

Universität für Bodenkultur, Institut für Forstentomologie, Forstpathologie und Forstschutz, Wien¹;
Bundesamt und Forschungszentrum für Wald (ehemalige Forstliche Bundesversuchsanstalt), Institut für Forstschutz; Wien²)

Diagnose des Asiatischen Laubholzbockkäfers *Anoplophora glabripennis* und verwandter Arten

Identification of the Asian Longhorned Beetle *Anoplophora glabripennis* and related species

Ute Hoyer¹), Hannes Krehan²), Christian Tomiczek²), Sabine Daxböck¹) und Christian Stauffer¹)



In Folge der Einschleppung des Asiatischen Laubholz-Bockkäfers (ALB) *Anoplophora glabripennis* nach Österreich ist die zweifelsfreie Bestimmung von *Anoplophora glabripennis*-verdächtigen Organismen, insbesondere früher Entwicklungsstadien (Ei, Junglarve, Puppe), für den Phytosanitären Dienst von höchster Bedeutung. Die morphologische

Artbestimmung wird durch die umfangreiche Verwandtschaft des ALBs und der z. T. großen Ähnlichkeit der Arten untereinander und auch zu einheimischen Schädlingen vor allem im Larvenstadium erschwert. Deshalb wurden molekulargenetische Diagnosemethoden entwickelt, um einerseits die Art *A. glabripennis* eindeutig von anderen *Anoplophora*-Arten und einheimischen Insektenarten unterscheiden und andererseits frühe Entwicklungsstadien bestimmen zu können. Ausgewählte Bereiche mitochondrialer und nuklearer DNA werden in Polymerase-Kettenreaktionen (PCR) mit geeigneten Primern amplifiziert und die erhaltenen PCR-Fragmente nachfolgend mit Restriktionsenzymen verdaut. Interspezifische Variabilitäten dieser Genombereiche zeigen sich in unterschiedlichen Fragmentlängen (Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus = RFLP). Die für die verschiedenen, morphologisch eindeutig bestimmten Arten erhaltenen, unterschiedlichen RFLP-Muster werden tabellarisch festgehalten und dienen als Referenzen bei der Bestimmung unbekannter Organismen.

A. glabripennis kann vor allem im Ei-, Larven- und Puppenstadium (Abb. 1), aber auch als adulter Käfer mit weiteren *Anoplophora*-Arten verwechselt werden, insbesondere mit *A. chinensis*, *A. malasiaca*, *A. davidis* und *A. elegans*. Zur Unterscheidung dieser Arten können geringfügige morphologische Unterschiede wie die Fleckenfarbe auf den Flügeldecken (türkisfarbene Pfeile), das Vorhandensein oder Fehlen von Flecken auf dem Halsschild (gelbe Pfeile), das Vorhandensein, die Intensität oder das Fehlen einer Körnung der vorderen Flügeldecken (rote Pfeile) und auch die Position der hellen Bänder auf den einzelnen Fühlersegmenten herangezogen werden (dunkelblaue Pfeile). Bei den einheimischen Verwechslungsmöglichkeiten ist vor allem die Gattung *Saperda* zu nennen, bei der besonders der Große Pappelbock *Saperda carcharias* zu beachten ist. Hierbei sind Ei, Larve, Larvengänge und äußeres Fraßbild sehr leicht mit denen des ALBs zu verwechseln (Abb. 2 a), zumal der ALB auch auf Pappeln und der Große Pappelbock auch auf anderen Laubbäumen außer Pappel vorkommen können. Ein wichtiges Unter-

scheidungsmerkmal ist die Zeichnung des Prothorax der Larven: Beim ALB ist eine hellbraune chitinierte, charakteristische Zeichnung vorhanden, beim Großen Pappelbock ist zusätzlich zu einer hellbraunen Färbung eine starke Körnung (viele schwarze Punkte) zu erkennen. Des Weiteren kann das äußere Fraßbild des ALBs mit denen zweier Schmetterlingsarten, Blausieb *Zeuzera pyrina* (Abb. 2 b) und Weidenbohrer *Cossus cossus* (Abb. 2 c), verwechselt werden. Auch bei den Larven besteht eine gewisse Verwechslungsgefahr mit ALB-Larven, hauptsächlich bei Vorliegen nur kleiner Larventeile, wobei die Gefahr beim Blausieb höher ist als beim Weidenbohrer. Zur Unterscheidung kann auch der Geruchssinn eingesetzt werden: Holz mit Bohrgängen des Weidenbohrers riechen nach Essig. Außerdem könnte der ALB auch mit dem Erlen-Bockkäfer (Banded Alder Borer) *Rosalia funebris* verwechselt werden. Dieser Bockkäfer ist ebenfalls schwarz-weiß, hat aber eher weiße Bänder auf den Flügeldecken als Flecken wie der ALB und zwei sehr große weiße Flecken auf dem Halsschild. Der Erlen-Bockkäfer ist in Nordamerika beheimatet und kommt auf Esche, Lorbeerbaum und Weide vor. In Europa ist er noch nicht bekannt. Aber auch er könnte mit Holzimporten oder Verpackungsholz seinen Weg nach Europa finden.

Für die genetische Artbestimmung kann aus den verschiedenen ontogenetischen Entwicklungsstadien Ei, Larve, Puppe und Käfer DNA isoliert werden, wobei Larven- bzw. Puppenteile bzw. Muskelgewebe aus dem Thorax oder aus einem Bein des Käfers ausreichend sind. Frisches Material (Ei, Larve, Puppe, Käfer) ist am geeignetsten, welches für spätere Untersuchungen am besten tiefgefroren oder in unvergälltem, absolutem Alkohol gelagert wird. Es können auch getrocknete Käfer verwendet werden, aber die DNA-Qualität nimmt mit zunehmendem Alter des „Sammlungsexemplars“ stark ab, wodurch die Amplifikation sehr erschwert wird.

Auf mitochondrialer DNA-Ebene wurden insgesamt 10 Primerpaare für das CO I-Gen, auf nuklearer DNA-Ebene 12 Primerpaare für den ribosomalen ITS1/ITS2-Bereich getestet. Aufgrund der geringeren innerartlichen Variabilität wurde die Etablierung der artspezifischen RFLP-Muster auf mitochondrialer Ebene forciert. Mit den verschiedenen Primerpaaren für CO I können Fragmente zwischen 145 bp und 1300 bp Größe amplifiziert werden. Die PCR-Fragmentgröße je getestetem Primerpaar variiert zwischen den *Anoplophora*-Arten und den einheimischen Insektenarten nicht. Mittels Verdau der PCR-Fragmente mit den vier Restriktionsenzymen *Hinf* I, *Msp* I, *Rsa* I und *Taq* I lässt sich *A. glabripennis* eindeutig von den *Anoplophora*-Arten *A. chinensis*, *A. malasiaca*, *A. davidis* und *A. elegans* unterscheiden. Zusätzlich können auch diese vier *Anoplophora*-Arten von-

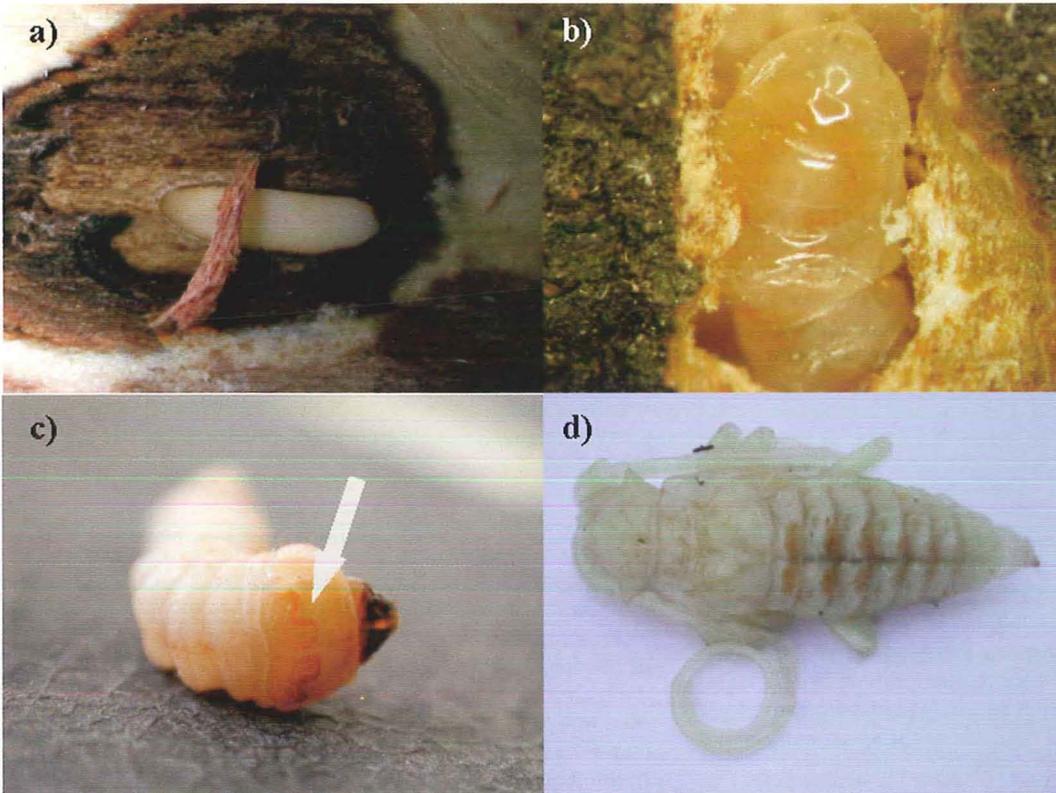


Abb. 1. Entwicklungsstadien von *Anoplophora glabripennis*: a) Ei in der Eiablagestelle unter der Rinde; b) frisch aus dem Ei geschlüpfte Junglarve; c) späteres Larvenstadium; d) Puppe (Fotos a–d: BFW, Institut für Forstschutz).

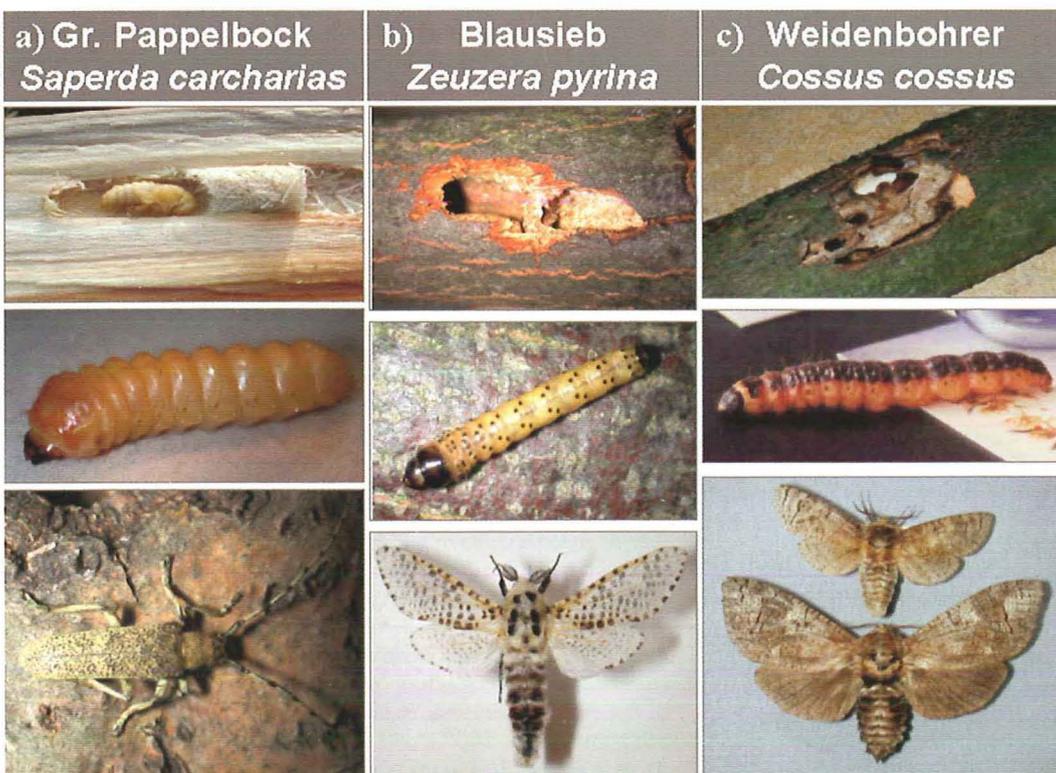


Abb. 2. Verwechslungsmöglichkeiten einheimischer Insektenarten mit *A. glabripennis* in verschiedenen Entwicklungsstufen: a) Großer Pappelbock *Saperda carcharias*: Bohrgang mit Puppenwiege und Puppe, Larve, Adult (von oben nach unten); b) Blausieb *Zeuzera pyrina*: Fraßbild, Larve, Adult (von oben nach unten); c) Weidenbohrer *Cossus cossus*: Fraßbild, Larve, Adult (von oben nach unten) (Fotos: BFW, Institut für Forstschutz).

einander unterschieden werden. Eine zweifelsfreie Differenzierung des ALBs von *Saperda carcharias*, *Zeuzera pyrina* und *Cossus cossus* ist durch den Verdau der CO I-PCR-Fragmente mit *Alu* I, *Hinf* I und *Hae* III möglich.

PCR-RFLP-Muster von sechs Restriktionsenzymen ermöglichen somit die Abgrenzung von *A. glabripennis* gegen bisher bekannte Verwechslungsmöglichkeiten in Mitteleuropa und die schnelle Diagnose aller Entwicklungsstadien. Hierin wird eine große Hilfe für den Phytosanitären Dienst in Österreich und anderen europäischen Ländern gesehen, um ALB-Auftreten in Verpackungsholz sowie ALB-Befall an stehenden Bäumen schnellstens erkennen und entsprechende Bekämpfungsmaßnahmen ergreifen zu können. Die vorgestellten Diagnosemethoden ermög-

lichen auch die Feststellung anderer Schadorganismen im ALB-Verdachtsfall, was wiederum kostspielige Baumfällungen ersparen helfen kann.

Die vorliegenden Ergebnisse wurden im Rahmen eines Kooperationsprojektes zwischen der Universität für Bodenkultur (BOKU), Wien, Institut für Forstentomologie, Forstpathologie und Forstschutz, und dem Bundesamt und Forschungszentrum für Wald (BFW), Wien, Institut für Forstschutz, erarbeitet.

Kontaktanschrift: Dr. Ute Hoyer, c. o. Bundesamt und Forschungszentrum für Wald (ehemalige Forstliche Bundesversuchsanstalt), Institut für Forstschutz, A-1131 Wien, Seckendorff-Gudent-Weg 8, E-Mail: ute.hoyer@fbva.bmlf.gv.at.