

INAUGURAL-DISSERTATION

zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Naturwissenschaftlich-Mathematischen Gesamtfakultät
der
Ruprecht-Karls-Universität
Heidelberg

vorgelegt von

Diplom-Biologin Ute Bieberstein

aus: Ludwigshafen am Rhein

Tag der mündlichen Prüfung:

Die Wirkung estrogen aktiver Umweltchemikalien auf Fische

**– Untersuchungen reproduktionsrelevanter Parameter bei
Regenbogenforelle und Zebraquarienfisch –**

Gutachter:

HD Dr. Thomas Braunbeck
Zoologisches Institut I, Universität Heidelberg
Prof. Dr. Thomas Rausch
Botanisches Institut, Universität Heidelberg

*Diese Arbeit ist meinem Vater gewidmet, der
ihre Fertigstellung leider nicht mehr erlebte*

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde am Zoologischen Institut I der Universität Heidelberg im Zeitraum von 1996 bis 2000 erstellt und vom Umweltbundesamt unter Projektnummer 216 02 001/01 gefördert.

Ich bedanke mich bei den Mitarbeitern des Zoologischen Institut I für die große Hilfsbereitschaft und für die gute Zusammenarbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn HD Dr. Thomas Braunbeck für sein in mich gesetztes Vertrauen, seine Hilfe und Diskussionsbereitschaft, sowie für den wissenschaftlichen Freiraum, auch eigene Gedanken und Ideen verfolgen zu können. Insbesondere möchte ich mich bei ihm für die Unterstützung bei der Erstellung druckreifer Manuskripte herzlich bedanken.

Herrn Prof. Dr. Thomas Rausch danke ich für die Übernahme des Korreferats.

Ganz herzlich danke ich Monika Kempf und Jens Konradt für ihre treue Freundschaft und die kleinen und großen Hilfen sowie dafür, dass sie immer für mich da waren.

Ein ganz besonderes Dankeschön möchte ich Thomas Berbner aussprechen, der mich während meiner Dissertationszeit nie im Stich gelassen hat und mir immer hilfreich zur Seite stand.

Besonders bedanken möchte ich mich auch bei Herrn HD Dr. Günter Vogt für seine Diskussionsbereitschaft und für die zahlreichen Ratschläge und Hilfen.

Mein Dank gilt der gesamten Arbeitsgruppe, namentlich: Thomas Berbner, Dr. Dirk Brandis, Henner Hollert, Markus Islinger, Susanne Knörr, Erik Leist, Sascha Pawlowski, Andy Rastall, Thorsten Uhde, Thomas Wehe, Bernhard Wetterauer sowie den früheren Mitgliedern der Arbeitsgruppe: Dr. Helge Arnold, Dr. Yasmina Oulmi, Dr. Marija Strmac, Dr. Andreas Schnurstein, Natalie Winn und Dr. Thomas Zahn.

Im Besonderen danke ich Erik Leist für wertvolle Hilfe bei der Durchführung der Life-Cycle-Experimente.

Frau Adam möchte ich für ihren Einsatz bei den Fotoarbeiten danken.

Frau Kempendorf und Frau Mummert danke ich für ihre Hilfe im Labor.

Michael danke ich für die liebevolle Unterstützung und Hilfe, vor allem während einer der schwersten Phasen meines Lebens.

Mein besonderer Dank gilt auch meinen Eltern, die mir das Biologiestudium ermöglichten.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	<i>Ziele der vorliegenden Arbeit</i>	6
2	Material und Methoden	11
2.1	<i>Immunhisto- und Immuncytochemie</i>	11
2.1.1	Regenbogenforelle (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	11
2.1.2	Stimulation der Vitellogenese	11
2.1.3	Probenaufbereitung	11
2.1.4	Immunhistochemische Lokalisierung von Vitellogenin	12
2.1.5	Immuncytochemische Lokalisierung von Vitellogenin	13
2.1.6	Aufbereitung der Proben für die konventionelle Elektronenmikroskopie	13
2.1	<i>Life-Cycle-Versuche</i>	14
2.2.1	Der Zebrafisch (<i>Danio rerio</i>)	14
2.2.2	Herstellung der Testlösungen	17
2.2.3	Bestimmung der akuten Toxizität	20
2.2.4	Exposition der Eier und Larven unter statischen Bedingungen	20
2.2.5	Exposition der juvenilen bis adulten Tiere im Durchflusssystem	20
2.2.6	Pulsversuche	26
2.2.7	Statistik	26
3	Ergebnisse	27
3.1	<i>Immunhistochemischer Nachweis von Vitellogenin in der Leber der Regenbogenforelle (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)</i>	27
3.1.1	Einleitung: Vitellogeninsynthese – ein Biomarker für Estrogen- und Xenoestrogen-Belastung?	27
3.1.2	Nachweis von Vitellogenin in der Leber und den Ovarien der Regenbogenforelle	28
3.1.3	Diskussion	37

3.2	<i>Der Einfluss von Nonylphenol auf den Zebrabärbling (Danio rerio)</i>	39
3.2.1	Nonylphenol – eine Substanz mit hormonähnlicher Wirkung?	40
3.2.2	Life-Cycle-Test mit Nonylphenol	41
3.2.3	Untersuchung der Wirkung von Nonylphenol im Early-Life-Stage-Test	91
3.2.4	Einfluss kurzzeitiger Belastung mit Nonylphenol auf das Geschlechterverhältnis	94
3.2.5	Diskussion der Wirkung von Nonylphenol auf den Zebrabärbling	94
3.3	<i>Der Einfluss von Nonylphenol auf den Zebrabärbling (Danio rerio)</i>	109
3.3.1	Octylphenol – Xenoestrogen und/oder Toxin?	110
3.3.2	Life-Cycle-Test mit Octylphenol	111
3.3.3	Untersuchung der Wirkung von Octylphenol im Early-Life-Stage-Test	137
3.3.4	Diskussion der Wirkung von Octylphenol auf Zebrabärblinge	138
3.4	<i>Der Einfluss von Dehydroepiandrosteron (DHEA) auf den Zebrabärbling</i>	145
3.4.1	DHEA – ein Zwischenprodukt des Steroidmetabolismus: „Verjüngungspille“ oder „endocrine disruptor“	146
3.4.2	Life-Cycle-Test mit DHEA	147
3.4.3	Diskussion der Wirkung von DHEA auf den Zebrabärbling	168
4	Zusammenführung der Befunde	173
5	Zusammenfassung	179
6	Literatur	181
7	Publikationen und Tagungsbeiträge	203