

Der Steinkrebs *Austropotamobius torrentium* (Schränk, 1803) in Vorarlberg

Nr. 52 - 2018

Christian Berger¹ & Leopold Füreder²

¹ MMag. Dr. Christian Berger
Sägerstraße 26/TOP 5, A 6800 Feldkirch
E-Mail: berger_ch@gmx.at

² Ao. Univ.-Prof. Dr. Leopold Füreder
River Ecology & Invertebrate Biology - Institute of Ecology
University of Innsbruck, Technikerstraße 25, A 6020 Innsbruck
E-Mail: leopold.fuereder@uibk.ac.at

Zusammenfassung

Die Vorarlberger Steinkrebs-Bestände befinden sich nicht im günstigen Erhaltungszustand gemäß der Fauna-Flora-Habitat-Richtlinie. Als wesentliche Ursachen dafür sind zu nennen: # Isolierte Populationen, die großteils kleine Bestandszahlen aufweisen; # Genetische Verarmung der Populationen; # Unzureichende Ufer-Begleitvegetation, die das Risiko von Einträgen erhöht; # Reliktpopulationen, die weit unter der ursprünglichen Verbreitung der Art zurückbleiben.

*Die Vorarlberger Steinkrebsbestände gehören in phylogeographischer Hinsicht der genetisch relativ verarmten und homogenen Linie an, die Mitteleuropa von Süd-Ost-Europa aus wiederbesiedelt hat. Während die Region im Allgäu eine höhere genetische Variabilität aufweist, liegt in Vorarlberg eine auffallende, natürlich bedingte, Homogenität vor. In populationsgenetischer Hinsicht präsentieren sich die Vorarlberger Bestände ebenso als verarmt. Im Gegensatz zur Phylogeographie, hat dies kaum natürliche Ursachen, sondern ist auf die völlige Isolierung der Populationen und die großteils kleinen Abundanzen zurückzuführen. Die Isolierung führte bereits zu einer nachweisbaren genetischen und morphologischen Differenzierung der Populationen. Die Vorarlberger Steinkrebse zeigen eine große Vielfalt an Epibionten-Gemeinschaften. Neben drei Branchiobdelliden-Arten konnte der Polychaet *Hystricosoma chappuisi* nachgewiesen werden. Die Art *Branchiobdella balcanica* wurde im Rheineinzugsgebiet weder in Vorarlberg noch in der Schweiz angetroffen. Die gefundenen Indizien für ein biogeographisches Verbreitungsmuster der Branchiobdelliden könnten andeuten, dass im Untersuchungsraum verschiedene Rekolonisierungslinien des Steinkrebsses vorkommen. Die Epibionten zeigen artspezifische Aufenthaltsorte auf dem Steinkrebs, was deren Koexistenz unterstützen dürfte. Darüber hinaus konnten artspezifische, abiotische Faktoren identifiziert werden, die Einfluss auf das Vorkommen bzw. die Abundanz der Epibionten haben. Hinsichtlich der Art *Hystricosoma chappuisi* wurden in den anatomisch-morphologischen Untersuchungen klare Hinweise für dessen Zugehörigkeit zu den Polychaeta gefunden.*

Wesentliche Schlussfolgerungen für den praktischen Artenschutz

Maßnahmen zum Schutz und zur Erhaltung des Steinkrebsses sind aus Sicht der Autoren notwendig. Die Maßnahmen sollten in erster Linie bei den einzelnen Populationen ansetzen und auf den Lebensraumschutz und die Konnektivität abzielen. Die Ansiedelung neuer Populationen ist ebenso ein begrüßenswerter Schritt. Der Besatz von Krebsen in bestehenden Populationen ist als Notfallmaßnahme anzusehen. Bei Besatzmaßnahmen sollten stets die in dieser Studie identifizierten Evolutionarily Significant Units und die populationsgenetischen Managementeinheiten berücksichtigt werden und ist eine Durchmischung dieser durch Translokationen zu vermeiden. Die Aufzucht von Brütlingen unter künstlichen Bedingungen ist mit relativ einfachen Mitteln möglich, jedoch mit einem gewissen Zeitaufwand verbunden. Dieser Ansatz kann bei einer geplanten Ansiedelung von Populationen unterstützend zum Einsatz kommen. Schutzmaßnahmen für den Steinkrebs kommen gleichzeitig den Epibionten zugute. Auf Grund der äußerst engen Bindung der Epibionten an ihren Wirt, teilen sie in puncto Arterhaltung dessen Schicksal.

Key words: Steinkrebs, *Austropotamobius torrentium*, Vorarlberg, Artenschutz, Populationsgenetik

1 Einleitung

1.1 Steinkrebse in Vorarlberg

Im Zentrum des gegenständlichen Forschungsprojekts stand der in Zentral- und Südost-Europa verbreitete Steinkrebs [*Austropotamobius torrentium* (Schränk, 1803)]. Dieser Flusskrebs gilt, gemeinsam mit dem Edelkrebs [*Astacus astacus* (Linnaeus, 1758)] und dem Dohlenkrebs [*Austropotamobius pallipes* (Lereboullet, 1858)], als in Österreich ursprünglich heimische Art. Alle drei Arten stehen seit langer Zeit nicht nur in Österreich, sondern im gesamten Verbreitungsgebiet unter hohem Druck. Waren früher eine starke Befischung, ein hoher Verschmutzungsgrad und intensive Gewässer-Regulierungsmaßnahmen (Lebensraumverlust) die Hauptursachen, so ist seit einigen Jahrzehnten als größte Gefahrenquelle zweifelsohne der Vormarsch nicht heimischer Krebsspezies zu nennen (s. dazu auch EDER & HÖDL 1998). Für den Vorarlberger Raum von größter Relevanz sind dabei der Signalkrebs (*Pacifastacus leniusculus*) und der Kamberkrebs (*Orconectes limosus*). Beide Arten sind nicht nur imstande, die heimischen Krebse aus ihren Lebensräumen zu verdrängen (VORBURGER & RIBI 1999), sondern sind zudem potentielle Wirte der sog. Krebspest, einer bei nordamerikanischen Krebsen weit verbreiteten Oomyceten-Infektion (*Aphanomyces astaci* Schikora, 1906), die für europäische Flusskrebse im Regelfall tödlich endet (VRÅLSTAD et al. 2011). In der IUCN Red List of Species (www.iucnredlist.org) wird der Edelkrebs als »vulnerable« (gefährdet) (EDSMAN et al. 2010), der Dohlenkrebs als »endangered« (stark gefährdet) (FÜREDER et al. 2010a) und der Steinkrebs als »data deficient« (Datenlage ungenügend) (FÜREDER et al. 2010b) gelistet. Letzteres mag darauf zurückzuführen sein, dass der Steinkrebs seit jeher kaum von wirtschaftlichem Interesse war und somit die Forschungsaktivitäten verhältnismäßig gering waren. In Österreich



Abb. 1: Der Steinkrebs *Austropotamobius torrentium* (Schränk, 1803)

gilt der Steinkrebs heute als gefährdet und hat Eingang in die »Rote Listen Gefährdeter Tiere Österreichs« gefunden (www.umweltbundesamt.at). Außerdem wurde er – wie bereits zuvor der Dohlenkrebs – in den Anhang II sowie Anhang V der FFH-Richtlinie (RL 92/43/EWG) aufgenommen. Letzteres bedeutet, dass es sich um eine Tierart handelt, für deren Erhaltung die EU-Mitgliedstaaten besondere Schutzgebiete ausweisen müssen. In Vorarlberg sind derzeit keine Einträge zum Gefährdungszustand der heimischen Flusskrebse zu finden.

Vor dem Hintergrund des wenig zufriedenstellenden Kenntnisstandes zu den Vorarlberger Steinkrebsen wurde das Forschungsprojekt initiiert und geplant. Zum Zeitpunkt des Projektbeginns basierte der regionale Wissensstand auf der Studie »Vorkommen und Verbreitung von Flusskrebsen in Vorarlberg« (HUTTER et al. 2001), die eine Darstellung der zum damaligen Zeitpunkt bekannten Steinkrebs-Vorkommen enthält. Unbehandelt blieben dagegen Aspekte betreffend die Populationsgrößen und die Habitatqualität der einzelnen Standorte sowie Einblicke in die Phylogeographie und Populationsgenetik der Vorarlberger Steinkrebs-Vorkommen. Diese Aspekte sind jedoch ganz allgemein von naturschutzfachlicher Bedeutung und in der heutigen Zeit für die Planung

allfälliger Artenschutzmaßnahmen als »state of the art« anzusehen und nicht mehr weg zu denken.

Die Habitatqualität und die Populationsgrößen sind als ganz zentrale Indikatoren für den Zustand von Populationen anzusehen. Stark beeinträchtigte Lebensräume setzen die dort lebenden Arten nämlich einem stetigen Überlebenskampf aus, der auf Dauer zu deren Verschwinden führen kann. Die Populationsgröße und -dichte wiederum hat eine Aussagekraft für den Zustand und die Vitalität eines Vorkommens. Besonders die Lebensraumqualität und -größe stellt einen Aspekt dar, der Ansatzpunkt für praktische Verbesserungsmaßnahmen an bereits bestehenden Standorten sein kann.

Seit einigen Jahren nimmt ein weiterer Aspekt für die Beurteilung und das Schicksal zahlreicher geschützter Arten dramatisch an Bedeutung zu: der Einzug und die zunehmende Ausbreitung invasiver Neobiota. Dabei handelt es sich um Tier- und Pflanzenarten, die durch den Einfluss des Menschen eine Einschleppung in nicht ursprüngliche (heimische) Naturräume erfahren und dort als sehr konkurrenzstarke Akteure auftreten. Gerade im Zusammenhang mit dem Schutz europäischer Flusskrebse spielen solche nicht-heimischen Arten eine besonders große Rolle, da die

Einschleppung nordamerikanischer Flusskrebse mittlerweile eine »lange Tradition« hat. Diese stellten sich als teilweise sehr konkurrenzstark heraus (FÜREDER & PÖCKL 2007; SÖDERBÄCK 1994) und bergen durch die Verbreitung der sog. Krebspest eine sehr große Gefahr für die heimischen Vorkommen in sich (CERENIUS et al. 2006). In Vorarlberg ist der Signalkrebs [*Pacifastacus leniusculus* (Dana, 1852)] der bedeutendste Vertreter, der in Wolfurt bestockt wurde (DOPPELMAYER 1978) und vor allem in den Bächen und Gräben der Gemeinden Wolfurt, Schwarzach und Lauterach vorkommt. Die aktuelle Verbreitung der Art im Detail zu studieren, hätte den Rahmen dieses Projekts bei Weitem überstiegen. Zusätzlich zu einer Grobbeurteilung des Verbreitungsbildes wurde jedoch eine Analyse von Signalkrebs-Individuen hinsichtlich des Krebspestbefalls in Auftrag gegeben. Dies ist eine wichtige Grundlage, um das Gefährdungspotential dieser Art für die heimischen Steinkrevsvorkommen einschätzen zu können.

Eine andere Schutzmaßnahme ist die Wiederansiedelung von Populationen an neuen Standorten, die in Anbetracht der vielerorts zu beobachtenden Rückgänge von Populationen an Bedeutung gewinnt. Solchen Maßnahmen sollten aus folgenden Erwägungen heraus genetische Untersuchungen vorausgehen:

1) Eine Wiederansiedelung sollte insbesondere berücksichtigen, dass die neuen Populationen einen hohen Grad an genetischer Variabilität aufweisen. Damit wird deren Potential erhöht, im evolutiven »Überlebenskampf« gegen jegliche Form von Stress eine hohe Widerstandskraft bzw. Beständigkeit zu haben.

2) Bei einer Vermischung von Individuen der lokalen Populationen mit Individuen »fremder« Populationen sollte beachtet werden, dass diese derselben »Evolutionseinheit« angehören: Die geographische Isolierung von verschiedenen Populationen einer Art im Laufe der Erdgeschichte führte zur

Entwicklung eigenständiger Evolutionseinheiten (sog. Evolutionarily Significant Units, ESUs). Populationen unterschiedlicher Einheiten sollten nicht durchmischt werden.

3) Aber auch auf regionaler Ebene kommt es durch die Isolierung von Populationen zur genetischen Differenzierung von Teilpopulationen. Dies bedeutet zum einen, dass die genetische Diversität innerhalb der Population abnimmt (aufgrund eines eingeschränkten Genflusses), zum anderen, dass sich einzelne Populationen so stark auseinander entwickeln können, dass sie als getrennte Managementeinheiten behandelt werden sollten. Damit wird mit entsprechenden populationsgenetischen Untersuchungen eine unverzichtbare Vorarbeit für Wiederansiedelungsmaßnahmen geleistet.

Bei der Entnahme von Individuen zum Zweck der Wiederansiedelung an neuen Standorten darf jedoch auch die Populationsgröße der »Quell-Population« nicht außer Betracht gelassen werden. Damit wird verhindert, dass durch die Entnahme eine solche Quellpopulation gefährdet wird.

Vor diesem Hintergrund war es Ziel des Forschungsprojektes eine möglichst umfassende Aufnahme der derzeit bestehenden Steinkrebs-Populationen durchzuführen. Diese sollte umfassen:

- eine Aktualisierung der Vorkommen
- eine Beschreibung der Habitatqualität und allfälligen Gefährdungsfaktoren
- eine Bestimmung der Populationsgrößen
- die Durchführung phylogeographischer und populationsgenetischer Untersuchungen

1.2 Teilstudie Genetik

Es ist als Stand der Wissenschaft anzusehen, dass ein umfassendes Bild zum Erhaltungszustand einer Art auch genetische Aspekte mitumfassen muss (SOUTY-GROSSET et al. 2003). In den vergangenen Jahrzehnten wurden die Methoden für entsprechende Studien

laufend erweitert und verbessert. Angefangen von der Allozym-Analyse auf Proteinebene, über Untersuchungen auf der Ebene der mitochondrialen DNA (mtDNA) bis hin zu zahlreichen Ansätzen auf Ebene der Kern-DNA (ncDNA), wurde die Erforschung auch bei Flusskrebsen in den letzten 20 Jahren stark vorangetrieben (einen Überblick zu den verschiedenen Methoden liefern z.B. FETZNER & CRANDALL 2002).

Im Rahmen dieses Forschungsprojektes wurde ein zweistufiger Ansatz gewählt: In einem ersten Schritt wurde ein Abschnitt des Cytochrom-Oxidase Gens (COI) der mtDNA untersucht. Untersuchungen auf der Ebene der mtDNA erlauben eine phylogeographische (historische) Betrachtung des Ursprungs der Populationen im Untersuchungsraum sowie einen Vergleich der genetischen Ausstattung der studierten Populationen. Dies, da sich mtDNA-Sequenzen zum einen zwar relativ rasch verändern können, zum anderen aber nicht-rekombinant vererbt werden, d.h. die Vererbung findet auf der Ebene der Haplotypen statt (AVISE 2004). Dadurch können regionale und überregionale Zusammenhänge zwischen Populationen aufgedeckt und nach deren Ursachen gesucht werden.

In einem zweiten Schritt wurde eine Mikrosatelliten-Studie durchgeführt. Als Mikrosatelliten werden kurze nicht-kodierende repetitive Gensequenzen (Short Tandem Repeats, STRs) auf der ncDNA bezeichnet, die eine relativ hohe Mutationsrate aufweisen und rekombinant vererbt werden (AVISE, 2004). Diese Eigenschaften führen dazu, dass Unterschiede zwischen isolierten Populationen innerhalb relativ kurzer Zeiträume bei diesen Markern sichtbar werden, wobei sich dies in einer unterschiedlichen Anzahl an repetitiven Sequenzen darstellt. Dies macht Mikrosatelliten zu beliebten molekularen Markern, die in Untersuchungen der Populationsstruktur Anwendung finden.

1.3 Epibionten auf Steinkrebsen

Flusskrebse leben in einer engen Beziehung mit sog. Krebssegeln (Annelida, Clitellata, Branchiobdellidae), die epizoisch deren Außenskelett besiedeln. In Europa gelten fünf Spezies als heimisch, wovon vier Arten in Österreich nachgewiesen wurden. Für den Vorarlberger Raum beschränkt sich das Wissen auf NESEMANN & HUTTER (2002). Darin wird das Vorkommen von zwei der Branchiobdelliden-Arten, *Branchiobdella parasita* (Braun, 1883) und *Branchiobdella hexadonta* (Gruber, 1883), für Vorarlberg nachgewiesen. Darüber hinaus enthält Studie die Erstbeschreibung der Art *Branchiobdella papillosa*. Nachdem sich die damaligen Untersuchungen auf fünf Fließgewässer Vorarlbergs beschränkten, zielte die gegenständliche Studie darauf ab, eine möglichst vollständige Erhebung der auf Steinkrebsen vorkommenden Epibionten durchzuführen. Eine weitere Intention war es, durch den Einbezug sämtlicher Steinkrebs-Standorte allenfalls vorhandene Verbreitungsmuster der unterschiedlichen Arten zu erkennen. Über die Aufnahme von biotischen und abiotischen Habitatfaktoren sollten darüber hinaus Erkenntnisse darüber gewonnen werden, welche dieser Faktoren von Relevanz für das Vorkommen und oder die Häufigkeit einzelner Arten sind.

Der Projektantrag enthielt darüber hinaus eine Versuchsplanung dahingehend, ob es mit zunehmender Meereshöhe (sinkender durchschnittlicher Wassertemperatur) bzw. zunehmender Fließgeschwindigkeit zu einer Verschiebung des Artenspektrums der Krebssegel kommt. Für den Fall, dass eine Veränderung bedingt durch die Zunahme der Fließgeschwindigkeit nachzuweisen ist, würde in weiterer Folge untersucht, ob die Arten ihr spezifisches »Revier« auf dem Wirt verlagern, nämlich hin zu einer strömungsgeschützteren Position. Die Aufnahme und Dokumentation der

im Feld gewonnenen Daten würde von einem Laborversuch unter kontrollierten Bedingungen begleitet. Hierzu ist in diesem Bericht festzuhalten, dass die Feldaufnahmen keinen relevanten Zusammenhang zwischen der Fließgeschwindigkeit und dem Vorkommen bzw. der Verteilung der Krebssegel zeigten. Dies, da im Feld die beprobten Steinkrebse ausschließlich in Bereichen geringer Fließgeschwindigkeit auftraten. Folglich erbrachten die Aufnahmen keine Daten, die einen begleitenden Laborversuch zu dieser Fragestellung als zweckmäßig erscheinen ließen.

Vor diesem Hintergrund wurden folgende Untersuchungen durchgeführt, um die hierfür vorgesehenen Geld- und Personalmittel zweckmäßig einzusetzen:

- Der Untersuchungsraum betreffend die auf Steinkrebsen vorkommenden Epibionten wurde für die Herbstperiode um 7 weitere Standorte in St. Gallen (5) sowie Bayern (2) erweitert. Dadurch würde die Datenmenge und -qualität zu Verbreitungsmustern deutlich erhöht werden.
- Im Zuge der Epibionten-Beprobung wurde die Art *Hystricosoma chappuisi* (Polychaeta, Aeolosomatidae) auf Steinkrebsen nachgewiesen (s. Pkt. 3.3). Diese Art ist bis dato in der Wissenschaft noch relativ wenig erforscht und wurden daher im Zuge des Projekts Untersuchungen zur Anatomie und Morphologie sowie zur Autökologie der Art angestellt (s. auch Pkt. 1.5).

1.4. Wiederansiedelung von Steinkrebsen

Das Projekt sah vor, als Vorstufe der Wiederansiedelungsversuche Experimente durchzuführen, in deren Rahmen die Anpassungsfähigkeit des Steinkrebses an Veränderungen der beiden genannten Umweltfaktoren untersucht wird. Zudem war angedacht, Wiederansiedelungsversuche unter Verwendung Vorarlberger Po-

pulationen und Individuen aus Krebsezuchten durchzuführen. Hierzu ist mitzuteilen, dass vor dem Hintergrund der – wie sich im Zuge der Bestandsaufnahmen herausstellte – überwiegend äußerst kleinen Populationen von diesen Versuchen abgesehen wurde. Darüber hinaus stellte sich heraus, dass das Auffinden geeigneter Besatzgewässer in Vorarlberg äußerst schwierig ist (s. Pkt. 3.4.1). Der Besatz mit Individuen aus einer Krebsezucht wurde nicht realisiert, da die populationsgenetischen Untersuchungen (s. Pkt. 3.2.1) eine hohe Homogenität der hiesigen Bestände zeigten. Der Besatz mit Zuchtkrebsen aus einer anderen Region hätte das Risiko einer Vermischung verschiedener Genpools impliziert.

- Daher wurde die Planung insofern geändert, als gezielt in Vorarlberg erstmals praktische Erfahrungen in der Zucht und Wiederansiedelung von Steinkrebsen gesammelt wurden. In diesem Rahmen wurden Sömmerlinge aus eigenen Beständen unter künstlichen Bedingungen großgezogen und im Spätherbst an neuen Standorten angesiedelt. Im Vorfeld des Besatzes mussten Standorte mit geeigneten Lebensraumbedingungen gesucht werden. Bezüglich näherer Details wird auf den Methodenteil verwiesen. Dies stellten die ersten Versuche einer Wiederansiedelung von Steinkrebsen in Vorarlberg dar, die auch einer Erfolgskontrolle unterzogen wurden.

1.5 Anatomisch-morphologische Studie zu *Hystricosoma chappuisi*

Im Zuge des Forschungsprojektes wurde das Vorkommen der Art *Hystricosoma chappuisi* in zahlreichen Steinkrebspopulationen nachgewiesen. Diese in der Astakologie sehr wenig bekannte limnische Anneliden-Spezies wurde erstmals von MICHAELSEN (1926) beschrieben und dabei den Aeolosomatidae → Oligochaeta zu-

gewiesen. BRINKHURST (1971) und BUNKE (1988) waren erst Jahrzehnte später die Ersten, die die Zugehörigkeit der Aeolosomatidae zu den Oligochaeta in Frage stellten. Auf Grund des Nachweises von Nuchalorganen wurden die Aeolosomatidae von FAUCHALD & ROUSE (1997) schließlich den Poychaeta zugeteilt, obwohl die Gruppe sehr einfach gebaut ist, ihr einige häufige Polychaetenmerkmale fehlen (Antennen, Parapodien, etc.) und überdies genetische Untersuchungen (MOON et al. 1996) eine Zuteilung zu den Clitellata unterstützten.

Mit dem Einzug immuno-histochemischer Methoden hat die Debatte über die Systematik der Annelida neuen Aufwind bekommen (SIDALL et al. 2001). So wurden das Nervensystem und die Sinnesorgane intensiv studiert, um weitere Unterscheidungsmerkmale der einzelnen Taxa zu finden (ORRHAGE & MÜLLER 2005). Mit Hilfe dieser Ansätze wurden weitere Polychaeten-Merkmale entdeckt: 1) Nuchalorgane, 2) Gehirn im Prostomium lokalisiert 3) zweigeteilte circumoesophageale Konnektive 4) Strickleiter-Nervensystem mit zwei seitlichen und einem medianen Strang, die durch segmentale Kommissuren verbunden sind. Das Vorhandensein dieser Merkmale wurde von HESSLING & PURSCHKE (2000) und PURSCHKE & HESSLING (2002) für die Arten *Aeolosoma hemprichi* (Aeolosomatidae) bzw. *Potamodrilus fluviatilis* (Potamodrilidae) nachgewiesen, und die Autoren argumentierten, dass dies eine Zuordnung zu den Clitellata ausschließe.

Für die Art *Hysterosoma chappuisi* wurde bis dato keine vergleichbare Studie durchgeführt. Außerdem ist die Art in der Literatur, wie bereits erwähnt, nur wenig beschrieben. Vor diesem Hintergrund wurde im Rahmen der gegenständlichen Studie untersucht, ob für diese Art der Nachweis der oben genannten Merkmale gelingt und damit Argumente für die Zuordnung zu den Polychaeta gefunden werden können. Sollten diese Merkmale nicht vorliegen, wäre in Frage zu stellen, ob

die Einordnung der Art in die Aeolosomatidae gerechtfertigt ist.

2 Materialien & Methodik

2.1 Erhaltungszustand der Steinkrebspopulationen

2.1.1 Kartierung Steinkrebshabitate

Die Kartierung der in Vorarlberg bekannten Steinkrebstgewässer wurde an insgesamt 14 Standorten durchgeführt (Abb. 2). Elf dieser Standorte waren zu Beginn der Untersuchungen bereits bekannt: Torfriedbächle (TRB), Gandatobelbach (GTB), Walsbächle (WB), Zubringer Bolabach (ZBB), Hänslerbach (HAE), Weißenhubenbach (WHB), Dreienauerbach (DRB), Brögergraben (BRO), Dreiangelgraben (DAG), Zubringer Dorfbach (ZBD) und Mühlssteiggraben (MSG). Der Nachweis von Steinkrebsen an den Standorten Reiherbach (RB), Gschwendbach (GSB) und Zubringer Krebsgraben (ZBK) erfolgte dagegen erst im Zuge der Projektbearbeitung. Die Kartierungsarbeiten wurden für die erstgenannten Standorte im Sommer 2010, für die drei letztgenannten Standorte im Sommer 2011 durchgeführt. Alle

Standorte befinden sich im Einzugsgebiet des Rheinflusses, der das Vorarlberger Rheintal durchquert. Der geologische Untergrund an den Probestellen war Flysch oder Alpine Molasse.

Sämtliche Standorte wurden vor Ort begangen und fotografisch erfasst. Mit Hilfe eines Datenbogens wurden die Lebensraumelemente und eigen-schaften gemäß nachstehenden Kriterien erfasst.

- Höhenlage
- Linienführung
- Gewässertyp
- Charakteristik Gewässersohle
- Flusstyp
- Lichtverhältnisse
- Talform
- Biotische Choriotope
- Gefälle
- Künstliche & natürliche Aufstiegs-hindernisse
- Breitenklasse
- Charakteristik Uferböschung
- Breiten- / Tiefenvarianz
- Ufervegetation
- Abflussregime
- Verzahnung mit Umland
- Bewertung ökomorphologischer Zustand
- Umland & Landnutzung

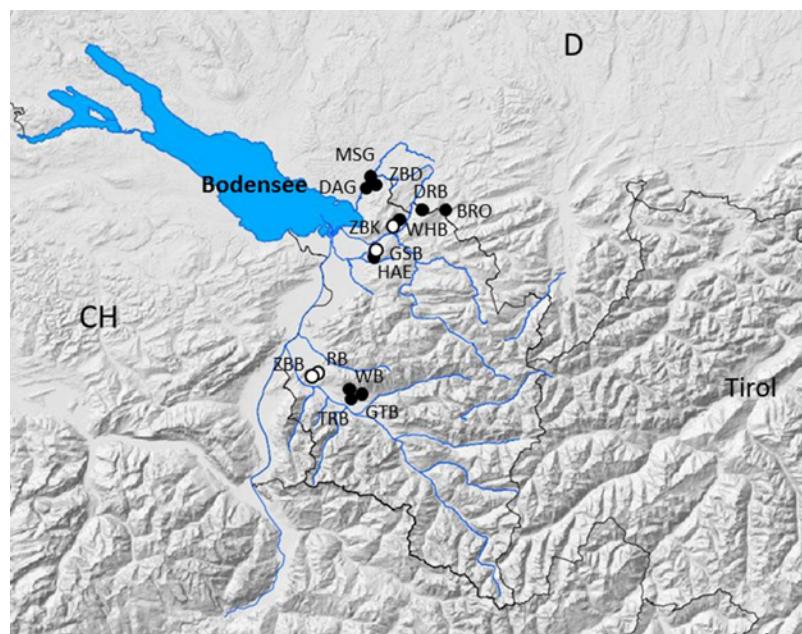


Abb. 2: Untersuchungsstandorte der Lebensraumkartierung und der Populationsstudie (Symbol schwarz: Kartierung & Populationsstudie; Symbol weiß: Kartierung).

- Strömungsverhältnisse
- Anthropogene Einflussfaktoren

Die Charakterisierung der Landschaft sowie der Landnutzungsform an den Standorten erfolgte zum einen im Rahmen örtlicher Begehungen, zum anderen mit Hilfe des GIS (Geographisches Informationssystem, Software: Quantum GIS 1.8.0 »Lisboa«, OSGeo Foundation, Delaware, USA; Daten: VoGIS, Vorarlberger Landesregierung, Bregenz). Das Risiko durch nicht heimische Flusskrebsarten wurde im Rahmen der Feldbegehungen sowie anhand von Literaturangaben (DOPPELMAYER 1978; BERGER et al. 2015) und im Rahmen persönlicher Gespräche mit Experten bestimmt. Die an den Standorten genommenen Wasserproben (Juli 2009, März 2010) wurden in den Labors des Umweltinstituts des Landes Vorarlberg untersucht. Die Parameter Wassertemperatur, pH, Leitfähigkeit und Sauerstoffkonzentration wurden vor Ort mit Feldmessgeräten erhoben (WTW Profiline Oxi 3205, WTW Multi 4310).

2.1.2 Bestimmung der Populationsgrößen

Die Erhebung der Populationsgrößen erfolgte an den in Abb. 2 dargestellten Standorten von Juli bis Oktober 2009. Am Standort ZBB konnte diese nicht durchgeführt werden, da er nicht zugänglich war.

Die Erhebung folgte unter Anwendung der Fang-Wiederfang Methode (Mark-Recapture Technique, KREBS 1989). An jedem Gewässer wurde ein möglichst repräsentativer 30m-Abschnitt ausgewählt. Innerhalb dieses Abschnittes wurden bei der ersten Beprobung sämtliche Krebse gefangen, markiert und wieder ausgesetzt. An vier unmittelbar darauffolgenden Terminen wurden wiederum im selben Abschnitt sämtliche Krebse gefangen und für den jeweiligen Fangtag markiert. Krebse, die an allen fünf Terminen gefangen wurden, wurden entsprechend 5 Mal, Krebse, die nur einmal gefangen wurden, lediglich einmal markiert. Mittels der Fangergebnisse wurde die

Populationsgröße für den gesamten besiedelten Bachabschnitt berechnet. Hierbei kam die »Closed population estimation« (OTIS et al. 1978) unter Anwendung der Software MARK, Version 5.1 (WHITE & BURNHAM 1999) zur Anwendung. Darüber hinaus wurde eine händische Berechnung mittels der Schumacher&Eschmeyer-Methode (KREBS 1989) durchgeführt. Die Populationsdichte (Ind./m² bedeckte Wasserfläche) wurde ebenfalls schätzungsweise bestimmt. Schließlich wurden für jedes Krebsindividuum das Geschlecht, das Körpergewicht und die Körperlänge bestimmt. Für die Bestimmung der Populationsstruktur wurden die Individuen nach der Körperlänge in nachstehende Größenkategorien sortiert: < 4 cm, 4 – 5,99 cm, 6 – 7,99 cm, > 8 cm.

2.1.3 Krebspestanalyse Signalkrebs

Zum Zwecke der Krebspestanalyse wurden im November 2014 insgesamt 20 Signalkrebs-Individuen aus dem Tobelbach (FOZ 811503) und dem Landgraben (FOZ 81150305) in der Gemeinde Wolfurt entnommen. Die Individuen wurden nachts mittels Handfang gewonnen, in Wasser transportiert, tiefgefroren und darauf auf dem Postweg zur Analyse an das Institut für Umweltwissenschaften der Universität Koblenz-Landau übermittelt. Dort wurden die Krebse mittels real-time PCR nach der Methode von VRÄLSTAD et al. (2009) analysiert. Hierbei handelt es sich nach den Angaben des beauftragten Labors um die Nachweismethode mit der höchsten Spezifität (d.h. mit dem geringsten Risiko eines falsch positiven Befunds) und der höchsten Sensitivität, d. h. bereits geringste Mengen des Krebspesterreger *Aphanomyces astaci* werden detektiert und die Gefahr eines falsch negativen Befundes ist minimal. Von jedem der 20 Signalkrebse wurden spezifische Körperstücke (Uropoden, weiche Abdominalkutikula, Beimgelenk) herausgeschnitten und von diesen die DNA extrahiert. Untersuchungen haben ergeben, dass bei in-

fizierten Flusskrebsen der Erreger der Krebspest (bzw. deren DNA) bei über 80% untersuchter Individuen auf diesen Stücken zu detektieren ist.

2.1.4 Bestimmung des Erhaltungszustandes

Gemäß Art. 1 lit. e der Fauna-Flora-Habitat-Richtlinie (RL 92/43/EWG) ist unter dem Erhaltungszustand eines natürlichen Lebensraumes zu verstehen: »die Gesamtheit der Einwirkungen, die den betreffenden Lebensraum und die darin vorkommenden charakteristischen Arten beeinflussen und die sich langfristig auf seine natürliche Verbreitung, seine Struktur und seine Funktionen sowie das Überleben seiner charakteristischen Arten in dem in Artikel 2 genannten Gebiet auswirken können.«

Folgende Kriterien sollten bei der Bestimmung des Erhaltungszustandes berücksichtigt werden: Natürliche Verbreitung, Populationsdynamik, Lebensraum (Art 1 leg. cit.) sowie die Zukunftsaussichten (EUROPÄISCHE KOMMISSION 2005, 2006).

Entsprechend den rechtlichen Grundlagen wurden für die gegenständliche Untersuchung die Einstufungen günstig (A), ungünstig – unzureichend (B) und ungünstig – schlecht (C) angewendet. Als »unbekannt« ist der Zustand zu bezeichnen, wenn nicht genügend Informationen vorhanden sind. Der Zeitpunkt, der als Referenz für den Erhaltungszustand heranzuziehen ist, ist jener des Beitritts des Mitgliedstaats zur Europäischen Union (EUROPÄISCHE KOMMISSION 2006). Wenn der Zustand zu diesem Zeitpunkt nicht günstig war, sind historische Daten oder Experteninformationen zum günstigen Zustand heranzuziehen.

Im Rahmen dieser Studie wurde in einem ersten Schritt eine Bewertung für die Ebene des Bundeslandes vorgenommen, und zwar gestützt auf das Ergebnis der Felderhebungen. Um diese Daten bzw. Datenqualität zu gängigen Bewertungsmethoden auf nationaler Ebene zu setzen, wurden geeignete Leitfäden für die Beurteilung herangezogen (ELLMAUER et al.

2005; TROSCHEL 2006). Nachdem diese nach Einschätzung der Projektverantwortlichen nicht sämtliche bedeutsamen Kriterien umfassten, wurden ergänzende Kriterien für die eigene Beurteilung herangezogen. Sämtliche Bewertungskriterien sind in *Tab. 1* dargestellt.

Der Erhaltungszustand für einen einzelnen Standort wurde aus der Synthese der Kriterien »Lebensraumqualität«, »Populationsdynamik« und

»Zukunftsansichten/Gefährdung« bestimmt, wobei für jedes Kriterium Teilkriterien zur Anwendung kamen. Bei der Gesamtbewertung wurde ELLMAUER et al. (2005) gefolgt, wobei dann abgewichen wurde, wenn ein Kriterium deutlich überwog. Der Gesamt-Erhaltungszustand für Vorarlberg wurde in weiterer Folge bestimmt, indem die einzelnen Standorte wie folgt zusammengefasst wurden:

Zustand »A«: 75-100 % der Lebensraumfläche aller Standorte im Zustand »A« UND ≤ 10 % der Lebensraumfläche aller Standorte im Zustand »C«

Zustand »B«: weder »A« noch »C«

Zustand »C«: ≥ 20 % der Lebensraumfläche aller Standorte »C« UND ≤ 50 % der Lebensraumfläche aller Standorte im Zustand »A«

Das Kriterium »natürliche Verbreitung« wurde auf der Ebene des Bun-

Tab. 1: Kriterien zur Bestimmung des Erhaltungszustandes auf der Ebene des Einzelstandorts (verändert nach PETUTSCHNIG 2005; TROSCHEL 2006).

Parameter	Kategorien des Erhaltungszustandes		
Lebensraum	A	B	C
Gewässerbett	Sehr heterogenes Gewässerbett mit versch. Korngrößenklassen und ausreichend Verstecken; kein schlammiges Material	Mittlerer Grad der Heterogenität des Gewässerbettes und der Versteckmöglichkeiten	Künstliches, monotones Gewässerbett mit unzureichender Strukturvielfalt
Uferzone	Große Strukturvielfalt der Uferzonen	Mittlere Strukturvielfalt der Uferzonen	Monotone Ausstattung der Uferzonen
Totholz	Vielzahl an Totholz	Mittlere Ausstattung mit Totholz	Kein oder sehr wenig Totholz
Ufervegetation	Natürliche Zusammensetzung mit Sträuchern, Nadel- und Laubbäumen (Erlen, Weiden, etc.); mind. 10 m breiter Gehölzsaum	Schmaler Gehölz-/ Vegetationsstreifen (1-10m) zur Beschattung und minimaler Pufferung	Kein oder kein durchgängiger schmaler Vegetationsstreifen
Fließcharakteristik	Natürliches abwechslungsreiches Fließmuster mit regelmäßigen Pools und geringer bis mittlerer Fließgeschw.	Nur bedingte Heterogenität der Fließcharakteristik	Monotone Fließcharakteristik auf Grund verarmter Gewässerstrukturen
Durchgängigkeit	Besiedelter Bereich ohne Wanderbarrieren	Kleine Anzahl an Barrieren bzw. Barrieren, die u.U. überwunden werden können	Wanderbarrieren, die eine Unterteilung in Sub-Populationen wahrscheinlich machen
Größe des Lebensraums	Sehr großer Lebensraum, der große Population ermöglicht	Mittlere Größe des Lebensraums	Kleiner Lebensraum
Populationsdynamik			
Populationsgröße	Bestand mit mehreren 1.000 Individuen, gute Bestandsdichte	Wenige 100 bis +/- 1000 Individuen; geringe bis mittlere Dichte	Max. einige Hundert Individuen; geringe Dichte
Populations-Struktur	Ausgeglichene Geschlechtsverteilung; versch. Größen-/ Altersklassen	Geschlechtsverteilung etwas unausgeglichene; leichtes Ungleichgewicht bei Alters-/ Größenklassen	Geschlechtsverteilung stark unausgeglichene; starkes Ungleichgewicht bei Alters-/ Größenklassen
Populations-Prognose	Vitale Population; große Population oder nicht isolierte Population	Eingeschränkte Vitalität; eingeschränkter Austausch durch Wanderbarrieren oder Isolierung	Kleine Population ohne Chance der Austausches
Zukunftsansichten / Risikofaktoren			
Landnutzung	Besiedelter Abschnitt von natürl. Vegetation umgeben; kein negativer Einfluss von angrenzender Landnutzung; keine Fischerei	Geringe oder mittlere Wahrsch. für Einträge von angrenzender Landnutzung; mittlere Pufferung; kaum Fischerei	Hohe Wahrsch. von Einträgen durch Landnutzung (Intensive Landwirtschaft, Industrie, Siedlungen, etc.); keine oder kaum Pufferung; intensive Fischerei
Abfluss-Regime	Natürliches Abflussregime ohne nennenswerte Eingriffe	Geringe bis mittlere Eingriffe in Abflussregime (Geschw., Volumen)	Stark manipuliertes Abflussregime (z.B. große Wasserentnahme)
Nicht heimische Krebsarten (NICS)	Keine NICS oder ausreichende Distanz, so dass kein Kontakt & keine Infizierung mit der Krebspest	NICS Populationen vorhanden; durch Distanz kein dzt. Kontakt; in Zukunft aber möglich; aber keine Infizierung mit der Krebspest	NICS in direktem Kontakt oder sehr nahe, negative Auswirkungen in naher Zukunft; Infizierung mit der Krebspest

deslandes bestimmt. Hierfür wurde vorhandene Literatur herangezogen (HUTTER et al. 2001; KÜHNIS 2014) sowie Expertenwissen.

2.2 Phylogeographie und Populationsgenetik Steinkrebse

2.2.1 Untersuchungsgebiet und Probenstandorte

Für die genetische Studie wurden über die unter *Punkt 2.1.1* genannten Standorte hinausgehend (mit Ausnahme ZBB) weitere Gewässer beprobt. So wurden aus jeweils zwei Populationen im Kanton St. Gallen (HIN, WAS) und in Bayern (SEE, SLB) Gewebeproben entnommen (Abb. 3). Letzteres erfolgte vor dem Hintergrund, Einblicke in die biogeographische Verbreitung der Steinkrebse in unserem Raum sowie deren Verwandtschaftsverhältnisse zu erlangen. Für den Fall, dass eines Tages Managementmaßnahmen in Form von Bestockung von neuen oder bestehenden Steinkrebspopulationen in Vorarlberg angedacht werden, sind solche Informationen von Relevanz. Für die Untersuchungen auf Ebene der mitochondrialen DNA (mtDNA) wurden die unter *Punkt 2.1.1* genannten Standorte im Herbst 2009 beprobt, während dies in den Nachbarländern im Herbst 2010 erfolgte. Die Anzahl an

Individuen pro Gewässer betrug zwischen 10 und 30 (insgesamt: 319 Ind.). Alle diese Populationen wurden ebenso in die Untersuchungen auf Ebene der nuklearen DNA (ncDNA) einbezogen. Darüber hinaus wurden im Sommer 2012 Gewebeproben an jenen drei Standorten genommen, die erst später entdeckt wurden. Für die Populationsstudie wurden insgesamt 472 Individuen herangezogen.

Alle Krebsindividuen wurden nachts per Handfang gefangen. Das Muskelgewebe wurde aus dem 4. Schreitbein gewonnen, das jeweils abgetrennt und in 96% Ethanol gegeben wurde. Musste früher ein Krebstier getötet werden für die Probenahme, ist diese Art der Beprobung zumindest als schonender bezeichnen, da Flusskrebse Schreitbeine regenerieren können.

2.2.2 Laboruntersuchungen

• DNA-Extraktion

Die DNA-Extraktion der im Jahr 2009 und 2010 genommenen Proben (199) erfolgte nach einer standardisierten Ammonium-Acetat-Methode. Die DNA-Extraktion der im Jahr 2012 ergänzend genommenen Proben erfolgte mittels dem GenElute™ Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) unter Befolgung der Anweisungen des Herstellers.

• mtDNA-Analyse

Ein Abschnitt von ca. 900 Basenpaaren (bp) der mtDNA Kontrollregion wurde mit den Primern Co16b und COH6, welche von SCHUBART & HUBER (2006) designiert worden waren, amplifiziert. Anschließend wurden unterschiedlich lange Abschnitte der mtDNA-Sequenzen amplifiziert, wobei die durchschnittliche Länge 538 bp betrug. Im Jahr 2010 wurde für die in diesem Jahr gewonnenen Proben entsprechend vorgegangen, wobei ORCO1f (TAYLOR & HARTMAN 2002) als Forward-Primer und ein selbst-designierter Reverse-Primer zur Anwendung kamen (COLREV - 5'ACAACAAACCCTAAACACC-3'). Mit 661bp amplifizierte dieses Primerpaar ein etwas längeres PCR-Produkt, das jedoch die oben genannte 538bp-Sequenz in sich trug.

• Mikrosatelliten-Analyse

Fünf Mikrosatelliten (Aas5, Aas6, Aas3040, AP6 und Aitali3), die für nahe verwandte Krebsarten designiert und als für Steinkrebse ebenso geeignet identifiziert worden waren, wurden näher untersucht. Deren Eignung für die Verwendung bei Steinkrebsen, was als »Cross-Amplifikation« bezeichnet wird, wurde von IORGU et al. (2011) und VORBURGER et al. (2014) nachgewiesen. Schließlich wurde ein weiterer, von Univ. Prof. F. Grandjean (Universität Poitiers, Frankreich) zur Verfügung gestellter, artspezifischer Primer (Ator37) verwendet. Sämtliche PCR-Läufe wurden mit einem MyCycler Thermal Cycler (Biorad, USA) in 20 µl Reaktionsgefäßen durchgeführt. Details zu den PCR-Protokollen für den jeweiligen Primer sind in Tab. 2 dargestellt. Um die Länge der amplifizierten DNA-Sequenzen bestimmen zu können,

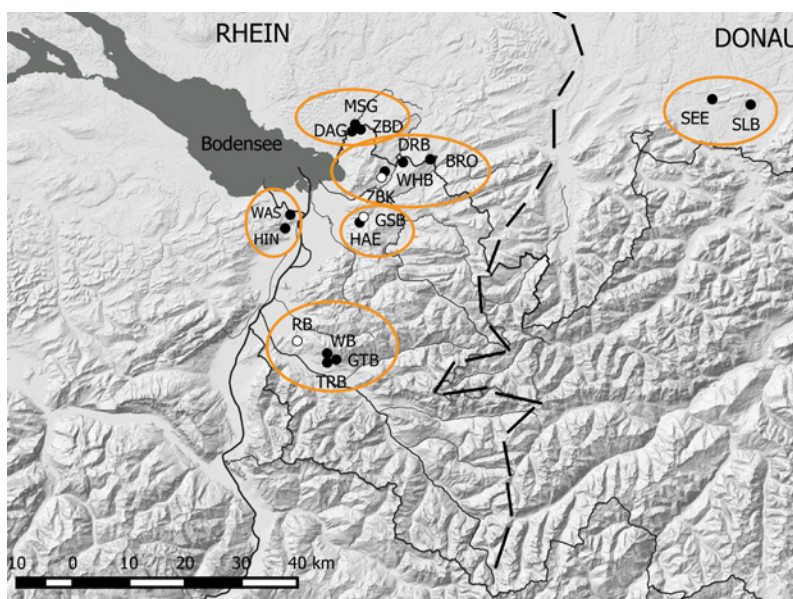


Abb. 3: Probenstandorte der genetischen Teilstudie. Sämtliche Standorte wurden in die Mikrosatellitenstudie einbezogen, lediglich die schwarzen Punkte in die Analyse der mtDNA. Schwarz strichliert ist schematisch die Grenze zwischen dem Rhein- und dem Donau-Einzugsgebiet markiert. Umrundet sind die gewählten räumlichen Gruppen für die AMOVA.

Primer	Annealing Temp. (°C)	MgCl ₂ (mM)	PCR-Einstellungen	Primer Konz. (µM)	Taq. Pol. (U)	dNTP (µM)	Puffer *	DNA (ng/µl)	Literatur
Aas5	55	2,5	3 min 95°, 30 sec 95°, 30 sec 55°, 30 sec 72°, 10 min 72° (30 cycles)	0,08 – 0,15	1	100	1x	2	Iorgu et al. (2011)
Aas6	59	2	3 min 95°, 30 sec 95°, 30 sec 59°, 30 sec 72°, 10 min 72° (30 cycles)	0,1 - 0,2	1	100	1x	2	Iorgu et al. (2011)
Aas3040	60	1,8	3 min 95°, 30 sec 95°, 30 sec 55°, 30 sec 72°, 10 min 72° (30 cycles)	0,15	1	100	1x	2	Iorgu et al. (2011)
AP6	58	1,2	3 min 95°, 30 sec 95°, 30 sec 55°, 30 sec 72°, 10 min 72° (30 cycles)	0,1 - 0,2	1	100	1x	2	Iorgu et al. (2011)
Aitali3	62	1,5	5 min 95°, 30 sec 95°, 45 sec 62°, 45 sec 72°, 5 min 72° (35 cycles)	0,10 – 0,15	1	100	1x	1	Pedraza-Lara et al. (2011)
Ator37	54	2	5 min 95°, 30 sec 95°, 30 sec 54°, 45 sec 72°, 10 min 72° (35 cycles)	0,2	0,5	400	1x	1	Grandjean

Tab. 2: PCR-Protokolle für die Mikrosatelliten-Primer. Aus BERGER et al. 2017

wurden die Forward-Primer mit Fluoreszenz-Farbstoffen markiert (MacroGen Inc., Seoul, Südkorea). Genescans der amplifizierten Produkte erfolgten mit einer automatischen Sequenziermaschine (MacroGen Inc., Seoul, Südkorea) und die erhaltenen Allele wurden unter Verwendung der Software GeneMapper v4.0 (Applied Biosystems, Foster City, USA) gezählt und näher bestimmt.

• Morphometrie-Analyse

Zusätzlich zu den genetischen Analysen wurden 14 Steinkrebspopulationen (ohne RB, GSB und ZBK) auch morphometrisch untersucht. Sämtliche Krebsindividuen wurden im Jahr 2009 per Hand gefangen. Insgesamt wurden, entsprechend der Methode nach SINT et al. (2007), mit einer Schublehre 21 morphologische Kenngrößen von jedem Individuum gemessen: Scheren-Länge (CLL), Scherenbreite (CLW), Scherenhöhe (CLH), Scherenfinger-Länge (CFL), Länge der Scherenhandfläche (CPL), Rostrum-Länge

(ROL), Rostrum-Breite (ROW), Kopflänge (HEL) und Kopfbreite (HEW), Areolar-Länge (ARL), Areolar-Breite (ARW), Abdomen-Länge (ABL), Abdomen-Breite (ABW), Abdomen-Höhe (ABH), Telson-Länge (TEL), Telson-Breite (TEW), Carapax-Breite (CPW), Breite der Cervical-Furche (CGW), Carapax-Taille (CEW) und Caparax-Höhe (CPH). Die Körperlänge wurde ebenso bestimmt wie das Gewicht und das Geschlecht der Individuen. Alle symmetrischen Merkmale wurden, sofern nicht durch Verletzungen verunmöglicht, auf der rechten Körperseite gemessen. Die Postorbital-Länge (POL) wurde berechnet durch $HEL + ARL$, und die Carapax-Länge durch $ROL + HEL + ARL$. Schließlich wurden zwei weitere Parameter einbezogen: das Verhältnis von POL/CPW sowie die Carapax-Krümmung, die wie folgt berechnet wurde: $\alpha = \arctan(HEL / ((CPW - HEW)/2)) + \arctan(ARL / ((CPW - CEW)/2))$.

2.2.3 Datenanalyse

• mtDNA-Analyse

Die erhaltenen mtDNA-Sequenzen wurden mit 30 in einer Genbank bereits enthaltenen *Austropotamobius torrentium*- und *Austropotamobius pallipes*-Sequenzen verglichen (Outgroup: *Astacus astacus*). In diesem als »Alignment« bezeichneten Vorgang wurden die Sequenzen auf die 538bp-Region reduziert. Anschließend wurde gestützt auf Single Distances ein Neighbour-Joining-Tree mit Hilfe des Programms MEGA 4.0 (TAMURA et al. 2007) erstellt.

• Mikrosatelliten-Analyse

Populationsgenetische Diversität: Die Anzahl an Allelen pro Locus (N_A), die Allelic Richness (A_R), die genetische Diversität (GD), der Inzucht-Koeffizient (F_{IS}) und die beobachtete (H_O) und erwartete Heterozygotizität (H_E) wurden im Programm F-Stat v2.9.3.2 (GOUDET 1995) bestimmt. GenePop v4.3 (ROUSSET 2008) wurde verwendet, um das Pairwise Linkage Disequilibrium sowie allfällige Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Equilibrium (HWE) (Markow-Chain-Methode: 10.000 Demorization Steps, 100 Batches, 5.000 Iterations pro Batch) zu bestimmen. Null Allel-Frequenzen, gestützt auf den Expectation-Maximization (EM) Algorithmus (DEMPSTER et al. 1977) und korrigierte F_{ST} -Werte (INA-Methode) wurden mittels FreeNA v2009 (CHAPUIS & ESTOUP, 2007) berechnet. Die um die Null-Allel-Frequenzen korrigierte erwartete Heterozygotizität wurde für jede Population mit SPSS 23 (IBM, USA) bestimmt. Das Auftreten von privaten Allelen (A_{PR}) an den jeweiligen Loci wurde mittels HP Rare vJune-6-2005 (KALINOWSKI 2005) festgestellt.

Populationsstruktur: F_{ST} -Werte, als ein Parameter für die genetischen Unterschiede zwischen Populationspaaren, wurden in Arlequin v3.5.2.2 (EXCOFFIER & LISCHER 2010) und FreeNA v2009 (CHAPUIS & ESTOUP 2007) bestimmt, wobei in letzterer Software die ENA-Methode für die Null-Allel-Korrektur zur Anwendung kam. Nachdem F_{ST} in der

Literatur vereinzelt kritisiert wurde (Überschätzung Genfluss zwischen Populationen), wurde darüber hinaus der Parameter DJost in DEMETICS v0.8-7 (GERLACH et al. 2010) berechnet. Die Korrelationsanalyse zwischen den FST- und den DJost-Werten wurde bei 1.000 Permutationen in SPSS 23 (IBM, USA) durchgeführt.

Darüber hinaus wurde mit der Software STRUCTURE v2.3.4 (PRITCHARD et al. 2000) ein Clustering-Modell gerechnet, um die Populationen hinsichtlich einer genetischen Struktur zu analysieren (50.000 Burn-In Perioden, 50.000 Wiederholungen, 30 Iterationen, Admixture-Modell). K-Werte zwischen 1 und 10 wurden dabei getestet. Mit dem Software-Paket PHYLIP v3.695 (FELSENSTEIN 2005) wurden Pairwise Cavalli-Sforza-Edwards-Distanzen berechnet und es wurde ein Unrooted Phylogentic Tree mittels Fitch-Margoliash-Algorithmus (FITCH & MARGOLIASH 1967) und 1.000 Bootstraps über alle Mikrosatelliten-Loci in den Programmen SEQBOOT, GENDIST, FITCH und CONSENSE erstellt. Die Korrelationen zwischen den geographischen Distanzen (km) und den genetischen Distanzen (F_{ST} -Werte) zwischen den Populationen wurden mittels Mantel-Test mit 999 Wiederholungen (MANTEL 1967) in R-Studio 3.1.0 (R CORE TEAM 2014) analysiert. Dazu wurden die geographischen Distanzen zwischen den Populationen in Vorarlberg und der Ostschweiz anhand des Fließgewässernetzes grob bestimmt. Jene zwischen bayerischen und den übrigen Populationen wurden auf Grund der Zugehörigkeit zu unterschiedlichen Hauptgewässereinzugsgebieten mit einem Pauschalwert von 5.000 km festgelegt. Darüber hinaus wurde mit einem Randomization-Test in SPAGeDi v1.5a (HARDY & VEKEMANS 2002) überprüft, ob Stepwise-like Mutations auf Ebene der Mikrosatelliten-Loci signifikant zur genetischen Differenzierung der Populationen beigetragen haben. Die Signifikanz wurde mit 1.000 Permutationen getestet.

Mittels ARLEQUIN v3.5.2.2 (EXCOFFIER & LISCHER 2010) wurde eine AMOVA (Analysis of Molecular Variance) gerechnet, um die anteilmäßige Verteilung der genetischen Variation auf Individuum, Population und Flusseinzugsgebiet zu bestimmen. Hierzu wurden die Standorte der Probestellen sechs geographischen Regionen zugewiesen (Abb. 3). Die Signifikanz wurde mit 10.000 Permutationen getestet.

• Morphometrie-Analyse

Nachdem sich die Körperproportionen von juvenilen und adulten Flusskrebsen unterscheiden, wurden nur Individuen ≥ 5 cm Körperlänge (m: 329, w: 346) in die Datenanalyse einbezogen (STREISSL & HÖDL 2002). Auf Grund des klaren Geschlechtsdimorphismus wurden außerdem männliche und weibliche Individuen getrennt analysiert (GRANDJEAN et al., 1997; STREISSL & HÖDL, 2002, SINT et al., 2007). Populationen mit weniger als 10 Individuen wurden nicht in die Analyse einbezogen. Sämtliche morphometrischen Parameter wurden durch Division mit POL normalisiert. Anschließend wurde eine One-Way-ANOVA (Post-Hoc-Test: Bonferroni) gerechnet, um jene Parameter zu finden, bei denen signifikante Unterschiede zwischen den zu untersuchenden Populationen bestehen. Diese Parameter wurden sodann in die multivariate Diskriminanzanalyse eingespielt, einem multivariaten Verfahren zur Analyse von Gruppenunterschieden. Mit Hilfe dieses Verfahrens kann untersucht werden, ob sich bestimmte Gruppen (hier: Populationen) überhaupt signifikant voneinander unterscheiden, und welche Variablen zur Unterscheidung am Besten geeignet sind. Dabei kam die Stepwise-Method zur Anwendung, bei der schrittweise die am relevantesten Variablen eingespielt werden. Außerdem wurde eine Klassifikationsanalyse durchgeführt, bei der die einzelnen Individuen auf Grund ihrer morphometrischen Kennzahlen Populationen zugeteilt werden. Je mehr Individuen vom Modell der richtigen Population

zugeteilt werden, umso besser ist das Ergebnis bzw. die Validität der Daten. Eine Kreuz-Validierung (cv) der Klassifikationen wurde durchgeführt, um die Validität der Analyse zu überprüfen (JAMES & McCULLOCH 1990; HAIR et al. 1998). Schließlich wurde eine Hierarchical Cluster Analyse durchgeführt (Hierarchisches Verfahren: Ward; Distanzmaß: Quadrierte Euklidische Distanz), um ein Dendrogramm auf Grund der Ähnlichkeitsmaße zu erstellen. Hierfür wurden für jede Population die Mittelwerte der morphometrischen Parameter herangezogen.

Die Datenanalysen zur Morphometrie wurden in SPSS Statistics 23 (IBM, USA) sowie Windows Excel (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) durchgeführt.

2.3.Epibionten-Studie

2.3.1 Untersuchungsgebiet und Probenstandorte

Die Probenahme betreffend die Epibionten erfolgte an 10 Vorarlberger Standorten. Darüber hinaus wurden insgesamt sieben weitere Standorte im Kanton St. Gallen (5) und im Freistaat Bayern (2) inkludiert (Abb. 4).

St. Gallen:

- Hinterburgbach
- Wasenbach
- Schleibach
- Mühlbächli
- Chellenbach
- Rietbächli

Bayern:

- Zubringer Schwaltenweiher Seeg
- Schleibach

Während die Probenstandorte in Vorarlberg und in der Schweiz im Einzugsgebiet des Rheins situiert waren, waren die beiden Standorte in Bayern dem Donau-Einzugsgebiet zuzurechnen.

Mit Ausnahme des Standort CHE, wo auch der Dohlenkrebs angetroffen wurde, war an den Untersuchungs-gewässern der Steinkrebs die einzige vorkommende Flusskrebsart.

2.3.2 Probenahme

Die erste Probenahme erfolgte im Sommer 2009 an den 10 Standorten in Vorarlberg (109 Krebsindividuen, Abb. 4). Die Anzahl der gefundenen Branchiobdelliden wurde exakt gezählt, während die Anzahl der bis dato nicht bekannten Art *Hystricosoma chappuisi* nicht völlig exakt bestimmt werden konnte. Um allfällige saisonale Unterschiede in der Abundanz von Branchiobdelliden festzustellen, wurden auch im Spätherbst 2009 Proben an sämtlichen Vorarlberger Standorten genommen (83 Krebsindividuen). Im Sommer 2010 erfolgte an TRB, DAG, ZBD und MSG eine ergänzende Besammlung. Schließlich wurden im September und Oktober 2011 Steinkrebse an den Schweizer und deutschen Standorten hinsichtlich des Vorkommens von Epibionten untersucht (insg. 70 Krebsindividuen). Bei sämtlichen Herbstproben konnte die Abundanz von *Hystricosoma chappuisi* exakt festgestellt werden. In Summe wurden 279 Steinkrebsindividuen hinsichtlich des Vorkommens und der Häufigkeit von Epibionten untersucht. Sämtliche Krebse wurden in der Nacht mittels Handfang gefangen. 3-4 Individuen wurden jeweils in Behältern gehalten. Von allen Krebsen wurden das Körpergewicht und die Körperlänge gemessen. Die Epibionten wurden direkt im Feld abgesammelt. In einem ersten Schritt wurden sämtliche mit freiem Auge sichtbaren Individuen mit einer Pinzette entfernt, wobei sie je nach Aufenthaltsort auf dem Krebs in getrennten Gefäßen mit EtOH gelagert wurden: Scheren dorsal (CLD), Scheren ventral (CLV), Carapax dorsal (CAD), Carapax ventral (CAV), Abdomen dorsal (ABD) und Abdomen ventral (ABV) (Abb. 5). Um auch weitere, versteckte Individuen zu gewinnen, wurden die Krebse anschließend jeweils für ca. 10 min. in ein Salzbad (5% MgCl₂) gesetzt. Diese Salzlösung immobilisierte die Epibionten, die dann von den Krebsen abfielen. Diese Fraktion »Rest« (R) wurde in eigenen Gefäßen gelagert.

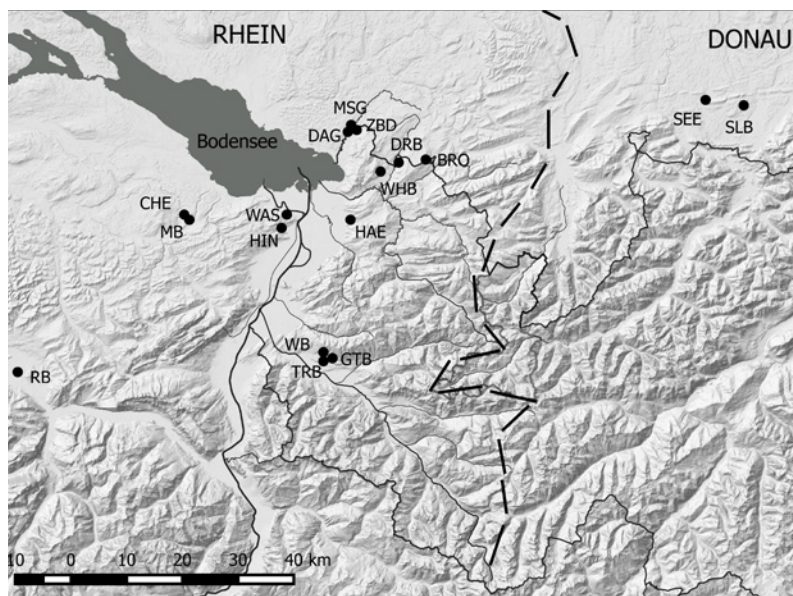


Abb. 4: Probenstandorte betreffend die Untersuchung des Vorkommens von Epibionten. Schwarz strichliert ist schematisch die Grenze von Rhein- und Donaueinzugsgebiet markiert. Aus BERGER & FÜREDER 2017

2.3.3 Artbestimmung

Die Artbestimmung erfolgte im Labor. Branchiobdelliden wurden unter Verwendung eines Leica Wild M 10 Durchlichtmikroskops (80x, Leica, Deutschland) sowie einem Reichert-Jung Polyvar Licht-Mikroskop (1000x) bestimmt. Aufnahmen wurden mit einer Leica DCF 320 (Leica, Deutschland) und einer JVC Digitalkamera KY-F70 (JVC, Japan) sowie mit der Software Image Access 10 Standard (Image Access, Deutschland) gemacht. Die Artbestimmung der Branchiobdelliden erfolgte mit Hilfe der Bestimmungsschlüssel von GELDER et al. (1994), NESEMANN & NEUBERT (1999) und NESEMANN & HUTTER (2002). *Hystricosoma chappuisi* wurde identifiziert anhand der Beschreibungen von MICHAELSEN (1926), POP (1975) und BUNKE (1988). Bestimmte morphologische und anatomische Merkmale (ventrales Cilienfeld, Position und Anordnung der Haarbündel, etc.) wurden unter Einsatz eines Elektronenmikroskops sowie eines Transmissions-Elektronenmikroskops festgestellt. Schließlich konnte das Auftreten von orangen Vakuolen im Körper nur an lebenden Individuen mikroskopisch beobachtet werden.

2.3.4 Aufnahme und Analyse abiotischer Parameter

An jedem Probenstandort wurden zwei Liter Wasser in Glasflaschen gezogen und während des Transports in das Labor gekühlt gelagert. An Gewässern, an denen Epibionten im Sommer und Herbst gesammelt wurden, erfolgte jeweils eine Wasserprobe. Die wasserchemischen Parameter (pH, Leitfähigkeit, Härte, Alkalinität, Ca, Mg, SO₄, Cl, NO₃, NH₄, NO₂, PO₄, O₂, DOC) wurden in den Labors des Umweltinstituts des Landes Vorarlberg analysiert. Die Parameter Wassertemperatur, pH, Leitfähigkeit und Sauerstoffkonzentration wurden vor Ort mit Feldmessgeräten erhoben (WTW ProfiLine Oxi 3205, WTW Multi 4310). Außerdem wurde an jedem Gewässer die Abflussmenge (niedrig, mittel, hoch) sowie der Umlandtyp (Wald, Landwirtschaft mit schmalen Gehölzstreifen, Siedlungsgebiet &

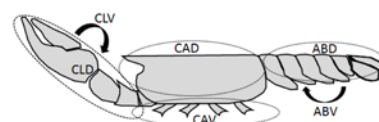


Abb. 5: Besammlung der Epibionten getrennt nach Körperregionen des Wirts (Abb. s. Text; aus BERGER & FÜREDER 2017).

Landwirtschaft, reine Landwirtschaft) kategorisch deskriptiv bestimmt.

2.3.5 Datenanalyse

Auf Grund festgestellter meist signifikanter Unterschiede zwischen den Sommer- und den Herbstabundanz wurden die Daten nach Saison getrennt analysiert. Innerhalb einer Saison wurden die Daten verschiedener Populationen nur gepoolt, sofern der Kruskal-Wallis-Test bzw. Mann-Whitney-U-Test ($p \leq 0,05$) keine signifikanten Unterschiede in den Abundanzahlen ergaben.

Gruppen gepoolter Populationen wurden getestet hinsichtlich artspezifischer Aufenthaltsorte auf verschiedenen Körperstellen der Krebse. Dies erfolgte zuerst für die in Abb. 5 dargestellten sechs Regionen, in weiterer Folge für die drei Hauptregionen Scheren (CLW = CLD + CLV), Carapax (CAR = CAD + CAV) und Abdomen (ABD = ABD + ABV). Auf Grund der Datenverteilung wurden sämtliche diesbezüglichen Analysen mit dem Mann-Whitney-U-Test ($p \leq 0,05$) durchgeführt. Unter Punkt 3.3.1 werden Ergebnisse nur präsentiert, wenn die mittlere Abundanz in einem Datenpool $\geq 2,5$ Ind./Krebs einer Art betrug, da Werte unterhalb als nicht repräsentativ angesehen wurden.

Um allfällige Zusammenhänge zwischen der Abundanz von *Hystricosoma chappuisi* und den Branchiobdelliden zu ergründen, wurde die Abundanz gepoolter *Hystricosoma chappuisi* Gruppen jener der entsprechenden Branchiobdelliden gegenübergestellt und ein Korrelationstest (Spearman-Test, $p \leq 0,05$) durchgeführt.

Die Analyse, welche ökologischen Faktoren für die Abundanz der jeweiligen Epibionten-Art von Relevanz sind, erfolgte schrittweise. In einem ersten Schritt wurde die Anzahl der wasserchemischen Parameter mittels PCA reduziert. Um nur die wichtigsten Faktoren in die weitere Analyse zu integrieren, wurden Korrelationstests mit den verbliebenen wasserchemischen Faktoren sowie den Abundanz der

Epibionten durchgeführt (Spearman-Test, $p=0,05$). In weiterer Folge wurden verschiedene Regressionsmodelle zum Zusammenhang zwischen den Abundanz der Epibionten und diverser abiotischer und biotischer Parameter getestet: Poisson, Zero-Inflated Poisson (ZIP), Negative-Binomial (NegBin) und Zero-Inflated Negative Binomial (ZINB). Die Zero-Inflated-Modelle sind zweistufige Modelle, in denen die »Linear model component« den Zusammenhang zwischen den unabhängigen Variablen und den gezählten Häufigkeiten erklärt, während die »Inflation model component« die Wahrscheinlichkeit des Auftretens von »0-Zählungen« erklärt. Bei Arten, die nur an wenigen Standorten angetroffen wurden (*Branchiobdella pentadonta* und *Branchiobdella balcanica*), kam die Logistische Regression zur Anwendung, da die Anzahl an »0«-Zählungen überproportional hoch war. In den Modellen wurde jeweils die Stepwise Method gewählt, um die relevantesten Variablen in das Modell zu integrieren. Der AIC und Log-Likelihood-Wert wurden als Qualitätskriterien bei der Auswahl der best-geeigneten Modelle berücksichtigt. Darüber hinaus wurde die Qualität eines Modells getestet, indem die modellierten (sprich: berechneten) Abundanzahlen der getesteten Art den im Feld erhobenen Zählungen in einer Korrelation gegenübergestellt wurden (Spearman-Test, $p \leq 0,05$). Als bestgeeignetes Modell wurde jenes angesehen, das einen niedrigen AIC/Log-Likelihood-Wert und einen hohen Korrelationskoeffizienten aufwies.

Die statistischen Analysen wurden durchgeführt mit: PASW 21 (IBM, USA) und R-Studio 3.1.0 (R CORE TEAM 2014). In den Regressionsmodellen in R Studio wurden folgende Skripts verwendet: pscl (JACKMAN 2015), Mass (VENABLES & RIPLEY 2002) und boot (CANTY & RIPLEY 2016) für ZIP und ZINB, foreign (R CORE TEAM 2015), Mass für Poisson und Negative Binomial und aod (LESNOFF & LANCELOT 2012), Rcpp (EDELBUETTEL & FRANÇOIS 2011) für Logistische Regression.

2.4 Zucht und Wiederansiedelung von Steinkrebsen

2.4.1 Suche geeigneter Ansiedelungsgewässer

Zwischen 2010 und 2012 wurde im Untersuchungsgebiet das Potential für die Wiederansiedelung von Steinkrebs-Populationen erhoben. Dabei wurden speziell jeweils nahegelegene Gebiete bestehender Bestände überprüft, um möglichst ähnliche Umweltbedingungen hinsichtlich Höhenlage, Geologie, Landnutzung, etc. vorzufinden. Die Arbeitsschritte, die in weiterer Folge durchgeführt wurden, waren: 1) Vorab-Selektion betreffend Hangneigung, Ufervegetation und Landnutzung unter Anwendung der GIS-Technik (Software: Quantum GIS 1.8.0 »Lisboa«, OSGeo Foundation, Delaware, USA; Datenquelle: VOGIS, Land Vorarlberg, Bregenz), 2) Feldbegehung betreffend Abflussverhältnisse, Ökomorphologie, Vorkommen von Flusskrebsen, etc. und 3) Langzeit-Temperaturmessungen an hinsichtlich Punkt 1 und 2 geeigneten Standorten.

2.4.2 Besatz von Steinkrebsen

Im Jahr 2011 wurden Maßnahmen zur Wiederansiedelung von Steinkrebsen geplant. In einem ersten Schritt wurde eine Vorauswahl möglicher Gewässer mit Hilfe des GIS getroffen. Dabei lag der Fokus auf Gewässern, die sich in der Nähe jener Steinkrebsbestände befinden, aus denen eine Entnahme möglich erscheint. Nach einer ersten Auswahl wurden rund 15 Gewässer zum Teil im Rahmen einer Tages-, zum Teil in einer Tages- und einer Nachtbegehung auf ihre Eignung als Krebsgewässer eingeschätzt. Für einen Großteil dieser Gewässer zeigte sich bereits nach diesen Begehungen, dass nach Kenntnis der Verhältnisse in der Natur eine Wiederansiedelung nicht möglich erscheint. Bei 4 Gewässern wurden dagegen weitere Schritte eingeleitet, die näheren Aufschluss über die Charakteristik geben sollten. So wurden mittels Temperatursonden mehrtägige Aufzeichnungen zum

Temperaturverlauf in potentiellen Entnahme- und Zielgewässern durchgeführt, da das Temperaturregime ähnlich sein sollte. Dies erfolgte von Juli bis November 2011. Außerdem wurden Wasserproben genommen, um die limno-chemischen Verhältnisse zu untersuchen.

Letzten Endes wurden im Rahmen des Forschungsprojekts zwei Gewässer für die Wiederansiedelung mit Steinkrebse ausgewählt (Abb. 6):

- Leutenhofenbach in der Gemeinde Hohenweiler (FOZ 810109010101)
- Leckenbach in der Gemeinde Langen bei Bregenz (FOZ 81113406)

Der Leutenhofenbach ist ein Parallelgewässer des Dreiangelgrabens, welcher Steinkrebse beheimatet und der Leckenbach ist ein Parallelgewässer des Weißenhubenbaches, für den dasselbe gilt.

Für die Wiederansiedelung wurde ein zweistufiger Ansatz gewählt, bei dem 1) Brütlinge unter künstlichen Bedingungen groß gezogen und anschließend besetzt wurden sowie 2) Adulttiere in das Zielgewässer transferiert wurden. Das heißt, aus dem WHB bzw. DAG wurde nicht nur der direkte Transfer vorgenommen, sondern wurden parallel dazu Brütlinge aufgezogen, um die natürliche Ausfallrate der Jungkrebse möglichst zu verringern.

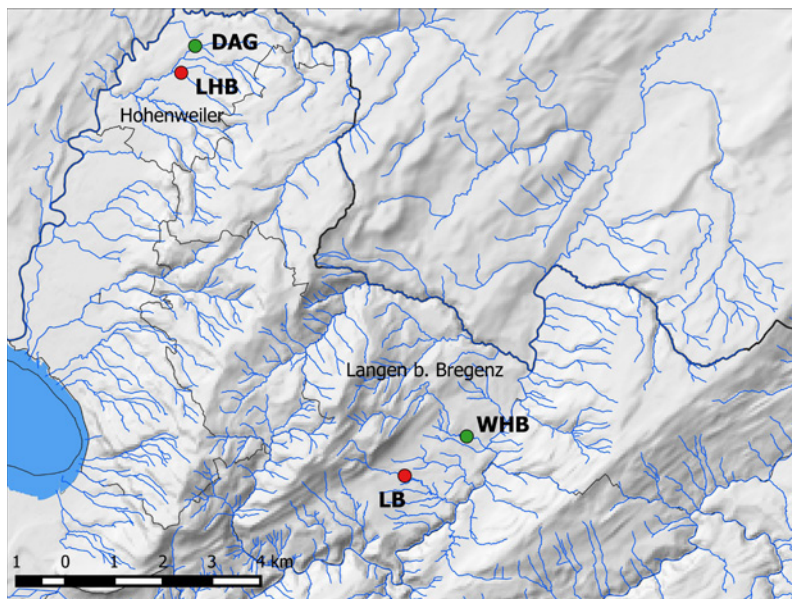


Abb. 6: Entnahme- und Zielgewässer der zwei Wiederansiedelungen dieses Projekts (DAG = Dreiangelgraben, LHB = Leutenhofenbach, WHB = Weißenhubenbach, LB = Leckenbach; grün = Entnahmegewässer, rot = Zielgewässer).

Zudem konnte dadurch die Anzahl zu transferierender Adulttiere etwas reduziert werden.

Anfang Mai 2012 wurden aus dem WHB 38 eiertragende Weibchen in das Landesfischereizentrum in Hard transferiert (Abb. 7). Gleichzeitig wurden bereits 30 adulte Krebse in den Leckenbach transferiert. Die Weibchen wurden bis nach der ersten Häutung der Brütlinge in Becken gehalten. Anschließend wurden die Brütlinge von

den Muttertieren getrennt und in eigene Becken überführt (Schutz vor Kannibalismus). Die Muttertiere wurden am 22.07.2012 in den Leckenbach (Zielgewässer) eingesetzt. Die Brütlinge wurden bis zum Spätherbst in Längsstrombecken gehalten, die mit künstlichen Strukturen als Versteckmöglichkeiten ausgestattet wurden (Abb. 8).

Die Futterzugabe sowie Reinigung erfolgte alle 2-3 Tage. Am 21.10.2012 wurden weitere 34 Adultkrebse transferiert, und der Besatz der Brütlinge (insg. 285 Individuen) in das Zielgewässer erfolgte am 08.11.2012. Schließlich wurden am 22.10.2013 nochmals 21 männliche Adultkrebse eingesetzt. Das Geschlechtsverhältnis von Männchen und Weibchen betrug letztlich 1 : 2,4. Es wurde gezielt ein Überwiegen der weiblichen Tiere angestrebt, da ein Männchen mehrere Weibchen begatten kann und man sich somit einen größeren Fortpflanzungserfolg erwarten darf.

Ein weiterer Wiederansiedelungsversuch wurde in der Gemeinde Hohenweiler gestartet. Die Steinkrebs-Population im Dreiangelgraben ist auf Grund der schlechten Habitatqualität und des zunehmenden Siedlungs-



Abb. 7: Hälterungsbecken für eiertragende Weibchen.

druckes einem hohen Risiko ausgesetzt. Entsprechend der obigen Beschreibung wurden auch hier 29 eiertragende Weibchen entnommen und wurden die Brütlinge bis zum Herbst großgezogen. Diese wurden am 17.11.2013 in den Leutenhofenbach eingesetzt. Am 04.09.2014 wurden dann ergänzend 45 Adulttiere vom Dreiangelgraben in der Leutenhofenbach transferiert (m: 15, w: 30). Es wird angedacht, einen nochmaligen Nachbesatz mit Adultkrebsen vorzunehmen.

Im Rahmen regelmäßiger Begehungen wurde ein Monitoring über den Erfolg des Besatzes durchgeführt.

2.5 Anatomisch-morphologische Studie von *Hystricosoma chappuisi*

2.5.1 Probenahme

Zur Gewinnung der Studienobjekte wurden Steinkrebse im Juli 2011 per Handfang nachts gefangen und für 2-5 Min. in eine 1,25%ige $MgCl_2$ -Lösung gegeben. Dadurch wurden die Polychaeten immobilisiert und lösten sich vom Wirt. Anschließend wurden sie mit einer Pinzette in kleine Probeflässe mit Bachwasser gegeben und ins Labor transportiert, wo die weiteren Untersuchungen erfolgten.

2.5.2 Morphologische Untersuchung

Für die morphologische Untersuchung wurden zum einen lebende Individuen unter dem Lichtmikroskop (Leica Wild M 10, Camera: Leica DFC 320) studiert, zum zweiten kam die Elektronenmikroskopie zur Anwendung. Für die Elektronenmikroskopie wurden die Individuen in Trump's Fixierungsmittel (4 % Formaldehyd, 1 % Glutardialdehyd in 0,01 m Cacodylat-Puffer, pH 7,3 und Magnesium-Chlorid) oder mit 2,5 % Glutaraldehyd in 0,01 M Cacodylat-Puffer mit 1% Osmium-Tetroxid fixiert. Nach einem Waschvorgang in einem Puffer und Dehydrierung in einer standardisierten Methanol-Serie wurden die Individuen bis zum »critical point« getrocknet, mit Gold be-



Abb. 8: Oben: Brütling.
Rechts: Aufzuchtbecken für Brütlinge

stäubt und anschließend mit einem Zeiss DSM 950 (Zeiss, Deutschland) mikroskopisch untersucht. Die Bilder wurden mit einer Pentax K20D Digitalkamera und einer Pentax-Software aufgenommen.

2.5.3 Anatomische Untersuchung

Für die anatomischen Analysen mittels der Transmissions-Elektronenmikroskopie wurden die gewonnenen Individuen mit Trump's Fixierungsmittel (s. oben) für 1 bis 2 Tage inkubiert. Nach einem Waschvorgang in einem 0,01 M Cacodylat-Puffer erfolgte für 1 h eine Post-Fixierung mit 1 % Osmium Tetroxid in 0,01 M Cacodylat-Puffer. Anschließend erfolgte ein erneuter Waschgang mit Cacodylat-Puffer. Dann wurden die Individuen dehydriert in einer Aceton-Serie und in PolyBed812 Kunstharz eingebettet. Alternativ wurden einige Individuen entsprechend dem (leicht abgeänderten) Shigenaka&Rombout-Fixierungsmittel (SHIGENAKA et al. 1971; ROMBOUT et al. 1978; SALVENMOSER et al. 2010) für 1-2 h in Glutardialdehyd und Osmium-Tetroxid fixiert. Anschließend wurden sie wie oben dehydriert und eingebettet.

Mit einem Leica UCT Ultramicrotome (Leica, Austria) wurden unter Verwendung von Diamantmessern (Diatom, Schweiz) Schnitte des vorderen Endes des Prostomiums vorgenommen. Die gewonnenen 80 nm dicken Schnitte wurden mit Uranyl-Acetat und Bleicitrat gesättigt und mit einem Zeiss Libra 120 Energy Filter Transmissions-Elektronenmikroskop (Zeiss, Deutschland) untersucht. Aufnahmen wurden mit einer iTEM Software (Olympus, Japan) und einer Tröndle 2k x 2k Digitalkamera (TRS, Deutschland) durch-



geführt.

Für die konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie (cLSM) wurden die Individuen in 10 mM PBS-Puffer mit 4 % Paraformaldehyd für 120 min fixiert. Die fixierten Individuen wurden anschließend in PBS-Puffer mit 0,1 % Triton X-100 (PBS-T) inkubiert, und dann in Bovin-Serum-Albumin (BSA-T) mit 0,1% Triton X-100 als Blocker (3 Wiederholungen, je 5 Min) behandelt. Über Nacht wurden sie dann bei 4 °C mit Mouse-anti-acetyliertem- α -Tubulin (1:2.000) und Rabbit-anti-Serotonin (1:50) als primären Antikörpern in BSA-T inkubiert. Nach mehreren Waschgängen mit 0,1 % PBS-T (6 Wiederholungen, je 10 Min) wurden sie mit Goat-anti-Mouse FITC (Fluorescein-Isothiocyanat) und Swine-anti-Rabbit TRITC (Tetramethyl-Rhodamin Isothiocyanat) in einer 1:300 BSA-T Verdünnung für 60 Min im Dunkeln und bei Raumtemperatur inkubiert. Danach erfolgten weitere Waschgänge mit 0,1 % PBS-T (6 Wiederholungen, je 10 Min). Schließlich wurden die Individuen mit Vectashield (Vector Laboratories, USA) behandelt und mit einem Leica SP5 II cLSM untersucht.

3 Ergebnisse

3.1 Erhaltungszustand der Steinkrebspopulationen

3.1.1 Zustand der Steinkrebshabitate

Im Zuge der Erhebungen im Jahr 2009 konnten 11 Gewässer mit einem Steinkrebs-Vorkommen nachgewiesen werden: Zubringer Dorfbach (ZBD), Dreieckgraben (DAG), Mühlsteiggraben (MSG), Weißenhubenbach (WHB), Dreienauerbach (DRB), Brögergraben (BRO), Hänslerbach (HAE), Walsbächle (WB), Gandatobelbach (GTB), Torfriedbächle (TRB) und Zubringer Bolabach (ZBB). In den Jahren 2010 und 2011 ist der Nachweis an drei weiteren Gewässern gelungen: Reiherbach (RB), Gschwendbach (GSB) und Zubringer Krebsgraben (ZBK) (Tab. 3). Die Höhenlage der Standorte erstreckte sich von 480 bis 860 müA. Die Länge des besiedelten Bachabschnittes reichte von lediglich 50 m bis zu 1.100 m und die mittlere Breite der Gewässer lag zwischen 0,15 und 2,5 m. An 12 Standorten wurde zumindest ein künstliches Aufstiegshindernis aufgenommen. An zwei Gewässern befand sich am oberen sowie am unteren Ende eine Wander-

barriere. Die festgestellten Barrieren standen in einer engen Beziehung zur umgebenden Landnutzung: vier besiedelte Gewässerabschnitte »entsprangen« einem Drainagerohr am Ende einer landwirtschaftlich genutzten Fläche und drei Gewässerabschnitte endeten im unteren Bereich in einer Verrohrung. An drei Standorten war eine Wanderbarriere innerhalb des besiedelten Abschnittes festzustellen.

Die Wasserqualität an den Standorten war gesamthaft gut. Die Sauerstoffkonzentration war hoch, was für kleine höher gelegene Gewässer als typisch bezeichnet werden kann. An vier Gewässern (HAE, WHB, DRB und BRO) war die PO_4 -P-Konzentration, an drei Gewässern (GTB, HAE und BRO) die Cl -Konzentration erhöht.

Der hydromorphologische Zustand der meisten Steinkrebs-Standorte war als günstig zu beurteilen. Eine ausreichende Ausstattung mit einer heterogenen Kornstruktur sorgte für ausreichende Mikrohabitate für die Individuen. Nur an den Standorten GTB, ZBB, RB und DAG wurde diesbezüglich eine eingeschränkte Qualität gepaart mit einer geraden Linienführung und einem geraden Strömungsmuster

festgestellt. Die Ufervegetation stellte sich an acht Standorten (57 %) als unzureichend heraus, was sich in einem sehr schmalen oder gänzlichen Fehlen eines Gehölzstreifens äußerte. An sechs Standorten dagegen wurde ein guter Zustand der Begleitvegetation vorgefunden. Hier waren zumindest 75 % der Uferzonen (beidseits) von einem zumindest 10m breiten Gehölzstreifen mit natürlicher Zusammensetzung begleitet.

Die an den Standorten festgestellten Landnutzungs- bzw. Landschaftsformen waren: Intensive Landwirtschaft, extensive Landwirtschaft, Wald, Siedlungsgebiet und Straßenbankette. An elf Standorten wurde eine intensive landwirtschaftliche Nutzung festgestellt, wobei dies häufig mit einer unzureichenden Uferbegleitvegetation einherging. Zwei Standorte lagen vollständig in Waldgebiet. Die dominierenden Faktoren für Habitatbeeinträchtigungen waren Wanderbarrieren, unzureichende Ufervegetation und das Risiko von Einträgen in das Gewässer (Abb. 9).

Gestützt hierauf befanden sich nach Einschätzung der Autoren sechs Standorte hinsichtlich der Habitatqua-

Bach	Höhe [müA]	Besiedelter Abschnitt [m]	Durchschn. Breite [m]	Ind. gefangen *	Pop. Größe MARK	95 % C.I.	Pop. Größe SE	95 % C.I.	Ind. m ² [MARK/SE]
ZBD	550	50	0,51	94	292	184-817	233	164-406	11. Sep
DAG	510-520	210	0,61	74	754	632-1.004	757	549-1.222	06. Jun
MSG	495	80	1,02	83	431	297-803	437	325-669	05. Mai
WHB	540-590	1.100	2,5	271	12.031	11.301-13.156	11.130	8.763-15.250	04. Apr
DRB	845-860	260	0,99	94	960	881-1.132	977	865-1.124	04. Apr
BRO	680-750	630	1,27	41	1.239	979-2.071	1.195	922-1.695	02. Jan
HAE	649-690	480	0,85	79	4.683	1.448-64.593	3.376	2.272-6.571	11. Aug
WB	560-630	950	2,4	79	2.948	2.666-3.705	2.548	2.144-3.138	01. Jan
GTB	700-716	210	0,69	24	209	178-342	204	134-418	01. Jan
TRB	514-560	500	0,62	108	3.242	2.140-7.908	2.683	2.312-3.195	10. Sep
ZBK	569-573	90	1,03		-		-		
ZBB	529	150	0,15		-		-		
RB	480-490	980	0,98		-		-		
GSB	659-685	1.020	1,73		-		-		
	MW	479			2.679		2.354		
	Median	370			1.100		1.086		

Tab. 3: Länge der besiedelten Gewässerabschnitte, Populationsdichten und Populationsgrößen an den Untersuchungsstandorten. Ausgewiesen sind die Ergebnisse der Berechnung mit der MARK-Software sowie mittels der Schumacher-Eschmeyer-Methode (SE). « = Anzahl Individuen, die mindestens 1x gefangen wurden; - = Kein Ergebnis zur Populationsgröße. Nach BERGER & FÜREDER 2013

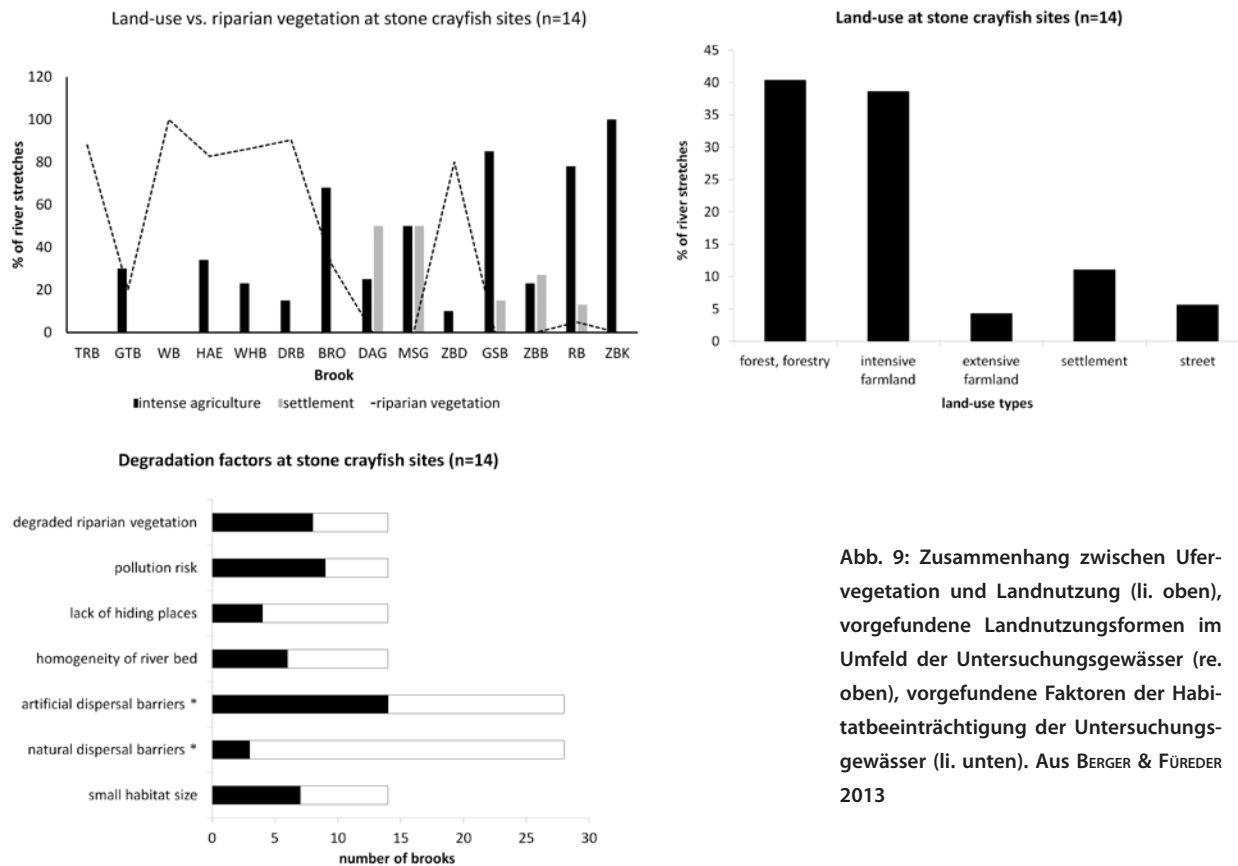


Abb. 9: Zusammenhang zwischen Ufervegetation und Landnutzung (li. oben), vorgefundene Landnutzungsformen im Umfeld der Untersuchungsgewässer (re. oben), vorgefundene Faktoren der Habitatbeeinträchtigung der Untersuchungsgewässer (li. unten). Aus BERGER & FÜREDER 2013

lität in einem günstigen Zustand (TRB, WB, HB, WHB, DRB, BRG), während sich acht Standorte in einem ungünstigen Zustand befanden (Abb. 11A)

3.1.2 Populationserhebung

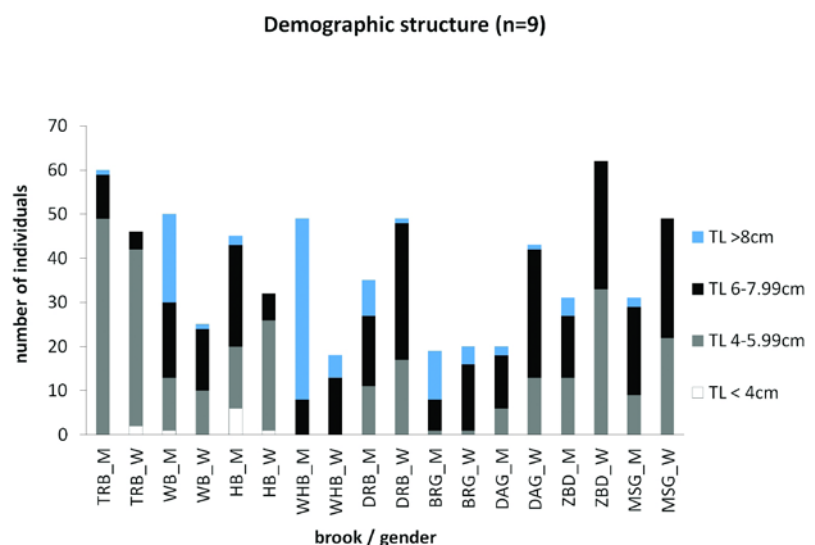
Die Bestandsgrößen an den Untersuchungsgewässern reichten von rund 200 bis über 11.000 Individuen (Tab. 3). Mit Ausnahme des Standorts HAE zeigten die beiden Berechnungsmethoden gut übereinstimmende Ergebnisse. Nachdem der Median der Bestandsgrößen deutlich unter dem Mittelwert lag, war klar ersichtlich, dass an einigen Gewässern eine geringe Populationsgröße vorlag. An fünf Standorten lag das Ergebnis der Berechnung < 1.000 Individuen. Die größte Population wurde für den Standort WHB festgestellt. Der STUDENT-Test zeigte eine signifikante

Korrelation zwischen der Populationsgröße und der Habitatgröße ($r = 0,78$, $p = 0,05$). Die Populationsdichte reichte von 1 bis zu 11 Individuen pro m^2 . Hinsichtlich der demographischen Populationsstruktur wurden an acht Standorten Individuen aus drei Größenklassen gefangen. (Abb. 10). An nur drei Standorten wurden Individuen der kleinsten Kategorie gefangen,

während am Standort WHB nur Individuen > 6,0 cm festgestellt wurden. Das anteilige Verhältnis von gefangenen Männchen und Weibchen betrug 0,51 zu 2,00.

Alle Populationen befanden sich an isolierten Standorten, die einen Kontakt zwischen Steinkrebsindividuen verschiedener Standorte unmöglich erscheinen ließen. Die Ursache dieser

Abb. 10: Anteilmäßige Verteilung der Größenklassen der Steinkrebsen an den Untersuchungsstandorten (M = männlich, W = weiblich). Aus BERGER & FÜREDER 2013



Isolierung waren künstliche Wanderbarrieren gepaart mit teils großen Distanzen zwischen den Standorten. Zusammenfassend wurde für die Standorte GTB, ZBD, MSG und DAG ein ungünstiger Erhaltungszustand (schlecht - »C«) in dieser Kategorie festgestellt (Abb. 11B). BRO und DRB befanden sich im Erhaltungszustand ungünstig – unzureichend (»B«) und TRB, WB, HAE und WHB im Zustand günstig (»A«). Für die Standorte ZBK und ZBB konnte trotz nicht durchgeführter Populationsstudie allein auf Grund des sehr kleinen Lebensraums der Zustand ungünstig – schlecht (»C«) festgestellt werden. Für die Standorte RB und GSB war keine Bestimmung des Zustandes möglich.

3.1.3 Zukunftsaussichten / Risikofaktoren

Die Untersuchungen zeigten, dass die Steinkrebs-Populationen vor allem durch potentielle Einträge aus

der Umgebung beeinträchtigt werden könnten. Das Fehlen ausreichender Ufervegetation (Pufferfunktion) an zahlreichen Gewässern verschärft dieses Risiko zusätzlich. An neun Gewässern (= 57 %) wurde das Risiko von Einträgen als hoch und an drei als mittel eingestuft. An zwölf Standorten musste mit Einträgen aus der Landwirtschaft (wie z. B. organische Belastung, Dünger, Pestizide) gerechnet werden. Nur an den beiden Waldstandorten wurde das Risiko als vernachlässigbar erachtet. An keinem der Untersuchungsgewässer wurden künstliche Eingriffe in das hydrologische Regime oder durch Kleinkraftwerke festgestellt.

Betreffend das Risiko durch nicht heimische Krebspezies, war festzuhalten, dass im Vorarlberger Fließgewässernetz nur der Signalkrebs (*Pacifastacus leniusculus*) vorkommen dürfte. Dieser wurde in Gewässern in den Gemeinden Wolfurt und Schwarzach gesichtet

und wurden Vorkommen auch von befragten Experten berichtet. Obwohl derzeit kein Monitoring stattfindet, muss eine schleichende Ausbreitung der Art über die unzähligen Bäche und Gräben angenommen werden (persönliche Begehungen, Abfrage Expertenwissen). Derzeit wird die kürzeste Distanz zwischen einem Signalkrebs- und einem Steinkrebsvorkommen auf ca. 6 km eingeschätzt, wobei die Bestände durch eine natürliche Barriere getrennt sein dürften. Alle anderen Bestände weisen Distanzen von mind. 20 km auf.

Die Krebspestanalysen erbrachten, dass 15 der 20 untersuchten Signalkrebs-Individuen mit der Krebspest infiziert waren. Davon waren 6 Individuen sehr gering, 7 Individuen relativ gering und 2 Individuen gering infiziert (gemäß einer Skala des Infizierungsgrades von 1 - 7).

Vorkommen des Kamberkrebsses (*Orconectes limosus*) sind in Vorarlberg

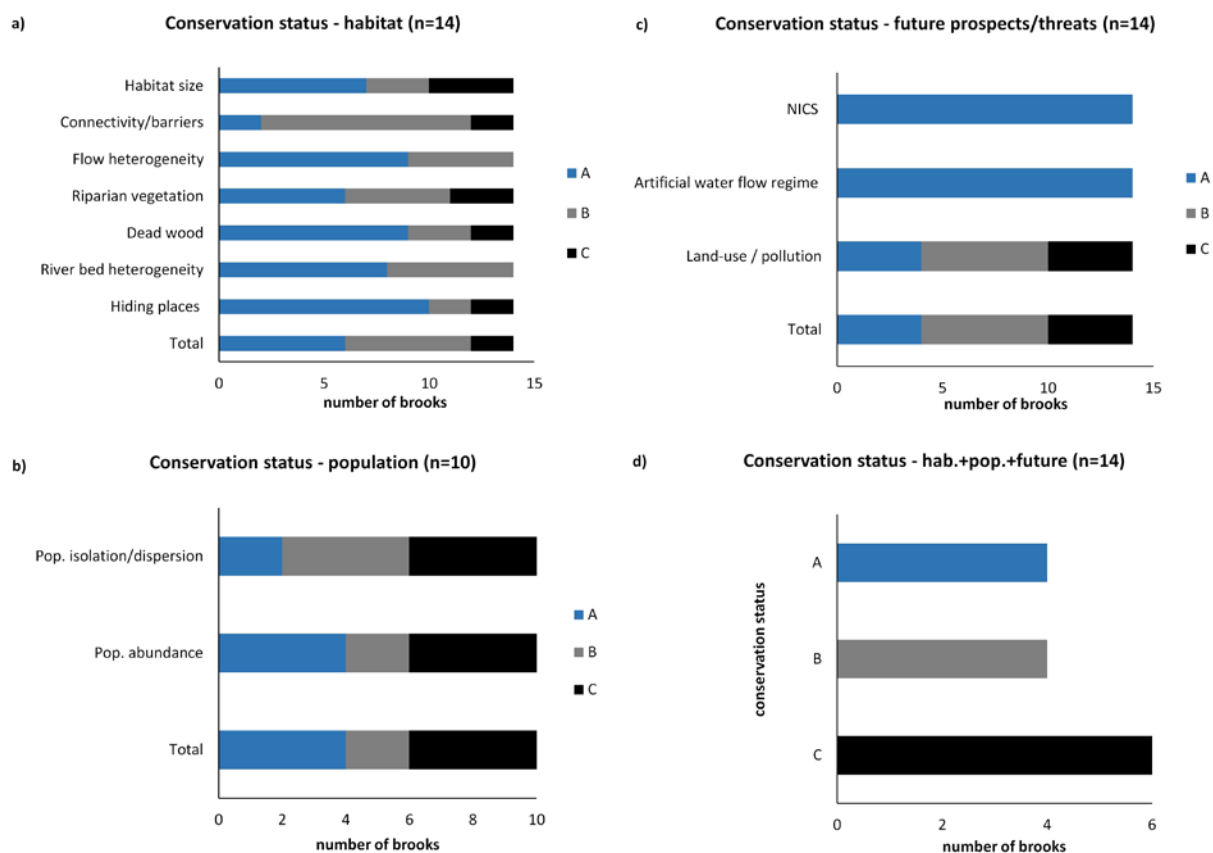


Abb. 11: Erhaltungszustand des Steinkrebsses. A = Lebensraum (n=14), B = Populationsdynamik (n=10), C = Zukunftsaussichten/ Risikofaktoren (n=14). D = Gesamtbewertung aller Teilkriterien (n=14). Abkürzungen A, B und C: siehe Text. Aus BERGER & FÜREDER 2013

	TRB	WB	HB	WHB	DRB	BRG	DAG	GSB	GTB	ZBB	RB	ZBK	ZBD	MSG
Habitat	A	A	A	A	A	A	B	B	B	C	C	B	B	B
Population	A	A	A	A	B	B	C	-	C	(C)	-	(C)	C	C
Zukunft	A	A	A	A	B	B	B	C	C	B	C	B	B	C
Synth.	A	A	A	A	B	B	B	B	C	C	C	C	C	C
% of total habitat	3.1	22.7	4.1	27.4	2.6	8.0	1.3	17.6	1.4	0.2	9.6	0.9	0.3	0.8
% Verteil.	A = 57.3				B = 29.4				C = 13.2					
Verteil.	B													
Gesamt	B													

Tab. 4: Gesamt-Erhaltungszustand gestützt auf die zusammenfassende Betrachtung aller Kriterien (A=günstig, B=ungünstig - unzureichend, C=ungünstig - schlecht, ((C)=Zustand von Habitatgröße abgeleitet). Verteil. = Natürliche Verbreitung. BERGER & FÜREDER 2013

derzeit nur aus dem Bodensee bekannt (BERGER et al. 2015). Dies bedeutet, dass das Risiko direkter Kontakte mit Steinkrebsen gering ist.

Zusammenfassend wurde der Erhaltungszustand in dieser Hinsicht an den Standorten GTB, RB, GSB und MSG als ungünstig – schlecht (»A«) eingestuft. Dort war das Risiko von Einträgen mit dem Fehlen jeglicher Ufervegetation verknüpft. Gewässer mit einer zumindest geringen Ufervegetation (DAG, BRO, ZBD, ZBB, DRB, ZBK) wurden als ungünstig – unzureichend eingestuft (»B«). Schließlich wurden vier Gewässer (TRB, WB, WHB und HAE) als in günstigem Erhaltungszustand (»A«) angesehen (Abb. 11C).

3.1.4 Natürliches Verbreitungsgebiet

Im Rahmen dieser Studie konnten 14 Steinkrebsbestände nachgewiesen werden. Die Standorte waren clusterartig verteilt mit Schwerpunkten in den Jagdberggemeinden und in Hohenweiler. Die Distanzen zwischen vielen Beständen waren sehr groß (s. Abb. 2). Auf Grund von Literaturquellen und der Landschaftscharakteristik ist anzunehmen, dass Steinkrebse in Vorarlberg in der Vergangenheit weit stärker verbreitet waren. Viele der einstigen Vorkommen dürften im Zuge der Verbauung und der Regulierung von Gewässern sowie durch Verschmutzung erloschen sein. Somit war der diesbezügliche Erhaltungszustand als ungünstig – unzureichend (»B«) einzustufen.

3.1.5 Gesamt-Erhaltungszustand

Unter Berücksichtigung der drei Teilkriterien »Lebensraum«, »Populations-

dynamik« und »Zukunftsansichten/ Risikofaktoren« wurde der Erhaltungszustand von vier Beständen als günstig (»A«), von vier Beständen als ungünstig – unzureichend (»B«) und von sechs Beständen als ungünstig – schlecht (»C«) eingestuft. Jene Bestände, an denen keine Populationserhebung durchgeführt wurde, wurden basierend auf den verfügbaren Kriterien als ungünstig – unzureichend (GSB) oder als ungünstig – schlecht (ZBB, ZBK, RB) erachtet. Wurden diese Einstufungen in Beziehung zur Gesamt-Lebensraumfläche sämtlicher Bestände gesetzt, ergab sich insgesamt für 57,3 % ein günstiger, für 29,4 % ein ungünstiger – unzureichender und für 13,2 % ein ungünstiger – schlechter Zustand (Abb. 11D). Nach Berücksichtigung des natürlichen Verbreitungsgebietes wurde der Gesamt-Erhaltungszustand des Steinkrebse in Vorarlberg schließlich als ungünstig – unzureichend (»B«) eingestuft (Tab. 4).

3.2 Phylogeographie und Populationsgenetik der Steinkrebse

3.2.1 Phylogeographie

Von den im Jahr 2009 genommenen Proben aus Vorarlberg konnten 164 von 199 Individuen erfolgreich analysiert werden. Bei den Proben aus der Schweiz und aus Deutschland gestaltete sich die Sequenzierung des mtDNA-Genabschnittes weit schwieriger und wurde die COI-Sequenz nur bei 52 von 60 bzw. 15 von 60 Individuen identifiziert. Tab. 5 fasst die Ergebnisse der Sequenzierung zusammen und zeigt, dass die genetische Variabilität besonders der Vorarlberger Populationen sehr gering war. In den 164 erfolgreich analysierten Individuen wiesen 163 Individuen denselben Haplotyp auf (Ht1) und lediglich ein Individuum aus BRO zeigte einen zusätzlichen Haplotypen (Ht2). In den Populationen aus der Schweiz und

Population	Individuen	Haplotypen
TRB (V)	25	Ht 1
GTB (V)	10	Ht 1
WB (V)	16	Ht 1
HAE (V)	22	Ht 1
WHB (V)	20	Ht 1
DRB (V)	24	Ht 1
BRO (V)	22	21x Ht 1 + 1x Ht 2
DAG (V)	10	Ht 1
MSG (V)	7	Ht 1
ZBD (V)	8	Ht 1
HIN (CH)	27	15x Ht 1 + 12x unbeschriebener Ht
WAS (CH)	25	25x Ht1
SEE (D)	7	6x Ht 1 + 1x Ht 4
SLB (D)	8	2x Ht 1 + 6x Ht 2

Tab. 5: Sequenzierte Haplotypen des COI-Abschnittes der untersuchten Steinkrebspopulationen. (Ht1 = AM 180942, Ht2 = AM 180943 und Ht4 = AM 180945 aus SCHUBART & HUBER 2006). Verändert nach BERGER et al. 2017

aus Bayern wurde zwar auch Ht1 am häufigsten gefunden (52), insgesamt wiesen diese Populationen aber eine größere Variabilität auf. Neben Ht1 wurde in SLB bei sechs Individuen der Ht2 und in SEE bei einem Individuum der Ht4 (Am180945) nachgewiesen. In HIN wurde bei 12 Individuen ein bis dato noch nicht beschriebener Haplotyp gefunden.

Sämtliche nachgewiesenen Haplotypen wiesen einen hohen Verwandtschaftsgrad auf. So unterschieden sich alle drei weiteren Haplotypen von Ht1 jeweils lediglich durch eine einzige Mutation.

Der in weiterer Folge erzeugte Neighbour-Joining-Tree ist in Abb. 12 wieder gegeben. Dieser stellt die hier untersuchten Populationen in einen phylogeographischen Zusammenhang mit in der Genbank eingetragenen Sequenzen aus anderen veröffentlichten Studien. Es ist ersichtlich, dass sämtliche hier untersuchten Populationen sehr nahe nebeneinander angeordnet wurden, was auf eine enge genetische Verwandtschaft hindeutet.

3.2.2 Populationsgenetik

Diversität innerhalb von Populationen:

Tab. 6 vermittelt einen Überblick über die wesentlichen Parameter betreffend die genetische Diversität innerhalb der Populationen. Wie bereits unter Punkt 3.2.1 erwähnt, bereitete die Analyse der deutschen Proben große Schwierigkeiten und konnte letztlich lediglich rund ein Drittel der Individuen erfolgreich getestet werden. Aus der Tabelle geht hervor, dass die durchschnittliche Anzahl in einer Population gefundener Allele – über alle Loci betrachtet – zwischen 1,5 und 2,3 betrug. Mit Ausnahme von GTB war in jeder Population zumindest einer der Loci monomorph. Die Maxima, mit jeweils 4 monomorphen Loci, erreichten die Populationen HIN und GSB. Der Inzuchtkoeffizient (F_{IS}) reichte von -0,004 (DAG) bis 0,384 (HAE), wobei besonders die Populationen HAE, WHB und SLB durch hohe Werte auffielen. F_{IS} ist ein Parameter für die Abnahme der

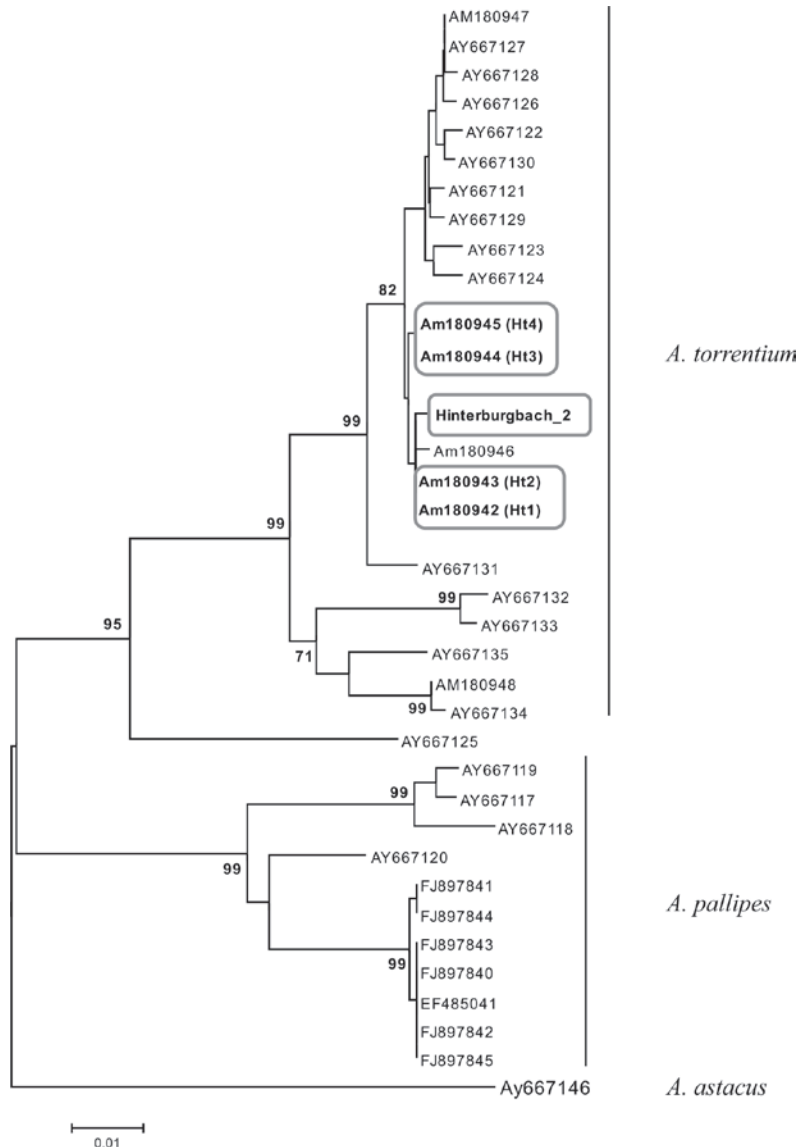


Abb. 12: Neighbour-Joining-Tree aus COI-Kontrollregion-Haplotypen (538 bp), gestützt auf Simple p-Distances; aus BERGER et al. 2017

Heterozygotie in einer Population und positive F_{IS} -Werte bedeuten eine verringerte Heterozygotie, während negative Werte eine erhöhte Heterozygotie indizieren. In den drei Populationen mit hohem F_{IS} -Wert war auch eine Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWE) festzustellen, welches ein Maß für einen Überschuss an Homozygotie darstellt. Das Vorkommen von Null-Allelen wurde von FreeNA in 62 von insgesamt 96 Locus-Population-Kombinationen vorgeschlagen, wobei die Null-Allelfrequenzen zwischen 0,001 und 0,144 (SLB) lagen. Nachdem die Heterozygotie in jenen Populationen am gerings-

ten war, in denen auch die höchsten Null-Allel-Frequenzen gefunden wurden, dürften die Null-Allele hauptverantwortlich für die festgestellten F_{IS} -Werte sein. Private Allele wurden lediglich bei vier von 96 Locus-Population-Kombinationen gefunden: DAG bei Aas6, MSG bei Aas5, SEE bei Aas6 sowie ZBK bei Aas5. Über alle Populationen gemittelt zeigten die Locus-Paare keine signifikante Abweichung vom Linkage-Equilibrium.

Populationsstruktur:

Die F_{ST} -Werte, als Maß für die genetische Unterschiedlichkeit der einzelnen Populationen, reichten von 0,004

bis 0,628. Die höchsten F_{ST} -Werte wurden für die Populationen HAE, GSB und WAS im jeweiligen Verhältnis zu den übrigen Populationen festgestellt, die auch alle signifikant waren. Es fiel auf, dass die Populationen in Hohenweiler (DAG, ZBD, MSG) relativ geringe F_{ST} -Werte untereinander aufwiesen, dasselbe galt für die südlich gelegenen Populationen RB, TRB, GTB und WB. Umgekehrt war ein hoher F_{ST} -Wert zwischen den relativ nahe gelegenen Populationen von HIN und WAS in der Schweiz festzustellen. Zudem waren die Populationen WAS und jene in HAE und GSB relativ eng verwandt (geringer F_{ST} -Wert). Die bayerischen Populationen SLB und SEE wiederum wiesen niedrige Werte gegenüber südlich gelegenen Vorarlberger Populationen auf, während die Werte gegenüber den nördlich gelegenen höher waren. Insgesamt waren die F_{ST} -Werte bei 130 von 136 Population-Kombinationen signifikant, was auf einen sehr eingeschränkten Genfluss hindeutet. Der Test nach Pearson zeigte eine hohe Korrelation zwischen den F_{ST} -Werten und den D_{Jost} -Werten ($r=0,867$, $p=0,000$). Jener zwischen den F_{ST} -Werten und den $F_{ST(ENA)}$ -Werten zeigte einen Korrelationskoeffizienten von 0,993 ($p=0,000$). Daraus konnte der Schluss gezogen werden, dass

Population	N	N_A	A_R	H_O	H_E	F_{IS}	HWE ($p \leq 0,05$)
TRB	30	2.0	1.312	0.287	0.312	0.081	Ja
GTB	22	2.3	1.333	0.348	0.333	-0.048	Ja
WB	30	2.5	1.326	0.349	0.326	-0.072	Ja
HAE	30	1.5	1.093	0.075	0.093	0.384	Nein
WHB	30	2.0	1.195	0.136	0.195	0.305	Nein
DRB	30	2.2	1.314	0.303	0.314	0.036	Ja
BRO	30	2.0	1.210	0.200	0.210	0.047	Ja
DAG	30	2.2	1.227	0.228	0.227	-0.004	Ja
ZBD	20	2.0	1.187	0.167	0.187	0.110	Ja
MSG	19	2.3	1.205	0.208	0.204	-0.019	Ja
HIN	26	2.3	1.206	0.192	0.206	0.070	Ja
WAS	30	1.8	1.199	0.217	0.199	-0.090	Ja
SEE	11	2.3	1.460	0.443	0.460	0.030	Ja
SLB	12	2.2	1.209	0.161	0.209	0.237	Nein
GSB	30	1.5	1.113	0.117	0.113	-0.033	Ja
RB	30	2.0	1.284	0.270	0.284	0.051	Ja
ZBK	21	2.3	1.369	0.373	0.369	-0.012	Ja

Tab. 6: Zusammenfassende Darstellung der genetischen Diversität innerhalb der untersuchten Steinkrebs-Populationen (N = Anzahl Individuen, N_A = Anzahl Allele, A_R = Allelic Richness, H_O = beobachtete Heterozygotie, H_E = erwartete Heterozygotie, F_{IS} = Inzuchtkoeffizient, HWE = Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht). Aus BERGER et al. 2017

die F_{ST} -Werte weder den Genfluss zwischen den Populationen überschätzten, noch den Einfluss der Null-Allele unterschätzen. Außerdem zeigte der Test in SPAGeDi für keinen der Loci eine Signifikanz, womit eine Verfälschung der F_{ST} -Werte durch eine hohe Mutationsrate ausgeschlossen werden konnte. Dies konnte auch als Indiz dafür gelten, dass der phylogenetische Stammbaum nach PHYLLIP (Abb. 14), in welchem Mutationen unberücksichtigt bleiben, korrekt erstellt wurde.

Das Ergebnis der Berechnung der Populationsstruktur mittels der Software STRUCTURE (Abb. 13) spiegelte jenes der gewonnenen F_{ST} -Werte wieder. Auch hier zeigte das genetische Muster jeweils eine Ähnlichkeit zwischen den Populationen TRB, GTB, WB und RB, zwischen HAE, GSB und WAS, zwischen WHB, DRB und ZBK sowie zwischen SEE und SLB. In den überwiegenden Fällen bildeten sich Cluster aus Populationen, die in räumlicher Nähe gelegen sind. Die größte genetische Homogenität war dabei für

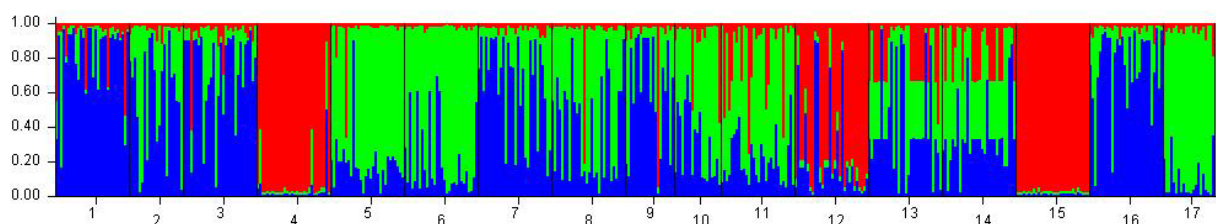


Abb. 13: Populationsstruktur basierend auf Modell der STRUCTURE-Software (1 = TRB, 2 = GTB, 3 = WB, 4 = HAE, 5 = WHB, 6 = DRB, 7 = BRO, 8 = DAG, 9 = ZBD, 10 = MSG, 11 = HIN, 12 = WAS, 13 = SEE, 14 = SLB, 15 = GSB, 16 = RB, 17 = ZBK). Aus BERGER et al. 2017

Ursprung f. Variation	d.f.	Sum of squares	Varianz-komponenten	% der Gesamt-Varianz	Fixation index	P-Wert
Zwischen Gruppen (FCT)	5	175,238	0,212	19,56	0,196	0
Zwischen Populationen innerhalb Gruppen (FSC)	11	87,011	0,142	13,177	0,163	0
Innerhalb Populationen (FST)	853	598,951	0,7292	67,262	0,327	0
Gesamt		861,201	1,084			

Tab. 7: Ergebnis der Analyse der genetischen Differenzierung zwischen Populationen und regionalen Gruppen mittels AMOVA. Aus BERGER et al. 2017

die Populationen HAE und GSB sowie WHB, DRB und ZBK festzustellen.

Die AMOVA brachte hervor, dass der Großteil der genetischen Varianz innerhalb der Populationen zu finden war (67 %). Dennoch, sowohl zwischen den gebildeten Gruppen (»Regionen«) als auch zwischen den Populationen innerhalb der Gruppen bestand jeweils eine signifikante genetische Variation. Dabei war der Wert zwischen den Gruppen höher als jener innerhalb der Gruppen (Tab. 7).

Der phylogenetische Stammbaum, der in PHYLIP erstellt wurde, ist in Abb. 14 dargestellt. Darin wurden überwiegend nähere Verwandtschaftsverhältnisse zwischen jenen Populationen ausgewiesen, die auch in einem räumlichen Naheverhältnis lokalisiert sind. Dies traf beispielsweise für die Gruppen ZBD, DAG und MSG, für die Gruppen HAE, GSB, für ZBK, DRB und WHB sowie für RB, TRB und GTB zu. Auffallend war das genetische Naheverhältnis von WAS und HIN mit den Populationen HAE und GSB. Ein Naheverhältnis wurde bereits in Structure (Abb. 13) ausgewiesen. Außerdem ergab die Modellierung eine enge Verwandtschaft von SLB zu Populationen am Pfänderstock und von SEE zu jenen im Walgau, was nicht mit den räumlichen Beziehungen konform geht.

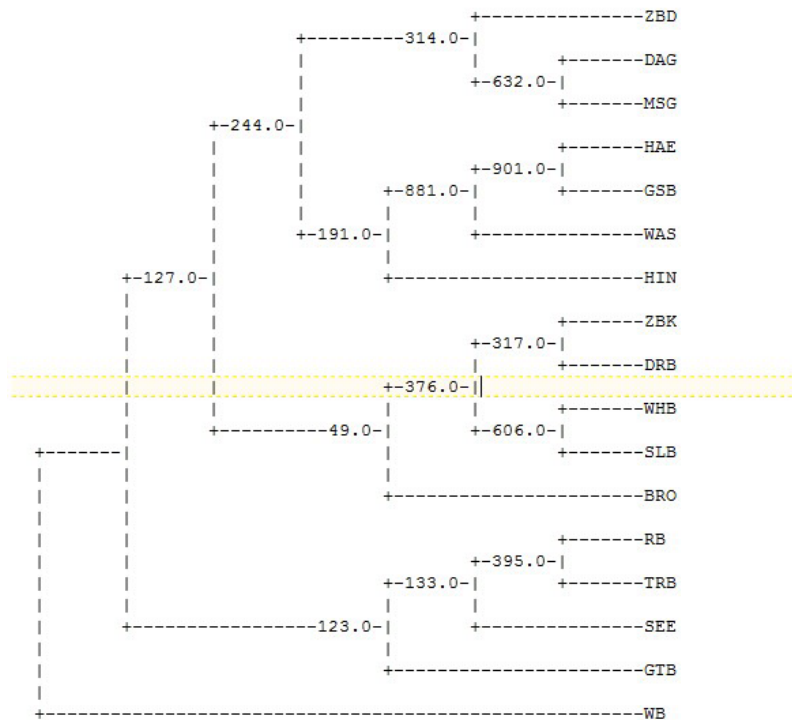


Abb. 14: Phylogenetischer Stammbaum erstellt in PHYLIP (Abkürzungen siehe Text).

Der Mantel-Test zeigte keine signifikante Korrelation zwischen den genetischen und den geographischen Distanzen zwischen den Populationen, weder bei Einbeziehung aller Populationen ($p=0,277$), noch bei Einbeziehung nur der Schweizer und Vorarlberger Populationen ($p=0,418$).

3.2.3 Morphometrie

In die hierarchische Cluster-Analyse konnten bei den Männchen sämtliche Populationen einbezogen werden, bei den Weibchen alle außer GTB (weniger als 10 Individuen). Bei den Männchen betrugen die Koeffizienten für die Cluster-Kombinationen zwischen 0,087 und 15,641, bei den Weibchen zwischen 0,084 und 13,389. Damit

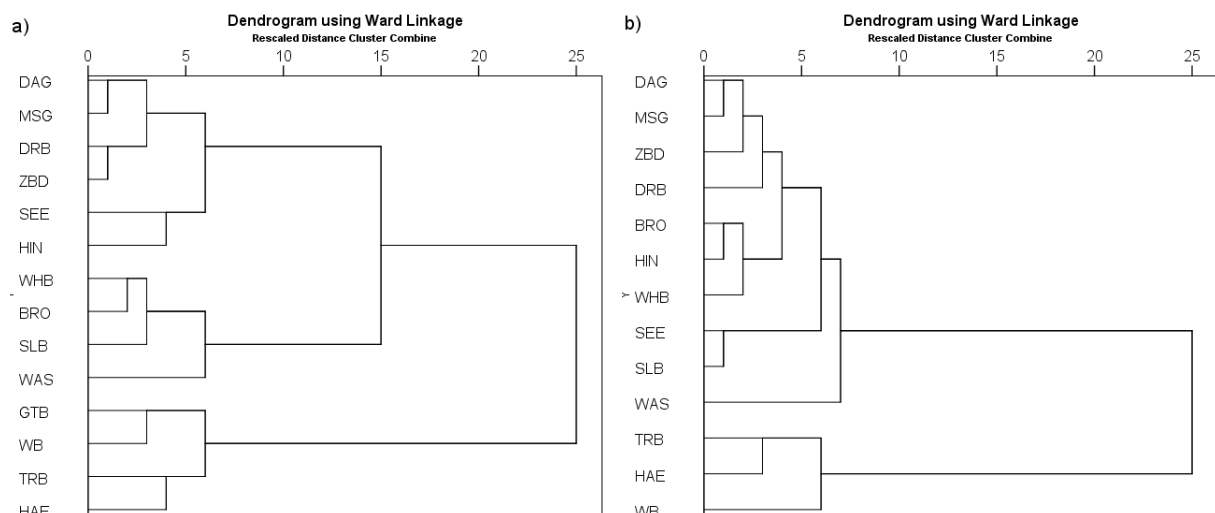


Abb. 15: Dendrogramme als Resultat der Cluster-Analyse auf Grund von morphometrischen Daten. a) Männchen b) Weibchen (Abkürzungen siehe Text). Aus BERGER et al. 2017

Tab. 8: Prozentsätze korrekt klassifizierter Individuen gestützt auf die Funktionen der durchgeführten Diskriminanzanalyse, getrennt nach Männchen und Weibchen.
Aus BERGER et al. 2017

lagen sie für beide Geschlechter in einem vergleichbaren Bereich.

Auch wenn gewisse Unterschiede festzustellen waren, so zeigten dennoch die Dendrogramme ein ähnliches Gesamtbild bei beiden Geschlechtern (Abb. 15). Sie wiesen eine hohe morphologische Ähnlichkeit der Populationen DAG, MSG und ZBD in Hohenweiler, der Populationen WHB und BRO sowie der Populationen TRB, GTB, WB und HAE aus. In der ersten Gruppe waren sich DAG und MSG am ähnlichsten und in der dritten Gruppe GTB und WB (m) bzw. TRB und HAE (w). Während bei den Männchen die Populationen SEE und SLB keine große Ähnlichkeit zeigten, war dies bei den Weibchen sehr wohl der Fall. Auffallend war bei den bayerischen Populationen in Betracht der großen geographischen Distanz zu den übrigen Beständen, dass sie keinen eigenständigen Ast im Dendrogramm einnahmen, sondern sich vielmehr inmitten der Letzteren einreihen. Schließlich zeigten die Dendrogramme eine morphologische Unterscheidung von zwei Großgruppen auf, deren Nord-Südgrenze im Bereich Alberschwende lag: während die Population HAE noch eine größere Ähnlichkeit zu jenen des Walgaus hatte, waren alle nördlich davon gelegenen Populationen eine eigene morphologische Großgruppe. In der schrittweisen Diskriminanzanalyse wurden insgesamt bei den Männchen 70,2 % (cv 59,6 %) der Individuen korrekt klassifiziert, d.h. der richtigen Population zugewiesen. Bei den weiblichen Individuen traf dies nur für

Tab. 9: Standardisierte kanonische Diskriminanzfunktionskoeffizienten, Eigenwerte und prozentueller Anteil der erklärten Varianz der ersten drei Diskriminanzfunktionen für die untersuchten Steinkrebspopulationen. Aus BERGER et al. 2017

Population	Original cases		Cross validated	
	Männchen	Weibchen	Männchen	Weibchen
TRB	80	73,9	60	69,6
GTB	41,7	-	16,7	-
WB	74,4	68,8	65,1	56,3
HAE	87,1	66,7	77,4	59,3
WHB	85	42,9	82,5	14,3
DRB	76,7	68,4	63,3	65,8
BRO	62,5	42,9	56,3	0
DAG	26,7	44,4	13,3	36,1
ZBD	60,9	76	47,8	70
MSG	57,1	33,3	33,3	27,8
SEE	72,7	58,3	72,7	25
SLB	62,5	42,9	43,8	35,7
WAS	75	95,5	75	81,8
HIN	50	58,3	50	47,2

	Funktion 1	Funktion 2	Funktion 3
a) Männchen			
ABL/POL	-0,15	0,791	0,204
ABW/POL	-0,541	-0,227	0,52
ARW/POL	0,243	0,09	0,297
CEW/POL	0,14	0,511	-0,011
CFL/POL	0,115	0,48	-0,099
CGW/POL	0,683	-0,341	-0,377
CLW/POL	0,46	0,312	0,758
CPL/POL	-0,899	0,327	-0,794
HEW/POL	-0,601	-0,503	0,458
ROL/POL	0,585	-0,085	-1,326
TEW/POL	0,246	-0,455	0,007
CPW/CPH	-0,137	-0,45	0,032
HEL/HEW	0,085	-0,365	0,259
ROL/ROW	0,063	0,317	0,815
Eigenwert:	2,611	1,217	0,864
% der erklärten Varianz	38,8	18,1	12,8
b) Weibchen			
ABH/POL	0,424	-0,252	-0,375
ABL/POL	-0,319	-0,21	-0,339
ABW/POL	0,462	-0,259	-0,301
ARW/POL	-0,294	0,377	-0,003
CEW/POL	-0,162	-0,652	0,263
CFL/POL	-0,264	0,464	-0,38
CGW/POL	-0,43	0,504	-0,049
CPL/POL	0,271	-0,785	1,015
ROL/POL	0,247	0,702	0,726
ARL/ARW	-0,111	0,103	0,395
CPL/CPW	1,791	5,97	4,985
CPL/CPH	-1,685	-5,719	-6,622
CPW/CPH	1,34	4,146	4,582
ROL/ROW	-0,573	-0,508	-0,665
Eigenwert	1,723	1,074	0,628
% der erklärten Varianz	34,9	21,8	12,7

60,9 % (cv 50,0 %) zu. Betrachtet man die einzelnen Populationen, so reichen die Werte bei den Männchen von 26,7 bis 80,0 %, wobei die größte Trefferrate die Population TRB erreichte. Bei den Weibchen wiederum betrugen die Raten der richtigen Klassifikation zwischen 33,3 und 95,5 %, wobei letzteres für die Population WAS zutrif. Die geringeren Werte bei der Cross-Validation unterstützten die Validität des Modells (Tab. 8). Gestützt auf den mittleren Diskriminanzkoeffizienten hatten bei den männlichen Individuen die Parameter CPL, HEW und ROL die stärkste diskriminierende Funktion, bei den weiblichen Individuen waren dies CPL, CPH und CPW. Details zum Beitrag der einzelnen Körpermaße ergeben sich aus Tab. 9.

Die Auftrennung und Gruppierung der Populationen gestützt auf die ersten beiden Diskriminanzfunktionen ist in Abb. 16 dargestellt. Bei beiden Geschlechtern stach heraus, dass die Populationen TRB, WB, HAE (und bei Männchen GTB) eine große morphologische Ähnlichkeit hatten. Nachdem diese Populationen auch in räumlicher Nähe lokalisiert sind, schien diesbezüglich ein Zusammenhang zur geographischen Distanz erkennbar. Auch für WAS und HIN, SLB und SEE sowie DAG, ZBD und MSG war dies aus den Graphen zu erkennen. Damit gingen die Ergebnisse der Diskriminanzanalyse mit jenen der Cluster-Analyse weitgehend konform. Besonders bei den weiblichen Individuen war zu erkennen, dass die – zwar räumlich weit entfernten – Populationen SEE und SLB keine entsprechende morphologische Distanz zu den übrigen Beständen erkennen ließen.

3.3 Epibionten-Studie

3.3.1 Vielfalt und Charakteristik der Epibionten-Gemeinschaften

An jedem der untersuchten Gewässer konnte das Vorkommen von Epibionten auf Steinkrebsen nachgewiesen werden. Insgesamt wurden vier Branchiobdelliden-Arten sowie der Polychaet

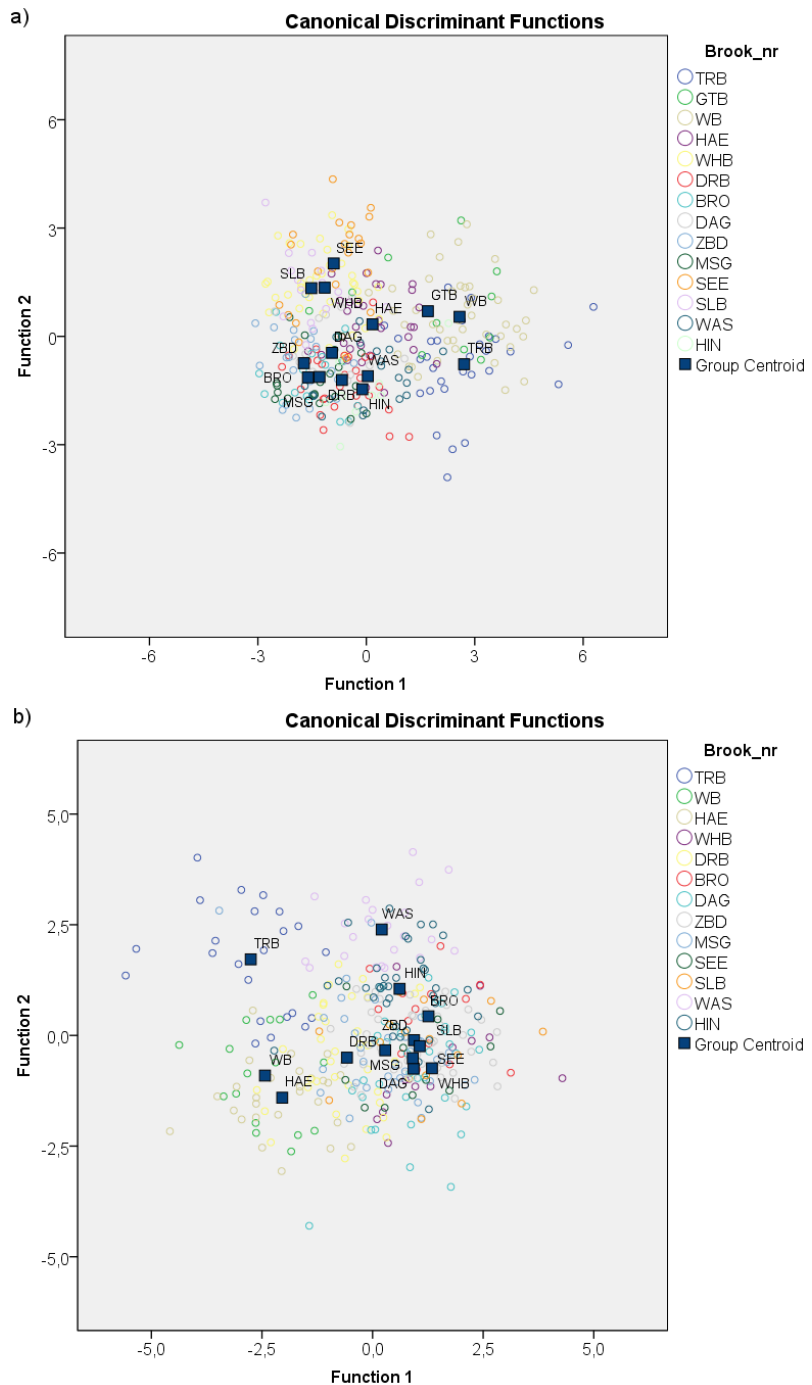


Abb. 16: Darstellung der Populationen in der Diskriminanzebene basierend auf den ersten beiden Diskriminanzfunktionen. a) Männchen, b) Weibchen. Blaue Rechtecke symbolisieren die Mittelpunkte (Zentroide) der jeweiligen Population.

Aus BERGER et al. 2017

Hystricosoma chappuisi (Michaelson, 1928) gefunden. Als nachgewiesene Branchiobdelliden sind zu nennen: *Branchiobdella parasita* (Braun, 1805), *Branchiobdella hexadonta* (Gruber, 1883), *Branchiobdella pentadonta* (Whitman, 1882) und *Branchiobdella*

balcanica (Moszynski, 1937). *Branchiobdella parasita* und *Branchiobdella hexadonta* kamen sehr häufig vor (88 % bzw. 76 % der Gewässer), während *Branchiobdella pentadonta* (35 %) und *Branchiobdella balcanica* (12 %) jeweils nur an vereinzelten Gewässern

auftraten. Die Rate der mit Branchiobdelliden besiedelten Krebsindividuen an den jeweiligen Gewässern betrug im Sommer 100 % und im Herbst 90-100 %.

Hystricosoma chappuisi wiederum wurde im Sommer an 6 von 10 Vorarlberger Standorten, und im Herbst an 11 von 17 Standorten (60 % bzw. 64 %) gefunden. Die Besiedelungsrate reichte von 17 bis 100 % der Krebsindividuen.

Im gesamten Untersuchungsgebiet wurden sieben verschiedene Epibiontengemeinschaften auf den Steinkrebsen vorgefunden (Abb. 17). Das Maximum koexistierender Arten lag bei fünf. Während an den Standorten GTB und HAE nur *Branchiobdella hexadonta* vorkam, wurden an SEE und SLB sämtliche fünf Arten auf den Krebsindividuen angetroffen. Der Polychaet *Hystricosoma chappuisi* wiederum wurde in fünf verschiedenen Branchiobdelliden-Gemeinschaften vorgefunden (Abb. 17), wobei jede Branchiobdelliden-Art an zumindest einem Standort mit dem Polychaet koexistierte.

Auf den Steinkrebsen wurden artspezifische Häufigkeiten der Branchiobdelliden auf bestimmten Körperregionen festgestellt (Abb. 18). *Branchiobdella parasita* wurde in allen gepoolten Gruppen am Häufigsten auf dem Carapax gefunden, gefolgt von Abdomen und den Scheren (in fünf Gruppen signifikante Unterschiede). In vier von sechs Gruppen war die dorsale Abundanz höher als die ventrale (Mann-Whitney-U-Tests, $p < 0.05$). *Branchiobdella hexadonta* war in beiden getesteten Gruppen am Häufigsten auf den Carapax, wobei in nur einer Gruppe ein signifikanter Unterschied nachgewiesen wurde. Weder zwischen Scheren und Abdomen, noch zwischen ventraler und dorsaler Körperregion konnten signifikante Unterschiede festgestellt werden (Mann-Whitney-U-Tests, $p < 0.05$). Demgegenüber zeigte *Branchiobdella pentadonta* in allen vier getesteten Gruppen die signifikant größere Häu-

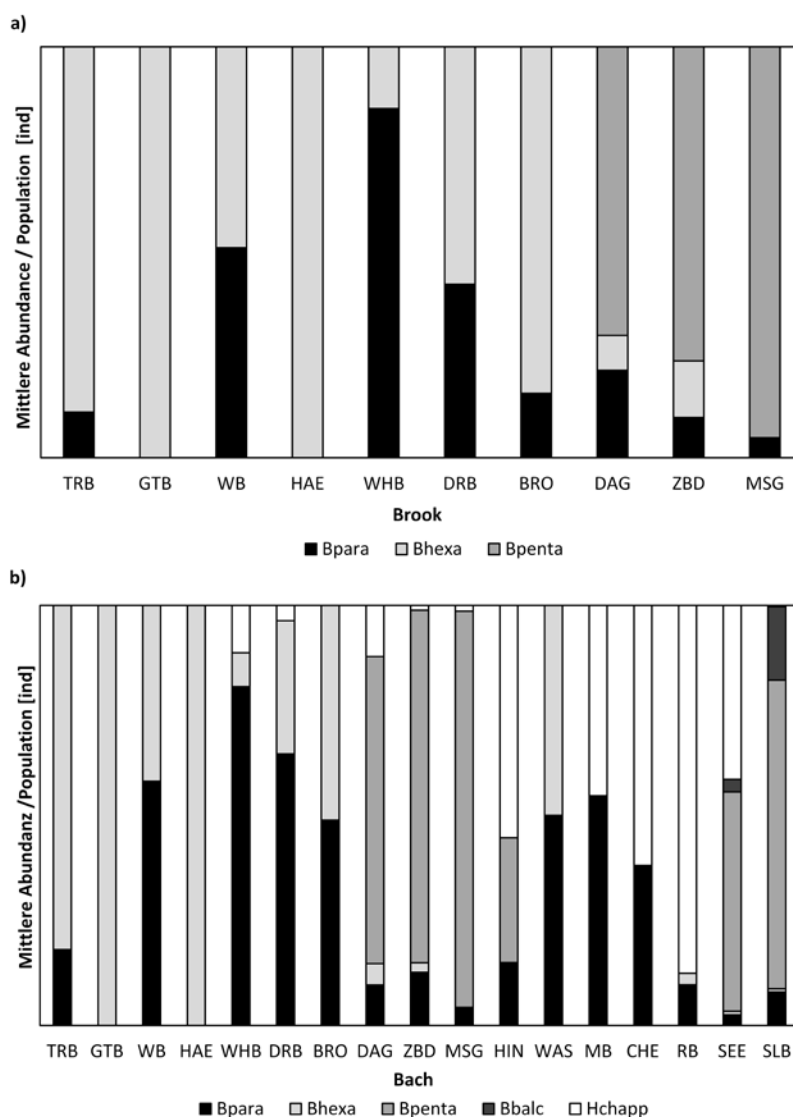


Abb. 17: Zusammensetzung der Epibionten-Gemeinschaften an den Untersuchungs-gewässern mit Darstellung der relativen Häufigkeiten der einzelnen Arten. a) Sommer b) Herbst. Aus BERGER & FÜREDER 2017

figkeit auf den Scheren als auf dem Carapax oder dem Abdomen. In zwei der vier Gruppen war die Abundanz auf dem Carapax höher als auf dem Abdomen. Signifikant höhere Abundanzen wurden schließlich in zwei Gruppen auf der ventralen Seite gefunden. Für *Branchiobdella balcanica* war nur in einem der beiden Gewässer eine ausreichende Datenmenge vorhanden. Hier kam die Art signifikant häufiger auf dem Abdomen als auf den Scheren vor. Zwischen Scheren und Carapax und zwischen Abdomen und Carapax wurden keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen. Jedoch waren die Abundanzen auf der dorsalen Kör-

perhälfte signifikant höher als ventral (Mann-Whitney-U-Tests, $p < 0.05$).

Hystricosoma chappuisi konnte nur in der »R«-Fraktion nachgewiesen werden, weshalb Aussagen zu den Aufenthaltsorten der Art nicht gemacht werden können.

3.3.2 Biogeographisches Verbreitungsmuster

Abb. 19 zeigt die Verbreitung der im Untersuchungsgebiet nachgewiesenen Epibionten-Art auf dem Steinkrebs. Mit Blick auf die großen europäischen Flusseinzugsgebiete ist dabei am auffallendsten, dass *Branchiobdella balcanica* nur im Donau-Einzugsge-

biet vorgefunden wurde, während die übrigen drei Branchiobdelliden-Arten sowohl im Rhein- als auch im Donau-Einzugsgebiet nachgewiesen werden konnten. Somit wurden an den beiden Standorten in Bayern auch die höchsten Artenzahlen gefunden.

Mit Bezug auf das Vorarlberger Landesgebiet ist zu erwähnen, dass die nördlich gelegenen Standorte (v. a. Hohenweiler) eine höhere Artenvielfalt aufwiesen, als die südlicher gelegenen. In letzteren waren *Branchiobdella pentadonta*, *Branchiobdella balcanica* und *Hystricosoma chappuisi* nicht anzutreffen. Während im Norden *Branchiobdella pentadonta* die höch-

sten Abundanzen zeigte, traf dies im südlicheren Bereich auf *Branchiobdella hexadonta* zu. In der Schweiz wiederum waren *Branchiobdella parasita* und *Hystricosoma chappuisi* in relativ hohen Individuenzahlen vertreten, während *Branchiobdella pentadonta* nur an einem und *Branchiobdella hexadonta* nur an zwei von fünf Standorten vorgefunden wurde.

3.3.3 Abhängigkeit der Epibionten-Abundanzen von biotischen und abiotischen Faktoren

Die Körperlänge der Steinkrebse, die in die Regressionsmodelle integriert wurde, betrug zwischen 5,0 und 9,8

cm in beiden Saisonen (MW Sommer: 7,1 cm, n=109; MW Herbst: 7,5 cm, n=153). Die Variable »Landnutzung« musste in den Modellen unberücksichtigt bleiben, da eine hohe Korrelation mit einigen Variablen festgestellt wurde (Multikollinearität).

Die Tabellen 10 und 11 fassen die Ergebnisse der gerechneten Regressionsmodelle zusammen. Für *Hystricosoma chappuisi*, *Branchiobdella parasita* und *Branchiobdella hexadonta* zeigte sich, dass das ZINB-Modell am besten für die vorliegenden Daten geeignet war. Betreffend die Polychaeten-Art hat die Linear model component einen Anstieg der Abundanz mit einem

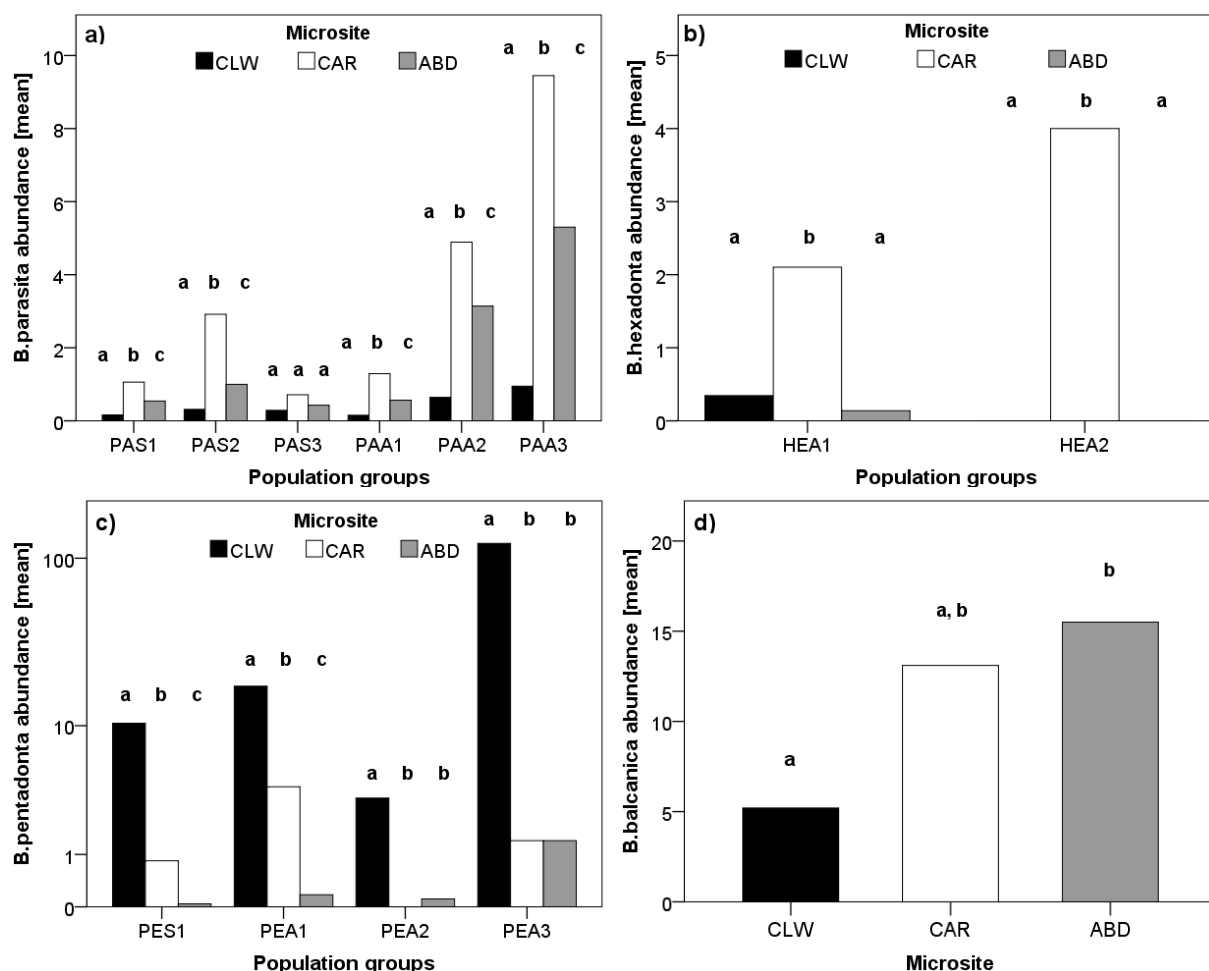


Abb. 18: Art-spezifische Mikrohabitate der Branchiobdelliden auf dem Steinkrebs-Körper. Dargestellt sind gepoolte Gruppen von Populationen getrennt nach Sommer und Herbst (CLW = Scheren, CAR = Carapax, ABD = Abdomen; PAS1 = *B. parasita* Sommer Gruppe1, PAS2 = *B. parasita* Sommer Gruppe2, PAS3 = *B. parasita* Sommer Gruppe3, PAA1 = *B. parasita* Herbst Gruppe1, PAA2 = *B. parasita* Herbst Gruppe2, PAA3 = *B. parasita* Herbst Gruppe3, HEA1 = *B. hexadonta* Herbst Gruppe1, HEA2 = *B. hexadonta* Herbst Gruppe2, PES1 = *B. pentadonta* Sommer Gruppe1, PEA1 = *B. pentadonta* Herbst Gruppe1, PEA2 = *B. pentadonta* Herbst Gruppe2, PEA3 = *B. pentadonta* Herbst Gruppe3). »a«, »b« und »c«, die die Signifikanz anzeigen, beziehen sich jeweils nur auf eine einzelne Gruppe des jeweiligen Balkendiagramms. Verändert nach BERGER & FÜREDER 2017

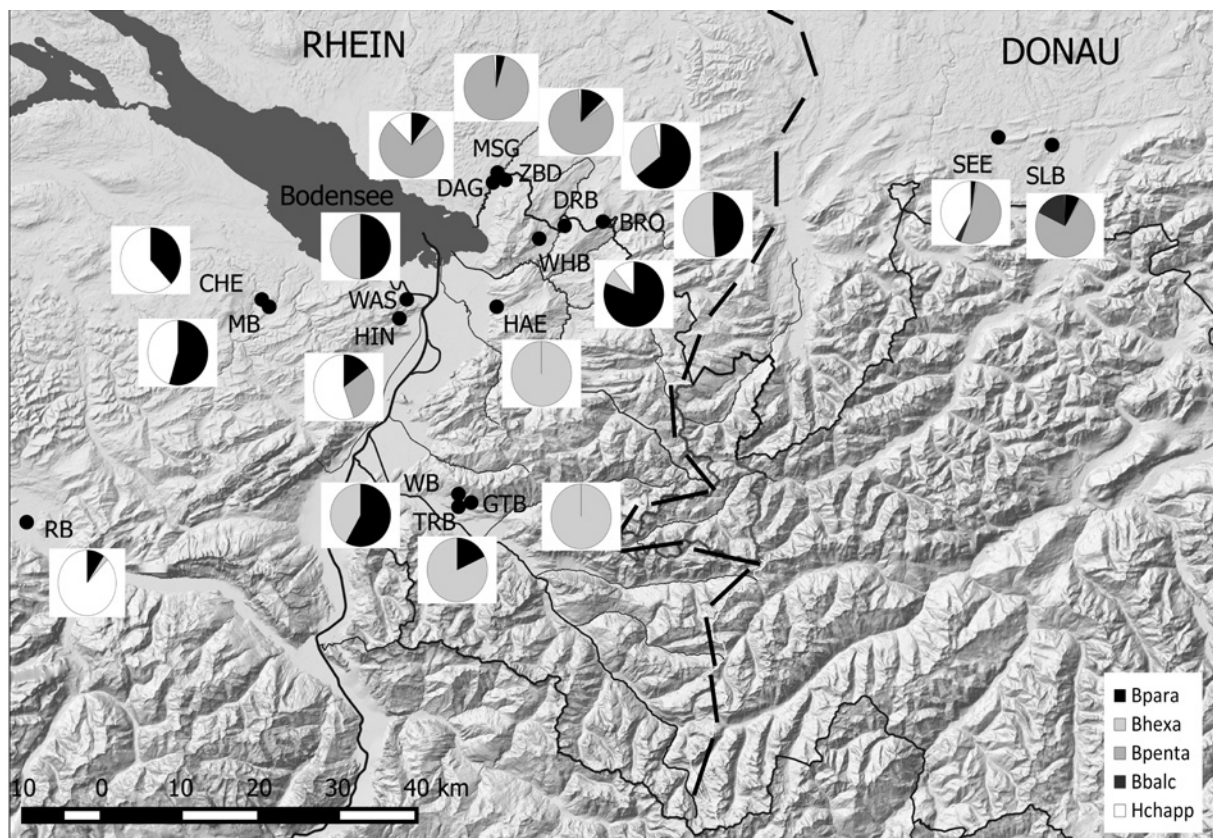


Abb. 19: Verbreitungsmuster der Epibionten-Gemeinschaften im Untersuchungsgebiet (Herbstproben). Nach BERGER & FÜREDER 2017

Anstieg von Wassertemperatur und Abflussmenge gezeigt, während ein Anstieg von PO_4 den gegenteiligen Effekt hatte. Die Wahrscheinlichkeit von 0-Zählungen sank im Modell mit einer Zunahme der NO_2 -Konzentration ($p=0,03$). Die Korrelation zwischen Modell- und Felddaten betrug $R=0,72$ ($p<0,001$) (Tab. 10a). Die sommerliche Abundanz von *Branchiobdella parasita* wurde hauptsächlich durch die Variablen Körperlänge, PO_4 und Cl-Konzentration sowie Abflussmenge erklärt, wobei in der ersten Modellkomponente Körperlänge und Wasservolumen den größten positiven Effekt zeigten (Tab. 10b). Auf die Wahrscheinlichkeit von 0-Zählungen hatte die Cl-Konzentration einen positiven, die Abflussmenge einen negativen Effekt. Im Herbst wiederum hatte die NO_2 -Konzentration den stärksten positiven Effekt auf die Abundanz, und auch in der zweiten Modellkomponente wurden die 0-Zählungen mit einer Zunahme an NO_2 unwahrscheinlicher

(Tab. 10c). Hinsichtlich der Häufigkeit von *Branchiobdella hexadonta* war im Sommer festzustellen, dass SO_4 und TL einen positiven und die Wassertemperatur und die Häufigkeit von *Branchiobdella pentadonta* einen negativen Einfluss zeigten. Den stärksten, und zwar positiven, Einfluss auf die Wahrscheinlichkeit von 0-Zählungen zeigte ein Anstieg der Wassertemperatur. Im Herbst wiederum sank die Abundanz am stärksten bei einem Anstieg der NO_2 -Konzentration ($p=0,007$), und wurde dies auch bei der Wahrscheinlichkeit von 0-Zählungen wieder gespiegelt ($p=0,002$) (Tab. 10d und e).

Wie bereits erwähnt, waren weder das ZIP- noch das ZINB-Modell für die Arten *Branchiobdella pentadonta* und *Branchiobdella balcanica* geeignet und kam daher das Logistische Regressionsmodell zur Anwendung. Im Sommer zeigte sich für erstere Art, dass eine Zunahme an NO_2 auch die Wahrscheinlichkeit des Vorkommens der Art steigern würde ($p=0,009$),

während die Cl-Konzentration und die Körperlänge den gegenteiligen Effekt zeigten (Tab. 11). Im Herbst zeigte eine Zunahme von *Branchiobdella hexadonta* ($p=0,001$) und der PO_4 -Konzentration ($p<0,001$) eine geringere Wahrscheinlichkeit des Vorkommens von *Branchiobdella pentadonta* an.

Für *Branchiobdella balcanica* schließlich zeigte das Modell, dass die Wahrscheinlichkeit des Vorkommens mit einer Zunahme an DOC und *Branchiobdella pentadonta* stieg (jeweils $p<0,001$), während sie mit der Zunahme der Wassertemperatur sank ($p<0,24$) (Tab. 11).

Tab. 10 (folgende Seite):

Zero-Inflated Negative Binomial Regressionsmodelle, in denen der Einfluss verschiedener abiotischer und biotischer Variablen auf die Abundanz der Epibionten-Arten getestet wurde. *H. chappuisi* (a), *B. parasita* (b und c) und *B. hexadonta* (d und e) (Abfluss 2 = mittel, 3 = hoch).

Verändert nach BERGER & FÜREDER 2017

a)	H.chapp_ZINB_Herbst	Variablen	Estimate	Std. fehler	Z Wert	Pr (> z)
	Count model	Intercept	155.572	0.52826	2.945	0.0032
		NO ₂	129.576	165.139	0.785	0.4327
		PO ₄	-0.12588	0.05690	-2.212	0.0269
		Temp	0.19359	0.03955	4.894	<0.001
		Abflussmenge 2	0.6098	0.4291	1.421	0.1553
		Abflussmenge 3	10.309	0.4742	2.174	0.0297
		Log (theta)	0.3963	0.2140	1.852	0.0641
	Zero-inflation model	Intercept	70.359	24.391	2.885	0.0039
		NO ₂	-492.662	224.959	-2.190	0.0285
		PO ₄	0.16804	0.07926	2.120	0.0340
		Temp	-0.6242	0.19034	-3.279	0.001
		Abflussmenge 2	-0.5001	107.371	-0.466	0.6414
		Abflussmenge 3	-45.652	152.789	-2.988	0.0028
b)	B.para_ZINB_Sommer	Variablen	Estimate	Std. fehler	Z Wert	Pr (> z)
	Count model	Intercept	-104.486	0.53786	-1.943	0.0521
		PO ₄	-0.02155	0.01033	-2.086	0.0370
		TL	0.45136	0.06957	6.488	<0.001
		Cl	-0.15038	0.06437	-2.336	0.0195
		Abflussmenge 2	121.816	0.22403	5.438	<0.001
		Abflussmenge 3	129.285	0.24590	5.258	<0.001
		Log (theta)	156.041	0.27648	5.644	<0.001
	Zero-inflation model	Intercept	-13.882	61.633	-0.225	0.8281
		PO ₄	-0.1837	0.2458	-0.747	0.4549
		TL	-0.2150	0.8205	-0.262	0.7933
		Cl	17.005	10.075	1.688	0.0915
		Abflussmenge 2	-84.418	41.981	-2.011	0.0443
		Abflussmenge 3	-15.799	79.266	-0.199	0.8420
c)	B.para_ZINB_Herbst	Variablen	Estimate	Std. fehler	Z Wert	Pr (> z)
	Count model	Intercept	-195.593	0.54941	-3.560	<0.001
		NO ₂	4.984.228	852.938	5.844	<0.001
		TL	0.38336	0.06477	5.919	<0.001
		Abflussmenge 2	0.50787	0.18369	2.765	0.006
		Abflussmenge 3	0.51977	0.21603	2.406	0.016
		Log (theta)	124.995	0.22501	5.555	<0.001
	Zero-inflation model	Intercept	50.279	18.525	2.714	0.006
		NO ₂	-1.400.871	597.089	-2.346	0.019
		TL	-0.6878	0.2516	-2.733	0.006
		Abflussmenge 2	-0.5071	0.6260	-0.810	0.418
		Abflussmenge 3	-0.5389	0.7631	-0.706	0.480
d)	B.hexa_ZINB_Sommer	Variablen	Estimate	Std. fehler	Z Wert	Pr (> z)
	Count model	Intercept	6.239.299	1.707.913	3.653	<0.001
		<i>B. pentadonta</i>	-0.032697	0.006939	-4.712	<0.001
		SO ₄	0.172329	0.023791	7.244	<0.001
		Temp	-0.347369	0.109146	-3.430	<0.001
		TL	0.188052	0.078316	2.401	0.016
		Log (theta)	0.799737	0.168157	4.756	<0.001
	Zero-inflation model	Intercept	-4.868.137	3.148.474	-1.546	0.1221
		<i>B. pentadonta</i>	0.09543	0.04060	2.350	0.0188
		SO ₄	-0.74565	0.65022	-1.147	0.2515
		Temp	389.572	198.919	1.958	0.0502
		TL	-195.872	109.983	-1.781	0.0749
e)	B.hexa_ZINB_Herbst	Variablen	Estimate	Std. fehler	Z Wert	Pr (> z)
	Count model	Intercept	3.018	0.2873	10.505	<0.001
		<i>B. pentadonta</i>	-0.00482	0.002256	-2.136	0.03266
		NO ₂	-123.4	45.45	-2.714	0.007
		Abflussmenge 2	-0.4092	0.3038	-1.347	0.17791
		Abflussmenge 3	-0.07327	0.3467	-0.211	0.83261
		Log (theta)	0.1464	0.2591	0.565	0.57212
	Zero-inflation model	Intercept	-28.675	0.810892	-3.536	<0.001
		<i>B. pentadonta</i>	-0.005950	0.005985	-0.994	0.32017
		NO ₂	22.187.867	70.524.492	3.146	0.002
		Abflussmenge 2	-0.065808	0.658922	-0.100	0.92045
		Abflussmenge 3	1.751.308	0.744510	2.352	0.01866

3.4 Zucht und Wiederansiedlung von Steinkrebsen

3.4.1 Suche geeigneter Ansiedlungsgewässer

Die Suche nach geeigneten Wiederansiedlungsgewässern führte klar zutage, dass diese nur mehr sehr beschränkt zur Verfügung stehen. In der Nähe von Siedlungsgebieten waren anthropogene Risikofaktoren erhöht, weshalb diese Bereiche kaum in Erwägung gezogen wurden. Abseits der besiedelten Zonen stellte das Angrenzen landwirtschaftlicher Felder ein schwer kalkulierbarer Faktor dar. Diese bringen in der Regel mit sich, dass ein Gehölzsaum entlang des Gewässers gar nicht oder nur mehr spärlich vorhanden ist und damit ein geringer Puffer vor Einträgen gewährleistet ist. Schließlich sind wasserbauliche Eingriffe (Verrohrungen und weitere Kontinuumsunterbrechungen) sowie Wasserentnahmen zu nennen, die den für Steinkrebse unabdingbaren Natürlichkeitsgrad der Gewässer herabsetzen. Schließlich ist der – natürliche – Faktor der Geländeneigung zu nennen: Gewässer in Bereichen mit starkem Gefälle und damit erhöhter Strömung wie auch Geschiebeführung sind als Habitate als ungeeignet anzusehen und war dort eine Ansiedlung von vornherein auszuschließen. Abb. 20 vermittelt einen Eindruck der Einschätzung von 25 überprüften Gewässern im Sommer 2011.

Auf Grund dieser Hintergründe konnten auch die ursprünglich geplanten Versuche zur Anpassungsfähigkeit des Steinkrebses hinsichtlich der Habitatfaktoren Temperatur und Strömung im Rahmen der Wiederansiedlung nicht durchgeführt werden. Nachdem aus fachlicher Sicht möglichst Gewässer ausgewählt werden, die dem Entnahmegewässer benachbart sind, war die Anzahl der für diese Versuche vorhandenen Gewässer schlichtweg zu gering. Das Einsetzen in wenig geeignete Gewässer – nur um damit an der ursprünglichen Projektplanung festzuhalten – hätte nach Ansicht der

B. penta_Log_Sommer	Variablen	Estimate	Std.fehler	Z Wert	Pr (> z)	Exp. estimate
	Intercept	1.6417	4.3864	0.374	0.70820	5.164197
	NO ₂	1237.6394	475.3860	2.603	0.00923	infinite
	Cl	-0.2047	0.2323	-0.881	0.37819	0.814889
	TL	-1.4261	0.5667	-2.516	0.01186	0.240245
B.penta_Log_Herbst	Variablen	Estimate	Std.fehler	Z Wert	Pr (> z)	Exp. estimate
	Intercept	6.00449	1.80433	3.328	<0.001	405.24265
	PO ₄	-0.28642	0.06699	-4.276	<0.001	0.750944
	<i>B. hexadonta</i>	-0.57036	0.15914	-3.584	0.001	0.565322
	TL	-0.34840	0.20350	-1.712	0.0869	0.705817
B.balc_Log_Herbst	Variablen	Estimate	Std.fehler	Z Wert	Pr (> z)	Exp. estimate
	Intercept	-10.04137	2.57570	-3.898	<0.001	0.000044
	DOC	2.31322	0.69835	3.312	<0.001	10.10691
	<i>B. pentadonta</i>	0.05461	0.01622	3.367	<0.001	1.056129
	Temp	-0.63166	0.28170	-2.242	0.0249	0.531710

Tab. 11: Ergebnis der Logistischen Regressionsmodelle, in denen die Wahrscheinlichkeit des Auftretens von *B. pentadonta* und *B. balcanica* in Beziehung zu biotischen und abiotischen Variablen gesetzt wurden. Verändert nach BERGER & FÜREDER 2017

Fertigenden der Artenschutz-Intention des Projektes widersprochen.

3.4.2 Wiederansiedlungen

Wie in Punkt 2.4.2 bereits beschrieben, wurden im Leckenbach und im Leutenhofenbach jeweils Adulttiere und Sömmerlinge eingesetzt, um eine neue Steinkrebs-Population zu gründen. Tab. 12 fasst die Individuenzahlen der Besatzmaßnahmen zusammen. Die mittlere Körperlänge der Sömmerlinge sowohl des Leckenbaches als auch des Leutenhofenbaches betrug 1,9cm. Das Ergebnis des bisherigen

Monitorings zum Erfolg der Besatzmaßnahmen ist in Tab. 13 zusammengefasst.

Hinsichtlich des Leckenbaches ist zum Zeitpunkt des gegenständlichen Berichts festzuhalten, dass keine eindeutigen Indizien für einen Erfolg der Ansiedlung vorliegen. Im Jahr 2017 sollte jedenfalls eine Nachschau über den gesamten Gewässerabschnitt vorgenommen werden, da die Tiere unter Umständen in Abschnitte ober- und unterhalb der Besatzstelle gewandert sein könnten.

Zielgewässer - Einschätzung der Eignung (n=25)

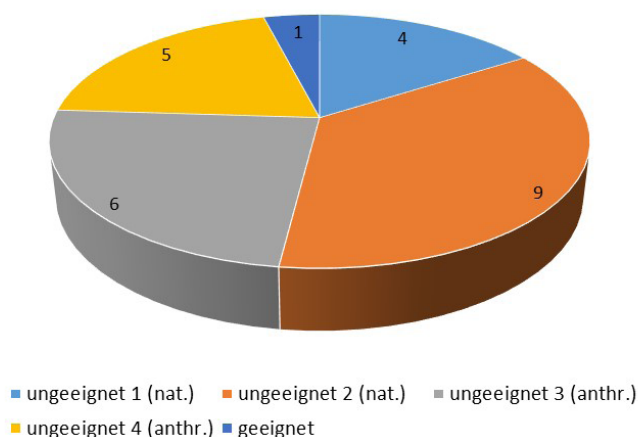


Abb. 20: Eignungsbeurteilung im Jahr 2011 untersuchter Gewässer als Zielgewässer für eine Wiederansiedlung (ungeeignet 1: Habitatqualität, ungeeignet 2: Fließdynamik, ungeeignet 3: Risiko von Einträgen, ungeeignet 4: künstliche Veränderung Gewässer). Untersucht wurden Gewässer in räumlicher Nähe von drei potentiellen Donorgewässern.

Für den Leutenhofenbach ist das Ergebnis der bisherigen Überprüfungen als positiv zu beurteilen. Besonders hervorzuheben ist der Fund einiger kleiner Individuen (ca. 4 cm TL) im Jahr 2016. Hierbei handelt es sich mit großer Wahrscheinlichkeit 1) um das Ergebnis einer erfolgreichen Reproduktion der eingesetzten Adulttiere im Gewässer oder 2) zwischenzeitlich gewachsene Sömmerlinge aus dem Besatz 2014. Beides könnte als Indiz für eine erfolgreiche Ansiedelung angesehen werden.

3.5 Anatomisch-morphologische Studie von *Hystricosoma chappuisi*

3.5.1 Allgemeines

Die Fortpflanzung von *Hystricosoma chappuisi* erfolgt durch Paratomie, das ist eine ungeschlechtliche Fortpflanzungsweise, bei der das Mutterindividuum in Tochterindividuen geteilt wird. Während den Untersuchungen konnten stets Ketten aus zwei Individuen beobachtet werden, wobei die Zone der Abspaltung zwischen dem IX. und XI. Segment des Muttertieres lag.

3.5.2 Morphologie

Bereits mittels der Durchlicht-Mikroskopie konnten artspezifische Merkmale beobachtet und nachgewiesen werden. Abb. 21a zeigt zum einen die dorsal eingelagerten rot-orangen Einlagerungen (Vakuolen), die in zwei parallelen Linien longitudinal verlaufen. Darüber hinaus waren diese punktför-

Leckenbach	Datum	Individuenzahl
	17.08.2013	9
	07.07.2015	1
	21.09.2015	1
	15.10.2016	-
Leutenhofenbach		
	14.07.2015	5
	16.09.2015	6
	07.10.2016	14

Tab. 13: Steinkrebs-Sichtungen an Ansiedelungsgewässern im Rahmen des Monitorings.

Leckenbach	Datum	Individuenzahl	m	w	Alter
	06.05.2012	30	22	8	adult
	22.07.2012	37	0	37	adult
	21.10.2012	34	8	26	adult
	08.11.2012	285	-	-	Sömmerlinge
	22.10.2013	21	21	-	adulte
	Summe:	407	51 (+)	71 (+)	
Leutenhofenbach					
	17.11.2013	211	-	-	Sömmerlinge
	04.09.2014	45	15	30	adult
	Summe:	256	15 (+)	30 (+)	

Tab. 12: Übersicht der in die Zielgewässer eingesetzten Steinkrebs- Individuen.

migen Einlagerungen im vorderen Bereich des Prostomiums zu finden.

Noch feinere morphologische Strukturen ließen die Beobachtungen unter dem Raster-Elektronenmikroskop zu. So war zu erkennen, dass die gesamte ventrale Seite des Prostomiums von *Hystricosoma chappuisi* mit einem Cilienfeld überzogen ist, das sich im hinteren Bereich des Prostomiums auch als seitliche Lappen erstreckt. Im Bereich des Peristomiums wird dieses Cilienfeld schmaler und umgeben die Cilien dort die Mundöffnung. Prostomium und Peristomium waren äußerlich nicht scharf getrennt. Mit Beginn des ersten eigentlichen Körpersegments waren pro Segment jeweils 4 Borstenbündel zu finden. Diese erstreckten sich über den gesamten Körper nach hinten. Somit wies *Hystricosoma chappuisi* zwei Reihen dorso-lateraler Borstenbündel und zwei Reihen ventro-lateraler Borstenbündel auf. Die ventro-lateralen Bündel hatten 5-8 Borsten (Chaetae), die dorso-lateralen dagegen 8-11 Borsten. Am Ansatz waren die Borsten in zwei elliptischen Reihen angeordnet (Abb. 21c). Bei Betrachtung der Spitzen der Chaetae fiel auf, dass diese leicht gesägt sind (Abb. 21d).

3.5.3 Anatomie

Die Serotonin-Färbung machte es möglich, Einblicke in die Struktur des Nervensystems von *Hystricosoma chappuisi* zu gewinnen. Das Gehirn von *Hystricosoma chappuisi* war dorsal im hinteren Bereich des Prostomiums

situert. Das Nervengeflecht (Neuropil) konnte von den Somata (Perikaryen) optisch deutlich unterschieden werden (Abb. 22b). Die Somata waren paarweise angeordnet, wobei mehrere Paare identifiziert wurden. Außerdem konnten im Gehirn vier Querstränge (Kommissuren) beobachtet werden.

Vom Neuropil aus verliefen zum einen Nervenstränge in den vorderen dorsalen Bereich des Prostomiums, welche sich weiter verästelten. Unter Umständen sind diese für die Versorgung von punktförmigen Cilienorganen am Vorderende des Prostomiums verantwortlich. Ein schwaches Signal zeigten überdies Stränge, welche in ventrale Richtung verliefen und möglicherweise das ventrale Cilienfeld ernähren. Außerdem entsprangen nahe der Wurzel der circum-oesophagealen Konnektive Nervenstränge, die seitlich nach vorne verliefen und für die Ernährung der seitlichen Teile des Cilienfeldes verantwortlich sein könnten (Abb. 22d).

Die am deutlichsten sichtbaren Nervenstränge waren die circum-oesophagealen Konnektive, die das Gehirn mit dem Strickleiter-Nervensystem verbanden (Abb. 22c). Ausgehend von den seitlichen Ästen der Strickleiter verlief beidseits ein Strang, der sich in weiterer Folge jeweils auftrennte. Einer der Stränge verlief eher ventral, verzweigte sich bei den Perikaryen und mündete zweiästig in das Neuropil. Der zweite Strang verlief eher dorsal und mündete über die Perikaryen

einästig lateral in das Neuropil (Abb. 23). Schließlich wurde noch ein Paar Nervenstränge identifiziert, das von den Konnektiven in Richtung Körpermitte abzweigte und postero-lateral in das Neuropil einmündete.

Hinter der Mundöffnung gingen die circumoesophagealen Konnektive in die ventral gelegene Strickleiterstruktur über, welche mit dem ersten eigentlichen Körpersegment (mit Borsenbündeln) anfang (Abb. 22b). Diese Strickleiterstruktur setzte sich aus einem mittig und zwei seitlich verlaufenden Strängen zusammen, welche den gesamten Körper durchzogen. Im ersten Körpersegment waren drei Nervenstränge samt Ganglienpaaren sichtbar, welche die longitudinalen Stränge verbanden (sog. Kommissuren). In den weiter hinter gelegenen Segmenten war das Signal für die Kommissuren nur sehr schwach vorhanden. Sehr wohl wurden Perikaryen identifiziert, wobei die Anzahl geringer war, als jene des sub-oesophagealen Ganglions.

In der α -Tubulin-Färbung konnten darüber hinaus Erkenntnisse zu den Cilienstrukturen des Polychaeten gewonnen werden. Dominierend war dabei das ventrale Cilienfeld, welches fast die gesamte Unterseite des Pro- und Peristomiums bedeckte. Deutlich sichtbar waren auch die lateral nach oben verlaufenden Lappen des Cilienfeldes im hinteren Bereich des Prostomiums. Die Mundöffnung war insofern gut erkennbar, als dort eine Aussparung der Cilien erschien. Es zeigte sich jedoch, dass auch die Innenwände des Oesophagus mit Cilien ausgekleidet sind (Abb. 22a).

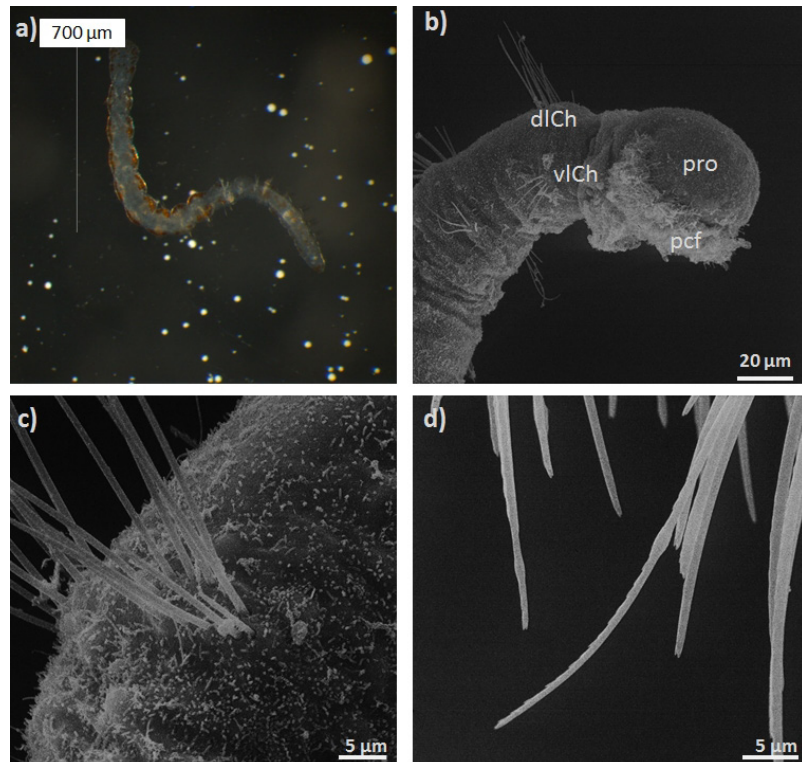


Abb. 21: Morphologische Merkmale von *H. chappuisi*. Rot-orange Einlagerungen (a), vier Reihen von Chaetae (b), zwei-reihige Anordnung der Chaetae (c) und gezähnte Spitzen der Chaetae (d) (pro = Prostomium, pcf = prostomiales Cilienfeld, vlCh = ventrale Chaetae, dlCh = dorsale Chaetae).

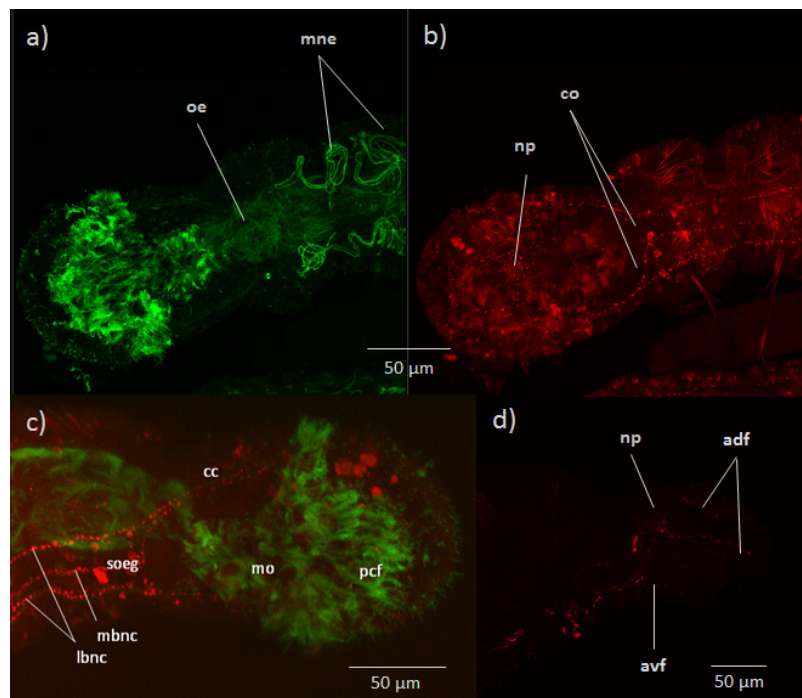


Abb. 22: Darstellung von Cilienstrukturen und von Teilen des Nervensystems von *H. chappuisi* mittels Serotonin- und α -Tubulin-Färbung (oe = Oesophagus, np = Neuropil, cc = circumoesophageale Konnektive, mo = Mundöffnung, pcf = prostomiales Cilienfeld, soeg = sub-oesophageale Ganglien, mbnc = medianer Ast der Strickleiter, lbnc = seitliche Äste der Strickleiter, adf = antero-dorsale Nervenäste, avf = antero-ventrale Nervenäste, mne = Metanephridien).

4 Diskussion

4.1 Erhaltungszustand der Steinkrebse in Vorarlberg

4.1.1 Überlegungen zu den rechtlichen Beurteilungskriterien des Erhaltungszustands

Gemäß der FFH-Richtlinie setzt sich der Erhaltungszustand einer geschützten Art aus drei wesentlichen Kriterien zusammen: Natürliches Verbreitungsgebiet, Lebensraum und Populationsdynamik. Gemäß den einschlägigen Leitfäden der Europäischen Kommission (EUROPÄISCHE KOMMISSION 2005, 2006) sind darüber hinaus aber auch die Zukunftsaussichten / Gefahren für eine Art zu bestimmen und mit zu berücksichtigen. Aus Sicht der Autoren ist dem zuzustimmen, da ohne Berücksichtigung dessen die Wahrscheinlichkeit zu einer mittel- bis langfristigen Arterhaltung nicht bestimmbar ist. Dies gilt umso mehr auf Grund der zunehmenden Gefahren durch nicht heimische Organismen (Neobiota), ein Aspekt, der von der FFH-Richtlinie unberücksichtigt bleibt, jedoch an Bedeutung gewinnt (EVANS & ARVELA 2011). Besonders im Zusammenhang mit dem Schutz europäischer Flusskrebse ist gerade dieser Aspekt wichtig, da der Einmarsch nordamerikanischer Spezies – und damit verbunden der Krebspest – eine sehr ernst zu nehmende Gefahr für die heimischen Krebsbestände darstellt (PÖCKL & PEKNY 2002; BUBB et al. 2006; FÜREDER & PÖCKL 2007). Nicht zuletzt aus diesem Grund wurden fünf nordamerikanische Krebsarten, welche allesamt potentielle Überträger der Krebspest sind, kürzlich in die Liste invasiver Arten von unionsweiter Bedeutung gemäß der EU-Durchführungs-Verordnung 2016/1141 aufgenommen. Aus Sicht der Autoren sollte daher das Beurteilungskriterium »Zukunftsperspektiven/Risikofaktoren« dringend Eingang in Art. 1 der FFH-Richtlinie finden, denn nur auf diesem Weg ist dessen Berücksichtigung im Rahmen der Fest-

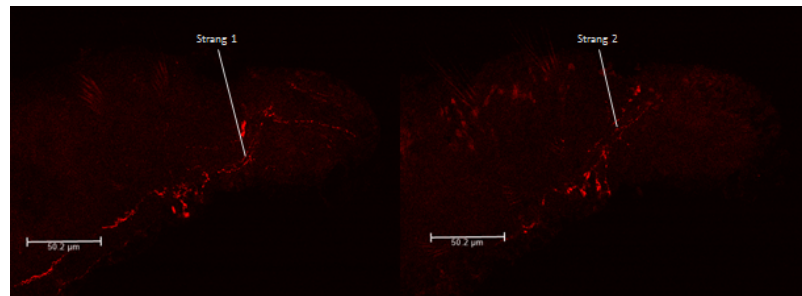


Abb. 23: Serotonin-Färbung der Stränge der circumoesophagealen Konnektive. Nach der Aufzweigung verläuft ein Strang zuerst ventral (Strang 1), während ein anderer Strang in Richtung dorsal verläuft.

stellung des Erhaltungszustandes einer Art gewährleistet.

4.1.2 Lebensraumqualität

Der Umstand, dass die überwiegende Zahl der Steinkrebs-Gewässer in einem guten ökomorphologischen Zustand war, kam nicht unerwartet. Steinkrebse sind im Allgemeinen auf einen heterogenen Lebensraum angewiesen (PÖCKL & STREISSL 2005) und war ein Vorkommen an völlig verarmten Gewässern nicht zu erwarten. Die Begleitvegetation zahlreicher Untersuchungsgewässer war jedoch unzureichend. Aus drei Gründen stellt dies eine starke Beeinträchtigung des Lebensraumes dar: 1) die Ufervegetation sorgt für eine Stabilisierung der Ufer und erzeugt zusätzliche Uferstrukturen durch Wurzeln und überhängende/unterspülte Uferbereiche. 2) die Ufervegetation hat eine wichtige Funktion für den Temperaturhaushalt des Gewässers (Beschattung) und 3) die Ufervegetation ist unbedingt notwendig für die Pufferung von Einträgen in das Gewässer (NYSTRÖM 2002; PEDUZZI & FÜREDER 2009). Die darüber hinaus festgestellten Wanderbarrieren und Lebensraumeinschränkungen stellen an den betroffenen Gewässern ebenfalls eine Beeinträchtigung dar. So waren 50 % der von Steinkrebsen besiedelten Gewässerabschnitte maximal 260 m lang, was das Potential für ein Populationswachstum erheblich einschränkt. Kommen innerhalb eines solchen Habitats noch dazu Wanderbarrieren vor, wird eine Population

unter Umständen in kleine Teilpopulationen getrennt, was negative Auswirkungen für die Fitness haben kann (vgl. Pkt. 4.2.2).

Zusammenfassend wurde daher nur der Erhaltungszustand jener sechs Lebensräume als günstig beurteilt, in denen der besiedelte Abschnitt mindestens 300m betrug, eine ausreichende Ufervegetation vorhanden war und ein guter ökomorphologischer Zustand festgestellt wurde.

4.1.3 Populationsdynamik

Die Studie zeigte für die untersuchten Gewässer eine große Bandbreite an Populationsgrößen. Vor allem Populationen < 300 Individuen werden als kritisch angesehen. Obwohl für die Standorte ZBK und ZBB keine Bestimmung der Populationsgröße möglich war, konnte auf Grund der extrem kurzen Gewässerabschnitte von sehr kleinen Populationen ausgegangen werden.

Was die Bestandsstruktur (Geschlechtsverhältnis, Größenstrukturen) anlangt, kann vor dem Hintergrund der Aufnahmen zwischen Juli und Oktober von einer ziemlich ausgeglichenen Situation ausgegangen werden. Steinkrebse durchlaufen in den Sommermonaten Aktivitätsschwankungen auf Grund von geschlechtsspezifischen Häutungsphasen und so ist nicht zu jedem Zeitpunkt die maximale Aktivität der gesamten Population zu erwarten (MAGUIRE et al. 2002; REYNOLDS 2002). Die festgestellten Unterschiede in der

Verteilung der Größenklassen können mehrere Ursachen haben: Nachdem kleine Individuen vermehrt in Bächen mit vorwiegend kleinen Kornfraktionen gefunden wurden (TRB, HB, DRB, ZBD und MSG), könnte dies den bereits nachgewiesenen Zusammenhang zwischen der Körpergröße von Steinkrebsen und der Lebensraumcharakteristik widerspiegeln (STREISSL & HÖDL, 2002). In jenen Gewässern wiederum, in denen vermehrt Individuen > 8 cm Länge nachgewiesen wurden, könnte eine gestörte Bestandsstruktur durch die Dominanz von alten Individuen vorliegen. Nachdem große Individuen allerdings vermehrt in den größeren Gewässern mit einer stärkeren Fließdynamik gefunden wurden, könnte auch schlichtweg eine methodische Ursache insofern vorliegen, als kleine Individuen in diesen Gewässern schwer zu sichten sind (z. B. WHB). Am Standort BRO wiederum dürfte die geringe Anzahl gefundener Individuen sowie der verstärkte Anteil an Individuen > 6 cm widerspiegeln, dass die Population durch ein Hochwasserereignis dezimiert worden war (eigene Beobachtung). Verglichen mit anderen Studien lag die Bestandsdichte zwischen 4 und 11 Ind./m² im mittleren bis höheren Bereich (TROSCHEL 1997; KAPPUS et al. 1999; GRANDJEAN et al. 2000). Der Standort GTB lag am unteren Ende, wobei dies sowohl auf einen beeinträchtigten Lebensraum als auch auf erhebliche Schwierigkeiten beim Fang auf Grund hoher Fließgeschwindigkeiten zurückzuführen sein wird. Beim WB wiederum könnte die etwas geringere Dichte auf die natürlicherweise geringeren Versteckmöglichkeiten zurückzuführen sein.

Abgesehen von der Populationsgröße wurde in der Studie auch der Grad der Isolierung der Populationen untereinander berücksichtigt. Eine völlige Isolierung verhindert den genetischen Austausch zwischen Populationen und kann sich folglich negativ auf den Genpool der Population auswirken (WEISS 2005). Nachdem sechs Populationen nicht nur völlig isoliert sind,

sondern auch eine sehr geringe Populationsgröße aufwiesen, wurde ihre Populationsdynamik als ungünstig – schlecht beurteilt. Die Populationen BRO, DRB, RB und GSB wiesen zwar etwas höhere Populationsgrößen auf, auf Grund der Isolierung und mangelnden Ausbreitungsmöglichkeiten wurde ihr Zustand jedoch als ungünstig – unzureichend erachtet. Nur vier Populationen wurden daher als in günstigem Zustand beurteilt. Zwar waren diese ebenfalls isoliert, jedoch wurde auf Grund der Populationsgrößen angenommen, dass ein Austausch mit anderen Populationen von geringerer Wichtigkeit ist.

In der Literatur wird der Zustand von Populationen häufig im Zusammenhang mit drei Unsicherheitsfaktoren beurteilt: Demographie, Umwelt und Katastrophen (SHAFFER 1987). Ohne Zweifel spielt die genetische Variabilität von Populationen ebenso eine wichtige Rolle, wie es in zahlreichen Studien zu Wirbeltieren aber auch Wirbellosen bereits gezeigt wurde (z. B. SACCHERI et al. 1998; REED & BRYANT 2000). Anhand einer Schmetterlingsart zeigten MURPHY et al. (1990) allerdings, dass die Lebensraumqualität und die Umweltbedingungen von größerer Bedeutung waren, als demographische und populationsgenetische Faktoren. In der Studie konnten deutliche Einbrüche der genetischen Variabilität nur in sehr kleinen Populationen festgestellt werden, die völlig isoliert waren. In einer Studie von MEYER et al. (2005) mit dem Edelkrebs konnte in einem Modell gezeigt werden, dass eine Population von 770 Individuen innerhalb von 200-300 Jahren aus demographischen Gründen aussterben könnte. Aus Sicht der Autoren waren die Populationsdichte und Lebensraumqualität für ein langfristiges Überleben einer Population von größter Bedeutung. Vergleichende Studien über minimale Populationsgrößen für ein langfristiges Überleben von Populationen zeigten wiederum, dass mehrere Tausend reproduktionsfähige Individuen vorhanden sein sollten

(z. B. BROOK et al. 2006; TRAILL et al. 2007). Dennoch, JAMIESON & ALLENDORF (2012) betonten, dass kleine Populationen viel stärker durch Faktoren wie Lebensraumverlust und Vergiftung vom Aussterben bedroht sind, als durch Inzucht infolge Verlust genetischer Variabilität. Managementmaßnahmen zum Schutz dieser Populationen sollten nach Ansicht der Autoren daher auf die Aufwertung und Vergrößerung der Lebensräume fokussiert sein. Nur bei akuter Inzuchtgefahr sei direkt bei der Population anzusetzen.

Vor diesem Hintergrund wird auch von den Autoren der gegenständlichen Studie die Ansicht vertreten, dass für den mittelfristigen Schutz der Vorarlberger Steinkrebse der Schwerpunkt auf dem Lebensraumschutz liegen sollte. Steinkrebsbestände erfahren in gewissen Abständen Einbrüche auf Grund intrinsischer Faktoren oder Hochwasserereignissen. Diese Einbrüche führen nicht zuletzt zu einem genetischen Flaschenhals, von dem sich die Populationen allerdings wieder erholen können. Auf Grund des Faktors »Mensch« kommen anthropogene Risikofaktoren (z.B. Lebensraumverlust, Verschmutzung) hinzu, die das Auslöschen eines Bestandes verursachen können. Diese Faktoren könnten nach Ansicht der Autoren mittelfristig ein deutliches höheres Risiko bergen, als jenes auf Grund genetischer Gründe.

4.1.4 Zukunftsaussichten / Risikofaktoren

In Anbetracht der regionalen Situation wurden in der gegenständlichen Studie drei potentiell relevante Risikofaktoren berücksichtigt: nicht heimische Krebsarten, Veränderungen des Fließgewässers bzw. der Abflusseigenschaften und Schadstoffeinträge. Nachdem diese Faktoren keine zwangsläufige Interaktion aufweisen, war jeder für sich als potentiell ernsthafter Gefährdungsfaktor anzusehen. Die Felderhebungen zeigten, dass derzeit weder Beeinträchtigungen der Fließgewässer noch akute Gefährdungen durch

nicht heimische Krebsarten vorliegen. Ein laufendes Monitoring der Entwicklung bzw. Ausbreitung nicht heimischer Krebse sollte jedoch unbedingt erfolgen, um im Bedarfsfall rechtzeitig Maßnahmen ergreifen zu können. Dies vor allem auch in Anbetracht des nachgewiesenen Risikos durch die Ansteckung mit der nach Vorarlberg eingeschleppten Krebspest. Sollte der Signalkrebs einen bzw. mehrere dieser Populationen im Zuge seiner Ausbreitung erreichen, wäre mit einem völligen Verlust der Bestände zu rechnen. Von größter Relevanz sind nach Ansicht der Autoren derzeit die Beeinträchtigungen durch die umgebende Landnutzung. An 12 Gewässern wurde eine hohe Wahrscheinlichkeit von Einträgen aus der Landwirtschaft festgestellt, insbesondere da bei vielen auch ausreichende Pufferzonen durch Uferbegleitvegetation fehlten. Dies ist insofern alarmierend, als der Steinkrebs von allen heimischen Steinkrebsen die höchste Empfindlichkeit gegenüber organischer Belastung und anderen Schadstoffbelastungen zeigt (STREISSL & HÖDL 2002; MACHINO & FÜREDER 2005; PARVULESCU et al. 2011). Ein erster wichtiger Schritt zur Eindämmung dieses Risikos liegt folglich in der Schaffung von gewässerbegleitenden Vegetationsstreifen, die – wie bereits erwähnt – überdies eine Aufwertung des Lebensraumes bewirken.

4.1.5 Natürliche Verbreitung

Das Verbreitungsmuster des Steinkrebse, wie es sich heute zeigt, dürfte der intensiven Landnutzung im Untersuchungsgebiet geschuldet sein (Besiedlungsdichte, Landwirtschaft). Die nachgewiesenen Populationen dürften daher letzte Relikte einer vormals weiten Verbreitung des Steinkrebse sein. Die Populationen sind heute auf das Zentrum und den Norden Vorarlbergs beschränkt. Vor dem Hintergrund der Erhebungen des Landes Vorarlberg (HUTTER et al. 2001) gehen die Autoren davon aus, dass die Verbreitung des Steinkrebse zum Zeitpunkt des EU-Beitritts (1995) ähn-

lich der heutigen war. Somit konnte der Zustand im Jahr 1995 nicht als Referenzzustand herangezogen werden, da bereits damals nicht von einem günstigen Erhaltungszustand auszugehen war. Gestützt auf die spärlichen historischen Dokumente (FÜREDER & MACHINO 1999; HUTTER et al. 2001; KÜHNIS 2014) kann zwar keine historische Verbreitungskarte abgeleitet werden, die verfügbaren Literaturquellen deuten allerdings auf eine weitere Verbreitung der Art in der Vergangenheit hin. Dies deuten im Übrigen auch vereinzelte Gewässer mit den Namen »Krebsgraben« und »Krebsbach« an, an denen heute vielfach keine Krebse mehr nachgewiesen werden können. Schließlich spricht schon allein die reiche Ausstattung des Landes mit Fließgewässern für ein weit häufigeres Vorkommen des Steinkrebse in Vorarlberg. Angesichts der heutigen Situation, die wenige voneinander über teils große Distanzen getrennte Populationen zeigt, war der Erhaltungszustand als ungünstig – unzureichend zu beurteilen.

4.1.6 Rechtliche Schlussfolgerungen

Der Erhaltungszustand des Steinkrebse hat nicht nur eine naturschutzfachliche, sondern auch eine rechtliche Bedeutung. Der Steinkrebs ist wie bereits erwähnt, nach der FFH-Richtlinie geschützt und haben die Mitgliedstaaten Maßnahmen zu ergreifen, um die Art in einem günstigen Erhaltungszustand zu erhalten oder aber diesen herbeizuführen. Nachdem die Art in Anhang II der Richtlinie gelistet ist, sollten zu diesem Zweck Schutzgebiete ausgewiesen werden (sog. Natura-2000-Gebiete).

Wie in dieser Studie präsentiert wird, befindet sich die Art in Vorarlberg nicht im günstigen Erhaltungszustand. Zudem wurden in Vorarlberg keine Schutzgebiete ausgewiesen. Auch wenn der günstige Erhaltungszustand auf der Ebene des Nationalstaates zu erreichen ist, so sollten aus Sicht der Autoren im Untersuchungsgebiet jedenfalls Maßnahmen ergrif-

fen werden, die eine Verbesserung der Situation herbeiführen. Dies kann auf mehreren Ebenen erfolgen: 1) Planung von Maßnahmen zur Aufwertung der bestehenden Populationen (besonders Habitatverbesserungen) 2) Verbesserung des rechtlichen Schutzstatus 3) Unterschutzstellung von Gebieten, in denen die Erhaltung des Steinkrebse absolute Priorität hat 4) Aufklärungs- / Informationsarbeit für die Bevölkerung.

Unter praktischen Erwägungen erscheinen in Vorarlberg folgende Maßnahmen zur Aufwertung von Steinkrebsbeständen am Dringendsten:

- Verbesserung der Ufervegetation
- Entfernung von Migrations-/Wanderbarrieren zur Erhöhung der natürlichen Konnektivität. Dies muss jedoch jedenfalls unter Berücksichtigung allfälliger Risiken durch die Einwanderung nicht heimischer Krebse erfolgen.

Abseits dieser Maßnahmen erscheinen Anstrengungen zur Ansiedelung von Steinkrebsen an geeigneten neuen Gewässern als wichtige Maßnahme, um die Verbreitung der Art zu erhöhen. Dabei sollten folgende Aspekte berücksichtigt werden:

- Auswahl einer geeigneten Donorpopulation: Sofern möglich, sollten aus lokal vorhandenen Populationen Steinkrebse entnommen werden, da sie die beste Anpassung an die örtlichen Verhältnisse aufweisen. Ob auch die Verwendung von Krebsen außerhalb Vorarlbergs denkbar ist, kann nur nach Kenntnis der phylogeographischen und populationsgenetischen Zusammenhänge beurteilt werden (SOUTY-GROSSET & REYNOLDS 2009; KOZÁK et al. 2011). Diesbezüglich wird auf Pkt. 4.2 verwiesen. Die Donorpopulation sollte jedenfalls maximal um 10 % dezimiert werden (SCHULZ et al. 2002).
- Eignung der Ansiedelungsgewässer: Im Zuge der Suche geeigneter Gewässer sollten jedenfalls Begehungen der potentiellen Gewässer durchgeführt werden und Wasser-

proben gezogen werden. Auf Grund der großen Bedeutung der Wassertemperatur für die Entwicklung und Reproduktion der Steinkrebse, sollten darüber hinaus Temperaturmessungen über einen längeren Zeitraum durchgeführt werden. Empfehlenswert sind parallele Aufzeichnungen der Temperatur in Entnahme- und potentiellen Zielgewässern. Obwohl die Isolierung von Populationen im Allgemeinen negativ zu bewerten ist, kommen isolierte Standorte dann in Frage, wenn andernfalls ein Risiko durch die Einwanderung nicht heimischer Krebse zu erwarten ist. In der Literatur wird eine empfohlene Mindestdistanz von 50 km zu vorhandenen Populationen nicht heimischer Krebse genannt (SOUTY-GROSSET & REYNOLDS 2009). In Vorarlberg kann diese Distanz allenfalls unterschritten werden, wenn ausreichend natürliche oder künstliche Migrationsbarrieren vorhanden sind, die einen Kontakt sehr unwahrscheinlich machen.

4.2 Genetische Untersuchungen der Steinkrebs-Populationen

4.2.1 Phylogeographische Untersuchungen

Im Rahmen dieser Studie wurde nur eine sehr geringe Anzahl an verschiedenen COI-Haplotypen im Untersuchungsraum nachgewiesen. Der meist gefundene Haplotyp (Ht1) wurde von SCHUBART & HUBER (2006) bereits an zahlreichen Standorten in Deutschland, der Schweiz und Österreich angetroffen. Auch TRONTELJ et al. (2005) fanden diesen Haplotyp in drei Individuen in Südwest-Deutschland bzw. Ost-Frankreich, beides Gebiete des Oberen Rheintals. In der Studie von SCHUBART & HUBER war dieser Haplotyp ebenso am häufigsten gefunden worden. Der am Standort BRO nachgewiesene Ht2 wurde von denselben Autoren ausschließlich im Allgäu (Bayern) sowie im Haldensee (Tirol) gefunden. Dass dieser Haplotyp in BRO nachgewiesen

wurde, könnte bedeuten, dass diese Population früher in Verbindung mit den bayerischen Beständen stand. Nachdem Nachweise gefunden wurden, dass es im Laufe der Erdgeschichte zu Veränderungen der Einzugsgebiete und damit der Flussläufe in unserem Raum gekommen ist (HANTKE 1993), ist dies nicht auszuschließen. Der Ht4 wurde in Übereinstimmung mit SCHUBART & HUBER (2006) auch von uns in der Population SEE angetroffen. Für diese drei Haplotypen stehen unsere Ergebnisse damit in Einklang mit früheren Studien. Einzig ein weiterer Haplotyp am Standort HIN war bis dato nicht bekannt. Nachdem auch dieser nur eine sehr geringe Abweichung von den übrigen gefundenen Haplotypen aufwies, fügte sich dieser gut in das bisher bekannte Verbreitungsmuster ein.

In der gegenständlichen, wie auch in früheren Studien zeigte sich im Allgemeinen eine relativ geringe genetische Variabilität in Zentraleuropa. Dies ist vor allem durch die erdgeschichtliche Besiedelung des Steinkrebsses in Europa zu erklären. So wurde die Art – wie auch unzählige andere Spezies – durch die Eiszeiten mehrmals aus Mitteleuropa verdrängt und musste in südosteuropäischen Refugien überdauern. Nach Ende der Kaltzeiten erfolgte eine Wiederbesiedelung nach Mitteleuropa. Diese schnelle Ausbreitung führte zu einer genetischen Drift und damit verbundenen genetischen Verarmung (»Bottleneck«) der sich ausbreitenden Linien (HEWITT 1999). Dies ist der Grund, warum heute in Mitteleuropa genetisch verarmte Steinkrebs-Bestände zu finden sind, während im Schwarzmeer- und Balkanraum eine weit größere genetische Vielfalt vorherrscht (TRONTELJ et al. 2005; KLOBUČAR et al. 2013).

Und dennoch, gewisse räumliche Unterschiede finden sich auch in Mitteleuropa. So wurde in den Populationen im Allgäu eine größere genetische Vielfalt gefunden, als in jenen Vorarlbergs und der Schweiz. Dass im Alpenraum kleinräumig eine höhere Variabi-

lität angetroffen werden kann, wurde in einzelnen Studien festgestellt (LARGIADÈR et al. 2000; TRONTELJ et al. 2005; SCHUBART & HUBER 2006), und wurde mit potentiellen Mikrorefugien erklärt, in denen gewisse Populationen die Eiszeiten überlebt haben könnten.

In Vorarlberg und der Ostschweiz dürften in Anbetracht der sehr geringen genetischen Vielfalt derartige Mikrorefugien nicht existiert haben. Dies vermag auch nicht sonderlich zu überraschen, da in diesem Bereich während der Eiszeiten der Rheingletscher eine mächtige Ausbreitung gehabt hat. KELLER & KRAYSS (2005) berichten beispielsweise, dass die Eisoberfläche im Würm-Maximum auf Höhe Koblach bei deutlich über 1.000 müM lag. Bei diesem Ausmaß sind aller Wahrscheinlichkeit nach auch die höher gelegenen Gewässer am Pfänderstock und im Walgau vereist gewesen, sodass sich dort keine Mikrorefugien gehalten haben dürften. Zwar ist davon auszugehen, dass auch die Gebiete im Bereich der in dieser Studie beprobten Gewässer in Bayern während der größten Vereisung im Würm vergletschert waren. Da diese Untersuchungsgewässer nördlicher liegen als jene in Vorarlberg und der Ostschweiz, und noch dazu der Bodensee-Vorlandgletscher weiter nach Norden reichte als der Lechgletscher, könnten die Standorte SEE und SLB durch etwas weiter nördlich gelegene Populationen in eisfreien Zonen wieder besiedelt worden sein. Auf Grund der immensen Ausdehnung des Bodensee-Vorlandgletschers erscheint eine solche Annahme für die Populationen im Rheineinzugsgebiet weit weniger wahrscheinlich.

Abgesehen von den obigen Überlegungen konnte die angetroffene genetische Homogenität der Vorarlberger Populationen als erstes Indiz dafür angesehen werden, dass diese autochthon sind und keine der Populationen auf einen Besatz von Krebsen von außerhalb der Region zurückzuführen ist. Ein solcher Schluss wäre ohne eingehende Analysen auf Ebene der ncDNA allerdings voreilig. Schließ-

lich könnte der Besatz mit Steinkrebsen aus einer Region in Mitteleuropa erfolgt sein, in der dieselben Haplotypen vorherrschen – was in Anbetracht der geringen genetischen Vielfalt auf der Ebene der mtDNA in Mitteleuropa nicht undenkbar ist. Vor diesem Hintergrund wurden ergänzende Untersuchungen auf der Ebene der ncDNA durchgeführt, welche mehr Klarheit in dieser Frage bringen sollten (s. Punkt 4.2.2).

4.2.2 Populationsgenetische Untersuchung

Genetische Variabilität innerhalb von Populationen und Individuen ist eine unbedingte Voraussetzung für die Fähigkeit auf Veränderungen der Umwelt reagieren zu können bzw. sich anzupassen. Der Verlust dieser Anpassungsfähigkeit stellt ein großes Risiko für den Erhalt von Beständen dar. Darüber hinaus führt eine geringe genetische Variabilität innerhalb von Populationen zu einem erhöhten Grad von Inzucht, was wiederum negative Auswirkungen auf die Fitness von Individuen hat.

Die Entwicklung einer genetischen Struktur im Raum (Differenzierung) ist in der Regel ein Anzeichen dafür, dass zwischen Populationen kein oder kaum Austausch stattfindet, was durch deren Isolierung bedingt ist. Diese Isolierung führt zu lokal spezifischen Genpools, die sich von anderen Genpools unterscheiden. Währt eine solche Isolierung sehr lange und liegt eine sehr kleine Population vor, kann dies eine Verringerung der genetischen Variabilität und in weiterer Folge der Fitness zur Folge haben (inbreeding depression). Eine Durchmischung genetisch unterschiedlicher (differenzierter) Genpools – beispielsweise im Rahmen von Besatzmaßnahmen in kleinen isolierten Populationen – muss sich in dieser Situation aber nicht unbedingt positiv auswirken. Vielmehr könnte dies negative Folgen haben, etwa dann, wenn bestimmte lokale phänotypische Merkmale genetisch codiert sind. Dann nämlich könnte die

Einbringung genetischen Materials, das diese Merkmale nicht aufweist, zu dessen Verlust und damit zu einem Nachteil im Lebensraum führen. Man spricht in diesem Fall von outbreeding depression.

Vor diesem Hintergrund erfolgte die gegenständliche populationsgenetische Untersuchung. Ziel war es, allfällige, deutlich unterschiedliche Genpools – sei es auf Ebene der einzelnen Population oder auf Ebene bestimmter Flusseinzugsgebiete – zu identifizieren, um daraus Rückschlüsse für Artenschutz-Maßnahmen in Vorarlberg ziehen zu können.

Die hier angewandte Mikrosatelliten-Methode kann als sehr beliebter Ansatz für diese Zwecke angesehen werden, der bereits in unzählige derartige wissenschaftliche Studien eingeflossen ist (z.B. GEIST & KUEHN 2005; GOUIN et al. 2006; ALP et al. 2012; GROSS et al. 2013; SCHRIMPF et al. 2014).

Nach unserer Kenntnis hat sich bis dato keine Studie mit populationsgenetischen Fragestellungen zum Steinkrebs befasst. Dies mag daran liegen, dass diese Art – im Vergleich zu Edel- und Dohlenkrebis – seit jeher weniger im Fokus der Wissenschaft stand. Unsere Ergebnisse zu den untersuchten Populationen zeigen eine geringe genetische Variabilität des Steinkrebises im Untersuchungsraum auf. Trotz einer großen Anzahl einbezogener Individuen bzw. Populationen war die Anzahl gefundener Allele für die einzelnen Loci sehr gering. Während in einzelnen Studien zu Flusskrebsen höhere Werte für diese allelic richness beobachtet wurden (z.B. BARIC et al. 2005; MATALLANAS et al. 2012), fanden BARIC et al. (2006) in Beständen des Dohlenkrebises in Kärnten ähnlich geringe Werte. Als Ursachen dafür wurden von den Autoren Inzucht ebenso als möglich angesehen, wie ein menschlicher Ursprung der Populationen durch Besatz. Letzteres führt oft zu einem sog. founder effect, d.h. durch die geringe Anzahl an eingesetzten Individuen ist die genetische Diversität von vornherein sehr gering. Im Fall der hier un-

tersuchten Steinkrebspopulationen scheidet ein künstlicher Besatz der Populationen eher aus. Dies, da der Steinkrebs in der Vergangenheit selten Gegenstand von Besatzmaßnahmen war. Als weitaus wahrscheinlichere Ursache ist anzusehen, dass die Isolierung der Populationen zu einer genetischen Verarmung geführt hat.

Vergleichbar mit anderen populationsgenetischen Studien zu europäischen Flusskrebsen (GOUIN et al. 2006; BARIC et al. 2005; BARIC et al. 2006) war auch die in dieser Studie gefundene Heterozygotie relativ gering. Und dennoch, IORGU et al. (2011) haben in ihrer Methoden-Studie mit Steinkrebsen in fünf Populationen eine deutlich größere Diversität in rumänischen Populationen nachgewiesen (mittlere beobachtete Heterozygotie: 0,457), als dies in der gegenständlichen Studie gelungen ist. Dies dürfte erneut die genetische Verarmung der mitteleuropäischen Flusskrebsbestände widerspiegeln, die verschiedene Ursachen haben kann. Zum einen sind, wie bereits erwähnt, der Balkan- und Schwarzmeerraum Genpool-Hotspots, da sie als Rückzugsgebiete während der Eiszeiten gedient haben. Zum anderen ist nicht auszuschließen, dass in diesen Regionen die Landschaftsveränderungen, die Mitteleuropa stark prägen und zum Verlust und zur Isolierung vieler Lebensräume geführt haben, noch nicht in diesem Ausmaß Einzug gehalten haben.

Die geringste Diversität wurde in HAE, WHB und GSB angetroffen. Nachdem davon ausgegangen werden muss, dass sämtliche untersuchten Populationen isoliert sind und zudem an diesen drei Standorten nicht ausgesprochen kleine Populationsgrößen angetroffen wurden, ist kein direkter Zusammenhang zwischen der Isolierung bzw. der Populationsgröße und der Diversität (vgl. FRANKHAM 1996) herzustellen. Ein anderer möglicher Grund für dieses Ergebnis kann darin gesehen werden, dass diese Populationen kürzlich einen schweren Bestandseinbruch erlitten haben, von

dem sie sich zwar erholt haben, der sich jedoch noch immer im genetischen Muster widerspiegelt (SHERWIN & MORITZ 2000).

Auch wenn im Allgemeinen bei Flusskrebsen eine eher geringe genetische Diversität festgestellt wurde (CRANDALL 1996), so deuten die hier gewonnenen Ergebnisse doch darauf hin, dass zahlreiche Vorarlberger Steinkrebs-Populationen genetisch verarmt sind. Die Tests zur Populationsstruktur haben eindeutige Hinweise für Differenzierungen zwischen den untersuchten Beständen ergeben. Im Groben zeigten sich regionale Gruppen (Walgau, Alberschwende, Pfänderstock, Hohenweiler), innerhalb derer die Unterschiede geringer waren, als zwischen den Regionen. Dies dürfte dadurch zu erklären sein, dass innerhalb der Regionen die Isolierung der Bestände weniger lange besteht als zwischen den Regionen. Der Umstand, dass die beiden bayerischen Populationen dieses Bild »durchkreuzten«, d. h. sich im genetischen Stammbaum nahe verwandt zum Walgau bzw. Pfänderstock darstellten, sollte unseres Erachtens nicht überinterpretiert werden. Dies könnte dadurch zu erklären sein, dass die Analysen mit diesen Proben erhebliche Schwierigkeiten bereiteten und letztlich nur für wenige Individuen Ergebnisse gewonnen wurden. Ergänzende Analysen wären durchzuführen, um diesbezüglich mehr Klarheit zu gewinnen. In der AMOVA wurde das Bild der regionalen Unterschiede erneut bestätigt und zeigte sich, dass die Unterschiede zwischen Populationen innerhalb von Einzugsgebieten weniger groß sind, als zwischen den Einzugsgebieten. Dies steht in Einklang mit anderen Studien (WARD et al. 1994; HEBERT et al. 2000; COSTELLO et al. 2003), wonach die Hydrographie einen großen Einfluss auf den Genfluss zwischen aquatischen Spezies bzw. Populationen hat. Die Isolierung von Populationen mangels Genfluss führt zur genetischen Drift, d. h. zu einem Auseinanderdriften der Genpools (HARTL & CLARK 1997; AMOS & HAR-

WOOD 1998). Dass selbst signifikante Unterschiede zwischen den meisten Populationen innerhalb eines Einzugsgebietes nachgewiesen wurden, indiziert auch für diese eine folgen-schwere Isolierung. Am eindrucklichsten war dies in Hohenweiler zu sehen, wo selbst zwischen DAG und ZBD bzw. ZBD und MSG signifikante Unterschiede bestehen, obwohl die drei Gewässer auf engstem Raum situiert sind. Die anthropogen bedingten Barrieren zwischen den Gewässern haben offenbar bereits zu einer genetisch sichtbaren Differenzierung der Populationen geführt.

In Zusammenschau mit den Ergebnissen zur Phylogeographie kann auf Grund der in Vorarlberg vorgefundenen Allel-Muster davon ausgegangen werden, dass sämtliche Populationen autochthon sind und nicht auf Besatzmaßnahmen von außerhalb der Region zurückzuführen sind. Dies, da mit Ausnahme vereinzelter private alleles in Vorarlberg ein homogenes Bild der vorhandenen Allele angetroffen wurde. Wären eine oder mehrere Populationen in Vorarlberg durch Besatz von Krebsen aus Ostösterreich oder Deutschland etabliert worden, so wäre zu erwarten, dass sich dies im genetischen Muster insofern wieder spiegelt, als weitere, im Raum untypische Allele detektiert würden. Hierfür ergab die Studie keine Hinweise.

4.2.3 Morphometrie

Die Ergebnisse der morphometrischen Analysen zeigten, dass sich die untersuchten Populationen anhand gewisser Körpermaße unterscheiden ließen. Dass Flusskrebse in morphologischer Hinsicht nicht nur auf der Ebene der Arten und Unterarten (SINT et al. 2006; BERTOCCHI et al. 2008), sondern selbst auf Ebene der Populationen (GRANDJEAN & SOUTY-GROSSET 2000; SINT et al. 2005) Differenzierungen aufweisen, wurde in der Literatur bereits berichtet. Dass dies selbst in einem kleinen Untersuchungsraum, in dem die Standorte in teilweise geringen räumlichen Distanzen zueinander liegen, ebenso nach-

weisbar ist, vermochte dennoch zu überraschen.

Wie bereits in anderen Studien stellte sich auch hier heraus, dass vor allem die Scheren und der Carapax von Bedeutung in der Diskriminanzanalyse sind. Außerdem fand sich bestätigt, dass zu einem gewissen Grad geschlechtsspezifische Unterschiede bestehen, welche Parameter die stärkste diskriminatorische Wirkung haben (SINT et al. 2006).

Bei Betrachtung der jeweiligen Stammbäume waren die Ergebnisse der morphometrischen Analysen zu einem gewissen Grad in Einklang mit jenen der genetischen Analysen zu bringen. Wiederum waren Ähnlichkeiten zwischen den Populationen in Hohenweiler zu finden. In den Regionen Pfänderstock/Sulzberg und Walgau war das Bild weniger homogen, sondern waren Durchmischungen durch Populationen aus anderen Regionen festzustellen. Bereits BEGG et al. (1999) berichteten, dass die morphologische Differenzierung zwischen Populationen nicht vollständig mit dem genetischen Differenzierungsmuster übereinstimmen muss. Dies wurde damit erklärt, dass diese zwei Pfade der Differenzierung auf unterschiedlichen zeitlichen Dimensionen stattfinden. So wird angenommen, dass sich morphologische Veränderungen bzw. Anpassungen schneller entwickeln, als dies für genetische Veränderungen der Fall ist. Darüber hinaus wird der Phänotyp nicht durch ein einziges Gen codiert, sondern durch die Kombination unzähliger Gene, sodass die Übersetzung genetischer Veränderungen in Veränderungen der Morphologie nicht direkt, sondern über komplexe Prozesse erfolgt (PIZZO et al. 2006). Außerdem darf nicht übersehen werden, dass sich die hier durchgeführte genetische Analyse von Mikrosatelliten nicht-codierender Gen-Sequenzen bedient, die damit zwangsläufig keinen Einfluss auf den Phänotyp haben (WEISS 2005). Schließlich ist zu berücksichtigen, dass phänotypische Merkmale zu einem gewissen Grad auf die Lebensbedin-

gungen der jeweiligen Populationen zurückzuführen sein werden. Gewisse Ähnlichkeiten zwischen Populationen können daher durch ähnliche Lebensbedingungen erklärt werden. SINT et al. (2006) fanden beispielsweise Hinweise dafür, dass die Wassertemperatur Einfluss auf die Körpergröße des Dohlenkrebses hat und STREISSL & HÖDL (2002) konnten einen Zusammenhang zwischen den Korngrößen im Lebensraum und der Körpergröße nachweisen. Folglich war auch nicht unbedingt zu erwarten, dass die morphologische Ähnlichkeit mit zunehmender Entfernung zwischen den Gewässern abnehmen würde. Zwar wurde ein solcher Zusammenhang von SINT et al. (2007) gefunden, auf Grund oben beschriebener komplexer Beziehungen ist ein derartiger direkter Konnex jedoch nicht zwingend. Dieser Umstand sollte bei Überlegungen betreffend Managementplanungen – wie etwa Besatzmaßnahmen – jedenfalls berücksichtigt werden. Ein holistischer Ansatz bei der Identifizierung von Beständen, der die genetischen wie auch die morphologischen Aspekte berücksichtigt, wurde von BEGG et al. (1999) auch für die Fischerei vertreten.

4.2.4 Schlussfolgerungen für das Management

Gestützt auf die Ergebnisse der mtDNA- und ncDNA-Analysen erscheint es jedenfalls als angebracht, die Populationen in Bayern und jene der Ostschweiz/Vorarlbergs als zwei getrennte Evolutionarily Significant Units (ESUs, MORITZ 1994) anzusehen. Dies wird damit begründet, dass auf Ebene der mtDNA in Bayern eine größere Haplotypen-Diversität vorherrscht, die auf eine unterschiedliche phylogeographische Geschichte und Entwicklung hindeutet. Eine Vermischung durch Besatzmaßnahmen (Translokationen) zwischen diesen beiden Einheiten sollte unseres Erachtens unterbleiben, um diese Muster zu erhalten. Dies betrifft sowohl die Ansiedelung neuer Populationen, als auch den Besatz in bereits bestehenden Popula-

tionen durch Individuen der jeweils anderen EVU.

Wird darüber hinaus die Struktur berücksichtigt, die die populationsgenetischen und morphometrischen Analysen gezeigt haben und die auf eine Differenzierung auf der Ebene von Flusseinzugsgebieten und Populationen hinweisen, so sollten nach Auffassung der Autoren in Vorarlberg folgende Regionen als Managementeinheiten eingestuft werden:

- DAG, ZBD und MSG
- HAE, GSB
- WHB, ZBK, DRB und BRO
- TRB, GTB und WB

Die Population DRB zeigte zwar morphologische Ähnlichkeiten mit jenen in Hohenweiler. Nachdem sich diese jedoch nicht in den genetischen Mustern wiederfand, dürften erstere auf Ähnlichkeiten im Lebensraum zurückzuführen sein. Auf Grund der genetischen und räumlichen Nähe zu WHB und ZBK im Rotach-Einzugsgebiet spricht mehr für eine Zuordnung zu dieser Managementeinheit. Für die Populationen in GSB und ZBK liegen keine Ergebnisse zur Morphometrie vor, so dass diese allenfalls zu ergänzen wären. Dennoch, die Resultate der Genetik ergaben klare Hinweise dafür, dass eine Zugehörigkeit zu den Managementeinheiten Schwarze-Zug bzw. Rotach-EZG besteht. Für die Population RB, für die ebenso wenig morphometrische Ergebnisse vorliegen, erbrachte die genetische Analyse eine Zugehörigkeit zum Walgau. Auf Grund der relativ großen räumlichen Distanz zu diesen sollte diese Population aber allenfalls auch als eigene Managementeinheit betrachtet werden. Für den praktischen Artenschutz heißt dies, dass im Falle geplanter Ansiedelungen neuer Steinkrebsbestände die Quellpopulation aus jener räumlichen Managementeinheit kommen muss, in der das Zielgewässer liegt. Auf diese Art wird eine Durchmischung regionaler Differenzierungsmuster verhindert. Für bestehende Steinkrebspopulationen sollte, wie bereits unter *Punkt 4.1.6* ausgeführt, der Besatz von Kreb-

sen aus anderen Populationen nicht an erster Stelle stehen. Vielmehr sind Verbesserungen auf der Ebene des Lebensraumes zu planen und umzusetzen. Dies können z. B. Vergrößerungen der Lebensräume oder Verbesserungen der Qualität (Verbesserung der Ökomorphologie, Aufwertung der Ufervegetation, Unterbindung von Einträgen, etc.) sein. Ein zweiter Schritt kann in der Wiederherstellung von Verbindungen mit anderen hochwertigen Gewässern bestehen. Damit wird der Lebensraum vergrößert. Bei geringen räumlichen Distanzen kann damit eine Kontaktzone zwischen ehemals verbundenen Steinkrebs-Populationen wiederhergestellt und damit der genetische Austausch ermöglicht werden. So sehr Maßnahmen zur Schaffung von Gewässerverbindungen wünschenswert sind, so sehr ist gleichzeitig höchste Vorsicht geboten, damit nicht invasiven Flusskrebse die Einwanderung in bis dato abgeschottete Gewässern ermöglicht wird.

4.3 Vorkommen von Epibionten auf Steinkrebsen

4.3.1 Vielfalt und Charakteristik der Epibionten-Gemeinschaften

Die gegenständliche Studie führte eine große Vielfalt der Epibionten-Gemeinschaft auf dem Steinkrebs zutage. Darüber hinaus konnte erstmals der Nachweis der Polychaeten-Art *Hystricosoma chappuisi* in den Schweizer, österreichischen und deutschen Alpen erbracht werden. Es zeigte sich, dass diese Art als fixer Bestandteil der Epibionten-Gemeinschaft im Alpenraum zu sehen ist. Vor dem Hintergrund der bisher vereinzelt Nachweise der Art in Nord- und Süd-Osteuropa (KASPRZAK 1975; SUBCHEV & STANIMIROVA 1986; SUBCHEV et al. 2007) scheint es wahrscheinlich, dass die Art in überwiegenden Teilen Europas vorkommt. Deren häufiges Auftreten ist insofern interessant, als über sie trotz eines zunehmenden Interesses der Wissenschaft an den Branchiobdelliden in den letzten Jahren nicht berichtet wurde.

Darüber hinaus ist mit dieser Studie, zumindest nach dem Kenntnisstand der Autoren, der erste Nachweis von *Branchiobdella pentadonta* in der Schweiz gelungen.

Der Nachweis von *Branchiobdella parasita* und *Branchiobdella hexadonta* im Untersuchungsraum war dagegen zu erwarten, da diese beiden Arten in früheren Studien im Großraum bereits nachgewiesen wurden (NESEMANN 1994; NESEMANN & HUTTER 2002; FÜREDER et al. 2009).

Erwähnenswert ist, dass der nochmalige Nachweis von *Branchiobdella papillosa*, erstmals beschrieben von NESEMANN & HUTTER im Jahr 2002, an den von den beiden Autoren publizierten Standorten nicht gelungen ist. Auf Grund einer sehr großen Ähnlichkeit mit *Branchiobdella parasita* muss daran gezweifelt werden, dass es sich hierbei um eine neue Art handelt. Vielmehr ist nicht auszuschließen, dass durch die Konservierung in Alkohol vermeintliche Unterscheidungsmerkmale (»Artefakte«) entstanden sind, die fälschlicherweise zu einer Neubeschreibung geführt haben.

Nach Kenntnis der Autoren wurde in der gegenständlichen Studie erstmals das Vorkommen und die Verbreitung von Flusskrebs-Epibionten in einem größeren geographischen Raum untersucht und beschrieben. Dieser Ansatz hat neue Einblicke in die Vielfalt und Zusammensetzung der Gemeinschaften ermöglicht. So konnte beispielsweise anhand der Standorte SEE und SLB in Bayern der Nachweis erbracht werden, dass offenbar keine der Branchiobdelliden-Arten den Polychaeten *Hystricosoma chappuisi* ganz grundsätzlich verdrängt bzw. dessen Koexistenz ausschließt. Dies ist auf Grund des sehr kleinen Mikrohabitats »Steinkrebs«, in dem die Arten sympatrisch vorkommen, nicht als selbstverständlich anzusehen.

Das gleichzeitige Vorkommen zahlreicher Arten in diesem Mikrohabitat drängt zwangsläufig die Ergründung von Faktoren auf, die dies ermöglichen. Ökologisch betrachtet ist die

Spezialisierung von Arten in räumlich-funktionaler Hinsicht (»Nischen«) ein vielfach beobachteter Mechanismus, der dies ermöglicht. Eine Spezialisierung hinsichtlich der Nahrungswahl erscheint in Anbetracht des vorhandenen Wissens zur Ernährung der Branchiobdelliden eher unwahrscheinlich. Dies, da alle europäischen Arten als Allesfresser (Omnivore) gelten, die sich von Detritus, Algen, Diatomeen oder Insektenlarven ernähren. Auch räuberisches Verhalten gegenüber anderen Branchiobdelliden-Arten wurde vereinzelt beobachtet (NESEMANN & NEUBERT 1999; GELDER & WILLIAMS 2015). Die hier präsentierten Erkenntnisse deuten vielmehr darauf hin, dass sich eine räumliche Spezialisierung der Arten etabliert hat. Das Auffinden von *Branchiobdella parasita*, *Branchiobdella pentadonta* und *Branchiobdella balcanica* an jeweils unterschiedlichen Körperregionen unterstützen diese These. Auf Grund der hier gewählten Beprobungsmethode kann keine gesicherte Aussage zu den vorwiegenden Aufenthaltsorten von *Branchiobdella hexadonta* und *Hystricosoma chappuisi* gemacht werden. Diese Methode wurde jedoch bewusst gewählt, da eine genauere Nachschau in der Regel der Tötung von – in Vorarlberg geschützten – Steinkrebs-Individuen bedurft hätte. Gestützt auf die spärlich vorhandenen Literaturquellen (POP 1965; Grabda & Wierzbicka 1986) dürfte ein Gutteil der *Branchiobdella hexadonta* Individuen in der Kiemenhöhle zu finden sein. Für *Hystricosoma chappuisi* deutet einzig der Bericht von KASPRZAK (1976) darauf hin. Sollte dies in künftigen Studien konkret nachgewiesen werden, wäre auch darin eine entsprechende Spezialisierung gegenüber anderen Arten zu sehen. Diese Art der räumlichen Spezialisierung könnte trotz ähnlichem Nahrungsspektrum die Koexistenz verschiedener Arten auf engem Raum erlauben.

Das Vorkommen von *Hystricosoma chappuisi* an zahlreichen Untersuchungsstandorten wirft darüber hinaus einige Fragen zur Wirt-Epibionten-

Beziehung auf. In künftigen Arbeiten wird nicht nur die Interaktion zwischen Branchiobdelliden und *Hystricosoma chappuisi* zu untersuchen, sondern auch die allfällige funktionale Verbindung zwischen dem Polychaeten und seinem Wirt zu betrachten sein. Für bestimmte Branchiobdelliden-Arten konnte bereits der Nachweis erbracht werden, dass bis zu einer bestimmten Dichte das Abfressen des Biofilms auf dem Krebs-Panzer eine reinigende, und damit positive, Wirkung für den Wirt hat. Nimmt die Dichte der Branchiobdelliden zu, kann sich eine Wirkungsumkehr einstellen, d. h. kann dies negative Folgen für den Krebs haben. Ähnliche Experimente, die im Labor unter kontrollierten Bedingungen ablaufen müssen, könnten Klarheit über die Rolle von *Hystricosoma chappuisi* bringen. Eine negative Wirkung in der Form, dass der Polychaet weiches Gelenksgewebe des Krebses verletzen könnte – dies wurde von *Branchiobdella hexadonta* von GRABDA & WIERZBICKA (1969) berichtet –, erscheint eher unwahrscheinlich. So weist *Hystricosoma chappuisi* um seine Mundöffnung ein Cilienfeld auf (s. Pkt. 3.5.2), mittels dem partikuläres Material aufgesaugt wird. Mangels Vorhandensein gehärteter Mundwerkzeuge liegen daher derzeit keine Indizien vor, die auf ein Verletzungspotential hindeuten. Ob *Hystricosoma chappuisi*, vergleichbar den Branchiobdelliden (BROWN & CREED 2012; LEE et al. 2009), funktionell in eine Reinigungs-Symbiose mit dem Steinkrebs eingegangen ist, werden jedoch erst künftige Experimente zeigen können.

4.3.2 Biogeographisches Verbreitungsmuster

Nach Kenntnis der Autoren wurde die Verbreitung von Branchiobdelliden im Rheineinzugsgebiet in dieser Studie erstmals in einem größeren Raum untersucht. Dass *Branchiobdella parasita* und *Branchiobdella hexadonta* am häufigsten im Untersuchungsgebiet angetroffen wurden, vermochte nicht zu überraschen, da diese beiden Arten

als in Zentraleuropa weit verbreitet gelten (NESEMANN & NEUBERT 1999). Dies spiegelte sich auch hier wieder, da die Arten kein spezielles Verbreitungsmuster zeigten. Auch *Branchiobdella pentadonta* gilt als weit verbreitet, doch zeigten die Ergebnisse insofern ein Muster, als die Art in den südlicheren Teilen Vorarlbergs und der Schweiz nicht gefunden wurde. Auf Grund der hier präsentierten Ergebnisse kann die Ursache für dieses Fehlen nicht endgültig erklärt werden. Es kann grundsätzlich nicht ausgeschlossen werden, dass die Art auf Grund unbekannter Umstände – zu denken wäre etwa an Gewässerverschmutzungen – an diesen Standorten verschwunden ist. Dies scheint allerdings in Anbetracht des Vorhandenseins anderer Branchiobdelliden-Arten nicht sehr wahrscheinlich. Des Weiteren ist denkbar, dass die Art in diesen Teilen des Untersuchungsgebiets nicht jene ökologischen Bedingungen vorfindet, die für eine langfristige Existenz notwendig sind. Auch wenn die unter Punkt 3.3.3 präsentierten Ergebnisse dafür keine klaren Hinweise lieferten, erscheinen die Faktoren Wassertemperatur und Abflussverhältnisse nach Ansicht der Autoren diesbezüglich von größter Relevanz. Schließlich ist denkbar, dass *Branchiobdella pentadonta* aus derzeit nicht bekannten Gründen die hier genannten Teile des Untersuchungsgebiets schlichtweg nicht erreicht hat. Diese These würde voraussetzen, dass Steinkrebse zu einem bestimmten Zeitpunkt die südlichen und östlichen Teile erschlossen haben, wobei *Branchiobdella pentadonta* auf diesen Wirtstieren nicht vertreten war. Das in diesem Zusammenhang bedeutendste Ergebnis ist wohl darin zu sehen, dass *Branchiobdella balcanica* im Rheineinzugsgebiet nicht nachgewiesen wurde. Bedenkt man, dass 15 Gewässer in diesem Einzugsgebiet untersucht wurden, spricht vieles für die Annahme, dass diese Art hier nicht vorkommt. Ohne sich auf eine eingehende Studie stützen zu können, ging auch NESEMANN (1994) davon aus,

dass die Art weitgehend auf das Donau-einzugsgebiet beschränkt ist. POP (1975) ist darüber hinaus ein Nachweis im Einzugsgebiet der Elbe gelungen. Ein derart striktes Fehlen einer Art in einem großen europäischen Einzugsgebiet lässt es unwahrscheinlich erscheinen, dass sie nachträglich verschwunden ist oder auf Grund ökologischer Ansprüche keine passenden Lebensräume gefunden hat. Vielmehr spricht derzeit vieles dafür, dass die Art das Rheineinzugsgebiet historisch nicht erreicht hat, als zwischen dem Donau- und dem Rheineinzugsgebiet eine Verbindung bestand. Nachdem Branchiobdelliden strikt an ihre Wirte gebunden sind, muss eine derartige These vor dem Hintergrund der Verbreitung des Steinkrebse gesehen werden. Für diese wird – wie auch für viele andere aquatische Organismen – angenommen (HEWITT 1999), dass ihre heutige Verbreitung in Europa ganz entscheidend von den vor- und nacheiszeitlichen Besiedelungen beeinflusst wurde. Mehrere Eiszeiten im Pleistozän führten immer wieder zu einer Verdrängung aus Nord- und Mitteleuropa und einem Rückzug nach Südosteuropa. Dies erklärt auch den europaweit einzigartigen Genpool, der etwa im Balkanraum gefunden wurde (KLOBUČAR et al. 2013). Mit dem Beginn jeder Warmperiode begann die Wiederbesiedelung, die im Fall des Steinkrebse entlang des Donau-einzugsgebiets erfolgte, wobei auch der Übertritt in das Rheineinzugsgebiet gelang (HOLDICH 2002). TRONTEJ et al. (2005) gehen davon aus, dass die Steinkrebse in Mitteleuropa nicht einer einzigen Besiedelungslinie angehören, sondern, dass mehrere Besiedelungspfade existierten. Weitere phylogenetische Studien erbrachten überdies Hinweise, dass selbst in Mitteleuropa während bestimmter Kaltphasen kleine Refugien existierten, in denen Flusskrebse überdauerten (vgl. Pkt. 4.2.1). All dies deutet auf eine sehr komplexe Besiedelungsgeschichte hin, die die heutige biogeographische Verbreitung von Arten prägte.

So könnten nicht nur in räumlicher Hinsicht verschiedene Besiedelungslinien existiert haben, sondern auch in zeitlicher Hinsicht. Damit ist nicht auszuschließen, dass Steinkrebse zu verschiedenen Zeitpunkten der Entwicklungs- und Besiedelungsgeschichte ein unterschiedliches Artenspektrum an Branchiobdelliden beheimatet haben. Selbst wenn diese These zum derzeitigen Zeitpunkt noch wenig gesichert ist, so ist nach Ansicht der Autoren denkbar, dass die Steinkrebse des Rheineinzugsgebietes einer Kolonisierungslinie angehören, in der *Branchiobdella balcanica* nicht vertreten war.

Sollten künftig weitere Nachweise von Steinkrebspopulationen gemacht werden, so sollten diese jedenfalls hinsichtlich des Artenspektrums der Branchiobdelliden untersucht werden. Auf diesem Wege könnte gezeigt werden, ob das aktuelle Verbreitungsmuster samt seiner Erklärungsansätze aufrechterhalten werden kann oder einer Überarbeitung bedarf.

4.3.3 Abhängigkeit der Epibionten-Abundanzen von biotischen und abiotischen Faktoren

Die Modellierung der angetroffenen Epibionten-Häufigkeiten gegen verschiedene biotische und abiotische Parameter zeigte zum Teil artspezifische Eigenschaften. Für die meisten Arten ging die Zunahme der Abundanz bzw. des Vorkommens mit einem Anstieg der Nährstoffkonzentration einher. Überwiegend wurde NO₂ als diesbezüglich relevante Variable ausgewiesen, nur bei *Branchiobdella balcanica* handelte es sich um DOC. In jenen Fällen, in denen im ZINB-Modell die Count model component einen positiven Zusammenhang indizierte, wurde ein ähnlicher Trend in der zweiten Modellkomponente angezeigt. Nur bei *Branchiobdella hexadonta* wurde ein entgegengesetzter Zusammenhang für NO₂ ausgewiesen, was auf eine Sensibilität der Art hinsichtlich Stickstoff hindeuten könnte. Ein positiver Zusammenhang zwischen der Nähr-

stoffkonzentration und der Abundanz wurde auch von MEIKE (1999) beobachtet und ist aus unserer Ansicht auch leicht nachvollziehbar. So ist bei einer Zunahme der Nährstoffkonzentration ein verstärktes Wachstum des Biofilms auf dem Krebspanzer zu erwarten, der wiederum die Nahrungsgrundlage der Branchiobdelliden darstellt.

Als weiterer relevanter Faktor stellte sich die Körperlänge des Wirtes heraus. Während die Häufigkeit von *Branchiobdella parasita* und von *Branchiobdella hexadonta* mit einer Zunahme der Körperlänge stieg, indizierte die Logistische Regression eine Abnahme der Wahrscheinlichkeit des Vorkommens von *Branchiobdella pentadonta* mit der Zunahme der Körperlänge. Für letzteres könnte ein direkter Zusammenhang bestehen, denkbar ist aber auch, dass eine oder mehrere andere Variablen die eigentliche Ursache sind. Nachdem beispielsweise die Häufigkeit von *Branchiobdella hexadonta* in einer positiven Beziehung zur Körperlänge des Wirtes steht, jedoch gleichzeitig in einer negativen zur Häufigkeit von *Branchiobdella pentadonta*, könnte eigentliche Ursache der Abnahme von *Branchiobdella pentadonta* die mit der Körperlänge einhergehende Zunahme von *Branchiobdella hexadonta* sein. Im Allgemeinen erscheint nämlich ein positiver Zusammenhang zwischen der Abundanz und der Körperlänge aus Sicht der Autoren plausibel, da die Zunahme der Körperlänge einen Zugewinn des Lebensraumes für die Epibionten bedeutet. Auch YOUNG (1965) berichtete eine positive Korrelation zwischen der Körperlänge und der Abundanz von *Cambarincola* spp. DEWITT et al. (2013) beobachteten eine größere Relevanz von Umweltfaktoren, verglichen mit der Größe des Wirtes. Es darf jedoch nicht übersehen werden, dass in der Studie von DEWITT et al. sehr kleine Individuen nicht berücksichtigt wurden, während dies bei YOUNG sehr wohl der Fall war. Die hohe Häutungsfrequenz kleiner Krebse dürfte für Epibionten einen Stress darstellen, den sie unter Umständen

vermeiden. Dass nun YOUNG auf kleinen Krebsen weniger Bewohner angetroffen hat als auf größeren Individuen, darf vor diesem Hintergrund nicht verwundern. Bei sehr alten Individuen kann neben der Körpergröße zudem eine alters- oder krankheitsbedingte Abnahme der Häutungsfrequenz ebenso eine Anhäufung von Epibionten bewirken. Auch dieser Aspekt darf in diesem Zusammenhang nicht außer Acht gelassen werden.

Die Wassertemperatur stellte sich ebenfalls als relevanter Faktor für die Epibiontenhäufigkeiten heraus. So zeigten die Regressionsmodelle für *Hystricosoma chappuisi* eine Zunahme der Abundanz mit einem Anstieg der Wassertemperatur, während sie für *Branchiobdella hexadonta* eine Abnahme der Abundanz und für *Branchiobdella balcanica* eine geringe Vorkommens-Wahrscheinlichkeit andeuteten. *Hystricosoma chappuisi* scheint damit wärmere Gewässer zu bevorzugen, während für die beiden anderen Branchiobdelliden-Arten das Gegenteil der Fall ist. Für *Branchiobdella hexadonta* überraschte dieses Ergebnis nicht, da die Art als Bewohner des Krenals und Epirhithrals beschrieben ist (NESEMAN & NEUBERT 1999) und damit eher in höheren Lagen vorkommt. Angesichts der Tatsache dass *Branchiobdella balcanica* als Potamalbewohner in langsam fließenden Gewässern beschrieben ist (NESEMAN & NEUBERT 1999), war eine Sensitivität dieser Art gegenüber höheren Temperaturen demgegenüber nicht zu erwarten. Nachdem die Art allerdings nur an zwei Standorten nachgewiesen werden konnte, sollten keine voreiligen Schlüsse gezogen werden, sondern ist dieser Aspekt durch weitere Beprobungen näher zu untersuchen.

Die Abflussmenge kristallisierte sich als durchaus relevanter Faktor für die Abundanz von *Branchiobdella parasita* und *Hystricosoma chappuisi* heraus. Für beide Arten war das Modell derart zu deuten, dass eine Zunahme der Abflussmenge die Individuenzahl steigen lässt. Im Fall des Polychaeten

ist dies in Anbetracht der gleichzeitigen Präferenz höherer Temperaturen in der Weise zu deuten, dass größere, tiefer liegende Gewässer gegenüber jenen der Krenal-/Epirhithral-Zone bevorzugt werden dürften. NESEMAN & NEUBERT (1999) berichten, dass *Branchiobdella parasita* von der Krenal- bis in die Potamalregion gefunden werden kann. Unsere Ergebnisse bestätigen dies – die Art wurde beispielsweise am Epirhithralstandort TRB nachgewiesen –, deuten jedoch eine Präferenz für Potamalgewässer an.

Hervorzuheben ist schließlich, dass die Regressionsmodelle eine weitgehend untergeordnete Bedeutung der Abundanz koexistierender Epibiontenarten für die Häufigkeit einer bestimmten Art zeigten. Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen auch DEWITT et al. (2013). In unserer Studie schien ein Zusammenhang nur zwischen den beiden Arten *Branchiobdella hexadonta* und *Branchiobdella pentadonta* in der Weise zu bestehen, dass die Zunahme einer Art zum Rückgang bzw. Nicht-Auftreten der anderen führte. Nachdem die beiden Arten auf dem Krebs unterschiedliche Regionen besiedeln (s. Pkt. 3.3.1) dürfte dies nicht mit einer Konkurrenz um dasselbe Mikrohabitat zu erklären sein. Statt eines direkten Zusammenhangs könnte allenfalls auch nur eine indirekte Beziehung in Frage kommen: so zeigten die Modelle beispielsweise, dass die Abundanz von *Branchiobdella hexadonta* mit der Zunahme der Körperlänge des Wirts steigt und mit einer Erhöhung der NO_2 -Konzentration eher sinkt. Nachdem für *Branchiobdella pentadonta* ein genau entgegengesetzter Trend festzustellen war, könnte auch einer dieser Faktoren ursächlich sein. Insgesamt überrascht die relativ geringe Bedeutung der Koexistenz anderer Arten aber ohnehin nicht, da sie im Laufe der Entwicklung spezifische Mikrohabitate auf dem Krebs besetzt haben, die sie sich offenbar nicht gegenseitig streitig machen. In künftigen Untersuchungen sollte der Frage nachgegangen werden, inwieweit der Alters- und Gesundheitszustand

des Wirtsorganismus aber auch die zeitliche Dimension (unterschiedliche Aktivitätsmuster der Epibiontenarten) eine Rolle in diesem Zusammenhang spielen.

4.4 Zucht und Wiedersiedelung von Steinkrebsen

Die Ergebnisse zur Suche nach geeigneten Ansiedelungsgewässern führten aus Sicht der Projektverantwortlichen klar zu Tage, dass in Vorarlberg ein sehr eingeschränktes Potential für den Besatz des Steinkrebss an neuen Standorten besteht. Gewässer in Tallagen sind oft sehr stark durch den Siedlungsdruck und den Druck durch die landwirtschaftliche Nutzung angrenzender Flächen beeinflusst und in Mitleidenschaft gezogen. In unmittelbarer Nähe von bewohntem Gebiet darf das Risiko von Einträgen unterschiedlichster Art sowie des Besatzes mit anderen Krebsspezies nicht unterschätzt werden. Im Bereich landwirtschaftlich genutzter Flächen wiederum besteht ebenso das Risiko von Einträgen und sind die Gehölzpufferstreifen, wenn überhaupt vorhanden, häufig sehr schmal. Damit verlagert sich die Suche zwangsläufig in höhere Lagen, die jedoch auf Grund der zunehmenden Geländeneigung und Fließ- bzw. Geschiebedynamik aus natürlichen Gründen nicht mehr geeignet sind. Dieses Dilemma macht nicht nur die Suche nach geeigneten Gewässern sehr zeitaufwändig, sondern zeigt einen klaren Handlungsbedarf zur Verbesserung des Zustands der hiesigen Fließgewässer auf.

Mit den Experimenten zur Aufzucht von Steinkrebs-Brütlings unter künstlichen Bedingungen wurden nach Kenntnis der Projektverantwortlichen die ersten derartigen Erfahrungen in Vorarlberg gesammelt. Es kann festgehalten werden, dass adulte Steinkrebs-Weibchen eine solche Haltung tolerieren und dass die von uns gewählten Haltungsbedingungen auch für die Gewinnung der Brütlings geeignet waren. Eine laufende Beauf-

sichtigung und Pflege der Haltungsanlagen ist notwendig, um möglichst gute Bedingungen für die Tiere zu gewährleisten. Die größte Aufmerksamkeit muss dabei der Wassertemperatur geschenkt werden. Aus diesem Grund wurden stets simultane Langzeitmessungen der Temperatur von Entnahmegewässer und Becken vorgenommen. Abrupte starke Temperaturveränderungen sollten unbedingt vermieden werden, da dies Flusskrebse physiologisch extrem stresst. Um eine hohe Verletzungsrate der Brütlings zu verhindern, sollte ausreichend Platz in den Zuchtbecken geschaffen und viele Strukturen als Versteckmöglichkeit angeboten werden. Eine regelmäßige Fütterung und Reinigung der Becken ist unabdingbar, letzteres vor allem um Verpilzungen möglichst zu gering zu halten.

Hinsichtlich des Leckenbaches ist zum Zeitpunkt des gegenständlichen Berichts festzuhalten, dass keine eindeutigen Indizien für einen Erfolg der Ansiedelung vorliegen. Das laufende Monitoring ist jedenfalls fortzusetzen. Eine Nachschau über das gesamte Gewässer ist durchzuführen, um festzustellen, ob die Tiere in Abschnitte ober- und unterhalb der Besatzstelle gewandert sind.

Für den Leutenhofenbach ist das Ergebnis der bisherigen Überprüfungen als positiv zu beurteilen. Besonders hervorzuheben ist der Fund einiger kleiner Individuen (ca. 4 cm TL) im Jahr 2016. Hierbei handelt es sich mit großer Wahrscheinlichkeit 1) um das Ergebnis einer erfolgreichen Reproduktion der eingesetzten Adulttiere im Gewässer oder 2) zwischenzeitlich gewachsene Sömmerlinge aus dem Besatz 2014. Beides kann als Indiz für eine erfolgreiche Ansiedelung angesehen werden.

4.5 Beschreibung von *Hystricosoma chappuisi*

Im Rahmen dieser Studie konnten klare Merkmale nachgewiesen werden, die für die derzeitige Einordnung

der Art *Hystricosoma chappuisi* in die Gruppe der Polychaeta sprechen. So wurde das Gehirn, bestehend aus Perikaryen und Neuropil im Prostomium lokalisiert und identifiziert, wir vier Kommissuren im Gehirn. Die circumoesophagealen Konnektive, welche vom Gehirn zur Strickleiterstruktur laufen, zeigten sich darüber hinaus als zweistösig. Schließlich konnte auch gezeigt werden, dass das Strickleiternervensystem aus zwei seitlichen und einem mittleren Ast (somit dreiästig) zusammengesetzt ist. All diese Merkmale werden in der einschlägigen Literatur als Polychaeten-Merkmale angesehen (HESSLING & PURSCHKE, 2000). Es wurden Ähnlichkeiten mit der Gattung *Aeolosoma* gefunden, die die Einordnung in die Familie der Aeolosomatidae stützen. So liegt z. B. keine klare äußerliche Trennung von Prostomium und Peristomium vor und wurden weder am Prostomium Antennen, Palpen oder dgl. gefunden, noch in den Körpersegmenten Parapodien oder vergleichbare Strukturen. Sehr wohl wurden pro Segment Organe identifiziert, wobei vor allem die Metanephridien deutlich sichtbar waren. Eine weitere Gemeinsamkeit, die beispielsweise auch bei *Aeolosoma hemprichi* identifiziert wurde, waren drei Kommissuren zwischen den drei Nervensträngen der Strickleiter im ersten Körpersegment. Der Umstand, dass die Anzahl der Perikaryen im suboesophagealen Ganglion am höchsten war und in den weiteren Segmenten geringer, ist bei den Annelida im Allgemeinen häufig zu beobachten (HESSLING & WESTHEIDE 1999).

Im Gegensatz zu *Aeolosoma*-Arten konnten bei *Hystricosoma chappuisi* taktile Haare und Cilien-Sinneszellen auf dem Prostomium nicht eindeutig identifiziert werden. Darüber hinaus bewegt sich die Art mittels Körperkontraktionen, während für die Gattung *Aeolosoma* beschrieben ist, dass das ventrale Cilienfeld hierfür eingesetzt wird. Schließlich wurde nach Kenntnis der Autoren bei *Aeolosoma* bis dato nicht beobachtet, dass die farbigen

Einlagerungen in Vakuolen als Linienstruktur über den Körper verlaufen. Dies kann als artspezifisches Merkmal von *Hystricosoma chappuisi* angesehen werden. Zusammenfassend wurden damit zum einen Merkmale gefunden, die der Unterscheidung von *Hystricosoma chappuisi* von den *Aeolosoma*-Arten dienen, zum anderen, die für eine Zuordnung der Art zu den Polychaeta sprechen. Ein Nuchalorgan, das ebenfalls als Charakteristikum der Polychaeta angesehen wird, konnte im Rahmen dieser Studie nicht nachgewiesen werden. Weitere Untersuchungen sind erforderlich, um die Frage zu beantworten, ob auch *Hystricosoma chappuisi* über ein solches Organ verfügt. Damit wäre wohl der letzte anatomische Beweis geliefert, dass die Art als Polychaet anzusehen ist.

5 Literatur

- ALP, M., KELLER, I., WESTRAM, A., & ROBINSON, C.T. (2012): How river structure and biological traits influence gene flow: a population genetic study of two stream invertebrates with differing dispersal abilities. – *Freshwater Biology*, 57: 969-981.
- AMOS, W. & HARWOOD, J. (1998): Factors affecting levels of genetic diversity in natural populations. – *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 353: 177-186.
- AVISE, J. C. (2004): *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. – 2nd ed.: 684 pp., Sunderland, MA (Sinauer Associates).
- BARIC, S., HÖLLRIGL, A., FÜREDER, L. & DALLA VIA, J. (2005): Mitochondrial and microsatellite analyses of *Austropotamobius pallipes* populations in south Tyrol (Italy) and Tyrol (Austria). – *Bulletin Français de la Pêche et Pisciculture*, 376-377: 599-612.
- BARIC, S., HÖLLRIGL, A., FÜREDER, L., PETUTSCHNIG, J., & DALLA VIA, J. (2006): First analysis of genetic variability in Carinthian populations of the white-clawed crayfish *Austropotamobius pallipes*. – *Bulletin Français de la Pêche et Pisciculture*, 380-381: 977-990.
- BEGG, G. A., FRIEDLAND, K. D. & PEARCE, J. P. (1999): Stock identification and its role in stock assessment and fisheries management: an overview. – *Fisheries Research*, 43: 1-8.
- BERGER, CH., SCHOTZKO, N., & HUTTER, G. (2015): Erster Nachweis des Kamberkrebse (*Orconectes limosus*) am Österreichischen Bodenseeufer. – *Lauterbornia*, 79: 134-138.
- BERTOCCHI, S., BRUSCONI, S., GHERARDI, F., BUCCIANTI, A. & SCALICI, M. (2008): Morphological characterisation of the *Austropotamobius pallipes* species complex. – *Journal of Natural History*, 42: 2063-2077.
- BRINKHURST, R. O. (1971): Phylogeny and Classification (Part 1). – In: BRINKHURST, R. O. & JAMIESON, B. G. M. (Eds.), *Aquatic Oligochaeta of the World*. 860 pp. (165-177); Edinburgh (Oliver & Boyd).
- BROOK, B. W., TRAILL, L. W. & BRADSHAW, J. A. (2006): Minimum viable population sizes and global extinction risk are unrelated. – *Ecology Letters*, 9: 375-382.
- BROWN, B. L. & CREED, R. P. (2012): The fine line between mutualism and parasitism: complex effects in a cleaning symbiosis demonstrated by multiple field experiments. – *Oecologia*, 170: 199-207.
- BUBB, D. H., THOM, T. J. & LUCAS, M. C. (2006): Movement, dispersal and refuge use of co-occurring introduced and native crayfish. – *Freshwater Biology*, 52: 1359-1368.
- BUNKE, D. (1988): Aeolosomatidae and Potamodrilidae. – In: HIGGINS, R. P. & THIEL, H. (Eds.), *Introduction to the Study of Meiofauna*. 492 pp. (345-348); Washington, DC (Smithsonian Institution Press).
- CANTY, A. & RIPLEY, B. (2016): boot: Bootstrap R (S-Plus) Functions. – R package version 1.3-18.
- CERENIUS, L., DYKOVÁ, I., GELDER, S. R., HENTTONEN, P., JIRAVANICHPAISAL, P., LOM, J. & SÖDERHALL, K. (2006): Pathogens, parasites and ecto-commensals. – In: SOUTY-GROSSET, C., HOLLICH, D. M., NOËL, P., REYNOLDS, J. D., HAFFNER, P. (Eds): *Atlas of Crayfish in Europe*. – Muséum national d'Histoire naturelle Paris, Patrimoines naturels, 64: 187 pp. (131-149); Paris.
- CHAPIUS, M.-P. & ESTOUP, A. (2007): Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. – *Molecular biology and evolution*, 24: 621-31.
- COSTELLO, A. B., DOWN, T. E., POLLARD, S. M., PACAS, C. J. & TAYLOR, E. B. (2003): The influence of history and contemporary stream hydrology on the evolution of genetic diversity within species: an examination of microsatellite DNA variation in bull trout, *Salvelinus confluentus* (Pisces: Salmonidae). – *Evolution*, 57: 328-344.
- CRANDALL, K. A. (1996): Genetic variation within and among crayfish species. – *Freshwater Crayfish*, 11: 135-145.
- DEMPSTER, A. P., LAIRD, N. M. & RUBIN, D. B. (1977): Maximum Likelihood from Incomplete Data via the EM Algorithm. – *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)*, 39: 1-38.
- DEWITT, P. D., WILLIAMS, B. W., LU, Z.-Q., FARD, A. N. & GELDER, S. R. (2013): Effects of environmental and host physical characteristics on an aquatic symbiont. – *Limnologia*, 43: 151-156.
- DOPPELMAYER, A. (1978): Versuche zur Einführung von Süßwasserkrebsen in Vorarlberg. – *Vorarlberger Jagd und Fischerei*, 1978/6: 14.
- EDDELBUEITTEL, D. & FRANÇOIS, R. (2011): Rcpp: Seamless R and C++ Integration. – *Journal of Statistical Software*, 40(8): 1-18. <http://www.jstatsoft.org/v40/i08/>
- EDER, E. & HÖDL, W. (Hrsg.) (1998): *Flusskrebse Österreichs*. – *Stapfia*, 58: 284 S.
- EDSMAN, L., FÜREDER, L., GHERARDI, F. & SOUTY-GROSSET, C. (2010): *Astacus astacus*. – The IUCN Red List of Threatened Species 2010: e.T2191A9338388.
- ELLMAUER, TH. (Hrsg.) (2005): *Entwicklung von Kriterien, Indikatoren und Schwellenwerten zur Beurteilung des Erhaltungszustandes der Natura 2000-Schutzgüter. Band 2: Arten des Anhangs II der Fauna-Flora-Habitat-Richtlinie*. – 905 S.; Wien (Umweltbundesamt).
- EUROPÄISCHE KOMMISSION (Hrsg.) (2005): *Assessment, monitoring and reporting of conservation status – Preparing the 2001-2007 report under Article 17 of the Habitats Directive*. – DocHab-04-03/03 rev.3
- EUROPÄISCHE KOMMISSION (Hrsg.) (2006): *Assessment, monitoring and reporting under Article 17 of the Habitats Directive: Ex-*

- planatory notes and guidelines. – Final Draft, October 2006.
- EVANS, D. & ARVELA, M. (2011): Assessment and reporting under Article 17 of the Habitats Directive. Explanatory notes and guidelines for the period 2007-2012. – Final version, July 2011: 123 pp. (European Topic Centre on Biological Diversity)
- 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.
- FAUCHALD, K. & ROUSE, G. (1997): Polychaete systematics: Past and present. – *Zoologica Scripta*, 26: 71-138.
- FELSENSTEIN, J. (2005): PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6. – Seattle (Department of Genome Sciences, University of Washington; distributed by the author)
- FETZNER, J. W. & CRANDALL, K. A. (2002): Genetic Variation. – In: HOLDICH, D. M. (Ed.): *Biology of Freshwater Crayfish*. 702 pp. (291-326); Oxford (Blackwell).
- FITCH, W. M. & MARGOLISH, E. (1967): Construction of phylogenetic trees. – *Science*, 155: 279-284.
- FRANKHAM, R. (1995): Conservation genetics. – *Annual Review in Genetics*, 29: 305-327.
- FÜREDER, L. & MACHINO, Y. (1999): Past and present crayfish situations in Tyrol (Austria and northern Italy). – *Freshwater Crayfish*, 12: 751-764.
- FÜREDER, L. & PÖCKL, M. (2007): Ecological traits of aquatic NIS invading Austrian fresh waters. – In: GHERARDI, F. (Ed.): *Biological invaders in inland waters: Profiles, distribution and threats*. 734 pp. (233-257); Berlin - Heidelberg (Springer).
- FÜREDER, L., SUMMERER, A. & BRANDSTÄTTER, A. (2009): Phylogeny and species composition of five European species of *Branchiobdella* (Annelida: Clitellata: Branchiobdellida) reflect the biogeographic history of three endangered crayfish species. – *Journal of Zoology*, 279: 164-172.
- FÜREDER, L., GHERARDI, F., HOLDICH, D., REYNOLDS, J., SIBLEY, P. & SOUTY-GROSSET, C. (2010a): *Austropotamobius pallipes*. – The IUCN Red List of Threatened Species 2010: e.T2430A9438817.
- FÜREDER, L., GHERARDI, F., SOUTY-GROSSET, C. (2010b): *Austropotamobius torrentium*. – The IUCN Red List of Threatened Species 2010: e.T2431A121724677.
- GEIST, J. & KUEHN, R. (2005): Genetic diversity and differentiation of central European freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera* L.) populations: implications for conservation and management. – *Molecular Ecology*, 14: 425-439.
- GELDER, S. R., DELMASTRO, G. B. & FERRAGUTI, M. (1994): A report on branchiobdellidans (Annelida: Clitellata) and a taxonomic key to the species in northern Italy, including the first record of *Cambarincola mesochoreus* on the introduced American red swamp crayfish. – *Italian Journal of Zoology*, 61: 179-183.
- GELDER, S. R. & WILLIAMS, B. W. (2015): Clitellata: Branchiobdellida. – In: THORP, J. H. & ROGERS, D. C. (Eds): *Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates*. Vol. 1: Ecology and General Biology. 4th ed.: 1148 pp. (551-563); London (Academic Press).
- GERLACH, G., JUETERBOCK, A., KRAEMER, P., DEPPERMANN, J. & HARMAND, P. (2010): Calculations of population differentiation based on GST and D: forget GST but not all of statistics! – *Molecular ecology*, 19: 3845-3852.
- GOUDET, J. (1995): FSTAT (Version 1.2): A Computer Program to Calculate F-Statistics. – *Journal of Heredity*, 86: 485-486.
- GOUIN, N., GRANDJEAN, F. & SOUTY-GROSSET, C. (2006): Population genetic structure of the endangered crayfish *Austropotamobius pallipes* in France based on microsatellite variation: biogeographical inferences and conservation implications. – *Freshwater Biology*, 51: 1369-1387.
- GRABDA, E. & WIERZBICKA, J. (1969): The problem of parasitism of the species of the genus *Branchiobdella* Odier 1823. – *Polskie Archiwum Hydrobiologii*, 16: 93-104.
- GRANDJEAN, F., ROMAIN, D., SOUTY-GROSSET, C. & MOCQUARD, J. P. (1997): Size at sexual maturity and morphometric variability in three populations of *Austropotamobius pallipes pallipes* (Lereboullet, 1858) according to a restocking strategy. – *Crustaceana*, 70/4: 454-468.
- GRANDJEAN, F., CORNUAULT, B., ARCHAMBAULT, S., BRAMARD, M. & OTREBSKY, G. (2000): Life history and population biology of the white-clawed crayfish, *Austropotamobius pallipes pallipes*, in a brook from the Poitou-Charantes region (France). – *Bulletin Français de la Pêche et Pisciculture*, 356: 55-70.
- GRANDJEAN, F. & SOUTY-GROSSET, C. (2000): Genetic and morphological variation in the endangered crayfish species, *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet) (Crustacea, Astacidae) from the Poitou-Charantes region (France). – *Aquatic Science*, 62: 1-19.
- GROSS, R., PALM, S., KOIV, K., PRESTEGAARD, T., JUSILA, J., PAAVER, T., GEIST, J., KOKKO, H., KARJALAINEN, A., EDSMAN, L. (2013): Microsatellite markers reveal clear geographic structuring among threatened noble crayfish (*Astacus astacus*) populations in Northern and Central Europe. – *Conservation genetics*, 14: 809-821.
- HAIR, J. F., ANDERSON, R. E., TATHAM, R. L., BLACK, W. C. (1998): *Multivariate Data Analysis*. – 5th ed.: 768 pp.; New Jersey (Prentice-Hall).
- HANTKE R. (1993): *Flußgeschichte Mitteleuropas*. – Stuttgart (Enke).
- HARDY, O. J. & VEKEMANS, X. (2002): spagedi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. – *Molecular Ecology Notes*, 2: 618-620.
- HARTL, D. L. & CLARK, A. G. (1997): *Principles of Population Genetics*. – 3rd ed.: 542 pp.; Sunderland, MA (Sinauer Associates).
- HÉBERT, C., DANZMAN, R. G., JONES, M. W. & BERNATCHEZ, L. (2000): Hydrography and population genetic structure in brook charr (*Salvelinus fontinalis*, Mitchell) from eastern Canada. – *Molecular Ecology*, 9: 971-982.
- HESSLING, R. & PURSCHKE, G. (2000): Immunohistochemical (cLSM) and ultrastructural analysis of the central nervous system and sense organs in *Aeolosoma hemprichi* (Annelida, Aeolosomatidae). – *Zoomorphology*, 120: 65-78.
- HESSLING, R. & WESTHEIDE, W. (1999): CLSM analysis of development and structure of the central nervous system of *Enchytraeus crypticus* ("Oligochaeta", Enchytraeidae). – *Zoomorphology*, 119: 37-47.
- HEWITT, G. M. (1999): Post-glacial re-colonization of European biota. – *Biological Journal of the Linnean Society*, 68: 87-112.

- HOLDICH, D. M. (2002): Distribution of crayfish in Europe and some adjoining countries. – *Bulletin Français de Pêche et Pisciculture*, 367: 611-650.
- HUTTER, G., NIEDERSTÄTTER, A. & LUNARDON, A. (2001): Fließgewässer in Vorarlberg. Vorkommen und Verbreitung von Flusskrebse in Vorarlberg. – *Schriftenreihe Lebensraum Vorarlberg*, 52: 27 S., Bregenz (Umweltinstitut des Landes Vorarlberg).
- IORGU, E. I., POPA, O. P., PETRESCU, A.-M. & POPA, L. O. (2011): Cross-amplification of microsatellite loci in the endangered stone-crayfish *Austropotamobius torrentium* (Crustacea: Decapoda). – *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 401, 08: 8 pp.
- JACKMAN, S. (2015): pscl: Classes and Methods for R Developed in the Political Science Computational Laboratory. – R package version 1.4.9.; Stanford, Calif. (Stanford University, Department of Political Science).
- JAMES, F. C. & MCCULLOCH, C. E. (1990): Multivariate Analysis in Ecology and Systematics: Panacea or Pandora's Box? – *Annual Review of Ecology and Systematics*, 21: 129-166.
- JAMIESON, I. G. & ALLENDORF, F. W. (2012): How does the 50/500 rule apply to MVPs? – *Trends in Ecology and Evolution*, 27: 578-584.
- KALINOWSKI, S. T. (2005): hp-rare 1.0: a computer program for performing rarefaction on measures of allelic richness. – *Molecular Ecology Notes*, 5: 187-189.
- KAPPUS, B., PEISSNER, T. & RAWER-JOST, C. (1999): Distribution and habitat conditions of crayfish populations in the urban freshwater systems of Stuttgart (Baden-Württemberg, Germany). – *Freshwater Crayfish*, 12: 778-785.
- KASPRZAK, K. (1976): Contribution to the Morphology of *Hystricosoma chappuisi* Michaelsen 1926, with Diagnosis of the Genus *Hystricosoma* Michaelsen 1926 (Aelosomatidae). – *Bulletin de L'Académie Polonaise des Sciences*, 24: 161-169.
- KELLER, O. & KRAYSS, E. (2005): Der Rhein-Linth-Gletscher im letzten Hochglazial. – *Vierteljahrsschrift der Naturforschenden Gesellschaft in Zürich*, 150/1-2: 19-32.
- KLOBUČAR, G. I. V., PODNAR, M., JELIC, M., FRANJEVIC, D., FALLER, M., STAMBUK, A., GOTTSTEIN, S., SIMIC, V. & MAGUIRE, I. (2013): Role of the Dinaric Karst (western Balkans) in shaping the phylogeographic structure of the threatened crayfish *Austropotamobius torrentium*. – *Freshwater Biology*, 58 (6): 1089-1105.
- KOZÁK, P., FÜREDER, L., KOUBA, A., REYNOLDS, J. & SOUTY-GROSSET, C. (2011): Current conservation strategies for European crayfish. – *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 401: 01.
- KREBS, C. J. (1989): *Ecological Methodology*. – 654 pp.; New York (Harper & Row)
- KÜHNIS, R. W. (2014): Zur Verbreitungsgeschichte der Flusskrebse (Astacoidea) in der Region Liechtenstein-Sarganserland-Werdenberg. – *Berichte der Botanisch-Zoologischen Gesellschaft Liechtenstein-Sargans-Werdenberg*, 38: 93-114.
- LARGIADÈR, C. R., HERGER, F., LÖRTSCHER, M. & SCHOLL, M. (2000): Assessment of natural and artificial propagation of the white-clawed crayfish (*Austropotamobius pallipes* species complex) in the Alpine region with nuclear and mitochondrial markers. – *Molecular Ecology*, 9: 25-37.
- LEE, J. H., KIM, T. W. & CHOE, J. C. (2009): Commensalism or mutualism: conditional outcomes in a branchiobdellid-crayfish symbiosis. – *Oecologia*, 159: 217-224.
- LESNOFF, M. & LANCELOT, R. (2012): aod: Analysis of Overdispersed Data. – R package version 1.3, <http://cran.r-project.org/package=aod>
- MACHINO, Y. & FÜREDER, L. (2005): How to find a stone crayfish *Austropotamobius torrentium* (Schränk, 1803). A biogeographic study in Europe. – *Bulletin Français de la Pêche et Pisciculture*, 376-377: 507-517.
- MAGUIRE, I., ERBEN, R., KLOBUČAR, G. I. V. & LAJTHNER, J. (2002): Year cycle of *Austropotamobius torrentium* (Schränk) in streams on Medvednica Mountain (Croatia). – *Bulletin Français de la Pêche et Pisciculture*, 367: 943-957.
- MANTEL, N. (1967): The detection of disease clustering and a generalized regression approach. – *Cancer research*, 27: 209-920.
- MATALLANAS, B., CALLEJAS, C. & OCHANDO, M. D. (2012): A genetic approach to Spanish populations of the threatened *Austropotamobius italicus* located at three different scenarios. – *The Scientific World Journal*, 2012: Article ID 975930, 9 pp.
- MEIKE, E. (1999): The relationship between *Branchiobdella* spec. (Annelida, Oligochaeta) and its host, the noble crayfish (*Astacus astacus* L.). – *Archiv für Hydrobiologie*, 144: 357-369.
- MEYER, K. M., GIMPEL, K. & BRANDL, R. (2005): Viability analysis of endangered crayfish populations. – *Journal of Zoology*, 273: 364-371.
- MICHAELSEN, W. (1926): Schmarotzende Oligochäten nebst Erörterungen über verwandtschaftliche Beziehungen der Archioliogochäten. – *Mitteilungen des Zoologischen Staatsinstituts und Zoologischen Museums Hamburg*, 42: 91-103.
- MOON, S. Y., KIM, C. B., GELDER, S. R. & KIM, W. (1996): Phylogenetic position of the aberrant branchiobdellidans and aphanoneurans within the Annelida as derived from 18S ribosomal RNA gene sequences. – *Hydrobiologia*, 324: 229-236.
- MORITZ, C. (1994) Defining evolutionarily significant units for conservation. – *Trends in Ecology and Evolution*, 9: 373-375.
- MURPHY, D. D., FREAS, K. E. & WEISS, S. B. (1990): An environmental-metapopulation approach to population viability analysis for a threatened invertebrate. – *Conservation Biology*, 4: 41-51.
- NESEMANN, H. (1994): Die Krebsigel im Gebiet der Oberen Donau (Österreich, Deutschland) mit Bestimmungsschlüssel zu den europäischen Arten (Clitellata, Branchiobdellida). – *Lauterbornia*, 19: 79-93.
- NESEMANN, H. & HUTTER G. (2002): Krebsigel (Branchiobdellidae: *Branchiobdella* ODIER, 1823) in Vorarlberg (Österreich) mit einer Neubeschreibung von *Branchiobdella papillosa* n. sp. – *Vorarlberger Naturschau*, 11: 203-214.
- NESEMANN, H. & NEUBERT, E. (1999): Annelida, Clitellata: Branchiobdellida, Acanthobdellida, Hirudinea. – *Süßwasserfauna von Mitteleuropa*, Bd. 6/2: 178 S.; Heidelberg (Spektrum).
- NYSTRÖM, P. (2002): Ecology. – In: HOLDICH, D. M. (Ed.): *Biology of Freshwater Crayfish*. 702 pp. (192-235); Oxford (Blackwell).

- ORRHAGE, L. & MÜLLER, M. C. M. (2005): Morphology of the nervous system of Polychaeta (Annelida). – *Hydrobiologia*, 535/536: 79-111.
- OTIS, D. L., BURNHAM, K. P., WHITE, G. C. & ANDERSON, D. R. (1978): Statistical inference from capture data on closed animal populations. – *Wildlife Monographs*, 62: 135 pp.
- PĂRVULESCU, L., PACIOGLU, O. & HAMCHEVICI, C. (2011): The assessment of the habitat and water quality requirements of the stone crayfish (*Austropotamobius torrentium*) and noble crayfish (*Astacus astacus*) species in the rivers from the Anina Mountains (SW Romania). – *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 401:03.
- PEDRAZA-LARA, C., GONZALEZ, E. G., BLOOR, P. & DOADRIO, I. (2011). Isolation and characterization of novel polymorphic microsatellite loci for the white-clawed crayfish, *Austropotamobius italicus* (Faxon 1914). – *Molecular Ecology Resources*, 11: 586-589.
- PEDUZZI, D. & FÜREDER, L. (2009): Artenschutzprojekte in Europa. – In: FÜREDER, L. (Hrsg.), *Flusskrebse. Biologie – Ökologie – Gefährdung*. 144 S. (98-105); Wien / Bozen (Folio).
- PETUTSCHNIG, J. (2005): Krebse. – In: ELLMAUER, Th. (Hrsg.) (2005): *Entwicklung von Kriterien, Indikatoren und Schwellenwerten zur Beurteilung des Erhaltungszustandes der Natura 2000-Schutzgüter*. Band 2: Arten des Anhangs II der Fauna-Flora-Habitat-Richtlinie. – 905 S. (430-442); Wien (Umweltbundesamt).
- PIZZO, A., ROGGERO, A., PALESTRINI, C., CERVELLA, P., DEL PERO, M. & ROLANDO, A. (2006): Genetic and morphological differentiation patterns between sister species: the case of *Onthophagus taurus* and *Onthophagus illyricus* (Coleoptera, Scarabaeidae). – *Biological Journal of Linnean Society*, 89: 197-211.
- PÖCKL, M. & PEKLY, R. (2002): Interaction of native and alien species of crayfish in Austria: case studies. – *Bulletin Français de la Pêche et Pisciculture*, 367: 763-776.
- PÖCKL, M. & STREISSL, F. (2005): *Austropotamobius torrentium* as an indicator for habitat quality in running waters? – *Bulletin Français de la Pêche et Pisciculture*, 376-377: 743-758.
- POP, V. (1975): Was ist *Hystricosoma chappuisi* Michaelsen (Aelosomatidae, Oligochaeta)? – *Mitteilungen aus dem Hamburgischen Zoologischen Museum und Institut*, 72: 75-78.
- R CORE TEAM (2014): R: A language and environment for statistical computing. – R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>.
- R CORE TEAM (2015): foreign: Read Data Stored by 'Minitab', 'S', 'SAS', 'SPSS', 'Stata', 'SyStat', 'Weka', 'dBase', ... – R package version 0.8-66, <http://CRAN.R-project.org/package=foreign>.
- PRITCHARD, J. K., STEPHENS, M. & DONNELLY, P. (2000): Inference of population structure using multilocus genotype data. – *Genetics*, 155: 945-959.
- PURSCHE, G. & HESSLING, R. (2002): Analysis of the Central Nervous System and Sense Organs in *Potamodrilus fluviatilis* (Annelida: Potamodrilidae). – *Zoologischer Anzeiger*, 241: 19-35.
- REED, D. H. & BRYANT, E. H. (2000): Experimental test of minimum viable population size. – *Animal Conservation*, 3: 7-14.
- REYNOLDS, J. D. (2002): Growth and Reproduction. – In: HOLDICH, D. M. (Ed.): *Biology of Freshwater Crayfish*. 702 pp. (152-191); Oxford (Blackwell).
- ROMBOUT, J. H., LAMERS, C. H. & HANSTED, J. G. (1978): Enteroendocrine APUD cells in the digestive tract of larval *Barbus conchonus* (Teleostei, cyprinidae). – *Journal of Embryology and Experimental Morphology*, 47: 121-135.
- ROUSSET, F. (2008): genepop/007: A complete re-implementation of the Genepop software for Windows and Linux. – *Molecular ecology resources*, 8: 103-106.
- SACCHERI, I., KUUSAAARI, M., KANKARE, M., VIKMAN, P., FORTELIUS, W. & HANSKI, I. (1998): Inbreeding and extinction in a butterfly metapopulation. – *Nature*, 392: 491-494.
- SALVENMOSER, W., EGGER, B., ACHATZ, J. G., LADURNER, P. & HESS, M. (2010): Electron Microscopy of Flatworms: Standard and Cryo-Preparation Methods: Electron Microscopy of Model Systems. – *Methods in Cell Biology*, 96: 307-330.
- SCHRIMPF, A., THEISSINGER, K., DAHLEM, J., MAGUIRE, I., PĂRVULESCU, L., SCHULZ, H. K. & SCHULZ, R. (2014): Phylogeography of noble crayfish (*Astacus astacus*) reveals multiple refugia. – *Freshwater Biology*, 59: 761-776.
- SCHUBART, C. D. & HUBER, M. G. J. (2006): Genetic comparisons of German populations of the stone crayfish, *Austropotamobius torrentium* (Crustacea: Astacidae). – *Bulletin Français de la Pêche et Pisciculture* 380-381: 1019-1028.
- SCHULZ, R., STUCKI, T. & SOUTY-GROSSET, C. (2002): Management: Reintroductions and restocking. – *Bulletin Français de la Pêche et Pisciculture*, 367: 917-922.
- SHAFFER, M. (1987): Minimum viable populations: coping with uncertainty. – In: SOULÉ, M. E. (Ed.): *Viable populations for conservation*. 204 pp. (69-86); Cambridge (Cambridge University Press).
- SHERWIN, W. B. & MORITZ, C. (2000): Managing and monitoring of genetic erosion. – In: YOUNG, A. G. & CLARKE, G. M. (Eds.): *Genetics, demography and viability of fragmented populations*. 460 pp. (9-34); Cambridge (Cambridge University Press).
- SHIGENAKA, Y., ROTH, L. E. & PIHLAJA, D. J. (1971): Microtubules in the heliozoan axopodium. III. Degradation and reformation after dilute urea treatment. – *Journal of Cell Science*, 8: 127-151.
- SIDDALL, M. E., APAKUPAKUL, K., BURRESON, E. M., COATES, K. A., ERSÉUS, C., GELDER, S. R., KÄLLERSJÖ, M. & TRAPIDO-ROSENTHAL, H. (2001): Validating Livanow: molecular data agree that leeches, branchiobdellidans, and *Acanthobdella peledina* form a monophyletic group of Oligochaetes. – *Molecular Phylogeny and Evolution*, 21: 346-351.
- SINT, D., DALLA VIA, J. & FÜREDER, L. (2005): Morphological variations in *Astacus astacus* L. and *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet) populations. – *Bulletin Français de la Pêche et Pisciculture*, 376-377: 637-652.
- SINT, D., DALLA VIA, J. & FÜREDER, L. (2006): The genus *Austropotamobius* in the Ausserfern region (Tyrol, Austria) with an overlap in the distribution of *A. torrentium* and *A. pallipes* populations. – *Bulletin*

- Français de la Pêche et Pisciculture. 380-381: 1029–1040.
- SINT, D., DALLA VIA, J. & FÜREDER, L. (2007): Phenotypical characterization of indigenous freshwater crayfish populations. – *Journal of Zoology*, 273: 210–219.
- SÖDERBÄCK, B. (1994): Interactions among juveniles of two freshwater crayfish species. – *Oecologia*, 100: 229–235.
- SOUTY-GROSSET, C., GRANDJEAN, F. & GOUIN, N. (2003): Keynote: Involvement of genetics in knowledge, stock management and conservation of *Austropotamobius pallipes* in Europe. – *Bulletin Français de la Pêche et Pisciculture*, 370–371: 165–179.
- SOUTY-GROSSET, C. & REYNOLDS, J.D. (2009): Current ideas on methodological approaches in European crayfish conservation and restocking procedures. – *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 394–395: 01.
- STREISSL, F. & HÖDL, W. (2002): Habitat and shelter requirements of the stone crayfish, *Austropotamobius torrentium* Schrank. – *Hydrobiologia*, 477: 195–199.
- SUBCHEV, M. A. & STANIMIROVA, L. S. (1986): The epibiont on Crayfishes *Hystricosoma chappuisi* Michaelsen 1926 (Oligochaeta, Aeolosomatidae) – New Species for Bulgarian Fauna. – *Acta Zoologica Bulgarica*, 9: 5–18.
- SUBCHEV, M. A., KOUTRAKIS, E. T. & PERDIKARIS, C. (2007): Crayfish epibionts *Branchiobdella* sp. and *Hystricosoma chappuisi* (Annelida: Clitellata) in Greece. – *Bulletin Français de la Pêche et Pisciculture*, 387: 59–66.
- TAMURA, K., DUDLEY, J., NEI, M. & KUMAR, S. (2007): MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. – *Molecular Biology and Evolution*. 24: 1596–1599.
- TAYLOR, C. A. & HARTMAN, M. (2002): Phylogenetics of the crayfish subgenus *Crockerinus*, genus *Orconectes* (Decapoda: Cambaridae), based on cytochrome oxidase I. – *Journal of Crustacean Biology*, 22: 874–881.
- TRAILL, L. W., BRADSHAW, C. J. A. & BROOK, B. W. (2007): Minimum viable population size: a meta-analysis of 30 years of published estimates. – *Biological Conservation*, 139: 159–166.
- TRONTEL, P., MACHINO, Y. & SKET, B. (2005): Phylogenetic and phylogeographic relationships in the crayfish genus *Austropotamobius* inferred from mitochondrial COI gene sequences. – *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 34: 212–226.
- TROSCHER, H. J. (1997): Distribution and ecology of *Austropotamobius pallipes* in Germany. – *Bulletin Français de la Pêche et Pisciculture*, 347: 639–647.
- TROSCHER, H. J. (2006): Flusskrebse (Decapoda). – In: SCHNITZER, P., EICHEN, CH., ELLWANGER, G., NEUKIRCHEN, M. & SCHRÖDER, E. (Bearb.): Empfehlungen für die Erfassung und Bewertung von Arten als Basis für das Monitoring nach Artikel 11 und 17 der FFH-Richtlinie in Deutschland. – *Berichte des Landesamtes für Umweltschutz Sachsen-Anhalt* (Halle), Sonderheft 2: 114–120.
- VENABLES, W. N. & RIPLEY, B. D. (2002): *Modern Applied Statistics with S*. – 4th ed.: 495 pp.; New York (Springer).
- VORBURGER, CH. & RIBI, G. (1999): Aggression and competition for shelter between a native and an introduced crayfish in Europe. – *Freshwater Biology*, 43: 111–119.
- VORBURGER, CH., RHYNER, N., HARTIKAINEN, H. & JOKELA, J. (2014): A set of new and cross-amplifying microsatellite loci for conservation genetics of the endangered stone crayfish (*Austropotamobius torrentium*). – *Conservation Genetic Resources*, 6 (3): 629–631.
- VRÅLSTAD, T., JOHNSEN, S. I. & TAUGBØL, T. (2011): NOBANIS – Invasive Alien Species Fact Sheet: *Aphanomyces astaci*. – In: Online Database of the European Network on Invasive Alien Species, NOBANIS, www.nobanis.org
- VRÅLSTAD, T., KNUTSEN, A. K., TENGS, T. & HOLST-JENSEN, A. (2009): A quantitative TaqMan® MGB real-time polymerase chain reaction based assay for detection of the causative agent of crayfish plague *Aphanomyces astaci*. – *Veterinary Microbiology*, 137: 146–155.
- WARD, R. D., WOODWARD, M. & SKIBINSKI, D. O. F. (1994): A comparison of genetic diversity levels in marine, fresh-water, and anadromous fishes. – *Journal of Fish Biology*, 44: 213–232.
- WEISS, S. (2005): Keynote address: Conservation genetics of freshwater organisms. – *Bulletin Français de la Pêche et Pisciculture*, 376–377: 571–583.
- WHITE, G. C. & BURNHAM, K. P. (1999): Program MARK: Survival estimation from populations of marked animals. – *Bird Study*, 46 (Suppl.), 120–138.
- YOUNG, W. (1966): Ecological studies of the Branchiobdellidae (Oligochaeta). – *Ecology*, 47: 571–578.

Hinweis

Die in diesem Dokument präsentierten Ergebnisse betreffend den Erhaltungstatus des Steinkrebsses in Vorarlberg, die Epibiontengemeinschaften auf dem Steinkrebs sowie die Phylogeographie, Populationsgenetik und die Morphometrie des Steinkrebsses wurden in nachstehenden wissenschaftlichen Beiträgen publiziert:

- BERGER, CH. & FÜREDER, L. (2013): Linking species conservation management and legal species protection: a case study on stone crayfish. – *Freshwater Crayfish*, 19: 161–175.
- BERGER, CH. & FÜREDER, L. (2017): Annelid symbiont assemblage and European stone crayfish – a deterministic relationship. – *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*. 418: 50.
- BERGER, CH., ŠTAMBUK, A., MAGUIRE, I., WEISS, S. & FÜREDER, L. (2017): Integrating genetics and morphometrics in species conservation – A case study on the stone crayfish, *Austropotamobius torrentium*. – *Limnologia*; <https://doi.org/10.1016/j.limno.2017.11.002>.

Die Abbildungen 4, 9 bis 13 und 15 bis 19 sowie die Tabellen 2 bis 8, 10 und 11 wurden (zum Teil leicht verändert) aus diesen Publikationen übernommen.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Inatura Forschung online](#)

Jahr/Year: 2018

Band/Volume: [52](#)

Autor(en)/Author(s): Berger Christian, Füreder Leopold

Artikel/Article: [Der Steinkrebs Austropotamobius torrentium \(Schrank, 1803\) in Vorarlberg 1-46](#)