

# Modstands- dygtige fluer

Insekter kan hurtigt udvikle resistens overfor gifte, og derfor er det vigtigt at bruge insektmidler med omtanke. Den lære kan man drage af dette eksempel på udvikling af resistens i en population af stuefluer, hvor mekanismen er knyttet til kønnet, så kun hunnerne er resistente.

## Forfattere:



Dorte H. Højland er postdoc; dorte.hoejland@agrsci.dk



Karl-Martin Vagn Jensen er seniorforsker; karl-martinv.jensen@agrsci.dk



Michael Kristensen er lektor; michael.kristensen@agrsci.dk

Alle ved Institut for Agroøkologi, Flakkebjerg, Aarhus Universitet,

Stuefluen (*Musca domestica*) er for de fleste bare et irritationsmoment, men den kan også overføre sygdomsfremkaldende bakterier fra affald til menneskers og dyrs mad. Det gør stuefluen til potentielle smittespredere af alvorlige bakterier som salmonella og campylobacter. Til bekæmpelse af fluer benytter man bl.a. kemiske insektmidler. Men hvis man ikke passer på, kan fluerne udvikle resistens lige som man kender det fra bakterier, som kan modstå behandling med antibiotika.

Når man snakker om resistens i biologisk sammenhæng, betyder det, at en population har en arvelig modstandskraft som følge af genetisk tilpasning. Tilpasningen skyldes et *selektionspres* som fx kan være, at populationen er udsat for kemisk bekæmpelse.

Når der opstår problemer med resistens overfor en insektgift, kan man opnå bedre effektivitet ved at benytte et insektmiddel med en anden virkningsmekanisme. Dog er det ikke altid muligt, fordi der måske ikke findes et velegnet middel med en anden virkningsmekanisme. I yderste konsekvens må dette udvikles, hvilket er en meget dyr og tidkrævende proces.

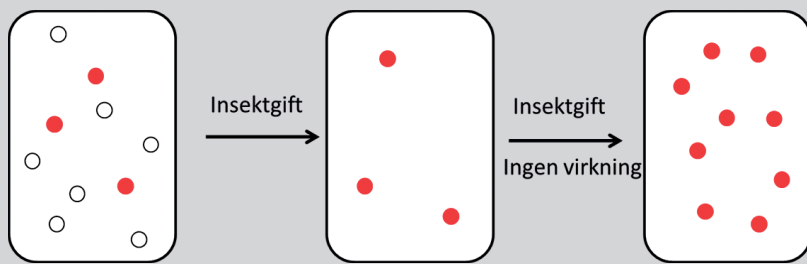
Stuefluen er en velegnet organisme til at studere resistensudvikling, da den har en kort generatiónstid (ca. 2 uger) og et højt formeringspotentiale (500 æg pr. hun). Få individer kan derfor hurtigt blive til mange, hvis man ikke bekæmper dem.

## Resistensmekanismer

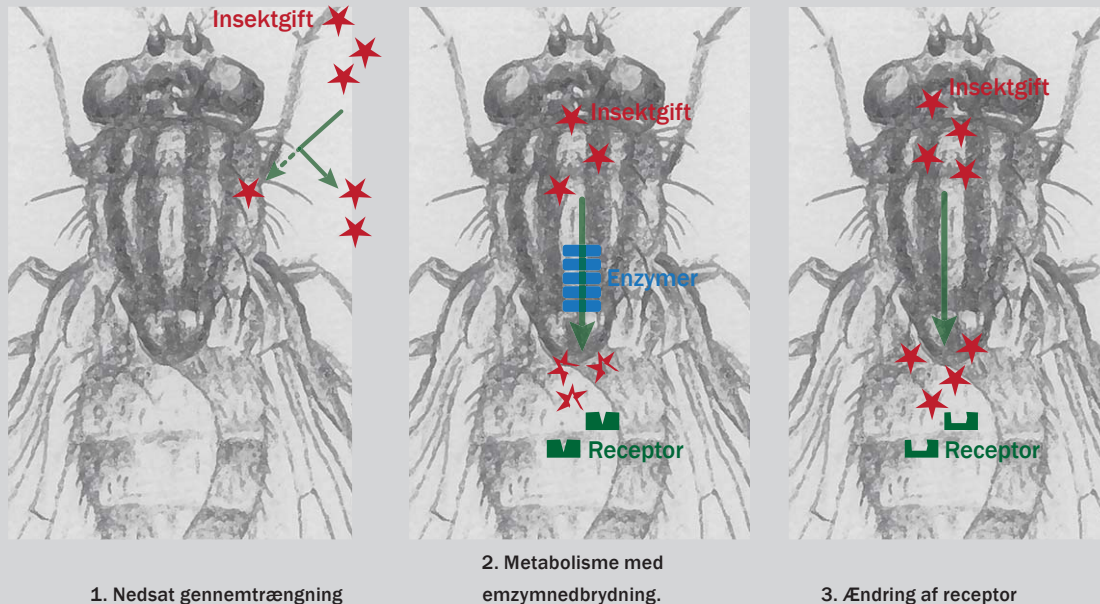
En insektgift skal overleve nogle trin, før det virker. Giften skal igennem fluens hårde overflade eller optages fra tarmen og nå frem til den rigtige receptor, inden den bliver nedbrudt af forskellige enzymer. En insektgift og en receptor skal passe sammen som en nøgle i en lås, før insektgiften virker.

Én resistensmekanisme er, hvis det bliver sværere for giften at komme igennem den ydre skal (nedsat gennemtrængning). Så vil der være mindre gift inde i fluen, hvilket gør det nemmere for afgiftningens enzymer at nedbryde giften, inden den når sit mål. En anden mekanisme er, hvis mængden af nedbrydningsenzymer øges i fluen (metabolisme), så alt giften kan nedbrydes.

Sidst, men ikke mindst, er en tredje mekanisme, at der kan ske ændringer i den receptor, som insektgiften skal binde til og reagere med (target-site-resistens). En strukturel ændring i den receptor kan



Resistens spreder sig ved uhensigtsmæssig brug af insektgifte. Når en population af fluer udsættes for en insektgift, vil der muligvis være nogle overlevende resistente fluer (rød cirkel), hvorimod de følsomme fluer (hvid cirkel) vil dø. De resistente fluer formerer sig og man kan ikke længere bekæmpe dem med den pågældende insektgift.



Resistensmekanismer: Resistens i fluer mod insektgifte kan skyldes at

- 1) giften ikke (eller kun langsomt) trænger gennem fluens ydre,
- 2) enzymnedbrydning af insektgiften eller
- 3) en ændring i receptoren, så insektgiften ikke længere kan binde til receptoren.

medføre, at låsen og nøglen ikke længere passer sammen, og insektgiften mister derved sin dødelige effekt. Flere af disse faktorer kan være involveret i resistens i den samme flue, men der vil ofte være én primær mekanisme. I forskellige fluepopulationer har man fundet eksempler på alle tre typer.

### Måling af resistensniveau

For at få en idé om bekæmpelsespotentialet for en insektgift kan man teste resistensniveauet af fluer med den pågældende insektgift. Sådanne undersøgelser kan udføres på forskellige måder, alt efter om man ønsker at undersøge giftigheden, når en flue går på insektmidlet, får det ud over kroppen (som ved en spray) eller spiser det. Man udsætter fluerne for forskellige koncentrationer af insektgift, som sammenlignes med en gift-fri kontrol. Efter et bestemt antal timer tælles antallet af døde fluer. Jo stærkere koncentration af insektgift, fluerne kan tåle, jo mere resistente er de. På den måde kan man få et mål for resistensen, som kan sammenlignes mellem forskellige populationer af fluer.

Man har ved indsamlinger af fluer mange forskellige steder i Danmark fået en idé om, hvor der er problemer med kemisk bekæmpelse, og hvor der er sket ændringer siden sidste undersøgelse. Med

sådanne undersøgelser kan man holde øje med resistensudviklingen og komme med anbefalinger til at mindske selektionspresset – dvs. begrænse brugen af en given insektgift. Ved at holde selektionspresset på fluerne på et minimum kan man til en vis grad undgå resistensudvikling.

I en resistensundersøgelse i 1997 fandt man på en gård på Sjælland en population af fluer (kaldet 791a), hvor hunnerne var resistente overfor en relativ ny insektgift, Spinosad, mens hannerne var følsomme. Det var på trods af, at fluerne ikke havde været i kontakt med insektgiften før.

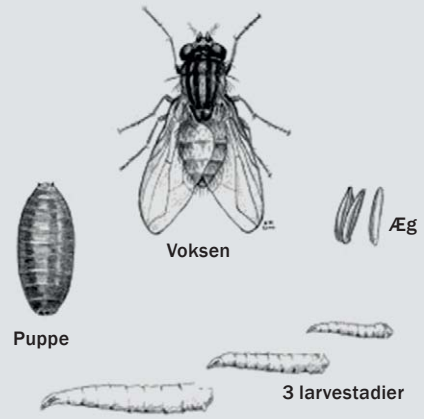
Vi gik i gang med at undersøge, hvad der ligger til grund for den kønsinddelte resistens, idet man ikke har set det i andre fluepopulationer. Første skridt var at kigge på, hvad der bestemmer kønnet i fluepopulationen. Det kunne tænkes, at kønsbestemmelse og resistensmekanismen er forbundet, hvilket ville vise sig i resistente hunner og følsomme hanner.

### Fluer med M-faktor

For mennesker gælder det, at vi har 23 kromosompar, inklusiv ét kønskromosompar. Det vil sige, at mænd har XY og kvinder har XX som kønskromosompar. Fluer har kun 6 kromosompar, hvor

## Stuefluens livscyklus

Fluer findes over hele verden, hvor de er tro følgesvende til mennesker. De fleste af de fluer man møder i huse, er stuefluer. Stuefluen er 8-9 mm lang, med et vingefang på ca. 13 mm. En hun-flue vil allerede som to dage gammel lede efter et passende sted at lægge sine æg, når hun er blevet befrugtet. Hun lægger flere portioner af æg (100 æg/portion) i frisk mødding eller gærende plantemateriale, og allerede efter 6-8 timer klækker æggene, og små blege larver kommer frem. På mindre end en uge vokser de bevægelige, hvide larver sig 10-12 mm store, og herefter forpupper de sig. De 5-6 mm lange brune, tøndeformede pupper er ubevægelige og kan ikke som larverne kravle til bedre betingelser - fx mere ilt eller en mere passende temperatur. Når fluerne er brudt ud af puppen, parrer de sig, og efter nogle få dage kan hunfluen begynde at lægge æg. Gennemsnitslevetiden for de voksne fluer er om sommeren mindre end en uge, dog kan en vinter-flue leve mere end en måned. Hele udviklingen fra æg og til voksen flue tager en til to uger afhængig af temperatur og andre forhold i gødningen. I Danmark bekæmpes voksne fluer normalvis med ædegifte, som virker på deres nervesystem. Dog er god hygiejne samt håndtering af møddinger den



bedste måde at bekæmpe fluer på. Ved at sætte insektnet for vinduer og døre i sommermånederne, vil man kunne forhindre mange fluer i at komme ind i huset. Det kan især være relevant i huse, der ligger tæt på fx landbrug med husdyr eller rideskoler. I tilfælde af mødding kan man dække den med en presenning, hvilket er en meget effektiv metode til at forhindre flueudvikling. Presenningen forhindrer gødningsvarmen i at slippe væk, så temperaturen stiger i møddingen. Ved temperaturer over 45 °C dør fluelarver og pupper.

det ene er et kønskromosompar. Kønnen i stuefluer er bestemt af en han-faktor (M), som normalt sidder på Y-kromosomet, så han-fluer har XY og hun-fluer har XX som kønskromosompar. Når M-faktoren ikke er til stede, udvikles fluen som en hun. Mærkeligt nok kan M-faktoren i fluer også sidde på et af de andre kromosompar (I-V). Det betyder, at Y-kromosomet mister sin kønsbestemmende funktion og forsvinder ved selektion fra populationen. Der finder altså han-fluer rundt om i verden uden et Y-kromosom. Det medfører, at både hanner og hunner har XX som kromosompar, og hannerne har en M-faktor.

Hvis der er én M-faktor til stede bliver kønsfordelingen ligelig mellem hanner og hunner, idet halvdelen af afkommet vil få en M-faktor fra deres far. Ved at bibeholde en nogenlunde ligevægt mellem kønnene beskytter populationen sig bedst imod pludselige ændringer i miljøet, såsom insektgifte eller sygdomme. Der kan også være flere M-faktorer i hanner, og hvis det er tilfældet, er der også en hun-faktor (kaldet  $F^D$ ) involveret for at opnå ligevægten. Denne faktor  $F^D$  er stærkere end tre M-faktorer, så i teorien kan en hun-flue have tre M-faktorer og én  $F^D$ -faktor. Men hvis fluen ikke har en  $F^D$ -faktor, vil én M-faktor være nok til at gøre fluen til en han. Det har vist sig, at placeringen af M-faktoren på kromosomet bl.a. afhænger af, hvor fluen lever. Der er en tendens til, at fluer, der lever omkring Ækvator har M-faktoren siddende på kromosom I-V, hvorimod fluer i det nordlige Europa, Japan og USA har M-faktoren på Y-kromosomet.



<b>aabys fluen</b>	
I	Kurvete vinger
II	"Perler på en snor" antenner
III	Brun krop
IV	Gule øjne
V	Hakkede vinger

<b>791a</b>	
	Lige vinger
	Buskede antenner
	Sort krop
	Røde øjne
	Afgrænsede vinger

**Kønsbestemmelse:** aabys fluen (tv) har et recessivt fænotypisk kendetegn på hver af de fem kromosomer, som adskiller sig fra vildtypefluen (th).

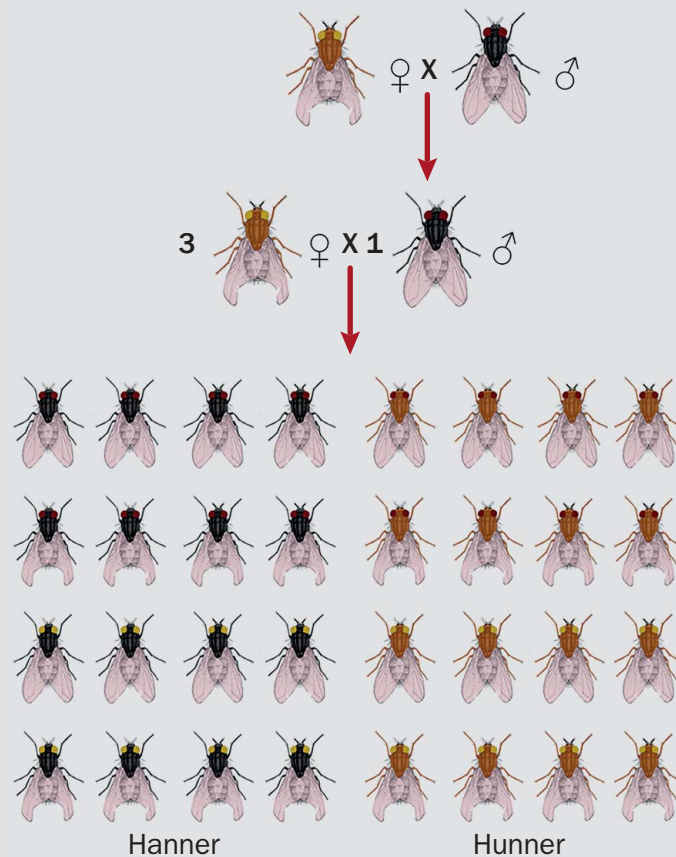
### Krydsningsforsøg

I vore undersøgelser har vi brugt en indavlet fluestamme kaldet aabys. Navnet stammer fra de fem kendetegn, fluen har, som er forbundet til hvert af de fem kromosompar (I-V). Det er kun kønskromosomparret, der ikke har et kendetegn forbundet til sig. I det kendetegnene er recessive, kommer hvert enkelt kendetegn kun til udtryk, hvis et afkom arver det fra både far og mor.

Ved at krydse aabys-stammen med fluer fra populationen 791a (hvor der var en kønsbestemt forskel

## Krydsningsforsøg

Først krydses aabys-hunner med 791a-hanner (øverst). 25 hanner fra afkommet krydses dernæst med hver tre aabys-hunner til bestemmelse af placering af han-faktoren M i den danske 791a-fluestamme. Ved det kryds får man en udspaltning, som viser alle 32 mulige kombinationer af de fem kendetegn. Alle hunner efter det andet kryds (nederst th) har en brun krop, og alle hanner har en sort krop (nederst tv), så M faktoren sidder på kromosom III, som styrer kropsfarven.



på resistensen overfor sprøjtemidlet Spinosad) er det muligt at bestemme, hvor M-faktoren befinder sig. Lidt forenklet går disse forsøg ud på først at krydse aabys-hunner med 791a-hanner, som har såkaldte vildtype-kendetegn på alle kromosomer. Alt afkom vil af udseende ligne deres far (vildtype-kendetegn), men have en dominant vildtype-kopi og en recessiv aabys-kopi af hvert kromosom.

Næste trin er at krydse hannerne i afkommet med aabys-hunner. Det giver i teorien 32 forskellige kombinationer af de fem kendetegn ( $2^5 = 32$ ). I det afkom kigger man på, om der er et af kendetegnene, som *kun* findes i enten hanner eller hunner. Hvis det er tilfældet, sidder M-faktoren på det kromosom. Hvis alle kendetegn findes i begge køn, sidder M-faktoren sandsynligvis på Y.

I vores forsøg havde alle hanner en sort krop og alle hunner en brun krop. Det betyder, at M-faktoren i 791a sidder på kromosom III, som styrer kropsfarven. Det er første gang, at man har opdaget danske fluer, hvor M-faktoren *ikke* sidder på Y kromosomet.

Når M-faktoren sidder på kromosom III, kunne vi udlede, at resistensmekanismen også sidder på kromosom III, idet det er her, kønnene er forskellige. Vi mener, at resistensen i 791a skyldes nedbrydning af insektgiften, så vi har bl.a. kigget på et bestemt nedbrydningsenzym, som også sidder på kromosom III. Vi kiggede på, om der

var forskel i genudtrykket af genet, som koder for nedbrydningsenzymet. Her var der en forskel på genudtrykket mellem hanner og hunner, men desværre har vi ikke med sikkerhed fundet det ansvarlige enzym endnu, idet der skal flere undersøgelser til, for at det endegyldigt kan bevises.

### Gift skal bruges med omtanke

Vore undersøgelser med 791a-fluer viser, hvor hurtigt en population af fluer kan tilpasse sig til fx at kunne modstå insektmidler. Det kan dog være omkostningsfuldt for fluer at bibeholde resistensen, så hvis man fjerner selektionspresset (dvs. holder op med at bruge insektmidlet) vil fluerne måske blive følsomme overfor insektmidlet igen, fordi det er en fordel for fluen ikke at bruge energi på at bekæmpe en trussel, som ikke er der. Man kan altså sige, at selektionspresset kan virke "begge veje", og det er derved i princippet muligt at fjerne resistensen fra en population af fluer igen. Men det kræver selvfølgelig, at der stadig er følsomme fluer i populationen.

Vore undersøgelser understreger også det faktum, at det ikke er muligt at udvikle nye stoffer i samme hastighed, som insekterne udvikler resistens imod dem. Det er derfor nødvendigt at finde metoder, hvor man kan blive ved med at genbruge velkendte insektgifte. Det har også den fordel, at vi kender langtidsvirkningerne på mennesker, dyr og miljø, hvor langtidsvirkningerne af nye insektmidler er ukendte. ■

Videre læsning:

Højland D.H., Scott J.G., Jensen K-M.V., Kristensen M.(2013). Autosomal male determination in a spinosad resistant house fly strain from Denmark. *Pest Manag Sci*. DOI: 10.1002/ps.3655

Højland D.H., Jensen K-M.V., Kristensen M.(2014). Adaptation of *Musca domestica* L. field population to laboratory breeding causes transcriptional alterations. *PLOS ONE*. DOI: 10.1371/journal.pone.0085965

Mourier H.(1995). *Husets dyreliv*. Gads Forlag. ISBN: 87-12-02424-4

Retningslinjer for flue-bekæmpelse i beboelse. [www.dpil.dk/dpil2005/html/stueflueribeboelse.htm](http://www.dpil.dk/dpil2005/html/stueflueribeboelse.htm)