

## Endbericht

### **Vorläufige Untersuchungen der genetischen Diversität der Bachforelle (*Salmo trutta* L.) im Nationalpark Kalkalpen**

Steven Weiss<sup>1</sup>, Diana Linhares<sup>1</sup>, & Reinhard Haunschmid<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Centro de Estudos de Ciência Animal-ICETA; Unidade de Genética Animal e Conservação, Campus Agrário de Vairão, R. Monte-Crasto- Vairão, 4485-661 Vila do Conde, Portugal*

<sup>2</sup>*Institut für Gewässerökologie, Fischereibiologie, und Seenkunde, Scharfling 18, A-5310 Mondsee, Austria*

#### **Contact (Portugal):**

e-mail [sjweiss@mail.icav.up.pt](mailto:sjweiss@mail.icav.up.pt)

tel. +351 252 660408 fax. +351 252 661780

#### **Abstract**

A preliminary genetic screening of brown trout (*Salmo trutta* L.) in four Kalkalpen populations ( $N = 78$ ) demonstrated that 3 of the 4 populations contained only Danube lineage mtDNA. This implies a low level of genetic influence from hatchery strains compared to results from a larger-scale screening of 27 populations ( $N = 600$ ) throughout Austria. In this larger study, 44% of all individuals, and at least one fish in all river populations carried the common north Atlantic haplotype typical of commercial hatchery strains. Additionally, a new haplotype is described for this species suggesting that unique genetic diversity exists in this region that should be protected from the introduction of domestic and/or allochthonous strains of hatchery fish.

#### **Zusammenfassung**

Der genetische Zustand von 4 Bachforellenpopulationen ( $N=78$ ) im Nationalpark Kalkalpen wurde untersucht. Bei drei Populationen konnte ausschließlich mitochondrische DNA der Donaustämme festgestellt werden. Dies deutet auf einen sehr geringen Grad an Beeinflussung durch Zuchtstämme hin, was im Gegensatz zu den 27 im übrigen Österreich untersuchten Populationen ( $N = 600$ ) steht. Hier konnten 44% der Individuen identifiziert werden, die den nordatlantischen Haplotyp aufwiesen, der typisch für kommerzielle Zuchtstämme ist. In jeder der Flußpopulationen wies mindestens ein Fisch diesen Haplotyp auf. Weiters konnte ein neuer Haplotyp gefunden werden, der die einzigartige genetische Diversität in dieser Region unterstreicht und vor fremdem Besatzmaterial geschützt werden sollte.

#### **Einleitung**

Die hier durchgeführte Untersuchung gibt erstmalig Aufschluß über den genetischen Status Quo der Bachforelle *Salmo trutta* im Nationalpark Kalkalpen. Sie ergänzt somit die

gesamtösterreichische Studie hinsichtlich des genetischen Zustandes der Bachforelle, bei der 27 Populationen bearbeitet wurden (Weiss *et al.*, in Druck).

Ziel dieser Arbeit war es, die Frage zu klären, ob die im Nationalpark derzeit vorkommenden Bachforellen genetisch durch Besatzfische, die nicht dem Donaueinzugsgebiet zuzuschreiben sind, beeinflusst sind.

Besatzmaßnahmen sind in Österreich teilweise gesetzlich vorgeschrieben, und die Besatzmengen können mancherorts als hoch eingestuft werden. Kürzlich durchgeführte Studien haben eine geringe Überlebensrate dieser Zuchtfische in den Gewässern sowie negative Auswirkungen auf die Wachstumsrate und Habitatnutzung natürlich reproduzierender Populationen aufgezeigt (Weiss & Kummer 1998; Weiss & Schmutz 1999 a, b).

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse sowie nach Fertigstellung weiterer Arbeiten (Weiss *et al.* 2000) kann ein ökonomisch effizienter sowie schutzorientierter Ansatz in der Bewirtschaftung erarbeitet werden.

## **Material und Methoden**

Mittels Elektrofischung wurden an den Gewässern Stöfflalmgraben, Hinterer Rettenbach, Oberer Sitzenbach sowie Rumplmayrbach je 20 Bachforellen gefangen, deren Fettflosse geschnitten und diese in 96%-igem Alkohol fixiert, um sie später der DNA-Analyse zuzuführen. Das gesamte DNA-Genom wurde durch ein Extraktionsverfahren mit hoher Salzkonzentration isoliert und mit dem Primer H20 und L19 (Bernatchez *et al.* 1992) wurde die komplette mitochondriale DNA Kontroll-Region über PCR-Technik (Polymerase-Ketten-Reaktion) vermehrt. Eine 464 bp lange Sequenz wurde von jeder Probe bei Verwendung des internen Primers H514 herangezogen und unter Bedingungen, die bei Weiss *et al.* beschrieben sind (in Druck), mittels eines ABI-310 automatischen Sequenzierer analysiert.

## **Resultate**

78 Bachforellen konnten erfolgreich untersucht werden, wobei 4 Haplotypen nachgewiesen wurden. Der häufigste Haplotyp (Da1) mit 55% entspricht dem in Österreich häufigsten Donau-Haplotyp. Zum Vergleich trat dieser Typus bei 35% von 600 untersuchten Fischen auf (Weiss *et al.*, in Druck). Überraschenderweise erfolgte der Nachweis des Atlantischen Haplotypus (At1), der am stärksten die Zuchtform der Dänischen Bachforelle in Österreich vertritt, nur bei Bachforellen des Hinteren Rettenbaches. In der österreichweiten

Untersuchung war bisher At1 mit 44% der häufigste Haplotypus. Er wurde mit unterschiedlicher Häufigkeit in allen untersuchten österreichischen Flüssen nachgewiesen. Im Hinteren Rettenbach war dieser Haplotyp am häufigsten zu finden. Das lässt den Schluß zu, dass die Population stark von Nicht-Donau-Stämmen beeinflusst wurde (eventuell durch Besatzmaßnahmen).

Weiters konnte in der Population des Rumplmayrbaches ein neuer Haplotyp – Da25 – beschrieben werden, der bisher weder in Österreich noch sonst wo im Donaubecken nachgewiesen wurde (Bernatchez *et al* 1992; Bernatchez & Osinov 1995; Osinov & Bernatchez 1996).

Der verbleibende Haplotyp Da22 wurde bereits von Weiss *et al.* (in print) beschrieben und ist in Österreich ziemlich selten anzutreffen, jedoch häufig in Bächen des Steyr-Einzuggebietes (Weisenbach, Haslingbach). Diese Ergebnisse sind in Tabelle I zusammengefasst.

Tabelle II beinhaltet die genetische Variation aller Haplotypen, die bisher sowohl in dieser Studie als auch in ganz Österreich aufgetreten sind.

Abbildung 1 zeigt die Relation der Kalkalpen-Haplotypen zu den 4 von 5 großen Bachforellengruppen, die in Europa gefunden wurden. Die Donau Linie gilt dabei als die älteste, was die Hypothese stützt, dass die Bachforelle aus dem Becken -Schwarzes Meer, Kaspisches Meer, Aralsee stammt.

Tabelle 1. Häufigkeiten der mtDNA Haplotypen in 4 Fließgewässern des Nationalparks Kalkalpen (Oberösterreich). Der Atlantische Haplotyp (At1) ist fett dargestellt.

Population	Haplotyp				Total
	At1	Da1	Da22	Da25	
Stöffalmgraben	<b>0</b>	20	0	0	20
Hinterer Rettenbach	<b>13</b>	4	2	0	19
Oberer Sitzenbach	<b>0</b>	19	1	0	20
Rumplmayrbach	<b>0</b>	0	0	19	19
Gesamt	<b>13</b>	43	3	19	78

Tabelle 2. Variable Nukleotidpositionen (in den ersten 464bp von der fünften mtDNA Kontrollregion), die in Österreich (N=698) gefunden wurden (Weiss *et al.*, in Druck),(Kalkalpen Haplotypen fett dargestellt).  
Haplotypen „At“ zählen zur nordischen (Atlantisches Becken) Gruppe, „Da“ zum Donaubecken, „Ma“ zu *Salmo trutta marmoratus*.

Haplotyp	Nucleotid Position												
	2	26	113	146	178	234	235	236	262	263	389	390	403
<b>At1</b>	T	T	*	G	T	G	A	T	G	C	C	T	T
At10	-	-	-	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-
At11	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Da1</b>	C	A	-	-	-	-	-	G	-	-	T	C	-
Da2	C	A	-	-	-	-	G	G	-	-	T	C	-
Da3	C	A	-	-	-	A	-	G	-	-	T	C	-
Da9	C	A	-	-	-	A	G	G	-	-	T	C	-
<b>Da22</b>	C	A	-	-	-	-	T	G	-	-	T	C	-
Da23	C	A	-	A	-	A	G	G	-	-	T	C	-
Da24	C	A	-	-	C	-	G	G	-	-	T	C	-
<b>Da25</b>	C	A	-	A	-	-	-	G	-	-	T	T	-
Ma2	-	-	A	-	-	-	-	-	A	T	T	C	C

## Diskussion

Diese vorläufige Untersuchung lässt klar erkennen, dass im Epirhithral der Gewässer des Nationalparks Kalkalpen Bachforellenpopulationen anzutreffen sind, die als „autochthon“ bezeichnet werden können. Dies steht im Gegensatz zu den bisher untersuchten Gewässern im übrigen Österreich, in denen die Atlantische Linie (At1) vorherrscht (Weiss *et al.*, in Druck). Weiters dürfte der neu entdeckte Haplotyp im Rumplmayrbach eine einzigartige genetische Resource innerhalb des Kalkalpengebietes darstellen.

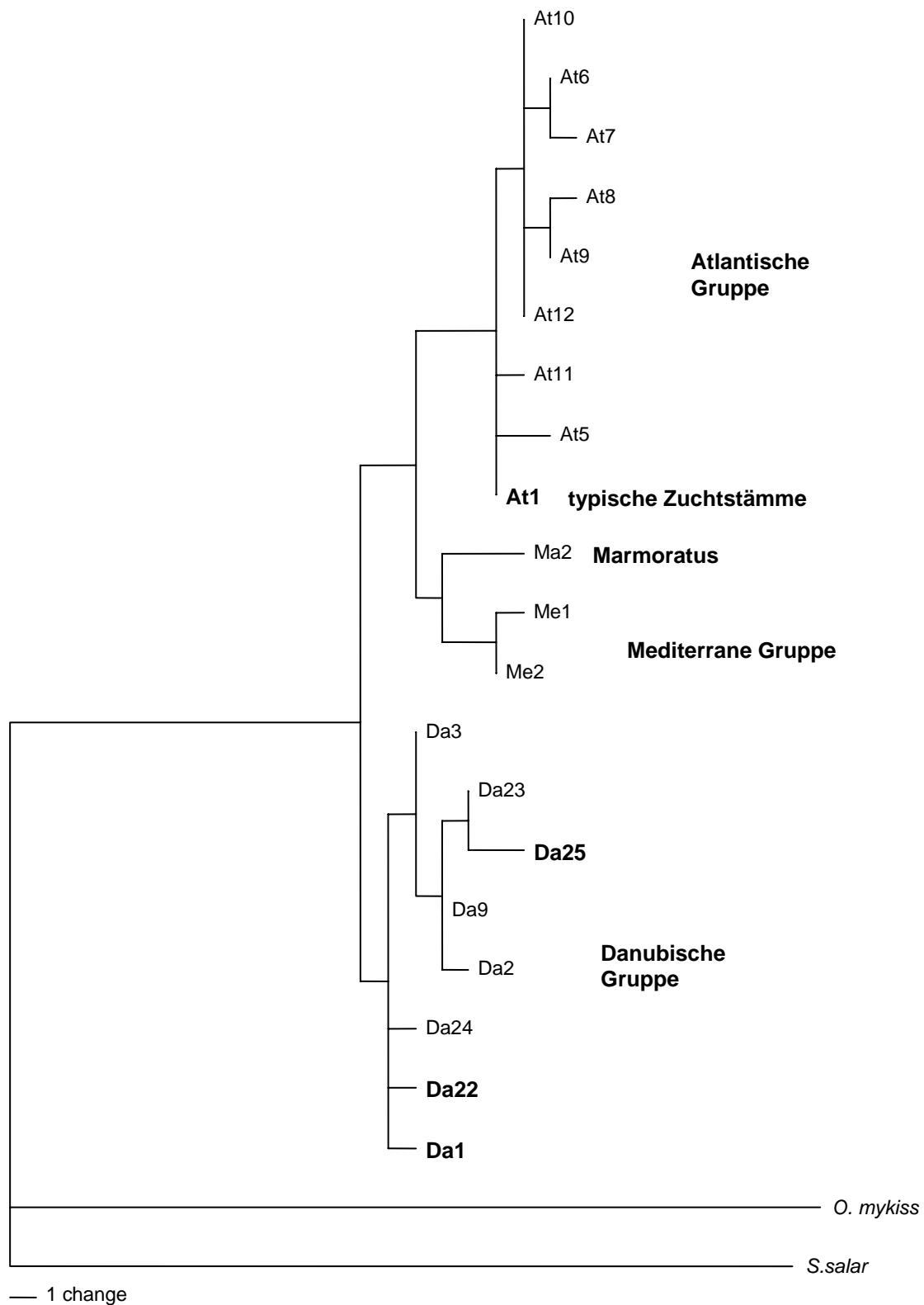
Es sei an dieser Stelle erwähnt, dass Vorsicht bei der Interpretation der angeführten Resultate geboten ist, vor allem was die Förderung und den Besatz von autochthonen bzw. allochthonen Bachforellenstämmen anlangt.

1. Es kann nicht jedes Bachforellenindividuum vom Donau-Haplotyp als autochthon und jenes vom Atlantik-Haplotyp als fremd angesehen werden. Der in dieser Studie verwandte genetische Marker dient nur als indirekter Marker auf Populationsebene. Das heißt, dass Populationen, die lediglich Donau-Haplotypen aufweisen, mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit autochthon und nicht durch Besatz mit anderen Stämmen beeinflusst sind. Bei Nachweis von sowohl Donau- wie auch Atlantik-Haplotypen kann davon ausgegangen werden, dass eine Vermischung stattgefunden hat. Aufgrund des Mangels an Referenzdaten, und der Einschränkung, dass nur ein

mütterlicher, genetischer Marker verwendet wurde, kann der individuelle Fisch nicht als ursprünglich oder verfälscht eingestuft werden.

2. Die genetischen Daten in dieser Untersuchung erlauben keine Aussage über Inzuchterscheinungen innerhalb jeder Population. Bei Durchführung eines Zuchtprogrammes ist aber genau dieses Wissen über den Inzucht-Zustand der Population von großer Bedeutung. Dazu werden allerdings andere genetische Marker benötigt, die bei schutzorientierten Besatzprogrammen Anwendung finden.
3. Auch wenn Populationen als autochthon identifiziert werden können und keine Inzucht vorliegt, kann nicht empfohlen werden, dieses Bachforellenmaterial für ganz Österreich zu verwenden. Vielmehr sollten Besatzmaßnahmen mit solchen Tieren auf der Ebene von Einzugsgebieten oder ökologisch ähnlicher Bäche erfolgen.
4. In der Praxis sollte eine Population selbst im Gewässer reproduzieren, was die genetische Integrität dieser bewahrt. Wenn Besatzmaßnahmen durchgeführt werden, sollten möglichst viele adulte Bachforellen zur Zucht verwendet werden. Eine jährliche Auffrischung mit Laichfischen aus den Bächen sollte erfolgen. Weitere Informationen zu diesem Thema und vor allem zu „Bestimmung der kleinstmöglichen Populationsgröße“ ist bei Uiblein *et al.*, (2000) auf den Seiten 156-158 zu finden. Obwohl in dieser Publikation die Äsche behandelt wird, gelten die Richtlinien im selben Maße für die Bachforelle.

Abbildung 1. Beziehungen der mtDNA Linien von Bachforellen zwischen den 4 von 5 in Europa vorkommenden Hauptgruppen (Adriatische Gruppe fehlend). Die fett-aufgelisteten Haplotypen stellen die 4 Kalkalpen-Populationen dar.



## Literatur

Bernatchez L, Guyomard R & Bonhomme F (1992) DNA sequence variation of the mitochondrial control region among geographically and morphologically remote European brown trout (*Salmo trutta*) populations *Molecular Ecology* **1**, 161-173.

Bernatchez L & Osinov A (1995) Genetic diversity of trout (genus *Salmo*) from its most eastern range based on mitochondrial DNA and nuclear gene variation *Molecular Ecology* **4**, 285-297.

Osinov A & Bernatchez L. (1996) Atlantic and Danubian phylogenetic groupings of brown trout (*Salmo trutta* L.) complex: genetic divergence, evolution, and conservation *Journal of Ichthyology* **36**, 762-786.

Ublein F, Jagsch A, Kössner G, Weiss S, Gollman P & Kainz E (2000) Untersuchungen in Gewässern in drei Gewässern in Oberösterreich *Österreichs Fischerei* Jahrgang 53, Heft 4, April 2000, 87-165.

Weiss S, Antunes A., Schlötterer C & Alexandrino P (2000) Mitochondrial haplotype diversity among Portuguese brown trout *Salmo trutta* L populations: relevance to the post-Pleistocene recolonization of northern Europe *Molecular Ecology* **9**, 691-698.

Weiss S & Kummer H (1998) Movement of wild and experimentally stocked brown trout *Salmo trutta* L. before and after a flood in a small stream. *Fisheries Management and Ecology* **5**, 1-11.

Weiss S, Schlötterer C, Waidbacher H & Jungwirth M (In Press) Haplotype diversity of brown trout *Salmo trutta* in tributaries of the Austrian Danube: massive introgression of Atlantic basin fish – by man or nature ? *Molecular Ecology*

Weiss S & Schmutz S (1999a) Performance of hatchery-reared brown trout and their effects on wild fish in two small Austrian streams. *Transactions of the American Fisheries Society*, 302-316.

Weiss S & Schmutz S (1999b) Response of wild brown and rainbow trout to the stocking of hatchery-reared brown trout *Fisheries Management and Ecology* **6**, 365-375.