



## Österreichs Nematodensurvey (*Bursaphelenchus xylophilus*)

Werner Hinterstoisser / Martin Brandstetter  
Institut für Waldschutz

BOKU 2020

BOKU am BFW Schönbrunn

05. November 2020



## Warum machen wir das?

**Ausbreitungsgefahr der  
Splintholznematode *B.  
xylophilus* verursacht  
Kiefernwelke (PWD-Pine wilt  
disease)**

- bevorzugt *Pinus sp.*

### **Ausbreitung in Europa**

- Portugal (seit 1999), Madeira
- Spanien
- Verpackungshölzer



Abb1: unbekannt

## Gesetzliche Rahmenbedingungen

### - Rahmen:

- Durchführungsbeschluss 2012/535/EU vom 26.09.2012
- letzte Änderung 2018/616/EU vom 23.04.2018

### - Umsetzung:

- Forstgesetz 1975 und Pflanzenschutzgesetz 2011
- Verpflichtet die Forstbehörde der Bundesländer zum Survey
- Landesforstdienste
- BFW im Auftrag der Bundesländer



Abb2: Hinterstoisser, 2020

## Ausbreitung & Entwicklungszyklus

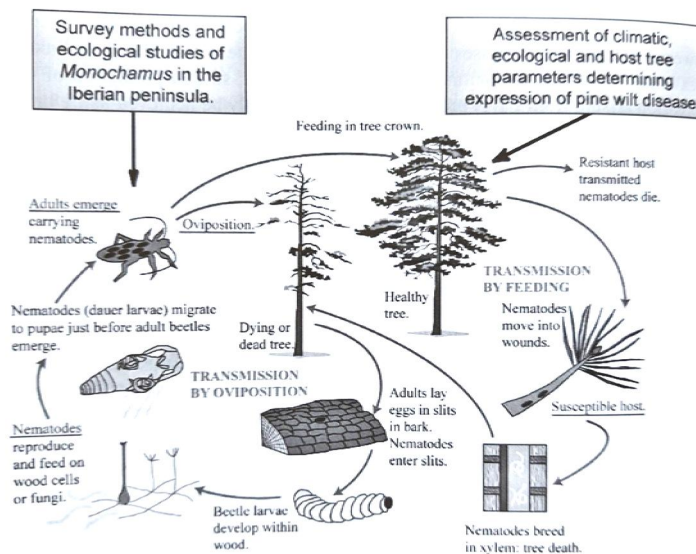


Fig. 1 The interaction of *Bursaphelenchus xylophilus* and its *Monochamus* spp. vectors, in saprophytic and pathogenic phases of the cycle. After Wingfield (1987)

Abb3: Manuel M. Mota et al (2008): Pine Wilt Disease: A Worldwide Treat to Forest Ecosystems. Springer.

Pilz: *Ceratocystis fimbriata*

Dauerjuvenile im Stadium L4

## Was wird beprobt?

### Holzproben

- Wald
  - *Pinus sp.*, *Abies sp.* (sonstig. NH)
- Import- und Verpackungsholz
  - *Pinus sp.* Splintholz (verbläut)

### Vektor

- *Monochamus sp.*
  - Lebendfallen



## Was geschieht dabei?

1. Probenahme
  - Holzproben (Wald, Import, Verpackung)
  - *Monochamus* (Falle, Freiland)
  - Erfassen in der Datenbank
2. Lagerung (→ kühlen 4-6°C)
3. Inkubieren (25°C, 14 Tage)
4. Ansetzen in Baermanntrichter
5. Ablass 24h
6. Ablass 48h
7. Bestimmung
  - Okular (morphologisch)
  - Bestimmung RFLP (DNA-Sequenzierung)
8. Eintrag Datenbank
9. Bericht EU



## 1. Probenahme im Gelände

18-22 mm Schlangenbohrer

Möglichst nur Splintholz

Langsam bohren <50°C

Mischprobe = min. 3 Stellen an einem Baum (z.B.: BHD, Kronenansatz, Wipfel)

Probemenge sollte min. ca. 2 Kaffeefilter füllen.



Abb5: Hinterstoisser 2020

## 1. Pheromonfallen

Standortwahl – nähe zu Risikogebieten

Geringe Fangzahlen an den Standorten

Fang ohne Falle (an Brutbäumen oder aus der Luft, ...) bitte senden

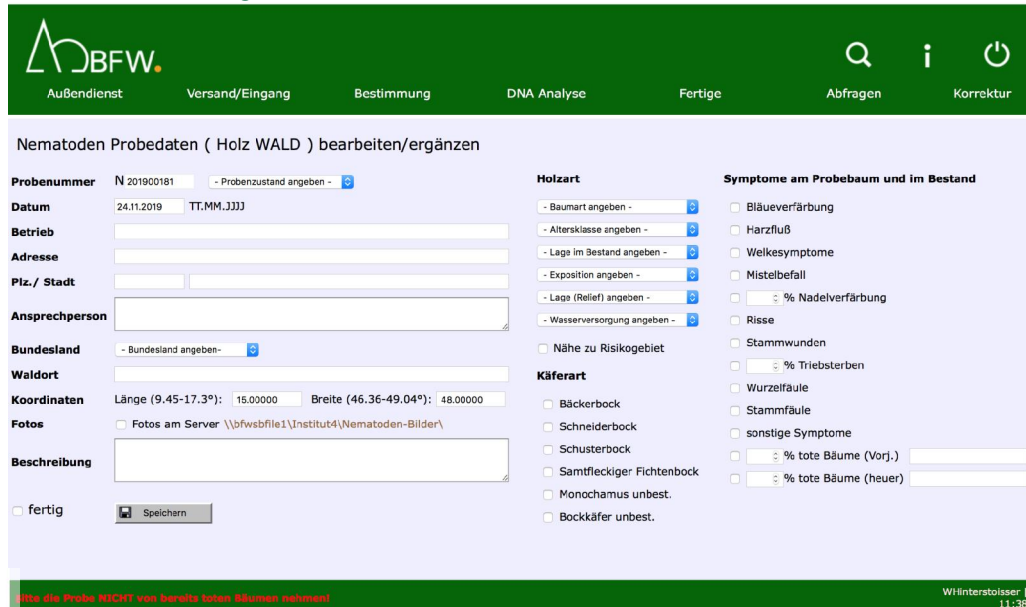
Lebende Tiere im EPI (Proberöhrchen) mit Zweig



Abb6: BFW

# 1. Eintrag Datenbank

<https://bfw.ac.at/vhk/nlogin>



The screenshot shows the 'Nematoden Probedaten ( Holz WALD ) bearbeiten/ergänzen' form. It includes fields for Probenummer (N 201900181), Datum (24.11.2019), Betrieb, Adresse, Plz./ Stadt, Ansprechperson, Bundesland, Waldort, Koordinaten, Fotos, and Beschreibung. There are also dropdown menus for Holzart and Käferart, and checkboxes for various symptoms and beetle types. A 'Speichern' button is at the bottom left. A green banner at the bottom reads 'Bitte die Probe NICHT von bereits toten Bäumen nehmen!'.

Abb7:  
BFW

## 2. &3. Lagerung und Inkubieren

### Lagerung:

- Proben einzeln in beschriftete Plastiksäcke verpackt
- Kühltruhe bei ca. 4-6 °C
- Bis zur Aufarbeitung

### Inkubieren:

- 14 Tage vor dem Ansatz
- 25°C
- Wasserglas für Luftbefeuchtung im Inkubator



Abb8: Hinterstoisser 2019

## 4. Ansatz

Nachweis erfolgt mit Baermann –  
Trichter Methode

Nematoden werden aus dem Holz  
ausgeschwemmt

Sie sammeln sich im Trichterstiel

Abgelassen wird nur so viel, dass  
der Boden der Petrischale bedeckt  
ist.

Nach 24h und nach 48h

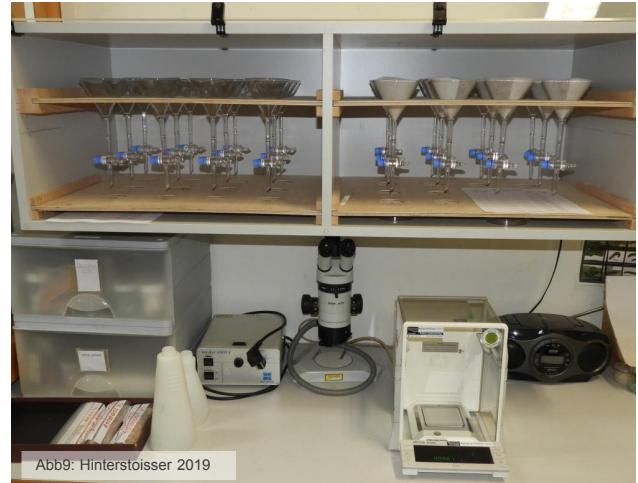


Abb9: Hinterstoisser 2019

## 4. Ansatz

Einwaage ca. 25g (feucht)

Trichter mit Wasser füllen



Abb10: Hinterstoisser 2019



Abb11: Hinterstoisser 2019



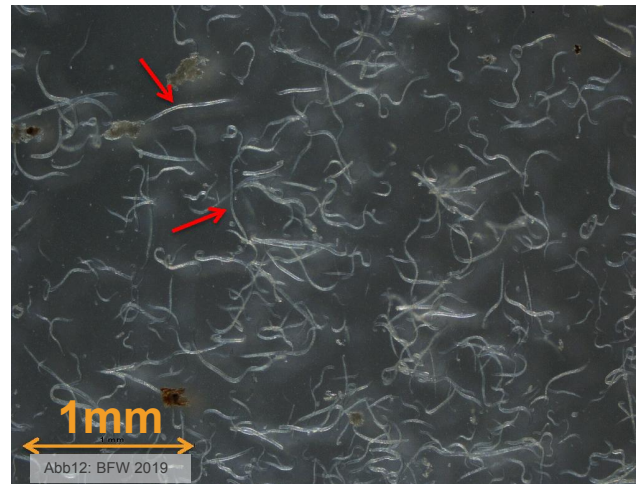
## 5. & 6. Ablass 24h und 48h

Ausschnitt einer abgelassenen Probe

Im Bild ersichtlich sind unterschiedliche Nematodenarten und Entwicklungsstadien

Im Bild sind in etwa 600 Nematoden sichtbar

In 10 g Holz können ca. 10.000 Tiere vorkommen

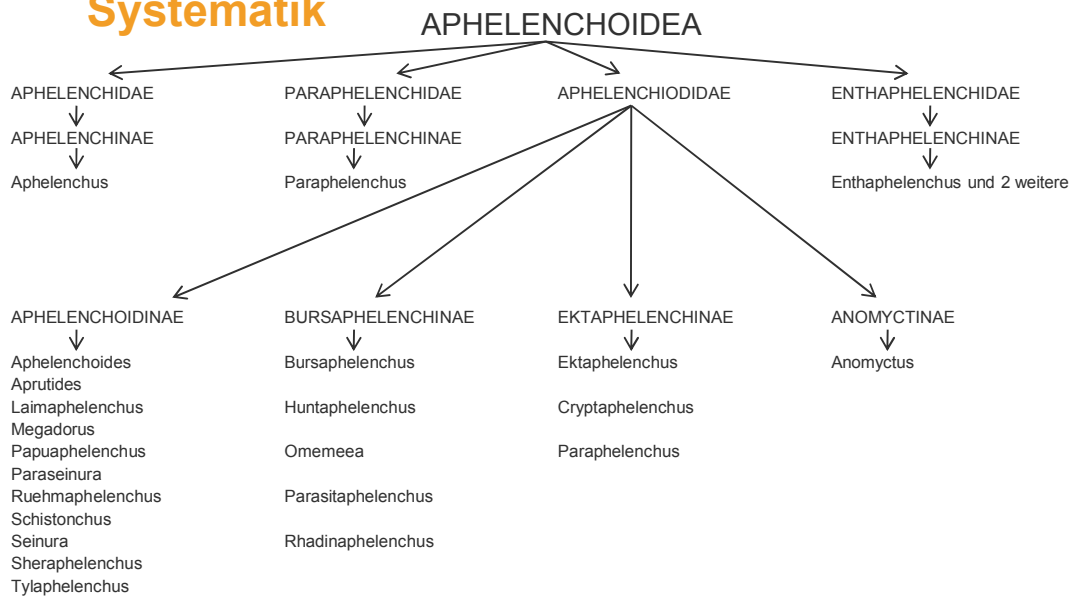


## 7. Nematoden Schnellüberblick Systematik

Reich:	ANIMALA	
Stamm:	NEMATODA	Nicht segmentierte Rundwürmer
Klasse:	CHROMADOREA	Phasmiden vorhanden
Unterklasse:	Chromadoria	
Ordnung:	RHABDITIDA	
Unterordnung:	THYLENCHINA	Stylet, 3 teiliger esophagus
Unterfamilie:	APHELENCHOIDEA	

## 7. Nematoden Schnellüberblick

### Systematik



## *Bursaphelenchus xylophilus*

*Bursaphelenchus xylophilus* r-Form



Abb13-14: BFW 2020



## *Bursaphelenchus xylophilus*

*Bursaphelenchus xylophilus* m-Form



Abb15-16: BFW 2020

## *Bursaphelenchus xylophilus* r / m Form

*Bursaphelenchus xylophilus* r-Form



*Bursaphelenchus xylophilus* m-Form



Abb17-20: BFW 2020

## *Bursaphelenchus mucronatus*

*Bursaphelenchus mucronatus kolymensis* (→ europäische Form)



Abb21-22: BFW 2020



Kondylus, Verhältnis Länge zu Durchmesser

## *xylophilus* versus *mucronatus*

Vergleich *B. xylophilus* (links) und *B. mucronatus* (rechts)  
 Als Beispiel: unterschiedlicher Spiculawinkel in Grad des ♂

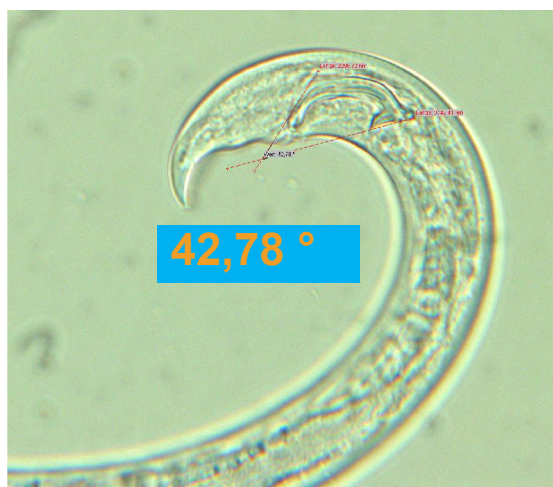
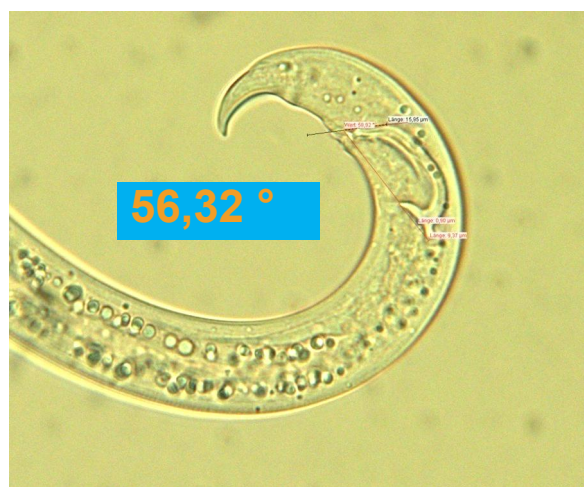


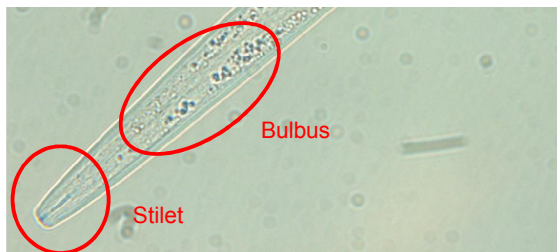
Abb23-24: BFW 2020





## 7. Weitere Nematodenarten

*Thylenchoides sp.*



*Rhaptitidae sp.*

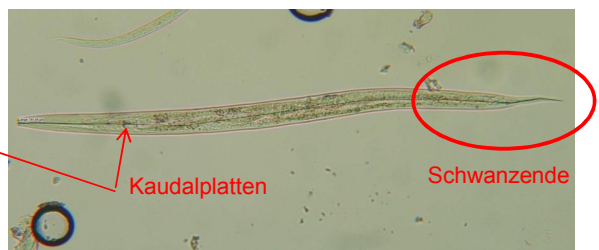
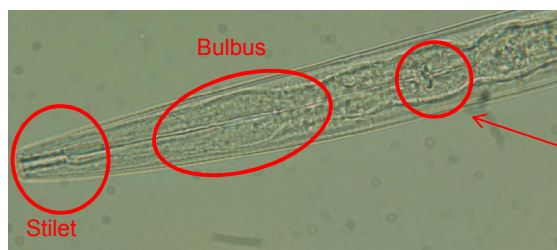
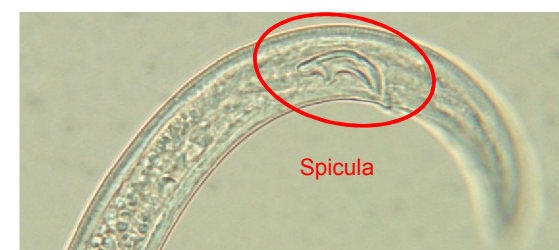
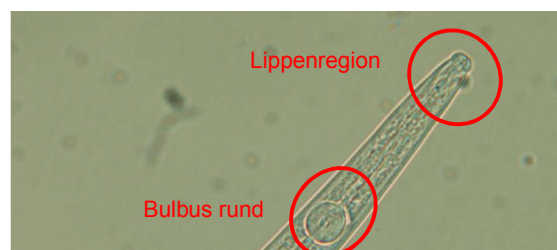


Abb25-29: BFW 2019

## 7. Weitere Nematodenarten

*Aphelenchoidae sp.*



*Bursaphelenchus sexdendati*

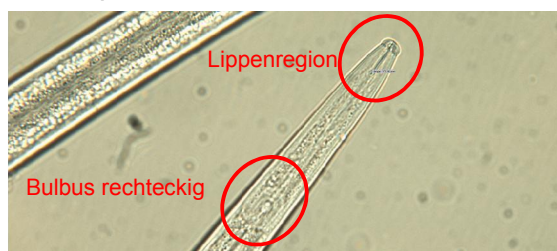


Abb30-33: BFW 2019



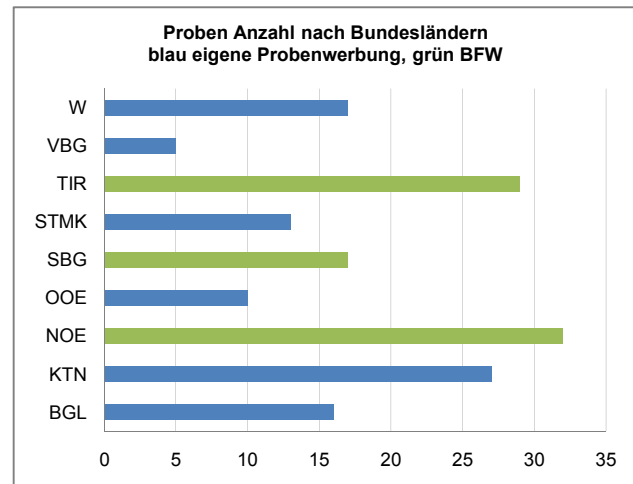
## 8. & 9. Ergebnisse 2018

### Mindest Soll an Proben:

5 Bestände á 3 Bäume als  
Mischproben  
= 5 Proben je Bundesland

20-25 Importproben nach AUT

Monochamen nahe/in  
Risikogebieten



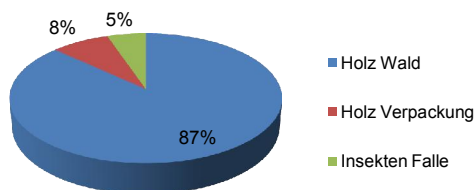
## 8. & 9. Ergebnisse 2018

Übersicht Probenahmen					
	N Proben	Holz Wald	Holz Verpackung	Insekten Falle	Holz Import
BGL	16	0	0	16	0
KTN	27	13	2	12	0
NOE	32	27	5	0	0
OOE	10	4	5	0	1
SBG	17	11	5	1	0
STMK	13	5	8	0	0
TIR	29	19	10	0	0
VBG	5	2	1	2	0
W	17	17	0	0	0
SUMME	166	98	36	31	1

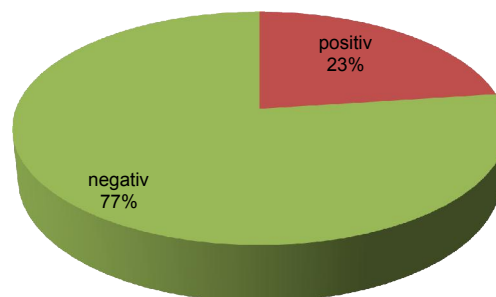
## 8. & 9. Ergebnisse 2018

Von 166 Proben im Jahr 2018 war rund ein viertel mit lebenden Nematoden. (38 positiv, 128 negativ)

### positive Proben

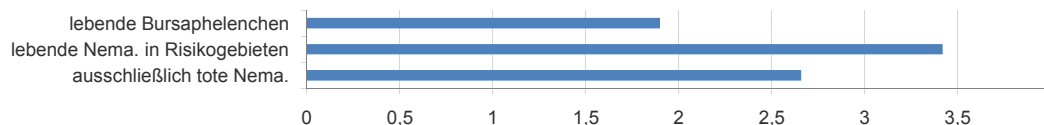


### Probenauswertung



## 8. & 9. Ergebnisse 2018

### % der positiven Proben beinhalten

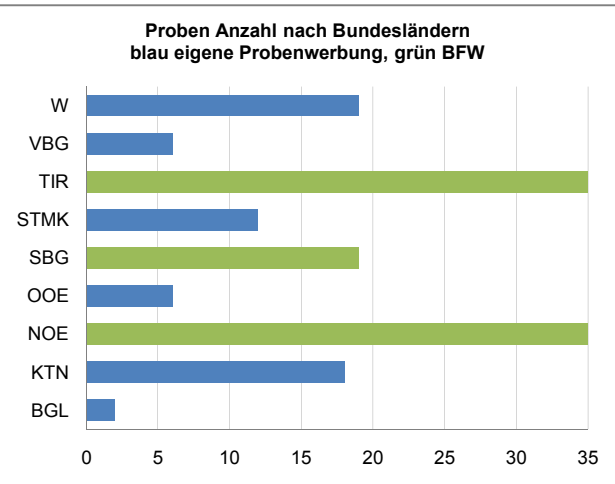


Proben beinhalten lebende Nematoden										
	Familien						Bursaphelenchus			Bestimmung nicht möglich
	Rhaphitidae	Thylenchidae	Ektaphelenchus	Aphelenchus	Cryptaphelenchus	Laimaphelenchus	sexdentati	mucronatus	leoni Typ1	
BGL	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1
KTN	1	0	1	2	0	0	0	2	2	0
NOE	4	2	0	6	2	3	2	0	0	3
OOE	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
SBG	1	2	0	2	1	0	0	0	0	0
STMK	1	1	1	1	2	0	0	0	0	1
TIR	0	0	0	2	2	2	0	0	0	1
VBG	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
W	2	0	0	2	0	0	1	0	0	0
SUMME	11	6	2	15	7	5	3	3	3	8

## Ergebnisse 2019

Bisher eingelangte Proben für den Survey 2019

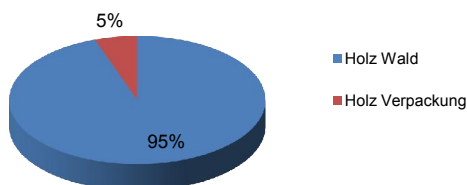
Übersicht Probenahmen					
	N Proben	Holz Wald	Holz Verpackung	Insekten Falle	Holz Import
BGL	2	0	0	2	0
KTN	18	11	0	7	0
NOE	49	44	3	0	2
OOE	6	4	2	0	0
SBG	19	11	5	3	0
STMK	12	5	7	0	0
TIR	48	39	9	0	0
VBG	6	6	0	0	0
W	19	18	1	0	0
SUMME	179	138	27	12	2



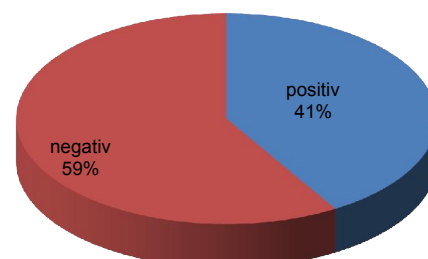
## Ergebnisse 2019

Von 179 Proben im Jahr 2019 waren rund 40% mit lebenden Nematoden. (74 positiv, 105 negativ)

### positive Proben



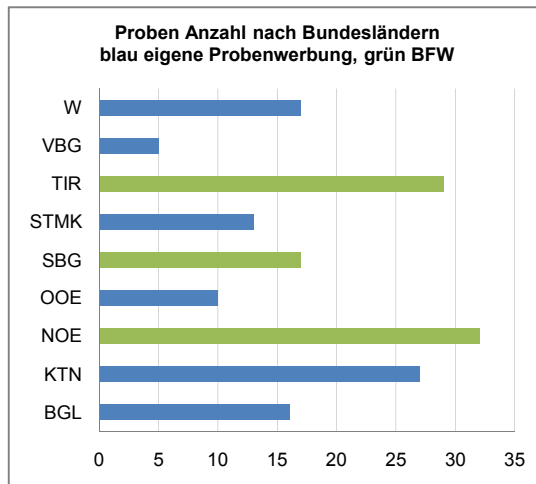
### Probenauswertung



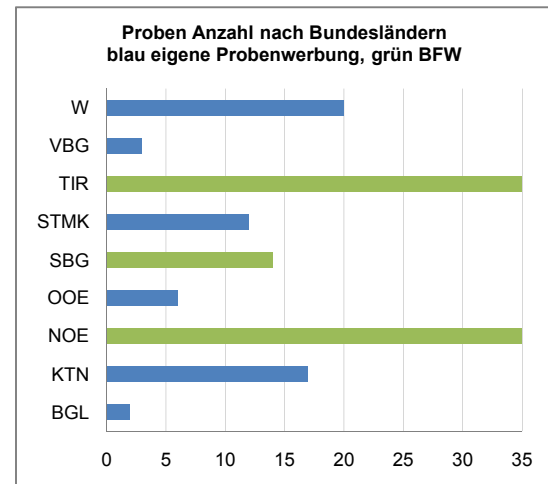


## Vergleich 18/19

2018



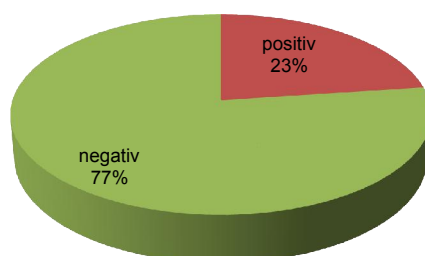
2019



## Vergleich 18/19

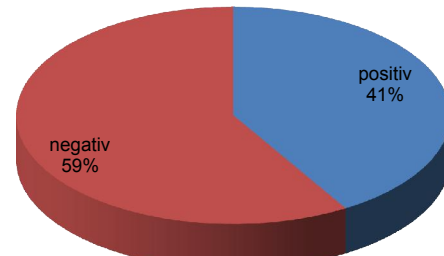
38 positiv, 128 negativ

2018 Probenumfang 166



74 positiv, 105 negativ

2019 Probenumfang 179

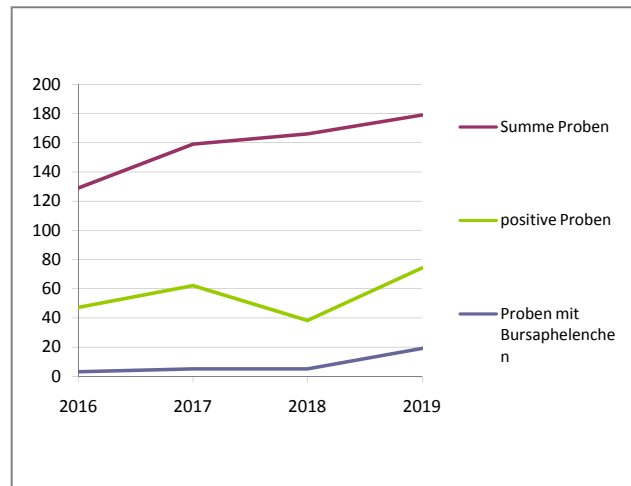


## Entwicklungstendenz

Wir beobachten einen Anstieg von lebenden Nematoden in den Proben

### mögliche Ursachen:

- verbesserte Probennahme ?
- modifizierung der Untersuchungsmethode ?
- begünstigende Umwelteinflüsse ?



## Literatur

Braasch, H., und Schönfeld, U., 2015. Improved morphological key to the species of the xylophilus group of the genus Bursaphelenchus Fuchs, 1937. OEPP/EPPO Bulletin 45, 73-80.

D'Errico, G., Carletti, B., Schröder, T., Mota, M., Vieira, P., Roversi, P.F., 2015. An update on the occurrence of nematodes belonging to the genus Bursaphelenchus in the Mediterranean area. Forestry 0, 1-12.

Evans, H.F., Mc.Namara, D.G., Braasch, H., Chadoeuf, J., Magnusson, C., 1996. Pest Risk Analysis (PRA) for the territories of the European Union (as PRA area) on Bursaphelenchus xylophilus and its vectors in the genus Monochamus. OEPP/EPPO Bulletin 26, 199-249.

EPPO, 2013. Diagnostics PM 7/4 (3) Bursaphelenchus xylophilus. OEPP/EPPO Bulletin 43, 105-118.

EPPO, 2014. Addendum Diagnostics PM 7/4 (3) Bursaphelenchus xylophilus. OEPP/EPPO Bulletin 44, 105.



## Literatur

Inácio, M.L., Nóbrega, F., Vieira, P., Bonifácio, L., Naves, P., Sousa, E., Mota, M., 2015. First detection of *Bursaphelenchus xylophilus* associated with *Pinus nigra* in Portugal and in Europe. *Forest Pathology* 45, 235-238.

Ryss, Yu. (2007): Entomophilic Juveniles f Nematode *Bursaphelenchus mucronatus* (Nematoda, Aphelenchida, Parasitaphelenchidae) Obtained from Cerambycid Vector *Monochamus urussovi* (Coleoptera, Cerambycidae) under Experimental Conditions

Sarniguet, C, Buisson, A., Anthoine, G., 2013. Validation of morphological keys for identification of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda, Parasitaphelenchidae) to group and species level. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 43, 255-261.

Schröder, T., McNamara, D.G., Gaar, V., 2009. Guidance on sampling to detect pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* in trees, wood and insects. *OEPP/EPPO Bulletin* 39, 179-188.



Foto | Filmstill aus „See Aural Woods“ (Luma.Launisch & Takamovsky)

Bundesforschungs- und Ausbildungszentrum  
für Wald, Naturgefahren und Landschaft

Austria, 1131 Wien  
Seckendorff-Gudent-Weg 8  
Tel.: +43 1 878 38-0  
direktion@bfw.gv.at  
<http://www.bfw.ac.at>



<https://www.facebook.com/BundesforschungszentrumWald>



<https://twitter.com/bfwald>



<https://www.youtube.com/user/Waldforschung>



## *Bursaphelenchus xylophilus* r-Form

