

Aus dem Department für Nutztiere und öffentliches

Gesundheitswesen in der Veterinärmedizin

der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Institut für Fischmedizin

(Leiterin: Univ.-Prof. Astrid Holzer, PhD.)

**Mortalitäten von Bachforellen (*Salmo trutta*) im Mühlbach von Bad
Goisern: Analyse und Schlussfolgerungen**

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von

Laura Hahn

Wien, im Januar, 2023

Betreuer: Priv.-Doz. Dr.med.vet. Dipl. ECAAH Eva Lewisch
Klinische Abteilung für Fischgesundheit
Department für Nutztiere und öffentliches Gesundheitswesen
Veterinärmedizinische Universität Wien

Gutachter: Dipl.-Ing. Dr.nat.techn. Günther Unfer
Institut für Hydrobiologie und Gewässermanagement (IHG)
Universität für Bodenkultur Wien

Abkürzungsverzeichnis

Geringgradig	ggr.
Gesamtlänge.....	GL
Gastrointestinaltrakt.....	GIT
Grad Celsius.....	°C
Gramm.....	g
Hämatoxylin und Eosion.....	H&E
Kilogramm.....	kg
Milliliter.....	ml
Mittelgradig.....	mgr
Proliferative kidney disease.....	PKD
Rechts Informationssystem des Bundes.....	RIS
Stunden.....	h
Tabelle.....	Tab
Zentimeter.....	cm

Inhaltsverzeichnis

<u>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</u>	<u>2</u>
<u>1 EINLEITUNG</u>	<u>1</u>
<u>2 HINTERGRUND</u>	<u>2</u>
2.1 DIE BACHFORELLE- GRUNDLAGEN-BIOLOGIE.....	2
2.2 DIE REGENBOGENFORELLE – NEOBIOTISCHER BESATZFISCH IN SALMONIDENGWÄSSERN	3
<u>3 PROLIFERATIVE NIERENERKRANKUNG DER SALMONIDEN</u>	<u>5</u>
3.1 VERBREITUNGSGEBIETE.....	5
3.2 ÄTIOLOGIE UND ÜBERTRAGUNG	6
3.3 SYMPTOME	8
3.4 DIAGNOSTIK	9
3.5 THERAPIE	10
3.6 PKD IN ÖSTERREICH	11
3.7 RÜCKGANG DER BACHFORELLE IN EUROPA	12
<u>4 DIE SALZKAMMERGUT TRAUN UND DER MÜHLBACH.....</u>	<u>15</u>
4.1 TRAUN	15
4.2 DER MÜHLBACH	16
4.3 Wassertemperatur der oberen Traun von 2019 bis 2021 Steeg, Seeausfluss von Juli bis September	18
4.4 Bestandserhebung Goiserer Traun	21
4.5 Bewirtschaftung	24
4.6 Besatz des untersuchten Mühlbach-Abschnitts	25
4.7 Entnahmen aus dem untersuchten Mühlbach- Abschnitt.....	27
<u>5 MATERIAL UND METHODEN.....</u>	<u>28</u>
5.1 PATHOANATOMISCHE UNTERSUCHUNG UND PROBENNAHME	28
5.1.1 ADSPEKTORISCHE UNTERSUCHUNG	28
5.1.2 SEKTION	29
5.2 PARASITOLOGISCHE UNTERSUCHUNG.....	30
5.3 BAKTERIOLOGISCHE UNTERSUCHUNG.....	31
5.4 VIROLOGISCHE UNTERSUCHUNG	31
5.5 HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNG.....	31

5.6	MOLEKULARGENETISCHE UNTERSUCHUNG	32
6	<u>ERGEBNISSE.....</u>	33
6.1	ADSpeKTIONS- UND SEKTIONSBEFUNDE	33
6.2	PARASITOLOGISCHE UNTERSUCHUNG (EXCL. <i>T. BRYOSALMONAE</i>)	36
6.3	BAKTERIOLOGISCHE UNTERSUCHUNG.....	36
6.4	VIROLOGISCHE UNTERSUCHUNG	37
6.5	HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNG.....	37
6.6	PCR UNTERSUCHUNG AUF <i>T. BRYOSALMONAE</i>	37
6.7	SEKTIONSBEFUNDE	38
7	<u>DISKUSSION.....</u>	40
8	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	54
8.1	EINLEITUNG	54
8.2	MATERIAL UND METHODE	54
8.3	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	54
9	<u>SUMMARY.....</u>	56
9.1	INTRODUCTION.....	56
9.2	MATERIAL AND METHODS.....	56
9.3	RESULTS AND DISCUSSION.....	56
10	<u>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</u>	57
11	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	58

1 Einleitung

Der Mühlbach in Bad Goisern, welcher durch dessen Ortskern fließt, hat wirtschaftlich eine große Bedeutung für den Ort. Er zieht durch seine sehr zentrale Lage viele Urlauber an, welche dort das Fliegenfischen ausüben. Bad Goisern bietet hierfür die Möglichkeit, sich bei einem ortsansässigen Verein für Fliegenfischerei, die notwendige Ausrüstung und Materialien auszuleihen. Gleichzeitig verkauft der Verein auch Tageskarten für den „Goiserer Mühlbach“. Aber vor allem Einheimische sind des Mühlbachs beste Freunde und genießen so gerne ihre freien Stunden mit dem Fliegenfischen. Im Jahr 2017 wurden Angler des Goiserer Sportfischervereins darauf aufmerksam, dass es in den Sommermonaten von Juli bis September zum vermehrten Auftreten von toten Bachforellen kam. Solche Beobachtungen wurden auch in Abschnitten der Traun gemacht. Verringerte Fänge von Bachforellen (*Salmo trutta fario*) wurden registriert und mehrere Versuche Bachforellen neu anzusiedeln, blieben erfolglos. Ohne aus Zählungen hervorgehende quantitative Belege zu haben, steigerte sich die subjektiv wahrgenommene Mortalitätsrate weiter, weshalb in dieser Arbeit untersucht werden soll, warum es seit 2017 zu einem vermehrten Bachforellensterben in der Traun sowie im Mühlbach kommt. Die proliferative Nierenerkrankung der Salmoniden (proliferative kidney disease, PKD), hervorgerufen durch den Erreger *Tetracapsuloides bryosalmonae* (*T. bryosalmonae*), stand bisweilen immer als Ursache im Verdacht, da bekannt war, dass oben genannte Gewässer mit diesem Parasiten belastet sind. Bereits im Jahr 2017 wurden zehn Bachforellen im Zuge einer Studie der Universität für Bodenkultur (BOKU) aus dem Mühlbach entnommen und auf PKD untersucht. Die Ergebnisse der damals untersuchten Bachforellen zeigten, dass im Goiserer Mühlbach PKD – positive Bachforellen zu finden waren (G. Unfer, persönliche Mitteilung). Das Ausmaß, mit welchem PKD zu dem Fischsterben bis heute beiträgt, gilt es herauszufinden und in Zusammenhang mit hydrobiologischen Daten und der Bewirtschaftung zu bringen. Weiter ist Ziel dieser Arbeit, präventive Maßnahmen gegen das Bachforellensterben zu setzen und aus den Ergebnissen abzuleiten, um den Fischbestand des Gewässers zukünftig besser schützen zu können. Die Ergebnisse sollen ebenfalls eine Hilfestellung sein, um den Goiserer Sportfischerverein aufzuklären, wie das vermehrte Bachforellensterben verhindert beziehungsweise reduziert werden kann, und was der Verein selbst dazu beitragen kann.

2 Hintergrund

Der Anteil, den Krankheiten am Rückgang von einzelnen Fischarten haben, ist oftmals schwer einzuschätzen. Zahlreiche andere Faktoren, die das Immunsystem der Fische direkt und indirekt beeinträchtigen stehen in einer Wechselwirkung mit den Krankheitserregern. Aus diesem Grund liefern das Verständnis für die Biologie der betroffenen Fischarten sowie die Erhebung abiotischer Faktoren wichtige Anhaltspunkte für die Beurteilung der Auswirkungen einzelner Pathogene.

In diesem Kapitel soll daher auf die relevantesten dieser Faktoren eingegangen werden. Dabei werden neben Bachforellen auch Regenbogenforellen berücksichtigt, da auch solche zur Untersuchung gelangten.

2.1 Die Bachforelle- Grundlagen-Biologie

Der Ursprung der Bachforelle liegt in Europa, ihr Lebensraum erstreckt sich jedoch über sehr weite Gebiete auf der ganzen Welt, so ist sie ebenfalls im asiatischen Raum, den USA, Kanada, sowie in Chile und Argentinien verbreitet. Sie bevorzugen vor allem sauerstoffreiche Bäche in den Gebirgen mit bis zu 15 Grad Celsius (°C). Besonders im Alpen- und Voralpengebiet kommt die Bachforelle gerne zum Vorschein, sie lieben überhängende und unterspülte Ufer, Gumpen sowie sandigen, kiesigen und steinigen Boden in vorwiegend kalten und sauerstoffreichen Gewässern. Nur in der Laichzeit oder aufgrund von Belästigung, verlässt eine Bachforelle ihr Revier. Tagsüber findet man sie im Uferschatten, wo sie stromaufwärts im Wasser steht. Von Oktober bis Januar sind Bachforellen in der Laichzeit, dazu ziehen sie fluss- bzw. bachaufwärts in eher flache Nebengewässer. Weibliche Bachforellen legen gelbliche bis orangefarbene Eier in eine Laichgrube mit einem Durchmesser von ca. 50 Zentimetern (cm). Die männliche Bachforelle gibt den Anstoß für die Paarung, indem sie dem Weibchen mit seiner Schwanzflosse gegen die Seite schlägt. So kommt es beim Weibchen zum Berührungszreiz, der zu einer Ablage der Eier führt. Die Eier fallen dann in die vom Weibchen gebaute Laichgrube und werden von männlichen Bachforellen besamt, sowie anschließend mit deren Schwanzflosse vergraben. Zwei bis vier Monate später schlüpfen schließlich die kleinen Bachforellen und ernähren sich anfangs noch vom Dottersack. Nach drei bis vier Jahren sind Bachforellen

geschlechtsreif (Boschi et al. 2003). Krebstiere, Insektenlarven und Völlinsekten gehören auf den Speiseplan einer Bachforelle (Boden 2021).

Die Bachforelle nimmt in Österreich eine besondere Stellung ein: Sie ist nicht nur der heimische Leitfisch der Forellenregion, sondern auch der fischereiwirtschaftlich bedeutendste Süßwasserfisch (Tiroler Fischereiverband 2020)

2.2 Die Regenbogenforelle – neobiotischer Besatzfisch in Salmonidengewässern

Im Gegensatz zur Bachforelle ist die Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*) kein heimischer Fisch, sondern wurde gegen Ende des 19. Jhd. von Nordamerika nach Europa eingeführt.

Inzwischen kommen Regenbogenforellen auf allen Kontinenten, mit Ausnahme der Antarktis, vor. Sie bevorzugen, genau wie die Bachforelle, sauerstoffreiche Gewässer mit niedrigen Wassertemperaturen. Regenbogenforellen sind weniger empfindlich gegenüber Wärme als Bachforellen und sind, abhängig von anderen Faktoren, auch bei höheren Temperaturen bis zu 27 °C überlebensfähig. Ein weiteres Merkmal der Regenbogenforelle im Gegensatz zur Bachforelle ist, dass sie sich eher in der Mitte des Gewässers und gerne dicht am Grund aufhält. Darüber hinaus präferieren sie Gegenströmungen von Kehlen, schäumendes Wasser unter Wasserfällen und tiefe Rinnen. Anders als Bachforellen, sind Regenbogenforellen nicht standorttreu und halten sich lieber an Frischwasser gespeisten Plätzen auf. In Seen und stehenden Gewässern hält sich die Regenbogenforelle eher mittig des Wasserstandes auf (Boschi et al. 2003, Boden 2021). Eine echte Etablierung der Regenbogenforelle mit selbst erhaltenden Populationen ist in Europa nur punktuell bekannt (Stankovic et al. 2015). Die wenigen natürlichen Bestände setzen in Europa ihren Laich Ende November bis Mai und bei Wassertemperaturen von 6 – 7 °C ab. Wie die Bachforelle laicht auch die Regenbogenforelle auf kiesigem Grund und in sauerstoffreichen Gewässern. Geschlüpft wird bei ca. 10 °C Wassertemperatur. Bei der Nahrungsaufnahme ist die Regenbogenforelle wenig wählerisch, gegensätzlich zur Bachforelle wird auch synthetisch hergestellte Nahrung gut angenommen. Durch die Jagd an der Wasseroberfläche werden Fluginsekten, als sogenannte Anflugsahrung, aufgenommen. Regenbogenforellen aus Aquakulturen werden fast immer mit Fischpellets

gefüttert. Beim Schlüpfen der gezüchteten Tiere kann es zu Kannibalismus kommen (Boschi et al. 2003, Boden 2021).

3 Proliferative Nierenerkrankung der Salmoniden

Die proliferative Nierenerkrankung der Salmoniden ist eine parasitär bedingte Erkrankung und von großer wirtschaftlicher Bedeutung in Bezug auf die Produktion von Regenbogenforellen (Clifton- Hadley et al. 1987, Hedrick et al. 1993). Des Weiteren bedroht sie aber auch wild lebende Salmoniden. In Europa sind dies vor allem Bachforellen (Okamura, et al. 2011, Clifton- Hadley et al. 1984, Mc Gurk 2005). Vor Festlegung der Taxonomie, wurde der ursächliche Erreger zunächst als proliferative kidney X (PKX) angesprochen (Seagrave et al. 1980). Weitere Studien konnten belegen, dass Bryozoen als wirbellose Wirte für den Erreger der PKD von Bedeutung sind, welcher in der Folge als *T. bryosalmonae* bezeichnet wurde (Canning et al. 1999). Seither ist auch die Zuordnung desselben zur Klasse der *Malacosporea* und dem *Phylum Myxozoa* möglich (Canning et al. 2000). Der Ausbruch der Erkrankung ist saisonal bedingt, genauer gesagt von Mai bis September, was unter anderem mit den erhöhten Wassertemperaturen in diesem Zeitraum in Zusammenhang gebracht werden kann (Foott und Hedrick 1987, Mc Gurk 2005).

In einigen europäischen Ländern, in den USA und auch in Kanada wurde schon vor Bezeichnung des Krankheitsbildes als PKD, von entsprechenden Auffälligkeiten bei Salmoniden berichtet (Mc Gurk 2005, Roberts und Shepherd 1974). So wurden beispielsweise Nierenschwellungen bei Regenbogen –und Bachforellen in den 1920er Jahren in Deutschland unter der Annahme beschrieben, dass diese durch amöboide Infektionen verursacht wurden (Mc Gurk 2005, Plehn 1924).

Auch in den folgenden Jahrzehnten wurden ähnliche pathologische Manifestationen erfasst, bevor diese dem Krankheitsbild der PKD begrifflich zugeordnet werden konnten (Besse 1956, Ghittino et al. 1980, Hedrick et al. 1993, Kinkelin und G rard 1977, Mc Gurk 2005).

3.1 Verbreitungsgebiete

Die PKD wurde in Europa in vielen Ländern und unterschiedlichen Regionen dokumentiert (Mc Gurk 2005). So zum Beispiel in Nordirland (Ferguson u. Needham 1978); Irland (O'Brien et al. 1977); Schottland (Roberts u. Shepherds 1974); Wales (Seagrave et al. 1981); England

(Scott 1979); Dänemark, Schweden, Italien (Clifton u. Hadley et al. 1984), Tschechien (Scholz T. 1999); Norwegen (Midtlyng et al. 2000); Deutschland (Hoffmann u. Dangschott 1981); Spanien (Peribanez et al. 1997); Schweiz (Wahli et al. 2002); Österreich (Gorgoglione et al. 2016a, Unfer et al. 2015) und Frankreich (Kinkelin u. Gerard 1977). Darüber hinaus konnten im nordamerikanischen Raum Ausbrüche im Jahre 1981 in Idaho (Klontz et al. 1986, Smith et al. 1984); sowie in Kalifornien (Hedrick et al. 1985), Washington und Montana (Macconnell und Peterson 1992) detektiert werden. In Kanada wurden Ausbrüche in British Columbia (Foott und Hedrick 1987), sowie Neufundland (Hedrick et al. 1993) vermerkt. Im Jahre 2016 waren im Yellowstone River, also erneut in Montana (Hutchins et al. 2018), Ausbrüche verzeichnet. Erst 2004 wurde gezeigt, dass in Nordamerika und dem Großteil Europas unterschiedliche phylogenetische Zweige von *T. bryosalmonae* existieren. Daraus ergab sich der Schluss, dass die Verbreitung des Erregers nicht primär durch Aquakultur –Maßnahmen erfolgte. Eine nur in Südeuropa vorkommende Variante, die Bestandteil des Nordamerikanischen Zweiges ist, dürfte sich hingegen zeitlich schon vor fischereiwirtschaftlichen Tätigkeiten etabliert haben. Darüber hinaus wurde bewiesen, dass europäische *T. bryosalmonae* Stämme, neu in Europa angesiedelte Regenbogenforellen befallen und PKD auslösen können (Henderson u. Okumara 2004).

3.2 Ätiologie und Übertragung

Auslöser der PKD der Salmoniden ist der Parasit *T. bryosalmonae*, wobei eine einzelne Spore bereits für eine Infektion ausreicht (Mc Gurk et al. 2005). Der Lebenszyklus von *T. bryosalmonae* inkludiert Salmoniden und Moostierchen (*Bryozoa*). Moostierchen sind vielzellige Invertebraten, welche im Wasser in Kolonien leben und die Nahrungsaufnahme durch Wasserfiltration vollziehen. Von zehn in Österreich vorkommenden Moostierchenarten, können drei als Wirt für *T. bryosalmonae* dienen *Plumatella emarginata*, *Fredericella sultana* und *Cristatella mucedo* (Wöss 2005; Troyer-Mildner, 2005; Longshaw et al., 1999). Die Moostierchenart, welche am häufigsten in den Lebenszyklus des PKD-Erregers mit einbezogen ist, ist *F. sultana* (Wöss 2005). Um eine Persistenz während ungünstiger Bedingungen zu gewährleisten produziert *F. sultana* widerstandsfähige Dauerstadien, die sogenannten Statoblasten. Diese Statoblasten können *T. bryosalmonae* beherbergen. Bei einer Verbesserung der Lebensbedingungen kommt es zu einer Keimung neuer individueller Zooide und somit zu

einer Vergrößerung der infizierten Moostierchen Kolonien (Okamura et al. 2011). Durch Fragmentation der Kolonien und Abschnürung von Zooiden wird der Erreger gemeinsam mit den Moostierchen weiterverbreitet (Gorgoglione et al. 2016b). Außerdem konnte bewiesen werden, dass infizierte Statoblasten die Passage durch einen Fisch und sogar den Gefrierprozess überleben, was wiederum zur Persistenz und Verbreitung von *T. bryosalmonae* infizierten Statoblasten in natürlichen Gewässern beiträgt (Abd-Elfattah et al. 2017). Es wird angenommen, dass die Aufnahme der, von Fischen mit dem Harn ausgeschiedenen Sporen der sogenannten. Malacosporen, welche jeweils vier Polarkapseln enthalten, durch Filtration erfolgt (Henderson & Okamura 2004). Die Weiterentwicklung des Parasiten erfolgt innerhalb der Bryozoa. Der entstandene Sporentyp mit jeweils zwei Polarkapseln (im Durchmesser 20_{ym} groß) wird anschließend von den Moostierchen freigesetzt (Canning et al., 1999, 2000; Morris & Adams, 2006) Diese Sporen bleiben dann zwölf bis vierundzwanzig Stunden für Fische infektiös (Kinkelin et al. 2002) und können diese über die Kiemen, möglicherweise auch über die Haut infizieren (El-Matbouli et al. 1999). Schließlich gelangen sie über das Blutssystem in die Nieren, wo der Parasit im Interstitium eine extrasporogone Multiplikation vollzieht und sich dann durch Sporogenese innerhalb der Nierentubuli weiter differenziert (Kent & Hedrick 1985). Die Sporen werden über den Fischurin- bis zu 120 Sporen pro Milliliter (ml) Urin - (Hedrick et al. 2004) wieder in die Umgebung ausgeschieden und der Entwicklungszyklus beginnt erneut. In Europa entwickeln sich die Sporen lediglich bei Bachsaiblingen (*Salvelinus fontinalis*) (Grabner und El Matbouli 2008) sowie Bachforellen (Morris und Adams 2006a) im Lumen der Nierentubuli zu infektiösen Sporen. Diese Sporen enthalten jeweils eine amöboide Zelle und zwei polare Kapseln (Morris und Adams 2006b). Gegensätzlich dazu scheidet die Regenbogenforelle keine infektiösen Sporen über den Urin aus. Der Vorgang der Bildung und Freisetzung von Sporen in Regenbogenforellen wurde lediglich in Nordamerika beschrieben (Kent und Hedrick 1985, Hedrick et al. 2004). Nicht außer Acht zu lassen ist die gegebene Wassertemperatur, welche einen erheblichen Einfluss auf die Weiterentwicklung von *T. bryosalmonae* in den Moostierchen und somit auf den Infektionsdruck, dem die Forellen ausgesetzt sind, hat. Außerdem beeinflusst die Temperatur die Anfälligkeit der Fische auf den Erreger und ist direkt proportional zur Sterblichkeit der infizierten Fische (Soliman et al. 2018, Waldner et al. 2018). Warme Wassertemperaturen über fünfzehn Grad Celsius, wie sie in der Traun vom späten Frühling bis in den späten Herbst erreicht werden, beschleunigen die

Entwicklung des Parasiten und fördern so Infektionen (Ferguson 1981, Morris et al. 2005). Reife Sporen werden freigesetzt, wenn die Wassertemperaturen bei 7 – 8 °C liegen. Die Pathogenität für Bach- und Regenbogenforellen steigt bei Wassertemperaturen ab 10 – 11 °C, ansonsten werden sie Träger der Erkrankung oder bauen eine schützende Immunität auf (Ferguson 1981, Morris et al. 2005, Tops et al. 2006, Schmidt-Posthaus et al. 2015).

3.3 Symptome

Die verursachten Symptome werden in innere und äußere unterteilt. Viele der in der Literatur angeführten Symptome sind nicht für die Krankheit spezifisch und wurden zum Teil vor der Erforschung der Ätiologie beschrieben. Im Folgenden wird ein kurzer Überblick über solche Beschreibungen gegeben: Eine dunkle Verfärbung, abdominale Umfangsvermehrung, sowie beidseitiger Exophthalmus und erhöhte Mortalitätsraten wurden schon früh bei Regenbogenforellen beschrieben (Roberts und Shepherd 1974). Andere Autoren wiederum beschrieben Farbaufhellungen befallener Fische (Plehn 1924), was den Farbschlag des Fisches als nicht aussagekräftiges Merkmal erscheinen lässt (Ferguson und Needham 1978). Längs verlaufende Körperwandaufweitungen nahe der Seitenlinien gelten als typisches Krankheitsmerkmal (Ellis et al. 1985, Ferguson und Needham 1978, Hedrick et al. 1984b). Weiters wird das vereinzelte Auftreten kornealer Trübungen beschrieben (Clifton-Hadley et al. 1987, Ferguson und Needham 1978). Bei Regenbogenforellen wurde in einem Fall im Bereich der Seitenlinien eine mit freiem Auge ersichtliche Vorwölbung beschrieben, welche einer PKD-assoziierten granulomatösen Myositis zugeschrieben wurde (Fernández-de-Luco et al. 1997). Blasse Kiemen als Folge einer Anämie wurden in älteren Publikationen nur gelegentlich beschrieben (Ellis et al. 1985, Ferguson und Needham 1978, Fernández-de-Luco et al. 1997). Bei einem progredienten Verlauf kommt es schließlich zu Inappetenz und auffälliger Absonderung erkrankter Salmoniden (El-Matbouli und Hoffman 1994). Die apathischen Tiere zeigen bis kurz vor ihrem Tod verminderte Reflexantworten (Mc Gurk 2005). Das charakteristischste innere Merkmal ist eine Nierenschwellung, insbesondere der caudalen Areale (Clifton-Hadley et al. 1987). Die Zunahme des Volumens, um das bis zu Zehnfache des physiologischen Organs wurde ebenso wie eine vermehrt auftretende Lateralverlagerung der anheftenden Schwimmblase beschrieben (El-Matbouli und Hoffman 1994, Ferguson und Needham 1978).

Anderen Publikationen zufolge kam es außerdem zu Größenveränderungen der Milz mit Abrundung der Enden (Clifton-Hadley et al. 1984, El-Matbouli und Hoffman 1994, Ferguson und Needham 1978). Die Veränderungen der Milz gehen oft mit einer Grauschattierung des Parenchyms, sowie mit einer rauen Oberfläche einher (Ferguson und Needham 1978). Hepatopathien im Sinne vereinzelt vorkommender grau marmorierter Areale oder anämisch-ikterischer Farbtöne wurden in der älteren Literatur stets ohne einhergehende Hepatomegalie dokumentiert (Ferguson und Needham 1978; Clifton-Hadley et al. 1987). Eine generalisiert auftretende Blässe der Körperoberfläche und einiger innerer Organe ist auf die klinische Manifestation einer Anämie zurückzuführen (Clifton-Hadley et al. 1984, El-Matbouli und Hoffman 1994).

Symptome wie Anämie und Organhyperplasie lassen sich durch eine proliferative und inflammatorische Antwort auf die parasitäre Infektion erklären (Okumara et. al., 2011). Außerdem wird häufig eine granulomatöse Immunantwort im Zuge der chronischen Infektion ausgelöst (Sudhagar et al. 2019). Extrasporogene Proliferation im Interstitium verursacht tumorähnliche lymphatische Hyperplasie (Kotob et al. Parasites & Vectors, 2017).

Zusammenfassend lässt sich aber sagen, dass keines dieser Symptome pathognomonisch für die PKD ist. Insofern müssen diese immer im Zusammenhang mit Fischart, Alter und Wassertemperaturen interpretiert werden. Zudem tritt die PKD häufig mit, oder als Sekundärinfektionen auf, sodass sich einzelne Symptome nicht unbedingt einer Ursache zuordnen lassen.

3.4 Diagnostik

Neben Anamnese und Klinik ist zur endgültigen Diagnosesicherung von PKD ein Erregernachweis nötig. Zum Nachweis von *T. bryosalmonae* können mehrere Methoden herangezogen werden. Der Erreger kann in gefärbten Abklatschpräparaten der Niere oder in histologischen Präparaten mit unterschiedlichen Verfahren nachgewiesen werden. Die May-Grünwald-Giemsa-Färbungen von Abklatschpräparaten der Nieren dienen traditionell zum Nachweis extrasporogoner Stadien des Parasiten in Nierengewebe von Fischen (Klontz und Chacko 1984). Spezifischere Lectin Färbemethoden kommen zum Einsatz, um den Parasiten

zu lokalisieren und zu identifizieren (Castagnaro et al. 1991). Die Erregerdiagnostik aus Gewebe mittels Färbemethodik ist in der Durchführung relativ zeitaufwändig, da hierbei mehr als zwei Tage bis zur Erlangung entsprechender Ergebnisse vergehen (El-Matbouli und Soliman 2005). Auch serologische Methoden (mittels monoklonaler Antikörper) und in-situ-Hybridisierung (Morris et al. 1999) sind möglich, aber arbeits- und zeitaufwändig. Zur Vereinfachung der Diagnostik wurden unterschiedliche molekulargenetische Nachweismethoden hervorgebracht. Schon sehr früh wurde eine PCR-basierte Methode zur Erkennung von *T. bryosalmonae*-DNA bei infizierten Fischen von Saulnier und Kinkelin 1997 entwickelt (Saulnier und Kinkelin 1997). Eine Weiterentwicklung dieser ist das Protokoll von Kent et al. (1998), welches ein *T. bryosalmonae*-sensitives Primer-Set zur Amplifikation eines 435-Basenpaar-Segmentes des SSU-rRNA Gens von *T. bryosalmonae* verwendet. Auch unterschiedliche real-time PCR Protokolle können zum Einsatz kommen (z. B. Bettge et al. 2009). Eine weitere Variante zum Nachweis des Erregers und zur Diagnostik der PKD ist die sogenannte „loop-mediated isothermal amplification (LAMP)“ (El-Matbouli und Soliman 2005). Kapitel 5.6 kann entnommen werden, welches diagnostische Verfahren im Zuge dieser Arbeit genutzt wurde, um *T. bryosalmonae* nachzuweisen.

3.5 Therapie

Zahlreiche Therapieversuche wurden zur Behandlung der PKD durchgeführt. Malachitgrün ist ein Wirkstoff, der den Krankheitseintritt verzögert und so zu einer schnelleren Regeneration der Forellen führen soll, der Wirkstoff ist jedoch laut der Verordnung 470/2009 (EG) nicht zur Anwendung an lebensmittelliefernden Tieren zugelassen. Bei Fumagillin (*Fumagillin-dicyclohexylamin*) handelt es sich um ein Antibiotikum, welches bei Lachsen getestet wurde. Es beugt bei einer Fütterung von 1 % des Körpergewichtes pro Tag und einer Konzentration von 0,5 g pro kg Futter, einer klinischen Manifestation von PKD vor. Mit einem Fumagillin-Analog, namens TNP-470, wurde Deckungsgleiches an Regenbogenforellen getestet. Die Tests führten zu einer Immunsuppression und einem Abbau von hämatopoetischen Gewebe (Morris et al. 2003). Weitere Wirkstoffe gegen PKD wurden nicht gefunden, da sich die getesteten Arzneimittel entweder toxisch auf die behandelten Tiere auswirkten oder negative Effekte bei Konsumenten verursachten (Waldner et al. 2020). Zudem müssen bei der Anwendung auch

ökotoxikologische Auswirkungen berücksichtigt werden, weshalb das Management eine sehr große Rolle im Kampf gegen PKD darstellt. Auf diesen Aspekt soll in der Diskussion weiter eingegangen werden.

3.6 PKD in Österreich

Erste Dokumentationen bezüglich PKD Ausbrüchen in österreichischen Bachforellen finden sich 2014 (Gorgoglione et al. 2016a). Juvenile Bachforellen aus einer Anlage im Kamp zeigten in der Zytologie *T. bryosalmonae* Sporoblasten und histologische Untersuchungen offenbarten sporogone und extrasporogone Stadien von *T. bryosalmonae* in Nieren – und Milzgewebe. Bei einem versuchsweisen Besatz desselben Gewässers mit einigen spezifisch pathogenfreien Pilotfischen (juvenile Bachforellen) war die Erkrankung reproduzierbar (Gorgoglione et al. 2016a). Im oben bereits erwähnten niederösterreichischen Fluss Kamp sank die Bachforellenpopulation in den letzten zehn bis 15 Jahren von geschätzten 60 % auf geschätzte 10 % (Gorgoglione et al. 2016a, G.Fürnweger, R. Hundlinger, persönliche Gespräche). Auch in der Ybbs dominierten einst Bachforellen mit 56 %, doch auch in diesem Gewässer konnte von 2004 bis 2011 eine Abnahme auf ungefähr 6 % verzeichnet werden. Im Innbach, Steinbach, und der Trattnach wurde im Jahre 1999 ein Massensterben von Bachforellen beobachtet, gefolgt von einem Rückgang der Bachforellenpopulation um über 70 % (Postlmayr in Lewisch et al. 2018b). Aufgrund dieses Rückganges der Bachforellenpopulationen in Kombination mit einer erhöhten Aufmerksamkeit gegenüber der vorherrschenden Problematik seitens der Bewirtschafter, wurden in den vergangenen Jahren in zahlreichen österreichischen Flüssen Untersuchungen zur Verbreitung von *T. bryosalmonae* in den betroffenen Fischbeständen durchgeführt. Hierbei wurden mit *T. bryosalmonae* infizierte Bach- und Regenbogenforellen in zahlreichen nieder- und oberösterreichischen Gewässern nachgewiesen: Kamp, Schwarzbach, Umbach, Ybbs, Haselbach, Waldaist, Feldaist, Feistritz, Steyr, Krems, Innbach, Trattnach, Steinbach, große Mühl, Kettenbach, Felberbach und Hängerbach, Kleine Gusen (Lewisch et al. 2018a). In dieser Studie von Lewisch et al. (2018) waren von 280 Bachforellen 138 positiv auf *T. bryosalmonae* getestet worden. Des Weiteren waren elf von 39 Regenbogenforellen befallen. An lediglich 7/29 beprobten Abschnitten konnte keine Erregerbelastung verzeichnet werden. Auch im Osten Österreichs, genauer gesagt in der Wulka, die in den Neusiedlersee mündet,

wurden Bachforellen von 2017 –2018 in den Monaten Juli bis November gesammelt, 87/95 dieser, wurden positiv auf *T. bryosalmonae* getestet (Waldner et al. 2020).

Gezielte Untersuchungen in anderen Bundesländern (Tirol, Vorarlberg) konnten mittlerweile ebenfalls eine Erregerbelastung verifizieren (Tirol GV 2020). Jahrelang wurde auch in der Traun im Spätsommer eine Zunahme des Bachforellensterbens verzeichnet. In zwei Studien, im Zuge welcher klinische Untersuchungen der Fische durchgeführt wurden, konnte jedoch kein auslösendes Agens festgestellt werden (Lahnsteiner et al., 2009), während andere Untersuchungen auch in der Traun das Vorkommen des Parasiten und das Auftreten der PKD bestätigten (Waldner, pers. Mitteilung)

3.7 Rückgang der Bachforelle in Europa

Seit den 1990er Jahren, wird von einem Rückgang der Bachforellen in unterschiedlichen europäischen Gewässern berichtet (European Inland Fisheries Advisory Commission, 2002). Die dafür verantwortlichen Kausalitäten sind nach wie vor nicht vollends geklärt (Hari et al. 2006). Dabei werden die Auswirkungen von *T. bryosalmonae* auf Salmonidenbestände unterschiedlich eingeschätzt. In dänischen Flüssen etwa werden sie als sehr variabel beschrieben (Skovgaard und Buchmann, 2012) und in Island zeigte eine Studie, dass dort lediglich Seesaiblinge, nicht aber die Bachforelle, Krankheitsanzeichen entwickelten (Kristmundsson, et al. 2010). Im Guddal, einem Fluss im norwegischen Hardanger Fjord ist die Bachforelle während der marinen Phase aufgrund der Aquakultur unter deutlichen anthropogenen Druck geraten. Zählungen von laichenden Fischen konnten zwar keinen Rückgang von 2006 bis 2016 verzeichnen, waren jedoch deutlich niedriger als in den Jahren von 2000 bis 2005. Auch Schätzungen der effektiven Populationsgröße zeigten während des Studienzeitraums keinen Hinweis auf einen Rückgang der Bachforelle (Duval et al. 2021).

Die Schweiz verzeichnet und dokumentiert jedoch seit 1980 einen Rückgang der Bachforellen (Burkhardt- Holm et al. 2005). Bis ins Jahr 2004 sind die protokollierten Fänge um 60 % zurückgegangen, wobei vor allem wilde Populationen als stark gefährdet gelten (Rubin et al. 2019). Der Rückgang variiert zwischen einzelnen Gewässern stark, daher wurde 1998 ein fünfjähriges Projekt ins Leben gerufen, um die Ursachen für diese Problematik zu eruieren.

Reduzierte Fänge resultierend aus einer verminderten Fischereiaktivität oder schlechtem Nachbesatz wurde in der Schweiz weitgehend ausgeschlossen (Burkhardt- Holm at al. 2005).

Als auslösende Faktoren wurden auch hier die Krankheit PKD und eine verminderte Qualität des Lebensraumes genannt (Burkhardt- Holm at al. 2005). Erstere beide hängen wiederum stark mit der Klimaerwärmung zusammen. Durch erhöhte Wassertemperaturen ($>15^{\circ}\text{C}$) wird die Anfälligkeit von Bachforellen auf PKD stark gesteigert. Höhere Wassertemperaturen gelten als Schlüsselparameter für die Prävalenz von PKD (Burkhardt- Holm at al. 2005, Rubin et al. 2019). Im Jahre 2005 wurde ein Anstieg der Wassertemperatur in Bächen und Flüssen der Schweiz um $1,5^{\circ}\text{C}$ über einen Zeitraum von zwei Jahrzehnten festgestellt. Daraus resultierend wird die kritische Grenze von 15°C wiederholt und anhaltend überschritten (Rubin et al. 2019). Gerade in niedriger gelegenen Regionen, welche sich flussabwärts befinden, erhöht sich so das Risiko einer *T. bryosalmonae* Infektion (Burkhardt- Holm at al. 2005). Teilweise gibt es aber nach wie vor autochthone Bestände in nördlichen Gebieten Europas und europäischen Hochgebirgen, obwohl auch in solchen Habitaten die Wassertemperaturen angestiegen sind (Sportanglerbund Vöcklabruck 2018). Im Gegensatz dazu wurden beispielsweise autochthone Bestände der Bachforelle in der Donau durch atlantisches Besatzmaterial verdrängt (Honsig-Erleburg, Kugi 2012; Nationalpark Hohe Tauern 2016)

Auch die Qualität der Lebensräume hat sich inzwischen reduziert. Es gibt zu viele unnatürliche, meistens menschengemachte Barrieren. Flüsse werden begradigt, Wasser wird vom natürlichen Flusslauf weg geleitet, um Kraftwerke zu speisen oder bewirtschaftetes Land zu bewässern (Burkhardt- Holm at al. 2005). In Österreich gibt es über 6000 Wasserkraftwerke und 3300 andere Querbauten, welche die Laichwanderungen flussaufwärts beeinträchtigen (Moser, Sportanglerbund Vöcklabruck 2018, Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Regionen und Wasserwirtschaft 2023). Die normalerweise von Bachforellen häufig aufgesuchten Orte werden durch die schlechteren Verbindungen dadurch knapper (Burkhardt- Holm at al. 2005). Oftmals werden ganze Abschnitte voneinander getrennt und so der Lebensraum der Bachforelle eingeschränkt. Aufstiegshilfen für Fische werden zwar mithilfe nationaler Fördermittel und seitens der EU geschaffen, diese werden jedoch nur von ca. 30 % der Fische auch tatsächlich genutzt (Bundesministerium für Landwirtschaft, Regionen und Tourismus 2021).

Weiter beeinflussen die Wasser-Land-Übergänge die Fische. Überhängende Vegetation bietet einerseits Schutz andererseits sind herabfallende Insekten eine wichtige Futterquelle für Fische, so auch für die Bachforelle. Bachforellen halten sich gerne in lockeren Kieselböden auf. Dies wird durch die Flussbänke, welche eine Pufferzone bilden, ermöglicht. Somit sind die Salmoniden vor freiem Sediment geschützt, das die Böden verstopft und so den Lebensraum der Bachforelle beeinträchtigt. Des Weiteren werden die Laichplätze durch das Sediment nicht mehr ausreichend mit sauerstoffreichem Wasser versorgt, wodurch der Abtransport von metabolischen Produkten der Eier beeinträchtigt wird. Die Fangzahlen sind jedoch auch an Orten mit guter Lebensraummorphologie zurückgegangen. Dies lässt vermuten, dass es hier noch weitere Begleitfaktoren gibt, die den Rückgang der Bachforelle stärker beeinflussen (Burkhardt- Holm et al. 2005).

Trotz vermehrter Maßnahmen gegen Wasserverschmutzung, ist auch die Wasserqualität nicht optimal. Die Konzentrationen von Chemikalien aus der Agrikultur, Nitrit, Ammoniak und auch von Steroidhormonen oder Östrogenen sind nicht zu vernachlässigen. So wurden bei Untersuchungen in der Schweiz, besonders nach stärkeren Regenfällen, höhere Konzentrationen an Pestiziden, Nitrit, Ammoniak und Schwermetallen gemessen, welche die Wasserqualität stark beeinflussen können (Burkhardt- Holm et al. 2005). Auch die sinkende Wasserqualität und Präsenz von Abwässern aus Kläranlagen korreliert signifikant mit der Prävalenz von PKD (Rubin et al. 2019).

4 Die Salzkammergut Traun und der Mühlbach

4.1 Traun

Am Berg Elm in Grundlsee in der Steiermark entspringt eine Quelle, die am Südufer in den Kammersee fließt. Dieser gilt als Ursprung der Traun. Auf ihrem weiteren Weg fließt die sogenannte Grundlseer-Traun nach Bad Aussee, wo im Kurpark des bekannten Ortes die Altausseer Traun und die Grundlseer-Traun zusammenfließen. Kurz danach fließt die Kainischtraun zu und ab hier nennt man sie dann Koppentraun (Sie zieht sich schließlich durch das Koppental. Von dort geht ihr Weg weiter durch den Ort Obertraun, wo sie schließlich in den Hallstättersee mündet. Erst ab dem Zeitpunkt des See-Austrittes heißt sie fortan endgültig Traun. Zuerst durchquert sie das innere Salzkammergut und wird ab Bad Goisern als „Goiserer Traun“ bezeichnet, danach kommt sie nach Bad Ischl, wo die „Ischl“ vom Wolfgangsee zufließt. Weiter in Richtung Nord-Osten fließt sie am Höllengebirge entlang und mündet dann in Ebensee in den Traunsee. Die „Goiserer Traun“ ist, wie eingangs schon erwähnt mit einer Länge von 4,3 km und einer Breite von 20–30 Metern zu einem beliebten Ziel für viele Sportfischer geworden. Lediglich in der Zeit von ersten März bis 30. April wird sie zum Laichschongebiet und darf daher nicht befischt werden (Hurch Flyfishing 2021). In Abbildung 1 ist der Abschnitt der Traun, welcher im Zuge dieser Studie nach Bach- und Regenbogenforellen abgesucht wurde in pink eingezeichnet.



Abbildung 1: Der auf Bach- und Regenbogenforellen abgesuchte Abschnitt der Traun ist auf dieser Abbildung mit pink markiert. (Land Oberösterreich 2021)

4.2 Der Mühlbach

Mit einer Länge von 2,7 Kilometern, einer Breite von bis zu zehn Metern und einer Tiefe bis zu zwei Metern ist der Mühlbach ein von der Goiserer Traun gespeistes Nebengewässer. Abbildung zwei visualisiert seinen Verlauf in voller Länge. Bachforellen überwiegen im Bestand, jedoch leben hier auch Regenbogenforellen, Seeforellen, Bachsaiblinge und Äschen, sowie vereinzelt Hechte. Bewirtschaftet wird der Mühlbach vom Bad Goiserer Sportfischer-Verein. Eine Schleusenanlage im Bach, die 2018 erneuert wurde, verhindert große Wasserstand-Schwankungen. Durch seine leichte Begehrbarkeit ist der Mühlbach für viele Sportfischer ein sehr beliebtes Ziel. Zwei Fische dürfen pro Tag entnommen werden, jedoch gilt eine Beschränkung von maximal 30 Salmoniden für Jahreskartenbesitzer. Das Befischen wird ausschließlich mit künstlicher Fliege erlaubt. Watfischen ist verboten, jedoch das Durchwaten des Baches erlaubt. Es wird genau geregelt, in welchem Zeitraum welcher Fisch entnommen werden darf, um auch die Schonzeiten der jeweiligen Fischarten zu

berücksichtigen. Es wird außerdem bestimmt, welches Mindestfangmaß die Fische zum Zeitpunkt der Entnahme haben müssen. Dabei dürfen von 01.04. – 15.09. Bachforellen, Regenbogenforellen und Bachsaiblinge (*Salvelinus fontinalis*) mit einem Mindestfangmaß von 30 cm sowie Seeforellen von mindestens 50 cm entnommen werden. Hechte können von 01.05 – 30.09 mit einem Mindestfangmaß von 50 cm entnommen werden. Die Äsche (*Thymallus thymallus*) ist zurzeit ganzjährig geschont (Goiserer Sportfischer-Verein 2021).



Abbildung 2: Der Verlauf des Mühlbaches ist in dieser Abbildung mit gelb gekennzeichnet (Land Oberösterreich 2021)

4.3 Wassertemperatur der oberen Traun von 2019 bis 2021 Steeg, Seeausfluss von Juli bis September

Am Seeausfluss in Steeg werden die Temperaturen seit 2019 viertelstündlich vom Land Obertreich, Knisters gemessen (47°61.12526'N 13°63.29251'O). Zur besseren Veranschaulichung wurde aus den 96 Tagesmesswerten ein Mitteltageswert kalkuliert und dieser wurden dann in den Diagrammen zusammengeführt.

In den Abbildungen drei bis fünf wurden die Temperaturen der Sommermonate Juni – September, der Jahre 2019–2021 veranschaulicht. Es ist erkenntlich, dass die Traun im August Temperaturen von über 20 Grad Celsius und im September bis fast 19 °C erreicht. Die höchste Temperatur der Traun wurde im August 2021 gemessen und betrug über 21 °C. Die niedrigste gemessene Temperatur im überprüften Zeitraum lag bei 12,5 °C im August 2020. Die durchschnittliche Temperatur der Traun liegt im August und September bei 13,5-17,9 °C. Im Jahr 2019 waren das 15,46 °C ± 1,77 °C, also 13,69 – 17,23 °C. Im Jahr 2020 waren das 15,51 °C ± 1,95 °C, also 13,56 – 17,86 °C. Im Jahr 2021 waren das 15,41 °C ± 1,92 °C, also 13,49 – 17,33 °C. Dabei sollte nicht vergessen werden, dass beim Auslauf des Hallstättersees und somit dem Beginn der Traun in Steeg, der Gosaubach einfließt, welcher die Traun an ebendieser Stelle mit kälterem Wasser versorgt. Somit ist diese Wassertemperaturmessstelle auch stark vom Gosaubach beeinflusst (pers. Mitteilung Fischereimanagement Salzkammergut 2020). Ebenfalls erkennbar in Abbildung drei bis fünf ist der Temperaturanstieg der Traun am Seeausfluss über den kritischen Wert der 15 °C. Im Jahr 2019 war die Temperatur an 75 Tagen höher als 14,9 °C im Zeitraum Juni bis September dies war Ende Juni einmal für drei Tage und einmal für vier Tage der Fall. Anfang Juli für vier Tage und dann wieder für einen Tag. Von Mitte Juli bis Anfang September hatte die Traun für 54 Tage Temperaturen von über 14,9 °C. Im September waren die Temperaturen noch dreimal über 14,9 °C das war einmal für fünf Tage einmal für einen Tag und einmal für drei Tage. Im Jahr 2020 wurden die 14,9 °C der Traun an 86 Tagen überschritten. Die längste Zeitperiode war hier im August mit 26 Tagen und Ende September mit 15 Tagen. Die restlichen Zeitperioden bewegten sich zwischen ein –und fünf Tagen. Im Jahr 2021 hatte die Traun insgesamt 85 Tage mit Temperaturen von über 14,9 °C. Die längste Zeitperiode war hier von Anfang Juli bis Ende August mit 47 Tagen. Die

zweitlängste Zeitperiode war von Anfang bis Mitte September mit 18 Tagen, die dritt längste mit elf Tagen Ende Juni bis Anfang Juli. Die restlichen Zeitperioden waren ein bis fünf Tage lang.

Für den Mühlbach gibt es keine Temperaturmessstelle. Durch wenig Beschattung, geringe Wassertiefe und langsamere Fließgeschwindigkeit des Wassers muss davon ausgegangen werden, dass der Mühlbach noch um ein bis drei Grad wärmer ist als die Traun.

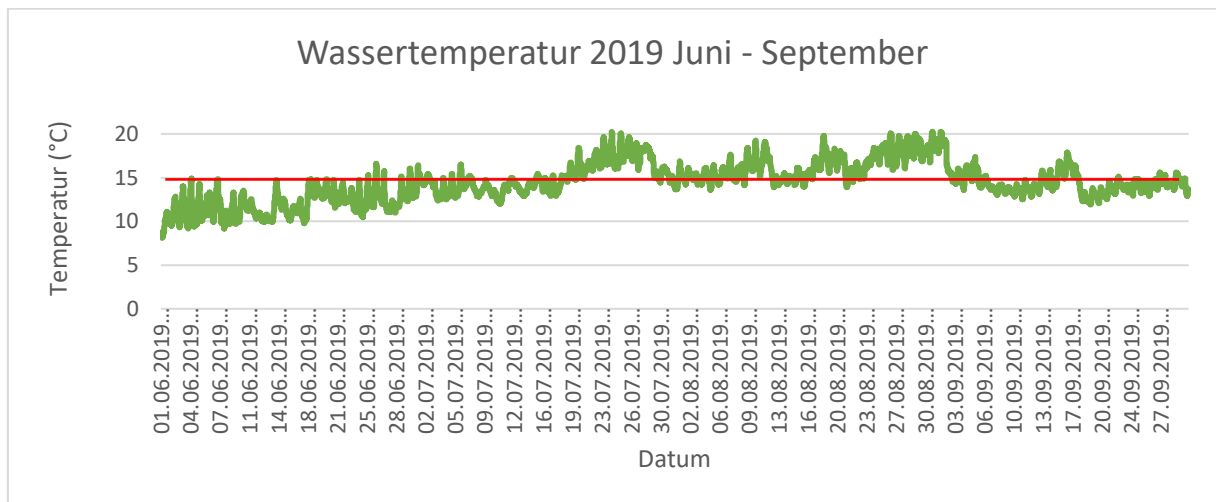


Abbildung 3: Veränderung der viertelstündlich gemessenen Temperaturen der Traun während der Sommermonate. Gemessen am Seeausfluss 2019 (Knisters, Land Oberösterreich, persönliche Kommunikation).

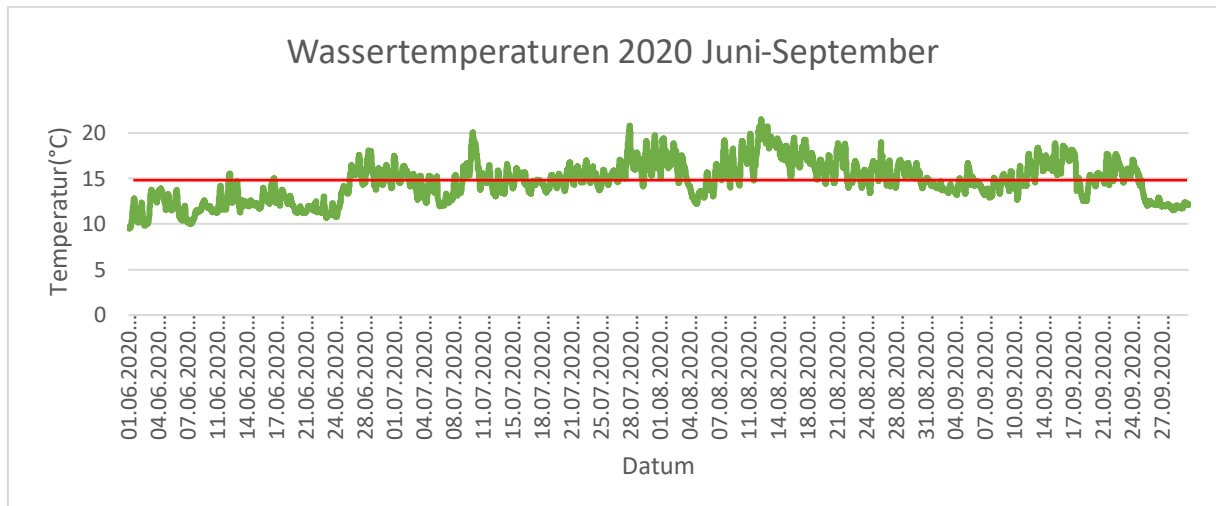


Abbildung 4: Veränderung der viertelstündlich gemessenen Temperaturen der Traun während der Sommermonate. Gemessen am Seeausfluss 2020(Knisters, Land Oberösterreich, persönliche Kommunikation)

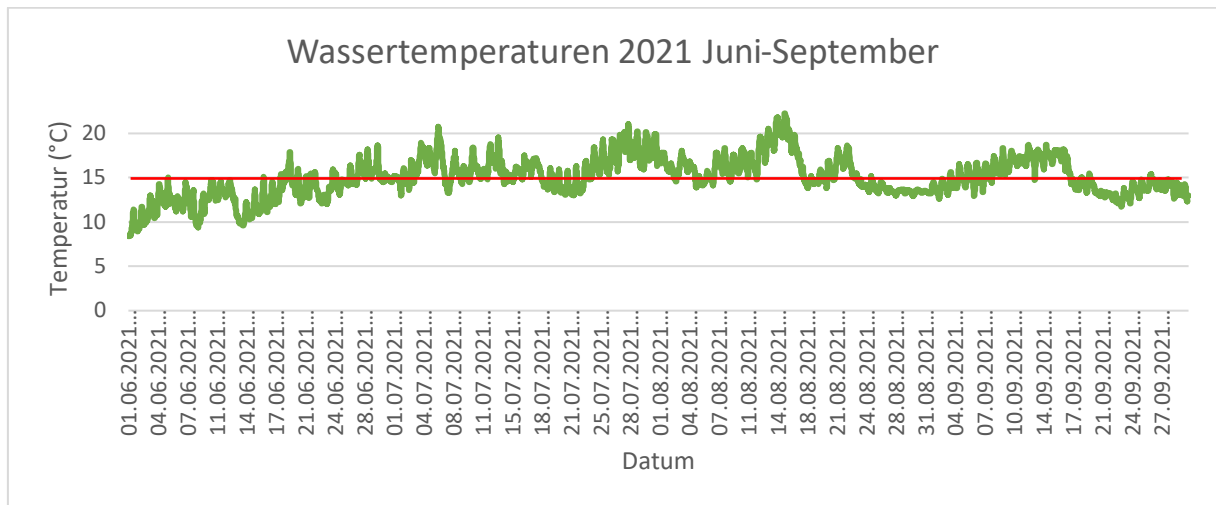


Abbildung 5: Veränderung der viertelstündlich gemessenen Temperaturen der Traun während der Sommermonate.
Gemessen am Seeausfluss 2021(Knisters, Land Oberösterreich, persönliche Kommunikation).

4.4 Bestandserhebung Goiserer Traun

Mit Äschen, Regenbogenforellen, Bachforellen sowie Seeforellen (*Salmo trutta lacustris*) wirbt das Revier Goiserer Traun mit einem hervorragenden Fischbestand (Hurch Fly Fishing 2021). Im Oktober 2019 wurde von der Goiserer Traun eine aktuelle Bestandsaufnahme des vorherrschenden Fischbestands erhoben, da ein weiteres Wasserkraftwerk in Planung stand. Die Auswirkungen der Errichtung des Kraftwerkes in Bezug auf den Fischbestand und die ökologischen Folgen wurden beschrieben. Insgesamt wurden 2938 Fische von zehn verschiedenen Fischarten gefangen. Mit Ausnahme der Regenbogenforelle handelte es sich nur um einheimische Fische. Erlitzen (*Phoxinus phoxinus*) (71,58 %) waren dabei die am häufigsten gefangene Fischart, gefolgt von Regenbogenforellen (10,96 %), Koppen (*Cottus gobio*) (10,65 %) und Äschen (4,08 %). Hechte (*Esox lucius*) (0,71 %), Aalrutten (*Lota lota*) (0,88 %) und Aitel (*Squalius cephalus*) (0,65 %) waren ebenso in größeren Zahlen vorhanden. Auffällig war, dass Bachforellen (0,10 %), Flussbarsche (*Perca fluviatilis*) (0,34 %) und Barben (*Barbus barbus*) (0,03 %) nur vereinzelt vorkamen. Besorgniserregend war bei dieser Untersuchung der starke Rückgang der Bachforelle. So machten die Bachforellen im Jahr 2000 noch 40 % der Population, im Jahr 2010 nur mehr knappe 20 % und 2019 nur mehr 0,10 % aus (Oberösterreichische Umweltschutzbehörde 2014). In Vermutung stand, dass nicht das Kraftwerk, sondern die Erkrankung PKD, für welche Bachforellen als besonders empfänglich gelten, dafür verantwortlich war (Fischer et al 2021).

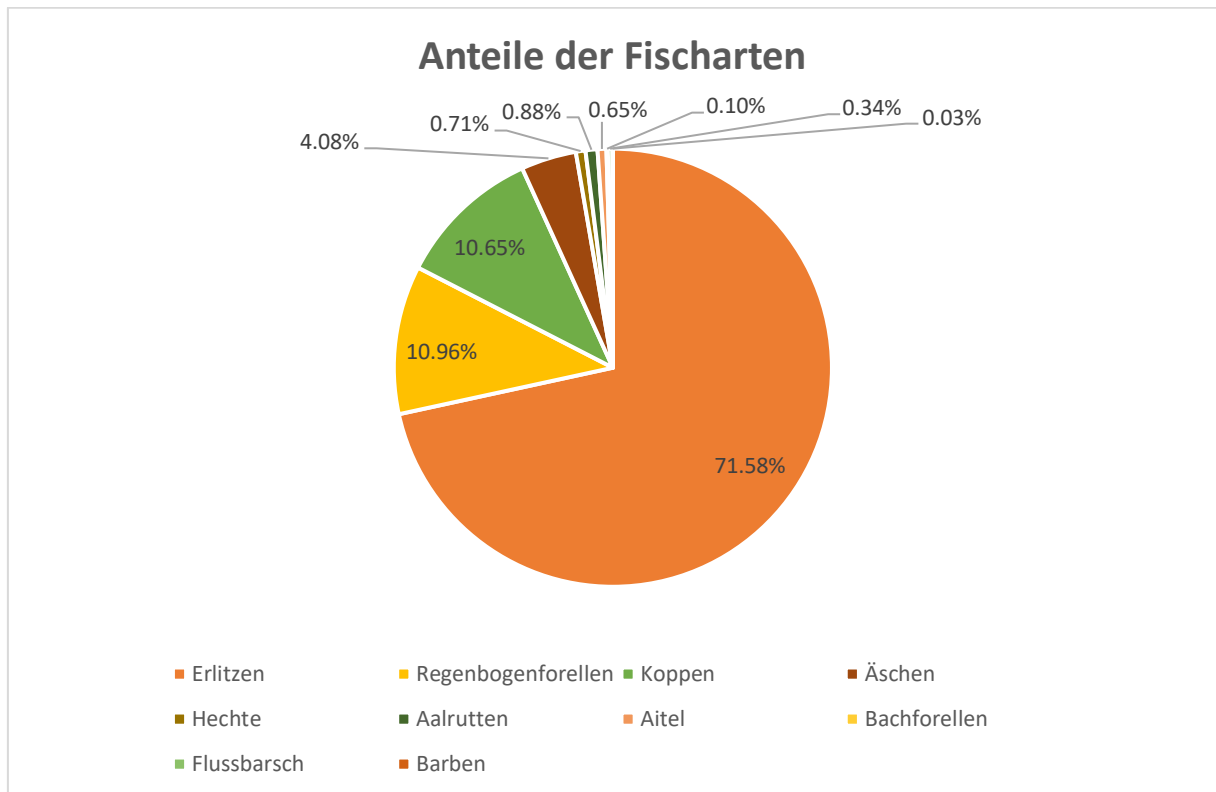


Abbildung 6: Anteile der verschiedenen Fischarten, welche in der Traun vorkommen nach Bestandserhebung 2019 (Fischer et al 2019).

Schon 2020 wurde von der österreichischen Bundesforsten AG, Geschäftsfeld Fischerei eine Bestandsaufnahme der Traun vom Ursprung am Hallstättersee, bis zur Einmündung in den Traunsee in Ebensee, durchgeführt. Das Augenmerk wurde vor allem auf Jung- und Laichfische, welche für die Fischerei relevant sind, gelegt. Dazu zählten die Äsche, Bachforelle, Bachsaibling, Hecht und die Regenbogenforelle. Bereiche, die den Lebensansprüchen von Jungfischen der genannten Arten entsprechen, wurden daher bevorzugt beprobt. Ein adaptiertes Fischartenleitbild ist für diese Strecke der Traun vom Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Fisch- und Gewässerswirtschaft 2020 erarbeitet worden und beinhaltet 17 Fischarten. Welche dieser Arten als Leitarten, häufige Begleitarten und seltene Begleitarten eingestuft werden, kann Abbildung 7 entnommen werden. Inhalt des Leitbildes ist ebenfalls die

Einstufung der Arten nach Flora-, Fauna-, Habitat Richtlinie (FFH) und die Rote Liste Österreichs Fische (Fischer et al 2021).

I	Leitart	b	Häufige Begleitart	s	Seltene Begleitart
Fischart	Wissenschaftlicher Name	Leitbildstatus	Rote Liste	FFH-Anhang	
Aalrutte	<i>Lota lota</i>	b	VU		
Aitel	<i>Squalius cephalus</i>	b	LC		
Äsche	<i>Thymallus thymallus</i>	I	VU	V	
Bachforelle	<i>Salmo trutta fario</i>	I	NT		
Bachschmerle	<i>Barbatula barbatula</i>	s	LC		
Barbe	<i>Barbus barbus</i>	b	NT	V	
Brachse	<i>Abramis brama</i>	s	LC		
Elritze	<i>Phoxinus phoxinus</i>	b	NT		
Flussbarsch	<i>Perca fluviatilis</i>	b	LC		
Gründling	<i>Gobio gobio</i>	s	LC		
Hasel	<i>Leuciscus leuciscus</i>	s	NT		
Hecht	<i>Esox lucius</i>	s	NT		
Koppe	<i>Cottus gobio</i>	I	NT	II	
Rotaugen	<i>Rutilus rutilus</i>	s	LC		
Rußnase	<i>Vimba vimba</i>	s	VU		
Schneider	<i>Alburnoides bipunctatus</i>	s	LC		
Seeforelle	<i>Salmo trutta lacustris</i>	s	NT		
Gesamt			17 Arten		

FFH...Fauna-Flora-Habitat-Richtlinie der EU (RICHTLINIE 92/43/EWG vom 21. Mai 1992):

II Art gelistet in Anhang II der FFH-RL (Arten, für die Schutzgebiete ausgewiesen werden müssen)

IV Art gelistet in Anhang IV der FFH-RL (streng zu schützende Tier- und Pflanzenarten)

V Art gelistet in Anhang V der FFH-RL (Arten, deren Entnahme und Nutzung Gegenstand von Verwaltungsmaßnahmen sein können)

Gefährdungsstatus nach Wolfram & Miksch (2006), Rote Liste der Fische Österreichs & IUCN

RE regional ausgestorben oder verschollen (regionally extinct)

CR vom Aussterben bedroht (critically endangered)

EN stark gefährdet (endangered)

VU gefährdet (vulnerable)

NT Gefährdung droht (near threatened)

LR geringes Risiko (lower risk)

LC nicht gefährdet (least concern)

DD Datenlage für eine Einstufung nicht ausreichend (data deficient)

NE nicht eingestuft, es handelt sich meist um verbreitete und reproduzierende Neobiota (not evaluated)

Abbildung 7: Adaptiertes Fischartenleitbild für die Traun zwischen Steeg am Hallstättersee und Traunsee inklusive der Einstufungen der FFH-Richtlinie sowie der Roten Liste der Fische Österreichs (BMLFUW 2017; ID 137)

4.5 Bewirtschaftung

Bewirtschaftet werden der Mühlbach und die Traun von lokalen Fischereivereinen. Die Gesetzgebung und der Vollzug des Fischereiwesens liegen in Österreich in der Verantwortung der Bundesländer. Als Quelle für Gesetzestexte wurde für diese Arbeit das Rechtsinformationssystem des Bundes 2022 verwendet. Der Fischbesatz wird rechtlich im jeweiligen Landesfischereigesetz geregelt. Da hier Gewässer im Bundesland Oberösterreich betroffen sind, findet sich dieses im Landesrecht Oberösterreich (Oö. Fischereigesetz, LGBl. Nr. 41/2020). Im zweiten Abschnitt des Gesetzes werden die fischereiwirtschaftlichen Maßnahmen besprochen, wobei der Besatz im § 8 behandelt wird. Hier wird die bewirtschaftende Person dazu verpflichtet, ein Fischwasser regelmäßig, standortgerecht mit gesunden Fischen zu besetzen, sofern die natürliche Reproduktion den Fischbestand nicht aufrechterhalten kann. Ein Neubesatz gehört außerdem eine Woche vor Besatz dem Fischereirevierausschuss gemeldet, wo eine Angabe von Ort, Zeit und Herkunft des Besatzes bekanntzugeben ist. Ausnahmen von der Besatzpflicht können von der Behörde in besonderen Fällen eingeräumt werden. Solche Ausnahmen müssen schriftlich erteilt und begründet werden. In § 10 wird geregelt, dass ein Fischereivorstand entweder für das gesamte Revier oder nur für einen Teil des Reviers beschließen kann, dass ein Fangverzeichnis zu führen ist, welches dann dem Fischereirevierausschuss übermittelt werden muss. In diesem Verzeichnis müssen dann alle aus einem Fischwasser entnommenen Fische, angeführt werden.

Allgemeine Vorschriften zum Inverkehrbringen von Fischen sind im Tiergesundheitsgesetz EU 2016/412, Abschnitt 1, Art. 191 geregelt. In Art. 196 wird auf Fische, welche zur Freisetzung in offenen Gewässern bestimmt sind, eingegangen. Es dürfen nur solche Tiere in Verkehr gebracht werden, die frei von Krankheiten, also gesund sind. Herrscht in einem Zuchtbetrieb eine erhöhte und unerklärte Mortalität, dürfen Fische aus solchen Betrieben auch nicht in Verkehr gebracht werden. Letztere Bestimmung kann von der Bezirksverwaltungsbehörde unter veterinärmedizinischer Beratung mittels Bescheides umgangen werden. Hierfür müssten die Fische, welche in Verkehr gebracht werden sollen aus einer anderen epidemiologischen

Einheit stammen, als jene mit erhöhter Mortalität. Außerdem dürfen sie veterinärfachlich kein Risiko darstellen.

Zum Zweck der Haltung oder des Besatzes in freien Gewässern dürfen nur Fische verwendet werden, welche den bereits genannten Anforderungen entsprechen. Daher sollten sie, aus Betrieben stammen, welche einen zumindest gleichwertigen Gesundheitsstatus erfüllen, wie das Gewässer, in welches die Fische entlassen werden sollen. Weiter dürfen in seuchenfreien Gebieten nur Fische mit Herkunft aus Gebieten mit gleichen Gesundheitsstatus, verbracht und eingebracht werden, nicht in Verkehr gebracht werden dürfen Fische, welche aus seuchenrelevanten Gründen getötet werden sollen oder solche, die aus einem Verarbeitungsbetrieb stammen.

4.6 Besatz des untersuchten Mühlbach-Abschnitts

Der Mühlbach wird 2 – 3 mal jährlich mit Bachforellen und Regenbogenforellen einer privaten Fischzucht, welche im nahen Umkreis von Bad Wimsbach, Gemeinde Neydharting stationiert ist, besetzt. Die Besatzfische werden auf keinerlei Krankheitserreger untersucht. Aus einem Telefonat mit dem Inhaber der Fischzucht ging folgendes hervor, dass die Bachforellen in Teichen aufgezogen werden und die Versorgung der Teiche durch eine Quelle aus einem Berg direkt am Grundstück gespeist wird. Bis dato gab es in dem Bestand keine Probleme mit PKD. Das Infektionsrisiko schätzt der Eigentümer als sehr gering ein, da die Teiche temperaturtechnisch, den Fischen angepasst optimiert wurden. Die Teiche werden durch am Grund laufende Pumpen temperiert und fortlaufend mit kaltem Wasser versorgt. So wird dafür gesorgt, dass sich auch die Teichoberfläche nicht zu stark erwärmt.

Der Mühlbach musste 2014 aufgrund der Erbauung des Wasserkraftwerkes Bad Goisern trockengelegt werden. Im Anschluss wurde er erst im Jahre 2017 neu besetzt. Baubeginn des Kraftwerk Bad Goisern war im Oktober 2013. Dabei wurde die Traun von Görb (Höhe Haus Görb 17) in etwa auf Höhe des katholischen Friedhofes Bad Goisern bis zu zwei Meter vertieft. Seitens der Energie AG wurde geraten, den Mühlbach für den Zeitraum des baulichen Vorhabens trockenzulegen. Mittels Elektroaggregat wurde 2014 der Mühlbach ausgefischt und die Fische in die Ischl (Bad Ischl) versetzt. Laut einem Gutachten stand der Bad Goiserer Sportfischervereinigung eine Entschädigung von 5942,50 Euro zu (T. Tischler, persönliche

Mitteilung). Der Fischereischaden wurde jedoch nicht mit Geld, sondern mit Fischbesatz abgegolten. Seit Beendigung der Bauarbeiten am 26.03.2017, erfolgte jährlich ein- bis mehrmals ein Neubesatz des Mühlbaches mit Bach- und Regenbogenforellen. Die genauen Daten dieses Unterfangens (Datum des Besatzes, Gesamtbesatz in kg und geschätzte Größe der Fische), sind Tabelle (Tab.) eins zu entnehmen.

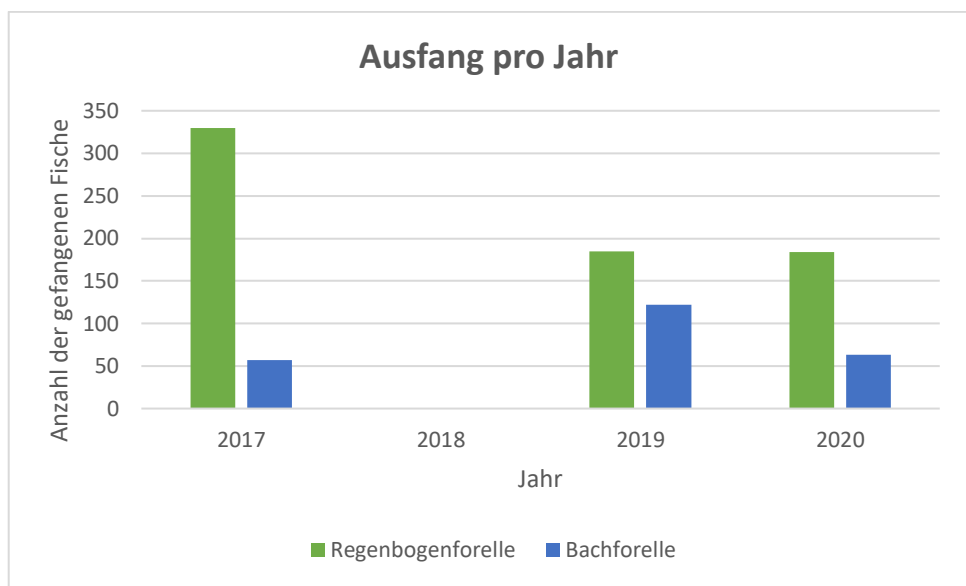
Tabelle 1: Besatz des Mühlbaches mit Bachforellen und Regenbogenforellen (T.Tischler, persönliche Kommunikation)

Jahr	Datum	Gewicht (kg)	Größe (cm)
Bachforellen			
2017	26.03.2017	200	10-15
	14.05.2017	100	10-15
2018	03.04.2018	100	30-35
	16.04.2018	100	30-35
2019	15.04.2019	200	30-35
	16.05.2019	200	30-35
	12.06.2019	200	30-35
2020	22.04.2020	110	30-35
	03.06.2020	100	30-35
	09.07.2020	50	30-35
Regenbogenforellen			
2017	11.04.2017	200	30-35
	14.05.2017	100	30-35
	15.08.2017	163	30-35
2018	03.04.2018	100	30-35
	16.04.2018	100	30-35
2019	19.05.2019	5000	6
	27.08.2019	100	30-35
2020	22.04.2020	100	30-35
	03.06.2020	100	30-35
	09.07.2020	100	30-35

4.7 Entnahmen aus dem untersuchten Mühlbach- Abschnitt

Wie schon in Punkt 4.2. beschrieben, dürfen zwei Fische pro Tag und pro Lizenz aus dem Mühlbach entnommen werden. Jahreslizenz-Inhaber dürfen maximal 30 Fische pro Jahr entnehmen. Die Lizenzen des Mühlbaches teilen sich auf in Jahreslizenzen und Tageslizenzen, wobei Gäste mehr Entgelt entrichten müssen als Mitglieder. Das Befischen ist ausschließlich mit einer Kunstfliege und einem Schonhaken gestattet. Die Fische müssen ein Mindestfangmaß von 30 cm haben, sonst gelten diese als untermäßig und müssen in den Bach zurückgegeben werden. Ebenfalls zu beachten sind die Schonzeiten der jeweiligen Fischarten. Befindet sich ein Fisch in Schonzeit, wird vom Befischen abgesehen. 2018 wurde eine neue Schleuse für die Entstehung des Mühlbaches gegraben. Aufgrund dieser Bauarbeiten wurden keine Lizenzen verkauft und somit kein Ausgang gezählt. Die jeweiligen Zahlen können der Tab. zwei entnommen werden. (T. Tischler, persönliche Kommunikation).

Tabelle 2: Ausgang der Regenbogen- und Bachforellen (T.Tischler, persönliche Kommunikation)



5 Material und Methoden

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Traun und der Mühlbach in der Zeit von Juli bis September 2020, ausgehend von der Mündung des Hallstättersees bis inklusive zum Ende des Mühlbaches, auf tote Forellen, insbesondere Bachforellen, abgesucht. Diese Strecke wurde zweimal täglich und mindestens viermal wöchentlich begangen. Jene Forellen, die frisch verendet in einem der beiden Flüsse vorgefunden wurden, wurden entnommen und tiefgefroren, wobei auf einen sehr guten Erhaltungszustand geachtet wurde. Die Fische durften weder Anzeichen von Fäulnis und Verwesung aufzeigen, noch durften sie am Wassergrund liegend entnommen werden. Auf Größe und Gewicht wurde in erster Linie nicht geachtet. Am 02.09.2020 wurden die ersten fünfzehn Bachforellen, aus dem Mühlbach entnommen. In dem untersuchten Traun-Abschnitt wurden keine toten Fische gefunden. Von den 15 aufgefundenen Fischen wurden lediglich dreizehn an die Abteilung für Fischmedizin der Veterinärmedizinischen Universität Wien transportiert, da zwei wesentliche Fäulnisanzeichen aufwiesen und somit nicht den Einschlusskriterien entsprachen. An eben dieser wurden die Bach- und Regenbogenforellen im Anschluss den unterschiedlichen Untersuchungen zugeführt. Am 23.09.2020 konnten, mittels Elektroaggregat, zwölf weitere Forellen (neun Bachforellen und drei Regenbogenforellen) aus dem Mühlbach entnommen und mittels Sauerstoffbecken lebend an die Abteilung für Fischmedizin transportiert werden. Euthanasiert wurden jeweils sechs der Forellen am 24.09.2020 und sechs am 25.09.2020 mit einer Überdosis (1g/L), Tricain-Methansulfonat Pulver (MS22, Sigma Aldrich, Austria). Direkt im Anschluss wurden sie in gleicher Vorgehensweise wie die zuvor entnommenen Fische untersucht. Erwähnenswert ist hier, dass die Entnahme der lebend entnommenen Salmoniden durch den Obmann der Goiserer Sportfischer auf zwölf Stück limitiert wurde. Alle Untersuchungen wurden an der Abteilung für Fischmedizin der Veterinärmedizinischen Universität Wien durchgeführt.

5.1 Pathoanatomische Untersuchung und Probennahme

5.1.1 Adspektorische Untersuchung

Die Untersuchungen der verendet und lebendentnommenen Forellen wurden standardisiert vorgenommen. Die Fische wurden auf dem Untersuchungstisch nach Gewicht und Größe

geordnet aufgelegt und nummeriert. Der Erhaltungszustand wurde sensorisch, adspektorisch und palpatorisch überprüft. Besonderes Augenmerk wurde auf Augen, Kiemen, Haut mit Hautschleim, Muskelturgor, sowie auf den Geruch gelegt. Für die später folgende parasitologische Untersuchung wurde mit Hilfe eines kommerziellen Deckglases Hautabstriche vom Rumpf unterhalb der Brustflosse und seitlich der Rückenflosse, ebenso wie Kiemenabstriche angefertigt.

Die Bestimmung der Gesamtlänge (GL) in Zentimeter erfolgte von der Maulspitze bis zur Schwanzflossenspitze. Das Gesamtgewicht jedes Fisches wurde mit Hilfe einer Waage (Satorius, Tokyo, Japan) festgestellt und in Gramm (g) angegeben. Die Beurteilung des Ernährungszustandes erfolgte von lateral durch die Beurteilung der Relation von Kopf zu Körper und der Form des Abdomens. Von dorsal wurde die Ausbildung der Rückenmuskulatur beurteilt. Haut und Anhangsgebilde wurden gründlich adspektorisch untersucht. Des Weiteren wurden Augen, Nares, Maulhöhle und der Anus begutachtet und Veränderungen dokumentiert.

5.1.2 Sektion

Im ersten Sektionsschritt wurde, beginnend am caudodorsalen Ansatzpunkt des Kiemendeckels, ein Scherenschnitt gesetzt, welcher ventral des Auges bis auf Höhe des Mundwinkels fortgesetzt wurde und das Kiefergelenk durchtrennte. Mittels einer weiteren Schnittführung vom caudoventralen Ansatzpunkt über die Ventromediallinie nach vorne wurde der Kiemendeckel, nach Durchtrennung des Unterkiefers, entfernt. Es folgte eine makroskopische Beurteilung aller vier Kiemenbögen und der Maulhöhle. Unter Fassung mittels einer Pinzette wurde, durch einen Scherenschnitt, eine kleine Gewebeprobe entnommen, auf einen Objektträger verbracht und mit einem Deckglas für die spätere mikroskopische und parasitologische Untersuchung versehen. Eine Gewebeprobe vom Kiemenepithel wurde für die Zellkultur und ein weiteres Kiemenblatt für die spätere histologische Untersuchung entnommen.

Um den Herzbeutel und den Bauchsitus zu beurteilen wurde ein Querschnitt knapp vor dem Anus, mit besonderer Vorsicht, um den Enddarm nicht zu verletzen, vorgenommen. Mit weiter waltender Vorsicht, um keine inneren Organe zu lädieren, wurde ausgehend von diesem Querschnitt bis zum cranialen Kiemenbereich ein ventromedianer Schnitt durch die

Bauchdecke und den Bauch- und Brustflossengürtel durchgeführt. Unter flacher Scherenführung wurde nun, ausgehend vom präanal Querschnitt, ein bogenförmiger Schnitt (entlang der linken Bauchwand und knapp ventral der Seitenlinie) nach cranial vorgenommen, um die Bauchdecke zu entfernen. Nachdem kontrolliert wurde, ob die Schwimmblase intakt geblieben ist, konnte dann durch einen weiteren Schnitt nach ventral, die Körperseitenwand entfernt werden. Nun wurde der Eingeweidesitus adspektorisch untersucht und etwaige Abweichungen dokumentiert. Für die Zellkultur wurden an dieser Stelle für die folgende virologische Untersuchung Gewebestücke der Milz und der Vorkammer des Herzens entnommen. Angesichts der anschließenden histologische Untersuchung wurden Organproben der Milz, Leber und vom Herzen aus der Vorkammer und dem Bulbus entfernt. Der Anus wurde umschnitten und der Gastrointestinaltrakt nach cranial geklappt. Adspektorisch wurden im Anschluss die Gallenblase die Schwimmblase– und nach Entfernung dieser, die Nieren beurteilt. Von diesen wurden im Zuge dieser Arbeit für jede weiterführende Untersuchung Proben entnommen. Für die bakteriologische Untersuchung wurde mit einer Öse Material der Kopfniere gewonnen, für die virologische und histologische Untersuchung ein Gewebestück eben dieser entfernt. Für die molekulargenetische Untersuchung wurde mit einem Skalpell eine sterile Probe von 25-50 µg vom mittleren Bereich der Rumpfniere entnommen. Der Verdauungstrakt wurde nach Durchtrennen cranial des Ösophagus entfernt und im Gesamtverlauf eröffnet. Schleimhautabstriche des eröffneten Darms wurden in gleicher Weise wie bei Haut und Kiemen beschrieben, für die mikroskopische und parasitologische Untersuchung angefertigt, für die spätere virologische und histologische Untersuchung jeweils Gewebeproben der Pylorusschläuche entnommen. Zum Schluss wurde der Schädel eröffnet um die Adspektion und Probenentnahme des Gehirns für die Zellkultur im Zuge der virologischen, sowie für die histologische Untersuchung zu ermöglichen.

5.2 Parasitologische Untersuchung

Die in der vorangegangenen Sektion gewonnenen Abstriche der Haut, der Kiemen und des Darms wurden, wie bereits erwähnt, auf einen Objektträger verbracht, mit Deckglas versehen und lichtmikroskopisch (Olympus BX53, Olympus, Tokyo Japan) bei unterschiedlichen Vergrößerungen durchmustert. Parasiten wurden anhand ihrer Morphologie und Gewebslokalisation den jeweiligen Taxonen zugeordnet. Eine weitere Identifizierung sollte

sich auf Fälle beschränken, in denen die Befallsintensität oder pathologische Veränderungen einen Einfluss auf die in dieser Arbeit untersuchten Mortalitäten nahelegten.

5.3 Bakteriologische Untersuchung

Im Rahmen der bakteriologischen Untersuchung wurde der Dreiösen-Ausstrich der Kopfniere auf eine Schafblut Agarplatte (Columbia sheep blood, COS, Thermo Fisher Scientific, Oxoid Limited, Cambridge, UK) aufgetragen und bei 20 °C inkubiert. Während der Inkubation wurden tägliche Kontrollen durchgeführt und etwaige heranwachsende Kulturen subkultiviert um nach Gram-Färbung, durch Lichtmikroskopie und API-Identifikationssysteme (BioMerieux, Marcy l'Etoile, Frankreich) identifiziert zu werden. Bei unklaren Ergebnissen wurde zusätzlich eine matrixunterstützte Laser-Desorptions-Ionisations-Time-of-Flight-Massenspektrometrie (MALDI-TOF MS) (Microflex LT Instrument, Bruker Daltonic GmbH, Leipzig, Deutschland) angeschlossen.

5.4 Virologische Untersuchung

Die im Zuge der Sektion entnommenen Gewebeproben des Kiemenepithels, der Milz, Kopfnieren, Pylorusschläuche, der Vorkammer des Herzens und des Gehirns wurden für die Zellkultur in Eagle's Minimum Essential Medium (MEM) 10 ml Gefäßen (Sigma Aldrich, Vienna, Austria) verwahrt. Eine Inkubation der daraus hergestellten Homogenate, sowie zweimalige Passage der Zellkultur-Überstandes erfolgten durch den Verantwortlichen des Zellkultur-Labors der Abteilung entsprechend den Arbeitsanweisungen zum Nachweis von Viren bei Salmoniden.

5.5 Histologische Untersuchung

Die Gewebeproben der Kiemen, Milz, Leber, der Vorkammer, des Ventrikels und des Bulbus des Herzens, der Kopfnieren, der Rumpfnieren, der Pylorusschläuche, der Darms und des Gehirns wurden für die histologische Untersuchung für 24 Stunden in neutral gepuffertem 10 % Formalin fixiert, in Wachs eingebettet und Schnitte von 5 µm angefertigt, welche im Anschluss

mit Hämatoxylin und Eosin (H&E) gefärbt wurden. Zur histologischen Diagnostik von Entwicklungsstadien von *T. bryosalmonae* wurde außerdem eine Giemsa-Färbung veranlasst.

5.6 Molekulargenetische Untersuchung

Zur, für die PCR-Untersuchung notwendigen, Extraktion der DNA aus den Gewebeproben der Rumpfnieren wurde das DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Deutschland) verwendet und nach Anleitung des Herstellers durchgeführt. Anschließend wurde die DNA mittels Spektrophotometrie (Nanodrop Technologies) quantifiziert. Um *T. bryosalmonae* nachzuweisen, wurden die PKD- spezifischen Primer, SSU-rDNA, PKX5f und PKX6r nach dem Protokoll von Kent et al. (1998) verwendet. Sichtbar gemacht wurden die Amplikons durch Gelelektrophorese und mit einem MiniElute- Geleextraktionskit (Qiagen), gemäß der Anleitung des Herstellers, gereinigt. Schließlich wurde die DNA in einem geeigneten Labor (LGC Genomics, Berlin, Deutschland) sequenziert.

6 Ergebnisse

Bei den tot entnommen Forellen handelte es sich um 13 Bachforellen zwischen 30 und 39 cm ($35,15 \pm 3,34$) Gesamtlänge und einem Gewicht von 253-664 g ($477,85 \pm 132,52$). Davon waren acht weiblich und fünf männlich. Unter den tot entnommenen Fischen befand sich keine Regenbogenforelle. Die lebend entnommen Forellen setzten sich aus neun Bachforellen und drei Regenbogenforellen zusammen, wovon wiederum zehn weiblich und zwei männlich waren. Die Regenbogenforellen wiesen eine Größe von 17 cm bis 27 cm ($23,33 \pm 4,50$) mit einem Gewicht zwischen 67,2 g und 225 g ($146,40 \pm 64,42$), die Bachforellen eine Größe von 16,5 cm bis 54,2 cm ($25,52 \pm 12,23$) und ein Gewicht zwischen 17 g und 576,4 g ($129,74 \pm 170,17$) auf. Bei allen untersuchten Fischen gab es eine hohe Variation in Länge und Gewicht. Insgesamt verstarben zwei der lebend entnommenen Bach-, sowie eine Regenbogenforelle: Eine Regenbogenforelle während des Transports an die Veterinärmedizinische Universität Wien und zwei Bachforellen am darauffolgenden Tag. Alle entnommenen Fische stammten aus dem Mühlbach.

6.1 Adspektions- und Sektionsbefunde

Bei den post mortem entnommenen Bachforellen war der Zustand des Hautschleims auf Grund von Zersetzungsprozessen nicht mehr beurteilbar. Einblutungen im Auge waren bei neun Bachforellen zu verzeichnen, Einblutungen im Maul bei vier und im Analbereich bei fünf Bachforellen. Hämatome an mehreren Flossen wurden bei vier, sowie Substanzverluste der Flossen bei fünf Bachforellen dokumentiert.

Drei der Bachforellen wiesen zusätzlich Erosionen der Maulspitze auf. Die tot entnommenen Bachforellen wiesen allesamt blasse Kiemen, eine geschwollene Milz und Nieren auf. Ein Beispiel dieser Renomegalie kann Abbildung neun entnommen werden. Eine Bachforelle hatte einen Stein im Magen, ansonsten war der Gastrointestinaltrakt aller post mortem entnommenen Bachforellen leer. Die umfassenden Sektionsbefunde können detailliert der unten angefügten Tabelle drei entnommen werden.



Abbildung 8: Anhand der Kiemen und der Textur der Muskulatur lässt sich feststellen, dass der Erhaltungszustand dieses Fisches gerade noch genügend war. Dennoch ist eine Vergrößerung der Niere feststellbar (Pfeil).

Diversere Veränderungen wurden auch bei den lebend entnommenen Fischen dokumentiert. Die während des Transports verwendete Regenbogenforelle und eine der verstorbenen Bachforellen wiesen eine fokale Dunkelfärbung der Haut auf. Eine weitere Regenbogenforelle war mit vermehrten Hautschleim bedeckt. Flossenveränderungen wurden bei zwei Forellen, davon eine Regenbogenforelle, bei welcher die Brustflosse und eine Bachforelle bei welcher die Schwanzflosse, weißliche, wolkige und weiche Auflagerungen aufwiesen. Substanzverluste der Flossen zeigten sich bei vier Forellen, davon eine Regenbogenforelle und drei Bachforellen. Bei der einen Tag später verwendeten Bachforelle wurde ein Hämatom an der Brustflosse verzeichnet. Die Maulspitze einer Regenbogenforelle wies Erosionen auf, Einblutungen in Augen und Maulhöhle waren bei einer weiteren Regenbogenforelle erkennbar. Im Zuge der weiteren Sektion wurden bei der während des Transports verwendeten Bachforelle, blasse Kiemen vorgefunden. Die während des Transports verstorbene Regenbogenforelle, eine der verstorbenen Bachforellen, sowie eine weitere Bachforelle, hatten geschwollene Milzen. Jeweils eine Regenbogen- und eine Bachforelle kennzeichnete eine heller gefärbte Leber. Eine Hepatomegalie wurde bei drei Salmoniden dokumentiert (eine Regenbogenforelle, eine Bachforelle, eine verwendete Bachforelle). Geschwollene Nieren wurden bei insgesamt fünf der Fische, darunter eine Regenbogenforelle, detektiert. Ähnlich den tot aufgefundenen Fischen

war auch der Gastrointestinaltrakt der lebend entnommenen Fische leer. Lediglich bei einer Forelle wurde ein Stück Gras im Magen vorgefunden. Eine der verendeten Bachforellen wies weiße, degenerierende Oozyten im sich entwickelnden Laich auf. Die angeführten Veränderungen können tabellarisch dargestellt Tabelle vier entnommen werden.



Abbildung 9: vergrößerte Niere (grüner Pfeil) und Milz (oranger Pfeil)



Abbildung 10: sichtbar sind die blassen Kiemen und ein Hämatom an der Brustflosse

6.2 Parasitologische Untersuchung (excl. *T. bryosalmonae*)

Parasiten wurden nur bei den lebend entnommenen Forellen nachgewiesen. Insgesamt wurde bei sechs Individuen, vier Bachforellen und zwei Regenbogenforellen, ein jeweils geringgradiger (ggr.) parasitärer Befall mit den entdeckten Parasiten nachgewiesen. Nematoden waren bei drei Bachforellen und zwei Regenbogenforellen zu finden, bei den drei Bachforellen und einer Regenbogenforelle im Enddarm, bei der zweiten Regenbogenforelle im Magen. Eine Bachforelle mit Trematoden- Befall des Enddarms, hatte ebenfalls *Acanthaplocephala* im Magen. Metazerkarien waren im Magen einer Regenbogenforelle zu finden. Eine der Regenbogenforellen, die Nematoden im Magen hatte, wies zusätzlich noch einen Befall mit Eiern von *Capillaria*, sp. in der Leber auf. Dieser wurde mittels histologischer Untersuchung festgestellt.

6.3 Bakteriologische Untersuchung

Bei der bakteriologischen Untersuchung waren sehr deutlich die Unterschiede zwischen den tot und lebend entnommenen Fischen erkennbar.

Bei den post mortem entnommenen Bachforellen konnte aus dem Nierengewebe von acht der 13 mehrere unterschiedliche Bakterienarten isoliert werden. Dabei wurde einmal mgr. *Acintobacter* sp., mgr. *Plesiomonas shigelloides* und ggr. *Hafnia alvei* nachgewiesen, sowie einmal ggr. *Pseudomonas koreensis* und ggr. *Vagococcus fluvialis*. Bei einer weiteren Bachforelle wurde mgr. *Aeromonas bestiarum* und mgr. *Kluyvera intermedia* nachgewiesen. Bei einem Individuum wurde mgr. *Citrobacter braakii* und mgr. *Aeromonas encheleia* und bei einem weiteren ggr. *Hafnia alvei* und ggr. *Aeromonas eucrenophila* nachgewiesen.

Im Gegensatz dazu wurde bei den lebend entnommenen Probanden lediglich bei zwei Fischen, davon eine Regenbogen- und eine Bachforelle, *Aeromonas sobria* aus der Niere differenziert. Es handelte sich bei beiden Fischen um jene, welche 24 Stunden vor der Sektion verendet waren.

6.4 Virologische Untersuchung

Mittels Zellkultur konnte kein Virus nachgewiesen werden, weder bei den tot, noch bei den lebend entnommenen Forellen.

6.5 Histologische Untersuchung

Einer histologischen Untersuchung wurden lediglich die lebend entnommenen Forellen unterzogen. In den Präparaten der Leber waren bei einer Regenbogenforelle hochgradig *Capillaria* Eier zu finden. Die Nierenpräparate von zwei Regenbogenforellen zeigten im interstitiellen Nierengewebe Entwicklungsstadien von *T. bryosalmonae*. Diese waren von einer Hyperplasie des interstitiellen Gewebes sowie dem vermehrten Auftreten von Melanomakrophagenzentren begleitet. Weitere Parasiten konnten weder in den Leber-, noch in den Nierenpräparaten auffindig gemacht werden. Alle anderen untersuchten Organe zeigten histologisch keine Auffälligkeiten.

6.6 PCR Untersuchung auf *T. bryosalmonae*

Elf der 13 tot entnommenen Forellen wiesen ein positives PCR Ergebnis für *T. bryosalmonae* auf. Auch bei den lebend entnommenen Fischen konnte der Erreger *T. bryosalmonae* bei elf der zwölf Forellen mittels spezifischer PCR nachgewiesen werden. Bei dem Fisch mit negativem Erregernachweis handelte es sich um eine Regenbogenforelle. Zur Sequenzierung wurde drei Amplifikate eingeschickt. Diese zeigten 99,2 – 100% Übereinstimmung mit dem *T. bryosalmonae* 18S rRNA-Gen.

[illegible]

*Tabelle 4: in die Tabelle wurden nur Kriterien, zu welchen pathologische Sektions-Befunde gefunden wurden, aufgenommen; andere Veränderungen als diese wurden nicht festgestellt
BF: Bachforelle, RF: Regenbogenforelle, V: verendet, VT: verendet bei Transport, m: männlich, w: weiblich, ggr: geringgradig, mgr: mittelgradig, hgr: hochgradig -: keine Auffälligkeiten, o.N.: ohne Nahrung*

[illegible]

7 Diskussion

Das Ziel dieser Diplomarbeit war es, eine Ursache für den schon seit einigen Jahren mit wachsender Sorge beobachteten Rückgang der Bachforellenbestände in der Goiserer Traun und dem Mühlbach zu identifizieren. Des Weiteren sollten die Fragen geklärt werden, ob ein bereits vermuteter Anstieg der *T. bryosalmonae* Infektionen der heimischen Salmoniden und Veränderungen des Lebensraumes der Fische in Zusammenhang gebracht werden können.

Tote Fische wurden ausschließlich im Mühlbach gefunden. Es ist durchaus denkbar, dass im untersuchten Traun-Abschnitt aufgrund der Strömungsverhältnisse und dem leichteren Zugang für fischfressende Tiere das Auffinden von toten Fischen generell erschwert ist. Bei den tot entnommenen Fischen handelte es sich um 13 Bachforellen, 11/13 waren männlich, 2/13 weiblich. Das durchschnittliche Gewicht dieser Tiere lag bei 477,85 g, die durchschnittliche Länge bei 35 cm. Insgesamt wurden zwölf Fische lebend aus dem Mühlbach entnommen, dabei handelte es sich um 9/12 Bachforellen und 3/12 Regenbogenforellen. Die Geschlechterverteilung lag bei 10/12 weiblichen (2 Regenbogenforellen, 8 Bachforellen) und 2/12 männlichen (1 Regenbogenforelle, 1 Bachforelle) Tieren. Im Durchschnitt hatten die Regenbogenforellen ein Gewicht von 146,40 g und eine Länge von 223,33 cm, die Bachforellen von 129,74 g und 25,52 cm. Klar erkenntlich ist, dass die tot entnommene Bachforellen Population im Durchschnitt um knapp ein Drittel größer als die lebend entnommenen Bachforellen war (exakt 9,63 cm). Dies ist insofern eine interessante Beobachtung, als üblicherweise insbesondere Jungfische an PKD verenden und man bei älteren Fischen die Ausbildung einer Immunität erwartet (Wahli et al. 2002). Bei Betrachtung der Größe der Besatzfische ab 2017 von beinahe ausschließlich 30-35 cm und einem Verenden ebendieser Größe ist davon auszugehen, dass die verendeten Fische nach Besatz erstmals mit *T. bryosalmonae* in Kontakt gekommen waren. Die untersuchten lebend entnommenen Fische hingegen, die zwar *T. bryosalmonae* pos. aber zum Großteil gesund waren, sind deutlich kleiner und es kann davon ausgegangen werden, dass sie Gelegenheit hatten, eine Immunität aufzubauen. Allerdings ist die Anzahl der untersuchten Fische zu gering um hierzu eine gesicherte statistische Aussage zu treffen.

Bei keinem der post mortem entnommenen Fische konnte die Beschaffenheit des Hautschleims beurteilt werden. Dies ist dem bereits eingesetzten Zersetzungsprozess geschuldet. Einblutungen ins Auge wurden bei 9/13 Individuen, ins Maul bei 4/13 und im Analbereich bei 5/13 Fischen gefunden. 5/13 Tieren hatten einen Substanzverlust der Flossen und 4/13 Hämatome an diesen. Erosionen der Maulspitze waren bei 3/13 der tot entnommenen Bachforellen vorhanden. Einblutungen in die Haut und Flossen, sowie Blutungen in anderen Organen, sind oft eine Folge von Endothelschäden und einer Schädigung des hämatopoetischen Gewebes. Diese können durch bakterielle, virale oder parasitäre Infektionen verursacht werden. Bei zwei der betroffenen Fische wurde in der Niere *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* bzw. *A. bestiarum* nachgewiesen., welche beide solche Veränderungen hervorrufen können. Aber auch die Schädigung des hämatopoetischen Gewebes durch *T. bryosalmonae* kann diese Veränderungen erklären. Alle 13/13 Fische hatten blasse Kiemen, ebenso wie geschwollene Milz und Nieren. Ob die Blässe der Kiemen bereits prä mortal, aufgrund einer Anämie vorhanden war oder im Zuge der post mortal unterbrochenen Blutzirkulation wegen einer Abnahme des Blutes in den Blutgefäßen einhergegangen ist, kann an diesem Punkt nur gemutmaßt werden. Unter Anbetracht der Tatsache, dass weitere Organe, welche im Zusammenhang mit Blutbildung und Speicherung stehen, Veränderungen aufwiesen, ist Ersteres auf jeden Fall naheliegend. Ein pathologischer Umbauprozess des Milz - und Nierengewebes könnte zu einer Vergrößerung der Organe geführt haben. Besonders unter Beleuchtung der Hypothesen dieser Studie könnte schon ein früher Verdacht für eine Infektion mit dem Erreger der PKD zustande kommen. Lediglich 1/13 Fischen hatte einen Stein im Magen, ansonsten war der Gastrointestinaltrakt bei allen leer. Entsprechend der Annahme von Ferguson und Needham 1978, dass ein physiologischer Magen-Darminhalt verstorbener Fische auf eine unveränderte Nahrungsaufnahme bis zum Tod hindeutet, kann im Falle dieser Studie interpretiert werden, dass die Fische ein gestörtes Fressverhalten an den Tag legten. Dieses könnte aufgrund einer Erkrankung oder fehlenden Ressourcen zustande gekommen sein.

Von den lebend aus dem Mühlbach entnommenen Fische sind 2/12 während des Transports und 1/12 einen Tag später verendet. In allen drei Individuen waren Pathologien gegeben, auf welche im entsprechenden Teil der Diskussion genauer eingegangen wird. Zusätzlich zu diesen könnte Stress durch Transport und Umgebungsänderung schlussendlich der auslösende Faktor für das Verenden der Tiere eine Rolle gespielt haben. Von den verendeten Tieren wiesen 2/3

fokale Dunkelfärbungen der Haut auf, sowie 1/3 Hämatome an der Brustflosse. Des Weiteren konnte bei 1/3 verendeten Tiere Einblutungen in die Maulhöhle dokumentiert werden. Eine, der während des Transports verstobenen Regenbogenforellen, hatte vermehrten Hautschleim zu verzeichnen. Diese Tatsache wäre durch die vielen positiven Qualitäten des physiologischen Hautschleims herzuleiten. Hat der normale Mucus eines Fisches antibakterielle, sowie antiparasitäre Wirkungen und schützt die unterhalb liegende Haut, so ist er für einen erkrankten Fisch, welcher ohnehin schwächer und empfänglicher gegenüber äußerlichen Einwirkungen ist, umso wichtiger. Die wolkigen, weißlichen Auflagerungen der Flossen bei 2/12 Fische und der Substanzverlust eben dieser bei 4/12 Fischen, könnte ein Anzeichen von beginnender Flossenfäule sein. Die Bakterien, welche die Flossenfäule bedingen gelten als Kommensalen des natürlichen Lebensraums, können jedoch unter schlechten Haltungsbedingungen oder bei Tieren, welche unter starkem Stress stehen pathologische Veränderungen der Flossen hervorrufen. Das Einfangen und Verbringen der Fische sowie die kurzfristige Hälterung waren zweifellos Stress auslösende Faktoren, welche im Zusammenhang mit einer *T. bryosalmonae* Infektion solche Veränderungen bedingen könnten. Die besondere Anfälligkeit von Fischen welche mit *T. bryosalmonae* infiziert sind für Sekundärerreger, ist in der Literatur beschrieben (Feist & Bucke 1993). Die blassen Kiemen einer der verendeten Bachforellen könnten ein postmortaler Befund sein; im Zusammenhang mit den anderen Organveränderungen dieses Fisches (Schwellung von Leber, Milz und Niere, positiver *T. bryosalmonae* PCR-Befund) können sie jedoch als Symptom einer klinischen PKD interpretiert werden. Eine Vergrößerung der Milz wurde bei zwei weiteren der 12 Fische festgestellt, darunter die, beim Transport verendeten Regenbogenforelle. Auch bei diesem Fisch kann, auch anhand einer vergrößerten Niere und Leber, davon ausgegangen werden, dass er aufgrund der Vorschädigungen durch PKD den Transport nicht überlebte. Lahnsteiner et al. konnten bereits 2009 in einer Studie vergrößerte Milzen bei mehreren aus der Traun entnommenen Bachforellen feststellen. Dass dieselben drei Tiere ebenfalls an einer Vergrößerung der Nieren litten, lässt allein aufgrund dieses Sektionsbefundes den Verdacht auf Vorhandensein des Erregers der PKD verhärten, haben doch bereits zahlreiche Autoren, darunter El-Matbouli et. al 2009 eine Spleno- und Renomegalie als Hauptsymptome der Erkrankung beschrieben. Zwei weitere Bachforellen, also insgesamt 5/12 Fische zeigten eine Hypertrophie der Nieren. Eine vergrößerte Niere, induziert durch *T. bryosalmonae*, wurde in Bachforellen schon acht bis 17

Wochen nach einer Infektion beobachtet. Bei Regenbogenforellen war der Zeitraum mit vier bis 16 Wochen entsprechend kürzer (El-Matbouli et al. 2009, Kumar et al. 2013). Außerdem konnten bei 2/12 Fischen intrahepatische Aufhellungen und bei 3/12, davon 2/3 der verendeten, eine Hepatomegalie dokumentiert werden. Solche Leberveränderungen stellte bereits Kumar et al. im Zuge einer Studie 2013 fest. Diese Organvergrößerungen sind durch entzündliche Vorgänge bedingt. Gleich wie in der Gruppe der tot entnommenen Fische, wurde auch bei den lebend entnommenen Fischen lediglich bei einer Bachforelle ein Stück Gras vorgefunden, die restlichen Tiere hatten einen leeren Gastrointestinaltrakt. Neben bereits erwähnter krankheitsbedingter Anorexie wäre eine mögliche Erklärung, dass die Dauer des Aufenthaltes, die der physiologischen Verdauung überschritt und somit zuvor aufgenommene Nahrung, bereits wieder ausgeschieden wurde.

Lediglich bei den lebend entnommenen Fischen wurden Parasiten nachgewiesen. Dies könnte implizieren, dass der Tod der post mortem entnommenen Population schon länger zurück lag, die Parasiten im toten Organismus nicht mehr lebensfähig waren und bereits zersetzt wurden oder sich neue Wirte gesucht haben. Unter Anbetracht der Hypothese, dass es sich bei den tot entnommenen Fischen um jene des frischen Besatzes handelte, kann es natürlich auch sein, dass der Zeitraum für eine Infektion schlichtweg zu kurz war. Bei vier lebend entnommenen Forellen wurden ggr. Nematoden im Enddarm und bei einer im Magen gefunden. Bei letzterer konnten während der späteren histologischen Untersuchung ebenfalls *Capillaria* sp. Eier in der Leber entdeckt werden. Im Normalfall reifen Nematoden bei Bachforellen im Darm heran (Smith 1984). Hin und wieder sind Larven des dritten Stadiums aber auch im Magen oder der Leber zu finden (Moravec 2004). Mehreren Autoren zu Folge, unter anderem Lewisch und El-Matbouli, 2018a, können durch eine Infektion mit *Acanthocephala* Granulome entstehen, welche das Wohlbefinden der Fische beeinflussen können. Da im Zuge unserer Studie keine Auffälligkeiten dieser Art zu verzeichnen waren, dürften die Nematoden keinen negativen Einfluss auf die Fische genommen haben. Eine Bachforelle war von Trematoden im Enddarm und *Acanthoplocephala* im Magen befallen. Couso-Pérez et al. hat im Zuge seiner Studie 2022 erwähnt, dass Trematoden, dabei meistens *Crepidostomum*, innerhalb europäischer Gewässer weit verbreitet sind. Seiner Studie zufolge wurden Trematoden in 8.97 % der untersuchten Fische nachgewiesen. Wie eine Publikation über parasitäre Infektion mit *Acanthocephala* in österreichischen Bachforellen von Lewisch et al. im Jahre 2020 zeigte, hatten eben diese

statistisch keinen negativen Einfluss auf die Kondition der Bachforellen, auch nicht im Zuge einer Co Infektion mit PKD. Sind Fische in einem ökologisch ausgeglichenen Habitat heimisch, sollten solche Parasiten also keine Auswirkung auf die Population selbst haben. Gegensätzlich dazu hielt Emde et al. jedoch 2012 fest, dass sich eine Infektion beim Auftreten vieler Stressoren, zu denen sowohl die in dieser Studie behandelte PKD Infektion als auch die sich ändernden Lebensräume zählen, negativ auf das Gleichgewicht zwischen Parasit und Wirt auswirken kann. Ein weiterer Fisch hatte außerdem *Metazerkarien* im Magen. Nimmt man all diese Ergebnisse unter Anbetracht früherer Publikationen zusammen, erscheint es eher unwahrscheinlich, dass die Fische aufgrund einer dieser parasitären Infektionen zugrunde gegangen sind.

Wie aus den Ergebnissen hervorgeht konnte lediglich bei verstorbenen, nicht jedoch bei euthanasierten Fischen eine bakterielle Besiedelung nachgewiesen werden. Dies lässt bereits im Vorfeld ohne genauere Betrachtung der einzelnen Bakterienstämme mutmaßen, dass es sich vorrangig um eine postmortale Translokation von Bakterien, welche im Wasser oder auf den äußeren Oberflächen und im Gastrointestinaltrakt der Fische natürlicher Weise vorkommen, in die Nieren handelte. Insgesamt konnten bei 8/13 tot entnommenen Fischen und bei zwei der verendeten Tiere aus der lebend entnommenen Gruppe Bakterien im Ausmaß von ggr. – hgr. detektiert werden. Die einzelnen Bakterienstämme werden im folgenden Abschnitt bezüglich ihrer Kausalität am Verenden der Fische behandelt. *Acinetobacter sp.*, welche bei einem der Fische im ggr. Ausmaß isoliert wurde, ist eine relativ häufig vorkommende Bakterienart, welche in der gemischten Bakterienflora vieler Gewässer und demnach auch als Besiedler von Haut, Kiemen oder des Verdauungstrakts vieler Fische vorkommt. Außerdem ist es möglich, dass das Bakterium über geschädigtes Gewebe in innere Organe eindringt. Erreger der Gattung *Acinetobacter* werden in der Regel als normale saprophytische Mikroorganismen angesehen (Kozínska et al. 2014), weshalb ein Versterben des Fisches aufgrund dieses Bakterienstammes nicht in Frage kommt. Bei den Stämmen *Plesiomonas*, *Fusobacterium* und *Aeromonas* handelt es sich ebenfalls um Bakterien des physiologischen Mikrobioms von Süßwasserfischen (Michael Janda et al. 2016). Dennoch gibt es Berichte über mehrere *Aeromonas* Stämme, darunter *Aeromonas bestiarum*, *Aeromonas encheleia*, *Aeromonas eucrenophila* und *Aeromonas sobria*, welche neben ihrem ubiquitären Vorkommen, Pathologien bei Salmoniden auslösen können (Wahli et al. 2005, Zepeda-Velázquez et al. 2017). Die eben genannten

Stämme führten in früheren Studien hauptsächlich zu Hepatopathien (Zepeda-Velázquez et al. 2017), welche anhand der Sektion im Zuge unserer Studie nicht nachgewiesen werden konnten. Dennoch lässt der Nachweis von *hgr. Aeromonas sobria* bei zwei der verendeten Tiere aus der lebend entnommenen Probandengruppe den Verdacht übrig, dass eine bereits im Vorfeld bestandene Infektion aufgrund multipler Stressoren im Zuge des Transports letztendlich zum Tod geführt haben könnte. Umgekehrt könnte der Erreger auch postmortal in die Niere eingewandert sein. Darüber hinaus gab es einen Fisch der tot entnommenen Gruppe, aus welchem *hgr. Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* isoliert wurde. Bei eben dieser Bachforelle, handelte es sich um einen der zwei Fische, welche im späteren Verlauf kein positives PCR Ergebnis für *T. bryosalmonae* lieferten. *Aeromonas salmonicida* Isolate der Subspezies *salmonicida*, gelten als typische Erreger systemischer Infektionen bei Salmoniden (Burr und Frey 2007). Dennoch werden für die bakterielle Virulenz mehrere Mechanismen benötigt um auch wirklich eine Erkrankung im infizierten Wirt zu verursachen (Dallaire-Dufresne et al. 2014). Der Erreger kann die weltweit häufig vorkommende Furunkulose auslösen, welche je nach Alter, Gesundheitszustand, Spezies so wie Umweltbedingungen, speziell Umgebungstemperatur, zu Furunkeln oder Geschwüren der Haut und Muskulatur führen kann (Austin und Austin 1996, Bernoth 1997). Darüber hinaus kann es zu Septikämie und Blutungen in Inneren Organen kommen (Boyd et al. 2003) oder einer subklinischen Form, im Zuge welcher die Fische lediglich Träger des Erregers sind (Plumb und Hanson, 2010). In unserem Fall zeigte der befallene Fisch Erosionen der Haut an der Maulspitze und Vergrößerungen von Leber und Milz. Der fehlende Nachweis eines anderen pathogenen Agens könnte durchaus das Verenden des Fisches an einer Furunkulose implizieren. Als Auslöser der hämorrhagischen Septikämie konnte *Hafnia alvei* bereits bei Regenbogenforellen nachgewiesen werden. Dennoch ist seine Rolle als primäres Pathogen fraglich, da es sich grundsätzlich um ein opportunistisches Bakterium handelt, welches erst in Kombination mit anderen prädisponierenden Zuständen zur Erkrankung führt (Gelev et al. 1990, McBee und Schauer 2006). Die zwei ggr. positiv getesteten Fische unserer Studie dürften wohl kaum aufgrund einer Infektion mit *Hafnia alvei* gestorben sein. Pseudomonaden werden ebenfalls als opportunistische Pathogene angesehen, einige Spezies, darunter die bei uns einmalig festgestellte ggr. *Pseudomonas koreensis*, können jedoch auch primärer Auslöser potentiell tödlicher Erkrankungen sein (Duman et al. 2021). Im Zuge einer Infektion mit dem Erreger

wurden hauptsächlich Augenläsionen bei Karpfen (*Tor putitora*) in Indien beschrieben (Stiebels 2015). Der positiv getestete Fisch unserer Studie zeigte zwar Einblutungen ins Auge, jedoch könnten diese auch auf andere Pathomechanismen zurückzuführen sein und es ist bis dato nicht geklärt, ob ähnliche Krankheitsmerkmale auch bei Forellen auftreten. Ein Fisch zeigte eine ggr. positive Bakterienkultur für *Vagococcus fluvialis*. Dieses Bakterium gilt als gut wirksames Probiotikum um Ausbrüche von akuter hämorrhagischer Septikämie, verursacht durch *Vibrio anguillarum*, vorzubeugen (Sorroza et al. 2012), weshalb ein kausaler Zusammenhang mit dem Tod des positiv getesteten Fisches eher nicht in Frage kommt. *Kluyvera intermedia* wird als Kommensale des Magendarmtrakts und der Schleimhaut von Regenbogenforellen angesehen (Navarrete et al. 2010). Im Bezug darauf erscheint es wahrscheinlich, dass der Erreger post mortem vom Intestinaltrakt aus in die Nieren immigriert ist und nicht als Auschlaggeber für den Tod des Fisches anzusehen ist. Die Studie von Altun et al. aus dem Jahre 2013 beschreibt sehr gut die klinischen Symptome und pathohistologischen Veränderungen die mit einer Infektion mit *Citrobacter braakii* einhergehen. Keine dieser Veränderungen wurde im Zuge der Sektion und weiterführenden Untersuchungen bei der betroffenen Bachforelle festgestellt, was zu dem Schluss führt, dass es sich auch bei dieser mgr. Detektion eines Bakteriums nicht um den Faktor handelte, welcher zum Tod des Tieres geführt hat. Auch wenn in den meisten Fällen der hier nachgewiesenen Bakterien von einer postmortalen Besiedelung der Niere ausgegangen werden kann, ist die Möglichkeit einer bereits zu Lebzeiten bestehenden Infektion nicht zu vernachlässigen. Im Zuge von PKD sind bakterielle Sekundärinfektionen eine häufig anzutreffende Komplikation.

Im Zuge dieser Arbeit gelang kein positiver Virusnachweis. Auch, wenn es sich um eine relativ kleine Probandenzahl handelt, ist es dennoch positiv anzumerken, dass Viren derzeit im Mühlbach keinen Einfluss auf die Bachforellenpopulation zu nehmen scheinen.

Die histologische Untersuchung, welche lediglich bei den lebend entnommenen Fischen durchgeführt wurde, offenbarte bei insgesamt drei Forellen pathologische Ergebnisse. Die Leber einer Regenbogenforelle hatte hgr. *Capillaria* Eier im Gewebe eingebettet, dabei handelte es sich wie man den Ergebnissen entnehmen kann um einen Fisch mit einem nur mittelguten Ernährungszustand, mit einem Gesamtgewicht von 147 g bei 26 cm Gesamtlänge, was auf eine Abmagerung aufgrund der parasitären Belastung zurückzuführen sein könnte. Bei

zwei weiteren Regenbogenforellen konnten bereits ggr. renale Läsionen und Vorläuferstadien von *T. bryosalmonae* detektiert werden. Wie man den Ergebnissen entnehmen kann, wurde dennoch bei 11/12 dieser Fische ein positives PCR Ergebnis auf *T. bryosalmonae* festgestellt. Eine Erklärung weshalb nur 2/11 positiv getesteten Fischen auch histologische Auffälligkeiten zeigten, könnte darin liegen, dass der Erreger, welcher nur unter bestimmten Bedingungen zur Erkrankung PKD führt, keine systemische Erkrankung ausgelöst und demnach auch noch keine renalen Läsionen verursacht hat oder das Beherbergen des Erregers als subklinischer Ausscheider einiger Bachforellen. Eine weitere Erläuterung würde durch Ergebnisse einer Studie von Skovgaard und Buchmann aus 2012 gestützt, welcher berichtete, dass sich die histologischen Abschnitte sehr variabel darstellen und während ein Nierenabschnitt umfangreiche strukturelle Schäden und zahlreiche Parasitenstadien zeigt, ein angrenzender Abschnitt physiologisch erscheint. Da im Zuge einer histologischen Untersuchung Schnittpräparate angefertigt werden, bleibt also auch ein Restrisiko, dass potenzielle Läsionen nicht durchmustert wurden, bestehen. Umgekehrt ist es auffallend, dass die positiven histologischen Befunde von Regenbogenforellen stammten; dies lässt sich mit dem Auftreten schwerer Pathologien bei dieser Fischart im Vergleich mit Bachforellen, welche den adaptierten Wirt darstellen, erklären (Grabner & El Matbouli 2008). Interessant wäre natürlich auch, die histologische Untersuchung von Nierengewebe der tot entnommenen Population. Trotz aller Sorgfalt führte das Einfrieren jedoch zur Gefrierbrand und die Präparate konnten somit nicht berücksichtigt werden.

In der PCR Untersuchung wurden 11/13 der tot entnommenen und 11/12 der lebend entnommenen Forellen positiv auf *T. bryosalmonae* getestet. Das macht insgesamt 88 % der Proben dieser Studie aus. Bei allen positiv getesteten Fischen aus der tot entnommenen Gruppe wurden zur Erkrankung PKD passende Symptome wie Nieren- und Milzschwellungen und blasse Kiemen festgestellt. Wie weiter oben bereits diskutiert, wäre es möglich, dass einer der beiden Negativgetesteten aufgrund seiner Infektion mit *Aeromonas salmonicida* sp. *salmonicida* verendet ist. Beim zweiten negativ getesteten Fisch wurden in der weiterführenden Diagnostik keine positiven Ergebnisse gewonnen, was es schwierig macht, ihm eine Todesursache zuzuschreiben. Da die Sensitivität der *T. bryosalmonae* PCR als sehr hoch eingestuft wird, ist ein falsch negatives Ergebnis zwar sehr unwahrscheinlich, aber

dennoch nicht unmöglich. Die im Zuge der Sektion vorgefundenen Pathologien wären jedenfalls mit einer durch den Erreger ausgelösten PKD vereinbar.

Bei den lebend entnommenen Fischen zeigten insbesondere die beiden am Transport verstorbenen Befunde, welche mit einer klinischen PKD vereinbar sind. Dies würde auch ihre Verminderte Stressanfälligkeit und das Verenden erklären. Bei zehn anderen Fischen wurden trotz der nachgewiesenen Infektion mit *T. bryosalmonae* keine klinischen Anzeichen einer PKD festgestellt. Ob diese Fische eine belastbare Immunität entwickelt hatten oder als PKD-krankheits-gefährdet gelten müssen, kann in dieser Arbeit nicht beurteilt werden. Jedenfalls muss befürchtet werden, dass die positiven Bachforellen als Ausscheider von Parasitensporen den Entwicklungszyklus von *T. bryosalmonae* aufrecht halten. (Soliman et al. 2018)

Fest steht, dass die PKD der Salmoniden über die letzten Jahre zu einem ernstzunehmenden Problem wurde, welches eine große Rolle in den Beständen der wilden Bachforelle spielt. Der derzeitige Forschungsstand in Europa besagt, dass der Erreger *T. bryosalmonae* nur in Bachforellen und Bachsaiblingen seinen Zyklus vollenden kann (Morris und Adams 2006b, Grabner und El-Matbouli 2008). Über mehrere Jahre hinweg haben Angler, Bauern und Ökologen schon wahrgenommen, dass saisonale Episoden von erhöhter Sterblichkeit bei Bachforellen auftraten, (Gorgoglione et al. 2016a). Diese wissenschaftlichen Erkenntnisse spiegeln sich in den Ergebnissen unserer Arbeit. Zeigen diese doch deutlich, dass *T. bryosalmonae* durchaus ein häufig im Mühlbach vorkommender Parasit ist, welcher durch seine Qualifikation des Bedingens der PKD auch zum vermehrten Fischsterben in dieser Region beiträgt.

Doch sollte der Erreger dieser Krankheit kaum in der Lage sein, solitär so einen starken Rückgang der Fischpopulation zu bewirken. Hier kommen Faktoren wie die Wassertemperatur ins Spiel, die Verlauf und die klinische Manifestation der PKD maßgeblich beeinflussen (Hedrick et al. 1993). Mehrere Studien, unter anderem von Strepparava et al. 2020 belegten, dass bereits geringe Temperaturunterschiede außerordentliche Veränderungen des Habitats und der Fischgesundheit bedingen. Ob genügend Sporen produziert werden, um eine Infektiosität zu erreichen, hängt nämlich stark davon ab, wie schnell die Parasiten in der Niere proliferieren. Strepparava et al. konnte in ihrer Studie 2020 ebenfalls zeigen, dass die Proliferationsrate des

Parasiten in der Niere bei 15 °C fast doppelt so hoch war, wie bei 12 °C. Die Rate der Sporenproduktion selbst war temperaturunabhängig und nach Freisetzen der Sporen war Temperatur nur noch ein irrelevanter Faktor. Einer weiteren Veröffentlichung von Bailey et al aus 2017 ist zu entnehmen, dass im Zuge eines 70 Tage langen Versuches mit unterschiedlichen Wassertemperaturen und geringen *T. bryosalmonae* Konzentrationen im Wasser, erste *T. bryosalmonae* Infektionen, sowie signifikant schwerere und schnellere Zunahmen der Parasitenintensität bei Bachforellen, welche bei Wassertemperaturen ab 15 °C gehalten wurden, verzeichnet wurden. Eine Studie von Lewisch et al., welche 2018b veröffentlicht wurde zeigte, dass bei einer Wassertemperatur von über 15 °C über 115 Tage lang mehr PKD positive Fische diagnostiziert wurden. Die Prävalenz der PKD und die Mortalität der Fische wird also durch höhere Wassertemperaturen verstärkt. Diese Ergebnisse sind auch für die Traun und den Mühlbach relevant. Nimmt man die Ergebnisse der Wassertemperaturmessungen der letzten Jahre zur Hand, ist ersichtlich, dass nicht nur die allgemeine Wassertemperatur der Traun im Durchschnitt jährlich ansteigt, sondern auch die kritische Grenze von 15 °C im Jahre 2020 an insgesamt 86 Tagen und teilweise über einen Zeitraum von 26 Tagen am Stück überschritten wurde. Als Limitation dieser Arbeit stellt sich dar, dass es für den Mühlbach keine evidenzbasierten Zahlen zur Wassertemperatur gibt. Doch auch der Mühlbach, welcher durch sein seichtes Gewässer, niedrige Fließgeschwindigkeit und die wenig vorhandene Beschattung, generell höhere Temperaturen aufweist, dürfte sich in den letzten Jahren zunehmend erwärmt haben. So kommt es in den Sommermonaten immer öfter vor, dass die Temperaturen um ungefähr 3 °C über den, für Bachforellen gut tolerierbaren Temperaturoptimum liegen. Dieser Zustand steigert durch Schwächung des Immunsystems der Fische, ebenfalls die Morbidität des heimischen Fischbestandes.

Mehrere Studien, die in Europa durchgeführt wurden, zeigen auf, dass die Regenbogenforelle anfälliger als die Bachforelle und der Bachsaibling ist, an PKD zu erkranken (Grabner and El-Matbouli 2008, Kumar et al. 2013, Bailey et al. 2017). So auch die bereits weiter oben angeführte Studie von Bailey et al 2017, welche zeigte, dass in Bachforellen die Intensität der Infektion höher war als in Regenbogenforellen. Grabner und El-Matbouli fanden 2008 heraus, dass in Europa der Bachsaibling und die Bachforelle Wirte des Parasiten sind, und tatsächlich an wesentlich mildereren Symptomen leiden als die Regenbogenforelle und die Äsche. Deswegen wird vermutet, dass die letztgenannten Fische nur als Fehlwirte der Erkrankung fungieren

(Syrová et al. 2020). Obwohl bei der Entnahme der Salmoniden für diese Diplomarbeit lediglich drei Regenbogenforellen enthalten waren, bestätigte sich auch hier, wenn auch ohne statistische Relevanz, die Beobachtung, dass Regenbogenforellen anfälliger für die Entwicklung der Erkrankung und schwerere Verläufen sind. Grundsätzlich lässt sich aus obenstehenden Fakten jedenfalls schließen, dass der Klimawandel und die dadurch verursachten Temperaturerhöhungen in Gewässern, die verschiedenen Spezies unterschiedlich schwer beeinflussen.

Der Besatz spielt ebenfalls eine große Rolle in der Verbreitung der PKD, denn ist der Parasit einmal in ein Gewässer eingebracht, kann man ihn dort nicht mehr entfernen. Bachforellen, welche bereits eine Infektion überstanden haben und asymptomatische Dauerausscheider sind, stellen potentiell die größte Gefahr zum Eintrag und der Weiterverbreitung des Erregers dar (Schmidt-Posthaus et al. 2013). Durch diesen Umstand werden sogar bestehende Wildfischbestände gefährdet. Im Jahr 2014 wurde mittels Elektroaggregat der Mühlbach ausgefischt und die Fische in den nächsten Ort Bad Ischl in den Fluss Ischl versetzt. Im Rahmen aller bisherigen wissenschaftlichen Erkenntnisse zum Einbringen von Erregern in Bestände sollte dieses Vorgehen äußerst kritisch betrachtet werden. Vermutlich erschien das Verbringen der vielen Fische um nur wenige Kilometer zum damaligen Zeitpunkt naheliegend, doch wäre es zumindest sinnvoll gewesen stichprobenartig auf hohe Mortalitätsraten verursachende Erreger wie z.B. *T. bryosalmonae* zu testen. Nach Trockenlegung 2014, aufgrund der Erbauung des Wasserkraftwerkes, wurde der Mühlbach ab dem Jahr 2017 jährlich neu besetzt. Beim Besatz 2017 waren die Bachforellen durchschnittlich 10-15 cm groß, die Regenbogenforellen 30-35 cm, 2018-2020 waren Bach- und Regenbogenforellen im Durchschnitt 30-35 cm groß. Betrachtet man die Besatzdaten in Kombination mit den Temperaturtabellen fällt auf, dass am 03.06.2020 bei einer Wassertemperatur $> 15^{\circ}\text{C}$ besetzt wurde. Es erscheint nicht unwahrscheinlich, dass sich der Stress durch das Umsetzen und die neue Mikroflora des Mühlbaches, inklusive der erhöhten Wassertemperaturen negativ auf die Forellen ausgewirkt haben könnten. Die Inkubationszeit von sechs bis sieben Wochen der Erkrankung PKD macht es möglich, dass es sich bei den tot entnommenen Fischen um neu besetzte Tiere handelte, welche bei Eintrag noch nie mit dem Erreger in Kontakt standen und aufgrund von mehreren Stressoren dem Infektionsdruck nicht standhalten konnten. Negativ zu vermerken ist jedenfalls, dass der Neubesatz aus nicht getesteten Populationen einer Fischzucht stammte, die Forellen

im Frühsommer eingebracht wurden und beim Eintrag nicht auf die Wassertemperatur geachtet wurde. Es scheint auch höchst fragwürdig, Fische in einer fangfähigen Größe zu besetzen; solche Tiere können sich nur schwer bis gar nicht auf ein neues Habitat und die aktive Futtersuche einstellen. Nicht nur stressbedingte Krankheiten, auch mögliches Verhungern und Ausgeliefert sein an Prädatoren stellen nicht nur ein wirtschaftliches sondern auch ein tierschutzrelevantes Problem dar.

Für die vorliegende Aufgabenstellung kann man zweifelsfrei sagen, dass die Mortalitäten von zumindest elf der 13 tot eingesammelten Bachforellen auf eine klinisch manifeste PKD zurückzuführen waren. Auch bei zwei der lebend entnommenen und danach verendeten Forellen ließ sich die Krankheit als ursächlich für deren Verenden nachweisen, während beim dritten dieser Fische der Zusammenhang nicht so eindeutig gezeigt werden konnte. Der vorliegende Fall zeigt eindrucksvoll, wie sehr der Besatz eine wichtige Ansatzstelle zur Bekämpfung der PKD darstellt. Zurzeit findet dieser im Frühjahr statt und gibt den Fischen nur wenig Zeit, sich an das Gewässer zu gewöhnen und ein gutes Immunsystem aufzubauen. Man sollte daher in Betracht ziehen, die Forellen im Winter zu besetzen, da die Tiere bei einer Wassertemperatur von 10 – 11 °C eine Immunkompetenz bezüglich PKD – Erkrankung aufbauen können (Kinkelin and Lorient 2001). Der Besatz bei kühleren Temperaturen wäre zusätzlich von Vorteil, da so ebenfalls die Proliferation des Parasiten eingeschränkt wird (Ferguson 1981, Foott und Hedrick 2006). Da die PKD vor allem für junge Fische gefährlich ist, könnte man sich überlegen, Fische erst zum Besatz freizugeben, wenn sie schon älter sind. Durch diese Maßnahmen könnte es möglich werden, dass sich wieder endemische Bestände bilden und so der Besatz allgemein reduziert werden kann. Zusätzlich wäre eine Überlegung, vermehrt Fischarten zum Besatz zu verwenden, welche weniger anfällig für PKD sind oder keine Sporen des Erregers freisetzen (Bailey et al. 2019). Bei jedem Besatz mit empfänglichen Fischen sollte grundsätzlich berücksichtigt werden, ob in den Gewässern bereits PKD Fälle detektiert wurden und bei der Auswahl eines Zuchtunternehmens sollte darauf geachtet werden, gegebenenfalls Fische nur aus *T. bryosalmonae* freien Betrieben zu wählen. Auch sporenhaltiges Wasser kann den Parasiten verbreiten. Vor allem das sehr häufige Vorkommen von *Bryozoa* in Süßwasserhabitaten erleichtert es dem Parasiten, sich dauerhaft zu etablieren. *T. bryosalmonae* kann in diesem invertebraten Zwischenwirt nämlich überdauern, auch wenn keine empfänglichen Fische vorhanden sind (Carballeira et al. 2020).

Des Weiteren sollte man stressauslösende Faktoren wie Transporte auf ein Minimum reduzieren. Eine sehr gute Wasserqualität, sowie gute Hygienepraxis in Fischzuchten und der Zukauf aus *T. bryosalmonae* freien Beständen wirken sich positiv auf die Bachforellenbestände aus und minimieren das Risiko, die Salmoniden mit *T. bryosalmonae* zu infizieren. Angefangen über Wasservögel, oder aber über Wassersportler, welche durch unzureichend desinfizierte Kleidung (Wattstiefel, Kleidung etc.) als Vektor des Parasiten dienen können, bis hin zu Besatz aus erregerehaltigen Gewässern kann man Gewässer mit *T. bryosalmonae* infizieren (El-Matbouli und Hoffmann 2002, Hartikainen et al. 2009). Um *T. bryosalmonae* nicht in andere Gewässer zu verschleppen empfiehlt es sich mit dem Desinfektionsmittel Vikron aquatic, (Kaliummonopersulfat, DuPont, Wilmington, USA) zu desinfizieren. Die Sprühlösung sollte gründlich und großflächig auf alle Verbrauchsmaterialien verteilt werden und zehn Minuten einwirken. So kann ein Verbreiten von *T. bryosalmonae* mittels Wathosen, Angeln etc. vermieden werden.

In Aquakulturen sollte man weiters darauf achten, den Bestand vor Sekundärinfektionen zu schützen (Waldner et al. 2018). Zusammenfassend kann man sagen, dass, bis eine Impfung zum Schutz vor PKD auf den Markt kommt, man eine Strategie entwickeln sollte, welche die Ausbreitung von Infektionen zwischen Gewässern eindämmt oder sogar verhindert. Wie bereits 2016 von Gorgoglione et al. vorgeschlagen, benötigt es eine strenge Überwachung und strenges Screening autochthoner Fisch- und *Bryozoen*-Populationen.

Die Ergebnisse dieser Diplomarbeit zeigen, dass auch im Goiserer Mühlbach, *T. bryosalmonae* endemisch geworden ist und heimische Forellen durch eine Infektion mit dem Erreger an PKD erkranken und im Zuge dessen versterben können. Da sich die Situation des progredient verlaufenden Klimawandels und die daraus resultierende Erderwärmung zusehends verschlechtert ist es umso wichtiger, Maßnahmen zu setzen die Gewässer und ihre Fischbestände in Bezug auf die gewonnenen Erkenntnisse schützen. Für die Erhaltung der Artenvielfalt und der Gesundheit der Salmoniden wäre es wichtig, die Morbiditäts- und Mortalitätsrate in den lokalen und heimischen Gewässern – hier im Speziellen in der Salzkammergut Traun zu verringern. Im hier untersuchten Fall wäre der wichtigste Ansatzpunkt ein völlig überarbeitetes Besatzmanagement mit fachlich fundierter Beratung und Begleitung. Allgemein müsste vor allem der Gesetzgeber aktiv werden und im Zuge der

Implementierung des AHL wissenschaftsbasierte Regelungen zum Besatz von Freigewässern festlegen,.

8 Zusammenfassung

8.1 Einleitung

Im Jahr 2017 wurden im Goiserer Mühlbach erstmals mehrere tote Bachforellen in den Sommermonaten zwischen Juli und September gesichtet. Ebenfalls fiel das in der Traun auf, die den Mühlbach direkt im Zentrum von Bad Goisern abgibt. Ziel dieser Arbeit war es, dem Tod der Bachforellen nachzugehen und herauszufinden, was der Auslöser für das Sterben der Salmoniden ist. Dabei wurden 25 Forellen aus dem Mühlbach entnommen und an der Vetmeduni Vienna untersucht.

8.2 Material und Methode

Für die Untersuchungen wurden 13 Bachforellen, welche tot im Mühlbach gefunden wurden, entnommen und pathoanatomisch, bakteriologisch, parasitologisch und virologisch untersucht. Zudem wurde eine PCR-Untersuchung, auf den Erreger *T. bryosalmonae* vorgenommen. Zwölf Forellen, davon neun Bachforellen und drei Regenbogenforellen, wurden lebend aus dem Mühlbach entnommen und ebenfalls wie oben angeführt untersucht. Zusätzlich dazu wurde von diesen Fischen noch histologische Untersuchungen durchgeführt.

8.3 Ergebnisse und Diskussion

Im Zuge dieser Diplomarbeit wurde herausgefunden, dass bei 11/13 tot entnommenen Bachforellen der Erreger, *T. bryosalmonae* nachgewiesen wurde. Bei den lebend entnommen Forellen waren ebenfalls elf positiv auf den Erreger. Während bei den verendeten Fischen in 11/13 Fällen die Ursache der Mortalitäten anhand der klinischen- und PCR-Befunde auf PKD zurückzuführen war, zeigten von den lebend entnommenen Fischen nur zwei Regenbogenforellen klinische Erscheinungen einer PKD. Histologisch konnte man bei zwei Regenbogen- und einer Bachforelle in der Niere für die Infektion typische Veränderungen sehen. Eine Analyse der Wassertemperaturen sowie der Besatzmaßnahmen der vergangenen Jahre geben Anhaltspunkte für das gehäufte Auftreten von Mortalitäten im Zusammenhang mit dem endemisch in den untersuchten Gewässern auftretenden Parasiten. Die Arbeit kommt zu

dem Schluss, dass eine weitere Bewirtschaftung des Gewässers aus wirtschaftlichen und Tierschutz-Gründen anhand einer fachlich versierten Beratung erfolgen sollte.

9 Summary

9.1 Introduction

In 2017, several dead brown trout were sighted in the Goiserer Mühlbach for the first time in the summer months between July and September. Likewise, this was noticed in the Traun, which discharges the Mühlbach directly in the center of Bad Goisern. The aim of this work was to investigate the death of the brown trout and to find out what triggers the death of the salmonids. As a matter of research, 25 trouts had been collected from the river Mühlbach and were examined at the University of veterinary medicine Vienna.

9.2 Material and Methods

13 brown trouts, which were found dead in the Mühlbach, were taken and examined pathoanatomically, bacteriologically, parasitologically and virologically. In addition, a PCR examination for the pathogen *T. bryosalmonae* was performed. Moreover, twelve trouts, nine of them brown trout and three rainbow trout, were taken alive from the millstream and examined compliant as mentioned above. In addition, histological examinations were performed on these fish.

9.3 Results and Discussion

In the course of this diploma thesis it was found out that the pathogen, *T. bryosalmonae*, was detected in 11/13 postmortal taken trout. Among the trout taken alive, eleven were positive for the pathogen. While in 11/13 of the dead fish the cause of mortality could be attributed to PKD on the basis of clinical and PCR findings, only two of the rainbow trout taken alive showed clinical signs of PKD. Histologically, typical changes for the infection could be seen in the kidneys of two rainbow trout and one brown trout. An analysis of the water temperatures as well as the stocking measures of the past years gives clues for the frequent occurrence of mortalities in connection with the parasite, which is found endemically in the examined waters. The study concludes that further management of waters should be based on expert advice for economic and animal welfare reasons.

10 Abbildungsverzeichnis

<i>Tabelle 1: Besatz des Mühlbaches mit Bachforellen und Regenbogenforellen (T.Tischler, persönliche Kommunikation).....</i>	<i>26</i>
<i>Tabelle 2: Ausfang der Regenbogen- und Bachforellen (T.Tischler, persönliche Kommunikation).....</i>	<i>27</i>
<i>Tabelle 3: in die Tabelle wurden nur Kriterien, zu welchen pathologischen Sektions-Befunde gefunden wurden, aufgenommen; andere Veränderungen als diese wurden nicht festgestellt.....</i>	<i>38</i>
<i>Tabelle 4: in die Tabelle wurden alle pathologischen Sektions-Befunde aufgenommen; andere Veränderungen als diese wurden nicht festgestellt.....</i>	<i>39</i>
<i>Abbildung 1: Der auf Bach- und Regenbogenforellen abgesuchte Abschnitt der Traun ist auf dieser Abbildung mit pink markiert. (Land Oberösterreich 2021)</i>	<i>16</i>
<i>Abbildung 2: Der Verlauf des Mühlbaches ist in dieser Abbildung mit gelb gekennzeichnet (Land Oberösterreich 2021)</i>	<i>17</i>
<i>Abbildung 3: Veränderung der mittleren Tagestemperaturen der Traun während der Sommermonate. Gemessen am Seeausfluss 2019 (Knisters, Land Oberösterreich, persönliche Kommunikation).</i>	<i>19</i>
<i>Abbildung 4: Veränderung der mittleren Tagestemperaturen der Traun während der Sommermonate. Gemessen am Seeausfluss 2020 (Knisters, Land Oberösterreich, persönliche Kommunikation)</i>	<i>19</i>
<i>Abbildung 5: Veränderung der mittleren Tagestemperaturen der Traun während der Sommermonate. Gemessen am Seeausfluss 2021) Knisters, Land Oberösterreich, persönliche Kommunikation).</i>	<i>20</i>
<i>Abbildung 6: Anteile der verschiedenen Fischarten, welche in der Traun vorkommen nach Bestandserhebung 2019 (Fischer et al 2019).</i>	<i>22</i>
<i>Abbildung 7: Adaptiertes Fischartenleitbild für die Traun zwischen Steeg am Hallstättersee und Traunsee inklusive der Einstufungen der FFH-Richtlinie sowie der Roten Liste der Fische Österreichs (BMLFUW 2017; ID 137)</i>	<i>23</i>
<i>Abbildung 9: Anhand der Kiemen und der Textur der Muskulatur lässt sich feststellen, dass der Erhaltungszustand dieses Fisches gerade noch genügend war. Dennoch ist eine Vergrößerung der Niere feststellbar (Pfeil).</i>	<i>34</i>
<i>Abbildung 10: vergrößerte Niere (grüner Pfeil) und Milz (oranger Pfeil)</i>	<i>35</i>
<i>Abbildung 11: sichtbar sind die blassen Kiemen und ein Hämatom an der Brustflosse</i>	<i>35</i>

11 Literaturverzeichnis

- Abd-Elfattah A, Fontes I, Kumar G, Soliman H, Hartikainen H, Okumara B, El- Matbouli M. 2013. Vertical transmission of *Tetracapsuloides bryosalmonae* (myxozoa), the causative agent of salmonid proliferative kidney disease.
- Altun S, Duman M, Buyukekiz AG, Ozyigit MO, Karatas S. 2013. Isolation of *Citrobacter braakii* from Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Department of Aquatic Animal Disease , Faculty of Veterinary Medicine , Department of Pathology , Faculty of Veterinary Medicine , Uludag Department of Fish Disease , Faculty of F. (January).
- Austin B, Austin DA. 1996. Bacterial Fish Pathogens, Disease of Farmed and Wild Fish Fourth Edition. Springer.
- Bailey C, Schmidt-Posthaus H, Segner H, Wahli T, Strepparava N. 2017. Are brown trout *Salmo trutta fario* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* two of a kind? A comparative study of salmonis to temperature - influenced *Tetracapsuloides bryosalmonae* infection. Journal of fish disease
- Bailey C, Strepparava N, Wahli T, Segner H. 2019. Exploring the immune response, tolerance and resistance in proliferative kidney disease of salmonids. Developmental and Comparative Immunology, 90:165–175.
- Bernoth E-M. 1997. 1 - Furunculosis: The History of the Disease and of Disease Research. In: Bernoth E-M, Ellis AE, Midtlyng PJ, Olivier G, Smith PBT-F, Hrsg. 1–20, San Diego: Academic Press;
- Besse P. 1956. L'an mie pernicieuse des truites. Bulletin Français de Pisciculture, (188): 441–447.
- Bettge K, Segner H, Burki R, Schmidt- Posthaus H, Wahli T. 2009 Proliferative kidney disease (PKD) of a rainbow trout: Temperature- and time related changes of *Tetracapsuloides bryosalmonae* DNA in the kidney.
- Boden B. 2021. Welcher Angelfisch ist das? Zweite Aufl. München: Franckh- Verlag, 56-57
- Borsuk ME, Reichert P, Peter A, Schager E, Burkhardt-Holm P. 2006. Assessing the decline of brown trout (*Salmo trutta*) in Swiss rivers using a Bayesian probability network. Ecological Modelling, 192(1–2):224–244.
- Boschi C, Bertmiller R, Coch T. 2003. Die kleinen Fließgewässer: Bedeutung- Gefährdung- Aufwertung.
- Boyd J, Williams J, Curtis B, Kozera C, Singh R, Reith M. 2003. Three small, cryptic plasmids from *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* A449. Plasmid, 50(2):131–144.
- Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Regionen und Wasserwirtschaft https://info.bml.gv.at/themen/wasser/gewaesserbewirtschaftung/umsetzungsprojekte/masnahmen_teil1.html (Zugriff: 15.01.2023)

- Bundesministerium für Landwirtschaft, Regionen und Tourismus 2021: [Leitfaden zum Bau von Fischeaufstiegshilfen 2021, 2. Auflage](#)
- Burkhardt- Holm P, Giger W, Güttinger H, Ochsenbein U, Peter A, Scheurer k, Segner H, Staub E, Suter M. 2005. Where have all the fish gone? The reasons why fish catches in Swiss rivers are declining.
- Burr SE, Frey J. 2007. Analysis of type III effector genes in typical and atypical *Aeromonas salmonicida*. *Journal of Fish Diseases*, 30(11):711–714.
- Canning EU, Curry A, Feist SW, Longshaw M, Okamura B. 1999. *Tetracapsula bryosalmonae* n.sp. for PKX organism, the cause of PKD in Salmonid fish. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 19(5):203–206.
- Canning EU, Curry A, Feist SW, Longshaw M, Okamura B. 2000. A new class and order of myxozoans to accommodate parasites of bryozoans with ultrastructural observations on *Tetracapsula bryosalmonae* (PKX organism). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 47(5):456–468.
- Carballeira R, Romay CD, Ramos A. 2020. First record of a freshwater bryozoan species in Cuba: *Plumatella repens* (Linnaeus, 1758) (Phylactolaemata, Bryozoa). *ZooKeys*, 918:151–160.
- Castagnaro M, Marin M, Ghittino C, Hedrick RP. 1991. Lectin histochemistry and ultrastructure of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* kidneys affected by proliferative kidney disease. *Diseases of aquatic organisms*, 10 (3): 173–183.
- Clifton-Hadley RS, Richards RH, Bucke D. 1984. Experimental transmission of proliferative kidney disease. Preliminary report. *Veterinary Record*, 114 (4): 90.
- Clifton-Hadley RS, Bucke D, Richards RH. 1987. A study of the sequential clinical and pathological changes during proliferative kidney disease in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Diseases*, 10(5):335–352.
- Couso-Pérez S, Ares-Mazás E, Gómez-Couso H. 2022. Gastrointestinal helminths in brown trout (*Salmo trutta* Linnaeus, 1758) captured in Galician rivers (NW Spain). *Parasitology International*, 92(January 2022).
- Dallaire-Dufresne S, Tanaka KH, Trudel M V., Lafaille A, Charette SJ. 2014. Virulence, genomic features, and plasticity of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*, the causative agent of fish furunculosis. *Veterinary Microbiology*, 169(1–2):1–7.
- Duman M, Mulet M, Altun S, Satcioglu IB, Ozdemir B, Ajmi N, Lalucat J, García-Valdés E. 2021. The diversity of *Pseudomonas* species isolated from fish farms in Turkey. *Aquaculture*, 535(January).
- Duval E, Skaala Ø, Quintela M, Dahle G, Delaval A, Wennevik V, Glover KA, Hansen MM. 2021. Long-term monitoring of a brown trout (*Salmo trutta*) population reveals kin-associated migration patterns and contributions by resident trout to the anadromous run. *BMC Ecology and Evolution*, 21(1):1–14.

- El-Matbouli M, Hoffman RW. 1994. Proliferative kidney disease (PKD) as an important myxosporean infection in salmonid fish. *Parasitic Diseases of Fish*. Tresaith: Samara Publishers edition, 3: 3–13.
- El-Matbouli M, McDowell T S, Antonio DB, Andree K B, Hedrick R P. 1999. Effect of water temperature on the development, release and survival of the triactinomyxon stage of *Myxobolus cerebralis* in its oligochaete host.
- El-Matbouli M, Hoffmann RW. 2002. Influence of water quality on the outbreak of proliferative kidney disease - Field studies and exposure experiments. *Journal of Fish Diseases*, 25(8):459–467.
- El-Matbouli M, Soliman H. 2005. Rapid diagnosis of *Tetracapsuloides bryosalmonae*, the causative agent of proliferative kidney disease (PKD) in salmonid fish by a novel DNA amplification method, loop-mediated isothermal amplification (LAMP). *Parasitology research*, 96 (5): 277–284. DOI 10.1007/s00436-005-1361-3.
- El-Matbouli M, Mattes M, Soliman H. 2009. Susceptibility of whirling disease (WD) resistance and WD susceptible strains of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* to *Tetracapsuloides bryosalmonae*, *Yersinia ruckeri* and viral haemorrhagic septicaemia virus. *Aquaculture*, 288(3):299–304.
- Ellis AE, McVicar AH, Munro ALS. 1985. Proliferative kidney disease in brown trout, *Salmo trutta* L., and Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr. Histopathological and epidemiological observations. *Journal of Fish Diseases*, 8 (2): 447–459.
- Emde S, Rueckert S, Palm HW, Klimpel S. 2012. Invasive Ponto-Caspian Amphipods and Fish Increase the Distribution Range of the Acanthocephalan *Pomphorhynchus tereticollis* in the River Rhine. *PLoS ONE*, 7(12).
- European Inland Fisheries Advisory Commission 2002. Analyses of european catch and Aquaculture Statistics, 1990-2000. http://www.fao.org/docrep/meeting/004/y3759e/y3759e00.htm#p13_433 (Zugriff 15.12.2022)
- Feist S.W. & Bucke D. 1993 Proliferative kidney disease in wild salmonids. *Fisheries Research*, 17, 51–58.
- Ferguson HW, Needham EA. 1978. Proliferative kidney disease in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Diseases*, 1(1):91–108.
- Ferguson HW, Ball HJ. 1979. Epidemiological aspects of proliferative kidney disease amongst rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson in Northern Ireland. *Journal of Fish Diseases*, 2 (3): 219–225.
- Ferguson HW. 1981. The effects of water temperature on the development of proliferative kidney disease in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Diseases*, 4 (2): 175–177.

- Fernández-de-Luco D, Peribanez MA, Garcia L, Castillo JA. 1997. Granulomatous myositis in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* affected by proliferative kidney disease (PKD). *Diseases of aquatic organisms*, 31 (1): 49–54.
- Fischer A, Daill D, Pilz I, Gumpinger C. 2021. Fischbestandserhebungen in der Traun. Repräsentative Erhebungen zwischen Hallstättersee und Traunsee. blattfisch e.U. Technisches Büro für Gewässerökologie DI Clemens Gumpinger
- Fischereimanagement Salzkammergut <http://huberpower.com/wordpress/?p=12779> (Zugriff 06.04.2021)
- Foott, J. S., & Hedrick, R. P. 1987. Seasonal occurrence of the infectious stage of proliferative kidney disease (PKD) and resistance of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, to reinfection. *Journal of Fish Biology*, 30(4), 477–483. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1987.tb05771.x>
- Foott J, Hedrick R. 2006. Seasonal occurrence of the infectious stage of proliferative kidney disease (PKD) and resistance of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, to reinfection. *Journal of Fish Biology*, 30:477–483.
- Gelev I, Gelev E, Steigerwalt AG, Carter GP, Brenner DJ. 1990. Identification of the bacterium associated with haemorrhagic septicaemia in rainbow trout as *Hafnia alvei*. *Research in Microbiology*, 141(5):573–576.
- Ghittino P, Andruetto S, Vigliani E. 1980. Discussione critica sulla malattia dell'ingrossamento renale della trota alla luce di recenti esperimenti. *Rivista Italiana di Piscicoltura e Ittiopatologia*, 15: 81–85.
- Goiserer Sportfischer <https://www.goiserer-sportfischer.at> (Zugriff 14.04.2021)
- Gorgoglione B, Kotob MH, Unfer G, El-Matbouli M. 2016. First Proliferative Kidney Disease outbreak in Austria, linking to the aetiology of Black Trout Syndrome threatening autochthonous trout populations. *Diseases of Aquatic Organisms*, 119(2):117–128.
- Gorgoglione, B., Kotob, M. H., & El-Matbouli, M. 2016. Migrating zooids allow the dispersal of *Fredericella sultana* (Bryozoa) to escape from unfavourable conditions and further spreading of *Tetracapsuloides bryosalmonae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 140, 97–102. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2016.08.010>
- Grabner DS, El-Matbouli M. 2008. Transmission of *Tetracapsuloides bryosalmonae* (Myxozoa: Malacosporea) to *Fredericella sultana* (Bryozoa: Phylactolaemata) by various fish species. *Diseases of Aquatic Organisms*, 79(2):133–139.
- Hari RE, Livingstone DM, Siber R, Burkhardt-Holm P, Güttinger H. 2006. Consequences of climatic change for water temperature and brown trout populations in Alpine rivers and streams. *Global Change Biology*, 12(1):10–26.
- Hartikainen H, Johnes P, Moncrieff C, Okamura B. 2009. Bryozoan populations reflect nutrient enrichment and productivity gradients in rivers. *Freshwater Biology*, 54(11):2320–2334.

- Hedrick RP, MacConnell E, de Kinkelin P. 1993. Proliferative kidney disease of salmonid fish. *Annual Review of Fish Diseases*, 3(C):277–290.
- Hedrick RP, Kent ML, Foott JS, Rosemark R, Manzer D. 1985. Proliferative kidney disease (PKD) among salmonid fish in California, USA. A second look [*Salmo gairdneri*, PKX, *Flexibacter columnaris*]. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* (Denmark).
- Hedrick RP, Baxa DV, De Kinkelin, Okamura B. 2004. Malacosporean-like spores in urine of rainbow trout react with antibody and DNA probes to *Tetracapsuloides bryosalmonae*. *Journal of parasitology research* 81-88
- Henderson M, Okamura B. 2004. The phylogeography of salmonid proliferative kidney disease in Europe and North America. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 271 (1549): 1729.
- Hoffmann RW, Dangschat H. 1981. A note on the occurrence of proliferative kidney disease in Germany. [protozoan disease, haplosporidean-like organism, trout]. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 1.
- Honsig-Erleburg W, Kugi K. 2012. Par Example an Abstract concerning the distribution of the autochthonous brown trout in Carinthia/Austria. *European Anglers Alliance*
- Hurch Fly Fishing <https://www.hurch.eu/Tageskarte-Goiserer-Traun> (Zugriff 04.04.2021)
- Hutchins PR, Sepulveda AJ, Martin RM, Hopper LR. 2018. A probe-based quantitative PCR assay for detecting *Tetracapsuloides bryosalmonae* in fish tissue and environmental DNA Kent ML, Hedrick RP. 1986. Development of the PKX myxosporean in rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Diseases of aquatic organisms*, 1 (3): 169–182.
- Kent, M. L., & Hedrick, R. P. 1985. PKX, the Causative Agent of Proliferative Kidney Disease (PKD) in Pacific Salmonid Fishes and Its Affinities with the Myxozoa1. *The Journal of Protozoology*, 32(2), 254–260. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1985.tb03047.x>
- Kent ML, Khattra J, Hervio DML, Devlin RH. 1998. Ribosomal DNA sequence analysis of isolates of the PKX myxosporean and their relationship to members of the genus *Sphaerospora*. *Journal of Aquatic Animal Health*, 10 (1): 12–21.
- Kinkelin P de, G rard JP. 1977. L'h pato-n phrite des salmonid s. *La pisciculture francaise*, 40: 42–47.
- Kinkelin P De, Lorient B. 2001. Kinkelin & Lorient 2001_Disease control_PKD_Temperature_RT-Journal_of_Fish_Diseases. (November 1997).
- Kinkelin P De, Gay m, Forman S. 2002. The persistence of infectivity of *Tetracapsula bryosalmonae*-infected water for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)
- Klontz GW, Chacko AJ. 1984. Methods to detect the organism causing proliferative kidney disease in salmonids. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 3: 33–36.

- Klontz GW, Rourke AW, Eckblad W. 1986. The immune response during proliferative kidney disease in rainbow trout. A case history. *Veterinary immunology and immunopathology*, 12 (1-4): 387–393.
- Kotob Mohamed H, Gorgoglione B, Kumar Goklesh, Abdelzaher M, Saleh M, El-Matbouli M. 2017. The impact of *Tetracapsuloides bryosalmonae* and *Myxobolus cerebralis* coinfections on pathology in rainbow trout.
- Kozińska A, Paździor E, Pękala A, Niemczuk W. 2014. *Acinetobacter johnsonii* and *Acinetobacter lwoffii* - The emerging fish pathogens. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 58(2):193–199.
- Kristmundsson A, Antonsson T, Arnason F. 2010. First record of proliferative kidney disease in Iceland. *Assoc Fish Path*.30(1):35-40
- Kumar G, Abd-Elfattah A, Saleh M, El-Matbouli M. 2013. Fate of *Tetracapsuloides bryosalmonae* (Myxozoa) after infection of brown trout *Salmo trutta* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 107(1):9–18.
- Lahnsteiner F, Haunschmid R, Mansour N. 2009. Immune deficiency causes annual late summer brown trout (*Salmo trutta*) mortality in Austrian prealpine river systems. *Aquatic Sciences*, 71(4):463–472.
- Lewisch E, El-Matbouli M. 2018a. A fish health survey of selected Austrian rivers: Implications for stocking practices and a wide distribution of *Tetracapsuloides bryosalmonae*. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*, 105(3–4):81–91.
- Lewisch E, Unfer G, Pinter K, Bechter T, El-Matbouli M. 2018b. Distribution and prevalence of *T. Bryosalmonae* in Austria: A first survey of trout from rivers with a shrinking population. *Journal of Fish Diseases*, 41(10):1549–1557.
- Lewisch E, Solymos V, Waldner K, Vloedt L Van Der, Harl J, Bakran-Lebl K, El-Matbouli M, Fuehrer HP. 2020. Acanthocephalan parasites collected from Austrian fishes: Molecular barcoding and pathological observations. *Diseases of Aquatic Organisms*, 139:103–111.
- Longshaw, M., Feist, S.W., Canning, E.U., Okumara, B. 1999: First identification of PKx in bryozoans from the United Kingdom – molecular evidence. *Bull Eur Ass Fish Path* 19, 146–149.
- McBee ME, Schauer DB. 2006. The Genus *Hafnia* BT - The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria Volume 6: Proteobacteria: Gamma Subclass. In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H, Stackebrandt E, Hrsg. 215–218, New York, NY: Springer New York;
- Macconnell E, Peterson JE. 1992. Proliferative kidney disease in feral cutthroat trout from a remote Montana reservoir. A first case. *Journal of Aquatic Animal Health*, 4 (3): 182–187.
- Mc Gurk C. 2005. Culture of malacosporeans (Myxozoa) and development of control strategies for proliferative kidney disease. A thesis submitted to the University of Stirling for the degree of Doctor of Philosophy [Doktorarbeit]. Scotland: University of Stirling.

- Michael J, Abbott SL, McIver CJ. 2016. *Plesiomonas shigelloides* revisited. *Clinical Microbiology Reviews*, 29(2):349–374.
- Midtlyng PJ, Bleie H, Helgason S, Jansson E, Larsen JL, Olesen NJ, Olsen AB, Vennerstrøm P. 2000. *Nordic manual for the surveillance and diagnosis of infectious diseases in farmed salmonids*. Copenhagen, Denmark: Nordic Council of Ministers.
- Moravec F. 2004. Observations on the transmission and the seasonality of infection of the nematode *Raphidascaris acus* in *Salmo trutta fario* in a small trout stream in North Bohemia, Czech Republic. *Helminthologia*, 41:91–97.
- Morris DJ, Adams A, Richards RH. 1999. In situ hybridization of DNA probes to PKX, the causative organism of proliferative kidney disease (PKD). *Journal of Fish Diseases*, 22 (2): 161–163.
- Morris DJ, Adams A, Smith P, Richards RH. 2003. Effects of oral treatment with TNP-470 on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) infected with *Tetracapsuloides bryosalmonae* (Malacosporea), the causative agent of proliferative kidney disease. *Aquaculture* 221: 51-64
- Morris DJ, Ferguson HW, Adams A. 2005. Severe, chronic proliferative kidney disease (PKD) induced in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* held at a constant 18°C. *Diseases of aquatic organisms* Vol 66: 221-226
- Morris DJ, Adams A. 2006a. Sacculogenesis and sporogony of *Tetracapsuloides bryosalmonae* (Myxozoa: Malacosporea) within the bryozoan host *Fredericella sultana* (Bryozoa: Phylactolaemata)
- Morris DJ, Adams A. 2006b. Transmission of *Tetracapsuloides bryosalmonae* (Myxozoa: Malacosporea), the causative organism of salmonid proliferative kidney disease, to the freshwater bryozoan *Fredericella sultana*. *Parasitology*, 133(6):701–709.
- Nationalpark Hohe Tauern
http://www.parcs.at/npht/pdf_public/2016/32890_20160510_105302_nphtt_tafel_urforelle_ly4_NEU2016_SponsorSalesianer.pdf (Zugriff 15.01.2023).
- Navarrete P, Magne F, Mardones P, Riveros M, Opazo R, Suau A, Pochart P, Romero J. 2010. Molecular analysis of intestinal microbiota of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *FEMS Microbiology Ecology*, 71(1):148–156.
- Oberösterreichische Umweltanwaltschaft, Studie Revitalisierungspotential untere Traun 2014
<https://www.oee-umweltanwaltschaft.at/Mediendateien/UntereTraun.pdf> (Zugriff 03.03.2021)
- O'Brien DJ, McArdle J, Doyle J. 1977. A renal disease of possible protozoan aetiology resembling nephrocalcinosis in rainbow trout. *Irish Veterinary Journal*, 31 (3): 46–48.
- Okumara B., Hartikainen H., Schmidt-Posthaus H., Wahli T. 2011. Life cycle complexity, environmental change and the emerging status of salmonid proliferative kidney disease. *Freshwater Biology* 56, 735-753.

- Peribé MA, Luco DF, García L, Castillo JA. 1997. The prevalence of proliferative kidney disease from the kidney and muscle of rainbow and brown trout in Aragón (Spain). *Preventive veterinary medicine*, 32 (3-4): 287–297.
- Plattform Renaturierung http://plattform-renaturierung.ch/wp-content/uploads/2018/07/AquaGas-07-2018_FA-Peter.pdf (Zugriff 22.03.2022)
- Plehn M. 1924. *Praktikum der Fischkrankheiten*. Stuttgart: Schweizerbart (E. Nägele) g.m.b.h.
- Plumb A. J, Hanson L.A, 2010. *Health Maintenance and Principal Microbial Diseases of Cultured Fishes*. Dritte Aufl. Wiley- Blackwell, 345-419
- Rechtsinformationssystem des Bundes <https://www.ris.bka.gv.at/GeltendeFassung.wxe?Abfrage=LROO&Gesetzesnummer=20001078> (Zugriff 07.08.2021)
- Roberts RJ, Shepherd CJ. 1974. *Handbook of trout and salmon diseases*. University of Stirling, Scotland: Fishing News (Books) Ltd, 168.
- Rubin A, de Coulon P, Bailey C, Segner H, Wahli T, Rubin JF. 2019. Keeping an Eye on Wild Brown Trout (*Salmo trutta*) Populations: Correlation Between Temperature, Environmental Parameters, and Proliferative Kidney Disease. *Frontiers in Veterinary Science*, 6(August):1–16.
- Salzkammergut <https://www.salzkammergut.at/oesterreich-poi/detail/430003487/traun-ursprung.html> (Zugriff 17.02.2021)
- Saulnier D, De Kinkelin P. 1997. Polymerase chain reaction primers for investigations on the causative agent of proliferative kidney disease of salmonids. *Journal of Fish Diseases*, 20(6):467–470.
- Schmidt-Posthaus H, Steiner P, Müller B, Casanova-Nakayama A. 2013. Complex interaction between proliferative kidney disease, water temperature and concurrent nematode infection in brown trout. *Diseases of Aquatic Organisms*, 104(1):23–34.
- Schmidt-Posthaus H, Hirschi R, Schneider E. 2015. Proliferative kidney disease in brown trout:infection level, pathology and mortality under field conditions. *Diseases of aquatic organisms* 114: 139-146
- Scholz T. 1999. Parasites in cultured and feral fish. *Veterinary parasitology*, 84 (3-4): 317–335
- Scott PW. 1979. The occurrence of proliferative kidney disease on a chalk stream. *Veterinary Record*, 105 (14): 330–331.
- Seagrave CP, Bucke D, Alderman DJ. 1980. Ultrastructure of a Haplosporean-like organism: the possible causative agent of proliferative kidney disease in rainbow trout. *Journal of Fish Biology*, 16(4):453–459.

- Seagrave CP, Bucke D, Hudson EB, McGregor D. 1981. A survey of the prevalence and distribution of proliferative kidney disease (PKD) in England and Wales. *Journal of Fish Diseases*, 4 (5): 437–439.
- Skovgaard A, Buchmann K. 2012. *Tetracapsuloides bryosalmonae* and PKD in juvenile wild salmonids in Denmark. *Diseases of Aquatic Organisms*, 101(1):33–42.
- Smith JD. 1984. Development of *Raphidascaris acus* (Nematoda, Anisakidae) in paratenic, intermediate, and definitive hosts. *Canadian Journal of Zoology*, 62(7):1378–1386.
- Sorroza L, Padilla D, Acosta F, Román L, Grasso V, Vega J, Real F. 2012. Characterization of the probiotic strain *Vagococcus fluvialis* in the protection of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) against vibriosis by *Vibrio anguillarum*. *Veterinary Microbiology*, 155(2–4):369–373.
- Soliman H, Kumar G, El-Matbouli M. 2018. *Tetracapsuloides bryosalmonae* persists in brown trout *Salmo trutta* for five years post exposure. *Diseases of Aquatic Organisms*, 127:151–156.
- Sportanglerbund Vöcklabruck <https://www.sab.at/gewaesser/sab-gewaesser/ager-fliege/news-infos/432-die-situation-der-bachforelle-in-mittleuropa-von-mag-roman-moser.html> (Zugriff 03.02.2021)
- Stanković D, Crivelli, AJ, Snoj A. 2015. Rainbow Trout in Europe: Introduction, Naturalization, and Impacts. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 23: 39 - 71.
- Strepparava N, Ros A, Hartikainen H, Schmidt-Posthaus H, Wahli T, Segner H, Bailey C. 2020. Effects of parasite concentrations on infection dynamics and proliferative kidney disease pathogenesis in brown trout (*Salmo trutta*). *Transboundary and Emerging Diseases*, 67(6):2642–2652.
- Stiebels B. 2015. Syntax- Theory and Analysis. Vol. 1: 412-446
- Sudhagar A, Kumar G, El-Matbouli M. 2019 The Malacosporean Myxozoan Parasite *tetracapsuloides bryosalmonae*: A threat to Wild Salmonides
- Tiroler Fischreiverband <https://www.tiroler-fischereiverband.at/fischtirol.html> (Zugriff 14.03.2020)
- Tirol GV
https://www.tirol.gv.at/fileadmin/themen/umwelt/wasser/Gewaesseroekologie/Gesamtbericht_PKD_Screening_Tirol_VetMed.pdf (Zugriff 18.12.2022)
- Tops S, Lockwood W, Okamura B. 2006. Temperature-driven proliferation of *Tetracapsuloides bryosalmonae* in bryozoan hosts portends salmonid declines. *Diseases of aquatic organisms*, 70 (3): 227–236. DOI 10.3354/dao070227.
- Troyer-Mildner, J. 2005: Moostiere (Bryozoa) in Kärntner Gewässern (Österreich). *Denisia* 16, zugleich Kataloge der OÖ Landesmuseen Neue Serie 28, 159–166.
- Unfer G, Holzer G, Gallowitsch M, Gumpinger C, Hundlinger R, El-Matbouli M. 2015. Ausbruch der PKD (Proliferative Kidney Disease) im Kamp im Sommer 2014- Ein

Ereignisbericht, der nicht ohne Konsequenzen bleiben darf! Fischnetz 2004. Schlussbericht des Projekts – Netzwerk Fischrückgang Schweiz – »Fischnetz – Dem Fischrückgang auf der Spur«, EAWAG, Bern. www.fischnetz.ch.

Verordnung (EG) Nr. 470/2009 des europäischen Parlaments und des Rates <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=CELEX:32009R0470&from=EN> (Zugriff 22.08.2022)

Wahli, T., Knuesel, R., Bernet, D., Segner, H., Pugovkin, D., Burkhardt-Holm, P.; Schmidt-Posthaus, H. 2002. Proliferative kidney disease in Switzerland: Current state of knowledge. *Journal of Fish Diseases*, 25, 491–500. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.2002>.

Wahli T, Burr SE, Pugovkin D, Mueller O, Frey J. 2005. *Aeromonas sobria*, a causative agent of disease in farmed perch, *Perca fluviatilis* L. *Journal of Fish Diseases*, 28(3):141–150.

Waldner K, Borgwardt F, Unfer G, El-Matbouli M. 2018. Die proliferative Nierenerkrankung der Salmoniden (PKD)- eine wiederkehrende Fischkrankheit. *Wiener tierärztliche Monatsschrift* 105: 227-240

Waldner K, Bechter T, Auer S, Borgwardt F, El-Matbouli M, Unfer G. 2020. A brown trout (*Salmo trutta*) population faces devastating consequences due to proliferative kidney disease and temperature increase: A case study from Austria. *Ecology of Freshwater Fish*, 29(3):465–476.

Wass ER. 2005. *Biologie der Süßwassermoostiere (Bryozoa)*. Linz, Austria: Biologiezentrum der Oberösterreichischen Landesmuseen.

Zepeda-Velázquez AP, Vega-Sánchez V, Ortega-Santana C, Rubio-Godoy M, de Oca-Miranda DM, Soriano-Vargas E. 2017. Pathogenicity of Mexican isolates of *Aeromonas* sp. in immersion experimentally-infected rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792). *Acta Tropica*, 169:122–124.