Bekanntmachung über die Förderung von Innovationen zur Vermeidung der Ein- und Verschleppung von geregelten und neuen Schadorganismen an Pflanzen
– Pflanzengesundheit –
im Rahmen des Programms zur Innovationsförderung vom 15. April 2019

Sachbericht des LTZ Augustenberg (FKZ: 2818709A19)
(Teil I und II des Verwendungsnachweises nach Nr. 4.1 NKBF 2017)

Abschlußbericht

Vorhabenbezeichnung:

Morphologisch-molekulare Identifikation von Käferarten an Lebendholz unterstützt durch neue Technologien: Smartphone-APPs & Next-Generation Sequencing (NGS) im Bereich der Pflanzengesundheit

Förderkennzeichen:

2818709A19

Laufzeit des Vorhabens:

15. Juni 2021 – 15. Dezember 2024

Acronym: **PHID-Coleo II**

Plant **H**ealth **Id**entification of **Coleo**ptera, Part **II**

Identifikation von Käfern in der Pflanzengesundheit, Teil II

LTZ Augustenberg
Dr. O. Zimmermann (Koord.), Björn Lutsch, Jochen Pfäfflin
Abt. 3, Ref. 33 Zool. Diagnostik, Pflanzengesundheit, Mikrobiologische Untersuchungen

Landwirtschaftliches Technologiezentrum Augustenberg

Projektpartner im Verbund:
Universität Hohenheim
Prof. Dr. M. Hasselmann, I. Häussermann
FG Populationsgenomik bei Nutztieren, Institut für Nutztierwissenschaften
Prof. Dr. Dr. C. P. W. Zebitz, FG Angewandte Entomologie, Institut für Phytomedizin

Inhaltsverzeichnis

I. Kurzdarstellung

1. Ursprüngliche Aufgabenstellung sowie der wissenschaftliche und technische Stand, an den angeknüpft wurde
2. Ablauf des Vorhabens
3. Wesentliche Ergebnisse sowie die Zusammenarbeit mit anderen Stellen

II. Eingehende Darstellung

1. Die im Rahmen des Vorhabens durchgeführten Arbeiten und Verwendung der Zuwendung sowie die erzielten Ergebnisse
2. Die wichtigsten Positionen des zahlenmäßigen Nachweises
3. Die Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit
4. Der voraussichtliche Nutzen und die Verwertbarkeit der Ergebnisse im Sinne des Verwertungsplanes
5. Bekannt gewordene Fortschritte auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen
6. Erfolgte und geplante Veröffentlichungen

1. Ursprüngliche Aufgabenstellung sowie der wissenschaftliche und technische Stand, an den angeknüpft wurde

In der Pflanzengesundheit sind vor allem Gehölze schädigende Käferarten wichtig, weil sie nur durch Fällungen als Tilgungsmaßnahmen kontrolliert werden können. Dadurch entstehen wirtschaftliche Schäden, aber auch soziale Konflikte, wenn z.B. in besiedelten Gebieten Bäume auf Privatgrundstücken gefällt werden müssen. Daher ist eine Früherkennung von problematischen Käfern bei Importkontrollen durch die Inspektionen der Pflanzengesundheit von großer Bedeutung.

PHID-Coleo II hatte zum Ziel neue Diagnosemethoden für Borkenkäfer (Scolytinae) und Prachtkäfer (Buprestidae) an Lebendholz zu entwickeln. Wichtige Arten sind z.B. der Eschenprachtkäfer *Agrilus planipennis* und der Walnuss-Borkenkäfer *Pityophthorus juglandis*. Damit wurde das Vorgängerprojekt PHID-Coleo I, mit den Schwerpunkten Bockkäfer (Cerambycidae) und Bohrkäfer (Bostrichidae) an Verpackungsholz, ergänzend fortgeführt.

Zu Arten, die bei Inspektionen weltweit auffällig wurden, sollten bebilderte Bestimmungshilfen für etwa 100 Arten erstellt werden. Zusätzlich sollten molekularbiologische Methoden für Mischproben aus Fallenfängen überprüft werden, sowie neue Entwicklungen wie die LAMP-Technik. Mit einem Unterauftragnehmer sollte eine App zur ergänzenden Bestimmung von Käferfunden entwickelt werden.

2. Ablauf des Vorhabens

Die Arbeiten im Verbundprojekts wurden in insgesamt vier Arbeitspaketen (AP) untersucht. Sie teilen sich zwischen den Projektpartnern wie folgt auf:

Arbeitspaket 1 (Zimmermann, Lutsch, Pfäfflin, Zebitz)

Erstellung morphologischer und molekularer Bestimmungshilfen für Käferarten (Coleoptera: Bruprestidae & Solytinae), die bei Importen an lebenden, holzigen Pflanzen auftreten können.

Arbeitspaket 2 (Hasselmann, Häussermann)

Populationsgenomische Analyse v.a. von *Aromia bungii* und mglw. *Anoplophora chinensis* mittels molekularer Verfahren der reduzierten Repräsentation des Genoms (Genotype-by-Sequencing, GBS) zur Verbesserung von Monitoringmaßnahmen.

Arbeitspaket 3 (Zimmermann, Lutsch, Firma Oculyze im Unterauftrag)

Entwicklung einer Smartphone-Anwendung in Kooperation mit einem externen Dienstleister (Firma Oculyze als KMU im Unterauftrag) zur optischen Überwachung und Artbestimmung geregelter und relevanter nicht-geregelter, nicht-heimischer Holzkäferarten.

Arbeitspaket 4 (Zimmermann, Lutsch, Zebitz, Hasselmann, Häussermann, mit den Dienstleistern für Metabarcoding im Unterauftrag)

3. Wesentliche Ergebnisse und die Zusammenarbeit mit anderen Forschungseinrichtungen

Durch das Forschungsvorhaben entstand ein umfangreicher Bestimmungskatalog für potentiell holzschädigende Käferarten im Bereich der Pflanzengesundheit, der nun den Diagnoselaboren der Pflanzenschutzdienste zur Verfügung steht. Bzgl. molekularer Diagnosemethoden können Empfehlungen zu Nutzung und notwendigen Anpassungen gegeben werden. Darüber hinaus konnten die EPPO-PM7 Factsheets bzgl. der Merkmale der Geschlechter der Prachtkäfer ergänzt werden und es wurde empfohlen, die Wirtspflanzenliste des Eschenprachtkäfers nach Prüfung der Primärliteratur zu kürzen. Die Entwicklung einer App durch einen Unterauftragnehmer zeigte, dass das Trainieren eines Algorithmus anhand von Fotos Möglichkeiten und Grenzen hat. In die App wurden etwa 40 Arten implementiert, jedoch konnten die kleinen Borkenkäfer nicht zufriedenstellend mit dem Smartphone für die Analyse dargestellt werden. Bei der Prüfung molekularer Methoden stellte sich heraus, dass durch das Metabarcoding die Zielarten nicht immer detektiert wurden und sich eine Anzahl von falsch-positiven Treffern ergab, was die Nutzung dieser Methode einschränkt. Die LAMP-Methode mit Farbumschlag und Diagnose auf nur je eine Zielart, konnte mit kleinen Anpassungen zu den veröffentlichten Protokollen erfolgreich umgesetzt werden.

Die Netzwerk mit anderen Forschungseinrichtungen ist weitreichend. Die Zusammenarbeit zwischen den Pflanzenschutzdiensten und dem Julius Kühn-Institut als Bundesbehörde wurde weiter gestärkt. Ebenso wurde die Vernetzung zu entomologischen Fachleuten und Museumssammlungen erweitert und ist eine gute Grundlage für zukünftige Diagnosefragen. Wie bereits im ersten PHID-Coleo-Projekt wurde die gute Zusammenarbeit mit der Universität Hohenheim als Projektpartner für die populationsgenetischen Untersuchungen von nach Deutschland verschleppten holzschädigenden Käferarten fortgeführt.

II. Eingehende Darstellung

1. Die im Rahmen des Vorhabens durchgeführten Arbeiten und Verwendung der Zuwendung sowie die erzielten Ergebnisse

Wenn sich Holz schädigende invasive Käferarten etablieren, können ökonomische und ökologische Schäden entstehen. Für diese oft rechtlich geregelten holzschädlichen, invasiven Käferarten stehen meist keine effektiven Bekämpfungsmaßnahmen zur Verfügung (Europäische Union 2019, LTZ 2023).

Der vorsorglichen Kontrolle importierter Holzprodukte kommt daher eine übergeordnete Bedeutung zuteil. Damit nicht-heimische Arten zügiger erkannt, Risikoanalysen zeitnahe erstellt und Maßnahmen ergriffen werden können, müssen praxistaugliche Methoden für eine schnelle und exakte Bestimmung entwickelt werden. Das Projekt PHID-Coleo II hatte zum Ziel solche neuen Methoden für die Diagnose nicht-heimischer Käferarten an Lebendholz (v.a. Prachtkäfer, Borkenkäfer) zu überprüfen und Bestimmungshilfen für die Praxis zu entwickeln. Hierfür verfolgte das Vorhaben einen dreifachen Lösungsweg der sich interdisziplinär aus den Teilgebieten der klassischen Entomologie, der Molekularbiologie und neuer digitaler Methoden zur Artdiagnose von Schaderregern zusammensetzte.

Im Rahmen dieses Projektes wurden morphologisch-molekulare Bestimmungsschlüssel erstellt. Ein neuer Ansatz ist die Entwicklung einer Smartphoneanwendung (Käfer-Bestimmungs-App) und neuer molekularer Methoden (LAMP, Metabarcoding, Sequenzierung) für die "Vor-Ort-Diagnose" und Verarbeitung von Mischproben und größeren Probenmengen und deren Prüfung auf Eignung in der Praxis bei Pflanzenschutzinspektionen. Im einem ersten Forschungsprojekt (PHID-Coleo I) lag der Schwerpunkt auf den artenreichen Käferfamilien der Bockkäfer und der Bohrkäfer, die hauptsächlich an Verpackungsmaterial in trockenem Holz auftreten. Im Projekt PHID-Coleo II wurden die relevanten Taxa von Lebendholzkäfern, vor allem Borkenkäfer und Prachtkäfer (Scolytinae, Buprestidae) in die Bestimmungshilfe mit aufgenommen. Schwerpunkt der zu untersuchenden Arten sind geregelte Schaderreger innerhalb der holzschädlichen Käfer. Von besonderer Bedeutung sind der Eschenprachtkäfer *Agrilus planipennis*, der Bronzefarbene Birkenprachtkäfer *Agrilus anxius* und der Walnussborkenkäfer *Pityophthorus juglandis*, der eine Bedeutung als Krankheitsvektor hat, sowie die jeweiligen Verwechslungskandidaten dieser Arten (Michigan State University & USDA Forest Service 2022, Kirkendall & Faccoli 2010). Damit entsteht über beide Projekte hinweg ein umfangreicher Bestimmungskatalog holzschädigender Käferarten im Bereich der Pflanzengesundheit bei Importkontrollen.

Ergänzend wurden vom Projektpartner Universität Hohenheim neue Methoden für die Analyse von Populationen bereits in Deutschland invasiv auftretender Käferarten angewandt. Hier lag der Schwerpunkt auf dem Asiatischen Moschusbock *Aromia bungii*, dessen Verschleppungswege nach Deutschland und Italien bisher völlig offen sind und der mittelfristig den Obstanbau von Pfirsich, Pflaumen und Kirschen gefährdet (Benker et. al 2018, EFSA 2019). Durch die verbesserte Kenntnis ihrer Populationsdynamik und Befallsgeschichte können die Einschleppungswege dieser invasiven Arten besser nachvollzogen werden. Das Wissen um die Ausbreitungs- und Verschleppungsgeschichte kann zukünftig für ein gezielteres und somit kosteneffizienteres Monitoring angewandt werden, um Schaden für die Pflanzengesundheit abzuwenden.

Das Forschungsvorhaben entspricht den Förderschwerpunkten in mehreren Punkten und ist angesiedelt im Bereich der Früherkennung von Gefahren für die Pflanzengesundheit in Deutschland. Durch die Entwicklung neuer Verfahren zur Überwachung und Diagnose neuer potentieller Schadorganismen wird insbesondere der Bereich der effizienten Diagnostik berücksichtigt, d.h. der Anpassung und Weiterentwicklung von Nachweismethoden für geregelte und neue Schadorganismen. Der transnationale Wissenstransfer und die freie Nutzung der Projektergebnisse ist aufgrund der internationalen Verbreitung der Schadorganismen in dem Vorhaben von besonderer Bedeutung.

Arbeitspaket 1:

Erstellung morphologischer und molekularer Bestimmungshilfen für Käferarten

Der Projektinhalt von PHID-Coleo II nimmt direkt Bezug auf das nationale Monitoringprogramm der Europäischen Union. Dadurch werden zukünftig zusätzliche Probenahmen und Diagnosearbeiten im Bereich der Pflanzengesundheit, insbesondere geregelter Schadorganismen, erforderlich. Das Artenspektrum wird inzwischen regelmäßig um nicht geregelte potentiell invasive Schadorganismen erweitert, somit erhöht sich der Arbeitsumfang. Außerdem sind die Diagnoselabors der Pflanzenschutzdienste im Rahmen der Akkreditierung zukünftig zu einer ausführlichen Dokumentation der Diagnosen rechtlich verpflichtet und es wird mittelfristig eine digitale Aktenführung angestrebt. Vor diesem Hintergrund ist es unumgänglich, zentrale Datenbanken als Referenzen für die Schadorganismen aufzubauen und bestehende molekulargenetischen Datenbanken wie NCBI und BOLD um fehlende genetische Daten von relevanten Arten zu ergänzen.

Nach der Recherche von Literaturbelegen zu invasiven Käferarten aus den Taxa der Borkenkäfer und Prachtkäfer (v.a. Haack 2001; Kirkendall & Faccoli 2010, Siegert 2014) und EU-Warnmeldungen der Pflanzengesundheit wurde eine Liste zusammengestellt, die aktuell

etwa 100 pflanzengesundheitlich problematischen Arten aus den Familien der Prachtkäfer (Coleoptera: Buprestidae) und Borkenkäfer (Coleoptera: Scolytinae) umfasst. Die Artenliste geht über die aktuellen Empfehlungen der EPPO und des JKI hinaus und berücksichtigt auch Einzelfunde von möglicherweise zukünftig rechtlich relevanten Arten. Diese Liste wurde während der Projektlaufzeit stetig erweitert und wird nach Ende der Projektlaufzeit fortlaufend ergänzt werden.

Auf Grundlage der recherchierten Artenliste wurde die LTZ-Sammlung sowohl um Präparate der wichtigsten Arten erweitert, soweit welche verfügbar waren, bzw. Belegexemplare aus Sammlungen (Zoologische Staatssammlung München, Landesmuseum für Naturkunde Karlsruhe, Sammlung Mühle) fotografiert. Bei einigen Arten musste man auf Fotomaterial Dritter zurückgreifen. Die erarbeiteten Artenportraits als Bestimmungshilfen für die Diagnose werden über das Internetangebot des Landwirtschaftlichen Technologiezentrums Augustenberg (LTZ) auf dem Pflanzenschutzportal der Pflanzenschutzdienste des Informationssystems für intergierten Pflanzenschutz (ISIP) frei verfügbar als pdf-Dateien veröffentlich und in stehen in kleiner Auflage als ringgebundene Druckausgaben zur Verfügung.

Im Folgenden wird auf einige Arten und wichtige Ergebnisse beispielhaft eingegangen, sowie Bildtafeln aus den im Projekt erarbeiteten Bestimmungshilfen vorgestellt.

Beispiel: Molekularer Artvergleich der Borkenkäfer-Art *Euwallacea fornicatus*

Der Artkomplex um die Borkenkäfer-Art *Euwallacea fornicatus* enthält drei bis vier Arten bzw. Populationen, die morphologisch kaum voneinander zu unterscheiden sind, jedoch in Asien an über 400 Wirtspflanzen dokumentiert wurde und dort eine der wenigen Borkenkäferarten ist, die auch gesunde Gehölze befällt (Vega & Hofstetter, 2014). In Deutschland gelang der Erstnachweis dieses Unionsquarantäneschädlings 2021 in einem Tropenhaus in Thüringen und noch im gleichen Jahr und im Folgejahr konnten weitere Einschleppungen in einem Tropenhaus in Berlin und einem Gewächshaus in Niedersachsen festgestellt werden, sowie 2024 in Nordrhein-Westfalen (mdl. Mitt. Heringer 2025). Alle Einschleppungsereignisse schienen unabhängig voneinander stattgefunden zu haben, was die zunehmende Dynamik in der Ausbreitung dieser Art unterstreicht. Referenzmaterialien aus den Befällen in Berlin und NRW wurden für vergleichende Untersuchungen angefordert und zeigten eine hohe molekulare Übereinstimmung. Der Vergleich der am LTZ erstellten COI-Sequenzen ergab eine unerwartete hohe 99,83% Übereinstimmung mit dem Material aus Berlin in der LTZ-Sammlung (D1520/2022). Möglicherweise hängen die Verschleppungen der Funde in Deutschland doch verwandtschaftlich enger zusammen als weltweit betrachtet. Das könnte sich auf die Risikobewertung der Art auswirken und ggf. den gefährdeten Wirtspflanzenkreis einschränken.

Weitere Untersuchungen zu anderen Fundorten und zu dem Artkomplex erfolgen 2025 am Julius Kühn-Institut (B. Hoppe).

Optimierung der Diagnose von Eschenprachtkäfer *Agrilus planipennis* und Bronzefarbenem Birkenprachtkäfer *Agrilus anxius*

Die Prachtkäfer (Buprestidae) sind mit ca. 15.000 bekannten Arten weltweit eine äußerst umfangreiche Familie, darunter ist die *Agrilus* spp. mit ca. 3.000 Arten die größte Gattung (Jendek et al. 2011). Gleichzeitig sind nur etwas mehr als 100 davon in Mitteleuropa beheimatet und der Anteil an recherchierten nicht-heimischen Arten mit bereits mindestens zusätzlich 20-30 Arten anteilig besonders hoch. Nur ein kleiner Teil davon ist potentiell invasiv, muss aber bei Funden der Inspekteure in der Diagnose eindeutig bestimmt und von den nicht schädlichen Arten unterschieden werden. Die Ansprache der zwei prioritären Quarantänearten *A. planipennis* und *A. anxius* ist besonders wichtig.

Korrektur der Wirtspflanzenliste des Eschenprachtkäfers *Agrilus planipennis*

Eine kritische Betrachtung des EPPO Factsheets zu *Agrilus planipennis* (EPPO 2023) ergab, dass hier bei den Angaben der gefährdeten Gehölze Nachbesserungen erforderlich sind. Die Wirtspflanzenliste für den Eschenprachtkäfer in dem EPPO-Factsheet ist zu lang. Potentielle Wirte, die aufgeführt werden (Jendek & Poláková 2014), wurden nicht wie von von den Autoren durchgeführt in mehreren Kategorien von „wahrscheinlich“ bis „wenig wahrscheinlich“ und „nicht wahrscheinlich“ zitiert, sondern alle als „mögliche Wirte“ in das Factsheet übernommen. Dies hat einen erheblichen Einfluss auf die Risikobewertung und den Umfang des Monitorings im Falle eines Erstauftretens in der EU hätte.

Ergänzung der Diagnose von Eschenprachtkäfer *Agrilus planipennis* und Bronzefarbenem Birkenprachtkäfer *Agrilus anxius* im Internetportal www.coleo.net von A. Lompe

Die Zusammenarbeit mit der Forstlichen Versuchsanstalt in Freiburg hat sich im Projektverlauf intensiviert. Es wurde gemeinsam eine Ergänzung des weltweit genutzten Bestimmungsschlüssels für Käfer von Lompe (2025) (www.Coleo.net, nach Freude-Harde-Lohse) erarbeitet. Es wurde damit möglich, im Bereich der heimischen Prachtkäfer die Quarantänearten Asiatischer Eschenprachtkäfer *A. planipennis* und Amerikanischer Birkenprachtkäfer in den online-Bestimmungsschlüssel zu integrieren.

Ergänzung der Diagnose von Eschenprachtkäfer *Agrilus planipennis* und Bronzefarbenem Birkenprachtkäfer *Agrilus anxius* um Geschlechtermerkmale

Die Datenblätter der EPPO zur Diagnose (PM7-factsheets) enthalten keine Angaben zur Bestimmung der Geschlechter für die geregelten Arten wie dem Asiatischen

Eschenprachtkäfer *A. planipennis* und dem nordamerikanischen Bronzefarbenen Birkenprachtkäfer *A. anxius*. Es ist aber bei Erstnachweisen von Einschleppungen von grundsätzlicher Bedeutung, ob es sich bei dem Befund um männliche Individuen oder potentiell vermehrungsfähige weibliche Individuen handelt. In allen gängigen Veröffentlichungen wird auf diese Merkmale erstaunlicherweise nicht hingewiesen.

Es wurden nach der Recherche vager Literaturangaben Geschlechtsmerkmale des Asiatischen Eschenprachtkäfers *A. planipennis* selbst erarbeitet („Haare“ auf Unterseite der Männchen bei schiefer Beleuchtung sichtbar) und durch einen unterstützenden Kontakt zum Experten Jendek auch die Merkmale bei dem Bronzefarbenen Birkenprachtkäfer *A. anxius* (Männchen mit „Grübchen“ am Unterleib) dokumentiert. Diese Merkmale zur Geschlechtsunterscheidung wurden erstmalig für die Bestimmungshilfen dokumentiert und waren Inhalt von Workshops und sollen zukünftig in die EPPO-Datenblätter integriert werden.

Differenzierung der Prachtkäfer der *Agrilus roscidus* species group (ARSG)

Es wurde aus einer im Jahr 2024 neu angelegten Apfelanlage des LTZ in Weinsberg bei Heilbronn (durch M. Nagel, LTZ) mehrere Individuen von *Agrilus* isoliert. Sie konnten durch eine COI-Sequenzierung als *Agrilus roscidus*, der Schmale Obstbaum-Prachtkäfer, bestimmt werden (Niehuis 2020). Diese Art ist im Schwerpunkt eigentlich südeuropäisch verbreitet und wird zunehmend weiter nördlich nachgewiesen. Sie ist eine Geschwisterart von *Agrilus viriducaerulans*, die bereits zu Projektbeginn durch das LTZ in Nordbaden bei Mannheim an Brombeeren nachgewiesen wurde. Diese *Agrilus*-Arten an Gehölz-Rosaceae umfassen weitere Arten, die als „A. *roscidus*-Gruppe“ (ARSG = *Agrilus roscidus* species group) einen Arten-Komplex darstellen, der nur annähernd morphologisch weiter differenziert werden kann und Expertenwissen erfordert (mdl. H. Mühle).

Morphologisch konnte der Nachweis aus der jungen Apfelanlage in Weinsberg zunächst nur grob zugeordnet werden. Es war nach Literaturlage klar, dass das Auftreten von *Agrilus*-Arten in Obstanlagen in Deutschland eher selten der Fall ist. Der Vergleich der am LTZ Augustenberg erstellen COI-Sequenzen mit den Einträgen bei BOLD und NCBI ermöglichte eine gute Differenzierung in einem phylogenetischen Maximum-Likelihood Baum. Der in Asien in Obstanlagen auffällige *A. mali* trennt sich verwandtschaftlich von diesen Arten und kann molekular gut unterschieden werden.

Die Funde von *A. roscidus* sind eine lokale Bestätigung der durch den Klimawandel unterstützten Ausbreitung in den Norden Baden-Württembergs, die bisher nur mit wenigen Funden belegt ist. Die Herkunft des Pflanzmaterials in Weinsberg ist laut Pflanzenpass die Niederlande, aus denen diese Art bisher nicht bekannt war. In Rheinland-Pfalz fehlt die Art *Agrilus roscidus* bisher ebenfalls (Niehuis 2020) und könnte sich durch klimabedingte

Arealerweiterung mittelfristig zumindest in jungen Apfelanlagen zu einem Schädling entwickeln, noch bevor die befürchtete Art *Agrilus mali* aus Asien nach Europa eingeschleppt wird. Ein ebenfalls molekular bestimmter LTZ-Fund des Brombeer-Prachtkäfers *A. viriducaerulans* aus Mannheim-Rheinau stellt nach aktuellem Stand den Erstnachweis für Baden-Württemberg dar. An Brombeeren treten weitere heimische *Agrilus*-Arten auf, z.B. *A. cuprescens*, *A. communis*. Morphologisch ist *A. viridicaerulans* nur schwer von dem als wärmeliebend eingeschätzten *A. roscidus* unterscheidbar.

Die Funde in Nordamerika "nahe *A. roscidus*" aus 2019 wurden dort inzwischen bestimmt und in den Datenbanken hinterlegt (NCBI Acc.No. MK779ff). Sie gehörten zur europäischen Art *A. roscidus* und der asiatischen Art *A. smaragdifrons*, die auf den in Europa invasiv eingestuften nicht-heimischen Götterbaum (*Ailanthus altissima*) spezialisiert ist. Dieses Beispiel zeigt, wie komplex inzwischen die Verschleppung von Tier- und Pflanzenarten durch den globalen Handel und gleichzeitig die Arealerweiterung mediterraner Arten durch den Klimawandel ist und welcher Recherche- und Diagnoseaufwand erforderlich ist, um diese Beziehungen zu entschlüsseln.

Morphologische Unterscheidung des Walnussborkenkäfers *Pityophthorus juglandis* in gemischten Fallenfängen gegenüber anderen Borkenkäfer-Arten

Der Walnussborkenkäfer *Pityophthorus juglandis* ist eine der prioritären Quarantäne-schaderregerarten, ein sogenannter Unionsschädling. Er wird im Rahmen des nationalen Monitorings mit Fallenfängen kontrolliert und trat 2022 bei Lyon, Frankreich in Fallenfängen auf und wurde lokal an Walnüssen nachgewiesen und der Befall getilgt (Saurat et al. 2023). Er ist Überträger einer Pilzerkrankung, die zusätzlich eine Gefährdung für die Walnussbäume darstellt. Zur Überprüfung der Fallenfänge aus Flüssigfallen im Nationalen Monitoring wurden die Fänge nach Borkenkäfern selektiert und morphologisch vorbestimmt. In Obstanlagen sind als häufige Arten die Splintholzkäfer (der Große Obstbaumsplintkäfer *Scolytus mali* der Runzelige Spintholzkäfer *S. rugolosus*) sowie die Holzbohrer (*Xyleborus* (=Xyleborinus) dispar und X. saxesenii) zu erwarten. Ziel war es in den Fallenfängen weitere Nicht-Zielarten gegenüber dem Walnussborkenkäfer *P. juglandis* sicher und einfach zu unterscheiden, die man zuvor durch eine Sequenzierung (COI) bestimmt hat. Somit sollte in der Routinediagnose der Fallenfänge nur im Einzelfall eine molekulare Artbestimmung erforderlich und eine schnelle Ansprach der Arten möglich sein. Bei der Untersuchung des Fallenmaterials zeigte sich, dass vor allem die Unterscheidung der Zielart gegen dem kleinen *Xyleborinus saxesenii* relevant ist. Darüber hinaus war der heimische Eichenholzbohrer *Xyleborus monophagus* in einigen Fallenfängen zu finden. Überraschend war das Auftreten der Art *Dryocoetes himalayensis*., die aus dem asiatischen Bereich stammt. Sie stellt ein bisher unproblematisches Neozoon dar, das seit 2016 zum ersten Mal in Deutschland nachgewiesen wurde (Gebhardt & Bense 2016)

und nicht oft, aber regelmäßig in Fallen gefunden wird. Zur Biologie von *D. himalayensis* in Europa ist wenig bekannt. In Kaschmir tritt sie allerdings an Walnuss (*Juglans regia*) und Mehlbeere (*Sorbus* sp.) auf und ist zumindest für den Obstbau im weiteren Sinne eine Art, die man im Monitoring beachten sollte. Diese Untersuchung zeigte, dass neben den eigentlichen Zielarten die Beifänge im Nationalen Monitoring bestimmt werden sollten, weil sie weitere, für den Pflanzen- und Forstschutz relevante Arten beinhalten können.

Arbeitspaket 3:

KI-basierte Bilderkennung von ausgewählten Käferarten per Smartphone-Anwendung („Käfer-App“)

Bilderkennungssoftware ist ein digitales Werkzeug, basierend auf künstlicher Intelligenz und maschinellem Lernen, durch die Bilder analysiert und Objekte identifiziert werden können. Aus der großen Anzahl zusammengetragener Präparate von Arten, entstand im Laufe des ersten Projektvorhabens die Idee, eine solche Bilderkennung durch einen Unterauftragnehmer als Vorwarnsystem für Inspektionen bei Importkontrollen entwickeln zu lassen. In der digitalen Konservierung zumindest eines Teils des Expertenwissens liegt eine große Chance der KI-Anwendungen. Die unterstützende Anwendung von Apps zur Bestimmung von Käferfunden trainiert gleichzeitig die Nutzer hinsichtlich ihrer Artenkenntnis als positives Feedbacksystem.

Im Zuge der Entwicklung der Käfer-App fanden mehrere Online-Treffen und ein direktes Treffen zwischen den Mitarbeitern am LTZ und der Firma Oculyze GmbH statt (siehe Protokolle in den Anlagen), um eine von Beginn an eine praxisnahe Entwicklung der Käfer-App zu ermöglichen. Im Gegenzug skizzierte Oculyze die nötigen Arbeitsschritte in der Entwicklung solch einer App und gab daran angelehnte Arbeitsaufträge für Nutzeraufnahmen zum Trainieren des Algorithmus an das LTZ weiter. Im Unterauftrag wurden das Hosting und Wartung des eingerichteten Systems übernommen und bei der Entwicklung der Client Software Anpassungen nach den Benutzeranforderungen durchgeführt.
Es wurden in einer ersten Phase fünf verschiedene Arten aus der Familie der Bockkäfer (Coleoptera: Cerambycidae) aus der LTZ-Sammlung ausgewählt: *Anoplophora glabripennis, Aromia bungii, Apriona germari germari, Batocera parryi* und *Batocera rubus rubus*. Ein Beispiel für schwierig darzustellende Merkmale zur Differenzierung stellen der Asiatische Laubholzbock (*Anoplophora glabripennis*) und der Citrus-Laubholzbock (*Anoplophora chinensis*) dar, die sich als Käfer optisch hauptsächlich durch eine Granulierung auf den Ansätzen der Deckflügel voneinander unterscheiden. Mit verschiedenen Smartphones und unter unterschiedlichsten Bedingungen (Hintergrund, Blitz, Beleuchtung, Blickwinkel, etc.) wurden in der ersten Lernphase für die Algorithmen je Art 300, also insgesamt 1.500 Bildaufnahmen erstellt, mit denen die Künstliche Intelligenz (KI) anschließend trainiert wurde. Die KI wurde zusätzlich mit den im Projekt erstellten Bildern ohne Skala, sowie mit rechtlich

frei im Internet verfügbaren Aufnahmen aus der Naturbeobachtungs-App iNaturalist getestet, um die Sensitivität zu überprüfen. In einem weiteren Schritt wurde das Arteninventar um geregelte Prachtkäferarten und ähnliche heimische Arten erweitert. Dazu wurde eine Vorauswahl von über 40 Arten erstellt, darunter Quarantäneschädlinge und vergleichsweise häufig bei Inspektionen in der Pflanzengesundheit auftretende Arten. Zusätzlich wurden häufige und heimische Verwechslungsarten miteinbezogen. Von diesen Arten wurden zum Training letztlich insgesamt 6.800 Bilder angefertigt, wobei, um den Algorithmus möglichst breitgefächert und mit praxisnahen Fotos zu trainieren. Diese Fotodatensätze wurden von Oculyze GmbH als Datengrundlage in die App implementiert.

Die Eingabemaske für die Fotos ist für eine breite Anwendbarkeit in Englisch angelegt und führt mit Hyperlinks der verwendeten Logos zu den Webangeboten von LTZ und ISIP mit weiterführenden Informationen zu den Arten und der Pflanzengesundheit. Die App gibt nach Auswahl und Hochladen des Fotos eine Auswahl von drei Ergebnissen aus, die der Anwender per Klick auf die wahrscheinlichste Auswahl bestätigt, ein Schritt der die App-Entwicklung erleichtere. Die im Display angezeigte prozentuale Übereinstimmung ermöglicht eine Einschätzung der Sicherheit der Artbestimmung. Das Ergebnis wird mit einem weiteren Klick an die entomologische Diagnose des LTZ-Augustenberg gesendet, um final bewertet zu werden und den Beobachter der Probe zu kontaktieren. Dann kann ein Vorab-Ergebnis mit Quarantäne-Verdacht entsprechend entschärft werden oder es werden die erforderlichen Maßnahmen eingeleitet. Die App-Anwendung steht nach Projektende dauerhaft über das Webangebot des LTZ Augustenberg den Anwendern zur Verfügung.

Das Arteninventar der App kann mittelfristig um weitere Arten und das fortlaufend ergänzte Sammlungsmaterial am LTZ erweitert werden. Zukünftige Entwicklungen werden auch bei kleinen Borkenkäfern hier einen Ausweg anbieten. Das KIT in Karlsruhe arbeitet 2025 an einer Bilderkennung für einige Bockkäferarten, wenn auch nicht gezielt in Zusammenarbeit und explizit für die Anwendung in der Pflanzengesundheit (Pyaltuk mdl. Mitt. 2025).

Arbeitspaket 4:

Molekulare Bestimmungsmethoden („NGS“, Metabarcoding und LAMP-Verfahren)

Als molekulare Bestimmungsmethode wird am LTZ bei einem Verdacht auf Quarantäneschaderreger in der Regel eine Sanger-Sequenzierung („first generation sequencing“) durchgeführt, in der einzelne Proben bearbeitet werden. In der Antragsphase des Projektes stand im Raum, dass sich das LTZ ein Gerät zur NGS-Sequenzierung erwirbt, in der mehrere Proben gleichzeitig in einem höheren Durchsatz analysiert werden könnten („next generation sequencing“). Nachdem diese Geräteanschaffung verworfen wurde, wurde

das Metabarcoding, also die simultane Analyse einer einzigen Mischprobe als Methode gewählt. Sie entspricht mehr der fachlichen Praxis im Pflanzenschutz, in der Fallenfänge von Klebtafeln oder mit Ethanol oder Zuckeralkoholen gemischt zur Diagnose vorliegen und aus denen die Zielarten gefunden werden müssen.

Daneben wurde in den letzten Jahren die direkte Analyse von Proben durch Farbumschlagreaktionen in einer Alternativen zur üblichen PCR zunehmend für relevante Schadorganismen entwickelt (LAMP). Mit ihr wären Analysen unmittelbar bei der Probennahme möglich, wozu es auch mobile Analysegeräte auf dem Markt gibt. Beide Methodenansätze sind aber in der Pflanzengesundheit noch nicht etabliert, weil sie in der Etablierung komplex und kostenpflichtig sind.

Vorteil der molekularen Artbestimmung kann in den geringeren Kosten liegen, was aber eine hohe Anzahl an Proben erfordert, die bei Einfuhrkontrollen in der Regel nicht vorliegen. Gleichzeitig wirbt geworben, dass man keine morphologischen Fachkenntnisse mehr benötigt, um Arten zu bestimmen, was allerdings zur Abhängigkeit von der Technik führt, die aber zunächst validiert werden müsste. Daher wurden diese Methoden mit in das Forschungsprojekt aufgenommen. Methodenvergleiche sind in Bereich wie der Biodiversitätsforschung bereits ein Thema, aber noch nicht in der Pflanzengesundheit (Gueuning et al. 2019, Förster et al. 2023, Tamura et al. 2021).

Metabarcoding von Mischproben

Für diese Analyse wurden Proben an Unterauftragnehmer als Dienstleister versendet und man erhält das Ergebnis jeweils als Tabellendarstellung zur weiteren Verarbeitung. Es konnten zwei Anbieter recherchiert werden, die Metabarcoding als Service anbieten. Es gibt nur wenige Anbieter, trotz eines großen Marktes für gemischte Insektenproben, vor allem aus Biodiversitätsstudien. Da Methoden des Metabarcoding aktuell sehr positiv aufgenommen und weit verbreitet genutzt werden (Hawlitschek et al. 2019, Hebert et al. 2003), stellte sich die Frage der Nutzbarkeit im Bereich der Diagnoselabore der Pflanzenschutzdienste.

Eine wichtige Frage für gemischte Fallenfänge, die geklärt werden sollte, war, ob die Fangflüssigkeiten und die Verweildauer darin die DNA-Qualität so verschlechtern, dass eine Analyse nicht mehr möglich ist und so wichtige Schaderreger nicht gefunden werden können, während sie auch bei längerer Lagerung morphologisch erhalten bleiben. In der Praxis hängen Fallen für das Nationale Monitoring für zwei Wochen in der Sonne. Das sind keine guten Bedingungen, aber die praktische Realität durch begrenzte Personalmittel und gleichzeitig zunehmende Arten im Monitoring.

Es wurden insgesamt etwa 40 unterschiedliche Mischproben-Serien mit bekannter Artzusammensetzung generiert und durch die zwei Dienstleister per Metabarcoding ausgewertet. Um Praxisbedingungen zu simulieren, wurden die Proben unterschiedlichen Umwelteinflüssen und Zerfallsprozessen (Degradierung von DNA durch Hitze) ausgesetzt.

Es entstand im Verlauf der Analyse und der Ergebnisbewertung ein feedback-Ansatz, d.h. ausgehend vom erzeugten Ergebnis herauszufinden, wodurch offensichtliche Fehlbestimmungen entstanden. Dazu wurde eine idealisierte Mischprobe generiert, indem verschiedene frische Insekten per Kescher gefangen, unmittelbar bei -18 °C tiefgefroren und nach einer morphologischen Identifikation an den Sequenzierungsdienstleister gesendet wurde. Damit lagen dem Dienstleister diese Individuen in der bestmöglichen Konservierung zur Analyse vor. Zudem wurde die Probe mit einem Individuum des Eschenprachtkäfers *Agrilus planipennis*, aus einer Ethanolprobe aus den USA aus 2017 gespickt.

Außerdem wurden als Standard verfügbare lebende Vorratskäfer und Futtertiere aus dem Terrarienhandel, wie z.B. Fruchtfliegen und Grillen gekauft und nach Schlupf der erwachsenen Tiere eingefroren. Die verwendeten Kornkäfer (*Sitophilus granarius*) stehen den Borkenkäfern verwandtschaftlich und sind von Größe und Kompaktheit den Borkenkäfer vergleichbar. Ebenso wurde das wenige verfügbare Referenzmaterial von Eschenprachtkäfer (*A. planipennis*) als Quarantänearten ergänzt um den in Obstanlagen häufigen Glänzenden Blütenprachtkäfer *Anthaxia nitidula*, der im Sommer auf Gelbtafeln der LTZ-Obstanlage als Beifang tagesfrisch abgesammelt und dann eingefroren wurde. Weitere Arten, die verwendet wurden waren Mehlkäfer (*Tenebrio molitor*), Goldfliege (*Lucilia sericata*), Fruchtfliege (*Drosophila melanogaster*) und Grille (*Acheta domesticus*).

Es stellte sich durch eine zufällig gewählte Probe als Vortest zum Metabarcoding mit einem von Milben befallenen Tomatenblatt heraus, dass nach der Analyse von Mischproben auch eine Anzahl von Arten in der Ergebnisliste genannt werden, die nicht plausibel sind, also falsch-positive Treffer. Dies macht eine Bewertung der Plausibilität sehr schwierig, zeigt hier aber Handlungsbedarf und Gesprächsbedarf mit den Anbietern solcher Mischanalysen.

Im Folgenden eine Kurzfassung des Ergebnisses bzgl. der Probe an Metabarcoding-Anbieter: Tomatenblatt aus Gewächshaus mit Rostmilben:

- ca. 170 Art-Ergebnisse
- „beste Treffer“ (>99 % BOLD und mit NCBI & RDP classifier) sind alle nicht plausibel
- Beispiel: *Trichoferus pallidius* (Bockkäfer, Rote Liste Kategorie 1)
- Tomatenrostmilbe nicht in BOLD, aber 100 % NCBI und extrem hohe Anzahl an reads

Das Ergebnis des Metabarcodings der frischtoten Proben aus dem Freilandbereich des LTZ war grundsätzlich positiv. Alle zuvor mindestens auf Gattungsebene bestimmten Insekten konnten auch durch das Metabarcoding auf Gattungs- oder Artniveau bestimmt werden. Dazu werden einige wenige zusätzliche Arten mit sehr guter Übereinstimmung zu den Referenzdatenbanken aufgeführt, die alle plausibel erscheinen. Dazu gehören beispielsweise Parasitoide. Nicht molekular nachgewiesen werden konnte jedoch ausgerechnet ein hinzugefügter Eschenprachtkäfer *A. planipennis* als Quarantäne-Art aus einer fünf Jahre alten Ethanolprobe der LTZ-Insektensammlung. Da die Gensequenz in den Referenzdatenbanken hinterlegt ist, hätte die Art gefunden werden müssen. Dies zeigt, dass jahrelange Lagerung selbst in Ethanol eine mögliche Degradierung der DNA zur Folge haben könnte. Es wird daher am LTZ mittelfristig eine tiefgefrorene Lagerung eines Teils des Referenzmaterial für die Akkreditierung bei -21 °C angedacht. Allerdings konnte das fragliche Material durch eine Sequenzierung am LTZ als *A. planipennis* bestimmt werden. Möglicherweise lag das Problem der Detektion doch beim Dienstleister. Diese Ergebnisse sind zumindest nicht stabil.

Aus den Ergebnissen der Testserien des zweiten Anbieters können einige Schlussfolgerungen gezogen werden. Der frischtote *Anthaxia*-Prachtkäfer zeigte eine gute Wiederfindung und einen guten Ausschluß gegen die Kontroll-Arten in verschiedenen Varianten. Die in der Sammlung konservierten Quarantäne-Prachtkäfer-Arten wurden nicht gut detektiert, der Asiatische Moschusbock einmal gut und einmal schlecht erkannt. Das zugrundeliegende gleiche Referenzmaterial konnte in einer Sequenzierung als Kontrolle und in LAMP jedoch festgestellt werden. Auch diese Ergebnisse waren nicht stabil wiederholbar.
Es zeigte sich, dass einzelne Individuen oder die gleiche Biomasse keinen Unterschied in der Detektion zu machen scheinen. Interessant war auch, dass der Leim zu einer tendenziell schlechteren Detektion führte. Es bestand aber erstaunlicherweise nur ein schwacher Zusammenhang bzgl. Degradierung nach Temperaturhöhe, sogar Im Vergleich von 25°C zu 35°C für zwei Wochen.
Sehr positiv war auch, dass eine fünf Jahre bei Raumtemperatur gelagerte alte Insektenmischung auf einer eingetrockneten Eschenprachtkäfer-Falle zwar z.T. geringe Wiederfindung, aber eine plausible Artenmischung zeigte (58% Fliegen, 15% Käfer, 13% saugende Insekten). Es konnte mit einer hohe Detektionsrate *Phaonia*-Fliegen nachgewiesen werden, die als Larven nützliche Insekten gegen Borkenkäfer aktiv sind.

In der Labordiagnose sollte weder eine Quarantäneart nicht entdeckt, aber auch kein Ergebnis falsch-positiv sein. Beides ist in diesem Projekt bei einem vergleichsweise einfachen Versuchsansatz ab und zu aufgetreten. Da in der Pflanzengesundheit aber eine 100%ige Sicherheit in der Diagnose erforderlich ist, ist der morphologische Fehler (Individuen nicht gesehen und falsch bestimmt) geringer, wenn auch entsprechend zeitaufwändig. Andererseits

hat auch die Ergebnismitteilung des Metabarcodings mehrere Wochen gedauert, z.T. Monate, weil die wenigen Anbieter je nach Auftragslage zeitweise quasi ausgebucht sind.
Auf Nachfrage bei einem Dienstleister mit auffällig mehr falsch-positiven Resultaten konnten die nicht plausiblen Treffer nicht erklärt werden. Unter Gesichtspunkten der Akkreditierung ist eine fehlende Wiederholbarkeit der Analyse ein grundsätzliches Problem und in der guten fachlichen Praxis eines Diagnoselabors eine nicht zu tolerierende Abweichung.

LAMP-Verfahren zur Artbestimmung

Die veröffentlichten Protokolle von Peterson et al. (2023) für *Agrilus planipennis* und Rizzo et al. (2021) konnten nachvollzogen werden. Jedoch hat sich unter anderem die Reaktion des Farbumschlages unterschieden. Eine Abweichung von den publizierten Methoden ist nicht völlig unerwartet, bedeutet aber eine notwendige Anpassung, die für den molekulargenetisch nicht versierten Anwender nicht zu überschauen ist. Es entsteht hier Anpassungsbedarf für die Methode, wenn man sie in der täglichen Praxis nutzen wollte. Gerade die Reaktionszeit für den Farbumschlag bringt Unsicherheiten für fachlich ungelernte Anwender, die ihre Expertise in der Inspektion haben und eigentlich von einer als Standard etablierten, geräteunterstützten schnelle Artbestimmung unterstützt und entlastet werden sollten. Es ist nach aktuellem Stand der publizierten LAMP-Methoden zum Nachweis des Eschenprachtkäfers *A. planipennis* und des Asiatischen Moschusbocks *A. bungii* nicht ausgeschlossen, dass falsch-negative Ergebnisse erzeugt werden, wenn man nicht im jeweiligen Diagnoselabor eine entsprechende Validierung der Methode mit sicherem Referenzmaterial durchführt.

Fazit bzgl. der molekularen Methoden zur Käferbestimmung

Sowohl das Metabarcoding als auch LAMP haben in den vorliegenden Untersuchungen leichte methodische Schwächen gezeigt, mit denen man für diese Methoden durch Erfahrung umzugehen lernen muss. Ebenso erfordert eine morphologische Artbestimmung Erfahrung und auch hier gibt es Fehlerquoten, die durchaus im Bereich von 10-15% liegen können (mdl. Zimmermann).

Die Ergebnisse aus Arbeitspaket 4 waren deutlich umfangreicher als hier beispielhaft dargestellt und werden in einer ausführlichen Publikation zusätzlich veröffentlicht.

Insbesondere ist es wichtig möglichen Anwendern die Voraussetzungen für ein funktionierendes Metabarcoding darzustellen, quasi einen „Beipackzettel“. Es scheint nach den Erfahrungen aus diesem Forschungsvorhaben, den Gesprächen mit Dienstleistern für das Metabarcoding und Tagungsbesuchen, dass Anwender und Dienstleister zu wenig kommunizieren, so dass die Falsch-positiven Ergebnisse von Förster et al. (2023) auf

Tagungen sehr kontrovers diskutiert werden. Es bildet sich bisweilen eine ablehnende Front zwischen molekular und morphologisch arbeitenden Experten.

Es sollte aber das Ziel sein herauszuarbeiten, wie man das Beste aus den verfügbaren Methoden nutzen kann, um wichtige Schädlinge frühzeitig und sicher im Diagnoselabor der Pflanzenschutzdienste bestimmen zu können.

2. Die wichtigsten Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Die Positionen mit den zahlenmäßig umfänglichsten Beträgen waren die Personalmittel für wissenschaftliche Mitarbeiter sowie die Unteraufträge für die App-Entwicklung und die Untersuchung der Metabarcoding-Proben.

3. Die Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die Untersuchungen stellten sich vor allem bei den Unteraufträgen als angemessen und notwendig heraus. Sowohl die App-Entwicklung als auch das Metabarcoding von Mischproben zeigten Anpassungsbedarf, an dem durch das Projekt mit den Firmen gearbeitet werden konnte. Die erforderliche Begleitung des Projektes durch wissenschaftliches Personal bestand neben den eigentlichen Untersuchungen in der Netzwerkbildung, durch Museumsbesuche für die Materialakquise, Expertentreffen sowie Workshops und der Öffentlichkeitsarbeit durch Publikationen.

4. Der voraussichtliche Nutzen und die Verwertbarkeit der Ergebnisse im Sinne des Verwertungsplanes

Die Projektergebnisse sind national für die Pflanzenschutzdienste der Länder und das Julius Kühn-Institut als Bundesbehörde unmittelbar nutzbar. Die Bestimmungshilfen können im Rahmen der Akkreditierung der Diagnoselabore frei als Arbeitsunterlagen (SOPs und deren Anhänge) genutzt werden. Die Ergebnisse der Prüfung der neuen Diagnosemethoden wurde auf Tagungen vorgestellt und wird in Veröffentlichungen diskutiert. Die dokumentierte notwendige Anpassung der Nutzung von Smartphone-Apps, Metabarcoding und der LAMP-Methode spart den Diagnoselaboren als Nutzer Zeit und Ressourcen und ist eine gute Basis für deren Weiterentwicklung. Diese Datengrundlage und das aufgebaute Netzwerk ermöglichen zukünftig bei neuen Käferfunden die gewünschte Früherkennung („early detection“) in der Artdiagnose, auf die dann mit einer Risikobewertung und Maßnahmenempfehlung reagiert werden kann. Im Rahmen des Vorhabens wurde mehrfach auch internationales Interesse an den Untersuchungsergebnissen gezeigt.

5. Bekannt gewordene Fortschritte auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Es wurden in der Projektlaufzeit nur wenige relevante Fortschritte bekannt. Sowohl für den relevanten Eschenprachtkäfer *Agrilus planipennis* als auch den Asiatischen Moschusbock *Aromia bungii* wurden LAMP-Protokolle veröffentlicht (Peterson et al. (2023) für *Agrilus planipennis*, Rizzo et al. (2021) für *Aromia bungii*)). Deren Prüfung im Projekt zeigte, dass Anpassungen in den Protokollen erforderlich sind, um die Artbestimmung erfolgreich durchzuführen. Dass gemischte Metabarcoding-Proben falsch-positive Ergebnisse erzeugen können, wurde auch von Förster et al. (2023) im Rahmen einer Biodiversitätsstudie herausgefunden und bestätigt die Projektergebnisse. Einzelne Käferfunde relevanter Arten während der Laufzeit des Vorhabens (Asiatische Bockkäfer *Anoplophora* sp. in Südeuropa, *Aromia bungii* in Bayern, Walnußborkenkäfer *Pityophthorus juglandis* in Frankreich) zeigten wie aktuell das gewählte Projektthema ist.

6. Erfolgte und geplante Veröffentlichungen

Artenportraits auf der gemeinsamen Internetplattform der Pflanzenschutzdienste ISIP (Informations-System für integrierten Pflanzenschutz)

(Anm.: nach Auskunft von R. Sander, ISIP (12/2024) wird der Datenbankbereich der Infothek mittelfristig umgestaltet, d.h. die URL-Adressen innerhalb www.isip.de könnten sich ändern)

Lutsch, B.; Zimmermann O. (2023): **Infothek Neozoen und invasive Arten - Asiatischer Eschenprachtkäfer**. Hrsg.: Informationssystem Integrierte Pflanzenproduktion e.V., 1 S., Download: https://www.isip.de/isip/servlet/isip-de/infothek/neozoen

Lutsch, B.; Zimmermann O. (2023): **Infothek Neozoen und invasive Arten - Asiatischer Laubholzbockkäfer**. Hrsg.: Informationssystem Integrierte Pflanzenproduktion e.V., 1 S., Download: https://www.isip.de/isip/servlet/isip-de/infothek/neozoen

Lutsch, B.; Zimmermann O. (2023): **Infothek Neozoen und invasive Arten - Asiatischer Moschusbockkäfer**. Hrsg.: Informationssystem Integrierte Pflanzenproduktion e.V., 1 S., Download: https://www.isip.de/isip/servlet/isip-de/infothek/neozoen

Lutsch, B.; Zimmermann O. (2023): **Infothek Neozoen und invasive Arten - Bronzefarbener Birkenprachtkäfer**. Hrsg.: Informationssystem Integrierte Pflanzenproduktion e.V., 1 S., Download: https://www.isip.de/isip/servlet/isip-de/infothek/neozoen

Lutsch, B.; Zimmermann O. (2023): **Infothek Neozoen und invasive Arten –**

Rundköpfiger Apfelbaumbohrer. Hrsg.: Informationssystem Integrierte Pflanzenproduktion e.V., 1 S., Download: https://www.isip.de/isip/servlet/isip-de/infothek/neozoen

Lutsch, B.; Zimmermann O. (2023): **Infothek Neozoen und invasive Arten - Zitrusbockkäfer**. Hrsg.: Informationssystem Integrierte Pflanzenproduktion e.V., 1 S., Download: https://www.isip.de/isip/servlet/isip-de/infothek/neozoen

Publikationen in Fachzeitschriften und Tagungsbeiträge im Projektzeitraum:

Lutsch, B. (2023): **Früherkennung von nicht-heimischen Gehölzschädlingen in Importholz.** In: LTZ Report 2022, S. 30-32. Hrsg.: Landwirtschaftliches Technologiezentrum Augustenberg, Download: www.ltz-bw.de.

Häussermann, I., Lutsch, B., Zimmermann, O. & Hasselmann, M. (2023): **Population genomic analyses and de novo whole genome sequencing of invasive cerambycids in Europe to decipher the invasion patterns**. In: Köhler, A., Kramp, K., Folie, R., Angeli, S. & Blank, S.M. (Hrsg./eds.) (2023): Entomologentagung Bozen / Entomology Congress Bolzano 20.-23.02.2023, Tagungsband Kurzfassungen / Congress Volume Abstracts: 78-79.

Häussermann, I., Lutsch, B., Zimmermann, O. & Hasselmann, M. (2023): **Population genomics in plant health – Determining invasion patterns of invasive cerambycids in Europe.** In: Julius Kühn-Institut (JKI). Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen (Hrsg.) (2023): 63. Deutsche Pflanzenschutztagung 26.-29.09.2023 Göttingen, Tagungsband, Julius-Kühn-Archiv 475: 134-135.

Lutsch, B., Zimmermann, O., Panti, B., Tillich, U., Häussermann, I. & Hasselmann, M. (2023): **AI-supported early detection of wood boring beetles in plant health control: The development of a smartphone application**. In: Köhler, A., Kramp, K., Folie, R., Angeli, S. & Blank, S.M. (Hrsg./eds.) (2023): Entomologentagung Bozen / Entomology Congress Bolzano 20.-23.02.2023, Tagungsband Kurzfassungen / Congress Volume Abstracts: 126-127.

Lutsch, B., Häussermann, I., Hasselmann, M. & Zimmermann, O. (2023): **Metabarcoding in der Pflanzengesundheit – Prüfung auf praktische Eignung im Erhebungsprozess von Schadinsekten.** In: Julius Kühn-Institut (JKI). Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen (Hrsg.) (2023): 63. Deutsche Pflanzenschutztagung 26.-29.09.2023 Göttingen, Tagungsband, Julius-Kühn-Archiv 475: 133-134.

Zimmermann, O., Lutsch, B., Häussermann, I. & Hasselmann, M. & (2024): **Identifying woodboring beetles with novel methods: the pros and cons of using smartphone apps, metabarcoding, LAMP as well as traditional pictoral diagnostic tools.** IPM Conference Cultural Heritage in Berlin 18-19th September 2024, Proceedings: 26-27.

Über den Projektzeitraum hinaus durchgeführte Vorträge und Veröffentlichungen:

Zimmermann, O., Lutsch, B. (2025 ff): **PHID-Coleo II - Identifikation von Käfern an Importholz.** Link: https://ltz.landwirtschaft-bw.de/,Lfr/Arbeitsfelder/PHID-Coleo+II.

Landwirtschaftliches Technologiezentrum Augustenberg. (dauerhafte Internetpräsenz der Projekte, fortlaufende Verwertung und Dokumentation der Projektergebnisse)

Zimmermann, O. & Pfäfflin, J. (2025): **Bestimmung von Käfern an Importholzproben - Resultate des Projektes PHID-Coleo II.** Entomologentagung Fachhochschule University Geisenheim 17.-20.03.2025, Tagungsband Kurzfassungen / Congress Volume Abstracts: 2 Seiten.

Zimmermann, O.; Lutsch, B.; Pfäfflin, J.; Nagel, M.; Rumsey, S.; Zgraja, G. (2025): **Das Problem der Diagnose von Arten aus der *Agrilus roscidus*-Arten-Gruppe (ARSG) und Erstnachweise des Brombeer-Prachtkäfers *Agrilus viridicaerulans* für Baden-Württemberg.** Entomologentagung Fachhochschule University Geisenheim 17.-20.03.2025, Tagungsband Kurzfassungen / Congress Volume Abstracts: 2 Seiten.

angemeldet:

Zimmermann, O. (2025): **Die BLE-Projekte PHID-Coleo I und II: Bestimmungshilfen für potentiell holzschädigende Käfer bei Kontrollen durch die Pflanzengesundheit.** In: Julius Kühn-Institut (JKI). Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen (Hrsg.) (2023): 64. Deutsche Pflanzenschutztagung 07.-10.10.2025, Technische Universität Braunschweig.