

Erfassung und Dokumentation der genetischen Vielfalt der Äsche (*Thymallus thymallus*) in Deutschland

Abschlussbericht

erstellt im Auftrag der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE)
&
finanziert durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft
(BMEL).



Projektnummer: 15BE003

Laufzeit: 14.12.2015 – 14.09.2019

Projektsteuerung:

GWT-TUD GmbH, Freiburger Str. 33
01067 Dresden, Deutschland

Projektbearbeitung

Prof. Dr. Thomas Berendonk

Technische Universität Dresden

01062 Dresden, Deutschland

Weitere Projektbearbeiter/in:

Dr. Dipl.-Biol. Sascha Krenek

M. Sc. Christoph Köbsch

Dipl.-Biol. Thomas Schiller

B. Sc. Thea Hose

M. Sc. Daniel Herzog

TA Ulrike Mogck

Zitiervorschlag: Köbsch, C.; Krenek, S.; Schiller, T.; Herzog, D. & Berendonk, T.U. (2019): Erfassung und Dokumentation der genetischen Vielfalt der Äsche (*Thymallus thymallus*) in Deutschland. Abschlussbericht erstellt im Auftrag der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE), Institut für Hydrobiologie, Technische Universität Dresden, Dresden, Deutschland, 92 S.

Danksagung: Der Dank der Autoren gilt dem Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft für die Finanzierung und Unterstützung des Projektes. Weiterhin danken wir dem Fachausschuss Aquatische Genetische Ressourcen, den Forschungsstellen und Fischereibehörden in Bundesländern und Regierungspräsidien, den involvierten fischerei- und naturschutzrechtlichen Genehmigungsbehörden, den zahlreichen selbstständigen Fachkollegen, den beteiligten Fischereiverbänden sowie allen involvierten Angelvereinen und sonstigen Fischereiausübungsberechtigten.

INHALTSVERZEICHNIS

1	Ziele und Aufgabenstellung des Projekts	6
2	Planung und Ablauf des Projekts	9
2.1	AP1 – Populationsauswahl	9
2.2	AP2 – Probenbeschaffung und Befischungen	10
2.3	AP3 Genetische Analysen	13
2.4	AP4 Auswertung und Bewertung	13
3	Wissenschaftlicher und technischer Stand an den angeknüpft wurde ..	15
3.1	Phylogeographie und Populationsgenetik der Äsche	15
3.2	Methoden zur molekulargenetischen Charakterisierung der Äsche	17
4	Material und Methoden	18
4.1	Auswahl geeigneter Herkünfte der Äsche.....	18
4.2	Aufbau eines Kooperationsnetzwerks.....	20
4.3	Untersuchte Herkünfte	22
4.3.1	Probenahme und Elektrobefischung	22
4.3.2	Status-Berichte zu den Herkünften.....	22
4.4	Molekulare Analysen	36
4.4.1	Verwendung forensischer Abstriche zur DNA-Gewinnung	36
4.4.2	mtDNA RFLP- Analyse.....	37
4.4.3	Mikrosatellitenanalyse	39
4.5	Datenanalyse und Statistik.....	42
4.5.1	mtDNA RFLP-Analyse.....	42
4.5.2	Mikrosatellitenanalyse	44
5	Ausführliche Darstellung der Ergebnisse	47
5.1	Populationsstruktur der Äsche in den erfassten Herkünften	47
5.2	Genetische Diversität der Äsche in den erfassten Herkünften.....	50
5.2.1	Forensische Abstriche zur DNA-Gewinnung.....	50
5.2.2	mtDNA RFLP-Analyse.....	50
5.2.3	Mikrosatellitenanalyse	55

6	Voraussichtliche Nutzung und Verwertbarkeit der Ergebnisse.....	65
6.1	Bewertung der untersuchten Populationen und Bestände der Äsche.....	65
6.2	Ableitung von Managementmaßnahmen	68
7	Zusammenfassung.....	72
7.1	Deutsche Kurzfassung.....	72
7.2	Abstract	72
8	Gegenüberstellung der geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen	75
9	Literaturverzeichnis	77
10	Tabellenverzeichnis	86
11	Abbildungsverzeichnis	87
Appendix	88

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 zu 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 deren 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 Äsche (*Thymallus thymallus*) 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 deutliche Bestandsrückgänge dokumentiert (u.a. Mueller, Pander & Geist, 2018), so dass sie in Deutschland als stark gefährdet gilt (BfN, 2009).

In den Roten Listen der Bundesländer ist die Äsche als gefährdet (Hessen), stark gefährdet (Niedersachsen, Nordrhein-Westfalen, Sachsen-Anhalt, Sachsen, Baden-Württemberg, Bayern, Thüringen, Saarland) oder sogar vom Aussterben bedroht (Rheinland-Pfalz) eingestuft.

Trotz Bestandserholungen bis in die 1990er Jahre, initiiert durch eine massive Verringerung der stofflichen Belastung vieler Fließgewässer, werden in jüngerer Zeit erneut Rückgänge vieler Äschenpopulationen beobachtet. Als Ursachen des Bestandsrückganges kieslaichender strömungsliebender Fischarten gilt die Gewässerdegradation und dabei insbesondere das Zusammenspiel von Stauregulierung (Potamalisierung von Gewässerabschnitten), der Intensivierung der

Landwirtschaft (Sediment- und Nährstoffeintrag) und des Klimawandels (Radinger *et al.*, 2017; Mueller *et al.*, 2018). Aber auch die stoffliche Belastung – als Quelle rückt zunehmend die Landwirtschaft in den Fokus – der potentiellen Laich- und Habitatgewässer (Hübner, 2003) ist oft immer noch problematisch. Weitere Gefährdungsursachen stellen der eingeschränkte Populationsaustausch durch Wanderhindernisse (Kolbinger, 2002; Junge *et al.*, 2014) sowie der Fraßdruck durch Kormorane (*Phalacrocorax carbo sinensis*) oder Gänsesäger (*Mergus merganser*) dar (Schröder, Kohl & Hanfland, 2007; Jepsen, Ravn & Pedersen, 2018).

Die Äsche stellt in der Angelfischerei eine beliebte Fischart dar. Aus diesem Grund spielt auch der Besatz mit Äschen eine Rolle, besonders vor dem Hintergrund der stark zurückgegangenen Bestände. 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 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 z.T. durch Besatz überformt, die genetische Integrität und Diversität entspricht potenziell nicht mehr ihrem ursprünglichen Zustand. Der genetische Effekt von Fischbesatz im Sinne einer mittel- bis langfristigen Etablierung von Besatz-Genmaterial in der betreffenden Population gilt bei Salmoniden als schwer vorhersagbar (Hindar, Ryman & Utter, 1991). Für die Äsche konnten vom Ausbleiben eines Effekts bis hin zum vollständigen Verlust des ursprünglichen Genpools bereits alle denkbaren Szenarien nachgewiesen werden (Gum, Gross & Kuehn, 2006; Meraner, Cornetti & Gandolfi, 2014; Persat *et al.*, 2016).

Ziel der vorliegenden Studie war es, Wildpopulationen der Äsche (*Thymallus thymallus*) im Gesamtgebiet von Deutschland genetisch zu charakterisieren. Hierzu sollten 30 Äschenpopulationen aus mindestens fünf 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 Äsche 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. Variabilitäten und 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.

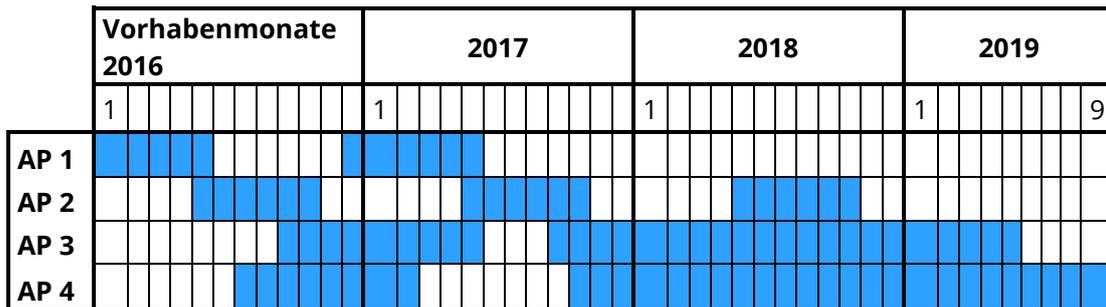
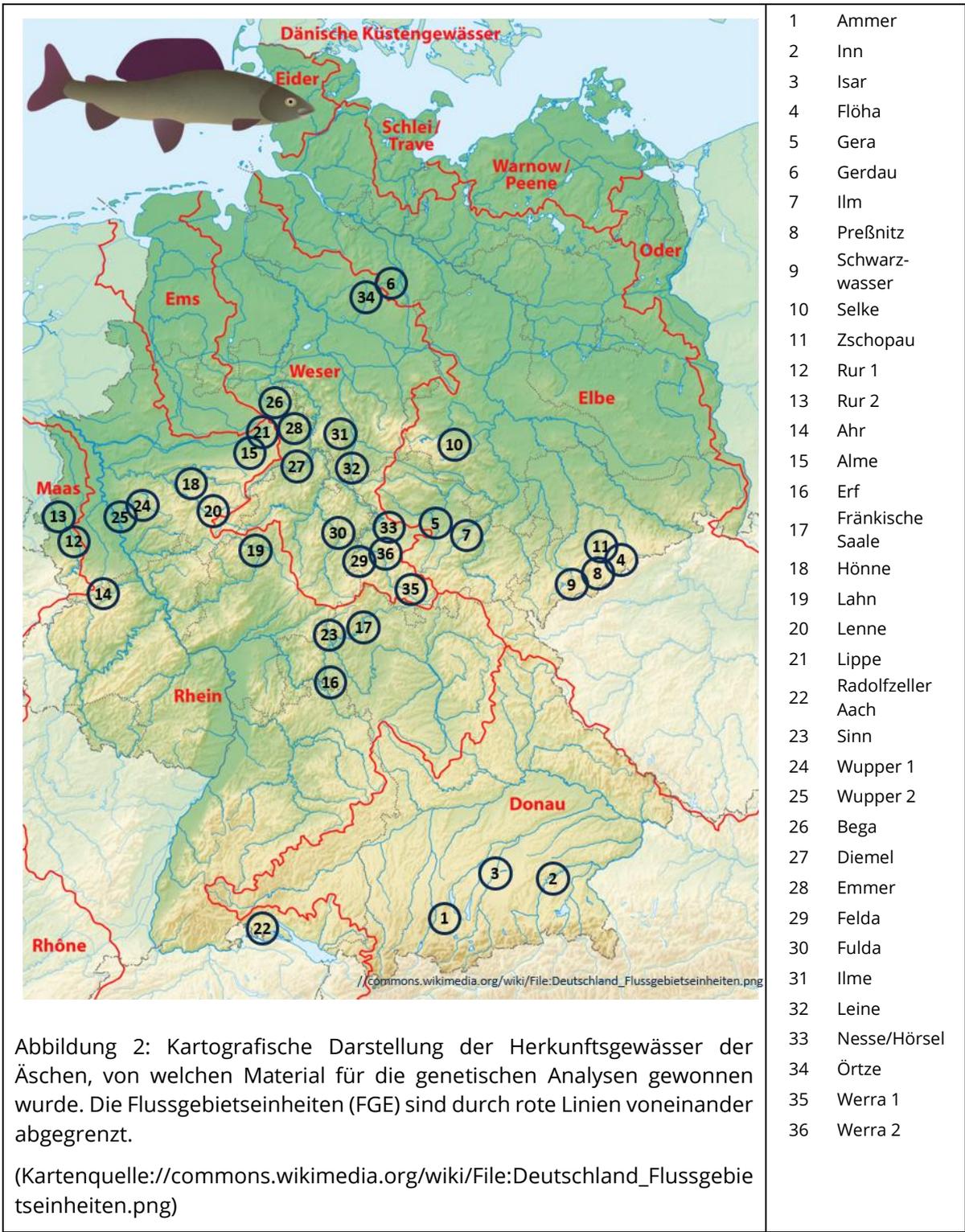


Abbildung 1: Arbeits- und Zeitplan aufgeschlüsselt nach Arbeitspaketen (AP 1-4) des Dienstleistungsangebots.

2.1 AP1 – Populationsauswahl

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 und nach Rücksprache mit lokalen Akteuren wurden insgesamt ca. 40 Herkünfte aus 6 Flussgebietseinheiten für die Probenahmen ermittelt. Als maßgebliche Auswahlkriterien dienten dabei Autochthonie, Populationsstärke, Informationen zu Bewirtschaftung/Besatz und Informationen zur Isolierung auf Grund fehlender Gewässerdurchgängigkeit. Bei der Auswahl der Herkünfte wurden die nach GENRES (2009) förderfähigen Wildpopulationen der Äsche berücksichtigt, in denen noch nennenswerte Bestände existieren. Dazu zählen das Muldesystem, die Gerdau mit Nebengewässern, die Aller-Örtze und Nebengewässer, die Mittlere Leine, die Leine-Ilme und Nebengewässer, das Bodesystem, das Rhein-Main Gebiet, das Rhein-Bodensee-Gebiet, das Elbesystem und das Gebiet Donau-Süd.



2.2 AP2 – Probenbeschaffung und Befischungen

Im Vorfeld der Befischungen wurden bei den zuständigen Fischerei- und Naturschutzbehörden die nötigen Genehmigungen unter Verweis auf die nicht-

invasive Methode zur DNA-Gewinnung mittels forensischer Schleimhautabstriche beantragt. Die Genehmigungen wurden ausnahmslos erteilt. 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. Bei den Befischungen zeigte sich, dass sich die Bestandssituation der Äsche in vielen Gewässern gegenüber den Informationen, welche Fischkatastern, Datenbanken und mündlichen Mitteilungen durch Fischerei- und Anglerverbände entstammten, noch wesentlich verschlechtert hatte. So waren beispielsweise in der Örtze im Bereich Eversen, in der Radolfzeller Aach, in der Lahn und in der Selke im Vorfeld unserer Befischungen gute Äschenbestände dokumentiert, die wir im Zuge der Befischungen jedoch nicht mehr bestätigen konnten. 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. Besonders deutlich wurde eine wichtige Ursache für den Bestandsrückgang an der Selke im Bereich des NSG Oberes Selketal: In diesem naturnahen Gewässerabschnitt existierte lange ein intakter und individuenreicher Äschenbestand (mündl. Mitt. B. Kammerad). Bei unserer Befischung 2017 konnten nur noch sehr wenige Exemplare gefangen werden, die fast durchweg Hackspuren von piscivoren Vögeln aufwiesen.

Der Aufwand für die Probenbeschaffung war daher wesentlich größer als vermutet und die dafür benötigte Zeit nahm gegenüber dem ursprünglichen Zeitplan stark zu. Im Projektverlauf wurden insgesamt 40 Herkünfte beprobt, um die ursprünglich geplante Größenordnung von 900 zu analysierenden Individuen zu erreichen. Dabei konnten in 36 Herkünften aus den 5 Flussgebietseinheiten Donau, Elbe, Maas, Rhein und Weser insgesamt 1169 Äschen gefangen und genetisches Material gewonnen werden (Tabelle 1). In 27 Herkünften wurden ≥ 30 , in 7 Herkünften 10-29 und in 2 Herkünften < 10 Individuen gefangen.

Tabelle 1: Herkunftsgewässer der Äsche, 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	Gemeinde	Landkreis	Land	GPS-Koordinaten (WGS84)	Ind (N)	Ø l (mm)	Ø m (g)	Ø K
1	Ammer*	Donau	Peiting	Weilheim-Schongau	BY	47°46'27,1"N 10°57'39,7"E	30	268,7	-	-
2	Inn*	Donau	Gars	Mühldorf	BY	48°9'16,4"N 12°18'49,1"E	30	383,0	-	-
3	Isar*	Donau	Garching	München	BY	48°13'40,2"N 11°39'44,3"E	33	373,3	-	-
4	Flöha*	Elbe	Görsdorf	Erzgebirgs-kreis	SN	50°42'54,6"N 13°13'28,4"E	40	213,4	45,1	0,82
5	Gera*	Elbe	Erfurt-Gispersleben	Erfurt	TH	51°1'24,2"N 10°59'4,1"E	80	133,8	56,1	0,74
6	Gerdau*	Elbe	Gerdau	Uelzen	NI	52°58'19,2"N 10°22'24,5"E	35	237,3	149,0	0,98
7	Ilm*	Elbe	Mellingen	Weimarer Land	TH	50°56'30,0"N 11°23'20,0"E	19	277,9	171,1	0,76
8	Preßnitz*	Elbe	Großrück-erswalde	Erzgebirgs-kreis	SN	50°37'53,6"N 13°4'31,9"E	33	257,1	-	-
9	Schwarz-wasser*	Elbe	Aue	Erzgebirgs-kreis	SN	50°34'58,9"N 12°43'22,8"E	30	230,7	-	-
10	Selke*	Elbe	Harzgerode	Harz	ST	51°40'24,5"N 11°11'32,8"E	43	256,4	248,3	0,92
11	Zschopau*	Elbe	Drebach	Erzgebirgs-kreis	SN	50°42'5,5"N 13°3'27,7"E	40	208,7	155,3	0,85
12	Rur 1	Maas	Jülich	Düren	NRW	50°54'2,0"N 6°21'37,4"E	33	240,9	-	-
13	Rur 2	Maas	Heinsberg	Heinsberg	NRW	51°5'54,8"N 6°6'4,7"E	16	180,6	-	-
14	Ahr	Rhein	Blankenheim	Euskirchen	NRW	50°24'30,1"N 6°41'19,5"E	30	242,6	170,5	0,74
15	Alme	Rhein	Amt Schloss Neuhaus	Paderborn	NRW	51°44'43,7"N 8°42'29,3"E	39	258,2	217,4	1,06
16	Erf*	Rhein	Bürgstadt	Miltenberg	BY	49°42'20,2"N 9°17'4,7"E	7	191,0	85,1	0,74
17	Fränkische Saale	Rhein	Elfershausen	Bad Kissingen	BY	50°8'45,6"N 9°57'27,3"E	7	167,0	39,6	0,63
18	Hönne	Rhein	Menden (Sauerland)	Märkischer Kreis	NRW	51°25'25,3"N 7°49'13,0"E	42	158,3	-	-
19	Lahn	Rhein	Cölbe	Marburg-Biedenkopf	HE	50°51'17,3"N 8°47'29,2"E	38	207,4	108,9	1,01
20	Lenne	Rhein	Lennestadt	Olpe	NRW	51°6'44,7"N 8°3'55,6"E	29	181,2	-	-
21	Lippe	Rhein	B. Lippspringe	Paderborn	NRW	51°46'16,6"N 8°47'8,3"E	25	252,8	-	-
22	Radolfzeller Aach*	Rhein	Singen (Hohentwiel)	Konstanz	BW	47°47'20,2"N 8°50'33,8"E	12	248,3	162,3	0,86
23	Sinn	Rhein	Gemünden a. Main	Main-Spessart	BY	50°4'38,4"N 9°40'44,4"E	30	142,0	30,8	0,75
24	Wupper 1	Rhein	Solingen	Solingen	NRW	51°9'36,0"N 7°7'59,1"E	25	274,4	-	-
25	Wupper 2	Rhein	Solingen	Solingen	NRW	51°7'41,8"N 7°3'0,3"E	28	-	-	-
26	Bega	Weser	B. Salzuflen	Lippe	NRW	52°2'46,7"N 8°46'50,2"E	31	181,0	-	-
27	Diemel	Weser	Warburg	Höxter	NRW	51°30'24,3"N 9°4'27,2"E	30	261,7	-	-
28	Emmer	Weser	Steinheim	Höxter	NRW	51°51'59,5"N 9°6'2,6"E	34	184,1	-	-
29	Felda	Weser	Krayenberg-gemeinde	Wartburg-kreis	TH	50°50'7,9"N 10°4'51,7"E	36	270,4	190,9	0,82
30	Fulda	Weser	Bebra	Hersfeld-Rotenburg	HE	50°56'25,9"N 9°46'38,7"E	43	114,0	45,1	0,82
31	Ilme*	Weser	Einbeck	Northeim	NI	51°48'28,4"N 9°52'30,4"E	42	322,3	-	-
32	Leine*	Weser	Göttingen	Göttingen	NI	51°30'58,3"N 9°55'45,6"E	31	177,4	68,8	0,73
33	Nesse/Hörsel	Weser	Eisenach	Eisenach	TH	50°58'47,8"N 10°20'23,7"E	40	276,5	212,5	0,95
34	Örtze*	Weser	Müden (Ö.)	Celle	NI	52°52'39,7"N 10°7'16,8"E	33	232,0	124,6	0,76
35	Werra 1	Weser	Breitungen	Schmalkalde n-Meiningen	TH	50°45'15,0"N 10°20'28,8"E	32	144,6	38,5	0,81
36	Werra 2	Weser	Themar	Hildburg-hausen	TH	50°29'24,1"N 10°37'47,6"E	35	147,4	36,2	0,82

* förderfähige Stämme und Wildpopulationen der Äsche 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 Tabelle 1). So war es einigen Probennehmern nicht möglich im Rahmen Ihrer Probenahmen mobile Waagen zu verwenden bzw. oft war ein fehlerfreies exaktes Wiegen vor allem kleinerer Fische durch Motorvibrationen, schlechte Wetterbedingungen oder turbulente Wasserbewegungen nicht möglich. Des Weiteren 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.

2.3 AP3 Genetische Analysen

Durch den großen zeitlichen Aufwand für die Probenbeschaffung konnte die Analyse des Hauptteils der Proben erst wesentlich später als geplant durchgeführt werden.

Für die Mikrosatelliten-Analyse wurde ein Gen-Analysator (ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer) angeschafft. Die Analyse der Mikrosatelliten-Marker mittels eigenen Gen-Analysators ermöglichte zum einen die unabhängige und somit effizientere Etablierung und Evaluierung zusätzlicher polymorpher Mikrosatelliten-Loci (siehe auch Los 4 Schleie, Köbsch *et al.*, in Vorbereitung). Zum anderen war dadurch die optimale Etablierung und Testung der Multiplex-Sets zielgerichteter und weniger zeitintensiv, im Vergleich zur Analyse durch Unterauftragsnehmer. Dies war gerade im Hinblick auf die für die zu verwendenden Marker von besonderer Bedeutung. Diese bestehen vorwiegend aus Dinukleotid-Repeats, welche anfällig für sog. „Stutter-Peaks“ sind und somit zu fehlerhaften Fragmentlängen führen können. Durch die optimale Etablierung wurde die spätere Auswertung erleichtert und weniger fehleranfällig. Aufgrund erheblicher Verzögerungen bei der Beschaffung des Geräts und zeitaufwändigen Etablierungs- und Wartungsarbeiten wurde die Analyse der Mikrosatellitenmarker allerdings zusätzlich verzögert. Weiterhin kam es zu vielen Ausfällen der Fragmentlängenanalysen (siehe Kapitel 4.4.3.) bis Mitte 2019.

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 2019 durchgeführt werden konnten.

Das technisch bedingte Auftreten von sogenannten „Stutter-Peaks“ (Amplifikationsfehler während der PCR) war eines der Hauptprobleme bei der Analyse der Daten (siehe Kapitel 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 12.000 zu analysierenden MS-Fragmentlängen mehrere Wochen dauerte. Zusammen mit der schwierigen Probenbeschaffung und den zahlreichen Ausfällen bei der Mikrosatellitenamplifizierung ergab sich daraus eine zeitliche Verzögerungen von über 15 Monaten gegenüber dem ursprünglichen Zeitplan.

3 WISSENSCHAFTLICHER UND TECHNISCHER STAND AN DEN ANGEKNÜPFT WURDE

3.1 Phylogeographie und Populationsgenetik der Äsche

Die Äsche ist europaweit in stark strömenden, sommerkühlen Fließgewässern verbreitet. Ihre geographische Verbreitung reicht dabei von Nordwestrussland und der Ukraine im Osten bis nach Westfrankreich und England im Westen, sowie von Skandinavien im Norden bis zum Balkan im Süden (Kottelat & Freyhof, 2007). Im subkontinentalen Gebiet Deutschlands findet sich die Äsche vor allem in Flüssen der Mittelgebirgslagen und der Voralpenregion. Im (westlichen) atlantisch geprägten Lebensraum, stellen Flüsse in mittelgebirgsnahen Lagen, wie dem nördlichen Harzvorland, der Lüneburger Heide oder der westfälischen Tieflandbucht, geeignete Gewässer dar (BfN, 2013b).

Wichtige Erkenntnisse zur populationsgenetischen Struktur und zur Phylogeographie der Äsche in Europa auf Basis mitochondrialer Marker finden sich in den Arbeiten von Koskinen *et al.* (2000), Gross *et al.* (2001), Weiss *et al.* (2002), Gum, Gross & Kuehn (2005), Gum *et al.* (2006), Marić *et al.* (2011, 2012, 2014) und Meraner & Gandolfi (2012). Eine Synthese dieser und weiterer Studien findet sich im Review von Gum, Gross & Geist (2009).

Erste Informationen zur postglazialen Ausbreitung anhand mitochondrialer Markergene von *Thymallus thymallus* lieferte dabei die Studie von Koskinen *et al.* (2000). Die Studie umfasste 561 Individuen aus 28 Populationen, wobei der größte Anteil aus nordeuropäischen Ländern (z.B. Finnland oder Schweden) stammte. Zwei der untersuchten Populationen stammten aus Flussgebietseinheiten (FGE) innerhalb Deutschlands (Elbe und Donau). Anhand von RFLP-Analysen und Sequenzvariationen von ND5/6 und Cytochrom b/D-loop Daten wurden 27 Composite-Haplotypen erkannt. Es konnten drei unterschiedliche mitochondriale Hauptlinien im europäischen Verbreitungsgebiet beschrieben werden. Diese erstrecken sich über Nordeuropa (Linie I), Mittel-/Osteuropa (Linie II) und südlichere Regionen, speziell das Donaueinzugsgebiet (Linie III) (Koskinen *et al.*, 2000).

Eine weitere Untersuchung zur genetischen Differenzierung der Äsche innerhalb Deutschlands wurde von Gross *et al.* (2001) anhand von 4 bayerischen Populationen durchgeführt. Durch RFLP-Analysen der mitochondrialen ND1- und ND3/4-Region

sowie des nukleären GH-1 Gens, wurden 6 Composite-Haplotypen im bayrischen Gebiet erkannt, welche sich in drei Gruppen einteilen. Gruppe I umfasste Haplotypen, welche sich in allen bayrischen FGE wiederfinden. Gruppe II enthielt mit einer Ausnahme ausschließlich Individuen aus der FGE Donau und Gruppe III (Außengruppe) umfasste Individuen aus Estland. Diese Studie fand ebenfalls Hinweise auf einen Genfluss zwischen den Flussgebietseinheiten Rhein/Main, Elbe und Donau, der durch Sekundärkontakte nach der (post-)glazialen Differenzierung der genetischen Linien ermöglicht wurde (Gross *et al.*, 2001).

Gum *et al.* (2005) legten den Fokus ihrer Untersuchungen auf Mittel- und Nordeuropa und die Kontaktzonen der bis dahin bekannten mitochondrialen Linien. Anhand von RFLP- und Mikrosatelliten-Analysen von 780 Individuen aus 29 Standorten konnten 30 Composite-Haplotypen erfasst werden. Dabei ergaben sich vier mitochondriale Hauptlinien, welche anhand der ND1- und ND5/6-Region erhoben wurden. Linie I und III waren identisch mit den von Koskinen *et al.* (2000) beschriebenen Regionen. Gum *et al.* (2005) konnten die von Koskinen *et al.* (2000) beschriebene Linie II (Mittel-/Osteuropa) in Südwest-/Westeuropa (IIa) und Zentral-/Osteuropa (IIb) unterteilen. Linie IIa enthält Populationen der FGE Rhein/Main und aus Gewässern Englands. Die Populationen von Linie IIb finden sich ausgehend von den FGE Elbe und Weser in östlicher Richtung bis in Gewässer Litauens und nördlicher Richtung bis in Gewässer Südkanindiens wieder. Außerdem konnte nachgewiesen werden, dass es einen Sekundärkontakt zwischen den Linien in bestimmten Gebieten Deutschlands als auch in anderen europäischen Regionen gegeben hat (Gum *et al.*, 2005). Unter Hinzunahme einer weiteren Studie (Sušnik, Snoj & Dovč, 2001), welche die phylogeographische Verbreitung der Äsche in nördlich gelegenen Flusssystemen der Adria untersucht, definieren Gum *et al.* (2009) insgesamt fünf genetische Hauptlinien der Äsche im europäischen Verbreitungsgebiet.

Mikrosatelliten-basierte Studien zur Populationsgenetik der Äsche zeigten eine im Vergleich zu anderen Fischarten geringe genetische Diversität innerhalb der Populationen. Gleichzeitig wurde ein hohes Maß an genetischer Strukturierung zwischen Populationen gefunden (mittlerer F_{ST} -Wert für Äschenpopulationen in Europa = 0,367; Gum *et al.*, 2005), wobei in vielen Fällen selbst benachbarte Populationen innerhalb derselben Einzugsgebiete signifikant voneinander differenziert sind (Gum *et al.*, 2003, 2005, 2009; Vonlanthen & Schlunke, 2015; Vonlanthen & Hefti, 2016). Die auf Basis der mitochondrialen Marker definierten genetischen Linien konnten auch auf

Basis von Mikrosatellitenanalysen klar voneinander abgegrenzt werden (Gum *et al.*, 2009).

3.2 Methoden zur molekulargenetischen Charakterisierung der Äsche

Ähnlich dem Vorgehen in einer vorangegangenen Studie zur genetischen Diversität der Barbe wurde DNA aus forensischen Schleimhautabstrichen extrahiert (Berendonk *et al.*, 2015). Dabei wurde im Rahmen dieser Studie das Protokoll zur Entnahme, Lagerung und Extraktion der Proben noch weiterentwickelt.

Die Analyse mitochondrialer Marker eignet sich aufgrund geringerer Mutationsraten gegenüber Mikrosatelliten-Marker zur Erkennung großräumiger, phylogeographischer Muster und zur Beschreibung historischer Genflüsse. Um eine Einordnung der gewonnenen Erkenntnisse in die bereits bekannten genetischen Linien nach Gum *et al.* (2005) zu ermöglichen, war die Verwendung der in dieser Studie benutzten RFLP-Analyse der mitochondrialen ND1 & ND5/6-Region durch den Auftraggeber vorgegeben.

Im Gegensatz zu den mitochondrialen Markern dienen nukleäre Mikrosatelliten-Marker zur Analyse der genetischen Diversität auf Populationsebene bzw. zwischen Populationen auf kleinerer geografischer Skala und zur Beurteilung rezenter Genflusses. Um auch hier eine Einordnung der Ergebnisse gegenüber u.a. Gum *et al.* (2005) zu ermöglichen wurden folgende 10 Mikrosatelliten-Marker in der vorliegenden Studie verwendet: BFR0004, BFR0005, BFR0006, BFR0009, BFRO010, BFRO011, F-43, Ocl-8, Ogo-2, One-9. Zusätzlich wurden ohne weitere Kosten für den Auftraggeber zwei weitere Mikrosatelliten-Marker untersucht (BFRO007, SSOSL311).

4 MATERIAL UND METHODEN

4.1 Auswahl geeigneter Herkünfte der Äsche

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

- https://www.bfn.de/fileadmin/MDB/documents/themen/natura2000/Nat_Bericht_2013/Arten/fische_ohne_wanderfische.pdf (Verbreitungskarten der FFH-Arten - Fische, *Thymallus thymallus*, Stand 2013)
- Fischartenatlas „Fischfauna-online 2.0“ (Brunken & Winkler, 2015)

wurden daraufhin folgende Flussgebietseinheiten als aussichtsreiche Zielgebiete ausgewählt:

Donau, Rhein, Elbe, Weser, Oder und Maas.

Die Flussgebietseinheiten Ems, Warnow/Peene, Schlei/Trave und Eider wurden auf Grund fehlender bzw. marginaler Nachweise der Äsche ausgeschlossen. Dort aktuell vorhandene Populationen liegen außerhalb des natürlichen Verbreitungsgebietes der Art und gehen daher ausschließlich auf Besatz zurück (z.B. Population der Nebel im Warnowsystem).

Im Weiteren wurden folgende Quellen zur Verbreitung der Äsche analysiert:

- 1) Fischkataster der Fischerei- bzw. Umweltbehörden der Bundesländer
 - nicht frei verfügbar, auf Anfrage jedoch oft nutzbar oder Informationen werden erteilt
 - die darin meist enthaltene Monitoring-Befischungen zur Umsetzung der EU-WRRL sind oft nur punktuell und nur bedingt repräsentativ für das ganze Gewässer
- 2) Fischatlantiken und Forschungsberichte
 - diese sind oft veraltet, jedoch für die Analyse von Bestandsveränderungen nutzbar
- 3) Anfragen bei Fischerei-, Gewässer- und Anglerverbänden
 - meist sehr aktuell, jedoch oft stark auf Zielfischarten der Angelfischerei fokussiert

- 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) Fischereii Institute
 - sind in der Regel sowohl im Bestandsmonitoring als auch in der Forschung aktiv

Auf Grundlage der hierbei gewonnenen Informationen wurde die Auswahl potentieller 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 Äsche könnte innerhalb der FGE durch die Fließgewässer-Teileinzugsgebiete gegeben sein; wenn diese groß genug sind, um die typische Äschenregion (Huet, 1959) bzw. die typischen fischzönotischen Grundausrägungen zu enthalten und sich diese, durch von der Äsche nicht genutzte Gewässerabschnitte, voneinander abgrenzen lassen. Die Äsche gilt als standorttreue Fischart mit meist nur kurzen Laichwanderungen und zeigt *Homing-* sowie *Post-spawning homing-*Verhalten (Ovidio *et al.*, 2004; Heggenes *et al.*, 2006). Daher zeigen Äschenbestände zwischen (und seltener auch innerhalb) von Teileinzugsgebieten signifikante genetische Unterschiede (Gum *et al.*, 2009; Vonlanthen & Schlunke, 2015; Vonlanthen & Hefti, 2016).

Bei der praktischen Auswahl der zu beprobenden Äschen-Herkünfte wurde zunächst analysiert, welche Gewässer besonders reich an Individuen sind. Dabei zeigte sich, dass die Bestandsdichten der Äsche meist sehr gering sind bzw. bis zur Jahrtausendwende und danach sehr individuenreiche Populationen aus verschiedenen Gründen oftmals fast komplett zusammengebrochen sind. Im Weiteren wurde bei der Herkunftsauswahl berücksichtigt, ob für die analysierten Populationen unüberwindbare Querbauwerke (Wehre, Wasserkraftanlagen) eine Rolle spielen und

ob und inwieweit die Population aktuell bzw. in der Vergangenheit durch Besatz gestützt und gegebenenfalls genetisch verfremdet werden/wurden. Die Besatzsituation konnte allerdings in vielen Fällen nicht eindeutig geklärt werden. Bei der Auswahl der Herkünfte wurden die nach GENRES (2009) förderfähigen Wildpopulationen der Äsche berücksichtigt, in denen noch nennenswerte Bestände existieren. Dazu zählen das Muldesystem, die Gerdau mit Nebengewässern, die Aller-Örtze und Nebengewässer, die Mittlere Leine, die Leine-Ilme und Nebengewässer, das Bodesystem, das Rhein-Main Gebiet, das Rhein-Bodensee-Gebiet und das Gebiet Donau-Süd.

4.2 Aufbau eines Kooperationsnetzwerks

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

Baden-Württemberg	Fischereiforschungsstelle Baden-Württemberg, Dr. Roland Rösch
Bayern	Fischereifachberatung Oberbayern, Dr. Bernhard Gum/ Tobias Ruff Fischereifachberatung Schwaben, Dr. Oliver Born Fischereifachberatung Unterfranken, Dr. Wolfgang Silkenat Landesfischereiverband Bayern e.V. Anglerverein Isaria München e.V. Anglerverein Die Sinnfischer e.V. ASV 1966 Bürgstadt e.V. Verein der Sportfischer Elfershausen e.V.
Hessen	BFS-Marburg, Dr. Dirk Hübner Sportanglerverein Bebra e.V.
Mecklenburg-Vorpommern	Landesanglerverband M-V e.V.
Niedersachsen	Nds. Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Dez. Binnenfischerei - Fischereikundlicher Dienst, Dr. Hans-Hermann Arzbach Anglerverband Niedersachsen e.V., Dr. Matthias Emmrich

ASV Müden/Örtze e.V.
Fischereiverein Eversen e.V.
ASC Sülze e.V.

Nordrhein-Westfalen	LANUV NRW Bezirksregierung Düsseldorf, Dez. 51, Dr. Nicole Scheifhacken Fischereiverband Westfalen-Lippe e.V., Carsten Nolting Jonas Rose, öbv Fischereisachverständiger Interessengemeinschaft Untere Rur (IGUR), Heinz-Josef Jochims
Saarland	Fischereiverband Saar, Sebastian Hoffmann
Sachsen	Sächsische Fischereibehörde, Dr. Gert Füllner Labor für Fisch- und Gewässer-Ökologie, Maik-Gert Werner Anglerverband Südsachsen Mulde/Elster e.V., Lutz Kannegießer
Sachsen-Anhalt	Landesverwaltungsamt Sachsen-Anhalt, Ref. Fischerei, Bernd Kammerad
Thüringen	Institut für Gewässerökologie und Fischereibiologie Jena, Dr. Falko Wagner Fischökol. & Limnolog. Untersuchungsstelle Südthüringen, Wolfgang Schmalz

Über diese Kontakte wurden einerseits Informationen zu den Beständen der Äsche in den jeweiligen Bundesländern generiert und andererseits versucht, Synergieeffekte mit ohnehin stattfindenden Befischungen zu nutzen. So konnten beispielsweise im Rahmen eines Artenschutzprojekts zur Äsche in der hessischen Lahn durch Dr. Dirk Hübner (im Auftrag des RP Gießen) Proben aus der Lahn gewonnen werden. In anderen Bundesländern wurden teilweise erfolgreich freie Büros und Biologen, die als Auftragnehmer für WRRL-Befischungen fungierten, für die Äschenbeprobung beauftragt bzw. Befischungen in Kooperation mit diesen durchgeführt. In Nordrhein-Westfalen konnten viele Proben bei Befischungen im Rahmen des Äschenhilfsprogramms gesammelt werden (LANUV, 2017).

4.3 Untersuchte Herkünfte

4.3.1 Probenahme und Elektrobefischung

Die Beprobung erfolgte 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 Bretschneider Spezialelektronik) durch mindestens zwei entsprechend ausgebildete Fachkräfte mit Elektrofischereischein und Fischereischein. Bei der Beprobung größerer Fließgewässer wurden die Befischungen je nach Wassertiefe und Strömung als Boots- oder Treidelbefischung mit leistungsstärkeren Elektrofischfanggeräten (EFGI 1300, EFGI 4000, teils in Kombination mit einer Streifenanode, Firma Bretschneider Spezialelektronik) auf einem Aluminiumboot (fungiert als Flächen-Kathode) durchgeführt. Die Elektrobefischung führt bei schonender und vor allem der Fischart und den Gewässerverhältnissen angepasster Durchführung zu keiner dauerhaften Schädigung der Fische (Rümmler, Schreckenbach & Pfeiffer, 1998). Die gefangenen Individuen wurden in einem Fischtransportbehälter gesammelt und anschließend schonend vermessen und gewogen. Die Berechnung des Korpulenzfaktors erfolgte nach Heincke (1908).

Während der Vermessung wurden mit einem Abstrichtupfer (forensic swab, Sarstedt AG) insgesamt zwei oder drei Abstriche im Kopfbereich, an den Körperflanken und/oder aus der Maulhöhle (Bukkalprobe) entnommen. Insgesamt konnte von 1169 Äschen genetisches Material gewonnen werden.

4.3.2 Status-Berichte zu den Herkünften

In diesem Kapitel werden die Informationen zu den 36 Populationsherkünften, in welchen Äschen gefangen werden konnten, in Steckbriefen zusammengefasst. Alle Populationen mit AGRDEU-Nummer gingen in genetische Analysen ein (vgl. Appendix 1). Bei den befischten Gewässern 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 Äschen wurden über die Fischerei- und Naturschutzbehörden sowie die ortsansässigen Anglervereine, Fischerei- und Gewässergenossenschaften erhoben. Für den Fall, dass Informationen zum Besatz mit Äschen vorlagen, sind diese unter ‚Besatz

mit ‚Äschen‘ vermerkt, wenn der Besitz durch die erfolgreich kontaktierten Akteure ausgeschlossen wurde ist dies mit ‚nein‘ vermerkt. Für die Fälle, in denen die lokalen Akteure keine genauen Angaben machen konnten, oder kein Kontakt mit den entsprechenden Vereinen zustande kam, wurde der Besitz mit ‚Äschen‘ als ‚unbekannt‘ gekennzeichnet.

Herkunft - Gewässer	Ammer
Population (AGRDEU-Nr.)	THY-001
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 1: Fließgewässer der Alpen (Subtyp 1.2)
Abfluss über/in	Isar → Donau → Schwarzes Meer
Gewässerlänge (km) ¹⁴	50 (84 mit Linder)
Einzugsgebietsgröße (km ²) ¹⁴	715
Flussgebietseinheit	Donau
Landkreis	Weilheim-Schongau
Gemeinde	Peiting
Bundesland	Bayern
GPS-Koordinaten (WGS84)	47°46'27,1"N 10°57'39,7"E
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Äschen	Ja, lange Zeit Besatz mit Äschen aus Zuchtstamm des LfU Bayern in Wielenbach mit Ursprung in der Ammer (Information von Dr. Oliver Born, Fachberatung für Fischerei Schwaben).
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	ja

Herkunft - Gewässer	Inn
Population (AGRDEU-Nr.)	THY-002
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 4 : Große Flüsse des Alpenvorlandes
Abfluss über/in	Donau → Schwarzes Meer
Gewässerlänge (km) ¹⁶	517,0
Einzugsgebietsgröße (km ²) ¹⁶	26130,0
Flussgebietseinheit	Donau
Landkreis	Gars
Gemeinde	Mühldorf
Bundesland	Bayern
GPS-Koordinaten (WGS84)	48°9'16,4"N 12°18'49,1"E
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Äschen	ja
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	ja

Herkunft - Gewässer	Isar
Population (AGRDEU-Nr.)	THY-003
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 2: Fließgewässer des Alpenvorlandes (Subtyp 2.2)
Abfluss über/in	Donau → Schwarzes Meer
Gewässerlänge (km) ¹⁷	291,5
Einzugsgebietsgröße (km ²) ¹⁷	8962,3
Flussgebietseinheit	Donau
Landkreis	München
Gemeinde	Garching
Bundesland	Bayern
GPS-Koordinaten (WGS84)	48°13'40,2"N 11°39'44,3"E
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Äschen	Im befischten Bereich intensiver Besatz nach Bestandseinbrüchen vor ca. 10-15 Jahren. Aktuell kein Besatz, selbstreproduzierender Bestand (Information T. Ruff, Fischereifachberatung Oberbayern).
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	ja

Herkunft - Gewässer	Flöha
Population (AGRDEU-Nr.)	THY-004
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9: Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse
Abfluss über/in	Zschopau → Freiburger Mulde → Mulde → Elbe → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁵	78,0
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁵	799,0
Flussgebietseinheit	Elbe
Landkreis	Erzgebirgskreis
Gemeinde	Görsdorf
Bundesland	Sachsen
GPS-Koordinaten (WGS84)	50°42'54,6"N 13°13'28,4"E
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Äschen	Initialbesatz in den 1970er Jahren und 1992 aus der Bobritzsch/Freiburger Mulde. Seitdem kein Besatz (Information Lutz Kannegießer, AV Südsachsen).
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	ja

Herkunft - Gewässer	Gera
Population (AGRDEU-Nr.)	THY-005
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9: Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse
Abfluss über/in	Unstrut → Saale → Elbe → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁵	85,0
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁵	1092,0
Flussgebietseinheit	Elbe
Landkreis	Erfurt
Gemeinde	Erfurt-Gispersleben
Bundesland	Thüringen
GPS-Koordinaten (WGS84)	51°1'24,2"N 10°59'4,1"E
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Äschen	Nach Einbrechen der Bestände nach 2000, bereichsweise intensiver Äschenbesatz. Herkunft des Materials unbekannt (Information W. Schmalz, FLUSS).
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	ja

Herkunft - Gewässer	Gerdau
Population (AGRDEU-Nr.)	THY-006
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 17: Kiesgeprägte Tieflandflüsse
Abfluss über/in	Ilmenau → Elbe → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁵	29,7
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁵	427,7
Flussgebietseinheit	Elbe
Landkreis	Uelzen
Gemeinde	Gerdau
Bundesland	Niedersachsen
GPS-Koordinaten (WGS84)	52°58'19,2"N 10°22'24,5"E
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Äschen	Nein. Kein Besatz mit Äschen bekannt. Isolierter Oberlauf nach unten abgegrenzt durch nicht durchgängiges Wehr (Information W Neuwirth, ASV Gerdautal).
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	ja

Herkunft - Gewässer		Ilm
Population (AGRDEU-Nr.)		THY-007
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.1: Karbonatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in	Saale → Elbe → Nordsee	
Gewässerlänge (km) ⁵		134,2
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁵		1042,7
Flussgebietseinheit		Elbe
Landkreis		Weimarer Land
Gemeinde		Mellingen
Bundesland		Thüringen
GPS-Koordinaten (WGS84)		50°56'30,0"N 11°23'20,0"E
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Äschen	Nach Bestandseinbrüchen um 2000 teilw. intensiver Besatz u.a. aus Fischzucht L. Keidel (Information W. Schmalz, FLUSS).	
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		ja

Herkunft - Gewässer		Preßnitz
Population (AGRDEU-Nr.)		THY-008
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9: Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in	Zschopau → Freiburger Mulde → Mulde → Elbe → Nordsee	
Gewässerlänge (km) ⁵		ca. 37
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁵		209,0
Flussgebietseinheit		Elbe
Landkreis		Erzgebirgskreis
Gemeinde		Großrückerswalde
Bundesland		Sachsen
GPS-Koordinaten (WGS84)		50°37'53,6"N 13°4'31,9"E
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Äschen	Initialbesatz aus Bobritzsch/Freiburger Mulde in 1970er Jahren. Aktuell Besatz mit Brütlingen aus Zuchtprogramm im Muldesystem (Information L. Kannegießer, AV Südsachsen)	
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		ja

Herkunft - Gewässer		Schwarzwasser
Population (AGRDEU-Nr.)		THY-009
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9: Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in	Zwickauer Mulde → Mulde → Elbe → Nordsee	
Gewässerlänge (km) ⁵		49,4
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁵		363,0
Flussgebietseinheit		Elbe
Landkreis		Erzgebirgskreis
Gemeinde		Aue
Bundesland		Sachsen
GPS-Koordinaten (WGS84)		50°34'58,9"N 12°43'22,8"E
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Äschen	Initialbesatz aus Bobritzsch/Freiburger Mulde in den 1970er Jahren/Aufstieg aus Zwickauer Mulde. Aktuell Besatz mit Brütlingen aus Zuchtprogramm im Muldesystem (Information L. Kannegießer, AV Südsachsen)	
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		ja

Herkunft - Gewässer		Selke
Population (AGRDEU-Nr.)		THY-010
Gewässertyp nach WRRL ^{1,15}	Typ 5: Grobmaterialreiche, silikatische Mittelgebirgsbäche	
Abfluss über/in		Bode → Saale → Elbe → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁵		64,4
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁵		468,0
Flussgebietseinheit		Elbe
Landkreis		Harz
Gemeinde		Harzgerode
Bundesland		Sachsen-Anhalt
GPS-Koordinaten (WGS84)		51°40'24,5"N 11°11'32,8"E
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Äschen	Initialbesatz aus der Helme. Seitdem kein Besatz mehr (Information B. Kammerad, Landesverwaltungsamt Sachsen-Anhalt).	
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		ja

Herkunft - Gewässer		Zschopau
Population (AGRDEU-Nr.)		THY-011
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9: Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in		Freiberger Mulde → Mulde → Elbe → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁵		130,0
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁵		1847,0
Flussgebietseinheit		Elbe
Landkreis		Erzgebirgskreis
Gemeinde		Drebach
Bundesland		Sachsen
GPS-Koordinaten (WGS84)		50°42'5,5"N 13°3'27,7"E
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Äschen	Initialbesatz aus Bobritzsch/Freiberger Mulde in den 1970er Jahren. Aktuell Besatz mit Brütlingen Zuchtprogramm im Muldesystem (Information L. Kannegießer, AV Südsachsen)	
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer		Rur 1
Population (AGRDEU-Nr.)		THY-012
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9: Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in		Maas → Hollands Diep → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁶		165,0
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁶		2360,0
Flussgebietseinheit		Maas
Landkreis		Düren
Gemeinde		Jülich
Bundesland		Nordrhein-Westfalen
GPS-Koordinaten (WGS84)		50°54'2,0"N 6°21'37,4"E
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Äschen	Nein. Es wurde auch in der Vergangenheit kein Besatz vorgenommen (Aussage von H.-J. Jochims, Interessengemeinschaft Untere Rur).	
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer		Rur 2
Population (AGRDEU-Nr.)		THY-013
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9 : Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in	Maas → Hollands Diep → Nordsee	
Gewässerlänge (km) ⁶		165,0
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁶		2360,0
Flussgebietseinheit		Maas
Landkreis		Heinsberg
Gemeinde		Heinsberg
Bundesland		Nordrhein-Westfalen
GPS-Koordinaten (WGS84)		51°5'54,8"N 6°6'4,7"E
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Äschen	Nein. Es wurde auch in der Vergangenheit ein Besatz vorgenommen (Aussage von H.-J. Jochims, Interessengemeinschaft Untere Rur).	
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer		Ahr
Population (AGRDEU-Nr.)		THY-014
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9 : Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in	Rhein → Nordsee	
Gewässerlänge (km) ¹⁸		85,1
Einzugsgebietsgröße (km ²) ¹⁸		897,5
Flussgebietseinheit		Rhein
Landkreis		Euskirchen
Gemeinde		Blankenheim
Bundesland		Nordrhein-Westfalen
GPS-Koordinaten (WGS84)		50°24'30,1"N 6°41'19,5"E
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Äschen	Nein. Isolierter Oberlauf (abgetrennt durch nicht durchgängiges Wehr), in dem nie Äschenbesatz vorgenommen wurde (Aussage der Pächter H. Rütz und G. Burock).	
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer		Alme
Population (AGRDEU-Nr.)		THY-015
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.1: Karbonatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in	Lippe → Rhein → Nordsee	
Gewässerlänge (km) ¹⁸		59,1
Einzugsgebietsgröße (km ²) ¹⁸		763,0
Flussgebietseinheit		Rhein
Landkreis		Paderborn
Gemeinde		Amt Schloss Neuhaus
Bundesland		Nordrhein-Westfalen
GPS-Koordinaten (WGS84)		51°44'43,7"N 8°42'29,3"E
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Äschen	Ja, Besatz aus eigenem Zuchtstamm, der mit Äschen aus der Alme aufgebaut wurde (Information C. Nolting Landesfischereiverband Westfalen/Lippe).	
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer	Erf
Population (AGRDEU-Nr.)	THY-016
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9: Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse
Abfluss über/in	Main → Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ¹⁹	40,2
Einzugsgebietsgröße (km ²) ¹⁹	247,8
Flussgebietseinheit	Rhein
Landkreis	Miltenberg
Gemeinde	Bürgstadt
Bundesland	Bayern
GPS-Koordinaten (WGS84)	49°42'20,2"N 9°17'4,7"E
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Äschen	Ja, Besatz mit Äschen der Fischzucht Lothar Keidel.
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	ja

Herkunft - Gewässer	Fränkische Saale
Population (AGRDEU-Nr.)	THY-017
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.1: Karbonatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse
Abfluss über/in	Main → Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ²⁰	140,0
Einzugsgebietsgröße (km ²) ²⁰	2766,5
Flussgebietseinheit	Rhein
Landkreis	Bad Kissingen
Gemeinde	Elfershausen
Bundesland	Bayern
GPS-Koordinaten (WGS84)	50°8'45,6"N 9°57'27,3"E
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Äschen	Ja, Besatz mit Äschen der Fischzucht Lothar Keidel.
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer	Hönn
Population (AGRDEU-Nr.)	THY-018
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9: Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse
Abfluss über/in	Ruhr → Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁶	33,4
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁶	262,2
Flussgebietseinheit	Rhein
Landkreis	Märkischer Kreis
Gemeinde	Menden (Sauerland)
Bundesland	Nordrhein-Westfalen
GPS-Koordinaten (WGS84)	51°25'25,3"N 7°49'13,0"E
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Äschen	unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer		Lahn
Population (AGRDEU-Nr.)		THY-019
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.2: Große Flüsse des Mittelgebirges	
Abfluss über/in		Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ¹⁰		245,6
Einzugsgebietsgröße (km ²) ¹⁰		5925,0
Flussgebietseinheit		Rhein
Landkreis		Marburg-Biedenkopf
Gemeinde		Cölbe
Bundesland		Hessen
GPS-Koordinaten (WGS84)		50°51'17,3"N 8°47'29,2"E
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Äschen	2017 Besatz mit Äschen unbekannter Herkunft (genetische Daten liegen Institut für Hydrobiologie vor). Informationen zu Besatz in der Vergangenheit nicht vorhanden, kann aber auch nicht ausgeschlossen werden (Dr. Dirk Hübner, BFS Marburg).	
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer		Lenne
Population (AGRDEU-Nr.)		THY-020
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.2: Große Flüsse des Mittelgebirges	
Abfluss über/in		Ruhr → Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁶		129,1
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁶		1352,2
Flussgebietseinheit		Rhein
Landkreis		Olpe
Gemeinde		Lenne
Bundesland		Nordrhein-Westfalen
GPS-Koordinaten (WGS84)		51°6'44,7"N 8°3'55,6"E
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Äschen	aktuelle Situation unbekannt, Initialbesatz in den 1970er Jahren (Völker <i>et al.</i> , 2010)	
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer		Lippe
Population (AGRDEU-Nr.)		THY-021
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 15: Sand- und lehmgeprägte Tieflandflüsse	
Abfluss über/in		Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ⁶		220,1
Einzugsgebietsgröße (km ²) ⁶		4890,0
Flussgebietseinheit		Rhein
Landkreis		Paderborn
Gemeinde		Bad Lippspringe
Bundesland		Nordrhein-Westfalen
GPS-Koordinaten (WGS84)		51°46'16,6"N 8°47'8,3"E
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Äschen	unbekannt, sehr geringe Distanz zur beprobten Strecke in der Alme, in der Besatzmaßnahmen mit Äschen aus einem eigenen Zuchtprogramm durchgeführt wird.	
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer		Radolfzeller Aach
Population (AGRDEU-Nr.)		THY-022
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 3: Fließgewässer der Jungmoräne des Alpenvorlandes (Subtyp 3.2)	
Abfluss über/in		Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ²¹		32,0
Einzugsgebietsgröße (km ²) ²¹		261,0
Flussgebietseinheit		Rhein
Landkreis		Konstanz
Gemeinde		Singen (Hohentwiel)
Bundesland		Baden-Württemberg
GPS-Koordinaten (WGS84)		47°47'20,2"N 8°50'33,8"E
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Äschen		unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		ja

Herkunft - Gewässer		Sinn
Population (AGRDEU-Nr.)		THY-023
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9: Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in		Fränkische Saale → Main → Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ¹⁹		69,4
Einzugsgebietsgröße (km ²) ¹⁹		622,6
Flussgebietseinheit		Rhein
Landkreis		Main-Spessart
Gemeinde		Gemünden a. Main
Bundesland		Bayern
GPS-Koordinaten (WGS84)		50°4'38,4"N 9°40'44,4"E
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Äschen	Besatz mit Äschen der Fischzucht Lothar Keidel	
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer		Wupper 1
Population (AGRDEU-Nr.)		THY-024
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9: Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in		Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ¹⁸		115,8
Einzugsgebietsgröße (km ²) ¹⁸		813,4
Flussgebietseinheit		Rhein
Landkreis		Solingen
Gemeinde		Solingen
Bundesland		Nordrhein-Westfalen
GPS-Koordinaten (WGS84)		51°9'36,0"N 7°7'59,1"E
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Äschen		unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer		Wupper 2
Population (AGRDEU-Nr.)		THY-025
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9: Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in		Rhein → Nordsee
Gewässerlänge (km) ¹⁸		116,5
Einzugsgebietsgröße (km ²) ¹⁸		813,0
Flussgebietseinheit		Rhein
Landkreis		Solingen
Gemeinde		Solingen
Bundesland		Nordrhein-Westfalen
GPS-Koordinaten (WGS84)		51°7'41,8"N 7°3'0,3"E
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Äschen		unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer		Bega
Population (AGRDEU-Nr.)		THY-026
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.1: Karbonatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in		Werre → Weser → Nordsee
Gewässerlänge (km) ¹⁸		42,9
Einzugsgebietsgröße (km ²) ¹⁸		376,7
Flussgebietseinheit		Weser
Landkreis		Lippe
Gemeinde		Bad Salzuflen
Bundesland		Nordrhein-Westfalen
GPS-Koordinaten (WGS84)		52°2'46,7"N 8°46'50,2"E
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Äschen ³	Besatz in der Vergangenheit nach Aussterben der Äsche in den 1950er Jahren, Quelle des Materials unbekannt (Hoffmann, 2010)	
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer		Diemel
Population (AGRDEU-Nr.)		THY-027
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.1: Karbonatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in		Weser → Nordsee
Gewässerlänge (km) ¹⁸		110,5
Einzugsgebietsgröße (km ²) ¹⁸		1.761,964
Flussgebietseinheit		Weser
Landkreis		Höxter
Gemeinde		Warburg
Bundesland		Nordrhein-Westfalen
GPS-Koordinaten (WGS84)		51°30'24,3"N 9°4'27,2"E
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Äschen	Aktuell wird Äschenbesatz in Teilstrecken durchgeführt (LANUV, 2017).	
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer		Emmer
Population (AGRDEU-Nr.)		THY-028
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.1: Karbonatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in		Weser → Nordsee
Gewässerlänge (km) ¹⁸		61,8
Einzugsgebietsgröße (km ²) ¹⁸		535,1
Flussgebietseinheit		Weser
Landkreis		Höxter
Gemeinde		Steinheim
Bundesland		Nordrhein-Westfalen
GPS-Koordinaten (WGS84)		51°51'59,5"N 9°6'2,6"E
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Äschen	Im Vorfeld der Befischungen fand Äschenbesatz mit Äschen aus einem eigenem Zuchtstamm der Hegegemeinschaft 'Oberer Emmer' statt (Information von C. Nolting, Landesfischereiverband Westfalen/Lippe)	
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer		Felda
Population (AGRDEU-Nr.)		THY-029
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9: Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in		Werra → Weser → Nordsee
Gewässerlänge (km) ²³		42,2
Einzugsgebietsgröße (km ²) ²²		216,7
Flussgebietseinheit		Weser
Landkreis		Wartburgkreis
Gemeinde		Krayenberggemeinde
Bundesland		Thüringen
GPS-Koordinaten (WGS84)		50°50'7,9"N 10°4'51,7"E
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Äschen		unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer		Fulda
Population (AGRDEU-Nr.)		THY-030
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9: Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in		Weser → Nordsee
Gewässerlänge (km) ¹⁰		220,7
Einzugsgebietsgröße (km ²) ¹⁰		6947,0
Flussgebietseinheit		Weser
Landkreis		Hersfeld-Rotenburg
Gemeinde		Bebra
Bundesland		Hessen
GPS-Koordinaten (WGS84)		50°56'25,9"N 9°46'38,7"E
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Äschen	Im untersuchten Bereich fand nur ein einmaliger Besatz in den 1990er Jahren mit Äschen aus der Eder statt. Zu angrenzenden Gewässerabschnitten liegen keine Informationen vor.	
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer		Ilme
Population (AGRDEU-Nr.)		THY-031
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.1: Karbonatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in	Leine → Aller → Weser → Nordsee	
Gewässerlänge (km) ¹²		32,6
Einzugsgebietsgröße (km ²) ¹²		393,0
Flussgebietseinheit		Weser
Landkreis		Northeim
Gemeinde		Einbeck
Bundesland		Niedersachsen
GPS-Koordinaten (WGS84)		51°48'28,4"N 9°52'30,4"E
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Äschen	Nein, kein Besatz mit Äschen bekannt (Information von Dr. M. Emmrich, Landesfischereiverband Niedersachsen)	
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		ja
Herkunft - Gewässer		Leine
Population (AGRDEU-Nr.)		THY-032
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.2: Große Flüsse des Mittelgebirges	
Abfluss über/in	Aller → Weser → Nordsee	
Gewässerlänge (km) ¹²		280,0
Einzugsgebietsgröße (km ²) ¹²		6517,0
Flussgebietseinheit		Weser
Landkreis		Göttingen
Gemeinde		Göttingen
Bundesland		Niedersachsen
GPS-Koordinaten (WGS84)		51°30'58,3"N 9°55'45,6"E
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Äschen		unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		ja
Herkunft - Gewässer		Nesse/ Hörsel
Population (AGRDEU-Nr.)		THY-033
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.1: Karbonatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse / Typ 9: Silikatische, fein- bis grobmaterialreiche Mittelgebirgsflüsse	
Abfluss über/in	Hörsel → Werra → Weser → Nordsee	
Gewässerlänge (km) ²³		54,5
Einzugsgebietsgröße (km ²) ²⁴		426,3
Flussgebietseinheit		Weser
Landkreis		Eisenach
Gemeinde		Eisenach
Bundesland		Thüringen
GPS-Koordinaten (WGS84)		50°58'47,8"N 10°20'23,7"E
Fischereiliche Bewirtschaftung		Angelfischerei
Besatz mit Äschen		unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³		nein

Herkunft - Gewässer	Örtze
Population (AGRDEU-Nr.)	THY-034
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 15: Sand- und lehmgeprägte Tieflandflüsse
Abfluss über/in	Aller → Weser → Nordsee
Gewässerlänge (km) ¹²	62,0
Einzugsgebietsgröße (km ²) ¹²	760,0
Flussgebietseinheit	Weser
Landkreis	Celle
Gemeinde	Müden (Örtze)
Bundesland	Niedersachsen
GPS-Koordinaten (WGS84)	52°52'39,7"N 10°7'16,8"E
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Äschen	einmaliger Besatz vor ca. Ende der 1990er Jahre. Davor und danach nur eigene Reproduktion (Information D. Kreuziger, ASV Müden/Örtze)
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	ja

Herkunft - Gewässer	Werra 1
Population (AGRDEU-Nr.)	THY-035
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.2: Große Flüsse des Mittelgebirges
Abfluss über/in	Weser → Nordsee
Gewässerlänge (km) ²⁶	299,6
Einzugsgebietsgröße (km ²) ²⁶	5497,0
Flussgebietseinheit	Weser
Landkreis	Schmalkalden-Meiningen
Gemeinde	Breitungen
Bundesland	Thüringen
GPS-Koordinaten (WGS84)	50°45'15,0"N 10°20'28,8"E
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Äschen	unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

Herkunft - Gewässer	Werra 2
Population (AGRDEU-Nr.)	THY-036
Gewässertyp nach WRRL ¹	Typ 9.2: Große Flüsse des Mittelgebirges
Abfluss über/in	Weser → Nordsee
Gewässerlänge (km) ²⁶	299,6
Einzugsgebietsgröße (km ²) ²⁶	5497,0
Flussgebietseinheit	Weser
Landkreis	Hildburghausen
Gemeinde	Themar
Bundesland	Thüringen
GPS-Koordinaten (WGS84)	50°29'24,1"N 10°37'47,6"E
Fischereiliche Bewirtschaftung	Angelfischerei
Besatz mit Äschen	unbekannt
Wildpopulation nach GAK-Liste ¹³	nein

¹ LAWA (2004); ⁵ Bergemann (2015); ⁶ Topographisches Informationsmanagement, Bezirksregierung Köln, Abteilung GEObasis NRW; ¹⁰ Gewässerkartendienst des Hessischen Ministeriums für Umwelt, Klimaschutz, Landwirtschaft und Verbraucherschutz; ¹² Niedersächsisches Ministerium für Umwelt, Energie und Klimaschutz; Umweltkarten Niedersachsen; ¹³ GAK-Liste, GENRES (2009);

¹⁴ https://www.alpenflusslandschaften.de/files/downloads/projektflyer%20allgemein/2017_Broschuere_Ammer_BlauesBand.pdf; ¹⁵ (LHW Sachsen-Anhalt, 2011); ¹⁶ <https://de.wikipedia.org/wiki/Inn>; ¹⁷ <https://de.wikipedia.org/wiki/Isar>; ¹⁸ Gewässer-verzeichnis des Landesamtes für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz NRW 2010 (XLS; 4,67 MB); ¹⁹ <https://www.lfu.bayern.de/wasser/gewaesserverzeichnisse/doc/tab24.pdf>; ²⁰ https://de.wikipedia.org/wiki/Fr%C3%A4nkische_Saale; ²¹ <https://www.bodenseejournal.de/natur-umwelt-bodensee/naturschutz-umweltschutz-natur-und-umwelt-bodensee-radolfzeller-aach-waldwasservogel-biber.html>; ²² [https://de.wikipedia.org/wiki/Felda_\(Werra\)](https://de.wikipedia.org/wiki/Felda_(Werra)); ²³ <https://statistik.thueringen.de/datenbank/TabAnzeige.asp?tabelle=lg000003>; ²⁴ [https://de.wikipedia.org/wiki/Nesse_\(H%C3%B6rsel\)](https://de.wikipedia.org/wiki/Nesse_(H%C3%B6rsel)); ²⁵ https://de.wikipedia.org/wiki/%C3%96rtze#cite_note-2; ²⁶ <https://de.wikipedia.org/wiki/Werra>

4.4 Molekulare Analysen

4.4.1 Verwendung forensischer Abstriche zur DNA-Gewinnung

Die nichtinvasive Gewinnung von DNA mittels Schleimhaut- bzw. Maulhöhlenabstrichen (Skin & Buccal swabbing) wurde bereits für verschiedene Fischarten erfolgreich getestet (Smalley & Campanella, 2005; Campanella & Smalley, 2006; Le Vin *et al.*, 2011; Reid, Kidd & Wilson, 2012; Breacker *et al.*, 2017; Colussi *et al.*, 2017). Auch bei der ebenfalls vom Institut für Hydrobiologie durchgeführten Studie zur genetischen Diversität der Barbe in Deutschland (Berendonk *et al.*, 2015) wurden DNA-Proben mit Hilfe von forensischen Schleimhautabstrichen gewonnen. Gegenüber der damals angewandten Methodik konnte das verwendete Protokoll noch weiterentwickelt werden. So wurde im Rahmen dieser Studie dazu übergegangen, die Abstrichproben schnellstmöglich nach der Entnahme in geschlossenen Beuteln mit Silica-Gel einzufrieren, um Degradierungsprozesse zu verlangsamen. Bei Entnahme der Proben durch Dritte wurden die Proben im gefrorenen Zustand versendet und danach schnellstmöglich die DNA extrahiert.

Bei der Etablierung des Extraktionsprotokolls für *T. thymallus* wurden zunächst verschiedene DNA-Extraktions-Kits getestet. Dabei erwies sich das „QIAAMP®“ DNA MINI KIT (QUIAGEN) als geeignet. Hierfür wurde das Standard-Protokoll des Herstellers wie folgt ergänzt: Nach dem Lyse-Schritt muss das Lysat auf eine Filtersäule überführt werden. Beim Arbeiten mit Abstrichtupfern saugen diese einen Teil des Lysats während des Inkubationsschritts auf. Daher wurde ein Zentrifugationsschritt nach der Lyse eingeführt, um das aufgesogenen Lysat aus den Abstrichtupfern zu gewinnen. Hierfür wurde eine sterile und kontaminationsfreie 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. Die Elution der DNA erfolgte in 80 µL Elutionspuffer, der zur Erhöhung der Ausbeute nach einer ersten Zentrifugation ein zweites Mal auf die Säule pipettiert und zentrifugiert wurde. 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.

4.4.2 mtDNA RFLP- Analyse

Die mitochondriale Diversitätsanalyse erfolgte für die drei Loci NADH Dehydrogenase Untereinheit 1 (ND1), Untereinheit 5/6 (ND5/6) und die Kontrollregion (CR). Letztere wurde mit analysiert, die Ergebnisse sind aber nicht Teil dieses Berichts. Die PCR-Reaktionen zur Amplifikation der ND1- und ND5/6-Region wurden in einem Gesamtvolumen von 25 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, 400 nM (ND1) bzw. 480 nM (ND5/6) jedes Primers und 40 ng DNA pro Reaktion angewendet wurden. Detaillierte Informationen zu den verwendeten Primern sind in Tabelle 2 dargestellt. Für die Amplifikation der Genfragmente wurde folgendes PCR-Programm verwendet: initiale Denaturierung von 3 min. bei 95°C, gefolgt von 35 Zyklen mit 45 sec. bei 95°C, 45 sec. bei 55°C und 80 sec. bei 72°C, und einem finalen Elongationsschritt von 5 min bei 72°C.

Tabelle 2: Verwendete Primer für die mitochondrialen Loci ND1 und ND5/6 in *Thymallus thymallus*, T_m = Schmelztemperatur

Primer	Primer Sequenz (5'-3')	T _m (°C)	GC-Gehalt (%)	Referenz
Thy_ND1	for: GCCTCGCCTGTTTACCAAAAACAT	63,9	45,8	(Nielsen, Hansen & Mensberg, 1998)
	rev: GGTATGGGCCCGAAAGCTTA	61,6	55,0	
Thy_ND5/6	for: AATAGCTCATCCATTGGTCTTAGG	59,6	41,7	(Nielsen, Hansen & Mensberg, 1998)
	rev: TAACAACGGTGGTTTTTCAAGTCA	60,8	37,5	

Die quali- und quantitative Analyse der PCR-Produkte erfolgte standardmäßig über eine gelelektrophoretische Auftrennung in einem 1%-igen Agarosegel und einer Färbung und Detektion der DNA mittels Clear G (SERVA) unter UV-Licht. Die Bestimmung der DNA-Stoffmenge in ng erfolgte mithilfe der Software Image Lab™ (Vers. 5.3). Die anschließende RFLP-Analyse der mitochondrialen ND1 & ND5/6-Region erfolgte nicht durch die klassische Methode des Verdauens der PCR-Produkte mittels spezifischer Restriktionsenzyme, sondern durch *in-silico* Simulation der Restriktionsverdauung von Sequenzdaten mittels bioinformatischer Software. Hierfür erfolgte eine Sequenzierung der PCR-Produkte mittels Hochdurchsatzverfahren (Illumina *NextSeq*), wobei die drei amplifizierten Genregionen (ND1, ND5/6, CR) eines Individuums jeweils in äquimolaren Verhältnissen zusammengeführt wurden.

Die resultierenden, jeweils 30µl umfassenden PCR-Produkt-Gemische wurden von der Deep Sequencing Group des Biotechnologischen Zentrums (BIOTEC) der TU Dresden wie folgt bearbeitet: Die DNA-Konzentration wurde mithilfe des *AccuBlue Broad Range dsDNA Quantification Kit* (BIOTIUM) gemessen und auf 0,5ng/µl normalisiert. Zur Konstruktion sequenzierbarer Libraries wurde von jeder Probe 1ng in der Vakuumzentrifuge (CONCENTRATOR PLUS EPPENDORF) für 15 Minuten bei 30°C getrocknet. Anschließend erfolgte die Resuspendierung im *Tagmentation-Master-Mix* bestehend aus 0,5µl nuklease-freiem Wasser, 0,4µl *Tagment DNA Puffer* und 0,1µl *Tagment DNA Enzyme Mix* (beides NEXTERA DNA LIBRARY PREP KIT, ILLUMINA). Nach 5 min. Tagmentierung bei 55°C erfolgte die Indizierung der Libraries mit Barcodes über eine PCR unter Verwendung eines *KAPA High Fidelity Hot Start Master Mix* (KAPA BIOSYSTEMS) und 2pMol Index-Primer (PCR-Bedingungen: 72°C 3 min, 98°C 30 sec, 12 Zyklen [98°C 10 sec, 63°C 30 sec, 72°C 60 sec], 72°C 5 min). Die fertigen Libraries wurden im Verhältnis 1:2 verdünnt. Die Konzentrationsbestimmung erfolgte mit dem *AccuBlue Broad Range dsDNA Quantification Kit* (BIOTIUM). Anschließend wurden die Libraries äquimolar gepoolt. Die Pools wurden mit *1x Ampure XP beads* (BECKMAN COULTER) doppelt aufgereinigt und dann auf dem Fragment Analyzer (AATI) mit dem *High Sensitivity NGS Fragment Analysis Kit* (AATI) quantifiziert. Schlussendlich wurden die Pools dann auf dem *NextSeq500* (ILLUMINA) im „76bp single end“ Modus sequenziert, sodass auf jede Probe zwischen 50.000 und 80.000 Reads entfielen.

Für die Variationsanalyse wurde zuerst jede Probe wie folgt prozessiert: Reads wurden mit dem BURROWS-WHEELER ALIGNER (v0.7.10; PMID:19451168) auf Referenzsequenzen der drei amplifizierten Genregionen (ND1, ND5/6, CR) gemappt. PCR-Duplikate wurden mit MARKDUPLICATES des PICARD TOOLS (v2.9.0; <https://github.com/broadinstitute/picard>)

markiert und von der weiteren Analyse ausgeschlossen. Positionen mit möglichen Insertionen/Deletionen wurden mit REALIGNERTARGETCREATOR des GENOME ANALYSIS TOOLKIT (GATK; v3.4.0; PMID:20644199) identifiziert und mit dem GATK INDELREALIGNER genauer aufgelöst.

Für die eigentliche Variationsanalyse wurde zuerst jede prozessierte Probe individuell mit dem GATK HAPLOTYPECALLER analysiert. Die identifizierten Varianten (Basensubstitutionen und Insertionen/Deletionen) wurden dann über alle Proben mittels GATK COMBINEGVCF in einen Katalog zusammengeführt. Schließlich wurden sämtliche prozessierten Proben für jede Variante des Katalogs mittels dem GATK GENOTYPEGVCF genotypisiert. Abschließend wurden die genotypisierten Varianten basierend auf „Best Practices“-Empfehlung von GATK mit dem GATK VARIANTFILTRATION gefiltert, sodass ein reduzierter Katalog von verlässlichen Varianten erstellt wurde.

Für jede Probe wurde dann mittels GATK SELECTVARIANTS ein eigener Katalog erstellt, der nur die probenspezifischen Varianten enthielt. Varianten, bei denen der Anteil an Reads mit alternativen Allelen an heteroplasmatischen Positionen unter 50% lag, wurden ausgeschlossen. Die alternativen Allele wurden in die Sequenzen der PCR-Produkte mittels GATK FASTAALTERNATEREFERENCEMAKER korrigiert. Die Konsensus-Sequenzen für jede Probe wurden in Form von FASTA Dateien zur Verfügung gestellt.

Hierbei wurde angestrebt, von jeweils 10 zufällig ausgewählten Individuen pro beprobter Herkunft die zwei Markergene (ND1, ND5/6) zur Abschätzung der mitochondrialen Diversität zu analysieren. Insgesamt wurden somit 374 Individuen aus 36 Herkünften typisiert, wobei 33 Herkünfte mit einer Anzahl von 10-15 Individuen und 3 Herkünfte mit 4-7 Individuen in die Analysen gingen (vgl. Appendix 1). Von B. Gum wurde DNA von Referenzindividuen aus mehreren genetischen Linien der Äsche zur Verfügung gestellt. Zur Kalibrierung und Überprüfung unserer Ergebnisse wurden, gemeinsam mit den für diese Studie gesammelten Proben, die ND1- und ND5/6-Region für fünf Referenzindividuen sequenziert.

4.4.3 Mikrosatellitenanalyse

Um die Vergleichbarkeit zu früheren Studien zu gewährleisten (u.a. Gum *et al.*, 2005, 2006) wurden folgende Mikrosatelliten ausgewählt: BFRO004, BFRO005, BFRO006, BFRO007, BFRO009, BFRO010, BFRO011, F43, Ocl8, Ogo2, One9 und SSOSL311 (Slettan, Olsaker & Lie, 1995; Scribner, Gust & Fields, 1996; Sánchez *et al.*, 1996; Condrey &

Bentzen, 1998; Olsen, Bentzen & Seeb, 1998; Snoj *et al.*, 1999; Sušnik, Snoj & Dovč, 1999; Sušnik *et al.*, 2000).

Diese ausgewählten 12 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 JOE) markiert wurden (siehe Tabelle 3 für Details). 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 12 Loci zu untersuchen. Nach einer Optimierungs- und Evaluierungsphase wurde das ursprüngliche Set 4 aus 3 Primerpaaren nochmals aufgeteilt, da der Locus One9 sich als wenig kompatibel mit den anderen beiden Markern erwies und daher als Simplex-PCR amplifiziert werden musste.

Tabelle 3: Detailinformation zu den verwendeten Mikrosatellitenmarkersystemen

Multiplex Set	Marker	Motiv	Allelbereich (bp)	Fluorophor	Referenz
1	BFRO011	(GT) ₁₆	223-257	6-FAM	(Sušnik <i>et al.</i> , 2000)
	BFRO007	(AG) ₁₃	184-200	JOE	(Sušnik <i>et al.</i> , 1999)
	SSOSL311	(TG) _n	108-120	ATTO 550	(Slettan <i>et al.</i> , 1995)
	BFRO006	(CA) ₁₅	132-152	ATTO 565	(Sušnik <i>et al.</i> , 1999)
2	Ocl8	(GT) ₄₆	97-127	6-FAM	(Condrey & Bentzen, 1998)
	BFRO004	(GT) ₁₁	149-167	ATTO 550	(Snoj <i>et al.</i> , 1999)
	BFRO009	(CA) ₈ T(AC) ₄ T (AC) ₈ G(CA) ₆	235-251	ATTO 565	(Sušnik <i>et al.</i> , 1999)
3	BFRO005	(CA) ₁₇	113-141	6-FAM	(Sušnik <i>et al.</i> , 1999)
	BFRO010	(AC) ₁₇	202-260	JOE	(Sušnik <i>et al.</i> , 2000)
4	One9	(CA) ₅₄	182-204	6-FAM	(Scribner <i>et al.</i> , 1996)
	F43	(AC) _n	117-152	ATTO 550	(Sánchez <i>et al.</i> , 1996)
	Ogo2	(GA) ₂₄	204-258	ATTO 565	(Olsen <i>et al.</i> , 1998)

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 und 60 ng DNA pro Reaktion angewendet wurden. Die MgCl₂-, BSA- und Primer-Konzentration sowie die Annealing-Temperatur wurde für jedes Multiplex-Set optimiert (siehe Tabelle 4). Die Amplifikation der Mikrosatelliten-Fragmente wurde mittels folgendem PCR-Programm durchgeführt: initiale Denaturierung für 5 min bei 95°C, 35 Zyklen mit 20 sec bei 95°C, 20 sec bei 50,5-57°C und 20 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 nach Färbung der DNA mit Clear G (SERVA) überprüft. Die Fragmentlängenanalyse positiver PCR-Proben wurde anschließend mit einem ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer durchgeführt.

Von den insgesamt 1169 gesammelten Abstrichproben wurde von 1083 Proben erfolgreich DNA gewonnen. Von diesen 1083 Proben, die aus 36 verschiedenen Populationen stammen, wurde eine Mikrosatellitenanalyse durchgeführt. Dabei zeigten 613 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 und durch die teilweise Analyse von „B-Proben“ derselben Individuen konnte für insgesamt 1024 Individuen aus 36 Populationen stammend ein vollständiges Markerset von 12 Loci erstellt werden. Für die statistische Analyse der Mikrosatelliten-Daten wurden allerdings nur 1010 Individuen berücksichtigt, da 2 Populationen mit <10 beprobten und analysierten Individuen mit einem vollständigen Markerset von den Analysen ausgeschlossen wurden (Erf, Fränkische Saale).

Zur Kalibrierung des von uns verwendeten Binnings (Detektion und Klassifikation der Allel-Längen) und zur Validierung unserer Ergebnisse wurden, gemeinsam mit den für diese Studie gesammelten Proben, Mikrosatellitenanalysen von fünf

Referenzindividuen aus verschiedenen genetischen Linien der Äsche (zur Verfügung gestellt von B. Gum) durchgeführt.

Tabelle 4: Mikrosatelliten-PCR Bedingungen für die 3 verwendeten Multiplex-Sets. * One9 wurde anfangs mit im Multiplex-Set 4 amplifiziert, musste allerdings doch als Simplex-PCR durchgeführt werden.

Multiplex Set	1	2	3	4	One9
Hybridisierungstemp.	57 °C	57 °C	56 °C	54 °C	50,5
MgCl ₂ Konz.	937,5 µM	625 µM	625 µM	1,25 mM	1,25 mM
BSA Konz.	-	0,25 µg/µl	-	0,125 µg/µl	0,125 µg/µl
Marker	BFRO011 500 nM	Ocl8 250 nM	BFRO005 250 nM	(One9 625 nM) *	One9 625 nM
entsprechenden	BFRO007 625 nM	BFRO004 250 nM	BFRO010 500 nM	F43 250 nM	
Konzentratione n der Primer	SSOSL311 250 nM	BFRO009 500 nM		Ogo2 375 nM	
	BFRO006 375 nM				

4.5 Datenanalyse und Statistik

4.5.1 mtDNA RFLP-Analyse

Für die untersuchten Regionen (ND1, ND5/6) wurden die für die weiteren Analysen benötigten Alignments mithilfe der Software *Geneious* 10.1.3 (BIOMATTER LDT.) mit 65% similarity (5,0/-4,0) unter Verwendung des implementierten Geneious-Algorithmus erstellt.

Zur Gewährleistung der Vergleichbarkeit mit den RFLP-Analysen von Gum *et al.* (2005, 2006) wurden die ND1 und ND5/6-Sequenzen *in-silico* verdaut. Für die ND1-Region wurden die Restriktionsenzyme *HaellI*, *BstNI*, *Hinfl*, *Mbol*, *BclI* & *RsaI* verwendet. Die ND5/6-Region wurde mit den Restriktionsenzymen *HaellI*, *StyI*, *Hinfl*, *AluI*, *ApaI*, *RsaI* & *AluI* geschnitten. Aus den Konsensus-Sequenzen der ND1- bzw. ND5/6-Region wurden die RFLP-Profile *in-silico* mithilfe der Software R vers. 3.5.1 (R Core Team, 2018) unter Verwendung der Pakete *‚Digestion‘* (Roselius *et al.*, 2011) und *‚Biostrings‘* (Pagès *et al.*, 2016) generiert.

Die erhaltenen RFLP-Fragment-Profile wurden mit bereits bekannten RFLP-Profilen (Referenzen für Fragmentlängen von B. Gum bereitgestellt) für die entsprechenden Restriktionsenzyme in R vers. 3.5.1 (R Core Team, 2018) abgeglichen. Das von Gum *et al.* (2005) verwendete Restriktionsenzym *AluI* wurde aufgrund von nicht mehr vorhandenen Referenzdaten für die Fragmentlängen aus der Analyse ausgeschlossen. Entsprach ein ermitteltes RFLP-Profil einem bereits bekannten Profil, wurde für dieses der entsprechende Haplotyp übernommen (siehe Gum *et al.*, 2005). Durch die Kombination der Haplotypenbezeichnungen in einer vorgegebenen Reihenfolge (siehe Gum *et al.*, 2005) wurden sogenannte Composite-Haplotypen definiert. Für die anschließende populationsgenetische Datenanalyse wurde der Composite-Haplotyp in einen Binärcode umgewandelt. Das Vorhandensein eines spezifischen Restriktionsfragments wurde als „1“ und das Fehlen als „0“ kodiert.

Der *in-silico*-Verdau der Referenzsequenzen (Probenmaterial von B. Gum bereitgestellt) ergab teilweise Unterschiede gegenüber den bereitgestellten Referenz-RFLP-Profilen (Fragmentlängen anhand von Gelbildern bestimmt, siehe Gum *et al.*, 2005). Daher wurden für die Erkennung der Haplotypen Restriktionsenzym-spezifische Toleranzen zwischen 2bp und 13bp für den Abgleich festgelegt. Jedes unbekannte RFLP-Fragment-Profil wurde durch einen neuen Haplotypen für das jeweils verwendete Restriktionsenzym klassifiziert.

Für die RFLP-Binärdatensätze erfolgte die Abschätzung der Variation innerhalb der Populationen bzw. FGE durch die Berechnung der Haplotypen- und Nukleotid-Diversität mit der Software Arlequin Ver. 3.5.2.2 (Excoffier & Lischer, 2010). In Arlequin wurde weiterhin 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. Zur Abschätzung der genetischen Differenzierung zwischen den Populationen bzw. FGEs wurden in Arlequin (Excoffier & Lischer, 2010) paarweise F_{ST} -Werte berechnet und deren Signifikanz mit 10.000 Permutationen abgeschätzt.

Basierend auf den RFLP-Binärdaten der ND1- & ND5/6-Region wurde mit der Software POPART (Leigh & Bryant, 2015) ein Median-Joining Haplotypen Netzwerk erstellt (Abbildung 5). Dabei gingen auch alle 32 von Gum *et al.*, (2005, 2006) gefundenen Composite-Haplotypen in die Analyse ein. Zwei weitere Composite-Haplotypen aus Gum *et al.* (2006) und Kühn (2011) konnten aufgrund fehlender Informationen zu den

jeweiligen RFLP-Mustern nicht in die Analyse aufgenommen werden. Composite-Haplotypen, die im Rahmen dieser Untersuchung nur in einer Population auftraten, wurden als private Haplotypen definiert. Dies umfasst also auch bereits bekannte Composite-Haplotypen, die in vorherigen Studien bereits in anderen Populationen gefunden wurden.

4.5.2 Mikrosatellitenanalyse

Aufgrund des technisch bedingten Auftretens 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® 11.0.5 (Kearse *et al.*, 2012) genutzt.

Für die Abschätzung der genetischen Variation innerhalb der Populationen bzw. Flusseinzugsgebiete (FGE) erfolgte die Berechnung der auf die Probengröße korrigierten, erwarteten Heterozygotie (H_{EC}) in Arlequin (Excoffier & Lischer, 2010). Die Berechnung des mittleren Inzuchtkoeffizienten pro Population erfolgte mit der Software FSTAT version 2.9.4 (Goudet, 2001). Die mittlere und maximale Anzahl an Allelen pro Locus, der mittlere Allelreichtum pro Population, die mittlere Anzahl privater Allele (Anzahl privater Allele pro Population / Anzahl an Mikrosatelliten-Loci) wurden in R (R Core Team, 2018) mit den Paketen „Poppr“ (Kamvar, Tabima & Grünwald, 2014) und „hierfstat“ (Goudet & Jombart, 2015) berechnet.

Die genetische Differenzierung zwischen den Populationen bzw. FGEs wurde analog zu den mitochondrialen Daten in Arlequin (Excoffier & Lischer, 2010) mit paarweisen F_{ST} -Werten abgeschätzt, und die Signifikanz der Werte mit 10.000 Permutationen bestimmt. Eine hierarchische AMOVA wurde ebenfalls 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.

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. Diese Analyse wurde in R (R Core Team, 2018) mit Hilfe des Pakets „ape“ (Paradis & Schliep, 2018) unter Verwendung der Binärdaten genutzt, um die Beziehungen aller einzelnen Individuen zueinander zu berechnen. Hierfür wurden die ermittelten Multilocus Allel-Daten in eine Binärmatrix (0=abwesend, 1=anwesend) transformiert. Für die Darstellung der Beziehungen der Populationen zueinander wurden die paarweisen genetischen Distanzen der Populationen nach Nei (Nei, 1972, 1978) verwendet, die in R (R Core Team, 2018) mit Hilfe des Pakets „adegenet“ (Jombart, 2008) auf Basis des Allel-Datensatzes berechnet wurden.

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 (Pritchard, Stephens & Donnelly, 2000; Falush, Stephens & Pritchard, 2003, 2007; Hubisz *et al.*, 2009) 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 das ‚Admixture Model‘ (mit angenommenem genetischem Austausch zwischen den Populationen), und die Einstellung ‚Independent Allele Frequencies‘ gewählt. Alle Simulationen wurden mit einer ‚BurnIn‘ Phase von 25.000 Wiederholungen und 100.000 MCMC Wiederholungen nach der ‚Burnin‘ Phase durchgeführt. In die Analyse wurden auch die Mikrosatellitendaten von 5 Zuchtstämmen der Äsche aus Deutschland integriert, die

im Rahmen einer anderen Studie erhoben wurden. Das Ableiten der Anzahl der genetischen Gruppen (K), welche die Daten am besten beschreiben, wurde mit dem Programm STRUCTURE HARVESTER Web v0.6.94 (Earl & vonHoldt, 2012) mittels der Evanno-Methode (Evanno, Regnaut & Goudet, 2005) auf Basis von 5 Wiederholungen für K = 2-40 durchgeführt. Dabei stellte sich K=4 als die wahrscheinlichste und K=8 als die zweitwahrscheinlichste Anzahl von Gruppen (K) heraus. Die Ergebnisse aus den 5 STRUCTURE-Wiederholungen für diese beiden Gruppenanzahlen (K=4, K=8) wurden mittels der Software CLUMPP (Jakobsson & Rosenberg, 2007) gemittelt und mit dem Programm DISTRUCT (Rosenberg, 2003) visualisiert.

5 AUSFÜHRLICHE DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE

5.1 Populationsstruktur der Äsche in den erfassten Herkünften

In den 36 Herkünften (Abbildung 2) konnten insgesamt 1169 Äschen 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 Tabelle 1 dargestellt.

In 35 Herkünften konnten die Fische vermessen werden (Abbildung 3, Tabelle 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, zwischenjährliche 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 Individuen ausreichend starker Jahrgänge überleben und Nachkommen schwacher Jahrgänge im Gewässer nicht mehr nachweisbar 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 Elternpaar stammen könnten, wurde der Anteil der 0+ Äschen 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 mit in die genetischen Analysen aufgenommen wurden.

Die angestrebte Anzahl von mindestens 30 Individuen pro Herkunft konnte in 27 der 36 Herkünfte erreicht werden. In den übrigen Herkünften war dies unter den vor Ort gegebenen Umständen (Wasserstand, Witterung, Bestandssituation der Äsche) nicht im vertretbaren Aufwand möglich (siehe dazu auch Kap. 2 und 8).



Abbildung 3: Anzahl der Individuen nach Größenklassen; in den Grafiken sind die Namen der Herkünfte sowie die Gesamtanzahl der Individuen pro Population aufgeführt. In Herkunft Wupper 2 konnten die Tiere nicht vermessen werden. In der Gera konnte eine große Anzahl Äschen (>60) in der Größenklasse 50-100 mm gefangen werden. Die Population ist daher zur besseren Sichtbarkeit der anderen Populationen in dieser Übersicht nicht aufgeführt.

Die Gesamtheit aller gefangenen Äsche zeigte eine relativ homogene Verteilung in den Größenklassen (Abbildung 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. Deutlich erkennbar sind die Verluste

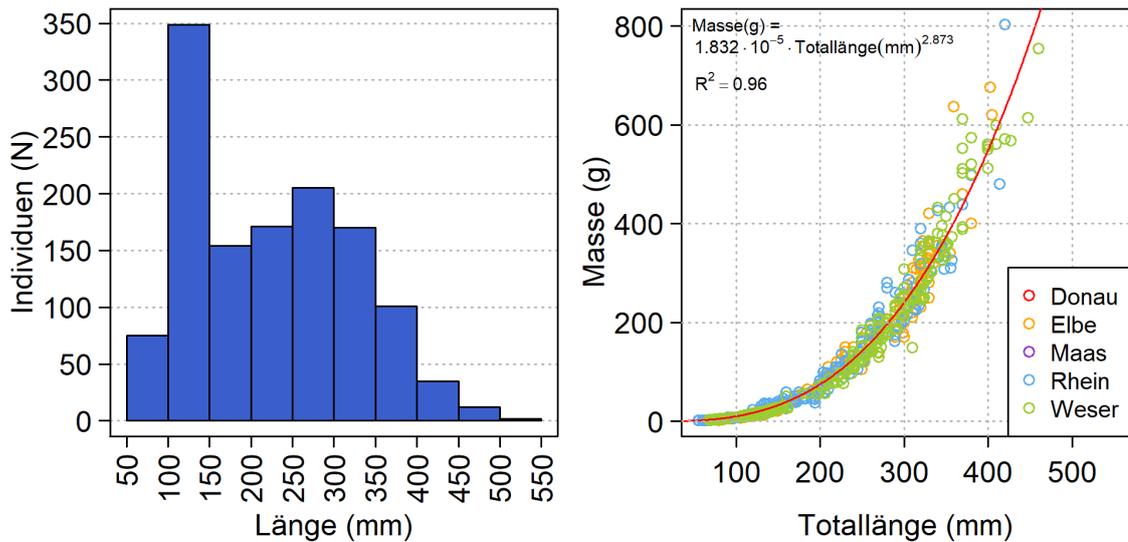


Abbildung 4: Anzahl von Individuen je Größenklasse (Grafik links) sowie Gewichts-Längen-Verhältnisse (Grafik rechts) aller vermessenen Äschen

des ersten Winters, welche sich im starken Abfall zwischen Größenklasse 10-15 cm und 15-20 cm darstellen. Hier spielen zum einen natürliche Winterverluste eine Rolle. Andererseits werden in fast allen Gebieten Deutschlands aus der fischereilichen Praxis von massiven Verlusten von Äschen 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 (Abbildung 4) lassen sich als signifikanter Zusammenhang darstellen.

Dabei konnten deutliche Unterschiede der Korpulenz der vermessenen und gewogenen Äschen zwischen den analysierten Populationen festgestellt werden. Der mittlere Korpulenzfaktor der Populationen lag zwischen 0,63 (Fränkische Saale) und 1,06 (Alme). Insgesamt liegt der Korpulenzfaktor der Äsche und dessen Schwankung zwischen den Populationen dabei im selben Bereich wie im Fall der Barbe in einer vorangegangenen Studie (Berendonk *et al.*, 2015). Generell ist der Vergleich der Korpulenz bei der Analyse von strukturierten Wildpopulation 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 Daten waren für die Äsche im Rahmen dieser Studie nicht zu erheben.

5.2 Genetische Diversität der Äsche in den erfassten Herkünften

5.2.1 Forensische Abstriche zur DNA-Gewinnung

Die mit dem „QIAAMP®“ DNA MINI KIT (QUIAGEN) extrahierte DNA aus Abstrichen wies bei korrekter Entnahme und Lagerung der Proben eine vergleichbar gute Qualität mit der aus klassischer Phenol-Chloroform-Extraktion gewonnenen DNA aus Muskelgewebe auf. Die ermittelten DNA Mengen lagen größtenteils bei 1-10µg Gesamt-DNA, was für die durchzuführenden PCR-Reaktionen innerhalb der vorliegenden Studie ausreichend war.

5.2.2 mtDNA RFLP-Analyse

Für 374 Individuen aus 36 Herkünften und 5 FGEs wurde eine RFLP-Analyse der mitochondrialen ND1- & ND5/6-Region durchgeführt um die mitochondriale Diversität zwischen und innerhalb der Äschen-Populationen in Deutschland abzuschätzen. Insgesamt konnten in diesem mtDNA-Datensatz 22 Composite-Haplotypen (nachfolgend nur noch ‚Haplotypen‘ genannt) identifiziert werden (siehe Abbildung 5), von denen 6 bereits von Gum *et al.* (2005) beschrieben wurden. Die Bezeichnung der 16 neu beschriebenen Haplotypen erfolgte mit Thy34-Thy49, da 33 Haplotypen bereits von Gum *et al.* (2005, 2006) beschrieben wurden.

Die Haplotypendiversität (H_d) ist in den FGEs Donau (0,7412) und Rhein (0,6798) am höchsten und in der FGE Weser (0,4185) am niedrigsten (vgl. Abbildung 5). Insgesamt ist die Haplotypendiversität pro FGE gesehen im Vergleich zu anderen Fischarten wie Barbe (Berendonk *et al.*, 2015), Bachforelle (Schmidt *et al.*, 2015) oder Quappe (Wetjen *et al.*, 2016) relativ niedrig. Die Haplotypendiversität in den untersuchten Populationen reichte von 0,0000 bis 0,8000 (Inn) und liegt damit sehr nah an den

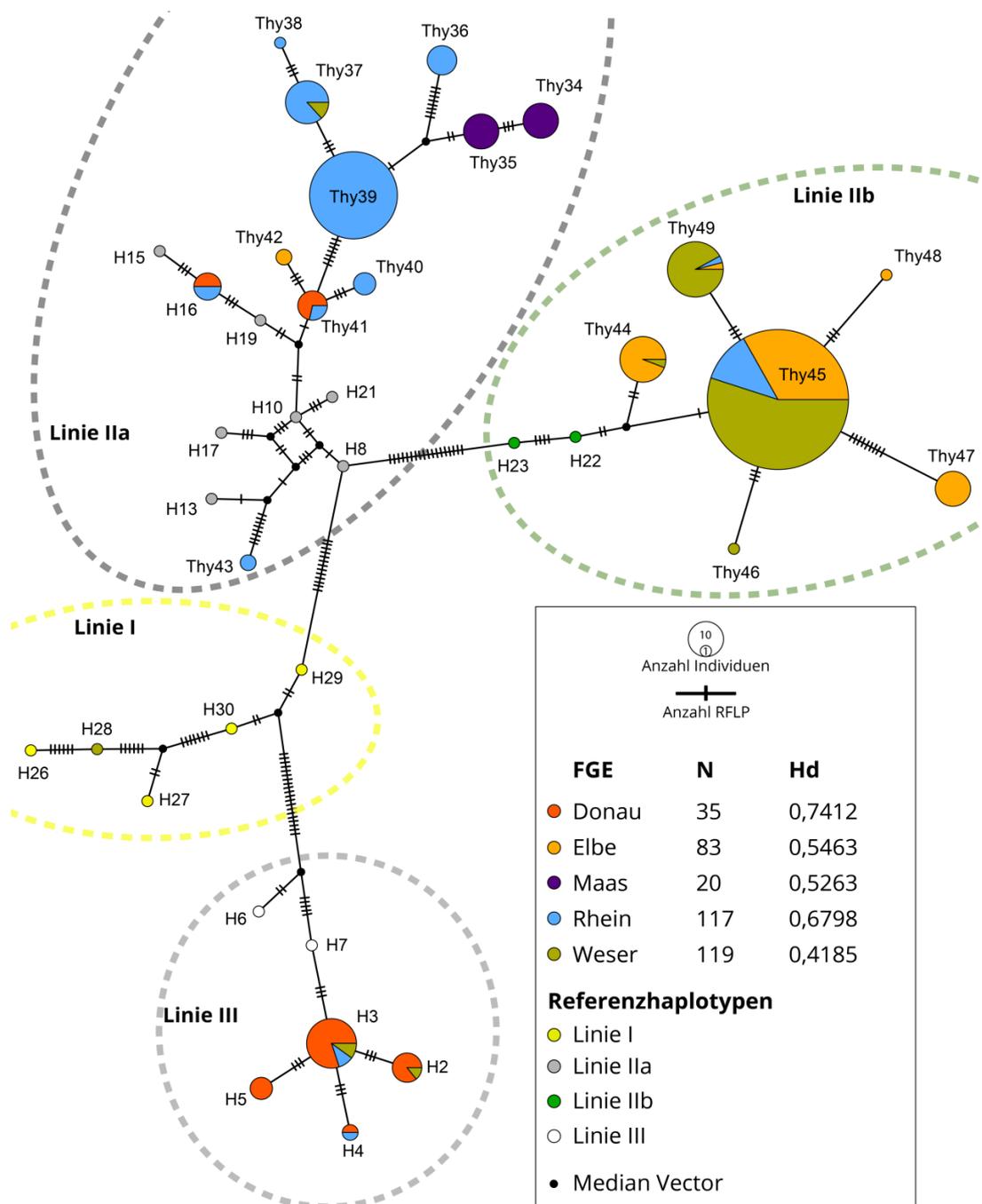


Abbildung 5: Median-Joining Haplotypen Netzwerk bestehend aus 22 Composite-Haplotypen der mitochondrialen ND1- & ND5/6-Region, welche in den 36 untersuchten Äschenpopulationen aus 5 verschiedenen Flussgebietseinheiten (FGE) detektiert wurden. Diese gruppieren sich in 4 genetische Hauptlinien ein. Zusätzlich sind weitere, ausgewählte Composite-Haplotypen aus Gum et al. (2005) dargestellt, um die Abgrenzung der Hauptlinien zu verdeutlichen. Jeder Kreis repräsentiert einen individuellen Composite-Haplotyp, wobei die Größe des Kreises proportional zur Haplotyp-Frequenz ist. Die Farbe der Kreise ist nach der Zugehörigkeit zu einem FGE bzw. im Fall der Referenz-Haplotypen zu den genetischen Hauptlinien kodiert. Die Anzahl an Querlinien auf den Verbindungslinien zeigt die schrittweisen Unterschiede im RFLP-Muster zwischen den einzelnen Composite-Haplotypen an. In der Legende ist neben den FGEs die entsprechende Anzahl der Individuen (N), die in die Analyse mit eingegangen sind, auch die jeweilige Haplotypendiversität (H_d) für die entsprechenden FGEs angegeben. Composite-Haplotypen aus Gum et al. (2005) sind mit ‚H‘ bezeichnet, in dieser Studie neu beschriebene Composite-Haplotypen mit ‚Thy‘.

gefundenen Werten von Gum *et al.* (2005), wobei der höchste Wert auch damals im Inn-System gefunden wurde ($H_d = 0,855$ in Population ,Tittmoninger Ache, Innsystem).

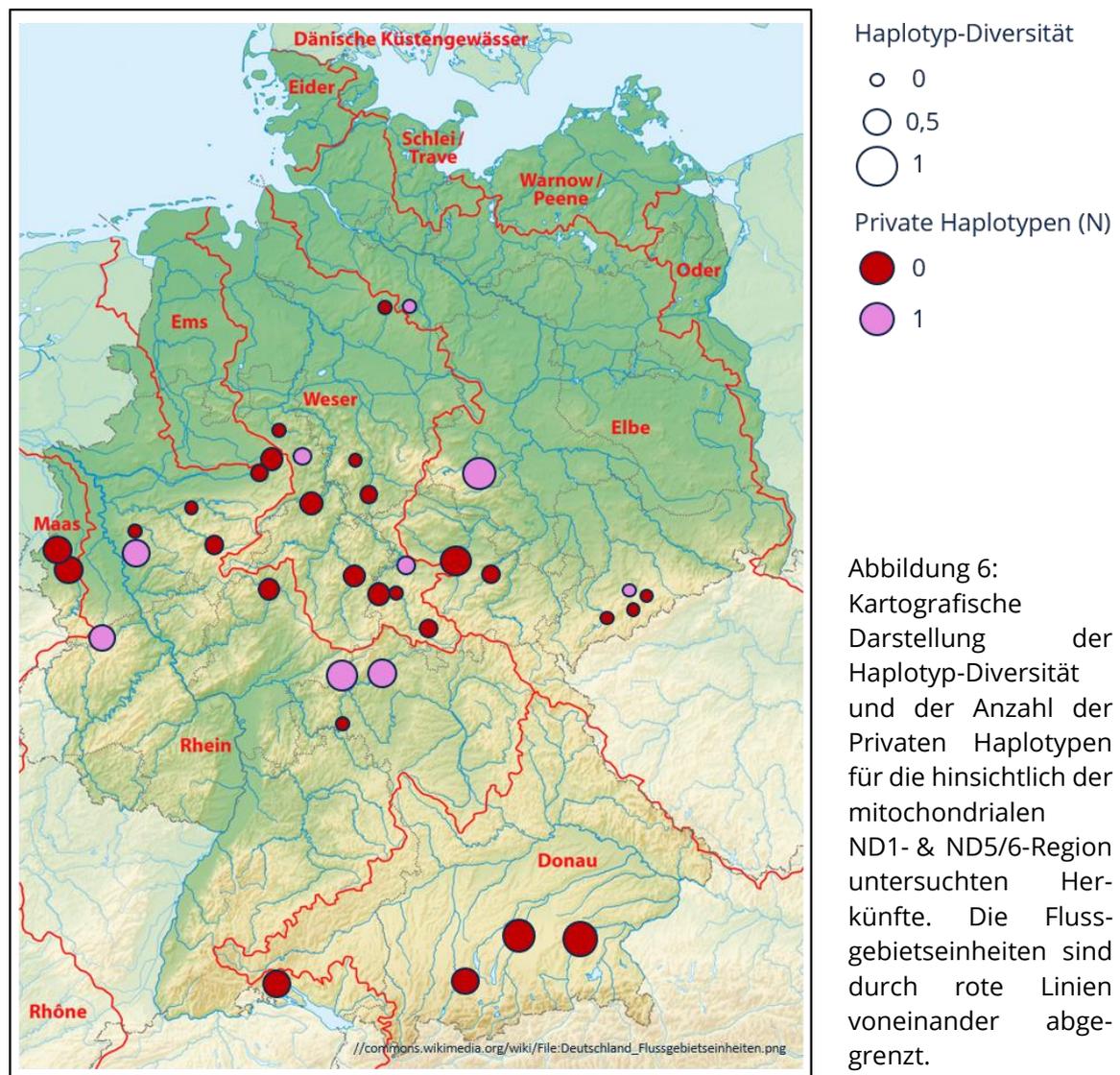
Die höchste Anzahl privater Haplotypen findet sich bezogen auf die FGEs im Rhein (4) und die niedrigste Anzahl (0) in den FGEs Donau und Maas (Appendix 1). Generell zeigt sich auch hier ein Unterschied im Vergleich zu anderen Fischarten im selben Untersuchungsgebiet, bei denen teils deutlich mehr private Haplotypen gefunden wurden (Berendonk *et al.*, 2015; Schmidt *et al.*, 2015; Wetjen *et al.*, 2016). Eine Korrelationsanalyse (Rangkorrelationskoeffizienten geschätzt über den PEARSONschen Korrelationskoeffizienten der Ränge) ergab eine signifikante negative Korrelation zwischen Latitude und Haplotypendiversität (Rangkorrelationskoeffizient $r_s = -0,439$, $p < 0,01$). Die H_d der Äsche nimmt im untersuchten Gebiet also von Süden nach Norden ab (vgl. Abbildung 6). Dieses Muster lässt sich für verschiedene Fischarten feststellen und mit dem unterschiedlichen Grad der Vergletscherung im Pleistozän begründen (Bernatchez & Wilson, 1998). Auch für die Äsche konnte in Deutschland eine tendenziell geringere genetische Diversität in den nördlichen FGEs gegenüber der FGE Donau festgestellt werden (Gum *et al.*, 2003, 2005).

Basierend auf dem in Abbildung 5 dargestellten Haplotypennetzwerk lässt sich eine deutliche phylogenetische Struktur in Form einer Aufspaltung von eindeutigen Linien erkennen. Die gefundenen Haplotypen gruppieren sich in die von Gum *et al.* (2005) beschriebenen Hauptlinien I, IIa, IIb und III ein. Dabei ist eine deutliche Zuordnung der haplotypisierten Individuen zu den Hauptlinien gemäß ihrer FGE-Zugehörigkeit erkennbar. Individuen aus der FGE Donau gehören größtenteils zu Haplotypen der Linie III (außer Population Isar), Individuen der FGEs Elbe und Weser größtenteils zu Linie IIb und Individuen der FGEs Rhein und Maas größtenteils zu Linie IIa (außer Population Lahn).

Diese deutliche Abgrenzung zwischen den FGEs zeigt sich auch in Hinblick auf die genetische Differenzierung (paarweisen F_{ST} -Werte zwischen den FGE, Tabelle 6). Die geringste signifikante Differenzierung auf Basis der mitochondrialen RFLP-Daten zeigt sich dabei zwischen Elbe und Weser ($F_{ST} = 0,0564$), deren Individuen sich im Haplotypennetzwerk größtenteils zur gemeinsamen Linie IIb zuordnen lassen und dort auch gemeinsame Haplotypen aufweisen. Alle Individuen aus der FGE Maas gehören dabei zu zwei eigenen Haplotypen innerhalb der Linie IIa, sodass auch hier eine signifikante Differenzierung zur FGE Rhein auftritt ($F_{ST} = 0,2797$). Bezogen auf die FGEs

ist die größte genetische Differenzierung zwischen dem Elbe- und dem Maaseinzugsgebiet zu finden ($F_{ST} = 0,9052$, siehe Tabelle 6).

Der häufigste Haplotyp Thy45 wurde 160-mal detektiert und lässt sich Linie IIb zuordnen. Die meisten Individuen mit Haplotyp Thy45 wurden in den FGE Weser und Elbe gefunden. Zusätzlich gehören auch ein Großteil der Individuen der Herkünfte ‚Lahn‘ und ‚Fränkische Saale‘ und einzelne Individuen aus weiteren Populationen der FGE Rhein diesem Haplotypen an. Der zweithäufigste Haplotyp Thy39 mit 62 Individuen gehört zur Linie IIa, wobei dieser ausschließlich in Populationen der FGE Rhein auftrat und dabei v.a. in den Einzugsgebieten der Ruhr, Lippe und Wupper identifiziert wurde.



Für Linie III konnten gegenüber Gum *et al.* (2005) keine neuen Haplotypen gefunden werden. Alle Individuen aus den Donaupopulationen ‚Ammer‘ und ‚Inn‘ gehören den

Haplotypen H2-H5 an. Vereinzelt Individuen aus Populationen anderer FGEs (Populationen Lahn, Radolfzeller Aach, Leine, Diemel) finden sich ebenfalls in diesen vier Haplotypen wieder. Geringe Häufigkeiten von Haplotypen der Linie III in Populationen anderer FGEs als der Donau sind dabei nicht ungewöhnlich. So konnte auch in anderen Studien ein vereinzelt, weiträumiges Auftreten der Linie III in Populationen der FGEs Weser, Rhein und Elbe beobachtet werden (Gum *et al.*, 2005; Kühn, 2011).

Ein Teil der Individuen aus der Isar gehört ebenfalls diesen Linie III-Haplotypen an, allerdings ist der Großteil der Individuen den Haplotypen der Linie IIa (H16, Thy41) zuzuordnen. Haplotyp H16 wurde bereits von Gum *et al.* (2005) in den FGEs Rhein und Donau gefunden, sodass auch hier u.a. aufgrund der Vermischung durch nacheiszeitliche Sekundärkontakte davon auszugehen ist, dass Haplotypen der Linie IIa auch im Donauebiet vorkommen. Eine solche geringfügige Durchmischung findet sich auch zwischen Linien IIa und IIb. So gehören Individuen der Population Fulda zum Haplotypen Thy37 und Individuen der Population Selke bilden den privaten Haplotyp Thy42. Umgekehrt kommt Haplotyp Thy49 auch in der Population der Lenne vor und Haplotyp Thy45 in den Populationen Alme, Fränkische Saale, Lahn, Lippe und Sinn. Für die bayerischen Mainzuflüsse wie Sinn und Fränkische Saale konnten auch Gum *et al.* (2005) bereits das Vorkommen von Haplotypen der Linie IIb nachweisen. Interessant ist in dieser Beziehung allerdings die Population der Lahn. Hier lässt sich ein Großteil der haplotypisierten Individuen dem Haplotyp Thy45 und damit Linie IIb zuordnen. Des Weiteren konnte ein Haplotyp (H28) der nordöstlichen Linie I unter den haplotypisierten Individuen der Emmer detektiert werden. Haplotypen der Linie I wurden zwar auch vorher schon in Mitteleuropa festgestellt (Gum *et al.*, 2005), jedoch gibt es Anzeichen, dass dieses Individuum auf Besitzmaßnahmen mit potenziell gebietsfremden Besitz zurückgeht: So wurden in einer weiteren Studie im Auftrag der Bezirksregierung Düsseldorf auch Äschen aus mehrere Zuchtstämme haplotypisiert, die für den Besitz vor allem in Nordrhein-Westfalen von Bedeutung sind. Dabei wurde festgestellt, dass ein Großteil des Zuchtstamms, der für den Besitz der Emmer verwendet wurde, Haplotypen der Linie I (u.a. auch H28) zugeordnet werden können (Köbsch *et al.*, in Vorbereitung).

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 (Tabelle 5). Der Großteil der genetischen Variabilität wird danach durch die Varianz zwischen Flussgebietseinheiten (65,49%) erklärt. Durch die Varianz zwischen den Populationen innerhalb der FGEs können dagegen nur 16,84% der Gesamtvarianz erklärt werden. Die untersuchten Äschenpopulationen in Deutschland zeigen somit eine relativ große genetische Variation auf überregionaler Ebene mit einer eingeschränkten Diversität zwischen Populationen. Die Differenzierung innerhalb der Populationen erklärt noch 17,67% der beobachteten Gesamtvarianz. Zusammenfassend sind demnach etwa 82% der detektierten mitochondrialen Varianz mit einer genetischen Differenzierung auf regionaler und überregionaler Ebene zu begründen, die dabei vorwiegend auf die Ebene der Flussgebietseinheiten zurückführbar ist. Dieses Maß an Differenzierung auf Ebene der FGEs und Populationen ist wesentlich höher als bei anderen Fischarten wie Bachforelle (Schmidt *et al.*, 2015) oder Barbe (Berendonk *et al.*, 2015) und liegt eher im Bereich dessen was für die Quappe beobachtet wurde (Wetjen *et al.*, 2016).

Tabelle 5: Ergebnisse der hierarchischen AMOVA (Analysis of Molecular Variance) für die mitochondrialen RFLP-Daten (ND1 & ND5/6) gruppiert nach den untersuchten Äschenpopulationen und den entsprechenden fünf 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	4	253,227	8,73433	65,49	$F_{CT} = 0,65486^{***}$
Zwischen Populationen innerhalb der FGEs	31	792,751	2,24634	16,84	$F_{SC} = 0,48798^{***}$
Innerhalb der Populationen	338	796,667	2,35700	17,67	$F_{ST} = 0,82328^{***}$
Gesamt	373	41112,644	13,33767		

5.2.3 Mikrosatellitenanalyse

Die höchste maximale Allelzahl pro Population wurde für den Locus ‚BFRO010‘ mit 14 Allelen in der Population Isar gefunden; die kleinste maximale Allelzahl pro Population

wurde für die Loci ‚BFRO007‘, ‚SSOSL311‘ und ‚BFRO004‘ mit jeweils 3 Allelen detektiert. Die mittleren Allelzahlen pro Locus schwankten damit zwischen 1,32 für Locus ‚SSOSL311‘ und 6,41 für Locus ‚Ogo2‘. Die maximale Anzahl von nur 5 privaten Allelen in nur einer Populationen (‚Inn‘) lässt auf eine relativ geringe genetische Differenzierung zwischen den einzelnen Beständen schließen. So konnten in ca. der Hälfte aller untersuchten Populationen keine privaten Allele detektiert werden (Abbildung 7), wodurch die mittlere Anzahl privater Allele über alle Populationen hinweg mit 0,91 ebenfalls sehr gering ausfällt (Appendix 1).

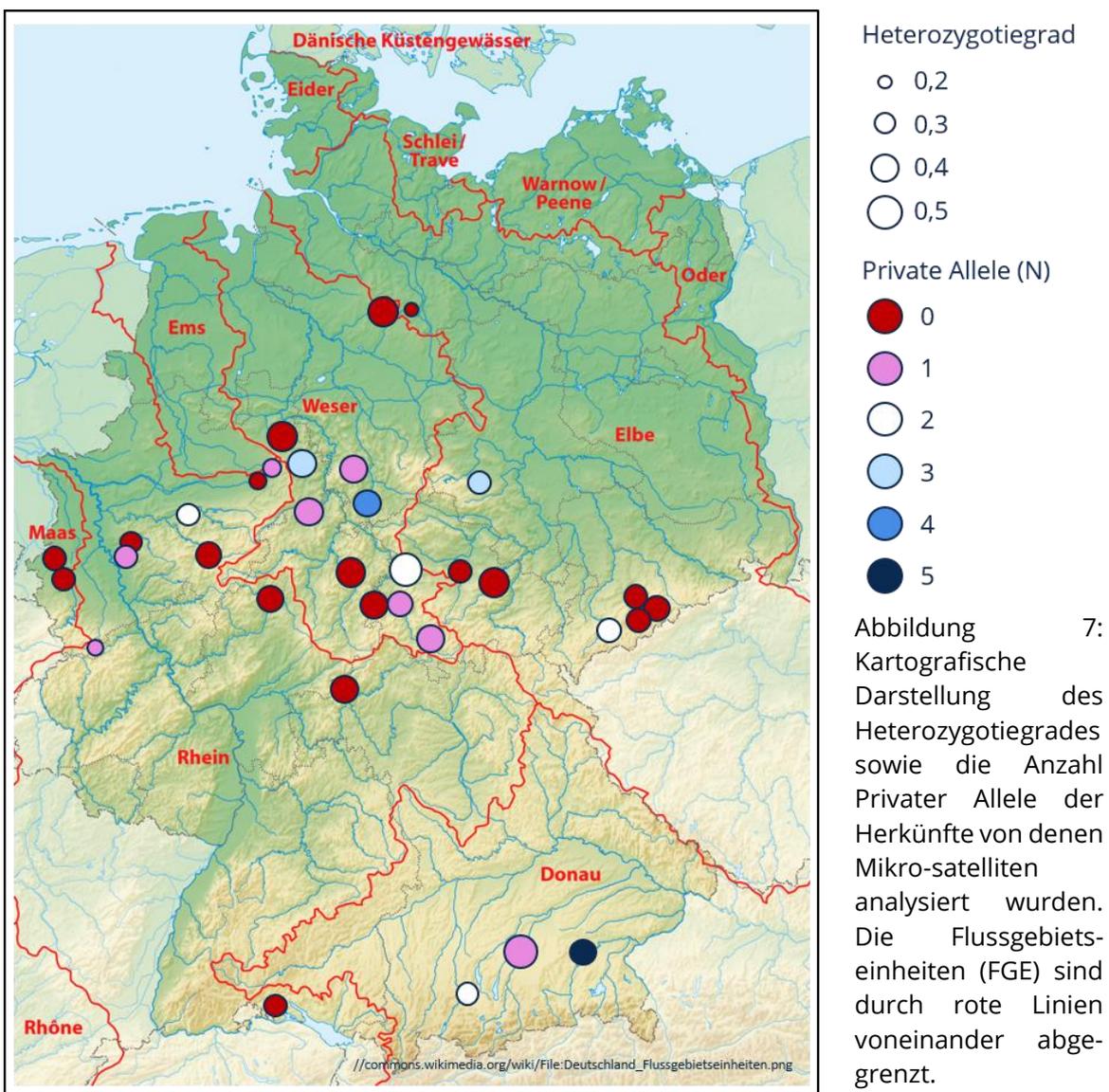


Tabelle 6: Paarweise F_{ST} -Werte basierend auf den Mikrosatelliten- (unterhalb der Diagonalen) und den mitochondrialen RFLP-Daten (oberhalb der Diagonalen) zwischen den Flussgebietseinheiten. Alle F_{ST} -Werte sind signifikant ($p < 0,001$).

	Donau	Elbe	Maas	Rhein	Weser
Donau		0,3723	0,3540	0,2949	0,4633
Elbe	0,3533		0,4606	0,3824	0,5238
Maas	0,3589	0,2937		0,3743	0,5501
Rhein	0,2864	0,2125	0,1102		0,4514
Weser	0,3361	0,0743	0,3183	0,2253	

Tabelle 7: Ergebnisse der hierarchischen AMOVA (Analysis of Molecular Variance) für die Mikrosatelliten-Daten. Die Individuen wurden nach ihren Populationen und nach den fünf 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	4	1278,32	0,73873	19,57	$F_{CT} = 0,19569^{***}$
Zwischen Populationen innerhalb der FGEs	29	1300,08	0,71632	18,98	$F_{SC} = 0,23592^{***}$
Innerhalb der Populationen	1986	4607,514	2,32000	61,46	$F_{ST} = 0,38544^{***}$
Gesamt	2019	7185,917	3,77505		

Die in der vorliegenden Studie ermittelte durchschnittliche Heterozygotierate ($\bar{H}_{EC} = 0,366$) über alle untersuchten Populationen hinweg ist im Vergleich zu anderen Mikrosatelliten-Studien an Wild- und Zuchtfischpopulationen in Deutschland als gering zu werten (Kohlmann, 2003; Berendonk *et al.*, 2015; Schmidt *et al.*, 2015; Wetjen *et al.*, 2016). Der erwartete Heterozygotiegrad auf Ebene der Flussgebietseinheiten ist in der Weser mit $H_{EC} = 0,522$ am höchsten und in der Maas mit $H_{EC} = 0,363$ am niedrigsten. Auf Populationsebene liegt der erwartete Heterozygotiegrad zwischen 0,20 für die Population der Gerdau und 0,50 für die Population des Isar. Die geringen Werte für H_{EC} können Anzeichen für geringe effektive Populationsgrößen und/oder für weit zurückliegende Bottlenecks sein. So fanden Meldgaard, Nielsen & Loeschcke (2003) und Swatdipong, Primmer & Vasemägi (2010) Hinweise für sehr starke, lang zurückliegende Bottlenecks bei der Äsche und gehen davon aus, dass die heutigen Populationsgrößen noch 0,03-3,3% der Populationsgrößen von vor ca. 7000-100.000

Jahren betragen. Auch wurden generell geringe effektive Populationsgrößen für die Äsche gefunden, die oftmals weniger als 50 Individuen betragen (Swatdipong *et al.*, 2010; Dawnay *et al.*, 2011).

Die in dieser Studie festgestellte genetische Diversität der Äsche innerhalb der Populationen ($\theta_A = 3,39$ / $\theta_{H_{EC}} = 0,37$) ist, verglichen mit anderen Fischarten im selben Untersuchungsgebiet, als gering einzuschätzen. So zeigen die Bachforelle ($\theta_A = 9,24$ / $\theta_{H_{EC}} = 0,70$), die Barbe ($\theta_A = 6,4$ / $\theta_{H_{EC}} = 0,66$) und die Quappe ($\theta_A = 9,27$ / $\theta_{H_{EC}} = 0,73$) einen wesentlich höheren Grad an Diversität innerhalb von Populationen (Berendonk *et al.*, 2015; Schmidt *et al.*, 2015; Wetjen *et al.*, 2016). Geringe Diversitätsindices innerhalb von Äschenpopulationen wurden auch in anderen Studien festgestellt (Koskinen *et al.*, 2002a; Gum *et al.*, 2005; Dawnay *et al.*, 2011). Die dort gefundenen Werte liegen mit $\theta_A = 2,5 - 3,5$ und $\theta_{H_{EC}} = 0,37 - 0,41$ sehr nah an denen dieser Studie bzw. entsprechen diesen. Diese geringe Diversität in den Populationen kann unter anderem mit der Lebensweise der Äsche als standorttreue, gesellige Fischart mit ausgeprägtem Homing-Verhalten erklärt werden. So stellten Heggenes *et al.* (2006) fest, dass die in norwegischen Flüssen untersuchten Äschen größtenteils standorttreu ($\pm 0,5$ km) waren und nur wenige Individuen Wanderungen über 100km Länge durchführen. Bedenkt man den Grad der Fragmentierung der Fließgewässersysteme und die im Vergleich zu anderen Salmoniden schwächeren Leistungen bei der Überwindung von Hindernissen (Jungwirth, 1996; Ovidio & Philippart, 2002), ist von einem geringen Genfluss zwischen Populationen desselben Einzugsgebiets auszugehen. Dazu passend konnten wir eine signifikante Differenzierung zwischen fast allen Population feststellen (vgl. Appendix 2), wie sie auch für die Äsche in Großbritannien gefunden wurde (Dawnay *et al.*, 2011). Trotz dieses geringen Genflusses und der eingeschränkten genetischen Diversität sind keine Inzuchteffekte zu erkennen (Appendix 1). ‚Ammer‘, ‚Gerdau‘ und ‚Ahr‘ sind dabei im Datensatz die am stärksten differenzierten Populationen (siehe maximale F_{ST} -Werte in Appendix 2).

Die Hauptkoordinatenanalyse zur räumlichen Darstellung der genetischen Ähnlichkeiten und Beziehungen der Populationen (Abbildung 8) und Individuen (Abbildung 9) zueinander zeigt auf Populationsebene ein Bild ähnlich dem Haplotypennetzwerk der ND1- & ND5/6-Region mit einer relativ klaren Abgrenzung zwischen der FGE Donau, einem gemeinsamen Cluster der FGEs Rhein/Maas und einem gemeinsamen Cluster der FGEs Elbe/Weser. Die Donaupopulationen Ammer und Isar sind relativ eindeutig von den Populationen der anderen FGEs abgegrenzt, wohingegen die Population der Isar sich näher an der FGE Rhein befindet und auf

Individuenebene (bezogen auf die ersten drei Achsen der Hauptkoordinatenanalyse) keine klare Trennung sichtbar ist. Die Populationen der FGEs Rhein und Maas sind sowohl auf Individuen- als auch auf Populationsebene nicht voneinander abgegrenzt. Gleiches gilt für die Populationen der FGEs Elbe und Weser. Zwar lässt sich zwischen letzteren auf Individuenebene eine Tendenz zur Abgrenzung beobachten, aber eine klare Trennung entlang der Grenzen der FGEs ist nicht möglich. Analog zu den Ergebnissen der mtDNA-Analyse lässt sich die Population der Lahn zum Cluster der FGEs Elbe und Weser zuordnen. Insgesamt ist zu beachten, dass der Erklärungsanteil der dargestellten ersten 3 Achsen relativ gering ist. Das hohe Maß an Differenzierung der Populationen innerhalb der FGEs, wie es durch die signifikante Differenzierung auf Basis der F_{ST} -Werte gezeigt wird, kann von der Hauptkoordinatenanalyse daher nicht dargestellt werden.

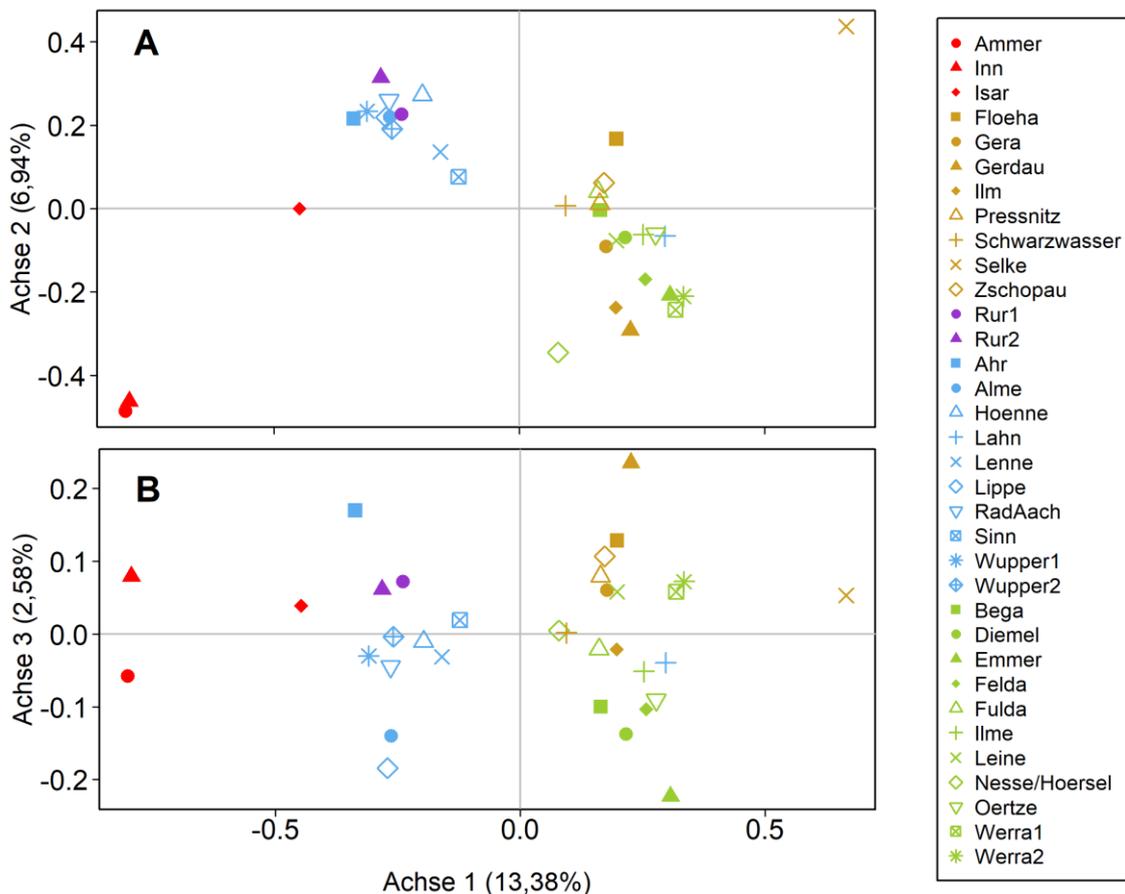


Abbildung 8: Hauptkoordinaten-Analyse der 34 Äschenpopulationen aus den Flussgebietseinheiten Donau (rot), Elbe (orange), Maas (lila), Rhein (blau) und Weser (grün) auf Basis ihrer Nei-Distanzen unter Verwendung des Mikrosatelliten-Datensatzes. (A) Hauptordinate 1 gegen Hauptordinate 2, (B) Hauptordinate 1 gegen Hauptordinate 3. Diese drei Achsen erklären zusammen 22,9 % der Gesamtvariation im Datensatz.

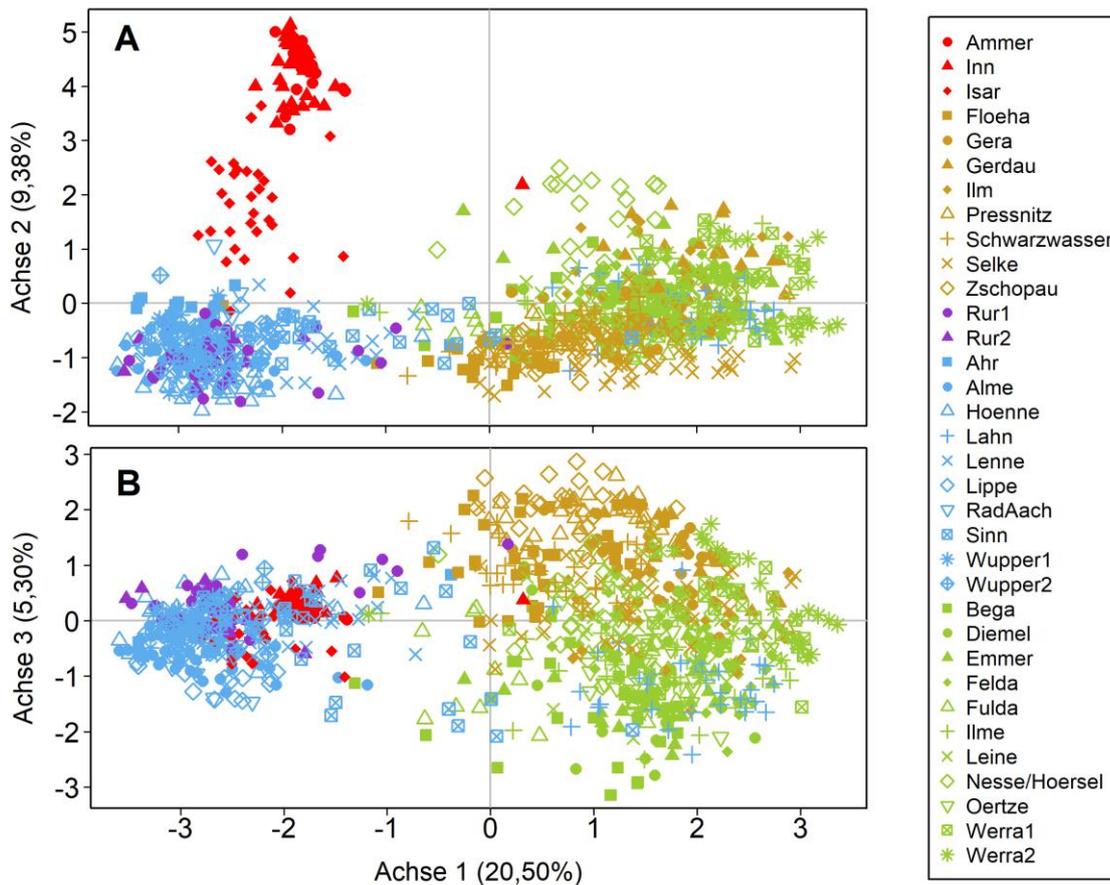


Abbildung 9: Individuenbasierte Hauptkoordinaten-Analyse der 34 Äschenpopulationen aus den Flussgebietseinheiten Donau (rot), Elbe (orange), Maas (lila), Rhein (blau) und Weser (grün) auf Basis ihrer binären Distanzen. (A) Hauptkoordinate 1 gegen Hauptkoordinate 2, (B) Hauptkoordinate 1 gegen Hauptkoordinate 3. Diese drei Achsen erklären zusammen 35,18% der Gesamtvariation im Datensatz.

Die ‚Structure‘ Analyse zur Abschätzung der Populationsstruktur und Ermittlung der Anzahl der sich genetisch unterscheidenden Gruppen (K) ergab basierend auf der Evanno Methode (Evanno et al., 2005) eine Anzahl von 4 bzw. 8 Clustern, welche die genetischen Muster im untersuchten Datensatz für die Äschenpopulationen Deutschlands am besten erklären.

Wie in Abbildung 10 zu sehen ist, gibt es basierend auf der ‚Structure‘-Analyse unter Verwendung des ‚Admixture Modells‘ (mit $K = 4$ bzw. $K = 8$) keine Population, die nur einer einzelnen Gruppe zugeordnet werden kann. Insgesamt lassen sich jedoch, von Ausnahmen abgesehen, relativ klare Muster im Sinne einer Abgrenzung der FGEs voneinander erkennen: Im Fall von 4 Clustern ($K = 4$) sind die Populationen des Donaueinzugsgebiets vorwiegend Cluster 1 (Rot, Abbildung 10) zugeordnet, wobei die Population ‚Isar‘ etwa 50% Durchmischung mit Cluster 3 zeigt. Bis auf die Populationen

'Ilm' und 'Gera' zeigen die Individuen aus dem Elbeeinzugsgebiet eine vorwiegende Gruppierung zu Cluster 2 (Orange, Abbildung 10). Die Individuen der Population 'Ilm' waren dabei vor allem Cluster 4 und die der Population 'Gera' den Clustern 2 und 4 zugehörig. Die Individuen des Maas- und Rheineinzugsgebiets zeigen mit Ausnahme der Population 'Lahn' eine überwiegende Zuordnung zu Cluster 3 (Blau, Abbildung 10). Die Individuen aus der Lahn gruppieren sich gemeinsam mit den Populationen der FGE Weser überwiegend zu Cluster 4 (Grün, Abbildung 10). Insgesamt zeigen viele Individuen in Abhängigkeit der Populationszugehörigkeit zusätzlich zu den jeweils dominierenden Clustern eine Durchmischung von etwa 10-50% mit anderen Clustern, was auf einen Genfluss gewissen zwischen Populationen aus unterschiedlichen genetischen Clustern hindeutet.

In Hinblick auf die o.g. Zuordnung zu den gefundenen, hypothetischen Genotypclustern und ihrer FGE-Zugehörigkeit fallen vor allem die Populationen 'Ilm', 'Gera', 'Isar' und 'Lahn' auf. Im Falle der Ilm und der Gera gibt es für die vergangenen 20 Jahre Hinweise auf intensive Besatzmaßnahmen aus einzugsgebietsfremden Quellen im Nachgang starker Bestandseinbrüche durch Kormoranprädation (pers. Mitteilung W. Schmalz, FLUSS). Es ist daher wahrscheinlich, dass diese Besatzmaßnahmen zur Dominanz (Ilm) bzw. zur starken Einkreuzung (Gera) der Genotypen des Clusters 4 geführt haben. In der Isar gab es ebenfalls intensive Besatzmaßnahmen nach starken Bestandsrückgängen in den letzten 20 Jahren, wobei hier keine Informationen zu den Quellen des Äschenbesatzes vorliegen (pers. Mitteilung T. Ruff, Fischereifachberatung Oberbayern). Für den untersuchten Bereich der Lahn existieren dagegen keine Hinweise auf intensive Besatzmaßnahmen oder Initialbesatz nach vollständigem oder teilweisem Verschwinden der Art. Im Endeffekt kann auf Basis der hier vorgestellten Ergebnisse allerdings nicht festgestellt werden, inwieweit es sich bei diesen Fällen um eine Folge von natürlichen Sekundärkontakten zwischen genetischen Linien oder um die Folge von Besatzmaßnahmen handelt. So dürfte laut Gum *et al.* (2009) das natürliche Auftreten von klar getrennten genetischen Linien zwischen Populationen und Einzugsgebieten „eher die Ausnahme als die Regel sein“.

Die Ergebnisse für 8 potentielle Genotypcluster ($K = 8$) zeigen prinzipiell ein ähnliches Muster (Abbildung 10). Die Populationen der FGE Weser und die Populationen 'Lahn' und 'Ilm' zeigen eine Durchmischung unterschiedlichen Grades zwischen den Clustern 4 und 7 und grenzen sich damit von den übrigen Populationen der FGEs Rhein und Elbe ab. Unter den Elbepopulationen zeigt sich im Falle von 'Flöha', 'Gerdau' und 'Selke' eine

Durchmischung von Cluster 2 mit Cluster 6 (Türkis) bzw. 7 (Gelb). Dies betrifft damit Populationen in denen entweder gar kein Besatz (Gerdau) oder nur ein Initialbesatz aus benachbarten, durch Besatzmaßnahmen unbeeinflussten Gewässern stattgefunden hat (Flöha, Selke). Mit ihrer hauptsächlichen Zugehörigkeit zu Cluster 5 (Lila) trennen sich die Populationen der FGE Maas (Rur 1, Rur 2), sowie die Population ‚Lenne‘ und einige Individuen der Populationen ‚Hönne‘, ‚Sinn‘ und ‚Wupper 2‘ von den übrigen Individuen und Populationen des Rheineinzugsgebiets ab. Zusätzlich konnte für die Population der Emmer (FGE Weser) eine überwiegende Zugehörigkeit zu Cluster 8 (Pink) und für ‚Alme‘ und ‚Lippe‘ (FGE Rhein) eine Durchmischung von Cluster 3 und 8 festgestellt werden.

Die Analyse der molekularen Varianz (AMOVA) zeigte auf jeder getesteten hierarchischen Ebene (zwischen FGEs, zwischen Populationen innerhalb der FGEs, innerhalb der Populationen) eine höchst signifikante Differenzierung beruhend auf der Berechnung der F-Statistik (Tabelle 7). Im Kontrast zu den Ergebnissen der AMOVA auf Basis der mitochondrialen Marker (vgl. Tabelle 5), finden wir für die Mikrosatelliten-Marker allerdings einen Großteil der genetischen Variation innerhalb der Populationen (61,46%). Die Vergleiche der genetischen Unterschiede zwischen den Populationen innerhalb der FGEs und zwischen den FGEs erklären dagegen einen ähnlich hohen Anteil an der Gesamtvarianz. Ähnliche Ergebnisse hinsichtlich der Varianzanteile der betrachteten hierarchischen Ebenen wurden auch in anderen Studien zur Äsche gefunden (Koskinen *et al.*, 2002a; Gum *et al.*, 2003, 2005). Obwohl bei anderen Fischarten wesentlich höhere Varianzanteile innerhalb der Populationen festgestellt wurden (z.B. >90% bei Lachs und Bachforelle, siehe King *et al.*, 2001; Schmidt *et al.*, 2015), steht dieses Ergebnis für die Äsche zum Teil im Widerspruch zu der beobachteten starken genetischen Differenzierung zwischen den Populationen und FGEs (Tabelle 6, F-Statistik in Tabelle 7, Appendix 2) und zur (bis auf Ausnahmen) deutlich erkennbaren Populationsstruktur mit Zuordnung der unterschiedlichen Genotypen zu den FGEs (vgl. Abbildung 10). Dies ist wahrscheinlich zum Teil auch auf grundlegende Prozesse der Populationsbiologie zurückzuführen. Ein solcher Prozess ist z.B. ein Gründereffekt während der postglazialen Wiederbesiedlung, welcher aufgrund der geringeren Mutationsrate mitochondrialer Gene gegenüber der höheren Mutationsrate der Mikrosatelliten Marker noch zu erkennen ist. Dadurch zeigt sich z.B. in den RFLP Daten neben teilweise geringen Haplotypdiversitäten auch ein erhöhter Anteil der genetischen Varianz mit gleichzeitiger Differenzierung auf FGE Ebene. Aufgrund der lange zurückliegenden Besiedlung erfolgte jedoch auch eine starke

Durchmischung der Mikrosatelliten Allele innerhalb der Populationen. Im Zusammenhang mit der erhöhten Mutationsrate der Mikrosatelliten Loci bei gleichzeitig geringem Genfluss zwischen den Populationen kann dies sowohl zu einer erhöhten genetischen Variation innerhalb der Populationen als auch zu einer genetischen Differenzierung zwischen den Populationen führen. Folglich ist die detektierte deutliche Trennung der Flussgebietseinheiten mit gleichzeitig relativ hoher genetischer Varianz innerhalb und Differenzierung zwischen den Populationen auf die artspezifische postglaziale Wiederbesiedlung und Lebensweise der Äsche zurückzuführen.

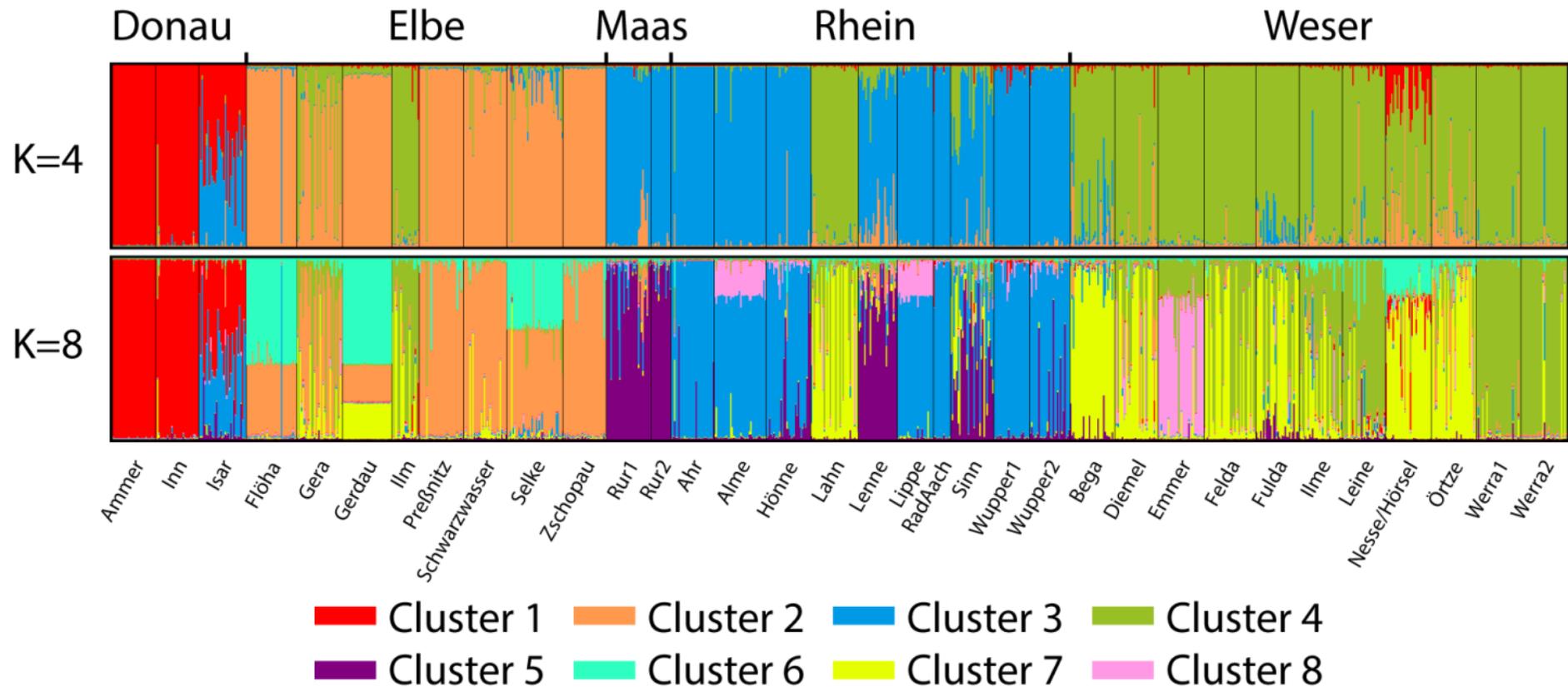


Abbildung 10: Graphische Darstellung der STRUCTURE-Analyse unter Annahme eines Admixture Modells und unabhängiger Allelfrequenzen. Die Zuordnung der 1010 untersuchten Individuen der Äsche aus 34 Populationen erfolgte zu 4 & 8 hypothetischen Clustern (K) bzw. genetischen Linien (siehe Farbcodes). Jedes 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 Äsche

Die erhobenen Daten zeigen, dass die Mikrosatelliten und die mtDNA RFLP-Informationen adäquat sind, um die genetische Diversität der Äschenbestände in Deutschland zu analysieren. Prinzipiell bleibt jedoch zu diskutieren, ob RFLP-Analysen, abgesehen vom Aspekt der Vergleichbarkeit mit früheren Studien, noch eine zeitgemäße Methode darstellen.

Der Vergleich zwischen den mtDNA und Mikrosatelliten Daten ergab, dass die mitochondriellen Daten und die Mikrosatelliten bezüglich der genetischen Differenzierung (F_{ST} -Werte) relativ gut korrelieren (siehe Appendix 3). Das bedeutet, dass zumindest für die Äsche reduzierte Datensätze basierend nur auf mitochondrieller Information genutzt werden könnten, um auch die nukleäre Differenzierung der Äsche (natürlich mit einem relativ großen Fehler) abzuschätzen. Die Korrelation basierend auf Haplotypendiversität vs. erwarteter Heterozygotie ist jedoch wesentlich schlechter (siehe Appendix 3) und entsprechend können mitochondrielle Datensätze nur sehr eingeschränkt genutzt werden, um auch die nukleäre Diversität abzuschätzen.

Insgesamt kann festgestellt werden, dass die verwendeten Markersysteme eine ausreichende Auflösung gezeigt haben, 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 22 identifizierten Haplotypen im Vergleich zu anderen großräumig untersuchten Fischarten wie Bachforelle (28 Haplotypen, Schmidt *et al.* 2015), Barbe (56 Haplotypen, Berendonk *et al.* 2015) oder Quappe (37 Haplotypen, Wetjen *et al.* 2016) vergleichsweise niedrig. Darüber hinaus besitzen nur wenige Populationen lediglich einen und der Großteil der Populationen keine privaten Haplotypen. Auf der Basis des Haplotypennetzwerks (Abbildung 5) lässt sich jedoch eine eindeutige Aufspaltung genetischer Hauptlinien in einzelne FGEs bzw. Gruppen

von FGEs erkennen. Diese entsprechen den drei in Deutschland aneinander grenzenden Hauptlinien IIa, IIb und III (Gum *et al.*, 2003, 2005, 2009).

Die Haplotypendiversität (H_d) ist in den FGEs Donau (0,7412) und Rhein (0,6798) am höchsten und in der FGE Weser (0,4185) am niedrigsten (vgl. Abbildung 5). Interessanterweise zeigt die Haplotypendiversität innerhalb der Populationen eine sehr große Streuung, wobei kein Zusammenhang zwischen H_d -Werten und der Anzahl an privaten Haplotypen existiert. Die Haplotypendiversität nimmt in Bezug auf die in dieser Studie untersuchten Populationen von Süden nach Norden ab. Die höchste Anzahl privater Haplotypen bezogen auf FGEs wurde im Rhein (4) und die geringste Anzahl in Donau und Maas gefunden (0). Im Verhältnis zur Anzahl der untersuchten Individuen konnten allerdings in der FGE Elbe die meisten (0,04) privaten Haplotypen detektiert werden. Würde man die beiden sehr nahe benachbarten Populationen der FGE Maas (Rur 1, Rur 2) zusammen betrachten, wäre aufgrund der beiden nur dort detektierten Haplotypen die Anzahl der privaten Haplotypen im Verhältnis zur Anzahl der untersuchten Individuen dort am höchsten (0,1).

Die Populationen mit der geringsten mitochondrialen genetischen Diversität ($H_d=0$) sind 'Flöha', 'Gerdau', 'Preßnitz', 'Schwarzwasser', 'Erf', 'Wupper 1', 'Bega', 'Ilme' und 'Örtze', 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 u.a. für die Populationen am Nordrand des Verbreitungsgebiets ('Gerdau', 'Örtze') anzunehmen ist. Im Fall der Erzgebirgsflüsse 'Flöha', 'Preßnitz' und 'Schwarzwasser' lässt sich die geringe mitochondriale Diversität eher auf das Überleben von relativ wenigen Tieren im Muldesystem und auf den darauf aufbauenden Initialbesatz in den 1970er Jahren zurückführen.

Diese Populationen besitzen die niedrigste genetische Diversität im Vergleich aller untersuchten Populationen und müssen trotz der generell niedrigen genetischen Diversität der Äsche besonders in nördlicheren Bereichen bzw. außerhalb der FGE Donau (Gum *et al.*, 2005) als potentiell gefährdet eingestuft werden. Es konnte in diesen Populationen eine genetische Verarmung festgestellt werden, so dass ein erhöhtes Aussterbepotential durch stochastische demographische, ökologische und genetische Ereignisse besteht.

Die Populationen mit der höchsten mitochondrialen Diversität sind 'Inn' und 'Isar'. Die beobachtete hohe Haplotypendiversität der 'Isar' Population könnte dabei auf eine eventuelle Immigration/Drift von Besatzindividuen aus anderen Herkünften hindeuten, die ursprünglich aus dem Rheineinzugsgebiet stammen. Hier hat vermutlich weniger eine Überprägung, als eine durch postglazialen Sekundärkontakt oder anthropogen verursachte Einmischung in die Bestandspopulation stattgefunden. Dies wird auch durch die stärkere Zuordnung der 'Isar' Individuen zum genetischen Cluster 3 (vorwiegend FGE Rhein) im Vergleich zu den 'Inn'- und 'Ammer'-Individuen deutlich (siehe Abbildung 10).

Die Populationen 'Gerdau', 'Selke', 'Zschopau', 'Ahr', 'Fränkische Saale', 'Sinn', 'Wupper 2', 'Nesse/Hörssel' und 'Emmer' besitzen als einzige untersuchte Populationen einen privaten Haplotypen, d.h. dass diese Variante der analysierten mitochondrialen Marker nur in diesen Populationen detektiert wurde und in keiner der anderen untersuchten Populationen. Weiterhin wurden in den nahe benachbarten Herkünften der Rur insgesamt 2 Haplotypen gefunden, die nur dort vorkommen. Entsprechend wichtig ist nicht nur der Anteil dieser o.g. Populationen an der Gesamtvariation der Äsche, sondern auch deren Schutzwürdigkeit unter dem Aspekt einer nachhaltigen Bewirtschaftung zur Erhaltung des evolutionären Potentials der Äschen in Deutschland. Zusätzlich zu der gefundenen Gruppierung nach FGEs bzw. FGE-Gruppen weist so zumindest jede Flussgebietseinheit 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, erscheinen Managementeinheit mindestens auf FGE-Ebene angemessen.

Die insgesamt sehr niedrige erwartete Heterozygotie (H_{EC} - korrigiert für die Stichprobenzahl) schwankt innerhalb der untersuchten Äschen-Populationen ebenfalls sehr stark. Die Population 'Gerdau' hat dabei den geringsten und die Population 'Isar' den höchsten Wert. Die hohe Heterozygotie der Population 'Isar' korreliert dabei mit der ebenfalls beobachteten hohen Haplotypendiversität; wie bereits oben erwähnt scheint dies eventuell durch einen Besatz oder eine Immigration (Sekundärkontakt) von ursprünglich FGE-fremden Individuen verursacht zu sein.

Ebenso wie bei der mitochondrialen Diversität gibt es auch Populationen, welche relativ geringe Werte für die nukleäre Diversität aufzeigen; dies sind insbesondere die Populationen 'Gerdau' und 'Ahr'. Analog zu den Schlussfolgerungen in Bezug auf die

mitochondriale Diversität, sind diese Populationen daher als potentiell gefährdet einzustufen, da im Falle einer derartig geringen genetischen Diversität auch ein erhöhtes Aussterbepotential durch stochastische demographische, ökologische und genetische Ereignisse besteht. Insbesondere die relativ niedrigen Werte der genetischen Diversität für die Populationen 'Gerdau' (0,2) und 'Ahr' (0,24) sind vermutlich auf geringere effektive Populationsgrößen durch z.B. zurückliegende Flaschenhals- oder Gründereffekte in diesen durch Querbauwerke isolierten Oberlauf-Populationen zurückzuführen. Zusätzlich zu der oben beschriebenen Gefahr des Aussterbens für diese beiden Populationen besteht außerdem eine besondere Gefährdung im Hinblick auf eine Überprägung durch Besatzmaßnahmen, da hier eine geringe Diversität, eine hohen Differenzierung und das Vorkommen eines privaten Haplotyps („Gerdau“) bzw. privaten Allels („Ahr“) kombiniert auftritt. Diese Gefahr ist in Populationen mit hohem Maß an Eigenständigkeit bzw. Differenzierung aber hoher Populationsgröße/verfügbarer Gewässerabschnittslänge (z.B. „Ammer“, „Inn“) geringer.

6.2 Ableitung von Managementmaßnahmen

Den Konzepten von Waples (1991) und Moritz (1994) folgend wurden für die Äsche auf Basis der bis dahin verfügbaren Informationen die FGEs als ‚ESUs‘ (evolutionary significant unit) mit teilweise mehreren untergeordneten ‚Mus‘ (management units) definiert (Gum *et al.*, 2009). Baer *et al.* (2007) stufen die Äsche zwar als Art der ‚Genetischen Großraumgruppe‘ ein, empfehlen jedoch aufgrund der zahlreichen Hinweise auf signifikante Differenzierung innerhalb von FGEs eine kleinräumige Bewirtschaftung auf Ebene der einzelnen Flusssysteme. Dabei soll nur in Ausnahmefällen auf Besatzmaterial aus benachbarten Flüssen desselben Einzugsgebiets zurückgegriffen werden.

Basierend auf den in der vorliegenden Studie erhobenen Daten zum Status der genetischen Diversität und Differenzierung der untersuchten Äschenpopulationen in Deutschland, durch Einbeziehung von Daten zur Bestandssituation sowie Besatzmaßnahmen, können diese von Gum *et al.* (2009) und Baer *et al.* (2007) getätigten Bewirtschaftungsempfehlungen unterstützt werden.

Diese Studie konnte gemäß den Genetischen Managementeinheiten (GME) nach Baer *et al.* (2007) signifikante Unterschiede im Kerngenom und in der mitochondrialen DNA zur Abtrennung von arteigenen Populationen nachweisen. Die Analyse der mitochondrialen Haplotypen zeigt, dass eine flusseinzugsgebietsbezogene Einordnung der Äsche in genetische Hauptlinien als monophyletische Gruppen im

Sinne der ESUs in den meisten Fällen möglich ist (Ausnahme Rhein/Maas, Elbe/Weser). Der hohe Anteil der genetischen Gesamtvariabilität, der sich in der hierarchischen AMOVA auf Ebene der Flussgebiete zeigte, bestätigt dies ebenfalls.

Des Weiteren werden durch die Darstellungen der nukleären Mikrosatellitendaten mittels Hauptkoordinaten- und „Structure“-Analyse die genetischen Distanzen zwischen den einzelnen Flussgebietseinheiten (FGE) gut sichtbar. Unter Berücksichtigung von Besatzmaßnahmen, welche die genetische Struktur autochthoner Populationen mutmaßlich beeinflusst zu haben scheinen, liegt die Auftrennung der Populationen im Fall von Donau, Elbe, Weser und Rhein in genetische FGE-Cluster nahe. Eine einzelne Zuweisung der FGE Maas ist fraglich, wird aber durch den Nachweis von eigenen nur dort vorkommenden Composite-Haplotypen, der generell auftretenden signifikanten Differenzierung zwischen Populationen und FGEs (F_{ST} -Werte) und einer Zuordnung zu einem größtenteils in den Maas-Populationen dominierenden Genotypcluster im Rahmen der ‚Structure‘-Analyse zumindest unterstützt.

Darüber hinaus werden auch die verschärften Empfehlungen für die kleinräumige Bewirtschaftung (Baer *et al.*, 2007) von unseren Daten unterstützt. So finden wir mit einer Ausnahme eine signifikante Differenzierung aller 34 untersuchten Populationen, wobei auch sehr nah benachbarte Populationen (Abstand 10-60 km Fließstrecke) signifikante genetische Differenzierungen basierend auf den Mikrosatellitenmarkern aufwiesen. Kleinräumige GMEs wie von Baer *et al.* (2007) vorgeschlagen lassen sich somit aus folgenden Gründen unterstützen:

1. Jede der analysierten Populationen stellt für sich genommen einen Pool an genetischer Variabilität dar, die durch das hohe Maß an Differenzierung zwischen den Populationen, sowie dem Auftreten von privaten Haplotypen und privater Allele in zumindest einigen Populationen aller untersuchter FGEs belegt ist.
2. Gerade bei Teil-Populationen mit geringer genetischer Diversität besteht bei Besatz mit Individuen aus Teil-Population mit gebietsfremden Genotypen 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.*, 2002b; Meraner & Gandolfi, 2012) und sollte für die Zukunft so weit wie möglich ausgeschlossen werden.

3. Die AMOVA der Mikrosatelliten und der mitochondrialen Daten mit hoch signifikanten Fixationsindices zeigt, dass die Äsche in Deutschland einer starken Differenzierung auf mehreren hierarchischen Ebenen unterliegt.

Ausgehend von diesen Erkenntnissen der vorliegenden Studie und besonders im Hinblick auf die festgestellte signifikante genetische Differenzierung zwischen fast allen Populationen ist die Äsche daher als „Evolutionäre Kleinraumgruppe“ einzustufen.

Aus diesen Gründen sind Habitat-verbessernde Maßnahmen in Kombination mit intensiven Vergrämungsmaßnahmen gegen den Kormoran (oder andere Prädatoren) prinzipiell gegenüber Besatzmaßnahmen vorzuziehen. Das Beispiel der Isar im Bereich Garching zeigt das Potenzial solcher Vergrämungsmaßnahmen zur Wiederherstellung individuenstarker, selbstreproduzierender Bestände, sofern gute Äschenhabitate vorhanden sind. Dort konnten im Vergleich von zwei strukturell vergleichbaren Gewässerabschnitten gezeigt werden, dass eine dauerhafte und intensive Vergrämung des Kormorans in der einen Strecke einen starken Anstieg der Äschenabundanz zu Folge hatte. Diese Erholung blieb in der nicht bejagten Kontrollstrecke aus, in der die Abundanz der Äsche auf extrem niedrigem Niveau verblieb (pers. Mitteilung T. Ruff, Fischereifachberatung Oberbayern).

Sollten Besatzprogramme nötig sein, sind diese grundsätzlich mit Nachkommen möglichst vieler Elternindividuen aus dem jeweiligen Flusssystem selbst durchzuführen. In begründeten Ausnahmefällen und unter Berücksichtigung von Haplotyp-/Genotypinformationen der Elterntiere sind auch Besatzmaßnahmen aus benachbarten Flüssen desselben Einzugsgebiets möglich.

Damit in solchen Ausnahmefällen 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 eine Suche nach geeigneten Nachbarpopulationen. Darüber hinaus zeigen die Daten dieser Studie auf, welche Populationen bereits eine verringerte genetische Diversität besitzen und deshalb besonders anfällig für ein Aussterben und eine mögliche Überprägung wären. Die in dieser Studie identifizierten Populationen mit hoher Eigenständigkeit in Kombination mit einer starken genetischen Verarmung (v.a. ‚Ahr‘ und ‚Gerdau‘) sollten hinsichtlich der Bestandsentwicklung und der genetischen Diversität einem regelmäßigen Monitoring (ca. alle 3 Jahre) unterzogen werden.

Aus ökologischer, wissenschaftlicher und wirtschaftlicher Sicht wäre die dauerhafte Erhaltung der genetischen Diversität der Äschenbestände 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 Äsche formuliert werden.

7 ZUSAMMENFASSUNG

7.1 Deutsche Kurzfassung

Um zukünftig geeignete Schutz- und Bewirtschaftungsmaßnahmen konzipieren zu können, wurde in dem vorliegenden Projekt die genetische Variabilität von Wildpopulationen der Äsche (*Thymallus thymallus*) in Deutschland erfasst. Insgesamt konnten in den Jahren 2016-2018 36 Herkünfte aus den fünf Flussgebietseinheiten (FGEs) Donau, Elbe, Maas, Rhein und Weser analysiert werden. Zudem konnte ein nichtinvasives Verfahren mittels forensischer Abstriche zur DNA-Gewinnung für die Äsche etabliert werden. Die genetische Analyse der Populationen erfolgte über RFLP-Analyse mitochondrialer DNA und Mikrosatellitenmarker. Für 1010 Individuen aus 36 Populationen konnten genetische Daten erfasst und in die AGRDEU-Fachdatenbank für Aquatische Genetische Ressourcen der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) eingepflegt werden. Die Analyse der mitochondrialen DNA ergab, dass der Großteil der beobachteten Varianz (ca. 66%) durch die genetische Variation zwischen FGEs erklärt wird. Die Resultate der Mikrosatelliten-Analysen zeigten eine vergleichsweise geringe Diversität der Populationen bei gleichzeitig hoher genetischer Differenzierung. Mit Hilfe der genutzten mitochondrialen und nukleären Marker können die Populationen zwischen den untersuchten Flussgebieten größtenteils gut voneinander abgegrenzt werden. Auch innerhalb derselben Flussgebietseinheiten und selbst zwischen nah benachbarten Populationen konnte eine signifikante genetische Differenzierung auf der Basis paarweiser F_{ST} -Werte beobachtet werden. Aus diesem Grund empfiehlt sich eine kleinräumige Bewirtschaftung auf Fließgewässerebene. Besatzprogramme sollten mit möglichst vielen Individuen aus dem zu stützenden Bestand selbst aufgelegt werden und nur in begründeten Ausnahmefällen und nach Prüfung der genetischen Struktur der Populationen auf benachbarte Gewässer desselben Einzugsgebiets zurückgreifen.

Danksagung: Diese Studie wurde vom Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft finanziert.

7.2 Abstract

Genetic variability of the European grayling (*Thymallus thymallus*) in the main river catchment areas of Germany

Christoph Köbsch, Sascha Krenek, Thomas Schiller and Thomas U. Berendonk

So far, information on the genetic diversity for the European grayling (*Thymallus thymallus*) in Germany has been available only for certain parts of the natural range of this species. Such information is essential for the future genetic management and stocking strategy of the grayling 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 2016-2018, a total of 36 origins from five river catchments were analysed: Danube (n=3), Elbe (n=8), Meuse (n=2), Rhine (n=12) and Weser (n=11). Additionally, it was possible to develop a non-invasive approach to analyse forensically sampled DNA of grayling individuals. The genetic diversity of this species in German river catchments was assessed using mitochondrial and nuclear microsatellite markers. In total 1169 Individuals were sampled and 1010 individuals from 34 populations were successfully genotyped by the use of 12 microsatellite loci. In addition, the mitochondrial NADH Dehydrogenase subunits 1 (ND1) and 5/6 (ND5/6) were analysed for 374 individuals from 36 populations using RFLP-analysis 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 Danube (0.7412) and Rhine (0.6798) was highest, whereas in the river catchment Weser (0.4185) and Meuse (0.5263) the lowest diversity was detected. The main part of the observed genetic variance (approx. 66%) was explained by the genetic variation between river basin districts. For the analysed populations, the results of the microsatellite analysis revealed heterozygosity rates between 0.20 and 0.50. These comparatively low values could be indicative for low effective population sizes and could reflect the phylogeography as well as life history traits of European grayling such as its strong homing and weak dispersal behaviour, the formation of family cohorts and its spawning behaviour.

The genetic differentiation based on F_{ST} -values between the investigated populations shows significant differentiations between the populations according to all hierarchical levels tested by AMOVA and pairwise comparisons. Most of the observed genetic

variation was explained by differences between individuals within populations (61.46%).

In summary, the analysed grayling populations show a comparatively low level of genetic variability with high levels of differentiation. If necessary, stocking management should therefore endeavour to use several individuals from the local population as parental generation for supportive breeding.

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 Äsche aus mindestens 5 Flussgebietseinheiten erfasst werden. Es konnte in insgesamt **36 Herkünften** aus den **5 FGEs Donau, Elbe, Maas, Rhein und Weser** genetisches Material von Äschen für molekulare genetische Analysen gewonnen werden. Die Zielgröße von mindestens 30 Individuen pro Herkunft konnte nicht für alle Herkünfte erreicht werden. In **27 Herkünften wurden ≥ 30** , in **7 Herkünften 10-29** und in **2 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 Äsche oft so gering, dass die angestrebten 30 Individuen pro Herkunft in einigen Fällen nicht erreicht werden konnten. Eine aufwändige mehrtägige Befischung einzelner Herkünfte wurde jedoch für besonders interessante Herkünfte trotzdem durchgeführt (z.B. Lahn: 7 Tage – 38 Ind., Selke: 3 Tage – 43 Ind., Örtze: 3 Tage – 33 Ind., Gerdau: 3 Tage – 35 Ind., Flöha: 2 Tage – 40 Ind., Rur 1: 4 Tage – 33 Ind., Alme: 2 Tage – 39 Ind.).

Insgesamt spiegelt die Verteilung der erfassten Herkünfte (Abb. 2) recht gut die Verbreitung der Äsche in Deutschland wider (vergleiche Brunken und Winkler 2015) und korrespondiert mit der BfN-Verbreitungskarte für die Äsche (BfN, 2013a). Die Ergebnisse basieren damit auf einer Datenlage, welche die wesentlichen genetischen Großgruppen der Äsche beinhaltet. Doch auch kleinskalige genetische Variabilitäten sollten in dieser Studie exemplarisch untersucht werden, um z.B. den Effekt von Fließgewässerbarrieren (Wehre, Wasserkraftanlagen, usw.) auf die Durchwanderbarkeit für die Äsche und somit die Vernetzung von Teilpopulationen zu beurteilen. Zu diesem Zweck wurden aus einigen Gewässern (Lippe/Alme, Rur, Werrasystem, Wupper, Muldesystem) mehrere Herkünfte analysiert, die eine räumliche Trennung von 10-70 km Gewässerfließstrecke aufwiesen.

Von den insgesamt **1169 Gewebs- und Abstrichproben** konnte aus **1083 Proben** erfolgreich **DNA** gewonnen und für die weiteren genetischen Analysen verwendet werden. Damit wurde die Zielgröße von 900 genetisch zu analysierenden Individuen

sogar überschritten. Von 1083 Proben, die aus 36 verschiedenen Herkünften stammen, konnten Mikrosatelliten analysiert werden, wobei nach der ersten Analyse nur 613 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 **1010 Individuen aus 34 Herkünften** ein vollständiges Mikrosatelliten-Markerset von 12 Loci erstellt werden. Dabei wurden in 27 Herkünften ≥ 30 Individuen und in 7 Herkünften 12-29 Individuen genotypisiert. Hinsichtlich der RFLP-Analyse der mitochondrialen ND1- & ND5/6-Region konnten insgesamt 374 Individuen aus 36 Herkünften haplotypisiert werden, wobei 33 Herkünften mit ≥ 10 Individuen und 3 Herkünften mit 4 bis 7 Individuen eingingen.

Die Aufklärung der Besatzsituation 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 in einigen 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 wurden Aussagen, die nachvollziehbar, glaubwürdig und repräsentativ für das jeweilige Gewässer waren, in die Herkunftsbeschreibung mit aufgenommen; wohingegen bei unklarer Datenlage die Besatzsituation als ‚unbekannt‘ eingestuft wurde.

9 LITERATURVERZEICHNIS

- Arlinghaus R., Cyrus E.-M., Eschbach E., Fujitani M., Hühn D., Johnston F., *et al.* (2015). Hand in Hand für eine nachhaltige Angelfischerei - Ergebnisse und Empfehlungen aus fünf Jahren praxisorientierter Forschung zu Fischbesatz und seinen Alternativen. *Berichte des IGB* **28**, 204
- Baer J., George V., Hanfland S., Lemcke R., Meyer L. & Zahn S. (2007). Gute fachliche Praxis fischereilicher Besatzmaßnahmen. *Schriftenreihe des Verbandes Deutscher Fischereiverwaltungsbeamter und Fischereiwissenschaftler e.V.* **14**, 1–151
- Berendonk T.U., Krenek S., Schiller T., Mogck U., Wehnert D. & Köbsch C. (2015). *Erfassung und Dokumentation der genetischen Variabilität von Wildpopulationen der Barbe (Barbus barbus) aus verschiedenen Flussgebietseinheiten in Deutschland. Abschlussbericht an die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung.* Institut für Hydrobiologie: TU Dresden, Dresden, Deutschland.
- Bergemann M. (2015). Fachbericht der Flussgebietsgemeinschaft Elbe - Gesamtliste der Fließgewässer im Elbeeinzugsgebiet
- Bernatchez L. & Wilson C.C. (1998). Comparative phylogeography of Nearctic and Palearctic fishes. *Molecular Ecology* **7**, 431–452. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1998.00319.x>
- BfN (2013a). *Bundesamt für Naturschutz - Nationaler Bericht 2013 gemäß FFH-Richtlinie.* Bundesamt für Naturschutz.
- BfN (2013b). Maßnahmenkonzepte zur Verbesserung des Erhaltungszustands von Natura 2000-Schutzgütern - Äsche (*Thymallus thymallus*)
- BfN (2009). *Rote Liste gefährdeter Tiere, Pflanzen und Pilze Deutschlands.* (Ed. Bundesamt für Naturschutz), Bundesamt für Naturschutz, Bonn-Bad Godesberg.
- Breacker C., Barber I., Norton W.H.J., McDearmid J.R. & Tilley C.A. (2017). A Low-Cost Method of Skin Swabbing for the Collection of DNA Samples from Small Laboratory Fish. *Zebrafish* **14**, 35–41. <https://doi.org/10.1089/zeb.2016.1348>
- 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

- 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**. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-7-32>
- Colussi S., Campia V., Righetti M., Scanzio T., Riina M.V., Burioli E.A.V., *et al.* (2017). Buccal swab: A tissue sampling method for refinement of experimental procedures involving rainbow trout. *Journal of Applied Ichthyology* **33**, 515–519. <https://doi.org/10.1111/jai.13324>
- Condrey M.J. & Bentzen P. (1998). Characterization of coastal cutthroat trout (*Oncorhynchus clarki clarki*) microsatellites and their conservation in other salmonids. *Molecular Ecology* **7**, 787–789
- Dawnay N., Dawnay L., Hughes R.N., Cove R. & Taylor M.I. (2011). Substantial genetic structure among stocked and native populations of the European grayling (*Thymallus thymallus*, Salmonidae) in the United Kingdom. *Conservation Genetics* **12**, 731–744. <https://doi.org/10.1007/s10592-010-0179-4>
- 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**, 359–361. <https://doi.org/10.1007/s12686-011-9548-7>
- Evanno G., Regnaut S. & Goudet J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Molecular Ecology* **14**, 2611–2620. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>
- 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**, 564–567. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>
- 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**, 574–578. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01758.x>
- Falush D., Stephens M. & Pritchard J.K. (2003). Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data: Linked Loci and Correlated Allele Frequencies. *Genetics* **164**, 1567–1587
- Freyhof J. & Brooks E. (2011). *European red list of freshwater fishes*. Publications Office of the European Union ; IUCN, Luxembourg : [Gland, Switzerland].
- GENRES (2009). Informationssystem Genetische Ressourcen. Liste förderfähiger Stämme und Wildpopulationen von Fischarten gemäß des GAK Rahmenplans 2008 - 2011.

- Goudet J. (2001). *FSTAT a program to estimate and test gene diversities and fixation indices*.
- Goudet J. & Jombart T. (2015). *hierfstat: Estimation and Tests of Hierarchical F-Statistics. R package version 0.04-22*.
- Gross R., Kuhn R., Baars M., Schroder W., Stein H. & Rottmann O. (2001). Genetic differentiation of European grayling populations across the Main, Danube and Elbe drainages in Bavaria. *Journal of Fish Biology* **58**, 264–280. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2001.tb00513.x>
- Gum B., Gross R. & Geist J. (2009). Conservation genetics and management implications for European grayling, *Thymallus thymallus*: synthesis of phylogeography and population genetics. *Fisheries Management and Ecology* **16**, 37–51. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2400.2008.00641.x>
- Gum B., Gross R. & Kuehn R. (2006). Discriminating the impact of recent human mediated stock transfer from historical gene flow on genetic structure of European grayling *Thymallus thymallus* L. *Journal of Fish Biology* **69**, 115–135. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2006.01264.x>
- Gum B., Gross R. & Kuehn R. (2005). Mitochondrial and nuclear DNA phylogeography of European grayling (*Thymallus thymallus*): evidence for secondary contact zones in central Europe. *Molecular Ecology* **14**, 1707–1725. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02520.x>
- Gum B., Gross R., Rottmann O., Schröder W. & Kühn R. (2003). Microsatellite variation in Bavarian populations of European grayling (*Thymallus thymallus*): Implications for conservation. *Conservation Genetics* **4**, 659–672. <https://doi.org/10.1023/B:COGE.0000006106.64243.e6>
- Heggenes J., Qvenild T., Stamford M.D. & Taylor E.B. (2006). Genetic structure in relation to movements in wild European grayling (*Thymallus thymallus*) in three Norwegian rivers. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **63**, 1309–1319. <https://doi.org/10.1139/f06-028>
- Heincke F. (1908). Bericht über die Untersuchungen der Biologischen Anstalt auf Helgoland zur Naturgeschichte der Nutzfische. *Die Beteiligung Deutschlands an der Internationalen Meeresforschung*, 67–155
- Hindar K., Ryman N. & Utter F. (1991). Genetic Effects of Cultured Fish on Natural Fish Populations. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **48**, 945–957. <https://doi.org/10.1139/f91-111>
- Hoffmann A. (2010). *Historisches Vorkommen von ausgewählten Fischarten in Nordrhein-Westfalen*. LFV Westfalen und Lippe e.V., Münster, Deutschland.

- 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**, 1322–1332. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02591.x>
- Hübner D. (2003). *Die Abblanch- und Interstitialphase der Äsche (Thymallus thymallus L.)-Grundlagen und Auswirkungen anthropogener Belastungen*. Universitätsbibliothek Marburg.
- Huet M. (1959). Profiles and biology of western European streams as related to fish management. *Transactions of the American Fisheries Society* **88**, 155–163
- 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**, 1801–1806. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm233>
- Jepsen N., Ravn H.D. & Pedersen S. (2018). Change of foraging behavior of cormorants and the effect on river fish. *Hydrobiologia* **820**, 189–199. <https://doi.org/10.1007/s10750-018-3656-2>
- Jombart T. (2008). *adeigenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. R package version 2.1.1.*
- Junge C., Museth J., Hindar K., Kraabøl M. & Vøllestad L.A. (2014). Assessing the consequences of habitat fragmentation for two migratory salmonid fishes: ASSESSING THE CONSEQUENCES OF HABITAT FRAGMENTATION. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* **24**, 297–311. <https://doi.org/10.1002/aqc.2391>
- Jungwirth M. (1996). Bypass channels at weirs as appropriate aids for fish migration in Rhithral rivers. *REGULATED RIVERS-RESEARCH & MANAGEMENT* **12**, 483–492
- Kamvar Z.N., Tabima J.F. & Grünwald N.J. (2014). *Poppr: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. R package version 2.7.1.*
- 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**, 1647–1649. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts199>
- King T.L., Kalinowski S.T., Schill W.B., Spidle A.P. & Lubinski B.A. (2001). Population structure of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): a range-wide perspective from microsatellite DNA variation. *Molecular Ecology* **10**, 807–821. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2001.01231.x>

- Köbsch C., Krenek S., Schiller T. & Berendonk T.U. (in Vorbereitung). *Erfassung der genetischen Variabilität von Äschen-Wildpopulationen (Thymallus thymallus) in Nordrhein-Westfalen (NRW) als Grundlage für die Entwicklung geeigneter Managementstrategien zur nachhaltigen Bestandsentwicklung in NRW. Abschlussbericht erstellt im Auftrag der Bezirksregierung Düsseldorf*. Institut für Hydrobiologie: TU Dresden.
- Köbsch C., Krenek S., Schiller T., Mogck U. & Berendonk T.U. (in Vorbereitung). *Erfassung und Dokumentation der genetischen Vielfalt der Schleie (Tinca tinca) in Deutschland. Abschlussbericht erstellt im Auftrag der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung*. Institut für Hydrobiologie: TU Dresden.
- 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**, 421–431. [https://doi.org/10.1016/S0990-7440\(03\)00082-2](https://doi.org/10.1016/S0990-7440(03)00082-2)
- Kolbinger A. (2002). *Fischbiologische Kartierung der Durchgängigkeit niederbayerischer Fließgewässer*. TU München.
- Koskinen M.T., Nilsson J., Veselov A.J., Potutkin A.G., Ranta E. & Primmer C.R. (2002a). Microsatellite data resolve phylogeographic patterns in European grayling, *Thymallus thymallus*, Salmonidae. *Heredity* **88**, 391–401. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800072>
- Koskinen M.T., Ranta E., Piironen J., Veselov A., Titov S. & Haugen T.O. (2000). Genetic lineages and postglacial colonization of grayling (*Thymallus thymallus*, Salmonidae) in Europe, as revealed by mitochondrial DNA analyses. *Molecular Ecology* **9**, 1609–1624
- Koskinen M.T., Sundell P., Piironen J. & Primmer C.R. (2002b). Genetic assessment of spatiotemporal evolutionary relationships and stocking effects in grayling (*Thymallus thymallus*, Salmonidae). *Ecology Letters* **5**, 193–205. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2002.00302.x>
- Kottelat M. & Freyhof J. (2007). *Handbook of European freshwater fishes*. Kottelat, Cornol, Switzerland and Freyhof, Berlin, Germany.
- Kühn R. (2011). *Entwicklung von Erhaltungsstrategien für die Äsche im Auftrag der Bezirksregierung Detmold*. TU München.
- LANUV (2017). *Abschlussbericht des Landesamts für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen - Das Äschenhilfsprogramm in Nordrhein-Westfalen*.
- LAWA (2004). Landesarbeitsgemeinschaft Wasser - Karte der biozönotisch bedeutsamen Fließgewässertypen Deutschlands

- Le Vin A.L., Adam A., Tedder A., Arnold K.E. & Mable B.K. (2011). Validation of swabs as a non-destructive and relatively non-invasive DNA sampling method in fish. *Molecular Ecology Resources* **11**, 107–109. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02909.x>
- Leigh J.W. & Bryant D. (2015). popart: full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution* **6**, 1110–1116. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12410>
- LHW Sachsen-Anhalt (2011). *Landesbetrieb für Hochwasserschutz und Wasserwirtschaft Sachsen-Anhalt - Bericht zur Beschaffenheit der Fließgewässer und Seen in Sachsen-Anhalt 2005-2008. Anlage SAL20 - Selke.*
- Marić S., Askeyev I.V., Askeyev O.V., Monakhov S.P., Bravničar J. & Snoj A. (2014). Phylogenetic and population genetic analysis of *Thymallus thymallus* (Actinopterygii, Salmonidae) from the middle Volga and upper Ural drainages. *Hydrobiologia* **740**, 167–176. <https://doi.org/10.1007/s10750-014-1951-0>
- Marić S., Kalamujić B., Snoj A., Razpet A., Lukić-Bilela L., Pojskić N., *et al.* (2012). Genetic variation of European grayling (*Thymallus thymallus*) populations in the Western Balkans. *Hydrobiologia* **691**, 225–237. <https://doi.org/10.1007/s10750-012-1076-2>
- Marić S., Razpet A., Nikolić V. & Simonović P. (2011). Genetic differentiation of European grayling (*Thymallus thymallus*) populations in Serbia, based on mitochondrial and nuclear DNA analyses. *Genetics Selection Evolution* **43**, 1–11. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-43-2>
- Meldgaard T., Nielsen E.E. & Loeschcke V. (2003). Fragmentation by weirs in a riverine system: A study of genetic variation in time and space among populations of European grayling (*Thymallus thymallus*) in a Danish river system. *Conservation Genetics* **4**, 735–747. <https://doi.org/10.1023/B:COGE.0000006115.14106.de>
- Meraner A., Cornetti L. & Gandolfi A. (2014). Defining conservation units in a stocking-induced genetic melting pot: unraveling native and multiple exotic genetic imprints of recent and historical secondary contact in Adriatic grayling. *Ecology and Evolution* **4**, 1313–1327. <https://doi.org/10.1002/ece3.931>
- Meraner A. & Gandolfi A. (2012). Phylogeography of European grayling, *Thymallus thymallus* (Actinopterygii, Salmonidae), within the Northern Adriatic basin: evidence for native and exotic mitochondrial DNA lineages. *Hydrobiologia* **693**, 205–221. <https://doi.org/10.1007/s10750-012-1109-x>
- Moritz C. (1994). Defining 'Evolutionarily Significant Units' for conservation. *Trends in Ecology & Evolution* **9**, 373–375. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(94\)90057-4](https://doi.org/10.1016/0169-5347(94)90057-4)

- Mueller M., Pander J. & Geist J. (2018). Comprehensive analysis of >30 years of data on stream fish population trends and conservation status in Bavaria, Germany. *Biological Conservation* **226**, 311–320. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2018.08.006>
- Nei M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* **89**, 583–590
- Nei M. (1972). Genetic Distance between Populations. *The American Naturalist* **106**, 283–292
- Nielsen E.E., Hansen M.M. & Mensberg K.-L.D. (1998). Improved primer sequences for the mitochondrial ND1, ND3/4 and ND5/6 segments in salmonid fishes: application to RFLP analysis of Atlantic salmon. *Journal of Fish Biology* **53**, 216–220. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1998.tb00122.x>
- Olsen J.B., Bentzen P. & Seeb J.E. (1998). Characterization of seven microsatellite loci derived from pink salmon. *MOLECULAR ECOLOGY* **7**, 1087–1089
- Ovidio M., Parkinson D., Sonny D. & Philippart J.C. (2004). Spawning movements of European grayling *Thymallus thymallus* in the River Aisne (Belgium). *Folia Zoologica* **53**, 87–98
- Ovidio M. & Philippart J.-C. (2002). The impact of small physical obstacles on upstream movements of six species of fish. *Hydrobiologia* **483**, 55–69. <https://doi.org/10.1023/A:1021398605520>
- Pagès H., Aboyoun P., Gentleman R. & DebRoy S. (2016). *Biostrings: String objects representing biological sequences, and matching algorithms. R package version 2.42.1.*
- Paradis E. & Schliep K. (2018). *ape 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R. R package version 5.3.*
- Persat H., Mattersdorfer K., Charlat S., Schenekar T. & Weiss S. (2016). Genetic integrity of European grayling (*Thymallus thymallus* L. 1758) within the Vienne River drainage basin after five decades of stockings. *Cybium* **40**, 7–20. <https://doi.org/10.3389/conf.FMARS.2015.03.00149>
- Pritchard J.K., Stephens M. & Donnelly P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* **155**, 945–959
- R Core Team (2018). *R: A language and environment for statistical computing.* R Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- Radinger J., Essl F., Hölker F., Horký P., Slavík O. & Wolter C. (2017). The future distribution of river fish: The complex interplay of climate and land use

- changes, species dispersal and movement barriers. *Global Change Biology* **23**, 4970–4986. <https://doi.org/10.1111/gcb.13760>
- Reid S.M., Kidd A. & Wilson C.C. (2012). Validation of buccal swabs for noninvasive DNA sampling of small-bodied imperiled fishes: Noninvasive buccal swabs for DNA sampling of small-bodied fishes. *Journal of Applied Ichthyology* **28**, 290–292. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2011.01889.x>
- Roselius L., Shevchuk O., Steinert M., Jahn D. & Münch R. (2011). *Digestion: Digest genomes. R package version 1.0.*
- Rosenberg N.A. (2003). distruct: a program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes* **4**, 137–138. <https://doi.org/10.1046/j.1471-8286.2003.00566.x>
- Rümmler F., Schreckenbach K. & Pfeiffer M. (1998). Auswirkungen der Elektrofischerei auf Fische. *Fischer & Teichwirt*, 88–92
- Sánchez J.A., Clabby C., Ramos D., Blanco G., Flavin F., Vázquez E., *et al.* (1996). Protein and microsatellite single locus variability in *Salmo salar* L. (Atlantic salmon). *Heredity* **77**, 423–432. <https://doi.org/10.1038/hdy.1996.162>
- 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.* Institut für Umweltwissenschaften: Universität Koblenz-Landau, Landau, Deutschland.
- Schröder W., Kohl F. & Hanfland S. (2007). Kormoran- und Fischbestand - Kritische Analyse und Forderungen des Landesfischereiverbandes Bayern e.V.
- Scribner K.T., Gust J.R. & Fields R.L. (1996). Isolation and characterization of novel salmon microsatellite loci: cross-species amplification and population genetic applications. **53**, 9
- Slettan A., Olsaker I. & Lie Ø. (1995). Atlantic salmon, *Salmo salar*, microsatellites at the SSOSL25, SSOSL85, SSOSL311, SSOSL417 loci. *Animal Genetics* **26**, 281–282. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.1995.tb03262.x>
- Smalley J.V. & Campanella J.J. (2005). Buccal swabbing and extraction of high quality sunfish (*Lepomis*) DNA for use in PCR analysis. *BioTechniques* **38**, 189–190. <https://doi.org/10.2144/05382BM03>
- Snoj A., Susnik S., Pohar J. & Dovc P. (1999). The first microsatellite marker (BFRO 004) for grayling, informative for its Adriatic population. *Animal Genetics* **30**, 74–75. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2052.1999.00323-13.x>

- Sušnik S., Snoj A. & Dovč P. (1999). Microsatellites in grayling (*Thymallus thymallus*): comparison of two geographically remote populations from the Danubian and Adriatic river basin in Slovenia. *Molecular Ecology* **8**, 1756–1758. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1999.00723-2.x>
- Sušnik S., Snoj A., Jesenšek D. & Dovč P. (2000). Rapid communication: microsatellite DNA markers (BFRO010 and BFRO011) for grayling. *Journal of Animal Science* **78**, 488. <https://doi.org/10.2527/2000.782488x>
- Swatdipong A., Primmer C.R. & Vasemägi A. (2010). Historical and recent genetic bottlenecks in European grayling, *Thymallus thymallus*. *Conservation Genetics* **11**, 279–292. <https://doi.org/10.1007/s10592-009-0031-x>
- Völker J., Coring E., Eligehausen J. & Borchardt D. (2010). *Gewässerökologische Untersuchungen und Bewertung der pflanzlichen Komponenten (Diatomeen und Phytobenthos) in Bezug auf die defizitären Zustände der Fischfauna in der Lenne (NRW) - Abschlussbericht*. Bezirksregierung Arnsberg.
- Vonlanthen P. & Hefti D. (2016). Genetik und Fischerei - Zusammenfassung der genetischen Studien und Empfehlungen für die Bewirtschaftung. *Umwelt-Wissen* **1637**, 90
- Vonlanthen P. & Schlunke D. (2015). *Erfolgskontrolle Besatzmassnahmen und Populationsgenetische Untersuchung der Äschen im Kanton Aargau*. Departement Bau, Verkehr und Umwelt, Sektion Jagd und Fischerei, Kanton Aargau.
- Waples R.S. (1991). Pacific Salmon, *Oncorhynchus* spp., and the Definition of "Species" Under the Endangered Species Act. *Marine Fisheries Review*, 12
- Weiss S., Persat H., Eppe R., Schlötterer C. & Uiblein F. (2002). Complex patterns of colonization and refugia revealed for European grayling *Thymallus thymallus*, based on complete sequencing of the mitochondrial DNA control region. *Molecular Ecology* **11**, 1393–1407
- Wetjen M., Schmidt T., Schrimpf A. & Schulz R. (2016). *Erfassung und Dokumentation der genetischen Variabilität von Wildpopulationen der Quappe (*Lota lota*) aus verschiedenen Flussgebietseinheiten in Deutschland. Abschlussbericht an die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung*. Institut für Umweltwissenschaften: Universität Koblenz-Landau, Landau, Deutschland.

10 TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Herkunftsgewässer der Äsche, in denen Individuen für die Analyse der genetischen Variabilität gewonnen wurden.....	12
Tabelle 2: Verwendete Primer für die mitochondrialen Loci ND1 und ND5/6 in <i>Thymallus thymallus</i>	37
Tabelle 3: Detailinformation zu den verwendeten Mikrosatellitenmarkersystemen...	40
Tabelle 4: Mikrosatelliten-PCR Bedingungen für die 3 verwendeten Multiplex-Sets ...	42
Tabelle 5: Ergebnisse der hierarchischen AMOVA (Analysis of Molecular Variance) für die mitochondrialen RFLP-Daten (ND1 & ND5/6) gruppiert nach den untersuchten Äschenpopulationen und den entsprechenden fünf Flussgebietseinheiten (FGEs).....	55
Tabelle 6: Paarweise F_{ST} -Werte basierend auf den Mikrosatelliten- (unterhalb der Diagonalen) und den mitochondrialen RFLP-Daten (oberhalb der Diagonalen) zwischen den Flussgebietseinheiten.....	57
Tabelle 7: Ergebnisse der hierarchischen AMOVA (Analysis of Molecular Variance) für die Mikrosatelliten-Daten.	57

11 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Arbeits- und Zeitplan aufgeschlüsselt nach Arbeitspaketen (AP 1-4) des Dienstleistungsangebots.	9
Abbildung 2: Kartografische Darstellung der Herkunftsgewässer der Äschen, von welchen Material für die genetischen Analysen gewonnen wurde.....	10
Abbildung 3: Anzahl der Individuen nach Größenklassen.....	48
Abbildung 4: Anzahl von Individuen je Größenklasse (Grafik links) sowie Gewichts-Längen-Verhältnisse (Grafik rechts) aller vermessenen Äschen.....	49
Abbildung 5: Median-Joining Haplotypen Netzwerk bestehend aus 22 Composite-Haplotypen der mitochondrialen ND1- & ND5/6-Region	51
Abbildung 6: Kartografische Darstellung der Haplotyp-Diversität und der Anzahl der Privaten Haplotypen für die hinsichtlich der mitochondr. ND1- & ND5/6-Region untersuchten Herkünfte.	53
Abbildung 7: Kartografische Darstellung des Heterozygotiegrades sowie die Anzahl Privater Allele der Herkünfte von denen Mikrosatelliten analysiert wurden. .	56
Abbildung 8: Hauptkoordinaten-Analyse der 34 Äschenpopulationen aus den Flussgebietseinheiten Donau (rot), Elbe (orange), Maas (lila), Rhein (blau) und Weser (grün) auf Basis ihrer Nei-Distanzen unter Verwendung des Mikrosatelliten-Datensatzes.....	59
Abbildung 9: Individuenbasierte Hauptkoordinaten-Analyse der 34 Äschenpopulationen aus den Flussgebietseinheiten Donau (rot), Elbe (orange), Maas (lila), Rhein (blau) und Weser (grün) auf Basis ihrer binären Distanzen.....	60
Abbildung 10: Graphische Darstellung der STRUCTURE-Analyse unter Annahme eines Admixture Models und unabhängiger Allelfrequenzen.....	64

APPENDIX

Appendix 1: Ergebnisse der genetischen Analysen auf Basis der mitochondrialen ND1- und ND5/6-Region und Mikrosatelliten. Dargestellt ist die Anzahl der haplotypisierten Individuen ($DNA_{mt}N$), die Haplotyp-Diversität (H_d), die Anzahl der Privaten Haplotypen (PH N), die mittlere Heterozygotie pro Restriktionsschnittstelle (π_{RFLP}), die Anzahl der Individuen mit erfolgreicher Mikrosatelliten-Analyse (MS N), die maximale Allelzahl pro Mikrosatellit (A_{max} pro MS), die durchschnittliche Allelzahl ($\bar{\theta}$ A), die Anzahl Privater Allele (PA N), der beobachtete (H_o) und erwartete Heterozygotiegrad (H_{EC}), die niedrigste ($F_{ST} \min$) und höchste genet. Differenzierung ($F_{ST} \max$), der Inzuchtkoeffizient (F_{IS}), 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.

Population	$DNA_{mt}N$	H_d	π_{RFLP}	PH N	MS N	A_{max} pro MS	$\bar{\theta}$ A	PA N	AR	H_o	H_{EC}	F_{IS}	$F_{ST} \min$	$F_{ST} \max$	AGRDEU Code	Besatz
Ammer	13	0,5000	0,0078	0	30	11	3,75	2	3,12	0,34	0,33	-0,030	0,0313	0,6279	THY-001	A
Inn	10	0,8000	0,0163	0	30	12	5,17	5	3,78	0,33	0,38	0,132	0,0313	0,5933	THY-002	A
Isar	12	0,7121	0,0992	0	33	14	5,58	1	4,24	0,53	0,50	-0,060	0,1512	0,4860	THY-003	V
Floeha	10	0,0000	0,0000	0	35	4	2,67	0	2,37	0,32	0,35	0,086	0,2600	0,5580	THY-004	V
Gera	11	0,6182	0,0105	0	32	8	3,50	0	3,02	0,35	0,34	-0,029	0,1149	0,5098	THY-005	A
Gerdau	10	0,0000	0,0000	1	34	4	1,67	0	1,56	0,24	0,20	-0,200	0,3427	0,6536	THY-006	N
Ilm	11	0,1818	0,0026	0	19	7	3,50	0	3,14	0,43	0,43	0,000	0,0585	0,5180	THY-007	A
Pressnitz	10	0,0000	0,0000	0	31	6	2,92	0	2,56	0,39	0,36	-0,083	0,0289	0,5234	THY-008	A
Schwarzwasser	10	0,0000	0,0000	0	30	6	3,25	2	2,85	0,37	0,36	-0,028	0,0881	0,5002	THY-009	A
Selke	11	0,3273	0,0378	1	39	7	3,75	3	2,91	0,31	0,34	0,088	0,2454	0,5812	THY-010	V
Zschopau	10	0,2000	0,0029	1	30	5	2,50	0	2,37	0,34	0,35	0,029	0,0289	0,5258	THY-011	A
Rur1	10	0,5556	0,0080	0	31	8	3,75	0	3,18	0,33	0,35	0,057	0,0360	0,5741	THY-012	N
Rur2	10	0,5556	0,0080	0	14	5	2,33	0	2,28	0,32	0,30	-0,067	0,0360	0,6499	THY-013	N
Ahr	10	0,4667	0,0202	1	30	7	2,50	1	2,05	0,27	0,24	-0,125	0,2099	0,6536	THY-014	N
Alme	15	0,1333	0,0218	0	36	7	3,00	0	2,41	0,26	0,25	-0,040	0,0019	0,6352	THY-015	A
Erf	7	0,0000	0,0000	0											THY-016	A
Fränkische Saale	6	0,5333	0,0872	1											THY-017	A
Hoenne	11	0,0000	0,0000	0	31	9	3,42	2	2,74	0,31	0,33	0,061	0,0410	0,6179	THY-018	U
Lahn	13	0,2821	0,0651	0	33	7	4,08	0	3,33	0,29	0,38	0,237	0,0882	0,5164	THY-019	A
Lenne	10	0,2000	0,0356	0	27	5	2,83	0	2,64	0,41	0,38	-0,079	0,1476	0,5528	THY-020	V
Lippe	11	0,3273	0,0535	0	25	6	2,75	1	2,42	0,27	0,27	0,000	0,0019	0,6415	THY-021	U
Radolfz. Aach	4	0,5000	0,1010	0	12	5	2,42	0	2,42	0,42	0,33	-0,273	0,1512	0,6248	THY-022	U
Sinn	10	0,6444	0,0462	1	30	11	3,83	0	3,39	0,37	0,41	0,098	0,0874	0,4822	THY-023	V

Fortsetzung Appendix 1

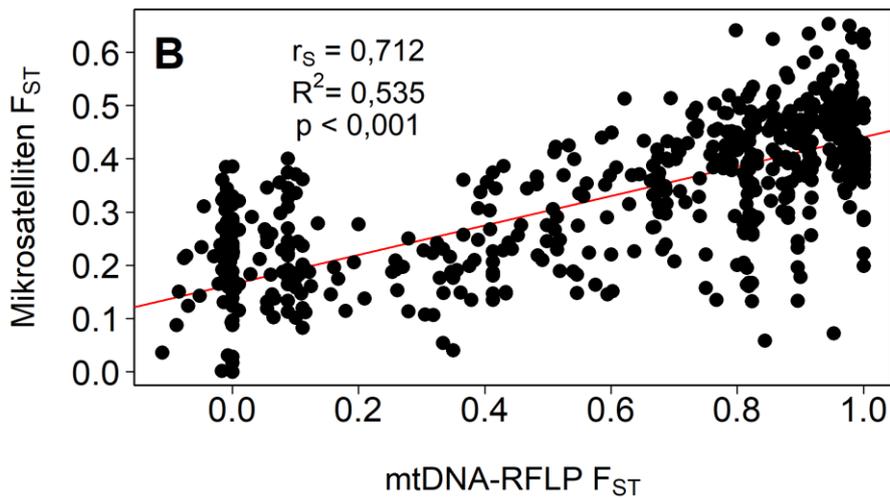
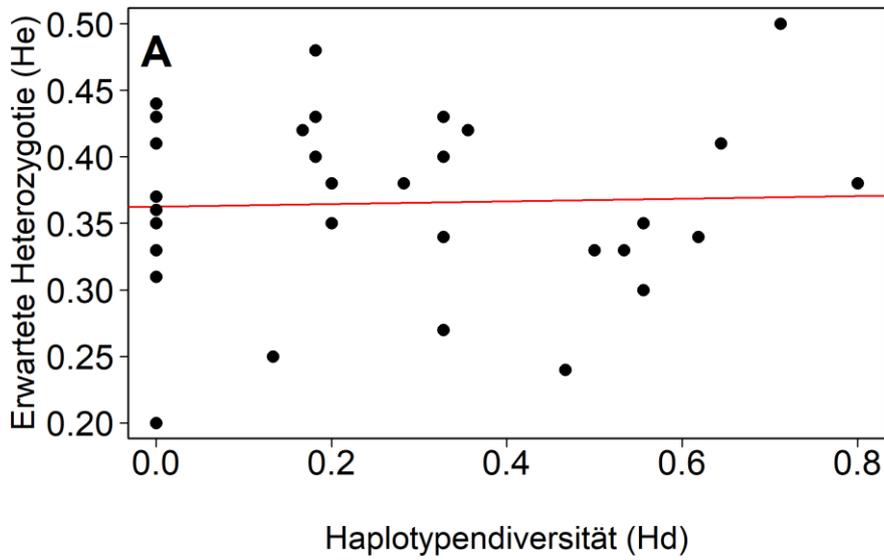
Population	DNA _{mt} N	H _d	π_{RFLP}	PH N	MS N	A _{max} pro MS	σ A	PA N	AR	H _O	H _{EC}	F _{IS}	F _{ST} min	F _{ST} max	AGRDEU Code	Besatz
Wupper1	10	0,0000	0,0000	0	25	7	2,75	0	2,51	0,32	0,31	-0,032	0,0547	0,6345	THY-024	U
Wupper2	10	0,5333	0,0256	1	28	8	3,17	1	2,87	0,34	0,33	-0,030	0,0410	0,6004	THY-025	U
Bega	10	0,0000	0,0000	0	31	7	3,25	0	3,02	0,43	0,43	0,000	0,1125	0,4895	THY-026	V
Diemel	10	0,3556	0,0821	0	30	7	3,83	1	3,14	0,40	0,42	0,048	0,0825	0,4964	THY-027	A
Emmer	12	0,1667	0,0313	1	32	9	4,25	3	3,42	0,42	0,42	0,000	0,1599	0,5272	THY-028	A
Felda	11	0,3273	0,0047	0	36	7	3,25	0	2,84	0,39	0,40	0,025	0,1124	0,5307	THY-029	U
Fulda	11	0,3273	0,0488	0	30	9	3,75	0	3,27	0,43	0,43	0,000	0,0931	0,4818	THY-030	V
Ilme	11	0,0000	0,0000	0	30	8	4,08	1	3,29	0,43	0,41	-0,049	0,1018	0,4972	THY-031	N
Leine	11	0,1818	0,0446	0	30	9	3,92	4	3,36	0,33	0,40	0,175	0,1067	0,4903	THY-032	N
Nesse/Hoersel	11	0,1818	0,0026	1	32	7	3,75	2	3,44	0,45	0,48	0,062	0,1383	0,4791	THY-033	U
Oertze	10	0,0000	0,0000	0	31	8	3,58	0	3,20	0,47	0,44	-0,068	0,0825	0,4914	THY-034	V
Werra1	11	0,1818	0,0052	0	31	6	3,25	1	2,80	0,36	0,40	0,100	0,0176	0,5501	THY-035	U
Werra2	11	0,0000	0,0000	0	32	6	3,50	1	2,86	0,31	0,37	0,162	0,0176	0,5654	THY-036	U
Summe (N)	374			9	1010			31								
Mittelwert		0,2720	0,0241			7,41	3,40	0,91	2,91	0,36	0,37	0,043	0,0971	0,5547		
CV%		88,3	125,2			29,3	22,5	139,2	17,6	18,1	17,7	262,6	79,5	10,7		

Appendix 2: Auflistung der paarweisen F_{ST} -Werte zwischen den Äschenpopulationen basierend auf Mikrosatelliten-Daten. Die minimale F_{ST} -Werte sind rot markiert, die maximalen blau. Nicht-signifikante Werte sind fett dargestellt, wobei die einzige nicht-signifikante Differenzierung zwischen Alme und Lippe gefunden wurde.

POP	Ammer	Inn	Isar	Flöha	Gera	Gerdau	Ilm	Preßnitz	Schwarzw.	Selke	Zschopau	Rur1	Rur2	Ahr	Alme	Hönne	Lahn
Ammer		0,0313	0,2206	0,5580	0,5098	0,6279	0,4611	0,5234	0,5002	0,5812	0,5258	0,4886	0,5247	0,5463	0,5327	0,5265	0,5164
Inn	0,0313		0,1883	0,5288	0,4806	0,5933	0,4371	0,4924	0,4701	0,5613	0,4940	0,4581	0,4874	0,5050	0,5019	0,4988	0,4866
Isar	0,2206	0,1883		0,4025	0,3595	0,4860	0,3398	0,3649	0,3388	0,4256	0,3615	0,2455	0,2755	0,2099	0,2676	0,2754	0,3667
Flöha	0,5580	0,5288	0,4025		0,3744	0,4758	0,3676	0,2839	0,3145	0,4001	0,2769	0,3981	0,4417	0,5147	0,4624	0,3987	0,3463
Gera	0,5098	0,4806	0,3595	0,3744		0,3853	0,1149	0,1348	0,1475	0,2777	0,1492	0,3902	0,4479	0,5026	0,4601	0,4177	0,1880
Gerdau	0,6279	0,5933	0,4860	0,4758	0,3853		0,3860	0,3957	0,4289	0,5139	0,4010	0,5741	0,6499	0,6536	0,6352	0,6179	0,3690
Ilm	0,4611	0,4371	0,3398	0,3676	0,1149	0,3860		0,2455	0,2337	0,3033	0,2603	0,4046	0,4464	0,5180	0,4608	0,4251	0,1538
Preßnitz	0,5234	0,4924	0,3649	0,2839	0,1348	0,3957	0,2455		0,0881	0,3265	0,0289	0,3522	0,4234	0,4988	0,4203	0,4001	0,2552
Schwarzw.	0,5002	0,4701	0,3388	0,3145	0,1475	0,4289	0,2337	0,0881		0,3451	0,1385	0,3091	0,3759	0,4673	0,3833	0,3556	0,2434
Selke	0,5812	0,5613	0,4256	0,4001	0,2777	0,5139	0,3033	0,3265	0,3451		0,2978	0,4666	0,4987	0,5352	0,5191	0,4660	0,3212
Zschopau	0,5258	0,4940	0,3615	0,2769	0,1492	0,4010	0,2603	0,0289	0,1385	0,2978		0,3361	0,4002	0,4908	0,4219	0,3765	0,2681
Rur1	0,4886	0,4581	0,2455	0,3981	0,3902	0,5741	0,4046	0,3522	0,3091	0,4666	0,3361		0,0360	0,3159	0,2301	0,1323	0,4111
Rur2	0,5247	0,4874	0,2755	0,4417	0,4479	0,6499	0,4464	0,4234	0,3759	0,4987	0,4002	0,0360		0,4001	0,2915	0,1669	0,4468
Ahr	0,5463	0,5050	0,2099	0,5147	0,5026	0,6536	0,5180	0,4988	0,4673	0,5352	0,4908	0,3159	0,4001		0,3523	0,3462	0,5035
Alme	0,5327	0,5019	0,2676	0,4624	0,4601	0,6352	0,4608	0,4203	0,3833	0,5191	0,4219	0,2301	0,2915	0,3523		0,1654	0,4515
Hönne	0,5265	0,4988	0,2754	0,3987	0,4177	0,6179	0,4251	0,4001	0,3556	0,4660	0,3765	0,1323	0,1669	0,3462	0,1654		0,4457
Lahn	0,5164	0,4866	0,3667	0,3463	0,1880	0,3690	0,1538	0,2552	0,2434	0,3212	0,2681	0,4111	0,4468	0,5035	0,4515	0,4457	
Lenne	0,4735	0,4424	0,2420	0,3916	0,3209	0,5528	0,3548	0,3298	0,2894	0,4300	0,3015	0,1476	0,1497	0,3561	0,2136	0,1649	0,3579
Lippe	0,5215	0,4888	0,2503	0,4520	0,4563	0,6415	0,4491	0,4214	0,3785	0,5132	0,4237	0,2480	0,3076	0,3605	0,0019	0,1770	0,4403
Radolfz.Aach	0,4952	0,4581	0,1512	0,4448	0,4266	0,6248	0,4093	0,4334	0,3973	0,4491	0,4253	0,2398	0,2974	0,2265	0,2236	0,2079	0,4227
Sinn	0,4394	0,4053	0,1923	0,3529	0,2927	0,4822	0,2861	0,2935	0,2605	0,3710	0,2843	0,1895	0,2481	0,2186	0,2061	0,1763	0,2900
Wupper1	0,4818	0,4587	0,2313	0,4199	0,4453	0,6345	0,4338	0,4200	0,3666	0,4765	0,4122	0,1634	0,1952	0,3321	0,2173	0,0969	0,4515
Wupper2	0,4728	0,4444	0,2095	0,3918	0,4004	0,6004	0,4076	0,3822	0,3270	0,4525	0,3679	0,1480	0,1825	0,2667	0,1752	0,0410	0,4275
Bega	0,4895	0,4611	0,3142	0,3858	0,2267	0,4294	0,1960	0,2875	0,2346	0,3103	0,2770	0,3616	0,3918	0,4451	0,4080	0,3930	0,1186
Diemel	0,4854	0,4630	0,3441	0,3613	0,1458	0,4125	0,1137	0,2369	0,2013	0,2914	0,2449	0,3840	0,4231	0,4964	0,4141	0,3974	0,0882
Emmer	0,4880	0,4696	0,3689	0,3604	0,2790	0,3997	0,2102	0,3229	0,2702	0,3848	0,3270	0,4345	0,4638	0,5272	0,4585	0,4470	0,2001
Felda	0,5003	0,4778	0,3735	0,3748	0,1766	0,4179	0,1355	0,2308	0,2382	0,3714	0,2590	0,4144	0,4536	0,5307	0,4582	0,4447	0,1457
Fulda	0,4818	0,4532	0,3054	0,2696	0,1965	0,3511	0,1484	0,2222	0,1780	0,3109	0,2290	0,3149	0,3554	0,4117	0,3631	0,3415	0,0931
Ilme	0,4972	0,4708	0,3486	0,2600	0,2278	0,3696	0,1784	0,2409	0,2186	0,3361	0,2672	0,3933	0,4304	0,4924	0,4318	0,4178	0,1026
Leine	0,4903	0,4601	0,3353	0,2816	0,1474	0,3692	0,1067	0,2383	0,2548	0,3040	0,2430	0,3804	0,4180	0,4704	0,4451	0,3985	0,1241
Nesse/Hörsel	0,3912	0,3676	0,2995	0,3441	0,1987	0,3427	0,1611	0,1908	0,2119	0,3559	0,2243	0,3752	0,4130	0,4791	0,4226	0,4179	0,1829
Örtze	0,4817	0,4605	0,3438	0,3298	0,1873	0,3808	0,1339	0,2212	0,1702	0,2454	0,2363	0,3909	0,4211	0,4914	0,4305	0,4004	0,1315
Werra1	0,5141	0,4897	0,3963	0,3726	0,1513	0,4003	0,0585	0,2795	0,2828	0,3375	0,2924	0,4503	0,4919	0,5501	0,5127	0,4738	0,1876
Werra2	0,5380	0,5137	0,4158	0,3876	0,1575	0,4049	0,0726	0,2907	0,2847	0,3447	0,2992	0,4693	0,5173	0,5654	0,5319	0,4867	0,2285

Fortsetzung Appendix 2

POP	Lenne	Lippe	Radolfz.Aach	Sinn	Wupper1	Wupper2	Bega	Diemel	Emmer	Felda	Fulda	Ilme	Leine	Nesse/Hörsel	Örtze	Werra1	Werra2
Ammer	0,4735	0,5215	0,4952	0,4394	0,4818	0,4728	0,4895	0,4854	0,4880	0,5003	0,4818	0,4972	0,4903	0,3912	0,4817	0,5141	0,5380
Inn	0,4424	0,4888	0,4581	0,4053	0,4587	0,4444	0,4611	0,4630	0,4696	0,4778	0,4532	0,4708	0,4601	0,3676	0,4605	0,4897	0,5137
Isar	0,2420	0,2503	0,1512	0,1923	0,2313	0,2095	0,3142	0,3441	0,3689	0,3735	0,3054	0,3486	0,3353	0,2995	0,3438	0,3963	0,4158
Flöha	0,3916	0,4520	0,4448	0,3529	0,4199	0,3918	0,3858	0,3613	0,3604	0,3748	0,2696	0,2600	0,2816	0,3441	0,3298	0,3726	0,3876
Gera	0,3209	0,4563	0,4266	0,2927	0,4453	0,4004	0,2267	0,1458	0,2790	0,1766	0,1965	0,2278	0,1474	0,1987	0,1873	0,1513	0,1575
Gerdau	0,5528	0,6415	0,6248	0,4822	0,6345	0,6004	0,4294	0,4125	0,3997	0,4179	0,3511	0,3696	0,3692	0,3427	0,3808	0,4003	0,4049
Ilm	0,3548	0,4491	0,4093	0,2861	0,4338	0,4076	0,1960	0,1137	0,2102	0,1355	0,1484	0,1784	0,1067	0,1611	0,1339	0,0585	0,0726
Preßnitz	0,3298	0,4214	0,4334	0,2935	0,4200	0,3822	0,2875	0,2369	0,3229	0,2308	0,2222	0,2409	0,2383	0,1908	0,2212	0,2795	0,2907
Schwarzw.	0,2894	0,3785	0,3973	0,2605	0,3666	0,3270	0,2346	0,2013	0,2702	0,2382	0,1780	0,2186	0,2548	0,2119	0,1702	0,2828	0,2847
Selke	0,4300	0,5132	0,4491	0,3710	0,4765	0,4525	0,3103	0,2914	0,3848	0,3714	0,3109	0,3361	0,3040	0,3559	0,2454	0,3375	0,3447
Zschopau	0,3015	0,4237	0,4253	0,2843	0,4122	0,3679	0,2770	0,2449	0,3270	0,2590	0,2290	0,2672	0,2430	0,2243	0,2363	0,2924	0,2992
Rur1	0,1476	0,2480	0,2398	0,1895	0,1634	0,1480	0,3616	0,3840	0,4345	0,4144	0,3149	0,3933	0,3804	0,3752	0,3909	0,4503	0,4693
Rur2	0,1497	0,3076	0,2974	0,2481	0,1952	0,1825	0,3918	0,4231	0,4638	0,4536	0,3554	0,4304	0,4180	0,4130	0,4211	0,4919	0,5173
Ahr	0,3561	0,3605	0,2265	0,2186	0,3321	0,2667	0,4451	0,4964	0,5272	0,5307	0,4117	0,4924	0,4704	0,4791	0,4914	0,5501	0,5654
Alme	0,2136	0,0019	0,2236	0,2061	0,2173	0,1752	0,4080	0,4141	0,4585	0,4582	0,3631	0,4318	0,4451	0,4226	0,4305	0,5127	0,5319
Hönnne	0,1649	0,1770	0,2079	0,1763	0,0969	0,0410	0,3930	0,3974	0,4470	0,4447	0,3415	0,4178	0,3985	0,4179	0,4004	0,4738	0,4867
Lahn	0,3579	0,4403	0,4227	0,2900	0,4515	0,4275	0,1186	0,0882	0,2001	0,1457	0,0931	0,1026	0,1241	0,1829	0,1315	0,1876	0,2285
Lenne		0,2177	0,2425	0,1824	0,2387	0,1853	0,2986	0,3152	0,3884	0,3529	0,2714	0,3574	0,3291	0,3263	0,3362	0,4041	0,4294
Lippe	0,2177		0,2162	0,2122	0,2185	0,1771	0,3922	0,3992	0,4330	0,4514	0,3540	0,4167	0,4338	0,4139	0,4142	0,5045	0,5254
Radolfz.Aach	0,2425	0,2162		0,1910	0,2296	0,1805	0,3576	0,3867	0,4177	0,4352	0,3295	0,3913	0,3843	0,3910	0,3804	0,4692	0,4885
Sinn	0,1824	0,2122	0,1910		0,2306	0,1375	0,2574	0,2743	0,3396	0,3343	0,1635	0,2903	0,2719	0,2968	0,2805	0,3410	0,3551
Wupper1	0,2387	0,2185	0,2296	0,2306		0,0547	0,3931	0,4084	0,4582	0,4480	0,3653	0,4198	0,4113	0,4147	0,4069	0,4844	0,5048
Wupper2	0,1853	0,1771	0,1805	0,1375	0,0547		0,3603	0,3876	0,4244	0,4284	0,3188	0,3943	0,3826	0,3921	0,3793	0,4566	0,4694
Bega	0,2986	0,3922	0,3576	0,2574	0,3931	0,3603		0,1199	0,2153	0,1920	0,1125	0,1744	0,2023	0,1931	0,1499	0,2643	0,2860
Diemel	0,3152	0,3992	0,3867	0,2743	0,4084	0,3876	0,1199		0,1838	0,1124	0,1153	0,1608	0,1427	0,1909	0,0825	0,1969	0,2231
Emmer	0,3884	0,4330	0,4177	0,3396	0,4582	0,4244	0,2153	0,1838		0,2260	0,1767	0,1599	0,2341	0,2383	0,1922	0,2579	0,2563
Felda	0,3529	0,4514	0,4352	0,3343	0,4480	0,4284	0,1920	0,1124	0,2260		0,1839	0,1583	0,1563	0,1383	0,1643	0,1455	0,2008
Fulda	0,2714	0,3540	0,3295	0,1635	0,3653	0,3188	0,1125	0,1153	0,1767	0,1839		0,1018	0,1306	0,1875	0,1334	0,1877	0,2065
Ilme	0,3574	0,4167	0,3913	0,2903	0,4198	0,3943	0,1744	0,1608	0,1599	0,1583	0,1018		0,1245	0,1886	0,1527	0,1672	0,1994
Leine	0,3291	0,4338	0,3843	0,2719	0,4113	0,3826	0,2023	0,1427	0,2341	0,1563	0,1306	0,1245		0,2069	0,1731	0,1076	0,1355
Nesse/Hörsel	0,3263	0,4139	0,3910	0,2968	0,4147	0,3921	0,1931	0,1909	0,2383	0,1383	0,1875	0,1886	0,2069		0,1811	0,2206	0,2562
Örtze	0,3362	0,4142	0,3804	0,2805	0,4069	0,3793	0,1499	0,0825	0,1922	0,1643	0,1334	0,1527	0,1731	0,1811		0,2051	0,2221
Werra1	0,4041	0,5045	0,4692	0,3410	0,4844	0,4566	0,2643	0,1969	0,2579	0,1455	0,1877	0,1672	0,1076	0,2206	0,2051		0,0176
Werra2	0,4294	0,5254	0,4885	0,3551	0,5048	0,4694	0,2860	0,2231	0,2563	0,2008	0,2065	0,1994	0,1355	0,2562	0,2221	0,0176	



Appendix 3: Korrelation zwischen den mtDNA und Mikrosatelliten Daten. (A) Haplotypendiversität vs. erwarteter Heterozygotie (B) Korrelation der genetischen Differenzierungen über F_{ST} -Werte.