

ZÜRCHER HOCHSCHULE FÜR ANGEWANDTE WISSENSCHAFTEN  
DEPARTEMENT LIFE SCIENCES AND FACILITY MANAGEMENT  
INSTITUT FÜR UMWELT UND NATÜRLICHE RESSOURCEN

**Genetische Erfolgskontrolle der Seeforellenbesatzpraktik in Zürichsee-Zuflüsse**



Bachelorarbeit

von

**Napitupulu Tracy**

Bachelorstudiengang 2016

Umweltingenieurwesen

Abgabedatum: 08.08.2019

Erneuerbare Energien und Ökotechnologien

Fachkorrektoren:

Dr. Pietsch-Schmied, Constanze

ZHAW Institut für Umwelt und Natürliche Ressourcen, Grüental, 8820 Wädenswil

Dr. Refardt, Dominik

ZHAW Institut für Umwelt und Natürliche Ressourcen, Grüental, 8820 Wädenswil

## **Impressum**

### **Autorin**

Tracy Napitupulu  
Schaffhauserstrasse 121  
CH – 8057 Zürich

### **Zitierweise**

Napitupulu, T. (2019). Genetische Erfolgskontrolle der Seeforellenbesatzpraktik in Zürichsee-Zuflüsse. Bachelorarbeit. ZHAW IUNR, Wädenswil.

### **Schlagworte:**

Populationsgenetik, genetische Erfolgskontrolle, *Salmo trutta*, Mikrosatelliten, Seeforellenbesatzpraktik

### **Adresse des Instituts**

Zürcher Hochschule für  
Angewandte Wissenschaften  
Life Sciences und Facility Management  
IUNR Institut für Umwelt und  
Natürliche Ressourcen  
Grüental, Postfach  
CH – 8820 Wädenswil

### **Bild Titelseite:**

*Salmo trutta* (Jonsson and Jonsson, 2011: Ecology of Atlantic Salmon and Brown Trout, Abb. 2.1a)

## Zusammenfassung

Die Seeforelle *Salmo trutta f. lacustris* gehört zu den am meisten gefährdeten Tierarten in den Schweizer Gewässern. Eine nachhaltige Bewirtschaftung der Gewässer spielt eine bedeutende Rolle, um die Erhaltung dieser Art zu gewährleisten. Die Dorfbäche in Küsnacht, Erlenbach, Meilen und Feldbach werden seit Jahren mit Nachkommen des Muttertierstamms aus der Fischzucht Stäfa besetzt, jedoch liegen noch keine genetische Erfolgskontrollen vor.

Das Ziel dieser Arbeit ist die populationsgenetische Untersuchung der Art *Salmo trutta* in diesen Zürichsee-Zuflüssen, um den Erfolg der bisherigen Besatzmassnahmen zu untersuchen. Dabei wurden mit 19 Mikrosatelliten-Loci die genetischen Unterschiede und die genetische Vielfalt zwischen und innerhalb der Populationen analysiert. Hoch signifikante ( $p < 0.001$ ) genetische Unterschiede wurden zwischen dem Muttertierstammbesatz und den Individuen in allen Dorfbächen nachgewiesen, was darauf hindeuten könnte, dass zwischen den Besatzfischen und den anderen Populationen aus den Dorfbächen kein freier Genaustausch stattfindet. Weiter war die genetische Variabilität der beprobten Individuen aus den Dorfbächen aufgrund der Allel-Anzahl (AR) höher als im Muttertierstammbesatz, was einen Verlust der genetischen Vielfalt bei den Besatzfischen erklärt. Dadurch ist ihre Fähigkeit, sich an neue Umweltbedingungen anzupassen, stark reduziert. Die genetische Verarmung in der Fischzucht Stäfa konnte ebenso mit einem signifikanten Heterozygotenüberschuss ( $p < 0.05$ ) nachgewiesen werden. Diese Abweichung des Mutations-Drift-Gleichgewichts wirkt sich nachteilig auf nachkommende Generationen aus, da viele Allele verloren gingen. Signifikante Koppungsungleichgewichten (LD) kamen bei den Besatzfischen gehäuft vor. Das könnte auf eine sehr kleine Population oder auf eine nicht zufällige Partnerwahl hindeuten. Diese Beobachtungen könnten die Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht an 11 von 19 Loci bei den Seeforellen aus der Muttertierhalterung erklären. Das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht beschreibt den idealen Zustand der Paarungswahrscheinlichkeit für alle Individuen innerhalb der Population.

Die Auswertung mit der STRUCTURE-Software zeigte drei vermutlich unterschiedliche genetische Clustergruppen ( $K = 3$ ). Dies wurde ebenso durch die Hauptkoordinatenanalyse (PCoA) ersichtlich. Dabei bildeten die Populationen in den Dorfbächen Küsnacht, Erlenbach und Meilen eine Hauptclustergruppe. Deren genetische Unterschiede waren gering ( $F_{ST}$ -Werte nahe bei null,  $p > 0.05$ ). Erstaunlicherweise wurden innerhalb der Fischzucht Stäfa zwei Subpopulationen beobachtet, die als isoliert betrachtet werden können.

Aufgrund der genetischen Unterschiede und Verarmung in den Besatzfischen sollen die Dorfbäche nicht mehr weiter besetzt werden. Die Populationen in den Dorfbächen weisen eine hohe genetische Vielfalt auf. Dadurch können sie sich gut an die veränderliche Umwelt anpassen. Dies soll bewahrt werden, um die Erhaltung der Art *Salmo trutta* zu gewährleisten. Bei den Seeforellen gilt es prioritär zu beachten, dass sie einen uneingeschränkten Zugang zu ihren Laichplätzen haben. Wanderhindernisse sollen womöglich beseitigt werden.

## Abstract

The lake trout *Salmo trutta f. lacustris* is one of the most endangered species in Swiss rivers. Sustainable water management therefore plays an important role to ensure the conservation of this species. The streams in «Küsnacht», «Erlenbach», «Meilen» and «Feldbach» have been stocked for years with offspring of the hatchery in "Stäfa". However, there is no genetic monitoring yet.

The aim of this work is the analysis of population genetics of the species *Salmo trutta* in those streams of Zurich in order to evaluate the success of the conservation strategies. The genetic differentiation and variation between and within the populations were analysed using 19 microsatellite loci. Highly significant ( $p < 0.001$ ) genetic differences were detected between the stock unit and the juveniles in all mentioned streams, which could indicate a lack of gene flow. Furthermore, the genetic variability of the natural populations was higher than in the hatchery due to the number of alleles (AR). This could lead to a loss of genetic diversity in the fish stock, which results in reduced adaptability to environmental changes. Moreover, this loss of genetic variation could also be proved with a significant heterozygote excess ( $p < 0.05$ ). This deviation from the mutation-drift-equilibrium has a negative effect on future generations, as many alleles have been lost. Additionally, the fishes from the hatchery showed a significantly higher linkage disequilibrium (LD), which might lead to a very small population or a non-random choice of partner. These observations could explain the significant deviations from the Hardy-Weinberg equilibrium at 11 out of 19 loci in the stocking hatchery. The Hardy-Weinberg equilibrium describes the ideal state of mating probability for all individuals within population.

The results with the STRUCTURE software showed with  $\Delta K$  a proper estimation of three main cluster groups ( $K=3$ ). This was also shown by the principle coordinates analysis (PCoA). The populations of «Küsnacht», «Erlenbach» and «Meilen» formed a main cluster group. Their genetic differences were small ( $F_{ST}$  values close to zero,  $p > 0.05$ ). Surprisingly, there are two subpopulations observed within the hatchery, which can be considered isolated.

Based on the genetic differentiation and the loss of genetic variation in the stocking unit, the stocking measures should no longer be continued. The natural populations in the studied streams showed high genetic diversity. That gives the trouts the ability to survive environmental changes. This should be preserved in order to avoid the risk of population extinction. The priority for migrating forms of *Salmo trutta* is to ensure that they have unrestricted access to their spawning grounds. Artificial barriers should be removed where possible.

## **Danksagung**

Zuerst möchte ich gebührend meinen Dank an Constanze Pietsch aussprechen, die meine Bachelorarbeit betreut und begutachtet hat. Für die hilfreichen Anregungen und die konstruktive Rückmeldung beim früheren Entwurf dieser Arbeit möchte ich mich herzlich bei ihr bedanken.

Ebenso möchte ich mich bei Dominik Refardt, meinem Zweitbetreuer dieser Arbeit, für seine wertvollen Inputs bedanken.

Für die fortwährende Unterstützung im Verlaufe der Laborarbeiten möchte ich Nicola Rhyner meinem Dank Ausdruck verleihen. Einen besonders herzlichen Dank gilt meiner Familie, meinen Freunden und meinen Kommilitonen für ihre Hilfestellungen, Ermutigung und für ihren unermüdlichen Beistand.

# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	7
2	Grundlagen.....	8
2.1	Populationsgenetische Untersuchungen.....	8
2.2	Mikrosatelliten.....	11
3	Material und Methode .....	13
3.1	Probennahmen .....	13
3.2	DNA Extraktion .....	14
3.3	Amplifikation mittels PCR.....	14
3.4	Genotypisierung mittels Kapillarelektrophorese .....	16
3.5	Datenanalyse.....	17
4	Resultate .....	19
4.1	Wanderhindernisse.....	19
4.2	Überprüfung der Mikrosatelliten-Marker.....	19
4.3	Genetische Variabilität innerhalb der Populationen.....	19
4.4	Genetische Differenzierung zwischen den Populationen.....	21
5	Diskussion .....	26
5.1	Nullallele .....	26
5.2	Genetische Differenzierung zwischen den Populationen.....	26
5.3	Genetische Populationsstruktur im Muttertierstamm-Besatz .....	27
5.4	Genetische Populationsstruktur in den vier Dorfbächen.....	28
5.5	Künstliche Barrieren.....	29
5.6	Vergleich der STRUCTURE Analyse mit 12 und 19 Mikrosatelliten-Markern .....	29
6	Schlussfolgerung und Ausblick .....	30
7	Literaturverzeichnis.....	31
8	Abbildungsverzeichnis .....	37
9	Tabellenverzeichnis .....	38
	Appendix.....	39

# 1 Einleitung

Fischpopulationen sind oftmals in ihrer natürlichen Reproduktion eingeschränkt. Gründe dafür sind Umweltfaktoren und menschliche Eingriffe in ihre Lebensräume wie z.B. Stauung von Flüssen für die Wasserkraftnutzung oder Änderung der Flussbetten. Dadurch wird der Zugang zu den Laichplätzen für wandernde Fischarten erschwert (Harris et al., 2016) und kann somit zu einer Reduktion der Bestände führen (Was and Wenne, 2003). Die Erreichbarkeit dieser Habitats ist daher von entscheidender Bedeutung für eine erfolgreiche Fortpflanzung sowie für den Erhalt der Fischbestände (Roscoe and Hinch, 2010). Um den Rückgang der Fischpopulationen zu verhindern, beschloss das Bundesamt für Umwelt im revidierten Gewässerschutzgesetz Massnahmen zu ergreifen (GSchG, 2011, SR 814.20).

Eine dieser Massnahmen betrifft die Erhaltung des Fischbestandes durch Fischbesatz. Im Kanton Zürich werden Seeforellen an Stellen mit Naturverlaichungsdefiziten besetzt (Hertig, 2018). Nicht immer führen Besatzstrategien zum gewünschten Effekt. Erfolgskontrollen sollen daher die Wirkung dieser Massnahmen überprüfen und sind notwendig, um die Besatzstrategien nötigenfalls zu optimieren. Dazu gehören genetische Erfolgskontrollen, die immer mehr an Bedeutung gewinnen. Dabei wird die genetische Vielfalt einer Art innerhalb einer Population und zwischen den Populationen sowie die genetischen Unterschiede zwischen den Populationen untersucht. Die genetische Vielfalt ist Voraussetzung für das Überleben einer Art, da sie den Individuen ermöglicht, sich an Umweltveränderungen anzupassen (Schaefer, 2012). Liegt eine geringe genetische Variation vor, weisen diese Fische Schwierigkeiten bei der Anpassung anderer Umweltbedingungen auf und üben im ungünstigsten Fall einen negativen Einfluss auf die genetische Vielfalt der anderen Fische aus (Kohout et al. 2012). Um genetische Fragestellungen zu beantworten, werden meist genetische Marker untersucht.

Ziel dieser vorliegenden Arbeit ist es, mittels genetischer Marker die genetischen Unterschiede zwischen den Forellenpopulationen in den Dorfbächen von Küsnacht, Meilen, Erlenbach und Feldbach sowie deren genetische Vielfalt aufzuzeigen, um sie anschliessend mit den Nachkommen des Muttertierstamms in der Fischzucht Stäfa zu vergleichen. Des Weiteren wurde überprüft, ob Hybridisierungen zwischen den Besatzfischen und den Wildfischen aus den anderen Dorfbächen stattfanden. Damit können Aussagen getroffen werden, ob die bestehenden Besatzmassnahmen geeignet sind. Dabei wurden 19 Mikrosatelliten-Marker untersucht. Um Kosten und Zeit zu sparen wurden dafür drei bereits entwickelte Multiplex-Kits verwendet. Auf Basis dieser Ergebnisse wurden Empfehlungen für das Seeforellenbesatzmanagement im Kanton Zürich ausgesprochen.

Im folgenden Kapitel werden die Grundlagen dieser Arbeit erläutert. Die angewandte Methode der molekulargenetischen Untersuchung wird im Kapitel 3 beschrieben und die Ergebnisse werden im Kapitel 4 präsentiert. Die gewonnenen Erkenntnisse werden in den Kapiteln 5 und 6 zusammengefasst.

## 2 Grundlagen

Die Seeforelle (*Salmo f. trutta lacustris*) und die Bachforelle (*Salmo trutta fario*) stammen aus der Familie Salmonidae (Behnke, 1972; Bernatchez, 2001). Laut Verordnung zum Bundesgesetz über die Fischerei vom 24. November 1993 gilt die Seeforelle als eine seespezifische Form der Art *Salmo trutta* und wird nicht mehr als eigene Art aufgeführt (VBGF, 2018, SR 923.01). Sie gehört zu den wandernden Formen und steigt für die Laichung in die Zuflüsse auf (Jonsson and Jonsson, 2006). Die freie Fischwanderung ist jedoch aufgrund von künstlichen Querbauwerken gestört. Allein in den untersuchten Zuflüssen in dieser vorliegenden Arbeit bestehen 31 Wanderhindernisse (ohne künstliche Abstürze, die über 70 cm hoch sind). Diese Unterbrechung der Fischgängigkeit führt zu einer geringen genetischen Vielfalt (Griffiths et al., 2009; Blanco Gonzalez et al., 2016; Harris et al., 2016; Coleman et al., 2018) und kann zur Abnahme der Populationsgrößen führen (Hedrick and Miller, 1992). Nach VBGF (2018) ist die Seeforelle stark gefährdet. Das Bundesgesetz über die Fischerei vom 21. Juni 1991 (BGF, 2017) im Art. 9 besagt, «die freie Fischwanderung wiederherzustellen». Zudem sieht das Seeforellenmanagementkonzept des Kantons Zürich vor, eine zielgerichtete Besatzwirtschaft herbeizuführen (Hertig, 2018). Diese sollen regelmässig überprüft werden.

In diesem Kapitel werden die Grundlagen der molekularbiologischen Untersuchungen erklärt und einige Begriffe erläutert, die zum Verständnis der Populationsgenetik dienen.

### 2.1 Populationsgenetische Untersuchungen

Die Populationsgenetik beschäftigt sich mit Gruppen von Individuen, die einer gültigen Gesetzmässigkeit der Vererbung unterliegen (Schaefer, 2012). Die Verteilung von Genen beziehungsweise Allelen und deren Häufigkeit (Allelfrequenz) in diesen Populationen bilden die Grundlage für genetische Untersuchungen (Storch et al., 2013). Als Ausgangspunkt wird von einer idealen Population ausgegangen, in der zufällige Verpaarung stattfindet und keine Selektion (Panmixie) (Munk et al., 2009; Tomiuk and Loeschcke, 2016). Diese Population befindet sich dann im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWG). Es besagt, dass die Allelhäufigkeit bei einer idealen Population von Generation zu Generation gleichbleibt (Graw, 2015). Änderungen in den Allelfrequenzen können zu Abweichungen des HWG führen (Storch et al., 2013). Ursachen dafür sind Evolutionsvorgänge. Die natürliche Selektion, Mutationen, der Genfluss, die genetische Drift oder aber auch der Flaschenhalseffekt sind wesentliche Evolutionsmerkmale (Schaefer, 2012). Diese Merkmale beeinflussen die genetische Variabilität einer Population.



### **Genetische Variabilität**

Die natürliche Selektion ist gekennzeichnet durch den Fortpflanzungserfolg (Storch et al., 2013). Die Reproduktionsfähigkeit, die eigenen Gene in den nachkommenden Generationen erfolgreich zu etablieren, ist abhängig von der Fitness eines Individuums und bestimmt die Überlebenswahrscheinlichkeit einer Art (Tomiuk and Loeschcke, 2016). Die Fitness korreliert stark mit der genetischen Variabilität innerhalb einer Population (Reed and Frankham, 2003) und ist Voraussetzung für die langfristige Erhaltung einer Spezies (Van Dyke, 2008). Ein wichtiges Mass für die genetische Vielfalt ist die Heterozygotie, oder auch Heterozygotiegrad. Sie misst den Anteil der Individuen einer Population, die an einem Locus (Genort) heterozygot sind (Schaefer, 2012). Das bedeutet, dass die Individuen an dieser bestimmten Stelle zwei verschiedene Allele besitzen, die von den Eltern vererbt wurden (Tomiuk and Loeschcke, 2016). Individuen mit zwei in ihrer Abstammung identischen Allelen heissen homozygot (Schaefer, 2012). Auf dieser Basis kann die Anzahl Allele (AN) in einer Population ermittelt werden. Nach Hale et al. (2012) wird für populationsgenetische Untersuchungen eine Stichprobengrösse zwischen 20 und 30 Individuen pro Population empfohlen. Mit Berücksichtigung von Schwankungen in der Stichprobengrösse wird die effektive Anzahl Allele, das «allelische Reichtum» (AR), berechnet (Foulley and Ollivier, 2006). Eine niedrigere Anzahl Allele in einer Population im Vergleich zu anderen Populationen ist mit einem Verlust der genetischen Vielfalt zu deuten. Das bedeutet, dass die Fitness in der Folgegeneration eingeschränkt ist. Die Anpassungsfähigkeit der Nachkommen an neue Umweltbedingungen nimmt ab (Schaefer, 2012). Ein Grund für die reduzierte genetische Vielfalt ist Inzucht (Reed and Frankham, 2003).

### **Inzucht**

Als Inzucht wird Paarung zwischen nahen verwandten Individuen bezeichnet. Dadurch steigt der Anteil an homozygote Individuen (Schaefer, 2012). Ein wichtiges Mass für den Hinweis auf Inzucht ist der Inzuchtkoeffizient  $F_{IS}$ . Dieser misst das Heterozygoten-Defizit innerhalb der Population mit demjenigen, welcher unter zufälliger Paarung zu erwarten wäre (Weir and Clark Cockerham, 1984). Der Wertebereich befindet sich zwischen -1 (vollständiger Heterozygotenüberschuss) und 1 (vollständiges Heterozygoten-Defizit) (Wright, 1965). Bei  $F_{IS} = 0$  herrschen panmiktische Verhältnisse innerhalb der Population. Diese Panmixie wird selten verwirklicht, da in der Wirklichkeit Selektionsvorgänge herrschen (Schaefer, 2012). Je höher die positiven Werte, desto höher das Ausmass an Inzucht (Tomiuk and Loeschcke, 2016). Sie ist umso wahrscheinlicher, je kleiner die Population ist. Wie bei der genetischen Drift hat dies zur Folge, dass die genetische Variation vermindert ist und dadurch die Fitness in einer Population abnimmt (Schaefer, 2012).

### **Flaschenhalseffekt**

Der Flaschenhalseffekt ist dann zu beobachten, wenn eine Population eine drastische Reduzierung in ihrer Populationsgrösse erfährt. In dieser Phase ist die genetische Variabilität stark verringert. Die

Population wird nur durch wenige Individuen erhalten. Dadurch sinkt die Chance, die genetische Variabilität über viele Generationen zu erhalten (Tomiuk and Loeschcke, 2016). Diese Population befindet sich dann nicht mehr in einem Mutations-Drift-Gleichgewicht. Eine Gendrift erfolgt, wenn die Allelfrequenzen in Populationen durch externe und zufällige Ereignisse verändert werden. Dabei können Allele verloren gehen (Schaefer, 2012). Mutationen, die zu neuen allelischen und selektionsneutralen Variationen führen, können dieser Drift aufgrund der reduzierten Populationsgrösse nicht mehr entgegenwirken (Tomiuk and Loeschcke, 2016). Ein Hinweis auf dieses Ungleichgewicht ist ein Heterozygotenüberschuss (Cornuet and Luikart, 1996). Das bedeutet, dass die beobachtete Heterozygotität in dieser kleinen Population grösser ist als die Heterozygotität, die bei einem Mutations-Drift-Gleichgewicht zu erwarten wäre (Piry et al., 1999).

### **Kopplungsungleichgewicht**

Mit der Bestimmung des Kopplungsungleichgewichts (engl. Linkage Disequilibrium = LD) kann eine stärkere oder geringere Verknüpfung (Assoziation) von zwei Allelen an ihren Genorten detektiert werden, als nach ihrer Frequenz zu erwarten wäre (Schaefer, 2012). Ist dies der Fall, dann basiert die gemeinsame Vererbung der nahe beieinander auf einem Chromosom vorkommenden Allele nicht aus reinem Zufall (Rossi et al., 2009, Schaefer, 2012). Ein gehäuftes Auftreten des LD kann auf eine nicht zufällige Partnerwahl oder auf eine sehr kleine Population hindeuten (Storch et al., 2013). Beispielsweise können die signifikanten Werte von Kopplungsungleichgewichten in Fischzuchten bis zu über 50% betragen (Vonlanthen et al., 2017). Diese Ungleichgewichte können aber auch aus Stichprobenfehlern während den Laborarbeiten resultieren. Diese müssten jedoch auf alle Datensätzen ersichtlich sein (Ruzzante et al., 2001).

### **Genetische Differenzierung**

Die genetische Differenzierung zwischen Populationen kann mit  $F_{ST}$ -Werten gemessen werden (Weir and Clark Cockerham, 1984). Die Werte liegen zwischen 0 und 1. Werte von nahe null bedeuten, dass die Subpopulationen genetisch identisch sind, d.h. die Allelfrequenzen sind in allen Subpopulationen ähnlich. Sind die Werte nahe bei 1, kann von einer genetischen Differenzierung und somit von einer nahezu vollständig getrennten Population ausgegangen werden (Reynolds et al., 1983). Der Austausch des genetischen Materials bei Paarung findet zwischen den verschiedenen Populationen in diesem Fall nicht statt (Kenchington and Heino, 2002; Schaefer, 2012). Hybridisierungen können ausgeschlossen werden (Schaefer, 2012).

Für solche genetische Untersuchungen werden molekulargenetische Methoden angewendet. Mit genetischen Markern können Erkenntnisse über die Populationsstruktur gewonnen werden.

## 2.2 Mikrosatelliten

Mikrosatelliten (oder auch Short Tandem Repeats, STRs) sind repetitiv nicht-codierende und kurze DNA-Sequenzen aus meist zwei bis sechs Basenpaaren (z.B. CA) und sind von spezifischen Sequenzen flankiert, die eine eindeutige chromosomale Zuordnung erlauben (Abbildung 1). Damit können Mikrosatelliten gezielt amplifiziert werden. Die Vervielfältigung solcher Mikrosatelliten erfolgt mittels der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und wird im Anschluss beispielsweise mithilfe einer Kapillarelektrophorese in einem Elektropherogramm analysiert (Graw, 2015).

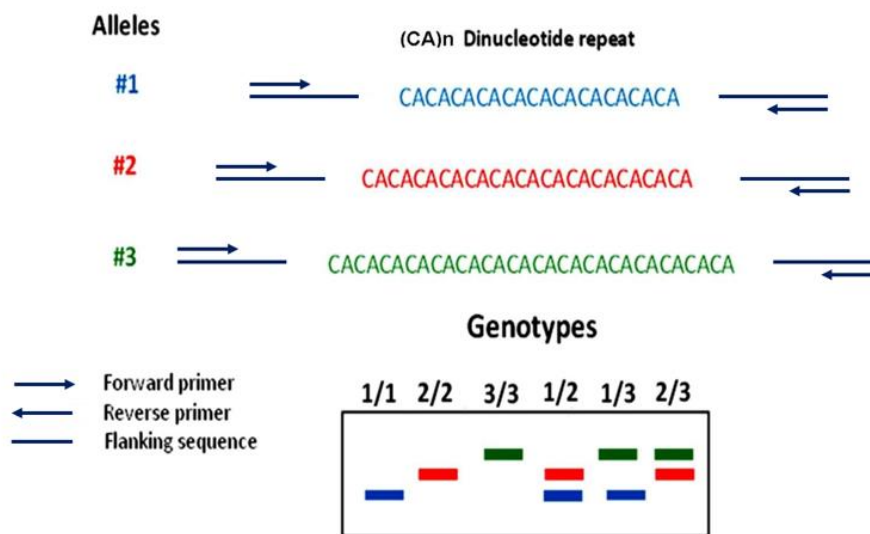


Abbildung 1: CA-Dinukleotid-Mikrosatellitenloci als Allele mit 11, 12 respektive 13 Dinukleotid-Wiederholungen mit den flankierenden DNA-Sequenzen und Vorwärts- und Rückwärts-Primer nach Alzohairy et al. (2015). Darunter abgebildet sind die daraus sechs unterschiedliche Variationen beziehungsweise Genotypen dargestellt.

Ein Vorteil der Mikrosatelliten liegt in ihrer genetischen Neutralität, da sie nicht für Proteine codieren. Sie kommen häufig und relativ gleichmässig im eukaryotischen Genom vor (Abdul-Muneer, 2014). Es ergeben sich dadurch keine Fitnessnachteile, da sie demzufolge nicht der natürlichen Selektion unterliegen (Abdul-Muneer, 2014; Kirk and Freeland, 2011). Durch die hohe Mutationsrate kann die Anzahl der Wiederholungsmotive kürzer oder länger werden. Daraus ergibt sich eine grosse allelische Vielfalt. Diese Variabilität ermöglicht es, nahverwandte Organismen zu unterscheiden und Individuen sehr genau zu charakterisieren (Tomiuk and Loeschcke, 2016). Deshalb sind Mikrosatelliten für populationsgenetische Studien besonders gut geeignet (Storch et al., 2013). Ein Nachteil zu anderen genetischen Markern wie beispielsweise der mitochondrialen DNA (mtDNA) ist, dass die Flankierungsregionen bei Mikrosatelliten manchmal Längenmutationen enthalten, die zu identischen Längen führen und dadurch die phylogenetische Untersuchungen beeinträchtigt werden können (Abdul-Muneer, 2014).

Mikrosatelliten wurden in vielen Studien mit *Salmo trutta* untersucht (Charles et al., 2005; Griffiths et al., 2009; Hansen et al., 2001; Horreo et al., 2015; Schmidt et al., 2017; Vilas et al., 2010). Dabei kann ein Individuum und dessen Abstammung aufgrund der unterschiedlichen DNA-Fragmentlängen (Allellängen) identifiziert werden, die auf die Häufigkeit der Wiederholungssequenz basieren (Graw, 2015). Mit einem Multiplex-Verfahren können mehrere Mikrosatelliten-Loci in einer einzigen PCR gleichzeitig amplifiziert werden. Dies hat den Vorteil, dass die Analyse effizienter ablaufen kann (T O'Reilly et al., 2011). Je mehr Loci analysiert werden, desto eindeutiger kann die Identität eines Individuums nach Abstammung bestimmt werden. Dies erlaubt eine schnelle Sequenzierung mit hoher Reichweite (Graw, 2015).

### 3 Material und Methode

#### 3.1 Probennahmen

Für die molekulargenetische Untersuchung wurden 95 Individuen der Art *Salmo trutta* aus den Zürichsee-Zuflüssen von der Fischerei- und Jagdverwaltung des Kantons Zürich im Dezember 2018 gefangen (Abbildung 2). Dabei handelt es sich um juvenile Forellen, die einen Sommer alt sind (Sömmerlinge). Davon stammen 29 aus dem Küsnachter Dorfbach (Küs DB) (Abbildung 3), 14 aus dem Erlenbacher Dorfbach (Erl DB), 31 aus dem Meilener Dorfbach (Mei DB) und 21 aus dem Feldbacher Bach (Fel B). Dazu wurden Fischflossen-Schnittproben entnommen und in Ethanol bei  $-20^{\circ}\text{C}$  gelagert. Zusätzlich wurden 48 Proben von den Besatzfischen aus der Fischzucht in Stäfa (FZ Stäfa), ebenfalls von der Fischerei- und Jagdverwaltung des Kantons Zürich, zur Verfügung gestellt. Deren Beprobung erfolgte im Dezember 2017 und Januar 2018. Bei diesen Individuen wurde die DNA im Dezember 2018 und Januar 2019 in einer anderen studentischen Arbeit extrahiert und deren Allele in einer weiteren studentischen Studie zwischen Februar und April bestimmt. Darüber hinaus wurden die Zuflüsse auf Wanderhindernisse überprüft. Die Auswertung erfolgte mit Geodatensätzen der Gewässer-Ökomorphologie des Kantons Zürich (AWEL, 2019a).

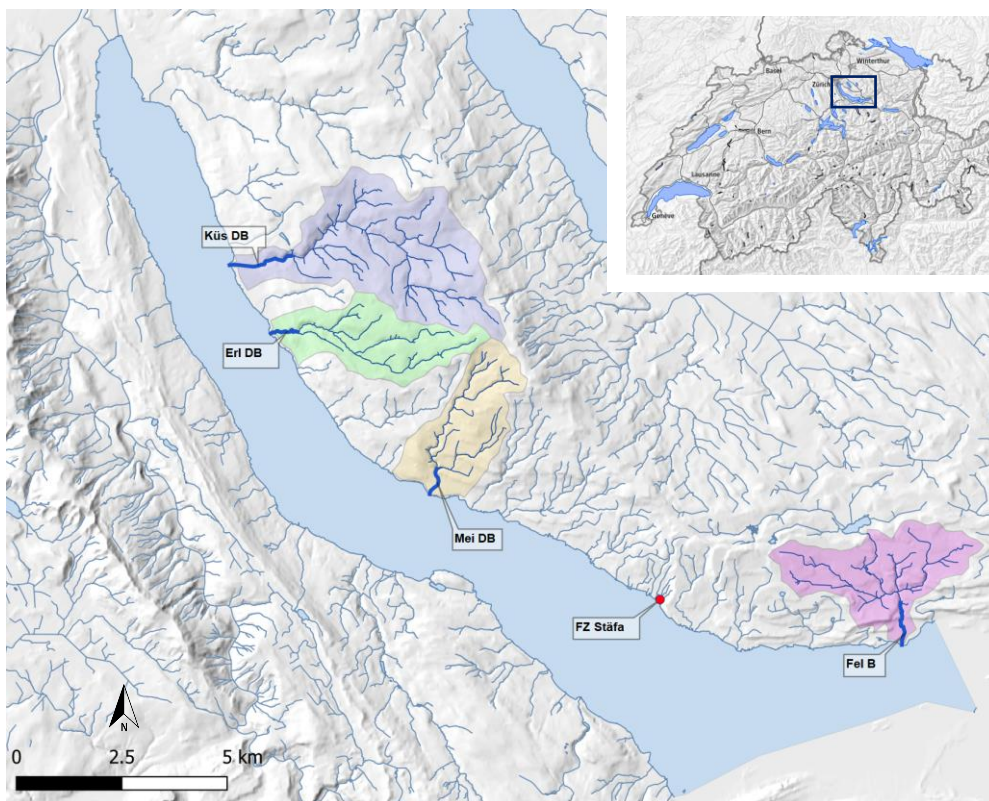


Abbildung 2: Karte mit den beprobten Zuflüssen des Kantons Zürich. Hervorgehoben sind die Dorfbäche von Küsnacht, Erlenbach, Meilen und Feldbach mit der Fischzucht in Stäfa. Die Fischereireviere sind farbig markiert. Visualisiert in QGIS, Version 3.4.1 (QGIS, 2018). Datenbezug über GeoLion, GIS-ZH Nr. 314 (ALN, 2018). Die Übersichtskarte von der Schweiz wurde in maps.geo.admin.ch erstellt (BAFU, 2019a).



Abbildung 3: Forelle (*Salmo trutta*) aus dem Küssnacher Dorfbach im Kantons Zürich, Aufnahme von der Fischerei- und Jagdverwaltung des Kantons Zürich.

### 3.2 DNA Extraktion

Für die DNA-Extraktion wurde jeweils 1 mm<sup>2</sup> der Proben verwendet. Die Proben der 95 Individuen wurden am 21. Februar 2019 nach dem Protokoll von Estoup et al. (1996) mit jeweils 150 µl Chelex (0.05 g/ml), 10 µl Tris-EDTA-Puffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM Dinatrium-EDTA, pH 8.0 und ddH<sub>2</sub>O) und 5 µl Proteinase K (10 mg/l) versetzt und mit einem Vortexgerät kurz durchmischt. Die Ansätze wurden anschliessend für eine Minute zentrifugiert (RCF = 855 × g). Für den Abbau der Proteine durch die Proteinase K wurden die Ansätze für 2 Stunden in einem Thermozykler (T100, BioRad, U.S.) bei 55° C inkubiert. Die DNA-Freisetzung durch die thermische Aufbrechung der Membrane erfolgte im selben Thermozykler bei 95° C für 10 Minuten. Dabei wird die DNA-Degradierung bei Chelex-Zugabe durch die Hitze einwirkung verhindert (Singer-Sam et al., 1989). Des Weiteren dient dieser Prozess zur Inaktivierung der Proteinase K, die bei der anschliessenden PCR die notwendigen Enzyme abbauen könnte (Higuchi, 1989). Nach dem fünfminütigen Zentrifugationsschritt bei RCF = 2'357 × g wurde jeweils 60 µl des DNA-enhaltenen Überstandes in eine sterile Mikrotiterplatte pipettiert und über eine Woche im Gefrierschrank bei -20° C gelagert.

### 3.3 Amplifikation mittels PCR

Die Amplifizierung der DNA-Sequenzen erfolgte mit drei Multiplex-Sets (Tabelle 1) durch die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) mit einem Thermozykler (T100, BioRad, U.S.) Die Multiplex-Kits 1 und 2 bestanden aus sieben beziehungsweise sechs Primerpaaren für die Untersuchung der unterschiedlichen Mikrosatelliten-Loci, wobei drei davon nicht erfolgreich amplifiziert wurden und deren Genotypisierung somit entfiel. Das Multiplex-Set 3 enthielt 9 Mikrosatelliten-Marker, die von dem

Eidgenössischen Wasserforschungsinstitut (EAWAG) zur Verfügung gestellt wurden, deren Sequenzen hier jedoch nicht im Detail aufgeführt werden, da sie noch nicht veröffentlicht sind. Insgesamt wurden die Individuen mit 19 Mikrosatelliten-Markern genotypisiert.

Für die 95 Individuen wurde ein PCR-Reaktionsgemisch mit unterschiedlichen Primer-Volumen hergestellt. Der Master-Mix enthielt 250 µl des QIAGEN Multiplex PCR Kit (HotStarTaq-DNA-Polymerase 5 U/µl, Q-Lösung, PCR-Puffer und MgCl<sub>2</sub> 3 mM) , 175 µl ultrareines H<sub>2</sub>O und 11.5 µl des Primer-Gemisches 1, beziehungsweise 14 µl des Primer-Mix 2, respektive 15 µl des Primer-Mix 3. Anschliessend wurden die drei PCR-Ansätze geschüttelt bevor davon jeweils 4.25 µl mit 0.75 µl der DNA-Vorlage in die einzelnen «wells» einer sterilen PCR-Platte pipettiert und mit den in Tabelle 2 und Tabelle 3 angegebenen Programmen amplifiziert wurden.

Tabelle 1: Angewendete Multiplex Sets mit Locus, Mikrosatelliten, Referenz und Fragmentlänge in Basenpaaren.

	<b>Locus</b>	<b>Mikrosatelliten</b>	<b>Quelle</b>	<b>Fragmentlänge (bp)</b>
Multiplex 1	Str 15	(GT) <sub>13</sub>	(Estoup et al., 1993)	190-245
	Str 73	(GT) <sub>13</sub> TTATCT(GT) <sub>3</sub>	(Estoup et al., 1993)	135-165
	Ssa 85	(GT) <sub>14</sub>	(T O'Reilly et al., 2011)	100-125
	Ssa 100	(AC) <sub>38</sub>	unveröffentlicht	90-130
	Ssa 197	(GT) <sub>5</sub> C(TG) <sub>4</sub> TC(TG) <sub>3</sub> A(GTGA) <sub>15</sub>	(T O'Reilly et al., 2011)	105-200
	SsoSL 417	(TG) <sub>25</sub>	(Slettan et al., 1995)	160-217
Multiplex 2	Str 60	(CT) <sub>13</sub> ACCA(CT) <sub>3</sub>	(Estoup et al., 1993)	85-115
	Str 543	(CT) <sub>n</sub>	(Presa and Guyomard, 1996)	120-176
	Str 591	(CT) <sub>n</sub>	(Presa and Guyomard, 1996)	145-200
	SL 438	(GT) <sub>26</sub>	(Slettan et al., 1996)	100-122
Multiplex 3	1719572	EAWAG spezifisch	unveröffentlicht	210-288
	247894	EAWAG spezifisch	unveröffentlicht	95-226
	250063	EAWAG spezifisch	unveröffentlicht	166-223
	1540414	EAWAG spezifisch	unveröffentlicht	45-188
	362336	EAWAG spezifisch	unveröffentlicht	198-282
	761791	EAWAG spezifisch	unveröffentlicht	219-293
	103632	EAWAG spezifisch	unveröffentlicht	124-156
	1309228	EAWAG spezifisch	unveröffentlicht	81-112
	1256664	EAWAG spezifisch	unveröffentlicht	109-126



Tabelle 2: Bedingungen der PCR-Schritte für das Multiplex-Set 1 und 2. Angegeben sind die Vorgänge mit der Dauer, Temperatur und Wiederholungen des zweiten bis vierten Schrittes.

PCR-Schritt	Dauer	Temperatur	Wiederholung
1. Initiale Denaturierung	15 min	94 °C	
2. Denaturierung	30 s	94 °C	
3. Primer-Hybridisierung	90 s	54 °C	35x
4. Elongation	90 s	72 °C	
5. Abschliessender Extensionsschritt	30 min	60 °C	

Tabelle 3: Bedingungen der PCR-Schritte für das Multiplex-Set 3. Angegeben sind die Vorgänge mit der Dauer, Temperatur und Wiederholungen des zweiten bis vierten Schrittes.

PCR-Schritt	Dauer	Temperatur	Wiederholung
1. Initiale Denaturierung	15 min	95 °C	
2. Denaturierung	30 s	95 °C	
3. Primer-Hybridisierung	45 s	56 °C	35x
4. Elongation	45 s	72 °C	
5. Abschliessender Extensionsschritt	30 min	72 °C	

### 3.4 Genotypisierung mittels Kapillarelektrophorese

5 µl der PCR-Produkte wurden 1:16 mit reinem Wasser verdünnt, gevortext und für 1 min bei  $RCF = 2'357 \times g$  zentrifugiert. Für die Sequenzierung wurden 7.5 µl Standard LIZ600, ein farbstoff-beschrifteter High-Density-Größenstandard, und 900 µl Formamide (ABI Hi-Di) in einem 1.5 ml Zentrifugenröhrchen gemischt und geschüttelt. Davon wurde jeweils 9 µl mit 0.9 µl verdünntem PCR-Produkt in eine ABI-Platte transferiert und mit einer adhäsiven Folie verschlossen. Anschliessend wurde die Platte gevortext und zentrifugiert (1 min bei  $RCF = 2'357 \times g$ ). Die anschliessende Denaturierung erfolgte im Thermozykler für 2 Minuten bei 92 °C. Die Proben wurden danach im Sequenzierer (Genetic Analyzer 3500, Applied Biosystems) fragmentiert und die Scoring-Analyse fand mit dem Programm GeneMapper (Version 5, Applied Biosystems) statt.

Alle verwendeten Chemikalien sowie Geräte sind im Anhang B und die Scoring-Analyse im Anhang C zu finden.



### 3.5 Datenanalyse

Bei Verlust eines Markers durch fehlende Amplifizierung während des PCR-Vorganges können populationsgenetische Untersuchungen zu Fehlinterpretationen führen (Carlsson, 2008). Dabei handelt es sich um sogenannte Nullallele. Um diese zu detektieren, wurde das Programm Microchecker Version 2.2.3 (Oosterhout et al., 2004) verwendet. Die Auswertung erfolgte nach der Methode von Brookfield 2 (1996). Die Überprüfung, ob sich die Populationen im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht befinden, erfolgte mit dem Programm Arlequin Version 3.5 (Excoffier and Lischer, 2010). Dabei wurde die erwartete Heterozygotenrate ( $H_e$ ) mit der beobachteten Heterozygotenrate ( $H_o$ ) einer Population unter Hardy-Weinberg-Bedingungen verglichen.

#### Genetische Variabilität zwischen und innerhalb der Populationen

Mit dem Programm FSTAT, Version 2.9.4 (Goudet, 2005) wurde die totale Anzahl der Allele (AN) pro Population definiert und mit der effektiven Allelzahl (AR = «Allelic Richness») verglichen. Mit demselben Programm wurde der Fixierungsindex  $F_{IS}$  für den Inzuchtkoeffizienten ausgewertet und auf signifikante Abweichungen von Null überprüft. Populationen mit negativen  $F_{IS}$ -Werten, die auf einen Heterozygotenüberschuss hinweisen, wurden zusätzlich mit dem Programm BOTTLENECK Version 1.2.02 (Piry et al., 1999) auf Abweichungen des Mutations-Drift-Gleichgewichts kontrolliert. Dabei wurde die Methode «two phased model» (TPM) angewendet, die für Mikrosatelliten geeignet sind (Piry et al., 1999). Die Bestimmung des Kopplungsungleichgewichts erfolgte im Programm GenePop, Version 4.2 (Rousset, 2008) mit 10'000 Permutationen, 100 Batches und 1'000 Wiederholungen je Batch. Dabei wurde der Wahrscheinlichkeitstest zwischen allen Loci-Paaren in jeder Population ausgeführt. Die angepasste, statistische Signifikanz  $p^*$  wurde mit einer Bonferroni-Korrektur erlangt (Rice, 1989).

#### Genetische Differenzierung

Die paarweisen  $F_{ST}$ -Werte, welche die genetische Differenzierung zwischen den Populationen messen (Weir and Clark Cockerham, 1984), wurden mit Arlequin berechnet. Die Untersuchung der Populationsstruktur erfolgte mit der Bayesischen-Cluster-Methode durch das Programm STRUCTURE (Pritchard et al., 2000). Dabei wurden mittels der 19 Mikrosatelliten-Marker das Vorhandensein unterschiedlicher Populationen abgeleitet und die untersuchten Individuen mit einer Wahrscheinlichkeit zu den Populationen visuell zugeordnet. Um die Anzahl der genetischen Gruppen zu ermitteln, wurde eine Clusteranalyse durchgeführt. Mithilfe der Evanno-Methode (Evanno et al., 2005) wurde mit dem Web-Programm CLUMPAK (Kopelman et al., 2015) die Anzahl der Cluster-Gruppen (K) ermittelt, die am besten zum Datensatz passen. Die Analyse fand mit einer Einbrenn-Periodenlänge (Burnin-period) von 200'000 und Markov Chain Monte Carlo (MCMC) Wiederholungen von 300'000 statt. Mit der Einbrennphase wurden die ersten 200'000 Iterationen eines MCMC-Laufs eliminiert, um die Auswirkungen der Startkonfiguration auf die zu erreichende Gleichgewichtsverteilung in der

Markov-Kette zu minimieren (Pritchard et al., 2000). Die wahrscheinlichste Anzahl von  $K$  wurde mit dem Maximalwert des Wahrscheinlichkeits-Graphen  $\ln(K)$  ausgedrückt. Dieser Test wurde mit 10 Wiederholungen ausgeführt. Zusätzlich wurde für das wahrscheinlichste  $K$  eine ad hoc Statistik für die Bestimmung des  $\Delta K$  herangezogen. Das  $\Delta K$  ist die Änderungsrate der Wahrscheinlichkeitsfunktion  $\ln(K)$  der zweiten Ordnung und zeigt aufgrund des Steigungsbruchs der Verteilung von  $L(K)$  einen Höchstwert beim wahrscheinlichsten  $K$  (Evanno et al., 2005)

In Anlehnung an Nagy et al. (2012) variieren die Marker in ihrem Informationsgehalt. Je polymorpher beziehungsweise wenn mehrere Allele an einem Locus detektiert werden können, desto eher sind sie aufgrund ihrer hohen Informationsqualität für populationsgenetische Untersuchung geeignet. Dazu bildet ein hoher Heterozygotiegrad die Basis der Polymorphie. Aufgrund des kostenintensiven Prozesses, welcher von der Anzahl der verwendeten Mikrosatelliten-Markern und Individuen abhängig ist (Arthofer et al., 2017), wurde der gleiche Vorgang mit den 12 polymorphsten von den ursprünglich 19 Markern durchgeführt, um zu testen, ob die Individuen mit ähnlichen Wahrscheinlichkeiten zu den gleichen Cluster-Gruppen zugeordnet werden wie mit den 19 Mikrosatelliten-Markern.

Eine Hauptkoordinatenanalyse (PCoA) wurde auf Basis der genetischen Distanzen der 143 Individuen nach Nei's «standard genetic distance» (Nei, 1972) mit dem Programm GenAlEx, Version 5 (Peakall and Smouse, 2012) durchgeführt und visualisiert. Durch das Verfahren der metrischen, multidimensionalen Skalierung werden die Populationen räumlich nach ihren genetische Ähnlichkeiten beziehungsweise Unterschieden auf den Achsen eines Koordinatensystems abgebildet (Gower, 2005; Leyer and Wesche, 2007).

## 4 Resultate

### 4.1 Wanderhindernisse

In den Fischereirevieren der Zuflüsse bestehen 31 künstliche Wanderhindernisse (ohne Abstürze). In Küs DB sind 14 Geschieberückhaltesperren, 6 wenig raue bis glatte Sohlrampen, eine Furt und eine Stauwehr zu finden. Ein Hindernis wurde als unbekannt eingestuft. Zusätzlich bestehen dort 354 über 70 cm hohe künstliche Abstürze, die den Zugang zu den Laichplätzen erschweren könnten. In Erl DB befinden sich 4 Geschieberückhaltesperren, zwei glatte Sohlrampen und 20 künstliche Abstürze (> 70 cm). In Mei DB ist eine Stauwehr als künstliche Barriere vorzufinden und 25 künstliche Abstürze (> 70 cm). In Fel B gibt es eine glatte Sohlrampe und 5 künstliche, über 70 cm hohe Abstürze. Eine Karte mit den erwähnten Hindernissen ist im Anhang A zu finden.

### 4.2 Überprüfung der Mikrosatelliten-Marker

Die analysierten Datensätze beinhalteten einschliesslich der Fischzucht Stäfa insgesamt 143 Individuen und 19 Mikrosatelliten-Marker. Bei der Scoring-Analyse der Sequenzierungen im GeneMapper (Version 5, Applied Biosystems) konnten Allele bei einer Seeforelle (ID=536) im Erlenbacher Bach an 7 Loci (103632, 362336, 7611791, 1256664, 1309228, 1540414 und 1719572) aufgrund schlechter Auflösung (Stutterpeaks) nicht identifiziert werden. Ebenso wurden Stutterpeaks bei der Forelle (ID=216) im Küsnachter Dorfbach an 4 Loci (103632, 362336, 761791 und 1719572) und bei der Forelle (ID=231) an einem Locus (761791) beobachtet. Im Feldbacher Bach erschien dasselbe bei der Forelle (ID=599) an 4 anderen Loci (Ssa197, SsoSL417, Str 15 und Str 73). Diese wurden bei der Auswertung ausgelassen. Die Ergebnisse im MicroChecker zeigten Hinweise auf Nullallele an drei verschiedenen Loci (1256664 in FZ Stäfa, Str543 in Küs DB und 1540414 in Mei DB (Anhang D). Diese Marker wurden bei der statistischen Analyse jedoch beibehalten. Nach Bogdanowicz et al. (2017) müssen Nullallele nicht zwingend mit einem Locus-spezifischen Problem verknüpft sein. Nullallele können auch auf eine populationsspezifische Allel-Verteilung hindeuten.

### 4.3 Genetische Variabilität innerhalb der Populationen

Die Werte der beobachteten Allele (AN) in den jeweiligen Populationen lagen zwischen 3.89 (FZ Stäfa) und 8.05 (Küs DB), wobei die der effektiven Anzahl Allele (AR) von 3.24 (FZ Stäfa) bis 6.45 (Fel B) reichten, mit einem Mittelwert von 5.47 über alle Populationen (Abbildung 4). Die genetische Variabilität bei Küs DB und Fel B war im Vergleich zu den anderen Standorten am höchsten, wobei beim letzteren der Höchstwert ermittelt werden konnte. Die genetische Vielfalt bei der FZStäfa wies den tiefsten Wert auf.

Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWG  $p$ -Wert  $< 0.05$ ) konnten in allen Populationen festgestellt werden. Die meisten befanden sich in der FZ Stäfa an 11 verschiedenen Loci (247894, 250063, 362336, 1256664, 1540414, 1719572, SL438, Ssa100, Ssa197, Ssa85 und SsoSL417). Fünf Loci wichen jeweils in den Populationen K s DB und Fel B vom HWG ab (250063, 362336, 761791, Str543 und Str73 respektive 247894, 250063, 362336, 1540414 und Ssa100). In Mei DB waren 4 Loci nicht im HWG (362336, 1309228, 1540414 und Ssa85) und im Erlenbacher Bach ein Locus (SsoSL417) (siehe Anhang E). Die Mittelwerte jeder Population sind in der Tabelle 4 aufgeführt.

Die erwartete Heterozygotität variierte pro Locus und Population zwischen 0.121 und 0.933. Der kleinste Wert wurde in der FZ Stäfa am Locus 1256664 beobachtet, der Grösste in K s DB am Locus 247894 (siehe Anhang E). Ein negativer  $F_{IS}$ -Wert wurde in der FZ Stäfa gemessen (Tabelle 4). Dieser Wert weist auf einen Heterozygotenüberschuss hin. Diese Beobachtung wurde zusätzlich überprüft. Es konnte eine signifikante Abweichung ( $p < 0.05$ ) des Mutations-Drift-Gleichgewichts festgestellt werden. Dies bedeutet, dass die Population kürzlich einen Flaschenhals durchlaufen haben musste. Im Gegensatz dazu wiesen die anderen Populationen positive  $F_{IS}$ -Werte aus. Diese waren, ausser jenem Wert im Fel B nicht signifikant (Tabelle 4).

Die höchste Anzahl an gekoppelten Loci-Paaren, die sich signifikant nicht im Gleichgewicht befanden, wurde in der FZ Stäfa ermittelt. Nach der Bonferroni-Korrektur ( $p^* < 2.9 \cdot 10^{-4}$ ) (Rice, 1989) waren 19 Loci-Paare von 171 Kombinationsmöglichkeiten (11.11 %) im Ungleichgewicht. Im K s DB waren 2.92% von den möglichen Loci-Paar-Kombinationen im Kopplungsungleichgewicht. Ebenso wurden dies im Mei DB und Fel B beobachtet (1.75% respektive 0.58%).

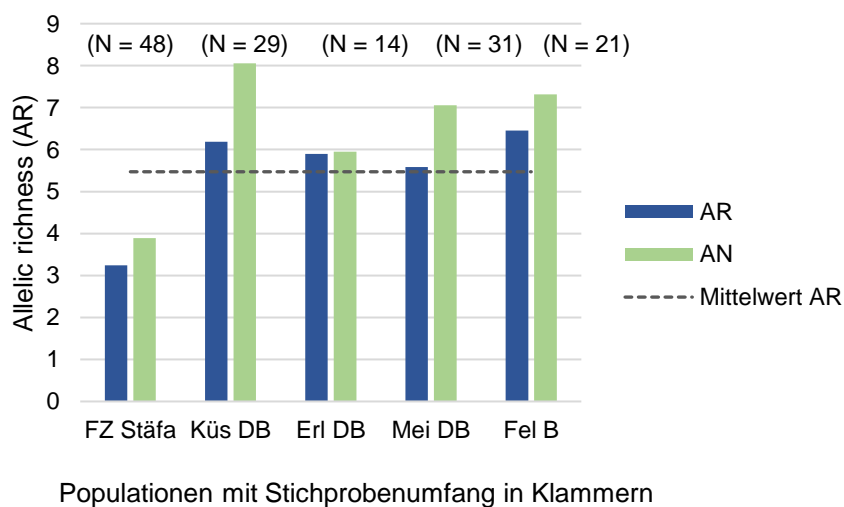


Abbildung 4: Auswertung der durchschnittlichen Anzahl Allele pro Population (AN), der stichprobenkorrigierten Anzahl der Allele pro Population (AR) und des Mittelwertes des AR über alle Populationen.

Tabelle 4: Zusammengefasste Auswertung für die beprobten Seeforellen in den Zürichsee-Zuflüssen. N = Anzahl Individuen, H<sub>O</sub> = beobachtete Heterozygotität, H<sub>E</sub> = erwartete Heterozygotität, HWG p-Wert = Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht, FIS = Inzuchtkoeffizient mit Signifikanz-Wert und N LD = Anzahl an Kopplungsungleichgewichten mit  $p < 0.05$  und  $p^* < 2.9 \cdot 10^{-4}$  (adjustierter Signifikanzwert nach der Bonferroni-Korrektur).

Standorte	N	H <sub>O</sub>	H <sub>E</sub>	HWG p-Wert	FIS	p-Wert	N LD (p<0.05)	N LD (p*<2.9*10 <sup>-4</sup> )
FZ Stäfa	48	0.62	0.54	0.16	-0.144	n.s.	95	19
Küs DB	29	0.69	0.71	0.35	0.027	n.s.	24	5
Erl DB	14	0.67	0.69	0.59	0.037	n.s.	5	0
Mei DB	31	0.65	0.66	0.33	0.011	n.s.	27	3
Fel B	21	0.68	0.72	0.44	0.048	<0.05	11	1

#### 4.4 Genetische Differenzierung zwischen den Populationen

Die Fixierungsindices  $F_{ST}$  des Muttertierstammes (FZ Stäfa) waren mit den hoch signifikanten Werten von 0.032 bis 0.100 am höchsten (Tabelle 5). Sie unterscheiden sich also «stark» von den Forellen aus den anderen Zuflüssen in ihrer Genetik. Die geringsten genetische Unterschiede zwischen den Elterntieren in Stäfa und den anderen Standorten zeigte der Vergleich mit Mei DB ( $F_{ST} = 0.032$ ). Die zwei negativen Werte zwischen Küs DB und Erl DB sowie Erl DB und Mei DB befanden sich im nicht signifikanten Bereich und können als 0 gewertet werden. Die grössten genetischen Unterschiede zwischen den Forellen aus den verschiedenen Zuflüssen zeigten die Werte mit Fel B ( $F_{ST} = 0.100$ ), während die Forellen in den Bächen Küsnacht, Erlenbach und Meilen sich genetisch gering voneinander unterschieden.

Tabelle 5: Paarweise  $F_{ST}$ -Werte zwischen den verschiedenen Populationen und der Muttertierstammhaltung in Stäfa mittels den 19 Microsatelliten-Loci.: Distanz-Methode. Anzahl Permutationen: 10'100. Signifikanz-Werte oberhalb der Diagonalen. Signifikanzbereich, \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p < 0.001$ , n.s. (nicht signifikant):  $p > 0.05$

Standorte	FZ Stäfa	Küs DB	Erl DB	Mei DB	Fel B
FZ Stäfa	-	***	***	***	***
Küs DB	0.051	-	n.s.	*	**
Erl DB	0.042	-0.007	-	n.s.	n.s.
Mei DB	0.032	0.007	-0.001	-	***
Fel B	0.100	0.017	0.014	0.032	-

Die Berechnung des Maximalwertes des  $\ln(K)$  mit dem Web-Programm CLUMPAK (Kopelman et al., 2015) lag bei  $K = 5$ , wobei die präzisere Schätzung der Clusters  $K$  nach Evanno et al. (2005) durch  $\Delta K$  erfolgte und einen Höchstwert bei  $K=3$  aufwies (Abbildung 5). Damit wurden die Individuen in drei Hauptclustergruppen eingeteilt.

Basierend auf den Allelfrequenzen der 143 Individuen mit 19 Mikrosatelliten-Loci wird in Abbildung 6 ersichtlich, dass die in der FZ Stäfa befindenden Fische ( $N = 48$ ) in zwei Subpopulationen eingeteilt werden. 6 Individuen bilden eine Subpopulation, die anderen 42 Individuen eine andere Subpopulation. Bei Fel B ( $N = 21$ ) konnten 80 % der Individuen mit hoher Wahrscheinlichkeit einer Population zugeordnet werden. Die anderen 4 Individuen könnten den Subpopulationen und zwei davon als vermutliche Hybride der FZ Stäfa eingeteilt werden.

Beim Küs DB ( $N = 29$ ) konnten 12 Individuen mit einer Wahrscheinlichkeit von über 80% der Population von Fel B zugeteilt werden, während die anderen Individuen vermutlich der FZ Stäfa angehörten. Beinahe die Hälfte der beprobten Individuen des Erl DB ( $N = 14$ ) können mit hoher Wahrscheinlichkeit zur Population Fel B eingeteilt werden. Die Seeforellen aus dem Mei DB können mit 8 Individuen genetisch den Elterntieren in der FZ Stäfa zugewiesen werden.

Die Auswertung mit 12 Mikrosatelliten-Markern ( $K=3$ ) zeigte, dass die Analyse zu ähnlichen Ergebnissen führte. Nur bei einem Individuum (Küs DB, Abbildung 7) wich die Zuordnung leicht ab.

Die Analyse mit 5 wahrscheinlichen Cluster-Gruppen bot eine höhere Auflösung der Individuenzuordnung. In Abbildung 8 wird ersichtlich, dass 8 Seeforellen aus dem Fel B (gelb) mit grosser Wahrscheinlichkeit eine Population darstellen sowie 8 Individuen des Mei DB (grün) eine eigene Population bilden, deren eindeutige Zuweisung in anderen Zuflüssen nicht beobachtet werden konnten. Weiterhin konnte festgestellt werden, dass 11 Forellen vom Küs DB einer eigenen Population angehören, die sich mit den Forellen im Fel B vermischt haben könnten. Die Zuordnung mit 12 Mikrosatelliten-Markern wich leicht von der ursprünglichen Cluster-Analyse ab. Angenommene Hybride (Zuteilung 50:50) nahmen bei  $K = 5$  ab. Diese Individuen wurden eindeutiger respektive mit einer höheren Wahrscheinlichkeit einer Population zugeordnet. In Abbildung 8 und Abbildung 9 wurden diese Hybride im Küs DB und Fel B rot umrandet.

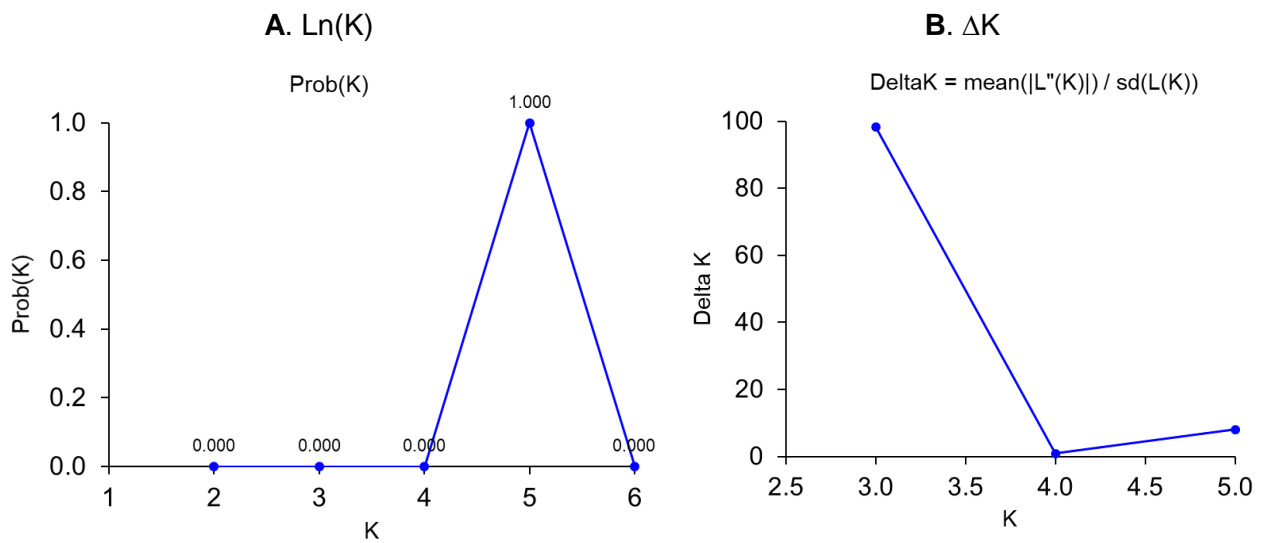


Abbildung 5: **A.** Grafische Visualisierung der logarithmischen Wahrscheinlichkeit von K mit allen 143 Proben und 19 Mikrosatelliten-Loci zur Bestimmung der wahrscheinlichsten Anzahl an Cluster-Gruppen K nach Pritchard et al. (2000) mit CLUMPAK (Kopelman et al., 2015) von K = 2 bis K = 6. Maximalwert bei K = 5. **B.** Mit der ad hoc Statistik nach (Evanno et al., 2005) wurde bei ΔK ein Höchstwert von K = 3 ermittelt. Mit dieser Methode werden die 143 Individuen in drei Hauptclustergruppen eingeteilt.

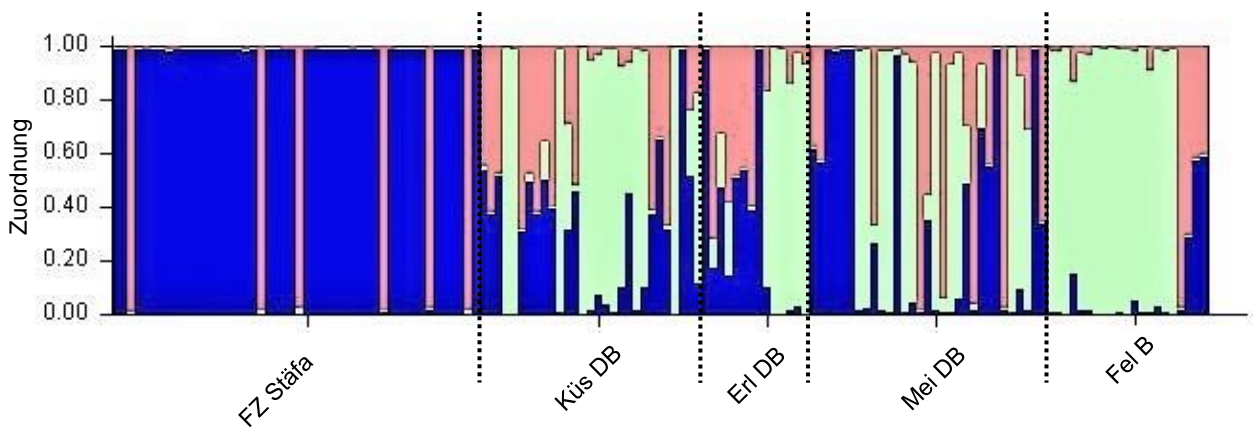


Abbildung 6: Structure bar plot zur Visualisierung der Populationsstruktur der beprobten Seeforellen mit 19 Mikrosatelliten-Markern. Die unterschiedlichen Farben symbolisieren 3 als wahrscheinlich angenommene Genotypcluster mit K = 3. Die x-Achse repräsentiert die Herkunft der einzelnen Individuen, die mit jeweils senkrechten farbigen Balken gekennzeichnet sind. Treten in einem Balken mehrere Farben auf, so ist die Unsicherheit der Zuordnung des Individuums zur Herkunft mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit (Y-Achse) zu deuten (Pritchard et al., 2000).

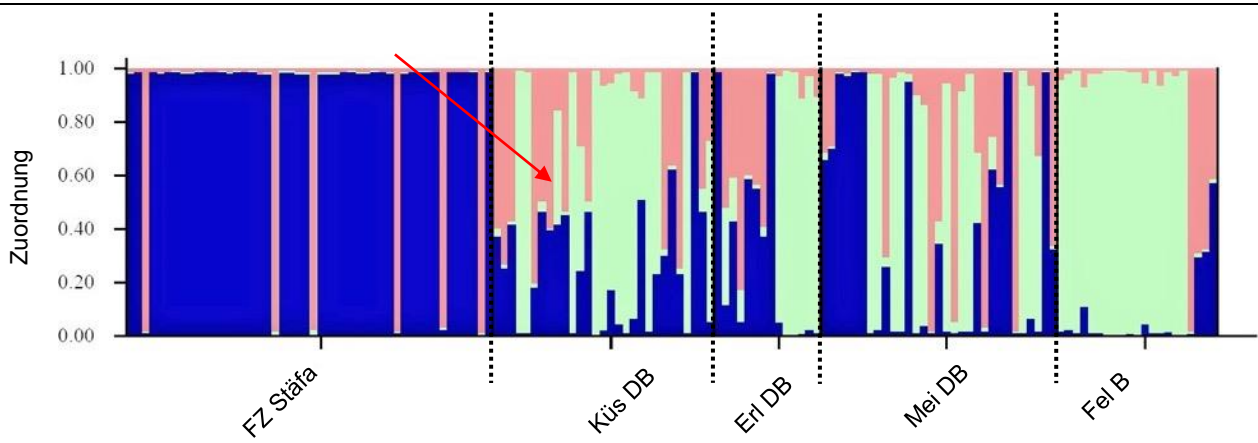


Abbildung 7: Structure bar plot zur Visualisierung der Populationsstruktur der beprobten Seeforellen im Vergleich mit 12 Mikrosatelliten-Markern, die den höchsten Polymorphiegrad aufwiesen. K = 3. Auffallende Abweichung wurde bei einem Individuum von N=143 festgestellt (rot gekennzeichnet).

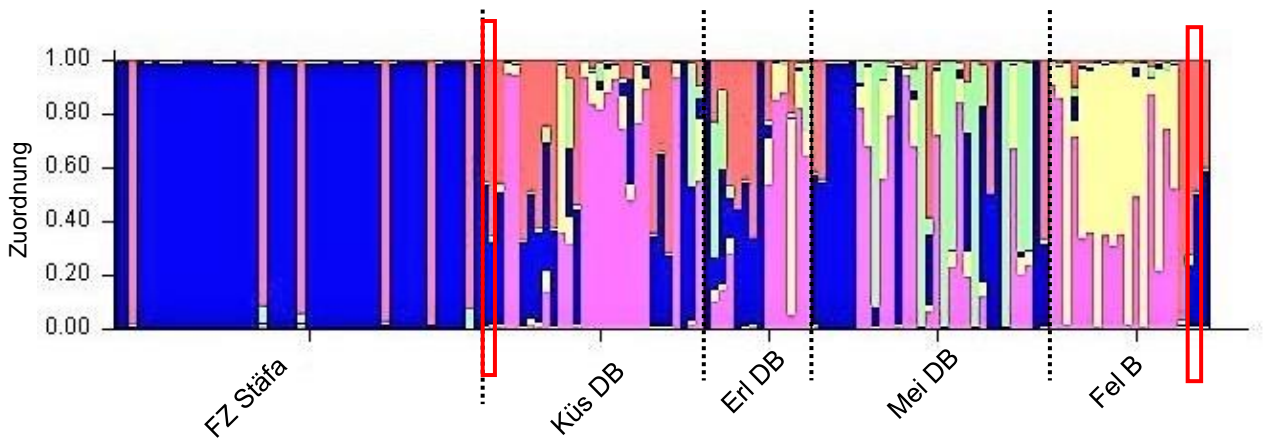


Abbildung 8: Structure bar plot zur Visualisierung der Populationsstruktur der beprobten Seeforellen mit 19 Mikrosatelliten-Marker und K = 5. Treten in einem Balken mehrere Farben auf, so ist die Unsicherheit der Zuordnung des Individuums zur Herkunft mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit (Y-Achse) zu deuten (Pritchard et al., 2000).

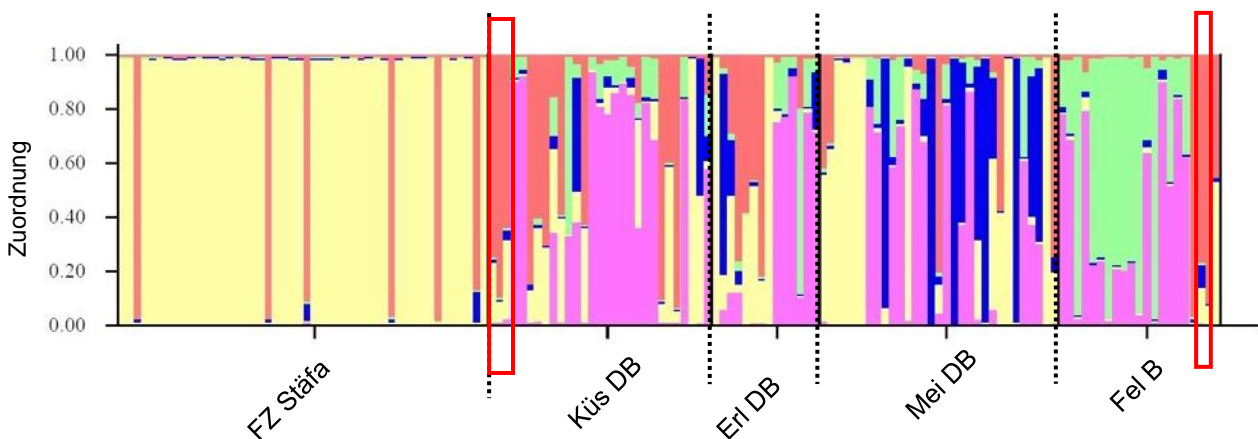


Abbildung 9: Structure bar plot zur Visualisierung der Populationsstruktur der beprobten Seeforellen im Vergleich mit 12 Mikrosatelliten-Markern, die den höchsten Polymorphiegrad aufwiesen. K = 5.



Die Ergebnisse der PCoA mit GenAlEx (Peakall and Smouse, 2012) lieferten Hinweise auf die genetischen Unterschiede zwischen den Populationen (Abbildung 10). Die Gesamtvarianz der ersten beiden Hauptkoordinaten betrug 91.86 %, wobei die erste Dimension 80.70 % der genetischen Varianz erklärte und die zweite Dimension 11.16 %. Die fünf untersuchten Populationen wurden in drei Hauptclustergruppen aufgetrennt. K s DB, Erl DB und Mei DB bilden jeweils eine Clustergruppe, wobei Mei DB etwas entfernter liegt. Von allen fünf Populationen sind sich diese genetisch am ähnlichsten. Die FZ Stäfa bildet eine Clustereinheit und Fel B ebenso. Die genetische Distanz zwischen Fel B und FZ Stäfa ist am grössten. Der Abstand zwischen FZ Stäfa und Mei DB ist am niedrigsten. Diese Beobachtung deckt sich nicht mit der geographischen Verteilung. Von der geografischen Lage ist Fel B der FZ Stäfa am nächsten (< 6 km). K s DB liegt von der FZ Stäfa am weitesten entfernt (> 16 km). Die geographische Distanz zwischen FZ Stäfa und Mei DB beträgt < 8 km. Die drei Dorf-b che K s DB Erl DB und Mei DB liegen in einem Umkreis von weniger als 8 km (gemessen in map.geo.admin.ch, (BAFU, 2019a)).

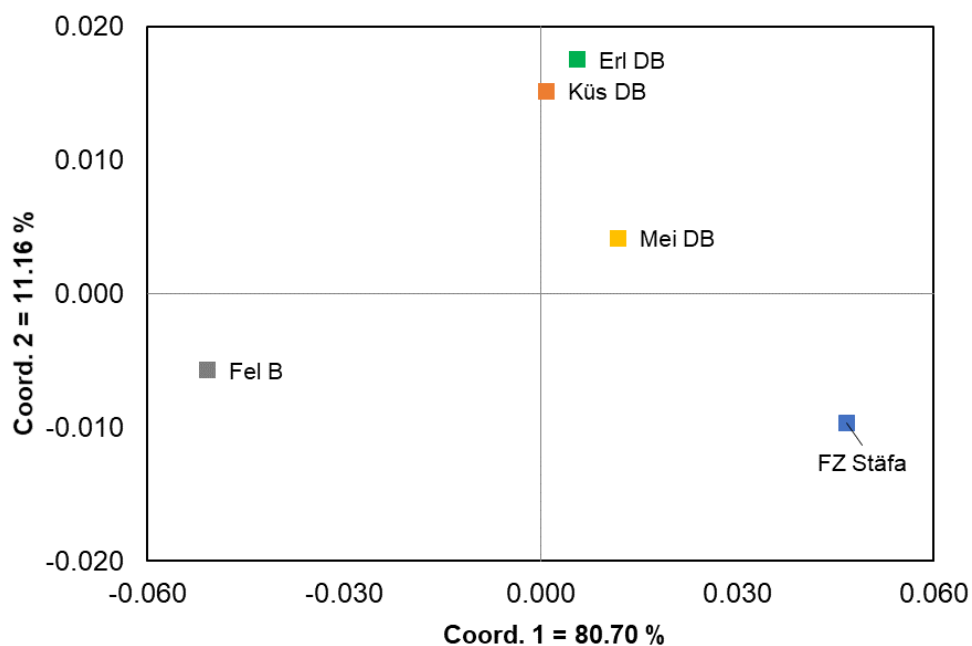


Abbildung 10: Visualisierung der genetischen Distanz zwischen den Populationen von *Salmo trutta* mit der PCoA-Analyse basierend auf 19 Mikrosatelliten und 143 Individuen. Jede Farbe repräsentiert eine Population. Die Achsen stellen den Prozentsatz der genetisch beobachteten Variation dar.

## 5 Diskussion

Das Ziel dieser Arbeit war die Beurteilung, ob die Besatzpraktik mit den Nachkömmlingen aus der FZ Stäfa in den vier untersuchten Dorfbächen geeignet ist. Die Ergebnisse zeigten deutliche genetische Unterschiede zwischen dem Muttertierstamm-Besatz und den untersuchten Populationen aus den Dorfbächen. Darüber hinaus lieferten die Ergebnisse den Nachweis, dass die genetische Vielfalt in der FZ Stäfa am niedrigsten war. Diese ist aber für eine Art überlebenswichtig.

### 5.1 Nullallele

Die Daten wurden zuerst auf Nullallele überprüft. Tatsächlich konnten beim Locus 1256664 Anzeichen von Nullallelen bei 9 Tieren der FZ in Stäfa nach der Methode von Brookfield 2 (1996) entdeckt werden. Jedoch wurden in den Dorfbächen von Küsnacht und Meilen ebenfalls Nullallele an jeweils einem Locus ermittelt (3 Individuen an Str543 respektive 3 Individuen an 1540414). Da die Nullallele an verschiedenen Loci in unterschiedlichen Populationen vorhanden waren, wurden diese bei der Auswertung beibehalten. Nach Bogdanowicz et al. (2017) können Nullallele auch mit einer populationspezifische Allel-Verteilung zusammenhängen. Hinweise auf Nullallele müssen nicht zwangsläufig an einem Locus-spezifischen Problem liegen. Dies ist besonders wahrscheinlich, wenn unterschiedliche Loci in unterschiedlichen Populationen betroffen sind.

### 5.2 Genetische Differenzierung zwischen den Populationen

Die hohe genetische Differenzierung (hohe  $F_{ST}$ -Werte) zwischen dem Muttertierstamm-Besatz und den Populationen der anderen Dorfbächen legt dar, dass die Seeforellen in der FZ Stäfa für Besatzmassnahmen nicht geeignet sind. Laut VBGF (2018) gelten Fische, die mit der Population ihres Einsatzortes genetisch nicht ausreichend verwandt sind, als standortfremd (Art. 6, Absatz 2, Buchstabe c). Die hoch signifikanten genetischen Unterschiede waren zwischen den Elterntieren in Stäfa und den Sömmerlingen im Mei DB am kleinsten. Der  $F_{ST}$ -Wert von 0.032 war vergleichsweise zu den anderen Populationen in den Dorfbächen am tiefsten. Diese Beobachtung deckt sich jedoch nicht mit dem geografischen Abstand zwischen diesen Standorten. Erstaunlicherweise war der  $F_{ST}$ -Wert zwischen FZ Stäfa und Fel B mit beinahe 0.100 am höchsten. Das bedeutet, dass sie sich am stärksten voneinander unterscheiden, wobei Fel B zur FZ Stäfa geografisch am nächsten liegt. Die Ergebnisse der Hauptkoordinatenanalyse spiegeln die genetischen Differenzen wider. Die FZ Stäfa bildet eine eigene Clustergruppe und ist weit von den anderen Populationen entfernt. Weiter zeigte die Auswertung mit STRUCTURE, dass bei höherer Auflösung ( $K = 5$ ) keine Hybridisierungen zwischen den Besatzfischen und den Wildfischen stattfanden. Zudem bestehen zwei Subpopulationen innerhalb des Muttertierstammbesatzes. Diese können als isoliert betrachtet werden. Bei isolierten Populationen steigt die Anzahl an Homozygoten, die von Allel-Verlusten charakterisiert sind, was

einen genetischen Engpass erzeugt. Dies kann sich nachteilig auf zukünftige Generationen auswirken, woraufhin die Überlebensfähigkeit in Gefahr ist (Vilas et al., 2010). Deshalb empfiehlt sich, isolierte Populationen mit hoher genetischer Differenz getrennt zu bewirtschaften. Ausserdem zeigen solche Populationen bei Aussetzen in anderen Flüssen eine fehlende Adaption auf. Die lokale Anpassung spielt bei der Erhaltung einer Art eine bedeutende Rolle (Schmidt et al., 2017). Eine hohe genetische Variabilität ist dabei erforderlich.

### 5.3 Genetische Populationsstruktur im Muttertierstamm-Besatz

#### Genetische Variabilität

Die Auswertungen der genetischen Diversität zeigten, dass die stichprobenkorrigierte Allelzahl (AR) im Muttertierstamm-Besatz am geringsten war. Eine geringe genetische Diversität stellt ein Aussterberisiko dar, da die Anpassungsfähigkeit an Umweltveränderungen verringert ist (Abdul-Muneer, 2014). Eine Studie von Schmidt et al. (2017) belegt ebenso den Verlust der genetischen Vielfalt in Zuchtfischen. Ihre Ergebnisse zeigten, dass die genetische Diversität der beprobten Forellen (*Salmo trutta*) eines seit 2009 bestehenden Brutbestandes aus dem Virgulica-Bach im lettischen Einzugsgebiet der Düna die geringste war. Ein Grund dafür ist die erhöhte Wahrscheinlichkeit von Inzucht, was zu Verlusten von Allelen und somit zu einer genetischen Drift führen kann.

#### Heterozygotenüberschuss

Der Inzuchtkoeffizient  $F_{IS}$  war in der FZ Stäfa im negativen Bereich, welcher jedoch nicht signifikant von null abweicht. Negative Werte weisen auf einen Heterozygotenüberschuss hin (Stoeckel et al., 2006). Dieser Heterozygotenüberschuss beruht auf der Tatsache, dass die beobachtete Heterozygotität ( $H_O$ ) grösser ist als zu erwarten wäre ( $H_E$ ). Die Auswertung mit dem Programm BOTTLENECK bestätigte die Beobachtung des Heterozygotenüberschusses. Diese Population wich signifikant vom Mutations-Drift-Gleichgewicht ab ( $p < 0.05$ ). Eine Abweichung deutet auf eine reduzierte Populationsgrösse und auf eine Verminderung der genetischen Variabilität hin (Cornuet and Luikart, 1996; Tomiuk and Loeschcke, 2016). Damit kann angenommen werden, dass die Population genetisch verarmt ist und ein aktueller Bestandesrückgang herrscht (Cornuet and Luikart, 1996). Der beobachtete Heterozygotenüberschuss bei den Besatzfischen steht ebenso im Einklang mit der Studie von Kohout et al. (2012). Die Forscher untersuchten die Auswirkungen von Besatzmassnahmen auf die genetische Struktur der *Salmo trutta* in Zentral-Europa. Dabei wiesen die in der Brutanstalt aufgezogenen Individuen ( $N = 38$ ) ebenso einen Heterozygotenüberschuss auf, die auf Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht hindeuteten. Die Verletzung des Hardy-Weinberg-Gesetzes spiegelt sich ebenso in den Ergebnissen dieser Arbeit wider. In der FZ Stäfa wichen 11 von 19 Loci vom HWG ab. Falls jedoch wieder zufällige Paarung stattfindet, kann dieses Gleichgewicht bereits nach einer Generation wieder erreicht werden. Dabei ist die ursprüngliche Allelhäufigkeit unbedeutend (Storch et al., 2013).

## 5.4 Genetische Populationsstruktur in den vier Dorfbächen

Die mittlere Anzahl der stichprobenkorrigierten Allele (AR) war mit über 6 in Fel B und Küs DB im Vergleich zu den anderen Populationen am grössten. Dies weist auf eine hohe genetische Variabilität hin. Auffallend ist, dass die Proben aus Fel B einen niedrigeren Anteil an Genotypen der Besatzfische aufweisen als die anderen untersuchten Proben. Dies könnte der Grund sein, weshalb die genetische Variabilität in Fel B am höchsten ist. Ähnliche AR-Werte wurden auch in der Studie von Vilas et al. (2010) erreicht. Sie untersuchten 30 verschiedene Populationen (jeweils  $N = 20$  bis  $N = 30$ ) der Art *Salmo trutta* an 10 verschiedenen Mikrosatelliten-Loci. Bei zweidrittel dieser Populationen war die AR über 6. Die korrigierte Anzahl Allele war auch in Erl DB relativ hoch (5.89). Allerdings wiesen die beprobten Individuen des Erl DB mit ihrer Anzahl ( $N=14$ ) den kleinsten Stichprobenumfang auf. Eine genaue Analyse mit dieser Grösse ist schwierig zu beurteilen, da seltene Allele unaufgedeckt bleiben können (Schmidt et al., 2017). Seltene Allele werden jene Allele bezeichnet, die in geringer Häufigkeit ( $< 5\%$ ) auftreten (Hale et al., 2012). In Anlehnung an Hale et al. (2012) sollte die Stichprobengrösse zwischen 25 und 30 Individuen betragen. Dennoch wurde diese Stichprobe im Datensatz beibehalten, da sie für die einzelbasierten Cluster-Analysen weiterhin eine Relevanz beizubringen. In Erl DB ist eine Substruktur vorhanden. Beinahe 50% der Individuen konnten zur Population Küs DB zugewiesen werden. Die restlichen stammen aus der FZ Stäfa. Jedoch sind die Forellen aus Erl DB höchstwahrscheinlich den Forellen in Küs DB ähnlicher, da sie in der Hauptkoordinatenanalyse näher beieinander liegen. Diese geringe genetische Distanz erklärt vermutlich den relativ hohen beobachteten Heterozygotiegrad (0.67) in dieser Population. Dieser war höher als bei den Besatzfischen (0.62).

Die genetisch geringen Unterschiede zwischen den Forellen in den Bächen von Küsnacht, Erlenbach und Meilen ( $F_{ST}$ -Werte nahe bei null) deuten an, dass es sich hier um Subpopulationen derselben Metapopulation handelt, in der Zu- und Abwanderung stattfindet (Launey et al., 2010; Vilas et al., 2010). Bei Paarung kann durch den Genfluss der Genpool erweitert werden (Schaefer, 2012). Dabei ist aber zu betonen, dass die lokale Anpassung der Individuen durch die Migration von weniger gut angepassten Individuen abnehmen könnte (Lenormand, 2002). In der Hauptkoordinatenanalyse bilden diese Populationen eine Hauptclustergruppe. Die Allelanzahl war in diesen Populationen höher als die in der FZ Stäfa (3.24). Der Austausch des genetischen Materials mit diesen Besatzfischen wäre mit einem Verlust an genetischer Vielfalt bei den Wildfischen zu rechnen. Nach Untersuchungen von Kohout et al. (2012) tragen Hybridisierungen mit Besatzfischen, die eine geringere genetische Variabilität aufweisen, zu einer Einschränkung der Fitness und zu einem Verlust der lokalen Anpassung bei. Demzufolge sollten diese Populationen nicht weiter mit dem Muttertierstamm besetzt werden. Es scheint, dass die Naturverlaichung in den Populationen aus den vier Dorfbächen stattfindet. Um die Naturverlaichung bei migrierenden Formen der Forelle zu fördern, müssen diese uneingeschränkten Zugang zu geeigneten Laichplätzen haben (Gosset et al., 2006).

## 5.5 Künstliche Barrieren

In den vier Zuflüssen innerhalb der Fischereirevieren bestehen 435 Wanderhindernisse, einschliesslich künstlicher Abstürze, die über 70 cm hoch sind. Die meisten sind in Küs DB zu finden. Die kleinste Anzahl an Wanderhindernissen war in Erl DB. Dies könnte die hohe genetische Variabilität in Erl DB erklären. Nach Griffiths et al. (2009) können künstliche Barrieren in Fliessgewässern sich negativ auf den Genfluss von Populationen auswirken. Dabei ist die uneingeschränkte Vernetzung eines Fliessgewässersystems für die Erhaltung der genetischen Variabilität von grosser Bedeutung (Coleman et al., 2018). Dazu besagt ebenso das Bundesgesetz über die Fischerei vom 21. Juni 1991 (BGF, 2017), dass die freie Fischwanderung gewährleistet werden sollte. In der Schweiz befinden sich basierend auf Erhebungen der Kantone im 2013 rund 1'000 Wanderhindernisse, die saniert werden müssen (BAFU, 2019b).

Durch die Aufhebung der Habitat-Fragmentierung kann die genetische Variabilität zwischen den Populationen bewahrt werden. Dies belegt ebenso die Studie von Gosset et al. (2006). In der Studie wurden vierzig männliche und weibliche erwachsene Seeforellen mit Funksendern markiert und freigesetzt. Ihre Wanderung wurde während drei Monaten täglich beobachtet. Die Flussfragmentierung verhinderte den Zugang zu den Laichplätzen, was zu einem Rückgang der Fischpopulation beitrug. Revitalisierungsmassnahmen sind im Kanton Zürich im Gange. Bis 2035 werden die Gewässerabschnitte in Erlenbach, Meilen und Feldbach von der Mündung revitalisiert. In Erl DB beträgt der zu revitalisierende Gewässerabschnitt 264 m, in Mei DB 321 m und in Fel B 963 m (AWEL, 2019b). Die Fischgängigkeit sollte nach der Umsetzung regelmässig überprüft werden.

## 5.6 Vergleich der STRUCTURE Analyse mit 12 und 19 Mikrosatelliten-Markern

Die Ergebnisse mit 12 Mikrosatelliten-Markern wurden mit den Ergebnissen verglichen, die 19 Mikrosatelliten-Marker enthielten. Der Vergleich zeigte, dass eine populationsgenetische Analyse ebenso mit weniger Mikrosatelliten-Markern durchgeführt werden kann. Die Individuen wurden mit 12 Mikrosatelliten zu den gleichen Cluster-Gruppen zugeordnet wie mit 19 Mikrosatelliten. Arthofer et al. (2017) kamen ebenso zum Schluss, dass mit 8 von 11 Markern über 95% der Individuen korrekt zugeordnet werden können. Die Loci müssen jedoch hoch polymorph sein. Obwohl das Multiplex-Verfahren mit mehreren Loci eine effiziente Untersuchung der populationsgenetischen Struktur erlaubt, sind die Kosten dennoch hoch. Durch die Untersuchung weniger Marker können massiv Kosten eingespart werden. Wichtig ist dabei, die wahrscheinlichste Anzahl an Clustergruppen mit  $\Delta K$  zu bestimmen. Mit  $\Delta K$  wird die oberste Ebene der Populationsstruktur erkannt (Evanno et al., 2005). Zusammenfassend kann gesagt werden, dass 12 Mikrosatelliten-Marker für nächste genetische Untersuchungen an *Salmo trutta* ausreichend sind.

## 6 Schlussfolgerung und Ausblick

Eine nachhaltige Fisch-Bewirtschaftung beinhaltet die Bewahrung der genetischen Vielfalt zwischen und innerhalb der Populationen, die zur Erhaltung der Art beiträgt. Die populationsgenetische Untersuchung an den juvenilen Forellen in den Zürichsee-Zuflüssen mit dem Muttertierstammbesatz lässt den Schluss zu, dass die Dorfbäche nicht mehr mit den Fischen aus der Fischzucht in Stäfa besetzt werden sollen. Ein Grund ist die reduzierte genetische Vielfalt innerhalb der Besatzpopulation und die damit einhergehende eingeschränkte Fitness. Damit wären die genetische Variabilität und das Anpassungspotenzial der anderen Populationen gefährdet und könnte zum Aussterben der Art beitragen. Ein weiterer Grund ist die signifikant hohen genetischen Unterschiede zwischen den Besatzfischen und den Wildfischen. Die Besatzfische sind bei Aussetzen in den vier Zuflüssen standortfremd. Das bedeutet, dass sie Schwierigkeiten haben, sich an andere Gewässer anzupassen. Darüber hinaus ist hohe genetische Variabilität innerhalb der Populationen in den Dorfbächen Küsnacht, Erlenbach und Meilen vorhanden. Zudem unterscheiden sie sich genetisch gering voneinander und können als eine spezifische Gruppe angesehen werden und sollten nicht mehr künstlich bewirtschaftet werden. Bei den beprobten Sömmerlingen im Erlenbacher Bach können keine konkreten Aussagen gemacht werden, da die Stichprobengrösse zu klein war. Vorteilhaft wären grössere Stichproben (zwischen 25 und 30 Individuen) und Wiederholungen der Genotypisierungen in folgenden Jahren. Diese sind jedoch mit Kosten verbunden. Um die Entwicklung zu beobachten, sind dennoch weitere genetische Erfolgskontrollen über mehrere Jahre erwünscht. Dabei reicht die Untersuchung an 12 Mikrosatelliten-Marker, die jedoch hoch polymorph sein müssen. Ausserdem liegen keine Daten vor, die die genetischen Strukturen aller Forellenpopulationen in den Dorfbächen umfassen und mit denen ein Vergleich gezogen werden kann. Die einzige genetische Erhebung über Fische der Art *Salmo trutta* im Zürichsee fand im Jahre 2000 statt (Schneider, 2000). Der Fokus sollte unter anderem auf die zukünftigen gewässerökologischen Aufwertungen gerichtet werden, um die Vernetzungen innerhalb des Fliessgewässersystems zu verbessern. Allein in den vier Zuflüssen innerhalb der Fischereireviere bestehen 31 Wanderhindernisse. Mit den künstlichen Abstürzen, die über 70 cm hoch sind, wären es 435 Hindernisse. Solche Barrieren sollen saniert werden, um den Zugang zu den Laichplätzen und die Wanderung der Forellen zu erleichtern. Eine Sanierung wäre daher wünschenswert, damit die Laichtiere aufsteigen können. Dazu sind ebenso regelmässige Erfolgskontrollen notwendig.

## 7 Literaturverzeichnis

- Abdul-Muneer, P.M., 2014. Application of Microsatellite Markers in Conservation Genetics and Fisheries Management: Recent Advances in Population Structure Analysis and Conservation Strategies. *Genetics Research International*. Volume 2014, 1-11. <https://doi.org/10.1155/2014/691759>
- ALN, 2018. *Fischereireviere*. Datenbezug über GeoLion, GIS ZH-Nr. 314. Amt für Landschaft und Natur (ALN). Abteilung Fischerei- und Jagdverwaltung. Kanton Zürich. <https://www.geolion.zh.ch/geodatensatz/386>. Abgerufen am 26.06.2019.
- Alzohairy, A., Gyulai, G., Ohm, H., Szabo, Z., Ragheb, S., Ajmal Ali, M., Elsayy, H., Bahieldin, A., 2015. Nuclear and Organelle Specific PCR Markers. *LAP Lambert Academic Publishing*. 53–78.
- Arthofer, W., Heussler, C., Krapf, P., Schlick-Steiner, B.C., Steiner, F.M., 2017. Identifying the minimum number of microsatellite loci needed to assess population genetic structure: A case study in fly culturing. *Fly (Austin)* 12, 13–22. <https://doi.org/10.1080/19336934.2017.1396400>
- AWEL, 2019a. *Ökomorphologische Erhebung der Fliessgewässer*. Datenbezug über GeoLion, GIS ZH-Nr. 176. Amt für Abfall, Wasser, Energie und Luft (AWEL). Abteilung Gewässerschutz. Kanton Zürich. <https://www.geolion.zh.ch/geodatensatz/show?gdsid=176>. Abgerufen am 30.07.2019.
- AWEL, 2019b. *Revitalisierungsplanung öffentliche Fliessgewässer*. Datenbezug über GeoLion, GIS ZH-Nr. 375. Amt für Abfall, Wasser, Energie und Luft (AWEL). Abteilung Wasserbau. Kanton Zürich. <https://www.geolion.zh.ch/geodatensatz/show?gdsid=375>. Abgerufen am 03.08.2019.
- BAFU, 2019a. Bundesamt für Umwelt. Visualisierung der Schweizer Karte mit Seen; [map.geo.admin.ch](http://map.geo.admin.ch). Abgerufen am 26.06.2019.
- BAFU, 2019b. *Fischgängigkeit*. <https://www.bafu.admin.ch/bafu/de/home/themen/wasser/fachinformationen/massnahmen-zum-schutz-der-gewaesser/renaturierung-der-gewaesser/fischgaengigkeit.html>. Abgerufen am 27.06.2019.
- Behnke, R.J., 1972. The Systematics of Salmonid Fishes of Recently Glaciated Lakes. *Journal of Fisheries Research Board of Canada* 29, 639–671. <https://doi.org/10.1139/f72-112>
- Bernatchez, L., 2001. The Evolutionary History of Brown Trout (*Salmo trutta L.*) Inferred from Phylogeographic, Nested Clade, and Mismatch Analyses of Mitochondrial Dna Variation. *Evolution* 55, 351–379. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2001.tb01300.x>
- BGF, 2017. Bundesgesetz über die Fischerei (BGF) vom 21. Juni 1991. *SR 923.0* (Stand am 1. Mai 2017).
- Blanco Gonzalez, E., Knutsen, H., Jorde, P.E., 2016. Habitat Discontinuities Separate Genetically Divergent Populations of a Rocky Shore Marine Fish. *PLoS One* 11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163052>

- Bogdanowicz, W., Rutkowski, R., Gabrielyan, B.K., Ryspaev, A., Asatryan, A.N., Mkrtchyan, J.A., Bujalska, B.M., 2017. Fish introductions in the former Soviet Union: The Sevan trout (*Salmo ischchan*) — 80 years later. *PLoS One* 12, e0180605. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180605>
- Brookfield, J.F.Y., 1996. A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. *Molecular Ecology* 5, 453–455. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.1996.00098.x>
- Carlsson, J., 2008. Effects of Microsatellite Null Alleles on Assignment Testing. *Journal of Heredity* 99, 616–623. <https://doi.org/10.1093/jhered/esn048>
- Charles, K., Guyomard, R., Hoyheim, B., Ombredane, D., Baglinière, J.-L., 2005. Lack of genetic differentiation between anadromous and resident sympatric brown trout (*Salmo trutta*) in a Normandy population. *Aquatic Living Resources* 18, 65–69. <https://doi.org/10.1051/alr:2005006>
- Coleman, R.A., Gauffre, B., Pavlova, A., Beheregaray, L.B., Kearns, J., Lyon, J., Sasaki, M., Leblois, R., Sgro, C., Sunnucks, P., 2018. Artificial barriers prevent genetic recovery of small isolated populations of a low-mobility freshwater fish. *Heredity* 120, 515. <https://doi.org/10.1038/s41437-017-0008-3>
- Cornuet, J.M., Luikart, G., 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144, 2001–2014.
- Estoup, A., Largiader, C., Perrot, E., Chourrout, D., 1996. Rapid one-tube DNA extraction for reliable PCR detection of fish polymorphic markers and transgenes. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 5, 295–298.
- Estoup, A., Presa, P., Krieg, F., Vaimant, D., Guyomard, R., 1993. (CT) and (GT) microsatellites: a new class of genetic markers for *Salmo trutta* L. (brown trout). *Heredity* 71, 488–496
- Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J., 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Molecular Ecology* 14, 2611–2620. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>
- Excoffier, L., 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, 564–567. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>
- Foulley, J.-L., Ollivier, L., 2006. Estimating allelic richness and its diversity. *Livestock Science* 101, 150–158. <https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2005.10.021>
- Gosset, C., Rives, J., Labonne, J., 2006. Effect of habitat fragmentation on spawning migration of brown trout (*Salmo trutta* L.). *Ecology of Freshwater Fish* 15, 247–254. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0633.2006.00144.x>
- Goudet, J., 2005. A program to estimate and test population genetics parameters. *Molecular Ecology Notes* 5, 184–186. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00828.x>
- Gower, J.C., 2005. Principal Coordinates Analysis, in: *Encyclopedia of Biostatistics*. American Cancer Society. <https://doi.org/10.1002/0470011815.b2a13070>



- Graw, J., 2015. *Genetik*, 6., überarbeitete und aktualisierte Auflage. ed. Springer Spektrum, Berlin Heidelberg.
- Griffiths, A.M., Koizumi, I., Bright, D., Stevens, J.R., 2009. A case of isolation by distance and short-term temporal stability of population structure in brown trout (*Salmo trutta*) within the River Dart, southwest England. *Evolutionary Applications* 2, 537–554. <https://doi.org/10.1111/j.1752-4571.2009.00092.x>
- GSchG, 2011. Bundesgesetz über den Schutz der Gewässer, revidiertes Gewässerschutzgesetz (GSchG) vom 24. Januar 1991. SR 814.20 (Stand am 1. Januar 2011)
- Hale, M.L., Burg, T.M., Steeves, T.E., 2012. Sampling for Microsatellite-Based Population Genetic Studies: 25 to 30 Individuals per Population Is Enough to Accurately Estimate Allele Frequencies. *PLOS ONE* 7, e45170. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045170>
- Hansen, M.M., Ruzzante, D.E., Nielsen, E.E., Mensberg, K.-L.D., 2001. Brown trout (*Salmo trutta*) stocking impact assessment using microsatellite DNA markers. *Ecological Applications* 11, 148–160. [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(2001\)011\[0148:BTSTSI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(2001)011[0148:BTSTSI]2.0.CO;2)
- Harris, J., Kingsford, R., Peirson, W., Baumgartner, L., 2016. Mitigating the effects of barriers to freshwater fish migrations: The Australian experience. *Marine and Freshwater Research* 68, 614–628. <https://doi.org/10.1071/MF15284>
- Hedrick, P.W., Miller, P.S., 1992. Conservation Genetics: Techniques and Fundamentals. *Ecological Applications* 2, 30. <https://doi.org/10.2307/1941887>
- Hertig, A., 2018. *Seeforellen-Management im Kanton Zürich Konzept 2018-2026*, Baudirektion, Amt für Landschaft und Natur, Fischerei- und Jagdverwaltung.
- Higuchi, R., 1989. *Simple and Rapid Preparation of Samples for PCR*, in: Erlich, Henry A. (Ed.), *PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification*. Palgrave Macmillan UK, London, pp. 31–38. [https://doi.org/10.1007/978-1-349-20235-5\\_4](https://doi.org/10.1007/978-1-349-20235-5_4)
- Horreo, J.L., Abad, D., Dopico, E., Oberlin, M., Garcia-Vazquez, E., 2015. Expansion of Non-Native Brown Trout in South Europe May Be Inadvertently Driven by Stocking: Molecular and Social Survey in the North Iberian Narcea River. *International Journal of Molecular Sciences* 16, 15546–15559. <https://doi.org/10.3390/ijms160715546>
- Jonsson, B., Jonsson, N., 2011. *Ecology of Atlantic Salmon and Brown Trout: Habitat as a template for life histories*. Springer Science & Business Media, 720.
- Jonsson, B., Jonsson, N., 2006. *Life History of the Anadromous Trout Salmo trutta*. pp. 196–223. <https://doi.org/10.1002/9780470996027.ch14>
- Kenchington, E., Heino, M., 2002. Maintenance of genetic diversity: challenges for management of marine resources. *International Council for the Exploration of the Sea*. ICES CM 2002/Y:13, 14.
- Kirk, H., Freeland, J.R., 2011. Applications and Implications of Neutral versus Non-neutral Markers in Molecular Ecology. *International Journal of Molecular Sciences* 12, 3966–3988. <https://doi.org/10.3390/ijms12063966>

- Kohout, J., Jašková, I., Papoušek, I., Šedivá, A., Šlechta, V., 2012. Effects of stocking on the genetic structure of brown trout, *Salmo trutta*, in Central Europe inferred from mitochondrial and nuclear DNA markers. *Fisheries Management and Ecology* 19, 252–263. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2400.2011.00828.x>
- Kopelman, N.M., Mayzel, J., Jakobsson, M., Rosenberg, N.A., Mayrose, I., 2015. Clumpak: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Molecular Ecology Resources* 15, 1179–1191. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12387>
- Launey, S., Brunet, G., Guyomard, R., Davaine, P., 2010. Role of Introduction History and Landscape in the Range Expansion of Brown Trout (*Salmo trutta* L.) in the Kerguelen Islands. *Journal of Heredity* 101, 270–283. <https://doi.org/10.1093/jhered/esp130>
- Lenormand, T., 2002. Gene flow and the limits to natural selection. *Trends in Ecology & Evolution* 17, 183–189. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(02\)02497-7](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(02)02497-7)
- Leyer, I., Wesche, K. (Eds.), 2007. *Multidimensionale Statistik*, in: Multivariate Statistik in der Ökologie: Eine Einführung, Springer-Lehrbuch. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 137–152. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-37706-1\\_12](https://doi.org/10.1007/978-3-540-37706-1_12)
- Munk, K., Brose, U., Kronberg, I., Misof, B., Pohl-Apel, G., Scheu, S., Schlegel, M., Schmidt, S., Schmitt, M., Schneider, H., 2009. *Ökologie - Evolution*, 1st ed. Thieme, Stuttgart.
- Nagy, S., Poczai, P., Cernák, I., Gorji, A.M., Hegedűs, G., Taller, J., 2012. PICcalc: An Online Program to Calculate Polymorphic Information Content for Molecular Genetic Studies. *Biochemical Genetics* 50, 670–672. <https://doi.org/10.1007/s10528-012-9509-1>
- Nei, M., 1972. Genetic Distance between Populations. *The American Naturalist* 106, 283–292. <http://dx.doi.org/10.1086/282771>
- Oosterhout, C.V., Hutchinson, W.F., Wills, D.P.M., Shipley, P., 2004. Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* 4, 535–538. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x>
- Peakall, R., Smouse, P.E., 2012. GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research - an update. *Bioinformatics* 28, 2537–2539. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>
- Piry, S., Luikart, G., Cornuet, J.-M., 1999. Computer note. BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective size using allele frequency data. *Journal of Heredity* 90, 502–503. <https://doi.org/10.1093/jhered/90.4.502>
- Presa, P., Guyomard, R., 1996. Conservation of microsatellites in three species of salmonids. *Journal of Fish Biology* 49, 1326–1329. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1996.tb01800.x>
- Pritchard, J.K., Stephens, M., Donnelly, P., 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155, 945–959.
- QGIS, 2018. *QGIS Geographisches Informationssystem*. Open Source Geospatial Foundation Project. <https://www.qgis.org/de/site/forusers/download.html>. Abgerufen am 26.06.2019.

- Reed, D.H., Frankham, R., 2003. Correlation between Fitness and Genetic Diversity. *Conservation Biology* 17, 230–237. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2003.01236.x>
- Reynolds, J., Weir, B.S., Cockerham, C.C., 1983. Estimation of the Coancestry Coefficient: Basis for a Short-Term Genetic Distance. *Genetics* 105, 767–779.
- Rice, W.R., 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* 43, 223–225. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1989.tb04220.x>
- Roscoe, D.W., Hinch, S.G., 2010. Effectiveness monitoring of fish passage facilities: historical trends, geographic patterns and future directions. *Fish and Fisheries* 11, 12–33. <https://doi.org/10.1111/j.1467-2979.2009.00333.x>
- Rossi, M., Bitocchi, E., Bellucci, E., Nanni, L., Rau, D., Attene, G., Papa, R., 2009. Linkage disequilibrium and population structure in wild and domesticated populations of *Phaseolus vulgaris* L. *Evolutionary Applications* 2, 504–522. <https://doi.org/10.1111/j.1752-4571.2009.00082.x>
- Rousset, F., 2008. GENEPOP'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources* 8, 103–106. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01931.x>
- Ruzzante, D.E., Hansen, M.M., Meldrup, D., 2001. Distribution of individual inbreeding coefficients, relatedness and influence of stocking on native anadromous brown trout (*Salmo trutta*) population structure. *Molecular Ecology* 10, 2107–2128. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2001.01352.x>
- Schaefer, M., 2012. *Wörterbuch der Ökologie*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-8274-2562-1>
- Schmidt, T., Zagars, M., Roze, A., Schulz, R., 2017. Genetic diversity of a Daugava basin brown trout (*Salmo trutta*) brood stock. *Knowledge & Management of Aquatic Ecosystems* 418, 55. <https://doi.org/10.1051/kmae/2017048>
- Schneider, B., 2000. *Structure of a Brown Trout (Salmo trutta L.) Population in a Pre-Alpine Water System: Relationship Between Genetics and Ecology*. Dissertation. Mathematisch-naturwissenschaftliche Fakultät der Universität Zürich.
- Singer-Sam, J., Tanguay, R.L., Riggs, A.D., 1989. Use of Chelex to improve the PCR signal from a small number of cells. *Amplifications: A Forum for PCR Users Issue 3:11*. [\[Google Scholar\]](#)
- Slettan, A., Olsaker, I., Lie, Ø., 1996. Polymorphic Atlantic salmon, *Salmo salar* L., microsatellites at the SSOSL438, SSOSL439 and SSOSL444 loci. *Animal Genetics* 27, 57–58. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.1996.tb01180.x>
- Slettan, A., Olsaker, I., Lie, Ø., 1995. Atlantic salmon, *Salmo salar*, microsatellites at the SSOSL25, SSOSL85, SSOSL311, SSOSL417 loci. *Animal Genetics* 26, 281–282. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.1995.tb03262.x>
- Stoeckel, S., Grange, J., Fernández-Manjarres, J.F., Bilger, I., Frascaria-Lacoste, N., Mariette, S., 2006. Heterozygote excess in a self-incompatible and partially clonal forest tree species — *Prunus avium* L. *Molecular Ecology* 15, 2109–2118. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2006.02926.x>

- Storch, V., Welsch, U., Wink, M., 2013. *Evolutionsbiologie*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-32836-7>
- T O'Reilly, P., Hamilton, L., K. J. McConnell, S., M Wright, J., 2011. Rapid analysis of genetic variation in Atlantic salmon (*Salmo Salar*) by PCR multiplexing of dinucleotide and tetranucleotide microsatellites. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 53, 2292–2298. <https://doi.org/10.1139/f96-192>
- Tomiuk, J., Loeschcke, V., 2016. *Grundlagen der Evolutionsbiologie und Formalen Genetik*. Springer-Verlag.
- Van Dyke, F. (Ed.), 2008. *Genetic Diversity – Understanding Conservation at Genetic Levels*, in: Conservation Biology: Foundations, Concepts, Applications. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 153–184. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6891-1\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6891-1_6)
- VBGF, 2018. Verordnung zum Bundesgesetz über die Fischerei (VBGF) vom 24. November 1993. SR 923.01 (Stand am 1. Mai 2018).
- Vilas, R., Bouza, C., Castro, J., López, A., Martínez, P., 2010. Management units of brown trout from Galicia (NW: Spain) based on spatial genetic structure analysis. *Conservation Genetics* 11, 897–906. <https://doi.org/10.1007/s10592-009-9934-9>
- Vonlanthen, P., Kreienbühl, T., Schmid, C., 2017. *Populationsgenetische Untersuchung der Forellen im Kanton Aargau*. Aquabios GmbH, Auftraggeber: Departement Bau, Verkehr und Umwelt, Sektion Jagd und Fischerei, Kanton Aargau.
- Was, A., Wenne, R., 2003. Microsatellite DNA Polymorphism in Intensely Enhanced Populations of Sea Trout (*Salmo trutta*) in the Southern Baltic. *Marine Biotechnology* 5, 234–243. <https://doi.org/10.1007/s10126-002-0068-z>
- Weir, B., Clark Cockerham, C., 1984. Weir BS, Cockerham CC.. Estimating F-Statistics for the Analysis of Population-Structure. *Evolution* 38: 1358-1370. <https://doi.org/10.2307/2408641>
- Wright, S., 1965. The Interpretation of Population Structure by F-Statistics with Special Regard to Systems of Mating. *Evolution* 19, 395–420. <https://doi.org/10.2307/2406450>

## 8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: CA-Dinukleotid-Mikrosatellitenloci als Allele mit 11, 12 respektive 13 Dinukleotid-Wiederholungen mit den flankierenden DNA-Sequenzen und Vorwärts- und Rückwärts-Primer nach Alzohairy et al. (2015). Darunter abgebildet sind die daraus sechs unterschiedliche Variationen beziehungsweise Genotypen dargestellt.....	11
Abbildung 2: Karte mit den beprobten Zuflüssen des Kantons Zürich. Hervorgehoben sind die Dorfbäche von Küssnacht, Erlenbach, Meilen und Feldbach mit der Fischzucht in Stäfa. Die Fischereireviere sind farbig markiert. Visualisiert in QGIS, Version 3.4.1 (QGIS, 2018). Datenbezug über GeoLion, GIS-ZH Nr. 314 (ALN, 2018). Die Übersichtskarte von der Schweiz wurde in maps.geo.admin.ch erstellt (BAFU, 2019a).....	13
Abbildung 3: Forelle ( <i>Salmo trutta</i> ) aus dem Küssnachter Dorfbach im Kantons Zürich, Aufnahme von der Fischerei- und Jagdverwaltung des Kantons Zürich.....	14
Abbildung 4: Auswertung der durchschnittlichen Anzahl Allele pro Population (AN), der stichprobenkorrigierten Anzahl der Allele pro Population (AR) und des Mittelwertes des AR über alle Populationen.....	20
Abbildung 5: <b>A.</b> Grafische Visualisierung der logarithmischen Wahrscheinlichkeit von K mit allen 143 Proben und 19 Mikrosatelliten-Loci zur Bestimmung der wahrscheinlichsten Anzahl an Cluster-Gruppen K nach Pritchard et al. (2000) mit CLUMPAK (Kopelman et al., 2015) von K = 2 bis K = 6. Maximalwert bei K = 5. <b>B.</b> Mit der ad hoc Statistik nach (Evanno et al., 2005) wurde bei $\Delta K$ ein Höchstwert von K = 3 ermittelt. Mit dieser Methode werden die 143 Individuen in drei Hauptclustergruppen eingeteilt.....	23
Abbildung 6: Structure bar plot zur Visualisierung der Populationsstruktur der beprobten Seeforellen mit 19 Mikrosatelliten-Marker. Die unterschiedlichen Farben symbolisieren 3 als wahrscheinlich angenommene Genotypcluster mit K = 3. Die x-Achse repräsentiert die Herkunft der einzelnen Individuen, die mit jeweils senkrechten farbigen Balken gekennzeichnet sind. Treten in einem Balken mehrere Farben auf, so ist die Unsicherheit der Zuordnung des Individuums zur Herkunft mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit (Y-Achse) zu deuten (Pritchard et al., 2000).....	23
Abbildung 7: Structure bar plot zur Visualisierung der Populationsstruktur der beprobten Seeforellen im Vergleich mit 12 Mikrosatelliten-Markern, die den höchsten Polymorphiegrad aufwiesen. K = 3. Auffallende Abweichung wurde bei einem Individuum von N=143 festgestellt (rot gekennzeichnet). .....	24
Abbildung 8: Structure bar plot zur Visualisierung der Populationsstruktur der beprobten Seeforellen mit 19 Mikrosatelliten-Marker und K = 5. Treten in einem Balken mehrere Farben auf, so ist die Unsicherheit der Zuordnung des Individuums zur Herkunft mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit (Y-Achse) zu deuten (Pritchard et al., 2000). .....	24
Abbildung 9: Structure bar plot zur Visualisierung der Populationsstruktur der beprobten Seeforellen im Vergleich mit 12 Mikrosatelliten-Markern, die den höchsten Polymorphiegrad aufwiesen. K = 5. .....	24
Abbildung 10: Visualisierung der genetischen Distanz zwischen den Populationen von <i>Salmo trutta</i> mit der PCoA-Analyse basierend auf 19 Mikrosatelliten. Jede Farbe repräsentiert eine Population. Die Achsen stellen den Prozentsatz der genetisch beobachteten Variation dar. ....	25

## 9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Angewendete Multiplex Sets mit Lokus, Mikrosatelliten, Referenz und Fragmentlänge in Basenpaaren. ....	15
Tabelle 2: Bedingungen der PCR-Schritte für das Multiplex-Set 1 und 2. Angegeben sind die Vorgänge mit der Dauer, Temperatur und Wiederholungen des zweiten bis vierten Schrittes.....	16
Tabelle 3: Bedingungen der PCR-Schritte für das Multiplex-Set 3. Angegeben sind die Vorgänge mit der Dauer, Temperatur und Wiederholungen des zweiten bis vierten Schrittes.....	16
Tabelle 4: Zusammengefasste Auswertung für die beprobten Seeforellen in den Zürichsee-Zuflüssen. N = Anzahl Individuen, HO = beobachtete Heterozygotität, HE = erwartete Heterozygotität, HWG p-Wert = Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht, FIS = Inzuchtkoeffizient mit Signifikanz-Wert und N LD = Anzahl an Kopplungsungleichgewichten mit $p < 0.05$ und $p^* < 2.9 \cdot 10^{-4}$ (adjustierter Signifikanzwert nach der Bonferroni-Korrektur).....	21
Tabelle 5: Paarweise $F_{ST}$ -Werte zwischen den verschiedenen Populationen und der Muttertierstammhaltung in Stäfa mittels den 19 Mikrosatelliten-Loci.: Distanz-Methode. Anzahl Permutationen: 10 100. Signifikanz-Werte oberhalb der Diagonalen. Signifikanzbereich, *: $p < 0.05$ , **: $p < 0.01$ , ***: $p < 0.001$ , n.s. (nicht signifikant): $p > 0.05$ .....	21

## **Appendix**

Anhang A: Künstliche Wanderhindernisse und Revitalisierungsmassnahmen

Anhang B: Verwendete Chemikalien und Geräteliste

Anhang C: Genotypisierung aller Proben

Anhang D: Auswertung im MicroChecker auf Nullallele

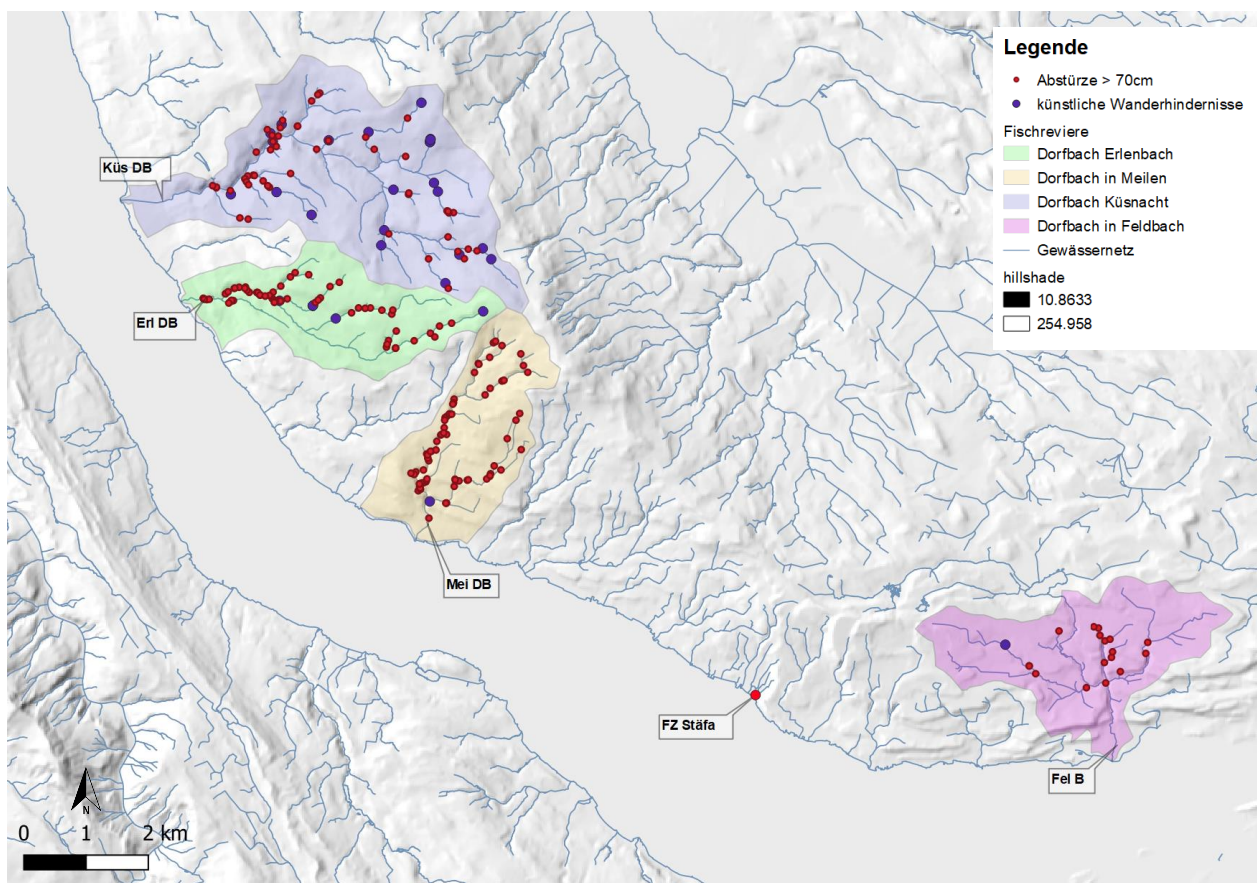
Anhang E: Auswertung von HO, HE und HWG pro Population und Locus

Anhang F: Plagiatserklärung

Anhang G: Poster

## Anhang A: Künstliche Wanderhindernisse und Revitalisierungsmassnahmen

Künstliche Wanderhindernisse in den vier untersuchten Zuflüssen. Ausgewertet in QGIS, Version 3.4.1 (QGIS, 2018). Datenbezug über GeoLion, GIS-ZH Nr. 176 (AWEL, 2019a).



Wanderhindernisse	Erl DB	Fel B	Küs DB	Mei DB	Total
Furt			1		1
Sohlrampe glatt / wenig rauh	2	1	6		9
Geschieberückhaltesperre	4		14		18
Stauwehr			1	1	2
künstlich (über 70 cm hoch)	20	5	354	25	404
unbekannt			1		1
<b>Total</b>	26	6	377	26	435

Datenbezug über GeoLion, GIS-ZH Nr. 375 (AWEL, 2019b)

Revitalisierungsmassnahmen	Abschnittsbeginn	Abschnittsende	Länge in m	Prio.
<b>Erl DB</b>	739.867	1003.427	263.56	1
<b>Mei DB</b>	875	1196	321	1
<b>Fel B</b>	1132.021	2095.891	963.87	1



## Anhang B: Chemikalien und Geräteliste

### Verwendete Chemikalien

in alphabetischer Reihenfolge

#### Chelex

BIO RAD  
BT Chelex ® 100 Resin  
100g  
MFG Lot 64175704  
Cat.-No.: 143-2832

#### Formamide / HI-DI

Applied Biosystems, HI-DITM  
Thermo Fishes Scientific  
Lot 1608455 25ml

#### LIZ600

Applied Biosystems  
GeneScan dye size standard  
Lot 1410371

#### Proteinase K

PROMEGA WI USA Madison  
Sp. Act. > 30u/mg  
10ml H<sub>2</sub>O  
Lot 0000277941

#### QIAGEN Multiplex Kit

QIAGEN Hilden Deutschland  
Lot 160052892  
Cat. No. 206143

#### TE-Buffer

Sigma Aldrich  
Lot BCBZ4249 (pH 8)  
93283-100ML  
P Code 102071413

#### Ultra-Reines H<sub>2</sub>O

Merck Millipore  
Cat. No. H20MB0124  
Lot No.: F1KA739OZ

### Geräteliste

#### Zentrifuge

Eppendorf 5810 R  
Flex-Rotor A-4-62 mit MTP

#### Genetic Analyser

Applied Biosystems™ 3500

#### Thermozykler

BIO Rad T100™ Thermal Cycler

# Anhang C: Genotypisierung aller Proben

Auflistung aller 143 Individuen, 19 Mikrosatelliten-Loci und Allele. Gelb hervorgehoben sind Allele, die nicht bestimmt werden konnten.

	103632	247894	250063	362336	761791	1256664	1309228	1540414	1719572	SL438	Ssa100	Ssa197	Ssa85	SsoSL417	Str15	Str543	Str591	Str60	Str73																			
1 FZ Staefa	138	138	168	188	179	201	238	244	240	240	114	114	90	98	129	129	245	257	108	110	109	115	135	139	109	117	175	189	227	229	151	151	153	155	103	103	149	149
2 FZ Staefa	138	138	168	188	179	201	238	238	244	240	114	114	90	98	113	129	225	245	108	110	109	115	135	139	117	119	175	189	223	227	151	151	153	153	99	103	147	149
3 FZ Staefa	-9	-9	112	212	191	199	238	238	240	244	-9	-9	90	98	88	101	257	261	106	114	115	124	139	155	119	119	175	175	223	223	129	151	155	155	99	99	147	147
4 FZ Staefa	134	138	116	164	201	213	226	244	240	253	114	114	98	98	129	129	245	257	106	108	99	115	139	139	117	119	175	189	223	229	131	151	153	155	103	103	149	149
5 FZ Staefa	138	138	116	164	179	179	226	238	240	240	114	114	90	98	92	129	225	225	106	108	99	109	139	139	109	117	175	189	223	223	131	151	155	155	103	103	147	149
6 FZ Staefa	134	138	168	188	179	201	238	244	240	240	114	114	90	98	92	113	245	257	108	110	99	115	135	139	117	117	175	189	227	229	151	151	153	153	103	103	147	147
7 FZ Staefa	138	138	116	188	179	213	238	244	244	253	114	114	90	98	113	129	245	257	108	110	99	109	139	139	109	119	175	189	223	227	131	151	153	155	99	103	147	149
8 FZ Staefa	138	138	116	188	179	213	238	238	240	253	114	114	90	90	92	129	225	245	106	108	99	109	135	139	109	119	175	175	223	229	131	151	153	155	99	103	147	149
9 FZ Staefa	134	138	116	188	179	179	238	244	240	244	114	114	98	98	129	129	245	257	108	108	109	115	139	139	109	119	175	189	223	227	131	151	153	153	99	103	149	149
10 FZ Staefa	134	138	116	164	179	201	226	238	244	253	114	114	98	98	92	129	225	245	108	110	99	109	135	139	117	119	175	189	227	229	151	151	153	155	103	103	147	147
11 FZ Staefa	134	138	116	188	179	201	238	244	244	253	114	114	90	90	92	113	225	257	106	110	99	99	139	139	117	117	175	175	223	223	151	151	153	153	103	103	147	147
12 FZ Staefa	138	138	168	188	201	213	226	238	240	240	114	114	98	98	113	129	225	225	106	108	99	99	139	139	117	119	175	189	223	227	151	151	153	153	103	103	147	149
13 FZ Staefa	134	138	168	188	179	179	226	244	240	244	114	114	90	98	92	129	225	225	110	110	99	99	139	139	117	117	175	175	227	229	151	151	153	153	103	103	147	149
14 FZ Staefa	138	138	116	164	179	179	226	238	240	253	114	114	98	98	113	129	245	257	106	108	109	115	135	139	117	117	175	175	227	229	131	151	153	153	103	103	147	149
15 FZ Staefa	138	138	116	188	201	213	238	244	240	253	114	114	90	90	92	113	225	245	106	108	109	115	135	139	109	117	175	189	223	229	131	151	153	153	99	103	147	147
16 FZ Staefa	138	138	168	188	201	213	238	238	244	253	114	114	90	98	92	113	245	257	108	110	109	115	135	139	109	119	175	189	223	227	131	151	153	155	103	103	147	147
17 FZ Staefa	134	138	116	164	201	213	238	244	240	244	114	114	90	90	92	113	225	225	108	110	109	115	135	139	117	117	175	189	223	223	131	151	153	153	103	103	147	149
18 FZ Staefa	138	138	116	164	179	201	238	244	240	244	114	114	90	98	92	129	245	257	106	108	99	115	139	139	117	119	175	189	223	229	151	151	153	155	99	103	147	149
19 FZ Staefa	134	138	164	168	179	179	238	244	240	240	114	114	90	90	129	129	225	245	108	110	109	115	135	139	117	119	175	175	223	223	151	151	153	153	103	103	147	149
20 FZ Staefa	138	140	112	184	179	199	238	238	236	240	114	114	98	109	88	129	249	257	106	114	124	124	143	155	109	119	175	181	227	227	129	131	153	155	99	103	147	149
21 FZ Staefa	138	138	116	188	179	213	226	238	244	253	114	114	90	98	113	129	225	225	106	110	99	115	135	139	117	117	175	189	223	227	131	151	153	153	103	103	147	149
22 FZ Staefa	138	138	168	188	201	213	238	244	240	240	114	114	98	98	113	129	225	225	106	108	99	99	135	139	117	117	175	175	223	223	151	151	153	153	103	103	147	149
23 FZ Staefa	134	138	164	168	179	213	238	244	240	240	114	114	90	98	92	129	245	257	106	108	99	115	139	139	117	117	175	175	227	229	151	151	153	153	103	103	147	149
24 FZ Staefa	138	138	168	188	179	179	238	244	240	244	114	114	98	98	113	129	225	257	110	110	109	115	135	139	109	119	175	175	223	227	151	151	153	153	103	103	147	149
25 FZ Staefa	138	138	180	184	183	199	238	238	240	240	117	117	90	109	92	101	233	257	112	114	115	115	135	155	119	119	175	175	223	227	129	-9	149	153	99	103	147	149
26 FZ Staefa	134	138	164	168	179	201	238	244	240	240	114	114	90	98	92	113	225	245	106	108	99	99	135	139	109	119	175	189	223	227	131	151	153	153	99	103	147	147
27 FZ Staefa	134	138	116	164	179	179	226	244	240	253	114	114	90	98	92	129	225	245	106	108	99	115	139	139	117	119	175	175	227	229	131	151	153	155	103	103	147	149
28 FZ Staefa	134	138	116	188	179	179	226	238	240	244	114	114	90	98	113	129	225	257	108	110	109	115	135	139	117	117	175	175	223	223	151	151	153	155	103	103	147	149
29 FZ Staefa	138	138	168	188	201	213	238	244	240	244	114	114	90	98	129	129	225	257	108	110	99	115	135	139	117	117	175	189	223	223	151	151	153	153	99	103	147	149
30 FZ Staefa	138	138	116	164	201	213	226	238	240	244	114	114	90	98	92	129	245	257	106	108	99	115	139	139	109	117	175	189	227	229	151	151	153	153	103	103	147	147
31 FZ Staefa	134	138	164	168	179	201	226	238	240	240	114	114	90	98	92	92	225	225	106	110	99	115	135	139	109	117	175	175	223	223	131	151	153	155	103	103	147	149
32 FZ Staefa	138	138	168	188	179	213	226	244	240	253	114	114	90	98	129	129	225	245	106	110	99	99	135	139	109	117	175	175	223	223	131	151	153	153	103	103	149	149
33 FZ Staefa	138	138	168	188	179	201	226	238	240	244	114	114	90	98	92	129	245	257	108	110	99	99	139	139	117	119	175	175	223	223	151	151	153	155	103	103	147	147
34 FZ Staefa	138	138	168	188	201	213	238	244	240	244	114	114	90	98	129	129	225	257	108	110	99	115	135	139	117	117	175	189	223	223	151	151	153	153	99	103	147	149
35 FZ Staefa	138	138	116	164	201	213	226	238	240	244	114	114	90	98	92	129	245	257	106	108	99	115	139	139	109	117	175	189	227	229	151	151	153	153	103	103	147	147
36 FZ Staefa	134	138	164	168	179	201	226	238	240	240	114	114	90	98	92	92	225	225	106	110	99	115	135	139	109	117	175	175	223	223	131	151	153	155	103	103	147	149
37 FZ Staefa	138	138	168	188	179	213	226	244	240	253	114	114	90	98	129	129	225	245	106	110	99	99	135	139	109	117	175	175	223	223	131	151	153	153	103	103	149	149
38 FZ Staefa	138	138	168	188	179	201	226	238	240	244	114	114	90	98	92	129	245	257	108	110	99	99	139	139	117	119	175	175	223									

	103632	247894	250063	362336	761791	1256664	1309228	1540414	1719572	SL438	Ssa100	Ssa197	Ssa85	SsoSL417	Str15	Str543	Str591	Str60	Str73																				
538 Erlenbach	138	138	160	164	179	191	238	238	232	244	114	114	90	90	105	129	257	257	110	114	120	124	139	139	139	117	119	175	175	223	227	151	151	153	155	99	103	143	149
539 Erlenbach	138	138	116	164	191	201	238	238	240	244	114	117	98	98	92	105	257	257	108	114	99	115	139	155	109	119	175	189	227	229	151	151	155	155	103	103	147	147	
540 Erlenbach	138	138	112	188	191	213	226	238	240	244	114	114	98	109	101	129	225	257	106	110	99	115	139	155	117	119	175	189	227	229	129	131	153	153	103	103	147	149	
541 Erlenbach	138	138	116	184	179	201	238	238	236	253	114	117	90	96	129	171	245	257	108	114	99	124	139	139	109	109	175	181	223	223	131	131	153	155	99	103	145	149	
542 Erlenbach	134	138	164	188	179	201	238	244	240	240	114	114	90	98	113	129	225	225	106	108	109	109	139	139	109	117	175	175	223	227	131	151	153	153	103	103	149	149	
543 Erlenbach	138	138	160	160	179	179	230	244	236	240	114	114	90	101	92	92	221	253	106	110	109	115	139	155	109	117	179	187	227	227	131	151	153	153	99	103	145	147	
544 Erlenbach	138	138	120	156	179	209	208	226	236	265	114	114	90	98	105	169	253	253	106	114	109	124	139	139	115	121	179	187	223	225	127	151	153	155	99	110	149	149	
545 Erlenbach	136	140	160	172	179	211	226	238	261	282	114	117	90	101	88	161	241	249	114	114	115	122	135	147	119	121	179	187	223	229	151	151	153	153	99	99	143	149	
546 Erlenbach	138	138	156	156	175	199	238	246	236	257	114	114	90	90	88	92	221	245	106	106	124	124	135	139	117	119	179	193	223	223	151	151	153	153	103	103	147	149	
547 Erlenbach	136	138	160	168	177	213	234	238	236	236	114	114	96	98	117	129	221	261	106	108	109	122	139	159	119	121	181	193	223	225	123	151	153	155	103	103	147	149	
548 Erlenbach	140	140	160	172	183	211	222	238	240	261	114	114	90	101	92	161	241	261	106	114	115	124	139	147	115	119	175	187	223	229	123	151	153	153	99	99	147	149	
549 Meilen	138	138	168	184	179	201	238	244	236	253	114	114	90	101	92	92	225	257	106	110	99	115	139	139	109	109	175	189	223	223	129	151	153	155	99	103	147	147	
550 Meilen	138	138	164	188	179	213	238	238	240	244	114	117	90	109	88	129	225	257	110	110	99	115	135	155	117	119	175	189	223	223	129	131	153	155	103	103	147	149	
551 Meilen	138	138	168	188	179	201	238	244	240	244	114	114	90	98	113	129	225	245	106	110	99	109	135	139	109	119	175	175	223	227	151	151	153	155	99	103	149	149	
552 Meilen	138	138	164	164	179	201	226	244	240	253	114	114	90	98	92	129	245	257	106	110	115	115	139	139	117	119	175	175	223	227	131	151	153	155	103	103	147	149	
553 Meilen	134	138	116	188	201	201	238	244	244	244	114	114	90	90	113	129	245	245	110	110	109	115	135	139	117	119	175	175	227	229	131	151	155	155	99	103	147	149	
554 Meilen	138	138	164	168	201	213	226	238	240	244	114	114	90	98	92	129	225	245	106	108	99	99	135	139	109	119	175	189	227	227	151	151	153	155	103	103	147	149	
555 Meilen	138	140	120	152	175	179	236	244	232	232	114	114	101	105	88	121	225	249	106	116	109	115	135	163	109	119	179	185	223	229	131	151	153	153	99	110	147	149	
556 Meilen	130	134	156	164	211	213	238	238	232	232	114	114	90	98	169	171	249	265	106	108	109	109	139	139	115	119	179	191	229	229	151	151	153	155	99	103	143	149	
557 Meilen	136	138	116	164	179	183	238	242	240	240	114	114	90	98	129	129	225	225	106	106	115	124	139	139	107	117	175	179	223	229	137	151	153	153	99	103	147	147	
558 Meilen	136	140	108	160	175	179	232	242	240	253	114	114	96	101	92	96	221	249	106	106	109	124	139	139	117	117	175	181	223	223	151	151	153	153	103	103	149	149	
559 Meilen	138	140	148	164	211	213	226	254	232	236	114	114	90	98	101	117	249	253	106	114	103	124	139	147	117	117	175	185	229	229	129	129	149	153	99	103	149	149	
560 Meilen	138	138	168	168	179	213	238	244	240	253	114	114	98	98	113	129	225	273	106	108	109	115	139	139	109	119	175	189	227	229	151	151	153	155	103	103	147	149	
561 Meilen	138	140	140	184	179	201	238	242	240	240	114	120	90	105	105	105	241	253	110	114	103	117	135	139	115	117	179	187	225	227	145	153	153	153	99	99	149	149	
562 Meilen	138	142	112	112	191	201	244	258	232	261	114	114	90	98	101	101	225	253	106	114	99	124	135	139	117	119	181	193	227	229	151	151	153	155	95	99	147	149	
563 Meilen	138	140	112	180	179	183	238	238	240	240	114	114	101	105	129	129	225	261	106	106	115	124	139	143	107	119	175	175	223	229	131	151	153	155	103	103	147	147	
564 Meilen	138	138	164	180	179	201	238	238	240	253	114	114	90	101	92	101	233	245	108	114	99	115	139	139	109	109	175	175	225	227	123	151	149	155	99	103	147	147	
565 Meilen	134	140	164	168	179	215	230	242	236	261	114	114	96	96	92	92	221	249	106	110	115	124	135	139	109	119	179	195	223	223	127	151	153	155	99	103	149	149	
566 Meilen	138	140	112	164	179	183	238	238	232	240	114	114	90	105	129	129	241	261	106	106	115	124	139	143	119	119	175	179	223	229	137	151	153	155	103	103	147	147	
567 Meilen	140	142	172	180	179	201	242	244	240	261	114	114	90	105	88	101	241	253	106	106	115	124	139	143	117	117	179	191	223	227	137	151	155	155	99	103	147	149	
568 Meilen	138	138	112	168	179	179	232	242	240	253	114	114	96	101	92	109	249	273	106	106	109	109	139	139	117	117	181	195	223	229	131	151	153	153	99	103	149	149	
569 Meilen	134	138	116	120	179	201	226	242	240	253	114	117	90	98	129	129	245	253	106	106	115	124	135	139	119	119	175	179	223	229	129	151	153	153	103	103	149	149	
570 Meilen	136	140	112	164	179	179	238	242	232	240	114	114	101	105	129	129	225	261	106	106	115	124	139	143	117	119	175	175	223	223	131	151	153	153	103	103	147	147	
571 Meilen	138	138	116	164	179	213	242	244	240	240	114	114	90	90	129	129	245	273	106	108	115	124	139	139	109	119	175	181	223	227	151	151	153	153	103	103	143	149	
572 Meilen	138	138	116	184	191	213	238	238	240	244	114	114	90	109	92	129	225	257	108	110	99	115	139	155	109	119	175	175	223	227	131	151	153	155	99	103	147	149	
573 Meilen	138	138	116	188	201	201	238	238	244	253	114	114	90	98	113	113	225	245	108	108	99	109	139	139	117	117	175	189	227	229	151	151	153	153	103	103	147	147	
574 Meilen	138	140	112	164	179	183	238	238	232	240	114	114	98	101	88	129	225	261	106	106	115	124	139	139	107	119	175	175	223	229	137	151	153	153	103	103	147	147	
575 Meilen	138	140	120	156	175	207	222	252	232	240	114	114	98	101	117	161	249	249	108	114	103	124	139	147	117	117	181	189	223	229	129	151	153	155	99	103	143	149	
576																																							

## Anhang D: Hinweise auf Nullallele

Zeilen mit dem Vermerk null present = yes (grün hervorgehoben) zeigen Hinweise auf Nullallele. Analyse erfolgte mit der Methode 2 nach Brookfield (1996) aufgrund von Homozygotenüberschuss an diesem Locus.

### FZ Stäfa

Locus	Null Present	Brookfield 2
103632	no	0,0778
247894	no	0
250063	no	0
362336	no	0
761791	no	0
1256664	yes	0,1959
1309228	no	0,0634
1540414	no	0
1719572	no	0
SL438	no	0
Ssa100	no	0
Ssa197	no	0
Ssa85	no	0,0247
SsoSL417	no	0
Str15	no	0
Str543	no	0
Str591	no	0
Str60	no	0,0038
Str73	no	0

### Küs DB

Locus	Null Present	Brookfield 2
103632	no	0,1064
247894	no	0
250063	no	0,0575
362336	no	0,1471
761791	no	0,2007
1256664	no	0
1309228	no	0
1540414	no	0,0633
1719572	no	0,0702
SL438	no	0
Ssa100	no	0
Ssa197	no	0
Ssa85	no	0
SsoSL417	no	0
Str15	no	0
Str543	yes	0,104
Str591	no	0
Str60	no	0
Str73	no	0,0495

### Mei DB

Locus	Null Present	Brookfield 2
103632	no	0
247894	no	0,005
250063	no	0
362336	no	0,0295
761791	no	0,007
1256664	no	0
1309228	no	0
1540414	yes	0,1115
1719572	no	0
SL438	no	0,0202
Ssa100	no	0
Ssa197	no	0
Ssa85	no	0,0298
SsoSL417	no	0
Str15	no	0,0088
Str543	no	0
Str591	no	0
Str60	no	0,0032
Str73	no	0,0812

## Anhang E: Auswertung von $H_0$ , $H_E$ und HWG pro Population und Locus

Auswertung der beobachteten ( $H_0$ ) und erwarteten Heterozygotität ( $H_E$ ) mit Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWG) pro Population und Locus. Rot hervorgehoben sind die Werte, die signifikant vom HWG abweichen ( $p < 0.05$ ) entsprechend den Auswertungen mit Arlequin v. 2. 9.3 (Excoffier and Lischer, 2010).

Standort	Gen. Variabilität	103632	247894	250063	362336	761791	1256664	1309228	1540414	1719572	SL438	Ssa100	Ssa197	Ssa85	SsoSL417	Str15	Str543	Str591	Str60	Str73	Mittelwert	
FZ Stäfa	Anzahl Genotypen	47	48	48	48	48	47	47	48	48	48	48	48	48	48	48	47	48	48	48	48	
	HO	0.44681	1.00000	0.77083	0.75000	0.68750	0.00000	0.63830	0.79167	0.85417	0.83333	0.70833	0.62500	0.58333	0.52083	0.64583	0.55319	0.43750	0.31250	0.62500	0.62022	
	HE	0.35530	0.80351	0.68860	0.59846	0.59846	0.12080	0.55434	0.69605	0.71140	0.70614	0.68728	0.49254	0.63004	0.39452	0.62083	0.43995	0.39452	0.32083	0.50175	0.54291	
	HWE P-value	0.15328	0.00000	0.00009	0.03929	0.05397	0.00001	0.59448	0.00324	0.00015	0.00025	0.00027	0.00363	0.02543	0.02712	0.05350	0.18931	0.77615	1.00000	0.14385		
	s.d.	0.00037	0.00000	0.00001	0.00018	0.00020	0.00000	0.00046	0.00006	0.00001	0.00001	0.00002	0.00006	0.00016	0.00015	0.00022	0.00028	0.00041	0.00000	0.00035		
Küs DB	Anzahl Genotypen	28	29	29	28	27	29	29	29	26	29	28	29	29	29	29	29	29	29	29	29	
	HO	0.60714	0.93103	0.72414	0.64286	0.66667	0.37931	0.79310	0.72414	0.88462	0.75862	0.89286	0.65517	0.79310	0.75862	0.75862	0.55172	0.41379	0.58621	0.58621	0.68989	
	HE	0.57922	0.93345	0.84392	0.77532	0.80433	0.31881	0.70296	0.85541	0.84917	0.74047	0.81753	0.63218	0.76770	0.76528	0.72111	0.74471	0.40653	0.52208	0.68058	0.70846	
	HWE P-value	0.05842	0.13451	0.00645	0.00000	0.00585	0.62932	0.76591	0.22084	0.70617	0.52712	0.16985	0.29587	0.35874	0.14676	0.82710	0.00123	1.00000	0.83791	0.00370		
	s.d.	0.00021	0.00019	0.00006	0.00000	0.00008	0.00046	0.00046	0.00023	0.00047	0.00048	0.00033	0.00050	0.00046	0.00031	0.00036	0.00004	0.00000	0.00039	0.00006		
Erl DB	Anzahl Genotypen	13	14	14	13	13	13	13	13	13	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	
	HO	0.46154	0.78571	0.78571	0.69231	0.84615	0.23077	0.69231	0.84615	0.69231	0.78571	0.85714	0.64286	0.78571	0.71429	0.78571	0.64286	0.35714	0.35714	0.71429	0.66715	
	HE	0.59385	0.91005	0.86243	0.65538	0.84615	0.21231	0.71077	0.89231	0.86769	0.75397	0.82275	0.56878	0.76984	0.74868	0.69577	0.62434	0.45238	0.53704	0.62169	0.69190	
	HWE P-value	0.24186	0.07049	0.37808	0.66158	0.76246	1.00000	0.89942	0.88073	0.12284	0.96336	0.72095	0.76125	0.65338	0.03727	0.58746	0.87274	0.55490	0.15468	0.90479		
	s.d.	0.00043	0.00018	0.00040	0.00037	0.00028	0.00000	0.00030	0.00034	0.00028	0.00018	0.00042	0.00037	0.00044	0.00018	0.00046	0.00035	0.00051	0.00036	0.00031		
Mei DB	Anzahl Genotypen	31	31	31	31	30	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	
	HO	0.58065	0.87097	0.87097	0.70968	0.73333	0.12903	0.83871	0.61290	0.90323	0.61290	0.87097	0.61290	0.64516	0.70968	0.64516	0.67742	0.54839	0.45161	0.41935	0.65490	
	HE	0.56584	0.89476	0.78107	0.77419	0.75819	0.12427	0.77102	0.82866	0.86885	0.65680	0.78794	0.53517	0.70703	0.71602	0.67054	0.63247	0.48652	0.46378	0.55368	0.66194	
	HWE P-value	0.28609	0.45981	0.27404	0.02883	0.16072	1.00000	0.03792	0.00122	0.40977	0.87962	0.11642	0.62245	0.01830	0.34415	0.45642	0.34722	0.59584	0.21681	0.09762		
	s.d.	0.00040	0.00039	0.00040	0.00013	0.00036	0.00000	0.00020	0.00001	0.00040	0.00031	0.00032	0.00047	0.00013	0.00043	0.00044	0.00043	0.00047	0.00036	0.00030		
Fel B	Anzahl Genotypen	21	21	21	21	15	21	21	21	21	21	21	20	21	20	20	21	21	21	20	20	
	HO	0.57143	0.85714	0.76190	0.76190	0.80000	0.38095	0.90476	0.80952	0.76190	0.66667	0.66667	0.75000	0.85714	0.65000	0.75000	0.61905	0.47619	0.47619	0.50000	0.68534	
	HE	0.71080	0.92915	0.88269	0.87573	0.80920	0.31591	0.76307	0.88618	0.86876	0.73403	0.78513	0.71282	0.77584	0.79487	0.68590	0.63415	0.47038	0.50174	0.52949	0.71925	
	HWE P-value	0.26054	0.01442	0.01561	0.00000	0.65984	1.00000	0.56533	0.02614	0.27893	0.22331	0.03345	0.66024	0.44869	0.09875	0.70742	0.40863	1.00000	1.00000	1.00000		
	s.d.	0.00042	0.00012	0.00007	0.00000	0.00045	0.00000	0.00051	0.00012	0.00032	0.00037	0.00014	0.00053	0.00039	0.00021	0.00044	0.00042	0.00000	0.00000	0.00000		

## Anhang F: Plagiatserklärung



### Erklärung betreffend das selbständige Verfassen einer Bachelorarbeit im Departement Life Sciences und Facility Management

Mit der Abgabe dieser Bachelorarbeit versichert der/die Studierende, dass er/sie die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst hat.

Der/die unterzeichnende Studierende erklärt, dass alle verwendeten Quellen (auch Internetseiten) im Text oder Anhang korrekt ausgewiesen sind, d.h. dass die Bachelorarbeit keine Plagiate enthält, also keine Teile, die teilweise oder vollständig aus einem fremden Text oder einer fremden Arbeit unter Vorgabe der eigenen Urheberschaft bzw. ohne Quellenangabe übernommen worden sind.

Bei Verfehlungen aller Art treten Paragraph 39 und Paragraph 40 der Rahmenprüfungsordnung für die Bachelor- und Masterstudiengänge an der Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften vom 29. Januar 2008 sowie die Bestimmungen der Disziplinarmassnahmen der Hochschulordnung in Kraft.

Ort, Datum:

Zürich, 08.08.2019

Unterschrift:

T. Napitupulu

Das Original dieses Formulars ist bei der ZHAW-Version aller abgegebenen Bachelorarbeiten im Anhang mit Original-Unterschriften und -Datum (keine Kopie) einzufügen.



## Einleitung

Die Seeforelle (*Salmo trutta* f. lacustris) gilt als stark gefährdete Tierart [1]. Gründe dafür sind Umweltfaktoren und menschliche Eingriffe in ihre Lebensräume [2]. Allein in den untersuchten Zuflüssen bestehen 31 künstliche Wanderhindernisse [3]. Im Kanton Zürich werden Seeforellen an Stellen mit Naturverlärungsdefiziten besetzt [4]. Mit genetischen Markern kann der Erfolg dieser Besatzpraktik überprüft werden.

In dieser Arbeit wurden 19 Mikrosatelliten-Marker untersucht. Deren Ergebnisse lieferten Erkenntnisse über die genetische Vielfalt und die genetischen Unterschiede zwischen dem Muttertierstammesatz in der Fischzucht Stäfa (FZ Stäfa) und den Forellenpopulationen in den Dorfbächen von Küsnacht (Küs DB), Meilen (Mei DB), Erlenbach (Erl DB) und Feldbach (Fel B).

## Methoden

95 Individuen wurden aus den Zuflüssen von der Fischerei- und Jagdverwaltung des Kantons Zürich gefangen. Zusätzlich stellten sie 48 Besatzfischproben aus der Fischzucht in Stäfa zur Verfügung:

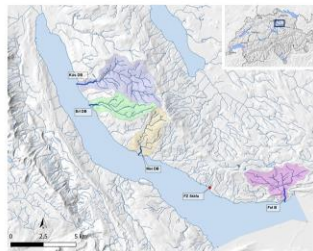


Abbildung 1: QGIS-Karte mit den beprobten Zuflüssen und der Fischzucht Stäfa des Kantons Zürich (GeoLion, GIS-ZH-Nr. 314)

- DNA-Extraktion mittels Chelex [5]
- Vervielfältigung der DNA-Sequenzen mit der Polymerase-Kettenreaktion (PCR)
- Sequenzierung der DNA-Proben mit Genetic Analyzer 3500 (Applied Biosystem)
- Genotypisierung mit GeneMapper V. 5
- Datenanalyse

## Resultate

### Genotypisierung

Aufgrund von Stutterpeaks wurden folgende Individuen an folgenden Loci von der Auswertung ausgeschlossen:

- Erl DB: 1 Individuum an 7 Loci
- Küs DB: 2 Individuen an 1 beziehungsweise 4 Loci
- Fel B: 1 Individuum an 4 Loci

### Genetische Variabilität

Die Population in Fel B zeigte die höchste Variabilität (AR) mit 6.45 Allelen. Die niedrigste war in der FZ Stäfa zu beobachten mit 3.89 Allelen. Die genetische Variabilität ist massgebend für die Überlebenswahrscheinlichkeit einer Art [6].

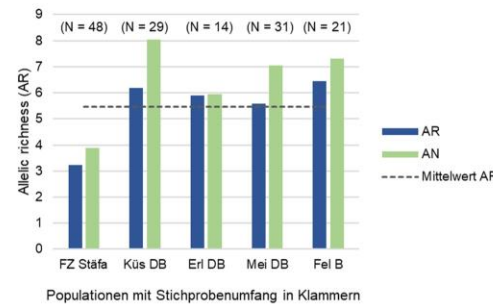


Abbildung 2: Anzahl Allele pro Population (AN), stichprobenkorrigierten Anzahl der Allele pro Population (AR), Mittelwert des AR über alle Populationen und Individuen

Bei den Besatzfischen in FZ Stäfa konnte ein Heterozyotenüberschuss festgestellt werden ( $FIS = -0.144$ ). Dieser wurde zusätzlich überprüft [7]. Aufgrund der signifikanten Abweichung des Mutations-Drift-Gleichgewichts befindet sich diese Population momentan in einem genetischen Engpass ( $p < 0.05$ ). Die Überlebensfähigkeit dieser Population ist vermindert [6].

Tabelle 1: Zusammenfassende Auswertung für die beprobten Seeforellen in den Zürichsee-Zuflüssen und Muttertierstammhalterung.

Standorte	N	H <sub>o</sub>	H <sub>e</sub>	HWG p-Wert	FIS	p-Wert	N LD (p<0.05)	N LD (p* < 2.9*10 <sup>-4</sup> )
FZ Stäfa	48	0.62	0.54	0.16	-0.144	n.s.	95	19
Küs DB	29	0.69	0.71	0.35	0.027	n.s.	24	5
Erl DB	14	0.67	0.69	0.59	0.037	n.s.	5	0
Mei DB	31	0.65	0.66	0.33	0.011	n.s.	27	3
Fel B	21	0.68	0.72	0.44	0.048	<0.05	11	1

### Genetische Differenzierung

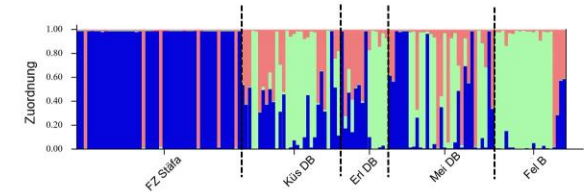


Abbildung 3: Structure bar plot zur Visualisierung der Populationsstruktur der beprobten Seeforellen mit 19 Mikrosatelliten-Markern. Jede Farbe repräsentiert eine Hauptclustergruppe und jeder Balken ein Individuum.

Die fünf Populationen können in 3 Hauptclustergruppen eingeteilt werden. In der FZ Stäfa bestehen 2 Subpopulationen. Eine Hybridisierung (Aufteilung 50:50) konnte in Küs DB beobachtet werden.

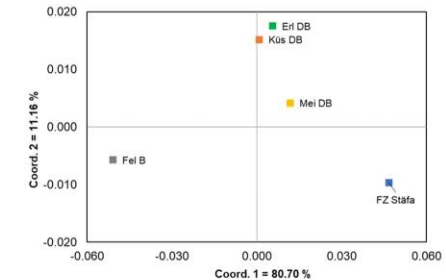


Abbildung 4: Visualisierung der genetischen Distanz zwischen den Populationen mit der Hauptkoordinatenanalyse. Die ersten beiden Hauptkoordinaten erklären 91.86% der Gesamtvarianz. Je näher die Populationen beieinander liegen, desto ähnlicher sind deren genetische Eigenschaften.

Die Hauptkoordinatenanalyse zeigte, dass die Besatzfische sich hochsignifikant ( $p < 0.001$ ) von den Forellen aus den anderen Zuflüssen unterscheiden.

## Diskussion

Die Dorfbäche sollen nicht mehr mit den Fischen aus der Fischzucht in Stäfa besetzt werden. Ein Grund ist die reduzierte genetische Vielfalt innerhalb der Besatzpopulation. Damit wäre die genetische Variabilität der anderen Populationen bei Hybridisierung gefährdet und könnte zum Aussterben der Art beitragen. Wanderhindernisse sollen vor allem saniert werden, um den uneingeschränkten Zugang zu den Laichplätzen zuzulassen.