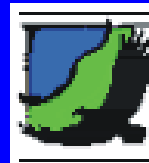


Fischotter-Monitoring mittels DNA- Profilen aus Kotproben und Fang- Wiederfang-Analyse

Dr. Beate Kalz



Institut für Zoo und Wildtierforschung Berlin



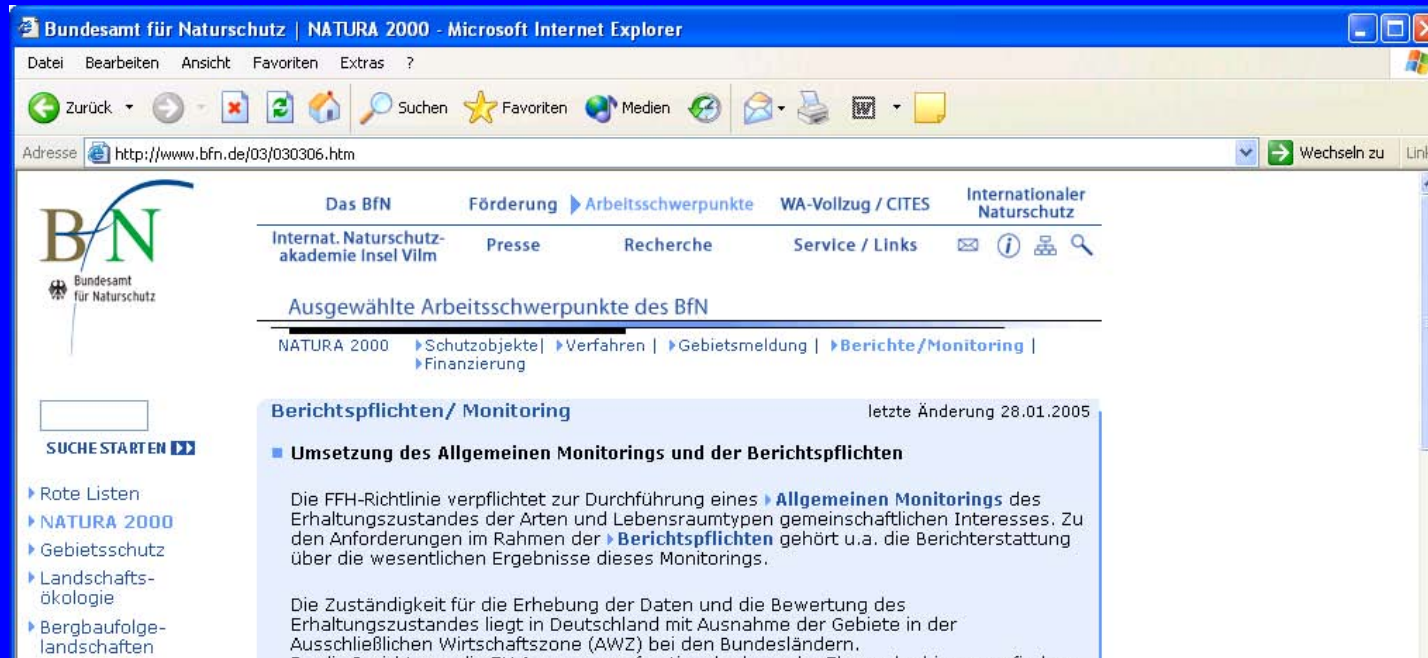
Naturpark
Nossentiner /
Schwinzer Heide

Bedarf an Otter-Forschung?



- FFH-Richtlinie: Anhang II (Tier- u. Pflanzenarten von gemeinschaftlichem Interesse, für die besondere Schutzgebiete ausgewiesen werden müssen) und Anhang IV (streng zu schützende Tier- u. Pflanzenarten von gemeinschaftlichem Interesse)
- Rote Liste der gefährdeten Tierarten Deutschlands: Kategorie 1 (vom Aussterben bedroht)

Bestandsermittlung



The screenshot shows a Microsoft Internet Explorer browser window displaying the website of the Bundesamt für Naturschutz (BfN). The address bar shows the URL <http://www.bfn.de/03/030306.htm>. The page content includes a navigation menu with items like 'Das BfN', 'Förderung', 'Arbeitsschwerpunkte', 'WA-Vollzug / CITES', and 'Internationaler Naturschutz'. Below the menu, there is a section titled 'Ausgewählte Arbeitsschwerpunkte des BfN' with sub-links for 'NATURA 2000', 'Schutzobjekte', 'Verfahren', 'Gebietsmeldung', 'Berichte/Monitoring', and 'Finanzierung'. The main content area is titled 'Berichtspflichten/ Monitoring' and contains a sub-section 'Umsetzung des Allgemeinen Monitorings und der Berichtspflichten'. The text in this section discusses the FFH-Richtlinie and the requirements for monitoring and reporting.

Für den Fischotter gibt es derzeit **keine wissenschaftlich anwendbare Methode zur Ermittlung der Populations-/Bestandsgröße**.Deshalb wird die Verbreitungsfeststellung auf Vorschlag der IUCN-Otter-specialist-group genutzt: das 10x10km UTM-Raster wird als Basis für Stichprobenpunkte über den Bezugsraum gelegt; letztere sind 1x auf Anwesenheit (als Nachweis gewertet werden ausschließlich Losung und Trittsiegel) des Fischotters zu prüfen (REUTHER et al. 2000). Diese Erhebung ist in einem 5-6 jährigen Rhythmus zu wiederholen.

Warum Bestandsermittlung?



- Bestandsentwicklung häufig umstritten
- z.Z. gleichzeitig Indizien für Ausbreitung und Rückgang
- in mehreren Ländern recht plötzlich ausgestorben
- fehlende harte Daten können rechtzeitige Reaktion bei Rückgang verhindern
- Berücksichtigung bei Baumaßnahmen geringer
- Effizienz von Schutzmaßnahmen nicht optimal

Probleme der Otter-Forschung



- Optische Differenzierung kaum möglich
- Sehr variables Verhalten
- Ungeeignet für die meisten wildbiologischen Methoden (Direktbeobachtungen, Telemetrie)
- Untersuchungen am Einzeltier schwierig
- Individualerkennung ist Grundlage jeder Zählung

Individualerkennung

- Kombination mehrerer Merkmale nötig
- Otter unter Feldbedingungen mittels phänotypischer Merkmale nicht unterscheidbar
- -> Verwendung genotypischer Merkmale

Genotypische Merkmale

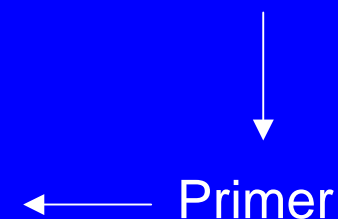
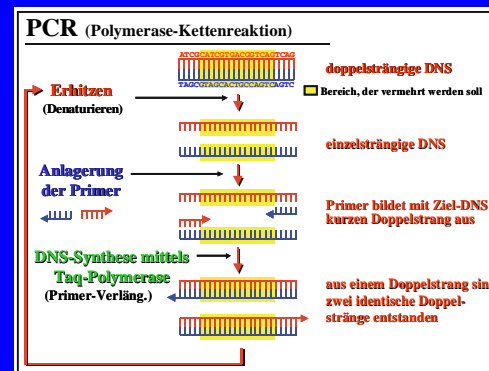
- Verwendung von DNA-Abschnitten, die keinem Selektionsdruck unterliegen (repetitive Sequenzen nicht-codierender Bereiche)
- hohe Variabilität
- Jedes Merkmal kann in unterschiedlichen Ausprägungen vorliegen (Allele)
- Allele werden chromosomal vererbt (je 1 von Mutter und Vater)
-> verwendbar für Verwandtschaftsanalyse

DNA-Analysen aus Kotproben

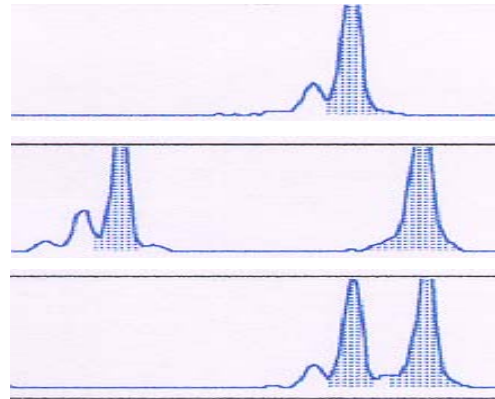
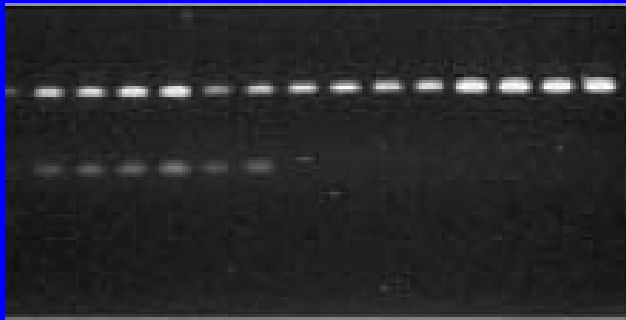
- nicht-invasive Methode
- Kotproben sind relativ leicht zu finden
- werden an exponierten Stellen deponiert
- Basis für innerartliche Kommunikation?
- Extraktion von DNA-Material aus Kotproben



PCR



DNA-Profil



homozygous
alleles 126 bp / 126 bp

heterozygous
alleles 120 bp / 128 bp

heterozygous
alleles 126 bp / 128 bp

Nr.	Primer 1	Primer 2	Primer 3	Primer 4	Primer 5	Primer 6	Indiv.	Fundort	Bearbeiter	Datum
43	120/126	126/130	204/204	175/195	173/173	167/167	2	13.17	Arnds	06.11.2001
85	120/126	126/130	204/204	175/195	173/173	167/167	2	13.17	Arnds	07.12.2001
124	120/126	126/130	204/204	175/195	173/173	167/167	2	13.17	Mahnke	10.01.2002
136	120/126	126/130	204/204	175/195	173/173	167/167	2	13.15	Arnds	25.07.2002
52	128/128	128/128	196/196	175/175	165/177	154/171	10	07.01	Koch	06.11.2001
185	128/128	128/128	196/196	175/175	165/177	154/171	10	05.02	Koch	08.01.2002
153	128/128	128/128	196/196	175/175	165/177	154/171	10	03.08	Erlebach	13.02.2002
392	128/128	128/128	196/196	175/175	165/177	154/171	10	05.02	Koch	21.06.2002

Fehlerdiskussion

Überschätzung der Tierzahl bzw. Populationsgröße (overestimation)

- Fehler bei der Erstellung des DNA-Profiles („Geister“-Allele)
-> Proben des gleichen Tieres mehreren Tieren zugeordnet
- Gehegeuntersuchungen, Plausibilitätskontrolle

Unterschätzung der Tierzahl bzw. Populationsgröße (underestimation)

- nicht-markierende Tiere, nicht gefundene Markierungen
- zwei Tiere mit gleichem DNA-Profil (z.B. Zwillinge)
- DNA-Profile von zwei Tieren mit geringem Unterschied falsch zusammengefasst

Populationsdichte im NP NSH

- 1 Tier pro 611,7 ha Gesamtfläche
- 1 Tier pro 77,2 ha Wasserfläche
- 1 Tier pro 4,7 km Uferlänge
- mehr als 2,5 mal so hoch wie vorher geschätzt (Behl & Korzetz 1999)
- entspricht den Angaben von Erlinge (1968) nach der Analyse von Fußspuren und Kot
- Kruuk (1995) fand in Schottland 1 Otter pro 1,2 km Küste
- Hung et al. (2004) fanden 1 Tier pro 0,7 km Uferlänge an zwei verschiedenen Flüssen auf der Insel Kinmen bei China

Ergebnisse der ersten 12 Monate

- 59 verschiedene Individuen wurden ermittelt (6 Totfunde, 53 DNA-Profile aus Kotproben)
- 35 Otter waren miteinander 1. Grades verwandt (Eltern-Kind-Kombinationen), 14 Tiere hatten keine verwandten Tiere im Gebiet (bei 10 Tieren waren die DNA-Profile unvollständig und deshalb keine Analyse möglich)

Verwandtschaftsanalyse

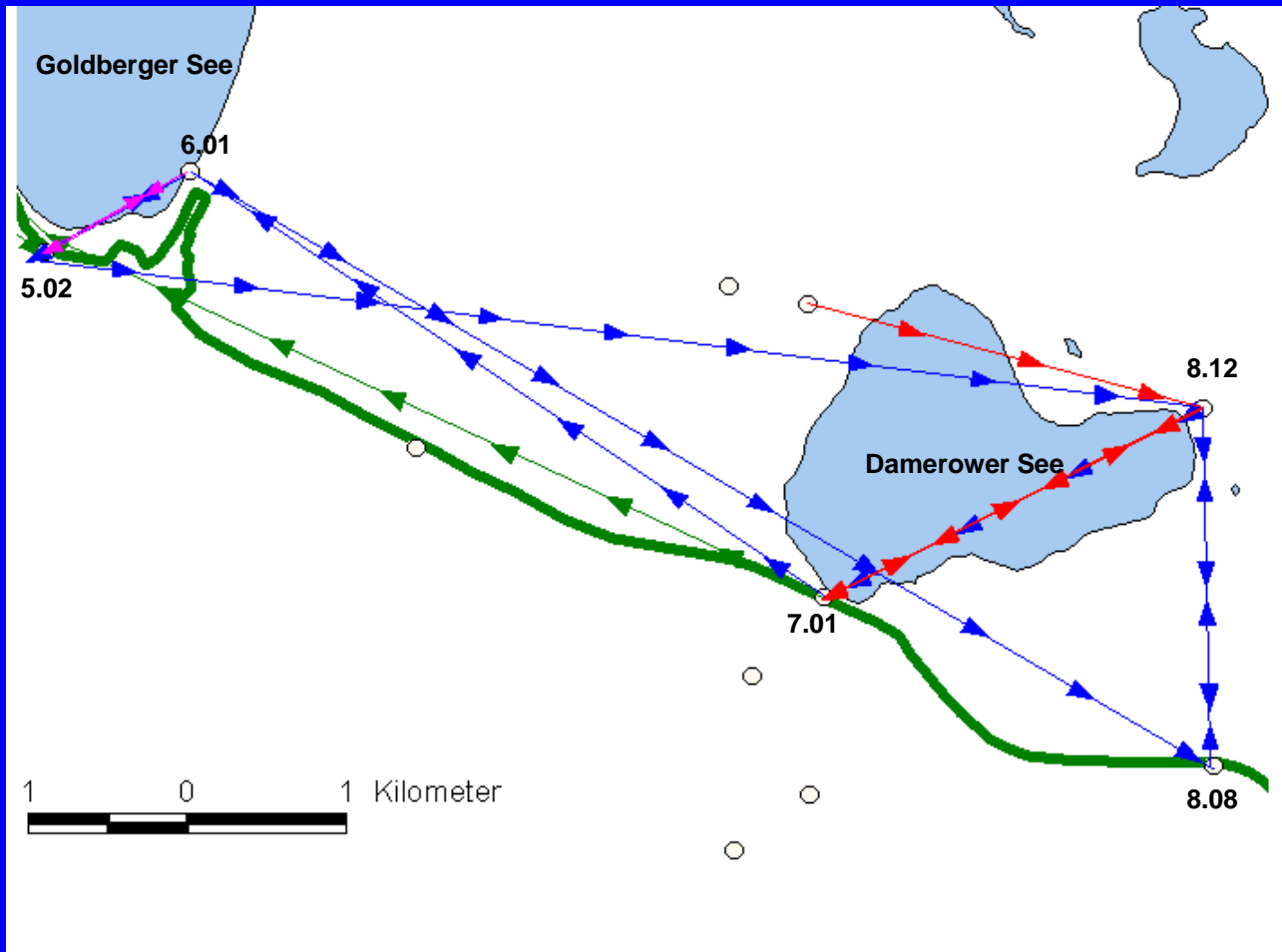
- Ermittlung potentiell verwandter Tiere
- nur Verwandtschaft 1. Grades (Eltern – Kinder)
- ohne Altersangaben keine Familienstrukturen
- Anzahl potentieller Verwandter erlaubt Aussagen über „genetische Verankerung“ in der Population
- 2 Tiere sind potentiell verwandt, wenn sie je Primer (= Merkmal) mindestens 1 Allel teilen

Nr.	Primer 1	Primer 2	Primer 3	Primer 4	Primer 5	Primer 6	Indiv.	Fundort
518	120/128	124/134	204/204	199/203	173/173	167/167	Fe 47	04.06
283	120/126	130/130	196/204	175/199	165/185	167/171	Ma 11	04.04
69	120/126	124/130	204/204	175/199	165/173	167/167	Ju 13	04.04

Geschlechtsbestimmung

- Genetische Geschlechtsbestimmung mit SRY-Marker Lut74 (Dallas et al. 2000) -> männliche Tiere erkennbar, da nur sie das Y-Chromosom haben
- Hormon-Analyse durch Messung der Konzentration von männlichen und weiblichen Geschlechtshormonen in Kotproben -> Geschlecht und Reproduktionsstatus von adulten Tieren

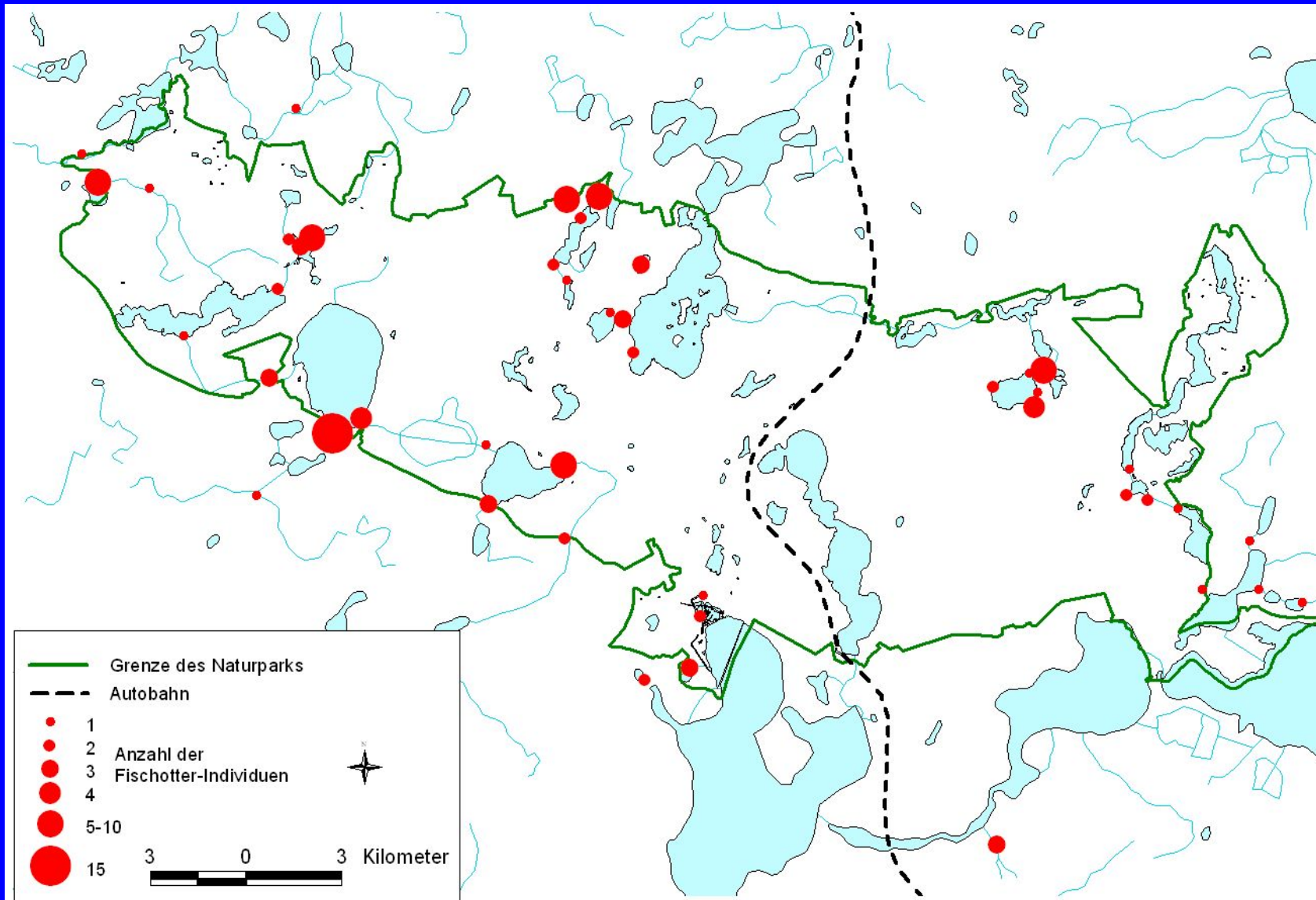
Raumnutzung (Tier 37)



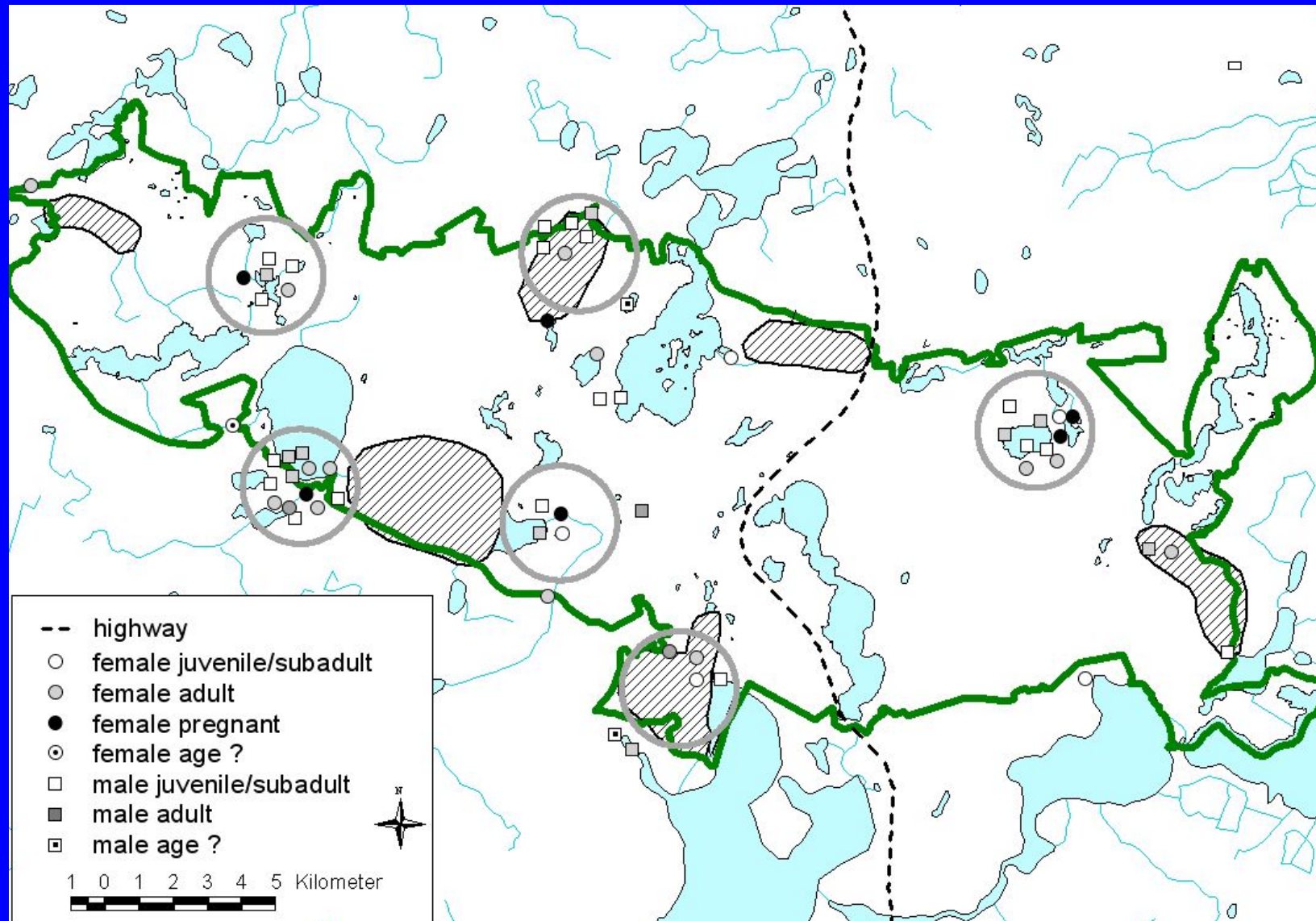
Junges Männchen

10.01.2002	05.02	
11.01.2002	06.01	1,0 km
14.02.2002	05.02	1,0 km
23.04.2002	08.12	7,3 km
22.08.2002	08.08	2,3 km
17.09.2002	08.12	2,3 km
18.09.2002	08.12	0
23.10.2002	07.01	2,7 km
24.10.2002	06.01	4,8 km
25.10.2002	08.08	7,4 km
26.06.2003	05.02	8 km

Verteilung der Tiere im Raum



Populationsstruktur (1. Jahr)



Fang-Wiederfang-Analyse

- Methode zur Ermittlung exakter Populationsgrößen durch Bestimmung der Relation von markierten und unmarkierten Tieren
- ursprünglich entwickelt für kleine, leicht zu fangende Tierarten
- Anwendung für DNA-Profile möglich – der Erstnachweis eines Tieres entspricht einem Fang, der erneute Nachweis einem Wiederfang

Voraussetzungen

Es müssen bestimmte Annahmen (mindestens näherungsweise) erfüllt sein:

- Die Fangwahrscheinlichkeit variiert nicht individuell.
- In jedem Fangintervall ist die Fangwahrscheinlichkeit für jedes Individuum gleich groß.
- Markierungen werden weder verloren noch übersehen.
- Die Markierung hat keinen Einfluss auf das Überleben.
- Die Markierung hat keinen Einfluss auf die Fangwahrscheinlichkeit des Individuums.
- Die markierten Individuen mischen sich vollständig unter die unmarkierten.

Populationstypen

- geschlossene Population – kurze Fangintervalle
d.h. keine / sehr wenige Zu- und Abwanderung, Geburten
und Todesfälle
Länge des Fangintervalls abhängig von der Biologie der
untersuchten Art
- offene Populationen – lange Fangintervalle, in denen Zu-
und Abwanderung, Geburten und Todesfälle stattfinden
ermöglicht Ermittlung von Überlebensraten
- Vielzahl verschiedener statistischer Modelle etabliert, bei
denen jeweils ein Teil der Grundannahmen nicht erfüllt sein
muss (z.B. CAPTURE, MARK)
- Kombination zweier Modelle: kurze Fangintervalle werden
(möglichst mehrfach) wiederholt („robuster Versuchsplan“)

Fang-Wiederfang-Methode im NP NSH

- Ergebnis: 43 Tiere pro Monat anwesend, davon 34 konstant anwesend („residents“) und im Durchschnitt 9 nur kurzzeitig da („transients“)
- kleines Konfidenzintervall (= hohe Präzision der Schätzung)
- Zahl der dauerhaft anwesenden Tiere (34 residents) entspricht in der Größenordnung der ermittelten Zahl miteinander verwandter Fischotter (35 Tiere)

Schlussfolgerungen

- Methode erlaubt Ermittlung von (im Untersuchungszeitraum) ortsansässigen und wandernden Tieren und die Schätzung der Bleiberate (= „Überlebensrate“)
- ermittelte Tierzahl nicht notwendig exakt richtig, (im Gehege Allelfehler $\pm 7,8 \%$, Tierzahl richtig bestimmt)
- Populationsdichte entspricht der mit anderen Methoden (Sichtbeobachtungen, Funkortung) ermittelten, d.h. Größenordnung korrekt
- zu wenig Informationen über Markierungsverhalten im Freiland, -> es besteht Forschungsbedarf
- Unterschätzung wahrscheinlicher als Überschätzung, da mehr Fehlerquellen, auch abhängig von Anzahl verwendeter Primer
- Fehler kann vernachlässigt werden bei Vergleichsuntersuchungen unter gleichen Bedingungen

Monitoring mit DNA-Profilen

Anwendung

- Vergleich der Otterzahl und Populationsstruktur eines Gebietes im Zeitverlauf -> Entwicklung einer Population
- bei Auswahl geeigneter Gebiete kann die Entwicklung der Otterpopulation ganzer Regionen untersucht werden
- Vergleich von mehreren Lebensräumen z.B. vor Ausweisung von Schutzgebieten und Bauprojekten

Vorschlag für Arbeitsplan

- in neuen Gebieten vorab potentielle Markierungsstellen und Anzahl auffindbarer frischer Proben ermitteln
- Festlegung von 2-3 Sammelintervallen
- Modellrechnung: Population von 35 Tieren, benötigt werden 45 DNA-Profile, Erfolgsquote 23 %, 200 Proben müssen je Intervall gesammelt werden (z.B. sollte im NP NSH 2x ca. 4 Wochen lang gesammelt werden)
- günstigste Zeit: September bis März
- bei Vergleich mehrerer Gebiete gleiche Bedingungen einhalten, eventuell abwechselnde Beprobung
- bei Langzeitprojekten gleichen Zeitraum verwenden
- Auswertung: Kombination von Ermittlung der potentiellen genetischen Verwandten und Fang-Wiederfang-Analyse

Kooperationspartner und Sponsoren



Naturpark
Nossentiner /
Schwinzer Heide

Staatliches Amt
für Umwelt und Natur
Lübz



Institut für Zoo- und Wildtierforschung



GWN
Gesellschaft für Wildökologie und Naturschutz e.V.

