

GENETISCHE DIFFERENZIERUNG UND LOKALE ANPASSUNG DER NASENPOPULATIONEN IN DER SCHWEIZ

Pascal Vonlanthen, Alan Hudson, Ole Seehausen



Auftraggeber: Bundesamt für Umwelt (BAFU), 3003 Bern

Kastanienbaum, 20.05.2011

EAWAG
Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology
Department of Fish Ecology and Evolution
6047 Kastanienbaum

INHALTSVERZEICHNIS

1. ZUSAMMENFASSUNG	5
2. EINFÜHRUNG	7
3. PROBENAHMEN	10
4. LÄNGENVERTEILUNG UND ALTERSBESTIMMUNG.....	17
5. GEOMETRISCHE MORPHOLOGIE	21
6. POPULATIONSGENETIK TEIL I: NUKLEARE UND MITOCHONDRIALE MARKER.....	25
7. POPULATIONSGENETIK TEIL II: AFLP GENOM SCAN	32
8. DANKSAGUNG	38
9. LITERATURVERZEICHNIS.....	39

1. ZUSAMMENFASSUNG

Die Nase war vor der Industrialisierung die häufigste Fischart in der Äschen- und Barbenregion der Schweizer Fließgewässer. Die Nasenbestände sind in den letzten hundert und insbesondere in den letzten 20-30 Jahren jedoch schweizweit dramatisch zusammengebrochen (Maier et al., 1995). Lokal sind viele Populationen vollständig ausgestorben (Abb. 3). Eindeutige Ursachen für diesen Rückgang konnten bisher nicht ermittelt werden. Die Anforderung der Nase an Habitatvielfalt und Vernetzung der Fließgewässer, gekoppelt mit der massiven Verbauung und Fragmentierung sowie der Beeinflussung des Temperatur- und Abflussregimes durch Kraftwerke der Mittellandgewässer scheinen aber die Hauptursachen zu sein. Neben dem Bedürfnis nach gewässerbaulichen Massnahmen steigt der politische Druck, Nasen durch gezielten Besatz in den gefährdeten und zukünftig renaturierten Regionen zu stützen oder wieder einzuführen. Weil der Besatz einen nicht zu unterschätzenden Eingriff in natürliche Prozesse wie natürliche Selektion und Partnerwahl darstellt, welche die lokale Anpassung an Umweltbedingungen fördern, wurde die EAWAG vom BAFU beauftragt, eine populationsgenetische Studie der Nasenpopulationen in der Schweiz durchzuführen. Diese Studie soll klären, ob es in der Schweiz genetisch differenzierte Populationen gibt und ob sich diese spezifisch an ihre Umwelt angepasst haben.

Um ein möglichst vollständiges Bild aller Schweizer Nasenpopulationen zu generieren, wurde in dieser Studie versucht, möglichst viele der noch nachgewiesenen Populationen zu berücksichtigen. Insgesamt konnte von zwölf verschiedenen Standorten Nasen untersucht werden. Die Grössen und Altersverteilungen zeigen, dass die Nasen an vielen Standorten Anzeichen von Veralterung aufweisen (Sense, Aare, Alpenrhein Binnenkanäle) wobei einige Populationen heute vermutlich ausgestorben sind (Sense, Aare bei Bern). Die anderen Populationen wiesen noch eine relativ natürliche Alterstruktur auf, wobei Jungfische eher selten und die Populationsdichten sehr gering waren.

Genetisch unterscheiden sich die Nasen aus dem Bodenseeeinzugsgebiet stark von den unteren Rheinpopulationen und sollten als eigenständige Naturschutzeinheit betrachtet werden. Ein Austausch zwischen den Rheinpopulationen unterhalb und oberhalb des Rheinfalls sollte in jedem Fall ausgeschlossen werden. Die Nasen aus dem Bodenseeeinzugsgebiet stammen, wie dies bei anderen Fischarten der Fall ist, von einer Besiedlung aus zwei verschiedenen eiszeitlichen Refugien, der Donau und dem Rhein.

Innerhalb des Rheineinzugsgebietes unterhalb des Rheinfalls konnte an neutralen genetischen Markern mit der Ausnahme der Population aus dem Schanzengraben, keine Differenzierung zwischen den Populationen festgestellt werden. Die Eigenständigkeit der Schanzengrabenpopulation ist höchstwahrscheinlich auf einen Flaschenhals, gekoppelt mit dem Vorhandensein von starker natürlicher Selektion zurückzuführen, welche die Effekte der genetischen Drift verstärkt haben. Diese Population basiert also auf einer sehr kleinen Gründerpopulation, weshalb deren Überlebensfähigkeit aufgrund von populationsdynamischen Prozessen ungewiss erscheint. Es muss davon ausgegangen werden, dass die starken morphologischen Veränderungen, die in dieser Population beobachtet wurden, nicht nur auf Drift zurückzuführen sind, sondern auch das Resultat von natürlicher Selektion sind, wobei sich die Nasen an ihr neues Habitat angepasst haben. Deshalb sollte man auch diese Population als eigenständige Managementeinheit betrachten.

Schliesslich haben die morphologischen Untersuchungen gezeigt, dass sich die Nasen aus den verschiedenen Gewässern innerhalb des unteren Rheineinzugs zum Teil recht stark voneinander unterscheiden. Besonders auffällig sind die Unterschiede zwischen Nasen aus den Unterläufen (Birs, Wiese) und denen aus den oberen Teilen des Einzugsgebietes (Rotbach, Suhre). Die Murg scheint morphologisch intermediär zu sein. Gleichzeitig konnten Hinweise auf natürliche Selektion und lokale Anpassung gefunden werden. Aus diesen Gründen sollte man bei Besatzmassnahmen oder Wiederansiedlungsprojekten möglichst Nasen aus ökologisch ähnlichen Gewässern verwenden. Schliesslich haben Besatzversuche an der Saane und in der Aare gezeigt dass diese nur erfolgreich sein können, wenn die Umweltbedingungen ein Überleben der Fische ermöglichen. Für Artenerhaltungsmassnahmen sollten deshalb folgende Punkte beachtet werden:

1. In erster Linie sollten noch bestehende Populationen ohne Besatz durch gezielte Massnahmen am Lebensraum gestützt werden.
2. Wo Besatzmassnahmen unumgänglich oder Wiederansiedlungsprojekte erwünscht sind, sollten Nasen nur innerhalb von den folgenden vier Managementeinheiten verschoben werden:
 1. Populationen innerhalb des Rhein-Hauptstammes
 2. Populationen der oberen Rheinzufüsse
 3. Populationen innerhalb des Bodenseeeinzugs
 4. Schanzengraben

2. EINFÜHRUNG

Die Nase (Abb. 1) gehört zur Gattung *Chondrostoma*, die zur Familie der Cypriniden zählt. Für diese Art ist die unterständige, lateral verlaufende, harte und stark schneidende Mundpartie sowie ein stark ausgeprägter und nach vorne gewölbter Oberkiefer (Dedual, 1990) charakteristisch. Nasen können bis zu 20 Jahren alt werden und erreichen ihre Geschlechtsreife in einem Alter von drei bis sieben Jahren (Szabo, 1958; Dedual, 1990; Bonell, 2009). Sie werden ca. 60cm gross und können bis zu 2.5kg wiegen. In Mittel- und Osteuropa sind sie weit verbreitet (Abb. 2). Die Schweiz liegt dabei am Rande ihres natürlichen Verbreitungsgebietes.



Abbildung 1. Nase (*Chondrostoma nasus*) aus dem Alpenrhein.



Abbildung 2. Verbreitung der Nase in Mittel- und Osteuropa. Rot schraffiert ist die autochthone und grün die allochthone Verbreitung (Kottelat and Freyhof, 2007).

2.1. BIOLOGIE DER NASE (*CHONDROSTOMA NASUS* L.)

Adulte Nasen halten sich während der Wachstumsphase bevorzugt in strömungsintensiven Bereichen mit kiesigem Untergrund der Äschen- und vor allem der Barbenregion von grösseren Fließgewässern auf. Sie zeigen ein ausgeprägtes Schwarmverhalten, wobei adulte Tiere eher monospezifische Schwärme ausbilden (Nelva, 1989; Huber and Kirchhofer, 1997; Bonell, 2009). Adulte Nasen ernähren sich fast ausschliesslich von Kieselalgen, die sie auf dem groben Flusssediment abgrasen (Adamik and Obrdlik, 1977; Dedual, 1990). Typisch für diese Ernährungsweise ist die vergleichsweise grosse Länge des Darms (Gyurko, 1959).

Vor der Fortpflanzung, die zwischen April und Mai stattfindet, wandern Nasen flussaufwärts, um geeignete Laichgebiete aufzusuchen. Es wurden dabei Wanderungen von mehr als 100km beobachtet. Als Laichplätze bevorzugen sie seichte (20-30cm Tiefe) und strömungsintensive Stellen mit grobem kiesigem Substrat (Lelek and Penaz, 1963; Dedual, 1990). Infolgedessen können sie während der Fortpflanzungszeit gut beobachtet werden, was bei mehrfach durchgeführten Monitorings ausgenutzt wurde (Maier et al., 1995; Zbinden and Hefti, 2000; Zbinden and Hefti, 2005). Vor dem Laichakt halten sich männliche und weibliche Tiere in getrennten Schwärmen auf. Die Männchen befinden sich dabei meistens flussabwärts auf den Laichplätzen, während sich die Weibchen weiter flussaufwärts

sammeln (Lelek and Penaz, 1963; Maier et al., 1992). Nasen können über mehrere Wochen in der Nähe von Laichplätzen verweilen und schreiten erst bei geeigneten Umweltbedingungen zum Laichakt. Eine Wassertemperatur von mindestens 8-12 °C scheint den ausschlaggebenden Faktor darzustellen, da sich die Eier bei tieferer Temperatur nicht richtig entwickeln können (Penaz, 1974; Dedual, 1990). Zur Fortpflanzung lassen sich die Weibchen in den Männchenschwarm treiben und legen die Eier über dem Substrat ab, auf dem sie kleben bleiben (Lelek and Penaz, 1963; Maier et al., 1992). Der Laichprozess selbst findet meistens innerhalb von 3-5 Tagen statt (Bürger, 1930). Sobald er abgeschlossen ist, ziehen sich die meisten Nasen wieder in grössere Flussläufe zurück (Maier et al., 1992).

Die jungen Larven schlüpfen in Abhängigkeit von der Wassertemperatur nach ca. 14-21 Tagen und werden durch die Strömung verdriftet (Herzig and Winkler, 1985). In den ersten Wochen ihrer Entwicklung benötigen sie strömungsarme und flache Uferzonen und ernähren sich bevorzugt von Rotiferen (Adamik and Obrdlik, 1977). Mit zunehmender Grösse verschieben sie sich in stärker fliessende Habitate und ernähren sich auch von Zoobenthos (Adamik and Obrdlik, 1977). Nach einigen Monaten verändert sich ihre Kiefermorphologie, was mit dem Übergang auf Kiesalgen als Hauptnahrung einhergeht. Der Erfolg der Fortpflanzung und des Überlebens der jungen Nasen scheint mit hohen Frühlingstemperaturen, dem Ausbleiben von Hochwassern und der Verfügbarkeit von benötigten Habitaten verknüpft zu sein. In den kalten Wintermonaten ziehen sich adulte Nasen in strömungsarme und eher tiefe Regionen der grösseren Flüsse zurück. Die juvenilen Nasen scheinen dagegen Altarme und strömungsarme Uferregionen zu bevorzugen.

2.2. AUSGANGSLAGE

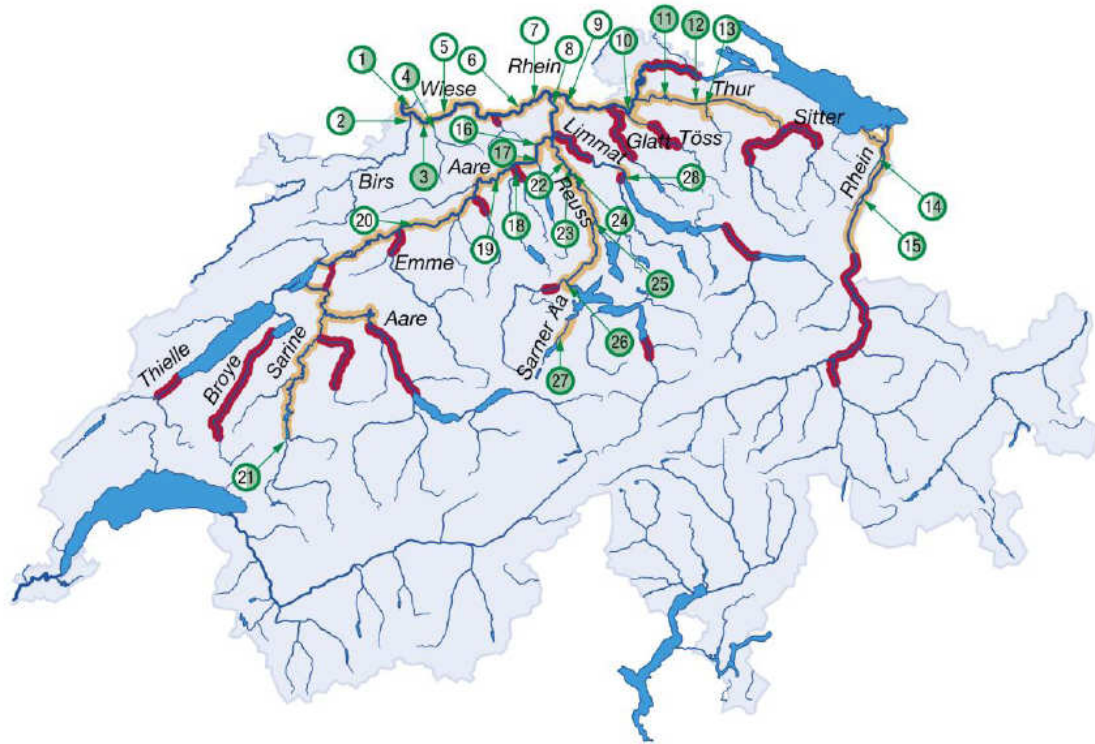
Die Nase war vor der Industrialisierung die häufigste Fischart in der Äschen- und Barbenregion der Schweizer Fliessgewässer. Die Nasenbestände sind in den letzten hundert und vor allem in den letzten 20-30 Jahren schweizweit dramatisch zusammengebrochen (Maier et al., 1995). Lokal sind viele Populationen ganz ausgestorben (Abb. 3). Heute scheinen sich ein paar Populationen auf tiefem Bestandniveau halten zu können. Die neusten Erhebungen aus den Jahren 2007 und 2008 (Huber-Gysi, 2009) haben gezeigt, dass die letzten „grösseren“ Populationen im Bereich des Hochrheins, des Aareunterlaufs, der Reuss und der Thur liegen. Eindeutige Ursachen für diesen Rückgang konnte man bisher nicht ermitteln. Die Anforderung der Nase an Habitatvielfalt und Vernetzung der Fliessgewässer, gekoppelt mit der massiven Verbauung und Fragmentierung sowie der Beeinflussung des Temperatur- und Abflussregimes durch Kraftwerke der Mittellandgewässer, scheinen als Hauptursachen in Frage zu kommen.

Diese Probleme beeinflussen nicht nur die Nasen, sondern generell alle Lebewesen dieser Lebensräume. Um dem entgegenzuwirken wurden in den letzten Jahren verschiedentlich Massnahmen getroffen. Bezogen auf die Nasen sind in dieser Hinsicht die Vernetzungen und Revitalisierungen der Unterläufe der Birs und der Ergolz erwähnenswert, welche nach der Fertigstellung während der Laichzeit wieder von den Nasen besiedelt wurden. Die Anzahl getätigter Massnahmen sind im Vergleich zu den noch anstehenden Problemen jedoch gering. Um auf die problematische Lage aufmerksam zu machen hat das WWF das Projekt „Der Nase nach – für lebendige Flüsse“ ins Leben gerufen. Sie benutzt dabei die Nase als Leitart, um die Aufwertung der Habitatqualität in Mittellandgewässern zu fördern. Dabei möchte man mehrere Renaturierungsprojekte initiieren, die der aquatischen Fauna des Mittellandes zugute kommen sollen.

Nebst dem Bedürfnis nach gewässerbaulichen Massnahmen steigt aber auch der politische Druck Nasen durch gezielten Besatz in den gefährdeten und zukünftig renaturierten Regionen zu stützen oder wieder einzuführen. Weil Besatz einen nicht zu unterschätzenden Eingriff in natürliche Prozesse wie sexuelle und natürliche Selektion darstellt, welche die lokale Anpassung an Umweltbedingungen fördern, wurde die EAWAG vom BAFU beauftragt eine populationsgenetische Studie der Nasenpopulationen in der Schweiz durchzuführen. Diese Studie soll klären ob es in der Schweiz genetisch differenzierte Populationen gibt und ob sich diese spezifisch an ihre Umwelt angepasst haben.



for a living planet®



Verbreitungskarte der Nase in der Schweiz 2008

Daten Monitoring 2007/2008 (Stand Jan. 09)

Legende:

- ursprüngliches Verbreitungsgebiet, ohne aktuelle Nachweise (ausgestorben)
- aktuelles Verbreitungsgebiet (Restbestände)
- Nachweise und Beobachtungen 2007
- Nachweise und Beobachtungen 2008

- | | |
|---|--|
| 1 Wiese, Kleinhüningen (BS) | 15 Werdenberger Binnenkanal, Rüthi (SG) |
| 2 Birs, Basel (BS, BL) | 16 Aare, Brugg (AG) |
| 3 Rhein, Augst (BL) | 17 Aare, Wildegg (AG) |
| 4 Ergolz, Augst (BL, AG) | 18 Suhre / Aare / Freykanal / Sengelbach, Aarau (AG) |
| 5 Rhein, Rheinfelden (AG) | 19 Aare, Schönenwerd (SO) |
| 6 Rhein, Kaisten (AG) | 20 Aare, Flumenthal (SO) |
| 7 Rhein, Etzgen (AG) | 21 Saane / Trême, Broc (FR) |
| 8 Klingnauer Binnenkanal, Klingnau (AG) | 22 Reuss, Mellingen (AG) |
| 9 Rhein, Zurzach (AG) | 23 Reuss, Eggenwil (AG) |
| 10 Tössmündung, Tössegg (ZH) | 24 Reuss, Bremgarten (AG) |
| 11 Thur, Andelfingen (ZH) | 25 Reuss, Sins (AG) |
| 12 Thur, Warth (ZH, TG) | 26 Reuss, Luzern (LU) |
| 13 Thur / Murg / Binnenkanal, Frauenfeld (TG) | 27 Sarner Aa, Sarnen (OW) |
| 14 Rietaach / RBK, Widnau / Balgach (SG) | 28 Limmat / Schanzengraben / Sihl / Hauserkanal, Zürich (ZH) |

Abbildung 3. Aktuelles Verbreitungsgebiet und Beobachtungen (2007-2008) der Nase in der Schweiz (Huber-Gysi, 2009).

3. PROBEAHMEN

Um ein vollständiges Bild aller Schweizer Nasenpopulationen zu generieren berücksichtigt diese Studie möglichst viele der noch nachgewiesenen Populationen. Die Fische wurden wann immer möglich während der Laichzeit mit einem Elektrofänger gefangen. Nur im Rotbach, in der Suhre und zum Teil in der Dornbirner Aach wurden die Nasen ausserhalb der Laichzeit beprobt. Insgesamt standen von zwölf Standorten genügend Nasen zur Verfügung (Tab. 1, Abb. 4). Die gefangenen Nasen wurden mit dem Narkosemittel MS222 betäubt. Sie wurden gemessen, gewogen und für die morphologischen Analysen fotografiert. Für die Altersbestimmung wurden drei Schuppen entnommen. Für die genetischen Untersuchungen wurde ein kleines Stück der Analflosse in 100% Ethanol fixiert.

Tabelle 1. Zusammenstellung der Beprobungsstandorte und der Anzahl gefangener Nasen

Code	Gewässer	Einzugsgebiet	Datum	Koordinaten		Nasen N	Schuppen	Foto
				Nord	Ost			
Bi	Birs	Hochrhein	06.05.2008	47°33'13.40"	7°37'05.68"	30	Ja	Ja
Wi	Wiese	Hochrhein	21.04.2008	47°34'53.29"	7°35'31.77 "	31	Ja	Ja
Mu	Murg	Thur	19.04.2008	47°34'01.20"	8°53'42.67"	44	Ja	Ja
Li	Schanzengraben	Limmat	09.04.2008	47°22'30.63"	8°32 '08.29"	21	Ja	Ja
Ro	Rotbach	Reuss	09.11.2008	47°07'01.86"	8°21'27.66"	17	Ja	Ja
Su	Suhre	Aare	23+29.07.2008	47°24'10.07"	8°3'59.23"	6	Nein	Ja
E	Aare	Aare	1996	-	-	63	Nein	Nein
Se	Sense	Saane	05.1996	46°54'06.05"	7°14'20.88"	42	Nein	Nein
Do	Doubs	Rhône	09.2006	-	-	30	Nein	Nein
Ri	Simmi	Alpenrhein	28.05.2008	47°12'51.55"	9°29'06.9 2"	3	Ja	Ja
Ri	Rietach	Alpenrhein	28.05.2008	47°23'30.44"	9°37'14 .24"	3	Ja	Ja
Ri	Schluch	Alpenrhein	28.05.2008	47°16'43.84"	9°32'31 .66"	1	Ja	Ja
Da	Dornbirner Ach	Bodensee	2008	47°26'11.15"	9°43'09.3 5"	36	Nein	Nein
Na	Donau	Donau	-	-	-	20	Nein	Nein
Tox	-	Rhône	-	-	-	10	Nein	Nein

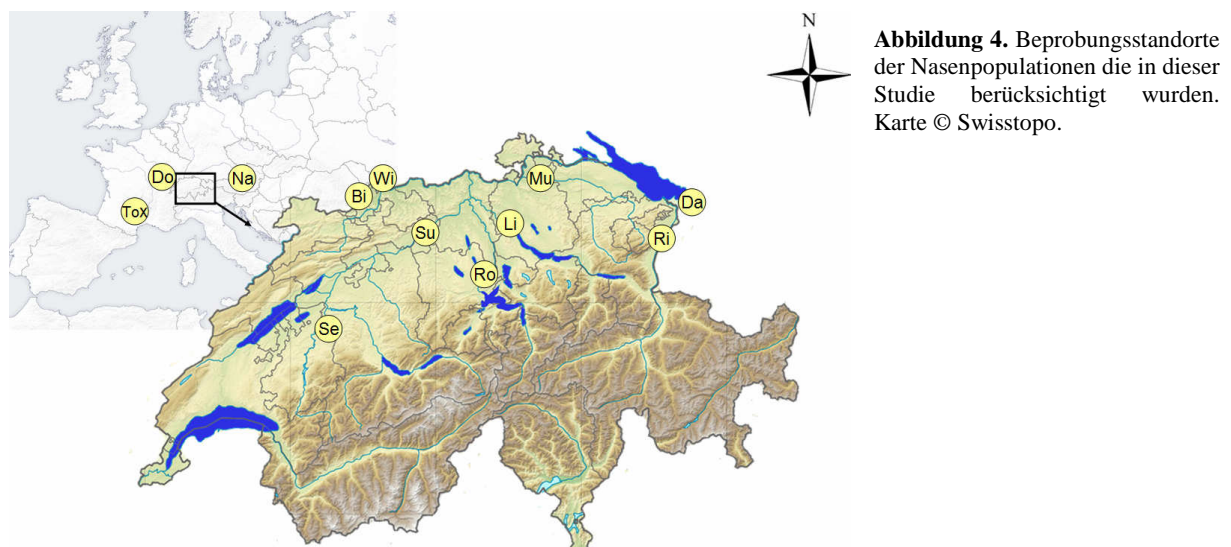


Abbildung 4. Beprobungsstandorte der Nasenpopulationen die in dieser Studie berücksichtigt wurden. Karte © Swisstopo.

3.1. BIRS, WIESE UND ERGOLZ (HOCHRHEIN)

Die Birsquelle befindet sich in der Nähe von Tavannes im Kanton Jura und mündet nach 73km in den Hochrhein bei Basel. Sie entwässert ein Einzugsgebiet von 922km². Die Birs war früher eines der bedeutendsten Laichgebiete für Nasen aus dem Hochrhein. Noch bis zum Ende des 19. Jahrhunderts wurden jährlich mehrere 10'000 Nasen gefangen (Maier et al., 1995). Im 17. und 18. Jahrhundert

scheinen Nasen noch häufiger gewesen zu sein, da von Fängen zwischen 100'000 bis 200'000 Tieren gesprochen wurde (Maier et al., 1995). Sie waren so häufig, dass sie selbst als Dünger beim Kartoffelanbau verwendet wurden (Lelek and Buhse, 1992). Im 20. Jahrhundert verschwand die Nase aus der Birs, nachdem der Einstieg vom Rhein durch ein Wanderhindernis unmöglich wurde. Erst 2001 wurde der unterste Abschnitt der Birs revitalisiert und damit für Fische durchgängig. Fünf Jahre später konnte man wieder Nasen bei der Fortpflanzung beobachten. Auch 2008 konnte ein Schwarm Nasen beobachtet und für diese Studie 30 adulte Tiere beprobt werden (Abb. 5).



Abbildung 5. Nasenschwarm in der Birs.

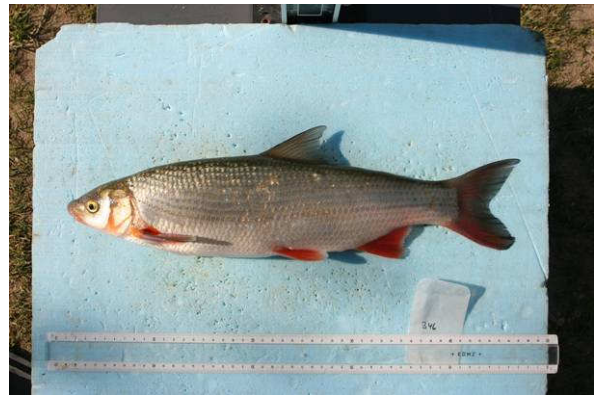


Abbildung 6. Nase aus der Birs.

Die Wiese entspringt am Feldberg im deutschen Schwarzwald auf 1200m über Meer und mündet nach ca. 55km bei Basel in den Hochrhein. Sie entwässert ein Einzugsgebiet von 458km². Im 19. Jahrhundert wurde sie zwischen Hausen und der Mündung in den Rhein stark verbaut. Die Wiese war ursprünglich ein weniger bedeutendes Nasenlaichgewässer als die Birs (Maier et al., 1995). Auch hier ist die Populationsgrösse in den letzten Jahrzehnten stark zurückgegangen. Heute stellt sie allerdings mit jährlich über 1000 Tieren die grösste in der Schweiz noch vorhandene Laichpopulation dar. Diese Nasen werden regelmässig für die künstliche Erbrütung von Besatzfischen herangezogen. Für die vorliegende Studie konnten die Laichabfischungen der kantonalen Fischereibehörde im Frühjahr 2010 begleitet und 31 Nasen für die Untersuchungen gefangen werden.



Abbildung 7. Nase aus der Wiese.



Abbildung 8. Deformierte Nase aus der Wiese.

Die Ergolz entspringt an der Geissfluh im Kanton Basel-Landschaft und mündet bei Augst in den Hochrhein. Sie entwässert ein Einzugsgebiet von 261km² und hat einen mittleren Jahresabfluss vom 3.73m³/sec. Früher war auch die Ergolz während der Laichzeit ein ergiebiges Nasengewässer (Maier et al., 1995). Die Nasen verschwanden aber auch aus der Ergolz und konnten erst seit 2007 nach erfolgten Revitalisierungsmassnahmen im untersten Abschnitt wieder beobachtet werden (Huber-Gysi, 2009). Auch 2008 konnte ein Nasenschwarm während der Laichzeit beobachtet werden. Trotz einer Absperrung während der von der kantonalen Fischereiverwaltung durchgeführten Abfischung konnten jedoch nur zwei Nasen gefangen werden. Vermutlich haben sich die Nasen in eine tiefe Uferuntererspülung zurückgezogen, sodass man sie nicht fangen konnte. Da schon zwei Populationen (Wiese und Birs) in unmittelbarer Nähe beprobt worden sind, hat man die Nasen der Ergolz im Rahmen dieser Studie nur in wenigen Untersuchungen verwendet.

3.2. MURG (THUR)



Abbildung 9. Nase aus der Murg.



Abbildung 10. Kleine adulte Nase aus der Murg

Die Murg ist einer der Hauptzuflüsse der Thur. Sie entspringt am Hörnli und mündet nach ca. 34km in der Nähe von Frauenfeld in die Thur. Bis in die 70er Jahre war der Nasenbestand in der Thur und deren Zuflüssen Murg, Sitter und Glatt noch relativ gross. Der Nasenbestand ist seit den letzten Jahrzehnten allerdings stark rückläufig. In den letzten Jahren konnten nur noch in der Murg, dem Chemibach, in der Thur selbst und einigen Seitenkanälen Nasen nachgewiesen werden. Aufgrund verschiedener Revitalisierungsmassnahmen, aber auch Dank der Fischdurchgängigkeit auf einer Strecke von ca. 36km, der Verbindung mit dem Rhein und den geplanten Renaturierungsmassnahmen an der Thurmündung gilt die Strecke für den längerfristigen Erhalt der Nasen in der Schweiz als vielversprechend (Huber-Gysi, 2009). Die Laichplätze in der Murg scheinen dabei die wichtigsten zu sein, denn sie werden immer noch regelmässig zum laichen aufgesucht. Auch hier werden die Nasen für die Erbrütung von Besatzfischen herangezogen. 41 aus Laichfischfängen stammende Fische konnten bei der Brutanstalt, die von Fischereiaufseher Markus Grünenfelder betreut wird, beprobt werden. Auffallend war, dass nicht nur grosse Tiere, sondern auch adulte Nasen mittlerer Grösse gefangen wurden.

3.3. SCHANZENGRABEN (LIMMAT)

Der Schanzengraben war ursprünglich Teil der dritten Stadtbefestigung von Zürich, die ab 1642 erbaut wurde, und diente als äusserer Wassergraben. Seit 1830 wird er in die Sihl geleitet und verbindet diese mit dem Zürichsee. Die Sihl mündet schliesslich in die Limmat. Auch im Limmatsystem, bis in den Walensee, waren Nasen früher sehr häufig (Maier et al., 1995) anzutreffen. Wie in anderen Gebieten der Schweiz gingen diese Populationen in den letzten Jahrzehnten stark zurück. Im Schanzengraben konnten aber in den letzten Jahren wieder vereinzelt Nasen beobachtet werden. Bei den Probenahmen, die zusammen mit der Fischereiverwaltung Zürich durchgeführt wurden, fiel die extrem hohe Dichte an Cypriniden (insbesondere Alet) auf, die sich im Schanzengraben aufhielten. Inmitten dieser Riesenschwärme konnten ca. 25 Nasen beobachtet werden. Bei den Elektroabfischungen konnten schliesslich 21 Tiere gefangen und beprobt werden.



Abbildung 11. Nase aus dem Schanzengraben.



Abbildung 12. Typische unterständige Mundpartie.

3.4. ROTBACH, RON (REUSS)

Der Rotbach entspringt oberhalb des Weilers Hellbühl im Kanton Luzern und mündet nach 21km in der Nähe von Inwil in die Reuss. Früher war die Nase auch in der Reuss, im Vierwaldstättersee und in deren Zuflüssen häufig anzutreffen (Bachmann, 1907; Maier et al., 1995). Heute sind aus dem Vierwaldstättersee nur noch einzeln Fänge bekannt und die wenigen Laichbeobachtungen stammen aus der Saarner Aa. Diese Population ist heute allerdings sehr klein und konnte nicht beprobt werden. In der Reuss unterhalb von Luzern ist noch ein etwas grösserer Nasenrestbestand vorhanden. So konnten 2008 in der Reuss bei Luzern Nasen von Mitarbeitern der EAWAG beobachtet werden. In der Ron wurden bei Routineabfischungen von der EAWAG (Leitung A. Peter) 2 Nasen gefangen. Diese mussten wegen zu kleinem Stichprobenumfang aus den Auswertungen ausgeschlossen werden. Aus diesem Grunde wurde der Rotbach ausserhalb der Laichzeit befischt. Es konnten dabei 17 Nasen gefangen werden, wobei erfreulicherweise ein Teil aus jüngeren Fischen bestand.



Abbildung 13. Nase aus dem Rotbach.



Abbildung 14. Kleinere Nase aus dem Rotbach.

3.5. SUHRE (AARE)

Die Suhre entspringt aus dem Sempachersee und mündet nach 34km östlich von Aarau in die Aare. Sie war bis Mitte des 19. Jahrhunderts stark mäandrierend, wurde aber zwischen 1856 und 1975 in mehreren Schritten stark verbaut. Früher muss die Nase während der Fortpflanzungszeit auch in der Suhre häufig gewesen sein. Es wurde zum Beispiel berichtet, dass am 4. und 5. Mai 1895 etwa 450kg Nasen gefangen wurden (Hofer, 1911). Später verhinderte ein künstlicher Wasserabsturz deren Aufstieg aus der Aare. Dieser Absturz wurde kürzlich durch eine durchgängige Fischrampe ersetzt und ein kurzer Abschnitt des Flusses oberhalb dieser Rampe revitalisiert. Bei Abfischungen, die im Rahmen der Dissertationsarbeit von Denise Weibel (EAWAG) durchgeführt wurden, konnten in der revitalisierten Strecke ausserhalb der Laichzeit (23. und 29.07.2008) 6 Nasen gefangen und beprobt werden. Erfreulicherweise waren auch zwei Jungfische (11.2cm, 10.9cm) dabei. Die kantonalen Behörden erwünschten aus Schutzgründen der kleinen Population jedoch keine Schuppenentnahmen, weshalb in der Suhre keine Altersanalysen durchgeführt wurden.



Abbildung 15. Nase aus der Suhre.



Abbildung 16. Blockrampe kurz vor der Mündung in die Aare (Photo © Denise Weibel).



Abbildung 17. Renatierte Strecke
(Photo © Denise Weibel).



Abbildung 18. Junge Nase.

3.6. AARE (BERN)

Die Aare entspringt den Aargletschern im Grimselgebiet. Sie durchfliesst anschliessend den Briener- und Thunersee, bevor sie das Aaretal zwischen Münsingen und Bern erreicht. Unterhalb von Bern wird die Aare zur Stromgewinnung zum Wohlensee gestaut. Nach der Saanemündung fliesst sie durch den künstlichen Hagneckkanal in den Bielersee. Schliesslich mündet die Aare bei Koblenz in den Rhein. Sie ist 288km lang, entwässert ein Gebiet von 17'620km² und hat einen mittleren Abfluss von 590m³/sec. Die Nase war zwischen Thun und der Aaremündung eine der am häufigsten anzutreffenden Fischarten (Maier et al., 1995). Die Bestände gingen nach dem Bau der verschiedenen Kraftwerke stark zurück. 1995 war in Bern noch eine grössere Restpopulation vorhanden, die heute jedoch als praktisch ausgestorben gilt (Huber Gysi, 1996-2009). Aus den Studien von Arthur Kirchhofer und Martin Huber Gysi waren glücklicherweise noch Flossenproben vorhanden, die in dieser Studie verwendet werden konnten.



Abb. 19. Nasen aus der Aare zwischen Zollikofen und Bremgarten aufgenommen im Frühling 2002 (© Martin Fischer).

3.7. SENSE (SAANE)

Die Sense entspringt im Berner Gantrischgebiet und den Freiburger Voralpen und mündet nach 35km bei Laupen in die Saane. Dabei durchquert sie eine 15 km lange und naturbelassene Schlucht (Abb. 19). Im untersten Bereich vor der Mündung wurde die Sense stark verbaut (Abb. 20). Die Sense beherbergte früher in den unteren Strecken ein wichtiges Nasenlaichgebiet (Von dem Borne, 1883). Die Nasenbestände nahmen nach dem Bau des Schifftenstauwehrs jedoch rapide ab (Maier et al., 1992). Letzte Nachweise stammen aus dem Jahr 2003 und seither gilt die Population als ausgestorben. Für die populationsgenetischen Untersuchungen wurde auch im Fall der Sense auf Material von Arthur Kirchhofer und Martin Huber Gysi zurückgegriffen.



Abbildung 20. Senseschlucht bei Schwarzenburg.



Abbildung 21. Sense bei Laupen.
(Photo © Martin Huber Gysi).

3.8 SCHLUCH, RIETACH, SIMMI (ALPENRHEIN SEITENGEWÄSSER)

Der Schluch, die Rietach und die Simmi sind kleine Seitenkanäle des Alpenrheins. Bis noch vor wenigen Jahren beherbergten alle drei relativ viele Nasen, besonders im Schluch traten zum Teil recht grosse Nasenschwärme auf. Diese schienen zur Laichzeit aus dem Bodensee aufzusteigen. Früher war die Nase im Bodensee häufig, wobei ihre Anzahl scheinbar im 18. Jahrhundert gegenüber früherer Zeiten zunahm, und seit den 20er Jahren des 20. Jahrhunderts rückläufig sind. Bei den Probenahmen (2008) konnten in allen drei Strecken Nasen gefangen werden, jedoch insgesamt nur sieben Stück. Diese wurden aufgrund der Wichtigkeit der Bodenseepopulationen trotzdem für die Auswertungen einbezogen. Um statistisch robuste Schlussfolgerungen ziehen zu können wurde deshalb ein weiterer Zufluss des Bodensees, der Nasen beherbergt, die Dornbirner Ach, ins Projekt integriert.



Abbildung 22. Rietach (Foto © Fredy Fehr).



Abbildung 23. Simmi (Foto © Fredy Fehr).



Abbildung 24. Schluch (Foto © Fredy Fehr).



Abbildung 25. Nase aus dem Schluch.

3.9 DORNBIRNER ACH

Die Dornbirner Ach entspringt am Hohen Freschens im Österreichischen Vorarlberg und mündet nach 29.9km bei Hard in den Bodensee. Sie entwässert dabei ein Einzugsgebiet von 223 km². Der unterste Flussabschnitt wurde 1904 aus Hochwasserschutzgründen stark begradigt und ist seither als naturfern anzusehen (Bonell, 2009). Wie im gesamten Schweizer Einzugsgebiet war die Nase auch in der Dornbirner Ach früher häufig anzutreffen, die Populationsgrößen sind aber auch hier in den letzten Jahrzehnten stark zurückgegangen (Bonell, 2009). Im Rahmen seiner Diplomarbeit beprobte Frank Bonell die Nasen während und ausserhalb der Fortpflanzungszeit. Da aus den Alpenrheinkanälen nur wenige Nasen gefangen werden konnten, stellte Herr Bonell uns diese Proben sowie seine Altersauswertungen freundlicherweise für unsere Untersuchungen zur Verfügung.



Abbildung 26. Nase aus der Dornbirner Ach
(Foto © Frank Bonell)



Abbildung 27. Dornbirner Ach (Foto © Frank Bonell).

3.10 REFERENZPROBEN

Aufgrund der Resultate der Nasen aus dem Alpenrhein und der Dornbirner Ach wurden zusätzlich noch Nasen aus der Donau für die genetischen Analysen herangezogen. Es handelt sich dabei um einen Zuchtstamm, der von Dr. Wolfgang Mark zur Verfügung gestellt wurde. Für die phylogenetischen Analysen wurden zusätzlich als Referenzen reine *C. toxostoma* Proben aus dem Rhône-einzugsgebiet, die von Dr. Costedoat zur Verfügung gestellt wurden, herangezogen. Bei den AFLP Analysen wurden auch die wenigen Nasen aus der Ron (Reuss) und der Ergolz (Rhein) verwendet

4. LÄNGENVERTEILUNG UND ALTERSBESTIMMUNGEN

4.1. METHODEN

Um zu überprüfen, ob die Nasenpopulationen eine gesunde Alterstruktur aufweisen, die auf eine funktionierende natürliche Fortpflanzung schliessen lässt, wurde das Alter der Nasen, für die Schuppenproben vorlagen, bestimmt. Die Schuppen wurden von Hand mit Wasser gereinigt und zwischen zwei Objektträgern montiert. Da Nasen relativ alt werden können (bis zu 20 Jahre), kann die Identifikation der Jahresringe problematisch sein. Aus diesem Grunde wurde die Altersbestimmung von Nasenexperten, Dr. Michel Dédual und Frank Bonell (Dornbirner Ach), durchgeführt. Alle Schuppen wurden fotografiert und die Jahresringe anschliessend auf dem Monitor identifiziert und mit der Software OPTIMA 6 vermessen. Ein Beispiel einer solchen Altersbestimmung zeigt die Abbildung 28.

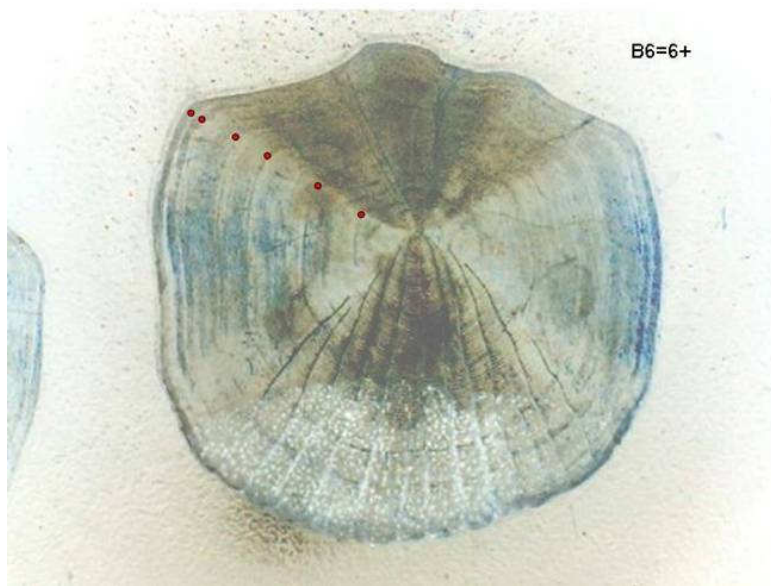


Abbildung 28. Foto einer Schuppe der Nase Nr. B6 aus der Wiese. Rot markiert sind die verschiedenen Jahresringe. Es handelt sich dabei um ein sieben jähriges Tier.

4.2. RESULTATE LÄNGENVERTEILUNG UND ALTERSBESTIMMUNG

Die meisten Nasen wurden während der Laichzeit auf Laichstellen beprobt. Da sie für ihre Fortpflanzung spezifische Laichplätze aufsuchen, die typischerweise nicht dem Lebensraum junger Nasen entsprechen, war zu erwarten, dass eine eher geringe Anzahl juveniler Fische gefangen wird. So wurde auf den sieben Laichplätzen (Bi, Wi, Mu, Li, E, Se, Ri; Tab. 2, Abb. 29) keine einzige Nase gefangen, die kleiner als 32.5cm war. Auffallend gross sind die Nasen in der Wiese, Birs, Sense (1996), Aare (1996), und in den Binnenkanälen des Alpenrheins. Einzig in der Murg scheint das gesamte Grössenspektrum an adulten Tieren auf den Laichplätzen vorhanden zu sein. Interessanterweise wurde an allen ausserhalb der Laichzeit beprobten Standorten kleine Nasen gefangen (Ro, Su, Da; Tab. 2, Abb. 29), was auf eine zumindest teilweise funktionierende natürliche Rekrutierung hinzuweisen scheint.

Die Tabelle 3 und die Abbildung 30 zeigen die Alterverteilungen der Nasen von sieben Nasenpopulationen. In der Wiese und in der Birs kommen von 4+ bis 11+ alle Altersklassen vor. 5+ und 6+ Fische sind dabei die häufigsten. Da es sich dabei um Laichgewässer handelt, scheint die Alterstruktur auf eine funktionierende natürliche Rekrutierung im Rhein bei Basel hinzuweisen. In der Murg kann eine Häufung von jungen Fischen (4+ und 5+) sowie eine Gruppe eher älterer Tiere (zwischen 7+ und 14+ mit einem Maximum bei 11+) beobachtet werden. Die natürliche Rekrutierung scheint demzufolge auch in der Murg zu funktionieren. Diese scheint aber in gewissen Jahren auszufallen. Solchen Schwankungen können sowohl natürliche als auch anthropogene Ursachen zu

Gründe liegen, weshalb keine weiteren Schlussfolgerungen gezogen werden können. Im Schanzengraben konnten nur relativ junge Nasen gefangen werden (3+ bis 6+). Interessanterweise wurde dieser Laichplatz erst kürzlich wieder entdeckt. Es handelt sich dabei scheinbar um eine sehr kleine Laichpopulation, weshalb die Weiterentwicklung in Zukunft speziell überwacht werden sollte. Der Rotbach wurde ausserhalb der Laichzeit beprobt und es wurden verschiedene Altersklassen gefangen. Erfreulicherweise waren die meisten Nasen relativ jung (zwischen 2+ und 7+) was auf eine zumindest zum Teil funktionierende natürliche Fortpflanzung schliessen lässt. Jedoch konnten auch hier nur wenige Tiere gefangen werden. 0+ sowie 1+ Fische fehlten allerdings. In den Seitenkanälen des Alpenrheins wurden nur sieben Nasen gefangen, sechs davon waren alt (zwischen 12+ und 15+) und wiesen starke Deformationen auf. Eine Nase aus dem Schluch war drei Jahre alt. Die Überalterung dieser Populationen und die dramatischen Rückgänge der letzten Jahre lassen ein baldiges Aussterben der Nase in diesen Regionen vermuten. In der Dornbirner Ach konnten Nasen aus allen Altersklassen gefangen werden. Somit funktioniert die Rekrutierung zum Teil noch. Allerdings konnten auch hier nur wenige Jungfische gefangen werden (0+ Fische sollten theoretisch sehr häufig sein).

Tabelle 2. Verteilung der Nasenfänge in Längensklassen. Die Abkürzungen der Nasenpopulationen sind in Tabelle 1 beschrieben. Ebenfalls angegeben sind: Mittlere Grösse der gefangenen Nasen (Mittelwert), die Standardabweichung von diesem Mittelwert (sd.), die minimal und maximal gemessenen Grössen (Min, Max) und das Längenspektrum innerhalb einer Population (Max-Min= Δ Länge). Alle mit * markierten Standorte wurden ausserhalb der Laichzeit beprobt.

Längensklasse	Bi	Wi	Mu	Li	Ro*	Su*	E	Se	Ri	Do*
Mittelwert	466	480	431	414	344	285	472	517	455	331
sd.	21	28	69	15	76	136	21	36	57	102
Min.	435	420	325	385	250	109	410	330	330	166
Max.	512	542	537	450	500	395	525	570	495	540
Δ Länge	77	122	212	65	250	286	115	240	165	374
0-99.9mm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
100-124.9mm	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-
125-149.9mm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
150-174.9mm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
175-199.9mm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
200-224.9mm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10
225-249.9mm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
250-274.9mm	-	-	-	-	3	-	-	-	-	12
275-299.9mm	-	-	-	-	3	-	-	-	-	10
300-324.9mm	-	-	-	-	2	-	-	-	-	3
325-349.9mm	-	-	9	-	3	-	-	1	1	5
350-374.9mm	-	-	5	-	1	2	-	-	-	-
375-399.9mm	-	-	4	3	-	2	-	-	-	4
400-424.9mm	-	2	-	12	2	-	1	-	-	-
425-449.9mm	6	1	2	5	1	-	6	-	1	3
450-474.9mm	13	11	4	1	-	-	25	1	1	6
475-499.9mm	8	10	12	-	1	-	22	2	4	6
500-524.9mm	2	5	6	-	1	-	3	20	-	3
525-549.9mm	-	2	2	-	-	-	1	14	-	1
550-574.9mm	-	-	-	-	-	-	-	4	-	-
575-599.9mm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Summe	29	31	44	21	17	6	58	42	7	67

Zusammenfassend konnten in verschiedenen Gewässern auch junge Nasen gefangen werden, die Populationsgrössen waren jedoch meistens sehr klein. Ein grösseres Vorkommen an jungen Nasen konnte an keiner Stelle festgestellt werden. Verschiedene Populationen sind durch eine mangelnde Rekrutierung (fast) ganz ausgestorben (Sense, Kleine Saane, Aare bei Bern, Alpenrheinkanäle). Die noch verbleibenden Populationen scheinen noch „relativ natürliche“ Altersstrukturen aufzuweisen, es bleibt jedoch fraglich ob diese aufgrund der kleinen Populationsgrössen langfristig überlebensfähig sind.

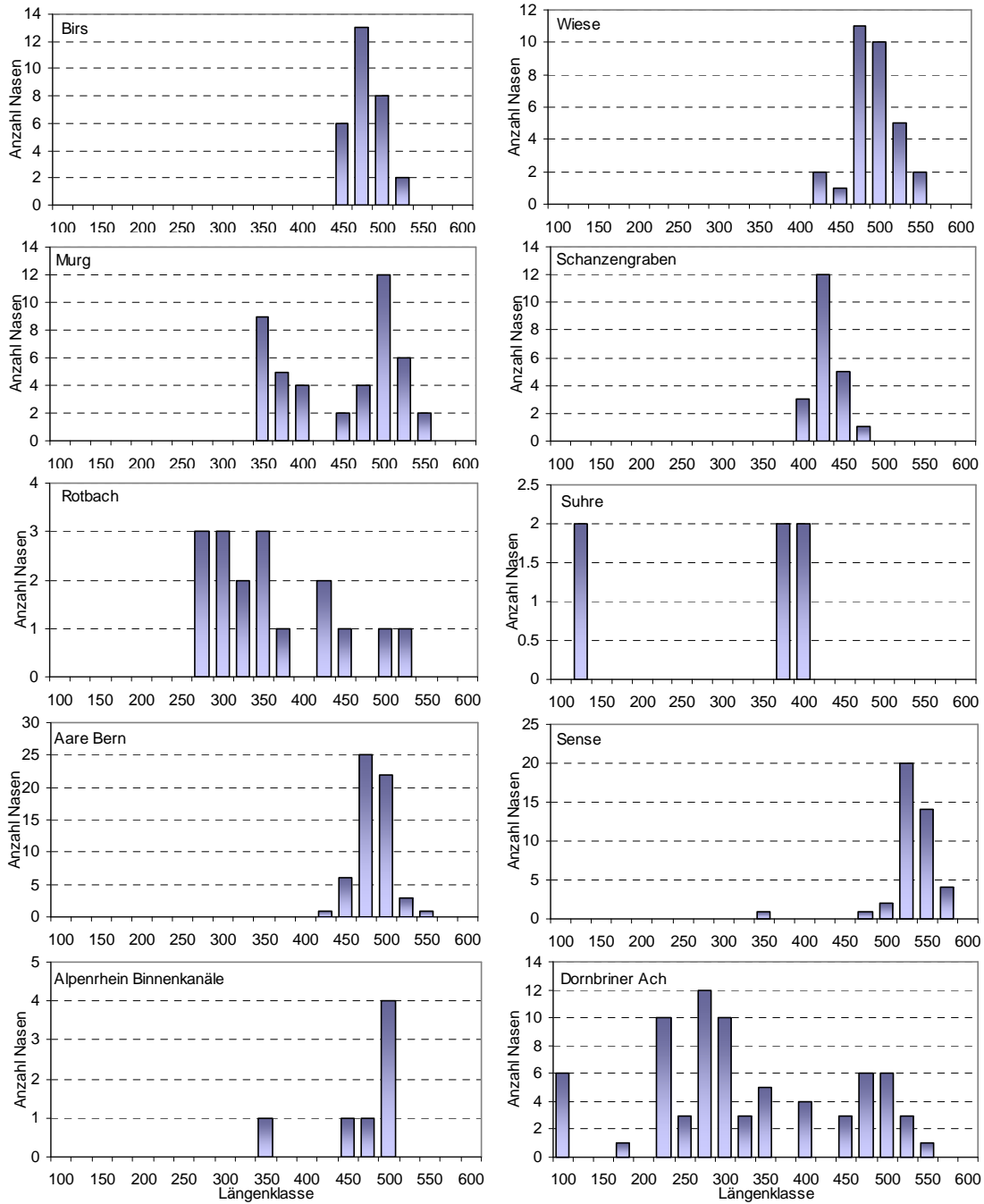


Abbildung 29. Längenhistogramme der an den verschiedenen Standorten gefangenen Nasen. Die Fische aus der Suhre, dem Rotbach und der Dornbriner Ach wurden ausserhalb der Laichzeit gefangen.

Tabelle 3. Verteilung der Nasenfänge in Altersklassen. Alle mit * markierten Standorte wurden ausserhalb der Laichzeit befischt. Alle Abkürzungen sind in Tabelle 1 beschrieben.

Alter	Bi	Wi	Mu	Li	Ro*	Ri	Da*
0+	-	-	-	-	-	-	6
1+	-	-	-	-	-	-	1
2+	-	-	-	-	4	-	11
3+	-	-	-	1	4	1	11
4+	-	1	9	11	2	-	12
5+	11	5	3	4	1	-	3
6+	8	10	-	3	2	-	2
7+	5	4	1	-	2	-	4
8+	3	2	2	-	-	-	2
9+	1	2	3	-	-	-	1
10+	1	3	2	-	-	-	3
11+	-	2	5	-	-	-	3
12+	-	-	4	-	1	3	1
13+	-	-	1	-	1	1	2
14+	-	-	1	-	-	-	1
15+	-	-	-	-	-	2	1
Summe	29	29	31	19	17	7	64

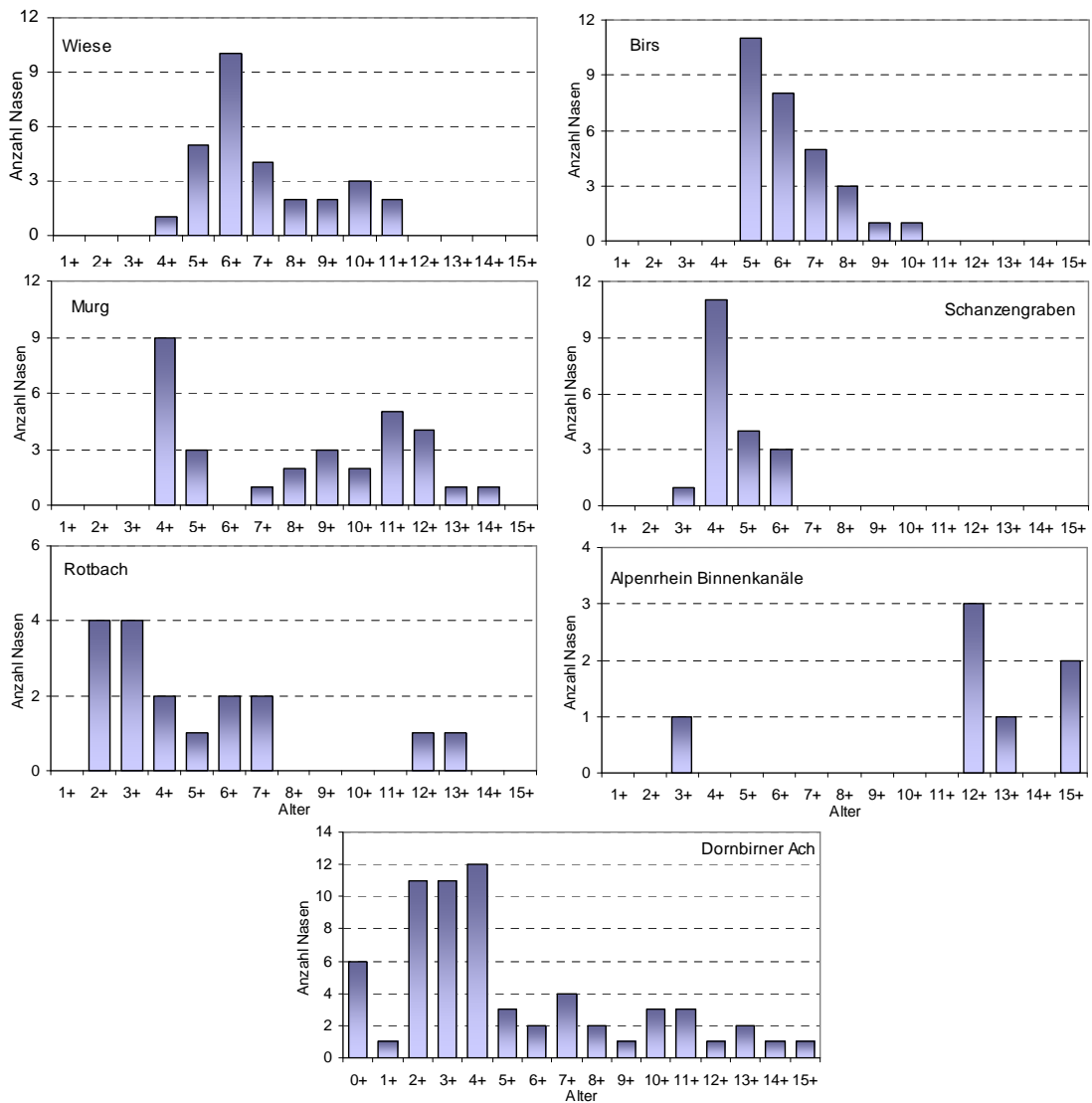


Abbildung 30. Resultate der Altersbestimmungen von sechs Schweizer Nasenpopulationen. Ein grösseres Altersspektrum weist auf eine gesunde Populationsstruktur und auf eine funktionierende Rekrutierung hin. Rechtsverschobene Verteilungen (Bsp. Alpenrhein Binnenkanäle) bedeuten eine Veralterung der Populationen was auf eine schlechte Rekrutierung zurückzuführen ist.

5. GEOMETRISCHE MORPHOLOGIE

Wenn verschiedene Populationen reproduktiv voneinander isoliert und gleichzeitig unterschiedlichen Umweltbedingungen ausgesetzt sind, kann die natürliche Selektion zu einer morphologischen Anpassung an die Umwelt führen. Wie rasch dieser Prozess abläuft ist von der Stärke der natürlichen Selektion und von der genetischen Prädisposition einer Population, sich morphologisch an unterschiedliche Umweltbedingungen anpassen zu können, abhängig. Nicht alle morphologischen Veränderungen beruhen jedoch auf einer genetischen Anpassung. Morphologische Merkmale können auch während der Lebenszeit eines Individuums von der Umwelt beeinflusst werden. Diese morphologischen Veränderungen geschehen somit sehr rasch und werden „phänotypische Plastizität“ genannt. Um herauszufinden, ob sich die verschiedenen Nasenpopulationen morphologisch an die lokalen Umweltbedingungen angepasst haben, müssen in einem ersten Schritt die Morphologie definiert und die Unterschiede quantifiziert werden. In einem zweiten Schritt müssen genetische Methoden angewandt werden, um herauszufinden, ob diese morphologischen Unterschiede durch natürliche Selektion oder durch die phänotypische Plastizität entstanden sind.

Da einzelne morphologische und meristische Messungen relativ viel Zeit in Anspruch nehmen und an lebendigen Tieren kaum durchführbar sind, werden üblicherweise konservierte Fische zu diesem Zweck verwendet. Heute besteht mit der geometrischen Morphologie die Möglichkeit, gewisse Aspekte der Morphologie anhand von Fotografien von lebenden Fischen zu untersuchen, was insbesondere auch bei seltenen und unter Schutz stehenden Arten nützlich ist. Dies ist allerdings nicht der einzige Vorteil dieser Methode. Sie ermöglicht ebenfalls die gesamte Form (relative Distanzen zwischen verschiedenen Punkten in zwei oder drei Dimensionen) der Fische zu erfassen. Im ersten Teil wird die Methode beschrieben und im zweiten Teil werden die Resultate für die verschiedenen Nasenpopulationen dargestellt.

5.1. DEFINIERUNG DER LANDMARKEN

In einem ersten Schritt muss eine gewisse Anzahl Landmarken (rote Punkte in Abb. 31) bestimmt werden. Die Anzahl der zu setzenden Landmarken hängt dabei vom Stichprobenumfang ab, da zu viele Marken die Aussagekraft der statistischen Auswertungen vermindern können. Folgende Formel gibt die maximale Anzahl an, die nicht überschritten werden sollte (K entspricht der maximal anzuwendenden Landmarken und N dem Stichprobenumfang): $K = (4+N)/2$

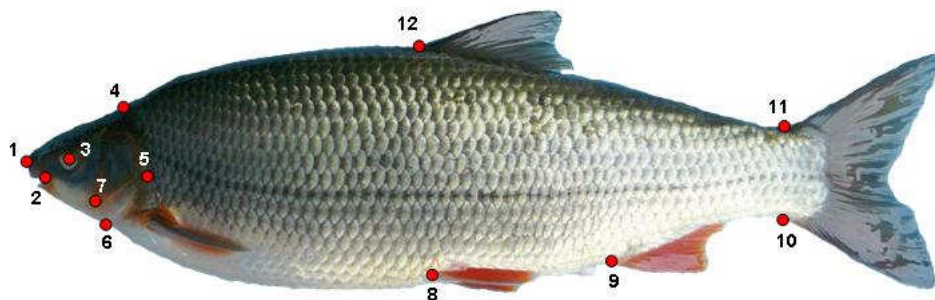


Abb 31. Lokalisation der 12 homologen Landmarken, die für die geometrische Morphologie verwendet wurden. 1) Vorderster Punkt der Nase; 2) Schnittpunkt des Ober- und Unterkiefers; 3) Zentrum des Auges; 4) Verlängerung des Kiemensbogens zur Oberseite des Fisches; 5) Position am Rande des Kiemendeckels mit der maximalen Distanz zur Nase; 6) Schnittpunkt des Kiemendeckels mit der Körperunterseite; 7) Winkelpunkt; 8) Artikulationspunkt der Bauchflosse; 9) Artikulationspunkt der Analflosse; 10) Unteres Ende der Schwanzflosse; 11) Oberes Ende der Schwanzflosse; 12) Artikulationspunkt der Rückenflosse.

Es gibt drei unterschiedliche Landmarktypen, die gesetzt werden können. Erstere sind Artikulations- oder Schnittpunkte von Flossen sowie konvexe Strukturen (Bsp. Abb 30: Landmarken (LM) 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12). Diese Art von Landmarken ist zu bevorzugen, da sie in den meisten Fällen einfach zu identifizieren ist. Der zweite Typ entspricht den maximalen und minimalen Krümmungen (Bsp. LM 1). Letztendlich können auch Landmarken gesetzt werden, die im Verhältnis oder als Verlängerung einer anderen Struktur stehen (Bsp: LM 4, 5). Wichtig ist und dies entspricht auch der Limitierung dieser Methode, dass die verwendeten Merkmale bei allen Tieren vorhanden sind (es kann kein Esel mit einem Fisch verglichen werden). Für die Nasen wurden in Anbetracht des zum Teil relativ geringen Stichprobenumfangs zwölf Landmarken definiert. Diese wurden im Programm TPSDIG (Rohlf, 2006) gesetzt und sind in Abb. 31 grafisch dargestellt.

5.2. EXTRAKTION DER INFORMATIONEN UND GEOMETRISCHEN GRUNDLAGEN

Die genauen mathematischen und geometrischen Grundlagen dieser Methode sind zu umfangreich, um sie in diesem Bericht angemessen einzuführen. Aus diesem Grunde werden sie zusammengefasst dargestellt. In einem ersten Schritt müssen die Landmarken der verschiedenen Individuen auf eine gemeinsame Grösse skaliert und deren Orientierung durch eine Rotation um das Zentrum korrigiert werden (Abb. 32a). Dies wurde anhand der „Generalized Least Squares Procrustes Superimposition Analysis“ (Rohlf, 1999) Methode (GPA) durchgeführt. Schliesslich wird nach der geometrischen Transformation eine durchschnittliche geometrische Anordnung der Landmarken generiert (Konsensuskonfiguration), die der Morphologie einer Durchschnittsnase entspricht (Abb. 32b).

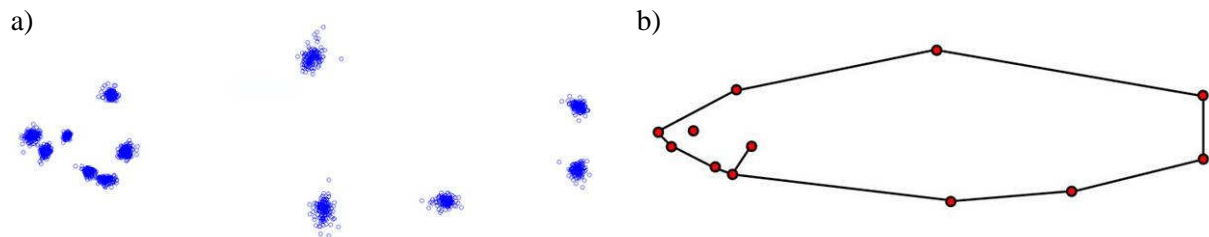


Abbildung 32. a) Anordnung der Landmarken von 155 Nasen nach Skalierung und Rotation. b) Konsensuskonfiguration generiert nach den obigen Transformationen basierend auf denselben 155 Fischen.

Die Abweichungen jedes Individuums von dieser Konsensuskonfiguration wird anhand der „thin-plate spline“ Methode berechnet. Diese bestimmt die orthogonalen Interpolationsfunktionen, auch Formachsen oder „principal warps“ genannt, was im Wesentlichen den Achsen der Formabweichung entspricht (Zelditch et al., 2004; Rohlf, 2006). Die für jede Achse der principal warps berechneten Energien, die benötigt werden um die Landmarkenkonfiguration eines Individuums auf die der Konsensuskonfiguration zu biegen, werden „partial warps“ genannt. Diese können für weitere multivariate statistische Auswertungen verwendet werden (Rohlf, 1999). Die GPA, thin-plate spline sowie die Berechnung der partial warps wurden mit der Software TPSRELW (<http://life.bio.sunysb.edu/morph/>) durchgeführt. Für genauere Informationen verweisen wir auf Zelditch et al., 2004; und Roy et al., 2007.

5.3. RESULTATE GEOMETRISCHE MORPHOLOGIE

In einem ersten Schritt sollen die morphologischen Eigenschaften der verschiedenen Nasenpopulationen graphisch dargestellt werden. Um dies zu erreichen, werden die partial warps in einer kanonischen Varianzanalyse (CVA) auf zwei Achsen reduziert. Dabei werden die einzelnen Nasen in Populationen gruppiert und die Varianz zwischen diesen Gruppen maximiert. Die morphologischen Veränderungen entlang dieser Achsen können anschliessend anhand einer linearen Regressionsmethode, die in der Software TPSREGR implementiert ist, dargestellt werden (Abb. 33). Die erste CV-Achse (x-Achse) erklärt 37.54% der morphologischen Varianz zwischen den Populationen. Dies entspricht, wie den Fischformen unterhalb der Achse entnommen werden kann,

hauptsächlich der Kopfgrösse und der Höhe des Körpers (am rechten Teil der x-Achse haben Nasen einen hohen Körper und einen kleinen Kopf, am linken Teil einen eher grossen Kopf und einen schmalen Körper). Die zweite CV-Achse erklärt 28.82% der morphologischen Varianz zwischen den verschiedenen Populationen. Der untere Teil der y-Achse entspricht einer eher benthisch (nach unten) orientierten Gesamtmorphologie (Kopf und Körper) während diese im oberen Teil der y-Achse eher weniger nach unten orientiert sind.

Für die verschiedenen Nasenpopulationen fällt auf, dass sich die des Schanzengrabens morphologisch stark von den anderen Populationen unterscheidet. Sie haben relativ zur Körperlänge einen kleineren Kopf und einen höheren Körper. Die anderen Populationen scheinen sich in dieser Hinsicht weniger voneinander zu unterscheiden (liegen in etwa an der gleichen Stelle der x-Achse, oder überlappen zumindest recht stark). Sie unterscheiden sich allerdings in der Orientierung des Kopfes und des Körpers (y-Achse). Dabei haben Nasen aus dem Rotbach, der Suhre und den Alpenrheinkanälen (oberes Einzugsgebiet und eher kleinere Gewässer) eine nach unten orientierte Kopfmorphologie, während die der Birs und der Wiese (unteres Einzugsgebiet des Rheins) weniger stark nach unten orientiert sind. Nasen aus der Murg sind diesbezüglich intermediär. Makroskopisch sind demzufolge morphologische Unterschiede zwischen den verschiedenen Nasenpopulationen festzustellen.

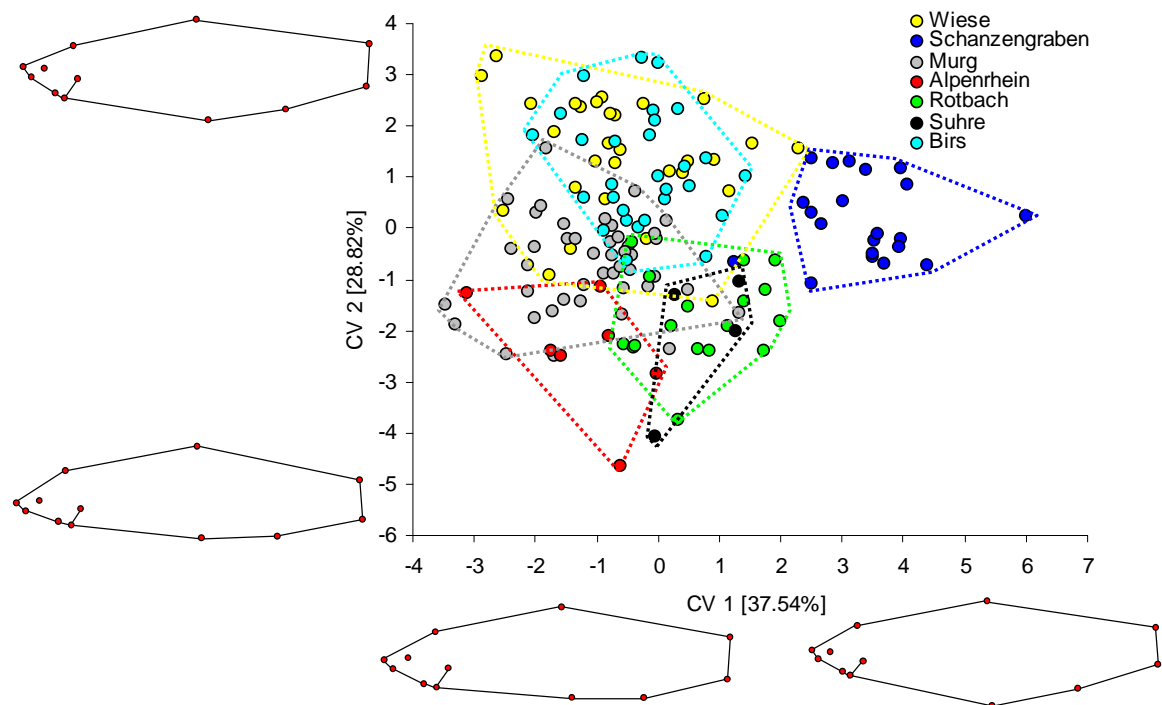


Abbildung 33. Morphologische Eigenschaften der verschiedenen Nasenpopulationen. Die Resultate entstammen einer kanonischen Varianzanalyse (CVA), in der die morphologischen Unterschiede (Varianz) zwischen den Populationen maximiert werden.

Diese Unterschiede müssen noch quantifiziert und statistisch geprüft werden. Zu diesem Zweck können Distanzen aus multivariaten Daten, in diesem Fall der partial warps, berechnet werden. In einem ersten Schritt wurden die partial warps in einer Hauptkomponentenanalyse auf drei Achsen reduziert, die am meisten Varianz erklären. Anschliessend wurde der Mittelwert jeder Population für jede Hauptkomponente berechnet und die euklidische Distanz zwischen den Mittelwerten der verschiedenen Populationen berechnet. Die Signifikanz dieser Distanz wurde durch einen t-Test geprüft. Wie der Tabelle 4 entnommen werden kann, sind die morphologischen Distanzen zwischen den verschiedenen Populationen sehr variabel aber in den meisten Fällen signifikant. Die Beobachtung, dass die Distanzen zwischen Birs und Wiese am geringsten sind, unterstreicht die Validität dieses Ansatzes, da diese geografisch sehr nahe beieinander liegen und somit wenige Unterschiede zu erwarten sind. Interessant ist auch die Tatsache, dass sich die Schanzengraben- und Alpenrheinpopulationen scheinbar recht stark von allen anderen Populationen unterscheiden. Beim

Alpenrhein könnten die starken Deformationen eine Ursache sein. Im Schanzengraben handelt es sich scheinbar um Nasen mit einer anderweitig nicht vorkommenden Morphologie.

Tabelle 4. Morphologische Differenzierung (Euklidische Distanz) der verschiedenen Nasenpopulationen basierend auf den ersten drei Hautkomponenten berechnet von den partial warps sind unterhalb der Diagonalen angegeben. Die statistische Signifikanz oberhalb der Diagonalen.

	N	Wi	Bi	Li	M	Ri	Ro	Su	
PCA 1	Wi	31	-	n.s.	<0.001	<0.001	<0.001	<0.05	<0.05
	Bi	29	0.25	-	<0.001	<0.05	<0.01	n.s.	<0.05
	Li	21	0.85	1.10	-	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	M	44	0.61	0.35	1.46	-	<0.01	n.s.	n.s.
	Ri	7	1.71	1.46	2.56	1.10	-	n.s.	n.s.
	Ro	17	0.60	0.34	1.45	0.01	1.11	-	n.s.
	Su	4	1.22	0.97	2.07	0.62	0.49	0.63	-
PCA 2	Wi	31	-	n.s.	n.s.	p<0.05	n.s.	n.s.	
	Bi	29	0.19	-	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
	Li	21	0.01	0.18	-	n.s.	p<0.01	n.s.	
	M	44	0.17	0.02	0.16	-	p<0.01	n.s.	
	Ri	7	1.09	1.28	1.10	1.26	-	p<0.05	
	Ro	17	0.00	0.19	0.01	0.17	1.09	-	
	Su	4	0.54	0.34	0.52	0.36	1.63	0.54	
PCA 3	Wi	31	-	p<0.01	n.s.	p<0.001	n.s.	n.s.	
	Bi	29	0.62	-	p<0.001	n.s.	n.s.	n.s.	
	Li	21	0.44	1.06	-	p<0.001	p<0.01	p<0.05	
	M	44	0.89	0.28	1.34	-	n.s.	p<0.01	
	Ri	7	0.66	0.04	1.10	0.24	-	n.s.	
	Ro	17	0.18	0.44	0.62	0.72	0.48	-	
	Su	4	0.51	0.11	0.96	0.38	0.15	0.33	

Morphologische Distanzen (in diesem Fall die mehanobis Distanz) können auch benutzt werden, um einen morphologischen Stammbaum zu erstellen (Abb. 34). Wiederum fällt auf, dass die Nasen der Birs und der Wiese sehr nahe beieinander liegen. Die Nasen aus dem Rotbach, der Suhre und der Murg scheinen sich morphologisch ebenfalls zu ähneln Die Nasen der Alpenrheinkanäle und des Schanzengraben heben sich von allen anderen Population durch relativ lange Äste ab. Der Stammbaum zeigt demzufolge sehr ähnliche Resultate wie die CVA-Analyse weiter oben.

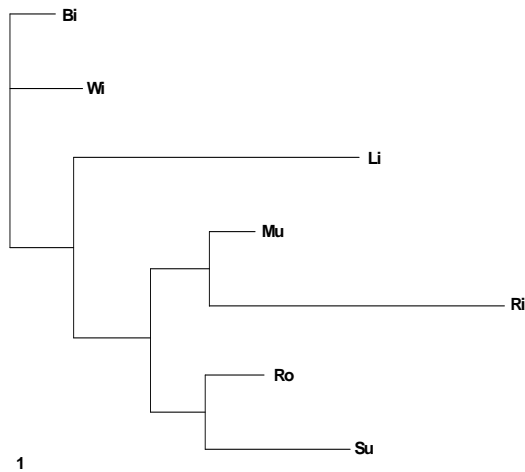


Abbildung 34. Stammbaum der verschiedenen Nasenpopulationen basierend auf morphologischen mehalanobis Distanzen.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass sich die verschiedenen Nasenpopulationen morphologisch signifikant voneinander unterscheiden. Dabei sind insbesondere die Kopfgröße, die Kopfform und die Körperform unterschiedlich. Um identifizieren zu können, ob lokale Anpassungen durch natürliche Selektion bei den Nasen eine Rolle spielen, müssen die morphologischen Eigenschaften der Nasenpopulationen mit den genetischen Eigenschaften derselben verglichen werden.

6. POPULATIONSGENETIK TEIL I: NUKLEARE UND MITOCHONDRIALE MARKER

Vor dem Bau von Wasserkraftwerken und anderen Migrationshindernissen waren die meisten Mittellandgewässer für Fische durchgängig. Die Nase ist ein charakteristischer Bewohner dieser Gewässer und kam in grossen Teilen des Schweizer Mittellandes verbreitet vor. Es ist jedoch unbekannt, ob Nasen zur Fortpflanzung ein „Homing“-Verhalten an den Tag legten (wie es zum Beispiel bei Forellen oder Lachsen häufig beobachtet wird) und welche Entfernungen Nasen für ihre Laichwanderungen zurücklegten. Bekannt sind Wanderungen von über 100km (Kirchhofer, Breitenstein and Büsser, 2004). Um entscheiden zu können, welche heute noch vorhandenen Populationen für eine Wiederansiedlung oder für einen Stützbesatz in Frage kommen, muss deshalb in einem ersten Schritt die Verwandtschaft der noch vorhandenen Populationen abgeklärt werden, was anhand von genetischen Analysen möglich ist. In einem zweiten Schritt muss untersucht werden, ob die oben beschriebenen morphologischen Unterschiede zwischen den Populationen eine genetische Grundlage besitzt.

6.1. AUSWAHL DER NUKLEAREN MARKER UND DATENGENERIERUNG

Um die genetischen Unterschiede und Verwandtschaften zwischen verschiedenen Population oder Arten zu prüfen, werden häufig so genannte Mikrosatellitenmarker angewandt. Ein Mikrosatellit ist eine Region des Genoms, in dem sich kurze DNA Sequenzen oft wiederholen (z. Bsp. 3' ATATATATAT...AT 5'). Diese sind für populationsgenetische Untersuchungen nützlich, weil sie selektiv neutral sind sowie eine hohe Mutationsrate aufweisen, sodass sie auch rezente Ereignisse im Genom reflektieren können. In der vorliegenden Studie wurden 11 solche Mikrosatelliten-Loci (Standorte im Genom) untersucht. Da das Nasengenom diploid ist (jeweils zwei Kopien jedes Chromosoms besitzt), kommen alle Mikrosatellitenloci zweimal im Genom vor. Man nennt jede einzelne dieser Kopien ein **Allel** (Abb. 35). Mit der Zeit sammeln sich in einer Population viele verschiedene Allele an, die sich in der Anzahl der Repetitionen unterscheiden. Mit der Information über die Verteilung dieser Allele in den verschiedenen Populationen kann man prüfen, ob sie sich genetisch voneinander unterscheiden oder nicht, ob und wie viel Genaustausch es gibt und wie die Verwandtschaftsverhältnisse zwischen den Populationen aussehen.

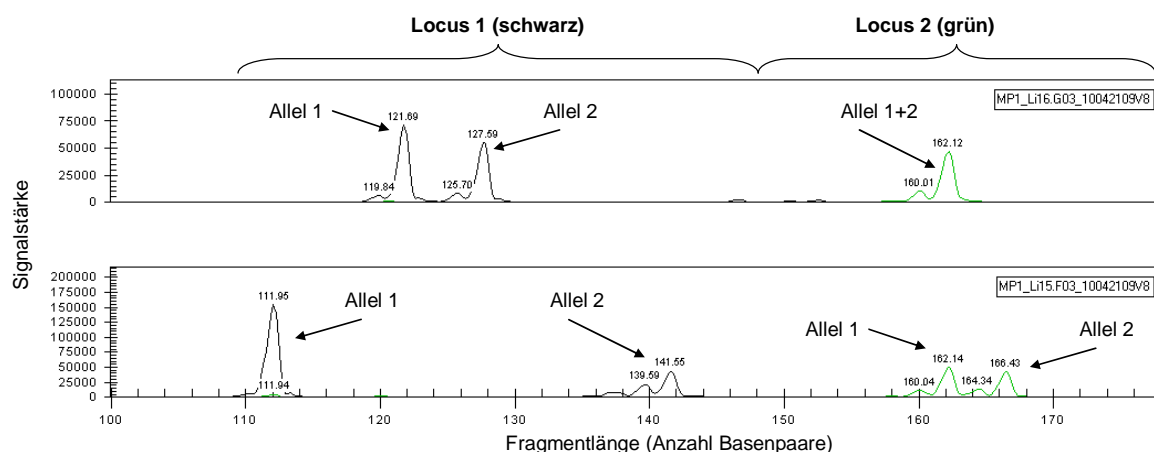


Abbildung 35. Beispiel von Nasenmikrosatelliten von zwei unterschiedlichen Individuen. Zu sehen sind 2 verschiedene Mikrosatelliten Loci, einer ist schwarz gefärbt, der andere grün. Beim Locus 1 kann man erkennen dass jeweils zwei unterschiedliche **Allele** in jedem Individuum vorhanden sind, d.h. die beiden Individuen sind an diesem Loci Heterozygot. Beim Locus 2 ist das obere Individuum Homozygot, d.h. es besitzt zweimal dasselbe Allel. Individuum 2 hat wieder zwei verschiedene Allele und ist somit Heterozygot.

In einem ersten Schritt mussten verschiedene Mikrosatellitenloci ausgewählt und die DNS-Amplifikationsprotokolle (PCR) etabliert werden. Da bisher noch keine spezifischen Mikrosatelliten für Nasen entwickelt wurden, mussten verschiedene, für verwandte Arten entwickelte Primerpaare getestet werden. Ein **Primer** ist eine kurze DNS-Sequenz, die direkt vor und nach den gesuchten

Mikrosatellitenloci liegt und verwendet wird, um die Mikrosatellitenloci mittels PCR (Polymerase Kettenreaktion) zu verstärken. Insgesamt wurden Primerpaare für 21 Loci geprüft. Zehn davon konnten erfolgreich für Nasen verstärkt werden. Die Primersequenzen wurden aus verschiedenen Publikationen entnommen (Mesquita et al., 2003; Muenzel et al., 2007; Vyskocilova, Simkova and Martin, 2007). In einem zweiten Schritt wurde ein Multiplex-PCR Protokoll entwickelt, um die Kosten der Laborarbeiten zu senken. Dabei werden die verschiedenen Primerpaare in einer PCR-Reaktion zusammen verstärkt. Dies kann durch die Anwendung von unterschiedlichen Fluoreszenzmarkierungen an den Primersequenzen erreicht werden. So entstanden folgende multiplex Sätze mit den entsprechenden Farben: Multiplex Satz 1: SARN7G5, LSOU08 und LSOU29 (blau); SARN2F11B und LC290 (schwarz); SARN7K4 und LSOU21 (grün). Multiplex Satz 2: LSOU05 (blau); SARN7F8 (schwarz); LC27 (grün).

Für die Datenerhebung wurde zuerst die DNS jedes Individuums mit einem QIAGEN BioSprint 96 Extraktionsroboter mit dem entsprechenden Standardprotokoll extrahiert. Die PCR-Verstärkung der DNS wurde in einem Reaktionsvolumen von 10 µl mit den folgenden Inhaltsstoffen durchgeführt: 5 µl QIAGEN Multiplex PCR Master mix, 3 µl ddH₂O, 1 µl DNA (20 ng/µl) und 1 µl primer mix (2 pmol/µl für jeden Primer). Das PCR-Profil beginnt mit der Denaturierung der DNS bei 95°C für 15 Minuten, gefolgt von 30 Zyklen von 30 Sekunden bei 94°C, 90 Sekunden bei 57°C, 90 Sekunden bei 72°C und endet mit einem Zyklus von 10 Minuten bei 72°C. Die DNS Fragmente jedes PCR-Produktes wurden anschliessend in einem DNS-Sequenziergerät (CEQ 8000, Beckmann and Coulter, Fullerton, CA, USA) aufgetrennt. Die Beurteilung der DNS-Fragmente wurde anhand der mitgelieferten Fragmentanalysesoftware (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA) manuell durchgeführt. Die dabei erhaltenen Informationen über die Fragmentlänge jedes Allels für jeden Mikrosatellitenloкус kann für statistische Auswertungen weiter verwendet werden.

6.2. BASISANALYSEN UND RESULTATE

Gewisse Basisanalysen sind notwendig um herauszufinden, ob die verschiedenen Loci wirklich selektiv neutral und unabhängig voneinander sind und ob die Daten von guter Qualität sind. Dabei fiel auf, dass einer der Loci Einerrepetitionen aufwies (LSOU29), was für Mikrosatelliten untypisch ist. Solche Loci sind für gewisse Analysen nicht anwendbar, weshalb dieser Lokus aus allen Auswertungen ausgeschlossen wurde. Insgesamt verblieben für die Auswertungen 9 Loci.

Anschliessend wurden die erwartete (H_e) und beobachtete Heterozygotität (H_o) in Arlequin v. 3.1 (Excoffier, Laval and Schneider, 2005) berechnet. Dieses Programm misst und berechnet für jeden Lokus und über alle Loci den Anteil (über alle Individuen für jede Population) an heterozygoten Individuen (d.h. Individuen die zwei verschiedenen Allele an einem Lokus aufweisen, siehe auch Abb. 35). Anschliessend wird die Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (Guo and Thompson, 1992) für jeden Lokus und jede Population in GENEPOP v. 2.4 berechnet (Raymond and Rousset, 1995). Diese Berechnung überprüft, ob in einer Population zu viele oder zu wenige Heterozygote vorkommen. Die Resultate in Tabelle 5 zeigen, dass die beobachtete Heterozygotität (H_o) zwischen 0.45 und 0.75 und die erwartete Heterozygotität (H_e) zwischen 0.48 bis 0.71 liegt. Dies entspricht einem normalen und zu erwartenden Bereich. Zusätzlich weichen keine Populationen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht ab. Es scheint deshalb keine Substruktur innerhalb der Populationen vorhanden zu sein. Ausserdem sind die Daten von guter Qualität (wenig 0-Allele, d.h. Allele die in den Individuen vorhanden sind, aber nicht verstärkt und somit verpasst wurden). Zusätzlich wurde überprüft, ob die verschiedenen Mikrosatellitenloci physisch auf dem Genom assoziiert sind (Linkage disequilibrium LD). Dies wurde im Programm Arlequin v 3.1 (Excoffier et al., 2005) durchgeführt. Ein gehäuftes LD-Auftreten konnte nur in der Donaupopulation beobachtet werden (wobei es sich um einen Zuchtstamm handelt). In den meisten Populationen waren jedoch unterschiedliche Lokuskombinationen signifikant. Es kann deshalb davon ausgegangen werden, dass die verschiedenen Loci nicht physisch miteinander verbunden sind.

Tabelle 5. Basisanalysen der genetischen Daten. N entspricht der Anzahl Individuen, die genetisch untersucht wurden; AN entspricht der Anzahl durchschnittlich über alle Loci beobachteten Allele; AR entspricht der für den Stichprobenumfang korrigierten durchschnittlichen Anzahl über alle Loci beobachteten Allele; Ho ist die beobachtete und He die erwartete Heterozygotität mit dem dazugehörigen P-Wert für die Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht, FIS entspricht dem Inzuchtkoeffizient mit dem dazugehörigen P-Wert; N LD entspricht der Anzahl beobachteten signifikanten Assoziationen zwischen den verschiedenen Mikrosatellitenloci.

Code	Gewässer	N	AN	AR	Ho	He	P-value	FIS	P-value	N LD p<0.05	N LD p<0.01
Li	Schanzengraben	21	3.78	2.98	0.55	0.49	0.069	-0.109	0.029	2	1
Wi	Wiese	31	6.44	4.23	0.69	0.65	0.944	-0.035	0.151	0	0
Mu	Murg	43	6.78	4.45	0.68	0.67	0.061	-0.002	0.486	4	3
Bi	Birs	31	6.11	4.33	0.65	0.65	0.625	0.009	0.430	4	1
Su	Suhre	6	4.44	4.44	0.61	0.64	0.471	-0.005	0.545	3	1
Ro	Rotbach	17	5.78	4.26	0.67	0.65	0.877	-0.026	0.329	4	0
Se	Sense	24	6.00	4.33	0.61	0.65	0.343	0.059	0.072	2	0
Ri	Alpenrheinkanäle	7	4.78	4.59	0.66	0.70	0.734	0.044	0.244	2	1
Da	Dornbirner Aach	34	7.00	4.71	0.66	0.66	0.086	0.001	0.463	1	0
Na	Donau	19	6.78	4.79	0.75	0.71	0.531	-0.085	0.016	11	4
Do	Doubs	19	4.89	3.84	0.61	0.64	0.933	0.015	0.385	4	0
Tox	Toxostoma	10	2.44	2.27	0.45	0.48	0.892	0.063	0.300	0	0
Total/Mittel		262	5.44	4.10	0.63	0.63				37	11

Anschliessend wurde der Inzuchtkoeffizient (FIS) (Weir and Cockerham, 1984) für jede Population berechnet und auf eine signifikante Abweichung von Null überprüft. Diese Berechnungen wurden mit der Software FSTAT v. 2.9.3 (Goudet, 2001) durchgeführt. Dabei waren nach einer Bonferroni-Korrektur (Rice, 1989) für multiple Tests keine Vergleiche signifikant (Tabelle 5). Ohne diese restriktive Korrekturmethode wären die Populationen aus dem Schanzengraben und der Donau knapp signifikant gewesen. Weiter wurde die genetische Variabilität mit zwei verschiedenen Methoden bestimmt. Erstens wurde die durchschnittliche Anzahl der pro Locus beobachteten Allele für jede Population bestimmt (AN). Zweitens wurde diese Anzahl für die unterschiedlichen Stichprobenumfänge korrigiert (AR). Die Anzahl der beobachteten Allele (AN) reichten von 2.44 bis 7.0. Die korrigierte Anzahl Allele (AR) reichte von 2.27 bis 4.71 (Tabelle 5). Innerhalb der Nasen (*C. toxostoma* ausgenommen) fällt auf, dass im Schanzengraben eine sehr geringe genetische Variabilität vorhanden ist. Zusammen mit dem leichten Heterozygotitätsüberschüssen, die in dieser Population beobachtet wurden, kann davon ausgegangen werden, dass diese Population durch einen Flaschenhals ging (starke und rapide Reduktion der Populationsgrösse) und/oder leicht an Inzucht leidet.

6.3. GENETISCHE DIFFERENZIERUNG DER POPULATIONEN

Das meistangewandte Mass zur genetischen Differenzierung zwischen Populationen ist der FST. Dieser beschreibt die Varianz der Allelfrequenzen, die durch die Einteilung der Individuen in verschiedene Populationen erklärt wird (Weir and Cockerham, 1984). Die dabei berechneten Werte liegen zwischen 0 (die Populationen sind identisch) und 1 (die Populationen sind komplett verschieden). Die FST-Werte wurden im Programm Arlequin v. 3.1 (Excoffier et al., 2005) berechnet und sind in Tabelle 6 angegeben.

Tabelle 6. FST-Werte, die zwischen den verschiedenen Nasenpopulationen beobachtet wurden.

Code	Gewässer	Einzugsgebiet	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Li	Schanzengraben	Rhein	-	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
Wi	Wiese	Rhein	0.132	-	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	***	***	***	***	***
Mu	Murg	Rhein	0.128	-0.001	-	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	***	***	***	***	***
Bi	Birs	Rhein	0.127	0.000	0.004	-	n.s.	n.s.	n.s.	***	***	***	**	***
Su	Suhre	Rhein	0.119	0.016	0.020	0.004	-	n.s.	n.s.	***	***	***	*	***
Ro	Rotbach	Rhein	0.107	-0.007	-0.002	-0.004	0.003	-	n.s.	***	***	***	**	***
Se	Sense	Rhein	0.132	-0.002	0.006	0.004	0.000	0.003	-	***	***	***	***	***
Ri	Alpenrhein	Rhein	0.213	0.083	0.082	0.079	0.123	0.087	0.088	-	n.s.	***	***	***
Da	DornbirnerAach	Rhein	0.198	0.105	0.097	0.087	0.129	0.096	0.108	-0.011	-	***	***	***
Na	Danube	Donau	0.243	0.097	0.095	0.090	0.131	0.105	0.097	0.082	0.095	-	***	***
Do	Doubs	Rhône	0.175	0.024	0.028	0.021	0.047	0.032	0.031	0.085	0.108	0.118	-	***
Tox	Toxostoma	Rhône	0.445	0.351	0.349	0.353	0.426	0.371	0.369	0.395	0.343	0.366	0.393	-

Auffallend an diesen Werten ist erstens, dass die Nasen aus dem Schanzengraben gegenüber allen anderen Populationen hohe FST-Werte aufweisen. Diese liegen dabei zwischen 0.107 und 0.445.

Zweitens sind in diesen neutralen Markern keine signifikanten genetischen Unterschiede zwischen den verbleibenden Nasenpopulationen aus dem Rhein unterhalb des Rheinfalls vorhanden (Populationen 2 bis 7). Dies bedeutet, dass der Genfluss früher innerhalb des Rheinsystems gross war und dass die Zeit seit der Fragmentierung dieser Flüsse nicht ausgereicht hat, um durch genetische Drift zu einer Differenzierung zu führen. Das gesamte schweizerische Rheinsystem unterhalb des Rheinfalls beherbergte also früher eine einzige Nasenpopulation, in welcher der Genfluss zwischen den verschiedenen Laichgebieten gross war. Das Homingverhalten der Nasen muss demzufolge nicht sehr ausgeprägt gewesen sein. Dies bedeutet jedoch nicht unbedingt, dass keine lokale Anpassung vorhanden ist, sondern lediglich, dass der Genfluss zwischen den Populationen ursprünglich gross war.

Die starke genetische Differenzierung der Population aus dem Schanzengraben entstand vermutlich durch eine kleine Gründerpopulation (Flaschenhals) und durch die daraus resultierende vergleichsweise geringe genetische Variabilität. Die im Schanzengraben beobachteten Tiere bestehen demzufolge aus einer kleinen und isolierten Reliktpopulation. Inwiefern diese verringerte genetische Variabilität auf die zukünftige Entwicklung und Überlebensfähigkeit dieser Population einen Einfluss hat, kann anhand dieser Daten nicht beurteilt werden. Es ist jedoch bekannt, dass der Verlust an genetischer Vielfalt negative Effekte auf Populationen haben kann (Largiadèr and Hefti, 2002). Zusammen mit der vermutlich sehr kleinen Populationsgrösse und den damit verbundenen Gefahren des Aussterbens durch stochastische Effekte (Kirchhofer et al., 2004) muss die Population als besonders stark gefährdet betrachtet werden. Interessant ist auch die Beobachtung, dass Nasen aus dem Doubs, die dieses Gewässer nach der Errichtung des Rhein-Rhône Kanals vom Hochrhein her besiedeln konnten, sich signifikant von allen anderen aus dem Rhein stammenden Nasenpopulationen unterscheiden. Diese Unterschiede sind jedoch vergleichsweise klein.

Des Weiteren sind die Nasen aus den Alpenrheinkanälen und der Dornbirner Ach genetisch identisch. Von allen anderen Rheinpopulationen und auch von der Donaureferenzpopulation sind sie jedoch genetisch stark differenziert. Der Bodensee beherbergt demzufolge eine reproduktiv isolierte Nasenpopulation, die bei der Bewirtschaftung klar als eigene Einheit betrachtet werden muss. Nasen aus dem unteren Rheineinzugsgebiet oder aus dem Donaueinzugsgebiet sollten also nicht als Besatzmaterial für Flusssysteme oberhalb des Rheinfalls verwendet werden und umgekehrt.

6.4. URSPRUNG DER NASEN AUS DER BODENSEEREION

6.4.1 Auswertung der Mikrosatellitendaten

Es bleibt die Frage offen, woher die Nasen aus dem Bodenseegebiet stammen. Von verschiedenen Fischarten ist bekannt, dass der Bodensee nach der letzten Eiszeit vom Rhein- und vom Donaueinzugsgebiet besiedelt wurde und dass sich die beiden genetischen Linien im Bodenseegebiet vermischt haben (Barluenga, Sanetra and Meyer, 2006). Im Falle eines Aussterbens der Bodenseenasen ist es deshalb sinnvoll herauszufinden woher diese Nasen ursprünglich stammen.

Anhand einer Hauptkomponentenanalyse der Allelfrequenzen kann die Populationszugehörigkeit veranschaulicht werden. Die Analysen wurden im Programm PCAgen (Goudet, 1999) durchgeführt und sind in Abb. 36 wiedergegeben.

Die Resultate bestätigen die genetische Eigenheit der Nasen aus dem Rhein unterhalb des Rheinfalls (Abb. 36a). Interessanterweise steht die Nasenpopulation aus der Donau zu denen aus dem Bodenseegebiet nahe. Gleichzeitig wird viel Varianz (34.36%) durch die x-Achse erklärt, die insbesondere *C. toxostoma* von den übrigen Populationen auftrennt. Deshalb wurde die Analyse ohne *C. toxostoma* wiederholt (Abb. 36b). Wie bereits bei den FST-Werten beobachtet, fällt auf, dass die Nasen aus dem Schanzengraben von allen anderen Rheinpopulationen getrennt sind. Weiter bilden die Populationen aus dem Bodensee eine eigenständige Gruppe. Diese liegen aber trotzdem näher zu den Nasen aus der Donau als zu jenen aus dem unteren Rhein.

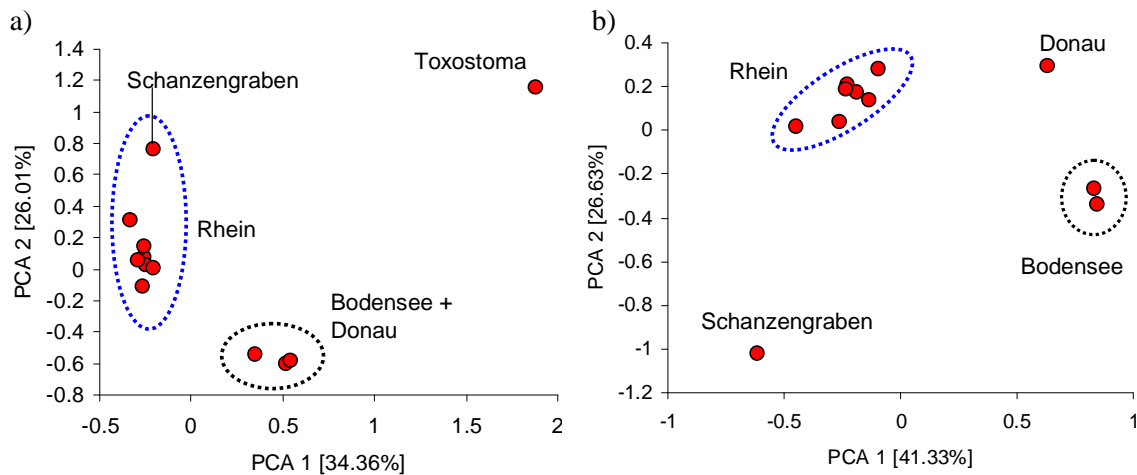


Abbildung 36. Hauptkomponentenanalyse (PCA) der verschiedenen Nasenpopulationen. A) PCA mit allen Populationen; b) PCA über alle Populationen aber ohne *C. toxostoma*.

Um zu überprüfen, ob die Nasen aus dem Bodensee wirklich näher mit denen aus der Donau verwandt sind als mit denen aus dem unteren Rhein, wurde zusätzlich eine individuelle Zugehörigkeitsanalyse mit dem Programm STRUCTURE (Pritchard, Stephens and Donnelly, 2000) durchgeführt. Dieses Programm ermittelt anhand der individuellen Allelfrequenzdaten die Anzahl genetisch differenzierter Populationen und teilt die einzelnen Individuen anschliessend in diese Gruppen ein. Die Resultate sind in Abbildung 37 ersichtlich. Diese bestätigen erneut die Eigenständigkeit der Nasen aus dem unteren Rheineinzugsgebietes (blau). Sie teilen auch alle *Toxostoma*-Individuen klar in eine eigenständige Population (violett) ein. Die Nasen aus dem Bodenseeeinzugsgebiet und aus der Donau werden in eine gemeinsame Population eingeteilt (grün). Interessanterweise wurde ein Individuum aus der Dornbirner Ach zu den Populationen aus dem unteren Rhein eingeteilt. Es könnte sich dabei um ein in früheren Jahren besetztes Tier aus dem unteren Rhein handeln.

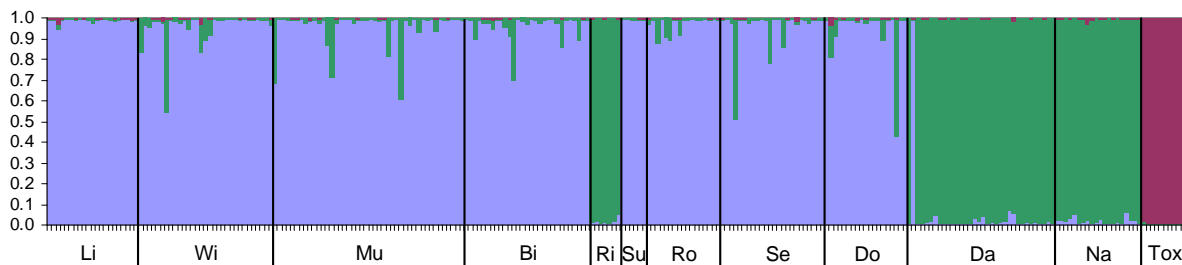


Abbildung 37. Individuelle Zugehörigkeit der Nasen bestimmt mit dem Programm STRUCTURE.

Aufgrund der hohen FST-Werte, die zwischen den Nasen aus dem Bodenseegebiet und denen aus der Donau beobachtet werden konnten, ist dieses Resultat überraschend. Deshalb wurde zusätzlich eine molekulare Varianzanalyse (AMOVA (Excoffier, Smouse and Quattro, 1992)) für verschiedene Gruppierungen durchgeführt (Tab. 7). Die dabei berechneten FCT-Werte geben die Varianzen an, die durch die verschiedenen Gruppierungen erklärt werden. Dabei wurden drei Szenarien simuliert: (1) Rhein- und Doubspopulationen in einer und die Bodensee und Donaupopulationen in einer zweiten Gruppe; (2) Rhein-, Doubs- und Bodenseepopulation in einer und die Donaupopulation alleine in einer zweiten Gruppe; (3) Rhein- und Doubspopulationen in einer, die Bodenseepopulationen in einer zweiten und die Donaupopulation in einer dritten Gruppe.

Tabelle 7. Resultate der molekularen Varianzanalyse (AMOVA). Getestet wird, mit welcher Gruppierung der verschiedenen Populationen am meisten genetische Varianz zwischen den Gruppen erklärt wird.

Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	FCT	P-Wert
Rhein + Doubs	Bodensee + Donau		0.067	<0.01
Rhein + Doubs + Bodensee	Donau		0.058	0.168
Rhein + Doubs	Bodensee	Donau	0.083	<0.01

An den Resultaten ist auffallend, dass die Gruppierung (2) weniger Varianz erklärt als Gruppierung (1). Tatsächlich wird mehr genetische Varianz erklärt, wenn die Bodenseepopulationen zur Donaupopulation gruppiert wird. Interessanterweise erklärt aber die Strukturierung in drei Gruppen am meisten Varianz. Diese Resultate zeigen, dass die Bodenseenasen tatsächlich eine eigenständige Population darstellen, ermöglichen aber nicht, eine klare Schlussfolgerung über deren geschichtlichen Hintergrund zu ziehen.

6.4.2. Auswertung von mitochondrialen DNS-Daten.

Aus diesem Grunde wurde zusätzlich zu den Mikrosatellitendaten für insgesamt 50 Individuen aus der Bodenseeregion, aus der Donau und aus dem Rhein unterhalb des Rheinfalls die mitochondriale DNS untersucht. Diese DNS hat den Vorteil, die phylogenetische Geschichte besser aufzulösen. Zu diesem Zweck wurde die Kontrollregion der mitochondrialen DNS sequenziert (Methoden in: (Hudson, Vonlanthen and Seehausen, submitted)).

Die Resultate zeigen, dass innerhalb der Nasen nur fünf verschiedene Haplotypen vorkommen. Ein Haplotyp ist eine DNS-Sequenz (z. Bsp. 3' ATGCATTCGTA 5'). Verschiedene Haplotypen unterschieden sich durch Mutationen in dieser Sequenz (z.B. Haplotyp 1: 3' ATGCATTCGTA 5'; Haplotyp 2: 3' ATGCATTGTA 5', Siehe auch Beispiel bei Nasen in Abbildung 38). Interessanterweise teilen die Nasen aus dem Bodenseeeinzugsgebiet keinen Haplotyp mit den Nasen aus der Donau, während sie Haplotypen mit denen aus dem unteren Rhein teilen (Abb. 39). Zusammen mit den Informationen aus den Mikrosatellitenanalysen muss also davon ausgegangen werden, dass die Nasen aus dem Bodensee sowohl Gene aus dem unteren Rhein als auch aus der Donau bei der Besiedlung des Bodensees erhalten haben. Dies wurde auch bei anderen Fischarten beobachtet. Weshalb keine Haplotypen von der Donau in den Bodenseenasen gefunden wurden ist nicht klar. Höchstwahrscheinlich reicht eine Referenzpopulation in der Donau nicht aus, um das gesamte Haplotypenspektrum des Donaueinzugsgebietes abzudecken. Es könnte also durchaus sein, dass auch Haplotypen mit den Donaunasen geteilt werden. Diese waren jedoch in den zur Verfügung stehenden Proben nicht vorhanden.

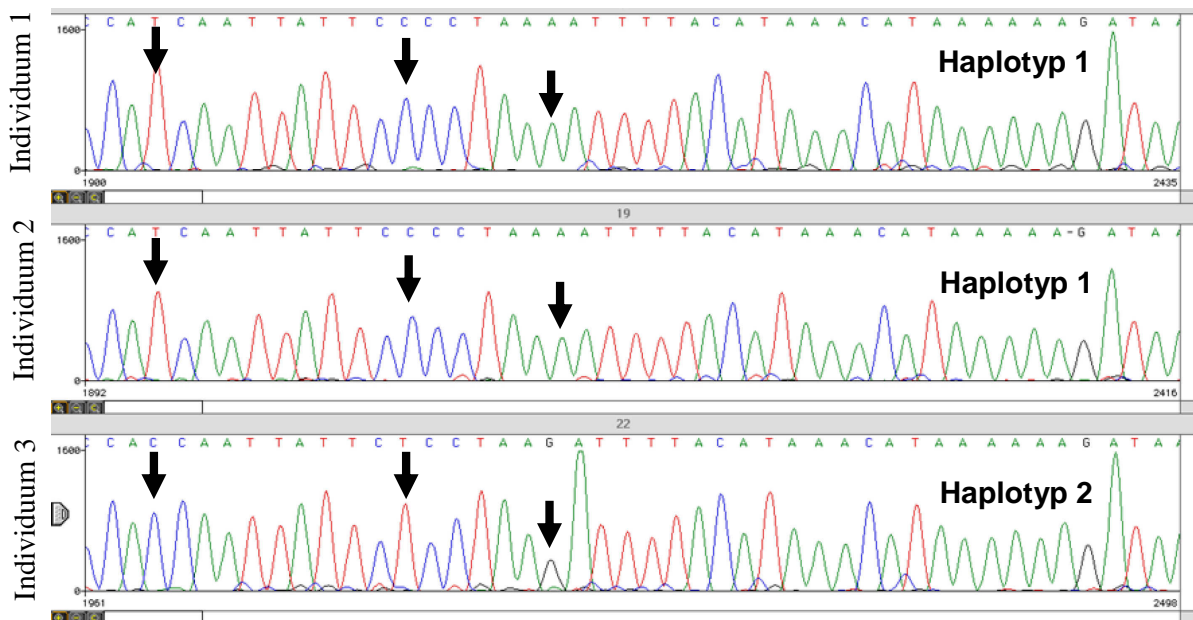


Abbildung 38. Beispiel einer DNS Sequenz mit unterschiedlichen Haplotypen. Die Mutationen sind mit einem schwarzen Pfeil markiert.

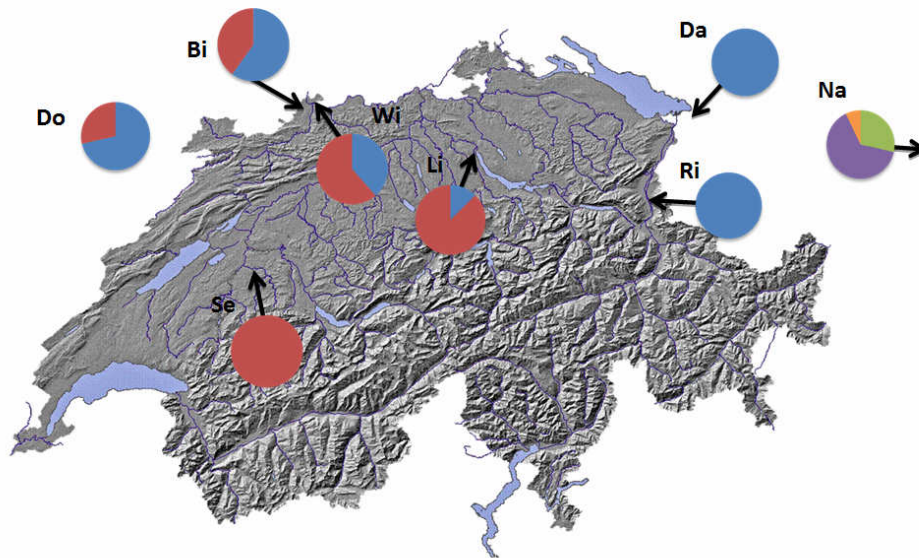


Abbildung 39. Verteilung der beobachteten mtDNS Haplotypen. Jede Farbe entspricht einem unterschiedlichen Haplotyp. Die Kreisdiagramme geben die Häufigkeit der verschiedenen Haplotypen in einer Population wieder. Karte © Swisstopo.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass sich die verschiedenen Schweizer Nasenpopulationen, die unterhalb des Rheinfalls vorkommen (mit Ausnahme der Population vom Schanzengraben) genetisch an neutralen, also durch Selektion nicht beeinflussten Markern, nicht voneinander unterscheiden. Die Bodenseenasen stellen jedoch eine genetisch klar und stark differenzierte Population dar. Diese müssen deshalb als eine differenzierte Naturschutzeinheit angesehen werden. Ebenfalls unterscheiden sich Donaunasen von allen anderen Populationen im Rhein. Von einem Besatzaustausch zwischen Bodenseeregion, dem Rheineinzugsgebiet unterhalb des Rheinfalls und der Donau ist deshalb dringend abzuraten.

7. POPULATIONSGENETIK TEIL II: AFLP GENOM SCAN

Die Analyse von AFLP's (Amplifizierte Längenpolymorphismen) ist eine weit verbreitete und oft angewandte Methode in phylogenetischen und genomischen Studien (Bensch and Akesson, 2005). AFLP's sind DNS Fragmente des Genoms, die anhand von kurzen Primersequenzen amplifiziert werden. Durch die kurzen Primersequenzen, die weniger selektiv sind als beispielsweise eine Primersequenz für einen Mikrosatelliten, können viele verschiedene Standorte (Loci) des Genoms simultan amplifiziert werden. Es entstehen dabei für jeden Primer viele DNS Fragmente (unterschiedliche Loci), die sich in ihrer Länge unterscheiden (Abb. 40). Die Länge ist dabei ein Mass für die Anzahl Basenpaare, die im Fragment vorkommen. Das Vorkommen der verschiedenen Fragmente (0=Fragment nicht vorhanden, 1=Fragment vorhanden) kann anschliessend für weitere Auswertungen verwendet werden. Diese Methode hat drei Vorteile: (1) Es kann mit nur wenigen Primersequenzen eine sehr hohe Anzahl polymorpher Loci untersucht werden, die zufällig im gesamten Genom verteilt sind. (2) Es braucht keine artspezifischen Primersequenzen, d.h. diese können auch bei Arten angewendet werden, für die nur wenige oder gar keine genetische Grundlagen vorliegen. (3) Die AFLP Fragmente sind nicht alle selektiv neutral, d.h. es kann nach selektierten Regionen des Genoms gesucht werden. Weiter können die verschiedenen Loci mit Umwelteigenschaften oder morphologischen Merkmalen in Verbindung gebracht werden, was auf eine lokale Anpassung durch Selektion hinweisen würde.

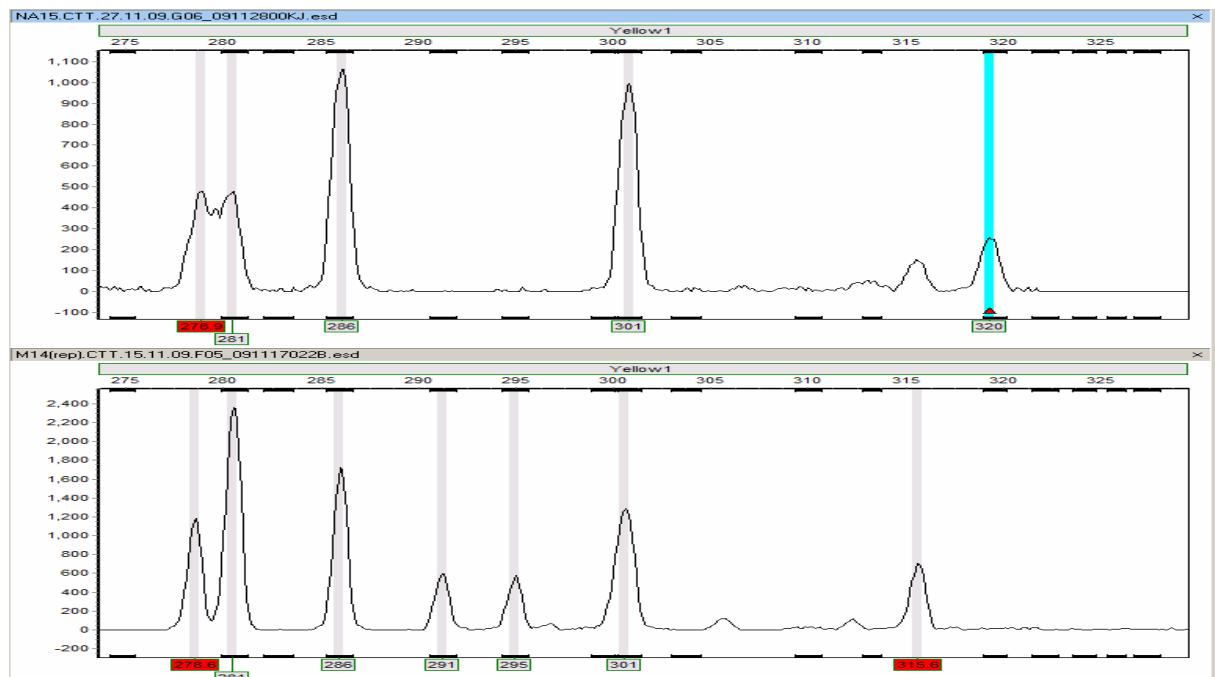


Abbildung 40. Beispiel eines Abschnittes einer AFLP Sequenz von zwei Nasenindividuen.

7.1. AMPLIFIKATION DER AFLP'S UND DATENERHEBUNG

In dieser Studie wurde eine modifizierte Version eines veröffentlichten PCR-Protokolls angewendet (Vos et al., 1995). In einem ersten Schritt wurde die DNS durch Enzyme (*EcoRI*, *MseI*) an spezifischen Stellen auf dem Genom getrennt und somit in kleinere Stücke zerlegt. Anschliessend wurde in zwei PCR Schritten die Anzahl Fragmente Dank selektiven Primersequenzen verringert. Dies ist notwendig, um sicher zu gehen, dass es sich bei den verschiedenen Fragmenten mit grösster Wahrscheinlichkeit um homologe DNS Fragmente handelt und nicht um zwei verschiedene Regionen der DNS, die zufälligerweise die gleiche Länge haben. Insgesamt wurden neun verschiedene Primerpaare verwendet. Jedes dieser Primerpaare amplifiziert unterschiedliche DNS Fragmente. Um die Sequenzierkosten zu verringern, wurden diese Primersequenzen mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen markiert. Dies ermöglicht es, drei PCR Produkte simultan auf dem DNS-Sequenziergerät (CEQ 8000, Beckmann and Coulter, Fullerton, CA, USA) aufzutrennen. Folgende

Farbstoffe wurde verwendet: Alexa AX647-blau (**B**), AX750-schwarz (**S**) und IRD IR700-grün (**G**). Insgesamt entstanden 3 multiplex Sätze mit den folgenden Primerpaaren mit entsprechenden Markierungen: Satz 1: CTT_ACA-**B**, CTT_AAG-**G** und CTT_AGC-**S**; Satz 2: CTC_ACA-**B**, CTC_AAG-**G** und CTC_AGC-**S**; Satz 3: CTA_ATT-**B**, CTA_AGG-**G** & CTA_ATC-**S**). Die vom Sequenziergerät erhaltenen AFLP Resultate wurden anschliessend mit der Software GENEMARKER v. 1.85 (Soft Genetics, LLC, State College, PA) ausgewertet. Dabei müssen die verschiedenen Loci (ein DNS Fragment mit einer bestimmten Anzahl Basenpaare) identifiziert und ihre Länge bestimmt werden (Abb. 39). Diese Identifikation und Längenbestimmung wurde anhand eines Algorithmus automatisch durchgeführt und manuell überprüft. Es wurden dabei nur Fragmente mit einer Länge von 60 bis 400 Basenpaaren berücksichtigt. Schliesslich wurden 36-41 Individuen für jedes Primerpaar wiederholt, um die Reproduzierbarkeit der Resultate zu überprüfen. Diese schwankte zwischen 96.9% und 98.4% (Tabelle 1) und lag damit in einem sehr guten Bereich (Bonin et al., 2004).

Insgesamt wurden die neun Primerpaare bei 135 *C. nasus* und vier *C. toxostoma* Individuen angewendet. Zusammen konnten 554 Loci amplifiziert werden. Die Resultate für jeden Locus sind in Tabelle 1 angegeben.

Tabelle 1. Anzahl der amplifizierten Loci für jedes Primerpaar und die Reproduzierbarkeit der Resultate.

Primerpaar	Code	Anzahl Loci	% Reproduzierbarkeit
CTTAAG	AGTT	61	98.4
CTTACA	CATT	75	96.9
CTTAGC	GCTT	56	97.9
CTCAAG	AGTC	65	97.8
CTCACA	CATC	71	97.6
CTCAGC	GCTC	58	97.3
CTAAGG	GGTA	55	98.1
CTAATT	TTTA	50	96.4
CTAATC	TCTA	63	98.2

7.2 LOKALE ANPASSUNG

Durch die Fragmentierung der Fliessgewässer entstanden verschiedene isolierte Nasenpopulationen. Die Gewässer unterscheiden sich dabei in vielen Eigenschaften (Morphologie, Abflussregime, Temperatur, usw.). Die Nasenpopulationen sind demzufolge unterschiedlichen Umweltbedingungen ausgesetzt, was zu divergenter natürlicher Selektion und damit zu einer lokalen Anpassung führen kann. Sofern eine Population nicht durch einen demographischen Falschenhals geht, beeinflusst die natürliche Selektion nur gewisse Regionen des Genoms, ist also lokusspezifisch (Luikart et al., 2003; Storz, 2005). Wenn die Nasen einer Population anfangen, sich an ihre Umwelt anzupassen, werden Loci, die in dieser Umwelt von Vorteil sind, in der Population häufiger und können entdeckt werden. Ein AFLP Genom scan ermöglicht durch die Identifizierung von solchen „outlier Loci“ einen ersten Einblick in die Regionen des Genoms, die durch natürliche Selektion beeinflusst werden (Wilding, Butlin and Grahame, 2001; Campbell and Bernatchez, 2004; Bonin, Ehrich and Manel, 2007; Nosil, Egan and Funk, 2008). Zu Nutze genommen wird die Tatsache, dass Loci, die unter Selektion stehen, sich im Vergleich zu anderen neutralen Loci zwischen den Populationen viel stärker in ihrer Häufigkeit unterscheiden (Luikart et al., 2003; Storz, 2005; Bonin et al., 2007). Mit anderen Worten ist die genetische Differenzierung an einem selektierten Loci grösser als die bei anderen nicht selektierten Loci. Ein Nachteil dieser Analyse ist, dass phänotypische Effekte der selektierten Loci nicht ermittelt werden können. Eine Möglichkeit, Assoziationen zwischen den Phänotypen und den potentiell unter Selektion stehen Loci zu finden, ist nach Korrelationen zwischen den Loci und der potentiell adaptiven morphologischen Eigenschaften zu suchen. Dazu werden logistische Regressionen verwendet (Bonin et al., 2006; Jump et al., 2006; Joost et al., 2007).

Substruktur in den Populationen kann jedoch zu fehlerhaften Resultaten führen, weil dann zu viele outlier Loci entdeckt werden (Thornton and Jensen, 2007; Excoffier, Hofer and Foll, 2009). Aus diesem Grunde wurden die Nasenpopulationen in zwei genetische Gruppen eingeteilt, die anhand der Mikrosatllitenresultate definiert wurden. Die erste entspricht allen Rheinpopulationen unterhalb des Rheinfalls (neun Populationen, 105 Individuen, 380 polymorphe Loci). Die zweite entspricht den

Populationen aus dem Bodenseeeinzugsgebiet (zwei Populationen, 23 Individuen, 280 polymorphe Loci). Die Analysen wurden für beide Gruppen einzeln durchgeführt. Da für die Bodenseepopulationen nur von einer Population morphologische Daten vorlagen, wurde die logistische Regression nur für die erste Gruppe durchgeführt. Die Donaupopulation wurde in dieser Analyse nicht berücksichtigt, da es bei der Fragestellung lediglich um die lokale Anpassung innerhalb des Rheineinzugsgebietes geht.

7.2.1 Genomische outlier Analyse

Um mögliche AFLP loci zu entdecken, die von divergenter natürlicher Selektion beeinflusst werden, müssen für alle Loci die genetischen Unterschiede berechnet und deren Verteilung unter der Annahme von selektiver Neutralität simuliert werden. Die beobachteten genetischen Unterschiede, die von der simulierten Verteilung abweichen, können als Kandidaten Loci, die selektiert sind, betrachtet werden. Die Berechnungen wurden im Programm BAYESCAN (Foll and Gaggiotti, 2008) durchgeführt.

Die Analysen zeigen, dass im Rheineinzugsgebiet unterhalb des Rheinfalls ein Loci signifikant von der Nullhypothese (Kein loci steht unter divergenter natürlicher Selektion) abweicht (Abb. 41a). In den Bodenseepopulationen wurden keine Loci gefunden, die von der Nullhypothese abwichen (Abb. 41b). Der Kandidatenloкус, der im unteren Rheineinzugsgebiet identifiziert wurde (TCTA-318, $F_{ST}=0.06$), besitzt einen Bayes Factor von 1.66, was als wichtiger Hinweis auf Selektion betrachtet werden kann (Foll and Gaggiotti, 2008). Dieser Locus war insbesondere in der Schanzengrabenpopulation viel seltener als in anderen Populationen (Abb. 42).

7.2.2 Logistische Regressionsanalyse

Die univariaten logistischen Regressionen wurden im Programm SAM (Joost et al., 2007) berechnet. Dieser Ansatz untersucht den Zusammenhang zwischen den AFLP Allelfrequenzen und den morphologischen Eigenschaften der Nasen. In unserem Fall wurden zu diesem Zweck die Nasen aus dem Rhein unterhalb des Rheinfalls untersucht. Es standen für die Auswertungen 85 Individuen zur Verfügung, für die sowohl AFLP (482 Loci) als auch morphologische Daten vorlagen. Die logistischen Regressionen wurden dabei zwischen den individuellen AFLP Allelfrequenzen und den ersten drei Hauptkomponenten der geometrischen Morphologiedaten (PC1 erklärt 34.29% der Varianz, PC2 18.16% und PC3 9.86%; Abb.42) berechnet. Die Signifikanz der Regressionen wurde anhand von zwei verschiedenen Teststatistiken ermittelt: G-Test und der etwas konservativere Wald-Test. Der p-Wert wurde für multiple Test mit einer sequenziellen Bonferroni-Korrektur angepasst (Rice, 1989). Dies ist notwendig, da sonst durch die hohe Anzahl Tests Assoziationen durch Zufall signifikant wären (bei einem p-Wert von 0.05 wären 5% aller Tests signifikant, auch wenn tatsächlich keine Assoziation vorliegt). Bei der Korrektur wird der p-Wert von 0.05 durch die Anzahl Tests geteilt. Wird zum Beispiel ein Test 10-mal durchgeführt, dann entspricht der korrigierte p-Wert: $0.05/10=0.005$.

Mit dem Wald-Test und einem Signifikanzniveau von $p<0.01$ (Bonferroni korrigiert: $p<6.92E-06$) respektive 0.05 (Bonferroni korrigiert: $p<6.92E-05$) konnte keine signifikanten Assoziationen zwischen den AFLP Allelfrequenzen und der Morphologie festgestellt werden. Mit dem G-Test und einem etwas weniger hohen Signifikanzniveau von $p<0.1$ (Bonferroni korrigiert: $p<2.07E-04$) und mit einer Reduktion der in der Analyse verwendeten morphologischen Variablen (jeweils nur eine Hauptkomponente pro Analyse) konnte eine signifikante Assoziation zwischen den Loci TTTA-235 (Abb. 43a) und CATT-150 (Abb. 43b) und den Hauptkomponenten 1 und 3 festgestellt werden. Individuen mit einem höheren Hauptkomponente 1 Wert haben dabei eine etwas gedrungene Körperform als die mit einem niedrigen Wert. Gleichzeitig haben sie eine geringere Wahrscheinlichkeit, ein Allel am Locus TTTA-235 zu haben. Individuen mit einem höheren Hauptkomponente 3 Wert haben einen etwas länger gezogenen Körperbau und einen grösseren Kopf als die mit einem niedrigen Wert. Gleichzeitig ist die Wahrscheinlichkeit, dass sie ein Allel am Locus CATT-150 haben geringer. Der Locus TTTA-235 ist im Vergleich zu den anderen Populationen in der

Schanzengrabenpopulation besonders häufig (76.47%) und in der Suhre besonders selten (0%) (Abb. 44a). Das Muster der Allelfrequenzen vom Locus CATT-150 ist weniger klar, obwohl auch dieser Locus in der Suhre Population kein Allel aufweist (Abb. 44b).

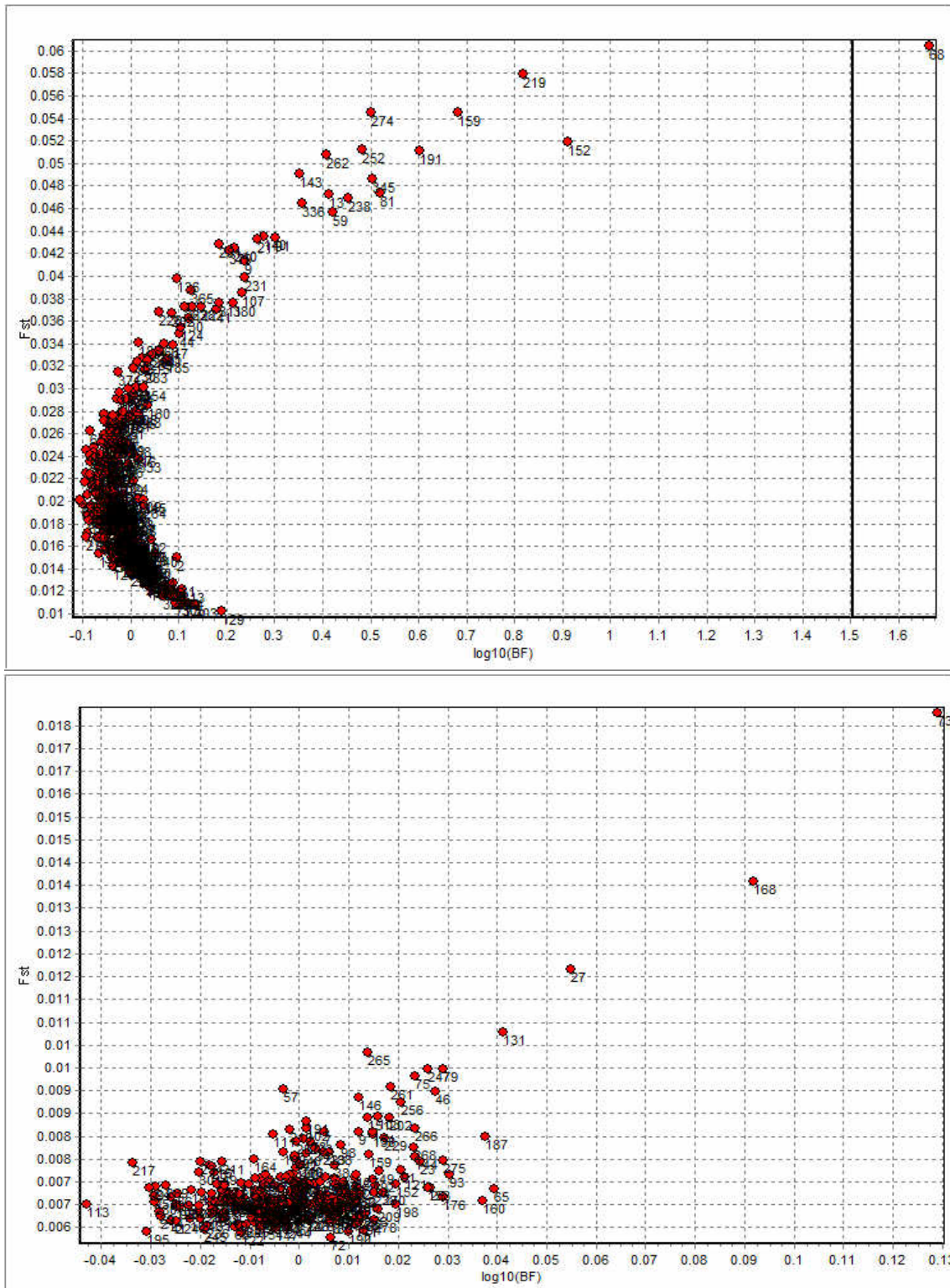


Abbildung 41. BAYESCAN Resultate für die Nasenpopulationen aus dem Rhein unterhalb der Rheinfalls (a) und denen aus dem Bodenseeeinzugsgebietes. Die Kandidatenloci sind rechts von der schwarzen Signifikanzlinie abgebildet.

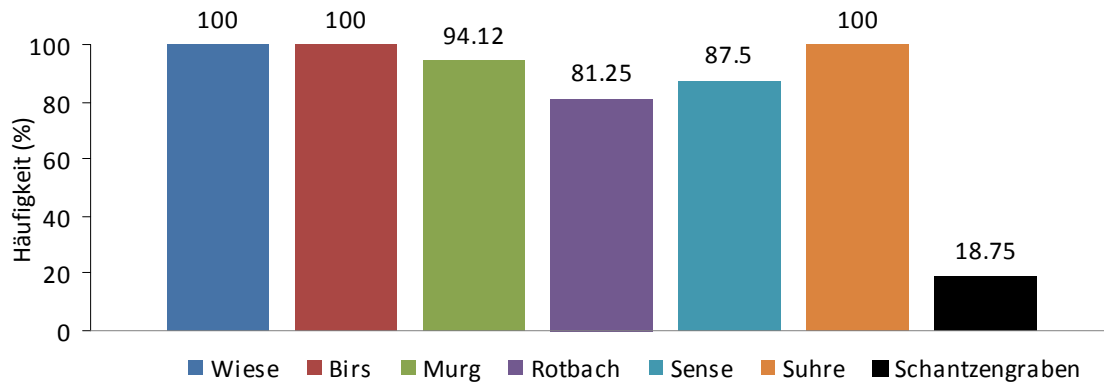


Abbildung 42. Häufigkeit der Präsenz eines Allels am Locus TCTA-318 innerhalb der verschiedenen Nasenpopulationen des Rheins unterhalb vom Rheinfall.

7.3 DISKUSSION DER RESULTATE

Innerhalb der zwei Nasencluster, die in dieser Studie identifiziert wurden (Rhein unterhalb des Rheinfalls und Bodenseeeinzugsgebiet), konnten in dem ersten Cluster Hinweise auf divergente natürliche Selektion und lokale Anpassungen gefunden werden, da der AFLP Locus TCTA-318 eine höhere genetische Differenzierung hatte als dies durch Zufall erwartet worden wäre. Bei zwei Loci, TTTA-235 und CATT-150, wurden schwach signifikante Assoziationen mit der Körperform der Nasen gefunden.

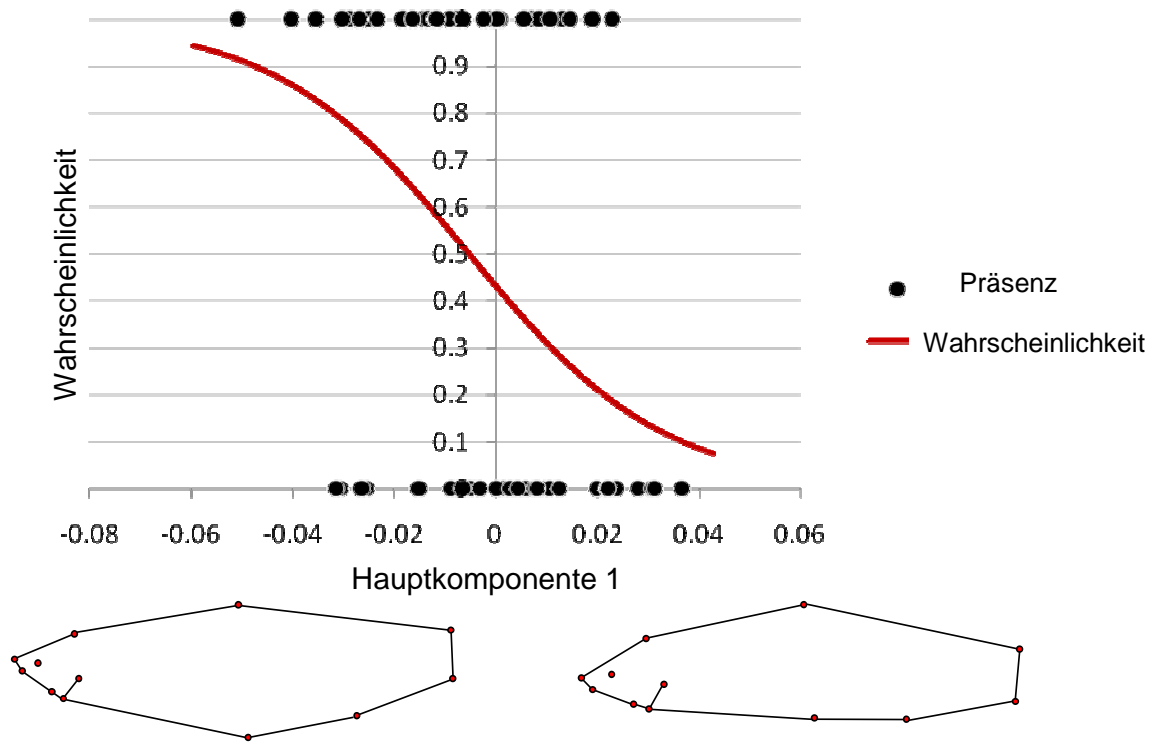
Der AFLP Locus TCTA-318 ist dabei in der Schanzengrabenpopulation viel seltener als in allen anderen Populationen. Dies könnte durch starke divergente natürliche Selektion zu erklären sein. Allerdings zeigen die mikrosatelliten Resultate, dass in dieser Population vermutlich starke Gründereffekte aufgetreten sind und dass dadurch gewisse seltene Allele durch Zufall häufig geworden sind. Es könnte also sein, dass dieser Locus nicht nur durch Selektion häufiger, sondern auch durch Gründereffekte gefördert wurde. Sehr wahrscheinlich liegen demzufolge sowohl die natürliche Selektion als auch Gründereffekte den beobachteten Unterschieden zu Grunde. Gleichzeitig scheint ein Teil der morphologischen Unterschiede zwischen den Nasenpopulationen auch durch phänotypische Plastizität verursacht zu werden.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass geringe aber signifikante Anzeichen für natürliche divergente Selektion und für lokale Anpassungen vorliegen. Aus diesem Grund sollten Nasen für Wiederansiedlungsprojekte wann immer möglich aus ökologisch ähnlichen Habitaten stammen. Die Analysen zeigen ebenfalls, dass insbesondere im Schanzengraben starke Unterschiede beobachtet werden konnten, weshalb diese Population ebenfalls als eigenständige Managementeinheit betrachtet werden sollte.

Aufgrund der verschiedenen Resultate können folgende vier Managementeinheiten definiert werden, die bei Wiederansiedlungsprojekten berücksichtigt werden sollten:

1. Populationen innerhalb des Rhein-Hauptstammes
2. Populationen der oberen Rheinzufüsse
3. Populationen innerhalb des Bodenseeeinzugs
4. Schanzengraben

(a)



(b)

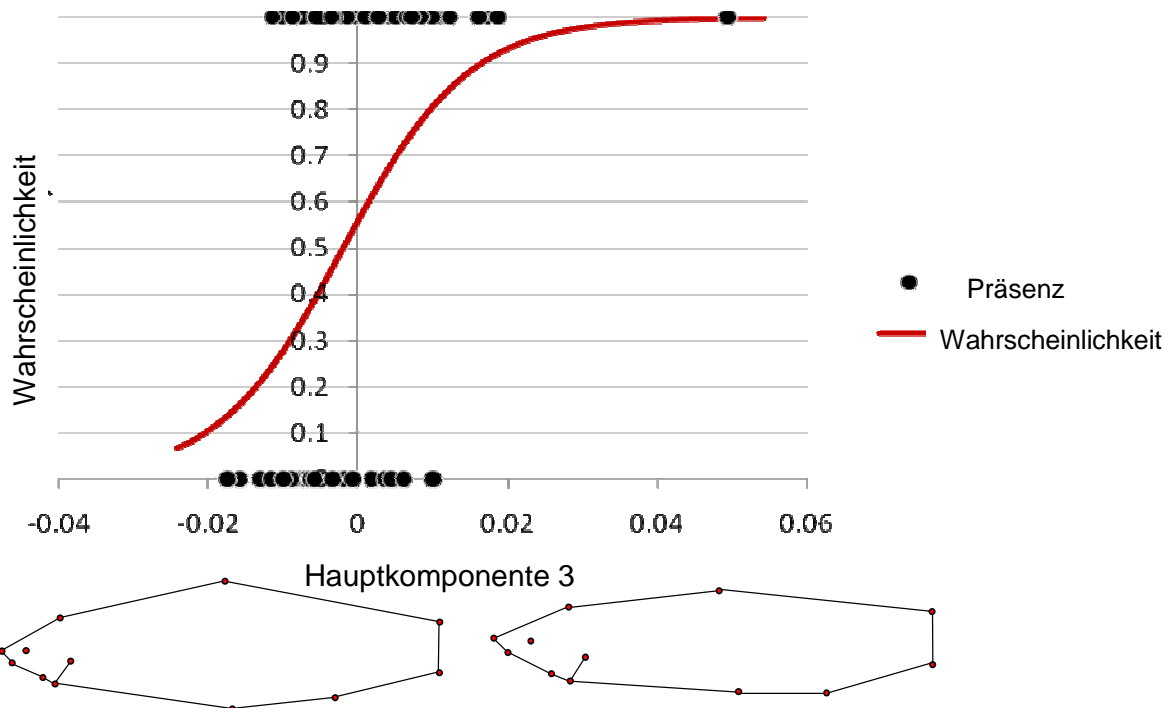


Abbildung 43. Logistische Regression der AFLP Daten. (a) Locus: TTTA-235 gegen die Hauptkomponente 1 der geometrischen Morphologiedaten. (b) Locus CATT-150 gegen die Hauptkomponente 3 der geometrischen Morphologiedaten. Die Veränderung der Morphologie entlang der Hauptkomponenten ist unterhalb der x-Achsen angegeben.

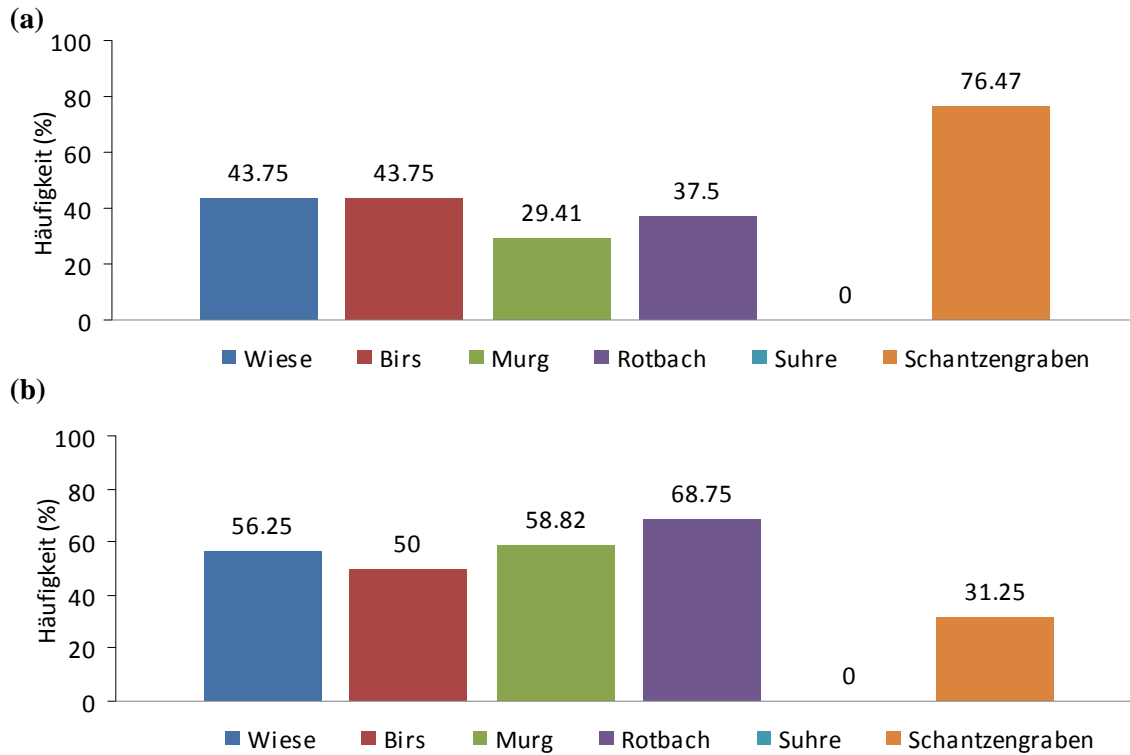


Abbildung 44. Häufigkeit der Präsenz eines Alleles am Locus TTTA-235 (a) und CATT-150 (b) innerhalb der verschiedenen Nasenpopulationen der Rheins unterhalb vom Rheinfluss.

8. DANKSAGUNG

Wir möchten uns an dieser Stelle insbesondere bei allen Kantonalen Ämtern für die Unterstützung bei den Probenahmen danken. Herr Arthur Kirchhofer, Guy Périat, Franck Bonell, Dr. Wolfgang Mark und Frau Dr. Caroline Costedoat danken wir für die zur Verfügungstellung von DNS Proben. Schliesslich bedanken wir uns beim BAFU, Sektion Fischerei, für das Vertrauen und die finanzielle Unterstützung für dieses Projekts.

9. LITERATURVERZEICHNIS

- Adamik, Z. and Obrdlik, P. (1977). Food of important cyprinid species in the warmed barb-zone of the Oslava river. *Folia Zoologica* 25(2): 171-182.
- Bachmann, H. (1907). Vorkommen, Verbreitung und Lebensweise der Fische des Vierwaldstättersees. Luzern: Kommissionsverlag E. Haag.
- Barluenga, M., Sanetra, M. and Meyer, A. (2006). Genetic admixture of burbot (Teleostei : *Lota lota*) in Lake Constance from two European glacial refugia. *Molecular Ecology* 15(12): 3583-3600.
- Bensch, S. and Akesson, M. (2005). Ten years of AFLP in ecology and evolution: why so few animals? *Molecular Ecology* 14(10): 2899-2914.
- Bonell, F. W. (2009). Frühjahrsmonitoring an der Dornbirner Ach mit dem Schwerpunkt Nase (*Chondrostoma nasus*). In Institut für Zoologie und Limnologie, Abteilung Ökophysiologie. Innsbruck: University Innsbruck.
- Bonin, A., Bellemain, E., Eidesen, P. B., Pompanon, F., Brochmann, C. and Taberlet, P. (2004). How to track and assess genotyping errors in population genetics studies. *Molecular Ecology* 13(11): 3261-3273.
- Bonin, A., Ehrich, D. and Manel, S. (2007). Statistical analysis of amplified fragment length polymorphism data: a toolbox for molecular ecologists and evolutionists. *Molecular Ecology* 16(18): 3737-3758.
- Bonin, A., Taberlet, P., Miaud, C. and Pompanon, F. (2006). Explorative genome scan to detect candidate loci for adaptation along a gradient of altitude in the common frog (*Rana temporaria*). *Molecular Biology and Evolution* 23(4): 773-783.
- Bürger, P. (1930). Merkblatt über die künstliche Erbrütung von Nasen (*Chondrostoma nasus* L.) und Barben (*Barbus fluviatilis* Ag.). *Allgemeine Fischerei-Zeitung* 55(1): 11.
- Campbell, D. and Bernatchez, L. (2004). Genomic scan using AFLP markers as a means to assess the role of directional selection in the divergence of sympatric whitefish ecotypes. (vol 21, pg 945, 2004). *Molecular Biology and Evolution* 21(6): 1164-1164.
- Dedual, M. (1990). Biologie et problèmes de dynamique de population du nase (*Chondrostoma nasus nasus*) dans la petite Sarine. In Faculté de sciences Fribourg: Université de Fribourg.
- Excoffier, L., Hofer, T. and Foll, M. (2009). Detecting loci under selection in a hierarchically structured population. *Heredity* 103(4): 285-298.
- Excoffier, L., Laval, G. and Schneider, S. (2005). Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1: 47-50.
- Excoffier, L., Smouse, P. and Quattro, J. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479-491.
- Foll, M. and Gaggiotti, O. (2008). A Genome-Scan Method to Identify Selected Loci Appropriate for Both Dominant and Codominant Markers: A Bayesian Perspective. *Genetics* 180(2): 977-993.
- Goudet, J. (1999). PCAGEN, A Computer Package which Performs Principal Component Analysis (PCA) on Gene Frequency Data

- Goudet, J. (2001). FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Available from <http://www.unil.ch/izea/software/fstath.html>.
- Guo, S. W. and Thompson, E. A. (1992). Performing the Exact Test of Hardy-Weinberg Proportion for Multiple Alleles. *Biometrics* 48(2): 361-372.
- Gyurko, S. (1959). Beiträge zur Ernährungsbiologie der Nase (*C. nasus* L.). *Archiv Fur Hydrobiologie* 56(1/2): 93-101.
- Herzig, A. and Winkler, H. (1985). Der Einfluss der Temperatur auf die embryonale Entwicklung der Cypriniden. *Österreichs Fischerei* 38: 182-196.
- Hofer, J. (1911). Die Fischfauna des Kantons Aargau. Festschrift zur Feier des hundertjährigen Bestandes der Aargauischen Naturforschenden Gesellschaft Heft XII.
- Huber-Gysi, M. (2009). Die Bestandessituation der Nase *Chondrostoma nasus* in der Schweiz 2005 - 2008. WWF (Ed.).
- Huber Gysi, M. (1996-2009). Die Bestandessituation der Nase *Chondrostoma nasus* in der Schweiz 2005 - 2008. WWF (Ed.).
- Huber, M. and Kirchhofer, A. (1997). Habitat use of radiotagged adult nase (*Chondrostoma nasus*) in a regulated river. *Folia Zoologica* 46: 67-77.
- Hudson, A. G., Vonlanthen, P. and Seehausen, O. (submitted). Cytonuclear Discordance in phylogenetic markers reveals a complex history of hybrid speciation in sympatry within lake species flocks within the Central European *Coregonus lavaretus* radiation.
- Joost, S., Bonin, A., Bruford, M. W., Despres, L., Conord, C., Erhardt, G. and Taberlet, P. (2007). A spatial analysis method (SAM) to detect candidate loci for selection: towards a landscape genomics approach to adaptation. *Molecular Ecology* 16(18): 3955-3969.
- Jump, A. S., Hunt, J. M., Martinez-Izquierdo, J. A. and Penuelas, J. (2006). Natural selection and climate change: temperature-linked spatial and temporal trends in gene frequency in *Fagus sylvatica*. *Molecular Ecology* 15(11): 3469-3480.
- Kirchhofer, A., Breitenstein, M. and Büsser, P. (2004). "La Broye vivante" - étude conceptionnelle pour la réintroduction du nase (*Chondrostoma nasus*) dans la Broye VD/FR. Gümmenen: WFN.
- Kottelat, M. and Freyhof, J. (2007). Handbook of European freshwater fishes. Kottelat, Cornol, Switzerland and Freyhof, Berlin, Germany.
- Largiadèr, C. R. and Hefti, D. (2002). Genetische Aspekte des Schutzes und der nachhaltigen Bewirtschaftung von Fischarten. In *Mitteilungen zur Fischerei*. Bundesamt für Umwelt, W. u. L. B. (Ed.) Bern.
- Lelek, A. and Buhse, G. (1992). Die Fische des Rheins - früher und heute. Strassburg: Springer-Verlag.
- Lelek, A. and Penaz, M. (1963). Spawning of *Chondrostoma nasus* (L.) in the Brumovka River. *Zoologicke Listy* 12(2): 121-134.
- Luikart, G., England, P. R., Tallmon, D., Jordan, S. and Taberlet, P. (2003). The power and promise of population genomics: From genotyping to genome typing. *Nature Reviews Genetics* 4(12): 981-994.

- Maier, K. J., Turcsanyi, B., Krieg, M. and Tinguely, C. (1992). Untersuchungen an einem Laichplatz der Nase (*Pisces: Chondrostoma nasus* L.) im Unterlauf der Sense (Schweiz, Kt. Bern). In *Erweiterte Zusammenfassung der Jahrestagung 1992 in Konstanz*: 258-263.
- Maier, K. J., Zeh, M., Ortlepp, J. and Hefti, D. (1995). MITTEILUNGEN ZUR FISCHEREI NR. 53: Verbreitung und Fortpflanzung der in der Schweiz vorkommenden *Chondrostoma*-Arten. Bundesamt für Umwelt, W. u. L. B. (Ed.) Bern.
- Mesquita, N., Cunha, C., Hanfling, B., Carvalho, G. R., Ze-Ze, L., Tenreiro, R. and Coelho, M. M. (2003). Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci in the endangered Portuguese freshwater fish *Squalius aradensis* (Cyprinidae). *Molecular Ecology Notes* 3(4): 572-574.
- Muenzel, F. M., Sanetra, M., Salzburger, W. and Meyer, A. (2007). Microsatellites from the vairone *Leuciscus souffia* (*Pisces: Cyprinidae*) and their application to closely related species. *Molecular Ecology Notes* 7(6): 1048-1050.
- Nelva, A. (1989). Structure de population en classes de taille et structure en bancs chez le hotu, *Chondrostoma nasus* (*Pisces, Cyprinidae*), dans le Haut-Rhône français. *Cybiurn* 13(3): 221-233.
- Nosil, P., Egan, S. P. and Funk, D. J. (2008). Heterogeneous genomic differentiation between walking-stick ecotypes: "Isolation by adaptation" and multiple roles for divergent selection. *Evolution* 62(2): 316-336.
- Penaz, M. (1974). Early development of the Nase Carp, *Chondrostoma nasus* (Linnaeus, 1758). *Zoologische Listy* 23(3): 275-288.
- Pritchard, J. K., Stephens, M. and Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155(2): 945-959.
- Raymond, M. and Rousset, F. (1995). Genepop (Version-1.2) - Population-Genetics Software for Exact Tests and Ecumenicism. *Journal of Heredity* 86(3): 248-249.
- Rice, W. R. (1989). Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* 43: 223-225.
- Rohlf, F. J. (1999). Shape statistics: Procrustes superimpositions and tangent spaces. *Journal of Classification* 16(2): 197-223.
- Rohlf, F. J. (2006). TPSDig Version 2.1. State University of New York at Stony Brook, Stony Brook, NY, USA.
- Roy, D., Paterson, G., Hamilton, P. B., Heath, D. D. and Haffner, G. D. (2007). Resource-based adaptive divergence in the freshwater fish *Telmatherina* from Lake Matano, Indonesia. *Molecular Ecology* 16(1): 35-48.
- Storz, J. F. (2005). Using genome scans of DNA polymorphism to infer adaptive population divergence. *Molecular Ecology* 14(3): 671-688.
- Szabo, Z. (1958). Beiträge zur Vermehrungsbiologie der Nase (*C. nasus* L.). *Zeitschrift f Fischerei N F* 7: 631-636.
- Thornton, K. R. and Jensen, J. D. (2007). Controlling the false-positive rate in multilocus genome scans for selection. *Genetics* 175(2): 737-750.
- Von dem Borne, M. (1883). Die Fischerei-Verhältnisse des Deutschen Reiches, Österreich-Ungarns, der Schweiz und Luxemburg. Berlin: W. Moeser Hofbuchdruckerei.

- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Vandeele, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. and Zabeau, M. (1995). Aflp - a New Technique for DNA-Fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23(21): 4407-4414.
- Vyskocilova, M., Simkova, A. and Martin, J. F. (2007). Isolation and characterization of microsatellites in *Leuciscus cephalus* (Cypriniformes, Cyprinidae) and cross-species amplification within the family Cyprinidae. *Molecular Ecology Notes* 7(6): 1150-1154.
- Weir, B. S. and Cockerham, C. C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.
- Wilding, C. S., Butlin, R. K. and Grahame, J. (2001). Differential gene exchange between parapatric morphs of *Littorina saxatilis* detected using AFLP markers. *Journal of Evolutionary Biology* 14(4): 611-619.
- Zbinden, S. and Hefti, D. (2000). MITTEILUNGEN ZUR FISCHEREI NR. 67: Monitoring der Nase (*Chondrostoma nasus*) in der Schweiz. Bundesamt für Umwelt, W. u. L. B. (Ed.) Bern.
- Zbinden, S. and Hefti, D. (2005). MITTEILUNGEN ZUR FISCHEREI NR. 82: Monitoring der Nase (*Chondrostoma nasus*) in der Schweiz 1995-2004. Bundesamt für Umwelt, W. u. L. B. (Ed.) Bern.
- Zelditch, M. L., Swiderski, D. L., Sheets, H. D. and Fink, W. L. (2004). *Geometric Morphometrics for Biologists: A primer*. San Diego: Elsevier Academic Press.