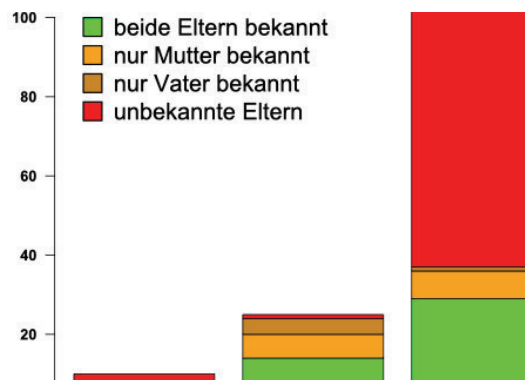


Genetische Elternschaftsanalysen zum Projekt „Burgwaldforelle“

Kurzbericht

Erstellt im Auftrag des Regierungspräsidium Gießen



Thomas Schmidt, Ralf Schulz

iES Landau, Institut für Umweltwissenschaften

Rheinland-Pfälzische Technische Universität Kaiserslautern-Landau

Fortstrasse 7, 76829 Landau



Landau, im Februar 2025

Zitiervorschlag:

Schmidt, T, Schulz, R (2024) Genetische Elternschaftsanalysen zum Projekt „Burgwaldforelle“. Kurzbericht an das Regierungspräsidium Gießen, iES Landau, Institut für Umweltwissenschaften, Rheinlandpfälzische Technische Universität Kaiserslautern-Landau, Landau, Deutschland

Planung: Thomas Schmidt

Bearbeitung: Thomas Schmidt, Britta Wahl-Ermel, Christian Löb, Ralf Schulz

Bericht: Thomas Schmidt, Ralf Schulz

Die Autoren bedanken sich bei dem Regierungspräsidium Gießen für die finanzielle Förderung des Projektes.

Landau, Februar 2025

Inhalt

Inhalt	i
Abbildungsverzeichnis	ii
Tabellenverzeichnis	ii
1. Gegenstand der Untersuchungen	3
2. Material und Methoden	3
2.1 Untersuchungsmaterial	3
2.2 Laborgenetische Analysen	4
2.3 Datenanalysen	4
3. Ergebnisse und Diskussion	5
3.1 Vollständigkeit Elterntiere Positivkontrolle	5
3.2 Abschätzung Richtigkeit der Elternzuordnungen	5
3.3 Negativkontrolle	6
3.4 Positivkontrolle	6
3.5 Wildfänge	6
4. Empfehlungen	9
Referenzen	10
Anhang	I

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Zuordnungen aus den Elternschaftsanalysen 7

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zuordnungen aus den Elternschaftsanalysen der Wildfänge 8

Anhang

Tabelle A1: Zuordnungsergebnisse der Elternschaftsanalysen je Probe I

1. Gegenstand der Untersuchungen

Im Projekt „Burgwaldforelle“ des Regierungspräsidiums (RP) Gießen wurden im Jahr 2024 in acht Abschnitten in sieben Projektgewässern erstmals Besatzmaßnahmen mit Nachzuchten von Bachforellen aus dem Roten Wasser des Fisch- und Forschungszentrums „Fischzucht Wetterfeld“ durchgeführt. Im weiteren Projektverlauf soll die Entwicklung der Besatzforellen dokumentiert und damit letztlich auch der Erfolg der Fördermaßnahmen beurteilt werden. Da es in allen Projektgewässern bereits vor den Besatzmaßnahmen zur Förderung der „Burgwaldforellen“ aus dem Roten Wasser Bachforellenbestände gab, bedarf es genetischer Elternschaftsanalysen, um die Herkunft (Nachzucht oder nicht) von Wildfängen während des fortlaufenden Monitorings in den Projektgewässern festzustellen. Anhand des äußeren Erscheinungsbildes der Jungfische ist diese Unterscheidung nicht verlässlich möglich.

Im Herbst 2024 wurden bei Kontrollbefischungen in den Projektgewässern erste Bachforellen der Altersklasse 0+ beprobt. Gegenstand der Untersuchungen ist die spezifische Erprobung eines Sets von 22 Mikrosatelliten zur genetischen Elternschaftsanalyse. Die Elternschaftsanalyse soll zeigen, welche dieser Wildfänge von Elterntieren aus der Fischzucht Wetterfeld stammen, um kommende Besatzmaßnahmen und deren künftiges Monitoring weiter zu optimieren.

2. Material und Methoden

2.1 Untersuchungsmaterial

Zur genetischen Elternschaftsanalyse mussten zunächst die Elterntiere des Zuchtprogramms genotypisiert werden („genetischer Fingerabdruck“). Probenmaterial von 47 Elterntieren, die in der Erbrütungssaison 2023/2024 verwendet wurden, lag bereits aus den populationsgenetischen Begleituntersuchungen zum Projekt „Burgwaldforelle“ vor (Schmidt und Schulz, 2024). Es handelte sich dabei um 35 Tiere des Zuchtstammes der Fischzucht Wetterfeld (18 Rogner, 17 Milchner) und 12 Wildfänge aus dem Roten Wasser, die abgestreift wurden (2 Rogner, 10 Milchner).

Da die spezifische Methodik für die „Burgwaldforelle“ hier zum ersten Mal angewendet wurde, wurden zur Validierung ferner Proben zur Negativ- und zur Positivkontrolle untersucht. Bei den Negativkontrollen handelte es sich um zehn weitere Proben aus den populationsgenetischen Begleituntersuchungen zum Projekt „Burgwaldforelle“. Es

wurden hierzu adulte Bachforellen mit einer Totallänge zwischen 33 und 42 cm aus sechs Projektgewässern ausgewählt. Es konnte daher ausgeschlossen werden, dass diese Tiere von dem Zuchtstamm des Roten Wassers abstammen. Somit war zu erwarten, dass zu keinem der Tiere in der Elternschaftsanalyse Eltern aus dem Zuchtstamm gefunden würden (= Negativkontrolle). Als Positivkontrolle wurden 25 der Nachkommen aus der Erbrütung 2023/2024 unmittelbar von der Fischzucht in Wetterfeld (10 Stck.), bzw. beim Besatz (15 Stck.) beprobt. Da diese Tiere von dem Zuchtstamm des Roten Wassers abstammen, sollten die Eltern in der Elternschaftsanalyse gefunden werden (= Positivkontrolle). Zur Bestimmung der Herkunft mittels Elternschaftsanalyse wurden von der Bürogemeinschaft für fisch- und gewässerökologische Studien (BfS Marburg) 256 Proben von Wildfängen aus den Kontrollbefischungen genommen und davon 121 für die Elternschaftsanalyse ausgewählt.

2.2 Laborgenetische Analysen

Für die Elternschaftsanalysen wurden alle 203 Proben (Eltern, Kontrollen, Wildfänge) anhand von 22 Mikrosatelliten-Loci genotypisiert. Diese 22 Loci wurden bereits in früheren Untersuchungen an Forellen erfolgreich verwendet (z.B. Wetjen *et al.*, 2018; Schmidt und Schulz, 2020, 2021), so dass keine Neuentwicklung und -etablierung eines geeigneten genetischen Marker-Systems notwendig war. Details zu den Laborprotokollen finden sich in Wetjen *et al.*, 2018.

2.3 Datenanalysen

Die genetischen Elternschaftsanalyse wurden mit der Software PASOS 1.0 (Duchesne *et al.*, 2005) durchgeführt. Zunächst wurden die Positivkontrollen genutzt, um abzuschätzen, ob tatsächlich alle Elterntiere dieser Kontrollgruppe beprobt wurden. Diese Information war für das weitere Vorgehen in der Datenanalyse und für die Interpretation der Ergebnisse der Wildfänge notwendig.

Die Elternschaftsanalyse wurde in drei Schritten durchgeführt. Im ersten Schritt wurde abgeschätzt, wie viele Elterntiere der „Gesamtpopulation“ aus Wildfängen, und den Positiv- und Negativkontrollen unbekannt, d.h. nicht in dem Datensatz vorhanden waren. Im Gegensatz zu den Tieren der Positivkontrolle musste bei den Wildfängen und den Negativkontrollen per se davon ausgegangen werden, dass eine unbestimmte Anzahl an Elterntieren unbekannt war. Da in allen Gewässern vor Maßnahmenbeginn reproduzierende Bachforellenbestände vorhanden waren konnten die Wildfänge zum Teil Nachkommen dieser nicht beprobten Elterntiere sein. Im zweiten Schritt wurden

mittels Simulationen die Wahrscheinlichkeiten für die Richtigkeit der Zuordnung der Wildfänge, der Positiv- und der Negativkontrollen zu bekannten Milchnern, bekannten Rognern oder einem unbekanntem Elterntier, sowie der Zuordnungen insgesamt abgeschätzt. Im dritten Schritt wurden für alle Wildfänge, die Positiv- und die Negativkontrollen die Zuordnung zu Elterntieren (bekannter Milchner, bekannter Rogner, unbekanntes Elterntier) durchgeführt.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1 Vollständigkeit Elterntiere Positivkontrolle

Die vorgeschaltete Abschätzung zu unbekanntem, d.h. nicht im Datensatz enthaltenen Elterntieren der Positivkontrollen aus dem Zuchtstamm Wetterfeld ergab, dass höchstwahrscheinlich nicht alle Elterntiere bekannt waren. Für die Milchner wurde geschätzt, dass etwa 68% bekannt waren und für die Rogner, dass etwa 82% bekannt waren. Demnach bestand die tatsächliche Elterntierpopulation aus 27 bekannten und etwa 12 unbekanntem Milchnern, sowie 20 bekannten und etwa 4 unbekanntem Rognern. Diese statistisch geschätzten Anzahlen unbekannter Elterntiere sind mit einer gewissen Unsicherheit zu betrachten, da die drei zu Grunde liegenden Stichproben [Milchner (n=27), Rogner (n=20), Positivkontrolle (n=25)] relativ klein waren. Wichtig war hier vor allen Dingen die Information, dass mit sehr großer Wahrscheinlichkeit ein gewisser Anteil der tatsächlichen Elterntiere des Besatzes aus dem Stamm der Fischzucht Wetterfeld (inkl. am Roten Wasser abgestreifter Elterntiere) unbekannt war.

3.2 Abschätzung Richtigkeit der Elternzuordnungen

Für die „Gesamt-Population“ aus Wildfängen, Positiv- und Negativkontrollen wurde zunächst der Anteil bekannter Milchner auf ca. 32% und der Anteil bekannter Rogner auf ca. 38% geschätzt. Dies entsprach ca. 57 unbekanntem Milchnern und ca. 33 unbekanntem Rognern. In den anschließenden Simulationen wurde eine sehr gute Passung des statistischen Modells unter der Annahme von 60 unbekanntem Milchnern und 30 unbekanntem Rognern erzielt. Daraus resultierend wurden folgende

Wahrscheinlichkeiten für die Richtigkeit der Zuordnung der zu testenden Nachkommen (Wildfänge, Positiv- und Negativkontrollen) ermittelt:

Zuordnung zu einem bekannten Milchner:	92%
Zuordnung zu einem bekannten Rogner:	88%
Zuordnung zu einem unbekanntem Elternteil:	97%
Zuordnungen insgesamt:	95%

3.3 Negativkontrolle

Die zehn Tiere der Negativkontrolle wurden zu 100% korrekt zu unbekanntem Eltern zugeordnet. Dieses Ergebnis bestätigte also die Erwartungen an die Negativkontrolle und bestätigten damit die Zuverlässigkeit der Analysen.

3.4 Positivkontrolle

Von der Positivkontrolle wurden für 14 Proben (56%) zwei bekannte Elterntiere ermittelt. Nur ein bekanntes Elterntier wurde für zehn Proben (40%) gefunden. Hierbei wurde in vier Fällen (16%) der Vater und in 6 Fällen (24%) die Mutter identifiziert. Eine Probe (4%) der Positivkontrolle wurde zwei unbekanntem Eltern zugeordnet. Von den Wildfängen wurden für 29 Proben (25%) zwei bekannte Elterntiere und für 8 Proben (7%) ein bekanntes Elterntier ermittelt und 79 (68%) der beprobten Wildfänge wurden zwei unbekanntem Eltern zugeordnet (Abb. 1 a), 1b)). Nachdem bereits festgestellt worden war, dass nicht alle Elterntiere der Positivkontrollen bekannt waren, war zu erwarten, dass nicht zu allen Proben der Positivkontrolle zwei bekannte Elterntiere gefunden würden. Die Häufigkeitsverteilung der Zuordnungen (zwei bekannte Eltern / ein Elternteil bekannt / zwei unbekanntem Eltern) der Positivkontrollen ergab aber wertvolle Hinweise zur Interpretation der Ergebnisse der Wildfänge (s.u.), da angenommen werden konnte, dass für die Besatzfische in den Wildfängen die gleiche Verteilung vorlag.

3.5 Wildfänge

Die Anteile der Wildfänge, die bekannten oder unbekanntem Elterntieren zugeordnet wurden variierte deutlich zwischen den Herkunftsgewässern. Der höchste Anteil bekannter Eltern wurde bei den Proben aus dem Josbach festgestellt. Bei 14 von 15 Proben (93%) wurden zwei bekannte Eltern und bei der weiteren Probe (7%) eine bekannte Mutter identifiziert. Der geringste Anteil bekannter Eltern wurde für die Gewässer Ohe/Einhäuser Wasser und Dautphe verzeichnet. Lediglich für eine von 13 (8%) Proben aus der Ohe / dem Einhäuser Wasser konnte ein bekannter Elternteil

(Rogner) ermittelt werden. Ähnlich niedrig war die Quote bekannter Eltern für die Wildfänge der Dautphe. Hier wurden für eine von 15 Proben (7%) zwei bekannte Elterntiere verzeichnet. In den weiteren Projektgewässern lag der Anteil von Proben für die ein oder zwei bekannte Elterntiere ermittelt werden konnten zwischen 14% im Abschnitt Whora I Haina und 43% in der Rosphe (Abb. 1 c), 1d); Tab. 1).

Eine Auflistung der je zwei Elterntier-Zuordnungen für die einzelnen Proben der Wildfänge, der Positiv- und der Negativkontrollen ist in Tab. A1 im Anhang angeführt.

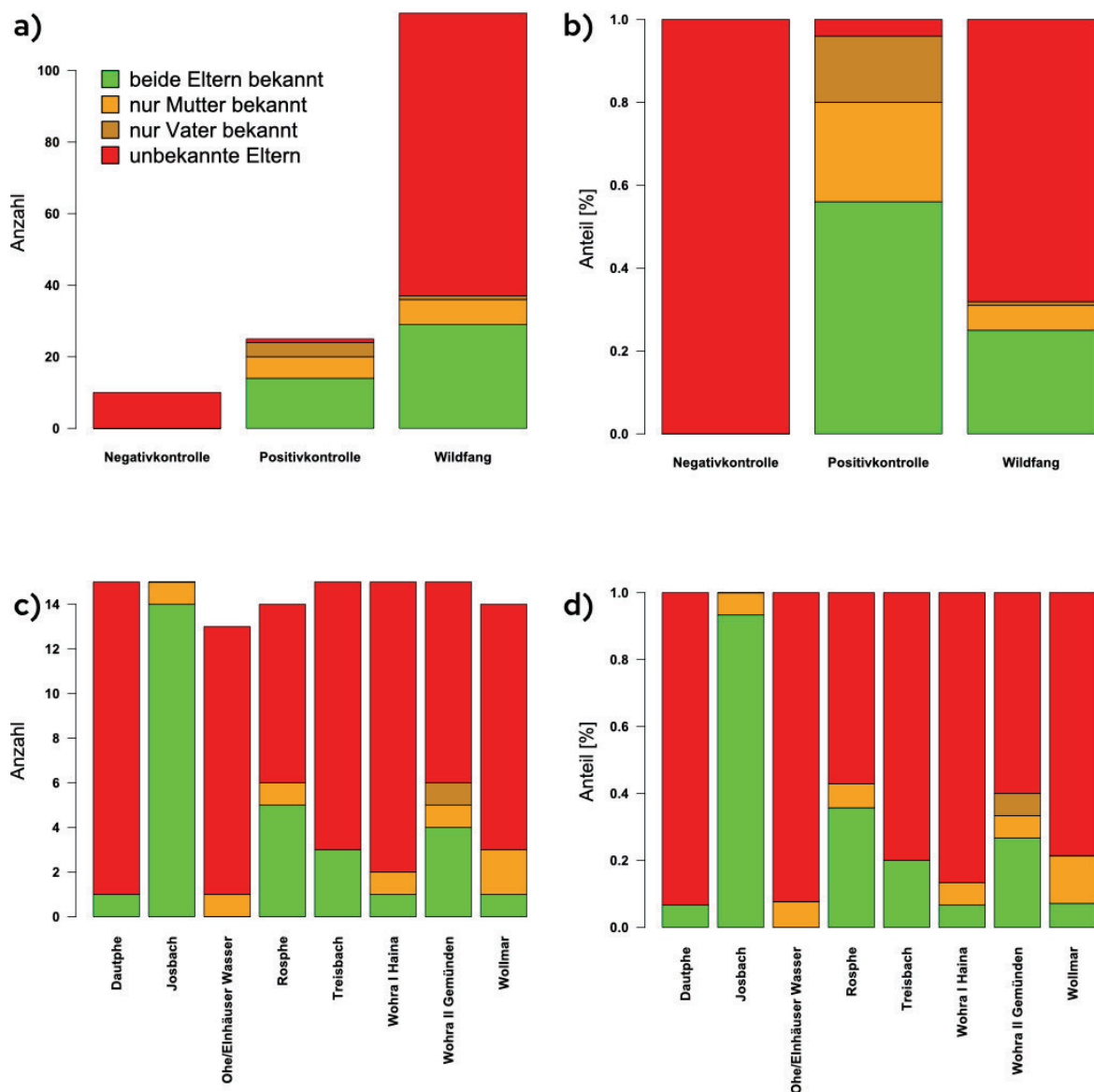


Abbildung 1: Anzahlen und Anteile der Zuordnungen aus den Elternschaftsanalysen der Wildfänge, der Positiv- und der Negativkontrollen (a, b) sowie der Wildfänge je Projektgewässer (c, d) zu den Kategorien beide Eltern bekannt, nur Mutter bekannt, nur Vater bekannt und unbekannte Eltern.

Tabelle 1: Anzahlen und Anteile der Zuordnungen aus den Elternschaftsanalysen der Wildfänge zu zwei bekannten (Vater und Mutter bekannt), einem bekannten und einem unbekanntem (Vater oder Mutter bekannt) und zwei unbekanntem (Eltern unbekannt) Elternteilen, sowie die Anzahl der Proben (Σ) je Projektgewässer.

Herkunft	Vater und Mutter bekannt	Vater oder Mutter bekannt	Eltern unbekannt	Σ
Dautphe	1 (7%)	0 (0%)	14 (93%)	15
Josbach	14 (93%)	1 (7%)	0 (0%)	15
Ohe/Elnhäuser Wasser	0 (0%)	1 (8%)	12 (92%)	13
Rosphe	5 (36%)	1 (7%)	8 (57%)	14
Treisbach	3 (20%)	0 (0%)	12 (80%)	15
Wohra I Haina	1 (7%)	1 (7%)	13 (87%)	15
Wohra II Gemünden	4 (27%)	2 (14%)	9 (60%)	15
Wollmar	1 (7%)	2 (14%)	11 (79%)	14

Die Wildfänge, zu denen mindestens ein bekannter Elternteil identifiziert werden konnte, können insgesamt mit einer sehr hohen Wahrscheinlichkeit (vgl. oben) als Besatztiere aus dem Zuchtprogramm der Fischzucht Wetterfeld angesprochen werden. Da offensichtlich nicht alle Elterntiere aus der Erbrütung 2023/2024 bekannt, d.h. im Datensatz vorhanden waren, kann darüber hinaus angenommen werden, dass auch einige wenige Wildfänge zu denen keine bekannten Elterntiere gefunden wurden tatsächlich auf den Besatz und nicht auf Naturverlaichung im Projektgewässer zurück geführt werden können. In der Positivkontrolle war dies bei einer Probe (4%) der Fall. Dem gegenüber steht die Möglichkeit falsch negativer Zuordnungen, also die Möglichkeit, dass eine Probe zwei unbekanntem Eltern zugeordnet wurde, obwohl einer oder beide Elternteile tatsächlich bekannt waren. Die errechnete Fehlerwahrscheinlichkeit lag hier bei 3% und die Negativkontrollen wurden zu 100% korrekt zugeordnet. Demnach wurden insgesamt die Anzahlen, bzw. Anteile, der Wildfänge, die aus dem Besatzprogramm stammen (mindestens ein bekannter Elternteil) eher leicht unterschätzt.

Insgesamt ließen sich Besatztiere aus den Maßnahmen zur Förderung der „Burgwaldforelle“ in allen Projektgewässern dokumentieren. In den Abschnitten Ohe/Elnhäuser Wasser und Dautphe ist der Anteil aber bestenfalls sehr gering und liegt im Bereich der möglichen Unsicherheit von etwa 5%. Insbesondere hier könnte

die Verwertbarkeit der Untersuchungsergebnisse zur weiteren Optimierung der Fördermaßnahmen durch eine Erhöhung der Anzahl untersuchter Wildfänge gesteigert werden.

4. Empfehlungen

- Die Elternschaftsanalysen konnten Besatzfische mit hoher Zuverlässigkeit von Wildfischen unterscheiden und es zeigten sich z.T. erheblich unterschiedliche Anteile von Besatzfischen in den Projektgewässern. Elternschaftsanalysen sollten daher zum Monitoring des Besatzprogramms weiterhin nutzbringend angewendet werden.
- Das Monitoring mittels genetischer Elternschaftsanalysen sollte basierend auf den guten Ergebnissen und Erfahrungen der bisherigen Untersuchungen entlang des gesamten Untersuchungsdesigns von der Probennahme und Dokumentation bis zur statistischen Auswertung weiter optimiert werden, um die hier gezeigten Potentiale dieses Instruments praxisbezogen vollumfänglich auszuschöpfen.

Referenzen

- Duchesne P, Castric T, Bernatches L. 2005. pasos (parental allocation of singles in open systems): a computer program for individual parental allocation with missing parents. *Mol Ecol Notes* 5: 701–704.
- Schmidt T, Schulz R. 2020. Genetische Untersuchungen zur Erfolgskontrolle von bestandsstützenden Maßnahmen zugunsten der Seeforelle am Chiemsee. Zwischenbericht (Modul I), Erstellt im Auftrag des Landesfischereiverbandes Bayern e.V. Ökosystemforschung Anlage Eußerthal, Universität Koblenz-Landau.
- Schmidt T, Schulz R. 2021. Genetische Untersuchungen zur Erfolgskontrolle von Besatzmaßnahmen im Hotspot-Projekt „Alpenflusslandschaften – Vielfalt leben von Ammersee bis Zugspitze“; Teilprojekt „Wiederaufbau einer Seeforellenpopulation in der Ammer – Bestandstützende Maßnahmen zugunsten der Ammersee-Seeforelle“. Zweiter Bericht im Auftrag des Landesfischereiverbandes Bayern e.V. Ökosystemforschung Anlage Eußerthal, Universität Koblenz-Landau.
- Schmidt T, Schulz R. 2024. Genetische Begleituntersuchungen zum Projekt „Burgwalforelle“. Ergebnisbericht an das Regierungspräsidium Gießen. iES Landau, Institut für Umweltwissenschaften, Rheinlandpfälzische Technische Universität Kaiserslautern-Landau.
- Wetjen M, Schmidt T, Löb C, Schulz R. 2018. Erfassung und Dokumentation der genetischen Vielfalt der Seeforelle (*Salmo trutta lacustris*) in Deutschland. Abschlussbericht an die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung. Institut für Umweltwissenschaften, Universität Koblenz-Landau, Landau, Deutschland.