#### Aus dem

# Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin des Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

und dem
Institut für Zoomorphologie, Zellbiologie und Parasitologie
des Fachbereichs Biologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

# Untersuchungen zur Wirksamkeit eines Neem-Präparates (Mite-Stop®) auf die Entwicklungsstadien der Roten Vogelmilbe Dermanyssus gallinae

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

vorgelegt von
Nina Locher
Tierärztin
aus Mühlacker

Berlin 2009

Journal-Nr.: 3332

# Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Leo Brunnberg

Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Eberhard Schein

Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Heinz Mehlhorn

Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Theodor Hiepe

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus): Dermanyssus gallinae, acaricides, Azadirachta indica, disease control, azadirachtin, microscopy

Tag der Promotion: 24.11.2009

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

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

ISBN: 978-3-86664-736-7

**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.

Coverbild © Eric Isselée - Fotolia.com alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© mensch und buch verlag 2009 choriner str. 85 - 10119 berlin verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de



Abkürzungen

Abb. Abbildung
A Adulte
AN Anale

AÖ Analöffnung

bzw. beziehungsweise

cm Zentimeter

cm<sup>2</sup> Quadratzentimeter

Ch. Charge

CO<sub>2</sub> Kohlendioxid

CR Cribrum

dbE dibasische Ester

dbe dibasic ester

D. gallinae Dermanyssus gallinae

d.h. das heißt

et al. et alii (und andere)

Eth Ethanol eth ethanol G Gesamt Stunde h Hex Hexan hex hexane L Larven I Liter

LM Lichtmikroskopie

m Meter M Mol

mA Milliampere mg Milligramm

MHD Mindesthaltbarkeitsdatum

min Minuten

ML Makrozyklische Laktone

ml Milliliter mm Millimeter

*m/z* Masse/Ladungs-Verhältnis

N Nymphen n. b. nicht bewertet

PC Propylencarbonat

Abkürzungen

pc propylene carbonate

REM Rasterelektronenmikroskopie

RH relative Luftfeuchte

s Sekunde

sog. sogenanntes

Tab. Tabelle

TÄHAV Tierärztliche Hausapothekenverordnung

u.a. unter anderem

v.a. vor allem

WK weiche Kutikula z.B. zum Beispiel

ZNS Zentralnervensystem

 $\begin{array}{ccc} z.T. & zum \ Teil \\ \mu I & Mikroliter \\ \mu m & Mikrometer \\ \mathfrak{C} & Grad \ Celsius \end{array}$ 

% Prozent

1	Einleitung	1
2	Ziel der Arbeit	2
3	Literaturübersicht	3
3.1	Dermanyssus gallinae (Rote Vogelmilbe)	3
3.1.1	Vorkommen und Bedeutung	3
3.1.2	Taxonomie	4
3.1.3	Morphologie	4
3.1.4	Entwicklungszyklus	11
3.1.5	Wirtsfindung und Ernährung	13
3.1.6	Krankheitsbild und Schadwirkung	15
3.1.7	Diagnostik	15
3.1.8	Bekämpfung	16
3.1.9	Zoonotische Bedeutung	19
3.2	Neem-Präparat (Mite-Stop®)	20
4	Material und Methoden	22
4.1	Herkunft der Roten Vogelmilbe Dermanyssus gallinae	22
4.2	Untersuchungen zum Entwicklungszyklus von <i>D. gallinae</i>	22
4.3	Laborversuche	22
4.3.1	Untersuchungen zur Wirksamkeit von Neem-Präparaten auf Filterpapier	22
4.4	Neem-Extrakte	26
4.5	Analytische Methoden zur Identifizierung der Inhaltsstoffe von Neem-Feinfiltrat	27
4.5.1	Hochdruckflüssigkeitschromatographie mit Massenspektrometrie (HPLC-MS) .	27
4.6	Mite-Stop® - Laborversuche	28
4.6.1	Untersuchungen zur Wirksamkeit von Mite-Stop® auf Filterpapier	28
4.6.2	Untersuchungen zur Wirksamkeit auf die Entwicklungsstadien von D. gallinae.	29
4.6.3	Untersuchungen zur Wirksamkeit über einen Zeitraum von 48 h	29
4.6.4	Untersuchungen zur oviziden Wirkung	30
4.6.5	Untersuchungen zur Haltbarkeit der Anwendungslösung	30

4.6.6	Untersuchungen zur Wirksamkeit von Mite-Stop® nach Behandlung des	
	Untergrundes im Laufe mehrerer Tage	30
4.6.7	Untersuchungen zur Haltbarkeit der Gebrauchslösung	30
4.6.8	Untersuchungen zur Wirkung auf verschmutzter Oberfläche	31
4.6.9	Untersuchungen zur repellierenden Wirkung	31
4.6.1	0 Untersuchungen zur Wirksamkeit auf verschiedenen Baumaterialien in	
	Hühnerställen	33
4.7	Mite-Stop® - Anwendung im Hühnerstall	36
4.7.1	Versuch 1 – Private Haltung von Legehennen	36
4.7.2	Versuch 2 – Wissenschaftlicher Geflügelhof	37
4.8	Statistische Auswertung	37
4.9	Lichtmikroskopische Untersuchung	38
4.9.1	Anfertigung von Dauerpräparaten	38
4.10	Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung	39
4.10.	1 Fixierung der Milben	39
4.10.	2 Entwässerung der Präparate	39
4.10.	3 Kritische-Punkt-Trocknung	39
4.10.	4 Montage der Präparate	40
4.10.	5 Besputterung der Präparate	40
4.10.	6 Untersuchung der Präparate im REM	40
5	Ergebnisse	41
5.1	Untersuchungen zum Entwicklungszyklus von D. gallinae	41
5.2	Untersuchungen zur Wirksamkeit verschiedener Neem-Extrakte	42
5.2.1	Neem-Feinfiltrat	42
5.2.2	Neem-dbE-Extrakt	43
5.2.3	Neem-Eth-Extrakt	45
5.2.4	Neem-Hex-Extrakt	46
5.2.5	Neem-PC-Extrakt	47
5.3	Ergebnisse der analytischen Methoden zur Identifizierung der Inhaltsstoffe von	
	Neem-Feinfiltrat	
5.3.1	Hochdruckflüssigkeitschromatographie mit Massenspektrometrie (HPLC-MS	)51

Inhalt V

5.4	Mite-Stop® - Laborversuche	53
5.4.1	Untersuchungen zur Wirksamkeit auf Filterpapier	53
5.4.2	Wirksamkeit auf die Entwicklungsstadien von D. gallinae	60
5.4.3	Wirksamkeit über einen Zeitraum von 48 h	62
5.4.4	Ovizide Wirkung	64
5.4.5	Haltbarkeit der Anwendungslösung	66
5.4.6	Wirksamkeit nach Behandlung des Untergrundes im Laufe mehrerer Tage	e69
5.4.7	Haltbarkeit der Gebrauchslösung	70
5.4.8	Wirkung auf verschmutzter Oberfläche	71
5.4.9	Repellierende Wirkung	72
5.4.10	Wirksamkeit von Mite-Stop® auf verschiedenen Baumaterialien in Hühner	ställen73
5.5	Mite-Stop® - Anwendung im Hühnerstall	81
5.5.1	Versuch 1 – Private Haltung von Legehennen	81
5.5.2	Versuch 2 – Wissenschaftlicher Geflügelhof	81
5.6	Ergebnisse der lichtmikroskopischen Untersuchung	83
5.7	Ergebnisse der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung	88
6	Diskussion	97
6.1	Diskussion der Materialien und Methoden	97
6.1.1	Herkunft der Roten Vogelmilbe Dermanyssus gallinae	97
6.1.2	Untersuchungen zum Entwicklungszyklus von D. gallinae	97
6.1.3	Laborversuche	98
6.1.4	Anwendung im Hühnerstall	99
6.1.5	Lichtmikroskopische Untersuchung	100
6.1.6	Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung	100
6.2	Diskussion der eigenen Ergebnisse	100
6.2.1	Untersuchungen zum Entwicklungszyklus von D. gallinae	100
6.2.2	Ergebnisse zur Wirksamkeit von Neem-Extrakten auf Filterpapier	101
6.2.3	Ergebnisse der analytischen Methoden zur Identifizierung der Inhaltsstoff	e von
	Neem-Feinfiltrat	102
6.2.4	Ergebnisse zur Wirksamkeit von Mite-Stop® auf Filterpapier	102
6.2.5	Anwendung im Hühnerstall	106

6.2.7 6.2.8	Ergebnisse der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung	
7	Zusammenfassung	
8	Summary	111
9	Literaturverzeichnis	112
10	Anhang	121
10.1	Mite-Stop® - Laborversuche	121
10.1.1	Wirksamkeit von Mite-Stop® auf Filterpapier	121
10.2	Mite-Stop® - Anwendung im Hühnerstall	126
10.2.1	Versuch 1 – Private Haltung von Legehennen	126
Danksa	gung	128
Selbsts	tändigkeitserklärung	129

1 Einleitung 1

# 1 Einleitung

In Geflügelhaltungen finden sich häufig Parasiten, die einen immensen wirtschaftlichen Schaden verursachen können (*Ruff* 1999). Die Rote Vogelmilbe, *Dermanyssus gallinae*, ist der wirtschaftlich wichtigste und am häufigsten auftretende Ektoparasit in der Geflügelhaltung. *D. gallinae* ist weltweit verbreitet und stellt besonders in der Legehennenhaltung ein großes Problem dar (*Chauve* 1998, *Hamscher* 2006).

Die Legehennenhaltung in Deutschland hat sich in den letzten Jahren deutlich verändert. Während Mitte der 1990er Jahre noch mehr als 90% der verfügbaren Stallplätze Käfighaltungsplätze waren, sind mittlerweile über 20% der Legehennen in alternativen Haltungssystemen zu finden. Noch dominiert zwar die Käfighaltung, allerdings stellen die Legehennenhaltungsbetriebe die Produktion schrittweise auf alternative Haltungsformen um. Durch die Erste Verordnung zur Änderung der Tierschutz-Nutztierhaltungsverordnung, mit der zugleich die Richtlinie der Europäischen Kommission zur Festlegung von Mindestanforderungen zum Schutz von Legehennen in nationales Recht umgesetzt wird, endet die Käfighaltung in Deutschland spätestens zum 31. Dezember 2011. Zudem werden bereits jetzt keine neuen Käfighaltungen mehr zugelassen (Röhrig und Brand 2005). Da sich auf Grund der Lebensweise von D. gallinae in alternativen Haltungsformen größere Milbenpopulation etablieren können, wird mit der Umstellung der Legehennenhaltung auf alternative Haltungsformen die durch D. gallinae bedingte Problematik wohl noch zunehmen. Aus diesem Grund spielt die Bekämpfung eine wichtige Rolle. In Deutschland herrscht hierbei allerdings ein Therapienotstand, da sich kein für Lebensmittel liefernde Tiere zugelassener Wirkstoff auf dem Markt befindet. Unbelegte Ställe können mit freiverkäuflichen Akariziden behandelt werden. Da diese jedoch wegen ihrer Toxizität und zunehmender Resistenzbildung keine Lösung darstellen, müssen alternative Bekämpfungsmaßnahmen durchgeführt werden (Arkle et al. 2006). Auf der Suche nach neuen Akariziden gehen die Bemühungen dahin, ökologisch unbedenklichere Mittel mit geringer Warmblütertoxizität zu entwickeln. Die Entdeckung zahlreicher Pflanzeninhaltsstoffe führte zu einer neuen Generation von Insektiziden, die in der Praxis auch in das Konzept einer modernen integrierten Schädlingsbekämpfung passen. Der Neembaum, Azadirachta indica A. Juss., stellt wohl die bedeutendste Ressource für pflanzliche Wirkstoffe dar (Sanguanpong 1992). Zahlreiche Neemprodukte erwiesen sich als wirksam gegen Viren, Bakterien, Endoparasiten und Arthropoden (Schmutterer 2002).

2 Ziel der Arbeit 2

#### 2 Ziel der Arbeit

Fünf Neem-Präparate der Alpha-Biocare GmbH (Düsseldorf) wurden auf ihre akarizide Wirkung gegen die Rote Vogelmilbe *Dermanyssus gallinae* untersucht. Die gute akarizide Wirkung des Neem-Feinfiltrates und des Neem-dbE-Extraktes war die Grundlage für die Entwicklung des Akarizids Mite-Stop<sup>®</sup>.

Zur Identifizierung der Inhaltsstoffe wurde das Neem-Feinfiltrat mittels HPLC-MS analysiert.

Das wesentliche Ziel dieser Arbeit war es, das Potential dieses Präparates als pflanzliches Akarizid für die Bekämpfung der Roten Vogelmilbe *Dermanyssus gallinae* zu untersuchen.

Das Neem-Präparat wurde zuerst im Labor auf seine Wirksamkeit hin untersucht. Die Schwerpunkte der Untersuchungen lagen dabei auf der Wirkung in Abhängigkeit von der Dosierung, der Empfindlichkeit der verschiedenen Milben-Stadien und der Toxizität des Mittels als Kontakt bzw. als Atemgift. Ergänzend wurde die Wirkung auch auf den im Stallbau häufig verwendeten Materialien Holz und Beton untersucht.

In Versuchen in zwei Hühnerställen wurde neben der Evaluierung der Wirksamkeit einer Sprühbehandlung mit dem Neem-Präparat auch deren Praktikabilität getestet.

Um Aufschluss über die Wirkungsweise gewinnen zu können, wurden unbehandelte und behandelte Milben im Licht- und Rasterelektronenmikroskop auf morphologische Veränderungen untersucht.

# 3 Literaturübersicht

# 3.1 <u>Dermanyssus gallinae (Rote Vogelmilbe)</u>

# 3.1.1 <u>Vorkommen und Bedeutung</u>

Dermanyssus gallinae wurde erstmals im Jahre 1778 von de Geer beschrieben.

*D. gallinae* befällt Hühner, Truthühner, Tauben, Kanarienvögel und zahlreiche wild lebende Vogelarten. Gelegentlich werden auch Säugetiere befallen (*Eckert et al.* 2005, *Kahn* 2005, *Mignon* und *Losson* 2007, *Lucky et al.* 2001). Nach *Zemskaya* (1971) waren über 30 Vogelarten als mögliche Wirte bekannt.

Tab. 1: Wirte von *D. gallinae* (Roy und Chauve 2007)

Art	Wirte
D. gallinae (De Geer, 1778)	Acrocephalus arundinaceus (Drosselrohrsänger)
	Aegolius funereus (Raufußkauz)
	Carduelis carduelis (Stieglitz)
	Carduelis spinus (Erlenzeisig)
	Columba livia (Felsentaube)
	Delichon urbica (Mehlschwalbe)
	Emberiza citrinella (Goldammer)
	Erithacus rubecula (Rotkehlchen)
	Ficedula albicollis (Halsbandschnäpper)
	Ficedula hypoleuca (Trauerschnäpper)
	Hirundo rustica (Rauchschwalbe)
	Jynx torquilla (Wendehals)
	Merops apiaster (Bienenfresser)
	Parus major (Kohlmeise)
	Parus ater (Tannenmeise)
	Passer domesticus (Haussperling)
	Passer montanus (Feldsperling)
	Phoenicurus phoenicurus (Gartenrotschwanz)
	Remiz pendulinus (Beutelmeise)
	Riparia riparia (Uferschwalbe)
	Serinus canarius (Kanarienvogel)
	Sitta europaea (Kleiber)
	Sturnus vulgaris (Star)
	Galliformes (Hühnervögel)
	Anseriformes (Gänsevögel)

D. gallinae ist weltweit verbreitet und stellt u.a. in Deutschland (Meyer-Kühling 2007), der Schweiz (Maurer et al. 1993), Schweden (Nordenfors 2000), Frankreich (Chauve 1998, Beugnet et al. 1997), den Niederlanden (van Emous 2006), im Vereinigten Königreich (Bell 2006, Fiddes et al. 2005), Polen (Sokól 2008), Ägypten (Abdel-Ghaffar 2008), den USA (Ruff 1999) und Brasilien (Tucci et al. 2008) einen bedeutenden Ektoparasiten in der Geflügelhaltung dar.

# 3.1.2 Taxonomie

Die systematische Einordnung von *D. gallinae* hat sich seit der ersten Beschreibung von de Geer im Jahre 1778 mehrmals verändert. In den letzten Jahren wurde nach neueren Erkenntnissen von zahlreichen Autoren, u.a. von *Westheide* und *Rieger* (1996) sowie von *Mehlhorn* und *Piekarski* (2002), folgende Systematik übernommen:

Stamm: Arthropoda

Unterstamm: Chelicerata

Klasse: Arachnida

**Unterklasse**: Acari (Acarina)

**Uberordnung**: Anactinotrichida (Parasitiformes)

**Ordnung**: Mesostigmata (Gamasida)

Familie: Dermanyssidae

Gattung: Dermanyssus Dugès (1834)

Art: Dermanyssus gallinae De Geer (1778)

# 3.1.3 Morphologie

#### Körpergröße und Gewicht

Bei der Größenangabe beschränken sich die meisten Autoren auf die adulten Milben. Nach *Eckert et al.* (2005), *Kraft* und *Dürr* (2005) und *Mehlhorn* und *Piekarski* (2002) sind ungesogene Weibchen etwa 0,7 mm lang und 0,4 mm breit. Nach einer Blutmahlzeit können sie eine Körperlänge von bis zu 1,0 mm annehmen. Die Männchen werden etwa 0,6 mm lang und 0,3 mm breit. *Sikes* und *Chamberlain* (1954) vermaßen die Körperlänge (ohne Mundwerkzeuge und Beinpaare) aller Milbenstadien mit Ausnahme der Männchen (Tab. 2).

Tab. 2: Durchschnittliche Körpergrößen und Gewichte von *D. gallinae* nach *Sikes* und *Chamberlain* (1954)

Milbenstadium	Körpermaße (Länge x Breite)	Gewicht
Ei	0,39 x 0,26 mm	k. A.
Larve	0,39 x 0,24 mm	k. A.
Ungesogene Protonymphe	0,40 x 0,24 mm	0,010 mg
Gesogene Protonymphe	0,55 x 0,32 mm	0,033 mg
Ungesogene Deutonymphe	0,59 x 0,33 mm	0,024 mg
Gesogene Deutonymphe	0,75 x 0,39 mm	0,076 mg
Ungesogenes Weibchen	0,92 x 0,52 mm	0,076 mg
Gesogenes Weibchen	1,00 x 0,64 mm	0,280 mg

k. A. = keine Angabe

# Körperbau und -form

Der Körper von D. gallinae besitzt eine ovale Form, die nach kranial etwas schmaler ausläuft als nach kaudal (von Tröltsch 1875). Der Körper bildet eine unsegmentierte Einheit, das Idiosoma. Dorsal und ventral wird es von Schildern bedeckt, deren Form und Anzahl sich bei jedem Entwicklungsstadium ändert. Alle Funktionen und Organe eines Kopfes sind in das Idiosoma einbezogen. Nur die Mundwerkzeuge bilden eine Einheit, das Gnathosoma. Der Basalteil besteht aus den miteinander verschmolzenen Coxen der Pedipalpen, die ventral miteinander zum Hypostom verwachsen sind. Es wird von einem Labrum (Oberlippe) abgedeckt. Darüber inserieren die Cheliceren in je einer Chelicerenscheide, die eine lange, manschettenartige Hautduplikatur darstellt. Die Chelicerenscheide ermöglicht ein weites Vorstoßen und Rückziehen der Mundwerkzeuge. Die Cheliceren haben eine Greiffunktion, die mittels der Scheren-"Finger" ausgeübt wird, dem feststehenden Digitus fixus und dem beweglichen Digitus mobilis (Lucius und Loos-Frank 1997). Bei der Gattung Dermanyssus ist der Digitus fixus sehr stark verlängert und der Digitus mobilis meist vollständig zurückgebildet (Bernhard 1963). Außerdem hat sich die Gattung Dermanyssus morphologisch an seine haematophage Lebensweise angepasst. Weibchen, Protonymphen und Deutonymphen besitzen sehr dünne und lange Cheliceren mit einem zweiten Segment, welches eine konkave Form aufweist. Treffen diese Segmente beider Cheliceren aufeinander, formen sie eine Rinne, durch die Blut aufgesogen werden kann. Die Cheliceren der Männchen sind breiter und verfügen über größere Chelae mit einem langen Spermadactyl (Roy und Chauve 2007). Die distalen Pedipalpenglieder erfüllen Tastfunktionen. Am Idiosoma inserieren bei der Larve drei Beinpaare, bei allen übrigen Stadien sind es vier Beinpaare. Zwei Beinpaare sind nach vorne gerichtet, zwei nach hinten. Das erste Beinpaar besitzt eine Tastfunktion und ist länger als die anderen. Die Extremitäten sind von proximal nach distal gegliedert in Coxa, Trochanter, Genu, Femur, Tibia, Tarsus.

Dem Tarsus sitzt noch der Prätarsus auf, der eine Haftfunktion ausübt (*Lucius* und *Loos-Frank* 1997). Alle Extremitäten sind stark behaart. Der Körper hat eine relativ dünne Kutikula und ist nur spärlich behaart (*Kraft* und *Dürr* 2005).

Milben können hellweiß bis tiefschwarz gefärbt sein. Bei schwach gefärbten Milben trägt der Inhalt des Darmsystems und der Malphigischen Schläuche wesentlich zur Farbgebung bei. Die Sklerotisierung führt zu einer gelben, braunroten, braunen oder schwarzen Körperfarbe (*Harrison* und *Foelix* 1999). Nach *Eckert et al.* (2005) sind ungesogene Vogelmilben von grauweißer Farbe. Nach einer Blutmahlzeit färben sie sich dunkelrot bis schwarzblau.

# Integument

Das Integument, die Körperdecke, besteht aus der einschichtigen, aus dem Ektoderm entstandenen Epidermis und der von ihr abgeschiedenen Kutikula (Dettner und Peters 2003). Bei D. gallinae besteht die Epidermis aus flachen bis kubischen Zellen. Über ihr liegt die Kutikula, die eine bestimmte Anzahl von Lamellen besitzt und sich in eine Prokutikula und eine Epikutikula gliedert. Die Prokutikula besitzt meist eine ausgeprägte Schichtung, in der Mikrofibrillen deutlich erkennbar sind. Außerdem wird sie von Porenkanälen durchzogen, die meist dicht unter der Epikutikula enden und apikale Ausläufer der Epidermiszellen enthalten. Die dünnere Epikutikula besteht aus homogenem Material und verfügt über keine Fibrillen, ihr liegt eine Sekretschicht (Cerotegument) auf, die vermutlich der Cement- und Wachsschicht anderer Arthropoden entspricht. D. gallinae besitzt eine verhältnismäßig glatte Kutikula, die neben festeren Skelettplatten auch flexiblere, dickere Kutikulaabschnitte aufweist. Kennzeichnend für das Opisthosoma ist die dachziegelförmige Struktur der Skelettplatten, bei der sich die einzelnen "Ziegel" jedoch nicht überlappen. Die zwischen den Skelettplatten liegende Kutikula weist eine deutliche Fältelung der peripheren Schichten auf. Weiche Kutikulaabschnitte besitzen breitere Lamellen mit gut erkennbaren Mikrofibrillen. Im Bereich der Schilde treten die Porenkanäle deutlicher hervor als in den flexibleren Kutikulaabschnitten, in denen sie meist unregelmäßig verlaufen. Die Porenkanäle bilden in der Kutikulasubstanz ein verzweigtes Kanalsystem. Stellenweise wird dieses Kanalsystem zu Räumen erweitert, die mit einer granulären Substanz gefüllt sind. Eine scharfe Grenze zwischen Pro- und Epikutikula ist nicht zu erkennen. Die Porenkanäle enden meist unter der Epikutikula (*Alberti et al.*1981).

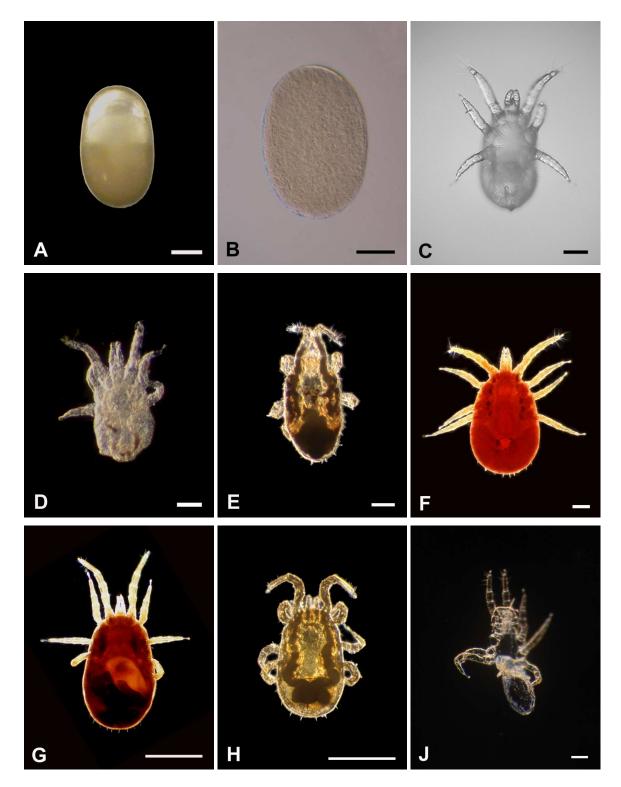


Abb. 1: Unterschiedliche Stadien von *D. gallinae* (LM-Aufnahmen). A: Milbenei; Balken: 0,1 mm. B: Milbenei eingebettet in Hoyer's Medium; Balken: 0,1 mm. C: Larve; Balken: 0,1 mm. D: Larve eingebettet in Hoyer's Medium; Balken: 0,1 mm. E: Ungesogene Nymphe eingebettet in Hoyer's Medium; Balken: 0,1 mm. F: Gesogene Nymphe eingebettet in Hoyer's Medium; Balken: 0,1 mm. G: Gesogenes Weibchen eingebettet in Hoyer's Medium; Balken: 0,5 mm. H: Männchen eingebettet in Hoyer's Medium; Balken: 0,5 mm. J: Exuvie (Glycerinpräparat); Balken: 0,1 mm.

#### <u>Verdauungssystem</u>

Das Verdauungssystem kann in drei größere Abschnitte eingeteilt werden, dem Vorder-, Mittel- und Enddarm. Der gesamte Verdauungstrakt ist mit einem einfachen Epithel ausgekleidet. Eine Muskelschicht bewegt und vermischt den Darminhalt mittels Peristaltik. Je nach Lage variiert der Aufbau der Muskelschicht. Milben der Ordnung Mesostigmata besitzen ein Verdauungssystem vom parasitiformen Typ. Dieses besteht aus einem Oesophagus, einem kleinen Ventriculus mit großen paarig angelegten Caeca, einem postventriculären Mitteldarm und dem Rektum. Außerdem mündet in das Verdauungssystem noch ein Exkretionsorgan, ein Paar Malphigische Schläuche. Die Malphigischen Schläuche entspringen im hinteren Teil des Verdauungssystems und ziehen nach kranial, wo sie blind im Haemocoel enden. Ihr Inhalt ist bei den Milben häufig von außen zu sehen (*Harrison* und *Foelix* 1999).

#### Respirationssystem

Bei den Acari können drei unterschiedliche Methoden für den Gasaustausch unterschieden werden: Diffusion durch das Integument, Gasaustausch über ein Tracheensystem und Gasaustausch über spezielle porenhaltige Areale im Integument. Das Tracheensystem stellt ein verzweigtes Röhrensystem da. Die Tracheen öffnen sich seitlich am Körper der Milbe über die sog. Stigmen. D. gallinae gehört in die Ordnung Mesostigmata, bei der die Stigmen zwischen Coxa III und Coxa IV liegen. Die Larven der Ordnung Mesostigmata besitzen jedoch kein Tracheensystem und damit auch keine Stigmen. Die Tracheen weisen eine kutikulare Innenauskleidung, die sog. Intima, vor. Unterhalb der Intima werden die Tracheen von einem Epithel bedeckt. Die Kutikula der Tracheen kann in eine dünne Epikutikula und eine Prokutikula unterteilt werden. Bei einigen Milben bilden sich an den feinsten Enden der Tracheen die Tracheolen. Sie leiten die Atemluft gasförmig zu den Geweben bzw. bis in die Zellen hinein. Das Peritrem stellt eine mit dem Stigma verbundene Kutikulastruktur dar. Bei den Mesostigmata umgibt es das Stigma und zieht dann als Rinne von der Atemöffnung aus unterschiedlich weit nach vorne. Das Peritrem ist mit Micropapillen ausgekleidet und dient möglicherweise der Filtration von Atemluft (Lucius und Loos-Frank 1997, Harrison und Foelix 1999, Dettner und Peters 2003). Bei D. gallinae endet der zugehörige Peritremalkanal beiderseits in Höhe der Coxa II (Abb. 2) (Bücher 1998).

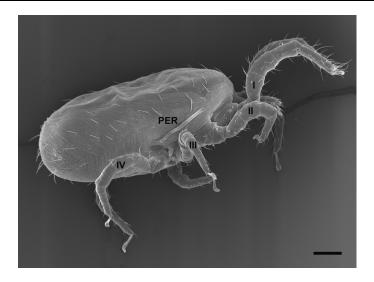


Abb. 2: Laterale Ansicht einer Vogelmilbe (REM-Aufnahme). Beine I, II, III, IV; PER = Peritremalkanal (Messbalken: 100  $\mu$ m).

# **Kreislaufsystem**

Das akarine Kreislaufsystem besteht aus der Haemolymphe, in der die Haemocyten zirkulieren, und einem Herz bzw. einem pulsierendem Organ. Das Vorkommen dieses offenen Kreislaufsystems ist bei den Notostigmata (Opilioacarida), Tetrastigmata (Holothyrida) und Metastigmata (Ixodida) nachgewiesen. Die meisten anderen Acari besitzen kein pulsierendes Organ. Für die Mesostigmata (Gamasida), und damit auch für *D. gallinae*, finden sich in der Literatur hierzu keine eindeutigen Angaben. Ohne Herz bzw. pulsierendem Organ zirkuliert die Haemolymphe durch Körperbewegungen und Muskelkontraktionen. Das Haemocoel besitzt keine epitheliale Auskleidung; lediglich eine Basallamina trennt die Haemolymphe von den Organen. Bei einigen Milben konnten bis zu acht unterschiedliche Haemocyten nachgewiesen werden. Die Haemocyten in der Haemolymphe üben eine aktive Schutzfunktion aus. Sie sind in der Lage, körpereigene Stoffe von körperfremden Stoffen zu unterscheiden. Sie schützen den Körper, indem sie eingedrungene Mikroorganismen phagocytieren oder größere Fremdpartikel, wie z.B. Parasiteneier, einkapseln (*Harrison* und *Foelix* 1999). Speziell zu den Haemocyten von *D. gallinae* finden sich in der Literatur keine Angaben.

# **Nervensystem**

Das Nervensystem bei den Chelicerata besteht aus einem sog. ZNS, das aus der Verschmelzung der vorn gelegenen Unter- und Oberschlundganglien hervorgegangen ist und daher vielfach auch als Synganglion bezeichnet wird (*Mehlhorn* und *Piekarski* 2002). Bei

der Larve und der Protonymphe von *D. gallinae* erstreckt sich das Synganglion über einen großen Teil des Podosomas bis hin zum dritten Beinpaar bei der Larve und zum vierten Beinpaar bei der Protonymphe. Das gesamte Synganglion ist von einer dünnen zelllosen Schicht, der sog. Neurilemm-Schicht, überzogen. Direkt unterhalb der Neurilemm-Schicht liegt eine dünne Schicht von Gliazellen, die das Perineurium bilden. Im Anschluss an das Perineurium folgt der Cortex (Rinde). In dieser Rindenschicht befinden sich die von Gliazellen umhüllten Zellkörper der Neuronen; man bezeichnet es auch als Somarinde. Die Dicke des Cortex variiert bei den einzelnen Entwicklungsstadien zwischen 1,0 und 4,5 µm. Die äußere Rinde umgibt einen zentralen Bereich, der keine Zellkörper enthält und der aus einem dichten Geflecht neuronaler Fortsätze, dem Neuropil, aufgebaut ist, in dem die synaptischen Interaktionen stattfinden. Aus dem vorderen Anteil des Synganglion entspringen zahlreiche Nerven, welche die Gnathosoma-Region innervieren. Organe und Muskeln im Bereich des Opisthosomas werden von Nerven innerviert, die im hinteren Randbereich entspringen (*Severino et al.* 1984, *Dettner* und *Peters* 2003).

#### <u>Sinnesorgane</u>

Der Körper sowie sämtliche Extremitäten weisen Sinnesborsten von großer Formenvielfalt, die Setae, auf. Sie dienen als Mechano- und Chemorezeptoren. Ihre Anzahl, Gestalt und Verteilung sind hinsichtlich der Systematik und Identifikation von großer Bedeutung (*Lucius* und *Loos-Frank* 1997).

#### Weibliches Geschlechtssystem

Das weibliche Geschlechtssystem besteht aus zwei Abschnitten. Der erste Abschnitt umfasst die Organe, die nötig sind für die Aufnahme und Speicherung der Spermien, sowie zur Befruchtung. Er besteht aus den paarig angelegten Genitalpori, den Tubuli annulati, den Rami sacculi, dem Sacculus foeminus und dem Cornu sacculus. Die Genitalpori liegen in dem flexiblen Bereich der Kutikula von Coxa III. Jeder Genitalporus wird über eine kurze enge Röhre, dem Tubulus annulatus, mit dem Ramus sacculus verbunden. Dieser mündet in den Sacculus foeminus, ein großes Säckchen, das der Speicherung der Spermien dient. Kaudodorsal liegt das Cornu sacculus, das sich nach kaudoventral zu einem winzigen Lumen verjüngt und eine Verbindung zur sog. acanthomembranösen Kappe herstellt. Die acanthomembranöse Kappe besitzt eine Schutzfunktion. Der zweite Abschnitt dient der Oogenese und der Eiablage und verfügt über zusätzliche Schutzeinrichtungen. Er besteht aus einem u-förmigen Ovar. Im lyriformen Teil des Ovars beginnt die Oogenese. Die reifende Eizelle wandert nach kaudal. Kaudal des Ovars können zwei unterschiedliche Reifestadien

der Eizellen unterschieden werden. Ventral des Ovars verläuft die Vagina nach kranial. Am kranialen Ende der Vagina liegt im dorsalen Bereich ein Paar Drüsen. Diese Drüsen enthalten ein proteinhaltiges, muköses Sekret (*Pound* und *Oliver* 1976).

# Männliches Geschlechtssystem

Das männliche Geschlechtssystem besteht aus einem Hoden, einem Samenleiter, der Samenblase, einer zweilappigen medianen akzessorischen Drüse, einem Ejakulationsapparat und einer Gonopore. Der Hoden liegt dorsal unterhalb der Kutikula im Bereich zwischen dem letzen Beinpaar (*Pound* und *Oliver* 1976).

#### 3.1.4 Entwicklungszyklus

D. gallinae ist ein temporärer Ektoparasit, der seine Wirte in der Regel nur nachts zur Nahrungsaufnahme aufsucht. Die Entwicklung findet in der unmittelbaren Umgebung der Wirte statt. Aus dem Ei entwickelt sich bei günstigen Bedingungen innerhalb von 2–3 Tagen eine sechsbeinige Larve. Ohne Nahrungsaufnahme entwickelt sich diese zur Protonymphe. Die Protonymphe häutet sich nach einer Blutmahlzeit und entwickelt sich zur Deutonymphe. Diese benötigt ebenfalls eine Blutmahlzeit, nach der sie sich zum Adultus weiterentwickelt. Bereits kurz nach der Häutung zur adulten Milbe paaren sich diese. Einige Stunden nach der Blutmahlzeit beginnen die Weibchen mit der Eiablage. Ein Weibchen legt im Laufe seines Lebens etwa 30 Eier. Während die Nymphen und die Weibchen regelmäßig einen Wirt aufsuchen, um Blut zu saugen, machen die Männchen dies nur gelegentlich (Chauve 1998) (Abb. 3). Der Entwicklungszyklus und die Überlebensdauer von D. gallinae ist sowohl von der Temperatur als auch der relativen Luftfeuchte abhängig. Bei warmen Temperaturen (25-37 ℃) kann die Entwicklung einer Generation nur sieben Tage dauern. Bei kälteren Temperaturen (< 20 ℃) dauert der Entwicklungszyklu's im Durchschnitt 16,8 Tage (Maurer und Baumgärtner 1992). Die Weibchen legen bei Temperaturen zwischen 5 und 45 ℃ Eier, wobei die meisten Eier bei einer Temperatur von 20 ℃ und einer relativen Luftfeuchte von 70% gelegt werden (Nordenfors et al. 1999). Zur Überlebensdauer von D. gallinae finden sich in der Literatur unterschiedliche Angaben. Bücher kommt 1998 in seiner Dissertation zu dem Ergebnis, dass D. gallinae nach einer Blutmahlzeit in ihrem Versteck ohne weitere Nahrungsaufnahme mehr als fünf Monate überleben kann. Nordenfors et al. (1999) beschreiben eine Überlebensdauer von bis zu neun Monaten. D. gallinae ist bei Temperaturen von −20 °C bis 45 °C lebensfähig. Bei sehr niedrigen oder sehr hohen Temperaturen können die Milben aber nur eine kurze Zeit lang überleben.

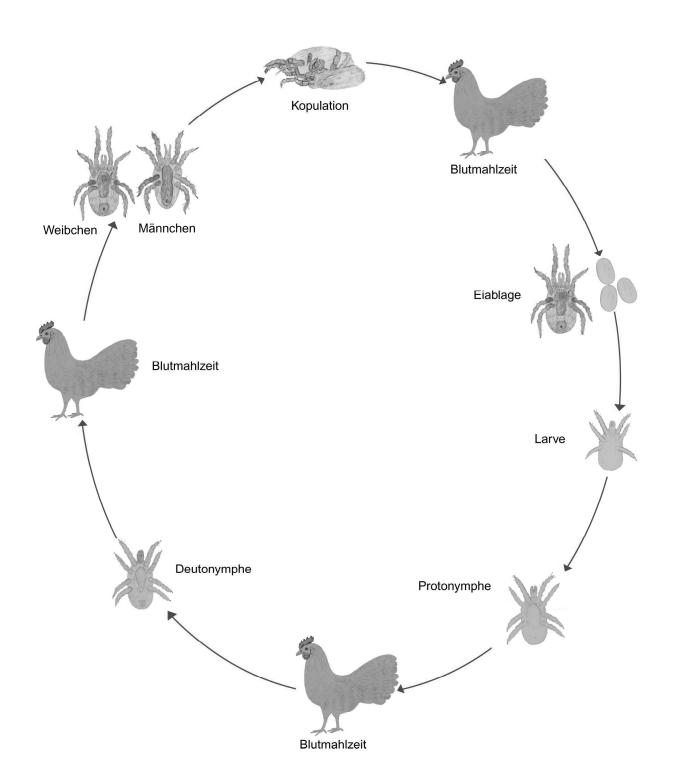


Abb. 3: Entwicklungszyklus von *D. gallinae*.

#### 3.1.5 Wirtsfindung und Ernährung

D. gallinae ist ein stationär-periodischer, noktogener Ektoparasit, der seinen Wirt nur zur Nahrungsaufnahme aufsucht (Bücher 1998). Normalerweise nimmt D. gallinae nachts Nahrung auf, jedoch können Milben auch am Tag aktiv sein und einen Wirt zur Nahrungsaufnahme aufsuchen, wenn sie längere Zeit gehungert haben (Kilpinen 2005). D. gallinae bevorzugt einen Rückzugsort, der dunkel und für die Hühner nicht zu erreichen ist. Meistens ziehen sich die Milben in kleine, enge Spalten und Ritzen zurück (Maurer et al. 1988). Charakteristisch für D. gallinae ist das Aggregationsverhalten, das von Entekrin und Oliver (1982) untersucht wurde. Dabei sammeln sich die Milben in kleineren Gruppen (Abb. 4). Nach Maurer et al. (1988) wandern die Milben nach Verlassen ihrer Rückzugsorte nicht gezielt in Richtung Hühner, sondern in irgend eine Richtung und stoßen so eher zufällig auf einen Wirt. Die Blutmahlzeit ist nur von kurzer Dauer und beträgt nach Kirkwood (1963) zwischen 1-2 Stunden, Maurer et al. (1988) schätzen sie auf 30-60 Minuten. In dieser kurzen Zeit nehmen Protonymphen durchschnittlich 23 μg Blut auf. Deutonymphen saugen etwa 52 μg Blut, die Weibchen saugen im Durchschnitt 204 μg Blut (Sikes und Chamberlain 1954).

Früher wurde vermutet, dass D. gallinae einen Rhythmus in der Nahrungsaufnahme besitzt, der photoperiodischen Einflüssen unterliegt, da der Wirt i.d.R. nur nachts aufgesucht wird. Kirkwood (1968) widerlegte dies durch eine Studie, in der er feststellte, dass die Temperatur der Hauptfaktor ist, der die Aktivität der Vogelmilbe bestimmt. Bei einer Temperaturerhöhung reicht ein Temperaturgradient von nur 0,003-0,005 °C/s über einen Zeitraum von 60 s bereits aus, um ruhende D. gallinae zu stimulieren. Kurzzeitig gehungerte Vogelmilben reagieren stärker auf Temperaturreize als gesogene und schon länger hungernde Vogelmilben. Es wird vermutet, dass dieses Verhalten daher rührt, dass hungernde und dadurch geschwächte Milben nur auf sehr starke Wirtsreize ansprechen, um sicherzugehen, dass nicht unnötige und überlebenswichtige Energie bei der Wirtsfindung verschwendet wird (Kilpinen 2001, Kilpinen und Mullens 2004). Hat die Vogelmilbe es auf einen Wirt geschafft, sucht sie sofort eine geeignete Stelle für die Blutmahlzeit auf. Nach Maurer et al. (1988) bevorzugt die Vogelmilbe häufig den Bereich um die Schultergelenke, den Nacken und den Rücken. Diese Stellen sind bei Küken weich befiedert und haben besonders an den Schultergelenken eine nur sehr dünne Fett- und Muskelschicht. Die Adern sind dort unter der dünnen Haut deutlich sichtbar. Außerdem können diese Stellen vom Huhn kaum mit dem Schnabel oder den Krallen erreicht werden. Desweiteren sind Vogelmilben auch häufig um den Kloakalbereich zu finden (Frank 1976).

Nach Zeman (1988) können viele blutsaugende Arthropoden in in-vitro Versuchen über künstliche Membranen mit Blut gefüttert werden, da sie hauptsächlich nur auf Wärme, CO<sub>2</sub>-

Abgabe oder auf einzelne Blutbestandteile reagieren. Einige Arten, zu denen auch *D. gallinae* zählt, zeigen aber eine mehr oder weniger spezifische Akzeptanz gegenüber der Haut ihres natürliche Wirtes. *Kirkwood* stellte 1971 fest, dass die Vogelmilbe bei in-vitro Versuchen zwar auch Blut von Säugetieren aufnahm, allerdings nur, wenn es durch eine Vogelhaut von der Milbe aufgenommen werden konnte. *Zeman* (1988) untersuchte dieses Phänomen genauer und kam zu dem Ergebnis, dass bestimmte Kairomone dafür verantwortlich sind, dass *D. gallinae* bevorzugt bzw. fast ausschließlich an Hühnern Blut saugt. In einem Versuch stellte er fest, dass *D.* gallinae von einem unpolaren, nichtflüchtigen Ester angezogen wird. Bei diesem Kairomon handelt es sich höchstwahrscheinlich nicht nur um ein einzelnes Lipid, sondern wohl um einen Komplex aus mehreren Lipiden der Hautoberfläche. Die veresterten Fettsäuren, die von der Glandula uropygialis produziert werden, scheinen die größte Anziehungskraft auf *D. gallinae* zu haben. Darüber hinaus beeinflussen aber wohl noch weitere Lipide der Hautoberfläche die Wirtsfindung und Akzeptanz des Wirtes.

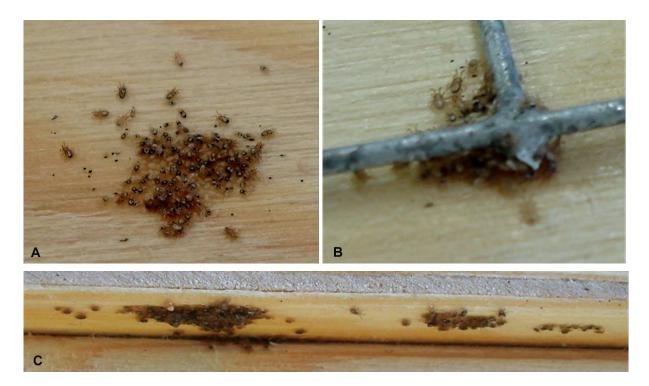


Abb. 4: Für *D. gallinae* typisches Aggregationsverhalten.

#### 3.1.6 Krankheitsbild und Schadwirkung

Der Stich von *D. gallinae* ist schmerzhaft und führt zu starkem Juckreiz. Mögliche Symptome sind Unruhe, Schreckhaftigkeit, Hautirritationen und Sekundärverletzungen. Durch das Picken nach Milben kann eine Schädigung des Federkleides sowie ein Ausfall der Federn verursacht werden. Bei einem stärkeren Befall mit *D. gallinae* kann eine Anämie unklarer Genese auftreten, die sich durch die blasse Färbung der Kämme darstellt. Die Anämie resultiert nicht nur aus dem Blutentzug, sondern auch aus einer Hemmung der Erythropoese, die vermutlich durch den Speichel der Milbe hervorgerufen wird. Ebenso kann es zu einem Rückgang der Mast- und Legeleistung von über zehn Prozent, Apathie, Gewichtsverlust und Kachexie kommen. In stark befallenen Ställen können, besonders bei Junggeflügel, infolge des ständigen Blutverlustes auch Todesfälle auftreten. In seltenen Fällen entwickelt sich durch in Körperöffnungen eindringende Milben eine Rhinitis, eine Otitis externa oder eine Konjunktivitis. Im Bestand herrscht eine erhöhte Mortalität (*Eckert et al.* 2005, *Hamscher* 2006, *Kirkwood* 1967a, *Pospischil* 2001). Ein Befall mit *D. gallinae* kann einen hohen wirtschaftlichen Schaden verursachen (*Ruff* 1999).

D. gallinae wird als potentieller Vektor und Reservoir für einige Viren und Bakterien angesehen, wie West Nile Virus, Western und Eastern Equine Encephalitis Virus, St. Louis Encephalitis Virus, Newcastle Disease Virus, Avipoxviren, Salmonella spp., Erysipelothrix rhusiopathiae, Coxiella burnetii, Pasteurella multocida und Borrelia anserina (Smith et al. 1945, 1946, 1947, Chirico et al. 2003, Eckert et al. 2005, Lundh et al. 2005, Moro et al. 2007).

#### 3.1.7 <u>Diagnostik</u>

Da *D. gallinae* als temporärer Ektoparasit in der Regel nur nachts den Wirt befällt, gelingt die Detektion eines Milbenbefalls tagsüber am besten durch den Nachweis der Milben an ihren Rückzugsplätzen (*Kraft* und *Dürr* 2005). *D. gallinae* zieht sich an dunkle und für die Hühner nicht zu erreichende Stellen zurück. Diese sind meist kleine, enge Spalten oder Hohlräume, die den am nächstgelegensten und geeignetsten Unterschlupf nach Verlassen des Wirtes darstellen (*Maurer et al.* 1988). Alternativ können die Wirtstiere auch nachts mit einer Taschenlampe abgesucht werden. Bei der Sektion verendeter Tiere finden sich Milben im Schleim der Schnabelhöhle, im Gehörgang oder im Federkleid (*von Tröltsch* 1875, *Eckert et al.* 2005). In der Legehennenhaltung treten zum Teil Eier mit blutigen Schlieren auf. In Beständen mit extrem starkem Befall können sich die Milben auch tagsüber auf den Wirten aufhalten, wo sie im und unter dem Federkleid, besonders im Kloakalbereich, leicht

aufzufinden sind (*Frank* 1976). Differentialdiagnostisch muss immer *Ornithonyssus sylviarum* in Betracht gezogen werden (*Bauer* 2000, *Eckert et al.* 2005).

# 3.1.8 Bekämpfung

Die Bekämpfung von *D. gallinae* ist von großer Bedeutung, da es sich um den am häufigsten auftretenden und wirtschaftlich bedeutendsten Ektoparasiten der Geflügelhaltung handelt (*Chauve* 1998, *Hamscher et al.* 2003, *Hamscher* 2006, *Kim et al.* 2007).

Zur Bekämpfung werden Stoffe mit akarizider Wirkung eingesetzt. Die größte Bedeutung besitzen heute pflanzliche Akarizide aus Pyrethrum und davon abgeleitete synthetische Pyrethroide sowie organische Phosphorsäureester und Carbamate, Avermectine, Chlornicotinylverbindungen, Fipronil und Amitraz. An Bedeutung verloren haben Phenolderivate, Benzylbenzoat, Sulfide, schwefel- und teerhaltige Präparate, Undecylensäure, Perubalsam u.a. (*Löscher et al.* 2002).

#### Pflanzliche Akarizide

Akarizide Stoffe kommen in zahlreichen Pflanzen vor. *Kim et al.* (2004, 2007) untersuchten 96 Pflanzen, von denen viele eine akarizide Wirkung gegen *D. gallinae* besaßen. *Lundh et al.* (2005) konnten für Extrakte aus Neemsamen eine gute Wirkung gegen *D. gallinae* nachweisen. Von Bedeutung sind heute außerdem noch die Pyrethrumextrakte. Pyrethrum ist ein Extrakt aus Chrysanthemenarten, der als Wirkstoffe Pyrethrine und Cinerine enthält. Die akarizide Wirkung beruht auf einem neurotoxischen Effekt, der zu einer langdauernden Öffnung von Na+-Kanälen an der Nervenmembran führt. Dies führt bei Arthropoden zu initialen Erregungszuständen, gefolgt von Koordinationsstörungen, Lähmung und Tod bei entsprechend langer Einwirkungszeit (*Löscher et al.* 2002). *McGarry* und *Trees* (1991) wiesen für einen Pyrethrumextrakt eine akarizide Wirkung gegen *D. gallinae* nach.

#### <u>Pyrethroide</u>

Pyrethroide stellen eine Vielzahl von chemischen Verbindungen dar, die sich strukturell von den Pyrethrinen ableiten. Im Vergleich mit Pyrethrum sind sie stabiler gegen Lichteinwirkung, langlebiger und haben eine stärkere Wirkung. Die Wirkung beruht wie bei Pyrethrum auf einem neurotoxischen Effekt (*Löscher et al.* 2002). Die akarizide Wirkung gegen *D. gallinae* wurde für Cypermethrin (*Thind* und *Ford* 2007, *Zeman* und *Zelezny* 1985), Bifenthrin (*Thind* und *Ford* 2007), Permethrin (*Fletcher* und *Axtell* 1991, *Nordenfors et al.* 2001, *Zeman* und *Zelezny* 1985), Deltamethrin, Phenothrin, Tetramethrin, Fenvalerat (*Zeman* und *Zelezny* 1985) und Lamda-Cyhalothrin (*Fletcher* und *Axtell* 1991) nachgewiesen.

# Organische Phosphorsäureester

Organische Phosphorsäureester wirken auf Arthropoden als Kontakt- und Fraßgifte. Einige flüchtige Verbindungen wie Diazinon, Dichlorvos und Phoxim wirken zusätzlich auch als Atemgifte. Die Wirkung beruht auf einer praktisch irreversiblen Hemmung von Cholinesterasen, die im cholinergen Nervensystem der Parasiten eine Störung der neuromuskulären Übertragung und Lähmung bewirkt. Die höhere, selektive Toxizität für Arthropoden ist durch deren geringe Entgiftungskapazität bedingt. Warmblüter können diese Verbindungen rasch entgiften (*Löscher et al.* 2002). Die akarizide Wirkung gegen *D. gallinae* wurde für Phoxim (*Meyer-Kühling* 2007), Diazinon, Fenthion (*Kim et al.* 2007), Dichlorvos (*Fletcher* und *Axtell* 1991, *Kim et al.* 2007, *Kirkwood* 1967b, *Zeman* und *Zelezny* 1985) und Metriphonat (*Chirico* und *Tauson* 2002) näher untersucht.

#### Carbamate

Die akarizide Wirkung bei Carbamaten beruht auf einer reversiblen Hemmung der Cholinesterase (*Löscher et al.* 2002). Die Carbamate Propoxur (*Kim et al.* 2007) und Carbaryl (*Kim et al.* 2007, *Kirkwood* 1967b, *Zeman* und *Zelezny* 1985) wurden auf ihre akarizide Wirkung gegen *D. gallinae* untersucht.

#### Makrozyklische Laktone (ML)

Zu den makrozyklischen Laktonen zählen die Avermectine und Milbemycine. Beide Gruppen sind Fermentationsprodukte bodenbewohnender Actinomyceten und haben ähnliche Eigenschaften. Aus den ursprünglichen ML sind verschiedene halb synthetische und verbesserte Verbindungen hervorgegangen. Ihre Wirkung beruht auf einer selektiven Bindung an Glutamat-kontrollierten Chloridkanälen, wodurch es zu einer Hyperpolarisation kommt. Dies führt zur Paralyse und zum Tod der Parasiten (*Eckert et al.* 2005). Von den Avermectinen wurde Ivermectin (*Zeman* 1987) auf seine akarizide Wirkung gegen *D. gallinae* untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass Ivermectin nur eine geringe Wirkung gegen *D. gallinae* besitzt.

#### <u>Amitraz</u>

Amitraz ist ein Formamidinderivat, dessen akarizide Wirkung vermutlich auf einer Wirkung auf Oktopamin-Rezeptoren im Nervensystem der Parasiten beruht. Dies führt zur Übererregbarkeit, abnormem Verhalten, Paralyse und Tod (*Löscher et al.* 2002). Amitraz wurde von *Fletcher* und *Axtell* (1991) sowie von *Zeman* und *Zelezny* (1985) auf seine akarizide Wirkung gegen *D. gallinae* untersucht.

#### **Fipronil**

Bei Fipronil handelt es sich um eine Phenylpyrazolverbindung. Der antiparasitäre Wirkungsmechanismus beruht auf einer Blockade von GABA-gesteuerten Chloridkanälen im Nervensystem der Arthropoden. In Folge dessen kommt es zu einer Übererregung, unkontrollierten ZNS-Aktivitäten und Tod der Parasiten. Entsprechende Rezeptoren bei Vertebraten weisen eine deutlich geringere Affinität auf (*Löscher et al.* 2002). *Kim et al.* (2007) untersuchten die Wirksamkeit von Fipronil auf *D. gallinae*.

#### Silikatstaub

Eine biophysikalische Bekämpfung kann mit Silikatstaub und anderen adsorbierenden Stäuben erfolgen. Silikatstaub besteht aus sehr kleinen Partikeln (3-9 µm) mit einer hohen Adsorptionskapazität. Sie zerstören die wasserfeste Lipidschicht der Epikutikula, in deren Folge die Milben austrocknen und sterben (*Chauve* 1998, *Maurer* und *Perler* 2006).

# Probleme mit Akariziden

Bei den genannten chemischen Akariziden ist zu beachten, dass aufgrund des Wirkungsmechanismus häufig nur Larven, Nymphen und adulte Formen erfasst werden und eine ovizide Wirkung meistens nicht vorhanden ist. Ist die Expositionsdauer nicht ausreichend lang, können sich die Parasiten außerdem von dem immobilisierenden Effekt wieder erholen. Desweiteren können Parasiten gegenüber Akariziden Resistenzen entwickeln, die auch als Mehrfach-, Gruppen- oder Kreuzresistenzen für mehrere ähnliche Wirkstoffe auftreten können. Bei Arthropoden beruht die Resistenzentwicklung auf einer Selektion primär, d.h. genetisch resistenter Individuen, die bereits vor dem Einsatz der Wirkstoffe in der Population vorhanden sind. Begünstigt wird eine Resistenz z.B. durch einen langen und hohen Selektionsdruck, v.a. bei Arthropoden, die keinen Wirtswechsel durchführen, durch die Anwendung von Langzeitformulierungen, längerfristiger Unterdosierung oder durch die Verwendung von antagonistischen Wirkstoffen (Löscher et al. 2002).

# Alternative Bekämpfungsmaßnahmen

Neben den traditionellen Bekämpfungsmethoden spielen auch alternative Bekämpfungsmaßnahmen eine wichtige Rolle. Dazu gehören u.a. der Einsatz und die Erforschung von Pheromonen, Kairomonen, entomopathogenen Pilzen, Impfungen und speziellen Beleuchtungsprogrammen in Stallungen (*Chauve* 2006, *Moore* und *Steenberg* 2006, *Stafford* et al. 2006).

Ein besonderes Problem stellt die Bekämpfung von D. gallinae in der Legehennenhaltung zur Erzeugung von Eiern dar. Bei dem Einsatz von Medikamenten am Tier ist zu beachten, dass bei Lebensmittel liefernden Tieren besondere Bestimmungen eingehalten werden müssen. Zur Behandlung dürfen nur Arzneimittel eingesetzt werden, deren Wirkstoffe speziell für den Einsatz an Lebensmittel liefernden Tieren genehmigt wurden. Erlaubt ist der Einsatz von Wirkstoffen, die in den Anhängen I bis III der VO (EWG) 2377/90 aufgeführt werden, Substanzen, die nicht unter die Bestimmungen der VO (EWG) 2377/90 fallen, die sog. "out of scope"-Substanzen, sowie alle Stoffe, die eine E-Nummer haben mit Ausnahme von Dimethyldicarbonat (E 242), Hexamethylentetramin (E 239) und Nisin (E 234). Desweiteren muss bei der Anwendung von Arzneimitteln bei Lebensmittel liefernden Tieren eine für den eingesetzten Wirkstoff festgelegte Wartezeit eingehalten werden. Sofern auf einem Arzneimittel keine Wartezeit für die betreffende Tierart angegeben ist, muss eine Wartezeit gemäß § 12a (2) der Verordnung über tierärztliche Hausapotheken (TÄHAV) eingehalten werden. Auf Grund der hohen Forschungs- und Entwicklungskosten sowie der immer strengeren behördlichen Anforderungen nimmt die Zahl neu auf den Markt kommender Wirkstoffe für diese Tiere stetig ab (Schmeer 2006). Dies führte auch bei der Bekämpfung von D. gallinae zu einem Therapieengpass. Momentan ist in Deutschland zwar der Wirkstoff Phoxim nach EU-Recht zugelassen, jedoch befindet sich noch kein Präparat mit diesem Wirkstoff auf dem Markt (www.vetidata.de).

# 3.1.9 Zoonotische Bedeutung

D. gallinae ist von zoonotischer Bedeutung. In der Regel wird der Mensch aber nur in Ausnahmefällen, wenn kein Vogel aufzufinden ist, befallen. Das klinische Bild eines Befalls mit Vogelmilben ist vielseitig und wenig charakteristisch. Da die Milben in der Regel nur nachts einen Wirt befallen, sind sie auf der Haut des Menschen kaum nachweisbar. Hautreaktionen werden nicht selten als Folge von Allergien, Dermatomykosen oder bakteriellen Infektionen fehlinterpretiert. Der Verdacht auf eine parasitäre Genese ergibt sich oft erst nach erfolgloser symptomatischer Therapie oder nach Beibringung von Milben durch den Patienten selbst. Aus diesem Grund ist eine gründliche Anamnese zur ätiologischen Abklärung erforderlich. Außerdem ist zu beachten, dass für den Übergang der Milben auf den Menschen nicht immer die unmittelbare Berührung mit infestierten Tieren oder verseuchten Gegenständen erforderlich ist. Die Milben können zum Teil relativ weite Entfernungen zurücklegen, wenn sie Blutnahrung suchen. Besonders prädestiniert für einen Befall mit der Vogelmilbe sind Tierpfleger, die in Geflügelställen arbeiten. Beim Menschen kann D. gallinae urtikarielle Dermatitiden mit heftigem Juckreiz auslösen. Am Stamm und den

Gliedmaßen entstehen erythematöse Papeln und Seropapeln, die infolge von Selbstexkoriationen verkrusten und pustulös umgewandelt sind. Einige Menschen beschreiben auch einen kurzen, stechenden Schmerz, wenn die Milbe zusticht. Histopathologisch ist in der Epidermis eine perivaskuläre Infiltration eosinophiler Granulocyten nachweisbar (*Auger et al.* 1979, *Beck* 1996, *Lucky et al.* 2001, *Beck* und *Pfister* 2006).

# 3.2 <u>Neem-Präparat (Mite-Stop®)</u>

Bei dem Neem-Präparat (Mite-Stop<sup>®</sup>) handelt es sich um ein Produkt der Alpha-Biocare GmbH (Düsseldorf), das in einem speziellen Herstellungsverfahren aus dem Samen des Neembaums (*Azadirachta indica* A. Juss.) gewonnen wird. Es enthält neben einem Extrakt von pulverisierten und entfetteten Neemsamen in einem Gemisch aus Dimethyladipat, Dimethylglutarat und Dimethylsuccinat noch Diisooctylsulfosuccinat und Diethylhexylcarbonat. Es ist bei der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin registriert (Reg-Nr. N-28540) und wurde beim Deutschen Patent- und Markenamt zum Patent angemeldet (DE 10 2004 054 143 A1 2006.05.11).

Der Neembaum ist eine schnellwachsende, immergrüne Pflanze, die hauptsächlich in trockenen tropischen und subtropischen Gebieten vorkommt (*Schmutterer* 2002). Im indischen Sanskrit bedeutet Neem der "Krankheitserleichterer". In Indien stellt der Neembaum die wohl nützlichste Heilpflanze dar. Neemprodukte werden dort seit über 2000 Jahren als Heilmittel eingesetzt. In den letzten fünf Jahrzehnten wurde neben der chemischen Analyse der Neeminhaltsstoffe auch ein bedeutender Fortschritt im Bereich der biologischen Aktivität und dem Einsatz in der Medizin erzielt. Mitte des zwanzigsten Jahrhunderts wurde intensiv an der chemischen Analyse der Inhaltsstoffe geforscht. Seit 1942 mit Nimbin der erste Bitterstoff isoliert wurde, sind heute bereits mehr als 135 Inhaltstoffe bekannt. Diese werden in zwei Klassen aufgeteilt, Isoprenoide und Nicht-Isoprenoide (*Biswas et al.* 2002).

Der Samen des Neembaums ist eine wichtige Quelle für pflanzliches Öl und pflanzliche Pestizide. Die Kerne des Samens enthalten Azadirachtin und andere Limonoide wie Nimbin, Salannin und Meliantriol. Bisher wird Azadirachtin als der wichtigste Inhaltsstoff angesehen. Auf viele Insekten besitzen die Neemsamenkerne eine fraßhemmende, metamorphosestörende, fekunditätsmindernde, ovizide und fitnessmindernde Wirkung (*Kaushik et al.* 2007, *Schmutterer* 2002).

Die derzeitige Situation auf dem Tierarzneimittelmarkt erfordert die Notwendigkeit nach der Suche und Erforschung alternativer Wirkstoffe. Dabei spielen die aus den Samen des Neembaum gewonnenen pflanzlichen Akarizide und Insektizide eine wichtige Rolle. Zum einen gelten Neemprodukte als gesundheitlich unbedenklich für Säugetiere, zum anderen wurden bisher noch keine Resistenzen von Insekten gegenüber Neemprodukten festgestellt. Man vermutet, dass die Entwicklung von Resistenzen aufgrund der komplexen Zusammensetzung und der zahlreichen unterschiedlichen Wirkungsmechanismen der Neemprodukte erschwert ist. Gerade deshalb empfiehlt sich der Einsatz von Neemprodukten im Rahmen der Schädlings- und Parasitenbekämpfung (*Mulla* und *Su* 1999).

# 4 Material und Methoden

# 4.1 <u>Herkunft der Roten Vogelmilbe Dermanyssus gallinae</u>

Die in den Versuchen eingesetzten Milben stammten aus mehreren Hühnerställen in Baden-Württemberg und Nordrhein-Westfalen. Sie wurden nach dem Einsammeln innerhalb von drei Tagen für die Versuche eingesetzt.

# 4.2 <u>Untersuchungen zum Entwicklungszyklus von D. gallinae</u>

Untersuchungen zum Entwicklungszyklus von *D. gallinae* wurden bei 20 +/- 0,5 ℃ und 40% relativer Luftfeuchte (RH) durchgeführt. Dazu wurden gesogene Weibchen, gesogene Protonymphen und gesogene Deutonymphen in einzelne Wells einer 24-well Platte (Nunclon™ Surface, nunc™, Roskilde, Dänemark) gesetzt. Die Wells wurden mit einer gasdurchlässigen Klebefolie (DIAGONAL, Münster) verschlossen. Alle 24 h wurden die eingesetzten Milben kontrolliert und der Entwicklungsstand notiert. Hatten sich die Milben soweit entwickelt, dass eine weitere Entwicklung nur nach einer erneuten Blutmahlzeit stattfinden konnte, war die Beobachtung bei den betroffenen Milben abgeschlossen.

Tab. 3: Untersuchte Stadien und beobachtete Entwicklung von D. gallinae

Eingesetztes Stadium	Beobachtete Entwicklung	
Gesogenes Weibchen	Beginn und Ende der Eiablage	
	Eiablage bis zum Schlupf der Larve	
	Larve bis zur Häutung zur Protonymphe	
Gesogene Protonymphe	Bis zur Häutung zur Deutonymphe	
Gesogene Deutonymphe	Bis zur Häutung zum Adultus	

# 4.3 <u>Laborversuche</u>

#### 4.3.1 Untersuchungen zur Wirksamkeit von Neem-Präparaten auf Filterpapier

Die Toxizität für Milben wurde mit vier verschiedenen Applikationsweisen untersucht.

#### 4.3.1.1 Kontakttoxizität

Die Kontakttoxizität wurde mittels der Methoden A, B1 und B2 untersucht.

4 Material und Methoden 23

# Methode A (Benetzung der Milben mit dem Akarizid)

In eine Petrischale (92 x 16 mm ohne Nock, SARSTEDT, Nürmbrecht) wurde ein Filterpapier (Rundfilter MN 615, MACHEREY-NAGEL) mit einem Durchmesser von 90 mm gelegt. Da *D. gallinae* eine hohe Luftfeuchtigkeit bevorzugt, wurde eine mit 100 μl Leitungswasser angefeuchtete Flocke Watte (KOKETT<sup>®</sup>; 5 mm x 5 mm x 3 mm) auf das Filterpapier gegeben. Anschließend wurde eine geringe Anzahl von Milben (5-15) auf das Filterpapier übertragen. Auf jede Milbe wurde mittels einer Eppendorf-Pipette 0,5 μl der zu untersuchenden Akarizidlösung getropft. Nach Behandlung aller Milben wurde die Petrischale verschlossen und der Deckel mit Parafilm® abgedichtet. Die Petrischalen wurden bei einer Temperatur von 20 °C (+/- 0,5 °C) aufbewa hrt. Nach 24 h wurde die Anzahl der toten Milben unter einem Binokular (Wild M3, Heerbrugg, Schweiz) bei 16- bis 40-facher Vergrößerung ermittelt. Milben wurden als tot gewertet, wenn sie auf Berührung mit einer feinen Pinzette keine Reaktion mehr zeigten. Gegebenenfalls überlebende Milben wurden zur sicheren Entsorgung für mindestens 48 h bei –18 °C tiefgefroren.

Tab. 4: Applizierte Verdünnung und Konzentration bei Methode A

Verdünnungsstufe des Akarizids	Akarizidlösung [µl/Milbe]	Wirkstoff [µl/Milbe]
unverdünnt	0,5	0,500
1:20	0,5	0,024
1:40	0,5	0,012
1:60	0,5	0,008
1:80	0,5	0,006

# Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid)

Filterpapiere mit einem Durchmesser von 90 mm wurden mit einem bestimmten Volumen der jeweiligen Akarizidprobe so behandelt, dass sich eine definierte Konzentration ergab. Hierzu wurde die Probe mittels einer Eppendorf-Pipette auf das Filterpapier aufgetragen. Das behandelte Filterpapier wurde dann in eine Petrischale gelegt und etwa 20-40 Milben auf das Filterpapier übertragen. Die Auswertung erfolgte wie bei Methode A.

4 Material und Methoden 24

#### Methode B2 (Kontakt mit getrocknetem Akarizid)

Diese Methode unterscheidet sich von Methode B1 darin, dass die Filterpapiere nach dem Aufbringen der Probe nicht sofort eingesetzt wurden, sondern für 1 h an der Luft zum Trocknen ausgelegt wurden.



Abb. 5: Filterpapier in Petrischale.

# 4.3.1.2 Gasphasentoxizität

Bei diesem Versuch wurde der direkte Kontakt der Milben mit dem Akarizid verhindert – nur verdampftes Akarizid konnte die Milben als Gasphase erreichen.

# Methode C (Akarizide Wirkung über die Gasphase)

Für diese Methode wurden etwa 20-30 Milben in 2 ml Eppendorf-Cups gegeben, bei denen der Deckel entfernt worden war. Die Cups wurden mit gasdurchlässiger Klebefolie (DIAGONAL) verschlossen. Um ein Ankleben der Milben an der Klebefolie zu verhindern, wurde auf die klebende Seite ein Stück der Klebefolie, mit dem entsprechenden Durchmesser der Eppendorf-Cup-Öffnung, geklebt. Ein Filterpapier mit einem Durchmesser von 90 mm wurde mit einem bestimmten Volumen der Probe so behandelt, dass sich eine definierte Wirkstoffkonzentration einstellte. Im Anschluss wurde das behandelte Filterpapier leicht eingerollt in ein Rollrandglas (20 ml) gegeben. Um eine ausreichende Luftfeuchtigkeit im Inneren der Petrischale für die Milben zu erhalten, wurde ein angefeuchtetes Stück Watte (5 mm x 5 mm x 3 mm) in das Rollrandglas gegeben. Das Milben Eppendorf-Cup wurde dazugegeben und das Rollrandglas mit einem Deckel verschlossen. Das Rollrandglas wurde 24 h bei Raumtemperatur (20 +/- 0,5 °C) aufbewahrt. Anschließend wurden die Milben auf

ein Filterpapier gegeben und die Anzahl der toten Milben unter einem Binokular ausgezählt. Milben wurden als tot gewertet, wenn sie auf die Berührung mit einer feinen Pipette keine Reaktion mehr zeigten.



Abb. 6: Rollrandglas mit Filterpapier und verschlossenem Eppendorf-Cup.

Bei den vier Applikationsweisen wurden jeweils fünf unterschiedliche Verdünnungen getestet. Auf jedes Filterpapier wurde 0,3 ml der entsprechenden Verdünnung aufgetragen, woraus sich eine Konzentration von 4,72 µl/cm² ergab. Zu jedem Versuch wurde parallel eine Kontrolle durchgeführt, in der unbehandeltes Filterpapier verwendet wurde.

Tab. 5: Angewandte Konzentration bei den Methoden B1, B2 und C

Verdünnungsstufe des Akarizids	Akarizidlösung [  [	Wirkstoff [µl/cm²]
unverdünnt	4,72	4,72
1:20	4,72	0,23
1:40	4,72	0,12
1:60	4,72	0,08
1:80	4,72	0,06

# 4.4 Neem-Extrakte

Fünf Neem-Extrakte der Alpha-Biocare GmbH (Neem-Feinfiltrat, Neem-dbE-Extrakt, Neem-Eth-Extrakt, Neem-Hex-Extrakt und Neem-PC-Extrakt) wurden auf ihre Wirksamkeit gegen die Rote Vogelmilbe untersucht. Alle Neem-Extrakte wurden auf ihre Kontakt- und Gasphasentoxizität mittels der Methoden A, B1, B2 und C auf Filterpapier getestet. Bei den vier Applikationsmethoden wurden jeweils fünf unterschiedliche Verdünnungen (unverdünnt, 1:20, 1:40, 1:60, 1:80) getestet.

Tab. 6: Applizierte Verdünnung und Konzentration bei Methode A

Verdünnungsstufe des Akarizids	Akarizidlösung [µl/Milbe]	Wirkstoff [µl/Milbe]
unverdünnt	0,5	0,500
1:20	0,5	0,024
1:40	0,5	0,012
1:60	0,5	0,008
1:80	0,5	0,006

Tab. 7: Angewandte Konzentration bei den Methoden B1, B2 und C

Verdünnungsstufe des Akarizids	Akarizidlösung [µl/cm²]	Wirkstoff [μl/cm²]
unverdünnt	4,72	4,72
1:20	4,72	0,23
1:40	4,72	0,12
1:60	4,72	0,08
1:80	4,72	0,06

### 4.5 <u>Analytische Methoden zur Identifizierung der Inhaltsstoffe von Neem-Feinfiltrat</u>

Das Neem-Feinfiltrat, das als Ausgangssubstanz für Mite-Stop® dient, wurde mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie und Massenspektrometrie auf seine Inhaltsstoffe untersucht. Die Untersuchung erfolgte am Lehrstuhl für Lebensmittelchemie der Universität Würzburg.

#### 4.5.1 Hochdruckflüssigkeitschromatographie mit Massenspektrometrie (HPLC-MS)

Zur Auftrennung und Identifizierung der Inhaltsstoffe wurde ein Hochdruckflüssigkeitschromatograph (Serie HP 1100 der Firma Hewlett Packard, Waldbronn) eingesetzt (Tab. 8).

Tab. 8: Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) Betriebsdaten

HPLC	
Gerät	Analytische HPLC von HP, Series 1100 (Waldbronn, Deutschland)
Pumpe	HP 1100 Series HPLC Pumpe (Waldbronn, Deutschland)
Detektor	HP 1100 Series Diodenarraydetektor (DAD) (Waldbronn, Deutschland)
Autosampler	Wisp 710b (Waters, Eschborn, Deutschland)
Software	HP Chemstation (Waldbronn, Deutschland)
Injektionsvolumen	50 μL
Trennsäule	Synergy <sup>™</sup> 4μ Hydro-RP; 250 x 4,6 mm, 4μm
Fluß	300 μl/min
Eluent	0,1% Ameisensäure/Wasser (A) (v/v), Acetonitril (B)
Gradient	0 min 10% (B), 85 min 99% (B)

Die Identifizierung der Inhaltsstoffe erfolgte mittels Massenspektrometrie (Tab. 9).

Tab. 9: Massenspektrometrie (MS) Betriebsdaten

Massenspektrometer	
MS	Finnigan TSQ 7000 Triple-Stage-Quadrupol-Tandem-MS (Finnigan MAT, Bremen, Deutschland) mit Finnigan Electrospray-Ionisations-Interface (ESI)
Ionenquelle	Atmosphärendruck, Raumtemperatur
Einlasskapillare	250℃
Sheathgas	Stickstoff 5.0 (70 psi)
ESI-Kapillarenspannung	3.2 kV
Messbereich	<i>m/z</i> = 100-1000
Software	Xcalibur <sup>™</sup> Software Version 1.2 (Thermo Electron, Dreieich, Deutschland)

# 4.6 <u>Mite-Stop® - Laborversuche</u>

Das Akarizid Mite-Stop<sup>®</sup> wurde von der Alpha-Biocare GmbH (Düsseldorf) bezogen. In Tab. 10 sind die verwendeten Produktchargen aufgelistet.

Tab. 10: Verwendete Chargen Mite-Stop®

Charge	MHD
G-11-01	01.2008
H-38-03	09.2009
H-45-05	11.2010
J-27-04	07.2011

# 4.6.1 <u>Untersuchungen zur Wirksamkeit von Mite-Stop® auf Filterpapier</u>

Das Mite-Stop® wurde auf seine Kontakt- und Gasphasentoxizität mittels der Methoden A, B1, B2 und C getestet. Bei den vier Applikationsmethoden wurden jeweils fünf unterschiedliche Verdünnungen (unverdünnt, 1:20, 1:40, 1:60, 1:80) untersucht. Jede Methode wurde viermal durchgeführt.

#### 4.6.2 <u>Untersuchungen zur Wirksamkeit auf die Entwicklungsstadien von D. gallinae</u>

Um die Wirksamkeit auf die Entwicklungsstadien von *D. gallinae* zu ermitteln, wurden die Ergebnisse aus den Untersuchungen zur Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup> auf Filterpapier (4.6.1) speziell im Hinblick auf die Mortalitätsraten innerhalb einzelner Entwicklungsstadien ausgewertet.

29

#### 4.6.3 Untersuchungen zur Wirksamkeit über einen Zeitraum von 48 h

In diesem Versuch wurde untersucht, ob sich die nach 24 h registrierte Mortalitätsrate innerhalb von weiteren 24 h noch änderte. Das Mite-Stop® (Ch. H-45-05) wurde, wie vom Hersteller als geeignete Verdünnung empfohlen, 1:50 mit Leitungswasser verdünnt. Es wurde die kleinstmögliche Menge angewandt, die nötig war, um das Filterpapier gleichmäßig zu befeuchten. Dadurch war eine Konzentration von 4,72 µl/cm² gegeben. Im ersten Versuch wurden ausschließlich ungesogene Milben eingesetzt. Die Kontakttoxizität wurde wie unter 4.3.1.1 beschrieben in allen drei Applikationsweisen untersucht. Die Auswertung erfolgte nach 24 h und nach 48 h. Die Gasphasentoxizität wurde wie unter 4.3.1.2 beschrieben untersucht, wobei die Auswertung nach 48 h erfolgte. Alle Versuche wurden zweimal durchgeführt.

Um die Toxizität des Akarizids auf gesogene Milben zu untersuchen, wurde ein zweiter Versuch durchgeführt, in dem fast ausschließlich gesogene, leuchtend rote Milben eingesetzt wurden. Um möglichst praxisnahe Daten erheben zu können, wurden verschiedene Mengen des Akarizids anhand Methode B1 getestet.

	Tab. 11: And	ewandte	Mite-Stop	<sup>®</sup> Konzent	rationen
--	--------------	---------	-----------	----------------------	----------

Gebrauchslösung [µl/cm²]	Wirkstoff [µl/cm²]
4,72	0,09
7,86	0,15
15,72	0,31
23,58	0,46
31,44	0,62

#### 4.6.4 <u>Untersuchungen zur oviziden Wirkung</u>

Bei der Untersuchung der oviziden Wirkung wurde die Kontakttoxizität nach 4.3.1.1 und die Gasphasentoxizität nach 4.3.1.2 getestet, jedoch wurde hierbei über einen Zeitraum von bis zu 168 h alle 24 h ausgewertet. Die Wirkung wurde sowohl an frisch abgesetzten Milbeneiern aus dem Labor sowie an Milbeneier, die im Hühnerstall gesammelt wurden, untersucht. Um frisch abgelegte Milbeneier zu erhalten, wurden gesogene Weibchen in einzelnen Wells einer 24-well Platte gehalten und die Eier gesammelt. Bei Methode A, B1 und B2 wurden die Eier vorsichtig auf das Filterpapier gelegt. Jedem Ei wurde eine Nummer zugeteilt, so dass jedes Ei individuell ausgewertet werden konnte. Bei Methode C wurde die Anzahl der abgestorbenen Eier bzw. der sich daraus entwickelten Larven ermittelt. Das Akarizid wurde für diesen Versuch 1:50 mit Wasser verdünnt. Bei der Auswertung wurden die Ergebnisse aus den Untersuchungen zum Entwicklungszyklus berücksichtigt.

#### 4.6.5 Untersuchungen zur Haltbarkeit der Anwendungslösung

Die Haltbarkeit der mit Wasser verdünnten Gebrauchslösung wurde mittels der Methoden A, B1, B2 und C untersucht. Am Tag 0 wurden 1,2 ml des Akarizids mit 60 ml Wasser verdünnt und gründlich gemischt. Von Tag 0 bis Tag 10 wurden jeden Tag jeweils die Methoden A, B1, B2, C sowie die entsprechenden Kontrollen durchgeführt. Diese Untersuchung wurde zweimal durchgeführt.

# 4.6.6 <u>Untersuchungen zur Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup> nach Behandlung des Untergrundes</u> im Laufe mehrerer Tage

Am Tag 0 wurde eine 1:50 Verdünnung des Akarizids angesetzt. Filterpapiere mit einem Durchmesser von 90 mm wurden mit 0,3 ml der Probe so behandelt, dass sich eine Konzentration von 4,72 µl pro cm² ergab. Die behandelten Filterpapiere wurden an der Luft getrocknet. Täglich bis zum Tag 10 wurde ein Filterpapier getestet. Dieser Versuch wurde zweimal durchgeführt.

#### 4.6.7 Untersuchungen zur Haltbarkeit der Gebrauchslösung

In diesem Versuch wurden verschiedene Chargen des Neem-Präparates (Tab. 12) in der empfohlenen Verdünnung von 1:50 getestet. Die einzelnen Proben wurden, wie unter 4.3.1.1 beschrieben, mittels Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid) in einer Konzentration von 7,86 µl/cm² und 4,72 µl/cm² getestet.

Charge	Hergestellt	MHD	Getestet
G-11-01	03.2006	01.2008	07.2008
H-38-03	09.2007	09.2009	07.2008
H-45-05	11.2007	11.2010	07.2008
J-27-04	07.2008	07.2011	07.2008

Tab. 12: Untersuchte Mite-Stop® Chargen

## 4.6.8 <u>Untersuchungen zur Wirkung auf verschmutzter Oberfläche</u>

In den meisten Hühnerställen bleibt nach dem Ausmisten noch eine Restverschmutzung bestehen. Dieser Schmutz könnte die Wirksamkeit des Akarizids vermindern. Um dies zu testen, wurde ein Versuch durchgeführt, in dem das Filterpapier mit einer dünnen Schmutzschicht überzogen wurde. Für die Herstellung dieser Schmutzschicht wurde aus einem Hühnerstall verschmutzte Einstreu gesammelt. Das Gemisch aus Einstreu, Futterresten, Hühnerexkrementen und Federn wurde für 48 h bei –18 °C tiefgefroren, um eventuell vorhandene Milben abzutöten. Im Anschluss wurde es auf Raumtemperatur aufgetaut und dann mit Hilfe eines Mörsers zerkleinert. Im ersten Versuch wurde auf jedes Filterpapier 0,2 g Schmutz gegeben und diese gleichmäßig auf dem ganzen Filterpapier verteilt, so dass eine Schmutzmenge von 3,14 mg pro cm² gegeben war. Im zweiten Versuch wurden 0,5 g auf jedes Filterpapier gegeben. Nach gleichmäßiger Verteilung ergab sich so eine Schmutzschicht von 7,86 mg pro cm². In beiden Versuchen wurde Mite-Stop® (Ch. H-45-05) unverdünnt sowie in den Verdünnungen 1:20, 1:40, 1:60 und 1:80 eingesetzt. Für die praxisnahe Anwendung wurde dieser Versuch mit Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid) getestet.

#### 4.6.9 Untersuchungen zur repellierenden Wirkung

Die mögliche repellierende Wirkung des Neem-Präparates wurde in drei unterschiedlichen Versuchen untersucht.

Im ersten Versuch wurden auf Filterpapier vier Felder von gleicher Größe eingezeichnet (Abb. 7). Das Filterpapier wurde dann in eine Petrischale gelegt. In die gegenüberliegenden Felder 1 und 3 wurde jeweils 0,1 ml der zu testenden Probe aufgetragen. Das Neem-Präparat wurde unverdünnt und in den Verdünnungen 1:20, 1:40, 1:60 und 1:80 getestet. Es wurde ein kleines Stück Filterpapier (1 cm x 0,5 cm) mit mehreren Milben in die Mitte des Filterpapieres gelegt und die Petrischale verschlossen und mit Parafilm® abgedichtet. 15

Minuten lang wurde beobachtet, wie sich die Milben auf dem Filterpapier bewegen und welche Felder sie betreten bzw. meiden.

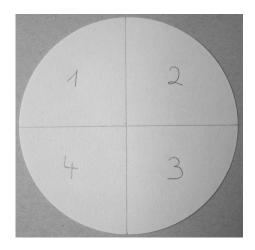


Abb. 7: Versuchsaufbau 1.

Im zweiten Versuchsaufbau wurde auf jedes Filterpapier in der Mitte ein 7 cm x 1 cm langes Rechteck eingezeichnet (Abb. 8). Danach wurden die Filterpapiere in Petrischalen gelegt. Auf die Fläche des Rechtecks wurde 0,03 ml der jeweiligen Probe aufgetragen. Getestet wurden die selben Mite-Stop<sup>®</sup> Verdünnungen wie im ersten Versuch. Sofort im Anschluss wurden mehrere Milben oberhalb und unterhalb der behandelten Fläche auf das Filterpapier gesetzt und die Petrischale verschlossen. 15 Minuten lang wurden die Milben beobachtet.

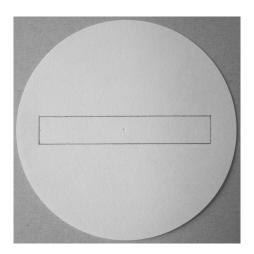


Abb. 8: Versuchsaufbau 2.

Im dritten Versuchsaufbau wurde auf jedes Filterpapier ein Rand von 1 cm eingezeichnet (Abb. 9). Nachdem das Filterpapier im Deckel der Petrischale eingelegt wurde, wurde eine definierte Menge Mite-Stop<sup>®</sup> auf die eingezeichnete Randlinie aufgetragen. In diesem Versuch wurde die 1:50 Verdünnung angewandt und in einem Volumen von 0,1 und 0,5 ml

auf ihre repellierende Wirkung hin untersucht. In einem ersten Versuch blieb die innere Kreisfläche unbehandelt. Im zweiten Versuch wurde sie mit Wasser behandelt. Dies ermöglichte die Beurteilung der Versuche im Hinblick auf das Verhalten der Milben bei unterschiedlicher (feucht-trocken) und gleicher (feucht-feucht) Bodenbeschaffenheit. Innerhalb einer Versuchsdauer von 15 Minuten wurde ermittelt, wann sich eine Vogelmilbe auf der behandelten Fläche befand.

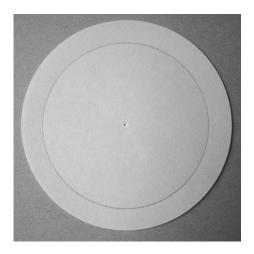


Abb. 9: Versuchsaufbau 3.

#### 4.6.10 Untersuchungen zur Wirksamkeit auf verschiedenen Baumaterialien in Hühnerställen

Die möglicherweise unterschiedliche Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup> wurde auf zwei Materialien untersucht, die in fast jedem Stall verarbeitet werden, Beton und Holz.

#### 4.6.10.1 <u>Beton</u>

Estrichbeton wurde mit Leitungswasser angerührt und 3-4 mm hoch in Petrischalen gegossen. Die frisch ausgegossenen Petrischalen wurden für mehrere Tage zum Trocknen bei Raumtemperatur gelagert.

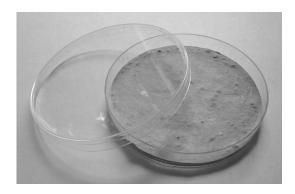


Abb. 10: Mit Estrichbeton ausgegossene Petrischale.

# 4.6.10.1.1 <u>Untersuchungen zur Wirksamkeit auf Adulte, Nymphen und Larven von *D.* <u>gallinae</u></u>

Zunächst wurden verschiedene Verdünnungen des Akarizids in einer Konzentration von 7,86 µl pro cm² getestet. Im ersten Versuch wurden neben unverdünntem Mite-Stop<sup>®</sup> die Verdünnungen 1:20, 1:40, 1:60 und 1:80 angewandt. In weiteren Versuchen wurden verschiedene Verdünnungsstufen und Konzentration getestet.

#### 4.6.10.1.2 Untersuchungen zur oviziden Wirkung

Für die Untersuchung zur oviziden Wirkung von Mite-Stop<sup>®</sup> auf Beton wurde das Akarizid 1:50 mit Wasser verdünnt. In diesem Versuch wurden die Eier von *D. gallinae* in Hühnerställen gesammelt und analog zum Filterpapier nach 4.6.4 eingesetzt. In zwei Versuchen wurden verschiedene Konzentrationen auf ihre ovizide Wirkung hin untersucht.

# 4.6.10.1.3 <u>Untersuchungen zur Wirksamkeit einer behandelten Betonfläche über einen</u> Zeitraum von mehreren Tagen

Am Tag 0 wurde eine Mite-Stop<sup>®</sup> Verdünnung im Verhältnis 1:50 angesetzt. Auf 11 Betonflächen wurde jeweils 3,5 ml der Verdünnung gleichmäßig aufgetragen. Jeden Tag wurde eine behandelte Fläche auf ihre Wirksamkeit hin nach Methode B2 (Kontakt mit getrocknetem Akarizid) untersucht. Nach drei aufeinanderfolgenden Tagen ohne Nachweis einer Wirksamkeit wurde der Versuch beendet.

#### 4.6.10.2 <u>Holz</u>

Aus einer Platte aus Pappelholz (4 mm dick) wurden mit einer Lochkranzsäge runde Platten mit einem Durchmesser von 90 mm ausgesägt. Die einzelnen Platten wurden in Petrischalen gelegt.

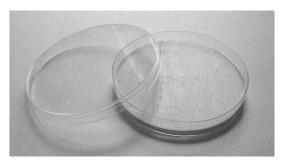


Abb. 11: Ausgesägte Holzplatte in einer Petrischale.

# 4.6.10.2.1 <u>Untersuchungen zur Wirksamkeit auf Adulte, Nymphen und Larven von *D.* <u>gallinae</u></u>

In ersten Versuchen wurden unterschiedliche Mite-Stop<sup>®</sup> Verdünnungen in einer Konzentration von 7,86 µl pro cm² mittels Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid) getestet. Im ersten Versuch wurden neben unverdünntem Mite-Stop<sup>®</sup> die Verdünnungen 1:20, 1:40, 1:60 und 1:80 getestet. In weiteren Versuchen wurden verschiedene Verdünnungsstufen und Konzentrationen des Akarizids getestet.

#### 4.6.10.2.2 <u>Untersuchungen zur oviziden Wirkung</u>

Für die Untersuchung der oviziden Wirkung von Mite-Stop<sup>®</sup> auf Holz wurde das Akarizid 1:50 mit Leitungswasser verdünnt. Für diesen Versuch wurden Eier von *D. gallinae* benutzt, die zuvor in Hühnerställen gesammelt wurden. In zwei Versuchen wurden verschiedene Konzentration auf ihre ovizide Wirkung hin mittels Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid) untersucht.

# 4.6.10.2.3 <u>Untersuchungen zur Wirksamkeit einer behandelten Holzfläche über einen</u> <u>Zeitraum von mehreren Tagen</u>

Für diesen Versuch wurde am Tag 0 eine 1:50 Verdünnung des Akarizids angesetzt. Auf 11 Holzflächen wurde jeweils 2,5 ml der Verdünnung gleichmäßig aufgetragen. Jeden Tag

wurde eine behandelte Fläche auf ihre Wirksamkeit hin nach Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid) untersucht. Nach drei aufeinanderfolgenden Tagen ohne nachweisbare Wirksamkeit wurde der Versuch beendet.

## 4.7 Mite-Stop® - Anwendung im Hühnerstall

In zwei Versuchen wurde das Neem-Präparat auf seine Wirksamkeit im Hühnerstall untersucht. Die Anwendung des Akarizids erfolgte in einer Sprühbehandlung.

#### 4.7.1 Versuch 1 – Private Haltung von Legehennen

Bei dem behandelten Stall handelte es sich um einen kleinen Hühnerstall eines privaten Hühnerhalters, der über einen starken Milbenbefall berichtet hatte. Er hält sieben Legehennen im Alter zwischen zwei und vier Jahren. Der Stall hat eine Grundfläche von 2,1 m x 1,7 m und ist 2,0 m hoch. Die Bodenfläche besteht aus Beton. Der gesamte Stall war aus Holz gebaut. Zu den Einrichtungsgegenständen gehören vier Legenester und ein Kotbrett über dem vier Sitzstangen für die Hühner angebracht sind. Den Hühnern steht noch ein Auslauf von 300 m² zur Verfügung. Der Auslauf gliedert sich in einen überdachten und einen nicht überdachten Teil. Im überdachten Teil stehen den Hühnern mehrere Tränke- und Futterspender zur Verfügung.

Vor der Behandlung mit Mite-Stop®, wurde die Größe der Milbenpopulation mittels eines Monitoring-Verfahrens ermittelt. Hierzu wurden aus Wellpappe hergestellte Milbenfallen, die den Milben Versteck- und Rückzugsmöglichkeiten boten, in dem Hühnerstall ausgebracht. Nach fünf Tagen wurden die Fallen entfernt, einzeln in Gefrierbeutel verpackt und bei −18 ℃ tiefgefroren. Im Anschluss wurde der gesamte Stall ausgemistet und mit frisch 1:50 angesetztem Mite-Stop® behandelt. Zwei Tage später wurden an den selben Stellen wie im ersten Monitoring neue Milbenfallen angebracht. Nach weiteren fünf Tagen wurden diese wieder eingesammelt. Danach wurde der Stall erneut ausgemistet und wie am Tag 5 mit Mite-Stop® behandelt. Zwei Tage später wurden in einem abschließenden, dritten Monitoring erneut Milbenfallen im Stall verteilt. Diese wurden nach fünf Tagen wieder eingesammelt. Zur Auswertung wurden die Fallen geöffnet und die darin enthaltenen Milben ausgezählt. Anhand dieser Daten wurden die Milbenreduktion und die Wirksamkeit der Mite-Stop® Sprühbehandlung ermittelt.

#### 4.7.2 <u>Versuch 2 – Wissenschaftlicher Geflügelhof</u>

Der Hühnerstall gehört zum Wissenschaftlichen Geflügelhof des Bundes Deutscher Rassegeflügelzüchter in Sinsteden. Zum Zeitpunkt des Versuches waren 11 Hähne und zwei Hennen der Rasse Rheinländer sowie vier Hähne und eine Henne der Rasse Bergische Kräher im Bestand. Der Stall besitzt eine Grundfläche von 8 m². Daran angeschlossen ist ein großes Freigehege, das tagsüber für die Hühner zugänglich ist. Der gesamte Stall ist mit handelsüblicher Einstreu eingestreut. In etwa 0,8 m Höhe ist ein 3,4 m x 0,7 m großes Kotbrett angebracht. Über diesem befinden sich zwei 3,4 m lange, 0,06 m breite und 0,08 m hohe Sitzstangen. Die beiden Sitzstangen sind mittels Metallwinkeln an der Wand befestigt. Die Wand im Bereich der Kotgrube ist gefliest. Alle übrigen Wände sind glatt verputzt.

Milben waren nach einer ersten Inspektion nur im Bereich der Sitzstangen, besonders zwischen Metallwinkel und Sitzstange, vorhanden. Diese Bereiche wurden, durch das Anbringen von doppelseitigem Klebeband, vor einem Ab- bzw. Zuwandern der Milben geschützt. Zwei der insgesamt vier Bereiche wurden mit Mite-Stop® behandelt, die anderen blieben unbehandelt. Der erste Bereich wurde mit Mite-Stop®, das im Verhältnis 1:50 verdünnt wurde, behandelt. Der zweite Bereich wurde mit 1:30 verdünntem Mite-Stop® behandelt. 24 h später wurden alle Bereiche vorsichtig mit einem Pinsel ausgebürstet und das anfallende Material in einer Plastiktüte aufgefangen. Im Labor wurde die Anzahl der toten und der noch lebenden Milben bestimmt.

#### 4.8 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit den Computerprogrammen Microsoft Excel und BioStat 2008. Bei der Berechnung der Mortalität wurde die effektive Mortalität nach *Abbott* (1987) bestimmt. Die akarizide Wirkung wurde nach *Kim et al.* (2007) wie folgt bewertet: stark (Mortalität > 80%), mäßig (Mortalität 80-61%), schwach (Mortalität 60-40%), gering oder keine (Mortalität < 40%).

#### 4.9 <u>Lichtmikroskopische Untersuchung</u>

#### 4.9.1 <u>Anfertigung von Dauerpräparaten</u>

Um Dauerpräparate anzufertigen, wurden die Milben in 4% Formaldehyd in 0,9%iger NaCl-Lösung überführt und für 1-2 h fixiert. Die Milben wurden dann in ein Gemisch aus 70% Ethanol und 4% Glycerin überführt.

#### Einbettung als Totalpräparate in Glycerin

Die in 70% Ethanol + 4% Glycerin gelagerten Milben wurden in einen Tropfen reines Glycerin auf einem Objektträger gegeben und in diesem ausgerichtet. Es wurde ein mit Fimo®-Kügelchen als Abstandshalter versehenes Deckglas aufgelegt. Auf einer 60 °C warmen Heizplatte wurde der Deckglasrand mit geschmolzenem Paraffin verschlossen. Nach Entfernen des überschüssigen Paraffins wurde der Rand des Deckgläschens mit Klarlack versiegelt.

#### Einbettung der Milben als Totalpräparate in Hoyer's Medium

Zur Herstellung des Hoyer's Medium wurden Aqua dest., Gummi arabicum, Chloralhydrat und Glycerin miteinander vermischt (Tab. 13). Auf einen Objektträger wurde ein Tropfen des Hoyer's Medium gegeben, die fixierten Milben darin platziert und ein Deckglas aufgelegt.

Tab. 13: Hoyer's Medium (*Pritchard* und *Kruse* 1982)

Substanz	Menge
Aqua dest.	50 ml
Gummi arabicum	30 g
Chloralhydrat	200 g
Glycerin	20 ml

Die lichtmikroskopische Untersuchung erfolgte an einem Lichtmikroskop (Olympus BX50). Mittels einer Digitalkamera (Olympus E-410) wurden Aufnahmen gemacht.

#### 4.10 Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung

Zur Untersuchung in der Rasterelektronenmikroskopie wurden die Proben chemisch fixiert und dann entwässert.

#### 4.10.1 Fixierung der Milben

Die Milben wurden 24 h in 5%igem Glutaraldehyd in 0,1 M Na-Cacodylatpuffer (pH 7,3) bei 4 ℃ fixiert. Im Anschluss wurden die Präparate viermal für je 10 min in 0,1 M Na-Cacodylatpuffer gewaschen.

Tab. 14: Ansatz für 5% Glutaraldehyd in 0,1 M Cacodylatpuffer

Substanz	Menge
Glutaraldehyd 25%	5 ml
Cacodylatpuffer 1 M	2,5 ml
Aqua bidest.	17,5 ml

#### 4.10.2 Entwässerung der Präparate

Die Milben wurden in einer aufsteigenden Acetonreihe entwässert:

- 5 min in 50%igem Aceton
- 5 min in 60%igem Aceton
- 5 min in 70%igem Aceton
- 5 min in 80%igem Aceton
- 5 min in 90%igem Aceton
- 5 min in 96%igem Aceton
- 5 min in 100%igem Aceton (zweimal)

Zuletzt wurde 100%iges Aceton (über Molekularsieb getrocknet) zugegeben und die Proben wurden bei 4  $^{\circ}$ C gelagert.

#### 4.10.3 Kritische-Punkt-Trocknung

Mittels der Kritische-Punkt-Trocknung lassen sich biologische Objekte unter Erhaltung ihrer Struktur trocknen. Das Prinzip beruht darauf, dass Aceton im Objekt gegen flüssiges CO<sub>2</sub> ausgetauscht wird. Das in Aceton befindliche Objekt wird in eine Kammer gegeben, die sehr

hohe Drücke aushalten kann. Unter Kühlung erfolgt eine vollständige Substitution des Entwässerungsmittels durch das flüssige Übergangsmedium CO<sub>2</sub> durch mehrfaches Spülen. Sobald alles Entwässerungsmedium entfernt ist und sich nur noch flüssiges Übergangsmedium in der Kammer befindet, wird diese soweit aufgeheizt, dass Temperatur und Druck jenen kritischen Punkt überschreiten, an dem das Übergangsmittel in seiner flüssigen Phase und seiner Gasphase die gleiche Dichte annimmt und sich ohne Durchschreiten einer Phasengrenze voll vermischt. Das Mittel wird dann als Gas aus der Kammer abgelassen. Das Objekt ist getrocknet (*Robinson et al.* 1985). Durchgeführt wurde die Trocknung mittels der Critical-Point Apparatur CP II 120 (Balzers Union, Witten).

#### 4.10.4 Montage der Präparate

Unmittelbar nach der Trocknung wurden die Präparate auf einem mit selbstklebender Folie beschichteten Probenteller für das REM montiert.

#### 4.10.5 <u>Besputterung der Präparate</u>

Die Besputterung wurde mit dem Sputtering Device (Balzers Union, Witten) durchgeführt. Hierbei wurden die Präparate in einer Argonatmosphäre bei 25 mA für 4 min mit Gold bedampft.

#### 4.10.6 Untersuchung der Präparate im REM

Die fertigen Präparate wurden mit den Rasterelektronenmikroskopen AMR 1000 (Leitz) und 1430 VP (LEO) untersucht.

### 5 Ergebnisse

## 5.1 <u>Untersuchungen zum Entwicklungszyklus von D. gallinae</u>

Die Mehrzahl der Weibchen begann bei 20 +/- 0,5 ℃ und 40% relativer Luftfeuchte (RH) nach etwa 48 h mit der Eiablage. Die durchschnittliche Zeitspanne der Eiablage betrug 41,6 h. Innerhalb von 72 h schlüpften aus der Mehrzahl der Eier Larven. Fast alle Larven entwickelten sich in 48 h zur Protonymphe. Die Protonymphen entwickelten sich dann innerhalb von 52,8 h zur Deutonymphe. Das Deutonymphenstadium hatte mit einem Durchschnitt von 78,4 h die längste Entwicklungsdauer (Tab. 15).

Tab. 15: Entwicklungszeit der Stadien von D. gallinae bei 20 ℃ und 40% RH

Entwicklungsstadium	Entwicklu	ngszeit [h]	Modus	Mittelwert	Anzahl	
Entwicklungsstaulum	Minimum / %   Maximum / %		[h] / %	[h] / %	Individuen	
Zeit bis zur Eiablage	24	72	48	48.00	15	
	(6,67%)	(6,67%)	(86,67%)	.0,00	. •	
Eiablage	24	48	48	41,60	15	
Liabiage	(26,67%)	(73,33%)	(73,33%)	41,00	13	
Ei	48	72	72	70,59	68	
	(5,88%)	(94,12%)	(94,12%)	70,59	00	
Larve	24	48	48	47,29	60	
Laive	(2,94%)	(97,06%)	(97,06%)	47,29	68	
Drotonymnho	48	72	48	F2 90	15	
Protonymphe	(80,00%)	(20,00%)	(80,00%)	52,80	15	
Doutonympho	72	120	72	79.40	15	
Deutonymphe	(80,00%)	(6,67%)	(80,00%)	78,40	15	

Die 15 beobachteten Weibchen legten entweder zwei, vier oder sechs Eier (Tab. 16).

Tab. 16: Anzahl gelegter Eier von Weibchen der Art D. gallinae bei 20 ℃ und 40% RH

Anzahl	Anzahl de	r gelegten E	ier pro Weib				
Weibchen	Minimum	(%)	Maximum	Modus	(%)	Mittelwert	
15	2	(13,33)	6	(40,00)	4	(46,67)	4,53

#### 5.2 <u>Untersuchungen zur Wirksamkeit verschiedener Neem-Extrakte</u>

#### 5.2.1 Neem-Feinfiltrat

Das mittels Methode A (Benetzung der Milben mit Neem-Feinfiltrat) angewandte Neem-Feinfiltrat erwies sich in allen vier Versuchen als hochwirksam und erreichte eine Mortalität von 100%. Die 1:20 Verdünnung erreichte im Durchschnitt eine hohe Mortalität von 81,08%. Die 1:40 Verdünnung war mäßig wirksam. 1:60 verdünntes Neem-Feinfiltrat erwies sich noch als schwach wirksam. Die 1:80 Verdünnung war nur noch gering wirksam. Alle Milben der Kontrolle überlebten (Tab. 17).

Tab. 17: Zusammenfassung der Ergebnisse aus den Versuchen 1-4 zur Wirksamkeit von Neem-Feinfiltrat mittels Methode A

Verdünnung	Anzahl eingesetzter Milben				Anzahl toter Milben nach 24 h				Mortalität
des Filtrats	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	36	8	26	2	36	8	26	2	100,00
1:20	37	9	28	0	30	6	24	n. b.	81,08
1:40	34	9	25	0	23	6	17	n. b.	67,65
1:60	39	17	22	0	21	9	12	n. b.	53,85
1:80	32	13	18	1	2	0	2	0	6,25
Kontrolle	32	11	20	1	0	0	0	0	0,00

n. b. = nicht bewertet

Bei der Anwendung von Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Neem-Feinfiltrat) erwies sich das Neem-Feinfiltrat bis zu einer Verdünnung von 1:60 als stark wirksam. Die höchste Verdünnung (1:80) erreichte noch eine schwache Wirkung. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 18).

Tab. 18: Zusammenfassung der Ergebnisse aus den Versuchen 1-4 zur Wirksamkeit von Neem-Feinfiltrat mittels Methode B1

Verdünnung	Anzahl eingesetzter Milben				Anzahl toter Milben nach 24 h				Mortalität
des Filtrats	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	68	28	39	1	68	28	39	1	100,00
1:20	79	28	49	2	79	28	49	2	100,00
1:40	81	24	52	5	78	22	51	5	96,30
1:60	95	34	61	0	89	29	60	n. b.	93,68
1:80	69	34	35	0	41	16	25	n. b.	59,42
Kontrolle	68	33	35	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

Neem-Feinfiltrat, das nach Methode B2 (Kontakt mit getrocknetem Neem-Feinfiltrat) eingesetzt wurde, erwies sich bis zu einer Verdünnung von 1:60 als stark wirksam. Die 1:80 Verdünnung erreichte noch eine schwache Wirkung. Alle Milben der Kontrolle überlebten (Tab. 19).

Tab. 19: Zusammenfassung der Ergebnisse aus den Versuchen 1-4 zur Wirksamkeit von Neem-Feinfiltrat mittels Methode B2

Verdünnung	Anza	hl einge	setzter Milk	oen	Anza	hl toter N	Milben nach	24 h	Mortalität
des Filtrats	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	89	31	58	0	89	31	58	n. b.	100,00
1:20	96	24	72	0	96	24	72	n. b.	100,00
1:40	81	20	61	0	81	20	61	n. b.	100,00
1:60	82	27	55	0	77	26	51	n. b.	93,90
1:80	84	23	61	0	43	20	23	n. b.	51,19
Kontrolle	86	28	58	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

Bei der Untersuchung der Gasphasentoxizität mittels Methode C erwiesen sich das unverdünnte und das 1:20 verdünnte Neem-Feinfiltrat als stark wirksam. Für die 1:40 und 1:60 Verdünnung wurde eine schwache Wirkung ermittelt. Die 1:80 Verdünnung war nur gering wirksam. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 20).

Tab. 20: Zusammenfassung der Ergebnisse aus den Versuchen 1-4 zur Wirksamkeit von Neem-Feinfiltrat mittels Methode C

Verdünnung	Anza	hl einge	setzter Milk	oen	Anza	24 h	Mortalität		
des Filtrats	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	123	38	85	0	123	38	85	n. b.	100,00
1:20	132	40	91	1	121	36	85	0	91,67
1:40	116	38	78	0	66	9	57	n. b.	56,90
1:60	127	35	92	0	54	9	45	n. b.	42,52
1:80	115	37	78	0	22	10	12	n. b.	19,13
Kontrolle	114	36	78	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

#### 5.2.2 Neem-dbE-Extrakt

Der Extrakt erwies sich bei der Anwendung mittels Methode A (Benetzung mit dem Extrakt) bis zu einer Verdünnung von 1:60 als stark wirksam. Die 1:80 Verdünnung hatte eine geringe Wirkung. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 21).

Tab. 21: Wirksamkeit von Neem-dbE-Extrakt mittels Methode A

Verdünnung	Anza	hl einge	setzter Milk	oen	Anza	24 h	Mortalität		
des Extrakts	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	12	10	2	0	12	10	2	n. b.	100,00
1:20	14	11	3	0	14	11	3	n. b.	100,00
1:40	12	10	2	0	12	10	2	n. b.	100,00
1:60	15	10	5	0	14	10	4	n. b.	93,33
1:80	17	15	2	0	1	0	1	n. b.	5,88
Kontrolle	16	14	2	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

Bei der Anwendung nach Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Extrakt) wurde bis zu einer Verdünnung von 1:60 eine starke Wirkung ermittelt. Die 1:80 Verdünnung erwies sich noch als schwach wirksam. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 22).

Tab. 22: Wirksamkeit von Neem-dbE-Extrakt mittels Methode B1

Verdünnung	Anza	hl einge	setzter Milk	oen	Anza	hl toter N	Milben nach	24 h	Mortalität
des Extrakts	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	17	14	3	0	17	14	3	n. b.	100,00
1:20	15	11	4	0	15	11	4	n. b.	100,00
1:40	13	9	4	0	13	9	4	n. b.	100,00
1:60	17	11	6	0	15	9	6	n. b.	88,24
1:80	16	14	2	0	7	5	2	n. b.	43,75
Kontrolle	18	15	3	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

Der nach Methode B2 (Kontakt mit getrocknetem Extrakt) getestete Extrakt erwies sich bis zur 1:40 Verdünnung als stark wirksam. Die 1:60 Verdünnung erzielte eine mäßige Wirkung, bei der 1:80 Verdünnung war eine geringe Wirkung nachweisbar. Alle Milben der Kontrolle überlebten (Tab. 23).

Tab. 23: Wirksamkeit von Neem-dbE-Extrakt mittels Methode B2

Verdünnung	Anza	hl einge	setzter Milk	oen	Anza	24 h	Mortalität		
des Extrakts	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	13	9	3	1	13	9	3	1	100,00
1:20	14	4	4	5	14	4	4	5	100,00
1:40	11	6	3	2	11	6	3	2	100,00
1:60	12	5	3	4	9	4	2	3	75,00
1:80	15	13	2	0	4	3	1	n. b.	26,67
Kontrolle	16	15	1	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

Für die Gasphase des Extraktes konnte mit Methode C für den unverdünnten Extrakt eine starke Wirkung nachgewiesen werden. Die 1:20 Verdünnung erwies sich als mäßig wirksam. Eine schwache Wirkung erreichte die 1:40 Verdünnung. Die Verdünnungen 1:60 und 1:80 erwiesen sich als gering wirksam. Alle Milben der Kontrolle überlebten (Tab. 24).

Tab. 24: Wirksamkeit von Neem-dbE-Extrakt mittels Methode C

Verdünnung	Anza	hl einge	setzter Milk	oen	Anza	24 h	Mortalität		
des Extrakts	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	19	17	2	0	19	17	2	n. b.	100,00
1:20	20	16	4	0	15	11	4	n. b.	75,00
1:40	15	13	2	0	9	8	1	n. b.	60,00
1:60	19	16	3	0	7	4	3	n. b.	36,84
1:80	16	12	4	0	1	0	1	n. b.	6,25
Kontrolle	16	16	0	0	0	0	n. b.	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

### 5.2.3 Neem-Eth-Extrakt

Der nach Methode A (Benetzung der Milben mit dem Extrakt) angewandte Extrakt erwies sich unverdünnt nur als gering wirksam. Verdünnt konnte keine Wirkung mehr nachgewiesen werden. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 25).

Tab. 25: Wirksamkeit von Neem-Eth-Extrakt mittels Methode A

Verdünnung	Anza	hl einge	setzter Milk	oen	Anza	hl toter l	Milben nach	24 h	Mortalität
des Extrakts	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	11	8	3	0	1	1	0	n. b.	9,09
1:20	8	8	0	0	0	0	n. b.	n. b.	0,00
1:40	9	5	2	2	0	0	0	0	0,00
1:60	9	9	0	0	0	0	n. b.	n. b.	0,00
1:80	10	8	2	0	0	0	0	n. b.	0,00
Kontrolle	7	5	1	1	0	0	0	0	0,00

n. b. = nicht bewertet

Bei der Anwendung nach Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Extrakt) erwies sich der Extrakt unverdünnt als stark wirksam. Die Verdünnungen 1:20 und 1:40 waren nur gering wirksam. Die 1:60 und 1:80 Verdünnung erwiesen sich als unwirksam. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 26).

Tab. 26: Wirksamkeit von Neem-Eth-Extrakt mittels Methode B1

Verdünnung	Anza	hl einge	setzter Milk	oen	Anza	hl toter l	Milben nach	24 h	Mortalität
des Extrakts	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	23	6	17	0	23	6	17	n. b.	100,00
1:20	19	7	8	4	3	1	1	1	15,79
1:40	28	7	21	0	1	0	1	n. b.	3,57
1:60	20	6	14	0	0	0	0	n. b.	0,00
1:80	19	5	14	0	0	0	0	n. b.	0,00
Kontrolle	15	10	5	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

Mittels Methode B2 (Kontakt mit getrocknetem Extrakt) konnte für den unverdünnten Extrakt eine geringe Wirkung ermittelt werden. Der verdünnte Extrakt erwies sich als unwirksam. Alle Milben der Kontrolle überlebten (Tab. 27).

Tab. 27: Wirksamkeit von Neem-Eth-Extrakt mittels Methode B2

Verdünnung des Extrakts			setzter Milk Nymphen			24 h Larven	Mortalität [%]		
		Addite	· ·	Laiveii	-	Addite	Tymphen -		
Unverdünnt	34	8	26	Ü	/	Ü	1	n. b.	20,59
1:20	23	4	19	0	0	0	0	n. b.	0,00
1:40	34	9	25	0	0	0	0	n. b.	0,00
1:60	20	7	13	0	0	0	0	n. b.	0,00
1:80	17	8	9	0	0	0	0	n. b.	0,00
Kontrolle	15	5	10	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

Die Gasphase, die mittels Methode C untersucht wurde, hatte bei dem unverdünnten Extrakt eine geringe Wirkung. In den Verdünnungen wurde für die Gasphase keine Wirkung nachgewiesen. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 28).

Tab. 28: Wirksamkeit von Neem-Eth-Extrakt mittels Methode C

Verdünnung	Anza	hl einge	setzter Milk	oen	Anza	hl toter N	Milben nach	24 h	Mortalität
des Extrakts	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	24	8	16	0	4	1	3	n. b.	16,67
1:20	25	10	15	0	0	0	0	n. b.	0,00
1:40	18	5	13	0	0	0	0	n. b.	0,00
1:60	24	6	18	0	0	0	0	n. b.	0,00
1:80	23	5	18	0	0	0	0	n. b.	0,00
Kontrolle	14	4	10	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

#### 5.2.4 Neem-Hex-Extrakt

Bei der Untersuchung des Neem-Hex-Extraktes mittels Methode A (Benetzung der Milben mit dem Extrakt) erwies sich der unverdünnte Extrakt als stark wirksam. Verdünnt erwies sich der Extrakt als unwirksam. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 29).

Tab. 29: Wirksamkeit von Neem-Hex-Extrakt mittels Methode A

Verdünnung	Anza	hl einge	setzter Milk	oen	Anza	24 h	Mortalität		
des Extrakts	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	6	3	3	0	5	2	3	n. b.	83,33
1:20	6	3	3	0	0	0	0	n. b.	0,00
1:40	5	2	3	0	0	0	0	n. b.	0,00
1:60	6	4	2	0	0	0	0	n. b.	0,00
1:80	5	4	0	0	0	0	n. b.	n. b.	0,00
Kontrolle	6	4	2	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

Bei der Anwendung des Extraktes nach Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Extrakt) wurde für den unverdünnten Extrakt eine starke Wirkung ermittelt. Alle untersuchten Verdünnungen waren unwirksam. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 30).

Tab. 30: Wirksamkeit von Neem-Hex-Extrakt mittels Methode B1

Verdünnung	Anza	hl einge	setzter Mill	oen	Anza	24 h	Mortalität		
des Extrakts	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	28	11	17	0	25	11	14	n. b.	89,29
1:20	25	6	19	0	0	0	0	n. b.	0,00
1:40	51	12	39	0	0	0	0	n. b.	0,00
1:60	68	19	47	2	0	0	0	0	0,00
1:80	31	13	18	0	0	0	0	n. b.	0,00
Kontrolle	38	13	21	4	0	0	0	0	0,00

n. b. = nicht bewertet

Bei der Anwendung nach Methode B2 (Kontakt mit getrocknetem Extrakt) konnte keine Wirkung verzeichnet werden. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 31).

Tab. 31: Wirksamkeit von Neem-Hex-Extrakt mittels Methode B2

Verdünnung	Anza	ahl einge	setzter Milk	oen	Anza	hl toter N	Milben nach	24 h	Mortalität
des Extrakts	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	41	18	23	0	0	0	0	n. b.	0,00
1:20	56	16	36	4	0	0	0	0	0,00
1:40	41	15	26	0	0	0	0	n. b.	0,00
1:60	28	13	15	0	0	0	0	n. b.	0,00
1:80	53	21	32	0	0	0	0	n. b.	0,00
Kontrolle	45	19	26	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

Bei der Untersuchung der Gasphase mittels Methode C konnte bei dem unverdünnten Extrakt eine starke Wirkung nachgewiesen werden. Bei den Verdünnungen erwies sich die Gasphase als untoxisch. Alle Kontrollmilben überlebten (Tab. 32).

Tab. 32: Wirksamkeit von Neem-Hex-Extrakt mittels Methode C

Verdünnung			setzter Milk				Milben nach		Mortalität
des Extrakts	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	22	6	12	4	22	6	12	4	100,00
1:20	33	15	18	0	0	0	0	n. b.	0,00
1:40	37	16	21	0	0	0	0	n. b.	0,00
1:60	46	11	29	6	0	0	0	0	0,00
1:80	36	15	17	4	0	0	0	0	0,00
Kontrolle	41	20	21	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

#### 5.2.5 Neem-PC-Extrakt

Der Neem-PC-Extrakt erwies sich bei der Anwendung nach Methode A (Benetzung der Milben mit dem Extrakt) als unwirksam. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 33).

Tab. 33: Wirksamkeit von Neem-PC-Extrakt mittels Methode A

Verdünnung			setzter Milk			24 h	Mortalität		
des Extrakts	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	6	4	1	1	0	0	0	0	0,00
1:20	6	5	1	0	0	0	0	n. b.	0,00
1:40	8	2	2	4	0	0	0	0	0,00
1:60	8	5	3	0	0	0	0	n. b.	0,00
1:80	12	8	1	0	0	0	0	n. b.	0,00
Kontrolle	10	7	3	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

Bei der Anwendung nach Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Extrakt) erwies sich der unverdünnte Extrakt als stark wirksam. 1:20 und 1:40 verdünnter Extrakt hatten eine geringe Wirkung. Die stärkeren Verdünnungen waren nicht mehr wirksam. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 34).

Tab. 34: Wirksamkeit von Neem-PC-Extrakt mittels Methode B1

Verdünnung	Anza	hl einge	setzter Milk	oen	Anza	hl toter N	Milben nach	24 h	Mortalität
des Extrakts	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	18	3	15	0	18	3	15	n. b.	100,00
1:20	13	5	8	0	3	1	2	n. b.	23,08
1:40	14	3	11	0	1	0	1	n. b.	7,14
1:60	26	1	25	0	0	0	0	n. b.	0,00
1:80	16	2	14	0	0	0	0	n. b.	0,00
Kontrolle	15	4	11	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

Der mittels Methode B2 (Kontakt mit getrocknetem Extrakt) untersuchte Extrakt erwies sich im unverdünnten Zustand als stark wirksam. Die Verdünnungen 1:20 und 1:40 hatten eine geringe Wirkung. Die stärkeren Verdünnungen hatten keine Wirkung mehr. Alle Kontrollmilben überlebten (Tab. 35).

Tab. 35: Wirksamkeit von Neem-PC-Extrakt mittels Methode B2

Verdünnung des Extrakts			setzter Milk Nymphen				Milben nach Nymphen	24 h Larven	Mortalität [%]
Unverdünnt	19	2	6	11	16	1	5	10	84,21
1:20	21	4	17	0	4	1	3	n. b.	19,05
1:40	16	4	12	0	1	0	1	n. b.	6,25
1:60	14	3	11	0	0	0	0	n. b.	0,00
1:80	19	7	12	0	0	0	0	n. b.	0,00
Kontrolle	17	6	11	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

Die Untersuchung der Gasphase mittels Methode C ergab, dass der unverdünnte und der 1:20 verdünnte Extrakt eine geringe akarizide Wirkung über die Gasphase besaßen. Bei einer stärkeren Verdünnung war keine Wirkung mehr festzustellen. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 36).

Tab. 36: Wirksamkeit von Neem-PC-Extrakt mittels Methode C

Verdünnung des Extrakts			setzter Milk Nymphen				Milben nach Nymphen		Mortalität [%]
Unverdünnt	22	9	14	0	6	0	6	n. b.	27,27
1:20	19	5	14	0	2	0	2	n. b.	10,53
1:40	19	6	13	0	0	0	0	n. b.	0,00
1:60	17	9	8	0	0	0	0	n. b.	0,00
1:80	21	9	12	0	0	0	0	n. b.	0,00
Kontrolle	16	4	12	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

#### Vergleich der Wirksamkeit der getesteten Neem-Extrakte

Bei der Anwendung nach Methode A (Benetzung der Milben mit dem Akarizid) wiesen das Neem-Feinfiltrat und der Neem-dbE-Extrakt eine akarizide Wirkung in allen Verdünnungsstufen auf. Der Neem-dbE-Extrakt besaß eine etwas stärkere Wirkung als das Neem-Feinfiltrat. Die restlichen Extrakte besaßen nur eine geringe oder gar keine Wirkung. Einzig der Neem-Hex-Extrakt erwies sich unverdünnt als gut wirksam (Abb. 12).

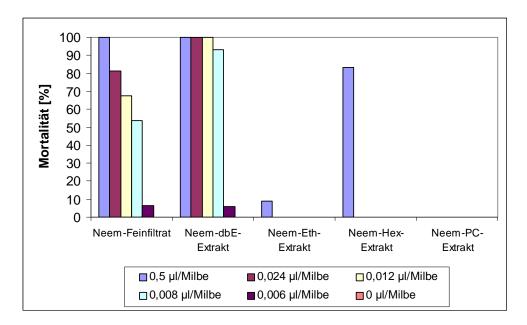


Abb. 12: Vergleich der Wirksamkeit der getesteten Neem-Extrakte bei der Anwendung mittels Methode A.

Bei der Anwendung von Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid) erreichte das Neem-Feinfiltrat die beste Wirkung gegen *D. gallinae*. Der Neem-dbE-Extrakt war etwas schwächer wirksam. Die anderen Neem-Extrakte hatten keine vergleichbare Wirkung, sie erwiesen sich nur bei der höchsten eingesetzten Konzentration als gut wirksam (Abb. 13).

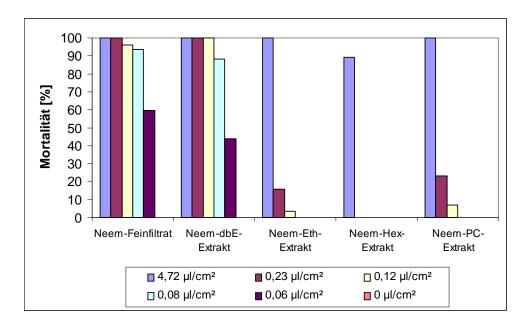


Abb. 13: Vergleich der Wirksamkeit der getesteten Neem-Extrakte bei der Anwendung mittels Methode B1.

Auch bei der Anwendung nach Methode B2 (Kontakt mit getrocknetem Akarizid) erwies sich das Neem-Feinfiltrat insgesamt als am besten wirksam. Die Wirkung des Neem-dbE-Extraktes glich zwar der Wirkung von Neem-Feinfiltrat, war jedoch in der Wirkung der stärkeren Verdünnungen etwas schwächer. Die anderen Neem-Extrakte besaßen keine vergleichbare Wirkung. Der Neem-Eth-Extrakt war sogar unverdünnt nur gering wirksam. Der Neem-Hex-Extrakt konnte keine akarizide Wirkung vorweisen. Der Neem-PC-Extrakt war unverdünnt stark wirksam, in den Verdünnungen jedoch nur noch gering bis nicht wirksam (Abb. 14).

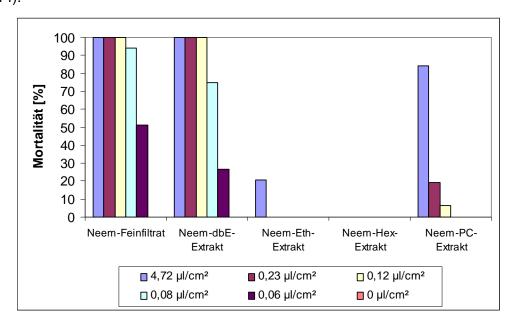


Abb. 14: Vergleich der Wirksamkeit der getesteten Neem-Extrakte bei der Anwendung mittels Methode B2.

Im Vergleich der Anwendung mittels Methode C (Akarizide Wirkung über die Gasphase) war die Wirkung bei Neem-Feinfiltrat und Neem-dbE-Extrakt sehr ähnlich. Insgesamt hatten der Neem-Eth-Extrakt, der Neem-Hex-Extrakt und der Neem-PC-Extrakt keine vergleichbare Wirkung. Nur der unverdünnte Neem-Hex-Extrakt besaß eine gute akarizide Wirkung (Abb. 15).

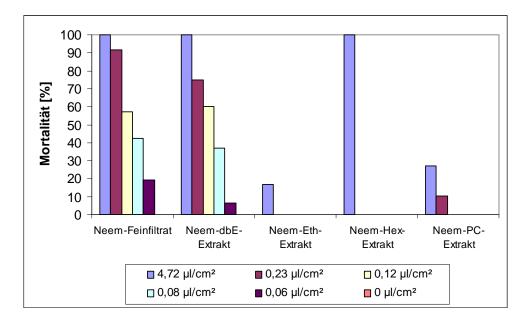


Abb. 15: Vergleich der Wirksamkeit der getesteten Neem-Extrakte bei der Anwendung mittels Methode C.

# 5.3 <u>Ergebnisse der analytischen Methoden zur Identifizierung der Inhaltsstoffe von Neem-Feinfiltrat</u>

#### 5.3.1 Hochdruckflüssigkeitschromatographie mit Massenspektrometrie (HPLC-MS)

Zur Analyse der Inhaltsstoffe erfolgten Untersuchungen mit der Hochdruckflüssigkeitschromatographie. Die Detektion erfolgte bei 214, 280 und 320 nm. Die Inhaltsstoffe absorbieren bei den Wellenlängen 214 und 280 nm besser als bei 320 nm. Die meisten Substanzen eluieren unter den gewählten Bedingungen zwischen 30 und 55 min (Abb. 16).

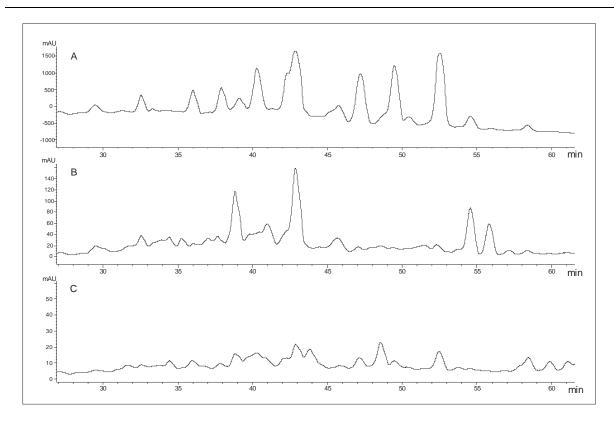


Abb. 16: RP-HPLC-Chromatogramm des Neem-Feinfiltrats bei 214 nm (A), 280 nm (B) und 320 nm (C).

Zur Identifizierung der Inhaltsstoffe wurden die ermittelten Masse-Ladungsverhältnisse (*m/z*) den aufgetrennten Substanzen zugeordnet. Bei den Substanzen handelt es sich möglicherweise um Desacetylnimbin, Nimbinene, Nimbin und Salannin (Abb. 17).

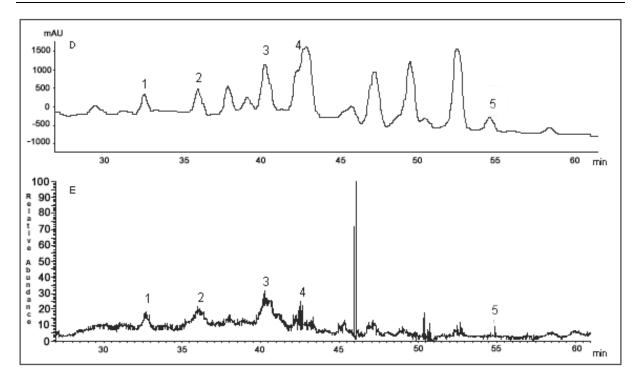


Abb. 17: RP-HPLC-Chromatogramm des Neem-Feinfiltrats bei 280 nm (D) und ESI-MS Spektrum (E). Desacetylnimbin (1), Nimbin (5), Nimbinene (2, 4), Salannin (3).

# 5.4 Mite-Stop® - Laborversuche

#### 5.4.1 <u>Untersuchungen zur Wirksamkeit auf Filterpapier</u>

#### Kontakttoxizität

#### Methode A (Benetzung der Milben mit dem Akarizid)

Im ersten Versuch konnten durch Behandlung mit unverdünntem Mite-Stop<sup>®</sup> alle Milben getötet werden. Auch 1:20 verdünntes Mite-Stop<sup>®</sup> erwies sich als stark wirksam gegen Milben. Die Verdünnungen 1:40 und 1:60 erzielten eine mäßige Wirkung. Eine Verdünnung von 1:80 erwies sich als unwirksam. In der Kontrolle überlebten alle Milben den Versuch (Tab. 37).

Tab. 37: Versuch 1 zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup> in unterschiedlichen Verdünnungen mit einer Menge von 0,5 µl pro Milbe mittels Methode A

Verdünnung des Akarizids			setzter Mill Nymphen				Milben nach Nymphen	24 h Larven	Mortalität [%]
Unverdünnt	8	6	2	0	8	6	2	n. b.	100,00
1:20	8	6	2	0	7	5	2	n. b.	87,50
1:40	7	5	2	0	4	2	2	n. b.	57,14
1:60	7	5	2	0	3	1	2	n. b.	42,86
1:80	6	4	2	0	0	0	0	n. b.	0,00
Kontrolle	6	3	3	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

Das unverdünnte Mite-Stop<sup>®</sup> war auch im zweiten Versuch hochwirksam gegen die Milben. Die restlichen Ergebnisse unterscheiden sich jedoch erheblich von denen des ersten Versuchs. Die 1:20 Verdünnung hatte nur eine geringe Wirkung gegen die Milben, die weiteren Verdünnungen erwiesen sich als völlig unwirksam. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 38).

Tab. 38: Versuch 2 zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop $^{\text{@}}$  in unterschiedlichen Verdünnungen mit einer Menge von 0,5  $\mu$ l pro Milbe mittels Methode A

Verdünnung des Akarizids			setzter Milk Nymphen			Anzahl toter Milben nach 24 h Gesamt   Adulte   Nymphen   Larver				
Unverdünnt	6	4	2	0	6	4	2	n. b.	100,00	
1:20	6	1	5	0	1	0	1	n. b.	16,67	
1:40	6	3	3	0	0	0	0	n. b.	0,00	
1:60	7	3	4	0	0	0	0	n. b.	0,00	
1:80	6	0	6	0	0	n. b.	0	n. b.	0,00	
Kontrolle	8	1	7	0	0	0	0	n. b.	0,00	

n. b. = nicht bewertet

Auch im dritten Versuch besaß das unverdünnte Mite-Stop<sup>®</sup> eine starke akarizide Wirkung. Mite-Stop<sup>®</sup>, das im Verhältnis 1:20 verdünnt wurde, erreichte eine mäßige Wirkung. Die 1:40 und die 1:60 Verdünnung konnten eine schwache Wirkung vorweisen. Die höchste Verdünnung zeigte nur eine geringe Wirksamkeit. Alle Milben der Kontrolle überlebten (Tab. 39).

Tab. 39: Versuch 3 zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup> in unterschiedlichen Verdünnungen mit einer Menge von 0,5 µl pro Milbe mittels Methode A

Verdünnung	Anza	hl einge	setzter Milk	oen	Anza	hl toter N	Milben nach	24 h	Mortalität
des Akarizids	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	8	1	7	0	7	1	6	n. b.	87,50
1:20	10	4	6	0	8	2	6	n. b.	80,00
1:40	11	7	4	0	6	4	2	n. b.	54,55
1:60	10	5	5	0	4	1	3	n. b.	40,00
1:80	10	2	8	0	1	0	1	n. b.	10,00
Kontrolle	9	4	5	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

Wie schon in den vorausgegangenen Versuchen erwies sich auch im vierten Versuch das unverdünnte Mite-Stop<sup>®</sup> als hochwirksam. Alle behandelten Milben konnten getötet werden. Für die 1:20 Verdünnung wurde ebenfalls eine starke Wirkung nachgewiesen. Bei der 1:40 und der 1:60 Verdünnung wurde eine schwache Wirkung ermittelt. Die mit 1:80 höchste Verdünnung war nur gering wirksam. Alle Milben der Kontrolle überlebten (Tab. 40).

Tab. 40: Versuch 4 zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup> in unterschiedlichen Verdünnungen mit einer Menge von 0,5 µl pro Milbe mittels Methode A

Verdünnung	Anza	ahl einge	setzter Milk	oen	Anza	24 h	Mortalität		
des Akarizids	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	6	2	4	0	6	2	4	n. b.	100,00
1:20	10	3	7	0	9	2	7	n. b.	90,00
1:40	8	4	4	0	4	1	3	n. b.	50,00
1:60	9	2	7	0	4	0	4	n. b.	44,44
1:80	9	3	6	0	1	0	1	n. b.	11,11
Kontrolle	7	3	4	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

Das unverdünnte Mite-Stop<sup>®</sup> wies eine durchschnittliche Mortalität von 96,43% auf. Die 1:20 Verdünnung erreichte eine durchschnittliche Mortalität von 73,53%. Die 1:40 Verdünnung erreichte im Durchschnitt eine Mortalität von 43,75%. Die höchsten Verdünnungen, 1:60 und 1:80, hatten eine durchschnittliche Mortalität von 33,33% (1:60) und 6,45% (1:80). Der  $LD_{50}$ -Wert lag bei 0,017  $\mu$ l/cm² bzw. 0,019 mg/cm².

#### Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid)

Mite-Stop<sup>®</sup> erwies sich im ersten Versuch bis zu einer Verdünnung von 1:60 als hochwirksam. Keine der eingesetzten Milben überlebte den Versuch. Die höchste Verdünnung erzielte noch eine mäßige Wirkung. In der Kontrolle überlebten die Milben (Tab. 41).

Tab. 41: Versuch 1 zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop $^{@}$  in verschiedenen Verdünnungen mit einer Menge von 4,7  $\mu$ l/cm $^2$  mittels Methode B1

Verdünnung	Anza	hl einge	setzter Milk	oen	Anza	hl toter I	24 h	Mortalität	
des Akarizids	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	25	2	23	0	25	2	23	n. b.	100,00
1:20	22	5	17	0	22	5	17	n. b.	100,00
1:40	29	4	24	1	29	4	24	1	100,00
1:60	37	4	33	0	37	4	33	n. b.	100,00
1:80	19	2	17	0	15	2	13	n. b.	78,72
Kontrolle	23	5	18	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

Die Ergebnisse aus dem zweiten Versuch sind fast gleich mit denen aus dem ersten Versuch. Das Mite-Stop<sup>®</sup> erwies sich bis zu einer Verdünnung von 1:60 als hochwirksam gegen die Milbe. Die 1:80 Verdünnung erzielte noch eine mäßige Wirkung. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 42).

Tab. 42: Versuch 2 zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup> in verschiedenen Verdünnungen mit einer Menge von 4,7 μl/cm² mittels Methode B1

Verdünnung	Anza	hl einge	setzter Milk	oen	Anza	24 h	Mortalität		
des Akarizids	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	16	4	12	0	16	4	12	n. b.	100,00
1:20	12	2	10	0	12	2	10	n. b.	100,00
1:40	16	4	11	1	16	4	11	1	100,00
1:60	33	10	23	0	33	10	23	n. b.	100,00
1:80	14	4	10	0	11	3	8	n. b.	78,34
Kontrolle	16	3	13	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

Auch im dritten Versuch tötete Mite-Stop<sup>®</sup> bis zu einer Verdünnung von 1:60 alle eingesetzten Milben. Die 1:80 Verdünnung erzielte allerdings im Vergleich zu den vorherigen Versuchen eine deutlich geringere Wirkung. In der Kontrolle wurde eine geringe Mortalität ermittelt (Tab. 43).

Tab. 43: Versuch 3 zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup> in verschiedenen Verdünnungen mit einer Menge von 4,7 μl/cm² mittels Methode B1

Verdünnung	Anza	hl einge	setzter Milk	oen	Anza	24 h	Mortalität		
des Akarizids	Gesamt Adulte Nymphen Larven Gesamt Adulte Nymphen Larven							[%]	
Unverdünnt	55	12	38	5	55	12	38	5	100,00
1:20	22	7	15	0	22	7	15	n. b.	100,00
1:40	17	4	13	0	17	4	13	0	100,00
1:60	19	5	12	2	19	5	12	2	100,00
1:80	16	4*	10	2	4	0*	3	1	24,18
Kontrolle	23	7	16	0	0	0	1	n. b.	4,35

n. b. = nicht bewertet; \*vollgesogene Weibchen

Im vierten Versuch erwies sich das Mite-Stop® bis zu einer Verdünnung von 1:40 als hochwirksam gegen die Milben. Die 1:60 und 1:80 Verdünnung waren stark wirksam. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 44).

Tab. 44: Versuch 4 zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup> in verschiedenen Verdünnungen mit einer Menge von 4,7 μl/cm² mittels Methode B1

Verdünnung	Anza	ahl einge	setzter Milb	en	Anza	24 h	Mortalität		
des Akarizids	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	15	4	11	0	15	4	11	n. b.	100,00
1:20	13	3	10	0	13	3	10	n. b.	100,00
1:40	52	3	49	9	52	3	49	n. b.	100,00
1:60	36	10	26	0	31	7*	24*	n. b.	85,96
1:80	19	7	12	0	16	4	12	n. b.	84,04
Kontrolle	18	6	12	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet; \*alles ungesogene Milben, die gesogenen Milben überlebten

Unverdünntes Mite-Stop<sup>®</sup>, 1:20 und 1:40 verdünntes Mite-Stop<sup>®</sup> erreichten eine durchschnittliche Mortalität von 100%. Die 1:60er Verdünnung erreichte einen Wert von 96,49%, die 1:80er Verdünnung 66,32%. Bei der Kontrollreihe betrug die Mortalität im Durchschnitt 1,25%. Der LD<sub>50</sub>-Wert lag bei 0,047 µl/cm² bzw. 0,052 mg/cm².

#### Methode B2 (Kontakt mit getrocknetem Akarizid)

Im ersten Versuch erwies sich das Mite-Stop<sup>®</sup> bis zu einer Verdünnung von 1:60 als hochwirksam. Die 1:80 Verdünnung war in ihrer Wirkung nur geringfügig schwächer als die anderen Verdünnungen (Tab. 45).

Tab. 45: Versuch 1 der Untersuchung zur Wirksamkeit von Mite-Stop $^{\text{@}}$  in verschiedenen Verdünnungen mit einer Menge von 4,7  $\mu$ l/cm $^2$  mittels Methode B2

Verdünnung des Akarizids			setzter Milk Nymphen				Milben nach Nymphen	24 h Larven	Mortalität [%]
Unverdünnt	18	3	15	0	18	3	15	n. b.	100,00
1:20	18	2	16	0	18	2	16	n. b.	100,00
1:40	19	0	19	0	19	n. b.	19	n. b.	100,00
1:60	21	0	21	0	21	n. b.	21	n. b.	100,00
1:80	24	3	21	0	23	2	21	n. b.	95,83
Kontrolle	20	4	16	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

Wie bereits im ersten Versuch erwies sich das Mite-Stop<sup>®</sup> bis zur dritten Verdünnungsstufe von 1:60 als hochwirksam. Bei der 1:80 Verdünnung wurde nur eine schwache Wirkung erzielt. Alle Milben der Kontrolle überlebten (Tab. 46).

Tab. 46: Versuch 2 zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup> in verschiedenen Verdünnungen mit einer Menge von 4,7 μl/cm² mittels Methode B2

Verdünnung			esetzter Mill				Milben nach	24 h	Mortalität
des Akarizids	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	19	5	14	0	19	5	14	n. b.	100,00
1:20	20	8	12	0	20	8	12	n. b.	100,00
1:40	18	3	15	0	18	3	15	n. b.	100,00
1:60	23	11	12	0	23	11	12	n. b.	100,00
1:80	19	7	12	0	10	5	5	n. b.	52,63
Kontrolle	16	3	13	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

Das Mite-Stop<sup>®</sup> erwies sich im dritten Versuch bis zu einer Verdünnung von 1:40 als hochwirksam. Die 1:60 Verdünnung erzielte eine starke Wirkung. Bei der stärksten Mite-Stop<sup>®</sup> Verdünnung, der 1:80 Verdünnung, konnte ebenfalls noch eine starke Wirkung ermittelt werden. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 47).

Tab.	47:	Versuch	3	zur	Untersuchung	der	Wirksamkeit	von	Mite-Stop®	in	verschiedenen
Verdi	ünnur	ngen mit e	iner	Men	ge von 4,7 µl/cm	n² mit	tels Methode E	32			

Verdünnung	Anza	hl einge	setzter Milk	oen	Anza	hl toter N	Milben nach	24 h	Mortalität
des Akarizids	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	16	6	10	0	16	6	10	n. b.	100,00
1:20	13	2	11	0	13	2	11	n. b.	100,00
1:40	21	6	15	0	21	6	15	n. b.	100,00
1:60	19	3	16	0	17	2*	15*	n. b.	89,47
1:80	21	3	18	0	19	3	16	n. b.	90,48
Kontrolle	26	10	16	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet; \* ungesogen, Überlebende waren zu Versuchsbeginn vollgesogen

Auch im letzten von vier Versuchen erwies sich das Mite-Stop<sup>®</sup> bis zu einer Verdünnung von 1:40 als hochwirksam, alle eingesetzten Milben waren nach 24 h tot. Die 1:60 Verdünnung erzielte auch eine starke Wirkung. Die für die 1:80 Verdünnung ermittelte Wirkung erwies sich als sehr gering. Alle Milben der Kontrolle überlebten (Tab. 48).

Tab. 48: Versuch 4 zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup> in verschiedenen Verdünnungen mit einer Menge von 4,7 μl/cm² mittels Methode B2

Verdünnung	Anza	hl einge	setzter Milk	oen	Anza	hl toter l	Milben nach	24 h	Mortalität
des Akarizids	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	16	3	13	0	16	3	13	0	100,00
1:20	19	4	15	0	19	4	15	0	100,00
1:40	19	5	14	0	19	5	14	0	100,00
1:60	12	5	7	0	10	3*	7	0	83,33
1:80	25	8	17	0	3	0	3	0	12,00
Kontrolle	17	6	11	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet; \* ungesogen; Überlebende waren zu Versuchsbeginn vollgesogen

Insgesamt erwies sich das Mite-Stop® bis zu einer Verdünnung von 1:40 als konstant hochwirksam und erreichte eine durchschnittliche Mortalität von 100%. Die 1:60 Verdünnung von Mite-Stop® erreichte mit einer durchschnittlichen Mortalität von 94,67% eine starke Wirkung. Mit einer Mortalität von 61,8% konnte die 1:80 Verdünnung noch eine mäßige Wirkung vorweisen. Der LD<sub>50</sub>-Wert lag bei 0,051 µl/cm² bzw. 0,056 mg/cm².

#### Gasphasentoxizität

#### Methode C (Akarizide Wirkung über die Gasphase)

Im ersten Versuch zur Untersuchung der Gasphasentoxizität erwiesen sich das unverdünnte Mite-Stop<sup>®</sup>, die 1:20 und die 1:40 Verdünnung als hochwirksam. Die 1:60 Verdünnung war nur gering wirksam. Die 1:80 Verdünnung war unwirksam, alle Milben überlebten den Versuch. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 49).

Tab. 49: Versuch 1 zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup> in verschiedenen Verdünnungen mit einer Menge von 4,7 μl/cm² mittels Methode C

Verdünnung	Anza	ıhl einge	setzter Milk	oen	Anza	hl toter N	/lilben nach	24 h	Mortalität
des Akarizids	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	21	4	17	0	21	4	17	n. b.	100,00
1:20	43	7	36	0	43	7	36	n. b.	100,00
1:40	20	1	19	0	20	1	19	n. b.	100,00
1:60	27	3	24	0	2	0	2	n. b.	7,41
1:80	16	2	14	0	0	0	0	n. b.	0,00
Kontrolle	23	6	17	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

Im zweiten Versuch erwiesen sich das unverdünnte Mite-Stop<sup>®</sup> sowie die 1:20 und die 1:40 Verdünnung erneut als hochwirksam. Für die 1:60 Verdünnung ergab sich eine schwache Wirkung. Die höchste Verdünnung, die 1:80 Verdünnung, war kaum wirksam. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 50).

Tab. 50: Versuch 2 zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup> in verschiedenen Verdünnungen mit einer Menge von 4,7 μl/cm² mittels Methode C

Verdünnung	Anza	hl einge	setzter Milk	oen	Anza	24 h	Mortalität		
des Akarizids	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	25	10	15	0	25	10	15	n. b.	100,00
1:20	28	12	16	0	28	12	16	n. b.	100,00
1:40	23	9	14	0	23	9	14	n. b.	100,00
1:60	24	11	13	0	12	5	7	n. b.	50,00
1:80	24	9	15	0	2	1	1	n. b.	8,33
Kontrolle	21	7	14	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

Im dritten Versuch erwies sich das unverdünnte Mite-Stop<sup>®</sup> als hochwirksam, nach 24 h waren alle Milben tot. Das 1:20 verdünnte Mite-Stop<sup>®</sup> hatte ebenfalls eine starke Wirkung auf die Milben. Die 1:40 Verdünnung war nur gering wirksam. Die beiden stärksten Verdünnungen, 1:60 und 1:80, erwiesen sich in diesem Versuch als unwirksam. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 51).

Tab. 51: Versuch 3 zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup> in verschiedenen Verdünnungen mit einer Menge von 4,7 μl/cm² mittels Methode C

Verdünnung	Anza	ahl einge	esetzter Mil	ben	Anza	hl toter	Milben nach	n 24 h	Mortalität
	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	34	10	24	0	34	10	24	n. b.	100,00
1:20	29	5	24	0	24	4	20	n. b.	82,76
1:40	24	8	16	0	1	0	1	n. b.	4,17
1:60	48	14	34	0	0	0	0	n. b.	0,00
1:80	27	12	15	0	0	0	0	n. b.	0,00
Kontrolle	31	13	18	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

Auch im vierten und letzten Versuch erwies sich das Mite-Stop<sup>®</sup> unverdünnt als hochwirksam, wieder wurden alle Milben getötet. Das 1:20 verdünnte Mite-Stop<sup>®</sup> erzielte ebenfalls eine starke Wirkung. Für die 1:40 Verdünnung wurde eine mäßige Wirkung ermittelt. Die beiden stärksten Verdünnungen waren noch gering wirksam. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 52).

Tab. 52: Versuch 4 zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup> in verschiedenen Verdünnungen mit einer Menge von 4,7 μl/cm² mittels Methode C

Verdünnung	Anza	hl einge	setzter Milk	oen	Anza	hl toter N	Milben nach	24 h	Mortalität
des Akarizids	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	14	0	14	0	14	n. b.	14	n. b.	100,00
1:20	12	2	10	0	11	1	10	n. b.	91,67
1:40	19	0	19	0	15	n. b.	15	n. b.	78,95
1:60	18	0	18	0	4	n. b.	4	n. b.	22,22
1:80	21	3	18	0	1	0	1	n. b.	4,76
Kontrolle	18	4	14	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

Im Endeffekt erwies sich das unverdünnte Mite-Stop® mit einer durchschnittlichen Mortalität von 100% als durchgehend hochwirksam gegen die Milben. Die 1:20 Verdünnung erwies sich mit einem durchschnittlichen Wert von 94,64% ebenfalls noch als stark wirksam. Mit einer durchschnittlichen Mortalität von 68,61% wurde mit der 1:40 Verdünnung insgesamt eine mäßige Wirkung erzielt. Die stärksten Verdünnungen konnten mit einer durchschnittlichen Mortalität von 15,39% für die 1:60 Verdünnung und 3,41% für die 1:80 Verdünnung eine geringe Wirkung vorweisen. Der LD $_{50}$ -Wert lag bei 0,117  $\mu$ l/cm² bzw. 0,128 mg/cm².

#### 5.4.2 Wirksamkeit auf die Entwicklungsstadien von D. gallinae

Dieser Versuch wurde durchgeführt, um die Effektivität von Mite-Stop<sup>®</sup> auf die verschiedenen Entwicklungsstadien zu ermitteln. Hierzu wurden die Ergebnisse aus den Versuchen 4.3.1.1 und 4.3.1.2 bezüglich der Mortalitätsraten für die unterschiedlichen Entwicklungsstadien ermittelt.

### Methode A (Benetzung der Milben mit dem Akarizid)

Mit Ausnahme von unverdünntem Mite-Stop® waren die Mortalitätsraten der Nymphen bei allen Verdünnungen höher als die der Adulten (Tab. 53).

Tab. 53: Wirksamkeit von Mite-Stop® mittels Methode A auf verschiedene Stadien von D. gallinae

Verdünnung		Adulte			Nymphen			Larven	
des Akarizids	N	Tote	M [%]	N	Tote	M [%]	N	Tote	M [%]
unverdünnt	13	13	100,00	15	14	93,33	0	n. b.	n. b.
1:20	14	9	64,29	20	16	80,00	0	n. b.	n. b.
1:40	19	7	36,84	13	7	53,85	0	n. b.	n. b.
1:60	15	2	13,33	18	9	50,00	0	n. b.	n. b.
1:80	9	0	0,00	22	2	9,09	0	n. b.	n. b.

M = Mortalität; N = Anzahl eingesetzter Milben; n. b. = nicht bewertet

## Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid)

Bis zur 1:40 Verdünnung wurde bei allen untersuchten Entwicklungsstadien eine Mortalität von 100% erreicht. Die Mortalitätsraten der Verdünnungen 1:60 und 1:80 waren bei den Nymphen höher als bei den Adulten. Die Larven besaßen die höchste Mortalitätsrate bei der 1:60 Verdünnung und die niedrigste bei der 1:80 Verdünnung (Tab. 54).

Tab. 54: Wirksamkeit von Mite-Stop® mittels Methode B1 auf verschiedene Stadien von D. gallinae

Verdünnung		Adulte			Nymphen			Larven	
des Akarizids	N	Tote	M [%]	N	Tote	M [%]	N	Tote	M [%]
unverdünnt	22	22	100,00	84	84	100,00	5	5	100,00
1:20	17	17	100,00	52	52	100,00	0	n. b.	n. b.
1:40	15	15	100,00	97	97	100,00	2	2	100,00
1:60	29	26	89,66	94	92	97,87	2	2	100,00
1:80	17	9	52,94	49	36	73,47	2	1	50,00

M = Mortalität; N = Anzahl eingesetzter Milben; n. b. = nicht bewertet

### Methode B2 (Kontakt mit getrocknetem Akarizid)

Die Mortalität war bei den adulten Milben geringer als bei den Nymphen (Tab. 55).

Tab. 55: Wirksamkeit von Mite-Stop® mittels Methode B2 auf verschiedene Stadien von D. gallinae

Verdünnung		Adulte			Nymphen			Larven	
des Akarizids	N	Tote	M [%]	N	Tote	M [%]	N	Tote	M [%]
unverdünnt	17	17	100,00	52	52	100,00	0	n. b.	n. b.
1:20	16	16	100,00	54	54	100,00	0	n. b.	n. b.
1:40	14	14	100,00	63	63	100,00	0	n. b.	n. b.
1:60	19	16	84,21	56	55	98,21	0	n. b.	n. b.
1:80	21	10	47,62	68	45	66,18	0	n. b.	n. b.

M = Mortalität; N = Anzahl eingesetzter Milben; n. b. = nicht bewertet

#### Methode C (Akarizide Wirkung über die Gasphase)

Bis zur 1:60 Verdünnung waren die Mortalitätsraten bei den adulten Milben niedriger als bei den Nymphen. Für die Verdünnungen 1:60 und 1:80 ergaben sich bei den adulten Milben höhere Werte als bei den Nymphenstadien (Tab. 56).

Tab. 56: Wirksamkeit von Mite-Stop® mittels Methode C auf verschiedene Stadien von D. gallinae

Verdünnung		Adulte			Nymphen		Larven			
des Akarizids	N	Tote	M [%]	N	Tote	M [%]	N	Tote	M [%]	
unverdünnt	24	24	100,00	70	70	100,00	0	n. b.	n. b.	
1:20	26	24	92,31	86	82	95,35	0	n. b.	n. b.	
1:40	18	10	55,56	66	49	74,24	0	n. b.	n. b.	
1:60	28	5	17,86	89	13	14,61	0	n. b.	n. b.	
1:80	26	1	3,85	62	2	3,23	0	n. b.	n. b.	

M = Mortalität; N = Anzahl eingesetzter Milben; n. b. = nicht bewertet

#### 5.4.3 Wirksamkeit über einen Zeitraum von 48 h

Die im ersten Versuch eingesetzten Milben waren alle ungesogen. Mittels Methode A (Benetzung der Milben mit dem Akarizid) konnte das 1:50 verdünnte Mite-Stop® nach 24 h eine schwache Wirkung vorweisen, die sich innerhalb der darauffolgenden 24 h nicht weiter veränderte. In der dazugehörigen Kontrolle überlebten alle Milben. Das nach Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid) und B2 (Kontakt mit getrocknetem Akarizid) angewandte Mite-Stop® erwies sich als hochwirksam und erzielte bereits innerhalb von 24 h eine 100%ige Mortalität. In den dazugehörigen Kontrollen überlebten alle Milben. Die mittels Methode C untersuchte Gasphase des Mite-Stop® erwies sich als stark toxisch, so dass nach 48 h mehr als 90% der Milben tot waren. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 57).

Tab. 57: Ergebnisse aus dem ersten Versuch zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup>, 1:50 verdünnt, über einen Zeitraum von 48 h mittels der Methoden A, B1, B2 und C

Methode	Eingesetzte Milben				Anzahl toter Milben			Mortalität	Anzahl toter Milben				Mortalität	
					nach 24 h				[%]	nach 48 h			[%]	
	G	Α	Ν	L	G	Α	N	L		G	Α	N	L	
Α	6	4	2	0	3	1	2	n.b.	50,00	3	1	2	n.b.	50,00
KA	7	3	4	0	0	0	0	n.b.	0,00	0	0	0	n.b.	0,00
B1	18	6	12	0	18	6	12	n.b.	100,00	18	6	12	n.b.	100,00
KB1	21	9	12	0	0	0	0	n.b.	0,00	0	0	0	n.b.	0,00
B2	19	8	11	0	19	8	11	n.b.	100,00	19	8	11	n.b.	100,00
KB2	24	9	15	0	0	0	0	n. b.	0,00	0	0	0	0	0,00
С	31	10	21	0	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n.a.	28	7	21	0	90,32
KC	26	7	19	0	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	0	0	0	n.b.	0,00

A = Adulte; G = Gesamt; KA = Kontrolle Methode A; KB1 = Kontrolle Methode B1; KB2 = Kontrolle Methode B2; KC = Kontrolle Methode C; L = Larven; M = Mortalität; N = Nymphen; n. a. = nicht ausgewertet; n. b. = nicht bewertet

Im zweiten Versuch wurde für das nach Methode A getestete Mite-Stop<sup>®</sup> eine mäßige Wirkung ermittelt, die sich nach weiteren 24 h noch steigerte und letztendlich eine starke Wirkung erzielte. Alle Milben der Kontrolle überlebten. Mittels Methode B1 konnte bereits nach 24 h eine 100%ige Mortalität erreicht werden. In der entsprechenden Kontrolle überlebten alle Milben. Das nach Methode B2 eingesetzte Mite-Stop<sup>®</sup> erzielte bereits in den ersten 24 h eine hohe Mortalität, die sich nach weiteren 24 h noch so weit gesteigert hatte, dass alle Milben tot waren. Alle Milben der dazugehörigen Kontrolle überlebten. Für Methode C wurde nach 48 h eine mäßige Wirkung ermittelt (Tab. 58).

Tab. 58: Ergebnisse aus dem zweiten Versuch zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup>, 1:50 verdünnt, über einen Zeitraum von 48 h mittels der Methoden A, B1, B2 und C

Methode	Eing	gesetz	te Mi	ben	Anz	ahl to		lben	Mortalität	Anz	ahl to		lben	Mortalität
	_		n -			nacn	24 h		[%]		nach	48 n		[%]
	G	Α	N	L	G A N L			G	Α	N	L			
Α	10	6	4	0	7	3	4	n.b.	70,00	8	4	4	n. b.	80,00
KA	10	7	3	0	0	0	0	n. b.	0,00	0	0	0	n. b.	0,00
B1	27	12	15	0	27 12 15 n.b.		100,00	27	12	15	n. b.	100,00		
KB1	23	14	9	0	0	0	0	n.b.	0,00	0	0	0	n.b.	0,00
B2	24	9	15	0	23	8	15	n.b.	95,83	24	9	15	n. b.	100,00
KB2	19	7	12	0	0	0	0	n.b.	0,00	0	0	0	n. b.	0,00
С	25	12	13	0	n.a.	n. a.	n. a.	n. a.	n.a.	20	7	13	n.b.	80,00
KC	28	14	14	0	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	0	0	0	n. b.	0,00

A = Adulte; G = Gesamt; KA = Kontrolle Methode A; KB1 = Kontrolle Methode B1; KB2 = Kontrolle Methode B2; KC = Kontrolle Methode C; L = Larven; M = Mortalität; N = Nymphen; n. a. = nicht ausgewertet; n. b. = nicht bewertet

Im Anschluss wurde ein zweiter Versuch durchgeführt, in dem ausschließlich gesogene Milben eingesetzt wurden. Um möglichst praxisnahe Daten erheben zu können, wurden verschiedene Mengen Mite-Stop<sup>®</sup>, 1:50 verdünnt, mit Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid) getestet. Im ersten Versuch wurde mit einer Konzentration von 4,72 µl/cm² und 7,86 µl/cm² nach 48 h eine starke Wirkung erzielt. Ab einer Konzentration von 15,72 µl/cm² erwies sich das Mite-Stop<sup>®</sup> als 100%ig wirksam. In der Kontrolle waren nach 48 h noch alle Milben am Leben (Tab. 59).

Tab. 59: Ergebnisse aus dem ersten Versuch zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup>, 1:50 verdünnt, in verschiedenen Mengen pro cm² über einen Zeitraum von 48 h mittels Methode B1

Akarizidlösung	Eing	esetz	te Mi	lben	Anz	ahl to	oter N	/lilben	Mortalität	Anz	ahl to	ter M	ilben	Mortalität
[µl/cm²]						nacl	า 24 ไ	า	[%]		nach	48 h		[%]
	G	Α	Ν	L	G	Α	Ν	L		G	Α	N	L	
4,72	44	28 16 0				26	16	n. b.	95,45	43	27	16	n. b.	97,73
7,86	53	3 31 22 0			50	29	21	n. b.	94,34	50	29	21	n. b.	94,34
15,72	51				50	31	18	1	98,04	111	64	46	1	100,00
23,58	48				48	34	12	2	100,00	48	34	12	2	100,00
31,44	55 32 17 6			55	32	17	6	100,00	55	32	17	6	100,00	
Kontrolle	43 23 14 6 0 0 0 0				0,00	0	0	0	0	0,00				

A = Adulte; G = Gesamt; L = Larven; M = Mortalität; N = Nymphen; n. b. = nicht bewertet

Im zweiten Versuch wurde für das Mite-Stop<sup>®</sup> bei einer Konzentration von 4,72  $\mu$ l/cm² bereits nach 24 h eine starke Wirkung registriert. Für die Konzentration von 7,86  $\mu$ l/cm² wurde ebenfalls bereits nach 24 h eine starke Wirkung ermittelt. Ab einer Konzentration von 15,72  $\mu$ l/cm² wurde eine 100%ige Mortalität erreicht. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 60).

Tab. 60: Ergebnisse aus dem zweiten Versuch zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup>, 1:50 verdünnt, in verschiedenen Mengen pro cm² über einen Zeitraum von 48 h mittels Methode B1

Akarizidlösung [µl/cm²]	Eing	esetz	te Mil	ben	Anza	ahl to nach			Mortalität [%]	Anza	ahl to nach	ter M 48 h		Mortalität [%]
	G	Α	N	L	G	Α	Ν	L		G	Α	N	L	
4,72	58	35	16	7	52 31 14 7			89,66	53	31	15	7	91,34	
7,86	49	49 23 18 8				45   19   18   8			91,84	47	21	18	8	95,92
15,72	43					43 21 14			100,00	43	21	14	8	100,00
23,58	45 28 12 5			45	28	12	5	100,00	45	28	12	5	100,00	
31,44	46 26 17 3			46	26	17	3	100,00	46	26	17	3	100,00	
Kontrolle	34					0	0	n. b.	0,00	0	0	0	n. b.	0,00

A = Adulte; G = Gesamt; L = Larven; M = Mortalität; N = Nymphen; n. b. = nicht bewertet

## 5.4.4 Ovizide Wirkung

#### Kontakttoxizität

## Methode A (Benetzung der Milben mit dem Akarizid)

Bei der Behandlung der Eier mit 1:50 verdünntem Mite-Stop® mit 0,5 µl pro Ei konnte in beiden Versuchen keine ovizide Wirkung festgestellt werden. Aus allen behandelten Eiern waren spätestens nach 72 h im ersten Versuch und 96 h im zweiten Versuch Larven geschlüpft. Alle Larven entwickelten sich zu Protonymphen weiter. Auch in beiden Kontrollen wurden Schlupfraten von 100% erreicht (Tab. 61 und 62).

Tab. 61: Ergebnisse aus dem ersten Versuch zur Untersuchung der oviziden Wirkung von Mite-Stop<sup>®</sup>, 1:50 verdünnt, mittels Methode A

Methode	Akarizidlösung	Anzahl der		Ges		Schlupfrate				
	[µl/Ei]	Eier	24	48	[%]					
Α	0,5	10	0	7	10	-	-	-	-	100,00
KA	0,5	10	0	4	10	-	-	-	-	100,00

<sup>- =</sup> alle Larven bereits geschlüpft; KA = Kontrolle Methode A

Tab. 62: Ergebnisse aus dem zweiten Versuch zur Untersuchung der oviziden Wirkung von Mite- $Stop^{@}$ , 1:50 verdünnt, mittels Methode A

Methode	Akarizidlösung	Anzahl der		Ges	schlüpf	te Larv	en nac	h h		Schlupfrate
	[µl/Ei]	Eier	24	48	[%]					
Α	0,5	6	0	0	6	-	-	-	-	100,00
KA	0,5	6	0	0	6	-	-	-	-	100,00

<sup>- =</sup> alle Larven bereits geschlüpft; KA = Kontrolle Methode A

## Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid)

In beiden Versuchen wies das 1:50 verdünnte Mite-Stop<sup>®</sup> in einer Konzentration von 4,72 µl/cm² eine starke ovizide Wirkung auf. Aus keinem der behandelten Eier schlüpften Larven. In den beiden parallel durchgeführten Kontrollen waren aus allen Eiern Larven geschlüpft (Tab. 63 und 64).

Tab. 63: Ergebnisse aus dem ersten Versuch zur Untersuchung der oviziden Wirkung von Mite-Stop<sup>®</sup>, 1:50 verdünnt, mittels Methode B1

Methode	Akarizidlösung	Anzahl der		Ges	schlüpf	te Larv	en nac	h h		Schlupfrate
	[µl/cm²]	Eier	24	48	[%]					
B1	4,72	19	0	0	0	0	0	0	0	0,00
KB1	4,72	19	0	7	19	•	-	-	-	100,00

<sup>- =</sup> alle Larven bereits geschlüpft; KB1 = Kontrolle Methode B1

Tab. 64: Ergebnisse aus dem zweiten Versuch zur Untersuchung der oviziden Wirkung von Mite-Stop $^{\text{@}}$ , 1:50 verdünnt, mittels Methode B1

Methode	Akarizidlösung	Anzahl der		Ges	schlüpf	te Larv	en nac	h h		Schlupfrate
	[µl/cm²]	Eier	24	48	[%]					
B1	4,72	14	0	0	0	0	0	0	0	0,00
KB1	4,72	11	0	6	11	-	•	-	-	100,00

<sup>- =</sup> alle Larven bereits geschlüpft; KB1 = Kontrolle Methode B1

# Methode B2 (Kontakt mit getrocknetem Akarizid)

In beiden Versuchen wirkte Mite-Stop<sup>®</sup> zu 100% ovizid. In den Kontrollen schlüpften aus allen Eiern Larven (Tab. 65 und 66).

Tab. 65: Ergebnisse aus dem ersten Versuch zur Untersuchung der oviziden Wirkung von Mite-Stop<sup>®</sup>, 1:50 verdünnt, mittels Methode B2

Methode	Akarizidlösung	Anzahl der		Ges	schlüpf	te Larv	en nac	h h		Schlupfrate
	[µl/cm²]	Eier	24	48	[%]					
B2	4,72	12	0	0	0	0	0	0	0	0,00
KB2	4,72	12	0	0	8	12	-	•	-	100,00

<sup>- =</sup> alle Larven bereits geschlüpft; KB2 = Kontrolle Methode B2

Tab. 66: Ergebnisse aus dem zweiten Versuch zur Untersuchung der oviziden Wirkung von Mite- $Stop^{@}$ , 1:50 verdünnt, mittels Methode B2

Methode	Akarizidlösung	Anzahl der		Ges	schlüpf	te Larv	en nac	h h		Schlupfrate
	[µl/cm²]	Eier	24	48	[%]					
B2	4,72	15	0	0	0	0	0	0	0	0,00
KB2	4,72	12	2	10	12	-	-			100,00

<sup>- =</sup> alle Larven bereits geschlüpft; KB2 = Kontrolle Methode B2

## Gasphasentoxizität

# Methode C (Akarizide Wirkung über die Gasphase)

In beiden Versuchen betrug die Schlupfrate 100%. Auch aus allen Eier der Kontrollen schlüpften Larven (Tab. 67 und 68).

Tab. 67: Ergebnisse aus dem ersten Versuch zur Untersuchung der oviziden Wirkung von Mite-Stop<sup>®</sup>, 1:50 verdünnt, mittels Methode C

Methode	Akarizidlösung	Anzahl der		Ges	schlüpf	te Larv	en nac	h h		Schlupfrate
	[µl/cm²]	Eier	24	48	[%]					
С	4,72	14	0	0	5	14	-	-	-	100,00
KC	4,72	13	5	9	13	-	-	-	-	100,00

<sup>- =</sup> alle Larven bereits geschlüpft; KC = Kontrolle Methode C

Tab. 68: Ergebnisse aus dem zweiten Versuch zur Untersuchung der oviziden Wirkung von Mite-Stop $^{\mathbb{B}}$ , 1:50 verdünnt, mittels Methode C

Methode	Akarizidlösung	Anzahl der		Ges	schlüpf	te Larv	en nac	h h		Schlupfrate
	[µl/cm²]	Eier	24	48	[%]					
С	4,72	17	0	8	15	17	-	-	-	100,00
KC	4,72	15	7	15	-	-	•	-	-	100,00

<sup>- =</sup> alle Larven bereits geschlüpft; KC = Kontrolle Methode C

## 5.4.5 Haltbarkeit der Anwendungslösung

#### Kontakttoxizität

# Methode A (Benetzung der Milben mit dem Akarizid)

Im ersten Versuch (1A) war die Anwendungslösung von Mite-Stop<sup>®</sup> nach vier Tagen noch stark wirksam. In den darauffolgenden Tagen wurde die Wirkung deutlich schwächer. Im zweiten Versuch (2A) erwies sich das Mite-Stop<sup>®</sup> durchweg schwacher wirksam verglichen mit dem ersten Versuch. Für die dazugehörigen Kontrollen (1KA, 2KA) wurde zur jeder Zeit eine Mortalität von 0% ermittelt (Abb. 18).

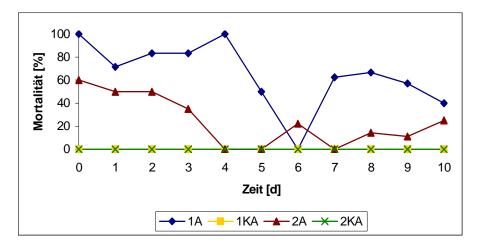


Abb. 18: Ergebnisse aus der Untersuchung zur Haltbarkeit der Anwendungslösung von Mite-Stop<sup>®</sup> in einer Verdünnung von 1:50 über einen Zeitraum von 11 Tagen mittels Methode A; 1A = 1. Versuch Methode A; 1KA = Kontrolle zum 1. Versuch Methode A; 2A = 2. Versuch Methode A; 2KA = Kontrolle zum 2. Versuch Methode A.

## Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid)

In beiden Versuchen (1B1, 2B1) war das Mite-Stop<sup>®</sup> in den ersten drei Tagen hochwirksam und erreichte jeweils eine Mortalität von 100%. Diese Wirkung hielt im ersten Versuch bis zum Tag 4 an. Danach nahm die Wirkung in den darauffolgenden Tagen langsam ab. Am letzten Tag konnte noch eine mäßige Wirkung verzeichnet werden. Im zweiten Versuch kam es nach Tag 3 zu einigen Schwankungen bei den Mortalitätsraten. Am Tag 10, dem letzten Tag des Versuches, wurde noch eine starke Wirkung nachgewiesen. In den Kontrollen (1KB1, 2KB1) überlebten alle Milben (Abb. 19).

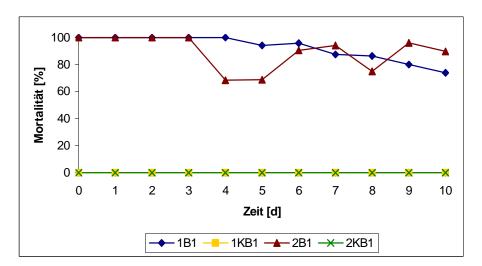


Abb. 19: Ergebnisse aus der Untersuchung zur Haltbarkeit der Anwendungslösung von Mite-Stop<sup>®</sup> in einer Verdünnung von 1:50 über einen Zeitraum von 11 Tagen mittels Methode B1; 1B1 = 1. Versuch Methode B1; 1KB1 = Kontrolle zum 1. Versuch Methode B1; 2B1 = 2. Versuch Methode B1; 2KB1 = Kontrolle zum 2. Versuch Methode B1.

#### Methode B2 (Kontakt mit getrocknetem Akarizid)

Bis zum Tag 3 erwies sich die Anwendungslösung von Mite-Stop<sup>®</sup> in beiden Versuchen (1B2, 2B2) als hochwirksam und erreichte eine Mortalität von 100%. Im ersten Versuch nahm die Wirkung in den darauffolgenden Tagen etwas ab. Am letzten Tag wurde noch eine mäßige Wirkung verzeichnet. Im zweiten Versuch konnten auch am Tag 4 alle Milben getötet werden. Danach nahm die Wirkung etwas ab, am letzten Tag wurde noch eine mäßige Wirkung ermittelt. In den Kontrollen (1KB2, 2KB2) überlebten alle Milben (Abb. 20).

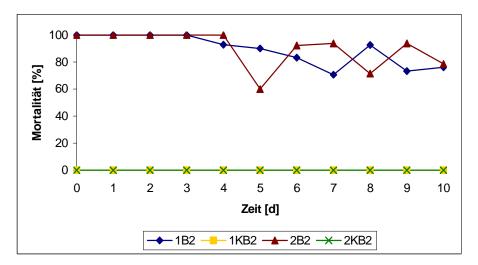


Abb. 20: Ergebnisse aus der Untersuchung zur Haltbarkeit der Anwendungslösung von Mite-Stop<sup>®</sup> in einer Verdünnung von 1:50 über einen Zeitraum von 11 Tagen mittels Methode B2; 1B2 = 1. Versuch Methode B2; 1KB2 = Kontrolle zum 1. Versuch Methode B2; 2B2 = 2. Versuch Methode B2; 2KB2 = Kontrolle zum 2. Versuch Methode B2.

#### Gasphasentoxizität

#### Methode C (Akarizide Wirkung über die Gasphase)

Im ersten Versuch (1C) erwies sich die Anwendungslösung von Mite-Stop<sup>®</sup> am Tag 0 als stark wirksam. Am Tag 1 konnte noch eine schwache Wirkung nachgewiesen werden. An den darauffolgenden Tagen wurde eine geringe bis keine Wirkung verzeichnet. Im zweiten Versuch (2C) waren die Ergebnisse ähnlich. Am Tag 0 war die Wirkung noch mäßig, bereits ab Tag 1 erwies sich das Mite-Stop<sup>®</sup> nur noch als gering bis gar nicht mehr wirksam. In den Kontrollen überlebten alle Milben (Abb. 21).

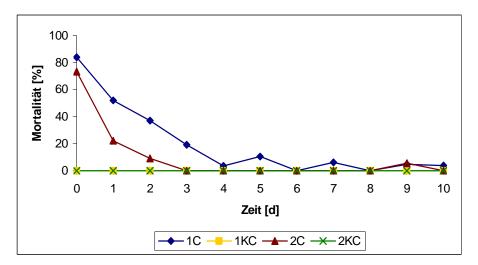


Abb. 21: Ergebnisse aus der Untersuchung zur Haltbarkeit der Anwendungslösung von Mite-Stop<sup>®</sup> in einer Verdünnung von 1:50 über einen Zeitraum von 11 Tagen mittels Methode C; 1C = 1. Versuch Methode C; 1KC = Kontrolle zum 1. Versuch Methode C; 2C = 2. Versuch Methode C; 2KC = Kontrolle zum 2. Versuch Methode C.

### 5.4.6 Wirksamkeit nach Behandlung des Untergrundes im Laufe mehrerer Tage

An den ersten drei Tagen konnte eine 100%ige Wirkung beobachtet werden. An den Tagen 3 bis 5 wurde mit Werten von >80% eine hohe Mortalität erzielt. Die niedrigsten Mortalitätsraten wurden an den Tagen 6 und 8 beobachtet. Mit einer Mortalität von 78,26% (Tag 6) und 77,78% (Tag 8) war das Mite-Stop® aber immer noch mäßig wirksam. An den letzten beiden Versuchstagen erwies sich das Mite-Stop® nochmals als stark wirksam. In den Kontrollen überlebten alle Milben (Abb. 22).

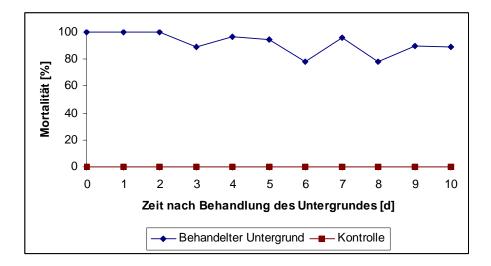


Abb. 22: Ergebnisse aus dem ersten Versuch der Untersuchung zur Wirksamkeit eines mit Mite-Stop<sup>®</sup> behandelten Untergrundes über einen Zeitraum von 11 Tagen.

Im zweiten Versuch wurde in den ersten drei Tagen jeweils eine Mortalität von 100% erreicht. In allen darauffolgenden Tagen konnte eine starke Wirkung nachgewiesen werden. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Abb. 23).

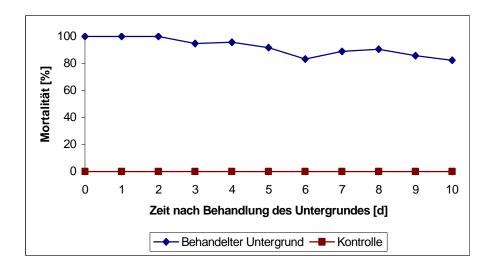


Abb. 23: Ergebnisse aus dem zweiten Versuch der Untersuchung zur Wirksamkeit eines mit Mite- $Stop^{@}$  behandelten Untergrundes über einen Zeitraum von 11 Tagen.

# 5.4.7 Haltbarkeit der Gebrauchslösung

Bei einer Konzentration von 7,86 µl/cm² konnte bei allen untersuchten Chargen eine Mortalität von 100% verzeichnet werden. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 69).

Tab.	69:	Ergebnisse	der	Untersuchung	der	Haltbarkeit	von	Mite-Stop®,	1:50	verdünnt,	in	einer
Konz	entra	ation von 7,8	6 µl լ	pro cm² mittels I	Meth	ode B1 (Kon	takt ı	mit feuchtem	Akariz	zid)		

Nr.	Charge	MHD	Eir	ngesetz	te Milb	en	Tote	Milber	n nach :	24 h	Mortalität
			G	Α	N	L	G	Α	N	L	[%]
1	G-11-01	01.2008	41	16	25	0	41	16	25	n. b.	100,00
2	G-11-01	01.2008	53	22	28	3	53	22	28	3	100,00
3	H-38-03	09.2009	61	25	29	7	61	25	29	7	100,00
4	H-45-05	11.2010	72	22	37	13	72	22	37	13	100,00
5	J-27-04	07.2011	68	23	34	11	68	23	34	11	100,00
6	Kontrolle	-	45	21	16	8	0	0	0	0	0,00

A = Adulte; G = Gesamt; L = Larven; N = Nymphen; n. b. = nicht bewertet

Die einzelnen Chargen wurden zusätzlich noch in einer geringeren Konzentration pro cm² auf ihre Wirksamkeit hin untersucht. Bei einer Konzentration von 4,72 µl/cm² konnten alle Chargen eine 100%ige akarizide Wirkung erreichen. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 70).

Tab. 70: Ergebnisse der Untersuchung	der Haltb	arkeit von	Mite-Stop <sup>®</sup> ,	1:50 verdü	nnt, in einer
Konzentration von 4,72 µl pro cm² mittels N	Methode B	1 (Kontakt r	nit feuchtem	Akarizid)	

Nr.	Charge	MHD	Eir	ngesetz	te Milb	en	Tote	e Milber	n nach :	24 h	Mortalität
			G	Α	N	L	G	Α	Ν	L	[%]
1	G-11-01	01.2008	31	19	12	0	31	19	12	n. b.	100,00
2	G-11-01	01.2008	29	18	7	4	29	18	7	4	100,00
3	H-38-03	09.2009	46	27	16	3	46	27	16	3	100,00
4	H-45-05	11.2010	50	24	19	7	50	24	19	7	100,00
5	J-27-04	07.2011	40	21	17	2	40	21	17	2	100,00
6	Kontrolle	-	32	19	13	0	0	0	0	n. b.	0,00

A = Adulte; G = Gesamt; L = Larven; N = Nymphen; n. b. = nicht bewertet

## 5.4.8 Wirkung auf verschmutzter Oberfläche

Um die Bodenverhältnisse in einem Hühnerstall zu simulieren, wurde im ersten Versuch eine Mischung aus Einstreu, Staub, Futter und Hühnerkot pulverisiert und in einer Menge von 3,14 mg/cm² auf das Filterpapier gegeben. Für das unverdünnte Mite-Stop® und die 1:20 Verdünnung reichte eine Konzentration von 4,72 µl/cm² aus, um alle eingesetzten Milben zu töten. Die weiteren Verdünnungen konnten alle mit Mortalitätsraten von mindestens 80% eine starke Wirkung vorweisen. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 71).

Tab. 71: Ergebnisse zur Wirkung des Mite-Stop<sup>®</sup> in einer Konzentration von 4,72 μl/cm² auf einem mit 3,14 mg Schmutz pro cm² behandelten Filterpapier

Verdünnung	Anz	ahl einge	esetzter Mil	ben	Anzal	nl toter N	/lilben nach	24 h	Mortalität
des Akarizids	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	15	8	7	0	15	8	7	n. b.	100,00
1:20	19	6	13	0	19	6	13	n. b.	100,00
1:40	20	14	6	0	16	10	6	n. b.	80,00
1:60	16	7	9	0	13	5	8	n. b.	81,25
1:80	16	6	10	0	13	4	9	n. b.	81,25
Kontrolle	17	8	9	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

Im zweiten Versuch wurde eine kräftigere Schmutzschicht mit 7,86 mg Schmutz pro cm² eingesetzt. Hierbei erreichte nur das unverdünnte Mite-Stop® eine Mortalität von 100%. Die vier verdünnten Mite-Stop® Proben erreichten deutlich geringere Werte (Tab. 72).

Tab. 72: Ergebnisse zur Wirkung des Mite-Stop $^{\otimes}$  in einer Konzentration von 4,72  $\mu$ l/cm $^{2}$  auf einem mit 7,86 mg Schmutz pro cm $^{2}$  behandelten Filterpapier

Verdünnung	Anz	ahl eing	esetzter Mil	ben	Anza	hl toter N	Milben nach	24 h	Mortalität
des Akarizids	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
Unverdünnt	23	14	18	0	23	14	18	n. b.	100,00
1:20	13	5	8	0	7	0	7	n. b.	53,85
1:40	20	12	8	0	8	3	5	n. b.	40,00
1:60	16	9	7	0	4	1	3	n. b.	25,00
1:80	19	7	12	0	2	1	1	n. b.	10,53
Kontrolle	21	8	13	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet

#### 5.4.9 Repellierende Wirkung

#### Versuchsaufbau 1

Sofort nach dem Einsetzten der Milben in die Petrischalen, liefen diese schnell umher. Bei der Anwendung von unverdünntem Mite-Stop<sup>®</sup> liefen bereits nach einer Minute die ersten Milben über die behandelte Fläche. Innerhalb von 15 Minuten wurden die Felder 1 und 3 mehrmals betreten. Bei der Untersuchung von 1:20 verdünntem Mite-Stop<sup>®</sup> wurden die behandelten Felder innerhalb von 15 Minuten nicht betreten. Felder, die mit 1:40 verdünntem Mite-Stop<sup>®</sup> behandelt worden waren, wurden nach vier Minuten zum ersten Mal betreten. Die mit 1:60 und 1:80 verdünntem Mite-Stop<sup>®</sup> behandelten Felder wurden schon nach einer Minute von den Milben betreten.

## Versuchsaufbau 2

Im zweiten Versuch wurde in der Mitte des Filterpapieres eine rechteckige Fläche von 7 cm x 1 cm mit Mite-Stop® behandelt. Während der gesamten Beobachtungszeit waren die Milben sehr aktiv. Etliche Milben liefen in schnellem Tempo auf die behandelte Fläche zu, hielten am Übergang kurz inne und liefen dann an dem Rand der behandelten Fläche entlang, ohne diese zu betreten. Dieses Verhalten wurde bei allen Mite-Stop® Proben beobachtet. Insgesamt wurde die mit unverdünntem Mite-Stop® behandelte Fläche in 15 Minuten 11 Mal betreten. Die ersten Milben betraten die behandelte Fläche bereits nach einer Minute. Die mit 1:20 verdünntem Mite-Stop® behandelte Fläche wurde nur ein einziges Mal nach einer Minute betreten. Bei der Untersuchung der 1:40 Verdünnung wurde das behandelte Feld schon innerhalb der ersten Minute betreten. In 15 Minuten wurde das Feld insgesamt zweimal aufgesucht. Auch bei der 1:60 und 1:80 Verdünnung waren bereits innerhalb der

ersten Minute Milben auf der behandelten Fläche. Das Feld mit der 1:60 Verdünnung wurde 14 Mal betreten, das Feld mit der 1:80 Verdünnung sechsmal.

#### Versuchsaufbau 3

Sofort nach dem Aufsetzten der Milben auf das Filterpapier liefen diese schnell umher. Mehrere Male konnte beobachtet werden, wie die Milben auf die behandelte Fläche zuliefen und dann am Rand entlang liefen. Im ersten Versuch wurde bei einer Konzentration von 0,1 ml die Fläche nach drei Minuten zum ersten und auch einzigen Mal betreten. Die mit 0,5 ml behandelte Fläche wurde nach einer Minute zum ersten Mal betreten. Nach 15 Minuten hatten alle eingesetzten Milben die behandelte Fläche überquert und hielten sich am Rand oder am Deckel der Petrischale auf. Im zweiten Versuch wurde die innere Kreisfläche mit Wasser befeuchtet. Die meisten Milben liefen bei beiden angewandten Konzentrationen sofort und ohne am Übergang zu zögern auf die behandelte Fläche.

# 5.4.10 Wirksamkeit von Mite-Stop® auf verschiedenen Baumaterialien in Hühnerställen

## 5.4.10.1 Beton

## 5.4.10.1.1 Wirksamkeit auf Adulte, Nymphen und Larven von D. gallinae

Im ersten Versuch wurde mit einer Konzentration von 7,86 μl/cm² mit unverdünntem Mite-Stop® nach 24 h eine Mortalität von 100% erreicht. Die übrigen Verdünnungen waren unwirksam. Alle Milben der Kontrolle überlebten (Tab. 73).

Tab. 73: Ergebnisse aus dem ersten Versuch zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup> in einer Konzentration von 7,86 µl/cm² auf Beton mittels Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid)

Verdünnung	Eing	jesetz	te Mi	lben	Anz	ahl to		lben		Anz		oter M		Mortalität
des		_	_			nach	24 h		[%]		nacl	h 48 h	1	[%]
Akarizids	G	Α	N	L	G	Α	N	L		G	Α	N	L	
Unverdünnt	61	32	24	5	61	32	24	5	100,00	61	32	24	5	100,00
1:20	98	51	22	25	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0,00
1:40	83	24	31	28	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0,00
1:60	73	26	29	18	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0,00
1:80	65	24	18	23	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0,00
Kontrolle	49	29	12	8	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0,00

A = Adulte; G = Gesamt; L = Larven; N = Nymphen

Aufgrund der Ergebnisse aus dem ersten Versuch wurden im zweiten Versuch schwächere Verdünnungen getestet. Für die getesteten Verdünnungen, 1:1, 1:2, 1:5, 1:10 sowie 1:15,

wurde bereits nach 24 h eine 100%ige akarizide Wirkung beobachtet. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 74).

Tab. 74: Ergebnisse aus dem zweiten Versuch zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup> in einer Konzentration von 7,86 µl/cm² auf Beton mittels Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid)

Verdünnung des	Eing	gesetz	zte Mil	ben	Anz	ahl to nach	ter M 24 h		Mortalität [%]		hl tot nach			Mortalität [%]
Akarizids	G	Α	Ν	L	G	Α	Ν	L		G	Α	Ν	L	
1:1	78	18	54	6	78	18	54	6	100,00	78	18	54	6	100,00
1:2	54	21	25	8	54	21	25	8	100,00	54	21	25	8	100,00
1:5	120	71	31	18	120	71	31	18	100,00	120	71	31	18	100,00
1:10	58	14	38	6	58	14	38	6	100,00	58	14	38	6	100,00
1:15	85	26	59	0	85	26	59	n. b.	100,00	85	26	59	n. b.	100,00
Kontrolle	66	23	34	9	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0,00

A = Adulte; G = Gesamt; L = Larven; N = Nymphen; n. b. = nicht bewertet

In Bezug auf die Ergebnisse aus dem vorherigen Versuch wurden im dritten Versuch wieder höhere Verdünnungen getestet. Eine 100%ige Wirkung wurde mit unverdünntem Mite-Stop® nach 24 h erzielt. Mite-Stop®, das im Verhältnis 1:10 verdünnt wurde, erreichte in 24 h nur eine geringe Wirkung, die während weiteren 24 h konstant blieb. Für die 1:15 Verdünnung wurde nach 24 h eine geringe Wirkung verzeichnet, die sich nach weiteren 24 h nicht veränderte. Die übrigen Verdünnungen, 1:20 und 1:40, erwiesen sich als unwirksam. Alle Milben der Kontrolle überlebten (Tab. 75).

Tab. 75: Ergebnisse aus dem dritten Versuch zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup> in einer Konzentration von 7,86 µl/cm² auf Beton mittels Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid)

Verdünnung des	Eing	gesetz	te Mi	lben	Anz	ahl to nach	ter Mi 24 h		Mortalität [%]	Anza	ahl to nach			Mortalität [%]
Akarizids	G	Α	N	L	G	Α	Ν	L		G	Α	N	L	
Unverdünnt	39	20	17	2	39	20	17	2	100,00	39	20	17	2	100,00
1:10	58	23	32	3	5	1	2	2	8,62	5	1	2	2	8,62
1:15	55	19	32	4	2	0	2	0	3,64	2	0	2	0	3,64
1:20	42	21	19	2	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0,00
1:40	46	28	16	2	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0,00
Kontrolle	36	16	13	0	0	0	0	n.b.	0,00	0	0	0	n. b.	0,00

A = Adulte; G = Gesamt; L = Larven; N = Nymphen; n. b. = nicht bewertet

Da sich die Mortalitätsraten der 1:10 und 1:15 Verdünnung im dritten Versuch deutlich von den Mortalitätsraten im zweiten Versuch unterschieden, wurden im vierten Versuch nochmals die selben Verdünnungen wie im dritten Versuch auf ihre Wirksamkeit hin getestet. Eine 100%ige Wirkung erreichte das unverdünnte Mite-Stop® nach 24 h. Das 1:10 verdünnte Mite-Stop® konnte nach 24 h eine starke Wirkung verzeichnen. Nach 48 h wurden die selben Ergebnisse registriert. Für die übrigen Verdünnungen, 1:15, 1:20 und 1:40, konnte keine Wirkung beobachtet werden. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 76).

Tab. 76: Ergebnisse aus dem vierten Versuch zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup> in einer Konzentration von 7,86 µl/cm² auf Beton mittels Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid)

Verdünnung des	Eing	gesetz	te Mi	lben	Anz	ahl to nach			Mortalität [%]		ahl to nach			Mortalität [%]
Akarizids	G	Α	Ν	L	G	Α	Ν	L	,	G	Α	N	L	
Unverdünnt	47	26	21	0	47	26	21	n.b.	100,00	47	26	21	n. b.	100,00
1:10	33	14	18	1	27	9	17	1	81,82	27	9	17	1	81,82
1:15	34	17	14	3	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0,00
1:20	48	21	23	4	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0,00
1:40	51	27	22	2	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0,00
Kontrolle	36	29	15	2	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0,00

A = Adulte; G = Gesamt; L = Larven; N = Nymphen; n. b. = nicht bewertet

Zur Optimierung der Anwendung in Hühnerställen wurde das Mite-Stop<sup>®</sup> in einer 1:50 Verdünnung in verschiedenen Konzentrationen pro cm² getestet. Die beiden geringsten Konzentrationen von 15,72 und 31,44 µl/cm² erzielten sowohl nach 24 als auch nach 48 h keine Wirkung. Mit einer Konzentration von 47,16 µl/cm² wurde nach 24 h eine starke Wirkung beobachtet. In den darauffolgenden 24 h änderte sich daran nichts. Ab einer Konzentration von 62,88 µl/cm² wurde nach 24 h eine 100%ige Wirkung erreicht. In dem Kontrollversuch überlebten alle Milben (Tab. 77).

Tab. 77: Ergebnisse aus dem fünften Versuch zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup> (1:50 verdünnt) auf Beton mittels Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid)

Akarizid- lösung [µl/cm²]	Eing G	jesetz A	te Mi N	lben L	Anz	ahl to nach A			Mortalität [%]	Anza G	ahl to nach A			Mortalität [%]
15,72	60	36	20	4	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0,00
31,44	36	22	14	0	0	0	0	n. b.	0,00	0	0	0	n. b.	0,00
47,16	83	46	35	2	80	43*	35	2	96,39	80	43*	35	2	96,39
62,88	73	37	32	4	73	37	32	4	100,00	73	37	32	4	100,00
78,60	42	28	14	0	42	28	14	n. b.	100,00	42	28	14	n. b.	100,00
Kontrolle	32	23	9	0	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0,00

A = Adulte; G = Gesamt; L = Larven; N = Nymphen; n. b. = nicht bewertet; \* Überlebende sind drei vollgesogene Weibchen

Im sechsten Versuch erwies sich die geringste Konzentration als unwirksam. Die Konzentration von 39,9 µl/cm² erreichte nach 24 h eine starke Wirkung, die bis zur 48h-Auswertung beibehalten wurde. Mit einer Konzentration von 47,16 µl/cm² wurde ebenfalls eine starke Wirkung erzielt. Diese veränderte sich in den darauffolgenden 24 h nicht. Ab einer Konzentration von 55,02 µl/cm² konnte eine 100%ige Wirkung verzeichnet werden. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 78).

Tab. 78: Ergebnisse aus dem sechsten Versuch zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup> (1:50 verdünnt) auf Beton mittels Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid)

Akarizid- lösung	Eing	jesetz	te Mi	lben	Anz	ahl to nach		ilben	Mortalität [%]	Anza	ahl to nach			Mortalität [%]
[µl/cm²]	G	Α	Ν	L	G	Α	Ν	L		G	Α	Ν	L	
31,44	43	21	17	5	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0,00
39,90	48	26	17	5	44	22	17	5	91,67	44	22	17	5	91,67
47,16	48	31	13	4	45	28	13	4	93,75	45	28	13	4	93,75
55,02	47	28	11	8	47	28	11	8	100,00	47	28	11	8	100,00
62,88	48	25	16	7	48	25	16	7	100,00	48	25	16	7	100,00
Kontrolle	39	25	14	0	0	0	0	n. b.	0,00	0	0	0	n. b.	0,00

A = Adulte; G = Gesamt; L = Larven; N = Nymphen; n. b. = nicht bewertet

## 5.4.10.1.2 Ovizide Wirkung

Bis zu einer Konzentration von 31,44  $\mu$ l/cm² wurde ein Schlüpfen der Larven nicht verhindert. In beiden Fällen wurde eine Schlupfrate von 100% erreicht. Aus allen Larven entwickelten sich innerhalb von max. 48 h Protonymphen. Ab einer Konzentration von 47,16  $\mu$ l/cm² erwies sich das Mite-Stop® auf Beton als ovizid wirksam. Aus allen Eiern der Kontrolle waren spätestens nach 72 h Larven geschlüpft (Tab. 79).

Tab. 79: Ergebnisse zum ersten Versuch zur oviziden Wirkung von Mite-Stop<sup>®</sup> (1:50 verdünnt) auf Beton mittels Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid)

Akarizidlösung	Anzahl der		G	eschlüp	fte Larve	en nach	h		Schlupfrate
[µl/cm²]	Eier	24	48	72	96	120	144	168	[%]
15,72	38	23	38	1	1	-	-	-	100,00
31,44	27	20	27	-	-	-	-	-	100,00
47,16	41	0	0	0	0	0	0	0	0,00
62,88	37	0	0	0	0	0	0	0	0,00
78,60	28	0	0	0	0	0	0	0	0,00
Kontrolle	25	12	21	25	ı	ı	ı	-	100,00

<sup>- =</sup> alle Larven bereits geschlüpft

Im zweiten Versuch erwies sich die Konzentration von 31,44 µl/cm² ebenfalls als unwirksam, bereits nach 24 h waren aus allen Eiern Larven geschlüpft, die sich innerhalb von 24 h zu Protonymphen weiterentwickelt hatten. Ab einer Konzentration von 39,3 µl/cm² konnte eine ovizide Wirkung beobachtet werden. Aus allen Milbeneiern in der Kontrolle schlüpften Larven (Tab. 80).

Tab. 80: Ergebnisse zum :	zweiten Versuch zur	oviziden Wirkung	von Mite-Stop®	(1:50 verdünnt) auf
Beton mittels Methode B1	(Kontakt mit feuchtem	Akarizid)		

Akarizidlösung	Anzahl der				Schlupfrate				
[µl/cm²]	Eier	24	48	72	96	120	144	168	[%]
31,44	12	12	-	-	-	-	-	-	100,00
39,30	17	0	0	0	0	0	0	0	0,00
47,16	9	0	0	0	0	0	0	0	0,00
55,02	25	0	0	0	0	0	0	0	0,00
62,88	23	0	0	0	0	0	0	0	0,00
Kontrolle	16	0	6	16	-	-	-	ı	100,00

<sup>- =</sup> alle Larven bereits geschlüpft

# 5.4.10.1.3 <u>Wirksamkeit einer behandelten Betonfläche über einen Zeitraum von mehreren</u> Tagen

Nur die am Tag 0 eingesetzte Probe hatte eine Wirkung auf die Milben. In den darauffolgenden Tagen konnte keine Wirkung mehr beobachtet werden. In allen durchgeführten Kontrollen überlebten die Milben (Tab. 81).

Tab. 81: Ergebnisse zur Wirksamkeit von 1:50 verdünntem Mite-Stop<sup>®</sup> in einer Konzentration von 55,02 µl/cm² auf Beton über einen Zeitraum von vier Tagen

Tag	Methode	Wirksamkeit	Е	ingesetz	te Milbe	en	Anzahl	toter Mi	ilben na	ch 24 h	Mortalität
		nach h	G	Α	N	L	G	Α	N	L	[%]
0	B1	0	45	27	14	4	45	27	14	4	100,00
0	K	0	30	19	11	0	0	0	0	n. b.	0,00
1	B1	24	47	21	19	7	0	0	0	0	0,00
1	K	24	41	29	12	0	0	0	0	n. b.	0,00
2	B1	48	45	27	16	2	0	0	0	0	0,00
2	K	48	35	17	12	6	0	0	0	n. b.	0,00
3	B1	72	56	26	21	2	0	0	0	0	0,00
3	K	72	30	20	10	0	0	0	0	n. b.	0,00

A = Adulte; G = Gesamt; L = Larven; N = Nymphen; n. b. = nicht bewertet

## 5.4.10.2 Holz

## 5.4.10.2.1 Wirksamkeit auf Adulte, Nymphen und Larven von D. gallinae

Bei einer Konzentration von 7,86 µl/cm² wurde mit unverdünntem Mite-Stop® nach 24 h eine 100%ige Wirkung erreicht. Für das Mite-Stop® in einer Verdünnung von 1:20 konnte nach 24 h eine schwache Wirkung beobachtet werden, die sich auch in den darauffolgenden 24 h nicht änderte. Die 1:40 Verdünnung war sowohl nach 24 als auch nach 48 h nur gering

wirksam. Die Verdünnungen 1:60 und 1:80 erwiesen sich als unwirksam. Alle Milben in der Kontrolle überlebten (Tab. 82).

Tab. 82: Ergebnisse aus dem ersten Versuch zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup> in einer Konzentration von 7,86 µl/cm² auf Holz mittels Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid)

Verdünnung des	Eing	gesetz	zte Mi	lben	Anz	ahl to nach	ter Mi 24 h	lben	Mortalität [%]	Anza	ahl to nach			Mortalität [%]
Akarizids	G	Α	Ν	L	G	Α	N	L		G	Α	N	L	
unverdünnt	64	28	34	2	64	28	34	2	100,00	64	28	34	2	100,00
1:20	35	20	12	3	20	14	5	1	57,14	20	14	5	1	57,14
1:40	44	24	18	2	1	1	0	0	4,17	1	1	0	0	4,17
1:60	31	13	14	4	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0,00
1:80	56	28	22	6	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0,00
Kontrolle	36	21	13	2	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0,00

A = Adulte; G = Gesamt; L = Larven; N = Nymphen

Im zweiten Versuch erreichte das unverdünnte Mite-Stop<sup>®</sup> nach 24 h eine 100%ige Wirkung. Die 1:20 und 1:40 Verdünnung konnten nach 48 h nur eine geringe Wirkung vorweisen. Die beiden stärkeren Verdünnungen waren nicht wirksam. Alle Milben der Kontrolle überlebten den Versuch über 48 h (Tab. 83).

Tab. 83: Ergebnisse aus dem zweiten Versuch zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup> in einer Konzentration von 7,86 µl/cm² auf Holz mittels Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid)

Verdünnung des	Eing	gesetz	te Mil	ben	Anza	ahl to nach	ter Mi 24 h	ilben	Mortalität [%]	Anza	ahl to nach		ilben	Mortalität [%]
Akarizids	G	Α	N	L	G	Α	N	L	[]	G	Α	N	L	[]
Unverdünnt	53	32	19	2	53	32	19	2	100,00	53	32	19	2	100,00
1:20	76	38	37	1	17	7	9	1	22,37	17	7	9	1	22,37
1:40	55	32	21	2	10	2	6	2	18,18	10	2	6	2	18,18
1:60	72	52	16	4	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0,00
1:80	39	25	12	2	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0,00
Kontrolle	46	28	14	4	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0,00

A = Adulte; G = Gesamt; L = Larven; N = Nymphen

Für praxisnahe Versuche wurde das Mite-Stop<sup>®</sup> 1:50 verdünnt angewendet. Die Konzentration von 15,72 μl/cm² erwies sich als nur gering wirksam. Die nächsthöhere Konzentration tötete beinahe alle eingesetzten Milben und erwies sich damit als stark wirksam. Ab einer Konzentration von 47,16 μl/cm² wurde eine 100%ige Wirkung erreicht. Alle Milben der Kontrolle überlebten (Tab. 84).

Tab. 84: Ergebnisse aus dem dritten Versuch zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop® (1:50
verdünnt) auf Holz mittels Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid)

Akarizid- lösung	Eing	gesetz	te Mil	ben	Anza	ahl to nach			Mortalität [%]	Anza	ahl to nach			Mortalität [%]
[µl/cm²]	G	Α	N	L	G	Α	Ν	L		G	Α	N	L	
15,72	30	19	11	0	3	1	2	n. b.	10,00	3	1	2	n. b.	10,00
31,44	63	38	21	4	60	35	21	4	95,24	60	35	21	4	95,24
47,16	57	29	24	4	57	29	24	4	100,00	57	29	24	4	100,00
62,88	50	24	17	9	50	24	17	9	100,00	50	24	17	9	100,00
78,60	39	21	12	6	39	21	12	6	100,00	39	21	12	6	100,00
Kontrolle	25	18	7	0	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0,00

A = Adulte; G = Gesamt; L = Larven; N = Nymphen; n. b. = nicht bewertet

Im vierten Versuch wurden zusätzliche Konzentrationen auf ihre Wirksamkeit hin untersucht. Hier erwies sich eine Konzentration ab 31,44  $\mu$ l/cm² als 100%ig wirksam gegen Milben. In der Kontrolle überlebten alle Milben (Tab. 85).

Tab. 85: Ergebnisse aus dem vierten Versuch zur Untersuchung der Wirksamkeit von Mite-Stop<sup>®</sup> (1:50 verdünnt) auf Holz mittels Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid)

Akarizid-	Eing	jesetz	zte Mi	lben	Anz	ahl to		lben			ahl to		lben	Mortalität
lösung [μl/cm²]	G	A	l N	l ı	G	nach I A	24 h   N	l i	[%]	G	nach A	48 n N	ı	[%]
15,72	47	19	21	7	27	10	11	6	57,45	27	10	11	6	57,45
23,58	72	31	35	6	63	25	32	6	87,50	63	25	32	6	87,50
31,44	46	15	26	5	46	15	26	5	100,00	46	15	26	5	100,00
39,30	45	28	15	2	45	28	15	2	100,00	45	28	15	2	100,00
47,16	53	22	23	8	53	22	23	8	100,00	53	22	23	8	100,00
Kontrolle	40	21	14	5	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0,00

A = Adulte; G = Gesamt; L = Larven; N = Nymphen

## 5.4.10.2.2 Ovizide Wirkung

Bei einer Menge von 15,72 µl Mite-Stop<sup>®</sup> (1:50 verdünnt) pro cm² waren nach 48 h aus allen Eiern Larven geschlüpft. Ab einer Konzentration von 31,44 µl/cm² erwies sich das Mite-Stop<sup>®</sup> auf Holz als ovizid wirksam. Aus den neun Eiern der Kontrolle waren nach 48 h neun Larven geschlüpft (Tab. 86).

Tab. 86: Ergebnisse zum ersten Versuch zur oviziden Wirkung von Mite-Stop<sup>®</sup> (1:50 verdünnt) auf Holz mittels Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid)

Akarizidlösung	Anzahl der		G		Schlupfrate				
[µl/cm²]	Eier	24	48	72	96	120	144	168	[%]
15,72	13	7	13	-	-	-	-	-	100,00
31,44	12	0	0	0	0	0	0	0	0,00
47,16	8	0	0	0	0	0	0	0	0,00
62,88	14	0	0	0	0	0	0	0	0,00
78,60	15	0	0	0	0	0	0	0	0,00
Kontrolle	9	0	9	-	-	-	-	-	100,00

<sup>- =</sup> alle Larven bereits geschlüpft

Wie aus Tab. 87 ersichtlich, konnte mit einer Konzentration von 15,72 μl/cm² keine ovizide Wirkung festgestellt werden. Für die höheren Konzentrationen wurde eine ovizide Wirkung beobachtet. Aus den 17 Eiern der Kontrolle schlüpften innerhalb von 96 h 17 Larven (Tab. 87).

Tab. 87: Ergebnisse zum zweiten Versuch zur oviziden Wirkung von Mite-Stop<sup>®</sup> (1:50 verdünnt) auf Holz mittels Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid)

Akarizidlösung	Anzahl der		G		Schlupfrate				
[µl/cm²]	Eier	24	48	72	96	120	144	168	[%]
15,72	18	0	0	12	18	-	-	-	100,00
23,58	16	0	0	0	0	0	0	0	0,00
31,44	21	0	0	0	0	0	0	0	0,00
39,30	13	0	0	0	0	0	0	0	0,00
47,16	11	0	0	0	0	0	0	0	0,00
Kontrolle	17	0	3	9	17	-	-	-	100,00

<sup>- =</sup> alle Larven bereits geschlüpft

# 5.4.10.2.3 <u>Wirksamkeit einer behandelten Holzfläche über einen Zeitraum von mehreren</u> <u>Tagen</u>

Nur das am Tag 0 frisch mit Mite-Stop<sup>®</sup> behandelte Holz konnte eine akarizide Wirkung vorweisen. Das an den Tagen 1-3 eingesetzte Holz hatte keine Wirkung mehr. In den dazugehörigen Kontrollen überlebten alle Milben (Tab. 88).

Tab. 88: Ergebnisse zur Wirksamkeit von 1:50 verdünntem Mite-Stop $^{\text{@}}$  in einer Konzentration von 39,3  $\mu$ l/cm $^{2}$  auf Holz über einen Zeitraum von vier Tagen

Tag	Methode	Wirksamkeit	Е	ingesetz	te Milbe	en	Anzahl	toter Mi	ch 24 h	Mortalität	
		nach h	G	Α	Ν	L	G	Α	Ν	L	[%]
0	B1	0	42	23	15	4	42	23	15	4	100,00
0	K	0	40	20	18	2	0	0	0	0	0,00
1	B1	24	34	19	13	2	0	0	0	0	0,00
1	K	24	32	18	9	5	0	0	0	0	0,00
2	B1	48	30	16	21	3	0	0	0	0	0,00
2	K	48	33	18	15	0	0	0	0	n. b.	0,00
3	B1	72	41	29	10	2	0	0	0	0	0,00
3	K	72	29	19	8	2	0	0	0	0	0,00

A = Adulte; G = Gesamt; L = Larven; N = Nymphen; n. b. = nicht bewertet

# 5.5 <u>Mite-Stop<sup>®</sup> - Anwendung im Hühnerstall</u>

## 5.5.1 <u>Versuch 1 – Private Haltung von Legehennen</u>

Die Größe der Milbenpopulation wurde anhand eines Monitoring-Verfahrens mit Milbenfallen zu drei Zeitpunkten bestimmt. Das erste Monitoring erfolgte vor der ersten Mite-Stop<sup>®</sup> Sprühbehandlung. Das zweite Monitoring fand zwischen der ersten und der zweiten Sprühbehandlung statt. Nach der zweiten Sprühbehandlung erfolgte ein abschließendes, drittes Monitoring. Das Mite-Stop<sup>®</sup> wurde für diesen Versuch 1:50 mit Leitungswasser verdünnt.

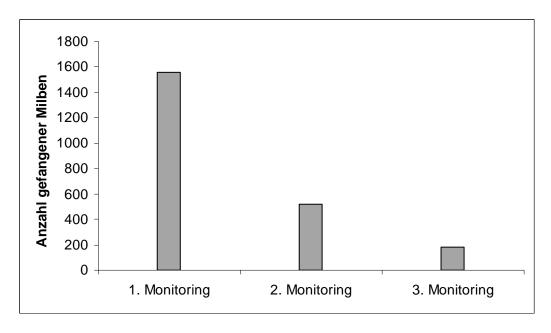


Abb. 24: Abnahme der Milbenpopulation nach der Sprühbehandlung mit Mite-Stop<sup>®</sup>.

Nach der ersten Anwendung von Mite-Stop® reduzierte sich die Milbenpopulation um 66,86%. Nach der zweiten Behandlung hatte sich die Milbenpopulation um 89% verringert.

## 5.5.2 Versuch 2 – Wissenschaftlicher Geflügelhof

Alle Milben aus dem Bereich, der mit 1:30 verdünntem Mite-Stop<sup>®</sup> behandelt wurde, waren nach 24 h tot. Ebenso verhielt es sich bei dem Bereich, der mit 1:50 verdünntem Mite-Stop<sup>®</sup> behandelt wurde. Die unbehandelten Bereiche wiesen eine geringe Mortalität auf (Tab. 89).

Tab. 89: Quantitative Auswertung der gefangenen Milben im zweiten Feldversuch

Bereich	Anzahl le Gesamt		Milben nad Nymphen				Milben nach Nymphen	24 h Larven	Mortalität [%]
Mite-Stop <sup>®</sup> 1:30	0	0	0	0	1500	674	698	128	100,00
Mite-Stop <sup>®</sup> 1:50	0	0	0	0	1013	437	489	87	100,00
Unbehandelt A	1994	824	912	258	328	167	134	27	16,45
Unbehandelt B	469	145	236	88	64	23	41	0	13,65

# 5.6 <u>Ergebnisse der lichtmikroskopischen Untersuchung</u>

Mit der lichtmikroskopischen Untersuchung wurden die Milben auf äußerlich erkennbare morphologische Veränderungen untersucht. Hierbei wurde besonders auf Veränderungen der Kutikula geachtet. Um die behandelten mit unbehandelten Milben vergleichen zu können, wurden auch Aufnahmen von unbehandelten Milben gemacht (Abb. 25).

Die meisten der mit Mite-Stop<sup>®</sup> behandelten Milben nahmen eine kräftige Braunfärbung und z.T. auch eine schwarze Färbung an (Abb. 26).

Milben, die in direkten Kontakt mit Mite-Stop® kamen, wiesen eine feuchte, leicht glänzende Körperoberfläche auf (Abb. 26).

An einigen Milben bildeten sich kleine Tröpfchen (Abb. 26C).

Viele der behandelten Milben nahmen ein mehr oder weniger stark vertrocknetes Aussehen an. Einige schrumpften dorsoventral stark ein.

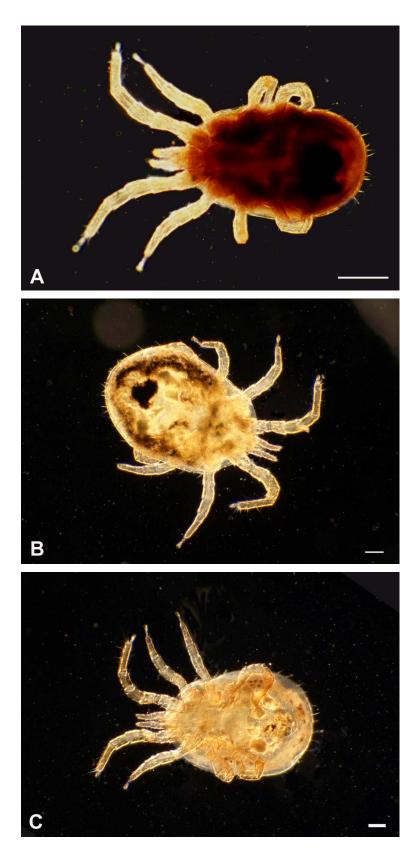


Abb. 25: LM-Aufnahmen von unbehandelten Milben.

Abb. 25	Lichtmikroskopische Aufnahmen von unbehandelten Milben.
Bild A	Aufnahme einer gesogenen Milbe in ventraler Ansicht (Einbettung in Hoyer's Medium; Balken: 0,1 mm).
Bild B	Aufnahme einer ungesogenen Milbe in ventraler Ansicht (Einbettung in Hoyer's Medium; Balken: 0,1 mm).
Bild C	Aufnahme einer unbehandelten Milbe in ventraler Ansicht (Einbettung in Hoyer's Medium; Balken: 0,1 mm).

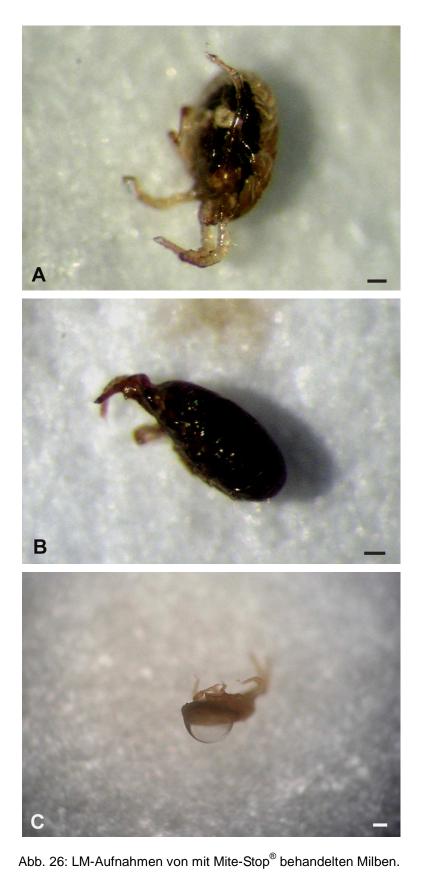


Abb. 26 Lichtmikroskopische Aufnahmen von behandelten Milben. Die Milben wurden mit Mite-Stop® nach Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid) behandelt.

Bild A Behandelte Milbe in kranioventraler Ansicht. Der Körper hat eine bräunliche und z.T. auch schwarze Färbung angenommen und weist eine glänzende Oberfläche auf. Im sichtbaren Bereich der weichen Kutikula erscheint diese als faltige Struktur. Balken: 0,1 mm.

Bild B Laterale Aufnahme einer extrem dunkel verfärbten Milbe. Die Körperoberfläche besitzt einen leichten Glanz. Balken: 0,1 mm.

Bild C Laterale Aufnahme. Dorsal am Milbenkörper sitzt ein großer Tropfen. Balken: 0,1 mm.

#### 5.7 Ergebnisse der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung

Die Wirkung, die das Mite-Stop<sup>®</sup> auf die Milben hat, wurde rasterelektronenmikroskopisch untersucht. Dabei wurde besonders auf Veränderungen an der Kutikula geachtet. Um behandelte und unbehandelte Milben vergleichen zu können, wurden auch Aufnahmen von unbehandelten Milben gemacht (Abb. 27; Abb. 28).

Zuerst wurden Milben, die nach Methode B1 behandelt worden waren, untersucht. Diese Milben waren mit feuchtem Akarizid in Berührung gekommen. Schon bei der Fixierung fiel auf, dass die Milben sehr trocken und spröde geworden waren. Die Milben mussten mit sehr viel Vorsicht behandelt werden, da die Beine dazu neigten abzubrechen (Abb. 29A). Die weiche Kutikula im Bereich des kaudalen Opisthosomas erscheint eingefallen und wellig. Die bei unbehandelten Milben in diesem Bereich annähernd parallele Ausrichtung der Lamellen der weichen Kutikula ist nicht mehr gegeben. Außerdem sind zahlreiche Ablagerungen zu erkennen (Abb. 29B-C; Abb. 30). Die Zähne des Cribrums haben ihre ursprüngliche Form verloren, sie sind teilweise nur noch andeutungsweise zu erkennen (Abb. 29B).

Bei Milben, die mittels der Methoden A, B2 und C behandelt worden waren, konnten keine deutlichen äußeren Veränderungen festgestellt werden.

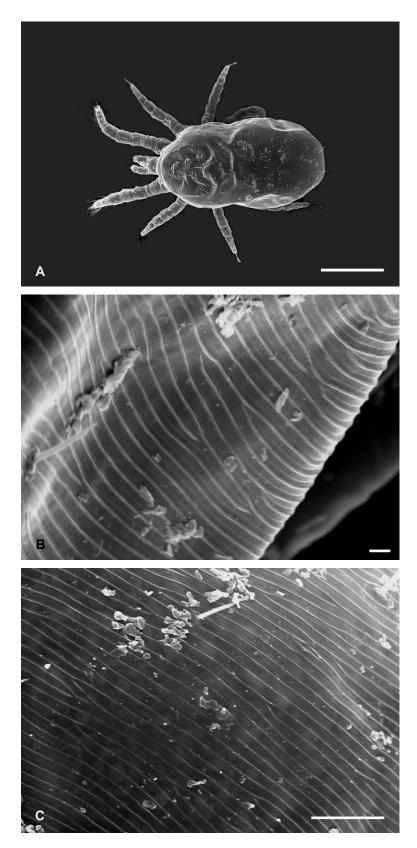


Abb. 27: REM-Aufnahmen einer unbehandelten Milbe.

Abb. 27 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen einer unbehandelten Milbe.

Bild A Aufnahme in dorsaler Ansicht. Balken: 200 µm.

Bild B Starke Vergrößerung der weichen Kutikula im Bereich des lateralen Opisthosomas. Die für *D. gallinae* typischen Lamellen der weichen Kutikula

sind deutlich zu erkennen. Aufgrund des gesogenen Zustandes der Milbe erscheint die weiche Kutikula gedehnt. Die sonst im ungesogenen Zustand

vorliegende deutliche Fältelung ist nicht mehr gegeben. Balken: 3 µm.

Bild C: Starke Vergrößerung der weichen Kutikula im dorsalen Bereich des Opisthosomas. Auch hier sind die annähernd parallel verlaufenden

Lamellen sowie die gedehnte Kutikula deutlich zu erkennen. Balken: 20 µm.

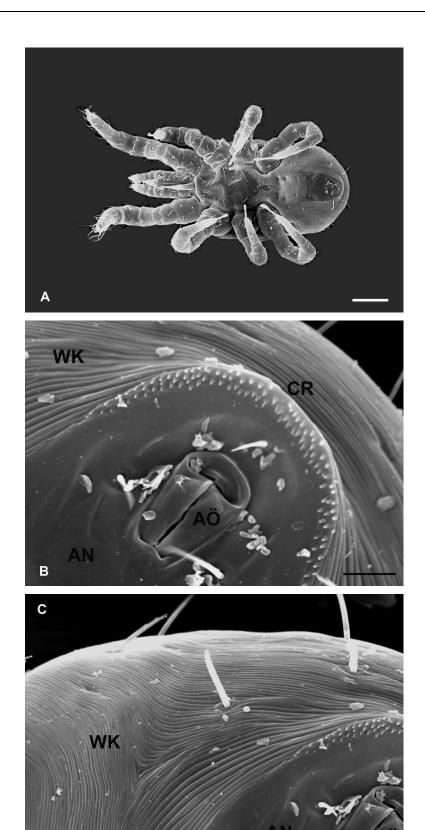


Abb. 28: REM-Aufnahmen einer unbehandelten Milbe.

Abb. 28 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen einer unbehandelten Milbe.

Bild A Aufnahme der ungesogenen Milbe von ventral. Balken: 100 μm.

Bild B Vergrößerte Ansicht im Bereich des kaudalen Opisthosomas. Die weiche Kutikula (WK) ist bei der ungesogenen Milbe deutlich gefältelt, wobei die einzelnen Falten meist parallel zueinander liegen. Das Anale (AN) wird durch eine harte, annähernd glatte Kutikula gebildet. Am kaudalen Rand befindet sich das Cribrum (CR). Dieses weist eine Vielzahl von kleinen Zähnen auf. Um die Analöffnung (AÖ) herum trägt das Anale ein Haarpaar sowie das Postanalhaar. Balken: 10 μm.

Bild C Vergrößerte Ansicht des Opisthosomas im kaudolateralen Bereich. Auch hier ist die deutliche Fältelung der weichen Kutikula (WK) gut zu erkennen. AN = Anale; AÖ = Analöffnung. Balken: 10 μm.

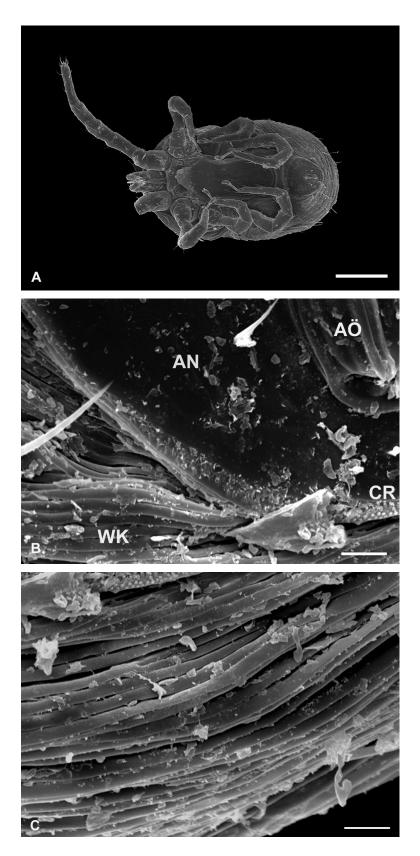


Abb. 29: REM-Aufnahmen einer behandelten Milbe.

Abb. 29 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen einer mit Mite-Stop<sup>®</sup> nach Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid) behandelten Milbe.

Bild A Ventrale Aufnahme. Das rechte Bein I ist bei der Präparation abgebrochen.

Balken: 200 µm.

Bild B Starke Vergrößerung der Ventralfläche im Bereich des Anale (AN). Auf dem

Anale liegen zahlreiche Ablagerungen. Die Zähne des Cribrums (CR) sind fast nicht mehr zu erkennen. Die weiche Kutikula (WK) neben dem Anale erscheint eingefallen. Es sind wesentlich mehr Ablagerungen vorhanden als

bei unbehandelten Milben. AÖ = Analöffnung. Balken: 10 µm.

Bild C Aufsicht auf die stark vergrößerte weiche Kutikula am kaudalen

Opisthosomarand. Eine regelmäßige Fältelung ist nicht mehr gegeben, die

Kutikula erscheint stark zerklüftet. Die Abstände zwischen den einzelnen Lamellen sind sehr unregelmäßig. Zum einen erscheinen sie teils

vergrößert, zum anderen sind vereinzelt kaum noch Abstände

auszumachen. Über die gesamte Fläche verteilen sich kleine und größere

Ablagerungen. Balken: 10 µm.

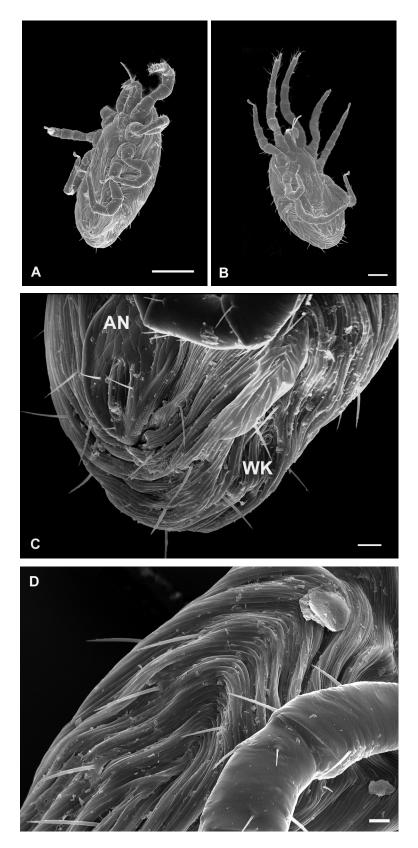


Abb. 30: REM-Aufnahmen von behandelten Milben.

Abb. 30 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von mit Mite-Stop® nach Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid) behandelten Milben. Bild A Aufnahme einer behandelten Milbe in ventrolateraler Ansicht der linken Körperseite. Balken: 200 µm. Bild B Aufnahme einer weiteren behandelten Milbe in ventrolateraler Ansicht der rechten Körperseite. Balken: 100 µm. Bild C Vergrößertes Opisthosoma der in Bild A abgebildeten Milbe. Am Anale (AN) ist der ziegelartige Aufbau der Schilde zu erkennen. Das Anale ist annähernd glatt. Die weiche Kutikula (WK) erscheint eingefallen. Balken: 20 μm. Bild D Starke Vergrößerung der eingefallenen weichen Kutikula im lateralen Bereich des Opisthosoma. Balken: 10 µm.

6 Diskussion 97

#### 6 Diskussion

Die Aufgabe dieser Arbeit bestand in erster Linie darin die akarizide Wirkung von Mite-Stop<sup>®</sup> auf die Rote Vogelmilbe (*D. gallinae*) zu untersuchen.

Grundlage für die Entwicklung von Mite-Stop<sup>®</sup> waren die guten Ergebnisse aus den Untersuchungen zur akariziden Wirkung verschiedener Neem-Extrakte der Alpha-Biocare GmbH.

Zuerst wurde untersucht, ob die akarizide Wirkung durch eine Kontakt- und/oder Gasphasentoxizität zustande kommt und welche Dosierung des Akarizids für eine effektive Bekämpfung nötig ist. Außerdem wurde die Wirkung auf die verschiedenen Entwicklungsstadien von *D. gallinae* untersucht. Desweiteren wurde die Stabilität und die Wirkungsdauer getestet. Um Aussagen über die Wirkung auf unterschiedlichen Materialien treffen zu können, wurden auch Versuche mit Holz und Beton durchgeführt.

Mit Versuchen im Hühnerstall sollten die Praktikabilität und die Effektivität einer Bekämpfung der Roten Vogelmilbe unter realen Bedingungen getestet und bewertet werden.

An behandelten Milben wurden in licht- und rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen morphologische Veränderungen festgestellt.

## 6.1 <u>Diskussion der Materialien und Methoden</u>

#### 6.1.1 Herkunft der Roten Vogelmilbe Dermanyssus gallinae

Da die Haltung von Hühnern im Institut nicht möglich war, wurden die Milben in Hühnerställen gefangen. Über eine eventuelle Resistenzlage dieser Milben gegenüber bereits zum Einsatz gekommener Akarizide war nichts bekannt.

### 6.1.2 <u>Untersuchungen zum Entwicklungszyklus von D. gallinae</u>

Für die Auswertung der Untersuchungen zur oviziden Wirkung von Mite-Stop<sup>®</sup> war es nötig, entsprechende Daten zum Entwicklungszyklus unter identischen Temperatur- und Luftfeuchtigkeitsbedingungen zu erheben. Aus diesem Grund wurde die Entwicklungszeit

6 Diskussion 98

aller Stadien unter Raumbedingungen von 20 +/- 0,5 ℃ und 40% RH ermittelt. Wie bereits erwähnt, war eine Fütterung der Milben an Hühnern im Labor nicht möglich. Deshalb wurden immer gesogene Stadien so lange beobachtet, bis eine weitere Entwicklung ohne Blutmahlzeit nicht mehr möglich war. Eine in-vitro Fütterung wie bei *Kirkwood* (1971) und *Bruneau et al.* (2001) wurde wegen des hohen Aufwands und der geringen Praktikabilität nicht durchgeführt.

## 6.1.3 Laborversuche

#### 6.1.3.1 Untersuchungen zur Wirksamkeit von Neem-Präparaten auf Filterpapier

Bei diesen Untersuchungen kamen vier verschiedene Methoden zum Einsatz. So konnte die Wirksamkeit der Neem-Präparate in unterschiedlichen Anwendungsmethoden untersucht werden. In vielen Untersuchungen beschränken sich die Wissenschaftler auf die Untersuchung der Wirkung über direkten Kontakt (Thind und Ford 2007, Fletcher und Axtell 1991, Zeman und Zelezny 1985). Bei der Anwendung im Hühnerstall stellt sich jedoch die wichtige Frage, ob das angewandte Akarizid nur bei direktem Kontakt mit den Milben eine akarizide Wirkung hat oder ob ein direkter Kontakt gar nicht nötig ist, da auch die Gasphase für die Milben toxisch ist. Die Gasphase kann auch an Stellen wirken, an denen das Akarizid nicht ausgebracht werden kann. So kann sie z.B. die Bekämpfung der Milben in tiefen Ritzen und Spalten verbessern. Aus diesem Grund wurden Methoden ähnlich wie bei Kim et al. (2007) ausgewählt, mit denen neben der Kontakttoxizität auch die Gasphasentoxizität untersucht werden kann. Im Gegensatz zu Kim et al. (2007) wurde die Untersuchung der Kontakttoxizität in drei Methoden unterteilt. Neben der Untersuchung zur Wirksamkeit von getrocknetem Akarizid (Methode B2), wurde in dieser Arbeit auch das feuchte Akarizid untersucht (Methode A und B1). Bei Methode A wurde jede Milbe einzeln mit einer geringen Menge des Akarizids benetzt. Der Vorteil dieser Methode bestand darin, dass die direkte Wirkung kleinster Akarizidmengen getestet werden konnte. Ein Nachteil war jedoch, dass pro Versuch nur eine geringe Anzahl an Individuen getestet werden konnte, da die Milben in den Petrischalen sehr aktiv waren und meistens die Tendenz hatten, aus der geöffneten Petrischale herauszulaufen. Methode B1, mit der die Wirkung des feuchten Akarizids getestet wurde, und Methode B2, Untersuchung der Wirkung von getrocknetem Akarizid, waren in ihrer Ausführung sehr einfach und wenig zeitaufwendig. Die Untersuchung der Gasphasentoxizität mittels Methode C war auch gut durchführbar. Einziger Nachteil bei dieser Methode war, dass der Versuch nur einmal ausgewertet werden konnte, da die Milben hierzu aus dem Eppendorf-Cup genommen werden mussten.

Ein weiterer Punkt, der bei der Bekämpfung der Roten Vogelmilbe zu berücksichtigen ist, ist die Wirkung eines Akarizids auf die unterschiedlichen Stadien. Viele Akarizide besitzen nur gegen bestimmte Stadien eine akarizide Wirkung. Aus diesem Grund wurde die Wirkung des Mite-Stop<sup>®</sup> auf Adulte, Nymphen, Larven und Eier von *D. gallinae* getestet. Bei den Nymphen wurden die Protonymphen und die Deutonymphen gemeinsam gewertet, da sich die Bestimmung der Nymphenstadien bei behandelten Nymphen als zu schwierig gestaltete.

Desweiteren wurde das Mite-Stop<sup>®</sup> auf seine Stabilität untersucht. Mehrere Chargen, mit unterschiedlichem MHD, wurden auf ihre Wirksamkeit hin überprüft. Außerdem wurde ermittelt, wie lange das Mite-Stop<sup>®</sup> nach dem Ausbringen auf einer Fläche eine akarizide Wirkung besitzt. Desweiteren wurde untersucht, wie lange die mit Wasser verdünnte Gebrauchslösung eine akarizide Wirkung besitzt.

Da nach einer Reinigung des Hühnerstalls häufig noch eine gewisse Restverschmutzung besteht, wurde die Wirkung auch auf verschmutztem Filterpapier getestet. Hiermit wurde überprüft, ob Schmutzpartikel in der Lage sind die Wirkung des Akarizids zu beeinflussen.

Viele der im Labor getesteten Wirkstoffe werden nur auf einem Material, dem Filterpapier, getestet. In dieser Arbeit wurden neben dem Filterpapier auch Materialien eingesetzt, die in fast jedem Hühnerstall vorkommen, Beton und Holz.

#### 6.1.4 Anwendung im Hühnerstall

#### 6.1.4.1 Versuch 1 – Private Haltung von Legehennen

Die Ausführung des Versuches gestaltete sich als einfach und wenig zeitaufwendig. Die Milbenfallen konnten problemlos zurecht geschnitten werden. Das Mite-Stop<sup>®</sup> wurde vor der Anwendung 1:50 mit Wasser verdünnt und gründlich gemischt. Mit einem handelsüblichen Drucksprüher (2,5 I) konnte die Gebrauchslösung problemlos im gesamten Stall versprüht werden. Die Hühner schienen sich nicht an dem behandelten Stall zu stören, da sich einige direkt im Anschluss an die Behandlung in den Stall zurückzogen.

#### 6.1.4.2 Versuch 2 – Wissenschaftlicher Geflügelhof

Auch der zweite Versuch war in seiner Ausführung einfach und schnell. Das doppelseitige Klebeband konnte an der glatt gefliesten Wand ohne Probleme angebracht werden.

### 6.1.5 <u>Lichtmikroskopische Untersuchung</u>

Für die lichtmikroskopische Untersuchung wurden die Milben in Glycerin und Hoyer's Medium eingebettet. Ein Problem bei der Herstellung von Hoyer's Medium war die Verwendung von pulverisiertem Gummi arabicum, das sich als verunreinigt herausstellte. Dadurch wies das sonst klare Medium kleine, feste Partikel auf. Bei der Einbettung der Milben musste deshalb besonders darauf geachtet werden, dass sich diese Partikel nicht direkt über einer Milbe befanden. Trotzdem eignete sich dieses Verfahren besser als die Herstellung von Glycerinpräparaten. Die in einen Glycerintropfen gelegten Milben schwammen meist an der Oberfläche des Glycerintropfens und wurden durch das Auflegen des Deckglases in ihrer Position stark verändert. Eine gezielte Positionierung der Milben war damit nicht möglich. Außerdem konnten von gesogenen Milben keine Glycerinpräparate hergestellt werden, da es beim Auflegen des Deckglases zum Platzen der Milben kam. Gesogene Milben mussten schichtweise in Hoyer's Medium eingebettet werden.

#### 6.1.6 Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung

Bei der Präparation für die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung stellte besonders der Umgang mit den getrockneten Milben ein Problem dar. Die Milben durften nur leicht berührt werden, wodurch eine Fixierung und genaue Ausrichtung auf dem Probenteller nicht möglich war. Besonders die mit Mite-Stop® behandelten Milben waren sehr zerbrechlich. Daraus ergab sich noch ein weiteres Problem, die Milben konnten auf dem Probenteller nicht angedrückt werden. Dies führte bei einigen Milben dazu, dass die Kontaktfläche zwischen Probenteller und Milbe zu gering war. Aufgrund dessen war es nicht möglich, diese Milben mit dem Rasterelektronenmikroskop gut darzustellen.

#### 6.2 <u>Diskussion der eigenen Ergebnisse</u>

## 6.2.1 <u>Untersuchungen zum Entwicklungszyklus von D. gallinae</u>

Für den Entwicklungszyklus von *D. gallinae* bei einer relativen Luftfeuchte von 40% finden sich in der Literatur keine Angaben. Die publizierten Untersuchungen fanden bei einer relativen Luftfeuchte von 70% (*Wisseman* und *Sulkin* 1947), 60-70% (*Sikes* und *Chamberlain* 1954) und 70-85% (*Tucci et al.* 2008) statt. Die Entwicklungszeiten bei 20 +/- 0,5 ℃ gleichen denen von *Wisseman* und *Sulkin* (1947) sowie *Tucci et al.* (2008). Jedoch fallen die Mittelwerte im Vergleich zu *Tucci et al.* (2008) bei fast allen Entwicklungszeiten etwas höher

aus. Aufgrund der Tatsache, dass D. gallinae eine hohe Luftfeuchtigkeit bevorzugt, lässt sich deshalb vermuten, dass die bei recht niedrigen 40% relativer Luftfeuchte resultierenden Entwicklungszeiten länger sind als bei höheren Werten. Einzige Ausnahme hiervon bildet die Entwicklungszeit des Milbeneies, die im Vergleich zu dem von Tucci et al. (2008) angegebenen Mittelwert von 90,77 h, mit 70,59 h deutlich kürzer ausfällt. Man muss bei den Vergleichen allerdings auch berücksichtigen, dass sich die Anzahl der untersuchten Individuen stark voneinander unterscheidet. Da diese Daten lediglich für die Auswertung der Untersuchungen zur oviziden Wirkung des Mite-Stop® erhoben wurden, wurden weniger Individuen untersucht als in den Arbeiten, die sich ausschließlich mit dem Entwicklungszyklus beschäftigen. Der große Unterschied in der Anzahl der getesteten Individuen könnte ein weiterer möglicher Grund für die unterschiedlichen Entwicklungszeiten sein. Desweiteren muss noch die unterschiedliche Haltung und Ernährung der Milben berücksichtigt werden, da Wisseman und Sulkin (1947) sowie Tucci et al. (2008) die Milben in-vitro mit Hühnerblut ernährten.

#### 6.2.2 <u>Ergebnisse zur Wirksamkeit von Neem-Extrakten auf Filterpapier</u>

Das Neem-Feinfiltrat und der Neem-dbE-Extrakt erweisen sich in allen vier Applikationsmethoden und Verdünnungsstufen als gut akarizid wirksam. Insgesamt sind sich die drei Akariziden in ihrer Wirkung sehr ähnlich. Dies ist auf die beinahe gleiche Herstellung und Zusammensetzung zurückzuführen. Der Neem-Eth-Extrakt, der Neem-Hex-Extrakt und der Neem-PC-Extrakt besitzen keine gute Wirkung gegen *D. gallinae*.

Bei den verwendeten Extraktionsmitteln ergibt sich bezüglich der Wirksamkeit der Neem-Extrakte auf einem behandelten Untergrund folgende Reihenfolge: dbE > PC > Eth > Hex. Dies bedeutet, dass sich die akarizide Wirkung mit abnehmender Dielektrizitätskonstante verringert. Diese Ergebnisse stehen allerdings im Gegensatz zu den Beobachtungen von *Mansour* und *Ascher* (1983, 1984). Bei ihren Untersuchungen zur Wirksamkeit verschiedener Neemsamenkernextrakte auf die Spinnmilbe, *Tetranychus cinnabarinus*, kamen sie zu dem Ergebnis, dass sich die akarizide Wirkung mit steigender Dielektrizitätskonstante verringert. Es ist gut möglich, dass der Herkunftsort der Neemsamen dabei eine Rolle spielt. Untersuchungen belegen, dass sich, je nach Herkunft, für die Neemprodukte Unterschiede in der Zusammensetzung der Inhaltsstoffe ergeben (*Kaushik et al.* 2007).

# 6.2.3 <u>Ergebnisse der analytischen Methoden zur Identifizierung der Inhaltsstoffe von Neem-Feinfiltrat</u>

#### 6.2.3.1 Hochdruckflüssigkeitschromatographie mit Massenspektrometrie (HPLC-MS)

Anhand der durchgeführten Untersuchungen konnten die Inhaltsstoffe nicht genau identifiziert werden. Möglicherweise handelt es sich bei einigen der Inhaltsstoffe um Desacetylnimbin, Nimbinene, Nimbin und Salannin (www.pureneemoil.com, *Schaaf et al.* 2000). Um genauere Aussagen treffen zu können, müssten Untersuchungen mit Referenzsubstanzen durchgeführt werden.

## 6.2.4 Ergebnisse zur Wirksamkeit von Mite-Stop® auf Filterpapier

Die Laborversuche auf Filterpapier haben gezeigt, dass das Mite-Stop<sup>®</sup> schon in einer geringen Menge eine akarizide Wirkung gegen *D. gallinae* besitzt. Für die Applikationsweise nach Methode A, bei der die Milbe gezielt mit einer geringen Wirkstoffmenge behandelt wird, errechnet sich eine LD<sub>50</sub> von 0,017  $\mu$ l/cm² bzw. 0,19 mg/cm². Die akarizide Wirkung bei Kontakt mit feuchtem Akarizid (Methode B1: LD<sub>50</sub> = 0,047  $\mu$ l/cm² bzw. 0,052 mg/cm²) ist vergleichbar mit der Wirkung, die bei Kontakt mit getrocknetem Akarizid auftritt (Methode B2: LD<sub>50</sub> = 0,051  $\mu$ l/cm² bzw. 0,056 mg/cm²).

Bei der Bekämpfung der Roten Vogelmilbe Pyrethroide, werden besonders Organophosphate und Carbamate eingesetzt (Thind und Ford 2007). In Deutschland werden häufig die freiverkäuflichen Biozide U-5, UX-Nr.1 und Fumicide® mit dem Wirkstoff Dichlorvos verwendet. Dichlorvos besitzt zwar eine gute akarizide Wirkung (LD<sub>50</sub> = 0,0004 mg/cm²), jedoch ist der Einsatz nicht ungefährlich. Dichlorvos kann als schwer-reversibler Hemmstoff der Acetylcholinesterase zu Vergiftungen bei Mensch und Tier führen. Einige Hühnerhalter berichteten von respiratorischen Beschwerden nach der Anwendung (persönliche Mitteilung). Bei Hühnern kann als Nebenwirkung eine verzögerte Neurotoxizität auftreten (Löscher et al. 2002). Mitex<sup>®</sup>, das synthetische Pyrethroide und Malathion enthält, wird ebenfalls gerne eingesetzt. Der vermehrte Einsatz von Pyrethroiden führte jedoch bereits 1985 zu ersten Anzeichen einer Resistenz (Zeman und Zelezny 1985). In Frankreich (Beugnet et al. 1997) und Schweden (Nordenfors et al. 2001) wurden Resistenzen gegenüber Pyrethroiden nachgewiesen. Im Vergleich mit den zur Zeit gebräuchlichsten Pestiziden ist Mite-Stop® deutlich wirksamer als Fipronil, Phenothrin, Permethrin, Alpha-Cypermethrin, Furathiocarb, Carbaryl, Fenitrothion, die je eine LD<sub>50</sub> von mehr als 5,0 mg/cm² haben. Auch Diazinon  $mg/cm^2$ ), Chloropyrifos-methyl (LD<sub>50</sub> = 0,15  $mg/cm^2$ ),  $(LD_{50} = 0.25)$ 

 $(LD_{50} = 0.07 \text{ mg/cm}^2)$  und Propoxur  $(LD_{50} = 0.06 \text{ mg/cm}^2)$  sind schlechter wirksam als das Neem-Präparat. Lediglich Dichlorvos ( $LD_{50} = 0,0004 \text{ mg/cm}^2$ ), Profenofos ( $LD_{50} = 0,003 \text{ mg/cm}^2$ ) mg/cm<sup>2</sup>), Prothiofos (LD<sub>50</sub> = 0,055 mg/cm<sup>2</sup>) und Benfuracarb (LD<sub>50</sub> = 0,053 mg/cm<sup>2</sup>) erreichen den selben Effekt mit einer noch geringeren Wirkstoffmenge. Im Vergleich mit den für D. gallinae 10 toxischsten Pflanzenextrakten ist das Neem-Präparat in seiner Wirkung effektiver als Glycyrrhiza glabra ( $LD_{50} = 0.14 \text{ mg/cm}^2$ ), Foeniculum vulgare ( $LD_{50} = 0.15 \text{ mg/cm}^2$ ), Illicium verum (LD<sub>50</sub> = 0,09 mg/cm<sup>2</sup>), Lysimachia davurica (LD<sub>50</sub> = 0,09 mg/cm<sup>2</sup>), Paeonia suffruticosa ( $LD_{50} = 0,11 \text{ mg/cm}^2$ ) und Schizonepeta tenuifolia ( $LD_{50} = 0,15 \text{ mg/cm}^2$ ). Lediglich Mentha arvensis var. piperascens (LD<sub>50</sub> = 0,0072 mg/cm<sup>2</sup>), Eugenia caryophyllata (LD<sub>50</sub> = 0,0069 mg/cm<sup>2</sup>), Cinnamomum camphora (LD<sub>50</sub> = 0,0051 mg/cm<sup>2</sup>) und Asarum sieboldii var. seoulense (LD<sub>50</sub> = 0,0063 mg/cm<sup>2</sup>) erweisen sich als stärker wirksam (Kim et al. 2007). Im Vergleich zu der Kontakttoxizität ist die toxische Wirkung über die Gasphase deutlich geringer. Entsprechend ist der LD<sub>50</sub>-Wert mit 0,117 µl/cm² bzw. 0,128 mg/cm² deutlich höher. Ein Vergleich der Gasphasentoxizität des Neem-Präparates mit anderen Akariziden anhand der LD<sub>50</sub>-Werte ist nicht möglich, da sich hierzu in der Literatur keine genauen Angaben finden. Kim et al. (2007) geben lediglich für Asarum sieboldii var. seoulense, Cinnamomum camphora, Eugenia caryophyllata, Mentha arvensis var. piperascens und Dichlorvos eine 100%ige Wirkung bei einer Wirkstoffmenge von 0,28 mg/cm² an. Für das Mite-Stop® ergab sich bei einer Konzentration von 0,25 mg/cm² eine durchschnittliche Mortalität von 94,64%. Demnach ist die Wirkung durchaus vergleichbar mit den genannten Akariziden.

Abgesehen von wenigen Ausnahmen zeigte sich bei der Untersuchung der Wirksamkeit auf die einzelnen Entwicklungsstadien von *D. gallinae*, dass die jüngeren Stadien empfindlicher sind als die adulten Milben. Für Nymphen und Larven ergaben sich immer höhere Mortalitätswerte.

Sanguanpong (1992) machte dieselbe Beobachtung bei der Wirkung von ölhaltigen Neemsamenextrakten und Marrangoöl auf die Spinnmilbe, *Tetranychus urticae*. Die Protonymphen reagierten empfindlicher auf die Neemprodukte als die adulten Tiere.

In einigen Versuchen fiel auf, dass gesogene Milben Wirkstoffmengen überlebten, die alle ungesogenen Milben getötet hatten. *George et al.* (2008) machten dieselbe Beobachtung bei der Anwendung von pflanzlichen Ölen. Sie konnten nachweisen, dass die Zeit seit der letzten Blutmahlzeit Einfluss auf die toxische Wirkung der Pflanzenöle auf *D. gallinae* hat. Unter Berücksichtigung dieser Ergebnisse ist es sehr wahrscheinlich, dass auch die akarizide Wirkung des Neem-Präparates abhängig ist von der Zeit, die seit der letzten Blutmahlzeit vergangen ist.

Bei der Untersuchung der oviziden Wirkung stellte sich heraus, dass eine Kontakttoxizität nur bei Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid) und B2 (Kontakt mit getrocknetem Akarizid), nicht jedoch bei Methode A (Benetzung mit dem Akarizid) gegeben war. Für die Gasphase konnte ebenfalls keine akarizide Wirkung nachgewiesen werden. Da die ovizide Wirkung nicht in unterschiedlichen Verdünnungsstufen getestet wurde, lässt sich nicht sagen, ob eine ovizide Wirkung für die Methoden A und C eventuell bei höheren Wirkstoffmengen gegeben ist. Möglich wäre z.B., dass eine ausreichend hohe Wirkstoffmenge mit dem Ei in Berührung kommen muss, um die schützende Eihülle penetrieren zu können. Ein weiterer Versuch, in dem höhere Wirkstoffmengen getestet werden, könnte dies klären. Auch über die Wirkungsweise des oviziden Effekts können keine Angaben gemacht werden. Eine ovizide Wirkung könnte durch einen direkten toxischen Effekt auf die sich entwickelnde Larve bewirkt werden. Möglich wäre aber auch, dass durch die Wirkung des Neem-Präparates auf die Eihülle das Schlüpfen verhindert wird. Eine elektronenmikroskopische Untersuchung könnte Klarheit verschaffen.

Für die Anwendung im Hühnerstall wird das Neem-Präparat mit Wasser verdünnt. Die so hergestellte Anwendungslösung besitzt für mindestens 11 Tage eine akarizide Wirkung bei direktem Kontakt mit den Milben. Es ist jedoch zu beachten, dass die akarizide Wirkung innerhalb der ersten vier Tage am größten ist. Die Toxizität der Gasphase lässt sehr schnell nach. Bereits ab dem zweiten Tag sinkt die Mortalität, und damit die Wirkung auf die Milben, stark ab. Wie auch bei anderen natürlichen Stoffen, kann auch bei Neemprodukten unter Einwirkung von UV-Strahlung, Temperatur und pH-Wert ein Abbau der Wirkstoffe erfolgen (*Mulla* und *Su* 1999). Die Stabilität des Akarizids ist aufgrund dessen abhängig von der Lagerung. Die Angaben des Herstellers sind unbedingt zu beachten. Um einen ausreichend hohen Effekt zu erhalten, sollte die Anwendungslösung unmittelbar vor der Behandlung angesetzt und innerhalb von 24 h verbraucht werden.

Ein mit dem Neem-Präparat imprägniertes Filterpapier besitzt für mindestens 11 Tage eine gute akarizide Wirkung. Im Stall eingesetzte vergleichbare Materialien könnten so die Bekämpfung der Milben über mehrere Tage gewährleisten und die Milbenpopulation gering halten. Das Konzept von behandelten Fallen wurde bereits von anderen Wissenschaftlern vorgeschlagen (*Chirico* und *Tauson* 2002). *Lundh et al.* (2005) bezeichnen den Einsatz von mit Neemöl imprägnierten Fallen im Hühnerstall als erfolgsversprechend. Es wäre sinnvoll, den Einsatz von mit Mite-Stop<sup>®</sup> imprägnierten Milbenfallen im Hühnerstall zu testen.

Für das Akarizid Mite-Stop<sup>®</sup> wird vom Hersteller eine Haltbarkeit von drei Jahren angegeben. Alle getesteten Chargen, auch bereits abgelaufene Chargen, erwiesen sich noch als

hochwirksam gegen die Rote Vogelmilbe. Die vom Hersteller angegebene Haltbarkeitsdauer ist bei sachgerechter Lagerung gewährleistet.

Bei der Anwendung des Akarizids auf verschmutzen Flächen wurde festgestellt, dass die akarizide Wirkung bei verdünntem Mite-Stop<sup>®</sup> reduziert ist. Bei der Anwendung ist deshalb zu beachten, dass der Stall vor einer Sprühbehandlung ausgemistet werden sollte, um die behandelte Fläche so gering wie möglich zu halten. Je nach Grad der Restverschmutzung kann gegebenenfalls eine niedrigere Verdünnungsstufe bzw. eine größere Konzentration gewählt werden.

Die Untersuchungen zur repellierenden Wirkung zeigen, dass von dem Neem-Präparat keine repellierende Wirkung auf D. gallinae ausgeht. Einige Male konnte man zwar beobachten, dass behandelte Flächen von den Milben nicht betreten wurden und bei einigen Milben schien es auch als würden sie den Übergang zur behandelten Fläche erkennen und gezielt an diesem entlang laufen ohne ihn zu übertreten. In Versuchsaufbau 3 wurde dieses Verhalten näher untersucht. Im ersten Versuch gab es, wie bereits in den vorherigen Versuchen, eine unbehandelte und eine behandelte Fläche. Durch die Behandlung wurde die Fläche feucht, die unbehandelte Fläche blieb trocken. So ergab sich innerhalb der Bodenbeschaffenheit. Petrischale eine unterschiedliche Nach Befeuchtung unbehandelten Fläche im zweiten Versuch zeigte keine Milbe ein auffälliges Verhalten am Übergang der beiden Flächen. Daraus lässt sich schließen, dass die Milben zum Teil lediglich auf Veränderungen der Oberflächenfeuchtigkeit reagieren. Maurer (1985) machte in seinen Versuchen zur Repellentwirkung von Neem-Extrakten auf Vorratsschädlinge ähnliche Beobachtungen. Er berichtete auch von anderen Repellent-Versuchen mit Neemprodukten, die eine gute Wirkung erzielten. Dabei wurden ihm zufolge aber sehr hohe Wirkstoffkonzentrationen eingesetzt. Dies schließt eine mögliche Repellentwirkung von Mite-Stop® nicht aus und könnte in weiteren Versuchen überprüft werden. Es ist jedoch zu beachten, dass bei der angewandten Filterpapier-Methode das Filterpapier einen limitierenden Faktor darstellt, da es in seiner Aufnahmekapazität begrenzt ist. Es ist daher mit der selben Problematik der Bodenbeschaffenheit zu rechnen, wie sie in dieser Arbeit schon bei geringen Konzentrationen aufgetreten ist.

Die Ergebnisse aus den Untersuchungen zur Wirksamkeit des Neem-Präparates auf Holz und Beton zeigen, dass die Wirkung auf unterschiedlichen Materialien sehr unterschiedlich ausfallen kann. Der für die Arbeit angemischte Estrichbeton erschien sehr grobkörnig und extrem saugfähig. Da im Vergleich zum Filterpapier deutlich höhere Akarizidmengen für eine vergleichbare Wirkung nötig waren, lässt sich vermuten, dass der Beton den Wirkstoff

aufgesogen hat, wodurch die toxische Wirkung stark verringert wurde. Erst nachdem ein gewisser Sättigungsgrad des Betons erreicht ist, entwickelt das Mite-Stop<sup>®</sup> eine hohe akarizide Wirkung. Dies scheint auch in einem etwas geringerem Maße für das Holz zuzutreffen. Außerdem hält sich die akarizide Wirkung nicht länger als einen Tag.

#### 6.2.5 Anwendung im Hühnerstall

#### 6.2.5.1 <u>Versuch 1 – Private Haltung von Legehennen</u>

Der Versuch hat gezeigt, dass durch eine Sprühbehandlung mit Mite-Stop® die Milbenpopulation drastisch reduziert werden kann. Bereits nach der ersten Anwendung war die Population um zwei Drittel reduziert worden. Nach der zweiten Anwendung konnte die Milbenpopulation insgesamt um 89% reduziert werden. Bei der Bewertung der ermittelten Daten muss berücksichtigt werden, dass es in diesem Feldversuch nur einen behandelten Stall und keinen unbehandelten Stall gab, der als Kontrolle dienen konnte. Es sind deshalb keine Aussagen bezüglich naturbedingter Mortalitätsraten und populationsdynamischer Schwankungen aufgrund gegebener Witterungsbedingungen bei unbehandelten Milben möglich. Aufgrund der extremen Abnahme der Milbenpopulation und der Tatsache, dass die Ergebnisse denen von Abdel-Ghaffar et al. (2008) ähneln, die das Mite-Stop® in Hühnerställen in Ägypten einsetzten, ist anzunehmen, dass die Wirkung auf den Einsatz des Mite-Stop® zurückzuführen ist. Der Effekt einer zweimaligen Sprühbehandlung mit Mite-Stop® ist vergleichbar mit dem antiparasitären Effekt von 80-90%, der nach einer zweimaligen Sprühbehandlung mit einer 0,15%igen Metrifonatlösung auftrat (Nordenfors und Hoeglund 2000). Nach Meyer-Kühling (2007) kann mit einer zweimaligen Phoxim-Sprühbehandlung eine Wirksamkeit von > 99% erreicht werden. Zur Zeit ist jedoch in Deutschland kein Präparat mit dem Wirkstoff Phoxim erhältlich.

#### 6.2.5.2 Versuch 2 – Wissenschaftlicher Geflügelhof

Mit diesem Feldversuch konnte gezeigt werden, dass mit einer Sprühbehandlung mit Mite-Stop<sup>®</sup> die Rote Vogelmilbe effektiv bekämpft werden kann. Sowohl die 1:30 als auch die 1:50 Verdünnung konnten in den abgegrenzten Flächen alle Milben töten.

## 6.2.6 Ergebnisse der lichtmikroskopischen Untersuchung

Bei der Auswertung der lichtmikroskopischen Untersuchungen wurde besonders auf äußerlich erkennbare Veränderungen der Körperform und der Struktur der Kutikula geachtet.

Sehr viele der mit Mite-Stop<sup>®</sup> behandelten Milben nahmen eine intensive bräunliche Körperfärbung an. Vereinzelt wurden auch schwarze Färbungen beobachtet. Der selbe Effekt wurde auch von *Maurer* (1985) nach dem Einsatz von Neemsamen-Extrakten bei *Ephestia kühniella* beobachtet. Er vermutete eine Ähnlichkeit mit der Bildung sog. black bodies. Danach akkumulieren unter der Einwirkung von Azadirachtin im subkutikularen Bereich melanisierte Haemocyten nach Aufnahme von lysierten Epidermiszellen, Teilen der Endokutikula und eventuell aus dem Fettkörper stammendem Material. Ob dieses Phänomen auch bei *D. gallinae* zutrifft müsste durch eine elektronenmikroskopische Untersuchung geklärt werden.

Viele Milben nahmen außerdem ein vertrocknetes Erscheinungsbild an. Ihr Körper war gekrümmt oder eingefallen. In seitlicher Ansicht waren diese Milben nur noch sehr flach. Besonders auffällig war, dass sich der kaudale Rand des Opisthosomas deutlich in Form und Farbe von dem Körper abhebt. Dieser Rand erschien entfärbt und eingefallen. Nach Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid) behandelte Milben scheinen leicht mit der Akarizid-Flüssigkeit benetzt zu werden. Viele Milben sind vollständig mit Mite-Stop<sup>®</sup> überzogen, obwohl sie nur über die Beine und eventuell über die ventrale Körperfläche direkten Kontakt mit dem Akarizid hatten.

Die Veränderungen ähneln den Veränderungen, die an der Kutikula von Insekten nach einer Behandlung mit amorphen Diatomeenerden entstehen (*Mewis* und *Ulrichs* 1999). Durch den direkten Kontakt des Neem-Präparates mit dem Cerotegument der Milbenkutikula ist anzunehmen, dass dieses angegriffen und teilweise zerstört wird. Es könnten Kutikulabereiche entstehen, die keine schützende Wachs- bzw. Lipidschicht mehr besitzen. Entsprechend dem Fick-Diffusionsgesetz kann eine erhöhte Diffusion des Körperwassers entlang des Konzentrationsgradienten in die umgebende Luft erfolgen. In Folge dessen kommt es zur Dehydratation und zum Tod der Milbe.

## 6.2.7 <u>Ergebnisse der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung</u>

Bei der Betrachtung der rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen wurde auf Veränderungen der Kutikula geachtet.

Milben, die mittels Methode B1 in direkten Kontakt mit Mite-Stop<sup>®</sup> gekommen waren, wiesen deutliche Auffälligkeiten im Bereich der Kutikula auf. Auch hatten diese Milben ein verschmutztes Erscheinungsbild, da die Kutikula mit zahlreichen Ablagerungen übersät war. Eine regelmäßige Fältelung der Kutikula war nicht mehr gegeben. Insgesamt wirkte der Körper leicht eingefallen. Auch im Bereich der Schilde kam es zu morphologischen

Veränderungen. Die Zähne des Cribrums hatten ihre Form verloren und waren zum Teil nur noch andeutungsweise zu erkennen.

Diese Veränderungen ähneln, wie bereits bei den Ergebnissen der lichtmikroskopischen Untersuchungen erwähnt, den von *Mewis* und *Ulrichs* (1999) beschriebenen Veränderungen an der Kutikula von mit Diatomeenerden behandelten Insekten. Der direkte Kontakt mit dem Mite-Stop<sup>®</sup> könnte das Cerotegument zerstört haben, in dessen Folge die Milbe ausgetrocknet und gestorben ist.

Die Milben, die mittels Methode B2 nur mit getrocknetem Mite-Stop<sup>®</sup> in Kontakt gekommen waren, wiesen kaum Veränderungen in der Kutikula auf. Lediglich der Milbenkörper schien insgesamt etwas eingefallen. Die Anwendung von Methode C, bei der die Milben nur mit der Gasphase des Mite-Stop<sup>®</sup> in Berührung kamen, verursachte so gut wie keine morphologischen Veränderungen. Nur bei einzelnen Milben war der Körper leicht eingefallen. Grundsätzlich muss hierbei erwähnt werden, dass ein leicht eingefallener Milbenkörper auch durch die Präparation bedingt sein kann, da dies auch vereinzelt bei unbehandelten Milben aufgetreten war.

Aufgrund der deutlichen Unterschiede zwischen den einzelnen Applikationsmethoden ist anzunehmen, dass das Mite-Stop<sup>®</sup> noch einen weiteren Wirkmechanismus besitzt. Da sich keine äußerlichen Veränderungen ergeben und die Laborversuche gezeigt haben, dass das Mite-Stop<sup>®</sup> auch über die Gasphase eine akarizide Wirkung besitzt, ist anzunehmen, dass das Mite-Stop<sup>®</sup> auch eine Wirkung als Atem- oder Nervengift besitzt. Eine elektronenmikroskopische Untersuchung könnte darüber Aufschluss geben.

#### 6.2.8 Schlussfolgerung

Die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen haben gezeigt, dass Mite-Stop® eine akarizide Wirkung gegen die Rote Vogelmilbe, *D. gallinae*, besitzt. Besonders erwähnenswert ist hierbei, dass sich die akarizide Wirkung auf sämtliche Entwicklungsstadien, einschließlich der Milbeneier, erstreckt. Desweiteren tritt nicht nur bei direktem Kontakt zwischen dem Wirkstoff und der Milbe ein akarizider Effekt auf, denn auch über die Gasphase entfaltet sich eine toxische Wirkung. Damit besitzt das Mite-Stop® ein großes Potential zur effektiven Bekämpfung der Roten Vogelmilbe.

Da sich jedoch eine vollständige Eliminierung der Milbenpopulation praktisch nicht erreichen lässt, empfiehlt es sich bei der Bekämpfung der Roten Vogelmilbe unter Berücksichtigung folgender Maßnahmen vorzugehen:

- Stallbau: Es ist darauf zu achten, den Milben keine Versteckmöglichkeiten in Ritzen und Spalten zu bieten.

- Hygienemanagement: Der Stall sollte regelmäßig und gründlich gereinigt werden, vorzugsweise mit einem Hochdruckreiniger. Dies vernichtet bereits einen Teil der Milben (*Maurer* 2002).
- Populationskontrolle: Durchführung eines permanenten Monitoring-Verfahrens (van Emous 2006, Zoons 2006) um die Größe der Milbenpopulation abschätzen zu können.
- Bekämpfung: Durchführung einer zweimaligen Sprühbehandlung mit Mite-Stop<sup>®</sup> im Abstand von einer Woche im Falle einer deutlichen Beeinträchtigung des Wohlbefindens der Hühner oder des Stallpersonals. Je nach Befallsstärke, können auch imprägnierte Milbenfallen an besonders betroffenen Stellen eingesetzt werden.

7 Zusammenfassung 110

## 7 Zusammenfassung

Untersuchungen zur Wirksamkeit eines Neem-Präparates (Mite-Stop<sup>®</sup>) auf die Entwicklungsstadien der Roten Vogelmilbe *Dermanyssus gallinae* 

Fünf Neem-Präparate der Alpha-Biocare GmbH (Düsseldorf) wurden auf ihre Wirksamkeit gegen die Rote Vogelmilbe Dermanyssus gallinae untersucht. Dabei erwiesen sich das Neem-Feinfiltrat und der Neem-dbE-Extrakt als besonders gut wirksam. Aufgrund dieser guten Ergebnisse wurde das Neem-Präparat Mite-Stop® entwickelt, das in einem speziellen Verfahren aus dem Samen des Neembaumes (Azadirachta indica A. Juss.) gewonnen wird. Das wesentliche Ziel dieser Arbeit war es, das Potential dieses Neem-Präparates als pflanzliches Akarizid für die Bekämpfung der Roten Vogelmilbe (Dermanyssus gallinae) zu untersuchen. Die Wirksamkeit wurde sowohl unter Labor- als auch unter Praxisbedingungen getestet. Die Kontakt- und Gasphasentoxizität wurde mittels vier verschiedener Applikationsmethoden untersucht: Methode A (Benetzung einzelner Milben), Methode B1 (Kontakt mit feuchtem Akarizid), Methode B2 (Kontakt mit getrocknetem Akarizid) und Methode C (Akarizide Wirkung über die Gasphase). Es zeigte sich, dass das Akarizid bei direktem Kontakt schon in sehr kleinen Mengen für alle Milbenstadien toxisch ist. Die Gasphase erwies sich für Larven, Nymphen und Adulte ebenfalls als toxisch. Weitere Untersuchungen bezüglich der Stabilität, Haltbarkeit, Wirkungsdauer und der repellierenden Wirkung wurden durchgeführt. Ein mit dem Neem-Präparat imprägniertes Filterpapier besaß für mehr als 11 Tage eine gute Wirksamkeit gegen die Rote Vogelmilbe. Ein repellierender Effekt konnte nicht festgestellt werden. Die im Stallbau verwendeten Materialien Holz und Beton wurden ebenfalls behandelt und die akarizide Wirkung gegen alle Milbenstadien untersucht. Um die Anwendung unter Praxisbedingungen zu testen, wurde ein Hühnerstall innerhalb von sieben Tagen zweimal mit 1:50 verdünntem Mite-Stop® behandelt. Die Stärke der Milbenpopulation wurde vor, während und nach der Behandlung mittels im Stall ausgebrachter Fallen aus Wellpappe bestimmt. Bereits die erste Sprühbehandlung reduzierte die Milbenpopulation um 66,86%. Nach der zweiten Behandlung hatte sich die Milbenpopulation um 89% reduziert. In einem zweiten Hühnerstall wurden zwei Bereiche, die einen starken Befall mit der Roten Vogelmilbe aufwiesen, mit 1:30 bzw. 1:50 verdünntem Mite-Stop<sup>®</sup> behandelt. In beiden Bereichen war das Neem-Präparat zu 100% wirksam.

Licht- und rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen dienten dazu, morphologische Veränderungen an den Milben zu erkennen. Zum Teil wurden deutliche Veränderungen an der Kutikula festgestellt. Das Neem-Präparat scheint bei direktem Kontakt zu einer Schädigung der Kutikula zu führen, in deren Folge es zur Dehydratation und zum Tod der Milbe kommt.

8 Summary 111

## 8 Summary

Studies on the efficacy of a neem-product (Mite-Stop®) against the developmental stages of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* 

Five neem products of Alpha-Biocare GmbH (Düsseldorf, Germany) were tested for their acaricidal efficacy against the poultry red mite Dermanyssus gallinae. Neem-fine filtrate and neem-dbe-extract proved to be very efficacious. Because of the good results the product Mite-Stop® was developed. It is a special formulation of an extract of the seeds of the neem tree (Azadirachta indica A. Juss.). The main aim of this work was to investigate the potential of this neem product as a botanical acaricide for the control of the poultry red mite Dermanyssus gallinae. The efficacy was tested under laboratory conditions as well as in poultry houses. Four different methods of application were used in a filter paper bioassay to evaluate contact and vapour phase toxicity tests. Method A (wetting of individual mites), method B1 (contact with wet acaricide), method B2 (contact with dried acaricide), and method C (vapour phase toxicity). The neem product proved to be already toxic in very small doses for every developmental stage. Fumigant toxicity was proven against larvae, nymphs, and adults. Investigations were conducted on the stability, storage life, effective period, and repellent effect. Filter papers impregnated with the acaricide remained efficacious for more than 11 days. There was no repellent effect. Further investigations showed that it has an acaricidal activity against all developmental stages on wood and concrete, two materials which are often found in poultry houses. In order to investigate the efficacy under field conditions a poultry house was sprayed twice within a 7-day period using 1:50 diluted Mite-Stop<sup>®</sup>. Cardboard traps were used to assess the mite population before, during, and after the treatment. After the first spraying the mite population was reduced by 66.86%. After the second spraying the total of the mite population had been reduced by 89%. In another poultry house defined areas infested with poultry red mites were treated with 1:30 and 1:50 diluted Mite-Stop®. The efficacy was 100% in both areas.

Light and scanning electron microscope analyses were carried out to detect any changes in morphology. Some of the treated mites showed morphological changes in the cuticle. A direct contact with the neem product can lead to severe damages in the structure of the cuticle which are likely to cause dehydration and death of the mite.

#### 9 Literaturverzeichnis

Abbott WS (1987) A method of computing the effectiveness of an insecticide. J Am Mosq Control Assoc 3(2):302-3

- Abdel-Ghaffar F, Sobhy HM, Al-Quraishy S, Semmler M (2008) Field study on the efficacy of an extract of neem seed (Mite-Stop®) against the red mite *Dermanyssus* gallinae naturally infecting poultry in Egypt. Parasitol Res 103:481-485
- Alberti G, Storch V, Renner H (1981) Über den feinstrukturellen Aufbau der Milbenkutikula (Acari, Arachnida). Zool Jb Anat 105:183-236
- Arkle S, Guy JH, Sparagano O (2006) Immunological effects and productivity variation of red mite (*Dermanyssus gallinae*) on laying hens implications for egg production and quality. Worlds Poult Sci J 62:249
- Auger P, Nantel J, Meunier N, Harrison RJ, Loiselle R, Gyorkos TW (1979) Skin acariasis caused by *Dermanyssus gallinae* (De Geer): an in-hospital outbreak. Can Med Assoc J 120(6):700-3
- Bauer C (2000) Praktikum der veterinärmedizinischen Parasitologie. Verlag der Ferber´schen Universitätsbuchhandlung, Gießen
- Beck W (1996) Tierische Milben als Epizoonoseerreger und ihre Bedeutung in der Dermatologie. Hautarzt 47:744-748
- Beck W, Pfister K (2006) Humanpathogene Milben als Zoonoseerreger. Wien Klin Wochenschr 118 [Suppl 3]:27-32
- Bell B (2006) Poultry Red Mite Control Methods in Practice. Seminar "Control methods for Dermanyssus gallinae in systems for laying hens", Wageningen
- Bernhard F (1963) Zitiert von Stammer (1963)
- Beugnet F, Chauve C, Gauthey M, Beert L (1997) Resistance of the poultry red mite to pyrethroids in France. Vet Rec 140:577-579

Biswas K, Chattopadhyay I, Banerjee RK, Bandyopadhyay U (2002) Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*). Current Science 82(11):1136-1145

- Bruneau A, Dernburg A, Chauve C, Zenner L (2001) First in vitro cycle of the chicken mite, Dermanyssus gallinae, utilizing an artificial feeding device. Parasitology-Cambridge 123(6):583-590
- Bücher T (1998) Untersuchungen zur Überlebensdauer von *Dermanyssus gallinae* in Abhängigkeit von Material, Temperatur und Luftfeuchte. Vet. Diss. Hannover, 1998
- Chauve C (1998) The poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (De Geer): current situation and future prospects. Vet Parasitol 79:239-245
- Chauve C (2006) *Dermanyssus gallinae*: Alternative control methods, research subjects in Lyon. Seminar "Control methods for *Dermanyssus gallinae* in systems for laying hens". Wageningen
- Chirico J, Tauson R (2002) Traps containing acaricides for the control of *Dermanyssus* gallinae. Vet Parasitol 110:109-116
- Chirico J, Eriksson H, Fossum O, Jansson D (2003) The poultry red mite, *Dermanyssus* gallinae, a potential vector of *Erysipelothrix rhusiopathiae* causing erysipelas in hens. Med Vet Entomol 17:232-4
- Dettner K, Peters W (2003) Lehrbuch der Entomologie. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg [u.a.]
- Eckert J, Friedhoff KT, Zahner H, Deplazes P (2005) Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin. Enke Verlag, Stuttgart
- Entekrin DL, Oliver JH Jr (1982) Aggregation of the chicken mite *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). J Med Entomol 19(6):671-8
- Fiddes MD, Le Gresley S, Parsons DG, Epe C, Coles GC, Stafford KA (2005) Prevalence of the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) in England. Vet Rec 157:233-235

Fletcher MG, Axtell RC (1991) Susceptibilities of northern fowl mite, *Ornithonyssus sylviarum*, and chicken mite, *Dermanyssus gallinae*, to selected acaricides. Exp Appl Acarol 13:137-142

- Frank W (1976) Parasitologie. Lehrbuch für Studierende der Human- und Veterinärmedizin, der Biologie und der Agrarbiologie. Ulmer, Stuttgart [u.a.]
- George DR, Smith TJ, Sparagano OA, Guy JH (2008) The influence of 'time since last blood meal' on the toxicity of essential oils to the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*). Vet Parasitol doi:10.1016/j.vetpar.2008.05.005
- Hamscher G, Prieß B, Hartung J, Nogossek MI, Glünder G, Nau H (2003) Determination of propoxur residues in eggs by liquid chromatography-diode array detection after treatment of stocked housing facilities for the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*). Anal Chim Acta 483:19-26
- Hamscher G (2006) Mögliche Risiken bei der Bekämpfung der Roten Vogelmilbe in der Legehennenhaltung. Schädlingsbekämpfungssymposium, Oldenburg
- Harrison FW, Foelix RF (1999) Microscopic Anatomy of Invertebrates. Volume 8C Chelicerate Arthropoda. Wiley-Liss, Inc. 1999
- Kahn, CM (2005) The Merck Veterinary Manual. Ninth Edition. Merck & Co., Inc. Whitehouse Station, N.J., U.S.A.
- Kaushik N, Singh BG, Tomar UK, Naik SN, Vir S, Bisla SS, Sharma KK, Banerjee SK, Thakkar P (2007) Regional and habitat variability in azadirachtin content of Indian neem (*Azadirachta indica* A. Jusieu). Current Science 92(10):1400-1406
- Kilpinen O (2001) Activation of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*, by increasing temperatures. Exp Appl Acarol 25:859-867
- Kilpinen O, Mullens BA (2004) Effect of food deprivation on response of the mite, *Dermanyssus gallinae*, to heat. Med Vet Entomol 18(4):368-371
- Kilpinen O (2005) How to obtain a blood meal without being eaten by a host: the case of poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. Physiol Entomol 30(3):232-240

Kim S-I, Yi J-H, Tak J-H, Ahn Y-J (2004) Acaricidal activity of plant essential oils against Dermanyssus gallinae (Acari: Dermanyssidae). Vet Parasitol 120:297-304

- Kim S-I, Na Y-E, Yi J-H, Kim B-S, Ahn Y-J (2007) Contact and fumigant toxicity of oriental medical plant extracts against *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). Vet Parasitol 145:377-382
- Kirkwood AC (1963) Longevity of the mites *Dermanyssus gallinae* and *Liponyssus sylviarum*. Exp Parasitol 14:358-366
- Kirkwood AC (1967a) Anaemia in Poultry Infested with the Red Mite *Dermanyssus gallinae*. Vet Rec 80(17):514-6
- Kirkwood AC (1967b) Control of poultry mites. Bri Poult Sci 8:75-80
- Kirkwood AC (1968) Some observations on the feeding habits of the poultry red mites Dermanyssus gallinae and Liponyssus sylviarum. Exp Appl Acarol 11:315-320
- Kirkwood AC (1971) In vitro feeding of Dermanyssus gallinae. Exp Parasitol 29:1-6
- Kraft W, Dürr UM (2005) Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. 6. Auflage, Schattauer, Stuttgart
- Löscher W, Ungemach FR, Kroker R (2002) Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren. 5., neu bearbeitete Auflage. Parey Buchverlag, Berlin
- Lucius R, Loos-Frank B (1997) Parasitologie. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg
- Lucky AW, Sayers CP, Argus JD, Lucky A (2001) Avian mite bites acquired from a new source

   pet gerbils. Arch Dermatol 137:167-170
- Lundh J, Wiktelius D, Chirico J (2005) Azadirachtin-impregnated traps for the control of Dermanyssus gallinae. Vet Parasitol 130:337-342
- Mansour und Ascher (1983, 1984) Zitiert von Schmutterer (2002)

Maurer G (1985) Untersuchungen zur Wirkung von Niem-Extrakten (*Azadirachta indica* A. Juss., Meliaceae) auf Vorratsschädlinge sowie Erprobung von Methoden zur Prüfung von Niem-Extrakten verschiedener Herkunft auf Wirkungsunterschiede. Diss. Gießen

- Maurer V, Bieri M, Fölsch DW (1988) Das Suchverhalten von *Dermanyssus gallinae* in Hühnerställen. Arch Geflügelk 52(5):209-215
- Maurer V, Baumgärtner J (1992) Temperature influence on life table statistics of the chicken mite *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). Exp Appl Acarol 15:27-40
- Maurer V, Baumgärtner J, Bieri M, Fölsch DW (1993) The occurrence of the chicken mite (Acari: Dermanyssidae) in Swiss poultry houses. Mit Schweiz Entomol Ges 66:87-97
- Maurer V (2002) Legehennen gegen Blutsauger schützen. FiBL Tätigkeitsbericht 2002
- Maurer V, Perler E (2006) Silicas for the control of the poultry red mite *Dermanyssus* gallinae. Joint Organic Congress, Odense, Dänemark, 2006
- McGarry JW, Trees AJ (1991) Trap perches to assess the activity of pyrethrins against the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* in cage birds. Exp Appl Acarol 12:1-7
- Mehlhorn H, Piekarski G (2002) Grundriß der Parasitenkunde. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg
- Mewis I, Ulrichs Ch (1999) Wirkungsweise amorpher Diatomeenerden auf vorratsschädliche Insekten. Untersuchung der abrasiven sowie sorptiven Effekte. J Pest Sci 72:113-121
- Meyer-Kühling B (2007) Untersuchungen zur Wirksamkeit von Phoxim gegen *Dermanyssus* gallinae in der Legehennenhaltung bei verschiedenen Haltungssystemen. Diss.

  München
- Mignon B, Losson B (2007) Dermatitis in a horse associated with the poultry mite (*Dermanyssus gallinae*). DOI: 10.1111/j.1365-3164.2007.00646.x
- Moore D, Steenberg T (2006) Fungi for control of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. Seminar "Control methods for *Dermanyssus gallinae* in systems for laying hens". Wageningen

Moro CV, Chauve C, Zenner L (2007) Experimental infection of *Salmonella* Enteritidis by the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. Vet Parasitol 146:329-336

- Mulla MS, Su T (1999) Activity and biological effects of neem products against arthropods of medical and veterinary importance. J Am Mosq Control Assoc 15(2):133-152
- Nordenfors H, Höglund J, Uggla A (1999) Effects of temperature and humidity on oviposition, molting, and longevity of *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). J Med Entomol 36(1):68-72
- Nordenfors und Hoeglund (2000) Zitiert von Meyer-Kühling (2007)
- Nordenfors H (2000) Epidemiology and Control of the Poultry Red Mite, *Dermanyssus* gallinae. Doctoral thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala
- Nordenfors H, Höglund J, Tauson R, Chirico J (2001) Effects of permethrin impregnated plastic strips on in loose-housing systems for laying hens. Vet Parasitol 102:121-131
- Pound JM, Oliver JH (1976) Reproductive morphology and spermatogenesis in Dermanyssus gallinae (DeGeer) (Acari: Dermanyssidae). J Morphol 150:825-842
- Pospischil R (2001) Die Rote Vogelmilbe *Dermanyssus gallinae* (Acarina, Mesostigmata, Dermanyssidae): Biologie und Bekämpfung. Deutsche Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie e.V., 15. Jahrgang, Heft 4
- Pritchard MH, Kruse GOW (1982) The Collection and Preservation of Animal Parasites.

  University of Nebraska Press, Lincoln and London
- Robinson DG, Ehlers U, Herken R, Herrmann B, Mayer F, Schürman FW (1985)

  Präparationsmethodik in der Elektronenmikroskopie. Springer-Verlag, Berlin [u.a.]
- Röhrig H-G, Brand R (2005) Legehennenhaltung und Eiererzeugung von 1995 bis 2004. Statistisches Bundesamt, Wirtschaft und Statistik 6/2005
- Roy L, Chauve CM (2007) Historical review of the genus *Dermanyssus* Dugès, 1834 (Acari: Mesostigmata: Dermanyssidae). Parasite 14:87-100

Ruff MD (1999) Important parasites in poultry production systems. Vet Parasitol 84:337-347

- Sanguanpong U (1992) Zur Wirkung ölhaltiger Niem- und Marrangosamenprodukte auf die Gemeine Spinnmilbe, *Tetranychus urticae* Koch sowie Nebenwirkung auf ihren natürlichen Gegenspieler *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot. Diss. Gießen
- Schaaf O, Jarvis AP, van der Esch SA, Giagnacovo G, Oldham NJ (2000) Rapid and sensitive analysis of azadirachtin and related triterpenoids from Neem (*Azadirachta indica*) by high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectroscopy. J Chromatogr A 886:89-97
- Schmeer N (2006) Forschung und Entwicklung für Tierarzneimittel was braucht die Nahrungskette?. Internationales Bayer Experten-Forum "Tiergesundheit und Lebensmittelsicherheit" auf der EuroTier 2006 in Hannover
- Schmutterer H (2002) The Neem Tree *Azadirachta indica* A. Juss. and other meliaceous plants. Neem Foundation, Mumbai
- Severino G, Oliver JH, Pound JM (1984) Synganglial and neurosecretory morphology of the chicken mite *Dermanyssus gallinae* (DeGeer) (Mesostigmata: Dermanyssidae). J Morphol 181:49-68
- Sikes RK, Chamberlain RW (1954) Laboratory observations on three species of bird mites. J Parasitol 40(6):691-7
- Smith MG, Blattner RJ, Heys FM (1945) Further isolation of St.-Louis encephalitis virus congenital transfer of virus in chicken mite (*Dermanyssus gallinae*). Proceedings of the society for experimental biology and medicine 59(2):136-138
- Smith MG, Blattner RJ, Heys FM (1946) St.-Louis encephalitis infection of chicken mites, Dermanyssus gallinae, by feeding on chickens with viremia – transovarian passage of virus into the 2nd generation. J Exp Med 84(1):1-6
- Smith MG, Blattner RJ, Heys FM (1947) St.-Louis encephalitis transmission of virus to chickens by infected mites *Dermanyssus gallinae* and resulting viremia as source of virus for infection of mites. J Exp Med 86(3):229-237

Sokól R, Barski D, Spodniewska A (2008) Activity of selected antioxidant enzymes in layer hens non-infested and infested with *Dermanyssus gallinae*. Bull Vet Inst Pulawy 52:67-70

- Stafford KA, Lewis PD, Coles GC (2006) Preliminary study of intermittent lighting regimens for red mite (*Dermanyssus gallinae*) control in poultry houses. Vet Rec 158:762-763
- Stammer H-J (1963) Beiträge zur Systematik und Ökologie Mitteleuropäischer Acarina, Band III Mesostigmata I, Akademische Verlagsgesellschaft Geest & Portig K-G, Leipzig
- Thind BB, Ford HL (2007) Assessment of the susceptibility of the poultry red mite (Acari: Dermanyssidae) to some acaricides using an adapted filter paper based bioassay. Vet Parasitol 144(3):344-348
- Tucci E, Prado AP, Araújo RP (2008) Development of *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae) at different temperatures. Vet Parasitol 155:127-132
- Van Emous R (2006) Practical methode for on-farm monitoring of Red Mite (*Dermanyssus gallinae*) infestation. Seminar "Control methods for *Dermanyssus gallinae* in systems for laying hens", Wageningen
- Von Tröltsch (1875) Zur Lehre von den thierischen Parasiten am Menschen. Eur Arch Otorhinolaryngol 9(4):193-198
- Westheide W, Rieger R (1996) Spezielle Zoologie. Erster Teil: Einzeller und Wirbellose Tiere. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart
- Wisseman CL, Sulkin SE (1947) Observations on the laboratory care, life cycle, and hosts of the chicken mite, *Dermanyssus gallinae*. Am J Trop Med 27:463-469
- Zeman P, Zelezny J (1985) The susceptibility of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (DeGeer 1778), to some acaricides under laboratory conditions. Exp Appl Acarol 1:17-22
- Zeman P (1987) Systemic efficacy of ivermectin against *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) in fowls. Vet Parasitol 23:141-146

Zeman P (1988) Surface skin lipids of birds – a proper host kairomone and feeding inducer in the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. Exp Appl Acarol 5:163-173

Zemskaya AA (1971) Zitiert von Roy und Chauve (2007)

Zoons IJ (2006) Monitoring system as a tool to control *Dermanyssus gallinae*. Seminar "Control methods for *Dermanyssus gallinae* in systems for laying hens", Wageningen

## 10 Anhang

## 10.1 Mite-Stop® - Laborversuche

# 10.1.1 Wirksamkeit von Mite-Stop® auf Filterpapier

## 10.1.1.1 Haltbarkeit der Anwendungslösung

Tab. 90: Ergebnisse aus dem ersten Versuch zur Haltbarkeit der Anwendungslösung von Mite-Stop<sup>®</sup> in einer Verdünnung von 1:50 über einen Zeitraum von 11 Tagen mittels Methode A

Tag	М	Eing	gesetzte N	Milben		Anza	hl toter M	filben nach 2	24 h	Mortalität
_		Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
0	Α	6	5	1	0	6	5	1	n. b.	100,00
0	K	6	4	2	0	0	0	0	n. b.	0,00
1	Α	7	5	1	1	5	3	1	1	71,43
1	K	6	3	3	0	0	0	0	n. b.	0,00
2	Α	6	2	4	0	5	1	4	n.b.	83,33
2	K	8	6	2	0	0	0	0	n. b.	0,00
3	Α	6	0	6	0	5	n. b.	5	n. b.	83,33
3	K	6	0	6	0	0	n. b.	0	n. b.	0,00
4	Α	5	5	0	0	5	5	n. b.	n. b.	100,00
4	K	6	6	0	0	0	0	n. b.	n. b.	0,00
5	Α	6	5	1	0	3	2	1	n. b.	50,00
5	K	5	0	5	0	0	n. b.	0	n. b.	0,00
6	Α	5	5	0	0	0	0	n. b.	n. b.	0,00
6	K	7	5	2	0	0	0	0	n. b.	0,00
7	Α	8	5	3	0	5	2	3	n. b.	62,50
7	K	8	4	4	0	0	0	0	n. b.	0,00
8	Α	6	2	2	2	4	0	2	2	66,67
8	K	7	4	3	0	0	0	0	n. b.	0,00
9	Α	7	4	3	0	4	1	3	n. b.	57,14
9	K	8	4	3	1	0	0	0	0	0,00
10	Α	5	5	0	0	2	2	n. b.	n. b.	40,00
10	K	6	2	4	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet, M = Methode

Tab. 91: Ergebnisse aus dem zweiten Versuch zur Haltbarkeit der Anwendungslösung von Mite-Stop<sup>®</sup> in einer Verdünnung von 1:50 über einen Zeitraum von 11 Tagen mittels Methode A, Tag 0-3

Tag	М	Eing	gesetzte N	Milben		Anza	Anzahl toter Milben nach 24 h				
		Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]	
0	Α	5	2	3	0	3	0	3	0	60,00	
0	K	5	3	2	0	0	0	0	n. b.	0,00	
1	Α	8	0	8	0	4	n. b.	4	n. b.	50,00	
1	K	7	2	5	0	0	0	0	n. b.	0,00	
2	Α	8	2	6	0	4	0	4	n. b.	50,00	
2	K	8	5	3	0	0	0	0	n. b.	0,00	
3	Α	9	7	2	0	3	1	2	n. b.	33,33	
3	K	10	4	4	2	0	0	0	0	0,00	

n. b. = nicht bewertet, M = Methode

Tab. 92: Ergebnisse aus dem zweiten Versuch zur Haltbarkeit der Anwendungslösung von Mite-Stop<sup>®</sup> in einer Verdünnung von 1:50 über einen Zeitraum von 11 Tagen mittels Methode A, Tag 4-10

Tag	М		Eingese	tzte Milben		Anza	ahl toter M	filben nach	24 h	Mortalität
		Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
4	Α	6	1	5	0	0	0	0	n. b.	0,00
4	K	7	2	5	0	0	0	0	n. b.	0,00
5	Α	8	0	8	0	0	n. b.	0	n. b.	0,00
5	K	8	2	6	0	0	0	0	n. b.	0,00
6	Α	9	1	8	0	2	0	2	n. b.	22,22
6	K	10	4	5	1	0	0	0	0	0,00
7	Α	8	4	4	0	0	0	0	n. b.	0,00
7	K	8	2	6	0	0	0	0	n. b.	0,00
8	Α	7	4	3	0	1	0	1	n. b.	14,29
8	K	8	6	2	0	0	0	0	n. b.	0,00
9	Α	9	4	5	0	1	0	1	n. b.	11,11
9	K	11	3	7	1	0	0	0	0	0,00
10	Α	8	5	3	0	2	0	2	n. b.	25,00
10	K	8	8	0	0	0	0	n. b.	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet, M = Methode

Tab. 93: Ergebnisse aus dem ersten Versuch zur Haltbarkeit der Anwendungslösung von Mite- $Stop^{@}$  in einer Verdünnung von 1:50 über einen Zeitraum von 11 Tagen mittels Methode B1

Tag	М	Eing	gesetzte N	Milben		Anza	ıhl toter M	lilben nach 2	24 h	Mortalität
		Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
0	B1	26	24	2	0	26	24	2	n. b.	100,00
0	K	25	19	6	0	0	0	0	n. b.	0,00
1	B1	21	15	6	0	21	15	6	n. b.	100,00
1	K	26	19	7	0	0	0	0	n. b.	0,00
2	B1	40	5	26	9	40	5	26	9	100,00
2	K	32	20	12	0	0	0	0	n. b.	0,00
3	B1	17	6	11	0	17	6	11	n. b.	100,00
3	K	24	8	14	2	0	0	0	0	0,00
4	B1	39	6	33	0	39	6	33	n. b.	100,00
4	K	29	11	18	0	0	0	0	n. b.	0,00
5	B1	17	7	10	0	16	6	10	n. b.	94,12
5	K	28	9	15	4	0	0	0	0	0,00
6	B1	24	5	19	0	23	4	19	n. b.	95,83
6	K	21	7	14	0	0	0	0	n. b.	0,00
7	B1	24	3	21	0	21	0	21	n. b.	87,50
7	K	22	18	4	0	0	0	0	n. b.	0,00
8	B1	22	10	12	0	19	7	12	n. b.	86,36
8	K	27	8	19	0	0	0	0	n. b.	0,00
9	B1	25	14	11	0	20	9	11	n. b.	80,00
9	K	21	8	13	0	0	0	0	n. b.	0,00
10	B1	23	16	7	0	17	11	6	n. b.	73,91
10	K	19	8	11	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet, M = Methode

Tab. 94: Ergebnisse aus dem zweiten Versuch zur Haltbarkeit der Anwendungslösung von Mite-Stop<sup>®</sup> in einer Verdünnung von 1:50 über einen Zeitraum von 11 Tagen mittels Methode B1

Tag	М	Eingesetzte Milben Anzahl toter Milben r							24 h	Mortalität
		Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
0	B1	29	8	21	0	29	8	21	n. b.	100,00
0	K	26	10	16	0	0	0	0	n. b.	0,00
1	B1	12	5	7	0	12	5	7	n. b.	100.00
1	K	19	7	12	0	0	0	0	n. b.	0,00
2	B1	26	7	19	0	26	7	19	n. b.	100,00
2	K	21	9	22	0	0	0	0	n. b.	0,00
3	B1	19	6	13	0	13	0	13	n. b.	68,42
3	K	22	8	12	2	0	0	0	0	0,00
4	B1	31	2	29	0	21	0	21	n. b.	67,74
4	K	25	10	12	3	0	0	0	0	0,00
5	B1	16	5	11	0	11	0	11	n. b.	68,75
5	K	19	8	11	0	0	0	0	n. b.	0,00
6	B1	21	1	20	0	19	1	18	n. b.	90,48
6	K	16	8	8	0	0	0	0	n. b.	0,00
7	B1	17	3	14	0	16	2	14	n. b.	94,12
7	K	24	8	11	5	0	0	0	0	0,00
8	B1	32	5	27	0	24	1	23	n.b.	75,00
8	K	22	9	13	0	0	0	0	n. b.	0,00
9	B1	50	2	39	9	48	1	38	9	96,00
9	K	32	10	22	0	0	0	0	n. b.	0,00
10	B1	29	4	25	0	26	3	23	n. b.	89,66
10	K	20	5	15	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet, M = Methode

Tab. 95: Ergebnisse aus dem ersten Versuch zur Haltbarkeit der Anwendungslösung von Mite-Stop<sup>®</sup> in einer Verdünnung von 1:50 über einen Zeitraum von 11 Tagen mittels Methode B2

Tag	М	Eing	gesetzte N	Milben		Anza	hl toter M	lilben nach 2	24 h	Mortalität
		Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
0	B2	28	25	3	0	28	25	3	n. b.	100,00
0	K	27	18	9	0	0	0	0	n. b.	0,00
1	B2	28	5	7	16	28	5	7	16	100,00
1	K	23	9	14	0	0	0	0	n. b.	0,00
2	B2	44	6	25	13	44	6	25	13	100,00
2	K	29	12	15	2	0	0	0	0	0,00
3	B2	20	4	16	0	20	4	16	n. b.	100,00
3	K	27	14	13	0	0	0	0	n. b.	0,00
4	B2	28	5	23	0	26	3	23	n. b.	92,86
4	K	26	14	12	0	0	0	0	n. b.	0,00
5	B2	20	7	13	0	18	5	13	n. b.	90,00
5	K	21	5	16	0	0	0	0	n. b.	0,00
6	B2	24	10	14	0	20	6	14	n. b.	83,33
6	K	27	12	12	3	0	0	0	0	0,00
7	B2	17	5	12	0	12	1	11	n. b.	70,59
7	K	19	9	10	0	0	0	0	n. b.	0,00
8	B2	27	2	25	0	25	0	25	n. b.	92,59
8	K	21	8	13	0	0	0	0	n. b.	0,00
9	B2	15	7	8	0	11	3	8	n. b.	73,33
9	K	28	13	12	3	0	0	0	0	0,00
10	B2	21	12	9	0	16	7	9	n. b.	76,19
10	K	24	11	13	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet, M = Methode

Tab. 96: Ergebnisse aus dem zweiten Versuch zur Haltbarkeit der Anwendungslösung von Mite-Stop<sup>®</sup> in einer Verdünnung von 1:50 über einen Zeitraum von 11 Tagen mittels Methode B2

Tag	М	Eing	gesetzte l	Milben		Anza	hl toter M	lilben nach 2	24 h	Mortalität
		Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
0	B2	23	6	17	0	23	6	17	n.b.	100,00
0	K	27	10	17	0	0	0	0	n. b.	0,00
1	B2	12	0	12	0	12	n. b.	12	n. b.	100,00
1	K	17	7	9	1	0	0	0	0	0,00
2	B2	19	4	15	0	19	4	15	n. b.	100,00
2	K	22	12	10	0	0	0	0	n. b.	0,00
3	B2	27	2	25	0	27	2	25	n. b.	100,00
3	K	22	9	13	0	0	0	0	n. b.	0,00
4	B2	31	2	29	0	21	0	21	n. b.	67,74
4	K	26	18	8	0	0	0	0	n. b.	0,00
5	B2	15	7	8	0	9	2	7	n. b.	60,00
5	K	19	12	7	0	0	0	0	n. b.	0,00
6	B2	13	3	10	0	12	2	10	n. b.	92,31
6	K	21	16	5	0	0	0	0	n. b.	0,00
7	B2	16	4	12	0	15	3	12	n. b.	93,75
7	K	18	9	9	0	0	0	0	n. b.	0,00
8	B2	28	6	22	0	20	1	19	n. b.	71,43
8	K	22	4	18	0	0	0	0	n. b.	0,00
9	B2	32	9	27	0	30	5	25	n. b.	93,75
9	K	24	2	22	0	0	0	0	n. b.	0,00
10	B2	28	7	21	0	22	1	21	n. b.	78,57
10	K	27	5	22	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet, M = Methode

Tab. 97: Ergebnisse aus dem ersten Versuch zur Haltbarkeit der Anwendungslösung von Mite-Stop $^{\mathbb{B}}$  in einer Verdünnung von 1:50 über einen Zeitraum von 11 Tagen mittels Methode C

Tag	М	Eing	gesetzte N	Milben		Anza	hl toter M	filben nach 2	24 h	Mortalität
		Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
0	O	25	8	17	0	21	5	16	n. b.	84,00
0	K	19	12	7	0	0	0	0	n. b.	0,00
1	С	25	9	16	0	13	2	11	n. b.	52,00
1	K	18	8	10	0	0	0	0	n. b.	0,00
2	С	27	8	19	0	10	0	10	n. b.	37,04
2	K	22	10	12	0	0	0	0	n. b.	0,00
3	С	26	7	19	0	5	0	5	n. b.	19,23
3	K	21	9	12	0	0	0	0	n. b.	0,00
4	С	28	8	20	0	1	0	1	n. b.	3,57
4	K	23	15	8	0	0	0	0	n. b.	0,00
5	С	19	6	13	0	2	0	2	n. b.	10,53
5	K	18	7	11	0	0	0	0	n. b.	0,00
6	С	21	8	13	0	0	0	0	n. b.	0,00
6	K	19	15	4	0	0	0	0	n. b.	0,00
7	С	16	4	12	0	1	0	1	n. b.	6,25
7	K	12	10	2	0	0	0	0	n. b.	0,00
8	С	15	4	11	0	0	0	0	n. b.	0,00
8	K	16	7	9	0	0	0	0	n. b.	0,00
9	С	21	8	13	0	1	0	1	n. b.	4,76
9	K	17	11	6	0	0	0	0	n. b.	0,00
10	С	26	8	18	0	1	0	1	n. b.	3,85
10	K	19	9	10	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet, M = Methode

Tab. 98: Ergebnisse aus dem zweiten Versuch zur Haltbarkeit der Anwendungslösung von Mite-Stop<sup>®</sup> in einer Verdünnung von 1:50 über einen Zeitraum von 11 Tagen mittels Methode C

Tag	М	Eing	jesetzte l	Milben		Anza	24 h	Mortalität		
		Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
0	С	15	3	12	0	11	2	9	n. b.	73,33
0	K	15	4	11	0	0	0	0	n. b.	0,00
1	С	18	3	15	0	4	0	4	n. b.	22,22
1	K	13	2	11	0	0	0	0	n. b.	0,00
2	С	22	3	19	0	2	0	2	n. b.	9,09
2	K	17	7	10	0	0	0	0	n. b.	0,00
3	С	14	4	10	0	0	0	0	n. b.	0,00
3	K	13	6	7	0	0	0	0	n. b.	0,00
4	С	22	4	18	0	0	0	0	n. b.	0,00
4	K	16	8	8	0	0	0	0	n. b.	0,00
5	С	18	8	10	0	0	0	0	n. b.	0,00
5	K	15	5	10	0	0	0	0	n. b.	0,00
6	С	19	8	11	0	0	0	0	n. b.	0,00
6	K	15	8	7	0	0	0	0	n. b.	0,00
7	С	21	7	14	0	0	0	0	n. b.	0,00
7	K	14	8	6	0	0	0	0	n. b.	0,00
8	С	18	3	15	0	0	0	0	n. b.	0,00
8	K	12	0	12	0	0	n. b.	0	n. b.	0,00
9	С	18	7	11	0	1	0	1	n. b.	5,56
9	K	11	2	9	0	0	0	0	n. b.	0,00
10	С	21	5	16	0	0	0	0	n. b.	0,00
10	K	23	2	21	0	0	0	0	n. b.	0,00

n. b. = nicht bewertet, M = Methode

## 10.1.1.2 Wirksamkeit nach Behandlung des Untergrundes im Laufe mehrerer Tage

Tab. 99: Ergebnisse aus dem ersten Versuch zur Wirksamkeit eines mit Mite-Stop<sup>®</sup> behandelten Untergrundes über einen Zeitraum von 11 Tagen

Wirksamkeit	Anza	hl einge	setzter Milk	oen	Anza	hl toter N	Milben nach	24 h	Mortalität
nach [d]	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
0	15	6	9	0	15	6	9	n. b.	100,00
1	14	1	13	0	14	1	13	n. b.	100,00
2	32	6	26	0	32	6	26	n. b.	100,00
3	18	8	10	0	16	5	11	n. b.	88,89
4	30	6	24	0	29	5	24	n. b.	96,67
5	19	0	19	0	18	n. b.	18	n. b.	94,74
6	23	9	14	0	18	4	14	n. b.	78,26
7	26	7	19	0	25	6	19	n. b.	96,15
8	18	1	17	0	17	3	14	n. b.	77,78
9	19	4	15	0	17	3	14	n. b.	89,47
10	18	1	17	0	16	1	15	n. b.	88,89

n. b. = nicht bewertet

Tab. 100: Ergebnisse aus dem zweiten Versuch zur Wirksamkeit eines mit Mite-Stop<sup>®</sup> behandelten Untergrundes über einen Zeitraum von 11 Tagen

Wirksamkeit	Anza	ıhl einge	setzter Milk	oen	Anza	hl toter N	Milben nach	24 h	Mortalität
nach [d]	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	Gesamt	Adulte	Nymphen	Larven	[%]
0	20	8	9	3	20	8	9	3	100,00
1	22	15	7	0	22	15	7	n. b.	100,00
2	25	4	20	2	25	4	20	2	100,00
3	19	7	12	0	18	6	12	n. b.	94,74
4	23	6	16	1	22	5	16	1	95,65
5	24	9	11	4	22	7	11	4	91,67
6	24	11	11	2	20	8	10	2	83,33
7	18	7	11	0	16	5	11	n. b.	88,89
8	21	15	6	0	19	14	5	n. b.	90,48
9	28	14	12	2	24	10	12	2	85,71
10	17	11	6	0	14	8	6	n. b.	82,35

n. b. = nicht bewertet

# 10.2 <u>Mite-Stop® - Anwendung im Hühnerstall</u>

## 10.2.1 <u>Versuch 1 – Private Haltung von Legehennen</u>

Tab. 101: Quantitative Auswertung der gefangenen Milben aus dem ersten Feldversuch im 1. Monitoring

Falle		Anzah	ıl gefangener N	Milben	
	Adulte	Nymphen	Larven	Eier	Gesamt
M1-1	3	5	0	0	8
M1-2	89	81	6	11	187
M1-3	65	65	6	0	136
M1-4	294	403	73	102	872
M1-5	3	7	0	0	10
M1-6	75	94	20	14	203
M1-7	8	11	0	0	19
M1-8	35	90	0	0	125
M1-9	0	0	0	0	0

Tab. 102: Quantitative Auswertung der gefangenen Milben aus dem ersten Feldversuch im 2. Monitoring

Falle	Anzahl gefangener Milben						
	Adulte	Nymphen	Larven	Eier	Gesamt		
M2-1	2	4	0	0	6		
M2-2	0	0	0	0	0		
M2-3	32	40	14	12	98		
M2-4	30	53	0	0	83		
M2-5	38	77	3	0	118		
M2-6	8	11	0	0	19		
M2-7	92	95	6	0	193		
M2-8	0	0	0	0	0		
M2-9	0	0	0	0	0		

Tab. 103: Quantitative Auswertung der gefangenen Milben aus dem ersten Feldversuch im 3. Monitoring

Falle	Anzahl gefangener Milben						
	Adulte	Nymphen	Larven	Eier	Gesamt		
M3-1	6	12	0	0	18		
M3-2	11	22	0	0	33		
M3-3	13	17	0	0	30		
M3-4	5	6	0	4	15		
M3-5	9	3	0	0	12		
M3-6	16	28	0	0	44		
M3-7	4	2	0	0	6		
M3-8	0	2	0	0	2		
M3-9	7	11	0	0	18		

Danksagung 128

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. H. Mehlhorn für die Vergabe des Themas und der Bereitstellung des Arbeitsplatzes.

Ich danke Herrn Prof. Dr. E. Schein für die Vertretung der Arbeit am Fachbereich Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin.

Bei Herrn Dr. J. Schmidt möchte ich mich ganz herzlich für die exzellente Betreuung, seine stete Diskussionsbereitschaft und kompetente Hilfe bedanken.

Herrn PD Dr. G. Schmahl, Frau H. Goldbach-Gecke, Frau M. Nissen, Frau S. Walter, Frau N. Conrad und Herrn S. Köhler danke ich für ihre Hilfsbereitschaft und Unterstützung.

Meiner Schwester Sanja danke ich für ihre Hilfe bei der HPLC-MS.

Allen Doktoranden und Diplomanden danke ich für ihre Hilfe und die nette Zeit am Institut.

# Selbstständigkeitserklärung

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

Berlin, den 27.06.2009

Nina Locher