

Zur Entwicklung einer Prüfstrategie auf sexual-endokrine Wirksamkeit einer chemischen Substanz bei Fischen

Christoph Schäfers · Tobias Frische · Hans-Christian Stolzenberg · Arnd Weyers · Sabine Zok · Thomas Knacker

Erhalten: 30. Juni 2008 / Akzeptiert: 23. Juli 2008 / Online veröffentlicht: 16. August 2008
© Springer-Verlag 2008

1 Einleitung

Bestehende Verfahren zur Abschätzung des Umweltrisikos für chemische Substanzen gehen davon aus, dass endokrin wirksame Eigenschaften als Hinweis auf ein erhöhtes Umweltrisiko zu betrachten sind bzw. einer besonderen regulatorischen Aufmerksamkeit bedürfen. Dennoch existiert derzeit auf regulatorischer Ebene weder national noch international ein hinreichend etabliertes Verfahren zur Ableitung eines begründeten Verdachts auf endokrine Wirksamkeit einer Substanz bei Fischen. Ebenfalls gibt es für solche

Stoffe, für die der Verdacht bestätigt wurde, derzeit keine akzeptierte Prüfstrategie zur Charakterisierung der endokrinen Wirkungen bei Fischen.

Ausgehend von einem vom Umweltbundesamt (UBA) am 21. Juni 2007 in Dessau durchgeführten Fachgespräch zum Thema „Charakterisierung endokrin vermittelter Wirkungen in Fischen“, veranstalteten der Verband der Chemischen Industrie (VCI), der Industrieverband Agrar (IVA) und das UBA gemeinsam am 10./11. Dezember 2007 in Berlin einen Workshop zur vertieften fachlichen Diskussion dieses Themas. Das Ziel des Workshops war, eine Prüfstrategie zur Identifizierung und Charakterisierung endokriner Wirkungen bei Fischen zu konkretisieren. Die erzielten Ergebnisse sollen in OECD-Validierungsarbeiten für Fischtests und in die einschlägigen technischen Leitfäden zur Risikobewertung einfließen.

Der Workshop konzentrierte sich ausschließlich auf endokrine Wirkungen, die über eine Störung des Sexualhormonsystems (Interaktionen mit Östrogen- und Androgenrezeptoren, Hemmung der Steroidbiosynthese) hervorgerufen werden. Zu Beginn des Workshops fasste Christoph Schäfers (FhG-IME) die wissenschaftlichen Grundlagen für eine Prüfstrategie zusammen, Tobias Frische (UBA) schilderte einige Problemfelder bei der Entwicklung einer Prüfstrategie aus der Sicht der Bewertungsbehörde und Sabine Zok (BASF) stellte einen gemeinsam vom VCI und IVA entwickelten Vorschlag für eine Prüfstrategie vor. Die sich anschließende Diskussion war in sechs Themen untergliedert. Die beiden ersten Diskussionsthemen befassten sich mit der Begründung und Identifikation des Verdachts auf endokrine Wirksamkeit einer Substanz bei Fischen, während die folgenden vier Themen sich auf die Optimierung definitiver Tests mit Fischen zur Identifizierung und Charakterisierung endokriner Wirkungen konzentrierten.

Hintergrundinformation Umweltbundesamt (2007). Abschlussbericht des Forschungsprojektes „Charakterisierung endokrin vermittelter Wirkungen in Fischen: Relevante Parameter für die Entwicklung einer neuen OECD-Testmethode und in der Anwendung in der gesetzlichen Umweltrisikobewertung“ im Auftrag des Umweltbundesamtes (Förderkennzeichen 206 67 470). Online erhältlich unter <http://www.umweltdaten.de/publikationen/fpdf-l/3483.pdf>

C. Schäfers
IME Fraunhofer Gesellschaft,
Auf dem Aberg 1, 57392 Schmallenberg

T. Frische, H.-C. Stolzenberg
Umweltbundesamt (UBA),
Wörlitzer Platz 1, 06844 Dessau

A. Weyers
Currenta GmbH & Co. OHG,
Chempark Q18, 51368 Leverkusen

S. Zok
BASF Aktiengesellschaft,
GV/TC – Z570, 67056 Ludwigshafen

Th. Knacker (✉)
ECT Oekotoxikologie GmbH,
Böttgerstrasse 2–14, 65439 Flörsheim
E-Mail: th-knacker@ect.de

2 Ergebnisse

2.1 Thema 1: Was begründet für umweltrelevante Stoffe (z.B. Pflanzenschutzmittel, Industriechemikalien) einen Verdacht auf endokrine Disruption bei Fischen?

Für Substanzen, die in die aquatische Umwelt freigesetzt werden, ist eine Abwägung aller über diese Substanz vorhandenen Informationen zur Begründung des Verdachts auf endokrine Wirksamkeit bei Fischen erforderlich. Ist eine Exposition von Fischen gegenüber einer Substanz in der Umwelt als „nicht relevant“ einzustufen, kann auf diese Abwägung und damit auch auf eine spezifische Testung auf endokrine Wirksamkeit mit Fischen verzichtet werden. Entscheidungskriterien über die Relevanz der Exposition von Fischen sind die erwarteten Immissionen bei Herstellung oder Verwendung bzw. das Anwendungsmuster der Substanz. Zum Beispiel kann sich die Abwägung des Verdachts auf endokrine Wirksamkeit erübrigen, wenn die Anwendung einer Substanz in geschlossenen Räumen erfolgt oder die Substanz zeitlich begrenzt als Zwischenprodukt in einem geschlossenen Produktionsverfahren auftritt.

Entsprechend den gesetzlichen Grundlagen sind die von den zuständigen Behörden geforderten Daten zur Beurteilung der Umweltrisiken einer Substanz bei Industriechemikalien und Pflanzenschutzmitteln unterschiedlich. Als Folge davon werden auch die zur Verfügung stehenden Informationen zur Begründung des Verdachts auf endokrine Wirksamkeit für die beiden Chemikaliengruppen unterschiedlich sein. Dies bedeutet, dass für die Abwägung des Verdachts je nach Substanz eine spezifische Datenlage zur Anwendung kommt.

Wesentliche Kriterien, mit deren Hilfe ein Verdacht auf endokrine Wirkungen einer Substanz begründet werden kann, sind:

- ACR (Acute-Chronic Ratio) bei Fischen und Säugern: Spezifisch wirkende Substanzen, z.B. endokrin wirkende Substanzen, zeichnen sich häufig durch einen relativ hohen ACR (Vorschlag für Schwellenwert: $ACR > 20$ bei Fischen, bezogen auf den Vergleich von LC50 und NOEC bzw. ECx-low) aus. In solchen Fällen ist anhand aller vorliegenden Informationen abzuwägen, ob der ACR auf einen endokrinen oder einen anderen spezifischen Wirkmechanismus hinweist.
- In vitro Tests: Diese Verfahren liefern in erster Linie eine qualitative Antwort. Bei der Abwägung der Ergebnisse aus in vitro Tests sollte die relative Rezeptoraffinität und/oder die spezifische Wirksamkeit der Substanz im Vergleich zu einer geeigneten Positivkontrolle sowie die (sofern ableitbar) Effektschwelle für toxische Wirkung im in vitro Test einbezogen werden.

- Auswertung vorliegender Studien zur Wirkungen auf Säuger und Vögel im Hinblick auf endokrin-spezifische Wirkungen.
- Read across von vergleichbaren Substanzen.
- (Q)SAR.
- Bekannter Wirkmechanismus (Mode of action) einer (Wirk-)Substanz im Zielorganismus (relevant für PSM-Wirkstoffe, Arzneimittel-Wirkstoffe, Biozid-Wirkstoffe).
- Weitere als valide und aussagekräftig eingestufte Befunde aus Literatur und Biomonitoring.

Auf der Grundlage der zu den verschiedenen Kriterien vorliegenden Daten wird eine Gesamtbewertung („weight of evidence“) vorgenommen, welche die Entscheidung, weitere Tests auf endokrine Wirkung, nach gegenwärtigem Stand der Diskussion in der Regel den Fish Screening Assay (FSA), durchzuführen oder auch nicht, begründet.

Die endgültige Bewertung des Verdachts auf endokrine Wirkungen anhand der oben genannten Kriterien sollte im Einzelfall in einem Dialog zwischen Behörde und Antragsteller erfolgen.

2.2 Thema 2: Aufgabe des Fish Screening Assays (FSA): Klärung des Mode of Action (MoA)? Verwendung der Ergebnisse bei regulatorischen Entscheidungen?

Sofern eine auf „weight of evidence“ basierende Analyse der vorgenannten Kriterien ergeben hat, dass eine Substanz möglicherweise endokrine Aktivität besitzt, muss die Möglichkeit einer in vivo Wirkung überprüft werden. Dazu dient der FSA. Daten aus den 28-Tage-Fischtests sowie dem Early-Life-Stage (ELS) Fischttest besitzen mit Blick auf die Identifizierung des endokrinen MoA keinen Informationsgehalt, da in diesen Tests keine endokrin-spezifischen Endpunkte berücksichtigt sind.

Vertreter der Forschung sind der Auffassung, dass im FSA durch Analyse geeigneter Biomarker vier der fünf intensiv diskutierten Wirkmechanismen (Östrogenrezeptor-Agonisten und -Antagonisten, Androgenrezeptor-Antagonisten und Aromatasehemmer) zuverlässig detektiert werden können.

- Aromatasehemmer werden durch Abnahme des Vitellogeningehaltes in weiblichen Fischen angezeigt.
- Östrogenrezeptor-Agonisten werden durch Steigerung des Vitellogeningehaltes in beiden Geschlechtern der Fische angezeigt; besonders kennzeichnend ist der Anstieg von Vitellogenin bei männlichen Fischen.
- Östrogenrezeptor-Antagonisten werden durch Abnahme des Vitellogeningehaltes angezeigt. Methodisch ist dieser Nachweis schwierig und eigentlich nur in weiblichen Fischen möglich, da die Vitellogengehalte in Männchen sehr niedrig sind.
- Androgenrezeptor-Agonisten können durch histopathologische Untersuchungen und bei *Pimephales promelas* und *Oryzias latipes* durch Veränderung der sekundären

Geschlechtsmerkmale angezeigt werden. Histopathologische Untersuchungen würden den Arbeitsaufwand zur Durchführung des FSA in etwa verdoppeln.

- Androgenrezeptor-Antagonisten werden durch Abnahme des 11-keto-Testosterongehaltes angezeigt (bislang nicht im OECD-Prozess validiert).

Das Umweltbundesamt hält die verfügbare Datenlage für ER-Agonisten und Aromatasehemmer für ausreichend, um falsch-negative Ergebnisse mit der erforderlichen Sicherheit auszuschließen.

Der FSA identifiziert potenzielle endokrine Disruptoren im Sinne intrinsischer Eigenschaften; d.h., eine Identifizierung eines endokrinen Disruptors im Sinne der Weybridge-Definition ist damit nicht möglich, da der FSA keine populationsrelevanten apikalen Endpunkte adressiert. Allerdings, eine negative Antwort, d.h. keine Wirkung im FSA, ermöglicht den Ausstieg aus weiterer endokrin-spezifischer Testung bei Fischen, wenn der für die Substanz vermutete Wirkmechanismus durch den FSA abgedeckt ist (siehe oben).

Das UBA gibt zu bedenken, dass für eine abschließende Festlegung zur Rolle des FSA im regulatorischen Verfahren die Datenlage sehr dürrig ist – bis heute wurde erst ein FSA-Test beim Umweltbundesamt eingereicht.

Zusätzlich zur Rolle des FSA in der Prüfstrategie von potenziell endokrinen Substanzen mit Fischen wurde für das Testdesign des FSA vorgeschlagen:

- Konzentrationen höher als $0,1 \times LC50$ im akuten Fischtest nicht zu testen.
- Mindestens drei Konzentrationsstufen zu testen.

2.3 Thema 3: Welche populationsrelevanten Endpunkte sollen in definitiven Tests erfasst werden?

Als „definitiver Test“ wird an dieser Stelle eine Prüfung bezeichnet, aus der eine für die Risikobewertung geeignete NOEC (No Observed Effect Concentration) abgeleitet werden kann.

Bei der definitiven Testung sind die übergeordneten, bewertungsrelevanten Endpunkte Überleben (bzw. Mortalität), Wachstum, geschlechtliche Differenzierung und Reifung sowie Reproduktion zu erfassen. Nur diese Endpunkte sind relevant für die Festlegung des NOEC in der Risikobewertung.

Nach den bisher vorliegenden experimentellen Daten sind für den jeweiligen MoA die folgenden bewertungsrelevanten Endpunkte am empfindlichsten:

- Aromatasehemmung: Sexualentwicklung mit den Endpunkten Verschiebung des Geschlechterverhältnisses (sex ratio), Reproduktion gemessen als Fekundität (Eizahl), Zeit bis zur ersten Eiablage und Wachstumsverzögerungen. Die Empfindlichkeit der Endpunkte variiert um den Faktor drei.

- Östrogenrezeptor-Agonist: Befruchtungsrate dicht gefolgt von Wachstum und Geschlechterverhältnis; artspezifische Verschiebungen in der Reihenfolge der Empfindlichkeit der Endpunkte können auftreten.

- Östrogenrezeptor-Antagonist: Befruchtungsrate und mit ähnlicher Empfindlichkeit die Zeit bis zur ersten Eiablage.

- Androgenrezeptor-Agonist: Sexualentwicklung mit dem Endpunkt Geschlechterverhältnis.

- Androgenrezeptor-Antagonist: Reproduktion gemessen als Fekundität (Eizahl).

Allerdings ist die Anzahl der geprüften Substanzen nur für Aromatasehemmung und Östrogenrezeptor-Agonist hinreichend, um derzeit eine verlässliche Aussage über die empfindlichsten Endpunkte treffen zu können.

Solange der Entwicklungsprozess auf OECD-Ebene keine international verabschiedeten aktuellen Testrichtlinien liefert, soll ein definitiver Test aus Sicht des UBA in Übereinstimmung mit der US-EPA FLC-Guideline (US EPA OPPTS 850.1500; Fish life cycle toxicity) folgende populations- und damit bewertungsrelevanten Endpunkte abdecken:

Mortalität:

- Überlebensraten (Embryonen, Larven, Juvenile, Adulte).

Wachstum und Entwicklung:

- Schlupfzeitpunkt und -verlauf, Schlupferfolg.
- Wachstum (Gewicht, Länge).
- Missbildungen.
- Zeit bis zur Geschlechtsreife (Time to first spawn, Sekundäre Geschlechtsmerkmale).
- Geschlechterverhältnis (sex ratio).
- (Allgemeines Verhalten).

Reproduktion:

- Eizahl (Fekundität).
- Befruchtungsrate (Fertilität).
- (Sexualverhalten, Balz).

„Sex-ratio“ und „Zeit bis zur Geschlechtsreife“ werden in der US-EPA-Guideline nicht als Endpunkte erwähnt. Beide Endpunkte sind aber wichtig zur Beurteilung der Populationsrelevanz von Wirkungen und werden vor allem durch endokrin wirkende Substanzen beeinflusst. Verhaltensauffälligkeiten werden in der Regel erfasst, aber bisher nicht quantitativ ausgewertet. Eine Berücksichtigung und Beurteilung der Populationsrelevanz erfolgt von Fall zu Fall.

2.4 Thema 4: Ist die Messung indikativer Endpunkte im definitiven Test erforderlich?

Indikative Endpunkte/Biomarker sind: Vitellogenin (Vtg)-Gehalt, histologische Befunde, sekundäre Geschlechtsmerkmale, 11-k-Testosteron, Verhalten (Balz, Laichen).

Die Risikobewertung erfolgt auf Grundlage populationsrelevanter Endpunkte; d.h., Endpunkte, die Aussagen über

die Populationswachstumsrate erlauben. Deshalb ist die Bestimmung der indikativen Endpunkte wie im FSA (siehe Thema 2) im definitiven Test aus formal regulatorischer Sicht nicht erforderlich.

Allerdings kann die Messung indikativer Endpunkte im definitiven Test aus wissenschaftlicher Sicht folgende Vorteile haben:

- Der Verdacht einer endokrinen Wirksamkeit kann ausgeräumt werden, indem die beobachteten populationsrelevanten Effekte anderen Wirkmechanismen zugeordnet werden können.
- Die Interpretation der Ergebnisse kann verbessert werden, z.B. hinsichtlich der Abgrenzung von primär endokrin vermittelten adversen Effekten gegenüber allgemeiner „systemischer“ Toxizität. Die Plausibilität der als bewertungsrelevant abgeleiteten NOEC-Werte (populationsrelevante Endpunkte) kann unterstützt werden.

Zusätzlich argumentiert das UBA aus folgenden Gründen für die Messung indikativer Endpunkte im definitiven Test:

- Es besteht eine gesetzliche Notwendigkeit, endokrin wirksame Stoffe zu identifizieren, d.h. gegebenenfalls einen kausalen Zusammenhang zwischen dem MoA endokrin wirksamer Substanzen und adversen Effekten herzustellen (z.B. Weybridge-Definition und potenzielle Relevanz unter Art 57(f) der REACH-Verordnung).
- Der Nachweis endokrin vermittelter adverser Effekte im definitiven Fischtest liefert Hinweise für andere Prüfbereiche bzw. Organismengruppen (z.B. Vögel).

Die Industrie lehnt die Messung indikativer Endpunkte im definitiven Test ausschließlich zur Verbreiterung der wissenschaftlichen Datenbasis über die Zusammenhänge zwischen Veränderungen bei Biomarkern und bewertungsrelevanten Endpunkten ab.

Industrievertreter waren der Auffassung, dass die Messung der indikativen Endpunkte zu einer Verringerung der Sicherheitsfaktoren führen sollte, um die oben beschriebene verbesserte Interpretation der Ergebnisse zu berücksichtigen. Aus Sicht des UBA rechtfertigt das größere Vertrauen in die Bestimmung des NOEC durch die Messung indikativer Endpunkte nicht die Verringerung von Sicherheitsfaktoren (assessment factors), da Sicherheitsfaktoren u.a. die Unsicherheiten bei der Extrapolation auf empfindlichere Fischpopulationen bzw. -spezies sowie von Labor- zu Freilandbedingungen berücksichtigen. Die Bestimmung indikativer Endpunkte zur Bestätigung des vermuteten bzw. bekannten Wirkmechanismus im definitiven Test hat keinen Einfluss auf diese Aspekte.

2.5 Thema 5: Welcher Test ist geeignet: Full-Life-Cycle-Test (FLCT) oder 2-Generationen-Test (2-GT)?

Einen 2-GT hat die US-EPA in einem Entwurf vorgeschlagen, den die USA auch in das OECD-EDTA-Programm

eingebraucht haben. Die Datenbasis für einen Vergleich von 2-GTs mit FLCTs ist sehr gering.

Der 2-GT wird mit adulten Fischen gestartet. Die F1-Generation stammt also von exponierten Elterntieren ab. Entsprechend stammt die F1-Generation für jede Konzentrationsgruppe von unterschiedlichen Elterntieren ab. Die Elterntiere laichen nicht täglich, sondern mit mehrtägigen Abständen ab. Deshalb ist davon auszugehen, dass bei Start der F1-Generation pro Gruppe nur eine geringe Zahl von Gelegen verwendet wird. Die untersuchten Testparameter, u.a. das Geschlechterverhältnis der F1-Generation, variieren jedoch von Gelege zu Gelege. Bei einer geringen Zahl von Gelegen pro Konzentrationsgruppe erhöht sich deshalb die Variabilität für diese Parameter beträchtlich. Wird der Test dagegen wie im FLCT mit frisch befruchteten Eiern gestartet, werden alle Konzentrationsgruppen mit Eiern der gleichen Gelege gestartet, da die Eier vor Beginn der Exposition gepoolt werden. Dabei sollten mehrere Gelege verwendet werden, um die Variabilität zu verringern.

Beobachtet wurde ein unveröffentlichter Einzelfall, in dem der 2-GT um den Faktor 6–8 sensitiver als der FLCT war. Die Teilnehmer und Teilnehmerinnen waren mehrheitlich der Meinung, dass diese Beobachtung zunächst in weiteren Studien bestätigt werden müsse, bevor eine abschließende Beurteilung möglich ist. Die um den Faktor 2 höhere Empfindlichkeit des 2-GTs im Vergleich zum FLCT für Ethinylestradiol war letztlich auf Konzentrationsunterschiede in den verschiedenen Versuchsabschnitten zurückzuführen (Schäfers et al. 2007). Ein FLCT ist in dem hier diskutierten Zusammenhang nur dann unzureichend, wenn Transgenerationseffekte (parentale Weitergabe in die folgende Generation) vermutet werden. Allerdings ist bisher noch unklar, wie der Verdacht auf Transgenerationseffekte begründet werden kann.

Wesentliche Argumente, die den erhöhten Aufwand und die größere Komplexität bei der Durchführung eines 2-GTs als Standardtest, der eine geringere statistische Trennschärfe besitzt, rechtfertigen, sind bisher nicht erkennbar. Auch aus Tierschutzgründen ist der FLCT vorzuziehen. Sollten weitere Experimente eine höhere Sensitivität des 2-GT gegenüber dem FLCT zeigen, wird ein 2-GT als weiteres Verfahren benötigt. Im Unterschied zum 2-GT des US-EPA Entwurfs sollte der definitive Test mit befruchteten Eiern gestartet werden. Falls erforderlich, kann der Test bis zum Abschluss der Sexualentwicklung der F2 fortgeführt werden; die Phase der Sexualentwicklung wäre dann zweimal berücksichtigt. Eindeutige Kriterien zur Fortführung des definitiven Tests mit Einschluss der Sexualentwicklung in der F2 können bisher nicht benannt werden. Denkbar sind sowohl die Weitergabe der Belastung an die folgende Generation durch bioakkumulierende Stoffe als auch die Fortpflanzung einer endokrinen Wirkung durch beeinträchtigte Qualität der Eier oder Spermien.

2.6 Thema 6: Sind „verkürzte“ Life-Cycle-Tests geeignet? Sind indikative Endpunkte sicher genug, um einen FLCT oder 2-GT zu verkürzen? Unter welchen Bedingungen können der „Fish Sexual Development Test“ (FSDT) oder der bisher in vergleichsweise wenigen Untersuchungen eingesetzte „short-term Fish Reproduction Test“ (FRT) den FLCT oder 2-GT als definitiven Test ersetzen?

Grundlage für die Verkürzung eines FLCTs ist die Exposition im nachweislich sensitivsten Zeitfenster der Entwicklung und die Erfassung der sensitiven Endpunkte; d.h., ausgehend von der vorhandenen Datenlage ist in jedem Einzelfall eine Begründung für die Durchführung eines FSDT und FRT notwendig.

Der FSDT, der die Reproduktion nicht abdeckt, ist grundsätzlich als definitiver Test geeignet, wenn Wachstum und/oder Sexualentwicklung als empfindlichster Endpunkt eines endokrinen MoA zu erwarten sind. Dieser Nachweis ist für Aromatasehemmung als dominierenden MoA erbracht worden; hier besitzt im Vergleich zum FLCT der FSDT die gleiche Empfindlichkeit bei höherer statistischer Trennschärfe.

Grundsätzlich gilt die gleiche Aussage wie für die Aromatasehemmung auch für Androgenrezeptor-Agonisten; allerdings ist die Datengrundlage, dass die Sexualentwicklung (Geschlechterverhältnis) bei diesem MoA den empfindlichsten populationsrelevanten Lebensprozess (Endpunkt) darstellt, noch gering.

Möglicherweise ist für Östrogenrezeptor-Agonisten der FSDT ebenfalls ein geeigneter „Ersatz“ für den FLCT. Vertreter aus Forschung und Industrie schlagen daher vor, dass die offensichtlich etwas geringere Empfindlichkeit des FSDT durch einen höheren Sicherheitsfaktor ausgeglichen werden könnte.

Der FRT wird als wenig geeignet angesehen, da die Sexualentwicklung als empfindlichstes Zeitfenster für die wohl meisten bisher untersuchten MoA der endokrinen Substanzen nicht erfasst wird.

3 Teilnehmerinnen und Teilnehmer am Workshop

Jean Bachmann (UBA, Protokoll); Thomas Braunbeck (Uni Heidelberg); Friedrich Dechet (IVA, Protokoll); Axel Dinter (DuPont); Michael Dorgerloh (Bayer Crop Science); Uwe Ensenbach (Clariant); Tobias Frische (UBA); Raimund Grau (Bayer Crop Science); Edda Hahlbeck (UBA); Udo Hommen (Fh-IME); Thomas Knacker (ECT, Moderation und Protokoll); Anette Küster (UBA); Carola Kussatz (UBA); Reinhard Länge (Bayer Health Care); Annegaaike Leopold (Wildlife International); Gerd Maack (UBA, Protokoll); Steffen Matezki (UBA); Verena Pfeifle (Syngenta); Hans Ruffi (Ecotoxsolutions); Christoph Schäfers (Fh-IME); Achim Schmitz (SCC); Stefan Scholz (UfZ-Leipzig); Christoph Schulte (UBA); Wiebke Schwarzbach (UBA); Robert Spatz (Syngenta); Martin Streloke (BVL); Matthias Teigeler (Fh-IME); Susanne Walter-Rohde (UBA); Lennart Weltje (BASF); Arnd Weyers (Bayer Industry Services); Ulrike Zimmer (VCI, Protokoll); Sabine Zok (BASF)

Literatur

Schäfers C, Teigeler M, Wenzel A, Maack G, Fenske M, Segner H (2007) Concentration- and time-dependent effects of the synthetic estrogen, 17 α -ethinylestradiol, on reproductive capabilities of the zebra fish, *Danio rerio*. *Toxicol Environ Health, Part A*, 70:768–779