Charakterisierung regionaler, autochthoner Fischarten mittels molekulargenetischer Methoden zur Erhaltung der Biodiversität in österreichischen Flußsystemen

Projektnummer: 1198

Forschungsauftrag des Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft Abteilung II/A1

Finanzierungspartner: BMBWK, Landesregierungen Oberösterreich, Salzburg und Steiermark

durchgeführt von: **Univ. Doz. Dr. Franz Lahnsteiner** Institut für Zoologie, Universität Salzburg Hellbrunnerstraße 34, A-5020 Salzburg Telefon: 0662/8044/5630 Fax: 0662/8044/5698 E-mail: <Franz.Lahnsteiner@sbg.ac.at>

in akkordierten Forschungsprojekten gemeinsam mit

Bundesamt für Wasserwirtschaft, Institut für Gewässerökologie, Fischereibiologie und Seenkunde, Scharfling, Mondsee

Institut für biologische Landwirtschaft und Biodiversität, Thalheim, Wels

Inhaltsverzeichnis:

| Unterschiede im Phänotyp von Bachforellen- und Seeforellen aus rezenten Wildpopulationen, aus Wildpopulationen des 19. Jahrhunderts und aus Zuchten | 3 |
|--|----|
| Der Genotyp rezenter österreichischer <i>Salmo trutta</i> Populationen im Vergleich zu Populationen des 19. Jahrhunderts basierend auf RFLP von mtDNA | 15 |
| Unterschiede in der Enzymkinetik zwischen ausgewählten Salmo trutta Populationen | 24 |
| Der Genotyp österreichischer Aalrutten- und Nasenpopulationen aus unterschiedlichen Fließgewässerregionen. | 29 |
| Anhang | 36 |

Unterschiede im Phänotyp von Bachforellen- und Seeforellen aus rezenten Wildpopulationen, aus Wildpopulationen des 19. Jahrhunderts und aus Zuchten

Abstract: Differences in the phenotyp of lake trout and brown trout populations from recent wild populations, wild populations from the 19th century and from hatcheries

The phenotyp of Austrian brown trout (*Salmo trutta f. fario*) and lake trout (*Salmo trutta f. lacustris*) populations from the wild, from hatcheries and from the 19th century (museum material) was investigated morphometrically. Statistically significant changes were found between the populations. In particular, the phenotyp of the populations from the 19th century differed from the today's populations in several parameters. Lake trouts and brown trouts with a phenotyp similar to that from the 19th century could not be found in today's populations.

Einleitung

Die Gemeine Forelle (*Salmo trutta* Linné) weist eine große phänotypische Plastizität und Formenvielfalt auf. Entsprechend der geographischen Verbreitung kann sie in geographische Gruppen eingeteilt werden (Sanford, 1990): Mittelmeerforelle, Pontokaspische Forelle und atlantische Forelle. Die Verbreitungsgebiete der einzelnen Gruppen stimmen zumeist mit den großen hydrographischen Einzugsgebieten (Atlantik, Mittelmeer, Schwarzes- und Kaspisches Meer mit Aralsee) überein.

Man kann *Salmo trutta* auch nach der Lebensweise in Standortformen unterteilen (Sanford, 1990), die in jeder geographischen Gruppe vorkommen können: die Meerforelle (*Salmo trutta* oder. *Salmo trutta trutta*), die Bachforelle (*Salmo trutta f. fario*), und die Seeforelle (*Salmo trutta f. lacustris*). Die Meerforelle (*Salmo trutta trutta*) ist eine anadrome Wanderform ähnlich wie der atlantische Lachs. Die Bachforelle (*Salmo trutta* forma *fario*) ist kleiner und eine standorttreue Süßwasserform die Flüsse und Bäche besiedelt. Die Seeforelle (*Salmo trutta* forma *lacustris*) kommt in tiefen, kalten Seen in Skandinavien, im Alpenraums sowie einigen Seen im Nahen Osten vor.

Aufgrund der beschriebenen Plastizität ist es naheliegend, dass auch lokale, Populationen von Bachforelle und Seeforelle als Anpassung an das jeweilige Gewässersystem und an die jeweilige Umweltsituation ein unterschiedliches Aussehen (= Phänotyp oder Morphotyp) haben. Morphometrische Unterschiede zwischen Fischpopulationen wurden in zahlreichen Untersuchungen und für verschiedene Arten einschließlich der Salmonidae beschrieben (Cadrin, 2000). Entsprechende Erhebungen existieren bisher aber nicht für österreichische Bachforellen- und Seeforellenpopulationen. Aus diesem Grund wurden nun Vergleiche zwischen rezenten Wildpopulationen, Zuchtpopulationen, die häufig zur Nachbesetzung verwendet werden, und Wildpopulationen aus dem 19. Jahrhundert (Museumsfische) angestellt, um folgende Fragen beantworten zu können: Wie weit unterscheidet sich der Phänotyp von Zuchtpopulationen von dem von Wildpopulationen? Wie sahen Bach- und Seeforellen zum Ende des 19. Jahrhundert aus, also bevor die umfangreichen Besatzmaßnahmen durchgeführt wurden? Bestehen zwischen rezenten Wildpopulationen morphologische Unterschiede? Gibt es heute noch Populationen, die im Phänotyp den Bachund Seeforellen aus dem 19. Jahrhundert gleichen?

Material und Methoden

Untersuchte Fischpopulationen

Die untersuchten Fischpopulationen sind in Tabelle 1 aufgelistet. Die Populationen aus dem 19. Jahrhundert stammen aus der Fischsammlung des naturhistorischen Museums in Wien. Sämtliche Fische sind Adulttiere, das Geschlecht wurde nicht unterschieden.

Tabelle 1. Untersuchte Fischpopulationen

| Population | Datum (Exemplare) | Totallänge, |
|---|--------------------------|----------------|
| Seeforelle, 19. Jahrhundert | | |
| Attersee | 1876 (3), 1881 (1), | 31.7 ± 8.1 |
| Traunsee | 1863 (3), 1883 (3), 1899 | 32.8 ± 7.0 |
| | (1), 1890 (2), 1909 (1) | , , |
| Seeforelle, rezente Populationen | | |
| Attersee, aus Fischzucht Kreuzstein, Sbg. | 2002 (8) | $30,3 \pm 2,4$ |
| Zuchtstamm Glück, Mauerkirchen O.Ö. | 2002 (6) | 30.9 ± 2.5 |
| Bachforelle, 19. Jahrhundert | | |
| Bad Aussee, Graf Meran, Stmk. | 1880 (6), 1890 (3) | $28,0 \pm 1,7$ |
| Filzbach, 1800 m, Pinzgau, Sbg. | 1899 (5) | $16,6 \pm 1,6$ |
| Hintersee, Sbg. | 1900 (1), 1902 (6) | $30,2 \pm 2,6$ |
| Krems bei Kirchdorf, O.Ö. | 1878 (4) | $29,6 \pm 2,1$ |
| Mürz, Stmk. | 1880 (5) | $24,7 \pm 1,4$ |
| Traun, Bad Ischl, O.Ö. | 1887 (8) | $20,8 \pm 2,1$ |
| Bachforelle, rezente Wildpopulationen | | |
| Blühnbach, Sbg. | 2000 (5) 2001 (3) | $19,9 \pm 1,7$ |
| Nationalpark Kalkalpen, Ameisbach, O.Ö. | 2001 (8) | $33,2 \pm 3,2$ |
| Nationalpark Hohe Tauern, Hollersbach, Sbg. | 2001 (8) | $27,7 \pm 6,2$ |
| Lammer, Sbg. | 2002 (6) | $19,8 \pm 1,7$ |
| Bachlalm, Landschützseen, Sbg. | 2001 (6) | $20,8 \pm 1,2$ |
| Feistritz, Mühlviertel, O.Ö. | 2001 (8) | $17,0 \pm 4,7$ |
| Bachforelle, rezente Zuchtpopulationen | | |
| Forstamt Grein, N.Ö. | 2000 (4), 2001 (5) | $27,3 \pm 1,3$ |
| Erboe, Zucht Wienerroither, O.Ö. | 2001 (8) | $35,1 \pm 2,9$ |
| Glück, Mauerkirchen, O.Ö. | 2002 (10) | $30,0 \pm 2,4$ |
| Glück, Wolfern, O.Ö. | 2002 (10) | $26,8 \pm 2,1$ |
| Hartl, St. Peter i. d. Au, O.Ö. | 2001 (10) | $25,9 \pm 2,1$ |
| Magg, Saalfelden | 2002 (5) | $29,6 \pm 2,1$ |
| "Steinforelle", Zucht Wienerroithner, O.Ö. | 2001 (8) | $22,0 \pm 0,7$ |
| Unger, Bad Wimsbach-Neidharting, O.Ö. | 2002 (6) | 40.0 ± 3.3 |

Datenerhebung

Ziel der Untersuchungen war die morphometrische Vermessung des Fischkörpers, die Erfassung der Färbung, sowie die Rekonstruktion des Phänotyps in Computerprogrammen. Die Vermessungen wurden entweder an in MS 222 betäubten Fischen, frisch getöteten Fischen oder an Alkoholpräparaten (Museumsfische) durchgeführt. Zur morphometrischen Vermessung wurden 25 Parameter gewählt, die in Abbildung 1 dargestellt sind. Dieses Vermessungsschema stellt eine Modifikation von Holčík et al. (1989) dar. Die Vermessung wurden immer von derselben Person durchgeführt um subjektiv bedingte Meßfehler auszuschließen und mit gängigen Meßgeräten (Lineal, Schublehre, Maßband).



Abbildung 1. Vermessungsschema. 1 Körperlänge, 2 Körperhöhe, 3 Kopflänge, 4 Kopfbreite, 5 Länge des Mundspalts, 6 Abstand Kopfspitze – Rückenflosse, 7 Abstand Rückenflosse –Fettflosse, 8 Abstand Kopfspitze – Brustflosse, 9 Abstand Brustflosse – Bauchflosse, 10 Abstand Bauchflosse – Afterflosse, 11 Länge der Rückenflosse, 12 & 13 Höhe der Rückenflosse, 14 Länge der Schwanzflosse, 15 Breite der Schwanzflosse, 16 Breite der Brustflosse, 17 Länge der Brustflosse, 18 Breite der Bauchflosse, 19 Länge der Bauchflosse, 20 Breite der Afterflosse, 21 Länge der Afterflosse, 22 Länge der Fettflosse, 23 Breite der Fettflosse. Der Übersicht halber sind folgende Parameter nicht eingezeichnet: Augendurchmesser, Abstand Mundspalt – Auge, Abstand Kopfspitze – Auge.

Zur Dokumentation und Erhebung der Färbung wurden die Fische fotografiert und die Bilder digitalisiert. Die Anordnung der roten und schwarzen Farbpunkte wurde nach folgendem Schema in mathematische (nominale) Daten codiert:

| Parameter | Kennzeichen | Code |
|---|---------------------------------|------|
| Beginn der roten bzw. der schwarzen Punkte | | |
| | am Kiemendeckel | 1 |
| | hinter Kiemendeckel | 2 |
| | im Bereich der Rückenflosse | 3 |
| Ende der roten bzw. der schwarzen Punkte | | |
| | im Bereich der Rückenflosse | 1 |
| | bei Schwanzflosse | 2 |
| Verlauf der roten bzw. der schwarzen Punkte | nur oberhalb Seitenlinie | 1 |
| | ober- und unterhalb Seitenlinie | 2 |
| | nur unterhalb Seitenlinie | 3 |
| Vermischung von roten und schwarzen Punkten | | |
| C C | keine | 1 |
| | mittel | 2 |
| | stark | 3 |

Weiters wurde die Gesamtanzahl von roten und schwarzen Farbpunkten auf je einer Seite des Fischkörper ermittelt. Nicht berücksichtigt wurden die Hintergrundfärbung und der Durchmesser der Farbpunkte, da beide Parameter stark von Umweltbedingungen beeinflusst wurden. Bei den Museumsfischen waren die schwarzen Punkte trotz Alkoholkonservierung klar zu erkennen. Die rote Färbung war ausgewaschen. Vom Untergrund hell abgesetzte Punkte wurden als rote Punkte gewertet.

Statistische Auswertung

Da sich die Fische in ihrer Körpergröße unterschieden, konnten die Meßwerte nicht direkt verglichen werden. Sie wurden entsprechend folgender Formel transformiert:

transformierter Meßparameter = $\frac{Meßparameter}{Totallänge} \times 100$

Auch die Anzahl der Farbpunkte pro Körperseite wurde mit dieser Formel transformiert. Die Flossenformen wurden in geometrischen Figuren schematisiert und deren Flächen mit gängigen mathematischen Formeln berechnet. Mittelwertsvergleiche wurden im SPSS PC+ Programm mittels ANOVA durchgeführt. Zusätzlich wurde eine Diskriminanzanalyse (eine gängige Methode für die statistischen Analyse von morphometrischen Daten – Holčík et al., 1989) durchgeführt, wobei die verschiedenen Meßparameter zuvor mittels Faktoranalyse auf 7 Faktoren zusammengefaßt wurden.

Um die Unterschiedlichkeit aller Meßparameter und damit des Phänotyps von 2 Populationen bestimmen zu können, wurde folgende Berechnung durchgeführt. Für die beiden zu vergleichenden Populationen wurde der Mittelwert der Meßparameter gebildet. Die Differenzen der Mittelwerte wurden als absoluter Betrag summiert. Dieser Wert wurde Variationswert genannt und ist ein einheitsloser Wert. Je größer der Wert um so größer der Unterschied zwischen 2 Populationen.

$$V = |(mP1_{a} - mP1_{b})| + + |(mP25_{a} - mP25_{b})|$$

V = Variationswert, m = Mittelwert, P1_a = Meßparameter 1 von Population a, P1_b Meßparameter 1 von Population b, P25_a Meßparameter 25 von Population a, P25_b = Meßparameter 25 von Population b

Da auch innerhalb einer Population Unterschiede in den Meßparametern vorhanden waren, wurde für jede Population auch der interne Variationswert zwischen den einzelnen Individuen berechnet. Dazu wurden die Proben nach dem Zufallsprinzip in 2 gleich große Teilproben geteilt, deren Mittelwert und anschließend der Variationswert berechnet. Eine andere getestete Berechnungsmöglichkeit des Variationswerts war die Summierung der aus der ANOVA resultierenden F-Werte. Dies brachte aber keine anderen Ergebnisse.

Rekonstruktion des Phänotyps

Die Rekonstruktion wurde im Corel Draw Zeichenprogramm durchgeführt. Die "Bauteile" des Fischkörpers wurden im Programm durch entsprechenden Formen schematisiert und definiert. Die "Bauteile" konnten mit den Meßpunkten exakt definiert werden. Da das Computerprogramm die proportionale und nicht proportionale Größenveränderung der einzelnen Bauteile sowie die Positionsveränderung der Bauteile zueinander ermöglicht, konnte der Phänotyp jeder Population individuell rekonstruiert werden. Die Phänologie der einzelnen Populationen ist in Datenbanken gespeichert, kann aber hier aufgrund des Datenumfangs nicht im Detail präsentiert werden.

Ergebnisse

Der Phänotyp von Bachforellen aus rezenten Wildpopulationen, aus Wildpopulationen des 19. Jahrhundert und aus Zuchtpopulationen

Die Totallänge der rezenten Wildpopulationen $(22,2 \pm 5,7 \text{ cm})$ und der Wildpopulationen aus dem 19. Jahrhundert $(23,0 \pm 4,5 \text{ cm})$ war signifikant geringerer als die der Zuchtpopulationen $(29,6 \pm 6,2 \text{ cm})$. Die untersuchten Populationen unterschieden sich auch in morphometrischen Parametern, und zwar in Körperhöhe, Körperdicke, Kopflänge, Kopfbreite, Augendurchmesser und in der Form und den Dimensionen der Flossen (Tabelle 2).

Tabelle 2. Unterschiede in morphometrischen Parametern zwischen österreichischen Bachforellen aus Zuchten, aus rezenten Wildpopulationen und aus Populationen des 19. Jahrhunderts. Die Meßdaten wurden entsprechend der in Material und Methoden beschriebenen Formel transformiert und mittels Varianzanalyse verglichen. Daten mit unterschiedlichem Superskript unterscheiden sich hochsignifikant, P<0.001.

| Parameter | Bachforelle, | Bachforelle, | Bachforelle, | Seeforelle, | Seeforelle, 19. |
|----------------------|-------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------|-------------------------------|
| | Zucht | wild, rezent | wild, 19. Jh | rezent | Jh. |
| Körperhöhe | $23,50 \pm 2,50^{a}$ | 18,91 ± 2,69 ^b | $18,05 \pm 2,86^{b}$ | $20,78 \pm 2,47^{a}$ | $20,54 \pm 1,44^{a}$ |
| Mundspalt | $10,59 \pm 1,66^{a,b}$ | $8,44 \pm 2,50^{a}$ | $11,16 \pm 1,26^{b}$ | $11,10 \pm 0,65^{b}$ | $11,03 \pm 0,57^{b}$ |
| Kopflänge | $21,91 \pm 3,06^{a}$ | $21,55 \pm 3,06^{a}$ | $22,87 \pm 1,42^{b}$ | $20,63 \pm 2,72^{a}$ | $20,29 \pm 3,48^{a}$ |
| Augendurchmesser | $3,26 \pm 0,48^{a}$ | $4,02 \pm 1,07^{b}$ | $4,02 \pm 0,46^{b}$ | $3,53 \pm 0,45^{a}$ | $3,47 \pm 0,55^{a}$ |
| Breite Kiemendeckel | $12,04 \pm 1,75^{a}$ | $11,71 \pm 2,35^{a,b}$ | $11,00 \pm 1,04^{a,b}$ | 10,89 ± 1,79 ^b | $10,78 \pm 1,24^{b}$ |
| Schwanzflosse Breite | $24,05 \pm 3,02^{a}$ | $22,28 \pm 4,82$ ^b | $19,93 \pm 2,30$ ^c | $23,16 \pm 2,61^{a}$ | $21,09 \pm 1,99^{b}$ |
| Schwanzflosse, Länge | $8,09 \pm 1,42^{a}$ | $10,51 \pm 2,90^{b}$ | $10,32 \pm 1,76^{b}$ | $9,32 \pm 2,27^{a}$ | $7,79 \pm 1,70^{b}$ |
| Rückenflosse, Höhe | $10,61 \pm 2,06^{a}$ | $9,86 \pm 2,26^{a}$ | $8,13 \pm 1,56^{b}$ | $8,85 \pm 1,56^{a,b}$ | $9,68 \pm 2,57^{\rm a}$ |
| Rückenflosse, Länge | $9,48 \pm 3,34^{\rm a}$ | $12,09 \pm 2,84^{b}$ | $10,74 \pm 1,12^{ab}$ | $11,85 \pm 1,82^{a}$ | $10,26 \pm 0,62^{b}$ |
| Brustflosse, Breite | $7,94 \pm 1,66^{a}$ | 9,27 ± 2,83 ^b | $7,47 \pm 1,90^{a}$ | $7,94 \pm 1,66^{a}$ | 9,27 ± 2,83 ^b |
| Brustflosse, Länge | $8,24 \pm 2,37^{a}$ | $12,09 \pm 2,84^{b}$ | $14,88 \pm 1,30^{\circ}$ | $8,24 \pm 2,37^{a}$ | $12,09 \pm 2,84^{b}$ |
| Bauchflosse, Breite | $7,26 \pm 1,29^{a}$ | $9,00 \pm 1,98$ ^b | $5,34 \pm 1,40^{\circ}$ | $7,26 \pm 1,29^{a}$ | $9,00 \pm 1,98$ ^b |
| Bauchflosse, Länge | $9,63 \pm 1,59^{a}$ | 10,59 ± 1,71 ^b | $11,43 \pm 1,01^{\circ}$ | 9,63 ± 1,59 ^a | $10,59 \pm 1,71$ ^b |
| Afterflosse, Länge | $8,93 \pm 1,89^{a}$ | 11,41 ± 2,15 ^b | $7,52 \pm 0,63$ ^c | $7,55 \pm 0,66$ ° | $7,68 \pm 0,78$ ^c |
| Afterflosse, Breite | $8,64 \pm 1,20^{a}$ | $7,81 \pm 3,08$ ^b | $9,55 \pm 1,07^{a}$ | $8,35 \pm 1,47^{a}$ | $8,53 \pm 1,74$ |
| Körperdicke | $10,22 \pm 3,41^{a}$ | 7,51 ± 1,21 ^b | 6,13 ± 1,24 ^b | $10,69 \pm ,59^{\rm a}$ | $6,35 \pm ,99^{b}$ |
| Fläche der Flossen | | | | | |
| Brustflosse | $95,4 \pm 35,0^{a}$ | $123,9 \pm 35,1^{b}$ | $111,7 \pm 32,9^{\circ}$ | 89,4 ±23,5 ^a | $81,7 \pm 18,5^{a}$ |
| Bauchflosse | $70,1 \pm 16,9^{a}$ | $93,0 \pm 25,7^{b}$ | $61,3 \pm 18,1^{a}$ | $73,7 \pm 24,3^{a}$ | $54,4 \pm 23,97^{b}$ |
| Afterflosse | $74,5 \pm 18,3^{a}$ | $85,3 \pm 27,1^{b}$ | $72,1 \pm 11,3^{a}$ | $57,0 \pm 5,9^{a}$ | $61,8 \pm 16,1^{a}$ |
| Rückenflosse | $95,8 \pm 29,7^{a}$ | $119,8 \pm 43,3^{\circ}$ | $87,1 \pm 17,6^{a}$ | $104,1 \pm 21,3^{a}$ | $98,3 \pm 23,4^{a}$ |
| Schwanzflosse | $186,8 \pm 42,7^{a}$ | 237,4 ±77,7 ^b | $206,2 \pm 44,8^{\circ}$ | $212,7 \pm 42,5^{a}$ | 163,9 ±41,9 ^b |
| Gesamtfläche | $521,8 \pm 107,0^{a}$ | $657,6 \pm 126,5^{b}$ | $538,3 \pm 73,0^{a}$ | 537,1 ±59,5 ^a | $455,0 \pm 62,7^{b}$ |

Grundsätzlich waren Bachforellen aus Zuchten hochrückiger und dicker als rezente Wildpopulationen und Wildpopulationen aus dem 19. Jahrhundert und der Augendurchmesser war geringer (Tabelle 2). Die Wildpopulationen aus dem 19. Jahrhundert hatten zusätzlich einen längeren Kopf, eine geringere Kopfbreite und Körperdicke sowie einen längeren Mundspalt als Zuchtpopulationen und rezente Wildpopulationen (Tabelle 2, Abbildung 2).

Mit Ausnahme der Rückenflosse unterschieden sich auch die Flossen. Die Schwanzflosse war bei Bachforellen aus Zuchten breiter aber weniger lang als bei Wildpopulationen (rezent und 19. Jahrhundert) (Tabelle 2). Vor allem die Brust- und Bauchflossen aber auch die Afterflossen wiesen zwischen rezenten Populationen (gezüchtet und wild) und Populationen aus dem 19. Jahrhundert klare Unterschiede auf. Bei Bachforellen aus dem 19. Jahrhundert waren sie lang und schmal, bei rezenten kurz und breit (Tabelle 2). Dabei waren die Flossen von Zuchtpopulationen grundsätzlich kleiner als die von Wildpopulationen. In der Folge unterschied sich auch die Flossenfläche: Sowohl die Gesamtfläche der Flossen als auch die Fläche der einzelnen Flossen war bei rezenten Wildpopulationen klar größer als bei Zuchtpopulationen und Wildpopulationen aus dem 19. Jahrhundert (Tabelle 2). Die graphische Rekonstruktion der Phänotypen ist aus Abbildung 2 ersichtlich.

Die Färbung der Bachforellen variierte innerhalb jeder Population beträchtlich. Häufig kamen innerhalb einer Population alle unterschiedlichen Farbvarianten vor, sowie große Unterschiede in der Dichte der Farbpunkte. Daher konnten in der Färbung keine klaren Unterschiede festgestellt werden, sondern nur statistisch nicht signifikante Tendenzen. Die schwarzen Punkte reichten bei Zuchtforellen meist bis zur Schwanzflosse, bei Wildpopulationen (rezent und 19. Jahrhundert) endeten sie meist zwischen Rücken- und Fettflosse. Die roten Punkte begannen bei Wildpopulationen aus dem 19. Jahrhundert bereits am Kiemendeckel, bei heutigen Wild- und Zuchtpopulationen eher nicht. Die roten Punkte zeigten bei rezenten Wild- und Zuchtpopulationen eine Tendenz unterhalb der Seitenlinie zu liegen. Bei Bachforellen aus dem 19. Jahrhundert lagen sie meist oberhalb und unterhalb der Seitenlinie.

Die morphometrischen Parameter wiesen zwischen den verschiedenen Zuchtpopulationen eine hohe Plastizität auf, da sich die untersuchten 8 Zuchtpopulationen untereinander in 17 (77%) Parametern unterschieden (Abstand Brustflosse - Bauchflosse, Abstand Kopfspitze -Auge, Abstand Mundspalt - Auge, Abstand Rückenflosse - Fettflosse, Augendurchmesser, Breite Afterflosse, Breite Brustflosse, Breite Kiemendeckel, Breite Schwanzflosse, Höhe Rückenflosse, Kopflänge, Körperbreite, Länge Afterflosse, Länge Brustflosse, Länge Mundspalt, Länge Rückenflosse, Länge Schwanzflosse). Die 6 untersuchten rezenten Wildpopulationen unterschieden sich untereinander in 10 (44%) Parametern, (Abstand Mundspalt - Auge, Abstand Kopfspitze - Brustflosse, Augendurchmesser, Breite Bauchflosse, Breite Kiemendeckel, Breite Schwanzflosse, Kopflänge, Körperbreite, Länge Mundspalt, Länge Rückenflosse). Die 6 Wildpopulationen aus dem 19. Jahrhundert unterschieden sich nur in 6 Parametern (22%) (Augendurchmesser, Bauchflosse Breite, Brustflosse Länge, Körperbreite, Rückenflosse Länge, Schwanzflosse Länge).

Auch die Färbung variierte zwischen den Zuchtpopulationen am stärksten (71% Variabilität), gefolgt von rezenten Wildpopulationen (57% Variabilität) und war in den Wildpopulationen aus dem 19. Jahrhundert am geringsten (43% Variabilität).

<u>Der Phänotyp von Seeforellen aus rezenten Populationen des 19. Jahrhundert und aus</u> <u>Zuchtpopulationen</u>

Die untersuchten Seeforellenpopulationen unterschieden sich nicht in der Totallänge (32,5 ± 7,0 cm). Die für die Untersuchungen erhältlichen rezenten Seeforellen waren Zuchtpopulationen. Sie konnten mit morphometrischen Parametern nicht eindeutig von Bachforellenzuchtpopulationen unterschieden werden. Diese Aussage muß aber kritisch betrachtet werden, da nur 2 rezente Seeforellenpopulationen untersucht werden konnten. Die Seeforellenpopulationen des 19. Jahrhunderts unterschieden sich in morphometrischen Parametern klar von Bachforellenpopulationen des 19. Jahrhunderts (Tabelle 2). Die Seeforellen waren hochrückiger, und hatten eine geringere Kopflänge. Schwanzflosse, Brustflossen, Bauchflossen und Afterflosse waren bei Seeforellen signifikant kleiner als bei Bachforellen. Die rezenten Seeforellen unterschieden sich in vielen Parametern von Seeforellenpoulationen aus dem 19. Jahrhundert (Tabelle 2, Abbildung 3). Die Schwanzflosse war bei rezenten Populationen größer, und die Rückenflosse länger. Typisch waren auch die bereits bei den Bachforellen beschriebenen Unterschiede in der Form der Brust- und Bauchflossen, die bei Seeforellen aus dem 19. Jahrhundert länger aber schmäler waren als bei rezenten Populationen. In der Färbung bestand zwischen den untersuchten Populationen keine Unterschiede. Der exakte Variationswert zwischen den einzelnen untersuchten Populationen ist in Anhang 1 aufgelistet.

Unterschiede im Phäntotyp zwischen einzelnen Bachforellen- und Seeforellenpopulationen

Die ermittelten morphometrischen Parameter unterschieden sich innerhalb einer Population nur gering. Der interne Variationswert betrug 20.1 \pm 3.4 und war für alle untersuchten Populationen gleich. In der Folge konnte definiert werden, dass sich der Phänotyp von Populationen bei einem Variationswert von ≤ 20 nicht unterschied. Per Definition wiesen





Bachforelle Typ Wildpopulation 19.Jahrhundert

Abbildung 2. Bachforellenphänotypen von Zuchtpopulationen, rezenten Wildpopulationen und Wildpopulationen des 19. Jahrhunderts. Computergrafik auf Datengrundlage von Tabelle 2.

Variationswerte >35 weisen auf einen hohen Grad an morphologischer Unterschiedlichkeit hin und somit auf unterschiedliche Phänotypen.

Die Bachforellenwildpopulationen aus dem 19. Jahrhundert zeigten untereinander eine große Ähnlichkeit, da 93% der Populationen den gleichen Phänotyp aufwiesen (Variationswert ≤ 20) (Tabelle 3). Bei den untersuchten Bachforellenzuchtpopulationen besaßen 37% der untersuchten Populationen den gleichen Phänotyp (Tabelle 3). Bei den untersuchten rezenten Bachforellenwildpopulationen wiesen nur 6% der Populationen den gleichen Phänotyp auf (Tabelle 3). Nur 3% der untersuchten Zuchtpopulationen besaßen den gleichen Phänotyp wie rezente Wildpopulationen (Tabelle 3). Keine der untersuchten Zuchtpopulationen und keine der untersuchten rezenten Wildpopulationen hatte den gleichen Phänotyp wie Wildpopulationen aus dem 19. Jahrhundert (Tabelle 3).

Die beiden Seeforellenwildpopulationen aus dem 19. Jahrhundert hatten den gleichen Phänotyp (Tabelle 3). Die untersuchten rezenten Populationen hatten nicht den gleichen Phänotyp (Tabelle 3). Keine der untersuchten rezenten Seeforellenpopulationen hatte den gleichen Phänotyp wie Wildpopulationen aus dem 19. Jahrhundert (Tabelle 3). Wie bereits oben erwähnt ist die Aussagekraft der Berechnung für Seeforellen aufgrund der geringen Anzahl von untersuchten Populationen begrenzt. Der exakte Variationswert zwischen den einzelnen untersuchten Populationen ist in Anhang 1 aufgelistet.



Seeforelle Typ rezente Population



Seeforelle Typ Wildpopulation 19. Jahrhundert

Abbildung 3. Seeforellenphänotypen von rezenten Populationen und Wildpopulationen des 19. Jahrhunderts. Computergrafik auf Datengrundlage von Tabelle 2.

Analyse der unterschiedlichen Populationen mittels Diskriminanzanalyse

Mittels Faktoranalyse konnten aus den ermittelten Parametern 7 Faktoren extrahiert werden (Tabelle 4). Faktor 1 erklärte 14,8% der beobachteten Varianz, Faktor 2 13,8%, Faktor3 11,9%, Faktor4 7,5%, Faktor 5 6,0%, Faktor 6 5,6% und Faktor 7 5,1%. Die 7 Faktoren wurden zur Diskriminanzanalyse verwendet. Zuerst wurden rezente BF Wildpopulationen, rezente BF Zuchtpopulationen, rezente SF Populationen und BF und SF Populationen des 19. JH. miteinander verglichen.4 Diskrimanzfunktionen wurden berechnet, wobei Funktion 1 75% der auftretenden Varaianz und Funtion 2 21% der Auftretenden Varianz erklärte. Die anderen Funktionen hatten nur einen geringen explanatorischen Effekt ($\leq 2,5\%$). Die graphische Lösung dieser 2 Funktionen ist in Abbildung 4 wiedergegeben. Mit diesen Funktionen konnten in einer nachfolgenden Klassifikationsanalyse 73,9% der Originalwerte zu den entsprechenden Gruppen zugeordnet werden.

Wurden nur die rezenten Wildpopulationen der Diskriminanzanalse unterworfen, ergaben sich folgende Ergebnisse: 5 Diskriminanzfunktionen (Funktion 1 53,6% der Varianz, Funktion 2 26,9 %, Funktion 3 14,1 %, restliche Funktionen $\leq 4,8\%$), exakte Zuordnung von 97,1 % der Originalwerte, graphische Lösung in Abb. 4). Für die rezenten Zuchtpopulationen ergaben sich folgende Ergebnisse: 6 Diskriminanzfunktionen (Funktion 1 61,9 % der Varianz,

Funktion 2 29,3 %, restliche Funktionen $\leq 4,4$ %), exakte Zuordnung von 91,3 % der Originalwerte, graphische Lösung in Abb. 4). Für die Populationen des 19. JH ergaben sich folgende Ergebnisse: 6 Diskriminanzfunktionen (Funktion 1 53,6 % der Varianz, Funktion 2 27,2 %, Funktion 3 12,5 %, restliche Funktionen $\leq 4,4$ %), exakte Zuordnung von 57,4 % der Originalwerte, graphische Lösung in Abb. 4).

Tabelle 3. Phänotypische Übereinstimmung von Bachforellen- und Seeforellenpopulationen basierend auf der Berechnung von Variationswerten (Beschreibung siehe im Text). Die einzelnen Populationen jeder Großgruppe wurden miteinander verglichen. In der ersten Zeile jeder Zelle ist der prozentuelle Wert der gleichen Populationen dargestellt, in der 2. Zeile in Klammer die absoluten Werte (Anzahl gleicher Populationen in Abhängigkeit von Anzahl möglicher und sinnvoller Kombinationsmöglichkeiten, z.B.: 2 von 15: 2 Populationen gleichen anderen Populationen wobei 15 Vergleiche durchgeführt wurden).

| | Bachforelle, rezent & wild | Bachforelle, Zucht | Bachforelle, 19. Jh. | Secforelle, 19.Jh | Seeforelle, rezent |
|---------------------------|-------------------------------|--------------------|----------------------|-------------------|--------------------|
| Bachforelle, rezent, wild | 6.6% | | | | |
| | (2 von 15) | | | | |
| Bachforelle, Zucht | 10,2% | 37,0% | | | |
| | (5 von 48) | (10 von 46) | | | |
| Bachforelle, 19. Jh. | 0,0% | 0,0% | 93,3% | | |
| | (0 von 36) | (0 von 42) | (11 von 15) | | |
| Seeforelle, 19.Jh | 0.0% | 25,0% | 66,6% | 100,0% | |
| | (0 von 12) | (3 von 14) | (8 von 12) | (2 von 2) | |
| Seeforelle, rezent | 8.8% | 33,3% | 8,3% | 0,0% | 0,0% |
| | (1 von 12) | (4 von 14) | (1 von 8) | (0 von 2) | (0 von 2) |

Tabelle 4. Faktoren, die mittels Faktoranalyse aus den Meßparametern extrahiert wurden (Zahlen in Klammer sind die Werte der Komponentenmatrix, Varimaxdrehung with Kaiser Normalisierung).

| Faktor 1 | Mundspalt, oben (0.429), Kopfspitze -Auge (0.753), Kopflänge (0.746), Breite Kiemendeckel (0.654), Abstand Kopfspitze - Brustflosse (0.756), Länge der Brustflosse (0.500) |
|----------|--|
| Factor 2 | Länge Schwanzflosse (0.584), Länge Rückenflosse (0.500), Breite Bauchflosse (0.772) |
| Factor 3 | Breite Brustflosse (0.576), Länge Bauchflosse (0.843), Länge Afterflosse (0.807) |
| Factor 4 | Augendurchmesser (0.751), Mundspalt, oben (0.444), Abstand Rückenflosse - Fettflosse (0.650), Breite Schwanzflosse (0.508) |
| Factor 5 | Breite Afterflosse (0.767) |
| Factor 6 | Abstand Brustflosse - Bauchflosse (0.602), Höhe Rückenflosse (0.682), |
| Factor 7 | Körperhöhe (0.337), Abstand Kopfspitze - Rückenflosse (0.530), Abstand Bauchflosse - Afterflosse (0.637) |



Abbildung 4. Graphische Darstellung der unterschiedlichen Salmo trutta Morphotypen basierend auf den Gruppencentrioden der ersten 2 Diskriminazfunktionen. Die einzelnen Populationen sind der Übersicht halber nicht im Einzelnen beschriftet.

Diskussion

Die vorliegende Studie zeigt, dass sich rezente österreichische Wild- und Zuchtpopulationen von Bach- und Seeforellen klar von einander unterscheiden und auch von Wildpopulationen aus dem 19. Jahrhundert. Grundsätzlich darf nicht erwartet werden, dass der Phänotyp der Fische auch einen Hinweis auf deren genetische Identität oder Heterogenität gibt. Dies kann, muss aber nicht der Fall sein (Cadrin, 2000). Grundsätzlich können in natürlichen, unbeeinflußten Systemen unterschiedliche Phänotypen auf folgende Art erklärt werden (Hynes et al., 1996): (1) ökologisch bedingt als Ökophänotypen (diese unterscheiden sich aufgrund der Anpassung an verschiedenen Umweltbedingungen, sind aber genetisch gleich), (2) als invasionsbedingte Phänotypen (durch wiederholte Besiedelung [Invasion] kommt es zur Bildung von Populationen, die sich sowohl phänotypisch als auch genetisch unterscheiden), (3) durch Besiedelung eines Gebietes mit einem Urstamm, der sich in morphologisch und genetisch unterschiedliche Populationen aufspaltet. Grundsätzlich wird davon ausgegangen, dass der österreichische Raum von pontokaspischen Formen besiedelt war und eine Invasion von Atlantikformen erfolgte (Hynes et al., 1996), wobei unklar ist ob diese Besiedelung anthropogen bedingt war (Besatz) oder auf natürlichem Wege erfolgte. Bei

Bachforellen und Seeforellen ist aufgrund der intensiven Besatzmaßnahmen eine Identifizierung von ursprünglichen rezenten Populationen kaum möglich, insbesondere da die Nachbesetzung oft unter kommerziellen Aspekten (Größe, Schnellwüchsigkeit) und ästhetischen Aspekten (attraktive Färbung) erfolgte.

In der vorliegenden Untersuchung wurde die Analyse der Daten in folgender Weise durchgeführt. Zuerst wurden die Populationen zu Großgruppen zusammengefaßt (Zuchtpopulationen, rezente Wildpopulationen, Wildpopulationen des 19. Jahrhunderts) und es wurde untersucht, ob sich diese unterscheiden. Dieser Analyseweg war sinnvoll, um die generellen Phänotypen zu beschreiben, wobei Zuchtpopulationen, rezente Wildpopulationen und Wildpopulationen des 19. Jahrhunderts sehr klar unterschieden werden konnten. Wie allgemein bekannt (Cadrin, 2000), werden Unterschiede in der Kopfform, der Körperdicke und Körperhöhe durch den Ernährungsstatus bedingt, wie auch in eigenen Versuchen mit unterschiedlichen Futtermengen bestätigt werden konnte. Auch die Reduktion der Brust- und Bauchflossen und des Augendurchmessers von Zuchtfischen ist seit langem bekannt (Cadrin, 2000). Es kann gefolgert werden, dass Zuchtfische aufgrund ihres Phänotyps in natürlichen Lebensräumen eine verminderte Überlebensfähigkeit haben, dafür aber aufgrund ihrer Körpergröße und Körperdicke als Speisefische prädestiniert sind. Es ist bis jetzt nicht bekannt, ob die bei Zuchtfischen beobachtete Reduktion der Flossen und des Augendurchmesser genetisch bedingt sind oder reversibel wie Hochrückigkeit und Kopfform (Cadrin, 2000). Im ersten Fall würde dies auch die Nachbesetzung mit aus Zuchten stammenden Jungfischen als ungeeignet erscheinen lassen. Ganz klar konnten aufgrund der Flossenform die rezenten Wildpopulationen von Wildpopulationen aus dem 19. Jahrhundert abgegrenzt werden. Die langen, schmalen Flossen der Wildpopulationen des 19. Jahrhunderts resultieren in einer im Vergleich zu rezenten Wildpopulationen geringerer Flossenfläche. Diese Daten sind unerwartet, da – wenn man von rezenten Wildpopulationen ausgeht der empirische Leitsatz gilt: "Je ursprünglicher eine Population und je besser an Freiwasserbedingungen adaptiert, desto größer die Flossen. Es kann angenommen werden, dass längere und schmälere Flossen aufgrund der guten Hebelwirkung im Vergleich zu rezenten Wildpopulationen geringeren Fläche eine effizientere Kraftnutzung ermöglichen. Weiters zeigten die Untersuchungen, dass im 19. Jahrhundert Seeforellen und Bachforellenpopulationen zwar ähnlich waren, aber dennoch einen klar voneinander abgegrenzten Phänotyp aufwiesen, während bei rezenten Populationen (zumindest bei den für die Untersuchungen erhältlichen) eine klare Abgrenzung nicht mehr möglich war.

Anschließend wurden Untersuchungen durchgeführt, um die Gleichheit bzw. Verschiedenheit einzelner Populationen zu beschreiben. Dazu wurden 2 Populationen miteinander verglichen und der Variationswert berechnet, ein Wert der die Summe der Unterschiede aller Messparametern beschreibt, und damit die Ähnlichkeit des gesamten Phänotyps charakterisiert. Weiters wurden diese Berechnungen ergänzend mittels Diskriminanzanalyse durchgeführt. Basierend auf diesen Berechnungen können folgende Bachforellenwildpopulationen Schlüsse gezogen werden. Die heutigen und Zuchtpopulationen sind in ihrem Phänotyp heterogen, das heißt sie weisen untereinander kaum Ähnlichkeiten auf. Dagegen weisen die Bachforellenpopulationen des 19. Jahrhunderts untereinander ein sehr ähnliches Aussehen auf, und auch eine Ähnlichkeit zu Seeforellen des 19. Jahrhunderts. Ähnlichkeiten zwischen Wildpopulationen des 19. Jahrhunderts und rezenten Wildpopulationen oder Zuchtpopulationen bestehen nicht. Daraus kann geschlossen werden, das der Bachforellenphänotyp des 19. Jahrhunderts in den heutigen Gewässern soweit untersucht – nicht mehr existiert. Die Ursachen für diese Veränderungen sowie für die Heterogenität der heutigen Wildpopulationen sind mit dem vorliegenden Datenmaterial nicht zu erklären. Die Ursache könnten anthropogene Einflüsse sein, wie Besatzmaßnahmen, starke Isolation durch Gewässerverbauung, unterschiedlicheres Nahrungsangebot, oder Selektion durch Befischung. Aber auch die Ausdifferenzierung lokaler Phänotypen wäre möglich.

Molekulargenetische Daten und insbesondere weiterführende Untersuchungen über Veränderungen und Differenzierungen von Zucht- und Wildfischen unter verschiedenen ökologischen Bedingungen sind nötig, um diese Fragen zu beantworten.

Die Färbung und Zeichnung von Bachforellen variierte innerhalb jeder Population beträchtlich, da praktisch alle möglichen Farbvariationen vorkommen konnten. Dies macht die Farbparameter als diagnostisches Mittel ungeeignet.

Danksagung

Wir bedanken uns für die großzügige Bereitstellung von Untersuchungsmaterial bei Herrn Dr. Mikschi, Naturhistorisches Museum Wien, sowie bei den in Tabelle 1 angeführten Fischzuchten und Bewirtschaftern von Wildgewässern.

LITERATUR

- Cadrin S.X. 2000. Advances in morphometric identification of fishery stocks. Reviews in Fish Biology and Fisheries 10: 91-112.
- Holčík , J., Banarrescu, P., und D. Evans 1989. General introduction to fishes. 18-147 in: J. Holčík (editor). The freshwater Fishes of Europe. Aula-Verlag, Wiesbaden.
- Hynes, R.A., Ferguson, A. und M.A. McCann, 1996. Variation in mitochondrial DNA and post-glacial colonization of western Europe by brown trout. Journal of Fish Biology 48: 54-67.
- Sanford, C.P.J. (1990). The phylogenetic relationships of salmonid fishes. Bulletin of the British Museum of Natural History Zoology 56: 145-153.

Der Genotyp rezenter österreichischer *Salmo trutta* Populationen im Vergleich zu Populationen des 19. Jahrhunderts basierend auf RFLP von mtDNA

Abstract: The genotype of Austrian *Salmo trutta* populations in comparison to those from the 19th century as revealed by RFLP of mtDNA

The present study investigates the genotype of *Salmo trutta* populations from Upper Austria, Steiermark and Salzburg by restriction-fragment-length-polymorphism (RFLP) of mitochondrial DNA (mtDNA) comparing populations of today with those from the 19th century. The present populations differ from those of the 19th century in the genotype composition, the genetic diversity, and biochemical diversity. Genetic relationships between the different populations are discussed.

Einleitung

In vielen österreichischen Gewässersystemen ist der Nachbesatz mit Fischen nötig, zum einem aufgrund des jährlichen Ausfangs durch Fischerei, zum anderen sind manche Gewässer durch Verbauung und Stauhaltung so stark geschädigt, daß sich die Fischbestände nicht mehr selbst erhalten können. Entsprechend der "Österreichischen Strategie zur Umsetzung des Übereinkommens über die biologische Vielfalt" soll beim Nachbesatz spezielles Augenmerk darauf gelegt werden, die natürliche Vielfalt und genetische Variabilität der Fischfauna zu erhalten. Dies gilt nicht nur für die Arterhaltung, sondern auch für die Erhaltung von Regionaltypen. Der Erhaltung der Regionaltypen (autochthonen Populationen) wird eine wichtige Bedeutung zugeordnet: Spezielle genetische Information stellt einen Parameter dar, über den die Fische verfügen müssen, um sich einer speziellen Umwelt anzupassen und Fische mit anderer genetischer Information sind möglicherweise nicht in der Lage sich in ihrer Besatzregion zurechtzufinden.

Im österreichischen Raum wurden besonders an der Forelle, *Salmo trutta* Linné (Bachforelle – *Salmo trutta f. fario*, Seeforelle - *Salmo trutta f. lacustris*) intensive Besatzmaßnahmen betrieben, und es muß erwartet werden, dass es im letzten Jahrhundert zu einer weitgehenden Veränderung der ursprünglichen Bestände kam. Zur Zeit ist unklar, wieweit sich die heutigen Wildpopulationen von den früheren, ursprünglichen Populationen unterscheiden, bzw. welchen Genotyp diese alten Populationen hatten. Das Hauptproblem liegt darin, dass der ursprüngliche *Salmo trutta* Genotyp heute möglicherweise nicht mehr vorhanden ist, bzw. wenn er noch vorhanden ist, nicht als solcher erkannt werden kann.

Deshalb wurde die vorliegende Studie durchgeführt. Sie untersucht den Genotyp von Bachforellen- und Seeforellenpopulationen aus Oberösterreich, Steiermark und Salzburg, und zwar von heutigen, als anthropogen unbeeinflusst geltenden Wildpopulationen, von den gängigsten Zuchtpopulationen, die in diesem Raum zur Nachbesetzung verwendet werden und von Populationen des 19. Jahrhunderts (Museumsmaterial), also aus einer Zeit bevor die intensive Nachbesetzung einsetzte. Als molekulargenetischer Marker wird Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP) von mitochondrieller Desoxyribonukleinsäure (mtDNA) verwendet. mtDNA wird nur mütterlicherseits, also ohne Rekombination mit väterlichen Genen vererbt, und repräsentiert damit einen Marker, der für phylogenetische Fragestellungen Anwendung findet und daher auch für diese Studie geeignet ist.

Material und Methoden

Untersuchte Fischpopulationen

Die untersuchten Bachforellen- und Seeforellenpopulationen sind nachfolgend aufgelistet. Die Populationen aus dem 19. Jahrhundert stammen aus der Fischsammlung des naturhistorischen Museums in Wien.

Zuchtpopulationen: BF (Bachforelle) Erboe - Dänemark (gesammelt 2001, 15 Proben), BF Besatzstamm Forstamt Grein - N.Ö. (2000 – 2001, 12 Proben), BF Besatzstamm Forstamt

Windischgarsten - O.Ö. (2002, 15 Proben), BF Zuchtstamm Glück - Mauerkirchen - O.Ö. (2002, 10 Proben), BF Zuchtstamm Glück - Wolfern - O.Ö. (2002, 10 Proben), BF Zuchtstamm Hartl - St. Peter i. d. Au - O.Ö. (2001, 10 Proben), BF Zuchtstamm Magg - Saalfelden - Sbg. (2002, 10 Proben), BF Zuchtstamm "Steinforelle" aus Zucht Wienerroithner - Unterach - O.Ö. (2001, 15 Proben), BF Zuchtstamm Unger - Bad Wimsbach-Neidharting - O.Ö. (2002, 15 Proben), SF (Seeforelle) Attersee - Fischzucht Kreuzstein, Sbg. (2002, 8 Proben), SF Zuchtstamm Glück, Mauerkirchen O.Ö. (2002, 7 Proben), SF Walchensee bezogen aus Zucht Wienerroither - Unterrach O.Ö. (2000, 15 Proben), BF alter Tiroler Stamm (2002, 12 Proben).

<u>rezente Wildpopulationen:</u> BF Aurach - O.Ö (2001, 12 Proben), BF Bachlalm – Ablauf Lanschitzseen - Sbg (2001, 6 Proben), BF Blühnbach - Sbg. (2000-2002, 15 Proben), BF Feistritz – Mühlviertel - O.Ö. (2001, 15 Proben), BF Lammer, Sbg. (2002, 14 Proben), BF Leisnitz – Lungau -Sbg. (2002, 15 Proben), BF Nationalpark Kalkalpen - Ameisbach - O.Ö. (2001, 12 Proben), BF Nationalpark Hohe Tauern – Hollersbach - Sbg. (2001, 12 Proben), BF Nationalpark Kalkalpen – Jörglbach - O.Ö. (2002, 15 Proben), BF Nationalpark Kalkalpen – Nikelsbach - O.Ö. (2002, 10 Proben), BF Schnablingerbach – Mühlviertel (2003, 15 Proben), BF Lintnerbach – Mühlviertel (2003, 15 Proben), BF Schafbach – Mühlviertel (2002, 15 Proben), BF Steinerne Mühl – Mühlviertel (2002, 15 Proben).

<u>Populationen des 19. JH.</u>: SF Attersee (1876 – 3 Proben, 1881 - 1 Probe), SF Traunsee (1863 - 3 Proben, 1883 – 3 Proben, 1899 – 1 Probe, 1890 – 2 Proben, 1909 – 1 Probe), BF Bad Aussee – Stmk. (1880 – 6 Proben, 1890 – 3 Proben), BF Filzbach 1800 m Seehöhe - Pinzgau, Sbg. (1899 – 5 Proben), BF Hintersee - Sbg. (1900 – 1 Probe, 1902 – 6 Proben), BF Krems bei Kirchdorf - O.Ö. (1878 – 4 Proben), BF Mürz - Stmk. (1880 – 5 Proben), BF Traun - Bad Ischl - O.Ö. (1887 – 8 Proben).

Genotypische Untersuchungen

Von den zu untersuchenden Fischen wurden Gewebsproben entnommen und in 96% Äthanol konserviert. Auch das Museumsmaterial war in Alkohol gelagert. Über dessen Vorbehandlung insbesondere mit Formaldeyhd und die Einwirkungsdauer desselben gibt es keine exakten Angaben. Die Proben wurden homogenisiert, das Protein mittels Protease K verdaut und die DNA mittels NucleoSpin Verfahren (Macherey-Nagel GmbH Deutschland) zuerst aufgereinigt und dann eluiert. Mittels der Polymerase-Kettenreaktion (Polymerase Chain Reaction = PCR) wurden das ND1 Segment und das ND5/6 Segment der mitochondriellen DNA (mtDNA) amplifiziert (30 Zyklen jeweils 30 sec bei 95°C, 45 sec bei 52°C, 150 sec bei 72°C). Die verwendeten Primerpaare waren 5'-GCCTCGCCTGTTTACCAAAAACAT-3' und 5'-GGTATGGGCCCGAAAGCTTA-3' für das ND1 Segment und 5'-AATAGCTCATCCATTGGTCTTAGG-3' und 5'-TAACAACGGTGGTTTTTCAAGTCA-3 für das ND 5/6 Segment. Das ND1 Segment wurden anschließend mit den Restriktionsenzymen AluI, AvaII, HaeIII, HinfI geschnitten, das Segment ND5/6 mit den Enzymen ClaI, HinfI, HpaII und TaqI. Voruntersuchungen hatten gezeigt, dass diese Enzyme für eine Unterscheidung der zu untersuchenden Populationen am Besten geeignet waren. In Voruntersuchungen wurde auch das Cyt B/D-loop Segment amplifiziert und mit den Restriktionsenzymen Hinfl, Hpall, Rsal, und Taql geschnitten. Dies brachte aber für die untersuchten Populationen keine klaren diagnostischen Aussagen. Die resultierenden DNA-Fragmente wurden mittels Polyacrylamidgelelektrophorese und einem Tris-Borat-Buffersystem aufgetrennt. Färbung und Größenbestimmung der aufgetrennten Moleküle erfolgte mittels Routinemethoden. Für sämtliche untersuchten Proben wurde das PCR Produkt mittels Polyacrylamidgelelektrophorese auf Größe des amplifizierten Teilstücks und Einheitlichkeit (Amplifikation von nur einem Abschnitt) untersucht, sowie die Menge der amplifizierten DNA semiquantitativ ermittelt. Ausgewählte Proben wurden mehrmals analysiert um die Reproduzierbarkeit der Methode sicherzustellen.

Zur Auswertung wurden die Gele digitalisiert, eine Restriktions-Fragment Matrix wurde erstellt, und diese für die Auswertungsprogramme Popgene 1.31., Phylip und Arlequin aufbereitet.

Das Vorkommen und die Häufigkeit der aus den RFLP-Mappen resultierenden Haplotypen, sowie deren genetische und biochemische Diversität wurde ermittelt. Dann wurde die genetische Distanz (Nei 1972) zwischen den untersuchten Zuchtpopulationen, Wildpopulationen und Museumspopulationen berechnet. Um den Verwandtschaftsgrad und die Beziehungen zwischen den Populationen besser darstellen zu können, wurden Dendrogramme basierend auf Nei's (1972) genetischer Distanz erstellt (Methode: UPGMA, modifiziertes Neighbour Verfahren der PHYLIP Version 3.5).

Ergebnisse

Entsprechend dem Bandenmuster der amplifizierten und dann mit Restriktionsenzymen geschnittenen DNA Segmente konnten 16 verschiedene Haplotypen (genetische Typen) definiert werden (Tabelle 1). Ihr Vorkommen und ihre Häufigkeit variierte in den untersuchten Populationen (Tabelle 2). Manche Populationen wiesen nur einen Haplotyp auf, andere dagegen 3 oder sogar 4 (Tabelle 2). Entsprechend variierte auch die genetische und die biochemische Diversität. Grundsätzlich war die mittlere genetische und biochemische Diversität sowie der prozentuelle Anteil der polymorphen Restriktionsorte bei Zuchtpopulationen (genetische Diversität: 0.023 ± 0.22 , biochemische Diversität 53.9 ± 26.0 , polymorphe Restriktionsorte $5.3 \pm 4.7\%$; n = 13) und rezenten Wildpopulationen (genetische Diversität: 0.024 ± 0.021 , biochemische Diversität 60.1 ± 28.9 , polymorphe Restriktionsorte $6.7 \pm 5.1\%$; n = 14) höher als bei Populationen aus dem 19. JH (genetische Diversität: 0.007 ± 0.002 , biochemische Diversität: 33.7 ± 16.9 , polymorphe Restriktionsorte $1.4 \pm 0.8\%$; n = 8).

| Genotyp | ND | 5 | | RD 1 | | | | | |
|---------|----|----|----|------|----|----|----|----|--|
| | Та | Hi | Нр | Cl | Al | Av | Ha | Hi | |
| | Α | А | В | В | В | А | С | В | |
| | В | А | Α | В | С | В | А | В | |
| | Α | А | А | E | С | С | В | С | |
| IV | С | В | С | А | D | D | Е | D | |
| V | С | С | Α | Е | D | D | D | Е | |
| VI | С | А | А | E | Е | Н | С | Е | |
| VII | D | D | Е | F | D | С | D | F | |
| VIII | E | Е | D | G | G | E | F | D | |
| IX | E | Е | F | F | А | F | G | Α | |
| Х | D | D | D | С | F | E | Н | Α | |
| XI | F | F | G | D | А | G | G | А | |
| XII | G | G | F | D | А | G | G | Α | |
| XIII | F | Н | Н | Н | Н | I | I | G | |
| XIV | С | Ι | А | I | Е | Н | D | Н | |
| XV | D | Κ | Е | J | D | С | D | Ι | |

Tabelle 1. Zusammensetzung der einzelnen Haplotypen basierend auf der Restriktionsanalyse von mitochondrieller DNA. ND5 und RD1 bezeichnen die untersuchten (amplifizierten) DNA Bereiche. Restriktionsenzyme: Al -AluI, Av - AvaII, Cl - ClaI, Ha - HaeIII, Hi - HinfI, Hp – HpaII, Ta – TaqI.

| Tabelle 2. | Vorkor | nmen | und Häufigl | ceit de | er Haplotypen | der untersu | ichten H | Bachf | orellen- un | d Se | efore | eller | ipopulatio | onen, |
|------------|--------|--------|-------------|---------|----------------|-------------|----------|-------|-------------|------|-------|-------|------------|-------|
| | sowie | deren | genetische | und | biochemische | Diversität | (Theta | (Pi) | basierend | auf | der | in | Material | und |
| | Metho | den be | schriebenen | Restri | iktionsanalyse | von mitoch | ondriell | er DN | IA. | | | | | |

| Population/ | Ι | II | III | IV | V | VI | VII | VIII | IX | Х | XI | XII | XIII | XIV | XV | genetische | biochem. |
|------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------------------|------------------|
| Genotyp | | | | | | | | | | | | | | | | Diversität | Diversität |
| Wildpopulationen | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Ameisbach, BF | | | | | | | | 0,83 | 0,17 | | | | | | | 0.016 ± 0.010 | 2.86 ± 1.82 |
| Aurach, BF | | 0,79 | | 0,21 | | | | | | | | | | | | 0.029 ± 0.017 | 5.05 ± 2.99 |
| Bachlalm, BF | | | | 0,38 | | 0,62 | | | | | | | | | | 0.016 ± 0.008 | 2.90 ± 1.70 |
| Blühnbach, BF | | | | | | | | | 0,67 | 0,11 | 0,11 | 0,11 | | | | 0.065 ± 0.037 | 11.35 ± 6.57 |
| Hollersbach, BF | | | | | | 0,91 | 0,09 | | | | | | | | | 0.070 ± 0.038 | 12.28 ± 6.67 |
| Feistritz, BF | | | | | | | | 1,00 | | | | | | | | 0.011 ± 0.007 | 2.00 ± 1.38 |
| Jörglbach, BF | | | | 1,00 | | | | | | | | | | | | 0.000 ± 0.000 | 0.00 ± 0.00 |
| Lammer, BF | | | | 0,86 | 0,14 | | | | | | | | | | | 0.015 ± 0.009 | 2.67 ± 1.68 |
| Leißnitz, BF | | | | | | 1,00 | | | | | | | | | | 0.000 ± 0.000 | 0.00 ± 0.00 |
| Nickelsbach, BF | | | | | | | 1,00 | | | | | | | | | 0.000 ± 0.000 | 0.00 ± 0.00 |
| Schnablingerbach | | | | | 0,13 | 0,13 | | | | | | | 074 | | | 0.011 ± 0.008 | 1.89 ± 1.34 |
| Steinerne Mühl | | | | | | | | | | | | | | | 1,00 | 0.002 ± 0.001 | 0.33 ± 0.28 |
| Lintnerbach | | | | | | 0,13 | | | | | | | 0,87 | | | 0.010 ± 0.009 | 1.74± 1.54 |
| Schafbach | | | | | | | | | | | | | | 1,00 | | 0.000 ± 0.000 | 0.00 ± 0.00 |
| 19. JH | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Bad Aussee, BF | 1,00 | | | | | | | | | | | | | | | 0.000 ± 0.000 | 0.00 ± 0.00 |
| Krems, BF | | | | | 1,00 | | | | | | | | | | | 0.000 ± 0.000 | 0.00 ± 0.00 |
| Mürz, BF | | | 1,00 | | | | | | | | | | | | | 0.012 ± 0.010 | 2.16 ± 1.78 |
| Traun, BF | | 0,75 | 0,25 | | | | | | | | | | | | | 0.008 ± 0.007 | 1.50 ± 1.33 |
| Hintersee, BF | 1,00 | | | | | | | | | | | | | | | 0.006 ± 0.006 | 1.16 ± 1.10 |
| Attersee, SF | | | | 1,00 | | | | | | | | | | | | 0.011 ± 0.009 | 2.00 ± 1.67 |
| Traunsee, SF | | | 1,00 | | | | | | | | | | | | | 0.009 ± 0.008 | 1.66 ± 1.45 |
| Zucht | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Attersee | | | | | | 0,39 | 0,38 | 0,23 | | | | | | | | 0.021 ± 0.014 | 3.82 ± 2.44 |
| Grein, BF | | | | | | | | 0,54 | 0,13 | 0,33 | | | | | | 0.085 ± 0.045 | 14.87 ± 7.95 |
| Erboe, BF | | | | | | | | | | | | | 1,00 | | | 0.004 ± 0.004 | 0.75 ± 0.69 |
| Glück A1, BF | | | 0,13 | 0,75 | 0,13 | | | | | | | | | | | 0.010 ± 0.007 | 1.80 ± 1.35 |
| Glück B1, BF | | | | | 0,13 | 0,87 | | | | | | | | | | 0.005 ± 0.004 | 0.95 ± 0.84 |
| Glück A1, SF | | | | | | 1,00 | | | | | | | | | | 0.013 ± 0.009 | 2.38 ± 1.68 |
| Hartl, BF | | | | | | | | 0,29 | 0,64 | 0,07 | | | | | | 0.029 ± 0.016 | 5.04 ± 2.91 |
| Magg, BF | | | | | | 1,00 | | | | | | | | | | 0.003 ± 0.003 | 0.53 ± 0.58 |
| Steinforelle, BF | | | | | 0,34 | 0,33 | 0,33 | | | | | | | | | 0.055 ± 0.034 | 9.60 ± 5.93 |
| Tiroler Stamm, BF | | 0,33 | 0,67 | | | | | | | | | | | | | 0.014 ± 0.010 | 2.46 ± 1.78 |
| Unger, BF | | | | | 1,00 | | | | | | | | | | | 0.030 ± 0.018 | 5.32 ± 3.27 |
| Walchensee, BF | | | | | | 0,29 | 0,43 | 0,28 | | | | | | | | 0.049 ± 0.029 | 8.60 ± 5.07 |
| Windischgarsten, BF | | | | | | | | 0,86 | 0,14 | | | | | | | 0.003 ± 0.003 | 0.57 ± 0.59 |

Die genetische Entfernung (Berechnung nach Nei, 1972) stellt ein Maß dar, mit dem die genetische Unterschiedlichkeit zwischen Populationen berechnet werden kann, wobei der Wert umso größer wird, je größer der Unterschied ist. Zwischen den untersuchten Populationen betrug die maximale genetische Entfernung 0,802, die minimale genetische Entfernung 0,071. Die mittlere genetische Entfernung zwischen den untersuchten Zuchtpopulationen betrug 0,451 \pm 0,146 (Mittelwert \pm Standardabweichung für alle möglichen Vergleiche von zu dieser Gruppe gehörigen Populationen),

zwischen den rezenten Wildpopulationen $0,436 \pm 0,069$. Zwischen den Museumspopulationen war die genetische Entfernung geringer, da sie nur $0,343 \pm 0,057$ betrug. Wurden die Wildpopulationen des 19. JH mit den rezenten Wildpopulationen verglichen, ergab sich eine mittlere genetische Entfernung von $0,440 \pm 0,090$ (Mittelwert \pm Standardabweichung für alle möglichen Vergleiche). Zwischen den rezenten Wildpopulationen und Zuchtpopulationen betrug die mittlere genetische Entfernung $0,437 \pm 0,068$, zwischen den rezenten Wildpopulationen und Zuchtpopulationen $0,432 \pm 0,143$. Gleiche Ergebnisse wurden erzielt, wenn anstelle der genetischen Entfernung die durchschnittliche Anzahl der paarweisen Unterschiede zwischen Populationen berechnet wurden (average number of pairwise differences between populations, distance method: Proportion of difference). Es ergaben sich folgende prozentuellen Werte: innerhalb der Zuchtpopulationen 62,3%, innerhalb der Wildpopulationen 57,5% und innerhalb der Populationen des 19. JH. 50,5%; Vergleich Zuchtpopulationen zu Populationen des 19. JH. 64,3%, Wildpopulationen zu Populationen des 19. JH. 61,8%, Wildpopulationen zu Zuchtpopulationen 65,2%.

| Vergleich | | NGD |
|----------------------|-------------------|-------|
| Zucht | Zucht | |
| SF Glück | BF Glück, Stamm 2 | 0,292 |
| SF Glück | BF Glück, Stamm 1 | 0,207 |
| SF Glück | BF Unger | 0,281 |
| BF Glück, Stamm 1 | BF Glück, Stamm 1 | 0,216 |
| BF Glück, Stamm 1 | BF Steinforelle | 0,298 |
| BF Glück, Stamm 2 | BF Unger | 0,233 |
| wild 19. JH | wild 19. JH | |
| SF Attersee | BF Hintersee | 0,253 |
| BF Aussee | BF Filzbach | 0,261 |
| SF Attersee | BF Aussee | 0,269 |
| BF Mürz | BF Aussee | 0,270 |
| BF Aussee | BF Traun | 0,275 |
| SF Attersee | BF Krems | 0,290 |
| BF Mürz | BF Filzbach | 0,298 |
| BF Krems | BF Hintersee | 0,299 |
| rezent wild | Zucht | |
| BF Aurach | BF Unger | 0,298 |
| Lammer | BF Unger | 0,288 |
| BF Schnablinger Bach | BF Glück, Stamm 1 | 0,275 |
| BF Lintnerbach | BF Glück, Stamm 1 | 0,26 |
| BF Steinforelle | BF Glück, Stamm 1 | 0,268 |
| rezent wild | rezent wild | |
| BF Schnablinger Bach | BF Lintnerbach | 0.071 |

Tabelle 3. Bachforellen- bzw. Seeforellenpopulationen, die zueinander eine geringe (< 0.300) genetische Entfernung (NGD) (nach Nei, 1972) aufweisen.

Basierend auf den Mittelwerten und den Minimum/Maximum-Werten der genetischen Entfernung wurde angenommen, dass Populationen mit einer genetischen Entfernung <0,300 eine genetische Ähnlichkeit haben. Unter dieser Annahme hatten alle Populationen des 19. JH. untereinander einen ähnlichen Genotyp (Tabelle 3), obwohl sie wie die rezenten Populationen aus unterschiedlichen Einzugsgebieten stammen. Auch verschiedenen Zuchtpopulationen und rezente Wildpopulationen waren untereinander und zueinander genetisch ähnlich (Tabelle 3). Dagegen war

zwischen rezenten Wildpopulationen und Populationen des 19. JH. die genetische Distanz $\geq 0,300$, ebenso zwischen rezenten Zuchtpopulation und Populationen des 19. JH. Einige Populationen wiesen eine genetische Distanz von 0,300 bis 0,350 zu Populationen des 19. JH. auf, was als eine entfernte genetische Ähnlichkeit bezeichnet werden kann. Diese sind in Tabelle 4 aufgelistet.

Die genetische Entfernung bzw. Ähnlichkeit zwischen den untersuchten Populationen wurde auch in einem Dendrogramm mittels graphischer Methoden dargestellt. Ein Dendrogramm des hier gezeigten Typs besteht aus Ästen und Knoten (Aufzweigungspunkten). Je kürzer die über die Äste und Knoten dargestellte Verbindung zwischen zwei Populationen ist, desto enger sind sie verwandt. Die Entfernung wird dabei mit Hilfe des beigefügten Maßstabs bestimmt. Weiters werden durch diese Art der Darstellung Populationen, die zueinander am ähnlichsten sind, in dieselben Gruppen eingeordnet. Das Dendrogramm für die untersuchten Salmo trutta Populationen wird in Abbildung 1 gezeigt. Es weist 3 große Gruppen auf: Gruppe 2, die mittlere Gruppe wird nur von den Wildpopulationen des 19. JH gebildet. Keine rezenten Populationen wurden zu den Populationen des 19. JH positioniert. Gruppe 1, die obere Gruppe, besteht aus rezenten Wild- und Zuchtpopulationen, wobei in diese Gruppe vorwiegend Wildpopulationen aus dem Mühlviertel und Zuchtpopulationen aus dem Alpenvorland positioniert wurden (Ausnahmen: BF Fischzucht Magg, SF Walchensee). In Gruppe 3, der unteren Gruppe, finden sich hauptsächlich Populationen aus den Kalkalpen und deren Randgebieten (Flyschzone) sowie aus den Zentralalpen (Ausnahme: Population BF Feistritz, Mühlviertel). Einige Populationen wurden völlig separat positioniert (BF Ameisbach und 2 Zuchtstämme). Diese Populationen weisen eine große genetische Entfernung zueinander und zu den anderen Populationen auf. Äußerst isoliert positioniert wurde auch eine Gruppe bestehend aus SF Attersee rezent, BF Blühnbach und ein Zuchtstamm des Forstamts Grein. Am isoliertesten überhaupt steht der dänische Zuchtstamm Erboe.

| Vergleich | | NGD |
|------------------|----------------------|-------|
| wild 19. JH | rezent wild | |
| Hintersee 19.JH | BF Lammer | 0,320 |
| Hintersee 19.JH | BF Feistritz | 0,337 |
| Hintersee 19. JH | BF Aurach | 0,344 |
| BF Traun 19. JH | BF Hollersbach | 0,348 |
| BF Aussee 19. JH | BF Schnablinger Bach | 0,304 |
| BF Aussee 19. JH | BF Lintner Bach | 0,331 |
| BF Aussee 19. JH | BF Steinerne Mühl | 0,339 |
| | | |
| wild 19. JH | Zucht | |
| Hintersee 19.JH | BF Glück | 0,301 |
| Hintersee 19.JH | BF Glück | 0,344 |
| Hintersee 19.JH | BF Unger | 0,329 |

Tabelle 3. Rezente Bachforellenpopulationen, die die größte Ähnlichkeit zu Populationen des 19. JH aufweisen (genetische Entfernung (NGD) = 0.301 - 0.350).

Für die Wildpopulationen aus Gruppe 1 (Mühlviertel) und aus Gruppe 3 (Kalk- und Zentralalpen) wurden abschließend die mittlere genetische Entfernung und die durchschnittliche Anzahl der paarweisen Unterschiede zwischen Populationen berechnet (ANPD = average number of pairwise differences between populations, distance method: Proportion of difference) berechnet. Die genetische Distanz betrug für die Populationen des Mühlviertels $0,382 \pm 0,082$ (ANPD = 35,1%), für die Populationen der Kalk- und Zentralalpen $0,401 \pm 0,041$ (NADP = 49,2). Zwischen den Populationen des Mühlviertels und der Alpen war die genetische Distanz $0,446 \pm 0,063$. Da die

genetische Distanz zwischen den Populationen des Mühlviertels und der Alpen nur geringfügig höher ist als innerhalb innerhalb dieser Regionen, ist der Grad der Differenzierung gering ist. Dies zeigt sich auch im Dendrogramm in der geringen Astlänge bis zu den Knotenpunkten.

Diskussion

Dies ist die erste Studie zur Molekulargenetik von österreichen *Salmo trutta* Populationen, die neben rezentem Material auch Museumsmaterial aus dem 19. Jahrhundert verwendet, also Daten von ursprünglichen Populationen, bevor die intensive Nachbesetzung einsetzte. Dadurch ist erstmals eine klare Definition eines ursprünglichen *Salmo trutta* Genotyps möglich, und Fragen über Ursprünglichkeit/Nichtursprünglicheit von Populationen können damit exakter geklärt werden. Grundsätzlich besteht bei Museumsmaterial die Gefahr, dass DNA durch nicht geeignete Konservierung, insbesondere durch länger andauernde Formolexposition zerstört bzw. verändert wird. Dies schließen wir aber aus, da bei Museumsmaterial das amplifizierte PCR-Produkt von gleicher Größe (Basenpaare) und Quantität war wie bei optimal konservierten Proben und ein einheitlicher DNA Abschnitt amplifiziert wurde.

Aus der vorliegenden Studie können folgende Schlüsse gezogen werden:

(1) Im Gegensatz zu den rezenten *Salmo trutta* Populationen weisen die untersuchten Populationen des 19. JH. einen anderen Genotyp auf und sind genetisch homogener, da die genetische Diversität, biochemische Diversität und Häufigkeit der polymorphen Restriktionsorte gering ist. Ebenso ist die genetische Entfernung zwischen den einzelnen Populationen des 19. JH. geringer als zwischen den einzelnen rezenten Populationen. Der Genotyp der rezenten Zucht- und Wildpopulationen ist also grundsätzlich anders und bedeutend variabler als im 19. JH. Für Zuchtpopulationen sind spezielle Genotypen durch Zucht und Selektion unter kommerziellen Aspekten erklärbar. Für die Wildpopulationen kann für die letzten 100 Jahre sowohl eine natürliche Invasion in den österreichischen Raum ausgeschlossen werden, als auch eine evolutionsbedingte Veränderung der mtDNA. Daher ist die Veränderung im Genotyp eindeutig auf menschlichen Einfluß zurückzuführen, also auf das Verdrängen von ursprünglichen Genotypen und das Einbringen von neuen.

(2) Aufgrund der genetischen Entfernung können die rezenten Stämme auf ihre Verwandtschaft mit Genotypen des 19. JH. überprüft werden. Hier zeigt sich, dass keine der untersuchten rezenten Salmo trutta Populationen in ihrem Genotyp dem des 19. JH. gleichen oder ähnlich sind (entsprechend der Annahme einer genetische Distanz <0,300). Die Populationen, die eine "gewisse" genetische Ähnlichkeit (genetische Distanz von 0,300 – 0, 350) zu Populationen des 19. JH aufweisen sind in Tabelle 2 aufgelistet. Auffällig ist, dass die meisten Populationen (Lammer, Feistritz, Aurach, Zuchtstämme Glück, Unger) Ähnlichkeiten zur Population Hintersee 19. JH aufweisen. Da die Population Hintersee aus der damaligen Fischzucht stammt, könnte angenommen werden, dass es Ende des 19. JH von dort aus zu einer Besatzwelle kam. Bachforellenpopulationen des Schnablinger Bachs, Lintner Bachs und der Steinernen Mühl weisen eine gewisse genetische Ähnlichkeit zu Bachforellen aus Bad Aussee auf, also ebenfalls eines anderen Einzugsgebietes. Diese Bachforellen werden entsprechend den Protokollen des Naturhistorischen Museums aus der Zucht des Grafen Meran stammend beschrieben. Auch hier könnte mit Nachbesatz spekuliert werden. Die Ähnlichkeit zwischen der Population Hollersbach und der Population Traun 19. JH bleibt unerklärbar. Wie in den angeführten Populationen eine gewisse genetische Ähnlichkeit zu Genotypen des 19. JH. bewahrt werden konnte, bleibt fraglich, da Angaben über Besatzmaßnahmen und Zuchtlinien nur begrenzt rückverfolgt bzw. wissenschaftlich verifiziert werden können.



Genetische Entfernung

Abbildung 1. Dendrogramm basierend auf Nei's (1972) genetischer Distanz (Methode: UPGMA, modifiziertes Neighbour Verfahren der PHYLIP Version 3.5) für die untersuchten *Salmo trutta* Populationen. Die Interpretation des Diagramms ist in den Ergebnissen beschrieben.

(3) Die Untersuchungen zeigen, dass auch rezente *Salmo trutta* Wildpopulationen einen eigenständigen Genotyp aufweisen, der weder eine Verwandtschaft zu den untersuchten Zuchtstämmen noch zu den Genotypen des 19. JH aufweist. Diese Genotypen haben in ihren Gewässersystemen auch stabile, selbst reproduzierende Populationen ausgebildet, was in der Weise interpretiert werden kann, dass sie auch morphologisch, physiologisch, und biochemisch an diese Gewässer adaptiert sind. Eigenständige Genotypen in österreichischen Bachforellenpopulationen wurden auch in früheren Studien beschrieben (Weiss et al. 2001). Darüber hinaus zeigt das Dendrogramm, dass die rezenten *Salmo trutta* Populationen eine Differenzierung entsprechend der Fließgewässer-Bioregionen aufweisen, da Genotypen des Granit und Gneishochlandes (Mühlviertel) und Genotypen der Zentralalpen und Kalkalpen bis auf wenige Ausnahmen in eigene Gruppen eingeordnet werden. Wie beschrieben, ist die Differenzierung aber gering. Dies spiegelt auch die im Anschluß berechnete mittlere genetische Distanz wieder und könnte ein Hinweis auf einen hohe, anthropogen bedingte Vermischung sein.

(4) Seeforellen (*Salmo trutta f. lacustris*) und Bachforellen (*Salmo trutta f. fario*) konnten auf genetischer Basis zwar als unterschiedliche Populationen voneinander aufgetrennt werden, aber nicht als eigenständige Unterarten oder Formen. Dies zeigt sich insbesondere im Dendrogramm, wo die Seeforellenpopulationen keine einheitliche Gruppe bilden, sondern "verstreut" zwischen den Bachforellenpopulationen liegen. Weiters wurden die aus dem 19. JH. stammenden Bachforellen aus der Traun und Seeforellen aus dem Traunsee im Dendrogramm in gleiche Untergruppen positioniert, was die oben beschriebene These untermauert. Aus diesem Grund wird in dieser Arbeit auch nicht zwischen Seeforellen und Bachforellen unterschieden, sondern der Begriff "Forelle" oder "*Salmo trutta*" verwendet.

(5) Eine kürzlich veröffentlichte Studie (Lahnsteiner et al. 2003) zeigte, dass *Salmo trutta* des 19. JH. auch einen anderen Phänotyp aufweisen, als die rezenten Populationen, insbesondere da bei Populationen des 19. JH. die Flossen lang und schmal sind, bei rezenten Formen dagegen kurz und breit. Dies weist darauf hin, dass *Salmo trutta* Populationen in den letzten 100 Jahren zusätzlich morphologische Anpassungen erfuhren, die auf veränderte Unweltbedingungen zurückzuführen sind.

Danksagung

Wir bedanken uns für die großzügige Bereitstellung von Untersuchungsmaterial bei Herrn Dr. Mikschi aus dem Naturhistorischen Museum sowie den in Material und Methoden angeführten Fischzuchten und Bewirtschaftern von Wildgewässern.

LITERATUR

Lahnsteiner F., Jagsch A., Jäger P. (2003). Der Phaenotyp von Bachforellen- und Seeforellen aus rezenten Wildpopulationen, aus Wildpopulationen des 19. Jahrhunderts und aus Zuchten. Österreichs Fischerei, in Druck.

Nei M. (1972). Genetic distance between populations. American Naturalist 106, 282-292.

Weiss S., Schlötterer C., Waidbacher H., Jungwirth M. (2001). Haplotype (mtDNA) diversity of brown trout *Salmo trutta* in tributaries of the Austrian Danube: massive introgression of Atlantic basin fish – by man or nature. Molecular Ecology 10, 1241-1248.

Stoffwechselunterschiede zwischen genetisch unterschiedlichen Salmo trutta Populationen

Abstract: Enzyme kinetics (substrate and temperature optima) of acid phosphatase, aspartate aminotransferase, lactate dehydrogenase, and pyruvate kinase in selected tissues of different *Salmo trutta* populations were investigated. Population specific differences were found in substrate as well as temperature optima.

Einleitung

Salmo trutta Populationen können mit molekulargenetischen Methoden klar voneinander unterschieden werden (z.B. Analyse von mtDNA, Allozymanalyse) (Lahnsteiner und Jagsch 2003; Weiss et al. 2001). Somit besteht die Möglichkeit, in spezifischen Gewässersystemen einen ganz bestimmten Genotyp zu fördern bzw. zu erhalten. Es ist aber bis heute unklar, ob die Erhaltung eines bestimmten Genotyps (die Erhaltung von autochthonen Populationen) außer einem konservierenden Effekt auch einen direkten Effekt auf die Vitalität der Fischpopulationen hat. Dieser Effekt wäre gegeben, wenn autochthone Populationen an ihre Ursprungsgewässer besser angepaßt wären und damit in diesen Gewässern besser überleben könnten. In diesem Fall wäre Nachbesetzung mit autochthonen Arten nicht nur Konservierung, sondern auch die Schaffung von stabilen Populationen und in wirtschaftlicher Hinsicht die Optimierung der Erträge. Dieses Problem wurde bisher nicht untersucht.

Anpassungen könnten morphologischer, physiologischer oder biochemischer Natur sein. Bisher konnten nur morphologische Unterschiede zwischen *Salmo trutta* Populationen ermittelt werden (Lahnsteiner et al. 2003). Aus diesem Grund wurde in der vorliegenden Studie die Enzymkinetik ausgewählter österreichischer *Salmo trutta* Populationen untersucht, um herauszufinden ob sich diese Populationen in ihrem Stoffwechsel unterscheiden. Das Vorhandensein solcher Unterschiede würde auf populationsspezifische Anpassungen hinweisen. Für die Untersuchungen wurden Seeforellen- und Bachforellenpopulationen verschiedenen Ursprungs (Wild und Zuchtpopulationen, verschiedene geographische Regionen) verwendet. An diesen Populationen wurde die Substrat- und Temperaturabhängigkeit von charakteristischen Leitenzymen in verschiedenen Geweben untersucht (Gehirn - Pyruvatkinase, Darm - saure Phosphatase, Leber - Aspartat-Aminotransferase, Muskel – Laktatdehydrogenase).

Material und Methoden

Folgende vier *Salmo trutta* Populationen wurden verwendet: Seeforelle Attersee (in Zucht gehaltene F1 Generation einer Wildpopulation), Bachforelle aus dem Blühnbachtal in Salzburg (Wildpopulation), Bachforellenstamm des Forstamts Grein, dänischer Zuchtstamm Erboe.

Jeweils fünf Tiere der verschiedenen *Salmo trutta* Populationen wurden verwendet. Sie wurden mit einer Überdosis MS 222 getötet. Unmittelbar darauf wurden circa 100-200 mg Gewebe von Hirn, Leber, Darm und Muskel entnommen. Die Proben wurden in einer physiologischen Lösung (125 mmol/l NaCl, 2 mmol/l KCl, 1,5 mmol/l MgSO₄, 20 mmol/l Tris, pH 7,4) gewaschen, um Blut, Darminhalt oder Coelomflüssigkeit zu entfernen. Anschließend wurden die Proben in 1,5 ml Eppendorfgefäße überführt, die mit 0,6 ml 0,1 mol Trispuffer (pH 7,4) befüllt waren. Unmittelbar darauf wurden die Proben in Flüssigstickstoff (-196°C) tiefgefroren, ins Labor transportiert und dort bei –70°C gelagert.

Um den Probenaufschluß zu erleichtern, wurde während des Auftauens jeder Probe Triton X100 (0,2 % Volumenanteil) zugegeben. Die Proben wurden homogenisiert, und bei 1000 g und 7°C für fünf Minuten zentrifugiert. Der Überstand (=Enzymextrakt) von Leber-, Muskel- und

Gehirnproben wurde 1:1 mit 4°C kalter Tris/EDTA-Lösung (0,1 M Tris, 2,5 mM EDTA, pH 7,8) verdünnt, die Darmproben mit 4°C kalter Tris-Lösung (0,1 M, pH 7,8).

Das nachfolgende Schema veranschaulicht die Probennahme und den Verarbeitungsmodus der Proben.



Zur Messung der Enzymaktivitäten kamen modifizierte Methoden von Bergmeyer (1985) zur Anwendung:

Saure Phosphatase: kolorimetrische Bestimmung mit p-Nitophenylphosphat als Substrat, pH 4.4 und einer 30 minütigen Inkubationszeit.

Aspartatamintotransferase: UV - spektrophotometrisch mit 2-Oxoglutarat als Substrat, 240 mmol/l Aspartat und 100 mmol/l Pyridoxalphosphat als Cosubstrate, pH 7,6.

Pyruvate kinase: UV - spektrophotometrisch mit Phosphoenolpyruvat als Substrat, Zugabe von 10 mmol/l MgCl₂, 100 mmol/l KCl, pH 8,0.

Laktatdehydrogenase: UV - spektrophotometrisch mit Pyruvat als Substrat, Zugabe von 100 mmol/l NaCl, pH 7,6.

Die statische Auswertung erfolgte mittels Varianzanalyse und dem Dunetts`s T3 posthoc Test (p < 0.05).

Ergebnisse

Alle untersuchten Enzyme zeigten für die unterschiedlichen Populationen Unterschiede in der Substrat- und Temeraturabhängigkeit. Für Pyruvatkinase wurde die höchste Enzymaktivität für BF FA Grein, BF Blühnbach und BF Erboe bei einer Substratkonzentration von 1,5 mmol/l Phosphoenolpyruvat erzielt, für SF Attersee bei 1 mmol/l. Für BF Blühnbach war die Enzymaktivität bei 19°C am höchsten, für BF FA Grein und BF Erboe bei 25°C und für SF Attersee bei 19-25°C (Tabelle 1).

Tabelle 1. Pyruvatekinaseaktivitäten (μ mol/min/g Protein) der untersuchten *Salmo trutta* Populationen in Abhängigkeit von Substratkonzentration und Temperatur. Werte sind Mittelwert ± Standardabweichung (n = 5), Werte innerhalb einer Spalte mit gleichem Superskript sind nicht signifikant unterschiedlich (P> 0.05). Optima sind fett hervorgehoben.

| Substrat | Temperatu | r BF Blühnbach | BF FA Grein | BF Erboe | SF Attersee |
|------------|-----------|--------------------|---------------------------|---------------------------|------------------------|
| 0,5 mmol/l | 25°C | $3,7 \pm 4,7^{a}$ | $110,2 \pm 39,4^{a}$ | $97,0 \pm 25,2^{a}$ | $3,6 \pm 7,3^{a}$ |
| 1 mmol/l | 25°C | $6,6 \pm 4,1^{a}$ | $118,4 \pm 33,4^{a}$ | 120,3 ± 52,1 ^b | $24,6 \pm 6,9^{b}$ |
| 1,5 mmol/l | 25°C | $11,9 \pm 5,0^{b}$ | 182,5 ± 66,1 ^b | 141,8 ± 67,6 ^b | 9,2 ±11,1 ^a |
| 1 mmol/l | 25°C | $6,6 \pm 4,1^{a}$ | 118,4 ± 33,4 ^a | 120,3 ± 52,1 ^b | 24.6 ± 6.9^{b} |
| 1 mmol/l | 19°C | 21,4 ± 7,0 ° | $18,6 \pm 12,0^{a}$ | $9,8 \pm 9,9^{\circ}$ | $33,7 \pm 6,3^{b}$ |
| 1 mmol/l | 8°C | $7,2 \pm 10,0^{a}$ | $6,13 \pm 2,86^{a}$ | $2,6 \pm 1,1^{\circ}$ | $5,3 \pm 7,3^{a}$ |

Für die saure Phosphatase wurde die höchste Enzymaktivität für BF Blühnbach bei einer Substratkonzentration von 12,6 mmol/l p-Nitrophenol erzielt, für BF FA Grein und BF Erboe bei 6,3-12,6 mmol/l und für SF Attersee bei 1,5 mmol/l (Tabelle 2). Für BF Blühnbach konnte kein Temperaturoptimum gefunden werden (maximale Aktivität bei 4-25°C), für BF FA Grein und BF Erboe war die Enzymaktivität bei 25°C am höchsten, für SF Attersee bei 14°C (Tabelle 2).

Tabelle 2. Saure Phosphataseaktivitäten (μmol/min/g Protein) der untersuchten Salmo trutta Populationen in Abhängigkeit von Substratkonzentration und Temperatur. Werte sind Mittelwert ± Standardabweichung (n = 5), Werte innerhalb einer Spalte mit gleichem Superskript sind nicht signifikant unterschiedlich (P> 0.05). Optima sind fett hervorgehoben.

| Substrat | Temperatur | BF Blühnbach | BF FA 9Grein | BF Erboe | SF Attersee |
|-------------|------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------|---------------------------------|
| 12,6 mmol/l | 25°C | $1,97 \pm 0,50^{\rm a}$ | 3,79 ± 1,40 ^a | $3,27 \pm 0,73^{a}$ | $1,14 \pm 0,66^{a}$ |
| 6,3 mmol/l | 25°C | $1,40 \pm 0,75^{b}$ | 3,76 ± 1,32 ^a | $3,35 \pm 0,75^{a}$ | $1,26 \pm 0,63^{a}$ |
| 3,15 mmol/l | 25°C | $1,40 \pm 1,12^{b}$ | $2,99 \pm 1,58^{b}$ | $2,92 \pm 0,74^{b}$ | $1,25 \pm 0,80^{a}$ |
| 1,5 mmol/l | 25°C | 1,08 ± 1,21 ^b | 2,39 ± 1,21 ^b | $2,20 \pm 0,64^{b}$ | 1,71 ± 0,61 ^b |
| 12,6 mmol/l | 25°C | 1,97 ± 0,50 ^a | $3,79 \pm 1,40^{a}$ | $3,27 \pm 0,73^{a}$ | $1,14 \pm 0,66^{a}$ |
| 12,6 mmol/l | 19°C | 1,87 ± 0,63 ^a | 2,73 ± 1,32 ^b | $2,75 \pm 0,66^{b}$ | $1,30 \pm 0,56^{a}$ |
| 12,6 mmol/l | 14°C | 1,87 ± 0,65 ^a | 2,95 ± 1,22 ^b | $2,48 \pm 0,49^{b}$ | 1,73 ± 0,31 ^b |
| 12,6 mmol/l | 8°C | 1,96 ± 0,92 ^a | $2,26 \pm 1,08^{b}$ | $2,04 \pm 0,38^{b}$ | $1,37 \pm 0,41^{a}$ |

Für Aspartataminotransferase wurde die höchste Enzymaktivität für BF Blühnbach und SF Attersee bei bei einer Substratkonzentration von 6 mmol/l 2-Oxoglutatrat gefunden (Tabelle 3). Insbesondere bei SF Attersee lässt die hohe Standardabweichung auf ein Optimum bei einer noch niedrigeren Konzentration schließen. Bei BF FA Grein und BF Erboe lag die höchste Enzymaktivität bei 24 mmo/l Substrat (Tabelle 3). Das Temperaturoptimum war für alle Populationen einheitlich und lag bei 14°C, für BF FA Grein erstreckte sich das Temperaturoptimum von 14 - 19°C (Tabelle 3).

Tabelle 3. Aspartatamiontransferase Aktivitäten (μmol/min/g Protein) der untersuchten *Salmo trutta* Populationen in Abhängigkeit von Substratkonzentration und Temperatur. Werte sind Mittelwert ± Standardabweichung (n = 5), Werte innerhalb einer Spalte mit gleichem Superskript sind nicht signifikant unterschiedlich (P> 0.05). Optima sind fett hervorgehoben.

| Substrat | Temperatu | r BF Blühnbach | BF FA Grein | BF Erboe | SF Attersee |
|-----------|-----------|------------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| 6 mmol/l | 25 °C | $25,0 \pm 6,5^{b}$ | $83,6 \pm 57,9^{a}$ | $116,7 \pm 55,1^{a}$ | 195,0 ± 101,0 ^a |
| 12 mmol/l | 25 °C | $11,9 \pm 5,2^{a}$ | $90,9 \pm 70,0^{a}$ | $86,9 \pm 32,7^{a}$ | $18,6 \pm 25,7^{b}$ |
| 24 mmol/l | 25 °C | 14,1 ± 14,4 ^a | 148,5 ± 60,4 ^b | 210,5 ± 51,0 ^b | $5,90 \pm 13,2^{b}$ |
| 12 mmol/l | 25 °C | $11,9 \pm 11,2^{a}$ | $90,9 \pm 70,0^{a}$ | $86,9 \pm 32,7^{a}$ | $18,6 \pm 15,7^{a}$ |
| 12 mmol/l | 19 °C | 11,9 ± 11,4 ^a | 224,3 ± 103,5 ° | $86,9 \pm 32,7^{a}$ | $18,1 \pm 14,8^{a}$ |
| 12 mmol/l | 14 °C | $64,2 \pm 24,2$ ^c | 206,7 ± 90,8 ° | 235,6 ± 66,4 ^b | 39,1 ± 11,2 ° |
| 12 mmol/l | 8 °C | $1,7 \pm 3,7^{\rm d}$ | $137,9 \pm 91,4^{a}$ | $134,1 \pm 73,9^{a}$ | $4,1 \pm 6,4^{d}$ |

Für Laktatdehydrogenase wurde die höchste Enzymaktivität für BF Blühnbach bei einer Substratkonzentration von 0,1 - 0,2 mmol/l Pyruvat erzielt, für BF FA Grein bei 0,2 mmol/l, für BF Erboe bei 0,8 mmol/l und für SF Attersee bei 1,6 mmol/l (Tabelle 4). Für alle Populationen wurde höchste Aktivität bei einer Temperatur von 25° C ermittelt, für BF FA Grein zusätzlich bei 19° C. Interessanterweise hatten BF Erboe und SF Attersee ein zweites Temperaturoptimum bei 4° C (Tabelle 4).

Tabelle 4. Laktatdehydrogenaseaktivitäten (μmol/min/g Protein) der untersuchten *Salmo trutta* Populationen in Abhängigkeit von Substratkonzentration und Temperatur. Werte sind Mittelwert ± Standardabweichung (n = 5), Werte innerhalb einer Spalte mit gleichem Superskript sind nicht signifikant unterschiedlich (P> 0.05). Optima sind fett hervorgehoben.

| Substrat | Temperatur | BF Blühnbach | BF FA Grein | BF Erboe | SF Attersee |
|------------|------------|--------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| 0,1 mmol/l | 25°C | $41,6 \pm 13,1^{a}$ | $41,49 \pm 53,41^{a}$ | $102,46 \pm 29,77^{a}$ | $104,49 \pm 71,6^{a}$ |
| 0,2 mmol/l | 25°C | 48,0 ± 15,6 ^a | 98,22 ± 18,68 ^b | 151,54 ± 27,01 ^b | 132,64 ± 58,7 ^{a,b} |
| 0,8 mmol/l | 25°C | $25,8 \pm 23,0^{b}$ | $48,18 \pm 43,35^{a}$ | 330,03 ± 111,0 ° | 144,30 ± 149,5 ^b |
| 1,6 mmol/l | 25°C | $0,10 \pm 0,22^{b}$ | $36,03 \pm 43,58^{a}$ | $120,75 \pm 73,4^{a,b}$ | 388,56 ± 189,1 ° |
| 0,2 mmol/l | 25°C | 48,0 ± 15,6 ^a | 98,22 ± 18,68 ^a | 151,54 ± 27,0 ^b | 132,64 ± 58,7 ^{a,b} |
| 0,2 mmol/l | 19°C | $0,00 \pm 0,00^{a}$ | 105,95 ± 36,51 ^a | $109,65 \pm 34,0^{a}$ | $99,0 \pm 50,6^{a}$ |
| 0,2 mmol/l | 13°C | $5,5 \pm 5,1^{a}$ | 31,35 ± 23,56 ^b | $9,05 \pm 8,4^{d}$ | $56,8 \pm 54,8^{d}$ |
| 0,2 mmol/l | 8°C | $0,00 \pm 0,00^{a}$ | 24,34 ± 24,86 ^b | $110,86 \pm 30,2^{a}$ | 143,29 ± 119,0 ^b |

Diskussion:

Die untersuchten Salmo Populationen können mittels trutta Analyse des Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus (RFLP) von mitochondrieller DNA (Lahnsteiner und Jagsch 2003) klar voneinander abgegrenzt werden. Die vorliegende Studie hat den Charakter einer Vorstudie, da die Michaeliskonstante K_m und der Temperaturkonversionsfaktor nicht ermittelt wurden. Für Untersuchungen dieser Art wäre bedeutend größerer Aufwand notwendig. Dennoch bringt die Studie klare Ergebnisse, da sie zeigt, dass in der Enzymkinetik zwischen den einzelnen Populationen klare Unterschiede bestehen. Hier konnten folgende Tendenzen festgestellt werden. Die Populationen FA Grein und Erboe zeigten weitgehende Übereinstimmung im Substratoptimum von Pyruvatkinase, saure Phosphatase und Aspartataminotransferase, während BF Blühnbach und SF Attersee großteils andere Optima aufwiesen. Insbesondere die Enzymkinetik von SF Attersee war von den übrigen Populationen klar abgegrenzt. Laktatdehydrogenase weist für alle

Populationen unterschiedliche Optima auf, wobei die eher als stationär zu bewertenden Populationen BF Erboe und SF Attersee sehr hohe Substratoptima aufweisen, die in Fließgewässern lebenden Populationen BF Blühnbach und BF FA Grein geringere Substratoptima. Insbesondere hier kann ein klarer Zusammenhang zwischen Lebensweise und Metabolismus festgestellt werden.

Mit Ausnahme von Aspartataminotransferase divergieren auch die Temperaturoptima klar, wobei jedoch keine einheitliche Tendenz festgestellt werden kann. Es muß angenommen werden, das unterschiedliche Isoenzymformen bei verschiedenen Temperaturen unterschiedliche Aktivität aufweisen. Dies könnte insbesondere die 2 unterschiedlichen Temperaturmaxima von Laktatdehydrogenase erklären.

Auch wenn die Enzymkinetik in dieser Studie nicht im Details diskutiert und interpretiert werden kann, können folgende Schlußfolgerungen gezogen werden. Die untersuchten Enzyme unterscheiden sich zwischen den Populationen hinsichtlich der optimalen Substratkonzentrationen und Temperaturoptima. In Summe resultieren daraus unterschiedliche Stoffwechselaktivitäten. Diese können als Anpassungen an unterschiedliche Gewässer interpretiert werden, sie erleichtern damit ein Überleben in bestimmten Gewässertypen.

Danksagung

Wir bedanken uns bei den angeführten Fischzuchten und Bewirtschaftern von Wildgewässern für die Bereitstellung von Untersuchungsmaterial.

LITERATUR

Bergmeyer, H.U., 1985. Methods of enzymatic analysis. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim

- Lahnsteiner F., Jagsch A., Jäger P. (2003). Der Phaenotyp von Bachforellen- und Seeforellen aus rezenten Wildpopulationen, aus Wildpopulationen des 19. Jahrhunderts und aus Zuchten. Österreichs Fischerei, in Druck.
- Lahnsteiner F., Jagsch A., Jäger P. (2003). Der Genotyp rezenter österreichischer *Salmo trutta* Populationen im Vergleich zu Populationen des 19. Jahrhunderts basierend auf RFLP von mtDNA. Österreichs Fischerei
- Weiss S., Schlötterer C., Waidbacher H., Jungwirth M. (2001). Haplotype (mtDNA) diversity of brown trout *Salmo trutta* in tributaries of the Austrian Danube: massive introgression of Atlantic basin fish – by man or nature. Molecular Ecology 10, 1241-1248.

Der Genotyp österreichischer Aalrutten- und Nasenpopulationen aus unterschiedlichen Fließgewässerregionen

Abstract: Characterization of the genotype of Austrian *Lota lota* and *Chondrostoma nasus* populations using RFLP of mtDNA

Restriction-fragment-length-polymorphism (RFLP) of mitochondrial DNA (mtDNA) revealed that Austrian *Lota lota* and *Chondrostoma nasus* populations have differentiated specific genotypes depending on the river systems and bioregions.

Einleitung

Die Aalrutte (*Lota lota*) ist nach der Roten Liste gefährdeter Tierarten Österreichs als stark gefährdet (Gefährdungsgrad 2) und die Nase (*Chondrostoma nasus*) als gefährdet (Gefährdungsgrad 3) eingestuft. Die Ursachen für die Gefährdung sind anthropogene Einflüsse, wie Wasserbau (Unterbrechung des Kontinuums, z.B. Wehre von Kraftwerken, die ein Wanderhindernis darstellen), Eutrophierung und Überfischung (gerade Aalrutten wurden als Laichräuber angesehen und aus den Flußsystemen entfernt).

Um die Aalrutten- und Nasenpopulationen zu stabilisieren, ist die Restrukturierung der Gewässer und der Stützungs- bzw. Nachbesatz mit den fehlenden Fischarten notwendig. Der Nachbesatz muß regionskonform nach Fließgewässer-Bioregionen und Einzugsgebieten erfolgen, damit man den Kriterien der Standortkonformität entspricht. Dies ist notwendig zur Erhaltung der Biodiversität. Weiters weisen Fische, die an spezielle Umweltfaktoren angepaßt sind, eine höhere Fähigkeit zur Bestandsbildung auf als solche, die nicht aus der Besatzregion stammen. Daher sind vor dem Nachbesatz genetische Charakterisierungen der typspezifischen Regionaltypen der entsprechenden Fließgewässer-Bioregionen Österreichs und der in diesen Regionen liegenden Haupteinzugsgebiete erforderlich. Basierend auf solchen Daten kann der Nachbesatz mit standortkonformem Material oder eng verwandten Biotypen durchgeführt werden.

Bisher existieren für Aalrutte und Nase in österreichischen Gewässersystemen keine molekulargenetischen Untersuchungen. Deshalb wurde die vorliegende Studie durchgeführt. Sie untersucht den Genotyp von Aalrutten- und Nasenpopulationen aus Oberösterreich, Steiermark und Salzburg. Ziel der Studie ist es (a) eine Routinemethode zur Genotypbestimmung dieser Arten zu beschreiben und (b) herauszufinden, wie weit sich Populationen unterschiedlicher Einzugsgebiete voneinander unterscheiden. Als molekulargenetischer Marker wird Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP) von mitochondrieller Desoxyribonukleinsäure (mtDNA) verwendet.

Material und Methoden

Untersuchte Fischpopulationen

Die Proben der untersuchten Wildpopulationen von Aalrutten und Nasen wurden im Zuge von Befischungsaktionen des Bundesamts für Wasserwirtschaft in Scharfling in den Jahren 2002 –2003 gesammelt. An den Zuchtpopulationen wurden die Proben 2002 genommen.

Folgende Aalruttenpopulationen wurden untersucht: Enns (O.Ö.), Traun (O.Ö.), Attersee (O.Ö.), Glan (Sbg.), Mondsee (O.Ö.), Mühl (O.Ö.) und die Zuchtpopulation Aschenbrenner, wobei 5-10 Individuen pro Population analysiert wurden.

Folgende Nasenpopulationen wurden untersucht: Anthiesen (Sbg.), Steyr (O.Ö.), Feistritz (Stmk.), Ranna (O.Ö.), Mühl (O.Ö.) und die Zuchtpopulation Aschenbrenner, wobei 10-15 Individuen pro Population analysiert wurden.

Genotypische Untersuchungen

Von den zu untersuchenden Fischen wurden Gewebsproben entnommen und in 96% Äthanol konserviert. Die Proben wurden homogenisiert, das Protein mittels Protease K verdaut und die DNA mittels NucleoSpin Verfahren (Macherey-Nagel GmbH Deutschland) zuerst aufgereinigt und dann eluiert. Anschließend wurden spezifische DNA-Abschnitte mittels der Polymerase-Kettenreaktion (Polymerase Chain Reaction = PCR) amplifiziert (30 Zyklen jeweils 30 sec bei 95°C, 45 sec bei 52°C, 150 sec bei 72°C) und dann mit spezifischen Restriktionsenzymen geschnitten.

Für die Aalrutte wurde die von Paragamian und Powell (2002) beschriebene Methodik angewandt. Folgende Primerpaare verwendet: 5'-ACCCCGCCTGTTTACCAAAAACAT-3' und 5'-GGTTCATTA GTGAGGGAAGG 3' für das ND1 Segment und 5'-AATAGCTCATCCATTGGTCTTAGG-3' und 5'-TAACAACGGTGG TTTTTCAAGTCA-3' für das ND 5/6 Segment. Beide Segmente wurden anschließend mit den Restriktionsenzymen Hae III, Dpn II, Rsa I, Taq I geschnitten.

Für die Nase orientierte sich die Methodik an einer Studie von Gross et al. 2002 an Cyprinus carpio. Für die Nase wurden folgende Primerpaare verwendet: 5'-GCCTCGCCTGTTTACCAAAAACAT-3' und 5'-GGTATGGGCCCGAAAGCTTA-3' für das 5'-AATAGCTCATCCATTGGTCTTAGG-3' ND1 Segment und und 5'-TAACAACGGTGGTTTTTCAAGTCA-3 für das ND 5/6 Segment. Das ND1 Segment wurden anschließend mit den Restriktionsenzymen AluI, AvaII, HaeIII, HinfI und BglII geschnitten, das Segment ND5/6 mit den Enzymen ClaI, HinfI, HpaII und Xba.

Die resultierenden DNA-Fragmente wurden mittels Polyacrylamidgelelektrophorese und einem Tris-Borat-Buffersystem aufgetrennt. Färbung und Größenbestimmung der aufgetrennten Moleküle erfolgte mittels Routinemethoden. Für sämtliche untersuchten Proben wurde das PCR Produkt mittels Polyacrylamidgelelektrophorese auf Größe des amplifizierten Teilstücks und Einheitlichkeit (Amplifikation von nur einem Abschnitt) untersucht, sowie die Menge der amplifizierten DNA semiquantitativ ermittelt. Ausgewählte Proben wurden mehrmals analysiert um die Reproduzierbarkeit der Methode sicherzustellen.

Zur Auswertung wurden die Gele digitalisiert, eine Restriktions-Fragment Matrix wurde erstellt, und diese für die Auswertungsprogramme Popgene 1.31. (Raymond und Rousset 1995), Phylip (Felsenstein 1995) und Arlequin (Schneider et al. 1997) aufbereitet. Das Vorkommen und die Häufigkeit der aus den RFLP-Mappen resultierenden Haplotypen, sowie deren genetische und biochemische Diversität wurde ermittelt. Dann wurde die genetische Distanz (Nei 1972) zwischen den untersuchten Zuchtpopulationen, Wildpopulationen und Museumspopulationen berechnet. Um den Verwandtschaftsgrad und die Beziehungen zwischen den Populationen darstellen zu können, wurden Dendrogramme basierend auf Nei's (1972) genetischer Distanz erstellt (Methode: UPGMA, modifiziertes Neighbour Verfahren der PHYLIP Version 3.5).

Ergebnisse

Variabilität innerhalb der Populationen: Um die Variabilität innerhalb der Populationen zu bestimmen, wurde der relative Anteil polymorpher Restriktionsfragmente, der relative Anteil der paarweisen Unterschiede, sowie die genetische Diversität berechnet. Für die untersuchten Aalrutten lagen diese Kenngrößen für alle Populationen mit Ausnahme der Population Attersee in etwa im

Tabelle 1. Genetische Variabilität innerhalb der untersuchten Aalruttenpopulationen ermittelt anhand des relativen Anteils polymorpher Restriktionsfragmente (APR), des relative Anteils der paarweisen Unterschiede in den polymorphen Restriktionsfragmenten (APU) und der genetischen Diversität (GD).

| | Aschen- brenner | Attersee | Enns | Glan | Mondsee | Mühl | Traun |
|---------------|-------------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|-----------------------------|-------------------------|-------------------------|
| APR (%) | 4,67 | 11,00 | 0,667 | 0,667 | 0,000 | 3,31 | 5,10 |
| APU (%) GD | 7,3 0.048 ± 0.040 | 20,8 0.114 ± 0.070 | 1,0 0.007 ± 0.008 | 1,0 0.007 ± 0.008 | 0,0 $0.000 \pm$ 0.000 | 3,1 0.021 ± 0.005 | 8,3 0.051 ± 0.009 |

gleichen Bereich (Tabelle 1). Für die letztgenannte Population war die genetische Variabilität bedeutend höher (Tabelle 1). Bei den untersuchten Nasen war die genetische Variabilität innerhalb der untersuchten Populationen in etwa gleich (Tabelle 2). Insgesamt war bei den Aalrutten die genetische Variabilität innerhalb der Populationen geringer als bei den Nasen, es wurde bei den Aalrutten aber auch eine geringere Anzahl Individuen untersucht.

Tabelle 2. Genetische Variabilität innerhalb der untersuchten Nasenpopulationen ermittelt anhand des relativen Anteils polymorpher Restriktionsfragmente (APR), des relative Anteils der paarweisen Unterschiede in den polymorphen Restriktionsfragmenten (APU) und der genetischen Diversität (GD).

| | Anthiesen | Aschen- brenner | Feistritz | Mühl | Ranna | Steyr |
|---------------|------------------------------|-------------------------|------------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| APR (%) | 9,00 | 3,73 | 8,90 | 8,85 | 8,72 | 10,15 |
| APU (%) GD | 10,2 $0.054 \pm$ 0.035 | 4,8 0.022 ± 0.015 | 10,1 $0.053 \pm$ 0.034 | 9,0 0.049 ± 0.042 | 7,0 0.036 ± 0.013 | 13,9 0.061 ± 0.033 |

Differenzierung zwischen den Populationen

Die Differenzierung zwischen den Populationen wurde mittels der genetischen Distanz, des relativen Anteils der paarweisen Unterschiede (population average pairwise differences) und der Unterschiede zwischen den Populationen in Relation zur Gesamtvariabilität des Genpools (F_{ST} -Werte; Population pairwise F_{ST} s) berechnet.

Beim paarweisen Vergleich der Aalruttenpopulationen sind die F_{ST} - Werte mit einer Ausnahme (Attersee – Enns) signifikant unterschiedlich (P<0.005) (Tabelle 3). Dies zeigt, dass die im gesamten Genpool enthaltene genetische Variabilität hauptsächlich auf Unterschiede zwischen den Populationen zurückzuführen ist und nur zu einem geringen Anteil auf Variabilität innerhalb der Populationen (Tabelle 3). Eine Ausnahme bildet dabei der Vergleich Enns - Attersee. Hier ist die Variabilität hauptsächlich durch Unterschiede innerhalb der Populationen bedingt (Tabelle 3). Daher besteht zwischen den Aalruttenpopulationen Aschenbrenner, Enns, Glan, Mondsee, Mühl und Traun ein hoher Differenzierungsgrad, die Populationen sind also genetisch klar und auch statistisch signifikant (P<0.005) voneinander abzugrenzen (Tabelle 4). Die Population Attersee weist eine hohe genetische Identität zur Population Enns auf (Tabelle 4). Dieses Ergebnis wird auch im Dendrogramm graphisch veranschaulicht (Abbildung 1a).

Beim paarweisen Vergleich der Nasenpopulationen sind alle F_{ST} - Werte hoch und signifikant unterschiedlich (P<0.005) (Tabelle 5). Daher ist die genetische Variabilität

hauptsächlich auf Unterschiede zwischen den Populationen zurückzuführen (>70%) und nur zu einem geringen Anteil auf Variabilität innerhalb der Populationen. Alle untersuchten Nasenpopulationen sind genetisch eindeutig und statistisch signifikant (P<0.005) voneinander differenziert (Tabellen 5, 6, Abbildung 1b). Der geringste Grad an genetischer Differenzierung wurde bei Populationen aus der gleichen Bioregion (Ranna - Mühl) gefunden (Tabelle 6, Abbildung 1b). Dies veranschaulicht auch das Dendrogramm (Abbildung 1b).

Tabelle 3. Genetische Differenzierung der untersuchten Aalruttenpopulationen anhand der F_{ST} -Werte (Population pairwise F_{ST} s) (= Unterschiede zwischen den Populationen in Relation zur Gesamtvariabilität des Genpools). Die mit * bezeichneten Werte sind statistisch signifikant unterschiedlich (P<0.005).

| | Enns | Traun | Attersee | Glan | Aschen- brenner | Mondsee |
|----------|--------|--------|----------|--------|--------------------|---------|
| Traun | 0,994* | | | | | |
| Attersee | 0,384 | 0,855* | | | | |
| Glan | 0,987* | 0,994* | 0,838* | | | |
| Aschen | 0,922* | 0,944* | 0,725* | 0,939* | | |
| Mondsee | 0,993* | 1,000* | 0,830* | 0,993* | 0,950* | |
| Mühl | 0,993* | 0,994* | 0,827* | 0,992* | 0,953* | 1,000 |

Tabelle 4. Genetische Differenzierung zwischen den untersuchten Aalruttenpopulationen anhand der genetische Distanz (Nei's (1978) genetic distance) (Werte oberhalb der ---Diagonale) und des relativen Anteils der paarweisen Unterschiede zwischen den Restriktionsfragmenten (Population average pairwise differences) (Werte unterhalb der --- Diagonale). Die mit * bezeichneten Werte sind statistisch signifikant unterschiedlich (P<0.005).

| | Enns | Traun | Attersee | Glan | Aschen- brenner | Mondsee | Mühl |
|----------|--------|--------|----------|--------|--------------------|---------|--------|
| Enns | | 0,941* | 0,073 | 0,752* | 0,414* | 0,636* | 0,623* |
| Traun | 58,67* | | 0,744* | 0,831* | 0,543* | 0,693* | 0,926* |
| Attersee | 11,83 | 52,83* | | 0,645* | 0,340* | 0,574* | 0,561* |
| Glan | 51,00* | 54,33* | 48,50* | | 0,584* | 0,656* | 0,542* |
| Aschen | 34,00* | 41,33* | 32,61* | 43,67* | | 0,645* | 0,715* |
| Mondsee | 45,33P | 48,00* | 44,83* | 46,33* | 46,67* | | 0,470* |
| Mühl | 44,67* | 58,00* | 44,17* | 40,33* | 50,00* | 36,00* | |

Tabelle 5. Genetische Differenzierung der untersuchten Nasenpopulationen anhand der F_{ST} -Werte (Population pairwise F_{ST} s) (= Unterschiede zwischen den Populationen in Relation zur Gesamtvariabilität des Genpools). Alle Werte sind statistisch signifikant unterschiedlich (P<0.005).

| | Anthiesen | Steyr | Feistritz | Aschen- brenner | Ranna |
|---------------|-----------|-------|-----------|--------------------|-------|
| Steyr | 0,897 | | | | |
| Feistritz | 0,797 | 0,782 | | | |
| Aschenbrenner | 0,922 | 0,894 | 0,772 | | |
| Ranna | 0,942 | 0,887 | 0,748 | 0,968 | |
| Mühl | 0,937 | 0,893 | 0,775 | 0,965 | 0,990 |

Tabelle 6. Genetische Differenzierung zwischen den untersuchten Nasenpopulationen anhand der genetische Distanz (Nei`s (1978) genetic distance) (Werte oberhalb der ---Diagonale) und des relativen Anteils der paarweisen Unterschiede zwischen den Restriktionsfragmenten (Population average pairwise differences) (Werte unterhalb der ---Diagonale). Alle Werte sind statistisch signifikant unterschiedlich (P<0.005).

| | Anthiesen | Steyr | Feistritz | Aschen- brenner | Ranna | Mühl |
|---------------|-----------|-------|-----------|--------------------|-------|-------|
| Anthiesen | | 0,801 | 0,668 | 0,599 | 0,733 | 0,644 |
| Steyr | 95,4 | | 0,578 | 0,579 | 0,512 | 0,558 |
| Feistritz | 87,9 | 73,5 | | 0,601 | 0,657 | 0,657 |
| Aschenbrenner | 78,0 | 76,7 | 69,5 | | 0,569 | 0,496 |
| Ranna | 88,2 | 69,5 | 64,2 | 73,0 | | 0,411 |
| Mühl | 81,1 | 73,8 | 72,4 | 66,1 | 56,0 | |

Diskussion

Die vorliegenden Daten zeigen, dass Nasen und Aalrutten aus unterschiedlichen Fließgewässerregionen genetisch eindeutig voneinander differenziert sind, wie aus der genetischen Distanz, dem relativen Anteil der paarweisen Unterschiede und aus den F_{ST}- Werten hervorgeht. Aalrutten und Nasen wurden in den untersuchten Gewässersystemen soweit bekannt nicht eingesetzt, wodurch der Genotyp der untersuchten Populationen als der ursprüngliche zu gelten hat. Die einzigen für das relevante geographische Gebiet bekannten Zuchtstämme weisen in der genetischen Zusammensetzung einen statistisch signifikanten Unterschied zu den untersuchten Wildpopulationen auf. Wie aus dem paarweisen Vergleich der Nasenpopulationen ersichtlich, haben Populationen aus derselben Bioregion einen ähnlicheren Genotyp (Ranna - Mühl) als Populationen aus unterschiedlichen Bioregionen. Die enge Verwandtschaft von Aalrutten aus dem Attersee und der Enns dürfte höchstwahrscheinlich auf Verwechslungen zurückzuführen sein. Proben beider Population wurden von Larvalstadien in einer Fischzuchtanlage genommen. Dort wurden Mutterfische beider Wildpopulationen zwecks Nachzuchtexperimenten gehalten. Es ist anzunehmen, dass es entweder bei der Zuordnung der Larven oder bei der künstlichen Reproduktion zu Verwechslungen kam. Da Aalrutten- und Nasenpopulationen unterschiedlicher Gewässersysteme spezifische Genotypen ausdifferenziert haben, sollte der Nachbesatz zur Erhaltung der Biodiversität mit standortkonformem Material durchgeführt werden.





Abb. 1b - Nase

Abbildung 1. Dendrogramm basierend auf Nei's (1972) genetischer Distanz (Methode: UPGMA, modifiziertes Neighbour Verfahren der PHYLIP Version 3.5) für die untersuchten Aalrutten und Nasenpopulationen. Die Interpretation des Diagramms ist in den Ergebnissen beschrieben.

Danksagung

Wir bedanken uns für die großzügige Bereitstellung von Untersuchungsmaterial bei den angeführten Fischzuchten und Bewirtschaftern von Wildgewässern.

LITERATUR

- Felsenstein J. (1995). Phylip (Phylogeny Inference Package), Version 3.573c. Department of Genetics, University of Washington, Seattle. (http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html)
- Gross R., Kohlmann K., Kersten P. (2002). PCR-RFLP analysis of the mitochodrial ND-3/4 and ND5/6 gene polymorphisms in the European and East Asian subspecies of common carp (*Cyprinus carpio* L.) populations. Aquaculture 173, 435-445.
- Raymond M., Rousset F. (1995). Genepop (version 1.2.): population genetics software for exact tests and ecumenicism. J. Heredity 86, 248-249.
- Schneider S., Kueffer J.M., Roessli D., Excoffier L. (1997). ARLEQUIN ver. 1.1.: A software for population genetics data analysis. University of Geneva, Genetics and Biometry Laboratory (<u>http://anthro.unige.ch/arlequin</u>).

Nei M. (1972). Genetic distance between populations. American Naturalist 106, 282-292.

Paragamian V.L., Powell M.S. (2002). Genetic characteristics of burbot in the Kootenai drainage of Monatana, Idaho, and British Columbia Trans. Am. Fish Soc. 122, 717-730

ANHANG

Anhang 1. Phänotypische Übereinstimmung von Bachforellen- (BF) und Seeforellenpopulationen (SF) anhand von Variationswerten. Variationswerte, die einen hohen Grad an morphologischer Übereinstimmung anzeigen (<35), sind fett und grau unterlegt hervorgehoben. Bei einem Variationswert von ≤ 22 sind Populationen morphologisch ident.

| | | | BF | , rezei | 1t & w | vild | | | | | BF, Z | Zucht | | | | | | BF, 1 | 9. Jh. | | | | SF | |
|------------|------------------------|--------------|--------------|----------------|-------------|--------------|-----------|----------|--------------------|----------|----------------|----------|-----------------|-----------------------|---------|------------------------|-----------------------|-------------------|------------------|-------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------|
| | | BF Blühnbach | BF Ameisbach | BF Hollersbach | BF Bachlalm | BF Feistritz | BF Lammer | BF Erboe | BF ,,Steinforelle" | BF Hartl | BF Forst Grein | BF Unger | BFGlück Wolfern | BF Glück Mauerkirchen | BF Magg | BF Bad Aussee, 19. Jh. | BF Hintersee, 19. Jh. | BF Traun, 19. Jh. | BF Mürz, 19. Jh. | BF Krems, 19. Jh. | BF Filzbach, 19. Jh. | SF Traunsee, 19. Jh. | SF Attersee, 19. Jh. | SF Glück |
| It | BF Ameisbach | 41,8 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| zen ild | BF Hollersbach | 50,4 | 29,2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| , re | BF Bachlalm | 44,1 | 53,8 | 54,6 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | <u> </u> |
| BF. | BF Feistritz | 43,4 | 44,5 | 59,1 | 61,3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | BF Lammer | 43,3 | 41,7 | 59,7 | 65,8 | 39,8 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | BF Erboe | 54,5 | 72,3 | 66,9 | 64,7 | 74,4 | 73,0 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | BF "Steinforelle" | 43,4 | 60,6 | 66,0 | 71,1 | 62,1 | 52,4 | 29,4 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ht | BF Hartl | 37,5 | 49,6 | 51,2 | 50,8 | 51,6 | 56,3 | 31,6 | 34,9 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Zuc | BF Forst Grein | 38,7 | 34,4 | 47,1 | 56,0 | 30,4 | 31,5 | 56,9 | 56,8 | 48,7 | | | | | | | | | | | | | | |
| F. J | BF Unger | 42,4 | 51,5 | 45,5 | 33,0 | 56,6 | 57,9 | 27,5 | 39,9 | 29,4 | 53,2 | | | | | | | | | | | | | |
| B | BF Glück Wolfern | 42,3 | 67,7 | 68,2 | 53,0 | 65,5 | 56,0 | 37,1 | 29,6 | 36,3 | 57,6 | 39,8 | | | | | | | | | | | | |
| | BF Glück Mauerkirchen | 34,0 | 48,9 | 53,0 | 39,6 | 55,8 | 52,1 | 33,3 | 38,9 | 32,9 | 52,8 | 30,4 | 29,4 | | | | | | | | | | | |
| | BF Magg | 50,4 | 59,7 | 65,2 | 39,2 | 73,7 | 71,9 | 54,4 | 51,3 | 41,8 | 64,9 | 37,5 | 54,1 | 46,0 | | | | | | | | | | |
| | BF Bad Aussee, 19. Jh. | 50,8 | 48,2 | 60,1 | 52,8 | 47,7 | 54,2 | 59,9 | 50,5 | 50,1 | 51,7 | 51,6 | 59,2 | 42,7 | 59,7 | | | | | | | | | |
| h. | BF Hintersee, 19. Jh. | 37,2 | 42,5 | 55,8 | 57,0 | 51,5 | 46,4 | 56,5 | 44,1 | 44,1 | 44,9 | 49,5 | 55,0 | 36,4 | 50,2 | 29,2 | | | | | | | | |
| 6.9 | BF Traun, 19. Jh. | 42,9 | 41,6 | 52,6 | 47,4 | 51,0 | 50,7 | 58,5 | 49,5 | 43,4 | 50,2 | 46,8 | 59,7 | 39,1 | 54,9 | 34,4 | 21,2 | | | | | | | |
| - | BF Mürz, 19. Jh. | 42,7 | 41,8 | 50,4 | 49,5 | 55,2 | 56,8 | 47,3 | 48,8 | 44,2 | 48,0 | 43,7 | 57,8 | 43,7 | 45,2 | 30,0 | 21,4 | 30,2 | | | | | | |
| BF | BF Krems, 19. Jh. | 45,0 | 49,0 | 55,3 | 58,0 | 54,1 | 54,6 | 67,5 | 46,7 | 49,8 | 51,9 | 51,1 | 60,8 | 46,9 | 61,5 | 27,6 | 24,2 | 24,2 | 22,2 | | | | | |
| | BF Filzbach, 19. Jh. | 40,2 | 46,9 | 47,6 | 33,3 | 55,5 | 54,1 | 53,4 | 68,0 | 40,6 | 40,0 | 36,5 | 53,7 | 42,0 | 44,1 | 46,6 | 38,1 | 42,1 | 31,9 | 43,6 | | | | |

| | SF Traunsee, 19. Jh. | 42,5 | 56,2 | 64,1 | 51,5 | 56,6 | 41,8 | 47,3 | 38,2 | 41,0 | 47,9 | 42,6 | 41,7 | 37,2 | 44,3 | 29,6 | 29,1 | 36,8 | 27,8 | 33,3 | 33,7 | | | |
|----------|----------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 1 | SF Attersee, 19. Jh. | 40,4 | 46,7 | 57,3 | 54,1 | 49,2 | 47,2 | 57,3 | 30,6 | 31,6 | 46,4 | 39,4 | 38,5 | 33,0 | 44,4 | 28,9 | 28,1 | 37,6 | 29,8 | 43,1 | 43,3 | 24,2 | | |
| S | SF Attersee | 34,1 | 45,9 | 51,4 | 53,9 | 37,5 | 41,9 | 51,4 | 36,7 | 37,4 | 36,7 | 47,4 | 36,8 | 41,9 | 59,0 | 37,8 | 33,6 | 35,3 | 38,3 | 35,5 | 43,3 | 42,5 | 38,2 | |
| | SF Glück | 40,0 | 51,1 | 58,4 | 46,7 | 55,4 | 50,6 | 34,0 | 38,6 | 33,1 | 52,1 | 33,0 | 47,9 | 25,7 | 47,9 | 47,9 | 44,8 | 42,2 | 47,0 | 51,6 | 46,1 | 40,2 | 42,5 | 36,7 |

Anhang 2. Genotypische Distanz zwischen den untersuchten Bachforellen- und Seeforellenpopulationen. 1 = SF Glück, 2,3 = BF Glück, 4 = Erboe, 5 = BF Coburg, 6 BF Attersee rezent, 7 = BF Steinforelle, 8 SF Walchensee, 9 = BF Unger, 10 = BF Forstamt Windischgarsten, 11 = BF Magg, 12 = BF Hartl, 13 = BF Hintersee 19.JH, 14 = BF Mürz 19. JH, 15 = SF Attersee 19.JH, 16 = SF Traunsee 19.JH, 17 = BF Traun 19.JH, 18 = Krems 19.JH, 19 = BF Blühnbach, 20 = BF Ameisbach, 21 = BF Hollersbach, 22 = BF Feistritz, 23 = BF Lammer, 24 = BF Bachlalm, 25 = BF Jörglbach, 26 = BF Nickelsbach, 27 = BF Aurach, 28 = BF Leisnitz, 29 = Tiroler Zuchtstamm, 30 = BF Bad Aussee 19.JH, 31 = BF Filzbach 19.JH, 32 = BF Schnablinger Bach, 33 = BF Lintner Bach, 34 = BF Schafbach, 35 = BF STeinerne Mühl

| ID | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 |
|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
| 1 | **** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | 0,293 | **** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | 0,207 | 0,216 | **** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | 0,739 | 0,752 | 0,760 | **** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | 0,494 | 0,510 | 0,505 | 0,679 | **** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 6 | 0,541 | 0,540 | 0,482 | 0,836 | 0,364 | **** | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 7 | 0,306 | 0,298 | 0,268 | 0,618 | 0,546 | 0,570 | **** | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 8 | 0,377 | 0,444 | 0,356 | 0,682 | 0,493 | 0,382 | 0,385 | **** | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 9 | 0,281 | 0,334 | 0,234 | 0,643 | 0,383 | 0,450 | 0,326 | 0,357 | **** | | | | | | | | | | | | | | | |
| 10 | 0,414 | 0,447 | 0,331 | 0,746 | 0,538 | 0,518 | 0,430 | 0,492 | 0,323 | **** | | | | | | | | | | | | | | |
| 11 | 0,372 | 0,366 | 0,307 | 0,780 | 0,463 | 0,505 | 0,395 | 0,328 | 0,342 | 0,501 | **** | | | | | | | | | | | | | |
| 12 | 0,430 | 0,494 | 0,417 | 0,642 | 0,413 | 0,612 | 0,441 | 0,416 | 0,377 | 0,516 | 0,517 | **** | | | | | | | | | | | | |
| 13 | 0,437 | 0,344 | 0,299 | 0,612 | 0,458 | 0,468 | 0,394 | 0,425 | 0,367 | 0,459 | 0,398 | 0,396 | **** | | | | | | | | | | | |
| 14 | 0,497 | 0,399 | 0,432 | 0,704 | 0,437 | 0,542 | 0,412 | 0,509 | 0,407 | 0,477 | 0,566 | 0,471 | 0,323 | **** | | | | | | | | | | |
| 15 | 0,371 | 0,451 | 0,353 | 0,710 | 0,413 | 0,515 | 0,439 | 0,429 | 0,346 | 0,450 | 0,324 | 0,463 | 0,254 | 0,432 | **** | | | | | | | | | I |
| 16 | 0,397 | 0,349 | 0,370 | 0,612 | 0,473 | 0,518 | 0,442 | 0,420 | 0,342 | 0,423 | 0,433 | 0,492 | 0,355 | 0,423 | 0,380 | **** | | | | | | | | I |
| 17 | 0,359 | 0,420 | 0,339 | 0,761 | 0,425 | 0,570 | 0,421 | 0,432 | 0,329 | 0,414 | 0,373 | 0,416 | 0,331 | 0,397 | 0,355 | 0,315 | **** | | | | | | | |
| 18 | 0,442 | 0,390 | 0,422 | 0,634 | 0,387 | 0,506 | 0,473 | 0,485 | 0,392 | 0,595 | 0,451 | 0,452 | 0,307 | 0,388 | 0,299 | 0,477 | 0,380 | **** | | | | | | |
| 19 | 0,478 | 0,513 | 0,412 | 0,840 | 0,478 | 0,457 | 0,428 | 0,494 | 0,485 | 0,569 | 0,563 | 0,510 | 0,576 | 0,545 | 0,642 | 0,592 | 0,455 | 0,495 | **** | | | | | |
| 20 | 0,501 | 0,539 | 0,417 | 0,625 | 0,482 | 0,535 | 0,490 | 0,474 | 0,430 | 0,473 | 0,492 | 0,463 | 0,481 | 0,565 | 0,453 | 0,442 | 0,470 | 0,474 | 0,548 | **** | | | | |
| 21 | 0,462 | 0,498 | 0,402 | 0,691 | 0,468 | 0,535 | 0,423 | 0,445 | 0,408 | 0,399 | 0,445 | 0,414 | 0,460 | 0,443 | 0,391 | 0,440 | 0,348 | 0,472 | 0,525 | 0,353 | **** | | | |
| 22 | 0,479 | 0,349 | 0,375 | 0,734 | 0,543 | 0,504 | 0,436 | 0,482 | 0,417 | 0,444 | 0,386 | 0,490 | 0,337 | 0,386 | 0,466 | 0,395 | 0,409 | 0,386 | 0,591 | 0,376 | 0,391 | **** | | |
| 23 | 0,366 | 0,398 | 0,314 | 0,720 | 0,420 | 0,447 | 0,322 | 0,421 | 0,289 | 0,416 | 0,433 | 0,380 | 0,320 | 0,392 | 0,324 | 0,416 | 0,351 | 0,375 | 0,493 | 0,395 | 0,391 | 0,414 | **** | |
| 24 | 0,419 | 0,465 | 0,419 | 0,725 | 0,496 | 0,604 | 0,461 | 0,537 | 0,248 | 0,388 | 0,398 | 0,449 | 0,423 | 0,441 | 0,505 | 0,496 | 0,380 | 0,477 | 0,590 | 0,465 | 0,395 | 0,364 | 0,399 | **** |

| 25 | 0,376 | 0,332 | 0,343 | 0,713 | 0,492 | 0,431 | 0,391 | 0,441 | 0,315 | 0,432 | 0,407 | 0,422 | 0,380 | 0,524 | 0,423 | 0,414 | 0,372 | 0,468 | 0,515 | 0,511 | 0,505 | 0,402 | 0,412 | 0,432 |
|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 26 | 0,415 | 0,320 | 0,369 | 0,786 | 0,449 | 0,530 | 0,439 | 0,534 | 0,342 | 0,432 | 0,497 | 0,517 | 0,363 | 0,505 | 0,355 | 0,414 | 0,406 | 0,363 | 0,576 | 0,454 | 0,392 | 0,455 | 0,394 | 0,468 |
| 27 | 0,393 | 0,381 | 0,362 | 0,645 | 0,437 | 0,489 | 0,403 | 0,436 | 0,319 | 0,450 | 0,442 | 0,450 | 0,347 | 0,505 | 0,388 | 0,380 | 0,423 | 0,432 | 0,525 | 0,508 | 0,429 | 0,335 | 0,401 | 0,380 |
| 28 | 0,380 | 0,503 | 0,344 | 0,634 | 0,461 | 0,479 | 0,424 | 0,389 | 0,329 | 0,406 | 0,393 | 0,382 | 0,441 | 0,441 | 0,450 | 0,388 | 0,450 | 0,496 | 0,538 | 0,426 | 0,387 | 0,407 | 0,404 | 0,372 |
| 29 | 0,502 | 0,512 | 0,480 | 0,713 | 0,558 | 0,555 | 0,502 | 0,527 | 0,448 | 0,397 | 0,536 | 0,444 | 0,380 | 0,397 | 0,459 | 0,505 | 0,459 | 0,486 | 0,582 | 0,660 | 0,431 | 0,402 | 0,378 | 0,347 |
| 30 | 0,402 | 0,377 | 0,356 | 0,656 | 0,473 | 0,520 | 0,377 | 0,461 | 0,340 | 0,477 | 0,410 | 0,508 | 0,355 | 0,276 | 0,269 | 0,276 | 0,331 | 0,441 | 0,571 | 0,490 | 0,427 | 0,475 | 0,327 | 0,496 |
| 31 | 0,460 | 0,333 | 0,351 | 0,681 | 0,390 | 0,463 | 0,394 | 0,409 | 0,344 | 0,459 | 0,365 | 0,525 | 0,292 | 0,307 | 0,363 | 0,323 | 0,363 | 0,355 | 0,520 | 0,539 | 0,469 | 0,423 | 0,348 | 0,477 |
| 32 | 0,327 | 0,348 | 0,276 | 0,786 | 0,538 | 0,530 | 0,357 | 0,337 | 0,329 | 0,432 | 0,335 | 0,444 | 0,347 | 0,397 | 0,372 | 0,397 | 0,339 | 0,414 | 0,450 | 0,534 | 0,385 | 0,385 | 0,340 | 0,397 |
| 33 | 0,376 | 0,332 | 0,261 | 0,812 | 0,558 | 0,525 | 0,335 | 0,351 | 0,350 | 0,450 | 0,367 | 0,450 | 0,380 | 0,414 | 0,441 | 0,414 | 0,406 | 0,432 | 0,467 | 0,514 | 0,391 | 0,335 | 0,333 | 0,414 |
| 34 | 0,464 | 0,451 | 0,311 | 0,808 | 0,673 | 0,650 | 0,421 | 0,387 | 0,346 | 0,468 | 0,401 | 0,426 | 0,450 | 0,564 | 0,441 | 0,505 | 0,441 | 0,486 | 0,673 | 0,581 | 0,477 | 0,453 | 0,455 | 0,524 |
| 35 | 0,473 | 0,366 | 0,382 | 0,656 | 0,458 | 0,552 | 0,454 | 0,457 | 0,335 | 0,423 | 0,398 | 0,557 | 0,406 | 0,423 | 0,414 | 0,292 | 0,397 | 0,441 | 0,733 | 0,555 | 0,520 | 0,403 | 0,434 | 0,477 |

Anhang 2. fortgesetzt

| ID | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 |
|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
| 25 | **** | | | | | | | | | | |
| 26 | 0,339 | **** | | | | | | | | | |
| 27 | 0,355 | 0,423 | **** | | | | | | | | |
| 28 | 0,380 | 0,468 | 0,380 | **** | | | | | | | |
| 29 | 0,459 | 0,496 | 0,423 | 0,468 | **** | | | | | | |
| 30 | 0,432 | 0,414 | 0,468 | 0,372 | 0,505 | **** | | | | | |
| 31 | 0,450 | 0,380 | 0,414 | 0,355 | 0,468 | 0,261 | **** | | | | |
| 32 | 0,423 | 0,441 | 0,423 | 0,347 | 0,406 | 0,284 | 0,363 | **** | | | |
| 33 | 0,406 | 0,441 | 0,423 | 0,414 | 0,441 | 0,331 | 0,414 | 0,072 | **** | | |
| 34 | 0,388 | 0,477 | 0,515 | 0,432 | 0,459 | 0,414 | 0,432 | 0,323 | 0,339 | **** | |
| 35 | 0,397 | 0,414 | 0,414 | 0,406 | 0,486 | 0,339 | 0,307 | 0,380 | 0,380 | 0,380 | **** |



Abb. 1. Beispiele für Salmo trutta Morphotypen Ende 19. Jahrhundert



Abb. 2 Beispiele für rezente Salmo trutta Morphotypen