

KARL-FRANZENS-UNIVERSITÄT GRAZ
UNIVERSITY OF GRAZ

UNI
GRAZ

NATIONALPARK
KALKALPEN



Oberösterreichs Urforelle –
ein vorborgener Schatz im Nationalpark
Kalkalpen

Bachforellen Genetik mit
„next-generation sequencing“

Steven Weiss


ACL
Austrian Center for Limnology

MIT UNTERSTÜTZUNG VON BUND UND EUROPÄISCHER UNION

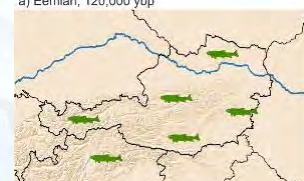
LE 14-20



Background



a) Eemian; 120,000 ybp



Background

- **2 major phylogeographic lineages of the *Salmo trutta* complex inhabit the upper Danube catchment area**
 - Atlantic & Danubian lineages
- **Natural contact & admixture between these 2 lineages**
 - Challenging scenario for population genetic analysis
- **NGS, such as ddRAD, offers increased resolution**
 - Provides new insights into the genetic architecture of these populations
 - Supports the description of adequate management units
- **Project in collaboration with Kalkalpen National Park**



Oberösterreichs „Urforellen“

Ein verborgener Schatz im Nationalpark Kalkalpen

Die Bachforelle (Salmo trutta) zählt zu den häufigsten und kommerziell wichtigsten Fischen in Österreich und ist in fast allen österreichischen Gewässern von der Donau bis in die Alpen zu finden. In Österreich sind sie seit 1990 als geschützte Art im Nationalpark Kalkalpen geschützt und dürfen nicht mehr kommerziell gefangen werden. Die Bachforelle wird nicht nur wegen ihres Geschmackes und ihrer wertvollen Färbung geschätzt, sondern auch als wichtiger Bestandteil der österreichischen Fischerei. Die Bachforelle ist ein sehr beliebter Speisefisch und wird in vielen Restaurants und Hotels angeboten. Die Bachforelle ist ein sehr beliebter Speisefisch und wird in vielen Restaurants und Hotels angeboten.

Die Bachforelle ist ein sehr beliebter Speisefisch und wird in vielen Restaurants und Hotels angeboten. Die Bachforelle ist ein sehr beliebter Speisefisch und wird in vielen Restaurants und Hotels angeboten.



Aufbereitung der Proben für die genetische Analyse von Forellen aus dem Nationalpark Kalkalpen von Prof. Dr. Roman Waldi (links) und seinem Team in der Labor des Instituts für Zoologie der Universität Graz.

Nische hauptsächlich aus Zuchtforellen erworben werden, die ursprünglich nicht aus dem Nationalpark Kalkalpen stammen und demnach fälschlicherweise als Urforellen bezeichnet werden. In diese Urforellen sind jedoch genetische Veränderungen durch Zuchtforellen eingedrungen, die die genetische Vielfalt der Urforellen reduzieren. Die Urforellen sind daher genetisch nicht mehr optimal an lokale Umweltbedingungen angepasst. Das genetische Erbe der Urforellen ist daher gefährdet und muss geschützt werden. Die Urforellen sind daher genetisch nicht mehr optimal an lokale Umweltbedingungen angepasst.

Die Urforellen sind daher genetisch nicht mehr optimal an lokale Umweltbedingungen angepasst. Die Urforellen sind daher genetisch nicht mehr optimal an lokale Umweltbedingungen angepasst.



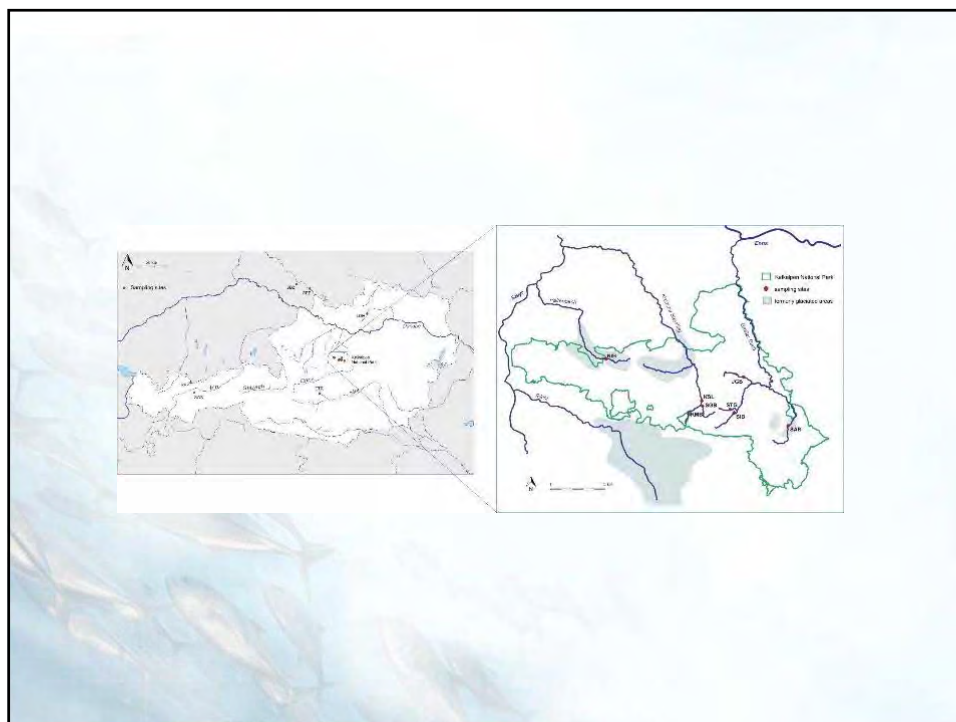
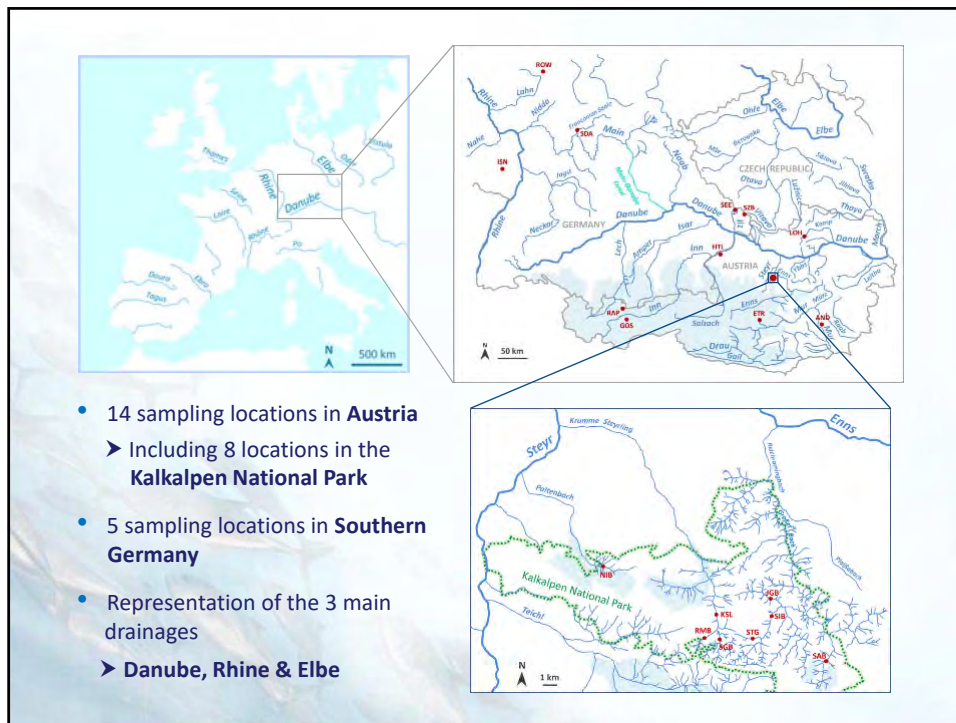
Das Kalkalpen Nationalpark befindet sich im südöstlichen Österreich und umfasst einen Teil der Kalkalpen. Der Nationalpark Kalkalpen ist ein Naturdenkmal und dient dem Schutz der Natur und der Landschaft. Der Nationalpark Kalkalpen ist ein Naturdenkmal und dient dem Schutz der Natur und der Landschaft.

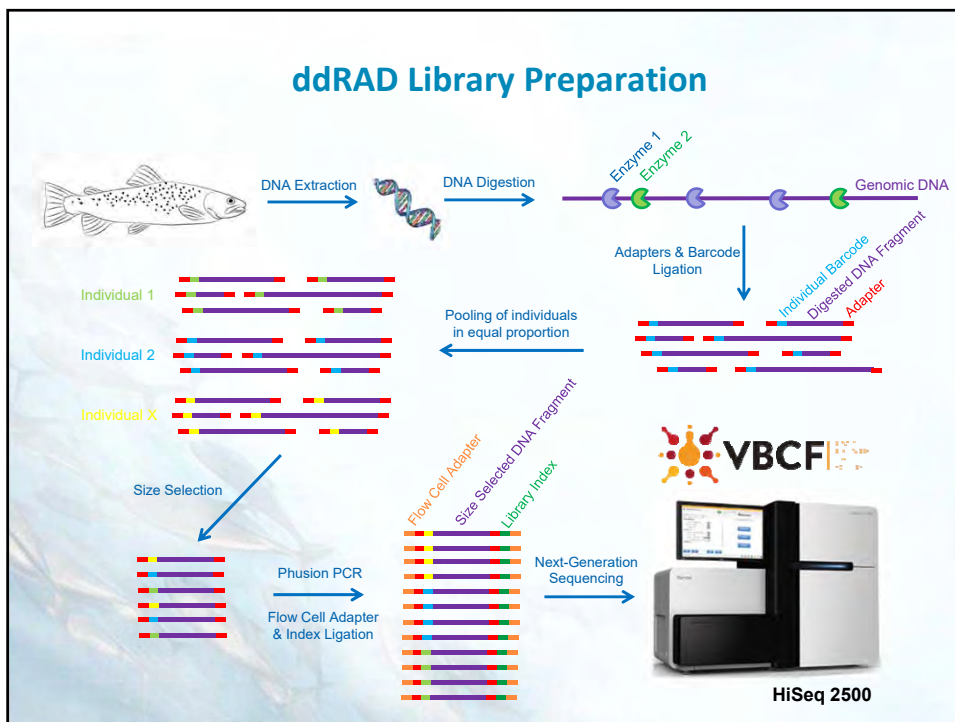
Der Nationalpark Kalkalpen ist ein Naturdenkmal und dient dem Schutz der Natur und der Landschaft. Der Nationalpark Kalkalpen ist ein Naturdenkmal und dient dem Schutz der Natur und der Landschaft.



Genetische schematische Darstellung der Ableitung der genetischen Untergruppen.

Die genetische Analyse der Forellen aus dem Nationalpark Kalkalpen zeigt zwei Hauptgruppen: die Danubische Linie und die Atlantische Linie. Die Danubische Linie ist durch eine spezifische DNA-Sequenz gekennzeichnet, während die Atlantische Linie eine andere DNA-Sequenz aufweist. Die genetische Analyse der Forellen aus dem Nationalpark Kalkalpen zeigt zwei Hauptgruppen: die Danubische Linie und die Atlantische Linie.





Sequencing Plan

Purely Danubian	Samples Available	Library 1	Library 2	Library 3	Library 4	Library 5	Library 6	Library 7	Library 8	Total
• GOS - Gossenköllesee	50	0	0	0	8	0	12	0	0	20
• ETR - Etrachbach	40	0	0	0	0	8	12	0	0	20
• RAP - Rappenbach	53	0	0	0	0	12	4	0	0	16
Hatcheries										
• AND - Andritz	42	0	8	8	4	0	0	0	0	20
• HTL - Hartl Hatchery	40	0	8	8	4	0	0	0	0	20
Kalkalpen Project										
• JGB - Jörglgrabenbach	24	0	0	0	0	0	0	10	10	20
• KSL - Krumme Steyrfling	30	5	0	8	8	8	0	0	0	29
• NIB - Niklbach	30	5	8	4	4	0	0	0	0	21
• RMB - Rumpelmayerbach	29	5	8	4	4	0	0	0	0	21
• SAB - Saigerinbach	20	0	0	0	0	0	0	8	11	19
• SGB - Schafgrabenbach	23	5	0	8	8	0	0	0	0	21
• SIB - Sitzenbach	29	5	8	4	4	0	0	0	0	21
• STG - Stöfflalmgraben	30	5	8	4	4	0	0	0	0	21
Natural Atlantic										
• SZB - Schwarzbach (Elbe)	23	0	0	0	0	12	8	0	0	20
• SEE - Seebach (Danube)	26	0	0	0	0	8	12	0	0	20
• ROW - Rotes Wasser (Rhine)	20	0	0	0	0	0	0	8	11	19
• SDA - Schondra (Rhine)	20	0	0	0	0	0	0	11	8	19
• ISN - Isenach (Rhine)	20	0	0	0	0	0	0	11	8	19
Other										
• LOH - Lohnbach	50	18	0	0	0	0	0	0	0	18
Total		48	48	48	48	48	48	48	48	384

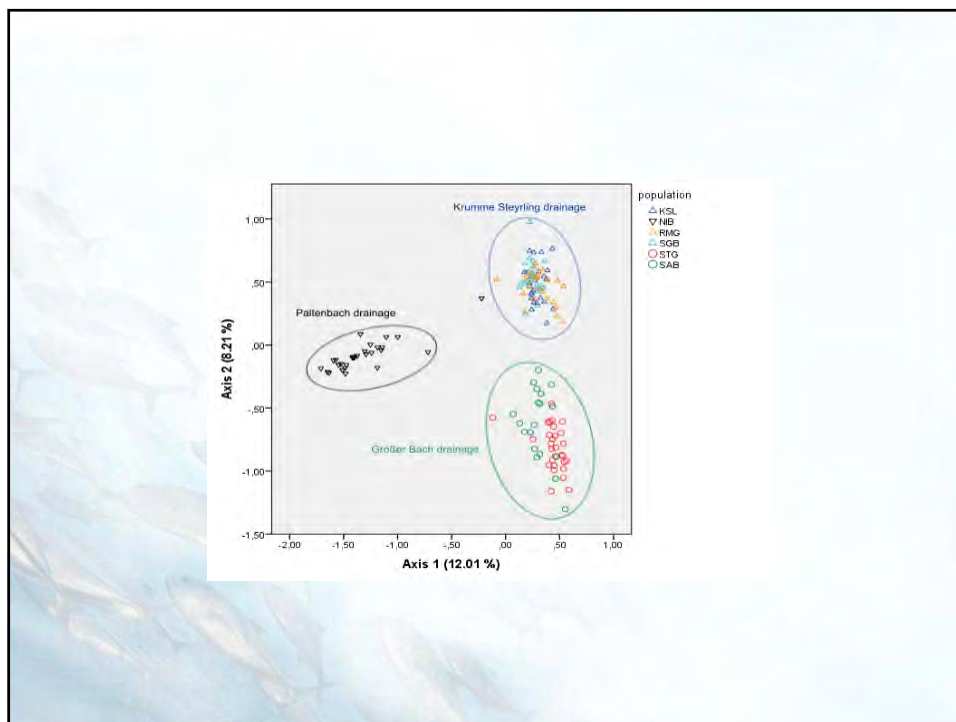
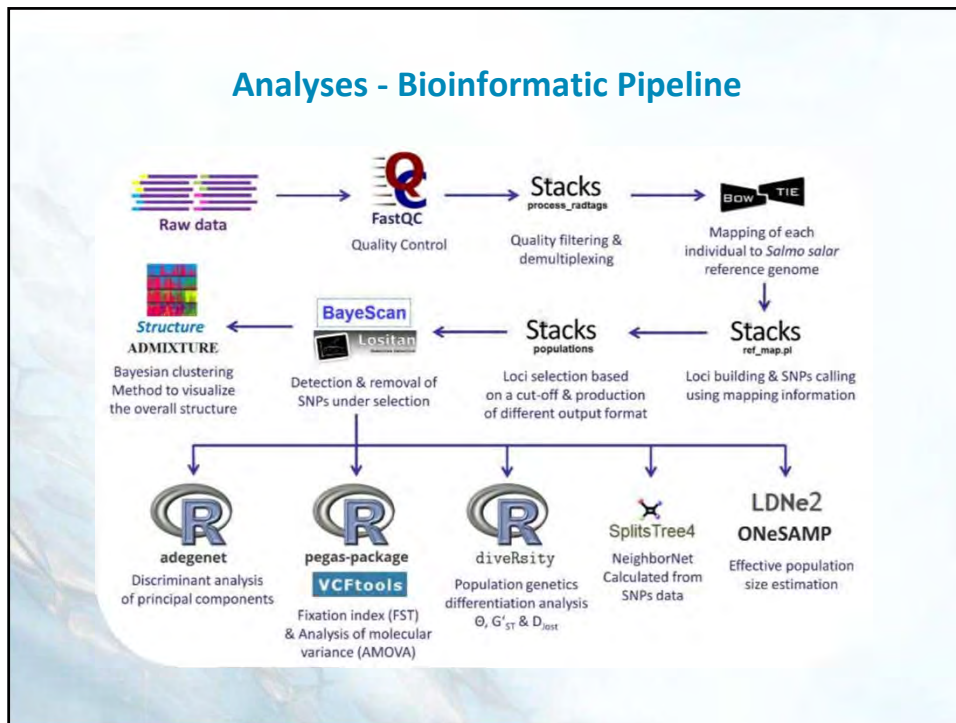
ddRAD Sequencing

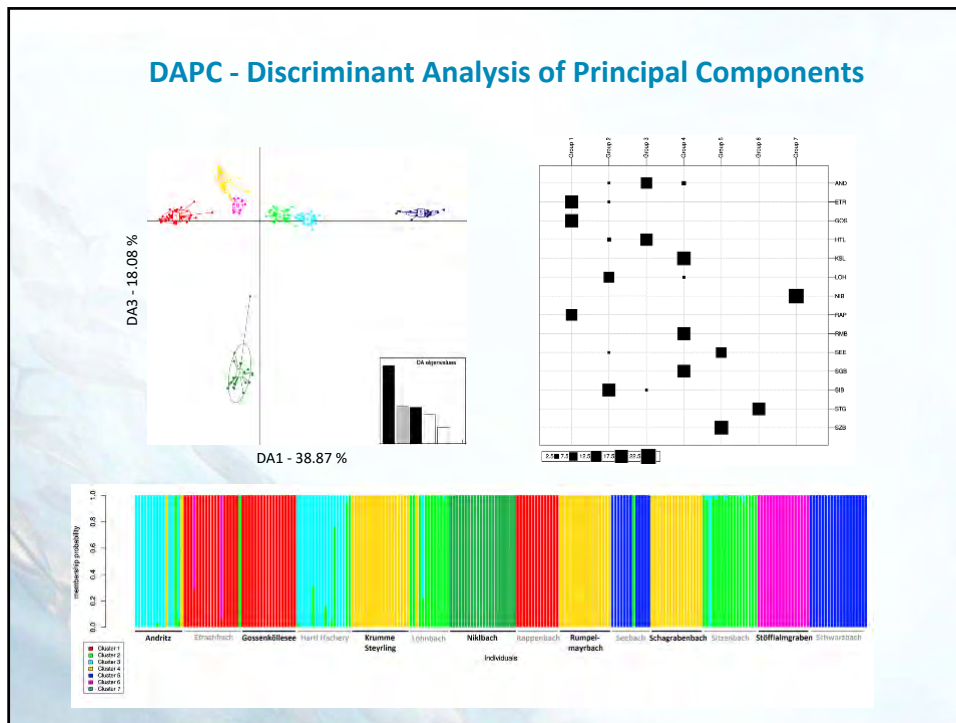
- Samples were run on **Illumina HiSeq 2500**
 - Single-end reads of 100bp
- 48 individuals were **multiplexed** per library & 2 libraries (96 individuals) were pooled on each lane
- HiSeq runs yielded **high quality reads**
- On average **≈ 82 % of the sequenced samples** produced sufficient number of reads to be kept for downstream analysis
- **Each library** produce on average **80 - 100 million reads**
 - 1.7 - 2 million reads per individual
 - ≈ 21X mean coverage



HiSeq 2500









Oberösterreichs „Urforellen“
Ein verborgener Schatz im Nationalpark Kalkalpen

Die Bachforelle (Salmo trutta) zählt zu den am häufigsten vorkommenden Fischarten in Österreich und ist seit fast 100 Jahren fast ausschließlich aus dem Alpenraum von der Donau bis in die Ostalpen von circa 1.000 bis 1.500 Meter zu finden – sofern das Wasser sauber und kalt genug ist. Die Bachforelle wird nicht nur wegen ihres Geschmackes und ihrer wertvollen Fischeiweiße geschätzt, sondern auch aufgrund ihrer schönen Ansehensmerkmale. In der Bachforelle spiegelt sich die komplexe Herkunft der Fischart wider. Die Bachforelle stellt für aquaristische Zuchtzwecke ein ideales Modell dar, weil sie sich leicht züchten lässt und sich in der Natur in verschiedenen Bachforellenformen (z.B. in der Form der Bachforelle, der Bachforelle mit roten Flossen, der Bachforelle mit roten Flossen und roten Schwanzflossen) findet. Diese Bachforellenformen sind durch die unterschiedlichen Lebensbedingungen in den verschiedenen Bachforellenpopulationen entstanden. Die Bachforelle ist ein sehr beliebter Speisefisch und wird in der Natur in verschiedenen Bachforellenformen (z.B. in der Form der Bachforelle, der Bachforelle mit roten Flossen, der Bachforelle mit roten Flossen und roten Schwanzflossen) gefunden. Die Bachforelle ist ein sehr beliebter Speisefisch und wird in der Natur in verschiedenen Bachforellenformen (z.B. in der Form der Bachforelle, der Bachforelle mit roten Flossen, der Bachforelle mit roten Flossen und roten Schwanzflossen) gefunden.



Aufbereitung der Proben für die genetische Analyse von Forellen

Die Forellen werden in der Natur in verschiedenen Bachforellenformen (z.B. in der Form der Bachforelle, der Bachforelle mit roten Flossen, der Bachforelle mit roten Flossen und roten Schwanzflossen) gefunden. Die Bachforelle ist ein sehr beliebter Speisefisch und wird in der Natur in verschiedenen Bachforellenformen (z.B. in der Form der Bachforelle, der Bachforelle mit roten Flossen, der Bachforelle mit roten Flossen und roten Schwanzflossen) gefunden.



Schematische Darstellung des Ablaufs der genetischen Untersuchungen

1. DNA Extraktion → 2. PCR-Vervielfältigung eines spezifischen DNA-Schnittes → 3. Gel-Elektrophorese → 4. DNA Sequenzierung

Die Sequenzierung zeigt die Unterschiede zwischen den verschiedenen Bachforellenpopulationen.

Thank you!

Steven Weiss (supervision)

Laurene LeCaudey

Alexandra Wunder

Tamara Schenekar

Jaqueline Grimm

