

**INSTITUTE OF ANIMAL PHYSIOLOGY AND GENETICS**  
**ACADEMY OF SCIENCES OF THE CZECH REPUBLIC**  
**Rumburská 89, 277 21 LIBĚCHOV**  
**CZECH REPUBLIC**

---

**Dr. Jörg Bohlen**  
Senior Researcher  
Laboratory of Fish Genetics

e-mail: [bohlen@iapg.cas.cz](mailto:bohlen@iapg.cas.cz)  
Tel. +420 315 639559  
Fax: +420 315 639510

Liběchov, 10.12.2010

**Genetische Untersuchung von Steinbeißern**  
**aus ausgewählten Gewässern Sachsens 2010**

Ergebnisbericht



Abbildung 1: Erscheinungsbild eines Steinbeißers

## Zusammenfassung

Die vorliegende Untersuchung befasst sich mit der genetischen Identifizierung von Steinbeißern aus fünf Gewässern Sachsens. Steinbeißer sind kleine Süßwasserfische, die in Mitteleuropa vor allem als gemischte Populationen vorkommen, wobei eine reine Art zusammen mit einer oder mehreren Hybridformen auftritt. Die Arten und vor allem die Hybridformen lassen sich nicht mit morphologischen Merkmalen trennen, deshalb werden hier Enzymelektrophorese und Sequenzierung des S7-Introns des Kerngenoms eingesetzt. Die Ergebnisse zeigen, dass in zwei Populationen aus dem Einzugsgebiet der Schwarzen Elster die Art *Cobitis elongatoides* als reine Population lebt, während die anderen drei Populationen Mischpopulationen sind. In der dritten Population aus dem Gebiet der Schwarzen Elster und vermutlich in der untersuchten Population aus dem Neißengebiet lebt *Cobitis elongatoides* zusammen mit der Hybridform *Cobitis 1 taenia - 2 elongatoides*. Diese Ergebnisse festigen die Annahme, dass im sächsischen Teil des Schwarze Elster-, Spree- und Odergebietes diese Art und diese Hybridform stark dominant oder die einzigen Steinbeißer sind. Im Gegensatz dazu kommt in einer Population aus dem Muldegebiet die Art *Cobitis taenia* zusammen mit diploiden und triploiden Hybridformen vor. Da der Ursprung der inzwischen in Mitteleuropa dominant auftretenden Hybridformen vermutlich im heutigen Sachsen lag, könnten die diploiden Hybriden in dieser Population Relikte der ursprünglichen Hybridisierung sein. Eine andere Möglichkeit wäre die andauernde Neubildung von Hybridformen durch die Elternarten, was diese Population zu einer wertvollen evolutionsbiologischen Modellpopulation machen würde.

## 1. Hintergrund

Steinbeißer der Gattung *Cobitis* sind kleine Süßwasserfische aus der Familie der Schmerlen (Cobitidae). Sie sind bodenlebend und in erster Linie auf sandigen Böden in mittleren bis kleineren, langsam bis mäßig fließenden Gewässern zu finden. Sie sind in ihrer Lebensweise stark an dieses Habitat angepasst; so wird durch die lange Schnauze Sand eingesogen und in der Mundhöhle von leichtem organischem Material getrennt. Während letzteres als Nahrung dient, wird der eingesogene Sand durch die Kiemenspalten wieder ausgeblasen, was den Steinbeißern ihren Namen gab (Füllner et al. 2005).

Die Verbreitung der Steinbeißer erstreckt sich über die gemäßigten Breiten Eurasiens von Portugal bis Japan. In Europa kommen etwa 25 Arten vor, die anhand von morphologischen Merkmalen nur schwer voneinander zu unterscheiden sind und für deren sichere Unterscheidung heutzutage am besten genetische Marker eingesetzt werden (Bohlen & Ráb 2001). Die Bestimmung von Steinbeißern wird zusätzlich durch den Umstand erschwert, dass die acht in Mitteleuropa vorkommenden Arten bei Kontakt leicht miteinander hybridisieren. In einem Punkt unterscheiden sich Steinbeißer gravierend von fast allen anderen Wirbeltieren: Aus einer Reihe von Hybridisierungen entstanden klonale Weibchenlinien; d.h. Weibchen, die aus einer Hybridisierung hervorgegangen sind, können unreduzierte Eier legen (d.h. jedes Ei enthält je ein Genom beider Elternarten) und diese Eier entwickeln sich nach Kontakt mit einem Spermium, meist aber ohne Verschmelzung der Gameten. Dadurch entwickelt sich das Ei mit exakt derselben genetischen Information wie jede Körperzelle des Weibchens und es werden ausschließlich Klone des Weibchens gebildet, die wiederum alle Weibchen sind. Ein deutlich zu Gunsten der Weibchen verschobenes Geschlechterverhältnis wird deshalb als Hinweis auf die Präsenz einer Mischpopulation mit Beteiligung klonaler Weibchen gewertet. Nur gelegentlich kommt es zur Verschmelzung von Spermium und Eizelle, in diesem Fall haben die Nachkommen drei Genome und vermehren sich ebenfalls klonal. Alle einschlägigen Untersuchungen (Bohlen & Ráb 2001, Bohlen et al. 2002, Janko et al. 2007, Šlechtová et al. 2000) haben ergeben, dass die klonalen Hybridformen in Deutschland und angrenzenden Ländern die dominierende Lebensform bei Steinbeißern sind. Da Hybridweibchen auf Spermien zur Anregung der Eientwicklung angewiesen sind, sich aber nur mit Steinbeißermännchen paaren können, müssen sie zusammen mit einer bisexuellen Population vorkommen, die die Männchen produziert.

Rekonstruktionen der evolutionären Geschichte der Klonweibchen haben gezeigt, dass eines der wichtigsten Entstehungszentren im Becken der oberen Elbe und eventuell auch Oder war (Bohlen & Ráb 2001, Janko et al. 2007). Die in erster Linie in der Donau vorkommende Art *Cobitis elongatoides* hat vor etwa 8000 Jahren im Böhmisches Becken Zubringer der oberen Moldau besiedelt und sich danach im Böhmisches Elbegebiet und im Böhmisches Odergebiet ausgebreitet. Im mittleren und unteren Elbe- und Odergebiet breitete sich zu dieser Zeit die Art *Cobitis taenia* aus. Beide Arten kamen vermutlich im Bereich des heutigen Sachsens miteinander in Kontakt und brachten die beschriebenen Hybridformen hervor, die sich im Folgenden über große Bereiche des Elbegebietes ausbreiteten. Zum besseren Verständnis der für die Evolutionsbiologie hochinteressanten Ausnahmesituation bei Steinbeißern ist die Verbreitung der Arten und Hybridformen sowie die Zusammensetzung der Steinbeißer-Populationen in Sachsen von großem Interesse.

In den letzten beiden Jahren wurden sieben Populationen der Steinbeißer aus den Gewässersystemen der Spree (3 Populationen), der Schwarzen Elster (3 Populationen) und der Mulde (1 Population) genetisch untersucht. In diesen Untersuchungen trat die Art *Cobitis taenia* unter 113 untersuchten Individuen nicht auf, jedoch wies die genetische Komposition der Hybridtiere in der Leine (Mulde-System) auf die Präsenz dieser Art hin. Die Art *Cobitis elongatoides* wurde in fast allen Populationen aus den Einzugsgebieten von Schwarzer Elster und Spree gefunden; meist zusammen mit der Hybridform *Cobitis 1 taenia – 2 elongatoides*. Bohlen et al. (2002) fanden vier Hybridweibchen im sächsischen Neiße-System und Bohlen et al. (2005) berichten über *Cobitis elongatoides* und eine Hybridform aus der Spree bei Uhyst.

## 2. Ziel der Untersuchungen

Die vorliegende Untersuchung hatte zum Ziel, das Geschlechterverhältnis und die genetische Identität von Steinbeißern aus fünf ausgewählten Populationen aus Sachsen festzustellen. Das Geschlecht jedes Tieres wurde anhand der nur bei Männchen ausgebildeten ‚lamina circularis‘ festgestellt. Für die genetische Untersuchung wurden in einem Elektrophorese-Verfahren nach Šlechtová et al (2000) sechs bekanntermaßen diagnostische Enzyme untersucht. Durch die Zusammensetzung der diagnostischen Enzyme und ihre Intensität in der Analyse wird die genetische Komposition jedes Tieres ermittelt. Zur Absicherung wurde zusätzlich der S7 Ab-

schnitt des Genoms ausgewählter Hybridtiere sequenziert und aus den Sequenzen die genetische Komposition der Tiere ermittelt.

### 3. Material

Die zu untersuchenden Tiere wurden vom Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie gefangen und tiefgefroren zur Untersuchung im Institut für Tierphysiologie und Genetik (IAPG) in Liběchov angeliefert. Die Tiere entstammten drei Populationen aus sächsischen Einzugsgebiet der Schwarzen Elster, einer Population aus dem sächsischen Neiße-System und einer Population aus dem Mulde-System:

1. Saleskbach (Schwarze Elster), 10 Tiere
2. Schwarze Elster (Schwarze Elster), 7 Tiere
3. Schwarzwassergraben (Schwarze Elster), 21 Tiere
4. Pließnitz (Lausitzer Neiße), 4 Tiere
5. Leine (Mulde), 40 Tiere

Als Vergleichsmaterial für die Enzymelektrophorese dienten Tiere aus früheren Untersuchungen des Instituts für Tierphysiologie und Genetik (IAPG) (Bohlen 2009, 2010).

### 4. Methoden

#### Enzymelektrophorese

Muskelgewebe der zu untersuchenden Fische wurde in Extraktionspuffer (0,1 M Tris-HCl pH 8,5; Valenta et al., 1971) homogenisiert. Das Homogenisat wurde auf ein Agarosegel aufgetragen und in einem Elektrophoresegerät einer elektrischen Spannung ausgesetzt. Danach wurden sechs bekannte artdiagnostische Enzyme (GPI-A, sAAT, sMDH-A, SOD, Ldh-B, Gpi-B) mittels spezifischer Färbungsmethoden angefärbt (für Details siehe Šlechtová et al 2000). Als Vergleichsmaterial für die Enzymelektrophorese dienten Tiere aus früheren Untersuchungen des IAPG, die seit Jahren als Standard verwendet werden (Šlechtová et al. 2000). Gemäß des Gen-Dosis-Effekts (Vrijenhoek 1975) zeigen Enzyme, deren Gene im Genom doppelt vorliegen, auch die doppelte Intensität auf dem gefärbten Elektrophoresegel; dadurch können Rückschlüsse auf die genetische Komposition der Individuen gezogen werden.

## Sequenzanalyse

Die DNA wurde aus Muskelgewebe von 25 ausgewählten, durch die Allozymuntersuchung identifizierte Hybridtieren isoliert (drei Hybridweibchen aus der Schwarzen Elster; ein Hybridmännchen und drei Hybridweibchen aus dem Schwarzwassergraben; drei Hybridmännchen und 12 Hybridweibchen aus der Leine und drei Hybridweibchen aus der Pließnitz). Im Saleskbach wurden keine Hybridtiere gefunden und deshalb auch keine Tiere sequenziert. Die DNA-Isolation erfolgte mit dem Dneasy tissue kit (Qiagen Co.) nach den Herstellerangaben. Unter Zuhilfenahme der Primer S7RPEX1F (TGGCCTCTTCCTTGGCCGTC) und S7RPEX2R (AACTCGTCTGGCTTTTCGCC) (Chow & Hazama 1998) wurde das erste Intron des S7 Gens vervielfältigt. Die PCR Reaktion hatte die folgenden Parametern: Reaktionsvolumen 25 µl, enthielt 2,5 µl Puffer, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 ml A, T, C, G nucleotide mix (0,01 M), 0,5 ml jedes Primers (0,01 M), 1,25 Einheiten Taq Polymerase (TopBio) und ca 100 ng DNA. Das Temperaturregime der Reaktion begann mit einer einleitenden Phase von 94° C für 2 min, gefolgt von 34 Zyklen in jeweils 3 Schritten: 1) 94° C für 30 s, 58° C für 1 min und 72° C für 2 min, abschließend eine Periode von 8 min bei 72° C. Die PCR Produkte wurden von der Firma MacroGen sequenziert, die Sequenzen wurden mit Hilfe der Computersoftware PAUP zusammengesetzt und verglichen. Die Arten *Cobitis taenia* und *Cobitis elongatoides* unterscheiden sich in mehreren Positionen der S7-Sequenz. In den Chromatogrammen konnte aus der relativen Höhe der Peaks auf die genetische Komposition der Hybridformen geschlossen werden (Gendosis Effekt) (Sousa-Santos et al., 2005).

## 5. Ergebnisse

### 5.1. Geschlechterverhältnis

Die Bestimmung des Geschlechterverhältnisses ergab das folgende Bild:

1. Saleskbach (Schwarze Elster): 7 Männchen, 3 Weibchen (Männchenanteil 70%)
2. Schwarze Elster (Schwarze Elster): 0 Männchen, 7 Weibchen (Männchenanteil 0%)
3. Schwarzwassergraben (Schw. Elster): 2 Männchen, 19 Weibchen (Männchenanteil 10%)
4. Pließnitz (Lausitzer Neiße): 0 Männchen, 4 Weibchen (Männchenanteil 0%)
5. Leine (Mulde): 7 Männchen, 33 Weibchen (Männchenanteil 18%)

Die Ergebnisse zeigen einen deutlichen Weibchenüberhang in den Populationen Schwarze Elster, Schwarzwassergraben, Pließnitz und Leine; dagegen einen Männchenüberhang im Saleskbach.

## 5.2. Genetische Komposition der Tiere

Die Ergebnisse der Enzymelektrophorese zeigen in einer Population die Präsenz von *Cobitis taenia* zusammen mit zwei Hybridformen, in drei Populationen die Präsenz von *Cobitis elongatoides* und in zwei Populationen das Vorkommen der Hybridform *Cobitis 1taenia-2elongatoides*. Einen zusammenfassenden Überblick über die Ergebnisse geben Tabelle 1 und Abbildung 2. Die Ergebnisse der S7 Sequenzanalyse stimmten bei allen untersuchten Tieren mit den Ergebnissen der Enzymelektrophorese überein; damit bestätigen sich die beiden Methoden gegenseitig in dem wichtigsten Punkt: der präzisen Bestimmung der Hybridtiere.

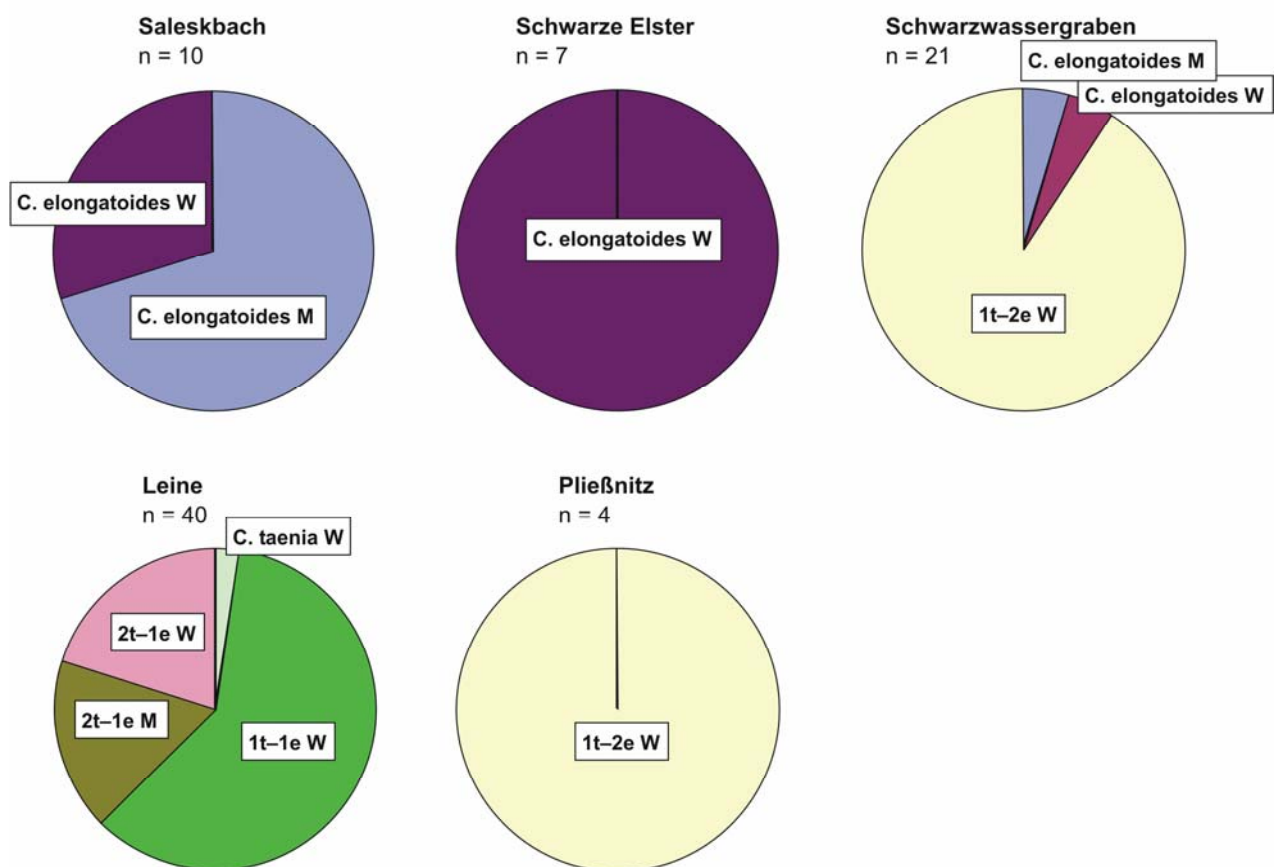


Abbildung 2: Graphische Darstellung der genetischen Komposition der Steinbeißer in fünf untersuchten sächsischen Gewässern in drei Einzugsgebieten. Aufgrund der bestätigenden Ergebnisse sind die Resultate der Enzymelektrophorese und der S7-Sequenzierung zusammengefasst.

Tabelle 1: Übersicht der Ergebnisse der genetischen Untersuchung von Steinbeißern aus fünf beprobten sächsischen Gewässern. Die erste Zahl in den Feldern gibt die Anzahl der durch Enzymelektrophorese bestimmten Tiere an, während die Zahl in Klammern die Anzahl der durch S7-Sequenzierung identifizierten Tiere angibt. In allen Fällen, in denen Tiere mit beiden Techniken untersucht wurden, kamen beide zu den selben Identifizierungen.

	<b>Ploidygrad</b>	<b>Saleskbach</b>	<b>Schwarze Elster</b>	<b>Schwarzwassergraben</b>	<b>Leine</b>	<b>Pließnitz</b>
		<b>(Schw. Elster)</b>	<b>(Schw. Elster)</b>	<b>(Schw. Elster)</b>	<b>(Mulde)</b>	<b>(Laus. Neiße)</b>
<i>C. taenia</i> Weibchen	diploid, reine Art				1	
<i>C. elongatoides</i> Männchen	diploid, reine Art	7		1		
<i>C. elongatoides</i> Weibchen	diploid, reine Art	3	7 (3)			
C 1 <i>taenia</i> – 1 <i>elongatoides</i> Weibchen	diploid, Hybridform				24 (7)	
C 2 <i>taenia</i> – 1 <i>elongatoides</i> Männchen	triploid, Hybridform				7 (3)	
C 2 <i>taenia</i> – 1 <i>elongatoides</i> Weibchen	triploid, Hybridform				8 (5)	
C 1 <i>taenia</i> – 2 <i>elongatoides</i> Männchen	triploid, Hybridform			1 (1)		
C 1 <i>taenia</i> – 2 <i>elongatoides</i> Weibchen	triploid, Hybridform			19 (3)		4 (3)
Anzahl Individuen		10	7 (3)	21 (4)	40 (15)	4 (3)



## 6. Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse demonstrieren, dass in Sachsen zwei Steinbeißer-Arten in reiner Form vorkommen. Während in allen drei Populationen aus dem Einzugsgebiet der Schwarzen Elster *Cobitis elongatoides* nachgewiesen wurde, legt ein einzelnes Exemplar der Art *Cobitis taenia* aus der Leine nahe, dass die begleitende Elternart in diesem Gewässer *Cobitis taenia* ist. Darüber hinaus stellt dieses Exemplar aber auch den Erstnachweis dieser Art in Sachsen dar. In der älteren Literatur (bis ca 2000) gibt es eine Reihe von Erwähnungen von *Cobitis taenia* aus sächsischen Gewässern, jedoch beruhen diese Angaben nicht auf einer verlässlichen Identifikation, sondern spiegeln die zu der Zeit verbreitete Meinung wider, dass alle in Deutschland lebenden Steinbeißer zur Art *Cobitis taenia* gehören (Füllner et al. 2005).

In zwei der fünf im Jahre 2010 untersuchten Populationen stellt die Art *Cobitis elongatoides* die gesamte Population, während in drei der Populationen außerdem Hybridformen leben. Wie in den meisten untersuchten Populationen in Europa, dominiert im Genom der triploiden Hybridtiere die an der Lokalität lebende Elternart, d.h. *Cobitis elongatoides* ist mit zwei Genomen in den triploiden Hybriden des Schwarze-Elster-Systems vertreten, während *Cobitis taenia* zwei der drei Genome in triploiden Hybridformen in der Leine stellt. Dieser Effekt entsteht durch die gelegentliche Verschmelzung von Eizelle und Spermium bei der klonalen Vermehrung, die die Voraussetzung für die Bildung von triploide Hybridformen ist. Für die Verschmelzung stehen naturgemäß nur Spermien der an der Lokalität vorkommenden Steinbeißerart zur Verfügung, so dass diese Art in den triploiden Hybridformen dominiert.

In keinem der untersuchten Tiere fanden sich Anzeichen von Genomen anderer Arten als *Cobitis taenia* und *Cobitis elongatoides*. Im gesamten Donaauraum einschließlich des südlichen Deutschland sowie im Odergebiet in Polen wurden bereits Hybridformen mit der Art *Cobitis tanaitica* nachgewiesen und entlang der westlichen Schwarzmeerküste finden sich Hybriden mit *Cobitis pontica*, *Cobitis strumicae* und *Cobitis taurica* (Bohlen & Ráb 2001; Janko et al. 2007). Keine dieser Arten oder einer Hybridform mit dem Genom einer dieser Arten ist bislang in einer sächsischen Population nachgewiesen worden. Als Ursache hierfür muss angenommen werden, dass die Besiedelung des böhmischen Beckens und nachfolgend Sachsens durch *Cobitis elongatoides* aus dem von *Cobitis elongatoides-tanaitica* Hybridformen dominierten Donaauraum

nur durch eine geringe Anzahl an Individuen erfolgte und/oder in der Anfangszeit die Populationen im Elbegebiet sehr klein waren. Bei einer sehr kleinen Anzahl von Besiedlern ist die Abwesenheit von Hybridformweibchen am leichtesten zu erklären. Auch eine sehr geringe Individuendichte in den neuen Populationen könnte gegen die Ausbreitung der Hybridformen gewirkt haben.

In allen drei Mischpopulationen gab das stark zugunsten der Weibchen verschobene Geschlechterverhältnis bereits einen ersten Anhaltspunkt auf die Präsenz von Hybridweibchen. Allerdings war das Verhältnis in einer reinen Populationen ebenfalls stark Weibchen-dominiert, während die andere reine Population einen Männchenüberhang aufwies. Dies ist zum einen sicherlich ein Effekt der kleinen Anzahl untersuchter Fische aus diesen Populationen, kann aber auch auf andere ökologische Wechselwirkungen innerhalb des Gewässers hindeuten. So unterliegen z.B. die kleineren Männchen einer höheren Mortalitätsrate durch Fressfeinde als die Weibchen, so dass auch eine besonders hohe Dichte an kleineren bis mittelgroßen Predatoren (für den Steinbeißer kommen hier als Beispiele Flussbarsch, Döbel und Zwergwels in Frage) bereits zu einem erhöhten Weibchenanteil führen kann. Auch eine schlechte Rekrutierung in zwei aufeinanderfolgenden Jahren mit resultierendem Überhang an älteren Kohorten kann verantwortlich sein, denn durch die erhöhte Mortalitätsrate finden sich in den ältesten Kohorten einer Steinbeißerpopulation nur sehr wenige Männchen. Der starke Männchenanteil im Saleskbach sollte ebenfalls wegen der geringen Anzahl untersuchter Tiere nicht überinterpretiert werden, doch die Anwesenheit größerer Fressfeinde (z.B. Graureiher und Hecht) könnte theoretisch einen erhöhten Fraßdruck auf die großen Weibchen bewirken. Präzise Erklärungen können aber nicht auf der Grundlage der hier vorliegenden Daten geliefert werden; hierzu wären detaillierte gewässerbiologische und biozönotische Untersuchungen notwendig.

Über die Zusammensetzung der Mischpopulation in der Pließnitz können aufgrund der geringen Anzahl an Tieren keine Aussagen gemacht werden. Die Dominanz von *Cobitis elongatoides* Genomen in den triploiden Hybriden weist auf *Cobitis elongatoides* als Begleitart hin, auch wenn bislang kein Exemplar dieser Art dort nachgewiesen wurde. Auch Bohlen et al. (2002) fanden nur triploide *Cobitis 1 taenia – 2 elongatoides* Hybridweibchen unter den vier untersuchten Exemplaren aus der Pließnitz (gefangen im Jahr 2000). Das Fehlen eines Nachweises der Be-

gleitart ist überraschend, da die Pließnitz leicht befischbar ist und die Fischereibehörde während der letzten 10 Jahre intensiv und gezielt nach Steinbeißern gesucht hat.

Eine Besonderheit tauchte unter den analysierten Tieren aus der Leine auf: ein hoher Anteil diploider Hybridtiere. Diploide Hybriden stellen den Startpunkt für die Bildung klonaler Linien dar; sie selber produzieren zwei verschiedene Typen von Nachkommen: zum einen auf klonalem Wege weitere diploide Hybridformen, dazu aber auch triploide Hybridformen, die durch die gelegentliche Verschmelzung einer Eizelle mit einem Spermium entstehen. Diploide Hybridformen können nach bisherigem Wissensstand nur durch eine Kreuzung der beiden Elternarten entstehen, nicht aber aus anderen Hybridformen. Vor dem Hintergrund der Tatsache, dass das sächsische Elbegebiet als eine der primären Kontaktzone zwischen den Elternarten *Cobitis elongatoides* und *Cobitis taenia* eingeschätzt wird (Janko et al. 2007), kommt dem hohen Anteil diploider Hybriden in der Leine große Bedeutung zu, denn es könnte sein, dass hier ein diploider Klon aus der Entstehungszeit der Hybridformen überdauert hat. Diese Möglichkeit kann nur durch weitere genetische Analysen mit hochauflösenden Markern getestet werden (s. Janko et al 2007). Eine weitere Möglichkeit ist, dass die Steinbeißer-Population in der Leine einen noch aktiver Hybridisierungspunkt darstellt, d.h. dass es in dieser Population auch heute noch zu primären Hybridisierungsereignissen kommt, aus denen die diploiden Hybriden hervorgehen. Diese Annahme erfordert die Anwesenheit beider Elternarten, zumindest in der weiteren Umgebung. Die Anwesenheit von *Cobitis taenia* ist durch ein Exemplar bestätigt, die Anwesenheit von *Cobitis elongatoides* könnte nur durch weitere Befischungen und Untersuchungen in der Leine im weiteren Umfeld der bislang beprobten Stelle bestätigt werden. Die ungewöhnliche Seltenheit der reinen Art (1 Exemplar unter 48 untersuchten Tieren aus den Jahren 2008 und 2010) könnte bereits darauf hindeuten, dass die beprobte Stelle nicht der (evtl. ganzjährige) Aufenthaltsort der Elternart ist, sondern dass die Art an anderer Stelle häufiger ist. Es gibt leider keinerlei konkreten Daten über unterschiedliche ökologische Ansprüche von *Cobitis elongatoides*, *Cobitis taenia* und den verschiedenen Hybridformen, auch wenn diese in der Praxis oft an leicht unterschiedlicher Stelle gefunden werden. Potentiell stellt die Steinbeißerpopulation in der Leine den ersten bekannten primären Hybridisierungsort von *Cobitis elongatoides* und *Cobitis taenia* dar und wäre in diesem Fall ein hochinteressantes Freiland-Untersuchungsobjekt für die allgemeine Entstehung von klonalen Linien und die frühe Dynamik (durch Konkurrenz, Stochastik, Partnerwahl) inner-

halb einer Mischpopulation. Gegen die Hypothese einer aktiven Hybridisierungszone spricht die Abwesenheit von diploiden Hybridmännchen. Bei einer primären Hybridisierung entstehen diploide Hybriden beider Geschlechter, meist in etwa ausgeglichenem Verhältnis. Das Fehlen solcher diploider Hybridmännchen deutet darauf hin, dass zumindest eine klonale Generation zwischen der primären Hybridisierung und der Probennahme liegt.

In der Leine-Population treten auch triploide Hybridmännchen auf. Diese Männchen entstehen gelegentlich bei der Verschmelzung des diploiden Eis eines diploiden Hybridweibchens mit einem Spermium der Begleitart. Nach den Ergebnissen von Aquarierversuchen liegt der Anteil von Männchen bei diesen spontanen triploiden Individuen bei 30-40% (Choleva et al, unpublished). Erste Versuche im Labor weisen die triploiden Männchen als nicht fertil aus und als nicht geeignet, um die Eier klonaler Weibchen zur Entwicklung anzuregen. Sie ersetzen also nicht den Bedarf an Männchen aus einer Begleitart.

Kombiniert man die vorliegenden Ergebnisse mit den Befunden der letzten beiden Untersuchungsjahre (Bohlen 2009, 2010), so ergibt sich für Sachsen anhand von 195 untersuchten Exemplaren aus 10 verschiedenen Populationen das folgende Bild (Tabelle 2):

- Es gibt die beiden Arten *Cobitis taenia* und *Cobitis elongatoides*, jedoch keine anderen Steinbeißerarten. *Cobitis taenia* ist im System des linken Elbezuflusses Mulde zu finden, während *Cobitis elongatoides* die gesamten sächsischen Abschnitte des Schwarze Elster-, Spree- und Odergebietes besiedelt. Dieses Verbreitungsbild passt sich nahtlos in die Ergebnisse vorheriger Studien ein, nach denen der tschechische und polnische Teil der Einzugsgebiete von Elbe und Oder von *Cobitis elongatoides* besiedelt sind, während in den brandenburgischen Abschnitten beider Gewässersysteme ausschließlich *Cobitis taenia* nachgewiesen wurde (Bohlen & Ráb 2001).
- In den meisten Lokalitäten leben Steinbeißer als Mischpopulation, d.h. die Art kommt zusammen mit klonalen Hybridformen vor, wobei in der genetischen Komposition der Hybridformen die begleitende Elternart dominiert.
- Innerhalb eines Gewässersystems (z.B. der Schwarzen Elster) gibt es einzelne Lokalitäten, in denen reine Populationen von *Cobitis elongatoides* leben. Dies ist, wie bereits am Beispiel der Pulsnitz in Bohlen (2010) erklärt, auf das sekundäre Verschwinden der Hybrid-

- Es gibt auch in den Hybridformen keine Genome anderer Steinbeißer-Arten als *Cobitis taenia* und *Cobitis elongatoides*.
- Die Zusammensetzung der Steinbeißer-Mischpopulationen in Sachsen ist stark variabel und vermutlich das Resultat lokaler Ereignisse und Bedingungen. Dies zeigt, dass die Populationen abgeschlossene Einheiten bilden, die über die Zeit von den lokalen Umständen geformt werden. Damit ist jede Population als eigenständige Einheit zu werten, speziell vom Blickwinkel der Evolutionsbiologie und des Naturschutzes.

Tabelle 2: Überblick über die Ergebnisse genetischer Untersuchungen in den Jahren 2008-2010. Insgesamt wurden 195 Individuen aus 10 Populationen genetisch untersucht.

	2008				2009			2010				
	Weigersdorfer Fließ (Spree)	Leine (Mulde)	Spree uh. Uhyst (Spree)	Spree uh. Bärwalde (Spree)	Pulsnitz (Schw. Elster)	Saleskbach (Schw. Elster)	Commerauer Graben (Schw. Elster)	Saleskbach (Schw. Elster)	Schwarze Elster (Schw. Elster)	Schwarzwasser- graben (Schw. Elster)	Leine (Mulde)	Pfließnitz (Laus. Neiße)
<i>C. taenia</i>											1 ♀	
<i>C. elongatoides</i>	2 ♂ 3 ♀			1 ♂ 1 ♀	12 ♂ 12 ♀	1 ♂	3 ♂ 18 ♀	7 ♂ 3 ♀		1 ♂		
<i>C 1 taenia – 1 elongatoides</i>		5 ♀									24 ♀	
<i>C 2 taenia – 1 elongatoides</i>		1 ♂ 2 ♀									7 ♂ 8 ♀	
<i>C 1 taenia – 2 elongatoides</i>	1 ♂ 22 ♀		9 ♀	11 ♀			9 ♀			1 ♂ 19 ♀		4 ♀
Anzahl Individuen	28	8	9	13	24	1	30	10	7	21	40	4

## 7. Referenzen

- Bohlen, J. 2009. Genetische Untersuchung von Steinbeißern aus vier ausgewählten Gewässern Sachsens 2008; Ergebnisbericht. Unveröffentl. Bericht an das Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie.
- Bohlen, J. 2010. Genetische Untersuchung von Steinbeißern aus vier ausgewählten Gewässern Sachsens 2009; Ergebnisbericht. Unveröffentl. Bericht an das Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie.
- Bohlen, J. & P. Ráb 2001. Species and hybrid richness in spined loaches of the genus *Cobitis* L. (Teleostei: Cobitidae), with a checklist of European forms and suggestions for their conservation. *Journal of Fish Biology*, 59a: pp. 75-89.
- Bohlen, J., P. Ráb, V. Šlechtová, M. Rábová, D. Ritterbusch & J. Freyhof 2002. Hybridogeneous biotypes in spined loaches (genus *Cobitis*) in Germany with implications for the conservation. In: Collares-Pereira, M. J., Cowx, I. & Coelho, M.M. (eds.): *Freshwater Fish Conservation – options for the future*. Fishing News Books, Blackwell Science, Oxford, Chapter 28: 311-321.
- Bohlen, J., J. Freyhof & C. Wolter 2005. First records of *Cobitis elongatoides* and *Sabanejewia balcanica* (Cobitidae) for Germany. *Cybium* 29: 104-105.
- Füllner, G., M. Pfeifer & A. Zarske 2005. *Atlas der Fische Sachsens. Rundmäuler-Fische-Krebse*. Sächsisches Landesamt für Landwirtschaft und Staatliche Naturhistorische Sammlungen Dresden.
- Chow, S. & K. Hazama 1998. Universal PCR primers for S7 ribosomal protein gene introns in fish. *Mol. Ecol.* 7, 1247–1263.
- Janko, K., Flajšhans, M., Choleva, L., Bohlen, J., Šlechtová, V., Rábová, M., Ráb, P., Lajbner, Z., Šlechta, V., Ivanova, P., Dobrovlov, I., Culling, M., Persat, H. & J. Kotusz 2007. Diversity of European spined loaches (genus *Cobitis* L.): an update of the geographic distribution of the *Cobitis taenia* hybrid complex with the description of new molecular tools for species determination. *Journal of Fish Biology* 71 (Supplement C): 387-408.
- Šlechtová, V., V. Lusková, V. Šlechta, S. Lusk, K. Halačka & J. Bohlen 2000. Genetic differentiation of two diploid-polyploid complexes of spined loach, genus *Cobitis* (Cobitidae), in

Czech Republic, involving *C. taenia*, *C. elongatoides* and *C. spp.*. Allozyme interpopulation and interspecific differences. *Folia Zoologica* 49 Suppl. 1: 67-78.

Sousa-Santos, C., J. I. Robalo, M. J. Collares-Pereira & V. C. Almada 2005. Heterozygous indels as useful tools in the reconstruction of DNA sequences and in the assessment of ploidy level and genomic constitution of hybrid organisms. *DNA Sequence* 16, 462–467.

Valenta M., J. Hyldgaard-Jensen & E. S. Jensen 1971. Interaction of veronal, pyrophosphate, citrate and protein with lactate dehydrogenase isozyme determination and kinetics. *Acta Vet. Scand.* 12: 15–35.

Vrijenhoek, R. C. 1975. Gene dosage in diploid and triploid unisexual fishes, pp. 463-475 in *Isozymes IV. Genetics and Evolution*, edited by C. L. Markert. Academic Press, New York.





Abbildung 3: Steinbeißer (*Cobitis taenia*) in Sand eingegraben.