

Stefan Theobald, Umweltwissenschaften, Rheinland-Pfälzische Technische Universität, Fortstrasse 7,
D-76829 Landau

Herrn
Julian Haider
Naturraummanagement und Forschung
Nationalpark Thayatal GmbH
Merkersdorf 90
A-2082 Hardegg

Stefan Theobald
Institut für Umweltwissenschaften
Rheinland-Pfälzische Technische Universität
Kaiserslautern-Landau

Fortstraße 7
D-76829 Landau
GERMANY

Tel.: +49 17683409185
S.Theobald@RPTU.de

09. Januar 2024

**Bericht zur Sequenzanalyse von Edelkrebsen (*Astacus astacus*)
aus zwei Populationen**

Sehr geehrte Frau Waitzbauer,
sehr geehrter Herr Haider,

es wurden 19 Edelkrebse (AA2822-AA2831 u. AA2833-AA22842) sequenziert um die Haplotypen (Genvariante) zu bestimmen. Für die Analyse wurde auf der mitochondrieller DNA die Zytochrom-Oxydase Untereinheit 1 mit den bewährten „ASTCOI forward“ und „ASTCOI reverse“ Primer (Schrimpf et al. 2011, 2014) sequenziert. Die ausgewählte mitochondrielle DNA evolviert relativ langsam und eignet sich daher zur Verwandtschaftsanalyse von entfernten Populationen. Die Bestimmung der Haplotypen (Genvariante) wurde mit dem Programm Geneious Prime 2023.2.1[®] durchgeführt. Insgesamt wurden drei Haplotypen identifiziert. In den zuerst zugesandten Proben (AA2822 - AA2831) aus dem Nationalpark Thayatal wurde ausschließlich der Haplotyp H01 nachgewiesen. In den Proben (AA2833-AA2842), die uns später aus der Zucht von Herrn Fichtinger erreichten, wurden neben dem Haplotyp H01 (n = 6) auch die Haplotypen H04 (n = 1) und H05 (n = 3) identifiziert, Tabelle 1. Die Population in der Zucht ist daher als divers anzusehen.

Die Genvariante H01 haben wir über ganz Europa verteilt gefunden. Da dieser Haplotyp sehr weit verbreitet ist (von Belgien bis nach Russland, von Finnland bis nach Bulgarien), handelt es sich hierbei wahrscheinlich um eine sehr alte Genvariante. Dieser Haplotyp wurde bisher in fast allen Populationen festgestellt.

Der H05 Haplotyp wurde in der Donau, unter anderem in der Zucht von Herrn Keller (Augsburg, D) und in einigen anderen Zuchten nachgewiesen. Krebse aus der dieser Zucht von Keller wurden in ganz Deutschland besetzt und wurden auch zur Gründung neuer Zuchten herangezogen. Diese Zucht besteht aber seit ein paar Jahren nicht mehr. Beim H05 Haplotyp ist es daher naheliegend, dass dieser in Verbindung zu dieser Zucht steht. Da der Haplotyp H05 sich zu H01 nur an einer Base, Abb. 1 B, unterscheidet, kann diese natürlich auch woanders parallel entstanden sein.

H04 unterscheidet sich zur Genvarianten H01 wie H05 ebenfalls nur an einer Base, Abb. 1 A. Den Haplotyp H04 konnten wir in Rumänien in der Gegend von Arad nachweisen und wird unter anderem als Referenzhaplotyp der danubischen Line (GenBank Nr.: KF888303.1) unter anderem in Lovrenčić et al. (2022) und Schrimpf et al. (2014) verwendet. H04 wurde von uns aber auch im Rahmen des Projekts „Maßnahmenkatalog für erfolgreiche, nachhaltige Besatzmaßnahmen autochthoner Edelkrebspopulationen (MaNaKa)“ im Meitzer See bei Hannover (D) nachgewiesen, was auf Besatz schließen lässt. In der Arbeit von Schrimpf et al. (2017) konnten wir zeigen, dass danubische Haplotypen auch in anderen Zuchten vorzufinden sind.

Es ist daher festzustellen, dass die Edelkrebse aus dem Nationalpark alle den weit verbreiteten Haplotyp H01 tragen. Die Krebse aus der Zucht tragen mit den zusätzlichen Genvarianten H04 und H05 Genvarianten aus dem Einzugsgebiet der Donau. Um einen Überblick zu geben ist in Abbildung 2 ein älteres Haplotypen Netzwerk (Schrimpf et al. 2011) abgebildet, was verdeutlichen soll, dass H04 und H05 direkt aus der Genvariante H01 hervorgegangen sind.

Mit freundlichen Grüßen

Stefan Theobald

Tabelle 1: Auflistung der Proben mit Eingangsdatum, Herkunft und den bestimmten Proben.

ID	Haplotyp	Herkunft	Eingang
AA2822	H01	Nationalpark Thayatal	30.08.2023
AA2823	H01	Nationalpark Thayatal	30.08.2023
AA2824	H01	Nationalpark Thayatal	30.08.2023
AA2825	H01	Nationalpark Thayatal	30.08.2023
AA2826	H01	Nationalpark Thayatal	30.08.2023
AA2827	H01	Nationalpark Thayatal	30.08.2023
AA2828	H01	Nationalpark Thayatal	30.08.2023
AA2829	H01	Nationalpark Thayatal	30.08.2023
AA2830	H01	Nationalpark Thayatal	30.08.2023
AA2831	H01	Nationalpark Thayatal	30.08.2023
AA2832	Na		Nicht geliefert
AA2833	H04	Zucht Fichtinger	28.09.2023
AA2834	H01	Zucht Fichtinger	28.09.2023
AA2835	H01	Zucht Fichtinger	28.09.2023
AA2836	H01	Zucht Fichtinger	28.09.2023
AA2837	H01	Zucht Fichtinger	28.09.2023
AA2838	H05	Zucht Fichtinger	28.09.2023
AA2839	H01	Zucht Fichtinger	28.09.2023
AA2840	H01	Zucht Fichtinger	28.09.2023
AA2841	H05	Zucht Fichtinger	28.09.2023
AA2842	H05	Zucht Fichtinger	28.09.2023

A**B**

	64	74	84	94	104	254	264	274
1. H01	G	A	A	A	T	G	A	T
2. H05	G	A	A	A	T	G	A	T
3. AA2842_Theobald Assembly	G	A	A	A	T	G	A	T
4. AA2841_Theobald Assembly	G	A	A	A	T	G	A	T
5. AA2838_Theobald Assembly	G	A	A	A	T	G	A	T
6. H04	A	A	A	A	T	G	A	T
7. AA2833_Theobald Assembly	A	A	A	A	T	G	A	T
8. AA2835_Theobald Assembly	G	A	A	A	T	G	A	T
9. AA2834_Theobald Assembly	G	A	A	A	T	G	A	T

Abbildung 1: Unterschiede zwischen Sequenzen der verschiedenen Haplotypen. 1 A: Die Mutation der Probe AA2833 stimmt mit dem Haplotyp H04 überein. Im Vergleich zu H01 bzw. H05 ist eine Mutation von Guanin (G) zu Adenin (A) vorhanden, rot hinterlegt. 1 B: Die Mutation der Proben AA2838, AA2841 und AA2842 weisen eine Mutation von Adenin (A) zu Thymin (T) auf, grün hinterlegt, und entsprechen damit dem Haplotyp H05. H steht für Haplotyp und die nachfolgende Nummer bezeichnet den jeweiligen Haplotypen (01, 04 oder 05).

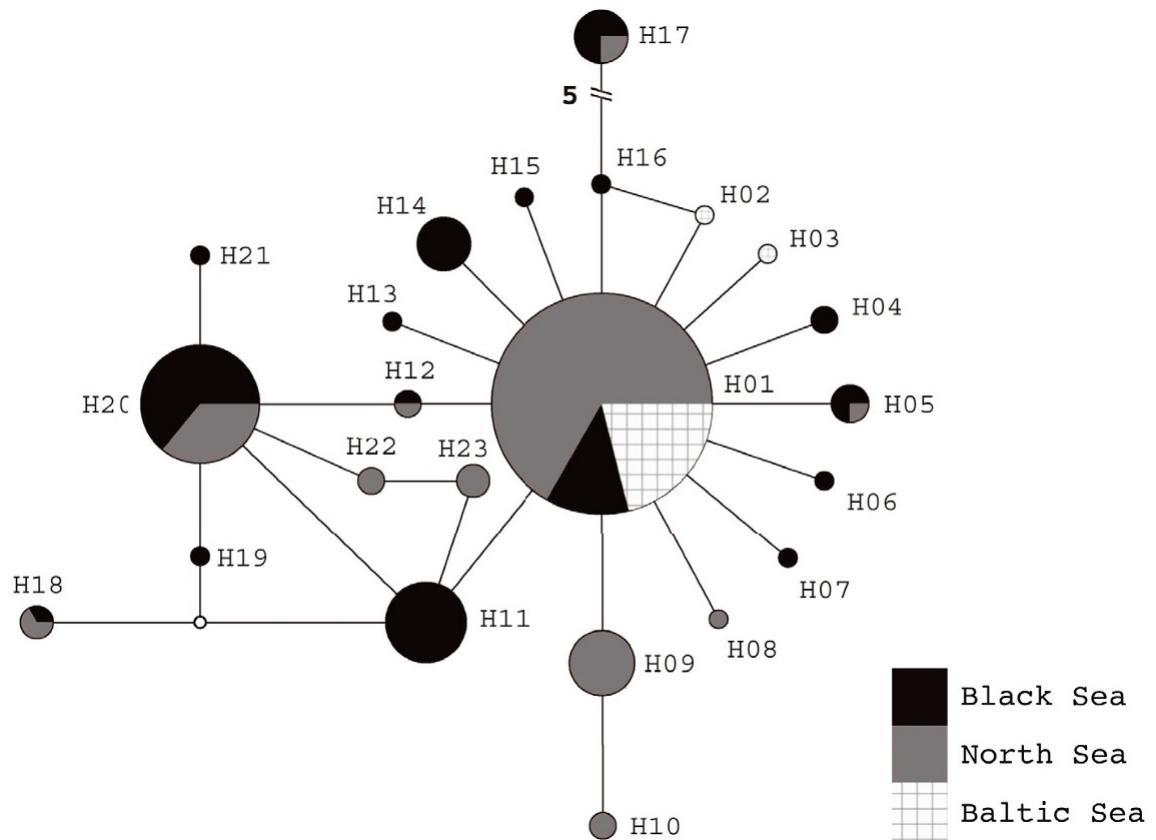


Abbildung 2: Zur Verdeutlichung der möglichen Haplotypen und deren Zusammenhang, das Median-Joining-Netzwerk aus Schrimpf et al. (2011). Jeder Kreis symbolisiert einen Haplotypen. Die Größe des Kreises deutet an, wie viele Individuen diesen Haplotyp in Schrimpf et al. 2011 tragen. Der Abstand der Kreise durch Linien kennzeichnet wie viele Mutationsschritte zwischen den einzelnen Haplotypen liegen. In ihrer Untersuchung wurden die Genvarianten H01, H04 und H05 nachgewiesen.

Literatur:

Lovrenčić, L., Temunović, M., Gross, R., Grgurev, M., & Maguire, I. (2022). Integrating population genetics and species distribution modelling to guide conservation of the noble crayfish, *Astacus astacus*, in Croatia. *Scientific reports*, 12(1), 2040.

Schrimpf, A., Schulz, H. K., Theissinger, K., Pârvulescu, L., & Schulz, R. (2011). The first large-scale genetic analysis of the vulnerable noble crayfish *Astacus astacus* reveals low haplotype diversity in central European populations. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, (401), 35.

Schrimpf, A., Theissinger, K., Dahlem, J., Maguire, I., Pârvulescu, L., Schulz, H. K., & Schulz, R. (2014). Phylogeography of noble crayfish (*Astacus astacus*) reveals multiple refugia. *Freshwater biology*, 59(4), 761-776.

Schrimpf, A., Piscione, M., Cammaerts, R., Collas, M., Herman, D., Jung, A., ... & Theissinger, K. (2017). Genetic characterization of Western European noble crayfish populations (*Astacus astacus*) for advanced conservation management strategies. *Conservation Genetics*, 18, 1299-1315.