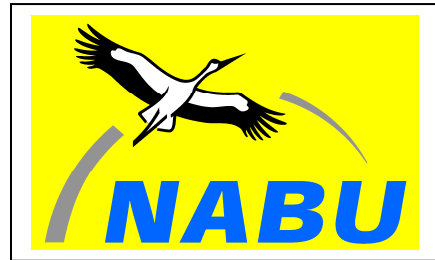


Zuwendungsempfänger:

NABU Ortsgruppe Marburg
Arbeitskreis Gewässerschutz
Ronald Polivka
Am Krumbogen 2
35039 Marburg



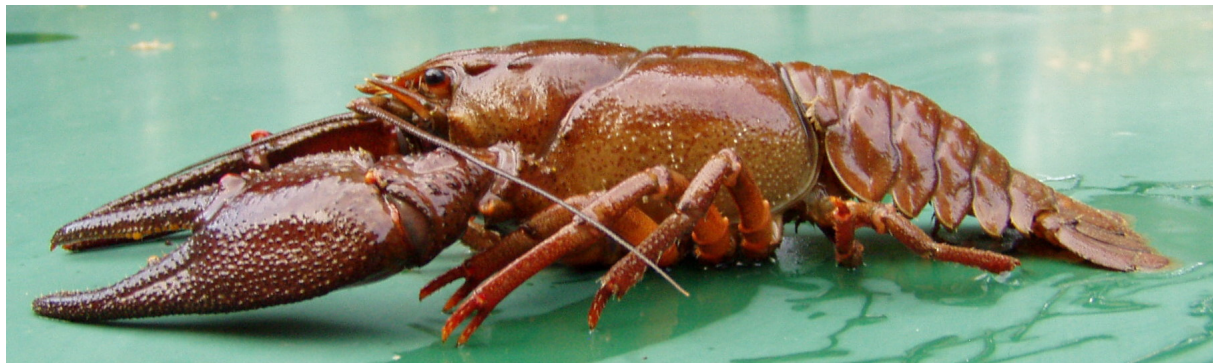
Kooperationspartner:

Universität Koblenz-Landau
Institut für Umweltwissenschaften
Herr Dr. Holger Schulz
Fortstraße 7
76829 Landau

Modell und Demonstrationsvorhaben (MuD)

**Erhaltung autochthoner Populationen bedrohter Krebs- und Fisch-
arten**

Förderkennzeichen: 07BM018



Abschlussbericht

Zeitraum: Juni 2009 – Dezember 2010

Verantwortlichkeiten

Projektförderung:	Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung	Deichmanns Aue 29 53179 Bonn
Zuwendungs-empfänger:	NABU Ortsgruppe Marburg Arbeitskreis Gewässerschutz	Am Krumbogen 2 35039 Marburg
Kooperationspartner	Universität Koblenz-Landau Institut für Umweltwissenschaften	Fortstraße 7 76829 Landau
Projektleitung:	Dipl.-Biol. Ronald Polivka, Marburg Dipl.-Biol. Christoph Dümpelmann, Marburg	
Koordination genetische Analysen	Dr. Holger Schulz, Landau	
Mitarbeiter:		
- Genetik	Dipl.-Biol. Anne Schrimpf, Landau	
- Datenrecherche und Probenahme Edel- krebse	Dipl.-Biol. Frank Bonacker, Stadtallendorf Dipl.-Biol. Knut Gimpel, Marburg	
Titelfoto:	Dipl.-Biol. Christoph Dümpelmann, Marburg	

Inhalt

1	Aufgabenstellung, Projektziel	1
2	Planung und Ablauf.....	1
3	Methodik	2
3.1	Datenrecherche.....	2
3.1.1	Edelkrebs.....	2
3.1.2	Karusche, Bitterling.....	3
3.2	Probennahme, Überprüfung Verdachtsgewässer	4
3.2.1	Edelkrebs.....	4
3.2.2	Karusche, Bitterling.....	6
3.3	Genetische Analyse Edelkrebs	6
4	Ergebnisse	7
4.1	Edelkrebs.....	7
4.1.1	Probenahme.....	7
4.1.2	Genetische Analyse	12
4.1.2.1	Sequenzierung	13
4.1.2.2	Mikrosatellitenanalyse.....	14
4.1.2.3	Zusammenfassung und Diskussion der genetischen Ergebnisse.....	15
4.2	Karusche und Bitterling.....	18
5	Konsequenzen für ein Folgeprojekt	20
6	Erfolgskontrolle über die Einhaltung des Finanzierungs-, Zeit- und Arbeitsplans.....	22
7	Zusammenfassung	22
Anhang:		
	Manuskript zur Einreichung bei der Zeitschrift Natur und Landschaft.....	24

1 Aufgabenstellung, Projektziel

Das wesentliche Ziel des Vorhabens war die Identifikation autochthoner Bestände des Edelkrebsses (*Astacus astacus*) im Einzugsgebiet der Lahn. Hierzu mussten Verdachtsgewässer recherchiert, diese auf Vorkommen des Edelkrebsses überprüft und bei Positivnachweis genetisch analysiert werden. Ziel der genetischen Untersuchungen war es, geeignete Spenderpopulationen von Edelkrebsen zu finden, die für den Aufbau eines regionalen Genpools für künftige Artenschutzprojekte in Frage kommen.

Bei den gefährdeten Fischarten Karausche und Bitterling waren genetische Untersuchungen nicht vorgesehen. Hier sollten durch Probenbefischungen von Verdachtsgewässern geeignete Spenderpopulationen identifiziert und mit einer Nachzucht in einer extensiven Teichanlage begonnen werden.

Durch den Beginn des Aufbaus einer EDV-Informationenplattform sollte das Projekt einer breiteren Öffentlichkeit zugänglich gemacht werden, auch im Hinblick auf spätere Vermarktungsmöglichkeiten.

Die Nachzucht von Edelkrebsen, Bitterlingen und Karauschen soll modellhaft in einer kleinen, naturnahen Teichanlage des NABU durchgeführt werden. Die Anlage besteht aus 5 Erdbecken mit einer Wasserfläche von ca. 3.000 m².

2 Planung und Ablauf

Koordination und Vorbereitung der einzelnen Arbeitsschritte erfolgte in Arbeitsgruppensitzungen, an denen stets Ronald Polivka und Christoph Dümpelmann teilnahmen. Bei Bedarf wurden weitere Mitarbeiter hinzugeladen. Als fachkundige Mitarbeiter konnten Herr Frank Bonacker und Herr Knut Gimpel gewonnen werden. Herr Bonacker schrieb in 2007 eine Diplomarbeit über Flusskrebse im Einzugsgebiet der Lahn an der Philipps-Universität Marburg. Herr Gimpel, ebenfalls Diplomand über den Edelkrebs an der Uni Marburg, hat zudem umfangreiche Kartierungsarbeiten von Edelkrebs und Steinkrebs im Auftrag von Hessenforst FENA durchgeführt. Beide

Mitarbeiter waren an der Festlegung der Probenahmegewässer und an der Gewinnung der Gewebeproben für die genetische Analyse beteiligt.

Die erste Phase der Überprüfung von Edelkrebsverdachtsgewässern fand im Sommer / Herbst 2009 statt. Da sich in dieser Phase und auch danach laufend neue Erkenntnisse ergaben und bei einigen Gewässern mit Edelkrebsnachweisen nur wenige Tiere gefangen werden konnten, wurde vom ursprünglichen Arbeitsplan abgewichen und die Probennahme auf 2010 ausgedehnt, um eine möglichst vollständige Datengrundlage zu erhalten. Die Gewebeproben wurden möglichst umgehend per Post nach Landau zur genetischen Analyse verschickt.

3 Methodik

3.1 Datenrecherche

3.1.1 Edelkrebs

Da eine flächendeckende Kartierung des hessischen Lahneinzugsgebietes zeitlich und finanziell nicht machbar war, mussten für die erste Analyse zu Edelkrebsvorkommen sowohl historische als auch aktuelle Daten gesichtet werden. Für das hessische Lahnsystem galt dies besonders für das aktuelle, offizielle Standardwerk „Über die Verbreitung der decapoden Crustaceen in Hessen“ (Dissertation von T. Mock, an der Universität Gesamthochschule Kassel, 1996). Die Angaben zu Krebsvorkommen in dieser Arbeit wurden überwiegend über Fragebögen, welche an Pächter und Fischereirechtsinhaber versendet wurden, ermittelt. Es werden allgemeine Angaben zu Gewässereinzugsgebieten mit Vorkommen der Arten gemacht. Dabei sind zahlreiche Vorkommen des amerikanischen Signalkrebsses (*Pacifastacus leniusculus*) als Edelkrebsvorkommen erfasst. Bereits aus diesem Grund müssen sämtliche Angaben dieses Werkes überprüft werden.

Eine detaillierte und fachlich fundierte Kartierung stellt die „Flusskrebskartierung im Einzugsgebiet der Lahn in Hessen“ (Diplomarbeit von F. Bonacker an der Philipps-Universität Marburg, 2007) dar. Aus der zeitlichen Begrenzung im Rahmen einer Diplomarbeit musste bei diesem Werk das große Untereinzugsgebiet der Ohm ausgeklammert werden. Über diese Arbeit erfolgten jedoch zahlreiche Hinweise auf Edelkrebsvorkommen und noch mehr Nachweise von Vorkommen amerikanischer Arten, besonders des Signalkrebsses.

Um im Einzugsgebiet der Lahn möglichst viele Populationen von Edelkrebsen für die geplanten genetischen Untersuchungen im Rahmen dieses Projekts zu erreichen, wurden ausgehend von den Vorkommen, welche bei Bonacker (2007) ermittelt wurden, alle Literaturhinweise, welche beim RP Gießen in Form von unveröffentlichten Gutachten vorlagen und im Rahmen sonstiger Untersuchungen bekannt wurden, überprüft. Für alle potentiellen Populationen war grundsätzlich der Kontakt und das Einvernehmen mit den Pächtern bzw. Fischereirechtsinhabern herzustellen, da die rechtliche Lage dies vorschreibt.

Sehr viele Hinweise ergaben und ergeben sich bei diesen Kontakten zu Teichbesitzern, Anglern, Angelvereinen, Privatpächtern etc. Da auf Grund der oft unzureichenden Artenkenntnis dieser Personen jeder Hinweis verifiziert bzw. falsifiziert werden muss, nimmt diese Recherche sehr viel Zeit in Anspruch und erstreckte sich über einen längeren Zeitraum als ursprünglich angenommen. Als sehr hilfreich erwies sich die Zusammenarbeit mit der IG Lahn, die nach den Kartierungen von Bonacker (2007) eine umfangreiche Erfassung der Krebsbestände im Einzugsgebiet der Lahn mit Schwerpunkt Dill beauftragte, welche in der Fläche zahlreiche Detailinformationen zu Krebsbeständen erbrachte (Dümpelmann & Bonacker 2007-2010)

Aus diesem Grund wurde die Recherche im Laufe der Probennahmen ständig fortgeführt und ist auch jetzt noch nicht beendet.

3.1.2 Karausche, Bitterling

Diese beiden gefährdeten Kleinfischarten leiden bundesweit besonders unter Lebensraumverlust. Während die Karausche als einer der ganz wenigen Arten in der neuen Bundes-Rote Liste der Fische hochgestuft wurde (Freyhof 2009), scheinen sich die Bestände des Bitterlings zu erholen. Die Art ist jedoch im Einzugsgebiet der Lahn selten, die Karausche sehr selten. Die Gefährdungsgrade der beiden Arten in Hessen spiegeln beim Bitterling den aktuellen Kenntnisstand wider. Die Datenlage gilt als defizitär. Die Karausche gilt in Hessen als vom Aussterben bedroht (Adam et al. 1996). Bei beiden Arten ist die genetische Diversität in Westeuropa nicht groß (Dr. Jörg Bohlen, Institut of Animal Physiology and Genetic, Libechov, Tschechien, mdl. Mitt.). Während der Bitterling z.T. durch Angelvereine im Rahmen von sog. „Artenschutzbesatzmaßnahmen“ in Stillgewässer eingesetzt wird, geschieht dies bei der Karausche selten. Der Bitterling wird auch im Aquarienhandlung als Teichfisch ange-

boten. Die Herkunft dieser Tiere ist unklar und die Gefahr, dass dies andere (asiatische) Arten sind, ist gegeben.

Neben der Recherche hinsichtlich bekannter Populationen erfolgten für diese beiden Stillwasserarten auch gezielte Elektrofischungen an potentiell geeigneten Habitaten im Lahneinzugsgebiet.

3.2 Probennahme, Überprüfung Verdachtsgewässer

3.2.1 Edelkrebs

Die Überprüfung von Verdachtsgewässern erfolgte in der Regel über das Auslegen von beköderten Krebsreusen. Verwendet wurden zweikehlige Kunststoffreusen der Marke Pirat. Als Köder wurde handelsübliches Katzenfutter oder Salami eingesetzt, die beide in der Praxis hinlänglich erprobt sind. Die Reusen wurden an geeignet erscheinenden Stellen – meist tiefere Stellen mit Versteckmöglichkeiten (Steine, Totholz, Wurzelwerk) - über Nacht ausgelegt und am nächsten Morgen kontrolliert. Wurden Edelkrebse gefangen, wurde pro Tier eine Gewebeprobe entnommen und in Alkohol konserviert. Hierzu wurde den Tieren das letzte oder die letzten beiden Segmente eines der letzten Schreitbeine mit einer Schere entfernt. Die Gewebeproben wurden zur weiteren genetischen Analyse laufend nach Landau ins Institut für Umweltwissenschaften geschickt. Dieser Vorgang ist für Krebse unproblematisch, da die Tiere auch bei interspezifischen Auseinandersätzen immer wieder Teile der Gliedmaßen verlieren und diese im Laufe der folgenden Häutungen im Rahmen von Regenerationswachstum wieder nachwachsen. Die entsprechende Artenschutzrechtliche Ausnahmegenehmigung erfolgte durch die Untere Naturschutzbehörde des Landkreises Marburg-Biedenkopf als Gesamtgenehmigung für das gesamte Projektgebiet in Koordination mit den anderen Landkreisen im Untersuchungsraum (Systemanzeiger N/gesamter Landkreis/2008-0194 K 83/360-391-02/08, mit Änderungen/Verlängerungen vom 29.07.2009 und 12.05.2010).

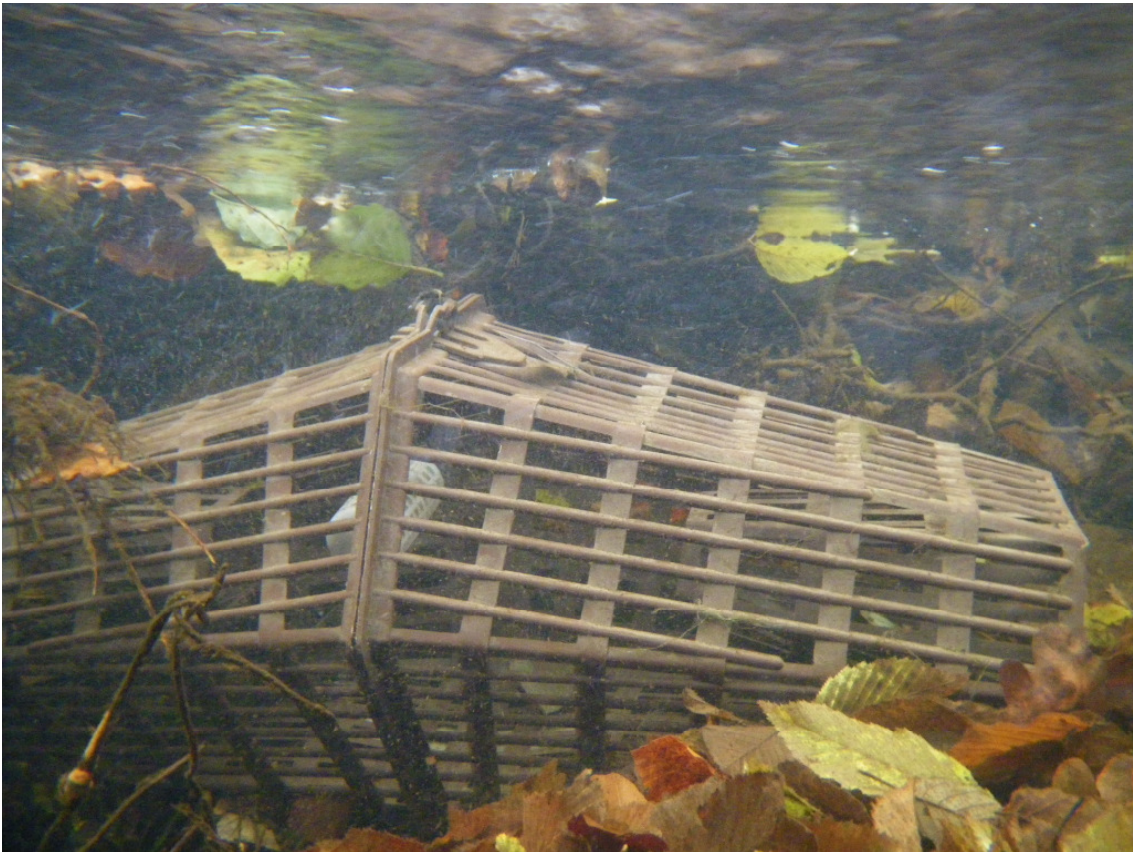


Abb. 1: Fängige Krebsreuse im Gewässer. In der Mitte der Reuse ist das weiße Köderkörbchen erkennbar.



Abb. 2: Geöffnete Krebsreuse mit gefangenem *Astacus astacus*

Waren Verdachtsgewässer so klein oder so flach, dass der Einsatz von Reusen nicht sinnvoll möglich war, wurden Handaufsammlungen durchgeführt, indem Steine u.a. Versteckmöglichkeiten umgedreht bzw. abgesucht wurden.

3.2.2 Karausche, Bitterling

Von der Karausche wurden 6 Verdachtsgewässer ermittelt. Ein Gewässer, ein Bombenrichter im FFH – Gebiet „Herrenwald östlich von Stadtallendorf“ wurde bereits im Rahmen der FFH – Grunddatenerhebung im Jahr 2005 ermittelt. Einige Karauschen aus diesem Bestand wurden damals in einen Naturschutzteich bei Unterrospehe (Kreis Marburg-Biedenkopf) eingesetzt, wo sie sich seit dem vermehren.

Vier weitere Verdachtsgewässer wurden in 2010 elektrisch befischt. Die Kontrollbefischnungen am 09.11.2010 an einem Altarm der Lahn bei Grävenwiesbach sowie an drei Altarmstrukturen in der Marburger Lahnaue erbrachten ein Vorkommen der Karausche in einem alten Altarm der Lahn südlich von Marburg. Bitterlinge konnten keine nachgewiesen werden.

Das einzige Gewässer im Lahneinzugsgebiet, von dem der Bitterling gemeldet wurde, ist ein Teich im botanischen Garten der Philipps-Universität Marburg auf den Lahnbergen. Der Bestand ist verifiziert worden. Es handelt sich um Tiere, die Anfang der 80er Jahre von einer Fischzucht in Bayern gekauft und besetzt wurden.

3.3 Genetische Analyse Edelkrebs

Die Bestimmung der populationsgenetischen Struktur erfolgte auf zwei Skalenebenen. Mit Hilfe der Sequenzierung zweier mitochondrieller DNA-Abschnitte wurden autochthone Populationen bestimmt. Mitochondrielle Sequenzen eignen sich besonders zur Erforschung von stammesgeschichtlichen Verwandtschaftsverhältnissen, da sie nur von der Mutter vererbt werden und es zu keiner Rekombination kommt. Das mitochondrielle protein-kodierende Gen Cytochrom-Oxidase Untereinheit 1 (COI) ist ein etablierter Marker für stammesgeschichtliche Untersuchungen und der zuverlässigen taxonomischen Identifikation. Ein weiterer, vor allem bei großen Datensätzen neben phylogenetischen auch für populationsgenetische Untersuchungen genutzter mitochondrieller Marker ist die Sequenz der 16S-rRNA.

Die Abschnitte wurden je nach Verfügbarkeit bei 3 bis 10 Individuen pro Population analysiert. Für die Auswertung wurden Haplotypen (Genvarianten) von Edelkrebsen aus dem Lahneinzugsgebiet mit Edelkrebsen von zwei Edelkrebszuchten sowie aus anderen Flusseinzugsgebieten (Rhein, Donau, Ems, Weser, Elbe, Oder und Weichsel) verglichen. Entsprechen die genetischen Muster nicht dem historischen Genfluss, so fand vermutlich Besatz mit Edelkrebsen aus anderen Flusseinzugsgebieten statt.

Zur Bestimmung der Diversität (Arlequin Version 3.11) innerhalb von Populationen und zur Bestimmung der genetischen Distanz zwischen Populationen (Arlequin Version 3.11) wurde eine Mikrosatellitenanalyse mit 8 Primern bei jeweils ca. 20 Individuen pro Population durchgeführt. Aufgrund der hohen Mutationsrate ermöglicht die Mikrosatellitenanalyse eine feinere Auflösung als die Sequenzanalyse, und genetische Unterschiede können auch zwischen nah verwandten Populationen aufgedeckt werden. Mikrosatellitenanalysen wurden bisher bei Flusskrebsen durchgeführt, um die Heterozygotie von Populationen, historische Verwandtschaften, die Abstammung von Populationen oder den Genfluss zu bestimmen.

4 Ergebnisse

4.1 Edelkrebs

4.1.1 Probenahme

Insgesamt wurden in den Jahren 2009 und 2010 45 Verdachtsgewässer auf Edelkrebsvorkommen überprüft. 38 Verdachtsgewässer liegen im Lahneinzugsgebiet, 4 im Fulda- und 3 im Mainneinzugsgebiet (vgl. Tab. 1). Die Gewässer außerhalb des Lahneinzugsgebiets sowie Tiere von zwei professionellen Krebszuchtbetrieben dienten als Referenzgewässer.

Edelkrebse konnten in 27 Gewässern des Lahn-EZG, in 3 Gewässern des Fulda-EZG und in 2 Gewässern des Main-EZG nachgewiesen werden. Von den 27 Populationen des Lahn-EZG, waren 16 Populationen groß genug, um die für die Mikrosatellitenanalyse erforderliche Anzahl von mindestens 15 Tieren fangen zu können. In den anderen 11 Gewässern konnten jeweils nur wenige Edelkrebse gefangen werden, von denen ebenfalls Gewebeproben entnommen wurden, die zwar sequenziert, aber nicht mikrosatellitenanalytisch untersucht werden konnten. In 5 Gewässern des Lahn-EZG wurden statt *Astacus astacus* andere, nicht einheimische Flusskrebsarten gefangen, in 6 Gewässern des Lahn-EZG konnten gar keine Flusskrebse nachge-

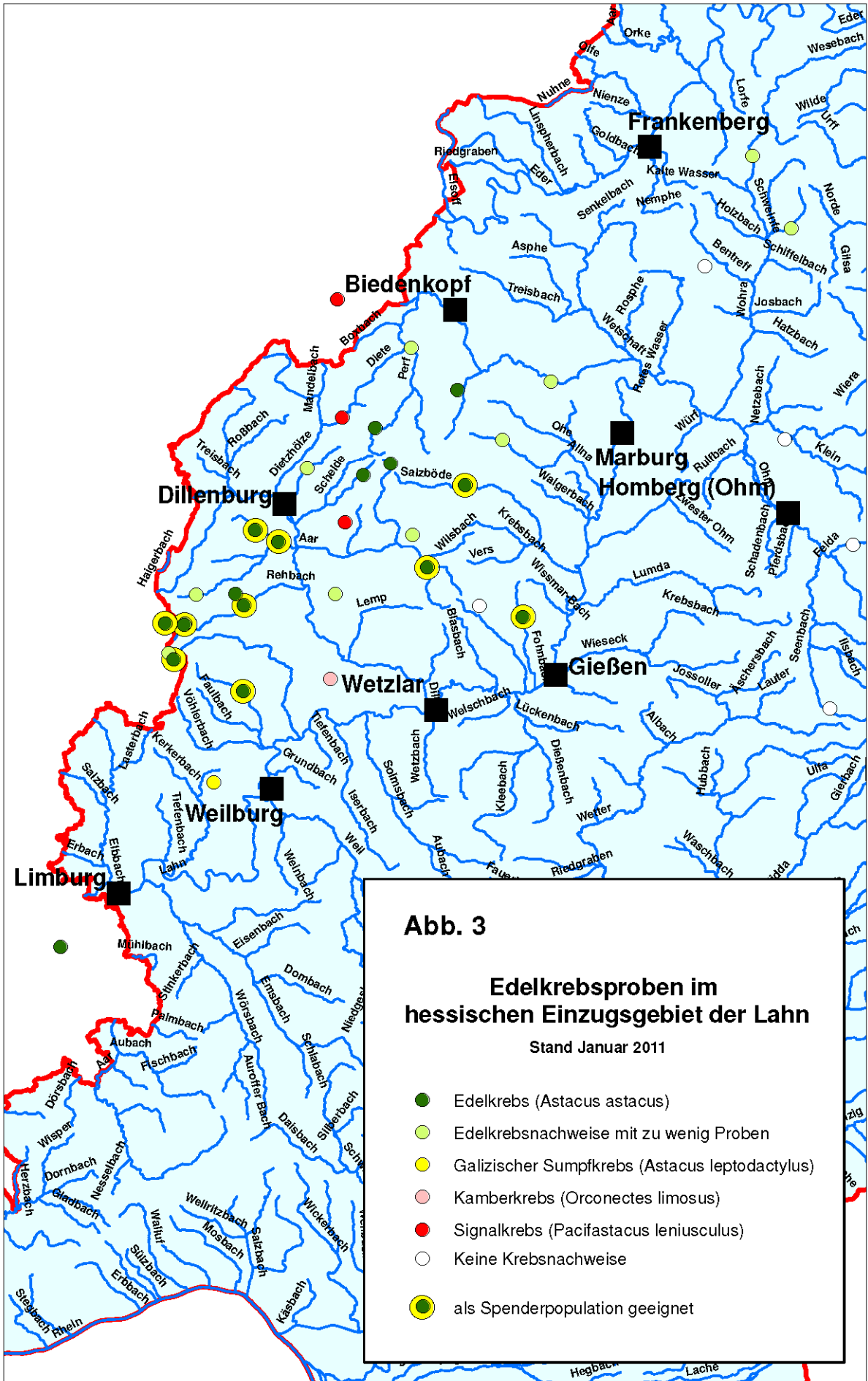
wiesen werden (vgl. Tab 1, Abb. 3). Hierbei ist zu beachten, dass durch das Erfassungsprojekt der IG Lahn zahlreiche Gewässer bereits im Vorfeld aussortiert werden konnten, da dort klar war, dass keine oder amerikanische Krebse vorkommen. Auf diese Weise konnte das große Einzugsgebiet relativ flächig sinnvoll auf Edelkrebspopulationen hin untersucht und beprobt werden.

Tabelle 1: Probenahmegewässer mit Lage, Anzahl der gewonnenen Gewebeproben und genetischem Analyseprogramm

Nr.	Probenbezeichnung	Bundesland/ Einzugsgebiet	Probenzahl	Rechts/ Hochwert (GK)	COI	16S	Mikrosatellitenanalyse
1	Ro (Ocherbach) – zur Fulda	Hessen / Fulda - Weser	5		5	5	
2	Am (Ambach) – zur Dill	Hessen / Lahn - Rhein	20	3449245/5618855	11	5	Mikrosatellitenanalyse
3	Aar (Aar) – zur Dill	Hessen / Lahn -	25	3464001/5616305	5	5	Mikrosatellitenanalyse
4	Nan (Nanzenbach) – zur Dill	Hessen / Lahn -	1	3452065/5626165	1	1	
5	Ka (Kallenbach) – zur Lahn	Hessen / Lahn -	25	3445707/5604020	18	5	Mikrosatellitenanalyse
6	Sa (Salzböde) – zur Lahn	Hessen / Lahn -	20	3467809/5624474	5	5	Mikrosatellitenanalyse
7	All (Allna) – zur Lahn	Hessen / Lahn -	9	3471545/5629025	4	4	
8	Fo (Fohnbach) – zur Dill	Hessen / Lahn -	20	3473570/5611395	5	5	Mikrosatellitenanalyse
9	Sti (Stippbach) – zur Dill	Hessen / Lahn -	7	3454905/5613660	5	5	
10	Eic (Eichelbach) – zur Nidda	Hessen / Main - Rhein	21	3509060/5592065	5	5	Mikrosatellitenanalyse
11	Mm1 (Mademühlen 1)	Hessen / Lahn -	19	3439880/5610620	5	5	Mikrosatellitenanalyse
12	Me (Merzkrebse) – zur Lahn	Hessen / Lahn -	17	3427560/5578532	9	5	Mikrosatellitenanalyse
13	He (Henseler Teiche) – zur Dill	Hessen / Lahn -	Galizier	3442818/5594955			
14	Da (Dautphe) – zur Lahn	Hessen / Lahn -	20	3467030/5634010	3	3	Mikrosatellitenanalyse
15	Urff (Urff) – zur Fulda	Hessen / Fulda -	5	3509415/5656705	5	5	
16	Gie (Giebelsbach) - zur Wohra	Hessen / Lahn -	3	3500220/5650060	1	1	
17	Si (Simmersbach) – zur Dill	Hessen / Lahn -	Signalkrebse	3455590/5631280			
18	Hei (Heisterberger Weiher) – zur Dill	Hessen / Lahn -	1, Altnachweise	3441015/5613585			
19	Pe (Perf) – zur Lahn	Hessen / Lahn -	11	3462422/5638200	5	5	
20	Hau (Haune) – zur Fulda	Hessen / Fulda - Weser	kN- Altnachweise				
21	MeT (Merzhäuser Teiche) – zur Wohra	Hessen / Lahn - Rhein	kN- Altnachweise	3491630/5646260			
22	Dün (Dünsbergbach) – zum Bieberbach	Hessen / Lahn - Rhein	kN- Altnachweise	3469225/5612510			
24	Ga (Gansbach) – zur Perf	Hessen / Lahn - Rhein	21	3458860/5630242	5	5	Mikrosatellitenanalyse

		Bundesland/ Einzugsgebiet	Probenzahl	Rechts/ Hochwert (GK)	COI	16S	Mikrosatellitenanalyse
25	Se (Seenbach) – zur Ohm	Hessen / Lahn - Rhein	kN	3504048/ 5602275			
26	Mee (Meerbach) – zur Dill	Hessen / Lahn - Rhein	1, Altnachweise	3462585/5619505	1	1	
27	Krebszucht Keller		20		10	10	Mikrosatellitenanalyse
28	Krebszucht Jeschke		20		5	5	
29	STE (Steinbruch Roth/Schönbach)	Hessen / Lahn -	20	3444940/5613680	5	5	
30	Ge (TA Geierstein/Roth) – zur Dill	Hessen / Lahn - Rhein	17	3445825/5612545	13	5	Mikrosatellitenanalyse
31	La (Lasterbach/TA Mabüll) – zum Elbbach	Hessen / Lahn -	20	3438830/5607160	5	5	Mikrosatellitenanalyse
32	Teiche im Oberlauf Lasterbach	Hessen / Lahn -	7	3438320/5607770	5	5	
33	Fe (Felda) – zur Ohm	Hessen / Lahn - Rhein	kN	3506438/5618530			
34	Mühlgraben Caldern	Hessen / Lahn - Rhein	3	3476345/5634850	3	3	
35	TA Donsbach	Hessen / Lahn - Rhein	20	3446935/5620005	5	5	Mikrosatellitenanalyse
36	Eschersbach	Hessen / Lahn - Rhein	kN				
37	Leuner Burg	Hessen / Lahn - Rhein	Kamberskrebse	3454377/5605227			
38	Banfe + Ilsebach	Hessen / Lahn - Rhein	Signalkrebse	3455097/5642977			
39	Mm2 (Mademühlen 2)	Hessen / Lahn - Rhein	4	3439907/5610737	3	3	
40	Breitweiher/Rhön	Hessen / Fulda - Weser	2	3551095/5596412	2	2	
41	TA bei Spielberg	Hessen / Main - Rhein	18	3520452/5574575	5	5	Mikrosatellitenanalyse
42	TA Hartmann/Rehbach	Hessen / Lahn - Rhein	20	3437960/5610755	5	5	Mikrosatellitenanalyse
43	Schweinfel - zur Wohra	Hessen / Lahn - Rhein	3	3496430/ 5657236			
44	Klein - zur Ohm	Hessen / Lahn - Rhein	kN	3499613/ 5629077			
46	Kinzig - Oberlauf	Hessen / Main - Rhein	kN				
49	Waldteich bei Wallenfels	Hessen / Lahn - Rhein	18	3460427/5626655	5	5	
50	Teich bei Nesselhof	Hessen / Lahn - Rhein	Signalkrebse	3455830/5620762			
51	Waldteich Irrschelde	Hessen / Lahn - Rhein	22	3457682/5625485	5	5	
					174	143	

		Bundesland/ Einzugsgebiet		Rechts/ Hochwert (GK)	COI	16S	Mikrosatellitenanalyse	
Nr.	Probenbezeichnung		Probenzahl					
	Erläuterungen:							
	= Probenzahl ausreichend für Mikrosatellitenanalyse							
	= zu wenig Proben für Mikrosatellitenanalyse							
	= kein Nachweis oder andere Arten							
	= Proben nicht analysiert							



4.1.2 Genetische Analyse

4.1.2.1 Sequenzierung

Insgesamt wurden Proben von 32 Populationen sequenziert.

Für COI wurden 6 verschiedene Haplotypen gefunden, wobei „Haplotyp A“ mit 166 von 174 analysierten Proben dominant war (Tab. 2). „Haplotyp A“ war in jeder Population im Lahneinzugsgebiet vertreten. Die anderen 3 Haplotypen kamen bei Tieren aus der Zucht von Herrn Keller in Augsburg und der Zucht von Herrn Jeske in Oeversee in Schleswig-Holstein vor. Haplotyp R2 wurde außer in Augsburg auch in der Population Spielberg im Mainneinzugsgebiet entdeckt.

Der DNA-Abschnitt der 16S rRNA zeigte sich bei den untersuchten Tieren als weniger polymorph. Es konnten bei allen untersuchten Populationen drei Haplotypen unterschieden werden, wobei im Lahneinzugsgebiet ausschließlich der ebenfalls so bezeichnete „Haplotyp A“ vorkam. Ein weiterer Haplotyp (R2) trat bei Individuen in der Zucht in Augsburg und in Spielberg auf. Spielberg gehört jedoch zum Einzugsgebiet des Mains und diente in der Untersuchung als Referenzprobe. Der Haplotyp „L“ wurde bei einem Individuum der Population Waldteich bei Wallenfels gefunden. Von dieser Population weiß man, dass die Tiere aus einem Besatz (Fischzucht Gerstner in Franken) stammen.

Tabelle 2: Haplotypenliste der 119 COI- (linke Spalte) und 16r RNA- (rechte Spalte) Sequenzen, die in der Flusskrebszucht in Augsburg (Au), in Schleswig Holstein (SH) und im Rheineinzugsgebiet (Sp für Spielberg, Wa für Waldteich bei Wallenfels) identifiziert wurden.

Haplotyp	COI	16S
A	106 Proben	112 Proben
AU1	Au1, Au2, Au7	
AU2	Au3	
R2	Au4, Au5, Sp1, Sp3, Sp4	Au3, Au4, Au5, Sp1, Sp3, Sp4
L		Wa4
SH1	Jes1, Jes2, Jes3	
SH2	Jes4	

Die Referenzproben aus den Einzugsgebieten der größeren europäischen Flüsse besaßen insgesamt 25 Haplotypen für COI und 12 Haplotypen für 16S. Die

Haplotypendiversität war im Einzugsgebiet der Donau am größten und im Lahneinzugsgebiet am geringsten.

Der einzige Haplotyp, der nur im Lahneinzugsgebiet und in keiner anderen europäischen Edelkrebspopulation gefunden wurde, war Haplotyp „L“ in der Population Wallenfels, die nachweislich aus Besatz stammt. Somit konnte im Lahneinzugsgebiet nur ein einziger Haplotyp nachgewiesen werden.

4.1.2.2 Mikrosatellitenanalyse

Untersucht wurden 16 Populationen. 4 Populationen konnten aus terminlichen Gründen nicht mehr berücksichtigt werden (s. Tab. 1).

Die genetische Diversität war in Teichpopulationen geringer als in Populationen aus dem Fließgewässer (Abb. 4). Auffällig hoch war die Diversität der Zucht in Augsburg (Kreis, Abb. 4).

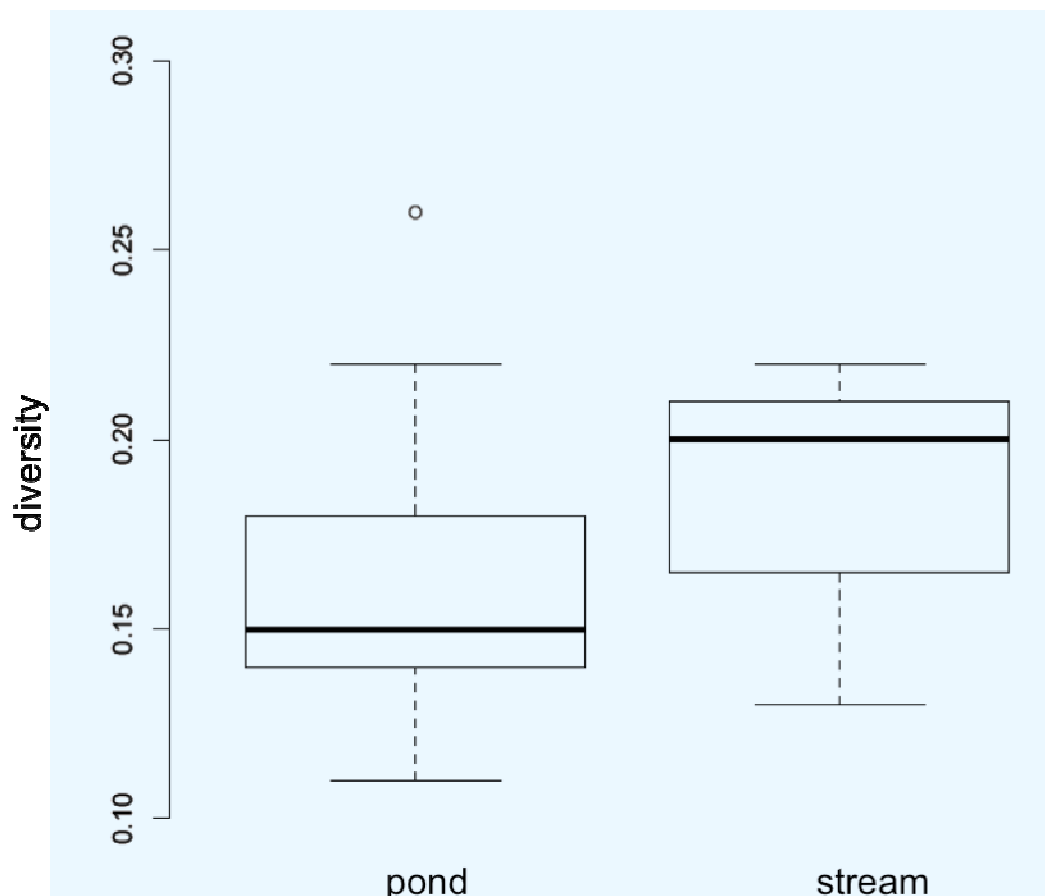


Abbildung 4: Die Diversität in Populationen aus dem Fließgewässer (rechts) ist höher als die Diversität in Populationen aus Stillgewässern (links). Innerhalb der Box befinden sich 50% der Diversitätswerte, bis zu dem oberen und unteren Balken befinden sich jeweils die oberen bzw. unteren 25% der Werte. Die hohe Diversität der Population aus Augsburg (Kreis) wird als „Ausreißerwert“ gewertet. Der Boxplot wurde mit „R“ (Version 2.11.1) erstellt.

Die genetische Distanz [F_{ST} -Wert] zwischen den Populationen aus Fließgewässern zeigte eine deutliche Abhängigkeit mit der geographischen Distanz [km].

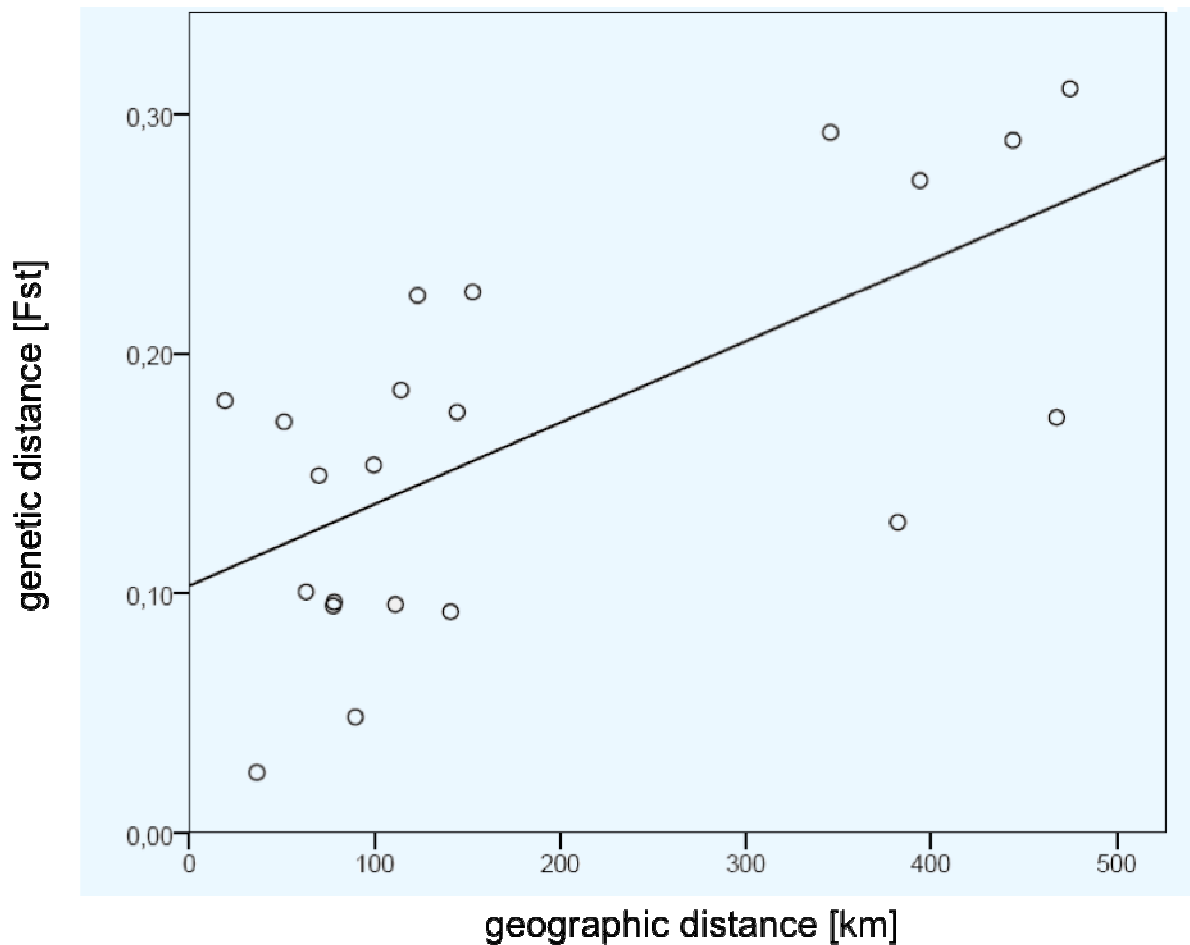


Abbildung 5: Die lineare Regression zeigt einen positiven Zusammenhang zwischen der geographischen Distanz [km] und der genetischen Distanz [F_{ST}] aller Populationen aus Fließgewässern. Die Regression wurde mit PASW (Version 18) erstellt.

Die genetischen Distanzen der paarweisen Vergleiche Augsburg-Dautphe, Augsburg-Gansbach, Gansbach-Dautphe, Dautphe-Spielberg und Ambach-Merzkrebse sind gering. Alle anderen Populationen sind genetisch deutlich voneinander getrennt ($p < 0,05$).

4.1.2.3 Zusammenfassung und Diskussion der genetischen Ergebnisse

Die Edelkrebspopulationen im Lahneinzugsgebiet weisen untereinander eine große Ähnlichkeit auf. Eine Besiedlung der mitteleuropäischen Flussgebiete fand erst nach der letzten Eiszeit statt. Ausgehend von einem eiszeitlichen Refugium im Balkan erfolgte die Ausbreitung der Edelkrebse entlang der Donau. Die geringe Haplotypendiversität in der Lahn kann damit auf einen Gründereffekt zurückgeführt

werden. In jüngerer Zeit kann der fehlende genetische Austausch zwischen den isolierten Restbeständen zu genetischer Drift und damit einer weiteren Verringerung der Diversität geführt haben. Die vergleichsweise hohe genetische Diversität der Krebszucht in Augsburg kann daher rühren, dass die Ursprungstiere der Zucht aus drei verschiedenen Ursprungspopulationen im Einzugsgebiet der oberen Donau stammen.

Der Haplotyp „R2“ wurde außer in der Zucht in Augsburg und im Maineeinzugsgebiet auch in Rumänien, in Rheinland-Pfalz und in Nordrhein-Westfalen gefunden. Die Proben aus Rumänien stammen wie auch die Ursprungstiere der Zucht in Augsburg aus dem Donaueinzugsgebiet. Nach Angaben von Herrn Keller wurden in der Vergangenheit Gewässer im Lahneinzugsgebiet, in Rheinland-Pfalz und in Nordrhein-Westfalen mit Tieren aus seiner Zucht besetzt. Vermutlich handelt es sich bei der Teichanlage Spielberg um ein mit Tieren dieser Zucht besetztes Gewässer. Den Haplotyp „L“ besaß ausschließlich ein Edelkrebs der Population Wallenfels im Lahneinzugsgebiet. Dieser Haplotyp kam durch Besatztiere aus der Fischzuchtanlage Gerstner in Franken in das Gebiet.

Die genetische Diversität ist in Fließgewässern höher als in Stehgewässern. Ursache kann hier neben der genetischen Isolation dieser Bestände auch die Begründung der Teichpopulationen mit wenigen Elterntieren sein (Gründereffekt). Bei Stillgewässern ist meist von einem Besatz auszugehen.

Innerhalb des verbundenen Lahneinzugsgebietes nimmt die genetische Distanz mit zunehmender geographischer Distanz zu. Dieses Phänomen wird bei natürlichen Populationen mit einer natürlichen Verbreitung beobachtet.

Auffällig hingegen ist die geringe genetische Distanz zwischen Edelkrebsen der Zucht in Augsburg und Edelkrebsen aus der Dautphe und dem Gansbach. Dies kann als weiterer Hinweis auf einen Besatz mit Tieren aus Augsburg gedeutet werden. Handelt es sich, wie vermutet, bei der Population Dautphe um einen Besatz, so sind auch die Gewässer in Gansbach¹ und Spielberg besetzt worden, da sich diese Populationen statistisch nicht unterscheiden. Die genannten Populationen scheiden für die geplante Zucht und den Wiederbesatz aus, da nicht sicher von einer Autochthonie ausgegangen werden kann.

Da sich die Populationen im Lahneinzugsgebiet untereinander sehr ähneln, alle Individuen den selben Haplotyp der beiden untersuchten DNA-Abschnitte besitzen, soll-

¹ Auch die Edelkrebse in der Perf, in die der Gansbach mündet, gehen nachweislich auf einen Besatz mit Augsburger Tieren zurück.

ten die Donortiere der geplanten Zucht nicht nur aus einer Population stammen. Da davon auszugehen ist, dass die genetische Isolation der Edelkrebsbestände im Lahneinzugsgebiet erst seit maximal 100 Jahren besteht, resultieren die beobachteten Unterschiede aus der genetischen Drift, einem zufälligen Verlust von Allelen, und nicht aus einer selektiven Anpassung an besondere Umweltbedingungen. Somit ist auch nicht zu befürchten, dass durch eine breitere Basis des aufzubauenden Zuchtstammes erhaltenswerte Genotypen verloren gehen. Um die genetische Vielfalt dieses Einzugsgebietes möglichst vollständig zu sichern, sollten die Ausgangstiere für die Zucht und die Besatztiere aus möglichst vielen verschiedenen Lahnpopulationen stammen.

Fazit: Für den Aufbau eines lahneinzugsgebietsbezogenen Genpools sollten Edelkrebse aus den nachfolgend genannten 10 Spenderpopulationen entnommen werden, wobei auf ein möglichst ausgewogenes Mischungsverhältnis der Einzelpopulationen zu achten ist.

Tabelle 3: Geeignete Spenderpopulationen

Spenderpopulation	Gewässertyp
Ambach (zur Dill) ²	Fließgewässer
Aar (zur Dill)	Fließgewässer
Kallenbach (zur Lahn)	Fließgewässer
Salzböde (zur Lahn)	Fließgewässer
Fohnbach (zur Dill)	Fließgewässer
Mademühlen (zur Dill)	Teichanlage
Geierstein / Roth (zur Dill)	Teichanlage
Lasterbach (zum Elbbach)	Teichanlage
Donsbach (zur Dill)	Teichanlage
Rehbach (zur Dill)	Teichanlage

Da die Ergebnisse der genetischen Analysen erst Ende 2010 vorlagen, wurde bisher noch nicht mit der Nachzucht begonnen. Dies ist Gegenstand eines Folgeprojektes.

² Da zwischen Edelkrebsen aus dem Fließgewässer Ambach und der Teichanlage „Merzkrebse“ keine genetische Differenz nachzuweisen war, werden die „Merzkrebse“ für den Aufbau eines Zuchtstammes nicht weiter berücksichtigt.

4.2 Karausche und Bitterling

Da bei Karausche und Bitterling die genetische Situation in der Fläche Europas aktuell noch unklar ist, werden sie von fischereifachlicher Seite hinsichtlich Besatzstrategien in die Gruppe der Arten der „Evolutionären Kleinraumgruppe“ gestellt (VDFF 2007). Die Karausche ist hierbei nicht explizit aufgeführt. Dies bedeutet, dass vorsorglich Besatz mit diesen Arten nur aus Beständen des unmittelbar gleichen Einzugsgebietes verwendet werden sollte.

Von der Karausche wurden im Lahneinzugsgebiet 3 Vorkommen ermittelt. Es handelt sich um folgende Gewässer:

- ein größerer Bombenrichter im Herrenwald bei Stadtallendorf (R 3503875 / H 5629750) innerhalb eines militärischen Übungsgeländes.
- ein Naturschutzteich bei Oberrospe (R 3484183 / H 5640793). Die Karauschen dieses Teiches gehen auf Besatz mit Tieren des o.g. Bombenrichters zurück.
- ein Lahnaltarm bei Cappel (Stadt Marburg).

Die Tiere im Bombenrichter stammen mit Sicherheit aus Besatz, da dieses Gewässer außerhalb einer Überflutungsauwe liegt. Da dieses Gewässer sehr versteckt liegt und nicht fischereilich genutzt wird, wurden die Tiere wahrscheinlich von einem Bundeswehrangehörigen ausgesetzt. Wann die Tiere besetzt wurden und woher diese stammen, lässt sich nicht mehr ermitteln.

Der Lahnaltarm bei Cappel entspricht weitgehend einem natürlichen Karauschenlebensraum. Dieses Gewässer wird vom Angelsportverein Marburg bewirtschaftet, der hier nach Aussagen des Vereinsvorstandes keine Fische eingesetzt hat. Da der Altarm als verlandender Altarmrest keine größeren Bestände angelfischereilich interessanter Arten enthält und in heißen Sommer und Wintern mit langer Eisbedeckung regelmäßig „umkippt“, herrscht hier auch kein großer Angeldruck. Nur bei starken Hochwässern werden Fische aus der Lahn eingeschwemmt, die aber die extremen Bedingungen mit starker Sauerstoffzehrung selten lange überleben. Es ist daher wahrscheinlich, dass es sich hier um einen zumindest sehr alten Karauschenbestand in der Lahnaue handelt. Die im Rahmen der Kontrollbefischung am 09.11.2010 gefangenen 18 Tiere umfassten drei Jahrgänge (0+, 1+ und 2+) und belegen eindeutig einen reproduzierenden Bestand. Da nur watend im Uferbereich

gefischt werden konnte, wurden keine größeren Tiere gefangen, welche sich in den tieferen Bereichen aufhalten.

Das einzige ermittelte Bitterling-Vorkommen befindet sich in einem Teich des Botanischen Gartens der Philipps-Universität Marburg auf den Lahnbergen. Die Tiere wurden Anfang der 1980-er Jahre von einem Biologiestudenten dort eingesetzt und stammen von einem Fischzuchtbetrieb in Feuchtwangen, Bayern.

Vor dem Besatz mit Karauschen bzw. Bitterlingen mussten an den Teichen einige vorbereitende Maßnahmen durchgeführt werden. Karauschen besiedeln Stillgewässer mit dichtem Pflanzenwuchs, Bitterlinge benötigen zur Reproduktion einen Teichmuschelbestand und Teichmuscheln können sich ihrerseits nur vermehren, wenn ihre Larven eine parasitäre Entwicklungsphase an Fischen durchleben können.

Eine Impfung mit Makrophyten war nur an 2 der 5 Teiche notwendig, die anderen Teiche und der zentrale Mittelgraben wurden spontan besiedelt. Es wurden einzelne, bewurzelte Pflanzen des Spiegelnden Laichkrauts (*Potamogeton lucens*) eingebracht (Herkunft: Lahn). Dieses großblättrige Laichkraut beherbergt erfahrungsgemäß eine hohe Dichte von Wasserschnecken, die wiederum eine bevorzugte Nahrungsquelle von Karauschen sind. Der Laichkrautbestand hat sich mittlerweile gut entwickelt und breitet sich aus.

An einem der Teiche hat sich ein flächendeckender Rasen von Armleuchteralgen (vorwiegend *Chara vulgaris*) gebildet. Ebenfalls spontan besiedelt wurden die Teiche von folgenden Arten an Wasserpflanzen:

- *Potamogeton crispus* (Krauses Laichkraut)
- *Potamogeton natans* (Schwimmendes Laichkraut)
- *Potamogeton cf. pusillus / berchtholdii*
- *Polygonum amphibium* (Wasser-Knöterich)
- *Alisma plantago-aquatica* (Gemeiner Froschlöffel)
- *Equisetum fluviatile* (Teich-Schachtelhalm)

In 2009 wurden 30 Karauschen aus dem Gewässer bei Oberrospe in einen der zu diesem Zeitpunkt bereits stärker mit Wasserpflanzen bewachsenen Teiche eingesetzt. Eine Kontrollbefischung mit Keschern in 2010 ergab, dass die Karauschen in diesem Teich bereits erfolgreich reproduziert hatten

Um eine spätere Vermehrung von Teichmuscheln zu gewährleisten, wurden im Jahr 2009 in 2 Teiche insgesamt 40 Moderlieschen (*Leucaspis delineatus*) eingesetzt. Die Tiere wurden mit Kleinfischreusen aus 3 benachbarten Naturschutzteichen gefangen, die als Amphibienlaichgewässer konzipiert wurden. Nach einem Jahr haben sich die Moderlieschen erfolgreich reproduziert, so dass in 2010 mit dem Einsetzen von Teichmuscheln begonnen werden konnte. Insgesamt wurden 40 Teichmuscheln (*Anodonta anatina*) in 3 Teiche eingesetzt. Die Herkunft der Teichmuscheln war ein größerer Teich im Biosphärenreservat Hessische Rhön, welche im Herbst 2010 abgelassen wurde, um zur Schlammreduktion eine Winterung durchzuführen. Dabei wurden die dabei anfallenden Fische, Krebse und Muscheln unter fachlicher Anleitung in andere Gewässer umgesetzt. In diesem Rahmen konnten von Herrn Dümpelmann auch Teichmuscheln für die Teichanlage des Zuwendungsempfängers gewonnen werden.

Ein Besatz mit Bitterlingen fand bisher nicht statt.

5 Konsequenzen für ein Folgeprojekt

Im Lahneinzugsgebiet konnten durch genetische Analysen 10 autochthone Edelkrebsbestände ermittelt werden, die sich für den Aufbau eines regionalen Genpools eignen (vgl. Abb. 3). Da im Verlauf der Untersuchungen klar wurde, dass der Edelkrebs weiterhin akut vom Aussterben bedroht ist, sollte mit dem Aufbau eines Zuchtstammes unverzüglich begonnen werden. Aufgrund der genetischen Verarmung im Lahnsystem sollte ein solcher Zuchtstamm möglichst breit angelegt und aus Tieren aller geeigneten Spenderpopulationen bestehen. Da der Bedarf an Tieren für Wiederansiedlungsprojekte bzw. für populationsstützende Maßnahmen sehr hoch ist, zeichnet sich ab, dass mit der zur Verfügung stehenden Teichanlage und einer extensiven Nachzuchtmethode dieser Bedarf nicht gedeckt werden kann. Es bietet sich deswegen an, im Rahmen eines Folgeprojektes oder parallel dazu mit einem professionellen Krebszuchtbetrieb, der seit kurzem in Mittelhessen die Arbeit aufgenommen hat, zu kooperieren.

Die ermittelten Spenderpopulationen kommen alle aus einem geografisch sehr eng umgrenzten Raum innerhalb des Lahneinzugsgebietes, da hier aufgrund früherer Kartierungen die meisten Hinweise vorlagen. Über Teileinzugsgebiete, von denen nichts bekannt war, konnten im Rahmen dieses Projektes auch keine neuen Er-

kenntnisse gewonnen werden. Dies betrifft zum Beispiel große Teile des EZG der Ohm. Sollten dort durch systematische Kartierungen neue Edelkrebsvorkommen bekannt werden, wäre es wichtig, auch diese genetisch zu untersuchen, um den aufzubauenden Zuchtstamm auf eine genetisch diversere Basis zu stellen.

In zwei Gewässern, dem Steinbruch Roth und der Teichanlage Geierstein / Roth gibt es gemischte Populationen aus Edelkrebs und dem amerikanischen Kamberkrebs (*Oronectes limosus*). Dies ist insofern bedeutend, als Kamberkrebse (gelöscht) praktisch immer Träger des Erregers der Krebspest sind, gegen den sie selbst immun sind, der aber den Edelkrebs sehr schnell abtötet. Entweder liegen hier erregerefreie Kamberkrebsbestände vor oder gegen Krebspest immune Edelkrebse. Auch wenn letzteres die unwahrscheinlichere Variante ist, sollte dies unbedingt überprüft werden, denn die Konsequenzen für den Artenschutz wären enorm und würden eine völlig neue Schutzstrategie nach sich ziehen.

Von der Karausche wurden bisher zwei potenzielle Spenderpopulationen ermittelt. Nur die Population aus der Lahnaue ist mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit autochthon. Sie sollte den Ausgangspunkt eines aufzubauenden Zuchtstammes bilden. Die bisher eingesetzten Tiere sollten wieder entfernt und in ihr Ursprungsgewässer zurückgesetzt werden.

Vom Bitterling konnte kein autochthones Vorkommen ermittelt werden. Diese Art sollte deshalb nach gegenwärtigem Kenntnisstand in einem Folgeprojekt nicht weiter berücksichtigt werden.

Durch das Projekt ergaben sich intensive Kontakte zur IG Lahn, die eine eigene homepage betreibt. Anstatt eine projekteigene homepage aufzubauen, erscheint es zielführender und einfacher, sich mit der website der IG Lahn zu verlinken, zumal die IG Lahn auch einen großen Teil der potenziellen Abnehmer von Besatzmaterial repräsentiert.

6 Erfolgskontrolle über die Einhaltung des Finanzierungs-, Zeit- und Arbeitsplans

Der Finanzierungsplan wurde eingehalten. Es wurden weniger Mittel benötigt als be- willigt waren.

Beim Arbeits- und Zeitplan gab es einige Abweichungen:

- die Datenrecherche zum Edelkrebs dauerte länger als geplant und die Beprobung der Verdachtsgewässer war umfangreicher und langwieriger als ursprünglich ange- nommen. Dadurch, dass die Probenahme auf das Jahr 2010 ausgedehnt wurde, la- gen auch die Ergebnisse der genetischen Analyse erst Ende 2010 vor, so dass mit dem Aufbau eines Zuchtstammes von Edelkrebsen in 2010 nicht mehr begonnen werden konnte.
- bei Karausche und Bitterling ergaben sich deutlich weniger Verdachtsgewässer als angenommen. Damit war der Aufwand für elektrische Kontrollbefischungen deutlich geringer als kalkuliert.
- Ein Besatz mit Bitterlingen wurde zwar vorbereitet, aber nicht durchgeführt, da nur ein Gewässer mit Tieren aus Bayern zur Verfügung steht.
- der Aufbau einer eigenen homepage wurde nicht vorangetrieben, da lange nicht klar war, ob die Ergebnisse eine Weiterführung des Projektes rechtfertigen würden. Für die Zukunft erscheint eine Verlinkung mit der website der IG Lahn zielführender.

7 Zusammenfassung

Insgesamt wurden in den Jahren 2009 und 2010 45 Verdachtsgewässer auf Edel- krebsvorkommen (*Astacus astacus*) überprüft. 38 Verdachtsgewässer liegen im Lahneinzugsgebiet, 4 im Fulda- und 3 im Mainneinzugsgebiet (vgl. Tab. 1). Die Ge- wässer außerhalb des Lahneinzugsgebiets sowie Tiere von zwei professionellen Krebszuchtbetrieben dienten als Referenzgewässer. Im Lahneinzugsgebiet konnten in 27 Gewässern Edelkrebse nachgewiesen werden

Die Bestimmung der populationsgenetischen Struktur erfolgte auf zwei Skalenebe- nen. Mit Hilfe der Sequenzierung zweier mitochondrieller DNA-Abschnitte, des prote- incodierenden Gens Cytochrom-Oxidase Untereinheit 1 (COI) und der 16S-rRNA wurden autochthone Populationen bestimmt. Zur Bestimmung der Diversität

(Arlequin Version 3.11) innerhalb von Populationen und zur Bestimmung der genetischen Distanz zwischen Populationen (Arlequin Version 3.11) wurde eine Mikrosatellitenanalyse mit 8 Primern bei jeweils ca. 20 Individuen pro Population durchgeführt. Es konnten 10 autochthone Edelkrebsbestände im Lahneinzugsgebiet identifiziert werden, die sich als Donorpopulationen für den Aufbau eines Zuchtstammes eignen. Da deren Ähnlichkeit sehr groß und die Diversität sehr gering ist, sollte der aufzubauende Zuchtstamm möglichst Tiere aller geeigneten Spenderpopulationen umfassen.

Von Karausche und Bitterling konnten im Lahn-EZG nur wenige Verdachtsgewässer recherchiert werden, wobei nur bei der Karausche eine potenzielle Spenderpopulation für eine Nachzucht ermittelt werden konnte.

Literatur

Adam, B., C. Köhler, A. Lelek & U. Schwevers (1996): Rote Liste der Fische und Rundmäuler Hessens. Hrsg.: Hessisches Ministerium des Inneren und für Landwirtschaft, Forsten und Naturschutz, Wiesbaden 1996.

Dümpelmann, C. & F. Bonacker (2007-2010): Erhaltungs- und Wiederansiedlungsprogramm des Edelkrebses (*Astacus astacus*) in geeigneten Teileinzugsgebieten von Dill und Lahn. Unveröffentlichtes Gutachten im Auftrag der IG Lahn e.V., Projektberichte 2007-2010.

Freyhof, J. (2009): Rote Liste der im Süßwasser reproduzierenden Neunaugen und Fische (Cyclostomata & Pisces). In: Naturschutz und Biologische Vielfalt, Rote Liste gefährdeter Tiere, Pflanzen und Pilze Deutschlands, Band 1: Wirbeltiere, S.: 291-316. Bundesamt für Naturschutz, Bonn – Bad Godesberg 2009.

VDFE (2007): Gute fachliche Praxis fischereilicher Besitzmaßnahmen. Schriftenreihe des Verbands Deutscher Fischereiverwaltungsbeamter und Fischereiwissenschaftler e.V.. Heft 14, 2007.

Titel: Genetische Charakterisierung als Informationsquelle für Artenschutzmaßnahmen – Erfahrungen aus einem Modellprojekt

Manuskript zur Einreichung bei der Zeitschrift Natur und Landschaft

Autoren: Anne Schrimpf (1), Holger Schulz (1), Christoph Dümpelmann (2), Ronald Polivka (3), Ralf Schulz (1)

- (1) Institut für Umweltwissenschaften, Universität Koblenz-Landau, Fortstr. 7, 76829 Landau, Schrimpf@uni-landau.de
- (2) Büro für Fischbiologie und Gewässerökologie, Zeppelinstrasse 33, 35039 Marburg
- (3) NABU Ortsgruppe Marburg, Arbeitskreis Gewässerschutz, Am Krummbogen 2, 35039 Marburg

Zusammenfassung

Im Rahmen eines Modell- und Demonstrationsvorhabens sollte die genetische Diversität von Reliktvorkommen des Edelkrebse (*Astacus astacus*) im Lahneinzugsgebiet durch den Aufbau eines regionalen Genpools gesichert werden. Edelkrebse gelten aufgrund eines fortlaufenden Verlustes an Vorkommen bedingt durch Gewässerverschmutzung, Gewässerausbau und insbesondere durch die Bedrohung durch gebietsfremde Flusskrebsarten und eine eingeschleppte Seuche („Krebspest“) als gefährdet. Es wurde zunächst die populationsgenetische Struktur des Edelkrebse im Einzugsgebiet beschrieben und hierauf aufbauend geeignete Donorpopulationen für Wiederansiedlungsprojekte identifiziert. Die Bestimmung der populationsgenetischen Struktur erfolgte auf zwei geografischen Skalenebenen. Mit Hilfe der Sequenzanalyse von zwei mitochondriellen DNA-Abschnitten wurde die nacheiszeitliche Ausbreitungsgeschichte rekonstruiert. Zur Bestimmung der genetischen Diversität innerhalb von Populationen und der genetischen Distanz zwischen Populationen wurde eine Mikrosatellitenanalyse durchgeführt. Im Zusammenspiel der Methoden konnten 10 autochthone Edelkrebsbestände im Lahneinzugsgebiet identifiziert werden, die sich als Donorpopulationen für den Aufbau einer Nachzucht oder eines regionalen Genpools eignen. Da bis in die jüngste Vergangenheit ein Genfluss zwischen diesen Beständen möglich war, sollten Gründertiere aus mehreren dieser Bestände entnommen werden, um einen großen Anteil der regionaltypischen Ausprägungen zu sichern. Das methodische Vorgehen erscheint geeignet, um eine Entscheidungsgrundlage für vergleichbare Artenschutzmaßnahmen zu schaffen.

Bedeutung der genetischen Diversität

Das im Jahr 1992 ausgehandelte und ein Jahr später von Deutschland ratifizierte Übereinkommen über die biologische Vielfalt benennt neben der Artenvielfalt auch die Vielfalt der Ökosysteme und

die genetische Vielfalt innerhalb der Arten als wesentliche Elemente der Biodiversität. In der nationalen Strategie zur biologischen Vielfalt der Bundesrepublik Deutschland wird die Erhaltung der wildlebenden Arten in der jeweiligen regionaltypischen Ausprägung als Ziel formuliert (BMU, 2007). Dieses Ziel wird als notwendig anerkannt, da die genetische Verarmung sowie der Verlust von Artmerkmalen und regionalen Anpassungsmöglichkeiten zum Aussterben von Populationen und Arten führen kann.

Für die Erhaltung gefährdeter Arten spielt diese Anpassungsfähigkeit nicht nur vor dem Hintergrund des Klimawandels eine entscheidende Bedeutung sondern auch im Zusammenhang mit dem Auftreten von gebietsfremden invasiven Arten, Krankheiten oder Umweltschadstoffen (Frankham, 2005). Es wird daher im Rahmen der nationalen Strategie angestrebt, eine Vielfalt von regional angepassten Populationen zu erhalten, die Verfälschung der genetischen Vielfalt der wildlebenden Tier und Pflanzenwelt durch Ansiedlung und Ausbreitung von nicht heimischen Tier und Pflanzenarten zu vermeiden und den natürlichen genetischen Austausch wildlebender Arten sicherzustellen. Für die Erhaltung der Artenvielfalt und der genetischen Vielfalt wildlebender Pflanzen- und Tierarten spielt der Schutz von geeigneten Lebensräumen eine zentrale Rolle. In Ergänzung hierzu übernimmt der direkte Artenschutz eine wichtige Aufgabe. Neben internationaler Übereinkommen und Initiativen sowie dem Bundesnaturschutzgesetz stellen die Artenschutzprogramme der Länder zur Erhaltung und Wiederansiedlung spezifischer Arten und Artengruppen sowie die Wiederansiedlungsprogramme verschiedener Verbände wichtige Instrumente dar. Artenschutzprogramme sollten nicht allein darauf abzielen, eine bedrohte Art zu erhalten, sondern sicherstellen, dass ein wesentlicher Anteil an genetischer Vielfalt innerhalb der Art erhalten bleibt, da diese das Adaptionpotential der Art bestimmt (Souty-Grosset & Reynolds, 2009). Eine hohe genetische Vielfalt erhöht die Wahrscheinlichkeit, dass einzelne Individuen auf sich ändernde Umweltbedingungen angepasst sind, womit die Überlebenschance einzelner Populationen und somit der Art steigt. Die Beachtung der genetischen Vielfalt einzelner Populationen bei regionalen Besatzprogrammen ist somit essentiell für den Erhalt der genetischen Diversität der Art auf nationaler und internationaler Ebene.

Phylogenetik und Populationsgenetik

In Europa kam es während des Pleistozäns (Beginn vor 2,588 Millionen Jahren, Ende vor 11.700 Jahren; ISC, 2008) zu einem mehrmaligen Wechsel zwischen Kalt- und Warmphasen. Dies führte zu einer Verringerung und nachfolgenden Ausdehnung des Verbreitungsgebietes der Tier- und Pflanzenarten der gemäßigten Breiten. Ausbreitungsbarrieren (Gebirgszüge, Meeresküsten, Wasserscheiden) führten in diesem zeitlichen Verlauf immer wieder zur Isolation von Teilpopulationen (Hewitt, 1999). Dauerte diese Isolation über eine längere Zeitspanne an, konnten sich deutliche genetische Unterschiede ausbilden hin zu unterschiedlichen ökologischen Anpassungen oder einer Inkompatibilität in der Fortpflanzung. Bei erneuter Ausbreitung der

Teilpopulationen wurden unterschiedliche Gebiete besiedelt, teilweise kam es zu sekundären Kontaktzonen. Bei einer sehr schnellen Ausbreitung wird die Ausbreitungsfront meist nur durch wenige Individuen gebildet. Die Ausbreitung geht daher meist einher mit einer Reduktion der genetischen Diversität. Über längere Zeiträume kann sich die Diversität einer Population entweder durch Mutationen oder kurzfristig durch Zuwanderung von Individuen (Migration) erhöhen (Frankham et al., 2002). Die langfristigen Veränderungen der genetischen Muster einer Art werden in der Phylogenetik betrachtet. Über kurze Zeiträume spielt der Verlust der genetischen Diversität aufgrund von Gendrift und Gründereffekt eine vorrangige Rolle. Diese Veränderungen auf der Ebene von Populationen stehen im Fokus der Populationsgenetik.

Praxis der Wiederansiedlung und Bestandsstützung

Wiederansiedlungen und Bestandsstützungen im Rahmen von Artenschutzbemühungen dienen der Förderung und Erhaltung von Arten, die durch Lebensraumverlust oder Übernutzung gefährdet sind. Arten wurden hierbei als homogene Einheiten betrachtet, die sich durch morphologische Merkmale abgrenzen lassen (Morphospezies). Durch phylogenetische Studien an einer Vielzahl von Arten wurden komplexe Muster deutlich, die sowohl die Ausbreitungsgeschichte widerspiegeln als auch Anpassungen an regionale Umweltbedingungen deutlich machen. Daher wurde von Vertretern der Artenschutzgenetik gefordert, bei Artenschutzbemühungen die Erhaltung der genetischen Integrität (Identität eines regionalen Genpools) und Sicherung der genetischen Vielfalt (genetische Diversität innerhalb und zwischen Populationen) einer Art zu berücksichtigen (Souty-Grosset et al. 2003). Die bisherige Praxis des Artenschutzes zeigt ein anderes Bild. In bestehenden Artenschutzprogrammen wird die Ausprägung der Individuen unterhalb des Artniveaus meist nicht beachtet. Da bis vor einigen Jahren Arten und Unterarten nur anhand ihrer morphologischen Ausprägung und ihres Verhaltens identifiziert werden konnten, war eine weitergehende Erfassung und Berücksichtigung der innerartlichen Differenzierung kaum möglich (Hewitt, 1999). Eine wesentliche Frage bei Projekten zur Wiederansiedlung oder Bestandsstützung im Rahmen von Artenschutzmaßnahmen ist die Wahl der Quelle für das Besatzmaterial. Hierbei kann unterschieden werden zwischen natürlichen Populationen oder Züchtungen bzw. Zwischenvermehrungen mit unterschiedlicher Zielrichtung (Tab. 1). In der Praxis wird die Wahl des Besatzmaterials häufig in erster Linie durch die Verfügbarkeit und den Preis bestimmt.

Wird bei einer Besatzaktivität Donormaterial aus einer Zucht bezogen, kann in der Regel eine ausreichende Anzahl an Tieren gewährleistet werden. Durch die Möglichkeit, regelmäßige Kontrollen auf Krankheiten und Parasiten vorzunehmen, können Krankheitsübertragungen auf wild lebende Bestände weitestgehend vermieden werden. Zuchten beschränken sich in der Regel jedoch auf vergleichsweise wenige Elterntiere. Hierdurch besteht die Gefahr, dass es über wenige Generationen durch Gendrift zu einer drastischen Verringerung der genetischen Diversität im Zuchtbestand kommt (Allendorf & Ryman, 1987). Ein weiterer Nachteil besteht im Fehlen einer

natürlichen Selektion. Die Haltungsbedingungen sind mehr oder weniger artifiziell, wodurch die Mortalität verringert wird oder die Selektionsfaktoren nicht den natürlichen Verhältnissen entsprechen (Araki et al. 2008). Eine Zucht kann auch immer nur einen Ausschnitt der genetischen Diversität einer Art darstellen. Entweder stammen die Gründertiere aus einer Region, oder es wurden Individuen verschiedener Ausgangspopulationen gemischt, um eine hohe genetische Diversität im Zuchtbestand zu erreichen. Entsprechend kann es durch die Verwendung von Zuchtmaterial im ungünstigsten Fall zur Verbreitung gebietsfremder Genvarianten und damit zu einer „genetischen Kontamination“ lokaler Bestände kommen (Largiadèr, 2000) oder längerfristig zu einer Einschränkung der genetischen Diversität auf eine oder wenige genetische Linien. Darüber hinaus sind die Besatztiere häufig nicht an die Verhältnisse in den natürlichen Habitaten angepasst, wodurch es zu einer erhöhten Mortalität bis hin zum Scheitern des Besatzvorhabens kommt.

Wenn auf lokale Donorbestände zurückgegriffen wird, ohne dass eine genaue Kenntnis ihrer Historie oder ihrer genetischen Ausprägung besteht, kann auch dies zu einer Verbreitung gebietsfremder Varianten führen. Insbesondere Arten, die aufgrund ihrer Bedeutung für die Jagd oder Fischerei besondere Aufmerksamkeit genossen, können lokale Populationen in der Vergangenheit bereits mit allochthonem Material besetzt worden sein. Auch bei nachweislich allochthonem Besatzmaterial besteht bei Verwendung nur weniger Elterntiere oder der Förderung nur einer genetischen Linie die Gefahr einer genetischen Verarmung der Art.

Tabelle 1: Vor (+)-und Nachteile (-) von zwei Variationen eines Besatzprogramms. Das Besatzmaterial stammt entweder aus regionalen Vorkommen oder aus einer kommerziellen Zucht.

Regionale Vorkommen		Zucht	
+	-	+	-
lokale Anpassung	potentielle negative Beeinträchtigung der Donorbestände	Verfügbarkeit gewährleistet	„genetische Kontamination“ lokaler Bestände
Erhalt lokaltypischer Haplotypen, Sicherung innerartlicher Diversität	Risiko der genetischen Verarmung der besetzten Population Herkunft teilw. ungeklärt (Besatz)	Kontrolle von Parasiten und Krankheiten	Risiko der genetischen Verarmung der besetzten Population

Welche Rolle kann die genetische Charakterisierung spielen?

Aktuelle Studien haben gezeigt, dass genetische Charakteristika Aufschluss über taxonomische Divergenzen geben können (Wilson et al., 1985; Hewitt, 1999, Hänfling et al., 2009, Grandjean et al., 2002). Wo bisherige Aufspaltungen von Arten und Unterarten an ihre Grenzen stoßen, können durch genetische Analysen Arten nach dem phylogenetischen Artkonzept (*Phylogenetic Species Concept*) weiter aufgeschlüsselt und nach ihrer Abstammungs- und Verbreitungsgeschichte genetisch differenzierte Gruppen unterteilt werden (Taylor et al., 2000). Diesem Konzept folgend definiert Moritz (1994) evolutionär bedeutsame Einheiten (*evolutionary significant units*, ESU) als

eine Population oder eine Gruppe von Populationen, die monophyletisch für die mitochondrielle DNA sind und signifikante Differenzen in Allelfrequenzen an nuklearen Loci zeigen. Diese ESU als Einheiten unterhalb der Morphospezies sollten als getrennte und unabhängige Einheiten aufgefasst und entsprechend erhalten werden, um die genetische Diversität innerhalb der Arten zu sichern.

Des Weiteren kann durch die genetische Analyse die Verbreitungsgeschichte einer Art rekonstruiert werden. Wie oben beschrieben wird das genetische Muster einer Art durch Veränderungen ihres Ausbreitungsgebietes, genetische Isolation, und sekundären Kontakt geprägt. Durch den Vergleich von Populationen lassen sich Ausbreitungswege nachvollziehen und eiszeitliche Refugien identifizieren (Weiss, 2002). Gebiete ehemaliger Eiszeitrefugien zeichnen sich durch eine erhöhte genetische Diversität aus.

Durch die genetisch Charakterisierung des potentiellen Besatzmaterials kann den oben genannten Gefahren, die ein Besatz mit wild lebenden Tieren unbekannter Herkunft oder ein Besatz mit Tieren aus einer Zucht bergen („genetische Kontamination“, genetische Verarmung), vorgebeugt werden. Die Ergebnisse der genetischen Analysen können zeigen, ob eine natürliche genetische Struktur der Bestände vorliegt bzw. inwieweit diese durch Besatzmaßnahmen überprägt wurde. Hierbei lassen sich auch Populationen identifizieren, die gebietsfremd sind und ggf. das Herkunftsgebiet rekonstruieren. Darüber hinaus können Bestände mit einer hohen genetischen Diversität und/oder mit seltenen Allelen bestimmt und vorrangig für die Nachzucht berücksichtigt werden. Durch Beachtung der genetischen Diversität kann einer genetischen Verarmung in Zuchtbeständen entgegengewirkt werden. Die Daten der genetischen Analysen können außerdem helfen, Prioritäten beim Artenschutz zu setzen, wobei regionaltypische Populationen oder „regionale Varietäten“, die an lokale Bedingungen (biotische und abiotische Faktoren) angepasst sind und eine hohen genetische Diversität besitzen, besonders schützenswert sind (Fetzner et al., 2002, Schulz et al., 2002).

Erfahrungen aus einem Modellprojekt

Hintergründe und Zielsetzung

Ziel des durch die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung finanzierten Modell- und Demonstrationsvorhabens war die Sicherung der genetischen Diversität von Reliktvorkommen des Edelkrebsses (*Astacus astacus*) im Lahneinzugsgebiet. Hierzu sollte zunächst die populationsgenetischen Struktur des Edelkrebsses im Einzugsgebiet beschrieben und hierauf aufbauend geeignete Donorpopulationen für die Schaffung eines regionaltypischen Genpools für Wiederansiedlungsprojekte identifiziert werden.

Der Edelkrebs gilt in Deutschland als besonders geschützt (BNatSchG Anhang s) und in der europäischen Gemeinschaft als Art von gemeinschaftlichem Interesse (Fauna-Flora-Habitatrichtlinie Anhang V). Die starke Abnahme der Edelkrebsbestände ist neben Gewässerverschmutzung und Gewässerausbau vor allem durch die sogenannte Krebspest (*Aphanomyces astaci*), die im 19. Jahrhundert durch nordamerikanische Flusskrebsarten nach Europa gelangte bedingt (Alderman, 1996). Die verbliebenen Bestände sind meist beschränkt auf die Oberläufe von Fließgewässern oder isolierte Stillgewässer. Eine natürliche Ausbreitung erscheint aufgrund der Konkurrenz zu gebietsfremden Arten und des Auftretens der Krebspest als unwahrscheinlich (Dehus et al., 1999; Schulz, 2000). Um den weiterhin fortlaufenden Verlust von Beständen des Edelkrebses auszugleichen, sind aktive Maßnahmen zum Besatz geeigneter Gewässer notwendig (Blanke, 1998; Schulz et al., 2002; Kozak et al., 2011). Gleichzeitig stellt der Edelkrebs die wirtschaftlich bedeutendste mitteleuropäische Flusskrebsart dar. Es ist die einzige der heimischen Arten, die in Speisekrebszuchten genutzt wird. Im Gegensatz zu anderen ökonomisch bedeutsamen Süßwasserarten liegen nur ungenügende Informationen zur Verbreitungsgeschichte sowie zur populationsgenetischen Struktur vor (Schulz & Grandjean, 2005). Bereits seit dem Mittelalter wurde der Edelkrebs über weite Strecken transportiert und gehandelt und immer wieder neue Gewässer besetzt. Der Handel umfasste Mittel- und Osteuropa. Seit dem dramatischen durch die Krebspest, Gewässerausbau und Gewässerverschmutzung verursachten Rückgang der Edelkrebsbestände hat sich der Fokus verändert. Der Edelkrebs ist zu einer vom Aussterben bedrohten Art geworden. In einigen Bundesländern sind aus diesem Grund gezielte Artenhilfsprogramme bzw. Artenschutzmaßnahmen initiiert worden. Diese umfassten meist eine Aufnahme und Dokumentation der Bestände sowohl heimischer als auch gebietsfremder Flusskrebsarten sowie die Berücksichtigung von Vorkommen heimischer Flusskrebse bei wasserbaulichen Maßnahmen. Besatzmaßnahmen wurden in der Vergangenheit zumeist lokal durch die Fischereiverbände oder –vereine und nur vereinzelt im Rahmen von Landesprogrammen oder unter Begleitung durch die Fischereiaufsichtsbehörden durchgeführt. Der Besatz von Flusskrebsen wird in den Fischereiordnungen der Länder geregelt. Der Besatz mit Edelkrebsen ist nicht genehmigungspflichtig und wird daher häufig nicht dokumentiert. Im günstigsten Fall, z.B. beschrieben für einige lokale Maßnahmen in Nordrhein-Westfalen (http://www.edelkrebsprojekt.nrw.de/regional_frame.htm), wurden für die Besatzmaßnahmen Tiere aus dem gleichen oder einem benachbarten Einzugsgebiet verwendet und diese entweder direkt besetzt oder zwischenvermehrt. Dies entspricht den Empfehlungen von Taugbol & Peay (2004), wonach bei fehlenden Informationen zu innerartlichen genetischen Variationen die Auswahl einer geeigneten Donorpopulation in folgender Reihenfolge geschehen sollte: a) Population im gleichen Gewässer; b) Population im gleichen Einzugsgebiet; c) Population in einem benachbarten Einzugsgebiet derselben biogeographischen Region; d) eine beliebige Population. In den meisten Fällen bleibt die Herkunft der Besatztiere jedoch unberücksichtigt und eine Entscheidung wird nur

auf der Basis der Verfügbarkeit des Besatzmaterials getroffen.

Methodik

Zur Darstellung der genetischen Struktur hat sich eine Analyse auf unterschiedlichen geografischen Skalenebenen bewährt (Haig, 1998; Caballero & Toro, 2002). Mit Hilfe der Sequenzierung zweier mitochondrieller DNA-Abschnitte wurden Unterschiede unterhalb der Artebene dargestellt (Unterarten, evolutionär bedeutsame Einheiten). Dabei wurden die Abschnitte, die für die Untereinheit I der Cytochrom-Oxidase (COI) (Vorwärtsprimer: 5'-GCGGGGATAGTAGGAACCTC-3'; reverser Primer: 5'-ATTTACCGCCCCTAAAATCG-3'; Schrimpf & Schulz, in prep.) und die 16S-RNA (Vorwärtsprimer: 1471 and reverser Primer: 1472; Crandall & Fitzpatrick, 1996) codieren, je nach Verfügbarkeit bei 1 bis 10 Individuen pro Population analysiert. Für die Auswertung wurden Haplotypen (Genvarianten) von Edelkrebsen aus 26 Beständen des Lahneinzugsgebiets mit Edelkrebsen von zwei Edelkrebszuchten (Augsburg, Bayern; Oeversee, Schleswig-Holstein) sowie aus anderen Flusseinzugsgebieten (Rhein, Donau, Ems, Weser, Elbe, Oder und Weichsel) verglichen. Entsprechen die genetischen Muster nicht dem historischen Genfluss, so fand vermutlich Besatz mit Edelkrebsen aus anderen Flusseinzugsgebieten statt. Mitochondrielle DNA wird sehr häufig für Untersuchungen unterhalb des Artneiveaus verwendet (Wilson et al., 1985; Grandjean et al., 2002), da sie leicht zu isolieren ist, 2-10 mal so schnell evolviert wie das nukleare Genom (Fetzner & Crandall, 2002) und maternal vererbt wird, und es somit keine Rekombination gibt (Fetzner & Crandall, 2002). Mitochondrielle DNA eignet sich vor allem für die Unterscheidung von Populationen, die sich bereits vor der letzten Eiszeit getrennt haben.

Zur Bestimmung der Diversität innerhalb von Populationen und zur Bestimmung der genetischen Distanz zwischen Populationen wurde eine Mikrosatellitenanalyse mit 8 Primern (Tab. 2; Koiv et al., 2008; 2009) durchgeführt. Es wurden jeweils 15 bis 20 Individuen für 16 Edelkrebsbestände im Lahneinzugsgebiet sowie aus den oben genannten Satzkrebszuchten untersucht. Aufgrund der hohen Mutationsrate ermöglicht die Mikrosatellitenanalyse eine feinere Auflösung als die Sequenzanalyse und genetische Unterschiede können auch zwischen nah verwandten Populationen aufgedeckt werden. Mikrosatelliten sind Wiederholungen kurzer DNA-Motive von 2 bis 6 Basenpaaren und auf Grund hoher Mutationsraten sehr polymorph. Die Mikrosatellitenanalyse eignet sich bei kürzlich divergierender Populationen zur Darstellung des historischen Genflusses sowie zur Erfassung der genetischen Variabilität innerhalb von Populationen (Bruford & Wayne, 1993).

Erkenntnisse und Schlussfolgerungen

Im Verlauf des Projekts von 2009 bis 2010 wurden 38 Verdachtsgewässer im Lahneinzugsgebiet kontrolliert und in 27 Gewässern Edelkrebse nachgewiesen. Aufgrund der teilweise sehr geringen

Bestandsdichten konnten nur aus 26 Beständen Gewebematerial für die Sequenzanalyse und aus 16 Beständen für die Mikrosatellitenanalyse gewonnen werden. Die Edelkrebsbestände des Lahneinzugsgebietes sind insgesamt gekennzeichnet durch eine geringe Haplotypendiversität. Für COI wurden 2 Haplotypen unterschieden. Der dominierende Haplotyp war in allen Populationen vertreten und entspricht dem in allen Flussgebieten Mitteleuropa am häufigsten angetroffenen Haplotypen. Der zweite Haplotyp trat nur in einem Bestand des Lahneinzugsgebiets auf („Spielberg“). Die beiden Satzkrebszuchten wiesen insgesamt 4 (Augsburg) bzw. 3 (Oeversee) Haplotypen auf, wobei ebenfalls der oben genannte dominierende Haplotyp überwog. Der zweite im Lahneinzugsgebiet angetroffene Haplotyp war in der Satzkrebszucht Augsburg vertreten und war im großräumigen Vergleich typisch für das Donaueinzugsgebiet. Ein ähnliches Bild ergibt sich für die 16S-RNA. Im Lahneinzugsgebiet wurden 3 Haplotypen unterschieden, wobei der dominierende Haplotyp in allen Beständen auftrat, die beiden anderen nur auf jeweils einen Bestand beschränkt waren. In den Satzkrebszuchten traten 2 Haplotypen (Augsburg) bzw. 1 Haplotyp (Oeversee) auf. Auch hierbei gab es neben dem dominierenden Haplotypen eine weitere Überschneidung der Satzkrebszucht Augsburg mit einem Bestand des Lahneinzugsgebietes („Spielberg“). Dies ist ein deutliches Indiz dafür, dass in mindestens einem Fall ein Bestand durch gebietsfremdes Besatzmaterial begründet wurde. Die Satzkrebszucht Augsburg kommt hierbei als wahrscheinliche Quelle in Frage. Der Inhaber der Satzkrebszucht bestätigte, dass Gewässer im Lahneinzugsgebiet mit Material aus seiner Zucht besetzt wurden (Keller, mündl. Mitteilung). Die Referenzproben aus den Einzugsgebieten der größeren europäischen Flüsse besaßen insgesamt 25 Haplotypen für COI und 12 Haplotypen für 16S. Die Haplotypendiversität war im Einzugsgebiet der Donau am größten. Insgesamt wurde nur ein Haplotyp ausschließlich im Lahneinzugsgebiet gefunden, dieser beschränkt auf einen Bestand.

Das beobachtete Muster entspricht der bisherigen Annahme, dass die gegenwärtigen Edelkrebsbestände der mitteleuropäischen Flussgebiete auf eine Besiedlung nach der letzten Eiszeit zurückgehen (Albrecht, 1983). Das eiszeitliche Refugium wird im Balkan vermutet und bildete den Ausgangspunkt für eine Ausbreitung des Edelkrebses entlang der Donau. Die geringe Haplotypendiversität mitteleuropäischer Edelkrebsbestände wurde auch für andere europäische Arten beschrieben (Hewitt, 1999) und geht vermutlich auf einen wiederholten Gründereffekt während einer vergleichsweise schnellen nacheiszeitlichen Ausbreitung zurück. Die kurze Zeitspanne einer eigenständigen Entwicklung der mitteleuropäischen Bestände (ca. 11.700 Jahre; ISC 2008) reichte nicht aus, um zu einer genetischen Differenzierung auf der Ebene der mitochondriellen DNA zu führen. Im Balkan, dem vermutlichen Ursprungsgebiet der nach nacheiszeitlichen Ausbreitung, ist die Haplotypendiversität deutlich höher (Schrimpf et al., eingereicht). In dieser Region konnten innerhalb einer Population mehrere Haplotypen identifiziert werden, die sich teils durch mehrere Mutationen voneinander unterscheiden. Wird eine mittlere Mutationsrate von 1,4 % pro Million Jahre für COI (Cook et al., 2008; Knowlton & Weigt, 1998) und

von 0,65 % pro Million Jahre für die 16S-RNA (Schubart et al., 2000) zugrunde gelegt, ergibt sich ein Zeitraum der Aufspaltung von bis zu 1 Millionen Jahren. Der Balkan wurde also über mehrere Eiszeiten hinweg von Edelkrebsen besiedelt, wobei es immer wieder zur Aufspaltung, die teils immer noch fortbesteht, aber auch zu einer nachfolgenden Vermischung der Bestände kam. Es deutet sich an, dass im Balkan mehrere evolutionär bedeutsame Einheiten bestehen, wohingegen die Aufspaltung der meisten mitteleuropäischen Haplotypen auf einen Zeitraum < 100.000 Jahre zurückgeht, also im Verlauf der letzten Eiszeit erfolgte.

Die Mikrosatellitenanalyse zeigt ein differenzierteres Bild für die Bestände des Lahneinzugsgebiets. Zum Einen zeigen Bestände in Fließgewässern im Mittel eine höhere genetische Diversität als Bestände in Stillgewässern, zum Anderen steigt die genetische Distanz (F_{ST} -Wert) zwischen den Beständen der Fließgewässer mit zunehmender geographischer Distanz. Dieser Zusammenhang ergab sich hingegen nicht für die Bestände der Stillgewässer. Dieses Muster deutet darauf hin, dass bis in die jüngste Vergangenheit (bis vor 100 bis 150 Jahren) ein Genfluss zwischen den Beständen der Fließgewässer bestanden hat. Die Bestände der Stillgewässer gehen zumeist auf Besatz mit einer geringen Anzahl an Gründertieren zurück. Darüber hinaus zeigten sich durch die feinere Auflösung weitere auffällige Übereinstimmungen der Allelfrequenzen zwischen zwei weiteren Beständen des Lahneinzugsgebiets und der Satzkrebszucht Augsburg. Durch die Beschränkung der Reliktvorkommen auf kurze Gewässerabschnitte und damit geringe Populationsgrößen und den unterbrochenen und natürlicherweise nicht wieder herstellbaren Genfluss besteht eine hohe Wahrscheinlichkeit für den Verlust genetischer Diversität aufgrund von Gendrift.

Tabelle 2: Anzahl an Allelen pro Primer (Nr. Allele) und minimale (Min) und maximale (Max.) Anzahl an Allelen pro Population. Primer aus Koiv et al. (2008)¹ und Koiv et al. (2009)².

Primer	Anzahl Allele/Population		
	gesamt	Min.	Max.
² Aas 2	14	2	8
² Aas 6	12	2	7
² Aas 7	12	2	7
² Aas 8	13	3	10
² Aas 11	13	3	10
¹ Aas 766	8	1	5
¹ Aas 3666	12	2	7
¹ Aas 3040	11	2	8

Insgesamt wurden 10 Bestände als mögliche Donorpopulationen für Wiederbesatzmaßnahmen identifiziert. Diese gehen nachweislich nicht auf Besatz mit Tieren der beiden untersuchten Satzkrebszuchten zurück, sie zeigen den für mitteleuropäische Flussgebiete typischen mitochondriellen Haplotypen und repräsentieren einen hohen Anteil der genetischen Diversität des

Lahneinzugsgebietes. Für den Aufbau eines regionalen Genpools bzw. einer Nachzucht sollten Gründertiere aus mehreren dieser Bestände entnommen werden, um einen großen Anteil der regionaltypischen Ausprägungen zu sichern.

Die Darstellung der genetischen Struktur auf zwei unterschiedlichen Skalenebenen erwies sich als geeignet, die Verbreitungsgeschichte der Art als auch kurzfristige populationsgenetische Effekte (Genfluss, genetische Drift) nachzuvollziehen. Nur in diesem Zusammenspiel ergaben sich genügend Anhaltspunkte zur Identifikation lokaltypischer Vorkommen. Anhand der sehr feinen Auflösung genetischer Muster mit Hilfe der Mikrosatellitenanalyse ließ sich die Verteilung der genetische Diversität innerhalb und zwischen den Beständen darstellen. Dies kann als Grundlage für die Auswahl geeigneter Donorpopulationen für Besatzmaßnahmen aber auch für die Fokussierung von Artenschutzbemühungen auf lokaler Ebene dienen.

Literatur

- Albrecht, H., 1983: Besiedlungsgeschichte und ursprüngliche holozäne Verbreitung der europäischen Flußkrebse. *Spixiana* 6: 61-77.
- Alderman D.J., 1996: Geographical spread of bacterial and fungal diseases of crustaceans. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epizoot.* 15: 603–632.
- Allendorf, F.W., Ryman, N., 1987: Genetic management of hatchery stocks. In: Ryman, N., Utter, F. (Hrsg.), *Population Genetics and Fishery Management*. University of Washington Press, Seattle, 141-159.
- Araki, H., Berejikian, A.A., Ford, M.J., Blouin, M.S., 2008: Fitness of hatchery-reared salmonids in the wild. *Evolutionary Applications*. 1: 342-355.
- Blanke, D., 1998: Flußkrebse in Niedersachsen. *Informationsdienst Naturschutz Niedersachsen* 18: 146-174.
- BMU (Hrsg.), 2007: *Nationale Strategie zur biologischen Vielfalt*. Bonifatius GmbH, Paderborn, 178 S.
- Bruford, M.W., Wayne, R.K., 1993: Microsatellites and their application to population genetic studies. *Current Opinion in Genetics & Development* 3: 939-943.
- Caballero, A., Toro, M.A., 2002: Analysis of genetic diversity for the management of conserved subdivided populations. *Conservation Genetics* 3: 289-299.
- Cook, B., Pringle, C., Hughes, J., 2008: Phylogeography of an island endemic, the Puerto Rican freshwater crab (*Epilobocera sinuatifrons*). *Journal of Heredity* 99: 157–164.
- Crandall, K.A., Fitzpatrick Jr., J.F., 1996: Crayfish molecular systematics: using a combination of procedures to estimate phylogeny. *Systematic Biology* 45: 1-26.
- Dehus, P., Phillipson, S., Bohl, E., Oidtmann, B., Keller, M., Lechleiter, S., 1999: German conservation strategies for native crayfish species with regard to alien species. In: Gherardi,

- F., Holdich, D. M. (Hrsg.), Crayfish in Europe as alien species. A.A. Balkema, Rotterdam, 149-159.
- Fetzner Jr., J.W., Crandall, K.A., 2002: Genetic variation. In: Holdich, D.M. (Hrsg.), Biology of Freshwater Crayfish. Blackwell Science Ltd, Oxford, 291-326.
- Frankham, R., 2005: Stress and adaptation in conservation genetics. *Journal of Evolutionary Biology* 18: 750-755.
- Frankham, R., Ballou, J.D., Briscoe, D.A., 2002: Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press, Cambridge, 617 S.
- Grandjean, F., Frelon-Raimond, F., Souty-Grosset, C., 2002: Compilation of molecular data for the phylogeny of the genus *Austropotamobius*: one species or several? *Bull. Fr. Pêche Piscic.* 367: 663-670.
- Haig, S.M., 1998: Molecular contributions to conservation. *Ecology* 79: 413-425.
- Hänfling, B., Dümpelmann, C., Bogutskaya, N.G., Brandl, R., Brandle, M., 2009: Shallow phylogeographic structuring of *Vimba vimba* across Europe suggests two distinct refugia during the last glaciation. *J. Fish Biology* 75: 2269-2286.
- Hewitt, G.M., 1999: Post-glacial recolonization of European biota. *Biol J Linn Soc* 68: 87–112.
- ISC, 2008: International Stratigraphic Chart. International Commission on Stratigraphy.
- Knowlton, N., Weigt, L.A., 1998: New dates and new rates for divergence across the Isthmus of Panama. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B: Biol. Sci.* 265: 2257–2263.
- Koiv, K., Gross, R., Paver, T., Kuehn, R., 2008: Isolation and characterization of first microsatellite markers for the noble crayfish, *Astacus astacus*, *Conservation Genetics* 9: 1703-1706.
- Koiv, K., Gross, R., Paver, T., Kuehn, R. 2009: Isolation and characterization of 11 novel microsatellite DNA markers in the noble crayfish, *Astacus astacus*. *Animal Genetics* 40, 124.
- Kozak, P., Fördeder, L., Kouba, A., Reynolds, J., Souty-Grosset, C., 2011: Current conservation strategies for European crayfish. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 401: online preview.
- Largiadèr, C.R., Herger, F., Lörtscher, M., Scholl A., 2000: Assessment of natural and artificial propagation of the white-clawed crayfish (*Austropotamobius pallipes* species complex) in the Alpine region with nuclear and mitochondrial markers. *Molecular Ecology* 9: 25–37.
- Moritz, C., 1994: Defining 'evolutionary significant units' for conservation. *Trends Ecol. Evol.* 9: 373–375.
- Schubart, C.D., Cuesta, J.A., Diesel, R., Felder, D.L., 2000: Molecular phylogeny, taxonomy, and evolution of nonmarine lineages within the American grapsoid crabs (Crustacea: Brachyura). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 15: 179–190.
- Schulz, H.K., Grandjean, F., 2005: Phylogeny of European crayfish - improving the taxonomy of European crayfish for a better conservation. *Bull. Fr. Pêche. Piscic.* 376-377: 829-836.

- Schulz, R., 2000: Status of the noble crayfish *Astacus astacus* (L.) in Germany: monitoring protocol and the use of RAPD markers to assess the genetic structure of populations. Bull. Fr. Pêche. Piscic. 356: 123-138.
- Schulz, R., Stucki, T.P., Souty-Grosset, C., 2002: Management: reintroductions and restocking. Bull. Fr. Pêche. Piscic. 367: 917-922.
- Souty-Grosset, C., Grandjean, F., Gouin, N., 2003: Involvement of genetics in knowledge, stock management and conservation of *Austropotamobius pallipes* in Europe. Bull. Fr. Pêche. Piscic. 370-371: 165-179.
- Souty-Grosset, C., Reynolds, J.D., 2009: Current ideas on methodological approaches in European crayfish conservation and restocking procedures. Knowl. Managt. Aquatic Ecosyst., 394-395.
- Taugbol, T., Peay, S., 2004: Reintroduction of native crayfish and habitat restoration. Bull. Fr. Pêche. Piscic. 372-373: 465-471.
- Taylor J.W., Jacobson D.J., Kroken S., Kasuga T., Geiser D.M., Hibbett, D.S., Fisher M.C., 2000: Phylogenetic species recognition and species concepts in fungi. Fungal Genet Biol. 31: 21-32.
- Wilson, A.C., Cann, R.L., Carr, S.M., 1985: Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. Biol. J. Linn. Soc. 26: 375-400.
- Weiss, S., Persat, H., Eppe, R., Schlötterer, C., Uiblein, F., 2002: Complex patterns of colonization and refugia revealed for European grayling *Thymallus thymallus*, based on complete sequencing of the mitochondrial DNA control region. Molecular Ecology 11: 1393–1407.