

Aus dem Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Vorkommen und Verbreitung von Insektizidresistenzen bei
Fliegen (*Musca domestica*) in Milchviehbetrieben im
Bundesland Brandenburg, Deutschland**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Anabell Jandowsky
Tierärztin
aus Hamburg

Berlin 2009
Journal-Nr.: 3340

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Leo Brunnberg
Erster Gutachter: PD Dr. Peter-Henning Clausen
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Kerstin Müller
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Heidrun Fink

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

cattle, dairy cattle, musca domestica, insect control, insecticides,
pyrethroids, Imidacloprid, spinosad, insect growth regulators, insecticides
resistance, susceptibility, Germany, Brandenburg

Tag der Promotion: 19.01.2010

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN: 978-3-86664-751-0

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2009

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© mensch und buch verlag 2010

choriner str. 85 - 10119 berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Meinen Eltern

Inhalt

Abbildungen und Grafiken.....	V
Tabellen.....	VIII
Abkürzungen.....	IX
1 Einleitung.....	1
2 Literaturübersicht.....	3
2.1 Vorkommen und Bedeutung von Lästlingsinsekten.....	3
2.1.1 Muscidae.....	5
2.1.1.1 <i>Musca domestica</i> LINNAEUS, 1758.....	5
2.1.1.2 <i>Stomoxys calcitrans</i> LINNAEUS, 1758.....	9
2.1.2 Andere Lästlingsinsekten.....	9
2.2 Schadwirkung von <i>Musca domestica</i>	10
2.2.1 <i>Musca domestica</i> als Lästlingsinsekt.....	10
2.2.2 <i>Musca domestica</i> als Krankheitsüberträger.....	11
2.3 Bekämpfung und Abwehr von Lästlingsinsekten.....	14
2.3.1 Hygienemaßnahmen.....	14
2.3.2 Biologische Verfahren.....	14
2.3.3 Physikalische Verfahren.....	16
2.3.4 Chemische Verfahren.....	17
2.3.4.1 Repellentien.....	17
2.3.4.2 Insektizide.....	18
2.3.4.2.1 Chlorierte zyklische Kohlenwasserstoffe.....	18
2.3.4.2.2 Organische Phosphorsäureester.....	19
2.3.4.2.3 Carbamate.....	19
2.3.4.2.4 Pyrethrine / Pyrethroide.....	19
2.3.4.2.5 Neonicotinoide.....	21
2.3.4.2.6 Spinosyne.....	22

2.3.4.2.7	Insektenwachstumsregulatoren (IWR).....	22
2.4	Resistenzentwicklung.....	23
2.4.1	Resistenzdefinition	24
2.4.2	Resistenzmechanismen	24
2.4.3	Resistenzgene	26
2.4.4	Vorkommen von Resistenzen bei <i>Musca domestica</i>	27
2.4.5	Methoden der Resistenzbestimmung	29
2.4.5.1	<i>In vivo</i> - Methoden.....	29
2.4.5.1.1	Einsatz von Adulten.....	29
2.4.5.1.2	Einsatz von Larven	30
2.4.5.2	<i>In vitro</i> - Methoden	30
2.4.5.2.1	Nachweis von Enzymen und Genen.....	30
2.4.6	Verhinderung der Resistenzbildung	30
3	Eigene Untersuchungen.....	32
3.1	Material und Methoden	32
3.1.1	Versuchsplanung	32
3.1.2	Felduntersuchungen	33
3.1.2.1	Auswahl der Betriebe für die Feldstudie	33
3.1.2.2	Fragebogenauswertung	34
3.1.2.3	Ermittlung der Deltamethrin-Resistenz mit der FlyBox [®] -Methode	35
3.1.2.3.1	Flybox [®]	35
3.1.2.3.2	Versuchsdurchführung.....	39
3.1.2.4	Ermittlung der Spinosad-, Thiamethoxam- und Imidaclopidresistenzen..	39
3.1.2.4.1	Versuchsaufbau	39
3.1.2.4.2	Versuchsdurchführung.....	40
3.1.3	Laboruntersuchungen	40
3.1.3.1	Auswahl der Höfe für die Laboruntersuchungen.....	40
3.1.3.2	Feldstämme	41

3.1.3.3	Referenzstämme	41
3.1.3.4	Fliegenzucht.....	42
3.1.3.4.1	Zuchtraum	42
3.1.3.4.2	Zuchtkäfige.....	42
3.1.3.4.3	Zuchtfutter und Zuchtmedium	43
3.1.3.4.4	Nachzucht	43
3.1.3.5	Topikale Applikation	44
3.1.3.5.1	Versuchsaufbau / Vorbereitung	44
3.1.3.5.2	Versuchsdurchführung.....	44
3.1.3.6	Fütterungstests	46
3.1.3.7	Larvizidtests	47
3.1.3.7.1	Medium	47
3.1.3.7.2	Insektizidlösungen.....	47
3.1.3.7.2.1	Neporex [®] 2SG (Wirkstoff: Cyromazin).....	47
3.1.3.7.2.2	Baycidal [®] (Wirkstoff: Triflumuron).....	48
3.1.3.7.3	Gewinnung von Fliegeneiern	48
3.1.3.7.4	Auszählung der Insekten	50
3.1.4.	Beurteilung der Ergebnisse.....	51
3.1.5	Verwendete Insektizide, Verbrauchsmaterialien und Laborgeräte	51
3.1.5.1	Insektizide	52
3.1.5.2	Einwegartikel.....	52
3.1.5.3	Mehrwegartikel.....	53
3.1.5.4	Geräte.....	54
3.1.5.5	Computerprogramme	55
4	Ergebnisse.....	56
4.1	Felduntersuchungen	56
4.1.1	Fragebogenauswertung	56
4.1.1.1	Insektizideinsatz.....	56

4.1.1.2	Bestandsgrößen.....	58
4.1.1.3	Haltungsform.....	59
4.1.2	FlyBox®-Test.....	59
4.1.2.1	Ergebnisse der Referenzstämme.....	59
4.1.2.2	Ergebnisse der Feldstämme.....	60
4.1.3	Fütterungstests.....	62
4.1.3.1	Agita® (Thiamethoxam).....	62
4.1.3.1.1	Referenzstämme.....	62
4.1.3.1.2	Feldstämme.....	62
4.1.3.2	Quickbayt® (Imidacloprid).....	64
4.1.3.2.1	Referenzstämme.....	64
4.1.3.2.2	Feldstämme.....	64
4.1.3.3	SPY® (Spinosad).....	66
4.1.3.3.1	Referenzstämme.....	66
4.1.3.3.2	Feldstämme.....	66
4.2	Laboruntersuchungen.....	67
4.2.1	Topikale Applikation.....	67
4.2.2	Fütterungstests.....	69
4.2.2.1	Agita® (Thiamethoxam).....	69
4.2.2.2	Quickbayt® (Imidacloprid).....	70
4.2.3	Larvizidtests.....	72
4.2.3.1	Neporex® (Cyromazin).....	72
4.2.3.2	Baycidal® (Triflumuron).....	74
5	Diskussion.....	76
6	Zusammenfassung.....	86
7	Summary.....	89
8	Anhang.....	92
9	Literaturverzeichnis.....	94

Abbildungen und Grafiken

Abbildung 1: Standorte der 60 Untersuchungsbetriebe für die Feldstudie, durchgeführt von Juni bis August 2008 in Brandenburg	34
Abbildung 2: Grundriss zur Fertigung der FlyBox®	36
Abbildung 3: Die FlyBox® in ungefaltetem und gefaltetem Zustand	37
Abbildung 4: Die mit insektizidbehandeltem Netz ausgekleidete FlyBox®	37
Abbildung 5: Beobachtungs- und Zuchtkäfig mit und ohne Folienüberzug für den FlyBox®- und Fütterungstest.....	38
Abbildung 6: Überführen der Fliegen in den mit Insektizid befüllten Testbecher beim Fütterungstest	40
Abbildung 7: Standorte der 15 Untersuchungsbetriebe für die weiterführenden Laboruntersuchungen, September bis November 2008, in Brandenburg.	41
Abbildung 8: Arbeiten mit dem Pipettiersystem EDOS 5222 bei der topikalen Applikation	45
Abbildung 9: Topikale Applikation auf den dorsalen Thorax der Fliege mit λ -Cyhalothrin.....	45
Abbildung 10: Beobachtungsbecher für die topikale Applikation, ausgestattet mit Futter und Wasser.....	46
Abbildung 11: Testbecher mit Wasser und Insektizid (obere Reihe Agita®, untere Reihe Quickbayt®, jeweils mit Kontrolle rechts) für die Versuchsreihe der Fütterungsmethode.....	47
Abbildung 12: Eipakete von <i>Musca domestica</i> auf dem befeuchteten Filterpapier bei der Vorbereitung im Larvizidtest	49
Abbildung 13: Insektizidbehandeltes Medium im Becher mit 50 Fliegeneiern auf schwarzem Filterpapier im Larvizidtest.....	49
Abbildung 14: Testbecher mit dem insektizidbehandeltem Medium und Deckeln mit Gitternetz gegen das Eindringen von Fliegen	50

Abbildung 15: Filterpapier mit 50 Fliegeneiern vor dem Schlupf (links); leere Eihüllen nach 2 Tagen (rechts) im Larvizidtest	51
Grafik 1: Anteil der verwendeten Insektizidklassen am Gesamteinsatz in den 60 untersuchten Betrieben in Brandenburg 2008	56
Grafik 2: Verteilung des Einsatzes der einzelnen Wirkstoffe in den 60 Untersuchungsbetrieben Brandenburgs, Fragebogenerhebung 2008.	58
Grafik 3: Durchschnittliche Mortalitätsraten der Referenzstämme WHO, Spechbach und Selbitz von <i>Musca domestica</i> nach Kontakt mit Deltamethrin im FlyBox [®] -Test - Beobachtungen nach 1, 3, 5, 10, 15, 30, 45, 60 Minuten und 24 Stunden.....	60
Grafik 4: Mortalitätsraten der 60 Feldstämme und der Referenzstämme von <i>Musca domestica</i> aus dem Labor 24 Stunden nach Kontakt mit Deltamethrin	61
Grafik 5: Mortalitätsraten der Referenzstämme WHO, Spechbach und Selbitz von <i>Musca domestica</i> im Fütterungstest mit Agita [®] (Thiamethoxam)	62
Grafik 6: Mortalitätsraten der 60 Feldstämme und der Referenzstämme von <i>Musca domestica</i> aus dem Labor 24 Stunden nach dem Einsatz von Agita [®] (Thiamethoxam)	63
Grafik 7: Mortalitätsraten der Referenzstämme WHO, Spechbach und Selbitz von <i>Musca domestica</i> im Fütterungstest mit Quickbayt [®] (Imidacloprid).....	64
Grafik 8: Mortalitätsraten der 60 Feldstämme und der Referenzstämme von <i>Musca domestica</i> aus dem Labor 24 Stunden nach dem Einsatz von Quickbayt [®] (Imidacloprid)	65
Grafik 9: Mortalitätsraten der Referenzstämme WHO, Spechbach, Selbitz I und Selbitz II von <i>Musca domestica</i> im Fütterungstest mit SPY [®] (Spinosad)	66
Grafik 10: Mortalitätsraten der 15 Untersuchungstämme und 3 Referenzstämme von <i>Musca domestica</i> für die eingesetzten Konzentrationsstufen von λ -Cyhalothrin in der topikalen Applikation nach 24 Stunden	68

Grafik 11: Mortalitätsraten der 15 Untersuchungsstämme und 3 Referenzstämme von <i>Musca domestica</i> für die eingesetzten Konzentrationsstufen von λ -Cyhalothrin in der topikalen Applikation nach 48 Stunden.....	69
Grafik 12: Mortalitätsraten der 15 Untersuchungsstämme und 3 Referenzstämme von <i>Musca domestica</i> im Fütterungstest mit Agita [®] über 48 Stunden.....	70
Grafik 13: Mortalitätsraten der 15 Untersuchungsstämme und 3 Referenzstämme von <i>Musca domestica</i> im Fütterungstest mit Quickbayt [®] über 48 Stunden	71
Grafik 14: Schlupfraten in % von <i>Musca domestica</i> nach 3 Wochen im Larvizidtest mit Neporex [®]	72
Grafik 15: Reduktion der Larvenentwicklung in % von <i>Musca domestica</i> beim Einsatz von Neporex [®] (Cyromazin) im Larvizidtest.....	73
Grafik 16: Schlupfraten in % von <i>Musca domestica</i> nach 3 Wochen im Larvizidtest mit Baycidal [®] (Triflumuron)	74
Grafik 17: Reduktion der Larvenentwicklung in % von <i>Musca domestica</i> beim Einsatz von Baycidal [®] im Larvizidtest.....	75

Tabellen

Tabelle 1: Übersicht über die im Feldversuch in Brandenburg im Sommer 2008 eingesetzten Insektizide und die verwendeten Testmethoden.....32

Tabelle 2: Übersicht über die im Laborversuch 2008 eingesetzten Insektizide und verwendeten Testmethoden.....33

Tabelle 3: Eingesetzte Insektizide zur Ermittlung der Insektizidempfindlichkeit von *Musca domestica* im Fütterungstest auf 60 Betrieben im Juni bis August 2008 in Brandenburg39

Tabelle 4: Häufigkeit der eingesetzten Insektizide, eingeteilt nach Wirkstoff und Wirkstoffklasse in 60 Betrieben Brandenburgs 200857

Tabelle 5: Einteilung der 60 Untersuchungsbetriebe in Brandenburg 2008 nach Bestandsgröße.....58

Tabelle 6: Einteilung (nach WHO-Standard) der 60 getesteten Betriebe im Feld- und der 15 Betriebe im Laborversuch in sensible, verdächtige und resistente Fliegenpopulationen.....79

Tabelle 7: Fragebogen zum Insektizideinsatz auf Milchviehbetrieben (n=60) im Bundesland Brandenburg, Juni bis August 200892

Tabelle 8: Einsatz von Insektiziden auf den 60 Untersuchungsbetrieben im Bundesland Brandenburg, Fragebogenerhebung Juni-August 200893

Abkürzungen

AChE-R	Acetylcholinesterase-Resistenz
BAR	Barnim
bzgl.	bezüglich
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
cm	Zentimeter
CS-Syndrom	Choreoathetose und Salivations-Syndrom
DD	Discriminating Dose
DDR	Deutsche Demokratische Republik
DDT	Dichlordiphenyltrichlorethan
DDT-ase	DDT-dehydrochlorinase
Deh	DDT-dehydrochlorinase-Resistenz
Dld-r	Dieldrin-Resistenz
E.coli	<i>Escherichia coli</i>
EG	Europäische Gemeinschaft
F1-Generation	1. Filialgeneration
FHP	Farm Hygiene Products
g	Gramm
GABA	Gamma-aminobutyric acid
GmbH	Gemeinschaft mit beschränkter Haftung
gst	Gluthathion-S-Transferase-Resistenz
h	hour
HVL	Havelland
i.d.R.	in der Regel
IWR	Insektenwachstumsregulatoren
kd	knockdown
kdr	knockdown-Resistenz
kg	Kilogramm
km	Kilometer
l	Liter
LC ₉₉	Letal Concentration 99
LD ₅₀	Letal Dosis 50
LDS	Landkreis Dahme-Spreewald
LKV	Landeskontrollverband
LOS	Landkreis Oder-Spree
m	Meter

Abkürzungen

mg	Milligramm
mg/kg	Milligramm pro Kilogramm
mg/m ²	Milligramm pro Quadratmeter
mg/ml	Milligramm pro Milliliter
min	Minute/n
MKS	Maul- und Klauenseuche
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MOL	Märkisch-Oderland
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
nAChR	nicotinerge Acetylcholinrezeptoren
Na-Kanäle	Natrium-Kanäle
ng	Nanogramm
OHV	Oberhavel
OPR	Ostprignitz-Ruppin
PBO	Piperonylbutoxid
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polymerase Kettenreaktion)
pen	Reduzierte Penetration
PM	Potsdam-Mittelmark
ppm	parts per million
sp.	species
spp.	species pluralis
super-kdr	High-Level-Resistenz
TDE	Tetrachlordiphenylethan
TF	Teltow-Fläming
T-Syndrom	Tremor-Syndrom
u.a.	unter anderem
USA	United States of America
UV	ultraviolett
v.a.	vor allem
WHO	World Health Organization
%	Prozent
°C	Grad Celsius
λ	Lambda

1 Einleitung

Die Stubenfliege, *Musca domestica* L., eine der typischen synanthropen Fliegen (Greenberg, 1971), spielt unter den Hygieneschädlingen weltweit eine bedeutende Rolle. Sie ist der Menschheit über den gesamten Globus gefolgt und seit Jahrhunderten eine Belästigung für Menschen in aller Welt. Schon in alten Kulturen sind Fliegendarstellungen zu finden (Hiepe und Ribbeck, 1982). Sie ist überall dort anzutreffen, wo Tiere gehalten werden, und Abfälle und Dung eine optimale Nahrungsquelle und Brutstätte bieten (Hewitt, 1912; Keiding, 1986; WHO, 1991).

Landwirtschaftliche Betriebe mit Rindern in Laufstallhaltung auf Einstreu oder auf Spaltenböden mit Schwerkraftentmistung und Güllerinnen, in denen die Möglichkeit zu Schwimmschichtbildung besteht, bieten Fliegen ein gutes Brutmedium. Die Haltungssysteme liefern ganzjährig ausreichendes Nahrungs- und Brutsubstrat. Dies ist besonders in geschlossenen Haltungssystemen der Fall, in denen die Temperaturen auch im Winter ein Überleben der Fliegen ermöglichen.

Nicht nur die Beunruhigung der Tiere und die damit verbundenen Leistungseinbußen, auch die Übertragung von Krankheiten und die Belästigung des Stallpersonals unterstreichen die Bedeutung der Fliegenbekämpfung für landwirtschaftliche Betriebe.

Die Bekämpfung der Stallfliegen findet heute überwiegend mit Insektiziden statt. Hierdurch ergeben sich Probleme im Bereich der toxikologischen Risiken, Rückstandsproblematik, Resistenzbildung und Umweltbelastung. Durch die hohen Vermehrungsraten und Generationsfolgen können sich innerhalb weniger Generationen Resistenzen gegen die regelmäßig eingesetzten Insektizide bilden. Mit der Umsetzung der EG-Biozid-Richtlinie (Richtlinie 98/8/EG über das Inverkehrbringen von Biozid-Produkten), nach der alle Biozid-Wirkstoffe und Produkte einer Zulassung bedürfen, ist ein Ausweichen auf andere Wirkstoffklassen bei vorhandenen Resistenzen nicht immer einfach. Auf Grund dieser Problematik ergibt sich der Bedarf einer adäquaten Fliegenbekämpfung, die sowohl Gesundheit als auch Wohlbefinden von Mensch und Tier erhöht.

Um ein effizientes Bekämpfungsprogramm durchführen zu können, sind Kenntnisse über die Insektizidempfindlichkeit der Zielinsekten von wesentlicher Bedeutung. In Deutschland wurden diesbezüglich seit der Wiedervereinigung nur vereinzelt Untersuchungen auf landwirtschaftlichen Betrieben (Pospischil *et al.*, 1996) durchgeführt.

Die vorliegende Arbeit soll einen Überblick über die Insektizidempfindlichkeit von Fliegen gegenüber unterschiedlichen Insektizidklassen in ausgewählten Milchviehbetrieben im Bundesland Brandenburg geben. Die Ergebnisse sollen eine Grundlage für die Planung zukünftiger Bekämpfungsprogramme bilden.

2 Literaturübersicht

2.1 Vorkommen und Bedeutung von Lästlingsinsekten in Rinderstallungen

Fliegenplagen in Tierstallungen sind vor allem in den warmen Sommermonaten weit verbreitet. Ihnen steht dort der optimale Lebensraum mit ausreichendem Zugang zu Brutmedium und Nahrung zur Verfügung. Kühnhorn (1961b) wies rund 270 Dipteren-Arten in Viehställen nach. Die häufigsten Vertreter sind die Arten *Musca domestica* und *Stomoxys calcitrans*, deren Entwicklung zu einem wesentlichen Teil innerhalb des Stallraumes abläuft (Kleiner, 1969; Ziegler, 1970; Kleiner, 1971; Mair *et al.*, 1980; Künast, 1981; Supperer und Heimbucher, 1982). Dabei haben sie dennoch mehr oder weniger stark ausgeprägte Vorlieben für bestimmte Haltungssysteme. *Musca domestica* dominiert v.a. in Kälber- und Schweineställen, während *Stomoxys calcitrans* in Rinderställen in hoher Zahl vertreten ist (Kühnhorn, 1961b; Kleiner, 1969; Supperer und Heimbucher, 1982). Andere Dipteren finden eher zufällig und nur vorübergehend als Hospites (= Besucher) oder Vicini (= Nachbarn) ihren Weg in den Stall (Hiepe und Ribbeck, 1982).

Die beim Wiederkäuer als Lästlinge und potentielle Krankheitsüberträger bedeutenden Dipteren werden nach Hiepe und Ribbeck (1982) und Rommel *et al.* (2000) folgendermaßen eingeteilt:

Stamm: Arthropoda

Klasse: Insecta

Ordnung: Diptera

Unterordnung: Brachycera (Fliegen im weiteren Sinne)

Familie: *Muscidae*

Unterfamilie: Muscinae

Gattung: *Musca*

Unterfamilie: Phaoniinae

Gattung: *Hydrotaea*

Unterfamilie: Stomoxyinae

Gattung: *Stomoxys, Haematobia*

Familie: *Fanniidae*

Gattung: *Fannia*

Familie: *Tabanidae*

Gattung: *Tabanus, Chrysops, Haematopota*

Familie: *Calliphoridae*

Gattung: *Calliphora, Lucilia*

Familie: *Sarcophagidae*

Gattung: *Sarcophaga*

Familie: *Oestridae*

Gattung: *Hypoderma*

Familie: Hippoboscidae

Gattung: *Hippobosca*

Unterordnung: Nematocera (Mücken)

Familie: *Culicidae*

Gattung: *Aedes, Culex, Anopheles*

Familie: *Simuliidae*

Gattung: *Simulium*

Familie: *Ceratopogonidae*

Gattung: *Culicoides*

2.1.1 Muscidae

Die Familie der Muscidae umfasst die Fliegen im engeren Sinne. Dabei handelt es sich um weltweit verbreitete, 4-16 mm lange, ovipare und larvipare Fliegen mit leckend-(tupfend) saugenden oder stechend-saugenden Mundwerkzeugen (Hiepe und Ribbeck, 1982). Von der Gattung *Musca* sind die Species *Musca domestica* und *Musca autumnalis* in Europa von besonderer Bedeutung, wobei *Musca autumnalis* vermehrt auf Weiden anzutreffen ist. Des Weiteren spielen die Gattungen *Stomoxys*, *Hydrotaea*, und *Haematobia* eine Rolle (Hiepe und Ribbeck, 1982).

2.1.1.1 *Musca domestica* LINNAEUS, 1758

Die große Stubenfliege ist von den sub-polaren Regionen bis in die Tropen eine der am weitesten verbreiteten Spezies. Sie verkörpert den Prototyp einer Fliege und ist durch ihre enge Bindung an den Menschen in ihrer „Popularität“ durch kein anderes Insekt übertroffen. Sie kommt sowohl als Stallfliege in Schweine-, Pferde-, Schaf- und Rinderställen als auch auf der Weide vor (Hewitt, 1909; Greenberg, 1971; Hiepe und Ribbeck, 1982). Rücken und Flanke zeigten sich bei Weiderindern als Prädilektionsstellen, seltener Augen und Tränenrinne (Ziegler, 1970). In ihrer Entwicklung vom Ei zum adulten Insekt vollzieht *Musca domestica* eine komplette Metamorphose (Hewitt, 1912).

Sie hat eine Länge von 6-7 mm und eine Spannweite von 13-15 mm, wobei das Männchen kleiner ist als das Weibchen. Der Kopf der Fliege besitzt zwei große, rötliche Augen, die jeweils aus bis zu 4000 einzelnen Facettenaugen zusammengesetzt sind. Anhand des geringeren Abstandes der Augen kann die männliche von der weiblichen Fliege unterschieden werden (Hewitt, 1907). Der Rüssel ist zum Leckorgan ausgebildet. Mit ihm wird bevorzugt zuckerhaltige Nahrung aufgenommen. Am Ende des Rüssels befinden sich die Labellen. Sie werden wie ein Kissen über der Nahrung ausgebreitet und gewährleisten die Verteilung des Speichels (Hiepe und Ribbeck, 1982). Die Fliege besitzt 2 Paar Speicheldrüsen. Ein Paar liegt im Thorax mit Verbindung zum Rüssel. Das zweite Paar an der Basis der Labellen (Hewitt, 1907).

Der Thorax ist grau mit 4 schwarzen Streifen (WHO, 1991). Er besitzt viele Muskeln, die vor allem für die Flugfähigkeit eine wichtige Funktion erfüllen. Die Flügel sind mit sehr feinen Haaren bedeckt, von Gefäßen durchzogen und von grau-brauner Farbe. Schwingkölbchen (Halteren), kleine trommelschlägelartige Kolben, befinden sich am Thorax hinter den Flügeln, und werden als rudimentäre Flügel gesehen. Ebenfalls am Thorax befinden sich die 3 Beinpaare. Pro Segment existiert 1 Beinpaar (Hewitt, 1907). Das Abdomen ist schwarz mit würfelartiger Zeichnung (Hiepe und Ribbeck, 1982), und besteht beim Männchen aus 8, beim Weibchen aus 9 Segmenten. Im Abdomen befinden sich Luftsäcke, Darm und der Fettkörper. Der Verdauungstrakt von *Musca domestica* besteht aus Pharynx, Ösophagus, Kropf, Proventrikel, Magen, Darm und Rektum (Hewitt, 1907). Die mit Hilfe des Speicheldrüsensekretes verflüssigte Nahrung gelangt in den Kropf, der ein temporäres Nahrungsreservoir darstellt. Auf Grund der anatomischen Besonderheiten des Verdauungstraktes muss die Nahrung vor der Passage in den Mitteldarm wieder erbrochen werden. Der erbrochene Inhalt erreicht oft das Rüsselende, und wird in Form kleiner, hell-opaker Tropfen auf Unterlagen abgesetzt. Sie sind so von den braunen Kotflecken der Fliege zu unterscheiden (Hewitt, 1912; Hiepe und Ribbeck, 1982).

Der Atemtrakt mit seinen dazugehörigen Luftsäcken nimmt den größten Teil der anatomischen Strukturen ein. Luftsäcke befinden sich sowohl im Abdomen, als auch im Thorax und Kopf der Fliege. Die Fliege verfügt über thorakale und abdominale Atemlöcher. Das Zirkulationssystem der Fliege ist sehr einfach. Die Körperhöhle ist mit der farblosen und kleine Fettbestandteile enthaltenen Hämolymphe gefüllt, so dass alle Organe von dieser umspült werden. Die Fliege besitzt einen Fettkörper, der als Speicher für die Überwinterung dient, und während der Überwinterung die Körperhöhle zum größten Teil ausfüllen kann.

Die zunächst eher transparente und später cremefarbene Larve von *Musca domestica* ist kopflos und zeichnet sich durch ein schmales Vorderende und ein breiteres Hinterende aus. Sie besitzt 13 Segmente an denen sich Wulste befinden und einen zahn-ähnlichen Haken am Vorderende, die der Fortbewegung dient (Hewitt, 1907, 1908, 1912).

Die Kopulation von Männchen und Weibchen nimmt einen kurzen Moment bis einige Minuten in Anspruch. Bei der Paarung spielen Pheromone eine Rolle (Rogoff *et al.*, 1964; Carlson *et al.*, 1971; Keiding, 1986; WHO, 1991).

Musca domestica ist ovipar. Weibchen benötigen für die Eiproduktion die Aufnahme proteinhaltiger Nahrung (Spiller, 1964). Bevorzugt werden bei der Eiablage in der Brutzeit zwischen Juni und Oktober Pferde- oder Schweinedung, aber auch Dung anderer Tiere und menschliche Fäzes sowie andere organische Substanzen, wie Lebensmittel, Abfälle, Silage und Komposthaufen (Hiepe und Ribbeck, 1982). Die Fliegen legen die Eier dabei tief im Medium ab. Sie kriechen hinein oder nutzen ihr Legerohr (Ovipositor), um die Eier möglichst tief ins Medium zu bringen (Hewitt, 1908). Fliegeneier benötigen Feuchtigkeit um zu überleben. Nur etwa 25% der gelegten Eier entwickeln sich unter natürlichen Bedingungen zur adulten Fliege. Der Rest fällt vorher natürlichen Feinden zum Opfer (WHO, 1991).

1 mm lange, ovale und cremefarbene Eier werden in Paketen von 120-150 Eiern etwa 5-6-mal im Leben einer Fliege gelegt. 8-36 Stunden nach der Eiablage kommt es temperaturabhängig zum Schlupf der 2 mm großen Larven. Bei Temperaturen von 25°C-35°C kommt es innerhalb von 8 Stunden, bei unter 10°C erst nach 2-3 Tagen zum Schlupf. Alle drei Larvenstadien sind negativ phototaktisch. Die erste 1-3 mm lange Larve häutet sich nach 24-36 Stunden. 24 Stunden später häutet sich die Larve des zweiten Larvenstadiums mit einer Länge von 3-5 mm ein weiteres Mal. Das dritte Larvenstadium beginnt. Nach 3-4 Tagen zieht sich die 5-12 mm lange Larve zusammen und die Verpuppung beginnt. Der Vorgang dauert mindestens 6 Stunden. Die ca. 6,3 mm lange Puppe verfärbt sich von gelb über orange nach dunkelbraun. Nach frühestens 5-6 Tagen (Hewitt, 1908), 3-4 Tagen (WHO, 1991) Puppenruhe schlüpft die adulte Fliege (Hewitt, 1908; Keiding, 1986). Dabei drückt die Fliege den vorderen Teil der Puppenhülle mit dem Ptilinum auf. Diese Kopfblase, eine sackartige Struktur, befindet sich am Vorderkopf und wird mit Luft gefüllt und wieder entleert. Sie bildet sich nach 48 Stunden zurück (Hewitt, 1912; Hiepe und Ribbeck, 1982). Die frisch geschlüpfte Fliege härtet aus und entfaltet die Flügel in den nächsten 30-90 Minuten (Keiding, 1986). Während der warmen Jahreszeit der hiesigen Klimazone nimmt die

Gesamtentwicklung 2-3 Wochen in Anspruch (Hiepe und Ribbeck, 1982). Sie kann bei optimalen Temperaturen in 6-8 Tagen abgeschlossen sein. Die Entwicklung stoppt unter 12-13°C, und über 45°C kommt es zum Absterben von Eiern, Larven und Puppen (Keiding, 1986). So können Larven auch nur in den oberen 10-15 cm des Misthaufens überleben, da durch Fermentationsvorgänge im Inneren eine tödliche Wärme für die Fliegenlarven entsteht. Neben der Temperatur und der Feuchtigkeit spielen zudem die Art des Brutmediums und dessen Fermentationsprozesse eine wichtige Rolle bei der Entwicklung der Fliegen (Hewitt, 1909).

Die weibliche Fliege ist nach frühestens 30 Stunden, das Männchen nach 18 Stunden geschlechtsreif. Die Lebenserwartung liegt bei Feldpopulationen zwischen 3-10 Tagen, während im Labor eine Lebenszeit von 3-4 Wochen möglich ist. So können sich pro Jahr je nach Klimazone zwischen 10-30 Generationen entwickeln (Keiding, 1986). In einem Kilogramm Pferdemist können sich 5000-8000, in einem Kilo Schweinemist 15000 Larven entwickeln (Hiepe und Ribbeck, 1982).

Im Oktober-November kommt es zu einer starken Abnahme der Fliegenzahl. Die meisten werden durch den Pilz *Entomophthora muscae* (syn. *Empusa muscae*) getötet. Einige sterben eines natürlichen Todes, andere überwintern in warmen Küchen, Restaurants und Ställen als Adulte oder als Puppe. Sie ziehen sich in dunkle Räume, Ritzen und Spalten zurück, und reduzieren ihre Aktivität. Die Fliege nimmt kein Futter mehr auf und wird erst wieder aktiv, wenn die Umgebungstemperaturen steigen (Hewitt, 1909).

Bei gutem Wetter hält sich *Musca domestica* auch im Freien an sonnigen Stellen auf. Bei Regen, bedecktem Wetter und heißen Temperaturen in der Sonne (30°C) zieht sie sich ins Haus oder den Stall zurück (Hewitt, 1909). Während des Tages sitzen die Fliegen auf den warmen Tieren und deren Umgebung. In der Nacht ziehen sie sich an Decken und höher gelegene Rastplätze zurück, wobei sie es vorziehen kopfüber zu sitzen, bevorzugt an Kabeln, Drähten und vertikalen Objekten. Dabei werden glänzende, lichtreflektierende und weiche Oberflächen vermieden, während raue Oberflächen bevorzugt werden (Keiding, 1986; WHO, 1991).

Musca domestica fliegt mit einer Geschwindigkeit von 6-8 km pro Stunde (Keiding, 1986). Im Allgemeinen entfernen sich Fliegen nicht weiter als 300-400 m von der Brutstätte, dennoch wurde in Freilandexperimenten nachgewiesen, dass sie Entfernungen von 3 km und mehr überwinden können (Kühlhorn, 1961b). Hewitt (1909) wies Flughöhen von bis zu 24 m nach. Auch können sie passiv per Wind, Auto, Boot, Zug oder andere Transportmittel verschleppt werden.

2.1.1.2 *Stomoxys calcitrans* LINNAEUS, 1758

Die Stallfliege oder Wadenstecher, *Stomoxys calcitrans* LINNAEUS, 1758, ist neben *Musca domestica* am häufigsten in Rinderstallungen anzutreffen. Sie besitzt stechend-saugende Mundwerkzeuge, die die Unterscheidung zur äußerlich ähnlichen *Musca domestica* vereinfachen. Beide Geschlechter von *Stomoxys calcitrans* sind Blutsauger. Das Abdomen ist breiter und kürzer als bei *Musca domestica*, so wirkt sie robuster, mit je 3 dunklen Flecken auf dem zweiten und dritten Abdominalsegment. Die Gelege bestehen aus 25-50 Eiern. Sie werden mit Vorliebe ins feuchte Stroh, Mist oder alte Einstreu nicht aber in reinen Kot gelegt. Der Entwicklungszyklus dauert temperaturbedingt ca. 4 Wochen. Die Überwinterung erfolgt vorwiegend im Puppenstadium (Hewitt, 1909).

Weitere Lästlingsinsekten aus der Familie Muscidae befallen hauptsächlich Rinder auf der Weide. Dazu gehören *Musca autumnalis* DE GEER, 1776, die Augen- oder Gesichtsflye. Sie ist der häufigste Schweiß- und Sekreterauger am Rind (Mair *et al.*, 1980). Des Weiteren treten *Hydrotaea irritans* FALLEN, 1823, (Kopf- oder Schweißflye), *Haematobia irritans* LINNAEUS, 1758, (kleine Weidestechflye, Hornflye) und *Haematobia stimulans*, MEIGEN, 1824 auf. *Haematobia irritans* fliegt vor allem an kalten Tagen auch in Ställe (Greenberg, 1971).

2.1.2 Andere Lästlingsinsekten

Fannia canicularis LINNAEUS, 1761, die kleine Stubenflye, ist 5-7 mm lang und schlank, dunkelgrau mit 3 dunklen Längsstreifen auf dem Thorax und hat direkten Bezug zum Stall

und Nutztier. Als Brutmedium nutzt sie Dung unterschiedlicher Haustierarten und faulende pflanzliche Stoffe, sowie Silage. Die Larven sind dorsoventral abgeplattet und mit fadenförmigen Seitenfortsätzen besetzt (Hewitt, 1909; Hiepe und Ribbeck, 1982).

Die Familien der *Tabanidae* (*Tabanus*, *Haematopota*, *Chrysops*), *Culicidae* (Gattung *Culex*, *Anopheles*, *Aedes*) und *Simuliidae* (*Simulium*) spielen aus veterinärmedizinischer Sicht ebenfalls in erster Linie bei Weidetieren eine Rolle. Die Familie der *Ceratopogonidae* (*Culicoides*) ist sowohl im Freiland als auch im Rinderstall anzutreffen. Ihr wird besonders im Hinblick auf die Ausbreitung der Blauzungkrankheit besondere Beachtung geschenkt. So konnten *C. pulicaris*, *C. punctatus*, *C. nubeculosus* und *C. obsoletus* in Rinderställen nachgewiesen werden (Kühlhorn, 1961a; Bauer *et al.*, 2009; Clausen *et al.*, 2009).

Aus der Familie der *Calliphoridae* sind die Gattungen *Calliphora* und *Lucilia* vor allem bei Schafen als Verursacher von Myiasis wichtig. Bei Rindern werden sie nur selten beobachtet. Die Familie der *Sarcophagidae*, die große Dassel­fliege (*Hypoderma bovis*) und die Rinderlausfliege (*Hippobosca variegata*) spielen in Deutschland eine untergeordnete Rolle (Schnieder, 2006).

2.2 Schadwirkung von *Musca domestica*

Stallfliegen gehören als Lästlinge, Ekelerreger und Überträger von Krankheiten in Mitteleuropa zu den wichtigsten Hygieneschädlingen (Groth, 1973). Von mehr als 400 Arten von Krankheitserregern ist bekannt, dass sie vergesellschaftet mit Fliegen vorkommen (Greenberg, 1971, 1973)

Eine umfangreiche Publikation über die Schadwirkung von Dipteren findet sich bei Hewitt (1912), Kühlhorn (1965a) und Greenberg (1973) u.a. Hier soll speziell auf die Schadwirkung von *Musca domestica* eingegangen werden.

2.2.1 *Musca domestica* als Lästlingsinsekt

Die Schadwirkung durch Dipteren, speziell von *Musca domestica*, hängt von der Intensität ihres Auftretens und der damit verbundenen Belästigung von Mensch und Tier ab. Speziell in warmen Sommermonaten kommt es oft zum massenhaften Auftreten von *Musca domestica* -

Populationen in Ställen und einer damit verbundenen Belästigung von Tieren und Stallpersonal. Durch das Umherlaufen auf der Körperoberfläche, Eindringen in Körperöffnungen und Schweiß und Sekreisaugen kommt es zur Beunruhigung der Tiere. Abwehrbewegungen führen zur Unruhe und nicht selten zu Verletzungen. Aus Abwehrbewegungen der Tiere und Konzentrationsmangel des Personals durch Fliegenabwehr kommt es zu erhöhter Unfallgefahr und zu erschwerter Stallarbeit (Hiepe und Ribbeck, 1982; Supperer und Heimbucher, 1982; Betke *et al.*, 1986). Durch den anhaltenden Stress der Tiere kommt es zu Minderwachstum, schlechter Futterverwertung und zu Milchleistungsrückgang (Hiepe und Ribbeck, 1982). Auch kommt es zur verzögerten Wundheilung durch Sekretaufnahme von Fliegen an offenen Wunden. Durch den unterbrochenen Saugakt und das erneute Anfliegen und Saugen der vertriebenen Fliegen steigt die Gefahr der Verschleppung von Krankheitserregern (Kühlhorn, 1965a; Hiepe und Ribbeck, 1982; Ribbeck *et al.*, 1987). Die exakte Bewertung der ökonomischen Verluste ist schwierig, und hängt von der Befallsintensität, der individuellen Leistung der Tiere und anderen Faktoren (u.a. Untersuchungszeitraum, Umwelteinflüsse) ab.

So konnte in Rinderställen ein Rückgang der Milchleistung durch den Einfluss von *Musca domestica* und *Stomoxys calcitrans* um 3,3% bzw. 9,26% festgestellt werden (Freeborn *et al.*, 1925).

Die ständigen Beunruhigungen führen zur Verlangsamung der Gewichtszunahme durch verminderte Fresslust, was ein Zurückbleiben im Wachstum und eine Herabsetzung der Widerstandsfähigkeit beim Nutztvieh nach sich zieht (Kühlhorn, 1965a).

Roesger (1951) zeigte, dass bei 10 von 11 Versuchstieren nach der Bekämpfung der Fliegen eine Zunahme des Durchschnittsfettgehaltes der Milch zwischen 2,47-12,5% festzustellen war. Auch war eine Steigerung der produzierten Milchmenge zu verzeichnen.

2.2.2 *Musca domestica* als Krankheitsüberträger

Musca domestica spielt eine große Rolle in der mechanischen Übertragung von Krankheiten, obwohl sie nicht der Schlüsselvektor bestimmter Krankheiten ist. Ihr Potenzial als Überträger

einer Vielzahl von viralen, bakteriellen oder parasitären Erregern ist beachtlich (Martini, 1952; Greenberg, 1971). Durch ihr Fress- und Brutverhalten und dank ihrer anatomischen Strukturen ist sie in der Lage Krankheitserreger an den feinen Haaren ihres Körpers, am Saugrüssel, an den klebriges Haftsekret abscheidenden Füßen und im Darmtrakt zu verschleppen (Künast, 1981). Vor allem in Regionen, mit unzureichendem Hygienestandard und sanitärer Infrastruktur kommen viele Fliegen vor. Bei Vorhandensein von Exkrementen und anderem infektiösem Material sowie Mülldeponien ist die potentielle Übertragung von Erregern besonders erhöht (WHO, 1991; Howard, 2001). Keine Fliege ist frei von Keimen. Durchschnittlich 1,2 Millionen Keime haften an einer Fliege (Hewitt, 1909, 1912).

Nach Hiepe und Ribbeck (1982) unterscheidet man die Fliege als Zwischenträger, bei dem die Keimentwicklung des Erregers nicht in der Fliege stattfindet (azyklische Übertragung) oder als Zwischenwirt, in dem die Weiterentwicklung und Vermehrung des Erregers stattfindet (zyklische Übertragung).

Seit Beginn des letzten Jahrhunderts gibt es eine Vielzahl an Berichten in der Literatur über die Rolle von *Musca domestica* als potentieller Vektor von humanmedizinisch relevanten Krankheiten wie Typhus, Dysenterien (*Salmonella*, *Shigella*, *E.coli*), Cholera, Anthrax, Tuberkulose und Augeninfektionen (Hewitt, 1909, 1912; Greenberg, 1973; Bidawid *et al.*, 1978; Forsey und Darougar, 1981; Rosef und Kapperud, 1983; Cohen *et al.*, 1991; WHO, 1991; Iwasa *et al.*, 1999; Moriya *et al.*, 1999; Fotedar, 2001; Graczyk *et al.*, 2001; De Jesús *et al.*, 2004; Ugbogu *et al.*, 2006; Förster *et al.*, 2007). Veterinärmedizinisch kommt ihr als potentieller Vektor bei der Verbreitung von Mastitiserregern (Schumann, 1961; Nickerson *et al.*, 1995), Pilzinfektionen (Pinetti *et al.*, 1974; Cafarchia *et al.*, 2009) und Augeninfektionen (Kühlhorn, 1965a) eine große Bedeutung zu.

Schumann (1961) konnte den Mastitis-Erreger *Streptococcus agalactiae* noch bis zu 5 Tage nach einer Infektion mit einem Milch-Erreger-Gemisch im Verdauungstrakt und auch über mehrere Stunden im Kropfinhalt und Kot von Stubenfliegen nachweisen. Eine Virulenzeinbuße des Erregers wurde nicht beobachtet.

Untersuchungen von Nickerson *et al.* (1995) zeigten, dass das Auftreten von Mastitis-Erkrankungen bei adäquater Fliegenbekämpfung geringer war als ohne. Er verglich 5 Herden (3 mit und 2 ohne Fliegenbekämpfungsmaßnahmen). Herden in denen Fliegenbekämpfungsmaßnahmen vorgenommen wurden zeigten einen geringeren Prozentsatz an infizierten Färsen mit *Staphylococcus aureus* und *Streptococcus* sp. (5,6% bzw. 3,7%) als die nicht-behandelten Herden (55,2% bzw. 20,7%).

Pinetti *et al.* (1974) zeigte in Laborversuchen mit Agarplatten die Verschleppung von Pilzsporen durch Fliegen. Cafarchia *et al.* (2009) wies *Microsporium canis* noch 5 Tage nach Aufnahme infizierter Milch an der Körperoberfläche und bis zu 6 Stunden in den Organen von *Musca domestica* nach.

Über den Nachweis von der Aufnahme und Ausscheidung von infektiösen Eiern, Larven und adulten Stadien von Haken-, Band- und Spulwürmern im Darmtrakt oder am Exoskelett von *Musca domestica* wurde zahlreich berichtet (Hewitt, 1909; Dipeolu, 1982; Förster *et al.*, 2009). So untersuchte Förster *et al.* (2009) im Feld gefangene Stubenfliegen. Es gelang der Nachweis von Nematoden als Ei oder Larve (u.a. *Ascaris suum*, *Metastrongylus* sp., *Strongyloides ransomi*, *Strongylida*) am Exoskelett und im Intestinaltrakt. Zudem wurde *Thelazia gulosa* mittels PCR bei *Musca domestica* nachgewiesen (Otranto *et al.*, 2003). Auch über die mögliche Verbreitung von Protozoen wie Toxoplasmen (Kühlhorn, 1983b), *Cryptosporidium parvum* (Graczyk *et al.*, 1999; Clavel *et al.*, 2002) und Giardien (Doiz *et al.*, 2000) wird berichtet. Toxoplasmen konnten in Larven und Puppen, die in infiziertem Katzenkot gezüchtet wurden, nachgewiesen werden. Zudem war *Musca domestica* in der Lage, 24 Stunden nach Kontakt mit infektiösem Katzenkot, Milch mit Toxoplasmen-Oocysten zu kontaminieren (Wallace, 1971).

Experimentelle Untersuchungen von Fliegen als potentielle Überträger von MKS sind beschrieben (Kunike, 1927). Die Rolle von *Musca domestica* als Vektor wird jedoch als eher gering eingeschätzt (Hoffmann und Herrmann, 2002).

Weitere durch Fliegen potentiell übertragbare oder verursachte Erkrankungen sind Q-Fieber (*Coxiella burnetti*) (Hucko, 1984), Infektionen mit *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* (Rosef und Kapperud, 1983) und Myiasis (Amin *et al.*, 1997; Schnur *et al.*, 2009).

2.3 Bekämpfung und Abwehr von Lästlingsinsekten

2.3.1 Hygienemaßnahmen

Wie geschildert spielt *Musca domestica* eine wichtige Rolle in der Verschleppung und Verbreitung von Infektionskrankheiten und als Lästling, wenn die entsprechenden Voraussetzungen gegeben sind. So nimmt auch die Bekämpfung eine immer größere Bedeutung ein. Nur planmäßige, integrierte Bekämpfungsmaßnahmen, die sich sowohl gegen die Imagines als auch gegen die Entwicklungsstadien im Brutsubstrat richten, können Erfolg bringen (Ribbeck *et al.*, 1987).

Entmistungsmanagement ist der Schlüssel einer erfolgreichen Fliegenkontrolle (Kaufman *et al.*, 2005). Wichtig ist die möglichst wöchentliche Beseitigung von Brutmedien, Abfälle, Schmutz und kontagiösem Material. Dadurch gibt es für die Fliegen keinen ausreichenden Zeitraum für eine vollständige Entwicklung. Zudem sind Artbestimmung und Kenntnisse über die Morphologie und Biologie der vorkommenden Spezies wichtig, um eine adäquate Bekämpfung durchführen zu können (Hoffmann, 1987a).

2.3.2 Biologische Verfahren

Resistenzbildung gegenüber Insektiziden lenkt die Aufmerksamkeit auch auf die natürlichen Feinde der Stubenfliege, um hier evtl. eine Alternative oder Ergänzung zur chemischen Bekämpfung zu finden.

Zu den natürlichen Feinden der Stubenfliege gehören u.a. Pilze, Milben, Spinnen, parasitische und räuberische Hautflügler, Käfer, Fliegen und deren Larven sowie Vögel (Kühlhorn, 1983a).

Der Fliegenschimmel, *Empusa muscae* Cohn, 1855, auch *Entomophthora muscae* (Zurek *et al.*, 2002), gehört in die Gruppe der Entomophthoreae und betrifft vor allem die im

Spätsommer und Herbst im Stall vorkommenden Generationen der Stubenfliege (Kühlhorn, 1983a). Er ist der wichtigste biologische Feind von *Musca domestica* und der potenteste im Bezug auf die Zerstörung, die er anrichtet. Andere Fliegen können ebenfalls befallen werden (Hewitt, 1909). Durch die Sporen des Pilzes, der sich im gesamten Körper der Fliege ausbreitet, kommt es zu einer weißen Ringbildung um die toten Fliegen herum. Man findet die Fliegen erstarrt, mit abgespreizten Beinen, tot an Decken oder Fenstern sitzen. Das Abdomen der Fliege ist geschwollen, und zwischen den Segmenten sind die weißen Sporen des Pilzes zu sehen, was die Fliege schwarz-weiß gestreift erscheinen lässt (Hewitt, 1909, 1912; Schweizer, 1947). Der Einsatz von *Empusa muscae* zur Fliegenbekämpfung brachte laut Martini (1952) bis 1952 keine brauchbaren Ergebnisse. Vogel (1968) berichtet von der Herstellung von *Empusa muscae* und der erfolgreichen Verwendung als Fliegenbekämpfungsmittel.

Milben und räuberische Larven einiger Fliegenarten fressen die Eier und Larven I von *Musca domestica* und anderen Fliegen im Stall (Kühlhorn, 1983a). Kühlhorn (1963; 1983a) zeigt aber auch, wie gering die praktische Bedeutung vieler Dipterenfeinde im Stall hinsichtlich einer Dezimierung der Dipteren ist.

Zwar sind Spinnen in der Lage mit ihren Netzen Fliegen zu fangen, und es wurden auch in untersuchten Spinnennetzen Stubenfliegen gefunden. Allerdings sind diese nicht in der Lage, ein hohes Fliegenaufkommen zu dezimieren, ebenso wie Vögel, die zum Fliegenfangen die Stallungen aufsuchen (Kühlhorn, 1963, 1983a).

Sowohl Faltschwespen als auch Schlupfwespen wurden von Kühlhorn (1963) im Stall festgestellt. Schlupfwespen (*Muscidifurax raptor*, *Spalangia* spp.) als Puparien-Parasiten können durch Massenzuchten produziert werden (Klunker, 1982). Ihr Einsatz als erfolgreiches Fliegenbekämpfungsmittel hängt jedoch stark von der Anzahl der freigelassenen Schlupfwespen ab (Coch, 1981).

Durch Ansiedlung des *Musca-domestica*-Antagonisten *Hydrotaea aenescens* (ehemals *Ophyra aenescens*) (Güllefliege bzw. Deponiefliege) kann eine Reduktion von *Musca domestica* erreicht werden. Deren Larven entwickeln sich im gleichen Brutsubstrat wie die

Larven von *Musca domestica*, können diese überwältigen und aussaugen (Müller *et al.*, 1981; Schumann, 1982). (Müller, 1982) zeigte in Laborversuchen, bei denen *Hydrotaea aenescens* und *Musca domestica* im gleichen Brutmedium herangezüchtet wurden, eine Reduktion der Imagines-Schlupfrate bei *Musca domestica* von durchschnittlich 81%, während die Schlupfrate von *Hydrotaea aenescens* durch Anwesenheit von *Musca domestica* im Durchschnitt nur um 2,8% gesenkt wurde.

Als Alternative zu synthetischen Insektiziden beschreiben Gill *et al.* (1992) die mikrobielle Bekämpfung von Insekten mit *Bacillus thuringiensis*. Die gram-positiven Bakterien produzieren während der Sporulation proteinöse Kristalle, die vom Insekt aufgenommen und im Darm aufgelöst werden. Die dabei freigesetzten Endotoxine wirken zerstörend auf die Darmzellen der Insekten. Eine Wirkung auf Larven bezüglich Larvenmortalität, Verpuppungsrate und Schlupfrate wurde ebenfalls nachgewiesen (Tharwat *et al.*, 1995; Labib und Rady, 2001). Wilson und Burns (1968) zeigten, dass auch gegen *Bacillus thuringiensis* Resistenzen bei *Musca domestica* entstehen können.

Versuche, durch Freilassung von sensiblen Fliegenstämmen den Resistenzgrad in Feldstämmen zu reduzieren, wurden sowohl im Labor als auch im Feld erfolgreich durchgeführt (Imai, 1987). Imai (1987) konnte durch Freilassung von 163.000 Fliegenpuppen auf einer Mülldeponie in Japan das Resistenzniveau gegenüber Fenitrothion und Diazinon auf 1/6 und bei weiteren Organophosphaten (Fenthion, Calclofos, Dichlorvos) auf die Hälfte senken.

Die larvizide Wirkung von Ricinus communis- Extrakt wurde nachgewiesen (Alvarez Montes de Oca *et al.*, 1996).

2.3.3 Physikalische Verfahren

Neben der mechanischen Beseitigung von möglichen Brutmedien oder Verhinderung ihrer Ansammlung, durch eine Erhöhung der Güllefließgeschwindigkeit oder durch Verdichtung des Dungstapels und damit einer Erhöhung der Temperaturen im Inneren, bleiben noch andere Verfahren zur Fliegenreduzierung (Ribbeck *et al.*, 1987).

Der Einflug von *Musca domestica* in den Stallbereich kann durch Fliegenschutzgitter (Kühlhorn, 1961b) oder eine geeignete Belüftungstechnik reduziert werden (Kühlhorn, 1965b).

Die Anwendung von Klebefallen (Kaufman *et al.*, 2005), Klebestreifen, UV-Licht-Fallen mit elektrischem Fanggerät kombiniert (Künast, 1981) oder mit Lockstoffen präparierten Fallen (Chapman *et al.*, 1998) ist möglich, jedoch bei Massenbefall unzureichend.

2.3.4 Chemische Verfahren

Die Ausbringung von Insektiziden kann gasförmig (als Begasungs- oder Räuchermittel), in Form von Sprays, Dämpfen oder getränkten Papierstreifen, flüssig, pulverförmig oder als Granulat erfolgen.

Chemisch unterscheidet man zwischen natürlichen und synthetischen Insektiziden. Oft werden Lockstoffe (Sexual- oder Nahrungslockstoffe) zugesetzt, um die Attraktivität des Insektizids für die Fliegen zu erhöhen (Carlson *et al.*, 1971; Weigand und Eggensperger, 1976).

2.3.4.1 Repellentien

Repellentien (lat. repellere „vertreiben“, „zurückstoßen“) sind Substanzen, die ein Aufsitzen oder Stechen von Fliegen und anderen Insekten auf der Körperoberfläche verhindern. Im engeren Sinne werden als Repellentien Wirkstoffe verstanden, die durch ihren Eigengeruch die Lockstoffwirkung von Körpersekreten auf Insekten aufheben und einen abstoßenden Effekt hervorrufen. Zahlreiche Pflanzen enthalten Wirkstoffe, die als Repellentien verwendet werden, u.a. ätherische Öle (Citronellol, Eukalyptusöl, Methanol) und Undecylensäure, die allerdings nur schwache und kurzfristige Wirkung zeigen. Pyrethrumextrakt und Pyrethroide entfalten in niedrigen Dosen, die noch keinen Knock-down-Effekt bewirken, eine abschreckende Wirkung, indem sie eine Reizung von taktilen Elementen in den Extremitäten bewirken („Fuß-Rückzieh-Effekt“) (Löscher *et al.*, 2003; Eckert *et al.*, 2005). Zudem werden Produkte mit repellierender und insektizider Wirkung beim Rind eingesetzt. Ohrmarken (Electron[®], Fort Dodge; Auriplak[®], Virbac Tierarzneimittel GmbH) oder Pour-On Formu-

lierungen (Bayofly Pour-On[®], Bayer Vital GmbH; Latroxin Delta[®], Serumwerke Bernburg, Butox 7,5 pour-on[®]; Intervet Deutschland GmbH) (www.unterallgaeu.de/landratsamt/vet/_documents/blauzungenkrankheit_repellentien.pdf, 2007).

2.3.4.2 Insektizide

Eine chemische Bekämpfung kann nur als unterstützende Maßnahme in Kombination mit einem funktionierenden Hygienemanagement angesehen werden (Betke und Schultka, 1980; Betke *et al.*, 1986; WHO, 1991). Eine erfolgreiche Anwendung von Insektiziden hängt von der Vollständigkeit der Behandlung der Flächen, die von Fliegen aufgesucht werden, von der Beständigkeit des Wirkstoffes und der Empfindlichkeit der Fliegenpopulationen vor Ort ab (Ribbeck *et al.*, 1987). Die Bekämpfung kann sich gegen Larven oder Imagines richten.

Historisch kann man die Insektizide in 3 Generationen einteilen (Heimbucher, 1982). Zur ersten Generation zählen Stoffe, die vor der Entwicklung synthetischer Produkte zum Einsatz kamen. Dies waren i.d.R. anorganische Arsenverbindungen oder fluorhaltige Verbindungen, Schwefel und einige organische Verbindungen, zudem die natürlich vorkommenden Wirkstoffe aus Pflanzen. Seit den 30er Jahren folgte mit der Entdeckung von Phosphorsäureestern, Chlorkohlenwasserstoffen und zu Beginn der 50er Jahre mit den Carbamaten die zweite Generation der Insektizide. Weiterentwicklungen in den 50er Jahren ließen neue Wirkstoffklassen wie Pyrethroide und Insektenwachstumshemmer und damit eine dritte Generation entstehen (Hatch, 1911; Heimbucher, 1982).

2.3.4.2.1 Chlorierte zyklische Kohlenwasserstoffe

Dichlordiphenyltrichlorethan (DDT)

Entdeckt 1939 vom Schweizer Chemiker Paul Müller, tauchte DDT während des 2. Weltkrieges als Insektenbekämpfungsmittel auf. Es wurde zur Behandlung der Brutplätze von Insekten und im Pflanzenschutz verwendet. Als Wunder gefeiert, dauerte es aber nicht lange bis sich die ersten Resistenzen entwickelten (WHO, 1991; Davies *et al.*, 2007). Die Wirkung beruht auf einer Hemmung der Inaktivierung der neuronalen Natriumkanäle, gefolgt von Krämpfen und schließlich Tod. Aufgrund ihrer langen Persistenz in der Umwelt und der

Rückstandsbildung in Lebensmitteln, wurde die Herstellung und Anwendung 1972 in Deutschland untersagt (Frey und Löscher, 2002; Löscher *et al.*, 2003).

2.3.4.2.2 Organische Phosphorsäureester

Organische Phosphorsäureester wirken auf Arthropoden als Kontakt- und Fraßgift, einige flüchtige Verbindungen auch als Atemgifte. Durch die Wirkung kommt es zu einer irreversiblen Hemmung von Acetylcholinesterasen. Eine Störung der neuromuskulären Übertragung mit daraus resultierender Lähmung ist die Folge. Ihre Persistenz in der Umwelt ist gering. Teilweise besteht eine Bienen- und Fischtoxizität. Warmblüter sind im Gegensatz zu den Arthropoden in der Lage kleine Mengen rasch zu entgiften (Löscher *et al.*, 2003). In die Klasse der Organischen Phosphorsäureester, die noch heute in Fliegenbekämpfungsmitteln enthalten sind, gehören Dichlorvos, Chlorpyrifos und Diazinon.

2.3.4.2.3 Carbamate

Ihre Wirkung als Kontakt- Fraß- und Atemgift beruht auf einer reversiblen Hemmung der Acetylcholinesterase, die eine Störung der neuromuskulären Erregungsübertragung bewirkt und so eine Lähmung herbeiführt. Sie besitzen eine niedrigere Warmblütertoxizität als die organischen Phosphorsäureester, sind jedoch ebenso fisch- und bienentoxisch. Die Persistenz in der Umwelt ist gering (Löscher *et al.*, 2003). Zu den Carbamaten gehört u.a. Methomyl (Heimbucher, 1982).

Da moderne Insektizide den Carbamaten und Organophosphaten im Bezug auf Toxizitätsprofile überlegen sind, wird ihre Anwendung zunehmend eingeschränkt (Beckmann und Haack, 2003).

2.3.4.2.4 Pyrethrine / Pyrethroide

Pyrethrine

Schon seit mehr als 100 Jahren sind Extrakte aus Chrysanthemenarten als Insektizide in Gebrauch. Der aus den getrockneten und gemahlene Blüten gewonnene Staub oder der durch organische Lösungsmittel extrahierte Extrakt Pyrethrum besitzt 6 wirksame Verbindungen: Pyrethrin I und II, Jasmolin I und II und Cinerin I und II. Sie wirken auf

Arthropoden als rasche Kontaktgifte mit geringer Toxizität für Warmblüter. Nachteilig sind ihre UV-Empfindlichkeit und somit ihre verkürzte Wirksamkeit. Durch Derivierung können chemisch Nachteile der Instabilität umgangen werden (Heimbucher, 1982; Hitmi *et al.*, 2000; Frey und Löscher, 2002; Davies *et al.*, 2007).

Pyrethroide

Seit 1973 existieren Derivate der Pyrethrine mit höherer Lichtstabilität, geringer Warmblütertoxizität und guter insektizider Wirkung. Chemisch sind die klassischen Pyrethroide Ester der Cyclopropan-carbonsäure.

Ihre Einteilung erfolgt in

Typ I-Pyrethroide:

ohne Substitution am alpha-Kohlenstoff (Tetramethrin, Permethrin, Transfluthrin)

und

Typ II-Pyrethroide:

mit Cyano-Substitution (Cypermethrin, Deltamethrin, Cyfluthrin, Flumethrin)

Pyrethrine und Pyrethroide wirken in erster Linie als Kontaktgifte, entfalten aber auch gewisse Fraßgiftwirkung. Transfluthrin, das auf Grund seiner Flüchtigkeit auch als Atemgift wirkt, ist eine Ausnahme. Der Wirkungsmechanismus beruht auf der Hemmung der Inaktivierung der Na-Kanäle. Daraus resultiert ein permanenter Natriumeinstrom mit der Folge einer Dauerdepolarisation. Es kommt zu einem Zustand abnormaler Übererregbarkeit, einem sublethalen Effekt, der als „knockdown“ (kd) Effekt bezeichnet wird. Initiale Erregungszustände, gefolgt von Koordinationsstörungen und Lähmungen führen letztlich zum Tod.

Typ I Pyrethroide greifen am peripheren Nervensystem an und verursachen bei Kleinnagern einen ausgeprägten Tremor, erhöhte Körpertemperatur und schließlich Erschöpfung (T-Syndrom), während für Typ II Pyrethroide, die im zentralen Nervensystem wirken, Speicheln mit Verminderung der Körpertemperatur, Tremor, klonisch-tonische Krämpfe und finale Choreoathetose (CS-Syndrom) typisch sind. Synergisten wie Piperonylbutoxid (PBO) ohne eigene insektizide Wirkung, hemmen die Esterhydrolyse der Pyrethroide in den Insekten und

führen zu einer Wirkungsverlängerung. Pyrethroide sind fischtoxisch und ebenso toxisch für nützliche Insekten wie Bienen und Marienkäfer (Bisset, 2002; Frey und Löscher, 2002; Beckmann und Haack, 2003; Davies *et al.*, 2007).

2.3.4.2.5 Neonicotinoide

Die Bezeichnung dieser Wirkstoffklasse leitet sich aus der großen wirkmechanistischen Ähnlichkeit dieser neuen Substanzklasse mit Nikotin ab (Beckmann und Haack, 2003). Erste Wirkstoffe dieser Klasse wurden Anfang der 70er Jahre hergestellt (Maienfisch *et al.*, 2001a). Die Wirkung der Neonicotinoide beruht auf der starken Affinität zu den postsynaptischen nicotinergen Acetylcholinrezeptoren (nAChR) im Nervensystem von Insekten (Millar und Denholm, 2007), die eine Hemmung der cholinergen Signalübertragung durch Dauerdepolarisation bewirkt und initial zur Erregung, anschließend zur Paralyse führt (Frey und Löscher, 2002; Löscher *et al.*, 2003). Sie besitzen ein geringes Risiko für Nicht-Zielorganismen und eine große Vielseitigkeit hinsichtlich der Anwendungsmethoden (Jeschke und Nauen, 2008). Momentan befinden sich 7 kommerzielle Neonicotinoide auf dem Markt. Sie werden anhand ihrer chemischen Strukturen und der daraus resultierenden Wirkung in Offenkettige und Ringförmige Moleküle eingeteilt (Jeschke und Nauen, 2008). Eine andere Einteilung erfolgt nach Molekülbestandteilen in Generation I (Chloronicotiny-Molekül) und II (Thianicotiny-Molekül) (Maienfisch *et al.*, 2001b).

Imidacloprid

1991 von Bayer Crop-Science eingeführt, ist es der prominenteste Vertreter der Neonicotinoide (Beckmann und Haack, 2003; Jeschke und Nauen, 2008). Es wirkt selektiv toxisch auf Insekten und für Vertebraten ist es auf Grund der geringen Affinität zu Säuger-Nikotinrezeptoren nur gering toxisch. Imidacloprid wird auch im Pflanzenschutz eingesetzt. Es wirkt bienentoxisch (Frey und Löscher, 2002; Löscher *et al.*, 2003).

Thiamethoxam

Thiamethoxam ist eines der Nachfolgemoleküle von Imidacloprid (Beckmann und Haack, 2003). Es wurde 1991 zum ersten Mal synthetisiert. 1998 folgte die Markteinführung als Saatbeizmittel. Es besitzt kein mutagenes oder teratogenes Potential, geringe Säuger-

Vogel- und Fischtoxizität und neigt nicht zur Rückstandsbildung in der Umwelt. Es ist jedoch bienentoxisch (Maienfisch *et al.*, 2001a; Maienfisch *et al.*, 2001b).

2.3.4.2.6 Spinosyne

Spinosyne werden von dem Strahlenpilz *Saccharopolyspora spinosa* gewonnen. Dabei handelt es sich chemisch um makrozyclische Lactone. Mehr als 25 Spinosyne wurden bisher isoliert und mehrere hundert synthetische Analoga wurden im Labor hergestellt (Huang *et al.*, 2009).

Spinosad

Der Wirkstoff Spinosad ist eine Mischung aus den Naturstoffen Spinosyn A und Spinosyn D, die 1980 aus der Strahlenpilzart *Saccharopolyspora spinosa* isoliert wurde. Die technische Produktion erfolgt durch Fermentation (Beckmann und Haack, 2003). Spinosad ist weit verbreitet in der Kontrolle von landwirtschaftlichen Schädlingen. Es besitzt eine geringe Säuger- und Vogeltoxizität und eine geringe bis mittlere Toxizität für Wasserorganismen (Thompson *et al.*, 2000). Die Persistenz in der Umwelt ist kurz. Es ist weder karzinogen, teratogen, mutagen noch neurotoxisch für Säuger, jedoch hochtoxisch für Bienen (Thompson *et al.*, 2000).

Die Wirkung erfolgt zum einen über eine Bindung an nicotinergen Acetylcholinrezeptoren (nAChR), zum anderen über GABA-Rezeptoren (Millar und Denholm, 2007).

2.3.4.2.7 Insektenwachstumsregulatoren (IWR)

In die Gruppe der IWRs werden die Chitinsynthesehemmer, Juvenilhormonagonisten und Häutungshormonagonisten gezählt (Tunaz und Uygun, 2004). Sie beeinflussen durch ihre Wirkungsmechanismen die präadulten Entwicklungsstadien wie Larven bzw. Puppenstadien. IWRs besitzen eine geringe Warmblütertoxizität, da Warmblütern der spezifische Angriffspunkt fehlt (Löscher *et al.*, 2003).

Chitinsynthesehemmer

Bei den meisten Hemmstoffen der Chitinsynthese handelt es sich um Benzoylphenyl-Harnstoffe (Triflumuron, Diflubenzuron, Flufenoxuron und Lufenuron). Zudem kommt das zu den Triazinderivaten gehörende Cyromazin zum Einsatz. Chitinsynthesehemmer werden zum einen unter den Mist oder in die Gülle gemischt. Sie beeinflussen während der Larvenstadien die Biosynthese von Chitin und die anschließende epidermale Einlagerung von Chitin in die neue Cuticula (Außenhaut). So sterben die Larven ab, da der Häutungsprozess nicht vollzogen werden kann (Frey und Löscher, 2002; Beckmann und Haack, 2003).

Zudem besteht die Möglichkeit der oralen Larvizidapplikation. Cyromazin wird in den USA und Brasilien als „feed-through“ auf Geflügelbetrieben angewendet (Pinto und do Prado, 2001; Vazirianzadeh *et al.*, 2007). Diflubenzuron wird als Bolus bei Rindern in den USA verabreicht. Der ausgeschiedene Kot enthält den Wirkstoff und verhindert die Larvenentwicklung von Fliegen (Frey und Löscher, 2002). Wright *et al.* (1975) erreichte mit der Gabe von 1 mg/kg Diflubenzuron (in Pellets) bei Nashörnern eine vollständige Inhibition des Fliegenschlupfes im Kot der Tiere. Howard und Wall (1995) zeigten, dass die Aufnahme einer Triflumuron-Zuckerlösung bei adulten Fliegen zur Verminderung der Schlupfrate der gelegten Eier führt.

Häutungshormon und Juvenilhormon

Synthetische Juvenoide (z.B. Pyriproxifen) imitieren die Aktivität des natürlichen Juvenilhormons. Diese ist essentiell für das Larvenwachstum und wirkt dem für die Reifung und Verpuppung verantwortlichen Häutungshormon (Ecdyson) entgegen. So unterdrücken sie die Entwicklung zum Imago (Frey und Löscher, 2002). Auch künstliche Mimetika des Häutungshormons können zur Schädlingsbekämpfung eingesetzt werden. Sie bewirken eine verfrühte Häutung, was zum Absterben der Larven führt (Beckmann und Haack, 2003).

2.4 Resistenzentwicklung

Resistenzen bei Dipteren sind in vielen Teilen der Welt ein großes Problem geworden.

Der Einsatz von Insektiziden führt in den betroffenen Populationen zu einem Selektionsdruck. Es überleben nur Individuen mit bestimmten Eigenschaften.

2.4.1 Resistenzdefinition

Nach der (WHO, 1957) wird Resistenz definiert, als die Fähigkeit eines Fliegenstammes Dosen eines Giftstoffes zu tolerieren, die bei der Mehrheit der Individuen eines sensiblen Stammes derselben Spezies zum Tode führt.

Es besteht begründeter Verdacht auf eine Resistenz, wenn die Bekämpfung mit Insektiziden im Feld nicht mehr adäquat funktioniert, obwohl dies in der Vergangenheit der Fall war (Beckmann und Haack, 2003). Bei der Resistenz handelt es sich um eine signifikante, genetische Veränderung auf molekularer oder biochemischer Ebene oder im Verhalten von Insekten als Folge der Selektion durch Insektizide, die die Kontrolle im Feld einschränken können (Robertson *et al.*, 2007).

Man unterscheidet mehrere Typen der Resistenzen. Bezieht sich die Resistenz nur auf einen Wirkstoff, dann handelt es sich um eine „Einzelresistenz“. Bei mehreren Wirkstoffen auf eine „Mehrfachresistenz“. Hier unterscheidet man die „Gruppenresistenz“, bei der die Wirkstoffe einer chemischen Gruppe angehören, von der Kreuzresistenz, bei der die Wirkstoffe unterschiedlichen Wirkstoffklassen zugehörig sind (Künast, 1981).

2.4.2 Resistenzmechanismen

Die Mechanismen, die einer Resistenz zugrunde liegen, werden nach Miller (1988) in vier Kategorien eingeteilt:

Verhaltensresistenz:

Das Insekt meidet aufgrund von Verhaltensänderungen den Kontakt mit dem Insektizid.

Penetrationsresistenz:

Das Exoskelett des Insekts verändert sich so, dass ein höherer Penetrationswiderstand vorhanden ist. Das Insektizid gelangt langsamer in den Körper von resistenten Insekten.

Resistenz durch Unempfindlichkeit der Angriffspunkte:

Die Angriffspunkte des Insektizids werden durch genetische Mutationen so verändert, dass die Bindung des Insektizids verhindert oder minimiert wird, und sich die Wirkung nicht oder nicht vollständig entfalten kann.

Metabolische Resistenz:

Durch eine Überproduktion oder Umgestaltung des katalytischen Zentrums der Enzyme verändert sich der Stoffwechsel des Insekts, so dass durch einen schnelleren enzymatischen Abbau ungiftige Metabolite entstehen, die ausgeschieden werden können.

Exkretionsresistenz:

Dabei ist die Ausscheidungsrate des Insektizids durch das Insekt erhöht.

Die häufigsten Mechanismen der Resistenzbildung sind im Allgemeinen die metabolische Entgiftung (Detoxifikation) und die Unempfindlichkeit der Angriffspunkte (Miller, 1988; WHO und Hemingway, 1998).

Die Resistenz ist auf die Erzeugung modifizierte Enzyme unter dem Einfluss mutierender Gene zurückzuführen (Oppenoorth, 1965).

Hauptsächlich sind 3 Systeme der Detoxifikation von Insektiziden von Bedeutung (Terriere, 1984):

Mikrosomale Oxidasen:

Die am endoplasmatischen Retikulum befindlichen Enzyme sind in der Lage lipophile Moleküle durch Einfügen eines Sauerstoffatoms einer schnelleren Exkretion zuzuführen. Die Reaktionen laufen unter Mithilfe von Cytochrom P-450 ab.

Glutation-S-Transferasen:

Sie spielen bei der Metabolisierung von Organophosphaten und DDT eine Rolle.

Carboxylesterasen:

Sie sind am Abbau von Carbamaten, organischen Phosphorsäureestern, Pyrethroiden Juvenoiden und ihren Analoga beteiligt (Terriere, 1984).

2.4.3 Resistenzgene

Bei ausgeprägten Resistenzen von *Musca domestica* spielen einige Resistenzgene eine Rolle. Dazu gehören u.a.:

Reduzierte Penetration (pen)

Das auf dem Chromosom III lokalisierte Gen bedingt eine Reduzierung der Penetration des Insektizids durch die Cuticula des Insekts. *pen* selbst bedingt eine leichte Resistenz, die mit dem Zusammenwirken anderer Resistenzgene eine 50-100fache Resistenz erreicht.

Knockdown-Resistenz (kdr)

Knockdown-Resistenzen wurden erstmals von (Busvine, 1951) beschrieben. Dieses Resistenzgen befindet sich ebenfalls auf dem Chromosom III und ist für die Knockdown-Resistenz bei DDT und seinen Analoga, sowie bei Pyrethrinen und deren synthetischen Analoga verantwortlich. Dabei wird zwischen einer Low-Level-Resistenz (*kdr*) und High-Level-Resistenz (*super-kdr*) unterschieden. Die Empfindlichkeit der Na-Kanäle für die Insektizide wird herabgesetzt (Vais *et al.*, 2001).

Acetylcholinesterase-Resistenz (AChE-R)

Dieses auf Chromosom II lokalisierte Gen ist verantwortlich für eine Modifikation der Acetylcholinesterase, dem Angriffspunkt für Organophosphate und Carbamate. Es resultiert eine Unempfindlichkeit des Angriffspunktes.

Dieldrin-Resistenz (Dld-r)

Es handelt sich um ein auf Chromosom IV lokalisiertes Gen, das Resistenzen gegen Dieldrin und andere organische Chlorverbindungen verursacht.

DDT-dehydrochlorinase-Resistenz (Deh)

Das auf Chromosom II lokalisierte Gen kontrolliert die DDT-dehydrochlorinase (DDT-ase), die Resistenzen gegen DDT und Tetrachlordiphenylethan (TDE) entstehen lässt.

Carboxyesterase und Gluthathion-S-Transferase-Resistenz (a und gst)

Die Gene *a* und *gst* auf Chromosom II sind ebenfalls für Detoxifikation von Organophosphaten verantwortlich (Sawicki, 1973; Plapp, 1986).

Spinosad-Resistenz ist eine rezessive Eigenschaft, vermutlich durch eine Veränderung des Angriffspunktes für Spinosad, kodiert von einem Gen auf Chromosom I (Shono und Scott, 2003). Kreuzresistenzen zwischen Spinosad und anderen Insektiziden (eingeschlossen dabei auch die über nicotinerge Acetylcholin- und GABA- Rezeptoren wirkende Insektizide) wurden nicht berichtet (Scott, 1998; Shono und Scott, 2003; Millar und Denholm, 2007). Durch seine einzigartigen Wirkungsmechanismen scheint Spinosad von Veränderungen an Angriffspunkten anderer Insektizide unbeeinflusst zu sein, und nicht zu Kreuzresistenzen zu führen (Shono und Scott, 2003). Abbau von Neonicotinoiden durch Cytochrom P450 unterstützte Monooxygenasen wird nicht als primärer Mechanismus angenommen, vielmehr eine Zielrezeptormodifikation. Im Verhältnis zu anderen Insektiziden sind Resistenzen bei Neonicotinoiden jedoch weniger verbreitet (Millar und Denholm, 2007).

Resistenzen gegen Juvenoide entstehen durch Reduzierung der Penetration, erhöhten Metabolismus und schnellere Exkretion (Hammock *et al.*, 1977).

2.4.4 Vorkommen von Resistenzen bei *Musca domestica*

Keiding (1999) gibt einen Überblick über die Resistenzprüfung und den weltweiten Resistenzstatus der unterschiedlichen Insektizidklassen. Systematisches Monitoring von Resistenzen mit entsprechenden Mengen von Testpopulationen und dazugehörigen Informationen zum Insektizideinsatz ist nur aus Dänemark, Großbritannien, Bulgarien, Ungarn, der ehemaligen DDR, dem Gebiet der ehemaligen Tschechoslowakei und China bekannt. Andere Studien sind weniger flächendeckend durchgeführt worden.

Resistenzen bei *Musca domestica* wurden nicht nur gegen chlorierte Kohlenwasserstoffe, Organophosphate, Carbamate und Pyrethroide beobachtet. Auch kommen in einigen Fällen Resistenzen bei Insektenwachstumsregulatoren und Neonicotinoiden vor. Künast zeigte (1980a), dass trotz Einsatzpause von DDT oder anderen chlorierten Kohlenwasserstoffen eine DDT-Resistenz, wenn auch in unterschiedlicher Höhe (Resistenzquotienten zwischen 2 und 30), vorhanden war. 2 von 18 Stämmen zeigten eine hohe Resistenz (Resistenzquotient

über 100) gegenüber Lindan, bei den restlichen Stämmen lag der Quotient zwischen 2 und 20.

Des Weiteren wies Künast (1980b) mittels topikaler Applikation bei allen 8 untersuchten Feldstämmen Resistenzen gegenüber unterschiedlichen Organophosphaten (u.a. Dichlorvos) nach. Resistenzen gegenüber Permethrin wiesen Scott *et al.* (2000) in Geflügelbetrieben nach. Mehr als die Hälfte der 8 untersuchten Feldstämme zeigte eine Überlebensrate von mehr als 50% bei der 3fachen LC_{99} . Auch zeigten 2 Stämme über 35% Überlebensrate bei der 100fachen LC_{99} . Resistenzen gegenüber Pyrethrinen waren weit verbreitet bei der LC_{99} -Dosis und 3fachen LC_{99} , jedoch nicht bei höheren Dosen.

Scott *et al.* (2000) beobachteten bei einem Fliegenstamm ein hohes Resistenzniveau für Methomyl (20% Überlebensrate bei 100facher LC_{99}), 2 Stämme zeigten ein geringes Resistenzniveau (< 30% Überlebensrate bei LC_{99}). Imidacloprid zeigte im Fütterungsversuch eine 19-fach geringere Toxizität als Thiamethoxam. Bei 10 von 10 Feldstämmen wurde eine 12-130mal höhere LC_{50} als beim sensiblen Referenzstamm beobachtet (Kristensen und Jespersen, 2008).

Pinto und do Prado (2001) testeten 5 Feldstämme im Larvizidtest, mit Cyromazin-behandeltem Medium. 3 von 5 Stämmen waren resistent.

2 von 21 Feldstämmen zeigten im Larvizidversuch einen sehr hohen Resistenzgrad in ihrer Reaktion auf Diflubenzuron und Triflumuron (Kristensen und Jespersen, 2003).

Zudem wird von Kreuzresistenzen zwischen Organophosphaten und Carbamaten berichtet (WHO, 1980). Von Kreuzresistenzen bei Stämmen gegenüber Juvenoiden, die Resistenzen gegenüber anderen Insektiziden zeigen, wurde berichtet (Vinson und Plapp, 1974; WHO, 1980). Kristensen und Jespersen (2008) wiesen durch Vergleich der LD_{50} Werte im Fütterungsversuch mit Imidacloprid und Thiamethoxam eine Kreuzresistenz gegen beide Stoffe nach.

Shono und Scott (2003) gelang es im Labor innerhalb von 10 Generationen einen hoch-resistenten Stamm gegen Spinosad zu züchten. Vorkommen von Resistenzen gegen Spinosad bei anderen Insekten wurden beschrieben (Millar und Denholm, 2007). Kristensen

und Jespersen (2004) zeigten, dass keine wirkliche Kreuzresistenz gegen Spinosad bei Fliegen vorhanden ist, die resistent gegen konventionelle Insektizide sind (Kristensen und Jespersen, 2004).

2.4.5 Methoden der Resistenzbestimmung

2.4.5.1 *In vivo*-Methoden

Die Methode der Resistenzprüfung besteht im Fang von Feldpopulationen, die dann möglichst in der F1-Generation im Labor auf Resistenzen getestet werden. Als Kontrollstamm dienen Laborstämme, die mit oder ohne Selektion auf Insektizide für mehrere Generationen gehalten und gezüchtet werden. Dabei sind möglichst konstante Testbedingungen wichtig. Diese betreffen besonders Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Licht, Futter, Geschlecht und Gewicht der Fliegen, Betäubungsmethode sowie Arbeitsmaterial (Keiding, 1999).

Oft werden Synergisten eingesetzt, die die enzymatischen Prozesse bei der Resistenz behindern, um einen Zusammenhang von Resistenzen und enzymatischem Abbau zu demonstrieren (Price, 1991).

2.4.5.1.1 Einsatz von Adulten

Die meisten Tests werden mit der von der WHO als Standardmethode anerkannten (WHO, 1980) topikalen Applikation ausgeführt, bei der eine Serie von Konzentrationen des Insektizids auf den dorsalen Thorax mithilfe einer Pipette aufgebracht wird. Als Lösungsmittel wird Aceton oder das weniger flüchtige Butanon verwendet. Die applizierte Menge variiert zwischen 0,3 und 1 µl pro Fliege. Dabei wird entweder mit mehreren Dosen der LD₅₀ Wert ermittelt oder mit der „Discriminating-Dose“-Methode gearbeitet. Der LD₅₀ Wert gibt die letale Dosis an, bei der 50 % der getesteten Insekten sterben. Bei der „Discriminating-Dose“-Methode wird mit einer Einzeldosis gearbeitet, die die sensiblen Individuen einer Population zu einem sehr hohen Prozentsatz abtötet, die resistenten Individuen jedoch nicht (Robertson *et al.*, 2007). Weitere Methoden sind mit Insektizid behandelte Gefäße, in denen die Fliegen für 24 Stunden gehalten werden, um die Mortalität zu messen, oder mit Insektiziden

behandelte Filterpapiere, denen die Fliegen exponiert werden. Eine weitere Methode ist die „Fütterungsmethode“, bei der Zucker mit Insektizidlösung imprägniert wird. Die Mortalität der Fliegen wird in Bechern untersucht, die Wasser und präparierten Zucker enthalten (Keiding, 1999).

2.4.5.1.2 Einsatz von Larven

Larvizidtests werden mit frisch gelegten Fliegeneiern durchgeführt (alternativ: unterschiedliche Larvenstadien (Keiding, 1999)), die auf ein mit dem zu testenden Larvizid behandeltes Medium gegeben werden. Dabei wird das Medium mit unterschiedlichen Konzentrationsstufen behandelt und in Plastikbecher gefüllt. Etwa 25-50 Eiern werden auf ein feuchtes, schwarzes Filterpapier überführt, das auf die Oberfläche des Mediums gelegt wird, um nach 2 Tagen die Schlupfrate der Larven kontrollieren zu können. Nach 3 Wochen werden die geschlüpften adulten Fliegen gezählt (Kristensen und Jespersen, 2003).

Cerf und Georghiou (1974) verwendeten das 3. Larvenstadium für die topikale Applikation von Insektenwachstumsregulatoren.

2.4.5.2 *In vitro*-Methoden

2.4.5.2.1 Nachweis von Enzymen und Genen

Zum Nachweis von Enzymen, die an Resistenzmechanismen beteiligt sind, werden verschiedene Methoden angewendet. Biochemische Methoden mit Mikrotiterplatten oder immunologische Methoden mit Antikörpern, Immunelektrophorese oder PCR kommen zum Einsatz. Mit Hilfe radioaktiver Indikatoren kann die Penetration von Insektiziden verfolgt werden (Devonshire, 1973; Price, 1991; WHO und Hemingway, 1998). Die Aktivität und Inhibition von DDT-ase wurde mit Hilfe der Gaschromatographie nachgewiesen (Oppenoorth, 1965).

2.4.6 Verhinderung der Resistenzbildung

Das Vorkommen von Resistenz hängt davon ab, ob und welche Insektizide in der Region zum Einsatz kamen, von der Einsatzhäufigkeit, der Einsatzdauer, der Dosierung, der

Applikationsmethode und der Biozidausbringung. Um Resistenzbildung zu verhindern oder zu verzögern sollten u.a. folgende Maßnahmen beachtet werden (Hoffmann, 1987b):

- Anwendung von Kombinationspräparaten, die Wirkstoffe mit unterschiedlichen Wirkungsmechanismen enthalten
- Jeder Wirkstoff der Kombination sollte in tödlicher Dosis verwendet werden (Vermeidung sublethaler Dosen)
- Verwendung nicht-persistierender Wirkstoffe
- Auswahl langsam selektionierender Wirkstoffe
- Aussetzung der chemischen Bekämpfung, u.a. durch Einsatz alternativer Bekämpfungsmethoden (biologische oder physikalisch-mechanisch)
- Beschränkung auf saisonale Populationshöhepunkte, Unterlassung großflächiger Anwendung desselben Mittels

Der Einsatz von Insektiziden sollte nach dem Motto: „So viel wie nötig, so wenig wie möglich“ erfolgen (WHO, 1991). Eine intensive Nutzung von Insektiziden steigert die Resistenzentwicklung. Eine Rotation der applizierten Wirkstoffe bewirkt ein relativ geringeres Resistenzniveau, obwohl diese Strategie dauerhaft nicht vor Resistenzentwicklung schützen kann (Kocisova *et al.*, 2002).

Um eine effiziente chemische Bekämpfung gewährleisten zu können, muss die Resistenzlage der Fliegen bekannt sein. Von Stall zu Stall ist mit verschiedenen Resistenzsituationen zu rechnen. Die Resistenzbildung ist als dynamischer Prozess zu sehen, dessen Ausbildung sich innerhalb weniger Jahre ändern kann. Bei Feststellung einer Resistenz ist das Mittel oder Verfahren zu wechseln.

Eine Erhöhung der Anwendungskonzentration, Aufwandmenge oder Applikationsfrequenz sind kein geeignetes Mittel einer Resistenzentwicklung entgegen zu wirken, sondern können vielmehr zu einer Vergiftung von Menschen und Nutztieren führen (Künast, 1980a; WHO, 1980; Hoffmann, 1987b; Ribbeck *et al.*, 1987).

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Material und Methoden

3.1.1 Versuchsplanung

Von Juni bis August 2008 wurden im ersten Abschnitt der Studie 60 Milchviehanlagen in der Region Brandenburg aufgesucht, um die Wirksamkeit von 4 verschiedenen Insektiziden gegenüber Fliegen mit 2 unterschiedlichen Testmethoden vor Ort zu testen (Tabelle 1). Zudem wurden Informationen zum Insektizideinsatz, zur Bestandsgröße und Haltungsform gewonnen.

Tabelle 1: Übersicht über die im Feldversuch in Brandenburg im Sommer 2008 eingesetzten Insektizide und die verwendeten Testmethoden

Handelsname	Wirkstoff	Wirkstoffklasse	Testmethode
Netz*	Deltamethrin	Pyrethroide	FlyBox [®] -Test
SPY [®]	Spinosad	Spinosyne	Fütterungstest
Quickbayt [®]	Imidacloprid	Neonicotinoide	Fütterungstest
Agita [®]	Thiamethoxam	Neonicotinoide	Fütterungstest

*mit Deltamethrin imprägniertes Netz aus Polyestergarn (100mg/m²) der Firma Vestergaard-Frandsen (Lausanne/Schweiz)

Im weiteren Verlauf der Studie wurden von September bis November 2008 Fliegen von 15 Betrieben, auf denen sich die Fliegen auffällig im Feldversuch verhielten, mit weiteren Wirkstoffen im Labor untersucht (Tabelle 2).

Tabelle 2: Übersicht über die im Laborversuch 2008 eingesetzten Insektizide und verwendeten Testmethoden

Handelsname	Wirkstoff	Wirkstoffklasse	Testmethode
Rohstoff	λ -Cyhalothrin	Pyrethroide	Topikale Applikation
Neporex [®]	Cyromazin	IWR (Insektenwachstumsregulatoren)	Larvizidtest
Baycidal [®]	Triflumuron	IWR (Insektenwachstumsregulatoren)	Larvizidtest
Quickbayt [®]	Imidacloprid	Neonicotinoide	Fütterungstest
Agita [®]	Thiamethoxam	Neonicotinoide	Fütterungstest

Zum einen kamen die Larvizide Cyromazin und Triflumuron zum Einsatz, um ihre Wirksamkeit als Larvizid zu untersuchen. Des Weiteren wurde λ -Cyhalothrin als Kontaktinsektizid verwendet und geprüft. Die Wirksamkeit von Thiamethoxam und Imidacloprid sollte in Fütterungsversuchen mit längerer Expositionszeit als im Feldversuch erneut getestet werden.

3.1.2 Felduntersuchungen

3.1.2.1 Auswahl der Betriebe für die Feldstudie

Im Frühjahr 2008 wurden anhand einer vom Landeskontrollverband (LKV) veröffentlichten Liste der 150 besten Milchviehbetriebe (nach Milch- und Qualitätsleistung) in Brandenburg (Stand 2006) 60 Betriebe für den ersten Teil der Studie ermittelt (Abbildung 1). Nach Anruf der gelisteten Betriebe kamen sie bei Zustimmung der Betriebsleiter in die Auswahl für die Untersuchungen. Einschlusskriterien für die Studie waren eine Herdengröße von mindestens 50 Milchkühen und eine vorherige Nutzung von Insektiziden im Betrieb. Die untersuchten Betriebe lagen in den Landkreisen Teltow-Fläming, Ostprignitz-Ruppin, Oberhavel, Barnim, Havelland, Märkisch-Oderland, Oder-Spree, Dahme-Spreewald und Potsdam-Mittelmark. Betriebe der Landkreise Prignitz, Uckermark, Spree-Neiße, Ober-Spreewald-Lausitz und Elbe-Elster wurden aufgrund ihrer großen Distanz nicht miteinbezogen. Jeder Betrieb bekam

für die Studie die jeweilige Abkürzung des Landkreises und eine Nummer als Kennzeichnung.

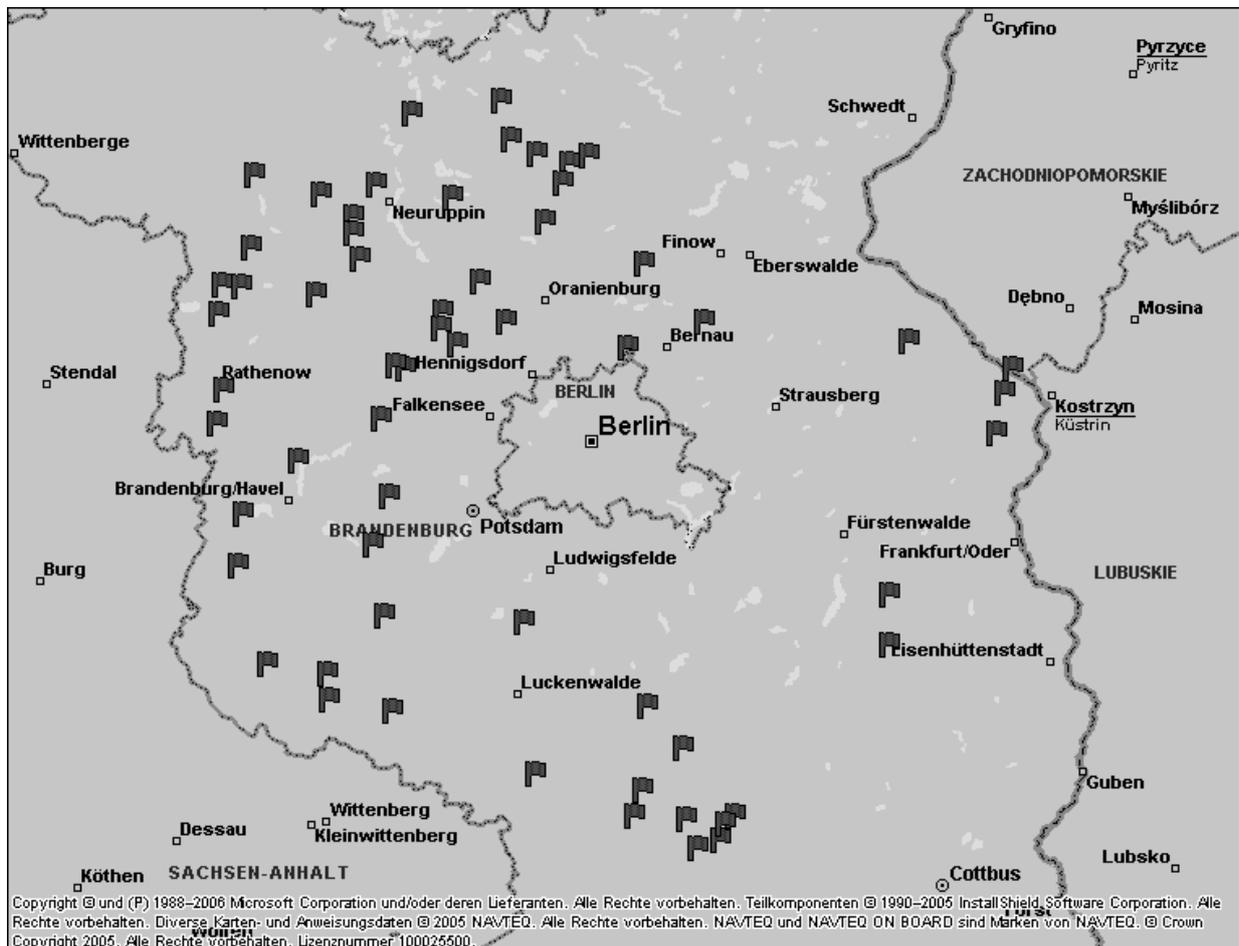


Abbildung 1: Standorte der 60 Untersuchungsbetriebe für die Feldstudie, durchgeführt von Juni bis August 2008 in Brandenburg

3.1.2.2 Fragebogenerhebung

Beim Besuch vor Ort wurden Informationen zum Insektizideinsatz erhoben. Interviews ermöglichten die Sammlung von Daten zum Einsatz der verschiedenen Wirkstoffe, Zeitraum und Häufigkeit der Anwendung, um einen Überblick über die Insektizidbekämpfung zu erhalten. Auch Angaben zur Bestandsgröße und Haltungsform wurden aufgenommen (Fragebogen im Anhang).

3.1.2.3 Ermittlung der Deltamethrin-Resistenz mit der FlyBox[®]-Methode

Bei der Ermittlung des Verhaltens der Fliegen gegenüber Deltamethrin kam die FlyBox[®] zum Einsatz. Die Testmethode wurde von Dr. Burkhard Bauer, Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin der Freien Universität Berlin entwickelt und über die Freie Universität Berlin (Profund) als Patent angemeldet.

3.1.2.3.1 FlyBox[®]

Die FlyBox[®] besteht aus einer Stanzverpackung, 1.30 E-Welle braun der Firma FAPACK (Berlin), und wurde nach dem Grundriss in Abbildung 2 gefertigt.

Mit Hilfe von Falzlinien lässt sie sich zu einer Schachtel falten. In zusammengefaltetem Zustand hat sie die Maße H 5cm x L 18cm x B 8cm (Abbildung 2). Eine kleine Lasche an einem Ende ermöglicht den Transfer von Insekten mit Hilfe eines Reagenzglases. Nach Aufklappen des anderen Endes können die Insekten freigelassen werden (Abbildung 3). Die FlyBox[®] wird für die Testversuche mit einem insektizidbehandelten Netzstoff ausgekleidet (Abbildung 4).

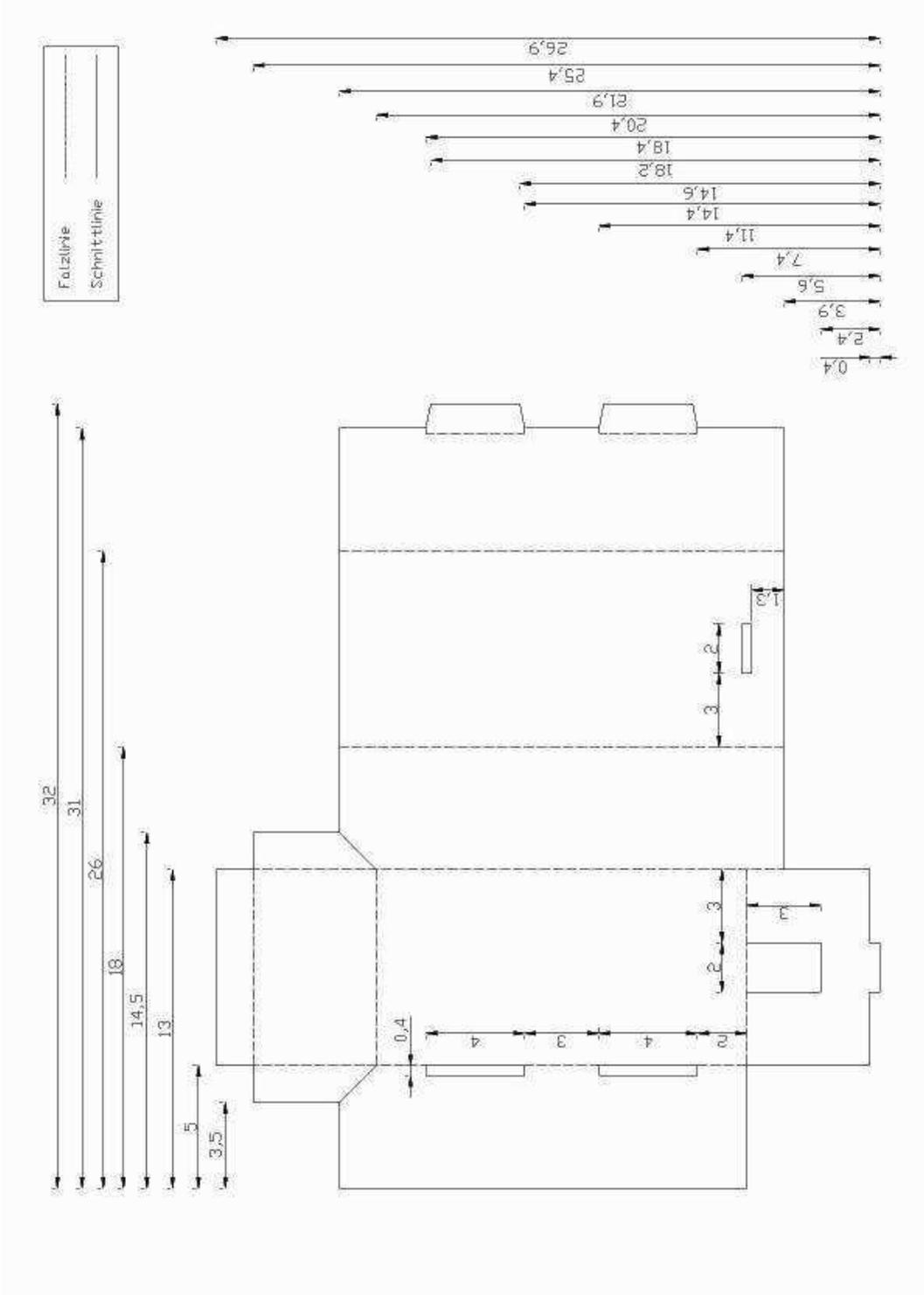


Abbildung 2: Grundriss zur Fertigung der FlyBox®

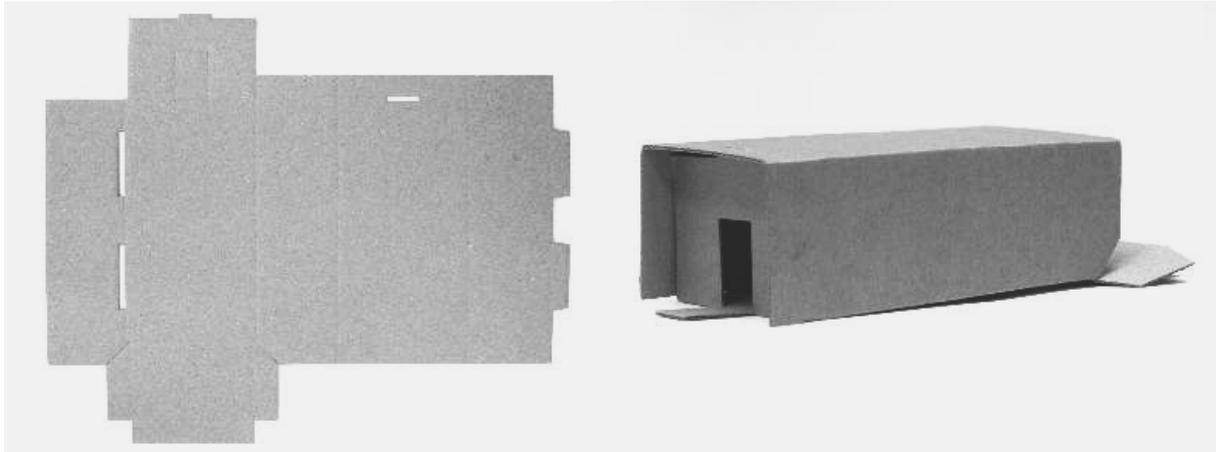


Abbildung 3: Die FlyBox® in ungefaltetem und gefaltetem Zustand

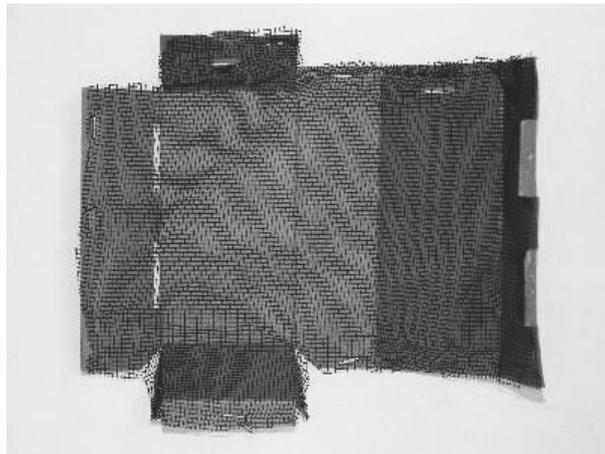


Abbildung 4: Die mit insektizidbehandeltem Netz ausgekleidete FlyBox®

Das in der Studie verwendete Netz der Firma Vestergaard-Frandsen (Lausanne/Schweiz) war schwarzes, mit Deltamethrin (100 mg/m^2) imprägniertes Polyestergarn. Aufgrund der hohen UV-Empfindlichkeit von Deltamethrin enthielt es einen UV-Schutzfaktor, der im Produktionsprozess hinzugefügt wurde. Die Maschenweite betrug $2 \times 1 \text{ mm}$. Das Netz wurde auf die Größe der FlyBox® zurechtgeschnitten, und mit Heftklammern so an der Box befestigt, dass die zusammengefaltete Box innen vollständig mit Netzmaterial ausgekleidet war.

Eine Neubespannung der FlyBox[®] erfolgte während ihres Einsatzes alle 4 Wochen. Die Wirksamkeit des Netzes wurde zu Beginn und am Ende des Untersuchungszeitraumes mit sensiblen und resistenten Fliegen überprüft.

Die Beobachtungskäfige, die im weiteren Studienverlauf auch als Zuchtkäfige zum Einsatz kamen, und die perforierte Folie wurden nach einer Vorlage aus dem *Department of Integrated Pest Management, Lyngby, Dänemark* gefertigt.

Die Firma ATH Service GmbH, Dormagen, stellte die Käfige aus Edelstahl 1.4301 her. Ein Käfig besteht aus einer Bodenplatte (140 mm x 300 mm) und 2 Drahtbügeln (D= 280 mm). Die Folie, die über diese Konstruktion gezogen wird, besteht aus perforierter Plastikfolie mit den Maßen 48 x 90 cm (Abbildung 5).

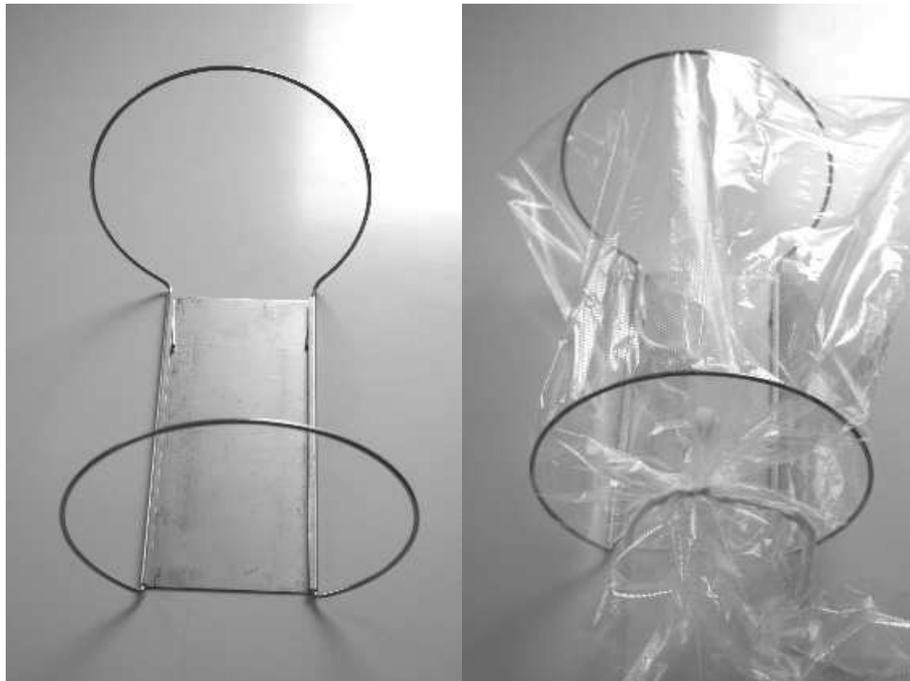


Abbildung 5: Beobachtungs- und Zuchtkäfig mit und ohne Folienüberzug für den FlyBox[®]- und Fütterungstest

Jeder Beobachtungskäfig wurde für die Versuche mit Futter (Zuckerwürfel) in kleinen Petrischalen und Wasser in kleinen Reagenzgläsern mit Zellwattestopfen ausgestattet.

3.1.2.3.2 Versuchsdurchführung

Zur Ermittlung der Deltamethrin-Empfindlichkeit wurden mit einem Kescher in den Ställen mindestens 20 Fliegen gefangen und in einem Reagenzglas gesammelt. Anschließend wurden sie in die FlyBox[®] überführt. In der vollkommen geschlossenen und dunklen Box setzen sich die Fliegen auf das Netz und kamen so mit dem Insektizid in Kontakt. Nach einer Expositionszeit von 10 Sekunden wurden sie in die vorbereiteten Beobachtungskäfige entlassen, um nach 1, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 Minuten sowie 24 Stunden den Anteil paralysierter bzw. abgetöteter Fliegen zu bestimmen.

3.1.2.4 Ermittlung der Spinosad-, Thiamethoxam- und Imidaclopridresistenzen

Zur Ermittlung der Empfindlichkeit gegenüber Spinosad, Thiamethoxam und Imidacloprid kam die Fütterungsmethode (Farm Hygiene Products Laboratory, Novartis Animal Health, Basel, Schweiz IDL 891) in modifizierter Form zur Anwendung.

3.1.2.4.1 Versuchsaufbau

Für den Test wurden Feinkost-Klarsicht-Verpackungsbecher mit einem Volumen von 500 ml verwendet (Abbildung 6), deren Deckel ein mit einem Messer geschnittene Kreuzöffnung mit den Maßen 2 x 2 cm enthielt, um das Überführen der Fliegen in den Becher zu ermöglichen. Durch das Zurückfedern der entstandenen Laschen wurde ein Entkommen der Fliegen verhindert. In den Becher wurden 0,5 g des zu testenden Handelsproduktes in einer kleinen Petrischale hinein gegeben. Es kamen folgende Insektizide zum Einsatz (Tabelle 3):

Tabelle 3: Eingesetzte Insektizide zur Ermittlung der Insektizidempfindlichkeit von *Musca domestica* im Fütterungstest auf 60 Betrieben im Juni bis August 2008 in Brandenburg

Wirkstoff	Handelsname	Firma	Firmensitz
Imidacloprid	Quickbayt [®]	Bayer Vital GmbH	Leverkusen
Thiamethoxam	Agita [®] 1 GB	Novartis Animal Health Inc.	Basel
Spinosad	Spy [®] 1 GB	Novartis Animal Health Inc.	Basel

3.1.2.4.2 Versuchsdurchführung

Die im Feld mit einem Kescher gefangenen Fliegen (mindestens 20 Stück) wurden zunächst mit einem Reagenzglas in die Verpackungsbecher mit dem enthaltenen Insektizid überführt (Abbildung 6). Nach 1, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 Minuten wurden die paralysierten Fliegen gezählt. Nach 60 Minuten wurden die noch flugfähigen Fliegen in die Beobachtungskäfige entlassen. Die Überführung paralysierter Fliegen erfolgte mit einer feinen Pinzette. Nach 24 Stunden wurde erneut die Paralyse der Fliegen protokolliert. Als Beobachtungskäfige wurden die bereits im FlyBox[®]-Versuch beschriebenen Edelstahlkäfige verwendet. Wasser und Zucker erhielten die Fliegen *ad libitum*.



Abbildung 6: Überführen der Fliegen in den mit Insektizid befüllten Testbecher beim Fütterungstest

3.1.3 Laboruntersuchungen

3.1.3.1 Auswahl der Höfe für die Laboruntersuchungen

Anhand der ausgewerteten Ergebnisse aus dem Feldversuch wurden 15 Höfe für weitere Untersuchungen ausgewählt (Abbildung 7). Kriterium für die Auswahl der Betriebe war die geringe Wirksamkeit der in den Vorversuchen eingesetzten Insektizide gegenüber den gefangenen Fliegen.



Abbildung 7: Standorte der 15 Untersuchungsbetriebe für die weiterführenden Laboruntersuchungen, September bis November 2008, in Brandenburg.

3.1.3.2 Feldstämme

Für die weiterführenden Untersuchungen im Labor wurden die 15 ausgewählten Betriebe im September 2008 erneut angefahren, und vor Ort die entsprechenden Fliegenstämme gefangen. Sie wurden, wie auch schon in den Feldversuchen, mit einem Kescher gefangen und per Reagenzglas in die Fliegenkäfige überführt. Pro Hof wurden dabei 200-500 Fliegen gefangen. Sie wurden im Labor in Berlin zur Erhaltung der Stämme weitergezüchtet.

3.1.3.3 Referenzstämme

Als Referenzstämme in den Laborversuchen dienen:

Fliegenstamm „WHO/I susceptible“: Ursprünglich aus Pavia (Italy) von der WHO (World Health Organisation). Er wird weltweit als Referenzstamm eingesetzt. Seit den 80er Jahren

in Zucht gehalten von Novartis FHP Laboratory (Farm Hygiene Products Laboratory, Novartis Animal Health, Basel, Schweiz).

Fliegenstamm „Spechbach“: Ursprünglich vom FHP in Spechbach Le Haut in Frankreich im September 2003 isoliert und seit dem im Labor gehalten. Resistenzen gegen Organophosphate: Azamethiphos (IDL 751 FHP Laboratory, Novartis Animal Health, Basel, Schweiz), Pyrethroide: λ -Cyhalothrin (IDL 751 FHP Laboratory, Novartis Animal Health, Basel, Schweiz), Dieldrin (IDL 793 FHP Laboratory, Novartis Animal Health, Basel, Schweiz), Indoles (IDL 774 FHP Laboratory, Novartis Animal Health, Basel, Schweiz) und Fipronil (IDL 824 FHP Laboratory, Novartis Animal Health, Basel, Schweiz) sind beschrieben.

Fliegenstamm „Selbitz“: Ursprünglich aus Selbitz, Sachsen-Anhalt. Im Juli 2007 auf dem Betrieb vor Ort isoliert und seitdem im Labor gehalten (Freie Universität Berlin, Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin). Resistenzen gegen Pyrethrum wurden mit der topikalen Applikation nachgewiesen (Eigene Untersuchungen – Protokoll vom 10.09.2007 in Zusammenarbeit mit dem Umweltbundesamt).

3.1.3.4 Fliegenzucht

Die Fliegenzucht mit den Referenzstämmen und den Feldstämmen wurde in den Räumen der Freien Universität, Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin durchgeführt.

3.1.3.4.1 Zuchtraum

Im Zuchtraum wurden die Fliegen in den Zuchtkäfigen bei eingestellten und regulierten Temperaturen von 22-24°C und natürlichem Tageslicht gehalten.

3.1.3.4.2 Zuchtkäfige

Als Zuchtkäfige dienten die auch schon im Feldversuch eingesetzten Käfige. Über die Edelstahlkonstruktion wurde ein Beutel aus perforierter Plastikfolie gezogen und mit einer Mullbinde zugebunden (Abbildung 5). Jeder Käfig war mit Futter und Wasser ausgestattet.

3.1.3.4.3 Zuchtfutter und Zuchtmedium

Das Zuchtfutter wurde in Plastikbechern bereitgestellt und bestand aus 71% Zucker, 21% Milchpulver und 8% Eipulver (AH 6.41 F.J. Gfeller 2003, Novartis Animal Health, Basel, Schweiz). Die empfohlenen Mineralsalze wurden nicht eingesetzt. Das Futter wurde je nach Bedarf regelmäßig nachgefüllt.

Mit Wasser gefüllte Plastikbecher sorgten für ständige Wasserversorgung. Eine Erneuerung der Wasserbecher fand alle 2-3 Tage statt.

Das Zuchtmedium, das sowohl für die Zucht als auch für die Larvizidtests benutzt wurde, bestand aus gleichen Anteilen Luzerne und Weizenkleie. Auf 500 g Luzerne/Weizenkleie-Gemisch wurden 30 g frische Hefe und 1,5 Liter lauwarmes Wasser gegeben. Alles wurde in Plastikeimern gut vermengt. Der Mischung wurden 3 Tage Fermentationszeit gegeben, in der der Deckel leicht geöffnet blieb. Es wurde täglich gerührt. Nach 3 Tagen wurde die Fermentation durch das Verschließen des Deckels beendet (AH 6.41 F.J. Gfeller 2003, Novartis Animal Health, Basel, Schweiz). Zum Schutz gegen das Eindringen von Fliegen und der unerwünschten Eiablage wurden die Eimer mit Schlauchverband abgedeckt und zusätzlich in die perforierten Plastikbeutel, die sonst als Käfigüberzug Verwendung fanden, gegeben.

3.1.3.4.4 Nachzucht

Für die Nachzucht eines Fliegenstammes wurde ein Plastikbecher mit Zuchtmedium gefüllt, und für etwa 3 Stunden in den Zuchtkäfig gestellt. Die abgelegten Eier wurden dann in einen bis zur Hälfte mit Medium gefüllten 3,5 Liter Eimer überführt, mit Geschirrhandtüchern abgedeckt und bei 22-24°C gelagert. Das Medium wurde täglich mit einem Holzspatel umgerührt. Sobald die Larven verpuppt waren, wurden die Puppen mit lauwarmem Wasser ausgewaschen, und anschließend mit Sägespänen zur Abtrocknung vermengt.

Eine Plastikschaale wurde mit den Puppen befüllt und zum Schlupf in einen der vorbereiteten Zuchtkäfige gestellt. Jeder Käfig hatte eine Kennzeichnung, die eine Abkürzung für den Hof und die jeweilige Generation beinhaltet.

3.1.3.5 Topikale Applikation

3.1.3.5.1 Versuchsaufbau / Vorbereitung

Für die topikale Applikation wurde mit dem elektronischen Pipettiersystem EDOS 5222 (Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Wesseling-Berzdorf) gearbeitet (Abbildung 8). Der Dosiergriff des Gerätes wurde an einem Stativ befestigt und ein Fußschalter verwendet, um ein Arbeiten mit zwei Händen zu ermöglichen. Zur Evaluierung von λ -Cyhalothrin wurde eine Verdünnungsreihe mit den Konzentrationen 2560, 640, 160, 40, 10 und 2,5 ng/1 μ l hergestellt. 2560 ng auf 1 μ l entsprechen einem Ansatz von 0,0256 g auf 10 ml. Da für den Versuch weniger als 10 ml ausreichend waren, wurde die Stammlösung auf 2 ml berechnet. Also $0,0256 \text{ g} / 5 = 0,00512 \text{ g}$. Auf Grund des Reinheitsgrades von λ -Cyhalothrin von nicht ganz 100% (99,3%) wurde auf 0,0052 g abgewogen.

Zur Herstellung der Stammlösung wurden zunächst 0,0052 g λ -Cyhalothrin mit Hilfe einer Analysewaage (OHAUS®, Nänikon, Schweiz) abgewogen und in einem Teströhrchen in 2 ml Aceton vollständig gelöst. Aus dieser Stammlösung wurde eine Verdünnungsreihe im Verhältnis 1:4 mit Aceton mit den Konzentrationen 640, 160, 40, 10, 2,5 ng/1 μ l hergestellt. Als Kontrolle wurde reines Aceton verwendet.

Die für das hier angewendete „Discriminating-Dose“-Verfahren verwendeten Konzentrationsstufen wurden von Novartis Animal Health, Basel, Schweiz (IDL 725 FHP Laboratory) übernommen.

3.1.3.5.2 Versuchsdurchführung

Für den Versuch wurden 3-7 Tage alte Fliegen des zu untersuchenden Stammes aus dem Zuchtkäfig mit dem Reagenzglas gefangen, und auf Eis immobilisiert. Anschließend wurden die immobilisierten Fliegen in Männchen und Weibchen sortiert. Für jede Konzentrationsstufe kamen 3 mit Mullbinde verschlossene Reagenzgläser mit je 10 weiblichen Fliegen zur Anwendung. Nach einer Ruhepause von etwa 2 Stunden wurden die Fliegen für die topikale Applikation erneut immobilisiert. Anschließend wurden die Fliegen vom Reagenzglas in eine

Petrischale gegeben und pro Fliege 1 μl des Aceton-Insektizidgemisches mit dem Pipettiersystem auf den dorsalen Thorax der Fliege aufgebracht (Abbildung 9).



Abbildung 8: Arbeiten mit dem Pipettiersystem EDOS 5222 bei der topikalen Applikation



Abbildung 9: Topikale Applikation auf den dorsalen Thorax der Fliege mit λ -Cyhalothrin

Die Fliegen wurden anschließend zur Beobachtung in Plastikbecher überführt. Die seitlich perforierten Becher waren mit Zucker und Wasser ausgestattet, und wurden mit einer Petrischale abgedeckt (Abbildung 10). Die Becher verblieben bei 22°C im Labor. Die Bewertung der Mortalität fand nach 24 und 48 Stunden statt. Flugunfähige oder auf der Seite oder dem Rücken liegende Fliegen wurden als „tot“ gewertet.



Abbildung 10: Beobachtungsbecher für die topikale Applikation, ausgestattet mit Futter und Wasser

3.1.3.6 Fütterungstests

Im Fütterungstest wurden die überwiegend als Fraßgifte wirksamen Handelsprodukte Agita[®] (Thiamethoxam) und Quickbayt[®] (Imidacloprid) noch einmal getestet. Die Expositionsdauer war hier auf 48 h verlängert worden, um eine bessere Aufnahme des Insektizids zu gewährleisten. Die bei der topikalen Applikation aussortierten Männchen, wurden für den Fütterungstest verwendet, um eine einheitliche Versuchspopulation zu erhalten. Dazu waren 3 Becher mit je 0,5 g der Substanz in einer kleinen Petrischale und Wasser im kleinen Reagenzglas vorbereitet worden. Zusätzlich wurde ein Becher mit Wasser und Zucker als Kontrolle bereitgestellt. Jeweils 20 männliche Fliegen wurden pro Becher eingesetzt (Abbildung 11). Nach 1, 3, 6, 24 und 48 Stunden wurde die Mortalität protokolliert.



Abbildung 11: Testbecher mit Wasser und Insektizid (obere Reihe Agita[®], untere Reihe Quickbayt[®], jeweils mit Kontrolle rechts) für die Versuchsreihe der Fütterungsmethode

3.1.3.7 Larvizidtests

Zur Überprüfung der entwicklungshemmenden Wirkung von Cyromazin und Triflumuron auf Larven von *Musca domestica* wurden Fliegeneier auf ein insektizidbehandeltes Medium überführt und 3 Wochen später die Anzahl der entwickelten Fliegen gezählt.

3.1.3.7.1 Medium

Das Medium für die Larvizidtests war nach der vorher beschriebenen Rezeptur für das Zuchtmedium (1.1.3.4.3) zubereitet worden. Nach Vermischung von 270 g Medium mit 30 ml der entsprechenden Larvizidlösung in einer Edelstahlschüssel wurden pro Konzentrationsstufe jeweils 3 Becher mit 75 g Medium gefüllt und mit dem Boden eines zweiten Bechers leicht angedrückt.

3.1.3.7.2 Insektizidlösungen

3.1.3.7.2.1 Neporex[®] 2SG (Wirkstoff: Cyromazin)

Von dem Handelsprodukt Neporex[®] wurde eine Verdünnungsreihe hergestellt. Für die Konzentration der Stammlösung mit 480 ppm Cyromazin in Lösung bzw. 24000 ppm Neporex[®] wurden 4800 mg Neporex[®] in 200 ml Wasser gelöst. Das entspricht 24mg Neporex[®]/ml oder 0,48 mg Cyromazin/ml, da das Handelprodukt Neporex[®] nur 2% des

Wirkstoffes Cyromazin enthält. 0,48 mg Cyromazin/ml entspricht 480 ppm, da 1 ppm definiert ist als 1mg/1000ml. Von der Stammlösung mit 480 ppm wird eine Verdünnungsreihe im Verhältnis 1:4 mit Wasser hergestellt. Jeweils 25 ml Lösung und 75 ml Wasser wurden für die jeweilige Konzentrationsstufe vermischt. So erhält man die Konzentrationsstufen 120, 30, und 7,5 ppm Cyromazin in Lösung. Von jeder der hergestellten Konzentrationslösungen wurden jeweils 30 ml mit 270 g Medium vermischt. Das entspricht einem Mischverhältnis von 1:10, so dass die Konzentrationen im Medium die Abstufungen 48, 12, 3, und 0,75 ppm Cyromazin ergaben. Die Konzentrationen für das auch hier verwendete „Discriminating-Dose“-Verfahren wurden von Novartis Animal Health, Basel, Schweiz (IDL 745 FHP Laboratory) übernommen.

3.1.3.7.2 Baycidal® (Wirkstoff: Triflumuron)

Auch für das Handelsprodukt Baycidal® wurde eine Verdünnungsreihe hergestellt. Für die Konzentration 1280, 320, 80 und 20 ppm Triflumuron in Lösung wurde vorab eine Stammlösung aus 1024 mg Baycidal® und 200 ml Wasser angerührt. Das entspricht 5,12 mg/ml Baycidal® oder 1,28 mg/ml Triflumuron, da das Handelsprodukt Baycidal® nur 25% des Wirkstoffes Triflumuron enthält. 1,28 mg/ml Triflumuron entspricht 1280 ppm in Lösung, da 1 ppm 1mg/1000ml entspricht. Von der Stammlösung mit 1280 ppm Triflumuron in Lösung wurde eine Verdünnungsreihe im Verhältnis 1:4 mit Wasser hergestellt. Dazu wurden 25 ml der Lösung und 75 ml Wasser vermischt. Hatte man die Verdünnungsreihe mit 320, 80 und 20 ppm in Lösung hergestellt, wurden jeweils 30 ml Lösung zu 270 g Medium gegeben, um die entsprechenden Konzentrationen von 128, 32, 8 und 2 ppm im Medium zu erhalten.

3.1.3.7.3 Gewinnung von Fliegeneiern

Zur Eigewinnung wurde morgens ein Plastikbecher mit Medium in den Fliegenkäfig gestellt und nach einigen Stunden mit den darauf gelegten Eiern entfernt. Mit einer feinen Pinzette wurden die Eipakete vorsichtig dem Medium entnommen, und in eine mit schwarzem, angefeuchtetem Filterpapier ausgelegte Petrischale gelegt (Abbildung 12).



Abbildung 12: Eipakete von *Musca domestica* auf dem befeuchteten Filterpapier bei der Vorbereitung im Larvizidtest

Mit einem feinen Pinsel wurden je 50 Eier unter dem Mikroskop auf zugeschnittenes, schwarzes Filterpapier mit den Maßen 1,5 x 1,5 cm aufgebracht. Je ein Filterpapier wurde auf das insektizidbehandelte Medium in den vorbereiteten Bechern gelegt (Abbildung 13).



Abbildung 13: Insektizidbehandeltes Medium im Becher mit 50 Fliegeneiern auf schwarzem Filterpapier im Larvizidtest

Pro Konzentrationsstufe wurden 3 Becher bestückt. Dazu kamen noch 3 Kontrollbecher, in denen das Medium lediglich mit Wasserlösung versetzt worden war. Eine Petrischalenhälfte

wurde mit einem Loch (Durchmesser 1,5 cm) versehen und mit dem Wassersprüher befeuchtet, um im Becher eine für die Entwicklung erforderliche Feuchtigkeit aufrechtzuerhalten. Anschließend wurde die Petrischalenhälfte als Deckel auf den Becher gegeben. Das Loch wurde zum Schutz gegen eindringende Fliegen mit einem Urinbecherdeckel geschützt, der mit einer 2x2 cm großen Öffnung versehen ist, über die ein Gitter geklebt wurde (Abbildung 14). Er diente zusätzlich als Schutz gegen das Eindringen von Fliegen in den Becher.

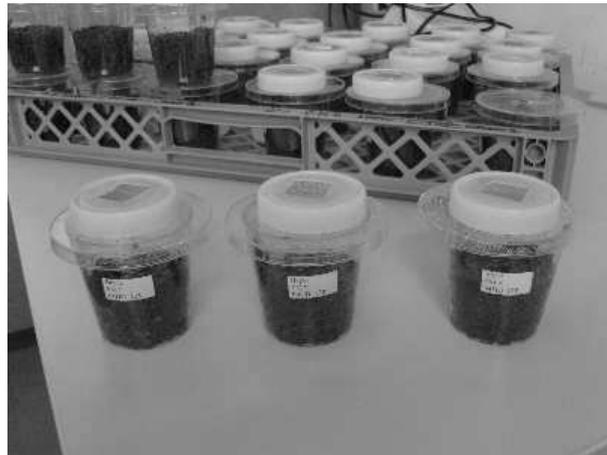


Abbildung 14: Testbecher mit dem insektizidbehandeltem Medium und Deckeln mit Gitternetz gegen das Eindringen von Fliegen

3.1.3.7.4 Auszählung der Insekten

Nach 2 Tagen wurden die geschlüpften Larven anhand der auf dem Filter verbliebenen Eihüllen ermittelt (Abbildung 15).

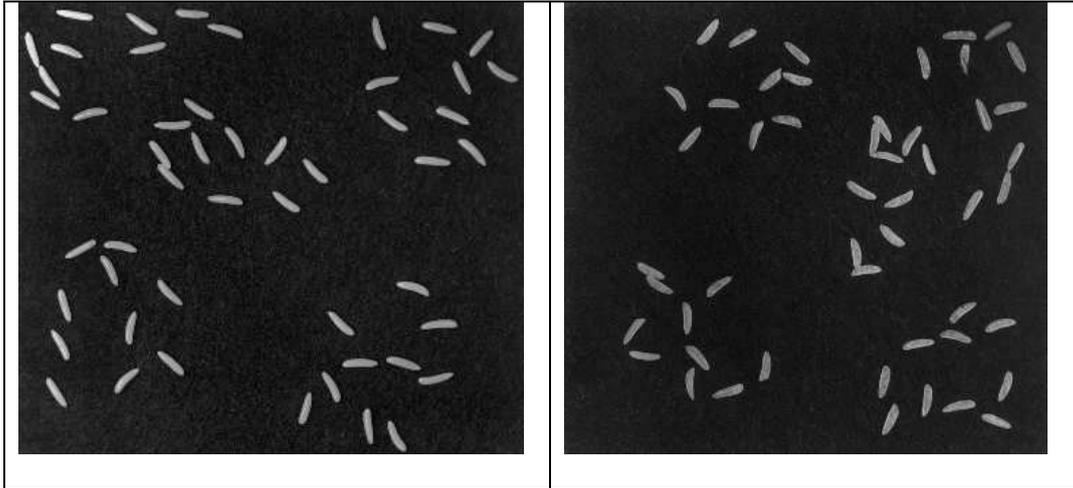


Abbildung 15: Filterpapier mit 50 Fliegeneiern vor dem Schlupf (links); leere Eihüllen nach 2 Tagen (rechts) im Larvizidtest

Das Medium wurde anschließend mit einer 1 cm dicken Sägespäneschicht abgedeckt, und wieder mit den Deckeln geschützt, um ein Austrocknen des Mediums zu verhindern. Nach 3 Wochen wurden die geschlüpften Fliegen gezählt.

3.1.4 Beurteilung der Ergebnisse

Zur besseren Interpretation der Testergebnisse dieser Studie wurde die Bewertung der WHO (WHO, 1998) für Resistenztests zugrunde gelegt. Laut WHO spricht man bei einer Mortalität zwischen 100-98% der getesteten Fliegen von insektizidsensiblen Stämmen, bei einer Mortalität von unter 80% wird von Resistenzen ausgegangen. Eine Mortalität von 80-97% deutet auf einen Verdacht auf Resistenzen hin, der durch genauere Untersuchungen erhärtet werden müsste.

3.1.5 Verwendete Insektizide, Verbrauchsmaterialien und Laborgeräte

3.1.5.1 Insektizide

Agita [®] 400 g	Novartis Animal Health Inc, Basel
Spy [®] 400 g	Novartis Animal Health Inc, Basel
Quickbayt [®] , Stallfliegenköder 350 g	Bayer Vital GmbH , Leverkusen
Baycidal [®] , Spritzpulver 250 g	Bayer Vital GmbH , Leverkusen
Neporex [®] 2SG, 1 kg	Novartis Animal Health Inc, Basel
Lambda-Cyhalothrin	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Reinstoff, 100 mg Art.nr.34325	

3.1.5.2 Einwegartikel

Stanzverpackung, 1.30 E-Welle braun	FAPACK, Berlin
Netzstoff	Vestergaard Frandsen, Lausanne, Schweiz
Beutel OPP-COEX, 20 µm	Maag GmbH, Iserlohn
- Flammperforation: 1500x0,80 mm	
- Ränder 0,00 mm Format: 480x900 mm	
Würfelzucker, 1000 g	Penny Markt GmbH, Köln
Petrischalen mit Nocken, 35 Mm/10	Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe
Petrischalen mit Nocken, 94 mm/16	Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe
Rotilabo Reagenzgläser, 11x70 mm	Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe
Zellwattestopfen, 12/8 mm	Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe
Mullbinden, 10cm+4m No.304135/4	Paul Hartmann AG, Heidenheim
Feinkost-Verpackungsbecher mit Deckel, 500 ml	pack2go, Sülzetal/Langenweddingen
Raffinade-Zucker, 1000 g	Diamant-Zucker KG, Könnern
Kaffeelöffel Plastik	pack2go, Sülzetal/Langenweddingen
Handschuhe Rotiprotect [®] -Latex	Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe

Verpackungsbecher Kunststoff klar rund 250 ml	Krings&Schuh OHG , Giengen/Brenz
Urinbecher mit Schraubdeckel	Heiland Vet GmbH, Hamburg
Eipulver	Hersteller unbekannt
Milchaustauschfutter für Ferkel	H.Wilhelm Schaumann GmbH, Pinneberg
Luzerne	Fa. Maaß, Trebbin
Weizenkleie	J.Ruckdeschel & Söhne, Berlin
Hefe	Hersteller unbekannt
Schlauchverband	Miro Verbandstoffe, Wiehl-Drabenderhöhe
Holzmundspatel	Heiland Vet GmbH, Hamburg
180 ml Joghurtbecher	semadeni (europe)ag, Ostermundigen, Schweiz
Einwegspritzen 20 ml	Heiland Vet GmbH, Hamburg
Gaze / Metallnetz	Hersteller unbekannt
Etiketten DIN A4	Staples, Brüssel, Belgien
Filterpapier	Mecherey-Nagel GmbH&Co.KG, Düren
Sterican® Kanülen 0,90x70 mm	B. Braun Melsungen AG, Melsungen
Safe Seal Tips professional 100 µl	Biozym Scientific GmbH, Hessisch Oldendorf
Pipettenspitzen 1000 µl	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Wesseling-Berzdorf
Safe-Seal Reagiergefäße 2 ml	Sarstedt, Nümbrecht
Goldspan-Sägespäne für Versuchstierhaltung	J. Ruckdeschel & Söhne, Berlin
Heftklammern No.10	Herlitz PBS AG, Berlin

3.1.5.3 Mehrwegartikel

Rotilabo-Reagenzgläser 16x160 mm - Borosilikatglas 5.1 Bördelrand	Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe
Edelstahlkäfige	ATH GmbH Service, Dormagen

Eigene Untersuchungen

Pinzetten	Fiebig Lehrmittel, Berlin
Teppichmesser	modulor GmbH, Berlin
Kunststoffeimer rund mit Deckel 291x310 mm Vol.15 l	Auer GmbH, Amerang
Kunststoffeimer rund mit Deckel 200x177 mm Vol. 3,8 l	Auer GmbH, Amerang
Kunststoffeimer rund mit Deckel 200x139 mm Vol. 3l	Auer GmbH, Amerang
Eurobehälter vergittert, grau, 60x40x7,5 cm	Auer GmbH, Amerang
Schüssel Edelstahl 8,3 Liter	Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe
Messzylinder 100 ml aus DURAN®	Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe
Glasstäbe 15 mm	Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe
Pinsel	neoLab Migge Laborbedarf-Vertriebs GmbH, Heidelberg
Wasserzerstäuber	Firma Eldiro Schlutz, Emsdetten
Mikro-Spatel, Stahl 4mm Blattbreite	Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe
Insektenfangnetz	Fiebig Lehrmittel, Berlin

3.1.5.4 Geräte

Waage Sartorius portable PT 120	Sartorius AG , Göttingen
Waage Sartorius U 5000D - **AZ6	Sartorius AG , Göttingen
Stereo-Mikroskop	Carl Zeiss AG, Oberkochen
EDOS 5222 elektronisches Dosiersystem mit Fußschalter	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Wesseling-Berzdorf
Combitips plus Standard 0,1 ml für EDOS 5222	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Wesseling-Berzdorf

Pipette Research, 1000 µl	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Wesseling-Berzdorf
Pipette Research, 10-100 µl	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Wesseling-Berzdorf
Discovery-Halbmikroanalysenwaage DV215CDM, Kapazität 81 g/210 g, Ablesbarkeit 0,01 mg/0,1 mg	OHAUS®, Nänikon, Schweiz

3.1.5.5 Computerprogramme

Microsoft® Excel 2002	Microsoft Deutschland GmbH, Unterschleißheim
-----------------------	--

4 Ergebnisse

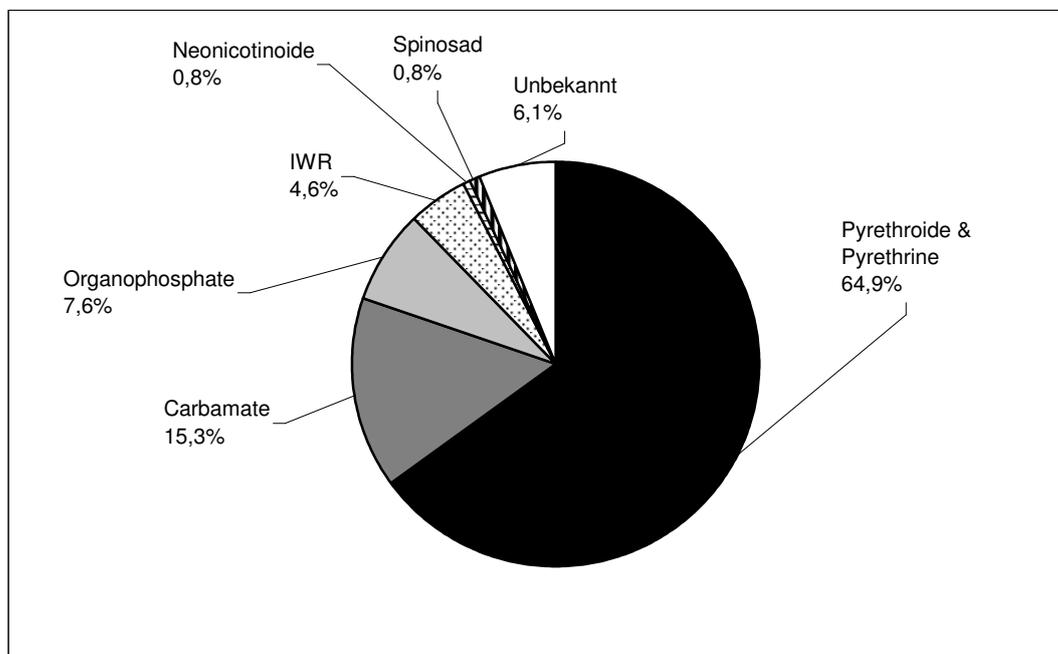
4.1 Felduntersuchungen

4.1.1 Fragebogenauswertung

4.1.1.1 Insektizideinsatz

In den untersuchten Betrieben in Brandenburg wurden Insektizide der Wirkstoffklassen Pyrethroide/Pyrethrine, Organophosphate, Carbamate, Neonicotinoide, Spinosyne und „Insektenwachstumsregulatoren“ (IWRs) eingesetzt.

Der überwiegende Anteil der eingesetzten Insektizidklassen war mit 64,9% Vertreter der Wirkstoffklasse Pyrethroide/Pyrethrine, gefolgt von Carbamaten mit 15,3% und Organophosphaten mit 7,6%. Die Gruppe der IWRs hatte einen Anteil von 4,6%. Die noch relativ jungen Stoffklassen, wie Neonicotinoide und Spinosyne, fanden unter 1% Anwendung. 6,1% der eingesetzten Mittel konnten auf Grund von Mangel an Spezifikationen nicht zugeordnet werden (Grafik 1).



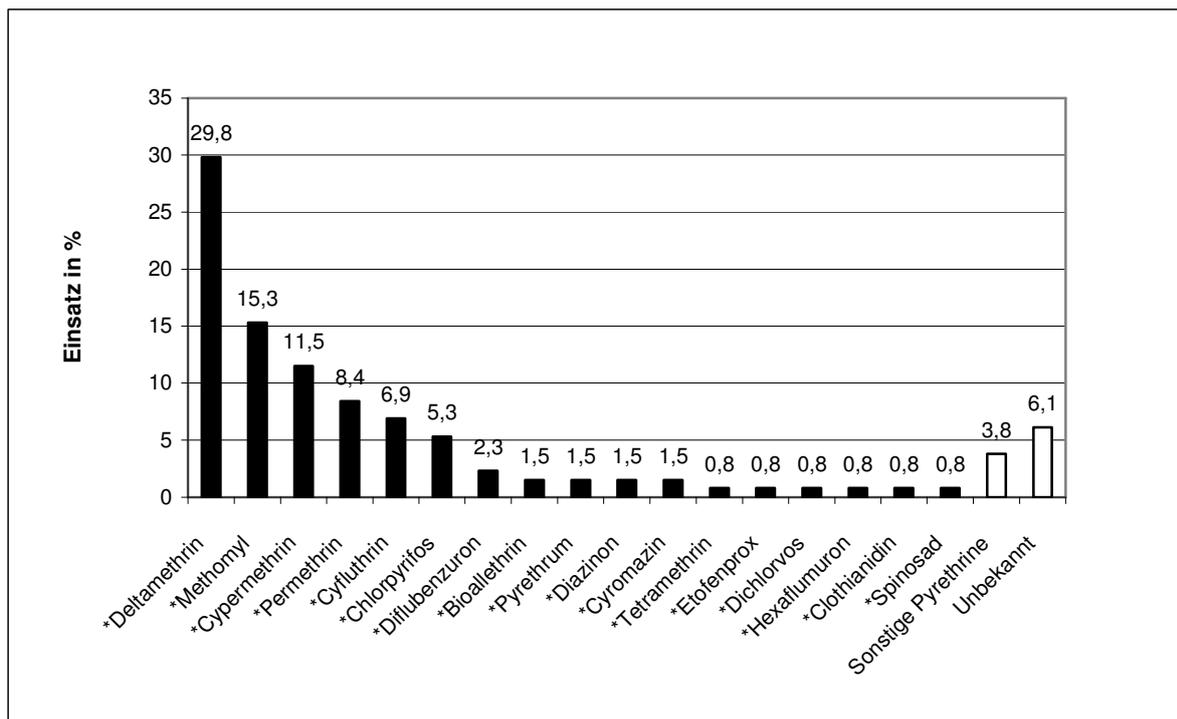
Grafik 1: Anteil der verwendeten Insektizidklassen am Gesamteinsatz in den 60 untersuchten Betrieben in Brandenburg 2008

35% der Höfe setzten einen Wirkstoff zur Bekämpfung der Fliegen ein. 65% der Höfe setzten gleichzeitig bis zu 5 verschiedene Wirkstoffe ein. Teilt man diese in die entsprechenden Wirkstoffklassen ein, so wird deutlich, dass 50% der Betriebe Insektizide aus 2 oder 3 verschiedenen Wirkstoffklassen verwendeten (Tabelle 4).

Tabelle 4: Häufigkeit der eingesetzten Insektizide, eingeteilt nach Wirkstoff und Wirkstoffklasse in 60 Betrieben Brandenburgs - erhoben in 2008

Anzahl eingesetzter Wirkstoffe	Anzahl der Betriebe	
	n	Anteil der Betriebe in %
1	21	35
2	14	23
3	19	32
4	5	8
5	1	2
Anzahl eingesetzter Wirkstoffklassen	n	%
1	30	50
2	20	33
3	10	17

Die Häufigkeit des Einsatzes der einzelnen Wirkstoffe wird aus Grafik 2 ersichtlich. Deltamethrin war mit 29,8% der am häufigsten eingesetzte Wirkstoff. 6,1% der eingesetzten Mittel konnten namentlich nicht festgestellt werden, und somit erfolgte keine Wirkstoffklassifizierung. 3,8% der Inhaltstoffe wurden nur allgemein als Pyrethrine bezeichnet, und konnten somit auch keinem Wirkstoff zugeordnet werden.



Grafik 2: Verteilung des Einsatzes der einzelnen Wirkstoffe in den 60 Untersuchungsbetrieben Brandenburgs, Fragebogenerhebung 2008.

4.1.1.2 Bestandsgrößen

Die Anzahl der Tiere pro Betrieb lag bei der Hälfte der Betriebe zwischen 120 und 500 Tieren (Milchvieh und Aufzucht). Weitere 25% der Höfe hatten Bestandsgrößen zwischen 501 und 1000 Tieren. Der größte Anteil der untersuchten Betriebe hatte somit Bestandszahlen unter 1000 Tiere. Lediglich ein Betrieb wies eine Bestandsgröße von 3900 Tieren auf.

Tabelle 5: Einteilung der 60 Untersuchungsbetriebe in Brandenburg 2008 nach Bestandsgröße

Anzahl Tiere	Höfe	%
120-500	30	50,0
501-1000	15	25,0
1001-1500	10	16,7
1501-2000	4	6,7
2001-4000	1	1,7

4.1.1.3 Haltungssystem

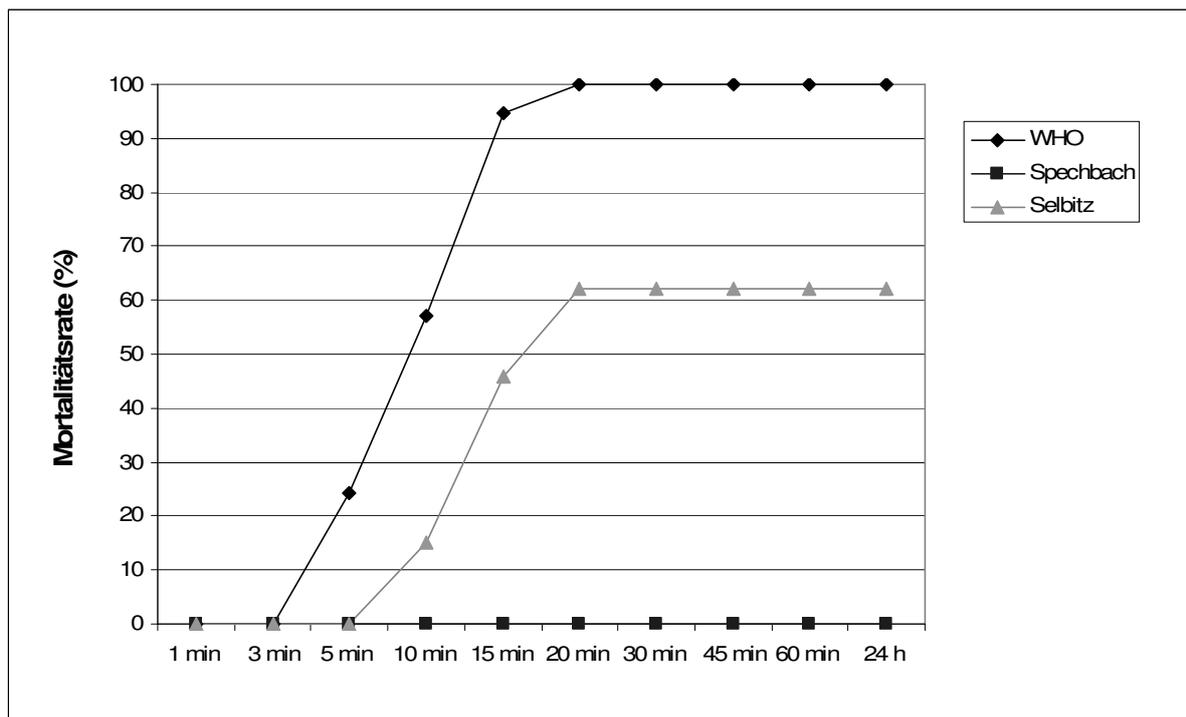
Die Milchkühe in den Betrieben wurden im Liegeboxen-Laufstall-Haltungssystem gehalten. Die Kälberhaltung erfolgte in den ersten Lebenstagen entweder in Kälberiglus überwiegend im Außenbereich der Anlage oder in Einzelboxenhaltung im Stall, vereinzelt auch mit Dachüberstand im Freien. Ältere Kälber wurden in Gruppenhaltung auf Stroh im Stall untergebracht.

4.1.2 FlyBox[®]-Test

4.1.2.1 Ergebnisse der Referenzstämme

Mit den im Labor gezüchteten Stämmen WHO, Spechbach und Selbitz wurde der FlyBox[®]-Test durchgeführt. Zur Überprüfung der Wirksamkeit des verwendeten Netzes wurde dieses vor der Nutzung und 4 Wochen später, nach der Nutzung, mit dem sensiblen WHO-Stamm, dem Selbitz-Stamm und dem resistenten Spechbach-Stamm getestet. Es wurde kein Wirkungsverlust festgestellt.

Erste Paralyseerscheinungen traten beim WHO-Stamm im Durchschnitt nach 5 Minuten auf (Grafik 3). Nach 20 Minuten waren 100% der Fliegen paralysiert. Keine der sensiblen WHO-Fliegen erholte sich wieder, so dass nach 24 Stunden eine 100%ige Mortalitätsrate erzielt wurde. Der Spechbach-Stamm zeigte nach dem Kontakt mit Deltamethrin keine Reaktionen. Eine verzögerte Reaktion zeigten die Fliegen aus Selbitz. Nach 24 Stunden waren nur 62% der Fliegen abgetötet.

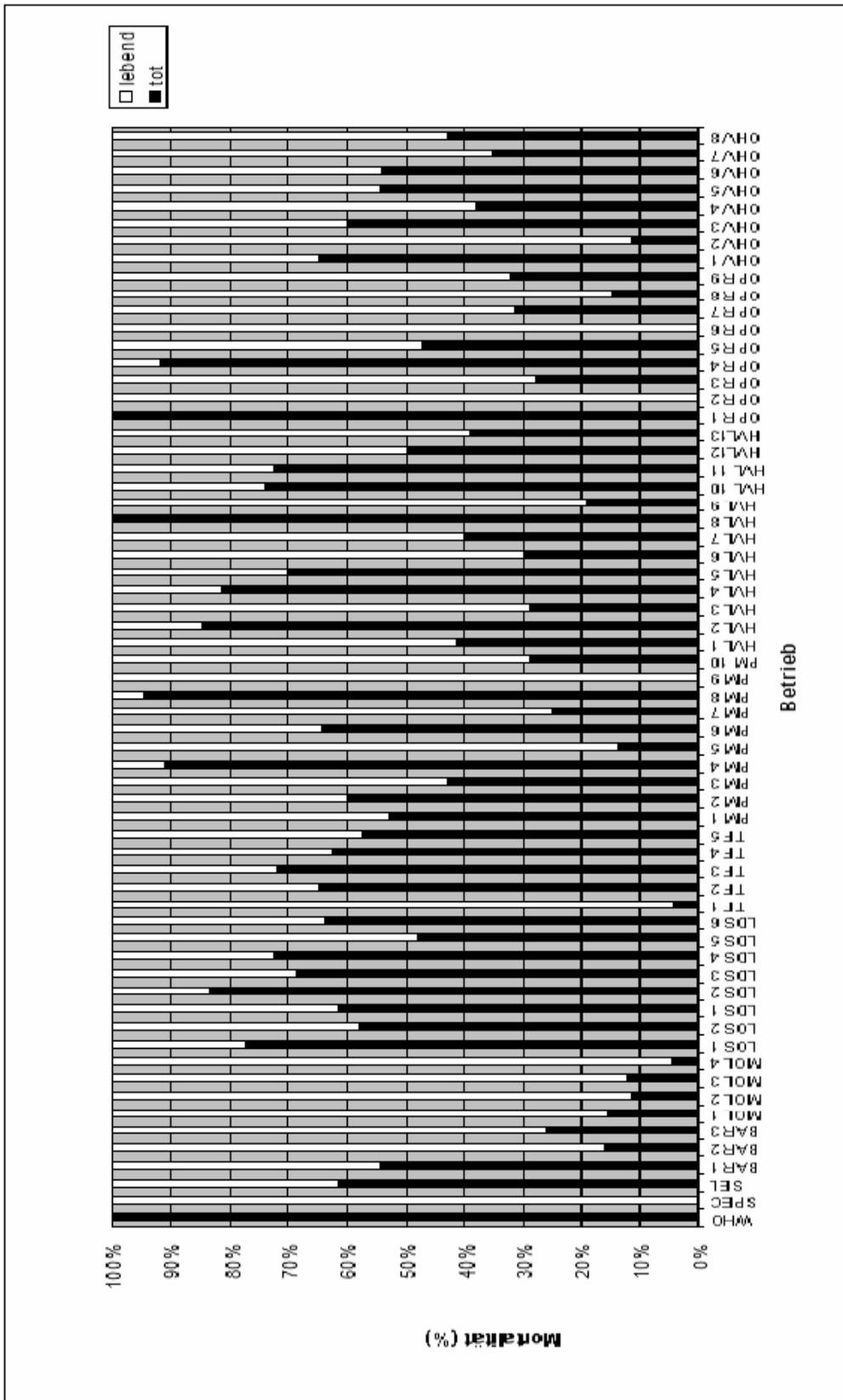


Grafik 3: Durchschnittliche Mortalitätsraten der Referenzstämme WHO, Spechbach und Selbitz von *Musca domestica* nach Kontakt mit Deltamethrin im FlyBox®-Test-Beobachtungen nach 1, 3, 5, 10, 15, 30, 45, 60 Minuten und 24 Stunden

4.1.2.2 Ergebnisse der Feldstämme

Die Mortalitätsraten der Feldstämme nach Kontakt mit Deltamethrin zeigten eine große Variation (Grafik 4). In 2 von 60 Untersuchungsbetrieben (HVL 8 und OPR 1) reagierten alle Fliegen mit einer vollständigen Mortalität, auch noch 24 Stunden nach Kontakt mit Deltamethrin. In den 58 übrigen Betrieben zeigten sich zum Teil starke Auffälligkeiten bezüglich der Reaktion der Fliegen. 3 Fliegenstämme (PM 9, OPR 2 und OPR 6) zeigten keine Mortalität beim Kontakt mit dem Insektizid. Bei den übrigen 55 Betrieben kam es zu Mortalitätsraten zwischen 4,8% und 94,7%.

Die Hälfte der getesteten Feldstämme blieb mit der Mortalitätsrate unter 50%, wovon 13 Stämme im Bereich 0-25% und 17 Stämme zwischen 25 und 50% lagen. 21 der untersuchten Feldstämme lagen im Bereich 50-75%, die restlichen 9 Höfe bei über 75%.



Grafik 4: Mortalitätsraten der 60 Feldstämme und der Referenzstämme von *Musca domestica* aus dem Labor 24 Stunden nach Kontakt mit Deltamethrin

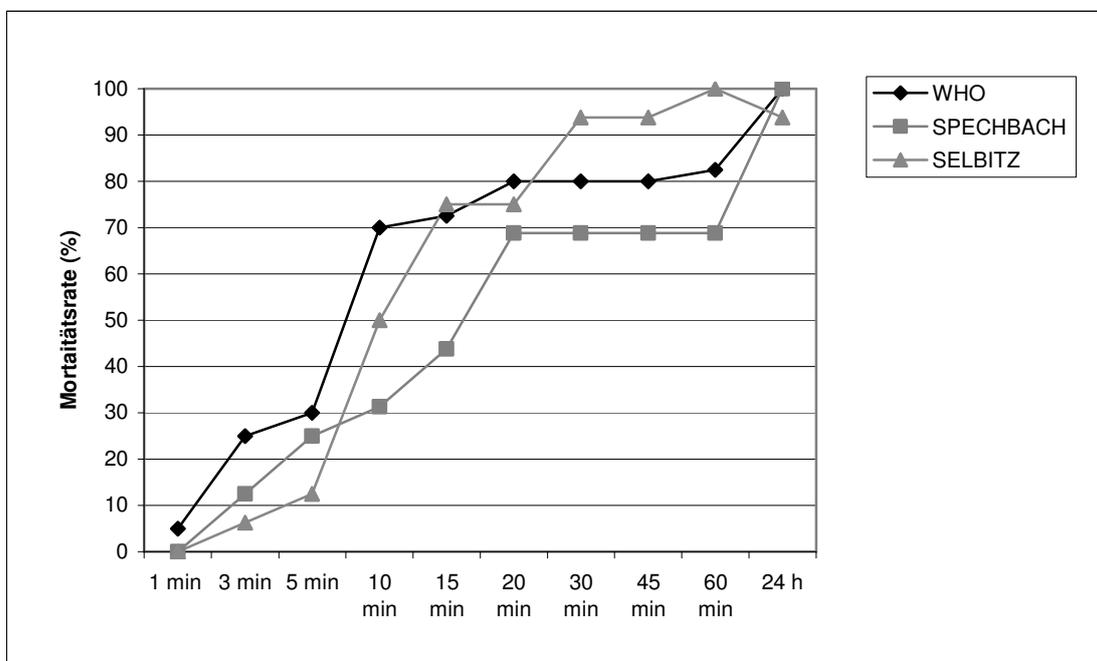
4.1.3 Fütterungstests

4.1.3.1 Agita® (Thiamethoxam)

4.1.3.1.1 Referenzstämme

Sowohl im Test mit dem sensiblen WHO Stamm als auch mit dem Spechbach-Stamm zeigte sich eine 100%ige Wirksamkeit von Thiamethoxam. Die Mortalitätsrate des Selbitz-Stammes erreichte 94% nach 24 Stunden (Grafik 5).

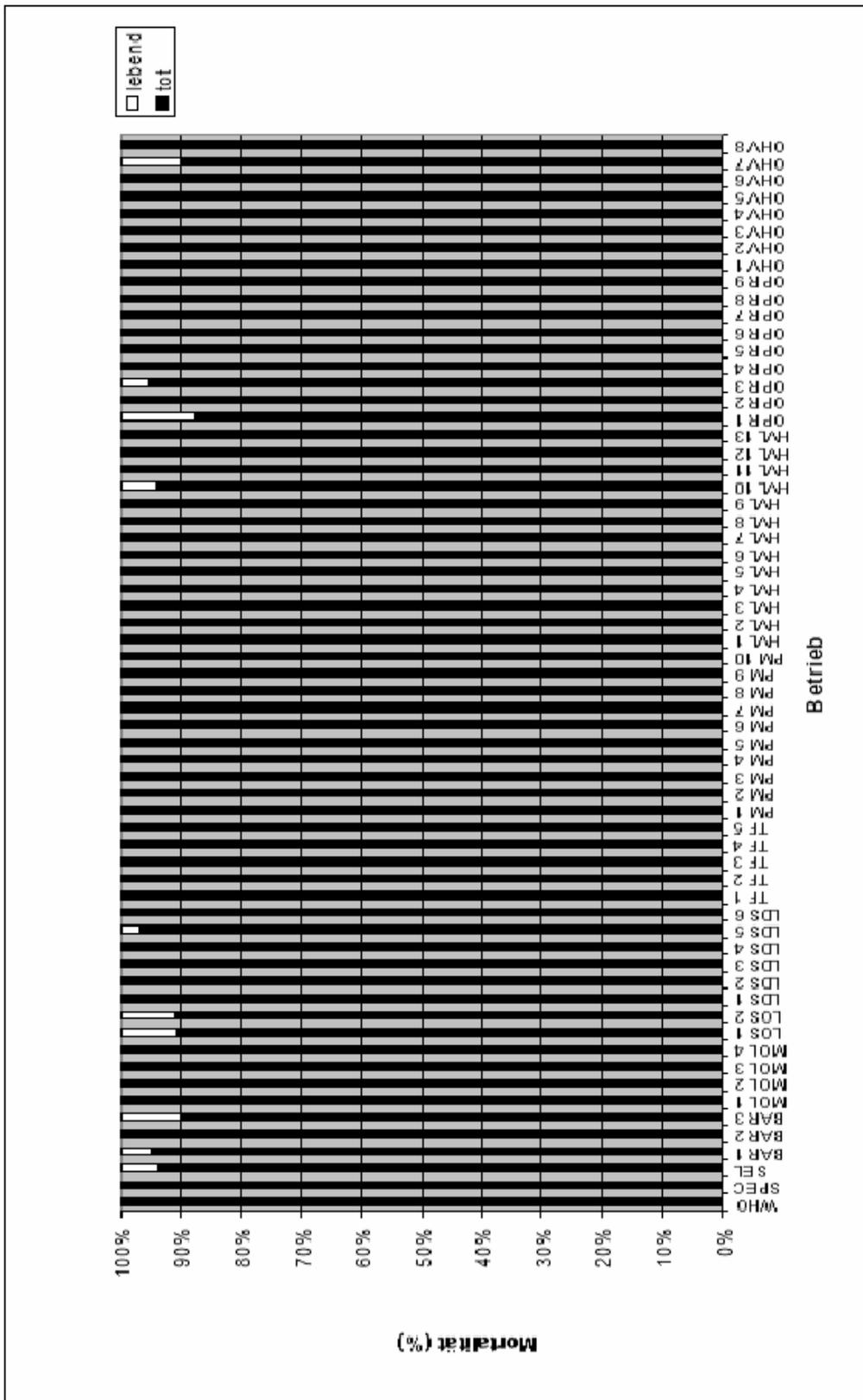
Erste Paralyseerscheinungen der WHO-Fliegen waren nach einer Minute zu beobachten, während der Spechbach-Stamm und Selbitz-Stamm nach 3 Minuten erste Paralysen zeigten.



Grafik 5: Mortalitätsraten der Referenzstämme WHO, Spechbach und Selbitz von *Musca domestica* im Fütterungstest mit Agita® (Thiamethoxam)

4.1.3.1.2 Feldstämme

Bei 51 der untersuchten Feldstämme zeigte Agita® im Test volle Wirksamkeit. In 9 Betrieben konnten durch Thiamethoxam nicht alle Fliegen getötet werden. Die geringste Mortalitätsrate zeigte die Fliegenpopulation des Hofes OPR1 mit 87,5%. Die übrigen 8 Betriebe lagen alle über 90% (Grafik 6).



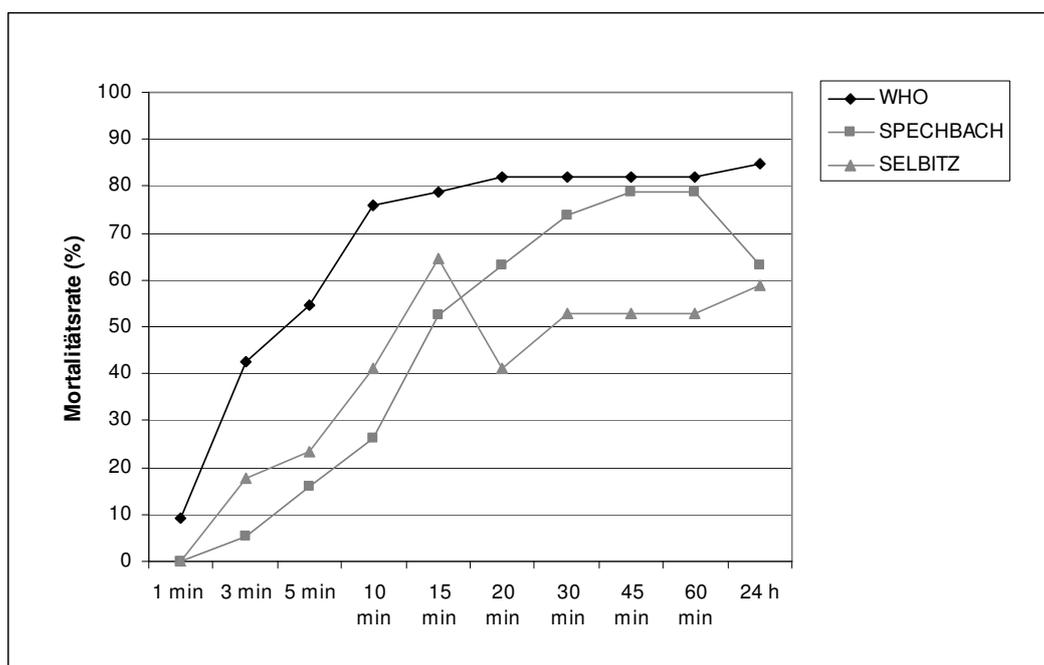
Grafik 6: Mortalitätsraten der 60 Feldstämme und der Referenzstämme von *Musca domestica* aus dem Labor 24 Stunden nach dem Einsatz von Agita® (Thiamethoxam)

4.1.3.2 Quickbayt® (Imidacloprid)

4.1.3.2.1 Referenzstämme

Im Versuch mit Quickbayt® (Imidacloprid) wurden 84,8% der WHO-Fliegen nach der Aufnahme des Insektizids getötet (Grafik 7). Die ersten Paralysereaktionen setzten nach einer Minute ein.

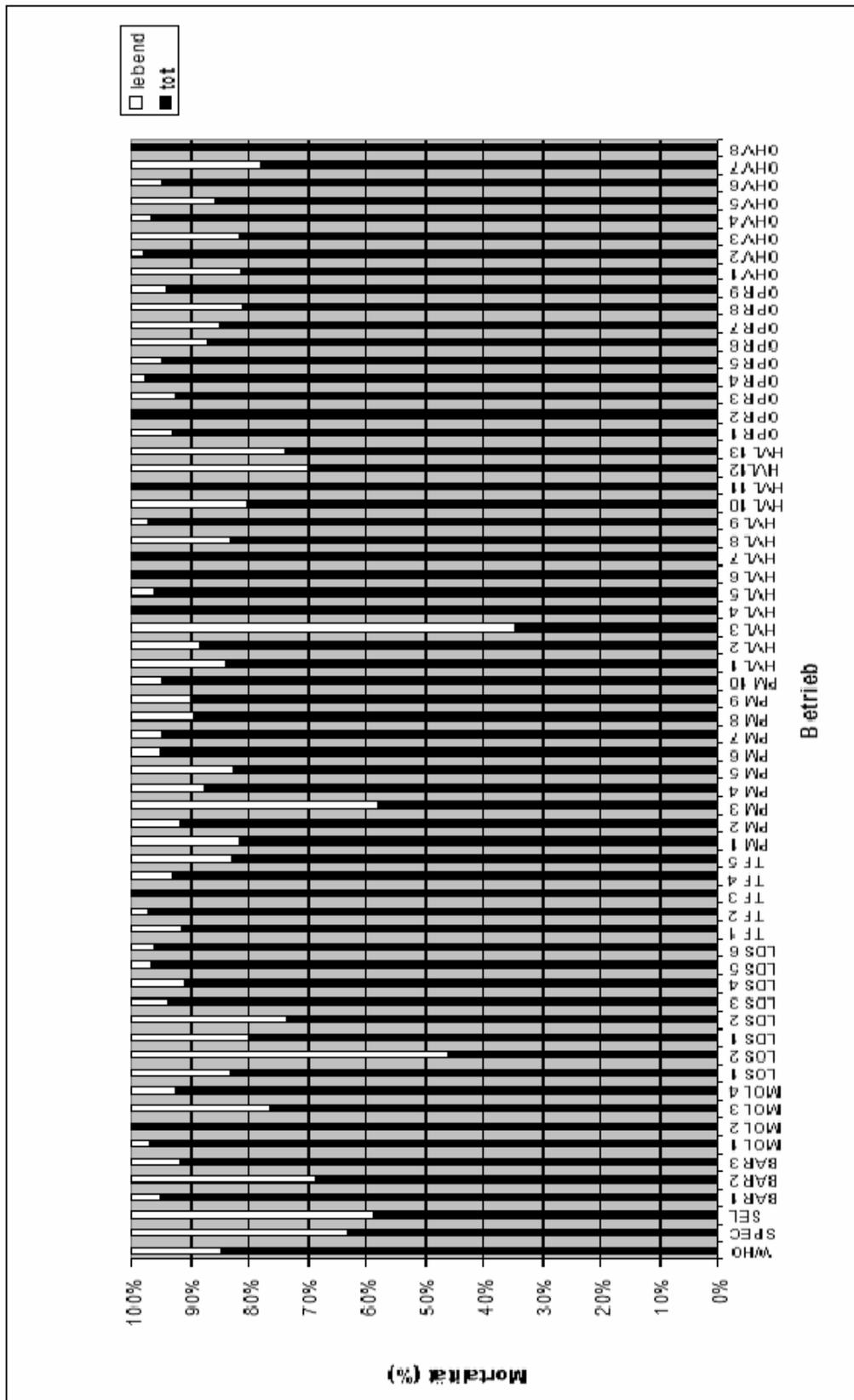
63,2% des Spechbach-Stammes und 58,8% des Selbitz-Stammes waren nach 24 Stunden abgetötet. Sie reagierten nach 3 Minuten mit ersten Paralyseerscheinungen.



Grafik 7: Mortalitätsraten der Referenzstämme WHO, Spechbach und Selbitz von *Musca domestica* im Fütterungstest mit Quickbayt® (Imidacloprid)

4.1.3.2.2 Feldstämme

Die Ergebnisse aus dem Versuch mit Imidacloprid zeigten eine große Variation der Mortalitätsraten (Grafik 8). Bei 8 der 60 Höfe zeigte Imidacloprid volle Wirksamkeit. Von den übrigen 52 Feldstämmen reagierten die Fliegen von 43 Betrieben mit 80% und höher liegenden Mortalitätsraten. In 6 Betrieben lagen die Raten zwischen 65 und 80%. Die Fliegen der Höfe HVL3 (34,5%), LOS2 (46,2%) und PM3 (57,9%) fielen durch ihre geringen Mortalitätsraten auf.

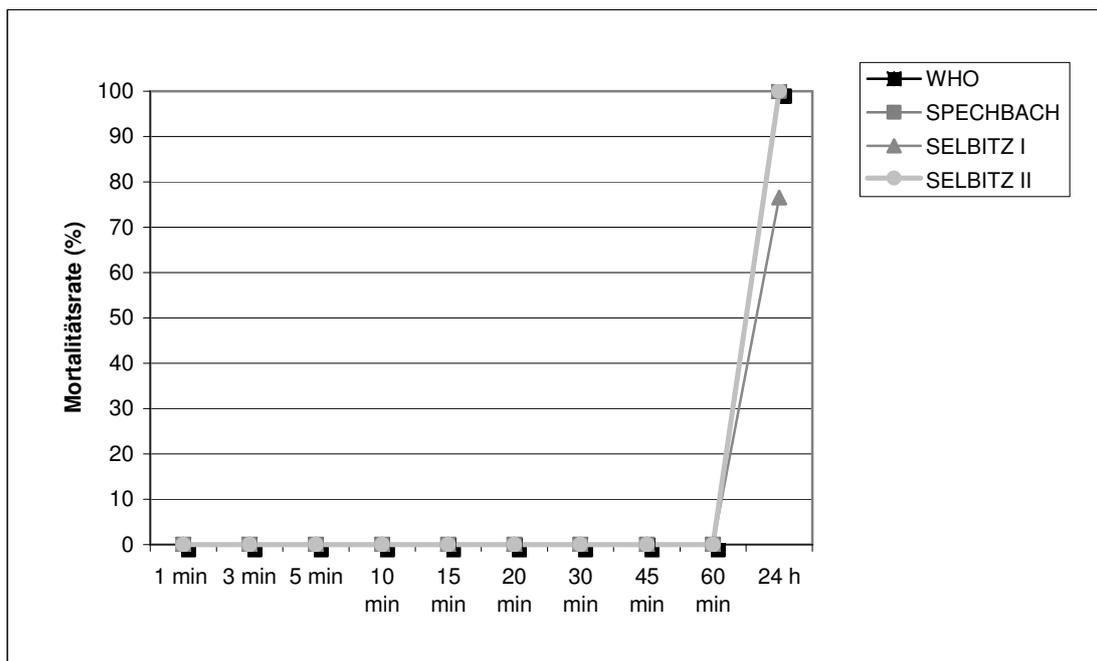


Grafik 8: Mortalitätsraten der 60 Feldstämme und der Referenzstämme von *Musca domestica* aus dem Labor 24 Stunden nach dem Einsatz von Quickbayt® (Imidacloprid)

4.1.3.3 SPY® (Spinosad)

4.1.3.3.1 Referenzstämme

Sowohl beim WHO als auch beim Spechbach-Stamm war SPY® voll wirksam (Grafik 9). Die Reaktion auf das Insektizid setzte nicht vor einer Stunde ein. Der Selbitz-Stamm (F9) erreichte im Test 76,5%. In einem Wiederholungsversuch mit der F13-Generation des Selbitz-Stammes wurde eine Mortalität von 100% erreicht.



Grafik 9: Mortalitätsraten der Referenzstämme WHO, Spechbach, Selbitz I und Selbitz II von *Musca domestica* im Fütterungstest mit SPY® (Spinosad)

4.1.3.3.2 Feldstämme

Nach der Exponierung mit SPY® kam es bei allen untersuchten Feldpopulationen zu einer Mortalität von 100%.

4.2 Laboruntersuchungen

4.2.1 Topikale Applikation

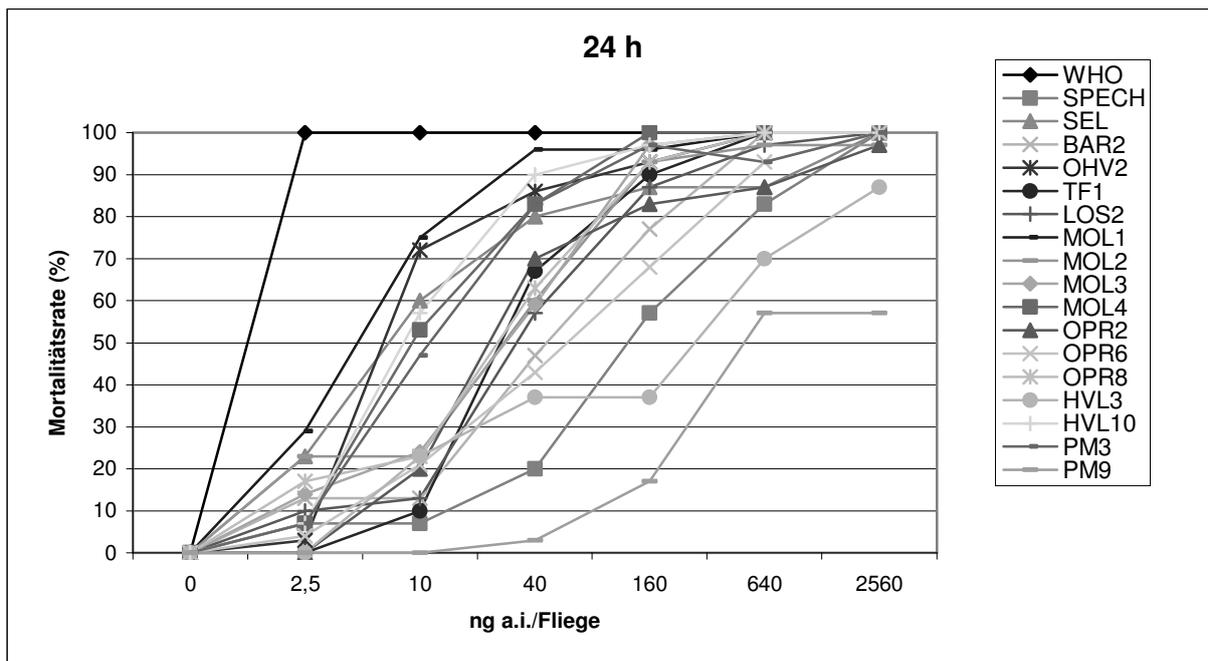
Die Mortalität wurde mit Hilfe der Abbott's Formel berechnet (Abbott, 1925)

$$\text{Mortalität} = \frac{(\text{Mortalität (\%)} \text{ der behandelten Gruppe} - \text{Mortalität (\%)} \text{ der Kontrollgruppe}) \times 100}{100 - \text{Mortalität (\%)} \text{ der Kontrollgruppe}}$$

In Grafik 10 ist die Mortalität nach 24 Stunden für die angewendeten Konzentrationsstufen dargestellt. Der WHO Stamm zeigte bei der kleinsten Dosis (Discriminating Dose 2,5 ng/Fliege) eine 100%ige Mortalität, während keiner der Feldstämme und der Referenzstämme Spechbach und Selbitz die Mortalität von 30% überschritt. Der Anstieg der Mortalitätsraten mit zunehmender Konzentrationsstufe war im Vergleich zum WHO Stamm wesentlich langsamer, insgesamt aber schneller als beim Spechbach-Stamm. 2 Feldstämme (HVL3 und PM9) hatten einen noch geringeren Anstieg als der resistente Spechbach-Stamm.

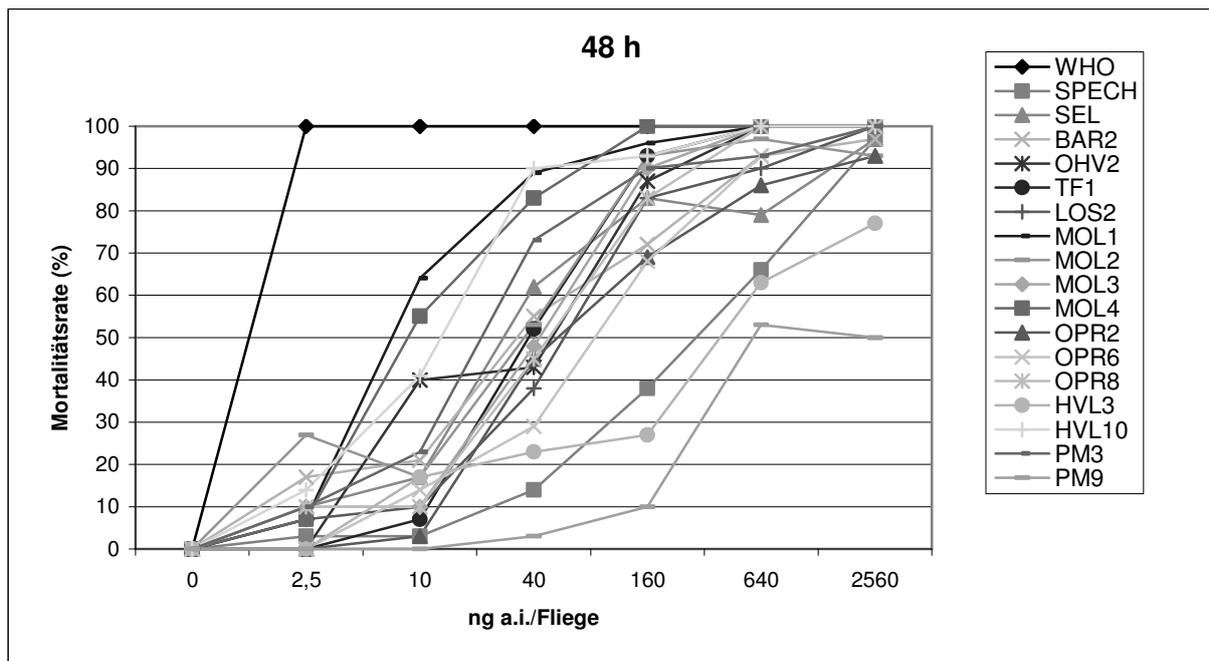
Am deutlichsten waren die Variationen der Mortalität bei der Konzentrationsstufe 40 ng/Fliege zu sehen. Hier lagen die Raten zwischen 3 und 96%.

Eine volle Wirksamkeit von λ -Cyhalothrin konnte bei den meisten Feldstämmen erst bei der Dosis 160 ng/Fliege erzielt werden. 4 Stämme (PM9, HVL3, OPR2, MOL2) erreichen allerdings auch bei der höchsten Dosierung keine volle Wirksamkeit. Der Betrieb PM9 erreichte nur 57%.



Grafik 10: Mortalitätsraten der 15 Untersuchungsstämme und 3 Referenzstämme von *Musca domestica* für die eingesetzten Konzentrationsstufen von λ -Cyhalothrin in der topikalen Applikation nach 24 Stunden

Grafik 11 zeigt die Entwicklung nach 48 h für die verwendeten Konzentrationsstufen. Es kam zur Erholung einiger Fliegen, so dass die Mortalität teilweise unter die 24h-Vergleichswerte absackte. Deutlich wird diese Tatsache bei der höchsten Konzentrationsstufe. Hier erreichte λ -Cyhalothrin bei 5 der untersuchten Feldstämme (PM9, HVL3, OPR2, MOL2, BAR2) nicht die volle Wirksamkeit, und die Mortalitätsraten waren insgesamt niedriger als die nach 24 Stunden. Es konnte mit λ -Cyhalothrin selbst bei der höchsten Konzentrationsstufe keine Paralyse aller Spechbach- und Selbitzfliegen bewirkt werden.

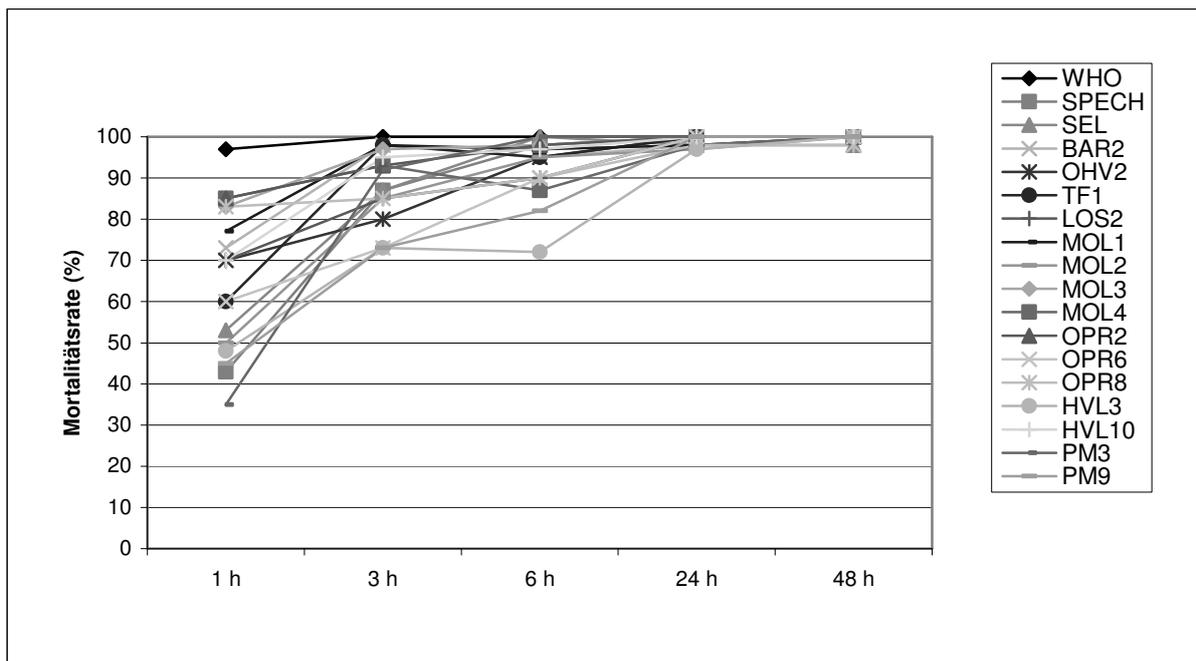


Grafik 11: Mortalitätsraten der 15 Untersuchungsstämme und 3 Referenzstämme von *Musca domestica* für die eingesetzten Konzentrationsstufen von λ -Cyhalothrin in der topikalen Applikation nach 48 Stunden

4.2.2 Fütterungstests

4.2.2.1 Agita® (Thiamethoxam)

Im Fütterungstest mit Agita® zeigte sich bei den Feldstämmen nach einer Stunde Beobachtung eine große Variation der Mortalität von 35-85% (Grafik 12). Der WHO-Stamm lag zu diesem Zeitpunkt bereits bei 97%. Der Spechbach-Stamm hatte eine Mortalität von 43% und der Selbitz-Stamm lag bei 53%. Nach 3 Stunden war der WHO-Stamm vollständig paralysiert. Die Feldstämme lagen im Bereich 73-98%. Nach 6 Stunden erreicht der Feldstamm PM3 als einziger, neben dem Selbitz-Stamm 100% Mortalität. Nach 24 Stunden Expositionszeit zeigten 9 der 15 Feldstämme eine 100%ige Mortalität. Nach 48 Stunden waren bei allen Stämmen, außer OPR8 und dem Selbitz-Stamm (beide 98%), sämtliche Fliegen verendet.

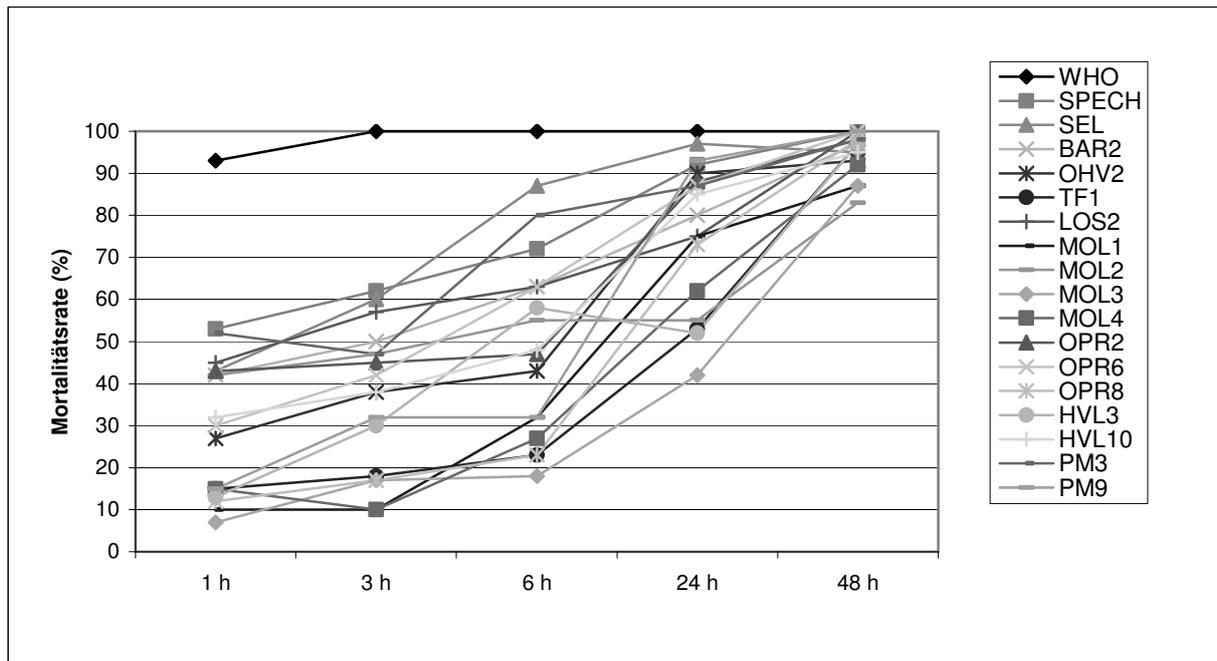


Grafik 12: Mortalitätsraten der 15 Untersuchungsstämme und 3 Referenzstämme von *Musca domestica* im Fütterungstest mit Agita® über 48 Stunden

4.2.2.2 Quickbayt® (Imidacloprid)

Auch im Fütterungstest mit Quickbayt® war zu Beginn der Beobachtung eine große Variation zwischen den Mortalitätsraten zu sehen (Abbildung 13).

Sämtliche Feldstämme zeigten einen langsameren Anstieg in der Mortalität als der Spechbach -Stamm. Nach 1 Stunde lag die Mortalität der Feldstämme zwischen 7 und 52%. Diese Variationen blieben auch nach 3 Stunden erhalten, lagen dann zwischen 10 und 57%. Nach 48 Stunden lag die Mortalität für 3 Feldstämme und den Spechbach-Stamm bei 100%. 12 Feldstämme lagen zwischen 83% und 98% nach 48 Stunden Fütterungstest. Nicht alle Fliegen aus Selbitz waren nach 48 Stunden paralysiert (95%).



Grafik 13: Mortalitätsraten der 15 Untersuchungsstäme und 3 Referenzstäme von *Musca domestica* im Fütterungstest mit Quickbayt® über 48 Stunden

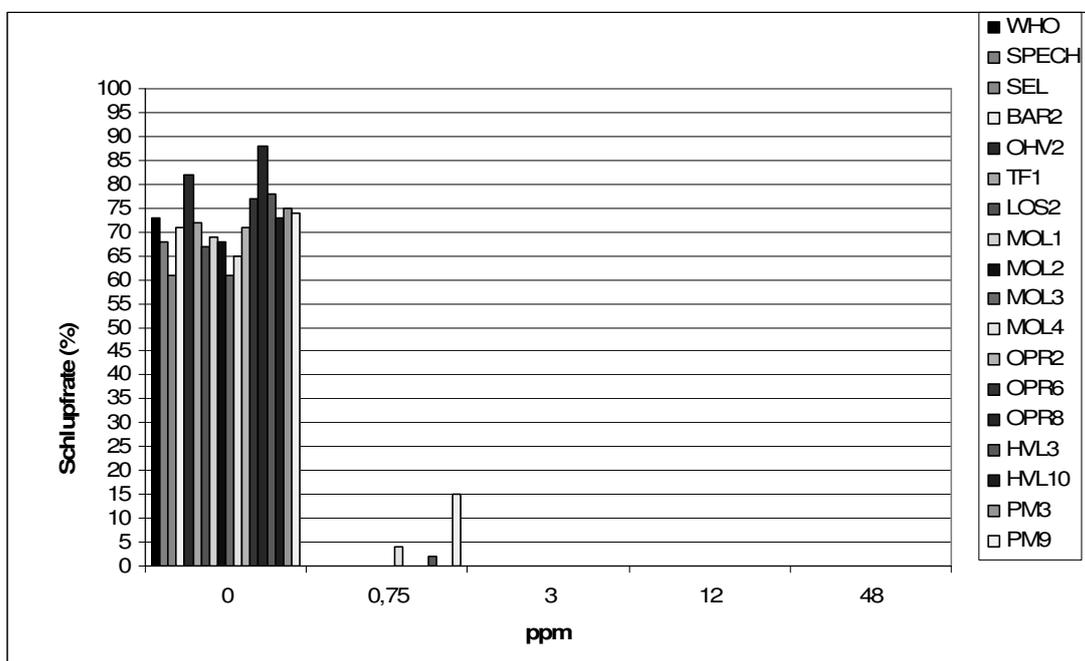
4.2.3 Larvizidtests

Sowohl bei Neporex[®] als auch bei Baycidal[®] wird die Reduktion der Larvenentwicklung mit der Abbottformel errechnet. Hierbei wird die unter natürlichen Bedingungen und ohne Insektizideinsatz vorkommende Schlupfrate berücksichtigt (Abbott, 1925).

$$\text{Larvenentwicklungshemmung (\%)} = \frac{((100 - \text{Schlupfrate in \% im Test}) - (100 - \text{Schlupfrate in \% Kontrolle})) \times 100}{(100 - (100 - \text{Schlupfrate in \% Kontrolle}))}$$

4.2.3.1 Neporex[®] (Cyromazin)

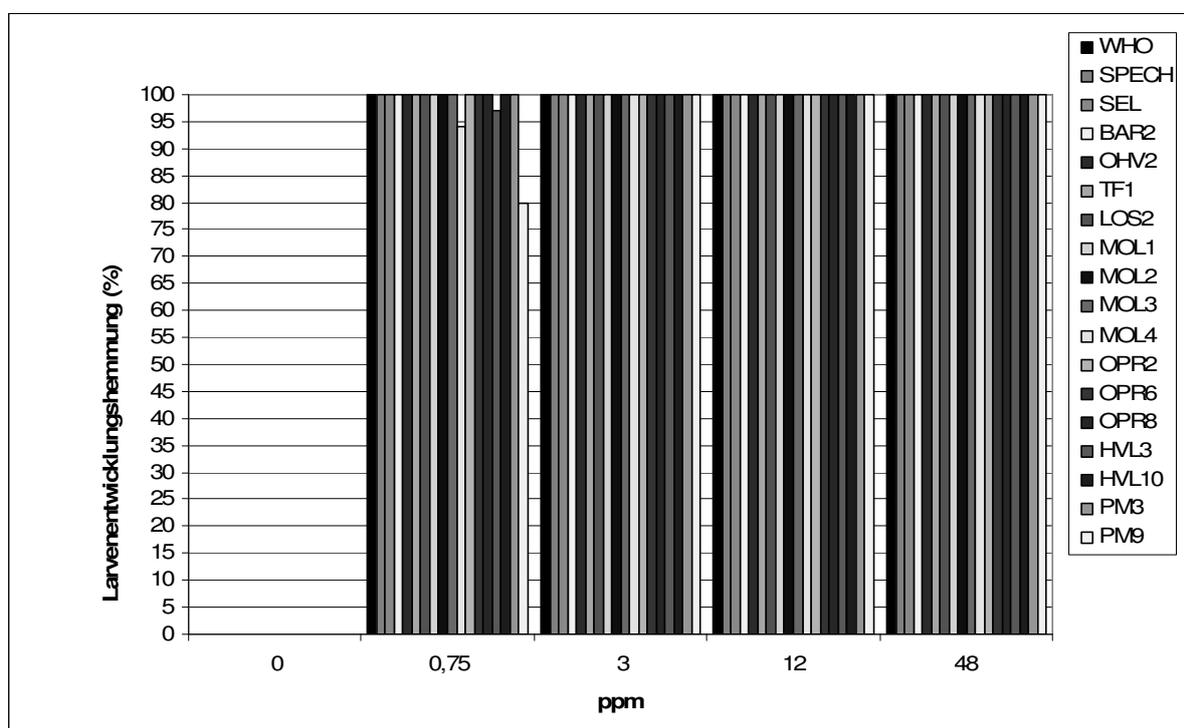
Grafik 14 zeigt die Schlupfraten der Fliegen nach Behandlung des Mediums mit Neporex[®]. In der Kontrollgruppe ohne Einsatz von Larviziden waren Entwicklungsraten von 61-88% zu verzeichnen. Beim Einsatz der kleinsten Dosis (DD 0,75 ppm) schlüpften nach 3 Wochen nur noch Fliegen von 3 Feldstämmen. Die Schlupfrate bei diesen Stämmen lag im Fall von MOL4 bei 4% und HVL3 bei 2%. PM9 zeigte eine Schlupfrate von 15%. Bei Konzentrationen von 3 ppm und höher kam es zu keinem Fliegenschlupf mehr.



Grafik 14: Schlupfraten in % von *Musca domestica* nach 3 Wochen im Larvizidtest mit Neporex[®]

Mit dem Einsatz von Neporex® in der Konzentration von 0,75 ppm konnte bei 12 von 15 Betrieben die Larvenentwicklung vollständig reduziert werden, was auch für die Stämme WHO und Spechbach der Fall war (Grafik 15).

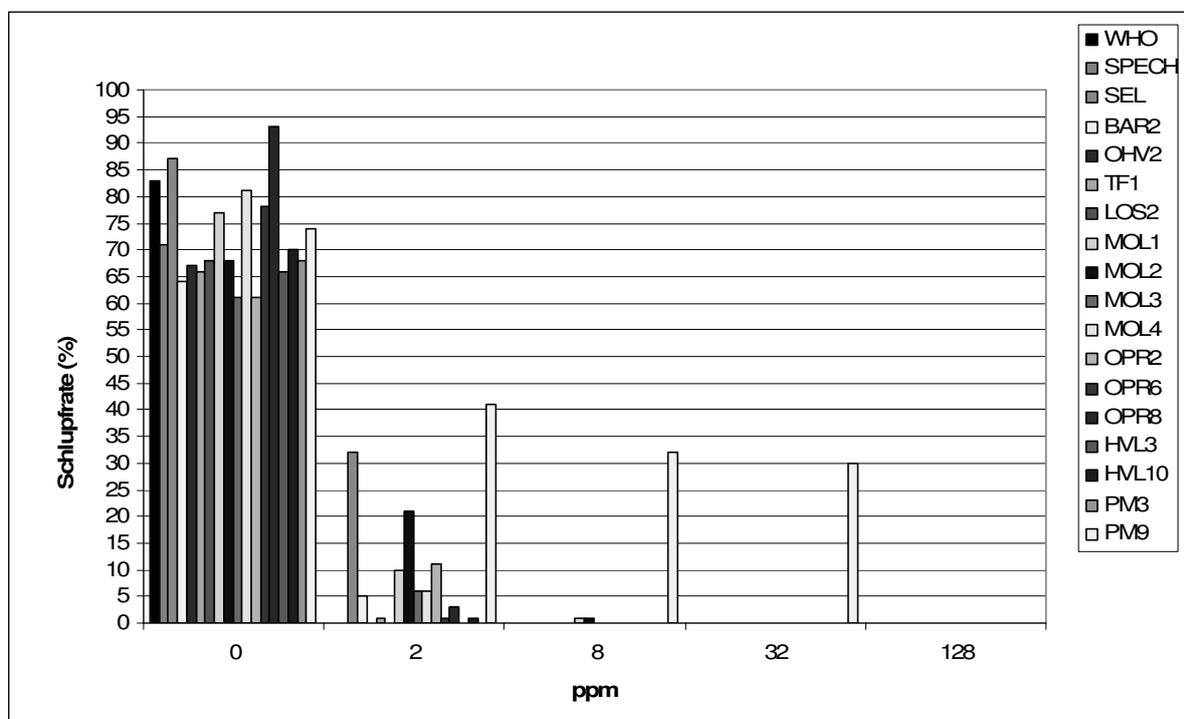
Die Reduktion der Larvenentwicklung des Stammes PM9 lag bei 80%. Stamm MOL 4 ergab eine Reduktion von 94% und HVL 3 von 97%. Durch den Einsatz von 3 ppm und höher konnte eine Reduktion der Larvenentwicklung von 100% bei allen Fliegenstämmen erzielt werden.



Grafik 15: Reduktion der Larvenentwicklung in % von *Musca domestica* beim Einsatz von Neporex® (Cyromazin) im Larvizidtest

4.2.4 Baycidal® (Triflumuron)

Die Schlupfraten nach dem Einsatz von Baycidal® sind in Grafik 16 dargestellt. Die Schlupfraten der Kontrolle liegen zwischen 61 und 93%. Mit der Discriminating Dose von 2 ppm im Medium konnte bei 4 von 15 Stämmen die Larvenentwicklung vollständig gehemmt werden. Die Schlupfrate lag bei 0%. 11 Feldstämme zeigten unterschiedliche Schlupfraten zwischen 1 und 41%. PM9 zeigte eine Schlupfrate von 41%. Beim Selbitz-Stamm betrug die Schlupfrate 32%. Die Stämme MOL1 und MOL2 zeigten auch noch bei 8 ppm eine Schlupfrate von 1%. Der Stamm PM9 zeigte weiterhin eine Schlupfrate von 32%, die bei der Konzentrationsstufe 32 ppm auf 30% sank, und erst bei 128 ppm auf 0% zurückging.

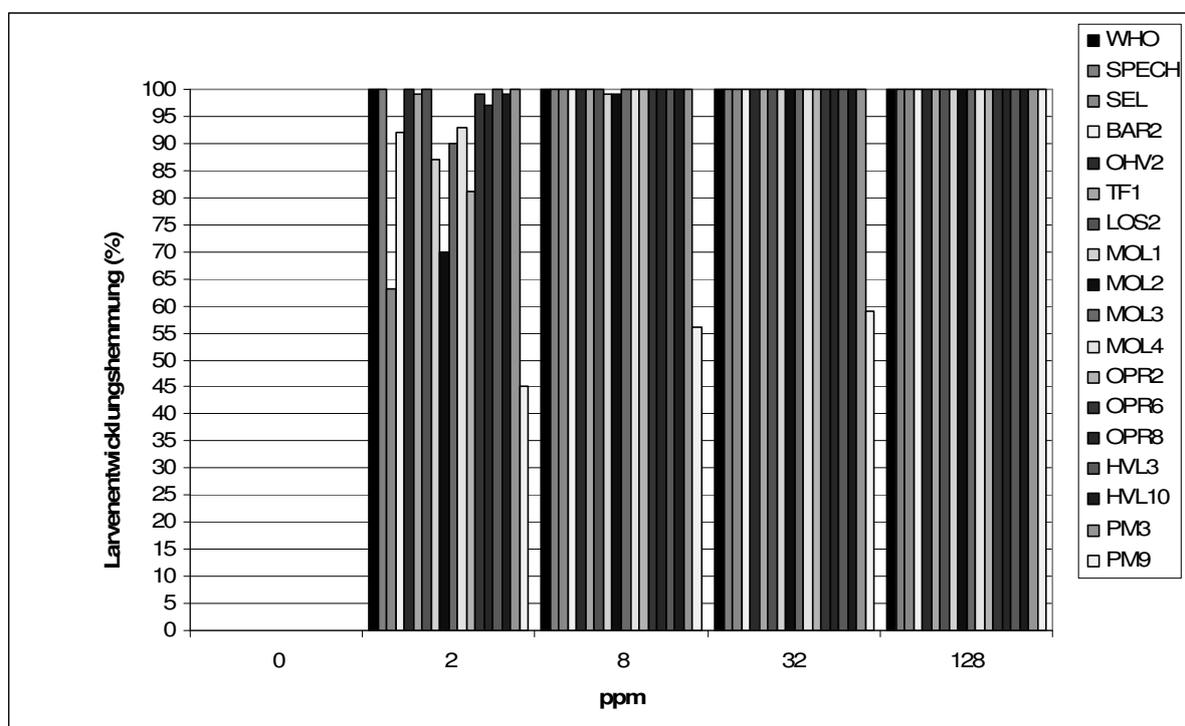


Grafik 16: Schlupfraten in % von *Musca domestica* nach 3 Wochen im Larvizidtest mit Baycidal® (Triflumuron)

Durch Behandlung mit Baycidal® konnte mit der kleinsten Dosis von 2 ppm bei 4 Feldstämmen eine Reduktion der Larvenentwicklung von 100% erzielt werden (Grafik 17). Bei 11 Höfen lag die Reduktion zwischen 45-99%. Der Stamm PM9 lag bei 45%. Bei den

übrigen 10 Stämmen wurde eine Reduktion von 70 bis 99% erzielt. Die Reduktion für den Selbitz-Stamm lag bei 63%.

Eine Reduktion der Larvenentwicklung von 99% wurde mit der Konzentration 8 ppm bei 2 Stämmen erreicht. Im Falle des Stammes PM9 konnte lediglich eine Reduktion von 56% erzielt werden. Eine Konzentration von 32 ppm Baycidal® im Medium bewirkte bei allen getesteten Stämmen, außer dem Stamm PM9 (59%), eine 100%ige Reduktion der Larvenentwicklung. Erst mit der höchsten Konzentrationsstufe (128 ppm) konnte die Larvenentwicklung des Stammes PM9 vollständig gehemmt werden.



Grafik 17: Reduktion der Larvenentwicklung in % von *Musca domestica* beim Einsatz von Baycidal® im Larvizidtest

5 Diskussion

Im Rahmen einer Feldstudie wurde die Insektizidempfindlichkeit von *Musca domestica*-Populationen auf 60 Milchviehbetrieben im Bundesland Brandenburg im Zeitraum von Juni bis August 2008 untersucht. Im Anschluss wurden von September bis November 2008 Fliegenpopulationen von 15 auffälligen Betrieben in weiterführenden Laboruntersuchungen auf ihre Insektizidempfindlichkeit getestet. Das Ziel der Untersuchungen war es, die Wirksamkeit von Insektiziden zu überprüfen, die bei der Fliegenbekämpfung zum Einsatz kommen, und somit eine gezielte Beratung von Betrieben in Fragen der Fliegenbekämpfung zu ermöglichen.

Fragebogenerhebung

Bei den Untersuchungen auf den Betrieben vor Ort wurden mit einem Fragebogen Informationen über den aktuellen und den bisherigen Einsatz von Insektiziden gesammelt. Dies erwies sich als problematisch, da nur wenige Mitarbeiter einen genauen Überblick über die eingesetzten Stoffe und den genauen Applikationszeitraum geben konnten. Der überwiegende Teil der Betriebe praktiziert den „Einsatz nach Bedarf“, folglich werden immer dann Insektizide angewendet, wenn das Fliegenaufkommen sehr hoch ist und die Belästigung deutlich wird. Auch wurden teilweise Mittel eingesetzt, über deren Zusammensetzung keine Information bzw. Wissen vorhanden war, so dass hier nicht von einer strategischen Fliegenbekämpfung ausgegangen werden kann. Ein Einsatz mit den vorgeschriebenen Dosierungen und Applikationszeiträumen ist jedoch für eine effektive Fliegenbekämpfung Voraussetzung (Hoffmann, 1987b). Es wäre wünschenswert, genauere Informationen zum Insektizideinsatz und auch zum Einsatz von Pflanzenschutzmitteln zu erhalten, um mögliche Rückschlüsse zwischen Insektizideinsatz und Vorkommen von Resistenzen in den Fliegenpopulationen vor Ort präziser ziehen zu können.

Die Fragebogenauswertung ergab, dass der überwiegende Anteil der eingesetzten Insektizide in die Klasse der Pyrethroide und Pyrethrine fiel (64,9%). Die Wirkstoffklassen

der Carbamate und Organophosphate waren mit 15,3 % bzw. 7,6 % seltener vertreten. Die Ergebnisse lassen sich dadurch erklären, dass die z.Z. auf dem Markt vertretenen Produkte überwiegend Pyrethroide und Pyrethrine enthalten. Neuere Wirkstoffklassen, bei denen bisher nur wenige Resistenzen bekannt sind (Kristensen und Jespersen, 2004, 2008), wie Neonicotinoide und Spinosyne, wurden nur jeweils auf einem Betrieb eingesetzt.

Es zeigte sich, dass 50% der Betriebe 2-3 Wirkstoffklassen gleichzeitig einsetzen. Hier werden zwar, bei evtl. vorhandenen Resistenzen gegenüber einer Wirkstoffklasse, die Fliegenpopulationen mit der zweiten Wirkstoffklasse abgetötet, jedoch ist dabei von großer Bedeutung, dass beide Wirkstoffklassen in der jeweils absolut tödlichen Dosis im Handelsprodukt enthalten sind, da sonst die Gefahr der Resistenzentwicklung durch Unterdosierung gegeben ist (Hoffmann, 1987b).

Eine Fliegenbekämpfung mit regelmäßigem Wechsel (Rotationsbehandlungen) der Insektizide gab es auf keinem der Betriebe. Die Kombination aus Larviziden und Adultiziden als Bekämpfungsmethode, wie sie Holdsworth *et al.* (2006) empfiehlt, wurde nur auf 6 von 60 Betrieben praktiziert. Doch auch hier fehlten genaue Aussagen der Betriebsinhaber zum Applikationsrhythmus.

Die Analyse des Insektizideinsatzes auf den Betrieben zeigte, dass auf diesem Gebiet eine bessere Aufklärung dringend nötig ist, um den sinnvollen Einsatz von Insektiziden als ergänzende Maßnahme in der Fliegenbekämpfung zu gewährleisten.

Die überwiegend praktizierte Haltung auf Einstreu, sowohl bei den adulten Rindern als auch bei der Nachzucht, bietet den Fliegen ein optimales Brutmedium. Eine detaillierte Befragung zum Entmistungsmanagement wäre nötig gewesen, um den Stellenwert des Entmistungsmanagements bei der Fliegenbekämpfung genauer definieren zu können. Eine chemische Fliegenbekämpfung alleine kann und darf nicht die Lösung des Problems sein. Der Einsatz von Bioziden muss als Ergänzung zu hygienetechnischen Maßnahmen in einem angemessenen Rahmen erfolgen (Betke und Schultka, 1980; WHO, 1991).

Auswertung der Feldstudie und Laboruntersuchungen

In der Felduntersuchung sollte zunächst ein Überblick über die Empfindlichkeit der Fliegen auf den Betrieben vor Ort gewonnen werden. Zudem wurde die entwickelte FlyBox[®] als Testmethode im Feld etabliert. Zur Ermittlung von weiteren möglichen Resistenzen sollten Fliegen auf besonders auffälligen Betrieben weiter im Labor getestet werden. Dabei kamen topikale Applikation, Fütterungstests und Larvizidversuche zum Einsatz.

Der Einsatz der FlyBox[®] als Schnelltestmethode im Feld stellte sich als gut praktikabel heraus. Mit einigen wenigen Handgriffen lässt sich die Box mit dem Netz präparieren und mehrfach ohne Probleme einsetzen. Dabei ist jedoch immer auf sauberes Arbeiten mit Handschuhen, vor allem beim Transfer der Fliegen mit dem Reagenzglas in die Box, zu achten.

Pyrethroide

Nach WHO-Standard wären somit im Feldversuch 52 von 60 getesteten Fliegenstämmen resistent gegenüber Deltamethrin (0-77,3% Mortalität), 6 Stämme (81,4- 94,7%) sind als verdächtig einzustufen und lediglich 2 Stämme (beide 100% Mortalität) als sensibel zu bewerten (Tabelle 6).

Tabelle 6: Einteilung (nach WHO-Standard) der 60 getesteten Betriebe im Feld- und der 15 Betriebe im Laborversuch in sensible, verdächtige und resistente Fliegenpopulationen

	Insektizide	Fliegenpopulationen		
		sensibel (100-98 %)	verdächtig (97-80 %)	resistent (< 80 %)
Feldversuch	Deltamethrin	2	6	52
	Thiamethoxam	51	9	0
	Imidacloprid	9	42	9
	Spinosad	60	0	0
Laborversuch	Cyhalothrin	0	0	15
	Thiamethoxam	15	0	0
	Imidacloprid	6	9	0
	Cyromazin	12	3	0
	Triflumuron	7	6	2

Die weiterführende Untersuchung mit 15 auffälligen Stämmen aus dem Feldversuch bestätigte die vorherigen Ergebnisse mit der FlyBox®. Bei topikaler Applikation von λ -Cyhalothrin im Labor erwiesen sich alle 15 Stämme als resistent gegenüber der eingesetzten Discriminating Dose (DD) für λ -Cyhalothrin (Tabelle 6). Keiner der getesteten Stämme erreichte eine Mortalität von über 30%. Selbst bei der 1024-fachen DD konnten nicht alle Stämme vorständig abgetötet werden. Besonders auffällig sind hier die Stämme PM9 und HVL3, die nur 50% bzw. 77% Mortalität erreichten. Hier ist von einer sehr hohen Resistenz auszugehen. 3 weitere Stämme sind als verdächtig einzustufen (Mortalität 93-97%). Da jedoch schon die 1024-fache DD eingesetzt wurde, kann auch hier von Resistenzen ausgegangen werden. 10 Stämme sind mit der 1024-fachen DD vollständig abgetötet worden.

Aus den Ergebnissen für die 24 bzw. 48 Stunden- Werte wird deutlich, dass sich zunächst paralysierte Fliegen auch nach 24 Stunden wieder erholt haben. So liegt in den meisten Fällen die Mortalität nach 24 Stunden höher als nach 48 Stunden.

Die Ergebnisse der Feld- und Laborversuche mit Pyrethroiden bestätigen somit die Ergebnisse von zahlreichen durchgeführten Studien. Resistenzen gegenüber der Klasse der Pyrethroide sind weit verbreitet. So gibt Keiding (1999) einen umfassenden Überblick über die vorkommenden Pyrethroidresistenzen. Seit den 70er Jahren wurden besonders in Europa verstärkt Resistenzen von Fliegen gegenüber u.a. Permethrin, Cypermethrin und Deltamethrin nachgewiesen. Pospischil *et al.* (1996) wies bei in Deutschland gefangenen Feldstämmen von Fliegen Resistenzen gegen Beta-Cyfluthrin und Cyfluthrin nach. Einen Anstieg der Pyrethroidresistenzen in verschiedenen Regionen Dänemarks wies Kristensen *et al.* (2001) in seinen Untersuchungen an 21 Feldstämmen von *Musca domestica* nach.

Die Fragenbogenerhebung zeigte, dass 64,9 % der eingesetzten Wirkstoffe aus der Klasse der Pyrethroide & Pyrethrine stammen. Der Wirkstoff Deltamethrin ist mit 29,8 % der am häufigsten eingesetzte Stoff in den Untersuchungsbetrieben. Jahrelanger Einsatz der Wirkstoffklasse der Pyrethroide und Pyrethrine wird den hohen Resistenzgrad der untersuchten Stämme gefördert haben.

Zwar wurde auf 3 Betrieben, auf denen die Fliegen überhaupt keine Reaktion mehr gegenüber Deltamethrin zeigten, nur auf einem Betrieb (OPR2) zurzeit mit Deltamethrin gearbeitet, jedoch setzten die anderen beiden Betriebe mit Permethrin und Cypermethrin, zwei Wirkstoffe aus der Klasse der Pyrethroide ein. Wenn auch auf keinem der Betriebe λ -Cyhalothrin eingesetzt wurde, so ist die Resistenz der 15 Betriebe gegenüber λ -Cyhalothrin vermutlich bedingt durch die vorhandenen Kreuzresistenzen unter den Wirkstoffen der Pyrethroide. Die Betriebe PM9, OPR2 und OPR6 zeigen sowohl im Feld- als auch im Laborversuch keine Reaktion auf die Insektizidklasse der Pyrethroide. Auch zeigten die Betriebe TF1, OHV2 und HVL3, die im Laborversuch keine Reaktion auf λ -Cyhalothrin zeigten, eine sehr geringe Mortalität im FlyBox[®]-Versuch (maximal 28,6%).

Kreuzresistenz bei Pyrethroiden wurde in der Vergangenheit schon mehrfach nachgewiesen (DeVries und Georghiou, 1980). Hier liegt mit großer Wahrscheinlichkeit die Erklärung für die Resistenzen der Fliegen sowohl im Feld- als auch im Laborversuch mit Pyrethroiden.

Demzufolge kann man davon ausgehen, dass auch weitere Wirkstoffe aus der Klasse der Pyrethroide bei den 60 untersuchten Fliegenstämmen keine effektive Wirkung mehr zeigen. Pyrethroide sind daher für den Einsatz im Untersuchungsgebiet nicht zu empfehlen.

Neonicotinoide

Im Fütterungstest zeigten sich nach WHO Bewertung gegenüber Thiamethoxam keine Resistenzen. Nur 9 von 60 Stämmen sind verdächtig (87,5-96,8%). Die übrigen 51 Stämme sind als sensibel anzusehen (100%). Die Ergebnisse bei Imidacloprid zeigten dagegen bei 9 von 60 Stämmen beim Fütterungstest nach einer Stunde Exposition Resistenzen (34,5-77,8%), 42 sind als verdächtig zu bewerten (80-98%). Nur 9 Stämme sind sensibel gegenüber Imidacloprid (100%). Die Expositionszeit im Fütterungstest im Labor wurde gegenüber dem Feldversuch von einer Stunde auf 48 Stunden Dauerexposition erhöht, damit eine Aufnahme des Wirkstoffes für die Fliegen unumgänglich war.

So war Thiamethoxam nach 48 Stunden bei allen 15 Stämmen wirksam (98-100%) und es konnte keine Resistenz festgestellt werden. Andere Ergebnisse waren bei Imidacloprid zu erkennen. Hier waren 9 der 15 Stämme als „verdächtig“ einzustufen (83-97%). 6 Stämme reagierten sensibel auf Imidacloprid (98-100%). Insgesamt war der Wirkungseintritt langsamer als bei Thiamethoxam, das eine wesentlich schnellere Abtötung der Fliegen zeigte. Auch Kristensen und Jespersen (2008) zeigten in Fütterungstests, dass Imidacloprid weniger toxisch ist als Thiamethoxam.

Auffällig ist, dass der WHO- Stamm auch nach einer Stunde Expositionszeit durch Imidacloprid nur eine Mortalitätsrate von 84,8 % erreichte. Nach Rücksprache mit Novartis (Herkunft des WHO-Stammes) wurden diese Ergebnisse bestätigt. Auch dort wurde keine 100%ige Mortalität in Versuchen mit Imidacloprid erzielt (persönliche Mitteilung Dr. Sievert, Novartis Animal Health, Basel, Schweiz). Im Fütterungsversuch über 48 Stunden zeigte der WHO-Stamm im Gegensatz zur Expositionszeit von einer Stunde letztendlich eine 100%ige Mortalitätsrate.

In dieser Studie überraschten die Ergebnisse zur Resistenzlage der Fliegen gegenüber Imidacloprid, zumal der Wirkstoff selbst in keinem der Betriebe eingesetzt wird oder wurde. Lediglich Clothianidin aus der Gruppe der Neonicotinoide wurde auf einem einzigen Betrieb verwendet. Die niedrigen Mortalitätsraten im Feldversuch können zum Teil der Expositionszeit von einer Stunde zugeschrieben werden, die vermutlich zu gering war, um eine Aufnahme des Stoffes bei allen Fliegen zu gewährleisten. Dennoch zeigt der Laborversuch, dass selbst nach 48 Stunden Dauereexposition immer noch nicht alle Fliegen durch den Wirkstoff Imidacloprid abgetötet werden können. Das lässt vermuten, dass auch unter Feldbedingungen, bei denen die Fliege im Normalfall nur kurz Kontakt zum Wirkstoff hat oder diesen aufnimmt, die Dosis nicht mehr ausreicht, um den Tod herbeizuführen. Möglicherweise sind die vorhandenen Unempfindlichkeiten der Fliegen gegenüber Imidacloprid auf seinen Einsatz als Pflanzenschutzmittel zurückzuführen. Imidacloprid wird seit Jahren u.a. als Beizmittel in Deutschland eingesetzt und ist zurzeit in 33 in Deutschland zugelassenen Pflanzenschutzmitteln enthalten (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, 2009). Eine mögliche Resistenzentwicklung durch die Wirkstoffaufnahme über behandelte Pflanzen sollte bei *Musca domestica* in Betracht gezogen werden. In den letzten Jahren wird es auch immer wieder für das Bienensterben verantwortlich gemacht (www.innovations-report.de/html/berichte/umwelt_naturschutz/bericht-33414.html).

Auch Kristensen und Jespersen (2008) berichten in ihren Untersuchungen von 2000-2001 von Resistenzen gegenüber Imidacloprid bei *Musca domestica*, noch bevor die Klasse der Neonicotinoide im Jahre 2005 in den dänischen Markt als Fliegenbekämpfungsmittel eingeführt wurde. Eine Erklärung dafür konnte bisher nicht gefunden werden.

Millar und Denholm (2007) berichten von zunehmenden Resistenzen gegenüber Neonicotinoiden, vermutlich bedingt durch Änderungen der Angriffsstellen, nicht nur bei Stubenfliegen sondern auch anderen v.a. Pflanzenschädlingen.

Das noch wirksame Thiamethoxam als Alternativinsektizid zu Imidacloprid einzusetzen sollte, aufgrund der vorhandenen Kreuzresistenzen bei beiden Wirkstoffen, vermieden

werden (Kristensen und Jespersen, 2008). Folglich kann ein Einsatz von Thiamethoxam nur bei durchdachtem und professionellem Einsatz im Fliegenbekämpfungsprogramm genutzt werden.

Spinosad

Das Insektizid Spinosad zeigte im Feldversuch 100%ige Wirksamkeit. Alle Stämme reagierten sensibel gegenüber dieser Wirksubstanz. Die hohe toxische Wirkung von Spinosad wurde auch schon von Kristensen und Jespersen (Kristensen und Jespersen, 2004) bei Feldpopulationen in Dänemark nachgewiesen. Spinosad wurde erst 1980 isoliert und anschließend auf den Markt zur Insektenbekämpfung eingeführt. Es agiert sowohl über nicotinerge Acetylcholinrezeptoren als auch über GABA-Rezeptoren. Dabei bindet es an anderen nAChR als die Klasse der Neonicotinoide (Millar und Denholm, 2007). Dieser einmalige und neue Wirkungsmechanismus und die erst kürzliche Einführung auf dem Markt als Insektenbekämpfungsmittel sind wohl der Grund für die überragende Wirksamkeit in dieser Studie zu sehen. Zudem sind keine Kreuzresistenzen mit anderen Wirkstoffklassen bekannt (Kristensen und Jespersen, 2004), so dass Spinosad schon als „Resistenzbrecher“ gefeiert wird. Deacutis *et al.* (2006) untersuchten die Empfindlichkeit von Fliegen vor und nach einer Saison mit Spinosad als Insektenbekämpfungsmittel. Es gab keinen Unterschied in der Empfindlichkeit der Fliegen gegenüber Spinosad. Allerdings konnten Shono und Scott (2003) in Laborversuchen zeigen, dass durch gezielte Selektion von Fliegen (*Musca domestica*) mit Spinosad eine Resistenzentwicklung innerhalb von 8-10 Generationen möglich ist. Somit bietet Spinosad zurzeit zwar einen Wirkstoff mit großem Wirkungspotential und geringer Umwelttoxizität, dennoch ist auch hier die Gefahr einer Resistenzentwicklung durchaus gegeben, wenn der Selektionsdruck durch falsche Anwendungsmethoden zu hoch wird.

Insektenwachstumsregulatoren

Die untersuchten Larvizide zeigten sehr unterschiedliche Ergebnisse. Gegenüber Cyromazin konnten keine Resistenzen festgestellt werden. Nur 3 Stämme (MOL2, HVL3 und PM9) waren bei Einsatz der DD verdächtig (80-94%). 12 waren sensibel (99-100%). Weitaus deutlichere Ergebnisse sind bei Triflumuron zu sehen. Resistenzen bei der DD wurden bei 2 Stämmen (PM9 und MOL2) festgestellt (45% und 70%), 6 sind als verdächtig einzustufen (81-93%). Nur 7 Stämme sind als sensibel zu werten (99-100%). Die Larvenentwicklung des Stammes PM9 konnte erst mit der 256-fachen DD vollständig gehemmt werden.

Noch Ende der 90er Jahre wurde nur vereinzelt von Resistenzen gegenüber IWRs berichtet, jedoch konnten schon in Laborversuchen durch Selektion mit Insektenwachstumsregulatoren Resistenzen erzeugt werden (Keiding, 1999) .

In den letzten Jahren wird immer wieder von Resistenzen gegenüber Insektenwachstumsregulatoren u.a. aus Argentinien (Acevedo *et al.*, 2009) berichtet. Dort, wie auch in den USA und Brasilien, wird Cyromazin als „feed-through“ in Geflügelfarmen eingesetzt, so dass eine Dauereexposition der Fliegen mit dem Wirkstoff gegeben ist, eine optimale Voraussetzung für die Entwicklung von Resistenzen. In Deutschland wird die Methode des „feed-through“ nicht praktiziert. Und auch die Anwendung der IWRs auf den untersuchten 60 Betrieben lag bei nur 4,6%, was wohl die v.a. gute Wirksamkeit des Wirkstoffes Cyromazin erklärt.

Betrachtet man den Insektizideinsatz des Betriebes PM9, so zeigt sich, dass dieser Betrieb einer von 3 Betrieben ist, der Diflubenzuron als Fliegenbekämpfungsmittel einsetzt. Diflubenzuron gehört mit Triflumuron in die Gruppe der Benzoylphenyl-Harnstoffe.

Kristensen und Jespersen (2003) zeigten in ihrer Arbeit die Kreuzresistenz zwischen Diflubenzuron und Triflumuron, die sich vermutlich durch die Strukturähnlichkeit der beiden Wirkstoffe und einem ähnlichen Resistenzmechanismus bei Fliegen erklären lässt. Somit könnte die Ursache der Triflumuron-Resistenz in dem Einsatz von Diflubenzuron auf dem Betrieb PM9 liegen.

In der durchgeführten Studie wurde deutlich, dass auf dem Gebiet der Fliegenbekämpfung der Bedarf an Aufklärung über den adäquaten Insektizideinsatz groß ist und, dass eine wirksame Fliegenbekämpfung nur dann durchgeführt werden kann, wenn der Resistenzstatus vor Ort bekannt ist. Eine Fliegenbekämpfung, die ausschließlich auf dem Einsatz von Insektiziden beruht, stellt vor allem beim Auftreten von Resistenzen ein Problem dar. Für ein sinnvolles Bekämpfungsprogramm muss zunächst die Resistenzlage vor Ort ermittelt werden. Auch Informationen zum bisherigen Insektizideinsatz, Pflanzenschutzmitteln und Herbiziden sind von Bedeutung. Die erfolgreiche Fliegenbekämpfung ist nur durch die gezielte Kombination von Larviziden und Adultiziden möglich, die Larven und adulte Stadien gleichzeitig zum Ziel der Maßnahmen machen. Zur Vermeidung von Resistenzen sollten Wirkstoffgruppen möglichst rotierend eingesetzt werden. Zudem spielt das Stallhygienemanagement und Stallklima eine bedeutende Rolle in der Bekämpfung von Stallfliegen, da den Fliegen dadurch das Brutmedium entzogen wird. Eine ergänzende Maßnahme mit biologischer Bekämpfung durch Fraßfeinde ist bei weniger starkem Befall von Stallungen durchaus in Erwägung zu ziehen. Ziel der Fliegenbekämpfung ist es den Befall möglichst niedrig zu halten, eine völlige Fliegenfreiheit wird selbst mit der komplexen Kombination von chemischen, physikalischen und biologischen Maßnahmen nie erreicht werden. Regelmäßige Überwachungen (möglichst jährlich) der Resistenzspektren vor Ort und der darauf abgestimmte Insektizideinsatz dürften das Fliegenaufkommen jedoch minimieren. Ein bundesweites Monitoring wäre wichtig, um die Resistenzlage in der gesamten Bundesrepublik darzustellen. Empfehlungen und Bekämpfungsprogramme können so individuell an die jeweilige Situation angepasst werden und sowohl an Betriebsleiter als auch an Hersteller von Insektiziden weitergeben werden. Gegebenfalls sollte der Einsatz von bestimmten Wirkstoffgruppen verboten werden, wie es der Fall in Dänemark bei Pyrethroiden ist, um Resistenzbildung zu minimieren.

6 Zusammenfassung

Die Bekämpfung von Stallfliegen findet heute überwiegend mit Insektiziden statt. Die hohe Vermehrungsrate der Insekten kann unter Einsatz von Insektiziden innerhalb weniger Generationen zu Insektizidresistenzen führen. Untersuchungen über das Vorkommen und die Verbreitung von Insektizidresistenzen bei Stallfliegen wurden in den letzten Jahren bis auf wenige Ausnahmen weder im Bundesland Brandenburg noch in anderen Bundesländern durchgeführt. Ziel der Arbeit war es, Vorkommen und Verbreitung von Insektizidresistenzen in der Region Brandenburg zu dokumentieren, um den Betrieben eine individuelle und wirksame Beratung hinsichtlich zukünftiger Fliegenbekämpfung geben zu können. Zusätzlich wurde ein kürzlich entwickeltes Testverfahren (FlyBox[®]) auf seine Eignung als mobiler „Schnelltest“ für Resistenzen geprüft.

Von Juni bis November 2008 wurden auf 60 Milchviehbeständen im Bundesland Brandenburg Fliegen (*Musca domestica* L.) gefangen und auf ihre Insektizidempfindlichkeit getestet. Zunächst wurden in einem ersten Untersuchungsabschnitt die Wirkstoffe Deltamethrin mit der FlyBox[®] und Thiamethoxam, Imidacloprid und Spinosad im Fütterungstest auf den Betrieben vor Ort getestet. In einem zweiten Untersuchungsabschnitt wurden Fliegenpopulationen von 15 auffälligen Betrieben bezüglich Insektizidresistenzen im Labor nachgezüchtet, um ihre Empfindlichkeit unter kontrollierten Bedingungen in weiteren Versuchen mit etablierten Verfahren und einer Auswahl vorher nicht eingesetzter Wirkstoffe untersuchen zu können. Bei diesen Evaluierungen kamen als weiteres Pyrethroid topikal appliziertes λ -Cyhalothrin, Imidacloprid und Thiamethoxam im modifizierten Fütterungsversuch sowie die Larvizide Cyromazin und Triflumuron zum Einsatz. Die Expositionszeit im Fütterungstest im Labor wurde gegenüber dem Feldversuch von einer Stunde auf 48 Stunden Dauereexposition erhöht, um eine Aufnahme des Wirkstoffes zu garantieren.

52 von 60 im Feldversuch getesteten Fliegenstämmen (86,7%) waren resistent gegenüber Deltamethrin, 6 Stämme (10%) sind als verdächtig einzustufen und lediglich 2 Stämme (3,3%) als sensibel zu bewerten. Spinosad zeigte im Fütterungstest bei allen Stämmen 100%ige Wirksamkeit. Gegenüber Thiamethoxam zeigten sich ebenfalls keine Resistenzen. Nur 9 von 60 Stämmen (15%) waren verdächtig. Die übrigen 51 Stämme (85%) sind als sensibel anzusehen. 9 von 60 Stämmen (15%) zeigten gegenüber Imidacloprid Resistenzen. 42 (70%) sind als verdächtig zu bewerten. Nur 9 Stämme (15%) sind sensibel gegenüber Imidacloprid.

Die Untersuchungen der auffälligen Betriebe hinsichtlich der Resistenzen vor Ort zeigten, dass Thiamethoxam nach 48 Stunden bei allen 15 Stämmen wirksam war. Bei Imidacloprid zeigten sich 9 der 15 Stämme (60%) als verdächtig. 6 Stämme (40%) reagierten sensibel auf Imidacloprid. Während die topikale Applikation von λ -Cyhalothrin beim sensiblen WHO-Stamm schon bei der Discriminating Dose (DD) (2,5 ng a.i./Fliege) zu 100% Mortalität führte, betrug die maximale Mortalität 27% bei einer der nachgezüchteten 15 Populationen. Alle 15 Stämme waren bei der DD resistent gegenüber λ -Cyhalothrin. Die larvizide Wirkung von Cyromazin zeigte nach Einsatz der DD (0,75ppm) bei 12 von 15 Populationen (80%) volle Wirksamkeit. Nur 3 Stämme (20%) waren als verdächtig anzusehen. Triflumuron-Resistenzen wurden bei 2 Stämmen (13,3%) (PM9 und MOL2) festgestellt, 6 (40%) waren als verdächtig einzustufen und nur 7 Stämme (46,7%) sind als sensibel zu werten.

Die Ergebnisse der Studie zeigen, dass Pyrethroidresistenzen in Milchviehbetrieben im Bundesland Brandenburg weit verbreitet sind und diese Wirkstoffklasse für den weiteren Einsatz nicht zu empfehlen ist. Andere Wirkstoffklassen wie Neonicotinoide und die Klasse der Insektenwachstumsregulatoren zeigen in den meisten Fällen noch gute Wirksamkeit, Resistenzen sind aber auch hier schon vorhanden. Spinosad erwies sich als hochpotenter Wirkstoff gegen Fliegen.

Aufklärungsbedarf zum Thema Fliegenbekämpfung und Insektizideinsatz bei den Betrieben besteht und ist dringend nötig, um Resistenzentwicklungen zu verhindern bzw. zu

verlangsamen. Das Ziel weiterer Untersuchungen sollte sein, bundesweit flächendeckende Untersuchungen auf Betrieben durchzuführen, um so den Status der Resistenzen überblicken zu können und entsprechende Bekämpfungsprogramme an die jeweilige Situation individuell anpassen zu können.

7 Summary

Occurrence of insecticide resistance in flies (*Musca domestica*) on dairy farms in the federal state of Brandenburg, Germany

Insecticides constitute the mainstay for controlling nuisance insects, including house flies. The high reproductive rate of house flies facilitates resistance development within a few generations when insecticides are applied in a non-strategic manner. Knowledge about the occurrence and distribution of insecticide resistance in houseflies is actually scarce; there have been only a few and limited surveys to assess the presence of insecticide resistance in Germany.

The purpose of this study was to evaluate the occurrence and distribution of insecticide resistance in the region of Brandenburg/Germany with the objective of designing best-bet strategic approaches for the control of nuisance insects. The recently developed FlyBox[®] method was validated as a simple, reliable test for assessing insecticide resistance against pyrethroids. Therefore, houseflies (*Musca domestica*) were caught on 60 dairy farms in Brandenburg/Germany to evaluate their susceptibility to insecticides between June and November 2008.

In an on-farm cross-sectional survey the susceptibility of *Musca domestica* to deltamethrin (100mg/m²) was assessed with the FlyBox[®] method. Additionally, the efficacy of thiamethoxam, imidacloprid and spinosad was investigated in non-choice feeding-tests. Following the results of the preliminary on-farm cross-sectional survey fly populations from 15 farms with a reduced susceptibility, which had been detected during the rapid on-farm assessment were caught and bred in the laboratory. The susceptibility of the resulting offspring was tested with established methods under controlled conditions. The toxicity of λ -cyhalothrin was assessed by topical application and varying concentrations. Thiamethoxam and imidacloprid were tested with modified feeding-tests, and the insect growth regulators cyromazine and triflumuron were evaluated with larvicide tests. Instead of one hour

Summary

exposure during the non-choice feeding-test the test insects were exposed for 48 hours with thiamethoxam und imidacloprid.

On-farm assays: The on-farm surveys revealed that 52 of 60 tested strains (86,7%) were resistant to deltamethrin, 6 strains (10%) were classified as suspicious, and merely 2 strains (3,3%) were considered being sensitive. Exposure to spinosad lead to 100% mortality of all strains. There was no resistance to thiamethoxam according to WHO definition. Only 9 of 60 strains (15%) showed a decrease in susceptibility. The remaining 51 strains (85%) could be classified as sensitive. However, 9 out of 60 strains (15%) showed resistance to imidacloprid. Forty two (70%) were considered suspicious. Only 9 strains (15%) were found to be fully susceptible to imidacloprid.

Laboratory assays: Almost 100% of all exposed *Musca domestica* were affected after 48 hours; hence, according to WHO definition the fly populations from the 15 farms were fully susceptible to thiamethoxam. Six strains from the 15 farms were still fully susceptible to imidacloprid contrasting with the remaining 9 strains which were thus classified suspicious. Topical application of λ -cyhalothrin caused 100% mortality in the WHO-strain at the discriminating dose (DD) (2,5 ng a.i./fly). None of the 15 strains displayed at the DD a mortality exceeding 27 %, leading to the conclusion that they were resistant to λ -cyhalothrin at the DD. The DD of cyromazine (0,75ppm) prevented development in 12 out of 15 strains; only 3 strains (20%) were suspicious. Triflumuron resistance was detected in 2 strains (13,3%) (PM9 and MOL2), 6 (40%) were suspicious and only 7 strains (46,7%) were rated sensitive.

The results of the survey demonstrate a widespread resistance of *Musca domestica* to pyrethroids on dairy farms in the region of Brandenburg/Germany. Other classes of insecticides like neonicotinoids and insect growth regulators appear to be effective in most cases; nevertheless, resistance is already existent. Spinosad proved to be a highly effective active ingredient for the control of *Musca domestica*.

There is an urgent need for knowledge transfer of how best to achieve control of insect pests in livestock husbandry systems. Best-bet strategies and continuous surveillance should

greatly help to avoid or reduce the risk of insecticide resistance development. There is also an urgent need for an extension of insecticide resistance survey into other areas and in other livestock husbandry systems. The objective should be to adapt and to design appropriate management and pest control strategies for any given situation.

8 Anhang

Tabelle 7: Fragebogen zum Insektizideinsatz auf Milchviehbetrieben (n=60) im Bundesland Brandenburg, Juni bis August 2008

Betrieb	
Nr.	
Adresse/Telefonnr.	
Anzahl der Tiere im Betrieb	
Haltungsform	
Insektizide	
Anwendung in der Vergangenheit	
Aktuelle Anwendung	
Anwendungsintervalle/Zeitraum	
Auffälligkeiten (Wirkungsverlust?)	

9 Literaturverzeichnis

- Abbott, W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J Econ Entomol 18, 265-267.
- Acevedo, G.R., Zapater, M., Toloza, A.C., 2009. Insecticide resistance of house fly, *Musca domestica* (L.) from Argentina. Parasitol Res 105, 489-493.
- Alvarez Montes de Oca, D.M., de la Fuente, J.L., Villarrubia Montes de Oca, O.L., Menendez de San Pedro, J.C., Losada, E.O., 1996. Actividad biologica de *Ricinus communis* sobre mosca domestica (*Musca domestica*). Rev Cubana Med Trop 48, 192-194.
- Amin, A.R., Shoukry, A., Morsy, T.A., Mazyad, S.A., 1997. Studies of wound myiasis among sheep and goats in North Sinai Governorate, Egypt. J Egypt Soc Parasitol 27, 719-737.
- Bauer, B., Jandowsky, A., Schein, E., Mehlitz, D., Clausen, P.H., 2009. An appraisal of current and new techniques intended to protect bulls against *Culicoides* and other haematophagous nematocera: the case of Schmergow, Brandenburg, Germany. Parasitol Res 105, 359-365.
- Beckmann, M., Haack, K.-J., 2003. Chemische Schädlingsbekämpfung - Insektizide in der Landwirtschaft. Chem Unserer Zeit 37, 88-97.
- Betke, P., Schultka, H., 1980. Untersuchungen zum Verhalten der Großen Stubenfliege (*Musca domestica* L.) in einer Schweinemastanlage und der Versuch ihrer Bekämpfung mit einem Pyrethrumpräparat mittels Aerosoltechnik. Monatsh Veterinärmed 35, 850-852.
- Betke, P., Schultka, H., Ribbeck, R., 1986. *Stomoxys calcitrans*-Plage in einer Milchviehanlage. Angew Parasitol 27, 39-44.
- Bidawid, S.P., Edeson, J.F., Ibrahim, J., Matossian, R.M., 1978. The role of non-biting flies in the transmission of enteric pathogens (*Salmonella* species and *Shigella* species) in Beirut, Lebanon. Ann Trop Med Parasitol 72, 117-121.
- Bisset, J.A., 2002. Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. Rev Cubana Med Trop 54(3), 202-219.
- Busvine, J.R., 1951. Mechanism of resistance to insecticides in houseflies. Nature 168, 193-195.
- Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, 2009 (<https://portal.bvl.bund.de/psm/jsp/index.jsp>) (letzter Zugriff 2009)
- Cafarchia, C., Lia, R.P., Romito, D., Otranto, D., 2009. Competence of the housefly, *Musca domestica*, as a vector of *Microsporium canis* under experimental conditions. Med Vet Entomol. 23, 21-25.

- Carlson, D.A., Mayer, M.S., Silhacek, D.L., James, J.D., Beroza, M., Bierl, B.A., 1971. Sex attractant pheromone of the house fly: isolation, identification and synthesis. *Science* 174, 76-78.
- Cerf, D.C., Georghiou, G.P., 1974. Cross-resistance to an inhibitor of chitin synthesis, TH 60-40, in insecticide-resistant strains of the house fly. *J Agric Food Chem* 22, 1145-1146.
- Chapman, J.W., Howse, P.E., Knapp, J.J., Goulson, D., 1998. Evaluation of three (Z)-9-tricosene formulations for control of *Musca domestica* (Diptera: *Muscidae*) in caged-layer poultry units. *J Econ Entomol* 91, 915-922.
- Clausen, P.-H., Stephan, A., Bartsch, S., Jandowsky, A., Hoffmann-Köhler, P., Schein, E., Mehlitz, D., Bauer, B., 2009. Seasonal dynamics of biting midges (Diptera: Ceratopogonidae, *Culicoides* spp.) on dairy farms of Central Germany during the 2007/2008 epidemic of bluetongue. *Parasitol Res* 105, 381-386.
- Clavel, A., Doiz, O., Morales, S., Varea, M., Seral, C., Castillo, F.J., Fleta, J., Rubio, C., Gómez-Lus, R., 2002. House fly as a transport vector of *Cryptosporidium parvum*. *Folia Parasitol (Praha)* 49, 163-164.
- Coch, F., 1981. Zum jahreszeitlichen Auftreten des *Musca domestica*-Parasitoiden *Muscidifurax raptor* (Hymenoptera: *Pteromalidae*) in einer Schweinezuchtanlage. *Angew Parasitol* 22, 217-221.
- Cohen, D., Green, M., Block, C., Slepon, R., Ambar, R., Wasserman, S.S., Levine, M.M., 1991. Reduction of transmission of shigellosis by control of houseflies (*Musca domestica*). *Lancet* 337, 993-997.
- Davies, T.G.E., Field, L.M., Usherwood, P.N.R., Williamson, M.S., 2007. DDT, Pyrethrins, Pyrethroids and Insect Sodium Channels. *Life* 59, 151-162.
- De Jesús, A.J., Olsen, A.R., Bryce, J.R., Whiting, R.C., 2004. Quantitative contamination and transfer of *Escherichia coli* from foods by houseflies, *Musca domestica* L. (Diptera: *Muscidae*). *Int J Food Microbiol* 93, 259-262.
- Deacutis, J.M., Leichter, C.A., Gerry, A.C., 2006. Susceptibility of field collected house flies to spinosad before and after a season of use. *J Agric Urban Entomol* 23 No.2.
- Devonshire, A.L., 1973. The biochemical mechanisms of resistance to insecticides with especial reference to the housefly, *Musca domestica* and aphid, *Myzus persicae*. *Pestic Sci* 4, 521-529.
- DeVries, D.H., Georghiou, G.P., 1980. A wide spectrum of resistance to pyrethroid insecticides in *Musca domestica*. *Experientia* 36, 226-227.
- Dipeolu, O.O., 1982. Laboratory investigations into the role of *Musca vicina* and *Musca domestica* in the transmission of parasitic helminth eggs and larvae. *Int J Zoonoses* 9, 57-61.

- Doiz, O., Clavel, A., Morales, S., Varea, M., Castillo, F.J., Rubio, C., Gómez-Lus, R., 2000. House fly (*Musca domestica*) as a transport vector of *Giardia lamblia*. *Folia Parasitol (Praha)* 47, 330-331.
- Eckert, J., Friedhoff, K.T., Zahner, H., Deplazes, P., 2005. Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin. Enke Verlag Stuttgart.
- Forsey, T., Darougar, S., 1981. Transmission of *chlamydiae* by the housefly. *Br J Ophthalmol* 65, 147-150.
- Förster, M., Klimpel, S., Mehlhorn, H., Sievert, K., Messler, S., Pfeffer, K., 2007. Pilot study on synanthropic flies (e.g. *Musca*, *Sarcophaga*, *Calliphora*, *Fannia*, *Lucilia*, *Stomoxys*) as vectors of pathogenic microorganisms. *Parasitol Res* 101, 243–246.
- Förster, M., Klimpel, S., Sievert, K., 2009. The house fly (*Musca domestica*) as a potential vector of metazoan parasites caught in a pig-pen in Germany. *Vet Parasitol* 160, 163-167.
- Fotedar, R., 2001. Vector potential of houseflies (*Musca domestica*) in the transmission of *Vibrio cholerae* in India. *Acta Trop* 78, 31-34.
- Freeborn, S.B., Stanley, B., Regan, W.M., Folger, A.H., 1925. The relation of flies and fly sprays to milk production. *J Econ Entomol* 18, 779-790(712).
- Frey, H.-H., Löscher, W., 2002. Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie, 2.Auflage. Enke Verlag, Stuttgart.
- Gill, S.S., Cowles, E.A., Pietrantonio, P.V., 1992. The mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. *Ann Rev Entomol* 37, 615-636.
- Graczyk, T.K., Cranfield, M.R., Fayer, R., Bixler, H., 1999. House flies (*Musca domestica*) as transport hosts of *Cryptosporidium parvum*. *Am J Trop Med Hyg* 61, 500-504.
- Graczyk, T.K., Knight, R., Gilman, R.H., Cranfield, M.R., 2001. The role of non-biting flies in the epidemiology of human infectious diseases. *Microbes Infect* 3, 231-235.
- Greenberg, B., 1971. Flies and Disease Vol.I. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Greenberg, B., 1973. Flies and Disease Vol.II. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Groth, U., 1973. Zuflugsbehinderungen in Viehställen und Fliegendichte-Erfassungsmethoden. *Angew Parasitol* 14, 131-151.
- Hammock, B.D., Mumby, S.M., Lee, P.W., 1977. Mechanisms of resistance to the juvenoid methoprene in the house fly *Musca domestica* L. *Pestic Biochem Physiol* 7, 261-272.

- Hatch, E., Jr., 1911. The house fly as a carrier of disease. *Ann Am Acad Pol Soc Sci* 37, 168-179.
- Heimbucher, J., 1982. Insektizide gegen Ektoparasiten und Lästlinge bei Haustieren - eine kritische Bestandsaufnahme in Österreich erhältlicher Präparate. *Wien Tierarztl Monatsschr* 69, 133-138, 149-155, 208-216.
- Hewitt, C.G., 1907. The Structure, Development, and Bionomics of the House-fly, *Musca domestica*, Linn. Part I.—The Anatomy of the Fly. *Q J Microsc Sci*, s2-51:395-448.
- Hewitt, C.G., 1908. The Structure, Development, and Bionomics of the House-fly, *Musca domestica*, Linn. Part II.—The Breeding Habits, Development, and the Anatomy of the Larva. *Q J Microsc Sci*, s2-52:495-545.
- Hewitt, C.G., 1909. The Structure, Development, and Bionomics of the House-fly, *Musca domestica*, Linn. Part III.—The Bionomics, Allies, Parasites, and the Relations of *M. domestica* to Human Disease. *Q J Microsc Sci*, s2-54:347-414.
- Hewitt, C.G., 1912. House-flies and how they spread disease. Cambridge University Press.
- Hiepe, T., Ribbeck, R., 1982. Lehrbuch der Parasitologie, Band 4, Veterinärmedizinische Arachno-Entomologie. Gustav Fischer Verlag Jena.
- Hitmi, A., Coudret, A., Barthomeuf, C., 2000. The production of pyrethrins by plant cell and tissue cultures of *Chrysanthemum cinerariaefolium* and tagetes species. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 35, 317-337.
- Hoffmann, G., 1987a. Fliegenbefall in landwirtschaftlichen Betrieben - Resistenzursachen und Bekämpfungsmethoden. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 95, 10-12.
- Hoffmann, G., 1987b. Resistenzentwicklung bei Hygieneschädlingen einschließlich Ektoparasiten - Definition und gegenwärtige Situation. *Zbl Bakt Hyg B* 185, 139-153.
- Hoffmann, G., Herrmann, J., 2002. Gliedertiere (Arthropoda) als mögliche Überträger (Vektoren) des Maul- und Klauenseuche- (MKS-)Virus. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 45, 565-576.
- Holdsworth, P.A., Vercruyse, J., Rehbein, S., Peter, R.J., De Bruin, C., Letonja, T., Green, P., 2006. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) guidelines for evaluating the efficacy of ectoparasiticides against biting and nuisance flies on ruminants. *Vet Parasitol* 136, 3-13.
- Howard, J., 2001. Nuisance flies around a landfill: Patterns of abundance and distribution *Waste Manag Res* 19, 308-313.
- Howard, J.J., Wall, R., 1995. The use of triflumuron on sugar-baited targets for autosterilization of the housefly, *Musca domestica*. *Entomol Exp Appl* 77, 159-165.
- Huang, K.X., Xia, L., Zhang, Y., Ding, X., Zahn, J.A., 2009. Recent advances in the biochemistry of spinosyns. *App Microbiol Biotechnol* 82, 13-23.

- Hucko, M., 1984. The role of the house fly (*Musca domestica* L.) in the transmission of *Coxiella burnetii*. *Folia Parasitol (Praha)* 31, 177-181.
- Imai, C., 1987. Control of insecticide resistance in a field population of houseflies, *Musca domestica*, by releasing susceptible flies. *Res Popul Ecol (Kyoto)* 29, 129-146.
- Iwasa, M., Makino, S., Asakura, H., Kobori, H., Morimoto, Y., 1999. Detection of *Escherichia coli* O157:H7 from *Musca domestica* (Diptera: *Muscidae*) at a cattle farm in Japan. *J Med Entomol* 36, 108-112.
- Jeschke, P., Nauen, R., 2008. Neonicotinoids-from zero to hero in insecticide chemistry. *Pest Manag Sci* 64, 1084-1098.
- Kaufman, P.E., Rutz, D.A., Frisch, S., 2005. Large sticky traps for capturing house flies and stable flies in dairy calf greenhouse facilities. *J Dairy Sci* 88, 176-181.
- Keiding, J., 1986. The housefly - biology and control. Advanced Level - Training and Information Guide, WHO/VBC/86.937, World Health Organisation Geneva.
- Keiding, J., 1999. Review of the global status and recent development of insecticide resistance in field populations of the housefly, *Musca domestica* (Diptera: *Muscidae*). *Bull Entomol Res* 89, S7-S67.
- Kleiner, A., 1969. Die Fliegenfauna in einem Rindergroßbestand und deren Bekämpfung. Dipl., Humboldt Universität Berlin.
- Kleiner, A., 1971. Untersuchungen zur Fliegenfauna in einer veterinärmedizinischen Lehr- und Forschungseinrichtung. Vet. Med. Diss., Humboldt Universität Berlin.
- Klunker, R., 1982. Wirtsneigung kältekonservierter *Musca domestica*-Puparien für die Massenzucht der Schlupfwespe *Muscidifurax raptor* (Hymenoptera: *Pteromalidae*). *Angew Parasitol* 23, 32-42.
- Kocisova, A., Novak, P., Toporcak, M., Petrovsky, M., 2002. Development of resistance in field housefly (*Musca domestica*): Comparison of effects of classic spray regimes versus integrated control methods. *Acta Vet Brno* 71, 401-405.
- Kristensen, M., Jespersen, J.B., 2003. Larvicide resistance in *Musca domestica* (Diptera: *Muscidae*) populations in Denmark and establishment of resistant laboratory strains. *J Econ Entomol* 96, 1300-1306.
- Kristensen, M., Jespersen, J.B., 2004. Susceptibility of spinosad in *Musca domestica* (Diptera: *Muscidae*) field populations. *J Econ Entomol* 97, 1042-1048.
- Kristensen, M., Jespersen, J.B., 2008. Susceptibility to thiamethoxam of *Musca domestica* from Danish livestock farms. *Pest Manag Sci* 64, 126-132.
- Kristensen, M., Spencer, A.G., Jespersen, J.B., 2001. The status and development of insecticide resistance in Danish populations of the housefly *Musca domestica* L. *Pest Manag Sci* 57, 82-89.

- Kühlhorn, F., 1961a. Über das Vorkommen verschiedener Dipteren (Zweiflügler) in den einzelnen Stallarten und ihr Verteilungsverhalten innerhalb des Stallraumes. Gesundheitsw u Desinfekt 10.
- Kühlhorn, F., 1961b. Über die Bedeutung des Fliegenzufluges in Viehställe und seine Bedeutung. Gesundheitsw u Desinfekt 53, 122-124.
- Kühlhorn, F., 1963. Über die Bedeutung tierischer Feinde für die in Ställen vorkommenden Dipteren (Zweiflügler). Gesundheitsw u Desinfekt 55, 6-8.
- Kühlhorn, F., 1965a. Über die mögliche Bedeutung einiger im Lebensbereich des Menschen und seiner Nutztiere vorkommender heimischer Dipterenarten als Gesundheitsschädlinge. Gesundheitsw u Desinfekt 57, 81-85.
- Kühlhorn, F., 1965b. Untersuchung über die Beziehungen zwischen den Luftbewegungen und dem Verteilungsverhalten von Dipteren im Stallraum. Gesundheitsw u Desinfekt 57, 10-16.
- Kühlhorn, F., 1983a. Dipterenfeinde in Stallungen Anz. Schädlingskde., Pflanzenschutz, Umweltschutz 56, 109-113.
- Kühlhorn, F., 1983b. Verbreitung der Toxoplasmose - Katzenkot und Dipteren. Tierarztl Prax 11, 385-392.
- Künast, C., 1980a. Das Stallfliegenproblem. Untersuchungen zur Insektizidresistenz bei der Stubenfliege (*Musca domestica* L.) in Süddeutschland. Berl Munch Tierarztl Wochenschr 93, 191-193.
- Künast, C., 1980b. Die Resistenz der Stubenfliege (*Musca domestica* L.) gegenüber Phosphorsäureestern (PSE) in Süddeutschland. Anz. Schädlingskde., Pflanzenschutz, Umweltschutz 53, 21-24.
- Künast, C., 1981. Das Stallfliegenproblem. Tierarztl Umsch 8, 537-549.
- Kunike, G., 1927. Experimentelle Untersuchungen über die Möglichkeit der Übertragung der Maul- und Klauenseuche durch Fliegen. Berl Tierarztl Wochenschr 43, 123-126.
- Labib, I.M., Rady, M., 2001. Application of *Bacillus thuringiensis* in poultry houses as a biological control agent against the housefly, *Musca domestica sorbens*. J Egypt Soc Parasitol 31, 531-544.
- Löscher, W., Ungemach, F.R., Kroker, R., 2003. Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren Parey Buchverlag, Berlin
- Maienfisch, P., Angst, M., Brandl, F., Fischer, W., Hofer, D., Kayser, H., Kobel, W., Rindlisbacher, A., Senn, R., Steinemann, A., Widmer, H., 2001a. Chemistry and biology of thiamethoxam: a second generation neonicotinoid. Pest Manag Sci 57, 906-913.

- Maienfisch, P., Huerlimann, H., Rindlisbacher, A., Gsell, L., Dettwiler, H., Haettenschwiler, J., Sieger, E., Walti, M., 2001b. The discovery of thiamethoxam: a second-generation neonicotinoid. *Pest Manag Sci* 57, 165-176.
- Mair, K.H., Centurier, C., Boch, J., 1980. Dipteren als Lästlinge an Jungrindern auf Bergweiden. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 93, 108-112.
- Martini, E., 1952. *Lehrbuch der Medizinischen Entomologie*. Verlag Gustav Fischer Jena.
- Millar, N.S., Denholm, I., 2007. Nicotinic acetylcholine receptors: targets for commercially important insecticides. *Invert Neurosci* 7, 53-66.
- Miller, T.A., 1988. Mechanisms of Resistance to Pyrethroid Insecticides. *Parasitol Today* 4, 8-12.
- Moriya, K., Fujibayashi, T., Yoshihara, T., Matsuda, A., Sumi, N., Umezaki, N., Kurahashi, H., Agui, N., Wada, A., Watanabe, H., 1999. Verotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 carried by the house fly in Japan. *Med Vet Entomol* 13, 214-216.
- Müller, P., 1982. Zur Bedeutung des *Musca domestica*-Antagonisten *Ophyra aenescens* (Diptera:Muscidae). III. Laborversuche zur Wechselwirkung zwischen den Larven von *M.domestica* und *O.aenescens*. *Angew Parasitol* 23, 143-154.
- Müller, P., Schumann, H., Betke, P., Schultka, H., Ribbeck, R., Hiepe, T., 1981. Die Bedeutung der *Musca domestica*-Antagonisten *Ophyra aenescens* (Diptera:Muscidae). I. Zum Auftreten von *Ophyra aenescens* in Anlagen der Tierproduktion. *Angew Parasitol* 22, 212-216.
- Nickerson, S.C., Owens, W.E., Boddie, R.L., 1995. Mastitis in Dairy Heifers: Initial Studies on Prevalence and Control. *J Dairy Sci* 78, 1607-1618.
- Oppenoorth, F.J., 1965. DDT-Resistance in the housefly dependent on different mechanisms and the action of synergists *Medl. landbouw hogesch. opzoekingsstat. Gent* 30, 1390-1396.
- Otranto, D., Tarsitano, E., Traversa, D., De Luca, F., Giangaspero, A., 2003. Molecular epidemiological survey on the vectors of *Thelazia gulosa*, *Thelazia rhodesi* and *Thelazia skrjabini* (Spirurida:Thelaziidae). *Parasitology* 127, 365-373.
- Pinetti, P., Lostia, A., Tarantino, F., 1974. The role played by flies in the transmission of the human and animal dermatophytic infection. *Mycopathol Mycol Appl* 54, 131-134.
- Pinto, M.C., do Prado, A.P., 2001. Resistance of *Musca domestica* L. populations to cyromazine (insect growth regulator) in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96, 729-732.
- Plapp, F.W., Jr., 1986. Genetics and Biochemistry of Insecticide Resistance in Arthropods: Prospect for the Future. *Pesticide Resistance: Strategies and Tactics for Management*. National Academy Press, Washington, D.C., pp. 74-86.

-
- Pospischil, R., Szomm, K., Londershausen, M., 1996. Multiple resistance in the larger house fly *Musca domestica* in Germany. *Pestic Sci* 48, 333-341.
- Price, N.R., 1991. Insect resistance to insecticides: Mechanisms and diagnosis. *Comp Biochem Physiol* 100C, 319-326.
- Ribbeck, R., Betke, P., Müller, P., Schumann, H., Hiepe, T., 1987. Stallfliegen - Schädigung und Bekämpfung in der intensiven Tierproduktion. *Monatsh Veterinarmed* 42, 517-521.
- Robertson, J.L., Russell, R.M., Preisler, H.K., Savin, N.E., 2007. *Bioassays with Arthropods*. CRC Press, Taylor & Francis Group Boca Raton, FL, United States of America.
- Roesger, W., 1951. Über den Einfluß der Fliegenplage in Milchviehställen auf die Milchleistung der Kühe unter besonderer Berücksichtigung des Fettgehaltes. *Vet. Med. Diss.*, Tierärztliche Hochschule Hannover
- Rogoff, W.M., Beltz, A.D., Johnson, J.O., Plapp, F.W., 1964. A sex pheromone in the housefly, *Musca domestica* L. *J Insect Physiol* 10, 239-246.
- Rommel, M., Eckert, J., Kutzer, E., Körting, W., Schnieder, T., 2000. *Veterinärmedizinische Parasitologie* Parey Buchverlag Berlin.
- Rosef, O., Kapperud, G., 1983. House flies (*Musca domestica*) as possible vectors of *Campylobacter fetus subsp. jejuni*. *Appl Environ Microbiol* 45, 381-383.
- Sawicki, R.M., 1973. Recent advances in the study of the genetics of resistance in the housefly, *Musca domestica*. *Pestic Sci* 4, 501-512.
- Schnieder, T., 2006. *Veterinärmedizinische Parasitologie* Georg Thieme Verlag Stuttgart.
- Schnur, H.J., Zivotofsky, D., Wilamowski, A., 2009. Myiasis in domestic animals in Israel. *Vet Parasitol* 161, 352-355.
- Schumann, H., 1961. Die Bedeutung symboviner Fliegen als Verbreiter von Mastitis-Erregern. *Monatsh Veterinarmed* 16, 624-626.
- Schumann, H., 1982. Zur Bedeutung des *Musca domestica*-Antagonisten *Ophyra aenescens* (Diptera: Muscidae). II. Morphologie der Entwicklungsstadien. *Angew Parasitol* 23, 86-92.
- Schweizer, G.G., 1947. Über die Kultur von *Empusa muscae* Cohn und andere Entomophthoraceen auf kalt sterilisierten Nährböden. *Planta* 35, 132-176.
- Scott, J.G., 1998. Toxicity of spinosad to susceptible and resistant strains of house flies, *Musca domestica*. *Pestic Sci* 54, 131-133.
- Scott, J.G., Alefantis, T.G., Kaufman, P.E., Rutz, D.A., 2000. Insecticide resistance in house flies from caged-layer poultry facilities. *Pest Management Science* 56, 147-153.

- Shono, T., Scott, J.G., 2003. Spinosad resistance in the house fly, is due to a recessive factor on autosome 1. *Pestic Biochem Physiol* 75, 1-7.
- Spiller, D., 1964. Nutrition and diet of muscoid flies. *Bull World Health Organ* 31, 551-554.
- Supperer, R., Heimbucher, J., 1982. Zur Biologie und Bekämpfung der Stallfliegen in Rinder- und Schweineställen. *Wien Tierarztl Monatsschr* 69, 229-236.
- Terriere, L.C., 1984. Induction of detoxication enzymes in insects. *Ann Rev Entomol* 29, 71-88.
- Tharwat, M.E., Hassan, A.N., Moustafa, A.A., Mahran, A.H., 1995. Effects of industrial formulations of *Bacillus thuringiensis* on the biology of *Musca domestica* L. (Diptera : *Muscidae*). *J Egypt Public Health Assoc* 70, 151-163.
- Thompson, G.D., Dutton, R., Sparks, T.C., 2000. Spinosad – a case study: an example from a natural products discovery programme. *Pest Manag Sci* 56, 696-702.
- Tunaz, H., Uygun, N., 2004. Insect growth regulators for insect pest control. *Turk J Agric For* 28, 377-387.
- Ugbogu, O., Nwachukwu, N.C., Ogbuagu, U.N., 2006. Isolation of *Salmonella* and *Shigella* species from house flies (*Musca domestica* L.) in Uturu, Nigeria. *Afr J Biotechnol* 5, 1090-1091.
- Vais, H., Williamson, M.S., Devonshire, A.L., Usherwood, P.N., 2001. The molecular interactions of pyrethroid insecticides with insect and mammalian sodium channels. *Pest Manag Sci* 57, 877-888.
- Vazirianzadeh, B., Jervis, M.A., Kidd, N.A.C., 2007. The effects of oral application of cyromazine and triflumuron on house-fly larvae. *Iran J Arthropod Borne Dis* 1(2), 7-13.
- Vinson, S.B., Plapp, F.W., Jr., 1974. Third generation pesticides: the potential for the development of resistance by insects. *J Agric Food Chem* 22, 356-360.
- Vogel, H., 1968. Züchtung von *Empusa muscae* und deren Verwendung zur Fliegenbekämpfung. *J Pest Sci* 41, 76-77.
- Wallace, G.D., 1971. Experimental transmission of *Toxoplasma gondii* by filth-flies. *Am J Trop Med Hyg* 20, 411-413.
- Weigand, N., Eggensperger, H., 1976. Wirksamkeit verschiedener Insektizide und Lockstoffe auf Fliegen in Tierställen. *Tierarztl Prax* 4, 287-293.
- WHO, 1957. Seventh report Expert Committee on insecticides. WHO Tech Report Ser 125, 1-32.

-
- WHO, 1980. Resistance of vectors of disease to pesticides, Fifth report of the WHO Expert Committee on Vector Biology and Control World Health Organisation Technical Report Series 655.
- WHO, 1991. Vector Control Series - The Housefly - Intermediate Level Training and Information Guide World Health Organization - Vector Biology and Control Division WHO/VBC/90.987.
- WHO, 1998. Test Procedures for Insecticide Resistance Monitoring in Malaria Vectors, Bio-Efficacy and Persistence of Insecticides on Treated Surfaces p. 43.
- WHO, Hemingway, J., 1998. Techniques to detect insecticide resistance mechanisms (Field and laboratory manual). WHO/CDS/CPC/MAL/98.6.
- Wilson, B.H., Burns, E.C., 1968. Induction of resistance to *Bacillus thuringiensis* in a laboratory strain of house flies. J Econ Entomol 61, 1747-1748.
- Wright, J.E., Oehler, D.D., Johnson, J.H., 1975. Control of house fly and stable fly breeding in rhinoceros dung with an insect growth regulator used as a feed additive. J Wildl Dis 11, 522-524.
- www.innovations-report.de/html/berichte/umwelt_naturschutz/bericht-33414.html (letzter Zugriff 2009)
- www.unterallgaeu.de/landratsamt/vet/_documents/blauzungenkrankheit_repellentien.pdf (letzter Zugriff 2009)
- Ziegler, E., 1970. Untersuchungen zur Fliegenfauna an Rindern in Stallungen und auf der Weide. Vet. Med. Diss., Humboldt Universität Berlin.
- Zurek, L., Wes Watson, D., Krasnoff, S.B., Schal, C., 2002. Effect of the entomopathogenic fungus, *Entomophthora muscae* (Zygomycetes: Entomophthoraceae), on sex pheromone and other cuticular hydrocarbons of the house fly, *Musca domestica*. J Invertebr Pathol 80, 171-176.

Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt PD Dr. Peter-Hennig Clausen für die Überlassung des Themas und die jederzeit vorhandene Bereitschaft für kritische und konstruktive Gespräche. Zudem möchte ich mich für die zuverlässige und schnelle Durchsicht der Arbeit bedanken.

Mein herzlicher Dank gilt Dr. Burkhard Bauer für die freundliche Betreuung während der Durchführung der praktischen Arbeiten und ebenfalls das zuverlässige und fachkundige Korrekturlesen während der Erstellung der Arbeit.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Michael Kristensen vom Department of Integrated Pest Management, Faculty of Agricultural Sciences, Aarhus University, für die Hilfe bei fachlichen Fragen bezüglich der Versuchsvorbereitung und Durchführung.

Für die fachlichen Anregungen und Hilfestellungen bezüglich Literaturbeschaffung möchte ich mich bei Dr. Klunker recht herzlich bedanken.

Weiterhin möchte ich mich bei der Firma Novartis Tiergesundheit AG, Basel, nicht nur für die finanzielle Unterstützung und die Bereitstellung der Materialien bedanken, sondern auch bei den wissenschaftlichen Mitarbeitern, Dr. Kai Sievert, Fritz J. Gfeller und Michael Breuer für die Einführung in die Untersuchungsmethoden und die jederzeit gewährte, engagierte Beratung bei den praktischen Versuchen.

Bei den Mitarbeitern des Umweltbundesamtes Berlin bedanke ich mich ebenfalls für die Einführung in die Untersuchungsmethoden.

Ferner danke ich Herrn Prof. Dr. Schein und den Mitarbeitern des Institutes für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin der FU-Berlin, insbesondere Frau Angelika Wiemann, Frau Dr. Cornelia Heile und Frau Peggy Hoffmann-Köhler für ihre allzeit vorhandene Hilfsbereitschaft, aufmunternde und nette Gespräche und moralische Unterstützung.

Allen anderen Kollegen und allen Mitarbeitern des Institutes für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin der FU-Berlin danke ich zudem für das gute Arbeitsklima und die vielfältig gewährte Hilfe bei Fragen und Nöten.

Bei den Mitarbeitern des Institutes für Biometrie und Informationsverarbeitung bedanke ich mich für die Mühe und die Hilfestellung bei den Darstellungen der Ergebnisse, hier insbesondere bei Frau Dr. G. Arndt für ihre kompetente Beratung.

Den Mitarbeitern der Veterinärmedizinischen Bibliothek und der IT-Abteilung gilt mein Dank für die freundliche Beratung und Hilfe bei der Literaturrecherche und bei technischen Fragen.

All meinen Freunden und Kollegen möchte ich für ihre seelische Unterstützung in der Zeit der Doktorarbeit danken, darunter möchte ich mich besonders bei Karen für das mühsame Korrekturlesen und die neu gewonnene Freundschaft bedanken.

Darüber hinaus danke ich meiner Familie, besonders meiner Mutter für ihren Rückhalt, ihre Geduld und die Motivation nicht nur während der Promotion, sondern auch während des Studiums.

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, den 14.09.2009

Anabell Jandowsky