

Anoplophora glabripennis: Diagnose, Kultivierung und Zucht

Ute Hoyer-Tomiczek¹, Christian Stauffer², Hannes Krehan¹, Christian Tomiczek¹

Die präsentierten Untersuchungen wurden finanziell vom Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft unterstützt.

Situation in Braunau / Inn, Österreich

Der "Asiatische Laubholz-Bockkäfer" (ALB, *Anoplophora glabripennis*), ein Quarantäneschädling, wurde 2001 erstmalig in Europa im Stadtgebiet von Braunau/Inn nahe der Grenze zu Deutschland entdeckt. Von Juli 2001 bis April 2006 wurden 99 Bäume mit Befall durch den Asiatischen Laubholz-Bockkäfer festgestellt. Von diesen wiesen 89 Ahornbäume (*Acer platanoides*, *Acer pseudoplatanus*, *Acer saccharinum*, *Acer campestre*), 4 Birken (*Betula pendula*), 2 Blutbuchen (*Fagus sylvatica* „Atropinica“), 1 Schlitzblättrige Buche (*Fagus sylvatica* „Asplenifolia“) sowie 1 Platane (*Platanus platanoides*) und 2 Rosskastanien (*Aesculus hippocastanum*) typische Befallssymptome wie Kronenwelke aufgrund des Reifungsfraßes der Käfer, Bohrspäne der Larven, Eiablagestellen und in einigen Fällen Ausbohrlöcher auf. Um den Schädling auszurotten, wurden befallene Bäume auf Plastikfolie gefällt und das gesamte biogene Material (Stamm, Äste, Zweige, Blätter) vor Ort gehäckselt und verbrannt. Bisher wurden mehr als 1000 Bäume als Vorsichtsmaßnahme gefällt, um eine genaue Kontrolle zu ermöglichen und so eine unkontrollierte Ausbreitung des Schädlings zu verhindern.



Abb. 1: Braunau nahe der Grenze zu Deutschland



Abb. 2: ALB-Situation in Braunau bis April 2006

Diagnose von *Anoplophora glabripennis* mittels amplifizierter mitochondrialer DNA (PCR-RFLP-Methode)

Eine sehr wichtige Frage ist die Diagnose von *Anoplophora glabripennis* und seine Unterscheidung von anderen *Anoplophora*-Arten und einheimischen Bockkäfern. Die häufigsten Verwechslungsmöglichkeiten innerhalb der europäischen *Cerambycidae* sind Arten der Gattung *Saperda* und *Aromia moschata* (Moschusbock). Morphologische Kriterien geben Nicht-ALB-Spezialisten wenig Anhaltspunkte für eine verlässliche Bestimmung. Zur Verwirrung trägt die große Variabilität innerhalb der Art *A. glabripennis* und anderen Arten wie *A. chinensis*, *A. macularia*, *A. malasiaca*, *A. davidis* und *A. elegans* zusätzlich bei. Außerdem ist die Bestimmung früher Stadien wie Ei, Larve und Puppe fast unmöglich, wäre aber für die frühzeitige Feststellung von ALB-Befall und die Bestimmung von Larven aus importiertem Holzmaterial sehr wichtig. Deshalb wurden molekularbiologische Untersuchungen mit dem Ziel begonnen, eine nicht-morphologische Diagnosemethode zu entwickeln. Dafür wurde die Gesamt-DNA aus eindeutig definierten Käfern, Larven und Eiern isoliert und mit Mitochondrien-DNA-spezifischen Primern in Polymerase-Kettenreaktionen (PCR) vervielfältigt. Die PCR-Produkte wurden entweder sequenziert oder mit Restriktions-

enzymen verdaut. Mutationen, die an Erkennungsstellen der Restriktionsenzyme stattgefunden hatten, führen zu unterschiedlichen Restriktionsfragmenten. Dieses Phänomen wird "Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus" (RFLP) genannt. Basierend auf dieser mitochondrialen PCR-RFLP-Methode ist es nun möglich, *Anoplophora glabripennis* eindeutig von *A. chinensis*, *A. macularia* und *A. davidis* (Abb. 3), von *A. elegans* und *A. malasiaca* (nicht gezeigt) sowie auch von *Saperda carcharias*, *S. octopunctata*, *S. perforata* und *Aromia moschata* durch Verdauung von ein oder zwei verschiedenen PCR-Fragmenten mit fünf verschiedenen Restriktionsenzymen anhand der resultierenden artspezifischen RFLP-Muster zu unterscheiden. Eier, Larven und Puppen können ebenfalls bestimmt werden, wodurch ein ALB-Befall frühzeitig festgestellt werden kann. In Abb. 3 sind die PCR-RFLP-Muster von vier *Anoplophora*-Arten, drei *Saperda*-Arten und *Aromia moschata* präsentiert. Das RFLP-Muster von *Anoplophora glabripennis* ist als roter Strichcode in den RFLP-Mustern der anderen *Anoplophora*- und *Saperda*-Arten sowie *Aromia moschata* zwecks besserer Vergleichbarkeit dargestellt.

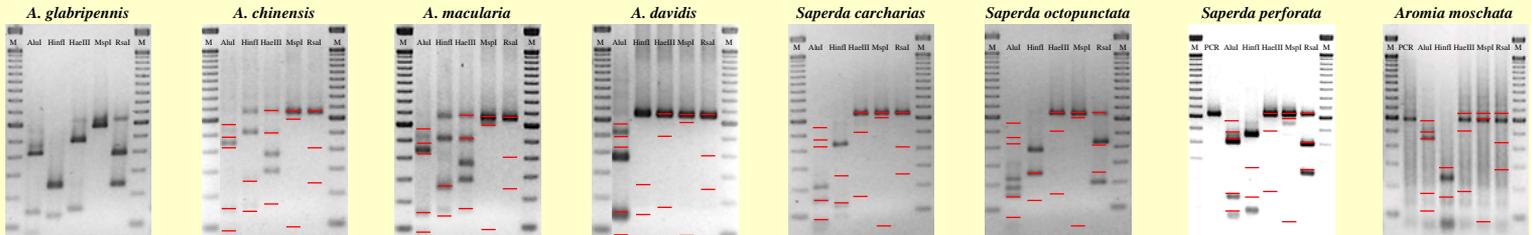


Abb. 3: PCR-RFLP-Muster von fünf verschiedenen Restriktionsenzymen von *Anoplophora glabripennis* im Vergleich mit drei anderen *Anoplophora*-Arten, drei *Saperda*-Arten und *Aromia moschata* (Moschusbock). Die Unterschiede zwischen dem *A. glabripennis*-Muster und den Mustern der anderen Arten sind durch den roten Strichcode hervorgehoben, welcher das *A. glabripennis*-RFLP-Muster symbolisiert. "PCR": ungeschnittenes PCR-Produkt; "M": Größenstandard 100 bp DNA-Leiter.

Kultivierung und Zucht von *A. glabripennis* unter "natürlichen Bedingungen" im Quarantänelabor des BFW

Proben von befallenen Bäumen wurden von Braunau in das Quarantänelabor des Instituts für Waldschutz des BFW transportiert und dort in Insektenkäfigen zur weiteren Entwicklung und Beobachtung verwahrt. Große Stammstücke wurden in Spanplattenkisten mit Metallgitterdeckel (Abb. 4), kleinere in Metallkäfigen (Abb. 5) gelagert. Ausgeschlüpfte Käfer wurden zu Paaren zusammen gesetzt und mit Ahornzweigen und -blättern gefüttert, an denen sie den Reifungsfraß (Abb. 6, 7) und die Kopulation (Abb. 7) durchführten. Es wurden Äste verschiedener Baumarten angeboten, um festzustellen, welche zentraleuropäischen Baumarten

von den Weibchen für die Eiablage bevorzugt werden (Abb. 10). Das Weibchen beißt mit seinen Mandibeln Schlitz in die Rinde und legt jeweils ein Ei in oder unter die Rinde (Abb. 8). Ein Weibchen kann in seinem Leben bis zu 300 Eier legen. Während zehn bis vierzehn Wochen Lebensdauer legten die untersuchten Weibchen 75 bis 115 Eier. Manchmal werden Eier, die Reiskörnern ähneln, auch auf Äste, Zweige und Blätter gelegt (Abb. 9). Der Spitzahorn (*A. platanoides*) war die Baumart in den meisten erfolgreichen Eiablagen und geschlüpfte Larven im Vergleich mit Eschenahorn (*A. negundo*) und Rotbuche (*Fagus sylvatica*) (Abb. 10).



Kultivierung von *A. glabripennis* in "künstlichem Medium" im Quarantänelabor des BFW

Parallel zu der Entwicklung in Holzproben werden ALB-Larven aus den Holzstücken heraus präpariert und einzeln in Gläsern mit speziell hergestelltem Nährmedium gegeben. Bisher wurden 41 Larven in diesem Nährmedium kultiviert, von denen 41% aufgrund von Entwicklungsstörungen und zwei verschiedenen, unbekanntem Krankheiten starben. Abhängig von der Entwicklung und der Fraßaktivität werden die Larven alle sechs bis acht Wochen in frisches Medium umgesetzt (Abb. 11 d). Während des Umsetzens werden die Larven gewogen (Abb. 11 e) und gemessen (Abb. 11 f), um die Entwicklung zu dokumentieren, und in sterilisiertem Wasser gebadet (Abb. 11 g), um Kontaminationen zu entfernen. Jede Larve wird mit dem Kopf voran in ein Loch im Medium gegeben, von wo sie sich weiter frisst (Abb. 11 h). Das alte Medium wird nach Häutungsresten durchsucht (Abb. 11 i, Pfeil). Bis jetzt schlüpfen siebzehn Käfer, sieben Männchen und zehn Weibchen, aus dem Medium. Weitere vier Larven verpuppten, hatten aber Häutungsprobleme.

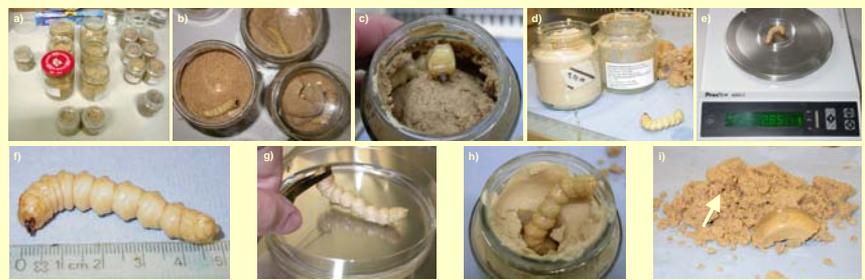


Abb. 11: Kultivierung von *Anoplophora glabripennis*-Larven in künstlichem Nährmedium: Umsetzen der Larven aus altem in frisches Medium

Dauer der Larven- und Puppenstadien von *Anoplophora glabripennis* in natürlicher Umgebung und im Labor



Abb. 12: Die Puppen-Entwicklung von *Anoplophora glabripennis* dauert ungefähr drei Wochen.

Beobachtungen in Braunau von Juli 2001 bis jetzt geben Anlass zu der Vermutung, dass *A. glabripennis* 1½ bis 2 Jahre für die vollständige Entwicklung vom Ei bis zum Käfer unter natürlichen Bedingungen in Zentraleuropa braucht. Ausgeschlüpfte Käfer wurden 2001 und 2003 in Braunau gefangen, nicht aber in 2002. Aufgrund von Larvenfraßaktivität, die 2002 bei weiteren Bäumen in Braunau festgestellt wurde, wurden diese Bäume gefällt und Proben von ihnen in das Quarantänelabor des BFW gebracht. Aus diesen Proben schlüpfen von Juni bis August 2003 die Käfer. Bisher konnte kein erkennbarer Unterschied in der Dauer der Larvenentwicklung in Holzstücken, die einer "Winterphase" ausgesetzt waren, und solchen, die keinen "Winter" hatten, beobachtet werden. Im Gegensatz zu diesen Erfahrungen schlüpfen im Juli 2002 Larven (Nachkommen von gefangenen *A. glabripennis*-Paaren von Juni bis Sept. 2002) in Holzstücken aus ihren Eiern, wurden dann in künstlichem Nährmedium ohne Winterphase kultiviert, verpuppten sich nur ein Jahr später im Juli 2003 und schlüpfen im August 2003. Demnach ist die Entwicklung von *A. glabripennis* vom Ei bis zum Käfer unter optimalen klimatischen und Nahrungsbedingungen innerhalb eines Jahres möglich. Die Dauer des Puppenstadiums konnte anhand von Larven beobachtet werden, die in künstlichem Medium kultiviert wurden und sich auf dessen Oberfläche verpuppten. Im Durchschnitt dauert die Puppenphase drei Wochen. Die Verfärbungen finden zu Beginn nur langsam, in der letzten Woche aber sehr schnell statt (Abb. 12).

Danksagung
Die Autoren danken Diana Mittermayr, Yvonne Wittmann & Philip Menschhorn für die wertvolle technische Unterstützung und Carulus Holzschuh für die Bereitstellung von *Anoplophora*-Arten und die morphologische Bestimmung der Käfer.

² Universität für Bodenkultur (BOKU)
Institut für Forstentomologie, Forstpathologie & Forstschutz
Hasenauerstrasse 38, A-1190 Wien, Österreich
christian.stauffer@boku.ac.at
http://www.boku.ac.at

¹ Bundesforschungs- und Ausbildungszentrum für Wald, Naturgefahren und Landschaft (BFW)
Institut für Waldschutz
Seckendorff-Gudent-Weg 8, A-1131 Wien, Österreich
ute.hoyer@bfw.gv.at / hannes.krehan@bfw.gv.at / christian.tomiczek@bfw.gv.at
http://bfw.ac.at