

POPULATIONSGENETISCHE UNTERSUCHUNG DER ÄSCHEN IN DER BIRS

Pascal Vonlanthen & Walter Salzburger



Auftraggeber: Kantonaler Fischereiverband Baselland (KFVBL)

Basel, 02 January 2011

Universität Basel, Zoologisches Institut
Evolutionsbiologie
Vesalgasse 1
CH-4051 Basel

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|-----------|
| 1. AUSGANGSLAGE | 3 |
| 2. MATERIAL UND METHODEN..... | 5 |
| <i>2.1. Probenahmen</i> | <i>5</i> |
| <i>2.2. Auswahl der Mikrosatellitenmarker und Datengenerierung</i> | <i>5</i> |
| <i>2.3. Mitochondriale DNS.....</i> | <i>6</i> |
| 3. RESULTATE..... | 7 |
| <i>3.1. Resultate Basisanalysen</i> | <i>7</i> |
| <i>3.2. Genetische Differenzierung der Populationen und Substruktur.....</i> | <i>8</i> |
| <i>3.3. Ursprung der Birsäschen</i> | <i>10</i> |
| 4. DISKUSSION..... | 11 |
| 5. ANTWORTEN AUF DIE FRAGESTELLUNGEN..... | 12 |
| 6. VERDANKUNGEN | 12 |
| 7. LITERATURVERZEICHNIS..... | 13 |

1. AUSGANGSLAGE

1.1 Biologie der Äsche

Die europäische Äsche (*Thymallus thymallus*) gehört zur Familie der lachsartigen Fische (*Salmonidae*) und zur Gattung der Äschen (*Thymallus*). Das natürliche Verbreitungsgebiet erstreckt sich von England und Wales über die Gebirgsregionen Nord-, Mittel-, Ost- und Westeuropas bis ans Schwarze Meer (Northcote, 1995). Durch Besatzmassnahmen wurde sie in weiteren Regionen Europas (Bsp. Spanien, Schottland und Südfinnland) angesiedelt (Northcote, 1995). In der Schweiz ist sie in Mittellandgewässern in allen vier Einzugsgebieten (Rhein, Rhône, Donau und Po) natürlich vertreten (Kirchhofer *et al.*, 2007).

Äschen bevorzugen Fliessgewässer (zum Teil kommen sie aber, insbesondere in Nordeuropa, auch in Seen vor) mit einer relativ hohen Fliessgeschwindigkeit, einem Gefälle zwischen 0.2% und 0.7% und ab einem minimalen mittleren Jahresabfluss von ca. 1m³/sec (Dujmic, 1997; Huet, 1949; Persat, 1988). Sie benötigen sauerstoffreiches und sauberes Wasser, das im Sommer eine Temperatur von 23-26°C nicht übersteigt (Kraiem, Pattee, 1980; Persat, 1988). Äschen ernähren sich grösstenteils von benthischen Insekten (Krebstiere und Mollusken), ältere Tiere auch von kleinen Fischen (Hellowell, 1971). 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 liegen. Dabei steigen sie auch in Zuflüsse auf (Paquet, 2002). Die Migration wird durch eine Erhöhung der Wassertemperatur ausgelöst (Persat, 1988). 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 (Guthruf, 1996).

Die Äsche ist in der roten Liste der bedrohten Fischarten der Schweiz als verletzlich eingestuft (VU) (Kirchhofer *et al.*, 2007). Die Bestände sind in vielen Flüssen rückläufig und werden deshalb verbreitet durch Besatzmassnahmen gestützt.

1.2 Die Äschen der Birs

Die Birsquelle befindet sich in der Nähe von Tavannes im Kanton Jura. Sie fliesst abwechslungsweise durch weite Talmulden und enge Schluchten. Bei Delémont, fliesst sie mit den beiden Bächen La Sorne und La Scheulte zusammen. Zwischen Soyhières und Liesberg tritt sie in das zum Kanton Basel-Landschaft gehörende Laufental über und mündet schliesslich nach 73 km in den Hochrhein bei Basel. Sie entwässert ein Einzugsgebiet von 922km². Bis zum Anfang des 19. Jahrhunderts war die Birs nur wenig anthropogen beeinflusst. Erst danach wurde der Unterlauf in mehreren Etappen grossräumig begradigt und die Ufer mit Blockwürfen gesichert (Salathé R., 2000). Dies führte zu einer massiven Laufverkürzung und zu einer Eintiefung der Sohle (Weber, 2007). Gleichzeitig wurde für die Energiegewinnung die Birs an vielen Stellen durch Querverbauungen für Fische undurchgängig.

Gemäss der biologischen Zonierung von Huet gehört der Oberlauf der Birs im Jura zur Forellenregion, während der Unterlauf in die Äschenregion übergeht. Bis in die 90er Jahre wurden die Äschen der Birs bewirtschaftet nachdem sie fast ganz aus dem Gewässer verschwunden waren. Zur Bewirtschaftung wurden auch Tiere aus dem Doubs

(Rhôneeinzugsgebiet) eingesetzt. Heute findet keine Bewirtschaftung der Äschen mehr statt. Dennoch scheinen sich die Bestände auf einem stabilen Niveau halten zu können. Besonders auffällig ist die hohe Dichte oberhalb Laufen bis zur jurassischen Kantonsgrenze. Als Kurzdistanzwanderfisch ist die Äsche auf die Möglichkeit angewiesen, das Gewässer durchwanderung zu können. Wegen der starken Fragmentierung betragen die Distanzen zwischen den verschiedenen Wasserkraftanlagen zum Teil nur einige hundert Meter.



Abb. 1. Birs bei Bärschwil

Im Rahmen dieser Studie soll untersucht werden, ob:

- (1) diese Fragmentierung zu einer erhöhten Gefährdung der Äschenpopulationen durch Flaschenhalseffekte (Verminderung der genetischen Variabilität) geführt hat.
- (2) ein genetischer Austausch zwischen den Staustufen stattfindet (Aktive oder passive Wanderungen).
- (3) die Birsäschen ausschliesslich aus dem Rheineinzug stammen oder ob auch andere Stämme vorhanden sind.

Um diese Fragen zu beantworten, wurden unterschiedliche Populationen aus verschiedenen Staustufen anhand von zwei Markern genetisch untersucht. Der Erste, so genannte Mikrosatelliten-Marker, ermöglicht eine feine populationsgenetische Analyse der verschiedenen Populationen. Der Zweite, eine Sequenz aus der mitochondrialen DNS (DLoop), ermöglicht es den Ursprung der Äschen ausfindig zu machen.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1 Probenahmen

Ursprünglich sollten insgesamt 30 Äschen aus zehn verschiedenen Streckenabschnitten beprobt werden. Bei den Abfischungen mit teils schwierigen Abflussverhältnissen stellte sich jedoch heraus, dass in verschiedenen Streckenabschnitten nur wenige oder keine Äschen gefangen werden konnten. Aus diesem Grunde wurde zusätzlich zu den Elektroabfischungen noch mit der Angelrute gezielt in einigen Strecken gefischt, um zumindest in vier Streckenabschnitten den für die Auswertungen minimal benötigten Stichprobenumfang zu erreichen. Insgesamt konnten so 128 Äschen gefangen und beprobt werden. Die Stichprobengrösse der verschiedenen Populationen kann der Tabelle 1 entnommen werden. Zu einem grossen Teil handelt es sich dabei um 0+ und 1+ Fische, weshalb auf eine morphologische Auswertung verzichtet wird.



Abb. 2. Elektroabfischung in der Birs bei Liesberg.

2.2 Auswahl der Mikrosatellitenmarker und Datengenerierung

Um die genetischen Unterschiede und Verwandtschaften zwischen verschiedenen Populationen oder Arten zu prüfen, werden häufig Mikrosatellitenmarker angewandt. Ein Mikrosatellit ist eine Region des Erbguts, in dem sich kurze DNA-Sequenzen oft wiederholen (z. Bsp. 3' ATATATATAT...AT 5'). Diese sind für populationsgenetische Untersuchungen nützlich, weil sie nicht für Gene kodieren, sondern selektiv neutral sind. Ausserdem weisen sie eine hohe Mutationsrate auf und können daher auch rezente Ereignisse im Erbgut reflektieren. In der vorliegenden Studie wurden 12 solche Mikrosatelliten-**Loci** (Standorte im Erbgut) untersucht. Da das Äschenerbgut diploid ist, d.h. jeweils zwei Kopien jedes Chromosoms besitzt, kommen alle Mikrosatellitenloci zweimal im Erbgut vor. Man nennt

jede einzelne dieser Kopien ein **Allel**. Mit der Zeit sammeln sich in einer Population verschiedene Allele an, die sich in der Anzahl ihrer 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.

In einem ersten Schritt mussten verschiedene Mikrosatellitenloci ausgewählt und die DNS-Amplifikationsprotokolle (PCR) etabliert werden. Zu diesem Zweck wurden verschiedene spezifisch für Äschen entwickelte Primerpaare getestet. Ein **Primer** ist eine kurze DNS-Sequenz, die direkt vor und nach den gesuchten Mikrosatellitenloci liegt und verwendet wird, um die Mikrosatellitenloci mittels PCR (Polymerase-Kettenreaktion) zu vervielfachen. Insgesamt wurden 20 Primerpaare (Gum *et al.*, 2003) geprüft und davon konnten neun erfolgreich amplifiziert werden. 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 vervielfacht. Dies kann durch die Anwendung von unterschiedlichen Fluoreszenzmarkierungen an den Primersequenzen erreicht werden. So entstanden folgende Multiplexsätze mit den entsprechenden Farben: Multiplexsatz 1: F43, Ogo2 (schwarz); BFRO11 (Grün); Ssa289, BFRO09 (Blau). Multiplexsatz 2: BFRO17 (Schwarz); SSOSL 311, BFRO04, BFRO10 (Blau).

Für die Datenerhebung wurde zuerst die DNS jedes Individuums extrahiert. Die PCR-Vervielfachung der DNS wurde in einem Reaktionsvolumen von 10µl mit den folgenden Inhaltsstoffen durchgeführt: 5µl QIAGEN Multiplex PCR Master mix, 3µl ddH₂O, 1µl DNA (20ng/µl) und 1µl primer mix (2pmol/µl für jeden Primer). Das PCR-Profil beginnt mit der Denaturierung der DNS bei 95°C für 15 Minuten, gefolgt von 30 Zyklen von 30 Sekunden bei 94°C, 90 Sekunden bei 57°C, 90 Sekunden bei 72°C und endet mit einem Zyklus von 10 Minuten bei 72°C. Die DNS-Fragmente jedes PCR-Produktes wurden anschliessend in einem DNS-Sequenziergerät (ABI 3100) aufgetrennt. Die Beurteilung der DNS-Fragmente wurde anhand der Software PEAK SCANNER v.1.0 manuell durchgeführt. Die dabei erhaltenen Informationen über die Fragmentlänge jedes Allels für jeden Mikrosatellitenlocus kann anschliessend für statistische Auswertungen weiter verwendet werden.

2.3 Mitochondriale DNS

Um die phylogenetische Geschichte besser aufzulösen und damit die Herkunft der Birsäschen abzuklären, wurde die Kontrollregion (DLoop) der mitochondrialen DNS sequenziert (Methoden in: Uiblein *et al.*, 2001)). Die dabei erhaltenen DNS Sequenzen werden als Haplotypen bezeichnet. Ein Haplotyp ist eine DNS-Sequenz (z. Bsp. 3' ATGCATTCGTA 5'). Verschiedene Haplotypen unterschieden sich durch Mutationen in dieser Sequenz (z. Bsp. Haplotyp 1: 3' ATGCATTCCGTA 5'; Haplotyp 2: 3' ATGCATTTCGTA 5'). Die Anzahl Mutationen die zwischen den Individuen vorhanden sind, können dazu verwendet werden, einen Stammbaum aufzubauen. Referenzsequenzen wurden freundlicherweise von Dr. Kathrin Winkler und Dr. Steven Weiss von der Universität in Graz zur Verfügung gestellt.

3. RESULTATE

3.1. Resultate Basisanalysen

Gewisse Basisanalysen sind notwendig um die selektive Neutralität, die Unabhängigkeit der verschiedenen Loci und die Qualität der Daten zu überprüfen. Diese ermöglichen auch, erste Hinweise auf eine Substruktur in den Populationen zu erhalten.

Als Erstes wurden die erwartete (H_E) und beobachtete Heterozygotität (H_O) in Arlequin v. 3.1 (Excoffier *et al.*, 2005) berechnet. Dieses Programm misst und berechnet für jeden Locus und über alle Loci für jede Population den Anteil an heterozygoten Individuen (d.h. Individuen die 2 verschiedene Allele an einem Locus aufweisen). Anschliessend wird die Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (Guo, Thompson, 1992) für jeden Locus und jede Population in GENEPOP v. 2.4 berechnet (Raymond, Rousset, 1995). Diese Berechnung überprüft, ob in einer Population zu viele oder zu wenige Heterozygote vorkommen. Die Resultate in Tabelle 1 zeigen, dass die beobachtete Heterozygotität (H_O) zwischen 0.37 und 0.48 und die erwartete Heterozygotität (H_E) zwischen 0.38 bis 0.48 liegt. Dies entspricht in etwa den Werten die auch in anderen europäischen Äschenpopulationen beobachtet wurden (Gum *et al.*, 2003; Vonlanthen *et al.*, 2010). Es konnten keine signifikanten Abweichungen vom Hardy Weinberg Gleichgewicht beobachtet werden.

Anschliessend wurde der Inzuchtkoeffizient (F_{IS}) (Weir, Cockerham, 1984) für jede Population berechnet und auf eine signifikante Abweichung von Null überprüft. Diese Berechnungen wurden mit der Software FSTAT v. 2.9.3 (Goudet, 2001) durchgeführt. Wiederum konnten keine signifikanten Abweichungen beobachtet werden. Weiter wurde überprüft ob die verschiedenen Mikrosatellitenloci physisch auf dem Erbgut assoziiert sind (Linkage disequilibrium LD). Eine physische Assoziation ist vorhanden, wenn zwei oder mehr Loci nahe zueinander auf dem DNS-Strang liegen. Diese Assoziation müsste in diesem Fall in allen Populationen auftreten. Wenn dies der Fall ist, dann beinhalten gelinkte Loci die gleiche populationsgenetische Information und nur einer könnte 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 oder Familieneffekten beobachtet werden. Diese Berechnung wurde im Programm Arlequin v 3.1 (Excoffier *et al.*, 2005) durchgeführt. Ein gehäuftes Auftreten von LD konnte in verschiedenen Populationen beobachtet werden. Da von anderen Studien bekannt ist, dass diese Loci nicht physikalisch verbunden sind (Gum *et al.*, 2003; Vonlanthen *et al.*, 2010), muss davon ausgegangen werden, dass Substruktur oder Familieneffekte in den Populationen vorhanden sein könnten.

Anschliessend wurde die genetische Variabilität mit zwei verschiedenen Methoden bestimmt. Erstens wurde die durchschnittliche Anzahl der pro Locus beobachteten Allele für jede Population bestimmt (A_N) und zweitens wurde diese Anzahl für die unterschiedlichen Stichprobenumfänge korrigiert (A_R). A_R wurde dabei nur für die Populationen mit genügend grossen Stichproben berechnet. Die Anzahl beobachteter Allele (A_N) reichten von 2.33 bis 5.0 und die korrigierte Anzahl Allele (A_R) von 3.32 bis 4.34 (Tabelle 1). Dies entspricht ebenfalls in etwa den Beobachtungen aus anderen natürlichen Äschenpopulationen (Vonlanthen *et al.*, 2010). Auffällig ist allerdings, dass die genetische Variabilität in der Liesberg 1 Population, die am weitesten flussaufwärts gelegen ist, am niedrigsten ist. Gegenüber der Zwingen 1 Population ist die genetische Variabilität signifikant kleiner (Paarweiser t-Test: $t=-2.745$,

df=8, $p < 0.05$). Gegenüber der Zwingen 2 Population knapp nicht signifikant kleiner (Paarweiser t-Test: $t = -2.07$, $df = 8$, $p = 0.0725$).

Zusammengefasst weisen die Resultate der Basisanalysen auf eine Substruktur oder Familieneffekte der Äschenpopulationen der Birs hin. Die Tatsache, dass dabei keine Abweichungen vom HWE Gleichgewicht beobachtet wurde ist nicht überraschend, da diese nur beobachtet werden können, solange sich die Populationen reproduktiv nicht zu stark mit der lokalen Population vermischt haben. Es dauert in der Regel nur 1-2 Generationen bis das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht wieder eingehalten wird und der Inzuchtkoeffizient nichts mehr anzeigt. Die LD-Werte sind in der Regel etwas länger sensitiv, was erklären könnte, weshalb noch Abweichungen beobachtet werden konnten.

Tabelle 1. Basisanalysen der genetischen Daten. N entspricht dem Stichprobenumfang, der untersucht wurde; A_N entspricht der Anzahl durchschnittlich über alle Loci beobachteten Allele; A_R entspricht der für den Stichprobenumfang korrigierten durchschnittlichen Anzahl über alle Loci beobachteten Allele; 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; N LD entspricht der Anzahl beobachteten signifikanten Assoziationen zwischen den verschiedenen Mikrosatellitenloci.

| Code | Strecke | N | A_N | A_R | H_O | H_E | P-Wert | F_{IS} | P-Wert | N LD |
|------|---------------------|----|-------|-------|-------|-------|--------|----------|--------|------|
| Bi01 | Liesberg 1 | 27 | 3.56 | 3.32 | 0.40 | 0.38 | n.s. | -0.064 | n.s. | 7 |
| Bi02 | Laufen/Bärschwil | 5 | 2.44 | - | 0.37 | 0.40 | n.s. | 0.072 | n.s. | 2 |
| Bi03 | Moossee | 7 | 2.33 | - | 0.42 | 0.39 | n.s. | -0.100 | n.s. | 2 |
| Bi04 | Zwingen 1 | 37 | 5.00 | 4.34 | 0.48 | 0.48 | n.s. | -0.001 | n.s. | 8 |
| Bi05 | Zwingen 2 | 20 | 4.11 | 4.05 | 0.43 | 0.42 | n.s. | -0.017 | n.s. | 1 |
| Bi06 | Reddingbrücke Basel | 29 | 4.22 | 3.86 | 0.40 | 0.41 | n.s. | 0.019 | n.s. | 11 |

3.2. Genetische Differenzierung der Populationen und Substruktur

Das meistangewandte Mass zur genetischen Differenzierung zwischen Populationen ist der F_{ST} . Dieser beschreibt den Anteil an der Varianz in Allelfrequenzen, der durch die Einteilung der Individuen in verschiedene Populationen erklärt wird (Weir, Cockerham, 1984). Die dabei berechneten Werte liegen zwischen 0 (die Populationen sind identisch) und 1 (die Populationen sind komplett verschieden). Die F_{ST} -Werte wurden im Programm Arlequin v. 3.1 (Excoffier *et al.*, 2005) berechnet und sind in der Tabelle 2 angegeben.

Auffallend an diesen Werten ist, dass sich die Äschenpopulation von der Reddingbrücke in Basel sehr stark von allen anderen Populationen unterscheidet. Dieser Unterschied ist mit einem F_{ST} zwischen 0.388 und 0.464 extrem gross. Alle anderen Populationen unterscheiden sich genetisch kaum. Lediglich die Zwingen 1 Population ist mit einem F_{ST} von 0.016 knapp signifikant von der Liesberg 1 Population verschieden. Um herauszufinden wie die Verwandtschaften zwischen den verschiedenen Populationen genau aussehen, müssen zusätzlich noch individuelle Auswertungen durchgeführt werden.

Tabelle 2. F_{ST} -Werte, die zwischen den verschiedenen Äschenpopulationen beobachtet wurden.

| Standort | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|-----------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------|
| 1 Liesberg 1 | 0 | n.s. | n.s. | <0.05 | n.s. | <0.001 |
| 2 Laufen/Bärschwil | -0.036 | 0 | n.s. | n.s. | n.s. | <0.001 |
| 3 Moossee | 0.016 | 0.005 | 0 | n.s. | n.s. | <0.001 |
| 4 Zwingen 1 | 0.016 | -0.030 | 0.005 | 0 | n.s. | <0.001 |
| 5 Zwingen 2 | -0.004 | -0.036 | 0.005 | 0.008 | 0 | <0.001 |
| 6 Reddingbrücke Basel | 0.464 | 0.423 | 0.456 | 0.388 | 0.443 | 0 |

Die Wahrscheinlichkeit der Populationszugehörigkeit von Individuen kann mit dem Programm STRUCTURE v.2.3.3 (PRITCHARD *ET AL.*, 2000) geschätzt werden. Dieses Programm teilt anhand der individuellen Allelfrequenzen die einzelnen Individuen in verschiedene Populationen ein und versucht dabei Populationen zu schaffen, in denen die Abweichungen vom HWE und LD minimal sind. Dies kann für eine unterschiedliche Anzahl Populationen durchgeführt werden. Die Resultate sind in der Abbildung 3 ersichtlich.

Bei $K=2$ (alle Individuen werden aufgrund ihrer Allelfrequenzen auf 2 Populationen verteilt) fällt auf, dass alle Äschen von der Reddingbrücke in Basel von den restlichen Birsäschen getrennt werden. Die beiden Populationen sind klar reproduktiv voneinander isoliert. Interessanterweise wird kein einziges Individuum der Baseler Äschenpopulation zu den oberen Birsäschen gerechnet. Ein genetischer Austausch scheint demzufolge nicht nur flussaufwärts (aktive Wanderung) unmöglich zu sein, sondern auch flussabwärts (passive Wanderung). Zwei Möglichkeiten könnten diese Beobachtung erklären: 1. Abwärtswanderungen sind nicht möglich; 2. Die abgewanderten Äschen überleben im unteren Lebensraum nicht. Grund dafür kann die natürliche Selektion sein, wobei die abgewanderten Äschen im Konkurrenzkampf gegen die einheimischen Äschen unterlegen sind.

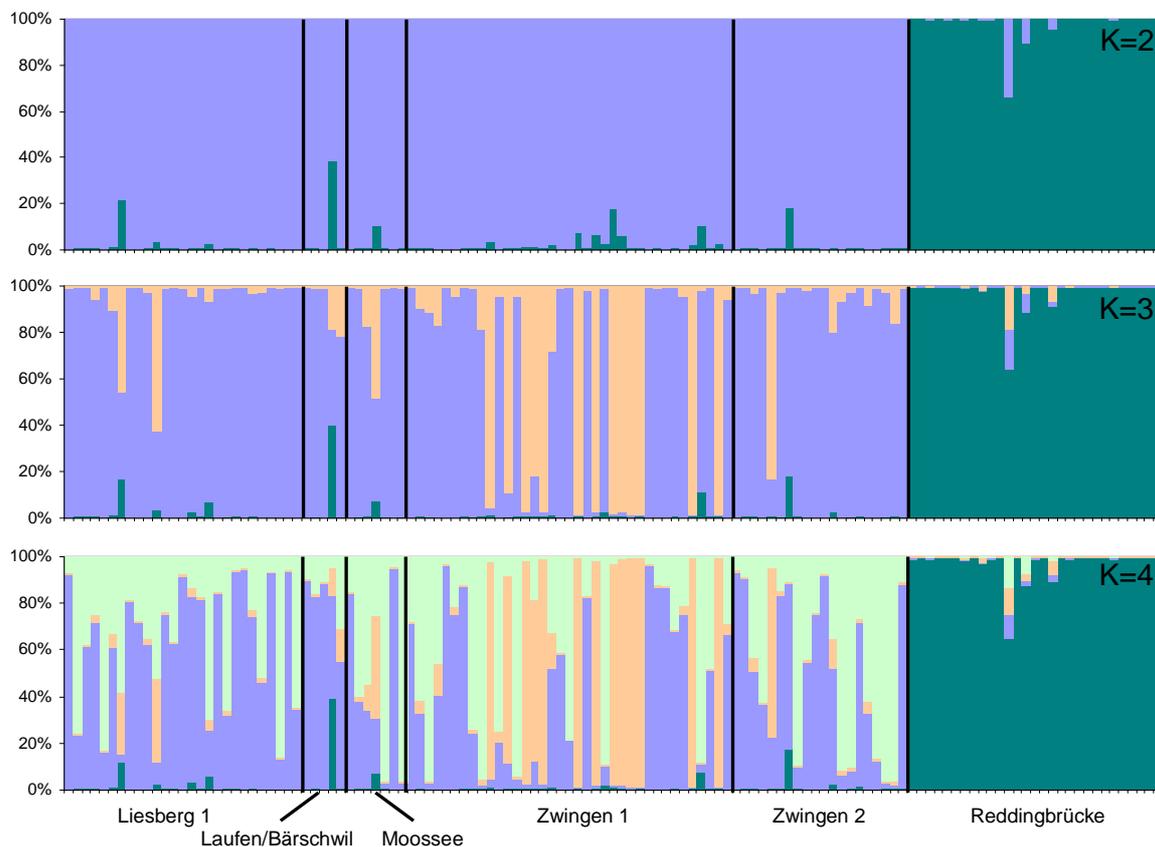


Abb. 3. Individuelle Zugehörigkeit der Äschen aller Populationen, die mit dem Programm STRUCTURE bestimmt wurden. Der Wert K gibt die Anzahl Populationen an, für welche die Zugehörigkeit geschätzt wurde.

Bei $K=3$ fällt auf, dass eine gewisse Anzahl Individuen der oberen Birs zu einer eigenständigen Population gerechnet werden. Diese kommen insbesondere in der Restwasserstrecke bei Zwingen (Zwingen 1) häufig vor. Es handelt sich dabei ausschliesslich um 0+ Fische, die älteren Äschen wurden allesamt zur blauen Gruppe gerechnet. Es sind keine klaren natürlichen Gründe ersichtlich, weshalb juvenile Äschen genetisch so klar von den älteren Tieren aufgetrennt werden sollten. Sehr wahrscheinlich stammen die Jungfische

von einer geringen Anzahl Elterntiere ab, d.h. dass Familieneffekte vorliegen. Dies würde ebenfalls die beobachteten Abweichungen vom LD erklären.

Bei $K=4$ werden die restlichen oberen Birsäschen in zwei mehr oder weniger stark vermischte Gruppen aufgetrennt. Statistisch ist ein $K=4$ die wahrscheinlichste. Da diese zusätzliche Substruktur vermutlich ebenfalls durch Familieneffekte verursacht wurde, muss davon ausgegangen werden, dass in der Birs heute zwei Populationen genetisch voneinander unterschiedene werden können.

3.3. Ursprung der Birsäschen

Anhand der mitochondrialen DNS kann man die ältere phylogenetische Geschichte der verschiedenen Äschenpopulationen auflösen. Dabei fällt in Abb. 4 auf, dass die Äschen aus der oberen Birs Haplotypen mit Populationen aus dem Doubs teilen. Dies bestätigt, dass die heute in der oberen Birs vorkommenden Äschen aus dem Doubsinzugsgebiet stammen. Die Äschen von der Reddingbrücke in Basel, teilen interessanterweise keine Haplotypen mit Äschen aus dem Doubs, sondern nur mit verschiedenen Populationen aus dem Rheineinzugsgebiet und dem Genferseebecken. Dies bestätigt die vorherigen Resultate, dass kaum ein genetischer Austausch zwischen diesen Populationen stattfindet, weder flussaufwärts, noch flussabwärts. Auffallend ist ebenfalls, dass zwei der vier Äschen von der Moosseestrecke in der Birs einen Rheinhaplotyp aufweisen. Bei der Structure Analyse werden diese Individuen aber nicht zu den Rheinäschen gezählt. Es handelt sich in diesem Fall um Individuen, die sowohl genetische Informationen von den Rhein als auch von den Doubs Populationen erhalten haben, wobei der grössere Teil jedoch aus dem Doubs kommt.

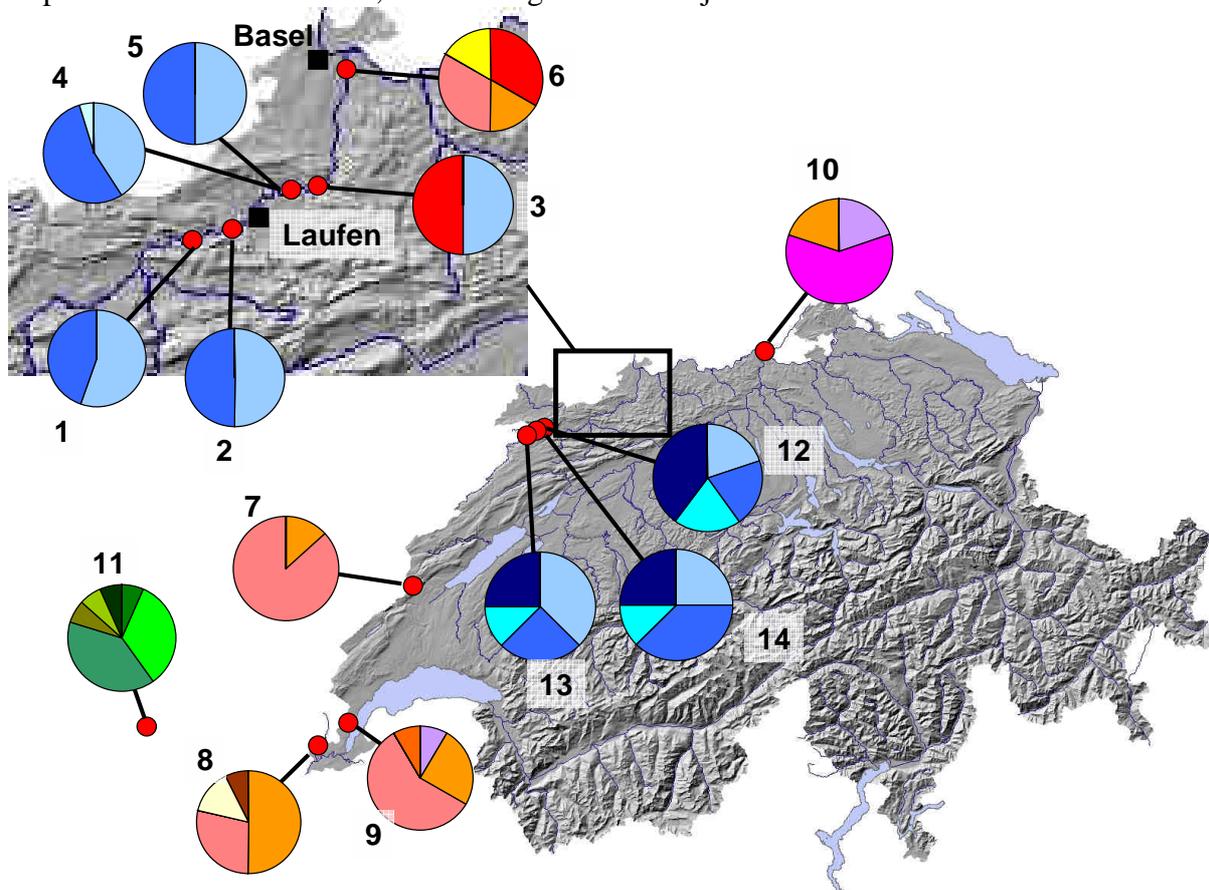


Abb. 4. Verteilung der MtDNS Haplotypen im Rhein und Rhôneinzugsgebiet. Die Daten der Populationen 7-14 wurden von Kathrin Winkler und Steven Weiss (Universität Graz) zur Verfügung gestellt.

Die Abbildung 5 zeigt ein Netzwerk der gefundenen mitochondrialen DNA Haplotypen. Es wird sichtbar dass sich die Rhein (rot) von den Doubs (blau) Populationen durch mindestens drei Mutationen unterscheiden.

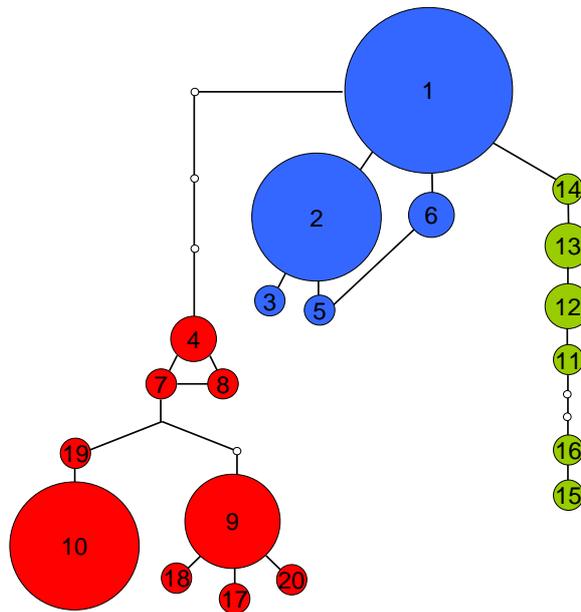


Abb. 5. Haplotypen Netzwerk. In rot dargestellt sind die Rhein-, in blau die Doubs und in grün die Ainhaplotypen. Jeder Strich oder weisser Punkt entspricht einer Mutation.

4. DISKUSSION

In der Birs können heute zwei Äschenpopulationen unterschieden werden, die genetisch stark verschieden sind. Es handelt sich dabei um die Population bei der Reddingbrücke in Basel, und allen restlichen weiter flussaufwärts liegenden Populationen. Die genetischen Unterschiede zwischen den Populationen sind sehr gross. Die mitochondrialen DNS Auswertungen zeigen, dass die Äschen von der Reddingbrücke zum Stamm der Rheinäschen gezählt werden können. Die verbleibenden Birspopulationen stammen genetisch zum grössten Teil von Äschen aus dem Doubs ab, die nach dem verschwinden der Äschen aus der Birs wieder eingeführt worden sind.

Interessant ist, dass sich die aus dem Doubs stammenden Äschen zwar im oberen Teil des Flusses halten können und sich natürlich fortpflanzen, sich aber in den untersten Strecken, wo einheimische Äschen des Rheins vorkommen, nicht durchsetzen können. Da davon ausgegangen werden kann, dass eine gewisse Anzahl Fische auf natürliche Weise flussabwärts verdriftet werden – insbesondere bei Hochwasserereignissen – muss angenommen werden, dass die einheimischen Äschen einen selektiven Vorteil gegenüber den eingeführten Äschen haben.

Aus den Resultaten geht ebenfalls hervor, dass die Äschen aus den untersten Strecken nicht in die oberen Strecken aufsteigen können. Innerhalb der oberen Strecken können zehn Jahre nach den letzten Besatzmassnahmen jedoch kaum negative Effekte auf die genetische Vielfalt festgestellt werden. Nur in der obersten Strecke bei Liesberg scheint die genetische Vielfalt leicht geringer zu sein als weiter flussabwärts. Da die zehn Jahre seit dem Besatzstopp nur etwa 3-4 Generationen entspricht, ist dieses Resultat nicht überraschend. Veränderungen in

der genetischen Vielfalt werden vor allem durch Flaschenhalseffekte und genetischen Drift in kleinen Populationen verursacht. Diese Prozesse brauchen aber auch in kleinen Populationen, mehrere Generationen um wirken zu können. Die Tatsache, dass bei Jungfischen in verschiedenen Strecken Familieneffekte vorhanden sind, d.h. dass sie von einer geringen Anzahl Elterntieren abstammen, zeigt, dass die für eine Art dringend benötigte genetische Vermischung zwischen den Teilpopulationen nicht oder in einem zu geringen Masse stattfindet. Längerfristig kann diese Situation zum Verlust von genetischer Vielfalt und zu Inzucht führen, was die Überlebensfähigkeit der Äschen in den verschiedenen Teilstrecken gefährdet (Frankham, 1995; Reed, Frankham, 2003; Saccheri *et al.*, 1998). Um ein längerfristiges Überleben der Äsche sicherzustellen, sollte die Vernetzung der verschiedenen Strecken verbessert werden. Es könnte für die Äschen ebenfalls von Vorteil sein, wenn die Vernetzung mit dem Rhein wiederhergestellt werden würde.

5. ANTWORTEN AUF DIE FRAGESTELLUNGEN

Führt die Fragmentierung der Birs zu einer erhöhten Gefährdung der Äschenpopulationen durch Flaschenhalseffekte?

Ja, die genetische Vermischung zwischen den Strecken ist reduziert, Jungfische stammen von einer geringen Anzahl Elterntiere ab und in der Liesberg Population wird eine signifikant geringere genetische Vielfalt beobachtet. Dies kann zu einer genetischen Verarmung innerhalb der Populationen führen, was die Fitness der Fische reduziert und die Überlebensfähigkeit der Populationen gefährdet.

Findet ein genetischer Austausch zwischen den Staustufen statt?

Ein gewisser genetischer Austausch zwischen den oberen Staustufen, besonders flussabwärts kann nicht ausgeschlossen werden. Es ist aber klar, dass die Rheinäschen nicht in die oberen Strecken einwandern können. Somit ist ein natürlicher Zufluss der grösseren und vor allem natürlichen Populationen aus dem Rhein nicht möglich.

Stammen die Birsäschen ausschliesslich aus dem Rheineinzug, oder sind auch andere Stämme vorhanden?

Nein, die Birsäschen der oberen Strecken stammen überwiegend von Besatzmassnahmen von Äschen aus dem Doubseinzugsgebiet. Nur in der untersten Strecke konnten reine Rheinäschen beobachtet werden.

6. VERDANKUNGEN

Die Studie wurde grösstenteils vom Fischhegefonds des Kantons Basellandschaft, sowie auch vom Kantonalen Fischereiverband (KFVBL) finanziert. Wir möchten an dieser Stelle allen Personen, auch jenen des VJF (Veterinär-, Jagd- und Fischereiwesen des Kantons Basel Landschaft), die bei den Feldarbeiten mitgearbeitet haben unseren grossen Dank aussprechen. Schliesslich danken wir auch der Fischerei-Pachtvereinigung des Bezirks Laufen (FIPAL) für die Gesamtorganisation und Durchführung der Feldarbeit.

7. LITERATURVERZEICHNIS

- Dujmic A (1997) *Der vernachlässigte Edelfisch: Die Äsche. Status, Verbreitung, Biologie, Ökologie und Fang.* Facultas Universitätsverlag, Wien.
- Excoffier L, Laval G, Schneider S (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* **1**, 47-50.
- Frankham R (1995) Conservation genetics. *Annual Review of Genetics* **29**, 305-327.
- Goudet J (2001) FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). *Available from <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>.*
- Gum B, Gross R, Rottmann O, Schroder W, Kuhn R (2003) Microsatellite variation in Bavarian populations of European grayling (*Thymallus thymallus*): Implications for conservation. *Conservation Genetics* **4**, 659-672.
- Guo SW, Thompson EA (1992) Performing the Exact Test of Hardy-Weinberg Proportion for Multiple Alleles. *Biometrics* **48**, 361-372.
- Guthruf J (1996) *Populationsdynamik und Habitatwahl der Äsche (Thymallus thymallus L.) in drei verschiedenen Gewässern des schweizerischen Mittellandes.* , ETH Zürich.
- Hellawell JM (1971) The food of the grayling *Thymallus thymallus* (L.) of the River Lugg, Herefordshire. *Journal of Fish Biology* **3**, 187-197.
- Huet M (1949) Aperçu des relations entre la pente et les populations piscicoles des eaux courantes. *Revue Suisse d'Hydrologie* **11**, 332-351.
- Kirchhofer A, Breitenstein M, Zaugg B (2007) *Rote Liste Fische und Rundmäuler.* Bundesamt für Umwelt, Wald und Landschaft BUWAL, Bern.
- Kraiem M, Pattee E (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**, 250-261.
- Northcote TG (1995) Comparative Biology and Management of Arctic and European Grayling (Salmonidae, Thymallus). *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **5**, 141-194.
- 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.* , Université de Lausanne.
- 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.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* **155**, 945-959.
- Raymond M, Rousset F (1995) Genepop (Version-1.2) - Population-Genetics Software for Exact Tests and Ecumenicism. *Journal of Heredity* **86**, 248-249.
- Reed DH, Frankham R (2003) Correlation between fitness and genetic diversity. *Conservation Biology* **17**, 230-237.
- Saccheri I, Kuussaari M, Kankare M, *et al.* (1998) Inbreeding and extinction in a butterfly metapopulation. *Nature* **392**, 491-494.
- Salathé R. (2000) *Die Birs - Bilder einer Flussgeschichte* Verlag des Kantons Basel-Landschaft, Liestal.
- Uiblein F, Jagsch A, Honsig-Erlenburg W, Weiss S (2001) Status, habitat use, and vulnerability of the European grayling in Austrian waters. *Journal of Fish Biology* **59**, 223-247.
- Vonlanthen P, Marbach Y, Seehausen O (2010) Genetische Differenzierung der Äschen im Kanton St. Gallen (ed. EAWAG), Kastanienbaum.
- Weber C, Peter. A., (2007) Die Fischgemeinschaft in der revitalisierten Birs bei Münchenstein. EAWAG, Das Wasserforschungsinstitut des ETH-Bereichs.

Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* **38**, 1358-1370.