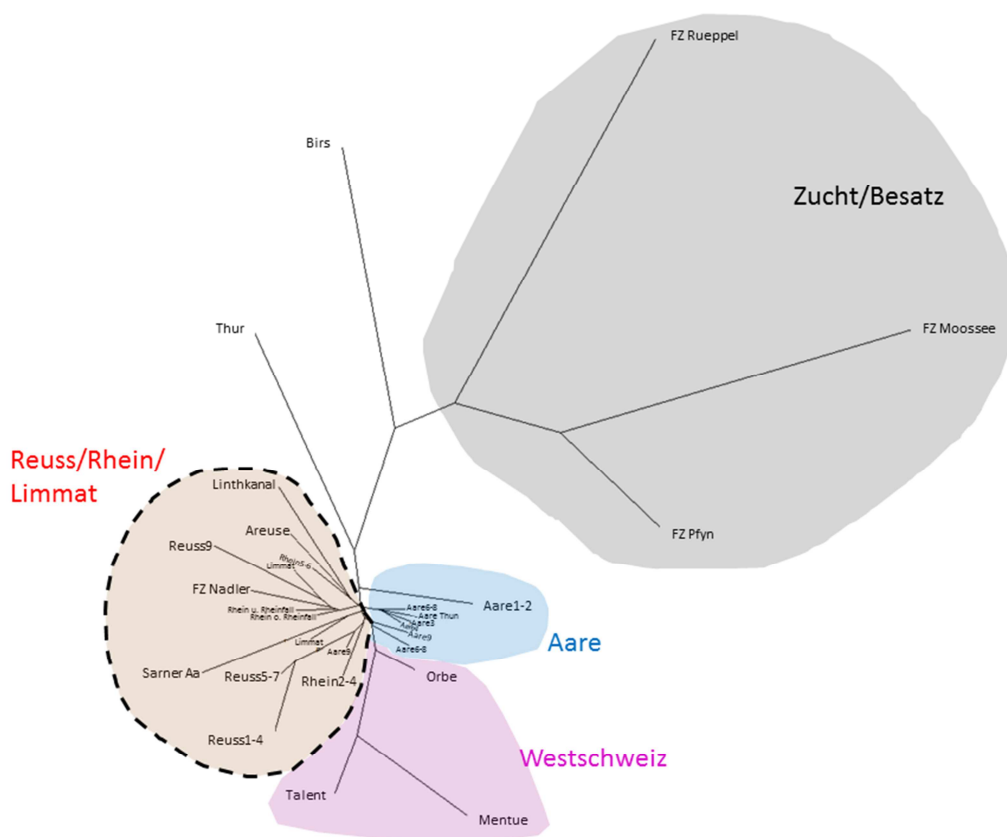


**Abbildung 4-5.** Hauptkomponentenanalyse der Äschenpopulationen der Schweiz. a) mit allen Populationen; b) ohne die vier Ausreisserpopulationen FZ\_Bachofne, FZ\_Pfynd, FZ\_Rüppel und Birs.

Weiter bestätigt die Analyse, dass in der Schweiz mehrere genetisch stark differenzierte Äschenpopulationen leben (Abbildung 4-5b, Tabelle 9-5). Die verschiedenen Populationen eines Gewässersystems clustern jeweils gut zusammen (Aare, Rhein, Reuss). Man erkennt also sehr gut, dass sich die gefundenen genetischen Daten der vorliegenden Studie gut ins Bild der

Ergebnisse der nationalen Studie des Bundes, selbst auf kleinem geografischem Raum der einzelnen Gewässersysteme, einfügen.

Eine andere Möglichkeit die Verwandtschaften von Populationen darzustellen ist ein genetischer Stammbaum. Dabei werden die paarweisen genetischen Unterschiede zwischen den einzelnen Populationen verwendet (Abbildung 4-6). Die Länge des einzelnen Astes des Baumes entspricht dem genetischen Unterschied zu den anderen Populationen. Je näher die Populationen im Stammbaum bei einander liegen, desto näher verwandt sind die Populationen miteinander. Der genetische Stammbaum bestätigt die Resultate der Hauptkomponentenanalyse in groben Zügen. Die Auflösung innerhalb des Aare-Rhein-Reuss-Limmat Clusters ist allerdings nicht sauber, da für diese Analyse eigentlich zu wenig Loci ( $n=5$ ) für die Berechnung vorhanden sind. Hier eignen sich die detaillierten paarweisen  $F_{ST}$  Werte besser für die Interpretation der Resultate (Tabelle 9-5).



**Abbildung 4-6.** Phylogenetischer Baum basierend auf der Cavalli-Sforza Distanz ( $D_C$ ) und konstruiert anhand der Allelfrequenzen von fünf Mikrosatelliten Loci.



## 5 DEFINITION DER BEWIRTSCHAFTUNGSEINHEITEN

Um die Bewirtschaftungseinheiten für die Äschen im Kanton Aargau zu definieren wurde zuerst die genetische Populationszuweisung der Individuen ohne a priori geografische Information verwendet. Dies verhindert, dass Populationen aufgrund sehr kleiner und nicht relevanter aber knapp signifikanter genetischer Unterschiede definiert werden. Erst anschliessend wurde die geografische Verteilung der einzelnen genetischen Einheiten berücksichtigt.

Die individuelle Zuweisungsanalyse (Structure) konnte drei natürliche genetische Populationen identifizieren. Diese konnten den Gewässern Aare, Reuss und Rhein zugeordnet werden, welche folglich drei separate Bewirtschaftungseinheiten bilden. In dieser Analyse wurde allerdings auch ersichtlich, dass im Bereich des Wasserschlosses, also des Mündungsbereiches der Reuss, der Limmat und der Aare eine genetische Durchmischung, also ein erhöhter Genfluss zwischen den verschiedenen Äschenpopulationen stattfindet. Nichtsdestotrotz sind die Fische in den oberen Läufen der Reuss, der Aare und des Rheins genetisch stark von den jeweiligen anderen Flüssen differenziert (Tabelle 4-1), was bei der Bewirtschaftung berücksichtigt werden muss.

Im unteren Teil der Limmat konnte in der Structure Analyse keine eigenständige Population nachgewiesen werden (Abbildung 4-2). Aus dem Oberlauf der Limmat standen abgesehen von solchen aus dem Linthkanal oberhalb des Zürichsees leider keine Proben zur Verfügung. Die Proben aus dem Linthkanal differenzieren sich genetisch ebenfalls stark von allen anderen Populationen. Es wird daher vermutet, dass auch in der Limmat oberhalb der Kantonsgrenze noch eine eigenständige Äschenpopulation vorkommt. Ebenfalls zeigen die paarweisen Vergleiche, dass sich die Limmatpopulation genetisch signifikant von den Aare-, Rhein- und Reusspopulationen unterscheiden (Tabelle 4-1). Aus diesen Gründen wird empfohlen, auch die Limmat als eigene Bewirtschaftungseinheit zu definieren und folglich separat zu bewirtschaften.

Die genetische eigenständige Reusspopulation im Unterlauf (Reuss\_09) ist mit Familieneffekten behaftet und besteht auch nur aus 14 Individuen. Es wäre zwar gut möglich, dass sich dieses Signal einer vorhandenen Substruktur in der Reuss mit zwei eigenständigen und genetisch differenzierten Äschenpopulationen durch zusätzliche Probennahmen bestätigen würde, aber aufgrund der vorliegenden Daten darf in der Reuss nur eine Bewirtschaftungseinheit definiert werden.

Anzumerken bleibt, dass anthropogene Wanderhindernisse den natürlichen Genfluss beeinflussen können. Aus diesem Grunde wurden kleine genetische Unterschiede innerhalb der grösseren Gewässer nicht berücksichtigt und der Bereich des Wasserschlosses nicht als eigene Bewirtschaftungseinheit definiert. Basierend auf diesen Ausführungen können für die Bewirtschaftung der Äschen im Kanton Aargau mit den heute vorliegenden Kenntnissen folgende Bewirtschaftungseinheiten definiert werden (Abbildung 5-1):

- Aare
- Reuss
- Rhein
- Limmat

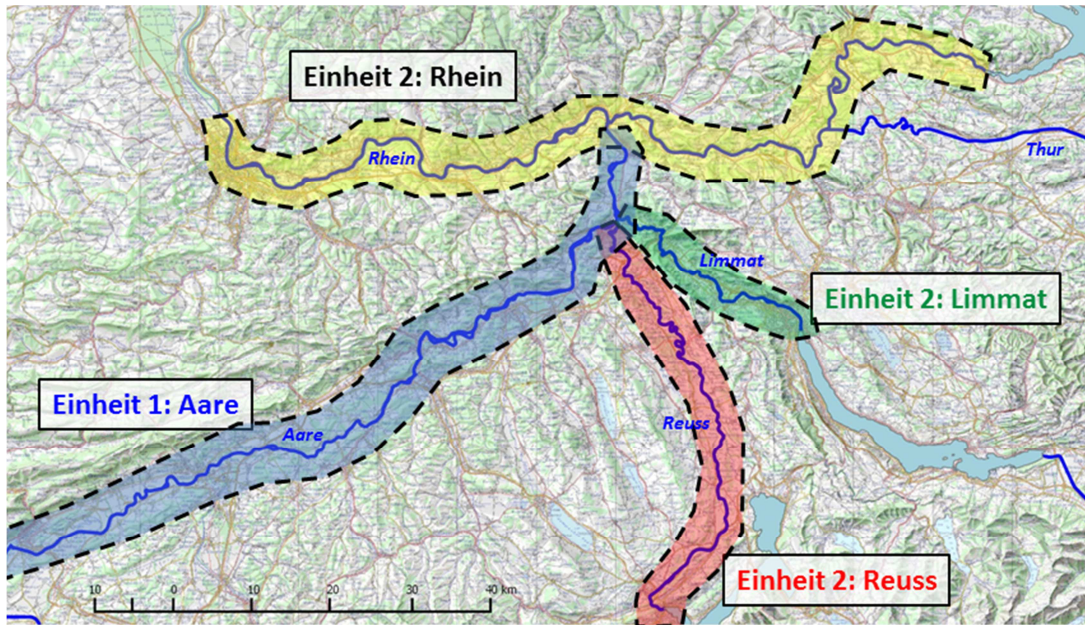


Abbildung 5-1. Bewirtschaftungseinheiten die aufgrund von genetischen Daten definiert wurden.

## 6 SCHLUSSFOLGERUNGEN

Wird eine Besatzmassnahme durchgeführt, ist es wichtig, ein allgemeines Ziel (Initialbesatz, Ertragsbesatz, Attraktivitätsbesatz, Kompensationsbesatz, Manipulationsbesatz) zu definieren [30]. Wissenschaftlich ist erwiesen, dass eine nachhaltige Verbesserung der Fischbestände in den allermeisten Fällen nur durch einen Initialbesatz erreicht werden kann [30], also erst nach dem Aussterben einer lokalen Population und erst wenn die dem Aussterben zugrunde liegenden Probleme behoben wurden und entsprechend keine Konkurrenz zwischen den eingesetzten und wilden Fischen aus der Naturverlaichung besteht. Alle weiteren Besatzmassnahmen und deren Ziele müssen hinterfragt werden [30]. Risiken wie die Verbreitung von Krankheiten und der Verlust lokaler Anpassung werden bei Besatzmassnahmen oft nicht berücksichtigt. Auch bei Wiederansiedlungsprojekten (Initialbesatz) sollte eine sorgfältige strategische Planung und eine Risiko/Nutzen-Abwägung durchgeführt werden [31]. Dabei ist wichtig, dass die Wiederansiedlungsmassnahmen nur getroffen werden, wenn eine natürliche Besiedlung unwahrscheinlich erscheint, was vor allem nach Gewässerverschmutzungen mit Fischsterben berücksichtigt werden sollte.

Die genetische Untersuchung der Äschen im Kanton Aargau und des aus den Zuchten stammenden Besatzmaterials liefert zwei fundamentale Erkenntnisse für die Bewirtschaftung:

- Es konnten bei den in den Aargauern Gewässern gefangenen Äschen keine genetischen „Rückstände“ der besetzten Fische nachgewiesen werden. Es kann deshalb davon ausgegangen werden, dass der Besatz mit Fischen aus den genetisch stark verschiedenen Zuchtstämmen (Pfy, Rüppel, Bachofner) nicht erfolgreich war. Dies hat den Vorteil, dass die lokal angepassten Populationen erhalten blieben und nicht durch Hybridisierung (genetische Vermischung zwischen den Besatzfischen und der lokalen einheimischen Population) beeinträchtigt wurden.
- Vier Bewirtschaftungseinheiten konnten für die Äschen im Kanton Aargau definiert werden. Es muss davon ausgegangen werden, dass sich innerhalb dieser Populationen Anpassungen an die jeweiligen Gewässer entwickelt haben. Im Rahmen einer nachhaltigen Bewirtschaftung gemäss kantonalem Besatzkonzept und geltender Gesetzgebung sollten diese Einheiten deshalb berücksichtigt werden.

**Es wird empfohlen, auf weitere Besatzmassnahmen mit Äschen aus nicht einmischen Populationen (Zum Bsp. Fischzuchten Bachofner, Pfy und Rüppel) zu verzichten. Sollten Besatzmassnahmen weiterhin durchgeführt werden, dann sollte Besatzmaterial aus den vier Bewirtschaftungseinheiten gewonnen werden.**

Die Fischzucht Nadler bezieht Ihre Fische aus dem Rhein. Diese Fische sind somit im Prinzip für den Besatz im Rhein geeignet. Bei den uns vorliegenden Fischen wurden allerdings relativ grosse genetische Unterschiede zu den wilden Population im Rhein gefunden. Es muss hier abgeklärt werden weshalb dies der Fall sein könnte und die Ursachen beseitigen. Diese Äschen eignen sich somit nur für den Besatz wenn tatsächlich nur Elterntiere aus dem Rhein als Elterntieren genutzt werden und Inzuchteffekte (zu wenige Elterntiere) verhindert werden.

### Die anfangs gestellten Fragen können somit wie folgt beantwortet werden

- Gibt es zwischen Äschen der verschiedenen Flüsse im Kanton Aargau genetische Unterschiede? (Definition von Bewirtschaftungseinheiten der Äsche im Kanton Aargau).  
→ **JA**
- Sind die aus den privaten Fischzuchten stammenden Äschen für Besatzmassnahmen geeignet? (Bezogen auf die Gesetzgebung und das Besatzkonzept?) → **Die Fische aus der Fischzucht Nadler sind mit Vorbehalten für den Besatz im Rhein geeignet. Die Fische der anderen Zuchten nicht.**
- Können die wilden Äschen aus Anglerfängen und dem Äschenmonitoring (teilweise) dem Besatzmaterial zugeordnet werden? → **NEIN**
- Können negative genetische Konsequenzen der bisher durchgeführten Besatzmassnahmen festgestellt werden? → **NEIN**
- Passen die Ergebnisse der untersuchten Äschen dieser Studie aus dem Kanton Aargau zur nationalen Äschengenetikstudie? → **JA**

## 7 GLOSSAR

Begriff	Beschreibung
<b>Allel</b>	Ein Allel bezeichnet eine mögliche Ausprägung eines Gens, das sich an einem bestimmten Ort auf einem Chromosom befindet. Im Fall der Mikrosatelliten werden die unterschiedlichen Fragmentlängen als Allele bezeichnet (Siehe Abbildung 9-1).
<b>Allelfrequenzen</b>	Die Häufigkeit des Allels innerhalb einer Population von mehreren Individuen.
<b>Chromosom</b>	Ein fadenförmiges Gebilde, welche das Erbgut eines Lebewesens trägt und in jedem Zellkern vorhanden ist. Die Äsche hat jeweils zwei Kopien jedes Chromosoms.
<b>Desoxyribonukleinsäure (DNS)</b>	Die Desoxyribonukleinsäure ( <b>DNS</b> ) ist ein Makromolekül, das die Erbinformation enthält. Die <b>DNS</b> ist zusammengesetzt aus den chemischen Elementen Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff, Sauerstoff und Phosphor. Im Sprachgebrauch wird häufig die Abkürzung <b>DNS</b> verwendet, die sich vom englischen Begriff Deoxyribonucleic Acid ableitet.
<b>Diploid</b>	Ein Individuum mit jeweils zwei Kopien des Gens.
<b>Elektropherogramm</b>	Ein Elektropherogramm ist eine graphische Darstellung von Resultaten einer Elektrophorese-Analyse (z.B. <b>DNS</b> -Sequenzierung).
<b>F<sub>IS</sub></b>	Der F <sub>IS</sub> wird auch Inzuchtkoeffizient genannt. Es handelt sich um den Anteil an der Varianz der Allelfrequenzen, die innerhalb der Individuen liegt. Ein hoher F <sub>IS</sub> Wert weist auf Inzucht hin. Vereinfacht ausgedrückt bedeutet dies, dass die berechneten Werte zwischen 0 (keine Inzucht) und 1 (maximale Inzucht) liegen.
<b>F<sub>ST</sub></b>	Der F <sub>ST</sub> beschreibt den Anteil an der Varianz in Allelfrequenzen, der durch die Einteilung der Individuen in verschiedene Populationen erklärt wird [27]. Vereinfacht ausgedrückt bedeutet dies, dass die berechneten Werte zwischen 0 (die Populationen sind identisch) und 1 (die Populationen sind komplett verschieden) liegen.
<b>Genom/Erbgut</b>	Als Genom, auch Erbgut eines Lebewesens, bezeichnet man die Gesamtheit der materiellen Träger der vererbaren Informationen einer Zelle.
<b>Hardy-Weinberg Gleichgewicht (HWE)</b>	Das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht ist ein Begriff der Populationsgenetik. Zur Berechnung dieses mathematischen Modells ergibt sich für jede beliebige Genotypverteilung der Elterngeneration eine nur von den Allelfrequenzen abhängige Genotypverteilung der ersten Tochtergeneration, die sich in den folgenden Generationen nicht mehr ändert. Abweichungen von diesem Gleichgewicht weist entweder auf Inzucht, Familieneffekt, oder auf genetische Substruktur (mehrere genetische differenzierte Populationen, auch Wahlund Effekt genannt) hin.
<b>Heterozygotität</b>	Die Heterozygotität ist ein Wert, der den Anteil an Heterozygoten in einer Population bestimmt (Anzahl Heterozygote/(Anzahl Heterozygote+Anzahl Homozygote)) und liegt zwischen 0 und 1.
<b>Heterozygot</b>	Wenn bei einem Diploiden Locus zwei Allele vorhanden sind (Siehe Abbildung 9-1).
<b>Homozygot</b>	Wenn bei einem Diploiden Locus nur ein Allel vorhanden ist (zwei Kopien des gleichen Allels, siehe Abbildung 9-1).
<b>Inzucht</b>	Fortpflanzung unter Tieren von nahem Verwandtschaftsgrad.
<b>Linkage Disequilibrium</b>	Eine nicht zufällige Assoziation von Allelen in verschiedenen Loci. Ein Vorliegen einer solchen Assoziation entsteht zum Beispiel wenn zwei Loci auf einem Chromosom sehr nahe beieinander liegen und somit zusammen als eine Einheit vererbt werden.
<b>Lokus/Loci</b>	Ein Locus (Mehrzahl: Loci) beschreibt einen Standort auf einem Chromosom im Genom (z.B. ein Gen oder ein Mikrosatellit).
<b>Mikrosatellit</b>	Ein Mikrosatellit ist ein Locus auf dem Genom, in dem sich kurze <b>DNS</b> -Sequenzen oft wiederholen (z. Bsp. 3' AT AT AT AT AT AT AT AT AT AT AT AT AT AT AT AT - 5').
<b>Mutation</b>	Als Mutation bezeichnet man jede Veränderung im genetischen Material, die auf die Tochterzellen vererbt wird bzw. vererbt werden könnte.

Begriff	Beschreibung
<b>Mutationsrate</b>	Die Häufigkeit, mit der eine Mutation spontan auftritt oder erzeugt werden kann.
<b>Null-Allele</b>	Allele, die in der Population eigentlich vorhanden sind, aber nicht beobachtet wurden.
<b>Polymerase Kettenreaktion (PCR)</b>	Die Polymerase-Kettenreaktion (englisch Polymerase Chain Reaction, PCR) ist eine Methode, um die Erbsubstanz DNS in vitro zu vervielfältigen. Dazu wird ein Enzym verwendet, die DNS-Polymerase. Der Begriff „Kettenreaktion“ beschreibt in diesem Zusammenhang die Tatsache, dass die Produkte vorheriger Zyklen als Ausgangsstoffe für den nächsten Zyklus dienen und somit eine exponentielle Vervielfältigung ermöglichen.
<b>Population</b>	Gruppe von Individuen in einem bestimmten (zusammenhängenden) Gebiet, die sich sexuell miteinander fortpflanzen oder zumindest miteinander fortpflanzen könnten.
<b>Populationsgenetik</b>	Zweig der genetischen Forschung, der sich insbesondere mit dem Austausch und der Dynamik der Erbanlagen auf dem Niveau ganzer Populationen beschäftigt und die Wirkungen von Selektion und Mutation auf die genetische Zusammensetzung der Populationen studiert.
<b>Primer</b>	Im Zusammenhang mit der Polymerasekettenreaktion (PCR): Ein Primer ist ein kurzes Stück <b>DNS</b> (ein Oligonukleotid), das der <b>DNS</b> -Polymerase als Startpunkt für die Synthese von <b>DNS</b> dient. Primer besitzen in der Regel eine Länge von 18 bis 30 Basenpaaren.
<b>Proteinase K</b>	Proteinase K ist ein Enzym aus dem Schlauchpilz <i>Tritirachium album</i> . Das Enzym greift Peptidbindungen der Proteine an. Proteinase K wird für den Abbau von Proteinen in Zellysaten und zur Freisetzung von Nukleinsäuren verwendet.
<b>Triploid</b>	Ein Individuum mit jeweils drei Kopien des Gens.
<b>Zentrifugation</b>	Auftrennung suspendierter Teilchen mit Hilfe der Zentrifugalkraft. Die Geschwindigkeit der Sedimentation der Einzelkomponenten hängt ab von der Teilchen- und Flüssigkeitsdichte bzw. der Teilchenform und -größe sowie der Flüssigkeitsviskosität.

## 8 LITERATURVERZEICHNIS

1. Kirchhofer, A., M. Breitenstein, & B. Zaugg, 2007. *Rote Liste Fische und Rundmäuler.*, Bern: Bundesamt für Umwelt, Wald und Landschaft BUWAL.
2. Huet, M., 1949. *Aperçu des relations entre la pente et les populations piscicoles des eaux courantes.* Revue Suisse d'Hydrologie. **11**: p. 332-351.
3. Persat, H., 1988. *De la biologie des populations de l'ombre commun Thymallus thymallus (L. 1758) à la dynamique des communautés dans un hydrosystème fluvial aménagé, le Haut-Rhône français. Elements pour un changement d'échelles.*, Université Claude-Bernard: Lyon. p. 223.
4. Dujmic, A., 1997. *Der vernachlässigte Edelfisch: Die Äsche. Status, Verbreitung, Biologie, Ökologie und Fang.*, Wien: Facultas Universitätsverlag. 111.
5. Kraiem, M. & E. Pattee, 1980. *La tolérance à la température et au déficit en oxygène chez le barbeau (Barbus barbus L.) et d'autres espèces provenant des zones piscicoles voisines.* Archiv für Hydrobiologie. **88**(2): p. 250-261.
6. Hellawell, J.M., 1971. *The food of the grayling Thymallus thymallus (L.) of the River Lugg, Herefordshire.* Journal of Fish Biology. **3**(2): p. 187-197.
7. Paquet, G., 2002. *Biologie et écologie de l'ombre commun (Thymallus thymallus L.) dans l'Orbe à la Vallée de Joux, canton de Vaud, Suisse.* , in Faculté des sciences, Université de Lausanne: Lausanne.
8. Guthruf, J., 1996. *Populationsdynamik und Habitatwahl der Äsche (Thymallus thymallus L.) in drei verschiedenen Gewässern des schweizerischen Mittellandes.* , ETH Zürich: Zürich.
9. Gmünder, R., 2002. *Erfolgskontrolle zum Fischbesatz in der Schweiz*, in MITTEILUNGEN ZUR FISCHEREI NR. 71 Bundesamt für Umwelt: Bern.
10. Eckmann, R., M. Kugler, & C. Ruhle, 2007. *Evaluating the success of large-scale whitefish stocking at Lake Constance*, in *Biology and Management of Coregonid Fishes - 2005*, M. Jankun, et al., Editors. E Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung: Stuttgart. p. 361-368.
11. Araki, H. & C. Schmid, 2010. *Is hatchery stocking a help or harm? Evidence, limitations and future directions in ecological and genetic surveys.* Aquaculture. **308**: p. 2-11.
12. Steffens, W., 1995. *Yield and stocking of vendace (Coregonus albula) in northeast Germany* ERGEBNISSE DER LIMNOLOGIE. **46**: p. 405-412.
13. Largiader, C.R. & D. Hefti, 2002. *Genetische Aspekte des Schutzes und der nachhaltigen Bewirtschaftung von Fischarten*, in MITTEILUNGEN ZUR FISCHEREI NR. 73, Bundesamt für Umwelt: Bern.
14. Cattaneo, F., et al., 2011. *Caractérisation génétique des populations d'ombre commun (Thymallus thymallus) de Suisse et France transfrontalière.*
15. Vonlanthen, P. & W. Salzburger, 2010. *Populationsgenetische Untersuchung der Äschen in der Birs*, Universität Basel: Basel.
16. Vonlanthen, P., Y. Marbach, & O. Seehausen, 2010. *Genetische Differenzierung der Äschen im Kanton St. Gallen*, EAWAG, Editor, EAWAG: Kastanienbaum.
17. Milot, E., et al., 2013. *Reduced fitness of Atlantic salmon released in the wild after one generation of captive breeding.* Evolutionary Applications. **6**(3): p. 472-485.
18. Frankham, R., J.D. Ballou, & D.A. Briscoe, 2002. *Introduction to Conservation Genetics.* Cambridge, : Cambridge University Press.
19. Cattaneo, F., et al., 2011. *Caractérisation génétique des populations d'ombre commun (Thymallus thymallus) de Suisse et France transfrontalière.* , hepia, Haute école du paysage, d'ingénierie et d'architecture de Genève.: Genève.
20. BAFU, 2010. *Fischbesatz 2009 in die schweizerischen Seen und Fliessgewässer*, V. Eidgenössisches Departement für Umwelt, Energie und Kommunikation UVEK, Editor, Bundesamt für Umwelt: Ittigen. p. 1.

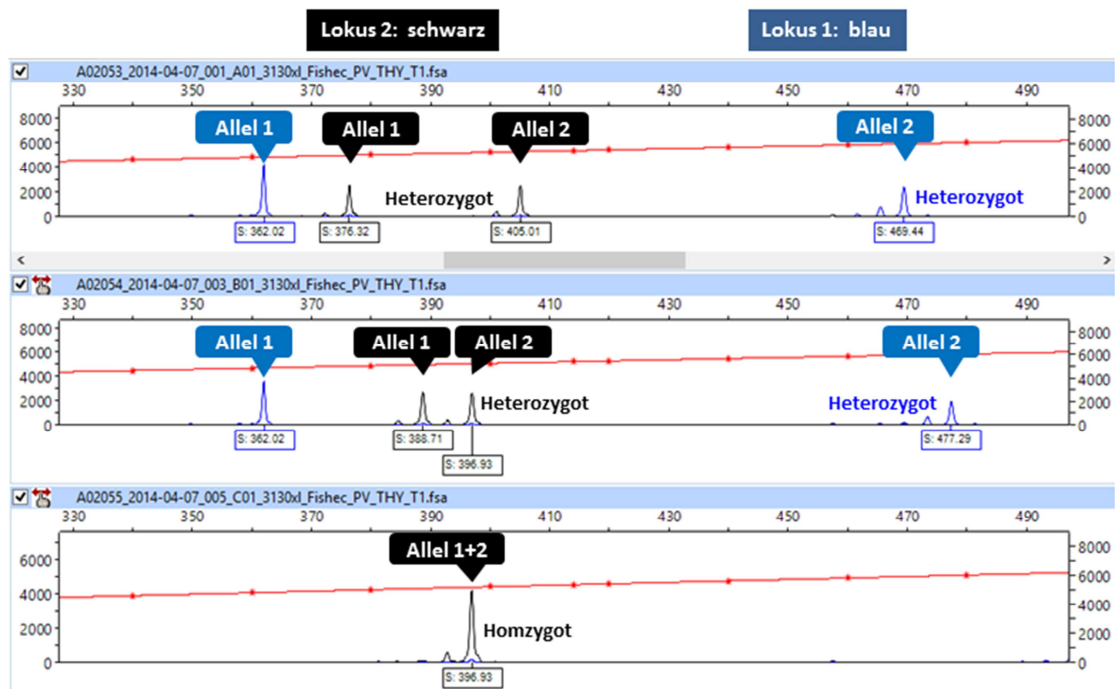
21. Aargau, K., 2011. *Fischbesatz im Kanton Aargau - Besatzkonzept*, K. Aargau, Editor, Departement Bau, Verkehr und Umwelt - Abteilung Wald: Aarau.
22. Ortlepp, J., 1997. *Fischereilicher Hegeplan Wutach*, HYDRA: Konstanz. p. 31.
23. Excoffier, L. & H. Lischer, 2010. *Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows*. *Molecular Ecology Resources*. **10**: p. 564-567.
24. Pritchard, J.K., M. Stephens, & P. Donnelly, 2000. *Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data*. *Genetics*. **155**: p. 945-959.
25. Guo, S. & E. Thompson, 1992. *Performing the Exact Test of Hardy-Weinberg Proportion for Multiple Alleles*. *Biometrics*. **48**: p. 361-372.
26. Rousset, F., 2008. *GENEPOP'007: a complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux*. *Molecular Ecology Resources*. **8**: p. 103-106.
27. Weir, B. & C. Cockerham, 1984. *Estimating F-Statistics for the analysis of population structure*. *Evolution*. **38**(6): p. 1358-1370.
28. Goudet, J. *FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3)*. 2001; Available from: <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>.
29. Chapuis, M. & A. Estoup, 2007. *Microsatellite Null Alleles and Estimation of Population Differentiation*. *Mol. Biol. Evol.* **24**(3): p. 621-631.
30. Holzer, G., et al., 2003. *Fischereiliche Bewirtschaftung heute - vom klassischen Fischbesatz zum ökologischen Fischereimanagement*, in Projekt «Netzwerk Fischrückgang Schweiz», EAWAG: Kastanienbaum,.
31. IUCN/SSC, 2013. *Guidelines for Reintroductions and Other Conservation Translocations. Version 1.0.*, IUCN Species Survival Commission: Gland, Switzerland. p. 57.
32. Aljanabi, S. & I. Martinez, 1997. *Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques*. *Nucleic Acids Research*. **25**(22): p. 4692-4693.



## 9 ANHANG

### 9.1 ALLGEMEINES ZUR METHODE

Um die genetischen Unterschiede und Verwandtschaften zwischen verschiedenen Populationen oder Arten zu prüfen, werden häufig so genannte Mikrosatelliten angewandt. Diese sind für populationsgenetische Untersuchungen nützlich, da sie selektiv meistens neutral sind und eine hohe Mutationsrate aufweisen, sodass sie auch rezente Ereignisse im Genom reflektieren können. In der vorliegenden Studie wurden 12 solche Mikrosatelliten-Loci untersucht. Da das Genom der Äschen diploid ist, kommen alle Mikrosatellitenloci zweimal im Genom vor. Man nennt jede einzelne dieser Kopien ein Allel (Abb. 35). Mit der Zeit sammeln sich in einer Population viele verschiedene Allele an, die sich in der Anzahl der Repetitionen unterscheiden. Mit der Information über die Verteilung dieser Allele in den verschiedenen Populationen kann man prüfen, ob sie sich genetisch voneinander unterscheiden oder nicht, ob und wie viel Genaustausch es gibt und wie die Verwandtschaftsverhältnisse zwischen den Populationen aussehen.



**Abbildung 9-1.** Beispiel des Elektropherogramms von zwei Mikrosatelliten Loci (blau und schwarz gefärbt). Beim Locus 1 kann man erkennen dass jeweils zwei unterschiedliche Allele in jedem Individuum vorhanden sind, d.h. die beiden Individuen sind an diesem Loci heterozygot. Beim Locus 2 ist das unterste Individuum homozygot, d.h. es besitzt zweimal dasselbe Allel. Die Individuen 1 und 2 haben zwei verschiedene Allele und sind somit heterozygot.

## 9.2 AUSWAHL DER MARKER

Die Resultate der Untersuchung der Äschen im Kanton Aargau sollten mit den Resultaten und den Daten der gesamtschweizerischen Studie [19] verglichen werden. Aus diesem Grunde wurden die gleichen Mikrosatelliten Loci verwendet. Die Informationen zu den Loci wurden von Steven Weiss von der Universität Graz zur Verfügung gestellt. In einem ersten Schritt mussten die DNS-Amplifikationsprotokolle (Polymerase Kettenreaktion PCR) etabliert werden. Dazu muss die Funktionalität der Primer getestet werden. Ein Primer ist eine kurze DNS-Sequenz, die direkt vor und nach den gesuchten Mikrosatellitenloci liegt und verwendet wird, um die Mikrosatellitenloci mittels PCR zu verstärken. Insgesamt wurden alle 12 Loci der gesamtschweizerischen Studie [19] geprüft (Tabelle 9-1). Dabei wurde festgestellt, dass der Locus Tth414 in verschiedenen Individuen triploid war. Daher wurde dieser Locus von den weiteren Analysen ausgeschlossen.

**Tabelle 9-1.** Liste der in der vorliegenden Studie verwendeten Primer.

Reaktion	Lokus		Primer Sequenz	Fluoreszenzfarbstoff	Fragmentlänge
Multiplex 1	Tar101	forward	5' - CAGAGCACACCAAGCAGAG - 3'	AT532	nicht amplifiziert
		reverse	5' - AGGGCAAGTCATCCAGTC - 3'		
	Tar106	forward	5' - CGTCCAGTCTGACACAAAG - 3'	FAM	187-295
		reverse	5' - GTTTCTTATGAAACCGAAGGAATCATG - 3'		
	Thy1	forward	5' - CGCATCTGTATGAAAAACCT - 3'	FAM	107-135
		reverse	5' - TGGTTTGGTAGGAGTTCGT - 3'		
	Thy62	forward	5' - GGACGGAGCCAGCATCAC - 3'	AT550	193-217
reverse		5' - GATTCATAATCAGGTCAATAGTCAT - 3'			
Tth445	forward	5' - TGACGGCTACAGGAATTGT - 3'	FAM	361-589	
	reverse	5' - GTTTCTTCCACAGGGTCTACATTG - 3'			
Tth447	forward	5' - CTGATTGCCATTGGATTGT - 3'	AT532	155-197	
	reverse	5' - GTTTCTTCAACATCCTTGTCGCTCTA - 3'			
Tth305	forward	5' CTTTGAATATGATGCGTGAAC - 3'	AT550	351-429	
	reverse	5' GTTTCTTGAGTATACTGCAGATAGACCA - 3'			
Multiplex 2	Tar104	forward	5' - TCTTCTCAGTGGCATGCATC - 3'	AT550	141-281
		reverse	5' - CCTCGTACTCTCTCTGTGCC - 3'		
	Thy54	forward	5' - AGAGGGTCCAGCAACATCA - 3'	AT532	172-236
		reverse	5' - GTTTGGGAAACCAAGTCTAAAGCCT - 3'		
	Tth213	forward	5' - TTTCCACAGAGGGTCTACAT - 3'	AT532	259-359
		reverse	5' - GTTTCTTACTAGAGCAGGGCAGCAGA - 3'		
	Tth414	forward	5' - GTCGGGACATGGACTCTACA - 3'	AT550	Triploid
reverse		5' - GTTTCTTGAATGCCTTTATAGCTT - 3'			
Tth446	forward	5' GCCATTCACCATACTATGC - 3'	FAM	213-337	
	reverse	5' GTTTCTTCCATTCAGCCACTAGAGC - 3'			

In einem zweiten Schritt wurde ein Multiplex-PCR Protokoll entwickelt, um die Kosten der Laborarbeiten zu senken. Dabei werden die verschiedenen Primerpaare in einer PCR-Reaktion zusammen verstärkt (Tabelle 9-1). Dies kann durch die Anwendung von unterschiedlichen Fluoreszenzmarkierungen an den Primersequenzen erreicht werden. So entstanden folgende multiplex Sätze mit den entsprechenden Farben: Multiplex Satz 1: Tar106, Thy1 und tth445 (blau); Tar 101 (konnte nicht amplifiziert werden und wurde daher nachträglich ausgeschlossen) und Tth447 (grün); Thy62 und Tth305 (schwarz); Multiplex Satz 2: Tth446 (blau); Thy54 und Tth213 (grün); Tar104 und Tth414 (dieser Locus war bei relativ vielen Individuen triploid und wurde daher ausgeschlossen).

### 9.3 DNS EXTRAKTION

Die Desoxyribonukleinsäure (DNS) wurde aus kleinen Flossenstückproben mit einer Salz-Präzipitationsmethode (angepasst von [32]) extrahiert. Dabei wird ein kleines Fischgewebestück in einer gepufferten Lösung und Proteinase K bei 55°C während vier Stunden verdaut (Aufbrechen der Zellwände) und anschliessend mit Salz gesättigt. Danach wird die Lösung zentrifugiert, um Geweberückstände und überschüssiges Salz zu eliminieren. Aus der verbleibenden Lösung wird die DNS mit 100% Alkohol ausgefällt. Schliesslich wird das verbleibende Salz in zwei Zentrifugationsschritten mit 70% Alkohol ausgewaschen. Die dabei erhaltene DNS ist sehr rein und hoch konzentriert. Für die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wurde die DNS auf eine Konzentration von 20ng/µl verdünnt.

### 9.4 POLYMERASE-KETTENREAKTION (PCR)

Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) der DNS wurde in einem Reaktionsvolumen von 6µl mit den folgenden Inhaltsstoffen durchgeführt: 3µl QIAGEN Multiplex PCR Master mix, 1.8µl ddH<sub>2</sub>O, 0.6µl DNS (20ng/µl) und 0.6µl Primer mix (Tabelle 9-2). Das PCR-Profil beginnt mit der Denaturierung der DNS bei 95°C für 15 Minuten, gefolgt von 25 Zyklen von 30 Sekunden bei 94°C, 90 Sekunden bei 59.5°C, 60 Sekunden bei 72°C und endet mit einem Zyklus von 30 Minuten bei 60°C.

**Tabelle 9-2.** Zusammensetzung der Primermischungen.

Mix	Primer (100µM)	Fluors. Markierung	Menge pro Probe (µl)	Menge für 500µl	H <sub>2</sub> O
Primer mix 1 (Mpx1)	Tar101-fwd	AT532	0.03	15	
	Tar101-rev		0.03	15	
	Tth447-fwd	AT532	0.02	10	
	Tth447-rev		0.02	10	
	Tar106-fwd	FAM	0.02	10	
	Tar106-rev		0.02	10	
	Thy1-fwd	FAM	0.015	7.5	
	Thy1-rev		0.015	7.5	
	Tth445-fwd	FAM	0.02	10	
	Tth445-rev		0.02	10	
	Thy62-fwd	AT550	0.04	20	
	Thy62-rev		0.04	20	
	Tth305-fwd	AT550	0.02	10	
	Tth305-rev		0.02	10	335
Primer Mix 2 (MP2)	Tth213-fwd	AT532	0.02	10	
	Tth213-rev		0.02	10	
	Tar104-fwd	AT550	0.02	10	
	Tar104-rev		0.02	10	
	Tth414-fwd	AT550	0.04	20	
	Tth414-rev		0.04	20	
	Thy54-fwd	AT532	0.02	10	
	Thy54-rev		0.01	5	
	Tth-446fwd	FAM	0.02	10	
	Tth446-rev		0.02	10	385

## 9.5 SEQUENZIEREN

Die DNS-Fragmente jedes PCR-Produktes wurden mit einem DNS-Sequenziergerät (ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer) aufgetrennt. Dazu wurde 0.9µl 1:5 verdünnte PCR-Reaktion mit 8.975µl Hi-Di™ Formamide und 0.025µl einem Längenstandard (GeneScan™ 600 LIZ® dye Size Standard v2.0) verwendet.

## 9.6 IDENTIFIKATION DER ALLELE

Die Identifikation der Mikrosatelliten-Allele wurde anhand der Fragmentanalysesoftware PEAK SCANNER v1.0 (Applied Biosystems) manuell durchgeführt. Die Zuweisung der Fragmentlängen wurde in Microsoft Excel manuell durchgeführt (Abbildung 9-2). Dabei wurde festgestellt, dass die Loci Tht445, Tht447, Tar104, Thy54 keine perfekten Mikrosatelliten Loci sind (1er Wiederholungen). Diese Loci wurden für Allelfrequenzanalysen beibehalten, müssten aber allenfalls bei Analysen, die eine schrittweise Mutation annehmen (stepwise mutation model, SMM) ausgeschlossen werden. Der Locus Tht213 weist 1.5er und 3er Schritte bei den Repetitionen auf. Weshalb dies der Fall ist bleibt unklar. Schliesslich konnte der Locus Tht445 bei einigen Individuen nicht amplifiziert werden. Dies liegt mit grosser Wahrscheinlichkeit an einer Mutation in der Primerregion der DNS. Dies war auch bei der schweizweiten Studie der Fall.

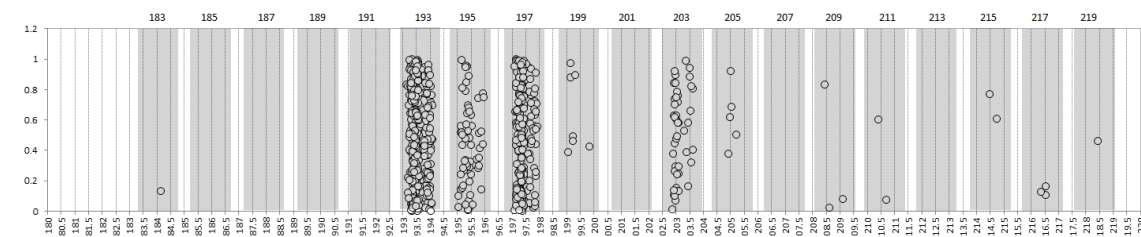


Abbildung 9-2. Allelidentifikation am Beispiel des Locus Tht445.

## 9.7 INTERKALIBRIERUNG DER DATEN MIT DER GESAMTSCHWEIZERISCHEN STUDIE

Um die in dieser Studie generierten Daten mit den Daten aus der gesamtschweizerischen Studie vergleichen zu können, müssen die Rohdaten (Identifikation der Allele) kalibriert werden. Dies ist notwendig, da unterschiedliche Sequenziergeräte nicht auf das Basenpaar genau gleich messen und so Verschiebungen bei der Allelidentifikation auftreten. Weiter wurde die Allelidentifikation von unterschiedlichen Personen durchgeführt, was ebenfalls einen Einfluss haben kann.

Um die Basenpaarverschiebung zwischen zwei Datensätzen zu bestimmen, wurde bei den Laboranalysen ebenfalls acht Proben der gesamtschweizerischen Studie untersucht. Ein gemeinsamer Datensatz kann erstellt werden, wenn genügend Loci eine Verschiebung der Fragmentlänge aufweisen, die unabhängig von der Fragmentlänge immer gleich viele Basenpaare umfasst. Bei dem Vergleich hat sich herausgestellt, dass die Allelidentifikation der österreichischen Referenzproben der Uni Graz nicht mit der gleichen Methode durchgeführt wurde, wie die Allelidentifikation der Äschenproben der gesamtschweizerischen Genetikstudie, die ebenfalls an der Uni Graz durchgeführt wurde. Die Bestimmung der Verschiebung zwischen den beiden Datensätzen musste daher Anhand der Allelfrequenzdaten bestimmt werden:

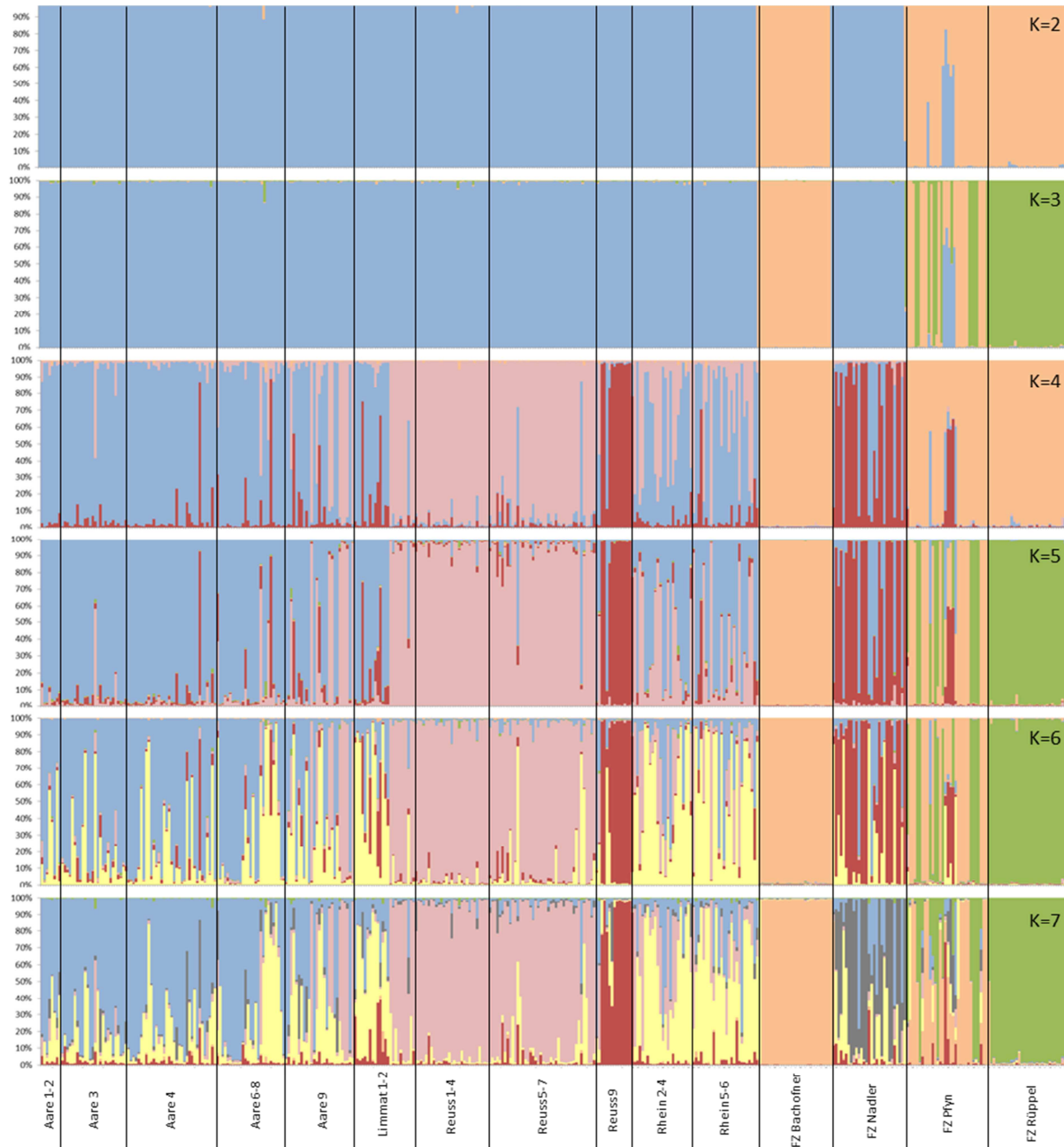
- Tar106: Interkalibrierung problemlos: Verschiebung: 4 Basenpaare, konstant.
- Thy62: Interkalibrierung problemlos: Verschiebung: -9 Basenpaare, konstant.
- Tth447: Interkalibrierung möglich: Verschiebung: Fragmentlänge 155-171=152-168(-3); 173-197= 172-196(-1); 190=188.
- Tth446: Interkalibrierung möglich: Verschiebung: Fragmentlänge 213-277=215-279(+2); 281-337=285-341(+4); 211=211; 219+231=? (N=7).
- Thy54: Interkalibrierung schwierig, da nicht konstante Verschiebung und unklar, wo die Grenzen sind. Locus ausgeschlossen.
- Thy1: Interkalibrierung problemlos: Verschiebung 2 Basenpaare, konstant. Allerdings sieht es so aus, als ob bei den Genotypen aus Graz ein Allel beim scoren übersehen wurde (119). Dieses lag in der Tat sehr nah an einem durchblutenden Artefakt und war schwierig zu erkennen.
- Tth445: Interkalibrierung schwierig, da nicht konstante Verschiebung und unklar, wo die Grenzen sind. Locus ausgeschlossen.
- Tth305: Interkalibrierung schwierig, da nicht konstante Verschiebung und unklar, wo die Grenzen sind. Locus ausgeschlossen.
- Tar104: Interkalibrierung schwierig, da nicht konstante Verschiebung, nicht homogener Tetranukleotid und unklar, wo die Grenzen sind. Locus ausgeschlossen
- Tth213: Interkalibrierung schwierig, da nicht konstante Verschiebung und unklar, wo die Grenzen sind. Locus ausgeschlossen.

## 9.8 ANZAHL PRO STANDORT BEPROBTE ÄSCHEN

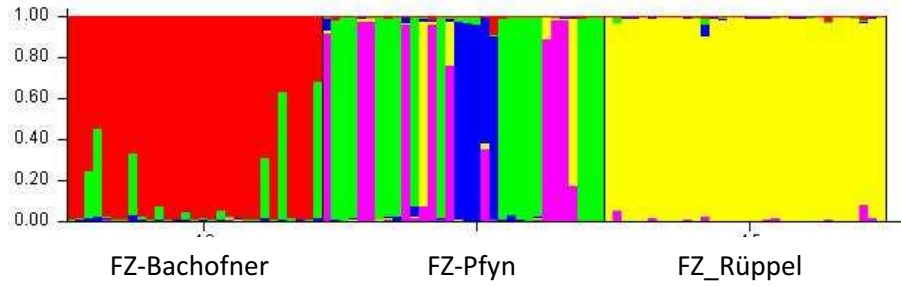
**Tabelle 9-3.** Anzahl der pro Standort beprobten Äschen und die Zusammenfassung der einzelnen Fangstandorte in genetische Gruppen (Populationen).

Code AG	Code Genetik	Gewässer	Anzahl	
			Keine Äschen in DB	Äschen in DB
AA-01	Aare_01-02	Aare	1	5
AA-02	Aare_01	Aare		11
AA-03	Aare_03	Aare	4	29
AA-04	Aare_04	Aare		62
AA-06	Aare_06-08	Aare		17
AA-07	Aare_06-08	Aare		3
AA-08	Aare_06-08	Aare		10
AA-09	Aare_09	Aare		32
Fischzucht Moossee	FZ_Moossee	Fischzucht		30
Fischzucht Nadler	FZ_Nadler	Fischzucht		30
Fischzucht Pfyn	FZ_Pfyn	Fischzucht		32
Fischzucht Rüppel	FZ_Rueppel	Fischzucht		32
L-01	Limmat_01-02	Limmat		16
L-02	Limmat_01-02	Limmat		25
RADAG	Rhein_05-06	Rhein	53	9
RH-01	Rhein_05-06	Rhein	25	3
RH-02	Rhein_05-06	Rhein		6
RN_2_3_4	Rhein_01-04	Rhein		18
RN-01	Rhein_01-04	Rhein	35	2
RN-02	Rhein_01-04	Rhein	15	
RN-03	Rhein_01-04	Rhein	29	
RN-04	Rhein_01-04	Rhein	24	5
RN-05	Rhein_05-06	Rhein		1
RN-06	Rhein_05-06	Rhein		11
RS-01	Reuss_01-04	Reuss		23
RS-02	Reuss_01-04	Reuss		14
RS-04	Reuss_01-04	Reuss		31
RS-05	Reuss_05-07	Reuss		23
RS-06	Reuss_05-07	Reuss		6
RS-07	Reuss_05-07	Reuss		31
RS-09	Reuss_09	Reuss		14
Total			186	531

## 9.9 RESULTATE DER STRUCTURE ANALYSE

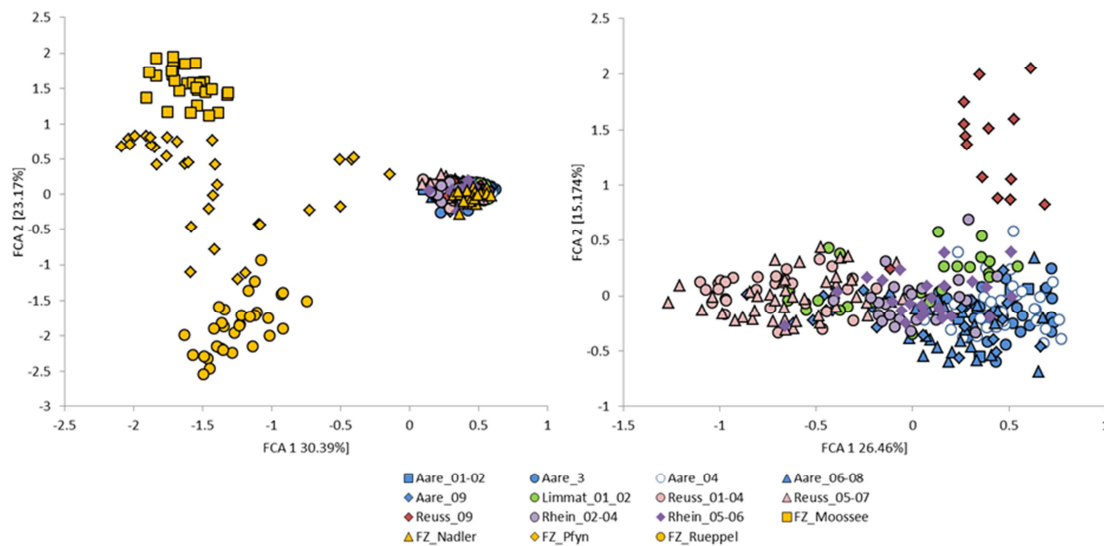


**Abbildung 9-3.** Ergebnisse der Zuweisungsanalyse des Programms STRUCTURE für 2-7 hypothetische Populationen (K). Die verschiedenen genetischen Gruppen, die identifiziert werden, sind in unterschiedlichen Farben dargestellt. Jeder vertikale Balken entspricht einem Individuum.



**Abbildung 9-4.** Resultate der Zuweisungsanalyse des Programms STRUCTURE für Die Zuchtpopulationen(K=5). Die verschiedenen genetischen Gruppen, die identifiziert werden, sind in unterschiedlichen Farben dargestellt. Jeder vertikale Balken entspricht einem Individuum.

### 9.10 RESULTATE DER FAKTORIELLEN KORRESPONDENZANALYSE



**Abbildung 9-5.** Eine faktorielle Korrespondenzanalyse der Allelfrequenzen zeigt, dass sich die Fische aus den drei Zuchten Nadler, Pfyn und Bachofner Bachofner sehr stark von den einheimischen Äschen unterscheiden. Innerhalb der Aargauer Äschen gibt es zwar unterschiede, aber auch viele Überlappungen.

### 9.11 MANTEL KORRELATION TABELLE

**Tabelle 9-4.** FST-Werte (unterhalb der Diagonalen) und Gewässerdistancen (oberhalb der Diagonalen), die zwischen den verschiedenen Äschenpopulationen beobachtet wurden.

Population	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1 Aare_01-02	-	22.4	31.8	47.7	54.6	50.5	94.2	76.9	44.7	61.6	79.4
2 Aare_3	-0.001	-	9.4	24.6	32.1	30.3	77.6	56.7	25.5	42.0	60.0
3 Aare_04	0.000	0.000	-	15.1	22.6	20.8	68.1	47.2	16.0	32.5	50.5
4 Aare_06-08	0.014	0.007	0.010	-	8.8	7.0	54.3	33.4	2.2	18.7	36.7
5 Aare_09	0.005	0.005	0.012	0.004	-	12.1	38.2	59.3	8.2	9.8	27.8
6 Limmat_01_02	0.012	0.016	0.018	0.008	0.008	-	38.8	60.0	7.9	22.3	40.1
7 Reuss_01-04	0.052	0.060	0.058	0.041	0.027	0.031	-	21.3	52.0	70.5	88.2
8 Reuss_05-07	0.033	0.040	0.041	0.028	0.013	0.019	0.008	-	31.6	50.1	67.8
9 Reuss_09	0.056	0.054	0.056	0.060	0.056	0.047	0.093	0.079	-	18.5	36.2
10 Rhein_02-04	0.020	0.017	0.019	0.011	0.007	0.013	0.034	0.019	0.063	-	23.8
11 Rhein_05-06	0.010	0.016	0.017	0.018	0.008	0.016	0.039	0.025	0.062	0.002	-



## 9.12 F<sub>ST</sub> ALLE ÄSCHENPOPULATIONEN DER SCHWEIZ

Tabelle 9-5. Vergleich der F<sub>ST</sub>-Werte aller Schweizer Äschenpopulationen basierend auf fünf Mikrosatelliten Loci.

Population	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29						
1 Aare_01-02	-	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	**	N.S.	**	N.S.	N.S.	***	*	***	***	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***					
2 Aare_03	-0.01	-	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	***	***	***	*	*	***	***	***	***	***	N.S.	N.S.	N.S.	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***				
3 Aare_04	0.00	0.00	-	N.S.	**	*	***	***	***	*	*	***	***	***	***	N.S.	N.S.	N.S.	*	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***				
4 Aare_06-08	0.02	0.01	0.01	-	N.S.	N.S.	***	**	***	N.S.	*	***	***	***	***	N.S.	*	**	N.S.	***	**	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***				
5 Aare_09	0.00	0.01	0.02	0.00	-	N.S.	**	N.S.	**	N.S.	N.S.	***	***	***	***	N.S.	N.S.	***	*	***	*	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***				
6 Limmat_01-02	0.00	0.01	0.02	0.01	0.00	-	**	**	**	*	*	***	***	***	***	N.S.	N.S.	***	***	***	***	***	***	***	N.S.	N.S.	***	***	***	***	***				
7 Reuss_01-04	0.05	0.07	0.07	0.04	0.03	0.04	-	*	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***			
8 Reuss_05-07	0.02	0.04	0.04	0.02	0.01	0.02	0.01	-	***	**	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***		
9 Reuss_09	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05	0.04	0.09	0.08	-	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***		
10 Rhein_02-04	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.02	0.04	0.02	0.06	-	N.S.	***	***	***	***	N.S.	**	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***		
11 Rhein_05-06	0.00	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.05	0.03	0.06	0.00	-	***	***	***	***	N.S.	*	**	**	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***		
12 FZ_Moossee	0.29	0.29	0.28	0.27	0.29	0.29	0.26	0.25	0.33	0.27	0.28	-	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***		
13 FZ_Nadler	0.04	0.03	0.04	0.05	0.04	0.03	0.11	0.08	0.04	0.06	0.06	0.35	-	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***		
14 FZ_Plyn	0.14	0.17	0.18	0.13	0.15	0.16	0.14	0.13	0.20	0.16	0.16	0.16	0.22	-	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	
15 FZ_Rueppel	0.26	0.28	0.28	0.23	0.23	0.25	0.19	0.21	0.29	0.24	0.26	0.33	0.32	0.17	-	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	
16 Aare_06-08_2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.04	0.03	0.06	0.00	0.01	0.28	0.05	0.16	0.25	-	N.S.	*	*	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	
17 Aare_09_2	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.04	0.03	0.05	0.02	0.02	0.30	0.04	0.17	0.27	0.00	-	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	
18 Aare_Thun	0.02	0.01	0.00	0.02	0.03	0.03	0.09	0.07	0.06	0.03	0.02	0.30	0.05	0.13	0.22	0.01	0.02	-	**	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	
19 Aareuse	0.01	0.02	0.02	0.00	0.01	0.01	0.04	0.02	0.05	0.01	0.02	0.25	0.05	0.13	0.22	0.01	0.02	0.02	-	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
20 Birs	0.28	0.30	0.30	0.27	0.28	0.28	0.28	0.27	0.33	0.26	0.28	0.36	0.33	0.24	0.27	0.28	0.30	0.31	0.26	-	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
21 Limmat	0.01	0.03	0.04	0.03	0.02	0.01	0.07	0.05	0.03	0.04	0.04	0.32	0.04	0.17	0.25	0.04	0.03	0.06	0.04	0.28	-	***	***	***	N.S.	*	***	***	***	***	***	***	***	***	
22 Linthkanal	0.08	0.09	0.09	0.05	0.05	0.07	0.05	0.04	0.12	0.04	0.05	0.28	0.12	0.14	0.18	0.06	0.08	0.09	0.04	0.25	0.06	-	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	
23 Mentue	0.14	0.13	0.12	0.12	0.13	0.14	0.14	0.12	0.20	0.13	0.14	0.33	0.18	0.24	0.36	0.12	0.15	0.13	0.11	0.37	0.21	0.19	-	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	
24 Orbe	0.04	0.03	0.03	0.04	0.03	0.04	0.09	0.05	0.08	0.04	0.05	0.31	0.06	0.20	0.31	0.03	0.03	0.03	0.05	0.32	0.08	0.10	0.11	-	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	
25 Rhein u. Rheinfall	0.01	0.01	0.02	0.02	0.01	0.01	0.07	0.05	0.03	0.02	0.02	0.29	0.02	0.16	0.25	0.01	0.01	0.03	0.02	0.28	0.00	0.06	0.15	0.04	-	N.S.	***	***	***	***	***	***	***	***	
26 Rhein o. Rheinfall	0.02	0.02	0.03	0.03	0.02	0.01	0.09	0.06	0.03	0.03	0.03	0.32	0.02	0.20	0.29	0.02	0.01	0.03	0.04	0.30	0.02	0.09	0.18	0.05	0.00	-	***	***	***	***	***	***	***	***	
27 SarnerAa	0.05	0.07	0.08	0.06	0.06	0.05	0.08	0.07	0.10	0.07	0.08	0.31	0.11	0.13	0.22	0.07	0.07	0.09	0.06	0.29	0.06	0.08	0.19	0.11	0.07	0.09	-	***	***	***	***	***	***	***	
28 Talent	0.09	0.08	0.07	0.08	0.09	0.08	0.11	0.08	0.15	0.07	0.08	0.31	0.13	0.19	0.32	0.07	0.09	0.09	0.08	0.33	0.14	0.14	0.11	0.07	0.10	0.12	0.09	-	***	***	***	***	***	***	
29 Thur	0.15	0.13	0.13	0.15	0.16	0.15	0.20	0.16	0.22	0.10	0.11	0.33	0.19	0.25	0.35	0.13	0.16	0.14	0.14	0.34	0.16	0.18	0.24	0.15	0.13	0.15	0.13	0.20	0.16	-	-	-	-	-	