

Erhalt der Fischbiodiversität in großen aquatischen Systemen mit Hilfe von wissenschaftlichen Methoden - Herausforderungen und Möglichkeiten für den angewandten Artenschutz

Samuel Roch¹, Jan Baer¹, Alexander Brinker^{1,2}

¹ Fischereiforschungsstelle Baden-Württemberg, Argenweg 50/1, 88085 Langenargen

² Universität Konstanz, Mainaustraße 252, 78464 Konstanz

Korrespondierender Autor

Samuel Roch
samuel.roch@lazbw.bwl.de

Eingereicht: 13.07.2020

Begutachtet: 28.09.2020

Erhalt Überarbeitung: 16.10.2020

Akzeptiert: 16.10.2020

Zitierhinweis

Roch, S., Baer, J., Brinker, A. (2021): Erhalt der Fischbiodiversität in großen aquatischen Systemen mit Hilfe von wissenschaftlichen Methoden - Herausforderungen und Möglichkeiten für den angewandten Artenschutz. Zeitschrift für Fischerei 1: Artikel 6: 1-17. DOI: [10.35006/fischzeit.2020.4](https://doi.org/10.35006/fischzeit.2020.4)

Verantwortlicher Redakteur:

Robert Arlinghaus
ra@zeitschrift-fischerei.de

Finanzierung

Keine

Interessenkonflikt

Keiner

Ergänzendes Material

Tab. S1 bis S 13.

https://www.zeitschrift-fischerei.de/attachements/anhang_zu_10.35006_fischzeit.2020.4.pdf

Copyright

© Autor(en) 2021, veröffentlicht unter der creative commons Lizenz

[CC-BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

www.zeitschrift-fischerei.de

Zusammenfassung

Die aquatische Biodiversität ist weltweit durch eine Vielzahl von Einflüssen bedroht und im Niedergang begriffen. Vor allem anthropogene Eingriffe, invasive Arten und die Folgen des Klimawandels führen zu einer Gefährdung von ehemals weit verbreiteten Arten. Durch die sich ständig ändernden Umwelteinflüsse ist vor allem der Schutz der lokalen genetischen Diversität essentiell. Die Fortschritte in der Wissenschaft in den letzten Jahren ermöglichen es heute, die genetische Diversität auch in größerem Umfang zu untersuchen. Mit Hilfe von Mikrosatelliten-Markern und etablierten morphometrischen Untersuchungen wurden in der vorliegenden Studie anhand von festgelegten Kriterien und drei Fallbeispielen die Möglichkeiten und Herausforderungen für den angewandten Artenschutz aufgezeigt. Der Strömer (*Telestes souffia*) bildete das Idealbild einer morphometrischen und genetischen Untersuchung ab. Es konnten klare Gruppen innerhalb der betrachteten Einzugsgebiete identifiziert werden, welche die Ableitung von wirksamen genetischen Bewirtschaftungseinheiten und die Entwicklung konkreter Schutzkonzepte ermöglicht. Das Beispiel Schlammpeitzger (*Misgurnus fossilis*) hingegen verdeutlicht die Probleme, die bei der Untersuchung von kleinen und genetisch wenig diversen Populationen auftreten können. Zudem konnten die morphometrischen Analysen darstellen, dass Geschlechtsdimorphismus und abiotische Faktoren einen entscheidenden Einfluss auf den Phänotyp haben können. Die Ergebnisse für das Bachneunauge (*Lampetra planeri*) wiederum gaben ein Beispiel, in dem die gewählte Methode nicht die gewünschten Resultate lieferte und die Analysen vertieft oder ein anderer genetischer Marker genutzt werden muss. Generell konnten im Rahmen der Untersuchungen wertvolle Erkenntnisse zur genetischen und morphometrischen Vielfalt bedrohter baden-württembergischer Fische und Neunaugen gewonnen werden.

Schlagnworte: Mikrosatelliten, Landmarks, Biodiversität, genetische Diversität, Bewirtschaftungseinheit

Abstract

Aquatic biodiversity is threatened worldwide due to a wide range of influences and therefore is generally in decline. Above all, anthropogenic disturbances, such as invasive species and the consequences of climate change, are threatening formerly widespread species. Due to constantly changing environmental influences, the protection of local genetic diversity in particular is essential. Recent scientific advances make it possible today to study genetic diversity on a larger scale. With the help of microsatellite markers and established morphometric studies, the present study used defined criteria and three case studies to illustrate the opportunities and challenges for applied biodiversity conservation. The western vairone (*Telestes souffia*) provided an excellent example of a successful genetic and morphometric examination. It was possible to identify clear groups within the studied river basins, enabling the derivation of effective genetic management units and the development of concrete protection concepts. The example of the weatherfish (*Misgurnus fossilis*), on the other hand, illustrates the problems that can arise when studying small and genetically less diverse populations. In addition, morphometric analyses showed that sexual dimorphism and abiotic factors can have a decisive influence on the phenotype. Finally, the results for the brook lamprey (*Lampetra planeri*) provided an example where the selected methods did not produce the desired results, requiring additional analyses or the development of other genetic markers. In general, the investigations revealed valuable insights into the genetic and morphometric diversity of endangered Baden-Württemberg fish and lampreys.

Keywords: microsatellites, Landmarks, biodiversity, genetic diversity, management unit

Fazit für die Praxis

Mikrosatelliten als Marker bilden zusammen mit morphometrischen Untersuchungen einen guten Kompromiss aus Wirtschaftlichkeit und Erkenntnisgewinn und ermöglichen die Verwendung einer Reihe von verlässlichen Indizes zur Bestimmung der genetischen Diversität für den angewandten Artenschutz. In der vorliegenden Studie konnten für die Fischart Strömer (*Telestes souffia*) drei Bewirtschaftungseinheiten definiert werden, welche sich sowohl genetisch als auch morphometrisch darstellten. Zwei der Einheiten befinden sich links- und rechtsseitig des Neckars, eine dritte bildet das Bodenseeeinzugsgebiet. Ein besonderes Augenmerk muss auf die Population in der Rotach gelegt werden. Diese unterschied sich von allen anderen Populationen innerhalb des Einzugsgebiets und könnte sich entsprechend als besonders schützenswert erweisen. Beim Schlammpeitzger (*Misgurnus fossilis*) konnten zwei Bewirtschaftungseinheiten definiert werden, welche sich mit den beiden untersuchten Einzugsgebieten decken. Unabhängig davon wird aber aufgrund der prekären Bestandssituation ein strikter Schutz für alle untersuchten Populationen empfohlen. Zudem deutete eine hohe morphometrische Divergenz auf den Einfluss von Umweltfaktoren auf den Phänotyp hin. Die Ergebnisse beim Bachneunauge (*Lampetra planeri*) ermöglichten leider keine klare Zuweisung von Bewirtschaftungseinheiten. Hier muss überprüft werden, ob methodische Fehler vorliegen oder ob eine starke Fragmentierung der Populationen die Ergebnisse überdeckt und weitergehende Untersuchungen notwendig sind.

Glossar

Allelic richness	Allelreichtum einer Population in Abhängigkeit von der Probengröße
Allele-Scoring	Zuordnung einzelner DNA Fragmenten zu einem bestimmten Locus
bottleneck	Starke Abnahme der Populationszahl aufgrund von Umweltereignissen
centroid size	Die Quadratwurzel aus der Summe der quadratischen Abstände aller Landmarks eines Objekts von ihrem Zentrum
Effective Number of alleles	Die Anzahl der gleich häufigen Allele, die nötig wären, um die gleiche erwartete Heterozygotie wie in der untersuchten Population zu erreichen.
Fixation Index (F_{ST})	Maß für die genetische Differenzierung zwischen Populationen
Genetic rescue	Strategie zur Wiederherstellung der genetischen Vielfalt und zur Verringerung der Aussterberisiken in kleinen, isolierten und häufig durch Inzucht geprägten Populationen
Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE)	Unter idealen Bedingungen (sehr große Population, zufällige Paarung, fehlen von Mutationen, usw.) bleiben die Allelhäufigkeiten in einer Population konstant.
Heterozygotie	Bei einem diploiden Individuum unterscheiden sich an einem bestimmten Locus die Allele auf den beiden Chromosomen.
Inbreeding Coefficient	Die Wahrscheinlichkeit, dass zwei Allele an einem bestimmten Locus durch Abstammung identisch sind
Landmarks	Übereinstimmungspunkte auf jedem Exemplar, die zwischen und innerhalb von Populationen vergleichbar sind
Large allele drop outs	Ungenügende Vervielfältigung eines Allels
Linkage Disequilibrium	Nicht-zufällige Assoziation von Allelen an verschiedenen Loci in einer gegebenen Population
Locus / Loci	Eine spezifische Position auf einem Chromosom, an der sich ein bestimmtes Gen oder ein genetischer Marker befindet
Nullallele	Verlust eines Markers durch Mutation während der PCR
Observed and expected heterozygotie	Die beobachtete und erwartete (wenn die Population im Hardy-Weinberg Gleichgewicht wäre) Heterozygotie
PC-Scores	Hauptkomponenten, welche bei einer Hauptkomponentenanalyse dargestellt werden
Procrustes superimposition	Zum Vergleich von Objekten werde diese verschoben, gedreht und gleichmäßig skaliert
similarity score	Ein Ähnlichkeitswert, welcher durch Abgleich mehrerer Wiederholungen einer Structure-Analyse berechnet wird
Single nucleotid polymorphism	Variationen von einzelnen Basenpaaren auf einem DNA-Doppelstrang
stuttering	Mehrere Produkte für ein Allel, die sich um wenige Wiederholungseinheiten vom korrekten Produkt unterscheiden

1. Einleitung

Der Verlust biologischer Diversität im aquatischen Lebensraum erfolgt weitgehend unbemerkt, da sich die Welt unter Wasser dem direkten Blick entzieht. Diese Verluste sind dabei oft verknüpft mit äußeren anthropogenen Einflussfaktoren, wie Nutzung durch Landwirtschaft und Wasserkraft (WEIJTERS et al. 2009; GRACEY & VERONES 2016) oder punktuellen Belastungen (Wärmeeinleiter, Aufstau; DE VAATE et al. 2006; TURGEON et al. 2019). Diese und andere Faktoren können die Gewässerstrukturen (Gewässersohle, Auenanbindung) oder Gewässereigenschaften (Wasserführung) aquatischer Systeme nachhaltig und dauerhaft schädigen. Auch das Einschleppen invasiver Arten führt zum Verlust der aquatischen Biodiversität (CAMBRAY 2003; NEHRING 2005). Neben den aktuell besonders wirksamen anthropogenen Einflüssen gibt es aber auch natürliche Faktoren, welche die biologische Diversität beeinflussen können. So haben z.B. Naturkatastrophen (Vulkanausbrüche, Dürre, tödliche Krankheiten, etc.) das Potenzial, die Größe einer Population drastisch zu reduzieren. Diese Ereignisse (oft auch als „bottlenecks“ bezeichnet) führen wiederum zu einer Verringerung der genetischen Vielfalt und damit einhergehend zu einer verminderten Fitness bzw. einem geringeren evolutionären Potential (BOUZAT 2010). Für das Überleben und die Artverbreitung kann abschließend auch die Verfügbarkeit von glazialen Refugien während der letzten Eiszeit eine entscheidende Rolle gespielt haben (KEPPEL et al. 2012).

Neben dem Erhalt der Diversität der Arten und Ökosysteme können nun seit einigen Jahren durch genetische Methoden Informationen zur genetischen Diversität erarbeitet werden. Dies ist auch dringend notwendig, denn durch die sich ständig ändernden Umwelteinflüsse ist das Wissen hinsichtlich des Erhalts der lokalen genetischen Anpassungen und der Bildung von separaten Genpools oft essentiell für das Fortbestehen einer Art (KNAEPKENS et al. 2002; WILLI et al. 2006). Entsprechende genetische Verfahren haben sich in den letzten Jahrzehnten soweit etabliert, dass diese im Artenschutz großflächig angewendet werden können (WAN et al. 2004). Sie helfen, die genetische Diversität innerhalb einer Art zu identifizieren und bieten die Basis für konkrete Empfehlungen zum Erhalt der biologischen Vielfalt. Für einen landesweit oder sogar bundesweit angelegten Artenschutz bedeutet dies aber immer noch zeit- und kostenintensive Studien, welche oft nur in begrenztem Umfang durchgeführt werden können.

Die Gewässer in Baden-Württemberg sind stark anthropogen überformt und in der Konsequenz ist die Fischfauna in vielen Bereichen verarmt und gefährdet (DUSSLING et al. 2018). Insgesamt unterliegen von den heimischen Fisch-, Flusskreb- und Neunaugenarten nur 18 Arten (30,5 %, alles Fischarten) keinem Gefährdungsrisiko (BAER et al. 2014). Trotzdem ist auch heute noch das Wissen über die genetische und morphometrische Ausprägung heimischer Fischarten weiterhin begrenzt. Vor diesem Hintergrund wurde daher in der vorliegenden Studie untersucht, ob mit etablierten wissenschaftlichen

Methoden die genetische und morphometrische Diversität bedrohter Arten landesweit effektiv untersucht werden kann. Als Fallbeispiele wurden zwei Fisch- und eine Neunaugenart ausgewählt: Die Fischarten Strömer (*Telestes souffia*) und Schlammpeitzger (*Misgurnus fossilis*) sind als „gefährdet“ bzw. „vom Aussterben bedroht“ eingestuft (BAER et al. 2014) und existieren teilweise nur noch in isolierten Einzelvorkommen. Aus diesem Grund ist die Bildung von separaten Genpools zu erwarten. Das Bachneunauge (*Lampetra planeri*) ist zwar noch in ganz Baden-Württemberg verbreitet, muss aber auch als gefährdet angesehen werden (BAER et al. 2014). Derzeit gibt es keine flächendeckenden Informationen über die Populationsstruktur und es sollte geklärt werden, ob eine genetische Differenzierung zwischen den Populationen der verschiedenen Einzugsgebiete vorliegt und inwiefern sich diese Vorkommen in genetische Bewirtschaftungseinheiten („Management Units“; PALSBOLL et al. 2007) aufspalten. Die genetische Diversität wurde im vorliegenden Projekt mit Hilfe von Mikrosatelliten untersucht, eine Technik, die sich seit Jahrzehnten für die dargestellte Fragestellung bewährt hat (CHISTIakov et al. 2006). Begleitend wurden zusätzlich phänotypische Ausprägungen durch die „Landmarks“-Methode (WEBSTER & SHEETS 2010) analysiert. Schlussendlich wurden Kriterien festgelegt, auf deren Basis die gewonnenen Ergebnisse bewertet und in Folge daraus entweder konkrete Empfehlungen zur Bewirtschaftung vorgeschlagen oder Empfehlungen für das weitere Vorgehen gegeben wurden. Zudem wurden die angewendeten Methoden in Hinblick auf die Möglichkeiten und Herausforderungen für einen angewandten Artenschutz diskutiert.

2. Material und Methoden

2.1. Untersuchungsgebiet und Probenahme

Die Probenahme der Fisch- und Neunaugenarten erfolgte zwischen 2018 und 2019 an vorher ausgewählten Gewässerabschnitten in Baden-Württemberg. Ausschlaggebend für eine Beprobung war eine Minstdichte der Tiere in einem Gewässer; nur bei ausreichend hoher Individuenstärke (nach Datenbestand Fischereiforschungsstelle Baden-Württemberg) wurde eine Befischung mittels Elektrofischerei veranlasst. Insgesamt wurden aus 27 Gewässern in den fünf großen Einzugsgebieten des Landes (Donau, Bodensee, Hochrhein, Oberrhein, Neckar) Tiere entnommen. Eine Übersicht zu den einzelnen Probestellen findet sich in Abbildung 1 und Tabelle S1. Alle Zielarten wurden betäubt, fachgerecht getötet, und es wurde von jedem Tier die Totallänge (TL, Genauigkeit: 0,1 cm) und das Nassgewicht (NG, Genauigkeit: 0,1 g) aufgenommen. Für die genetische Analyse wurde ein Stück einer Flosse (ca. 0,5 cm²) abgeschnitten und in reinem Ethanol (Chemsolute, Ethanol absolut reinst, 99,5 %) fixiert.

2.2. Morphometrische Analyse

Strömer und Schlammpeitzger wurden mit Hilfe einer Digitalkamera (Pentax K3 II, mit 18 – 135 mm Objektiv) lateral fotografiert. Je nach Fischart wurden unterschiedliche Bezugspunkte auf dem Körper, sogenannte Landmarks ausgewählt. Eine Übersicht zu den einzelnen Landmarks findet sich in Abb. 2. Anschließend wurden die Landmarks mit Hilfe des Programms TPSDig 2 (V2.31, James Rohlf, Stony Brook University, New York, USA) gesetzt.

Um Unterschiede in der Körperform zwischen den einzelnen Populationen zu identifizieren, wurden die Landmarks mit Hilfe des Programms PAST (V4.0; HAMMER et al. 2001) ausgewertet. Die Landmarks wurden in einem ersten Schritt mit Hilfe einer „Procrustes superimposition“ vergleichbar gemacht (STEGMANN & GOMEZ 2002). Die erhaltenen Procrustes-Koordinaten wurden anschließend dazu verwendet, um eine Hauptkomponentenanalyse (PCA; SOKAL & ROHLF 2003) durchzuführen. Die ersten beiden Hauptkomponenten (PC-Scores) wurden zur grafischen Darstellung in einem Streudiagramm angeordnet. Ausreißer, welche sich deutlich außerhalb der Punktwolke befanden, wurden von der weiteren Analyse ausgeschlossen (VISCOSI & CARDINI 2011). Änderungen in der Form entlang der ersten beiden Hauptkomponenten wurden über ein Verformungsraster grafisch dargestellt. Für den Vergleich der Populationen wurden die Procrustes-Koordinaten über eine Multivariate Varianzanalyse (MANOVA; SOKAL & ROHLF 2003) paarweise miteinander verglichen (KLINGENBERG et al. 2002). Die erhaltenen p-Werte wurden durch eine sequentielle Bonferroni-Korrektur (HOLM 1979) angepasst. Eine grafische Darstellung der Unterschiede zwischen den Populationen erfolgte zudem über eine Diskriminanzanalyse (CVA; SOKAL & ROHLF 2003). Die Ergebnisse wurden in einem Streudiagramm angeordnet und die richtige Zuordnung der Individuen in die einzelnen Populationen über einen Jackknife-Kreuzvalidierungstest überprüft (FAN & WANG 1996). Schlussendlich wurde mit Hilfe des Programms MorphoJ (V1.07a; KLINGENBERG 2011) durch eine multiple Regression (Procrustes-Koordinaten vs. log „centroid size“; Permutations-Test, 10.000 Durchläufe) überprüft, ob es einen allometrischen Effekt innerhalb der einzelnen Populationen gab (VISCOSI & CARDINI 2011). Wurde bei mindestens einer

Population ein statistisch signifikanter Effekt gefunden, so wurde über eine multivariate Kovarianzanalyse („Multivariate Analysis Of Covariance“, MANCOVA; SOKAL & ROHLF 2003) getestet, ob die allometrischen Effekte vergleichbar zwischen den einzelnen Populationen sind und ob eine Größenkorrektur bei den Daten notwendig und möglich ist (VISCOSI & CARDINI 2011).

Beim Schlammpeitzger besteht ein Geschlechtsdimorphismus, wobei Unterschiede in der Größe der pectoralen Flosse ein geeignetes Unterscheidungsmerkmal darstellt (KOTUSZ 1995). Aus diesem Grund wurde die Brustflosse der Schlammpeitzger vermessen, anhand der Körpergröße korrigiert (LINO COSTA et al. 2003) und anschließend alle Proben mittels einer Diskriminanzanalyse den beiden Geschlechtern zugeordnet. Unterschiede in der Form wurden schlussendlich wie oben beschrieben sowohl zwischen den beiden Geschlechtern, als auch den einzelnen Populationen untersucht.

Die Individuen des Bachneunauges wurden ebenfalls fotografiert, jedoch gestaltete sich die Analyse der phänotypischen Ausprägungen mit Hilfe von Landmarks als schwierig. Da vor allem juvenile Stadien (Querder) gefangen wurden, konnte keine ausreichende Anzahl an Bezugspunkten etabliert werden. Aus diesem Grund wurde von einer morphometrischen Analyse abgesehen.

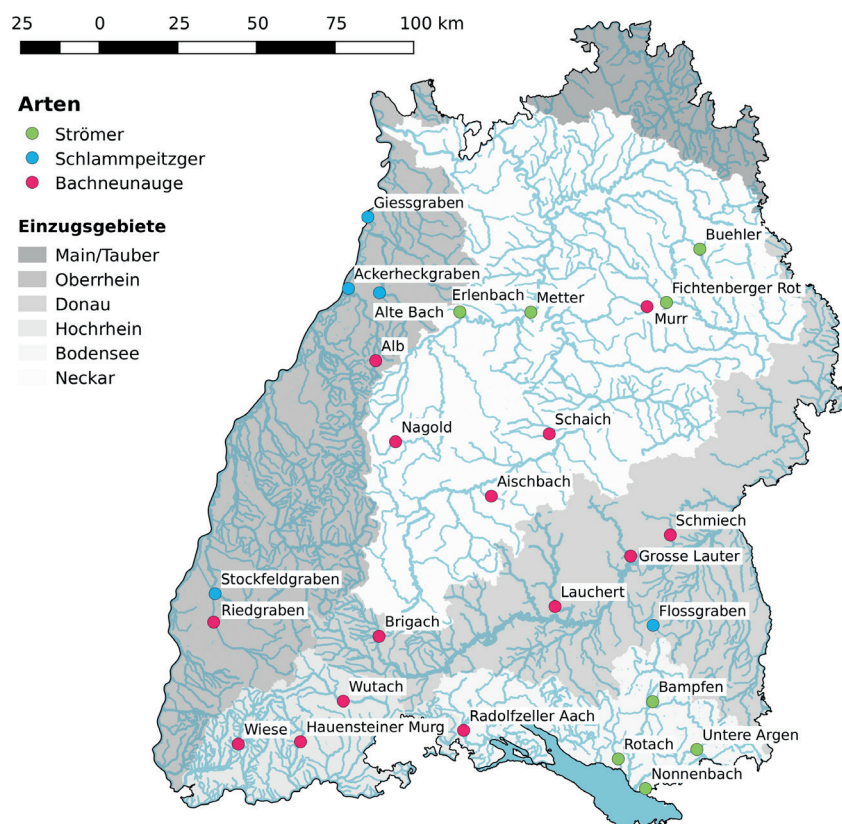
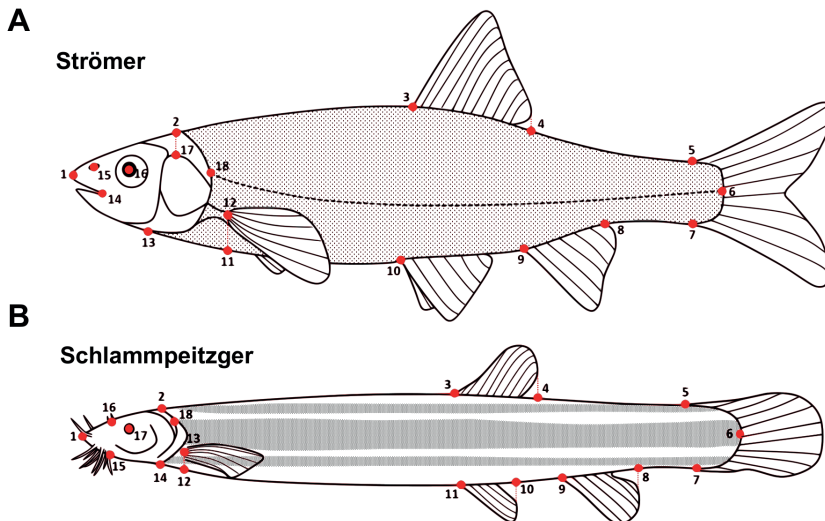


Abbildung 1

Übersicht zu den Probestellen in Baden-Württemberg für Strömer, Schlammpeitzger und Bachneunauge. Die unterschiedlich gefärbten Kreise geben Auskunft zu den beprobten Arten, die Namen geben das beprobte Gewässer an.

**Abbildung 2**

Veranschaulichung, wie die verschiedenen Landmarks ($n = 18$) bei Strömer (A) und Schlammpeitzger (B) gesetzt wurden.

2.3. Genetische Analyse

Anhand von Literaturangaben wurden für die genetische Analyse zwischen 10 und 13 vielversprechende Mikrosatelliten für jede Art identifiziert. In einem Testlauf wurde mit einzelnen Proben überprüft, ob die Loci für die angestrebte genetische Analyse brauchbar sind. Eine Übersicht zu den final verwendeten Mikrosatelliten und die Anzahl an Multiplex Assays für jede Art findet sich in Tabelle S2.

Die DNA-Amplifikation erfolgte mit Hilfe einer Polymerase-Kettenreaktion („Polymerase Chain Reaction“, PCR; Solis Biodyne 5x Hot FIREPol Multiplex Mix). Details zu den einzelnen Schritten und Konditionen der PCR finden sich im Anhang. Für die Fragmentanalyse wurde der Größenstandard GeneScan LIZ500 (Applied Biosystems) verwendet und die Analyse erfolgte auf einem DNA Analyzer (Applied Biosystems 3730XL; Injektionszeit: 10 s, Injektionsspannung: 1,6 kV, Run time: 2100 s, Laufspannung: 15 kV, Kapillarlänge: 50 cm, Polymer: POP7, Filter: Dye Set G5). Für die Zuordnung der einzelnen Fragmente zu den Loci („Allele-Scoring“) wurde das Programm Genemarker (V3.01; Softgenetics) genutzt. Der erhaltene Datensatz wurde am Ende manuell kontrolliert und auftretende Fehler, welche durch Probleme bei der PCR entstehen können, korrigiert.

Mit Hilfe des Programms GenAlEx (V6.5, Excel Add-In; PEAKALL & SMOUSE 2006, 2012) wurden folgende Parameter für jede Population bestimmt: Anzahl an Allelen (NA), Anzahl an effektiven Allelen („Effective Number of Alleles“, NE), beobachtete („observed“, HO) und erwartete („expected“, HE) Heterozygotität. Das Programm GenePop (V4.72; RAYMOND & ROUSSET 1995; ROUSSET 2008) wurde verwendet, um für jede Population Abweichungen vom Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) festzustellen (Anzahl an Dememorisierungen: 1000, Stapelanzahl: 100, Anzahl an Durchläufen: 1000). Auch wurde damit das Kopplungsungleichgewicht („Linkage Disequilibrium“, LD) zwischen den einzelnen Loci untersucht (Anzahl

an Dememorisierungen: 1000, Stapelanzahl: 100, Anzahl an Durchläufen: 1000). Für die Bestimmung des Allelreichtums („Allelic richness“, AR) und des Inzuchtkoeffizienten („Inbreeding Coefficient“, FIS), wurde das Programm FStat (V2.94; GOUDET 2001) genutzt.

Die Berechnung von HO und HE erfolgte für jeden Locus innerhalb jeder Population mit dem Programm Arlequin (V3.5; EXCOFFIER & LISCHER 2010). Des Weiteren wurden Abweichungen vom HWE (exakter Test mit Markov Chain Monte Carlo Simulation, Kettenlänge: 1.000.000, Schritte: 100.000) und der Fixationsindex (F_{ST}) (Permutationen: 1000) ermittelt. Die erhaltenen p-Werte bei der statistischen Analyse von HWE, LD und FST wurden durch eine sequentielle Bonferroni-Korrektur (HOLM 1979) angepasst. Um mögliche Probleme bei der PCR, wie „Nullalleles“, „stuttering“ und „large allele drop outs“ festzustellen,

wurden die Daten mit dem Programm MicroChecker (V2.23; VAN OOSTERHOUT et al. 2004) überprüft.

Für eine genauere Untersuchung der Populationsstruktur wurde das Programm Structure (V2.34; PRITCHARD et al. 2000) verwendet. Folgende Einstellungen wurden genutzt: 50.000 burnin Schritte, 1.000.000 Markov-Chain Schritte, Vermischungsmodell ohne zusätzliche Informationen zu den Populationen (Ausnahme: Schlammpeitzger), Allelfrequenzen korrelieren, Anzahl an Wiederholungen je $K = 3$. Die Anzahl an möglichen Clustern wurde je nach Art angepasst. Die wahrscheinlichste Anzahl an Clustern wurde über die Evanno-Methode (EVANNO et al. 2005) bestimmt. Dazu wurden die Structure-Daten mit Hilfe des Online-Tools Structure Harvester (EARL & VON HOLDT 2012) analysiert. Die Auswahl der Clusteranzahl fand über den Wert ΔK statt. Für die grafische Aufbereitung der Ergebnisse wurde das Online-Tool CLUMPAK (KOPELMAN et al. 2015) verwendet, welches die Wiederholungen für jedes K vergleicht und einen „similarity score“ ausgibt.

3. Ergebnisse

3.1. Strömer (*Telestes souffia*)

Das mittlere Frischgewicht und die mittlere Totlänge für jede Population kann der Tabelle S1 entnommen werden. Die morphometrische Analyse beim Strömer zeigte deutliche Unterschiede in der Form der Fische auf. Die Ergebnisse der PCA sind in Abb. 3 (A) dargestellt. Dabei waren die beiden ersten Hauptkomponenten für 50 % der Varianz der Daten verantwortlich. Veränderungen in der Form waren vor allem in der Kopfregion (PC 1), sowie in der allgemeinen Körperform (PC 2), zu erkennen (Abb. 3 (C)). Die MANOVA

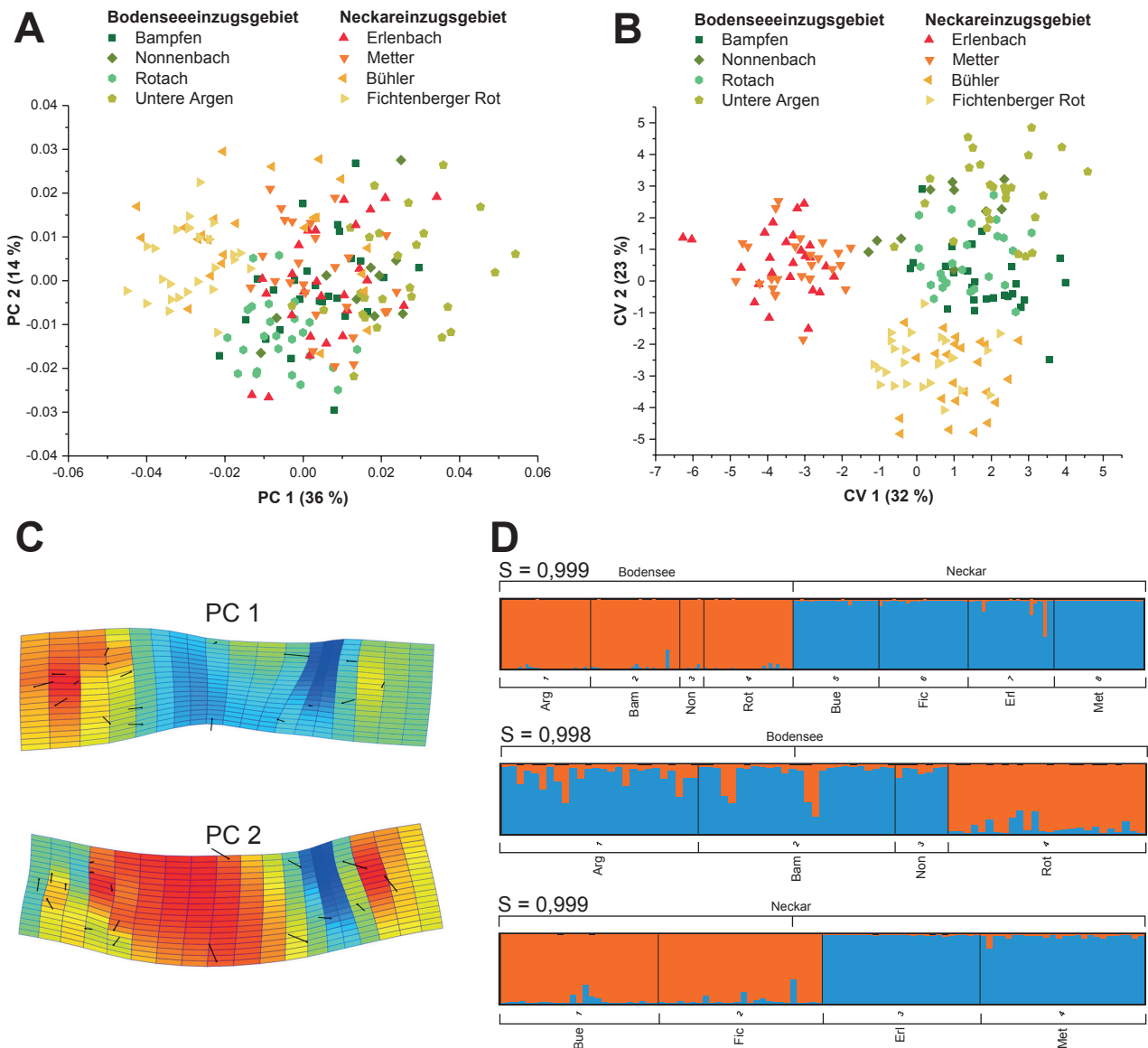


Abbildung 3

Übersicht zu den Ergebnissen der morphometrischen und genetischen Untersuchungen beim Strömer (*Telestes souffia*). (A) Ergebnisse der Hauptkomponentenanalyse (PCA). Dargestellt sind die ersten beiden Hauptkomponenten (PC), welche den größten Einfluss auf die Varianz der Daten haben (siehe Achsenbeschriftung in Prozent). (B) Ergebnisse der Diskriminanzanalyse (CVA). Dargestellt sind die ersten beiden kanonischen Variablen (CV), welche den größten Einfluss auf die Varianz der Daten haben (siehe Achsenbeschriftung in Prozent). (C) Verformungsraster, welches die Formänderung entlang der beiden ersten Hauptkomponenten der PCA aufzeigt (Änderung um einen Wert von 0,1 entlang der jeweiligen Achse). (D) Ergebnisse der Structure-Analyse. Dargestellt sind die Anzahl an Cluster mit dem höchsten ΔK ($K = 2$ für alle Populationen, jeweils $K = 2$ für beide Einzugsgebiete getrennt). $S =$ „Similarity Score“ aus dem Vergleich der drei Wiederholungen bei der Structure-Analyse.

($F_{192, 842} = 8,38$, $P < 0,001$, Wilk's $\Lambda = 0,001807$) zeigte statistisch signifikante Unterschiede zwischen Populationen auf. Dabei musste die Population „Nonnenbach“ aus der Analyse genommen werden, da die Stichprobengröße zu gering war und damit die Bedingungen für den Test nicht erfüllt wurden. Der paarweise Vergleich ergab keine signifikante Unterschiede zwischen den Populationen „Bampfen“ und „Rotach“, „Bampfen“ und „Untere Argen“, „Bühler“ und „Fichtenberger Rot“, sowie „Erlenbach“ und „Metter“ (Tab. S3). Durch die Ergebnisse der CVA wurde eine Aufteilung der Populationen in drei morphometrische Gruppen festgestellt (Abb. 3 (B)): Die erste Gruppe bildete sich aus Fischen aus

dem Bodenseeeinzugsgebiet. Die beiden anderen Gruppen wurden von Fischen aus dem Neckareinzugsgebiet besetzt, wobei sich die Populationen linksseitig (Erlenbach, Metter) und rechtsseitig (Bühler, Fichtenberger Rot) vom Neckar gegeneinander abgrenzten. Dabei waren die ersten beiden kanonischen Variablen für 55 % der Varianz der Daten verantwortlich. Die Jackknife-Kreuzvalidierung ergab eine korrekte Klassifizierung der Individuen von 78,3 %. Die multiple Regression ergab bei mindestens einer Population einen statistisch signifikanten allometrischen Effekt (Permutations-Test, $P < 0,0001$). Dabei lag der Einfluss der Größe auf die Variation der Form zwischen 1,4 und 30,6 %.

Tabelle 1

Übersicht zur genetischen Diversität des Strömers (*Telestes souffia*). N_A = Anzahl an Allelen, N_E = Anzahl an effektiven Allelen, A_R = Allelreichtum, H_O = beobachtete Heterozygotie, H_E = erwartete Heterozygotie, F_{IS} = Inzuchtkoeffizient, HWE = Abweichungen vom Hardy-Weinberg Equilibrium (P-Wert).

Population	N_A	N_E	A_R	H_O	H_E	F_{IS}	HWE
Argen (Arg)	6,875	3,159	4,373	0,615	0,667	0,096	0,0496
Bampfen (Bam)	6,250	2,845	4,016	0,603	0,609	0,029	0,0634
Bühler (Bue)	4,625	2,801	3,504	0,628	0,634	0,03	0,1066
Erlenbach (Erl)	4,250	3,004	3,604	0,510	0,631	0,212	<0,0001*
Fichtenberger Rot (Fic)	4,375	2,838	3,461	0,569	0,600	0,073	0,0828
Metter (Met)	4,000	2,302	3,136	0,524	0,533	0,037	0,1361
Nonnenbach (Non)	4,875	3,056	4,582	0,723	0,634	-0,062	0,76
Rotach (Rot)	5,125	3,258	3,946	0,642	0,651	0,034	0,0659

* = statistisch signifikante Unterschiede nach sequentieller Bonferroni-Korrektur ($\alpha = 0,05$).

Die darauf folgende MANCOVA ($F_{224, 930,8} = 1,875$, $P < 0,001$, Wilk's $\Lambda = 0,07789$) zeigte jedoch statistisch signifikante Unterschiede in den Steigungen zwischen den Populationen auf. Dadurch war es nicht möglich, die allometrischen Effekte weiter zu untersuchen und eine Größenkorrektur bei den Daten durchzuführen (VISCOSI & CARDINI 2011).

Eine Übersicht zu den wichtigsten genetischen Indizes für die einzelnen Strömerpopulationen findet sich in Tabelle 1. Lediglich bei der Population „Erlenbach“ wurde ein deutlich positiver Inzuchtkoeffizient ($F_{IS} = 0,212$), sowie eine statistisch signifikante Abweichung vom HWE ($P < 0,0001$), festgestellt. Es wurden keine Hinweise auf ein Kopplungsungleichgewicht gefunden (Daten nicht gezeigt). Innerhalb der

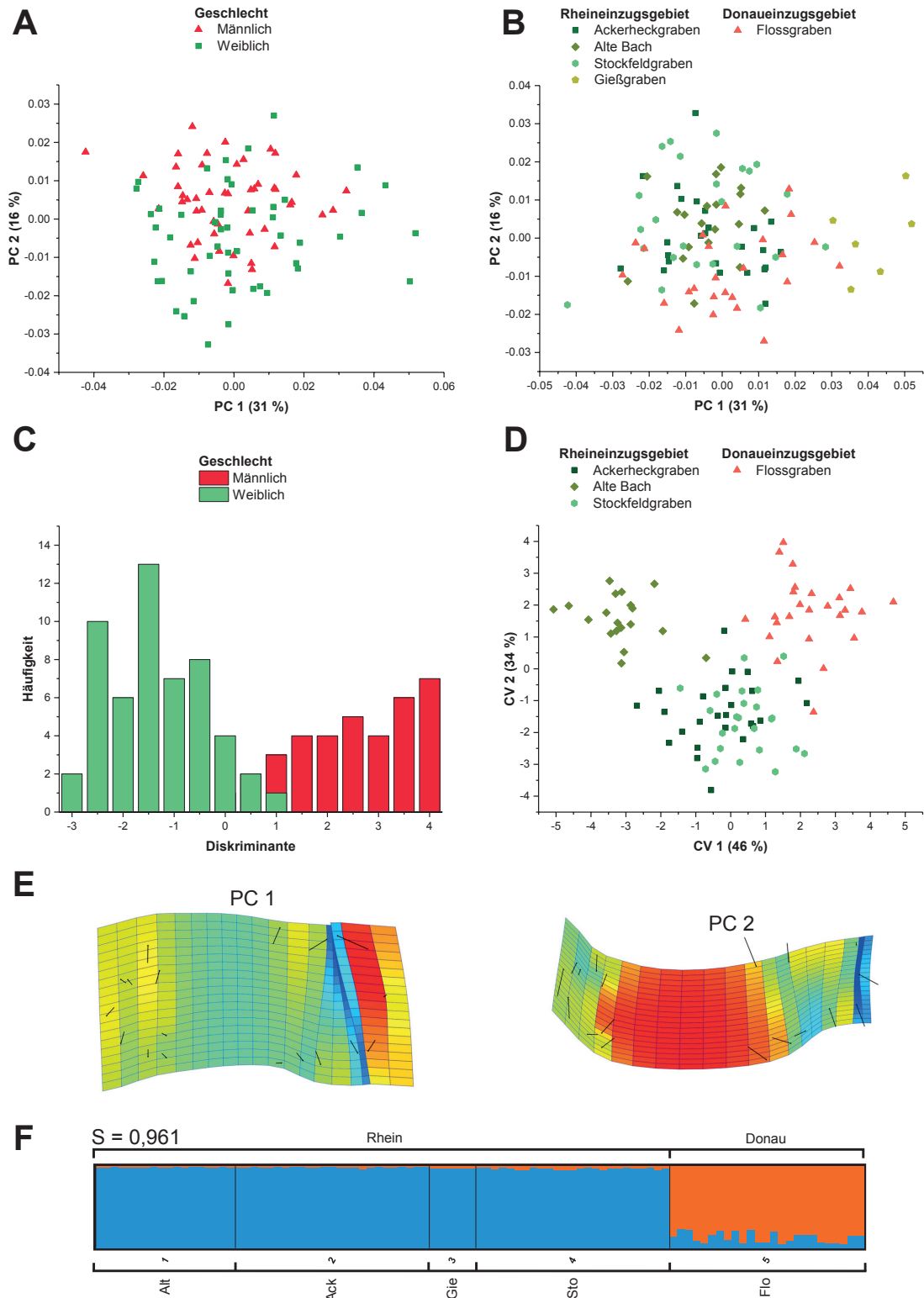
Populationen kam es nur bei vereinzelt Loci zu einer signifikanten Abweichung vom HWE (Tab. S4). Des Weiteren zeigte die Microchecker Analyse keine Auffälligkeiten in Bezug auf stuttering und large allele dropouts. Bei einzelnen Loci wurden Hinweise auf Nullallele festgestellt, es konnte aber kein eindeutiges Muster identifiziert werden (Tab. S5).

Der F_{ST} -Wert war für die meisten Populationsvergleiche statistisch signifikant unterschiedlich (Tab. S6). Lediglich die Populationen aus der „Argen“ und dem „Nonnenbach“, bzw. „Bampfen“ und „Nonnenbach“, wiesen keinen signifikanten Unterschied im Fixationsindex auf. Bei der Structure-Analyse mit anschließendem Evanno-Test wurde ein Maximum des ΔK -Werts bei zwei Clustern festgestellt ($\Delta K = 2289,54$;

Tabelle 2

Übersicht zur genetischen Diversität des Schlammpeitzgers (*Misgurnus fossilis*). N_A = Anzahl an Allelen, N_E = Anzahl an effektiven Allelen, A_R = Allelreichtum, H_O = beobachtete Heterozygotie, H_E = erwartete Heterozygotie, F_{IS} = Inzuchtkoeffizient, HWE = Abweichungen vom Hardy-Weinberg Equilibrium (P-Wert).

Population	N_A	N_E	A_R	H_O	H_E	F_{IS}	HWE
Alte Bach (Alt)	1,667	1,307	1,586	0,271	0,192	-0,388	0,984
Ackerheckgraben (Ack)	1,667	1,494	1,649	0,373	0,274	-0,343	0,999
Flossgraben (Flos)	2,000	1,627	1,948	0,501	0,367	-0,344	1,000
Gießgraben (Gie)	1,500	1,500	1,500	0,389	0,250	-0,489	0,992
Stockfeldgraben (Sto)	1,667	1,411	1,646	0,360	0,247	-0,440	1,000



Fischartenschutz

Abbildung 4

Übersicht zu den Ergebnissen der morphometrischen und genetischen Untersuchungen beim Schlammpeitzger (*Misgurnus fossilis*). (A) Ergebnisse der Hauptkomponentenanalyse (PCA), aufgeteilt nach Geschlecht. (B) Ergebnisse der PCA, aufgeteilt nach Population. Dargestellt sind die ersten beiden Hauptkomponenten (PC), welche den größten Einfluss auf die Varianz der Daten haben (siehe Achsenbeschriftung in Prozent). (C) Ergebnisse der Diskriminanzanalyse (CVA), aufgeteilt nach Geschlecht. Dargestellt ist ein Histogramm (16 bins), welches die Häufigkeiten der einzelnen Diskriminanten angibt. (D) Ergebnisse der Diskriminanzanalyse (CVA), aufgeteilt nach Geschlecht. Dargestellt sind die ersten beiden kanonischen Variablen (CV), welche den größten Einfluss auf die Varianz der Daten haben (siehe Achsenbeschriftung in Prozent). (E) Verformungsraaster, welches die Formänderung entlang der beiden ersten Hauptkomponenten der PCA aufzeigt (Änderung um einen Wert von 0,1 entlang der jeweiligen Achse). (F) Ergebnisse der Structure-Analyse. Dargestellt sind die Anzahl an Cluster mit dem höchsten ΔK ($K = 2$ für alle Populationen). $S =$ „Similarity Score“ aus dem Vergleich der drei Wiederholungen bei der Structure-Analyse.

LnProb = -4529,27), welche mit den beiden untersuchten Einzugsgebieten übereinstimmen (Abb. 3 (D)). Eine separate Wiederholung der Analyse für beide Einzugsgebiete ergab für das Neckareinzugsgebiet zwei genetische Cluster, welche durch die Gruppe „Erlenbach“ und „Metter“ und die Gruppe „Bühler“ und „Fichtenberger Rot“ gebildet wurden ($\Delta K = 2454,89$; LnProb = -2121,13; Abb. 3 (D)). Beim Bodenseeeinzugsgebiet unterschied sich lediglich die „Rotach“ von den restlichen Populationen ($\Delta K = 208,81$, LnProb = -2028,10). Damit können die Strömerpopulationen basierend auf der genetischen Analyse in zwei Gruppen mit jeweils zwei Untergruppen eingeteilt werden.

3.2. Schlammpeitzger (*Misgurnus fossilis*)

Das mittlere Frischgewicht und die mittlere Totallänge für jede Population kann der Tabelle S1 entnommen werden. Da es beim Schlammpeitzger einen ausgeprägten Ge-

schlechtsdimorphismus gibt, wurden die Fische aus allen Populationen über die Länge der Brustflosse in die beiden Geschlechter aufgeteilt. Die korrigierte Brustflossenlänge unterschied sich zwischen Männchen und Weibchen signifikant (t-Test, $P < 0,001$). Generell wurden deutliche Unterschiede in der Form der Fische festgestellt. Die Ergebnisse der PCA sind für die Geschlechter in Abb. 4 (A) und für die Populationen in Abb. 4 (B) dargestellt. Dabei waren die beiden ersten Hauptkomponenten für 47 % der Varianz der Daten verantwortlich. Veränderungen in der Form waren vor allem im Schwanzbereich (PC 1), sowie im Rumpf der Fische (PC 2), zu erkennen (Abb. 4 (E)).

Sowohl die Ergebnisse der MANOVA ($F_{32, 66} = 7,024$, $P < 0,001$, Wilk's $\Lambda = 0,227$), als auch die Diskriminanzanalyse (korrekte Klassifizierung der Individuen nach Jackknife-Kreuzvalidierung: 72,04 %) zeigten eine klare Abgrenzung in der Form zwischen den Geschlechtern (Abb. 4 (C)).

Beim Vergleich der einzelnen Populationen ergab die MANOVA ($F_{96, 174,5} = 4,863$, $P < 0,001$, Wilk's $\Lambda = 0,02032$) zwar

Tabelle 3

Übersicht zur genetischen Diversität des Bachneunauges (*Lampetra planeri*). N_A = Anzahl an Allelen, N_E = Anzahl an effektiven Allelen, A_R = Allelreichtum, H_O = beobachtete Heterozygotität, H_E = erwartete Heterozygotität, F_{IS} = Inzuchtkoeffizient, HWE = Abweichungen vom Hardy-Weinberg Equilibrium (P-Wert).

Population	N_A	N_E	A_R	H_O	H_E	F_{IS}	HWE
Aisbach (Ais)	2,2	1,683	2,006	0,550	0,352	-0,551	1,000
Alb (Alb)	2,5	1,944	2,373	0,604	0,464	-0,284	1,000
Brigach (Bri)	2,3	1,803	2,203	0,631	0,415	-0,505	1,000
Große Lauter (Gros)	2,1	1,757	2,067	0,462	0,345	-0,320	1,000
Hauensteiner Murg (Hau)	2,1	1,585	1,920	0,458	0,319	-0,417	1,000
Lauchert (Lau)	2,2	1,670	2,012	0,492	0,340	-0,432	1,000
Murr (Mur)	2,2	2,005	2,195	0,542	0,432	-0,237	1,000
Nagold (Nag)	2,6	1,988	2,507	0,556	0,459	-0,192	0,998
Radolfzeller Aach (Rad)	1,6	1,363	1,549	0,226	0,203	-0,087	0,787
Riedgraben (Rie)	2,7	2,071	2,609	0,565	0,455	-0,223	1,000
Schaich (Scha)	2,4	2,037	2,316	0,554	0,458	-0,192	0,999
Schmiech (Schm)	2,1	1,808	2,081	0,486	0,380	-0,262	1,000
Wiese (Wie)	1,7	1,559	1,678	0,412	0,294	-0,385	1,000
Wutach (Wut)	2,5	1,815	2,271	0,552	0,378	-0,444	1,000

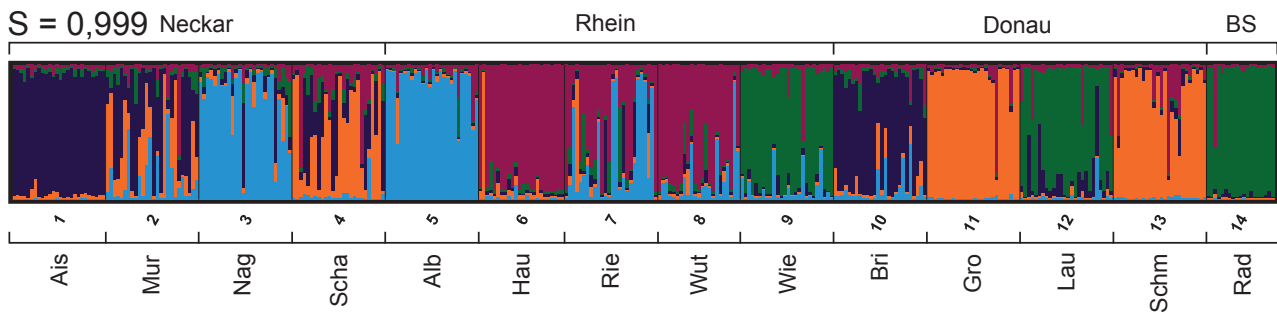


Abbildung 5

Ergebnisse der Structure-Analyse für das Bachneunauge (*Lampetra planeri*). Dargestellt ist die Anzahl an Cluster (K) mit dem höchsten ΔK -Wert (K = 5).

einen statistisch signifikanten Unterschied, jedoch wurde beim paarweisen Vergleich nach einer Bonferroni-Korrektur keine signifikanten Unterschiede mehr festgestellt (Tab. S7). Zudem musste die Population „Gießgraben“ aus der Analyse genommen werden, da die Stichprobengröße zu gering war und damit die Bedingungen für den Test nicht erfüllt wurden. Die Ergebnisse der CVA ergab eine Aufteilung der Populationen in drei morphometrische Gruppen (Abb. 3 (D)): Die erste Gruppe bildeten „Ackerheckgraben“ und „Stockfeldgraben“ aus dem Rheineinzugsgebiet. Davon grenzten sich sowohl die Fische aus dem „Alte Bach“ (Rheineinzugsgebiet) und dem „Flossgraben“ (Donaeinzugsgebiet) deutlich ab. Die ersten beiden kanonischen Variablen sind für 80 % der Varianz der Daten verantwortlich. Die Jackknife-Kreuzvalidierung ergab eine korrekte Klassifizierung der Individuen von 72,0 %.

Statistisch signifikante allometrische Effekte wurden bei einzelnen Schlammpeitzgerpopulationen nachgewiesen (multiple Regression mit Permutations-Test, $P < 0,0001$). Dabei lag der Einfluss der Größe auf die Variation der Form zwischen 8,4 und 24,2 %. Die darauf folgende MANCOVA ($F_{90, 171,5} = 1,809$, $P < 0,001$, Wilk's $\Lambda = 0,13564$) zeigte statistisch signifikante Unterschiede in den Steigungen zwischen den Populationen auf. Dadurch war es nicht möglich, die allometrischen Effekte weiter zu untersuchen und eine Größenkorrektur bei den Daten durchzuführen (VISCOSI & CARDINI 2011).

Eine Übersicht zu den wichtigsten genetischen Indizes für die einzelnen Schlammpeitzgerpopulationen findet sich in Tabelle 2. Generell wurden keine Auffälligkeiten in der genetischen Diversität bei den einzelnen Populationen festgestellt. Es wurden auch keine Loci im Kopplungsungleichgewicht gefunden (Daten nicht gezeigt). Abweichungen vom HWE fanden sich nur bei einem Mikrosatelliten-Marker (Cob130; Tab. S8). Die MicroChecker-Analyse lieferte keine Hinweise auf Nullallele, stuttering und large allele dropouts (Tab. S9).

Der F_{ST} -Wert war für die meisten Populationsvergleiche statistisch signifikant (Tab. S10). Keine signifikanten Unterschiede wurden zwischen den Populationen „Alte Bach“ und „Stockfeldgraben“, sowie zwischen „Ackerheckgraben“ und „Stockfeldgraben“, festgestellt. Zudem war die genetische Distanz zwischen „Gießgraben“ und „Ackerheckgraben“ statistisch nicht signifikant.

Bei der Structure-Analyse mit anschließendem Evanno-Test wurde ein Maximum des ΔK -Werts bei zwei Clustern festge-

stellt ($\Delta K = 27,00$, $\text{LnProb} = -517,50$), welche die Populationen aus den beiden Einzugsgebieten voneinander abgrenzen (Abb. 4 (F)). Jedoch mussten bei der Analyse die zusätzlichen Informationen zu den Populationen (i.e. Zuordnung zum Probenahmeort) miteinbezogen werden. Damit können die Schlammpeitzgerpopulationen basierend auf der genetischen Analyse in zwei Gruppen eingeteilt werden.

3.3. Bachneunauge (*Lampetra planeri*)

Das mittlere Frischgewicht und die mittlere Totallänge der Populationen können der Tabelle S1 entnommen werden. Eine Übersicht zu den wichtigsten genetischen Indizes für die einzelnen Bachneunaugenpopulationen findet sich in Tabelle 3. Generell wurden keine Auffälligkeiten in der genetischen Diversität bei den einzelnen Populationen festgestellt. Es wurden keine Hinweise auf ein Kopplungsungleichgewicht gefunden (Daten nicht gezeigt). Es wurden jedoch bei mehreren Populationen bzw. Loci Abweichungen vom HWE festgestellt (Tab. S11). Vor allem die Loci Lp030, Lp003 und Lp043 waren davon betroffen. Des Weiteren lieferte das Programm MicroChecker Hinweise auf Nullallele und stuttering bei den Populationen „Murr“ und „Alb“ für die Loci Lp045 und Lp018 (Tab. S12).

Der F_{ST} -Wert war für die meisten Populationsvergleiche statistisch signifikant (Tab. S13). Es wurden lediglich zwischen den Populationen „Große Lauter“ und „Schmiech“ keine signifikanten Unterschiede festgestellt. Bei der Structure-Analyse mit anschließendem Evanno-Test wurde ein Maximum des ΔK -Werts bei fünf Clustern festgestellt ($\Delta K = 298,57$, $\text{LnProb} = -4878,23$; Abb. 5). Die identifizierten Genotypen konnten jedoch nicht einzelnen Einzugsgebieten oder Populationen zugeordnet werden (Abb. 5). Einzelne Populationen, wie z.B. aus dem „Riedgraben“, „Schaich“ und „Murr“ wiesen eine Mischung verschiedener Cluster auf.

4. Diskussion

Für einen großflächigen und angewandten Artenschutz sind robuste wissenschaftliche Methoden nötig, welche die Analyse einer repräsentativen Anzahl an Individuen ermögli-

chen. Mit dem Fortschritt in der Anwendung von molekularen Markern bei der genetischen Analyse von Populationen ist dies nun auch im Artenschutz finanziell und logistisch darstellbar. Das hierdurch generierte Wissen ist für den Schutz von Fisch-, Neunaugen- und Krebsarten essentiell, da nur mit einer ausreichend guten Datenlage wirkungsvolle Schutzkonzepte oder Bewirtschaftungseinheiten im Sinne der guten fachlichen Praxis aufgestellt werden können (BAER et al. 2007).

Die aktuelle Studie nutzte entsprechend neben etablierten morphometrischen Analysen auch Mikrosatelliten als genetische Marker. Der Vorteil dieser Methode liegt an der breiten Anwendbarkeit für praktisch jede Tierart unabhängig von der taxonomischen Stellung, sowie ihrer hohen Reproduzierbarkeit zwischen einzelnen Studien (SELKOE & TOONEN 2006; GUICHOUX et al. 2011). Für die meisten heimischen Arten sind zudem bereits passende Marker in der Literatur vorhanden, was eine kostenintensive Neuentwicklung obsolet macht. Des Weiteren kann durch Verbesserungen in der PCR-Technologie heute eine große Anzahl an Proben in kurzer Zeit analysiert werden (GUICHOUX et al. 2011). Schlussendlich weisen Mikrosatelliten eine hohe Variabilität auf und bieten damit die Möglichkeit, Populationen in großen als auch kleineren geographischen Räumen miteinander zu vergleichen (WAN et al. 2004).

Zusätzlich zu den oben genannten genetischen Markern gibt es heute eine Vielzahl von weiteren Ansätzen zur Untersuchung der genetischen Diversität. Vor allem die Entwicklung von neuen Sequenziermethoden („Next Generation Sequencing“) ermöglicht die Analyse von ganzen Genomen innerhalb kurzer Zeit (SCHUSTER 2008). Dadurch ist es möglich, die Anzahl an untersuchten Loci drastisch zu erhöhen. Heute werden vor allem SNPs („Single Nucleotide Polymorphism“) bei genetischen Untersuchungen verwendet (MORIN et al.

2004). Der Vorteil bei diesem Ansatz liegt vor allem darin, dass die große Anzahl an Markern mehr Informationen über Abstammung, Verwandtschaftsgrad oder Populationsgröße liefern können (MORIN et al. 2004). Auch kann bei einer ausreichend hohen Zahl an untersuchten SNPs der Probenumfang gering gehalten werden (WILLING et al. 2012). Diese neuen Methoden führen jedoch gerade bei großflächigen Untersuchungen je nach Studiendesign, Anzahl an Proben und zu untersuchenden Art zu relevanten Mehrkosten und -aufwand (PUCKETT 2017). Dadurch kann wiederum die Auswahl an Probestellen und Stichprobenumfang beeinflusst werden. Zudem erfordert die Auswertung der Daten Expertenwissen und Erfahrung und die Ergebnisse sind nicht immer für fachfremde Personen und Institutionen nachvollziehbar.

Letztendlich sollte sich bereits bei der Planung einer Studie die Frage gestellt werden, welche Ziele die genetischen Untersuchungen erfüllen sollen. Beim angewandten Artenschutz müssen die gewonnenen Ergebnisse in praxisorientierte Bewirtschaftungsmaßnahmen umgesetzt werden. Mehr Marker bedeuten generell auch eine höhere Populationsdifferenzierung, was im Extremfall dazu führt, dass sich jede Population voneinander unterscheidet (COATES et al. 2018). Dieser Umstand wirft auch noch eine weitere Frage auf: Wie stark sollten fragmentierte Arten voneinander getrennt geschützt werden? Werden die Bewirtschaftungseinheiten zu klein gewählt, so sind kleine und isolierte Populationen durch Inzucht und niedriger genetischer Diversität besonders vom Aussterben bedroht (RALLS et al. 2018). In einem solchen Fall müsste der Genfluss zwischen einzelnen Populationen erhöht werden („genetic rescue“) um die Biodiversität zu erhalten und zu stärken (WEEKS et al. 2016). Aus diesem Grund sollte wenn möglich ein Mittelweg gefunden werden, welcher sowohl den Schutz von genetisch ein-

zigartigen Populationen erlaubt, aber auch eine hohe genetische Diversität innerhalb einer Art erhält (COLEMAN et al. 2013). Dies verlangt jedoch meist Einzelfallbetrachtungen und Abwägungen, die weit über die genetische ‚Trennfähigkeit‘ der verwendeten Methoden hinausgeht und insbesondere ein effektives Studiendesign (räumlich und zeitlich) verlangen.

Für die Evaluierung der vorliegenden Ergebnisse wurden einfache Kriterien festgelegt, auf deren Basis konkrete Empfehlungen zur Bewirtschaftung vorgeschlagen oder Empfehlungen für das weitere Vorgehen gegeben werden können. Sie basieren auf den in der Literatur vorhandenen Konzepten zur Einteilung von Populationen in bestimmte Einheiten. Können genetische Unterschiede zwischen einzelnen Populationen gefunden und in Gruppen aufgeteilt werden, so werden diese Gruppen als unabhängige Bewirtschaftungseinheiten definiert (PALSBOLL et al. 2007). Ausschlaggebend dafür waren vor allem die gene-

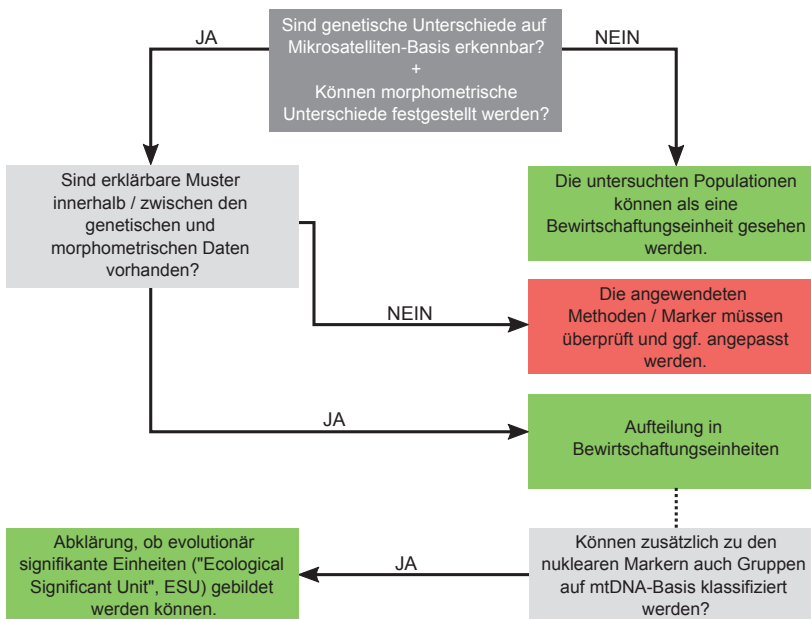


Abbildung 6 Entscheidungsdiagramm zu den festgelegten Kriterien, auf Basis derer die Ergebnisse für die drei Fallbeispiele evaluiert wurden.

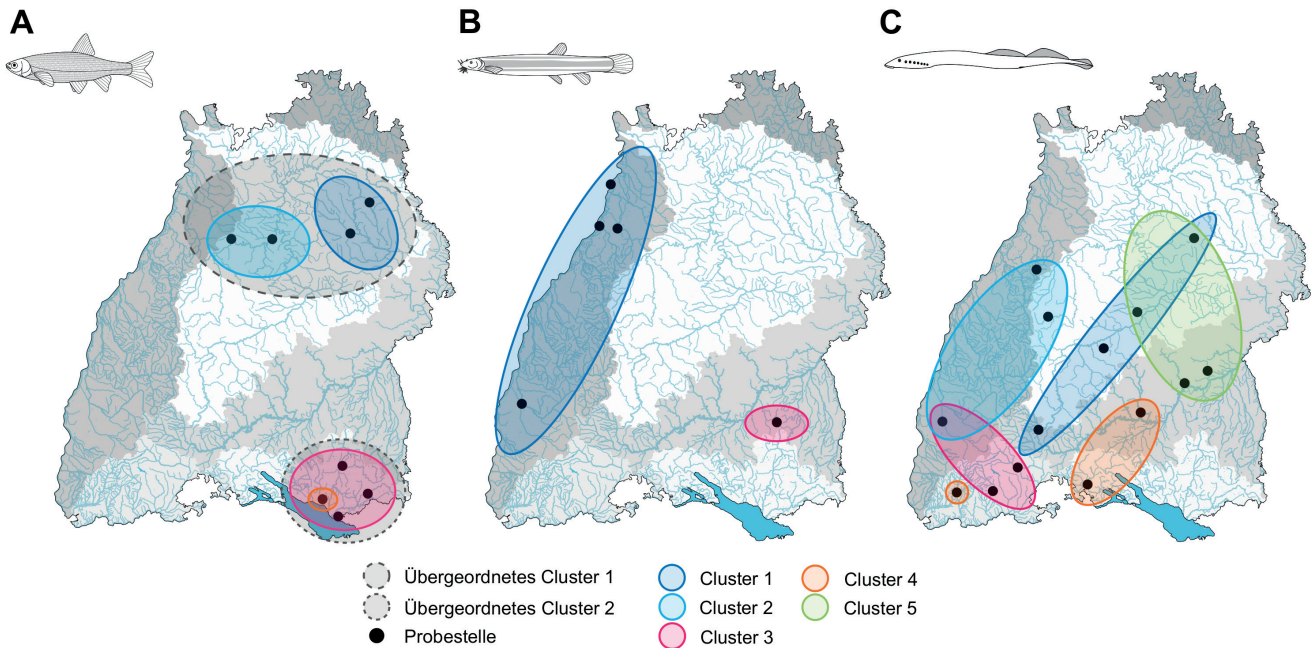


Abbildung 7

Übersicht zur Aufspaltung der untersuchten Arten in unterschiedliche genetische Cluster (K), basierend auf den Ergebnissen des Fixationsindex (F_{ST}) und der Structure-Analyse. (A) Strömer (K = 2). (B) Schlammpeitzger (K = 2). (C) Bachneunauge (K = 5).

tische Differenzierung (F_{ST} -Wert) und die Zuordnung von Individuen in einzelne Cluster durch die Structure-Analyse. Eine Übersicht zu den festgelegten Kriterien findet sich in Abb. 6. Neben der genetischen Differenzierung ist aber in der fachlichen Praxis auch heute noch die Untersuchung der phänotypischen Ausprägungen ein essentielles Mittel. Die durch morphometrische Untersuchungen festgestellten Merkmale können ohne spezielles Wissen zum genetischen Hintergrund direkt von Bewirtschaftern vor Ort genutzt werden und sollten aus diesem Grund immer begleitend durchgeführt werden. Die Bildung von evolutionär signifikanten Einheiten („Evolutionary Significant Unit“, ESU), welche den Fokus stärker auf historische Populationsstrukturen werfen, war mit den vorhandenen Daten nicht möglich (MORITZ 1994; CASACCI et al. 2014). Hier müssten zusätzliche Marker, wie zum Beispiel Fragmente von mitochondrialer DNA (mtDNA), untersucht und berücksichtigt werden (FRASER & BERNATCHEZ 2001).

4.1. Fallbeispiel 1: Strömer

Die Bestandssituation des Strömers muss in Baden-Württemberg insgesamt als kritisch eingestuft werden (BAER et al. 2014). Er ist nur noch inselartig im Neckar- und Bodenseeeinzugsgebiet zu finden, bildet dort derzeit allerdings noch in manchen Flüssen relativ stabile Bestände aus. Die Art ist vor allem durch den Einfluss des Menschen und die Folgen des Klimawandels gefährdet (BUISSON et al. 2013). Eine morphometrische und genetische Untersuchung der verbliebenen Populationen ist daher für den zukünftigen Schutz des Strömers von essentieller Bedeutung.

Sowohl die morphometrischen als auch die genetischen Untersuchungen zeigten klare Unterschiede zwischen den verschiedenen Strömerpopulationen auf. Dabei war eine deutliche Trennung zwischen den beiden Einzugsgebieten zu erkennen. Bei einzelner Betrachtung der Einzugsgebiete konnte zudem eine genetische Aufspaltung der Neckarpopulationen in zwei Gruppen aufgezeigt werden. Dies bestätigte sich auch in den morphometrischen Daten. Interessanterweise bildeten im Bodenseeeinzugsgebiet die Individuen aus der „Rotach“ trotz geographisch geringer Distanzen zu den anderen Populationen einen eigenen Genotyp. Hier müssen weitere Analysen durchgeführt sowie Faktoren wie z. B. die Fragmentierung des Gewässers (BRINKER et al. 2018; COLEMAN et al. 2018) untersucht werden, um Hintergründe für die vorgefundene genetische Isolierung zu finden.

Basierend auf den vorliegenden Ergebnissen können die in Baden-Württemberg vorkommenden Strömerpopulationen in drei Bewirtschaftungseinheiten aufgeteilt werden (Abb. 7). Die Unterschiede können dabei nicht nur auf genetischer, sondern auch auf morphometrischer Ebene festgestellt werden, was gegen eine phänotypische Plastizität aufgrund von Umwelteinflüssen spricht (SALDUCCI 2004). Mit Hilfe der Daten können nun die Gewässerbewirtschafteter informiert werden, dass ein Transfer von Strömern zur Wiederbesiedlung möglichst nur mit Fischen aus der gleichen Bewirtschaftungseinheit erfolgen sollte. Ist dies nicht möglich, muss ein Transfer innerhalb eines Gewässersystems genau durchdacht werden: Die dargestellten Fakten verbieten beispielsweise einen Transfer von links- zu rechtsseitigen Neckarzuflüssen, auch der Besatz von einem Bodenseezufluss in einen anderen darf nur unter Einbeziehung von Experten

erfolgen. Andernfalls könnten gut gemeinte Wiederbesiedlungsmaßnahmen zu einer Hybridisierung von ehemals getrennten Populationen und damit zum Verlust genetischer Informationen führen, welches schlussendlich eine Reduktion der Resilienz der Art bedeuten würde (MUHLFELD et al. 2009). Dies ist vor allem in Zeiten der voranschreitenden Klimakrise relevant, da es immer häufiger zur Austrocknung ganzer Gewässerabschnitte und damit zum Ausfall kompletter Bestände kommt (PALMER et al. 2008; LEIGH & DATRY 2017). Grundsätzlich zeigen die Ergebnisse, dass das „erzwungene“ inselartige Vorkommen des Strömers in Baden-Württemberg zur Bildung schützenswerter Populationen geführt hat, welche sich im Laufe der Zeit sowohl phänotypisch, als auch genetisch isoliert voneinander weiterentwickelt haben. Dieses Phänomen kann bei Fischen weltweit beobachtet werden. Dabei spielen häufig eine Reihe von Faktoren eine Rolle, unter anderem: Isolierung durch Distanz, Isolierung durch Barrieren und Isolierung durch die Umwelt (JARDIM DE QUEIROZ et al. 2017). In einem nächsten Schritt soll nun die Differenzierung der Strömerbestände auf Ebene der mitochondrialen DNA (mtDNA) untersucht werden. Sollte sich dabei das dargestellte Bild weiter manifestieren, so müssen die einzelnen Gruppen als ESU klassifiziert werden (MORITZ 1994).

4.2. Fallbeispiel 2: Schlammpeitzger

Aufgrund seiner verborgenen Lebensweise ist über die historische Verbreitung des Schlammpeitzgers in Baden-Württemberg nur wenig bekannt (DUSSLING et al. 2018). Lediglich im Einzugsgebiet des Oberrheins ist er heute noch regelmäßig zu finden. Im Donaeinzugsgebiet hingegen findet man nur noch Restbestände. Andere, früher bekannte Populationen gelten als erloschen. Daher ist die Art als „vom Aussterben bedroht“ klassifiziert (BAER et al. 2014). Ursache dafür ist vor allem die Trockenlegung von Feuchtgebieten und die Veränderungen von Flussverläufen (HARTVICH et al. 2010; DUSSLING et al. 2018).

Die vorliegende Untersuchung konnte einen ausgeprägten Geschlechtsdimorphismus beim Schlammpeitzger bestätigen: Sowohl in der Länge der Brustflosse, als auch in der allgemeinen Körperform unterschieden sich die männlichen und weiblichen Individuen deutlich. Ähnliche Beobachtungen wurden auch in polnischen Schlammpeitzgerbeständen gemacht (KOTUSZ 1995). Auch zwischen den Populationen wurden Unterschiede in der Form festgestellt. Interessanterweise spielte die geographische Distanz zueinander dabei keine zentrale Rolle. Es gab klare Unterschiede innerhalb der verschiedenen Rheinpopulationen, wobei sich nah beieinander liegende Populationen (z.B. „Ackerheckgraben“ und „Alte Bach“, geographische Distanz: 10,0 km) deutlicher unterschieden als weiter entfernte (z.B. „Ackerheckgraben“ und „Stockfeldgraben“, geographische Distanz: 106,9 km). Es ist daher anzunehmen, dass insbesondere bestimmte Umwelteinflüsse, wie z.B. Wasserströmung oder gelöster Sauerstoff, Auswirkungen auf den Phänotyp haben (KOEHL 1996; LANGERHANS et al. 2007) und weniger der Genotyp.

Im Gegensatz zur Morphometrie waren die genetischen Unterschiede zwischen den Populationen des Schlammpeitzgers nur schwach ausgeprägt. Signifikante Unterschiede zwischen dem Rhein- und Donaeinzugsgebiet fanden sich zwar bei den F_{ST} -Werten, die Structure-Analyse zeigte jedoch nur eine Aufspaltung in zwei Genotypen unter Berücksichtigung der Probestelleninformation. Eine europaweite Studie fand zudem eine geringe mitochondriale Divergenz und interpretierte dies als Konsequenz einer raschen Ausbreitung des Schlammpeitzgers in Europa (BOHLEN et al. 2007). Bisher fehlen jedoch vergleichbare Studien für diese Art, welche die genetische Diversität in ähnlichem Rahmen zu der vorliegenden Studie untersucht haben. Ein weiterer Grund für die schwache Differenzierung könnte auch die genetische Analyse selbst sein: Aufgrund von Schwierigkeiten bei der Etablierung der Mikrosatelliten-Marker konnten nur sechs statt der ursprünglich geplanten 11 Marker verwendet werden. Der wesentliche Grund hierfür ist, dass die verwendeten Marker ursprünglich für die nah verwandten Arten *Cobitis biwae* und *Misgurnus anguillicaudatus* entwickelt wurden (MORISHIMA et al. 2001; JABLONSKA et al. 2016). Es besteht daher die Möglichkeit, dass wichtige genetische Unterschiede nicht erfasst wurden. Auch bei der Analyse der Mikrosatelliten selbst kann es immer wieder zu Problemen kommen. Fehler bei der PCR, z.B. aufgrund von Punktmutationen, können zu Nullallelen führen (WAN et al. 2004). Dies führt wiederum zu einer künstlichen Überschätzung von Homozygoten und kann zusammen mit anderen Problemen (stuttering, large-allele dropout) zu einer Fehlinterpretation der Daten führen (DEWOODY et al. 2006).

Basierend auf den verfügbaren Ergebnissen sollten zunächst die Populationen in zwei Bewirtschaftungseinheiten aufgeteilt werden (Abb. 7). Diese Aufteilung ist vor allem für zukünftige Besatz- oder Umsetzmaßnahmen relevant. Aufgrund der prekären Bestandssituation in Baden-Württemberg wird jedoch unabhängig davon empfohlen, dass sämtliche Einzelpopulationen unter strikten Schutz gestellt werden. Gerade im Donaugebiet ist zu befürchten, dass das Verschwinden der heute noch vorhandenen Populationen zum Verlust einer wertvollen genetischen Ressource beim Schlammpeitzger führt. Die Einbeziehung von weiteren Mikrosatelliten sowie die Untersuchung der mtDNA könnten das Verständnis der genetischen Diversität des Schlammpeitzgers in Baden-Württemberg weiter verbessern und möglicherweise effektive Schutzmaßnahmen der verbliebenen Bestände ermöglichen. Grundsätzlich besteht die Gefahr, dass es bei solch kleinen und isolierten Populationen zu einem erhöhten Risiko des Aussterbens, z.B. aufgrund von Inzucht, kommt (COLEMAN et al. 2018). Des Weiteren zeigt das vorliegende Fallbeispiel, dass Unterschiede im Phänotyp nicht gleichzusetzen sind mit einer unterschiedlichen Genetik. Die im vorliegenden Projekt aufgezeigten Unterschiede in der Körperform der Schlammpeitzger beruhen wahrscheinlich in erster Linie auf Anpassungen an den Lebensraum, die sich noch nicht genetisch manifestiert haben (KOEHL 1996; LANGERHANS et al. 2007). Eine morphometrische Beschreibung alleine reicht deshalb nicht aus, um

sichere Bewirtschaftungseinheiten festzulegen und großflächige, über Gewässereinzugsgebiete hinausgehende, Bewirtschaftungskonzepte aufzustellen.

4.3. Fallbeispiel 3: Bachneunauge

Das Bachneunauge ist in Baden-Württemberg weit verbreitet: Es kommt landesweit sowohl in Bächen als auch in Flüssen vor und ist sogar teilweise in Stillgewässern zu finden (DUSSLING et al. 2018). Wichtig für ihr Vorkommen sind eine gute Wasserqualität sowie das Vorhandensein von Feinsediment und Kiessubstrat für die Fortpflanzung und Entwicklung (WATERSTRAAT & KRAPPE 1998). Trotz der großen Verbreitung ist das Bachneunauge vor allem durch anthropogene Einflüsse bedroht (KAPPUS et al. 1995). Für den angewandten Artenschutz wäre es essentiell, die vorhandenen Bestände in Bewirtschaftungseinheiten aufzuteilen.

Die genetische Analyse der heimischen Bachneunaugepopulationen zeigte keine klaren Ergebnisse (Abb. 7). Grundsätzlich gab es zwischen allen untersuchten Populationen starke genetische Unterschiede. Diese Unterschiede waren zwar bei Populationen, die sich in geographischer Nähe befanden, weniger ausgeprägt, allerdings konnte keine klare Eingruppierung z. B. in Einzugsgebiete festgestellt werden. Es wiesen beispielsweise Tiere aus der „Wiese“ (Rheineinzugsgebiet), „Radolfzeller Aach“ (Bodenseeeinzugsgebiet) und „Lauchert“ (Donaeineinzugsgebiet) untereinander geringere genetische Unterschiede auf als zu den geographisch näher liegenden, benachbarten Populationen aus demselben Einzugsgebiet. Die systematische Abweichung vom HWE bei einzelnen Loci könnte auf Genotypisierungsfehler hindeuten, welche die weiteren Analysen beeinflussen (MORIN et al. 2009). Dies kann jedoch nur über zusätzliche Untersuchungen abschließend geklärt werden. Ein Ausschluss der betroffenen Loci hatte jedoch keine Auswirkungen auf die Ergebnisse der genetischen Diversität (Daten nicht gezeigt).

Basierend auf den vorliegenden Ergebnissen können derzeit die untersuchten Populationen nicht in einzelne Bewirtschaftungseinheiten aufgeteilt werden. Damit sind derzeit auch keine Empfehlungen zu konkreten Management- und Schutzmaßnahmen möglich. Hierfür sind die derzeit vorhandenen Daten nicht ausreichend und ggf. ist die Nutzung weiterer genetischer Marker erforderlich. Sollten sich die vorliegenden Ergebnisse bestätigen, so muss überprüft werden, ob es zu einer genetischen Verarmung kommt (COLEMAN et al. 2018) oder ob die beobachtete neu entstandene biologische Diversität besonders zu schützen ist. Grundsätzlich zeigen die vorliegenden Daten, dass die genetische Diversität beim Bachneunauge eher groß ist. Eine Studie aus dem Vereinigten Königreich konnte eine klare Differenzierung zwischen den untersuchten Populationen mit Hilfe von Mikrosatelliten-Markern nachweisen (BRACKEN et al. 2015). In portugiesischen Flüssen zeigte sich eine Differenzierung auf mtDNA-Ebene zwischen sechs räumlich nahe liegenden Populationen (PEREIRA et al. 2010). Gründe dafür sind zum einen, dass Bachneunaugen im Gegensatz zu den anadromen Flussneunaugen (*Lampetra fluviatilis*) nicht ins Meer

abwandern, sondern in der Nähe ihrer Aufwuchshabitate verbleiben (HOLCIK 1986). Zusammen mit dem Ausbau von Gewässern und dem Fehlen von geeigneten Substraten kommt es so zu einer Isolation der Populationen und damit verbunden einem verringerten Genfluss (BRACKEN et al. 2015).

5. Schlussfolgerung

Die Nutzung von modernen molekulargenetischen Methoden ermöglicht es, den angewandten Artenschutz im Hinblick auf die genetische Diversität entscheidend voranzutreiben. Mikrosatelliten als Marker sind in der Fischereiforschung seit Jahrzehnten etabliert und bieten eine Reihe von verlässlichen Indizes zur Bestimmung der genetischen Diversität. Dazu begleitend eingesetzte morphometrische Untersuchungen vertiefen und ergänzen den Einblick in schützenswerte Eigenheiten der untersuchten Arten über die phänotypische Ausprägung. Die dargestellten Fallbeispiele zeigten eindrucksvoll, dass mit Hilfe der gewählten Methoden klare Bewirtschaftungseinheiten definiert und damit konkrete Empfehlungen für zukünftige Schutzmaßnahmen gegeben werden können. Die Ergebnisse zeigen aber auch, dass die gewählten Methoden in bestimmten Fällen nicht ausreichen. Aus diesem Grund sollten Vorstudien durchgeführt werden, in denen die ausgewählten Marker an einer kleinen Auswahl an Individuen und Populationen getestet werden. Es ist durchaus möglich mit Hilfe der vorliegenden Daten weitere vertiefende Informationen zur genetischen Diversität zu erhalten. Gerade bei stark fragmentiert vorkommenden Arten müssen weitere Untersuchungen durchgeführt werden, um den Istzustand abschließend einschätzen zu können und darauf aufbauend entsprechende Maßnahmen einzuleiten. Schlussendlich sollte mit Hilfe von mtDNA-Markern geklärt werden, ob bei den untersuchten Arten auch ESUs gebildet werden können. Damit wäre eine exzellente Grundlage für den angewandten Schutz der genetischen Diversität für die gefährdeten Arten gegeben.

6. Danksagung

Das Projekt wurde aus Mitteln der „Fischereiabgabe Baden-Württemberg“ sowie durch das „Sonderprogramm zur Stärkung der biologischen Vielfalt des Landes Baden-Württemberg“ finanziert. Einen besonderen Dank gilt Sarah Oexle für die sprachliche Korrektur sowie den beiden Gutachtern und dem Editor, deren Kommentare und Anmerkungen zur Verbesserung des Manuskripts wesentlich beigetragen haben.

Literaturverzeichnis

- Baer, J., George, V., Hanfland, S., Lemcke, R., Meyer, L., und Zahn, S. (2007): Gute fachliche Praxis fischereilicher Besatzmaßnahmen. Offenbach, Germany: Verband Deutscher Fischereiverwaltungsbeamter und Fischereiwissenschaftler e.V.
- Baer, J., Blank, S., Chucholl, C., Dußling, U., und Brinker, A. (2014): Die Rote Liste für Baden-Württembergs Fische, Neunaugen und Flusskrebse (S. 64). Stuttgart: Ministerium für Ländlichen Raum und Verbraucherschutz Baden-Württemberg.
- Bohlen, J., Šlechtová, V., Doadrio, I., und Ráb, P. (2007): Low mitochondrial divergence indicates a rapid expansion across Europe in the weather loach, *Misgurnus fossilis* (L.). *Journal of Fish Biology*, 71(sb), 186–194. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2007.01547.x>
- Bouzat, J. L. (2010): Conservation genetics of population bottlenecks: the role of chance, selection, and history. *Conservation Genetics*, 11(2), 463–478. <https://doi.org/10.1007/s10592-010-0049-0>
- Bracken, F. S. A., Hoelzel, A. R., Hume, J. B., und Lucas, M. C. (2015): Contrasting population genetic structure among freshwater-resident and anadromous lampreys: the role of demographic history, differential dispersal and anthropogenic barriers to movement. *Molecular Ecology*, 24(6), 1188–1204. <https://doi.org/10.1111/mec.13112>
- Brinker, A., Chucholl, C., Behrmann-Godel, J., Matzinger, M., Basen, T., und Baer, J. (2018): River damming drives population fragmentation and habitat loss of the threatened Danube streber (Zingel streber): Implications for conservation. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 28(3), 587–599. <https://doi.org/10.1002/aqc.2878>
- Buisson, L., Grenouillet, G., Villéger, S., Canal, J., und Lafaille, P. (2013): Toward a loss of functional diversity in stream fish assemblages under climate change. *Global Change Biology*, 19(2), 387–400. <https://doi.org/10.1111/gcb.12056>
- Cambay, J. A. (2003): Impact on indigenous species biodiversity caused by the globalisation of alien recreational freshwater fisheries. *Hydrobiologia*, 500, 217–230.
- Casacci, L. P., Barbero, F., und Balletto, E. (2014): The “Evolutionarily Significant Unit” concept and its applicability in biological conservation. *Italian Journal of Zoology*, 81(2), 182–193. <https://doi.org/10.1080/11250003.2013.870240>
- Chistiakov, D. A., Hellemans, B., und Volckaert, F. A. M. (2006): Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. *Aquaculture*, 255(1–4), 1–29. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.11.031>
- Coates, D. J., Byrne, M., und Moritz, C. (2018): Genetic Diversity and Conservation Units: Dealing With the Species-Population Continuum in the Age of Genomics. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 6, 165. <https://doi.org/10.3389/fevo.2018.00165>
- Coleman, R. A., Weeks, A. R., und Hoffmann, A. A. (2013): Balancing genetic uniqueness and genetic variation in determining conservation and translocation strategies: a comprehensive case study of threatened dwarf galaxias, *Galaxiella pusilla* (Mack) (Pisces: Galaxiidae). *Molecular Ecology*, 22, 1820–1835. <https://doi.org/10.1111/mec.12227>
- Coleman, R. A., Gauffre, B., Pavlova, A., Beheregaray, L. B., Kearns, J., Lyon, J., Sasaki, M., Leblois, R., Sgro, C., und Sunnucks, P. (2018): Artificial barriers prevent genetic recovery of small isolated populations of a low-mobility freshwater fish. *Heredity*, 120(6), 515–532. <https://doi.org/10.1038/s41437-017-0008-3>
- de Vaate, A. bij, Breukel, R., und van der Velde, G. (2006): Long-term Developments in Ecological Rehabilitation of the Main Distributaries in the Rhine Delta: Fish and Macroinvertebrates. *Hydrobiologia*, 565(1), 229–242. <https://doi.org/10.1007/s10750-005-1916-4>
- DeWoody, J., Nason, J. D., und Hipkins, V. D. (2006): Mitigating scoring errors in microsatellite data from wild populations. *Molecular Ecology Notes*, 6(4), 951–957. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01449.x>
- Dußling, U., Baer, J., Gaye-Siessegger, J., Blank, S., und Brinker, A. (2018): Das große Buch der Fische Baden-Württembergs (S. 372). Stuttgart: Ministerium für Ländlichen Raum und Verbraucherschutz Baden-Württemberg.
- Earl, D., und vonHoldt, B. (2012): STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 4(2), 359–361. <https://doi.org/10.1007/s12686-011-9548-7>
- Evanno, G., Regnaut, S., und Goudet, J. (2005): Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14(8), 2611–2620. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>
- Excoffier, L., und Lischer, H. E. L. (2010): Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3), 564–567. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>
- Fan, X., und Wang, L. (1996): Comparability of Jackknife and Bootstrap Results: An Investigation for a Case of Canonical Correlation Analysis. *The Journal of Experimental Education*, 64(2), 173–189. <https://doi.org/10.1080/00220973.1996.9943802>
- Fraser, D. J., und Bernatchez, L. (2001): Adaptive evolutionary conservation: towards a unified concept for defining conservation units. *Molecular Ecology*, 10, 2741–2752.
- Goudet, J. (2001): FSTAT, version 2.9. 3, A program to estimate and test gene diversities and fixation indices. Lausanne, Switzerland: Lausanne University.

- Gracey, E. O., und Verones, F. (2016): Impacts from hydro-power production on biodiversity in an LCA framework—review and recommendations. *The International Journal of Life Cycle Assessment*, 21(3), 412–428. <https://doi.org/10.1007/s11367-016-1039-3>
- Guichoux, E., Lagache, L., Wagner, S., Chaumeil, P., Léger, P., Lepais, O., Lepoittevin, C., Malausa, T., Revardel, E., Salin, F., und Petit, R. J. (2011): Current trends in microsatellite genotyping. *Molecular Ecology Resources*, 11(4), 591–611. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2011.03014.x>
- Hammer, O., Harper, D. A. T., und Ryan, P. D. (2001): PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4(1), 9.
- Hartvich, P., Lusk, S., und Rutkayová, J. (2010): Threatened fishes of the world: *Misgurnus fossilis* (Linnaeus, 1758) (*Cobitidae*). *Environmental Biology of Fishes*, 87(1), 39–40. <https://doi.org/10.1007/s10641-009-9564-6>
- Holcik, J. (Hrsg.) (1986): *The Freshwater Fishes of Europe*. Vol. 1, Pt. 1: Petromycontiformes. Wiesbaden.
- Holm, S. (1979): A Simple Sequentially Rejective Multiple Test Procedure. *Scandinavian Journal of Statistics*, 6(2), 65–70. Abgerufen von JSTOR.
- Jablonska, O., Marín, A., Kowalewska, K., Fujimoto, T., und Arai, K. (2016): Microsatellite loci in the tetraploid spined loach, *Cobitis biwae*, and cross-species amplification in four related species. *Genetics and Molecular Research*, 15(3). <https://doi.org/10.4238/gmr.15039027>
- Jardim de Queiroz, L., Torrente-Vilara, G., Quilodran, C., Rodrigues da Costa Doria, C., und Montoya-Burgos, J. I. (2017): Multifactorial genetic divergence processes drive the onset of speciation in an Amazonian fish. *PLoS ONE*, 12(12), e0189349. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189349>
- Kappus, B., Jansen, W., Fok, P., und Rahmann, H. (1995): Threatened lamprey (*Lampetra planeri*) populations of the Danube Basin within Baden-Württemberg, Germany by. *Miscellanea Zoologica Hungarica*, 10, 85–98.
- Keppel, G., Van Niel, K. P., Wardell-Johnson, G. W., Yates, C. J., Byrne, M., Mucina, L., Schut, A. G. T., Hopper, S. D., und Franklin, S. E. (2012): Refugia: identifying and understanding safe havens for biodiversity under climate change: Identifying and understanding refugia. *Global Ecology and Biogeography*, 21(4), 393–404. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2011.00686.x>
- Klingenberg, C. P., Barluenga, M., und Meyer, A. (2002): Shape Analysis of Symmetric Structures: Quantifying Variation Among Individuals and Asymmetry. *Evolution*, 56(10), 1909–1920. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2002.tb00117.x>
- Klingenberg, C. P. (2011): MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics: COMPUTER PROGRAM NOTE. *Molecular Ecology Resources*, 11(2), 353–357. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02924.x>
- Knaepkens, G., Knapen, D., Bervoets, L., Hänfling, B., Verheyen, E., und Eens, M. (2002): Genetic diversity and condition factor: a significant relationship in Flemish but not in German populations of the European bullhead (*Cottus gobio* L.). *Heredity*, 89(4), 280–287. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800133>
- Koehl, M. A. R. (1996): When Does Morphology Matter? *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27(1), 501–542. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.27.1.501>
- Kopelman, N. M., Mayzel, J., Jakobsson, M., Rosenberg, N. A., und Mayrose, I. (2015): A program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Molecular Ecology Resources*, 15(5), 1179–1191. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12387>
- Kotusz, J. (1995): Morphological characteristics of the mud loach *Misgurnus fossilis* (L.) (Pisces: *Cobitidae*) from the mid Odra and Vistula river basins. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 25(2), 3–14. <https://doi.org/10.3750/AIP1995.25.2.01>
- Langerhans, R. B., Chapman, L. J., und Dewitt, T. J. (2007): Complex phenotype-environment associations revealed in an East African cyprinid. *Journal of Evolutionary Biology*, 20(3), 1171–1181. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2007.01282.x>
- Leigh, C., und Datry, T. (2017): Drying as a primary hydrological determinant of biodiversity in river systems: a broad-scale analysis. *Ecography*, 40(4), 487–499. <https://doi.org/10.1111/ecog.02230>
- Lino Costa, J., Raposo de Almeida, P., und Costa, M. J. (2003): A morphometric and meristic investigation of Lusitanian toadfish *Halobatrachus didactylus* (Bloch and Schneider, 1801): evidence of population fragmentation on Portuguese coast. *Scientia Marina*, 67(2), 219–231. <https://doi.org/10.3989/scimar.2003.67n2219>
- Morin, P. A., Luikart, G., und Wayne, R. K. (2004): SNPs in ecology, evolution and conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, 19(4), 208–216.
- Morin, P. A., Leduc, R. G., Archer, F. I., Martien, K. K., Huebinger, R., Bickham, J. W., und Taylor, B. L. (2009): Significant deviations from Hardy-Weinberg equilibrium caused by low levels of microsatellite genotyping errors. *Molecular Ecology Resources*, 9(2), 498–504. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2008.02502.x>
- Morishima, K., Nakayama, I., und Arai, K. (2001): Microsatellite-centromere mapping in the loach, *Misgurnus anguillicaudatus*. *Genetica*, 111, 59–69.
- Moritz, C. (1994): Defining ‘Evolutionarily Significant Units’ for conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, 9(10), 373–375. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(94\)90057-4](https://doi.org/10.1016/0169-5347(94)90057-4)
- Muhlfeld, C. C., Kalinowski, S. T., McMahon, T. E., Taper, M. L., Painter, S., Leary, R. F., und Allendorf, F. W. (2009): Hybridization rapidly reduces fitness of a native trout in the wild. *Biology Letters*, 5(3), 328–331. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2009.0033>
- Nehring, S. (2005): International shipping - a risk for aquatic biodiversity in Germany. *NEOBIOTA*, (6), 125–143.

- Palmer, M. A., Reidy Liermann, C. A., Nilsson, C., Flörke, M., Alcamo, J., Lake, P. S., und Bond, N. (2008): Climate change and the world's river basins: anticipating management options. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 6(2), 81–89. <https://doi.org/10.1890/060148>
- Palsboll, P., Berube, M., und Allendorf, F. (2007): Identification of management units using population genetic data. *Trends in Ecology & Evolution*, 22(1), 11–16. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.09.003>
- Peakall, R., und Smouse, P. E. (2006): genalex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6(1), 288–295. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>
- Peakall, R., und Smouse, P. E. (2012): GenA1Ex 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research - an update. *Bioinformatics*, 28(19), 2537–2539. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>
- Pereira, A. M., Robalo, J. I., Freyhof, J., Maia, C., Fonseca, J. P., Valente, A., und Almada, V. C. (2010): Phylogeographical analysis reveals multiple conservation units in brook lampreys *Lampetra planeri* of Portuguese streams. *Journal of Fish Biology*, 77(2), 361–371. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2010.02675.x>
- Pritchard, J. K., Stephens, M., und Donnelly, P. (2000): Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945–959.
- Puckett, E. E. (2017): Variability in total project and per sample genotyping costs under varying study designs including with microsatellites or SNPs to answer conservation genetic questions. *Conservation Genetics Resources*, 9(2), 289–304. <https://doi.org/10.1007/s12686-016-0643-7>
- Ralls, K., Ballou, J. D., Dudash, M. R., Eldridge, M. D. B., Fenster, C. B., Lacy, R. C., Sunnucks, P., und Frankham, R. (2018): Call for a Paradigm Shift in the Genetic Management of Fragmented Populations: Genetic management. *Conservation Letters*, 11(2), e12412. <https://doi.org/10.1111/conl.12412>
- Raymond, M., und Rousset, F. (1995): GENEPOP (Version 1.2): Population Genetics Software for Exact Tests and Ecumenicism. *Journal of Heredity*, 86(3), 248–249. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a111573>
- Rousset, F. (2008): genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, 8(1), 103–106. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01931.x>
- Salducci, M. D. (2004): Deciphering the evolutionary biology of freshwater fish using multiple approaches – insights for the biological conservation of the Vairone. *Conservation Genetics*, 5, 63–77.
- Schuster, S. C. (2008): Next-generation sequencing transforms today's biology. *Nature Methods*, 5(1), 16–18. <https://doi.org/10.1038/nmeth1156>
- Selkoe, K. A., und Toonen, R. J. (2006): Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters*, 9(5), 615–629. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2006.00889.x>
- Sokal, R. R., und Rohlf, J. F. (2003): *Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*. New York, USA: W.H. Freeman and Company.
- Stegmann, M. B., und Gomez, D. D. (2002): *A Brief Introduction to Statistical Shape Analysis* (S. 15). Denmark: Technical University of Denmark.
- Turgeon, K., Turpin, C., und Gregory-Eaves, I. (2019): Dams have varying impacts on fish communities across latitudes: a quantitative synthesis. *Ecology Letters*, 22(9), 1501–1516. <https://doi.org/10.1111/ele.13283>
- Van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P. M., und Shipley, P. (2004): MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4(3), 535–538. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x>
- Viscosi, V., und Cardini, A. (2011): Leaf Morphology, Taxonomy and Geometric Morphometrics: A Simplified Protocol for Beginners. *PLoS ONE*, 6(10), e25630. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025630>
- Wan, Q.-H., Wu, H., Fujihara, T., und Fang, S.-G. (2004): Which genetic marker for which conservation genetics issue? *ELECTROPHORESIS*, 25(14), 2165–2176. <https://doi.org/10.1002/elps.200305922>
- Waterstraat, A., und Krappe, M. (1998): Distribution and abundance of *Lampetra planeri* populations in the Peene drainage (NE Germany) in relation to isolation and habitat conditions. *Italian Journal of Zoology*, 65(sup1), 137–143. <https://doi.org/10.1080/11250009809386805>
- Webster, M., und Sheets, H. D. (2010): A Practical Introduction to Landmark-Based Geometric Morphometrics. *The Paleontological Society Papers*, 16, 163–188. <https://doi.org/10.1017/S1089332600001868>
- Weeks, A. R., Stoklosa, J., und Hoffmann, A. A. (2016): Conservation of genetic uniqueness of populations may increase extinction likelihood of endangered species: the case of Australian mammals. *Frontiers in Zoology*, 13(1), 31. <https://doi.org/10.1186/s12983-016-0163-z>
- Weijters, M. J., Janse, J. H., Alkemade, R., und Verhoeven, J. T. A. (2009): Quantifying the effect of catchment land use and water nutrient concentrations on freshwater river and stream biodiversity. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 19(1), 104–112. <https://doi.org/10.1002/aqc.989>
- Willi, Y., Van Buskirk, J., und Hoffmann, A. A. (2006): Limits to the Adaptive Potential of Small Populations. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 37(1), 433–458. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.37.091305.110145>
- Willing, E.-M., Dreyer, C., und van Oosterhout, C. (2012): Estimates of Genetic Differentiation Measured by FST Do Not Necessarily Require Large Sample Sizes When Using Many SNP Markers. *PLoS ONE*, 7(8), e42649. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042649>