



# 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



# 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



# Ausbreitung & Entwicklungszyklus

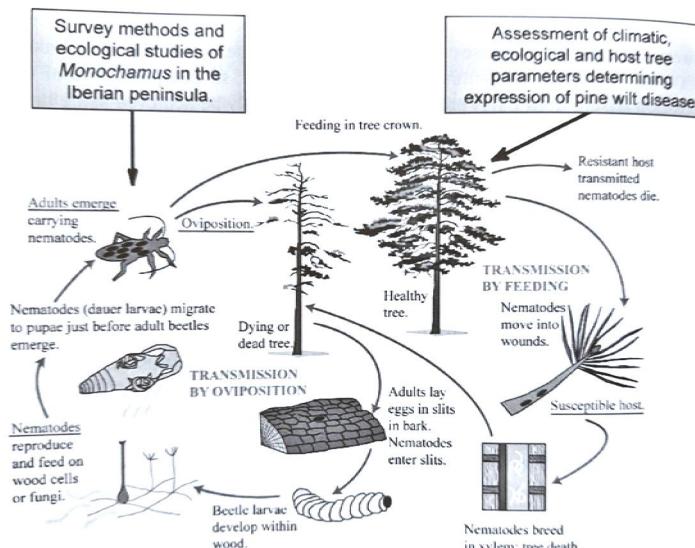


Abb3: Manuel M. Mota et al (2008): Pine Wilt Disease: A Worldwide Threat to Forest Ecosystems. Springer.

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

## 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)
  - *Monochamen* (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.



## 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





## 1. Eintrag Datenbank

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

Nematoden Probedaten ( Holz WALD ) bearbeiten/ergänzen

Probenummer	N 20190181	- Probenzustand angeben -
Datum	24.11.2019	TT.MM.JJJJ
Betrieb		
Adresse		
Plz./ Stadt		
Ansprechperson		
Bundesland	- Bundesland angeben-	
Waldort		
Koordinaten	Länge (9.45-17.3°): 15.0000 Breite (46.36-49.04°): 48.00000	
Fotos	<input type="checkbox"/> Fotos am Server \\bfwsbfile1\Institut4\Nematoden-Bilder\	
Beschreibung		
<input type="checkbox"/> fertig <input type="button" value="Speichern"/>		
<input type="checkbox"/> Bitte die Probe NICHT von bereits toten Bäumen nehmen!		
		W: Hinterstoisser   11:38

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



## 4. Ansatz

Einwaage ca. 25g (feucht)



Trichter mit Wasser füllen



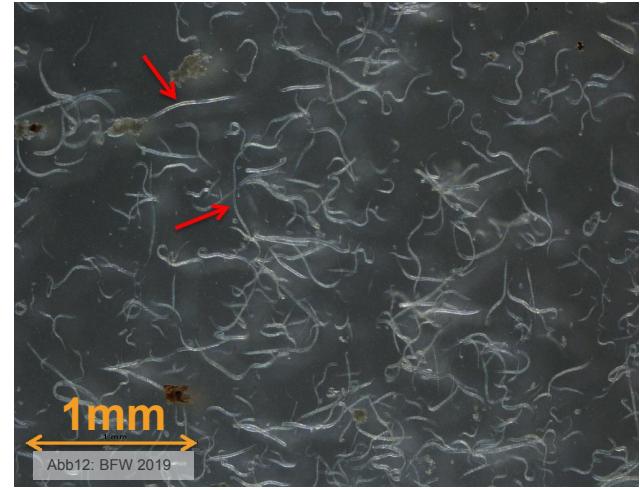
## 5. & 6. Ablass 24h und 48h

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: ANIMALIA

Stamm: NEMATODA Nicht segmentierte Rundwürmer

Klasse: CHROMADOREA Phasmiden vorhanden

Unterklasse: Chromadoria

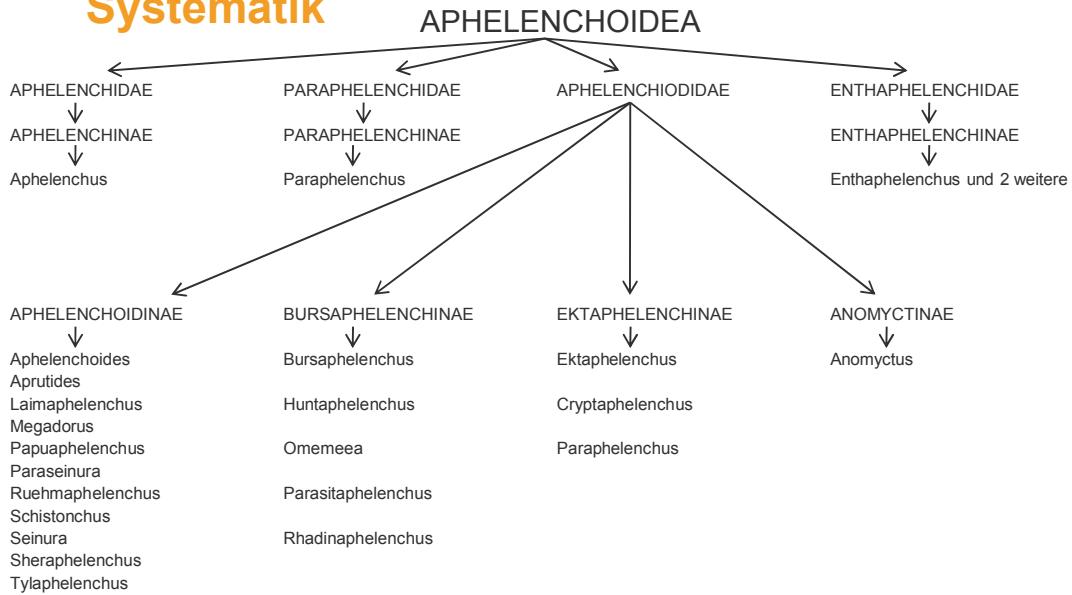
Ordnung: RHABDITIDA

Unterordnung: THYLENCHINA Stylet, 3 teiliger esophagus

Unterfamilie: APHELENCHOIDEA

## 7. Nematoden Schnellüberblick

### Systematik

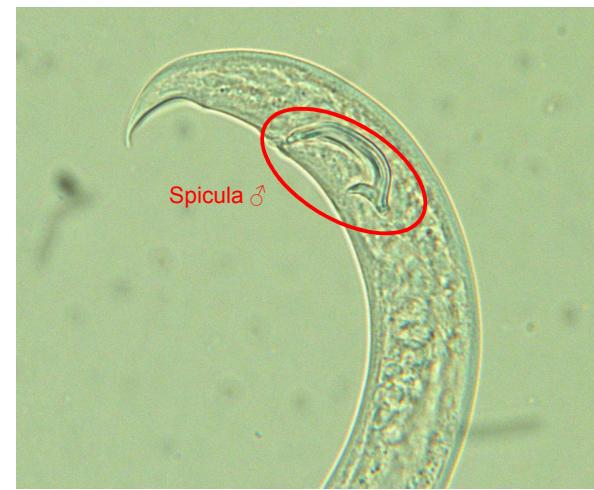


## *Bursaphelenchus xylophilus*

*Bursaphelenchus xylophilus* r-Form



Abb13-14: BFW 2020



## *Bursaphelenchus xylophilus*

*Bursaphelenchus xylophilus* m-Form

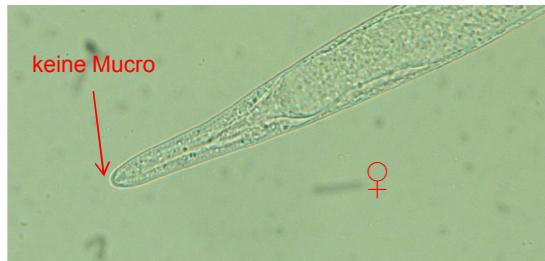


Abb15-16: BFW 2020



## *Bursaphelenchus xylophilus r / m Form*

*Bursaphelenchus xylophilus* r-Form



*Bursaphelenchus xylophilus* m-Form

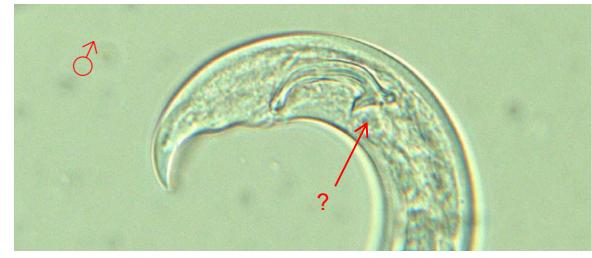


Abb17-20: BFW 2020

## *Bursaphelenchus mucronatus*

*Bursaphelenchus mucronatus kolymensis* (→ europäische Form)



Abb21-22: BFW 2020



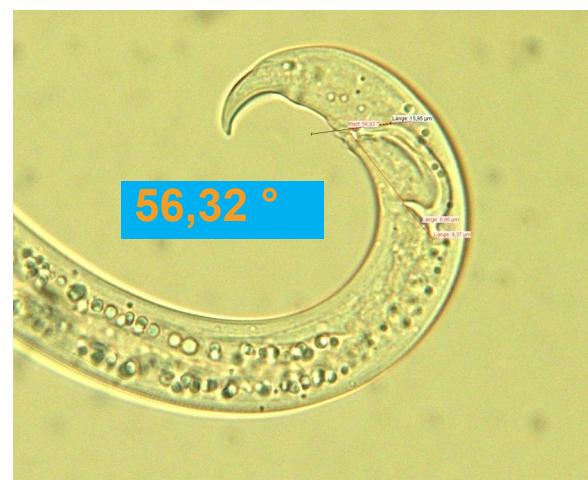
## *xylophilus* versus *mucronatus*

Vergleich *B. xylophilus* (links) und *B. mucronatus* (rechts)

Als Beispiel: unterschiedlicher Spiculawinkel in Grad des ♂

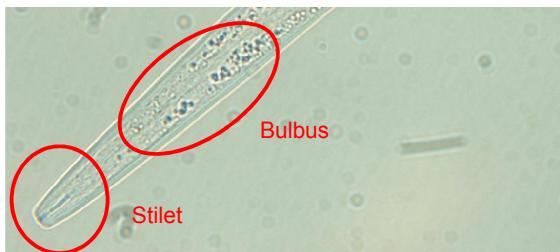


Abb23-24: BFW 2020



## 7. Weitere Nematodenarten

*Thylenchoïdes sp.*



*Rhaptitidae sp.*

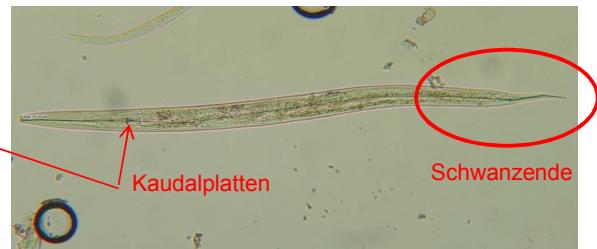
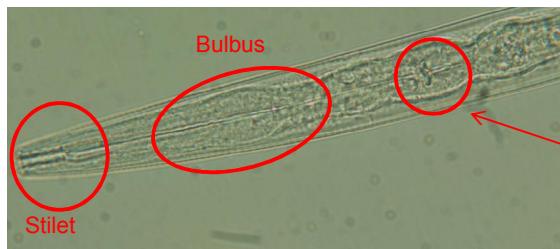
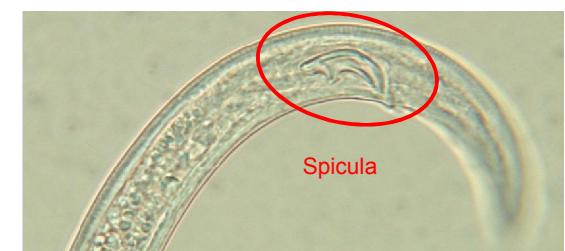
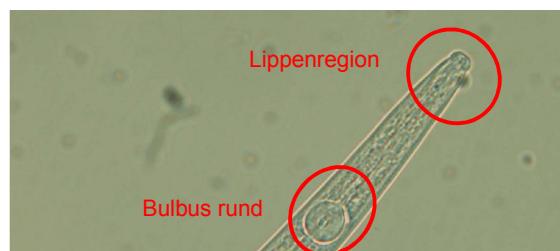


Abb25-29: BFW 2019

## 7. Weitere Nematodenarten

*Aphelenchoidae sp.*



*Bursaphelenchus sexdentatus*

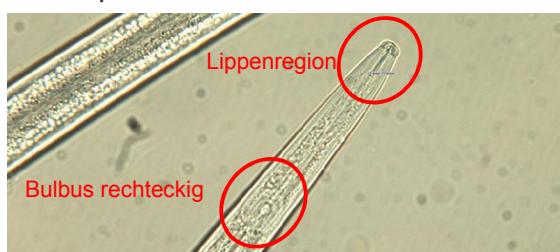


Abb30-33: BFW 2019

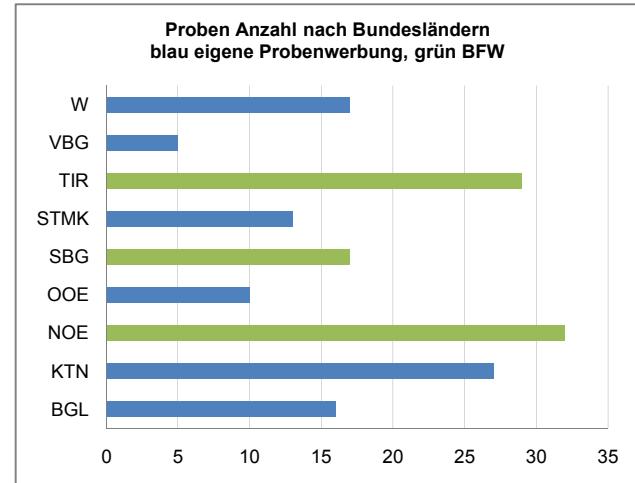
## 8. & 9. Ergebnisse 2018

Mindest Soll an Proben:

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

20-25 Importproben nach AUT

Monochamen nahe/in  
Risikogebieten

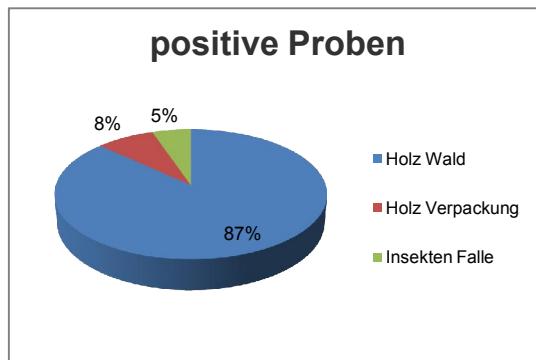


## 8. & 9. Ergebnisse 2018

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

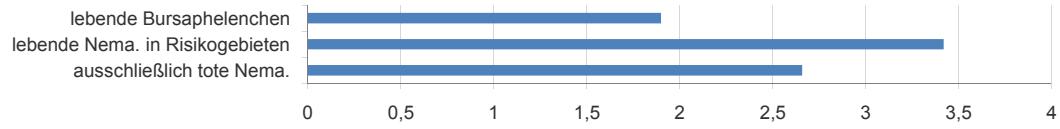
## 8. & 9. Ergebnisse 2018

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



## 8. & 9. Ergebnisse 2018

### % der positiven Proben beinhalten

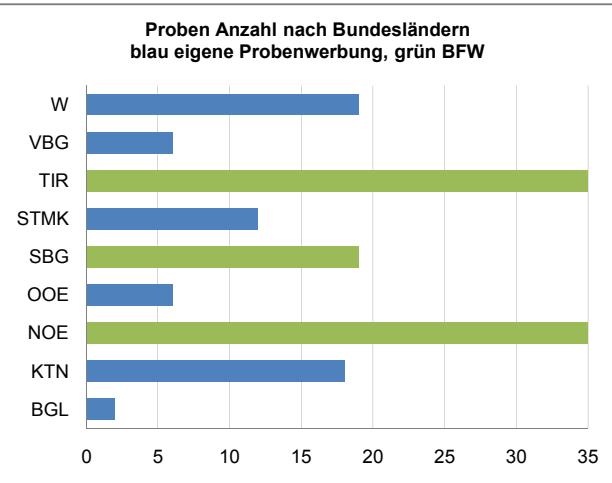


	Proben beinhalten lebende Nematoden							Bestimmung nicht möglich	
	Familien						Bursaphelenchus		
	Rhaptitidae	Thylenchidae	Ektaphelenchus	Aphelenchus	Cryptaphelenchus	Laimaphelenchus	sexdentati	mucronatus	Ioni Typ1
BGL	1	1	0	0	0	0	0	0	1
KTN	1	0	1	2	0	0	0	2	2
NOE	4	2	0	6	2	3	2	0	3
OOE	1	0	0	0	0	0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

# Ergebnisse 2019

Bisher eingelangte Proben für den Survey 2019

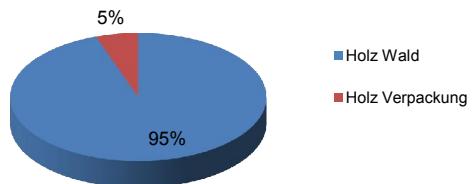
Übersicht Probenahmen					
	N Proben	Holz Wald	Holz Verpackung	Insekten Falle	Holz Import
BGL	2	0	0	2	0
KTN	18	11	0	7	0
NOE	49	44	3	0	2
OOE	6	4	2	0	0
SBG	19	11	5	3	0
STMK	12	5	7	0	0
TIR	48	39	9	0	0
VBG	6	6	0	0	0
W	19	18	1	0	0
SUMME	179	138	27	12	2



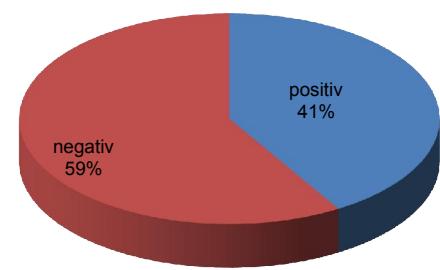
# Ergebnisse 2019

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

## positive Proben

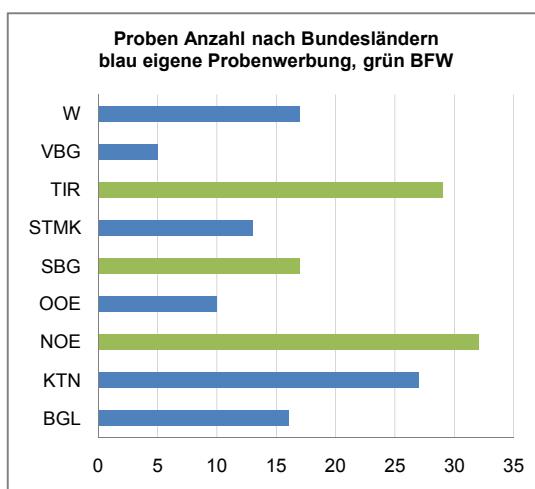


## Probenauswertung

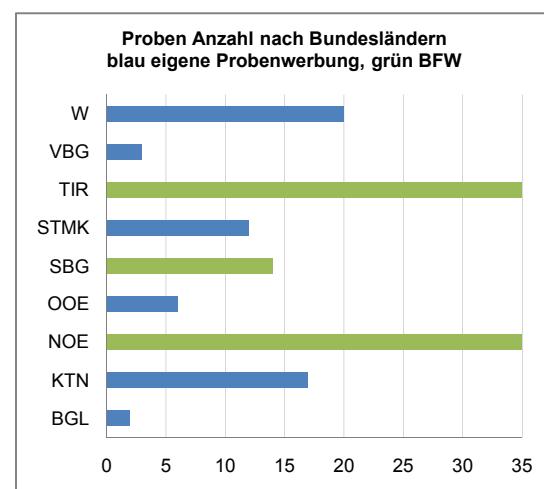


## Vergleich 18/19

2018



2019

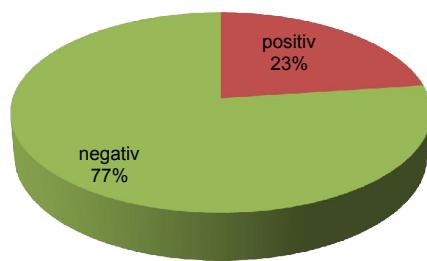


## Vergleich 18/19

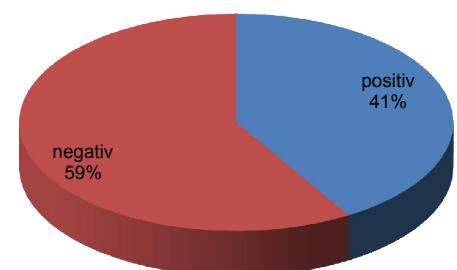
38 positiv, 128 negativ

74 positiv, 105 negativ

2018 Probenumfang 166



2019 Probenumfang 179

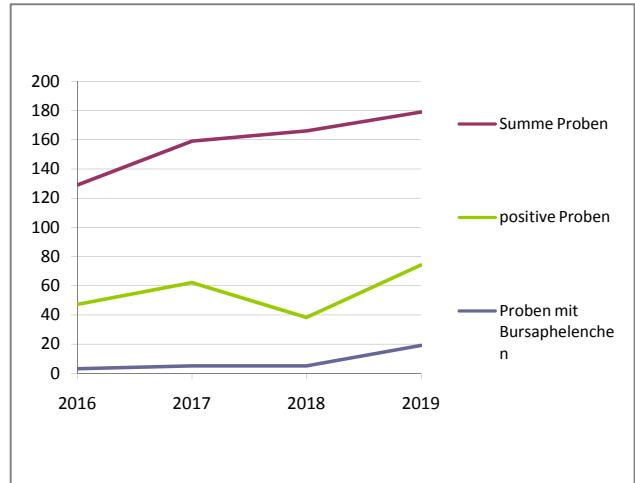


## Entwicklungstendenz

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>

