

Erfassung und Dokumentation der genetischen Variabilität von Wildpopulationen der Barbe (*Barbus barbus*) aus verschiedenen Flussgebietseinheiten in Deutschland

Abschlussbericht

erstellt im Auftrag der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE)



Projektnummer: 12BE002

Laufzeit: 28.09.2012 – 27.12.2015

Projektsteuerung

GWT-TUD GmbH, Blasewitzer Str. 43
01307 Dresden, Deutschland

Projektbearbeitung - Institut für Hydrobiologie

Prof. Dr. Thomas U. Berendonk (Institutsleiter, Professur für Limnologie und Gewässerökologie)

Technische Universität Dresden
01062 Dresden, Deutschland

Weitere Projektbearbeiter/in:

Dr. Dipl.-Biol. Sascha Krenek

Dipl.-Biol. Thomas Schiller

TA Ulrike Mogck

M. Sc. Daniel Wehnert

B. Sc. Christoph Köbsch

Inhaltsverzeichnis

1. ZIELE UND AUFGABENSTELLUNG DES PROJEKTS	3
2. PLANUNG UND ABLAUF DES PROJEKTS	5
2.1. AP1 - Populationsauswahl und Genehmigungen	5
2.2. AP2 - Befischungen	6
2.3. AP3 - Genetische Analysen	10
2.4. AP4 - Auswertung und Bewertung	10
3. WISSENSCHAFTLICHER UND TECHNISCHER STAND AN DEN GEKNÜPFT WURDE	12
3.1. Phylogeographie und Populationsgenetik der Barbe	12
3.2. Methoden zur molekularbiologischen Charakterisierung der Barbe	14
4. MATERIAL UND METHODEN	16
4.1. Vorgehen bei der Auswahl geeigneter Herkünfte der Barbe	16
4.2. Aufbau eines Kooperations-Netzwerks	17
4.3. Untersuchte Herkünfte	18
4.3.1. Probenahme und Elektrobefischungen	18
4.3.2. Status-Bericht zu den Herkünften	19
4.4. Molekulare Analysen	36
4.4.1. Etablierung forensischer Abstriche zur DNA-Gewinnung	36
4.4.2. mtDNA Sequenzanalyse	36
4.4.3. Mikrosatellitenanalyse	37
4.5. Datenanalyse und Statistik	40
4.5.1. mtDNA Sequenzanalyse	40
4.5.2. Mikrosatellitenanalyse	41
5. AUSFÜHRLICHE DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE	45
5.1. Populationsstruktur der Barbe in den erfassten Herkünften	45
5.2. Genetische Diversität der Barbe in den erfassten Herkünften	48
5.2.1. Forensische Abstriche zur DNA-Gewinnung	49
5.2.2. mtDNA Sequenzanalyse	49
5.2.3. Mikrosatellitenanalyse	54
6. VORAUSSICHTLICHE NUTZUNG UND VERWERTBARKEIT DER ERGEBNISSE	61
6.1. Bewertung der untersuchten Populationen und Bestände der Barbe	61
6.2. Ableitung von Managementmaßnahmen	65
7. ZUSAMMENFASSUNG	68
7.1. Deutsche Kurzfassung	68
7.2. Abstract	69
8. GEGENÜBERSTELLUNG DER GEPLANTEN ZU DEN TATSÄCHLICH ERREICHTEN ZIELEN	70
9. LITERATURVERZEICHNIS	73
10. ANHANG	80

1. Ziele und Aufgabenstellung des Projekts

Die Bundesrepublik Deutschland hat im Jahr 2007 die Nationale Strategie zur biologischen Vielfalt (BMU 2007) beschlossen und bekennt sich damit zur Ihrer Verantwortung zum Schutz und Erhalt der Biodiversität. Nach der 1993 in Kraft getretenen Internationalen Biodiversitäts-Konvention (Convention on Biological Diversity, CBD) umfasst der Begriff der Biodiversität die Vielfalt der Ökosysteme, die Vielfalt zwischen und innerhalb von Arten sowie die genetische Vielfalt (UN 1992). Genetische Variationen sind die Grundlage bei der Entstehung und Weiterentwicklung von Arten im Verlauf der Evolution. Die genetische Diversität kann dabei über das Aussterben oder Überleben von Populationen oder Arten bei sich ändernden Umweltbedingungen entscheiden.

Das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) hat mit der im Jahr 2007 beschlossenen Agrobiodiversitätsstrategie (BMELV 2007) den Rahmen für die Nationalen Fachprogramme zu pflanzen-, tier-, forst- und fischgenetischen Ressourcen geschaffen. Das Fachprogramm Aquatische Genetische Ressourcen (AGR, BMELV 2010) zielt darauf ab, die genetische Vielfalt aquatischer Organismen langfristig zu erhalten und deren nachhaltige Nutzung sicherzustellen.

Die Barbe (*Barbus barbus*) wird auf Europäischer Ebene aktuell nach der Roten Liste des IUCN als nicht gefährdet eingestuft („least concern“) (Freyhof & Brooks 2011). Dagegen wurden in den letzten Jahrzehnten in vielen Flusseinzugsgebieten Deutschlands deutliche Bestandsrückgänge dokumentiert (Ebel 2003), so dass sie in Deutschland als stark gefährdet (BFN 2009) gilt. In den Roten Listen der Bundesländer ist die Barbe als gefährdet (Baden-Württemberg, Bayern, Hessen, Nordrhein-Westfalen, Rheinland-Pfalz), stark gefährdet (Bremen, Niedersachsen, Sachsen, Schleswig-Holstein, Thüringen) oder sogar vom Aussterben bedroht (Brandenburg, Hamburg, Sachsen-Anhalt) eingestuft. Trotz Bestandserholungen in den 1990er Jahren, initiiert durch eine massive Verringerung der stofflichen Belastung vieler Fließgewässer, werden in jüngster Zeit erneut Rückgänge vieler Barbenpopulationen beobachtet. Als Ursachen des Bestandsrückganges kieslaichender strömungsliebender Fischarten gilt die Gewässerdegradation und die damit verbundene Rückstauproblematik bzw. die Potamalisierung von Gewässerabschnitten. Aber auch die stoffliche Belastung – als Quelle rückt zunehmend die Landwirtschaft in den Fokus – der potentiellen Laich- und Habitatgewässer (Ebel 2003, Hübner 2003) ist oft immer noch problematisch. Weitere Gefährdungsursachen stellen der eingeschränkte Populationsaustausch durch Wanderhindernisse (Kolbinger 2002) sowie der Fraßdruck durch Kormorane (*Phalacrocorax carbo sinensis*) oder Gänsesäger (*Mergus merganser*) dar (Schröder et al. 2007).

Trotz nahezu nicht mehr stattfindender Nutzung als Speisefisch – bis Mitte des zwanzigsten Jahrhunderts unterlag die Barbe intensiver fischereilicher Nutzung – gilt sie in der Angelfischerei wegen ihrer Größe und „Kampfesstärke“ beim Drill als beliebte Fischart. Aus diesem Grund fällt die Barbe unter die Rubrik potentieller Besatzfische, auch wenn sie neben einer ganzen Reihe wirtschaftlich bedeutenderer Fischarten in den Laichfischbestand deutscher Zuchtbetriebe eher im Abseits steht (Müller-Belecke 2008). Der Besatz bzw. bestandsstützende Maßnahmen beinhalten jedoch auch die Gefahr der Beeinflussung bzw. Extinktion

autochthoner, regional adaptierter Populationen, wenn auch der Erfolg von Fischbesatz für die Angelfischerei art-, größen- und gewässerspezifisch ist. (Arlinghaus et al. 2015).

Viele Populationen genutzter bzw. bewirtschafteter Fischarten in Deutschland sind in der Vergangenheit durch Besatzmaßnahmen genetisch überprägt und zum großen Teil durch drastische Umweltveränderungen wie Gewässerverschmutzung und Gewässerverbau in ihrer Zusammensetzung und Funktion verändert worden. Natürliche Fischpopulationen wurden dabei oft durch Besatz überformt, die genetische Integrität und Diversität entspricht also in vielen Fällen nicht mehr ihrem ursprünglichen Zustand.

Ziel der vorliegenden Studie war es, Wildpopulationen der Barbe (*Barbus barbus*) im Gesamtgebiet von Deutschland genetisch zu charakterisieren. Hierzu sollten 30 Barbenpopulationen aus mindestens vier Flussgebietseinheiten (FGE) Deutschlands erfasst, molekulargenetisch analysiert und die genetische Variabilität sowie die verwandtschaftlichen Beziehungen innerhalb und zwischen den Populationen erfasst und bewertet werden.

Übergreifendes Ziel ist es, genetisch eigenständige Populationen der Barbe als „evolutionäre Einheiten“ mit ihren regionalen, genetischen und phänotypischen Eigenheiten zu erhalten und langfristig im Bestand zu sichern. Im Hinblick auf die fischereiliche Bewirtschaftung und gegebenenfalls erforderliche Besatzmaßnahmen steht hierbei eine praxisorientierte Bewertung der genetischen Distanzen bzw. Verwandtschaften im Vordergrund.

2. Planung und Ablauf des Projekts

Die inhaltlichen Aufgaben des Projekts wurden in vier Arbeitspakete (AP1-AP4) unterteilt, deren ursprüngliche Planung und tatsächlicher zeitlicher Ablauf in Abb. 1 dargestellt sind. Im Folgenden wird hauptsächlich auf den inhaltlichen und zeitlichen Ablauf eingegangen, wohingegen die exakte Methodendarstellung der Arbeitspakete unter Kap. 4 erfolgt.

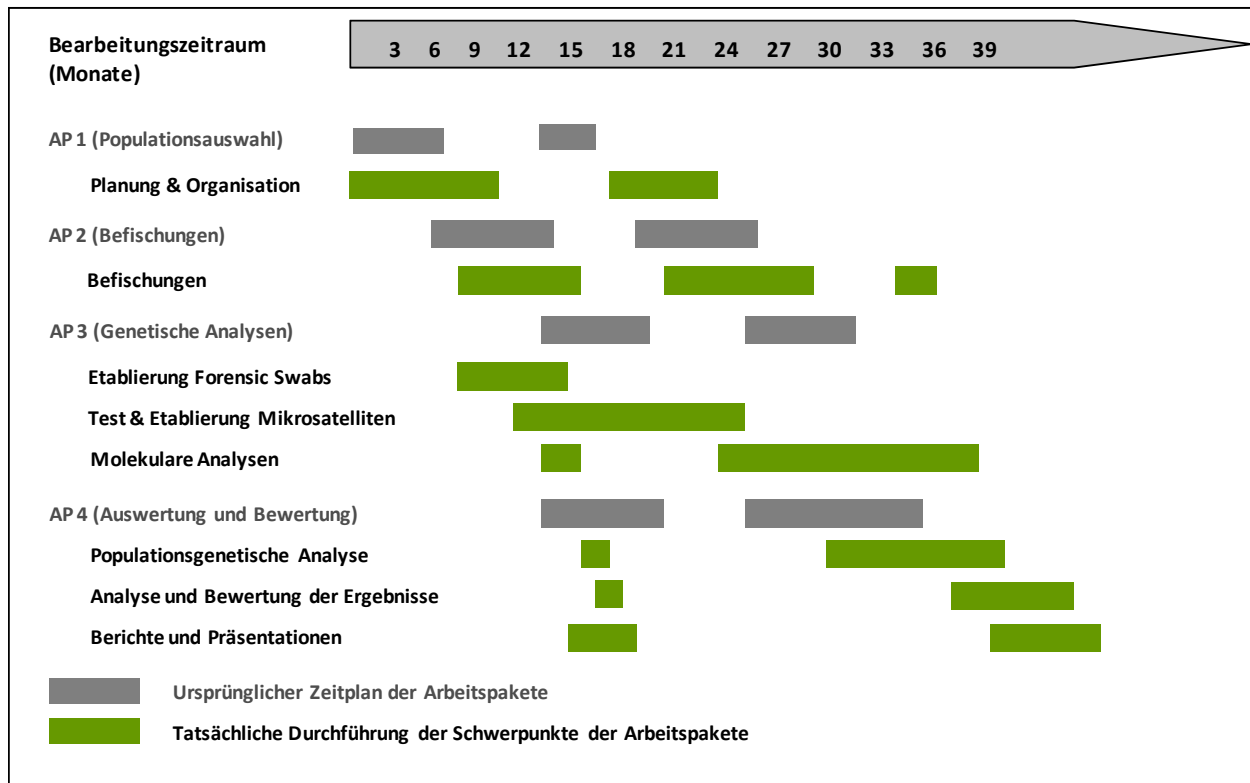


Abb. 1: Arbeits- und Zeitplan aufgeschlüsselt nach Arbeitspaketen (AP 1-4); ursprünglich geplanter Ablauf (graue Balken), tatsächlich durchgeführte Arbeitsschritte während des Berichtszeitraums (Grüne Balken)

2.1. AP1 - Populationsauswahl und Genehmigungen

Die Auswahl geeigneter Gewässerabschnitte erfolgte in Absprache mit den Landesfischereibehörden, Wasserwirtschafts- und Naturschutzverwaltungen, den Landesfischereiverbänden und vor allem mit den die jeweiligen Zielgewässer betreuenden Anglervereinen. Vorrangig wurden vorhandene Informationen aus Fischartenkatastern und –atlanten und anderen bereits vorhandenen Datenbanken und Karteninformationen ausgewertet, wobei die Qualität und Verfügbarkeit in den einzelnen Bundesländern sehr unterschiedlich war. Auf Grundlage der hierbei gewonnenen Informationen wurden für die erste Probenahmesaison 2013 über 30 potentielle Herkünfte und weitere 25 für die Saison 2014 aus insgesamt 6 Flussgebietseinheiten für Probenahmen ermittelt. Bei der Auswahl der Herkünfte wurde der Großteil der nach GENRES (2009) förderfähigen Wildpopulationen der Barbe berücksichtigt. Dazu zählen das Helmesystem, das Oder-Neiße-System/Lausitzer Neiße, das Saalesystem, das Bodesystem und das Muldesystem.

Die in der Antragsphase erfolgten Nachfragen bezüglich der Genehmigung des ursprünglich geplanten Flossenschnitts als Form der Gewebeentnahme zur Gewinnung von DNA erwiesen

sich äußerst divers. Dabei wurde uns von einigen Veterinärbehörden mitgeteilt, dass der Flossenschnitt für wissenschaftliche Zwecke lediglich anzeigepflichtig wäre, wohingegen dieser in anderen Bundesländern als genehmigungspflichtiger Tierversuch eingestuft wurde. Nach Projektstart erfolgte jedoch zum 04.07.2013 eine Novellierung des Tierschutzgesetzes (BMJV 2014), in welcher die Entnahme von Geweben bei Wirbeltieren generell als genehmigungspflichtiger Tierversuch dargestellt wird. Die nun höchst sensibilisierten Veterinärbehörden stuften den Flossenschnitt jetzt in der Regel als genehmigungspflichtig ein.

Elektrobefischungen zum Zweck von Fischbestandsanalysen ohne Gewebeentnahmen waren davon jedoch nicht betroffen. Deshalb wurde von uns bei verschiedenen Veterinärbehörden angefragt, ob eine nicht-invasive Form der Gewinnung von DNA, ohne Entfernung von Geweben sowie ohne zusätzliche Schmerzen für den Fisch, die Erhebung ermöglichen würde. Dies wurde uns bestätigt. So stufte z.B. die zuständige Veterinärabteilung des Niedersächsischen Landesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit einen epidermalen Abstrich als keine zusätzliche Belastung für den Fisch bei einer durchzuführenden Elektrobefischung (z.B. Bestandserfassung, WRRL-Monitoring) und somit auch nicht als Tierversuch ein.

Deshalb wurde von uns ein alternatives Verfahren zur nicht-invasiven Gewinnung von DNA bei der Barbe getestet und etabliert (siehe Kap. 3). Dafür wurden bei den gefangenen Barben mit forensischen Abstrichtupfern (Sarstedt AG & Co) buccale Zellen (Maulhöhlenabstrich; bei Fischen > 15 cm) und/oder Abstriche im Außenbereich des Mauls sowie im dorsalen Bereich (bei Fischen < 15 cm) entnommen. Im Verlauf der Erhebung war neben Barben aus kommerzieller Fischerei und getöteten juvenilen Barben, von denen DNA aus Muskelfleisch gewonnen wurde, der epidermale Abstrich die vorrangige Methode zur DNA-Gewinnung.

Die Genehmigungen für Elektrobefischungen zum Zwecke der Bestandsanalysen der Barbe wurden ohne Komplikationen bei den jeweiligen Fischerei- bzw. Naturschutzbehörden beantragt und in der Regel für einen terminlich definierten Zeitabschnitt von 1 bis 2 Wochen erteilt. In Niedersachsen und Sachsen-Anhalt waren diese sogar für ein Jahr gültig, was die Flexibilität bei der Durchführung der Befischungen wie die Ausnutzung von Perioden mit guten Wetterbedingungen sowie niedrigen Wasserständen in den Zielgewässern enorm steigerte.

2.2. AP2 - Befischungen

Bei der Planung der Befischungen war auf Grund der räumlichen Trennung der Populationen von einem Zeitaufwand von ca. einem Tag pro Herkunft ausgegangen worden. Durch die bundesweiten Untersuchungen war außerdem mit langen An- und Abreisezeiten zu rechnen, weshalb während einer einwöchigen Beprobung maximal mit einer erfolgreichen Beprobung von 3-4 Herkünften zu rechnen war. Diese Annahmen erwiesen sich als zu optimistisch. Dafür gab es zwei hauptsächliche Gründe. Das Frühjahr und der Frühsommer 2013 war extrem niederschlagsreich und führte in weiten Teilen Deutschland zu extremen Hochwasserereignissen, welche in Donau und Elbe ähnliche Dimensionen wie bei der Jahrhundertflut 2002 erreichten. Davon waren die Zielgewässer (Abb. 2, Tab. 1), bei denen es sich um mittlere bis größere Fließgewässer der Äschen- und Barbenregion (Huet 1959)

handelte, besonders betroffen, da die Einzugsgebiete einen hohen Wasserrückhalt über den Sommer aufwiesen und weiterhin lang anhaltende Regenereignisse auftraten, wodurch die Pegel permanent im Bereich hoher und mittlerer Wasser / Abfluss – Verhältnisse lagen. Für erfolgreiche Elektrofischungen sind jedoch möglichst niedrige Wasserstände notwendig, um die Zielart Barbe in den von ihr bevorzugten schnell strömenden Bereichen der Gewässer fangen zu können. So erbrachten beispielsweise die in dieser Zeit durch den Fischereikundlichen Dienst des Niedersächsischen Landesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (LAVES) durchgeführte einwöchige Weserbefischung auf ca. 150 km Flusslänge lediglich zwei Barben. Auch die von uns in dieser Zeit im Einzugsgebiet der Zschopau/Flöha durchgeführten Befischungen mit einem zeitlichen Aufwand von 4 Tagen an 8 Gewässerabschnitten lieferten lediglich 5 Barben.

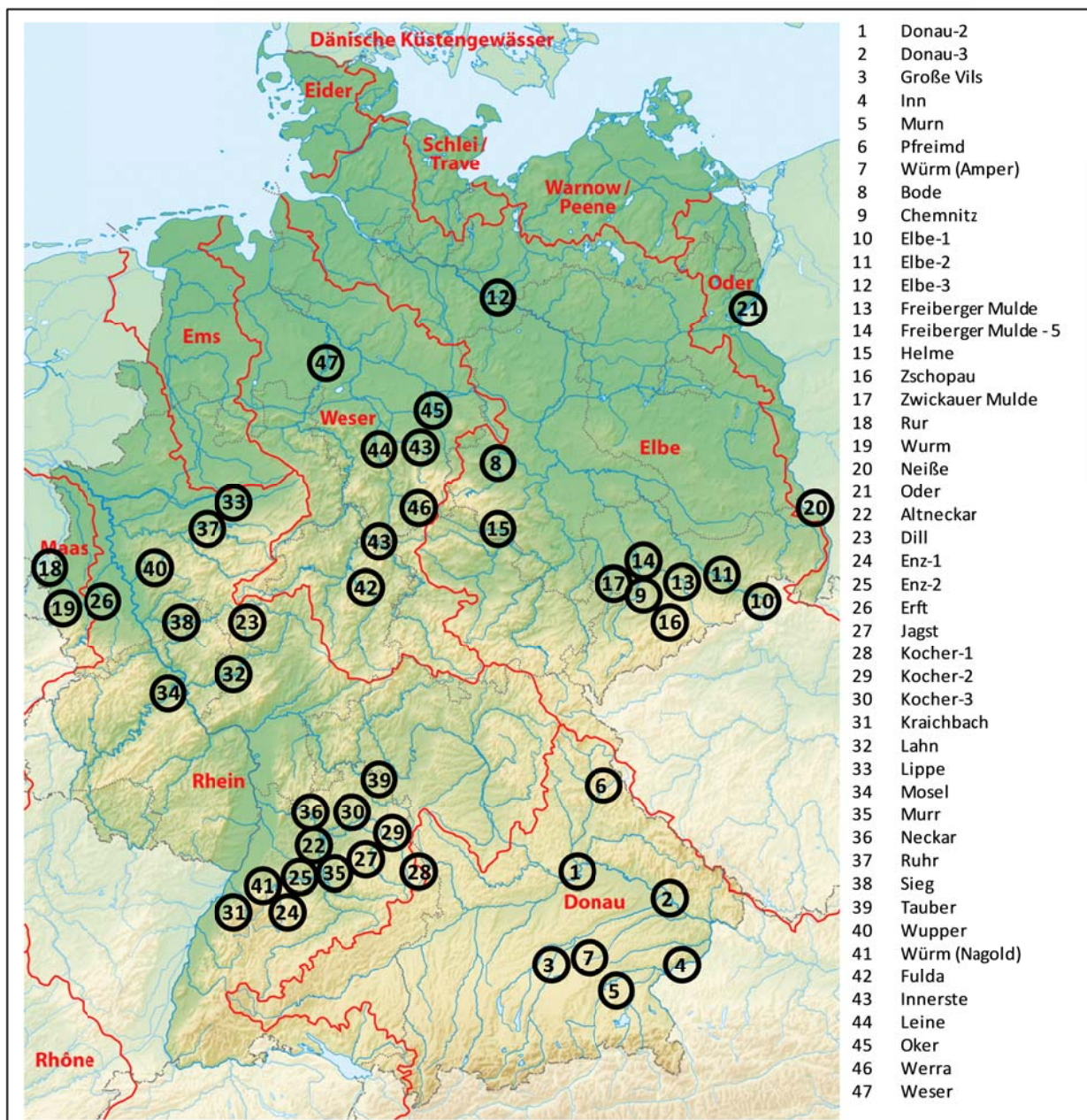


Abb. 2: Kartografische Darstellung der Herkunftsgewässer der Barben, von welchen Material für die genetischen Analysen gewonnen wurde, die Flussgebietseinheiten (FGE) sind durch rote Linien voneinander abgegrenzt. (Urheber Karte: NordNordWest/Wikipedia)

Bei diesen Ergebnissen war das Aufwand-Nutzen-Verhältnis derart gering, dass das geplante Programm geändert und Befischungen in weniger betroffenen Gegenden Deutschlands durchgeführt werden mussten. Generell gab es jedoch während der gesamten Projektlaufzeit immer wieder Probleme mit Extremwasserereignissen. Einerseits war der Wasserstand der Gewässer dadurch stark erhöht, weshalb die Barbe als Grundfischart nicht oder nur schlecht beprobt werden konnte, andererseits waren die Gewässer über lange Zeiträume stark getrübt, so dass die visuelle Elektrobefischung selbst bei akzeptablen Wasserständen stark beeinträchtigt wurde.

Eine kurzfristige Planung von Befischungen bei vorhersehbarer guter Wetterlage erwies sich dabei als beste Garantie für erfolgreiche Befischungen. In der Regel waren sogar kurzfristige Genehmigungen (innerhalb einer Woche) der Befischungen möglich. Als ein gutes Werkzeug bei der Koordinierung der Befischungen erwies sich dabei das länderübergreifende Online-Hochwasserportal (<http://www.hochwasserzentralen.de>), in welchem Echtzeit-Wasserpegel mittlerer und größerer Fließgewässer im gesamten Bundesgebiet abrufbar sind.

Des Weiteren zeigte sich bei den Befischungen, dass sich die Bestandssituation der Barbe in vielen Gewässern gegenüber den Informationen, welche Fischkatastern, Datenbanken und mündlichen Mitteilungen durch Fischerei- und Anglerverbände entstammten, wesentlich verschlechtert hatte. So waren beispielsweise in der Zschopau, Flöha, Ruhr und Erft im Zeitraum von 2005-2010 sehr gute Barbenbestände dokumentiert, die wir jedoch nicht mehr bestätigen konnten. Als besonders interessantes Beispiel sei hier auch die Wupper aufgeführt, die in der Vergangenheit einen dominierenden, aber wie sich zeigte anthropogen verursachten, Barbenbestand im Raum Wuppertal aufwies. Bedingt durch die Abwärme von Kraftwerken im Stadtgebiet wies die Wupper in der Vergangenheit optimale Temperaturverhältnisse für die Barbe auf. Aus Gewässerschutzaspekten bezüglich der "Wärmeverschmutzung von Gewässern" wurden die Leistung und damit auch die Abwärme der Kraftwerke in den letzten Jahren soweit heruntergefahren, dass die Temperaturverhältnisse in der Wupper mittlerweile der Forellenregion entsprechen und die Barbe nur noch eine Begleitart darstellt (pers. Mitteilung Helmut Wuttke, Bergischer Fischereiverein). Wir konnten bei unserer Befischung glücklicherweise in einer Abflussfahne einer mittlerweile gedrosselten Kraftwerks-Kühlwasserabgabe ausreichend Barben fangen. Für die meisten Gewässer wird für den Einbruch der Bestände jedoch die Zunahme des Kormoran (*Phalacrocorax carbo*) in Deutschland und der dadurch in strukturarmen Gewässerbereichen gestiegene Prädationsdruck auf die Barbe sowie die durch den Ausbau der Wasserkraft zunehmende Querverbauung der Gewässer verantwortlich gemacht. Die Abundanzen waren in vielen Gewässern so gering, dass trotz zum Teil mehrtägigen Aufwands der Fang der angestrebten 30 Individuen pro Herkunft nicht immer erreicht werden konnte.

Daher wurden im Projektverlauf insgesamt fast 60 Herkünfte beprobt, um die angepeilte Größenordnung von 900 zu analysierender Individuen zu erreichen. Dabei konnten in 47 Herkünften aus 6 Flussgebietseinheiten Donau, Elbe, Maas, Oder, Rhein und Weser insgesamt 1144 Barben gefangen und genetisches Material gewonnen werden (Tab. 1). Die Befischung von zwei Abschnitten der Ems war leider nicht erfolgreich, so dass eine Population dieser

siebten FGE leider nicht in die Studie einbezogen werden konnte. In 19 Herkunftsorten wurden ≥ 30 , in 15 Herkunftsorten 10-30 und in 13 Herkunftsorten ≤ 10 Individuen gefangen.

Tabelle 1: Herkunftsgewässer der Barbe, in denen Individuen für die Analyse der genetischen Variabilität gewonnen wurden. Aufgeführt sind die Flussgebietseinheiten (FGE), Landkreise, Gemeinden, Bundesländer und GPS-Koordinaten der Probestellen sowie die Anzahl der gefangenen Individuen (N) und deren durchschnittliche Längen (l), Massen (m) und Korpulenzfaktoren (K).

Nr	Gewässer	FGE	Landkreis	Gemeinde	Land	GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	Ind. (N)	Ø l (mm)	Ø m (g)	Ø K
1	Donau-2	Donau	Kelheim	Kelheim	BY	R4488501 H5418351	58	40	0,4	0,56
2	Donau-3	Donau	Deggendorf	Niederalteich	BY	R4575004 H5403434	30	635	1972,0	0,77
3	Große Vils	Donau	Erding	Taufkirchen	BY	R4515725 H5356634	40	100	8,0	0,80
4	Inn	Donau	Rottal-Inn	Simbach	BY	R4577223 H5347651	15	33	0,2	0,53
5	Murn	Donau	Rosenheim	Schonstett	BY	R4516455 H5316261	39	35	0,3	0,75
6	Pfreimd	Donau	Schwandorf	Pfreimd	BY	R4515000 H5484641	25	-	-	-
7	Würm (Amper)	Donau	Starnberg	Gauting	BY	R4453171 H5322412	39	400	540,0	0,84
8	Bode*	Elbe	Börde	Gröningen	ST	R4445574 H5757559	35	718	3398,0	0,92
9	Chemnitz*	Elbe	Mittelsachsen	Lunzenau	SN	R4554508 H5650516	30	162	42,0	0,99
10	Elbe-1	Elbe	Sächsische Schweiz	Bad Schandau	SN	R5440540 H5642659	35	357	507,0	1,11
11	Elbe-2	Elbe	Meißen	Radebeul	SN	R5403284 H5663933	24	610	2085,0	0,92
12	Elbe-3	Elbe	Gorleben	Lüchow-Dannenberg	NI	R4456533 H5880394	37	288	176,1	0,74
13	Freib. Mulde*	Elbe	Mittelsachsen	Grossweitzschen	SN	R4570646 H5668297	60	126	18,0	0,90
14	Freib. Mulde5*	Elbe	Leipzig	Colditz	SN	R4557939 H5669337	9	420	-	-
15	Helme*	Elbe	Mansfeld-Südharz	Südharz	ST	R4442136 H5702493	34	250	150,0	0,96
16	Zschopau*	Elbe	Mittelsachsen	Flöha	SN	R4575071 H5636258	5	189	100,8	0,96
17	Zwick. Mulde*	Elbe	Leipzig	Colditz	SN	R4554976 H5668288	5	730	-	-
18	Rur	Maas	Limburg	Roermond	NL	R2498746 H5672763	29	220	80,0	0,75
19	Wurm	Maas	Heinsberg	Heinsberg	NRW	R2510685 H5657620	41	60	4,0	1,85
20	Neiße*	Oder	Görlitz	Bad Muskau	SN	R5480609 H5714928	49	373	375,0	0,72
21	Oder*	Oder	N/A	N/A	BB	Fluss-km 568-685	14	355	401,0	0,90
22	Altneckar	Rhein	Ludwigsburg	Pleidelshheim	BW	R3513857 H5424342	3	124	-	-
23	Dill	Rhein	Lahn-Dill-Kreis	Sinn	HE	R3452092 H5611171	17	430	615,0	0,77
24	Enz-1	Rhein	Enzkreis	Niefern-Öschelbr.	BW	R348429 H5420504	38	275	-	-
25	Enz-2	Rhein	Ludwigsburg	Oberriexingen	BW	R3502388 H5421031	14	535	-	-
26	Erft	Rhein	Rhein-Erft-Kreis	Erftstadt	NRW	R2556660 H5629586	45	127	20,0	0,98
27	Jagst	Rhein	Heilbronn	Bad Friedrichshall	BW	R3515816 H5457397	23	222	-	-
28	Kocher-1	Rhein	Ostalbkreis	Abtsgmünd	BW	R3573262 H5417918	32	53	-	-
29	Kocher-2	Rhein	Schwäbisch Hall	Gaildorf	BW	R3555442 H5430896	19	92	-	-
30	Kocher-3	Rhein	Hohenlohekreis	Forchtenberg	BW	R3541071 H5461689	19	54	1,0	0,65
31	Kraichbach	Rhein	Rhein-Neckar-Kreis	St. Leon	BW	R3471428 H5458135	6	135	30,0	1,22
32	Lahn	Rhein	Limburg-Weilburg	Weilburg	HE	R3447837 H5594226	27	330	350,0	0,97
33	Lippe	Rhein	Hamm	Hamm	NRW	R3418830 H5728980	43	99	9,0	0,93
34	Mosel	Rhein	Koblenz	Koblenz	RP	R3399404 H5581927	12	615	-	-
35	Murr	Rhein	Ludwigsburg	Erdmannhausen	BW	R3523603 H5422920	7	80	-	-
36	Neckar	Rhein	Heilbronn	Heilbronn	BW	R3515591 H5444611	1	133	-	-
37	Ruhr	Rhein	Unna	Schwerte	NRW	R3401659 H5701192	34	110	12,0	0,90
38	Sieg	Rhein	Rhein-Sieg-Kreis	Sieg Bergheim	NRW	R2598165 H5626119	35	66	-	-
39	Tauber	Rhein	Main-Tauber-Kreis	Tauberbischofsh.	BW	R3547419 H5502250	2	242	115,0	0,81
40	Wupper	Rhein	Wuppertal	Wuppertal	NRW	R2578189 H5679931	43	385	510,0	0,89
41	Würm (Nagold)	Rhein	Pförtzheim	Würm	BW	R3481193 H5413550	7	260	-	-
42	Fulda	Weser	Göttigen	Hann. Münden	NI	R3541889 H5696386	2	90	8,0	1,10
43	Innerste	Weser	Hildesheim	Bad Salzdeffurth	NI	R3569034 H5774992	2	210	82,0	0,89
44	Leine	Weser	Hildesheim	Alfeld	NI	R3555346 H5764543	45	664	2940,0	1,00
45	Oker	Weser	Gifhorn	Meinersen	NI	R3591935 H5817962	11	465	990,0	0,98
46	Werra	Weser	Göttigen	Hann. Münden	NI	R3553249 H5694875	2	672	2670,0	0,88
47	Weser	Weser	HamelN-Pyrmont	Emmerthal	NI	R3526726 H5768782	2	575	1980,0	1,04

* förderfähige Stämme und Wildpopulationen der Barbe gemäß des GAK-Rahmenplans 2008 – 2011 (GENRES 2009)

Bis auf eine Herkunft wurden alle Individuen vermessen, ebenso wurde versucht alle Individuen zu wiegen. Dies war jedoch nicht immer möglich (siehe Tab.1). Dafür gab es im Wesentlichen drei Gründe. Erstens war es einigen Probenehmern nicht möglich auf ihren Booten mobile Waagen zu verwenden bzw. oft war ein fehlerfreies exaktes Wiegen vor allem kleinerer Fische

durch Motorvibrationen, schlechte Wetterbedingungen oder turbulente Wasserbewegungen nicht möglich – in zwei Fällen fielen die mobilen Waagen aus. Zweitens war bei Watbefischungen das Wiegen oft nur möglich, wenn der Bestand ausreichend gut war und man sich an einer geeigneten Stelle am Ufer ein Lager errichten konnte in welchem die gefangenen Fische gewogen werden konnten. Bei Befischungen in knie- bis hüfttiefem Wasser auf grobsteinigem Untergrund mit Blocksteinen und bis zu 30 m breiten Gewässern war es zwar in Ausnahmefällen möglich, in einem hinterhergezogenen Schlauchboot mit Fischtransportbox die Fische zu sammeln, meist war dies durch zu starke Strömung oder Gewässerschwelen nicht möglich. Drittens war das Wiegen von 0+ Fischen im Freiland meist zu ungenau, dafür sind nur stationäre Laborwaagen geeignet. Die Befischungen konnten in den anvisierten Zeiträumen durchgeführt und auf Grund der guten Herbst-Wetterverhältnisse in beiden Jahren 2013 und 2014 auf den Oktober und die erste Novemberhälfte erweitert werden.

2.3. AP3 - Genetische Analysen

Der Test und die Etablierung epidermaler Abstriche zur DNA-Gewinnung bei der Barbe erforderten ebenso wie der Test und die Etablierung sowie die Feinabstimmung der Multiplexing-Sets zu Beginn der Laborarbeiten einen nicht unerheblichen zusätzlichen Aufwand, weshalb AP3 erheblich mehr Zeit bedurfte als geplant (Abb. 1), obwohl mit diesem Arbeitspaket 4 Monate früher als geplant gestartet wurde.

Der Test und die Etablierung der mitochondrialen Marker Cytochrom-*b* (*cob*) und Kontrollregion (CR) konnte wie geplant durchgeführt werden. Die Sensitivität und damit der Grad der Eignung beider Marker zur Beschreibung der Verwandtschaftsverhältnisse der Populationen der Barbe wurden analysiert und CR als geeigneter befunden und für die weitere Haplotypisierung der Barbe in dieser Studie verwendet (siehe 4.4.2.).

Insgesamt wurden über 50 Mikrosatelliten Loci analysiert, wobei für 26 Marker mindestens 1 PCR-Produkt amplifiziert werden konnte. Somit konnten 16 Mikrosatelliten Marker erfolgreich für *B. barbus* etabliert werden, welche im Weiteren in Abhängigkeit von deren Fragmentlängen und den Reaktionsbedingungen der Primer in vier Multiplexing-Sets zusammengestellt wurden. Anschließend wurden diese Sets getestet und ein „fine tuning“ der Reaktionsbedingungen (Hybridisierungs-Temp., MgCl₂-Konz., Primer-Konz.) vorgenommen.

Die Analyse des Hauptteils der Proben konnte daher erst wesentlich später als geplant durchgeführt werden und dauerte auf Grund vieler Ausfälle der Fragmentlängenanalysen (siehe 4.4.3.) bis Mitte 2015.

2.4. AP4 - Auswertung und Bewertung

Die Auswertung der Ergebnisse konnte zwar teils schon vor Beendigung der Laborarbeiten begonnen werden, für den populationsgenetischen Vergleich war jedoch das Vorliegen aller erhobenen molekulargenetischen Daten notwendig, weshalb diese Analysen erst ab Mitte 2015 durchgeführt werden konnten.

Neben der Tetraploidie der Barbe (ungleiche Verteilung von Allelhäufigkeiten in einem Individuum) war das technisch bedingte Auftreten von sogenannten „Stutter-Peaks“ (Amplifikationsfehler während der PCR) eines der Hauptprobleme bei der Analyse der Daten (siehe 4.5.). Die Bestimmung der Fragmentlängen war hierbei nur schwer automatisierbar bzw. häufig fehlerbehaftet, weshalb die Rohdaten der Fragmentlängenanalysen aller Individuen und Loci manuell kuratiert und ausgewertet werden mussten, was allein bei über 9000 zu analysierenden MS-Fragmentlängen mehrere Monate dauerte.

Zusammen mit den Problemlösungen bei der Mikrosatellitenetablierung ergab sich daraus eine zeitliche Verzögerungen von 9 Monaten gegenüber dem ursprünglichen Zeitplan.

3. Wissenschaftlicher und technischer Stand an den geknüpft wurde

3.1. Phylogeographie und Populationsgenetik der Barbe

Die Barbe ist europaweit in stark strömenden kiesigen Fließgewässern verbreitet. Ihre geographische Verteilung reicht dabei vom Donaudelta und dem Schwarzen Meer im Osten bis nach Frankreich und in den südöstlichen Teil von England im Westen. In Skandinavien als auch südlich der Alpen und den Pyrenäen sowie den meisten südeuropäischen Habitaten wird sie als fehlend gelistet (Kotlik & Berrebi 2001). Aktuelle Studien zeigen allerdings, dass *B. barbatus* gegenwärtig als invasive Art z.B. in einigen norditalienischen Flüssen des Po Beckens zu finden ist (Meraner et al. 2013, Zaccara et al. 2014).

Untersuchungen der Europäischen *B. barbatus* Populationen mittels des mitochondrialen Cytochrom-*b* Gens von 87 Individuen ergab eine Monophylie der Balkan/anatolischen und der „nicht-mediterranen“ europäischen Populationen. Dies wird als Beweis für die Existenz einer langfristigen Barriere für den Genfluss zwischen diesen Populationen gesehen (Kotlik & Berrebi 2001). Dabei wird angenommen, dass die *B. barbatus* Linien, welche derzeit die mittel- und westeuropäischen Habitate besiedeln (phylogeographische Line II, Kotlik & Berrebi 2001), aus einem einzigen eiszeitlichen Refugium im Donaubecken stammen. Das große und weitverzweigte Donau-System diente dabei als Fischverbreitungsrouten über ganz Europa (Bernatchez 2001, Durand et al. 1999, Kotlik & Berrebi 2001). Weiterführende Untersuchungen konnten jedoch zum einen zeigen, dass diese Linien ebenfalls den südlichen Bug und Habitate des Dnjepr-Beckens besiedelt haben und somit ein gemeinsames Refugium in der weiten nordwestlichen Schwarzmeerregion besaßen. Zum anderen wurde ein zusätzliches Refugium in Südfrankreich postuliert, in welchem Populationen der phylogeographischen Line II, die Westeuropa während der letzten Warmzeit (vor ≈130- bis 115-tausend Jahren) besiedelt haben, ebenfalls das letzte glaziale Maximum überlebt haben können (Kotlik et al. 2004). Westeuropäische Flüsse könnten am Ende der letzten Eiszeit von diesem Refugium zusätzlich wiederbesiedelt worden sein, das Schwarzmeerbecken wurde aber eindeutig als Hauptquelle der postglazialen Wiederbesiedlung Europas identifiziert (Kotlik & Berrebi 2001, Kotlik et al. 2004).

Populationsgenetische Untersuchungen mittels Isoenzym- und Mikrosatelliten-Marker Analysen haben gezeigt, dass *B. barbatus* mit anderen Barben Arten hybridisieren kann (Berrebi et al. 1993, Chenuil et al. 1997, Laibner et al. 2009). So bilden *B. barbatus* und *B. meridionalis* eine breite Hybridzone in Südfrankreich (Barton & Gale, 1993), die überwiegend aus rekombinierten Genotypen besteht und keine reinrassigen Individuen oder F1-Hybride im Zentrum der Hybridzone aufweist (Berrebi et al. 1993, Chenuil et al. 2000, Darius & Berrebi 1993, Laibner et al. 2009). Die Direktionalität der Hybridisierung scheint dabei jedoch von der Habitatpräferenz der beiden Arten eingeschränkt zu werden, wobei *B. meridionalis* Individuen ohne weiteres in die flussabwärts gelegenen *B. barbatus* Habitate einwandern, aber nicht umgekehrt. Dies hat zur Folge, dass die Einkreuzung in Richtung von *B. barbatus* aber nicht in Richtung von *B. meridionalis* erfolgt (Berrebi et al. 1993, Crespin et al. 1999, Darius & Berrebi 1993, Laibner et al. 2009). In der Kontaktzone von *B. barbatus* und *B. carpathicus*, der Übergangszone von Ober- und Unterlauf west- und ostkarpatischer Fließgewässer, bilden die beiden sympatrischen Arten aufgrund einer

Kombination von extrinsischen und intrinsischen Mechanismen hingegen nur selten Hybride (Lajbner et al. 2009). Die wenigen Hybriden, die in der Studie von Lajbner und Kollegen (2009) gefunden wurden, zeigten dabei ausschließlich *B. barbatus* mtDNA, was ebenfalls auf eine wenn auch geringe unidirektionale Einkreuzung in Richtung von *B. barbatus* aber nicht in Richtung von *B. carpathicus* hindeutet. Im Gegensatz dazu zeigt *B. barbatus* im nördlichen Adria-Becken als invasive Art ein stärkeres Einkreuzungsverhalten in endemische *B. plebejus* Populationen, wobei auch hier *B. barbatus* die dominierende „Mutter-Art“ darstellt (Meraner et al. 2013, Zaccara et al. 2014). Für deutsche Gewässer sind nach unserem Kenntnisstand keine Berichte zu Hybridisierungen von *B. barbatus* mit anderen Barben Arten bekannt. Es ist daher anzunehmen, dass alle innerhalb der vorliegenden Studie untersuchten Barben reinrassige *B. barbatus* sind.

Der tetraploide Chromosomensatz von *B. barbatus* ist vermutlich ebenfalls durch Hybridisierung zwischen verschiedenen Barben-Arten entstanden (Chenuil et al. 1999). Die Barbe ist somit eine allotetraploide Art und unterscheidet sich speziell in ihrem Vererbungsmechanismus von autotetraploiden Arten, also Spezies, die durch Genomverdopplung eine Vervielfachung ihres Chromosomensatzes erfahren haben. Allotetraploide zeigen während der Meiose häufig bivalente Paarungen der Chromosomen, ein Prozess bei dem ähnlichere Chromosomen (z.B. von Art A) mit einer höheren Wahrscheinlichkeit miteinander paaren als weniger ähnliche Chromosomen (von Art A und B). Diese Vorzugspaarung zwischen Chromosomen aus dem gleichen ancestralen Genom führt in der Regel zu disomischer Vererbung und somit einer strikt getrennten Vererbung der beiden elterlichen Subgenome. Für populationsgenetische Analysen könnten in diesem Fall klassische Modelle und Annahmen wie für diploide Organismen angewendet werden, wenn man z.B. die untersuchten Allele den jeweiligen elterlichen Subgenomen zuweisen kann. Strikte Auto- und Allotetraploidie sind jedoch eher Extremformen und keine starren Kategorien (Strasburger et al. 2014). Je nach Genomähnlichkeit der Hybrid-Elternarten kann es zumindest in einigen Loci und Chromosomenregionen zu tetrasomischer Vererbung (Bildung tetravalenter Chromosomen während der Meiose) kommen (Dufresne et al. 2014). Bereits niedrige Allel-Austauschraten (etwa 1 Ereignis pro Generation) zwischen den beiden Subgenomen sind ausreichend, um die Allelfrequenzen in den Subgenomen langfristig zu homogenisieren (Meirmans & Van Tienderen 2013). Obwohl für die Barbe eine vorwiegend disomische Vererbung angenommen wird (Chenuil et al. 1999), kann nicht ausgeschlossen werden, dass einige der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Mikrosatelliten-Marker eine tetrasomische Vererbung aufweisen (vgl. Gettová et al. 2013).

Aufgrund der Allotetraploidie der Barbe können somit zum einen keine Analysen unter Annahme einer vollständigen tetrasomischen Vererbung gemacht werden. Zum anderen führt der Umstand, dass man die ermittelten Allele nicht zweifelsfrei den beiden elterlichen Subgenomen zuordnen kann, dazu, dass ebenfalls keine klassischen Analysemethoden für diploide Organismen angewendet werden können.

3.2. Methoden zur molekularbiologischen Charakterisierung der Barbe

Die genetische Variabilität wird aufgrund der vielfach auftretenden Polyploidie innerhalb verschiedenster Barben-Arten häufig mittels mitochondrialer Marker abgeschätzt, da das mt Genom nicht durch die Polyploidisierung des nukleären Genoms beeinflusst wurde und somit ein Vergleich abstammungsgeschichtlich homologer Sequenzen (Orthologe) ermöglicht wird. Für die Barbe wurden für phylogeographische oder populationsgenetische Untersuchungen neben dem mitochondrialen Gen für das S7 ribosomale Protein (Zaccara et al. 2014) vorwiegend das Cytochrom-*b* Gen (*cob*) (z.B. Buonerba et al. 2015, Kotlik & Berrebi 2001, Kotlik et al. 2004, Meraner et al. 2013, Tsigenopoulos & Berrebi 2000, Zaccara et al. 2014) und das klassische „Barcoding Gen“, das Gen für die Untereinheit-1 der Cytochrom-*c*-Oxidase (*COI*), verwendet (z.B. Geiger et al. 2014, Knebelsberger et al. 2015). In einer Studie von Livi und Kollegen (2013) wurde zusätzlich auch die mitochondriale Kontrollregion (*CR*) genutzt, welche eine nicht-kodierende Region des mitochondrialen Genoms darstellt und somit generell schneller evolviert als proteinkodierende Regionen. Dies trifft auch für die Barbe zu, welche innerhalb derselben untersuchten Individuen italienischer Barbenpopulationen in der Kontrollregion gegenüber *cob* eine höhere Haplotypenanzahl und Diversität aufwies (Livi et al. 2013).

Zur Überprüfung der Eignung beider mitochondrialer Marker (*cob* und *CR*) zur Abbildung der Diversität von Wildpopulationen der Barbe aus den verschiedenen Flussgebietseinheiten (FGE) in Deutschland wurde zuerst eine Pilotuntersuchung durchgeführt (siehe Kapitel 4.4.2. und 5.2.2). Hierfür wurden Barben-spezifische Primer genutzt, die teilweise innerhalb dieser Studie auf Basis des mitochondrialen Genoms der Barbe erstellt wurden und für alle untersuchten Proben ein positives PCR-Produkt ergaben. Diese Primer (siehe Tabelle 2) können somit auch für zukünftige Studien genutzt werden. Die auch in dieser Pilotstudie ermittelte höhere Diversität innerhalb der Kontrollregion ermöglicht eine bessere genetische Auflösung zur Abschätzung des Genflusses und zur Beschreibung der Verwandtschaftsverhältnisse und der genetischen Diversität zwischen den Populationen in Deutschland. Für die nachfolgenden Untersuchungen zur mtDNA Diversität in der vorliegenden Arbeit wurde somit ausschließlich die Kontrollregion genutzt, wobei angestrebt wurde jeweils 10 zufällig ausgewählte Individuen pro probierter Herkunft zu analysieren.

Zu Beginn der vorliegenden Studie Ende 2012 lagen für die Barbe nur 6 etablierte Mikrosatelliten-Loci vor, welche auf Basis von Hybriden zwischen *B. barbatus* und *B. meridionalis* (Chenuil et al. 1997) etabliert wurden. Der Locus Barb62 erwies sich allerdings als nicht polymorph für *B. barbatus*, die anderen 5 Loci (Barb37, Barb54, Barb59, Barb65 und Barb79) zeigten ein diploides Allel-Muster mit 1 oder 2 Allelen pro Individuum, wobei für Barb54 keine Polymorphie-Daten vorlagen (Chenuil et al. 1997, Chenuil et al. 1999, Chenuil et al. 2000). In einer Studie von Konopinski und Kollegen (2007) wurde erwähnt, dass die Marker MFW1 und MFW17, ursprünglich für den Karpfen entwickelt (Crooijmans et al. 1997), auch für *B. barbatus* erfolgreich amplifizierten und polymorph waren. Auch hier lagen jedoch keine Polymorphie-

Daten vor. Basierend auf diesen Studien konnte somit von 7 für *B. barbus* anwendbaren Mikrosatelliten-Loci ausgegangen werden.

Um die Forderung von mind. 10 Mikrosatelliten-Loci für die Genotypisierung der *B. barbus* Populationen in Deutschland zu erfüllen, mussten 3 weitere polymorphe Loci etabliert werden. Zahlreiche Studien konnten bereits zeigen, dass für bestimmte Cypriniden-Arten etablierte Mikrosatelliten-Loci auch bei anderen Cypriniden wie z.B. *Barbus* kreuzamplifizieren (Hamilton & Tyler 2008; Vyskocilova et al. 2007). Daher wurden zunächst 34 bereits veröffentlichte Mikrosatelliten-Marker auf Kreuzamplifikation in *B. barbus* getestet, die bei möglichst vielen Cypriniden polymorph waren und somit eine hohe Wahrscheinlichkeit des Polymorphismus auch bei der Barbe angenommen werden konnte. Für 14 von diesen 34 Kandidaten-Primerpaaren konnte eine positive Kreuzamplifikation detektiert werden, wobei aber nur 10 Marker ein Mikrosatelliten-Motiv enthielten und 3 von diesen 10 Markern von ihrem ursprünglich beschriebenen Motiv abwichen (siehe Tabelle A1 im Anhang). Während dieser Etablierungsarbeiten wurden im April 2013 zusätzlich 28 Mikrosatelliten-Marker, die ursprünglich aus *B. meridionalis* isoliert und für *B. barbus* positiv getestet wurden (Gettová et al. 2013), online in die ‚Molecular Ecology Resources-Datenbank‘ eingestellt. Die eigentliche Veröffentlichung der Daten erfolgte im September 2013 (Molecular Ecology Resources Primer Development Team 2013). Von diesen Markern wurden 8 Mikrosatelliten Loci in die weitere Etablierungsarbeit einbezogen, die basierend auf ihrem Polymorphiegrad in *B. barbus* und ihrer Motiv-Länge ausgesucht wurden (siehe Tab. 3).

Im September 2013 wurde eine weitere Arbeit online veröffentlicht, welche ähnlich zu der vorliegenden Arbeit 24 potentielle Mikrosatelliten-Marker, die ursprünglich für andere Cypriniden etabliert wurden, auf Kreuzamplifikation und Polymorphismus in *B. barbus* und *B. plebejus* getestet hat (Meraner et al. 2013). Da die reguläre Veröffentlichung im November 2013 erst nach Abschluss der Etablierungsarbeit für die vorliegende Studie erfolgte, konnten die Ergebnisse dieser Untersuchung leider nicht mehr berücksichtigt werden. Interessanterweise wurden teilweise ähnliche Marker analysiert, die aber unterschiedliche Resultate lieferten. So konnte in der vorliegenden Studie z.B. Locus Z21908 (Dubut et al. 2010) erfolgreich für alle untersuchten Barben amplifiziert werden, während er in den untersuchten norditalienischen *B. barbus* und *B. plebejus* Individuen nicht positiv getestet wurde (Meraner et al. 2013). Locus Ca1 (Dimsoski et al. 2000) zeigte hingegen für einen ersten Teil der in der vorliegenden Arbeit analysierten Individuen keinen Polymorphismus und wurde daher für die nachfolgenden Analysen nicht weiter verwendet. Das finale Marker-Set, welches für die Analyse der nukleären genetischen Diversität der Barbenpopulationen aus Deutschland genutzt wurde bestand aus 12 unterschiedlich stark polymorphen Mikrosatelliten-Loci. Aus jeder beprobten Herkunft (mind. 30) wurde anschließend angestrebt mindestens 30 Individuen mit diesem finalen Primer-Set zu untersuchen

4. Material und Methoden

4.1. Vorgehen bei der Auswahl geeigneter Herkünfte der Barbe

Grundlage für die Auswahl der Populationen, welche analysiert werden sollten, war die ausgiebige Recherche zur aktuellen Verbreitung der Barbe in Deutschland. Hierzu wurden zunächst alle online verfügbaren Informationen geprüft. Auf Grundlage folgender Quellen:

- http://www.bfn.de/0316_bewertung_arten.html (Verbreitungskarten der FFH-Arten - Fische, *Barbus barbus*, Stand 2007)
- http://www.fischartenatlas.de/cms2.0/index.php?option=com_biodiversity&task=show&cid=40065&Itemid=75/ (Brunken & Winkler 2015)

wurden daraufhin folgende Flussgebietseinheiten als aussichtsreiche Zielgebiete ausgewählt: Donau, Rhein, Elbe, Weser, Oder, Ems und Maas. Die Flussgebietseinheiten Warnow/Peene, Schlei/Trave und Eider wurden auf Grund fehlender bzw. marginaler Nachweise der Barbe ausgeschlossen.

Im Weiteren wurden folgende Quellen zur Verbreitung der Barbe analysiert:

1. Fischkataster der Fischerei- bzw. Umweltbehörden der Bundesländer
 - nicht frei verfügbar, auf Anfrage jedoch oft nutzbar oder Auskunft möglich
 - Monitoring-Befischungen zur Umsetzung der EU-WRRL sind oft nur punktuell und nur bedingt zur Analyse der Präsenz einer Fischart geeignet
2. Fischatlantien und Forschungsberichte
 - Aktualität schwankend, jedoch für Analyse von Bestandsveränderungen nutzbar
3. Anfragen bei Fischerei-, Gewässer- und Anglerverbänden
 - meist sehr aktuell, jedoch oft stark auf Zielfischarten der Angelfischerei fokussiert; die Barbe ist hierbei als beliebte „Angelfischart“ eine gut dokumentierte Zielfischart
4. Anfragen an Fischereisachverständige – oft Auftragnehmer für WRRL-Befischungen, Gutachter und Durchführende von Forschungsarbeiten
 - Informationen sehr aktuell und wissenschaftlich wertvoll
5. Anglerforen im Internet
 - ca. 1,6 Millionen Angler sind in Deutschland aktiv und viele nutzen das Internet zum Austausch von Erfahrungen und guten Fangplätzen
6. Kommerzielle Fischerei
 - es gibt noch vereinzelt Flussfischer, die mit Hamen und Reusen Barben fangen
7. Fischereiinstitute
 - sind in der Regel sowohl im Bestandsmonitoring als auch in der Forschung aktiv

Auf Grundlage der hierbei gewonnenen Informationen wurden potentielle Herkünfte in den Flussgebietseinheiten (FGE) weiter eingeschränkt. Grundsätzlich geht man davon aus, dass die Populationen innerhalb einer FGE genetisch ähnlicher sind, da sich durch die räumliche Trennung zu Populationen anderer FGE genetische Hauptlinien etabliert haben sollten. Innerhalb einer FGE besteht zwar meist ein langfristiger genetischer Austausch, Individuen

einer Fischart können jedoch durch natürliche wie auch anthropogen verursachte räumliche Trennung ihrer Habitate isoliert sein und daher nicht oder nur eingeschränkt miteinander reproduzieren. Die natürliche Isolation von Reproduktionseinheiten der Barbe kann innerhalb der FGE durch die Fließgewässer-Teileinzugsgebiete gegeben sein – wenn sie denn groß genug sind, um die typische Barbenregion (Huet 1959) bzw. die typischen fischzönotischen Grundausrprägungen enthalten und sich diese, durch von der Barbe vermiedene Gewässerabschnitte bzw. Nichtdurchwanderbarkeit, voneinander abgrenzen lassen. Dabei war zu beachten, dass die Barbe als Mittelstreckenwanderfisch Laichwanderungen von bis zu 100 km Länge durchführen kann (Waidbacher & Haidvogel 1998).

Bei der praktischen Auswahl der zu beprobenden Herkünfte wurde zunächst analysiert, welche Gewässer besonders reich an Individuen sind. Dabei zeigte sich, dass die Bestandsdichten der Barbe meist sehr gering sind und außerdem eine durch die Schwarmbildung aller Altersklassen verursachte hohe Patchiness (fleckenhaftes Auftreten von Individuen) auftritt. Daraus ließ sich schließen, dass eine Erfassung von mindestens 30 Individuen pro Herkunft in der Regel ein aufwändiges Unterfangen ist und der ursprüngliche Probenahme-Zeitplan mit der Beprobung jeweils einer Herkunft pro Tag nur schwer einzuhalten sein könnte.

Im Weiteren wurde bei der Herkunftsauswahl berücksichtigt, ob für die analysierten Populationen unüberwindbare Querbauwerke (Wehre, Wasserkraftanlagen) eine Rolle spielen und ob/inwieweit die Populationen aktuell bzw. in der Vergangenheit durch Besatz gestützt und gegebenenfalls genetisch verfremdet werden/wurden. Informationen zur Besatzsituation der Zielgewässer wurden bei den zuständigen Fischerei- bzw. Anglervereinen, die für die meisten Befischungen ihre Erlaubnis erteilen mussten und auch oft daran teilnahmen, erhoben und gegebenenfalls durch den Kontakt bei Fischzüchtern und Experten/Akteuren ergänzt.

4.2. Aufbau eines Kooperations-Netzwerks

Im Verlauf des Projekts wurde ein Netzwerk mit Fischerei-Akteuren aufgebaut. Dazu zählten Fischereibehörden, Forschungsinstitute, Fischerei-, Angler- und Energieverbände/vereine sowie freiberufliche Biologen und fischereibiologisch arbeitende Büros. Die maßgeblichen Akteure sind nachfolgend für die jeweiligen Bundesländer aufgeführt.

Sachsen: Sächsische Fischereibehörde, Dr. Gert Füllner
AV Südsachsen e.V., Lutz Kannegießer
AV Elbflorenz e.V., Rene Häse
AV Elbflorenz e.V., Friedrich Richter

Sachsen-Anhalt: BGF Dr. Guntram Ebel
BüroFischoeko, Ingo Brümmer
Landesverwaltungsamt Sachsen-Anhalt, Ref. Fischerei, Bernd Kammerad
Landesanglerverband Sachsen-Anhalt

Berlin/Brandenburg: IGB Berlin, Dr. Christian Wolter

- Niedersachsen:** LAVES Binnenfischerei, Dr. Hans-Hermann Arzbach
EcoSURV. Matthias Hein
LIMNA Göttingen, Jürgen Rommelmann
Elbfischer Christian Köthke, Gorleben
- NRW:** LANUV NRW, Fischerei
Bezirksregierung Düsseldorf, Dezernat 51, Dr. Nicole Scheifhacken
Zoologisches Forschungsmuseum Alexander Koenig (ZFMK) Bonn
Erft Fischereigenossenschaft, Jochen Birbaum
Dortmunder- Energie und Wasserversorgung GmbH
Bergischer Fischereiverein, Helmut Wuttke
Interessengemeinschaft Untere Rur (IGUR), Heinz-Josef Jochims
Landesfischereiverband Westfalen und Lippe e.V.
- Bayern:** Bayerische Landesanstalt für Fischerei (LfL), Dr. Michael Schubert
Bayerische Landesanstalt für Umwelt LfU, Dr. Jörg Brandner, Dr. Christoph Mayr
- Rheinland-Pfalz:** Bundesanstalt für Gewässerkunde BfG, Matthias Pitsch
- Hessen:** Andreas Funk
RP Gießen Obere Fischereibehörde, Walter Fricke
- Baden-Württemberg:** IUS Weibel & Ness GmbH, Uwe Weibel
Büro für Fischereibiologie, Klaus Blasel
GefaÖ mbH, Roland Marthaler
Fischereiaufsicht Hohenlohekreis, Achim Megerle
PLÖG Consult GmbH & Co KG, Bernd Tombek
Fischereibiologe Ralf Haberbosch
Fischereiforschungsstelle Baden-Württemberg, Uwe Dußling

Über diese Kontakte wurden einerseits Informationen zu den Beständen der Barbe in den jeweiligen Bundesländern generiert und andererseits versucht, Synergieeffekte mit ohnehin stattfindenden Befischungen zu nutzen. In Bayern konnte beispielsweise über die Monitoring-Befischungen der Bayerischen Landesanstalt für Fischerei (LfL) und der Bayerischen Landesanstalt für Umwelt (LfU) Proben gewonnen werden. In anderen Bundesländern wurden teilweise erfolgreich freie Büros und Biologen, die als Auftragnehmer für WRRRL-Befischungen fungierten, für die Barbenbeprobung beauftragt bzw. Befischungen in Kooperation mit diesen durchgeführt.

4.3. Untersuchte Herkünfte

4.3.1. Probenahme und Elektrobefischungen

Die Beprobung erfolgt mittels Elektrofischerei (CEN Norm 14962 2004 Wasserqualität – Fischfang, CEN Norm 14011, 2003 Elektrofischen, FIBS) – in kleinen bis mittleren

Fließgewässern als Watbefischung mit Hilfe eines Elektrofischfanggerätes (EFGI 650, Firma Brettschneider) durch mindestens zwei entsprechend ausgebildete Fachkräfte mit Elektrofischereischein und Fischereischein. Bei der Beprobung mittlerer tiefer und großer Fließgewässer kamen ein leistungsstarkes Elektrofischfanggerät (EFGI 5000 in Kombination mit einer Streifenanode, Firma Brettschneider) auf einem 5m Aluminiumboot (fungiert als Flächen-Kathode) mit einer Motorisierung von 5, 8 und 25 PS zum Einsatz. Die Elektrobefischung führt bei schonender und vor allem der Fischart und den Gewässerhältnissen angepasster Durchführung zu keiner dauerhaften Schädigung der Fische (Rümmler et al. 1998). Die gefangenen Individuen wurden in einem Fischtransportbehälter gesammelt und anschließend schonend vermessen und gewogen. Die Berechnung des Korpulenzfaktors erfolgt nach Steffens (1985). Während der Vermessung wurden mit einem Abstrichtupfer (forensic swab, Sarstedt AG) zwei Abstriche im Kopfbereich und aus der Maulhöhle (Bukkalprobe) entnommen. Bei Fischen kleiner 15 cm waren die Swab-Köpfe zu groß für die Bukkalprobe, weshalb bei diesen zusätzlich zum epidermalen Abstrich im Kopfbereich ein weiterer im dorsalen Körperbereich durchgeführt wurde. In einigen Herkünften (Donau-2/-3, Inn, Leine, Inn, Murn, Jagst, Sieg Abb. 3) wurden auch Barben der Altersklasse 0+ analysiert. Diese wurden durch die Befischenden entnommen, getötet und in 99% Ethanol fixiert, so dass von diesen Individuen Muskelgewebe zur DNA-Gewinnung verwendet werden konnte. Teilweise wurden mit Einverständnis der Fischereiberechtigten bzw. durch Berufsfischer adulte Barben entnommen, getötet und bis zur Analyse bei -20°C tiefgefroren. Insgesamt wurde von 1144 Barben genetisches Material gewonnen, dabei wurden von 946 Individuen epidermale Abstriche und von 198 Individuen Muskelfleischproben analysiert.

4.3.2. Status-Bericht zu den Herkünften

In diesem Kapitel werden die Informationen zu den 47 Populationsherkünften, in welchen Barben gefangen werden konnten, in Steckbriefen zusammengefasst. Alle Populationen mit AGRDEU-Nummer gingen in genetischen Analysen ein (vgl. Tabelle 5), wenn allerdings z.B. zu wenige Individuen gefangen wurden und keine genetische Analyse erfolgte, ist für die jeweilige Population auch keine AGRDEU-Nr. vergeben worden. Da es sich bei den Gewässern in denen Barben vorkommen meist um größere Fließgewässer handelt, die sich oft über mehrere Fließgewässertypen erstrecken, wurde der Fließgewässertyp angegeben, welcher im Bereich der beprobten Gewässerstrecke vorlag. Informationen zur Einordnung des beprobten Gewässers in das Gesamtflusssystem lassen sich über die Angabe ‚Abfluss in/über‘ sowie über die Angaben zur Gewässerlänge und Einzugsgebietsgröße ermitteln. Die Informationen zur fischereilichen Bewirtschaftung sowie zum Besatz mit Barben wurden über die Fischer- und Naturschutzbehörden sowie die ortsansässigen Anglervereine, Fischerei- und Gewässergenossenschaften erhoben. Für den Fall, dass Informationen zum Besatz mit Barben vorlagen, sind diese unter ‚Besatz mit Barben‘ vermerkt, wenn der Besatz durch die erfolgreich kontaktierten Akteure ausgeschlossen wurde ist dies mit ‚nein‘ vermerkt. Für die Fälle, in denen die Anglervereine keine genauen Angaben machen konnten, oder kein Kontakt mit den entsprechenden Vereinen zustande kam, wurde der Besatz mit Barben als ‚unbekannt‘ gekennzeichnet.

Herkunft - Gewässer	Donau-2
Population (AGRDEU-Nr.)	BA-004
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 10 : Kiesgeprägte Ströme
Abfluss über/in	Schwarzes Meer
Gewässerlänge (km) ²	2.857
Einzugsgebietsgröße (km ²) ²	817.000
Flussgebietseinheit	Donau
Landkreis ³	Kelheim
Gemeinde ³	Kelheim
Bundesland ³	Bayern
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R4488501 H5418351
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Barben	nein
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer	Donau-3
Population (AGRDEU-Nr.)	BA-005
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 10 : Kiesgeprägte Ströme
Abfluss über/in	Schwarzes Meer
Gewässerlänge (km) ²	2.857
Einzugsgebietsgröße (km ²) ²	817.000
Flussgebietseinheit	Donau
Landkreis ³	Deggendorf
Gemeinde ³	Niederaltich
Bundesland ³	Bayern
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R4575004 H5403434
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Barben	nein
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer	Große Vils
Population (AGRDEU-Nr.)	BA-013
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 2 : Fließgewässer des Alpenvorlandes
Abfluss über/in	Donau → Schwarzes Meer
Gewässerlänge (km) ⁴	87
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁴	319
Flussgebietseinheit	Donau
Landkreis ³	Erding
Gemeinde ³	Taufkirchen
Bundesland ³	Bayern
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R4515725 H5356634
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Barben	nein
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer	Inn
Population (AGRDEU-Nr.)	BA-037
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 4 : Große Flüsse des Alpenvorlandes
Abfluss über/in	Donau → Schwarzes Meer
Gewässerlänge (km) ⁴	517
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁴	26.130
Flussgebietseinheit	Donau
Landkreis ³	Rottal-Inn
Gemeinde ³	Simbach
Bundesland ³	Bayern
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R4577223 H5347651
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Barben	unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer	Murn
Population (AGRDEU-Nr.)	BA-025
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 3 : Fließgewässer der Jungmoräne des Alpenvorlandes
Abfluss über/in	Inn → Donau → Schwarzes Meer
Gewässerlänge (km) ⁴	9
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁴	155
Flussgebietseinheit	Donau
Landkreis ³	Rosenheim
Gemeinde ³	Schonstett
Bundesland ³	Bayern
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R4516455 H5316261
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Barben	nein
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer	Pfreimd
Population (AGRDEU-Nr.)	BA-038
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9 : Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse
Abfluss über/in	Naab → Donau → Schwarzes Meer
Gewässerlänge (km) ⁴	77
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁴	595
Flussgebietseinheit	Donau
Landkreis ³	Schwandorf
Gemeinde ³	Pfreimd
Bundesland ³	Bayern
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R4515000 H5484641
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Barben	unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer		Würm (Amper)
Population (AGRDEU-Nr.)		-
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 21 : Seeausflussgeprägte Fließgewässer	
Abfluss über/in	Amper → Isar → Donau → Schwarzes Meer	
Gewässerlänge (km) ⁴		40
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁴		386
Flussgebietseinheit		Donau
Landkreis ³		Starnberg
Gemeinde ³		Gauting
Bundesland ³		Bayern
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)		R4453171 H5322412
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Barben		unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein
Herkunft - Gewässer		Bode
Population (AGRDEU-Nr.)		BA-001
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9 : Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in		Saale → Elbe → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁵		169
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁵		3.229
Flussgebietseinheit		Elbe
Landkreis ³		Börde
Gemeinde ³		Gröningen
Bundesland ³		Sachsen-Anhalt
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)		R4445574 H5757559
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Barben	aktuell nein, 1993 Besatz von 800 kg Barben aus der Isar (FGE Donau) durch AV Oschersleben/Bode und einige wenige Helme-Barben bei Quedlinburg in der 1990er Jahren; Mitteilung Herr Kammerad, Herr Mencke (LVWA-Sachsen-Anhalt)	
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		ja
Herkunft - Gewässer		Chemnitz
Population (AGRDEU-Nr.)		BA-002
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9 : Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in		Zwickauer Mulde → Mulde → Elbe → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁵		37
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁵		533
Flussgebietseinheit		Elbe
Landkreis ³		Mittelsachsen
Gemeinde ³		Lunzenau
Bundesland ³		Sachsen
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)		R4554508 H5650516
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Barben	nein, eventuell durch früheren Besatz in Zwicker Mulde beeinflusst	
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		ja

Herkunft - Gewässer	Elbe-1
Population (AGRDEU-Nr.)	BA-006
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 10 : Kiesgeprägte Ströme
Abfluss über/in	Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁵	1.094
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁵	148.268
Flussgebietseinheit	Elbe
Landkreis ³	Sächsische Schweiz
Gemeinde ³	Bad Schandau
Bundesland ³	Sachsen
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R5440540 H5642659
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Barben	nein
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer	Elbe-2
Population (AGRDEU-Nr.)	BA-007
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 10 : Kiesgeprägte Ströme
Abfluss über/in	Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁵	1.094
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁵	148.268
Flussgebietseinheit	Elbe
Landkreis ³	Meißen
Gemeinde ³	Radebeul
Bundesland ³	Sachsen
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R5403284 H5663933
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Barben	nein
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer	Elbe-3
Population (AGRDEU-Nr.)	BA-008
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 20 : Sandgeprägte Ströme
Abfluss über/in	Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁵	1.094
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁵	148.268
Flussgebietseinheit	Elbe
Landkreis ³	Gorleben
Gemeinde ³	Lüchow-Dannenh.
Bundesland ³	Niedersachsen
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R4456533 H5880394
Fischereiliche Bewirtschaftung	Gewerbliche Fischerei
Besatz mit Barben	nein
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer	Freiberger Mulde	
Population (AGRDEU-Nr.)		BA-012
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9 : Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in		Mulde → Elbe → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁵		124
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁵		2.981
Flussgebietseinheit		Elbe
Landkreis ³		Mittelsachsen
Gemeinde ³		Grossweitzschen
Bundesland ³		Sachsen
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)		R4570646 H5668297
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Barben		nein, eventuell früher
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		ja

Herkunft - Gewässer	Freiberger Mulde - 5	
Population (AGRDEU-Nr.)		-
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 17 : Kiesgeprägte Tieflandflüsse	
Abfluss über/in		Mulde → Elbe → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁵		124
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁵		2.981
Flussgebietseinheit		Elbe
Landkreis ³		Leipzig
Gemeinde ³		Colditz
Bundesland ³		Sachsen
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)		R4557939 H5669337
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Barben		nein, eventuell früher
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		ja

Herkunft - Gewässer	Helme	
Population (AGRDEU-Nr.)		BA-014
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.1 : Karbonatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in		Unstrut → Saale → Elbe → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁵		65
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁵		1.318
Flussgebietseinheit		Elbe
Landkreis ³		Mansfeld-Südharz
Gemeinde ³		Südharz
Bundesland ³		Sachsen-Anhalt
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)		R4442136 H5702493
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Barben		Nein
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		ja

Herkunft - Gewässer	Zschopau
Population (AGRDEU-Nr.)	BA-036
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9 : Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse
Abfluss über/in	Freiberger Mulde → Mulde → Elbe → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁵	130
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁵	1.847
Flussgebietseinheit	Elbe
Landkreis ³	Mittelsachsen
Gemeinde ³	Flöha
Bundesland ³	Sachsen
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R4575071 H5636258
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Barben	nein, früher Besatzpopulation für Zwickauer Mulde
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	ja

Herkunft - Gewässer	Zwickauer Mulde
Population (AGRDEU-Nr.)	-
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.2 : Große Flüsse des Mittelgebirges
Abfluss über/in	Mulde → Elbe → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁵	167
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁵	2.352
Flussgebietseinheit	Elbe
Landkreis ³	Leipzig
Gemeinde ³	Colditz
Bundesland ³	Sachsen
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R4554976 H5668288
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Barben	Im Jahr 2000 Besatz von 180 Laichfischen aus der Zschopau; pers. Mitteilung L Kannegießer AV Südsachsen
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	ja

Herkunft - Gewässer	Rur
Population (AGRDEU-Nr.)	BA-030
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 17 : Kiesgeprägte Tieflandflüsse
Abfluss über/in	Maas → Hollands Diep → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁶	165
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁶	2.360
Flussgebietseinheit	Maas
Landkreis ³	Limburg
Gemeinde ³	Roermond
Bundesland ³	Niederlande
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R2498746 H5672763
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Barben	nein
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer	Wurm
Population (AGRDEU-Nr.)	BA-035
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 5 : Grobmaterialreiche, silikatische Mittelgebirgsbäche
Abfluss über/in	Rur → Maas → Hollands Diep → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁶	57
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁶	356
Flussgebietseinheit	Maas
Landkreis ³	Heinsberg
Gemeinde ³	Heinsberg
Bundesland ³	Nordrhein-Westfalen
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R2510685 H5657620
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Barben	nein
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer	Neiße
Population (AGRDEU-Nr.)	BA-026
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 15 : Sand- und lehmgeprägte Tieflandflüsse
Abfluss über/in	Oder → Ostsee
Gewässerlänge (km) ⁷	254
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁷	4.297
Flussgebietseinheit	Oder
Landkreis ³	Görlitz
Gemeinde ³	Bad Muskau
Bundesland ³	Sachsen
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R5480609 H5714928
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Barben	nein
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	ja

Herkunft - Gewässer	Oder
Population (AGRDEU-Nr.)	BA-027
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 15 : Sand- und lehmgeprägte Tieflandflüsse
Abfluss über/in	Ostsee
Gewässerlänge (km) ⁸	866
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁸	118.861
Flussgebietseinheit	Oder
Landkreis ³	N/A
Gemeinde ³	N/A
Bundesland ³	Brandenburg
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	Fluss-km 568-685
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei, Gewerbliche Fischerei
Besatz mit Barben	nein
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	ja

Herkunft - Gewässer	Neckar (Altneckar)
Population (AGRDEU-Nr.)	-
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.2 : Große Flüsse des Mittelgebirges
Abfluss über/in	Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁹	362
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁹	13.934
Flussgebietseinheit	Rhein
Landkreis ³	Ludwigsburg
Gemeinde ³	Pleidelsheim
Bundesland ³	Baden-Württemberg
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R3513857 H5424342
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Barben	unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer	Dill
Population (AGRDEU-Nr.)	BA-003
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9 : Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse
Abfluss über/in	Lahn → Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ¹⁰	55
Einzugsgebietsgröße (km ²) ¹⁰	718
Flussgebietseinheit	Rhein
Landkreis ³	Lahn-Dill-Kreis
Gemeinde ³	Sinn
Bundesland ³	Hessen
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R3452092 H5611171
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Barben	Nein
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer	Enz-1
Population (AGRDEU-Nr.)	BA-009
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9 : Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse
Abfluss über/in	Neckar → Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁹	105
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁹	2.228
Flussgebietseinheit	Rhein
Landkreis ³	Enzkreis
Gemeinde ³	Niefen-Öschelbr.
Bundesland ³	Baden-Württemberg
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R348429 H5420504
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Barben	unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer	Enz-2	
Population (AGRDEU-Nr.)		BA-010
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9 : Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in		Neckar → Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁹		105
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁹		2.228
Flussgebietseinheit		Rhein
Landkreis ³		Ludwigsburg
Gemeinde ³		Oberriexingen
Bundesland ³		Baden-Württemberg
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)		R3502388 H5421031
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Barben		unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer	Erft	
Population (AGRDEU-Nr.)		BA-011
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 16 : Kiesgeprägte Tieflandbäche	
Abfluss über/in		Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁶		107
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁶		1.838
Flussgebietseinheit		Rhein
Landkreis ³		Rhein-Erft-Kreis
Gemeinde ³		Erftstadt
Bundesland ³		Nordrhein-Westfalen
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)		R2556660 H5629586
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Barben		nein
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer	Jagst	
Population (AGRDEU-Nr.)		BA-016
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9 : Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in		Neckar → Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁹		190
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁹		1.836
Flussgebietseinheit		Rhein
Landkreis ³		Heilbronn
Gemeinde ³		Bad Friedrichshall
Bundesland ³		Baden-Württemberg
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)		R3515816 H5457397
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Barben		unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer		Kocher-1
Population (AGRDEU-Nr.)		BA-017
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.1 : Karbonatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in		Neckar → Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁹		168
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁹		1.960
Flussgebietseinheit		Rhein
Landkreis ³		Ostalbkreis
Gemeinde ³		Abtsgmünd
Bundesland ³		Baden-Württemberg
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)		R3573262 H5417918
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Barben		unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer		Kocher-2
Population (AGRDEU-Nr.)		BA-018
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.1 : Karbonatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in		Neckar → Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁹		168
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁹		1.960
Flussgebietseinheit		Rhein
Landkreis ³		Schwäbisch Hall
Gemeinde ³		Gaildorf
Bundesland ³		Baden-Württemberg
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)		R3555442 H5430896
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Barben		unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer		Kocher-3
Population (AGRDEU-Nr.)		BA-019
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9 : Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in		Neckar → Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁹		168
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁹		1.960
Flussgebietseinheit		Rhein
Landkreis ³		Hohenlohekreis
Gemeinde ³		Forchtenberg
Bundesland ³		Baden-Württemberg
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)		R3541071 H5461689
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Barben		unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer	Kraichbach
Population (AGRDEU-Nr.)	BA-020
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9 : Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse
Abfluss über/in	Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁹	56
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁹	260
Flussgebietseinheit	Rhein
Landkreis ³	Rhein-Neckar-Kreis
Gemeinde ³	St. Leon
Bundesland ³	Baden-Württemberg
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R3471428 H5458135
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Barben	unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer	Lahn
Population (AGRDEU-Nr.)	BA-021
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.2 : Große Flüsse des Mittelgebirges
Abfluss über/in	Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ¹⁰	246
Einzugsgebietsgröße (km ²) ¹⁰	5.925
Flussgebietseinheit	Rhein
Landkreis ³	Limburg-Weilburg
Gemeinde ³	Weilburg
Bundesland ³	Hessen
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R3447837 H5594226
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Barben	unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer	Lippe
Population (AGRDEU-Nr.)	BA-023
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 15_g : Große sand- und lehmgeprägte Tieflandflüsse
Abfluss über/in	Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁶	220
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁶	4.890
Flussgebietseinheit	Rhein
Landkreis ³	Hamm
Gemeinde ³	Hamm
Bundesland ³	Nordrhein-Westfalen
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R3418830 H5728980
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Barben	nein
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer	Mosel
Population (AGRDEU-Nr.)	BA-024
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 10 : Kiesgeprägte Ströme
Abfluss über/in	Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ¹¹	544
Einzugsgebietsgröße (km ²) ¹¹	28.153
Flussgebietseinheit	Rhein
Landkreis ³	Koblenz
Gemeinde ³	Koblenz
Bundesland ³	Rheinland-Pfalz
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R3399404 H5581927
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Barben	unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer	Murr
Population (AGRDEU-Nr.)	BA-025
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.1 : Karbonatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse
Abfluss über/in	Neckar → Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁹	52
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁹	507
Flussgebietseinheit	Rhein
Landkreis ³	Ludwigsburg
Gemeinde ³	Erdmannhausen
Bundesland ³	Baden-Württemberg
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R3523603 H5422920
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Barben	nein
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer	Neckar
Population (AGRDEU-Nr.)	-
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.2 : Große Flüsse des Mittelgebirges
Abfluss über/in	Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁹	362
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁹	13.934
Flussgebietseinheit	Rhein
Landkreis ³	Heilbronn
Gemeinde ³	Heilbronn
Bundesland ³	Baden-Württemberg
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R3515591 H5444611
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Barben	unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer		Ruhr
Population (AGRDEU-Nr.)		BA-029
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.2 : Große Flüsse des Mittelgebirges	
Abfluss über/in		Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁶		219
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁶		4.485
Flussgebietseinheit		Rhein
Landkreis ³		Unna
Gemeinde ³		Schwerte
Bundesland ³		Nordrhein-Westfalen
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)		R3401659 H5701192
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Barben	ja (2015, vor der Erhebung), früher unbekannt; Ruhr Fischereigenossenschaft	
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer		Sieg
Population (AGRDEU-Nr.)		BA-031
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.2 : Große Flüsse des Mittelgebirges	
Abfluss über/in		Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁶		155
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁶		2.857
Flussgebietseinheit		Rhein
Landkreis ³		Rhein-Sieg-Kreis
Gemeinde ³		Sieg Bergheim
Bundesland ³		Nordrhein-Westfalen
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)		R2598165 H5626119
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Barben		unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer		Tauber
Population (AGRDEU-Nr.)		BA-032
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.2 : Große Flüsse des Mittelgebirges	
Abfluss über/in		Main → Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁹		129
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁹		1.809
Flussgebietseinheit		Rhein
Landkreis ³		Main-Tauber-Kreis
Gemeinde ³		Tauberbischofsh.
Bundesland ³		Baden-Württemberg
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)		R3547419 H5502250
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Barben		unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer	Wupper	
Population (AGRDEU-Nr.)		BA-034
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9 : Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in		Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁶		117
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁶		813
Flussgebietseinheit		Rhein
Landkreis ³		Wuppertal
Gemeinde ³		Wuppertal
Bundesland ³		Nordrhein-Westfalen
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)		R2578189 H5679931
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Barben	nein, früher ja; pers. Mitteilung H. Wuttke (Bergischer Fischereiverein)	
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer	Wurm (Nagold)	
Population (AGRDEU-Nr.)		-
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 5.1 : Feinmaterialreiche, silikatische Mittelgebirgsbäche	
Abfluss über/in		Nagold → Enz → Neckar → Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁹		54
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁹		418
Flussgebietseinheit		Rhein
Landkreis ³		Pforzheim
Gemeinde ³		Wurm
Bundesland ³		Baden-Württemberg
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)		R3481193 H5413550
Fischereiliche Bewirtschaftung		Abgelfischerei
Besatz mit Barben		unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer	Fulda	
Population (AGRDEU-Nr.)		-
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.2 : Große Flüsse des Mittelgebirges	
Abfluss über/in		Weser → Nordsee
Gewässerlänge (km) ¹⁰		221
Einzugsgebietsgröße (km ²) ¹⁰		6.947
Flussgebietseinheit		Weser
Landkreis ³		Göttigen
Gemeinde ³		Hann. Münden
Bundesland ³		Niedersachsen
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)		R3541889 H5696386
Fischereiliche Bewirtschaftung		Abgelfischerei
Besatz mit Barben		unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer	Innerste
Population (AGRDEU-Nr.)	BA-015
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.1 : Karbonatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse
Abfluss über/in	Leine → Aller → Weser → Nordsee
Gewässerlänge (km) ¹²	100
Einzugsgebietsgröße (km ²) ¹²	1.264
Flussgebietseinheit	Weser
Landkreis ³	Hildesheim
Gemeinde ³	Bad Salzdeffurth
Bundesland ³	Niedersachsen
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R3569034 H5774992
Fischereiliche Bewirtschaftung	Abgelfischerei
Besatz mit Barben	unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer	Leine
Population (AGRDEU-Nr.)	BA-022
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 15_g : Große sand- und lehmgeprägte Tieflandflüsse
Abfluss über/in	Aller → Weser → Nordsee
Gewässerlänge (km) ¹²	280
Einzugsgebietsgröße (km ²) ¹²	6.517
Flussgebietseinheit	Weser
Landkreis ³	Hildesheim
Gemeinde ³	Alfeld
Bundesland ³	Niedersachsen
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R3555346 H5764543
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Barben	nein; pers. Mitteilung ASV Alfeld e.V.
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer	Oker
Population (AGRDEU-Nr.)	BA-028
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 15_g : Große sand- und lehmgeprägte Tieflandflüsse
Abfluss über/in	Aller → Weser → Nordsee
Gewässerlänge (km) ¹²	128
Einzugsgebietsgröße (km ²) ¹²	1.822
Flussgebietseinheit	Weser
Landkreis ³	Gifhorn
Gemeinde ³	Meinersen
Bundesland ³	Niedersachsen
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R3591935 H5817962
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Barben	unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer	Werra
Population (AGRDEU-Nr.)	-
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.2 : Große Flüsse des Mittelgebirges
Abfluss über/in	Weser → Nordsee
Gewässerlänge (km) ¹²	300
Einzugsgebietsgröße (km ²) ¹²	5.497
Flussgebietseinheit	Weser
Landkreis ³	Göttigen
Gemeinde ³	Hann. Münden
Bundesland ³	Niedersachsen
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R3553249 H5694875
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Barben	unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer	Weser
Population (AGRDEU-Nr.)	BA-033
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 20 : Sandgeprägte Ströme
Abfluss über/in	Nordsee
Gewässerlänge (km) ¹²	451
Einzugsgebietsgröße (km ²) ¹²	45.809
Flussgebietseinheit	Weser
Landkreis ³	Hameln-Pyrmont
Gemeinde ³	Emmerthal
Bundesland ³	Niedersachsen
GPS-Koordinaten (Gauß-Krüger)	R3526726 H5768782
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Barben	unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

¹ www.fliessgewaesserbewertung.de/downloads/typ_typenkarte_dez_2003.pdf; ² Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit: Hydrologischer Atlas von Deutschland, Freiburg i. Br. 2003; ³ www.google.maps; ⁴ www.hnd.bayern.de/pegel/donau_bis_passau/vilsbiburg-17215007/gebiet; ⁵ Michael Bergemann: Gesamtliste der Fließgewässer im Elbeeinzugsgebiet. Behörde für Umwelt und Energie, Hamburg 1. Juli 2015 (PDF; 802 KB); ⁶ Topographisches Informationsmanagement, Bezirksregierung Köln, Abteilung GEObasis NRW; ⁷ de.wikipedia.org/wiki/Lausitzer_Neiße; ⁸ de.wikipedia.org/wiki/Oder; ⁹ Nach LUBW (Datensatzeinträge); ¹⁰ Gewässerkartendienst des Hessischen Ministeriums für Umwelt, Klimaschutz, Landwirtschaft und Verbraucherschutz; ¹¹ GeoExplorer der Wasserwirtschaftsverwaltung Rheinland-Pfalz, auf geoexplorer-wasser.rlp.de; ¹² Niedersächsisches Ministerium für Umwelt, Energie und Klimaschutz: Umweltkarten Niedersachsen; ¹³ GAK-Liste, GENRES (2009)

4.4. Molekulare Analysen

4.4.1. Etablierung forensischer Abstriche zur DNA-Gewinnung

Die nichtinvasive Gewinnung von DNA mittels Maulhöhlenabstriche (Buccal swabbing) wurde bereits für verschiedene Fischarten erfolgreich getestet (Campanella & Smalley 2006, Livia et al. 2006, Reid et al. 2012, Smalley & Campanella 2005). Bei der Etablierung dieser Methode für *B. barbatus* wurden zunächst verschiedene DNA-Extraktions-Kits getestet. Dabei erwies sich ein Kit (nexttec™ 1^{-Step} cleanColumns, Biozym) sowohl für die DNA-Extraktion aus Abstrichen als auch aus Muskelgewebe und Fischflossen als sehr gut geeignet, weshalb er für alle weiteren Analysen ausschließlich verwendet wurde. Hierfür wurde das Standard-Protokoll des Herstellers wie folgt ergänzt: Nach dem Lyse-Schritt mussten 100 µl des Lysats auf eine Filtersäule überführt werden. Beim Arbeiten mit Abstrichtupfern saugten diese normalerweise einen Großteil des Lysats während des Inkubationsschritts auf. Daher wurde ein Zentrifugationsschritt nach der Lyse eingeführt, um das aufgesogenen Lysat aus den Abstrichtupfern zurückzugewinnen. Hierfür wurde eine 10µl-Pipettenspitze in das gleiche Reaktionsgefäß gegeben, in dem der Abstrichtupfer inkubiert wurde und welcher auf der Oberseite der eingelegten Spitze platziert wurde. Während des kurzen Zentrifugationsschritts nach der vollständigen Lyse wurde das Lysat auf dem Boden des Reaktionsgefäßes aufgefangen, wobei der Tupfer von der Pipettenspitze zurückgehalten wurde. Bei der Lyse von Muskelgewebe/Flossenschnitten blieben in der Regel einige nichtlysierte Gewebsreste zurück. Auch hier wurde ein kurzer Zentrifugationsschritt nach der Inkubation eingefügt, um diese Verunreinigungen abzusedimentieren. Anschließend wurden 100 µl des klaren Überstandes für die weiteren Aufreinigungsschritte nach Herstellervorgaben verwendet. Die genutzten Scheren und Pinzette wurden zwischen den Arbeitsschritten mit 1 M NaOH-Lösung und sterilem, destilliertem Wasser gereinigt, um Kreuzkontamination von Proben zu vermeiden.

Für die Überprüfung der Zuverlässigkeit dieser Methode wurden für 75 Individuen aus unterschiedlichen Populationen und Größenklassen sowohl Maulhöhlenabstriche als auch Körperabstriche von Kopf und Rumpf analysiert. Die Methode der UV/Vis-Spektroskopie mittels NanoDrop-2000 (Thermo Scientific) wurde genutzt, um die DNA-Isolate der Abstriche bezüglich ihres DNA-Gehalts zu analysieren, wobei die erhaltenen Werte laut Vorgaben des Hersteller des DNA Extraktions-Kits mit dem Faktor 0.3 multipliziert wurden. Anschließend wurden Arbeitslösungen mit einem DNA-Gehalt von 10 ng/µl hergestellt. Der Amplifikationserfolg der DNA-Isolate wurde anschließend mittels PCR für den nukleären Marker Ca1 überprüft. Hierfür wurde das generelle Protokoll für Mikrosatelliten-Marker (siehe Kapitel 4.4.3.) angewendet, wobei Gesamtvolumina der PCR-Reaktionen von 10 µl genutzt wurden. Anschließend wurden die PCR-Produkte mittels Agarose-Gelelektrophorese und Visualisierung unter UV-Licht auf eine erfolgreiche Amplifikation kontrolliert.

4.4.2. mtDNA Sequenzanalyse

Die mitochondriale Diversitätsanalyse erfolgte zunächst für zwei mitochondriale Loci, das Gen für Cytochrom-*b* (*cob*) und die Kontrollregion (CR). Hierfür wurden Proben von 38 Individuen aus 5 verschiedenen Herkünften Deutschlands verwendet. Die PCR-Reaktionen wurden in

einem Gesamtvolumen von 20 µl durchgeführt. Der GoTaq® G2 Hot Start colorless Master Mix (Promega GmbH) wurde als PCR Reaktionspuffer verwendet, wobei Endkonzentrationen von 200 mM dNTPs, 2 mM MgCl₂, 25 µM jedes Primers und 10 ng DNA pro Reaktion angewendet wurden. Detaillierte Informationen über die verwendeten Primer sind in Tabelle 2 dargestellt. Für die Amplifikation der Genfragmente wurde folgendes PCR-Programm verwendet: initiale Denaturierung für 5 min bei 95°C, 30 Zyklen mit 45 sec bei 95°C, 45 sec bei 59°C und 1 min bei 72°C, und einem finalen Elongationsschritt von 5 min bei 72°C. Zur Visualisierung wurden die PCR-Produkte standardmäßig auf einem 1%-igen Agarosegel elektrophoretisch aufgetrennt und unter UV-Licht durch Färbung der DNA mittels GelRed™ (Biotium) analysiert. Die PCR-Produkte wurden mittels des Nucleospin Extract II Kits (Macherey-Nagel GmbH) aufgereinigt und anschließend beide DNA-Stränge („forward“ und „reverse“) durch die Firma GATC Biotec AG sequenziert. Nach der Prüfung beider mitochondrialer Loci (*cob* und CR) auf ihre Diversität im Testset von 38 Individuen und damit der Abschätzung ihrer Eignung zur Beschreibung der Verwandtschaftsverhältnisse der Barben-Populationen in Deutschland, wurde der CR-Locus als geeigneter befunden und für alle weiteren Analysen ausgewählt (siehe Kapitel 5.2.2). Hierbei wurde angestrebt, von jeweils 10 zufällig ausgewählten Individuen pro beprobter Herkunft die Kontrollregion zur Abschätzung der mitochondrialen Diversität zu analysieren. Insgesamt wurden somit 312 Individuen (vgl. Tab. 5) aus 37 Habitaten typisiert, wobei 29 Habitate mit einer Anzahl von 9-11 Individuen und 8 Habitate mit 2-6 Individuen in die Analysen eingingen.

Tabelle 2: Verwendete Primer für die mitochondrialen Loci Cytochrom-*b* (*cob*) und Kontrollregion (CR) in *Barbus barbus*, T_m = Schmelztemperatur

Primer	Primer Sequenz (5'-3')	T _m (°C)	GC-Gehalt (%)	Referenz
BarbCR	for: TTAACTCTCACCCTGGCTC	57,9	47,6	Diese Studie
	rev: TCCTTGGTTTAGGGGTTTGAC	57,9	47,6	Diese Studie
BarbCob	for: AATGACTTGAAGAACCACCGT	55,9	42,9	Primer L15267 aus Briolay et al. 1998
	rev: CCTAGTTTGTTCGGGATCGAC	59,8	52,4	Diese Studie

4.4.3. Mikrosatellitenanalyse

Da für *B. barbus* bisher nur 7 potentiell polymorphe Mikrosatelliten Marker vorhanden waren (siehe Kapitel 3.2., Chenuil et al. 1997, Konopinski et al. 2007), mussten zunächst mind. 3 weitere Loci etabliert werden, um die Forderung von mind. 10 Mikrosatelliten-Loci für die Genotypisierung der *B. barbus* Populationen in Deutschland zu erfüllen. Parallel zur Austestung der vier von Chenuil und Kollegen (1997) etablierten Loci Barb37, Barb54, Barb59 und Barb79 erfolgte parallel die Analyse weiterer potentieller Mikrosatelliten Marker, welche bereits für verschiedene Cyprinidenarten etabliert worden sind. Davon wurden 34 potentielle Mikrosatelliten Loci ausgewählt (siehe Tab. A1 im Anhang), die bei möglichst vielen Cypriniden polymorph waren und/oder bereits positiv für *Barbus* kreuzamplifiziert wurden und somit eine hohe Wahrscheinlichkeit des Polymorphismus auch bei *B. barbus* angenommen werden konnte. Gleichzeitig zu unseren Arbeiten wurden weitere 28 für *B. meridionalis* etablierte und positiv

für *B. barbatus* getestete Mikrosatelliten-Marker veröffentlicht (Gettová et al. 2013, Molecular Ecology Resources Primer Development Team 2013) von welchen 8 Mikrosatelliten Loci in die Etablierungsarbeit einbezogen wurden (siehe Tab. 3). Die Auswahl erfolgte dabei basierend auf ihrem Polymorphiegrad in *B. barbatus* (Gettová et al. 2013) und ihrer Motiv-Länge. Diese Etablierungstests wurden mit DNA-Referenzproben aus Muskelgewebe durchgeführt, um mögliche Störeffekte durch etwaige Verunreinigungen in Abstrichproben auszuschließen. Insgesamt zeigten 26 der 46 getesteten Primerpaare ein positives Amplifikationsprodukt. Mittels Sequenzanalyse wurden diese erfolgreich amplifizierte DNA Abschnitte anschließend auf das Vorhandensein eines Mikrosatelliten-Motivs untersucht. Die Ergebnisse dieser Etablierungsstudie sind in Tabelle A1 im Anhang zusammengefasst.

Basierend auf den Ergebnissen dieser verschiedenen Vorstudien wurde eine Auswahl von 16 Mikrosatelliten-Markern erstellt, die in ihrer zu erwartenden Variabilität (Allelzahl pro Mikrosatellit/Allelreichtum) verschieden sind, um die Differenzierung zwischen und innerhalb der Populationen besser abschätzen zu können. Diese ausgewählten 16 Primerpaare wurden in Abhängigkeit von ihren erwarteten Fragmentlängen und den Reaktionsbedingungen der Primer in vier Multiplex-Sets zusammengestellt. Jedes Set enthielt dabei 4 Primerpaare, wobei die jeweiligen ‚Forward-Primer‘ mit 4 unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen (6-FAM, ATTO 550, ATTO 565 und Yakima Yellow) markiert wurden. Dadurch konnten die PCR Fragmente nach kapillar-elektrophoretischer Auftrennung basierend auf ihren Farbmarkierungen den jeweiligen Mikrosatelliten-Loci zugeordnet werden. Die Reaktionsbedingungen wurden basierend auf einem Testset optimiert, um möglichst ähnliche Fluoreszenzsignale innerhalb und zwischen den Proben zu erhalten. Aus jeder beprobten Herkunft (mind. 30) wurde anschließend angestrebt 30 bis 50 Individuen mit dem finalen Primer-Set bestehend aus mind. 10 Loci zu untersuchen. Nach einer Optimierungs- und Evaluierungsphase wurde das ursprüngliche Set aus 16 Primerpaaren auf 13 Primerpaare in 3 Multiplex-Sets reduziert (siehe Tab. 3). Diese Reduzierung ergab sich aus der Analyse von ca. 300 Individuen. Dabei zeigte sich, dass der Locus Ca1 nicht polymorph war und die Loci BL1-153 und MFW1 aufgrund von starker „Stutter-Peak“ Bildung nicht verlässlich auswertbar waren. Der Reverse-Primer für Locus Z21908 wurde durch trimmen des 5'-Endes um die ersten beiden Basen (5'-AG) für die Amplifikation optimiert und die „Stutter-Peak“ Bildung deutlich verringert.

Tabelle 3: Detailinformation zu den verwendeten Mikrosatellitenmarkersystemen

Multiplex Set	Marker	Motiv	Allelbereich (bp)	Fluorophor	Referenz
1	Barbus35	(AC) ₁₈	84-162	6-FAM	Gettová et al. 2013
	Barbus62	(TG) ₁₂	131-135	Yakima Yellow	Gettová et al. 2013
	Barb59	(GATA) ₁₄	86-242	ATTO 550	Chenuil et al. 1997
	Barbus65	(AC) ₅	81-83	ATTO 565	Gettová et al. 2013
	BL1-98	(CA) ₁₁	262-296	ATTO 565	Dubut et al. 2009a
2	Barbus26	(CA) ₇	79-87	6-FAM	Gettová et al. 2013
	Z21908	(AC) ₄	106-130	Yakima Yellow	Dubut et al. 2010
	Barbus21	(GT) ₁₅	159-203	ATTO 550	Gettová et al. 2013
	Barbus4	(CAT) ₉	145-157	ATTO 565	Gettová et al. 2013
3	Barb79	(GATA) ₄	197-326	6-FAM	Chenuil et al. 1997
	Barbus33	(CT) ₄ (CA) ₂	107-115	Yakima Yellow	Gettová et al. 2013
	Barbus50	(TCT) _x	104-131	ATTO 550	Gettová et al. 2013
	LleB-072	(TG) ₁₀	182-218	ATTO 565	Dubut et al. 2009b

Die PCR-Reaktionen wurden in einem Gesamtvolumen von 20 µl durchgeführt. Der GoTaq® G2 Hot Start colorless Master Mix (Promega GmbH) wurde als PCR Reaktionspuffer verwendet, wobei Endkonzentrationen von 200 mM dNTPs, 0,5 µg/µl BSA und 20 ng DNA pro Reaktion angewendet wurden. Die MgCl₂- und Primer-Konzentration wurde für jedes Multiplex-Set optimiert (siehe Tab. 4). Die Amplifikation der Mikrosatelliten-Fragmente wurde mittels folgendem PCR-Programm durchgeführt, welches sich je nach Ausgangsmaterial (Gewebe- oder Abstrichprobe) in der Zyklenzahl und je nach Multiplex-Set durch die Hybridisierungstemperatur unterschied (siehe Tab. 4): initiale Denaturierung für 5 min bei 95°C, 30-35 Zyklen mit 1 min bei 95°C, 45 sec bei 55-57°C und 45 sec bei 72°C, und einem finalen Elongationsschritt von 45 min bei 72°C.

Der Erfolg der Amplifikation wurde mittels Gelelektrophorese unter Verwendung eines 2%igen Agarosegels und Visualisierung mittels UV-Licht überprüft. Die Fragmentlängenanalyse positiver PCR-Proben wurde anschließend durch die Eurofins Genomics GmbH in Ebersberg (Deutschland) durchgeführt.

Von den insgesamt 1144 Gewebs- und Abstrichproben wurde aus 1003 Proben erfolgreich DNA gewonnen. Hiervon zeigten 859 Proben einen Amplifikationserfolg mittels des nukleären Markers Ca1. Von diesen 859 Proben, die aus 40 verschiedenen Populationen stammen, wurde folglich eine Mikrosatellitenanalyse durchgeführt. Dabei zeigten 617 Proben nach einer ersten Analyse ein vollständiges Marker-Set. Die verbleibenden Proben zeigten Ausfälle sowohl einzelner jedoch nicht konsistent gleicher Mikrosatelliten-Loci, als auch kompletter Multiplex-Sets. Um für die Datenanalyse vollständige Mikrosatelliten-Marker-Sets zur Verfügung zu haben, wurden für die ausgefallenen Individuen entweder komplette Multiplex-Sets wiederholt analysiert oder in den vorwiegenden Einzel-Loci Ausfällen sog. Simplex-PCRs durchgeführt. Für diese Simplex-PCRs wurden die den Multiplex-Sets entsprechenden Bedingungen gewählt, wobei nur einzelne Primerpaare in die Reaktionen eingesetzt wurden. Durch diese

Vorgehensweise konnte für insgesamt 809 Individuen aus 39 Populationen stammend ein vollständiges Markerset von 12 Loci erstellt werden. Für die statistische Analyse der Mikrosatelliten-Daten wurden allerdings nur 783 Individuen berücksichtigt, da Populationen <10 Individuen mit einem vollständigen Markerset von den Analysen ausgeschlossen wurden.

Tabelle 4: Mikrosatelliten-PCR Bedingungen für die 3 verwendeten Multiplex-Sets

Multiplex Set	1	2	3
Hybridisierungs Temperatur	56 °C	57 °C	55 °C
MgCl ₂ Konz.	3,25 mM	2 mM	2,5 mM
Marker mit entsprechenden Konzentrationen der Primer	Barbus35 250 nM Barbus62 150 nM Barb59 250 nM Barbus65 100 nM BL1-98 500 nM	Barbus26 150 nM Z21908 200 nM Barbus21 400 nM Barbus4 150 nM	Barb79 500 nM Barbus33 250 nM Barbus50 250 nM LleB-072 200 nM

4.5. Datenanalyse und Statistik

4.5.1. mtDNA Sequenzanalyse

Die amplifizierten PCR-Produkte des Cytochrom-*b* Gens (*cob*) und der Kontrollregion (CR) wurden sowohl ‚Forward‘ als auch ‚Reverse‘ sequenziert. Mittels der Software Geneious® 6.1.8 (Kearse et al. 2012) wurden die beiden komplementären Sequenzen assembliert und sog. Konsensus-Sequenzen erstellt. Die Sequenzlänge lag nach Zuschneiden der Sequenzen auf gleiche Anfangs- und Endsequenzen für *cob* bei 809bp und für CR bei 685-687bp. Die ermittelten Sequenzen wurden mit Sequenzen der gleichen Loci des Genus *Barbus* verglichen, welche in der Nucleotid-Datenbank der NCBI GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) verfügbar waren. Für eine erste Analyse zur Eignung der mitochondrialen Marker *cob* und CR für Abschätzungen der genetischen Variabilität von Barbenpopulationen in Deutschland wurden zunächst 38 Barben aus 4 FGE untersucht. Die weiteren Analysen wurden nur für Daten der Kontrollregion durchgeführt.

Die Abschätzung der Variation innerhalb der Populationen bzw. FGE erfolgte durch die Berechnung der Haplotypen und Nukleotid-Diversität mit der Software DnaSP Ver. 5.10.1 (Librado & Rozas 2009). Mit der Software Arlequin Ver. 3.5.2.2 (Excoffier & Lischer 2010) wurde eine hierarchische Analyse der molekularen Varianz (AMOVA) durchgeführt, wobei die Gruppeneinteilung mit den FGEs korrespondierte, zu welchen die jeweiligen Populationen gehören. Insgesamt wurden 10.000 Permutationen durchgeführt, um die Signifikanz der Resultate zu bewerten. Für die notwendige Berechnung der genetischen Distanzen wurde das

Tamura & Nei (TrN) Evolutionsmodell (Tamura & Nei 1993) mit einem Gamma Parameter von 0,647 verwendet, welches das beste Modell für die Daten darstellt. Dieses Modell der molekularen Evolution wurde mit der Software jModeltest 2.1.4 (Darriba et al. 2012) basierend auf hierarchischen Likelihood-Ratio-Tests und dem Akaike Informationskriterium (AIC) ausgewählt. Zur Abschätzung der genetischen Differenzierung zwischen den Populationen bzw. FGEs wurden in Arlequin (Excoffier & Lischer 2010) paarweise φ_{ST} -Werte berechnet (analog zu Wright's Allelfrequenz-basierter *F*-Statistik) und deren Signifikanz mit 10.000 Permutationen abgeschätzt.

Für alle 312 in dieser Studie erstellten CR Sequenzen wurde mit dem Programm MAFFT v7.017 (Katoh et al. 2002), welches in der Bioinformatik Software Plattform Geneious® 6.1.8 (Kearse et al. 2012) implementiert ist, ein Alignment erstellt. Zusätzlich zu den 312 *B. barbuis* Sequenzen wurden hierfür 11 Referenzhaplotypen von *B. plebejus* mit in die Analysen einbezogen, welche aus der NCBI GenBank abgerufen wurden. Basierend auf diesem Alignment wurde mit der Software POPART (Leigh & Bryant 2015) ein Median-Joining Haplotypen Netzwerk erstellt (Abb. 5).

4.5.2. Mikrosatellitenanalyse

Aufgrund der Tetraploidie der Barbe (ungleiche Verteilung von Allelhäufigkeiten in einem Individuum) in Verbindung mit dem technisch bedingten Auftreten von sog. „Stutter-Peaks“ (Amplifikationsfehler während der PCR) war die Bestimmung der Fragmentlängen nur schwer automatisierbar bzw. häufig fehlerbehaftet, wenn ausschließlich Computeralgorithmen angewendet wurden. Daher wurden die Rohdaten der Fragmentlängenanalysen aller Individuen und Loci manuell kuratiert und ausgewertet. Hierfür wurde das ‚Microsatellite Plugin‘ der Software Geneious® 6.1.8 (Kearse et al. 2012) genutzt.

Für die Analyse polyploider Daten steht nur eine begrenzte Anzahl von Softwareprogrammen zur Verfügung, die teilweise spezifisch für bestimmte Organismengruppen (z.B. asexuelle Organismen), Vererbungsmuster (Auto- vs Allopolyploid) oder Ploidiezustände sind (siehe Dufresne et al. 2014 für einen Überblick). Speziell die Schwierigkeiten bei der Zuordnung der Allelfrequenzen pro Locus und Individuum behindern die Quantifizierung der genetischen Diversität in polyploiden Organismen. So können tetraploide Organismen in den Rohdaten der Fragmentlängenanalysen, den sog. Elektropherogrammen, 4 unterschiedliche Allele aufweisen (z.B. ABCD), wodurch sie als vollständig heterozygot definiert werden können. Wenn sie allerdings weniger als 4 Allele aufweisen, werden sie als partiell heterozygot definiert. Ein Individuum, das für einen bestimmten Locus nur ein einziges Allel zeigt (z.B. A oder B), kann somit 1-4 Kopien desselben Allels mit 3-0 Kopien eines Null-Allels haben. In ähnlicher Weise können Individuen, die im Elektropherogramm nur zwei oder drei Allele zeigen (z.B. AB oder ABC) als heterozygot angenommen werden, wobei sie sowohl mit zwei oder drei verschiedenen Allelen in unterschiedlicher Kopienzahl (z.B. AAAB oder ABBC) als auch mit zwei unterschiedlichen und zwei Null-Allelen oder drei verschiedenen und einem Null-Allel vorliegen können (Blanchet et al. 2015). Als alternative Lösung wurde z.B. vorgeschlagen, dass die Allel Dosis in Tetraploiden auf der Grundlage der Höhe der Elektropherogramm-Spitzen abgeschätzt werden könnte (z.B. Arft & Ranker 1998, Obbard et al. 2006). Aufgrund der teilweise

unterschiedlichen Peak-Höhen bei vollständig heterozygoten Individuen war dies für den vorliegenden Datensatz der Barbe leider nicht möglich. Und obwohl die meisten der in dieser Studie verwendeten und bereits für *Barbus* etablierten Marker als disomisch vererbte Loci beschrieben wurden (Chenuil et al. 1997, Gettová et al. 2013) zeigten unsere Analysen für 859 *B. barbus* Individuen für einige Loci 3 oder 4 Allele. Aufgrund dieser Abweichung von einem diploiden meiotischen Vererbungsmuster können genetische Diversitätsindizes wie z.B. die erwartete Heterozygotie (H_E) oder Wright's Allelfrequenz-basierte F -Statistik nur begrenzt oder gar nicht angewendet werden, um die Diversität zwischen und innerhalb der *B. barbus* Populationen in Deutschland zu untersuchen.

Diese Umstände bei der Analyse von polyploiden Organismen erklären, warum in den meisten bisherigen Untersuchungen an Polyploiden die ermittelten, kodominanten Mikrosatelliten-Daten als dominant kodiert wurden, d.h. die Anwesenheit oder Abwesenheit für jedes Allel im Gesamtdatensatz pro Individuum (Blanchet et al. 2015). Obwohl diese Art der Daten-Analyse sowohl die Teststärke verringert, als auch von Annahmen wie dem Hardy-Weinberg (HW) Gleichgewicht ausgeht, welches für diese Art von Datensätzen nicht getestet werden kann, stellt sie eine gute Möglichkeit dar, Diversitätsanalysen in der tetraploiden Barbe basierend auf Mikrosatelliten-Daten durchzuführen.

Für die Abschätzung der genetischen Variation innerhalb der Populationen bzw. Flusseinzugsgebiete (FGE) erfolgte zunächst die Berechnung der auf die Probengröße korrigierten, erwarteten Heterozygotie (H_{EC}), der Äquität (species evenness) und des Shannon Diversitäts Index (H') mit der Software ATetra (Van Puyvelde et al. 2010). Dieses Programm nutzt ein tetraploides Datenformat als Input und verwendet iterative Substitutionen, um tetraploide Genotypen (z.B. AABC, ABBC und ABCC) aus partiellen Heterozygoten der Mikrosatellitenanalyse (z.B. ABC) zu erstellen. Die Abschätzung der genetischen Parameter erfolgte dabei auf der Grundlage 10.000 stochastischer Monte Carlo (MC) Simulationen mit einer zufälligen Teilmenge aller möglichen Kombinationen eindeutiger Genotypen.

Zur Abschätzung der genetischen Differenzierung zwischen den Populationen bzw. FGEs wurden zum einen mit der Software ATetra (Van Puyvelde et al. 2010) die genetischen Parameter G_{ST} – Nei's Maß der Populationsdifferenzierung (Nei 1973), D – Nei's genetische Distanz (Nei 1972, 1978) sowie D_m – die absolute genetische Diversität zwischen Populationen und R_{ST} – die genetische Diversität zwischen Populationen relativ zur Diversität innerhalb der Populationen (Nei 1973) berechnet. Die Abschätzung der genetischen Parameter erfolgte dabei auf der Grundlage 1.000 stochastischer Monte Carlo (MC) Simulationen. Zum anderen wurden weitere Diversitätsanalysen zur Bewertung der genetischen Varianz zwischen den Populationen auf Grundlage einer binären Anwesenheit/Abwesenheit Matrix durchgeführt. Hierfür wurden die ermittelten Multilocus Allel-Daten in eine Binärmatrix (0=abwesend, 1=anwesend) unter Verwendung eines selbstgeschriebenen R Skripts (R Development Core Team 2008) transformiert. Diese Binärmatrix wurde anschließend für weitere Analysen in GenAlEx 6.502 (Peakall & Smouse 2006, 2012) und Arlequin Ver. 3.5.2.2 (Excoffier & Lischer 2010) genutzt. Die genetische Differenzierung zwischen den Populationen bzw. FGEs wurde analog zu den mitochondriellen Daten in Arlequin (Excoffier & Lischer 2010) mit paarweisen ϕ_{ST} -Werten abgeschätzt, und die Signifikanz der Werte mit 10.000 Permutationen bestimmt. Eine

hierarchische AMOVA wurde ebenfalls auf Grundlage der Binärmatrix in Arlequin (Excoffier & Lischer 2010) durchgeführt, wobei die Gruppeneinteilung mit den FGEs korrespondierte, zu welchen die jeweiligen Populationen gehören. Die Berechnung der genetischen Distanzen erfolgte über paarweise Unterschiede und die Bewertung der Signifikanz der Resultate erfolgte mit 10.000 Permutationen. Negative G_{ST} oder ϕ_{ST} -Werte wurden auf null gesetzt.

Zusätzlich zur Validierung der Ergebnisse erfolgte die Berechnung der paarweisen ϕ_{ST} -Werte und AMOVAs auf Basis von sog. paarweisen Lynch Distanzen (Lynch 1990), die auf dem Anteil der geteilten Allele zwischen den Genotypen basiert und somit den Distanzen einer Binärmatrix ähnelt. Zur Berechnung dieser Distanzen wurde das ‚polysat‘ package v. 1.4-1 (Clark & Jasieniuk 2011) in R (R Development Core Team 2008) verwendet.

Mit Hilfe einer Hauptkoordinaten-Analyse wurde die räumliche genetische Struktur der Populationen analysiert. Die Hauptkoordinaten-Analyse ist eine ‚Metrische Multidimensionale Skalierung‘, bei der die Distanzen zwischen den Individuen wie bei einer Hauptkomponenten-Analyse weitestgehend bewahrt werden, um eine räumliche Autokorrelation zu testen. Diese multivariate Methode erlaubt somit die Hauptmuster in einem multivariaten Datensatz über eine Distanz- oder Ähnlichkeitsmatrix zu finden und graphisch darzustellen indem die enthaltene Information der zahlreichen paarweisen Kombinationen auf wenige Dimensionen (i.d.R. 2 - 3) reduziert wird. Dabei werden sog. ‚Eigenwerte‘ und ‚Eigenvektoren‘ einer Matrix berechnet, die die Distanzen zwischen allen Datenpunkten in der Matrix enthält. Die „wichtigsten“ Dimensionen werden durch die größten Eigenwerte repräsentiert und stellen die Hauptachsen der Variation des mehrdimensionalen Datensatzes dar. Jede aufeinanderfolgende Achse (mit geringer werdenden Eigenwerten) erklärt somit proportional weniger der Gesamtvariation im Datensatz. Die ersten 2 bis 3 Achsen legen somit typischerweise den größten Anteil der Trennung von Gruppen im Datensatz offen. Diese Trennung lässt sich dabei graphisch in Form von Punktwolken ähnlicher Eigenvektoren darstellen. Für diese Analyse wurde die Software GenAlEx 6.502 (Peakall & Smouse 2006, 2012) unter Verwendung der Binärdaten genutzt, um die Beziehungen aller einzelnen Individuen zueinander zu berechnen. Für die Darstellung der Beziehungen der Populationen zueinander wurden die paarweisen genetischen Distanzen der Populationen nach Nei (Nei 1972, 1978) verwendet, die entweder aus der Binärmatrix in GenAlEx (Peakall & Smouse 2006, 2012) oder dem tetraploiden Datensatz in ATetra (Van Puyvelde et al. 2010) berechnet wurden.

Das ‚Poppr‘ package v. 2.1.0 (Kamvar et al. 2014, 2015) in R (R Development Core Team 2008) wurde zum einen verwendet, um den Informationsgehalt der verwendeten Mikrosatelliten-Loci zu überprüfen (cut-off Wert von 0,25%). Des Weiteren wurde diese Software genutzt, um die mittlere Anzahl privater Allele (Anzahl privater Allele pro Population / Anzahl an Mikrosatelliten-Loci) zu berechnen sowie die maximale und mittlere Allelzahl pro Mikrosatelliten-Loci und Population zu ermitteln. Die Allelfrequenzen wurden mittels der simpleFreq Funktion in ‚Poppr‘ berechnet. Da diese Berechnung auf einer polysomischen Vererbung basiert sind die ermittelten Allelfrequenzen jedoch nicht als Absolutmaß zu sehen.

Mit Hilfe einer ‚Structure‘ Analyse wurden die genetischen Gruppierungen aller Individuen unabhängig ihrer Herkunft untersucht, um die Anzahl der Gruppen, die sich genetisch stark

voneinander unterscheiden, zu bestimmen. Hierfür wurde das Programm STRUCTURE 2.3.4 (Falush et al. 2003, Falush et al. 2007, Hubisz et al. 2009, Pritchard et al. 2000) genutzt, welches über ein Bayes'sches Clusterverfahren die Zuordnungswahrscheinlichkeiten eines Individuums zu jeder Gruppe in mehreren Wiederholungen berechnet und eine Gesamtwahrscheinlichkeit für jede vorgegebene Anzahl von Gruppen (K) ermittelt. Als Parametereinstellungen für die Markov Chain Monte Carlo (MCMC) Schätzungen wurde sowohl das ‚No Admixture Model‘ (kein genetischer Austausch zwischen den 6 FGEs) als auch das ‚Admixture Model‘ (mit angenommenem genetischem Austausch zwischen den Populationen), und die Einstellung ‚Independent Allele Frequencies‘ gewählt, um eine Überschätzung von K zu vermeiden. Alle Simulationen wurden mit einer ‚BurnIn‘ Phase von 25.000 Wiederholungen und 100.000 MCMC Wiederholungen nach der ‚Burnin‘ Phase durchgeführt. Das Ableiten der Anzahl der Gruppen (K), welche die Daten am besten beschreiben, wurde mit dem Programm STRUCTURE HARVESTER Web v0.6.94 (Earl & vonHoldt 2012) anhand der abgeschätzten mittleren Log-Likelihood Werte und mittels der Evanno Methode (Evanno et al. 2005) auf Basis von 5 Wiederholungen für K = 2-6 durchgeführt. Diese Vorgehensweise diente dazu, um die Gruppierung zu evolutionären Großraumgruppen mit maximal 6 Clustern als Anzahl der 6 untersuchten FGEs zu ermitteln. Die Ergebnisse aus den 5 STRUCTURE-Wiederholungen für die wahrscheinlichste Gruppenanzahl (K) wurden mittels der Software CLUMPP (Jakobsson & Rosenberg 2007) gemittelt und mit dem Programm DISTRUCT visualisiert (Rosenberg 2004).

5. Ausführliche Darstellung der Ergebnisse

5.1. Populationsstruktur der Barbe in den erfassten Herkünften

In den 47 Herkünften (Abb. 1) konnten insgesamt 1144 Barben gefangen und Material für die molekularen Analysen gewonnen werden. Informationen zu den Herkünften, die Anzahl der Individuen sowie Daten zu durchschnittlichen Längen, Massen und Korpulenzfaktoren der Populationen sind in Tab. 1 dargestellt.

In 42 Herkünften konnten die Fische vermessen werden (Abb. 3, Tab. 1). Die Größenklassenverteilung zeigte eine hohe Heterogenität zwischen den Herkünften. So konnten nur in wenigen Gewässern alle Altersklassen erfasst werden. Das lag einerseits daran, dass sich die Habitate der Juvenilen und Adulten nicht oder nur bedingt überlappen bzw. dass in den befischten Gewässern entweder Jungfisch- bzw. Adulthabitate überwogen. In den meisten Gewässern fehlten jedoch viele Größenklassen und damit ganze Jahrgänge, obwohl die entsprechenden Habitate vorhanden waren bzw. beprobt wurden. Dafür können, unter anderem, zwischenjährige Schwankungen im Reproduktionserfolg verantwortlich gemacht werden, welche klimatisch oder anthropogen beeinflusst sind. Eine eingeschränkte Eignung der Gewässer als Lebensraum, z.B. durch Verbau, Anstau und stoffliche Verschmutzung, führt dann dazu, dass lediglich ausreichend Individuen starker Jahrgänge überleben und Nachkommen schwacher Jahrgänge im Gewässer nicht mehr nachweisbar sind.

Andererseits nutzt die Barbe große Gewässer wie z.B. die Elbe und Weser als Nahrungshabitate der Adulten, welche auf Grund der physikalisch-chemischen Verhältnisse und Sedimentbeschaffenheit entweder gar nicht oder nur bedingt als Laichgewässer geeignet sind. Zum Zweck der Reproduktion führen die Adulten folglich Laichwanderungen in besser geeignete Nebengewässer durch, welche dann die Aufwuchshabitate der Juvenilen darstellen und die Adulten wandern nach Ende der Laichphase wieder ab. Aus diesem Grund ergibt sich in vielen Gewässersystemen eine hohe räumlich-zeitliche Variabilität der unterschiedlichen Alters- und Größenklassen der Barbe. In diesen Fällen ist es nahezu unmöglich, einen "intakten" Fischbestand durch Nachweis aller Altersklassen zu belegen, selbst wenn diese in der Population vorhanden sind.

Um auszuschließen, dass die unterschiedliche Altersstruktur der analysierten Populationen Artefakte bezüglich der genetischen Zusammensetzung verursacht, weil bspw. alle gefangenen 0+ Fische einer beprobten Herkunft von einem Elterntier stammen könnten, wurde der Anteil der 0+ Barben an der Gesamtindividuenanzahl der Herkunft berechnet (Daten nicht gezeigt) und Korrelationsanalysen zur Haplotypendiversität und Anzahl privater Allele durchgeführt. Dabei zeigt sich kein statistischer Zusammenhang, so dass 0+ Fische bedenkenlos in die genetischen Analysen mit aufgenommen wurden.

Die angestrebte Individuenanzahl von mindestens 30 pro Herkunft konnte in 21 der 47 Herkünfte erreicht werden. In den übrigen Herkünften war dies unter den vor Ort gegebenen Umständen (Wasserstand, Witterung, Bestandssituation der Barbe) nicht im vertretbaren Aufwand möglich (siehe dazu auch Kap. 2 und 8).

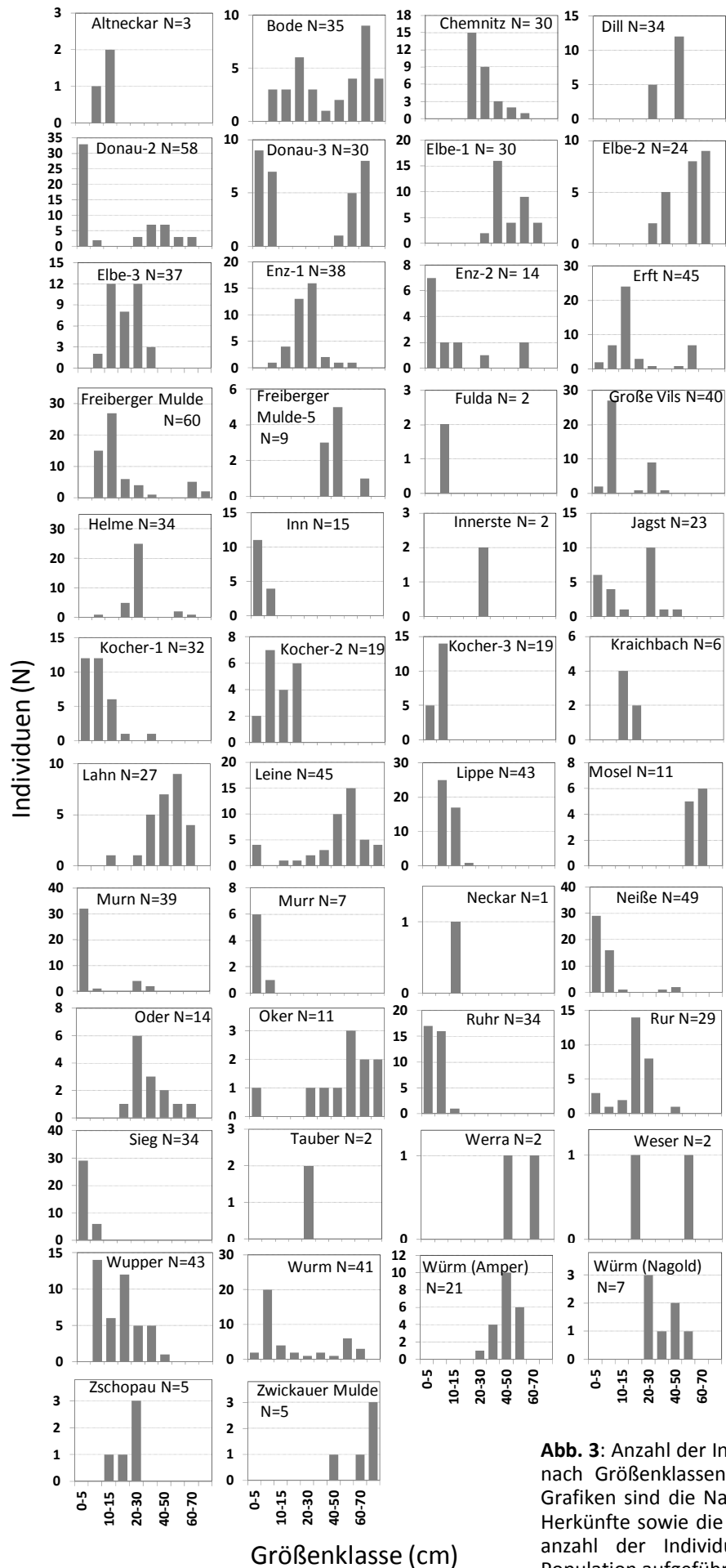


Abb. 3: Anzahl der Individuen nach Größenklassen; in den Grafiken sind die Namen der Herkunftse sowie die Gesamtanzahl der Individuen pro Population aufgeführt

Die Gesamtheit aller gefangenen Barben zeigte eine relativ homogene Verteilung in den Größenklassen (Abb. 4) und spiegelt die typische Populationsstruktur mit der höchsten Abundanz in den Juvenilstadien und sinkender Abundanz mit ansteigender Größenklasse wider. Generell werden bei der Elektrofischung jedoch die kleinen Größenklassen quantitativ unterschätzt, da die kleinen Fische weniger Feldlinien abgreifen und der Fangradius des Elektrofischfanggerätes gegenüber größeren Fischen wesentlich eingeschränkt ist. Außerdem sind die Größenklassen von 40-70 cm in unserer Analyse überrepräsentiert, was durch einen größeren Fangradius – längere Fische greifen mehr Feldlinien beim Elektrofischen ab und reagieren dabei sensibler auf schwächere elektrische Felder – erklärt werden könnte. Das führt dazu, dass größere Exemplare der sich grundnah aufhaltenden Fischart Barbe in größeren Fließgewässern auch dann noch gefangen werden, wenn die Wassertiefe zwischen 1 und 2 Meter beträgt – wohingegen der erfolgreiche Fang von kleineren Barben mit einer oberflächennah geführten Streifenanode nahezu ausgeschlossen ist. Andererseits werden in fast allen Gebieten Deutschlands aus der fischereilichen Praxis von massiven Verlusten, vornehmlich von Äsche (*Thymallus thymallus*) und Barbe, berichtet, was dem angestiegenen Prädationsdruck durch den Kormoran zugeschrieben wird. Dieser Effekt sollte sich hauptsächlich auf die Größenklassen von 15-30 cm bemerkbar machen. Die Gewicht-Längenverhältnisse (Abb. 4) lassen sich als hoch signifikanter Zusammenhang darstellen.

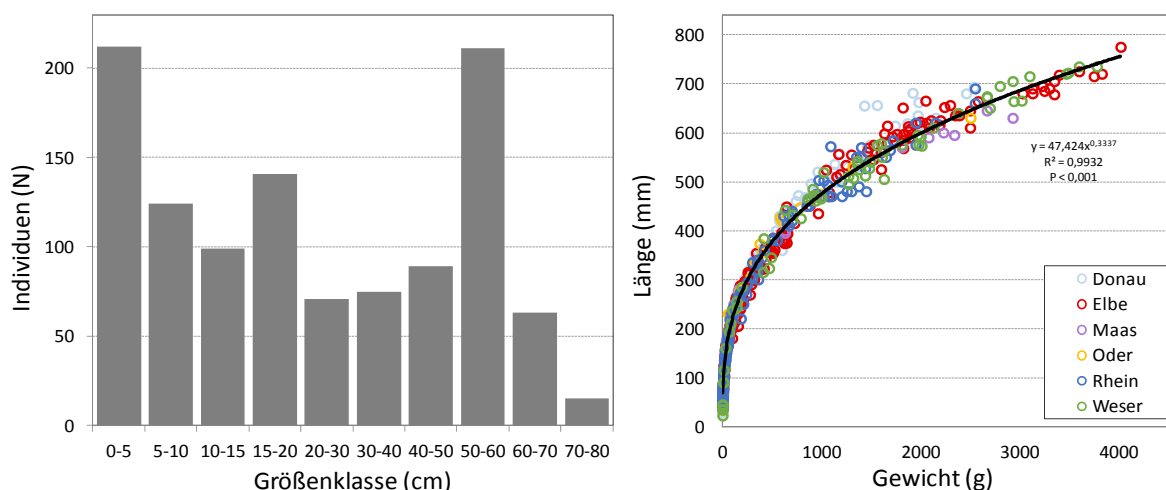


Abb. 4: Anzahl von Individuen je Größenklasse (Grafik links) sowie Gewichts-Längen-Verhältnisse (Grafik rechts) aller vermessenen Barben

Dabei konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede der Korpulenz der vermessenen und gewogenen Barben zwischen den analysierten Populationen festgestellt werden. Generell ist der Vergleich der Korpulenz bei der Analyse von strukturierten Wild-Population schwierig, da sich diese in den unterschiedlichen Größenklassen a) mathematisch-physikalisch unterscheidet, b) Messfehler bei der Wiegung kleiner Individuen prozentual immer größer ist, und c) die Korpulenz jahreszeitlichen Schwankungen unterliegt – Fettvorräte werden z.B. über den Winter aufgebraucht, weshalb in den gemäßigten Breiten Mitteleuropas Fische aus Frühjahrsfängen weniger korpulent als Fische aus Herbstfängen sind. Für den Vergleich der Korpulenz aus Wildfängen unterschiedlicher Herkunft müssten daher gleiche Altersstadien/Größenklassen analysiert werden, die zu ähnlichen terminlichen Zeitpunkten erhoben wurden. Diese Datenlage war für die Barbe im Rahmen dieser Studie nicht zu erheben.

5.2. Genetische Diversität der Barbe in den erfassten Herkünften

Tabelle 5: Ergebnisse der genetischen Analysen der 38 analysierten Populationen. Dargestellt ist die Anzahl der Individuen, von welchen erfolgreich DNA extrahiert wurde (DNA N), die Anzahl der haplotypisierten Individuen (DNA_{mt}N), die Haplotyp-Diversität (H_d), die Anzahl der Privaten Haplotypen (PH N), die Nukleotid-Diversität (π), die Anzahl der Individuen mit erfolgreicher Mikrosatelliten-Analyse (MS N), die maximale Allelzahl pro Mikrosatellit (A_{max} pro MS), die durchschnittliche Allelzahl (ø A), die Anzahl Privater Allele (PA N), der erwartete Heterozygotiegrad (H_{EC}), die niedrigste (G_{ST} min) und höchste genetische Differenzierung (G_{ST} max), der Populationscode in der AGRDEU-Datenbank sowie Informationen zum Besatz in der jeweiligen Population: A=aktueller Besatz, V=Besatz in Vergangenheit, N=kein Besatz, U=Besatzsituation konnte nicht eindeutig geklärt werden. *aus technischen/organisatorischen Gründen wurden für diese Populationen bisher keine mitochondrialen Daten erhoben, es wird jedoch angestrebt, diese Daten für zukünftige Publikationen zu generieren und in die AGRDEU-Datenbank einzupflegen.

Population	DNA N	DNA _{mt} N	H _d	PH N	π	MS N	A _{max} pro MS	ø A	PA N	H _{EC}	G _{ST} min	G _{ST} max	AGRDEU Code	Besatz
Bode	35	10	0,8000	1	0,0055	27	20	7,72	1	0,70	0,0084	0,1119	BA-001	V
Chemnitz	30	11	0,0000	0	0,0000	22	10	4,90	1	0,64	0,0202	0,1272	BA-002	V
Dill	17	10	0,7778	0	0,0032	17	13	6,00	0	0,68	0,0123	0,1099	BA-003	N
Donau2	50	10	0,9111	3	0,0041	41	26	10,00	3	0,72	0,0084	0,0990	BA-004	N
Donau3	29	9	0,8056	2	0,0053	23	19	9,09	2	0,72	0,0113	0,0857	BA-005	N
Elbe1	34	10	0,5111	1	0,0027	30	11	5,90	0	0,69	0,0172	0,1300	BA-006	N
Elbe2	24	10	0,7111	2	0,0057	11	9	4,72	1	0,68	0,0172	0,1251	BA-007	N
Elbe3	32	10	0,9778	4	0,0068	30	20	8,72	2	0,72	0,0092	0,0872	BA-008	N
Enz1	37	10	0,8889	1	0,0060	25	15	5,72	0	0,63	0,0224	0,1456	BA-009	U
Enz2	14	6	0,8667	0	0,0058	13	13	6,00	0	0,69	0,0151	0,1186	BA-010	U
Erft	39	10	0,0000	0	0,0000	30	6	3,81	2	0,53	0,0460	0,1440	BA-011	N
FG Mulde	32	10	0,5333	0	0,0016	30	11	5,27	0	0,64	0,0202	0,1295	BA-012	V
Große Vils	32	10	0,8222	2	0,0053	30	18	8,18	4	0,71	0,0098	0,1091	BA-013	N
Helme	34	10	0,6444	0	0,0019	29	11	6,00	0	0,70	0,0201	0,1488	BA-014	N
Inn	15	*	*	*	*	15	15	6,81	4	0,69	0,0121	0,1157	BA-037	U
Innerste	2	2	1,0000	0	0,0090	1	-	-	-	-	-	-	BA-015	U
Jagst	23	10	0,7111	0	0,0059	17	11	5,09	0	0,64	0,0143	0,1199	BA-016	U
Kocher1	32	10	0,5333	0	0,0048	31	16	6,27	0	0,62	0,0105	0,0934	BA-017	U
Kocher2	19	10	0,3778	0	0,0023	19	11	5,09	0	0,61	0,0126	0,1145	BA-018	U
Kocher3	19	10	0,6444	0	0,0024	18	13	5,27	0	0,65	0,0105	0,0953	BA-019	U
Kraichbach	6	5	0,8000	1	0,0075	5	-	-	-	-	-	-	BA-020	U
Lahn	27	10	0,8444	1	0,0043	17	14	6,18	2	0,69	0,0120	0,1261	BA-021	U
Leine	39	10	0,8444	1	0,0047	28	18	7,00	1	0,71	0,0105	0,1230	BA-022	N
Lippe	43	10	0,8222	2	0,0068	38	17	6,09	0	0,65	0,0127	0,1082	BA-023	N
Mosel	11	10	0,9111	3	0,0067	10	12	4,63	1	0,64	0,0165	0,1444	BA-024	U
Murn	32	10	0,3778	1	0,0006	28	13	6,18	4	0,67	0,0153	0,1108	BA-025	N
Murr	7	-	-	-	-	6	-	-	-	-	-	-	-	U
Neiße	48	3	0,6667	0	0,0010	29	8	4,36	0	0,47	0,0442	0,1488	BA-026	N
Oder	14	9	0,8056	3	0,0032	14	9	5,09	0	0,61	0,0360	0,1024	BA-027	N
Oker	11	9	0,9722	3	0,0073	8	-	-	-	-	-	-	BA-028	U
Pfreimd	25	*	*	*	*	19	17	6,00	0	0,65	0,0222	0,0923	BA-038	U
Ruhr	34	10	0,8444	2	0,0065	28	14	6,00	2	0,61	0,0158	0,1225	BA-029	A
Rur	29	10	0,9778	4	0,0074	28	23	7,90	1	0,67	0,0126	0,1096	BA-030	U
Sieg	35	10	0,8667	3	0,0064	30	18	6,81	0	0,67	0,0123	0,1107	BA-031	U
Tauber	2	2	0,0000	0	0,0000	2	-	-	-	-	-	-	BA-032	U
Weser	2	2	1,0000	1	0,0030	-	-	-	-	-	-	-	BA-033	N
Wupper	43	10	0,5111	1	0,0047	30	11	4,81	4	0,62	0,0194	0,1482	BA-034	V
Wurm	41	10	0,8667	3	0,0041	26	19	8,09	1	0,69	0,0141	0,0936	BA-035	N
Würm	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	U
Zschopau	5	4	0,0000	0	0,0000	1	-	-	-	-	-	-	BA-036	V
Summe (N)	1003	312	-	45	-	809	-	-	32	-	-	-	-	-
Mittelwert	-	-	0,6841	-	0,0042	-	14,41	6,24	1,1	0,66	0,0169	0,1172	-	-
CV%	-	-	43	-	59	-	32	23	123	8	54	16	-	-

5.2.1. Forensische Abstriche zur DNA-Gewinnung

Die mit dem nexttec™ 1^{Step} cleanColumns-Kit (Biozym Scientific GmbH) extrahierte DNA aus Abstrichen wies bei korrekter Entnahme und Lagerung der Proben eine vergleichbar gute Qualität mit der klassischen Phenol-Chloroform-Extraktion gewonnenen DNA aus Muskelgewebe auf. Bei Proben, die offenkundig zu lange feucht gelagert oder nicht vollständig getrocknet wurden, zeigte die DNA dagegen teilweise stark degradierte bzw. sehr geringe Mengen an hochmolekularer DNA. Die ermittelten DNA Mengen lagen größtenteils bei 1-10µg Gesamt-DNA, was für die durchzuführenden PCR-Reaktionen innerhalb der vorliegenden Studie mehr als ausreichend war (pro PCR Reaktion wurden nur ca. 10-20ng DNA benötigt). Die gleichzeitige Entnahme von Maulhöhlen- und Körperabstrichen vom selben Individuum erhöhte die Erfolgsquote einer positiven Amplifikation des nukleären Markers Ca1 von ca. 77% (nur Maulhöhlenabstriche) auf ca. 96%.

5.2.2. mtDNA Sequenzanalyse

In einer Pilotstudie wurden zunächst für 38 zufällig ausgewählte Barben aus 4 verschiedenen Flussgebietseinheiten (FGEs) sowohl Teile des Cytochrom-*b* Gens (*cob*) und der Kontrollregion (CR) analysiert. Dabei stellte sich heraus, dass die Kontrollregion mit 17 verschiedenen Haplotypen eine signifikant höhere Diversität gegenüber *cob* mit nur 6 Haplotypen aufwies. Diese 6 *cob* Haplotypen konnten mit den Haplotypen h1, h3, h5 und h10 alle der danubischen *Barbus* Linie II (Kotlik & Berrebi 2001) zugeordnet werden. Ein Haplotyp (h3) mit 3 Individuen aus der Bode war dabei auf 809bp identisch zu einem Haplotyp von *B. barbus borysthenicus* (GenBank Acc.Nr. AY331025) aus dem Südl. Bug (Ukraine). *B. b. borysthenicus* ist eine eher seltene Unterart, die vorwiegend im Dnjepr, der Memel, Dnjestr, dem Südlichen Bug und seinen Nebenflüssen zu finden ist (Banarescu et al. 2003, Kotlik et al. 2004). Da jedoch in *B. b. borysthenicus* ebenfalls *cob* Haplotypen der Unterart *B. b. barbus* aus der Thaya (Tschechien) zu finden sind, werden beide Unterarten als paraphyletisch angesehen (Kotlik & Berrebi 2001, Kotlik et al. 2004).

Aufgrund der beobachteten höheren Diversität in der Kontrollregion wurde für die 312 Individuen aus 36 Populationen und 6 FGEs nur dieser Marker genutzt, um die mitochondriale Diversität zwischen und innerhalb der Barben-Populationen in Deutschland abzuschätzen. Insgesamt konnten in diesem mtDNA Datensatz 59 Haplotypen identifiziert werden (siehe Abb. 5).

Die Haplotypendiversität (H_d) ist dabei in den FGEs Maas (0,9263) und Weser (0,9210) am höchsten und in den FGEs Donau (0,7746) und Elbe (0,7423) am niedrigsten (vgl. Tabelle 5). In einer weniger umfangreichen Studie (59 Individuen) zwischen Barben-Populationen aus dem süddeutschen Raum, Österreich und der Schweiz (Einzugsgebiete von Rhein und Donau) wurde hingegen im Donau Einzugsgebiet eine höhere Haplotypendiversität gefunden als im Rhein (Lehmann 2006). Dabei ist anzumerken, dass die Anzahl untersuchter Individuen mit 39 in der Donau und 143 im Rhein in der vorliegenden Studie weniger ähnlich ist als in der Vergleichsstudie. Insgesamt ist die Haplotypendiversität pro FGE gesehen im Vergleich zu anderen Fischarten wie Bachforelle (Schmidt et al. 2015) oder Karpfen (Kohlmann et al. 2003)

relativ hoch. Die Haplotypdiversität innerhalb der Populationen zeigt eine wesentlich größere Streuung mit Werten von 0,000 (Chemnitz, Erft) für Populationen, die nur einen Haplotyp aufwiesen, und 0,9778 (Elbe-3, Rur) für Populationen, die mit jeweils 4 privaten Haplotypen relativ stark differenziert waren (Abb. 6 und Tab. 5).

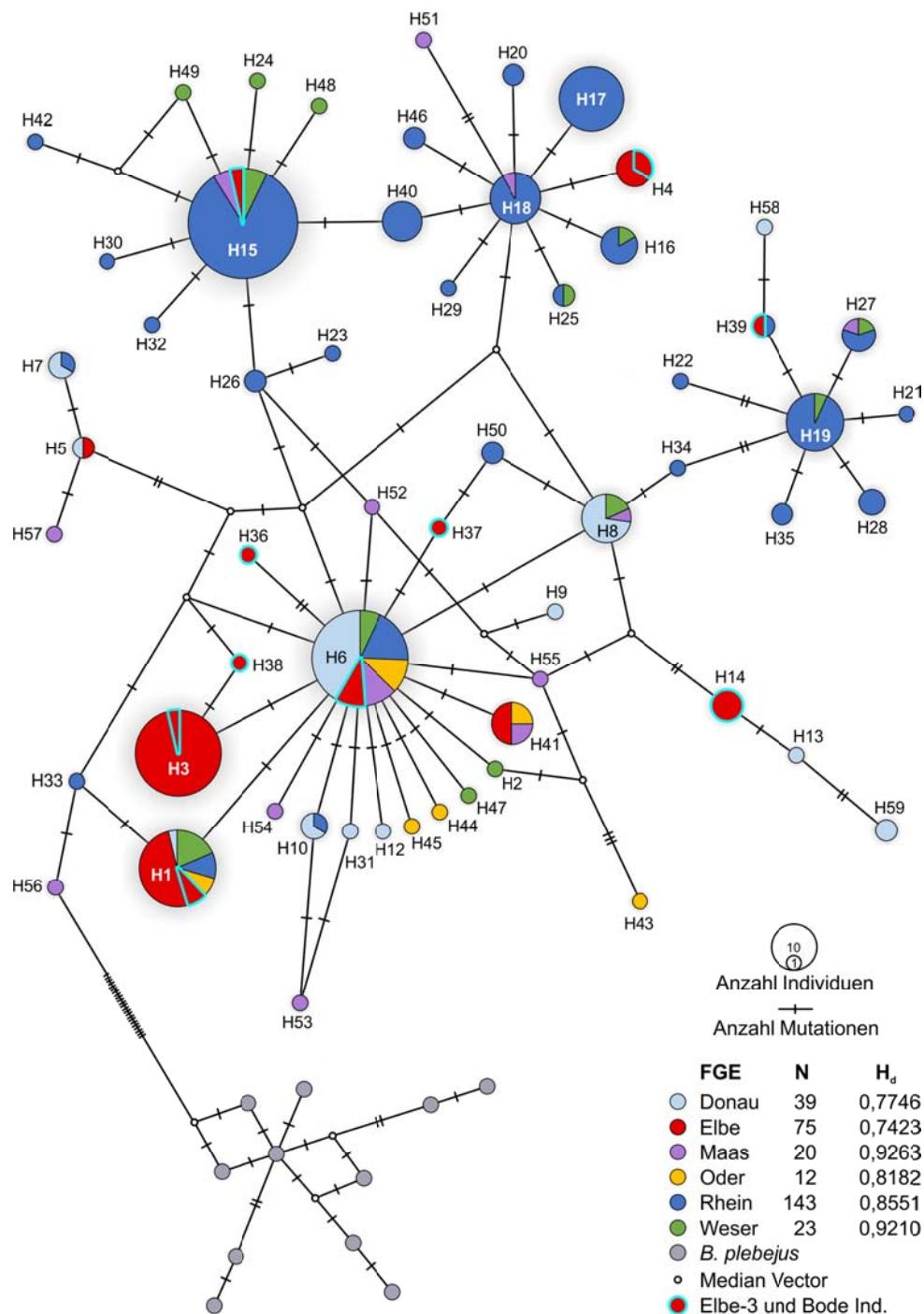
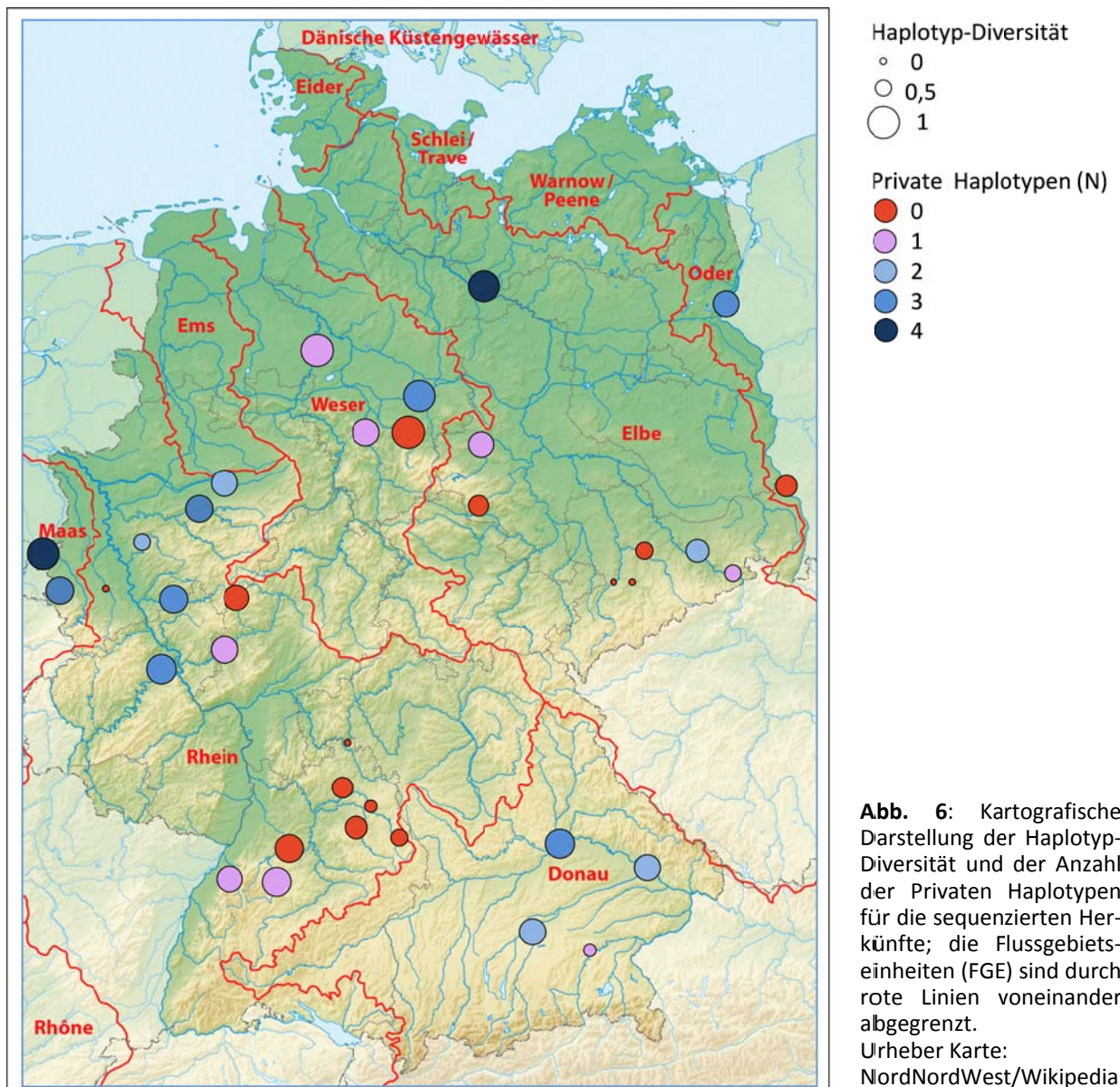


Abb. 5: Median-Joining Haplotypen Netzwerk bestehend aus den 59 Haplotypen der mitochondrialen Kontrollregion (685-687bp), welche in den 36 untersuchten Barben-Populationen aus 6 verschiedenen Flussgebietseinheiten (FGE) detektiert wurden. Jeder Kreis repräsentiert einen unterschiedlichen Haplotyp, wobei die Größe des Kreises proportional zur Haplotyp-Frequenz ist. Die Farbe der Kreise ist nach der Zugehörigkeit der Haplotypen zu einem FGE kodiert. Die Anzahl an Querlinien auf den Verbindungen zwischen den Haplotypen zeigt die Mutationsschritte zwischen den einzelnen Haplotypen an. Die Haplotypen von *B. plebejus* (in grau) stellen die Außengruppe zu den *B. barbatus* Sequenzen dar. In der Legende ist neben den FGEs die entsprechende Anzahl der Individuen (N), die in die Analyse mit eingegangen sind, auch die jeweilige Haplotypdiversität (H_d) für die entsprechenden FGEs angegeben. Individuen der Elbe-Populationen 'Bode' und 'Elbe-3', welche eventuell durch Besatz überprägt wurden, sind gesondert dargestellt.

Trotz der Studie von Lehmann (2006) gibt es für *B. barbuis* bisher noch keinen Vergleichsdatensatz mit anderen CR Sequenzen. Für *B. plebejus* konnten in einer Studie an 91 Individuen insgesamt 11 Haplotypen gefunden werden, wobei die Haplotypdiversität der Populationen zwischen 0 und 0,8 lag (Livi et al. 2013). Basierend auf dem in Abb. 5 dargestellten Haplotypennetzwerk lässt sich keine deutliche phylogenetische Struktur in Form einer Aufspaltung von eindeutigen Linien erkennen. Es ist folglich davon auszugehen, dass alle getesteten Individuen der nach Kotlik & Berrebi (2001) definierten danubischen Linie II zuzuordnen sind. In einer Bayesschen Methode zur Schätzung von Stammbäumen konnte somit auch nur 1 Cluster (Haplotypen H19, H21, H22, H27, H28, H35, H39, H58) mit relativ hohen Unterstützungswerten (A-Priori Zugehörigkeitswahrscheinlichkeit = 0.92) gefunden werden (Daten nicht abgebildet). Dieser Cluster besteht vorwiegend aus Individuen aus dem Rheineinzugsgebiet und könnte somit auf eine zusätzliche Wiederbesiedelung des Rheins aus dem eiszeitlichen Refugium in Südfrankreich hindeuten (Kotlik & Berrebi 2001, Kotlik et al. 2004).



Der häufigste Haplotyp (H15) wurde 56-mal detektiert, kommt aber vorwiegend im Rheineinzugsgebiet vor. Der zweithäufigste Haplotyp (H6) mit 42 Individuen konnte dagegen in allen FGEs, der dritthäufigste Haplotyp (H3) mit 34 Individuen wiederum nur im FGE Elbe identifiziert werden.

Die höchste Anzahl privater Haplotypen bezogen auf FGEs wurde im Rhein (17) und die geringste Anzahl im Odereinzugsgebiet (3) gefunden. Im Verhältnis zur Anzahl der untersuchten Individuen konnten allerdings im FGE Maas die meisten (0,35) und im Elbeeinzugsgebiet die wenigsten (0,08) privaten Haplotypen detektiert werden.

Bezogen auf die FGEs ist die größte genetische Differenzierung zwischen dem Rhein- und dem Odereinzugsgebiet zu finden ($\varphi_{ST} = 0,3622$, siehe Tab. 6). Die geringste signifikante Differenzierung ($p < 0,05$) zeigt sich zwischen Elbe und Oder ($\varphi_{ST} = 0,0682$). Die teilweise sehr geringen φ_{ST} -Werte (z.B. Weser und Maas) deuten darauf hin, dass Individuen aus unterschiedlichen FGEs genetisch näher miteinander verwandt sind als innerhalb der FGEs. Dies wird z.B. auch im Haplotypen-Netzwerk (Abb. 5) ersichtlich, da sich die Haplotypen, welche den FGEs Weser und Maas zugeordnet werden können sehr stark über das gesamte Netzwerk verteilen und teilweise gemeinsame bzw. nahverwandte Haplotypen aufweisen.

Tabelle 6: Paarweise φ_{ST} -Werte (unterhalb der Diagonalen) und die entsprechenden p -Werte (oberhalb der Diagonalen) zwischen den Flussgebietseinheiten basierend auf den mitochondrialen Sequenzdaten (Kontrollregion) der untersuchten Barben Populationen. Signifikante φ_{ST} -Werte ($p < 0,05$) sind fett markiert.

	Donau	Elbe	Maas	Oder	Rhein	Weser
Donau		<0,001	0,054	0,137	<0,001	<0,001
Elbe	0,0887		<0,01	<0,05	<0,001	<0,001
Maas	0,0341	0,0963		0,067	<0,001	0,563
Oder	0,0301	0,0682	0,0508		<0,001	<0,05
Rhein	0,3195	0,3500	0,1734	0,3622		<0,001
Weser	0,1192	0,1448	0,0000	0,1253	0,1060	

Für die Untersuchung der genetischen Varianz und Differenzierung innerhalb und zwischen den untersuchten Populationen und FGEs wurde eine Analyse der molekularen Varianz (AMOVA) durchgeführt. Die Ergebnisse der AMOVA zeigten auf allen hierarchischen Ebenen (zwischen FGEs, zwischen Populationen innerhalb der FGEs, und innerhalb der Populationen) eine signifikante genetische Differenzierung (Tab. 7). Der Großteil der genetischen Variabilität wird allerdings durch die Varianz innerhalb der Populationen (65,93%) erklärt. Durch die Varianz zwischen den Populationen innerhalb der FGEs können dagegen nur 10,49% der Varianz erklärt werden. Die untersuchten Barbenpopulationen in Deutschland zeigen somit eine relativ große genetische Variation auf lokaler Ebene mit einer eingeschränkten Diversität zwischen Populationen. Die auf eine räumliche Struktur zurückzuführende Differenzierung zwischen den FGEs erklärt immerhin noch 23,58% der beobachteten Gesamtvarianz. Zusammenfassend sind demnach etwa 34% der detektierten mitochondrialen Varianz mit einer genetischen Differenzierung der Populationen zu begründen, die dabei vorwiegend auf die Ebene der Flussgebietseinheiten zurückführbar ist.

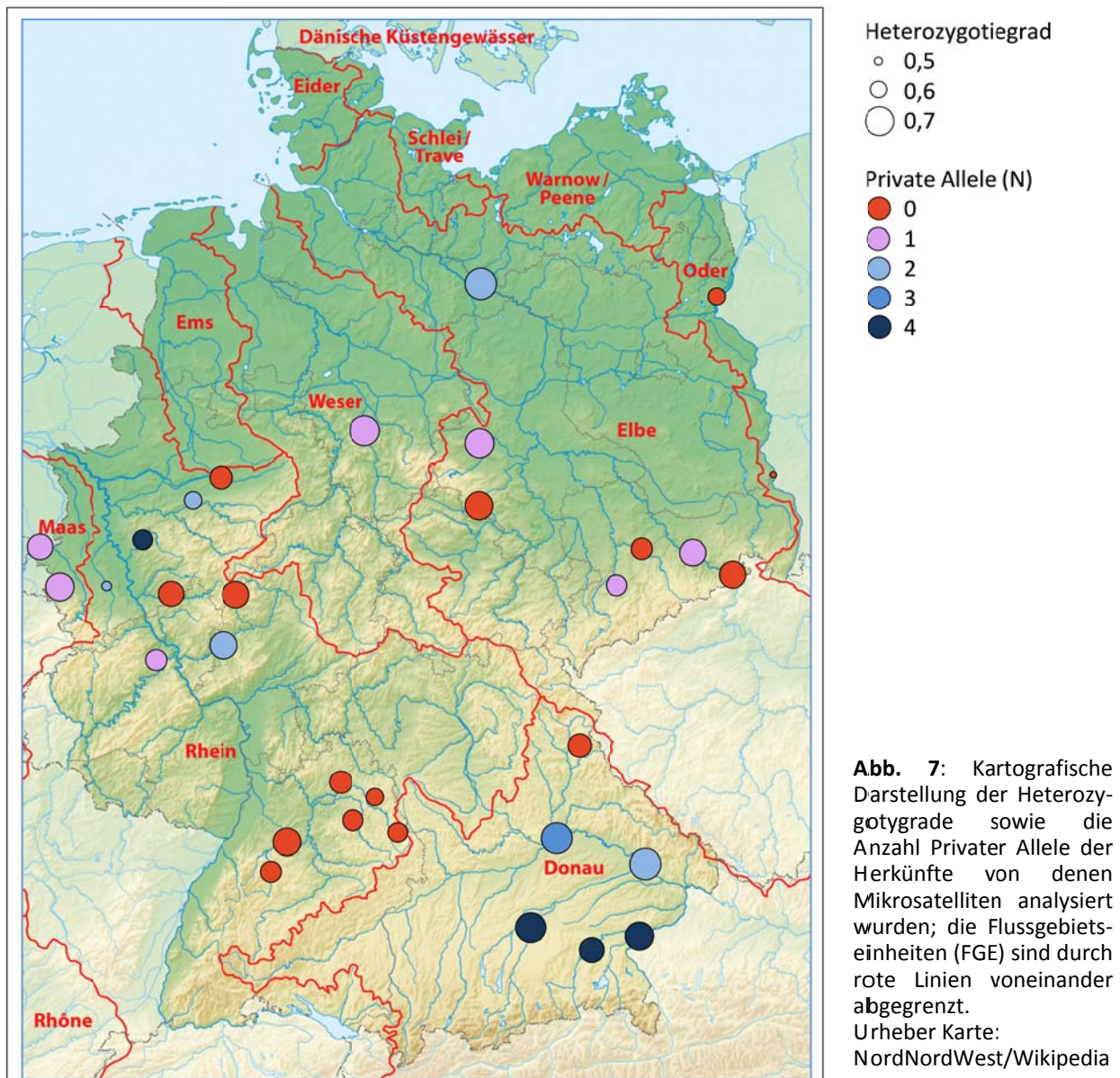
Tabelle 7: Ergebnisse der hierarchischen AMOVA (Analysis of Molecular Variance) für die mitochondrialen Sequenzdaten (Kontrollregion) gruppiert nach den untersuchten Barben Populationen und den entsprechenden sechs Flussgebietseinheiten (FGEs). Dargestellt sind die Freiheitsgrade (df), Summe der Quadrate (SSD), Varianzkomponenten (CV), Prozentanteil der Gesamtvarianz (% total), die Fixationsindices (FI) und deren Signifikanz (***: $p < 0,001$).

Genetische Variationen	df	SSD	CV	% total	FI
Zwischen FGEs	5	135,127	0,53143	23,58	$\varphi_{CT} = 0,23581^{***}$
Zwischen Populationen innerhalb der FGEs	30	105,354	0,23636	10,49	$\varphi_{SC} = 0,13724^{***}$
Innerhalb der Populationen	276	410,095	1,48585	65,93	$\varphi_{ST} = 0,34069^{***}$
Gesamt	311	650,576	2,25364		

Bezogen auf die Haplotypendiversität und –verteilung als auch die genetische Differenzierung ist jedoch anzumerken, dass z.B. die dem FGE Elbe zugeordneten Individuen mit dem zweithäufigsten Haplotyp (H6) nur aus den Populationen 'Bode' (3 Individuen) und 'Elbe-3' (1 Individuum) stammen. Diese beiden Populationen und im Speziellen die 'Bode' Population sind höchstwahrscheinlich durch einen Besatz im Jahr 1993 mit Barben aus dem FGE Donau (Isar) überprägt. Die Besatzstrecke war nach Informationen des Referats Fischerei des Landesverwaltungsamts Sachsen-Anhalt zum Besatzzeitpunkt weitgehend verödet und lag direkt oberhalb der 'Bode' Befischungstrecke. Durch die nachweisliche Vermehrung der Besatzindividuen (persönl. Mitteilung von Herrn Bernd Kammerad, Landesverwaltungsamt Sachsen-Anhalt, Ref. Fischerei) ist somit eine genetische Überprägung eventuell noch vorhandener autochthoner Individuen mit Haplotypen aus dem Donaeinzugsgebiet sehr wahrscheinlich. Die Drift von Besatzindividuen bzw. deren Nachkommen in die weiter stromabwärts gelegene Population 'Elbe-3' kann ebenfalls nicht ausgeschlossen werden. Dadurch kann gemutmaßt werden, dass die genetischen Daten für die Populationen 'Bode' und 'Elbe-3' verzerrt sind und die autochthone genetische Struktur durch die Besatzmaßnahmen mit genetischen Linien aus dem FGE Donau überprägt oder zumindest stark beeinflusst ist. Dies hätte ebenfalls zu Folge, dass bestimmte Haplotypen, die in obigen Analysen dem FGE Elbe zugesprochen werden (siehe Abb. 5), eigentlich dem FGE Donau zuzuordnen wären. Dadurch würde sich nicht nur die Haplotypendiversität des FGE Donau erhöhen, sondern die ohnehin geringste Haplotypendiversität des FGE Elbe deutlich verringern. Ebenfalls wäre eine deutlichere räumliche Differenzierung der Populationen zu erwarten. Dies zeigt, wie stark Besatzmaßnahmen die Ergebnisse und Aussagen von genetischen Analysen beeinflussen können.

5.2.3. Mikrosatellitenanalyse

Die Auswahl der Mikrosatelliten-Loci als geeignete Marker für die untersuchten Barben-Populationen in Deutschland wird durch die Variabilität im Polymorphismus der Marker deutlich. Die höchste maximale Allelzahl pro Population wurde für den Locus ‚Barb59‘ mit 26 Allelen in der Population ‚Donau2‘ gefunden; die kleinste maximale Allelzahl pro Population wurde für den Locus ‚Barbus 65‘ mit nur 1 Allel in den meisten Populationen detektiert. Der Locus ‚Barbus65‘ wurde daher auch als nicht-informativ gewertet (laut ‚Poppr‘ package v. 2.1.0) und aus den weiteren Analysen ausgeschlossen. Die mittleren Allelzahlen pro Locus schwankten damit zwischen 2,06 für Locus ‚Barbus26‘ und 12,28 für Locus ‚Barb59‘. Die maximale Anzahl von nur 4 privaten Allelen in den Populationen ‚Große Vils‘, ‚Inn‘, ‚Murn‘ und ‚Wupper‘ lässt auf eine relativ geringe genetische Differenzierung zwischen den einzelnen Beständen schließen. So konnten in der Hälfte aller untersuchten Populationen keine privaten Allele detektiert werden (Abb. 7), wodurch die mittlere Anzahl privater Allele über alle Populationen hinweg mit 1,12 ebenfalls sehr gering ausfällt (Tab. 5).



Die in der vorliegenden Studie ermittelte durchschnittliche Heterozygotierate ($\bar{H}_{EC} = 0,656$) über alle untersuchten Populationen hinweg ist im Vergleich zu anderen Mikrosatelliten-Studien an Wild- und Zuchtfischpopulationen in Deutschland (vgl. AGRDEU - Fachdatenbank für Aquatische Genetische Ressourcen, <http://agrdeu.genres.de/agrdeu>) als durchschnittlich zu werten. Der erwartete Heterozygotiegrad (H_{EC}) schwankt innerhalb der 32 untersuchten Barben-Populationen zwischen 0,4700 (Neiße) und 0,7239 (Elbe3) und zeigt somit deutliche Unterschiede in der genetischen Diversität innerhalb der Populationen (Abb. 7 und Tab. 5). Die um bis zu 65% geringeren H_{EC} Werte für die Populationen 'Neiße' (0,4700) und 'Erft' (0,5292) können daher auf eine geringere effektive Populationsgröße durch z.B. zurückliegende Flaschenhals- oder Gründereffekte in diesen Populationen hindeuten.

Die genetische Differenzierung zwischen den Populationen und FGEs wurde in der vorliegenden Studie zum einen auf Basis des tetraploiden Datensatzes über G_{ST} -Werte und auf Basis einer aus diesem tetraploiden Datensatz transformierten Binärmatrix über φ_{ST} -Werte berechnet (siehe Kapitel 4.5.2.). Für die φ_{ST} -Werte konnte über Permutationstest die Signifikanz der ermittelten Werte bestimmt werden. Die berechneten G_{ST} -Werte zwischen den FGEs sind relativ gering (siehe Tab. 8). Sie liegen zwischen 0,0094 für die Differenzierung zwischen Maas und Rhein und 0,0848 für die Differenzierung zwischen Oder und Weser. Die φ_{ST} -Werte zwischen den FGEs schwanken zwischen 0,0304 für die Differenzierung zwischen Maas und Donau und 0,2214 für die Differenzierung zwischen Oder und Weser. Da der φ_{ST} -Wert zwischen Maas und Rhein mit 0,0344 ähnlich gering ist wie zwischen Maas und Donau zeigen beide genetischen Differenzierungsmaße ein ähnliches Muster. Die Interpretation der G_{ST} und φ_{ST} -Werte erfolgt häufig analog zu Wright's F -Statistik (Wright 1978), wobei Werte zwischen 0,05 und 0,15 als mäßige, oberhalb davon als hohe und unterhalb als geringe genetische Differenzierung zwischen den Populationen bewertet werden. Wenn man dieser Interpretation folgt, dann sind die untersuchten Barben-Populationen in Deutschland vorwiegend mäßig stark differenziert (basierend auf den φ_{ST} -Werten). Neuere Studien legen aber nahe, dass man diese Interpretation nur sehr eingeschränkt anwenden kann (vgl. Jost 2008 und Whitlock 2011). So kann G_{ST} z.B. in einem Datensatz mit mehr als zwei Allelen pro Locus nie den Maximalwert von 1,0 erreichen, selbst wenn keine Allele zwischen den zwei Populationen geteilt werden, solange es nur etwas Heterozygotie innerhalb der Populationen gibt. Je höher die Heterozygotie innerhalb der Populationen, desto geringer wird auch G_{ST} . Für Mikrosatelliten-Studien liegt der maximale G_{ST} -Wert daher häufig bei 0,1-0,2.

Es ist daher ratsamer, nur die relativen Verhältnisse der G_{ST} und φ_{ST} -Werte zueinander innerhalb des jeweiligen Datensatzes zu betrachten. Dabei fällt auf, dass das FGE Oder am stärksten von allen anderen FGEs differenziert ist (siehe Tab. 8), gefolgt von Rhein und Elbe ($G_{ST} = 0,0384$; $\varphi_{ST} = 0,1488$). Die hohe Differenzierung des FGE Oder zu allen anderen FGEs ist auf die relativ hohe genetische Differenzierung der Population 'Neiße' zu allen anderen untersuchten Populationen zurückzuführen. Alle ermittelten höchsten G_{ST} -Werte sind zwischen dieser Population sowie einer anderen Population zu finden; bis auf die Population 'Oder', welche einen vergleichsweise geringen G_{ST} -Wert (0,0442) zur 'Neiße' Population aufweist (siehe Tabelle A3 im Anhang). Die ermittelten G_{ST} -Werte zwischen den Populationen liegen im gesamten Datensatz zwischen 0,0084 für die Differenzierung zwischen 'Bode' und 'Donau2' und

0,1488 für die Differenzierung zwischen 'Neiße' und 'Helme'. Die häufigsten niedrigen G_{ST} -Werte zwischen zwei Populationen konnten mit jeweils 5 Fällen für die 'Donau2' und die 'Sieg' Population identifiziert werden.

Tabelle 8: Paarweise G_{ST} (unterhalb der Diagonalen) und φ_{ST} -Werte (oberhalb der Diagonalen) zwischen den Flussgebietseinheiten basierend auf den Allelfrequenzen (G_{ST}) oder einer Binärmatrix (φ_{ST}) der Mikrosatelliten-Daten der untersuchten Barben-Populationen in Deutschland. Signifikante φ_{ST} -Werte ($p < 0,001$) sind fett markiert.

	Donau	Elbe	Maas	Oder	Rhein	Weser
Donau		0,0615	0,0304	0,1390	0,0876	0,0554
Elbe	0,0130		0,0915	0,2037	0,1488	0,0671
Maas	0,0121	0,0280		0,1741	0,0344	0,0408
Oder	0,0650	0,0833	0,0741		0,1857	0,2214
Rhein	0,0214	0,0384	0,0094	0,0812		0,0599
Weser	0,0123	0,0195	0,0105	0,0848	0,0108	

Für die Mikrosatelliten-Daten wurde analog zu den mitochondrialen Sequenzdaten eine Analyse der molekularen Varianz (AMOVA) durchgeführt, um die genetische Varianz und Differenzierung innerhalb und zwischen den untersuchten Populationen und FGEs zu ermitteln. Die Ergebnisse der AMOVA für die Mikrosatelliten-Daten zeigten wie auch schon für die mtDNA Daten auf allen hierarchischen Ebenen (zwischen FGEs, zwischen Populationen innerhalb der FGEs, und innerhalb der Populationen) eine signifikante genetische Differenzierung (Tab. 9). Ähnlich zu den mtDNA Daten wird der Großteil der genetischen Variabilität durch die Varianz innerhalb der Populationen (84,56%) erklärt. Durch die Varianz zwischen den Populationen innerhalb der FGEs können nur 6,23% der Varianz erklärt werden. Die auf eine räumliche Struktur zurückzuführende Differenzierung zwischen den FGEs erklärt nur 9,21% der beobachteten Gesamtvarianz. Im Vergleich wurden bei der mtDNA Analyse immerhin noch 23,58% durch die Varianz zwischen den FGEs erklärt. Die Ergebnisse der auf Basis von Lynch Distanzen berechneten AMOVA (siehe Tab. A4 im Anhang) sind mit den Ergebnissen der AMOVA auf Basis der Binärdaten (Tab. 9.) vergleichbar und unterstreichen ihre Aussagefähigkeit.

Tabelle 9: Ergebnisse der hierarchischen AMOVA (Analysis of Molecular Variance) für die Mikrosatelliten-Daten basierend auf binären Allelindikatoren. Die Individuen wurden nach ihren Populationen und nach den sechs Flussgebietseinheiten (FGEs) gruppiert. Dargestellt sind die Freiheitsgrade (df), Summe der Quadrate (SSD), Varianzkomponenten (CV), Prozentanteil der Gesamtvarianz (% total), die Fixationsindices (FI) und deren Signifikanz (***: $p < 0,001$).

Genetische Variationen	df	SSD	CV	% total	FI
Zwischen FGEs	5	672,657	0,95099	9,21	$\varphi_{CT} = 0,09212^{***}$
Zwischen Populationen innerhalb der FGEs	26	627,275	0,64350	6,23	$\varphi_{SC} = 0,06866^{***}$
Innerhalb der Populationen	751	6555,749	8,72936	84,56	$\varphi_{ST} = 0,15445^{***}$
Gesamt	782	7855,681	10,32384		

Für die Analyse der räumlichen genetischen Struktur der untersuchten Barben-Populationen wurde eine Hauptkoordinaten-Analyse durchgeführt. In Abb. 8 ist die Beziehung der Populationen zueinander basierend auf ihren paarweisen genetischen Distanzen nach Nei (Nei 1972, 1978) dargestellt, wobei der tetraploide Allel-Datensatz genutzt wurde (siehe Kapitel 4.5.2.).

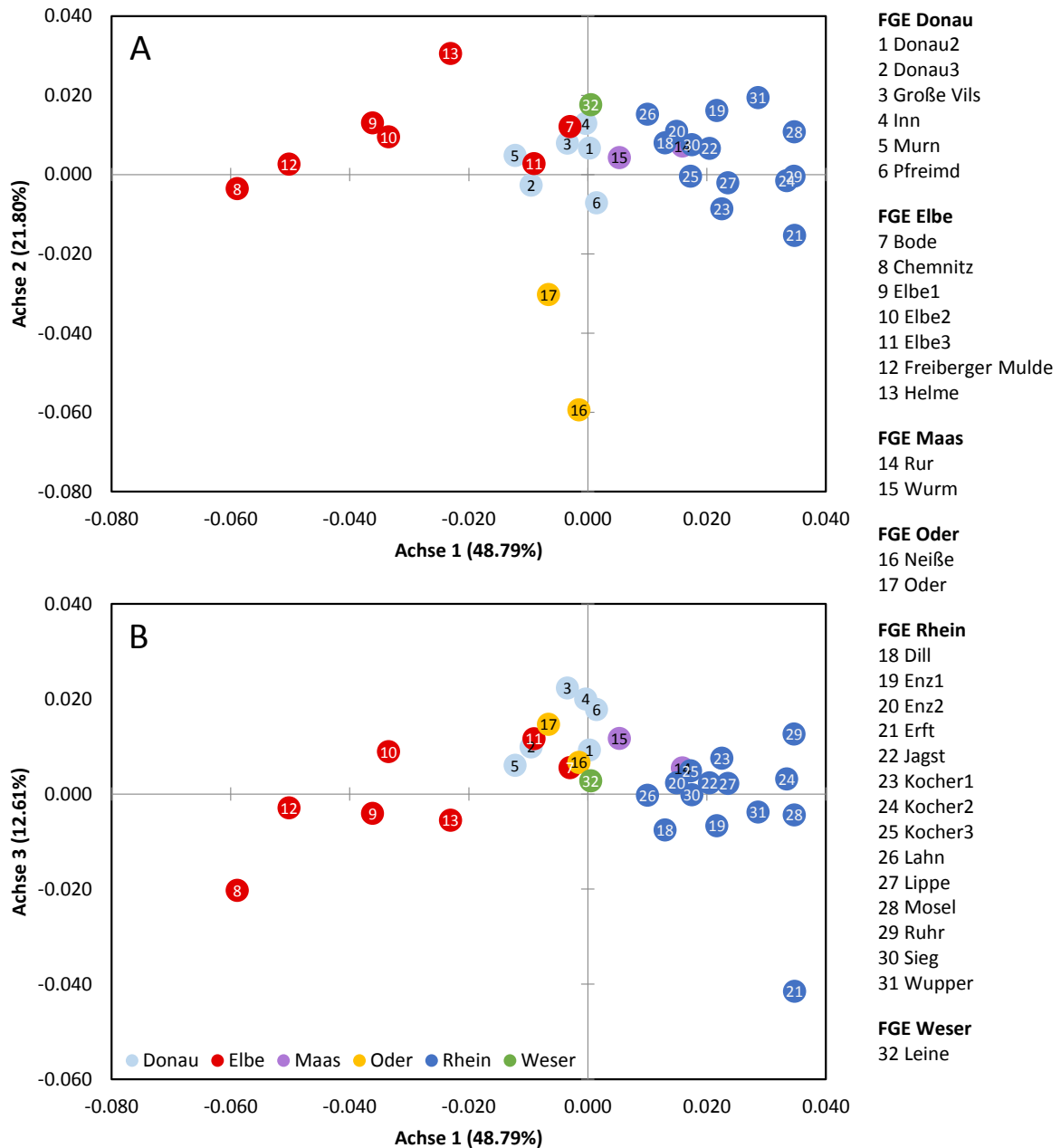


Abb. 8: Hauptkoordinaten-Analyse der 32 Barben-Populationen aus den Flussgebietseinheiten Donau (hellblau), Elbe (rot), Maas (lila), Oder (orange), Rhein (dunkelblau) und Weser (grün) auf Basis ihrer Nei Distanzen unter Verwendung des tetraploiden Allel-Datensatzes. (A) Hauptkoordinate 1 gegen Hauptkoordinate 2, (B) Hauptkoordinate 1 gegen Hauptkoordinate 3. Diese drei Achsen erklären zusammen 83,2% der Gesamtvariation im Datensatz.

Die ersten drei Hauptachsen auf Basis der Eigenwerte („Eigenvalues“) 1, 2 und 3 erklären zusammen 83,2% der Gesamtvariation im Datensatz, wobei 48,79% auf die erste Achse entfallen. Wie in Abbildung 8 ersichtlich wird kann man keine eindeutige Trennung der Populationen nach ihrer Zugehörigkeit zu den entsprechenden FGEs erkennen. Die

Populationen des Rheineinzugsgebiets zeigen dabei die klarste Gruppierung mit relativ wenig Streuung, allerdings gruppiert sich die Population 'Rur' aus dem Maaseinzugsgebiet mit in dieses Cluster. Die Populationen der Elbe gruppieren ebenfalls etwas abseits und sind eindeutig von den Rheinpopulationen getrennt, weisen aber eine vergleichsweise hohe Streuung auf und zeigen zwei Populationen ('Bode' und 'Elbe3'), die mit den Populationen des Donaueinzugsgebiets gruppieren. Wie bereits in Kapitel 5.2.2 erwähnt handelt es sich hierbei jedoch um Populationen, deren genetische Struktur höchstwahrscheinlich durch einen Besatz mit Donau-Barben stark beeinflusst wurde. Die räumliche Nähe dieser beiden Populationen zu Populationen des Donaueinzugsgebiets innerhalb der Hauptkoordinaten-Analyse ist daher schlüssig und bekräftigt die Annahme ihrer genetischen Überprägung.

Die Populationen des Donaueinzugsgebiets finden sich alle nahe am Zentrum der Hauptkoordinaten-Analyse und weisen in den ersten drei Achsen eine relativ geringe Streuung auf, was eine enge Verwandtschaft andeutet. Die beiden Populationen 'Neiße' und 'Oder' aus dem Odereinzugsgebiet gruppieren in den ersten beiden Achsen (Abb. 8 A) getrennt von den anderen Populationen, was ebenfalls auf eine Differenzierung der Populationen dieser FGE zu Populationen der anderen FGEs hindeutet. Die 'Leine' Population aus dem Wesereinzugsgebiet gruppiert dagegen in den ersten drei Hauptachsen sehr nah mit den Populationen aus dem Donaueinzugsgebiet und deutet somit auf eine nahe Verwandtschaft hin. Die Ergebnisse der Hauptkoordinaten-Analyse auf Basis der Nei Distanzen für den Binärdatensatz (siehe Kapitel 4.5.2., Abb. A1 im Anhang) zeigen eine vergleichbare Gruppierung und Trennung der Populationen.

Unter Verwendung der Binärdatenmatrix wurde zusätzlich eine individuenbasierte Hauptkoordinaten-Analyse erstellt. Übereinstimmend mit der Hauptkoordinaten-Analyse auf Populationsebene kann man auch hier keine eindeutige Trennung der Individuen und Populationen nach den Flussgebietseinheiten erkennen (siehe Abb. 9). Vielmehr ist eine deutliche Überlappung zwischen Barben unterschiedlicher Populationen und FGEs erkennbar. Dementsprechend wird durch die ersten drei Achsen zusammen auch nur 16,57% der Gesamtvariation im Datensatz erklärt, wobei 8,32% auf die erste Achse entfallen. Wie aus der Punktwolke in Abb. 9 erkennbar gibt es keine Populationen, die mit ihren Individuen völlig isoliert gruppieren. Die meisten Individuen der Populationen aus dem Rheineinzugsgebiet gruppieren allerdings in den beiden linksseitigen Quadranten, wobei die meisten Individuen der Populationen aus dem Elbeeinzugsgebiet in den beiden rechtsseitigen Quadranten clustern (Abb. 9). Dies deutet auf eine deutliche Differenzierung zwischen den Elbe und Rhein-Populationen hin. Wie auch schon in der Hauptkoordinaten-Analyse auf Populationsebene (Abb. 8) gruppieren die meisten Individuen der beiden Populationen 'Neiße' und 'Oder' aus dem Odereinzugsgebiet in den ersten beiden Achsen (Abb. 9 A) etwas getrennt von den anderen Populationen. Die Individuen aus den Populationen des Donaueinzugsgebiets finden sich erneut nahe am Zentrum der Hauptkoordinaten-Analyse, weisen aber eine stärkere Streuung auf, als in der Hauptkoordinaten-Analyse auf Populationsebene erkennbar war. So zeigen z.B. Individuen aus der Population 'Große Vils' Überlappungen mit Populationen aus dem Elbe- als auch Rheineinzugsgebiet. Die Werte für die Individuen aus dem Maas- und

Wesereinzugsgebiet weisen ebenfalls eine relativ große Streuung auf, sind aber am ehesten noch von den Populationen des Elbeeinzugsgebiets getrennt.

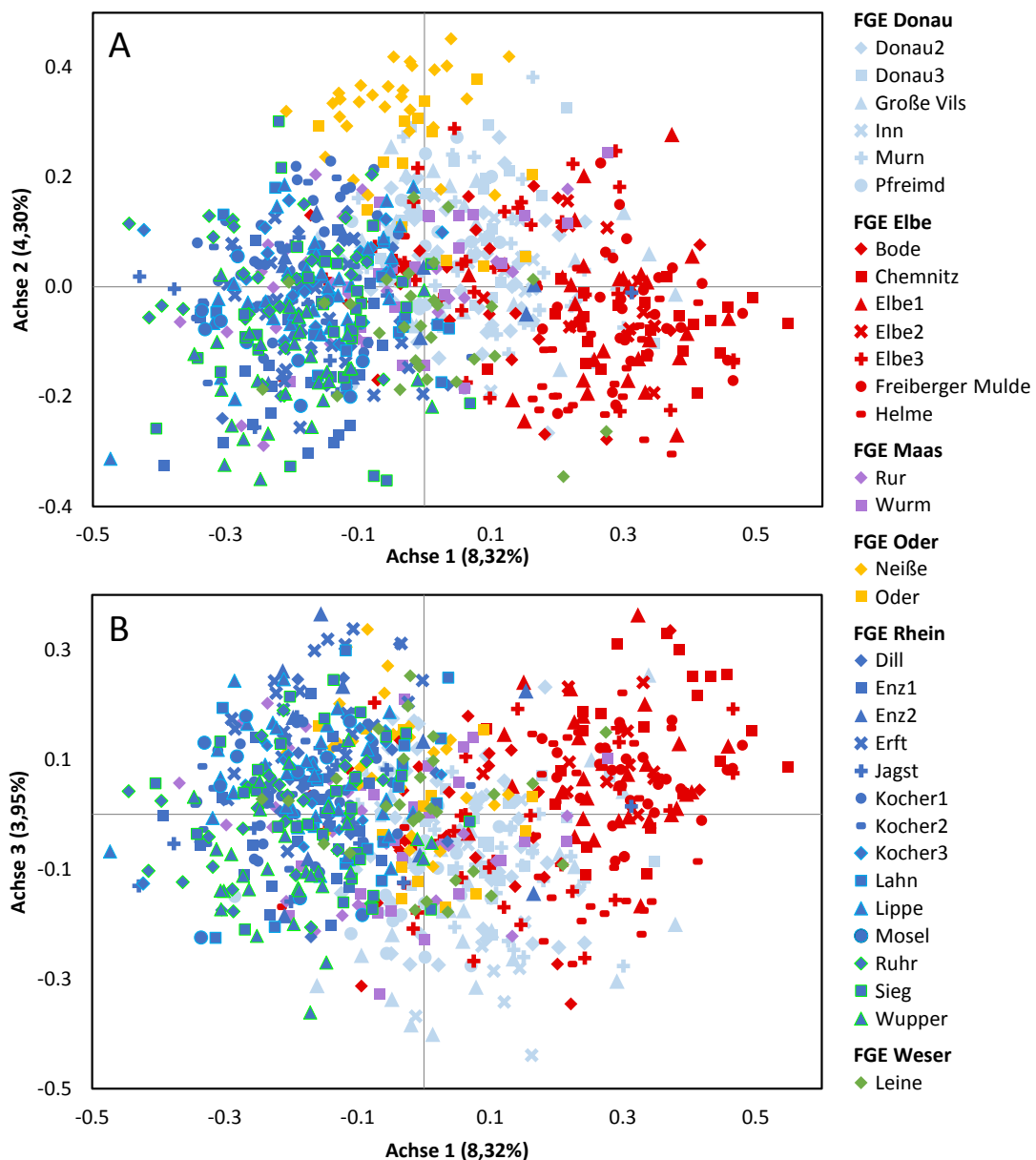


Abb. 9: Individuenbasierte Hauptkoordinaten-Analyse der 32 Barben-Populationen aus den Flussgebietseinheiten Donau (hellblau), Elbe (rot), Maas (lila), Oder (orange), Rhein (dunkelblau) und Weser (grün) auf Basis ihrer binären Distanzen. (A) Hauptkoordinate 1 gegen Hauptkoordinate 2, (B) Hauptkoordinate 1 gegen Hauptkoordinate 3. Diese drei Achsen erklären zusammen 16,57% der Gesamtvariation im Datensatz.

Die ‚Structure‘ Analyse zur Ermittlung der Anzahl der sich genetisch unterscheidenden Gruppen (K) ergab basierend auf dem größten Wert für die abgeschätzte Log-Likelihood Wahrscheinlichkeit eine Anzahl von 4 Clustern, welche die genetischen Muster im untersuchten Datensatz für die Barben Populationen Deutschlands am besten erklären. Basierend auf der Evanno Methode (Evanno et al. 2005) wurden hingegen 5 Cluster als am wahrscheinlichsten betrachtet. Der Vergleich der Ergebnisse für beide Clusteranalysen mit 4 oder 5 Gruppen zeigte aber keine deutlichen Unterschiede, weshalb das sparsamste Model mit nur 4 Gruppen als höchstwahrscheinlich angesehen werden kann.

Wie in Abb. 10 zu sehen ist, gibt es basierend auf der Admixture-Analyse (mit $K = 4$) keine Population, die nur einer einzelnen Gruppe zugeordnet werden kann. Die Populationen des Rheineinzugsgebiets sind vorwiegend Cluster 2 (Dunkelblau, Abb. 10) zugeordnet, wobei die Populationen 'Dill', 'Enz2', 'Lahn', 'Lippe' und 'Sieg' etwa 10-40% Durchmischung mit Cluster 1 und 3 zeigen. Bis auf die Populationen 'Bode' und 'Elbe3' zeigen die Individuen aus dem Elbeeinzugsgebiet eine vorwiegende Gruppierung zu Cluster 1 (Rot, Abb. 10). Die Individuen der Populationen 'Bode' und 'Elbe3' wurden hingegen alle deutlich mehreren Clustern zugeordnet (vorwiegend Cluster 1-3), was auf einen Genfluss zwischen Populationen aus unterschiedlichen genetischen Clustern hindeutet. Sie zeigen damit ein ähnliches Muster wie die Populationen aus dem Donaueinzugsgebiet (siehe unten) mit einer etwas stärkeren Einkreuzung des genetischen Clusters 1, dem vorwiegend Individuen aus dem Elbeeinzugsgebiet zugeordnet werden.

Die Individuen der 'Leine' Population aus dem Wesereinzugsgebiet zeigen ebenfalls keine eindeutige Gruppierung zu einem einzelnen Cluster, sondern eine Durchmischung von Cluster 1 und Cluster 2. Die Individuen aus dem Odereinzugsgebiet werden überwiegend dem Cluster 4 (Orange, Abb. 10) zugeordnet, wobei die Individuen der Population 'Oder' eine etwa 20-40%ige Durchmischung mit den anderen 3 Clustern aufweisen. Die Populationen/Individuen aus dem Donaueinzugsgebiet werden vorwiegend dem Cluster 3 (Hellblau, Abb. 10) zugeordnet, zeigen aber interessanterweise alle einen gewissen Grad der Durchmischung mit den anderen 3 Clustern. Dies deutet entweder auf einen Genfluss zwischen den Clustern in Richtung Donaueinzugsgebiet hin, oder könnte einen Hinweis auf die postglaziale Wiederbesiedlung der anderen FGEs aus dem Donaueinzugsgebiet geben.

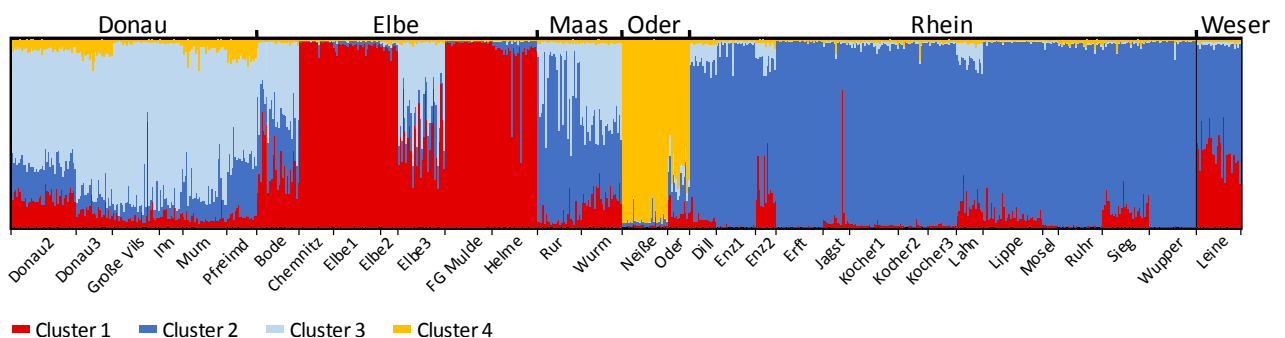


Abb. 10: Graphische Darstellung der STRUCTURE-Analyse unter Annahme eines Admixture Modells. Die Zuordnung der 783 untersuchten Individuen der Barbe aus 32 Populationen erfolgte zu 4 hypothetischen Clustern bzw. genetischen Linien (siehe Farbcodes). Jedes Individuum ist mit der entsprechenden Zuordnungswahrscheinlichkeit zu einer Gruppe als senkrechter Balken dargestellt. Die Individuen sind nach Herkunftspopulation (unterhalb der Abbildung) und Flussgebietseinheiten (oberhalb der Abbildung) geordnet.

6. Voraussichtliche Nutzung und Verwertbarkeit der Ergebnisse

6.1. Bewertung der untersuchten Populationen und Bestände der Barbe

Die erhobenen Daten zeigen, dass die Mikrosatelliten und die mtDNA Sequenzinformationen adäquat sind, um die genetische Diversität der Barbe zu analysieren. Prinzipiell bleibt jedoch zu diskutieren, ob Marker wie die hier zur Verfügung stehenden Mikrosatelliten-Loci generell die beste Wahl für allotetraploide Arten wie die Barbe sind, weil teilweise nur eingeschränkte Analysen möglich sind. Generell sollten auch neuere Marker wie z.B. SNP-Analysen oder Restriktionsstellen-assoziierte DNA-Sequenzierungen (RAD-seq) für die hier getesteten Fragestellungen überprüft werden.

Der Vergleich zwischen den mtDNA und Mikrosatelliten Daten ergab, dass die mitochondriellen Daten und die Mikrosatelliten basierend auf Haplotypendiversität vs. erwarteter Heterozygotie (siehe Abb. A2A im Anhang) relativ gut korrelieren. Das bedeutet, dass zumindest für die Barbe reduzierte Datensätze basierend nur auf mitochondrieller Information schnell evolvierender Marker wie die Kontrollregion genutzt werden können, um auch die nukleäre Diversität (natürlich mit einem relativ großen Fehler) abzuschätzen. Die Korrelation bezüglich der genetischen Differenzierung (G_{ST} -Werten) ist jedoch wesentlich schlechter (siehe Abb. A2A im Anhang) und entsprechend können mitochondrielle Datensätze nur sehr eingeschränkt genutzt werden, um auch die nukleäre Differenzierung der Barben abzuschätzen.

Insgesamt kann festgestellt werden, dass die vorliegenden Markersysteme eine ausreichende Auflösung gezeigt haben und eine relativ hohe genetische Diversität der Barbe dokumentieren konnten. Zudem ist die Auflösung ausreichend, um Populationen mit hoher bzw. niedriger genetischer Diversität zu identifizieren, bzw. die genetischen Differenzierungen der Populationen zu analysieren.

Genetische Diversität

Insgesamt ist die Haplotypenvielfalt mit 59 identifizierten Haplotypen im Vergleich zu anderen großräumig untersuchten Fischarten wie Bachforelle (28 Haplotypen, Schmidt et al. 2015) oder Karpfen (10 Haplotypen, Kohlmann et al. 2003) vergleichsweise hoch. Dennoch besitzen nur wenige Populationen mehr als drei und fast die Hälfte der Populationen keine privaten Haplotypen. Aufgrund des Haplotypennetzwerks (Abb. 5) lässt sich keine eindeutige Aufspaltung genetischer Hauptlinien in einzelne FGEs erkennen. Entsprechend liegt es nahe, dass alle untersuchten Populationen einer genetischen Linie zuzuordnen sind, wobei das Donaueinzugsgebiet als Hauptquelle der postglazialen Wiederbesiedlung Europas identifiziert wurde (Kotlik & Berrebi 2001, Kotlik et al. 2004).

Die Haplotypendiversität (H_d) ist in den FGEs Maas und Weser (0,9210) am höchsten und in den FGEs Donau und Elbe (0,7423) am niedrigsten. Interessanterweise zeigt die Haplotypendiversität innerhalb der Populationen eine sehr große Streuung; mit niedrigen H_d -Werten für Populationen, die analog dazu keinen oder nur einen einzigen privaten Haplotyp aufwiesen; und Populationen, die mit jeweils 4 privaten Haplotypen eine relativ hohe

Haplotypendiversität besitzen. Die höchste Anzahl privater Haplotypen bezogen auf FGEs wurde im Rhein (17) und die geringste Anzahl im Odereinzugsgebiet (3) gefunden. Im Verhältnis zur Anzahl der untersuchten Individuen konnten allerdings im FGE Maas die meisten (0,35) und im Elbeeinzugsgebiet die wenigsten (0,08) privaten Haplotypen detektiert werden.

Die Populationen mit der geringsten mitochondrialen genetischen Diversität (H_d) sind 'Chemnitz', 'Erft', 'Neiße', 'Tauber' und 'Zschopau', was z.B. entweder auf einen Initialbesatz mit wenigen Individuen bzw. den Besatz mit erbrüteten Nachkommen nur eines weiblichen Elterntieres schließen lässt. Eine Möglichkeit einer nicht anthropogen verursachten geringen Haplotypendiversität wären z.B. Flaschenhals- oder Gründereffekte während der Besiedlung, was zumindest für die 'Neiße' anzunehmen ist. Im Fall der 'Chemnitz' und 'Zschopau' lässt sich die geringe mitochondriale Diversität eher auf den Initialbesatz in den 1990er Jahren zurückführen. Diese Populationen wie auch die Populationen 'Kocher1 und -2', 'Oder' und 'Wupper' befinden sich zwar am unteren Bereich der mitochondrialen genetischen Diversität im Vergleich aller untersuchten Populationen, müssen aber dennoch nicht als gefährdet eingestuft werden.

Die Populationen mit der höchsten mitochondrialen Diversität sind 'Elbe3', 'Donau2', 'Mosel', 'Oker' und 'Rur'. Die beobachtete hohe Haplotypendiversität der 'Elbe3' Population könnte dabei auf eine eventuelle Immigration/Drift von Besatzindividuen aus der 'Bode' hindeuten, die ursprünglich aus dem Donaueinzugsgebiet stammen. Hier hat vermutlich weniger eine Überprägung, als eine Einmischung in die Bestandspopulation stattgefunden. Dies wird auch durch die stärkere Zuordnung der 'Elbe3' Individuen zum genetischen Cluster 1 (vorwiegend FGE Elbe) im Vergleich zu den 'Bode' Individuen deutlich (siehe Abb. 10).

Die oben genannten Populationen ('Elbe3', 'Donau2', 'Mosel', 'Oker', 'Rur') besitzen ebenfalls einen hohen Anteil an privaten Haplotypen, d.h. dass diese Variante der mitochondrialen Sequenz nur in diesen Populationen detektiert wurde und in keiner der anderen untersuchten Populationen. Entsprechend wichtig ist nicht nur der Anteil dieser Populationen an der Gesamtvariation der Barbe, sondern auch deren Schutzwürdigkeit unter dem Aspekt einer nachhaltigen Bewirtschaftung zur Erhaltung des evolutionären Potentials der Barben in Deutschland. Wenngleich sowohl im Haplotypennetzwerk (Abb. 5) als auch in einer Bayes'schen Stammbaum-Analyse keine eindeutige Gruppierung zu genetischen Großraumgruppen nachweisbar ist, weist zumindest jede Flussgebietseinheit jedoch spezifische private Haplotypen auf, wenn auch nur in einzelnen Populationen. In Verbindung mit der räumlichen Trennung der Populationen durch die Flussgebietseinheiten, wodurch von einem geringen genetischen Austausch ausgegangen werden kann, erscheint eine Managementeinheit ausschließlich auf eine FGE fokussierend hier nicht angemessen.

Die erwartete Heterozygotie (H_{EC} - korrigiert für die Stichprobenzahl) schwankt innerhalb der untersuchten Barben-Populationen ebenfalls sehr stark. Die Population 'Neiße' hat dabei den geringsten und die Population 'Elbe3' den höchsten Wert. Die hohe Heterozygotie der Population 'Elbe3' korreliert dabei mit der ebenfalls beobachteten hohen Haplotypendiversität; wie bereits oben erwähnt scheint dies eventuell durch einen Besatz mit FGE-fremden Individuen in der 'Bode' Population verursacht zu sein. Ebenso wie bei der mitochondrialen

Diversität gibt es auch Populationen, welche relativ geringe Werte für die nukleare Diversität aufzeigen; dies sind insbesondere die Populationen 'Neiße' und 'Erft' wie auch 'Kocher1 und -2', 'Oder' und 'Wupper'. Jedoch gilt hier ähnliches wie für die mitochondriale Diversität, dass die genetische Diversität zwar zu den anderen untersuchten Populationen gesehen relativ niedrig ist, aber nicht zwingend nahelegt diese Populationen als besonders gefährdet zu beurteilen. Denn obwohl mit einer geringen genetischen Diversität potentiell auch das Risiko des Aussterbens erhöht wird, gibt es kein artübergreifendes Maß für die Einordnung, ab welchem Diversitätsgrad ein Risiko besteht. Insbesondere die relativ niedrigen Werte der genetischen Diversität für die Populationen 'Neiße' (0,4700) und 'Erft' (0,5292) sind vermutlich auf geringere effektive Populationsgrößen durch z.B. zurückliegende Flaschenhals- oder Gründereffekte in diesen Populationen zurückzuführen; sind im Vergleich zu manchen Stämmen in der Fischzucht aber noch relativ hoch.

Insgesamt lassen die Daten aber keine klare Differenzierung der FGEs in genetisch ärmere oder reichere FGEs zu. Nur die FGE Oder scheint für beide untersuchte Populationen, aber im Besonderen für die Population 'Neiße', im Verhältnis zu den anderen Barbenpopulationen in Deutschland genetisch leicht verarmt. Um allerdings gesicherte Aussagen über den genetischen Zustand der Barben im FGE Oder treffen zu können, bedarf es der Untersuchung weiterer Populationen aus diesem FGE. Für alle anderen untersuchten FGEs und deren Populationen zeigt sich allerdings ein relativ ähnlicher Grad genetischer Diversität mit den oben beschriebenen Unterschieden.

Genetische Differenzierung

Mit Hilfe einer Bayes'schen Stammbaum-Analyse Methode konnte nur ein einziges signifikantes, von den anderen Haplotypen abgegrenztes, Cluster gefunden werden, welches vorwiegend aus Individuen des Rheineinzugsgebiets besteht. Dies könnte auf die Wiederbesiedlung des Rhein-Systems nicht nur aus dem Donaueinzugsgebiet als Hauptquelle der postglazialen Wiederbesiedlung, sondern zusätzliche aus dem eiszeitlichen Refugium in Südfrankreich hindeuten (Kotlik & Berrebi 2001, Kotlik et al. 2004).

Der häufigste Haplotyp wurde 56-mal detektiert, kommt aber vorwiegend im Rheineinzugsgebiet vor. Der zweithäufigste Haplotyp mit 42 Individuen konnte dagegen in allen FGEs identifiziert werden, besteht jedoch fast zur Hälfte aus Individuen des Donaueinzugsgebiets. Diese Tatsache könnte einen weiteren Hinweis für einen postglazialen Genfluss vom Donausystem in die übrigen FGEs in Deutschland darstellen. Allerdings stammen die vier diesem Haplotyp zugeordneten Individuen der FGE Elbe aus den beiden, wahrscheinlich durch Besatz beeinflussten, Populationen 'Bode' und 'Elbe3'. Der dritthäufigste Haplotyp (H3) mit 34 Individuen konnte ausschließlich in Populationen der FGE Elbe gefunden werden. Diese Ergebnisse deuten somit auf eine Differenzierung auf FGE Ebene hin, auch wenn keine eindeutige Abgrenzung zwischen den Haplotypen der FGEs nachweisbar ist.

Der Großteil, nämlich 65,93% der genetischen Variabilität wird durch die Unterschiede zwischen Individuen innerhalb der Populationen erklärt. Durch die Varianz zwischen den Populationen innerhalb der FGEs können dagegen nur 10,49% erklärt werden. Jedoch ist die auf

eine räumliche Struktur zurückzuführende Differenzierung zwischen den FGEs mit 23,58 % immerhin noch relativ hoch. Die Gründe für die Verteilung dieses Haplotypenmusters sind im Falle der Barbe vermutlich historisch bedingt, also durch die Wiederbesiedlung nach der letzten Eiszeit. Besatzmaßnahmen sind im Fall der Barbe, mit Ausnahme z.B. des nachweislich einflussstarken Besatzes der 'Bode' Population mit Nachkommen von Donau-Individuen, sicher von untergeordneter Bedeutung.

Diese Ergebnisse werden durch die Analyse der nuklearen Daten, also der Mikrosatellitenanalyse, im Wesentlichen bestätigt.

Insgesamt zeigen die Analysen der Mikrosatellitenanalysen, dass die berechneten genetischen Differenzierungen (G_{ST}) der Populationen zwischen den FGEs relativ gering sind. Am geringsten sind die FGE Maas und Rhein, sowie die FGE Oder und Weser voneinander differenziert. Ähnlich differenziert sind die FGEs Maas und Donau voneinander. Eine der höchsten Differenzierung konnte zwischen den FGEs Oder und Weser detektiert werden. Die Differenzierung zwischen den FGEs Maas und Rhein ist ähnlich gering wie zwischen den FGEs Maas und Donau. Insgesamt sind die untersuchten Barben-Populationen in Deutschland vorwiegend mäßig stark differenziert (basierend auf den ϕ_{ST} -Werten). Entsprechend der oben diskutierten Resultate in den vorhergehenden Kapiteln wär es jedoch ratsam, nur die relativen Verhältnisse der G_{ST} und ϕ_{ST} -Werte zueinander innerhalb des jeweiligen Datensatzes zu interpretieren. Dabei fällt auf, dass sich die FGE Oder am stärksten von allen anderen FGEs unterscheidet, gefolgt von Rhein und Elbe, was im Wesentlichen auf den hohen Grad der Differenzierung der Population 'Neiße' aus dem Odereinzugsgebiet zurückzuführen ist. Die niedrigsten Differenzierungen zwischen zwei Populationen konnten (mit jeweils 5 Fällen) innerhalb der Population 'Donau2' und 'Sieg' identifiziert werden.

Wenn jedoch die genetischen Distanzen G_{ST} der jeweils benachbarten Einzugsgebiete betrachtet werden fällt auf, dass sich diese häufig nur relativ gering unterscheiden. Es gibt aber in nicht unerheblichem Umfang auch weiter entfernte FGEs die ebenfalls eine geringe Differenzierung zueinander zeigen, wie etwa Weser und Donau. Die FGE Weser ist aber generell nur gering zu den anderen FGE differenziert. Die Differenzierungsmuster für die beiden FGEs Oder und Weser, können unter Umständen durch die vergleichsweise geringe Populationsanzahl erklärt werden, jedoch bleibt dies spekulativ.

Der größte Teil der gesamten genetischen Varianz aller untersuchten Tiere wird bei beiden verwendeten Markersystemen (mtDNA und Mikrosatelliten) durch Unterschiede zwischen Individuen innerhalb der Populationen erklärt und nur zu einem geringen Anteil durch räumlich bzw. strukturell bedingte Unterschiede oder Variationen zwischen Populationen oder FGEs. Zwar dominieren im Elbe- und Rheineinzugsgebiet einzelne, und jeweils unterschiedliche genetische Gruppen (Elternpopulationen), aber insbesondere die Individuen aus dem Donaueinzugsgebiet lassen sich nie eindeutigen genetischen Gruppen zuordnen. Allgemein deutet dies auf eine teilweise starke genetische Vermischung der vier mittels einer „Structure“- und „Admixture“-Analyse ermittelten genetischen Gruppen innerhalb der Populationen bzw. Individuen hin.

Insgesamt zeigt sich aber sowohl durch die Hauptkoordinaten- als auch durch die „Structure“-Analyse, dass die ermittelten Unterschiede zwischen den FGEs einen leichten geographischen Trend aufweisen (vgl. Abb. 8, 9, 10). Sie zeigen, dass die Individuen der FGEs Oder und Rhein jeweils vorwiegend einem genetisch eigenen Cluster zugeordnet werden können. Die Zuordnung der Individuen aus dem FGE Weser ist aus den Daten nicht eindeutig indiziert. Aufgrund der räumlichen Nähe dieser einen Population (Leine) zu Populationen des Rheineinzugsgebiets innerhalb der Hauptkoordinaten-Analyse (Abb. 8) als auch der vorwiegenden Zuordnung zu Cluster 2 in der „Structure“-Analyse (Abb. 10), ähnlich wie Individuen der Rheinpopulationen, ist allerdings eine Gruppierung der FGE Rhein und Weser naheliegend. Die Darstellung der FGE Elbe als eigene evolutionäre Großraumgruppe ist zunächst nur eingeschränkt möglich, obwohl die Mehrzahl der Individuen des Elbeeinzugsgebiets eine starke Gruppierung zu einem einzigen genetischen Cluster (1) aufweist (Abb. 10). Die Populationen 'Bode' und 'Elbe3' aus dem Elbeeinzugsgebiet sind in sich zwar ähnlich, in ihrem Genotyp stehen sie aber eher den Individuen des FGE Donau näher als potentiellen FGE-Elbe Individuen bzw. Populationen (vgl. Abb. 8 und 10). Unter Berücksichtigung, dass diese beiden Populationen durch einen Besatz mit Nachkommen von Barben aus dem FGE Donau überprägt/beeinflusst sind, wäre die Gruppierung aller anderen FGE-Elbe Populationen zu einer eigenen Managementeinheit durchaus naheliegend. Dabei ist aber zu bedenken, dass durch den Besatz auch andere, in dieser Studie nicht untersuchte Populationen des FGE Elbe in ihrer genetischen Struktur beeinflusst sein können.

Die Populationen 'Rur' und 'Wurm' aus dem Maaseinzugsgebiet weisen eher ein Genotypenmuster der Populationen des FGE Rhein oder Donau auf; eine eindeutige Zuordnung zu einer potentiellen Managementeinheit ‚Rhein-Weser‘ schließt sich daher aus. Wie oben bereits erwähnt werden die Individuen aus dem Donaueinzugsgebiet zwar ebenfalls zu einem großen Prozentsatz einem Cluster (Nr. 3; Abb. 10) zugeordnet, zeigen aber alle einen gewissen Grad der Durchmischung mit den anderen drei genetischen Clustern. Diese Tatsache könnte einerseits einen Hinweis auf einen Genfluss in Richtung Donaueinzugsgebiet von den anderen Einzugsgebieten darstellen. Andererseits könnte es auch auf die postglaziale Wiederbesiedlung der anderen FGEs aus dem Donaueinzugsgebiet hindeuten, wobei sich in den FGEs teilweise unterschiedliche genetische Linien evolutiv durchgesetzt haben. Mit den vorliegenden Daten lässt sich diese Frage aber nicht hinreichend klären.

6.2. Ableitung von Managementmaßnahmen

Für die Barbe existiert bisher kein Konzept für genetische Management Einheiten. Basierend auf den in der vorliegenden Studie erhobenen Daten zum Status der genetischen Diversität und Differenzierung der untersuchten Barbenpopulationen in Deutschland, und durch Einbeziehung von Daten zur Bestandssituation sowie Besatzmaßnahmen, lassen sich zumindest Empfehlungen für die zukünftige Bewirtschaftung ableiten.

Durch die Darstellung der nukleären Mikrosatellitendaten mittels Hauptkoordinaten- und „Structure“-Analyse werden die genetischen Distanzen zwischen den einzelnen Flussgebietseinheiten (FGE) relativ gut sichtbar. Unter Berücksichtigung von Bestandsmaßnahmen,

welche die genetische Struktur autochthoner Populationen beeinflusst zu haben scheinen, liegt die Auftrennung der Populationen im Fall von Donau, Elbe, Oder und Rhein in genetische FGE-Cluster nahe; eine einzelne Zuweisung der FGEs Maas und Weser und damit eine generelle Zuweisung der einzelnen Flussgebietseinheiten in eigene Managementeinheiten ist aber nicht möglich. Dies ist auch durch die Analyse der mitochondrialen Haplotypen begründet, die eine generelle flusseinzugsgebietsbezogene Einordnung der Barbe in genetische Hauptlinien als monophyletische Gruppen im Sinne der ‚Evolutionarily Significant Units‘ (ESU) nicht zulässt.

Das Konzept der Genetischen Management Einheiten nach Baer et al. (2007) beinhaltet allerdings, dass signifikante Unterschiede im Kerngenom und in der mitochondrialen DNA zur Abtrennung von arteigenen Populationen vorhanden sein müssen. Das trifft auf die Barbe in Bezug auf die in der vorliegenden Studie erhobenen Daten nicht zu, weshalb sie als „Evolutionäre Gesamtgruppe“ eingestuft werden müsste. Das bedeutet jedoch, dass zwar aus dem Gebot der Vorsorge und aus seuchenbiologischen Gründen Besatzmaterial aus dem jeweiligen Einzugsgebiet genutzt werden sollte, generell aber auch auf Besatzmaterial aus benachbarten oder weit entfernten Populationen anderer Flussgebietseinheiten zurückgegriffen werden kann (Baer et al. 2007). Diese generelle Empfehlung können wir jedoch nicht geben, und zwar aus folgenden Gründen:

1. Jede der analysierten Populationen stellt für sich genommen einen Pool an genetischer Variabilität dar, die durch das Vorhandensein privater Haplotypen sowie privater Allele in mehr als der Hälfte der analysierten Populationen belegt ist.
2. Gerade bei Teil-Populationen mit geringer genetischer Diversität besteht bei Besatz mit Individuen aus einer höher/verschieden diversen Teil-Population die Gefahr, dass die autochthone Population überprägt wird, also deren spezifische genetische Informationen verlorengehen und damit die genetische Gesamtvariabilität der Population sinkt. Das wurde für die Äsche bereits belegt (Koskinen et al. 2002) und kann für die Barbe z.B. im Fall der ‚Bode‘ Population mit hoher Wahrscheinlichkeit angenommen werden.
3. Insbesondere die AMOVA der Mikrosatelliten, aber auch der mitochondrialen Daten zeigt, dass die genetische Variation der Barben in Deutschland weitgehend auf Unterschiede zwischen Individuen der gleichen Population beruht und in weit geringerem Ausmaß auf Unterschiede zwischen Populationen innerhalb oder zwischen FGEs zurückzuführen ist.

Aus diesen Gründen sollten Besatzprogramme mit Nachkommen möglichst vieler Elternindividuen aus genetisch ähnlichen Populationen durchgeführt werden. Die „Structure“-Analyse sowie die Fixierungs-Indices (G_{ST} und ϕ_{ST}) als Messgröße des Ausmaßes der genetischen Fixierung bestimmter Allele bzw. Haplotypen in den Populationen geben exakte Auskunft über den Grad der genetischen Differenzierung zwischen den analysierten Herkünften und können als Werkzeug bei der Auswahl geeigneter Besatzpopulationen verwendet werden. So wären beispielsweise Populationen aus dem Rhein-Cluster für Besatzmaßnahmen im Leine-Einzugsgebiet geeigneter als alle anderen untersuchten Populationen (siehe Abb. 10), auch

wenn die ‚Leine‘ Population generell eine etwas andere genetische Struktur als Populationen aus dem Rhein-Einzugsgebiet aufweist.

Damit zukünftige Besatzmaßnahmen mit dem adäquaten genetischen Hintergrund durchgeführt werden können ist es notwendig, die genetische Struktur der jeweiligen Population zu kennen. Entsprechend liefern die Ergebnisse der vorliegenden Studie die Grundlage für solche Besatzmaßnahmen. Darüber hinaus zeigen die Daten dieser Studie auf, welche Populationen bereits eine verringerte genetische Diversität besitzen und deshalb besonders anfällig für eine mögliche Überprägung wären.

Falls die genetische Struktur einer zu besetzenden Population und/oder der Besatzpopulation nicht bekannt sein sollte oder diese sich nicht in räumlicher Nähe zu einer der im Rahmen dieser Studie analysierten Populationen bringen lässt, wird bei Besatzmaßnahmen auf Grundlage der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, speziell der „Structure“- und Hauptkoordinaten-Analyse, folgende Handlungsempfehlung gegeben:

- i) Das Besatzmaterial sollte aus dem jeweiligen Besatzgewässer bzw. dessen Nebengewässern stammen.
- ii) Das Besatzmaterial kann aus Gewässersystemen der gleichen Flussgebietseinheit entnommen werden. Die Priorisierung sinkt dabei mit ansteigender Entfernung zwischen Satz- und Besatzpopulation.
- iii) Besatzmaterial kann in begründeten Ausnahmefällen auch aus anderen Flussgebietseinheiten, aber nur nach vorhergehender genetischer Analyse und Feststellung der Eignung der Besatz- und Satzpopulation, verwendet werden.

Grundsätzlich sollte die Oder und im Speziellen die Population ‚Weiße‘ nicht mit Individuen anderer FGEs besetzt werden und umgekehrt, da sie den höchsten Grad der Differenzierung zu allen anderen FGEs, gleichzeitig aber auch eine relativ geringe Heterozygotie aufweist. Diese Population stellt somit im Sinne einer „Evolutionarily Significant Unit“ (ESUs) zum einen eine genetische Ressource für die Gesamtpopulation der Barbe dar und würde durch einen Fremdbesatz gleichzeitig der Gefahr einer Überprägung ausgesetzt.

Aus ökologischer, wissenschaftlicher und wirtschaftlicher Sicht wäre die dauerhafte Erhaltung der genetischen Diversität der Barbenbestände wünschenswert. Dafür war eine überregionale umfängliche Analyse der genetischen Variabilität und Bewertung der Populationen unumgänglich. Dieses Ziel konnte mit den vorliegenden Daten erreicht und zudem Empfehlungen für das Bestandsmanagement der Barbe formuliert werden.

7. Zusammenfassung

7.1. Deutsche Kurzfassung

Bisher gibt es nur unzureichende Informationen zur genetischen Diversität der Barbe in Deutschland. Diese Informationen sind jedoch dringend gefordert, um zukünftig sinnvolle Besatz- und Schutzmaßnahmen durchführen zu können. Entsprechend wurden in dem vorliegenden Projekt die genetische Variabilität von Wildpopulationen der Barbe (*Barbus barbus*) erfasst. Insgesamt konnten in den Jahren 2013-2015 47 Herkünfte aus den sechs Flussgebietseinheiten (FGEs) Donau, Elbe, Maas, Oder, Rhein und Weser analysiert werden. Zudem konnte ein nichtinvasives Verfahren mittels forensischer Abstriche zur DNA-Gewinnung für die Barbe etabliert werden. Die genetische Analyse der Populationen erfolgte über mitochondriale DNA Analysen und Mikrosatellitenmarker. Von insgesamt 1144 Proben konnte für 809 Individuen aus 39 Populationen die genetischen Daten erfasst werden. Die Ergebnisse wurden für eine Eintragung in die AGRDEU-Fachdatenbank für Aquatische Genetische Ressourcen der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) entsprechend aufbereitet. Die Analyse der mitochondrialen DNA ergab, dass die Haplotypendiversität in den FGEs Maas und Weser am höchsten und in den FGEs Donau und Elbe am niedrigsten ist. Der Großteil der beobachteten Varianz (ca. 66%) wird durch die genetische Variation innerhalb der Populationen erklärt. Dennoch konnten ca. 23% der Variation durch Unterschiede zwischen den FGEs ermittelt werden. Die Resultate der Mikrosatelliten-Analysen zeigten, dass die Populationen zum Teil sehr divers sind, aber einzelne Populationen auch eine geringe genetische Diversität aufwiesen. Die geschätzte genetische Differenzierung zwischen den untersuchten Populationen erklärt nur einen geringen Anteil der beobachteten genetischen Varianz, während die meiste Variation (ca. 85%) durch Unterschiede zwischen Individuen innerhalb der Populationen erklärt wird. Aus diesem Grund sollten Besatzprogramme vorrangig mit möglichst vielen Individuen aus genetisch ähnlichen Populationen durchgeführt werden.

7.2. Abstract

Genetic variability of the common barbel (*Barbus barbus*) in the main river catchment areas of Germany

Sascha Krenek, Thomas Schiller and Thomas U. Berendonk

So far information on the genetic diversity for the common barbel (*Barbus barbus*) in Germany has been insufficient. Such information is essential for the future genetic management and stocking strategy of the barbel and for the protection of its genetic diversity. Accordingly, this project endeavoured to close this gap of knowledge and has analysed several populations from different river catchments in Germany.

Throughout the years 2013-2015, in total 47 origins from six river catchments were analysed: Danube (n=7), Elbe (n=10), Meuse (n=2), Oder (n=2), Rhine (n=20) and Weser (n=6). Additionally, it was possible to develop a non-invasive approach to analyse forensically sampled DNA of barbel individuals. The genetic diversity of this tetraploid species in German river catchments was assessed using mitochondrial and nuclear microsatellite markers. In total 1144 Individuals were sampled and 809 individuals from 39 populations were successfully genotyped by the use of 12 microsatellite loci. In addition, the mitochondrial control region (*cob*) was analysed for 312 individuals from 37 populations as mtDNA marker for phylogeographic and population genetic inference. The documented morphometric data and the results of the genetic analysis have been prepared such that they can be implemented into the AGRDEU Database for the Aquatic Genetic Resources of the "Federal Office for Agriculture and Food".

The analysis of the mtDNA has shown that the haplotype diversity in the river catchments Meuse (0.9236) and Weser (0.9210) was highest, whereas in the river catchment Danube (0.7746) and Elbe (0.7423) the lowest diversity was detected. The main part of the observed genetic variance (ca. 66%) was explained due to the genetic variation within the populations. However, 23% of the variation was explained due to differences between the river catchments. The Rhine was somewhat exceptional as within this river catchment individuals formed genetically separated groups.

For the analysed populations the results of the microsatellite analysis revealed heterozygosity rates between 0.4700 and 0.7239, here the relative low value could be indicative for low effective population size. The genetic differentiation based on the G_{ST} - und ϕ_{ST} -values between the investigated populations show small differentiations between the populations according to their river catchment. Only ca. 9% of the total variability could be explained due to spatially related differentiations between river catchments. Most of the variation was explained by differences between individuals within populations (84.56%). Especially individuals belonging to the river catchment Danube could never be clearly assigned to unambiguous groups, whereas within the river catchment Elbe and Rhine almost single, but differentiated genetic groups, could clearly be assigned to populations.

In summary, the analysed barbel populations show a comparatively high level of variability with relatively low levels of differentiation, but at the same time distinctive differences. Therefore

stocking management should endeavour to use several individuals of the same genetic background as parental generation for stocking measures.

Acknowledgements: The study was financed by the Federal Ministry of Food, Agriculture and Consumer Protection, Germany.

8. Gegenüberstellung der geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen

In der vorliegenden Studie sollten mindestens 30 Herkünfte der Barbe aus mindestens 4 Flussgebietseinheiten erfasst werden. Insgesamt wurden über 60 Herkünfte ausgewählt und beprobt. Das Ziel, dabei mindestens 4 Flussgebietseinheiten im Sinne der Europäischen Wasserrahmenrichtlinie abzudecken wurde erreicht. Es konnte in insgesamt **47 Herkünften** aus den **6 FGEs Donau, Elbe, Maas, Oder, Rhein und Weser** genetisches Material von Barben für molekulare genetische Analysen gewonnen werden. Die Zielgröße von mindestens 30 Individuen pro Herkunft konnte nicht für alle Herkünfte erreicht werden. In **19 Herkünften wurden ≥ 30** , in **15 Herkünften 10-30** und in **13 Herkünften ≤ 10** Individuen gefangen. Bis auf eine Herkunft wurden alle Individuen vermessen, ebenso wurde versucht alle Individuen zu wiegen. Dies war jedoch nicht immer möglich, die Gründe dafür sind in Kap. 2 erläutert.

Wie ebenfalls in Kap. 2 dargestellt wurde, waren die in den Gewässern vorgefundenen Abundanzen der Barbe oft so gering, dass die angestrebten 30 Individuen pro Herkunft in vielen Fällen mit vertretbarem Aufwand nicht erreicht werden konnten, trotz mehrerer bis zu einwöchiger Befischungen pro Herkunft. Eine aufwändige mehrtägige Befischung einzelner Herkünfte wurde jedoch für besonders interessante Herkünfte trotzdem durchgeführt (z.B. Oder: 6 Tage - 15 Ind., Neiße: 3 Tage – 50 Ind., Ems: 3 Tage – 0 Ind., Weser: 4 Tage – 2 Ind.). In Einzugsgebieten in denen wir nach erfolgloser Befischung auf andere Gewässer ausweichen konnten wurden mehrtägige Befischungen aus Gründen der effizienten Nutzung der Projektzeit jedoch nicht weiter verfolgt.

Insgesamt spiegelt die Verteilung der erfassten Herkünfte (Abb. 2) recht gut die Verbreitung der Barbe in Deutschland wider (vergleiche Brunken und Winkler 2015) und korrespondiert mit der BfN-Verbreitungskarte für die Barbe (http://www.bfn.de/0316_bewertung_arten.html). Die Ergebnisse basieren damit auf einer Datenlage, welche die wesentlichen genetischen Großgruppen der Barbe beinhaltet. Doch auch kleinskalige mögliche genetische Variabilitäten sollten in dieser Studie exemplarisch untersucht werden, um z.B. den Effekt von Fließgewässerbarrieren (Wehre, Wasserkraftanlagen, usw.) auf die Durchwanderbarkeit für die Barbe und somit die Vernetzung von Teilpopulationen zu beurteilen. Zu diesem Zweck wurden einige Gewässer (Enz, Kocher, Muldesystem) mehrere Herkünfte analysiert, die eine räumliche Trennung von 40-60 km Gewässerfließstrecke aufwiesen. Außerdem konnten in der Studie wie geplant die meisten der förderfähigen Wildpopulationen der Barbe (GENRES 2009) analysiert werden.

Ein Ziel, welches ursprünglich nicht Inhalt der Studie war, für uns jedoch durch verschärfte Tierschutzrechtliche Aspekte in den Fokus der Erhebung rückte, war die Etablierung einer nicht **invasiven Methode zur DNA-Gewinnung** bei Fischen mittels **epidermaler Abstriche**. Auch

wenn die DNA-Qualität für die Analyse von Mikrosatelliten nicht so optimal wie die durch Extraktion aus Muskelzellen gewonnene ist, konnten wir bereits bei einmaliger Wiederholung von Ausfällen die Erfolgsquote auf über 90 % steigern. Somit liegt eine Methode vor, die nach aktuellem Stand von einer Vielzahl von Probenehmern bei der Durchführung von Elektrobefischungen und bei der Vermessung von Fischen durchgeführt werden kann.

Die geplante fotografische Dokumentation aller gefangenen Fische erwies sich als nicht durchführbar. Es ist schlicht nicht möglich, Barben zu fotografieren, ohne dass man sie mit beiden Händen festhält und dabei den zu fotografierenden Körper fast komplett bedeckt. Dafür hätten die Fische betäubt werden müssen, was durch den hohen Anteil an Watbefischungen unmöglich war und auch bei Bootsbefischungen auf Grund der räumlichen Enge (es wären mindestens zwei weitere Transport-Behälter nötig gewesen) schwer umzusetzen gewesen wäre. Außerdem hätte dies eine zusätzliche Belastung für die Fische bedeutet und wäre damit unter die Kategorie des Tierversuchs gefallen. Schlussendlich stand der schonende, zügige Fang von Barben sowie die schnelle Vermessung und DNA-Gewinnung mittels Abstrich im Vordergrund.

Aufgrund nicht ausreichend etablierter Mikrosatelliten (7 zu Projektbeginn) für die Barbe sollten während der Projektlaufzeit 3 neue MS-Loci etabliert werden. Durch den Test von 34 etablierten Cypriniden Mikrosatelliten-Loci und die Verwendung von weiteren zwischenzeitlich etablierten Mikrosatelliten Markern (Gettová et al. 2013) wurde insgesamt ein vollständiges **Markerset von 12 Loci** für die Barbe erstellt und für die Analysen verwendet.

Von den insgesamt **1144 Gewebs- und Abstrichproben** konnte aus **1003 Proben** erfolgreich **DNA** gewonnen und für die weiteren genetischen Analysen verwendet werden, dabei sind bereits die Individuen abgezogen, welche die Anzahl von 50 pro Population überstiegen. Damit wurde die Zielgröße von 900 genetisch zu analysierenden Individuen erreicht. Von 859 Proben, die aus 40 verschiedenen Populationen stammen, konnten Mikrosatelliten analysiert werden, wobei nach der ersten Analyse nur 617 Proben ein vollständiges Marker-Set aufwiesen. Anschließend wurden für die ausgefallenen Individuen entweder komplette Multiplex-Sets wiederholt analysiert oder in den vorwiegenden Einzel-Loci Ausfällen sog. Simplex-PCRs durchgeführt. Dadurch konnte für insgesamt **809 Individuen aus 39 Populationen** ein vollständiges Markersset von 12 Loci erstellt werden.

Infolge der Allotetraploidie der Barbe und einer scheinbar nicht strikten disomischen Vererbung konnten keine klassischen Analysemethoden für diploide Organismen angewendet werden. In der vorliegenden Studie wurde daher versucht mit der aktuell zur Verfügung stehenden Software für tetraploide bzw. polyploide Organismen die meisten relevanten genetischen Parameter zu berechnen. Die beobachtete Heterozygotie (H_o) sowie der Inzuchtkoeffizient (F_{is}) und der Allelreichtum (AR) konnten trotzdem nicht ermittelt werden, da hierfür keine geeigneten Methoden verfügbar waren, die verlässliche Ergebnisse liefern. Auch die in der Übersichtstabelle angegebenen Allelfrequenzen spiegeln höchstwahrscheinlich nicht die tatsächliche Situation wider, da sie auf Basis einer polysomischen Vererbung mit zum Teil partiell-heterozygoten Daten errechnet wurden. Des Weiteren sind Admixture-Clusteranalysen, wie mit der Software STRUCTURE durchgeführt, nur für Allopolyploide mit polysomischem

Erbgang entwickelt. Nichtsdestotrotz stellen die Analysen zum Zeitpunkt der Durchführung den bestmöglichen Kompromiss zwischen Wahrheitsgehalt und Nichtdurchführbarkeit dar.

Die Aufklärung der Bestandssituation in den jeweiligen Herkünften erwies sich als schwierig. Die Bewirtschafter und Fischereiberechtigten wurden im Zuge der Einholung der Befischungserlaubnis dazu befragt, doch bereits hier zeigte sich, dass zwar die aktuelle Besatzsituation dargestellt werden kann, jedoch die Informationen der vergangenen Jahre oder gar Jahrzehnte in vielen Fällen nicht genau bekannt sind. Oft sind die darin beteiligten Personen nicht mehr greifbar oder es existieren keine Aufzeichnungen über Besatzaktionen mehr. Außerdem ist die Aussagekraft einzelner Besatzaktionen für die einzelnen in den meisten Fällen deutlich über 100 km langen Flüsse als kritisch zu betrachten, wenn man bedenkt, dass viele der Gewässer in wenige km lange fischereilich genutzte Abschnitte geteilt und verpachtet sind. Das hätte in den meisten Fällen die Befragung Dutzender potentieller Besatz-Akteure im Einzugsgebiet einer Herkunft nötig gemacht, was im Rahmen dieser Studie nicht möglich war. Deshalb wurde stichfeste Aussagen, die nachvollziehbar und glaubwürdig repräsentativ für das jeweilige Gewässer stehen, als ‚korrekt‘ in die Herkunftsbeschreibung mit aufgenommen, wohingegen bei unklarer Datenlage die Besatzsituation als ‚unbekannt‘ eingestuft wurde.

9. Literaturverzeichnis

- Arft, A. M., & Ranker, T. A. (1998). Allopolyploid origin and population genetics of the rare orchid *Spiranthes diluvialis*. *American Journal of Botany*, 85(1), 110-122.
- Arlinghaus, R., Cyrus, E.-M., Eschbach, E., Fujitani, M., Hühn, D., Johnston, F., Pagel, T. & Riepe, C. (2015). Hand in Hand für eine nachhaltige Angelfischerei: Ergebnisse und Empfehlungen aus fünf Jahren praxisorientierter Forschung zu Fischbesatz und seinen Alternativen. *Berichte des IGB, Heft 28/2015*.
- Baer, J., George, V., Hanfland, S., Lemcke, R., Meyer, L., & Zahn, S. (2007). Gute fachliche Praxis fischereilicher Besatzmaßnahmen (Schriftenr. 14). *Verband deutscher Fischereiverwaltungsbeamter und Fischereiwissenschaftler*.
- Banarescu, P. M., Bogutskaya, N. G., Movchan, Y. V. & Smirnov, A. I. (2003). *Barbus barbus* (Linnaeus, 1758). In: *The Freshwater Fishes of Europe Vol. 5/II, Cyprinidae 2, Part II: Barbus* (P. M. Banarescu & N. G. Bogutskaya, edd.), p. 43–98. *Wiebelsheim: Aula-Verlag*
- Barton, N. H., & Gale, K. S. (1993). *Genetic analysis of hybrid zones (Hybrid zones and the evolutionary process)*: Oxford University Press, Inc., New York, USA; Oxford University Press, Oxford, England.
- Bernatchez, L. (2001). The evolutionary history of brown trout (*Salmo trutta* L.) inferred from phylogeographic, nested clade, and mismatch analyses of mitochondrial DNA variation. *Evolution*, 55(2), 351-379.
- Berrebi, P., Cattaneo-Berrebi, G., & Brun, N. L. (1993). Natural hybridization of two species of tetraploid barbels: *Barbus meridionalis* and *Barbus barbus* (Osteichthyes, Cyprinidae) in southern France. *Biological Journal of the Linnean Society*, 48(4), 319-333.
- BfN (2009). *Bundesamt für Naturschutz (Hrsg.): Rote Liste gefährdeter Tiere, Pflanzen und Pilze Deutschlands. Band1: Wirbeltiere*. Bonn-Bad Godesberg, Naturschutz und Biologische Vielfalt 70 (1), 386S.
- Blanchet, É., Penone, C., Maurel, N., Billot, C., Rivallan, R., Risterucci, A.-M., et al. (2015). Multivariate analysis of polyploid data reveals the role of railways in the spread of the invasive South African Ragwort (*Senecio inaequidens*). *Conservation Genetics*, 16(3), 523-533.
- BMU/Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit (Hrsg.) (2007). *Nationale Strategie zur biologischen Vielfalt*. BMU, Bonn, 178
- BMELV (2007). *Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (Hrsg.): Agrobiodiversität erhalten, Potenziale der Land-, Forst- und Fischereiwirtschaft erschließen und nachhaltig nutzen. Eine Strategie des BMELV für die Erhaltung und nachhaltige Nutzung der biologischen Vielfalt für die Ernährung, Land-, Forst- und Fischereiwirtschaft. (zitiert als Nationale Agrobiodiversitätsstrategie 007)*. Download: <http://www.bmel.de/cae/servlet/contentblob/384104/publicationFile/23380/StrategiepapierAgrobiodiversitaet.pdf>
- BMELV (2010). *Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (Hrsg.) Aquatische genetische Ressourcen. Nationales Fachprogramm – zur Erhaltung und nachhaltigen Nutzung*. http://www.bmelv.de/SharedDocs/Downloads/Broschueren/AquatischGenetischeRessourcen.pdf?__blob=publicationFile

- BMJV/Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz (Hrsg.). (2014). Tierschutzgesetz (TierSchG). Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz. <http://www.gesetze-im-internet.de/tierschg/>
- Briolay, J., Galtier, N., Brito, R. M., & Bouvet, Y. (1998). Molecular phylogeny of Cyprinidae inferred from *cytochrome b* DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 9(1), 100-108.
- Brunken, H. & Winkler, M. (2015). Fischfauna-online 2.0. Digitaler Fischartenatlas von Deutschland und Österreich. - Hrsg. Gesellschaft für Ichthyologie e.V. und Hochschule Bremen. World Wide Web electronic publication. www.fischfauna-online.de; DOI: 10.13140/2.1.1540.5129
- Buonerba, L., Zaccara, S., Delmastro, G. B., Lorenzoni, M., Salzburger, W., & Gante, H. F. (2015). Intrinsic and extrinsic factors act at different spatial and temporal scales to shape population structure, distribution and speciation in Italian *Barbus* (Osteichthyes: Cyprinidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 89, 115-129.
- Campanella, J. J., & Smalley, J. V. (2006). A minimally invasive method of piscine tissue collection and an analysis of long-term field-storage conditions for samples. *BMC Genetics*, 7.
- Chenuil, A., Crespin, L., Pouyaud, L., & Patrick, B. (2000). Movements of adult fish in a hybrid zone revealed by microsatellite genetic analysis and capture-recapture data. *Freshwater Biology*, 43(1), 121-131.
- Chenuil, A., Desmarais, E., Pouyaud, L., & Berrebi, P. (1997). Does polyploidy lead to fewer and shorter microsatellites in *Barbus* (Teleostei: Cyprinidae)? *Molecular Ecology*, 6(2), 169-178.
- Chenuil, A., Galtier, N., & Berrebi, P. (1999). A test of the hypothesis of an autopolyploid vs. allopolyploid origin for a tetraploid lineage: application to the genus *Barbus* (Cyprinidae). *Heredity* (Edinb), 82 Pt 4, 373-380.
- Clark, L. V., & Jasieniuk, M. (2011). POLYSAT: an R package for polyploid microsatellite analysis. *Molecular Ecology Resources*, 11(3), 562-566.
- Crespin, L., Berrebi, P., & Lebreton, J. D. (1999). Asymmetrical introgression in a freshwater fish hybrid zone as revealed by a morphological index of hybridization. *Biological Journal of the Linnean Society*, 67(1), 57-72.
- Crooijmans, R. P. M. A., Bierbooms, V. A. F., Komen, J., VanderPoel, J. J., & Groenen, M. A. M. (1997). Microsatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio* L). *Animal Genetics*, 28(2), 129-134.
- Darius, H. T., & Berrebi, P. (1993). Asymetrie et anomalies morphologiques dans la zone hybride de la Lergue (sud de la France). *Barbus barbus* x *Barbus meridionalis*. *Cahiers d'Ethologie*, 13(2), 243-244.
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R., & Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9(8), 772-772.
- Dimoski, P., Toth, G. P., & Bagley, M. J. (2000). Microsatellite characterization in central stoneroller *Campostoma anomalum* (Pisces : Cyprinidae). *Molecular Ecology*, 9(12), 2187-2189.

- Dubut, V., Martin, J. F., Costedoat, C., Chappaz, R., & Gilles, A. (2009a). Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci in the freshwater fishes *Telestes souffia* and *Telestes muticellus* (Teleostei: Cyprinidae). *Molecular Ecology Resources*, 9(3), 1001-1005.
- Dubut, V., Martin, J. F., Gilles, A., Van Houdt, J., Chappaz, R., & Costedoat, C. (2009b). Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci for the dace complex: *Leuciscus leuciscus* (Teleostei: Cyprinidae). *Molecular Ecology Resources*, 9(4), 1179-1183.
- Dubut, V., Sinama, M., Martin, J. F., Meglecz, E., Fernandez, J., Chappaz, R., et al. (2010). Cross-species amplification of 41 microsatellites in European cyprinids: A tool for evolutionary, population genetics and hybridization studies. *BMC Research Notes*, 3, 135.
- Dufresne, F., Stift, M., Vergilino, R., & Mable, B. K. (2014). Recent progress and challenges in population genetics of polyploid organisms: an overview of current state-of-the-art molecular and statistical tools. *Molecular Ecology*, 23(1), 40-69.
- Durand, J. D., Persat, H., & Bouvet, Y. (1999). Phylogeography and postglacial dispersion of the chub (*Leuciscus cephalus*) in Europe. *Molecular Ecology*, 8(6), 989-997.
- Earl, D. A., & vonHoldt, B. M. (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 4(2), 359-361.
- Ebel, G. (2003). Biologie der Barbe *Barbus barbus* (LINNEAEUS, 1758). Fisch des Jahres 2003, die Barbe. – Verband Deutscher Sportfischer (Hrsg.), Offenbach
- Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14(8), 2611-2620.
- Excoffier, L., & Lischer, H. E. L. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3), 564-567.
- Falush, D., Stephens, M., & Pritchard, J. K. (2003). Inference of population structure using multilocus genotype data: Linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*, 164(4), 1567-1587.
- Falush, D., Stephens, M., & Pritchard, J. K. (2007). Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Molecular Ecology Notes*, 7(4), 574-578.
- Freyhof, J. & E. Brooks (2011). European Red List of Freshwater Fishes. - Luxembourg: Publications Office of the European Union. 61 p.
- Geiger, M. F., Herder, F., Monaghan, M. T., Almada, V., Barbieri, R., Bariche, M., et al. (2014). Spatial heterogeneity in the Mediterranean Biodiversity Hotspot affects barcoding accuracy of its freshwater fishes. *Molecular Ecology Resources*, 14(6), 1210-1221.
- GENRES (2009). Informationssystem Genetische Ressourcen. Liste förderfähiger Stämme und Wildpopulationen von Fischarten gemäß des GAK Rahmenplans 2008 - 2011. http://www.genres.de/fileadmin/SITE_GENRES/content/Dokumente/Downloads/Listen/GAK_Liste_Fischarten.pdf
- Gettová, L., Gilles, A., Berrebi, P., & Šimková, A. (2013). The 454 GS-FLX isolation and characterisation of microsatellites in *Barbus meridionalis* and cross-species amplification

- in three European tetraploid *Barbus* species: a tool for studying population genetics in hybrid zones. Molecular Ecology Resources Database.
- Hamilton, P. B., & Tyler, C. R. (2008). Identification of microsatellite loci for parentage analysis in roach *Rutilus rutilus* and eight other cyprinid fish by cross-species amplification, and a novel test for detecting hybrids between roach and other cyprinids. *Molecular Ecology Resources*, 8(2), 462-465.
- Hubisz, M. J., Falush, D., Stephens, M., & Pritchard, J. K. (2009). Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resources*, 9(5), 1322-1332.
- Huet M. (1959). Profiles and biology of Western European streams as related to fish management. *Transactions of the American Fisheries Society*, 88, 155-163.
- Hübner, D. (2003). Die Ablach- und Interstitialphase der Äsche (*Thymallus thymallus* L.) Grundlagen und Auswirkungen anthropogener Belastungen. Dissertation. Universität Marburg, Marburg.
- Jakobsson, M., & Rosenberg, N. A. (2007). CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics*, 23(14), 1801-1806.
- Jost, L. (2008). G_{ST} and its relatives do not measure differentiation. *Molecular Ecology*, 17(18), 4015-4026.
- Kamvar, Z. N., Brooks, J. C., & Grunwald, N. J. (2015). Novel R tools for analysis of genome-wide population genetic data with emphasis on clonality. *Frontiers in Genetics*, 6, 208.
- Kamvar, Z. N., Tabima, J. F., & Grunwald, N. J. (2014). Poppr: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. *PeerJ*, 2:e281.
- Katoh, K., Misawa, K., Kuma, K., & Miyata, T. (2002). MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research*, 30(14), 3059-3066.
- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., et al. (2012). Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28(12), 1647-1649.
- Knebelsberger, T., Dunz, A. R., Neumann, D., & Geiger, M. F. (2015). Molecular diversity of Germany's freshwater fishes and lampreys assessed by DNA barcoding. *Molecular Ecology Resources*, 15(3), 562-572.
- Kohlmann, K. (2003). Genetic variability and structure of common carp (*Cyprinus carpio*) populations throughout the distribution range inferred from allozyme, microsatellite and mitochondrial DNA markers. *Aquatic Living Resources*, 16(5), 421-431.
- Kolbinger, A. (2002). Fischbiologische Kartierung der Durchgängigkeit niederbayerischer Fließgewässer. Doktors der Agrarwissenschaften in der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München. Technische Universität München, München.
- Konopinski, M. K., Amirowicz, A., & Kukula, K. (2007). Probable direction of the postglacial colonization of rivers on northern slopes of the Carpathian Ridge by *Barbus carpathicus* (Teleostei : Cyprinidae) evidenced by cline of genetic variation. *Journal of Fish Biology*, 70(sc), 406-415.

- Koskinen, M. T., Sundell, P., Piironen, J., & Primmer, C. R. (2002). Genetic assessment of spatiotemporal evolutionary relationships and stocking effects in grayling (*Thymallus thymallus*, Salmonidae). *Ecology Letters* 5:193-205.
- Kotlik, P., & Berrebi, P. (2001). Phylogeography of the barbel (*Barbus barbus*) assessed by mitochondrial DNA variation. *Molecular Ecology*, 10(9), 2177-2185.
- Kotlik, P., Bogutskaya, N. G., & Ekmekci, F. G. (2004). Circum Black Sea phylogeography of *Barbus* freshwater fishes: divergence in the Pontic glacial refugium. *Molecular Ecology*, 13(1), 87-95.
- Lajbner, Z., Slechtova, V., Slechta, V., Svatora, M., Berrebi, P., & Kotlik, P. (2009). Rare and asymmetrical hybridization of the endemic *Barbus carpathicus* with its widespread congener *Barbus barbus*. *Journal of Fish Biology*, 74(2), 418-436.
- Lehmann, M. (2006). Phylogeography of the barbel (*Barbus barbus*, Linnaeus 1758) in the area of Lake Constance. University of Konstanz, Lehrstuhl für Zoologie & Evolutionsbiologie.
- Leigh, J. W., & Bryant, D. (2015). POPART: full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*, 6(9), 1110-1116.
- Librado, P., & Rozas, J. (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11), 1451-1452.
- Livi, S., de Innocentiis, S., Longobardi, A., Cataudella, S., Tancioni, L., Rampacci, M., et al. (2013). Genetic structure of *Barbus* spp. populations in the Marches Region of central Italy and its relevance to conservation actions. *Journal of Fish Biology*, 82(3), 806-826.
- Livia, L., Antonella, P., Hovirag, L., Mauro, N., & Panara, F. (2006). A nondestructive, rapid, reliable and inexpensive method to sample, store and extract high-quality DNA from fish body mucus and buccal cells. *Molecular Ecology Notes*, 6(1), 257-260.
- Lynch, M. (1990). The Similarity Index and DNA Fingerprinting. *Molecular Biology and Evolution*, 7(5), 478-484.
- Meirmans, P. G., & Van Tienderen, P. H. (2013). The effects of inheritance in tetraploids on genetic diversity and population divergence. *Heredity (Edinb)*, 110(2), 131-137.
- Meraner, A., Venturi, A., Ficetola, G. F., Rossi, S., Candiotta, A., & Gandolfi, A. (2013). Massive invasion of exotic *Barbus barbus* and introgressive hybridization with endemic *Barbus plebejus* in Northern Italy: where, how and why? *Molecular Ecology*, 22(21), 5295-5312.
- Molecular Ecology Resources Primer Development Team, C., Agostini, C., Albaladejo, R. G., Aparicio, A., Arthofer, W., Berrebi, P., et al. (2013). Permanent genetic resources added to Molecular Ecology Resources Database 1 April 2013 - 31 May 2013. *Molecular Ecology Resources*, 13(5), 966-968.
- Müller-Belecke, A. (2008). Erfassung und Dokumentation der genetischen Vielfalt von Zuchtkarpfen (*Cyprinus carpio*) sowie der Nebenfische der Karpfenteichwirtschaft in Deutschland (Aktenzeichen 514-73.02/05BE006/1). Schlussbericht im Auftrag der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung. 83 S.
- Nei, M. (1972). Genetic distance between populations. *American Naturalist*, 106(949), 283-292.
- Nei, M. (1973). Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 70(12), 3321-3323.
- Nei, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89(3), 583-590.

- Obbard, D. J., Harris, S. A., & Pannell, J. R. (2006). Simple allelic-phenotype diversity and differentiation statistics for allopolyploids. *Heredity (Edinb)*, 97(4), 296-303.
- Peakall, R., & Smouse, P. E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6(1), 288-295.
- Peakall, R., & Smouse, P. E. (2012). GenALEX 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, 28(19), 2537-2539.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959.
- R Development Core Team (2008). R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Reid, S. M., Kidd, A., & Wilson, C. C. (2012). Validation of buccal swabs for noninvasive DNA sampling of small-bodied imperiled fishes. *Journal of Applied Ichthyology*, 28(2), 290-292.
- Rosenberg, N. A. (2004). DISTRUCT: a program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes*, 4(1), 137-138.
- Rümmler F., Schreckenbach K., & Pfeifer M. (1998). Auswirkungen der Elektrofischerei auf Fische. *Fischer & Teichwirt* 3/1998 :88-92.
- Schmidt, T., Schrimpf, A., Wetjen, M., & Schulz, R. (2015). Erfassung und Dokumentation der genetischen Variabilität von Wildpopulationen der Bachforelle (*Salmo trutta fario*) aus verschiedenen Flussgebietseinheiten in Deutschland. Abschlussbericht an die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung. (pp. 93). Institut für Umweltwissenschaften: Universität Koblenz-Landau, Landau, Deutschland.
- Schröder, W., Kohl, F., & Hanfland, S. (2007). Kormoran und Fischbestand. Kritische Analyse und Forderungen des Landesfischereiverbands Bayern e.V.. Broschüre des Landesfischereiverbands Bayern. ISBN 978-3-00-022465-2. München. 69 Seiten
- Smalley, J. V., & Campanella, J. J. (2005). Buccal swabbing and extraction of high quality sunfish (*Lepomis*) DNA for use in PCR analysis. *BioTechniques*, 38(2), 189-190.
- Steffens, W. (1985). Grundlagen der Fischernährung. Gustav Fischer Verlag, Jena.
- Strasburger, E., Kadereit, J. W., Körner, C., Kost, B., & Sonnewald, U. (2014). *Strasburger – Lehrbuch der Pflanzenwissenschaften*: Springer Berlin Heidelberg.
- UN - United Nations (1992). Multilateral Convention on biological diversity (with annexes). Concluded at Rio de Janeiro on 5 June 1992. In: United Nations Treaty Series Vol. 1760, S. 146
- Tamura, K., & Nei, M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial-DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 10(3), 512-526.
- Tsigenopoulos, C. S., & Berrebi, P. (2000). Molecular phylogeny of north mediterranean freshwater barbs (genus *Barbus*: Cyprinidae) inferred from cytochrome *b* sequences: biogeographic and systematic implications. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 14(2), 165-179.
- Van Puyvelde, K., Van Geert, A., & Triest, L. (2010). ATETRA, a new software program to analyse tetraploid microsatellite data: comparison with TETRA and TETRASAT. *Molecular Ecology Resources*, 10(2), 331-334.

- Vyskocilova, M., Simkova, A., & Martin, J. F. (2007). Isolation and characterization of microsatellites in *Leuciscus cephalus* (Cypriniformes, Cyprinidae) and cross-species amplification within the family Cyprinidae. *Molecular Ecology Notes*, 7(6), 1150-1154.
- Waidbacher, H. & Haidvogel, G. (1998). Fish migration and fish bypass facilities in the Danube: past and present. In: Jungwirth, M., Schmutz, S., Weiss, S. (eds.): Fish migration and fish bypasses. Fishing News Books, 85-98, Oxford.
- Whitlock, M. C. (2011). G'_{ST} and D do not replace F_{ST} . *Molecular Ecology*, 20(6), 1083-1091.
- Wright, S. (1978). *Evolution and the Genetics of Populations, Volume 4: Variability Within and Among Natural Populations*: University of Chicago Press.
- Zaccara, S., Antognazza, C. M., Buonerba, L., Britton, R., & Crosa, G. (2014). Human-mediated contact zone between endemic and invasive *Barbus* species (Osteichthyes: Cyprinidae) in a regulated lowland river: genetic inferences and conservation implications. *Italian Journal of Zoology*, 81(4), 571-583.

10. Anhang

Tab. A1: Getestete Primer etablierter und potentieller Mikrosatelliten-Loci für *B. barbuis*.

Primer	PCR product	Size (sequenced)	Size (reference)	Genbank ID	Primer sequence (5'-3')	Motif	Motif (reference)	Reference	TA in °C	c (MgCl ₂) in mM
Barb37	1	-	514	U51654	F:AAATACGCTCTCCTCATTAC R:GTACAAAAGCAAAAATAAATTA	(ATTT) _x	(ATTT) _x	Chenuil et al. 1997	55	3.25
Barb54	2	-	227	U51659	F:GTTGTTTTGATTCACTGAG R:TACCATCTGCTGCTGCTTC	(CA) _x	(CA) _x	Chenuil et al. 1997	55	3.25
Barb59	1	-	141	U51663	F:CTGTATCCATCACATAGGCT R:CATGATTTAATAGAACACACAC	(GATA) ₁₄ / (GATA) ₂₁	(GATA) _x	Chenuil et al. 1997	57	2
Barb79	2	203 / 247		U51667	F:GAGTGAATCATTACATCCCT R:GCTTTTCTTGATTAGTATTT	(GATA) ₄ / (GATA) ₁₀	(GATA) _x	Chenuil et al. 1997	55	2
BL1-153	2	196	220–292 / 216–295	FJ468350	F:GCACAGCTCTAATCGGGTCACT R:TATGGTCAAACACGGGTCAA	(AC) ₉	(AC) ₂₀	Dubut et al. 2009a, Dubut et al. 2009b	55	3.25
BL1-30	2	-	85–106 / 83–123	FJ468353	F:GCGATGGCACTGATGGA R:TAAAGAGCTCGTTTTGAAGCG		(AC) ₁₁	Dubut et al. 2009a, Dubut et al. 2009b	55	3.25
BL1-98	1	272 / 270	272–394	FJ468349	F:ATTGTTTTTCATTTTGTGAG R:CCGAGTGTGAGAGTTATT	(CA) ₁₁ / (CA) ₁₀	(CA) ₉ CTAA(CA) ₃ N ₅₀ (CA) ₄	Dubut et al. 2009a	57	2
Ca1	1	88	112	AF277573	F:AAGACGATGCTGGATGTTTAC R:CTATAGCTTATCCCGGCAGTA	(CA) ₄	(CA) ₂₄	Dimoski et al. 2000	57	2
CtoA-247	1	167	568	GU254031	F:TGCAAACATATAAACTGAAACAAGG R:GCAGGTATATCCAGCC	none		Dubut et al. 2010	57	2
CypG24	1	150	139–203 / 156–272	AY439142	F:CTGCCGCATCAGAGATAAACTT R:TGGCGGTAAGGGTAGACCAC	(CA) ₆	(CAGA) ₁₉	Dubut et al. 2009a, Dubut et al. 2009b	57	2
LLeA-029	1	-	313–439	FJ601714	F:TTTACCAGCATCCCCCAT R:CATTTCACTCACTGAAGGAGAAC		(AC) ₂₇ G(CA) ₁₁	Dubut et al. 2009b	55	3.25
LLeA-071	1	-	242–266	FJ601719	F:TTTTGAGGTGGGTGTGTGA R:GATGCATGAACAAATCCCAAAT	(CA) ₂₆	(TA) ₃ N ₆₂ (TG) ₃ N ₉₆ (TG) ₂₃	Dubut et al. 2009b	55	3.25
LLeB-072	1	195	136–170	FJ601720	F:TCATTAGGGAGGCTGCTTATTC R:CCTTTTCAACAAATTTGTCACGG	(TG) ₁₀	(TG) ₁₃	Dubut et al. 2009b	57	2
Lsou08	1	-	183–205 / 171–202	EF209003	F:GCGGTGAACAGGCTTAACTC R:TAGGAACGAAGAGCCTGTGG		(GT) ₁₇	Dubut et al. 2009a, Dubut et al. 2009b	55	3.25

Primer	PCR product	Size (sequenced)	Size (reference)	Genbank ID	Primer sequence (5'-3')	Motif	Motif (reference)	Reference	TA in °C	c (MgCl ₂) in mM
Lsou19	1	627	161–216 / 159–257	EF209008	F:TCCCGTGGAGAACTACAGG R:TTCTTCGGTGAGTGTCGATG	(GATA) ₅	(GT) ₃₂	Dubut et al. 2009a, Dubut et al. 2009b	55	3.25
Lsou34	1	-	228–274 / 219–320	EF209012	F:CCAGACAGGGTGATGATTCC R:GTAGCGACGTTCCAGGTCTCG	(GT) ₉	(GT) ₁₅	Dubut et al. 2009b	55	3.25
MFW1	1	173		AY703054	F:GTCCAGACTGTCATCAGGAG R:GAGGTGTACTGAGTCACGC	(GT) ₁₂ N ₂ (GA) ₄	(GT) ₁₄ N ₃ (GA) ₄	Crooijmans et al. (1997); Tong et al. (2005)	57	2
Z21908	2	134 / ?		G40277	F:ATTGATTAGGTCATTGCCCG R:AGGAGTCATCGCTGGTGAGT	(AC) ₄	(CA) ₆	Dubut et al. 2010	57	2
BL1-2b	-	-	142–176 / 138–157	FJ468347	F:TTTGCCTAGTAACGAGCATCA R:CAGCACAGTTTCTCCATCCA		(TG) ₁₂	Dubut et al. 2009a, Dubut et al. 2009b		
BL1-84	-	-	181–198	FJ468346	F:CATTACTACGGCAACCACAT R:GCGAAAAGGAAAGAGACTGA		(AC) ₄ N ₂₄ (CA) ₉	Dubut et al. 2009a		
BL2-114	-	-	169–279	FJ468352	F:ATCACTGCCATTTTATTA R:CTGCTCCGCTCTGTTCCA		(TC) ₅ TA(TC) ₂₂	Dubut et al. 2009a		
CnaB-030	-	-		GU254028	F:ACGAATGAGAAGCTCGTG R:TCGTCATGCAGTTCATCCT			Dubut et al. 2010		
CnaD-112	-	-		GU254029	F:AACTGCACCAATATGTCAAAG R:CTGTGAGTGATTCTGGGA			Dubut et al. 2010		
CnaF-177	-	-		GU254030	F:CGGTTCTATTGACAACCC R:CTGCAGTGTATGTCAAGTGG			Dubut et al. 2010		
CtoF-172	-	-		GU254034	F:ACCAAGGTGAAAGCCTGTAA R:GGACACGATGACAACGG			Dubut et al. 2010		
CtoG-216	-	-		GU254036	F:AATTTGGAGCAGATAGAGGG R:GTTGGCTCAGGTCAGACTTA			Dubut et al. 2010		
IV04	-	-		GU254038	F:TGCAGAGATGGATGAACTGAG R:ATACGGCACATGTTTCC			Dubut et al. 2010		
LceA149	-	-	84 – 88	AY962239	F:TATTCAACAATACTAAATACATGC R:AAAGATTAGCCTTCCACTG		(CAA) ₄	Larno et al. 2005		
LceC1	-	-	81–110 / 85–116	AY962241	F:AGGTGTTGGTTCCTCCCG R:TGTTATCTCGGTTTCACGAGC		(CA) ₁₆	Dubut et al. 2009a, Dubut et al. 2009b		
LleA-150	-	-		GU254037	F:AAAGTGAAATCCAGATGTTTAAGT R:AAAGGATAATTTTCAGAGTAACGAG			Dubut et al. 2010		

Primer	PCR product	Size (sequenced)	Size (reference)	Genbank ID	Primer sequence (5'-3')	Motif	Motif (reference)	Reference	TA in °C	c (MgCl ₂) in mM
LleC-090	-	-	223–290	FJ601722	F:TCAGACACAACCTAACCGACC R:GGCGCTGTCCAGAACTGA		(TC) ₁₅ GG(TC) ₃	Dubut et al. 2009b		
Lsou05	-	-	174–206 / 179–228	EF209002	F:CTGAAGAAGACCCTGGTTCG R:CCCACATCTGCTGACTCTGAC		(CA) ₁₇	Dubut et al. 2009a, Dubut et al. 2009b		
Lsou29	-	-	307–317	EF209011	F:AAAATGATGCTGTGCAATGG R:CCATCTTTGTCCCCATAACG		(GT) ₁₀	Dubut et al. 2009a		
N7K4	-	-	138–188 / 140–170	AJ566138	F:ACGAGCATCAGTATCCAGAGACAC R:CATGTTTCCACATCTGAGCTAAAA		(TG) ₁₆	Dubut et al. 2009a, Dubut et al. 2009b		
Ppro132	-	-		AY254354	F:GCATTTCTTTTGCTTGTAAGTCTCAA R:GGTTTAACCCGATCAATGGCTGTGC			Bessert & Orti 2003		
Rhca20	-	-		DQ106915	F:CTACATCTGCAAGAAAGGC R:CAGTGAGGTATAAAGCAAGG			Girard & Angers 2006		
Rru4	-	-	170–199	AB112740	F:TAAGCAGTGACCAGAATCCA R:CAAAGCCTCAAAGCACAA		(CA) ₁₅	Dubut et al. 2009b		
Rser10	-	-	176–199 / 176–230	AJ312850	F:TGCGTAATCGTGAAGCGGTG R:GCCACTAAAGCGCAGAAGCC		(GT) ₁₂	Dubut et al. 2009a, Dubut et al. 2009b		
Barbus4	1	153		HF975629	F:TTTGTCCATTACTGCCCTC R:CTCGTTTGGTCCAGGACAT	(CAT) ₉	(CAT) ₆	Gettová et al. 2013	57	2
Barbus21	1	186		HF975632	F:CTGTGGGAGACACAAACACG R: AATCGCTTCCAGACTGATGG	(GT) ₁₅	(GT) ₁₁	Gettová et al. 2013	57	2
Barbus26	1	91		HF975634	F:AATCGAGCATCAAAACGTCC R: ACTGAAGGAAACGTCATGGG	(CA) ₇	(CA) ₁₁	Gettová et al. 2013	57	2
Barbus33	2	157 / ?		HF975639	F:TGAATGCATCATGGGCTAGA R:CAGAGCGAATCAAACATGGA	(CT) ₄ (CA) ₂	(CT) ₂ (CA) ₁₀	Gettová et al. 2013	57	2
Barbus35	1	125		HF975640	F:GCAAATGAGAAGGGTCCAGA R:TCAATGGACTGCCTGTTGAA	(AC) ₁₈ / (AC) ₁₇	(AC) ₁₀	Gettová et al. 2013	57	2
Barbus50	1	-		HF975649	F:GTTACAGGCCAACGTCAAGG R:GTTAGTCTGCAATCCGCCAT		(TCT) ₁₂	Gettová et al. 2013	57	2
Barbus62	1	134		HF975653	F:CTCACATGATGCTGTGGCTT R:TGGAGACAGATCTGGGCTTT	(TG) ₁₂ / (TG) ₁₃	(TG) ₁₁	Gettová et al. 2013	57	2
Barbus65	1	82		HF975655	F:GATTCACAAGCATGGAAGCA R:TCTTATTTTCATGTGGGCGGT	(AC) ₅	(AC) ₁₀	Gettová et al. 2013	57	2

Tab. A3: Auflistung der paarweisen G_{ST} -Werte zwischen den Barbenpopulationen basierend auf Mikrosatelliten Daten. Die minimalen G_{ST} -Werte sind rot markiert und die maximalen blau.

POP	Donau2	Donau3	GroVils	Inn	Murn	Pfreimd	Bode	Chemnitz	Elbe1	Elbe2	Elbe3	FGMulde	Helme	Rur	Wurm	Neiße
Donau2		0.0113	0.0098	0.0121	0.0201	0.0256	0.0084	0.0516	0.0274	0.0286	0.0092	0.0420	0.0215	0.0150	0.0142	0.0990
Donau3	0.0113		0.0183	0.0260	0.0153	0.0303	0.0188	0.0418	0.0267	0.0311	0.0116	0.0410	0.0318	0.0311	0.0245	0.0857
Große Vils	0.0098	0.0183		0.0131	0.0309	0.0279	0.0176	0.0632	0.0352	0.0315	0.0137	0.0479	0.0359	0.0245	0.0164	0.1091
Inn	0.0121	0.0260	0.0131		0.0299	0.0335	0.0180	0.0670	0.0422	0.0371	0.0201	0.0572	0.0347	0.0234	0.0175	0.1157
Murn	0.0201	0.0153	0.0309	0.0299		0.0460	0.0244	0.0436	0.0354	0.0406	0.0231	0.0469	0.0327	0.0407	0.0336	0.1108
Pfreimd	0.0256	0.0303	0.0279	0.0335	0.0460		0.0355	0.0734	0.0555	0.0555	0.0222	0.0597	0.0547	0.0363	0.0284	0.0813
Bode	0.0084	0.0188	0.0176	0.0180	0.0244	0.0355		0.0498	0.0276	0.0240	0.0142	0.0405	0.0225	0.0179	0.0176	0.1119
Chemnitz	0.0516	0.0418	0.0632	0.0670	0.0436	0.0734	0.0498		0.0230	0.0393	0.0385	0.0202	0.0404	0.0805	0.0666	0.1272
Elbe1	0.0274	0.0267	0.0352	0.0422	0.0354	0.0555	0.0276	0.0230		0.0172	0.0220	0.0215	0.0203	0.0526	0.0452	0.1300
Elbe2	0.0286	0.0311	0.0315	0.0371	0.0406	0.0555	0.0240	0.0393	0.0172		0.0214	0.0323	0.0326	0.0456	0.0356	0.1251
Elbe3	0.0092	0.0116	0.0137	0.0201	0.0231	0.0222	0.0142	0.0385	0.0220	0.0214		0.0298	0.0258	0.0249	0.0145	0.0872
FG Mulde	0.0420	0.0410	0.0479	0.0572	0.0469	0.0597	0.0405	0.0202	0.0215	0.0323	0.0298		0.0327	0.0733	0.0545	0.1295
Helme	0.0215	0.0318	0.0359	0.0347	0.0327	0.0547	0.0225	0.0404	0.0203	0.0326	0.0258	0.0327		0.0413	0.0440	0.1488
Rur	0.0150	0.0311	0.0245	0.0234	0.0407	0.0363	0.0179	0.0805	0.0526	0.0456	0.0249	0.0733	0.0413		0.0141	0.1096
Wurm	0.0142	0.0245	0.0164	0.0175	0.0336	0.0284	0.0176	0.0666	0.0452	0.0356	0.0145	0.0545	0.0440	0.0141		0.0936
Neiße	0.0990	0.0857	0.1091	0.1157	0.1108	0.0813	0.1119	0.1272	0.1300	0.1251	0.0872	0.1295	0.1488	0.1096	0.0936	
Oder	0.0461	0.0360	0.0445	0.0585	0.0567	0.0398	0.0554	0.0774	0.0694	0.0685	0.0396	0.0712	0.0883	0.0628	0.0468	0.0442
Dill	0.0207	0.0336	0.0374	0.0343	0.0388	0.0447	0.0233	0.0706	0.0468	0.0529	0.0318	0.0661	0.0380	0.0176	0.0304	0.1099
Enz1	0.0370	0.0588	0.0468	0.0432	0.0608	0.0555	0.0328	0.0957	0.0726	0.0709	0.0490	0.0899	0.0566	0.0224	0.0358	0.1456
Enz2	0.0213	0.0422	0.0290	0.0255	0.0485	0.0467	0.0231	0.0835	0.0570	0.0465	0.0306	0.0698	0.0459	0.0172	0.0209	0.1186
Erft	0.0695	0.0761	0.0912	0.0975	0.0915	0.0923	0.0748	0.1185	0.1006	0.1109	0.0787	0.1201	0.0983	0.0569	0.0750	0.1440
Jagst	0.0287	0.0497	0.0372	0.0321	0.0525	0.0450	0.0320	0.0923	0.0657	0.0617	0.0400	0.0837	0.0554	0.0161	0.0254	0.1199
Kocher1	0.0271	0.0399	0.0353	0.0406	0.0546	0.0350	0.0375	0.0934	0.0688	0.0670	0.0321	0.0818	0.0675	0.0216	0.0215	0.0823
Kocher2	0.0332	0.0530	0.0469	0.0462	0.0642	0.0559	0.0404	0.1118	0.0810	0.0778	0.0474	0.1001	0.0684	0.0201	0.0334	0.1145
Kocher3	0.0219	0.0339	0.0310	0.0331	0.0460	0.0379	0.0283	0.0827	0.0568	0.0561	0.0289	0.0729	0.0548	0.0156	0.0208	0.0953
Lahn	0.0173	0.0339	0.0268	0.0264	0.0378	0.0451	0.0179	0.0720	0.0456	0.0425	0.0286	0.0630	0.0384	0.0134	0.0223	0.1261
Lippe	0.0286	0.0407	0.0341	0.0398	0.0523	0.0499	0.0354	0.0889	0.0659	0.0629	0.0366	0.0818	0.0627	0.0188	0.0257	0.1082
Mosel	0.0408	0.0638	0.0515	0.0462	0.0659	0.0646	0.0439	0.1105	0.0828	0.0792	0.0546	0.1061	0.0711	0.0193	0.0344	0.1444
Ruhr	0.0396	0.0653	0.0465	0.0404	0.0730	0.0541	0.0452	0.1225	0.0902	0.0787	0.0522	0.1071	0.0757	0.0242	0.0320	0.1158
Sieg	0.0212	0.0406	0.0340	0.0308	0.0475	0.0389	0.0239	0.0839	0.0557	0.0539	0.0311	0.0720	0.0436	0.0126	0.0247	0.1107
Wupper	0.0369	0.0588	0.0471	0.0432	0.0594	0.0551	0.0412	0.1065	0.0783	0.0845	0.0500	0.0941	0.0591	0.0307	0.0421	0.1482
Leine	0.0110	0.0252	0.0195	0.0214	0.0292	0.0384	0.0105	0.0557	0.0308	0.0298	0.0179	0.0412	0.0201	0.0162	0.0210	0.1230

Fortsetzung Tab. A3

POP	Oder	Dill	Enz1	Enz2	Erft	Jagst	Kocher1	Kocher2	Kocher3	Lahn	Lippe	Mosel	Ruhr	Sieg	Wupper	Leine
Donau2	0.0461	0.0207	0.0370	0.0213	0.0695	0.0287	0.0271	0.0332	0.0219	0.0173	0.0286	0.0408	0.0396	0.0212	0.0369	0.0110
Donau3	0.0360	0.0336	0.0588	0.0422	0.0761	0.0497	0.0399	0.0530	0.0339	0.0339	0.0407	0.0638	0.0653	0.0406	0.0588	0.0252
Große Vils	0.0445	0.0374	0.0468	0.0290	0.0912	0.0372	0.0353	0.0469	0.0310	0.0268	0.0341	0.0515	0.0465	0.0340	0.0471	0.0195
Inn	0.0585	0.0343	0.0432	0.0255	0.0975	0.0321	0.0406	0.0462	0.0331	0.0264	0.0398	0.0462	0.0404	0.0308	0.0432	0.0214
Murn	0.0567	0.0388	0.0608	0.0485	0.0915	0.0525	0.0546	0.0642	0.0460	0.0378	0.0523	0.0659	0.0730	0.0475	0.0594	0.0292
Pfreimd	0.0398	0.0447	0.0555	0.0467	0.0923	0.0450	0.0350	0.0559	0.0379	0.0451	0.0499	0.0646	0.0541	0.0389	0.0551	0.0384
Bode	0.0554	0.0233	0.0328	0.0231	0.0748	0.0320	0.0375	0.0404	0.0283	0.0179	0.0354	0.0439	0.0452	0.0239	0.0412	0.0105
Chemnitz	0.0774	0.0706	0.0957	0.0835	0.1185	0.0923	0.0934	0.1118	0.0827	0.0720	0.0889	0.1105	0.1225	0.0839	0.1065	0.0557
Elbe1	0.0694	0.0468	0.0726	0.0570	0.1006	0.0657	0.0688	0.0810	0.0568	0.0456	0.0659	0.0828	0.0902	0.0557	0.0783	0.0308
Elbe2	0.0685	0.0529	0.0709	0.0465	0.1109	0.0617	0.0670	0.0778	0.0561	0.0425	0.0629	0.0792	0.0787	0.0539	0.0845	0.0298
Elbe3	0.0396	0.0318	0.0490	0.0306	0.0787	0.0400	0.0321	0.0474	0.0289	0.0286	0.0366	0.0546	0.0522	0.0311	0.0500	0.0179
FG Mulde	0.0712	0.0661	0.0899	0.0698	0.1201	0.0837	0.0818	0.1001	0.0729	0.0630	0.0818	0.1061	0.1071	0.0720	0.0941	0.0412
Helme	0.0883	0.0380	0.0566	0.0459	0.0983	0.0554	0.0675	0.0684	0.0548	0.0384	0.0627	0.0711	0.0757	0.0436	0.0591	0.0201
Rur	0.0628	0.0176	0.0224	0.0172	0.0569	0.0161	0.0216	0.0201	0.0156	0.0134	0.0188	0.0193	0.0242	0.0126	0.0307	0.0162
Wurm	0.0468	0.0304	0.0358	0.0209	0.0750	0.0254	0.0215	0.0334	0.0208	0.0223	0.0257	0.0344	0.0320	0.0247	0.0421	0.0210
Neiße	0.0442	0.1099	0.1456	0.1186	0.1440	0.1199	0.0823	0.1145	0.0953	0.1261	0.1082	0.1444	0.1158	0.1107	0.1482	0.1230
Oder		0.0713	0.0884	0.0709	0.1024	0.0724	0.0545	0.0810	0.0560	0.0692	0.0621	0.0957	0.0840	0.0727	0.0970	0.0650
Dill	0.0713		0.0288	0.0245	0.0460	0.0209	0.0277	0.0264	0.0220	0.0146	0.0254	0.0282	0.0310	0.0123	0.0282	0.0193
Enz1	0.0884	0.0288		0.0299	0.0765	0.0226	0.0475	0.0446	0.0428	0.0245	0.0392	0.0320	0.0350	0.0267	0.0278	0.0308
Enz2	0.0709	0.0245	0.0299		0.0647	0.0181	0.0268	0.0247	0.0203	0.0175	0.0218	0.0263	0.0215	0.0151	0.0330	0.0201
Erft	0.1024	0.0460	0.0765	0.0647		0.0660	0.0572	0.0569	0.0548	0.0623	0.0552	0.0686	0.0829	0.0551	0.0832	0.0727
Jagst	0.0724	0.0209	0.0226	0.0181	0.0660		0.0245	0.0211	0.0186	0.0169	0.0216	0.0165	0.0158	0.0143	0.0262	0.0260
Kocher1	0.0545	0.0277	0.0475	0.0268	0.0572	0.0245		0.0143	0.0105	0.0321	0.0192	0.0355	0.0222	0.0188	0.0345	0.0354
Kocher2	0.0810	0.0264	0.0446	0.0247	0.0569	0.0211	0.0143		0.0126	0.0267	0.0197	0.0305	0.0193	0.0164	0.0315	0.0320
Kocher3	0.0560	0.0220	0.0428	0.0203	0.0548	0.0186	0.0105	0.0126		0.0219	0.0127	0.0269	0.0252	0.0156	0.0319	0.0244
Lahn	0.0692	0.0146	0.0245	0.0175	0.0623	0.0169	0.0321	0.0267	0.0219		0.0211	0.0229	0.0264	0.0158	0.0302	0.0120
Lippe	0.0621	0.0254	0.0392	0.0218	0.0552	0.0216	0.0192	0.0197	0.0127	0.0211		0.0225	0.0266	0.0216	0.0364	0.0292
Mosel	0.0957	0.0282	0.0320	0.0263	0.0686	0.0165	0.0355	0.0305	0.0269	0.0229	0.0225		0.0273	0.0225	0.0346	0.0366
Ruhr	0.0840	0.0310	0.0350	0.0215	0.0829	0.0158	0.0222	0.0193	0.0252	0.0264	0.0266	0.0273		0.0170	0.0319	0.0362
Sieg	0.0727	0.0123	0.0267	0.0151	0.0551	0.0143	0.0188	0.0164	0.0156	0.0158	0.0216	0.0225	0.0170		0.0194	0.0169
Wupper	0.0970	0.0282	0.0278	0.0330	0.0832	0.0262	0.0345	0.0315	0.0319	0.0302	0.0364	0.0346	0.0319	0.0194		0.0313
Leine	0.0650	0.0193	0.0308	0.0201	0.0727	0.0260	0.0354	0.0320	0.0244	0.0120	0.0292	0.0366	0.0362	0.0169	0.0313	

Tab. A4. Ergebnisse der hierarchischen AMOVA (Analysis of Molecular Variance) für die Mikrosatelliten-Daten basierend auf Distanzen nach Lynch(1990). Die Individuen wurden nach ihren Populationen und nach den sechs Flussgebietseinheiten (FGEs) gruppiert. Dargestellt sind die Freiheitsgrade (df), Summe der Quadrate (SSD), Varianzkomponenten (CV), Prozentanteil der Gesamtvarianz (% total), die Fixationsindices (FI) und deren Signifikanz (***: $p < 0,001$).

Genetische Variationen	df	SSD	CV	% total	FI
Zwischen FGEs	5	17,728	0,02509	9,97	$\Phi_{CT} = 0,09971^{***}$
Zwischen Populationen innerhalb der FGEs	26	16,409	0,01765	7,02	$\Phi_{SC} = 0,07792^{***}$
Innerhalb der Populationen	751	156,849	0,20885	83,01	$\Phi_{ST} = 0,16986^{***}$
Gesamt	782	190,986	0,25159		

Tab. A5. Allelfrequenzen an den 11 für die Analyse herangezogenen untersuchten Mikrosatelliten-Loci

MS-Locus	Allel	Allel- frequenz (%)	MS-Locus	Allel	Allel- frequenz (%)	MS-Locus	Allel	Allel- frequenz (%)	MS-Locus	Allel	Allel- frequenz (%)	MS-Locus	Allel	Allel- frequenz (%)		
Barb59	58	0.0007	Barb79	197	0.0008	Barbus21	159	0.0004	Barbus35	122	0.0043	BL1-98	262	0.0077		
	86	0.0007		199	0.0720		173	0.0006		124	0.0318		264	0.0003		
	106	0.0029		212	0.0010		181	0.0004		126	0.0009		266	0.0020		
	110	0.0188		216	0.0079		183	0.0366		128	0.0108		268	0.0003		
	114	0.0048		221	0.0107		185	0.0432		130	0.0183		270	0.0234		
	118	0.0703		225	0.0968		187	0.4433		132	0.0713		272	0.1933		
	122	0.0528		229	0.0295		189	0.0544		134	0.0161		274	0.3452		
	126	0.0928		234	0.0256		191	0.2390		136	0.0154		276	0.0382		
	130	0.1204		238	0.0125		193	0.0525		138	0.0010		278	0.2825		
	134	0.1704		242	0.0415		195	0.0882		142	0.0005		280	0.0934		
	138	0.1703		246	0.0568		197	0.0049		144	0.0021		282	0.0058		
	142	0.0663		250	0.0096		199	0.0055		148	0.0003		284	0.0003		
	146	0.0404		254	0.0092		201	0.0045		150	0.0003		286	0.0019		
	150	0.0180		258	0.0283		203	0.0267		152	0.0014		288	0.0030		
	154	0.0190		262	0.0219					154	0.0008		290	0.0006		
	158	0.0181		265	0.0474		Barbus26	79		0.0005	156		0.0030	296	0.0020	
	162	0.0059		269	0.0503			81		0.0005	158		0.0078			
	166	0.0047		273	0.0577			85		0.4582	160		0.0007	LleB-072	182	0.0010
	170	0.0061		277	0.0654			87		0.5407	162		0.0007		184	0.0116
	174	0.0028		281	0.1472										186	0.3671
182	0.0036	285	0.0859	Barbus33	107	0.0010	Barbus50	104	0.0007		188	0.1037				
186	0.0102	289	0.0249		109	0.5135		107	0.0059		190	0.0100				
190	0.0194	292	0.0115		111	0.3673		110	0.1916		192	0.0012				
194	0.0136	296	0.0164		113	0.1172		113	0.0677		194	0.2334				
198	0.0177	300	0.0241		115	0.0010		116	0.1910		196	0.2667				
202	0.0115	304	0.0301					119	0.4639		198	0.0027				
206	0.0116	309	0.0050	Barbus35	84	0.0017		122	0.0287		200	0.0008				
210	0.0051	313	0.0030		92	0.0010		125	0.0034		204	0.0009				
214	0.0041	317	0.0026		104	0.0019		128	0.0459		208	0.0005				
218	0.0024	322	0.0039		106	0.0006		131	0.0011		218	0.0005				
220	0.0010	326	0.0005		108	0.3071										
222	0.0038				110	0.0102					Z21908	106	0.0009			
226	0.0032	Barbus4	145	0.0296		112	0.2410					122	0.4218			
228	0.0026		148	0.4985		114	0.1589					126	0.0938			
234	0.0004		151	0.4091		116	0.0390					128	0.4831			
238	0.0021		154	0.0617		118	0.0152					130	0.0004			
242	0.0013		157	0.0010		120	0.0361									

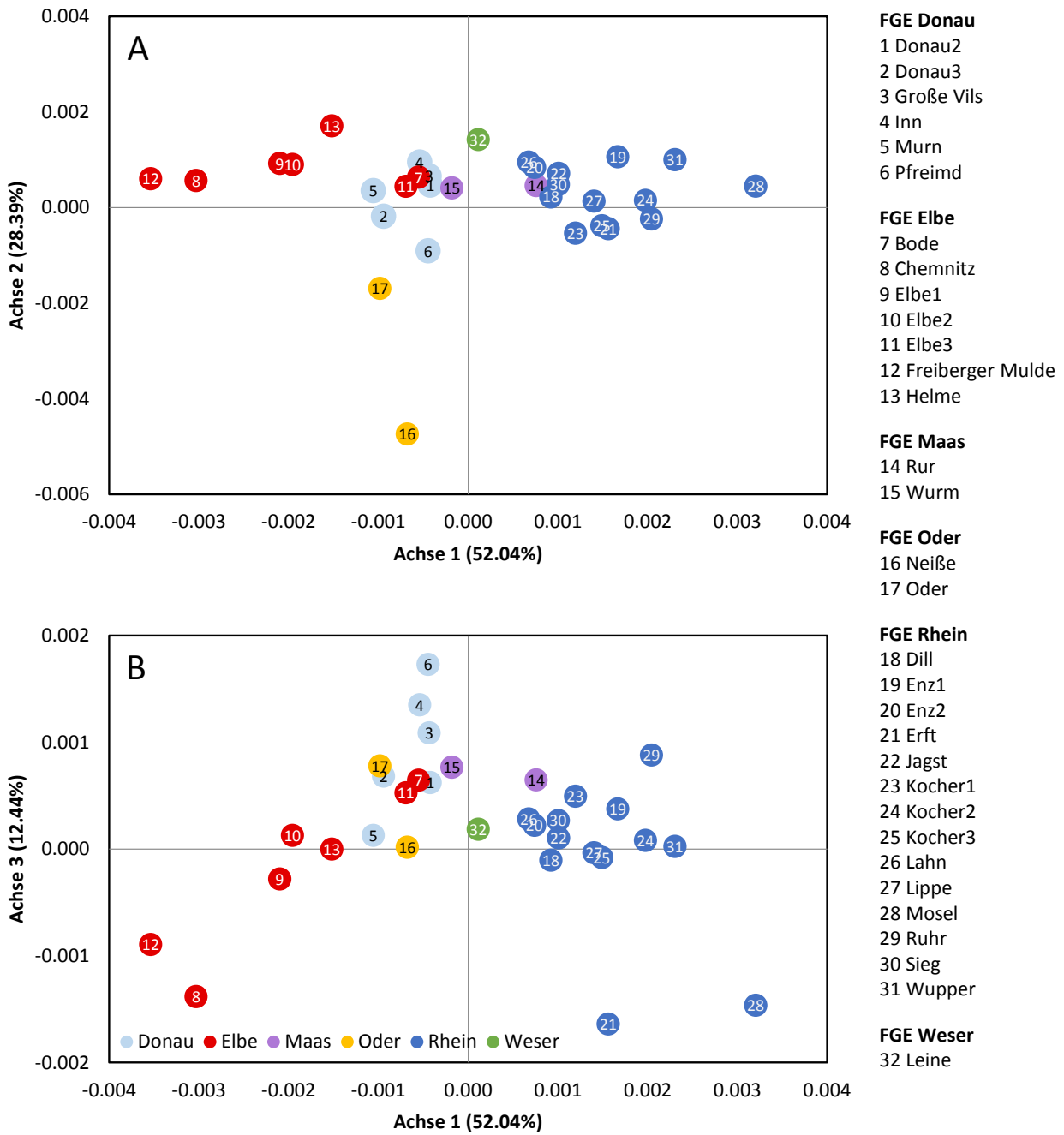


Abb. A1: Hauptkoordinaten-Analyse der 32 Barben-Populationen aus den Flussgebietseinheiten Donau (hellblau), Elbe (rot), Maas (lila), Oder (orange), Rhein (dunkelblau) und Weser (grün) auf Basis ihrer Nei Distanzen unter Verwendung des binären Datensatzes. (A) Hauptordinate 1 gegen Hauptordinate 2, (B) Hauptordinate 1 gegen Hauptordinate 3. Diese drei Achsen erklären zusammen 92,87% der Gesamtvariation im Datensatz.

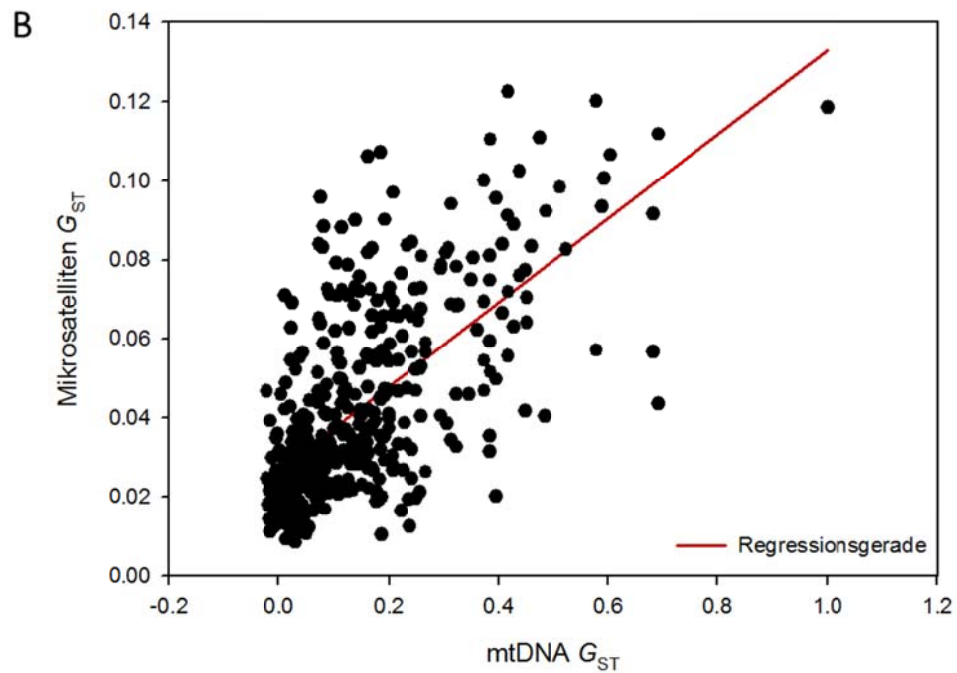
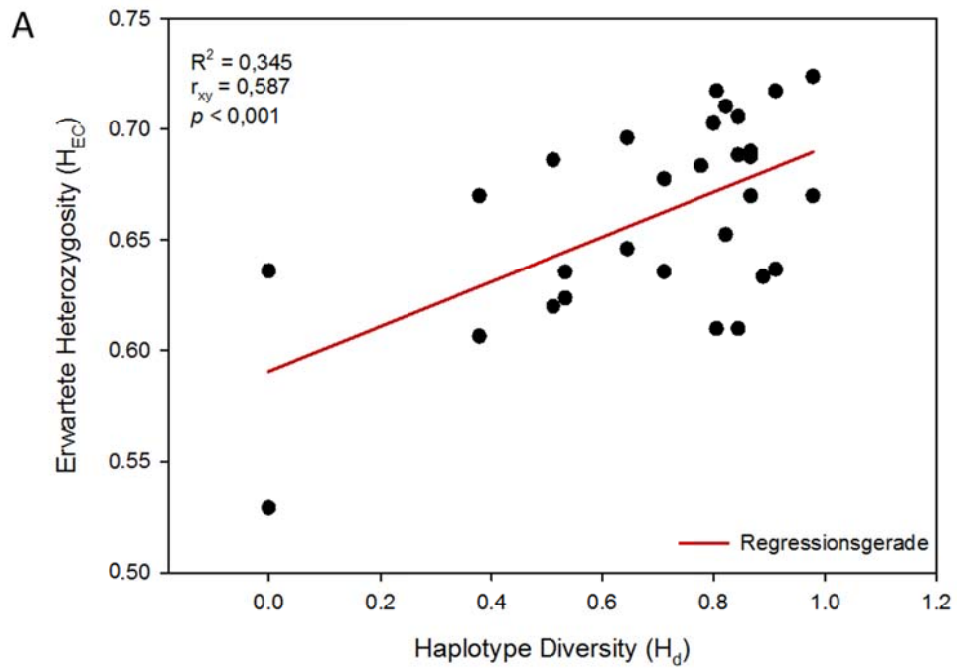


Abb. A2: Korrelation zwischen den mtDNA und Mikrosatelliten Daten. (A) Haplotypendiversität vs. erwarteter Heterozygotie (B) bezüglich Korrelation der genetischen Differenzierungen über G_{ST} -Werte.