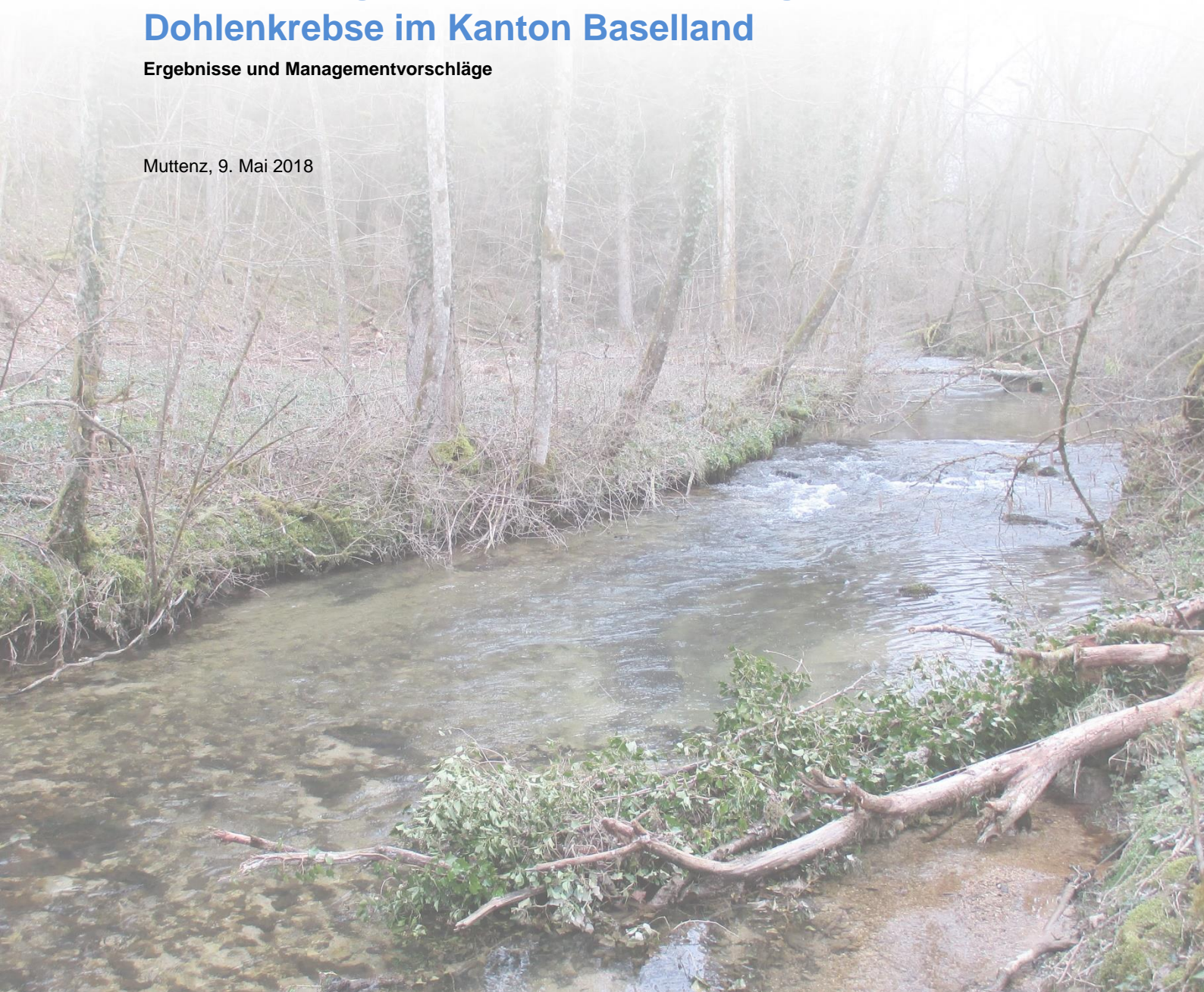


Populationsgenetische Untersuchungen der Dohlenkrebse im Kanton Baselland

Ergebnisse und Managementvorschläge

Muttenz, 9. Mai 2018



Impressum

Auftraggeber

Amt für Wald beider Basel, Jagd- und Fischerei
Ebenrainweg 25
CH-4450 Sissach
061 552 56 59
afw@bl.ch

Auftragnehmer

Koordinationsstelle Flusskrebse Schweiz (KFKS)
Fachhochschule Nordwestschweiz (FHNW)
Hochschule für Life Sciences
Institute für Ecopreneurship
Gründenstrasse 40
CH-4132 Muttenz

Autoren

Raphael Krieg, raphael.krieg@fhnw.ch
Anna Weston, anna.weston@fhnw.ch
Armin Zenker, armin.zenker@fhnw.ch

Zitiervorschlag

Krieg, R., Weston, A. & Zenker, A. 2018. Populationsgenetische Untersuchungen der Dohlenkrebse im Kanton Baselland - Ergebnisse und Managementvorschläge. Fachhochschule Nordwestschweiz, Koordinationsstelle Flusskrebse Schweiz, Auftraggeber: Amt für Wald beider Basel, Jagd- und Fischereidecker Sektion Fischerei vom Kanton Basel-Landschaft: 33 S.

Danksagung

Wir bedanken uns beim Amt für Wald beider Basel, Jagd- und Fischereidecker Sektion Fischerei vom Kanton Basel-Landschaft für den Auftrag, sowie Daniel Zopfi für die Probenahmen

Inhaltsverzeichnis

1.	Zusammenfassung	3
2.	Einleitung	4
3.	Material und Methoden	5
3.1	Untersuchungsstandorte im Kanton Baselland	5
3.2	Probenahme	5
3.3	Laborarbeiten	6
3.3.1	Material	6
3.3.2	DNA Extraktion	7
3.3.3	Austropotamobius pallipes Genotyp-Bestimmung mittels Mikrosatelliten Multiplex-Analyse	8
3.3.4	Populationsstudie	9
3.3.5	Datenauswertung	9
4.	Resultate	10
4.1	DNA Extraktion	10
4.2	Multiplex Reaktion	10
4.3	Populationsstudie	11
4.3.1	Allelfrequenz	11
4.3.2	Heterozygotie und Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWE)	13
4.3.3	Kopplungsgleichgewicht	14
4.3.4	F-Statistik und genetische Differenzierung	14
5.	Diskussion	19
5.1	Laboruntersuchung	19
5.2	Genetische Differenzierung der Populationen im Kanton Baselland	19
5.3	Genetische Variabilität und Inzucht der Populationen im Kanton Baselland	19
5.4	Empfehlungen für Besatz und Umsiedlungsmassnahmen	19
5.5	Empfehlungen für die Lützel	20
6.	Referenzen	21
7.	Anhang	22

1. Zusammenfassung

Der einheimische Dohlenkrebs (*Austropotamobius pallipes*) hat in der Fischereigesetzgebung den Gefährdungsstatus 2 «stark gefährdet» (Artikel 5 VBGF) und agiert auf der Liste der Prioritären Arten der Schweiz (2011), deren Schutzbemühungen prioritär behandelt werden sollen. Im Aktionsplan Flusskrebse Schweiz (2011) werden Massnahmen definiert, welche den Erhalt der Art auch in Zukunft sicherstellen. Um bei Wiederansiedlungs- oder Besatzmassnahmen die genetische Vielfalt zu berücksichtigen, fanden in den letzten Jahren genetische Untersuchungen zu Stein- und Dohlenkrebsen statt, welche wichtige Erkenntnisse liefern.

Im Kanton Baselland liegen die Genpoolstandorte «Bubendorf» und «Lützel». Der ehemals grösste Dohlenkrebsbestand der Nordwestschweiz in der Lützel ist im Jahre 2013 der Krebspest zum Opfer gefallen. Um genetisch ähnliche Besatztiere für die Wiederbesiedlung zu eruieren, wurden acht Populationen im Einzugsgebiet der Birs und der Ergolz untersucht: Birsig bei Burg (1), Greifelpach (2), Ibach (3), Chastelbach (4), Seebach (5), Riedbächli (6), Bennwilerbach (7), Homburgerbach (8).

Mithilfe von Mikrosatelliten wurde bestimmt, wie nahe die ausgewählten Populationen untereinander verwandt sind. Zusätzlich wurde eruiert, wie sich die genetische Variabilität innerhalb der untersuchten Vorkommen unterschied und sich der Inzucht-Koeffizient für die einzelnen Populationen darstellte. Die Daten wurden zusätzlich mit bereits durchgeführten genetischen Analysen in der Nordwestschweiz und im Kanton Graubünden verglichen.

Aufgrund der starken genetischen Variabilität ist ein Vergleich der Populationen der verschiedenen Regionen in der Schweiz nicht möglich. Die Populationen der beiden Genpoolstandorte «Bubendorf» und «Lützel» differenzieren sich bereits stark voneinander.

Für Wiederbesatz oder Ansiedlungsmassnahmen dürfen nur Tiere des gleichen Einzugsgebietes verwendet werden. Entnahme-Populationen sollen möglichst nahe beim Ansiedlungsgewässer liegen. Die Populationen Bennwilerbach und Riedbächli weisen eine hohe genetische Variabilität und einen geringen Inzuchtindex auf und eignen sich somit gut für Besatzmassnahmen im Einzugsgebiet der Ergolz.

Für Wiederansiedlungsmassnahmen in der Lützel wird empfohlen Tiere von Burg bzw. der ursprünglichen Lützel-Genetik bzw. aus dem Greifenbach zu verwenden. Von der Verwendung von Tieren aus dem Seebach wird eher abgeraten. Bei der Auswahl der Entnahmepopulation müssen verschiedene Faktoren, wie mögliche Anzahl Entnahmetiere, Inzuchtindex, genetische Variabilität und Differenzierung berücksichtigt werden. Es wird empfohlen, die definitiven Massnahmen von einer Fachperson begleiten zu lassen.

2. Einleitung

Neben dem einheimischen Steinkrebs (*Austropotamobius torrentium*) wird auch der Dohlenkrebs (*Austropotamobius pallipes*) in der Fischereigesetzgebung (Artikel 5 VBGF) als stark gefährdet eingestuft. Im Kanton Baselland sind mehrere Dohlenkrebsvorkommen bekannt (Babbi, 2008). Zudem liegen die Genpoolstandorte «Bubendorf» und «Lützel», welche als besonders schützenswert gelten, ebenfalls im Kanton Baselland.

Um koordinierte Massnahmen zu Gunsten der Dohlenkrebsbestände im Kanton Baselland vorzunehmen, sind populationsgenetische Untersuchungen notwendig. Im Rahmen des Projektes «Massnahmen zum Erhalt der Dohlenkrebs-Genpool-Standorte in der Nordwestschweiz» wurden bereits drei Populationen des Genpool-Standes «Bubendorf» genetisch untersucht.

Um ein vollständigeres Bild über die genetische Verwandtschaft und Variabilität der Dohlenkrebs-Populationen im Kanton Baselland zu erhalten, wurden im Rahmen dieses Projektes fünf weitere Populationen genetisch untersucht. Dies liefert wichtige Erkenntnisse im Hinblick auf den Wiederbesatz der Lützel, welche 2013 von der Krebspest heimgesucht wurde (Collas et al., 2016), mit möglichst ursprünglichem genetischen Material. Mit dem Einbezug weiterer Daten der vergangenen genetischen Untersuchungen von Dohlenkrebsen in der Schweiz (Krieg, Weston, & Zenker, 2016, 2018) erhofft man sich weitere Erkenntnisse zur Verwandtschaft und genetischen Variabilität.

In Zukunft können mithilfe der Ergebnisse, im Falle eines Aussterbens oder beinahe Aussterbens einer Population, die genetisch nächsten Verwandten bzw. genetisch variabelsten Individuen wiederangesiedelt werden. Dies würde eine allfällige Störung der Ökosysteme an den Standorten verhindern und im Hinblick auf die Klimaveränderung anpassungsrelevante Vorteile erbringen. Der Erhalt der «Lützel-Genetik» liegt im Interesse des Kantons und soll dank der Resultate gewährleistet werden.

Folgende Fragestellungen werden im Rahmen des Projektes beantwortet:

Wie stark unterscheiden sich die untersuchten Populationen genetisch?

Welche Populationen weisen eine hohe genetische Vielfalt auf und wo sind Inzuchttendenzen sichtbar?

3. Material und Methoden

3.1 Untersuchungsstandorte im Kanton Baselland

Im Rahmen des Projektes wurden 8 Dohlenkrebs-Populationen im Kanton Baselland untersucht. Standort 1 (Burg) liegt im Einzugsgebiet der Birsig. Die Population ist auf Besatzmassnahmen durch den Kanton Baselland von Ende August 2009 (70 männliche und 30 weibliche Dohlenkrebse) zurückzuführen (Daten von Kanton). Es handelt sich um die ursprüngliche «Lützel-Genetik». Bisher wurden keine Dohlenkrebse mehr in der Lützel nachgewiesen. Auch durch das Setzen von Reusen im Lützelsee und drei Nachtbegehungen in dessen Zufluss wurden keine Dohlenkrebse gefunden (per. Mitteilung, P. Stucki, 7.3.2018). Die Standorte 2 bis 5 liegen im Einzugsgebiet der Birs. Die restlichen Standorte (6-8) befinden sich im Einzugsgebiet der Ergolz und gehören zum Genpoolstandort «Bubendorf» (Stucki & Zaugg, 2011). Eine Übersicht über die Probenahmestandorte findet sich in Abb. 1.

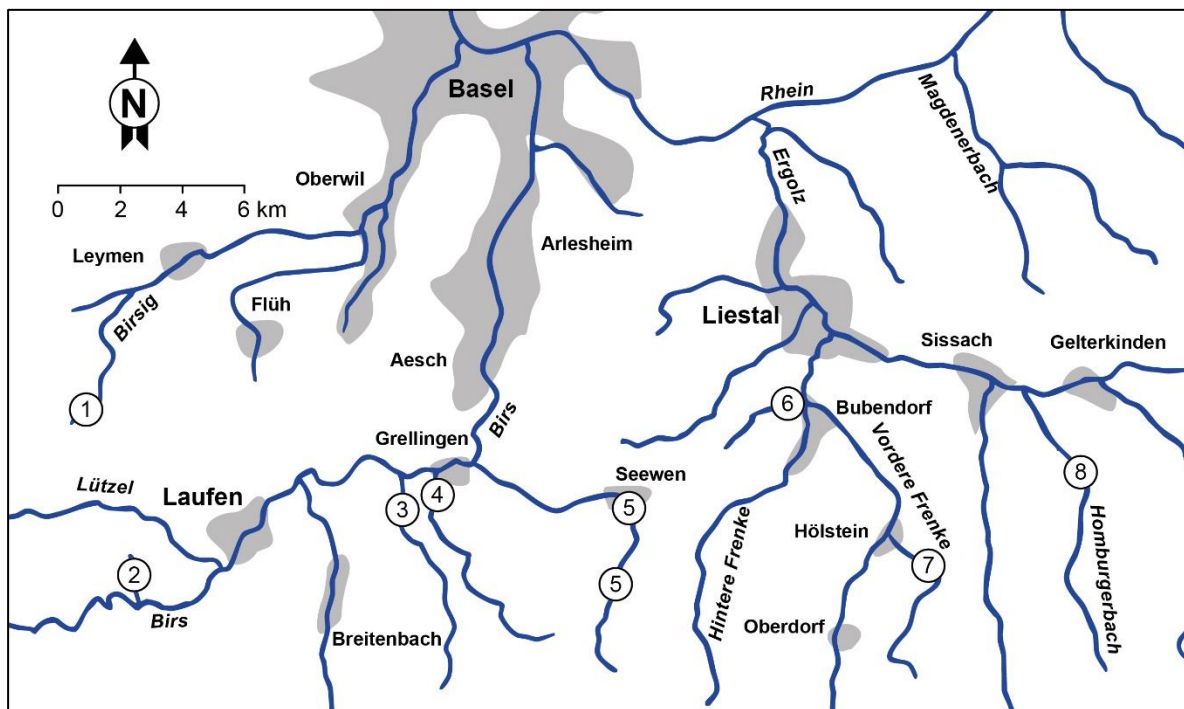


Abb. 1: Untersuchungsstandorte im Kanton Baselland: Birsig bei Burg (1), Greifeltbach (2), Ibach (3), Chastelbach (4), Seebach (5), Riedbächli (6), Bennwilerbach (7) und Homburgerbach (8).

3.2 Probenahme

Von jeder zu untersuchenden Population wurden zwischen 15 und 25 genetische Proben von unterschiedlichen Dohlenkrebsen genommen (Tab. 1). Dazu wurde ein Schwimm-füsschen (Pleopod) mit einer vorher in Ethanol desinfizierten spitzen Pinzette entnommen. Diese Methodik ist am wenigsten invasiv, da Pleopoden schnell nachwachsen, die vorhandene Sollbruchstelle eine saubere Abtrennung ermöglicht und keine Tiere getötet werden müssen. Diese Methode wurde bereits von Vorburger et al. (2014) für die Untersuchung von Steinkrebspopulationen verwendet und hat sich auch in vergangenen Projekten bewährt (Krieg et al., 2016, 2018). Die Pleopoden wurden in ein 2 ml Eppendorf-Tube mit Ethanol überführt und bis zu den Laborarbeiten bei - 80°C in Ethanol gelagert.

Tab. 1: Informationen zu den Probenahmestandorten im Kanton Baselland und Anzahl beprobter Individuen pro Standort.

Nr.	Bezeichnung Probe	Gewässername, Ort	Einzugs- gebiet	Probenahme	Koordinaten CH1903 / LV03		Anzahl Proben
					X	Y	
1	Burg	Birsig, Burg bei Leymen	Birsig	2016	599'796	255'952	25
2	Greif	Greifelbach, Liesberg	Birs	2017	601'449	251'037	22
3	Ibach	Ibach, Grellingen	Birs	2017	609'837	252'370	22
4	Chast	Chastelbach, Grellingen	Birs	2017	610'901	253'947	22
5	Seeba	Seebach, Bretzwil/Seewen	Birs	2017	616'849	253'311	22
					616'507	250'685	
6	Ried	Riedbächli	Ergolz	2015	622005	256095	15
7	Bennoberh	Bennwilerbach	Ergolz	2015	626040	251370	18
8	Hom	Homburgerbach	Ergolz	2015	631052	254297	22

3.3 Laborarbeiten

3.3.1 Material

Für die Analyse der Probenahmen wurden die Reagenzien und das Kit aus Tab. 2 und die in Tab. 3 genannten Geräte verwendet. Die Primer wurden alle von Microsynth hergestellt und sind in Tab. 4 aufgelistet.

Tab. 2: Verwendete Reagenzien und Kits.

Produkt	Hersteller	Katalog Nummer	Lot. Nummer
NucleoSpin Tissue	Machery-Nagel	740952	1508/003 und 1604/004
Stainless Steel Beads (5 mm)	Qiagen	69989	2060816 und 0390217
HotStar Taq DNA Polymerase	Qiagen	203203	179031521
dNTP Set	Sigma-Aldrich	DNTP-100	SLBM3457V
Nuclease Free Water	Qiagen	129114	1530483088

Tab. 3: Im Labor verwendete Geräte.

Gerät	Hersteller
PeqSTAR Primus96 Advanced	PeqLab, Deutschland
T3000 Thermocycler	Biometra Deutschland
Spectrophotometer Nanodrop 2000c	Thermo Scientific, Schweiz
Thermomixer Comfort	Eppendorf, Deutschland
Tissue Lyzer II	Qiagen, Deutschland

Tab. 4: Primer Sequenzen, Farbstoffmarkierungen und Multiplex-Zusammensetzung.

Lokus	Primer ¹⁾	Sequenz (5'-3')	5'-Modifikation	Multiplex Assay
AT43	FOR	TTTCCGAATTTCAATCTGCTT	FAM	M1
	REV	CTGCCTTCTCCCTTAACGTG		
Ap6	FOR	GCTGTGTGGGATGGAGGT	Atto565	
	REV	CACTAGCGTATTCAAGCAACT		
Aas6	FOR	AGACACAAACGCACATGGAA	Atto550	
	REV	GTGTCTGGCAGGCGTATGAT		
Aitali5	FOR	CACTACCACCACGGAATGTG	FAM	
	REV	TGGCGATATGATGCCTACTG		
Aitali7	FOR	TCTGCCTGGCTCTTTGAGAT	Atto532	
	REV	TCCTGCAGACACAAATAGGAGA		
Aas3040	FOR	GTTGTGTGGTAACTCCTGACGA	FAM	M2
	REV	CAATCGTATCCCACATGCAG		
Aitali8	FOR	GGGATATACGGATATATGGATGAG	Atto565	
	REV	TCAGAATGTCCAACAAAACCA		
Aitali11	FOR	GACAAAATTGGCCGCCTAAC	Atto550	
	REV	ATGTTGCTGTTTAAGCCTCTG		
AT37	FOR	ACTATCCGACCGAACGAACC	Atto532	
	REV	ACAGAACCGATTCTTGGCAT		
Aas5	FOR	CATCAGTCCCATTCTTAATGA	FAM	
	REV	CGGATTATCTAGGCTGCTGA		
Ap3	FOR	CGCCTATCTAACCTTGGTTGTC	FAM	M3
	REV	GGACTTGGGAAGCCTTGTG		
Ap2	FOR	TTCGATATAACCGTTTGACCTG	Atto532	
	REV	TCAGACTTTGGCCATTGAAG		
Aitali1	FOR	ACGAGTCTTGTGCGAACCT	Atto565	
	REV	GCCAAAGCACAACTGAGTGA		

3.3.2 DNA Extraktion

Die Pleopoden wurden nach einer optischen Beurteilung sorgfältig mit einer Pinzette aus dem Probenahme-Tube in ein neues 2 ml Tube mit Ethanol überführt. Die DNA wurde anschliessend mit dem NucleoSpin Tissue Extraktion Kit (Machery-Nagel) nach Herstellerangaben gereinigt. Dabei wurden die Pleopoden mithilfe einer Metallkugel (Stainless Steel Beads, 2 mm, Qiagen) homogenisiert. Dazu wurden sie eine Minute lang bei einer Frequenz von 1/30" ohne Zusatz von Puffer und anschliessend mit Zugabe von 180 µl Lysis Puffer und 25 µl Proteinase K (1 min, 1/30") im Tissue Lyser II (Qiagen) geschüttelt. Das Gemisch wurde daraufhin während 1.5 Stunden bei 56°C und 600 rpm lysiert.

Anschliessend wurde die DNA auf die Extraktionssäule geladen, gewaschen und mit 50 µl auf 70°C vorgewärmten Elutions-Puffer eluiert. Die Konzentrationen wurden spektrophotometrisch bei 260 nm mittels eines Nanodrop 2000 gemessen. Anschliessend wurde die DNA auf eine Konzentration von 5 ng/µl verdünnt und 2 µl davon für die Multiplex Reaktionen verwendet.

3.3.3 *Austropotamobius pallipes* Genotyp-Bestimmung mittels Mikrosatelliten Multiplex-Analyse

Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) der dreizehn Loci wurde aufgrund der Fragment-Grösse und Farbstoffkombinationen auf drei Multiplex-Sets aufgeteilt. Die Forward Primer wurden mit einem Fluoreszenz-Farbstoff am 5'-Ende markiert und pro Locus eine Mischung aus fluoreszenzmarkierten bzw. nicht markierten Forward Primer sowie den entsprechenden Reverse-Primern nach Angaben von Ecogenics zusammengestellt (Tab. 5).

Tab. 5: Aufteilung der PCR auf die drei Multiplex Assays.

Lokus	Repetitive Motive	Grösse [bp]	Fluoreszenz Molekül [5'-FOR]	Multiplex Set
AT43	(AAAC) ₅ ...(AC) ₁₅	111-115	FAM	M1
Ap6	(TG) ₇ GGGT(TG) ₈ GG(TG) ₄₀ TT(TG) ₉ TT(TG) ₇ CA(TG) ₃	345-363	Atto565	M1
Aas6	(GA) ₂₆	170-172	Atto550	M1
Aitali5	(ACAS) ₁₅	229-279	FAM	M1
Aitali7	((GTCT) ₃ GT) ₂ N ₄₇ (GTCT) ₃ N ₁₀	379-385	Atto532	M1
Aas3040	(TA) ₂₀	216-220	FAM	M2
Aitali8	(ACAG) ₃ ATAGG(CAGM) ₁₇	191-203	Atto565	M2
Aitali11	(GACA) ₁₁	186-187	Atto550	M2
AT37	(TAACC) ₁₂	228-223	Atto532	M2
Aas5	(GA) ₄₆	446-470	FAM	M2
Ap3	(CA) ₂₅	156	FAM	M3
Ap2	(CA) ₃₁	185-193	Atto532	M3
Aitali1	(CA) ₁₂	194-202	Atto565	M3

Für die PCR wurden jeweils 10 ng DNA, 0.3 µM Primer Paar Gemisch pro Locus, 200 µM dNTP (Sigma-Aldrich), 0.5 Units Hot Start Taq Polymerase (Qiagen) und 1x Reaktion Puffer (Tris, KCl, (NH₄)₂SO₄ und 1.5 mM MgCl₂, Qiagen) in 10 µl Endvolumen angesetzt. Die PCR wurde in einen PeqLab Primus 96 Advance Thermocycler (PeqLab) oder einem T3000 Thermocycler (Biomtra) mit folgenden Temperatur-Programmen durchgeführt: 95°C für 15 Minuten, 40 Zyklen a 30 Sekunden bei 95°C, 90 Sekunden bei 56°C, 60 Sekunden bei 72°C und abschliessend fand eine Elongation für 30 Minuten bei 72°C statt.

Die jeweiligen Multiplex PCR (M1-M3) wurden bei allen Individuen durchgeführt. Die Produkte wurden anschliessend zu Ecogenics gesendet, wo sie nach Zugabe von GeneScan 500 dye Size Standard mittels einer kapillaren Elektrophorese (ABI3730) analysiert wurden. Pro PCR Platte wurde jeweils eine Negativkontrolle mit Wasser anstelle von DNA miteinbezogen und mit allen drei Multiplex Reaktionen laufen gelassen. Zusätzlich wurden, als Kontrolle für mögliche Abweichungen der Analysen, zwei alte DNA-Proben pro PCR Platte aus Krieg et al. 2016 und 2018 mit amplifiziert.

3.3.4 Populationsstudie

Für die Populationsstudie wurden die Daten (Peak Scoring) von allen bisher in der Schweiz durchgeführten genetischen Untersuchungen von Dohlenkrebsen miteinbezogen. Diese stammen aus den Kantonen Aargau, Baselland, Bern, Jura und Waadt (Krieg et al. 2016) sowie Graubünden (Krieg et al. 2018) (Anhangstabelle 14, S. 22).

3.3.5 Datenauswertung

Die Allele wurden mit der Software GeneMarker v2.6.4 erkannt, zugeordnet und mithilfe des Programms Genepop v4.2 (Rousset 2008) analysiert. Es wurde die beobachtete (H_O) und erwartete Heterozygotie (H_E) innerhalb der unterschiedlichen Populationen sowie die Allel-Frequenzen ermittelt. Das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWG) und das Kopplungs-Ungleichgewicht wurden ebenso für jeden Locus und jede Population bestimmt und die genetische Differenzierung mittels F Statistik (F_{ST} und F_{IS} -Werte) berechnet. Die F_{ST} -Werte der verschiedenen Populationen wurden mit Hilfe des exakten Fisher-Wahrscheinlichkeitstests miteinander verglichen.

Die Allel Frequenz der unterschiedlichen Populationen (p und q) sowie die beobachtete Heterozygotie H_O (Verhältnis an beprobten, heterozygoten Individuen) und die erwartete Heterozygotie H_E (Tab. 7, Seite 14) wurden mit dem Mikrosatelliten Excel Toolkit ermittelt:

$$H_E = 1 - \sum p_i^2 \quad (i = 1 \rightarrow n \text{ Allele})$$

p = Frequenz des Allels A

Das HWE wurde mit dem Genepop v4.2 Tool überprüft. Es stellt die Null-Hypothese dar. Sie zeigt auf, ob sich Individuen einer Population nicht-zufällig paaren und nicht-zufällig migrieren oder selektionieren:

$$HWE = p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

p und q entsprechen der Frequenz des Allels A und a

Das HWE wurde für jeden Locus und jede Population überprüft und die genetische Differenzierung durch die F-Statistik beschrieben.

$$F_{IS} = \frac{(H_S - H_I)}{H_S}$$

$$F_{ST} = \frac{H_T - H_S}{H_T}$$

H_I = Mittelwert der H_O über alle Population Fragmente

H_S = Mittelwert von H_E über alle Populationen

H_T = gleich wie H_E in einer bestimmte Population

4. Resultate

4.1 DNA Extraktion

Die Grösse der entnommenen Pleopoden war sehr unterschiedlich, was vor allem durch die Grösse bzw. das Alter der Individuen bedingt war. Für die Untersuchung war die DNA Menge bei allen beprobten Dohlenkrebsen ausreichend. Die extrahierte DNA Menge variierte zwischen 230 ng (Burg_22) und 14 µg (Seeba_17). Eine Auflistung aller neu untersuchten Proben findet sich in der Anhangstabelle auf Seite 23 (Tab. 15).

4.2 Multiplex Reaktion

In Abb. 2 sieht man ein Beispiel eines Elektropherogramms für die Multiplex Reaktionen der Proben aus dem Ibach (Ibach_1).

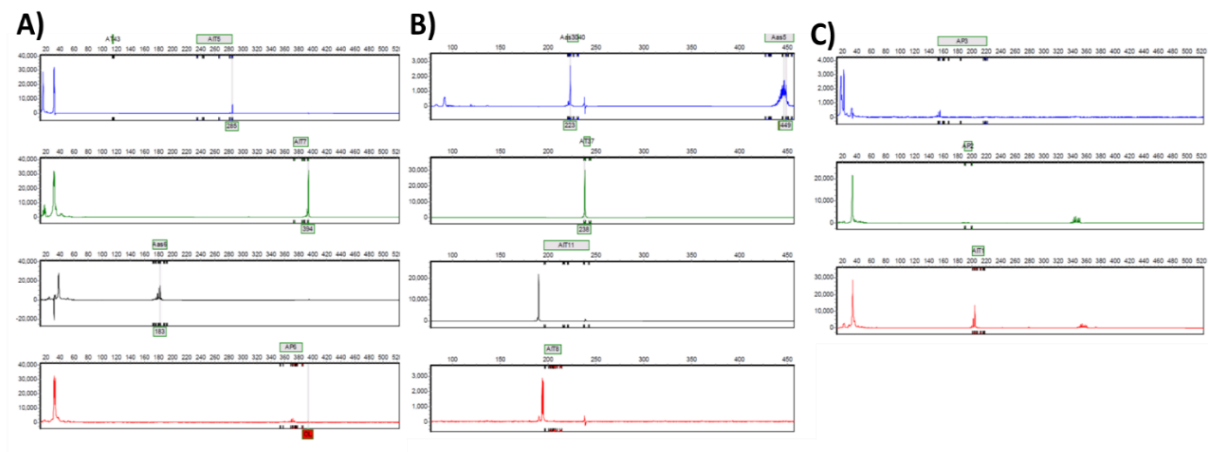


Abb. 2: Elektropherogramme der Multiplex-Reaktionen. A) Multiplex 1 (Loci: AT43, Aitali5, AP6, Aas6, Aitali7); B) Multiplex 2 (Aas3040, Aas5, Aitali8, Aitali11, AT37) und C) Multiplex 3 (AP3, AP2, Aitali1). Template DNA: Ibach_1.

Wie bei der Populationsstudie der Dohlenkrebse der Nordwestschweiz (Krieg et al., 2016) und Graubünden (Krieg et al., 2018) war die Erkennung und Auswertung des Locus AP6 aus technischen Gründen erschwert. Als hoch variable Motive zeigten die Peaks ein typisches Stotter-Muster (Abb. 3), welches sich über die verschiedenen Populationen nicht konsequent auswerten liess. Leider war es nicht möglich den Locus zu optimieren. Er wurde bei der Analyse miteinbezogen aber aus der Populationsstudie ausgeschlossen.

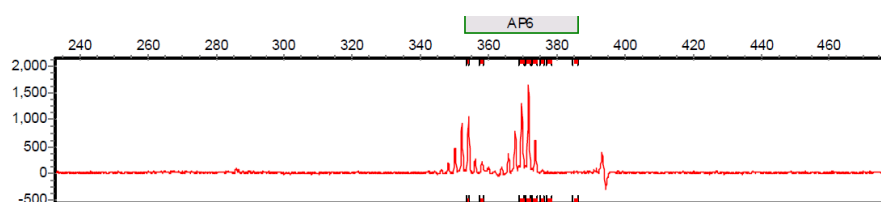


Abb. 3: Elektropherogramm von einem Individuum des Locus AP6 (DNA = Ibach_9).

Zudem trat am Anfang dieser Studie ein technisches Problem beim Locus AT43 auf. Der Nachweis dieses Mikrosatelliten gelang sowohl bei den DNA-Proben aus der Nordwestschweiz (Krieg et al., 2016) wie auch bei den neuen DNA Proben aus Graubünden (Krieg et al., 2018) nicht mehr. Die Gründe konnten auch mit Hilfe der Firma Ecogenics nicht eruiert werden. Von den dreizehn in der Nordwestschweiz untersuchten Populationen (Krieg et al., 2016) zeigte sich dieser Locus nur in einer Population (Le Boiron, Kanton Waadt) als polymorph. Aus zeitlichen Gründen wurde auf eine weitere Untersuchung der Ursache verzichtet. Die Analyse wurde daher mit 11 (ohne AT43 und AP6) für Baselland und 12 Loci (ohne AP6) für die Nordwestschweiz (2016) durchgeführt.

Das Peak Scoring der Negativkontrolle und der zwei alten DNA Proben (BL2015 und Graubünden) sind in Anhangstabelle 16 S. 26 ersichtlich. Sie wiesen auf die Abwesenheit von Kontaminationen (negativ Kontrolle) und auf die Stabilität der Marker hin (positiv Kontrolle).

4.3 Populationsstudie

4.3.1 Allelfrequenz

Die Allel-Frequenzen der verschiedenen Loci innerhalb der einzelnen Populationen im Kanton Baselland sind in Tab. 6 zusammengefasst. Die Allel-Frequenzen aller untersuchten Populationen (Nordwestschweiz und Graubünden) sind in Anhangstabelle 17 auf S. 27 aufgeführt.

Wie aus Tab. 6 ersichtlich, verhalten sich die Loci AP3 und AIT1, innerhalb der fünf neu untersuchten Probestellen aus dem Einzugsgebiet der Birs neu als monomorph. Zudem, war der Locus AT37 auch in vier der fünf zusätzlichen Probestellen wenig variabel. Eine Ausnahme bildet der Bestand in Burg. Beim Locus AIT8 wurde eine deutliche Verschiebung des Allels 201 beobachtet, welches sich in den fünf neuen Populationen zwar als monomorph zeigte aber eine Länge von 197 bp aufwies. In der gesamten Nordwestschweiz kommt dieses Allel eher selten vor (Allel Frequenz Bonfol = 13.3 und Staffelbach = 11.36). Die Kontrolle Baselland (2015), die auf jeder Platte mitamplifiziert wurde, zeigte eine Allel Grösse von 201 bp, welche der Messung von 2015 entsprach. Dies zeigt, dass kein technisches Problem vorlag.

Da innerhalb der fünf neu untersuchten Populationen 7 von 11 Loci monomorph waren, ist die statistische Aussagekraft, der Auswertung geschwächt. Für eine Bestätigung bzw. Validierung bräuchte es zusätzliche Probenahmen in der Region.

Tab. 6: Zusammenfassung der Allel Frequenzen (p und q) der Populationen im Kanton Baselland. Einzugsgebiet Ergolz (dunkelgrün), Einzugsgebiet Birs (hellgrün).

Lokus	Probenahmestandort							
AT43	Bennoberh	Ried	Hom	Ibach	Chast	Seeba	Burg	Greif
98								
117	100.00	100.00	100.00					
Aas6	Bennoberh	Ried	Hom	Ibach	Chast	Seeba	Burg	Greif
177								
179								
181	16.67	6.67	72.73	36.36	18.18	13.64	6.52	
183	83.33	93.33	27.27	63.64	81.82	86.36	93.48	100.00
189								
192								

Lokus	Probenahmestandort							
AIT5	Bennoberh	Ried	Hom	Ibach	Chast	Seeba	Burg	Greif
236								
244								
267								
285	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
AIT7	Bennoberh	Ried	Hom	Ibach	Chast	Seeba	Burg	Greif
374								
386								
388	27.78	3.33	20.45	11.36	38.64	20.45		43.18
394	72.22	96.67	79.55	88.64	61.36	79.55	100.00	56.82
Aas3040	Bennoberh	Ried	Hom	Ibach	Chast	Seeba	Burg	Greif
221								
223	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
227								
231								
AIT8	Bennoberh	Ried	Hom	Ibach	Chast	Seeba	Burg	Greif
197				100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
201	100.00	100.00	100.00					
205								
209								
213								
AIT11	Bennoberh	Ried	Hom	Ibach	Chast	Seeba	Burg	Greif
197	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
217								
221								
238								
AT37	Bennoberh	Ried	Hom	Ibach	Chast	Seeba	Burg	Greif
238	55.56	42.31	86.36	100.00	100.00	100.00	89.58	100.00
243	44.44	57.69	13.64				10.42	
AP2	Bennoberh	Ried	Hom	Ibach	Chast	Seeba	Burg	Greif
192								
196	2.94	14.29	14.29	50.00	57.89	26.19	45.45	50.00
202	97.06	60.71	85.71	50.00	42.11	73.81	54.55	50.00
204		25.00						
AP3	Bennoberh	Ried	Hom	Ibach	Chast	Seeba	Burg	Greif
160			4.76					
162	100.00	100.00	85.71	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
168			9.52					
186								
216								
218								

Lokus	Probenahmestandort							
AIT1	Bennoberh	Ried	Hom	Ibach	Chast	Seeba	Burg	Greif
204	77.78	96.43	71.43	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
206	22.22	3.57	28.57					
208								
212								
216								
218								
Aas5	Bennoberh	Ried	Hom	Ibach	Chast	Seeba	Burg	Greif
427								
431								
433		7.14	52.27					
445								
449			2.27					
451		7.14	4.55					
455	63.89	60.71	11.36					
457				30.95	79.55	100.00	47.83	71.43
459								
467								
472	2.78							
473								
474	2.78							
475								
477	30.56	25.00	29.55	16.67			2.17	
479				52.38	20.45		50.00	28.57
481								

4.3.2 Heterozygotie und Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWE)

Alle Loci, ausser AIT5 und Aas5 innerhalb der Region Nordwestschweiz, befanden sich im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht. Betrachtet man nur die Populationen der Nordwestschweiz, liegen die Werte bei $\chi^2 = 178.9$, $Df = 208$ und $prob = 0.9$ bzw. bei $\chi^2 = 308$, $Df = 366$, wenn die untersuchten Populationen aus Graubünden (Krieg et al., 2018) miteinbezogen werden.

Die Abweichungen des Gleichgewichts bei den Loci AIT5 und Aas5 sind nicht auf die fünf neu untersuchten Populationen von Baselland zurückzuführen, sondern auf die schon beobachteten Abweichungen innerhalb der Populationen Le Boiron (LeBoir) und Riedbächli (Ried): «das Ungleichgewicht des Locus AIT5 ($\chi^2 = 13.28$, $Df = 4$, $prob = 0.009$), welches sich generell monomorph verhielt, ist vermutlich auf die niedrige Heterozygotie des Allels 244 zurückzuführen, welches innerhalb der Population LeBoir nur einmal in Kombination mit Allel 285 vorkommt, während des Homozygote Allel 244 auch vorkommt. Beim Locus Aas5 ($\chi^2 = 49.5$, $Df = 24$, $prob = 0.0016$) ist das Ungleichgewicht vermutlich Aufgrund der Populationen Le Boir und Riedbächli aufgetreten» (Krieg et al., 2016).

Bei fast allen Populationen wich die beobachtete (H_o) und erwartete Heterozygotie (H_e) nicht stark voneinander ab (Tab. 7). Aufgrund der zahlreichen Loci, die sie sich in den fünf neuen Populationen mehrheitlich monomorph verhielten, wiesen die Flusskrebse dieser Probestellen eine niedrigere Variabilität ($0.0882 < H_e < 0.1645$) im Vergleich zu anderen Regionen auf.

Wie bereits bei der Populationsstudie von 2016 beschrieben, wich die beobachtete und erwartete Heterozygotie ($H_o = 0.3387$, $H_e = 0.3982$) in der Population Le Boir (Waadt) voneinander ab (Verletzung Hardy-Weinberg-

Gleichgewicht: $\chi^2 = 39.45$, Df = 24, prob = 0.022). Diese ist vermutlich auf das Ungleichgewicht der vereinzelter Loci (AIT5, Aas5) zurückzuführen.

Tab. 7: Heterozygotie von 17 verschiedenen Populationen (8 BL, 3 JU, 2 BE, 2 AG, 2 VD) aus den Jahren 2015, 2016 und 2017. Anzahl Dohlenkrebse N = 350. SD = Standardabweichung

Population	Kanton, Einzugsgebiet	N	Loci	H _E	H _O	SD H _E	SD H _O
LesAin	JU, Birs	23	12	0.2870	0.3165	0.0683	0.0298
LeJonc	JU, Birs	20	12	0.2786	0.2588	0.0688	0.0299
Bonfol	JU, L'Allaine	18	12	0.2304	0.2213	0.0663	0.0292
Melch	BE, Aare	20	12	0.2019	0.2101	0.0555	0.0268
Orvin	BE, Aare	17	12	0.1025	0.1005	0.0569	0.0212
Zeiherr	AG, Sissle	20	12	0.3217	0.2920	0.0702	0.0303
Staffel	AG, Sissle	22	12	0.2599	0.2384	0.0666	0.0271
LeBoir	VD, Rhone	22	12	0.3982	0.3387	0.0643	0.0295
LaBrine	VD, Aare	20	12	0.2315	0.2544	0.0539	0.0288
Bennoberh	BL, Ergolz	18	12	0.1777	0.2040	0.0629	0.0275
Ried	BL, Ergolz	15	12	0.1602	0.1389	0.0694	0.0264
Hom	BL, Ergolz	22	12	0.2123	0.1968	0.0619	0.0246
Ibach	BL, Birs	22	11	0.1645	0.1767	0.0746	0.0248
Chast	BL, Birs	22	11	0.1476	0.1375	0.0640	0.0223
Seeba	BL, Birs	22	11	0.0882	0.0754	0.0467	0.0170
Burg	BL, Birsig	25	11	0.1232	0.1160	0.0622	0.0200
Greif	BL, Birs	22	11	0.1302	0.1458	0.0676	0.0227

4.3.3 Kopplungsgleichgewicht

Die Überprüfung des Kopplungs-Ungleichgewichts zeigt, ob die Abweichungen des HWE auf die Kopplung eines gewissen Loci zurückzuführen ist. Sind zwei Loci gekoppelt, wurden diese somit nicht unabhängig vererbt. Dies würde die Variabilität innerhalb der Population erniedrigen und die Annahme des HWE verletzen. Wenn die Loci von allen Populationen zusammen und die Populationen miteinander verglichen werden, scheint keiner der Loci abhängig vererbt zu sein ($p > 0.05$).

4.3.4 F-Statistik und genetische Differenzierung

Der Inzuchtindex F_{IS} innerhalb der verglichenen Populationen der Nordwestschweiz (Tab. 8) liegt zwischen -0.1534 (Bennoberh, BL) und 0.1483 (Leboir, VD). Starke Variationen von 0 wurden in keiner Population festgestellt, was gegen Inzucht und für eine messbare Variabilität spricht.

Tab. 8: Inzuchtindex innerhalb der Populationen (für eine Population ist $F_{IS} = (H_E - H_O) / H_E$).

Population	Kanton, Einzugsgebiet	F_{IS}
LesAins	JU, Birs	-0.0832
LeJonc	JU, Birs	0.0769
Bofol	JU, L'Allaine	0.0453
Merch	BE, Aare	-0.0416
Orvin	BE, Aare	0.0174
Zeiber	AG, Sissle	0.0983
Staffel	AG, Sissle	0.0736
LeBoir	VD, Rhone	0.1483
LaBrine	VD, Aare	-0.1014

Population	Kanton, Einzugsgebiet	F_{IS}
Bennoberh	BL, Ergolz	-0.1534
Ried	BL, Ergolz	0.1400
Hom	BL, Ergolz	0.0763
Ibach	BL, Birs	-0.0764
Chast	BL, Birs	0.0662
Seeba	BL, Birs	0.1436
Burg	BL, Birsig	0.0612
Greif	BL, Birs	-0.1293

Um die Fragmentierung der Populationen und somit die genetische Differenzierung zwischen Populationen zu untersuchen, wurden die F_{ST} -Werte berechnet. Diese Art Analyse dient dazu, zu erkennen ob eine Population im Vergleich zu einer anderen genetisch kaum ($F_{ST} \sim 0$) oder stark differenziert ($F_{ST} \sim 1$) ist. Maximalwerte sind selten oberhalb von 0.5. Die F_{ST} -Werte zwischen den untersuchten Populationen der Region Nordwestschweiz sind in Tab. 9 (S. 16) Szusammengefasst.

Die 2016 untersuchten Populationen unterschieden sich stark zu den fünf neu untersuchten Populationen. Dies ist unter anderem auf den Lokus AIT8 zurückzuführen (Baselland 2015: monomorph für das Allel 201; Baselland 2017: monomorph für das Allel 197). Wenn der Lokus AIT8 aus der Analyse ausgeschlossen wird, scheinen sich die Populationen weniger zu unterscheiden ($F_{ST} < 0.5$). Auf den Ausschluss von Lokus AIT8 sollte jedoch verzichtet werden, bis das verbreitete Vorhandensein des Allels 197 bestätigt oder verworfen werden kann (Tab. 10, S. 17). Wie oben erwähnt, kann eine technische Abweichung sehr wahrscheinlich ausgeschlossen werden. Aus diesem Grund gilt die Tab. 10 als Unterstützung für die Datenanalyse und nicht für die Schlussfolgerung in Bezug auf die Stärke der Differenzierung.

Alle Populationen innerhalb der Region Nordwestschweiz unterscheiden sie sich signifikant voneinander ($p < 0.05$). Die genetische Differenzierung (F_{ST}) scheint zwischen den Populationen Melch (BE) und Seeba (BL) am ausgeprägten zu sein ($F_{ST} = 0.7008$), während die Populationen von Chast und Greif (BL) am ähnlichsten zu sein scheinen ($F_{ST} = 0.0092$).

Die Differenzierung in der Region Nordwestschweiz ist sehr variabel und zum Teil stark ausgeprägt (Melch (BE) und Seeba (BL): $F_{ST} = 0.7008$). F_{ST} -Werte höher als 0.5 bis 0.6 sollten mit Vorsicht betrachtet werden. Dies auch Aufgrund der Beobachtung, dass die F_{ST} Werte unter 0.6 sinken, wenn der Lokus AIT8 ausgeschlossen wird (Anhangstabelle 18, S. 28).

Obwohl sich die Regionen Nordwestschweiz und Graubünden nicht direkt vergleichen lassen ($F_{ST} > 0.6$), wurde hier trotzdem eine gesamte Analyse der F_{ST} -Werte durchgeführt (inkl. der Lokus AIT8) und in der Tab. 11 (S. 18) zusammengestellt. Wie bereits bei der Untersuchung in Graubünden (Krieg et al., 2018) festgestellt, differenzieren sich die Populationen der Regionen Nordwestschweiz und Graubünden so stark voneinander, dass keine Schlussfolgerungen über die genetische Differenzierung gezogen werden kann. Die Ergebnisse sollten daher nur innerhalb der einzelnen geografischen Regionen stattfinden.

Jura				Bern		Aarau		Waadt		Baselland						
	LesAins	LeJonc	Bofol	Melch	Orvin	Zelher	Staffel	LeBoir	LaBrine	Benneober	Ried	Hom	Iba	Chast	Seeba	Burg
JU	LeJonc	0.1426														
	Bofol	0.188	0.1037													
BE	Melch	0.4902	0.4125	0.4854												
	Orvin	0.3363	0.2547	0.1818	0.6176											
AG	Zelher	0.3094	0.2123	0.2563	0.1935	0.3897										
	Staffel	0.3215	0.1351	0.2068	0.2944	0.4128	0.1522									
VD	LeBoir	0.2014	0.1312	0.1271	0.2113	0.2242	0.0482	0.1311								
	LaBrine	0.3544	0.2328	0.1997	0.4694	0.4233	0.2244	0.1968								
	Benneober	0.3163	0.2067	0.0877	0.4997	0.3794	0.2790	0.2203	0.1545	0.2044						
	Ried	0.3154	0.2053	0.0870	0.5532	0.3371	0.2837	0.2802	0.1674	0.1793	0.0777					
	Hom	0.3702	0.1614	0.2139	0.3166	0.3831	0.2361	0.0767	0.1665	0.2913	0.2213			0.2958		
	Iba	0.3771	0.3131	0.3590	0.6071	0.4975	0.4545	0.4060	0.3520	0.4685	0.4941	0.5018	0.4378			
BL	Chast	0.3820	0.3883	0.4102	0.6247	0.5520	0.4823	0.4639	0.3758	0.5187	0.5341	0.5511	0.5072	0.1334		
	Seeba	0.4495	0.4378	0.4557	0.7008	0.6481	0.5590	0.5134	0.4541	0.5508	0.5754	0.6076	0.5485	0.2521	0.0968	
	Burg	0.4137	0.3893	0.3939	0.6773	0.5454	0.5165	0.4937	0.4071	0.4864	0.5296	0.5257	0.5195	0.0641	0.1459	0.2171
	Greif	0.3866	0.4202	0.4136	0.6532	0.5670	0.5122	0.4985	0.3923	0.5299	0.5379	0.5605	0.5342	0.1689	0.0092	0.1301
																0.1400

Tab. 9: Genetische Differenzierung der Populationen in der Nordwestschweiz (F_{ST} -Werte) Stärkste Differenzierung: Melchnau und Orvin $F_{ST} = 0.7008$ (blau), tiefste: Chast und Greif $F_{ST} = 0.0092$ (gelb).

Tab. 10: Genetische Differenzierung aufgrund von 11 bzw. 10 Loci (AIT8 wurde hier ausgeschlossen) der Populationen innerhalb Kanton Baselland.

		Baselland 2015			Baselland 2018			
		Benneober	Ried	Hom	Iba	Chast	Seeba	Burg
Baselland 2015	Ried	0.0777						
	Hom	0.2213	0.2958					
Baselland 2018	Iba	0.3117	0.3138	0.2349				
	Chast	0.3728	0.3915	0.3494	0.1334			
	Seeba	0.4044	0.4439	0.3894	0.2521	0.0968		
	Burg	0.3418	0.3122	0.3537	0.0641	0.1459	0.2171	
	Greif	0.3692	0.3952	0.3889	0.1689	0.0092	0.1301	0.1400

Region Graubünden														Region Nordwestschweiz													
	Gaun	Ilanz	Ore	Gru	Caz	Mul	Bon	Farch	Domle	Cal	LaGr	Obe	Zez	Gn	Old	arAns	Jura	Basel	Mech	Ovvin	Zeller	Aarau	Stärf	Leifer	Waldt	Baselland 2015	Baselland 2018
Graubünden	Ilanz	0.1735																									
	Ore	0.1646	0.1375																								
	Gru	0.2372	0.2277	0.2878																							
	Mul	0.3372	0.2522	0.2479	0.2537	0.3431																					
	Bon	0.1105	0.2937	0.3702	0.3892	0.3579	0.3105																				
	Farch	0.2853	0.1897	0.1302	0.1130	0.1455	0.4678	0.1371																			
	Domle	0.2377	0.0401	0.1201	0.2700	0.2653	0.3419	0.3798	0.1371																		
	Cal	0.4551	0.3797	0.3901	0.4045	0.4052	0.4598	0.2798	0.3798																		
	Caz	0.3759	0.3331	0.3754	0.3530	0.3649	0.3197	0.4439	0.4639	0.5161																	
	LaGr	0.2935	0.2184	0.2160	0.2092	0.2131	0.2063	0.2322	0.1504	0.2896	0.1836																
	Obe	0.2568	0.1742	0.1897	0.1622	0.1463	0.2032	0.2204	0.1449	0.2869	0.1904	0.0142															
	Zez	0.2875	0.2863	0.2845	0.2177	0.2413	0.2627	0.3288	0.3102	0.2894	0.0142	0.0702	0.0988														
	Gn	0.4482	0.3686	0.3648	0.4616	0.3534	0.3849	0.3335	0.2524	0.5171	0.2211	0.2277	0.4082	0.0580	0.1463												
	Old	0.2512	0.3186	0.2323	0.2853	0.2450	0.3292	0.2811	0.5817	0.0186	0.1454	0.1623	0.2277	0.0580	0.1463												
	Jura	0.6693	0.6155	0.6827	0.6927	0.6895	0.7319	0.6511	0.6432	0.6897	0.7782	0.6542	0.5599	0.7124	0.7014	0.7602	0.1426	0.1017	0.1880	0.1439	0.1107	0.1111	0.1104	0.1104	0.1104	0.1104	
	Bern	0.7098	0.6606	0.7038	0.7223	0.6721	0.7625	0.7003	0.6704	0.7111	0.8124	0.6923	0.6345	0.7125	0.7439	0.7464	0.1802	0.1017	0.1880	0.1439	0.1107	0.1111	0.1104	0.1104	0.1104	0.1104	
	Aarau	0.7218	0.6692	0.7026	0.7209	0.6721	0.7625	0.7003	0.6704	0.7111	0.8124	0.6923	0.6345	0.7125	0.7439	0.7464	0.1802	0.1017	0.1880	0.1439	0.1107	0.1111	0.1104	0.1104	0.1104	0.1104	
	Waldt	0.7218	0.6692	0.7026	0.7209	0.6721	0.7625	0.7003	0.6704	0.7111	0.8124	0.6923	0.6345	0.7125	0.7439	0.7464	0.1802	0.1017	0.1880	0.1439	0.1107	0.1111	0.1104	0.1104	0.1104	0.1104	
	Baselland 2015	Basel	0.6911	0.5699	0.6021	0.5974	0.5651	0.6646	0.5945	0.5604	0.6141	0.7002	0.5785	0.5166	0.5880	0.5391	0.6694	0.5014	0.1112	0.1271	0.2113	0.2242	0.0462	0.1111	0.1104	0.1104	0.1104
Basel		0.7023	0.7202	0.7264	0.7817	0.7291	0.8136	0.7659	0.7609	0.7693	0.7448	0.8446	0.7746	0.7413	0.7863	0.7772	0.8329	0.2067	0.8977	0.6977	0.794	0.2790	0.2201	0.1345	0.2044	0.0777	
Basel		0.7283	0.6800	0.7143	0.7319	0.6813	0.7771	0.7980	0.7225	0.8206	0.6881	0.6454	0.7627	0.7431	0.8054	0.7392	0.8184	0.2138	0.3166	0.3931	0.2301	0.0927	0.2213	0.2213	0.2213	0.2213	
Basel		0.7283	0.6800	0.7143	0.7319	0.6813	0.7771	0.7980	0.7225	0.8206	0.6881	0.6454	0.7627	0.7431	0.8054	0.7392	0.8184	0.2138	0.3166	0.3931	0.2301	0.0927	0.2213	0.2213	0.2213	0.2213	
Baselland 2018	Basel	0.7489	0.7264	0.7435	0.8025	0.7486	0.8172	0.7615	0.7911	0.7809	0.8621	0.7561	0.7952	0.8092	0.8035	0.8580	0.8802	0.4102	0.6247	0.5520	0.4823	0.4823	0.4823	0.4823	0.4823	0.4823	
	Basel	0.7489	0.7264	0.7435	0.8025	0.7486	0.8172	0.7615	0.7911	0.7809	0.8621	0.7561	0.7952	0.8092	0.8035	0.8580	0.8802	0.4102	0.6247	0.5520	0.4823	0.4823	0.4823	0.4823	0.4823	0.4823	
	Basel	0.7489	0.7264	0.7435	0.8025	0.7486	0.8172	0.7615	0.7911	0.7809	0.8621	0.7561	0.7952	0.8092	0.8035	0.8580	0.8802	0.4102	0.6247	0.5520	0.4823	0.4823	0.4823	0.4823	0.4823	0.4823	
	Basel	0.7489	0.7264	0.7435	0.8025	0.7486	0.8172	0.7615	0.7911	0.7809	0.8621	0.7561	0.7952	0.8092	0.8035	0.8580	0.8802	0.4102	0.6247	0.5520	0.4823	0.4823	0.4823	0.4823	0.4823	0.4823	
Baselland 2018	Basel	0.7892	0.7418	0.7778	0.8202	0.7615	0.8310	0.7682	0.7480	0.8224	0.8786	0.7420	0.7214	0.7287	0.8133	0.8720	0.6495	0.6716	0.6557	0.7030	0.4841	0.5590	0.5134	0.4541	0.5598	0.5754	0.5988
	Basel	0.7892	0.7418	0.7778	0.8202	0.7615	0.8310	0.7682	0.7480	0.8224	0.8786	0.7420	0.7214	0.7287	0.8133	0.8720	0.6495	0.6716	0.6557	0.7030	0.4841	0.5590	0.5134	0.4541	0.5598	0.5754	0.5988
	Basel	0.7903	0.7506	0.7796	0.8226	0.7643	0.8331	0.7715	0.7514	0.8257	0.8819	0.7565	0.7362	0.7437	0.8251	0.8819	0.6509	0.6730	0.6569	0.7042	0.4850	0.5322	0.4895	0.5329	0.5676	0.5931	0.6100
	Basel	0.7903	0.7506	0.7796	0.8226	0.7643	0.8331	0.7715	0.7514	0.8257	0.8819	0.7565	0.7362	0.7437	0.8251	0.8819	0.6509	0.6730	0.6569	0.7042	0.4850	0.5322	0.4895	0.5329	0.5676	0.5931	0.6100

Tab. 11: Genetische Differenzierung aller in der Schweiz untersuchten Populationen. Ein direkter Vergleich zwischen den zwei Regionen ist nicht möglich.

5. Diskussion

5.1 Laboruntersuchung

Die 13 Loci, welche in drei Multiplex PCR amplifiziert wurden, eignen sich für Populationsstudien von *Austropotamobius pallipes*. Eine technische Optimierung der Reaktionen ist dennoch notwendig (z.B. Locus Ap6, welcher für diese Studie aus der Analyse ausgeschlossen wurde). Im Vergleich zu Graubünden verhalten sich mehrere Loci in der Nordwestschweiz monomorph. Insbesondere in den fünf zusätzlichen Populationen von Baselland (2017) sind 7 Loci monomorph.

5.2 Genetische Differenzierung der Populationen im Kanton Baselland

Alle Populationen differenzieren sich stark voneinander. Dies ist auf die geringe Mobilität der Flusskrebse zurückzuführen, welche einen geringen genetischen Austausch zur Folge hat (Vorburger & Alder, 2017). Die Untersuchung zeigt eindeutig, dass sich die untersuchten Populationen des Einzugsgebiets der Ergolz zu dem der Birs genetisch unterscheiden.

5.3 Genetische Variabilität und Inzucht der Populationen im Kanton Baselland

Die genetische Variabilität der untersuchten Populationen im Einzugsgebiet der Birs scheint niedriger als die beim Genpoolstandort Bubendorf. Ein Vergleich der genetischen Variabilität der beiden Einzugsgebiete sollte aber nicht gemacht werden, da sie sich genetisch stark unterscheiden und die geringere genetische Variabilität auf die zahlreichen monomorphen Loci im Birs-Einzugsgebiet zurückzuführen sind.

Die angesiedelte Population im Birsig (Burg bei Leymen) weist einen Inzuchtindex von $F_{IS} = 0.0612$ auf und ist damit die am stärksten von Inzucht gefährdete Population. Dies liegt an der geringen Zahl an Besatztieren, die für die Ansiedlung verwendet wurde. Die Chastelbach-Population scheint stark isoliert zu sein bzw. leidet ebenfalls unter dem Gründereffekt und weist aus diesem Grund ebenfalls einen niedrigen Inzuchtindex ($F_{IS} = 0.0662$) auf. Die Populationen des Bennwilerbaches ($F_{IS} = 0.1534$), des Riedbächlis ($F_{IS} = 0.1400$) und des Seebaches ($F_{IS} = 0.1436$) zeigen kaum Anzeichen für Inzucht. Dies kann auf die grossen zusammenhängenden Bestände zurückgeführt werden (Vorburger & Alder, 2017).

5.4 Empfehlungen für Besatz und Umsiedlungsmassnahmen

Aufgrund der ausgeprägten genetischen Differenzierung der Populationen aus dem Einzugsgebiet der Ergolz und der Birs dürfen keine Tiere der beiden Einzugsgebiete ins jeweilige andere eingesetzt werden. Innerhalb der jeweiligen Einzugsgebiete empfiehlt es sich geografisch möglichst nahe vorkommende Besatztiere zu wählen und auch auf die genetische Vielfalt (H_E) und den Inzuchtindex (F_{IS} -Werte) zu achten. In Tab. 13 sind die Standorte der einzelnen Einzugsgebiete nach genetischer Variabilität und Inzuchtindex aufgelistet.

Tab. 13: Auflistung der F_{IS} -Werte und H_E -Werte der Einzugsgebiete Birs und Ergolz nach Rang.

Rang	Population, Einzugsgebiet	F_{IS} -Wert	Rang	Population, Einzugsgebiet	H_E
1	Bennwilerbach, Ergolz	-0.1534	1	Homburgerbach, Ergolz	0.2123
2	Seebach, Birs	0.1436	2	Bennwilerbach, Ergolz	0.1777
3	Riedbächli, Ergolz	0.1400	3	Ibach, Birs	0.1645
4	Greiflbach, Birs	-0.1293	4	Riedbächli, Ergolz	0.1602
5	Ibach, Birs	-0.0764	5	Chastelbach, Birs	0.1476
6	Homburgerbach, Ergolz	0.0763	6	Greiflbach, Birs	0.1302
7	Chastelbach, Birs	0.0662	7	Birsig bei Burg, Birsig	0.1232
8	Birsig bei Burg, Birsig	0.0612	8	Seebach, Birs	0.0882

5.5 Empfehlungen für die Lützel

Aufgrund der Möglichkeit, dass einzelne Dohlenkrebse nach dem Krebspestausbuch überlebt haben, wie dies bei Edelkrebsen in Finnland (J. Jussila, Makkonen, Vainikka, Kortet, & Kokko, 2011), Galizischen Sumpfkrebse in der Türkei (Svoboda et al., 2012), Steinkrebse in Slowenien (Japo Jussila et al., 2017) und Dohlenkrebsen im Jura (pers. Beobachtung) bereits beobachtet wurde, sollte noch bis 2020 ein Monitoring stattfinden, um mögliche überlebende Individuen zu finden. Es wird empfohlen mithilfe von eDNA Probenahmen das Vorhandensein der Krebspest und invasiven Signalkrebse aus der Birs zu überprüfen. Dies soll verhindern, dass eingesetzte Dohlenkrebse an der Krebspest sterben bzw. über kurz oder lang von den stärkeren Signalkrebse verdrängt werden (Holdich, Reader, Rogers, & Harlioglu, 1995). Stützbesatzmassnahmen können aus der Population bei Burg genommen werden, da diese noch die ursprünglichste Lützel-Genetik aufweisen. Die Methodik Jungtiere von gefangenen Weibchen künstlich aufzuziehen, hat sich in anderen Kantonen bereits bewährt und schwächt die kleine Population bei Burg weniger, als wenn adulte Tiere umgesetzt werden.

Dohlenkrebse aus anderen Gewässern innerhalb des Birs-Einzugsgebietes sollten abhängig von der Bestandsgrösse ebenfalls verwendet werden. Dabei sind die Population aus dem Greifenbach und Ibach zu bevorzugen, da sie einen geringen Inzuchtindex und eine hohe genetische Variabilität aufwiesen.

Sollte der Fokus auf einer möglichst hohen genetischen Ähnlichkeit zur ursprünglichen Genetik aus der Lützel liegen, sind die Populationen Ibach, Chastelerbach und Greifenbach zu bevorzugen. Die Population Seebach weist zwar einen geringen Inzuchtindex auf, hat jedoch eine geringe genetische Variabilität und ist zu der Population in Burg («Lützel-Genetik») am stärksten genetisch differenziert.

Welcher Bestand für einen Wiederbesatz auszuwählen ist, hängt auch von der Anzahl verfügbarer Dohlenkrebsen im Gewässer ab, was vorgängig abgeklärt werden muss. Es wird empfohlen eine Fachperson für die Ausarbeitung des Massnahmenplans einzubeziehen und alle Faktoren zu berücksichtigen.

Ob ein Besatz der Lützel mit Tieren verschiedener Populationen aus dem Einzugsgebiet der Birs Sinn macht, muss zuerst abgeklärt werden. Es gäbe die Möglichkeit definierte Abschnitte der Lützel mit Tieren aus verschiedenen Populationen (zB. Birsig bei Burg, Ibach und Greifenbach) zu besetzen und so über lange Zeit eine höhere genetische Variabilität in der Lützel zu erhalten.

Die Autoren bieten ihre fachliche Unterstützung bei der Umsetzung der Massnahmen anhand der Ergebnisse an und stehen bei Fragen zur Verfügung.

6. Referenzen

- Babbi, M. (2008). Umsiedlung von Dohlenkrebsen (*Austropotamobius pallipes*): Erkenntnisse aus dem Kanton Basel-Landschaft. Bachelorarbeit, Zürcher Hochschule Für Angewandte Wissenschaften: 79 S.
- BAFU. (2011). Liste der National Prioritären Arten. Arten mit nationaler Priorität für die Erhaltung und Förderung, Stand 2010. Bundesamt Für Umwelt, Bern. Umwelt-Vollzug Nr. 1103: 132 S.
- Collas, M., Becking, T., Delpy, M., Pflieger, M., Bohn, P., Reynolds, J., & Grandjean, F. (2016). Monitoring of white-clawed crayfish (*Austropotamobius pallipes*) population during a crayfish plague outbreak followed by rescue. Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems, 417(1): 8 S.
- Holdich, D. M., Reader, J. P., Rogers, W. D., & Harlioglu, M. (1995). Interactions between three species of crayfish (*Austropotamobius pallipes*, *Astacus leptodactylus* and *Pacifastacus leniusculus*). Freshwater Crayfish, 10: S. 46–56.
- Jussila, J., Makkonen, J., Vainikka, A., Kortet, R., & Kokko, H. (2011). Latent crayfish plague (*Aphanomyces astaci*) infection in a robust wild noble crayfish (*Astacus astacus*) population. Aquaculture, 321(1–2): S. 17–20.
- Jussila, J., Vrezec, A., Jakli, T., Kukkonen, H., Makkonen, J., & Kokko, H. (2017). *Aphanomyces astaci* isolate from latently infected stone crayfish (*Austropotamobius torrentium*) population is virulent. Journal of Invertebrate Pathology, 149: S. 15–20.
- Krieg, R., Weston, A., & Zenker, A. (2016). Massnahmen zum Erhalt der Dohlenkrebs-Genpool-Standorte «Bubendorf», «Lützel», «Pampigny-Apples-Yens», «Coisins», «Courgenay-Cornol-Miécourt» sowie genetische Charakterisierung der Populationen. Enbericht, 64 S.
- Krieg, R., Weston, A., & Zenker, A. (2018). Populationsgenetische Untersuchungen der Dohlenkrebse im Kanton Graubünden. Endbericht: 39 S.
- Stucki, P., & Zaugg, B. (2011). Aktionsplan Flusskrebse Schweiz. Artenförderung von Edelkrebs, Dohlenkrebs Und Steinkrebs. Bundesamt Für Umwelt, Bern. Umwelt-Vollzug Nr. 1104: 61 S.
- Svoboda, J., Kozubíková, E., Kozák, P., Kouba, a, Bahadir Koca, S., Diler, O., Petrusek, A. (2012). PCR detection of the crayfish plague pathogen in narrow-clawed crayfish inhabiting Lake Eğirdir in Turkey. Diseases of Aquatic Organisms, 98(3): S. 255–9.
- Vorburger, C., & Alder, L. (2017). Die genetische Populationsstruktur des Steinkrebse (*Austropotamobius torrentium*) in der Region des Tannenbergs, Kanton St. Gallen: 8 S.

7. Anhang

Anhangstabelle 14: Miteinbezogene Daten aus Krieg et al. (2016 und 2018).

Kanton	Bezeichnung Standort	Gewässername/Ort	Probenahme	Koordinaten CH1903 / LV03	
				X	Y
Aargau	Zeiher	Zeiherbach	2016	647290	260415
Aargau	Staffel	Staffeleggbach	2016	645346	260488
Bern	Melch	Hinderwilbach/ Steinhofbächli	2016	618536	224864
Bern	Orvin	L'Orvine	2016	584369	223515
Jura	LesAin	Les petites Angles	2016	586897	243014
Jura	LeJonc	Ruisseau du Jonc	2016	577337	250275
Jura	Bonfol	Le Corbery	2016	578936	257719
Waadt	LeBoir	Le Boiron	2016	2519762	154406
Waadt	LaBrine	La Brine	2016	533844	183119
Graubünden	Caum	Caumasee	2017	741590	187038
Graubünden	Ila	Ilanz	2017	733867	181829
Graubünden	Cre	Crestasee	2017	743609	188438
Graubünden	Gru	Grüsch	2017	769049	205306
Graubünden	Caz	Cazis	2017	751917	178402
Graubünden	Mul	Mulin	2017	736413	181547
Graubünden	Bon	Bonaduz	2017	748383	186030
Graubünden	Fars	Farschlein	2017	736705	182624
Graubünden	Doml	Domleschg	2017	752064	179775
Graubünden	Cal	Caluori	2017	760899	197551
Graubünden	Grond	Lag Grond	2017	738157	185813
Graubünden	Obe	Oberst	2017	738520	184805
Graubünden	Zize	Zizers	2017	761431	199202
Graubünden	Can	Canovasee	2017	753795	179247
Graubünden	Old	Oldis	2017	759946	195514

Anhangstabelle 15: Zusätzliche Informationen zu den einzelnen neuen Proben.

Bezeichnung Probenahme	Gewässername	Datum	Name ID	Konz. (ng/μ)	Genotyp ID
Ibach	Ibach	30.08.2017	180126-01	32.1	Ibach_1
Ibach	Ibach	30.08.2017	180126-02	133.4	Ibach_2
Ibach	Ibach	30.08.2017	180126-03	69.2	Ibach_3
Ibach	Ibach	30.08.2017	180126-04	115.6	Ibach_4
Ibach	Ibach	30.08.2017	180126-05	96.8	Ibach_5
Ibach	Ibach	30.08.2017	180126-06	75.5	Ibach_6
Ibach	Ibach	30.08.2017	180126-07	131.1	Ibach_7
Ibach	Ibach	30.08.2017	180126-08	96.5	Ibach_8
Ibach	Ibach	30.08.2017	180126-09	98.8	Ibach_9
Ibach	Ibach	30.08.2017	180126-10	89	Ibach_10
Ibach	Ibach	30.08.2017	180126-11	90.5	Ibach_11
Ibach	Ibach	30.08.2017	180126-12	74.7	Ibach_12
Ibach	Ibach	30.08.2017	180126-13	107.6	Ibach_13
Ibach	Ibach	30.08.2017	180126-14	90.8	Ibach_14
Ibach	Ibach	30.08.2017	180126-15	78.5	Ibach_15
Ibach	Ibach	30.08.2017	180126-16	77.1	Ibach_16
Ibach	Ibach	30.08.2017	180126-17	70.9	Ibach_17
Ibach	Ibach	30.08.2017	180126-18	116.4	Ibach_18
Ibach	Ibach	30.08.2017	180126-19	133.5	Ibach_19
Ibach	Ibach	30.08.2017	180126-20	147.1	Ibach_20
Ibach	Ibach	30.08.2017	180126-21	84.6	Ibach_21
Ibach	Ibach	30.08.2017	180126-22	68.7	Ibach_22
Chast	Chastelbach	23.09.2017	180130-01	93.4	Chast_1
Chast	Chastelbach	23.09.2017	180130-02	110.8	Chast_2
Chast	Chastelbach	23.09.2017	180130-03	130.6	Chast_3
Chast	Chastelbach	23.09.2017	180130-04	133.5	Chast_4
Chast	Chastelbach	23.09.2017	180130-05	57.4	Chast_5
Chast	Chastelbach	23.09.2017	180130-06	77.5	Chast_6
Chast	Chastelbach	23.09.2017	180130-07	104.8	Chast_7
Chast	Chastelbach	23.09.2017	180130-08	38.3	Chast_8
Chast	Chastelbach	23.09.2017	180130-09	117.3	Chast_9
Chast	Chastelbach	23.09.2017	180130-10	52.8	Chast_10
Chast	Chastelbach	23.09.2017	180130-11	44.7	Chast_11
Chast	Chastelbach	23.09.2017	180130-12	106.6	Chast_12
Chast	Chastelbach	23.09.2017	180130-13	91.5	Chast_13
Chast	Chastelbach	23.09.2017	180130-14	108.8	Chast_14
Chast	Chastelbach	23.09.2017	180130-15	35.2	Chast_15
Chast	Chastelbach	23.09.2017	180130-16	160.4	Chast_16
Chast	Chastelbach	23.09.2017	180130-17	85.1	Chast_17
Chast	Chastelbach	23.09.2017	180130-18	93.1	Chast_18
Chast	Chastelbach	23.09.2017	180130-19	107.9	Chast_19
Chast	Chastelbach	23.09.2017	180130-20	74.3	Chast_20
Chast	Chastelbach	23.09.2017	180130-21	79.4	Chast_21

Bezeichnung Probenahme	Gewässername	Datum	Name ID	Konz. (ng/μ)	Genotyp ID
Chast	Chastelbach	23.09.2017	180130-22	100.1	Chast_22
Seeba	Seebach	25.09.2017	N-180130-01	94.6	Seeba_1
Seeba	Seebach	25.09.2017	N-180130-02	132.6	Seeba_2
Seeba	Seebach	25.09.2017	N-180130-03	87.6	Seeba_3
Seeba	Seebach	25.09.2017	N-180130-04	150.4	Seeba_4
Seeba	Seebach	25.09.2017	N-180130-05	262.9	Seeba_5
Seeba	Seebach	25.09.2017	N-180130-06	111.3	Seeba_6
Seeba	Seebach	25.09.2017	N-180130-07	80.3	Seeba_7
Seeba	Seebach	25.09.2017	N-180130-08	164.2	Seeba_8
Seeba	Seebach	25.09.2017	N-180130-09	113.1	Seeba_9
Seeba	Seebach	25.09.2017	N-180130-10	140.8	Seeba_10
Seeba	Seebach	25.09.2017	N-180130-11	69.3	Seeba_11
Seeba	Seebach	25.09.2017	N-180130-12	109.9	Seeba_12
Seeba	Seebach	25.09.2017	N-180130-13	54.7	Seeba_13
Seeba	Seebach	25.09.2017	N-180130-14	190.4	Seeba_14
Seeba	Seebach	25.09.2017	N-180130-15	189.1	Seeba_15
Seeba	Seebach	25.09.2017	N-180130-16	218.8	Seeba_16
Seeba	Seebach	25.09.2017	N-180130-17	278.2	Seeba_17
Seeba	Seebach	25.09.2017	N-180130-18	94.2	Seeba_18
Seeba	Seebach	25.09.2017	N-180130-19	176.4	Seeba_19
Seeba	Seebach	25.09.2017	N-180130-20	201.7	Seeba_20
Seeba	Seebach	25.09.2017	N-180130-21	285.8	Seeba_21
Seeba	Seebach	25.09.2017	N-180130-22	258.3	Seeba_22
Burg	Birsig	Sep 16	180219-01	51.6	Burg_1
Burg	Birsig	Sep 16	180219-02	142.4	Burg_2
Burg	Birsig	Sep 16	180219-03	14.5	Burg_3
Burg	Birsig	Sep 16	180219-04	127.6	Burg_4
Burg	Birsig	Sep 16	180219-05	99.9	Burg_5
Burg	Birsig	Sep 16	180219-06	130.7	Burg_6
Burg	Birsig	Sep 16	180219-07	83.3	Burg_7
Burg	Birsig	Sep 16	180219-08	73	Burg_8
Burg	Birsig	Sep 16	180219-09	41.5	Burg_9
Burg	Birsig	Sep 16	180219-10	30.5	Burg_10
Burg	Birsig	Sep 16	180219-11	148.8	Burg_11
Burg	Birsig	Sep 16	180219-12	85.4	Burg_12
Burg	Birsig	Sep 16	180219-13	80.2	Burg_13
Burg	Birsig	Sep 16	180219-14	123.1	Burg_14
Burg	Birsig	Sep 16	180219-15	15.3	Burg_15
Burg	Birsig	Sep 16	180219-16	30.9	Burg_16
Burg	Birsig	Sep 16	180219-17	16.1	Burg_17
Burg	Birsig	Sep 16	180219-18	27.8	Burg_18
Burg	Birsig	Sep 16	180219-19	32.6	Burg_19
Burg	Birsig	Sep 16	180219-20	20.3	Burg_20

Bezeichnung Probenahme	Gewässername	Datum	Name ID	Konz. (ng/μ)	Genotyp ID
Burg	Birsig	Sep 16	180220-21	54.1	Burg_21
Burg	Birsig	Sep 16	180220-22	4.6	Burg_22
Burg	Birsig	Sep 16	180220-23	11.5	Burg_23
Burg	Birsig	Sep 16	180220-24	31	Burg_24
Burg	Birsig	Sep 16	180220-25	104	Burg_25
Greif	Greifelbach	30.08.2017	180223-01	94.5	Greif_1
Greif	Greifelbach	30.08.2017	180223-02	46.4	Greif_2
Greif	Greifelbach	30.08.2017	180223-03	70.5	Greif_3
Greif	Greifelbach	30.08.2017	180223-04	63.9	Greif_4
Greif	Greifelbach	30.08.2017	180223-05	70.5	Greif_5
Greif	Greifelbach	30.08.2017	180223-06	74.8	Greif_6
Greif	Greifelbach	30.08.2017	180223-07	69.8	Greif_7
Greif	Greifelbach	30.08.2017	180223-08	35	Greif_8
Greif	Greifelbach	30.08.2017	180223-09	66.5	Greif_9
Greif	Greifelbach	30.08.2017	180223-10	80.2	Greif_10
Greif	Greifelbach	30.08.2017	180223-11	76.3	Greif_11
Greif	Greifelbach	30.08.2017	180223-12	65.8	Greif_12
Greif	Greifelbach	30.08.2017	180223-13	77.2	Greif_13
Greif	Greifelbach	30.08.2017	180223-14	75.9	Greif_14
Greif	Greifelbach	30.08.2017	180223-15	97	Greif_15
Greif	Greifelbach	30.08.2017	180223-16	53.5	Greif_16
Greif	Greifelbach	30.08.2017	180223-17	72.4	Greif_17
Greif	Greifelbach	30.08.2017	180223-18	44.6	Greif_18
Greif	Greifelbach	30.08.2017	180223-19	82	Greif_19
Greif	Greifelbach	30.08.2017	180223-20	46.2	Greif_20
Greif	Greifelbach	30.08.2017	180223-21	46.3	Greif_21
Greif	Greifelbach	30.08.2017	180223-22	70.3	Greif_22

Anhangstabelle 16: PCR-Kontrolle mit Wasser (negativ Kontrolle) und zwei alten DNA Proben (positiv Kontrolle).

Probe	Kanton	AT43	Aas6	AIT5	AIT7	Aas3040	AIT8	AIT11	AT37	AP2	AP3	AIT1	Aas5
H ₂ O_1	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H ₂ O_2	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H ₂ O_3	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H ₂ O_4	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
GR2017_1	Graubünden	0	192	245	386	227	205	217	238	196	186	212	0
	Graubünden	0	192	245	386	227	205	217	238	196	186	212	0
GR2017_2	Graubünden	0	192	244	386	227	205	217	238	196	186	212	0
	Graubünden	0	192	244	386	227	205	217	238	196	186	212	0
GR2017_3	Graubünden	0	192	244	386	227	205	217	238	196	186	212	0
	Graubünden	0	192	244	386	227	205	217	238	196	186	212	0
GR2017_4	Graubünden	0	0	0	0	227	205	217	238	196	186	212	0
	Graubünden	0	0	0	0	227	205	217	238	196	186	212	0
BL2016_1	Baselland	0	181	285	394	223	201	197	238	0	162	204	457
	Baselland	0	183	285	394	223	201	197	238	0	162	204	479
BL2016_2	Baselland	0	181	285	394	223	201	197	238	196	162	204	457
	Baselland	0	183	285	394	223	201	197	238	202	162	204	479
BL2016_3	Baselland	0	181	285	394	223	201	197	238	196	162	204	457
	Baselland	0	183	285	394	223	201	197	238	202	162	204	479
BL2016_4	Baselland	0	181	285	394	223	201	197	238	196	162	204	457
	Baselland	0	181	285	394	223	201	197	238	202	162	204	479

Anhangstabelle 18: F_{ST} Werte der Region Nordwestschweiz ohne Einbezug von Locus AIT8.

		Jura			Bern		Aarau		Waadt		Baselland 2015			Baselland 2018			
		LesAins	Lalonc	Bofol	Melch	Orvin	Zeiherr	Staffel	LeBoir	LaBrine	Benneober	Ried	Hom	Iba	Chast	Seeba	Burg
Jura	Lalonc	0.1438															
	Bofol	0.0864	0.0676														
Bern	Melch	0.4585	0.4149	0.4968													
	Orvin	0.2242	0.2180	0.1852	0.6212												
Aarau	Zeiherr	0.2471	0.1922	0.2622	0.1964	0.3923											
	Staffel	0.2573	0.0999	0.2202	0.3038	0.4245	0.1561										
Waadt	LeBoir	0.1189	0.1031	0.1297	0.2152	0.2272	0.0496	0.1346									
	LaBrine	0.3039	0.2215	0.2157	0.4835	0.4379	0.2305	0.2405	0.2020								
Baselland 2015	Benneober	0.2155	0.1655	0.0862	0.5026	0.3794	0.2808	0.2256	0.1565	0.2087							
	Ried	0.2165	0.1667	0.0862	0.5566	0.3371	0.2859	0.2886	0.1698	0.1839	0.0777						
Baselland 2018	Hom	0.2933	0.1104	0.2163	0.3187	0.3831	0.2375	0.0759	0.1683	0.2975	0.2213	0.2958					
	Iba	0.2325	0.1313	0.2013	0.5247	0.2450	0.3323	0.2645	0.1928	0.3702	0.3117	0.3138	0.2349				
Baselland 2018	Chast	0.2334	0.2526	0.2744	0.5462	0.3419	0.3688	0.3493	0.2246	0.4390	0.3728	0.3915	0.3494	0.1334			
	Seeba	0.3203	0.3095	0.3165	0.6429	0.4738	0.4664	0.4060	0.3281	0.4698	0.4044	0.4439	0.3894	0.2521	0.0968		
Baselland 2018	Burg	0.2694	0.2351	0.2301	0.6154	0.2872	0.4097	0.3833	0.2604	0.3802	0.3418	0.3122	0.3537	0.0641	0.1459	0.2171	
	Greif	0.2349	0.2991	0.2723	0.5844	0.3546	0.4092	0.3978	0.2457	0.4515	0.3692	0.3952	0.3889	0.1689	0.0092	0.1301	0.1400