

**Subletale Wirkungen von Fenvalerat auf Non-Target-
Insekten nach Kurzzeitexposition:
Morphologische und physiologische Effekte bei
Drosophila melanogaster Meigen (1830)**

Doktorarbeit

Anfertigt am Institut für Biologie /Abteilung Tierphysiologie

Naturwissenschaftliche Fakultät I –

Biowissenschaften

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

zur

Erlangung des Doktorgrades

der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

vorgelegt von

Dipl.-Agr.-Ing. Abdul Munem Al Hafez

Geboren am 12.01.1978, in: Aleppo/Syrien

Gutachter:

1. Prof. Dr. H.-J. Ferenz, Universität Halle
2. PD Dr. habil. Matthias Liess, Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung
3. Prof. Dr. Gunter Reuter, Universität Halle

Verteidigt am 21.08.2013

Inhaltsverzeichnisse

Abkürzungsverzeichnis.....	1
1 Einleitung.....	2
1.1 Pyrethrum und Pyrethroide	2
1.2 Mechanismen der Toxizität von synthetischen Pyrethroiden	3
1.2.1 Wirkungen auf den neuronalen Membran	3
1.2.2 Die Wirkung auf Natrium-Kanäle	3
1.3 Die Effekte von subletalen Dosen von synthetischen Pyrethroiden	4
1.3.1 Effekte auf physiologische Funktionen	6
1.3.2 Effekte auf die biochemische Funktionen	7
1.3.3 Effekte auf die genetischen Funktionen	8
2 Material und Methoden.....	10
2.1 Die Haltung von <i>Drosophila melanogaster</i>	10
2.2 Futtersubstrat	10
2.3 Fenvalerat.....	10
2.4 Fenvalerat-Applikation	11
2.4.1 Tauchenversuche	11
2.4.2 Insektizid-Futter-Mischung	11
2.5 Datenerfassung	12
2.6 Ovargewicht, Ovariolenzahl und Ovarlänge-und Breite.....	13
2.7 Chemikalien	13
2.8 Proteinbestimmung	13
2.9 Lipidbestimmung.....	14
2.10 Kohlenhydratbestimmungen	14
2.10.1 Glykogengehalt.....	14
2.10.2 Trehalosegehalt.....	14
2.11 Messung der Herzschlagfrequenz	14
2.12 Fenvaleratbestimmungen.....	15
2.13 Bestimmung von DNA und RNA	15
2.13.1 DNA	15
2.13.2 RNA.....	16
2.14 Auswertung	16

3 Ergebnisse.....	17
3.1 Morphologische Befunden	17
3.1.1 Tauchversuche	17
3.1.1.1 Mortalität	17
3.1.1.2 Körper-, Flügel- und Puppenlänge	17
3.1.1.3 Gewicht.....	18
3.1.1.4 Das Volumen und Anzahl der Eier, Puppenzahl	19
3.1.2 Futtermittelversuche	21
3.1.2.1 Mortalität	21
3.1.2.2 Körper-, Flügel- und Puppenlänge	22
3.1.2.3 Gewicht.....	24
3.1.2.4 Eizahl und Puppenzahl	24
3.1.2.5 Eivolumen.....	26
3.1.2.6 Auswirkungen von Fenvalerat auf das Larvengewicht	27
3.1.2.7 Auswirkungen auf die Morphologie.....	28
3.1.2.8 Ovargewicht	28
3.1.2.9 Ovariolen	29
3.1.2.10 Ovargröße	30
3.1.2.11 Geschlechterverhältnis	31
3.1.3 Die Auswirkungen auf die Nachkommen	32
3.1.3.1 Körper- Flügellänge und Puppenlänge:.....	32
3.1.3.2 Gewicht.....	34
3.1.3.3 Eizahl.....	35
3.1.3.4 Eivolumen.....	36
3.2 Physiologische Effekte.....	36
3.2.1 Glykogengehalte.....	36
3.2.1.1 Glykogengehalte der Puppen.....	36
3.2.1.2 Glykogengehalte der Adulten.....	38
3.2.2 Trehalosegehalte	39
3.2.2.1 Trehalosegehalte der Puppen.....	39
3.2.2.2 Trehalosegehalte der Adulten.....	41
3.2.3 Herzfrequenz in der Puppe	42
3.2.4 Lipidgehalte	44
3.2.4.1 Lipidgehalte der Puppen.....	44
3.2.4.2 Lipidgehalte der Adulten.....	45
3.2.4.3 Lipidgehalt der Eier	46
3.2.5 Proteingehalte	47
3.2.5.1 Proteingehalte der Puppen.....	47
3.2.5.2 Proteingehalte der Adulten	48

3.2.5.3 Proteingehalte der Eier	49
3.3 Fenvaleratbestimmungen.....	51
3.4 Biochemische Effekte	51
3.4.1 DNA -Gehalt	51
3.4.2 RNA-Gehalt.....	52
3.4.3 RNA/DNA.....	54
3.4.4 RNA/Protein.....	54
3.4.5 DNA/Gesamtgewicht.....	55
3.4.6 RNA/Gesamtgewicht.....	56
3.4.7 Protein/Gesamtgewicht.....	57
3.5 Die mögliche epigenetische Effekte auf Isogeneline	58
3.5.1 Mortalität	58
3.5.2 Entwicklung der F0 Generation.....	59
3.5.3 Entwicklung der F1-Generation unter Hungerstressbedingungen	61
4 Diskussion.....	64
4.1 Mortalität	64
4.2 Morphometrische und quantitative Befunde.....	64
4.3 Physiologische Grundlagen der morphologischen Effekte	72
4.4 Biochemische Effekte	77
4.5 Die Untersuchung der Isogenen Linien	80
5 Zusammenfassung.....	82
6 Referenzen	85
7 Anhänge.....	i
7.1 Eidesstattliche Erklärung.....	vii
7.2 Danksagung	viii
7.3 Lebenslauf.....	ix

Abkürzungsverzeichnis

BSA	Rinderserumalbumin, bovine serum albumine
CA	corpora allata
CAPs	Cardioacceleratory
CC	corpora cardiaca
DDT	Dichlorodiphenyltrichloroethane
DILPs	<i>Drosophila</i> insulin-like peptides
DMSO	Dimethyl-Sulfoxid
20E	20-Hydroxyecdysone
F0	Elterngeneration
F1	erste Tochtergeneration
FBP1	Fettkörper protein 1
GABA	γ -Aminobuttersäure
JH	Juvenilhormon
K	die Kontrolltiere
Konz.	Konzentration
LC1	Letale Konzentration, bei der 1 % der Betroffenen sterben
LD50	Letale Dosis, bei der 50 % der Betroffenen sterben
LD1	Letale Dosis, bei der 1 % der Betroffenen sterben
LSP	Larven Serumproteine
MNC	median neurosecretory cells
N	unbehandeltes grünes Futter
ppb	Part per Billion
ppm	Part per million
rpm	Umdrehungen pro Minute, rounds per minute
RT	Raumtemperatur
TAG	Triacylglycerol
Vg	Vitellogenin
♂ T	behandelte Männchen
♂ U	unbehandelte Männchen
♀ T	behandelte Weibchen
♀ U	unbehandelte Weibchen
♂ T x ♀ T	Verpaarung behandelter Männchen und Weibchen
♂ U x ♀ T	Verpaarung unbehandelter Männchen mit behandelten Weibchen
♂ T x ♀ U	Verpaarung behandelter Männchen mit unbehandelten Weibchen
♂ U x ♀ U	Kontrolle: Verpaarung unbehandelter Männchen und Weibchen
1:5	1g normalen Futters wurden mit 4g Agar (1g Agar auf 100 ml Wasser) gemischt
1:10	1g normal Futter wurden mit 9g Agar (1g Agar auf 100 ml Wasser) gemischt

1 Einleitung

1.1 Pyrethrum und Pyrethroide

Insekten können enorme Schäden in der Lebensmittelprodukten des Menschen verursachen. Auch als Vektor für Krankheiten bedrohen sie häufig den Menschen. Bei der Suche nach geeigneten Bekämpfungsmitteln stiess man auf natürliche pflanzliche Abwehrstoffe wie Pyrethrum. Die insektiziden Eigenschaften getrockneter Chrysanthemenblüten sind bereits seit mindestens 2000 Jahren bekannt. Die Wirkstoffe sind natürliche Pyrethrine, die in den Blüten der Dalmatinischen Insektenblume (*Tanacetum cinerariifolium*) vorkommen (auch als *Chrysanthemum cinerariaefolium* oder *Pyrethrum cinerariaefolium* bekannt) und bereits seit dem Altertum zur Bekämpfung von Schadinsekten wie Schaben, Stubenfliegen und Mücken verwendet werden. Die chemischen Grundlagen wurden zuerst von Staudinger und Ruzicka (1924) beschrieben (Siehe Elliott et al., 1967). Pyrethrine (die Inhaltsstoffe von Pyrethrum sind) bestehen aus sechs Komponenten: Pyrethrin I und II, Jasmolin I und II und Cinerin I und II. Die exakte Stereochemie wurde vor wenigen Jahrzehnten analysiert (Chamberlain et al., 1998). Daraufhin konnten Pyrethrum-ähnliche Wirkstoffe synthetisiert werden. Viele synthetische Pyrethroid-Insektizide, die derzeit eine der wichtigsten Insektizidgruppen umfassen, sind weltweit zur Kontrolle von Vorratsschädlingen und von landwirtschaftlichen Schädlingen im Einsatz (Chamberlain et al., 1998). Neben der Erforschung der Struktur des Pyrethrins wurde in vielen Laboren großer Aufwand betrieben, um durch Änderung der Struktur die chemischen Eigenschaften zugunsten einer Umweltstabilität sowie einer besseren biologischen Wirkung (höhere selektive Toxizität) zu optimieren (Krieger et al., 2010).

Pyrethroide sind heute eine umfangreiche Klasse von mehr als 1000 leistungsstarken Insektiziden, die strukturell den natürlichen Pyrethrinen ähneln (Müller-Beilschmidt, 1990). Obwohl sie auf der chemischen Struktur und biologischen Aktivität der Pyrethrine basieren, hat die Entwicklung der synthetischen Pyrethroide durch umfangreiche chemische Modifizierungen zur Folge, dass diese Verbindungen toxischer sein können. Handelsübliche Produkte, die nur geringe Mengen von Pyrethroiden enthalten und eine breite Anwendung finden, stellen allerdings eine Gefahr für die Umwelt dar. In höheren Konzentrationen, wie sie in der Landwirtschaft Anwendung finden, dürfen sie daher nur eingeschränkt angewendet werden (EPA, 2000). Die Pyrethroide sind sehr giftig für aquatische Organismen (z.B. Fische) und auch für Nutzinsekten wie Bienen. Sie können in die Nahrungskette gelangen und bei sogenannten „Non-target-Organismen“ Schäden verursachen (Waliszewski et al., 2003). Pyrethrine und Pyrethroide werden mit Verbindungen wie Piperonylbutoxid, Piperonylsulfoxid und Sesamex vermischt, um die Wirksamkeit des Insektizids zu erhöhen. Sie wirken als Synergisten, indem sie den Abbau der Pyrethrine im Zielorganismus verhindern. Ohne Synergisten werden Pyrethrine von Insekten schnell enzymatisch entgiftet (Wilkinson, 1971). Oft überlebt daher das zunächst gelähmte Insekt nach Pyrethroid-Behandlung und die neurologischen Funktionen erholen sich. Die Synergisten selbst sind relativ ungiftig (Wilkinson, 1971).

1.2 Mechanismen der Toxizität von synthetischen Pyrethroiden

1.2.1 Wirkungen auf den neuronalen Membran

Zum Verständnis der Wirkung auch subletaler Dosen der Pyrethroide seien hier die bekannten Wirkmechanismen dargestellt. Pyrethrine und Pyrethroide sind Neurotoxine. Ihre Wirkungen in Schädlingen (Insekten) und Nicht-Zielorganismen (z.B. Säugetiere) sind ähnlich; sie wirken auf Natriumkanäle und auf neuronale Membran. Durch ihren schnelleren Stoffwechsel bei einer höheren Körpertemperatur und einer geringeren Empfindlichkeit der Zielgewebe besitzen Säugetiere eine höhere Resistenz gegenüber Pyrethroiden (Song et al., 1996).

Zellmembranen bestehen aus einer Lipiddoppelschicht (Phospholipid und Cholesterine) und Proteinen, die in die Membran eingebettet sind. Membranproteine haben verschiedene Funktionen wie Transporter, Rezeptor und Ionenkanäle. Die Fluidität der Membran hängt von Cholesteringehalt und der Orientierung der Phospholipide-Molekülen in der Membran ab (Macdonald et al., 1988). Synthetische Pyrethroide verändern das Anordnen von Phospholipiden, das passt zu der Möglichkeit, dass die Insektizide in der Lipiddoppelschicht akkumulieren können und Funktionsstörungen sowie –Instabilität und Veränderungen der Membranfluidität hervorrufen (Tähi et al., 1999; Kakko, 2004). Die Lipophilie von Pyrethroiden ermöglicht ihren schnellen Zugang zu Geweben, einschließlich des Nervensystems und den Einbau in die Zellmembranen der Nervengewebe (Aldrige, 1990).

1.2.2 Wirkung auf Natrium-Kanäle

Spannungsgesteuerte Natriumkanäle spielen eine wichtige Rolle bei der Regulierung der neuronalen Erregbarkeit im gesamten Nervensystem. Gemeinsam mit anderen Arten von Ionenkanälen tragen sie zur Initiierung, Generierung und Ausbreitung von Aktionspotentialen bei und können die Erregbarkeit modulieren. Sie sind für die Funktion der meisten erregbaren Zellen sehr wichtig (Hildebrand et al., 2011). Die primäre Pyrethroid-Wirkung bei Insekten und Säugetieren ist die Störung der VSSC-Funktion (voltage-sensitive sodium channel) (Lund et al., 1982). Pyrethroide verlangsamen die Aktivierung oder das Öffnen von VSSCs. Darüber hinaus verlangsamen sie die Rate der VSSC-Inaktivierung und Verlagerung zu hyperpolarisierten Membranpotentialen, bei denen VSSCs aktiviert werden (Narahashi, 1996). Im Allgemeinen verzögern Typ-II-Pyrethroidedie Inaktivierung von VSSCs wesentlich länger als Typ-I-Verbindungen (Shafer et al., 2005). Typ-I-Verbindungen verlängern die Kanalöffnung und verursachen sich wiederholende Aktionspotentiale (repetitive Entladung), während Typ II-Verbindungen die Kanäle für so lange Zeitraum offen halten, dass das Membranpotential soweit depolarisiert wird, bis die Generation von Aktionspotentialen nicht mehr möglich ist (depolarisationsabhängiger Block) (Abb.1) (Shafer et al., 2005). Die Auswirkungen sind als Typ-I-T-Syndrom und Typ-II als CS-Syndrom bekannt (Ray, 2001).

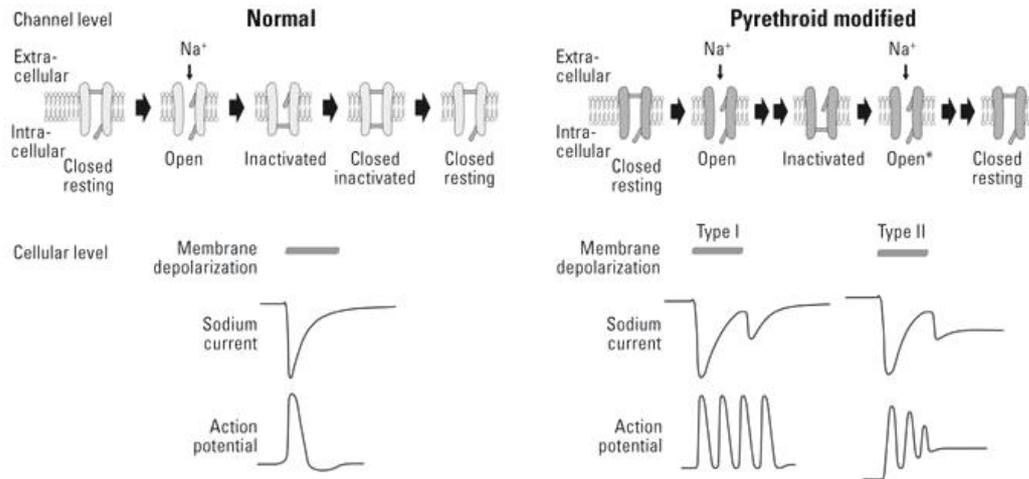


Abb.1-1: Die Effekte von Typ I- und II-Pyrethroiden auf die Natriumkanäle im Vergleich zur normalen Situation (aus Shafer et al., 2005).

Neben Natrium-Kanälen wurden auch andere Zielorte zur Giftwirkung vorgeschlagen. Die komplexe Natur der Wirkung von Pyrethroiden auf das zentrale Nervensystem führt z.B. auch zu einer durch γ -Aminobuttersäure (GABA) vermittelte Hemmung, einer Modulation der cholinergen Transmission von Nikotinsäure, einer Steigerung der Noradrenalin-Freisetzung oder zu direkten Auswirkungen auf Calcium- oder Chlorid-Ionen-Kanäle (Eells et al., 1992). Sie hemmen Acetylcholin, aktivieren damit den Calcium-Fluss und verlangsamen die Desensibilisierung der Nikotinsäure-Rezeptoren (Sherby et al., 1986). Solche neuronalen Effekte von Pyrethroiden (wie z.B. Fenvalerat) könnten bereits in subletalen Konzentrationen in Non-Targets morphologische, physiologische oder epigenetische Auswirkungen haben. Deshalb wurden in in der vorliegenden Studie mögliche Auswirkungen von subletalen Fenvalerat-Dosen auf *Drosophila* geprüft.

1.3 Die Effekte von subletalen Dosen von synthetischen Pyrethroiden

Fenvalerat [(RS) (α -cyano-3-phenoxybenzyl) (RS) 2-(4-chlorophenyl)-3-methylbutyrate] ist die am weitesten verbreitete Verbindung von synthetischen Pyrethroiden (Clark et al., 1985).

Es zeigt eine hohe Stabilität gegenüber Licht, Hitze und Feuchtigkeit, wird aber in alkalischen Medien instabil, da die Esterbindung hydrolysiert wird. Fenvalerat löst sich in unpolaren Lösungsmitteln wie Aceton, DMSO-, Kerosin, Xylol, Hexan, Methanol, Chloroform u.a., in Wasser ist es nur wenig löslich). Es wird seit ca. 40 Jahren produziert und in Innenräumen gegen verschiedene Arthropoden eingesetzt. Durch seine Phenoxybenzylalkohol-Gruppe ist es photostabil und besonders aktiv. Fenvalerat ist sehr giftig für Fische, aber auch für andere Lebewesen wie Bienen (*Apis mellifera*) (Clark et al., 1985). Unter Feldbedingungen hat Fenvalerat im Boden eine Halbwertszeit von einem Monat. Es ist unter sauren Bedingungen und bis 75°C stabil gegen Hydrolyse (ca. 100 Stunden); bei Photolyse im Wasser hat eine Halbwertszeit von 500 Stunden (Gray et al., 1985).

Neben der unmittelbaren, letalen Toxizität wurden auch verschiedene subletale toxische Auswirkungen auf Schädlinge gesehen (Singh et al., 2004). Subletale Effekte werden als Änderungen in Physiologie, Entwicklung oder Verhalten bei Insekten beschrieben, die nach einer Behandlung mit Pestiziden überlebt haben (Desneux et al., 2007). Physiologische Wirkungen beinhalten die Einteilung in: Lebensdauer (Stark et al., 1994), der Entwicklungsrate (Cripe et al., 2003), der Fertilität (Liu et al., 2005), der Fruchtbarkeit (Zalzniaik et al., 2006), die Änderungen im Geschlechterverhältnis (Couty et al., 2001), usw. Verhaltensstörungen umfassen Veränderungen in der Nahrungsaufnahme (Stapel et al. 2000), olfaktorischen Lernen (ElHassani et al., 2005), die Wanderung (Stark et al., 2003) und Eiablage (Fujiwara et al., 2002).

Wenn die Kohlschabe (*Plutella xylostella*) mit Fenvalerat in den Konzentrationen LC20, LC50 und LC80 vorbehandelt wurde, waren die Verpuppungsrate, Puppengewicht, Geschlechter-Verhältnis, Fruchtbarkeit und Juvenilhormonesterase- Aktivität der getesteten Insekten verringert (Hui et al., 2010; Yin et al., 2008). Die behandelten Tiere legten kleinere Eier von geringerer Vitalität und die daraus hervorgegangenen Adulten reproduzierten sich (Fujiwara et al., 2002). Dai et al. (2010) zeigte, dass die Pyrethroide Bifenthrin als auch Deltamethrin deutlich die Fruchtbarkeit von Bienen reduzierten.

Für verschiedene Insektizide konnte gezeigt werden, dass niedrige Dosen eine verzögerte Mortalität bewirkten und bei überlebenden Tieren die Physiologie und das Verhalten der kontaminierten überlebenden Insekten beeinflusst waren (Moriarty, 1969). Spätwirkungen subletaler Insektizidmengen auf Non- Target- Insekten sind jedoch kaum untersucht und finden keine Berücksichtigung bei der Festlegung von Grenzwerten. Diese Studie soll deshalb modellhaft an *D. melanogaster* solche subletalen Spätwirkungen und ihre physiologischen Ursachen untersuchen. Für grundlegende und anwendungsorientierte entomologische Untersuchungen ist *Drosophila* besonders geeignet, weil sie als Modellorganismus sehr gut etabliert ist. Durch schnelle Verfügbarkeit und leichte Haltung, einem vollständig sequenzierten Genom und frei verfügbaren Ressourcen eignet sie sich für diese Studie besonders. Wegen der kurzen Generationsdauer sind mögliche Spätwirkungen von Pestiziden zeitlich leicht zu erfassen.

Synthetische Pyrethroide haben lipophile Eigenschaften. Sie werden im Fettgewebe von Organismen gespeichert (Karatat et al., 2009). Eine erneute Aktivierung und Wirkung gespeicherter Pestizide wurde bei einigen Insekten festgestellt (Chelliah et al., 1980). Solche Spätwirkungen zusätzlich zur letalen Dosis können die Effektivität von Insektiziden erhöhen durch eine Verringerung des reproduktiven Potenzials, fraßhemmend wirken oder die Insekten veranlassen, behandelte Flächen zu vermeiden. Synthetische Pyrethroide zeigen solche Wirkungen und führten zu besseren Ergebnissen als für die LD50-Werte erwartet wurde (Armstrong et al., 1985). Die subletalen Auswirkungen des Pyrethroids Beta-cyfluthrin wurden bei *D. melanogaster* (Sepia-Mutante) in der F1-Generation analysiert, wobei die Eltern dieser F1-Generation zuvor in verschiedenen Kreuzungs- Kombinationen subletalen Konzentrationen von Beta-Cyfluthrin in der Nahrung ausgesetzt waren (Nadda et al., 2005). Subletale Folgen von Pyrethroidbelastungen machen sich möglicherweise erst in Stresssituationen und bei zusätzlichen Belastungen bemerkbar. In der vorliegenden Studie wurden solche Stresssituationen für *Drosophila* eingerichtet und getestet. Es wurden die

Spätwirkungen von subletalen Dosen von Fenvalerat auf *Drosophila*, insbesondere morphologische und physiologische Veränderungen analysiert. Es wurden die Fruchtbarkeit (Eizahl, Eivolumen, Eischlupf), Puppenanzahl, Puppengröße, Gewicht, Körpergröße und Flügellänge in beiden Generationen ermittelt.

1.3.1 Effekte auf physiologische Funktionen

Der primäre Wirkungsort der meisten Insektizide ist das Nervensystem, darüber hinaus wurden aber auch viele physiologische und biochemische Effekte (Stoffwechsel, Hormone, Nucleinsäure. usw.) von Insektiziden in Geweben außerhalb des Nervensystems beschrieben (Brooks, 1974). Einige dieser Auswirkungen von Insektiziden werden der gestörten Freisetzung von Hormonen und/oder Neurohormonen in neuroendokrinen Geweben und damit der Störung der normalen physiologischen Funktionen zugeschrieben, die durch diese Hormone reguliert werden (Normann, 1980). Der Fettkörper des Insekts synthetisiert und speichert energiereiche Moleküle wie Lipide, Proteine, Glykogen und freie Kohlenhydrate (Lorenz, 2003). Lipide, die vor allem in Form von Triacylglycerol (TAG) gespeichert sind, werden bei Bedarf mobilisiert (Zera et al., 1999). Sie spielen daher eine wichtige Rolle im Energiestoffwechsel, z. B. beim Langstreckenflug von Heuschrecken (Ryan et al., 2000). Vom Fettkörper gebildete Lipide und Proteine (Vitellogenine) sind wichtige Bestandteile des Insekteneies. So spielt der Fettkörper der weiblichen Insekten nicht nur eine wichtige Rolle als primärer Produktionsort von Vitellogenine, sondern ist auch zentrales Organ für die Synthese, die Speicherung und Freisetzung von Lipiden, die für die Dauer der Entwicklung von den Oozyten während der Vitellogenese aufgenommen werden (Lorenz et al., 2004). Im Fettkörper werden die Diacylglycerole als Triacylglycerole gespeichert. Unter physiologischen Bedingungen wie Häutung, Flug, Oogenese und Stress-Bedingungen wie Hunger, Hypoxie und Langstreckenflug wird Triacylglycerol im Fettkörper durch adipokinetische Hormone (AKH) und andere hormonelle Signale mobilisiert (Van der Horst et al., 2003). Viele Insektizide einschließlich der Pyrethroide greifen in den Lipid-Stoffwechselweg ein und sie verursachen Änderungen auf der Gesamtlipidgehalte (Juarez, 1995). Andere wichtige Energieträger wie Trehalose können wegen ihrer sofortigen Verfügbarkeit in Stresssituationen hilfreich sein, werden aber durch Insektizide beeinflusst. In einigen Organismen fungiert Trehalose als Schutzmittel gegen Stoffwechsel-Stress (Garg et al., 2002). Die Bedeutung von Trehalose in Insekten wurde in der Mitte der fünfziger Jahre wiederentdeckt und sein Stoffwechsel in den folgenden Jahren ausgiebig studiert (siehe Thompson, 2003). Trehalose untersuchte man in vielen Insekten. Der Trehalosegehalt beträgt in der Hämolymphe von Insekten in der Regel zwischen 1-2%, während Blutzucker beim Menschen nur bei rund 0,1% (5,5 mM) liegt. In den meisten Insektenarten ist die Trehalose der vorherrschende physiologische Zucker in der Hämolymphe und ist für viele Gewebe eine wichtige Quelle für Kohlenhydrate (Siehe Thompson, 2003). Es ist allgemein anerkannt, dass die Flugaktivität in *Drosophila melanogaster* ausschließlich von der Oxidation von Kohlenhydraten, vor allem in Form von Fettkörper-Glykogen, abhängt (Wigglesworth, 1949). Das gespeicherte Glykogen liefert die Energie während des Fluges, da nur aus Glykogen sofort die notwendige Energie für den raschen Übergang des Stoffwechsels von einem Ruhe- in einen Flugzustand gewonnen werden kann. In der Regel speichern die

Fliegen 4-6% ihres gesamten Körpergewichts in Form von Glykogen. Der Fettkörper des Insekts kann als das wichtigste Organ im Energiestoffwechsel und als großes Speicherorgan für Glykogen, Lipide und Proteine betrachtet werden, entsprechend der Leber der Vertebraten (Hoshizaki, 2005). Im Mitteldarm werden die Kohlenhydrate aus der Nahrung verdaut, zu Trehalose umgewandelt und von der Hämolymphe transportiert. Trehalose dient als zirkulierendes Zucker-Reservoir in der Hämolymphe. Zur weiteren Verwendung wird durch das Enzym Trehalase die Trehalose zu Glukose hydrolysiert. Glukose wird anschließend zur Akkumulation an den Fettkörper und an andere Gewebe zur Verwertung durch verschiedene Formen der Glukoseträger abgegeben (Becker et al., 1996). Im Fettkörper wird die Glukose für die Speicherung in Glykogen umgewandelt (Van der Horst, 2003). Durch Deltamethrinbehandlung verringerte sich der Trehalose- und Glykogengehalt im Fettkörper bei den Heuschrecken (*Locusta migratoria*), aber Glykogenphosphorylase wurde stimuliert (Alaoui et al., 1994). Insektizide können zu verschiedenen Veränderungen führen; diese Veränderungen (Verdauungstyp, Energiestoffwechsel und Atmungsrate) ermöglichen die Insekten zu überleben (Ge et al., 2011). So zeigte die Behandlung adulter Heuschrecken mit dem chlororganischen Insektizid Lindan, dass dieses die übermäßige Freisetzung von Hormonen aus den Corpora Cardiaca (CC) verursacht und dadurch eine Erschöpfung der Glykogen- und Lipidreserven im Fettkörper entsteht. Derartige Wirkungen von Insektiziden können von erheblicher Bedeutung für den Wirkmechanismus von geringen Dosen sein (Samaranayaka, 1978). Im Mitteldarm werden Proteine aus der Nahrung verdaut; die Aminosäuren gelangen über verschiedene Träger zur Lagerung in Fettkörper und anderen Geweben (Colombani et al., 2003). Im dritten Larvenstadium synthetisieren und sezernieren die Fettkörperzellen der Fruchtfliegen LSP (Larven Serumproteine) und resorbieren es während des frühen Puppenstadiums (Burmester et al., 1999). Im Puppenstadium wird LSP zu Aminosäuren abgebaut und für den Aufbau neuer Strukturen und Geweben eingesetzt (Burmester, 2002). Störungen bei der LSP- Bildung können deshalb die weitere Entwicklung ungünstig beeinflussen. In der vorliegenden Arbeit wird die Wirkung subletaler Konzentrationen von Fenvalerat auf den Insektenstoffwechsel, insbesondere auf Proteine, Lipide und Kohlenhydrate analysiert. Untersucht wurden verschiedene Entwicklungsstadien: Ei, Larve, Puppe und Adulte von *D. melanogaster*. Weiterhin wurde untersucht, welche Effekte Fenvalerat in Verbindung mit Hungerstress bei behandelten Taufliegen (F0) und deren Nachkommen (F1) hat.

1.3.2 Effekte auf die biochemische Funktionen

Pestizide können durch Nebenwirkungen und unsachgemäße Anwendung für den Menschen und Nichtziel-Organismen schädlich sein (Page, 1998). Darüberhinaus muss den Wirkungen subletaler Mengen von Pestiziden mehr Beachtung geschenkt werden. Dies gilt auch für synthetische Pyrethroide, die weltweit als Insektizide erfolgreich gegen Schadinsekten eingesetzt werden (Singh et al., 2004). In zahlreichen Studien wurde von Reproduktionstoxizität, Störungen des Hormonsystems, Entwicklungsstörungen, Toxizität und Beeinträchtigungen des Immunsystems im Zusammenhang mit Pyrethroidexposition berichtet (Wang et al., 2009). Sie stören z.B. die Reproduktionsphysiologie von Den Karpfen (*Cyprinus carpio*) (Ayadin et al., 2005). Sie beeinflussen transmembrane

Natriumströme und ionenabhängige ATPasen nicht nur in den Nervengewebe von Insekten, sondern auch bei Tintenfischen und Kröten (Berlin et al., 1984). Sie induzieren Apoptose bei der Kaulquappe (*Physalaemus biligonigerus*) (Izaguirre et al., 2000).

Entwicklung und Wachstum beinhalten die Herstellung von DNA, RNA und Proteinen. Die Auswirkung von Pyrethroiden auf die Herstellung von diesen Makromolekülen in wirbellosen Tieren wurde bislang weniger gut dokumentiert. Stattdessen wurden häufig kultivierte Säugetierzellen verwendet, da solche Zellstudien weniger kostspielig sind und in kürzerer Zeit durchgeführt werden können (Myhr, 1973). Makromoleküle wie DNA, RNA und Proteine ganzer Organismen wurden ebenfalls verwendet, um subletale Auswirkungen von bestimmten Pestiziden auf Nichtzielorganismen zu bewerten (Saxena et al., 1981; Richards et al., 2002).

Das RNA/DNA-Verhältnis ist ein Indikator für die Proteinsynthese einer Zelle. Man kann aus dem Anstieg dieses Verhältnisses in verschiedenen Geweben nach der Pyrethroid-Behandlung ableiten, dass die Transkriptionsebenen und möglicherweise auch die Proteinsynthese im getesteten Gewebe induziert wurden (Bulow, 1970; Wright et al., 1985). Das steigende Protein/DNA-Verhältnis zeigt die Erhöhung des Verhältnisses des Zytoplasmas zum Kern (Kistler, 1979). Daher könnte diese Steigerung zu drastischen dynamischen Veränderungen im Zytoplasma (translationale Ebene) im Vergleich zum Kern (transkriptionelle Ebene) führen.

Der RNA-Gehalt hängt in vielen Organismen von ihren Wachstumsraten ab (Neidhardt et al., 1960; Kjeldgaard, 1961; Leick, 1968). Es existieren RNA-Messungen, die in Studien während der Wachstumsphase der Mücke *Aedes aegypti* (Lang et al., 1965), des Baumwollkapselkäfers (*Anthonomus grandis*) (Vickers et al., 1966) und der Fruchtfliege (*Drosophila melanogaster*) (Church et al., 1966) durchgeführt wurden. Verschiedene Stressfaktoren in der Umwelt, einschließlich der Pestizide, können mit DNA reagieren und DNA-Schäden verursachen (Wilson et al., 2003).

Es wurde berichtet, dass verschiedene organische Verbindungen, nämlich Kohlenhydrate, Proteine, Lipide, Nukleinsäuren, usw., bei dem Rotbraunen Reismehlkäfer (*Tribolium castaneum*) durch Behandlung mit Pyrethroiden betroffen sind (Tufail, 1991).

In der vorliegenden Arbeit wird der Versuch unternommen, die Auswirkungen des Pyrethroids Fenvalerat auf Nukleinsäuren (DNA, RNA) und den Proteingehalt in *D. melanogaster* - insbesondere bei Stress wie z.B. Hunger - zu untersuchen. Diese Befunde sind möglicherweise als Bioindikatoren für reduziertes Wachstum, den gestörten Metabolismus und etliche physiologische Funktionen der Organismen geeignet.

1.3.3 Effekte auf die genetischen Funktionen

Einer möglichen Genotoxizität von Pestiziden bei Nicht-Zielorganismen wurde bisher wenig Beachtung geschenkt. Das genotoxische Potenzial ist langfristig ein primärer Risikofaktor für karzinogene Effekte und gestörte Reproduktion (Bolognesi, 2003). Viele der heute verwendeten Pestizide wurden in Mutagenitätstests auf Gen-Mutationen, chromosomale Veränderungen und DNA-Schäden geprüft (Bolognesi et al., 1995; Joksic et al., 1997). Informationen über genotoxische Wirkungen von Pestiziden sind jedoch begrenzt (Akmoutsou, 2011). Die wiederholte Einwirkung von Pestiziden birgt die Gefahr toxischer

und genotoxischer Effekte auch bei subletalen Konzentrationen bei Nicht-Zielorganismen (Bolognesi, 2003). Die Daten zum genotoxischen und karzinogenen Potenzial des Insektizids Deltamethrin sind widersprüchlich: Dolaro (1992) konnte in einigen Tests genotoxische Effekte nachweisen. Shukla et al. (2000) fand dagegen nur schwach genotoxische Effekte, während Ortiz-Pere et al. (2005) keine genotoxischen Wirkungen nachweisen konnte. Barlow et al. (2001) schlug nach einer umfassenden Auswertung von in vitro- und in vivo-Studien vor, dass Deltamethrin keine mutagene Wirkung hat. Es wurde jedoch bei der Herstellung von Deltamethrin eine genotoxische Wirkung auf Säugetiere festgestellt (Chauhan, 2007). Deltamethrin gemischt mit Spinosad (Spinosad ist die Bezeichnung für eine Mischung aus den Metaboliten Spinosyn A und Spinosyn D des Bodenbakteriums *Saccharopolyspora spinosa*) hat keine genotoxischen Effekte auf *Drosophila* (Akmoutsou, 2011). Frantzios et al. (2008) berichtete, dass weder Imidacloprid noch Acetochlor eine mutagene oder rekombinogene Aktivität bei geltenden Konzentrationen zeigten.

Trotz der Tatsache, dass Pestizide vor ihrer praktischen Anwendung eine Reihe von in vitro und in vivo Tests durchlaufen, haben viele von ihnen möglicherweise genotoxische und/oder karzinogene Effekte (Rakitsky et al., 2000; Bolognesi, 2003). Mit sehr wenigen Ausnahmen sind Pestizide aber nicht in der Lage direkt mit DNA zu reagieren (Rakitsky et al., 2000).

Das epigenetischen Phänomen ist eine Veränderung im Phänotyp, die vererbt wird, aber keine DNA-Mutationen enthält (Allis et al., 2007). Epigenetische Veränderungen können in allen Bausteinen der Nukleosomen auftreten, die das Epigenom bilden (Ferguson-Smith et al., 2009). Zur Epigenetik gehören Effekte wie ein breites Spektrum von Chromatin-Veränderungen und DNA-Methylierungen, die von nicht-kodierender RNA durchgeführt wurden, ebenso wie andere vererbare und reversible Prozesse. Es gibt keine Veränderungen in der DNA oder der Protein-Sequenz, die während epigenetischer Prozesse auftreten (Tollefsbol, 2010).

In der vorliegenden Studie sollte geprüft werden, ob subletale Dosen von Fenvalerat genotoxische Veränderungen bei *Drosophila melanogaster* verursachen. Es wurden hierfür 4 *Drosophila*- Stämme von Isogen-Linien untersucht. Alle Experimente wurden bei Hungerstress für zwei Generationen durchgeführt.

2 Material und Methoden

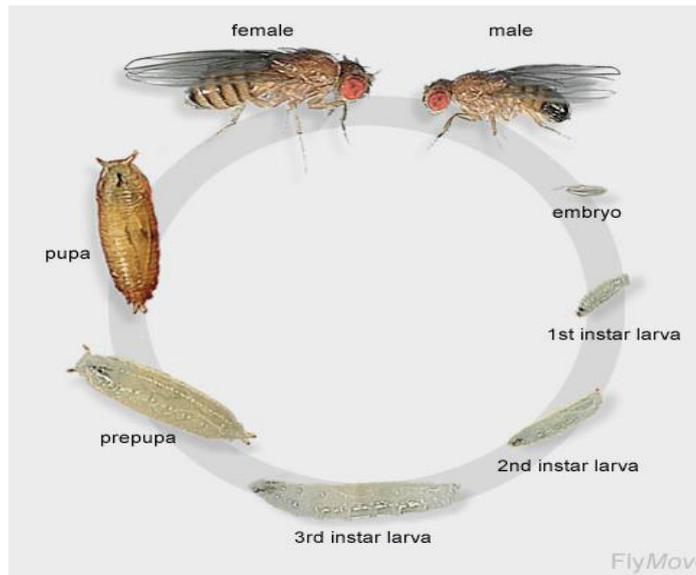


Abb.2-2: Der Lebenszyklus von *Drosophila*: Nach einem Tag schlüpft aus dem Ei eine Larve, die sich innerhalb von 10 Tagen zu einer Fliege weiterentwickelt (Quelle: FlyMove).

2.1 Die Haltung von *Drosophila melanogaster*

Die Fliegen wurden als Wildtyp N5 aus der Abteilung Genetik der MLU bezogen und auf „grünem Futter“ (s.u.) bei 25°C gezüchtet. 10-15 Virginelle Weibchen wurden mit Männchen zusammengeführt (1Männchen auf 2-3 Weibchen) und während 2-3 Tagen in einem neuen Zuchtgefäß (4ml) gut gefüttert. Die Legetätigkeit der Weibchen setzt um den 3. Tag nach dem Schlüpfen ein und steigt die Eiablage dann rasch auf das Maximum an.

Verwendet wurden 4 Stämme von *Drosophila melanogaster* für die Versuche Epigenetik. *Drosophila* als Isogene- Linie (Wild Type N5, Fliegen mit Weißen Augen- Isogene, N5-Isogene und N6-Isogene) (Institutsbereich Genetik, Uni Halle).

2.2 Futtersubstrat

Das grüne Futter bestand aus 80 g Bierhefe, 230 g Grieß, 80 g Maismehl, 53 g Agar- Agar, 300 ml Sirup, 8 ml Propionsäure, 240 g Rosinenbrei, 50 ml Nipagin, 300 µg Ampicillin, 6 L/Wasser. Die Zutaten wurden zusammen für 1,5 h gekocht und rasch in Zuchtgläser (30 ml) umgefüllt (4 ml).

2.3 Fenvalerat

Verwendet wurde Fenvalerat: [(RS) α-cyano-3-phenoxybenzyl(RS)2-(4-chlorophenyl)-3-methylbutyrat]. Für die Tauchversuche wurde eine Stammlösung von 250 mg/L DMSO vom UFZ (Helmholtz- Zentrum für Umweltforschung) bezogen. Für die Futtersuche wurde Fenvalerat-Pulver von Sigma gekauft und in Aceton p.a. gelöst (1g/L). Beide Lösungen wurden im Kühlschrank bei 4°C ohne Licht gelagert.

2.4 Fenvalerat- Applikation

Die Taufliegen wurden mit Fenvalerat nach 2 Methoden behandelt:

2.4.1 Tauchenversuche

Die Fenvaleratstammlösung (UFZ) wurde mit einer DMSO/Wasser-Mischung (1:3) verdünnt und davon Konzentrationen mit 25, 30, 40, 50 ppm hergestellt. Die 3. Larvenstadien wurden aus den Zuchtgefäßen abgesammelt und für jede Konzentration in Gruppen 25 Larven unterteilt. Sie wurden für eine Stunde bei Zimmertemperatur in die Fenvaleratlösung getaucht und anschließend in frisches Futter eingesetzt. Danach wurden die Larven bis zum Adultschlupf im Klimaschrank bei 25°C gehalten und morphometrische und physiologische vermessen.

2.4.2 Insektizid-Futter-Mischung

Je 1g Futtersubstrat wurde abgewogen, in Haltungsgefäße gegeben, geschmolzen und wieder auf Raumtemperatur(RT) abgekühlt. Diesem Futtersubstrat (1g) wurde dann Fenvalerat-Aceton-Lösung (1g/L) zugesetzt, so dass Endkonzentrationen von 0, 20, 30, 40 ppm entstanden. Wir haben hier einen Hinweis, dass die aquatischen Tiere mehr empfindlich als die terrestrischen Tiere gegen die Pyrethroide verhalten. Die Bereich der subletalen Dosen, die von uns bestimmt haben, sind sie letal Dosen für die aquatischen Tiere.

Das kontaminierte Futter blieb für 3 Stunden stehen, um das Aceton verdampfen zu lassen. Drei Stunden vor dem Umsetzen wurde alles Futter aus dem Haltungsgefäß entfernt. Die Larven wurden im kontaminierten Futter für 24 Stunden gehalten und anschließend in frisches Futter übertragen. Für Hungerstressversuche wurde das „grüne Futter“ mit Agar verdünnt, und dann das 3. Larvenstadium für 24 Stunden mit Fenvalerat bei F0-Generation behandelt. Daraufhin wurden die behandelten Larven mit den verschiedenen Futterangeboten (Normal: Normalfutter, Mittel: 1:5 und Wenig: 1:10) aufgezogen. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern mit dem entsprechenden Nahrungsmittelangebot ohne Fenvalerat bei einer Temperatur von 25 °C aufgezogen.

Normalfutter: nicht kontaminiertes grünes Futter.

1:5: 1g nicht kontaminiertes grünes Futters wurde mit 4g Agar (1g Agar auf 100 ml Wasser hergestellt) vermischt.

1:10: 1g nicht kontaminiertes grünes Futter wurde mit 9g Agar (1g Agar mit 100 ml Wasser hergestellt) vermischt.



Abb.2-3: Die Versuchsansätze mit dem 3.Larvenstudium auf grünem Futter im Klimaschrank

2.5 Datenerfassung

Von den überlebenden Adulten wurden folgende Daten erfasst:

Bei Puppen und Adulten wurde unter dem Mikroskop (Leica MZ6) die Körperlänge wie in (Abb. 2-4) dargestellt gemessen.

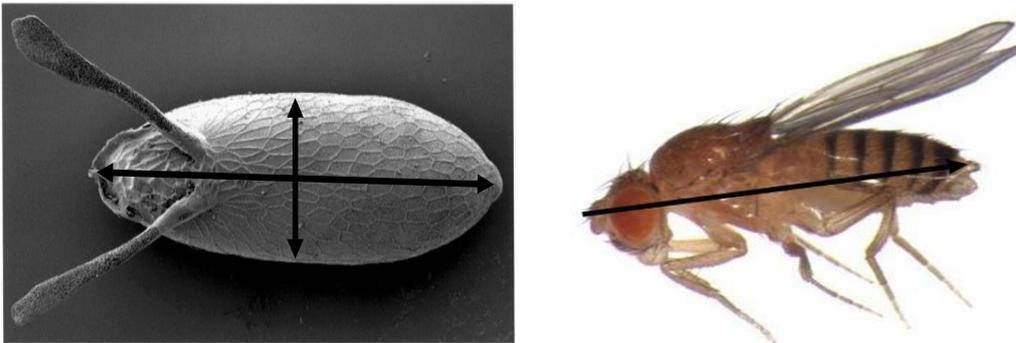


Abb.2-4: Bestimmung von (a): Eivolumen und (b): Körperlänge. Eibild nach(Freeman, 2001).

Das Gesamtgewicht der frischtoten Fliegen wurde mit einer Analysenwaage (Sartorius Bp 210 s) erfasst.

Die Flügellänge wurde direkt an der Fliege gemessen, ohne die Flügel abzuschneiden (Abb.2-5). Die Messwerte wurden mit der Mess-Skala des Mikroskops abgelesen und dann mit einer Eichskala umgerechnet (Messungen wurden für Männchen und Weibchen durchgeführt).



Abb. 2-5: Messung der Flügellänge

d) Eivolumen: Die Eilänge und -breite wurden ausgemessen. Das Eivolumen wurde mit folgender Formel berechnet (Azavedo et al., 1997):

$$L \times H^2 \times \pi / 6$$

$$(L= \text{Länge, } H= \text{Höhe, } \pi=3,14)$$

e) Eizahl und Puppenzahl: Adulte Fruchtfliegen wurden 5 Tage nach dem Schlüpfen bei -18 °C für 3 Minuten immobilisiert und für Kreuzungsversuche 72 Stunden bei 25°C zusammengesetzt (je 1 Weibchen und 1 Männchen). Die abgelegten Eier wurden nach 24, 48, 72 Stunden gezählt. Die Zahl der geschlüpften Puppen wurde erfasst. Folgende Kreuzungen wurden für jede Konzentration durchgeführt (Nadda et al., 2005) (siehe dazu auch Abkürzungsverzeichnis):

♂T x ♀T = Verpaarung: Männchen und Weibchen wurden mit Fenvalerat behandelt.

♂U x ♀T = Verpaarung: Männchen wurden nicht mit Fenvalerat behandelt, Weibchen mit Fenvalerat behandelt.

♂T x ♀U = Verpaarung: Weibchen wurde nicht mit Fenvalerat behandelt, Männchen behandelt.

♂U x ♀U = Verpaarung (Kontrolle): Männchen und Weibchen wurden nicht mit Fenvalerat behandelt.

Nach dem Kreuzungsexperiment wurden die Elterntiere bei -18 °C gelagert.

2.6 Ermittlung von Ovargewicht, Ovariolenzahl und Ovargröße

Die reife Imago wurde 7 Tage nach dem Schlupf gesammelt. Dann wurden sie mit dem Äther getötet. Die Fliege wurde auf dem Objektträger mit einem Tropfen Insekten-Ringerlösung versetzt und dann wurde das Ovar mit der Pinzette aus dem Hinterleib der Fliege herausgezogen. Unter dem Mikroskop wurden die Ovariolenanzahl bei der Vergrößerung 10x für jedes Ovar ermittelt. Ovarlänge und Ovarbreite wurde gemessen. Die Messwerte wurden mit der Mess-Skala des Mikroskops verglichen und dann mit einer Eichskala umgerechnet. Für das Ovargewicht wurden jeweils 10 frische Ovarien mit einer Analysenwaage (Sartorius Bp 210 s) gewogen.

2.7 Chemikalien

Diphenylamin-Reagenz: Das Reagenz besteht aus 1,5 g Diphenylamin in 100 ml Eisessig und 1,5 ml H₂SO₄, Unmittelbar vor der Anwendung wurde Acetaldehyd bis zu einer Endkonzentration von 16 µg/ml hinzugefügt werden). Dieses Reagenz ist ohne Acetaldehyd mindestens 3 Monate bei 4 °C im Dunkeln stabil (Bartlett, 2000).

Orcinol-Reagenz: Für diese Reagenz wurden 300 mg Orcin in 5 ml Ethanol gelöst und 3,5 ml davon kurz vor dem Gebrauch zu 100 ml einer 0,1-prozentigen Lösung von FeCl_{3,6}H₂O in Konz. HCl. hinzugefügt. Das frisch hergestellte Reagenz wurde innerhalb weniger Stunden verwendet (Patil et al., 2009).

Proteinbestimmungen erfolgten mit der Lowry-Methode (Lowry, 1951); als Standard diente Rinderserumalbumin (BSA, 1mg/ml).

Die verwendeten Chemikalien wurden, wenn nicht anders vermerkt, von Fa. Sigma und Fa. Diagonal bezogen.

2.8 Proteinbestimmung

Die Gesamtproteinbestimmungen erfolgten nach der Methode von Lowry (1951). Als Standard diente Rinderserumalbumin (BSA, 1mg/1ml).

Zunächst wurde der Gesamtproteingehalt für die Weibchen, 1 Puppe oder (50 Eier) bestimmt. Eine Fliege wurde mit 40µl Ringerlösung homogenisiert, der Plastikstab mit 60µl Ringerlösung abgespült und die zermahlene Fliege für 10 Minuten bei 4 °C und 2600 rpm zentrifugiert. Zu 10 µl von der Probe wurden 90 µl Wasser hinzugegeben. Für die Eichkurve wurden die Konzentrationen von 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6 und 0.8 µg/µl vorbereitet. 500 µl Reagenz A wurden zur Probe gegeben und dann gemischt; nach 10 Minuten wurden 250 µl

Reagenz B zugegeben, gemischt und nach weiteren 30 Minuten bei 750 nm gemessen (Beckmann Spektrophotometer).

2.9 Lipidbestimmung

Gesamtlipidbestimmungen erfolgten mit der Sulpho-Vanillin-Methode nach Frings et al. (1970). Zunächst wurde eine Standard Eichkurve (Cholesterin 100mg/10ml Ethanol) erstellt. 1 Fliege, 1 Puppe oder 50 Eier wurden jeweils mit 100 µl Ringerlösung und 200 µl Chloroform-Methanol (2:1) homogenisiert und die Probe nach 10 Minuten Ruhezeit im Eisbad für 10 Minuten bei 4 °C mit 2000 rpm zentrifugiert. Von den entstehenden zwei Phasen wurde die obere (klar) abpipettiert und der Rest der Probe mit Stickstoff bei 50 °C eingedampft. Danach wurde die Probe in 20 µl Chloroform gelöst. Die Konzentrationen für die Eichkurve (0, 5, 10, 15, 20 µg/µl) wurden vorbereitet, gemischt, 500µl Schwefelsäure hinzugefügt, sofort für 10 Minuten auf 95 °C erhitzt und danach mit Eis gekühlt. Von jeder Probe wurden 100 µl abpipettiert und 1ml Farbreagenz hinzugefügt. Bei den Eiern wurden dagegen 200 µg von jeder Probe abpipettiert und mit 650 µl Farbreagenz, gemischt. Die Probe ruhte 30 Minuten bei RT und wurde schließlich im Photometer bei 547 nm gemessen.

2.10 Kohlenhydratbestimmungen

2.10.1 Glykogengehalt

Die Glykogen- und Trehalosebestimmungen erfolgten nach van Handel (1985). Eine Fliege oder Puppe wurde mit 200 µl Natriumsulfat-Lösung (2%) homogenisiert, 25 µl von der Probe abpipettiert und bis 200 µl mit Natriumsulfat-Lösung ergänzt und zuletzt 1 ml Methanol zugesetzt. Mit 6000 rpm wurde die Probe für 5 Minuten bei 4 °C zentrifugiert, der Überstand abgegossen, das Sediment mit 200 µl destilliertem Wasser gelöst und dann mit 1 ml Anthron gemischt. Im nächsten Schritt wurde die Probe sehr gut geschüttelt, für 15 Minuten auf 95°C erhitzt, dann für 10 Minuten auf Eis gekühlt. Mit einem Photospektrometer wurden die Proben bei 625 nm gemessen und die Glykogenwerte anhand der Eichkurve ermittelt. Als Standard diente eine Glykogenstammlösung: 10mg Glykogen in 100 ml destilliertem Wasser.

2.10.2 Trehalosegehalt

Je 1 Fliege oder 1 Puppe wurde mit 200 µl Perchlorsäure (0,33 mol) homogenisiert, bei 13000 rpm für 15 Minuten bei Raumtemperatur zentrifugiert. 25 µl wurden vom Überstand abpipettiert, 175 µl Perchlorsäure hinzugefügt und dann geschüttelt.

1 ml Anthron wurden als Reagenz zugesetzt, gut geschüttelt und dann für 10 Minuten auf 95°C inkubiert. Nachdem die Probe für 10 Minuten im Eis gekühlt worden war, wurde sie mit einem Photospektrometer bei 620 nm gemessen und die Werte mittels der Eichkurve bestimmt.

2.11 Messung der Herzschlagfrequenz

Frische, weiße Puppen (Alter 0-6 Stunden) wurden auf einen Objekträger gelegt und mit einer Kaltlichtleuchte von unten beleuchtet. Die Transparenz der Präpuppe erlaubte eine

Visualisierung des Herzens gegen einen geeigneten Lichteinfall von unten. Die Zahl der Kontraktionen wurde für 20 Sekunden gezählt (Noyes et al., 1995).

2.12 Fenvaleratbestimmung

Die Messungen erfolgten an 50 Eiern bzw. 5 Männchen pro Probe der beiden Generationen F0 und F1. Die frisch abgelegten Eier wurden in 100 µl Ringerlösung bei -18 °C bis zur Verwendung aufbewahrt. Die Männchen wurden 5 Tage nach dem Adultschlupf gesammelt. Die Bestimmung der Fenvaleratspuren wurde von der Fa. Eurofins-Labor durchgeführt (1. Extraktion mit Aceton+ interner Standard 2. Lösungsmittelwechsel: Wasser und Toluol 3. Toluolphase abgenommen und mit GC-MSD gemessen).

2.13 Bestimmung von DNA und RNA

2.13.1 DNA

Das Prinzip: Dische (1930) stellte fest, dass DNA beim Erhitzen auf 100 °C mit einer Lösung von Diphenylamin in Eisessig mit 2,75% H₂SO₄ eine blaue Farbe annimmt. Die Intensität der Färbung ist proportional zur Menge an DNA und kann für ihre quantitative Bestimmung genutzt werden. Die Reaktion wird durch freie 2-Desoxyribose und 2-Desoxyxylose verursacht; Purin Desoxyribonukleotide reagieren mit der doppelten Intensität der DNA, während Pyrimidin Desoxyribonukleotide kaum reagieren (Deriaz et al., 1949; Norris et al., 1971) untersucht.

Es wurden jeweils 10 Fliegen im Eppendorf- Röhrchen mit 200 µl von 20% Trichloressigsäure homogenisiert und dann mit 4000 rpm für 20 Minuten bei 4°C zentrifugiert. Der Überstand wurde entfernt, das Präzipitat dann mit Ethanol (100%) zweimal vorsichtig „gewaschen“. Anschließend wurden die Niederschläge erneut mit Ethanol extrahiert und mit 4000 rpm bei 4°C für 20 Minuten abzentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und die Sedimente mit einer Mischung von Ether und Alkohol (Mischverhältnis 1:3) zweimal gewaschen. Die Sedimente wurden mit 500 µl 1M NaOH für 5 Stunden bei 37 °C aufgelöst. 15 µl dieser Lösungen wurden für die Proteinbestimmung nach Lowry abgenommen. 25 µl von 6M HCl wurden der extrahierten Lösung zugesetzt, die Proben wurden auf Eis gestellt dann mit 4000 rpm für 20 Minuten bei 4°C zentrifugiert. Danach wurden sie für 15 Minuten im Eis stehen gelassen, um sie zu hydrolysieren. 350 µl des Überstandes wurde abgenommen, um die DNA zu bestimmen. Für die Erstellung einer Eichkurve wurde ein DNA-Natriumsalz des Kalbsthymus als DNA Standard verwendet. Die Bestimmung von Dreifachansätzen fand auch bei der Eichkurve statt. Der DNA-Standard wurde mit 100 ml 0,005M NaOH durch 15 mg vom DNA-Natriumsalz des Kalbsthymus hergestellt. Die Auflösung wurde im Verhältnis (1:1) mit 1 M Perchlorsäure gemischt, die Stammlösung für 20 Minuten auf 70 °C erhitzt um sie zu hydrolysieren. Mit 0, 7, 5, 10 und 15 µg wurde die Eichkurve hergestellt. Die zu untersuchenden Proben wurden mit 0,005 M NaOH auf 400 µl ergänzt. Davon wurde eine 350 µl Probe mit 350 µl 0,5 M Perchlorsäure vermischt, bei 4000 rpm (4 °C) abzentrifugiert, dann der Überstand für 20 Minuten auf 70°C erhitzt. Danach wurde sie für 15 Minuten im Eis abgekühlt. Die Standards wurden mit 700 µl des Diphenylamin-Reagenzes versetzt; den Proben wurden 1225 µl hinzugefügt. Die

Proben und die Standardlösungen wurden für 5 Stunden bei 50°C inkubiert. Nach dem Ende der Reaktionszeit wurden alle Proben noch einmal kräftig gemischt. Die Extinktionen konnten dann mit einem Spektralphotometer (Beckmann, Du 640) bei einer Wellenlänge von 600 nm gemessen werden.

2.13.2 RNA

Das Prinzip: Von den Ribosomen kann kein Furfural gebildet werden, solange die glycosidische Verknüpfung nicht geteilt wurde. Die Purin-Ribose-Verbindung von RNA kann leicht durch heiße Säure hydrolysiert werden, während die Pyrimidin-Ribose-Verbindung viel beständiger ist. Die Orcin-Methode wurde allgemein nur bei Purin-gebundener Ribose der RNA genutzt, um die RNA zu bestimmen (Herbert et al., 1971).

Für die RNA-Bestimmung wurden 135 µl vom Überstand (der für die DNA vorbereitet wurde) mit 365 µl destilliertem Wasser ergänzt, dann wurden alle Proben noch einmal kräftig geschüttelt. Für die Erstellung einer Eichkurve wurde eine (Yeast RNA) Stammlösung benutzt, die als RNA-Standard fungierte. Die Bestimmung von Dreifachansätzen fand auch bei der Eichkurve statt. Der RNA-Standard wurde durch 10 mg von RNA-Hefe mit 100 ml destilliertem Wasser hergestellt. Im Vier Tub 0, 15, 20 und 30 µg wurden die Konzentrationen der Eichkurve hergestellt und die Mengen bis 500 µl mit destilliertem Wasser ergänzt. 750 µl des Orcinol-Reagenzes wurden den Proben hinzugefügt. Die Proben wurden gut geschüttelt und für 20 Minuten auf 95°C erhitzt und danach gekühlt. Die Extinktionen konnten dann mit einem Spektrophotometer (Beckmann, Du 640) bei einer Wellenlänge von 605 nm gemessen werden.

2.14 Auswertung

Alle Daten wurden mit SAS(9.1) (2003) analysiert und mit dem F-Test geprüft.

Mittelwerte mit Standardfehler($M \pm SE$) und p-Werte wurde es für allen Parameter gerechnet. Die Ergebnisse wurden auf ihre statistische Signifikanz ($p \leq 0.05$) geprüft. Multivariable wurden mit dem Tukey- Test geprüft zur Bestimmung der Signifikanz.

3 Ergebnisse

3.1 Morphologische Befunden

3.1.1 Tauchversuche

3.1.1.1 Mortalität

Die höchste Mortalität trat in den ersten 24h nach der Behandlung auf. Die behandelten Larven blieben meist auf dem Futter ohne größere Fraßaktivität, besonders bei hohen Konzentrationen im Vergleich zur Kontrolle (50ppm= 31%, 40ppm= 22%, 30ppm= 21%, 25ppm= 17%, Kontrolle= 7%). Es bestand ein signifikanter Einfluss des Toxins auf die Mortalität ($F=56.7(p \leq 0.001)$). Der Unterschied zwischen der Konzentration von 50ppm und allen anderen Ansätzen war signifikant ($p \leq 0.001$), ebenso der Unterschied zwischen Kontrolle und allen Behandlungen mit Fenvalerat ($p \leq 0.001$). Unter den Kontrollbedingungen fraßen die Larven ständig. Bei 50ppm und 40ppm waren die Larven inaktiv und der Lebenszyklus war im Vergleich zur Kontrolle um einen Tag verlängert (Abb. 6).

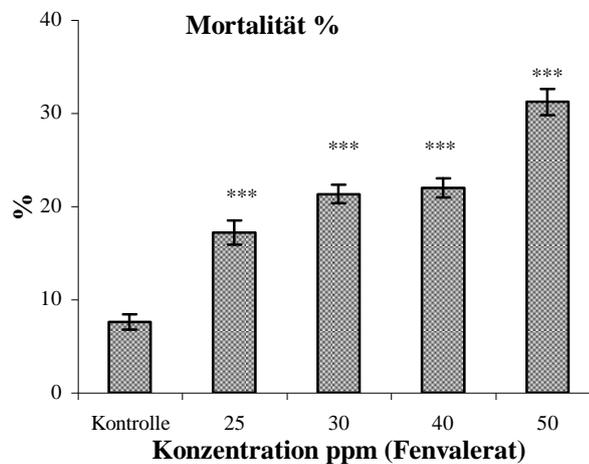


Abb.(3.1)-6: Die Mortalität der F0 nach Tauchen des 3. Larvenstadiums für eine Stunde in Fenvalerat (0, 25, 30, 40 und 50 ppm). Anschließend Zucht auf frischem Futter bei 25°C. (* = $P \leq 0.05$: signifikant, ** = $P \leq 0.01$: hochsignifikant, *** = $P \leq 0.001$: sehr hochsignifikant). n: 15 für je Ansatz (25 Larven pro Probe).

3.1.1.2 Körper-, Flügel- und Puppenlänge

Die Körper- und Flügelgröße wurden durch das Geschlecht beeinflusst und durch das Insektizid signifikant reduziert, und die Interaktion zwischen beiden Stressfaktoren: Körperlänge (Geschlecht ($F=461(p \leq 0.001)$); Insektizid $F=30,4(p \leq 0.001$); Interaktion zwischen beiden Stressfaktoren $F=7,8(p \leq 0.001)$). Flügelgröße (Geschlecht ($F=489(p \leq 0.001)$); Insektizid $F=19,5(p \leq 0.001)$); Interaktion zwischen beiden Stressfaktoren $F=6,6(p \leq 0.001)$). Die Ergebnisse wurden nach Geschlecht getrennt erfasst. In Bezug auf Körperlänge und Flügelgröße war der Unterschied zwischen den Kontrolltieren und allen Insektizid-Ansätzen signifikant. Auch die Puppenlänge der Kontrolltiere war bei allen Konzentrationen signifikant verschieden ($p \leq 0.001$) (Tab.1). Bei weiblichen Fliegen unterschied sich die Körperlänge der Kontrollfliegen signifikant von der Körperlänge der Fliegen in allen anderen Fenvalerat-Ansätzen ($p \leq 0.001$). Bezüglich der Flügelgröße ergaben sich folgende signifikante Unterschiede zu den Kontrollen: 25ppm ($p=0.046$), 40ppm und 50ppm ($p \leq 0.001$) (Abb. 7a).

Bei der Körperlänge männlicher Fliegen unterschieden sich Kontrolle und die Ansätze signifikant: 30ppm ($p \leq 0.001$), 40ppm ($p = 0.02$) und 50ppm ($p \leq 0.001$). Bei der Flügellänge der Männchen gab es signifikante Unterschiede zu den Kontrollen: 30ppm ($p = 0.025$) und 50ppm ($p \leq 0.001$) (Abb.7b).

Auch die Puppenlänge wurde vom Toxin beeinflusst ($F = 22.7 (p \leq 0.001)$). Der Unterschied war signifikant zwischen der Kontrolle und allen Ansätzen ($p \leq 0.001$). Eine Unterscheidung nach Geschlechtern erfolgte nicht (Abb.7c).

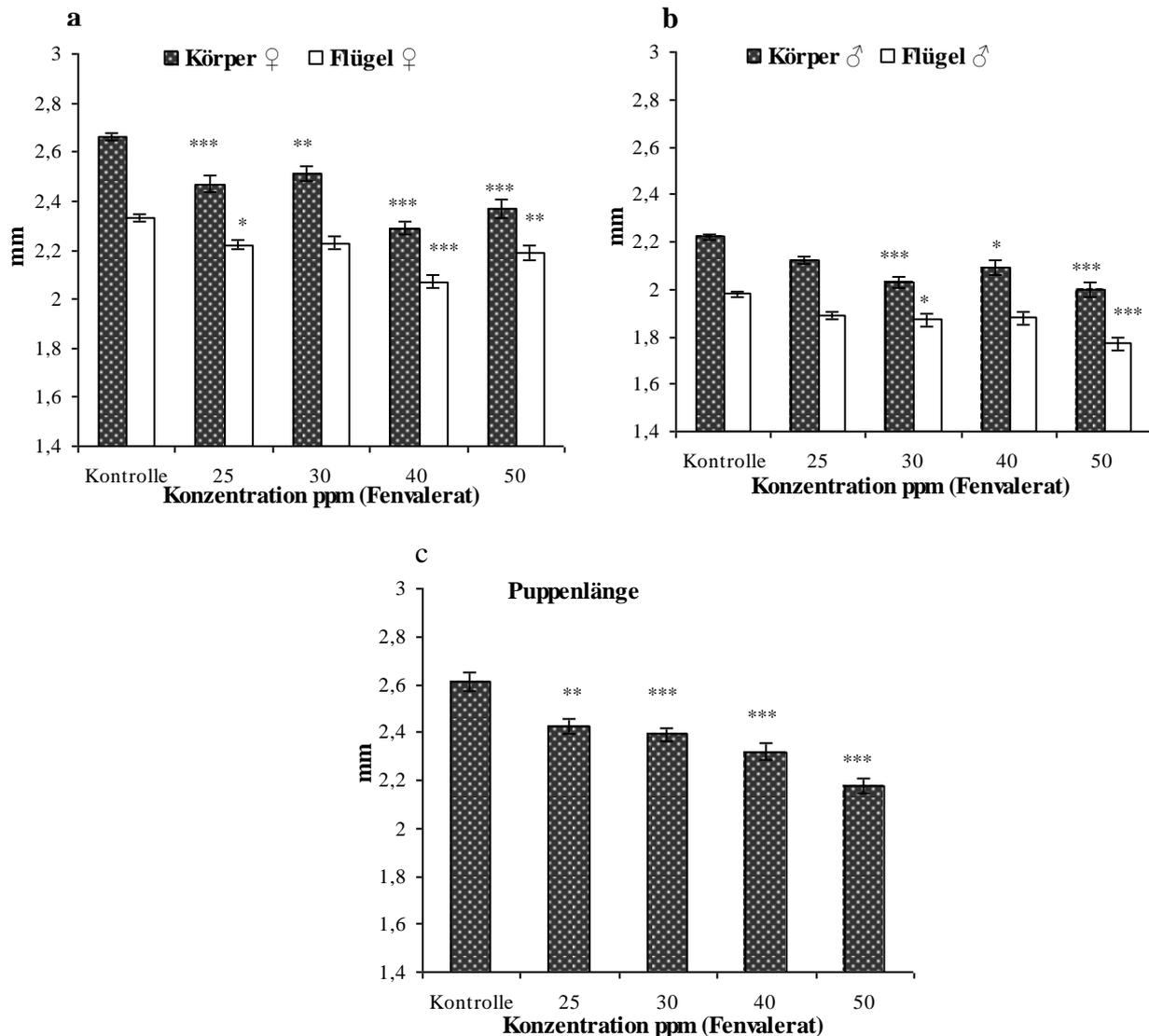


Abb.(3.1)-7: (a): Körper- und Flügellänge ♀ (b): Körper- und Flügellänge für ♂ und (c): Puppenlänge für F0 nach der Tauchen des 3. Larvenstadiums für 1 Stunde mit Fenvalerat (0, 25, 30, 40 und 50 ppm) nachher im frischen Futter auf 25°C. (* = $P \leq 0.05$: signifikant, ** = $P \leq 0.01$: hochsignifikant, *** = $P \leq 0.001$: sehr hochsignifikant). n: 75 Fliegen für je Parameter aber n = 100 puppen für Puppenlänge.

3.1.1.3 Gewicht

Das Gewicht der Fliegen wurde durch das Geschlecht beeinflusst und durch das Insektizid signifikant reduziert (Geschlecht ($F = 198 (p \leq 0.001)$); Insektizid $F = 11 (p \leq 0.001)$). Männchen sind signifikant leichter als Weibchen. Das Gewicht der Weibchen nahm durch die Fenvalerat- Exposition ab. Der Unterschied zwischen der Kontrolle und allen Ansätzen war signifikant ($p \leq 0.001$) (Abb.8a).

Bei Männchen waren die Gewichtsunterschiede geringer, nur zwischen der Kontrolle und bei Behandlung mit 50ppm bestand ein signifikanter Unterschied ($p=0.047$) (Abb. 8b).

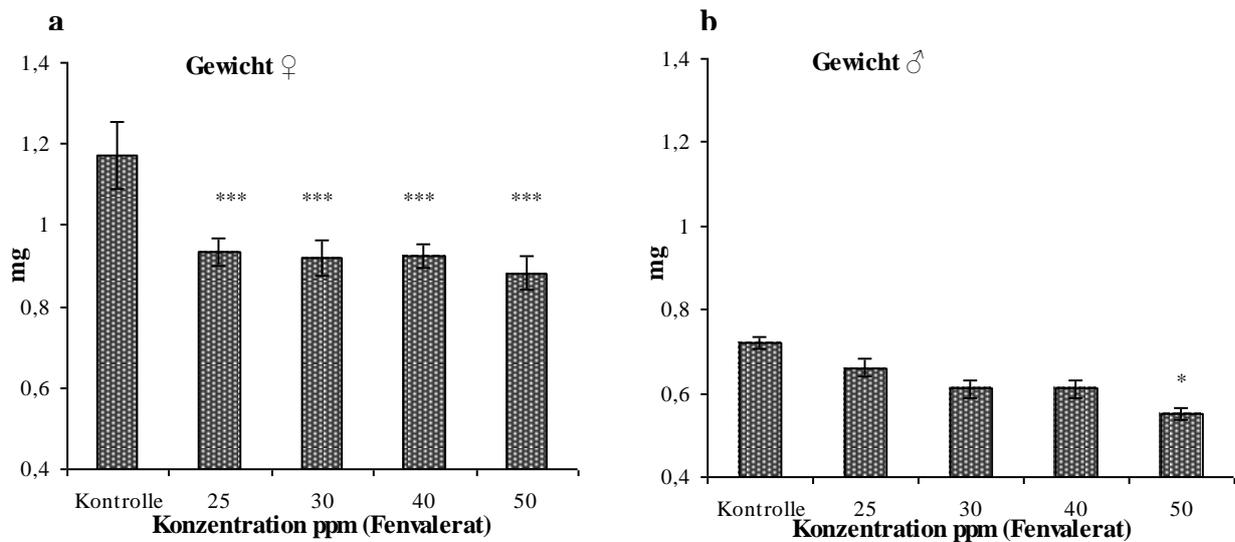


Abb.(3.1)-8: (a): Gewicht der Weibchen und (b): Gewicht der Männchen und (c): Puppenlänge für F0 nach Tauchen des 3. Larvenstadiums für 1 Stunde mit Fenvalerat (0, 25, 30, 40 und 50 ppm), anschließend im frischen Futter auf 25 °C. n: 100 Fliegen für jedes Geschlecht. (* = $P \leq 0.05$: signifikant, ** = $P \leq 0.01$: hochsignifikant, *** = $P \leq 0.001$: sehr hochsignifikant).

Faktoren	Mortalität %	KörperL /mm	FlügelL. /mm	Gewicht /mg	PuppenL /mm	Puppenzahl	Eizahl	Eiergröße /mm ²	
Konz./ppm	0	7,6±1,1	2,4±0,02	2,16±0,02	0,95±0,03	2,6±0,03	18±0,72	18±0,8	0,012±0,0004
	25	17±1,1	2,3±0,02	2,06±0,02	0,8±0,03	2,4±0,03	17±0,72	18±0,8	0,012±0,0004
	30	21±1,1	2,27±0,02	2,05±0,02	0,76±0,03	2,4±0,03	14±0,72	16±0,8	0,011±0,0004
	40	22±1,1	2,18±0,02	1,98±0,02	0,77±0,03	2,3±0,03	13±0,72	14±0,8	0,01±0,0004
	50	31±1,1	2,18±0,02	1,98±0,02	0,72±0,03	2,18±0,03	11±0,72	13±0,8	0,009±0,0004
Geschlecht	♀	-	2,46±0,01	2,21±0,01	0,97±0,02	-	-	-	-
	♂	-	2,09±0,01	1,9±0,01	0,63±0,02	-	-	-	-

Tab.(3.1)-1: Die Mittelwerte der Parameters (Körper- und Flügelgröße, Gewicht und Puppenlänge, Ei und puppenzahl und Eiergröße) nach der Tauch der 3. Larven in Fenvalerat für 1 Stunde mit Fenvalerat Konzentrationen (0, 25, 30, 40 und 50ppm) dann wurden sie in frischen Futter bis Adult auf 25 °C eingesetzt. (* = $P \leq 0.05$: signifikant, ** = $P \leq 0.01$: hochsignifikant, *** = $P \leq 0.001$: sehr hochsignifikant).

3.1.1.4 Das Volumen und Anzahl der Eier, Puppenzahl

Weibchen und Männchen wurden über 3 Tage verpaart und dann die Anzahl abgelegter Eier ermittelt. Fenvalerat hatte großen Einfluss auf die Eizahl ($F=57(p \leq 0.001)$) sowie die Puppenzahl ($F=13(p \leq 0.001)$). Behandelte Weibchen legten weniger und kleinere Eier ab als unbehandelte. Bezüglich der Eizahl war der Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und 40ppm und 50ppm signifikant ($p \leq 0.001$). Die Anzahl der Puppen war ebenfalls reduziert (Abb.9d). Nach der Verpaarung behandelter und unbehandelter Tiere konnte festgestellt werden, dass die Wechselwirkung zwischen der Kreuzung und den Fenvalerat-Konzentrationen und auch beide Faktoren für sich eine signifikante Reduzierung der Ei- und Puppenzahl bewirkten: Eizahl (Interaktion zwischen Faktoren $F=13(p \leq 0.001)$); Insektizide $F=180(p \leq 0.001)$; Kreuzung $F=67(p \leq 0.001)$). Puppenzahl (Interaktion zwischen Faktoren

$F=17(p\leq 0.001)$; Insektizide $F=948(p\leq 0.001)$; Kreuzung $F=236(p\leq 0.001)$) (Abb.9a,b). Die frischen Eier wurden ausgemessen, um zu erfahren, welche Wirkungen Fenvalerat auf Eivolumen hat, so auf Embryo, Schlupf und die Nachkommen. bezüglich des Eivolumens waren die Unterschiede zwischen der Kontrolle und den Ansätzen 40 ppm und 50 ppm signifikant ($p\leq 0.001$). Die Eivolumen war durch Fenvalerat reduziert (Abb.9c).

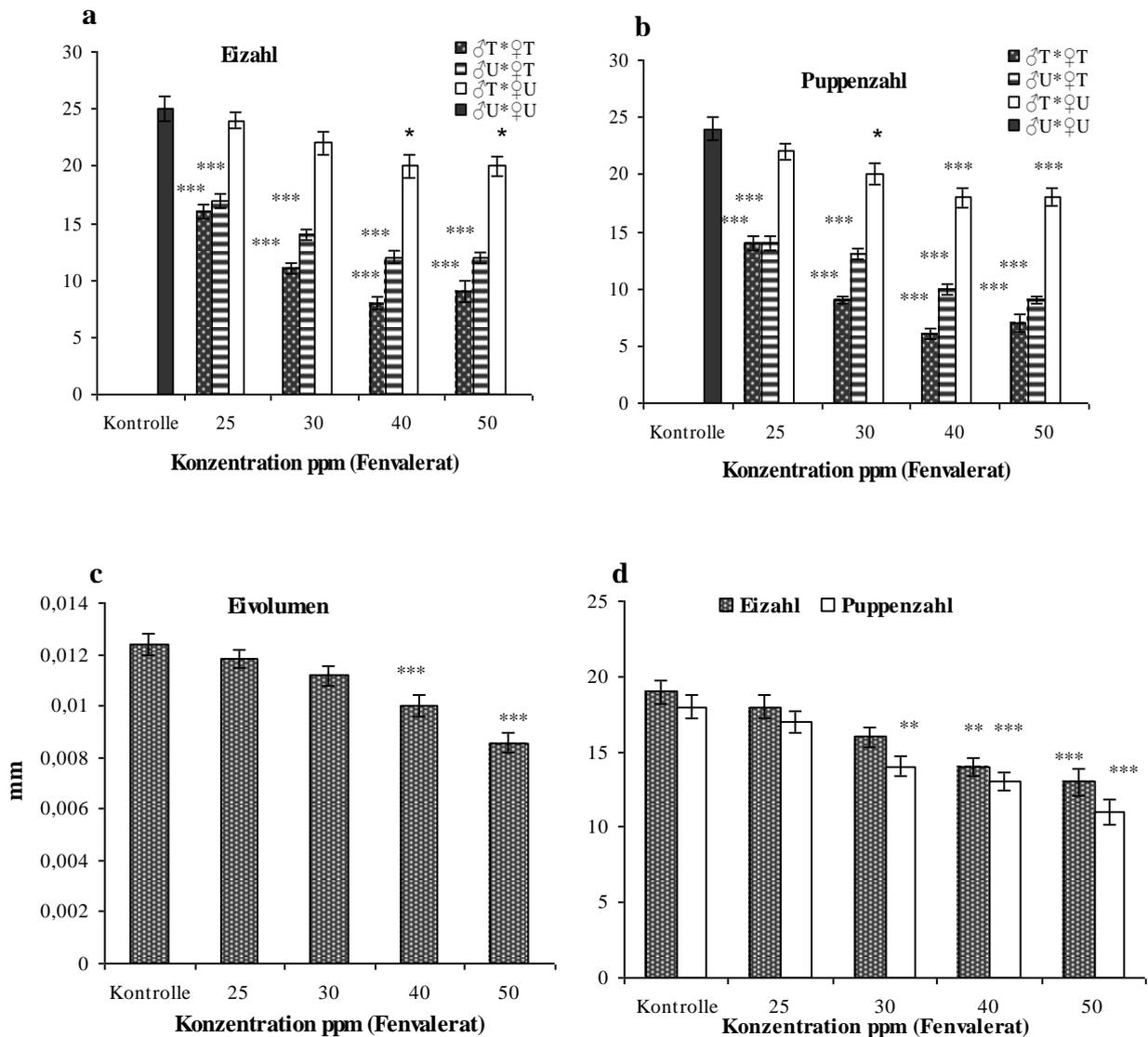


Abb.(3.1)-9: (a): Eizahl (b): Puppenzahl nach der Kreuzung behandelter und unbehandelter Tiere, (c): Eivolumen (d): Eizahl zwischen behandelten Tiere für F0 nach der Tauchen des 3. Larvenstadiums für 1 Stunde mit Fenvalerat (0, 25, 30, 40 und 50 ppm) dann wurde es im frischen Futter auf 25 °C eingesetzt. (* = $P\leq 0.05$: signifikant, ** = $P\leq 0.01$: hochsignifikant, *** = $P\leq 0,001$: sehr hochsignifikant). $n= 75$ für Je Parameter.

Bei den Tauchversuchen traten kaum Unterschiede zwischen der Kontrolle und den angewendeten Fenvalerat- Konzentrationen (25, 30 und 40ppm) auf. Nur zwischen der Konzentration von 50ppm und anderen Ansätzen gab es überhaupt Unterschiede, deshalb wurden keine weiteren Versuche mit Tauchbehandlung durchgeführt.

3.1.2 Futtermersuche

3.1.2.1 Mortalität

Bei hohen Konzentrationen blieben die meisten Larven auf dem frischen Futter und fraßen nur wenig. Nach 1-2 Stunden begannen sie auf dem frischen Pudding wieder zu fressen. In ersten 24 Stunden war die Mortalität am höchsten. Der Lebenszyklus war bei den Kontrolltieren kurzer als bei behandelten Tieren. Die Fenvalerat- Konzentrationen, der Futtermangel und die Interaktion zwischen beiden Faktoren haben die Mortalitätsrate erhöht (Fenvalerat- Konzentrationen $F=508(p\leq 0.001)$; der Futtermangel $F=86(p\leq 0.001)$; Interaktion zwischen beiden Faktoren $F=5(p\leq 0.001)$). Fenvalerat hatte von allen Faktoren den größten Einfluss auf die Mortalität. In einer Konzentration von 40 ppm betrug die Mortalitätsrate 67% bei normalem Futter, 77% bei Futterangebot 1:5 und 83% bei Futterangebot 1:10. In 30 ppm betrug die Mortalitätsrate 54% bei normalem Futter, 69% bei Futterangebot 1:5 und 75% bei Futterangebot 1:10. Bei 20ppm betrug die Mortalitätsrate 34% bei Normalfutter, 46% bei Futterangebot 1:5 und 64% beim Futterangebot 1:10. In der Kontrollegruppe war die Mortalitätsrate aber nicht größer als 19% in allen Futterangeboten, dieser Unterschied war signifikant zwischen der Kontrolle und allen Ansätzen ($p\leq 0.001$).

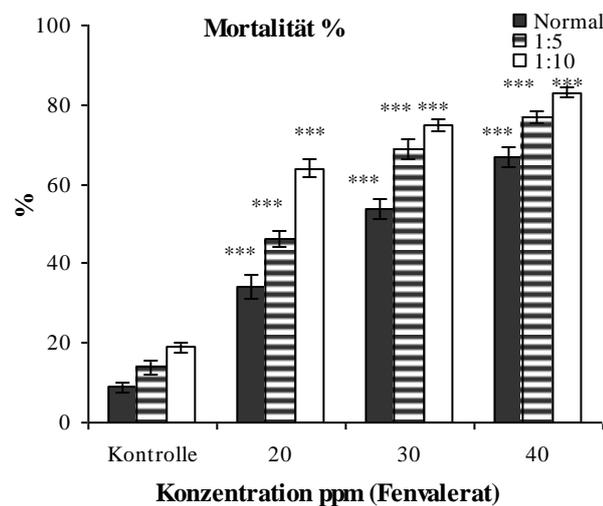


Abb.(3.1)-10: Die Mortalität für die F0 nach der Behandlung des 3. Larvenstadiums mit Fenvalerat für 24 Stunden (0, 20, 30 und 40 ppm) auf normalem Futter ($n=18$ Proben mit 25 Larven pro Probe) und unter Hungerstress (1:5 und 1:10) ($n=15$ Proben mit 25 Larven pro Probe) bei 25°C. (* = $P\leq 0.05$: signifikant, ** = $P\leq 0.01$: hochsignifikant, *** = $P\leq 0.001$: sehr hochsignifikant).

Faktoren	Mortalität %	KörperL. /mm	FlügelL. /mm	Gewicht /mg	PuppenL. /mm	Puppenzahl	Eizahl	Eiergröße /mm ²
0	14±1,2	2,35±0,01	2,1±0,007	0,89±0,006	2,68±0,03	11,2±0,3	12±0,3	0,011±0,0002
Konz./ppm								
20	48±1,2	2,22±0,01	1,93±0,007	0,77±0,006	2,51±0,03	9,1±0,3	10±0,3	0,01±0,0002
30	66±1,2	2,14±0,01	1,88±0,007	0,73±0,006	2,35±0,03	8±0,3	9±0,3	0,0099±0,0002
40	76±1,2	2,09±0,01	1,83±0,007	0,63±0,006	2,29±0,03	5±0,3	6±0,3	0,0097±0,0002
Geschlecht								
♀	-	2,33±0,01	2,06±0,005	0,92±0,004	-	-	-	-
♂	-	2,07±0,01	1,8±0,005	0,59±0,004	-	-	-	-
Futter								
Normal	41±1	2,24±0,01	1,9±0,005	0,84±0,005	2,48±0,02	10±0,3	11±0,3	0,01±0,0002
1:5	52±1	2,17±0,01	1,9±0,007	0,71±0,005	2,51±0,02	9±0,3	10±0,3	0,01±0,0002
1:10	60±1	2,16±0,01	1,9±0,007	0,71±0,005	2,38±0,02	6±0,3	7±0,3	0,01±0,0002

Tab.(3.1)-2: Die Mittelwerte der Parameter (Körper- Flügellänge, Gewicht und Puppenlänge, Ei- und Puppenzahl und Eigröße) für die unterschiedlichen Faktoren nach der Behandlung der 3. Larven für 24 Stunden mit Fenvalerat (0, 20, 30 und 40 ppm) im normalen Futter und Hunger Stress (1:5 und 1:10) auf 25 °C. ($p \leq 0.05$, der Vergleich steht zur der Kontrolle für die Fenvalerat- Konzentrationen, für die Futterangebote steht der Vergleich zur Normalfutter). (* = $P \leq 0.05$: signifikant, ** = $P \leq 0.01$: hochsignifikant, *** = $P \leq 0.001$: sehr hochsignifikant).

3.1.2.2 Körper-, Flügel- und Puppenlänge

Alle Faktoren hatten negative Auswirkungen auf Körper-, Flügel- und Puppenlänge, auch die Interaktion zwischen den Faktoren hat eine wichtige Rolle gespielt (Tab. 3). (Tab. 2) zeigt die Mittelwerte aller Stressfaktoren. (Abb.11) zeigt die Interaktion zwischen Futterangeboten, Fenvalerat und Geschlecht. Bei Körperlänge und Flügellänge gab es eine signifikante Differenz zwischen allen Ansätzen. Unter Hungerstress gab es nur zwischen normalem Futter und dem Futterangebot 1:10 signifikanter Unterschiede. Bezüglich der Puppenlänge gab es einen signifikanten Unterschied zwischen der Kontrolle und allen Ansätzen. Bei den verschiedenen Futterangeboten bestand nur zwischen dem Normalfutter und dem Futterangebot 1:10 ein signifikanter Unterschied.

Parameter/mm	Faktoren	F-Werte	p
Körperlänge	Geschlecht	645,1	$\leq 0,001$ ***
	Konz. /ppm	126,7	$\leq 0,001$ ***
	Futter	24,4	$\leq 0,001$ ***
	Geschlecht*Konz.*Futter	4	$\leq 0,001$ ***
Flügellänge	Geschlecht	1189	$\leq 0,001$ ***
	Konz. /ppm	261,9	$\leq 0,001$ ***
	Futter	18,6	$\leq 0,001$ ***
	Geschlecht*Konz.*Futter	7	$\leq 0,001$ ***
Puppenlänge	Konz. /ppm	43,7	$\leq 0,001$ ***
	Futter	8	$\leq 0,001$ ***
	Geschlecht*Konz.*Futter	1,5	0,17

Tab.(3.1)-3: Wechselwirkungen und Effekte der Stressfaktoren auf Körper- Flügellänge und Puppenlänge nach der Behandlung des 3. Larvenstadiums für 24 Stunden mit Fenvalerat (0, 20, 30 und 40 ppm) auf normalem Futter und unter Hungerstress (1:5 und 1:10) bei 25 °C. (* = $P \leq 0.05$: signifikant, ** = $P \leq 0.01$: hochsignifikant, *** = $P \leq 0.001$: sehr hochsignifikant).

Körper- und Flügellänge waren bei mit Insektizid behandelten Männchen und Weibchen stets kleiner als bei den Fliegen der Kontrollgruppe. Der Unterschied zwischen der Kontrolle und allen Ansätzen (20ppm, 30ppm und 40ppm) war signifikant ($p \leq 0.001$). Der Unterschied zwischen der Kontrolle und allen Ansätzen auf normalem Futter und dem 1:5 verdünnten Futter war signifikant ($p \leq 0.001$). Bei 1:10 verdünnten Futter war der Unterschied zwischen Kontrolle und allen Ansätzen nicht signifikant bei Weibchen, aber bei Männchen war signifikant. Bezüglich der Puppenlänge wurde festgestellt, dass die behandelten Puppen kleiner als die Unbehandelten waren. Der Unterschied war signifikant ($p \leq 0.001$) bei allen Futterangeboten.

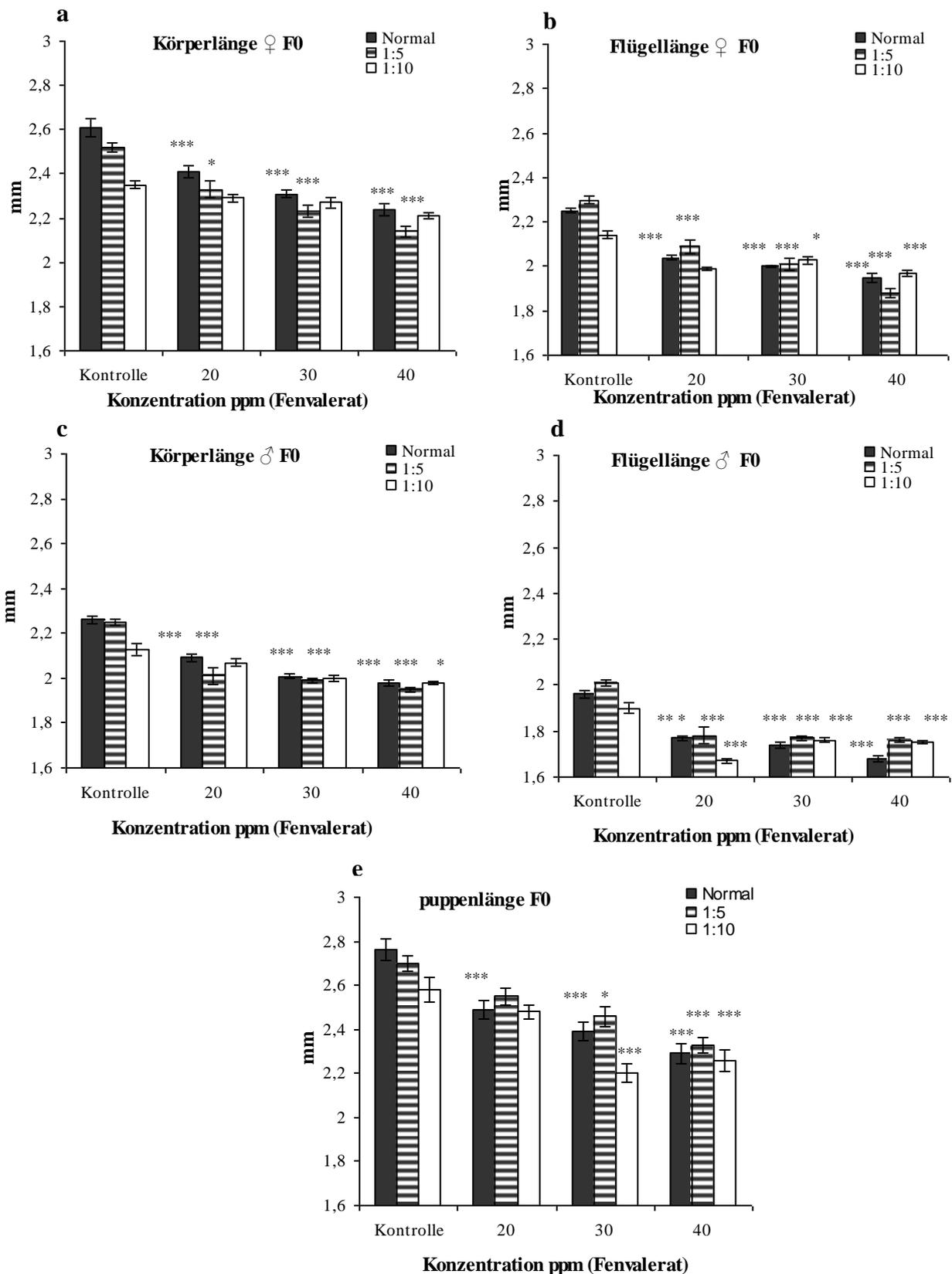


Abb.(3.1)-11 : (a): Körperlänge (a) Flügellänge für ♀ (c): Körperlänge (d): Flügellänge für ♂ (e): Puppenlänge für F0 nach der Behandlung der 3. Larven für 24 Stunden mit Fenvalerat (0, 20, 30 und 40ppm) im normalen Futter und Hunger Stress (1:5 und 1:10) auf 25°C. (* = $P \leq 0,05$: signifikant, ** = $P \leq 0,01$: hochsignifikant, *** = $P \leq 0,001$: sehr hochsignifikant). $n = 30$ Fliegen und Puppen pro Ansatz bei normalen Futter, $n = 15$ Fliegen und $n = 20$ puppen bei (1:5 und 1:10).

3.1.2.3 Gewicht

Es wurde 10 Weibchen und 10 Männchen von jeden Ansatz pro Probe gewogen, und den Mittelwert ausgerechnet, Es gab deutliche reduzierenden Auswirkungen der Faktoren Geschlecht, Insektizid und Futterangebote und Wechselwirkungen zwischen diesen Faktoren auf dem Gewicht (Geschlecht $F=3082(p\leq 0.001)$; Insektizid $F=342(p\leq 0.001)$; Futterangebote $F=202(p\leq 0.001)$; Wechselwirkungen zwischen diesen Faktoren $F=16(p\leq 0.001)$). Anhand der F -Werte findet man, dass das Geschlecht den größten Effekt hatte, gefolgt in der nächsten Stelle die Fenvalerat-Konzentration. Der Unterschied war signifikant zwischen der Kontrolle und allen Ansätzen und zwischen den Ansätzen untereinander ($p\leq 0.001$). Genauso waren die Männchen signifikant leichter als die Weibchen ($p\leq 0.001$). Unter dem Hungerstress wurde das Gewicht mit den niedrigen Futterangeboten für beide Geschlecht abgenommen, sodass der Unterschied zwischen allen Futterangeboten signifikant ($p\leq 0.001$) war (Tab.2). Wechselwirkungen zwischen die Faktoren auf dem Gewicht (Abb.12).

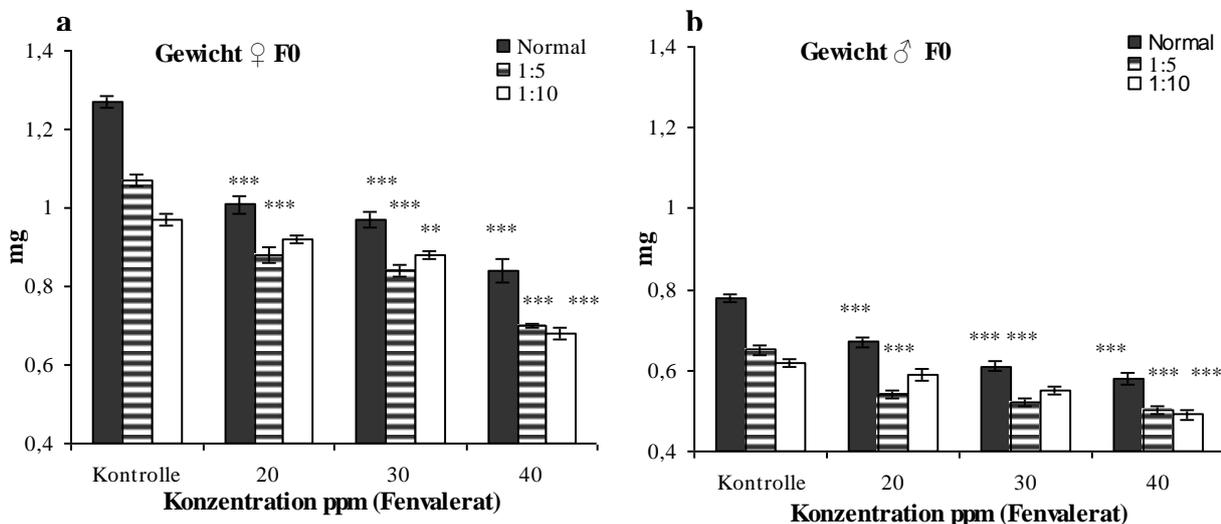


Abb.(3.1)-12: Gewicht von (a): Weibchen und (b): Männchen im Futter mit Fenvalerat für F0 nach der Behandlung des 3. Larvenstadiums für 24 Stunden mit Fenvalerat (0, 20, 30 und 40 ppm) im normalen Futter und unter Hungerstress (1:5 und 1:10) auf 25 °C. n: 150 Fliegen für Je Ansatz (* = $P\leq 0,05$: signifikant, ** = $P\leq 0,01$: hochsignifikant, *** = $P\leq 0,001$: sehr hochsignifikant).

3.1.2.4 Eizahl und Puppenzahl

Um zu untersuchen, welche Auswirkungen die Männchen auf die Fruchtbarkeit der Weibchen haben, und ob das Toxin von den Männchen auf die Weibchen übertragen werden kann, wurden die Kreuzversuche nur auf normalem Futterangebot durchgeführt. Nach der Kreuzung behandelter und unbehandelter Tiere konnte festgestellt werden, dass die Faktoren Kreuzung und Toxin und die Wechselwirkung zwischen ihnen die Ei- und Puppenzahl reduziert haben: Eizahl (Kreuzung ($F=7(p\leq 0.001)$); Toxin $F= 48 (p\leq 0.001)$; Wechselwirkung zwischen den Faktoren $F=53(p\leq 0.001)$). Puppenzahl (Kreuzung($F=10(p\leq 0.001)$); Toxin $F=72(p\leq 0.001)$; Wechselwirkung zwischen den Faktoren $F= 80 (p\leq 0.001)$). In Tab. 4 ist zu erkennen, dass die Männchen größeren Einfluss auf die Eiablage und den Eischlupf haben. Für die Ei- und Puppenzahl gab es signifikante Unterschiede zwischen der Kontrolle und alle Ansätzen. Es konnten signifikante Unterschiede zwischen der Kreuzung ♂Ux♀U (Kontrollgruppe) und allen anderen Kreuzungen bei allen Fenvalerat-Konzentrationen

($p \leq 0.001$) gefunden werden. Auch zwischen den Kreuzungen ♂T x ♀T und ♂T x ♀U gab es bei allen Konzentrationen signifikante Unterschiede. Aus Tab. 4 kann man schlussfolgern, dass die behandelten Weibchen einen größeren Einfluss hatten als die Männchen. Die Weibchen, die mit Fenvaleratkonzentration 40ppm behandelt wurden, legten die wenigsten Eier in allen Kreuzungsversuchen (Tab.4).

Der Kreuzungsversuch ♂T x ♀T wurde noch einmal mit allen Futterangeboten (1:5 und 1:10) wiederholt und die Eizahl und Puppenzahl ermittelt. Das Insektizid, das Futterangebote und die Wechselwirkung zwischen beiden haben die Ei- und Puppenzahl: Eizahl (Insektizide ($F=76(p \leq 0.001)$); Futterangebote $F=59(p \leq 0.001)$); Wechselwirkung zwischen beiden Faktoren $F=5(p \leq 0.001)$). Puppenzahl (Insektizide ($F=100(p \leq 0.001)$); Futterangebote $F=68(p \leq 0.001)$ Wechselwirkung zwischen beiden Faktoren $F=6(p \leq 0.001)$). Anhand des F-Wertes wurde festgestellt, dass sich die Konzentrationen des Toxins stark auf die Ei- und Puppenzahl ausgewirkt haben. Die Fenvalerat- Konzentration und das Futter hatten größeren Einfluss auf die Puppenzahl als auf die Eizahl. Der Unterschied zwischen der Kontrolle und allen Ansätzen war signifikant ($p \leq 0.001$). Zwischen den unterschiedlichen Futterangeboten war der Unterschied ebenfalls signifikant ($p \leq 0.001$).

Kreuzung	Konz./ppm	n	Mittelwerte±SE	
			Eirzahl	Puppenzahl
♀T*♂T	20	10	17,8±1,044	15,7±0,91
	30	10	13,8±1,044	11,1±0,91
	40	10	11,7±1,044	9,8±0,91
♂T*♀U	20	10	23±1,044	20,6±0,91
	30	10	19,7±1,044	17,9±0,91
	40	10	18,6±1,044	16,3±0,91
♀T*♂U	20	10	18,7±1,044	17,1±0,91
	30	10	17,7±1,044	15,6±0,91
	40	10	15,9±1,044	14,1±0,91
♂U*♀U	0	10	26,3±1,044	25±0,91

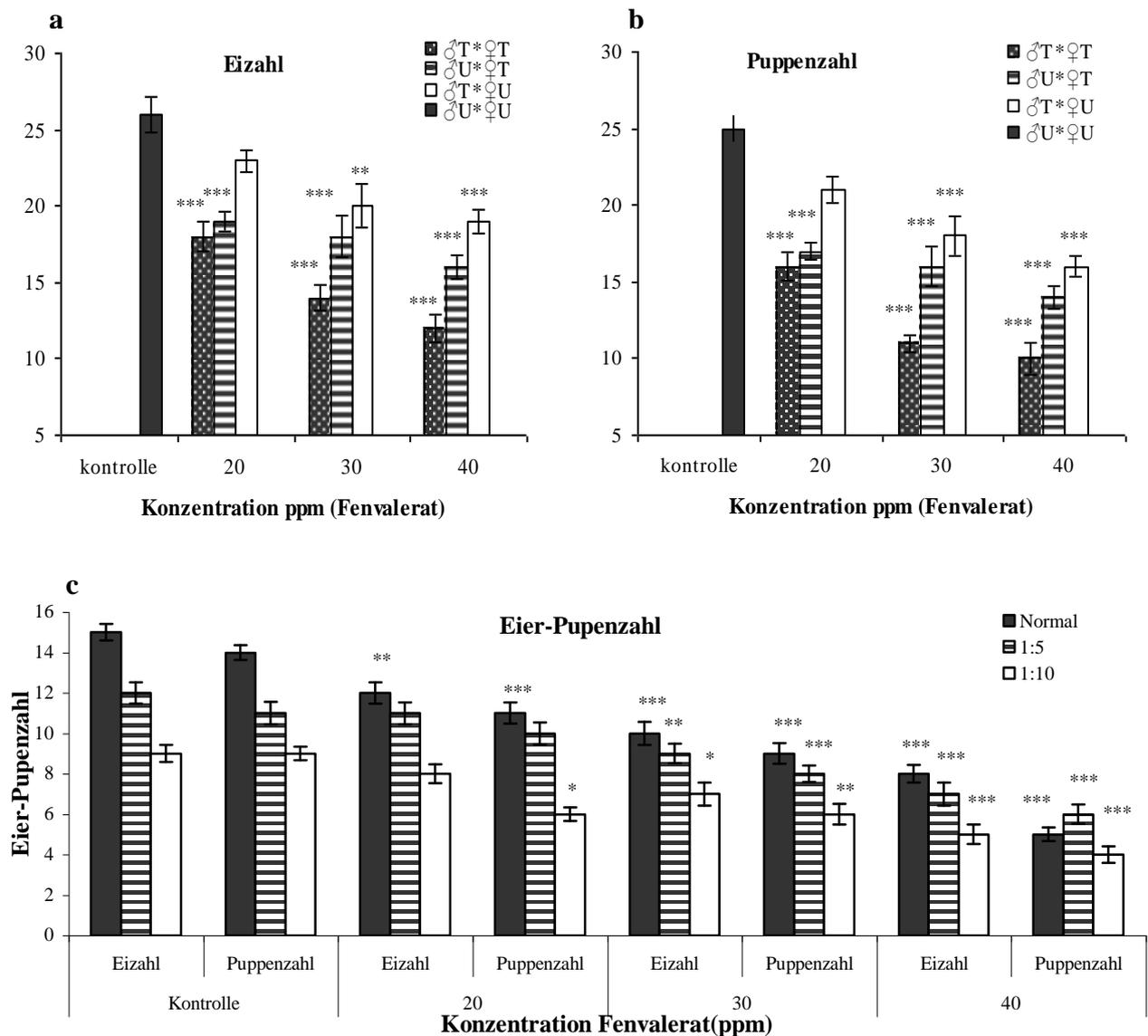
Tab.(3.1)-4: Die Mittelwerte der Parameter (Ei- und Puppenzahl) für die Faktoren (Kreuzung und Fenvalerat-Konzentrationen) nach der Behandlung der 3. Larven für 24 Stunden mit Fenvalerat (0, 20, 30 und 40 ppm) im normalen Futter auf 25 °C. (* = $P \leq 0.05$: signifikant, ** = $P \leq 0.01$: hochsignifikant, *** = $P \leq 0.001$: sehr hochsignifikant).

Die unbehandelten Fliegen legten auf den Futterangeboten (1:5 und 1:10) weniger Eier ab als auf normalem Futter (Abb.13c). Der Unterschied zwischen der Kontrolle und allen Ansätzen zeigte eine hohe Signifikanz ($p \leq 0.001$). Ebenso zwischen den Konzentrationen 40 ppm und 30 und 20ppm ($p \leq 0.001$). Um die Auswirkungen von Fenvalerat auf die Schlupfrate zu untersuchen, wurde die Puppenzahl ermittelt. Hohe Fenvalerat- Konzentrationen führten zu einer verminderten Schlupfrate. Auch unter den Hungerstressbedingungen waren die Ei- und Puppenzahl reduziert.

Bezüglich der Schlupfrate gab es deutliche Unterschiede zwischen allen Konzentrationen. Bei hohen Konzentrationen und geringem Futterangebot (1:5 und 1:10) war die Schlupfrate geringer. Im Vergleich zur Kontrolle schlüpften aus den Eiern bei allen Fenvalerat-Konzentrationen weniger Larven.

3.1.2.5 Eivolumen

Die frischen Eier wurden ausgemessen. Es konnte festgestellt werden, dass Fenvalerat die Eivolumen reduziert hat ($F(3,168)=12.3(p\leq 0.001)$). Die Effekte des Futters und der Interaktion von Futterangebote und Toxin waren dagegen nicht signifikant. Der Unterschied zwischen der Kontrolle und allen Konzentrationen war signifikant ($p\leq 0.001$) (Tab.2). Die Futterangebote hatten keinen Einfluss auf die Eivolumen. Die Interaktion zwischen Fenvalerat und den Futterangeboten hat die Eiergröße reduziert, aber der Unterschied war nicht signifikant (Abb.13d).



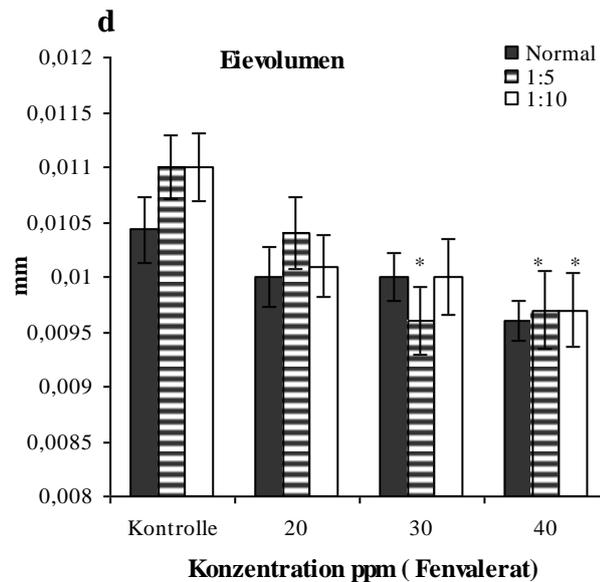


Abb.(3.1)-13: (a): Eizahl, (b): Puppenzahl nach der Kreuzung behandelter und un behandelter Tieren (c): Ei- und Puppenzahl (d): Eivolumen nach der Kreuzung behandelte und un behandelte Tiere. Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in FO für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven mit drei verschiedenen Futterangeboten (Normalfutter: Normal, 1:5: Mittel und 1:10: Wenig) und 25 °C ausgesetzt. (* = $P \leq 0.05$: signifikant, ** = $P \leq 0.01$: hochsignifikant, *** = $P \leq 0.001$: sehr hochsignifikant).

3.1.2.6 Auswirkungen von Fenvalerat auf das Larvengewicht

Fenvalerat und Futterangebote hatten einen großen reduzierenden Effekt auf das Gewicht des 3. Larvenstadiums (Fenvalerat ($F=60(p \leq 0.001)$); Futterangeboten $F=31(p \leq 0.001)$) und auch die Interaktionen von Futterangeboten und dem Toxin hatten reduzierten Auswirkungen ($F=22(p \leq 0.001)$). Insgesamt hatte Fenvalerat dabei den größten Einfluss. Zwischen der Kontrolle und allen Ansätzen gab es signifikante Unterschiede ($p \leq 0.001$). Bei den verschiedenen Futterangeboten war nur der Unterschied zwischen dem normalen Futter und allen anderen Futterangeboten signifikant ($p \leq 0.001$). Die Tiere der Kontrollgruppe nahmen auf normalem Futter und bei einer Verdünnung von 1:5 zu, bei einer Verdünnung von 1:10 und anderen Ansätzen jedoch ab. Am deutlichsten war die Gewichtsabnahme bei einer Fenvalerat-Konzentration von 20, 30 und 40ppm auf 1:10 verdünnten Futter und der Verdünnung 1:5 (Abb. 14).

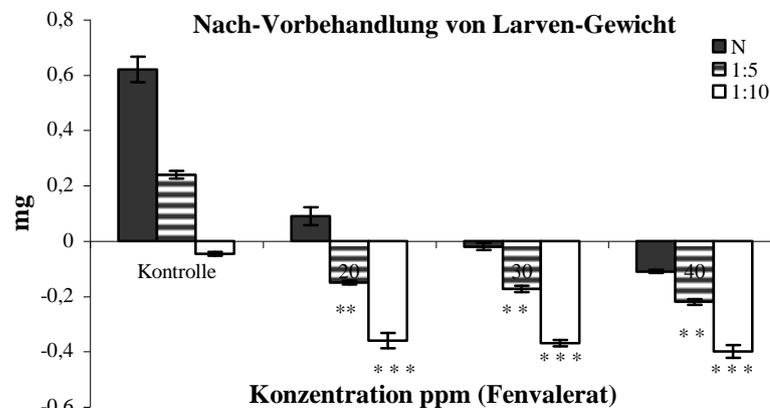


Abb.(3.1)-14: Das Gewicht des 3. Larvenstadiums vor und nach der Behandlung mit Fenvalerat. Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in F0 für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven mit drei verschiedenen Futterangeboten (Normalfutter: Normal, 1:5: Mittel und 1:10: Wenig) und 25 °C ausgesetzt. (* = $P \leq 0.05$: signifikant, ** = $P \leq 0.01$: hochsignifikant, *** = $P \leq 0.001$: sehr hochsignifikant).

3.1.2.7 Auswirkungen auf die Morphologie

Die Tiere wurden täglich nach der Behandlung mit Fenvalerat beobachtet und die Veränderungen in allen Wachstumsstadien dokumentiert. Die Puppen waren abnormal segmentiert und hatten Schwierigkeiten beim Adultschlupf. Die Tiere, denen der Schlupf zur adulten Fliege gelang, zeigten morphologische Veränderungen wie z.B. gewellte, runde oder geknickte Flügel (Abb.15).



Abb.(3.1)-15: morphologische Effekte von Fenvalerat auf die Imago und Puppen. Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in F0 für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven mit drei verschiedenen Futterangeboten (Normalfutter: Normal, 1:5: Mittel und 1:10: Wenig) und 25 °C ausgesetzt.

3.1.2.8 Ovargewicht

Die Ovarien wurden in Gruppen gewogen. Es konnten Auswirkungen der Toxin-Konzentrationen und der unterschiedlichen Futterverdünnungen auf das Ovargewicht festgestellt werden ($F=34(p \leq 0.001)$ bzw. $F=24(p \leq 0.001)$). Der F-Wert zeigt, dass Fenvalerat einen größeren Effekt als Hungerstress hatte. Es gab signifikante Unterschiede zwischen der

Kontrolle und allen Ansätzen ($p \leq 0.001$) und auch zwischen den Ansätzen. Unter Hungerstress gab es eine deutliche Reduzierung bei allen Futterangeboten ($p \leq 0.001$). Die Mittelwerte der Effekt von der Konzentration und Futter stehen in (Tab.5) bzw. sind aus (Abb.16) ersichtlich:

- **Normale Futtergabe:** der Unterschied war zwischen der Kontrolltiere und allen Ansätzen signifikant ($p \leq 0.001$), (20ppm($p=0.014$)), aber zwischen den Ansätze nur zwischen 40ppm und (20 ppm einen signifikanten Unterschied ($p \leq 0.001$) und 30ppm($p=0.014$)).
- **Futterverdünnung 1:5 und 1:10:** der Unterschied zwischen der Kontrolle und 30 ppm und 40ppm ($p \leq 0.001$) war signifikant, bei den behandelten Ansätzen gab es nur zwischen 20ppm und 40 ppm einen signifikanten Unterschied ($p \leq 0.001$).

3.1.2.9 Ovariolen

Nahrungsbedingungen und Insektizid hatten die Zahl entwickelter Ovariolen reduziert (Nahrungsbedingungen $F=13.4(p \leq 0.001)$; Insektizid $F=6.5(p=0.002)$). Der Unterschied war nur zwischen 40ppm und allen Ansätzen signifikant ($p \leq 0.001$). Unter den Hungerstressbedingungen haben die Tiere eine geringere Zahl entwickelter Ovariolen bei Futterangebot 1:10 als bei normalem Futter ($p=0.003$). (Tab.5) und (Abb.16) zeigen die Interaktion zwischen Futterangebot und Fenvalerat.

- **Normales Futterangebot:** die Kontrolltiere hatten eine größere Anzahl Ovariolen als die behandelten Ansätze. So wurde die Ovarienanzahl durch Fenvalerat-Konzentrationen reduziert. Statistisch konnte ein signifikanter Unterschied zwischen der Kontrolle und allen Ansätzen ($p \leq 0.001$) nachgewiesen werden.
- **Futterangebot 1:5:** Zwischen der Kontrolle und 30ppm ($p=0.012$) und 40 ppm ($p \leq 0.001$) bestanden signifikante Unterschiede.
- **Futterangebot 1:10:** Zwischen der Kontrolle und 40ppm ($p \leq 0.001$) bestand ein signifikanter Unterschied.

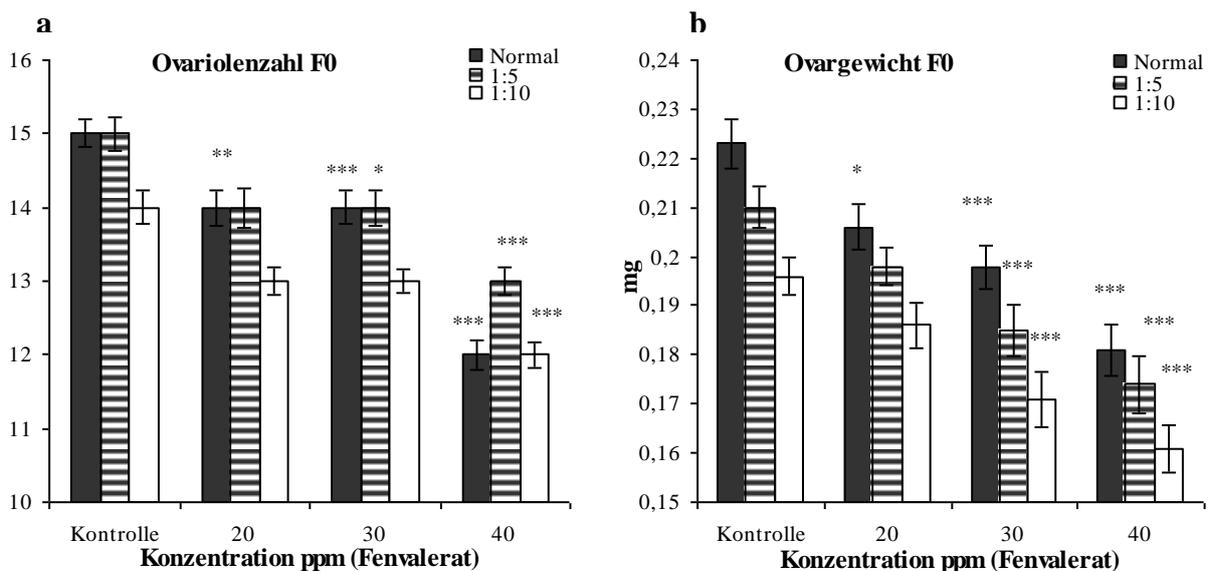


Abb.(3.1)-16: (a): Ovariolenzahl (b):Ovargewicht für F0. Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in F0 für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven mit drei verschiedenen Futterangeboten (Normalfutter: Normal, 1:5: Mittel und 1:10: Wenig) und 25°C ausgesetzt. (*= $P \leq 0.05$: signifikant, **= $P \leq 0.01$: hochsignifikant, ***= $P \leq 0.001$: sehr hochsignifikant). Ovariolenzahl $n=30$ für je Ansatz bei allen Futterangeboten aber Ovargewicht $n=10$ Proben für Je Ansatz(10 Ovarien pro Probe).

3.1.2.10 Ovargröße

Die Ovargröße nimmt normalerweise durch die Ausbildung von Eiern zu. Das Insektizid, die Futtermenge und die Wechselwirkung zwischen beiden Faktoren hatte deutliche reduzierende Auswirkungen auf die Ovarlänge (Insektizid $F=25.5(p \leq 0.001)$; Futtermenge $F=3.3(p=0.039)$; Die Wechselwirkung zwischen beiden Faktoren $F=6,5(p \leq 0.001)$). Am F-Wert konnte abgelesen werden, dass die Fenvalerat-Konzentration eine größere Wirkung auf die Ovarlänge hatte als Hungerstress. Zwischen Kontrolle und allen Ansätzen bestand ein signifikanter Unterschied ($p \leq 0.001$). Unter den Hungerstressbedingungen hatten die Tiere bei dem Futterangebot (1:10) eine geringere Ovarlänge als bei dem Futterangebot (1:5) ($p=0.032$).

Die Ovarbreite wurde deutlich durch das Insektizid reduziert ($F=5.6(p \leq 0.001)$; Unterschiede bei 30ppm $p \leq 0.001$; bei 40ppm $p=0.042$). (Abb.17) gibt eine Übersicht über die Interaktion zwischen Futterangebot und Fenvalerat- Konzentration:

- **Normales Futter:** Ovarlänge: Die Kontrollgruppe hatte signifikant längere Ovarien als die mit Fenvalerat behandelten Tiere ($p \leq 0.001$).

Ovarbreite: signifikante Unterschiede bestanden hauptsächlich zwischen behandelten und unbehandelten Tieren bei den Konzentrationen 20ppm ($p \leq 0.001$) 30ppm ($p=0.002$) und 40 ppm ($p \leq 0.001$).

- **Verdünntes Futter 1:5:** auch hier hatten die Kontrolltiere bei den Konzentrationen (20, 30 und 40 ppm) signifikant längere Ovarien mit(respektiv $p=0.028$, 0.004 und 0.00). so war die Kontrolle am größten.

- **Verdünntes Futter 1:10:** Es gab bezügl. der Ovarlänge keinen deutlichen Unterschied zwischen der Kontrolle und den behandelten Tieren. Zwischen den einzelnen Fenvalerat- Konzentrationen bestand kein signifikanter Unterschied. Der Hungerstress hatte keine Auswirkungen auf die Ovarbreite.

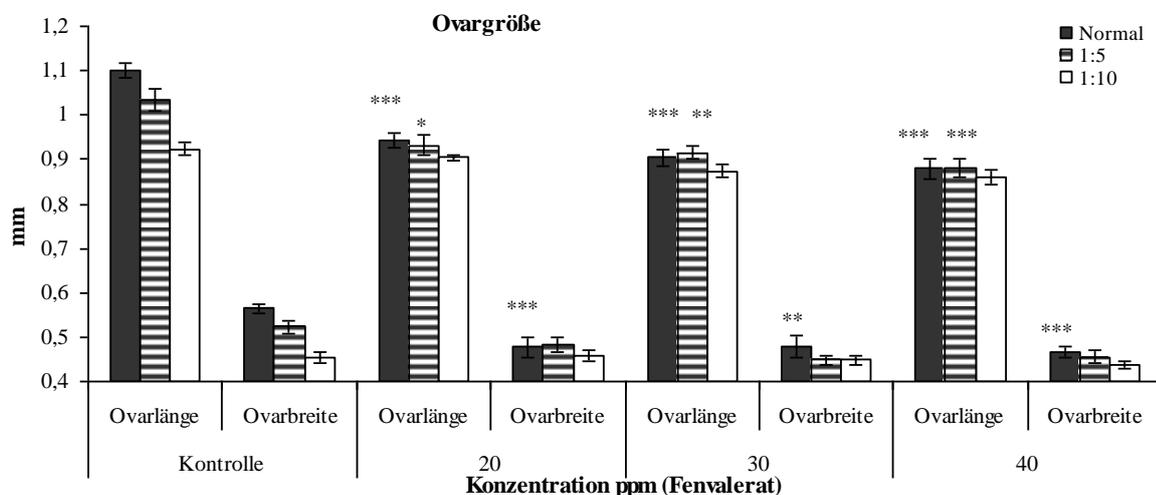


Abb.(3.1)-17: Ovarlänge und Breite, Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in F0 für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven mit drei verschiedenen Futterangeboten (Normalfutter: Normal, 1:5: Mittel und 1:10: Wenig) und 25°C ausgesetzt. (* = $P \leq 0.05$: signifikant, ** = $P \leq 0.01$: hochsignifikant, *** = $P \leq 0.001$: sehr hochsignifikant). $n=30$ für je Ansatz bei allen Futterangeboten.

3.1.2.11 Geschlechterverhältnis

Es wurde geprüft, ob die Stressfaktoren Insektizid bzw. Hunger nach Behandlung von Larven der F0-Generation (3.Stadium) das Geschlechterverhältnis der überlebenden Tiere beeinflussen.

F0: Insektizid und Futtermenge haben das Geschlechterverhältnis versunken ($F=62.3(p \leq 0.001)$ bzw. $F=25.2(p \leq 0.001)$). Die Wechselwirkung zwischen beiden Faktoren hatte allerdings keine Auswirkungen. Es gab signifikante Unterschiede zwischen der Kontrolle und allen Ansätzen ($p \leq 0.001$). Zwischen den einzelnen Futterangeboten bestanden ebenfalls signifikante Unterschiede ($p \leq 0.001$)(Tab.5). So hat der Hungerstress die Toxinwirkung nicht verstärkt. Die Toxinkonzentration hatte größeren Einfluss auf das Geschlechterverhältnis als der Hungerstress. Die Anzahl der Männchen war im Vergleich zur Anzahl der Weibchen reduziert. Die Kontrollgruppe hatten im Vergleich zu den Behandlungen (20ppm, 30 ppm und 40ppm) signifikanten Unterschied ($p \leq 0.001$) (Abb.18a).

Faktoren	Ovariolen	Ovargewicht /mg	Ovarlänge /mm	Ovarbreite /mm	Verhältnis ♂/♀%		Larvengewicht /mg	
					F0	F1		
Konz./ppm	0	14±0,2	0,21±0,003	1,01±0,02	0,51±0,01	83±3	80±3	1,22±0,02
	20	14±0,2	0,197±0,003	0,91±0,01	0,47±0,01	55±3	75±3	1±0,02
	30	13±0,2	0,185±0,003	0,86±0,02	0,44±0,01	46±3	69±3	1±0,02
	40	12,5±0,2	0,17±0,003	0,83±0,02	0,46±0,01	36±3	58±3	0,98±0,02
Futter	N	14±0,2	0,2±0,003	0,9±0,03	0,49±0,01	66±4	86±3	1,13±0,02
	1:5	14±0,2	0,192±0,003	0,93±0,02	0,49±0,005	55±4	64±3	1,04±0,02
	1:10	13±0,2	0,179±0,003	0,88±0,01	0,45±0,006	43±4	61±3	0,99±0,02

Tab.(3.1)-5: Die Mittelwerte der Effekte der Stressfaktoren in F0 auf Ovar-Parameter, Sex Ratio und Larvengewicht(der Unterschied zwischen dem Gewicht vor und nach der Behandlung). Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in F0 für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven mit drei verschiedenen Futterangeboten (Normalfutter: N, 1:5: Mittel und 1:10: Wenig) und 25 °C ausgesetzt. (* = $P \leq 0.05$: signifikant, ** = $P \leq 0.01$: hochsignifikant, *** = $P \leq 0.001$: sehr hochsignifikant).

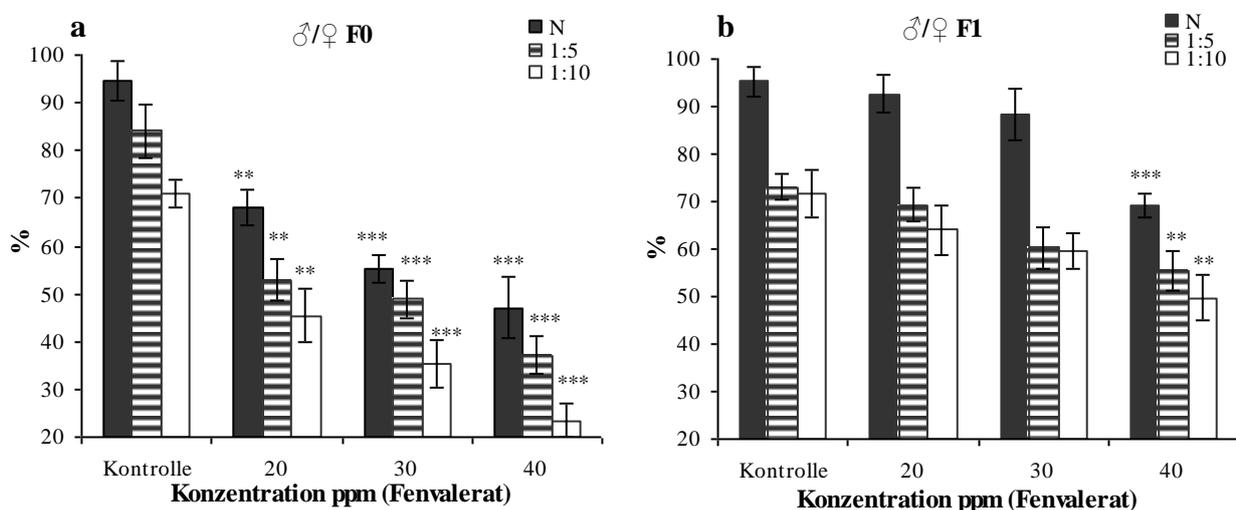


Abb.(3.1)-18: (a): bei der F0 Generation (b): bei der F1 Generation, Geschlechterverhältnis ($\sigma/\text{♀}$) für F1. Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in F0 für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven mit drei verschiedenen Futterangeboten (Normalfutter: Normal, 1:5: Mittel und 1:10: Wenig) und 25°C ausgesetzt. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern auf den Futterangeboten bei der Temperatur 25°C gezüchtet. (* = $P \leq 0.05$: signifikant, ** = $P \leq 0.01$: hochsignifikant, *** = $P \leq 0.001$: sehr hochsignifikant). $n = 10$ für je Ansatz (25 Fliegen pro Probe).

F1: Fenvalerat und Hungerstress haben auch in der F1 das Geschlechterverhältnis reduziert ($F=15.4$ ($p \leq 0.001$)) und $F=42.9$ ($p \leq 0.001$)), die Wechselwirkung zwischen beiden Faktoren hatte jedoch keinen Effekt. Es bestand ein signifikanter Unterschied zwischen der Kontrolle und allen Ansätzen (30ppm ($p=0.013$) und 40ppm ($p \leq 0.001$)). Zwischen den einzelnen Futterangeboten traten deutliche Unterschiede auf ($p \leq 0.001$). Unter dem Hungerstress wurde das Geschlechterverhältnis reduziert. Das Futterangebot wirkte sich sogar stärker auf das Geschlechterverhältnis aus, als das Insektizid.

3.1.3 Auswirkungen auf die Nachkommen

An den Nachkommen der begifteten Generation wurde geprüft, ob sie auf Stressfaktoren wie Hunger empfindlicher reagieren. Die Auswirkungen von Futtermangel auf Wachstum und Entwicklung wurden dokumentiert.

Faktoren		KörperL. /mm	FlügelL. /mm	Gewicht /mg	PuppenL. /mm	Eizahl	Eiergröße /mm ²
Vorbehandlung /ppm	0	2,2±0,008	1,92±0,006	0,82±0,0078	2,65±0,025	9±0,3	0,011±0,0003
	20	2,1±0,008	1,77±0,006	0,73±0,006	2,61±0,025	7±0,3	0,011±0,0003
	30	2±0,008	1,75±0,006	0,71±0,006	2,61±0,025	6±0,3	0,011±0,0003
	40	1,94±0,008	1,71±0,006	0,65±0,006	2,54±0,025	5±0,3	0,01±0,0003
Geschlecht	♀	2,18±0,005	1,89±0,02	0,83±0,006	-	-	-
	♂	1,93±0,005	1,68±0,02	0,61±0,006	-	-	-
Futter	N	2,40±0,006	2,06±0,005	0,93±0,006	2,75±0,021	10±0,2	0,011±0,0002
	1:5	1,97±0,006	1,71±0,005	0,66±0,006	2,57±0,021	6±0,2	0,011±0,0002
	1:10	1,85±0,006	1,61±0,005	0,59±0,006	2,48±0,021	5±0,2	0,01±0,0002

Tab.(3.1)- 6: Die Mittelwerte der Effekte der Stressfaktoren in F1 auf den morphologischen Parameter (Körper- Flügellänge, Gewicht und Puppenlänge), Eizahl und Eiergröße. Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in F0 für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven mit drei verschiedenen Futterangeboten (Normalfutter: N, 1:5: Mittel und 1:10: Wenig) und 25 °C ausgesetzt. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern auf den Futterangeboten bei der Temperatur 25 °C gezüchtet.

3.4.1 Körper- Flügellänge und Puppenlänge

Alle Stressfaktoren hatten die Körper-, Flügel- und Puppenlänge reduziert. Neben dem Futterangebot hatte dabei die Interaktion zwischen den Stressfaktoren den größten Einfluss (außer auf Puppenlänge) (Tab.7). Tab.6 zeigt die Mittelwerte der Parameter unter Einfluss der verschiedenen Faktoren. (Abb.19) zeigt die Mittelwerte der Körper- Flügel- und Puppenlänge bei Interaktion der Faktoren Futterangebot, Toxin und Geschlecht.

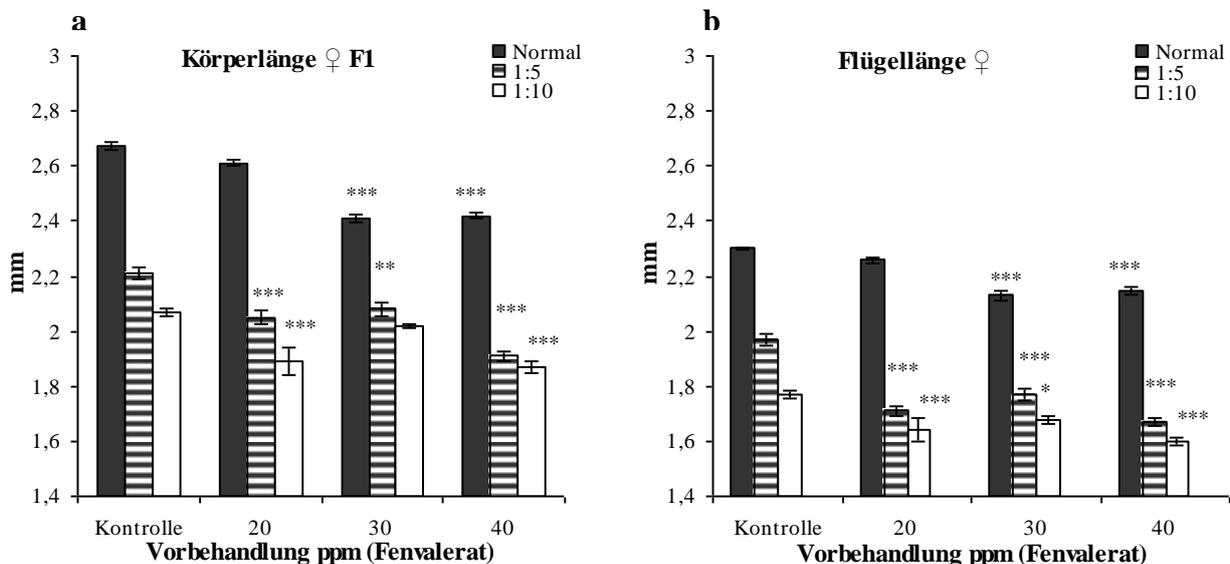
Parameter/mm	Faktoren	F-Werte	p
Körperlänge	Geschlecht	941,22	≤0,001
	Konz./ppm	163,4	≤0,001
	Futter	1598,3	≤0,001
	Geschlecht*Konz.*Futter	13,2	≤0,001
Flügelänge	Geschlecht	822,4	≤0,001
	Konz. /ppm	169,6	≤0,001
	Futter	1732,12	≤0,001
	Geschlecht*Konz.*Futter	16,11	≤0,001
Puppenlänge	Konz. /ppm	3,55	≤0,01
	Futter	42,81	≤0,001
	Konz.*Futter	1,1	n.s

Tab.(3.1)-7: Die Effekte der Stressfaktoren und die Wechselwirkungen zwischen ihnen auf den Parameters (Körper- Flügelänge und Puppenlänge). Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in F0 für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven mit drei verschiedenen Futterangeboten (Normalfutter: Normal, 1:5: Mittel und 1:10: Wenig) und 25°C ausgesetzt. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern auf den Futterangeboten bei der Temperatur 25°C gezüchtet. (* = $P \leq 0.05$: signifikant, ** = $P \leq 0.01$: hochsignifikant, *** = $P \leq 0.001$: sehr hochsignifikant).

Zwischen allen Ansätzen der Konzentrationen und zwischen allen Futterangeboten bestanden signifikante Unterschiede ($p \leq 0.001$).

In beiden Geschlechtern waren bei allen Futterangeboten die behandelten Tiere signifikant kleiner als die unbehandelten. Die behandelten Tiere hatten signifikant kleinere Körper- und Flügelängen in allen Ansätzen. Die Ergebnisse ähneln denen für Körper- und Flügelänge. Unter Hungerstressbedingungen war die Körper- und Flügeläng der Fliegen im Vergleich zu normalen Futterbedingungen reduziert, besonders nach der Behandlung mit Fenvalerat (abb.19).

Puppenlänge: Zwischen der Kontrolle und allen Fenvalerat-Konzentrationen konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden, ebenso zwischen den Futteransätzen bei allen Futterangeboten.



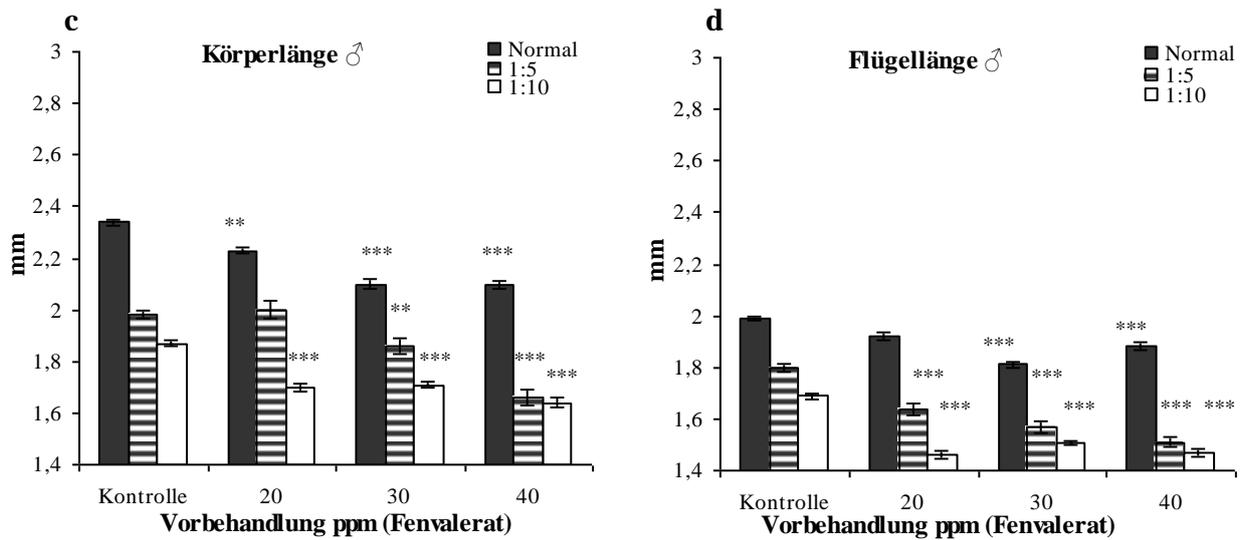


Abb.(3.1)-19: (a): Körperlänge (b): Flügelänge für ♀ (c): Körperlänge (d): Flügelänge für ♂. Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in F0 für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven mit drei verschiedenen Futterangeboten (Normalfutter: Normal, 1:5: Mittel und 1:10: Wenig) und 25 °C ausgesetzt. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern auf den Futterangeboten bei der Temperatur 25 °C gezüchtet. (* = $P \leq 0.05$: signifikant, ** = $P \leq 0.01$: hochsignifikant, *** = $P \leq 0.001$: sehr hochsignifikant). $n = 30$ Fliegen und 15 Puppen pro Ansatz bei den normalen Futter, $n = 20$ Fliegen und $n = 15$ puppen bei(1:5 und 1:10).

3.1.3.2 Gewicht

Das Geschlecht der Fliegen, das Insektizid, die Futtermenge und die Wechselwirkung zwischen allen Faktoren haben das Gewicht abgenommen (Geschlecht $F(1,336) = 783(p \leq 0.001)$; Insektizid $F(3,336) = 839(p \leq 0.001)$; Futtermenge $F(2,336) = 7688(p \leq 0.001)$; die Wechselwirkung zwischen allen Faktoren $F(17,336) = 16.1(p \leq 0.001)$.

Der Unterschied war signifikant zwischen der Kontrolle und allen Ansätzen und zwischen den Ansätzen untereinander ($p \leq 0.001$), außer bei (20 und 30ppm). Auch zwischen den Männchen und Weibchen gab es signifikante Unterschiede ($p \leq 0.001$) und zwischen den unterschiedlichen Futtermengen ($p \leq 0.001$) (Tab.6). Bei normaler Futtermenge wiesen die behandelten Fliegen starke Belastungen auf. Ihr Gewicht war im Vergleich zur Kontrollgruppe reduziert. Es gab signifikante Unterschiede zwischen der Kontrolle und allen Behandlungen ($p \leq 0.001$), außer bei 20 ppm. Bei den Männchen gab es nur zwischen der Kontrolle und 30ppm signifikante Unterschiede ($p = 0.005$). Bei den Weibchen gab es signifikanten Unterschied zwischen der Kontrolle und den Behandlungen (20 ppm ($p = 0.021$) und 40ppm ($p \leq 0.001$)). Bei den Männchen gab es einen großen Unterschied zwischen der Kontrolle und den Ansätzen 20 ppm $p = 0.011$, 40ppm ($p \leq 0.001$) (Abb. 20).

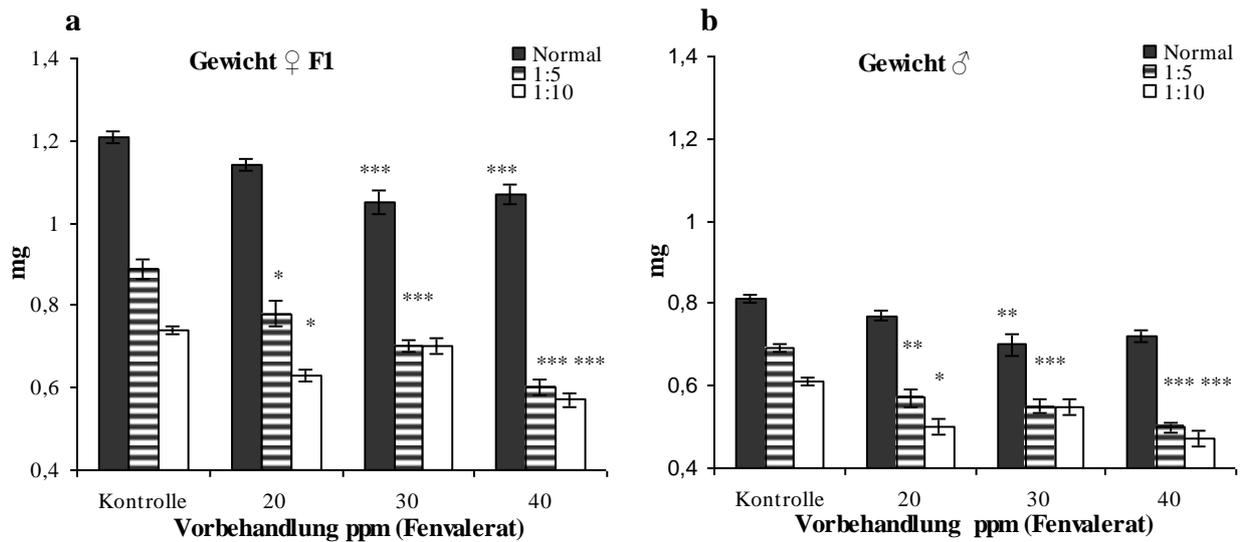


Abb.(3.1)-20: Gewicht von (a): Weibchen und (b): Männchen. Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in F0 für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven mit drei verschiedenen Futterangeboten (Normalfutter: Normal, 1:5: Mittel und 1:10: Wenig) und 25 °C ausgesetzt. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern auf den Futterangeboten bei der Temperatur 25 °C gezüchtet. (*= $P \leq 0.05$: signifikant, ** = $P \leq 0.01$: hochsignifikant, ***= $P \leq 0.001$: sehr hochsignifikant). n: 15 Proben für Je Ansatz (10 Fliegen pro Probe).

3.1.3.3 Eizahl

Die unterschiedlichen Futtermengen und die Toxinkonzentrationen haben die Eierzahl reduziert (Futtermengen $F=34(p \leq 0.001)$; Toxinkonzentrationen $F=200(p \leq 0.001)$). Besonders bei der F1 hatte der Hungerstress deutliche Auswirkungen auf alle Messwerte. Es gab signifikante Unterschiede zwischen der Kontrolle und allen Behandlungen ($p \leq 0.001$). Der Unterschied zwischen den Futterangeboten war signifikant ($p \leq 0.001$) (Tab.6). Bei normaler Futtermenge war der Unterschied zwischen der Kontrolle und allen Ansätzen signifikant ($p \leq 0.001$) außer 20 ppm ($p=0.011$). Dieses Ergebnis unterstützt die Hypothese, dass Fenvalerat in hohen Dosen auf die F1 übertragen wurde und sich auf die Fruchtbarkeit ausgewirkt hat. Beim Hungerstress bestand den signifikanten Unterschied nur zwischen der Kontrollegruppe und 40ppm ($p \leq 0.001$) (Abb. 21).

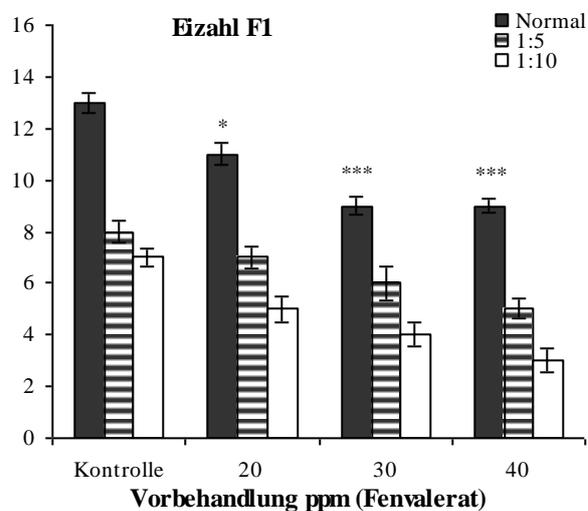


Abb.(3.1)- 21: *Eizahl: Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in F0 für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven mit drei verschiedenen Futterangeboten (Normalfutter: Normal, 1:5: Mittel und 1:10: Wenig) und 25°C ausgesetzt. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern auf den Futterangeboten bei der Temperatur 25°C gezüchtet. n=20 Fliegen pro Ansatz bei den normalen Futter und n=15 bei anderen Futterangeboten (* = $P \leq 0,05$: signifikant, ** = $P \leq 0,01$: hochsignifikant, *** = $P \leq 0,001$: sehr hochsignifikant).*

3.13.4 Eivolumen

Die Eivolumen ist ein wichtiges Maß, da sie ein Indikator für gesunde Nachkommen ist. Sie ist von den Lebensbedingungen der Eltern abhängig. Große Eier enthalten kräftige und normal ausgebildete Tiere. Die Ergebnisse zeigen, dass nur die unterschiedlichen Futterangebote Auswirkungen auf die Eivolumen hatten ($F(3,168)=4.9(p=0.007)$). Zwischen mittlerem (1:5) und geringem Futterangebot (1:10) bestanden signifikante Unterschiede ($p=0.005$). Mit dem armen Futterangebote (1:5 und 1:10) sind die Eiergröße gesteigert, aber das Toxin ist die Eiergröße reduziert. (Tab.6) der Kontrolle und allen Ansätzen hatten ziemlich gleichen Größe, und der Unterschied zwischen ganzen Ansätzen war nicht signifikant, diese Ergebnisse wurden in allem Futterangebot gefunden. n=20 Eier pro Ansatz bei allen Futterangeboten.

3.2 Physiologische Effekte

3.2.1 Glykogengehalte

3.2.1.1 Glykogengehalte der Puppen

Auswirkungen von Fenvalerat

F0-Generation: es besteht eine höchst signifikante Auswirkung von Fenvalerat auf den Glykogengehalt ($F(3,76)=31(p \leq 0.001)$). Nach Einwirkung des Insektizids gab es einen höchst signifikanten Unterschied zwischen der Kontrolle und allen Ansätzen (20, 30 und 40 ppm) ($p \leq 0.001$) Tukey) (Abb.21b).

F1-Generation: es wurde durch die Toxinkonzentration der Glykogengehalt gesenkt ($F(3,76)=17(p \leq 0.001)$). Bezüglich der Auswirkung der Toxinkonzentration gab es einen höchst signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und allen Behandlungen (20,30 und 40ppm) ($p \leq 0.001$), Tukey) (Abb.21b).

Auswirkungen der Futterqualität (Hungerstress)

F0: Es besteht bedeutender Einfluss des Futters auf den Glykogen-Gehalt der Puppen $F(2,77)=78(p \leq 0.001)$. Bezüglich des Einflusses des Futterangebots auf den Glykogengehalt besteht eine höchste Signifikanz zwischen dem Normalfutter und anderen Futterangeboten (1:5 und 1:10 Verdünnung) (Abb.21a).

F1: es wurde durch durch das Futterangebot der Glykogengehalt gesenkt, $F(2,77)=233(p \leq 0.001)$. Beim Einfluss des Futterangebots auf den Glykogengehalt besteht eine höchste Signifikanz zwischen dem Normalfutter und allen anderen Futterangeboten (1:5 und 1:10 Verdünnung) (Abb.21a).

Auswirkungen Hungerstress nach Fenvalerat- Behandlung

F0: Es gab signifikanten Unterschied im Glykogen-Gehalt bei der Interaktion zwischen Hungerstress und Fenvalerat $F(6,73)=5(p \leq 0.001)$. Bei Normalfutter war der Unterschied signifikant zwischen der Kontrollgruppe und den anderen Konzentrationen, beim

Futterangebot 1:5 gab es einen signifikanten Unterschied nur zwischen der Kontrolle und den Ansätzen (30 und 40ppm).

F1: Bei Normalfutter war der Unterschied signifikant zwischen der Kontrollgruppe und 40ppm. Beim Futterangebot 1:10 wurde ein Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und den Ansätzen (30 und 40ppm) gefunden (Tab.8). Die angewendeten Stressfaktoren bewirkten in beiden Generationen eine Reduktion des Glykogengehaltes.

Hier ist zu erkennen, dass die Puppen bei Normalfutter mit niedriger Toxinkonzentration den höchsten Glykogengehalt akkumulierten. Den geringsten Glykogengehalt hatten die Puppen, die eine hohe Toxinkonzentration bei niedrigem Futterangebot erhielten.

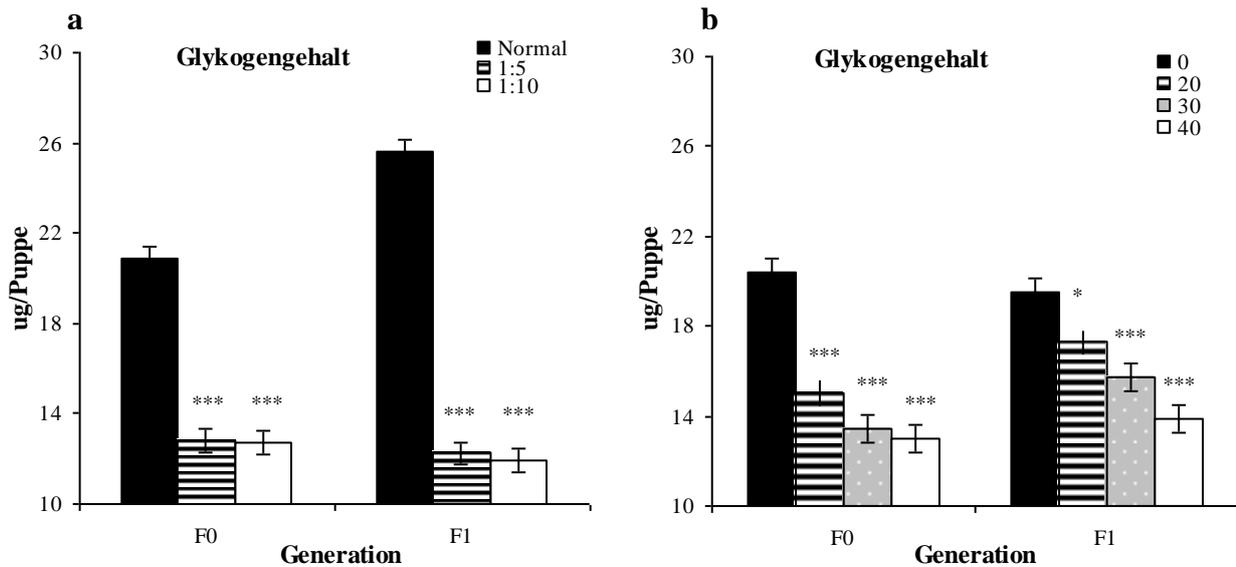


Abb.(3.2)-21: (a): Die Effekte des Futterangebots (Normal: Normalfutter, 1:5 und 1:10 Verdünntes Futter) auf den Glykogengehalt der Puppen (b): Der Einfluss der Konzentration von Fenvalerat (0, 20, 30 und 40 ppm) auf den Glykogengehalt der Puppen nach der Behandlung (die Behandlung fand nur in F0 statt). Das 3. Larvenstadium wurde für 24 Stunden mit Fenvalerat behandelt. Daraufhin wurden die behandelten Larven mit den verschiedenen Futterangeboten aufgezogen. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern mit dem entsprechenden Nahrungsmittelangebot bei einer Temperatur von 25°C aufgezogen. n= 20 Puppen für je Ansatz bei allen Futterangeboten.

Wechselwirkung	Konz. ppm	Futter	Mittelwerte ±SE Glykogen ug/Tier			
			Puppe		Adulte	
			F0	F1	F0	F1
Konz.*Futter	0	N	29,77±1,06	29,77±1,02	42,79±3,80	50,24±1,57
	0	1:5	16,36±1,06	13,87±1,02	30,2±3,80	18,05±1,57
	0	1:10	15,13±1,06	15±1,02	15,13±3,80	15±1,57
	20	N	18,49±1,06***	26,55±1,02	30,04±3,80	46,62±1,57
	20	1:5	12,39±1,06	12,30±1,02	25,21±3,80	16,01±1,57
	20	1:10	14,12±1,06	12,99±1,02	15,93±3,80	12,99±1,57
	30	N	17,7±1,06***	25,41±1,02	28,20±3,80	45,95±1,57
	30	1:5	11,47±1,06	11,68±1,02	16,78±3,80	15,19±1,57
	30	1:10	11,10±1,06	11,08±1,02*	11,10±3,80	10,1±1,57
	40	N	17,41±1,06***	20,81±1,02***	26,66±3,80	41,56±1,57**
	40	1:5	11,11±1,06*	11,14±1,02	13,97±3,80	14,49±1,57
	40	1:10	10,47±1,06	9,62±1,02*	11,32±3,80	8,71±1,57

Tab.(3.2)-8: Mittelwert \pm SE der Interaktion zwischen vier verschiedenen Konzentrationen des Insektizids Fenvalerat (0, 20, 30 und 40 ppm) mit drei verschiedenen Futterangeboten (Normalfutter: N, 1:5 und 1:10 Verdünntes Futter) auf den Glykogengehalt von Adulten und Puppen der beiden Generationen F0 und F1. Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in F0 für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven den jeweiligen Futterangeboten und 25 °C ausgesetzt. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern auf den Futterangeboten bei der Temperatur 25 °C gezüchtet.

3.2.1.2 Glykogengehalte der Adulten

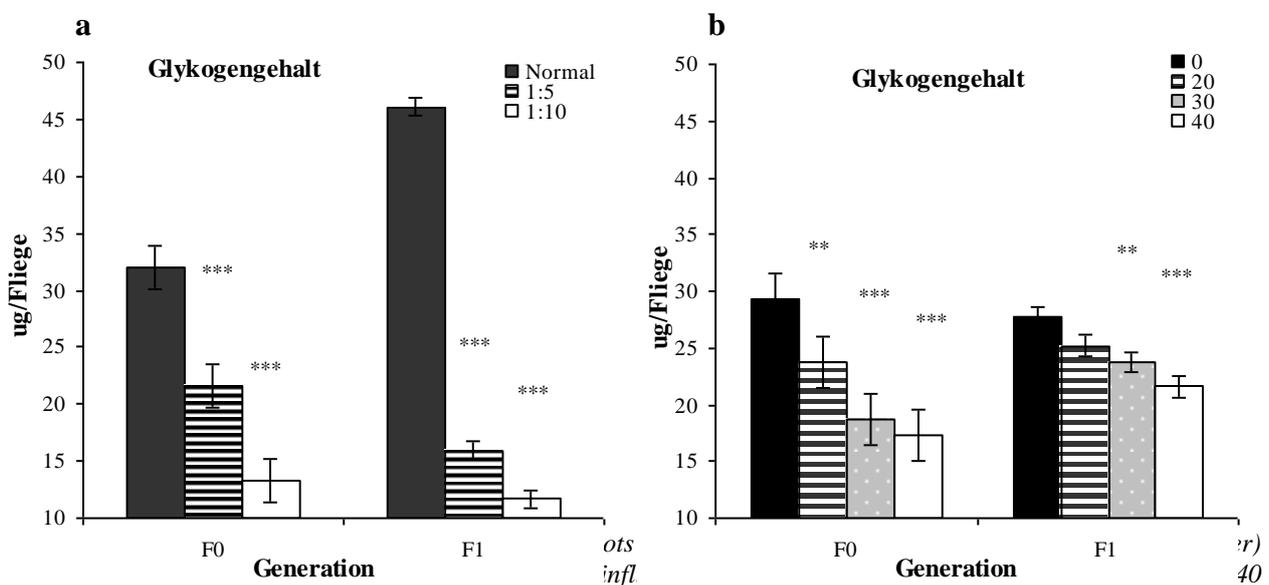
Auswirkungen von Fenvalerat

F0: Es konnte eine höchst signifikante Reduzierung des Glykogengehalts durch die Toxinkonzentration ($F(3,76)=6,21(p\leq 0.001)$) festgestellt werden. Bezüglich der Auswirkungen der Konzentration gab es einen höchst signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und allen anderen Ansätzen (30 und 40 ppm) ($p\leq 0.001$, Tukey) (Abb. 22b).

F1: Es wurde zunächst eine höchst signifikante Reduzierung des Glykogengehalts durch die Fenvalerat-Konzentration gefunden ($F(3,76)= 8(p\leq 0.001)$). Für die Auswirkungen der Konzentration gab es einen höchst signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und allen anderen Ansätzen (30 und 40 ppm) ($p\leq 0.001$, Tukey) (Abb. 22b).

Auswirkungen der Futterqualität (Hungerstress)

F0: Es wurde eine höchst signifikante Reduzierung des Glykogengehalts die Futtermenge und $F(2,77)=23,91(p\leq 0.001)$ festgestellt werden. Beim Einfluss der Futterangebote auf den Glykogengehalt besteht eine höchste Signifikanz zwischen der Normalfutter und allen anderen Futterangeboten (Abb.22a).



ppm) auf den Glykogengehalt der Adulten nach der Behandlung (die Behandlung fand nur in F0 statt). Das 3. Larvenstadium wurde für 24 Stunden mit Fenvalerat behandelt. Daraufhin wurden die behandelten Larven mit den verschiedenen Futterangeboten aufgezogen. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern mit dem entsprechenden Nahrungsmittelangebot bei einer Temperatur von 25°C aufgezogen. $n= 20$ Fliegen für je Ansatz bei allen Futterangeboten.

F1: Es wurde zunächst eine höchst signifikante Reduzierung des Glykogengehalts durch die die Futterangebote gefunden ($F(2,77)=574(p\leq 0.001)$). Beim Einfluss der Futterangebote auf

den Glykogengehalt bestand eine hohe Signifikanz zwischen der Normalfutter und allen anderen Futterangeboten (Abb.22a).

Auswirkungen Hungerstress nach Fenvalerat- Behandlung

F0 und F1: Die Wechselwirkung (Futterangebote und Toxin) hatte keinen Effekt auf den Glykogengehalt der Adulten.

F1: Beim Normalfutter und 1:5 Verhältnissen war ein signifikanter Unterschied nur zwischen der Kontrollgruppe und 40ppm zu beobachten (Tab.8). Die Stressfaktoren beeinflussten den Glykogengehalt der Puppen stärker als den der Adulten beider Generationen. Lediglich bei F1 ($F=573$) wirkte sich das Futterangebot auf den Glykogengehalt der Adulten stärker aus als auf den der Puppen ($F=78$).

3.2.2 Trehalosegehalte

3.2.2.1 Trehalosegehalte der Puppen

Nach Haltung in verdünntem Futter war der Trehalosegehalt der Puppen erheblich reduziert. Behandlung mit Fenvalerat führte dagegen zu einer Erhöhung des Trehalosewerte.

Auswirkungen von Fenvalerat

F0: Es besteht ein höchst signifikanter Einfluss der Toxinkonzentration auf die Trehalose ($F(3,76)=17(p\leq 0.001)$). Die Toxinkonzentration erhöhte den Trehalosegehalt; Für die Auswirkungen der Konzentration gab es einen höchst signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollprobe und und der Behandlung 40ppm ($p\leq 0.001$), Tukey) (Abb.23b).

F1: Es besteht bei Konzentration ein höchst signifikanter Einfluss auf die Trehalose ($F(3,76)=6(p\leq 0.001)$). Die Toxinkonzentration erhöhte den Trehalosegehalt, das Futterangebot jedoch reduziert die Trehalose. In Hinblick auf die Auswirkung der Toxinkonzentration gab es einen höchst signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und 40ppm ($p\leq 0.001$), Tukey) (Abb.23b).

Auswirkungen der Futterqualität (Hungerstress)

F0: Es besteht ein höchst signifikanter Einfluss der Futterangebote auf die Trehalose ($F(2,77)=70(p\leq 0.001)$). Der Einfluss des Futterangebots auf den Trehalosegehalt wies eine höchste Signifikanz zwischen allen Futterangeboten untereinander auf (Abb.23a). Man hob aber das Futterangebot an, reduzierte sich die Trehalose.

F1: Es besteht bei Futterangebot ein höchst signifikanter Einfluss auf die Trehalose ($F(2,77)=103(p\leq 0.001)$). Hinsichtlich des Einflusses der Futterangebote auf die Trehalose besteht eine höchste Signifikanz zwischen allen Futterangeboten untereinander (Abb.23a).

Auswirkungen Hungerstress nach Fenvalerat- Behandlung

F0: Es besteht ein höchst signifikanter Einfluss der Wechselwirkung (Konzentration und Futterangebote) auf die Trehalose ($F(6,73)=10(p\leq 0.001)$). (Tab.9) zeigt Ls-Means der Wechselwirkungen der Futterangebote und der Konzentration: Von dieser Darstellung ist abzulesen, dass die Puppen mit Normalfutter mit niedrigen Toxinkonzentrationen den höchsten Trehalosegehalt, die mit hoher Toxinkonzentration und niedrigem Futterangebot (1:10) den niedrigsten Wert an Trehalose akkumulierten. Bei Normalfutter gab es einen signifikanten Unterschied nur zwischen der Kontrollgruppe und 20 ppm. Bei 1:5 und 1:10 Verdünnung gab es hohen Unterschied nur zwischen der Kontrollgruppe und 40 ppm (Tab.9).

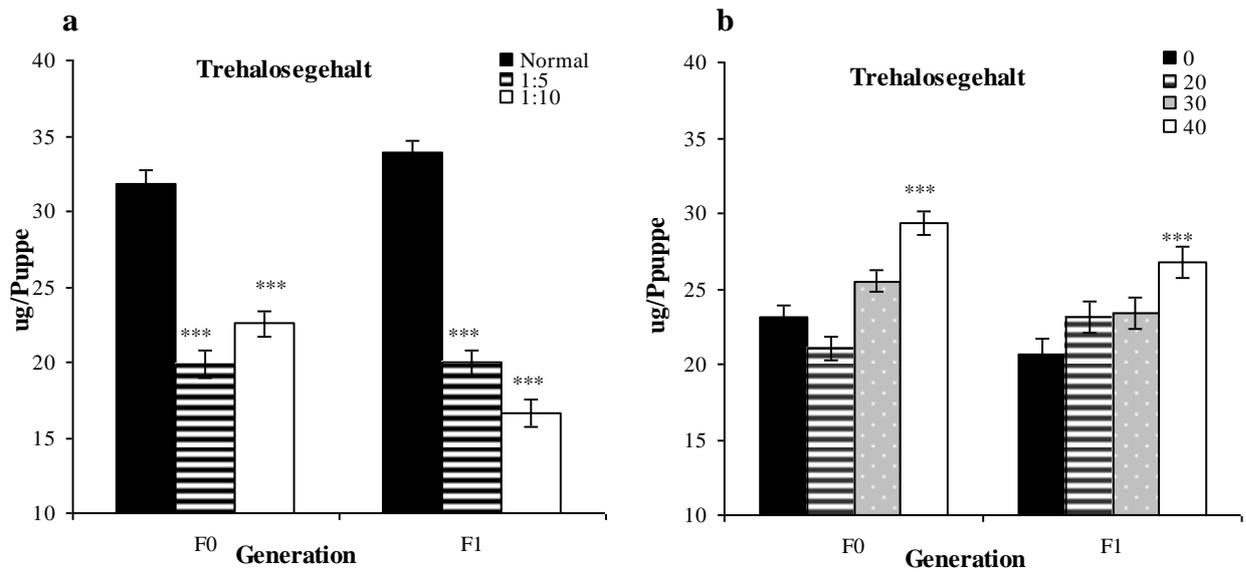


Abb.(3.2)-23: (a): Die Effekte des Futterangebots (Normal: Normalfutter, Mittel: 1:5 und Wenig:1:10) auf den Trehalosegehalt der Puppen (b): Der Einfluss der Konzentration von Fenvalerat (0, 20, 30 und 40 ppm) auf den Trehalosegehalt der Puppen nach der Behandlung (die Behandlung fand nur in F0 statt). Das 3. Larvenstadium wurde für 24 Stunden mit Fenvalerat behandelt. Daraufhin wurden die behandelten Larven mit den verschiedenen Futterangeboten aufgezogen. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern mit dem entsprechenden Nahrungsmittelangebot bei einer Temperatur von 25°C aufgezogen. $n=20$ Puppen für je Ansatz bei allen Futterangeboten.

F1: Nur bei der 1:10 Verdünnung gab es einen signifikanten Unterschied zwischen der Kontrolle und allen Ansätzen (Tab.9).

Wechselwirkung	Konz. ppm	Futter	Mittelwerte \pm SE Trehalose ug/Tier			
			Puppe		Adulte	
			F0	F1	F0	F1
Konz.*Futter	0	N	33,9 \pm 2	30 \pm 2	30,1 \pm 3	29,5 \pm 3
	0	1:5	16,7 \pm 2	17,43 \pm 2	32,9 \pm 3	25 \pm 3
	0	1:10	18,8 \pm 2	14,6 \pm 2	26,2 \pm 3	25,93 \pm 3
	20	N	20,4 \pm 2***	33,9 \pm 2	33,2 \pm 3	34,34 \pm 3
	20	1:5	18,9 \pm 2	17,7 \pm 2	38,2 \pm 3	31,72 \pm 3
	20	1:10	23,7 \pm 2	17,8 \pm 2	27,5 \pm 3	28,7 \pm 3
	30	N	36 \pm 2	34,9 \pm 2	40,5 \pm 3	42,1 \pm 3
	30	1:5	19 \pm 2	19,2 \pm 2	41,8 \pm 3	35,21 \pm 3
	30	1:10	21,5 \pm 2	15,9 \pm 2	33,23 \pm 3	33,1 \pm 3
	40	N	37 \pm 2	36,6 \pm 2	53,6 \pm 3***	43,4 \pm 3
	40	1:5	24,9 \pm 2**	25,4 \pm 2	42,3 \pm 3	36,8 \pm 3
	40	1:10	26,2 \pm 2*	18,3 \pm 2	33,9 \pm 3	36,7 \pm 3

Tab.(3.2)-9: Die Mittelwerte \pm SE der Interaktion zwischen vier verschiedenen Konzentrationen des Insektizids Fenvalerat (0, 20, 30 und 40 ppm) mit drei verschiedenen Futterangeboten (Normalfutter: N, 1:5 und 1:10 Verdünntes Futter) auf den Trehalosegehalt von Adulten und Puppen der beiden Generationen F0 und F1. Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in F0 für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven den jeweiligen Futterangeboten und 25°C ausgesetzt. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern auf den Futterangeboten bei der Temperatur 25°C gezüchtet.

3.2.2.2 Trehalosegehalte der Adulten

Nach Haltung in verdünntem Futter war der Trehalosegehalt der adulten Fliegen erheblich reduziert. Behandlung mit Fenvalerat führte dagegen zu einer Erhöhung des Trehalosewerts.

Auswirkungen von Fenvalerat

F0: Es gab eine deutliche signifikante Steigerung des Trehalosegehalts durch die Toxinkonzentration ($F(3,76)=14(p\leq 0.001)$). Für die Auswirkungen der Fenvalerat-Konzentration gab es einen höchst signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und Ansätzen 30ppm und 40ppm ($p\leq 0.001$, Tukey), die Trehalose stieg durch die Konzentration (Abb.24b).

F1: Es konnte ein großer, signifikanter Einfluss der Konzentration auf die Trehalose festgestellt werden ($F(3,76)=9(p\leq 0.001)$). Für die Auswirkungen der Konzentration gab es einen höchst signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und Ansätzen 30ppm und 40ppm ($p\leq 0.001$, Tukey) (Abb.24b).

Auswirkungen der Futterqualität (Hungerstress)

F0: Die Trehalose wurde durch die Futterangebote reduziert ($F(6,73)=2,28(p=0,037)$). Beim Einfluss der Futterangebote auf die Trehalose besteht eine deutliche Signifikanz zwischen 1:10- Verdünnung auf der einen Seite und dem Futterangebot (1:5 -Verdünnung und Normalfutter) auf der anderen Seite; der Trehalosegehalt war nach dem Hungerstress verringert (Abb.24a).

F1: Es konnte ein großer, signifikanter Einfluss der Futterangebote auf die Trehalose festgestellt werden ($F(2,77)=4,5(p\leq 0.001)$). Beim Einfluss des Futterangebots auf die Trehalose besteht eine Signifikanz zwischen dem Normalfutter und dem Futterangebot 1:10 (Abb.24a).

Auswirkungen Hungerstress nach Fenvalerat- Behandlung

F0: Es gab eine deutliche signifikante Steigerung des Trehalosegehalts durch die Wechselwirkung beider (Konzentration und Futterangebote) ($F(2,77)=13(p\leq 0.001)$). Bei Normalfutter gab es einen signifikanten Unterschied nur zwischen der Kontrolle und 40ppm (Tab.9).

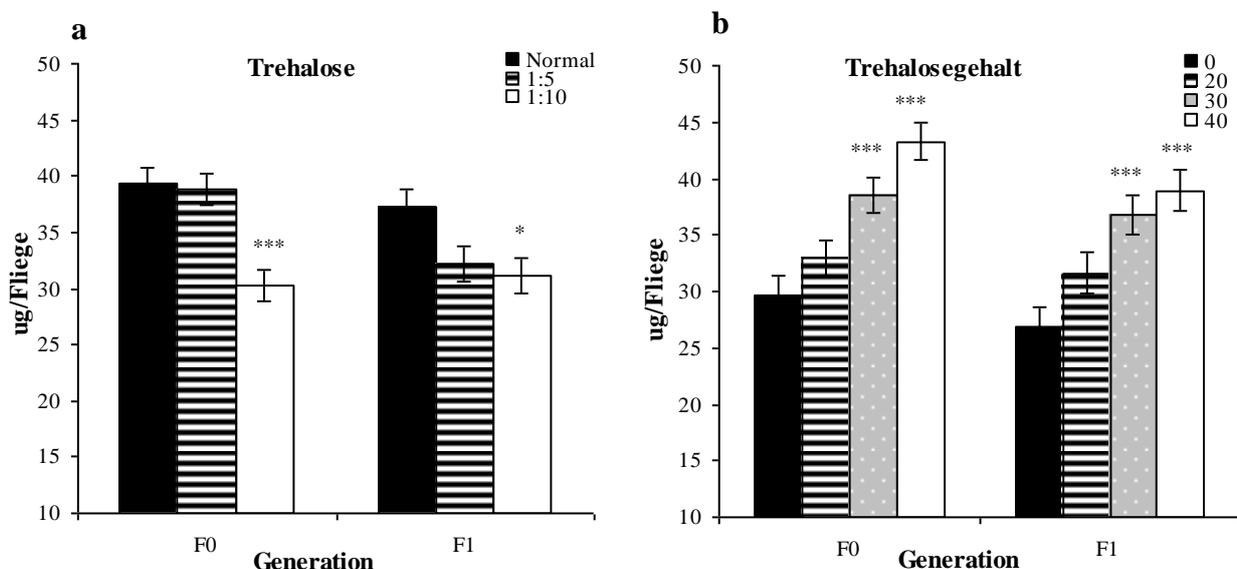


Abb.(3.2)-24: (a): Die Effekte des Futterangebots (Normal: Normalfutter, 1:5 und 1:10 Verdünntes Futter) auf den Trehalosegehalt der Adulten (b): Der Einfluss der Konzentration von Fenvalerat (0, 20, 30 und 40 ppm) auf den Trehalosegehalt der Adulten nach der Behandlung (die Behandlung fand nur in F0 statt). Das 3. Larvenstadium wurde für 24 Stunden mit Fenvalerat behandelt. Daraufhin wurden die behandelten Larven mit den verschiedenen Futterangeboten aufgezogen. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern mit dem entsprechenden Nahrungsmittelangebot bei einer Temperatur von 25°C aufgezogen. $n=20$ Fliegen für je Ansatz bei allen Futterangeboten.

F1: Das Ergebnis der Untersuchung bei der F1-Generation war, dass die Toxinkonzentration mehr Effekte auf Trehalose hatte als das Futterangebot.

3.2.3 Herzfrequenz in der Puppe

Fenvalerat beschleunigt die Herzfrequenz; Hungerstress hat keinen signifikanten Einfluß auf die Kontraktionsfrequenz des Herzschlauchs.

Auswirkungen von Fenvalerat

F0: Das Toxin beschleunigte die Herzimpulse signifikant ($F(3,105)=40(p\leq 0.001)$). Für die Auswirkung der Konzentration gab es einen großen signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und allen Ansätzen ($p\leq 0.001$), Tukey) (Abb.25b).

F1: Es zeigte sich ein höchst signifikanter Einfluss des Giftes auf die Herzimpulse ($F(3,105)=11(p\leq 0.001)$), die beschleunigt wurden. Für die Auswirkungen der Konzentration gab es einen höchst signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und allen Ansätzen ($p\leq 0.001$), Tukey) (Abb.25b).

Auswirkungen der Futterqualität (Hungerstress)

F0: Die Futtermengen beschleunigten die Herzimpulse signifikant ($F(2,106)=6(p=0.003)$).

Beim Einfluss der Futterangebote auf die Herzimpulse besteht eine deutliche Signifikanz zwischen dem Normalfutter und dem Futterangebot 1:10 (Abb.25a).

F1: Der Einfluss des Futters auf die Herzimpulse war für alle Futterangebote gleich (Abb. 25a).

Auswirkungen Hungerstress nach Fenvalerat- Behandlung

F0: Bei normalem Futter gab es einen signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und allen Ansätzen, auch bei Futterangeboten 1:5 und 1:10.

F1: Es zeigte sich ein höchst signifikanter Einfluss der Wechselwirkung von Toxin und Futterangebot auf die Herzimpulse ($F(6,102)=2(p=0,040)$), die beschleunigt wurden. Bei Normalfutter gab es einen signifikanten Unterschied zwischen 40 ppm und der Kontrolle. Bei 1:5 gab es einen signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollgruppe sowie 20 und 30ppm (Tab.10).

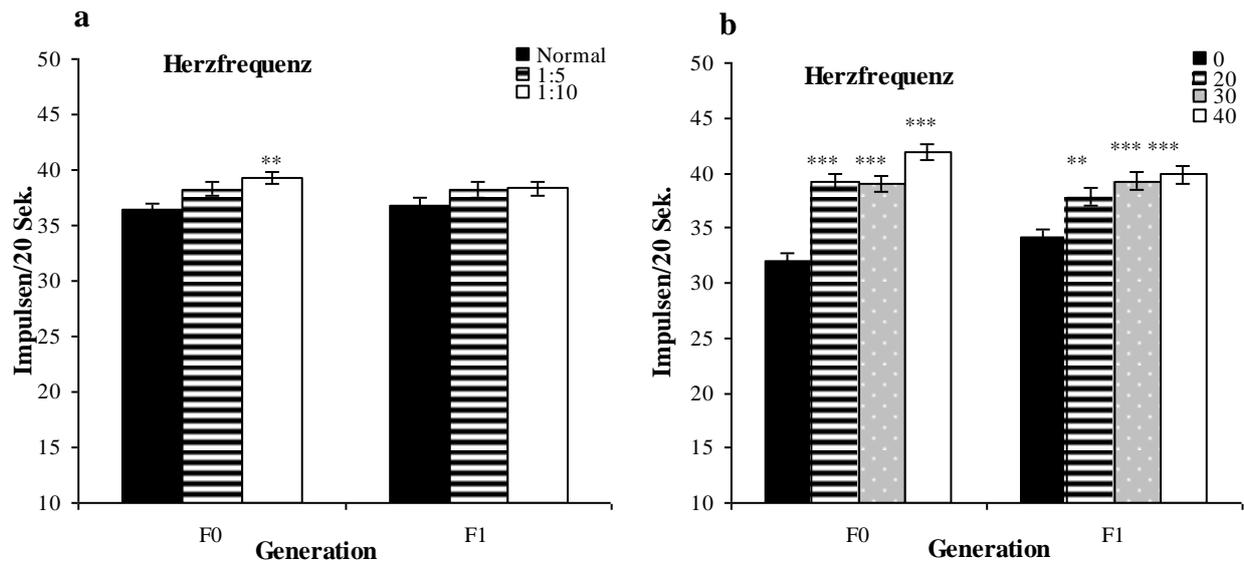


Abb.(3.2)-25: (a): Die Effekte des Futterangebots (Normal: Normalfutter, 1:5 und 1:10 Verdünntes Futter) auf den Herzimpulsen der Puppen (b): Der Einfluss der Konzentration von Fenvalerat (0, 20, 30 und 40 ppm) auf den Herzimpulsen der Puppen nach der Behandlung (die Behandlung fand nur in F0 statt). Das 3. Larvenstadium wurde für 24 Stunden mit Fenvalerat behandelt. Daraufhin wurden die behandelten Larven mit den verschiedenen Futterangeboten aufgezogen. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern mit dem entsprechenden Nahrungsmittelangebot bei einer Temperatur von 25°C aufgezogen. n= 10 Puppen für je Ansatz bei allen Futterangeboten.

Wechselwirkung	Konz. ppm	Futter	Mittelwerte±SE Herzfrequenz/20 Sek.	
			Puppe	
			F0	F1
Konz.*Futter	0	N	29,1±1	33,5±1
	0	1:5	32,9±1	33,4±1
	0	1:10	34±1	35,6±1
	20	N	37,6±1***	34,2±1
	20	1:5	39,3±1**	40±1*
	20	1:10	40,6±1**	39,3±1
	30	N	37,8±1***	38,1±1
	30	1:5	38,8±1*	40,6±1**
	30	1:10	40,5±1**	39,1±1
	40	N	41,3±1***	41,3±1**
	40	1:5	42,2±1***	38,9±1
	40	1:10	42,2±1***	39,3±1

Tab.(3.2)-10: Mittelwerte ±SE der Interaktion zwischen vier verschiedenen Konzentrationen des Insektizids Fenvalerat (0, 20, 30 und 40 ppm) mit drei verschiedenen Futterangeboten (Normalfutter: N, 1:5 und 1:10 Verdünntes Futter) auf den Herzimpulsen von Puppen der beiden Generationen F0 und F1. Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in F0 für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven den jeweiligen Futterangeboten und 25°C ausgesetzt. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern auf den Futterangeboten bei der Temperatur 25°C gezüchtet.

3.2.4 Lipidgehalte

3.2.4.1 Lipidgehalte der Puppen

Auswirkungen von Fenvalerat

F0: Der Lipidgehalt wurde durch die Fenvalerat-Konzentration reduziert ($F(3,226) = 21(p \leq 0.001)$). Für die Auswirkungen der Konzentration gab es nur zwischen der Kontrollgruppe und allen Behandlungen einen hohen signifikanten Unterschied (20,30 und 40ppm) ($p \leq 0.001$), Tukey- Kramer) (Abb.26b).

F1: Es wurde eine umfangreiche, signifikante Reduzierung durch das Toxin auf den Lipidgehalt festgestellt ($F(3,226)=7(p \leq 0.001)$). Für die Auswirkungen der Konzentration gab es einen höchst signifikanten Unterschied nur zwischen der Kontrolle und allen Ansätzen (30 und 40ppm) ($p \leq 0.001$), Tukey-Kramer) (Abb.26b).

Auswirkungen der Futterqualität (Hungerstress)

F0: Der Lipidgehalt das Futterangebot ($F(2,226)=108(p \leq 0.001)$). Hinsichtlich des Einflusses der Futterangebote auf den Lipidgehalt bestand eine höchste Signifikanz zwischen allen Futterangeboten untereinander (Abb.26a).

F1: Es wurde eine umfangreiche, signifikante Reduzierung durch die Futtermengen auf den Lipidgehalt ($F(2,226)=219, p \leq 0.001$). Der Einfluss der Futterangebote auf den Lipidgehalt besteht in höchster Signifikanz zwischen allen Futterangeboten (Abb.26a).

Auswirkungen Hungerstress nach Fenvalerat- Behandlung

F0: Bei 1:5 gab es einen hohen Unterschied nur zwischen der Kontrolle auf der einen Seite und 30 und 40 ppm auf der andern Seite. Bei 1:10 war der Unterschied signifikant zwischen der Kontrollgruppe und allen Ansätzen (Tab.11).

F1: Bei 10 gab es einen hohen Unterschied nur zwischen 40ppm und der Kontrollprobe.

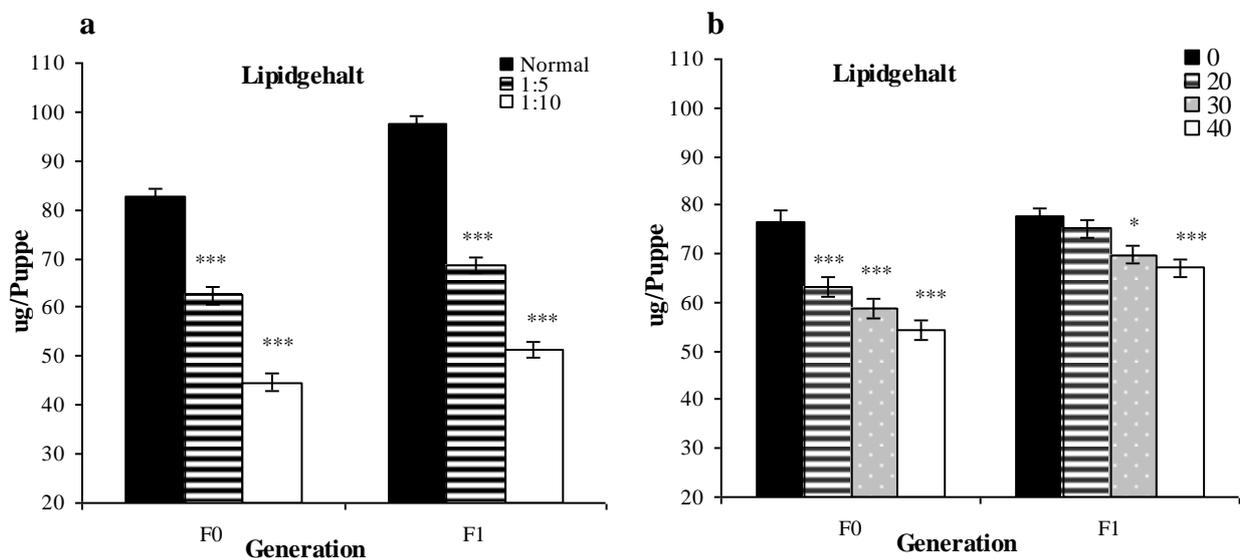


Abb.(3.2)-26: (a): Die Effekte des Futterangebots (Normal: Normalfutter, 1:5 und 1:10 Verdünntes Futter) auf den Lipidgehalt der Puppen (b): Der Einfluss der Konzentration von Fenvalerat (0, 20, 30 und 40 ppm) auf den Lipidgehalt der Puppen nach der Behandlung (die Behandlung fand nur in F0 statt). Das 3. Larvenstadium wurde für 24 Stunden mit Fenvalerat behandelt. Daraufhin wurden die behandelten Larven mit den verschiedenen Futterangeboten aufgezogen. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern mit dem entsprechenden Nahrungsmittelangebot bei einer Temperatur von 25°C aufgezogen. $n = 20$ Puppen für je Ansatz bei allen Futterangeboten.

Wechselwirkung	Konz. ppm	Futter	Mittelwerte±SE Lipid µg/Tier oder 50 Eier					
			Eier		Puppe		Adulte	
			F0	F1	F0	F1	F0	F1
Konz.*Futter	0	N	31,3±2	26,4±2	89,7±4	99,5±3	72,4±2	68 ±2
	0	1:5	31,2±3	29,67±2	79,7±4	73,1±3	49,7±3	58±2
	0	1:10	29,9±3	32,5±2	60,6±4	60,1±3	29,2±3	30,3±2
	20	N	25,7±2	24,5±2	83,7±4	99,5±3	53,5±2***	64,6±2
	20	1:5	24,67±3	30±2	63,1±4	69,4±3	49,7±3	57,8±2
	20	1:10	26,83±3	25,2±2	42,8±4*	56,6±3	29,4±3	28,2±2
	30	N	23±2	22,5±2	83,1±4	95,3±3	40,6±2***	60,8±2
	30	1:5	26±3	27,5±2	53,5±4***	65,6±3	43,9±3	52,5±2
	30	1:10	21,2±3	26,5±2	39,9±4**	48,2±3	24,3±3	26,4±2
	40	N	24±2	21,6±2	74±4	95,3±3	32,6±2***	59,3±2*
	40	1:5	19,8±3	22,8±2	53,4±4***	65,9±3	46,58±3	55,2±2
	40	1:10	18,2±3	24,5±2	35,3±4***	40,3±3***	23, 8±3***	22,5±2

Tab.(3.2)-11: Mittelwert±SE der Interaktion zwischen vier verschiedenen Konzentrationen des Insektizids Fenvalerat (0, 20, 30 und 40 ppm) mit drei verschiedenen Futterangeboten (Normalfutter: N, 1:5 und 1:10 Verdünntes Futter) auf den Lipidgehalt von Adulten, Puppen und Eier der beiden Generationen F0 und F1. Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in F0 für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven den jeweiligen Futterangeboten und 25 °C ausgesetzt. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern auf den Futterangeboten bei der Temperatur 25 °C gezüchtet.

3.2.4.2 Lipidgehalt der Adulten

Auswirkungen von Fenvalerat

F0: Der Lipidgehalt der Adulten nahm durch das Toxin ab ($F(3,250) = 24$ ($p \leq 0.001$)).

Für die Auswirkungen der Konzentration gab es einen höchst signifikanten Unterschied zwischen den unbehandelten und den behandelten Tieren ($p \leq 0.001$), Tukey-Kramer) (Abb.27b). Zudem wurde herausgefunden, dass sich das Toxin stärker auf die Adulten als auf die Puppen auswirkte, die Futtermengen dagegen die Puppen in höherem Ausmaß beeinflussten als die Adulten.

F1: Es gab einen höchst signifikanten Einfluss der Konzentration auf den Lipidgehalt ($F(3,274) = 7$ ($p \leq 0.001$)). Für die Auswirkungen der Konzentration war zudem ein höchst signifikanter Unterschied zwischen der Kontrolle und den Ansätzen (30 und 40 ppm) ($p \leq 0.001$) festzustellen (Abb.27b).

Auswirkungen der Futterqualität (Hungerstress)

F0: Der Lipidgehalt der Adulten nahm durch die Futtermengen und ab ($F(2,251) = 85$ ($p \leq 0.001$)). Bezüglich des Einflusses des Futterangebots auf den Lipidgehalt besteht eine höchste Signifikanz zwischen Futterangeboten Normalfutter und 1:10 (Abb.27a).

F1: Es gab einen höchst signifikanten Einfluss des Futters auf den Lipidgehalt ($F(2,275) = 381$ ($p \leq 0.001$)). Beim Einfluss der Futterangebote auf den Lipidgehalt besteht eine Signifikanz zwischen dem Normalfutter und allen Futterangebot.

Auswirkungen Hungerstress nach Fenvalerat- Behandlung

F0: Der Lipidgehalt der Adulten nahm durch Wechselwirkung beider (Konzentration und Futterangebote) ($F(6,247) = 13$ ($p \leq 0.001$)) ab. Beim Normalfutter gab es einen signifikanten

Unterschied zwischen der Kontrolle und allen Ansätzen, genauso zwischen den Ansätzen untereinander. Alleine den Vergleich 30 und 40ppm betraf dies nicht .

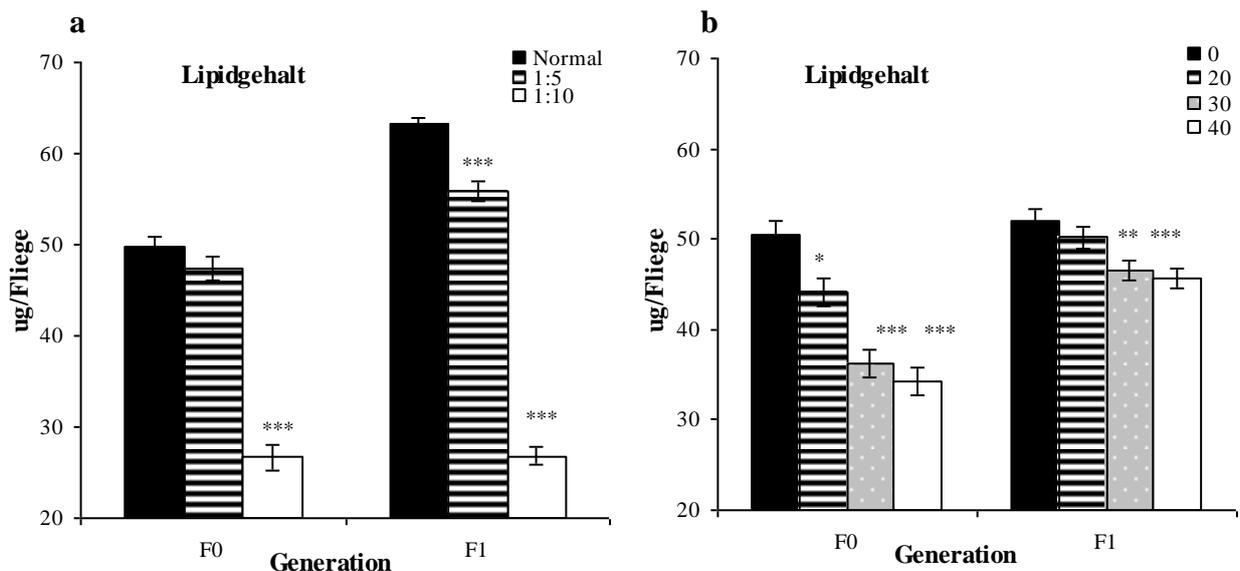


Abb.(3.2)-27: (a): Die Effekte des Futterangebots (Normal: Normalfutter, 1:5 und 1:10 Verdünntes Futter) auf den Lipidgehalt der Adulten (b): Der Einfluss der Konzentration von Fenvalerat (0, 20, 30 und 40 ppm) auf den Lipidgehalt der Adulten nach der Behandlung (die Behandlung fand nur in F0 statt). Das 3. Larvenstadium wurde für 24 Stunden mit Fenvalerat behandelt. Daraufhin wurden die behandelten Larven mit den verschiedenen Futterangeboten aufgezogen. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern mit dem entsprechenden Nahrungsmittelangebot bei einer Temperatur von 25°C aufgezogen.

F1: Hinsichtlich Normalfutter gab es einen signifikanten Unterschied zwischen der Kontrolle und 40ppm . In beiden Generationen sank der Lipidgehalt mit hohen Konzentrationen Toxin und niedrigem Futterangebot. In F1 wirkte sich das Futter sehr stark auf alle Tierstadien bei allen Parametern aus.

3.2.4.3 Lipidgehalte der Eier

Auswirkungen von Fenvalerat

F0: Die Untersuchung zeigte, dass nur die Toxinkonzentration den Lipidgehalt der Eier senken konnte ($F(3,72)=9,95(p\leq 0.001)$). Bei der Auswirkung der Konzentration gab es einen höchst signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und allen anderen Ansätzen ($p\leq 0.001$, Tukey- Kramer). Mit steigender Giftkonzentration reduzierte sich der Lipidgehalt (Abb.28b).

F1: Die statistische Auswertung zeigt, dass Fenvalerat einen großen Effekt auf den Lipidgehalt der Eier hat ($F(3,72)=6(p\leq 0.001)$). Bezüglich der Auswirkung der Konzentration gab es einen höchst signifikanten Unterschied zwischen der Kontrolle den Ansätze (30 ($p=0,046$) und 40ppm ($p\leq 0.001$), Tukey- Kramer)) (Abb.28b).

Auswirkungen der Futterqualität (Hungerstress)

F0: Das Diagramm in (Abb.8a) zeigt die Effekte des Futterangebots auf den Lipidgehalt der Eier, von dem bei niedrigem Futterangebot bei F1 mehr akkumuliert wurde als bei Normalfutter.

F1: Die statistische Auswertung zeigt, dass das Futterangebot einen Effekt auf den Lipidgehalt der Eier hat ($F(2,73)=6(p\leq 0.001)$). Der Lipidgehalt erhöhte sich mit steigendem Futterangebot, sank jedoch mit der Toxinkonzentration (Abb.28a)

Auswirkungen Hungerstress nach Fenvalerat- Behandlung

Es gibt keine Effekte der Wechselwirkungen auf Eilipidgehalt.

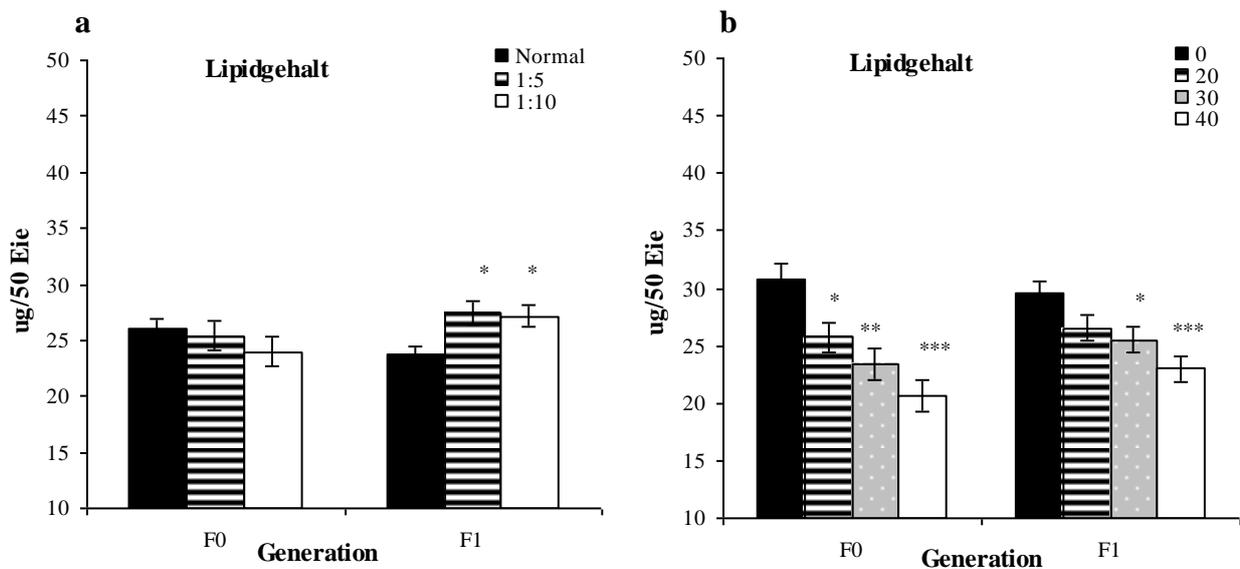


Abb.(3.2)-28: (a): Die Effekte des Futterangebots (Normal: Normalfutter, 1:5 und 1:10 Verdünntes Futter) auf den Lipidgehalt der Eier (b): Der Einfluss der Konzentration von Fenvalerat (0, 20, 30 und 40 ppm) auf den Lipidgehalt der Eier nach der Behandlung (die Behandlung fand nur in F0 statt). Das 3. Larvenstadium wurde für 24 Stunden mit Fenvalerat behandelt. Daraufhin wurden die behandelten Larven mit den verschiedenen Futterangeboten aufgezogen. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern mit dem entsprechenden Nahrungsmittelangebot bei einer Temperatur von 25°C aufgezogen. $n=10$ Proben(50 Eier pro Probe) für je Ansatz bei allen Futterangeboten.

Der F-Wert zeigt, dass der Lipidgehalt der Adulten stärker auf Fenvalerat reagierte, als der von Puppen und Eiern. Im Puppenstadium hatten die Futtermengen einen, verglichen mit anderen Stadien, großen Effekt auf die Puppen. Aus den Ergebnissen lässt sich des Weiteren schließen, dass die beiden Faktoren kombiniert (Futterangebote und Fenvalerat-Konzentration) nur bei Adulten wirkten. Die Futtermengen hatten bei fast allen Stadien, abgesehen von Eiern, einen höheren Effekt als die Konzentration.

3.2.5 Proteingehalte

3.2.5.1 Proteingehalte der Puppen

Auswirkungen von Fenvalerat:

F0: Es gab eine signifikante Verringerung des Proteingehalts durch Fenvalerat ($F(3,465)=25$ ($p \leq 0.001$)). Hinsichtlich der Auswirkung der Konzentration gab es einen höchst signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und allen Ansätzen ($p \leq 0.001$), Tukey-Kramer) (Abb.29b).

F1: Der Proteingehalt wurde durch Fenvalerat reduziert ($F(3,465)=36$ ($p \leq 0.001$)). Ein höchst signifikanter Unterschied zwischen der Kontrolle und allen Ansätzen zeigte sich hinsichtlich der Konzentration ($p \leq 0.001$), Tukey) (Abb.9b).

Auswirkungen der Futterqualität (Hungerstress)

F0: Es gab eine signifikante Verringerung des Proteingehalts durch den. $F(2,466)=60$ ($p \leq 0.001$)). Die Untersuchung des Einflusses des Futters auf den Proteingehalt zeigte eine höchste Signifikanz zwischen allen Futterangeboten in beiden Generationen (Abb.29a).

F1: Der Proteingehalt wurde durch den Hungerstress reduziert $F(2,466)=376$ ($p \leq 0.001$).

Auswirkungen Hungerstress nach Fenvalerat- Behandlung

F0: Es gab eine signifikante Verringerung des Proteingehalts die Wechselwirkung der beiden Faktoren (Hungerstress und Toxin ($F(6,462)=3$ ($p \leq 0.001$)).

F1: Der Proteingehalt wurde durch die Wechselwirkung (Hungerstress und Toxin) reduziert ($F(6,462)=4$ ($p \leq 0.001$)). Der Proteingehalt ließ mit steigender Konzentration und schlechterem Futterangebot nach.

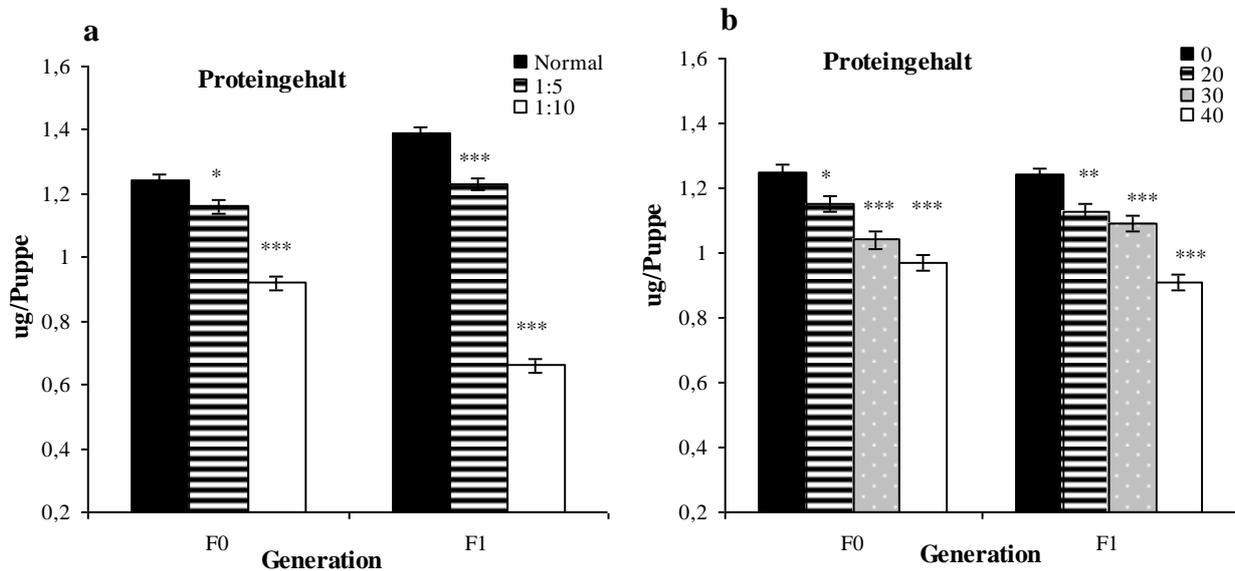


Abb.(3.2)-29: (a): Die Effekte des Futterangebots (Normal: Normalfutter, 1:5 und 1:10 Verdünntes Futter) auf den Proteingehalt der Puppen (b): Der Einfluss der Konzentration von Fenvalerat (0, 20, 30 und 40 ppm) auf den Proteingehalt der Puppen nach der Behandlung (die Behandlung fand nur in F0 statt). Das 3. Larvenstadium wurde für 24 Stunden mit Fenvalerat behandelt. Daraufhin wurden die behandelten Larven mit den verschiedenen Futterangeboten aufgezogen. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern mit dem entsprechenden Nahrungsmittelangebot bei einer Temperatur von 25°C aufgezogen. $n=20$ Puppen für je Ansatz bei allen Futterangeboten.

3.2.5.2 Proteingehalte der Adulten

Auswirkungen von Fenvalerat

F0: Es besteht eine höchste signifikante Verringerung des Proteingehalts durch das Toxin ($F(3,753)=33$ ($p \leq 0.001$)). Für die Auswirkungen der Konzentration gab es einen höchst signifikanten Unterschied zwischen der Kontrolle und allen anderen Fällen ($p \leq 0.001$, Tukey-Kramer) (Abb.30b).

F1: In diesem Teil der Untersuchung konnte ein höchst signifikanter Einfluss des Toxins auf den Proteingehalt gemessen werden ($F(3,557)=30$ ($p \leq 0.001$)). Für die Auswirkung der Toxinkonzentration gab es einen höchst signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und allen Ansätzen außer 20ppm ($p \leq 0.001$, Tukey-Kramer) (Abb.30b).

Auswirkungen der Futterqualität (Hungerstress)

F0: Es besteht eine höchste signifikante Verringerung des Proteingehalts durch den Hungerstress ($F(2,754)=14$ ($p \leq 0.001$)). Beim Einfluss des Futters auf den Proteingehalt war eine höchste Signifikanz zwischen dem Normalfutter auf der einen Seite und dem Futterangebot (1:5 und 1:10-Verdünnung) auf der anderen Seite festzustellen (Abb.30a).

F1: In diesem Teil der Untersuchung konnte ein höchst signifikanter Einfluss der Futterangebote und auf den Proteingehalt gemessen werden ($F(2,558)=508$ ($p \leq 0.001$)). Bezüglich des Einflusses des Hungerstresses auf den Proteingehalt besteht eine höchste Signifikanz zwischen allen Futterangeboten miteinander (Abb.30a).

Auswirkungen Hungerstress nach Fenvalerat- Behandlung

F0: Bei Normalfutter gab es einen höchst signifikanten Unterschied zwischen der Kontrolle und allen Ansätzen ($p \leq 0.001$), Tukey-Kramer). Beim Mischverhältnis 1:5 gab es allerdings einen bedeutenden Unterschied zwischen der Kontrolle und 30 und 40ppm. Bei einem Verhältnis von 1:10 war eine hohen Differenz zwischen der Kontrolle und 40ppm festzustellen.

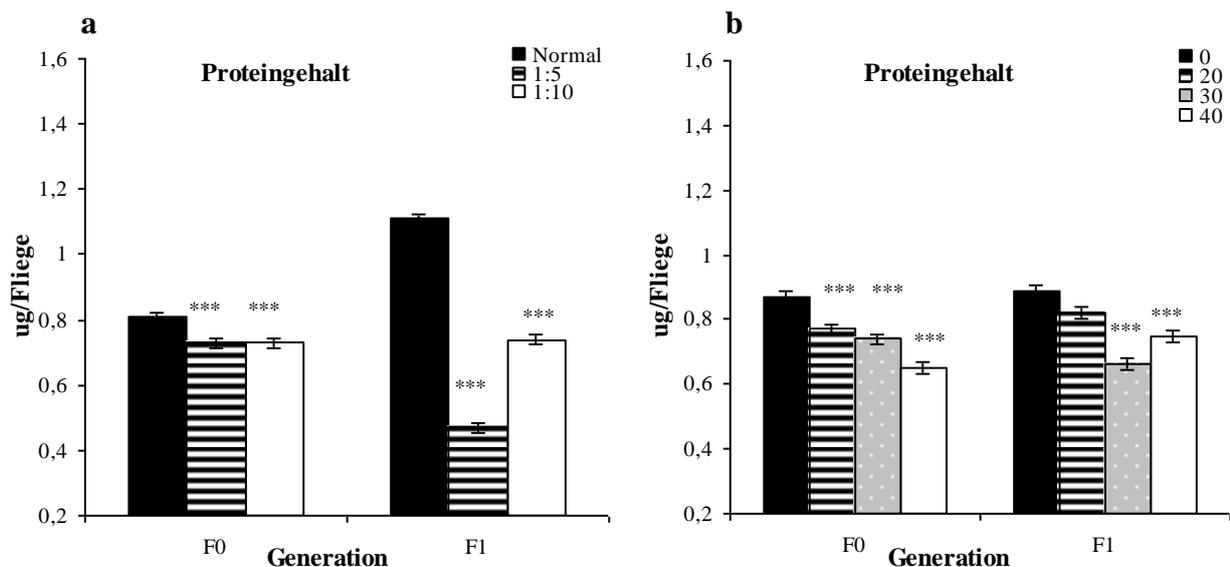


Abb.(3.2)-30: (a): Die Effekte des Futterangebots (Normal: Normalfutter, 1:5 und 1:10 Verdünntes Futter) auf den Proteingehalt der Adulten (b): Der Einfluss der Konzentration von Fenvalerat (0, 20, 30 und 40 ppm) auf den Proteingehalt der Adulten nach der Behandlung (die Behandlung fand nur in F0 statt). Das 3. Larvenstadium wurde für 24 Stunden mit Fenvalerat behandelt. Daraufhin wurden die behandelten Larven mit den verschiedenen Futterangeboten aufgezogen. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern mit dem entsprechenden Nahrungsmittelangebot bei einer Temperatur von 25°C aufgezogen.

3.2.5.3 Proteingehalte der Eier

Auswirkungen von Fenvalerat:

F0: Zuletzt konnte festgestellt werden, dass die Toxinkonzentration den Proteingehalt der Eier reduzierte ($F(3,159)=18,26$ ($p \leq 0.001$)).

F1: Des Weiteren wurde der Proteingehalt bei der Generation F1 nur durch die Toxinkonzentration beeinflusst ($F(3,159)=3$ ($p=0.02$)) (Abb.31b).

Auswirkungen der Futterqualität (Hungerstress):

F0: Das Futterangebot dagegen erhöhte den Proteingehalt ($F(3,160)=60,37$ ($p \leq 0.001$)) (Abb.31a). Beim Einfluss des Futters auf den Proteingehalt war eine höchste Signifikanz zwischen dem Normalfutter auf der einen Seite und dem Futterangebot (1:5 und 1:10-Verdünnung) auf der anderen Seite festzustellen.

F1: Des Weiteren wurde der Proteingehalt bei der Generation F1 nur durch das Futterangebot beeinflusst ($F(3,160)=164$ ($p \leq 0.001$)).

Auswirkungen Hungerstress nach Fenvalerat- Behandlung:

F0: Zuletzt konnte festgestellt werden, dass die Wechselwirkung (Futterangebot und Toxin) den Proteingehalt der Eier reduzierte ($F(6,156)=3,27(p\leq 0.001)$).

F1-Generation gab es keine Effekte. Der Hungerstress erhöhte den Proteingehalt, der auf der anderen Seite aber von der Konzentration des Pestizids und der Interaktion der Stressfaktoren reduziert wurde.

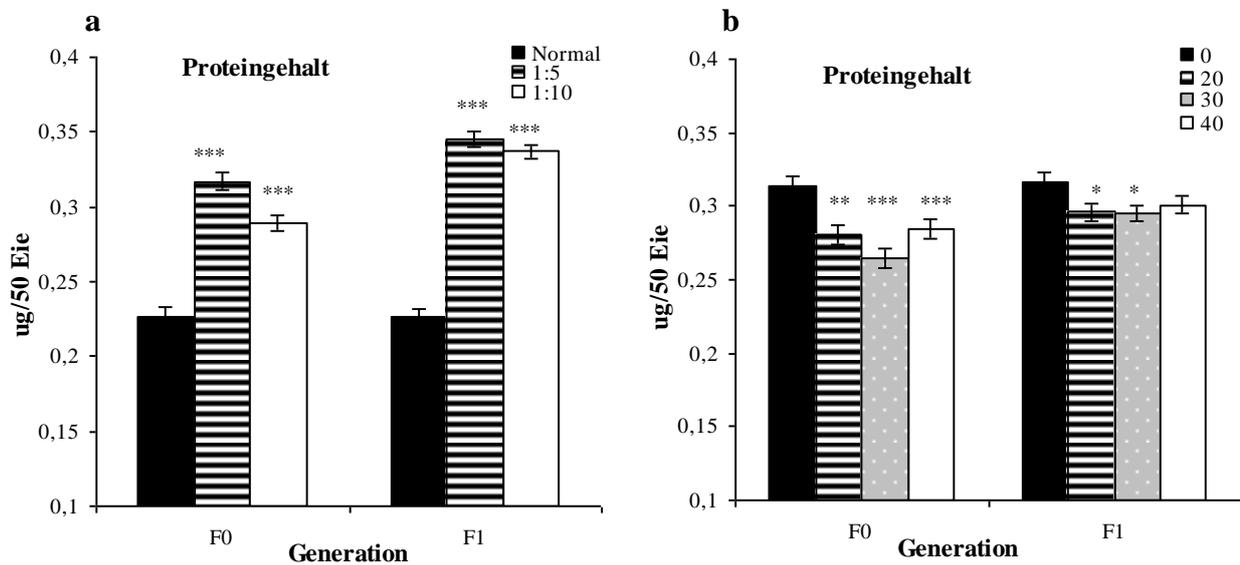


Abb.(3.2)-31: (a): Die Effekte des Futterangebots (Normal: Normalfutter, 1:5 und 1:10 Verdünntes Futter) auf den Proteingehalt der Eier (b): Der Einfluss der Konzentration von Fenvalerat (0, 20, 30 und 40 ppm) auf den Proteingehalt der Eier nach der Behandlung (die Behandlung fand nur in F0 statt). Das 3. Larvenstadium wurde für 24 Stunden mit Fenvalerat behandelt. Daraufhin wurden die behandelten Larven mit den verschiedenen Futterangeboten aufgezogen. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern mit dem entsprechenden Nahrungsmittelangebot bei einer Temperatur von 25°C aufgezogen. n= 6 Proben(50 Eier pro Probe) für je Ansatz bei allen Futterangeboten.

Wechsel- Wirkung	Konz. ppm	Futter	Mittelwerte±SE Protein µg/Tier oder 50 Eier					
			Eier		Puppe		Adult	
			F0	F1	F0	F1	F0	F1
	0	N	0,285±0,01	0,24±0,01	1,48±0,04	1,5±0,04	0,92±0,03	1,16±0,03
	0	1:5	0,346±0,01	0,37±0,01	1,33±0,04	1,29±0,04	0,88±0,03	0,62±0,03
	0	1:10	0,313±0,01	0,34±0,01	0,95±0,04	0,92±0,04	0,83±0,03	0,88±0,04
	20	N	0,221±0,01*	0,23±0,01	1,23±0,04**	1,47±0,04	0,81±0,02*	1,17±0,03
	20	1:5	0,343±0,01	0,33±0,01	1,2±0,04	1,3±0,04	0,74±0,03	0,45±0,03**
Konz.*Futter	20	1:10	0,279±0,01	0,33±0,01	1±0,04	0,63±0,04***	0,75±0,03	0,85±0,04
	30	N	0,21±0,01**	0,22±0,01	1,17±0,04***	1,45±0,04	0,81±0,02*	1,14±0,03
	30	1:5	0,308±0,01	0,33±0,01	1,18±0,04**	1,22±0,04	0,69±0,03**	0,35±0,03***
	30	1:10	0,279±0,01	0,34±0,01	0,84±0,04	0,62±0,04***	0,71±0,031	0,5±0,04***
	40	N	0,19±0,01***	0,22±0,01	1,1±0,04***	1,15±0,04***	0,7±0,02***	1±0,03**
	40	1:5	0,27±0,01***	0,35±0,01	1±0,04***	1,11±0,04	0,61±0,03***	0,5±0,03
	40	1:10	0,285±0,01	0,34±0,01	0,9±0,04	0,47±0,04***	0,64±0,03**	0,75±0,04

Tab.(3.2)-12: Mittelwert±SE der Interaktion zwischen vier verschiedenen Konzentrationen des Insektizids Fenvalerat (0, 20, 30 und 40 ppm) mit drei verschiedenen Futterangeboten (Normalfutter: N, 1:5 und 1:10 Verdünntes Futter) auf den Proteingehalt von Eier, Adulten und Puppen der beiden Generationen F0 und F1. Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in F0 für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven den jeweiligen Futterangeboten und 25°C ausgesetzt. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern auf den Futterangeboten bei der Temperatur 25°C gezüchtet.

3.3 Fenvaleratbestimmungen

Messungen ergaben, dass offensichtlich Fenvalerat über die Eier an die Nachkommen weitergegeben werden kann. Spuren des Fenvalerat, mit dem die F1-Generation behandelt wurde, waren in der F1 nachweisbar (Tab.13). In den Eiern der F0-Generation wurden Spuren von gefunden, aber in den Eiern der F1 war kein Fenvalerat nachweisbar.

Konz. ppm	50 Eier		Männchen	
	F0	F1	F0	F1
Kontrolle		≤0,002		≤0,01
40ppm	0,012	≤0,002	0,11	0,03

Tab.(3.3)-13: Fenvaleratbestimmung in 50 Eier und 5 Männchen pro Probe der beiden Generationen (F0 und F1). Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in F0 für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven den jeweiligen Futterangeboten und 25 °C ausgesetzt. Die neue abgelegte Eie wurde in beiden Generationen gesammelt und je 50 Eie in 100 ul Ringerlösung im Tiefkühlschrank bis die Verwendung angehalten, die Männchen wurden mit Alt 5 Tage nach dem Adultschlüpfen gesammelt. Die Bestimmung wurde in Eurofins – Labor durchgeführt(1. Extraktion mit Aceton+ interner Standard 2. Lösungsmittelwechsel: Wasser und Toluol 3. Toluolphase abgenommen und mit GC-MSD gemessen).

3.4 Biochemische Effekte

3.4.1 DNA -Gehalt

Auswirkungen der Futterqualität (Hungerstress)

F0: Behandlung mit Fenvalerat bzw. Verringerung der Futterqualität wirken sich deutlich auf den DNA-Gehalt der adulten Fliegen aus. Bei einer Verdünnung des Futters von 1:10 sank der DNA-Gehalt ca. um 8%, bei 1:5 Verdünnung sank ca. 8% und bei Normalfutter sank ca. 15% (siehe Tab.14, Abb.32). Die Unterschiede waren signifikant bei 1:10 Verdünnung ($p \leq 0.001$) und bei Normalfutter ($p \leq 0.001$). Es besteht bedeutender Einfluss des Futters auf den DNA-Gehalt der Tiere ($F=47(p \leq 0.001)$). So war der Unterschied zwischen den Futterangeboten signifikant($p \leq 0.001$).

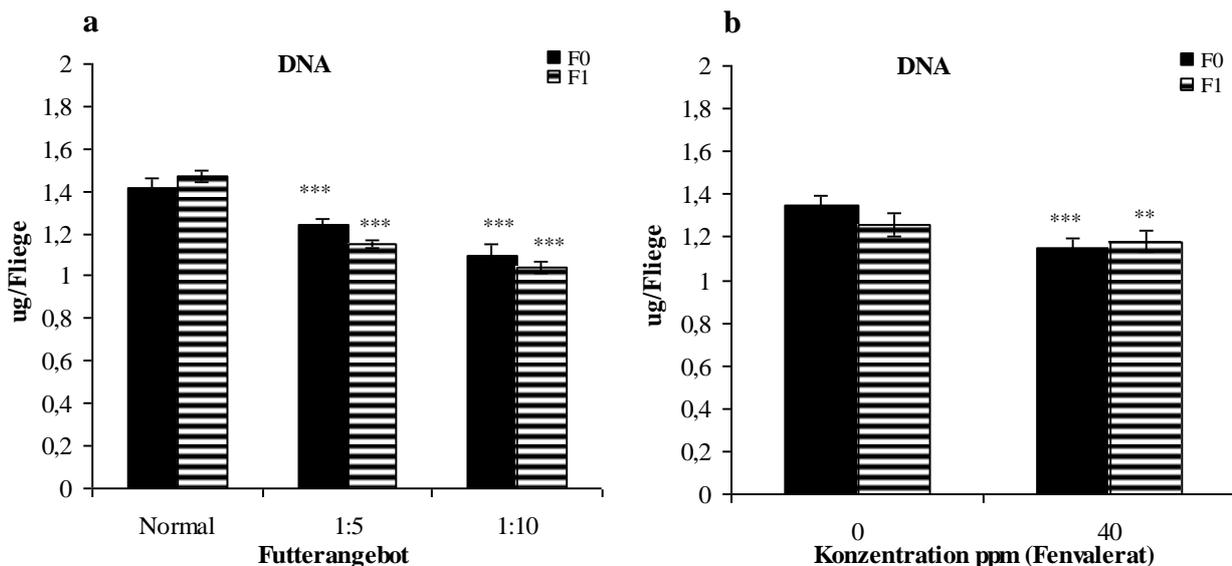


Abb.(3.4)-32: (a): Effekt von Hungerstress auf die Mittelwerte des DNA-Gehaltes $\pm SE$ bei den Fliegen in beiden Generationen F0 und F1 **(b):** Effekt des Fenvalerats auf die Mittelwerte des DNA-Gehaltes $\pm SE$ bei den Fliegen in den Generationen F0 und F1. Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in F0 für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven mit drei verschiedenen Futterangeboten (Normalfutter: Normal, 1:5: Mittel und 1:10: Wenig) und 25°C ausgesetzt. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern auf den Futterangeboten bei der Temperatur 25°C gezüchtet. $n=5$ (10 Fliegen pro Probe).

F1: Bei einer Verdünnung des Futters von 1:10 sank der DNA-Gehalt um ca. um 7%, bei 1:5 Verdünnung sank ca. um 5% und Normalfutter sank ca. um 6% (siehe Tab.14, Abb.32). Hungerstress, bedingt durch Verdünnung des Futters, wirkt sich deutlich auf den Gesamt-DNA-Gehalt der Fliegen aus ($F=74$ ($p \leq 0.001$)). Es gab deutliche Unterschiede bei den Futterangeboten ($p \leq 0.001$) (Abb.32a).

Auswirkungen von Fenvalerat

F0: Es besteht ein bedeutender Einfluss des Toxins auf den DNA- Gehalt der überlebenden Fliegen ($F=52$ ($p \leq 0.001$)). Der DNA-Gehalt der behandelten Tiere (40 ppm Fenvalerat) niedriger war als der der Kontrollprobe ($p \leq 0.001$) (Abb.32b).

F1: Die Effekte von Fenvalerat auf den DNA-Gehalt der F1-Generation sind weniger stark ausgeprägt ($F=7$ ($p=0.015$)).

Auswirkungen Hungerstress nach Fenvalerat- Behandlung

F0: Es gab keinen signifikanten Unterschied im DNA-Gehalt bei der Interaktion zwischen Hungerstress und Fenvalerat. Bei Normalfutter gab es eine Differenz zwischen Fenvalerat-behandelten und unbehandelten Tieren. genauso beim Futterangebot (1:10).

Bei 1:5 Verdünnung wies jedoch keine Differenz auf.

F1: Bei keinem der Futterangebote gab es eine Differenz zwischen der Kontrollgruppe und der Behandlung 40ppm (Tab.14).

Futter	Konz. ppm	RNA $\pm SE$ μg		DNA $\pm SE$ μg	
		F0	F1	F0	F1
N	0	8,6 \pm 0,52	8,4 \pm 0,89	1,52 \pm 0,037	1,5 \pm 0,043
	40	5,7 \pm 0,39***	6,3 \pm 0,55*	1,3 \pm 0,014**	1,43 \pm 0,04
1:5	0	7,1 \pm 0,31	5,7 \pm 0,29	1,3 \pm 0,034	1,18 \pm 0,025
	40	5,8 \pm 0,33	5,2 \pm 0,25	1,18 \pm 0,028	1,12 \pm 0,025
1:10	0	5,5 \pm 0,45	5 \pm 0,33	1,23 \pm 0,021	1,08 \pm 0,054
	40	4,8 \pm 0,39	4,6 \pm 0,18	0,968 \pm 0,051***	1 \pm 0,022

Tab.(3.4)-14: Die Mittelwerte des RNA und DNA- Gehaltes $\pm SE$ bei den Fliegen in beiden Generationen F0 und F1. Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in F0 für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven mit drei verschiedenen Futterangeboten (Normalfutter: N, 1:5: Mittel und 1:10: Wenig) und 25°C ausgesetzt. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern auf den Futterangeboten bei der Temperatur 25°C gezüchtet. $n=5$ (10 Fliegen pro Probe).

3.4.2 RNA-Gehalt

Auswirkungen der Futterqualität (Hungerstress)

F0: Behandlung mit Fenvalerat bzw. Verringerung der Futterqualität wirken sich deutlich auf den RNA-Gehalt der Adulten Fliegen aus. Bei einer Verdünnung des Futters von 1:10 sank der RNA-Gehalt um ca. 13%, bei 1:5 Verdünnung sank 18% und Normalfutter sank

34% (siehe Tab.14, Abb.33). Die Unterschiede waren signifikant bei Normalfutter (F0 ($p \leq 0.001$) und F1 ($p \leq 0.058$)).

Es besteht bedeutender Einfluss des Futters auf den RNA-Gehalt der Tiere ($F=12$, $p \leq 0.001$). So war der Unterschied zwischen den Futterangeboten 1:10 auf der einer Seite und 1:5 Verdünnung ($p=0.012$) und Normalfutter ($p \leq 0.001$) auf der anderen Seite signifikant (Abb.33a).

F1: Bei einer Verdünnung des Futters von 1:10 sank der RNA-Gehalt um ca. 10%, bei 1:5 Verdünnung sank 10% und Normalfutter sank 24% (siehe Tab. 2, Abb. 2).

Wir fanden heraus, dass das Hungerstress einen großen Einfluss auf den RNA-Gehalt ($F=15,1$, $p \leq 0.001$) hat. Es zeigte sich eine deutliche Differenz bei dem Futterangebot mit ‚Normalfutter‘ auf der einen Seite und 1:5 ($p=0.002$) und 1:10 ($p \leq 0.001$) auf der anderen Seite (Abb.33a).

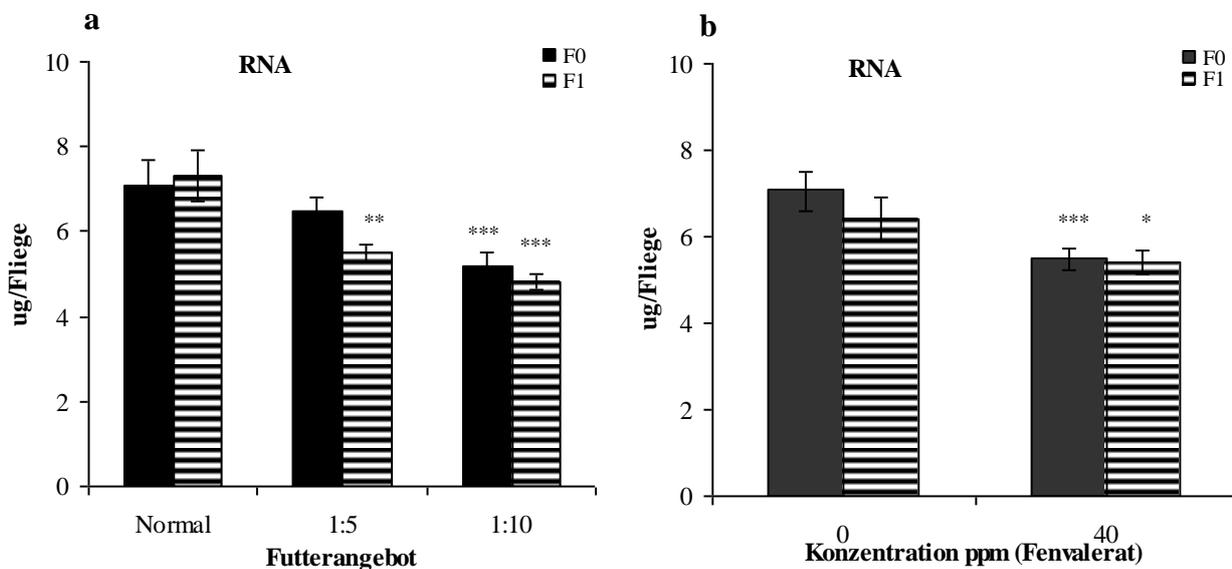


Abb.(3.4)-33: (a): Der Effekt von Hungerstress auf die Mittelwerte des RNA-Gehaltes \pm SE bei den Fliegen in beiden Generationen F0 und F1, (b): Der Effekt des Fenvalerats auf die Mittelwerte des RNA-Gehaltes \pm SE bei den Fliegen in beiden Generationen F0 und F1. Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in F0 für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven mit drei verschiedenen Futterangeboten (Normalfutter: Normal, 1:5: Mittel und 1:10: Wenig) und 25°C ausgesetzt. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern auf den Futterangeboten bei der Temperatur 25°C gezüchtet. $n=5$ (10 Fliegen pro Probe).

Auswirkungen von Fenvalerat

F0: Es zeigt ein Einfluss des Fenvalerats auf den RNA-Gehalt ($F=24$ ($p \leq 0.001$)). Der RNA-Gehalt der behandelten Tiere niedriger war als der der Kontrollprobe ($p \leq 0.001$).

F1: Die Effekte von Fenvalerat auf dem RNA-Gehalt stellte sich als umfangreich heraus ($F=6$ ($p=0.02$)). Es gab einen deutlichen Kontrast zwischen der Kontrolle und 40 ppm ($p=0.01$). (Abb.33b)

Auswirkungen Hungerstress nach Fenvalerat- Behandlung

F0: Es gab signifikanten Unterschied der Interaktion zwischen Hungerstress und Fenvalerat auf RNA ($F=4$ ($p=0.029$)). Die Differenz zwischen der Kontrollprobe und 40ppm bei Normalfutter war signifikant. die Mittelwerte des RNA-Gehalts waren bei behandelten Tieren geringer. Die Fliegen hatten nach der Behandlung mit Fenvalerat und Hungerstress

einen geringeren RNA-Gehalt. In (Tab.14) wird der Mittelwert der Effekte der Stressfaktoren aufgelistet.

F1: Bei RNA wirkte der Hungerstress bei signifikantem Unterschied zwischen der Kontrolle und 40ppm stark auf RNA.

3.4.3 RNA/DNA

Auswirkungen der Futterqualität (Hungerstress) und Fenvalerat- Behandlung

Die Konzentration von Fenvalerat und Hungerstress hatte für sich gesehen keinen Effekt auf die RNA/DNA-Verhältnis. (Abb.34a) zeigt, dass die Menge von RNA/DNA nach der Behandlung jeweils einzeln mit Fenvalerat und Hungerstress in beiden Generationen reduziert wurde, jedoch war dieser Effekt nicht signifikant. (Abb.34b) zeigt die von Fenvalerat auf RNA/DANN-Verhältnis.

Auswirkungen Hungerstress nach Fenvalerat-Behandlung

Die Interaktion zwischen beiden jedoch verstärkte die Wirkung und hatte dadurch einen Effekt ($F=4$ ($p=0.035$)). Die Mittelwerte der Interaktion der Stressfaktoren (Futterangebote und Fenvalerat): Normalfutter ($0:5,7\pm0,23$, 40ppm: $4,4\pm0,23$), 1:5 ($0:5,5\pm0,23$, 40ppm: $4,9\pm0,23$) und 1:10 ($0: 4,5\pm0,23$, 40ppm: $5\pm0,23$) $\mu\text{g}/\text{Fliege}$.

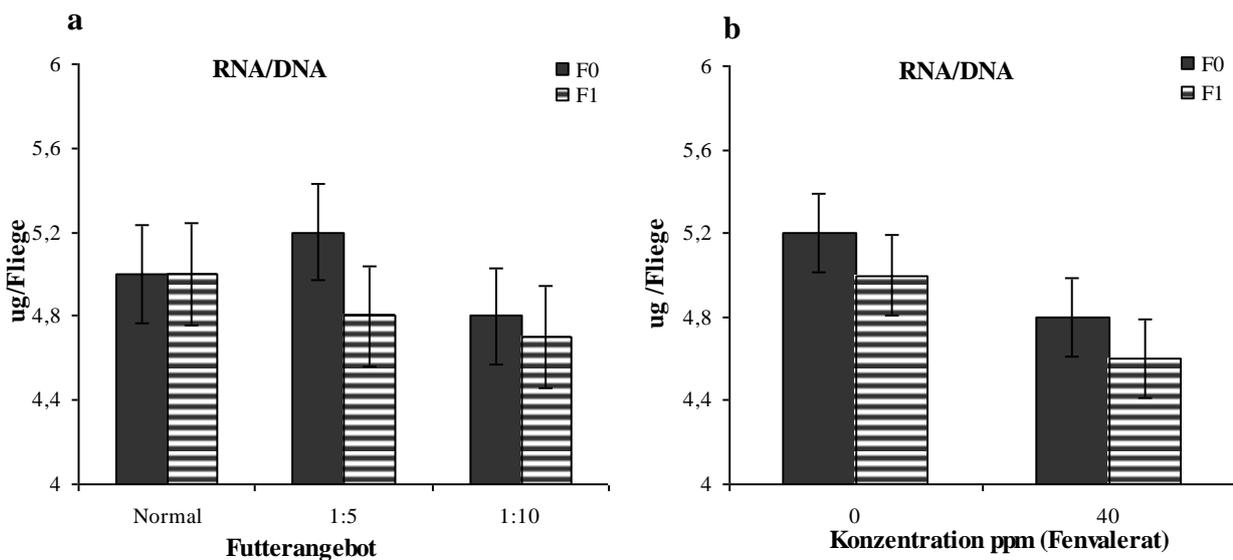


Abb.(3.4)-34: (a): Der Effekt von Hungerstress auf die Mittelwerte des RNA/DNA \pm SE bei den Fliegen beider Generationen F0 und F1 (b): Der Effekt von Fenvalerat auf die Mittelwerte des RNA/ DNA-Gehaltes \pm SE bei den Fliegen in beiden Generationen F0 und F1. Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in F0 für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven mit drei verschiedenen Futterangeboten (Normalfutter: Normal, 1:5: Mittel und 1:10: Wenig) und 25°C ausgesetzt. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern auf den Futterangeboten bei der Temperatur 25°C gezüchtet. $n=5$ (10 Fliegen pro Probe).

3.4.4 RNA/Protein

Ein Effekt der Stressfaktoren konnte in keiner der beiden Generationen festgestellt werden. (Abb.36a,b) zeigt, dass die Mittelwerte nach der Behandlung mit Fenvalerat und Hungerstress in F0 und F1 sanken. (Tab.15) zeigt die Wechselwirkung der Stressfaktoren auf RNA/Protein; man kann erkennen, dass dieses Verhältnis sank, lediglich bei der Behandlung

mit wenig Futter stieg der Wert. Diese Ergebnisse zeigen, dass wenn der RNA-Gehalt sinkt, der Proteingehalt in bestimmten Ebenen ebenfalls reduziert wird.

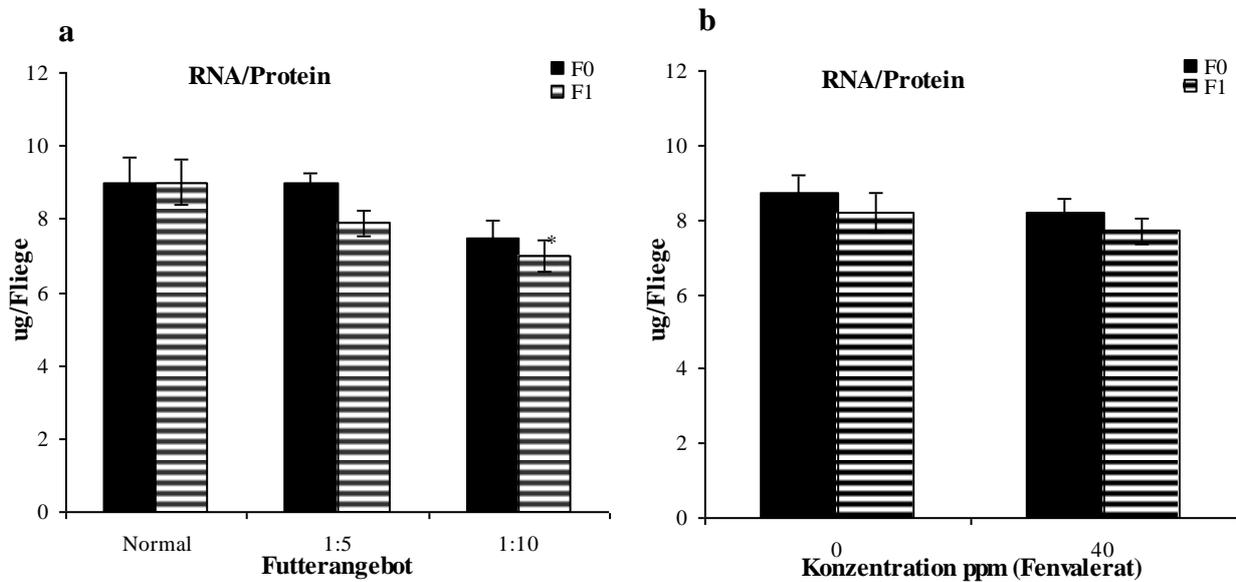


Abb.(3.4)-35: (a): Der Effekt von Hungerstress auf die Mittelwerte des RNA/Protein –Gehaltes \pm SE bei den Fliegen in beiden Generationen F0 und F1 (b): Der Effekt von Fenvalerat auf die Mittelwerte des DNA–Gehaltes \pm SE bei den Fliegen in beiden Generationen F0 und F1. Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in F0 für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven mit drei verschiedenen Futterangeboten (Normalfutter: Normal, 1:5: Mittel und 1:10: Wenig) und 25°C ausgesetzt. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern auf den Futterangeboten bei der Temperatur 25°C gezüchtet. $n=5$ (10 Fliegen pro Probe).

3.4.5 DNA/Gewicht

Auswirkungen der Futterqualität (Hungerstress)

F0: Wir fanden heraus, dass das Hungerstress einen Einfluss auf die Relation von DNA/Gesamtgewicht hat ($F=8$ ($p=0.002$)). Beim Futterangebot allerdings wichen die Werte nur zwischen Normalfutter und 1:5 Verdünnung ab (Abb.36a).

F1: Für die F1-Generation zeigte sich, dass der Hungerstress einen Effekt hat ($F=10$ ($p\leq 0.001$)), Der Unterschied war signifikant zwischen dem Normalfutter und den anderen Futterangeboten ($p\leq 0.001$).

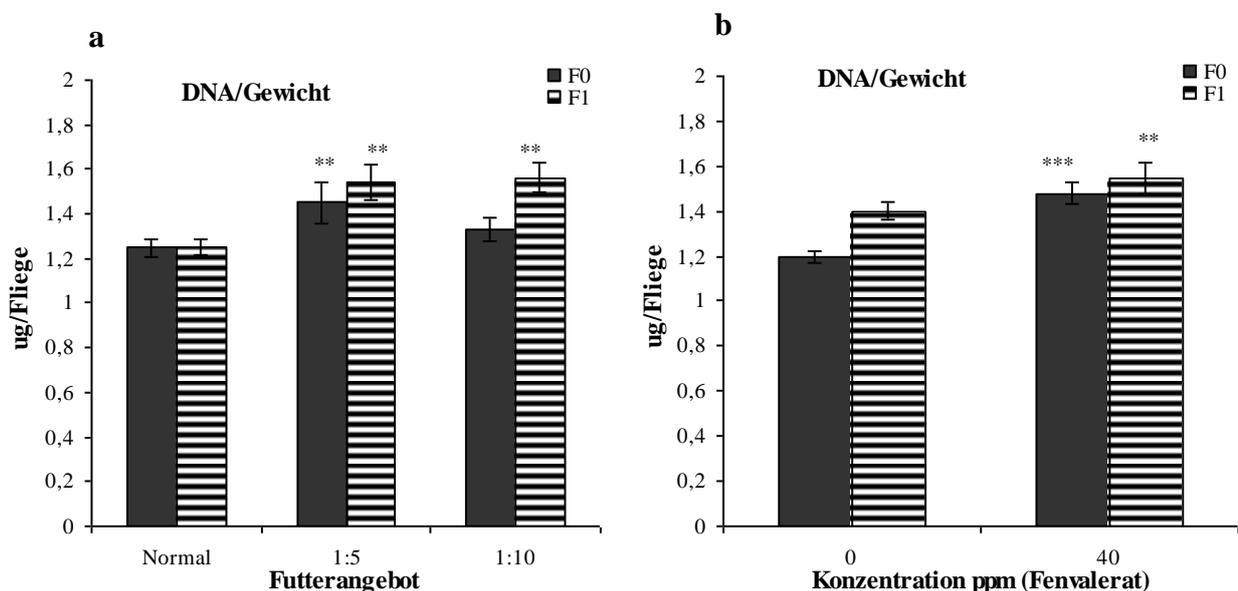


Abb.(3.4)-36: (a): Der Effekt von der Hungerstress auf die Mittelwerte des DNA/Gewicht –Gehaltes $\pm SE$ bei den Fliegen in beiden Generationen F0 und F1, (b): Der Effekt des Fenvalerats auf die Mittelwerte des DNA –Gehaltes $\pm SE$ bei den Fliegen in beiden Generationen F0 und F1. Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in F0 für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven mit drei verschiedenen Futterangeboten (Normalfutter: Normal, 1:5: Mittel und 1:10: Wenig) und 25°C ausgesetzt. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern auf den Futterangeboten bei der Temperatur 25°C gezüchtet. $n=5$ (10 Fliegen pro Probe).

Auswirkungen von Fenvalerat- Behandlung

F0: Es bestehen signifikante Unterschiede bei der Auswirkung von Hungerstress auf das DNA/Gewicht ($F=50$ ($p \leq 0.001$)). So gab es einen signifikanten Unterschied zwischen unbehandelten und behandelten Tieren.

F1: Für die F1-Generation zeigte sich, dass das Toxin einen Effekt haben ($F=10$ ($p=0.005$)), so dass das Verhältnis von DNA und Gesamtgewicht stiegen (Abb.36b).

Auswirkungen Hungerstress nach Fenvalerat- Behandlung

F0: Die Interaktion der Stressfaktoren hatte Bedeutung auf DNA/Gesamtgewicht Verhältnis ($F=7$ ($p=0.003$)). Mit der Verabreichung von Fenvalerat und Hungerstress stieg das Verhältnis von DNA und Gesamtgewicht, also nahm im Ergebnis während der Entwicklung das Gewicht stärker ab als die DNA. Die Differenz zeigte sich allerdings nur zwischen der Kontrollprobe und 40ppm bei 1:5 (Tab.15).

F1: die Werte des Verhältnisses von DNA und Gewicht sind gesteigert durch Interaktion zwischen den Stressfaktoren aber der Unterschied war nicht signifikant.

Futter	Konz. ppm	RNA/Protein $\pm SE$		DNA/Gewicht $\pm SE$		RNA/Gewicht/ $\pm SE$		Protein/Gewicht $\pm SE$	
		μg		μg		μg		μg	
		F0	F1	F0	F1	F0	F1	F0	F1
N	0	10 \pm 1	9,8 \pm 1	1,16 \pm 0,04	1,2 \pm 0,04	6,6 \pm 0,5	6,9 \pm 0,7	0,67 \pm 0,04	0,7 \pm 0,02
	40	7,9 \pm 0,7	8,1 \pm 0,7	1,34 \pm 0,04	1,3 \pm 0,05	5,8 \pm 0,4	5,6 \pm 0,5	0,74 \pm 0,03	0,68 \pm 0,02
1:5	0	9 \pm 0,4	8,2 \pm 0,6	1,19 \pm 0,05	1,36 \pm 0,04	6,5 \pm 0,2	6,6 \pm 0,3	0,73 \pm 0,02	0,81 \pm 0,04
	40	9 \pm 0,8	7,8 \pm 0,5	1,7 \pm 0,05***	1,7 \pm 0,1*	8,4 \pm 0,4*	7,9 \pm 0,3	0,94 \pm 0,04*	1,03 \pm 0,07*
1:10	0	7 \pm 0,5	6,6 \pm 0,5	1,3 \pm 0,05	1,5 \pm 0,09	5,6 \pm 0,3	6,8 \pm 0,5	0,77 \pm 0,01	1,03 \pm 0,04
	40	7,8 \pm 0,9	7,4 \pm 0,7	1,4 \pm 0,08	1,7 \pm 0,07	7,1 \pm 0,5	7,6 \pm 0,6	0,93 \pm 0,09	1,04 \pm 0,06

Tab.(3.4)-14: Die Mittelwerte des RNA/Protein, DNA/Gewicht, RNA/Gewicht und Protein/Gewicht -Gehaltes $\pm SE$ bei den Fliegen in beiden Generationen F0 und F1. Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in F0 für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven mit drei verschiedenen Futterangeboten (Normalfutter: N, 1:5: Mittel und 1:10: Wenig) und 25°C ausgesetzt. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern auf den Futterangeboten bei der Temperatur 25°C gezüchtet.. $n=5$ (10 Fliegen pro Probe).

3.4.6 RNA/Gesamtgewicht

Auswirkungen der Futterqualität (Hungerstress)

F0: In den Messungen zeigte sich, dass Hungerstress einen großen Einfluss hatten ($F=6$ ($p=0.008$)).

F1: Die Werte der Verhältnis von RNA und Gesamtgewicht sind gesteigert durch Interaktion zwischen den Stressfaktoren aber der Unterschied war nicht signifikant. (Abb.37a).

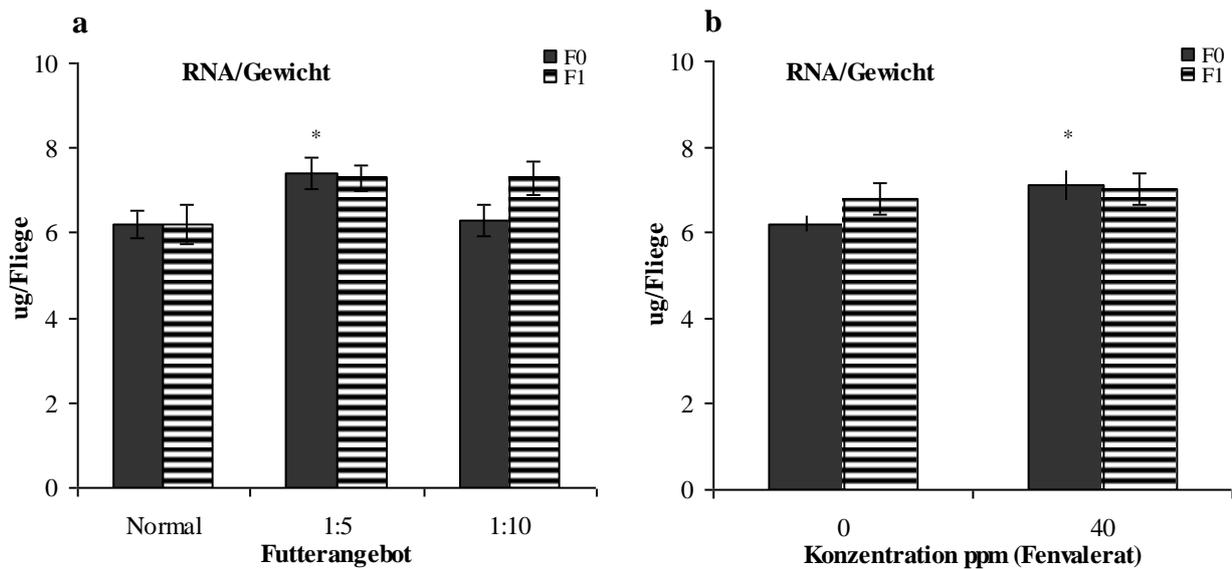


Abb.(3.4)-37: (a): Der Effekt von Hungerstress auf die Mittelwerte des RNA/Gewicht-Gehaltes \pm SE bei den Fliegen in beiden Generationen F0 und F1, (b): Der Effekt von Fenvalerat auf die Mittelwerte des DNA-Gehaltes \pm SE bei den Fliegen in beiden Generationen F0 und F1. Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in F0 für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven mit drei verschiedenen Futterangeboten (Normalfutter: Normal, 1:5: Mittel und 1:10: Wenig) und 25°C ausgesetzt. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern auf den Futterangeboten bei der Temperatur 25°C gezüchtet. $n=5$ (10 Fliegen pro Probe).

Auswirkungen von Fenvalerat

F0: Wir fanden heraus, dass Fenvalerat einen Einfluss hatte ($F=7$ ($p=0.012$)). Die Mittelwerte machen deutlich, dass dieses Verhältnis (RNA/Gesamtgewicht) ähnlich wie das Verhältnis zwischen DNA und Gesamtgewicht mit dem Fenvalerat und dem Hungerstress anstiegen, das Gesamtgewicht also stärker reduziert wurde als die RNA (Abb.37b).

F1: Die Unterschiede sind nicht signifikant.

Auswirkungen Hungerstress nach Fenvalerat- Behandlung

F0: Die Ergebnisse zeigen, dass die Interaktion zwischen den beiden Behandlungen einen Einfluss hatten ($F=7$ ($p=0.005$)).

F1: In dieser F1-Generation hatte nur die Interaktion zwischen Fenvalerat und Hungerstress einen Einfluss ($F=5$ ($p=0.038$)). Das Gesamtgewicht nahm auch hier stärker ab als der RNA-Gehalt. Dies bedeutet, dass die Zellen klein blieben (Tab.15).

3.4.7 Protein/Gesamtgewicht

Auswirkungen der Futterqualität (Hungerstress)

F0: Es war eine bedeutende Wirkung der Konzentration Hungerstress auf das Verhältnis von Protein und Gesamtgewicht auszumachen ($F=6$ ($p=0.008$)). Die Differenz war signifikant zwischen Normalfutter, Futterangebot 1:5 Verdünnung ($p=0.028$) und wenig Futter ($p=0.011$).

F1: Der Hungerstress hatte einen hohen Einfluss auf das Verhältnis von Protein und Gesamtgewicht ($F=29$ ($p\leq 0.001$)). Diese Ergebnisse zeigen, dass der Hungerstress einen größeren Effekt als das Fenvalerat hatte und dass das Protein-Gewicht-Verhältnis durch die Behandlung gesteigert wurde (Abb.38a).

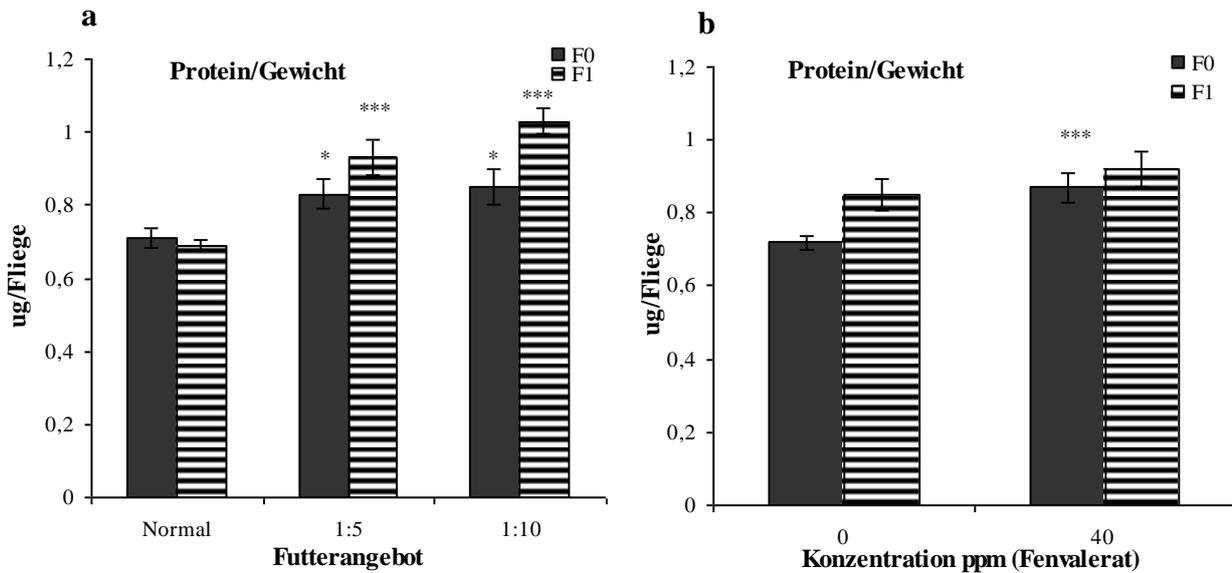


Abb.(3.4)-38: (a): Der Effekt von Hungerstress auf die Mittelwerte des Protein/Gewicht –Gehaltes \pm SE bei den Fliegen in beiden Generationen F0 und F1, (b): Der Effekt von Fenvalerat auf die Mittelwerte des DNA –Gehaltes \pm SE bei den Fliegen in beiden Generationen F0 und F1. Die Behandlung des 3. Larvenstadiums wurde nur in F0 für 24 Stunden durchgeführt, dann die Larven mit drei verschiedenen Futterangeboten (Normalfutter: Normal, 1:5: Mittel und 1:10: Wenig) und 25°C ausgesetzt. Die nächste F1-Generation wurde ab den Eiern auf den Futterangeboten bei der Temperatur 25°C gezüchtet. $n=5$ (10 Fliegen pro Probe).

Auswirkungen von Fenvalerat- Behandlung

F0: Es besteht eine bedeutende Wirkung der Konzentration von Fenvalerat auf das Verhältnis von Protein und Gewicht auszumachen ($F=15$ ($p \leq 0.001$)). (Abb.38b) zeigt die Mittelwerte der Effekte der Fenvalerat, das Verhältnis zwischen Protein und Gewicht stieg mit den Stressfaktoren.

F1: Der unterschied war nicht signifikant.

Auswirkungen von Hungerstress nach Fenvalerat- Behandlung:

F0: Einen deutlichen Unterschied gab es nur zwischen der Kontrollprobe und Fenvalerat 40ppm bei 1:5 Futterangebot.

F1: In dieser F1-Generation hatte die Interaktion zwischen den Stressfaktoren einen Einfluss auf das Verhältnis von Protein und Gesamtgewicht ($F=4$ ($p=0.042$))(Tab.15).

3.5 Die mögliche epigenetische Effekte auf Isogene- Linie

3.5.1 Mortalität

Die Fenvalerat-Behandlung, der Stamm und die Interaktion zwischen diesen Faktoren haben die Mortalität gesteigert (Fenvalerat $F=2495$ ($p \leq 0.001$), Stamm ($F=6,6$ ($p \leq 0.001$)) und Interaktion ($F=7,1$ ($p \leq 0.001$)). Signifikante Unterschiede gab es nur zwischen dem Stamm N5 auf der einen Seite und den Stämmen Weiße Augen und Wildtyp N5 auf der anderen Seite ($p \leq 0.001$ und $p \leq 0.002$). Der Mittelwert der Mortalität für jeder Stamm einzeln beträgt: N5: $31,9 \pm 1,1$, N6: $35,4 \pm 1,1$, White Iso.: $37,9 \pm 1,1$ und Wildtype: $38 \pm 1,1\%$ (Abb.39) zeigt die Mortalität bei den verschiedenen *Drosophila*-Stämmen nach Fenvalerat-Behandlung.

Die Mortalität war im Vergleich zu unbehandelten Kontrollen bei allen Stämmen ähnlich hoch, bei Wildtyp und Weiße Augen 40ppm am höchsten.

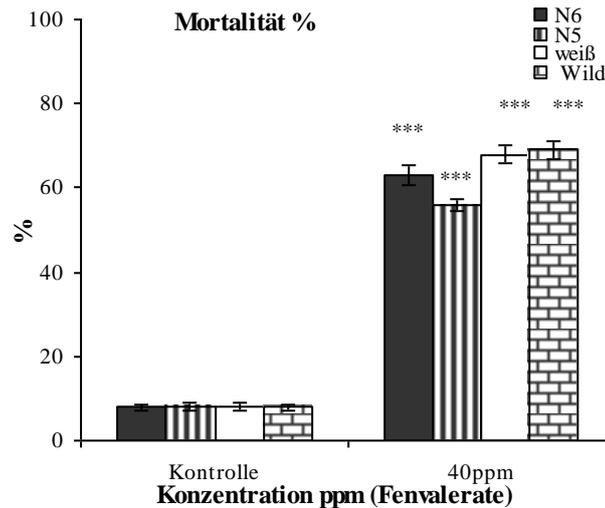


Abb.(3.5)-39: Mortalität der Isogen-Linien von *Drosophila* (N5, N6, weiße Augen Isogen) und dem Wildtyp (N5) nach Fenvalerat- Behandlung des 3. Larvenstadiums für 24 Stunden bei 25°C.

3.5.2 Entwicklung der F0 Generation

Fenvalerat-Behandlung reduzierte die Körper- und Flügellänge, die Eizahl und die Eiergröße bei allen Stämmen. Die Ergebnisse sind in (Tab.16 und 17) zusammengefasst.

Die (Abb.39 bis 40) zeigen die Messergebnisse im Einzelnen für die untersuchten Stämme.

Faktoren		Mortalität %	Körper-Länge/mm	Flügel-Länge/mm	Eizahl	Eier-Größe/mm
Konz./ppm	0	8±0,3	2,35±0,024	2,02±0,019	13,7±0,38	0,0098±0,00017
	40ppm	63±0,9	2,14±0,016	1,82±0,014	6,8±0,28	0,0087±0,00020
Stamm	N5	31,9±3,8	2,2±0,025	1,89±0,025	10,5±0,87	0,0092±0,00029
	N6	35,4±4,4	2,27±0,027	1,95±0,027	10,9±0,88	0,0094±0,00028
	weiß Iso.	37,9±4,8	2,2±0,028	1,86±0,027	8,8±0,77	0,0087±0,00035
	Wildtyp	38±4,9	2,33±0,042	1,99±0,026	10,8±1,08	0,00986±0,00014
Geschlecht	♀	35,8±3,2	2,43±0,02	2,07±0,0144	10,23±0,46	0,0093±0,00014
	♂	35,8±3,2	2,07±0,011	1,78±0,012		

Tab.(3.5)-16: Mittelwerte der Parameter unter Wirkung von Fenvalerat bei den Stämmen N5, N6, Weiße Augen und Wildtyp für die F0 nach Fenvalerat-Behandlung des 3. Larvenstadiums für 24 Stunden bei 25°C. n = 15 für jede Ansätze.

Faktoren	Parameter	F	p
Konz. /ppm	Körperlänge	204,2	≤0,001
	Flügellänge	161,6	≤0,001
	Eizahl	264,3	≤0,001
	Eiergröße	11,9	≤0,001
Stamm	Körperlänge	32	≤0,001
	Flügellänge	13,2	≤0,001
	Eizahl	5,05	0,003
	Eiergröße	2,6	0,58
Konz.*Stamm	Körperlänge	9,5	≤0,001
	Flügellänge	0,47	0,7
	Eizahl	2,48	0,068
	Eiergröße	0,148	0,93

Tab.(3.5)-17: Die Auswirkung und Wechselwirkung der Faktoren Konzentration und Stamm bei *Drosophila* (N5, N6, Weiße Augen) und dem Wildtyp N5 nach Fenvalerat-Behandlung des 3. Larvenstadiums für 24 Stunden bei 25°C (F-Test).

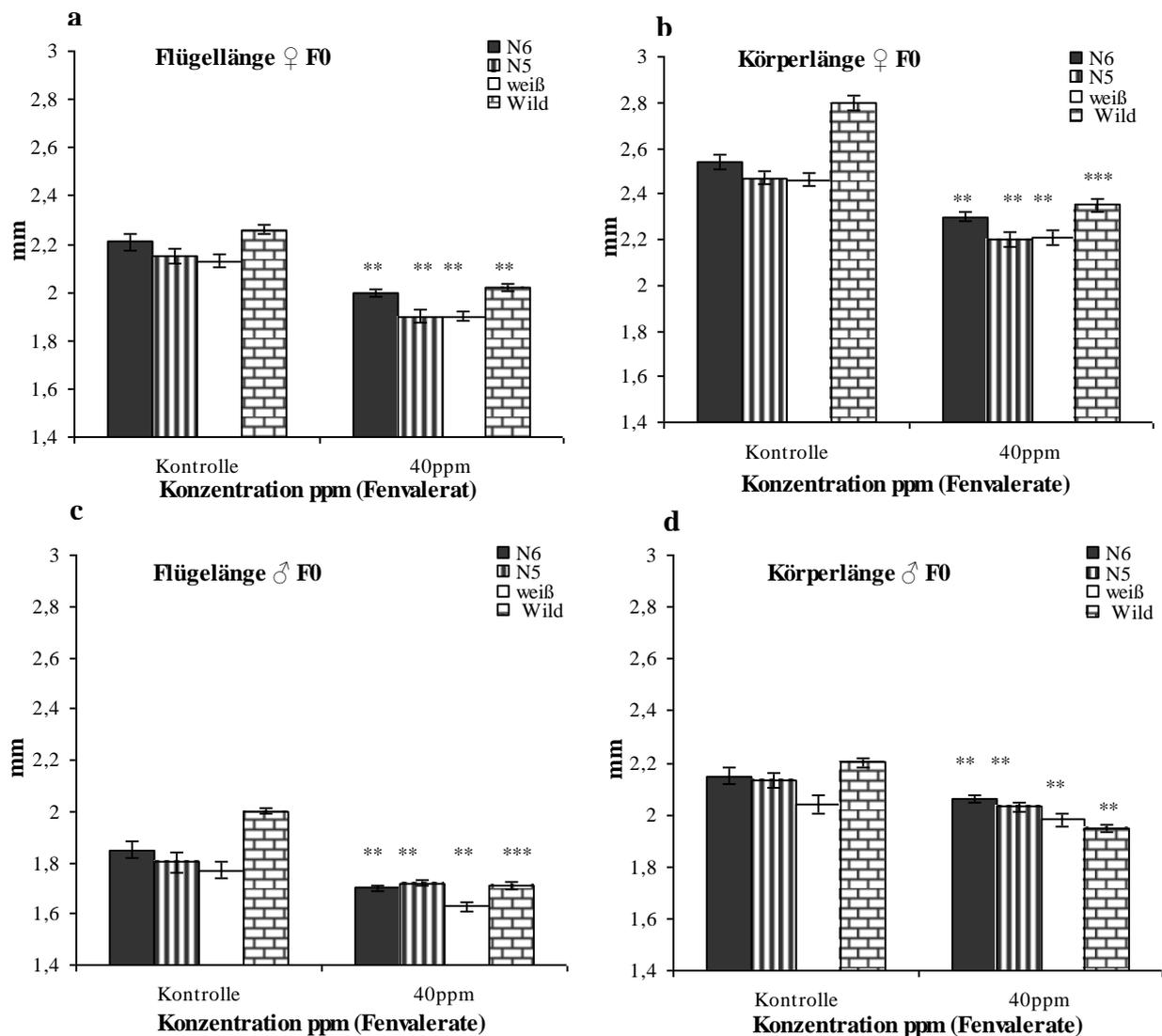


Abb.(3.5)-40: (a): Flügellänge (b) Körperlänge für ♀ (c): Flügellänge (d): Körperlänge der F0 der Isogenlinien von *Drosophila* (N5, N6, Weiße Augen) und Wildtyp N5 nach Fenvalerat-Behandlung des 3. Larvenstadiums für 24 Stunden bei 25°C.

Die Körper- und Flügelängen der behandelten Männchen und Weibchen waren im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe signifikant reduziert. Im Vergleich zu allen anderen Isogenlinien hat der N5 Wildtyp größere Körper- und Flügelängen. Zwischen N6, N5 und White Isogen konnte bezüglich der Körper- und Flügelängen kein signifikanter Unterschied gefunden werden.

Die Flügelänge aller behandelten Männchen war bei 40 ppm im Vergleich zur Kontrollgruppe reduziert. Zwischen den Stämmen untereinander gab es keinen signifikanten Unterschied (Abb.40).

Es besteht eine deutliche Differenz zwischen der Körperlänge der N5-Linie auf der einen Seite und N6 ($p=0.029$) und Wildtyp ($p\leq 0.001$) auf der anderen Seite. Es gab signifikante Unterschiede zwischen Wildtyp und allen Stämmen ($p\leq 0.001$), genauso zwischen White

Isogen und N6 Isogen. Auch die Flügellängen von N5 und N6 ($p=0.037$), N5 und dem Wildtyp ($p\leq 0.001$), der Weiße Augen-Linie und dem Wildtyp, ($p\leq 0.001$) und von N6 ($p=0.001$) und allen anderen unterschieden sich signifikant.

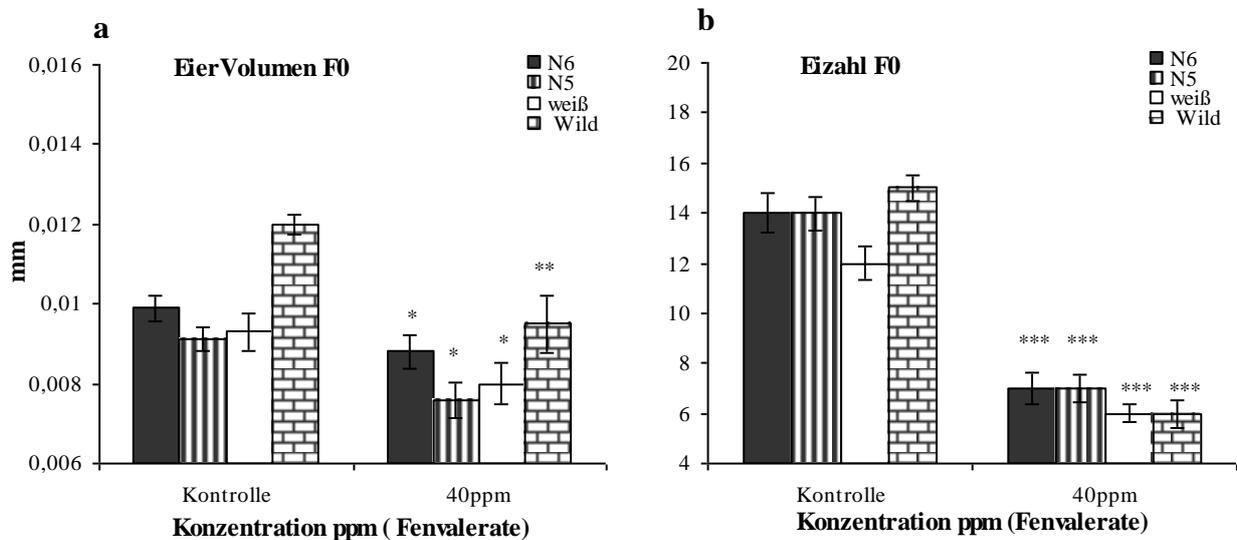


Abb.(3.5)-41: (a): Eigröße und (b): Eizahl der F0 der Isogen-Linien von *Drosophila* (N5, N6, weiße Augen Isogen) und dem Wildtyp N5 nach Fenvalerat-Behandlung des 3. Larvenstadiums für 24 Stunden mit 40 ppm bei 25°C

Bei allen Stämmen wirkte sich Fenvalerat-Behandlung negativ auf die Anzahl und Größe abgelegter Eier aus. Bezüglich der Eizahl bestanden zwischen Kontrollgruppe und allen Stämmen signifikante Unterschiede bei 40 ppm Fenvalerat ($n = 10$ Fliegen für jede Ansatz.). Bei den Eivolumina von N6 Isogen und N5 Wild gab es einen signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und 40 ppm Fenvalerat ($n = 20$ Eier für jede Ansatz)(Abb.41).

3.5.3 Entwicklung der F1-Generation unter Hungerstressbedingungen

In Tab.18 ist zu sehen, dass alle Versuchsbedingungen zu einer Reduktion der Parameter Körper- und Flügellänge, Eizahl und Eiergröße führten. Den größten Einfluss hatten das Futterangebot und die Interaktion zwischen allen Faktoren. Die Eivolumen wurde dabei am wenigsten von der Interaktion der Faktoren beeinflusst. Es gab deutliche Unterschiede zwischen den Futterangeboten Normalfutter und 1:10 Verdünnung für alle Parameter, außer der Eigröße. Die Flügellängen der Stämme N5 und Weiße Augen unterschieden sich signifikant ($p=0.009$). Bezüglich der Körperlänge gab es einen signifikanten Unterschied zwischen dem Wildtyp einerseits und N5 und N6 ($p\leq 0.001$) andererseits, ebenso zwischen N6 und Weiße Augen ($p\leq 0.001$). Bei der Eizahl bestehen zwischen N5 und Wildtyp signifikante Unterschiede ($p\leq 0.001$). Zwischen der Kontrollgruppe und den behandelten Tieren bestanden bei 40 ppm signifikanten Unterschieden für alle Parameter. Tab.19 zeigt die Mittelwerte der Effekte von Konzentration, Futter, Stamm und Geschlecht.

Faktoren		KörperL. /mm	FlügelL. /mm	Eizahl	Eigröße /mm
Konz./ppm	0	2,17±0,013	1,86±0,012	10,2±0,27	0,011±0,00018
	40ppm	2,02±0,012	1,7±0,011	7,2±0,24	0,010±0,00016
Stamm	N5	2,13±0,018	1,81±0,017	9,3±0,4	0,0109±0,00026
	N6	2,11±0,018	1,8±0,018	9,8±0,32	0,011±0,00026
	weiß Iso.	2,08±0,016	1,75±0,016	9,1±0,37	0,0104±0,00025
	Wildtype	2,06±0,022	1,8±0,018	7±0,43	0,0106±0,00094
Geschlecht	♀	2,23±0,013	1,9±0,012	9±0,2	0,0108±0,00012
	♂	1,96±0,011	1,67±0,009	-	-
Futter	N	2,3±0,014	1,99±0,013	11±0,25	0,0116±0,000207
	1:15	2,04±0,013	1,74±0,0123	8,6±0,37	0,011±0,000199
	1:10	1,9±0,01	1,63±0,009	6,7±0,25	0,0098±0,000199

Tab.(3.5)-18: Die Mittelwerte der Parameter unter Wirkung von Fenvalerat bei den Stämmen N5, N6, Weiße Augen und Wildtyp für die F1, nach der Fenvalerat-Behandlung des 3. Larvenstudiums für 24 Stunden bei 25 °C in der F0. nachher wurde es die nächste F1- Generation vom Ei bis Adulte im normalen Futter und Hungerstress(1:5 und -1:10- Verdünnung) bei 25 °C eingesetzt.

Faktoren	Parameter	F	p
Konz./ppm	Körperlänge	185,9	≤0,001
	Flügellänge	234,4	≤0,001
	Eizahl	183,1	≤0,001
	Eiergröße	15,1	≤0,001
Stamm	Körperlänge	8,3	≤0,001
	Flügellänge	3,845	0,01
	Eizahl	38,552	≤0,001
	Eiergröße	2,007	0,114
Futter	Körperlänge	446	≤0,001
	Flügellänge	456	≤0,001
	Eizahl	122	≤0,001
Stamm*Futter	Eiergröße	7,9	≤0,001
	Körperlänge	10,6	≤0,001
	Flügellänge	8,7	≤0,001
	Eizahl	7,6	≤0,001
Konz.* Futter	Eiergröße	1,3	0,25
	Körperlänge	7,7	≤0,001
	Flügellänge	4	0,02
	Eizahl	1,5	0,23
Konz.*Stamm	Eiergröße	4	0,02
	Körperlänge	10,6	≤0,001
	Flügellänge	5,2	≤0,001
	Eizahl	1,2	0,3
Konz.*Stamm*Futter	Eiergröße	3,15	0,814
	Körperlänge	5,5	≤0,001
	Flügellänge	5,2	≤0,001
	Eizahl	,285	0,944
	Eiergröße	1,543	0,165

Tab.(3.5)-19: Die Auswirkung und Wechselwirkung der Faktoren Konzentration und Stamm bei Drosophila (N5, N6, Weiße Augen) und dem Wildtyp in der F1, nach Fenvalerat-Behandlung des 3. Larvenstudiums für 24

Stunden mit 40 ppm bei 25°C in der F0 nachher wurde es die nächste F1- Generation vom Ei bis Adulte im normalen Futter und Hungerstress(1:5 und -1:10- Verdünnung) bei 25°C eingesetzt.

Es wurde bemerkt, dass die Tiere auf Normalfutter besser als die Tiere auf anderen Futterangeboten aussahen. Die Adulten hatten zwar weniger Eier abgelegt, aber diese Eier waren kleiner als die der Kontrollgruppe. Zwischen den Isogen-Linien gab es keine Unterschiede. Aus diesen Ergebnissen können wir schlussfolgern, dass die Unterschiede nur durch die unterschiedlichen Futterangebote zustande gekommen waren. In diesen Generationen hatten N5 wild und die weiße Augen wenigsten Werten. Die Eigröße war signifikant sowohl bei Hungerstress auch bei der Interaktion (Futter und Fenvalerat). Die Interaktionen zwischen allen drei Stressfaktoren haben nicht auf Eigröße und Eizahl beeinflusst.

4 Diskussion

Die Wirksamkeit von Pestiziden wird von verschiedenen Faktoren beeinflusst: von der Konzentration, der Sensitivität des zu bekämpfenden Schädlings und von seiner Wirkungsweise im Zielorganismus. Die Pestizide können den Schädling direkt treffen oder sie werden indirekt aus verschiedenen Quellen im Ökosystem (Futter, Wasser, Luft usw.) aufgenommen. Oft wirken die aufgenommenen Mengen nicht letal. Trotzdem können sie möglicherweise verschiedene Funktionen im Organismus nachhaltig schädigen. Um solche Effekte zu detektieren, wurde das 3. Larvenstadium von *D. melanogaster* mit subletalen Mengen von Fenvalerat nach zwei Methoden behandelt: Tauchen in Fenvaleratlösungen und Zugabe von Fenvalerat zum Futtersubstrat. Erfasst wurden morphologische Parameter und die Fruchtbarkeit nach sublethaler Begiftung und in Kombination mit dem Stressfaktor Hunger. Es zeigte sich, dass in den Generationen F0 und F1 durch die Kurzzeitexposition negative physiologische und biochemische Veränderungen auftraten. Epigenetische Effekte waren nicht nachweisbar.

4.1 Mortalität und Entwicklung

Um die subletalen Wirkungen zu detektieren, wurde das dritte Larvenstadium von *D. melanogaster* mit nachfolgenden zwei Methoden in subletalen Mengen von Fenvalerat konfrontiert: Tauchen der Larven in Fenvaleratlösungen und durch Zugabe von Fenvalerat in das Futtersubstrat in verschiedenen Konzentrationen.

Die Untersuchungen zeigten, dass die Mortalität bei oraler Aufnahme höher als bei dermalen Aufnahme. Sie wurde durch Hungerstress gesteigert. Das Fenvalerat dringt offenbar weniger effizient durch die Kutikula in den Körper (FAO und WHO Berichte, 1979, 1995). Bei Ratten ist Fenvalerat mit 5000 mg/kg über die Haut wirksam (LD 50), aber bei einer oralen Applikation sind bereits 450 mg/kg wirksam (LD50), das Fenvalerat wird bei oraler Behandlung schnell absorbiert, während bei dermalen Behandlung das Integument die Aufnahme hemmt (Walker et al., 1975; FAO und WHO Berichte, 1979, 1995). Diese Ergebnisse stimmen mit unseren Befunden im Prinzip für die Mortalität von behandelten *D. melanogaster* in verschiedenen Fenvalerat-Konzentrationen überein. Das Fenvalerat dringt nur sehr schlecht durch die Kutikula. Bei oraler Aufnahme wirken wesentlich niedrigere Konzentrationen. Hungerstress, verursacht durch Verdünnung des Futtersubstrates (1:5 bzw. 1:10) steigert diese Wirkung. Das Fenvalerat ist lipophil und akkumuliert deshalb in Fettgeweben. Bei Hungerstress wird es bei Mobilisierung der Fettreserven freigesetzt. Auch bei Mobilisierung dieser Lipidreserven beim Flug, könnte es aktiviert werden. Fenvalerat wirkt insbesondere auf Natriumkanäle und ist damit neurotoxisch. Der Natrium-Kanal in der Nervenmembran ist der wichtigste Zielort für synthetische Pyrethroide. Pyrethroide erhöhen die Natrium-Durchlässigkeit der Nervenmembran und bewirken dadurch spontane Depolarisationen und repetitive Entladungen. Ständige repetitive Entladungen führen schließlich zu Krämpfen, zur Erschöpfung der Acetylcholin-Reserven und zu Muskel-Schwäche usw. (Eilser, 2000). Die neurotoxischen Effekte vom Fenvalerat auf Natriumkanäle und Zellmembran führen zur Mortalität, weil die Neurotransmission völlig durch das Fenvalerat gestört wird.

Bei Anwendung hoher Konzentrationen in beiden Behandlungsmethoden war die Mortalität innerhalb der ersten 24 Stunden hoch. Die Larven haben in den ersten Stunden nach der Behandlung große Mengen von kontaminierten Futter gefressen, weil sie vor der Behandlung drei Stunden gehungert haben. Das bedeutet, dass die Larven mehr Gift aufgenommen haben. Sie stellen aber Futteraufnahme bald ein, da das Fenvalerat eine gewisse Repellentwirkung hat. Eine ähnlich hohe Anfangsmortalität verursachten z.B. Cyfluthrin und Fenprothrin im 1. Larvenstadium (95%) und im 2. Larvenstadium (92%) der Grünen Florfliege (*Chrysoperla carnea*) (Nasreen et al., 2007). Der Große Wasserfloh (*Daphnia magna*) wird bei kurzer kontinuierlicher Exposition (Dauer 24 Stunden) mit 1 µg/l bzw. mit 3.2 µg/l Fenvalerate getötet (Reynaldi et al., 2004). Bei der Köcherfliege (*Limnephilus lunatus*) gab es nach 15 Tagen bei einer Konzentration von 100µg/l keine überlebenden Larven (Liess, 2002). Das Fenvalerat bewirkt in Larven eine höhere Mortalität, weil die Larven viel Futter aufnehmen und verbrauchen. Deshalb erhalten sie große Mengen vom Toxin. Bei höheren Konzentrationen bewirkt das Fenvalerat bei den überlebenden *Drosophila* eine Verlängerung des Lebenszyklus (Ei bis Adultschlupf) im Vergleich zu Kontrolltieren um 1-2 Tage. Es wurden eine Verzögerung der Entwicklung (*Limnephilus lunatus*) und eine geringere Gewichtszunahme nach der Behandlung mit Fenvalerat beobachtet (Liess, 2002). Die Ergebnisse dieser Studien unterstützen unsere Resultate. Nach der Fenvalerat-Behandlung hören die Larven auf zu fressen oder sie fressen weniger. Das bedeutet, dass die Larven sich langsamer entwickelt haben. Das Fenvalerat wirkt auf das Verhalten (Einlegen einer Fresspause) und auf die Stoffwechselphysiologie aus. Die Entwicklungsprozesse benötigen mehr Zeit. Das erfolgte besonders im Larven- und Puppenstadium.

Es ist bekannt, dass Stress-Resistenz die Lebensdauer von Organismen, wie die *Drosophila* bis zu den Säugetieren, erhöhen kann, weil durch Stressfaktoren alle physiologischen Funktionen und Ressourcen aktiviert werden, um zu überleben. Wenn die Ressourcen begrenzt sind, werden im Allgemeinen Energiereserven zuerst anderen lebenswichtigen Funktionen zugeführt. Dadurch wird die Reproduktion zunächst zurückgestellt (Tatar et al., 2001). Der Hungerstress und die repellenten Effekte von Fenvalerat haben die Ernährung von *Drosophila* beeinflusst, wobei die Reproduktion sich reduziert, der Lebenszyklus verlängert und die Mortalität sich erhöht.

4.2 Morphometrische und quantitative Befunde

Die überlebenden Fliegen aus den Tauch- und Futterversuchen wurden hinsichtlich ihrer morphologischen Parameter (Körper- und Flügellänge sowie Gewicht) untersucht. Bei allen Parametern wurde eine Reduktion durch die Wirkung von Fenvalerat und Hungerstress festgestellt. Beide Geschlechter haben durch die Behandlungen (Fenvalerat-Applikation, Hungerstress bzw. Kombination beider Faktoren) geringere Gewichte. Weibchen überlebten i.d.R. im Vergleich zu den Männchen die Behandlungen besser. Wahrscheinlich reagierten sie weniger empfindlich auf das Fenvalerat als die Männchen, da sie mehr Fett im Körper gespeichert haben. Fenvalerat ist lipophil und akkumuliert daher im Fettgewebe der Weibchen in größerem Umfang als bei Männchen und wirkt deshalb nicht so stark. Diese Erklärung stimmt mit Ergebnissen von Nadda et al. (2005) überein. Sie stellten fest, dass der direkte Kontakt mit Insektiziden zunächst zu einer Durchdringung des Integumentes und

einer raschen Akkumulation im Körper führt, weil lipophilen Insektizide z.T. im großen Fettkörper der Weibchen gespeichert werden, ohne ihre Wirkung zu entfalten. In anderen Studien wurde für Weibchen von *D. melanogaster* eine höhere LD50 Deltamethrin-Behandlung beobachtet (1,40 ppm) als für die Männchen (0,8 ppm) (Dhingra et al., 1988).

In der vorliegenden Studie hatten die Weibchen ein geringes Gewicht, weil sie durch die Einwirkung von Hungerstress und Fenvalerat viele Reservestoffe (Lipide, Kohlenhydrate usw.) verbrauchten, um zu überleben. Zudem haben sie wenig von diesen Reserven akkumuliert. Weibchen wenden zudem diese Reserven für die Reproduktion auf; deshalb können sie nicht die Mängel an den Reserven kompensieren. Die Tiere wurden vom Hungerstress stärker beeinflusst, weil sie über längere Zeit auf der Suche nach Futter waren. Dadurch verbrauchten sie mehr Energie. Außerdem wirkt das Fenvalerat stärker, da die Lipide verbraucht wurden. Gleichzeitig war das Futter kalorienreduziert, weshalb auch das Körpergewicht gesunken ist. Das Gewicht behandelter Fliegen war besonders bei hohen Dosen deutlich reduziert. Das Gewicht von der Schlupfwespe *Pimpla turionellae* nach der Cypermethrin-Behandlung verringerte sich mit steigender Konzentration, außer bei den Männchen. Der Gewichtsverlust von *P. turionellae* kann dank der ausreichenden Versorgung mit Nährstoffen aufgrund der fraß-hemmenden Wirkung von Cypermethrin geklärt werden (Sak et al., 2006).

Bei dem Futtersuchversuch in dieser Studie fraßen die Larven nach der Behandlung für kurze Zeit nicht, was einen Repellent-Effekt von Fenvalerat auf das dritte Larvenstadium von *D. melanogaster* belegt. Der Repellent-Effekt reduziert die Nahrungsaufnahme. Deshalb verlangsamte sich die Entwicklung und das Gewicht war geringer. Das Gewicht wurde vermutlich durch die Wirkung des Repellent-Effektes von Fenvalerat reduziert. Diese Vermutung konnte überprüft werden, indem die Gewichtsveränderung vor und nach der Behandlung mit Fenvalerat ermittelt wurde. Das Gewicht der behandelten Larven nahm stark ab, wohingegen das der Kontrolllarven sich normal entwickelten. Cyfalthrin (*Drosophila*; Nadda et al., 2005) oder Cypermethrin (Meerrettichblattkäfer (*Phaedon cochleariae*) (Larven und Adulte); Hajjar et al., 1990). Die mit Tefluthrin behandelten Larven von dem Gurken-Käfer (*Diabrotica undecimpunctata*) zeigten einen signifikanten Rückgang des Körpergewichts und des Adultalters im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe (Michaelides, 1997). Der Gewichtsrückgang bei den adulten Fliegen ergab sich durch Stressfaktoren (Fenvalerat und Hungerstress) im 3. Larvenstadium. Die Behinderung der Entwicklung und die Verringerung des Gewichts der Tiere führen möglicherweise zur Reduzierung der Körper- und Flügellänge. Es ist bei den Insekten allgemein bekannt, dass sie im Larvenstadium die wichtigen Materialien des Lebens für die Metamorphose und die Reproduktion akkumulieren. Belastung der Larven führt zu mangelhaften Adulten. Beim Baumwollkapselwurm (*Helicoverpa armigera*) war das Larvenwachstum nach der Behandlung mit Fenvalerat und Permethrin reduziert. Das wird vermutlich durch eine Intensivierung des Lipidstoffwechsels verursacht (Akbar et al., 2012).

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, dass Fenvalerat einen Einfluss auf die Larven von *Drosophila* hat: 1. durch die Repellenswirkung, 2. durch Erhöhung des Lipidstoffwechsels

(Erhöhung von Lipase- und Phosphorylase-Aktivität), 3. durch allgemeine Erhöhung der Stoffwechselrate. Zudem wurde festgestellt, dass bei den Adulten die Flügel- und Körperlänge der beiden Geschlechter sowie die Länge der Puppen verringert waren. Bei der Brackwespe (*Apanteles galleriae*) tendiert die Körpergröße von adulten männlichen und weiblichen Parasitoiden schien mit steigender Dosis von Cypermethrin abzunehmen (Ergin et al., 2007). Bei der Mücke *Culex quinquefasciatus* reduzierten die Organophosphate das Überleben, assoziiert mit einer signifikanten Reduktion beider Geschlechter (Mpho et al., 2001). Die Werte der morphologischen Parameter bei *Drosophila* (Körper- und Flügellänge und Puppenlänge) verringern sich logischerweise, wenn das Gewicht der Larven und Adulten abgenommen hat, weil die leichten und kleinen Larven sich zu kleinen Adulten entwickeln. Die Belastung im 3. Larvenstadiums hat die Adulten später beeinflusst, da sich Fenvalerat auf verschiedene physiologische Funktionen, wie z.B die Hormonsekretion, ausgewirkt hat. Pyrethroide stören möglicherweise den Hormonhaushalt und damit die Entwicklung der Insekten. Etwa 24 Stunden nach Erreichen des kritischen Gewichts bei dem Tabakswärmer (*Manduca Sexta*) wird das Juvenilhormon vollständig aus der Hämolymphe zurückgehen und die Sekretion von PTTH und Ecdysteroid-Hormon wird zunehmen (Rountree et al., 1986). Das PTTH stimuliert die Ausschüttung von Ecdysteroiden; deshalb hört die Larve auf, zu fressen. Bei anderen Insektenarten wachsen die adulten Tiere nicht. Denn die Körpergröße, welche die Larven bei kritischem Gewicht erreichen, entspricht der Körpergröße adulter Tiere (D'Amico, 2001). Bei *Drosophila* ist es möglich, dass das Fenvalerat die Ecdyson- und PTTH-Ausschüttung vor dem Erreichen des kritischen Gewicht wie bei dem Tabakswärmer vorzeitig stimuliert. Daher nimmt das Gewicht ab und verringern sich die Körpergröße und Flügellänge.

Bei einigen Experimenten mit *Drosophila* wurde festgestellt, dass sie Deformationen aufwiesen (z.B. deutlich segmentierte Puppen als larvale Charakteristika). Offensichtlich sind die Häutungen und die Metamorphose nicht korrekt verlaufen. Die Tiere, die als Imago schlüpfen, zeigten häufig morphologische Veränderungen, wie gewellte, runde oder geknickte Flügel. Der Grund kann daran liegen, dass Fenvalerat mit chitinhaltigen Strukturen (Apodeme) interagiert, so dass die Muskeln keine Unterstützung mehr haben und die Larven bzw. Imagines nicht schlüpfen konnten. Deshalb war die Mortalität im Larvenstadium hoch (Wellinga et al., 1973). Auch bei Puppen und Imagines trifft diese Klärung sehr wahrscheinlich zu. In dieser Arbeit hat sich herausgestellt, dass die Deformierung der Flügel besonders häufig auftrat (Abb.15). Jedoch traten in der F1-Generation keine deformierten auf. Diese Feststellung wird durch die Arbeit von Karatas et al. (2009) bestätigt. In seiner Arbeit hat er *D. melanogaster* mit Cypermethrin behandelt und ist zu dem Ergebnis gekommen, dass Flügel und Thorax in beiden Generationen (F0 und F1) deformiert sind, in der F1-Generation aber weniger. Ob diese Deformierung auf zellulärer Ebene (z.B. Transkription oder Translation) durch Hungerstress verursacht und verstärkt wird, kann hier nur vermutet werden.

Die behandelten Fliegen haben im Vergleich zu Kontrolltieren in beiden Versuchsansätzen weniger Eier abgelegt und eine geringere Schlupfrate, besonders Futterangebot 1:10 und 40

ppm. Die mit Cyfluthrin (LC25) behandelten Weibchen von *Telenomus busseolae* legten deutlich weniger Eier als die unbehandelten ab (Bayram et al., 2009); Ähnliches ergab sich nach (Fenvalerat-Behandlung beim Marienkäfer (Wang et al., 2003); Cyfluthrin und Fenprothrin bei *C. Carnea* (Narseen et al., 2007); Cypermethrin beim Meerrettichblattkäfer (*Phaedon cochleariae* (Hajjar et al., 1989); Fenvalerat bei der Kohlmotte *Plutella xylostella* (Kumar et al., 1984). Nach der Exposition von *D. melanogaster* auf Cypermethrin waren Fruchtbarkeit, Schlupfrate, Verpuppung und eine Anzahl von adulten Fliegen zurückgegangen (Karatas, 2009). Die synthetischen Pyrethroide haben die Fertilität, wie die Eiablage und die Schlupfrate, in verschiedenen Insekten verringert. In diesen Ergebnissen wurde diese Reduzierung nachgewiesen. Möglicherweise ist diese Reaktion eine Adaption an die Stress-Bedingungen, damit die Tiere die wichtigen Substanzen zum Leben erhalten können und die physiologischen Funktionen sicherstellen können. Deshalb verringern sie den Energieverbrauch für die Reproduktion. JH stimuliert in *Drosophila* die Fettkörper und die Ovarien, um das Vitellogenin freizusetzen. Aber das Fenvalerat hat vermutlich JH-Sekretion von CA (corpus allatum) verhindert, was die Vitellogenin-Synthese abstellt. Es gibt wahrscheinlich dafür andere Klärung, sodass die Fliegen nach der Fenvalerat-Behandlung die Proteine und die Lipide für die Bildung der Organe nutzen, jedoch nicht für die Bildung der Eier. Zudem ist es wahrscheinlich, dass Fenvalerat die Gonadenschläuche, die Geschlechtsorgane, die Ovarien oder die akzessorischen Drüsen gestört oder die Ovariolenzahl verringert hat. Diese Gründe würden die Eiablage und die Fruchtbarkeit reduzieren. Die Stressfaktoren verursachten vermutlich die vorherigen Störungen, die zur Reduzierung der Fertilität von *Drosophila* führen. Andere Autoren haben auch in ihren Arbeiten diese Auswirkungen festgestellt. Die Verringerung der Fruchtbarkeit entsteht durch die hemmende Wirkung von Beta-Cyfluthrin auf die Entwicklung der Gonadenschläuche (Pratt et al., 1980). Auf der anderen Seite hat (Wayne et al., 2006) von einer früher reduzierten Eiproduktion berichtet, aber zeitgleich von einer erhöhten Ovariolenzahl als Reaktion auf den Hungerstress. Damit haben seine Ergebnisse gezeigt, dass es keine Beziehung zwischen der Ovariolenzahl und der früher verringerten Eiproduktion gibt. Die oben genannten Beispiele zeigen deutlich, dass synthetische Pyrethroide die Fertilität reduzieren. Es wird hier vermutet, dass die Eiablage der *Drosophila* durch Fenvalerat bei verschiedenen Faktoren verursacht wurden (wie die Störung der Ovarien, Hormon-Freisetzung, Akkumulation der Vitillogene, der Ernährungsstand und/oder schwache Männchen). Wir haben weiter die Ovarien untersucht, um mögliche Schäden auf Ovarien bestimmen zu können.

Die Messwerte der Ovarien (das Gewicht, die Länge, die Breite und die Ovariolenzahl) wurden durch Fenvalerat und den Hungerstress negativ beeinflusst. Es wurde auch festgestellt, dass die Stressfaktoren einen größeren Effekt auf das Ovargewicht als auf die Ovariolenzahl und die Ovarlänge hatten, weil die Akkumulation der Lipide, Proteine usw. im Ovar nicht optimal abgeschlossen war. Nach der Exposition gegenüber Fenvalerat und Zucht unter Hungerstress waren die Werte zurückgegangen. Die synthetischen Pyrethroide haben negativ auf die Ocyten und Ovarien von anderen Tieren (*Amblyomma hebraeum* (Schildzecke) mit Cypermithrin) eingewirkt und dadurch die Hormon-Freisetzung reduziert.

Diese Reduzierung führte zur Hemmung der Ovarentwicklung sowie zur Verringerung von 20-Hydroxyecdysol- und Vitellogeninkonzentrationen. Zusätzlich war die Oocytenlänge (5 Tage alt) reduziert. Denn Cypermethrin hemmt die Eientwicklung möglicherweise zum Teil als Folge der Hemmung der Freisetzung von 20E (Friesen et al., 2003).

Eine reduzierte Ovargröße wurde verursacht, weil entweder die Oocyten sich nicht weiterentwickeln können oder weil wichtige eingelagerte Stoffe von den Oocyten nicht genügend akkumuliert werden konnten. Der Rückgang der Fruchtbarkeit nach der Behandlung kann durch die direkten Auswirkungen von Beta-Cyfluthrin auf verschiedene Gewebe, wie Trophocyten, Präfollikulär-Gewebe, Follikel epithel, Eizellen und Hormonstörungen verursacht werden (Kaur et al., 1993). Sommeral et al. (2001) hat festgestellt, dass Deltamethrin und α -Cypermethrin die Ovarien-Bildung, die Fruchtbarkeit und die Entwicklung der grünen Fliege (*Neomyia cornicina*) reduziert haben. Die chemische Behandlung wirkt sich auf den Hormon- und den Reproduktionsstoffwechsel aus, so dass am Schluss die Vitellogenese verhindert wird (Nadda et al., 2005). Deshalb wurden das Gewicht der Ovarien und die Zahl der Ovariolen bei *Drosophila* durch Fenvalerat reduziert und folglich weniger Eier produziert. Man konnte beobachten, dass Fenvalerat in verschiedenen physiologischen Mechanismen die Fertilität bei *Drosophila* verhindert hat. Die Schlupfrate (wenige Puppenzahl) wurde auch bei unseren Versuchen beeinflusst, weil das Fenvalerat und der Hungerstress auf physiologische Funktionen eingewirkt haben. Es wurde daher festgestellt, dass die Eier keine genügenden Materialien für Embryo-Entwicklung haben: entweder wegen der repellenten Wirkungen oder wegen geringeren Reserven. Zudem ist auch wegen der schwach produzierten Spermien, die nicht Viabilität aufgrund der Stressfaktoren haben. Folglich ergibt sich keine Befruchtung der Oocyte. Die Ergebnisse ähnlicher Studien stimmen mit den nachgewiesenen Ergebnissen unserer Studie überein. Choudhary (2002) hat nach der Fenvalerat-Behandlung von Adulten *Drosophila* nachgewiesen, dass der Eischlupf im Vergleich zu den Kontrolltieren um 4-17 Tage verzögert wurde. Das bestätigt den hemmenden Effekt von Fenvalerat auf die Gonadenentwicklung. Die Larven dieser Fliegen waren nicht in der Lage zu schlüpfen, weil sie in die Membranen des Eies nicht durchdringen konnten. Wellinga et al. (1973) hat in seiner Studie es so erklärt: Das Fenvalerat interagiert in den Eiern mit Chitin und verhindert die vollständige Ausbildung der chitinhaltigen Mundhaken und Cutikula. So finden die Muskeln keine Unterstützung und die Larven können folglich nicht schlüpfen. Deshalb war die Mortalität in Larvenstadien hoch. Beta-Cyfluthrin hat Eischlupf von den Sepia-Mutanten (*D. melanogaster*) reduziert. Dieser Effekt entsteht durch den fraßhemmenden bzw. den Repellent-Effekt von beta-Cyfluthrin. Dadurch entstehen schwache und lebensunfähige Eier (Nadda et al., 2005). Alle erwähnten Arbeiten zeigen die Mechanismen der Effekte von Fenvalerat auf die Fruchtbarkeit bei *Drosophila*. Man kann daher nachweisen, dass die Stressfaktoren die Fertilität von Weibchen (Ovarien, Ovariolen, Eiablage) verringern, aber die Männchen spielen auch eine große Rolle in der Fertilität und der Fruchtbarkeit. Deshalb wurde die Fertilität der Männchen geprüft, um herauszufinden, ob die insektizidbehandelten Männchen die Ursache für die verringerte Fertilität der Weibchen sind. Dabei wurden Kreuzungsversuche mit unbehandelten Weibchen durchgeführt. Daraufhin

haben wir festgestellt, dass die behandelten Männchen die Eiproduktion der unbehandelten Weibchen nur in geringem Umfange beeinflussten; Daher waren die Effekte nicht signifikant. Hier wäre denkbar, dass die Männchen bei der Begattung niedrige Konzentrationen von Fenvalerat in die Weibchen übertragen, die dann vermutlich die Eiproduktion und auch die Embryoentwicklung später gestört haben. Karatas (2009) hat *Drosophila* mit Cypermethrin untersucht und hat dabei festgestellt, dass die Eischlupf sich reduziert hat. Das wurde so geklärt, dass der Grund dafür in der unangemessenen Inkorporation des Eigelbs sein kann, wodurch die Embryos versagt haben, ihre Entwicklungsstadien abzuschließen. Deutlicher wirkte sich in diesen Kreuzungsversuchen die Vorbehandlung bei den Weibchen aus. Diese Hypothese wurde festgestellt durch die Bestimmung der Spuren von Fenvalerat in den Eiern der Männchen in der nächsten Generation. Dieser Aspekt wird später ausführlich diskutiert. Nadda et al. (2005) haben beobachtet, dass in ähnlichen Versuchen bezüglich der Kreuzung und der Expositionszeiten die Verpuppung und Erwachsenenschlupf signifikant vermindert waren. Es wurde auch festgestellt, dass die behandelten Fliegen weniger Eier ablegten, wenn beide Geschlechter mit Fenvalerat behandelt worden waren. Zudem wurde in dieser Studie beobachtet, dass die Kreuzung (behandelte Männchen mit unbehandelten Weibchen) ♂T x ♀U Einfluss auf die Eierzahl und die Schlupfrate hatte. Jedoch ist dieser Einfluss nicht signifikant, was auf eine mögliche Übertragung des Toxins von den Männchen in die Weibchen hindeutet (Borkovec, 1979). Es stellt sich heraus, dass das Fenvalerat per Samen in die Weibchen und dann in die Eier übertragen und dass es möglicherweise in die nächste Generation per Ei transportiert wurde.

Durch die Effekte von Fenvalerat waren die Eivolumina nicht stark reduziert. Eivolumina wurden bei 40ppm bei 1:10 und 1:5 beeinflusst. Aber diese Reduzierung durch Fenvalerat war nicht deutlich. Die Eivolumina haben wichtige Rolle bei der Vitalität von Embryo gespielt. Denn die Eigröße ist ein Indikator für gesunde Nachkommen und sie ist abhängig von den Lebensbedingungen der Eltern. Große Eier enthalten normal ausgebildete und kräftige Tiere. In der Literatur hat man keine ausreichenden Forschungsarbeiten darüber gefunden, die die Effekte von den Giften auf Eigröße sowie deren Rolle auf die Fruchtbarkeit untersucht haben. Die behandelten Weibchen (Kohlmotte; *Plutella xylostella*) mit Fenvalerat LD25 und LD50 legten deutlich kleinere Eier als die der Kontrolltiere ab (Fujiwara et al., 2002). Die niedrigere Vitalität der kleineren Eier und die Larven aus den kleineren Eiern führen zu geringeren Reproduktionsraten, obwohl die Fruchtbarkeit der Weibchen hoch ist (Fujiwara et al., 2002). Die großen Tiere legen große Eier ab, aber die kleinen legen folglich kleine Eier ab. In aktuellen Arbeiten konnte festgestellt werden, dass die Fliegen leichter und kleiner durch Fenvalerat waren. Das bedeutet, dass die Fliegen kleine Eier abgelegt haben und die behandelten Fliegen weniger wichtige Substanzen im Ei gespeichert haben. Dieses Ergebnis unterstützt die folgende Hypothese: Das Fenvalerat hat Lipid- und den Proteingehalt im Ei reduziert. Das erfolgte wegen der Störung der Vg, des Hemmens der JH-Sekretion und oder wegen der Störung der Stoffwechselwege.

Von einer Kurzzeitexposition bei einer subletalen Dosis haben sich die Fliegen nur schlecht erholt. Deshalb wurden die erwähnten Untersuchungen nur in der F1 geprüft, um herauszufinden, ob Stresssituationen die Fliegen weiter belasten und wie sich die Belastungen auf die Nachkommen auswirken. Es wurde vermutet, dass Fenvalerat mit den Eiern in die nächsten Generationen übertragen wird. Diese Konzentrationen haben zusammen mit dem Hungerstress die Auswirkung auf die F1 verursacht. Diese Hypothese wurde durch die Messung der verschiedenen Parameter geprüft, die in F0-Generation ermittelt wurden. Diese Vermutungen konnten bestätigt werden und die Fliegen wurden durch das Fenvalerat und den Hungerstress oder die Wechselwirkungen zwischen beiden belastet. Cypermethrin hemmt die Entwicklung der Eier zu Larven in beiden Generationen (F1 und F2), obwohl sie dem Toxin nicht direkt ausgesetzt waren. Die vorhandene Toxizität wurde also offenbar von der F1 zur F2 übertragen (Karatas et al., 2009). In seiner Arbeit hat er nachgewiesen, dass die Toxin in die nächsten Nachkommen übertragen wurde. Der Hungerstress hatte großen Einfluss auf die Fruchtbarkeit und auf die anderen Parameter in der F1, da die Adulten trotz ausreichender Futtermenge nur wenige Nährstoffe aufnehmen konnten. Und wahrscheinlich wurde das Fenvalerat per Stoffwechsel entgiftet, was Energie verbraucht. Deshalb wirkte das Fenvalerat nur wenig auf F1-Generation im Vergleich zur F0-Generation ein. Unter einem Futtermangel oder einem Mangel an wichtigen Substanzen im Futter konkurriert die Larvengruppe um die Nahrung. Diese Konkurrenz wird durch Stressfaktoren, wie Pestizide, verstärkt. Die mit den Pestiziden und dem Hungerstress behandelten Tiere waren weniger lebhaft, wo die Organe und deren Funktion sich veränderten. Min (2006) hat in seiner Arbeit gezeigt, dass eine Diät die Lebensdauer steigert, aber diese Diät die Fruchtbarkeit reduziert. Es wurden Studien zu subletalen Auswirkungen von Beta-cyfluthrin auf die Biologie von *D. melanogaster* (Sepia-Mutante) in der F1-Generation durchgeführt. Die Eltern dieser F1-Generation wurden zuvor in verschiedenen Kreuzungs-Kombinationen subletaler Konzentrationen von Beta-Cyfluthrin in der Nahrung für 24, 48 und 72 Stunden ausgesetzt (Nadda et al., 2005). Auch bei oviparen Tieren scheinen Insektizide die Oogenese zu beeinflussen. Die Effekte von Fenvalerat auf F1-Generation bei *Drosophila* waren durch die Übertragung von Fenvalerat mit den Eiern oder Spermien verursacht. Diese Hypothese wurde durch die Fenvalerat-Bestimmung in Eiern und Männchen geprüft.

Somit kann festgestellt werden, dass der Hungerstress nach Fenvaleratexposition sich auf die Tauflyge, besonders auf deren physiologische Eigenschaften, auswirkt. Reste von Fenvalerat verblieben offenbar in den Elterntieren und somit wurden die Nachkommen belastet. Das Fenvalerat wurde über die Eier in die nächsten Lebensstadien übertragen. Dort verursachte es weitere Schäden. Die Fenvaleratbestimmung in den Eiern und den Männchen beider Generationen hat gezeigt, dass Reste von Fenvalerat in Eiern der F0 (40ppm 0,012 µg) und Männchen in beiden Generationen F0 (40ppm 0,11µg) und F1 (40ppm 0,03µg) vorhanden waren. Die Übertragung von Fenvalerat wurde durch Samen der Männchen in die Weibchen und in die Eier transportiert, was die nächsten Generationen negativ beeinflussen wird. Das Fenvalerat akkumuliert in Fettgeweben. Eier und Spermien bestehen zu einem großen Teil aus Lipiden. Eilipide wurde im Fettkörper gebildet und mit Fenvalerat kontaminierte Lipide

wurden in das Ei übertragen. Ein Kreuzungsversuch wurde durchgeführt, in dem deutlich wurde, dass Fenvalerat bei der Begattung übertragen wird. Jedoch war die Konzentration niedrig. Sánchez et al. (1999) hat Wasserflöhe (*Daphnia magna*) mit verschiedenen Konzentrationen von Diazinon (Organophosphat) behandelt und getestet, ob das Toxin in die nächste Generation F1 übertragen wurde. Seine Ergebnisse zeigten, dass die F1-Generation von Daphnien zusätzlich durch das Pestizid belastet wurden und daher kleiner als die Kontrolltiere blieben. Ähnliche Ergebnisse haben die vorliegenden Versuche für die F1-Generation bei *Drosophila* gezeigt. Brausch et al. (2010) haben nach der Exposition von *Daphnia magna* mit Cyfluthrin und mit einer Mixtur von Insektiziden in zwei Generationen (F0 und F1) beobachtet, dass die Tiere in der F1 stärker beeinflusst wurden als in der F0. Diese Tiere waren hier zusätzlich zur direkten Behandlung auch den Konzentrationen der Cyfluthrinreste der Eltern ausgesetzt.

Geschlechtsverhältnis(♂:♀) in beiden Generationen. Wahrscheinlich haben die Veränderungen auf der Ebene der Zellteilung stattgefunden, wo das Verhältnis der Männchen im Vergleich zu den Weibchen gesunken ist. Nach einer Behandlung mit Chlorpyrifos reduzierte sich das Verhältnis der Geschlechter bei (Schlupfwespen; *Trichogramma brassicae*) ebenfalls. Die Abnahme des Geschlechtsverhältnisses wurde als eine Folge der Verringerung der befruchteten Eier durch Störung der Erregungsleitung (Delpuech et al., 2003). Es ist wahrscheinlich, dass Fenvalerat die Mortalität von Männchen mehr als Weibchen erhöht hat. Das bedeutet, dass die Männchen empfindlicher gegenüber dem Fenvalerat als Weibchen waren. Das Fenvalerat und Cypermethrin haben auch (♂:♀) von *Drosophila* reduziert (Batiste-Alentorn et al., 1987).

4.3 Physiologische Grundlagen der morphologischen Effekte

Die beobachteten Wirkungen von Fenvalerat und Hungerstress lassen sich auch physiologisch und biochemisch nachweisen. Tatsächlich korrelierten diese Veränderungen mit dem Proteingehalt und Lipiden (bei Eiern, Puppen und Adulten), Trehalose und Glykogen (bei Puppen und Adulten), weil diese Materialien an der Fortpflanzung, Entwicklung und anderen morphologischen und physiologischen Eigenschaften beteiligt sind.

Protein- und Lipidgehalt: Es wurden durch hohe Fenvalerat-Konzentrationen geringere Lipid- und Proteinmengen als bei den Kontrolltieren gespeichert. In dieser Studie waren sowohl die Eizahl als auch die Eivolumina durch Fenvalerat reduziert. Unter diesen suboptimalen Bedingungen entwickelten und reproduzierten sich die Fliegen nur sehr schlecht. Die Ergebnisse bezüglich der Ovargröße und des Gewichts und mit verringerten Protein- und Lipidgehalten übereinstimmen. Die verringerten Mengen von Protein und Lipidgehalt in den Eiern werden bei *Drosophila* wahrscheinlich durch Effekte von Fenvalerat auf die Vg- Synthese im Fettkörper und Ovar, den Vg-Transport in der Hämolymphe und die Aufnahme in die Oozyten. Sowohl 20-Hydroxyecdysone als auch Juvenilhormone sind an der hormonalen Steuerung der Vitellogenese in *D. melanogaster* beteiligt (Postlethwait, 1980). Die Bildung dieser Hormone unterliegt einer neuroendokrinen Regulation, die durch Fenvalerat sehr wahrscheinlich gestört wird.

Durch die Fenvalerat-Behandlung akkumulieren die Fliegen wenig Reservematerial, was sich auch auf die Nachkommen auswirkt. Es wurde beobachtet, dass der Proteingehalt auch eine Kompensation insektizider Belastung durch physiologische Anpassung bedeuten kann (Ribeiro et al., 2001). Stress führt zu erhöhtem Energieverbrauch. Dieser Energiebedarf kann zu einer Stimulation des Proteinkatabolismus führen. Die Abnahme des Proteingehalts könnte auch auf den Mechanismus der Bildung von Lipoprotein zurückzuführen sein, das der Reparatur beschädigter Zellen und Gewebe der Organe dient (Sancho et al., 1998). Die Protein-Reduktion im Gewebe könnte auch ein physiologischer Mechanismus zur Beibehaltung des Gehalts an freien Aminosäuren in der Hämolymphe zur Kompensation osmoregulatorischer Probleme durch den Verlust von Ionen und anderen wichtigen Molekülen wegen der Insektizidbelastung sein (Srivinas, 1986). Hier ist festgestellt worden, dass Fenvalerat als Stressfaktor die Energie-Quellen in *Drosophila* erschöpft hat. Deshalb haben die Fliegen die Protein u.a. als Energieressource verwendet (Tripathi et al., 2004).

Es wurde beobachtet, dass der Proteingehalt durch Fenvalerat-Behandlung in allen Stadien verringert war, weil das Fenvalerat sehr stark auf den Stoffwechsel wirkt. Eine Hemmung der RNA-Synthese wirkt sich auch auf Protein- und Aminosäureebene aus. Verringerte DNA-Gehalte führen zu einer geringeren RNA-Synthese und damit zu einer Verringerung des Gehalts der von ihr kodierten Proteine. Die Abnahme des Proteinspiegels (Homogenate (5mg/ml, w/v) kann durch die Hemmung der RNA-Synthese in der Transkriptionsebene verursacht werden (Tripathi et al., 2004). Das würde auch eine Klärung für die Erschöpfung des Proteingehalts in *Drosophila* durch die Stressfaktoren darstellen. Innerhalb des 3.Larvenstadiums bildet *Drosophila* die Imaginalscheiben unter der Kontrolle von Ecdyson-Hormon; aber durch das Fenvalerat wurde wahrscheinlich Ecdyson-Hormonbildung beeinträchtigt. Dieses Hormon stimuliert als Steroid die DNA, um RNA freizusetzen. Wenn es weniger Ecdyson-Hormon ist, ergibt weniger RNA und Proteine bei den Puppen und den Adulten, oder wirkt Fenvalerat gleich auf RNA-Polymerase. Die Effekte von Ecdyson auf RNA bei *Drosophila* wurden von Farkas (1995) analysiert.

Es ist wahrscheinlich, dass sich Fenvalerat auf die Speicherung von Protein und Fett auswirkt. Die Kontrolltiere waren am größten, hatten mehr Eier als die behandelten Ansätze abgelegt, waren schwerer und hatten einen höheren Protein- und Fettgehalt.

Das Fenvalerat reduzierte auch den Lipidgehalt in allen Entwicklungsstadien. Der Lipidgehalt wurde nur in Weibchen bestimmt, weil er für Reproduktion und Nachkommen am wichtigsten sind. Wang (2005) hat bewiesen, dass die Weibchen schwerer waren und sie mehr lösliche Fette und Proteine als Männchen enthielten. Protein, Fettgehalt und Körpergewicht waren bei Weibchen signifikant höher als bei Männchen. Sie haben insgesamt bei *Drosophila* Lipide 6% des Gesamtgewichts ausgemacht.

In einer Studie Von Sak (2006) über der Auswirkung von Cypermethrin auf *P. Turionellae* wurde Folgendes festgestellt: Lipid- und Proteingehalt waren bei behandelten Tieren reduziert. Der Lipidwert lag unter der Behandlung mit Cypermethrin und war in der Kontrollgruppe bei den Adulten am niedrigsten, bei den Larven dagegen am höchsten. In einer weiteren Studie wurden Raubwanzen (*Triatoma infestans*) mit Pyrethroiden behandelt, was eine Hemmung der Lipidsynthese zur Folge hatte (Juarez, 1995). Es ist möglich, dass Fenvalerat die Enzyme Lipase bei *Drosophila* stimuliert, um mehr Fettsäuren freizusetzen.

Die anderen Möglichkeiten sind, dass die Lipid-Synthese durch Fenvalerat gehemmt wurde. Im normalen Fall wurden die Tiere durch Stressfaktoren belastet und dafür brauchen sie mehr Energiequellen, wenn sie die erste Quelle (Kohlenhydrate) verbraucht, verwenden sie die nächste Ressourcen (Lipid). Deshalb reduzieren sie die Menge von Lipidgehalt. Daher hat Candy (1985) vermutet, dass ein großer Teil der Kohlenhydrate während der Larvenentwicklung verdaut und zu Lipiden umgewandelt wird. Der größte Verbrauch von Lipiden besteht in den Adulten. Daher wird Larvallipid für die Metamorphose und auch für das Adultstadium gespeichert. Gespeicherte Lipide sind in der Regel die Hauptquelle für Energie in den Stadien der Insekten, in denen keine Nahrungsaufnahme erfolgt (Beenackers et al., 1981). Die Erschöpfung von Kohlenhydrat- und Fettreserven nach Lindan-Behandlung von Schaben (*Periplaneta americana*) wurden bei erwachsenen männlichen Insekten festgestellt (Orr et al., 1982). Es stellt sich heraus, dass AKH den Lipidstoffwechsel stimuliert. Das zeigt, dass Insektizide sich möglicherweise auf das adipokinetische Hormon auswirken, das den Fettstoffwechsel reguliert. In seiner Arbeit hat Saleem (1986) gezeigt, dass der Lipidgehalt nach der Behandlung von (Mehlkäfer; *Tribolium castaneum*) mit Cypermethrin reduziert war. Es ist wahrscheinlich, dass dieses Neurohormon AKH offensichtlich durch das Insektizid Fenvalerat bei *Drosophila* aus den Corpora cardiaca (CC) vermehrt freigesetzt wird. Man kann hier vermuten, dass die Pyrethroide auf CC ausgewirkt hat, um AKH freizusetzen. Candy (2002) hat untersucht und festgestellt: Die Exposition von (Heuschrecke; *Schistocerca gregaria*) auf Deltamethrin bewirkt eine Freisetzung von AKH aus dem CC und erhöht seine Konzentration in der Hämolymphe. Die Ergebnisse dieser Studien unterstützen unsere Ergebnisse, die besagen, dass die Pyrethroide (Fenvalerat) den Lipidgehalt reduziert.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass die Puppen nach der Behandlung mit Fenvalerat und Hungerstress weniger Reservematerial (Protein- und Lipidgehalt) in ihrem Gewebe gespeichert hatten. Während der Metamorphose erfordert die Bildung von adulten Organen Lipide, Proteine und Kohlenhydrate (Glykogen) in ausreichenden Mengen. Der Mangel an diesen Materialien verursachte Probleme bei der Metamorphose oder beim Adultschlupf. In den frischgeschlüpften Adulten waren lebenswichtige Stoffe (Protein- und Lipidgehalt) durch Toxin und Hungerstress reduziert. Dieser Mangel beeinflusste morphologische Parameter und Fruchtbarkeit. Diese Ergebnisse wurden in beiden Generationen (F0 und F1) festgestellt. In dieser Untersuchung konnte der Nachweis erbracht werden, dass die Taufliege durch kurze Fenvalerat geschädigt wurde. Zudem wurde festgestellt, dass Stressfaktoren, wie Hunger, die Belastung durch Fenvalerat noch wesentlich verstärkten, weil ausreichende Nahrung sehr wichtig für den Organismus ist. Es ist wahrscheinlich, dass Pyrethroide die gleichen Effekte bei verschiedenen Arthropodenarten haben.

Trehalose- und Glykogengehalt: Durch die Fenvaleratbehandlung und die Interaktion zwischen Hungerstress und Toxin in beiden Generationen (F0 und F1) stieg der Trehalosegehalt in Adulten und Puppen an, wohingegen er unter Hungerstress allein absank. Es wurde beobachtet, dass Reserven von Glykogen, Trehalose, Kohlenhydrate und Glukose sich beim Hunger rasch erschöpften, was darauf hindeutet, dass diese als Energiequelle

verwendet worden waren (Alaoui, 1994). Es ist wahrscheinlich, dass Fenvalerat auf den Stoffwechsel des Trehaloses bei *Drosophila* eingewirkt hat. Das erfolgte durch den Abbau von Glykogen zu Trehalose und die Stimulation der hyperglykämischen Hormonen, die das Glykogen-Abbaun stimulieren. Daher zeigen die Ergebnisse, dass Glykogen sinkt und Trehalose sich erhöht. Hyperglykämischen Hormone/AKH sind ein Stresshormon, das in unseren Versuchen bei hohem Spiegel auch einen hohen Trehalosegehalt zur Folge hatte. Die Ablation der AKH-produzierenden Zellen reduziert signifikant den Trehalosespiegel auch bei gefütterten Insekten. Folglich wurde vorgeschlagen, dass die Rolle des Hyperglykämischen Hormons nicht nur auf die Zunahme der Trehalose in der Hämolymphe bei hohem Energiebedarf beschränkt ist, sondern auch die Aufrechterhaltung einer minimalen Konzentration von Trehalose in der Hämolymphe umfasst, wenn der Energiebedarf gering ist (Guillaume et al., 2005).

Arasta et al. (1996) hat vorgeschlagen, dass unter Stressbedingungen die Kohlenhydratreserven erschöpft werden, damit den Energiebedarf zu decken. Die direkte Nutzung von Glykogen zur Energieerzeugung und das Pyrethroid verursachten erhöhten Glykogenbedarf bei Hypoxie und dadurch wird der Glykogengehalt erschöpft. Bei Insekten spielen Phosphorylase und Trehalase eine wichtige Rolle bei der Regulation der Glykolyse, da diese Enzyme den Abbau von Kohlenhydraten bewirken (Becker, 1996). Das hyperglykämische Hormon aktiviert die Fettkörper-Phosphorylase, um mehr Kohlenhydrate abzubauen. Diese Hypothese wurde bis heute nicht geprüft, ob die synthetischen Pyrethroide einen hinderten oder stimulierenden Effekt auf diese Hormone verursachen. Es wird hierfür vermutet, dass Fenvalerat die Phosphorylase stimuliert.

Die anderen Insektizide, wie Organophosphat, haben die Phosphorylase-Aktivität erhöht. Die Exposition letaler und subletaler Dosen von Fenitrothion und Ethion hat den Anteil an Trehalose und Glucose in der Hämolymphe von Seidenspinner erhöht. Dafür nahm er im Fettkörper ab (siehe: Thompson, 2003). Daraus kann geschlossen werden, dass organische Insektizide eine Erhöhung der Aktivität der Glykogen-Phosphorylase und der Trehalase über die Freisetzung der Hyperglykämiefaktoren des CC provozieren (Nath, 2003, 2000). Das bedeutet, dass die Fliegen durch die Stressfaktoren viele Energie verbrauchen, um die wichtigsten physiologischen Funktionen weiterzugehen. Deshalb aktiviert der Stoffwechsel die Kohlenhydrate im Fettkörper und dadurch die Verwendung in die anderen Organen.

Es wurde festgestellt, dass sich der Glykogengehalt unter allen beobachteten Stressfaktoren bei Adulten und Puppen reduzierte. Das deutet darauf hin, dass Fenvalerat wahrscheinlich die MNC (median neurosecretory cells) stimuliert, um die *Drosophila* insulin-like peptides (DILPs) freizusetzen.

(*Drosophila* Insulin-like Peptide) DILPS spielen wichtige hormonelle Rolle nicht nur in der Regulation von Kohlenhydrate- Stoffwechsel und Lipide, sondern auch in der Reproduktion, dem Wachstum, der Stressresistenz und der Alterung in *Drosophila* (Birse et al., 2011).

Beim Abbau von Glykogen entsteht Trehalose unter dem Einfluss hoher Konzentrationen von hyperglykämischen Hormon, was die Ursache der Steigerung von Trehalose und der Reduzierung des Glykogengehalts darstellt. Es ist bekannt, dass das Corpus Cardiacum(CC) eine wichtige Quelle der Neurohormone ist, die den Kohlenhydrat- und den Fettstoffwechsel

bei Insekten reguliert (Steele, 1980). Es ist daher möglich, dass Fenvalerat den CC (Corpora Cardiaca) beeinflusst hat, um größere Mengen des hyperglykämischen Hormons /AKH bei *Drosophila* freizusetzen. In einer Studie wurde nachgewiesen, dass das Pyrethroid Bioresmethrin die AKH von CC bei Heuschrecken (*Locusta migratoria*) und Wanzen (*Rhodnius prolixus*) stimuliert (Singh et al., 1982). Dieses Ergebnis hat gezeigt, dass die anderen Pyrethroide-Verbindungen die CC stimulieren, um AKH freizusetzen und um mehr Kohlenhydrate abzubauen. Zudem ist es möglich, dass dabei mehr Phosphorylase und Trehalase produziert werden. Mehrere Forscher haben beobachtet, dass der CC durch Insektizide stimuliert wurde. Diese Insektizide setzen ihrerseits hyperglykämische Hormon frei, das den Glykogen-Metabolismus in Insekten reguliert (Singh et al., 1982).

Es ist bekannt, dass die meisten Insektizide auf das Neurosystem einwirken, was zeigt, dass Fenvalerat als Neurotoxin auf die Neurohämale wie CC beeinflusst. Diese neurohormonalen Organe wurden wahrscheinlicher als Ort der Wirkung von Insektiziden bei der Übermittlung der Auswirkungen auf metabolische Reserven identifiziert (Samaranayaka, 1978).

In der vorliegenden Studie waren die angelagerten Reserven der Adulten, Puppen und Eier erschöpft. Das Fenvalerat wirkte sich auf zwei unterschiedliche Wege aus; zum einen direkt auf die physiologischen Funktionen, zum anderen indirekt als Repellent. Auf beiden Wegen wurden die Tiere belastet und deren Stoffwechselfunktionen gestört.

Die Futterreduzierung und die Konzentration des Pestizids beeinflussten den Trehalose- und den Glykogengehalt bei Puppen stärker als bei Adulten, da das 3. Larvenstadium unter Bedingungen des Hungerstresses mit dem Gift behandelt wurde. Das 3. Larvenstadium dauerte zwei Tage, demzufolge standen die Puppen lange unter Hungerstress und sie waren einer großen Menge Gift ausgesetzt. Es ist daher klar, dass die subletalen Dosen von Insektiziden die Larven stimulieren, mehr Nahrung zu konsumieren. Die hohen Dosen könnten als Repellent die Seidenraupen dazu veranlassen, weniger Nahrung zu verbrauchen (Radhakrishna, 1992). Es wurde festgestellt, dass der Futtermangel in der F1-Generation den Adulten mehr als den Puppen schadete, da die Adulten große Mengen von Material zur Reproduktion und Fortpflanzung benötigen. Zudem sind die Bewegung und die Aktivität der Adulten grundsätzlich intensiver. Die Puppen bewegen sich nicht und benutzen die genannten Stoffe nur für die Sicherung der physiologischen Funktionen, während die Adulten, neben den physiologischen Prozessen und der Reproduktion, fressen und nach Futter suchen müssen.

Herzfrequenz: Hier wurde deutlich, dass sich die Herzfrequenz nach der Applikation von Fenvalerat und Hungerstress beschleunigten. Diese Erhöhung war assoziiert mit hohen Trehalosewerten im ganzen Körper, mit steigender Konzentration des Fenvalerat und niedrigem Futterangebot in beiden Generationen F0 und F1. Das lässt sich vermuten, dass AKH in der Hämolymphe freigesetzt wurde. Es wurde beobachtet, dass AKH-Peptid Herzbeschleunigung in einer Reihe von Insekten und in der Präpuppe der *Drosophila* verursachen (Gäde et al., 1997). Hätte die Präpuppe von *Drosophila* weniger AKH gehabt, dann wäre der Herzfrequenz normal gewesen, da die Konzentration von AKH bedeutend über dem Normalwert liegt, um die Glykogenphosphorylase zu aktivieren. Der Zustand der Präpuppe könnte eine Entwicklungsphase sein, die relativ unempfindlich gegenüber dem Hormon ist (Noyes et al., 1995). Oder ist aber die Verdünnung des Peptids in der

Hämolymphe nicht physiologischer Natur. Die Corpora cardiaca befinden sich neben der Aorta; möglicherweise entstehen durch die Freisetzung aus diesen Zellen lokal erhöhte Konzentration des Peptids an Schrittmacher-Zellen im Herzen. Schließlich kann es durch den erhöhten AKH-Gehalt zu einer Erhöhung der Herzfrequenz kommen (Noyes et al., 1995). Nach den sublethalen Behandlungen stimuliert wahrscheinlich das Toxin die Hyperaktivität der Insekten, die die Herzfrequenz durch Freisetzung von AKH beschleunigen. Die meisten Insektizide verursachen Krampf und durch diese Auswirkung steigt möglicherweise die Temperatur der Fliege und diese Temperatur beschleunigt die Herzschläge. Es wurde auch berichtet, dass Proctolin bei den Schaben (*P. americana*) und Neuropeptide (CAPs; Cardioacceleratory) (bei *Manduca sexta*) die Herzfrequenz beschleunigen. Es wird angenommen, dass diese Peptide das Herz unmittelbar nach dem Schlupf der Adulten stimulieren, was die Entfaltung der Flügel erleichtert. Während des Fliegens sind die Tiere aktiver, damit ein hinreichend schneller Fluss der Hämolymphe zwischen Abdomen und Thorax zur Thermoregulation erreicht werden kann (Gade et al., 1997). Es ist möglich, dass das Fenvalerat die Neuropeptide CAPs bei *Drosophila* erhöht, dann beschleunigten sich die Herzfrequenz.

Eine Korrelation zwischen AKH, dem Kohlenhydratgehalt und den Herzfrequenz ist wahrscheinlich. Es ist hier zu vermuten, dass Fenvalerat die Corpora cardiaca aktiviert, um AKH freizusetzen. Infolgedessen beschleunigten sich die Herzschläge. Es wurde oben bewiesen, dass Fenvalerat einen Effekt auf CC hat. Deshalb verlangsamten sich die Herzfrequenz bei den Insekten, die die Köpfe dikapitiert wurden: Die Herzen der dekapitierten Insekten (*Periplaneta americana*) zeigten eine allmähliche Abnahme der Pulsrate und sie waren weniger empfindlich auf die Wirkungen der Insektiziden (Lindan und DDT) (Orser et al., 1951).

4.4 Biochemische Effekte

Um die Veränderungen in der Entwicklung und im Wachstum unter Fenvalerat-Stress zu erklären und die Ursachen der Gewichtsabnahme der behandelten Tiere zu untersuchen, wurden RNA, DNA und deren Verhältnis zum Gewicht und Proteingehalt geprüft.

Der RNA- und der DNA-Gehalt waren nach der Behandlung mit Fenvalerat und bei Hungerstress reduziert. Die Nukleinsäuren sind von enormer Bedeutung in den Zellen und die Änderung ihres Gehaltes wirkt sich vermutlich auf die anderen physiologischen Aufgaben der Zellen, wie Energie- und Baustoffwechsel, Wachstumsrate oder Reproduktion der Organismen aus.

Im Allgemein haben viele Studien gezeigt, dass der RNA-Gehalt als Indikator der Zellgröße dient, während der DNA-Gehalt die Anzahl der Zellen bestimmt. Deshalb wurden diese beiden Werte für die Bestimmung der Wachstumsrate aller Organismen verwendet. Bei *Drosophila* war die Beziehung zwischen dem RNA-Gehalt und der Wachstumsrate ebenfalls positiv (Watts et al., 2006). Beide Nukleinsäuren wurden in verschiedenen Organismen durch Insektizide beeinflusst: Bei Fischen, die mit Dimethoate behandelten worden waren, war der RNA- und der DNA-Gehalt reduziert (Tripathi et al., 2003; Dilip et al., 2011). Mckee (1986) hat festgestellt, dass sich die RNA, die DNA und die Verhältnisse von Protein, RNA und DNA und Fruchtbarkeit der Wasserflöhe (*D. magna*) nach Behandlung mit Fenvalerat

verringerten. Es ist möglich, dass Fenvalerat die Enzyme RNA- und DNA-Polymerase gestört hat. Das führt zur Verringerung der Synthese beider Nukleinsäuren. Diese Hypothese stimmt mit der von Tripathi et al. (2003) überein. Bei *D. melanogaster* stimulierte Chloropyrifos DNA-Beschädigungen (Gupta et al., 2010). Insektizide einschließlich der Pyrethroide, können sich auf Nukleinsäuren in den Organismen, wie *Drosophila*, auf verschiedene Weise auswirken. Solche Mechanismen sind: die Bildung von Addukten der DNA, die Schädigung der die DNA-ablesenden Enzyme (Polymerasen), Effekte an Chromosomen sowie andere genetische Auswirkungen (Reyes et al., 2002). Darunter befindet sich auch „oxidativer Stress: der Schäden an Zellstrukturen bewirken kann (Saikat, 2010). Ein anderer Typ von DNA-Schäden ist der Strangbruch, der von mehreren Xenobiotika durch eine Hydrolyse von Phosphodiester-Bindungen im DNA-Molekül verursacht wird (Daniel et al., 1985). Der Effekt von Fenvalerat auf DNA und RNA bei *Drosophila* führte zu geringeren Proteingehalten. Diese Auswirkungen verursachen Schädigungen in der Zellstruktur und in der gesamten physiologischen Funktion. Der RNA-Gehalt korreliert mit dem DNA-Gehalt, während RNA von DNA stammt und am Schluss kodiert RNA die Proteinsynthese.

Daraus kann geschlussfolgert werden, dass Fenvalerat offensichtlich bei *Drosophila* einen negativen Effekt hat, indem kleinere Zellen gebildet wurden. Jedoch war dieser Effekt geringer, als erwartet wurde. *Drosophila* hat wahrscheinlich physiologische Kompensationsmechanismen verwendet, um den Stresseinflüssen zu widerstehen. Bei den behandelten Fliegen wurde anhand der morphologischen, physiologischen und biochemischen Indikatoren festgestellt, dass sie ihren Energieverbrauch für die Reproduktion reduziert haben, um die Ressourcen für Anabolismus-Vorgänge zu verwenden. Die Zellen blieben durch das Fenvalerat klein. Aufgrund ihrer geringeren Körpermaße wird weniger Nahrung benötigt; die kleineren Zellen passen sich mit ihrem Stoffwechsel an. Deshalb waren der Nukleinsäuregehalt von behandelten *Drosophila* weniger reduziert. Durch Erhöhung der Transkription von RNA bewirkten die Fliegen möglicherweise eine Kompensation des Proteingehaltes. Derartige Kompensationsmechanismen wurden in anderen Organismen festgestellt. Manche Organismen reagiert sich auf Stress bei der Produktion von Proteinhitzechock. In Reaktion auf verschiedene Formen von Stress aktivieren die Zellen eine Hitze-Schock-Antwort, in der ein Gruppe von Hitzeschockproteine (Hsps) induziert, daß sie wichtige Rollen in zelluläre Reparatur und schützende Mechanismen spielen (Brown, 2007).

Heuschrecken (*Locusta migratoria*) kompensieren proteinarmes Futter durch die Reduzierung der Zeit zwischen den Mahlzeiten und dadurch wird die Darmentleerung sich verlangsamten (siehe Abisgold et al., 1987). Solche Effekte kommen bei *Drosophila* in Frage als mögliche Kompensationsmechanismen gegen die Stressreaktion, welche durch die Wirkung von Fenvalerat auf RNA und DNA ausgeht.

RNA/ DNA-Verhältnis: In dieser Studie war das RNA/DNA-Verhältnis reduziert, was die Annahme unterstützt, dass beide, RNA und DNA durch das Fenvalerat und den Hungerstress beeinflusst werden. Die γ -Cyhalothrin-Behandlung bei Fischen verursachte einen starken Rückgang des Verhältnisses (Kumar et al., 2008). Der Indikator RNA/DNA wurde ebenfalls

häufig verwendet, um die ökophysiologische Aktivität (das Wachstum, die Fortpflanzung, die Sekretion, der Ernährungszustand usw.) von Meeresorganismen zu bestimmen (Lucas et al., 1985). Das Wachstum und der Ernährungszustand wurden in Korrelation mit Fenvalerat geprüft. Die Reduzierung des Verhältnisses von RNA/DNA bedeutet, dass sich die beiden Nucleinsäuren und damit auch die entsprechenden Proteinprodukte verringert haben. Dies wiederum hemmt das Wachstum und damit auch die Größe der Zellen. Die Fliegen, die sich gut ernähren konnten, waren in gutem Zustand. Aber die mit Stressfaktoren belasteten Fliegen (Hungerstress und Fenvalerat), waren im schlechten Zustand. Am Ende hat die RNA/DNA abgenommen. Man kann also daraus schließen, dass Organismen mit gutem Gesundheitszustand ein höheres RNA/DNA-Verhältnis haben als jene in einem schlechten Zustand (Bulow, 1987; Robinson et al., 1988). Das Verhältnis RNA/DNA bei *Drosophila* hat in diesem Versuch gezeigt, dass die Effekte von Fenvalerat auf die Zellaktivität, wie die Proteinproduktion, den Stoffwechsel, die Hormonsekretion und den Anabolismus usw, gewirkt haben. Dieser Index ist ein Maß für die synthetische Kapazität der Zelle und korreliert üblicherweise mit dem Ernährungszustand (Buckley et al., 1999). Das Fenvalerat beeinflusst als Repellent (zusätzlich zu den Effekten auf Stoffwechsel und Zellenphysiologie). Diese Effekte erklären den schlechten Ernährungszustand von *Drosophila*. In den entsprechenden Versuchen. Zudem verstärkt das kalorienarme Futter diese Effekte, sodass die Menge von RNA/DNA nach der Behandlung jeweils einzeln mit Fenvalerat und Hungerstress in beiden Generationen reduziert wurde. Durch das unsignifikant reduzierte Verhältnis von RNA und Proteinen deutet auf eine Verminderung der Wachstumsrate. Folglich müssen nur kleine Zellen entstanden sein. Vermutlich kam es zusätzlich zu einem niedrigeren Proteingehalt durch den geringeren RNA-Gehalt zu einem Anstieg des Proteinbedarfs unter Stressbedingungen, weil Kohlenhydrate und Lipide bereits erschöpft waren. Barron und Adelman (1984) berichten, dass der Nucleinsäure- und der Proteingehalt bei dem amerikanischen Elritze (*Pimephales promales*) nach der Behandlung mit Giftstoffen signifikant mit reduziertem Wachstum korrelierten. Das kann als Klärung für die Effekte auf die Wachstumsrate und die morphologischen Parameter in Frage kommt. Die Stressfaktoren haben die RNA/Protein entgegengewirkt. Das kann darauf hindeuten, dass die Fliegen in einem schlechten physiologischen Zustand waren.

RNA, Protein, DNA /Gewichts-Verhältnis: Die Ergebnisse haben gezeigt, dass sich die Verhältnisse von RNA und Gewicht, DNA und Gewicht sowie Protein und Gewicht bei *Drosophila* mit zunehmenden Stressfaktoren (Fenvalerat und Hungerstress) erhöhten. Dies beweist, dass der Gewichtsverlust stärker war als die Abnahme der biochemischen Werte und dass diese Gewichtsabnahme durch die geringe Anzahl und Größe der Zellen verursacht wurde. Deshalb lag das gespeicherte Material unter dem Normalwert, so dass die Insekten bei der Befruchtung sowie in deren Wachstum weniger effizient waren. Die Verhältnisse von DNA/ (Trockengewicht), RNA/Trockengewicht, Protein/Trockengewicht, RNA/DNA und DNA/Protein wurden als biochemische Indikatoren von Änderungen in der Entwicklung bestimmt (Srinivasan et al., 1979). Die Stressfaktoren haben die Fliegen beeinflusst. Folglich wurde der Verbrauch von Lipiden, Proteinen und Kohlenhydrateen erhöht, was zu einem abnehmenden Gewichtes führt. Es ist auch wahrscheinlich, dass Fenvalerat die Enzyme (Lipase, Glykogen-Phosphorylase oder Proteolyse) bei *Drosophila* stimuliert, um die

wichtigen Substanzen des Lebens abzubauen und in dem Anabolismus zu verwenden. Auf zellulärer Ebene wurde vielleicht nicht die Nukleinsäure, wie andere Materialien (Lipide, Protein usw.) reduziert. Deshalb ist das Verhältnis RNA, DNA und Protein /Gewicht zurückgegangen. Allerdings wurden in verschiedenen Geweben nach einer α -Cyhalothrin-Behandlung zwei Trends festgestellt: Entweder wurde Proteolyse induziert oder aber die Ebene der Transkription reduziert (Kumar et al., 2008).

Die Konzentration der Nukleinsäure verändert sich innerhalb des Lebenszyklus und es entstehen Änderungen im morphologischen Parameter wie das Gewicht. Der Grund dafür ist, dass jedes Stadium eigene Anforderungen hat, die von Zellen und Geweben verbraucht wurden, um den Organismus weiter zu entwickeln. Gleichzeitig sanken die Wachstumsraten, wobei die Abnahme der DNA- und RNA-Konzentrationen vermutlich einen erhöhten Anteil an azellulären Gewebe (z. B. Lipide, Chitin) widerspiegelt (Gorokhova et al., 2002). In dieser Arbeit nimmt das Gewicht stärker als die Nukleinsäure ab, so dass das Verhältnis von DNA und RNA zum Gewicht gestiegen ist. Dies unterstützt die Hypothese von physiologischen Kompensationsmechanismen der Effekte von Fenvalerat auf die Nukleinsäuren, sodass sie nicht stark abgenommen haben. Zusammenfassend kann bestätigt werden, dass sich die Stressfaktoren, besonders das Fenvalerat, auf die biochemischen Werte auswirken.

4.5 Untersuchung isogener Linien

Bei den Tieren assoziieren viele Beispiele, dass Umwelteinflüsse epigenetische Veränderungen verursachen: Epigenetische Einflüsse durch Ernährungsfaktoren (Andersen et al. 2008), umweltbelastende Substanzen oder Pestizide (Bertram et al., 2008) wurden beobachtet. Die Ergebnisse dieser Arbeit haben gezeigt, dass die Fliegen aller Isogen-Linien und des Wildtyps in beiden Generationen geschädigt wurden. In der F0-Generation wirkte Fenvalerat direkt auf die Tiere. Die Mortalität lag bei allen Isogenlinien und beim dem Wildtyp in der F0 bei einer Konzentration von 40ppm am höchsten. Aber sie war niedrig bei den Tieren der Kontrollgruppe. Die Mortalität war am höchsten bei Stämmen N5 Wildtyp und weiße Augen-Isogene und am niedrigsten bei N5. Bei den anderen Parametern (Körperlänge, Flügellänge, Eierzahl und Eigröße) hatten die Stämme N5 und die weiße Augen-Isogene die niedrigsten Werte. Das kann darauf hindeuten, dass die Fliegen in beiden Stämmen durch Fenvalerat zwar nicht getötet wurden, jedoch waren sie geschwächt. Daraus kann man schließen, dass diese Stämme das Fenvalerat mehr als die anderen Stämme vertragen. Bei N5 wildtyp und N6 wurden schwache Tiere getötet und es lebten die Tiere mit wenigen Mengen an Fenvalerat weiter. Wenn sich das Fenvalerat auf einen Stamm mehr auswirkt als auf die anderen Stämme, dann hängt von der Empfindlichkeit dieses Stammes gegenüber dem Fenvalerat ab. Jedoch waren diese Effekte nur eine direkte Reaktion auf die Stressfaktoren.

Die F1-Generation zeigte Belastungsprobleme, jedoch waren sie weniger stark ausgeprägt als in der F0: Tiere mit normalem Futterangebot sahen deutlich besser aus, als die Tiere mit einem anderen Futterangebot. Das Fenvalerat hatte folglich keine epigenetischen oder genotoxischen Auswirkungen auf *Drosophila* gehabt. Außerdem erholten sich die Tiere der F1-Generation besser als die Tiere der F0-Generation.

Nach zwei oder drei Generationen könnten sich die Nachkommen der Fenvalerat-belasteten liegen also vollständig erholen und völlig normal entwickeln. Andererseits wurde festgestellt, dass verschiedene Pestizide epigenetische Effekte haben können. Diese Effekte steigern sich bei den nächsten Generationen. Sie haben die Auswirkungen als geerbte Krankheiten mitbekommen. Epigenetische Vererbung von Ovar-Erkrankungen wurde bei einem breiten Spektrum von Tierarten durch Umwelt-Bedingungen induziert (Nilsson et al., 2012). Bei den behandelten Ratten mit (Permethrin und DEET: N,N-Diethyl-meta-toluamide) haben Krankheiten in den F3-Generationen in Ovarien und Hoden durch die epigenetischen Auswirkungen zugenommen (Manikkam et al., 2012). In den aktuellen Arbeiten wurden keine epigenetischen Effekte durch Hungerstress oder Fenvalerat festgestellt.

Die Mehrheit der Umweltfaktoren, wie die Ernährung, die Giftstoffen oder Endokrine-Disruptoren fördern nicht die genetischen Mutationen oder die Veränderungen in der DNA-Sequenz. Allerdings haben diese Faktoren die Fähigkeit, die Epigenetik zu verändern. (Skinner et al., 2010). In anderen Organismen haben Fenvalerat und andere Pyrethroide die genetischen Effekte beeinflusst. Allerdings wurde das bei *Drosophila* in unseren Versuchen nicht bemerkt, weil die sublethalen Dosen von Fenvalerat nicht gereicht haben, diese Auswirkungen zu verursachen. Cytogenetische Effekte von Fenvalerat wurden bei Mäusen in Vivo untersucht. Es hat sich herausgestellt, dass die Chromosomen-Aberration signifikant gestiegen war (Pati et al., 1989). Die Häufigkeit der Mikrokernzellen war größer bei hohen Dosen von Fenvalerat. Mikronuklei sind die Ergebnisse der azentrischen Chromosomenfragmente, sowie der Störung der normalen mitotischen Spindel (Schmid, 1982). In dieser Studie wurden subletale Dosen angewendet. Wahrscheinlich werden Reste von Fenvalerat in die nächste Generation übertragen. Denn Spuren von Fenvalerat waren in Eiern nachweisbar. Daher kann man annehmen, dass diese geringen Mengen an Toxin physiologische Störungen, aber keine Epigenetik oder Mutationen verursacht haben. Zudem ist anzunehmen, dass die Pestizidreste bei den nächsten Generationen eliminiert werden, ohne weitere Schäden zu verursachen.

5 Zusammenfassung

1. Das 3. Larvenstadium von *D. melanogaster* wurde mit Fenvalerat nach zwei Methoden behandelt: Tauchen der Larven in Fenvalerat-Lösungen (DMSO/Wasser 1:3) in den Konzentrationen 0, 25, 30, 40, 50 ppm und Zugabe von Fenvalerat in das Futtersubstrat in Konzentrationen von 0, 20, 30, 40 ppm. Weiterhin wurden die Larven Hungerstress ausgesetzt und anschließend mit drei Futterangeboten (normales Futter, Futter verdünnt mit Agar 1:5 bzw. 1:10) versorgt. Danach wurde die Mortalität ermittelt. Bei Tauchen und normaler Futterbehandlung betrug die Mortalität (0 ppm 8%, 25 ppm 17%, 30 ppm 21%, 40 ppm 22%, 50 ppm 31%) und (0 = 9%, 20 = 34%, 30 = 54%, 40 = 67%). Verdünntes Futter (1:10) bewirkte eine besonders hohe Mortalität, insbesondere nach Belastung mit 40 ppm. Die überlebenden adulten Fliegen waren signifikant kleiner und leichter im Vergleich zu Kontrollen. Larven im 3. Stadium wiesen nach Behandlung eine starke Gewichtsabnahme auf. Kontaminierten Weibchen legten in allen Ansätzen weniger Eier als die Kontrolltiere ab. Sie hatten verminderte Ovargewichte, Ovariolenanzahl und Ovarlängen. Auch der Hungerstress hatte Auswirkungen auf die Ovarien, aber in geringerem Ausmaß. Das Geschlechterverhältnis wurde ebenfalls durch Fenvalerat und Hungerstress beeinflusst. In allen Ansätzen hatten die Puppen abnormale Segmentierungen und Schwierigkeiten beim Schlüpfen. Die Fliegen hatten häufig deformierte Körper oder abnormale Flügel. In der F1-Generation war nach Behandlung der Elterntiere eine verminderte Fruchtbarkeit zu beobachten.

2. In der physiologischen Untersuchung zeigt sich, dass sich Stressfaktoren (das Futter, die Konzentration und die Wechselwirkung zwischen beiden) das Glykogengehalt senkten, den beider Generationen. Die Wechselwirkung hatte keinen Effekt auf den Glykogengehalt der Adulten, war jedoch bei den Puppen signifikant. Der Trehalosegehalt der Puppen wurde in beiden Generationen mehr beeinflusst als der der Adulten; Sodass Fenvalerat und die Wechselwirkung zwischen (Hungerstress und Fenvalerat) das Trehalosegehalt erhöhten, aber der Hungerstress reduzierte. Die Herzfrequenz wurde jeweils durch reduziertes Futter und steigende Pestizidkonzentration beschleunigt. Der Lipidgehalt den Eier, der Puppen und den Adulten wurde durch Fenvalerat beeinflusst. Eine Wechselwirkung von Hungerstress und Fenvalerat- Konzentration gab es nur bei den Fliegen. Allerdings hatte der Hungerstress einen größeren Effekt als Fenvalerat auf den Lipidgehalt bei F1-Generation. Das Hungerstress und Fenvalerat wirkten auf den Proteingehalt der allen *Drosophila*-Stadien bei beiden F0 und F1-Generationen aus, Allerdings hatte der Hungerstress einen größeren Effekt als Fenvalerat auf den Proteingehalt bei F1-Generation. Die Wechselwirkungen von Hungerstress und Fenvalerat beeinflussten Puppen ($F=3.3$) und Eier ($F=3.27$) stärker als Adulten ($F=0.5$) bei F0, zudem hatte die Wechselwirkung größeren Einfluss auf die Fliegen ($F=11.20$) als auf die Puppen ($F=4.42$) und Eier ($F=1.35$) bei F1. Die Trehalose und die Herzimpulse stiegen mit erhöhter Konzentration, Glykogengehalt, Lipidgehalt und Proteingehalt verringerten sich dagegen bei allen Stadien und Generationen.

3. Im Versuch wurden Larven im dritten Stadium mit Fenvalerat behandelt und anschließend Hungerstress ausgesetzt. Anschließend wurden die adulten Fliegen daraufhin untersucht, ob diese Stressfaktoren einzeln oder zusammen Auswirkungen besonders auf den RNA-, DNA- und den Proteingehalt hatten. Diese Parameter sind interessant, da sie die Änderungen in der Entwicklung der Organismen anzeigen: Die RNA ist der Indikator der Zellengröße, die DNA der Indikator der Zellanzahl im Organismus. Die Untersuchungen wurde in der F0- und F1-Generationen durchgeführt.

Der Anteil von RNA und DNA sank, der Effekt stammte hierbei in F0 von Fenvalerat und Hungerstress, bei F1 dagegen hatte der Hungerstress einen höheren Effekt auf die RNA und die DNA und somit auf die Entwicklung, als das Fenvalerat. Das jeweilige Verhältnis der RNA zu den anderen Stoffen (RNA/DNA und RNA/Protein) war nach der Behandlung ebenfalls reduziert. Dies bedeutet, dass die RNA stärker sank als die DNA und die Proteine. Das Verhältnis der Stoffe zueinander (DNA/Gewicht, RNA/Gewicht und Protein/Gewicht) wurde durch die Behandlungen gesteigert, da das Gewicht stärker reduziert wurde als die DNA, RNA und Proteine. Diese Ergebnisse zeigen, dass das Wachstum der *Drosophila* geschädigt wurde.

4. Das 3. Larvenstadium von 3 Stämmen einer *Drosophila* Isogen - Linie wurde mit Fenvalerat in den subletalen Konzentrationen 0 und 40ppm behandelt. Mit diesen Studien sollten mögliche epigenetische Effekte auf die nächste Generation festgestellt werden. Die isogenen Linie zeigten nach der Behandlung mit dem Toxin im Vergleich zu Kontrollgruppen eine hohe Mortalität, aber der Unterschied zwischen den Stämmen war nicht signifikant. Die F1-Generation wurde zusätzlich einem Hungerstreß ausgesetzt. Es wurden die Flügellänge und Körperlänge für beide Geschlechter sowie Eigröße und Eizahl für die F0- und F1-Generationen ermittelt. Fenvalerat hatte bei der F0 große Auswirkungen auf alle Parameter. In der F1 beeinflussten alle Faktoren (Futter, Fenvalerat und Stamm) Entwicklung der isogenen Tiere. Sie wirkten sich aber nicht auf die Eigröße und Eizahl aus. Die Unterschiede sind das Resultat der direkten Effekte von Stressfaktoren, weil sich die F1 im Vergleich zur F0 besser erholen konnte. Subletale Fenvalerat-Dosen haben keine Auswirkungen auf das Erbgut der Taufliege.

5. Die Korrelationen zwischen Effekten von Fenvalerat

Fenvalerat wirkte als toxischer Faktor und Repellent auf die Taufliege, diese Effekte führten zu einer Steigerung der Mortalität beim 3. Larvenstadium. Die überlebenden geschlüpften Fliegen hatten kleinere Körpermaße und geringeres Gewicht und legten weniger Eier ab. Die Ursache für die geringeren Körpermaße lag vermutlich in der Wirkung von Fenvalerat auf die Zellteilung, Zellgröße oder Zellzahlen. Die behandelten Tiere hatten einen geringeren DNA- und RNA-Gehalt, weil die Zellanzahl und -größe nach Fenvalerat-Behandlung vermindert waren. Die Ergebnisse zeigen, dass die Fliegen unter Stressbedingungen mehr Energie verbrauchen und dadurch einen reduzierten Lipid-, Glykogen- und Proteingehalt haben. Wir haben erwähnt, dass der RNA-Gehalt und demzufolge auch der Proteingehalt in den Zellen reduziert waren. Da Proteine bei erhöhtem Energiebedarf auch dann genutzt werden können, wenn alle anderen Energiequellen erschöpft sind, unterstützt die m-RNA die

Proteinbildung. Der Stoffwechsel von Glykogen und Lipiden wurde von AKH gesteuert, sodass die Glykogene und Lipide in behandelten Tieren abgebaut und reduziert wurden. Die Freisetzung von AKH beschleunigte den Herzschlag der Puppen. Fenvalerat und Hungerstress haben die morphologischen Parameter beeinflusst. Diese Auswirkungen nach der Stressbelastung hatten physiologische Ursachen. Auch die nächste Generation wurde (in geringerem Ausmaß) beeinflusst, da Reste von Fenvalerat über Menschen und Eier in die F1 übertragen wurden. Die übertragene Menge Gift reichte jedoch nicht, um großen Schaden anzurichten. Es würde erwarten, dass die nächsten Generationen F2 und F3 normal sein würden. In dieser Studie traten Schwierigkeiten auf, wie z.B die Bestimmung des Subletaldosenbereiches und das Finden der richtigen Behandlungsmethode (Tauchen oder mit Futter). Die epigenetische Untersuchung vervollständigte die Arbeit, weil nach der morphologischen Untersuchung Isogen-Linien vermutet werden konnten. Wie bereits oben erläutert, konnte diese Theorie nicht bestätigt werden. Die Vermutung war, dass die Differenz durch den Hungerstress verursacht wurde und diese Effekte keine genetischen Ursachen haben. Weiterführende Analysen des Fenvalerat-Gehalts in Eiern und Männchen wären sinnvoll, konnten von uns aber aufgrund technischer Probleme und hoher Kosten nicht durchgeführt werden.

Stichwörter: Epigenetik, Fenvalerat, Fliege (*Drosophila melanogaster*), Generation Glykogengehalt, Hungerstress, Lipidgehalt, morphologische Parameters, physiologische Parameters, Proteingehalt, Stoffwechsel, Trehalose.

6 Referenzen

- Abisgold JD, Simpson SJ (1987). The physiology of compensation by locusts For changes in dietary protein . *J. exp. Biol.* 129: 329-346.
- Akbar SMD, Sharma HC, Jayalakshmi SK, Sreeramulu K (2012). Effect of pyrethroids, permethrin and fenvalerate, on the oxidative stress of *Helicoverpa armigera*. *World Journal of Science and Technology* 2(1):1-5. ISSN: 2231 – 2587.
- Akmoutsou P, Mademtzoglou D, Nakou I, Onoufriadis A, Papadopoulou X, Kounatidis I, Frantzios G, Papadakis G, Vasiliadis K, Papadopoulos NT, Mavragani-Tsipidou P (2011). Evaluation of toxicity and genotoxic effects of spinosad and deltamethrin in *Drosophila melanogaster* and *Bactrocera oleae*. *Pest Manag Sci.* 67: 1534–1540.
- Alaoui A, Gourdoux L, Atay ZK, Moreau R (1994). Alterations in carbohydrate metabolism induced in *Locusta migratoria* after poisoning with the pyrethroid insecticide deltamethrin. *Pestic. Biochem. Physiol.* 50:183-190.
- Aldrige WN (1990). An assessment of the toxicological properties of the pyrethroids and their neurotoxicity. *Crit Rev Toxicol.* 21: 89-104.
- Allis CD, Jenuwein T, Reinberg D, Caparros M-L (2007). Cold spring harbor laboratory press, new york <http://www.cshlpress.com>.
- Andersen HR, Schmidt IM, Grandjean P, Jensen TK, Budtz-Jørgensen E, Kjærstad MB, Bælum J, Nielsen JB, Skakkebak NE, Katharina M, Main KM (2008). Impaired Reproductive Development in Sons of Women Occupationally Exposed to Pesticides during Pregnancy. *Environ Health Perspect.* 116(4): 566–572.
- Arasta T, Bais VS, Thakur P (1996). Effect of Nuvan on some biological parameters of Indian catfish, *Mystus vittatus*. *J. Environ. Biology* 17:167-169.
- Armstrong KF, Bonner AB (1985). Investigation of a permethrin-induced antifeedant effect in *Drosophila melanogaster*: an ethological approach. *Pestic. Sci.* 16: 641-650.
- Ayadin R, Koprucu K, Dorucu M, Koprucu SS, Pala M (2005). Acute toxicity of synthetic pyrethroid cypermethrin on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae. *Aquacult Int* 13: 451–458.
- Azavedo RBR, French V, Partridge L (1997). Life-History Consequences of Egg Size in *D.melanogaster*. *The American Naturalist* 150(2): 250-282.
- Barlow SM, Sullivan FM, Lines J (2001). Risk assessment of the use of deltamethrin on bednets for the prevention of malaria. *Food Chem Toxicol* 39:407–422.
- Barron MG, Adelman IR (1985). Temporal characterization of growth of fathead minnow (*Pimephales promelas*) larvae during sublethal hydrogen cyanide exposure. *Comp Biochem Physiol* C81:341–344.
- Bartlett JMS (2000). Methods in Molecular Medicine: Ovarian Cancer: Methods and Protocols . *Humana Press, Inc., Totowa, NJ* 39.
- Batiste-Alentorn M, Xamena N, Velázquez A, Creus A, Marcos R(1987). Studies on the toxicity of cypermethrin and fenvalerate in different strains of *Drosophila melanogaster* meig. (Insecta, diptera). *Environmental Research* 43: 117-125.
- Bayram A, Salerno G, Onofri A, Conti E (2009). Sub-lethal effects of two pyrethroids on biological parameters and behavioral responses to host cues in the egg parasitoid *Telenomus busseolae*. *Biological Control*, doi:10.1016/j.biocontrol.2009.09.012.
- Becker A, Schloder P, Steele JE, Wegener G (1996). The regulation of trehalose in insects. Birkhäuser Verlag Basel. *Experimentia* 52:433–439.

- Beenackers AMT, van der Horst DJ, van Marrewijk WJA (1981). Role of lipids in energy metabolism. In : Downer (ed), Energy metabolism in insects. *Plenum Press, New York* : 53-59.
- Berlin JR, Akera T, Brody TM, Matsumura F (1984). The ionotropic effects of a synthetic pyrethroid decamethrin on isolated guinea pig atrial muscle. *Eur J Pharmacol* 98:313–322.
- Bertram C, Khan O, Ohri S, Phillips DI, Matthews SG, Hanson MA (2008). Transgenerational effects of prenatal nutrient restriction on cardiovascular and hypothalamic-pituitary-adrenal function. *J. Physiol.* 586, 2217–2229.
- Birse RT, Söderberg JAE, Luo J, Winther AME, Nässel DR (2011). Regulation of insulin-producing cells in the adult *Drosophila* brain via the tachykinin peptide receptor DTKR. *The Journal of Experimental Biology* 214: 4201-4208.
- Bolognesi C (2003). Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. Toxicological Evaluation Unit, National Cancer Research Institute- Largo Rosanna Benzi 10, 16132 Genova, Italy.
- Bolognesi C, Merlo F (1995). Biomonitoring of human populations exposed to pesticides, in: P.E. Cheremisinoff (Ed.), Encyclopedia of Environmental Control Technology, Gulf Publishing Company, Houston, 1995, Chapter 28, 673–737.
- Borkovec AB (1979). Insects reproductive suppression by inhibitors of chitin Synthesis. Proc. 2 nd internal . *Symp. Invertebrate Reprod. Davis, CA.*: 1-4.
- Brausch JM, Salice CJ (2010). Effects of an Environmentally Realistic Pesticide Mixture on *Daphnia magna* Exposed for Two Generations. *Arch Environ Contam Toxicol* 61:272–279.
- Brooks GT (1974). Chlorinated Insecticides. Volume I: Technology and Application. 249 Seiten, 25 Abb., 22 Tab. Volume II: Biological and Environmental Aspects. 197 Seiten, 19 Abb., 22 Tab. CRC Press, INC., Cleveland Ohio.
- Brown I (2007). Heat shock proteins and protection of the nervous system. Center for the Neurobiology of Stress, University of Toronto at Scarborough, Toronto, Ontario, Canada M1C 1A4. (World Conference on Stress held in Budapest in August 2007).
- Buckley LJ, Caldarone E, Ong TL (1999). RNA-DNA ratio and other nucleic acid-based indicators for growth and condition of marine fishes. *Hydrobiology* 401: 265-277.
- Bulow JF (1970). RNA-DNA ratios as indicators of recent growth rates of fish. *J. Fish. Res. Bd. Canada* 27: 2343-2349.
- Bulow JF (1987). RNA-DNA ratios as indicators of growth rates in fish: A review. In *The age and growth of fish*; Summerfelt, R.C., Hall, G.E. Eds.; The Iowa State University Press: Ames, Iowa: 45-64.
- Burmester T (2002). Origin and evolution of arthropod hemocyanins and related proteins. *J Comp Physiol B* 172: 95–107.
- Burmester T, Antoniewski C, Lepesant JA (1999). Ecdysone-regulation of synthesis and processing of fat body protein 1, the larval serum protein receptor of *Drosophila melanogaster*. *Eur. J. Biochem* 262: 49–55.
- Burton K (1956). *Biochem. J.*62: 315-322.
- Candy DJ (1985). Intermediary metabolism. In: Kerkut and Gilbert (eds), *Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology*, Pergamon Press, Oxford : 1-41.
- Candy DJ (2002). Adipokinetic hormones concentrations in the haemolymph of *Schistocerca gregaria*, measured by radioimmunoassay. *Insect Biochem Mol Biol* 32: 1361–1367.
- Chamberlain K, Matsuo N, Kaneko H, Khambay BPS (1998). Pyrethroids.. (N. Kurihara and J. Miyamoto, eds.) Wiley, New York. In *Chirality in Agrochemicals* 9–84.

- Chauhan LK, Kumar M, Paul BN, Goel SK, Gupta SK (2007). Cytogenetic effects of commercial formulations of deltamethrin and/or isoprotruron on human peripheral lymphocytes and mouse bone marrow cells. *EnvironMol Mutagen* 48:636–643.
- Chelliah S, Fabellar LT, Heinrichs EA (1980). Effect of sub-lethal doses of three insecticides on the reproductive rate of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, on rice. *Environ. Entomol.* 9: 778–780.
- Choudhary SA (2002). Ovicidal and Larvicidal Effects of Sythetic Pyrethroid on Mutanat *Dorosophila Melanogaster*. (Meigen): in Book of Kumar A (2004). Enveroment und Health, Published by APH Publishing, 2004 ISBN 8176486914, 9788176486910 352 : Chapter 35: 213-217.
- Church RB, Robertson FW (1966). A biochemical study of the growth of *Drosophila melanogaster*. *J. exp. Zool.* 162: 337-352.
- Clark JR, Patrick JM, Middaugh JR, Moore JC (1985). Relative sensitivity of six estuarine fishes to carbophenothion, chlorpyrifos, and fenvalerate. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 10:382-390.
- Colombani J, Raisin S, Pantalacci S, Radimerski T, Montagne J, Leopold P (2003). A nutrient sensor mechanism controls *Drosophila* growth. *Cell* 114: 739–749.
- Couty A, Viña GD, Clark SJ, Kaiser L, Pham-Delègue MH, Poppy GM (2001). Direct and indirect sublethal effects of *Galanthus nivalis* agglutinin (GNA) on the development of a potato-aphid parasitoid, *Aphelinus abdominalis* (Hymenoptera: Aphelinidae) *Journal of Insect Physiology* (47): 553–561.
- Cripe GM, Mckenney CL, Hogle MD, Harris PS (2003). Effects of fenoxycarb exposure on complete larval development of the xanthid crab, *Rhithropanopeus harrisi*. *Environmental Pollution* 125: 295–299.
- Dai PL, Wang Q, Sun JH, Liu F, Wang X, Wu YY, Zhou T (2010). Effects of sublethal concentrations of bifenthrin and deltamethrin on fecundity, growth, and development of the honeybee *Apis mellifera ligustica*. *Environ Toxicol Chem.* 29(3):644-649.
- D'Amico LJ, Davidowitz G, Nijhout HF (2001). The developmental and physiological basis of body size evolution in an insect. *Proc. Roy. Soc. Lond. B* 268: 1589-1593.
- Daniel FB, Haas DL, Pyle SM (1985). Quantitation of chemically induced DNA strand breaks in human cells via alkaline unwinding assay. *Anal. Biochem.* 144: 390-402.
- Delpuech JM, Meyet J (2003). Reduction in the sex ratio of the progeny of a parasitoid wasp (*Trichogramma brassicae*) surviving the insecticide chlorpyrifos. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 45 : 203–208.
- Deriaz RE, Staky M, Teece EG, Wiggins LF (1949). Deoxy-sugars. Part I . The Dische Reaction for 2-Deoxypentoses. DOI: 10.1039/JR9490001222, Paper . *J. Chem. SOC.*1222-1232.
- Desneux N, Decourtye A, Delpuech JM (2007). The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology* 52:81–106.
- Dhingra G, Chowdhury JB, Sareen PK (1988). Preliminary studies in *Drosophila* treated with deltamethrin. *Drosophila. Inf. Serv.* 67: 30–32.
- Dilip KS, Badre AA (2011). Effect of Deltamethrin and a Neem Based Pesticide Achook on Some Biochemical Parameters in Tissues Liver, Ovary and Muscle of Zebrafish *Danio rerio* (Cyprinidae). *Research Journal of Chemical Sciences.* 1(4): 125-134.
- Dische Z (1930). *Mikrochemie* 8: 4-32.
- Dolara P, Salvadori M (1992). Capobianco T and Torricelli F, Sister-chromatid exchanges in human-lymphocytes induced by dimethoate, omethoate, deltamethrin, benomyl and their mixture. *Mutat Res* 283:113–118.
- Eells JT, Bandettini PA, Holman PA, Propp JM (1992). Pyrethroid insecticide induced alterations in mammalian synaptic membrane-potential. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 262: 1173–1181.

- Eilser R (2000). Chemical Risk Assessment Health Hazards to Humans, Plants, and Animals. Vol. 2. Lewis Publishers is an imprint of CRC Press LLC.
- El Hassani AK, Dacher M, Gauthier M, Armengaud C (2005). Effects of sublethal doses of fipronil on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*). *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, (82):30–39.
- Elliott M, Farnham AW, Janes NF, Needham PH (1967). Benzyl-3-furylmethyl chrysanthemate: a new potent insecticide. *Nature* 213: 493–494.
- EPA. (2000). Restricted use products (RUP) report: October 2000. U.S. Environmental Protection Agency. Office of Pesticide Programs. <http://www.epa.gov/RestProd/rupoct00.htm>. April 2, 2001.
- Ergin E, Er A, Uçkan F, Rivers DB (2007). Effect of Cypermethrin Exposed Hosts on Egg-Adult Development Time, Number of Offspring, Sex Ratio, Longevity, and Size of *Apanteles galleriae* Wilkinson (Hymenoptera : Braconidae). *Belg. J. Zool.*, 137 (1) : 27-31.
- Farkas R (1995). Ecdysone Regulated RNA synthesis in *Drosophila* larval salivary glands. *Endocr Regul.* 29(3):171-185.
- Ferguson-Smith AC, Grealley JM, Martienssen RA (2009). Epigenomics . Springer Science+Business Media B.V. 2009 , ISBN: 978-1-4020-9186-5 , DOI 10.1007/978-1-4020-9187-2.
- Frantzios G, Paptiki K, Sidiropoulou B, Lazaridis I, Theophilidis G, Mavragani-Tsipidou P(2008). Evaluation of insecticidal and genotoxic effects of imidacloprid and acetochlor in *Drosophila melanogaster*. *J Appl Entomol* 132:583–590.
- Freeman M, Road H (2001). Pin-pointing MAPK signalling. *Nature Cell Biology* 3, E136 - E137 doi:10.1038/35078599.
- Friesen KJ, Kaufman WR (2003). Cypermethrin inhibits egg development in the ixodid tick, *Amblyomma hebraeum*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 76(1): 25–35.
- Frings L, Christopher S, Dum R (1970). Colorimetric method for determination of total serum lipids based on the sulphophosovanilline reaction. *Am J Clin Path.* 53: 89-91.
- Fujiwara Y, Takahashi T, Yoshioka T, Nakasuji F (2002). Changes in egg size of the diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) treated with fenvalerate at sublethal doses and viability of the eggs. *Appl. Entomol. Zool.* 37 (1): 103–109.
- Gade G, Hoffmann KH, Spring JH (1997). Hormonal regulation in insects: facts, gaps, and future directions. *Physiol Rev.* 77(4): 963–1032.
- Garg AK, Kim J-K, Owens TG, Ranwala AP, Choi YD, Kochian LV, Wu RJ (2002). Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99(25): 15898–15903.
- Ge LQ, Zhao KF, Huang LJ, Wu JC (2011). The effects of triazophos on the trehalose content, trehalase activity and their gene expression in the brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stål) (Hemiptera: Delphacidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 100: 172–181.
- Gorokhova E, Kyle M (2002). Analysis of nucleic acids in *Daphnia*: development of methods and ontogenetic variations in RNA-DNA content. *Journal of plankton research* 24(5): 511-522.
- Gray AJ, Soderlund DM (1985). Mammalian toxicology of pyrethroids. in D.H. Hutson and T.R. Roberts (eds.). Progress in Pesticide Biochemistry and Toxicology. *Insecticides. John Wiley, New York* 5: 193-248.
- Guillaume I, Martin J, Chidami S, Veenstra J, Rosay P (2005). AKH-producing neuroendocrine cell ablation decreases trehalose and induces behavioral changes in *Drosophila*. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 288: 531-538.

- Gupta SC, Mishra M, Sharma A, Deepak Balaji TG, Kumar R, Mishra RK, Chowdhuri DK (2010). Chlorpyrifos induces apoptosis and DNA damage in *Drosophila* through generation of reactive oxygen species. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 73(6): 1415–1423.
- Hajjar MJ, Ford JB (1989). The effect of sublethal doses of cypermethrin on egg laying of mustard beetle *Phaedon cochleariae* (F.). *Pestic Sci.* 26: 227-239.
- Hajjar MJ, Ford JB (1990). The effect of cypermethrin on the feeding of mustard beetles *Phaedon cochleariae* (F.) *Annals of Applied Biology* 116 (2): 279-286.
- Herbert D, Phipps PJ, Strange RE (1971). Chemical analysis of microbial cells. *Methods in Microbiology*, 5b:209-344.
- Hildebrand EM, Mezeyova J, Smith PL, Salter MW, Tringham E, Snutch TP (2011). Identification of sodium channel isoforms that mediate action potential firing in lamina I/II spinal cord neurons, <http://www.molecularpain.com/content/7/1/67>. *Molecular Pain* 7:67.
- Hoshizaki DK (2005). Fat-cell development. In: Gilbert LI, Iatrou K, Gill S, editors.. Oxford, England: Elsevier B.V. *Comprehensive Molecular Insect Science* 2: 315–345.
- <http://flymove.uni-muenster.de/>.
- Hui W, Juan W, Hong-Shan L, Dai Hua-Guo D, Xiao-Jun G (2010). Sub-Lethal Effects of Fenvalerate on the Development, Fecundity, and Juvenile Hormone Esterase Activity of Diamondback Moth, *Plutella xylostella*. *Agricultural Sciences in China* 9(11): 1612-1622.
- IPCS Sponsored jointly by FAO and WHO, Pesticid Residues in Food-1979 and 1995.
- Izaguirre MF, Lajmanovich RC, Peltzer PM, Soler AP, Casco VH (2000). Cypermethrin-induced apoptosis in the telencephalon of *Physalaemus biligonigerus tadpoles* (Anura: Leptodactylidae). *Bull Environ Contam Toxicol* 65: 501–507.
- Jin Min K, Tatar M (2006). *Drosophila* diet restriction in practice: Do flies consume fewer nutrients?. *Science direct Mechanisms of Ageing and Development* 127: 93–96.
- Joksic G, Vidakovic A, Spasojevic-Tisma V (1997). Cytogenetic monitoring of pesticide sprayers. *Environ. Res.* 75: 113–118.
- Juarez MP (1995). The Effect of Sublethal Doses of Insecticides on *Triatoma infestans* Lipid Synthesis. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 52(2): 81–89.
- Kakko I (2004). Toxic Mechanisms of pyrethroide studied in Vitro. Academic Dissertation, University of Tampere, Medicine school Finland.
- Karatas A, Bahceci Z (2009). Effect of Cypermethrin on Some Developmental Stages of *Drosophila melanogaster*. *Bull Environ Contam Toxicol.* 82:738–742.
- Kaur H, Sandhu R, Dhillon SS (1993). Substituted pyrimidine-2-thiols: A newly discovered group of antifertility agents against red cotton bug. *Indian J. Ent.* 55:396–403.
- Kistler A (1979). Tissue specific changes in DNA, RNA and protein content during late fetal and postnatal development in the rat. *Int J Biochem* 10:975–980.
- Kjeldgaard NO (1961). The kinetics of ribonucleic acid and protein formation in *Salmonella typhimurium* during the transition between different states of balanced growth. *Biochim. biophys. Acta* 49: 64-76.
- Krieger R, Doull J, Hemmen J-V, Hodgson E, Maibach H, Reiter L, Ritter L, Ross J, Slikker W, Vega H (2010). Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology. Deceased (c) 2011 Elsevier, Third Edition Vol.1 und 2.
- Kumar A, Sharma B, Pandey RS (2008). Cypermethrin and k-cyhalothrin induced alterations in nucleic acids and protein contents in a freshwater fish, *Channa punctatus*. *Fish Physiol Biochem* 34: 331–338.

- Nasreen A, Ashfaq M, Mustafa M, Rasool Khan R (2007). Mortality rates of five commercial insecticides on *Chrysoperla carnea* (stephens) (chrysopidae: neuroptera) . Pak. J. Agri. Sci., Vol. 44(2): 266-271.
- Nath BS (2000). Changes in Carbohydrate Metabolism in Hemolymph and Fat Body of the Silkworm, *Bombyx mori* L., exposed to Organophosphorus Insecticides. doi:10.1006/pest. 2000. 2509. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 68: 127–137.
- Nath BS (2003). Shifts in glycogen metabolism in hemolymph and fat body of the silkworm, *Bomnyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) in response to organophosphorus insecticides toxicity. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 74: 73-84.
- Neidhardt FC, Magasanik B (1960). Studies on the role of ribonucleic acid in the growth of bacteria. *Biochem. biophys. Acta* 42: 99-116 .
- Nilsson E, Larsen G, Manikkam M, Guerrero-Bosagna C, Savenkova MI (2012). Environmentally Induced Epigenetic Transgenerational Inheritance of Ovarian Disease. *PLoS ONE* 7(5): e36129. doi:10.1371/journal.pone.0036129.
- Normann TC (1980). Release of neurohormones in the blowfly *Culliphora vicina* with respect to insecticidal action. Insect Neurobiol. Pestic. Action Society of Chemical Industry, London: 305–311 (Neurotox '79).
- Norris JR, Ribbons DW (1971). Methods In Microbiology (Chapter III : Chemical Analyse of microbial Cells) *Academic Press London and New York*: 5 B P: 316-319.
- Noyes BE, Katz FN, Schaffer MH (1995). Identification and expression of the *Drosophila* adipokinetic hormone gene. *Mol Cell Endocrinol* 109: 133–141.
- Orr GL, Downer RGH (1982). Effect of lindane (γ -hexachlorocyclohexane) on carbohydrate and lipid reserves in the American cockroach, *Periplaneta americana* L. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 17(1): 89–95.
- Orser WB, Brown AWA(1951). The Effect Of Insecticides On The Heartbeat Of *Periplaneta* *Canadian Journal of Zoology* 29(1): 54-64.
- Ortiz-Perez MD, Torres-Dosal A, Batres LE, Lopez-Guzman OD, Grimaldo M, Carranza C (2005). Environmental health assessment of deltamethrin in a malarious area of Mexico: environmental persistence, toxicokinetics and genotoxicity in exposed children. *Environ Health Persp* 113:782–786.
- Page GA (1998). Pesticides. Encyclopedia of Occupational Health and Safety. International Labour Office: Geneva; 62.9–62.40.
- Pati PC, Bhunya SP (1988). Cytogenetic effects of fenvalerate in mammalian in vivo test system, *Mutation Research* 222 : 149-154. Elsevier.
- Patil UK, Muskan K (2009). Essentials of Biotechnology . I:K. International Publishing House Pvt. Ttd. New Delhi. : 416. ISBN: 987-93-80026- 52-7.
- Postlethwait JH, Bownes M, Jowett T (1980). Sexual phenotype and vitellogenin synthesis in *Drosophila melanogaster*. *Dev. Biol.* 79: 379-387.
- Pratt GE, Jeuning RC, Hammett AH, Brooks GT (1980). Lethal metabolism of precocene-1 to a reactive epoxide by locust corpora allata. *Nature* 284: 320–323.
- Radhakrishna PG, Delvi MR (1992). Effect of organophosphorus insecticides on food utilization in different races of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *Sericologia* 32: 71-79.
- Rakitsky VN, Koblyakov VA, Turusov VS (2000). Nongenotoxic (Epigenetic) Carcinogens: Pesticides as an Example. *A Critical Review, Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis* 20: 229–240.
- Reyes JGG, Leyva NR, Millan OA, Lazcano GA (2002). Effects of Pesticides on DNA and Protein of Shrimp Larvae *Litopenaeus stylirostris* of the California Gulf. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 53: 191-195 .

- Reynaldi S, Liess M (2004). Influence of Duration Exposure to the Pyrethroid Fenvalerate on Sublethal Responses and recovery Of *Daphnia magna*. *Environmental toxicology and Chemistry* 24(5): 1160-1164.
- Ribeiro S, Sousa JP, Nogueira AJA, Soares AMVM (2001). Effect of endosulfan and parathion on energy reserves and physiological parameters of the terrestrial isopod *Porcellio dilatatus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 49: 131-138.
- Richards SM, Kendall RJ (2002). Biochemical effects of chlorpyrifos on two developmental stages of *Xenopus laevis*. *Environ Toxicol Chem* 21:1826-1835.
- Robinson SM, Ware D (1988). Ontogenetic development of growth rates in larval Pacific herring, *Clupea harengus pallasi*, measured with RNA/DNA ratios in the Strait of Georgia, British Columbia. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 45: 1422-1429.
- Ryan RO, van der Horst DJ (2000). Lipid transport biochemistry and its Role in energy production. *Annu. Rev. Entomol.* 45: 233-260.
- Sánchez M, Ferrando MD, Sancho E, Andreu E (1999). Assessment of the toxicity of a pesticide with a two-generation reproduction test using *Daphnia magna*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 124: 247-252.
- Saikat S, Raja C, Sridhar C, Reddy YSR, Biplab DE (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 3(1): 91-100.
- Sak O (2006). Effects of Cypermethrin on Total Body Weight, Glycogen, Protein, and Lipid Contents of *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera : Ichneumonidae). *Belg. J. Zool.* 136 (1) : 53-58.
- Saleem MA, Shakoory AR (1986). Biochemical Effects of Sublethal Dosen of Cypermethrin on the Sixth-Instar Larvae of *Tribolium castaneum* (herbst.). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 3: 447-455.
- Samaranayaka M (1978). Insecticide induced release of neurosecretory hormones. Pesticide and Venom Neurotoxicity. Shankland, D.L., Hollingworth, R.M., Smyth, T. (Eds.) Plenum, New York: 83.
- Sancho E, Ferrando MD, Fernandez C, Andreu E (1998). Liver energy metabolism of *Anguilla anguilla* after exposure to fenitrothion. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 41: 168-175.
- Saxena PK, Lal SR (1981). Seasonal changes in testes and thumb pads of the toad, *Bufo marinus* (Linn.) and their correlation with fluctuations in the environmental factors. *Anat Anz.* 149: 337-344.
- Schmid W (1976). The micronucleus test for cytogenetic analysis, in: A. Hollaender (Ed.), Chemical Mutagens, Principles and Methods for their Detection, Vol. 4, Plenum, New York: 31-53.
- Shafer TJ, Meyer DA, Crofton KM (2005). Developmental Neurotoxicity of Pyrethroid Insecticides: Critical Review and Future Research Needs Environmental Health Perspectives (113):2.
- Sherby SM, Eldefrawi AT, Deshpande SS, Albuquerque EX, Eldefrawi ME (1986). Effects of pyrethroids on nicotinic acetylcholine receptor binding and function. *Pestic. Biochem. Physiol.* 26:107-115.
- Shukla Y, Taneja P (2000). Mutagenic evaluation of deltamethrin using rodentdominantlethal assay. *MutatResGenToxicolEnvironMutagen* 467:119-127.
- Singh GJP, Barker JF, Kundu SC (1982). Bioresmethrin-induced alterations in the ultrastructure of neurosecretory cells of insect corpora cardiac. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 18(2):158-168.
- Singh GJP, Orchard I (1982). Is insecticide-induced release of insect neurohormones a secondary effect of hyperactivity of the central nervous system. *Pestic. Biochem. Physiol.* 17: 232-242.
- Singh SK, Tripathi PK, Yadav RP, Singh D, Singh A (2004). Toxicity of Malathion and Carbaryl Pesticides: Effects on Some Biochemical Profiles of the Freshwater Fish *Colisa fasciatus*. *Bull. of Environ. Contam. Toxicol.* 72(3): 592-599.

- Skinner MK, Manikkam M, Guerrero-Bosagna C (2010). Epigenetic transgenerational actions of environmental factors in disease etiology. *Trends Endocrinol Metab.* 21(4):214-222.
- Sommeral C, Vagn Jensen K-M, Jespersen JB (2001). Topical treatment of calves with synthetic pyrethroids: effects on the non-target dung fly *Neomyia cornicina* (Diptera: Muscidae). *Bulletin of Entomological Research* 91(02):131-137.
- Song JH, Narahashi T (1996). Modulation of sodium channels of rat cerebellar Purkinje neurons by the pyrethroid tetramethrin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 277: 445-453.
- Srinivasan A, Kesavan PC (1979). Biochemical characterisation of the development of *Musca domestica*. *Proc. Indian Acad. Sci.* 88(2): 153-162.
- Srinivas P (1986). Studies on metabolic stress in silk moth, *Bombyx mori* (L.) induced by selective insecticides. Ph.D. Thesis, Kakatiya University, Warrangal, India.
- Stapel JO, Cortesero AM, Lewis WJ (2003). Disruptive sublethal effects of insecticides on biological control: altered foraging ability and life span of a parasitoid after feeding on extrafloral nectar of cotton treated with systemic insecticides. *Biological Control*, 17 (2000), pp. 243-249.
- Stark JD, Banks JE (2003). Population-level effects of pesticides and other toxicants on arthropods. *Annual Review of Entomology*, 48:505-519.
- Stark JD, Rangus T (1994). Lethal and sublethal effects of the neem insecticide, Margosan-O, on the pea aphid. *Pesticide Science* 41: 155-160.
- Steele JE (1980). Hormonal modulation of carbohydrate and lipid metabolism in fat body, in: *Insect Biology in Future*. Locke M, Smith DS. (Eds.), *Academic Press, New York*:253-271.
- Tähi H, Aasmeo L, Syversen T (1999). Organic solvents. *General and Applied Toxicology*. 2029-2047.
- Tatar M (2001). Germ-line stem cells call the shots. *TRENDS in Ecology and Evolution* 17 (7): 297-298.
- Thompson SN (2003). Trehalose – The Insect ‘Blood’ Sugar. *Advances in insect physiology* 31: 206-261.
- Tollefsbol TO (2010). *Epigenetics of Aging*. Springer Science+Business Media, LLC 2010, ISBN 978-1-4419-0638-0 e-ISBN 978-1-4419-0639-7, DOI 10.1007/978-1-4419-0639-7.
- Tripathi PK, Singh A (2004). Toxic effects of cypermethrin and alphamethrin on reproduction and oxidative metabolism of the freshwater snail, *Lymnaea acuminata*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 58(2): 227-235.
- Tripathi PK, Srivastava VK, Singh A (2003). Toxic Effects of Dimethoate (Organophosphate) on Metabolism and Enzyme System of Freshwater Teleost Fish *Channa punctatus*. *Asian fisheries Sci.* 16: 349-359.
- Tufail N (1991). Biochemical toxicology of synthetic pyrethroids in red flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst.) (Coleoptera: Tenebrionidae). Ph. D. thesis, University of Punjab, Lahore.
- Van der Horst DJ (2003). Insect adipokinetic hormones: release and integration of flight energy metabolism. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 136 : 217-226.
- Van Handel E (1985). Rapid determination of glycogen and sugars in mosquitoes. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 1: 299-301.
- Vickers DIt, Mitlin N (1966). Changes in nucleic acid content of the boll weevil *Anthonomus grandis* Bodeman during its development. *Physiol. Zoöl.* 89:70-76.
- Waliszewski SM, Lanfanzon RM, Hart MM (2003). Difference in persistent organochloride pesticides concentration between breast adipose tissue and blood serum. *J. Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 70: 920-926.
- Walker BJ, Hend RW, Linnett S (1975). Toxicity Studies on the Insecticide WL 43775: Summary of Results of Preliminary Experiments. Unpublished report from Shell Development Co.

- Wang X, Shen Z, Xu W, Lu J (2003). Sublethal effects of insecticides on fecundity of multicolored Asian ladybird *Harmonia axyridis*. *The Journal of Applied Ecology* 14(8):1354-1358.
- Wang C, Chen F, Zhang Q (2009). Chronic toxicity and cytotoxicity of synthetic pyrethroid insecticide cis-bifenthrin. *Journal of environmental Science* 21:1710-1715.
- Wang H-M, Harshman LG, Nuzhdin SV (2005). Quantitative trait loci for lipid content in *Drosophila melanogaster*. *Obes Res.* 13: 1891–1897.
- Watts T, Woods HR, Hargand S, Elser JJ, Markow TA (2006). Biological stoichiometry of growth in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology* 52:187–193.
- Wayne ML, Soundararajan U, Harshman LG (2006). Environmental stress and reproduction in *Drosophila melanogaster*: starvation resistance, ovariole numbers and early age egg production. *BMC Evolutionary Biology* 6:(57). doi:10.1186/1471-2148-6-57.
- Wellinga K, Mulder R, Van Daalen JJ (1973). Synthesis and laboratory evolution of 1-(2-6-disubstituted benzol)-3 phenylureas. *J. Agric. Fd Chem* 21:348-345.
- Wigglesworth VB (1949). The utilization of reserve substances in *Drosophila* during flight. *J. exp. Biol.* 26: 150-163.
- Wilkinson CF (1971). Effects of Synergists on the Metabolism and Toxicity of Anticholinesterases. *Bull. org. mond. Sante, Bull Wld Hlth Org.* 4: 171-190.
- Wilson DM, Sofinowski TM, McNeill DR (2003). Repair mechanisms for oxidative DNA damage. *Front. Biosci: A journal and Virtual Library* 8: 963–981.
- Wright DA, Martin FD (1985). The effect on starvation of RNA/DNA ratios and growth of larval striped bass *Morone saxatilis*. *J Fish Biol.* 27:479–485.
- Yin XH, Wu QJ, Li XF, Zhang YJ, Xu BY (2008). Sublethal effects of spinosad on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Crop Protection*, 27: 1385–1391.
- Zalizniak L, Nugegoda D (2006). Effect of sublethal concentrations of chlorpyrifos on three successive generations of *Daphnia carinata*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 64: 207–214.
- Zera AJ, Sall J, Otto K (1999). Biochemical aspects of flight and flightlessness in *Gryllus*: flight fuels, enzyme activities and electrophoretic profiles of flight muscles from flightcapable and flightless morphs. *J Insect Physiol* 45(3):275-285.

7 Anhänge

N6 Isogen- Linie

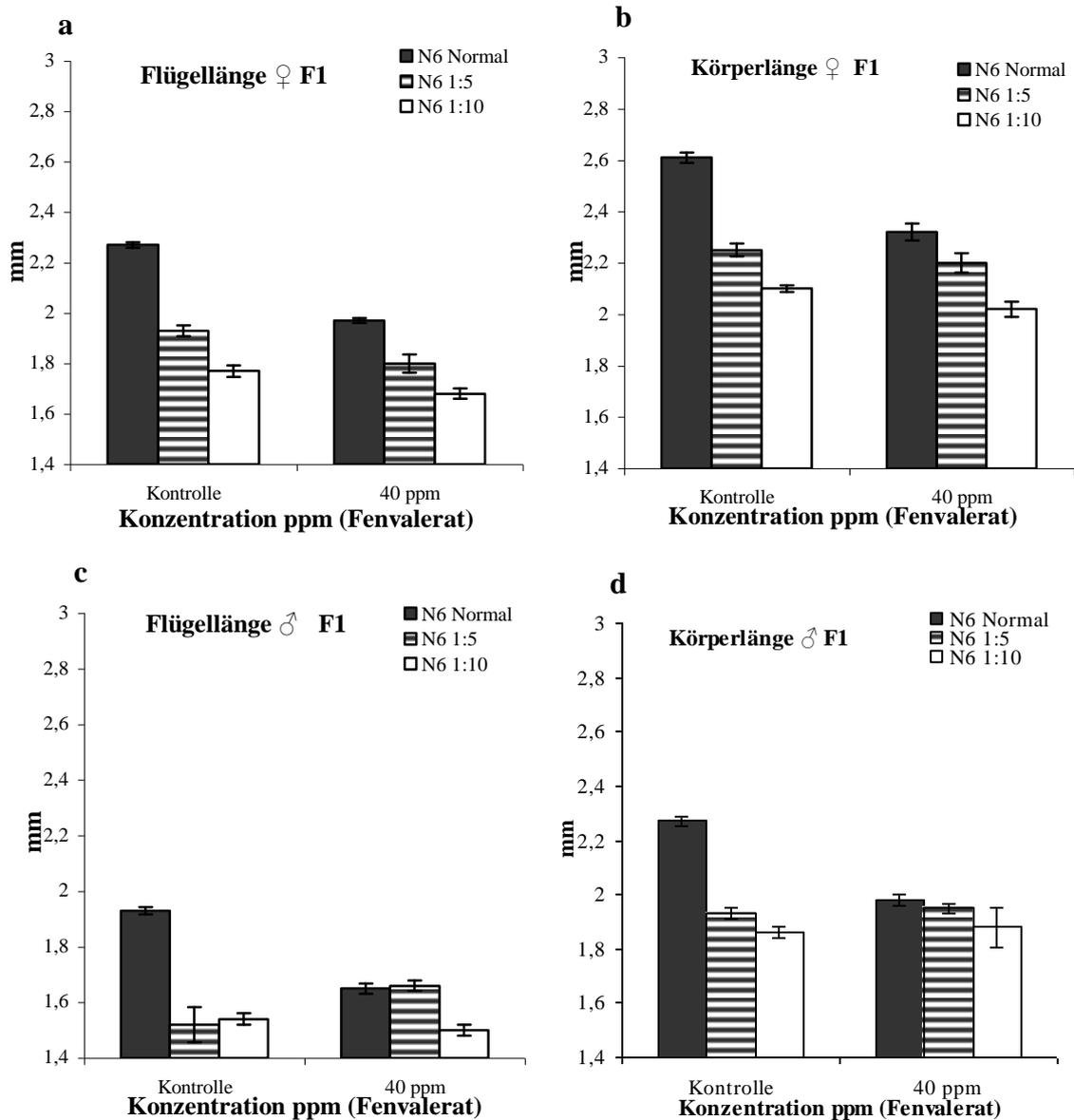


Abb. 1: (a): Flügelänge (b): Körperlänge für ♀ (c): Flügelänge (d): Körperlänge für ♂ der F1 der Isogenlinien von *Drosophila* N6 nach Fenvalerat-Behandlung des 3. Larvenstadiums für 24 Stunden bei 25 °C in der F0 nachher wurde es die nächste F1- Generation vom Ei bis Adulte im normalen Futter und Hungerstress(1:5 und -1:10- Verdünnung) bei 25 °C eingesetzt.

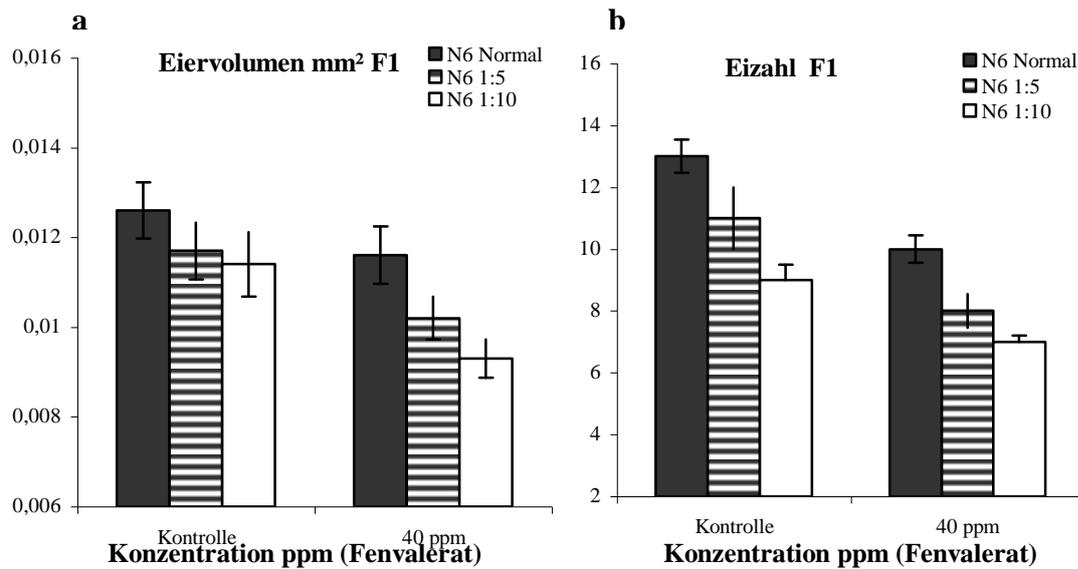
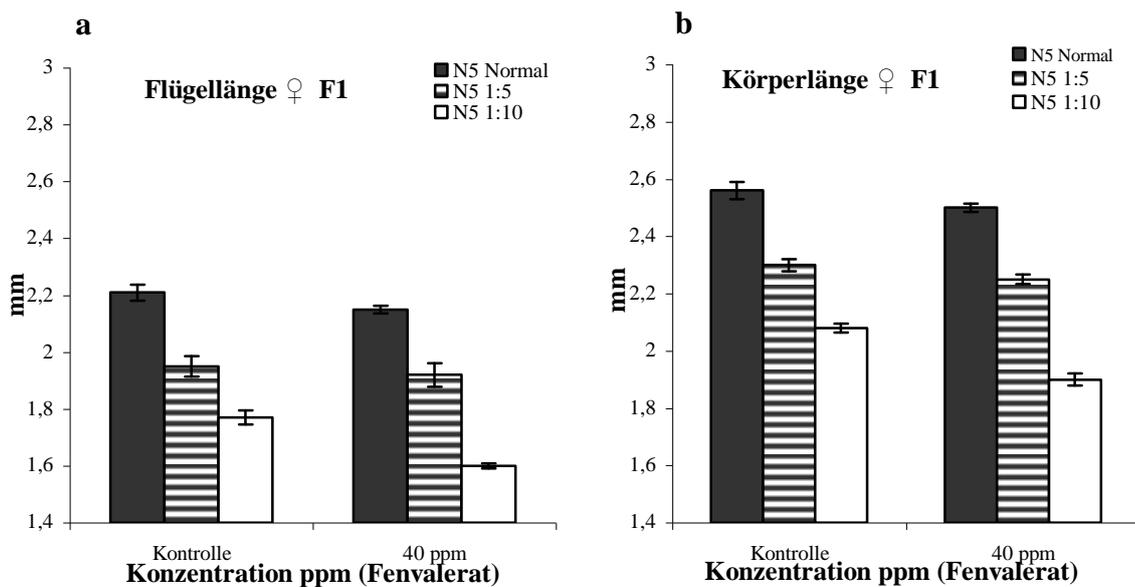


Abb. 2: (a): Eigröße und (b): Eizahl der F1 der Isogen-Linien von *Drosophila* N6 nach Fenvalerat-Behandlung des 3. Larvenstadiums für 24 Stunden mit 40 ppm bei 25°C in der F0 nachher wurde es die nächste F1-Generation vom Ei bis Adulte im normalen Futter und Hungerstress(1:5 und -1:10- Verdünnung) bei 25 °C eingesetzt.

N5-Isogenlinie



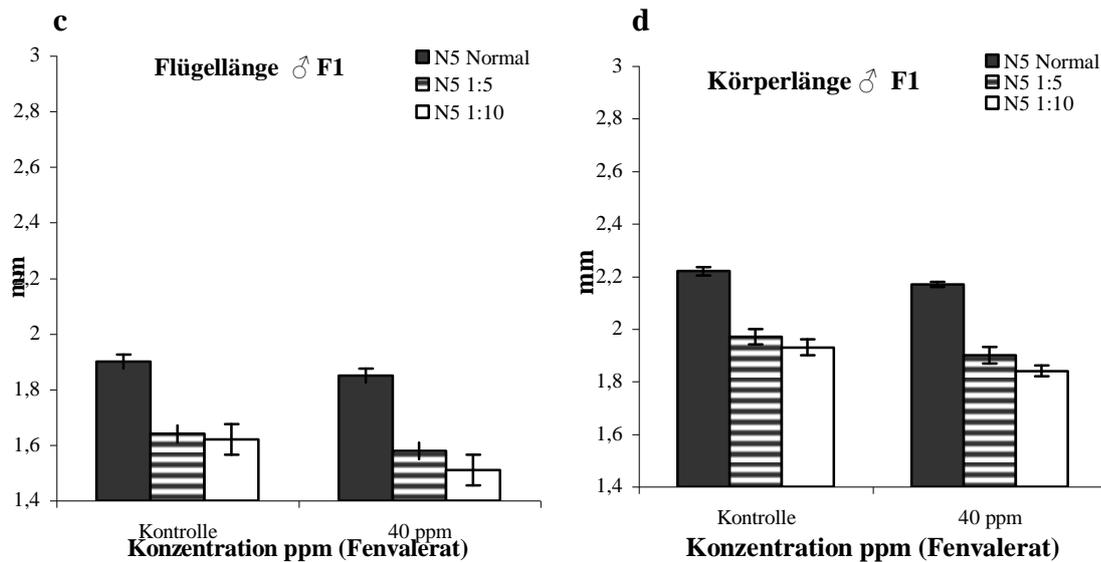


Abb. 3: (a): Flügelänge (b): Körperlänge für ♀ (c): Flügelänge (d): Körperlänge für ♂ der F1 der Isogenlinien von *Drosophila* N5 nach Fenvalerat-Behandlung des 3. Larvenstadiums für 24 Stunden bei 25 °C in der F0 nachher wurde es die nächste F1- Generation vom Ei bis Adulte im normalen Futter und Hungerstress(1:5 und -1:10- Verdünnung) bei 25 °C eingesetzt.

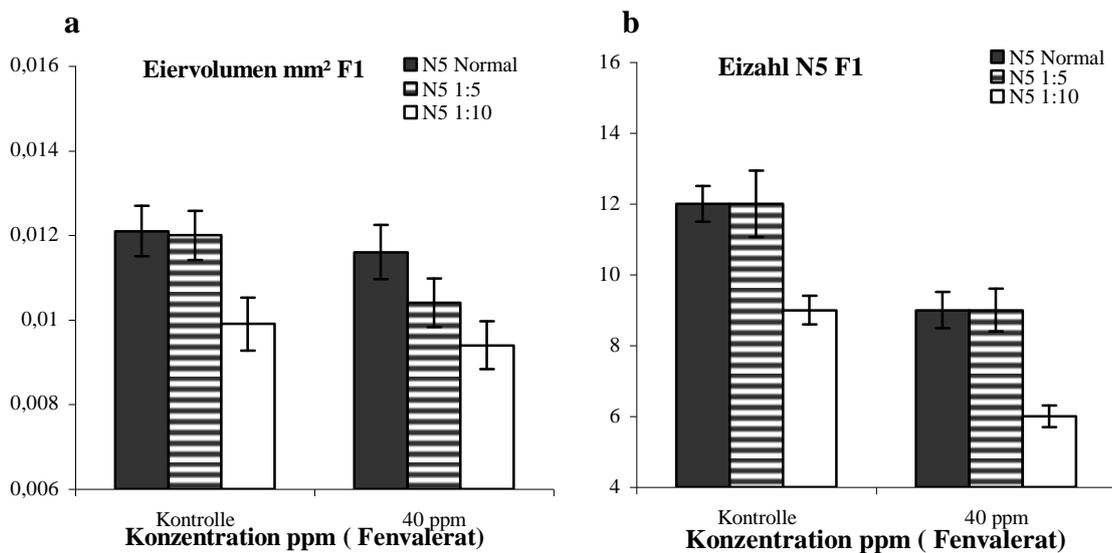


Abb. 4: (a): Eigröße und (b): Eizahl der F1 der Isogen-Linien von *Drosophila* N5 nach Fenvalerat-Behandlung des 3. Larvenstadiums für 24 Stunden mit 40 ppm bei 25 °C in der F0 nachher wurde es die nächste F1- Generation vom Ei bis Adulte im normalen Futter und Hungerstress(1:5 und -1:10- Verdünnung) bei 25 °C eingesetzt.

Weiße Augen-Isogenlinie

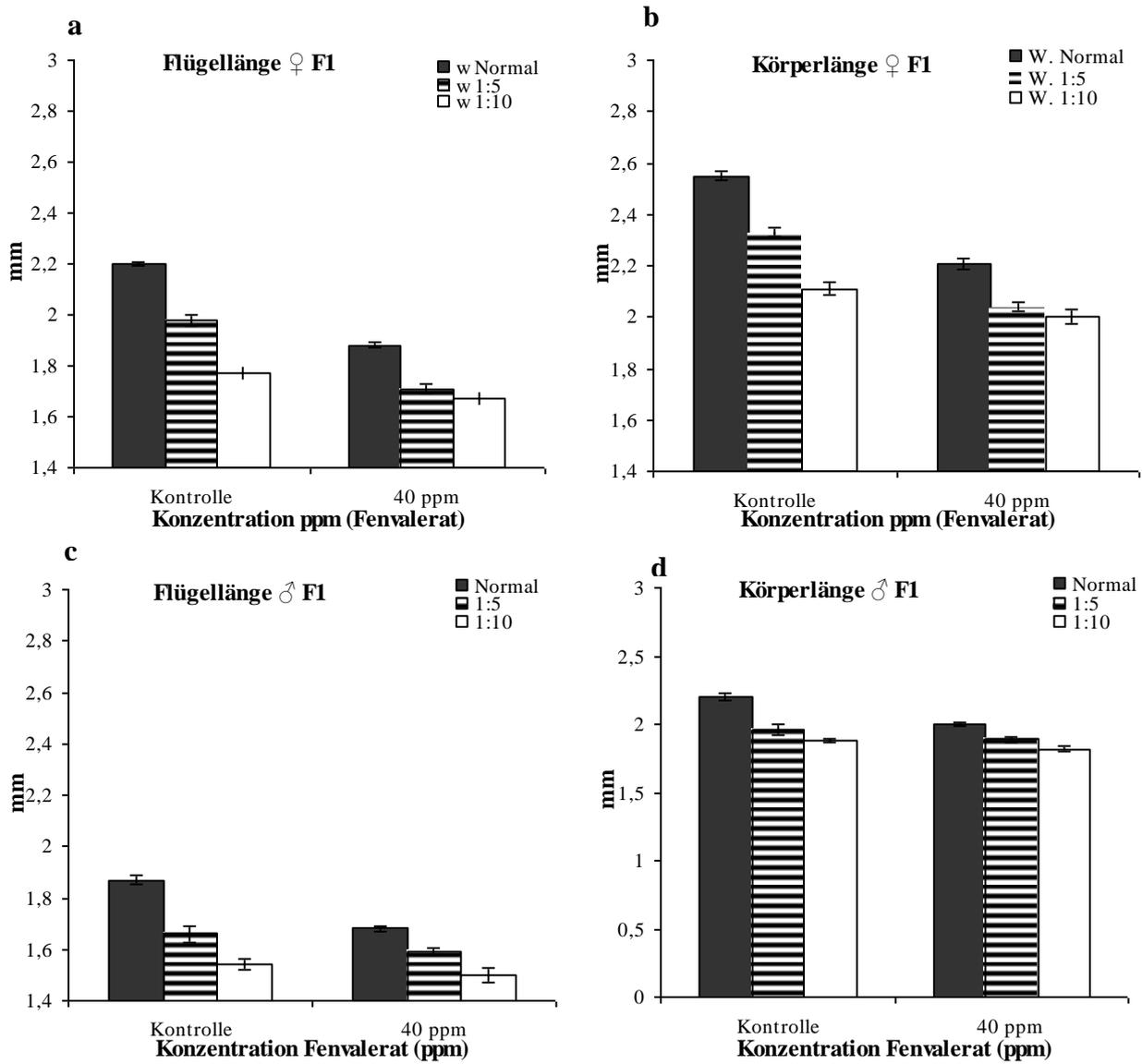


Abb. 5: (a): Flügelänge (b): Körperlänge für ♀ (c): Flügelänge (d): Körperlänge für ♂ der F1 der Isogenlinien von *Drosophila* weiße Augen nach Fenvalerat-Behandlung des 3. Larvenstadiums für 24 Stunden bei 25 °C in der F0 nachher wurde es die nächste F1- Generation vom Ei bis Adulte im normalen Futter und Hungerstress(1:5 und -1:10- Verdünnung) bei 25 °C eingesetzt.

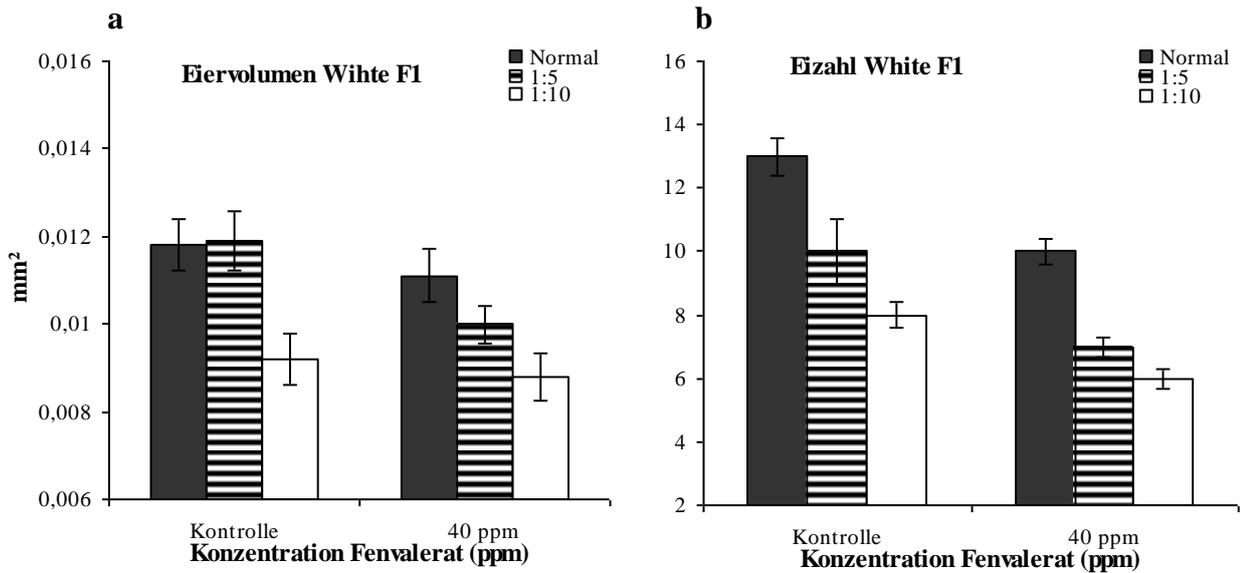


Abb. 6: (a): Eigröße und (b): Eizahl der F1 der Isogen-Linien von *Drosophila* weißen Augen nach Fenvalerat-Behandlung des 3. Larvenstadiums für 24 Stunden mit 40 ppm bei 25 °C in der F0 nachher wurde es die nächste F1- Generation vom Ei bis Adulte im normalen Futter und Hungerstress(1:5 und -1:10- Verdünnung) bei 25 °C eingesetzt.

Wildtyp-Tiere

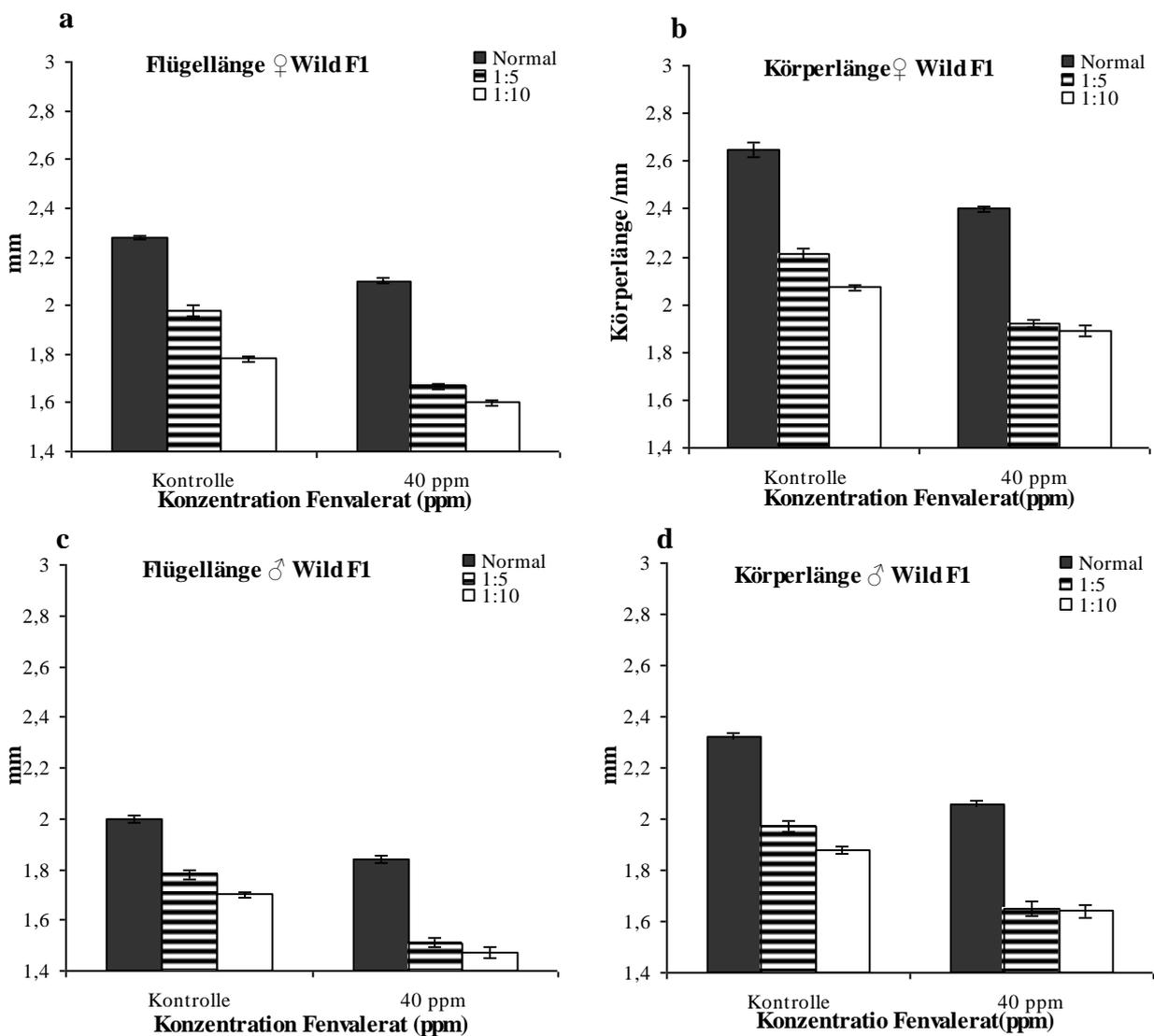


Abb.7: (a): Flügellänge (b): Körperlänge für ♀ (c): Flügellänge (d): Körperlänge für ♂ der F1 des Wildtyps von *Drosophila N5* nach Fenvalerat-Behandlung des 3. Larvenstadiums für 24 Stunden bei 25 °C in der F0 nachher wurde es die nächste F1- Generation vom Ei bis Adulte im normalen Futter und Hungerstress(1:5 und -1:10- Verdünnung) bei 25 °C eingesetzt.

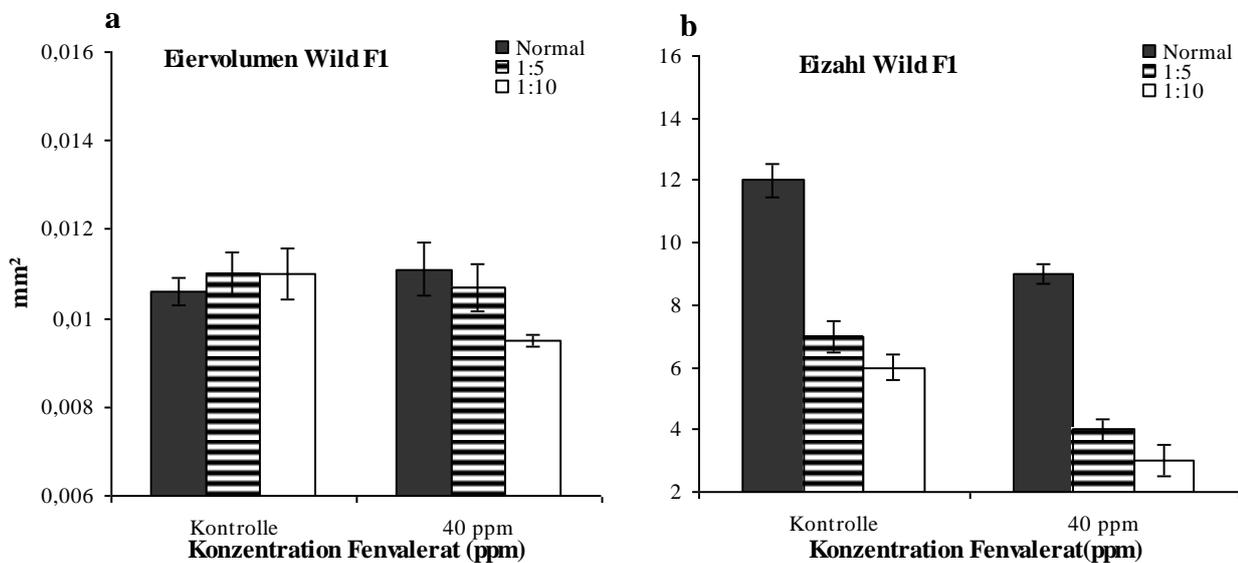


Abb. 8: (a): Eigröße und (b): Eizahl der F1 des Wildtyps von *Drosophila N5* nach Fenvalerat-Behandlung des 3. Larvenstadiums für 24 Stunden mit 40 ppm bei 25 °C in der F0 nachher wurde es die nächste F1- Generation vom Ei bis Adulte im normalen Futter und Hungerstress(1:5 und -1:10- Verdünnung) bei 25 °C eingesetzt.

7.1 Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt,

dass ich die beigefügte Dissertation selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel genutzt habe. Alle wörtlich oder inhaltlich übernommenen Stellen habe ich als solche gekennzeichnet,

dass ich zurzeit zu keinem anderen Promotionsverfahren zugelassen bin oder ein solches beantragt habe,

dass die Daten nicht im Zusammenhang mit anderen Promotionsverfahren veröffentlicht wurden.

Al Hafez, Abdul Munem

Halle (Saale), 08.04.2013

7.2 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich von Herzen bei all denjenigen bedanken, die dazu beigetragen haben, dass ich das Projekt „Promotion“ in Angriff genommen, durchgeführt und nun auch zu Ende gebracht habe. Daher möchte ich diese Gelegenheit nutzen, um meinen tiefen Dank zum Ausdruck zu bringen.

Ich danke meinem Doktorvater Herr Prof. Dr. **Hans-Jörg Ferenz**, der mir mit seinem Fachwissen zur Seite stand, viele seiner freien Abende für mich opferte und mir nicht zuletzt auch durch private Gespräche zu einem wertvollen und freundschaftlichen Wegbegleiter wurde.

Ich danke Herr PD Dr. Liess für die Beteiligung bei dem Versuche (Fenvaleratbestimmung) durch seine Finanzierung dieser Versuch.

Ich danke Frau Eva Schladitz für die ganze gute Hilfe und die Unterstützung im Labor.

Ich danke die Universität Al Furat (Syrien-Deir Ezzor), die sich finanziell an meinem Projekt beteiligte und ohne den ein erfolgreicher Abschluss nicht möglich gewesen wäre.

Und nicht zuletzt danke ich meinen Eltern und meinen Geschwester, die in jeglicher Hinsicht die Grundsteine für meinen Weg gelegt haben.

Mein letzter Dank gilt jedoch meiner Frau Batoul Al Hawija. Sie war zu jeder Zeit für mich und hat mich in all meinen schweren Zeiten, sei es im Rahmen meiner Dissertation oder der harten Zeiten begleitet und mich jederzeit mit voller Kraft unterstützt. Ich möchte mich hiermit für ihre unausschöpfbare Liebe und für Ihre Kraft in diesem Rahmen ganz herzlich bei ihr bedanken. Danke.....!!!

Und nicht vergessen meine kleine Tochter Bylasan, Gesendet von Gott zu mir als das beste Geschenk.

Al Hafez

Halle(Saale), 17.09.2013

7.3 Lebenslauf

⚡ persönliche information

Name	Abdul Munem Al Hafez
Geburtsdatum	12.01.1978
Geburtsort	Aleppo - Syrien
Staatsangehörigkeit	Syrisch
Familienstand	verheiratet
Anschrift	Kirchnerstr.14 06112 Halle(Saale)
E-Mail	Abdulm78@gmail.com

⚡ Studium

April 2007 –2013	Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg Promotion bei Herr Prof. Dr. Ferenz im Institut für Biologie/ Abteilung Tierphysiologie Thema: `` Subletale Wirkungen von Fenvalerat auf Non- Target-Insekten nach Kurzzeitexposition: Morphologische und physiologische Effekte bei Drosophila melanogaster Meigen (1830)``
April 2007 – April 2008	Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg Institut für Biologie/Tierphysiologie Qualifizierungsstudium in „Insektenphysiologie“ Abgeschlossen
September 2003 – Juni 2004	Universität Aleppo (Syrien) Fakultät für Agrarwissenschaft Diplom für Pflanzenschutz Abschlussdurchschnittsnote: 80,33 % und mit der Bewertung „sehr gut“ Diplomarbeit: „ Lebenszyklus von Kirche Wespen“
September 1998 – Juni 2003	Universität Aleppo (Syrien) Fakultät für Agrarwissenschaft Pflanzenschutz Abschlussdurchschnittsnote: 72,20% und mit der Bewertung „sehr gut“

:: Schulische Ausbildung

September 1994 – Juni 1999 **Gymnasium in der Schule in Aleppo (Syrien)**
Abschluss: Allgemeine Sekundarschule (Abitur)
(wissenschaftlicher Zweig)

:: Sprachen

Arabisch Muttersprache
Deutsch gut in Wort und Schrift
Englisch Grundkenntnisse

:: Berufserfahrung

May 2004- Juli 2005 Agr.-Ing. in der Agentur für landwirtschaftliche Forschung

:: Praktikum

20 April 2007- 20 Juni 2007 Praktikum in Allgemein Zoologie
15.10.2007 – 21. 11.2007 Blockpraktikum in Insektenphysiologie
Fachpraktikum im Institut für Biologie der
MLU

:: Sonstiges

IT-Kenntnisse Fortgeschritten: Microsoft Office

Interessen Sport, Computer, Musik, Reisen, Lesen, Freunde

Al Hafez

Halle (Saale), März 2013