

Biologisches Effektmonitoring mit Aalmuttern aus Nord- und Ostsee

Histologische Gonadenuntersuchung

FKZ 301 02 023



Im Auftrag des Umweltbundesamtes

Juni 2007

Auftragnehmer:

Institut für Angewandte Ökologie
Forschungsgesellschaft mbH
Broderstorf bei Rostock
Alte Dorfstr. 11 · 18184 Neu Broderstorf
Tel: 038204/ 6180 Fax: 038204/ 61810
E-mail: info@ifaoe.de

Institutsleiter: Prof. Dr. H. Sordyl

Projektleitung: Dr. Jens Gercken
und Bericht

Bearbeitung: J. Gercken
M. Sundt

Extended Abstract

Eelpout (*Zoarces viviparus*), also known as viviparous blenny has been proposed by HELCOM and OSPARCOM as a favourite sentinel species for monitoring of the impacts of marine environmental pollution. It has also been selected by the German Environmental Specimen Bank (ESB) as a bioindicator for the presence of potential hazardous substances in coastal waters.

The present study investigated the prevalence of gonadal disorders in eelpout, e.g. intersex and atresia. All gonad samples originated from specimens collected in spring 2006 at sampling areas of the German ESB routine contaminant monitoring. Two samples were taken in May from the German Wadden Sea National Parks (Varel, Büsum), the third sample was collected in June from the Bodden National Park of Western Pomerania at the German Baltic Sea (Darss). Muscle and liver tissue of fish selected for gonad analysis were pooled for future chemical analysis.

The testes of male eelpout were examined by light microscopy. Gonads from sampling sites Varel and Büsum showed a less developed gonadal stage than those from the station Darss. The observed difference is in agreement with sampling time, i.e. gonads sampled in May are less developed. Intersex (ovotestis) was recorded in samples from all stations. The prevalence was 15% at Varel (n=47) and 24% at Büsum (n=33). The highest prevalence (43%) was observed at the Baltic station Darss. However, because of the low sample size (n=7) this result should be treated with caution. In general, the degree of intersexuality was low with only few single primary oocytes dispersed in normally developed testis tissue of all fish sampled. There was no substantial difference in severity of intersex between the sampling sites. No other pathological condition was observed in testes.

Ovaries from female eelpout were examined using macroscopical and histological methods. The degree of gonadal development did not vary between the North Sea stations but was slightly increased in females from the Darss station sampled at a later date. In all samples the most mature oocytes were in an advanced vitellogenic stage. It was easy to notice by binocular observation that almost all of the ovaries showed signs of follicular and oocyte degeneration. Histological examination revealed typical characteristics of follicular atresia. Most commonly late stages of atresia resulted in severe degeneration/ resorption of the follicle and oocyte. In samples from Varel (n=27) and Büsum (n=22) 100% of the female eelpout were affected by atresia. No minor form of atresia was observed, the degree of atresia was either moderate or severe. The prevalence of atresia at the Baltic sampling site (n=27) was 93% with a slightly lower intensity of degeneration in comparison with the sampling sites in the Wadden Sea.

This study is the first evidence of the presence of gonadal disorders in eelpout from the German North Sea. Furthermore, the results are in good agreement with previous field work of the Institute of Applied Ecology Ltd. and confirm the presence of intersex and atresia in male and female eelpout from the German Baltic. Additional monitoring and research are needed to investigate possible causes of the unexpectedly high prevalence of atresia in developing ovaries of female eelpout.

Keywords: Germany, Wadden Sea, Baltic Sea, eelpout, intersex, atresia, biological effects monitoring

Inhaltsverzeichnis

1	Veranlassung und Ziel der Untersuchung	1
2	Thematische Einführung	2
2.1	Bioindikator Aalmutter	2
2.2	Störungen der Gonadenentwicklung – Intersex und Atresie	3
3	Material und Methoden	6
3.1	Probenmaterial	6
3.2	Histologische Aufarbeitung der Proben	6
3.3	Auswertung der Proben	7
4	Ergebnisse und Diskussion	8
4.1	Biometrische Begleitdaten	8
4.2	Histologie des Hodens und Auftreten von Intersex bei männlichen Aalmuttern	8
4.3	Degenerative Veränderungen im Ovar weiblicher Aalmuttern (Atresie)	15
5	Zusammenfassung, Schlussfolgerungen und Empfehlungen	24
6	Tabellenanhang	27
7	Literaturverzeichnis	33

1 Veranlassung und Ziel der Untersuchung

Die Umweltprobenbank des Bundes (UPB) dient der langfristigen Sammlung und Lagerung von Humanproben sowie Proben von Tieren und Pflanzen, um diese für spätere, retrospektive Analysen zur Schadstoffbelastung der Umwelt zu nutzen. Für diesen Zweck werden geeignete terrestrische und aquatische Indikatororganismen in den wichtigsten Ökosystemtypen beprobt (BMU, 2000).

In den Küstengewässern von Nord- und Ostsee dient die Aalmutter (*Zoarces viviparus*), als Konsument zweiter Ordnung, der UPB als Bioindikator zur Ermittlung der Schadstoffbelastung der marinen Umwelt. Die Probenahme der Fische erfolgt jährlich im Frühjahr an der Station Darßer Ort an der mecklenburgisch-vorpommerschen Küste und in der Nordsee im Wattenmeer bei Varel und Büsum. Den Tieren werden Muskel- und Leberproben für die Archivierung in der UPB entnommen. Außerdem werden biometrische Begleitdaten zur Charakterisierung der Proben erhoben (Umweltbundesamt, 1996).

Bereits seit dem letzten Jahrzehnt gibt es weltweit Bestrebungen, das traditionell chemisch-analytisch ausgerichtete Expositionsmonitoring mit einem biologischen Effektmonitoring (Wirkungsmonitoring) zu verbinden, um so einem stärker ökosystemaren Ansatz der Umweltüberwachung gerecht zu werden. Diese konzeptionelle Neuorientierung trägt der Tatsache Rechnung, dass die Kriterien für die Qualität eines Ökosystems primär biologischer Natur sind, auch wenn sie gewöhnlich mit chemischen Parametern beschrieben werden. Um die Reaktionen ausgewählter Bioindikatoren auf Schadstoffstress zu erfassen, bedient man sich beim Effektmonitoring so genannter Biomarker, die als „Schnittstelle“ zwischen chemischer Umweltanalytik und Parametern auf der Ökosystemebene fungieren.

Mit der Aalmutter hat die UPB bereits einen Bioindikator gewählt, der sich auch hervorragend für biologische Wirkungsuntersuchungen eignet. Wie mehrjährige Feldstudien des Instituts für Angewandte Ökologie GmbH (IfAÖ) in den Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern gezeigt haben, eignet sich die Aalmutter besonders gut zur Erfassung von reproduktionstoxischen Stress- und Schadstoffeffekten. So wurden bei männlichen Aalmuttern überraschend häufig Anzeichen einer Verweiblichung in der Gonade beobachtet. Die Intersexualität äußerte sich im Auftreten von weiblichen Eizellen im ansonsten normal entwickelten Hodengewebe. Bei weiblichen Aalmuttern traten unerwartet häufig degenerative Veränderungen der Eizellen im Ovar auf (IfAÖ, 2007).

Vor dem Hintergrund dieser Befunde wurde das IfAÖ vom Umweltbundesamt beauftragt, eine Gonadenuntersuchung an den Aalmuttern durchzuführen, die im Rahmen des regulären UPB-Monitorings 2006 an den drei UPB-Stationen beprobt worden waren.

Das Ziel der vorliegenden Studie bestand darin, die Gonaden der männlichen und weiblichen Aalmuttern auf strukturelle Veränderungen zu untersuchen. Bei den Männchen sollte primär das Vorkommen von weiblichen Geschlechtszellen (Oocyten) im Hodengewebe anhand histologischer Präparate erfasst werden. Diese als Intersex (Mischgonade) bekannte Anomalie gilt als Biomarker für eine Exposition gegenüber Substanzen mit hormoneller Aktivität. Bei den Ovarien der Weibchen galt die kombinierte makroskopische und histologische Untersuchung dem potenziellen Auftreten von abgestorbenen und resorbierten Oocyten (Atresie). Eine deutliche Ausprägung von Atresie wird beim Effektmonitoring als unspezifischer Stressbiomarker bei Fischen gewertet.

2 Thematische Einführung

2.1 Bioindikator Aalmutter

Die Aalmutter (*Zoarces viviparus*) kommt als Grundfisch in den flachen Küstenbereichen von Nord- und Ostsee vor. Ihre Lebensweise und Reproduktionsbiologie machen sie zu einem besonders gut geeigneten Bioindikator für das marine Umweltmonitoring (Abb.1). Die Aalmutter ist vergleichsweise standorttreu (Vetemaa, 1999) und ihr Gesundheitszustand repräsentiert damit die Belastung durch äußere Stressoren an einer Probenahmestation. Außerdem ist sie wegen ihrer Toleranz gegenüber Brackwasser auch in den besonders belasteten Ästuargebieten anzutreffen. Wegen ihrer viviparen (lebendgebärenden) Fortpflanzung ist die Aalmutter besonders für Untersuchungen zum Fortpflanzungserfolg und zum Nachweis von reproduktionstoxischen Effekten bei der Nachkommenschaft prädestiniert (Neuman et al., 1999). Die Ovulation und innere Befruchtung erfolgt im August und im Verlauf des Septembers schlüpfen die Larven im Ovar. Nach einer Tragzeit von insgesamt knapp fünf Monaten werden die aalartigen Larven als voll entwickelte und geschlechtsdifferenzierte Jungfische von etwa 45-55mm Länge geboren (Götting, 1976).

Die etwa 5-monatige Embryonal- und Larvalentwicklung lässt sich in eine Entwicklungsphase vor dem Schlupf, die Dottersackphase nach dem Schlupf und einen längeren Abschnitt nach dem Verbrauch des Dottersacks einteilen. Während der beiden letzten Stadien ernähren sich die Larven von Nährstoffen, die vom mütterlichen Organismus in die Ovarialflüssigkeit abgegeben werden (Korsgaard, 1986; Korsgaard & Anderson, 1985). Über diesen maternalen-fetalen Transfer können auch Schadstoffe in das Ovar gelangen und die Brut schädigen (Rasmussen et al., 2002).

Wegen ihrer vorteilhaften Eigenschaften wird die Aalmutter von HELCOM und OSPARCOM als Bioindikator für das Monitoring in Küstengewässern empfohlen. In Schweden ist sie bereits seit 1989 Indikatorspezies im Rahmen des nationalen Küstenmonitorings (Neumann et al., 1999). Seit einigen Jahren wird sie auch in Dänemark als Bioindikator zum Nachweis von Reproduktionsstörungen im marinen Milieu verwendet (Strand et al., 2004). Im Rahmen dieser Monitoring-Programme wird jedoch nur das Auftreten von Entwicklungsstörungen bei der Brut trächtiger Weibchen als Effektparameter untersucht. In den Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern erfolgten derartige Untersuchungen zum „reproductive success“ der Aalmutter im Rahmen mehrerer Effektmonitoring-Pilotstudien (Gercken et al., 2006; IfAÖ, 2007).

Neben dem Monitoring von Schädigungen der Brut können auch Untersuchungen an der heranreifenden Gonade wichtige Ergebnisse zum Vorkommen von Reproduktionsstörungen liefern. Das IfAÖ führte erstmalig umfangreichere Studien über potenzielle Störungen der Gonadenentwicklung bei Aalmuttern in den Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern durch. Dabei wurde ein überraschend häufiges Auftreten von Intersex (Mischgonade) bei männlichen Tieren (Gercken & Sordyl, 2002; IfAÖ, 2007) und von degenerativen Veränderungen im Ovar (Atresie) von weiblichen Aalmuttern gefunden (IfAÖ, 2007).

Derartige Störungen der Gonadenentwicklung lassen sich vorzugsweise im Mai und Juni erfassen, wenn sich die Gonade bereits in einem fortgeschrittenen Reifestadium befindet. Da in diesem Zeitraum auch die jährlichen Beprobungen von Aalmuttern durch die UPB erfolgen, bietet sich die Möglichkeit an, anhand von begleitenden Gonadenuntersuchungen die chemisch/analytische Ausrichtung der UPB um Aspekte eines Wirkungsmonitorings zu erweitern.



Abb. 1: Aalmutter
(*Zoarces viviparus*)

2.2 Störungen der Gonadenentwicklung – Intersex und Atresie

Fortpflanzungs- und Entwicklungsstörungen zählen zu den schwerwiegendsten Schädereffekten der anthropogenen Belastung aquatischer Lebensräume, da sie sich in letzter Konsequenz auf den Fortbestand einer Population auswirken können. Umweltstressoren können entweder eine direkte toxische Wirkung auf die Keimzellen ausüben oder endokrine Wechselwirkungen beeinflussen und dadurch die Reproduktion und die frühe Entwicklung der Nachkommen stören (Arcand-Hoy & Benson, 1998; Greeley, 2002; Kime, 1995).

Das Vorkommen von Reproduktionsschäden bei Wildpopulationen von Fischen ist durch zahlreiche Feldstudien gut dokumentiert. Dabei richtet sich die Ursachenermittlung seit ungefähr fünfzehn Jahren insbesondere auf die Kontamination der Gewässer mit hormonell aktiven Fremdstoffen (endocrine disrupters), die als potenzielle Auslöser verschiedener Fortpflanzungsstörungen gelten (Arcand-Hoy & Benson, 1998; NRC, 1999; Pait & Nelson, 2002).

Endokrine Wirkungen von natürlichen und anthropogenen Substanzen auf Fische sind mittlerweile gut dokumentiert. Wegen den zuerst beobachteten Anzeichen einer Verweiblichung männlicher Fische, konzentrierten sich zahlreiche Feld- und Laborstudien anfangs auf Stoffe mit estrogenen Wirkung (Xenoestrogene). Mittlerweile sind auch Effekte androgen wirkender Stoffe beschrieben. Die Literatur über Wirkungen von hormonell aktiven Schadstoffen ist in den letzten Jahren sprunghaft angestiegen. Auf folgende Übersichten sei an dieser Stelle verwiesen: Jobling & Tyler (2003), Matthiessen, 2003; Pait & Nelson (2002), Sumpter (2005).

Unter den Biomarkern, die als Indikator für eine Störung der hormonellen Regulation gelten besitzt das Auftreten von Intersexualität bei männlichen Fischen eine besondere Relevanz. Beim Intersex-Phänomen handelt es sich um das Vorkommen von weiblichen Keimzellen (Oocyten) im zumeist normal männlich geprägten Hodengewebe. Derartig veränderte Hoden werden auch als „Ovotestis“ oder „Mischgonaden“ bezeichnet. Als Ursache dieser pathologischen Veränderung wird eine hormonelle Störung der Gametogenese durch endokrin aktive Substanzen im Wasser angesehen. Labor- und Freilandbefunde sprechen dafür, dass es sich dabei vorwiegend um estrogen aktive Substanzen handelt (Pait & Nelson, 2002).

Ergebnisse aus mehreren Feldstudien an Fischen belegen einen starken Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Intersex bei männlichen Tieren und hormonell aktiven Substanzen in der Umwelt. So wurden in England bei der Plötze (*Rutilus rutilus*) hohe Prävalenzen von Intersex in abwasserbelasteten Fließgewässern ermittelt (Jobling et al., 1998). In einer weiteren Untersuchung in englischen Küstengewässern wurde Intersex bei männlichen Flundern (*Platichthys flesus*) in schadstoffbelasteten Ästuaren beobachtet (Allen et al., 1999). In beiden Fällen korrelierte die Intersex-Prävalenz mit einer erhöhten Gewässerbelastung durch Kläranlagenabwässer. In Mecklenburg-Vorpommern wurden bei Stichlingen im Ableitergraben einer Kläranlage (Gercken, 2000) und bei Barschen in den Fließgewässern Uecker und Randow (Gercken & Sordyl, 2002) männliche Tiere mit Intersex-Hoden nachgewiesen.

Durch Untersuchungen des IfAÖ wurde bekannt, dass Aalmuttern in den Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern überraschend häufig Intersex aufweisen. Dabei wurde Intersex auch in Gebieten gefunden, die als gering mit Schadstoffen belastet gelten (IfAÖ, 2007). Diese Einschätzung beruht aber hauptsächlich auf Daten zur Bioakkumulation „klassischer“ Schadstoffe, wie beispielsweise Schwermetalle und polychlorierte Biphenyle (PCB). Wie erst wenige neuere Untersuchungen zeigen, weisen die Küstengewässer von Mecklenburg-Vorpommern auch analytisch nachweisbare Konzentrationen von endokrin aktiven Stoffen auf, die im Zelltest eine biologische Wirkung hervorrufen (Beck et al., 2006 a+b). Diese „neuen“ Schadstoffe wurden auch in Gebieten mit geringerem anthropogenem Einfluss, wie am Darßler Ort, in ähnlich hohen Konzentrationen wie in der stärker belasteten Wismar-Bucht gemessen. Angesichts dieser neuen Erkenntnisse erscheint es nicht mehr so überraschend, dass Intersex auch in vermeintlich weniger umweltbeeinflussten Küstengebieten auftritt.

Wie bereits kurz erwähnt wurde bei weiblichen Aalmuttern von der mecklenburgisch-vorpommerschen Küste ein relativ häufiges Vorkommen von degenerativen Veränderungen im Ovar beobachtet (IfAÖ, 2007). Histologisch zeigen diese Degenerationen das Bild einer typischen Atresie. Darunter wird das Absterben von Eizellen (Oocyten) und die Resorption des Zellmaterials durch die umgebenden Follikelzellschichten verstanden. Es handelt sich um einen Prozess, bei dem das Gewebe sein Wachstum einstellt, degeneriert und schließlich seine Funktion verliert. Im Gegensatz zur nekrotischen Zerstörung von Gewebe handelt es sich bei der Atresie um einen physiologisch regulierten Prozess der Rückbildung von Eizellen (Kime, 1995). Bei oviparen Fischen tritt eine Oocyten-Atresie häufig am Ende der Laichzeit auf. Dabei werden die im Ovar verbliebenen, nicht abgelaichten Eier resorbiert und so dem Stoffwechsel des Fisches wieder zugeführt. Wie eine Untersuchung von Wood & van der Kraak (2001) zeigt, sind an der Entstehung von Atresie apoptotische Prozesse („programmierter Zelltod“) beteiligt.

Ursprünglich war das Phänomen der Atresie nur für fischereibiologische Fragestellungen z.B. im Hinblick auf die Fruchtbarkeit (Fekundität) einer Fischpopulation von Interesse. In den letzten Jahren geriet die Atresie aber immer mehr in das Blickfeld von Ökotoxikologen und des Umweltmonitorings. Man hatte nämlich beobachtet, dass Fische in besonders stark anthropogen belasteten Lebensräumen auch zu „unnormalen“ Zeiten im Reproduktionszyklus ungewöhnlich stark ausgeprägte atretische Ovar-Degenerationen aufwiesen. Außerdem traten in Laborversuchen nach einer Schadstoffexposition atretische Oocyten auf. Zu den Auslösern atretischer Veränderungen zählen unter anderem auch endokrin wirkende Umweltchemikalien (Blazer, 2002; Janz et al., 1997; Janz et al., 2001; Leino et al., 2005) und Methylquecksilber (Drevnick et al., 2006).

Vor diesem Hintergrund wird der biologische Endpunkt „Atresie“ mittlerweile häufiger als Biomarker für das biologische Effektmonitoring herangezogen. Beispielsweise wird sie in den USA im Rahmen des nationalen „Biomonitoring of Environmental Status and Trend Programms (BEST)“ als Indikator für eine durch Umweltstress hervorgerufene Beeinträchtigung der Reproduktion betrachtet (Schmitt & Dethloff, 2000). Diesbezügliche Untersuchungen betreffen z.B. die Fischpopulationen in den großen Flüssen des Landes wie dem Columbia River (Hinck et al., 2006) und den Yukon (Hinck et al., 2007).

Insgesamt betrachtet gilt die Atresie als unspezifischer Indikator für eine Stress- und/oder Schadstoffwirkung (Blazer, 2002). Wie der Biomarker „Intersex“ ist auch die Atresie von besonderer ökologischer Relevanz, da sie ebenfalls einen Bezug zur Reproduktion besitzt und somit potenziell auch die Integrität der Population betrifft.

3 Material und Methoden

3.1 Probenmaterial

Die Organe für die histologische Untersuchung stammten von Aalmuttern, die von Mitarbeiter des Fachbereichs Biogeographie der Universität Trier im Rahmen des jährlichen Schadstoffmonitorings der Umweltprobenbank beprobt wurden. Im Mai 2006 erfolgte die Probenahme der Stationen Varel und Büsum (Hauptprielsystem Meldorfer Bucht) in der Nordsee. Im Juni wurde eine Ostseeprobe an der Station Darßer Ort im Küstengebiet vor der Halbinsel Fischland/Darß/Zingst genommen.

Das Institut für Angewandte Ökologie GmbH (IfAÖ) erhielt folgende Anzahl fixierter Proben für die vorliegende Gonadenuntersuchung:

		<u>Hoden</u>	<u>Ovar</u>
Varel	(Transekt Varel-Mellum):	n=46	n=27
Büsum	(Hauptprielsystem Meldorfer Bucht):	n=33	n=25
Darßer Ort	(NP Vorpommersche Boddenlandschaft):	n=7	n=28

Fixierung (erfolgte durch Probennehmer der Universität Trier)

- 20 min in 4% Formaldehydlösung (pH 7,4-7,6)
- 12 – 20h in frischer Formaldehydlösung
- 2 x 30min in 0,1 M Cacodylatpuffer (0,1 M Cacodylsäure Natriumsalz(-Trihydrat) in *A. dest.*, 4°C, pH 7,6
- 0,1 M Cacodylatpuffer (pH 7,6) mit 2,5% Glutardialdehyd versetzt. Lagerung bei 4°C bis zur histologischen Aufarbeitung.

3.2 Histologische Aufarbeitung der Proben

Einbettung in Kunstharzmedium (Technovit 7100, Fa. Kulzer)

- Auswaschen des Fixiermediums mit *A. demin.* und anschließende Dehydratation in aufsteigender Ethanol-Reihe.
- Inkubationen in Ethanol(100%)-Monomerlösung (1:1, V:V).
- Inkubationen in 100%-Monomerlösung.
- Einbettung in Einbettformen in frischer Monomerlösung nach Zugabe eines Katalysators zum Start der Polymerisationsreaktion.
- Jeder Strang des paarigen Hodens wurde in 3 Stücke geteilt und diese gemeinsam eingebettet.

Anfertigung der Schnittpräparate

- Anfertigung von 3µm dicken Querschnitten mit einem motorisch angetriebenem Mikrotom (Microm HM-360, Walldorf). Die Schnitte erfolgten in 3 verschiedenen Ebenen des Gewebeblocks, so dass von jedem einzelnen Hodenstrang 9 Querschnitte bzw. vom gesamten Hoden 18 Querschnitte zur mikroskopischen Befundung zur Verfügung standen.
- Färbung der Schnitte mit Hämalaun-Eosin und mit Toluidinblau.

3.3 Auswertung der Proben

Die Hodenschnitte wurden mit einem Lichtmikroskop (Olympus BH-2) mit angeschlossener Digitalkamera (Olympus Camedia C-5050 Zoom) hinsichtlich des Reifegrades, des Auftretens von Intersex und weiterer histopathologischer Veränderungen untersucht. Für jeden der 18 einzelnen Querschnitte eines Hodens wurde die Bewertung des Grades von Intersex anhand der in Tabelle 1 aufgeführten Kriterien vorgenommen.

Tab. 1: Kriterien zur Bewertung der Intensität der Intersex-Ausprägung

Rang	Entwicklungsstatus der Oocyten*	Rang	Verteilung der Oocyten
1	frühe primäre Oocyte	1	eine einzelne Oocyte
2	späte primäre Oocyte	2	mehr als eine vereinzelt Oocyte (multifocal)
3	Cortical-Alveolus-Stadium	3	2 bis 5 assoziierte Oocyten (Cluster)
4	vitellogene Oocyte	4	mehr als 5 assoziierte Oocyten (strangförmige Anordnung)

* Zur Histologie der Oocyten-Stadien siehe Tab.4.

Um die Intensität von Intersex für den gesamten Hoden zu bewerten, wurde die Summe der Produkte aus den Rangzahlen des Oocytenstadiums (OS) und der Oocyten-Verteilung (OV) durch die Anzahl untersuchter Hodenquerschnitte (n=18) geteilt.

$$IS - Index = \frac{\sum [OS \times OV]}{n}$$

Die Bewertung von degenerativen Veränderungen im Ovar (Atresie) erfolgte in der Regel sowohl anhand histologischer Schnittpräparate als auch mit dem Binokular ermittelter makroskopischer Befunde. Bei einigen sehr kleinen Ovarien stand nur Gewebematerial für die histologische Untersuchung zur Verfügung. Die Intensität des Vorkommens atretischer Eizellen bzw. Follikel wurde immer durch denselben Untersucher den folgenden drei Kategorien zugeordnet:

- Schweregrad 1: vereinzelt fokales Auftreten degenerierter Eizellen
- Schweregrad 2: regelmäßiges Auftreten degenerierter Eizellen im gesamten Ovar
- Schweregrad 3: sehr häufiges Auftreten degenerierter Eizellen (ca. >50%)

4 Ergebnisse und Schlussfolgerungen

4.1 Biometrische Begleitdaten

In Tabelle 2 sind die mittleren Längen und Gewichte der männlichen und weiblichen Aalmuttern für jede untersuchte Probe zusammengefasst. Die entsprechenden Einzelwerte sind im Tabellenanhang (Tab. 6-11) aufgeführt. Die Daten zeigen, dass sowohl Männchen als auch Weibchen der Nordseeproben wesentlich kleiner waren als die Individuen der Probe vom Darßer Ort. Die von den Stationen Varel und Büsum stammenden Proben wiesen hinsichtlich Länge und Gewicht der Aalmuttern eine ähnliche Zusammensetzung auf. An beiden Standorten waren die weiblichen Tiere etwas größer und schwerer als ihre männlichen Artgenossen.

Tab. 2: Biometrische Begleitdaten der untersuchten Aalmuttern

Station	Männchen			Weibchen		
	n	Länge [cm]	Gewicht [g]	n	Länge [cm]	Gewicht [g]
Varel – Mellum	46	19,2 ± 1,6	37,7 ± 10,5	27	20,3 ± 2,1	46,3 ± 14,5
Büsum	33	18,4 ± 2,7	35,2 ± 18,2	22	21,0 ± 2,3	52,9 ± 19,2
Darßer Ort	7	29,6 ± 4,3	136,1 ± 57,9	28	31,9 ± 5,2	167,7 ± 85,8

4.2 Histologie des Hodens und Auftreten von Intersex bei männlichen Aalmuttern

Der Hoden (Testis) der Aalmutter ist ein paariges, längliches Organ, das mit Mesenterien dorsal in der Leibeshöhle fixiert ist. Im histologischen Bild erscheint das Gewebe aus zahlreichen Hodenkanälchen (Tubuli seminiferi) aufgebaut, zwischen denen eine dünne Schicht von Bindegewebe liegt. Im Keimepithel der Tubuli befinden sich als frühestes Gametenstadium die mit Sertoli-Zellen assoziierten primären Spermatogonien, die sich durch Teilung zu sekundären Spermatogonien entwickeln. Diese befinden sich innerhalb einer so genannten Spermatocyste, deren Wand von den Sertoli-Zellen gebildet wird. Wenn die Keimzellen im Verlauf weiterer synchroner Teilungsschritte das Stadium der sekundären Spermatocyte und/oder Spermatide erreicht haben, löst sich die Wand der Spermatocyste auf und entlässt den Inhalt in das Lumen des Tubulus. Dort reifen die Spermatiden abschließend zu befruchtungsfähigen Spermatozoen (Spermien) heran.

Die einzelnen Entwicklungsstadien unterscheiden sich histologisch durch ihre Lage, Größe und Anfärbung. Anhand der relativen Anteile der Gametenstadien lässt sich der Reifestatus eines Hodens ermitteln.

In der vorliegenden Untersuchung wurde das Reifestadium eines Hodens anhand der folgenden, sechs Kategorien umfassenden Einteilung bestimmt:

- 0 Inaktives Gewebe
- 1 Hodenkanälchen enthalten nur primäre Spermatogonien im Keimepithel und sekundäre Spermatogonien innerhalb von Spermatocysten.
- 2 Hodenkanälchen enthalten Spermatocysten mit Spermatocyten 1. und 2. Ordnung sowie wenige Spermatogonien.

- 3 Neben Spermatocyten treten auch regelmäßig Spermatiden auf. Spermatocysten sind z.T. aufgelöst und haben Spermatiden in das Tubuluslumen entlassen. Vereinzelt können auch reife Spermatozoen im Lumen vorkommen.
- 4 Tubuli enthalten überwiegend Spermatiden und Spermatozoen im Lumen. Geringer Anteil randständiger Spermatocysten.
- 5 Lumen der Hodenkanälchen fast ausschließlich mit reifen Spermatozoen gefüllt.

Die Gonaden der im Mai an der **Station Varel (Transsekt Varel – Mellum)** beprobten männlichen Aalmuttern wiesen bei der histologischen Analyse erwartungsgemäß ein unreifes Entwicklungsstadium auf. Alle Männchen, auch die kleinsten von lediglich 16-17cm Länge, waren geschlechtsreif.

Bei einem Drittel der Hodenpräparate enthielten die Tubuli Spermatocysten, in denen mehr oder weniger ausschließlich frühe Gametenstadien (Spermatocyten und sekundäre Spermatogonien) auftraten. Außerdem kamen Nester von primären Spermatogonien vor (Reifestadium 2) (Abb.2A+B). Bei den restlichen Hoden wurden neben den dominierenden Spermatocyten auch Spermatiden und – seltener – Spermatozoen gefunden (Reifestadium 3) (Abb.2C+D)(Tab. 6/Anhang). Das zwischen den Tubuli befindliche Bindegewebe war immer schwach und unauffällig entwickelt.

Sieben Individuen wiesen Intersexualität im Hodengewebe auf, was einer Prävalenz von 14,9% entsprach. Die Eizellen (Oocyten) traten vorwiegend vereinzelt und in sehr geringer Anzahl auf, so dass der Grad von Intersex als „sehr geringgradig“ oder „geringgradig“ eingestuft wurde. Nur bei einem Tier kam Intersex in stärkerer, d.h. „moderater“ Ausprägung vor (Tab. 3). Die Eizellen befanden sich immer in den Hodentubuli und niemals im interstitiellen Bindegewebe. Bei einer geringgradigen Intersex-Ausprägung wurden nur frühe primäre Oocyten gefunden während bei dem Männchen mit moderat entwickelter Intersexualität auch größere, späte primäre Oocyten auftraten (Abb.2E+F).

Außer dem Vorkommen von Oocyten besaßen die Hoden der von Intersex betroffenen Aalmuttern ein normal entwickeltes Hodengewebe ohne auffälligen pathologischen Befund.

Die Hodenproben der **Station Büsum (Hauptprielsystem Meldorfer Bucht)** stammten ebenfalls vorwiegend von kleinen Aalmuttern von weniger als 20cm Länge. Das kleinste Männchen war lediglich 15cm lang (Tab. 7/Anhang). Entsprechend der Probenahme im Mai wiesen alle Hoden einen unreifen Entwicklungsstatus auf. Bei einem knappen Drittel der Hoden kamen in den Tubuli ausschließlich mit Spermatocyten und sekundären Spermatogonien gefüllte Spermatocysten vor (Reifestufe 2). Die Mehrzahl der Männchen besaß aber etwas reifere Gonaden in den auch Spermatiden und Spermatozoen auftraten (Reifestufe 3) (Abb.3A+B). Zum Teil waren die Spermatocysten bereits aufgelöst, so dass sich die Spermatiden frei im Tubuluslumen befanden. Das Bindegewebe war ähnlich schwach entwickelt wie bei den Aalmuttern von Varel.

Wegen der gleichen Anteile von Individuen mit unterschiedlichen Reifestufen wie bei der Probe von Varel wiesen beide Proben im Mittel einen Reifegrad von 2,6 auf (Tabellen 6 und 7/Anhang).

Intersex wurde bei acht Männchen gefunden, so dass die Prävalenz 24,2% betrug. Bei sechs der acht Männchen war der Grad der Intersexualität mit sehr wenigen, vereinzelt im Hodengewebe verstreut liegenden primären Oocyten nur schwach ausgeprägt. Nur bei zwei Tieren traten in einigen Querschnitten jeweils mehrere, teils in kleinen Gruppen angeordnete Oocyten auf. Während bei der geringgradig ausgeprägten Intersexualität nur

frühe primäre Oocyten vorkamen, wurden bei den zwei stärker betroffenen Individuen auch späte primäre Oocyten beobachtet. Weiter entwickelte, dotterhaltige Oocyten kamen jedoch niemals vor (Tab. 3; Abb.3C-F).

Das Auftreten und die Intensität von Intersex stand nicht in Beziehung zur Länge bzw. zum Alter der Tiere. Auch kleine Aalmuttern von nur 15 bis 16 cm Länge waren mehrmals von Intersex betroffen. Eines dieser kleinen Tiere wies auch eine deutlichere Ausprägung von Intersex auf.

Von der **Station Darßer Ort** an der Küste Mecklenburg-Vorpommerns standen lediglich sieben Hodenproben für die histologische Analyse zur Verfügung. Aufgrund der späteren Beprobung im Juni wiesen alle Gonaden einen reiferen Entwicklungsstatus auf als die im Mai in der Nordsee beprobten Aalmuttern. Das Verhältnis von Spermatozyten zu Spermatisiden und Spermatozoen hatte sich zu Gunsten der letzteren Reifestadien verschoben. Ein mehr oder weniger großer Anteil der Tubuli eines Hodens wies frei im Lumen befindliche Spermatisiden und Spermatozoen auf. Gelegentlich waren in relativ großen Tubuli nur wenige Gameten im Lumen vorhanden. Im Unterschied zu den Aalmuttern aus der Nordsee besaßen die Hodenpräparate vom Darßer Ort ein deutlich stärker entwickeltes interstitielles Bindegewebe (Abb.4A-D).

Intersex kam bei drei Tieren vor, was einer Prävalenz von 42,9% entsprach. Wegen des geringen Probenumfangs darf dieser hohe Wert allerdings nicht überinterpretiert werden. Bei zwei der betroffenen Männchen war Intersex nur sehr geringgradig ausgeprägt (1 bzw. 3 Oocyten in 18 Querschnitten) während das dritte Tier etwas mehr Oocyten in allen Hodenschnitten aufwies. Bei den vereinzelt auftretenden weiblichen Gameten handelte es sich immer um das frühe Stadium einer primären Oocyte (Tab.3; Abb.4E+F).

Tab. 3: Häufigkeit und Ausprägung von Intersex bei männlichen Aalmuttern

	Varel	Büsum	Darßer Ort
Anzahl untersuchter Hoden	46	33	7
Anzahl Intersex	7	8	3
Intersex-Prävalenz [%]	14,9	24,2	42,9
Intersex-Ausprägung [MW IS-Index ± STABW]	0,76 ± 1,68	1,03 ± 1,48	0,28 ± 0,29
Entwicklungsstadium Oocyte	vorwiegend frühe primäre Oocyten; Individuum mit moderatem IS auch mit späten primären Oocyten	vorwiegend frühe primäre Oocyten; beide Individuen mit moderatem IS auch mit späten primären Oocyten	nur frühe, primäre Oocyten

Insgesamt betrachtet hat vorliegende histologische Untersuchung das Vorkommen von Intersex bei männlichen Aalmuttern an allen drei Stationen der UPB dokumentiert. Für den Bereich der deutschen Nordseeküste handelt es sich dabei um den erstmaligen Nachweis dieses Verweiblichungsphänomens. Mit einer Prävalenz von ungefähr 15% (Varel) bzw. 24% (Büsum) war jeweils ein deutlicher Anteil Individuen einer Stichprobe betroffen. In der Probe vom Darßler Ort lag die Prävalenz mit ca. 43% deutlich höher. Allerdings schwächt die geringe Stichprobengröße (n=7) die Aussagekraft dieses Wertes.

Aus den Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern liegen Vergleichsdaten zum Auftreten von Intersex bei Aalmuttern vor. Diese Befunde stammen von mehrjährigen Beprobungen, die das IfAÖ im Rahmen verschiedener biologischer Effektmonitoring-Studien durchgeführt hatte (Gercken & Sordyl, 2002; IfAÖ, 2007). Die dabei ermittelten Intersex-Prävalenzen lagen im Bereich von 10% bis 43%. Im Durchschnitt wurde in stärker anthropogen belasteten Gebieten wie an der Station Wismar oder im Hafen von Rostock eine häufigere und stärker ausgeprägte Intersexualität gefunden als an geringer kontaminierten Stationen. An der Station Darßler Ort traten im Rahmen ehemaliger Beprobungen Intersex-Prävalenzen von 0%, 38% und 26% auf.

Während die Intensität von Intersex an den Stationen Varel und Büsum zumeist sehr geringgradig ausgeprägt war, kam bei Aalmuttern aus der Ostsee gelegentlich auch eine wesentlich stärkere Form von Intersexualität auf. Die betroffenen Männchen wiesen dann viele zu Haufen und Strängen angeordnete Oocyten im Hodengewebe auf. Diese Ausprägung von Intersex wurde vorwiegend an Stationen mit stärkerer Umweltbelastung, wie in der inneren Wismar-Bucht und im Breitling bei Rostock gefunden (Gercken & Sordyl, 2002; IfAÖ, 2007).

Im Rahmen des EU-Projektes BEEP bot sich dem IfAÖ die Gelegenheit, Hodenproben von Aalmuttern aus schwedischen Küstengewässern vergleichend zu untersuchen (Probenmaterial von Prof. Förlin, Universität Göteborg). Die Proben stammten von einer nördlich von Göteborg im Skagerrak gelegenen Station (Fjällbacka) und einer Station an der Ostseeküste südlich von Stockholm (Kväddfjärden). Beide Gebiete zählen zum Stationsnetz des schwedischen Küstenmonitorings und sind jeweils als „Referenzgebiet“ eingestuft. Bei der histologischen Befundung von insgesamt 50 Hodenproben wurde kein einziger Fall von Intersex beobachtet. Dieser Befund verdeutlicht, dass es sich bei den hohen Intersex-Prävalenzen der Aalmuttern aus den Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern keinesfalls um „natürliche Basiswerte“ handeln dürfte. Vielmehr sind die Befunde als Resultat von derzeit nicht näher bekannten Stress- und Schadstoffeffekten zu interpretieren.

Außer den vom IfAÖ ermittelten Daten existieren nur spärliche Vergleichsdaten über das Auftreten von Intersex bei Aalmuttern aus anderen Meeresgebieten. Im Rahmen der in britischen Küstengewässern durchgeführten EDMAR-Studie wurden Intersex-Häufigkeiten im Bereich von 7-20% ermittelt (Allen et al., 2002). In den Ästuaren des Clyde und Tyne war die Prävalenz am höchsten. Hier wiesen auch männliche Fludern vermehrt Intersex auf. Bei einer anderen Feldstudie im Tyne-Ästuar wurden bei 25% der männlichen Aalmuttern Intersex beobachtet (Stentiford et al., 2003). Die im Frühling genommenen Proben wiesen ausschließlich frühe, prävitellogene Oocyten auf. In Herbstproben wurden keine Tiere mit Intersex gefunden.

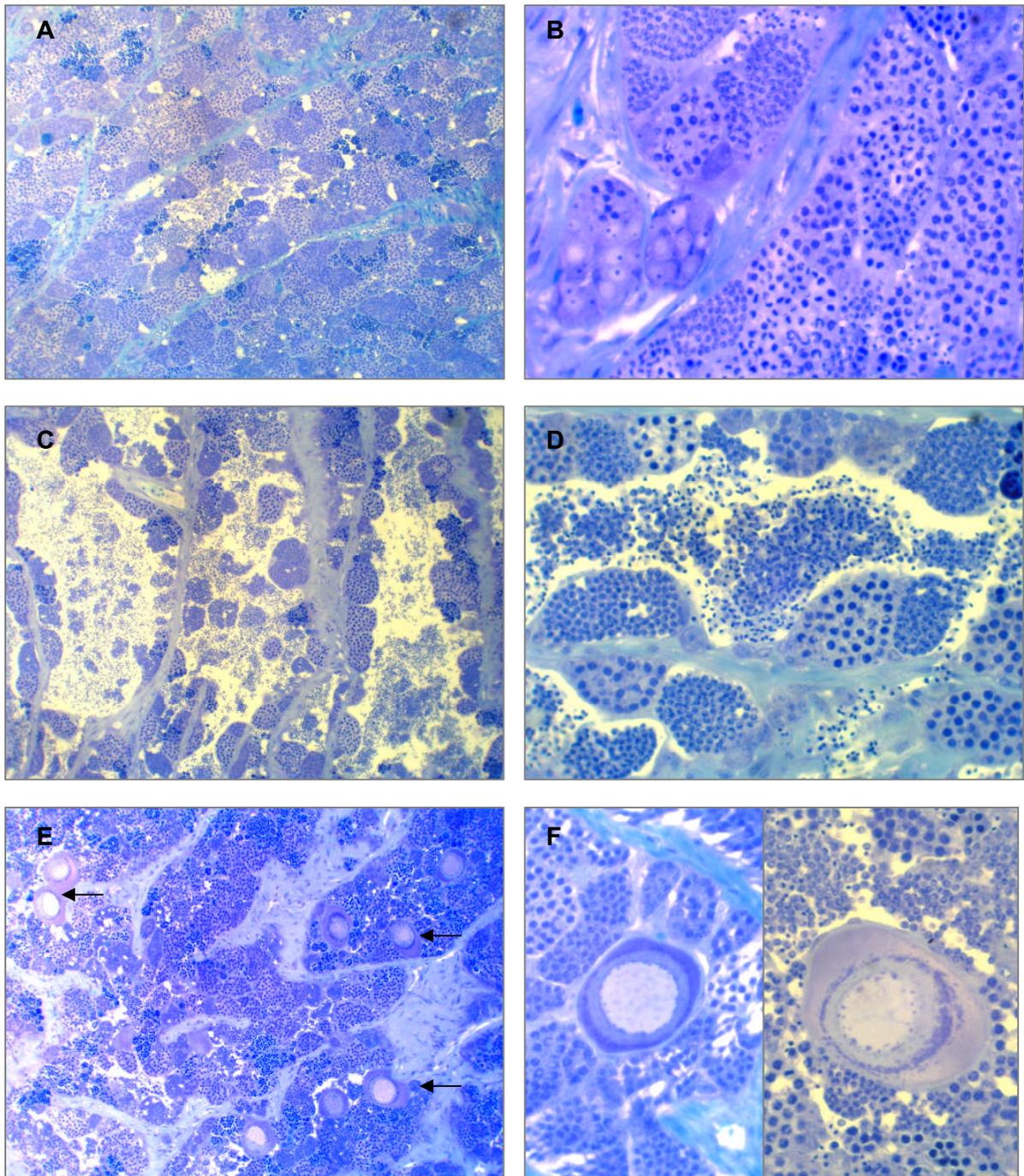


Abb. 2: Histologie des Hodens von Aalmuttern der Station Varel.

- A+B: Hodengewebe mit frühem Reifestatus. In den Tubuli befinden sich Spermatocysten mit frühen Gametenstadien und gelegentlich frei im Lumen liegende Gametenstadien. Das Bindegewebe ist schwach entwickelt.
- C+D: Hoden mit fortgeschrittenem Reifestadium: Im Lumen der Tubuli befinden sich Spermatisen und Spermatozoen
- E+F: Relativ deutliche Ausprägung von Intersex mit mehreren im Hodengewebe eingestreut liegenden Oocyten (Pfeile) [10-20 Oocyten/Schnitt]. Neben kleinen, frühen primären Oocyten treten auch größere, späte primäre Oocyten auf (rechts).
(Toluidinblau-Färbung; A,C,E: 100x; B,D,F: 400x)

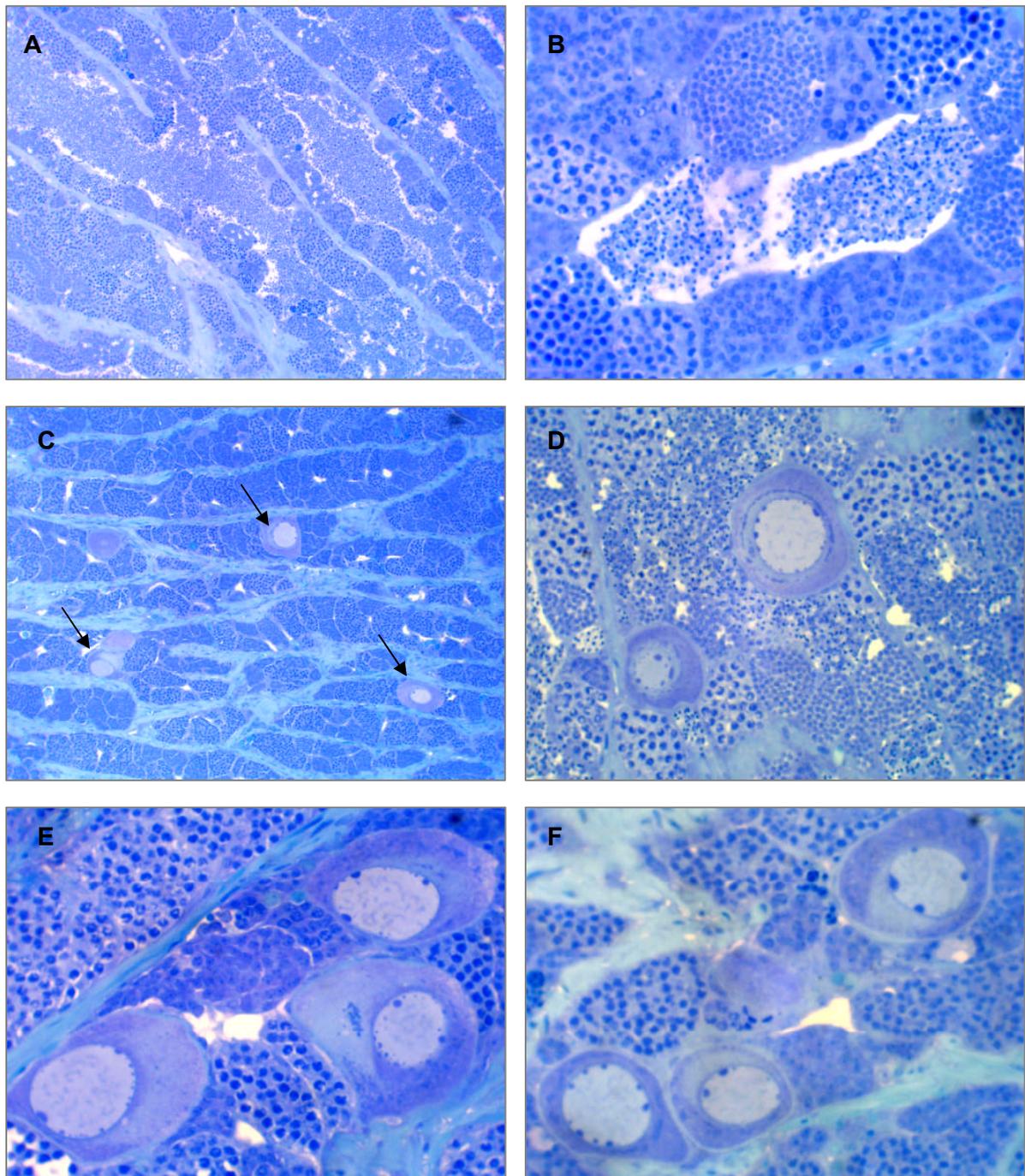


Abb. 3: Histologie des Hodens von Aalmuttern der Station Büsum

- A: Übersichtsbild des Hodens. In den Tubuli befinden sich mit frühen Gametenstadien gefüllte Spermatozoen und freie Gametenstadien. Das Bindegewebe ist schwach ausgeprägt.
- B: Detaildarstellung eines Hodentubulus mit verschiedenen Zellstadien der Spermatogenese.
- C: Schwache Ausprägung von Intersex mit vereinzelt auftretenden Oocyten (Pfeil).
- D: Kleine, frühe primäre Oocyte und größere, späte primäre Oocyte.
- E+F: Gruppen nah beieinander liegender primärer Oocyten im Hoden einer Aalmutter mit „moderater“ Intersex-Ausprägung.
(Toluidinblau-Färbung; A,C: 100x; B,D,E,F: 400x)

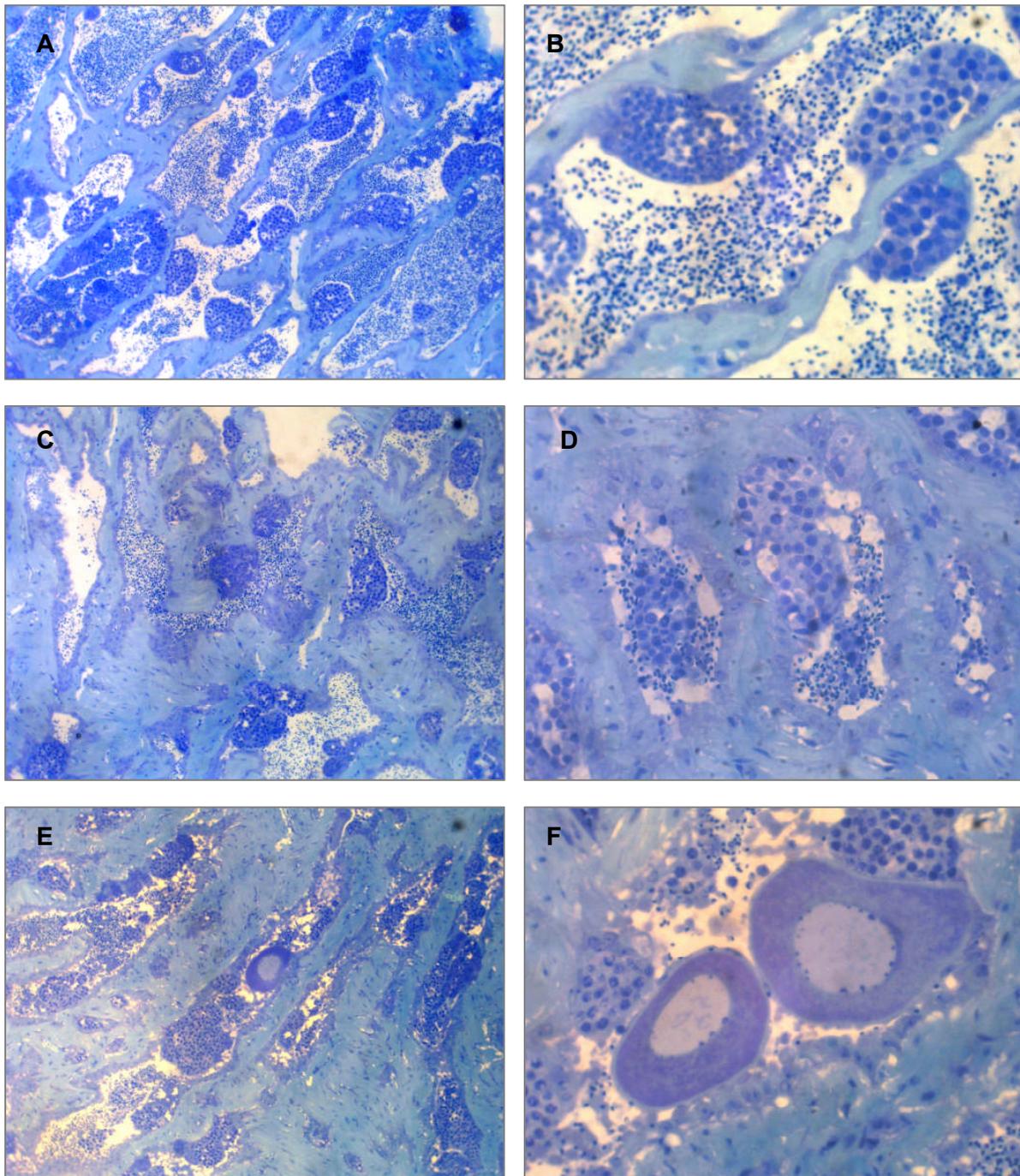


Abb. 4: Histologie des Hodens von Aalmuttern der Station Darßer Ort.

A+B: Hodengewebe im fortgeschrittenen Reifestatus. In den Tubuli befinden sich zahlreiche Spermatozoen und Spermatozoen. Spermatocysten mit frühen Gametenstadien sind bereits selten. Das Bindegewebe ist relativ prominent entwickelt.

C+D: Starkes, irregulär ausgeprägtes Bindegewebe.

E+F: Primäre Oocyten innerhalb von Hodentubuli.
(Toluidinblau-Färbung; A,C,E: 100x; B,D,F: 400x)

4.3 Degenerative Veränderungen im Ovar weiblicher Aalmuttern (Atresie)

Im Gegensatz zu den meistens paarig angelegten Ovarien anderer Fischarten besitzt die Aalmutter ein unpaares Ovar. Es ist mit Mesenterien in der dorsalen Leibeshöhlenwand fixiert. Am Beginn der Gonadenentwicklung liegen die Oogonien und jungen Oocyten im Keimepithel eingebettet an der Innenwand des Ovars. Im Laufe der Eientwicklung wölbt sich das Keimepithel infolge der Volumenzunahme der Oocyte in das Lumen des Ovars vor. Im Zustand fortgeschrittener Reife verlagert sich die stark vergrößerte Oocyte mit den sie umhüllenden Follikelzellen so weit in das Ovarlumen, dass sie nur noch durch eine stielartige Verbindung (Funiculus) mit der Ovarwand verbunden bleibt. Zur effektiven Nährstoffversorgung der Eizelle enthält das den Follikel umschließende Epithel ein Netzwerk von feinen Blutkapillaren (Götting, 1976).

Mit zunehmender Einlagerung von Dottersubstanz (Vitellogenese) entwickeln sich die Follikelschichten, welche die Oocyte umgeben immer deutlicher und die innere Granulosa-Zellschicht ist von der durch eine Basalmembran getrennten äußeren Theca-Zellschicht (Theca folliculi) zu unterscheiden (Tyler & Sumpter, 1996). Die Follikel epithelien besitzen eine wichtige Funktion für die Nährstoffversorgung der Oocyte.

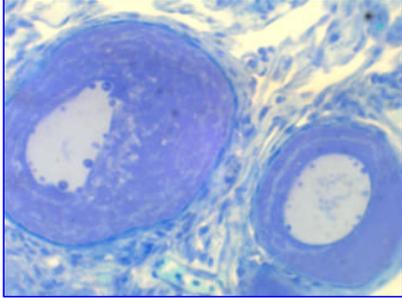
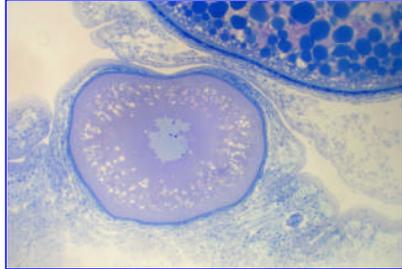
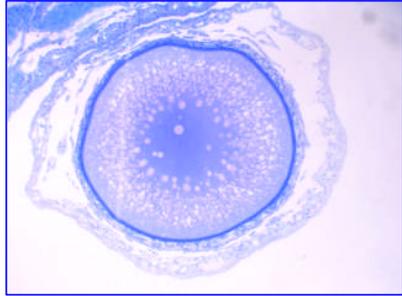
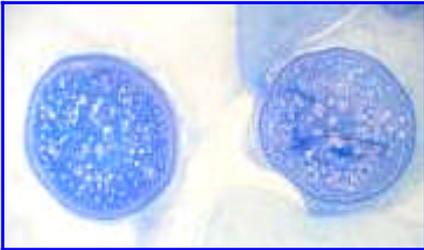
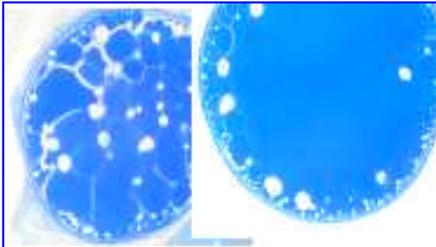
Im Ovar befinden sich immer Oocyten unterschiedlicher Reifestadien, die sich anhand charakteristischer histologischer Merkmale unterscheiden lassen. In der vorliegenden Untersuchung wurde der Reifegrad eines Ovars anhand des am weitesten entwickelten Oocytenstadiums eingestuft (Tab. 4, Tab. 9-11 im Anhang).

Aufgrund des früheren Beprobungstermins und der zumeist geringeren Länge der Weibchen waren die Ovarien der Nordseeproben kleiner als diejenigen der Probe vom Darßer Ort. Die histologische Analyse – auch bei kleineren Ovarien – erfasst immer nur einen relativ kleinen Ausschnitt des gesamten Organs. Aus diesem Grund wurden auch die nicht für die Histologie genutzten Teile des Ovars mittels einer Binokularlupe auf die Präsenz von degenerativen Veränderungen untersucht. Die hier vorgestellten Untersuchungsbefunde sind somit das Ergebnis einer kombinierten histologischen und makroskopischen Analyse.

Bei makroskopischer Betrachtung wiesen die Ovarien an allen Probenahmeorten Eizellen in einem Stadium der fortgeschrittenen Einlagerung von Dottersubstanz (Vitellogenese) auf. Trotz der Fixierung besaßen die Eizellen eine mehr oder weniger deutliche, vom Dotter hervorgerufene Gelbfärbung.

Wie im Folgenden ausgeführt wird, wurden in allen Proben starke Degenerationen der Follikel bzw. Oocyten beobachtet. Bevor auf die Befunde an den einzelnen Stationen eingegangen wird soll zunächst der allgemeine Verlauf der Entstehung atretischer Follikel dargestellt werden. Als Anzeichen einer beginnenden Degeneration von vitellogenen Follikeln tritt eine Deformation und Fragmentierung der Zona radiata auf. Bei Fortschreiten des Prozesses kommt es zur Auflösung des Zellkerns und zum Anschwellen der zellulären Follikelschicht sowie zur Resorption der Oocyte (atretische Oocyte). Die weiteren Degenerationsschritte betreffen die verbliebenen Follikelschichten, so dass man bei diesen Stadien nur noch von atretischen Follikeln spricht (Abb. 5A-F).

Tab. 4: Histologische Klassifikation der Entwicklungsstadien von Oocyten

Reifegrad	Stadium	Charakteristika	Histologisches Bild
1	primäre Oocyte pO	großer Kern mit perinukleären Vesikeln; weites Größenspektrum; basophiles Plasma (HE-Färbung)	
1	Cortical-Alveolus Oocyte CAO	größerer Plasmaanteil; Corticale Alveoli im Plasma	
2	Vitellogene Oocyte-I VO-I	frühes Stadium der Vitellogenese mit kleinen, meist peripher im Ooplasma gelegenen Vesikeln und deutlichem Kern	
2	Vitellogene Oocyte II VO-II	mittleres Stadium der Vitellogenese; Plasma komplett voller größerer Dottervesikel; Kern noch vorhanden oder verschoben; Theka- und Granulosa-Lagen deutlich	
3	Vitellogene Oocyte III VO-III	Spätstadium der Vitellogenese; sehr große Eizelle; mehr oder weniger homogener, fusionierter Dottermasse; dicke Zona radiata.	

Die Probe von der **Station Varel** umfasste 27, zumeist kleine Ovarien. Der Entwicklungsstatus des Ovars war relativ einheitlich. Bei ungefähr 70% der Tiere wiesen die am weitesten entwickelten Oocyten eine deutliche Einlagerung von Dotter auf (VO-2-Stadium). Nur wenige Ovarien befanden sich in einem weniger reifen (VO-1) bzw. weiter fortgeschrittenem Stadium (VO-3) (Tab. 9/Anhang).

Bei der makroskopischen Untersuchung wiesen alle Ovarien ein regelmäßiges bis sehr häufiges Vorkommen degenerierter Follikel auf (Tab. 5). Am geöffneten Ovar waren die degenerierten Follikel leicht durch ihre blasse, hellgraue Färbung und ihre ungewöhnliche Größe zu erkennen. Sie ragten zumeist wie „leere Hüllen“ aus der Lage der verbliebenen normal entwickelten Follikel heraus (Abb. 6A+B). Manchmal ließen sich kondensierte Reste von Oocyten in diesen Hüllen beobachten.

In Übereinstimmung mit den makroskopischen Befunden zeigten auch alle histologischen Bilder eine deutliche Ausprägung von degenerativen Veränderungen im Ovar. In Bezug auf die größeren, vitellogenen Oocyten war der Anteil veränderter Oocyten in der Regel größer als der Anteil unauffälliger Oocyten. Da die atretische Degeneration normalerweise nicht synchron verläuft, traten unterschiedliche Degenerationsstufen auf. Im Allgemeinen war die Resorption der Oocyte bereits weit fortgeschritten, so dass die Follikel nur noch mehr oder weniger deutliche Reste derselben aufwiesen. Vielfach erschienen die Follikel auch komprimiert und leer, so dass hier bereits das Stadium eines atretischen Follikels vorlag. Aufgrund des fortgeschrittenen Atresie-Stadiums waren die Zellschichten des Follikels (Theka- und Granulosa-Zellen) und die Blutgefäße immer stark gestört und die normale histologische Struktur nicht mehr zu erkennen (Abb.6C-F).

Bei der Probe von der **Station Büsum** wurde nahezu derselbe gemittelte Reifestatus ermittelt, wie bei den Aalmuttern von der Station Varel (Tab. 5). Allerdings war der Entwicklungsstatus - mit 86% Weibchen im VO-2-Stadium - noch einheitlicher ausgeprägt als in der Probe von Varel (Tab. 10/Anhang).

Makroskopisch boten die kleinen Ovarien dasselbe Bild wie diejenigen vom Standort Varel. Alle Ovarien wiesen regelmäßig bis sehr häufig die bereits erwähnten blassgrauen „Follikelhüllen“ auf (Abb.7A). Somit wurde auch für diese Probe eine Atresie-Prävalenz von 100% ermittelt. Die makroskopischen und histologischen Befunde ergaben einen durchschnittlichen Atresie-Grad von 2,6. Dies entsprach der an der Station Varel beobachteten Ausprägung von Atresie (2,7) (Tab. 5). In einem Ovar befanden sich noch zahlreiche Larven aus der letzten Brut des Weibchens. Diese durch das Milieu im Ovar „konservierten“ Larven besaßen noch kein laichreifes Entwicklungsstadium (Abb. 7B).

Auch histologisch wiesen die Ovarien keinen auffälligen Unterschied zu den bei Varel beprobten Aalmuttern auf. Die großen, dotterreichen Eizellen waren überwiegend von einer stark ausgeprägten Atresie betroffen. Die Resorption der Oocyten war zumeist weit fortgeschritten und des Öfteren traten im deutlich degenerierten Follikel keine Oocytenreste mehr auf (Abb.7C-F).

An der **Station Darßer Ort** wurden die Aalmuttern erst im Juni beprobt, so dass größere Ovarien zur Untersuchung zur Verfügung standen. Dementsprechend wiesen die Weibchen im Mittel einen fortgeschritteneren Reifestatus auf als in den Nordseeproben. So besaßen bereits dreiviertel aller Individuen weit entwickelte Eizellen mit einer homogenen Dottermasse (VO-III-Stadium).

Bei der makroskopischen Befundung wurden weniger ausgeprägte degenerative Veränderungen gefunden als bei den Proben von den Stationen Varel und Büsum. Zwei

Ovarien waren ohne auffällige Anomalien (Abb. 8A). Die Hälfte der Weibchen wies vergleichsweise geringe Degenerationen im Ovar aus (Schweregrad 1)(Abb.8B). Bei zwei Tieren kamen auch ausgesprochen starke Ausprägungen einer Atresie vor (Abb. 8C) (Tab. 11/Anhang).

Im histologischen Bild wiesen die atretischen Follikel ähnliche Degenerationsstufen wie bei den Proben von der Nordsee auf. In den Follikeln war die Resorption von Oocyten unterschiedlich weit fortgeschritten. Frühe Stadien einer Atresie mit beginnender Auflösung der Zona radiata und noch weitgehend unversehrter Oocyte waren die Ausnahme. Vielmehr waren auch die Zellschichten des Follikels starken degenerativen Veränderungen unterworfen (Abb.8D-F).

Tab. 5: Häufigkeit und Ausprägung von Ovar-Degenerationen bei weiblichen Aalmuttern

	Varel	Büsum	Darßer Ort
Anzahl untersuchter Ovarien [n]	27	22	28
Ovarien mit Atresie [n]	27	22	25
Atresie-Prävalenz [%]	100	100	92,6
Atresie-Ausprägung	2,7 ± 0,5	2,6 ± 0,5	1,4 ± 0,7
Reifestatus des Ovars	2,0 ± 0,2	2,1 ± 0,4	2,8 ± 0,4

Insgesamt betrachtet haben die hier vorgestellten Untersuchungsbefunde ein häufiges und deutlich ausgeprägtes Auftreten von degenerativen Veränderungen im Ovar von weiblichen Aalmuttern in den deutschen Küstengewässern aufgezeigt. Überraschend war insbesondere die sehr hohe Prävalenz von Atresie bei den im Wattenmeer beprobten Aalmuttern. Aus dem Gebiet der deutschen Nordseeküste lagen bislang noch keine diesbezüglichen Untersuchungsergebnisse vor. Die bislang einzigen Daten zur Häufigkeit von Atresie bei Aalmuttern wurden vom IfAÖ an verschiedenen Stationen der mecklenburgisch-vorpommerschen Küste gewonnen (IfAÖ, 2007).

Bezüglich der Prävalenz von Follikel-Degenerationen von Aalmuttern der Station Darßer Ort waren die aktuellen Befunde weniger überraschend, da die Untersuchungen des IfAÖ in den Jahren 2003 und 2004 eine Häufigkeit von 43% bis 46% atretisch degenerierter Ovarien an dieser Station ergeben hatten (IfAÖ, 2007). Im Vergleich dazu wurde in der vorliegenden Studie eine deutlich höhere Prävalenz ermittelt. Allerdings handelt es sich dabei vorwiegend um relativ schwach ausgeprägte Ovar-Degenerationen.

Die in den Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern erhobenen Befunde zur Atresie bei der Aalmutter lassen einen Bezug zur anthropogenen Belastung der Probenstationen erkennen. So wurden die höchsten Prävalenzen (50-80%) bei Tieren aus der inneren und mittleren Wismarbuch gefunden (Wismar, Eggers Wiek). Im vergleichsweise geringer belasteten Salzhaff war Atresie weniger häufig (14-46%) (IfAÖ, 2007).

In der wissenschaftlichen Literatur existieren keine weiteren Vergleichsdaten über das Vorkommen von Atresie bei der Aalmutter. Lediglich im Rahmen eines Abschlussberichtes über biologische Effektuntersuchungen an Organismen aus britischen Küstengewässern wird das Vorkommen von Atresie bei Aalmuttern aus dem Clyde-Ästuar erwähnt, ohne jedoch genauere Angaben zu deren Intensität und Prävalenz zu machen (Feist et al., 2005).

Es wurde bereits einleitend erwähnt, dass das physiologisch regulierte Absterben von Eizellen durchaus ein normaler Prozess im Verlauf des Reproduktionszyklus von Fischen darstellt (Abschnitt 2.2). Jedoch tritt eine Atresie normalerweise vorwiegend am Ende der Laichzeit auf, so dass hauptsächlich die im Ovar verbliebenen Eier von Resorption betroffen sind. In der vorliegenden Untersuchung traten die atretischen Degenerationen aber bei Ovarien auf, die ihren endgültigen Reifestatus noch gar nicht erreicht hatten. Es ist nicht von vornherein auszuschließen, dass die Aalmutter möglicherweise die Anzahl der letztendlich befruchtungsfähigen Eier durch den Prozess der Atresie reguliert. In den Proben von der Nordsee war jedoch häufig die Mehrzahl aller deutlich vitellogenen Oocyten degeneriert. Ein hypothetisches „natürliches Maß“ an Atresie wurde dabei sicherlich deutlich überschritten.

Im Gegensatz zum Biomarker „Intersex“ existieren für den Parameter „Atresie“ keine Vergleichsdaten aus kaum anthropogen belasteten schwedischen Küstengewässern. Um Informationen zum natürlichen Vorkommen von Ovar-Degenerationen während der Gonadenentwicklung zu erhalten, sollten daher Ovarien von Aalmuttern aus so genannten „Referenzgebieten“ untersucht werden.

Als Auslöser einer atretischen Degeneration von Eizellen können verschiedene Faktoren in Frage kommen. Genannt seien beispielsweise körperlicher Stress, Hunger und Parasiten. Außerdem müssen Schadstoffe als Auslöser von Oocyten-Degenerationen in Betracht gezogen werden. Neben Fremdstoffen, die im „klassischen“ Sinne toxisch wirken, ist dabei auch an eine hormonelle Störung zu denken. Für diese Annahme spricht, dass es sich bei der Atresie um eine „geordnete“ Rückbildung und Resorption der Eizelle handelt. Dieser Vorgang gleicht dem „regulierten Zelltod“ nach Art der Apoptose. Da die Auslösung von Apoptose u.a. durch hormonelle Faktoren reguliert wird, könnte eine Störung der hormonellen Homöostase im Ovar zu einer vermehrten Atresie führen (Janz et al., 2001; Wood & van der Kraak, 2001).

Gestützt wird diese Hypothese durch die Resultate von Freilanduntersuchungen an Fischen (*Catostomus commersoni*) in der Nähe einer Zellstoffabrik. Die dort lebenden Tiere wiesen eine erhöhte Prävalenz apoptotischer, atretischer Follikel auf. Außerdem waren die Plasmakonzentrationen der Hormone Testosteron und Estradiol erniedrigt bzw. erhöht (Janz et al., 1997). Die Autoren vermuten Substanzen im Abwasser der Fabrik als Auslöser der Atresie.

Zum jetzigen Zeitpunkt lässt sich das sehr häufige Vorkommen atretischer Follikel bei Aalmuttern von den Standorten Varel und Büsum lediglich pauschal als Resultat von „Umweltstress“ interpretieren ohne dass hier eine Gewichtung hinsichtlich natürlicher oder anthropogener Stressfaktoren vorgenommen werden könnte. Gleiches gilt im Grunde auch für die Aalmuttern vom Darßer Ort, da diese Station ebenfalls als vergleichsweise gering mit Schadstoffen belastet eingestuft wird.

Angesichts der möglichen Stressfaktoren, die zu einer Atresie von Eizellen führen können wird dieser Endpunkt im Rahmen eines biologischen Effektmonitorings als unspezifischer Stressbiomarker eingesetzt. Anhand von detaillierteren Untersuchungen ist dann im Einzelfall zu klären, welche Stressfaktoren im Wesentlichen zur Degeneration von Eizellen geführt haben.

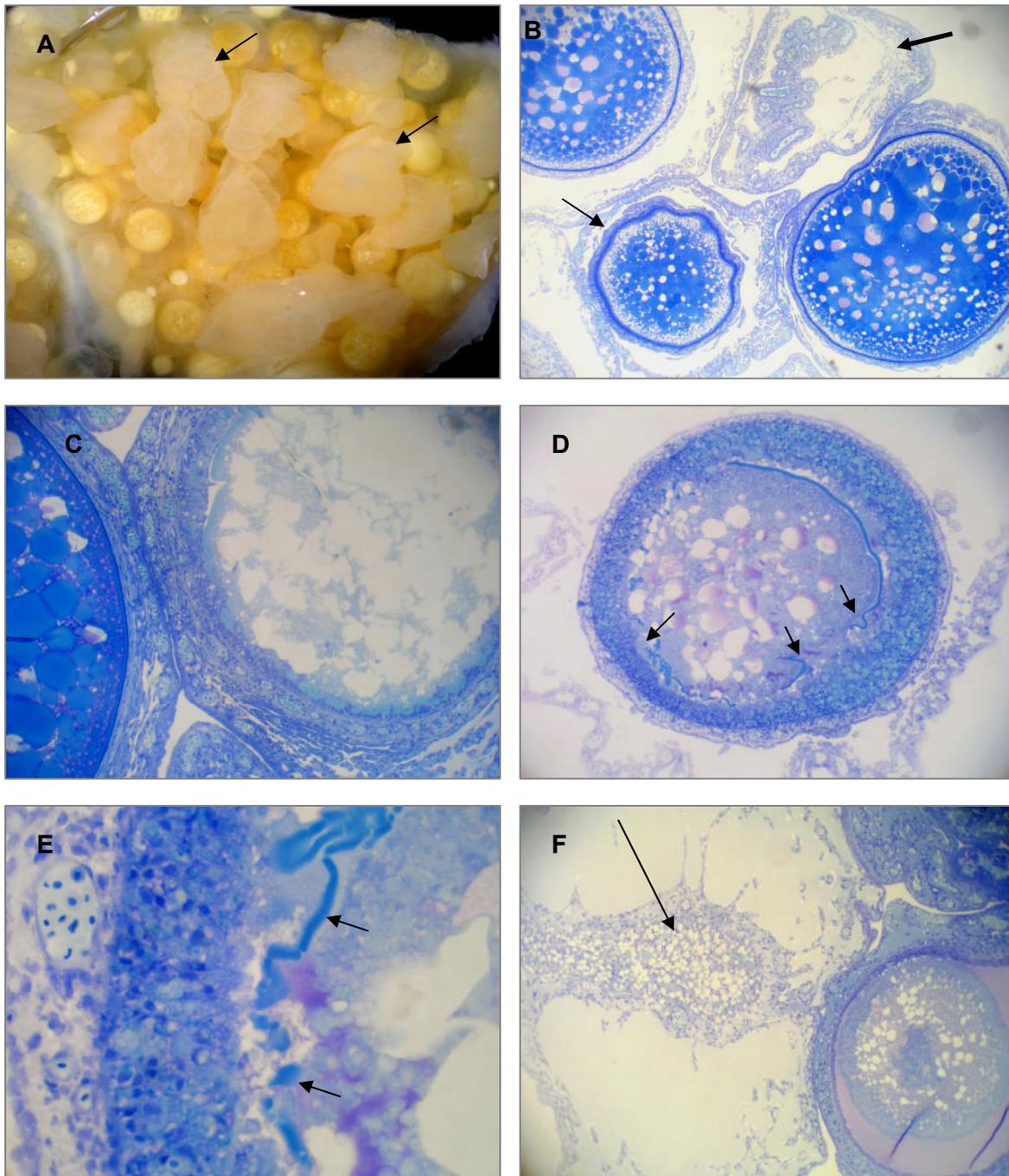


Abb. 5: Degenerative Veränderungen im Ovar der Aalmutter.

- A: Makroskopisch sichtbare Ovar-Degeneration. Neben normal entwickelten gelben, dotterhaltigen Eizellen sind degenierte Follikel (Pfeile) deutlich zu erkennen.
- B: Histologisch unauffällige Oocyten mit starker Dotterbildung und Oocyten mit beginnender (dünner Pfeil) und fortgeschrittener Atresie (dicker Pfeil).
- C: Relativ frühe Ausprägung von Atresie mit angeschwollenen Follikelzellschichten und beginnender Resorption der Oocyte.
- D: Follikel mit stark angeschwollener Follikelzellschicht, zerstörter Zona radiata (Pfeile) und beginnender Resorption der vitellogenen Oocyte.
- E: Angeschwollene Follikelschichten und Desintegration der Zona radiata (Pfeile).
- F: Follikel mit weitgehend resorbierter Oocyte (Pfeil).
(Toluidinblau-Färbung, B: 40x, C,D,F: 100x; E: 600x)

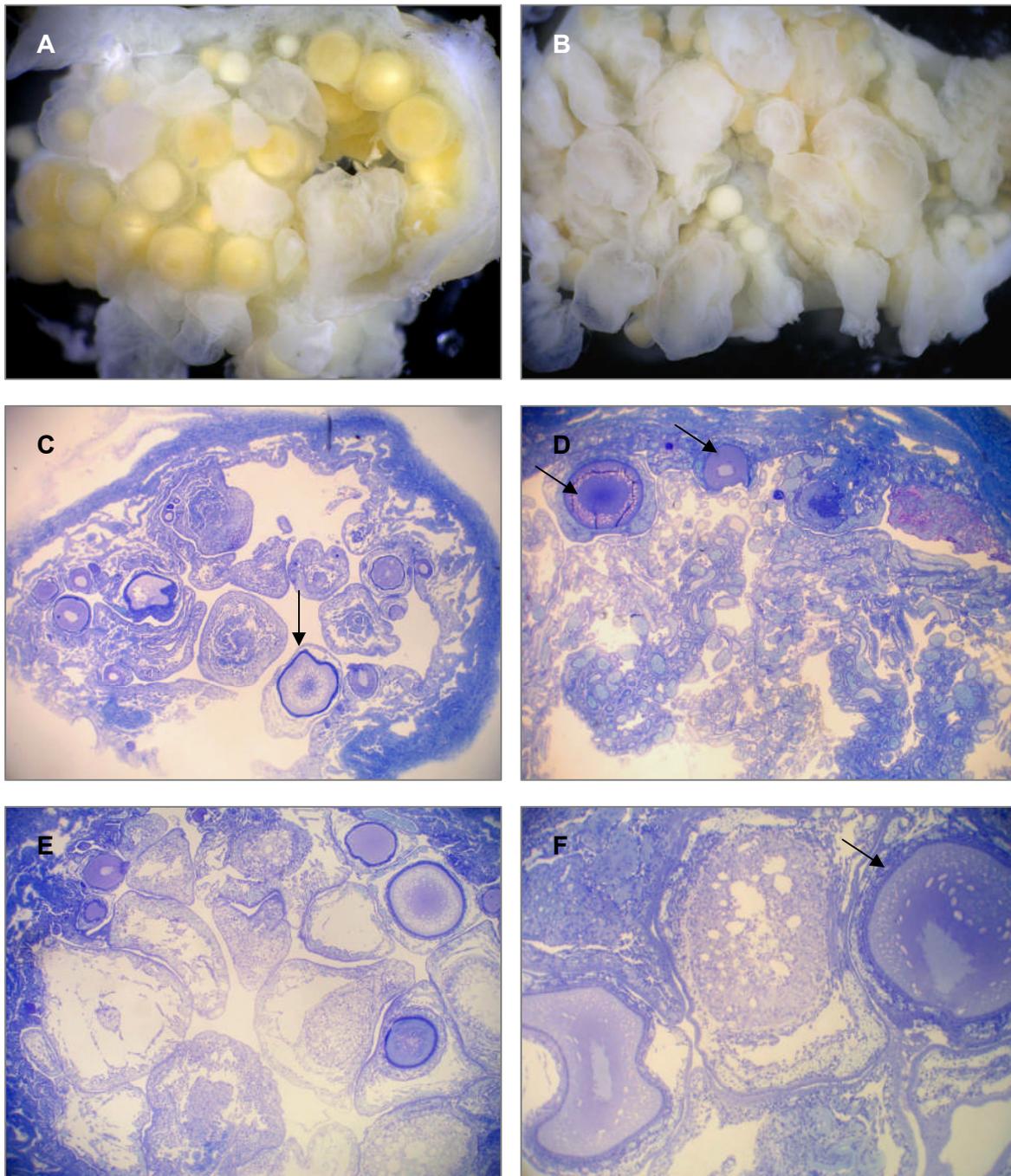


Abb. 6: Degenerative Veränderungen im Ovar von Aalmuttern der Station Varel.

- A: Ovar mit regelmäßigem Auftreten von degenerierten Follikeln (Schadigungsgrad 2).
- B: Ovar mit sehr häufigem Auftreten von degenerierten Follikeln (Schadigungsgrad 3).
- C+D: Querschnitte durch zwei kleine Ovarien mit starker Degeneration. Die meisten Follikel/Oocyten weisen ein fortgeschrittenes atretisches Stadium auf. Nur wenige Follikel sind kaum oder gar nicht degeneriert (Pfeile).
- E: Verschiedene Ausprägungen von atretisch degenerierten Follikeln. In den Follikeln befinden sich Reste unterschiedlich stark resorbierter Oocyten.
- F: Normale Oocyte (Pfeil) und zwei Oocyten mit beginnender und fortgeschrittener Atresie (Toluidinblau-Färbung, A+B: 40x, E+F: 100x)

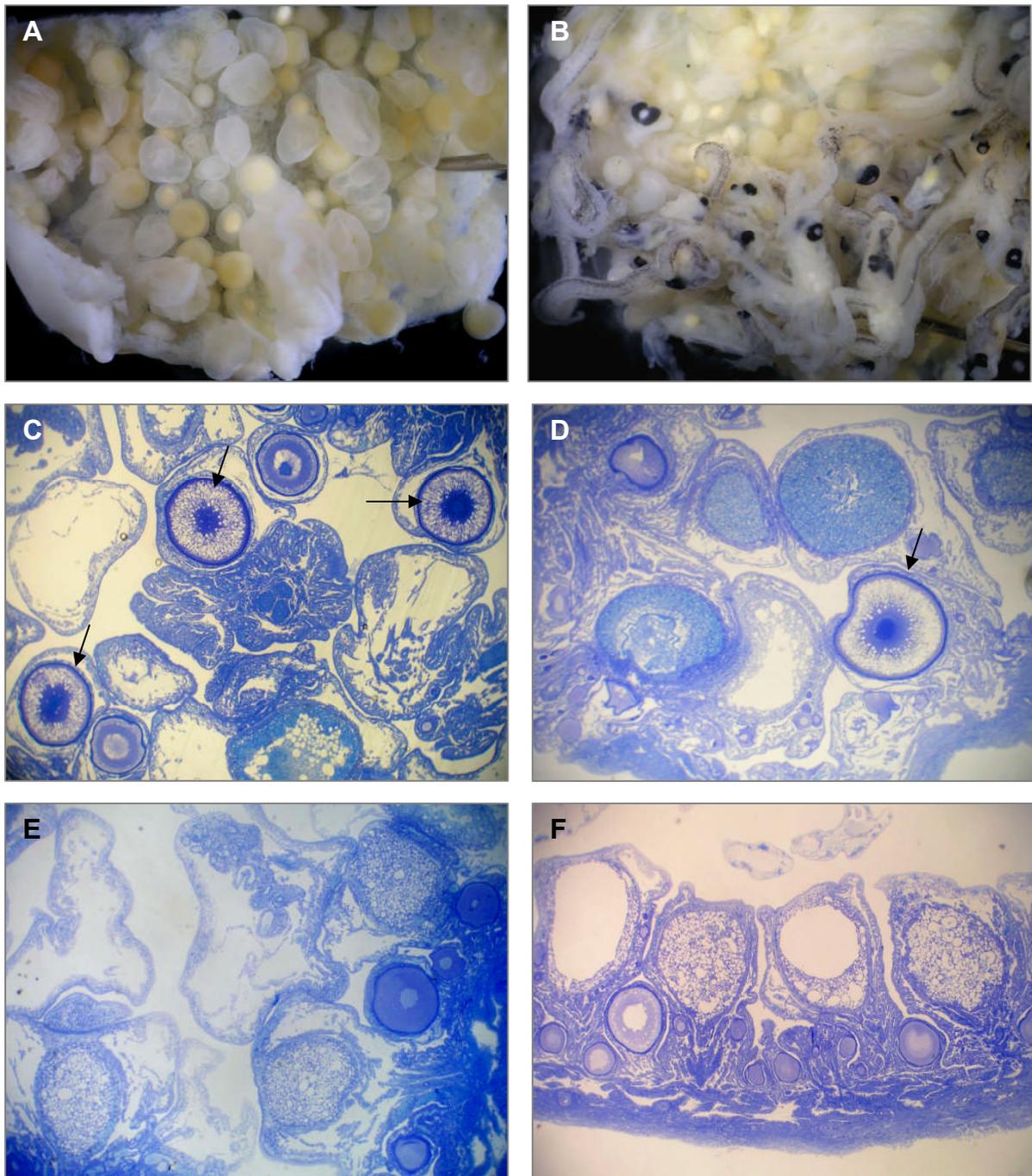


Abb. 7: Degenerative Veränderungen im Ovar von Aalmuttern der Station Büsum.
A: Ovar mit regelmäßigem Auftreten von degenerierten Follikeln (Schadigungsgrad 2).
B: Ovar mit degenerierten Follikeln und nicht abgelaichten Larven der letzten Brut.
C+D: Querschnitte durch Ovarien mit starker Degeneration. Die meisten Follikel/Oocyten weisen ein fortgeschrittenes atretisches Stadium auf. Nur wenige Follikel sind nicht degeneriert (Pfeile).
E: Follikel mit großen, vitellogenen Oocyten im Stadium der Resorption und atretische Follikel ohne Reste von Oocyten.
F: Follikel mit großen, vitellogenen Oocyten im Stadium der Resorption.
(Toluidinblau-Färbung, C,D: 40x, E,F: 100x)

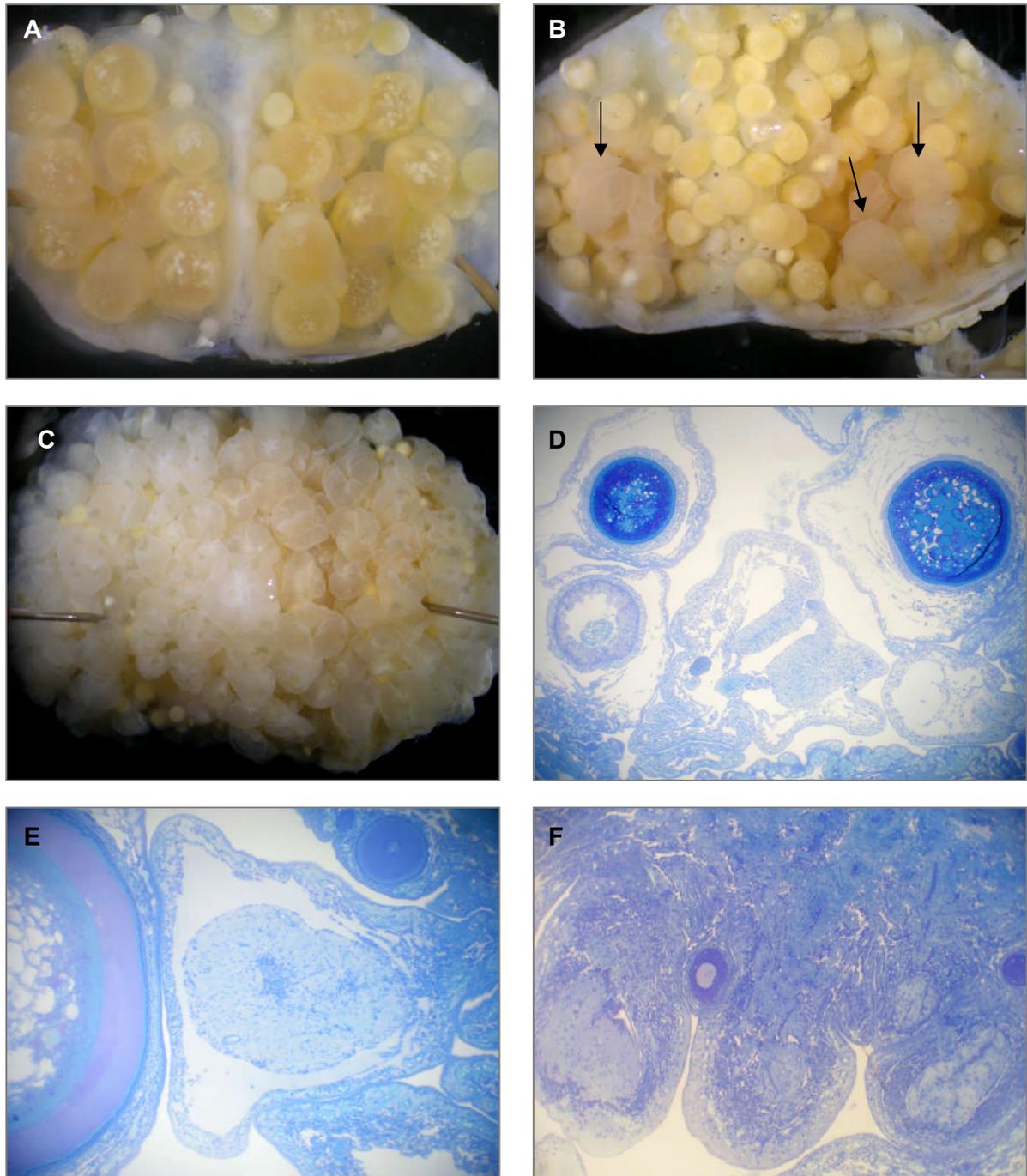


Abb. 8: Degenerative Veränderungen im Ovar von Aalmuttern der Station Darßer Ort.

- A: Ovar ohne makroskopisch auffälligen Befund.
 - B: Ovar mit schwach ausgeprägter Atresie (Pfeile).
 - C: Ovar mit sehr stark entwickelter Degeneration.
 - D: Zwei Oocyten ohne auffälligen Befund und mehrere atretische Follikel/Oocyten.
 - E: Follikel mit Oocyte im Stadium der Resorption. Links eine normale Eizelle mit Follikelschicht im Anschnitt.
 - F: Drei Follikel mit angeschwollenen Epithel-/Follikelzellen und Oocyten im Stadium der Resorption.
- (Toluidinblau-Färbung, D: 40x; E,F: 100x)

5 Zusammenfassung, Schlussfolgerungen und Empfehlungen

Der vorliegende Bericht präsentiert die Ergebnisse einer Untersuchung über das Auftreten von Gonadenstörungen bei männlichen und weiblichen Aalmuttern (*Zoarces viviparus*) aus deutschen Küstengewässern. Die Fische wurden im Jahr 2006 im Rahmen des regulären Monitorings der Umweltprobenbank (UPB) beprobt. Sie dienten zunächst der Gewinnung von Sammelproben aus Muskel- und Lebergewebe, die der UPB nach Archivierung für chemische Schadstoffanalysen zur Verfügung stehen. Die nicht für die primären Ziele der UPB benötigten Gonaden wurden vom Probennehmer fixiert und dem Institut für Angewandte Ökologie GmbH (IfAÖ) zur Durchführung der vorliegenden Untersuchung übergeben. Damit stellt diese Studie eine ergänzende Nutzung des Bioindikators Aalmutter dar, mit dem Ziel auch potentielle biologische Wirkungen von Umwelt- und Schadstoffstress zu erfassen (Biomarker-Konzept).

Frühere Feldstudien des IfAÖ hatten das Vorkommen von Gonadenstörungen bei der Aalmutter in den Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern gezeigt. Dabei handelte es sich vorwiegend um Intersex (Mischgonade) bei männlichen Tieren und Degenerationen des Ovars (Atresie) bei weiblichen Aalmuttern (IfAÖ, 2007). Das Auftreten von Intersex wird als Indiz für eine Exposition der Tiere mit hormonell (endokrin) aktiven Schadstoffen interpretiert, während eine übermäßige atretische Degeneration als unspezifischer Indikator für Umweltstress gilt. Die Erfassung dieser beiden als „Biomarker“ dienenden biologischen Endpunkte in den Proben der UPB war wesentliches Ziel der Untersuchung.

Die Probenahme der Aalmuttern erfolgte im Mai in der Nordsee an den beiden Stationen Varel (Transekt Varel-Mellum) und Büsum (Hauptprielsystem Meldorfer Bucht). An der Ostseeküste wurden Aalmuttern im Juni vor der Halbinsel Fischland/Darß/Zingst beim Darßer Ort beprobt.

Die Hoden der männlichen Aalmuttern wurden in Kunstharz eingebettet und nach Anfertigung von Schnittpräparaten histologisch hinsichtlich des Vorkommens von Intersex und weiterer Anomalien untersucht.

Bei den im Mai im Wattenmeer beprobten Aalmuttern wiesen die Hoden ein vergleichsweise frühes Entwicklungsstadium auf. In den Tubuli des Hodengewebes befanden sich zumeist Keimzellen (Gameten) in einem früheren Entwicklungsstadium. Die Hoden der im Juni beim Darßer Ort gefangenen Aalmuttern waren in ihrer Entwicklung weiter fortgeschritten. In den Tubuli wurden bereits häufiger reife Spermien gefunden.

Männchen mit Anzeichen einer Verweiblichung im Hoden (Intersex, Mischgonade) kamen in allen Proben vor. Die Ausprägung von Intersex war vorwiegend geringgradig mit lediglich vereinzelt im normalen Hodengewebe eingestreuten Oocyten. Die Oocyten befanden sich immer in dem frühen Entwicklungsstadium einer „primären Oocyte“. Mit einer Prävalenz von ca. 15% und 24% an den Stationen Varel bzw. Büsum war jeweils ein nicht unerheblicher Anteil Individuen in einer Stichprobe betroffen. In der Probe vom Darßer Ort lag die Prävalenz mit ca. 43% deutlich höher, allerdings mindert die geringe Stichprobengröße (n=7) die Aussagekraft dieses Wertes.

Der Zustand der Gonaden weiblicher Aalmuttern wurde anhand von makroskopischen und histologischen Befunden bewertet. An allen Standorten befanden sich die am weitesten entwickelten Eizellen (Oocyten) in einer Phase der fortgeschrittenen Einlagerung von Dottersubstanz (Vitellogenese). Während die Ovarien der Aalmuttern von Varel und Büsum im Mittel einen übereinstimmenden Reifegrad aufwiesen, waren die Ovarien bei den später am Darßer Ort beprobten Tieren etwas weiter entwickelt.

Die Befundung der Ovarien offenbarte ein massives Auftreten von degenerativen Veränderungen an allen drei Standorten. Bei den Degenerationen handelte es sich immer um einen physiologisch gesteuerten Abbau- und Resorptionsprozess des Follikels bzw. der Oocyte (Atresie). Atretische Degenerationen traten bei jeweils 100% der Weibchen von den Stationen Varel und Büsum auf. In der Probe vom Darßer Ort lag die Atresie mit einer Prävalenz von 92,6% nur geringfügig darunter. Die Degenerationen waren in beiden Nordseeproben immer deutlich bis stark ausgeprägt. Das bedeutete, dass häufig die Mehrzahl der größeren, vitellogenen Oocyten von Resorption betroffen war. In der Ostseeprobe wurde eine etwas schwächere, aber immer noch erhebliche Ausprägung von Degenerationen gefunden.

Insgesamt betrachtet hat die vorliegende Studie erstmalig das Vorkommen von Intersex bei Aalmuttern an zwei Standorten der deutschen Nordseeküste dokumentiert. Für die Station Darßer Ort bestätigen die Ergebnisse frühere Befunde und ergänzen den Datensatz den das IfAÖ im Verlauf mehrerer Feldstudien zum Auftreten von Intersex bei Aalmuttern an der Küste von Mecklenburg-Vorpommern gewonnen hat (Gercken & Sordyl, 2002; IfAÖ, 2007).

Hinsichtlich der Prävalenz von Intersex sind die Werte für die Stationen Varel und Büsum von ähnlicher Größenordnung wie z.T. an Standorten der Ostseeküste. Was die Intensität betrifft, kamen bei Aalmuttern von der Ostsee gelegentlich deutlich ausgeprägtere Formen von Intersexualität vor als bei den Tieren aus dem Wattenmeer. Allerdings zeigen die von der Ostsee vorliegenden Daten, dass die Prävalenz und Intersex-Ausprägung an einer Station einer deutlichen Variabilität unterliegt. In dieser Hinsicht unterscheidet sich der Biomarker „Intersex“ aber nicht von anderen Parametern beim Umweltmonitoring. Es wird daher empfohlen, die histologische Untersuchung der Aalmutter-Hoden in bestimmten Abständen zu wiederholen, um eine fundiertere Bewertung von Intersex an den Stationen der UPB zu ermöglichen.

Die Befunde zur Prävalenz und Ausprägung von atretischen Degenerationen bei weiblichen Aalmuttern von den Standorten Varel und Büsum stellen ein sehr überraschendes Ergebnis der vorliegenden Studie dar. Aus vergleichbaren Untersuchungen in den Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern war bekannt, dass bei den Weibchen eine deutliche Resorption von Follikeln auftreten kann (IfAÖ, 2007). Entgegen der ursprünglichen Erwartung war eine Atresie bei den Aalmuttern aus dem Wattenmeer sogar häufiger und intensiver ausgeprägt als bei den Artgenossen aus der Ostsee.

Im Gegensatz zum Biomarker Intersex, der als Indikator einer Belastung mit endokrin wirksamen Substanzen gilt, kann eine Atresie durch eine Vielzahl natürlicher und anthropogener Stressfaktoren induziert werden. Insofern sind auch deutliche Unterschiede bei der Häufigkeit von Atresie zwischen verschiedenen Beprobungen zu erwarten. Es erscheint daher sinnvoll und geboten, den Biomarker „Atresie“ an den Stationen der UPB auch zukünftig zu erfassen.

Die vorgefundenen Gonadenstörungen werfen die Frage nach einem potenziellen Einfluss auf den Reproduktionserfolg der Aalmutter auf. Das vorwiegend sehr geringgradig ausgeprägte Auftreten von Intersex lässt den Schluss zu, dass die betroffenen Männchen wahrscheinlich nicht nennenswert in ihrer Fortpflanzungsfähigkeit beeinträchtigt sind. Mit Ausnahme der wenigen eingestreuten Oocyten war das Hodengewebe immer normal entwickelt. Bei den Weibchen besteht hingegen der begründete Verdacht, dass die starke Atresie mit einer deutlichen Reduktion der potenziellen Fruchtbarkeit der Tiere verbunden ist.

Für eine fundierte Bewertung der aktuell ermittelten Gonadenbefunde fehlen Begleitdaten, die als „natürliche Hintergrundwerte“ für das Vorkommen dieser Störungen gelten können. In Bezug auf den Biomarker Intersex lassen erste Vergleichsuntersuchungen an männlichen Aalmuttern aus schwedischen Küstengewässern erkennen, dass die Intersex-Prävalenz an den dortigen so genannten „Referenzstationen“ geringer ist als in den deutschen Küstengewässern (Gercken, unveröffentlicht). Aus diesem Grund wird empfohlen, im Rahmen einer Begleitstudie Aalmuttern aus anthropogen wenig oder unbelasteten Küstengebieten in Bezug auf Intersex und Atresie zu untersuchen. Möglicherweise könnte hierfür die Unterstützung der für das schwedische Aalmutter-Monitoring zuständigen Fischereibehörde in Anspruch genommen werden.

Abschließend bleibt festzustellen, dass die durchgeführten Gonadenuntersuchungen bei Aalmuttern aus folgenden Gründen besonders gut für wirkungsbezogene Zusatzuntersuchungen im Rahmen der Umweltprobenbank geeignet sind:

- Die histologische Analyse von Hoden und Ovar führt zu keinem „Interessenkonflikt“ mit anderen Aufgaben der Umweltprobenbank, da die Gonaden der Aalmutter weder für rückstandsanalytische noch andere, wirkungsbezogene Untersuchungen genutzt werden.
- Die Gonadenproben lassen sich mit relativ geringem Aufwand bei der routinemäßigen Sektion der Tiere im Rahmen der jährlichen Beprobung sammeln und fixieren. Der bevorzugte Zeitraum für die Untersuchung der Gonaden (Mai-Juni) deckt sich mit dem Zeitraum der regulären Beprobung durch die Umweltprobenbank.
- Im Vergleich mit anderen strukturellen Alterationen ist Intersex relativ leicht zu quantifizieren. Anhand eines definierten Auswertungsschemas (im Sinne einer SOP) lassen sich Häufigkeit und Intensität von Intersex in einer Stichprobe beschreiben.
- Histologische Befunde zum Vorkommen von Intersex und Atresie liefern, anders als „kurzlebige“ Biomarker auf der molekularen Ebene, wertvolle Basisdaten von „Bestand“. Sie stellen Referenzdaten dar, die bei wiederholter Untersuchung zur Ermittlung eines Trends dienen können.
- Für die Parameter Intersex und Atresie gilt, dass der durch Fang und Hälterung hervorgerufene Stress nicht zu schnellen Veränderungen der histologischen Organstruktur führt. Die Probenintegrität bleibt erhalten. Außerdem besitzen histologische Verfahren den Vorteil, dass sich fixierte oder bereits eingebettete Proben gut lagern und bei Bedarf retrospektiv histopathologisch untersuchen lassen.

6 Tabellenanhang

Tab. 6: Biometrische Daten und Vorkommen von Intersex bei männlichen Aalmuttern der Station „Varel - Mellum“

Nr.	Gewicht [g]	Länge [cm]	Reifestatus	IS-Index	Intersex
V1	33	18,5	2		
V5	45	20	2	0,067	sehr geringgradig
V6	26	16,5	2		
V10	36	19	2		
V11	30	18	2	0,056	sehr geringgradig
V15	25	18,5	2		
V18	32	18	3		
V31	28	17,5	2		
V35	19	16	2		
V43	31	18,5	2		
V50	30	18	3	0,056	sehr geringgradig
V55	31	18	3		
V57	28	18,5	2	0,33	geringgradig
V63	44	20,5	2		
V85	49	21	3		
V103	33	18,5	3		
V104	27	18,5	2	0,22	geringgradig
V111	35	19	3		
V122	54	20,5	3		
V123	45	20	3		
V124	54	21	2		
V125	32	19	3		
V126	36	19	3	0,056	sehr geringgradig
V142	30	18	3		
V145	33	19	2		
V143	45	19,5	3		
V147	28	18	3		
V151	30	18,5	3		
V157	36	18	3		
V159	39	19,5	3		
V160	58	22	3		
V165	54	22	3		
V167	68	24	3		
V172	51	21,5	3		
V176	46	20	3		
V177	46	20	3		
V180	45	20	3		
V182	41	19,5	3		
V183	48	21	3		
V184	37	20	2		
V185	38	19	3	4,56	moderat
V188	42	21	3		
V189	36	18,5	3		
V190	41	19,5	3		
V191	33	19	3		
V197	31	18	3		
MW ± STABW	37,7 ± 10,5	19,2 ± 1,6	2,6 ± 0,5	0,76 ± 1,68	

Tab. 7: Biometrische Daten und Vorkommen von Intersex bei männlichen Aalmuttern der Station „Büsum“.

Nr.	Gewicht [g]	Länge [cm]	Reifestatus	IS-Index	Intersex
B3	28	18	2		
B28	31	18	2		
B50	91	25	2		
B53	33	17,5	3		
B59	32	18	2		
B64	51	21	2		
B68	38	17,5	2		
B69	25	18	2		
B73	31	19,5	2		
B83	31	18	3		
B102	60	21,5	2		
B105	44	20	3		
B106	61	22,5	3		
B117	76	24,5	3		
B118	60	22,5	3	0,39	geringgradig
B119	36	19,5	2	0,056	sehr geringgradig
B122	54	21,5	2	3,39	moderat
B125	49	20,5	2		
B127	28	18	3	0,33	geringgradig
B132	22	16	3		
B135	28	18	3		
B140	22	16,5	3		
B142	19	15,5	3	3,44	moderat
B144	23	15,5	3	0,17	sehr geringgradig
B146	20	15	3		
B147	23	17	3		
B149	18	15,5	3		
B151	19	15,5	3		
B152	32	16,5	3	0,22	sehr geringgradig
B153	20	16	3	0,22	sehr geringgradig
B155	20	17	3		
B156	20	16,5	3		
B157	18	15	3		
MW ± STABW	35,2 ± 18,2	18,4 ± 2,7	2,6 ± 0,5	1,03 ± 1,48	

Tab. 8: Biometrische Daten und Vorkommen von Intersex bei männlichen Aalmuttern der Station „Darßer Ort“

Nr.	Gewicht [g]	Länge [cm]	Reifestatus	IS-Index	Intersex
O2	212	32,5	4	0,056	sehr geringgradig
O4	155	30,5	4		
O9	150	32	4		
O13	55	21,5	4		
O15	115	32	4	0,17	sehr geringgradig
O23	191	33	4	0,61	geringgradig
O33	75	26	4		
MW ± STABW	136,1 ± 57,9	29,6 ± 4,3	4 ± 0	0,28 ± 0,29	

Tab. 9: Biometrische Daten und Vorkommen von Atresie bei weiblichen Aalmuttern der Station „Varel - Mellum“

Nr.	Gewicht [g]	Länge [cm]	Reifestatus	Atresie
V2	56	21,5	2	2
V3	48	21	2	2
V4	54	21	2	3
V7	47	20	2	3
V9	36	19,5	2	3
V12	33	17,5	2	3
V13	35	18,5	2	2
V14	29	17	2	2
V16	50	21,5	3	2
V17	30	18	2	2
V24	48	21	2	3
V29	78	24,5	2	3
V30	38	18,5	2	3
V53	63	22	2	3
V56	56	22	2	3
V58	44	20,5	2	3
V70	41	17,5	2	2
V73	48	21,5	2	2
V77	42	20,5	2	3
V81	69	22,5	2	3
V89	74	23,5	2	3
V90	69	23,5	2	3
V91	31	18	2	3
V93	32	18	2	3
V98	38	18	2	3
V102	29	22	2	3
V105	33	18,5	2	3
MW ± STABW	46,3 ± 14,5	20,3 ± 2,1	2,0 ± 0,2	2,7 ± 0,5

Tab. 10: Biometrische Daten und Vorkommen von Atresie bei weiblichen Aalmuttern der Station „Büsum“

Nr.	Gewicht [g]	Länge [cm]	Reifestatus	Atresie
B1	45	20	3	2
B20	84	24,5	2	2
B26	61	22	2	3
B27	56	21	2	3
B30	41	19,5	2	3
B34	39	19	2	3
B35	45	20,5	2	3
B36	30	18	2	2
B38	43	19,5	2	2
B39	30	18	3	2
B42	61	22	2	2
B43	40	20	2	3
B51	36	19	2	3
B58	85	25,5	2	3
B62	53	22	2	3
B65	88	25,5	2	3
B66	68	23	2	3
B67	55	21,5	2	3
B77	51	21,5	2	3
B78	68	22	3	3
B80	52	20	2	2
B90	86	24	2	2
MW ± STABW	52,9 ± 19,2	21,0 ± 2,3	2,1 ± 0,4	2,6 ± 0,5

Tab. 11: Biometrische Daten und Vorkommen von Atresie bei weiblichen Aalmuttern der Station „Darßer Ort“

Nr.	Gewicht [g]	Länge [cm]	Reifestatus	Atresie
O1	195	35,5	2	3
O3	200	34	3	1
O5	222	34	3	2
O6	193	34	3	1
O7	220	36,5	2	3+
O8	221	33	3	2
O10	116	30	2	1
O11	99	27,5	2	2
O12	71	24,5	3	2
O14	94	25	3	0
O16	242	36,5	3	1
O17	294	39	3	1
O18	392	41	3	1
O19	236	37,5	3	2
O20	168	31	3	1
O21	218	35	3	2
O22	214	33	3	2
O24	147	31	3	1
O25	245	38,5	3	2
O26	234	36	3	1
O27	20,6	34,5	3	1
O28	153	30	3	1
O29	160	31,5	3	1
O30	105	29	2	2
O31	70	25	2	1
O32	77	25,5	3	0
O34	51	22,5	3	2
O35	39	21,5	2	1
MW ± STABW	167,7 ± 85,8	31,9 ± 5,2	2,8 ± 0,4	1,4 ± 0,7

7 Literaturverzeichnis

- Allen, Y., Scott, A.P., Matthiessen, P., Haworth, S., Thain, J.E. & S. Feist (1999) Survey of estrogenic activity in United Kingdom estuarine and coastal waters and its effects on gonadal development of the flounder *Platichthys flesus*. *Environ. Toxicol. Chem.* 18: 1791-1800
- Allen, Y., Balaam, J., Bamber, S., Bates, H., Best, G., Bignell, J., Brown, E., Craft, J., Davies, I.M., Depledge, M., Dyer, R., Feist, S., Hurst, M., Hutchinson, T., Jones, G., Jones, M., Katsiadaki, I., Kirby, M., Leah, R., Matthiessen, P., Megginson, C., Moffat, C.F., Moore, A., Pirie, D., Robertson, F., Robinson, C.D., Scott, A.P., Simpson, M., Smith, A., Stagg, R.M., Struthers, S., Thain, J., Thomas, K., Tolhurst, L., Waldock, M. & Walker, P. (2002). Endocrine disruption in the marine environment (EDMAR). Report by the EDMAR Secretariat, UK Department of Environment, Food and Rural Affairs, London, 67 S.
- Arcand-Hoy, L.D. & Benson, W.H. (1998) Fish reproduction: an ecologically relevant indicator of endocrine disruption. *Environ. Toxicol. Chem.* 17: 49-57
- Beck, I.-C., Bruhn, R. & Gandrass, J. (2006a) Bioassay-directed fractionation for analyzing estrogens in surface waters of the German Baltic Sea. *Acta hydrochim. hydrobiol.* 34: 560-567
- Beck, I.-C., Bruhn, R. & Gandrass, J. (2006b) Analysis of estrogenic activity in coastal surface waters of the Baltic Sea using the yeast estrogen screen. *Chemosphere* 63: 1870-1878
- Blazer, V.S. (2002) Histopathological assessment of gonadal tissue in wild fishes. *Fish Physiol. Biochem.* 26: 85-101
- BMU (Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit) (2000) Umweltprobenbank des Bundes – Konzeption. Umweltbundesamt, Berlin
- Drevnick, P.E., Sandheinrich, M.B. & Oris, J.T. (2006) Increased ovarian follicular apoptosis in fathead minnows (*Pimephales promelas*) exposed to dietary methylmercury. *Aquat. Toxicol.* 79: 49-54
- Feist, S.W., Bateman, K.B., Bignell, J., Longshaw, M., Lyons, B. & Stentiford, G.D. (2005) Biological effects of contaminants on estuarine organisms. Final report for Defra, Marine and Waterways Division, (CDEP 84/5/31 ME3016). 141 S.
- Gercken, J. (2000) Untersuchung von Indikatororganismen am Ablauf der Kläranlage Schwerin-Süd. Beprobung 1999/2000. Bericht im Auftrag des Staatlichen Amtes für Umwelt und Natur Schwerin, 47 S.
- Gercken J. & Sordyl H. (2002) Intersex in feral marine and freshwater fish from northeastern Germany. *Mar. Environ. Res.* 54: 651-655
- Gercken, J., Förlin, L. & Andersson, J. (2006). Developmental disorders in larvae of eelpout (*Zoarces viviparus*) from German and Swedish Baltic coastal waters. *Mar. Poll. Bull.* 53: 497-507
- Götting, K.J. (1976) Fortpflanzung und Oocyten-Entwicklung bei der Aalmutter (*Zoarces viviparus*). *Helgoländer wiss. Meeresuntersuch.* 28: 71-89
- Greeley, M.S.Jr. (2002) Reproductive indicators of environmental stress in fish. - In: Adams, S.M. (Hrsg.), Biological indicators of aquatic ecosystem stress. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, S. 321-377
- Hinck, J.E., Schmitt, C.J., Blazer, V.S., Denslow, N.D., Bartish, T.M., Anderson, P.J., Coyle, J.J., Dethloff, G.M. & Tillitt, D.E. (2006) Environmental contaminants and biomarker responses in fish from the Columbia River and its tributaries: spatial and temporal trends. *Sci. Tot. Environ.* 366: 549-578

- Hinck, J.E., Blazer, V.S., Denslow, N.D., Myers, M.S., Gross, T.S. & Tillitt, D.E. (2007) Biomarkers of contaminant exposure in northern pike (*Esox lucius*) from the Yukon River Basin, Alaska. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 52: 549-562
- IFAÖ (2007) Biologisches Effektmonitoring in Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern. Pilotstudien 1998-2003. Bericht im Auftrag des Landesamtes für Umwelt, Naturschutz und Geologie Mecklenburg-Vorpommern, 135 S.
- Janz, D.M., McMaster, M.E., Munkittrick, K.R. & Van der Kraak, G. (1997) Elevated Ovarian Follicular Apoptosis and Heat Shock Protein-70 Expression in White Sucker Exposed to Bleached Kraft Pulp Mill Effluent. Toxicol. and applied pharmacology 147: 391-398
- Janz, D.M., McMaster, M.E., Weber, L.P., Munkittrick, K.R. & Van der Kraak, G. (2001) Recovery of ovary size, follicle cell apoptosis, and HSP70 expression in fish exposed to bleached pulp mill effluent. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 58: 620-625
- Jobling, S. & Tyler, C.R. (2003) Endocrine disruption in wild freshwater fish. Pure Appl. Chem. 75: 2219-2234
- Jobling, S., Nolan, M., Tyler, C.R., Brighty, G. & Sumpter, J.P. (1998) Widespread sexual disruption in wild fish. Environ. Sci. Technol. 32: 2498-2506
- Kime, D.E. (1995) The effects of pollution on reproduction in fish. Rev. Fish Biol. Fisheries 5: 52-96
- Korsgaard, B. (1986) Trophic adaptations during early intraovarian development of embryos of *Zoarces viviparus* (L.) J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 98: 141-152
- Korsgaard, B. & Andersen, F.Ø. (1985) Embryonic nutrition, growth and energetics in *Zoarces viviparus* L. as indication of a maternal-fetal trophic relationship. J. Comp. Physiol. B 155: 437-444
- Leino, R.L., Jensen, K.M. & Ankley, G.T. (2005) Gonadal histology and characteristic histopathology associated with endocrine disruption in the adult fathead minnow (*Pimephales promelas*). Environ. Toxicol. Pharmacol. 19: 85-98
- Matthiessen, P. (2003) Endocrine disruption in marine fish. Pure Appl. Chem. 75: 2249-2261
- Neuman, E., Sandström, O. & Thoresson, G. (1999) Guidelines for coastal fish monitoring. National Board of Fisheries, Institute of Coastal Research, Öregrund, Schweden, 44 S.
- NRC (National Research Council) (1999) Hormonally active agents in the environment. Committee on Hormonally Active Agents in the Environment, Board on Environmental Studies and Toxicology, Commission on Life Sciences, National Research Council. National Academic Press. Washington, D.C.
- Pait, A.S. & Nelson, J.O. (2002) Endocrine Disruption in Fish. An Assessment of Recent Research and Results. NOAA Technical Memorandum NOS NCCOS CCMA 149. Silver Spring, MD : NOAA, NOS, Center for Coastal Monitoring and Assessment, 55pp.
- Rasmussen, T.H., Andreassen, T.K., Pedersen, S.N., Van der Ven, L.T.M., Bjerregaard, P. & Korsgaard, B. (2002) Effects of waterborne exposure of octylphenol and oestrogen on pregnant viviparus eelpout (*Zoarces viviparus*) and her embryos in *ovario*. Jour. Experiment. Biol. 205: 3857-3876
- Schmitt, C.J. & Dethloff, G.M. [Editors] (2000) Biomonitoring of Environmental Status and Trends (BEST) Programm: selected methods for monitoring chemical contaminants and their effects in aquatic ecosystems. U.S. Geological Survey, Biological Resources Division, Columbia, (MO): Information and Technology Report USGS/BRD-2000-0005. 81 S.

- Stentiford, G.D., Longshaw, M., Lyons, B.P., Jones, G., Green, M. & Feist, S.W. (2003) Histopathological biomarkers in estuarine fish species for the assessment of biological effects of contaminants. *Mar. Environ. Res.* 55: 137-159
- Strand, J., Anderson, L., Dahllöf, I. & Korsgaard, B. (2004) Impaired larval development in broods of eelpout (*Zoarces viviparus*) in Danish coastal waters. *Fish Physiol. Biochem.* 30: 37-46
- Sumpter, J.P. (2005) Endocrine disruptors in the aquatic environment: an overview. *Acta hydrochim. hydrobiol.* 33: 9-16
- Tyler, C.R. & Sumpter, J.P. (1996) Oocyte growth and development in teleosts. *Rev. Fish Biol. Fisheries* 6: 287-318.
- Umweltbundesamt (Hrsg.) (1996) Umweltprobenbank des Bundes: Verfahrensrichtlinien für Probenahme, Transport, Lagerung und chemische Charakterisierung von Umwelt- und Humanproben. Erich Schmidt Verlag, Berlin.
- Vetemaa, M. (1999) Reproduction biology of the viviparous blenny (*Zoarces viviparus* L.). *Fiskeriverket Rapport* 2: 81-96
- Wood, A.W. & van der Kraak, G.J. (2001) Apoptosis and ovarian function: novel perspectives from the teleosts. *Biol. Reprod.* 64: 264-271