

Aus dem Veterinär-Physiologisch-Chemischen Institut  
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig  
und dem Zoologischen Garten Leipzig

**Bestimmung von Sexualzyklus und Trächtigkeit mit Hilfe des  
Nachweises von Gestagenen im Kot von im Zoo gehaltenen Giraffen  
(*Giraffa camelopardalis*) und Spitzmaulnashörnern (*Diceros bicornis*)**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)  
durch die Veterinärmedizinische Fakultät  
der Universität Leipzig

eingereicht von  
Gaby Neumann  
aus Winterberg

Leipzig, 2002

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. med. vet. Gotthold Gäbel

Betreuer: Prof. Dr. med. vet. Klaus Eulenberger  
Prof. Dr. med. vet. Eberhard Grün

Gutachter: Prof. Dr. med. vet. Klaus Eulenberger,  
Zoologischer Garten Leipzig und Universität Leipzig  
Prof. Dr. med. vet. Eberhard Grün,  
Veterinär-Physiologisch-Chemisches Institut, Universität Leipzig

Dr. med. vet. habil. Franz Schwarzenberger,  
Veterinärmedizinische Universität Wien

Dr. med. vet. Wolfram Rietschel,  
Zoologisch-Botanischer Garten Stuttgart

Tag der Verteidigung: 17.01.2003

## **Meinen Eltern**



## INHALTSVERZEICHNIS

<b>1</b>	<b><u>EINLEITUNG</u></b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b><u>LITERATURÜBERSICHT</u></b>	<b>3</b>
<b>2.1</b>	<b>Taxonomie und Verwandtschaft der untersuchten Spezies</b>	<b>3</b>
2.1.1	Giraffen	3
2.1.2	Spitzmaulnashörner	4
<b>2.2</b>	<b>Progesteron</b>	<b>5</b>
2.2.1	Struktur, Eigenschaften und Synthese	5
2.2.2	Transport	7
2.2.3	Wirkungsmechanismus	8
2.2.4	Regulation von Progesteronsynthese und –sekretion	8
2.2.5	Funktionen während Zyklus und Gravidität	9
2.2.6	Abbau und Ausscheidung	11
2.2.7	Ausscheidung über Harn und Kot	12
2.2.8	Beziehungen zwischen den Konzentrationen an Gestagenen im Blut und in den Exkreten	14
2.2.9	Stabilität der Gestagene im Kot bei äußeren Einflüssen	16
<b>2.3</b>	<b>Reproduktionskontrolle bei Giraffen und Spitzmaulnashörnern</b>	<b>18</b>
2.3.1	Allgemeines	18
2.3.1.1	Methoden zur Fertilitätsdiagnostik bei Wildtieren	18
2.3.1.2	Gestagennachweis bei Wildtieren	21
2.3.2	Fortpflanzung der Giraffen	23
2.3.2.1	Allgemeine Fortpflanzungsdaten	23
2.3.2.2	Verhalten der Gestagene in Exkreten während des Zyklus	24
2.3.2.3	Verhalten der Gestagene in Exkreten während der Gravidität	25
2.3.3	Fortpflanzung der Nashörner	27
2.3.3.1	Allgemeine Fortpflanzungsdaten	27
2.3.3.2	Verhalten der Gestagene in Exkreten während des Zyklus	30
2.3.3.3	Verhalten der Gestagene in Exkreten während der Gravidität	33
<b>3</b>	<b><u>TIERE, MATERIAL UND METHODEN</u></b>	<b>37</b>
<b>3.1</b>	<b>Tiere</b>	<b>37</b>
3.1.1	Tiere zur Feststellung der Stabilität der Gestagene im Kot	37
3.1.2	Tiere für die Zyklus- und Graviditätsdiagnostik	38
3.1.2.1	Giraffen	38
3.1.2.2	Spitzmaulnashörner	41
<b>3.2</b>	<b>Probenmaterial</b>	<b>43</b>
3.2.1	Gewinnung und Lagerung	44
3.2.2	Vorbereitung	44
<b>3.3</b>	<b>Methodik der Gestagenbestimmung im Kot</b>	<b>45</b>
3.3.1	Einwaage und Extraktion	45
3.3.2	Hormonmessung mittels RIA	45
3.3.2.1	Materialien	45

3.3.2.2	Versuchsablauf	46
3.3.2.3	Qualitätskriterien	47
<b>3.4</b>	<b>Statistische Auswertung</b>	<b>47</b>
<b><u>4</u></b>	<b><u>ERGEBNISSE</u></b>	<b><u>49</u></b>
<b>4.1</b>	<b>Qualitätskriterien der Bestimmungsmethode</b>	<b>49</b>
<b>4.2</b>	<b>Stabilität der Gestagene im Kot</b>	<b>50</b>
<b>4.3</b>	<b>Zyklus- und Graviditätsdiagnostik</b>	<b>55</b>
4.3.1	Giraffen	55
4.3.2	Spitzmaulnashörner	64
<b><u>5</u></b>	<b><u>DISKUSSION</u></b>	<b><u>71</u></b>
<b>5.1</b>	<b>Einfluss äußerer Faktoren auf die Stabilität der Gestagene im Kot</b>	<b>71</b>
<b>5.2</b>	<b>Qualitätskriterien der radioimmunologischen Bestimmung der Gestagene im Kot</b>	<b>76</b>
<b>5.3</b>	<b>Reproduktionskontrolle bei Giraffen und Spitzmaulnashörnern</b>	<b>79</b>
<b><u>6</u></b>	<b><u>ZUSAMMENFASSUNG</u></b>	<b><u>93</u></b>
<b><u>7</u></b>	<b><u>SUMMARY</u></b>	<b><u>95</u></b>
<b><u>8</u></b>	<b><u>LITERATURVERZEICHNIS</u></b>	<b><u>97</u></b>
<b><u>9</u></b>	<b><u>ANHANG</u></b>	
<b>9.1</b>	<b>Einzelwerte im Rahmen der Prüfung auf Stabilität von Gestagenen im Kot</b>	
<b>9.2</b>	<b>Einzelwerte der Gestagenkonzentrationen im Kot zur Reproduktionskontrolle bei Giraffen</b>	
<b>9.3</b>	<b>Einzelwerte der Gestagenkonzentrationen im Kot zur Reproduktionskontrolle bei Spitzmaulnashörnern</b>	

## LISTE DER VERWENDETEN ABKÜRZUNGEN

µg	10 <sup>-6</sup> Gramm
µl	10 <sup>-6</sup> Liter
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
ANOVA	analysis of variance (Varianzanalyse, englisch)
a. p.	ante partum (vor der Geburt, lateinisch)
bidest.	bidestilliert
BSA	bovines Serumalbumin
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
C/ <sup>14</sup> C	Kohlenstoff/ <sup>14</sup> Kohlenstoff
ca.	zirka
Ca <sup>2+</sup>	Kalzium <sup>2+</sup>
cm	Zentimeter
CoA	Coenzym A
CR	Kreatinin
d. h.	das heißt
DNA	deoxyribonucleic acid (Desoxyribonukleinsäure, englisch)
et al.	et alii (und andere, lateinisch)
evtl.	eventuell
g	Gramm
G	Gravitation (Erdbeschleunigung, lateinisch)
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
GnRH	Gonadotropin-Releasing-Hormon (Gonadoliberin)
<sup>3</sup> H	Tritium
HCl	Salzsäure
l	Liter
LH	Luteinisierendes Hormon
LSC	liquid scintillation counting (Flüssigszintillationszählung, englisch)
M	Mutter
mg	10 <sup>-3</sup> Gramm
ml	10 <sup>-3</sup> Liter
mRNA	messenger ribonucleic acid (Boten-Ribonukleinsäure, englisch)
n	Anzahl
ng	10 <sup>-9</sup> Gramm
nmol	10 <sup>-9</sup> Mol
Nr.	Nummer
p	Signifikanz
p. a.	pro analysii (für die Analyse, lateinisch)

pg	$10^{-12}$ Gramm
p. p.	post partum (nach der Geburt, lateinisch)
PGF <sub>2α</sub>	Prostaglandin F <sub>2α</sub>
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
RIA	Radioimmunoassay
s	Standardabweichung
S.	Seite
SEM	standard error of the mean (Standardfehler, englisch)
sog.	sogenannte(r)
U	Umdrehungen
u. a.	unter anderem
u.	und
V	Vater
v. a.	vor allem
VK	Variationskoeffizient
vgl.	vergleiche
$\bar{x}$	arithmetischer Mittelwert
z. B.	zum Beispiel

## **1 EINLEITUNG**

Unter den Nashörnern, die alle durch das Washingtoner Artenschutzübereinkommen unter Schutz stehen, erlitt das afrikanische Spitzmaulnashorn die größte Dezimierung von ca. 100000 Tieren im Jahr 1960 auf nur 2300 Individuen im Jahr 1992. Seither haben die Bemühungen um die Einschränkung der Wilderei zu Stagnation bzw. sogar zu einem leichten Anstieg der Tierzahl geführt. Die Nachzucht von Spitzmaulnashörnern in Zoologischen Gärten ist demnach von großer Bedeutung für die Arterhaltung.

Giraffen unterstehen zwar nicht dem Washingtoner Artenschutzübereinkommen, die Reinerhaltung und Vermehrung ihrer Unterarten in Zoos ist aber trotzdem ein wichtiges Ziel. Die Zuordnung zu den jeweiligen Subspezies erfolgt aufgrund ihrer Herkunft. So sind bestimmte Unterarten auch stärker gefährdet als andere, je nachdem, wie stark ihr Lebensraum im Herkunftsland bedroht ist. Auch ist die Verlustrate der vergleichsweise empfindlichen Tierart in menschlicher Obhut noch sehr hoch. Insbesondere kann der Bedarf an weiblichen Tieren zur Zeit nicht gedeckt werden.

Ein Bestandteil des Washingtoner Artenschutzübereinkommens ist das Verbot von Wildfängen bedrohter Tierarten. Dies bedeutet für Zoologische Gärten, dass eine Entnahme aus der Wildbahn und damit eine Genauffrischung aus den Herkunftsländern nur noch ausnahmsweise möglich ist. Im Gegenteil, die Zoos sollten mit dem vorhandenen Tiermaterial versuchen, genügend Nachwuchs für den Bestand in menschlicher Obhut zu erzielen und evtl. sogar Tiere für eine Auswilderung zur Verfügung zu stellen.

Vor diesem Hintergrund entstanden weltweit Zuchtprogramme für die betroffenen Tierarten, in Europa gibt es hierfür das Europäische Erhaltungszuchtprogramm (EEP). Dadurch ist eine zentrale Steuerung der Zucht einer bestimmten Tierart in allen beteiligten Zoos möglich geworden. Zur Realisierung sind allerdings gute Zuchterfolge von großer Bedeutung, die wiederum genaue Kenntnisse über die Fortpflanzungsbiologie der entsprechenden Tierart voraussetzen. Mit endokrinen Studien lassen sich dabei Reproduktionsstatus, Ovulationszeitpunkt, Gravidität und evtl. Hormonimbalancen feststellen.

In der vorliegenden Arbeit soll durch Gestagenbestimmungen im Kot ein Beitrag zur Endokrinologie der weiblichen Fortpflanzung bei verschiedenen Giraffenspezies (*Giraffa camelopardalis ssp.*) und beim östlichen Spitzmaulnashorn (*Diceros bicornis michaeli*) geleistet werden. Dabei wurden folgende Zielstellungen verfolgt:

1. Untersuchung des Einflusses äußerer Faktoren auf den Gestagengehalt im Kot mit Schwerpunkten auf:
  - Trockenmasse des Kotes,
  - Veränderungen des Einfrierzeitpunktes,
  - Unterschiedliche Lagerungsdauer im gefrorenen Zustand,
  - Einmaliges bzw. dreimaliges Gefrieren und Auftauen.
  
2. Zyklus- und Graviditätsdiagnostik bei Giraffen und Spitzmaulnashörnern:
  - Erstellung von Gestagen-Verlaufprofilen zur Zyklusanalyse,
  - Trächtigkeitsdiagnostik anhand von Konzentrationsänderungen von Gestagenen im Kot, insbesondere Ermittlung von Grenzwerten zur Feststellung einer Trächtigkeit,
  - Ermittlung von Beziehungen zwischen Hormonkonzentrationen im Kot und beobachteten Fortpflanzungsereignissen.

## **2 LITERATURÜBERSICHT**

### **2.1 Taxonomie und Verwandtschaft der untersuchten Spezies**

#### **2.1.1 Giraffen**

Die Familie der Giraffidae, die zur Ordnung der Paarhufer (Artiodactyla) und der Unterordnung der Wiederkäuer (Ruminantia) zählt, besteht aus zwei Unterfamilien mit je einer Art: der Langhals- oder Steppengiraffe (*Giraffa camelopardalis*) und der Kurzhals- oder Waldgiraffe (= Okapi, *Okapia johnstoni*). Während bei den Okapis nur eine Subspezies vorkommt, besteht die Unterfamilie der Steppengiraffen aus mehreren Unterarten (APFELBACH 1988). Die Anzahl wird allerdings unterschiedlich zwischen 7-10 angegeben (KRUMBIEGEL 1971; CALLE et al. 1976; DAGG u. FOSTER 1976). Im Europäischen Zuchtbuch für *Giraffa camelopardalis* sind 7 Subspezies geführt (BROTZLER u. SCHLEUSSNER 2000).

Unter den Wiederkäuern sind Giraffen und Okapis verdauungsphysiologisch den Konzentratselktierern zuzuordnen (MATERN u. KLÖPPEL 1995; HOFMANN 1989). Neben dieser gleichartigen Ernährung weisen die beiden Unterfamilien auch noch anatomische Gemeinsamkeiten auf. Dies sind der leicht abschüssige Rücken, eine lange, sehr bewegliche Zunge, starke Lappung der Canini und mit Haut überzogene Hörner bei weiblichen und männlichen Giraffen bzw. männlichen Okapis. Aufgrund dieser anatomischen Besonderheiten setzen sich die Giraffidae von anderen Wiederkäuern ab, da Zerviden zwar temporär hautüberzogene Hörner aufweisen, diese aber einmal jährlich abwerfen. Boviden hingegen besitzen zwar permanente, dafür aber freiliegende Hörner (CALLE et al. 1976; DAGG u. FOSTER 1976; GRZIMEK 1988 b). Eine weitere Eigenheit der beiden Giraffidae-Vertreter ist der Passgang, den sie nur mit wenigen anderen Tierspezies wie Kamelen, Lamas und Bären gemeinsam haben (KRUMBIEGEL 1971).

Der Lebensraum von Giraffen und Okapis ist sehr unterschiedlich. Während die Giraffe vorwiegend in Savannen und offenem Buschwerk zu finden ist und meist in kleinen Herden lebt, ist das Vorkommen des einzelgängerischen Okapis auf Regenwälder begrenzt (KRUMBIEGEL 1971; DAGG u. FOSTER 1976). Außerdem besteht eine starke Diskrepanz in der Chromosomenanzahl der beiden Vertreter: Giraffen besitzen

30 Chromosomen mit ähnlichen Karyotypen wie Boviden, Okapis dagegen 45 oder 46 (KOULISCHER et al. 1971; KOULISCHER 1978; BENIRSCHKE et al. 1983).

Der Uterus von Giraffe und Okapi ist mit einem sehr kurzen Körper und symmetrischen Hörnern ähnlich aufgebaut wie bei domestizierten Kühen (CALLE et al. 1976). Allerdings ist die Zervix im Gegensatz zum Rind sehr stark gewunden (LOSKUTOFF et al. 1988). Die Plazenta der Giraffidae ist wie bei allen Wiederkäuern epitheliochorial vom kotyledonaren Typ (HRADECKY 1983 a). Zwar ist die Anordnung der Karunkeln in den Uterushörnern bei beiden Vertretern gleich (HRADECKY 1983 b), aber in der Plazentomikrostruktur gibt es starke Unterschiede (LOSKUTOFF et al. 1988).

### 2.1.2 Spitzmaulnashörner

Die Familie der Nashörner (*Rhinocerotidae*) bildet zusammen mit den Familien der Pferdeartigen (*Equidae*) und der Tapire (*Tapiridae*) die Ordnung der Unpaarhufer (Perissodactyla). Unter den Nashörnern existieren heute noch 4 Gattungen mit 5 Arten, die entweder in Asien beheimatet sind, wie das Indische Panzernashorn (*Rhinoceros unicornis*), das Javanashorn (*Rhinoceros sondaicus*) und das Sumatranashorn (*Dicerorhinus sumatrensis*), oder nur in Afrika vorkommen, wie das Spitzmaulnashorn (*Diceros bicornis*) und das Breitmaulnashorn (*Ceratotherium simum*) (SCHENKEL 1988 c).

Der Verdauungstrakt von Nashörnern ist ähnlich aufgebaut wie bei Pferden mit einhöhligen Magen, relativ kurzem Darm und großem Dickdarm (v. a. Blinddarm) (GÖLTENBOTH 1995). Die Ernährungsweise der einzelnen Arten weist aber, abhängig vom Lebensraum, Unterschiede auf. Das Panzernashorn, als das größte asiatische Nashorn, bewohnt Sumpflandschaften und ernährt sich dort von Pflanzen, Gras und Blättern. Das kleinere, ansonsten dem Panzernashorn ähnelnde Javanashorn und das behaarte Sumatranashorn sind Urwaldbewohner, die überwiegend Blätter fressen. Spitz- und Breitmaulnashörner kommen dagegen in Steppen und Buschlandschaften vor, wobei das kleinere Spitzmaulnashorn zu den Blattäsern ("browser") zählt und das Breitmaulnashorn ein ausgesprochener Grasfresser ("grazer") ist (SCHENKEL 1988 b; HOFMANN 1989). Dies spiegelt sich auch in der Ausbildung der Oberlippe bei den beiden afrikanischen Vertretern wider. Im Gegensatz zum grasfressenden

Breitmaulnashorn mit flacher Ausbildung der Lippen besitzt das Spitzmaulnashorn eine kräftige, zur Spitze auslaufende Oberlippe als Greifwerkzeug (GRZIMEK 1988 a).

Innerhalb der Art des Spitzmaulnashorns, das auch Schwarzes Nashorn genannt wird, differenziert man 4 Ökotypen, die sich in ihren Lebensräumen und geringfügig im Körperbau und in der Lebensweise unterscheiden: *Diceros bicornis minor* (südliche bzw. zentralafrikanische Unterart), *Diceros bicornis bicornis* (südwestafrikanische Unterart), *Diceros bicornis michaeli* (ostafrikanische Unterart) und *Diceros bicornis longipes* (westafrikanische Unterart) (ADCOCK u. EMSLIE 1997). Beim Breitmaulnashorn, auch Weißes Nashorn genannt, existieren dagegen mit dem nördlichen (*Ceratotherium simum cottoni*) und dem südlichen (*Ceratotherium simum simum*) Breitmaulnashorn zwei Unterarten (SCHENKEL 1988 c).

Indische, Schwarze und Weiße Nashörner besitzen einen gleichartigen Aufbau der Plazenta, wobei nur Unterschiede in der Größe bestehen. Die Plazenta, ähnlich aufgebaut wie beim Pferd, ist vom diffusen epitheliochorialen Typ mit Straßen von zottenfreien Arealen. Die Zotten sind mit einfachem Epithel überzogen und wenig verzweigt. Bei allen Spezies kommen Hippomanes vor (BENIRSCHKE u. LOWENSTINE 1995).

## 2.2 Progesteron

### 2.2.1 Struktur, Eigenschaften und Synthese

In der großen Stoffklasse der Lipide gehören die Sexualhormone zur Untergruppe der Steroide (BUDDECKE 1994). Das allgemeine Bauprinzip von Steroiden ist das Sterangerüst. Dieses besteht aus 3 miteinander verbundenen Sechser-Ringen (A, B, C) und einem weiteren Fünfeck-Ring (D) und beinhaltet insgesamt 17 Kohlenstoffatome. Die verschiedenen Steroide unterscheiden sich anhand der Anzahl ihrer Kohlenstoffatome und durch die Lokalisation von Doppelbindungen und/ oder funktionellen Gruppen. Unter den für die Fortpflanzung bedeutsamen Steroiden besitzen Pregnenolon und Progesteron 21 Kohlenstoffatome. Androgene dagegen gehören zur C-19- und Östrogene zur C-18-Reihe.

Beim Progesteron handelt es sich um ein neutrales Steroid. Da Östrogene einen phenolischen A-Ring besitzen, bilden sie in stark alkalischem Milieu Salze. Aufgrund

dieser Eigenschaften lassen sich die beiden Substanzen durch einfache Lösungsmittelverteilung zwischen wässriger Natronlauge und einer organischen Phase leicht voneinander trennen (HOFFMANN 1977).

Die strukturelle Ähnlichkeit der Steroide ist in ihrer gemeinsamen Vorstufe, dem C-27-Steroid Cholesterol, begründet (BAMBERG 1994 b). Dieses wird entweder mit der Nahrung aufgenommen oder endogen aus Acetyl-CoA gebildet (CHOI 1987; BUDDECKE 1994). Eine Cholesterol-Biosynthese ist in nahezu allen Zellen des Körpers möglich, Hauptsyntheseorte sind allerdings Leber, Darmschleimhaut, Nebennierenrinde und Gonaden. In endokrinen Zellen erfolgt die Speicherung von Cholesterol in Lipidgranula. Bei Bedarf kommt es zu Freisetzung und Transport in die Mitochondrien (BAMBERG 1994 b).

Zur Bildung von Sexualhormonen sind nur bestimmte Organe, nämlich Nebennierenrinde, Ovarien, Testes, Plazenta und entsprechende fetale Organe befähigt (TRÄGER 1977). Dabei entsteht in den Mitochondrien der produzierenden Zellen aus Cholesterol über mehrere Zwischenstufen und nach Abspaltung der Seitenkette Pregnenolon. Dieses nimmt eine Schlüsselstellung ein, da sich ab hier die Stoffwechselwege für die Synthese der Sexualsteroiden und für die Synthese der Corticoide gabeln (NEUMANN 1977; TRÄGER 1977). Die 5-en-3 $\beta$ -hydroxylierte Struktur des Pregnenolons wird im endoplasmatischen Retikulum der Zellen mit Hilfe von speziellen Dehydrogenasen und Isomerasen in die 4-en-3-oxo-Struktur des Progesterons (4-Pregnen-3,20-dion) überführt. Daneben besteht aber auch die Möglichkeit des Angreifens von Hydroxylasen am C17. Dadurch kommt es entweder zur Bildung von 17 $\alpha$ -Hydroxypregnenolon oder aus dem bereits gebildeten Progesteron entsteht 17 $\alpha$ -Hydroxyprogesteron (NEUMANN 1977). Diese beiden Moleküle sind wichtige Vorläufer für die Produktion von Androgenen, aus denen wiederum Östrogene gebildet werden können (BAMBERG 1994 b). Prinzipiell besitzen alle Organe, die zur Steroidsynthese befähigt sind, das gleiche Enzymspektrum (Dehydrogenasen, Reduktasen, Hydroxylasen und Isomerasen). Die Aktivitätsverhältnisse sind aber sehr unterschiedlich, da art- und organspezifisch bestimmte Synthesewege und Stopps auf verschiedenen Endstufen bevorzugt werden (URICH 1990).

Progesteron wird vor der Ovulation von der Granulosazellschicht des Tertiärfollikels gebildet, nach Entstehen des Corpus luteums ist dieses der Hauptsyntheseort von

Progesteron während des Zyklus (SCHALLENBERGER 1993). Kommt es zur Gravidität, wird die Progesteronsynthese bei einigen Tierarten während der gesamten Dauer vom Corpus luteum aufrechterhalten. So stellten GOMBE und KAYANJA (1974) bei Untersuchungen des Progesterongehalts in den Ovarien verschiedener Giraffen fest, dass die Konzentration im Corpus luteum graviditatis mit fortschreitender Trächtigkeit anstieg, im Corpus luteum albicans nach der Geburt dagegen kein Progesteron mehr nachweisbar war.  $20\beta$ -Hydroxyprogesteron zeigte geringe Konzentrationen während der frühen Gravidität und nicht nachweisbare Gehalte in der späten Gravidität bzw. im Corpus luteum albicans. Die Konzentrationen von  $17\alpha$ -Hydroxyprogesteron waren sehr viel geringer als die der anderen zwei Gestagene, messbar in der frühen Gravidität, nicht mehr erfassbar während der späten Gravidität und post partum. Bei manchen Spezies ist nach einer gewissen Zeit auch die Plazenta entweder allein oder zusammen mit dem Gelbkörper für die Progesteronproduktion verantwortlich (CHOI 1987). Allerdings ist dieses Plazentaprogesteron für die Trächtigkeit tierartlich unterschiedlich bedeutsam. Beim Hausrind z. B. ist die Plazenta nur zwischen dem 150./180. und 240./250. Tag zur Aufrechterhaltung der Gravidität fähig. Während der restlichen Zeit ist das Ovar und damit das Corpus luteum als Gestagenquelle erforderlich (CHOI 1987; MÖSTL 2000). Zusätzlich zu Ovarien und Plazenta ist die Nebennierenrinde ein, normalerweise jedoch unbedeutender, Produktionsort für Progesteron (BAMBERG 1994 a).

### 2.2.2 Transport

Steroidhormone gelangen vom Bildungsort über den Blutkreislauf zu den Erfolgsorganen. Im Plasma liegen sie entweder frei, konjugiert oder an Plasmaproteine gebunden vor. Während die freien Steroide als biologisch aktive Formen fungieren, stellt die reversible Bindung an bestimmte Transportproteine einen Speicherpool dar, durch den ein Absinken der Hormonkonzentration ausgeglichen werden kann (HOFFMANN 1977; BAMBERG 1994 b). Neben Serumalbumin, das Steroide nur unspezifisch und mit relativ geringer Affinität bindet, gibt es noch tierartlich unterschiedliche, spezielle steroidbindende Plasmaproteine. Dies ist bei vielen Säugetieren z. B. das Transcortin, welches neben seiner spezifischen Funktion als Kortisoltransportierendes Protein auch eine hohe Affinität zum Progesteron hat (URICH 1990; BAMBERG 1994 b).

### 2.2.3 Wirkungsmechanismus

Sexualhormone besitzen zu bestimmten Organen eine gewisse Spezifität, die auf dem Vorhandensein von spezifischen Rezeptoren beruht. In einem Zielorgan können gleichzeitig spezifische Rezeptoren für verschiedene Steroidhormone vorliegen. Dadurch lassen sich die Organspezifität, aber auch synergistische oder antagonistische Wirkungen von Sexualhormonen erklären (BUDDECKE 1994).

Steroide können aufgrund ihrer Lipophilie die Membran durchdringen und sich im Zytoplasma mit ihren spezifischen Rezeptoren verbinden (URICH 1990). Durch Dissoziation eines vorher am Rezeptor gebundenen Hitzeschockproteins kommt es zur Konformationsänderung und Aktivierung (LÖFFLER 1998). Nach Translokation in den Zellkern lagert sich der aktivierte Hormon-Rezeptor-Komplex an bestimmte Akzeptorstellen des Chromatins an. Dadurch kommt es zur "Demaskierung" der DNA und zur Genexpression, die über Bildung von mRNA zur Aktivierung der Proteinbiosynthese führt. Die entstehenden Proteine wiederum vermitteln die Hormonwirkung in der Zielzelle, welche allerdings erst nach Stunden feststellbar ist (MEINECKE 2000).

### 2.2.4 Regulation von Progesteronsynthese und –sekretion

Die Aufgabe des Ovarialzyklus beim weiblichen Säugetier besteht in der periodischen Bereitstellung von befruchtungsfähigen Eizellen. Deshalb kommt es am Ovar zum Ablauf zyklischer endokriner und generativer Prozesse (DÖCKE 1994). Dabei unterliegt die endokrine Steuerung dieses Reproduktionsgeschehens der Kontrolle des hypothalamisch-hypophysären Systems. Zwischen Hypothalamus, Hypophysenvorderlappen und Ovar besteht eine ständige Informationsübermittlung. Dadurch sind Rückkopplungen möglich, bei denen das sezernierte Hormon über seine Konzentration im Blut die eigene Synthese hemmen oder fördern kann (MEINECKE 2000).

Hauptbildungsstätte des Progesterons ist der Gelbkörper (Corpus luteum), der unter LH-Einwirkung nach der Ovulation durch Umwandlung der Granulosa- und Theca interna-Zellen des Follikels entsteht (BAMBERG 1994 a). Progesteron verringert über einen negativen Feedback die GnRH-Inkretion des Hypothalamus, indem es sowohl die Frequenz als auch die Amplitude der basalen GnRH-Ausschüttung herabsetzt. Dadurch wird zwar eine Entwicklung von Follikeln in der Gelbkörperphase nicht verhindert, aber

eine Ovulation ist nicht möglich, da der präovulatorische LH-Anstieg nicht zustandekommt (MEINECKE 2000). Die Wirkung von Progesteron setzt allerdings voraus, dass zunächst Östrogene vorhanden sind, die zu einer vermehrten Bildung von Progesteronrezeptoren in Hypothalamus und Hypophysenvorderlappen führen (CLARK et al. 1977).

An dem Vorgang der Luteolyse des Gelbkörpers sind vor allem der Uterus und das Corpus luteum beteiligt. Nachdem die Endometriumzellen für eine bestimmte Zeit unter Progesteroneinfluss waren, produzieren sie bei nicht erfolgter Befruchtung  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , welches in die Uterusvene abgegeben wird. Von da gelangt es durch Diffusion direkt in die Arterie des Ovars. Nach Rezeptorbindung am Corpus luteum bewirkt  $\text{PGF}_{2\alpha}$  eine Verringerung der Progesteronsynthese und eine erhöhte Freisetzung von Oxytocin. Durch den Abfall der Progesteronkonzentration im Blut können im Endometrium vermehrt Oxytocinrezeptoren gebildet werden, so dass nach Bindung des aus dem Ovar stammenden Oxytocins wiederum die  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Freisetzung im Uterus angeregt wird. Dieses bewirkt nun eine Vasokonstriktion am Ovar und damit den Untergang der Luteinzellen. Somit ist der Übergang von der Luteal- zur Follikelphase des ovariellen Zyklus wieder möglich (BAIRD et al. 1976; MEINECKE 2000).

Das während der gesamten Gravidität im Corpus luteum und/ oder in der Plazenta gebildete Progesteron bewirkt in der Hypophyse eine Hemmung der Freisetzung von LH, so dass es während der Gravidität zu keiner weiteren Ovulation kommt (WITTKE u. PFEFFER 1984).

### **2.2.5 Funktionen während Zyklus und Gravidität**

Das Basiskonzept der Reproduktion ist bei allen Tieren gleich. Östrogene repräsentieren die weibliche gonadale Funktion und das Progesteron zeigt Ovulation und Gravidität an (LASLEY 1980).

Die Hauptaufgabe der Gestagene besteht in der für die Nidation und Reifung der Eizelle notwendigen Vorbereitung des weiblichen Genitaltraktes und in der Aufrechterhaltung der Gravidität. Dabei sind fast alle Effekte in ihrer quantitativen und qualitativen Ausprägung vom Zusammenspiel mit den Östrogenen abhängig. Hierbei sind das

Östrogen-Progesteron-Verhältnis und die zeitliche Sequenz des Zusammenwirkens von besonderer Bedeutung (NEUMANN 1977).

An den Geschlechtsorganen wirken Östrogene und Progesteron während des Zyklus antagonistisch. Unter dem Einfluss der Östrogene kommt es in der Brunstphase zur Hyperämie und zum Anschwellen der Vulva. Diese Wirkung, die durch Progesteron wieder aufgehoben wird, ist auf den direkten Einfluss der Sexualsteroiden auf die Blutgefäße zurückzuführen. In der Wand der Arterien von Uterus, Tuben und Vagina befinden sich Östrogen- und Progesteronrezeptoren. Unter Einwirkung der Östrogene kommt es dadurch zur stärkeren Durchblutung. Bei Überwiegen von Progesteron hingegen während der Lutealphase wird die Anzahl der Östrogenrezeptoren reduziert und damit die Durchblutung verringert. Zusätzlich verhindert Progesteron die östrogenbedingte Epithelproliferation der Vagina und bewirkt den Verschluss des Zervikalkanals mit hochviskösem Schleim, so dass das Eindringen von Keimen verhindert wird. Außerdem werden noch die Spermienkapazitation und der Eizelltransport in der Ampulle durch Progesteron gehemmt (NEUMANN 1977; DÖCKE 1994).

Während des Zyklus wird das Ovar vorwiegend von Hypothalamus und Hypophyse beeinflusst. Dies geschieht zwar im Zusammenspiel mit den Keimdrüsenhormonen, die Hauptaufgabe von Progesteron und Östrogenen besteht aber in der Steuerung von zellulären Vorgängen am Uterus (KOOLMAN 1994). Nachdem Östrogene zunächst die Proliferationsphase des Uterus durch Aufbau der Uterusschleimhaut – einschließlich ihrer Drüsen – und Zunahme der Gefäße und Muskelfasern induziert haben, ist Progesteron für das Sekretionsstadium des Endometriums notwendig. Dabei kommt es zur Differenzierung der Drüsen mit Einlagerung von Glykogen sowie Sekretion von Embryotrophe, wodurch die Nidation des befruchteten Eies und die Ernährung des Embryos vorbereitet werden (TRÄGER 1977; PETRIDES 1998).

Während der Gravidität reduziert Progesteron die Kontraktilität des Myometriums (sog. Progesteronblock). Dieser Effekt beruht auf einer Erhöhung des Ruhepotentials und der Reduktion der Verfügbarkeit von intrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen. Zusätzlich wird die Zahl der Gap junctions verringert. Dies sind Kontaktstellen an den glatten Muskelzellen, die die elektrische und metabolische Kopplung von Myometriumzellen vermitteln und so Fortleitung und Synchronisation der Kontraktionswellen im Uterus bewirken.

Außerdem kommt es unter hohen Progesteronkonzentrationen zu einer Hemmung des Einbaus von Oxytocin-Rezeptoren im Myometrium. All diese Wirkungen führen zur notwendigen Ruhigstellung des Myometriums während der Gravidität (MEINECKE 2000).

Neben den Effekten am Reproduktionstrakt zeigt Progesteron auch extragenitale Wirkungen. So kommt es unter Progesteroneinfluss zu einer leichten Temperaturerhöhung (thermogenetischer Effekt). Außerdem ist Progesteron ähnlich den Corticoiden gering proteinkatabol (BUDDECKE 1994). Eine wesentliche Bedeutung hat Progesteron zusammen mit Östrogenen auch beim Wachstum der Milchdrüse durch die Förderung der Entwicklung des Lobulo-Alveolarsystems. Der Eintritt in die Laktation wird dabei durch die pränatale Abnahme des Progesterongehalts des Blutes ausgelöst (BAIRD 1979).

### **2.2.6 Abbau und Ausscheidung**

Um die Regulationsfähigkeit des Reproduktionssystems zu gewährleisten, werden Sexualsteroiden ständig aus dem Blut eliminiert (HEAP 1979). Die "Metabolische Clearance Rate" (definiert als das Blutvolumen, welches pro Zeiteinheit vollständig und irreversibel von dem betreffenden Steroid befreit wird) ist normalerweise relativ konstant, so dass die Blutkonzentration die Produktionsrate sehr gut widerspiegelt (EDQVIST u. FORSBERG 1997).

Im Verlaufe der Metabolisierung werden die biologisch hochwirksamen Verbindungen unter Erhaltung des Ringsystems umgewandelt und inaktiviert. Ausschlaggebend für die Geschwindigkeit der Inaktivierung der Hormone ist deren Bindung an Plasmaproteine. Je höher der Anteil an gebundenen Steroiden, desto geringer ist der Anteil an enzymatischen Umbaureaktionen. Dadurch kommt es zur Erhöhung der biologischen Halbwertszeit (TRÄGER 1977). Hauptsächlich erfolgt die Inaktivierung in der Leber, daneben sind aber auch Nieren, Lunge, Gonaden, andere Gewebe und Blut in geringerem Maße am Abbau beteiligt (ESTERGREEN et al. 1977; URICH 1990). Ein wichtiger Stoffwechselschritt ist die Konjugatbildung mit Glucuron- und/ oder Schwefelsäure, wodurch die weitere Umwandlung begünstigt und die Ausscheidung erleichtert werden (TAYLOR 1971). Außerdem kann an der Doppelbindung des Ring A eine Hydrierung erfolgen, so dass das Steroid danach in  $5\alpha$ - oder  $5\beta$ -Stellung vorliegt.

Andere Umwandlungsmöglichkeiten sind noch die Einführung weiterer Hydroxylgruppen mit Erhöhung des phenolischen Charakters, Umwandlung der Keto- und Hydroxyfunktionen durch Reduktion bzw. Oxidation und Abspaltung der C-Atome 20 und 21 (TRÄGER 1977). Von allen Metabolisierungsarten führt v. a. die Konjugation neben dem Verlust der hormonalen Aktivität zu einer Erhöhung des hydrophilen Charakters der Verbindungen, so dass eine Elimination der Stoffwechselprodukte über den Harn möglich wird. Von der Leber können die Steroidhormone aber auch über die Galle in den Darm gelangen (TAYLOR 1971). Dort kommt es zum weiteren Abbau durch die vorhandene Mikroflora. Dabei sind überwiegend obligate Anaerobier wie Bacteroidesarten beteiligt, die wie andere Bakterien zunächst eine Hydrolyse der Steroidkonjugate bewirken (WERNER 1974; BOKKENHEUSER 1993). Diese Abspaltung der Sulfat- bzw. Glucuronatreste ist sehr bedeutsam, da ein weiterer bakterieller Abbau nur an dekonjugierten Steroiden erfolgen kann (WINTER u. BOKKENHEUSER 1987). Eine anschließende Ausscheidung mit dem Kot geschieht vorwiegend in unkonjugierter Form (MÖSTL 1992; SCHWARZENBERGER 1996 a). Durch die wiedererreichte Lipophilie kann es allerdings auch zur Rückresorption der Hormone über den enterohepatischen Kreislauf kommen. Die resorbierten Verbindungen gelangen dann erneut in die Leber und nach Verstoffwechslung entweder in die Niere oder wiederum über die Galle in den Darm (TAYLOR 1971; GROH et al. 1993). Harn und Kot sind nicht die einzigen Ausscheidungsmöglichkeiten für Steroide. So sind diese ebenfalls in Milch (u. a. HOFFMANN u. HAMBURGER 1973; ESTERGREEN et al. 1977) oder Speichel (u. a. KANCHEV et al. 1988; CZEKALA u. CALLISON 1996) nachweisbar.

### **2.2.7 Ausscheidung über Harn und Kot**

Der Anteil der fäkalen Ausscheidung von Progesteron an dessen Gesamtelimination ist tierartenspezifisch unterschiedlich. So wird z. B. beim Hausschaf (STUPNICKI et al. 1969; PALME et al. 1993) und beim Pony Progesteron zu ca.  $\frac{3}{4}$  über den Kot und  $\frac{1}{4}$  über den Harn, beim Hausschwein hingegen nur zu  $\frac{1}{3}$  über den Kot, aber zu  $\frac{2}{3}$  über den Harn ausgeschieden (PALME et al. 1996). Intravenös verabreichtes  $^{14}\text{C}$ -Progesteron wurde beim Hausrind zu ca. 50 % über den Kot, 2 % über den Harn und 0,25 % über die Milch eliminiert (WILLIAMS 1962; ESTERGREEN et al. 1977). Nach Infusion von  $^{14}\text{C}$ -Oestradiol-17 $\beta$  und  $^3\text{H}$ -Progesteron kam es bei einem Breitmaulnashorn zur

Ausscheidung der Radioaktivität zu 36 % über den Kot und 25 % über den Harn, wobei die Progesteronmetaboliten hauptsächlich im Harn und die Östrogenmetaboliten überwiegend im Kot nachweisbar waren (HINDLE et al. 1988; HODGES u. HINDLE 1988; HINDLE u. HODGES 1990). Bei einem Sumatranashorn ergab die Infusion von  $^{14}\text{C}$ -Progesteron und  $^3\text{H}$ -Oestradiol-17 $\beta$ , dass Oestradiol überwiegend mit dem Harn, Progesteron aber mit dem Kot ausgeschieden wurde (HEISTERMANN et al. 1998). Das Ausscheidungsverhalten von Progesteron bei Giraffen wurde bis jetzt noch nicht untersucht.

Neben der speziesspezifischen Exkretion unterscheiden sich die einzelnen Tierarten aufgrund unterschiedlicher Metabolisierung auch in Qualität und Quantität der im Harn und Kot vorkommenden Steroidmetaboliten, wobei diese Differenzen sogar zwischen nahe verwandten Tieren bestehen können. Betroffen ist davon hauptsächlich das Progesteron, da es ein Zwischenprodukt des Steroidstoffwechsels darstellt. Östrogene dagegen sind Endprodukte, so dass weniger mögliche Abbauprodukte mit geringerer Variabilität vorkommen (LOSKUTOFF et al. 1983; SCHWARZENBERGER et al. 1996 a).

Nichtmetabolisiertes Progesteron ist im Kot kaum, wenn überhaupt enthalten, fäkale Pregnane haben entweder eine 20-oxo-, 20 $\alpha$ -Hydroxy- oder eine 20 $\beta$ -Hydroxy-Gruppe. Starke Variationen zwischen den einzelnen Spezies ergeben sich in der Anzahl der Metaboliten und der Serie (5 $\alpha$ - oder 5 $\beta$ -Pregnane), z. B. gehören die fäkalen Pregnane der Pferde und Nashörner zur 5 $\alpha$ -, die der Okapis zur 5 $\beta$ -Serie und die der Rinder zu beiden (SCHWARZENBERGER et al. 1991, 1992, 1993 b, 1996 b; PALME et al. 1997). Im Kot von Okapis fanden SCHWARZENBERGER et al. (1993 b) kaum Pregnandiol, dafür aber vorwiegend 5 $\beta$ -Pregnan-20 $\alpha$ -ol-3-on. Bei der Feststellung der Gravidität bei Okapis mittels Kotuntersuchungen ergaben Antikörper gegen freies Progesteron eine sehr gute Unterscheidung zwischen graviden und ingraviden Tieren (BUI TER et al. 1992). Eine Untersuchung auf die Hauptmetaboliten von Progesteron im Kot von Giraffen ist bis jetzt noch nicht erfolgt. Im Kot eines graviden Spitzmaulnashorns konnten insgesamt 33, hauptsächlich 5 $\alpha$ -reduzierte Pregnane, aber kein Progesteron nachgewiesen werden (LANCE et al. 2001). SCHWARZENBERGER et al. (1993 a, 1996 c) fanden ebenfalls im Kot von Spitzmaulnashörnern nur wenig reines Progesteron und 20 $\alpha$ -Dihydroxyprogesteron, dafür aber überwiegend 5 $\alpha$ -

reduzierte 20-oxo-Progestagene. Zusätzlich zu diesen  $5\alpha$ -Pregnanen bemerkten PATTON et al. (1996)  $5\beta$ -reduzierte Pregnane mit einer 20-oxo- oder  $20\alpha$ -hydroxylierten Gruppe. Im Kot von Breitmaulnashörnern waren 20-oxo-Pregnane die Hauptmetaboliten (SCHWARZENBERGER et al. 1998). Beim Sumatranashorn konnten im Kot vorwiegend  $5\beta$ -Pregnan- $3\alpha,20\alpha$ -diol,  $5\beta$ -Pregnan- $3\alpha$ -ol-20-on und  $5\alpha$ -Pregnan- $3\beta$ -ol-20-on nachgewiesen werden (HEISTERMANN et al. 1998). Das Panzernashorn schied mit dem Kot hauptsächlich 20-oxo- und  $20\alpha$ -hydroxylierte Progestagene aus (SCHWARZENBERGER et al. 2000).

### **2.2.8 Beziehungen zwischen den Konzentrationen an Gestagenen im Blut und in den Exkreten**

Da die Ausscheidung von Progesteron speziesspezifisch in Form von Metaboliten zu unterschiedlichen Anteilen in den Exkreten erfolgt, ist es bei jeder Tierart von praktischer Bedeutung, inwieweit die Gestagengehalte in Harn und Kot mit der Progesteronkonzentration im Plasma korrelieren. Dazu sind vorwiegend bei Haus- und Nutztieren, aber auch bei einigen Wildtieren, bereits mehrere Studien mit parallelen Konzentrationsbestimmungen der Gestagene in Blut und Kot durchgeführt worden. Dabei korrelierten die Gehalte an Progesteronmetaboliten im Kot gut mit den Progesteronkonzentrationen im Plasma bei verschiedenen Nutztieren (u. a. SCHWARZENBERGER et al. 1988; LARTER et al. 1994; MASUNDA et al. 1999), Säbelantilopen (*Oryx dammah*) (THOMPSON et al. 1998), Sumatranashörnern (ROTH et al. 2001) und Spitzmaulnashörnern (BERKELEY et al. 1997; GARNIER et al. 1998).

Für die Interpretation von Ergebnissen ist außerdem ebenfalls wichtig, die zeitliche Differenz zwischen dem Auftreten von Konzentrationsunterschieden in den Exkreten und denen im Blutplasma zu kennen. Nach intravenöser Infusion von  $^{14}\text{C}$ -Progesteron erfolgte beim Hausrind die Exkretion über den Harn innerhalb von 0-12 Stunden, über den Kot erst nach 12-24 Stunden (WILLIAMS 1962). MASUNDA et al. (1999) stellten bei Kühen eine tendenzielle Verzögerung der Progesteronkonzentrationen im Kot im Bezug zu denen im Plasma fest. Beim Hausschaf erfolgte nach intravenöser Infusion von  $^{14}\text{C}$ -Progesteron die Ausscheidung der Radioaktivität mit dem Harn bereits während oder direkt nach der Infusion, im Kot dagegen erst nach 6-20 Stunden (PALME et al. 1993). Mehrere Arbeitsgruppen zeigten bei verschiedenen Pferdearten eine zeitliche

Differenz der Progesteronwerte im Kot zu denen im Plasma von 1-2 Tagen (SCHWARZENBERGER 1989; BAMBERG u. SCHWARZENBERGER 1990; KIRKPATRICK et al. 1990; SCHWARZENBERGER et al. 1992). Bei Hausschaf, -pony und -schwein wurden die Ausscheidungsmaxima von  $^{14}\text{C}$ -Progesteron im Harn sofort erreicht, im Kot dagegen erst nach 12, 24 bzw. 48 Stunden (PALME et al. 1996).

Durch intramuskuläre Injektion von unmarkiertem Progesteron während des Östrus konnten THOMPSON et al. (1998) bei Säbelantilopen erst nach ca. 16 Stunden eine maximale Ausscheidung im Kot nachweisen. Nach intravenöser Infusion von  $^{14}\text{C}$ -Oestradiol und  $^{14}\text{C}$ -Progesteron erreichte beim Sumatranashorn die Elimination der Radioaktivität mit dem Harn innerhalb von 24 Stunden ihr Maximum, welches im Kot erst innerhalb von 2-3 Tagen auftrat (HEISTERMANN et al. 1998). Auch ROTH et al. (2001) fanden beim Sumatranashorn ein verzögertes Erscheinen der Gestagene im Kot von 48 Stunden gegenüber den Konzentrationen im Serum. Beim Breitmaulnashorn wurden 90 % der gesamten Radioaktivität von  $^{14}\text{C}$ -Oestradiol-17 $\beta$ - und  $^{14}\text{C}$ -Progesteron in den ersten 2 Tagen mit dem Harn ausgeschieden, während im Kot dagegen nur 48 % der gemessenen Radioaktivität erschienen (HINDLE et al. 1988; HODGES u. HINDLE 1988; HINDLE u. HODGES 1990). Beim Spitzmaulnashorn war die Korrelation der Progesterongehalte im Serum mit den Metabolitengehalten im Kot mit 4 Tagen Verzögerung am höchsten (BERKELEY et al. 1997).

Bei Wildtierstudien ist der Ausscheidungsrythmus von Progesteronmetaboliten im Harn und Kot mit Verhaltensveränderungen verknüpft. So steht eine niedrige Gestagenausscheidung im Kot und Harn mit sichtbaren Östrussymptomen in Beziehung. Offensichtliche Östrusanzeichen fallen mit dem Anfang oder der Mitte der Phase mit niedrigen Konzentrationen an Progesteronmetaboliten im Harn zusammen, wie bei Okapis (LOSKUTOFF et al. 1981, 1982), beim Weißen Nashorn (WAGNER 1986) und bei beiden afrikanischen Nashornarten (HINDLE et al. 1990, 1992) ermittelt werden konnte. Die Konzentrationen der Gestagene im Kot beginnen sich meist erst dann zu verringern, wenn schon Brunstverhalten zu beobachten ist oder der Östrus fällt mit der Anfangsphase der niedrigen Werte der Progesteronmetaboliten im Kot zusammen, wie bei Okapis (GÖLTENBOTH u. FRANKE 1990; SCHWARZENBERGER et al. 1993 b, 1999), Sumatranashörnern (HEISTERMANN et al. 1998; ROTH et al. 2001), Breitmaulnashörnern (SCHWARZENBERGER et al.

1994 b, 1998; RADCLIFFE et al. 1997) sowie Spitzmaulnashörnern (SCHWARZENBERGER et al. 1993 a, 1996 c; BERKELEY et al. 1997; GARNIER et al. 1998, 2002; RADCLIFFE et al. 2001) beobachtet wurde.

### **2.2.9 Stabilität der Gestagene im Kot bei äußeren Einflüssen**

In der Wildbahn finden die Tiere ein saisonal stark schwankendes Nahrungsangebot vor, so dass dadurch eine wechselnde Zusammensetzung des Kotes zu erwarten ist. Auch bei Studien zum Gestagengehalt im Kot von im Zoo gehaltenen Tieren ist zu bedenken, dass meist Individuen aus mehreren Zoos mit unterschiedlichem Fütterungsregime einbezogen worden sind. Im Rahmen dieser Problematik wurden in einigen Studien, insbesondere bei Haustieren, zwei verschiedene Variablen, nämlich der Trockenmasse- und der Steroidgehalt von Kotproben, in Abhängigkeit von der Zusammensetzung des Futters untersucht. Dabei zeigte eine Veränderung des Rohfasergehalts von Diäten keinen Einfluss auf den Trockenmassegehalt des Kotes von Milch- (KLINGLER 1991) bzw. Mastrindern und Ochsen (HENNIG et al. 1976). Bei Milchkühen dagegen fanden HENNIG et al. (1976) einen signifikanten Anstieg des Trockenmassegehalts im Kot nach Steigerung des Rohfaseranteils im Futter. Die Gestagenkonzentrationen im Kot von Hausrindern (KLINGLER 1991) und -schweinen (NALETOSKI 1993) wurden durch Veränderungen des Rohfasergehalts im Futter ebenfalls nicht beeinflusst. Auch andere Variationen im Rahmen der Fütterung (restriktiv, Gabe von Glaubersalz, Aktivkohle, ACTH oder Antibiotika) und saisonal oder gebietsabhängige unterschiedliche Zusammensetzungen der Diäten zeigten keinen Effekt auf die Gestagenkonzentrationen in Kotproben von Hausschweinen (NALETOSKI 1993), Spitzmaulnashörnern (GARNIER et al. 1998) sowie Pavianen (*Papio cynocephalus cynocephalus*) (WASSER et al. 1993, 1994).

Ein weiterer Aspekt im Rahmen von Gestagenbestimmungen im Kot ist eine mögliche Veränderung der Hormonkonzentrationen durch Variationen im Wassergehalt der Kotproben. Nach BAMBERG et al. (1991) können schon geringe Änderungen im Verhältnis der flüssigen zur festen Kotphase bis zur Diarrhoe durch Erhöhung des Kotvolumens bei proportional verringerter Steroidkonzentration die im Kot auftretende Gestagenmenge stark beeinflussen. Dieses Problem wird in einigen Studien durch Trocknung der Kotproben umgangen. WASSER et al. (1988) verbesserten z. B. durch Lyophilisierung von Affenkot die Korrelation zwischen den Steroidgehalten im Serum

und Kot. Aufgrund jahrelanger Erfahrung mit Hormonbestimmungen im Kot von verschiedenen Herbivoren aus unterschiedlichen Zoos, d. h. von Tieren ohne standardisierte Diät, ist nach SCHWARZENBERGER et al. (1996 a) eine Trocknung der Kotproben vor der Bestimmung nicht notwendig. Da die Steroidkonzentrationen zwischen eingefrorenen und lyophilisierten Kotproben hochsignifikant korrelierten, hat nach ZIEGLER et al. (1996) ein Entzug der Flüssigkeit aus dem Kot keine Effekte auf das Steroidprofil. In einer Studie von WASSER et al. (1993) stellte sich heraus, dass unabhängig von dem Gebrauch eines Index eine gute Korrelation zwischen den Steroidkonzentrationen in Serum und Kot mit unterschiedlichem Flüssigkeitsgehalt bei Pavianen bestand.

Um Gestagene im Kot zur Reproduktionskontrolle nutzen zu können, muss außerdem geprüft werden, wie stabil sich die Hormonkonzentrationen im Kot unter definierten Lagerungsbedingungen verhalten. Dabei ist von Bedeutung, dass im Kot viele vorwiegend anaerobe Bakterien enthalten sind, die einen weiteren Um- und Abbau der Steroide bewirken können (BOKKENHEUSER 1993). Damit stellt das Intervall zwischen Defäkation und Einfrieren eine besonders kritische Zeit dar, in der die einwirkenden Temperaturen und die Lagerungsdauer die wichtigsten Variablen sind (GLATZEL 1999; MÖSTL et al. 1999).

Unter Feldbedingungen ist es meist nicht möglich, Kotproben direkt zu kühlen oder einzufrieren, da entsprechende Einrichtungen fehlen. So müssen die Proben meist über längere Zeit bei Raumtemperatur gelagert werden (MASUNDA et al. 1999). Studien, die sich mit dem Einfluss unterschiedlicher Lagerungstemperaturen bis zum Einfrieren auf den Gestagengehalt im Kot befassten, zeigten dabei eine hohe Abhängigkeit von der Höhe der einwirkenden Umgebungstemperatur. Keinen Einfluss hatte die Lagerung bei Raumtemperaturen bzw. Temperaturen von 20 °C innerhalb von 8 Tagen auf den Steroidgehalt in Kotproben von Hausrindern (LIMPACH 1985; CHOI 1987; BAMBERG et al. 1986), -pferden (BAMBERG et al. 1986; CHOI 1987) und -schweinen (CHOI 1987). Die Lagerung von Rinderkotproben bei Temperaturen im Bereich von 20-37 °C führten dagegen, zum Teil nach anfänglich stabilen Werten innerhalb der ersten Tage, zur teilweise starken Abnahme der Gestagenkonzentrationen binnen Tagen bis Wochen (SCHLENKER et al. 1998, 1999; GLATZEL 1999; MASUNDA et al. 1999). Eine Lagerung der Kotproben bei 30 °C bedingte im

Vergleich zur Lagerung bei 5 °C ständig signifikant niedrigere Gestagenkonzentrationen (SCHLENKER et al. 1999).

Zum Einfluss eines häufigen Auftauens von gefrorenen Kotproben auf deren Gestagengehalt sind in der Literatur bisher keine Hinweise zu finden. Dabei kann es gerade während des Transports zum Labor, in dem die Bestimmung der Steroide erfolgen soll, sehr leicht zum versehentlichen Auftauen der Kotproben kommen. Allerdings war laut SCHWARZENBERGER et al. (1999) keine Beeinflussung ihres Gestagengehaltes festzustellen, nachdem einige Kotproben von Okapis während des Transports unbeabsichtigt aufgetaut waren.

## **2.3 Reproduktionskontrolle bei Giraffen und Spitzmaulnashörnern**

### **2.3.1 Allgemeines**

#### 2.3.1.1 Methoden zur Fertilitätsdiagnostik bei Wildtieren

Da Wildtiere für Untersuchungen kaum zur Verfügung stehen, wird häufig von nahe verwandten, domestizierten Tieren auf diese geschlossen. Domestikation bedeutet allerdings selektive Zucht z. B. zur Erhöhung der reproduktiven Effizienz, so dass es dadurch zu Fehlinterpretationen bei Übertragungen von Ergebnissen und Methoden von Haustieren auf taxonomisch verwandte Tierarten kommen kann. Außerdem bestehen zum Teil innerhalb einer Familie oder sogar eines Genus sehr unterschiedliche Verwandtschaftsverhältnisse, je nachdem, wann die stammesgeschichtliche Trennung der einzelnen Vertreter erfolgte (LASLEY u. SHIDELER 1976; WATSON u. GLOVER 1980). So weist zwar Progesteron im Blut aller Tiere dieselbe Struktur auf, die Ausscheidungsprodukte variieren dagegen auch zwischen eng verwandten Tieren (LASLEY 1980).

Der vorherrschende Anteil früherer Kenntnisse über die Reproduktionsphysiologie von exotischen Spezies entstammt aus Sektionsbefunden von Tieren, die entweder aufgrund von Erkrankungen gestorben waren oder zu wissenschaftlichen Zwecken getötet wurden, bei Giraffen u. a. von KELLAS et al. (1958), KAYANJA und BLANKENSHIP (1972, 1973) sowie HALL-MARTIN und ROWLANDS (1980). Diese Ergebnisse bringen allerdings nur Momentaufnahmen der Fortpflanzung und können keine Reproduktionsverläufe bewerten (LOSKUTOFF et al. 1986). Erfolgreiche Zucht bei

seltenen und gefährdeten Tieren benötigt dagegen ein fundiertes Wissen über die Fortpflanzungsphysiologie der untersuchten Spezies (HODGES 1985).

Allgemein können Fruchtbarkeitskontrollen durch invasive oder nichtinvasive Methoden durchgeführt werden. Unter die invasiven Techniken fallen z. B. Steroidbestimmungen im Blut. Diese Methode ist bei domestizierten Tieren relativ einfach anzuwenden. Da aber die meisten Zoo- und Wildtiere leicht erregbar und potenziell gefährlich sind, ist eine Blutentnahme nur nach physischer oder chemischer Immobilisation möglich. Der dadurch verursachte Stress kann dabei sogar zur Unterbrechung von Reproduktionsereignissen führen (LARSEN u. GAUTHIER 1989) und/ oder den endokrinen Status verändern. So kam es beim Weißwedelhirsch (*Odocoileus virginianus*) unter Stress nicht nur zur Ausschüttung von Cortisol wie bei anderen Tieren, sondern gleichzeitig zur Erhöhung des Oestradiol- und Progesterinspiegels im Blut (KIRKPATRICK et al. 1979). Deshalb sind Routineuntersuchungen der Progesteronkonzentrationen im Blut von Wildtieren nur in Ausnahmefällen möglich, wie dies z. B. bei verschiedenen Wildwiederkäuern (ASHER 1985; YU u. LI 2001) und Tapiren (BROWN et al. 1994) erfolgte. TEARE und FRENCH (1984) bestimmten den Progesteron Gehalt im Blut einer Giraffe. Dieser schwankte zwischen 37 und 56 ng/ml, zeigte aber keine Zyklizität. Die Werte lagen dabei 5-10fach höher als bei graviden Kühen oder Pferden. Aufgrund der letzten Deckberichte wurde davon ausgegangen, dass die Giraffe während der Studie ca. im 5.-6. Monat tragend war.

Im Rahmen von Translokationsmaßnahmen wurden mehrere Spitzmaulnashornkühe unterschiedlichen Alters und Reproduktionsstatus narkotisiert und Blutproben von jedem Tier gewonnen. Dabei schienen die Progesteronwerte aufgrund starker Variationen der Konzentrationen innerhalb der Population gut mit dem Reproduktionszyklus zu korrelieren. Eine korrekte Zuordnung der Tiere zu einem bestimmten Reproduktionsstatus war aber aufgrund mangelnder zusätzlicher Informationen nicht möglich. Laktierende Tiere zeigten signifikant niedrigere Progesteronwerte als andere Kühe (KOCK et al. 1991). ROTH et al. (2001) führten bei Sumatranashörnern Ultraschalluntersuchungen bei gleichzeitiger Messung von Progesteron im Serum durch. Am Decktag war ein niedriges Progesteronniveau im Serum ( $< 0,05$  ng/ml) verbunden mit der Existenz eines präovulatorischen Follikels. Die Ovulation erfolgte ca. 22-46 Stunden nach der Kopulation. 3-5 Tage später stieg das Progesteron im Serum an und erreichte 1,0 ng/ml am Tag 11-12, gefolgt von einem

Absinken auf nichtmessbare Konzentrationen ab Tag 19-21. Ein Corpus luteum war ca. 2-4 Tage nach der Ovulation fühlbar. Auch bei Doppelovulation mit Ausbildung zweier Gelbkörper wurde im Serum ein gleich hohes Niveau des Progesterons erreicht.

Bei domestizierten Haustieren routinemäßig durchgeführte nichtinvasive Techniken zur Reproduktionsdiagnostik sind u. a. Palpation, Temperaturmessungen, rektale Untersuchung, Beurteilung von Vaginalabstrichen oder (transrektale) Sonografie (GRUNERT 1990). Solche Methoden benötigen ebenfalls eine Fixation der Zoo- bzw. Wildtiere, so dass sie routinemäßig nur bei zahmen bzw. trainierten Tieren oder in Ausnahmefällen angewandt werden können, wie es z. B. bei einzelnen Giraffen und/oder Okapis (GILBERT et al. 1988; LOSKUTOFF et al. 1988) sowie Nashörnern (ADAMS et al. 1991; SCHAFFER et al. 1994; BERKELEY et al. 1997; RADCLIFFE et al. 1997, 2001; ROTH et al. 2001) möglich war.

Eine weitere Möglichkeit zur nichtinvasiven Reproduktionskontrolle besteht in der Bestimmung von Gestagenen im Speichel. Allerdings ist auch hier zur Entnahme von Probenmaterial ein direkter Kontakt zu den Tieren notwendig. Außerdem ist im Speichel die Konzentration der Gestagene im Gegensatz zu der in Exkreten sehr viel geringer als im Plasma (nur ca. 10 % der Konzentrationen, die im Blut zu finden sind). Deshalb benötigt man zur Bestimmung sehr empfindliche Messverfahren (DÖBELI u. ZEROBIN 1983; GAO et al. 1988). So zeigten die Konzentrationen an freiem Progesteron im Speichel von Indischen Panzernashörnern (KUCKELKORN u. DATHE 1990; DATHE u. KUCKELKORN 1992) sowie von Spitzmaulnashörnern (CZEKALA u. CALLISON 1996) keine zyklischen Schwankungen. Erst nach etwa 7 Monaten Gravidität stieg der Progesteronspiegel im Speichel eines Indischen Panzernashorns bis auf Werte, die 14fach höher lagen als das durchschnittliche Progesteronniveau von ingraviden Tieren. Nach einem drastischen Absinken im 9. Monat folgte erneut ein allmählicher Anstieg des Progesterons über mehrere Wochen, so dass in den letzten 4 Monaten sehr hohe Werte von mehr als 25 nmol/l erreicht wurden. Ungefähr 3 Wochen a. p. sanken die Konzentrationen langsam auf Basiswerte zum Zeitpunkt der Geburt ab (KUCKELKORN u. DATHE 1990; DATHE u. KUCKELKORN 1992). Bei Spitzmaulnashörnern erfolgte ab dem 1. Graviditätsmonat eine höhere Ausscheidung von  $20\alpha$ -Hydroxyprogesteron mit dem Speichel als bei ingraviden Tieren, signifikant

war dies aber erst ab dem 3. Monat. Im 5. Monat stiegen die Gehalte stark an mit sich anschließender Plateauphase bis zur Geburt (CZEKALA u. CALLISON 1996).

Nichtinvasive Methoden, bei denen kein Kontakt zu den Tieren hergestellt werden muss, sind die wichtigsten Mittel zur Fertilitätsdiagnostik bei Zoo- und Wildtieren (HODGES 1985). Verhaltensbeobachtungen, Protokolle über Decktermine oder Beurteilung des Bauchumfangs stellen dabei die einfachsten und früher einzigen Möglichkeiten zur Fruchtbarkeitskontrolle dar. So wurde z. B. eine Graviditätsdiagnose nur nachträglich durch das Eintreten einer Geburt gestellt. Allerdings kann fehlende Fortpflanzung Infertilität beim Männchen oder Weibchen bedeuten, und eine erfolgte Bedeckung garantiert auch keine Gravidität. Deshalb ist diese Methode zu wenig objektiv und für ein effektives Management nicht zuverlässig genug (LASLEY 1980; GARNIER et al. 1998). In den letzten Jahren hat die Thermografie bei exotischen Tieren ebenfalls an Bedeutung gewonnen, da mit ihr eine Distanzdiagnose von Reproduktionsereignissen wie Gravidität gestellt werden kann (EULENBERGER u. KÄMPFER 1994; HILSBURG u. EULENBERGER 1997). Die wichtigste nichtinvasive Technik ohne Fixation ist allerdings die Bestimmung von Hormonen in Exkreten, da diese in der Regel von den Tieren spontan abgegeben werden (LASLEY u. KIRKPATRICK 1991).

### 2.3.1.2 Gestagennachweis bei Wildtieren

Die Entwicklung von Immunoassays zur Messung von Steroiden in Harn und Kot brachte mehrere Vorteile für die Diagnostik bei Wildtieren. Zum einen findet man in Harn und Kot (wie auch in der Milch) eine viel höhere Konzentration an Metaboliten als im Blut (HEAP et al. 1973; MONK et al. 1974; KLINGLER 1991; MEYER 1992). Außerdem können Studien, im Gegensatz zu solchen, die Blut oder Milch erfordern, über längere Zeit und mit frequenterer Probengewinnung erfolgen, ohne die Tiere durch Manipulationen in Stress zu versetzen (LASLEY 1980; LASLEY u. KIRKPATRICK 1991). Zusätzlich besteht der Vorteil, auch bei nichtlaktierenden Tieren Ergebnisse erzielen zu können (MÖSTL et al. 1983). So kam es zunächst immer mehr zur Etablierung von Harnuntersuchungen bei verschiedenen Wildwiederkäuern (MONFORT et al. 1990; KIRKPATRICK et al. 1992), bei Giraffen und/ oder Okapis (LOSKUTOFF et al. 1981, 1982; 1986; GILBERT et al. 1988) sowie bei Nashörnern (KASMAN et al. 1986; WAGNER 1986; RAMSEY et al. 1987; HODGES u. HINDLE

1988; BRETT et al. 1989; HINDLE et al. 1990, 1992). Da allerdings meist keine Möglichkeit besteht, den Harn von 24 Stunden aufzufangen, muss zur Standardisierung der Methode gleichzeitig die Kreatininkonzentration der Probe bestimmt werden. Kreatinin wird im Gegensatz zu Sexualsteroiden kontinuierlich mit dem Harn ausgeschieden und kann deshalb als Index genutzt werden, auf den dann die Steroidkonzentration bezogen wird (LASLEY 1980; HODGES 1985). Bei den ersten Progesteronbestimmungen im Harn nutzte man Antikörper gegen Pregnandiol-3-Glucuronid, das bei den meisten Tieren der Hauptmetabolit von Progesteron im Harn ist. Da dieses Gestagen konjugiert ist, hatte das den Vorteil, dass vor der eigentlichen Bestimmung keine Hydrolyse erfolgen musste, wie es bei den ersten Nachweisverfahren für Östrogene mit Antikörpern gegen unkonjugiertes Oestradiol und Oestron der Fall war (LASLEY u. SHIDELER 1976). Außerdem werden Steroide bei den meisten Tierarten im Harn hauptsächlich in konjugierter Form ausgeschieden (PALME et al. 1996), so dass die zunehmende Bereitstellung von Antikörpern gegen konjugierte Formen der Steroide den nächsten großen Durchbruch für die Steroidbestimmung bedeutete. Die Verbesserung bestand dabei nicht nur in einer Verringerung des Arbeitsaufwandes, sondern auch in einer Erhöhung von Sensitivität und Zuverlässigkeit der Methoden (LASLEY u. SHIDELER 1976).

Allerdings erfordert die Gewinnung von Harnproben einen erheblichen Aufwand, wie z. B. das Aufsammeln von getränkter Erde oder Schnee sowie die Trennung des Harns aus diesen Materialien (KIRKPATRICK et al. 1988; BRETT et al. 1989; LASLEY u. KIRKPATRICK 1991; PALME et al. 1991). Kot dagegen ist einfacher und noch risikoärmer zu sammeln (LASLEY u. SHIDELER 1976; GARNIER et al. 1998). Außerdem erfolgt bei einigen Spezies die Ausscheidung der Sexualsteroidoide hauptsächlich über die Fäzes und nicht über den Harn (PALME et al. 1996). Deshalb setzte sich zur Kontrolle der Reproduktion immer mehr die Hormonbestimmung im Kot durch, z. B. bei Okapis (GÖLTENBOTH u. FRANKE 1990; SCHWARZENBERGER et al. 1993 b, 1999; HEROLD 1997) sowie bei Sumatranashörnern (ROTH et al. 2001), Indischen Nashörnern (SCHWARZENBERGER et al. 2000), Breitmaulnashörnern (SCHWARZENBERGER et al. 1994 b, 1998; SCHWARZENBERGER u. WALZER 1995; RADCLIFFE et al. 1997) und Spitzmaulnashörnern (GÖLTENBOTH u. FRANKE 1990; FRANCKE et al. 1991; FRANCKE u. SCHWARZENBERGER 1991;

SCHWARZENBERGER et al. 1993 a, 1994 a, 1996 c; BERKELEY et al. 1997; GARNIER et al. 1998, 2002; RADCLIFFE et al. 2001).

Später kam es im Rahmen von Gestagenbestimmungen im Harn bzw. Kot zur Variation der angewandten Methoden, indem weniger spezifische Antikörper genutzt wurden, die auch mit anderen Metaboliten kreuzreagierten. Dadurch wurden die Einsatzgebiete der Assays erweitert, da sie auch ohne Kenntnis der Hauptmetaboliten von Progesteron im Harn und Kot bei vielen Spezies angewandt werden konnten (BAMBERG u. MÖSTL 1988; KIRKPATRICK et al. 1990; LASLEY u. KIRKPATRICK 1991; SCHWARZENBERGER et al. 1996 a).

### **2.3.2 Fortpflanzung der Giraffen**

#### 2.3.2.1 Allgemeine Fortpflanzungsdaten

Bei Giraffen besteht wie beim Okapi in der Fortpflanzung keine Saisonalität (REUTHER u. DOHERTY 1968; RABB 1978). Allerdings kann es aufgrund der Regen- und Trockenzeiten zu erhöhtem Auftreten von Geburten zu bestimmten Jahreszeiten kommen (KRUMBIEGEL 1971). Weibliche Giraffen werden mit ca. 3,5-4 Jahren geschlechtsreif (SCHLOTT 1952; DAGG u. FOSTER 1976). In der Wildnis kann sich die Pubertät allerdings bis zum Alter von 5-6 Jahren verzögern (HALL-MARTIN u. SKINNER 1978). Die Geschlechtsreife der Okapikühe erfolgt etwas früher, nämlich mit 1,5-3 Jahren (CALLE et al. 1976).

Zur Länge des Brunstzyklus liegen, gestützt auf Verhaltensbeobachtungen, zum Teil sehr unterschiedliche Angaben von 12-28 Tagen vor (LANG 1955; KRUMBIEGEL 1971; HALL-MARTIN u. SKINNER 1978; MATERN u. KLÖPPEL 1995). Durch Bestimmung der Konzentrationen von Pregnandiol-3-Glucuronid im Harn von Giraffen kamen LOSKUTOFF et al. (1986) zu einer Zykluslänge von ca. 15 Tagen. Dies entspricht auch ungefähr dem Brunstintervall von 14,5-17 Tagen bei Okapis, das mit Hilfe von Hormonbestimmungen festgestellt wurde (LOSKUTOFF et al. 1982, 1983; GÖLTENBOTH u. FRANKE 1990; SCHWARZENBERGER et al. 1993 b).

Ein postpartaler Östrus ist nicht die Regel, kann aber durchaus vorkommen. So berichteten HALL-MARTIN und SKINNER (1978) über Zwischenkalbezeiten von 476-485 Tagen bei Giraffen in Gefangenschaft, aber auch von Östrusanzeichen innerhalb

eines Monats bei wildlebenden Tieren. LANG (1955) beschrieb das Auftreten von Brunstsymptomen 16 Tage nach der Geburt. Bei Untersuchungen von Ovarien einiger Giraffen, bei denen die Uterusinvolution noch nicht abgeschlossen war, fanden KAYANJA und BLANKENSHIP (1973) auf einem Ovar ein Corpus luteum albicans und auf dem anderen ein sich gerade entwickelndes, zyklisches Corpus luteum. Sie schlossen daraus, dass es bei diesen Tieren zu einem postpartalen Östrus gekommen war. Bei Nichtauftreten einer "Fohlenrosse" kommt es zu Zwischenkalbezeiten von ca. 18-20 Monaten (SCHLOTT 1952; LANG 1955; HALL-MARTIN u. SKINNER 1978).

Die Tragezeit bei Giraffen liegt nach Zusammenfassung mehrerer Literaturangaben, die sich auf Protokollierung des Deck- und Geburtstermins stützen, bei ca. 455 (400-488) Tagen (WILKINSON u. DE FREMERY 1940; SCHLOTT 1952; LANG 1955; ROBINSON et al. 1965; KRUMBIEGEL 1971; APFELBACH 1988; KLÖPPEL 1993). Auch diese Angabe ist vergleichbar mit der Dauer der Gravidität von ca. 14-15 Monaten bei Okapis (RABB 1978; GRZIMEK 1988 b; LOSKUTOFF et al. 1988; DE BOIS et al. 1992; SCHWARZENBERGER et al. 1993 b, 1999).

#### 2.3.2.2 Verhalten der Gestagene in Exkreten während des Zyklus

Die Konzentrationen von unkonjugierten immunreaktiven Gesamtprogestagenen im Kot eines Okapis wiesen regelmäßige, zyklische Schwankungen auf. Die Werte, die während der Lutealphase erreicht wurden, lagen dabei 10-20fach höher als die der Follikelphase. Ein anderes Tier zeigte ebenfalls einen Zyklus mit niedrigen Konzentrationen von unter 0,75 µg/g Kot während der Follikel- und hohen Konzentrationen von über 4 µg/g Kot während der Lutealphase. Eine Zusammenfassung der Ergebnisse ergab Gestagenkonzentrationen von  $0,6 \pm 0,1$  µg/g während der Follikelphase und von  $6,1 \pm 0,3$  µg/g Kot während der Lutealphase (SCHWARZENBERGER et al. 1993 b). Bei Ermittlung von Progesteron und Gesamtöstrogenen im Kot eines Okapis schwankten die Progesteronkonzentrationen zwischen 24 und 1789 ng/g Kot. Dabei folgten die Spitzenwerte des Progesterons denen der Östrogene mit 2-9 Tagen Abstand, zum Teil verhielten sie sich aber auch parallel (HEROLD 1997).

Die Ausscheidung von Pregnandiol-3-Glucuronid im Harn wies bei Giraffe und Okapi klare qualitative Ähnlichkeiten in den Verlaufskurven der Gestagenkonzentrationen während des Zyklus auf. Die Giraffen zeigten dabei eine über  $4,0 \pm 0,1$  Tage

verlaufende Follikelphase mit Basiswerten von  $3,6 \pm 0,7$  ng/mg CR. Die Lutealphase dauerte  $11,5 \pm 0,4$  Tage mit Höchstwerten von  $30,9 \pm 1,7$  ng/mg CR. Bei den Okapis besaß die Follikelphase Basiswerte von  $1,9 \pm 0,1$  ng/mg CR über  $8,3 \pm 1,3$  Tage. Während der Lutealphase wurden Konzentrationen von  $27,2 \pm 3,9$  ng/mg CR über  $6,9 \pm 0,8$  Tage erreicht (LASLEY et al. 1984; LOSKUTOFF et al. 1986). Aufgrund von Pregnandiol-3-Glucuronid-Bestimmungen im Harn von Okapis dauerte die Follikelphase  $7,91 \pm 0,23$  Tage mit Basiskonzentrationen von durchschnittlich  $0,83 \pm 0,13$  ng/mg CR und die Lutealphase  $6,71 \pm 0,21$  Tage bei Werten von  $23,89 \pm 1,22$  ng/mg CR. Der Anstieg der Gestagenkonzentrationen erfolgte dabei ungefähr 6 Tage nach dem präovulatorischen Östrogengipfel. Eine 23jährige Okapikuh hatte Follikelphasen von  $8,00 \pm 0,89$  Tagen und Lutealphasen von  $6,60 \pm 0,51$  Tagen Dauer. Die Konzentrationen lagen dabei durchschnittlich bei  $0,51 \pm 0,19$  ng/mg CR während der Follikel- und bei  $12,36 \pm 1,32$  ng/mg CR während der Lutealphase (LOSKUTOFF et al. 1981, 1982, 1983).

#### 2.3.2.3 Verhalten der Gestagene in Exkreten während der Gravidität

BUITER et al. (1992) stellten bei Okapis durch wöchentliche Bestimmungen der Progesteronkonzentrationen im Kot bei einem nichtzyklischen Tier 40, 56, 269 und 287 ng/g und bei einer zyklischen Kuh 686, 575, 764 und 723 ng/g Frischkot fest. Zwei gravide Tiere, deren Trächtigkeitsdauer nicht angegeben wurde, hatten dagegen Werte von 2370, 2126, 1055 und 2300 ng/g bzw. 2074, 2357, 2230 und 702 ng/g Frischkot. Die Konzentrationen der immunoreaktiven Gesamtprogestagene im Kot von graviden Okapis waren in der frühen Gravidität nur gering höher als während der Lutealphase des Zyklus. Ab dem Ende des 4. Monats fielen die Werte temporär ab, gefolgt von einem erneuten Anstieg, wobei die Gestagenkonzentrationen bei einigen Okapis von 20-60 µg/g Kot ab dem 6.-8. Graviditätsmonat anstiegen, so dass im letzten Trächtigkeitsdrittel Werte von 100-350 µg/g Kot erreicht wurden. Eine Woche vor der Geburt begannen die Konzentrationen zu sinken, lagen am Tag der Geburt allerdings noch über 100 µg/g Kot. Das Basisniveau wurde erst 3-4 Tage post partum erreicht. Nach der Geburt traten variable Anöstrusperioden auf, bei einigen Tieren sogar postpartale Östren 2-3 Wochen nach der Geburt. So erfolgten bei einem Tier innerhalb der ersten 3 Monate mehrere Deckversuche bei ständig niedrigem Gestagenniveau, außer einer kurzen Phase mit hohen Gehalten an Progesteronmetaboliten drei Wochen

nach der Geburt. Das Verhältnis der Konzentrationen in Follikelphase:Lutealphase:späte Gravidität belief sich auf 1:10:>100 (SCHWARZENBERGER et al. 1993 b, 1999). 10 Tage vor dem beobachteten Decktermin waren bei einem Okapi die Progesteronkonzentrationen im Kot noch hoch, welche erst kurz vor der Kopulation abnahmen. Nach der Paarung stiegen die Werte innerhalb einer Woche auf 1200 ng/g Kot und blieben zunächst auf diesem Niveau. Ab dem 9. Graviditätsmonat kam es zu einem weiteren Anstieg auf bis zu 5000 ng/g Kot, so dass die höchsten Progesteronwerte im zweiten Drittel der Trächtigkeit gemessen wurden. Post partum kam es zum Absinken der fäkalen Gestagenkonzentrationen auf 65 ng/g Kot am Tag 9. Zwischen dem 12.-19. Tag nach der Geburt wurde schließlich ein Anstieg der Progesteronwerte auf durchschnittlich 1000 ng/g Kot nachgewiesen. Die Konzentrationen zeigten im Vergleich von Follikelphase zu Lutealphase zu Gravidität ein Verhältnis von 1:10:100 (HEROLD 1997).

Ungefähr 3 Wochen nach der Paarung von Okapis kam es zum Anstieg und zur Persistenz der Pregnandiol-3-Glucuronid-Konzentrationen im Harn auf Werte, die das Niveau der Lutealphase erreichten oder sogar überstiegen (LOSKUTOFF et al. 1981, 1982, 1983). Bei 3 Tieren konnten dabei in der 3. Woche Gestagenkonzentrationen von  $163,7 \pm 1,2$  ng/mg CR ermittelt werden, die bis zum 4. Monat auf diesem Niveau blieben und danach auf  $60,3 \pm 7,7$  ng/mg CR absanken. Ab dem 6. Monat erfolgte ein erneuter Anstieg bis über 100 ng/mg CR mit einem Plateau bis zum 14. Monat, danach kam es ca. 3 Wochen vor der Geburt zur Verringerung. Post partum bestand während der Laktation bis zu 6 Monate ein niedriges Niveau von  $3,5 \pm 0,1$  ng/mg CR (LOSKUTOFF et al. 1982).

Im 8. Graviditätsmonat waren im Harn von Giraffen noch keine gonadotropen Substanzen nachweisbar, ab dem 10. Monat konnte im Aschheim-Zondek-Test ein positives Ergebnis erreicht werden, welches mit Bildung von Gelbkörpern einherging. Demgegenüber wurden bei ingraviden Tieren und einem Bullen negative Ergebnisse erhalten. Damit konnten WILKINSON und DE FREMERY (1940) erstmals nachweisen, dass bei Giraffen während der späten Gravidität eine Ausscheidung von gonadotropen Hormonen erfolgt. Bei einer Giraffe wurden während der späten Gravidität um ein Vielfaches höhere Pregnandiol-3-Glucuronid-Werte im Harn gefunden als während der Lutealphase. Von ungefähr 3 Tagen vor der Geburt an kam es zum markanten Abfall der Konzentrationen auf Basiswerte unter 5,0 ng/mg CR am Tag

der Geburt. Post partum blieben die Konzentrationen bei der laktierenden Giraffe für ca. 70 Tage niedrig, erst dann kam es langsam zur Wiederaufnahme der Lutealfunktion. Eine normale Ovaraktivität mit einem deutlichen Wechsel zwischen Höchst- und Basiswerten war erst ca. 90 Tage nach der Geburt feststellbar (LOSKUTOFF et al. 1986).

### **2.3.3 Fortpflanzung der Nashörner**

#### 2.3.3.1 Allgemeine Fortpflanzungsdaten

Nach den Aufzeichnungen der Geburten im Internationalen Zuchtbuch können sich Spitzmaulnashörner zu jeder Jahreszeit fortpflanzen (GÖLTENBOTH 1999). Allerdings werden in der Freiheit klare saisonale Fortpflanzungsvorgänge gefunden (RITCHIE 1963; MUKINYA 1973). Während einer Studie von GARNIER et al. (2002) in Zimbabwe zeigten weibliche Spitzmaulnashörner in den Monaten Oktober sowie April bis Juni Zyklen mit stark verlängerten Follikelphasen. Die Beobachtungen der ersten Periode wurden dabei mit der Unterdrückung der Ovulation durch einen jahreszeitlich bedingten Hitzestress erklärt. Als Ursache für die verlängerten Zyklen während des zweiten Zeitraums war laut Autoren die allmähliche Verkürzung der Tageslängen zu sehen. RADCLIFFE et al. (2001) bemerkten bei zwei Spitzmaulnashörnern im Herbst per rektalem Ultraschall mehrere große anovulatorische Strukturen mit Fibrinbanden. Diese formten sich zur Zeit der erwarteten Ovulation und blieben ca. 30 Tage bestehen. Zum Kollaps mit anschließender Gelbkörperbildung kam es dagegen nicht. Aus diesen Beobachtungen wurde bei den beiden Tieren auf eine saisonale Azyklie geschlossen. Ähnliche Feststellungen wurden einige Jahre vorher bei einem südlichen Breitmaulnashorn gemacht. Dort konnten während des Frühjahrs kaum zyklische Ovaraktivitäten festgestellt werden. Die fäkalen Progesterinkonzentrationen blieben niedrig, während auf einem Ovar ein großer Follikel mit Fibrinbanden gefunden wurde, der nicht ovulierte. In beiden Studien wurden die auftretenden Gebilde mit den hämorrhagischen, nichtovulatorischen Follikeln verglichen, die sich bei Pferden außerhalb der Saison bilden (RADCLIFFE et al. 1997, 2001). Ebenfalls bei einem südlichen Breitmaulnashorn wurde bereits durch WAGNER (1986) eine saisonale Azyklie festgestellt. Dabei ergaben sich durch Bestimmung der Gesamtöstrogene im Harn unregelmäßige Östrogenanstiege mit schlecht sichtbaren oder fehlenden Östrusanzeichen während der Herbstmonate. Auch die Progesteronkurve verlief sehr

unregelmäßig und zeigte eine schlechte Korrelation zu den Östrogenwerten. Auch ADAMS et al. (1991) fanden auf einem Eierstock eines Breitmaulnashorns einen großen Follikel und auf beiden Ovarien mehrere kleine Follikel. Während der gesamten Beobachtungsdauer über einen Monat kam es dabei zu keiner Ovulation.

Weibliche Spitzmaulnashörner werden, wie die Kühe der anderen Nashornvertreter, mit ca. 4-6 Jahren geschlechtsreif (SCHENKEL 1988 a, b; ADCOCK u. EMSLIE 1997). In der Länge der Geschlechtszyklen bestehen zwischen den einzelnen Gattungen dagegen starke Unterschiede, wie auch innerhalb einer Art zum Teil erheblich schwankende Angaben in der Literatur anzutreffen sind. So besitzt das Spitzmaulnashorn eine Zykluslänge von ca. 28 Tagen, allerdings bewegen sich die Angaben zwischen 14 und 49 Tagen (DITTRICH 1967; GREED 1967; HALLSTROM 1967; KRISHNE GOWDA 1967, YAMAMOTO 1967; ADAMS et al. 1991; ADCOCK u. EMSLIE 1997). Hormon- und/ oder Ultraschalluntersuchungen erbrachten Zykluslängen von durchschnittlich 25 (21-27) Tagen (BAMBERG u. SCHWARZENBERGER 1990; GÖLTENBOTH u. FRANKE 1990; HINDLE et al. 1990, 1992; SCHWARZENBERGER et al. 1993 a; BERKELEY et al. 1997; RADCLIFFE et al. 2001; GARNIER et al. 2002). Bei einem Vergleich der Zyklen östlicher und südlicher Spitzmaulnashörner aufgrund von Bestimmungen der Progesteronmetaboliten im Kot wurde eine ähnlich lange Dauer von rund 25 Tagen herausgefunden (SCHWARZENBERGER et al. 1994 a). Die Zykluslänge von Breitmaulnashörnern ist bis heute noch kaum aufgeklärt. Anscheinend bestehen sogar Unterschiede in der Zyklusdauer zwischen den nördlichen und den südlichen Breitmaulnashörnern. So beträgt aufgrund von Hormonuntersuchungen bei der nördlichen Unterart die Zyklusdauer ca. 26 (24-28) Tage, beim südlichen Vertreter hingegen schwanken die Angaben stark von 31-68 Tagen (WAGNER 1986; HINDLE et al. 1990, 1992; SCHWARZENBERGER et al. 1994 b; RADCLIFFE et al. 1997). Die Zyklen von Indischen Panzernashörnern bzw. Sumatranashörnern dauern, nach Ergebnissen von Verhaltensbeobachtungen oder Hormonuntersuchungen, durchschnittlich 41,5 bzw. 25 Tage (KASSAM u. LASLEY 1981; KASMAN et al. 1986; SCHAFFER et al. 1994; HEISTERMANN et al. 1998; SCHWARZENBERGER et al. 2000). Allerdings gehen ROTH et al. (2001) davon aus, dass die Ovulation beim Sumatranashorn induziert ist, da sie beobachteten, dass diese nur erfolgte, wenn Kontakt zum Bullen hergestellt wurde.

Die Zwischenkalbezeit bei allen Nashornvertretern beträgt meistens 3 Jahre (SCHENKEL 1988 c; ADCOCK u. EMSLIE 1997). DITTRICH (1967) bemerkte 20 Tage nach der Geburt bei einer Kuh Östrusanzeichen, regelmäßige Zyklen waren allerdings erst nach 9 Monaten feststellbar. SCHWARZENBERGER et al. (1993 a) wiesen bei zwei Spitzmaulnashörnern 7-14 bzw. 22-36 Tage nach der Geburt einen Anstieg der Konzentrationen an Progesteronmetaboliten im Kot auf das während der Lutealphase vorhandene Niveau nach. Auch bei einem Spitzmaulnashorn stiegen die Östrogenwerte in Blut und Kot 12 Tage nach der Geburt temporär an (BERKELEY et al. 1997). Eine Erhöhung der Gesamtöstrogene im Kot fanden SCHWARZENBERGER et al. (2000) ebenfalls bei einem Indischen Nashorn 29-53 Tage post partum. Auch die Geburtstermine im Internationalen Zuchtbuch für afrikanische Nashörner lassen auf die Möglichkeit einer postpartalen Brunst – analog der Fohlenrosse beim Pferd – bei Schwarzen Nashörnern schließen, da Zwischenkalbeintervalle von 16-17 Monaten vorkommen (GÖLTENBOTH 1999).

Die Trächtigkeit dauert bei Spitzmaulnashörnern nach Verhaltensbeobachtungen ca. 455 (419-470) Tage (GREED 1967; HAYS 1967; GRZIMEK 1988 a; SCHWARZENBERGER et al. 1993 a, 1996 c; GARNIER et al. 1998). Diese Angaben decken sich auch mit einer Dauer der Gravidität von ungefähr 450 Tagen, die aufgrund von Hormonuntersuchungen festgestellt wurde (SCHWARZENBERGER et al. 1993 a; GARNIER et al. 1998). Eine 389 Tage nach Kopulation andauernde Gravidität mit Entwicklung eines normalgroßen Kalbes erklärten RAMSEY et al. (1987) damit, dass beim Schwarzen Nashorn evtl. postkonzeptionale Deckakte möglich sind, da die Kuh auch 460, 467 und 493 Tage vor der Geburt von dem Bullen erfolgreich besprungen worden war. Auch die anderen Nashornvertreter haben – außer dem Sumatranashorn mit etwa 400 Tagen Tragezeit (SCHENKEL 1988 a) – eine ähnlich lange Trächtigkeit von ca. 470 Tagen beim Indischen Nashorn (HODGES u. GREEN 1989; KUCKELKORN u. DATHE 1990; SCHWARZENBERGER et al. 2000), etwa 480 Tagen beim Sumatranashorn (SCHENKEL 1988 a) und ungefähr 475 Tagen beim Weißen Nashorn (SCHENKEL 1988 b; HODGES u. GREEN 1989).

### 2.3.3.2 Verhalten der Gestagene in Exkreten während des Zyklus

Im Kot von Spitzmaulnashörnern lag während der Lutealphase eine höhere Konzentration folgender Progesteronmetaboliten vor als während der Follikelphase bzw. im Zeitraum der Brunst:

- 20 $\alpha$ -Hydroxyprogesteron (150-400 > 50-100 ng/g Kot) (BAMBERG u. SCHWARZENBERGER 1990; GÖLTENBOTH u. FRANKE 1990; FRANCKE et al. 1991),
- 20 $\alpha$ -Progestagene (> 150 > 75 ng/g Kot),
- Pregnandiol (> 1500 > 1000 ng/g Kot),
- 20-oxo-Progestagene (> 150 > 100 ng/g Kot) (SCHWARZENBERGER et al. 1993 a),
- 5 $\alpha$ - und 5 $\beta$ -Progestagene (200-300 > 60 ng/g Kot), welche doppelt so hoch lagen als die des Progesterons (100-150 ng/g Kot) (SCHWARZENBERGER et al. 1994 a),
- 4-Pregnen-20-on ( $\bar{x}$  = 117  $\pm$  8 ng/g Kot)
- 5 $\alpha$ -20-on- ( $\bar{x}$  = 136  $\pm$  8 ng/g Kot) und 5 $\beta$ -20-on-Pregnane ( $\bar{x}$  = 140  $\pm$  9 ng/g Kot), sowohl bei südlichen als auch bei östlichen Spitzmaulnashörnern (SCHWARZENBERGER et al. 1996 c),
- 4-Pregnen-11-ol-3,20-dion, wobei die Ovulation innerhalb von 24-72 Stunden nach dem Östrus eintrat, wie durch rektale Ultraschalluntersuchungen festgestellt wurde (RADCLIFFE et al. 2001),
- 20 $\alpha$ -Dihydroprogesteron, wobei Follikelphasen 9  $\pm$  0,5 Tage und Lutealphasen 18  $\pm$  1,1 Tage dauerten (GARNIER et al. 2002).

Ebenfalls bei einem Spitzmaulnashorn konnten BERKELEY et al. (1997) feststellen, dass die Konzentrationen der Gesamtöstrogene und von Progesteron im Kot ähnliche Verlaufskurven, allerdings mit zeitlicher Verzögerung von 2-4 Tagen, zeigten. Kurz nach dem Decktermin, der mit hohen Östrogenwerten im Serum einherging, kam es zum Anstieg der Progesteronkonzentrationen im Serum. 3 Tage vor der Kopulation wurde mittels Ultraschall auf einem Ovar ein großer Follikel festgestellt, der sich 10 Tage nach der Ovulation zu einem großen Corpus luteum entwickelt hatte.

Die Ausscheidung von 20-oxo-Pregnanen mit dem Kot ergab bei einem südlichen Breitmaulnashorn Follikelphasen von  $12,2 \pm 0,8$  Tagen mit  $< 250$  ng/g Kot und Lutealphasen von  $56,5 \pm 3,3$  Tagen mit  $> 1200$  ng/g Kot. Bei ähnlichen Werten in der Follikelphase, aber niedrigeren Lutealphasengehalten von  $< 500$  ng/g Kot wurde auch bei einem nördlichen Vertreter ein Zyklus ermittelt. Außerdem kam es hier zu irregulären Intervallen und einer Dauer der Lutealphase von 9-28 Tagen (SCHWARZENBERGER et al. 1994 b). 7-9 Tage nach der mittels rektaler Ultraschalluntersuchungen ermittelten Ovulation stiegen bei zwei Breitmaulnashörnern die Konzentrationen von 4-Pregnan-11-ol-3,20-dion im Kot an. Nach gleichbleibend hohen Werten für 19-22 Tage kam es zum Absinken der Konzentrationen auf Basiswerte. Die Ovulation erfolgte bei sinkendem oder niedrigem Progesteronniveau innerhalb von 24 Stunden nach der Kopulation (RADCLIFFE et al. 1997). In einer Untersuchung von SCHWARZENBERGER et al. (1998) bei Breitmaulnashörnern zeigten die einzelnen Tiere starke Unterschiede im Niveau der Progesteronkonzentrationen im Kot während der Lutealphase, verbunden mit Variationen in der Länge des Zyklus. Daraufhin erfolgte eine Einteilung in 4 Gruppen. Eine Gruppe umfasste Tiere, die Lutealphasen mit hohen Progesteronkonzentrationen von über 800 ng/g Kot und regelmäßige ungefähr 10-wöchige Zyklen aufwiesen. Die Progesteronkonzentrationen der Tiere aus der zweiten Gruppe bewegten sich durchgängig im mittleren Bereich von 250-750 ng/g Kot bei stark schwankenden Zykluslängen von 4-10 Wochen. Nach Einteilung der Lutealphasen in solche mit einer Dauer von unter 35 oder über 45 Tagen besaßen diese Zyklen im Mittel Lutealphasen von ca. 17 bzw. 59 Tagen Dauer bei gleichlangen Follikelphasen von etwa 17 Tagen. Die letzten beiden Gruppen bestanden aus Nashornkühen ohne regelmäßige Zyklen bei geringer Lutealaktivität mit Progesteronkonzentrationen von 100-200 ng/g Kot bzw. Tieren ohne Lutealaktivität mit Werten unter 100 ng/g Kot. Aufgrund dieser unterschiedlichen Ergebnisse wurde geschlossen, dass die Nashornkühe der ersten Gruppe normale Zyklen gezeigt hatten, da diese sehr regelmäßig verliefen. Vertreter der Gruppe 2 waren dagegen zwar auch in der Lage zu ovulieren, hatten aber eine geringere Progesteronproduktion. Bei den Tieren der Gruppen 3 und 4 wurde die Existenz evtl. persistierender Follikelzysten ohne Ovulation vermutet.

Bei Indischen Nashörnern waren die Verlaufskurven der Konzentrationen an  $20\alpha$ -Hydroxyprogesteron und 20-oxo-Pregnanen im Kot positiv miteinander korreliert und

Progestagene stiegen an, wenn Östrogene abfielen. Follikelphasen dauerten ungefähr 16 Tage, Lutealphasen hingegen 19 Tage (SCHWARZENBERGER et al. 2000).

HEISTERMANN et al. (1998) wiesen bei einem Sumatranashorn vor dem Gipfelwert des Oestradiols zunächst niedrige Pregnandiolkonzentrationen von 10-20 µg/g im Kot nach. Danach erfolgte ein Anstieg auf Gehalte von 30-60 µg/g. Einen ähnlichen Verlauf zeigte auch die Ausscheidung von 5α-Pregnan-3α-ol-20-on, allerdings mit klareren Unterschieden zwischen Follikelphase (3-8 µg/g Kot) und Lutealphase (15-25 µg/g Kot).

20α-Dihydroprogesteron zeigte im Harn von Spitzmaulnashörnern zyklische Schwankungen mit markantem, raschem Anstieg kurz nach dem Auftreten der Brunst auf Höchstwerte um 30-50 ng/mg CR (HINDLE et al. 1990) bzw. 6-8 ng/mg CR (HINDLE et al. 1992). Die Follikelphase dauerte danach ca. 3-4 Tage, die Lutealphase ca. 17 Tage (HINDLE et al. 1992).

Die Follikelphase von nördlichen Breitmaulnashörnern dauerte, geschlossen aus 20α-Dihydroprogesteron-Bestimmungen im Harn, ungefähr 12-17 Tage. Dabei kam es kurz nach der Paarung zur Erhöhung der Gestagenwerte. Die Maximalkonzentrationen zwischen Tag 8 und 12 des Zyklus lagen bei 60-80 ng/mg (HINDLE et al. 1990, 1992). Ein südliches Breitmaulnashorn zeigte zwar keine Brunstsymptome, die Konzentrationen an 20α-Dihydroprogesteron im Harn wiesen aber mit Höchstwerten von ca. 80 ng/mg CR ähnlich denen des Tieres der nördlichen Unterart trotzdem auf ein Zyklusgeschehen hin. Im Proöstrus lag bei beiden Vertretern der Gestagengehalt im Harn unter 10 ng/mg CR. Insgesamt wurden hohe Konzentrationen an Progesteronmetaboliten im Harn bei allen untersuchten Tieren nur dann gefunden, wenn die Östrogengehalte im Harn niedrig waren und umgekehrt (HINDLE et al. 1992). Auch die Konzentrationen von freiem Progesteron im Harn eines südlichen Breitmaulnashorns zeigten zyklische Schwankungen mit Höchstwerten von 0,13-0,25 ng/ml und einem engen zeitlichen Bezug des Anstiegs der Gestagenwerte zum Abfall des Östrogens (WAGNER 1986).

Bei Indischen Nashörnern blieben die Konzentrationen an Pregnandiol-3-Glucuroniden im Harn zwischen dem 23. und 6. Tag vor der Ovulation auf Basisniveau von 14,3-34,4 ng/mg CR, gefolgt von einem zunächst langsamen, anschließend ab 1 Tag nach der

Ovulation, stärkeren Anstieg. Die Höchstwerte lagen dann bis 18 Tage nach der Ovulation bei  $125 \pm 13,4 \mu\text{g}/\text{mg CR}$ . Insgesamt betrug die Lutealphase ca. 19 Tage (KASMAN et al. 1986).

#### 2.3.3.3 Verhalten der Gestagene in Exkreten während der Gravidität

Ungefähr 10-14 Tage nach dem Decktermin kam es bei Spitzmaulnashörnern zum Anstieg der Konzentrationen von 20-oxo- (SCHWARZENBERGER et al. 1996 c), 20 $\alpha$ -Pregnanen und Pregnandiol (SCHWARZENBERGER et al. 1993 a) im Kot auf Werte, die denen der Lutealphase glichen. Danach blieben die Gestagengehalte bis zum 2. Monat der Gravidität konstant. Vom 3.-4. Monat erfolgte eine weitere Erhöhung der Konzentrationen, so dass ab der 11. Woche signifikant höhere Werte als bei nichtgraviden Tieren (SCHWARZENBERGER et al. 1996 c) bzw. zwischen den Tagen 250-400 schließlich 5-10fach höhere Werte als während der Lutealphase vorlagen (SCHWARZENBERGER et al. 1993 a). Obwohl es ab 3 Monaten (SCHWARZENBERGER et al. 1996 c) bzw. 2 Wochen (SCHWARZENBERGER et al. 1993 a) vor der Geburt zu einem langsamen Abfall der Gestagene im Kot kam, bestanden zum Geburtszeitpunkt noch signifikant höhere Werte als während der Follikelphase. Erst 2-3 (SCHWARZENBERGER et al. 1996 c) bzw. 3-4 (SCHWARZENBERGER et al. 1993 a) Tage post partum wurde das Basisniveau erreicht. Danach blieben die Konzentrationen für ca. 3 Monate niedrig, außer bei zwei Tieren, die 7-14 bzw. 22-36 Tage nach der Geburt Werte auf dem Niveau der Lutealphase zeigten (SCHWARZENBERGER et al. 1993 a). Bei Spitzmaulnashörnern erhöhte sich die Ausscheidung von 5 $\alpha$ - bzw. 5 $\beta$ -Progesteragenen im Kot ab dem 2. Trächtigkeitsmonat auf 7-15  $\mu\text{g}/\text{g}$  Kot im zweiten Graviditätsdrittel. Dieses Konzentrationsniveau war 3-4mal höher als das des Progesterons (SCHWARZENBERGER et al. 1994 a). Auch die Ausscheidung von 20 $\alpha$ -hydroxylierten Gestagenen im Kot von Spitzmaulnashörnern stieg ungefähr ab dem 2. Graviditätsmonat an, so dass am 100. Tag Werte von mehr als 2000 ng/g Kot erreicht wurden. Eine weitere Erhöhung der Konzentrationen auf über 4000 ng/g Kot erfolgte ab dem 200. Tag. Anschließend blieb das Niveau bis zur Geburt konstant und erreichte erst 3-4 Tage nach der Geburt wieder das Basisniveau (BAMBERG u. SCHWARZENBERGER 1990; GÖLTENBOTH u. FRANKE 1990; FRANCKE et al. 1991; FRANCKE u. SCHWARZENBERGER 1991). Signifikant höhere Werte als während der Lutealphase

des Zyklus erreichten auch ab dem 3. Graviditätsmonat die Konzentrationen von 4-Pregnan-11-ol-3,20-dion im Kot von Spitzmaulnashörnern (RADCLIFFE et al. 2001). Progesteron im Kot von Spitzmaulnashörnern war bei graviden Tieren mit durchschnittlich  $2462,2 \pm 453,6$  ng/g Kot signifikant höher als bei ingraviden Tieren mit  $213,8 \pm 93,5$  ng/g Kot. Eine Graviditätsdiagnose war aufgrund dieser Werte ab dem 150. Tag zu 92 % sicher. Auch die Durchschnittskonzentrationen an  $20\alpha$ -Progesteron im Kot von 5 freilebenden, graviden Tieren waren während des 1. Monats ( $1359 \pm 186$  ng/g) und 3. Monats ( $2000 \pm 265$  ng/g) signifikant höher als die von nichtgraviden Tieren ( $800 \pm 58$  ng/g Kot). Im 2. Monat dagegen wurde mit  $1106 \pm 23$  ng/g Kot keine signifikant höhere Ausscheidung erreicht. Zwischen den Monaten 4 bis 15 zeigten sich Konzentrationen, die 5-10fach höher lagen als bei ingraviden Nashörnern. Anhand einer festgesetzten Schwelle von 2000 ng/g Kot wurde hier eine Zuverlässigkeit für falschnegative Trächtigkeitsdiagnosen von 96,5 % ab dem 3. Monat und 97,6 % ab dem 4. Monat festgestellt (GARNIER et al. 1998). Nach Kopulation stiegen bei Spitzmaulnashörnern die Progesteron- (GARNIER et al. 1998) bzw.  $20\alpha$ -Progesteronkonzentrationen (BERKELEY et al. 1997) im Kot auf Werte, die in der Lutealphase vorkommen. Danach erfolgte zwischen den Monaten 2 bis 4 eine erneute starke Erhöhung, so dass ab dem 133. Tag signifikant höhere Konzentrationen an Progesteron im Kot als während der Lutealphase zu verzeichnen waren. Progesteron im Serum blieb dagegen während der gesamten Gravidität auf dem Niveau in der Lutealphase des Zyklus. Ungefähr 2 Wochen vor der Geburt fiel die Ausscheidung von Progesteron mit dem Kot ebenfalls auf dieses Niveau zurück (BERKELEY et al. 1997). Nach der Geburt kam es innerhalb von 4 Tagen zum Auftreten von Basalwerten an  $20\alpha$ -Progesteron im Kot (GARNIER et al. 1998).

Die Progestinkonzentrationen im Kot eines graviden Breitmaulnashornes stiegen zunächst wie bei nichtgraviden, zyklischen Tieren an, blieben dann aber erhöht. Nach zwei Fällen von Embryonaltod konnte ein Corpus luteum mittels Ultraschall noch für 42 bzw. 48 Tage nachgewiesen werden, gleichzeitig waren die Progestinwerte ebenfalls für etwa 44 Tage erhöht. Erst danach erfolgte ein Abfall der Konzentrationen (RADCLIFFE et al. 1997). Gravide Breitmaulnashörner zeigten während des 4.-5. Monats  $20$ -oxo-Pregnan-Konzentrationen im Kot von  $5046 \pm 844$  bzw.  $6432 \pm 662$  ng/g Kot. Diese Werte lagen signifikant höher als die bei ingraviden Tieren während der Lutealphase (SCHWARZENBERGER et al. 1998).

Während der Gravidität war die Ausscheidung von 20-oxo- und 20 $\alpha$ -Hydroxy-Pregnan im Kot bei Indischen Nashörnern im 2. Monat niedriger als in der Lutealphase. Erst ab dem 3. Monat erfolgte ein Anstieg, und im 7. Monat bestanden 10fach höhere Werte als in der Lutealphase (SCHWARZENBERGER et al. 2000). Graviditäten bei Sumatranashörnern waren verbunden mit – im Vergleich zu zyklischen Tieren – über längere Zeit hohen Progesterongehalten in Serum und Kot. Embryontod verursachte in einem Fall den Abfall der Gestagenkonzentrationen und anschließendes Follikelwachstum. Ein anderes Mal blieb die Progesteronkonzentration im Serum für 60 Tage erhöht (ROTH et al. 2001).

Die Konzentrationen von Pregnan-3-Glucuronid im Harn von ingraviden Spitzmaulnashörnern waren nicht messbar bis niedrig. Trotz starker individueller Schwankungen waren aufgrund signifikant ansteigender Werte ab der mittleren Gravidität große Differenzen zu den Gestagengehalten im Harn der ingraviden Tiere zu verzeichnen (RAMSEY et al. 1987; BRETT et al. 1989). Einen Tag nach der Geburt erfolgte ein starker Abfall der Konzentrationen auf nichtmessbare Werte. Eine Graviditätsdiagnose mittels dieser Methode war demnach ab dem letzten Trimester möglich (RAMSEY et al. 1987). Alle von freilebenden Nashörnern bestimmte Hormonwerte waren niedrig, und Nachwuchs wurde bei diesen Tieren innerhalb von 12 Monaten nicht festgestellt. Aus diesen Ergebnissen schlossen BRETT et al. (1989), dass aufgrund der starken Variationen der Hormonausscheidung nur hohe Konzentrationen eine vorliegende Gravidität anzeigen.

Die Ausscheidung von Pregnan-3-Glucuronid im Harn während mittlerer bis später Gravidität variierte stark zwischen einzelnen Nashornspezies. Dabei waren die Höchstwerte von afrikanischen Nashörnern (mit 0,7  $\mu\text{g}/\text{mg}$  CR für ein Spitzmaul- und 0,09  $\mu\text{g}/\text{mg}$  CR für ein Breitmaulnashorn) ca. 10-100fach niedriger als bei einem Indischen Nashorn mit 8-10  $\mu\text{g}/\text{mg}$  CR. Bei letzterem kam es zunächst zu einem zwar sehr langsamen, aber stetigen Anstieg auf signifikant höhere Werte als in der Lutealphase nach 4 Monaten. Ab dem 8. Monat konnten Konzentrationen von mehr als 6  $\mu\text{g}/\text{mg}$  CR gemessen werden, verbunden mit einem weiteren, leichten Anstieg während der restlichen Trächtigkeit. Die Ursachen für die unterschiedliche Höhe der Hormonausscheidung wurden entweder in quantitativen oder qualitativen Differenzen in der Progesteronsekretion bzw. im Metabolismus gesehen. Außerdem könnten

individuelle Unterschiede von Bedeutung sein, da jeweils nur ein Tier zur Verfügung stand. Bei allen Nashörnern kam es bei Geburt oder Abort zu einer starken Verringerung der Ausscheidung, so dass beim Indischen Nashorn innerhalb von 10 Tagen post partum die Basiswerte erreicht wurden (HODGES u. HINDLE 1988; HODGES u. GREEN 1989). KASMAN et al. (1986) verfolgten ebenfalls den Konzentrationsverlauf von Pregnan diol-3-Glucuronid im Harn eines Indischen Nashorns während der Gravidität. Zwei Monate nach dem Decktermin lag die Ausscheidung auf dem Niveau der Lutealphase, ungefähr im 3. Monat stiegen die Konzentrationen auf Werte höher als 1,0 µg/mg CR, danach folgte ein weiterer Anstieg während der gesamten Trächtigkeit. Insbesondere zwei Wochen vor der Geburt kam es zu einer massiven Erhöhung auf Werte über 10,0 µg/mg CR. Einige Tage vor der Geburt sanken die Werte auf 5,8 µg/g, Basiswerte wurden erst einen Tag nach der Geburt erreicht. Danach blieb das Gestagenniveau weitere 2 Wochen niedrig.

### **3 TIERE, MATERIAL UND METHODEN**

#### **3.1 Tiere**

Für die vorliegende Studie standen im Zeitraum vom Mai 1997 bis zum Februar 2002 insgesamt 13 Giraffen aus 6 deutschen Zoologischen Gärten bzw. 8 Spitzmaulnashörner aus 4 deutschen Zoos zur Verfügung. Zusätzlich wurden für die Prüfung der Stabilität von Gestagenen im Kot 3 Schneeziegen und 4 Damagazellen zum Vergleich hinzugezogen. Während der entsprechenden Untersuchungszeiträume konnte keine standardisierte Fütterung durchgeführt werden, da die Tiere nach einem unterschiedlichen Fütterungsregime im jeweiligen Zoo versorgt wurden. Hinzu kamen noch die jahreszeitlichen Einflüsse mit den damit verbundenen verschiedenen Futterangeboten.

Voraussetzung für die Aufnahme der Tiere in die Studie war die Möglichkeit, diese wenigstens kurzzeitig getrennt aufstallen zu können, damit das Sammeln von individuellen Proben möglich wurde. Außerdem mussten in jedem Zoo entsprechende Einrichtungen vorhanden sein, um die Proben bis zum Transport schnellstmöglich tiefgefrieren zu können.

##### **3.1.1 Tiere zur Feststellung der Stabilität der Gestagene im Kot**

Weil es aufgrund verschiedener Ernährungsweisen zu einer unterschiedlichen Kotbeschaffenheit bei den einzelnen Tierarten kommt, wurden neben 2 Rothschildgiraffen und 2 Spitzmaulnashörnern für die Prüfung auf Stabilität zum Vergleich auch Damagazellen (*Gazella dama ruficollis*) hinzugezogen. Da aber bei den Gazellen bestimmte Sammelregimes nicht eingehalten werden konnten, mussten sie in einem Teil der Studie durch Schneeziegen (*Oreamnos americanus*) ersetzt werden. Die Tiere stammen alle aus dem Zoologischen Garten Leipzig. Insgesamt standen 4 Damagazellen, 3 Schneeziegen, 2 Giraffen und 2 Nashörner zu Verfügung, allerdings konnten aus organisatorischen Gründen nur jeweils zwei bis drei Damagazellen bzw. Schneeziegen pro untersuchten Parameter herangezogen werden. Alle 4 Damagazellen wurden in Leipzig geboren und zwar "Bessy" am 10.01.1991, "Nadja" am 15.03.1991, "Janet" am 23.03.1991 und "Mary" am 20.03.1992. Bei den 3 Schneeziegen handelte es sich zum einen um die aus Calgary stammenden Tiere "Nanny" (geboren am

25.05.1989) bzw. "Fanny" (geboren am 29.05.1989). Außerdem wurden Proben von "Lowansa" gesammelt, die am 01.06.1994 in Helsinki zur Welt kam. Angaben zu den Giraffen "Jubilee" und "Knöpfchen" finden sich in Tabelle 1 (S. 39) und zu den Nashörnern "Saba" und "Sara" in Tabelle 2 (S. 41).

### **3.1.2 Tiere für die Zyklus- und Graviditätsdiagnostik**

#### **3.1.2.1 Giraffen**

Die Kotproben der verschiedenen Giraffensubspezies wurden zu unterschiedlichen Zeiträumen in den Zoos aus Dortmund, Erfurt, Hamburg, Karlsruhe, Leipzig und Magdeburg gesammelt. Eine Übersicht über die Stammdaten der Tiere gibt Tabelle 1 (S. 39).

Im Gegensatz zur Angolagiraffe "Debora", die schon in Dortmund geboren wurde, kamen "Lisboa" und "Lisala" erst im Mai 1997 von Lissabon nach Dortmund. "Debora" gebar Ende 1995 bereits mit gut 3,5 Jahren ihr erstes Jungtier, die nächste Geburt folgte 3 Jahre später. Die beiden anderen Giraffenkühe hatten bis zum Beginn der Probensammlung noch keinen Nachwuchs. Aufgrund der großen Giraffengruppe in Dortmund konnten Brunstsymptome der drei Tiere nur sporadisch beobachtet werden. So zeigte der 1985 in Namibia geborene Bulle "Ovambo" ab Frühjahr 1998 vermehrtes Interesse an "Lisboa" mit unregelmäßig registrierten Deckterminen bis Anfang 1999, "Lisala" wurde von ihm seit Ende 1999 stärker verfolgt und Deckversuche wurden bis Anfang 2000 gesichtet. Von "Debora" liegen einige Deckdaten vom Frühjahr 1999 vor.

"Kenya", eine der beiden Netzigiraffen aus Karlsruhe, hatte von 1990 bis 1994 in ihrem Geburtsort Duisburg 4 Kälber, inklusive einer Zwillingengeburt. Einen Monat nach ihrer Umsiedlung in den Kölner Zoo folgte 1996 eine Totgeburt mit starken Geburtstraumen. Seit dieser Zeit wurde "Kenya" nicht mehr tragend. Hinzu kam eine starke Unverträglichkeit mit dem Kölner Bullen, der sich sehr aggressiv gegenüber "Kenya" zeigte. Deshalb wurden die beiden nur noch getrennt voneinander gehalten. Nach ihrer Ankunft in Karlsruhe im Dezember 1997 gab es mit dem dortigen Bullen "Max" zunächst keine Probleme, da dieser erst im April 1996 geboren worden und noch nicht geschlechtsreif war. Seit Anfang 2000 verstärkte sich das Interesse des Bullen für "Kenya", was sich durch ständiges Verfolgen der Giraffenkuh äußerte, die aber ständig weglief. Während des Untersuchungszeitraums starb "Kenya" am 09.02.2001. "Alice"

kam im Juni 1993 nach Karlsruhe und brachte dort von 1994 bis 1998 2 Jungtiere zur Welt. Bei dem letzten Kalb handelte es sich um eine Totgeburt mit relativ zu großer Frucht. Brunst- oder Deckdaten aus der Zeit vor Beginn der Probensammlungen liegen für beide Tiere nicht vor.

Tabelle 1: Angaben zu den in die Studie einbezogenen Giraffen

<u>Name</u>	<u>Subspezies</u>	<u>Haltung</u>	<u>Geburts- datum, -ort</u>	<u>Eltern</u>	<u>Zucht- buch-Nr.</u>	<u>Nachkommen bis zur Studie</u>
"Debora"	Angola- giraffen ( <i>Giraffa camelo- pardalis angolensis</i> )	Tierpark Dortmund	01.05.1992, Dortmund	V: Ovambo M: Etosha	8-2381	24.12.1995: 0,1 31.12.1998: 0,1
"Lisboa"			11.02.1995, Lissabon	V: Masai M: Java	8-2605	
"Lisala"			20.08.1996, Lissabon	V: Asab M: Java	8-2724	
"Kenya"	Netzgiraffen ( <i>Giraffa camelo- pardalis reticulata</i> )	Zoo- logischer Garten Karlsruhe	03.07.1985, Duisburg	V: Wilhelm M: Turkana	4-1841	09.04.1990: 0,1 08.07.1992: 0,1 26.04.1994: 2,0 27.02.1996: 1,0
"Alice"			10.01.1988, Kopenhagen	V: Kalle-Morten M: Turkana	4-2039	18.12.1994: 1,0 27.03.1998: 1,0
"Etoscha"	Rothschild- giraffen ( <i>Giraffa camelo- pardalis rothschildi</i> )	Tierpark Carl Hagenbeck	21.05.1996, Usti nad	V: Set M: Jenny	5-2701	
"Tena"			27.08.1998, Liberec	V: Benito M: Tracy	5-2801	
"Jubilee"		Zoo- logischer Garten	19.05.1978, Leipzig	V: August III M: Magna	5-1276	15.01.1994: 0,1 27.09.1995: 1,0
"Knöpf- chen"		Leipzig	09.01.1998, Ostrava	V: Sobaki M: Croncita	5-2829	
"Maja"	Subspezies Hybriden	Thüringer Zoopark Erfurt	27.03.1972, Erfurt	V: Männe M: Mampi	*-0819	29.11.1978: 1,0 01.03.1982: 1,0 06.08.1983: 1,0 03.07.1985: 0,1 28.05.1987: 1,0 02.07.1990: 1,0 25.02.1994: 0,1 06.09.1995: 0,1
"Gunda"				06.09.1995, Erfurt	V: Stanley M: Maja	*-1461
"Hanna"		Zoo Magdeburg	10.07.1988, Karlsruhe	V: Fl. Masingo M: Evi	*-2076	
"Lisa"			07.07.1990, Karlsruhe	V: Fl. Masingo M: Evi	*-2247	07.11.1996: 1,0

(M = Mutter, V = Vater)

Bei den Hamburger Rothschildgiraffen "Etoscha" und "Tena" handelt es sich um sehr junge Kühe, die beide vor der Studie noch keinen Zyklus gezeigt haben. "Etoscha" kam im November 1997 nach Hamburg, "Tena" im September 1998. "Jou-Jou", der Bulle im Tierpark Hagenbeck, wurde im Juli 1993 geboren und ist seit Februar 1995 in Hamburg.

"Jubilee", ebenfalls eine Rothschildgiraffe, wurde 1978 in Leipzig geboren. Nach einer Totgeburt 1994 zeigte sie 45 Tage später wieder Brunsterscheinungen, gefolgt von Östren in ungefähr 14tägigem Abstand. Aufgrund des letzten registrierten Decktermins dauerte die zweite Gravidität 446 Tage mit Geburt von "Max" im September 1995. "Max", der von "Jubilee" nicht angenommen wurde, ist seit der Abgabe seines Vaters "Prinz" im April 1998 der einzige Leipziger Zuchtbulle. 12 Tage nach "Jubilees" zweiter Geburt zeigte sie bereits wieder Brunstsymptome, danach schlossen sich bis zum Frühjahr 1996 Zyklen von ca. 15 Tagen an. Während der Studie starb "Jubilee" am 05.03.2002. "Knöpfchen" kam im Juni 1999 nach Leipzig und zeigte bis zum Beginn der Sammlung von Kotproben keinen Zyklus.

Die in Erfurt geborene Giraffenkuh "Maja" brachte von 1978 bis 1995 8 Kälber zur Welt, wovon das zweite ein prämaturner Abort war. In den Zeiten zwischen den Graviditäten konnten regelmäßige Zyklen von ca. 15 Tagen beobachtet werden. Aufgrund von Notizen der letzten Decktermine vor der 4. bis 8. Gravidität wurden Trächtigkeitlängen von 460, 467, 461, 472 und 469 Tagen festgestellt. Die erste Brunst nach der 7. Geburt erfolgte 36 Tage später. Im Oktober 1995 zeigte "Maja" 36 Tage nach ihrer letzten Geburt Östrusanzeichen, war aber vom Bullen getrennt. Ende Oktober folgten Deckversuche, danach waren keine Brunstsymptome oder Interesse des Bullens mehr zu beobachten. Eine Harnprobe des Bullen vom Oktober 1996 enthielt Spermien, so dass nach Verstreichen des errechneten Geburtstermins (Konzeption im Oktober 1995) im Frühjahr 1997 von einer Trächtigkeit aufgrund eines Decktermins im Oktober 1996 ausgegangen wurde. Während der beiden vermuteten Graviditäten zeigte "Maja" die gleichen Symptome wie in den vorangegangenen 8 Trächtigkeiten: vermehrter Bauchumfang, ödematisierte Vulva mit Schleimabgang und Erschlaffung der Beckenbänder. Im Juni 1997 wurde durch eine Thermografie-Untersuchung die Gravidität bestätigt. Trotz dieser Anzeichen erfolgte keine Geburt. Auch Brunstsymptome konnten nicht mehr registriert werden, allerdings starb im Oktober 1996 der im Oktober 1980 geborene Bulle "Stanley", so dass seitdem keine Zykluskontrolle

durch Beobachtungen des Bullen mehr erfolgen konnte. "Gunda" ist die 1995 geborene Tochter von "Maja" und "Stanley". Äußere Brunstsymptome konnten bei ihr noch nicht beobachtet werden.

Beide Magdeburger Giraffenkühe sind in Karlsruhe geboren und seit November 1991 in Magdeburg. Bei "Hanna" kam es trotz gelegentlicher Decktermine zwischen 1994 und 1999 zu keiner Trächtigkeit. Von "Lisa" existieren ebenfalls Aufzeichnungen von unregelmäßigen Deckversuchen im Jahr 1995 mit anschließender Gravidität. Nach der Geburt im November 1996 wurden 26 Tage später Brunstsymptome registriert, gefolgt von sporadisch beobachteten Östruserscheinungen von 1997 bis Anfang 1999. Während der Studie kam es am 23.06.2001 zum Tod von "Lisa", am 25.04.2002 zum Tod von "Hanna". Der im Mai 1995 geborene Bulle "Charly II" ersetzt in Magdeburg seit August 1996 den im März 1996 verstorbenen Bullen "Charly I".

### 3.1.2.2 Spitzmaulnashörner

Die Kotproben der ostafrikanischen Spitzmaulnashörner (*Diceros bicornis michaeli*) wurden während unterschiedlicher Sammelperioden in den Zoos bzw. Tierparks in Dortmund, Krefeld, Leipzig und Magdeburg gewonnen. Der Tabelle 2 sind Angaben über die Stammdaten zu entnehmen.

Tabelle 2: Angaben zu den an der Studie beteiligten Spitzmaulnashörnern

<u>Name</u>	<u>Subspezies</u>	<u>Haltung</u>	<u>Geburtsdatum, -ort</u>	<u>Eltern</u>	<u>Zuchtbuch-Nr.</u>	<u>Nachkommen bis zur Studie</u>
"Siwa"	ostafrikanisches Spitzmaulnashorn ( <i>Diceros bicornis michaeli</i> )	Tierpark Dortmund	15.03.1992, Zürich	V: Kifaru M: Mtoto	0454	10.02.1999: 1,0
"Nane"		Krefelder Zoo	04.04.1991, Berlin	V: Klaus M: Mzima	0437	
"Saba"		Zoo-logischer Garten Leipzig	07.02.1991, Berlin	V: Klaus M: Kilaguni	0436	
"Sara"			24.02.1992, Dvur Kralove	V: Jimm M: Sali	0481	
"Sarafine"			10.01.2000, Leipzig	V: Jasper M: Saba	0767	
"Kenia"		Zoo Magdeburg	30.08.1967, Kenya/ Afrika	V und M Wildfänge	0153	23.01.1979: 1,0 15.09.1981: 0,1
"Mana"			15.09.1981, Magdeburg	V: Kibo M: Kenia	0295	23.12.1995: 0,1
"Malaika"			23.12.1995, Magdeburg	V: Eli M: Mana	0559	

(M = Mutter, V = Vater)

Die aus Zürich stammende Nashornkuh "Siwa" gelangte im August 1994 nach Dortmund. Dort lebt sie mit "Usoni", dem im September 1994 geborenen Bullen, zusammen. Nach einem am 10.02.1999 registrierten Decktermin kam es im Februar 1999 zum Frühabort eines männlichen Kalbes mit starken Deformationen und Eventratio intestini. Bakteriologisch wurde eine  $\beta$ -Streptokokken-Septikämie festgestellt.

Seit Mai 1994 lebt "Nane" in Krefeld mit dem 1991 in Dvur Kralove geborenen Bullen "Jacob" zusammen. 1998 wurden im Abstand von ca. 27 Tagen Deckversuche ohne Konzeptionserfolg registriert. Im Jahr 1999 kam es zu unregelmäßigen Zeiten ebenfalls zu Paarungsversuchen, die ab 2000 völlig ausblieben.

Die Nashornkuh "Saba" wurde in Berlin geboren und ist seit September 1993 in Leipzig. Trotz beobachteter Brunstanzeichen im Abstand von ca. 25 Tagen während des Jahres 1996 und Anfang 1997 blieb bei ihr eine Gravidität aus. "Sara" gelangte im Juni 1994 nach Leipzig und hatte bis zum Beginn der Untersuchungen keinen Nachwuchs. Während der Studie starb "Sara" am 25.02.2001 an hämolytischer Anämie. Seit 1993 befand sich der Bulle "Jasper" in Leipzig, wurde aber im November 1999 nach Berlin abgegeben und durch den im Februar 1996 in Berlin geborenen "Ndugu" ersetzt. Bei "Sarafine", die erst im Januar 2000 in Leipzig geboren wurde, erfolgte ebenfalls eine Sammlung von Kotproben.

In Magdeburg leben 3 Generationen von Spitzmaulnashörnern. "Kenia", im August 1970 nach Magdeburg übergesiedelt, bekam dort 1979 ihr erstes Kalb. Außerdem ist sie die Mutter von "Mana", die im September 1981 auf die Welt kam. Aufzeichnungen von Brunstsymptomen liegen von "Kenia" nur sporadisch vor. "Mana" hatte nur einmal im Dezember 1995 Nachwuchs, nämlich "Malaika". Außerdem zeigte sie in den Jahren 1994 und 1997 bis 1999 Zyklen von ungefähr 27 Tagen. "Malaika" hatte bis zum Beginn der Studie weder Brunstanzeichen noch war sie trächtig. Nachdem der alte Bulle "Eli" im Februar 1995 gestorben war, gelangte im September 1996 der damals 4-jährige Bulle "Madiba" nach Magdeburg.

### 3.2 Probenmaterial

Für die Bestimmung der Stabilität von Progesteron und/ oder seiner Metaboliten in den Fäzes wurden im Jahr 2000 von April bis Mai Kotproben bei 4 Tierarten gesammelt. Insgesamt standen pro untersuchtem Parameter 9-10 Proben pro Tierart zur Verfügung.

Im Rahmen der Zyklus- und Graviditätsdiagnostik wurden die Kotproben der Giraffen und Spitzmaulnashörner während verschiedener Zeiträume und in unterschiedlichen Abständen gesammelt. Eine Übersicht ist der folgenden Tabelle 3 zu entnehmen.

Tabelle 3: Sammelzeiträume, -regime und Probenanzahl bei den einzelnen Tieren

	Name	Zeiträume	Sammel-regime	Proben-anzahl
Giraffen	"Alice"	01.12.2000 - 28.02.2001, 21.09.2001 - 09.11.2001	täglich	126
	"Debora"	16.06.2001 - 07.08.2001	alle 1-7 Tage	16
	"Etoscha"	15.01.2000 - 24.04.2000 02.08.2000 - 15.05.2001	täglich alle 1-7 Tage	88
	"Gunda"	15.12.1999 - 12.02.2000	täglich	60
	"Hanna"	26.05.2000 - 30.06.2000, 23.01.2001 - 02.03.2001	täglich	70
	"Jubilee"	22.05.1997 - 30.01.2002	alle 1-14 Tage	591
	"Kenya"	01.12.2000 - 08.02.2001	täglich	69
	"Knöpfchen"	20.12.1999 - 20.01.2000 16.01.2001 - 30.01.2002	täglich alle 1-7 Tage	282
	"Lisa"	29.05.2000 - 30.06.2000, 23.01.2001 - 21.08.2001	täglich	55
	"Lisala"	19.02.2001 - 22.02.2001, 24.03.2001 - 09.05.2001 25.05.2001 - 28.07.2001	täglich alle 1-7 Tage	96
	"Lisboa"	23.05.2000 - 21.08.2000	alle 1-7 Tage	28
	"Maja"	01.02.1999 - 02.03.1999, 15.12.1999 - 12.02.2000	täglich	89
"Tena"	15.01.2000 - 24.04.2000, 10.03.2001 - 15.05.2001	täglich	144	
Spitzmaulnashörner	"Kenia"	29.05.2000 - 30.06.2000	täglich	32
	"Malaika"	30.05.2000 - 30.06.2000	täglich	31
	"Mana"	29.05.2000 - 30.06.2000 02.03.2001 - 20.03.2001, 05.09.2001 - 07.10.2001	täglich alle 2-4 Tage	52
	"Nane"	14.06.2000 - 11.07.2000 25.08.2000 - 09.10.2000	alle 1-3 Tage täglich	72
	"Saba"	26.05.1997 - 06.04.1999	alle 1-14 Tage	498
	"Sara"	26.05.1997 - 26.07.1999	alle 1-14 Tage	152
	"Sarafine"	29.01.2001 - 14.03.2001	alle 1-3 Tage	31
	"Siwa"	28.08.2000 - 10.11.2000	alle 1-7 Tage	36

Zusätzlich wurde durch die Pfleger das Verhalten der Tiere, insbesondere Brunstsymptome, Graviditäts- oder Geburtsanzeichen sowie sonstige Besonderheiten, soweit als möglich, beobachtet und notiert.

### 3.2.1 Gewinnung und Lagerung

Die Materialsammlung erfolgte frühmorgens durch die Tierpfleger. Beim Aufnehmen des Kotes vom Stallboden wurde darauf geachtet, dass dieser möglichst frisch und sauber war. Direkt nach der Gewinnung wurden die Proben in dicht verschließbare Plastikgefäße (Filmdosen) oder -tüten verpackt und bis zum Transport bei  $-18\text{ °C}$  tiefgefroren. Der Transport nach Leipzig erfolgte in geeigneten Gefäßen unter Tiefkühlbedingungen.

### 3.2.2 Vorbereitung

Bevor die Proben für die Messung eingesetzt werden konnten, wurden sie zum Auftauen etwa  $\frac{1}{2}$  Stunde bei Zimmertemperatur gelagert. Der Kot zur Prüfung der Stabilität von Progesteron und/ oder seiner Metaboliten musste dabei, abhängig vom untersuchten Parameter, noch speziell behandelt werden:

1. Um die Trockenmasse des Kotes zu bestimmen, wurde von jeder Probe 1 g Kot eingewogen und zum Trocknen im Wärmeschrank bei  $37\text{ °C}$  gelagert. Nach 3 Tagen erfolgte die Kontrollwägung.
2. Die Proben zur Überprüfung des Einflusses von Veränderungen des Einfrierzeitpunktes auf den Hormongehalt des Kotes wurden direkt nach dem Abkoten in 3 Teile geteilt, von denen der erste Teil sofort, der zweite nach 24 Stunden und der dritte nach 48 Stunden eingefroren wurde. Die Lagerung bis zum Einfrieren geschah bei Zimmertemperatur. Ca. 1 Woche später wurde die Bestimmung der Gestagenkonzentrationen durchgeführt.
3. Um mögliche Veränderungen im Hormongehalt des Kotes durch Variationen der Lagerungsdauer im gefrorenen Zustand feststellen zu können, erfolgte eine Teilung der Proben in 3 Teile mit anschließender Lagerung bei  $-20\text{ °C}$  für 1 Woche, 1 Monat und 3 Monate.
4. Ein Einfluss von einmaligem bzw. dreimaligem Gefrieren und Auftauen wurde überprüft, indem die tiefgefrorenen Proben zur ersten Hormonbestimmung aufgetaut und danach jeweils noch zweimal eingefroren und aufgetaut wurden. Erst danach erfolgte die zweite Messung der Gestagenkonzentrationen.



Pufferlösung II (pH 7,4):	Dinatriumhydrogenphosphat-Dodecahydrat (0,819 g/l) Natriumdihydrogenphosphat-Hydrat (6,175 g/l) Natriumazid (0,5 g/l) Gelatine (1,0 g/l)
Tracer-Stammlösung	(0,5 ml Progesteron-Tracersubstanz/ 100 ml Ethanol)
Tracer-Arbeitslösung	(300 µl Tracer-Stammlösung/ 14 ml Phosphatpuffer II)
Antiserumlösung, Anti-Progesteron-3-Carboxylmethyloxim-BSA vom Kaninchen	(1 ml/ 7 l Phosphatpuffer II)
Progesteron-Referenzlösung	(10 µg Progesteron-Referenzsubstanz/ 100 ml Ethanol)
Progesteron-Stammlösung	(1 ml Progesteron-Referenzlösung / 100 µl Ethanol, d. h. 100 ng/ml Ethanol)
Dextran-Aktivkohle-Suspension:	Norit A (250 mg/ 100 ml Phosphatpuffer I) Dextran T 70 (25 mg/ 100 ml Phosphatpuffer I)

### 3.3.2.2 Versuchsablauf

Nach Verdünnung von 100 µl des Kotextraktes mit 400 µl Puffer II wurden 100 µl des gewonnenen Gemisches im Radioimmunoassay eingesetzt. Dazu erfolgte die Zugabe von 100 µl Tracer-Arbeitslösung und des hormonspezifischen Antikörpers. Anschließend wurde der Ansatz für 40 Minuten bei 37 °C und 40 Minuten bei 0 °C inkubiert. Danach wurden freies und antikörpergebundenes Hormon durch Zusatz von 1 ml einer Dextran-Aktivkohle-Suspension, die freie Steroide bindet, voneinander getrennt. Nach 10-minütigem Stehen im Eisbad und Zentrifugation für 10 Minuten bei 4 °C und 4000 U/min wurde der Überstand in LSC-Röhrchen abgegossen und mit 3 ml Szintillationsflüssigkeit (Rotiszint-Mini, Firma Carl Roth GmbH) versetzt. Die Messung der gebundenen Aktivität erfolgte im Flüssigszintillationszähler 1409 der Firma Wallac (Finnland). Zur Ermittlung der Hormonkonzentration in den einzelnen Proben diente die Auswertungssoftware "Multicalc" derselben Firma.

Zur Erstellung der Eichreihe wurde unmarkiertes Progesteron als Progesteron-Stammlösung verwendet. Dabei wurden die Lösungen für die Eichkurve durch Verdünnen der Progesteron-Stammlösung mit unterschiedlichen Anteilen an Puffer II

hergestellt. Resultierende Konzentrationen der Lösungen waren 35 nmol/l, 14 nmol/l, 7 nmol/l, 3,5 nmol/l, 1,4 nmol/l und 0,7 nmol/l.

Alle Kotextraktproben wurden ausschließlich als Doppelbestimmungen, die 6 Lösungen der Eichreihe als Dreifachmessungen analysiert. Zusätzlich wurden 3 Röhrchen zur Bestimmung der Gesamtaktivität mitgeführt, die nur Tracerlösung enthielten. Außerdem wurden durch ebenfalls 3 Röhrchen, in denen keine Eich- und Antikörperlösung enthalten war, die nichtspezifischen Wechselwirkungen des Tracers beurteilt. Weitere 3 Gefäße enthielten den Nullstandard durch Zusatz von Pufferlösung anstelle von Referenzlösung.

### 3.3.2.3 Qualitätskriterien

Als Zuverlässigkeitskriterien wurden zur Beurteilung der Methode Spezifität, Genauigkeit, Reproduzierbarkeit, Richtigkeit und Empfindlichkeit herangezogen.

Die Beurteilung der Spezifität des Antikörpers durch Bestimmung der Kreuzreaktionen war bereits durch GOTTSCHALK (1999) mit folgendem Ergebnis erfolgt:

4-Pregnen-3,20-dion	100 %
17 $\alpha$ -Hydroxyprogesteron	<1,0 %
17 $\beta$ -Hydroxyprogesteron	<0,1 %

Außerdem wurde in derselben Studie die Wiederfindungsrate durch Zugabe von unterschiedlichen Mengen an Progesteron untersucht. Diese lag bei 70-115 %, welches die Genauigkeit der Methode widerspiegelt.

In vorliegender Untersuchung wurde die Kreuzreaktivität gegenüber weiteren Progesteronmetaboliten und Steroidhormonen geprüft.

## 3.4 Statistische Auswertung

Zur statistischen Bearbeitung der Ergebnisse wurde das Programm "STATISTIKA" genutzt. Im Rahmen der Prüfung auf Stabilität von Progesteron im Kot verschiedener Tierarten erfolgte die statistische Auswertung der Proben mit einem nichtparametrischen Test nach Wilcoxon für gepaarte Stichproben. Da nur wenig Beobachtungsmaterial zur Verfügung stand, wurden zur statistischen Bearbeitung die Empfehlungen von BIEBLER et al. (1984) herangezogen. Aufgrund des unbekannt

Verteilungstyps und des geringen Umfangs der erhobenen Stichproben wurden der Median (= mittleres Quartil) und als Streuung der Beobachtungswerte das 1. bis 3. Quartil ermittelt. So konnten Probenwerte in einer Gruppe (Tierart) zusammengefasst werden, die nicht normal verteilt sind. Jede Gruppe bestand aus insgesamt 9-10 Proben von 2 bis 3 Tieren.

Die Werte der Gestagenkonzentrationen im Kot von Giraffen und Spitzmaulnashörnern, die zur Zyklus- und Graviditätsdiagnostik genutzt werden sollten, wurden anhand des Kolmogorov-Smirnov-Tests auf Normalverteilung geprüft. Varianzanalysen abhängiger Stichproben erfolgten mittels einfaktoriellem ANOVA-Test, Vergleiche zwischen zwei unabhängigen Tiergruppen durch den t-Test für unabhängige Stichproben.

## 4 ERGEBNISSE

### 4.1 Qualitätskriterien der Bestimmungsmethode

Der eingesetzte Antikörper gegen Progesteron zeigte folgende Kreuzreaktionen:

5 $\alpha$ -Pregnan-3,20-dion:	9,2 %
5 $\alpha$ -Pregnan-3 $\beta$ -ol-20-on:	1,8 %
5 $\alpha$ -Pregnan-3 $\alpha$ , 20 $\alpha$ -diol:	1,3 %
4-Pregnen-20 $\alpha$ -ol-3-on:	1,1 %
5 $\alpha$ -Pregnan-20 $\alpha$ -ol-3-on:	0,35 %
5 $\beta$ -Pregnan-3 $\beta$ , 20 $\alpha$ -diol:	0,16 %
5 $\beta$ -Pregnan-3 $\alpha$ -ol-20-one, Oestradiol-17 $\beta$ , Oestron, Cortisol:	< 0,01 %

Zur Prüfung der Reproduzierbarkeit des Testsystems erfolgte die Bestimmung der Intra- und Interassay-Variationskoeffizienten. Dabei wurde zur Ermittlung des Interassay-Variationskoeffizienten in jedem Ansatz je eine Kontrollprobe mit hohem und niedrigem Konzentrationsniveau an Gestagenen im Kot mitgeführt. Zur Bestimmung des Intraassay-Variationskoeffizienten wurde innerhalb eines Ansatzes die Hormonkonzentration einer Kotprobe mehrfach gemessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 wiedergegeben.

Tabelle 4: Intra- und Interassay-Variationskoeffizienten (in %) in Proben mit hohen und niedrigen Gestagenkonzentrationen

	n	Proben mit hohen Gestagenkonzentrationen	Proben mit niedrigen Gestagenkonzentrationen
Intraassay-VK Gestagenkonzentration ( $\bar{x} \pm s$ )	18	6,0 (737 $\pm$ 44 ng/g)	11,5 (117 $\pm$ 13 ng/g)
Interassay-VK Gestagenkonzentration ( $\bar{x} \pm s$ )	24	6,6 (1525 $\pm$ 101 ng/g)	10,9 (158 $\pm$ 16 ng/g)

Die Richtigkeit der Ergebnisse wurde in allen Ansätzen mit Hilfe eines Immunoassay-Kontrollserums (Precinorm IM der Firma Boehringer Mannheim) kontrolliert. Die Angaben der Firma über die Progesterongehalte dieses Kontrollserums bewegten sich im Bereich von 20,3-27,4 nmol/l. Die Auswertung der Ergebnisse des mitgeführten

Kontrollserums von 12 unabhängigen Messansätzen ergab Schwankungen von 20,7-26,7 nmol/l bei durchschnittlich 23,6 nmol/l.

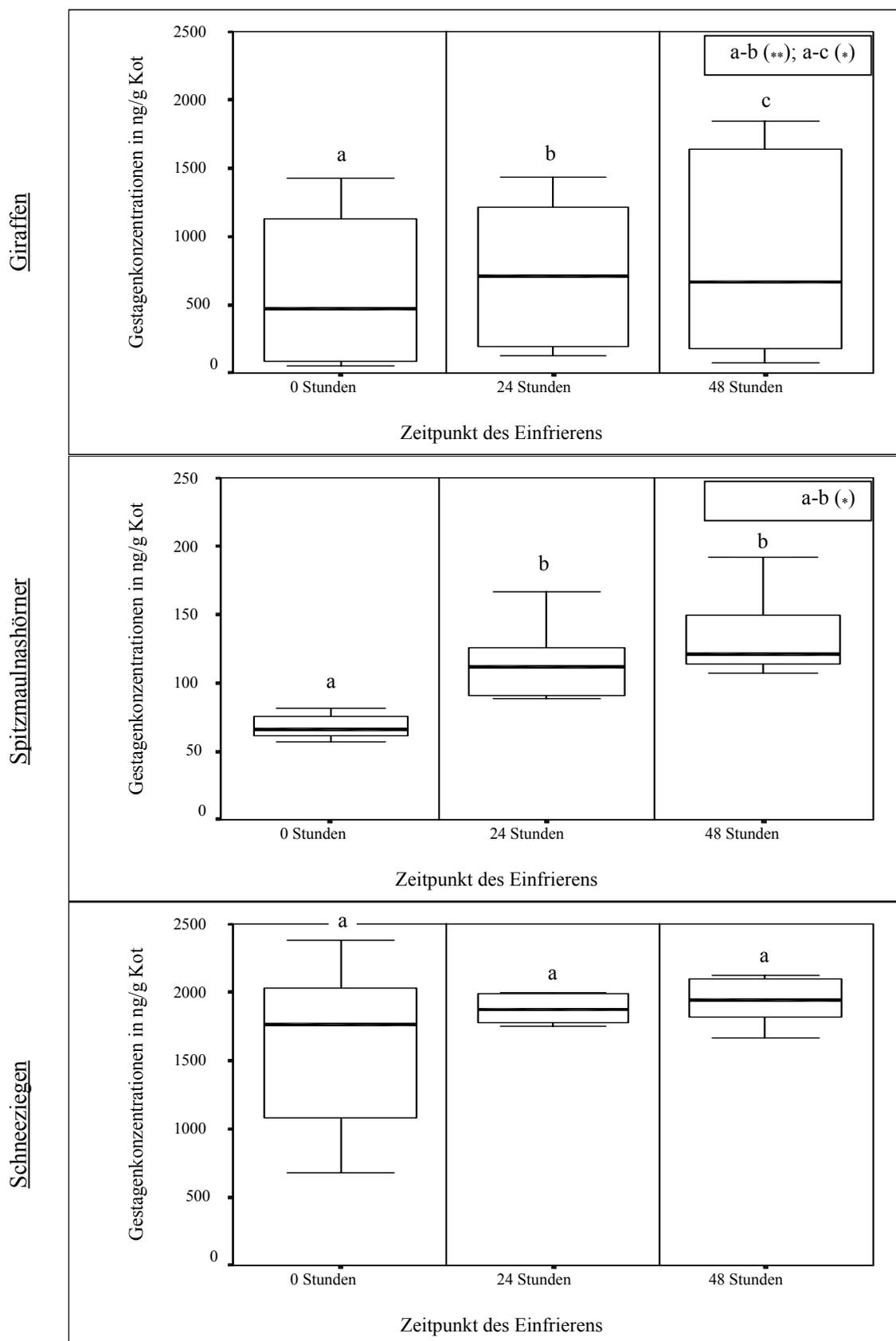
Die untere Nachweisgrenze, die einen Maßstab für die Empfindlichkeit des Ansatzes darstellt, wurde aus 5 unabhängigen Eichkurven ermittelt. Sie betrug 6,57 pg. Dies entspricht einem Progesterongehalt von 2,9 ng/g Kot.

Aufgrund der Reaktionen des verwendeten Antikörpers mit Steroiden (siehe auch S. 47) sind die Ergebnisse als Äquivalenzwerte, bezogen auf den verwendeten Standard (Progesteron) anzusehen.

#### **4.2 Stabilität der Gestagene im Kot**

Die Ermittlung des Trockenmassegehalts erbrachte den höchsten Anteil im Kot von Damagazellen ( $62 \pm 4,4$  %;  $n = 8$ ), den geringsten im Kot von Spitzmaulnashörnern ( $24 \pm 2,9$  %;  $n = 10$ ). Der Trockenmassegehalt der Kotproben von Rothschildgiraffen lag bei  $42 \pm 3,7$  % ( $n = 9$ ). Auch bei Proben mit optisch unterschiedlich scheinendem Trocknungsgrad blieben die Werte innerhalb der einzelnen Tierarten relativ gleich (vgl. Tabelle I).

Die Veränderungen der Gestagenkonzentrationen aufgrund von unterschiedlichen Einfrierzeitpunkten der Kotproben nach ihrer Sammlung sind in Abbildung 1 (S. 51) durch die Angabe der Mediane und 1.-3. Quartile innerhalb der Untersuchungszeiträume sowie signifikanter Unterschiede zwischen den 3 betrachteten Zeiträumen dargestellt. Bei den Kotproben der Giraffen und Nashörner konnte eine signifikante Erhöhung ( $p \leq 0,01$  bis  $p \leq 0,05$ ) der Hormonkonzentrationen durch das Einfrieren der Proben nach 24-stündiger Lagerung bei Raumtemperatur, verglichen mit dem sofortigen Einfrieren, festgestellt werden. Bei den Schneeziegen gab es nur eine geringgradige durchschnittliche Zunahme, wobei in den Einzelproben sowohl Zu- als auch Abnahmen eintraten (vgl. Tabelle II). Eine weitere Verlängerung der Aufbewahrung bei Raumtemperatur auf 48 Stunden bis zum Einfrieren bewirkte dagegen nur noch geringe Veränderungen. Dies zeigte sich auch in dem Fehlen an signifikanten Unterschieden zwischen den beiden Einfrierzeitpunkten bei allen 3 Tierarten.



**Abbildung 1:** Gestagenkonzentrationen im Kot in Abhängigkeit vom Einfrierzeitpunkt der Proben (Box-Whisker-Plot mit Median und 1.-3. Quartil, jeweils n = 10, \*\* entspricht  $p \leq 0,01$ , \* entspricht  $p \leq 0,05$ )

Der Einfluss auf die Hormongehalte des Kotes, die eine Verlängerung der Lagerzeit im gefrorenen Zustand bis zur Bestimmung ausübt, ist in Abbildung 2 (S. 53) differenziert nach Tierarten mit Angabe der Mediane sowie der 1.-3. Quartile ausgewiesen. Zur Feststellung signifikanter Unterschiede erfolgten Vergleiche zwischen den Gestagenkonzentrationen zu den 3 Untersuchungszeitpunkten. Durch eine verlängerte Tiefgefrierzeit kam es bei den Kotproben der Giraffen zu einer fortschreitenden Verringerung der Gestagenkonzentrationen. Zwischen dem 1. und dem 2. sowie zwischen dem 1. und 3. Untersuchungszeitpunkt waren die Unterschiede jeweils signifikant ( $p \leq 0,01$  bis  $p \leq 0,05$ ). Im Gegensatz dazu ergaben sich bei den Kotproben der Nashörner und Gazellen keine signifikanten Veränderungen (vgl. Tabelle III).

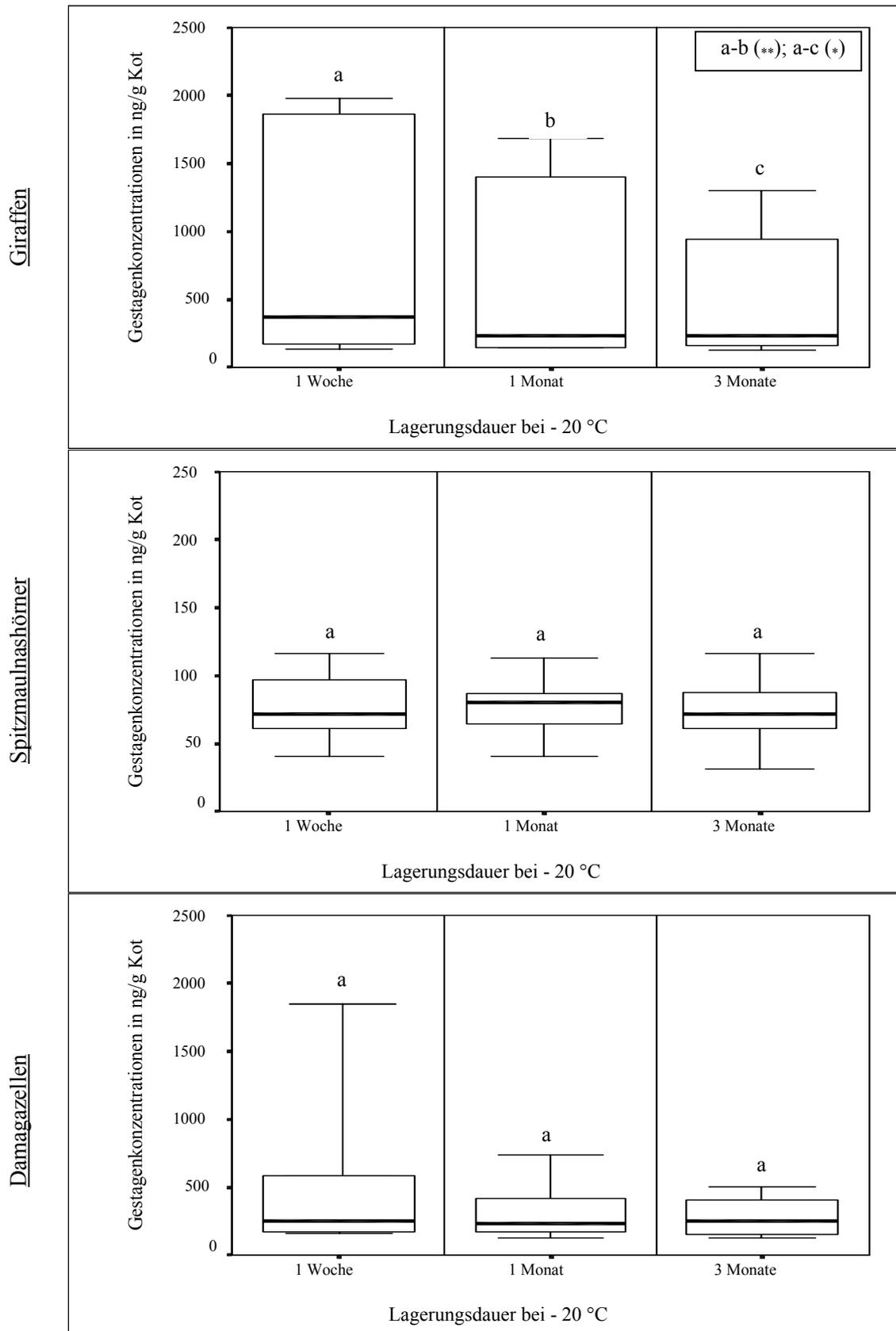
Es war zunächst unklar, weshalb diese Abnahme nur bei Giraffen auftrat. Deshalb wurde die bisherige Gruppe aus 9 Proben in 2 neue Gruppen mit 4 hohen bzw. 5 niedrigen Gestagenkonzentrationen unterteilt (Tabelle 5). Dabei zeigte sich, dass eine signifikante Verringerung ( $p \leq 0,01$ ) der Hormonkonzentrationen im Vergleich zum Ausgangswert (1 Woche Lagerung) nach 1 bzw. 3 Monaten Aufbewahrung im gefrorenen Zustand nur bei hohen Ausgangskonzentrationen eintrat.

Tabelle 5: Vergleich des Einflusses der unterschiedlichen Lagerungsdauer der Kotproben im gefrorenen Zustand auf ihren Gestagengehalt bei Rothschildgiraffen mit verschiedenen Ausgangskonzentrationen an Progesteronmetaboliten

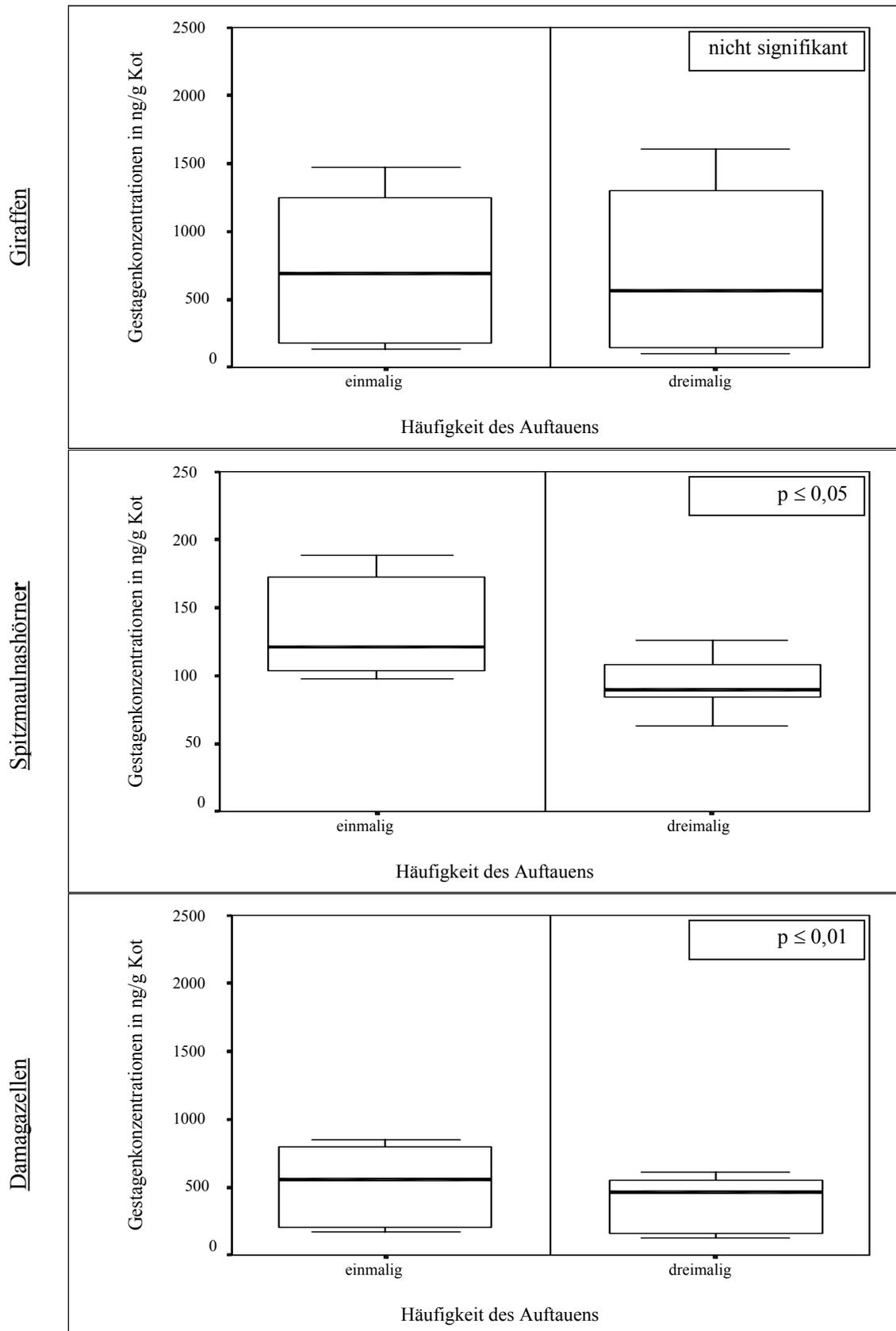
Gestagen- ausgangs- konzentration	statistische Maßzahlen	Lagerungsdauer			Signifikanzen zwischen den Zeiträumen
		1 Woche (a)	1 Monat (b)	3 Monate (c)	
hoch (n = 4)	Median (1.-3. Quartil)	1915	1423	1121	a-b **
		(1737; 1973)	(1351; 1576)	(762; 1296)	a-c **
					b-c n. s.
niedrig (n = 5)	Median (1.-3. Quartil)	170 (167; 236)	148 (142; 151)	161 (142; 176)	n. s.

(n. s. = nicht signifikant, \*\* entspricht  $p \leq 0,01$ )

Durch mehrmaliges (hier dreimaliges) Auftauen kam es, wie Abbildung 3 (S. 54) zeigt, im Kot von Spitzmaulnashörnern und Damagazellen zu einem signifikanten Absinken ( $p \leq 0,01$  bis  $p \leq 0,05$ ) der Hormonkonzentrationen. In den Kotproben der Giraffen war dabei nur eine geringgradige durchschnittliche Verringerung der Gestagenkonzentrationen, in Einzelfällen aber auch Anstiege festzustellen (vgl. Tabelle IV).



**Abbildung 2:** Gestagenkonzentrationen im Kot in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer der Proben (Box-Whisker-Plot mit Median und 1.-3. Quartil, Giraffen und Spitzmaulnashörner jeweils  $n = 9$ , Damagazellen  $n = 10$ , \*\* entspricht  $p \leq 0,01$ , \* entspricht  $p \leq 0,05$ )



**Abbildung 3:** Veränderungen der Gestagenkonzentrationen im Kot bei mehrmaligem Auftauen (Box-Whisker-Plot mit Median und 1.-3. Quartil, jeweils n = 10)

### 4.3 Zyklus- und Graviditätsdiagnostik

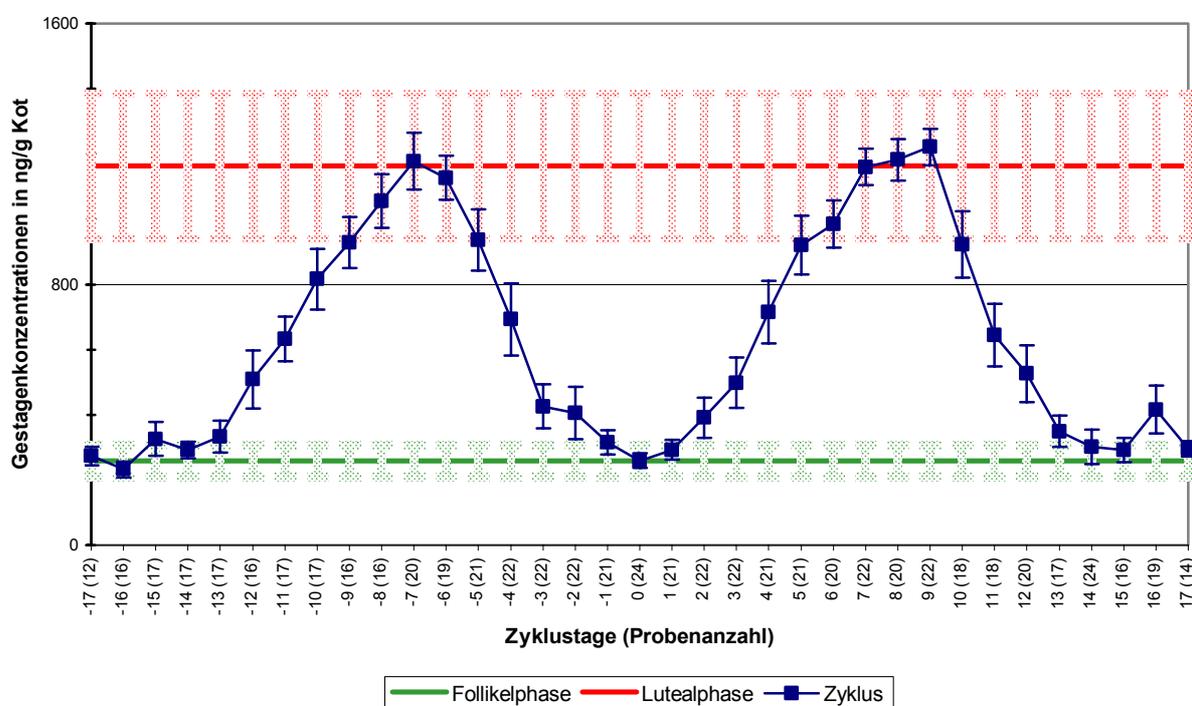
#### 4.3.1 Giraffen

Die Exkretion der Gestagene im Kot von 6 adulten, ingraviden Giraffen ("Etoscha" vor Gravidität, "Gunda" während Dezember 1999 bis Februar 2000, "Hanna" während Mai bis Juni 2000, "Jubilee" zwischen und nach den 3 Graviditäten, "Knöpfchen" ab Januar 2001, "Maja" während Februar 1999 und Dezember 1999 bis Februar 2000) erfolgte nach einem regelmäßigen zyklischen Muster mit eindeutigen Tiefpunkten im Ausscheidungsverlauf, gefolgt von Konzentrationsanstiegen (vgl. Tabellen V bis X). Erhöhte Gestagenwerte wurden deshalb als Lutealphase des Zyklus angesehen. Dabei stiegen die Werte der Progesteronmetaboliten innerhalb von 54 auswertbaren Zyklen durchschnittlich von  $259 \pm 49$  ng/g Kot während der Follikelphase auf  $1163 \pm 223$  ng/g Kot während der mittleren Lutealphase.

Zur Festlegung der Dauer von Follikel- und Lutealphasen während der Reproduktionszyklen wurden die ermittelten Konzentrationen der Progesteronmetaboliten im Kot herangezogen. Der Beginn der Lutealphase wurde definiert als erster von wenigstens 2 aufeinanderfolgenden Werten, die über eine Konzentration von 400 ng/g Kot anstiegen. Die Ermittlung des Schwellenwertes ergab sich dabei durch Addition des Mittelwerts und der 3fachen Standardabweichung der Konzentration an Progesteronäquivalenten während der Follikelphase (405 ng/g Kot). Das Ende der Lutealphase war entsprechend der letzte von mindestens 2 aufeinanderfolgenden Werten, die noch über der Konzentration von 400 ng/g Kot lagen. Die Follikelphase entsprach der Interlutealphase zwischen dem Ende einer Lutealphase und dem Beginn der nächsten. Da nicht bei jedem Tier und während des gesamten Sammelzeitraums nicht täglich Proben gewonnen werden konnten, wurde das Intervall zwischen 2 aufeinanderfolgenden Werten vom Ende der Follikel- und dem Beginn der Lutealphase durch 2 geteilt und die Anzahl der Tage jeweils zur Follikel- bzw. Lutealphase addiert. Entsprechendes galt für das Intervall zwischen dem Ende der Luteal- und dem Beginn der Follikelphase. Die Länge eines Östruszyklus wurde durch Bestimmung des Intervalls zwischen dem Beginn einer Lutealphase bis zur nächsten kalkuliert. Aufgrund dieser Voraussetzungen wurden die Länge der Follikelphase mit im Mittel 6,9 Tagen ( $n = 50$ ; 5,0-9,0) und die der Lutealphase mit durchschnittlich 7,6 Tagen ( $n = 43$ ; 6,0-9,1) ermittelt. Basierend auf dem Konzentrationsprofil der Progesteronmetaboliten

dauerte der ovarielle Zyklus daher insgesamt 14 Tage ( $n = 39$ ; 12-17), was mit den Daten der Brunstbeobachtungen übereinstimmte.

Zur Erstellung eines sich aus 54 Zyklen zusammensetzenden Profils wurden die ermittelten Gestagenwerte am Punkt der niedrigsten Konzentrationen (Mitte Follikelphase) ausgerichtet. Um diesen Tag 0 erfolgte anschließend die Gruppierung der restlichen Daten in einem Bereich von  $-17$  bis  $+17$  Tagen, so dass ungefähr 2 aufeinanderfolgende Zyklen dargestellt wurden, die in Abbildung 4 wiedergegeben sind. Insgesamt standen pro Zeitpunkt die Ergebnisse von 12 bis 24 Proben zur Verfügung.

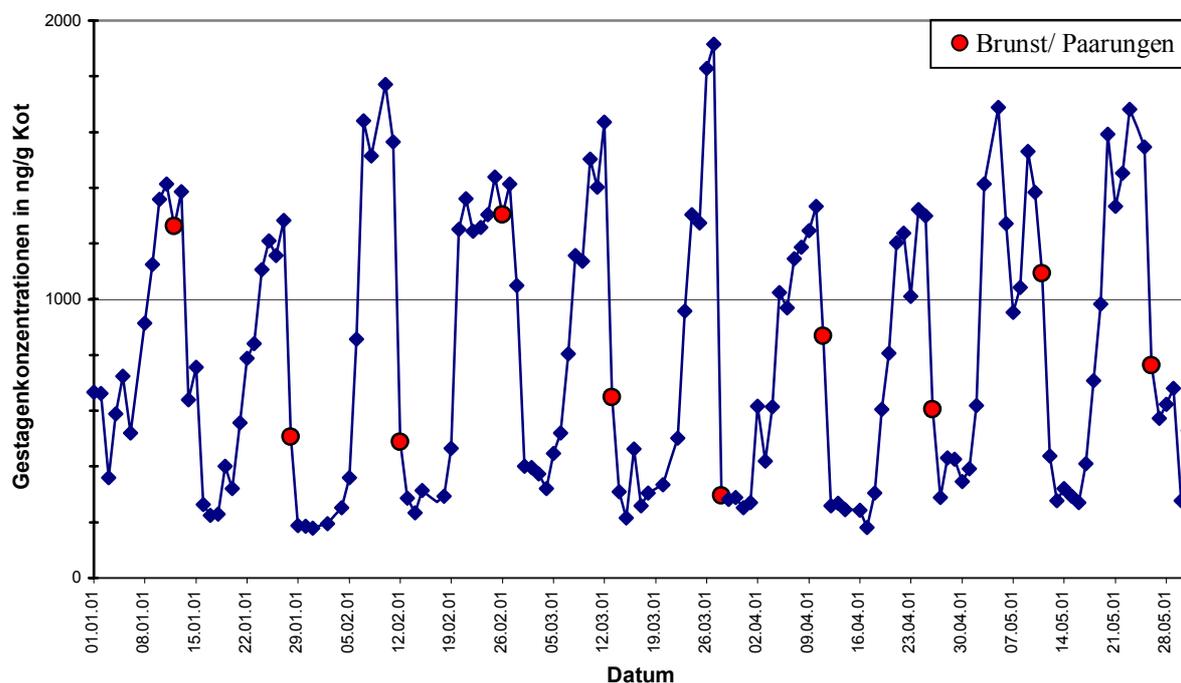


**Abbildung 4:** Mittlerer Verlauf der Gestagenkonzentrationen im Kot von Giraffen während des Zyklus ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$  für  $n = 12-24$ ) im Vergleich zum mittleren Niveau der Konzentrationen während der Follikel- und mittleren Lutealphase ( $\bar{x} \pm s$ )

Bis auf die Tage  $-3$ ,  $14$  und  $16$  waren die Werte innerhalb jedes Zyklustages normal verteilt. Die Konzentrationen an den einzelnen Tagen wurden mit dem mittleren Niveau der Follikelphase ( $259 \pm 49$  ng/g Kot) verglichen, das aus den jeweiligen Mittelwerten der Follikelphasen der 54 Zyklen errechnet wurde. Signifikant höhere Konzentrationen ( $p \leq 0,001$  bis  $p \leq 0,05$ ) als das mittlere Niveau der Follikelphase bestanden dabei zwischen den Zyklustagen  $-12$  bis  $-3$  und  $2$  bis  $13$ . Ebenfalls signifikant höher ( $p \leq 0,05$ ) waren die Werte des  $16$ . Tages. Zusätzlich erfolgte ein Vergleich derselben Werte

mit dem mittleren Niveau der Lutealphase ( $1163 \pm 223$  ng/g Kot), errechnet aus den jeweiligen Mittelwerten der mittleren Lutealphasen der 54 Zyklen. Keine signifikanten Unterschiede bestanden dabei im Zeitraum zwischen dem – 8. bis – 6. und 7. bis 9. Zyklustag. Zu allen anderen Zeitpunkten lagen die Werte der Einzeltage signifikant niedriger ( $p \leq 0,001$  bis  $p \leq 0,05$ ) als das mittlere Niveau der Lutealphase. Der Vergleich benachbarter Zyklustage mittels Varianzanalyse ergab nur einen signifikanten Abfall ( $p \leq 0,05$ ) von Tag – 4 zu Tag – 3 und von Tag 9 zu Tag 10.

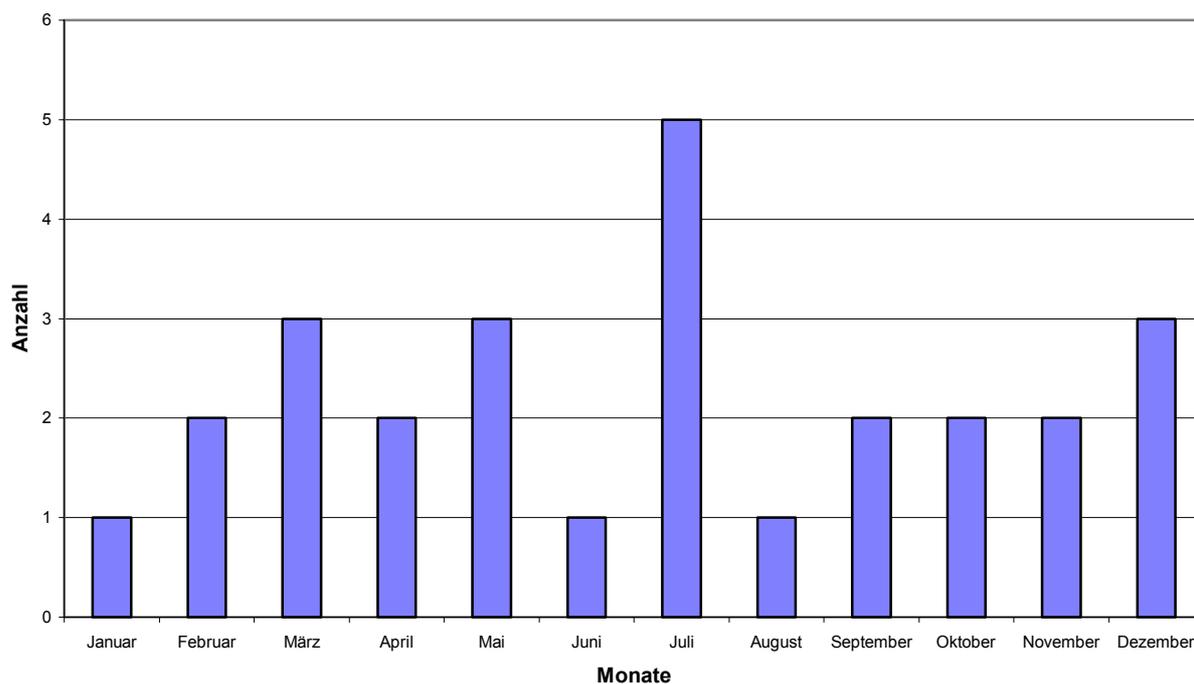
Falls Brunstverhalten oder Paarungen beobachtet werden konnten, so lagen diese regulär gegen Ende der Lutealphase, welches durch den plötzlichen Abfall der fäkalen Hormonwerte auf Basisniveau gekennzeichnet war. Demnach konnten Basiskonzentrationen in den Tagen nach der Brunst gefunden werden. Ein repräsentatives Profil, welches den zeitlichen Bezug des Brunstverhaltens zum Ende der Lutealphase illustriert, zeigt den Konzentrationsverlauf der Gestagene im Kot von "Jubilee" für den Zeitraum Januar bis Mai 2001 in Abbildung 5 (vgl. auch Tabelle VIII).



**Abbildung 5:** Zeitlicher Bezug von Brunstsymptomen und Paarungen zum Konzentrationsverlauf der Gestagene im Kot der Rothschildgiraffe "Jubilee" im Zeitraum Januar bis Mai 2001

Bei 2 Giraffen ("Jubilee" und "Knöpfchen") wurden fäkale Gestagenkonzentrationen über einen Zeitraum von mehreren Jahren bzw. eines Jahres bestimmt. Dabei konnte

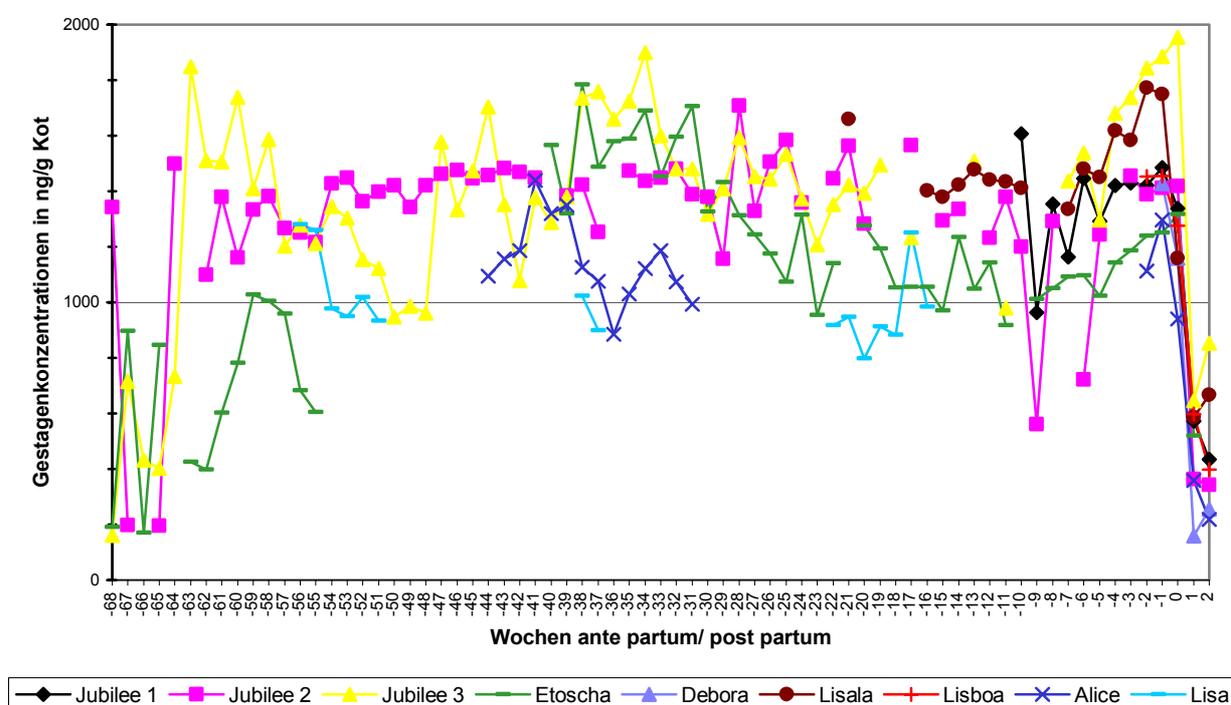
keine Saisonalität festgestellt werden, da beide Tiere zyklische Fluktuationen der Gestagenkonzentrationen während des gesamten Kalenderjahres aufwiesen. "Jubilee" zeigte ungefähr 25 Zyklen pro Jahr (durchschnittliche Zykluslänge von 14,6 Tagen), "Knöpfchen" hatte jährlich etwa 26 ovarielle Zyklen (durchschnittliche Zykluslänge von 14,0 Tagen). Außerdem weist die jahreszeitliche Verteilung aller Geburten der in die Studie einbezogenen Giraffen ebenfalls keine saisonale Häufung auf, wie Abbildung 6 zeigt.



**Abbildung 6:** Jahreszeitliche Verteilung aller Geburten der an der Studie beteiligten Giraffen im Zeitraum der Jahre 1978-2001 (n = 27)

Während des Zeitraums der vorliegenden Studie wurden 8 Geburten registriert: 28.07.1997 ("Jubilee"), 23.03.1999 ("Jubilee"), 31.05.2000 ("Lisboa"), 23.06.2000 ("Debora"), 08.10.2000 ("Jubilee"), 08.05.2001 ("Etoscha"), 13.07.2001 ("Lisala") und 03.10.2001 ("Alice"). Aus diesen Ereignissen und früheren Geburten der betreffenden Tiere ergaben sich Zwischenkalbezeiten von 670, 603 und 565 Tagen für "Jubilee", 540 Tage für "Debora" und 1286 Tage für "Alice". Außerdem wurde aufgrund von beobachteten Paarungen in 4 Fällen eine jeweilige Dauer der Graviditäten von 442 ("Debora"), 450 ("Jubilee", 1. Trächtigkeit), 463 ("Etoscha") und 489 ("Lisboa") Tagen abgeleitet.

In 9 Fällen ("Alice", "Debora", "Etoscha", "Jubilee" mit 3 Trächtigkeiten, "Lisa", "Lisala", "Lisboa") wurden fäkale Konzentrationen von Progesteronmetaboliten während unterschiedlicher Graviditätsstadien und der postpartalen Phase bestimmt (vgl. Tabellen XI bis XIX). Dabei erfolgte die Verifizierung der Trächtigkeiten durch das Ereignis der Geburt, bei "Lisa" durch den Sektionsbefund. Abbildung 7 gibt eine Übersicht über die jeweiligen Sammelzeiträume und die entsprechenden Gestagenkonzentrationen während der einzelnen Graviditäten. Die Daten wurden dabei in Beziehung zur Geburt (= Zeitpunkt 0) gesetzt. Danach erfolgte eine wöchentliche Gruppierung der präpartalen und frühen postpartalen Hormonkonzentrationen.

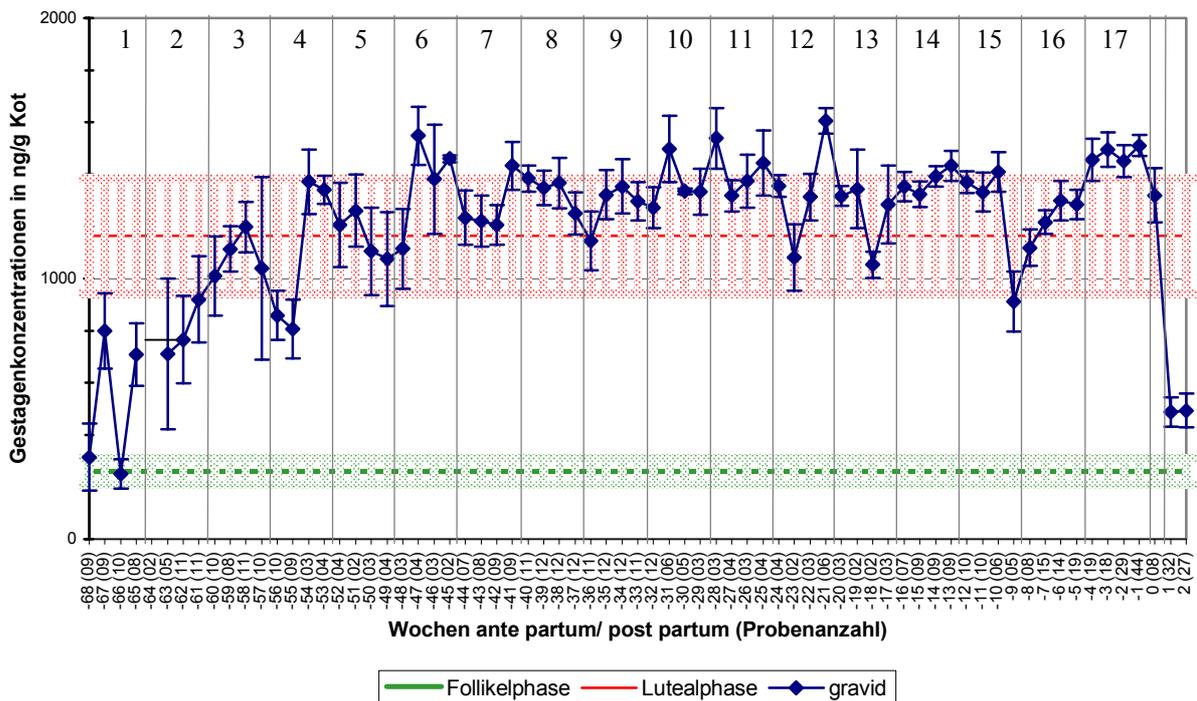


**Abbildung 7:** Verlauf der Gestagenkonzentrationen im Kot von Giraffen während einzelner Graviditäten

Bei der Sektion von "Lisa" wurde ein geburtsreifer Fetus im Uterus gefunden. Eine Untersuchung der Ovarien erfolgte nicht. Als Todesursache wurde Kreislaufversagen nach Ausrutschen mit Festliegen im Giraffenhaus angegeben. Insgesamt konnte ein schlechter Ernährungszustand festgestellt werden, der zusammen mit der erhöhten Belastung durch die Hochgravidität als wichtiger Faktor beim Tod des Tieres angesehen wurde. Unter Berücksichtigung des Sektionsbefundes wurde bei "Lisa" der Untersuchungszeitraum etwa zwischen 56 und 16 Wochen a. p. bestimmt. Die durch-

schnittlichen Gestagenkonzentrationen im Kot von "Lisa" während dieses Zeitraums sind in Abbildung 7 (S. 59) mit angegeben.

Ein zusammengesetztes Profil der Hormonkonzentrationen während der Graviditäten und nach den Geburten ist in Abbildung 8 zu sehen. Die Werte von "Lisa" wurden hier nicht berücksichtigt. Es erfolgte ebenfalls eine wöchentliche Gruppierung der Einzeldaten im Bezug auf das Geburtseignis. Insgesamt standen pro Datenpunkt mehrere Werte von 2 bis 8 Tieren zur Verfügung.



**Abbildung 8:** Mittlerer Verlauf der Gestagenkonzentrationen im Kot von Giraffen während der Gravidität (Zusammenfassung von 8 Trächtigkeiten,  $\bar{x} \pm \text{SEM}$  für  $n = 2-44$ ) im Vergleich zum mittleren Niveau der Konzentrationen während der Follikel- und mittleren Lutealphase ( $\bar{x} \pm s$ )

Zu Beginn der Gravidität kam es, vergleichbar mit dem Geschehen im Zyklus (vgl. Abbildung 5, S. 57), zu einem Anstieg der Hormonkonzentrationen auf Werte, die auch während der Lutealphase erreicht werden. Danach blieben die Gestagenkonzentrationen während der gesamten Gravidität auf einem hohen Niveau, so dass zwischen der 58. und 1. Woche a. p. durchschnittlich  $1296 \pm 164$  ng/g Kot vorlagen. Im Rahmen der statistischen Auswertung wurden ab der 68. Woche a. p. jeweils die Werte von 4 Wochen in einer Gruppe ("Abschnitt") zusammengefasst. Der Tag der Geburt galt dabei

als eigenständiger Abschnitt. Daraus ergaben sich insgesamt 19 Abschnitte, von denen je ein Abschnitt zur und nach der Geburt lag.

Innerhalb der einzelnen Zeiträume waren die Konzentrationen bis auf Abschnitt 1 (68 bis 65 Wochen a. p.) normal verteilt. Signifikante Veränderungen ( $p \leq 0,001$  bis  $p \leq 0,05$ ) in den fäkalen Gestagenkonzentrationen konnten zwischen Abschnitt 1 und 2, 13 und 14, 16 und 17 sowie 18 und 19 mittels Varianzanalyse festgestellt werden. Diese Abschnitte reflektieren den stetigen Anstieg der Gestagenkonzentrationen zwischen der 66. bis 59. Woche a. p., ihre starken Schwankungen zwischen der 24. bis 17. Woche a. p. sowie die konstante Erhöhung der Hormonkonzentrationen im Zeitraum von 9 Wochen bis 1 Woche a. p. Außerdem kommt es im Zusammenhang mit der Geburt zu einer starken Verringerung der Hormonausscheidung. Ein Vergleich zwischen den Gestagenkonzentrationen in den einzelnen Abschnitten und dem mittleren Niveau der Follikelphase zeigte bereits ab Abschnitt 1 (68.-65. Woche a. p.) signifikant höhere Werte ( $p \leq 0,01$ ). Der Vergleich mit dem mittleren Niveau der Lutealphase erbrachte signifikant niedrigere Konzentrationen ( $p \leq 0,001$  bis  $p \leq 0,05$ ) an Gestagenen im Kot in den Abschnitten 1, 2, 4 (a. p.) und 19 (p. p.). Signifikant höhere Gehalte ( $p \leq 0,001$  bis  $p \leq 0,05$ ) an fäkalen Progesteronmetaboliten lagen dagegen in den Abschnitten 6, 8, 10, 11, 12, 14, 15 und 17 vor. Dies bedeutet, dass die Gestagenkonzentrationen nur zu Beginn der Gravidität (68.-53. Woche a. p.) niedriger sind als das Niveau der mittleren Lutealphase, im Verlauf und zum Ende der Gravidität dagegen höher. Die Gestagenkonzentrationen von "Lisa", die dem Zeitraum 56-16 Wochen vor der Geburt zugeordnet wurden, liegen mit durchschnittlich  $1002 \pm 146$  ng/g Kot im unteren Bereich der Werte, die während der mittleren Lutealphase erreicht werden.

In Abbildung 9 (S. 62) ist der Verlauf der fäkalen Gestagenkonzentrationen von 8 Graviditäten im Geburtszeitraum mit 1-8 Proben pro Datenpunkt dargestellt. Innerhalb der einzelnen Tage waren die Werte normal verteilt. Ab zwei Tagen vor der Geburt begann die Abnahme der Gestagenkonzentration, welche am Tag der Geburt aber noch durchschnittlich 1320 ng/g Kot betrug. Ein signifikanter Abfall der Konzentrationen zeigte sich erst von Tag 0 zu Tag 2 ( $p \leq 0,001$ ), von Tag 1 zu Tag 2 ( $p \leq 0,001$ ) sowie von Tag 2 zu Tag 3 ( $p \leq 0,01$ ). Erst ab dem 3. Tag p. p. wurde das mittlere Niveau der Follikelphase erreicht. In der Folgezeit stieg die Gestagenausscheidung wieder an und lag – mit Ausnahme der Tage 4, 7 und 14 p. p. – signifikant höher ( $p \leq 0,001$  bis

$p \leq 0,01$ ) als das mittlere Niveau der Follikelphase, jedoch ab Tag 2 p. p. stets niedriger ( $p \leq 0,001$  bis  $p \leq 0,01$ ) als das mittlere Niveau der Lutealphase.

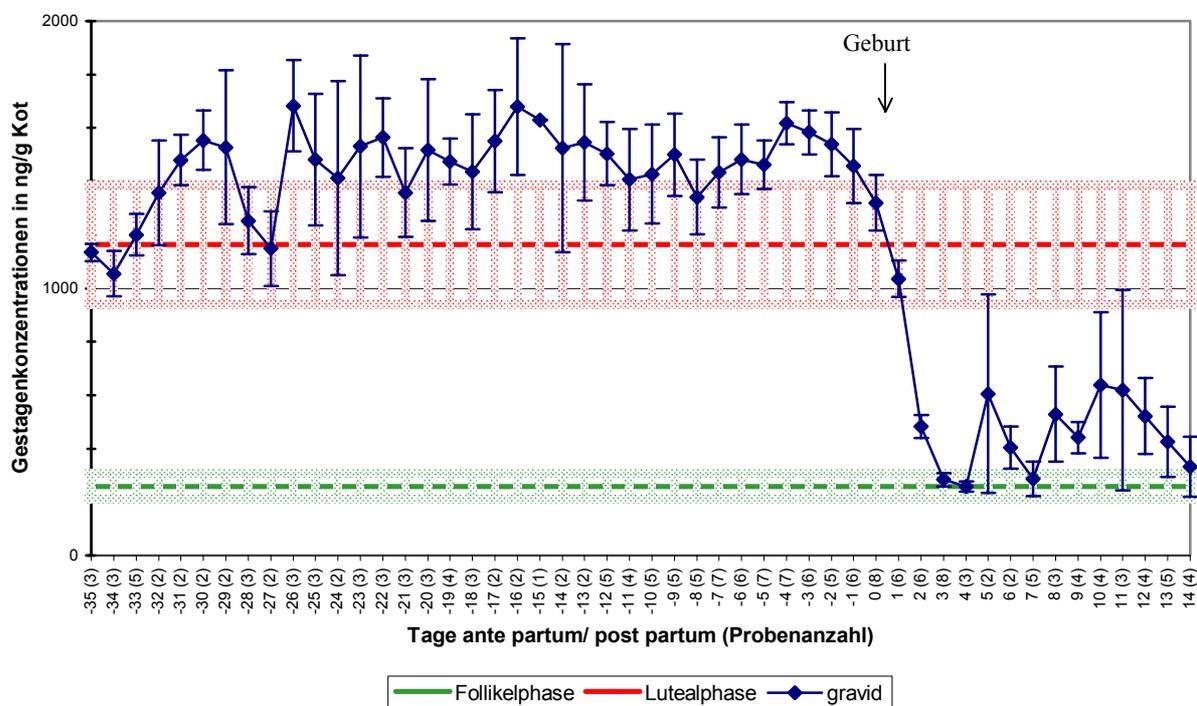


Abbildung 9: Verlauf der Gestagenkonzentrationen im Kot von Giraffen im Geburtszeitraum ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$  für  $n = 1-8$ ) im Vergleich zum mittleren Niveau der Konzentrationen während der Follikel- und mittleren Lutealphase ( $\bar{x} \pm s$ )

Aufgrund der starken Schwankungen wurde der Verlauf der Gestagenkonzentrationen im Kot der Giraffen nach der Geburt bei jedem einzelnen Tier betrachtet. Dabei blieben im Anschluss an die Geburt die Konzentrationen bei 3 Tieren bis zum Ende der Probensammlung auf niedrigem Niveau ("Alice" für 37 Tage, "Debora" für 35 Tage, "Lisboa" für 82 Tage). Trotz dieser ständig geringen Gestagenausscheidung konnten bei "Lisboa" 45 und 52 Tage p. p. Paarungen beobachtet werden. Kotproben von "Lisala" zeigten in den 14 Tagen, in denen nach der Geburt noch gesammelt wurde, unregelmäßig stark schwankende Werte der Progesteronmetaboliten zwischen 230-1408 ng/g Kot. Der erste registrierte Decktermin von ihr lag 63 Tage nach der Geburt. Bei "Etoscha" wurde die Probensammlung bereits 1 Woche p. p. eingestellt. Während der zweiten Trächtigkeit von "Jubilee" im Rahmen dieser Studie blieben die Gestagenkonzentrationen für 5 Wochen niedrig. Erst danach kam es wieder zur Aufnahme der ovariellen Aktivität mit regelmäßigen Anstiegen und Abnahmen der Ausscheidung der Progesteronmetaboliten. Gleichzeitig war 12 Tage p. p. blutiger

Scheidenausfluss vorhanden. Eine erste Brunst wurde erst 67 Tage nach der Geburt registriert. Von allen bis jetzt genannten Tieren wurden die Jungtiere aufgezogen.

Im Anschluss an die erste und die dritte in die Studie mit einbezogene Gravidität von "Jubilee", bei der das Jungtier jeweils nach ca. 1 Woche verstarb, kam es bereits etwa 10 Tage nach der Geburt für einige Tage zu einem ersten Anstieg mit nachfolgendem Wechsel von niedrigen und hohen Gestagenkonzentrationen im Kot in regelmäßigen, etwa 2wöchigen Abständen. Parallel dazu wurde während der ersten Gravidität bei "Jubilee" 12 Tage p. p. ein blutiger Scheidenausfluss registriert. Danach konnten etwa alle 2 Wochen Brunstsymptome beobachtet werden. Bei der dritten Trächtigkeit wurden erste Brunstsymptome 36 Tage p. p. bemerkt, gefolgt von Östren im Abstand von ca. 2 Wochen (vgl. Abbildung 5, S. 57).

Während der ersten Sammelphase des Kotes von "Knöpfchen" (Dezember 1999 bis Januar 2000) und der Sammelperioden von "Tena" (Januar bis April 2000, März bis Mai 2001) waren diese 2 bzw. 1,5 bis 2,5 Jahre alt. Beide zeigten ständig niedrige Konzentrationen der Progesteronmetaboliten mit Mittelwerten von  $210 \pm 78$  bzw.  $133 \pm 32$  ng/g Kot (vgl. Tabellen XX und XXI). Während dieser Zeiträume waren sowohl bei "Knöpfchen" als auch bei "Tena" keine Brunstsymptome zu bemerken. Ebenfalls konstant niedrige Gestagenkonzentrationen zeigten "Hanna" während der zweiten Sammelperiode (Januar bis März 2001) mit  $195 \pm 47$  ng/g Kot und "Kenya" (Dezember 2000 bis Februar 2001) mit  $237 \pm 70$  ng/g Kot (vgl. Tabellen XXII und XXIII). Im Mai bis Juni 2000 wiesen bei "Hanna" die Konzentrationen der Progesteronmetaboliten zunächst zyklische Schwankungen auf mit einer Dauer der Lutealphasen von durchschnittlich 8 Tagen bei Höchstwerten von 1529 ng/g Kot und einer Dauer der Follikelphasen von etwa 5 Tagen bei Basiswerten von 161 ng/g Kot. Zwei erkennbare Zyklen dauerten beide ungefähr 13 Tage. Innerhalb beider Untersuchungszeiträume zeigte der Magdeburger Bulle kein Interesse für "Hanna". Während der Sektion nach ihrem Tod am 25.04.2002 fanden sich auf beiden Ovarien mehrere Corpora lutea, überwiegend im Stadium der Regression. Außerdem besaßen ebenfalls beide Eierstöcke zahlreiche Follikel in unterschiedlichen An- und Rückbildungsstadien. Im Gegensatz zu "Hanna" wurde "Kenya" seit der Geschlechtsreife des Karlsruher Bullen ständig von diesem verfolgt und bedrängt. Eine Sektion nach dem Tod von "Kenya" am 09.02.2001 ergab 1-2 ungefähr 2 cm große, flüssigkeitsgefüllte Zysten auf beiden Eierstöcken. Corpora lutea waren nicht vorhanden. Als Todesursache wurde Klostridiose angegeben.

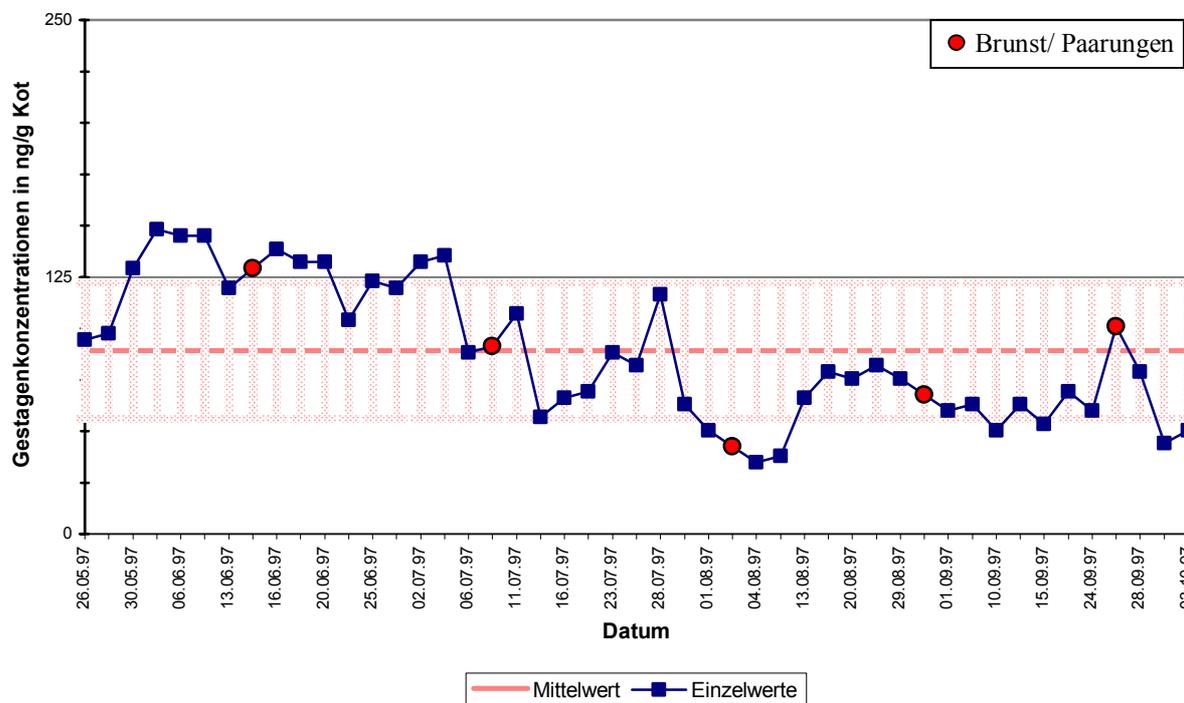
Mitte April 2001 wurde bei "Knöpfchen" gegen Ende der Lutealphase eines Zyklus eine Paarung beobachtet. Eine Woche später kam es zum Anstieg der Gestagenkonzentrationen im Kot auf das Niveau der Lutealphase mit anschließend gleichbleibend hohen Werten (vgl. Tabelle XXIV). Am 26.06. wurde bei der Giraffe der Abgang einer großen Menge blutigen Schleims aus der Vulva registriert. An diesem Tag zeigte sich zwar eine geringe Abnahme der Hormonkonzentration im Kot gegenüber dem Vortag, welche aber noch auf dem Niveau der Lutealphase lag. Während der folgenden 2 Wochen nahm die Ausscheidung der Gestagene weiterhin geringgradig ab, Basiswerte wurden allerdings nicht erreicht. Erst nachdem erneut für 7 Tage hohe Konzentrationen an Progesteronmetaboliten auftraten, erfolgte der Abfall auf das Niveau der Follikelphase. Danach kam es zu regelmäßigen zyklischen Schwankungen der Gestagengehalte im Abstand von ungefähr 2 Wochen.

Bei "Jubilee" stiegen Anfang Oktober 2001 die Konzentrationen an Gestagenen im Kot auf das Niveau der Lutealphase an. Anschließend blieb die Ausscheidung für 2 Monate hoch (vgl. Tabelle XXV). Danach erfolgte eine Verringerung auf Basiswerte mit nachfolgendem gleichmäßigen Wechsel von hohen und niedrigen Gestagenkonzentrationen in 2-Wochen-Intervallen. Diese regelmäßigen Zyklen zeigte sie bis zu ihrem Tod am 05.03.2002. Bei der Sektion fanden sich auf dem rechten Ovar ein Corpus luteum hämorrhagicum und ein Corpus luteum albicans. Beide Ovarien ließen Follikelanbildung erkennen.

#### **4.3.2 Spitzmaulnashörner**

Bei einem juvenilen Tier ("Sarafine") und 7 adulten, ingraviden Nashornkühen ("Kenia", "Malaika", "Mana", "Nane", "Saba", "Sara") wurden die fäkalen Konzentrationen an Progesteronmetaboliten bestimmt (vgl. Tabellen XXVI bis XXXII). Während der Untersuchungsperiode zeigte "Saba" teilweise in regelmäßigen 24- bis 28-tägigen Abständen Brunstsymptome. Allerdings wurde keine dieser Phasen sexueller Aktivität im Konzentrationsprofil der Progesteronmetaboliten reflektiert. Zur Veranschaulichung ist in Abbildung 10 (S. 65) der Konzentrationsverlauf der Gestagene im Kot von "Saba" während des Zeitraums Mai bis Oktober 1997 dargestellt (vgl. Tabelle XXXI). Auch bei den anderen Tieren waren keine zyklischen Hormonschwankungen feststellbar. Der Mittelwert der Gestagenkonzentrationen dieser

ingraviden Nashörner lag bei  $74 \pm 18$  ng/g Kot. Der durchschnittliche Gehalt an Progesteronmetaboliten im Kot von "Sarafine" betrug  $117 \pm 22$  ng/g.

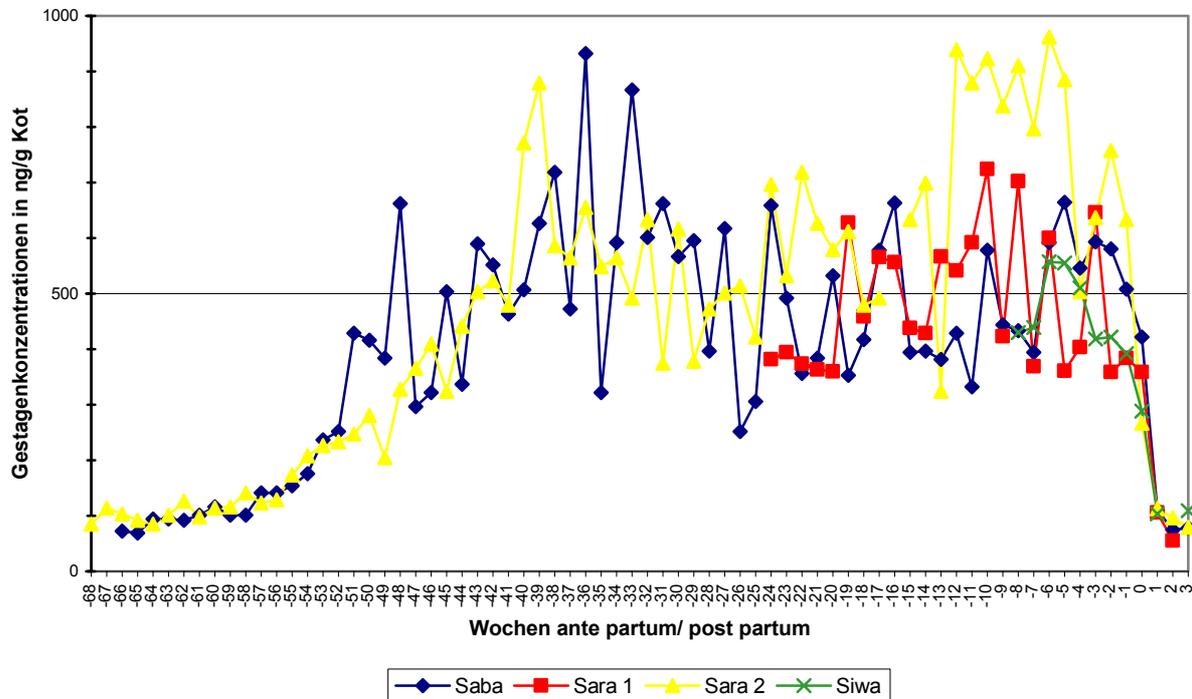


**Abbildung 10:** Zeitlicher Bezug von Brunstsymptomen und Paarungen zum Konzentrationsverlauf der Gestagene im Kot des Spitzmaulnashorns "Saba" im Zeitraum Mai bis Oktober 1997 mit Angabe des Durchschnittsniveaus ( $\bar{x} \pm s$ ) derselben Werte

Da der Sexualzyklus bei den Spitzmaulnashörnern anhand der Bestimmung der Gestagenausscheidung im Kot nicht darzustellen war, kann keine Aussage über eine Saisonalität bei diesen Tieren gemacht werden. Ebenfalls reicht die geringe Anzahl ( $n = 7$ ) aller Geburten der an der Studie beteiligten Nashornkühe für eine Aussage über eine jahreszeitliche Verteilung nicht aus.

Im Rahmen der Studie konnten 4 Geburten registriert werden: am 08.11.1997 ("Sara"), 07.05.1999 ("Sara"), 10.01.2000 ("Saba") und 23.10.2000 ("Siwa"). Daraus ergaben sich unter Berücksichtigung früherer Geburten Zwischenkalbezeiten von 545 Tagen für "Sara" und 621 Tagen für "Siwa". Während des Verlaufes dieser 4 Graviditäten wurden die fäkalen Konzentrationen von Gestagenen bestimmt (vgl. Tabellen XXXIII bis XXXVI). Dabei liegen die Werte von jeweils 2 vollständigen und 2 unvollständigen Trächtigkeiten vor. In Abbildung 11 (S. 66), die eine Übersicht über die Höhe der Hormonkonzentrationen bei den einzelnen Graviditäten gibt, wurde der zeitliche

Verlauf vom Tag der Geburt (= Zeitpunkt 0) ausgehend in wöchentlichen Intervallen gruppiert.

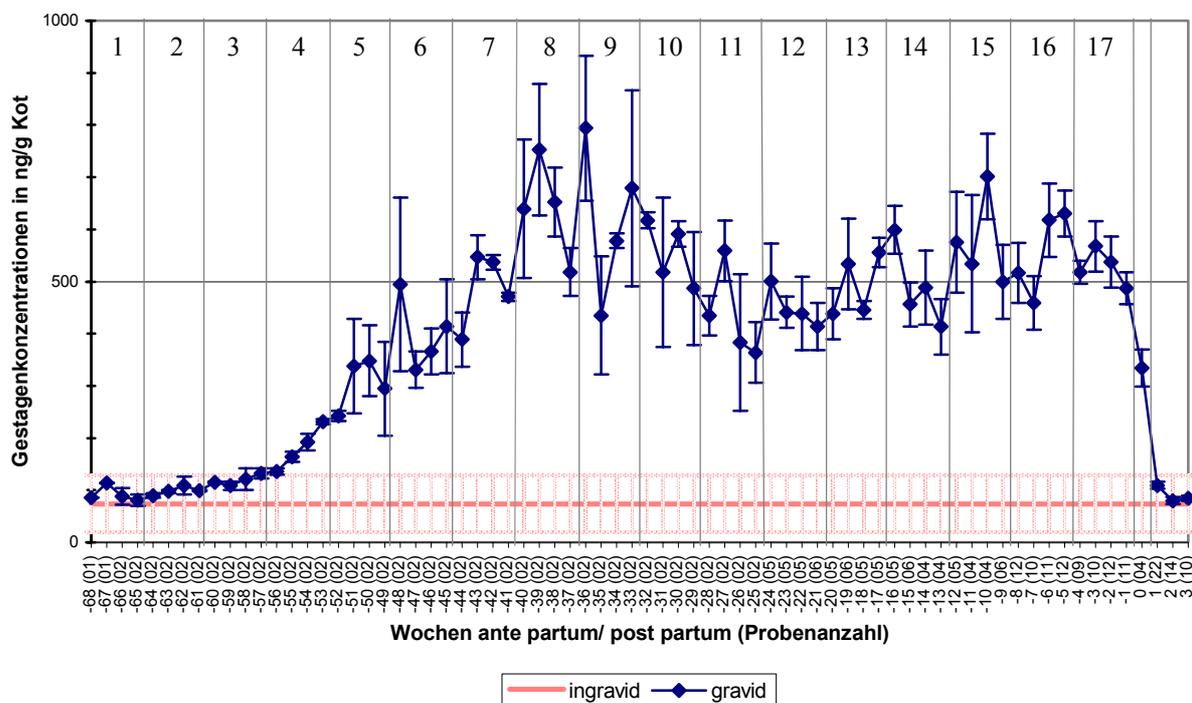


**Abbildung 11:** Verlauf der Gestagenkonzentrationen im Kot während einzelner Graviditäten bei Spitzmaulnashörnern

Ein zusammengesetztes Profil der 4 Graviditäten zeigt Abbildung 12 (S. 67). Hier erfolgte ebenfalls eine wöchentliche Zusammenfassung der Einzelwerte ausgehend von der Geburt. Außerdem ist zum Vergleich der Mittelwert mit der 3fachen Standardabweichung der Gestagenkonzentrationen im Kot von ingraviden Tieren angegeben. Insgesamt standen pro Zeitpunkt mehrere Kotproben von 1 bis 4 Tieren zur Verfügung. Bei "Sara" konnte aufgrund der Beobachtung von Paarungen für die erste Gravidität eine Länge von 462 Tagen vermutet werden. Im Rahmen der zweiten Trächtigkeit wurden Paarungen 447 und 417 Tage vor der Geburt festgestellt.

Zwar kam es bereits innerhalb des ersten Graviditätsmonats (ab 62. Woche a. p.) zu einer langsamen Erhöhung der Konzentrationen an Progesteronäquivalenten, ein starker Anstieg war allerdings erst ab der 56. Woche a. p. zu erkennen, wobei maximale Werte mit durchschnittlich 674 ng/g Kot in der Zeit von der 40. bis 36. Woche a. p. erreicht wurden. Danach fielen die Konzentrationen über mehrere Wochen auf etwa 450 ng/g

Kot ab (bis 25. Woche a. p.), gefolgt von einem 12-wöchigen, leichten Anstieg bis auf ungefähr 600 ng/g Kot einige Wochen vor der Geburt. Innerhalb der letzten 4 Wochen war ein deutlicher Abfall der Werte bis zum Tag der Geburt zu verzeichnen, an dem die Gestagengehalte noch über 300 ng/g Kot lagen.



**Abbildung 12:** Verlauf der Gestagenkonzentrationen im Kot von Spitzmaulnashörnern während der Gravität ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$  für  $n = 1-4$ ) im Vergleich zu denen von ingraviden Tieren ( $\bar{x} + 3s$ )

Um die Daten statistisch auszuwerten, wurden ab der 68. Woche a. p. die Werte von jeweils 4 Wochen, vom Tag der Geburt sowie die Werte der postpartalen 3 Wochen jeweils als ein Abschnitt zusammengefasst. Somit lagen insgesamt 19 Abschnitte vor. Innerhalb der einzelnen Gravitätsabschnitte zeigte sich eine Normalverteilung aller Werte. Der Vergleich benachbarter Trächtigkeitsabschnitte mittels Varianzanalyse ergab signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,001$  bis  $p \leq 0,05$ ) der Gestagenkonzentrationen zwischen den Abschnitten 2 und 3, 3 und 4, 4 und 5, 7 und 8 (a. p.) sowie 18 und 19 (p. p.). Dies reflektiert den stetigen Anstieg der durchschnittlichen Progesteronmetabolitengehalte im Kot bei niedrigen Standardabweichungen zwischen den Wochen 65 und 57 a. p. sowie die starke Erhöhung der Gestagenkonzentrationen zwischen den

Wochen 56 und 36 a. p. Außerdem kommt es innerhalb einer Woche nach der Geburt zu einem markanten Abfall der Hormonausscheidung.

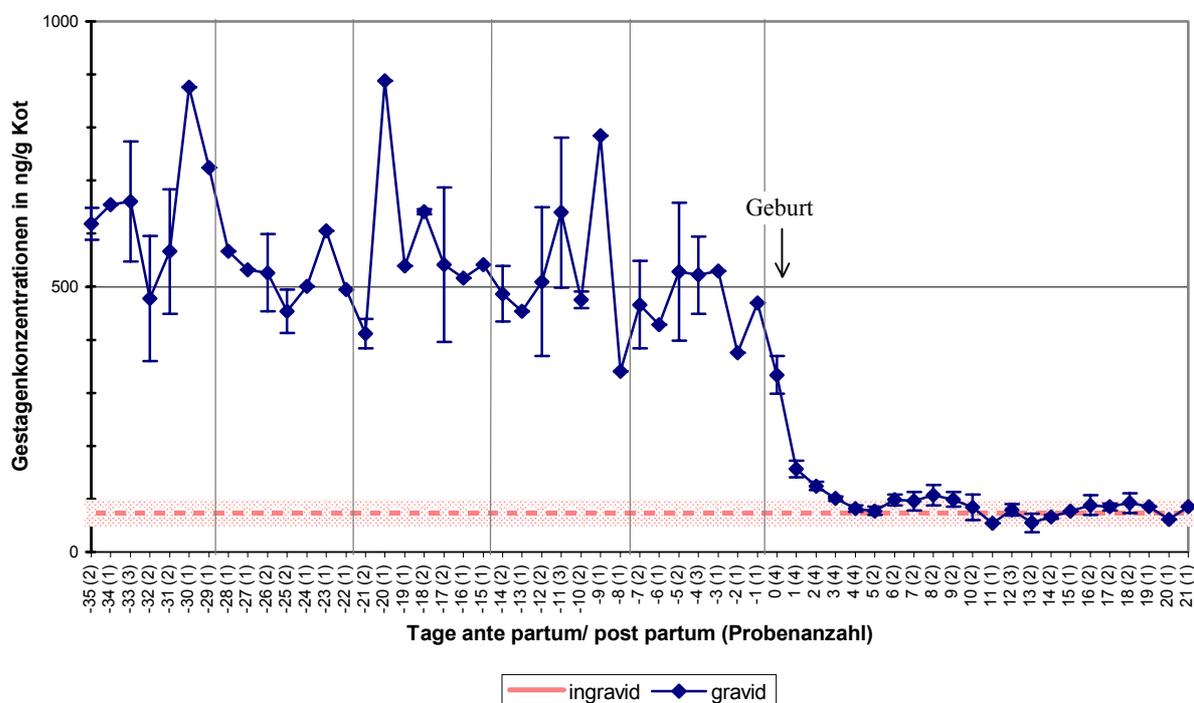
Zur Unterscheidung ingravider von graviden Nashörnern wurde ein Schwellenwert von 200 ng/g Kot festgelegt, da zwar der Mittelwert mit der 3fachen Standardabweichung ingravider Tiere bei 128 ng/g Kot lag, einzelne ingravide Tiere aber durchaus höhere Konzentrationen bis 200 ng/g erreichten. Außerdem sind in diesem niedrigen Konzentrationsbereich die methodischen Schwankungen des RIA zu berücksichtigen. Aufgrund des Gebrauchs dieses Schwellenwertes gilt jedes Tier, dessen Konzentration sich unterhalb desselben befindet, als nicht tragend, Konzentrationen oberhalb der Schwelle werden als Hinweis auf eine bestehende Trächtigkeit angesehen. Anhand dieser Voraussetzungen war die Diagnose bei den ingraviden Tieren zu 100 % zuverlässig. Die Trächtigkeit konnte bei den beiden Frühgraviditäten bereits in der 53. Woche a. p. festgestellt werden, wobei bei beiden Tieren in der 53. und 52. Woche a. p. die Konzentrationen nur geringgradig höher als der Schwellenwert (durchschnittlich bei 237 ng/g Kot) lagen. Danach wiesen die Kotproben bei "Saba" 1,5- bis 2fach so hohe Werte wie die Schwellenkonzentration auf, die während der zweiten Gravidität von "Sara" erst in der 48. Woche a. p. erreicht wurden.

Diese Ergebnisse decken sich mit denen eines statistischen Vergleichs der Gestagenkonzentrationen im Kot von graviden und ingraviden Tieren. Dafür wurden die Mittelwerte + 3fache Standardabweichung der fäkalen Gestagenkonzentrationen von 6 nichttragenden Tieren mit den Mittelwerten der einzelnen Graviditätsabschnitte verglichen. Signifikant höhere Konzentrationen ( $p \leq 0,01$ ) konnten dabei ab dem 5. Abschnitt der Trächtigkeit festgestellt werden, während in Abschnitt 1 und 2 (bis zur 60. Woche a. p.) dagegen noch signifikant niedrigere Konzentrationen ( $p \leq 0,001$  bis  $p \leq 0,01$ ) als bei den ingraviden Tieren vorlagen. Demnach ist eine Trächtigkeitsdiagnostik durch Bestimmung der Gestagenkonzentrationen im Kot ab ca. 52 Wochen vor der Geburt möglich.

In Abbildung 13 (S. 69) sind die fäkalen Gestagenkonzentrationen während der 4 Graviditäten im Geburtszeitraum im Vergleich zu der durchschnittlichen Konzentration

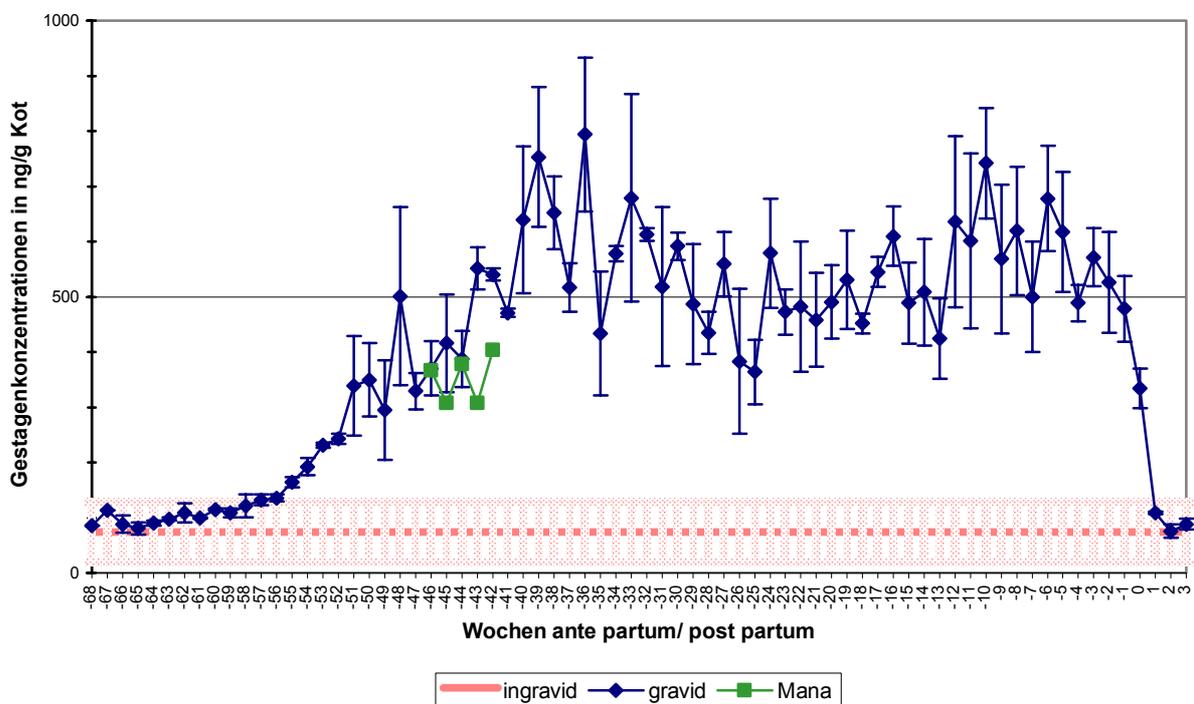
der Progesteronmetaboliten im Kot ingravidier Tiere dargestellt. Pro Zeitpunkt wurden die Hormonwerte von 1 bis 4 Tieren einbezogen.

Aufgrund der geringen Anzahl an Einzelwerten für die Tage vor der Geburt wurden diese wöchentlich zusammengefasst. Da die Werte innerhalb der Zeiträume normal verteilt waren, konnte eine Varianzanalyse der Daten benachbarter Zeitabschnitte vorgenommen werden. Ein signifikanter Abfall ( $p \leq 0,05$ ) der Konzentrationen trat dabei erst von der letzten präpartalen Woche zum Tag der Geburt ein. Ferner bestanden signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,001$  bis  $p \leq 0,01$ ) zwischen den Konzentrationen am Tag der Geburt und den ersten beiden Tagen nach der Geburt infolge einer weiteren Abnahme der Gestagenausscheidung im Kot. Verglichen mit den Mittelwerten der Gestagenkonzentrationen von 6 ingraviden Nashörnern waren die Konzentrationen bis 2 Tage nach der Geburt noch signifikant höher ( $p \leq 0,001$  bis  $p \leq 0,05$ ). Erst ab dem 3. Tag p. p. erreichten die Gestagene wieder die Konzentrationen im Kot von ingraviden Tieren, welche im folgenden (bis 21 Tage p. p.) beibehalten wurden.



**Abbildung 13:** Verlauf der Gestagenkonzentrationen im Kot von Spitzmaulnashörnern im Geburtszeitraum ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$  für  $n = 1-4$ ) im Vergleich zu denen von ingraviden Tieren ( $\bar{x} \pm s$ )

Nach einer Paarung von "Mana" am 24.04.2001 lagen die Konzentrationen der Gestagene im September 2001 bei durchschnittlich 345 (307-403) ng/g Kot (vgl. Tabelle XXXVII). Aufgrund des Schwellenwerts von 200 ng/g müsste in diesem Fall eine positive Graviditätsdiagnose gestellt werden. Auch beim Vergleich der im Kot von "Mana" ermittelten Konzentrationen mit dem mittleren Verlauf der Gestagenkonzentrationen während der Trächtigkeit, wobei zur Anpassung der Daten ausgehend vom 24.04.2001 eine Graviditätslänge von 460 Tagen zugrundegelegt wurde, erhielt man dieselbe Diagnose (wie Abbildung 14 zeigt). Mit einer Bestätigung der Trächtigkeit durch die Geburt ist danach erst Ende Juli 2002 zu rechnen.



**Abbildung 14:** Niveau der Gestagenkonzentrationen im Kot von Spitzmaulnashorn "Mana" im Vergleich zum Verlauf der Konzentrationen bei graviden ( $\bar{x} \pm \text{SEM}$ ) und ingraviden Spitzmaulnashörnern ( $\bar{x} \pm 3s$ )

## **5 DISKUSSION**

Im Hinblick auf die Anwendung der Gestagenbestimmung im Kot für die Feststellung der Fortpflanzungsvorgänge bei Giraffen und Spitzmaulnashörnern sind einige methodische Voraussetzungen zu beachten, die bei der Interpretation der erhaltenen Messwerte berücksichtigt werden müssen. Diese betreffen sowohl das Vorgehen bei der Sammlung, Lagerung und Aufbereitung der Kotproben (= präanalytischer Bereich) als auch die Qualität des RIA (= analytischer Bereich). Auf diese soll daher im folgenden zuerst eingegangen werden.

### **5.1 Einfluss äußerer Faktoren auf die Stabilität der Gestagene im Kot**

Bei den durchgeführten Untersuchungen wurden verschiedene Faktoren geprüft, die Einfluss auf die Konzentration von Gestagenen im Kot haben können, insbesondere der Wassergehalt des Materials sowie das Einfrier- und Lagerungsmanagement.

Für Vergleiche einzelner Kotproben untereinander ist eine genaue Kenntnis des Feuchtigkeitsgehaltes der Fäzes von großer Bedeutung, da die verschiedenen Steroidmetaboliten unterschiedliche Löslichkeitseigenschaften besitzen. Über den Wassergehalt von Kotproben der in der vorliegenden Studie einbezogenen Tierarten lagen allerdings keine Angaben vor, so dass zunächst eine Bestimmung der Trockenmasse erfolgte. Die Ergebnisse zeigen, dass sich der Wassergehalt der Proben zwischen verschiedenen Tierarten stark unterscheidet, während er innerhalb einer Tierart jedoch nur geringen Schwankungen unterworfen ist (vgl. S. 50).

Hinsichtlich der Möglichkeit eines Einflusses des Trockenmassegehalts von Kotproben auf deren Steroidgehalt liegen gegensätzliche Befunde vor. BAMBERG et al. (1991) gingen davon aus, dass der Steroidgehalt in Kotproben stark vom Wassergehalt des Kotes beeinflusst wird. Durch Gefriertrocknung von Affenkot wurde einerseits eine bessere Korrelation zwischen den Konzentrationen an Steroiden im Serum und im Kot erhalten (WASSER et al. 1988), andererseits bemerkten ZIEGLER et al. (1996) keine Veränderungen der Steroidkonzentrationen von Kotproben aufgrund von Flüssigkeitsentzug. Durch Trocknung des Kotes wurde auch die starke Variabilität der Steroidkonzentrationen des Kotes von Hausrindern und Moschusochsen nicht reduziert (DESAULNIERS et al. 1989). Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass sowohl der Trockenmasse- als auch der Gestagengehalt im Kot verschiedener Tierarten durch

Variationen in der Futterzusammensetzung relativ unbeeinflusst blieb (KLINGLER 1991; NALETOSKI 1993; WASSER et al. 1993, 1994; GARNIER et al. 1998).

Aufgrund dieser Ergebnisse wird deshalb davon ausgegangen, dass ein zusätzlicher Arbeitsschritt, nämlich die Bestimmung der Trockenmasse mit anschließendem Bezug der Progesteronkonzentration auf diesen Wert, unterbleiben kann. Die Variabilität der Trockenmasse der untersuchten Kotproben liegt nämlich in ähnlicher Größenordnung wie die des verwendeten RIA (aufgrund des ermittelten Interassaykoeffizienten, vgl. Tabelle 4). Der mögliche Verzicht auf die Bestimmung der Trockenmasse gilt allerdings nur bei Vergleichen innerhalb einer Tierart oder bei demselben Tier und muss bei weiteren Untersuchungen erneut geprüft werden. Außerdem sollten Kotproben mit offensichtlich extremen Veränderungen des Trockenmassegehalts (Diarrhoe oder stark ausgetrocknete Proben) von den Untersuchungen ausgeschlossen werden.

Da es in der Praxis meist nicht möglich ist, frisch abgesetzten Kot sofort zu sammeln und tiefzufrieren, ist dieser bis zum Einfrieren unterschiedlich lange verschiedenen Umgebungstemperaturen ausgesetzt, wodurch der Hormongehalt beeinflusst werden könnte. Ein anderer Aspekt ist die monatelange Lagerung von Proben unter Tiefkühlbedingungen bis zur Bestimmung. Auch hier könnten Veränderungen der Gestagenkonzentrationen zu verfälschten Ergebnissen führen. In den vorliegenden Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass eine 24-stündige Lagerung bei Raumtemperatur vor dem Einfrieren bei Giraffen und Spitzmaulnashörnern zu einer signifikanten Erhöhung der Hormonkonzentration der Kotproben führte (im Vergleich zum sofortigen Einfrieren). Durch weitere Verlängerung der Aufbewahrung bei Raumtemperatur auf 48 Stunden kam es dagegen nur noch zu geringen, nicht signifikanten Veränderungen (vgl. Abbildung 1).

Vergleichbare Angaben bei Wildtieren liegen nicht vor. Untersuchungen bei Haustieren zeigten, dass eine Lagerung bei Umgebungstemperaturen (20, 37 bzw. 40 °C) eine Erhöhung der Konzentrationen an Östrogenen im Kot von Ziegen (HOLTZ 1992) und Rindern (SCHLENKER et al. 1998; GLATZEL 1999) sowie an Dioxyandrostan im Kot von Rindern, Pferden und Schweinen (MÖSTL et al. 1999) für eine Dauer bis zu 3 Wochen herbeiführte. Bezüglich des Progesterongehalts von Rinderkot stellten MASUNDA et al. (1999) bereits eine Abnahme innerhalb von 48 Stunden bei Lagerung bei Raumtemperatur fest. Demgegenüber beobachteten GLATZEL (1999) sowie SCHLENKER et al. (1998) erst nach 2 Wochen Lagerung des Rinderkotes eine

Verringerung des Gestagen- bzw. Progesterongehalts. Keinen Einfluss einer Aufbewahrung der Kotproben bei Temperaturen von 20 °C bis 37 °C auf deren Steroidgehalt beobachteten LIMPACH (1985) und CHOI (1987) bei Rinder-, Schweine- und Pferdefäzes sowie BAMBERG et al. (1986) bei Rinder- und Pferdekot.

Erhöhungen von Steroidkonzentrationen durch Lagerung bei Raumtemperatur sind prinzipiell möglich, was auf mikrobiell-enzymatische Prozesse zurückzuführen ist. Diese führen durch Transformation zu einer Erhöhung von Steroidmetaboliten, die mit dem Antikörper des Assays kreuzreagieren (HOLTZ 1992; SCHLENKER et al. 1998, 1999; MÖSTL et al. 1999). So bemerkte MÖSTL et al. (1999) nach Lagerung von Schafkot über 8 Tage bei Raumtemperatur das Entstehen eines Elutionsmusters, welches sich von dem der Proben unterschied, die direkt eingefroren worden waren. Es waren vermehrt polare Metaboliten von Dioxyandrostan entstanden, außerdem war der Anteil an immunoreaktiven Substanzen bei gleichbleibender totaler Radioaktivität angestiegen. Zusätzlich zeigten Kotproben bei verschiedenen Lagerungstemperaturen (5 °C und 30 °C) einen unterschiedlichen Verlauf des in ihnen gemessenen pH-Werts (SCHLENKER et al. 1999). Bakterielle Transformationen als Grund für eine Erhöhung der fäkalen Steroidgehalte sind auch für die vorliegende Studie anzunehmen. Demnach ist eine Erhöhung der gemessenen Konzentrationen möglicherweise nicht an Östrogene gebunden, als vielmehr abhängig von der Art des verwendeten Antikörpers. So könnte es während der Lagerung bei Raumtemperatur zu einer weiteren bakteriellen Freisetzung von freiem Progesteron kommen, welches vom eingesetzten Antikörper erfasst wird. Insgesamt ist die bakterielle Aktivität dabei in den ersten 24 Stunden höher als im Zeitraum bis 48 Stunden, da zwischen diesen beiden Zeitpunkten keine signifikanten Unterschiede mehr auftraten.

Obwohl MASUNDA et al. (1999) eine allgemeine Abnahme der Progesteronkonzentrationen von Kotproben aufgrund von Lagerung bei Raumtemperatur fanden, waren während der Lutealphase des Zyklus immer noch höhere Konzentrationen als während der Follikelphase im Kot nachweisbar. Da meist nur Verlaufsprofile der Gestagenkonzentrationen und keine absoluten Werte benötigt werden, können demnach auch Proben mit unterschiedlichen Einfrierzeitpunkten durchaus miteinander verglichen werden. Dies ist insofern von Bedeutung, als dass der genaue Zeitpunkt des Kotens nicht immer exakt erfasst werden kann. Allerdings sollte das Sammelregime standardisiert werden, indem das Gewinnen der Proben immer zur gleichen Zeit erfolgt.

Außerdem sollten nur optisch frische Proben (feuchte Oberfläche) gesammelt werden. Wenn eine Standardisierung der Probensammlung nicht möglich ist, schlug FRANK (1997) vor, die Lagerung bei Raumtemperatur zu verlängern, damit bakterielle Umwandlungen möglich und starke Variabilitäten im fäkalen Progesterongehalt vermindert werden. HOLTZ (1992) bemerkte, dass sich der Östrogengehalt von Ziegenkot kaum noch veränderte, nachdem er durch Lagerung bei hohen Temperaturen sein Maximum erreicht hatte. Er empfahl daher zur Standardisierung der Methode eine einheitlich verlängerte Lagerung der Kotproben bei hohen Temperaturen bis zum Einfrieren. Auch in den vorliegenden Untersuchungen stiegen die Konzentrationen an Progesteronmetaboliten innerhalb von 24 Stunden zunächst stark an, änderten sich danach bis zu 48 Stunden dagegen kaum noch. Jede unnötige Verlängerung der Lagerung bei Raumtemperatur ist aber ein Unsicherheitsfaktor, da später ein Abfall der Konzentrationen im Kot eintritt (SCHLENKER et al. 1998, 1999; MASUNDA et al. 1999). Dies könnte nur dadurch umgangen werden, indem bei jeder neuen Methode geprüft wird, wie sich die Konzentrationen der von dem benutzten Antikörper erfassten Metaboliten verändern, wenn die Proben über längere Zeit bei erhöhten Temperaturen gelagert werden.

Bei Hormonuntersuchungen im Kot wird meistens davon ausgegangen, dass sich der Progesterongehalt durch Lagerung der Proben bei  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  nicht signifikant ändert (z. B. MASUNDA et al. 1999; SCHLENKER 1998). SCHLENKER et al. (1999) zeigten eine deutlich höhere Stabilität des Progesterons bei  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$  als bei  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Aufgrund der Ergebnisse dieser Autoren wäre anzunehmen, dass bei weiterer Absenkung der Lagerungstemperatur auf  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  die Stabilität des Progesterons weiter zunimmt. Dies konnte auch in dieser Studie für Proben mit niedrigem Progesteronniveau (alle Proben von Spitzmaulnashörnern und Damagazellen, ein Teil der Proben von Giraffen) bestätigt werden (vgl. Abbildung 2). Im Gegensatz dazu kam es bei den Kotproben der Giraffen mit hohen Progesterongehalten zu einer signifikanten Verringerung derselben (vgl. Tabelle 5). Daraus ergibt sich die Vermutung, dass eine Verringerung des Progesterongehaltes weniger von der Tierart, sondern von der Progesteronausgangskonzentration abhängig ist. Auch von MASUNDA et al. (1999) wurde für Progesteronkonzentrationen im Kot von Nkone-Kühen festgestellt, dass hohe Ausgangskonzentrationen durch Lagerung bei Raumtemperatur stärker abfallen als niedrige. Dies wird mit einer Verschiebung der Anteile an bestimmten Progesteron-

metaboliten in Abhängigkeit von der Umgebungstemperatur erklärt. Eine Verringerung der Hormonkonzentration bei Lagerung im gefrorenen Zustand ist evtl. darauf zurückzuführen, dass solche Prozesse in geringerem Maße auch noch bei Temperaturen um  $-20\text{ °C}$  stattfinden. Da allerdings in der vorliegenden Untersuchung die Zahl der Proben für Giraffen mit hohem Progesteronniveau nur gering war, kann diese Aussage nicht verallgemeinert werden. Dazu müsste in Folgestudien (z. B. bei trächtigen Kühen oder anderen Herbivoren) geprüft werden, ob sich diese Befunde bestätigen lassen.

Der Einfluss von mehrmaligem Auftauen von Kotproben auf deren Gestagengehalt wurde in der Literatur bisher noch nicht beschrieben. Lediglich SCHWARZENBERGER et al. (1999) zeigten, dass die Gestagenkonzentrationen einiger Kotproben von Okapis, die während des Transports versehentlich kurzfristig aufgetaut worden waren, keine Veränderungen aufwiesen. Dies steht im Gegensatz zu den vorliegenden Ergebnissen, in denen ein signifikantes Absinken der Hormonwerte bei Spitzmaulnashörnern und Gazellen durch mehrmaliges Auftauen der Kotproben festgestellt werden konnte (vgl. Abbildung 3). MÖSTL et al. (1999) zeigten, dass es bei zuvor tiefgefroren gelagerte Kotproben nach dem Auftauen bei  $40\text{ °C}$  zu einem Anstieg der Dioxyandrostankonzentrationen kam, welches bei Auftauen bei  $95\text{ °C}$  im Wasserbad sowie bei Inkubation der Proben in Salzsäure über Nacht nicht eintrat. Die Proben zeigten auch nach eintägiger Lagerung bei Raumtemperatur noch vergleichbare Werte. Erklärt wurde dieser Unterschied mit bakteriellen Enzymen, die nach dem Einfrieren noch aktiv sind, diese Aktivität aber durch Erhitzen auf  $95\text{ °C}$  oder Säureinaktivierung – mit resultierender Stabilität der Steroidkonzentrationen – verlieren.

Die Konzentrationsabnahme in der vorliegenden Studie ist demnach möglicherweise ebenfalls durch die Aktivität bakterieller Enzyme zu erklären. Evtl. kommt es während des Auftauens durch osmotische Prozesse zur Zerstörung vorhandener Bakterien, wodurch vermutlich intrazelluläre Enzyme vermehrt freigesetzt werden, die bei wiederholtem Auftauen zum Abbau des Progesterons führen. Deshalb ist eine Einhaltung der Kühlkette nach dem Einfrieren der Proben bis zur Bestimmung unbedingt notwendig.

Zusammenfassend kann demnach folgende Vorgehensweise empfohlen werden:

1. Bestimmung der Trockenmasse des Kotes kann bei Vergleichen innerhalb einer Tierart entfallen
2. Standardisierung der Sammlung von Kotproben (u. a. gleiche Tageszeit, nur optisch frische Proben)
3. Wenn möglich Kotproben direkt einfrieren
4. Keine Unterbrechung der Kühlkette
5. Bestimmung der Gestagenkonzentrationen des Kotes möglichst innerhalb weniger Wochen.

## **5.2 Qualitätskriterien der radioimmunologischen Bestimmung der Gestagene im Kot**

Als Zuverlässigkeitskriterien für die Überprüfung der Qualität wurden in den eigenen Untersuchungen die Empfindlichkeit, Reproduzierbarkeit, Richtigkeit und Spezifität des angewandten RIA bestimmt.

Die untere Nachweisgrenze gilt als Maßstab für die Empfindlichkeit des Verfahrens. Dabei ist diese untere Nachweisgrenze diejenige Hormonkonzentration, die sich gerade noch signifikant vom Nullstandard unterscheidet. Die maximale Bindung an markiertem Hormon wird erreicht, wenn kein Hormon in der Probe vorliegt. Nur im steilen Bereich der Verlaufskurve der Konzentrationen der Eichreihe sind die Messergebnisse auswertbar. Die Empfindlichkeit der verwendeten Methode liegt mit 2,9 ng/g Kot in dem für RIA üblichen Bereich (u. a. HOFFMANN 1977; CHOI 1987). Die Ausscheidung von Gestagenen mit dem Kot bei Giraffen und Spitzmaulnashörnern erfolgte sowohl bei ingraviden als auch bei graviden Tieren ebenfalls im Nanogramm-Bereich, aber mindestens 20fach höher konzentriert. Deshalb ließen sich die Konzentrationen mittels der angewandten Methode sehr gut erfassen.

Zur Kontrolle der Reproduzierbarkeit des Verfahrens wurden jeweils für Proben mit hohem und niedrigem Niveau der Gestagenkonzentrationen die Intra- und Interassay-Variationskoeffizienten bestimmt. Die angewandte Methode zur Gestagenbestimmung im Kot wies dabei nur eine geringe Streuung der Werte im Bereich hoher Gestagenkonzentrationen auf (Intraassay-Variationskoeffizient von 6,0 % bei  $737 \pm 44$  ng/g, Interassay-Variationskoeffizient von 6,6 % bei  $1525 \pm 101$  ng/g). Dagegen zeigten

Proben mit niedrigem Gestagenniveau stärkere Streuungen von 11,5 % ( $117 \pm 13$  ng/g) innerhalb einer Messreihe und von 10,9 % ( $158 \pm 16$  ng/g) zwischen mehreren Messreihen. Gestagenkonzentrationen unterschiedlicher Messreihen lassen sich demnach gut miteinander vergleichen, da sich innerhalb eines Konzentrationsniveaus ähnliche Intra- und Interassay-Variationskoeffizienten finden. Der Einfluss von methodischen Faktoren wie Einwaage, Extraktion und Durchführung des RIA sind aufgrund des niedrigen Intraassay-Variationskoeffizienten von 6,0 % bei hohem Gestagenniveau zu vernachlässigen. Die höheren Schwankungen der Konzentrationen der Gestagene im niedrigen Bereich können dagegen durchaus auf methodische Fehler zurückzuführen sein, die bei geringen Gesamtkonzentrationen stärker ins Gewicht fallen. Trotzdem sind die Variationskoeffizienten auch bei Proben mit niedrigem Gestagenniveau zufrieden stellend. Zur Interpretation der Ergebnisse sind mögliche Schwankungen in den Gestagenkonzentrationen aufgrund der Variationskoeffizienten aber zu berücksichtigen.

Die Prüfung auf Richtigkeit des Verfahrens erfolgte durch Mitführen eines Kontrollserums in allen Messreihen. Dabei lagen die ermittelten Gestagenkonzentrationen mit durchschnittlich 23,6 nmol/l im Rahmen der von der Firma angegebenen Progesterongehalte (20,3-27,4 nmol/l) für dieses Serum.

Bei Bestimmungen der fäkalen Gestagene mittels RIA wird die Spezifität der Methode durch die Bindungseigenschaften des eingesetzten Antikörpers beeinflusst. Unter Kreuzreaktivität versteht man, inwieweit dieser Antikörper eine Bindung mit sich vom Antigen unterscheidenden Substanzen eingeht. Im Rahmen der Studie von GOTTSCHALK (1999) (siehe S. 47) und der vorliegenden Untersuchungen wurden die Kreuzreaktionen des verwendeten Antikörpers mit mehreren Progesteronmetaboliten, Östrogenen und Cortisol geprüft. Dabei ergaben sich außer für  $5\alpha$ -Pregnan-3,20-dion (9,2 %) nur geringe Kreuzreaktionen. Demnach hat nur das Vorkommen dieser Substanz einen Einfluss auf das Ergebnis der Bestimmung von Progesteron im Kot, so dass der eingesetzte Antikörper als relativ spezifisch anzusehen ist.

Um Reproduktionsereignisse bei den beiden untersuchten Tierarten durch Gebrauch dieses spezifischen Antikörpers feststellen zu können, ist demnach von Bedeutung, welche Progesteron-Hauptmetaboliten im Kot von Giraffen und Spitzmaulnashörnern vorkommen. So wurden im Kot von Spitzmaulnashörnern kaum Progesteron, dafür aber

5 $\alpha$ -reduzierte 20- oder 20-oxo-Pregnane und 5 $\beta$ -reduzierte 20 $\alpha$ - oder 20-oxo-Pregnane gefunden (SCHWARZENBERGER et al. 1993 a, 1996 c; PATTON et al. 1996; LANCE et al. 2001). Damit ist erklärbar, warum mit einem relativ spezifischen Antikörper gegen Progesteron beim Spitzmaulnashorn keine zyklischen Schwankungen in den Hormonkonzentrationen erfasst worden sind (vgl. Abb. 10). So bemerkten SCHWARZENBERGER et al. (1994 a) bei dem Einsatz von Antikörpern gegen Progesteron, 5 $\alpha$ - und 5 $\beta$ -reduzierte Pregnane im Kot von Spitzmaulnashörnern, dass in der Follikelphase ähnliche Konzentrationen der 3 Hormone vorlagen. In der Lutealphase dagegen waren die Konzentrationen an 5 $\alpha$ - und 5 $\beta$ -reduzierten Pregnanen deutlich höher als die an Progesteron. Erst während der Gravidität wird anscheinend genügend Progesteron gebildet, um eine unterschiedliche Ausscheidung zwischen tragenden und nicht tragenden Tieren feststellen zu können (vgl. Abb. 12).

Anders als bei den Spitzmaulnashörnern konnten bei den Giraffen durch Nutzung desselben Antikörpers zyklische Schwankungen in den Gestagenkonzentrationen im Kot nachgewiesen werden. Demnach müsste bei dieser Tierart genügend freies Progesteron oder ein Progesteronmetabolit, der eine höhere Kreuzreaktion zeigt als die untersuchten Metaboliten, gebildet werden. Da bei Okapis durch Gebrauch eines spezifischen Antikörpers gegen Progesteron sehr gute Unterschiede zwischen graviden und ingraviden Tieren gefunden wurden, könnte vermutet werden, dass es bei der Giraffe ebenfalls zu einer ausreichenden Ausscheidung an freiem Progesteron während des Zyklus kommt. SCHWARZENBERGER et al. (1993 b) fanden im Kot von Okapis allerdings vorwiegend 5 $\beta$ -reduzierte 20 $\alpha$ -Pregnane. Eine Bestimmung von Hauptmetaboliten im Kot von Giraffen wurde bisher noch nicht durchgeführt. Dies wäre durchaus von wissenschaftlichem Interesse. Da aber mit dem verwendeten Progesteronantikörper eine gute Differenzierung zwischen fäkalen Gestagenkonzentrationen während der Follikel- und Lutealphase sowie während der Gravidität eine Unterscheidung zu ingraviden Tieren möglich war und außerdem nicht vorrangig die absoluten Konzentrationen der Progesteronmetaboliten, sondern Verlaufskurven ermittelt werden sollten, war die Bestimmung dieser Metaboliten für den praktischen Nutzen der vorliegenden Arbeit von untergeordneter Bedeutung.

Generell ist bei den meisten Tierarten kaum freies Progesteron im Kot zu finden, da dieses vor der Ausscheidung zunächst metabolisiert wird. Unterschiede in der

qualitativen Metabolitenzusammensetzung sind nach MÖSTL et al. (1999) evtl. durch die Länge des Darmes begründet. Bei Herbivoren ist aufgrund der langen Passagezeit ein intensiver Metabolismus durch Bakterien möglich. Deshalb wird von vielen Autoren vorgeschlagen, die Problematik unterschiedlicher Hauptmetaboliten von Progesteron im Kot von verschiedenen Tierarten am besten durch Gebrauch von gruppenspezifischen Antikörpern zu umgehen (BAMBERG u. MÖSTL 1988; SCHWARZENBERGER et al. 1996 a, b, c), da spezifische Antikörper die tatsächlichen Gestagenkonzentrationen unterschätzten. Diese gruppenspezifischen Antikörper sind nicht gegen spezielle Progesteronmetaboliten, sondern gegen ganze Metabolitengruppen gerichtet, wie 20-oxo-Gruppen oder 5 $\alpha$ - bzw. 5 $\beta$ -Pregnane, was sich durch hohe Kreuzreaktionen zu Progesteronmetaboliten mit solchen Gruppen ausdrückt. Dadurch lassen sich markantere Unterschiede in den fäkalen Gestagenkonzentrationen sowohl zwischen graviden und ingraviden Tieren als auch zwischen Follikel- und Lutealphase erreichen.

### **5.3 Reproduktionskontrolle bei Giraffen und Spitzmaulnashörnern**

Bei der Bestimmung von Gestagenen im Kot ingravidier, adulter Giraffen wurden zyklische Schwankungen mit abwechselnd hohen und niedrigen Konzentrationen erhalten. Diese konstante Rhythmizität ist zusammen mit dem regelmäßigen Auftreten von Brunstsymptomen und/ oder Paarungen zum Ende der erhöhten Ausscheidung der Progesteronmetaboliten mit dem Kot ein indirekter Beweis dafür, dass die Konzentrationskurven der Gestagene den Sexualzyklus gut reflektieren. Im Rahmen der Darstellung des ovariellen Zyklus konnte dabei anhand von 54 Einzelzyklen eine klare Differenzierung zwischen der Follikelphase mit durchschnittlich 259 ng/g Kot und der mittleren Lutealphase mit etwa 1163 ng/g Kot getroffen werden (vgl. Abbildung 4). Die aufgrund der Gestagenbestimmungen im Kot ermittelte Zykluslänge von durchschnittlich 14 Tagen stimmte dabei mit den registrierten Brunstsymptomen und/ oder Deckdaten überein. Auch von LOSKUTOFF et al. (1986) wurde mittels Pregnanol-3-Glucuronid-Bestimmung im Harn von Giraffen eine Zyklusdauer von ca. 15 Tagen festgestellt. Die stark schwankenden Angaben von 12-28 Tagen, die in der Literatur aufgrund von Verhaltensbeobachtungen über die Länge von Zyklen bei Giraffen vorliegen (LANG 1955; KRUMBIEGEL 1971; HALL-MARTIN u. SKINNER 1978; MATERN u. KLÖPPEL 1995), lassen deshalb den Schluss zu, dass es sich im

Bereich der oberen Werte evtl. um zwei Zyklen mit Einschluss einer stillen oder übersehenen Brunst handelt.

Aufgrund der Konzentrationen an Progesteronmetaboliten im Kot von zyklischen Giraffen wurden ähnliche durchschnittliche Längen der Follikel- und Lutealphasen mit 6,9 und 7,6 Tagen erhalten. Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu denen von LOSKUTOFF et al. (1986), die anhand von Pregnandiol-3-Glucuronid-Bestimmungen im Harn wesentlich kürzere Follikelphasen (3-5 Tage) und dadurch längere Lutealphasen (10-13 Tage) fanden. Allerdings konnten in den eigenen Untersuchungen starke Schwankungen von 5,0-9,0 Tagen für die Follikel- und von 6,0-9,1 Tagen für die Lutealphase bemerkt werden, die vermutlich auf individuelle Unterschiede zurückzuführen sind, da die einzelnen Tiere relativ konstante Längen der Follikel- und Lutealphasen zeigten. Zusätzlich bestehen große Unterschiede im Alter der Tiere, was evtl. ebenfalls von Einfluss auf die Dauer der Follikel- und Lutealphase sein könnte. Außerdem könnte der im vorliegenden Fall abgeleitete Schwellenwert von 400 ng/g Kot die Ursache für die relativ zu lange Follikel- und relativ zu kurze Lutealphase sein. Bei einem niedrigeren Schwellenwert würde sich die Follikelphase verkürzen und umgekehrt, so dass sich allein anhand des Verlaufs der Konzentration von Gestagenen im Kot eine Ermittlung der Dauer von Follikel- und Lutealphase eher schwierig gestaltet. Hierfür müsste gleichzeitig eine Bestimmung von Östrogenen im Kot erfolgen. Von LOSKUTOFF et al. (1986) wurden insgesamt weniger Zyklen ( $n = 12$ ) von einer geringeren Anzahl an Tieren ( $n = 4$ ) ausgewertet, so dass sich dadurch evtl. Differenzen zu den vorliegenden Ergebnissen begründen lassen. Insgesamt sind die vorliegenden Ergebnisse eher mit denen der von LOSKUTOFF et al. (1986) untersuchten Okapis vergleichbar mit Follikelphasen von 8,3 Tagen und Lutealphasen von 6,9 Tagen Dauer. Übereinstimmend mit den Ergebnissen anderer Studien bei verschiedenen Wildtieren (u. a. GÖLTENBOTH u. FRANKE 1990; SCHWARZENBERGER et al. 1993 a, b, 1996 c, 1999; BERKELEY et al. 1997; GARNIER et al. 1998; RADCLIFFE et al. 2001) erfolgten Brunst und/ oder Paarung bei den Giraffen zum Ende der erhöhten Ausscheidung von Gestagenen im Kot (vgl. Abbildung 5).

Hinsichtlich der Höhe der Gestagenkonzentrationen im Kot der Giraffen während des Zyklus und der Gravidität liegen in der Literatur keine vergleichbaren Ergebnisse vor. Darüber hinaus wäre ein solcher Vergleich aufgrund verschiedener Extraktions-

methoden und unterschiedlicher Antikörper nicht sehr aussagekräftig (SCHWARZENBERGER et al. 1996 a; PALME et al. 1997).

Aufgrund der Auswertung aller Geburten der in die Untersuchungen einbezogenen Giraffen konnte kein gehäuftes Auftreten zu einer bestimmten Jahreszeit festgestellt werden (vgl. Abbildung 6). Zusätzlich zeigten zwei Tiere im Verlaufe eines ganzen Jahres zyklische Schwankungen in der Ausscheidung von Gestagenen, so dass keine Saisonalität in der Fortpflanzung zu bemerken war. Dies stimmt mit den Angaben im Internationalen Zuchtbuch für Giraffen und den Aussagen anderer Berichte überein (REUTHER u. DOHERTY 1968; RABB 1978; BROTZLER u. SCHLEUSSNER 2000).

Die im vorliegenden Fall bei Giraffen ermittelten Zwischenkalbezeiten von 540, 565, 603 und 670 Tagen decken sich mit den Angaben von ca. 550-600 Tagen anderer Autoren (SCHLOTT 1952; LANG 1955; HALL-MARTIN u. SKINNER 1978). Im Fall von "Alice", bei der über 3 ½ Jahre zwischen den Geburten liegen, besteht die Ursache im Fehlen eines Zuchtbullen, da der Karlsruher Bulle erst Anfang 2000 geschlechtsreif wurde. Die Dauer der 4 Trächtigkeiten, bei denen Paarungen beobachtet worden waren, lag bei 442, 450, 463 und 489 Tagen. Auch dies entspricht in etwa den Angaben von anderen Autoren mit durchschnittlich 455 (400-488) Tagen (WILKINSON u. DE FREMERY 1940; SCHLOTT 1952; LANG 1955; ROBINSON et al. 1965; KRUMBIEGEL 1971; APFELBACH 1988; KLÖPPEL 1993). Bei "Lisboa" mit vermuteten 489 Tagen Gravidität besteht die Möglichkeit, dass es 2 und/ oder 4 Wochen nach dem letzten beobachteten Deckakt erneut zu einer, allerdings unbemerkten, Paarung gekommen ist. Daraus würde sich ebenfalls eine Trächtigkeitslänge von ungefähr 460-475 Tagen ergeben.

Die Gestagenausscheidung im Kot während der Gravidität von Giraffen zeigte einen deutlichen Anstieg zu Beginn der Trächtigkeit auf Werte, die denen während der Lutealphase entsprachen (vgl. Abbildung 8). Dabei sind die starken Schwankungen zwischen der 68. und 63. Woche a. p. vermutlich auf die unterschiedlichen Graviditätslängen zurückzuführen. Aufgrund ihrer Gestagenkonzentrationen im Kot während dieses Zeitraums befanden sich einige Tiere zum Teil in der Lutealphase des Zyklus oder zu Beginn der Gravidität, andere Tiere dagegen noch in der Follikelphase. Während der gesamten Trächtigkeit bis zum Tag der Geburt blieben die fäkalen

Konzentrationen der Progesteronmetaboliten auf hohem Niveau. In Analogie zu den Befunden beim Okapi (LOSKUTOFF et al. 1981, 1982, 1983; SCHWARZENBERGER et al. 1993, 1999; HEROLD 1997) lassen Ergebnisse verschiedener Studien auf einen ähnlichen, zweiphasigen Verlauf der Gestagenkonzentrationen während der Gravidität von Giraffen schließen. So wurde festgestellt, dass das Corpus luteum graviditatis bei Giraffen 2 Wachstumsphasen besitzt. Zunächst nimmt es bis Tag 100 an Größe zu, verliert danach aber bis Tag 250 langsam wieder an Gewicht. Im Anschluss folgt ein erneutes Wachstum bis zum Ende der Gravidität (HALL-MARTIN u. ROWLANDS 1980). Diese Resultate wären auch eine Erklärung für die Beobachtungen von GOMBE und KAYANJA (1974), dass der Progesteron Gehalt im Verlauf der Trächtigkeit im Corpus luteum graviditatis von Giraffen anstieg, während im Corpus luteum albicans nach der Geburt kein Progesteron mehr nachweisbar war. Außerdem fand man bei einer Giraffe während der späten Gravidität um ein Vielfaches höhere Pregnandiol-3-Glucuronid-Konzentrationen im Harn als während der Lutealphase (LOSKUTOFF et al. 1986). Weil WILKINSON und DE FREMERY (1940) im Harn von Giraffen erst ab dem 10. Graviditätsmonat Gonadotropine nachweisen konnten, vermuteten LOSKUTOFF et al. (1986), dass diese hohen Pregnandiol-3-Glucuronid-Konzentrationen während der späten Gravidität durch die Entwicklung von akzessorischen Corpora lutea oder luteinisierten Follikeln begründet sind. Auch die Gestagenkonzentrationen im Kot von graviden Giraffen zeigten während der Gravidität einen zweiphasigen Verlauf. So lagen bis zum 4. Abschnitt der Gravidität (55. Woche a. p.) signifikant niedrigere Konzentrationen als das mittlere Niveau der Lutealphase vor, ab dem 6. Abschnitt (47. Woche a. p.) dagegen signifikant höhere. Die höheren Werte ab der mittleren Gravidität könnten durch den Beginn der Progesteronsynthese in der Plazenta begründet sein. Dies vermuten auch andere Autoren im Bezug auf den zweiphasigen Verlauf der Gestagenkonzentrationen in Harn oder Kot gravider Okapis. Dort kam es zum Teil zusätzlich vor dem zweiten starken Anstieg der Werte zu einem temporären Abfall derselben, was ebenfalls für die Aufnahme der Progesteronsynthese durch die Plazenta sprechen würde (LOSKUTOFF et al. 1981, 1982, 1983; SCHWARZENBERGER et al. 1993 b, 1999; HEROLD 1997).

Erst einige Tage a. p. trat eine Verringerung der Gestagenkonzentrationen von graviden Giraffen ein, so dass am Tag der Geburt noch hohe Werte von durchschnittlich 1320 ng/g Kot vorlagen (vgl. Abbildung 9). Auch im Harn von Giraffen war es erst 3 Tage

a. p. zu einem deutlichen Abfall der Pregnan diol-3-Glucuronid-Konzentrationen gekommen (LOSKUTOFF et al. 1986), wogegen diese Hormonkonzentrationen im Harn von Okapis bereits 3 Wochen vor der Geburt abfielen (LOSKUTOFF et al. 1982). Demnach könnte hier ein tierartlich unterschiedliches Verhalten in der Ausscheidung von Progesteron mit dem Harn zum Ende der Gravidität vorliegen. Da die Gestagenkonzentrationen im Kot von Okapis – ähnlich den Giraffen – erst eine Woche vor der Geburt zu sinken begannen und zum Tag der Geburt noch hohe Werte aufwiesen (SCHWARZENBERGER et al. 1993 b), scheint es allerdings, dass sich die Elimination von Progesteron über die Fäzes bei Okapis und Giraffen ähnlich verhält und gegenüber der Ausscheidung mit dem Harn verlangsamt ist.

Damit übereinstimmend wurden bei den Giraffen Konzentrationen an Progesteronmetaboliten im Kot im Bereich der Follikelphase erst 3 Tage p. p. erreicht, während zum Tag der Geburt bereits niedrige Pregnan diol-3-Glucuronid-Gehalte im Harn vorlagen (LOSKUTOFF et al. 1986). Auch Okapis wiesen erst 3-4 Tage nach der Geburt wieder niedrige fäkale Gestagenkonzentrationen auf (SCHWARZENBERGER et al. 1993 b). Da zur Geburt noch hohe Gestagenkonzentrationen im Kot vorliegen, die denen zu anderen Zeitpunkten der Gravidität entsprechen, lässt sich das Eintreten der Geburt nicht erkennen.

Wenige Tage im Anschluss an die Geburt kam es bei einigen Giraffen erneut zur temporären Erhöhung der Ausscheidung von Progesteronmetaboliten im Kot. Dies würde für einen postpartalen Östrus mit anschließendem Anstieg der Gestagenkonzentrationen sprechen. Postpartale Östren oder sehr kurze Zwischenkalbezeiten bei Giraffen sind auch in der Literatur beschrieben (HALL-MARTIN u. SKINNER 1978; LANG 1955; BROTZLER u. SCHLEUSSNER 2000). Zusätzlich bemerkten KAYANJA und BLANKENSHIP (1973) bei einigen Giraffen, bei denen die Uterusinvolution noch nicht abgeschlossen war, auf einem Ovar ein Corpus luteum albicans und auf dem anderen einen sich gerade entwickelnden zyklischen Gelbkörper. Daraus schlossen sie auf das Vorliegen von postpartalen Östren. Durch Gestagenbestimmungen im Kot von Okapis konnte ebenfalls bei einigen Tieren eine kurzfristige Erhöhung der Ausscheidung festgestellt werden (SCHWARZENBERGER 1993 b, 1999; HEROLD 1997).

Trotz des Auftretens einer postpartalen Brunst und der Möglichkeit sofort wieder gravid zu werden, muss sich die Ovarfunktion bei Giraffen vermutlich erst noch normalisieren. Dies zeigen die Ergebnisse von "Lisala" mit stark schwankenden Gestagenkonzentrationen im Kot innerhalb der ersten 14 Tage nach der Geburt und von "Lisboa", bei der es trotz konstant niedriger Gehalte an Progesteronmetaboliten im Kot 45 und 52 Tage p. p. zu Paarungen kam. Außerdem bemerkten LOSKUTOFF et al. (1986) bei einer Giraffe 70 Tage nach der Geburt zwar kurzzeitige Erhöhungen in der Gestagenausscheidung mit dem Harn, eine normale Ovaraktivität mit deutlichem Wechsel zwischen hohen und niedrigen Konzentrationen an Pregnandiol-3-Glucuronid im Harn war dagegen erst 90 Tage nach der Geburt feststellbar. Auch bei einem Okapi kam es innerhalb der ersten 3 Monate nach der Geburt zu mehreren Deckversuchen bei ständig niedrigen Gestagenkonzentrationen im Kot (SCHWARZENBERGER et al. 1993 b).

Das unterschiedliche Verhalten in der Gestagenausscheidung im Kot von "Jubilee" im Anschluss an die 3 Graviditäten weist in dem Zusammenhang auch auf den Einfluss des Säugens eines Jungtieres auf die Ovarfunktion hin. Schon wenige Tage nach den beiden Trächtigkeiten, bei denen es innerhalb einer Woche zum Tod des jeweiligen Jungtieres gekommen war, zeigte "Jubilee" einen kurzzeitigen Anstieg der Gestagenkonzentrationen im Kot. Im Gegensatz dazu waren die Hormonkonzentrationen während der ersten 5 Wochen nach der Geburt mit anschließender Aufzucht des Jungtieres gleichbleibend niedrig. Dies könnte evtl. für das Vorliegen eines Laktationsanöstrus oder einer Ovulationshemmung sprechen. LOSKUTOFF et al. (1986) fanden sogar für 70 Tage niedrige Konzentrationen an Pregnandiol-3-Glucuronid im Harn einer laktierenden Giraffe. Auch bei Okapis wurden während der Laktation für bis zu 6 Monate niedrige Konzentrationen an Pregnandiol-3-Glucuronid bemerkt (LOSKUTOFF et al. 1982). Auch SCHWARZENBERGER et al. (1999) vermuteten aufgrund von Gestagenbestimmungen im Kot von Okapis eine kürzere postpartale Anöstrusphase bei nichtlaktierenden Tieren im Vergleich zu Tieren, die ihren Nachwuchs säugten.

Aufgrund des Sektionsberichtes hatte Giraffe "Lisa" am Tag ihres Todes kurz vor der Geburt gestanden. Deshalb wurde dieser Tag als Geburtstermin angenommen, wonach die ermittelten Gestagenkonzentrationen im Kot dem Zeitraum von der 56. bis 16. Woche vor der Geburt zugeordnet wurden. Sie lagen dabei mit  $1002 \pm 146$  ng/g Kot im

unteren Bereich des Niveaus der Lutealphase und von Konzentrationen, die auch bei anderen Tieren während der Gravidität erreicht worden waren (vgl. Abbildung 7).

Im Frühjahr 2001 zeigte "Knöpfchen" im Anschluss an eine Paarung für 2 Monate hohe Konzentrationen an Progesteronmetaboliten im Kot. Für eine Frühgravidität mit anschließendem Abort spricht der nach Abgang größerer Mengen blutigen Schleims ermittelte, wenn auch zunächst nur geringgradige Rückgang der Gestagenausscheidung. Werte der Follikelphase wurden dabei nach 3 Wochen erreicht, gefolgt von zyklischen Schwankungen der fäkalen Gestagenkonzentrationen. In dem Zusammenhang sind die Beobachtungen von SCHWARZENBERGER et al. (1999) bei zwei Okapis beim Auftreten von Aborten von Interesse. Dabei war es direkt im Anschluss an den Abbruch der Gravidität zum Absinken der Gestagenkonzentrationen im Kot auf das Niveau der Follikelphase gekommen. Die im Gegensatz dazu über 3 Wochen nach dem Abort erhöhten Gestagenkonzentrationen im Kot von "Knöpfchen" könnten evtl. auf ein persistierendes Corpus luteum graviditatis zurückzuführen sein. Dieses hat sich offensichtlich nur langsam zurückgebildet, so dass es erst nach 3 Wochen wieder zu regelmäßigen, zyklischen Schwankungen in der Gestagenausscheidung mit dem Kot kam. Auch "Jubilee" zeigte im Herbst 2001 nach einem Anstieg der Konzentrationen an Progesteronmetaboliten im Kot ebenfalls über einen Zeitraum von 2 Monaten hohe Werte, gefolgt von einer Verringerung der Ausscheidung bis auf das Niveau der Follikelphase. Danach kam es wieder zu regelmäßigen, zyklischen Schwankungen. Bei ihr könnten diese Verhältnisse eher für ein persistierendes Corpus luteum als für eine Gravidität mit anschließendem frühembryonalen Fruchttod sprechen, da Paarungen oder ein Abort nicht beobachtet werden konnten. Außerdem war aufgrund des fortgeschrittenen Alters von "Jubilee" im betreffenden Zeitraum versucht worden, während der Brunst keinen Kontakt zum Bullen zu ermöglichen. LOSKUTOFF et al. (1982, 1983) fanden bei einem nichtgraviden Okapi ebenfalls hohe Konzentrationen an Pregnan diol-3-Glucuronid im Harn ohne zyklische Schwankungen. Allerdings zeigten sich hier insgesamt niedrigere Konzentrationen als während der Gravidität erreicht werden. "Jubilee" hatte dagegen ähnlich hohe Konzentrationen wie während der Gravidität. Dieser Unterschied könnte tierartlich bedingt, aber auch individuell begründet sein.

Der Verlauf der Gestagenausscheidung konnte im Kot von zwei juvenilen Giraffen verfolgt werden. So zeigten "Knöpfchen" während der ersten Sammelpphase und "Tena"

während der gesamten Untersuchungsperiode konstant niedrige Gestagenkonzentrationen von durchschnittlich  $210 \pm 78$  bzw.  $133 \pm 81$  ng/g Kot. Da keine gleichzeitigen Brunstsymptome beobachtet werden konnten und beide Tiere mit 2 bzw. 1,5 bis 2,5 Jahren noch sehr jung waren, ist davon auszugehen, dass sie sich noch vor der Pubertät befanden. Dafür spricht, dass Giraffen nach Literaturangaben mit 3,5 bis 4 Jahren geschlechtsreif werden (SCHLOTT 1952; DAGG u. FOSTER 1976) und bei "Knöpfchen" ein Jahr später regelmäßige, zyklische Schwankungen der Gestagenkonzentrationen auftraten. In mehreren Studien, in denen Ovarien von juvenilen Giraffen (einige Wochen bis 4 Jahre alt) untersucht wurden, fand man allerdings sowohl Tertiärfollikel als auch intakte Corpora lutea und luteinisierte Follikel (KELLAS et al. 1958; KAYANJA u. BLANKENSHIP 1973; HALL-MARTIN u. ROWLANKS 1980). Außerdem stellten GOMBE und KAYANJA (1974) fest, dass die Gelbkörper von juvenilen Giraffen zu unterschiedlichen Anteilen Progesteron, 20 $\beta$ -Hydroxyprogesteron und/ oder 17 $\alpha$ -Hydroxyprogesteron enthielten. Aus diesen Beobachtungen kann man schlussfolgern, dass auch bei juvenilen Giraffen bereits eine zyklische Ovaritätigkeit auftritt, welche sich jedoch nicht in Veränderungen der Gestagenausscheidung mit dem Kot widerspiegelt. Dies könnte eventuell daran liegen, dass bei juvenilen Giraffen Progesteronmetaboliten ausgeschieden werden, die aufgrund niedriger Kreuzreaktionen durch den eingesetzten Antikörper kaum bzw. nicht erfasst werden.

Im Rahmen der Studie ließen sich aufgrund der Ermittlung der Konzentrationen an Progesteronmetaboliten im Kot bei zwei Giraffen Störungen der Ovarfunktion mit vermutlich unterschiedlicher Ursache feststellen. So hatten "Hanna" während der zweiten Sammelperiode und "Kenya" während des gesamten Untersuchungszeitraums mit  $195 \pm 47$  bzw.  $237 \pm 70$  ng/g ständig niedrige Gestagenkonzentrationen im Kot. In dieser Zeit zeigte der Bulle kein Interesse für "Hanna". Dies würde dafür sprechen, dass es sich bei "Hanna" um fehlende Ovaraktivität aufgrund eines bestehenden Anöstrus handelt. Bei der Sektion des Tieres, die nach seinem Tod 1 Jahr später erfolgte, wurden auf beiden Ovarien mehrere Corpora lutea und zahlreiche Follikel unterschiedlicher An- und Rückbildungsstadien gefunden, was eher auf eine intakte Sexualaktivität hinweist. So fanden HALL-MARTIN und ROWLANDS (1980) bei Giraffen während des Zyklus neben den Corpora lutea cyclica auch mehrere kleinere akzessorische Gelbkörper. Vermutlich war es bei "Hanna" wieder zur Aktivierung der Ovaritätigkeit gekommen,

die infolge fehlender Gestagenbestimmungen kurz vor ihrem Tod nicht erfasst wurde. Dagegen spricht allerdings, dass weiterhin kein Interesse des Bullen an "Hanna" zu bemerken war. "Kenya" wurde während des Untersuchungszeitraums ständig vom Giraffenbullen verfolgt. Zusammen mit den konstant niedrigen Konzentrationen an Progesteronmetaboliten im Kot weist dies auf eine fehlende Lutealfunktion bei einem möglicherweise erhöhten Östrogenspiegel hin. Ursache hierfür wären Follikelzysten, die zur Östrogensynthese fähig sind. Diese Vermutung findet Bestätigung im Resultat der Sektion nach ihrem Tod, der während des Zeitraums der Probensammlung eintrat. Dabei wurden auf beiden Eierstöcken 1-2 flüssigkeitsgefüllte Zysten gefunden.

Mit Hilfe der Bestimmung von Gestagenen im Kot von 6 adulten, ingraviden Spitzmaulnashörnern konnten in den vorliegenden Untersuchungen keine zyklischen Schwankungen der Ausscheidung nachgewiesen werden (vgl. Abbildung 10). Dies steht im Gegensatz zu den Resultaten anderer Studien, die in der Lage waren, anhand von Gestagenkonzentrationen im Kot von Spitzmaulnashörnern (BAMBERG u. SCHWARZENBERGER 1990; GÖLTENBOTH u. FRANKE 1990; FRANCKE et al. 1991; SCHWARZENBERGER et al. 1993 a, 1994 a, 1996 c; BERKELEY et al. 1997; RADCLIFFE et al. 2001; GARNIER et al. 2002) und anderen Nashornarten (SCHWARZENBERGER et al. 1994 b, 1998, 2000; RADCLIFFE et al. 1997; HEISTERMANN et al. 1998; ROTH et al. 2001) zwischen Follikel- und Lutealphase des Zyklus zu unterscheiden. Wie weiter oben bereits erläutert wurde (s. Abschnitt 5.2), ist dies vermutlich auf die Spezifität des hier verwendeten Antikörpers zurückzuführen. Die in den eigenen Untersuchungen ermittelten Gestagenkonzentrationen im Kot ingravidier Tiere liegen mit durchschnittlich  $74 \pm 18$  ng/g im Rahmen der Werte, die auch durch Bestimmung anderer Progesteronmetaboliten während der Follikelphase gefunden wurden (BAMBERG u. SCHWARZENBERGER 1990; GÖLTENBOTH u. FRANKE 1990; FRANCKE et al. 1991; SCHWARZENBERGER et al. 1993 a, 1994 a, 1996 c).

Aufgrund der während der Studie registrierten Geburten bei Spitzmaulnashörnern ergaben sich Zwischenkalbezeiten von 545 Tagen für "Sara" und 621 Tagen für "Siwa". Diese Zeiträume sind sehr viel kürzer als die Angaben in der Literatur, die etwa bei 3 Jahren liegen (SCHENKEL 1988 c; ADCOCK u. EMSLIE 1997). Dies könnte darin begründet sein, dass bei beiden Tieren das Jungtier der vorangegangenen Geburt tot

geboren wurde bzw. kurz nach der Geburt verstarb. So bemerkten GARNIER et al. (2002), dass weibliche Spitzmaulnashörner innerhalb weniger Tage nach Verlust des Kalbes bereits wieder Brunstsymptome und zyklische Schwankungen der fäkalen Gestagene zeigten. Kühe mit saugendem Jungtier jedoch wiesen über mehrere Monate keine Östrusanzeichen und nur wenig fluktuierende Hormonkonzentrationen auf. Die errechnete Dauer der Graviditäten von 462 Tagen für die 1. und von 447 oder 417 Tagen für die 2. Trächtigkeit von "Sara" stimmen mit den Angaben anderer Autoren über eine Graviditätsdauer bei Spitzmaulnashörnern von ungefähr 450 (419-470) Tagen überein (GREED 1967; HAYS 1967; GRZIMEK 1988 a; SCHWARZENBERGER et al. 1993 a, 1996 c; GARNIER et al. 1998). RAMSEY et al. (1987) vermuteten, dass es sich bei der Geburt eines normal großen Kalbes 389 Tage nach einer Kopulation um eine postkonzeptionale Paarung gehandelt hat. Weitere Deckakte wurden nämlich auch 460, 467 und 493 Tage vor der Geburt registriert. So könnte es während der 2. Gravidität von "Sara" ebenfalls zu einer weiteren Paarung in der Frühgravidität gekommen sein. Unter der Annahme, dass bereits die 1. Paarung zur Befruchtung geführt hat, würde sich die Graviditätsdauer von 417 auf 447 Tage verlängern.

Während der Gravidität erhöhten sich die Gestagenkonzentrationen im Kot von Spitzmaulnashörnern zunächst langsam bis zur 56. Woche a. p. Erst danach erfolgte ein deutlicher Anstieg der Konzentrationen auf im Mittel 674 ng/g in der Zeit von der 40. bis 36. Woche a. p. (vgl. Abbildung 12). Signifikant höhere Gestagenwerte als die Mittelwerte + 3fache Standardabweichung der Konzentrationen ingravider Tiere wurden dabei erst ab dem 5. Trächtigkeitsabschnitt gezeigt, so dass eine Trächtigkeitsdiagnose ab ca. 52 Wochen (etwa 4. Graviditätsmonat) vor der Geburt möglich war. Im weiteren Verlauf der Gravidität kam es zu keinen signifikanten Veränderungen der Gestagenkonzentrationen mehr, so dass diese ungefähr 12 Wochen vor der Geburt noch bei etwa 600 ng/g Kot lagen. Die zunächst langsame, danach ab der 56. Woche (etwa 3. Trächtigkeitsmonat) deutliche Erhöhung der Gestagenausscheidung mit dem Kot ist vergleichbar mit den Ergebnissen anderer Studien bei Spitzmaulnashörnern (BAMBERG u. SCHWARZENBERGER 1990; GÖLTENBOTH u. FRANKE 1990; FRANCKE et al. 1991; FRANCKE u. SCHWARZENBERGER 1991; SCHWARZENBERGER et al. 1993 a, 1994 b, 1996 c; BERKELEY et al. 1997; GARNIER et al. 1998; LANCE et al. 2001). Die Ursache für dieses Verhalten der Gestagenausscheidung wird im Beginn der Progesteronproduktion durch die Plazenta

gesehen, welche demnach mit der plazentären Progesteronsynthese bei Pferden verglichen werden kann (u. a. HOLTAN et al. 1975), die auch taxonomisch mit den Nashörnern nahe verwandt sind. Auch die Möglichkeit der Graviditätsdiagnose ab dem 4. Graviditätsmonat deckt sich mit den Ergebnissen anderer Autoren, die signifikant höhere Konzentrationen verschiedener Progesteronmetaboliten im Kot von Spitzmaulnashörnern im Vergleich zu denen von ingraviden Tieren ab dem 3. bis 5. Monat der Trächtigkeit bemerkten (SCHWARZENBERGER et al. 1996 c; BERKELEY et al. 1997; GARNIER et al. 1998; RADCLIFFE et al. 2001).

Die in der vorliegenden Studie ermittelten Gestagenkonzentrationen während der mittleren bis späten Gravidität von Spitzmaulnashörnern liegen mit ca. 450-600 ng/g Kot nur etwa halb so hoch wie die von anderen Autoren mit Konzentrationen verschiedener Progesteronmetaboliten im Bereich von 1-15 µg/g Kot (BAMBERG u. SCHWARZENBERGER 1990; GÖLTENBOTH u. FRANKE 1990; FRANCKE et al. 1991; FRANCKE u. SCHWARZENBERGER 1991; SCHWARZENBERGER et al. 1994 b; GARNIER et al. 1998). Diese Differenzen sind vermutlich auf die unterschiedlichen Extraktionsmethoden sowie den verwendeten Antikörper zurückzuführen. Da in der eigenen Arbeit nur 2 unvollständige und 2 vollständige Graviditäten erfasst wurden, könnten auch individuelle Unterschiede in der Ausscheidung an Progesteronmetaboliten eine Rolle spielen. So berichteten BERKELEY et al. (1997) von einem graviden Spitzmaulnashorn, das im Vergleich zu anderen graviden Tieren sehr niedrige Gestagenkonzentrationen im Kot aufwies.

Innerhalb der letzten 4 Graviditätswochen zeigte sich eine deutliche Abnahme der Ausscheidung mit einer signifikanten Verringerung in der letzten Woche bis zum Tag der Geburt, an dem dennoch Gestagenkonzentrationen von über 300 ng/g Kot festzustellen waren (vgl. Abbildung 13). Dies entspricht den Ergebnissen anderer Autoren mit einem langsamen Abfall der Ausscheidung von Progesteronmetaboliten während der letzten 3 Monate (SCHWARZENBERGER et al. 1996 c) bzw. 2 Wochen (SCHWARZENBERGER et al. 1993 a; BERKELEY et al. 1997) vor der Geburt. Aufgrund der hohen Konzentrationen an Gestagenen zum Tag der Geburt ist keine Vorhersage des Geburtstermins möglich. Vielmehr wurde der Bereich der Konzentrationen bei ingraviden Tieren erst ab 3 Tagen p. p. erreicht, wie auch von anderen Autoren bei Spitzmaulnashörnern zwischen dem 2. und 4. Tag p. p. festgestellt wurde (BAMBERG u. SCHWARZENBERGER 1990; GÖLTENBOTH u. FRANKE

1990; FRANCKE et al. 1991; FRANCKE u. SCHWARZENBERGER 1991; SCHWARZENBERGER et al. 1993 a, 1996 c; GARNIER et al. 1998).

Die zeitliche Verzögerung zwischen dem Reproduktionsereignis und dem Ausscheidungsverhalten der Gestagene mit dem Kot ist durch die Verweildauer im Magen-Darm-Kanal bedingt. Nach SCHWARZENBERGER et al. (1996 a) besteht im Bezug auf die Verweildauer der Gestagene ein Unterschied zwischen Wiederkäuern und Dickdarmverdauern. Bei den Dickdarmverdauern, wie Pferd, Tapir oder Nashorn, entspricht die Verzögerung, nach der die Gestagene im Kot erscheinen, der für die Futterpassage benötigten Zeit. Bei Wiederkäuern dauert die Passage des Futters hingegen länger als die der Steroide, da die Hormone erst nach den eigentlichen Verdauungsorten, den Mägen, in den Magen-Darm-Trakt gelangen. Deshalb müsste bei Wiederkäuern, wie den Giraffen, eine kürzere zeitliche Verschiebung zwischen den Veränderungen der Konzentrationen von Progesteron im Plasma oder bestimmten Verhaltensweisen, wie Brunst, und dem Auftreten der Gestagene im Kot bestehen. Nach den vorliegenden Ergebnissen werden Basiswerte der Gestagenkonzentrationen im Kot bei beiden Tierarten jedoch gleichzeitig erst 3 Tage post partum erreicht. Die Darmpassagezeit kann demnach nicht die einzige Ursache für die starke zeitliche Verzögerung sein, da die Durchlaufzeit der Steroide im Darm von Wiederkäuern nur 24 Stunden, im Darm von Dickdarmverdauern aber ca. 48 Stunden beträgt. Außerdem bemerkten SCHWARZENBERGER et al. (1988), dass der Anstieg in den Gestagenkonzentrationen im Kot von Pferden zur gleichen Zeit wie im Plasma erfolgte, ein Abfall aber 1-2 Tage verzögert einsetzte. Desgleichen war ebenfalls bei Pferden die zeitliche Verzögerung der Abnahme der Exkretion von Steroiden beim Zyklus kürzer als am Ende der Gravidität (SCHWARZENBERGER et al. 1991, 1992, 1996 a). Dies wurde darauf zurückgeführt, dass am Ende der Lutealphase des Zyklus niedrigere Konzentrationen im Vergleich zum Ende der Gravidität vorhanden sind. Da alle Steroide dem Enterohepatischen Kreislauf unterliegen, dauert es beim Vorliegen von hohen Konzentrationen entsprechend länger, bevor die Ausscheidung der Metaboliten absinkt, da auch ein höherer Anteil wieder rückresorbiert wird (SCHWARZENBERGER et al. 1996 a).

Da die Bestimmung der Progesteronmetaboliten im Kot von Spitzmaulnashörnern mittels des eingesetzten Antikörpers keine Differenzierung zwischen der Follikel- und Lutealphase ermöglichte, hat dies den Vorteil, dass durch Messung der

Gestagenkonzentration *einer* Probe evtl. bereits eine Graviditätsdiagnose gestellt werden kann. In dem Zusammenhang wurde deshalb im Rahmen der Studie ein Schwellenwert von 200 ng/g Kot festgelegt. Tiere mit Gestagengehalten oberhalb dieser Konzentration können als tragend eingestuft werden. Hormonwerte unterhalb von 200 ng/g Kot könnten dagegen entweder bedeuten, dass die entsprechenden Tiere ingravida sind oder dass sie sich in einer frühen Phase der Gravidität befinden. So zeigte "Mana" über 5 Wochen Gestagenkonzentrationen von durchschnittlich 345 ng/g Kot, was für eine vorliegende Gravidität bei diesem Tier sprechen würde (vgl. Abbildung 14). Da auch die einzelnen Gestagenkonzentrationen mit 307-403 ng/g Kot immer über dem Schwellenwert lagen, könnte die Trächtigkeitsdiagnose auch anhand der Hormonkonzentration *einer* Probe gestellt werden. Allerdings wird durch die Erhöhung der Sammelfrequenz der Anteil an falsch positiven und falsch negativen Ergebnissen verringert. Dies stellten auch GARNIER et al. (1998) nach Festlegung eines Schwellenwertes zur Trächtigkeitsdiagnose bei Spitzmaulnashörnern fest. Insgesamt würde eine "Ein-Proben-Graviditätsdiagnostik" einen erheblichen Vorteil für die Anwendung in der Wildbahn bedeuten, da dort zum Teil nur einmalig die Möglichkeit besteht, einzelne Kotballen bestimmten Nashornkühen zuzuordnen. So könnte in einem Nashornbestand der Anteil an Kühen, die sich in der mittleren bis späten Gravidität befinden, besser eingeschätzt werden. In dem Zusammenhang wurden schon einige Feldversuche durchgeführt, Nashörner anhand ihrer Fußabdrücke zu identifizieren (BRETT et al. 1989; GARNIER et al. 1998, 2001). Allerdings weist die Nutzung der Methode im Feld aufgrund des Gebrauchs von radioaktiven Stoffen auch erhebliche Nachteile auf. Eine Bestimmung der Gestagenkonzentrationen im Kot mittels RIA kann nur in Labors mit einer speziellen Ausrüstung erfolgen. Deshalb sollten bei Hormonbestimmungen in der Wildbahn eher die zwar empfindlicheren, dafür aber einfacher durchzuführenden und ungefährlicheren Enzymimmunoassays (MEYER 1989) genutzt werden.

Für die Entwicklung von Zuchtprogrammen sind sowohl die Charakterisierung des Sexualzyklus mit Bestimmung des Zeitpunktes der Ovulation als auch eine frühzeitige Graviditätsdiagnostik mit Voraussage des Geburtstermins von Bedeutung. Denn nur mit genauer Kenntnis dieser Reproduktionsphysiologie besteht u. a. die Möglichkeit der hormonellen Behandlung von Fruchtbarkeitsstörungen, wie z. B. bei Giraffen (GILBERT et al. 1988) und Breitmaulnashörnern (SCHWARZENBERGER et al.

1994 b, 1998) bereits durchgeführt. In dem Zusammenhang bestand das Ziel dieser Studie nicht in der Bestimmung absoluter Gestagenkonzentrationen, sondern in der Ermittlung von Verlaufskurven der Konzentrationen an Progesteronmetaboliten im Kot während des Zyklus und der Gravidität. Aus den vorliegenden Untersuchungen lassen sich dabei hinsichtlich der Anwendung der Gestagenbestimmung im Kot für die Reproduktionskontrolle bei Giraffen und Spitzmaulnashörnern folgende Schlussfolgerungen ziehen:

Durch Einsatz eines relativ spezifischen Antikörpers gegen Progesteron war es möglich

1. zyklische Schwankungen der Gestagenkonzentrationen im Kot von Giraffen, nicht jedoch von Spitzmaulnashörnern festzustellen,
2. ständig niedrige Gestagenkonzentrationen im Kot von juvenilen Giraffen nachzuweisen,
3. Störungen der Lutealfunktion bei Giraffen (wie Corpus luteum persistens, Anöstrus und Follikelzysten) zu diagnostizieren,
4. eine Trächtigkeitsdiagnose bei Giraffen bereits während der Frühgravidität, bei Spitzmaulnashörnern ab ungefähr der 52. Woche a. p. (ca. 4. Graviditätsmonat) zu stellen,
5. eine "Ein-Proben-Trächtigkeitsdiagnose" während der mittleren bis späten Gravidität bei Spitzmaulnashörnern zu empfehlen,
6. postpartale Östren sowie Laktationsanöstrus und/ oder Ovulationshemmung bei Giraffen nachzuweisen.

Dabei stimmte der Verlauf der Hormonkonzentrationen im Kot – unter Berücksichtigung einer zeitlichen Verzögerung, nach der sich Veränderungen im Plasmaspiegel des Progesterons in der fäkalen Ausscheidung von Progesteronmetaboliten auswirken – gut mit dem Auftreten von Reproduktionsereignissen wie Brunstsymptomen und Geburt überein. Die zeitliche Verzögerung, mit der die Gestagene im Kot erscheinen, ist auch der Grund dafür, dass sowohl der Beginn der Brunst bei Giraffen als auch der Geburtstermin bei beiden Tierarten durch Bestimmungen von Gestagenen im Kot nicht vorherzusagen waren. Abschließend lässt sich feststellen, dass die in dieser Studie angewandte Methode zur nichtinvasiven Kontrolle des Reproduktionsstatus von Giraffen und zur Trächtigkeitsdiagnostik ab etwa dem 4. Graviditätsmonat bei Spitzmaulnashörnern sehr gut geeignet ist.

## 6 ZUSAMMENFASSUNG

Gaby Neumann

Bestimmung von Sexualzyklus und Trächtigkeit mit Hilfe des Nachweises von Gestagenen im Kot von im Zoo gehaltenen Giraffen (*Giraffa camelopardalis*) und Spitzmaulnashörnern (*Diceros bicornis*).

Zoologischer Garten Leipzig und Veterinär-Physiologisch-Chemisches Institut der Veterinärmedizinischen Fakultät, Universität Leipzig

Juli 2002

112 Seiten, 14 Abbildungen, 5 Tabellen, 183 Literaturangaben, 37 Tabellen im Anhang

Da die afrikanischen Spitzmaulnashörner in ihrer Heimat vom Aussterben bedroht sind, besitzt ihre Nachzucht in Zoologischen Gärten große Bedeutung. Zwar sind die Bestände der Giraffen in der Wildnis noch nicht besonders gefährdet, die Verlustrate dieser empfindlichen Tierart in menschlicher Obhut ist jedoch zu hoch. Die Gestagenkonzentrationen im Kot wurden bestimmt, um detailliertere Kenntnisse der Fortpflanzungsphysiologie dieser beiden Spezies, die für eine erfolgreiche Reproduktion notwendig sind, zu erlangen. Die nichtinvasive Methode erwies sich als geeignet zur Überwachung der Fortpflanzung sowohl bei den Giraffen als auch den Spitzmaulnashörnern. Die Gestagenbestimmung im Kot erfolgte in 3 Schritten: Einwiegen des Kotes, Extraktion der Gestagene mit Hilfe von Methanol und ihre Bestimmung mittels Radioimmunoassay.

Im methodischen Teil der Arbeit ergaben sich innerhalb einer Tierart (Giraffen, Spitzmaulnashorn und zusätzlich Damagazellen) nur geringfügige Schwankungen der Trockenmasse des Kotes von maximal 5 %, so dass sich auch bei unterschiedlichem Wassergehalt des Kotes ohne vorherige Trocknung der Proben gut vergleichbare Gestagenwerte in verschiedenen Kotproben der gleichen Tierart ermitteln lassen. Nach 24- bzw. 48-stündiger Lagerung bei Raumtemperatur waren im Kot von Giraffen und Nashörnern die Gestagenwerte im Vergleich zum sofortigen Einfrieren der Proben signifikant erhöht. Bei Nashörnern und Gazellen wurden nach längerer Lagerzeit (1 und 3 Monate) bei – 20 °C keine signifikanten Veränderungen der niedrigen Gestagenkonzentrationen im Kot festgestellt. Im Gegensatz dazu zeigte sich bei Kotproben von Giraffen mit hohen Ausgangskonzentrationen eine signifikante Erniedrigung

(durchschnittlich 45 %). Im Vergleich zu einmaligem führte mehrmaliges Auftauen der Proben zum signifikanten Absinken der Gestagenkonzentrationen im Kot von Spitzmaulnashörnern und Gazellen. Im Ergebnis dieser Voruntersuchungen wurde für das weitere Vorgehen eine standardisierte Behandlung der Kotproben bis zur Bestimmung ihrer Gestagenkonzentrationen eingehalten.

Bei 13 Giraffen und 8 östlichen Spitzmaulnashörnern aus 7 deutschen Zoos (insgesamt 2618 Kotproben) erfolgte zwischen 1997 und 2002 eine Zyklus- und/ oder Graviditätsdiagnostik mittels Gestagenbestimmungen im Kot. Dabei zeigten die Konzentrationen an Progesteronmetaboliten im Kot von 6 adulten, ingraviden Giraffen zyklische Schwankungen mit einer Zykluslänge von ca. 14 Tagen. Die Follikelphase dauerte im Mittel 6,9 Tage mit Gestagengehalten von durchschnittlich  $259 \pm 49$  ng/g Kot und die Lutealphase hatte eine Länge von im Mittel 7,6 Tagen bei Konzentrationen an Progesteronmetaboliten von durchschnittlich  $1163 \pm 223$  ng/g Kot. Brunstsymptome und/ oder Paarungen fielen immer mit dem Ende der Lutealphase zusammen. Am Beginn von 8 Graviditäten kam es bei den Giraffen zum Anstieg der Hormonkonzentrationen auf Werte, die auch während der Lutealphase erreicht werden. Danach blieb die Gestagenausscheidung mit dem Kot zwischen der 58. und 1. Woche a. p. auf hohem Niveau. Eine Rückkehr auf Basalwerte, die während der Follikelphase auftreten, erfolgte erst 3 Tage p. p. Nach der Geburt konnten bei einigen Tieren postpartale Östren mit einer kurzfristigen Erhöhung der Hormonausscheidung im Kot festgestellt werden. Bei 7 adulten, ingraviden Spitzmaulnashörnern konnte mit der angewandten Methode kein Sexualzyklus ermittelt werden. Diese Tiere zeigten nur geringe Schwankungen der Gestagenausscheidung auf niedrigem Niveau (im Mittel  $74 \pm 18$  ng/g Kot). Im Rahmen von 4 Graviditäten kam es bei den Spitzmaulnashörnern zunächst zu einer langsamen Erhöhung der Ausscheidung von Progesteronmetaboliten mit dem Kot, gefolgt von einem starken Anstieg ab der 56. Woche a. p. auf maximale Konzentrationen von ca. 674 ng/g Kot zwischen der 40. und 36. Woche a. p. Im weiteren Verlauf der Gravidität schwankten die Gestagengehalte zwischen 450-600 ng/g Kot. Eine Rückkehr auf das Niveau der Gestagenausscheidung von ingraviden Tieren war erst 3 Tage p. p. zu verzeichnen. Durch Festlegung eines Schwellenwertes von 200 ng/g Kot konnte eine Graviditätsdiagnose bei den Spitzmaulnashörnern ab etwa 52 Wochen vor der Geburt erfolgen. Eine Vorhersage des Geburtszeitpunktes war durch die Bestimmung der Gestagene im Kot weder bei Giraffen noch bei Spitzmaulnashörnern möglich.

## 7 SUMMARY

Gaby Neumann

Control of oestrus cycle and pregnancy by means of faecal gestagen monitoring in giraffes (*Giraffa camelopardalis*) and black rhinoceroses (*Diceros bicornis*) kept in zoological gardens.

Zoological Garden Leipzig and Institute of Physiological Chemistry of the Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig

July 2002

112 pages, 14 figures, 5 tables, 183 references, appendix with 37 tables

Since the African black rhinoceros is threatened to become extinct in its homeland, its offspring in zoological gardens possesses great importance. The existence of the giraffe is not yet particularly endangered in the wild, the loss of this sensible species in captivity is however very high. Gestagen concentrations in the faeces were determined in order to get more knowledge on the reproduction physiology of these two species, which is necessary for a successful reproduction. These non-invasive method was shown to be suitable for monitoring of the reproduction both in giraffes and black rhinoceroses. The gestagens in the faeces were analyzed in 3 steps: weighing of faeces specimens, gestagen extraction with methanol and their determination by means of radioimmunoassay.

In the methodical part of the study the dry mass of the faeces showed only small variations up to 5 % within one species (Baringo giraffe, black rhinoceros and also dama gazelle). Thus, it was possible to estimate comparable gestagen levels from several faecal samples within one species without drying, in spite of their different amounts of water. After storage at room temperature for about 24 and/ or 48 hours gestagen concentrations in the faeces of giraffes and rhinoceroses were significantly increased in comparison to samples frozen immediately. After prolonged storage time (1 and 3 months) at – 20 °C no significant changes of low gestagen concentrations were stated in the faeces of rhinoceroses and gazelles. In opposite to this, in the faeces of giraffes with high initial gestagen concentrations a significant decrease (average 45 %) was evident. Repeated thawings of the samples led to a significant dropping of the gestagen levels in the faeces of rhinoceroses and gazelles compared to single thawing.

As a result of these preceding investigations a standardized treatment of the faeces samples prior to determination of their gestagen concentrations was observed.

Control of reproduction cycle and pregnancy respectively by means of faecal gestagen monitoring was carried out in a total of 2618 faecal samples of 13 giraffes and 8 eastern black rhinoceroses, collected in 7 German zoos from 1997 to 2002. Concentrations of progesterone metabolites in the faeces of 6 adult, nonpregnant giraffes showed cyclic fluctuations with a cycle length of approximately 14 days. The follicular phase took 6.9 days on an average with a mean gestagen concentration of  $259 \pm 49$  ng/g faeces and the luteal phase had a length of 7.6 days on an average with a mean concentration of  $1163 \pm 223$  ng/g faeces. Oestrus behaviour and/ or mating was observed always at the end of the luteal phase. A rise of hormone concentrations to a level, which is characteristic for the luteal phase, was evident at the beginning of 8 pregnancies in giraffes. Afterwards the excretion of faecal gestagens remained on a high level between week 58<sup>th</sup> and 1<sup>st</sup> a. p. Basal values, which are characteristic for the follicular phase, were detected 3 days p. p. After parturition some animals showed oestrus behaviour with a short increase of hormone excretion by the faeces. In 7 adult, nonpregnant black rhinoceroses no reproduction cycle could be ascertained by determination of gestagens in the faeces. Only small fluctuations of the gestagen excretion on a low level (on an average  $74 \pm 18$  ng/g faeces) were evident in these animals. Within 4 pregnancies of black rhinoceroses a slow increase of the excretion of faecal progesterone metabolites could be detected, followed by a massive rise from week 56<sup>th</sup> a. p. to maximum concentrations of approximately 674 ng/g faeces between week 40<sup>th</sup> and 36<sup>th</sup> a. p. In the ongoing pregnancy the gestagen concentrations varied between 450-600 ng/g faeces. A return to the level of the gestagen excretion of nonpregnant animals was noticed 3 days p. p. Diagnosis of pregnancy of black rhinoceroses was possible approximately 52 weeks prior to parturition by defining a threshold value of 200 ng/g faeces. Prediction of the day of delivery by means of gestagen determination in the faeces was neither possible in giraffes nor in black rhinoceroses.

**8 LITERATURVERZEICHNIS**

- ADAMS, G. P., E. D. PLOTKA, C. S. ASA u. O. J. GINTHER (1991):  
Feasibility of characterizing reproductive events in large nondomestic species by  
transrectal ultrasonic imaging.  
Zoo Biol. 10, 247-259
- ADCOCK, K., u. R. H. EMSLIE (1997):  
Biologie, Verhalten und Ökologie des Spitzmaul-Nashorns  
in: H. G. KLÖS (Hrsg.): Die Nashörner.  
Filander-Verlag, Fürth, S. 115-140
- APFELBACH, R. (1988):  
Langhals- oder Steppengiraffen  
in: B. GRZIMEK: Enzyklopädie der Säugetiere.  
Kindler Verlag, München, Bd. 9, S. 266-277
- ASHER, G. W. (1985):  
Oestrous cycle and breeding season of farmed fallow deer, *Dama dama*.  
J. Reprod. Fertil. 75, 521-529
- BAIRD, D. T. (1979):  
Fortpflanzungshormone.  
in: C. R. AUSTIN, u. R. V. SHORT (Hrsg.): Fortpflanzungsbiologie der Säugetiere.  
Verlag Parey, Berlin, Hamburg., Bd. 3, S. 10-31
- BAIRD, D. T., R. B. LAND, R. J. SCARAMUZZI u. A. G. WHEELER (1976):  
Endocrine changes associated with luteal regression in the ewe; the secretion of ovarian  
oestradiol, progesterone and androstenedione and uterine prostaglandin F<sub>2α</sub> throughout  
the oestrous cycle.  
J. Endocrinol. 69, 275-286
- BAMBERG, E. (1994 a):  
Biochemie der gonadalen Steroidhormone  
in: F. DÖCKE (Hrsg.): Veterinärmedizinische Endokrinologie.  
3. Aufl. Fischer Verlag, Jena, Stuttgart, S. 411-418
- BAMBERG, E. (1994 b):  
Chemie, Biochemie und Nachweis der Steroidhormone  
in: F. DÖCKE (Hrsg.): Veterinärmedizinische Endokrinologie.  
3. Aufl. Fischer Verlag, Jena, Stuttgart, S. 31-40
- BAMBERG, E., H. S. CHOI u. E. MÖSTL (1986):  
Östrogenbestimmung im Kot zur Trächtigkeitsdiagnose bei Pferd, Rind, Schwein, Schaf  
und Ziege.  
Tierärztl. Umsch. 41, 406-408
- BAMBERG, E., u. E. MÖSTL (1988):  
Pregnancy test in zoo animals by EIA of oestrogens in faeces  
in: 11. Int. Congr. on Anim. Reprod. Artif. Insem., Dublin 1988, Vol. 2, S. 82-84
- BAMBERG, E., E. MÖSTL, M. PATZL u. G. J. KING (1991):  
Pregnancy diagnosis by enzyme immunoassay of estrogens in feces from nondomestic  
species.  
J. Zoo Wildl. Med. 22, 73-77

- BAMBERG, E., u. F. SCHWARZENBERGER (1990):  
Fecal steroid assay for monitoring of estrous cycle and pregnancy  
in: 4. Congr. Int. Soc. Anim. Clin. Biochem., Davis 1990, Kongr.ber., S. 95-99
- BENIRSCHKE, K., A. KUMAMOTO, E. COUSIN u. L. DE BOER (1983):  
Further observations on the chromosomes of the okapi, (*Okapia johnstoni*). Verh.ber.  
Erkrankungen Zootiere 25, Sonderdruck, 363-372
- BENIRSCHKE, K., u. L. J. LOWENSTINE (1995):  
The placenta of the Rhinocerotidae.  
Verh.ber. Erkrankungen Zootiere 37, 15-23
- BERKELEY, E. V., J. F. KIRKPATRICK, N. E. SCHAFFER, W. M. BRYANT u.  
W. R. THRELFALL (1997):  
Serum and fecal steroid analysis of ovulation, pregnancy, and parturition in the black  
rhinoceros (*Diceros bicornis*).  
Zoo Biol. 16, 121-132
- BIEBLER, K. E., B. JÄGER u. J. BIBBY (1984):  
Einige Anregungen zur statistischen Bearbeitung von Beobachtungsmaterial geringen  
Umfangs.  
Z. Ärztl. Fortbild. 78, 243-247.
- BOKKENHEUSER, V. (1993):  
The friendly anaerobes.  
Clin. Infect. Dis. 16 (Suppl. 4), S427-S434
- BRETT, R. A., J. K. HODGES u. E. WANJOHI (1989):  
Assessment of reproductive status of the black rhinoceros (*Diceros bicornis*) in the  
wild.  
Symp. Zoolog. Soc. Lond. 61, 147-161
- BROTZLER, A., u. G. SCHLEUSSNER (2000):  
Giraffe-European Studbook.  
Zoologisch-Botanischer Garten Stuttgart
- BROWN, J. L., S. B. CITINO, J. SHAW u. C. MILLER (1994):  
Endocrine profiles during the estrous cycle and pregnancy in the Baird's tapir (*Tapirus  
bairdii*).  
Zoo Biol. 13, 107-117
- BUDDECKE, E. (1994):  
Hormone  
in: E. BUDDECKE (Hrsg.): Grundriss der Biochemie.  
9. Aufl., de Gruyter Verlag, Berlin, New York, S. 306-377
- BUITER, R. M., W. SCHAFTENAAR u. S. J. DIELEMAN (1992):  
Application of faecal steroid analysis to several zoo animals in the Netherlands and  
Belgium  
in: 1. Int. Symp. Faecal Steroid Monit. in Zoo Anim., Rotterdam 1992, Kongr.ber.,  
S. 21-24
- CALLE, P. P., B. L. RAPHAEL u. N. M. LOSKUTOFF (1993):  
Giraffid reproduction  
in: M. E. FOWLER (Hrsg.): Zoo and wild animal medicine.  
3. Aufl., Saunders Company, Philadelphia, S. 549-554

- CHOI, H. S. (1987):  
Immunologische Bestimmung von Sexualsteroiden zur Fertilitätskontrolle bei Rind, Schwein und Pferd.  
Wien. Tierärztl. Monatsschr. 74, 14-22, 47-56
- CLARK, J. H., E. J. PECK u. S. R. GLASSER (1977):  
Mechanism of action of sex steroid hormones in the female  
in: H. H. COLE, u. P. T. CUPPS (Hrsg.): Reproduction in domestic animals.  
3. Aufl., Academic Press, New York, San Francisco, S. 143-173
- CZEKALA, N. M., u. L. CALLISON (1996):  
Pregnancy diagnosis in the black rhinoceros (*Diceros bicornis*) by salivary hormone analysis.  
Zoo Biol. 15, 37-44
- DAGG, A. I., u. J. B. FOSTER (1976):  
The giraffe, its biology, behavior and ecology.  
Van Nostrand Company, New York, Cincinnati
- DATHE, H. H., u. B. KUCKELKORN (1992):  
Experiences in non-invasive steroid monitoring in animals of Tierpark Berlin  
in: 1. Int. Symp. Faecal Steroid Monit. in Zoo Anim., Rotterdam 1992, Kongr.ber.,  
S. 49-50
- DE BOIS, H., P. VERCAMMEN, P. IMMENS, B. VAN PUIJENBROECK u. A. A. DHONDT (1992):  
Evolution of body weight in pregnant okapis (*Okapia johnstoni*).  
Acta Zool. Pathol. Antverp. 82, 29-34
- DESAULNIERS, D. M., A. K. GOFF, K. J. BETTERIDGE, J. E. ROWELL u. P. F. FLOOD (1989):  
Reproductive hormone concentrations in faeces during the oestrous cycle and pregnancy in cattle (*Bos taurus*) and muskoxen (*Ovibos moschatus*).  
Can. J. Zool. 67, 1148-1154
- DITTRICH, L. (1967):  
Breeding the black rhinoceros at Hanover Zoo.  
Int. Zoo Yearb. 7, 161-162
- DÖBELI, M., u. K. ZEROBIN (1983):  
Pregnancy diagnosis in the cow, sheep, goat, sow and mare by progesterone measurements in blood, milk and saliva  
in: 3. Int. Symp. World Assoc. Vet. Labor. Diagnost., Ames 1983, Vol. 1, S. 127-128
- DÖCKE, F. (1994):  
Keimdrüsen  
in: F. DÖCKE (Hrsg.): Veterinärmedizinische Endokrinologie.  
3. Aufl., Fischer Verlag, Jena, Stuttgart, S. 399-508
- EDQVIST, L. E., u. M. FORSBERG (1997):  
Clinical reproductive endocrinology  
in: J. J. KANEKO, J. W. HARVEY u. M. L. BRUSS (Hrsg.): Clinical biochemistry of domestic animals.  
5. Aufl., Academic Press, San Diego, London, S. 589-617

- ESTERGREEN, V. L., M. T. LIN, E. L. MARTIN, G. E. MOSS, A. L. BRANEN, L. O. LUEDECKE u. W. SHIMODA (1977):  
Distribution of progesterone and its metabolites in cattle tissues following administration of progesterone-4-<sup>14</sup>C.  
J. Anim. Sci. 46, 642-651
- EULENBERGER, K., u. P. KÄMPFER (1994):  
Die Infrarotthermografie bei Zoo- und Wildtieren – Erste Erfahrungen.  
Verh.ber. Erkrankungen Zootiere 36, 181-183
- FRANCKE, R., u. F. SCHWARZENBERGER (1991):  
Trächtigkeitsdiagnose durch Steroidhormonanalyse aus Kotproben bei einem Spitzmaulnashorn (*Diceros bicornis*) im Zoologischen Garten Berlin  
in: H. G. KLÖS, u. R. FRESE (Hrsg.): International Studbook of African Rhinoceroses (*Diceros bicornis/ Ceratotherium simum*).  
4. Aufl., Zoologischer Garten Berlin, S. 44-48
- FRANCKE, R., F. SCHWARZENBERGER, R. GÖLTENBOTH u. H. G. KLÖS (1991):  
Zyklus- und Trächtigkeitsdiagnose durch Gestagenanalysen in Kotproben von Spitzmaulnashörnern (*Diceros bicornis*) im Zoologischen Garten Berlin.  
Reprod. Domest. Anim. 26, 190-191
- FRANK, S. (1997):  
Haltung und Krankheiten des Anoa (*Bubalus (Anoa) depressicornis*) in zoologischen Gärten unter besonderer Berücksichtigung der Fortpflanzung.  
Leipzig, Univ., Veterinärmed. Fakultät, Diss.
- GAO, Y., R. V. SHORT u. T. P. FLETCHER (1988):  
Progesterone concentrations in plasma, saliva and milk of cows in different reproductive states.  
Br. Vet. J. 144, 262-268
- GARNIER, J. N., M. W. BRUFORD u. B. GOOSSENS (2001):  
Mating system and reproductive skew in the black rhinoceros.  
Mol. Ecol. 10, 2031-2041
- GARNIER, J. N., D. I. GREEN, A. R. PICKARD, H. J. SHAW u. W. V. HOLT (1998):  
Non-invasive diagnosis of pregnancy in wild black rhinoceros (*Diceros bicornis minor*) by faecal steroid analysis.  
Reprod. Fertil. Dev. 10, 451-458
- GARNIER, J. N., W. V. HOLT u. P. F. WATSON (2002):  
Non-invasive assessment of oestrous cycles and evaluation of reproductive seasonality in the female wild black rhinoceros (*Diceros bicornis minor*).  
Reproduction 123, 877-889
- GILBERT, D. E., N. M. LOSKUTOFF, C. G. DORN, L. A. NEMEC, P. P. CALLE, D. C. KRAEMER, W. R. THRELFALL u. B. L. RAPHAEL (1988):  
Hormonal manipulation and ultrasonographic monitoring of ovarian activity in the giraffe.  
Theriogenology 29, 248

- GLATZEL, P. S. (1999):  
Zur Aussagefähigkeit von Steroidhormonen im Kot von Rindern für deren Ovarfunktionen.  
Tierärztl. Prax. 27 (G), 36-40
- GÖLTENBOTH, R. (1995):  
Nashörner  
in: R. GÖLTENBOTH, u. H. G. KLÖS (Hrsg.): Krankheiten der Zoo- und Wildtiere.  
Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin, S. 209-233
- GÖLTHENBOTH, R. (1999):  
Internationales Zuchtbuch für Afrikanische Nashörner (*Diceros bicornis/ Ceratotherium simum*).  
8. Aufl., Zoologischer Garten Berlin
- GÖLTENBOTH, R., u. R. FRANKE (1990):  
Zyklus- und Trächtigkeitsdiagnose durch Kotanalysen beim Spitzmaulnashorn, Indischen Elefanten und Okapi  
in: 10. Arbeitstag. d. Zootierärzte i. deutschspr. Raum, Basel 1990, Verh.ber., S. 25-30
- GOMBE, S., u. F. I. B. KAYANJA (1974):  
Ovarian progestins in Masai giraffe (*Giraffa camelopardalis*).  
J. Reprod. Fertil. 40, 45-50
- GOTTSCHALK, J. (1999):  
Validierte Methode zur Bestimmung von Progesteron und Oestradiol-17 $\beta$ .  
Labormitteilungen an das Institut für Tierarzneimittel Berlin GmbH
- GREED, G. R. (1967):  
Notes on the breeding of the black rhinoceros at Bristol Zoo.  
Int. Zoo Yearb. 7, 158-161
- GROH, H., K. SCHADE u. C. HÖRHOLD-SCHUBERT (1993):  
Steroid metabolism with intestinal microorganisms.  
J. Basic Microbiol. 33, 59-72
- GRUNERT, E. (1990):  
Weiblicher Geschlechtsapparat und Euter  
in: G. ROSENBERGER (Hrsg.): Die klinische Untersuchung des Rindes.  
3. Aufl., Verlag Parey, Berlin, Hamburg, S. 472-548
- GRZIMEK, B. (1988 a):  
Spitzlippennashorn  
in: B. GRZIMEK (Hrsg.): Enzyklopädie der Säugetiere.  
Kindler Verlag, München, Bd. 8, S. 297-310
- GRZIMEK, B. (1988 b):  
Waldgiraffen  
in: B. GRZIMEK (Hrsg.): Enzyklopädie der Säugetiere.  
Kindler Verlag, München, Bd. 9, S. 262-265
- HALL-MARTIN, A. J., u. I. W. ROWLANDS (1980):  
Observations on ovarian structure and development of the southern giraffe, *Giraffa camelopardalis giraffa*.  
S. Afr. J. Zool. 15, 217-221

- HALL-MARTIN, A. J., u. J. D. SKINNER (1978):  
Observations on puberty and pregnancy in female giraffe (*Giraffa camelopardalis*).  
S. Afr. J. Wildl. Res. 8, 91-94
- HALLSTROM, E. (1967):  
Notes on breeding the black rhinoceros at Sydney Zoo.  
Int. Zoo Yearb. 7, 165
- HAYS, H. R. (1967):  
Notes on breeding black rhinoceroses at Pittsburgh Zoo.  
Int. Zoo Yearb. 7, 164-165
- HEAP, R. B. (1979):  
Hormone und Gravidität  
in: C. R. AUSTIN, u. R. V. SHORT: Fortpflanzungsbiologie der Säugetiere.  
Verlag Parey, Berlin, Hamburg., Bd. 3, S. 67-92
- HEAP, R. B., M. GWYN, J. A. LAING u. D. E. WALTERS (1973):  
Pregnancy diagnosis in cows; changes in milk progesterone concentration during the  
oestrous cycle and pregnancy measured by a rapid radioimmunoassay.  
J. Agric. Sci. (Camb.) 81, 151-157
- HEISTERMANN, M., M. AGIL, A. BÜTHE u. J. K. HODGES (1998):  
Metabolism and excretion of oestradiol-17 $\beta$  and progesterone in the Sumatran  
rhinoceros (*Dicerorhinus sumatrensis*).  
Anim. Reprod. Sci. 53, 157-172
- HENNIG, A., R. SCHUBERT u. M. GRÜN (1976):  
Exkremete der Wiederkäuer und Pferde  
in: A. HENNIG, u. S. POPPE (Hrsg.): Abprodukte tierischer Herkunft als Futtermittel.  
Verlag Enke, Stuttgart, S. 164-204
- HEROLD, G. (1997):  
Untersuchungen zur Verfolgung der Sexualfunktion bei hirschartigen Tieren und dem  
Okapi (*Okapia johnstoni*) durch Progesteron- und Östrogenbestimmung aus dem Kot.  
Berlin, Freie Univ., Fachber. Veterinärmed., Diss.
- HILSBURG, S., u. K. EULENBERGER (1997):  
Infrared-thermography in zoo animals: Preliminary experiences with its use in  
mammalian pregnancy diagnosis and avian and reptilian egg control  
in: Annu. Conf. Amer. Assoc. Zoo Vet., Berlin 1997, Kongr.ber., S. 343-345
- HINDLE, J. E., W. F. COULSON, J. W. HONOUR u. J. K. HODGES (1988):  
Comparative aspects of progesterone metabolism in the rhinoceros.  
J. Reprod. Fertil., Abstr. Ser. 1, 44
- HINDLE, J. E., u. J. K. HODGES (1990):  
Metabolism of oestradiol-17 $\beta$  and progesterone in the white rhinoceros (*Ceratotherium  
simum simum*).  
J. Reprod. Fertil. 90, 571-580
- HINDLE, J. E., E. MÖSTL u. J. K. HODGES (1990):  
Measurement of urinary 20 $\alpha$ -dihydroprogesterone in the African species of rhinoceros.  
J. Reprod. Fertil., Abstr. Ser. 5, 30

- HINDLE, J. E., E. MÖSTL u. J. K. HODGES (1992):  
Measurement of urinary oestrogens and 20 $\alpha$ -dihydroprogesterone during ovarian cycles of black (*Diceros bicornis*) and white (*Ceratotherium simum*) rhinoceroses.  
J. Reprod. Fertil. 94, 237-249
- HODGES, J. K. (1985):  
The endocrine control of reproduction.  
Symp. Zool. Soc. Lond. 54, 149-168
- HODGES, J. K., u. D. I. GREEN (1989):  
The development of an enzyme-immunoassay for urinary pregnanediol-3-glucuronide and its application to reproductive assessment in exotic mammals.  
J. Zool. London 219, 89-99
- HODGES, J. K., u. J. E. HINDLE (1988):  
Comparative aspects of steroid metabolism in rhinoceroses: implications for reproductive assessment  
in: 5. World Conf. on Breed. Endangered Species in Captiv., Cincinnati 1988, Kongr.ber., S. 83-91
- HOFFMANN, B. (1977):  
Bestimmung von Steroidhormonen beim weiblichen Rind, Entwicklung von Meßverfahren und physiologischen Daten.  
Verlag Parey, Berlin, Hamburg  
(Fortschr. Veterinärmed. 26)
- HOFFMANN, B., u. R. HAMBURGER (1973):  
Progesteron in der Milch: Radioimmunologische Bestimmung, Beziehungen zur Gelbkörperfunktion und Milchfettkonzentration.  
Zuchthygiene 8, 154-162
- HOFMANN, R. R. (1989):  
Evolutionary steps of ecophysiological adaptations and diversifications of ruminants: a comparative view of their digestive system.  
Oecologia 78, 443-457
- HOLTAN, D. W., T. M. NETT u. V. L. ESTERGREEN (1975):  
Plasma progestins in pregnant, postpartum and cycling mares.  
J. Anim. Sci. 40, 251-260
- HOLTZ, W. (1992):  
Pregnancy diagnosis through faecal estrogens in goats  
in: 1. Int. Symp. Faecal Steroid Monit. Zoo Anim., Rotterdam 1992, Kongr.ber., S. 62-67
- HRADECKÝ, P. (1983 a):  
Placental morphology in African antelopes and giraffes.  
Theriogenology 20, 725-734
- HRADECKÝ, P. (1983 b):  
Some uterine parameters in antelopes and a giraffe.  
Theriogenology 20, 491-498

- KANCHEV, L. N., C. P. MARINOVA u. B. M. STANKOV (1988):  
Bovine salivary progesterone: application to the assessment of ovarian function and early pregnancy diagnosis.  
*Anim. Reprod. Sci.* 17, 1-8
- KASMAN, L. H., E. C. RAMSAY u. B. L. LASLEY (1986):  
Urinary steroid evaluations to monitor ovarian function in exotic ungulates: III. Estrone sulfate and pregnanediol-3-glucuronide excretion in the Indian rhinoceros (*Rhinoceros unicornis*).  
*Zoo Biol.* 5, 355-361
- KASSAM, A. A. H., u. B. L. LASLEY (1981):  
Estrogen excretory patterns in the Indian rhinoceros (*Rhinoceros unicornis*), determined by simplified urinary analysis.  
*Am. J. Vet. Res.* 42, 251-255
- KAYANJA F. I. B., u. L. H. BLANKENSHIP (1972):  
The ovary of the giraffe.  
*J. Reprod. Fertil.* 31, 492
- KAYANJA, F. I. B., u. L. H. BLANKENSHIP (1973):  
The ovary of the giraffe, *Giraffa camelopardalis*.  
*J. Reprod. Fertil.* 34, 305-313
- KELLAS, L. M., E. W. VAN LENNEP u. E. C. AMOROSO (1958):  
Ovaries of some foetal and prepubertal giraffes (*Giraffa camelopardalis*).  
*Nature (London)* 181, 487-488
- KIRKPATRICK, J. F., C. B. BAKER, J. W. TURNER, R. M. KENNEY u. V. K. GANJAM (1979):  
Plasma corticosteroids as an index of stress in captive feral horses.  
*J. Wildl. Manage.* 43, 801-804
- KIRKPATRICK, J. F., L. H. KASMAN, B. L. LASLEY u. J. W. TURNER (1988):  
Pregnancy determination in uncaptured feral horses.  
*J. Wildl. Manage.* 52, 305-308
- KIRKPATRICK, J. F., B. L. LASLEY u. S. E. SHIDELER (1990):  
Urinary steroid evaluations to monitor ovarian function in exotic ungulates: VII. Urinary progesterone metabolites in the Equidae assessed by immunoassay.  
*Zoo Biol.* 9, 341-348
- KIRKPATRICK, J. F., S. E. SHIDELER, B. L. LASLEY, J. W. TURNER u. N. M. CZEKALA (1992):  
Field application of faecal steroid monitoring to free-ranging wildlife  
in: 1. Int. Symp. Faecal Steroid Monit. Zoo Anim., Rotterdam 1992, Kongr.ber., S. 25-34
- KLINGLER, C. (1991):  
Zyklusdiagnose beim Rind mittels Gestagenbestimmung im Kot.  
Wien, Veterinärmed. Univ., Diss.
- KLÖPPEL, G. (1976):  
Giraffe und Okapi  
in: H. G. KLÖS, u. E. M. LANG (Hrsg.): Zootierkrankheiten.  
Verlag Parey, Berlin, Hamburg, S. 206-213

- KOCK, N., D. MORTON u. M. KOCK (1991):  
Reproductive parameters in free-ranging female black rhinoceroses (*Diceros bicornis*)  
in Zimbabwe.  
Onderstepoort J. Vet. Res. 58, 55-57
- KOOLMAN, J. (1994):  
Hormone  
in: P. KARLSON, D. DOENECKE u. J. KOOLMAN (Hrsg.): Kurzes Lehrbuch der  
Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler.  
14. Aufl., Thieme Verlag, Stuttgart, New York, S. 417-467
- KOULISCHER, L. (1978):  
Mammalian chromosomes. X. The chromosomes of a female specimen of *Okapia  
johnstoni*.  
Acta Zool. Pathol. Antverp. 71, 87-92
- KOULISCHER, L., J. TIJSKENS u. J. MORTELMANS (1971):  
Mammalian cytogenetics. V. The chromosomes of a female giraffe.  
Acta Zool. Pathol. Antverp. 52, 93-95
- KRISHNE GOWDA, C. D. (1967):  
Breeding the black rhinoceros at Mysore zoo.  
Int. Zoo Yearb. 7, 163-164
- KRUMBIEGEL, I. (1971):  
Die Giraffe.  
Ziemsen Verlag, Wittenberg
- KUCKELKORN, B., u. H. H. DATHE (1990):  
Trächtigkeitsdiagnose beim Panzernashorn (*Rhinoceros unicornis*) anhand von  
Progesteronbestimmungen im Speichel.  
Zool. Gart. N.F. 60, 333-340
- LANCE, V. A., M. L. PATTON u. L. R. HAGEY (2001):  
Identification of a series of C<sub>21</sub>O<sub>2</sub> pregnanes from fecal extracts of a pregnant black  
rhinoceros (*Diceros bicornis minor*).  
Steroids 66, 875-881
- LANG, E. M. (1955):  
Beobachtungen während zweier Giraffengeburt.  
Säugetierkundl. Mitt. 3, 1-5
- LARSEN, D. G., u. D. A. GAUTHIER (1989):  
Effects of capturing pregnant moose and calves on calf survivorship.  
J. Wildl. Manage. 53, 564-567
- LARTER, N. C., R. RAJAMAHENDRAN u. K. SIVAKUMARAN (1994):  
Immunoreactive faecal progestins as indicators of reproductive status.  
Vet. Rec. 134, 474-475
- LASLEY, B. L. (1980):  
Endocrine research advances in breeding endangered species.  
Int. Zoo Yearb. 20, 166-170

- LASLEY, B. L., u. S. E. SHIDELER (1993):  
Methods for assessing reproduction in nondomestic species  
in: M. E. FOWLER (Hrsg.): Zoo and wild animal medicine.  
3. Aufl., Saunders Company, Philadelphia, S. 79-86
- LASLEY, B. L., L. H. KASMAN, N. M. LOSKUTOFF, N. M. CZEKALA u.  
L. WALKER (1984):  
An update on endocrine monitoring of reproductive physiology  
in: Annu. Meet. Amer. Assoc. Zoo Vet., Louisville 1984, Abstr. or Pap., S. 165-167
- LASLEY, B. L., u. J. F. KIRKPATRICK (1991):  
Monitoring ovarian function in captive and free-ranging wildlife by means of urinary  
and fecal steroids.  
J. Zoo Wildl. Med. 22, 23-31
- LIMPACH, J. (1985):  
Metabolisierung und Nachweis von Östrogenen im Kot von Rindern.  
Wien. Tierärztl. Monatsschr. 72, 317-318
- LÖFFLER, G. (1998):  
Endokrines Gewebe I: Grundlagen der endokrinen Regulation von Lebensvorgängen  
in: G. LÖFFLER, u. P. E. PETRIDES (Hrsg.): Biochemie und Pathobiochemie.  
6. Aufl., Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, S. 761-783
- LOSKUTOFF, N. M., J. E. OTT u. B. L. LASLEY (1981):  
Monitoring the reproductive status of the okapi (*Okapia johnstoni*)  
in: Amer. Assoc. Zoo Vet., Seattle 1981, Annu. Proc., S. 149
- LOSKUTOFF, N. M., J. E. OTT u. B. L. LASLEY (1982):  
Urinary steroid evaluations to monitor ovarian function in exotic ungulates: I.  
Pregnanediol-3-glucuronide immunoreactivity in the okapi (*Okapia johnstoni*).  
Zoo Biol. 1, 45-53
- LOSKUTOFF, N. M., J. E. OTT u. B. L. LASLEY (1983):  
Strategies for assessing ovarian function in exotic species.  
J. Zoo Anim. Med. 14, 3-12
- LOSKUTOFF, N. M., B. L. RAPHAEL, C. G. DORN, L. A. NEMEC, P. P. CALLE,  
A. M. PETRIC u. D. C. KRAEMER (1988):  
Comparative reproductive traits of the okapi and giraffe: Implications for intraspecific  
and intergeneric embryo transfer.  
Acta Zool. Pathol. Antverp. 80, 29-42
- LOSKUTOFF, N. M., L. WALKER, J. E. OTT-JOSLIN, B. L. RAPHAEL u. B. L.  
LASLEY (1986):  
Urinary steroid evaluations to monitor ovarian function in exotic ungulates: II.  
Comparison between the giraffe (*Giraffa camelopardalis*) and the okapi (*Okapia  
johnstoni*).  
Zoo Biol. 5, 331-338
- MASUNDA, B., C. MUTISI, H. HAMUDIKUWANDA u. J. G. O. AGUMBAH  
(1999):  
The concentration of faecal progestins during the oestrous cycle in Nkone cows and the  
effect of duration of storage of faecal samples at room temperature on faecal progestin  
levels.  
Trop. Anim. Health Prod. 31, 373-381

- MATERN, B., u. G. KLÖPPEL (1995):  
Giraffe und Okapi  
in: R. GÖLTENBOTH u. H. G. KLÖS (Hrsg.): Krankheiten der Zoo- und Wildtiere.  
Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin, S. 284-299
- MEINECKE, B. (2000):  
Reproduktion beim weiblichen Tier  
in: W. VON ENGELHARDT, u. G. BREVES: Physiologie der Haustiere.  
Enke im Hippokrates Verlag, Stuttgart, S. 514-537
- MEYER, H. H. D. (1989):  
Enzymimmunologische Meßverfahren zur Hormonanalytik.  
Verlag Enke, Stuttgart
- MEYER, H. H. D. (1992):  
Latest developments in steroid EIA  
in: 1. Int. Symp. Faecal Steroid Monit. Zoo Anim., Rotterdam 1992, Kongr.ber., S. 2-4
- MONFORT, S. L., C. M. WEMMER, J. L. BROWN u. D. E. WILDT (1990):  
Use of urinary hormone assays for evaluating endocrine patterns associated with the long-day breeding season in Eld's deer (*Cervus eldi*).  
J. Exp. Zool. Suppl. 4, 215-218
- MONK, E. L., R. E. ERB u. T. A. MOLLETT (1974):  
Relationships between immunoreactive estrone and estradiol in milk, blood, and urine of dairy cows.  
J. Dairy Sci. 58, 34-40
- MÖSTL, E. (1992):  
Measuring steroids in faeces of mammals to monitor the reproductive status: success and disappointment  
in: 1. Int. Symp. Faecal Steroid Monit. Zoo Anim., Rotterdam 1992, S. 5-9
- MÖSTL, E. (2000):  
Spezielle Endokrinologie  
in: W. VON ENGELHARDT, u. G. BREVES: Physiologie der Haustiere.  
Enke im Hippokrates Verlag, Stuttgart, S. 497-514
- MÖSTL, E., H. S. CHOI, W. WURM u. E. BAMBERG (1983):  
Trächtigkeitsdiagnose beim Rind mittels Östrogenbestimmung im Kot.  
Wien. Tierärztl. Monatsschr. 70, 60-61
- MÖSTL, E., S. MESSMANN, E. BAGU, C. ROBIA u. R. PALME (1999):  
Measurement of glucocorticoid metabolite concentrations in faeces of domestic livestock.  
Zentralbl. Veterinärmed. A 46, 621-631
- MUKINYA, J. G. (1973):  
Density, distribution, population structure and social organization of the black rhinoceros in Masai Mara Game Reserve.  
E. Afr. Wildl. J. 11, 385-400
- NALETOSKI, I. (1993):  
Influence of diet on the excretion of oestrogens and gestagens in the faeces of pregnant sows.  
Wien, Veterinärmed. Univ., Diss.

- NEUMANN, F. (1977):  
Sexualhormone  
in: O. H. GAUER, K. KRAMER u. R. JUNG (Hrsg.): Physiologie des Menschen.  
Verlag Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Bd. 19, S. 213-316
- PALME, R., P. FISCHER u. M. N. ISMAIL (1993):  
Faecal and urinary excretion of  $^{14}\text{C}$ -steroids in sheep.  
J. Reprod. Fertil., Abstr. Ser. 11, 92
- PALME, R., P. FISCHER, H. SCHILDORFER u. M. N. ISMAIL (1996):  
Excretion of infused  $^{14}\text{C}$ -steroid hormones via faeces and urine in domestic livestock.  
Anim. Reprod. Sci. 43, 43-63
- PALME, R., C. KLINGLER u. F. SCHWARZENBERGER (1991):  
Hormonanalytische Untersuchungen zur Gelbkörperfunktion.  
Wien. Tierärztl. Monatsschr. 78, 324-326
- PALME, R., E. MÖSTL, G. BREM, K. SCHELLANDER u. E. BAMBERG (1997):  
Faecal metabolites of infused  $^{14}\text{C}$ -progesterone in domestic livestock.  
Reprod. Domest. Anim. 32, 199-206
- PATTON, M. L., N. CZEKALA, V. A. LANCE u. L. R. HAGEY (1996):  
Progesterone metabolites in the feces of free-ranging female southern African black rhinoceroses (*Diceros bicornis minor*).  
Biol. Reprod. 54 (Suppl. 1), A305
- PETRIDES, P. E. (1998):  
Endokrines Gewebe III: Hypothalamisch-hypophysäres System und Zielgewebe  
in: G. LÖFFLER, u. P. E. PETRIDES (Hrsg.): Biochemie und Pathobiochemie.  
6. Aufl., Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, S. 813-854
- RABB, G. B. (1978):  
Birth, early behavior and clinical date on the okapi.  
Acta Zool. Pathol. Antverp. 71, 93-105
- RADCLIFFE, R. W., N. M. CZEKALA u. S. A. OSOFSKY (1997):  
Combined serial ultrasonography and fecal progestin analysis for reproductive evaluation of the female white rhinoceros (*Ceratotherium simum simum*): preliminary results.  
Zoo Biol. 16, 445-456
- RADCLIFFE, R. W., A. I. EYRES, M. L. PATTON, N. M. CZEKALA u. R. H. EMSLIE (2001):  
Ultrasonographic characterization of ovarian events and fetal gestational parameters in two southern black rhinoceros (*Diceros bicornis minor*) and correlation to fecal progesterone.  
Theriogenology 55, 1033-1049
- RAMSAY, E. C., L. H. KASMAN u. B. L. LASLEY (1987):  
Urinary steroid evaluations to monitor ovarian function in exotic ungulates: V. Estrogen and pregnanediol-3-glucuronide excretion in the black rhinoceros (*Diceros bicornis*).  
Zoo Biology 6, 275-282
- REUTHER, R. T., u. J. DOHERTY (1968):  
Birth seasons of mammals at San Francisco Zoo.  
Int. Zoo Yearb. 8, 97-101

- RITCHIE, A. T. A. (1963):  
The black rhinoceros (*Diceros bicornis l.*).  
E. Afr. Wildl. J. 1, 52-62
- ROBINSON, H. G. N., W. D. GRIBBLE, W. G. PAGE u. G. W. JONES (1965):  
Notes on the birth of a reticulated giraffe, *Giraffa camelopardalis antiquorum*.  
Int. Zoo Yearb. 5, 49-52
- ROTH, T. L., J. K. O'BRIEN, M. A. MCRAE, A. C. BELLEM, S. J. ROMO, J. L. KROLL u. J. L. BROWN (2001):  
Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian cycle and early pregnancy in the Sumatran rhinoceros, *Dicerorhinus sumatrensis*.  
J. Reprod. Fertil. 121, 139-149
- SCHAFFER, N. E., Z. ZAINAL-ZAHARI, M. S. M. SURI, M. R. JAINUDEEN u. R. S. JEYENDRAN (1994):  
Ultrasonography of the reproductive anatomy in the Sumatran rhinoceros (*Dicerorhinus sumatrensis*).  
J. Zoo Wildl. Med. 25, 337-348
- SCHALLENBERGER, E. (1993):  
Neuroendokrine Regulation der Fortpflanzung  
in: W. BUSCH, u. J. SCHULZ (Hrsg.): Geburtshilfe bei Haustieren.  
Fischer Verlag, Jena, Stuttgart, S. 35-55
- SCHENKEL, R. (1988 a):  
Asiatische Nashörner  
in: B. GRZIMEK (Hrsg.): Enzyklopädie der Säugetiere.  
Kindler Verlag, München, Bd. 8, S. 311-318
- SCHENKEL, R. (1988 b):  
Breitlippennashorn  
in: B. GRZIMEK (Hrsg.): Enzyklopädie der Säugetiere.  
Kindler Verlag, München, Bd. 8, S. 293-296
- SCHENKEL, R. (1988 c):  
Nashörner, Einleitung  
in: B. GRZIMEK (Hrsg.): Enzyklopädie der Säugetiere.  
Kindler Verlag, München, Bd. 8, S. 286-292
- SCHLENKER, G., C. BIRKELBACH u. P. S. GLATZEL (1999):  
Verlaufsuntersuchungen zum Temperatureinfluß auf die Stabilität von Sexualsteroiden im Kot von Kühen.  
Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. 112, 459-464
- SCHLENKER, G., W. MÜLLER u. P. GLATZEL (1998):  
Verlaufsuntersuchungen zur Stabilität von Sexualsteroiden im Kot von Kühen über 12 Wochen.  
Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. 111, 248-252
- SCHLOTT, M. (1952):  
Erfahrungen bei der Giraffenzucht.  
Zool. Gart. N. F. 19, 171-180

- SCHWARZENBERGER, F. (1989):  
Radioimmunoassay von Gestagenen im Kot von Stuten während des Zyklus.  
Wien, Veterinärmed. Univ., Diss.
- SCHWARZENBERGER, F., R. FRANCKE u. R. GÖLTENBOTH (1993 a):  
Concentrations of faecal immunoreactive progestagen metabolites during the oestrous cycle and pregnancy in the black rhinoceros (*Diceros bicornis michaeli*).  
J. Reprod. Fertil. 98, 285-291
- SCHWARZENBERGER, F., E. MÖSTL, E. BAMBERG, J. PAMMER u. O. SCHMEHLIK (1991):  
Concentrations of progestagens and oestrogens in the faeces of pregnant lipizzan, trotter and thoroughbred mares.  
J. Reprod. Fertil., Suppl. 44, 489-499
- SCHWARZENBERGER, F., E. MÖSTL, E. BAMBERG u. G. VON HEGEL (1988):  
Gestagens in mare faeces during the oestrous cycle.  
J. Reprod. Fertil., Abstr. Ser. 2, 43
- SCHWARZENBERGER, F., E. MÖSTL, E. BAMBERG u. G. VON HEGEL (1992):  
Monitoring of corpus luteum function by measuring progestagens in faeces of non-pregnant mares (*Equus caballus*) and Przewalski mares (*Equus przewalskii*).  
Anim. Reprod. Sci. 29, 263-273
- SCHWARZENBERGER, F., E. MÖSTL, R. PALME u. E. BAMBERG (1996 a):  
Faecal steroid analysis for non-invasive monitoring of reproductive status in farm, wild and zoo animals.  
Anim. Reprod. Sci. 42, 515-526
- SCHWARZENBERGER, F., M. PATZL, R. FRANCKE, A. OCHS, R. BUITER, W. SCHAFTENAAR u. W. DE MEURICHY (1993 b):  
Fecal progestagen evaluations to monitor the estrous cycle and pregnancy in the okapi (*Okapi johnstoni*).  
Zoo Biol. 12, 549-559
- SCHWARZENBERGER, F., W. RIETSCHHEL, B. MATERN, W. SCHAFTENAAR, P. BIRCHER, B. VAN PUIJENBROECK u. K. LEUS (1999):  
Noninvasive reproductive monitoring in the okapi (*Okapia johnstoni*).  
J. Zoo. Wildl. Med. 30, 497-503
- SCHWARZENBERGER, F., W. RIETSCHHEL, J. VAHALA, D. HOLECKOVA, P. THOMAS, J. MALTZAN, K. BAUMGARTNER u. W. SCHAFTENAAR (2000):  
Fecal progesterone, estrogen, and androgen metabolites for noninvasive monitoring of reproductive function in the female Indian rhinoceros, *Rhinoceros unicornis*.  
Gen. Comp. Endocrinol. 119, 300-307
- SCHWARZENBERGER, F., C. H. SON, R. PRETTING u. K. ARBEITER (1996 b):  
Use of group-specific antibodies to detect fecal progesterone metabolites during the estrous cycle of cows.  
Theriogenology 46, 23-32
- SCHWARZENBERGER, F., K. TOMASOVA, D. HOLECKOVA, B. MATERN u. E. MÖSTL (1996 c):  
Measurement of fecal steroids in the black rhinoceros (*Diceros bicornis*) using group-specific enzyme immunoassays for 20-oxo-pregnanes.  
Zoo Biol. 15, 159-171

- SCHWARZENBERGER, F., K. TOMASOVA, D. HOLECKOVA, A. OCHS, B. MATERN u. E. MÖSTL (1994 a):  
Improved non-invasive monitoring of reproductive steroids in feces of the black rhinoceros (*Diceros bicornis michaeli*): Application of specific enzyme-immunoassays for 5 $\alpha$ - and 5 $\beta$ -reduced 20-oxo-progestagens  
in: 6. Congr. Int. Soc. Anim. Clin. Biochem., Guelph 1994, Kongr.ber., S. 162
- SCHWARZENBERGER, F., K. TOMASOVA, C. WALZER u. E. MÖSTL (1994 b):  
Preliminary results of fecal progestagen evaluations in the white rhinoceros (*Ceratotherium simum*) indicate an estrous cycle length of about 10 weeks.  
Biol. Reprod. 50 (Suppl. 1), 171
- SCHWARZENBERGER, F., u. C. WALZER (1995):  
Oestrous cycle induction in a white rhinoceros (*Ceratotherium simum simum*) monitored by fecal progestagen analysis.  
Verh.ber. Erkrankungen Zootiere 37, 79-83
- SCHWARZENBERGER, F., C. WALZER, K. TOMASOVA, J. VAHALA, J. MEISTER, K. L. GOODROWE, J. ZIMA, G. STRAUSS u. M. LYNCH (1998):  
Faecal progesterone metabolite analysis for non-invasive monitoring of reproductive function in the white rhinoceros (*Ceratotherium simum*).  
Anim. Reprod. Sci. 53, 173-190
- STUPNICKI, R., J. A. MCCRACKEN u. K. I. H. WILLIAMS (1969):  
Progesterone metabolism in the ewe.  
J. Endocrinol. 45, 67-74
- TAYLOR, W. (1971):  
The excretion of steroid hormone metabolites in bile and feces.  
Vitam. Horm. 29, 201-285
- TEARE, J. A., u. J. A. FRENCH (1984):  
Serum progesterone levels in captive giraffe  
in: Annu. Meet. Amer. Assoc. Zoo Vet., Louisville 1984, Abstr. or Pap., S. 182
- THOMPSON, K. V., K. L. MASHBURN u. S. L. MONFORT (1998):  
Characterization of estrous cyclicity in the sable antelope (*Hippotragus niger*) through fecal progestagen monitoring.  
Gen. Comp. Endocrinol. 112, 129-137
- TRÄGER, L. (1977):  
Steroidhormone. Biosynthese, Stoffwechsel, Wirkung.  
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg
- URICH, K. (1990):  
Sterine und Steroide  
in: K. URICH (Hrsg.): Vergleichende Biochemie der Tiere.  
Fischer Verlag, Stuttgart, New York, S. 560-590
- WAGNER, R. A. (1986):  
Monitoring the reproductive cycle of one southern white rhinoceros  
in: Annu. Meet. Amer. Assoc. of Zoo Vet., Chicago 1986, Kongr.ber., S. 14-15

- WASSER, S. K., S. L. MONFORT, J. SOUTHERS u. D. E. WILDT (1994):  
Excretion rates and metabolites of oestradiol and progesterone in baboon (*Papio cynocephalus cynocephalus*) faeces.  
J. Reprod. Fertil. 101, 213-220
- WASSER, S. K., L. RISLER u. R. A. STEINER (1988):  
Excreted steroids in primate feces over the menstrual cycle and pregnancy.  
Biol. Reprod. 39, 862-872
- WASSER, S. K., R. THOMAS, P. P. NAIR, C. GUIDRY, J. SOUTHERS, J. LUCAS, D. E. WILDT u. S. L. MONFORT (1993):  
Effects of dietary fibre on faecal steroid measurements in baboons (*Papio cynocephalus cynocephalus*).  
J. Reprod. Fertil. 97, 569-574
- WATSON, P. F., u. T. E. GLOVER (1980):  
The domestic animal model as a basis artificial breeding in non-domestic animals  
in: 9. Int. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem., Madrid 1980, Vol. 2, S. 549-557
- WERNER, H. (1974):  
Zur physiologischen und pathogenen Bedeutung intestinaler Bacteriodaceen.  
Zentralbl. Bakteriol. Abt. 1, Ref. 240, 423-424
- WILKINSON, J. F., u. P. DE FREMERY (1940):  
Gonodotropic hormones in the urine of the giraffe.  
Nature (London) 146, 491
- WILLIAMS, W. F. (1962):  
Excretion of progesterone and its metabolites in milk, urine and feces.  
J. Dairy Sci. 45, 1541-1542
- WINTER, J., u. V. D. BOKKENHEUSER (1987):  
Bacterial metabolism of natural and synthetic sex hormones undergoing enterhepatic circulation.  
J. Steroid Biochem. 27, 1145-1149
- WITTKE, G. u. E. PFEFFER (1984):  
Reproduktionssystem  
in: G. WITTKE, u. E. PFEFFER (Hrsg.): Physiologie der Haustiere.  
2. Aufl., Verlag Parey, Berlin, Hamburg, S. 129-147
- YAMAMOTO, S. (1967):  
Notes on the breeding of black rhinoceroses at Kobe Zoo.  
Int. Zoo Yearb. 7, 163
- YU, S. J., u. F. D. LI (2001):  
Profiles of plasma progesterone before and at the onset of puberty in yak heifers.  
Anim. Reprod. Sci. 65, 67-73
- ZIEGLER, T. E., G. SCHEFFLER, D. J. WITWER, N. SCHULTZ-DARKEN, C. T. SNOWDON u. D. H. ABBOTT (1996):  
Metabolism of reproductive steroids during the ovarian cycle in two species of callitrichids, *Saguinus oedipus* and *Callithrix jacchus*, and estimation of the ovulatory period from fecal steroids.  
Biol. Reprod. 54, 91-99

## 9 ANHANG

## 9.1 Einzelwerte im Rahmen der Prüfung auf Stabilität von Gestagenen im Kot

Tabelle I: Trockenmassegehalte einzelner Kotproben bei den 3 untersuchten Spezies

	Proben-Nr.	Trockenmasse (in %)		Proben-Nr.	Trockenmasse (in %)		Proben-Nr.	Trockenmasse (in %)
	Rothschildgiraffen	1		37	Spitzmaulnashörner		1	22
2		46	2	27		2	65	
3		39	3	22		3	59	
4		36	4	22		4	55	
5		43	5	25		5	58	
6		45	6	27		6	64	
7		42	7	19		7	65	
8		41	8	24		8	64	
9		46	9	26		9	68	
				10		28		

Tabelle II: Gestagenkonzentrationen einzelner Kotproben (in ng/g) zu verschiedenen Einfrierzeitpunkten bei den 3 untersuchten Spezies

	Proben-Nr.	0 Stunden	24 Stunden	48 Stunden
Rothschildgiraffen	1	1355	1380	1846
	2	1430	1440	1635
	3	1055	1162	1670
	4	936	1008	1175
	5	806	951	728
	6	132	466	614
	7	126	205	170
	8	85	230	183
	9	47	126	79
	10	82	173	227
Spitzmaulnashörner	1	76	91	107
	2	69	110	126
	3	82	126	117
	4	79	113	126
	5	63	126	107
	6	57	88	139
	7	63	88	192
	8	66	104	186
	9	57	167	117
	10	66	117	117

Fortsetzung nächste Seite

## Fortsetzung von Tabelle II

	Proben-Nr.	0 Stunden	24 Stunden	48 Stunden
Schneeziëgen	1	1137	1777	1663
	2	895	1777	1912
	3	680	1821	1865
	4	1714	1805	1824
	5	1821	1751	1966
	6	2007	1988	2095
	7	1578	1997	2120
	8	1969	1928	1792
	9	2378	1963	2035
	10	2114	1988	2129

Tabelle III: Gestagenkonzentrationen einzelner Kotproben (in ng/g) nach verschiedenen Lagerungszeiträumen bei - 20 °C bei den 3 untersuchten Spezies

	Proben-Nr.	1 Woche	1 Monat	3 Monate
Rothschildgiraffen	1	1613	1323	577
	2	1978	1468	1298
	3	1969	1685	948
	4	1862	1380	1295
	5	170	142	129
	6	132	142	161
	7	369	148	176
	8	236	230	230
	9	167	151	142
Spitzmaulnashörner	1	104	113	117
	2	66	85	82
	3	47	82	85
	4	95	91	91
	5	73	73	32
	6	41	41	50
	7	82	85	57
	8	73	79	66
	9	117	73	73
Damagazellen	1	180	129	129
	2	164	161	126
	3	192	334	403
	4	302	265	277
	5	403	359	419
	6	558	592	498
	7	690	740	384
	8	1846	208	221
	9	173	183	164
	10	170	170	164

Tabelle IV: Gestagenkonzentrationen einzelner Kotproben (in ng/g) nach unterschiedlich häufigem Auftauen bei den 3 untersuchten Spezies

	Proben-Nr.	einmalig	dreimalig
Rothschildgiraffen	1	1172	920
	2	1440	1481
	3	1468	1610
	4	1188	1238
	5	1115	942
	6	136	113
	7	136	104
	8	277	205
	9	195	170
	10	230	154
Spitzmaulnashörner	1	107	82
	2	104	98
	3	173	104
	4	189	91
	5	173	120
	6	132	88
	7	104	88
	8	170	85
	9	98	63
	10	110	126
Damagazellen	1	173	126
	2	825	554
	3	400	397
	4	855	608
	5	205	170
	6	186	132
	7	501	406
	8	788	536
	9	608	517
	10	772	558

## 9.2 Einzelwerte der Gestagenkonzentrationen im Kot zur Reproduktionskontrolle bei Giraffen

Tabelle V: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) der Rothschildgiraffe "Etoscha" während des Zyklus

Datum	Zyklus-tag	Gestagene	Beobachtungen	Datum	Zyklus-tag	Gestagene	Beobachtungen
15.01.00	-6	1134		27.01.00	6	1032	
16.01.00	-5	1358		28.01.00	7	1173	
17.01.00	-4	287		29.01.00	8	995	
18.01.00	-3	255		30.01.00	9	1443	
19.01.00	-2	151		31.01.00	10	180	Paarung
20.01.00	-1	154		01.02.00	11	162	
21.01.00	0	198		02.02.00	12	151	
22.01.00	1	189		03.02.00	13	153	
23.01.00	2	161		04.02.00	14	142	
24.01.00	3	221		05.02.00	15	184	
25.01.00	4	523		06.02.00	16	205	
26.01.00	5	931		07.02.00	17	202	

Tabelle VI: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) der Giraffe "Gunda" während des Zyklus

Datum	Zyklus-tag	Gestagene	Beobachtungen	Datum	Zyklus-tag	Gestagene	Beobachtungen
18.12.99	-17	164		05.01.00	1	222	
19.12.99	-16	145		06.01.00	2	199	
20.12.99	-15	173		07.01.00	3	230	
21.12.99	-14	205		08.01.00	4	280	
22.12.99	-13	170		09.01.00	5	413	
23.12.99	-12	224		10.01.00	6	570	
24.12.99	-11	277		11.01.00	7	817	
25.12.99	-10	391		12.01.00	8	825	
26.12.99	-9	513		13.01.00	9	1005	
27.12.99	-8	572		14.01.00	10	767	
28.12.99	-7	743		15.01.00	11	383	
29.12.99	-6	769		16.01.00	12	184	
30.12.99	-5	907		17.01.00	13	180	
31.12.99	-4	252		18.01.00	14	192	
01.01.00	-3	219		19.01.00	15	192	
02.01.00	-2	175		20.01.00	-14	198	
03.01.00	-1	174		21.01.00	-13	233	
04.01.00	0	206		22.01.00	-12	274	

Fortsetzung nächste Seite

## Fortsetzung von Tabelle VI

Datum	Zyklus- tag	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Zyklus- tag	Gestagene	Beobach- tungen
23.01.00	-11	400		03.02.00	0	161	
24.01.00	-10	531		04.02.00	1	150	
25.01.00	-9	646		05.02.00	2	183	
26.01.00	-8	879		06.02.00	3	236	
27.01.00	-7	775		07.02.00	4	347	
28.01.00	-6	797		08.02.00	5	480	
29.01.00	-5	428		09.02.00	6	674	
30.01.00	-4	699		10.02.00	7	1008	
31.01.00	-3	170		11.02.00	8	1014	
01.02.00	-2	156		12.02.00	9	1002	
02.02.00	-1	153					

Tabelle VII: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) der Giraffe "Hanna" während des Zyklus

Datum	Zyklus- tag	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Zyklus- tag	Gestagene	Beobach- tungen
26.05.00	-16	113		11.06.00	0	142	
28.05.00	-14	274		12.06.00	1	129	
29.05.00	-13	284		13.06.00	2	148	
30.05.00	-12	321		14.06.00	3	668	
31.05.00	-11	340		15.06.00	4	1139	
01.06.00	-10	680		16.06.00	5	980	
02.06.00	-9	523		17.06.00	6	1525	
03.06.00	-8	828		18.06.00	7	1121	
04.06.00	-7	1534		19.06.00	8	802	
05.06.00	-6	780		20.06.00	9	810	
06.06.00	-5	529		21.06.00	10	624	
07.06.00	-4	611		22.06.00	11	173	
08.06.00	-3	520		25.06.00	14	224	
09.06.00	-2	391		26.06.00	15	208	
10.06.00	-1	148		27.06.00	16	526	

Tabelle VIII: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) der Rothschildgiraffe "Jubilee" während des Zyklus

Datum	Zyklus- tag	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Zyklus- tag	Gestagene	Beobach- tungen
22.04.99	-16	95		14.01.01	11	639	
28.04.99	-10	444		15.01.01	12	756	
30.04.99	-8	838		16.01.01	13	265	
02.05.99	-6	734		17.01.01	14	225	
04.05.99	-4	504		18.01.01	15	230	
06.05.99	-2	98		19.01.01	-14	400	
08.05.99	0	132		20.01.01	-13	321	
10.05.99	2	91		21.01.01	-12	558	
12.05.99	4	236		22.01.01	-11	789	
14.05.99	6	627		23.01.01	-10	841	
16.05.99	8	1203		24.01.01	-9	1106	
18.05.99	10	936		25.01.01	-8	1210	
20.05.99	12	668		26.01.01	-7	1156	
22.05.99	14	129		27.01.01	-6	1284	
24.05.99	16	148		28.01.01	-5	507	Paarung
18.12.00	-16	243		29.01.01	-4	189	
19.12.00	-15	277		30.01.01	-3	186	
20.12.00	-14	265		31.01.01	-2	180	
21.12.00	-13	874		01.02.01	-1	655	
22.12.00	-12	1367		02.02.01	0	195	
23.12.00	-11	920		03.02.01	1	586	
24.12.00	-10	1340		04.02.01	2	252	
25.12.00	-9	1109		05.02.01	3	359	
26.12.00	-8	1443		06.02.01	4	857	
27.12.00	-7	1566		07.02.01	5	1640	
28.12.00	-6	665		08.02.01	6	1515	
29.12.00	-5	457		10.02.01	8	1770	
30.12.00	-4	324		11.02.01	9	1566	
31.12.00	-3	271		12.02.01	10	488	Paarung
01.01.01	-2	666		13.02.01	11	287	
02.01.01	-1	662		14.02.01	12	233	
03.01.01	0	359		15.02.01	13	315	
04.01.01	1	589		16.02.01	14	657	
05.01.01	2	723		17.02.01	15	610	
06.01.01	3	520		18.02.01	-13	252	
08.01.01	5	914		19.02.01	-12	466	
09.01.01	6	1125		20.02.01	-11	95	
10.01.01	7	1358		21.02.01	-10	444	
11.01.01	8	1414		22.02.01	-9	838	
12.01.01	9	1263	Brunst	23.02.01	-8	734	
13.01.01	10	1386		24.02.01	-7	504	

Fortsetzung nächste Seite

## Fortsetzung von Tabelle VIII

Datum	Zyklus- tag	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Zyklus- tag	Gestagene	Beobach- tungen
25.02.01	-6	1440		08.04.01	8	1188	
26.02.01	-5	1304	Brunst?	09.04.01	9	1247	
27.02.01	-4	1413		10.04.01	10	1332	
28.02.01	-3	1049		11.04.01	11	869	Brunst
01.03.01	-2	400		12.04.01	12	258	Brunst
02.03.01	-1	397		13.04.01	13	268	
03.03.01	0	373		14.04.01	14	246	
04.03.01	1	321		15.04.01	15	644	
05.03.01	2	447		16.04.01	-14	243	
06.03.01	3	520		17.04.01	-13	181	
07.03.01	4	803		18.04.01	-12	304	
08.03.01	5	1156		19.04.01	-11	605	
09.03.01	6	1137		20.04.01	-10	806	
10.03.01	7	1503		21.04.01	-9	1203	
11.03.01	8	1402		22.04.01	-8	1236	
12.03.01	9	1635		23.04.01	-7	1011	
13.03.01	10	649	Schleim- abgang	24.04.01	-6	1321	
				25.04.01	-5	1299	
14.03.01	11	309		26.04.01	-4	605	Brunst
15.03.01	12	216		27.04.01	-3	290	
16.03.01	13	463		28.04.01	-2	432	
17.03.01	14	260		29.04.01	-1	425	
18.03.01	-13	306		30.04.01	0	347	
20.03.01	-11	334		01.05.01	1	392	
22.03.01	-9	501		02.05.01	2	619	
23.03.01	-8	958		03.05.01	3	1414	
24.03.01	-7	1303		04.05.01	4	739	
25.03.01	-6	1274		05.05.01	5	1688	
26.03.01	-5	1829		06.05.01	6	1273	
27.03.01	-4	1915		07.05.01	7	953	
28.03.01	-3	296	Brunst	08.05.01	8	1043	
29.03.01	-2	282		09.05.01	9	1531	
30.03.01	-1	290		10.05.01	10	1383	
31.03.01	0	252		11.05.01	11	1093	Paarung
01.04.01	1	269		12.05.01	12	438	
02.04.01	2	616		13.05.01	13	277	
03.04.01	3	419		14.05.01	14	320	
04.04.01	4	614		15.05.01	15	293	
05.04.01	5	1024		16.05.01	-14	271	
06.04.01	6	970		17.05.01	-13	411	
07.04.01	7	1145		18.05.01	-12	709	

Fortsetzung nächste Seite

## Fortsetzung von Tabelle VIII

Datum	Zyklus- tag	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Zyklus- tag	Gestagene	Beobach- tungen
19.05.01	-11	983		30.07.01	-2	1216	
20.05.01	-10	1592		01.08.01	0	295	
21.05.01	-9	1334		03.08.01	2	1109	
22.05.01	-8	1452		08.08.01	7	1532	
23.05.01	-7	1682		10.08.01	9	1402	
25.05.01	-5	1547		13.08.01	12	1216	
26.05.01	-4	762	Brunst	15.08.01	14	1369	
27.05.01	-3	572		17.08.01	16	910	
28.05.01	-2	622		07.12.01	-10	195	
29.05.01	-1	680		10.12.01	-7	225	
30.05.01	0	277		12.12.01	-5	537	
31.05.01	1	529		14.12.01	-3	441	
01.06.01	2	343		17.12.01	0	217	
02.06.01	3	965		19.12.01	2	816	
03.06.01	4	1073		21.12.01	4	1970	
04.06.01	5	1350		24.12.01	7	1452	
05.06.01	6	1332		26.12.01	9	873	
06.06.01	7	1534		31.12.01	14	230	
08.06.01	9	1569		02.01.02	-13	232	
09.06.01	10		Brunst	04.01.02	-11	466	
11.06.01	12	272		07.01.02	-8	1392	
13.06.01	14	265		09.01.02	-6	1627	
15.06.01	16	945		11.01.02	-4	1879	
16.07.01	-16	277		14.01.02	-1	203	
17.07.01	-15	860		16.01.02	1	167	
18.07.01	-14	381		18.01.02	3	348	
20.07.01	-12	1342		21.01.02	6	857	
23.07.01	-9	1273		23.01.02	8	1440	
25.07.01	-7	1474		25.01.02	10	1488	
27.07.01	-5	1373		28.01.02	13	690	
28.07.01	-4	1125	Brunst	30.01.02	15	376	
29.07.01	-3	1210	Brunst				

Tabelle IX: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) der Rothschildgiraffe "Knöpfchen" während des Zyklus

Datum	Zyklus- tag	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Zyklus- tag	Gestagene	Beobach- tungen
16.01.01	-3	384		26.02.01	9	929	
17.01.01	-2	161		28.02.01	11	551	
18.01.01	-1	192		01.03.01	12	219	
19.01.01	0	195		02.03.01	13	502	
20.01.01	1	208		03.03.01	14	183	
21.01.01	2	198		04.03.01	-14	247	
22.01.01	3	271		05.03.01	-13	243	
23.01.01	4	328		06.03.01	-12	380	
24.01.01	5	832		07.03.01	-11	495	
25.01.01	6	1317		08.03.01	-10	813	
26.01.01	7	999		11.03.01	-7	1058	
27.01.01	8	1178	Brunst	13.03.01	-5	776	
28.01.01	9	983		14.03.01	-4	356	
29.01.01	10	386		15.03.01	-3	233	
30.01.01	11	235		16.03.01	-2	312	
31.01.01	12	197		17.03.01	-1	239	
01.02.01	13	219		18.03.01	0	239	
02.02.01	14	154		19.03.01	1	293	
03.02.01	-14	236		20.03.01	2	302	
04.02.01	-13	202		21.03.01	3	422	
05.02.01	-12	217		22.03.01	4	488	
06.02.01	-11	553		23.03.01	5	813	
07.02.01	-10	964		24.03.01	6	896	
08.02.01	-9	958		25.03.01	7	1027	
10.02.01	-7	1410		26.03.01	8	1251	
11.02.01	-6	1320		27.03.01	9	1095	
12.02.01	-5	1154		28.03.01	10	261	
13.02.01	-4	332		29.03.01	11	260	
14.02.01	-3	788		30.03.01	12	425	
15.02.01	-2	269		31.03.01	13	235	Brunst?
16.02.01	-1	432		01.04.01	14	183	
17.02.01	0	499		02.04.01	-14	246	
18.02.01	1	200		03.04.01	-13	227	
19.02.01	2	252		04.04.01	-12	353	
20.02.01	3	387		05.04.01	-11	904	
21.02.01	4	1208		06.04.01	-10	400	
22.02.01	5	835		07.04.01	-9	624	
23.02.01	6	813		08.04.01	-8	587	
24.02.01	7	803		09.04.01	-7	606	
25.02.01	8	1068		10.04.01	-6	761	

Fortsetzung nächste Seite

## Fortsetzung von Tabelle IX

Datum	Zyklus- tag	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Zyklus- tag	Gestagene	Beobach- tungen
11.04.01	-5	586	Paarung	31.08.01	-17	397	
12.04.01	-4	120		03.09.01	-14	353	
13.04.01	-3	145		05.09.01	-12	342	
14.04.01	-2	137		07.09.01	-10	906	
15.04.01	-1	324		10.09.01	-7	1381	
16.04.01	0	158		12.09.01	-5	633	
17.04.01	1	214		14.09.01	-3	290	
18.04.01	2	184		17.09.01	0	476	
19.04.01	3	331		20.09.01	3	1536	
20.04.01	4	502		21.09.01	4	1106	
21.04.01	5	665		24.09.01	7	1276	
22.04.01	6	554		26.09.01	9	1422	
23.04.01	7	630		28.09.01	11	954	
24.04.01	8	646		01.10.01	14	599	
25.04.01	9	832		03.10.01	-13	803	
27.04.01	11	975		05.10.01	-11	828	
28.04.01	12	1474		08.10.01	-8	1553	
29.04.01	13	753		10.10.01	-6	1430	
30.04.01	14	315		12.10.01	-4	580	
10.07.01	-7	977		15.10.01	-1	351	
11.07.01	-6	1295		17.10.01	1	268	
12.07.01	-5	753		19.10.01	3	370	
13.07.01	-4	1290		21.10.01	5	1564	
14.07.01	-3	1063		24.10.01	8	1459	
15.07.01	-2	932		26.10.01	10	1493	
16.07.01	-1	219		30.10.01	14	222	
17.07.01	0	255		31.10.01	15	252	
18.07.01	1	391		02.11.01	-12	364	
19.07.01	2	992		05.11.01	-9	743	
20.07.01	3	605		07.11.01	-7	1594	
21.07.01	4	1206		09.11.01	-5	1452	
23.07.01	5	1348		12.11.01	-2	1534	
25.07.01	7	1443		14.11.01	0	482	
27.07.01	9	1414		16.11.01	2	280	
28.07.01	10	981		19.11.01	5	468	
29.07.01	11	806		21.11.01	7	1055	
30.07.01	12	605		23.11.01	9	1107	
31.07.01	13	669		26.11.01	12	457	
01.08.01	14	225		28.11.01	14	222	
03.08.01	16	1181		30.11.01	-13	287	

Fortsetzung nächste Seite

## Fortsetzung von Tabelle IX

Datum	Zyklus- tag	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Zyklus- tag	Gestagene	Beobach- tungen
03.12.01	-10	619		02.01.02	-9	813	
05.12.01	-8	725		04.01.02	-7	822	
07.12.01	-6	1188		07.01.02	-4	811	
10.12.01	-3	221	Brunst?	09.01.02	-2	198	
12.12.01	-1	302		11.01.02	0	183	
14.12.01	1	403		14.01.02	3	184	
17.12.01	4	302		16.01.02	5	230	
19.12.01	6	1303		18.01.02	7	1154	
21.12.01	8	1668		21.01.02	10	926	
24.12.01	11	277	Brunst	23.01.02	12	499	
26.12.01	13	145		25.01.02	14	282	
31.12.01	-11	271		28.01.02	17	285	

Tabelle X: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) der Giraffe "Maja" während des Zyklus

Datum	Zyklus- tag	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Zyklus- tag	Gestagene	Beobach- tungen
01.02.99	-14	183		22.02.99	7	958	
02.02.99	-13	284		23.02.99	8	954	
03.02.99	-12	375		24.02.99	9	1436	
04.02.99	-11	652		25.02.99	10	794	
05.02.99	-10	832		26.02.99	11	857	
06.02.99	-9	885		27.02.99	12	617	
07.02.99	-8	684		28.02.99	13	189	
09.02.99	-6	1008		01.03.99	14	198	
10.02.99	-5	857		02.03.99	15	173	
11.02.99	-4	293		15.12.99	-7	1512	
12.02.99	-3	233		16.12.99	-6	1128	
13.02.99	-2	148		17.12.99	-5	383	
14.02.99	-1	161		18.12.99	-4	422	
15.02.99	0	154		19.12.99	-3	228	
16.02.99	1	195		20.12.99	-2	244	
17.02.99	2	221		21.12.99	-1	252	
18.02.99	3	375		22.12.99	0	230	
19.02.99	4	476		23.12.99	1	203	
20.02.99	5	715		24.12.99	2	239	
21.02.99	6	702		25.12.99	3	332	

Fortsetzung nächste Seite

## Fortsetzung von Tabelle X

Datum	Zyklus- tag	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Zyklus- tag	Gestagene	Beobach- tungen
26.12.99	4	518		17.01.00	-6	1446	
27.12.99	5	791		18.01.00	-5	994	
28.12.99	6	958		19.01.00	-4	468	
29.12.99	7	1052		20.01.00	-3	291	
30.12.99	8	1159		21.01.00	-2	203	
31.12.99	9	1019		22.01.00	-1	227	
01.01.00	10	1206		23.01.00	0	197	
02.01.00	11	1367		24.01.00	1	216	
03.01.00	12	353		25.01.00	2	221	
04.01.00	13	222		26.01.00	3	233	
05.01.00	14	189		27.01.00	4	293	
06.01.00	15	200		28.01.00	5	502	
07.01.00	16	227		29.01.00	6	523	
08.01.00	-15	227		30.01.00	7	1512	
09.01.00	-14	340		31.01.00	8	1166	
10.01.00	-13	347		01.02.00	9	1287	
11.01.00	-12	539		02.02.00	10	1328	
12.01.00	-11	693		03.02.00	11	1405	
13.01.00	-10	1164		04.02.00	12	1288	
14.01.00	-9	1380		05.02.00	13	394	
15.01.00	-8	1277		06.02.00	14	195	
16.01.00	-7	1416		07.02.00	15	228	

Tabelle XI: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) der Netzgiraffe "Alice" während der Gravidität

Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen
01.12.00	-306	1247		11.01.01	-265	1125	
02.12.00	-305	1010		12.01.01	-264	1090	
03.12.00	-304	898		13.01.01	-263	1202	
04.12.00	-303	1080		14.01.01	-262	1096	
05.12.00	-302	1241		15.01.01	-261	1014	
06.12.00	-301	1074		16.01.01	-260	1414	
07.12.00	-300	835		17.01.01	-259	1235	
08.12.00	-299	1121		18.01.01	-258	1166	
09.12.00	-298	989		19.01.01	-257	759	
11.12.00	-296	1696		20.01.01	-256	904	
12.12.00	-295	1216		21.01.01	-255	1225	
13.12.00	-294	1479		22.01.01	-254	1191	
14.12.00	-293	1443		23.01.01	-253	1055	
15.12.00	-292	1166		24.01.01	-252	1002	
16.12.00	-291	942		25.01.01	-251	756	
17.12.00	-290	1134		26.01.01	-250	865	
18.12.00	-289	860		27.01.01	-249	882	
19.12.00	-288	1276		28.01.01	-248	799	
20.12.00	-287	1384		29.01.01	-247	932	
21.12.00	-286	1247		30.01.01	-246	958	
22.12.00	-285	1405		31.01.01	-245	931	
23.12.00	-284	1011		01.02.01	-244	945	
24.12.00	-283	1991		02.02.01	-243	1121	
25.12.00	-282	1342		03.02.01	-242	1095	
26.12.00	-281	1698		05.02.01	-240	1030	
27.12.00	-280	1481		06.02.01	-239	1057	
28.12.00	-279	1339		07.02.01	-238	1093	
29.12.00	-278	1235		08.02.01	-237	857	
30.12.00	-277	1143		09.02.01	-236	1562	
31.12.00	-276	1244		10.02.01	-235	1236	
01.01.01	-275	1263		11.02.01	-234	994	
02.01.01	-274	1532		12.02.01	-233	1074	
03.01.01	-273	1251		13.02.01	-232	1030	
04.01.01	-272	970		14.02.01	-231	1112	
05.01.01	-271	1411		15.02.01	-230	983	
06.01.01	-270	1863		16.02.01	-229	1222	
07.01.01	-269	1550		17.02.01	-228	1622	
08.01.01	-268	1224		18.02.01	-227	1224	
09.01.01	-267	1181		19.02.01	-226	893	
10.01.01	-266	951		20.02.01	-225	1251	

Fortsetzung nächste Seite

## Fortsetzung von Tabelle XI

Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen
21.02.01	-224	945		06.10.01	3	198	
22.02.01	-223	986		07.10.01	4	211	
23.02.01	-222	986		08.10.01	5	235	
24.02.01	-221	964		09.10.01	6	324	
25.02.01	-220	1310		10.10.01	7	432	
26.02.01	-219	1225		11.10.01	8	265	
27.02.01	-218	1106		13.10.01	10	261	
28.02.01	-217	994		14.10.01	11	173	
21.09.01	-12	1721		15.10.01	12	225	
22.09.01	-11	1047		16.10.01	13	205	
23.09.01	-10	909		17.10.01	14	186	
24.09.01	-9	989		30.10.01	27	173	
25.09.01	-8	891		31.10.01	28	195	
26.09.01	-7	1006		01.11.01	29	266	
28.09.01	-5	1292		02.11.01	30	238	
29.09.01	-4	1647		03.11.01	31	209	
30.09.01	-3	1594		04.11.01	32	217	
01.10.01	-2	1125		05.11.01	33	211	
02.10.01	-1	1110		06.11.01	34	180	
03.10.01	0	940	Geburt	07.11.01	35	202	
04.10.01	1	721		08.11.01	36	189	
05.10.01	2	356		09.11.01	37	161	

Tabelle XII: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) der Angolagiraffe "Debora" während der Gravidität

Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen
08.04.99	-442		Brunst	03.07.00	10	247	
16.06.00	-7	1162		07.07.00	14	265	
17.06.00	-6	1241		10.07.00	17	334	
18.06.00	-5	1358		14.07.00	21	123	
19.06.00	-4	1704		17.07.00	24	150	
22.06.00	-1	1673		21.07.00	28	176	
23.06.00	0	1158	Geburt	28.07.00	35	132	
26.06.00	3	202		07.08.00	45	1008	
30.06.00	7	117					

Tabelle XIII: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) der Rothschildgiraffe "Etoscha" während der Gravidität

Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen
18.01.00	-476	255		09.03.00	-425	354	
19.01.00	-475	151		10.03.00	-424	324	
20.01.00	-474	154		11.03.00	-423	718	
21.01.00	-473	198		12.03.00	-422	1112	
22.01.00	-472	189		13.03.00	-421	964	
23.01.00	-471	161		14.03.00	-420	932	
24.01.00	-470	221		15.03.00	-419	299	
25.01.00	-469	523		16.03.00	-418	398	
26.01.00	-468	931		17.03.00	-417	702	
27.01.00	-467	1032		18.03.00	-416	1087	
28.01.00	-466	1173		19.03.00	-415	1017	
29.01.00	-465	995		20.03.00	-414	1030	
30.01.00	-464	1443		21.03.00	-413	747	
31.01.00	-463	180	Paarung	22.03.00	-412	1134	
01.02.00	-462	162		23.03.00	-411	1074	
02.02.00	-461	151		24.03.00	-410	822	
03.02.00	-460	153		25.03.00	-409	1350	
04.02.00	-459	142		26.03.00	-408	1041	
05.02.00	-458	184		28.03.00	-406	792	
06.02.00	-457	205		29.03.00	-405	1166	
07.02.00	-456	202		30.03.00	-404	939	
08.02.00	-455	408		31.03.00	-403	1005	
09.02.00	-454	803		01.04.00	-402	1024	
10.02.00	-453	1175		02.04.00	-401	1052	
11.02.00	-452	828		03.04.00	-400	1057	
12.02.00	-451	1019		04.04.00	-399	554	
13.02.00	-450	838		05.04.00	-398	403	
25.02.00	-438	447		06.04.00	-397	454	
26.02.00	-437	392		07.04.00	-396	561	
27.02.00	-436	580		08.04.00	-395	410	
28.02.00	-435	284		09.04.00	-394	331	
29.02.00	-434	277		10.04.00	-393	400	
01.03.00	-433	369		11.04.00	-392	655	
02.03.00	-432	406		12.04.00	-391	699	
03.03.00	-431	460		13.04.00	-390	630	
04.03.00	-430	413		14.04.00	-389	630	
05.03.00	-429	421		15.04.00	-388	674	
06.03.00	-428	443		16.04.00	-387	726	
07.03.00	-427	362		17.04.00	-386	759	
08.03.00	-426	381		19.04.00	-384	570	

Fortsetzung nächste Seite

## Fortsetzung von Tabelle XIII

Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen
20.04.00	-383	718		03.11.00	-186	1325	
21.04.00	-382	668		08.11.00	-181	1175	
22.04.00	-381	851		15.11.00	-174	1074	
23.04.00	-380	425		22.11.00	-167	1315	
24.04.00	-379	394		29.11.00	-160	954	
02.08.00	-279	1509		06.12.00	-153	1140	
04.08.00	-277	1493		20.12.00	-139	1276	
07.08.00	-274	1698		27.12.00	-132	1194	
09.08.00	-272	1266		03.01.01	-125	1103	
11.08.00	-270	1150		08.01.01	-120	1003	
14.08.00	-267	1544		10.01.01	-118	1055	
16.08.00	-265	1915		17.01.01	-111	1055	
18.08.00	-263	1718		24.01.01	-104	970	
21.08.00	-260	1717		31.01.01	-97	1235	
23.08.00	-258	1424		07.02.01	-90	1047	
25.08.00	-256	1616		14.02.01	-83	1143	
28.08.00	-253	1419		21.02.01	-76	917	
30.08.00	-251	1444		07.03.01	-62	747	
01.09.00	-249	1783		11.03.01	-58	1109	
04.09.00	-246	1512		12.03.01	-57	1178	
06.09.00	-244	1644		13.03.01	-56	947	
08.09.00	-242	1698		15.03.01	-54	1208	
11.09.00	-239	1421		16.03.01	-53	1058	
13.09.00	-237	1857		17.03.01	-52	1005	
16.09.00	-234	1789		18.03.01	-51	1288	
18.09.00	-232	1421		19.03.01	-50	797	
21.09.00	-229	1577		20.03.01	-49	1058	
25.09.00	-225	1329		21.03.01	-48	1036	
27.09.00	-223	1641		22.03.01	-47	1109	
29.09.00	-221	1555		23.03.01	-46	1254	
02.10.00	-218	1591		24.03.01	-45	936	
04.10.00	-216	1540		25.03.01	-44	1303	
06.10.00	-214	1944		26.03.01	-43	943	
09.10.00	-211	1635		27.03.01	-42	984	
11.10.00	-209	1326		28.03.01	-41	873	
13.10.00	-207	1329		29.03.01	-40	1217	
16.10.00	-204	1321		30.03.01	-39	1150	
20.10.00	-200	1432		02.04.01	-36	1257	
27.10.00	-193	1314		03.04.01	-35	1069	
01.11.00	-188	1162		04.04.01	-34	898	

Fortsetzung nächste Seite

## Fortsetzung von Tabelle XIII

Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen
05.04.01	-33	964		26.04.01	-12	1194	
06.04.01	-32	1162		27.04.01	-11	1166	
10.04.01	-28	1016		28.04.01	-10	1153	
11.04.01	-27	1288		29.04.01	-9	1377	
12.04.01	-26	1378		30.04.01	-8	1320	
13.04.01	-25	1088		01.05.01	-7	1269	
14.04.01	-24	1051		02.05.01	-6	1173	
15.04.01	-23	860		03.05.01	-5	1208	
16.04.01	-22	1314		04.05.01	-4	1358	
17.04.01	-21	1027		05.05.01	-3	1312	
18.04.01	-20	995		06.05.01	-2	1430	
19.04.01	-19	1241		07.05.01	-1	1010	
20.04.01	-18	1068		08.05.01	0	1317	Geburt
21.04.01	-17	1359		09.05.01	1	1032	
22.04.01	-16	1425		10.05.01	2	556	
24.04.01	-14	1137		11.05.01	3	280	
25.04.01	-13	1329		15.05.01	7	206	

Tabelle XIV: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) der Rothschildgiraffe "Jubilee" während der 1. erfassten Gravidität

Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen
22.05.97	-67	1607		25.07.97	-3	1490	
29.05.97	-60	964		26.07.97	-2	1654	
05.06.97	-53	1355		27.07.97	-1	1399	
12.06.97	-46	1162		28.07.97	0	1337	Geburt
19.06.97	-39	1446		29.07.97	1	1006	
24.06.97	-34		Schleim- abgang	30.07.97	2	410	
				31.07.97	3	299	
25.06.97	-33	1292		03.08.97	6		Tod Jungtier
03.07.97	-25	1421					
10.07.97	-18	1430		06.08.97	9	884	
16.07.97	-12	1383		07.08.97	10	1024	
17.07.97	-11	1525		09.08.97	12	954	Blutiger Ausfluß
18.07.97	-10	1418					
19.07.97	-9	1493		10.08.97	13	435	
20.07.97	-8	1285	Frucht- bewegung	12.08.97	15	254	
				20.08.97	23	658	
21.07.97	-7	1455		24.08.97	27		Brunst
22.07.97	-6	1487		29.08.97	32	230	
23.07.97	-5	1462		05.09.97	39	1446	
24.07.97	-4	1452		07.09.97	41		Brunst

Tabelle XV: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) der Rothschildgiraffe "Jubilee" während der 2. erfassten Gravidität

Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen
04.12.97	-474	1342		08.10.98	-166	1358	
11.12.97	-467	198		22.10.98	-152	1446	
25.12.97	-453	195		29.10.98	-145	1562	
01.01.98	-446	1499		05.11.98	-138	1282	
15.01.98	-432	1099		26.11.98	-117	1566	
22.01.98	-425	1380		10.12.98	-103	1295	
29.01.98	-418	1161		17.12.98	-96	1336	
06.02.98	-410	1332		31.12.98	-82	1222	
12.02.98	-404	1381		04.01.99	-78	1244	
19.02.98	-397	1266		07.01.99	-75	1380	
26.02.98	-390	1251		14.01.99	-68	1200	
05.03.98	-383	1216		16.01.99	-66		Frucht- bewegung
12.03.98	-376	1429					
19.03.98	-369	1449		21.01.99	-61	561	
26.03.98	-362	1362		28.01.99	-54	1292	
02.04.98	-355	1399		11.02.99	-40	721	
09.04.98	-348	1421		18.02.99	-33	1244	
16.04.98	-341	1342		04.03.99	-19	1455	
23.04.98	-334	1421		07.03.99	-16		Euter- anbildung
30.04.98	-327	1462					
07.05.98	-320	1476		11.03.99	-12	1389	
14.05.98	-313	1446		12.03.99	-11		Schleim- abgang
21.05.98	-306	1458					
28.05.98	-299	1484		18.03.99	-5	1411	
04.06.98	-292	1468		23.03.99	0	1418	Geburt
11.06.98	-285	1449		26.03.99	3	347	
27.06.98	-269	1383		27.03.99	4	293	
02.07.98	-264	1424		30.03.99	7	447	
09.07.98	-257	1254		31.03.99	8	454	
23.07.98	-243	1474		01.04.99	9	460	
30.07.98	-236	1436		04.04.99	12	331	Blutiger Ausfluß
06.08.98	-229	1449					
13.08.98	-222	1481		05.04.99	13	258	
20.08.98	-215	1388		06.04.99	14	211	
27.08.98	-208	1380		07.04.99	15	180	
03.09.98	-201	1156		10.04.99	18	186	
10.09.98	-194	1707		12.04.99	20	192	
17.09.98	-187	1329		20.04.99	28	145	
24.09.98	-180	1506		22.04.99	30	95	
01.10.98	-173	1641		28.04.99	36	444	
03.10.98	-171	1525		30.04.99	38	838	

Fortsetzung nächste Seite

## Fortsetzung von Tabelle XV

Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen
02.05.99	40	734		16.05.99	54	1203	
04.05.99	42	504		18.05.99	56	936	
06.05.99	44	98		20.05.99	58	668	
08.05.99	46	132		22.05.99	60	129	
10.05.99	48	91		24.05.99	62	148	
12.05.99	50	236		26.05.99	64	161	
14.05.99	52	627		29.05.99	67		Brunst

Tabelle XVI: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) der Rothschildgiraffe "Jubilee" während der 3.erfassten Gravidität

Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen
24.06.99	-472	161		04.10.99	-370	1210	
28.06.99	-468	715		06.10.99	-368	1295	
04.07.99	-462	145		08.10.99	-366	1408	
06.07.99	-460	473		11.10.99	-363	1534	
09.07.99	-457	680		13.10.99	-361	781	
16.07.99	-450	403		15.10.99	-359	1147	
23.07.99	-443	734		18.10.99	-356	1121	
30.07.99	-436	1849		27.10.99	-347	851	
02.08.99	-433	1896		29.10.99	-345	1043	
04.08.99	-431	1594		01.11.99	-342	554	
06.08.99	-429	1043		03.11.99	-340	1285	
09.08.99	-426	1027		05.11.99	-338	1118	
11.08.99	-424	1922		08.11.99	-335	932	
13.08.99	-422	1569		12.11.99	-331	989	
16.08.99	-419	1670		15.11.99	-328	1298	
18.08.99	-417	1808		17.11.99	-326	1613	
25.08.99	-410	1408		19.11.99	-324	1821	
30.08.99	-405	1868		22.11.99	-321	980	
01.09.99	-403	1660		26.11.99	-317	1688	
03.09.99	-401	1232		29.11.99	-314	1474	
06.09.99	-398	1332		10.12.99	-303	1703	
08.09.99	-396	1074		15.12.99	-298	1351	
14.09.99	-390	1112		22.12.99	-291	1077	
17.09.99	-387	1446		29.12.99	-284	1377	
20.09.99	-384	1125		05.01.00	-277	1288	
24.09.99	-380	1298		12.01.00	-270	1380	
27.09.99	-377	1553		17.01.00	-265	1736	
29.09.99	-375	1136		26.01.00	-256	1758	

Fortsetzung nächste Seite

## Fortsetzung von Tabelle XVI

Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen
02.02.00	-249	1660		19.09.00	-19	1644	
08.02.00	-243	1862		20.09.00	-18	1813	
09.02.00	-242	1585		21.09.00	-17	1742	
16.02.00	-235	1900		22.09.00	-16	1934	
23.02.00	-228	1600		23.09.00	-15	1629	
01.03.00	-221	1481		24.09.00	-14	1912	
08.03.00	-214	1481		25.09.00	-13	1762	
15.03.00	-207	1317		26.09.00	-12	1833	
22.03.00	-200	1410		27.09.00	-11	1890	
29.03.00	-193	1594		28.09.00	-10	1937	
05.04.00	-186	1454		29.09.00	-9	1808	
12.04.00	-179	1443		30.09.00	-8	1758	
19.04.00	-172	1534		01.10.00	-7	1940	
25.04.00	-166	1279		02.10.00	-6	1923	
26.04.00	-165	1468		03.10.00	-5	1942	
03.05.00	-158	1208		04.10.00	-4	1994	
11.05.00	-150	1351		05.10.00	-3	1852	
17.05.00	-144	1424		06.10.00	-2	1773	
24.05.00	-137	1394		07.10.00	-1	1764	
31.05.00	-130	1495		08.10.00	0	1953	Geburt
14.06.00	-116	1232		09.10.00	1	1166	
12.07.00	-88	1507		10.10.00	2	610	
26.07.00	-74	980		11.10.00	3	326	
23.08.00	-46	1436		14.10.00	6	482	
30.08.00	-39	1562		17.10.00	9	591	Tod Jungtier
01.09.00	-37	1405					
02.09.00	-36	1647		18.10.00	10	638	
03.09.00	-35	1166		19.10.00	11	1364	
04.09.00	-34	1191		20.10.00	12	743	
05.09.00	-33	1093		21.10.00	13	929	
06.09.00	-32	1551		23.10.00	15	1225	
07.09.00	-31	1386		24.10.00	16	1320	
08.09.00	-30	1443		25.10.00	17	1222	
09.09.00	-29	1241		27.10.00	19	410	
10.09.00	-28	1298		28.10.00	20	340	
11.09.00	-27	1008		30.10.00	22	272	
12.09.00	-26	1969		31.10.00	23	243	
13.09.00	-25	1934		01.11.00	24	261	
14.09.00	-24	1773		03.11.00	26	265	
15.09.00	-23	1966		06.11.00	29	272	
16.09.00	-22	1822		08.11.00	31	441	
17.09.00	-21	1553		10.11.00	33	1166	
18.09.00	-20	1866		13.11.00	36	545	Paarung

Tabelle XVII: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) der Giraffe "Lisa" während der Gravidität

Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen
29.05.00	-390	1241		01.07.00	-357	932	
30.05.00	-389	1326		02.10.00	-264	951	
31.05.00	-388	1260		04.10.00	-262	1118	
01.06.00	-387	1638		07.10.00	-259	904	
02.06.00	-386	939		23.01.01	-151	1087	
03.06.00	-385	1125		25.01.01	-149	747	
04.06.00	-384	1443		27.01.01	-147	1265	
05.06.00	-383	1821		29.01.01	-145	972	
06.06.00	-382	1269		02.02.01	-141	603	
07.06.00	-381	1203		06.02.01	-137	728	
08.06.00	-380	639		08.02.01	-135	866	
09.06.00	-379	1320		10.02.01	-133	1435	
10.06.00	-378	1115		12.02.01	-131	633	
11.06.00	-377	1043		14.02.01	-129	673	
12.06.00	-376	737		18.02.01	-125	1046	
13.06.00	-375	721		20.02.01	-123	622	
15.06.00	-373	1534		21.02.01	-122	945	
16.06.00	-372	715		22.02.01	-121	917	
18.06.00	-370	1380		24.02.01	-119	1054	
19.06.00	-369	784		28.02.01	-115	1170	
20.06.00	-368	737		01.03.01	-114	1526	
23.06.00	-365	898		03.03.01	-112	984	
24.06.00	-364	1310		23.06.01	0		fiktiver Geburts- termin
25.06.00	-363	775					
26.06.00	-362	797					
27.06.00	-361	1191					

Tabelle XVIII: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) der Angolagiraffe "Lisala" während der Gravidität

Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen
11.01.00	-549		Paarung	28.03.01	-107	1436	
19.02.01	-144	1586		29.03.01	-106	1285	
20.02.01	-143	1729		30.03.01	-105	1414	
21.02.01	-142	1744		31.03.01	-104	1348	
22.02.01	-141	1584		01.04.01	-103	1481	
24.03.01	-111	1430		02.04.01	-102	1271	
25.03.01	-110	1507		03.04.01	-101	1326	
26.03.01	-109	1430		04.04.01	-100	1449	
27.03.01	-108	1328		05.04.01	-99	1359	

Fortsetzung nächste Seite

## Fortsetzung von Tabelle XVIII

Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen
06.04.01	-98	1373		06.06.01	-37	1384	
07.04.01	-97	1247		07.06.01	-36	1588	
08.04.01	-96	1389		08.06.01	-35	1169	
09.04.01	-95	1559		09.06.01	-34	1074	
10.04.01	-94	1380		10.06.01	-33	1410	
11.04.01	-93	1588		12.06.01	-31	1573	
12.04.01	-92	1424		13.06.01	-30	1665	
13.04.01	-91	1569		14.06.01	-29	1814	
14.04.01	-90	1380		15.06.01	-28	1446	
15.04.01	-89	1556		17.06.01	-26	1701	
16.04.01	-88	1539		20.06.01	-23	1767	
17.04.01	-87	1594		21.06.01	-22	1556	
18.04.01	-86	1339		22.06.01	-21	1493	
19.04.01	-85	1367		23.06.01	-20	1701	
20.04.01	-84	1521		24.06.01	-19	1556	
21.04.01	-83	1418		03.07.01	-10	1717	
22.04.01	-82	1559		04.07.01	-9	1830	
23.04.01	-81	1370		06.07.01	-7	1862	
24.04.01	-80	1427		07.07.01	-6	1821	
25.04.01	-79	1414		08.07.01	-5	1566	
26.04.01	-78	1373		09.07.01	-4	1676	
27.04.01	-77	1436		10.07.01	-3	1775	
28.04.01	-76	1323		12.07.01	-1	1792	
29.04.01	-75	1536		13.07.01	0	1159	Geburt
30.04.01	-74	1621		14.07.01	1	1121	
01.05.01	-73	1436		15.07.01	2	567	
02.05.01	-72	1194		16.07.01	3	394	
03.05.01	-71	1496		17.07.01	4	230	
04.05.01	-70	1332		18.07.01	5	977	
05.05.01	-69	1219		20.07.01	7	233	
08.05.01	-66	1611		21.07.01	8	869	
09.05.01	-65	1487		22.07.01	9	315	
25.05.01	-49	1366		23.07.01	10	1408	
27.05.01	-47	1355		24.07.01	11	321	
28.05.01	-46	1340		25.07.01	12	788	
29.05.01	-45	1455		26.07.01	13	302	
30.05.01	-44	1170		27.07.01	14	666	
31.05.01	-43	1329		28.07.01	15	819	
02.06.01	-41	1351		14.09.01	63		Paarung?
03.06.01	-40	1600					

Tabelle XIX: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) der Angolagiraffe "Lisboa" während der Gravidität

Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen
28.01.99	-489		Paarung	30.06.00	30	113	
23.05.00	-8	1452		03.07.00	33	85	
24.05.00	-7	1342		07.07.00	37	164	
25.05.00	-6	1251		10.07.00	40	113	
27.05.00	-4	1496		14.07.00	44	120	
28.05.00	-3	1476		15.07.00	45		Paarung
29.05.00	-2	1714		17.07.00	47	162	
31.05.00	0	1276	Geburt	21.07.00	51	126	
01.06.00	1	1164		22.07.00	52		Paarung
02.06.00	2	403		28.07.00	58	162	
03.06.00	3	227		07.08.00	68	167	
09.06.00	9	398		11.08.00	72	165	
16.06.00	16	124		14.08.00	75	225	
19.06.00	19	187		18.08.00	79	145	
23.06.00	23	268		21.08.00	82	161	
26.06.00	26	107		24.09.00	116		Paarung

Tabelle XX: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) der Rothschildgiraffe "Knöpfchen", juvenil

Datum	Gestagene	Datum	Gestagene	Datum	Gestagene	Datum	Gestagene
20.12.99	123	28.12.99	318	05.01.00	214	13.01.00	180
21.12.99	164	29.12.99	186	06.01.00	419	14.01.00	202
22.12.99	167	30.12.99	154	07.01.00	347	15.01.00	145
23.12.99	164	31.12.99	176	08.01.00	214	16.01.00	176
24.12.99	180	01.01.00	142	09.01.00	243	17.01.00	205
25.12.99	170	02.01.00	153	10.01.00	142	18.01.00	169
26.12.99	394	03.01.00	161	11.01.00	154	19.01.00	159
27.12.99	284	04.01.00	328	12.01.00	284		

Tabelle XXI: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) der Rothschildgiraffe "Tena", juvenil

Datum	Gestagene	Datum	Gestagene	Datum	Gestagene	Datum	Gestagene
15.01.00	154	02.03.00	117	09.04.00	124	02.04.01	202
16.01.00	117	03.03.00	104	10.04.00	98	03.04.01	159
17.01.00	99	04.03.00	98	11.04.00	107	04.04.01	164
18.01.00	128	05.03.00	134	12.04.00	95	05.04.01	156
19.01.00	126	06.03.00	132	13.04.00	109	06.04.01	158
20.01.00	131	07.03.00	110	14.04.00	101	10.04.01	189
21.01.00	107	08.03.00	118	15.04.00	82	11.04.01	195
22.01.00	95	09.03.00	132	16.04.00	135	12.04.01	164
23.01.00	96	10.03.00	109	17.04.00	107	13.04.01	175
24.01.00	88	11.03.00	118	19.04.00	91	14.04.01	181
25.01.00	95	12.03.00	154	20.04.00	113	15.04.01	184
26.01.00	96	13.03.00	135	21.04.00	99	16.04.01	145
27.01.00	95	14.03.00	148	22.04.00	101	17.04.01	151
28.01.00	148	15.03.00	118	23.04.00	129	18.04.01	153
29.01.00	101	16.03.00	123	24.04.00	110	19.04.01	192
30.01.00	113	17.03.00	123	10.03.01	180	20.04.01	192
31.01.00	102	19.03.00	120	11.03.01	151	21.04.01	191
01.02.00	82	20.03.00	135	12.03.01	183	22.04.01	173
02.02.00	85	21.03.00	107	13.03.01	189	23.04.01	151
03.02.00	91	22.03.00	91	15.03.01	145	24.04.01	167
04.02.00	104	23.03.00	118	16.03.01	233	25.04.01	164
05.02.00	167	24.03.00	117	17.03.01	145	26.04.01	180
06.02.00	91	25.03.00	102	19.03.01	142	27.04.01	139
07.02.00	95	26.03.00	107	20.03.01	96	28.04.01	170
08.02.00	101	28.03.00	104	21.03.01	169	29.04.01	158
09.02.00	117	29.03.00	106	22.03.01	167	30.04.01	153
10.02.00	132	30.03.00	132	23.03.01	142	03.05.01	200
11.02.00	98	31.03.00	117	24.03.01	128	04.05.01	151
12.02.00	146	01.04.00	98	25.03.01	129	05.05.01	151
13.02.00	121	02.04.00	120	26.03.01	117	06.05.01	192
25.02.00	117	03.04.00	115	27.03.01	136	07.05.01	148
26.02.00	113	04.04.00	121	28.03.01	139	08.05.01	164
27.02.00	139	05.04.00	128	29.03.01	173	09.05.01	159
28.02.00	129	06.04.00	104	30.03.01	132	11.05.01	181
29.02.00	110	07.04.00	120	01.04.01	183	15.05.01	154
01.03.00	117	08.04.00	139				

Tabelle XXII: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) der Giraffe "Hanna" im Zeitraum von Januar bis März 2001

Datum	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Gestagene	Beobach- tungen
23.01.01	131		07.02.01	135		18.02.01	195	
25.01.01	117		08.02.01	192		19.02.01	176	
27.01.01	151		09.02.01	241		20.02.01	164	
29.01.01	224		10.02.01	200		22.02.01	236	
31.01.01	148		11.02.01	277		23.02.01	208	
01.02.01	148		12.02.01	194		24.02.01	183	
02.02.01	197		13.02.01	217		25.02.01	301	
03.02.01	154		14.02.01	221		26.02.01	227	
04.02.01	173		15.02.01	219		27.02.01	206	
05.02.01	139		16.02.01	189		28.02.01	173	
06.02.01	142		17.02.01	225		02.03.01	315	

Tabelle XXIII: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) der Netzgiraffe "Kenya" im Zeitraum von Dezember 2000 bis Februar 2001

Datum	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Gestagene	Beobach- tungen
01.12.00	183		24.12.00	202		18.01.01	211	
02.12.00	183		25.12.00	170		19.01.01	219	
03.12.00	170		26.12.00	227		20.01.01	216	
04.12.00	195		27.12.00	170		21.01.01	299	
05.12.00	189		29.12.00	197		22.01.01	298	
06.12.00	173		30.12.00	195		23.01.01	249	
07.12.00	219		31.12.00	318		24.01.01	265	
08.12.00	189		02.01.01	287		25.01.01	309	
09.12.00	208		03.01.01	232		26.01.01	342	
11.12.00	277		04.01.01	165		27.01.01	280	
12.12.00	175		06.01.01	602		28.01.01	265	
13.12.00	186		07.01.01	233		29.01.01	265	
14.12.00	214		08.01.01	238		30.01.01	228	
15.12.00	192		09.01.01	208		31.01.01	252	
16.12.00	192		10.01.01	209		01.02.01	413	
17.12.00	189		11.01.01	197		02.02.01	295	
18.12.00	180		12.01.01	214		03.02.01	302	
19.12.00	221		13.01.01	205		04.02.01	337	
20.12.00	194		14.01.01	203		05.02.01	324	
21.12.00	198		15.01.01	189		06.02.01	293	
22.12.00	205		16.01.01	200		07.02.01	291	
23.12.00	176		17.01.01	213		08.02.01	328	

Tabelle XXIV: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) der Rothschildgiraffe "Knöpfchen" im Zeitraum von April bis Juli 2001

Datum	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Gestagene	Beobach- tungen
01.04.01	183		06.05.01	929		22.06.01	1607	
02.04.01	246		07.05.01	1098		25.06.01	1487	
03.04.01	227		08.05.01	813		26.06.01	1150	Abgang großer Mengen blutigen Schleims
04.04.01	353		09.05.01	1033				
05.04.01	904		10.05.01	972				
06.04.01	400		11.05.01	1386				
07.04.01	624		12.05.01	1087				
08.04.01	587		14.05.01	1109				
09.04.01	606		15.05.01	1332		27.06.01	975	
10.04.01	761		16.05.01	1515		28.06.01	841	
11.04.01	586	Paarung	17.05.01	1292		29.06.01	32	
12.04.01	120		18.05.01	1501		30.06.01	770	
13.04.01	145		19.05.01	1370		01.07.01	967	
14.04.01	137		20.05.01	1625		03.07.01	739	
15.04.01	324		21.05.01	975		06.07.01	778	
16.04.01	158		22.05.01	1087		09.07.01	567	
17.04.01	214		23.05.01	1665		10.07.01	977	
18.04.01	184		25.05.01	1477		11.07.01	1295	
19.04.01	331		26.05.01	1071		12.07.01	753	
20.04.01	502		27.05.01	1229		13.07.01	1290	
21.04.01	665		28.05.01	1380		14.07.01	1063	
22.04.01	554		29.05.01	1339		15.07.01	932	
23.04.01	630		01.06.01	989		16.07.01	219	
24.04.01	646		02.06.01	1263		17.07.01	255	
25.04.01	832		03.06.01	1099		19.07.01	992	
27.04.01	975		04.06.01	1213		20.07.01	605	
28.04.01	1474		05.06.01	1216		21.07.01	1206	
29.04.01	753		06.06.01	1521		23.07.01	1348	
30.04.01	353		08.06.01	1370		25.07.01	1443	
01.05.01	891		11.06.01	1159		27.07.01	1414	
02.05.01	964		13.06.01	1509		28.07.01	981	
03.05.01	1492		15.06.01	1342		29.07.01	806	
04.05.01	929		18.06.01	1329		30.07.01	605	
05.05.01	1465		20.06.01	1411		31.07.01	669	

Tabelle XXV: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) der Rothschildgiraffe "Jubilee" im Zeitraum von September bis Dezember 2001

Datum	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Gestagene	Beobach- tungen
03.09.01	630		08.10.01	1449		09.11.01	1537	
05.09.01	1058		10.10.01	1725		14.11.01	1762	
07.09.01	1559		12.10.01	1572		16.11.01	1600	
10.09.01	1534		15.10.01	1733		19.11.01	1449	
12.09.01	192		17.10.01	1506		21.11.01	1481	
14.09.01	359		19.10.01	1607		23.11.01	1435	
17.09.01	318		22.10.01	1745		26.11.01	1594	
20.09.01	1477		24.10.01	1748		28.11.01	1690	
21.09.01	1295		26.10.01	1676		30.11.01	1520	
24.09.01	1629		30.10.01	1561		03.12.01	1317	
26.09.01	1896		31.10.01	1622		05.12.01	258	
28.09.01	1263		02.11.01	1484		07.12.01	195	
01.10.01	1002		05.11.01	1506		10.12.01	225	
05.10.01	350		07.11.01	1452		12.12.01	537	

### 9.3 Einzelwerte der Gestagenkonzentrationen im Kot zur Reproduktionskontrolle bei Spitzmaulnashörnern

Tabelle XXVI: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) des Spitzmaulnashorns "Sarafine", juvenil

Datum	Gestagene	Datum	Gestagene	Datum	Gestagene	Datum	Gestagene
29.01.01	101	09.02.01	112	21.02.01	140	06.03.01	120
31.01.01	131	12.02.01	128	22.02.01	135	07.03.01	173
01.02.01	88	13.02.01	140	23.02.01	140	08.03.01	126
02.02.01	79	14.02.01	113	26.02.01	120	09.03.01	115
05.02.01	66	15.02.01	120	28.02.01	98	12.03.01	107
06.02.01	85	16.02.01	110	01.03.01	112	13.03.01	96
07.02.01	110	19.02.01	148	02.03.01	106	14.03.01	110
08.02.01	128	20.02.01	132	05.03.01	139		

Tabelle XXVII: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) des Spitzmaulnashorns "Kenia", gravid

Datum	Gestagene	Beobachtungen	Datum	Gestagene	Beobachtungen	Datum	Gestagene	Beobachtungen
29.05.00	46		09.06.00	95		21.06.00	110	
30.05.00	39		10.06.00	110		22.06.00	80	
31.05.00	38		11.06.00	88		23.06.00	88	
01.06.00	33		12.06.00	135		24.06.00	146	
02.06.00	57		13.06.00	151		25.06.00	120	
03.06.00	50		15.06.00	65		26.06.00	87	
04.06.00	47		16.06.00	69		27.06.00	82	
05.06.00	44		17.06.00	79		28.06.00	72	
06.06.00	35		18.06.00	72		29.06.00	54	
07.06.00	50		19.06.00	69		30.06.00	63,0	
08.06.00	98		20.06.00	88				

Tabelle XXVIII: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) des Spitzmaulnashorns "Malaika", gravid

Datum	Gestagene	Beobachtungen	Datum	Gestagene	Beobachtungen	Datum	Gestagene	Beobachtungen
30.05.00	44		10.06.00	47		21.06.00	80	
31.05.00	41		11.06.00	35		22.06.00	60	
01.06.00	35		12.06.00	36		23.06.00	83	
02.06.00	41		13.06.00	41		24.06.00	61	
03.06.00	50		15.06.00	68		25.06.00	63	
04.06.00	32		16.06.00	63		26.06.00	66	
05.06.00	32		17.06.00	54		27.06.00	60	
06.06.00	35		18.06.00	54		28.06.00	65	
07.06.00	30		19.06.00	50		29.06.00	57	
08.06.00	43		20.06.00	76		30.06.00	74	
09.06.00	52							

Tabelle XXIX: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) des Spitzmaulnashorns "Mana", ingravid

Datum	Gestagene	Beobachtungen	Datum	Gestagene	Beobachtungen	Datum	Gestagene	Beobachtungen
29.05.00	47		12.06.00	43		27.06.00	85	
30.05.00	20		13.06.00	30		28.06.00	126	
31.05.00	19		15.06.00	35		29.06.00	99	
01.06.00	17		16.06.00	22		30.06.00	115	
02.06.00	25		17.06.00	35		02.03.01	109	
03.06.00	25		18.06.00	32		04.03.01	99	
04.06.00	11		19.06.00	32		06.03.01	85	
05.06.00	9		20.06.00	44		08.03.01	79	
06.06.00	19		21.06.00	35		10.03.01	98	
07.06.00	43		22.06.00	35		12.03.01	101	
08.06.00	19		23.06.00	38		14.03.01	123	
09.06.00	25		24.06.00	46		16.03.01	101	
10.06.00	54		25.06.00	49		18.03.01	134	
11.06.00	30		26.06.00	107		20.03.01	151	

Tabelle XXX: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) des Spitzmaulnashorns "Nane", ingravid

Datum	Gestagene	Beobachtungen	Datum	Gestagene	Beobachtungen	Datum	Gestagene	Beobachtungen
14.06.00	41		05.09.00	126		29.09.00	79	
17.06.00	50		06.09.00	129		30.09.00	76	
21.06.00	50		07.09.00	154		01.10.00	82	
24.06.00	72		08.09.00	156		02.10.00	95	
28.06.00	57		09.09.00	145		03.10.00	79	
02.07.00	43		10.09.00	145		04.10.00	68	
05.07.00	47		11.09.00	143		05.10.00	79	
06.07.00	41		12.09.00	99		06.10.00	50	
07.07.00	28		13.09.00	98		07.10.00	63	
08.07.00	36		14.09.00	107		08.10.00	54	
09.07.00	54		15.09.00	126		09.10.00	46	
10.07.00	47		16.09.00	113		27.04.01	128	
11.07.00	63		17.09.00	126		30.04.01	139	
25.08.00	118		18.09.00	145		02.05.01	106	
26.08.00	154		19.09.00	113		04.05.01	176	
27.08.00	123		20.09.00	106		07.05.01	104	
28.08.00	120		21.09.00	112		09.05.01	91	
29.08.00	118		22.09.00	91		11.05.01	82	
30.08.00	123		23.09.00	115		14.05.01	85	
31.08.00	121		24.09.00	120		16.05.01	85	
01.09.00	117		25.09.00	117		18.05.01	98	
02.09.00	113		26.09.00	104	Brunst ?	21.05.01	54	
03.09.00	126		27.09.00	107		23.05.01	66	
04.09.00	113		28.09.00	118	Brunst ?	28.05.01	90	

Tabelle XXXI: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) des Spitzmaulnashorns "Saba", ingravida

Datum	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Gestagene	Beobach- tungen
24.04.97		Paarung	15.09.97	54		07.02.00	72	
26.05.97	95		17.09.97	69		08.02.00	66	
28.05.97	98		24.09.97	60		09.02.00	72	
30.05.97	129		26.09.97	101	Paarung	10.02.00	79	
02.06.97	148		28.09.97	79		11.02.00	82	
06.06.97	145		01.10.97	44		12.02.00	82	
11.06.97	145		03.10.97	50		13.02.00	69	
13.06.97	120		18.11.97	60		14.02.00	83	
14.06.97		Paarung	20.11.97	72		15.02.00	101	
16.06.97	139		21.11.97	50		16.02.00	98	
18.06.97	132		24.11.97	72		17.02.00	61	
20.06.97	132		03.12.97	123		18.02.00	77	
23.06.97	104		08.12.97	117		19.02.00	68	
25.06.97	123		21.01.98	79		20.02.00	82	
27.06.97	120		28.01.98	120		21.02.00	95	
02.07.97	132		04.02.98	72		22.02.00	63	
04.07.97	135		11.02.98	95		23.02.00	60	
06.07.97	88		18.02.98	98	nervös	24.02.00	79	
09.07.97	91	Paarung	25.02.98	104		25.02.00	54	
11.07.97	107		04.03.98	80		26.02.00	113	
14.07.97	57		11.03.98	63		27.02.00	82	
16.07.97	66		18.03.98	104		29.02.00	110	
18.07.97	69		25.03.98	98		01.03.00	95	
23.07.97	88		01.04.98	109	Paarung	02.03.00	87	
25.07.97	82		08.04.98	72		03.03.00	93	
28.07.97	117		15.04.98	76		04.03.00	71	
30.07.97	63		22.04.98	98		05.03.00	72	
01.08.97	50		29.04.98	82		06.03.00	63	
02.08.97		Paarung	06.05.98	131		07.03.00	65	
04.08.97	35		13.05.98	151		08.03.00	50	
08.08.97	38		03.06.98	98		09.03.00	54	
13.08.97	66		29.07.98	180		10.03.00	54	
18.08.97	79		07.08.98	120		11.03.00	79	
20.08.97	76		10.08.98	164		12.03.00	50	
22.08.97	82		13.08.98	129		13.03.00	63	
29.08.97	76		19.08.98	145		14.03.00	80	
30.08.97		Paarung	01.02.00	85		15.03.00	85	
01.09.97	60		02.02.00	93		16.03.00	82	
08.09.97	63		04.02.00	76		17.03.00	69	
10.09.97	50		05.02.00	82		18.03.00	91	
12.09.97	63		06.02.00	101		19.03.00	99	

Fortsetzung nächste Seite

## Fortsetzung von Tabelle XXXI

Datum	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Gestagene	Beobach- tungen
20.03.00	85		01.06.00	79		06.08.00	80	
21.03.00	95		02.06.00	69		07.08.00	72	
22.03.00	110		04.06.00	87		08.08.00	88	
23.03.00	74		05.06.00	68		09.08.00	101	
24.03.00	76		06.06.00	76		13.08.00	58	
25.03.00	85		07.06.00	61		14.08.00	46	
26.03.00	72		08.06.00	57		15.08.00	49	
28.03.00	76		09.06.00	88		16.08.00	65	
29.03.00	79		13.06.00	76		17.08.00	107	
30.03.00	79		14.06.00	74		18.08.00	66	
31.03.00	71		15.06.00	79		21.08.00	54	
01.04.00	79		16.06.00	68		22.08.00	47	
02.04.00	87		19.06.00	66		23.08.00	69	
03.04.00	98		22.06.00	46		24.08.00	72	
04.04.00	79		28.06.00	57		25.08.00	85	
05.04.00	79		30.06.00	76		27.08.00	120	
06.04.00	72		03.07.00	63		28.08.00	110	
10.04.00	104		05.07.00	35		29.08.00	117	
12.04.00	104		06.07.00	57		30.08.00	154	
14.04.00	113		07.07.00	54		31.08.00	30	
17.04.00	120		09.07.00	76		01.09.00	126	
19.04.00	87		10.07.00	57		03.09.00	107	
21.04.00	76		11.07.00	60		04.09.00	110	
23.04.00	162		12.07.00	47		05.09.00	104	
25.04.00	95		13.07.00	54		06.09.00	98	
26.04.00	120		14.07.00	66		07.09.00	85	
03.05.00	71		15.07.00	66		08.09.00	95	
08.05.00	107		16.07.00	87		10.09.00	145	
10.05.00	95		17.07.00	69		11.09.00	91	
12.05.00	123		19.07.00	66		12.09.00	161	
13.05.00	145		21.07.00	55		13.09.00	101	
14.05.00	132		23.07.00	54		14.09.00	109	
15.05.00	85		24.07.00	60		15.09.00	79	
17.05.00	142		25.07.00	44		17.09.00	99	
18.05.00	118		27.07.00	60		18.09.00	104	
19.05.00	109		30.07.00	41		19.09.00	110	
22.05.00	90		31.07.00	63		20.09.00	123	
23.05.00	93		01.08.00	58		21.09.00	95	
24.05.00	101		02.08.00	77		22.09.00	93	
25.05.00	95		03.08.00	69		24.09.00	95	
31.05.00	66		04.08.00	50		25.09.00	96	

Fortsetzung nächste Seite

## Fortsetzung von Tabelle XXXI

Datum	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Gestagene	Beobach- tungen
26.09.00	151		15.11.00	95		29.01.01	104	
27.09.00	151		17.11.00	109		30.01.01	101	
28.09.00	148		20.11.00	109		31.01.01	96	
29.09.00	96		22.11.00	145		02.02.01	95	
01.10.00	120		24.11.00	161		05.02.01	79	
02.10.00	85		27.11.00	181		07.02.01	83	
03.10.00	98		29.11.00	128		09.02.01	98	
04.10.00	124		01.12.00	123		12.02.01	128	
05.10.00	104		04.12.00	101		14.02.01	117	
06.10.00	126		06.12.00	117		16.02.01	139	
08.10.00	139		08.12.00	91		19.02.01	162	
09.10.00	110		11.12.00	85		21.02.01	129	
10.10.00	85		13.12.00	57		23.02.01	129	
11.10.00	101		15.12.00	79		26.02.01	113	
12.10.00	165		18.12.00	72		28.02.01	107	
13.10.00	129		20.12.00	123		02.03.01	96	
15.10.00	137		22.12.00	113		05.03.01	151	
16.10.00	123		25.12.00	91		07.03.01	154	
17.10.00	101		27.12.00	123		09.03.01	132	
18.10.00	120		29.12.00	82		12.03.01	146	
19.10.00	113		02.01.01	95		14.03.01	148	
20.10.00	121		03.01.01	88		16.03.01	140	
22.10.00	95		05.01.01	83		19.03.01	139	
23.10.00	120		08.01.01	76		21.03.01	145	
24.10.00	95		10.01.01	79		23.03.01	129	
25.10.00	85		12.01.01	85		26.03.01	129	
27.10.00	74		15.01.01	85		28.03.01	113	
01.11.00	102		17.01.01	121		30.03.01	110	
03.11.00	85		19.01.01	104		02.04.01	117	
06.11.00	91		22.01.01	107		04.04.01	124	
08.11.00	131		24.01.01	129		06.04.01	129	
10.11.00	107		26.01.01	82				

Tabelle XXXII: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) des Spitzmaulnashorns "Sara", ingavid

Datum	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Gestagene	Beobach- tungen
20.11.97	72		24.05.99	79		28.06.99	72	
21.11.97	38		31.05.99	50		12.07.99	91	
08.12.97	50		10.06.99	58		19.07.99	101	
19.05.99	66		14.06.99	85		26.07.99	60	
21.05.99	69		21.06.99	54				

Tabelle XXXIII: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) des Spitzmaulnashorns "Sara" während der 1. erfassten Gravidität

Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen
03.08.96	-462		Paarung	13.08.97	-87	567	
26.05.97	-166	379		18.08.97	-82	473	
28.05.97	-164	364		20.08.97	-80	611	
30.05.97	-162	403		29.08.97	-71	592	
02.06.97	-159	384		01.09.97	-68	725	
04.06.97	-157	394		08.09.97	-61	517	
06.06.97	-155	403		10.09.97	-59	381	
09.06.97	-152	369		12.09.97	-57	372	
11.06.97	-150	380		15.09.97	-54	545	
13.06.97	-148	371		17.09.97	-52	860	
16.06.97	-145	386		24.09.97	-45	369	
18.06.97	-143	346		01.10.97	-38	608	
20.06.97	-141	357		03.10.97	-36	592	
23.06.97	-138	345		07.10.97	-32	361	
25.06.97	-136	360		14.10.97	-25	403	
27.06.97	-134	375		21.10.97	-18	646	
30.06.97	-131	380		28.10.97	-11	359	
02.07.97	-129	639		04.11.97	-4	384	
04.07.97	-127	863		07.11.97	-1		Vulva/ Euter ödema- tisiert
09.07.97	-122	485					
11.07.97	-120	432					
14.07.97	-117	595		08.11.97	0	359	Geburt
16.07.97	-115	536		09.11.97	1	135	
21.07.97	-110	498		10.11.97	2	120	
23.07.97	-108	624		11.11.97	3	95	
25.07.97	-106	548		12.11.97	4	72	
28.07.97	-103	438		20.11.97	12	72	
30.07.97	-101	391		21.11.97	13	38	
01.08.97	-99	487		08.12.97	30	50	
04.08.97	-96	428		03.01.98	56		Tod Jungtier
06.08.97	-94	428					

Tabelle XXXIV: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) des Spitzmaulnashorns "Sara" während der 2. erfassten Gravidität

Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen
21.01.98	-471	85		19.10.98	-200	378	
28.01.98	-464	113		26.10.98	-193	473	
04.02.98	-457	104		02.11.98	-186	501	
11.02.98	-450	91		09.11.98	-179	513	
15.02.98	-446		Paarung	16.11.98	-172	422	
18.02.98	-443	85		23.11.98	-165	696	
25.02.98	-436	101		30.11.98	-158	532	
04.03.98	-429	126		07.12.98	-151	718	
11.03.98	-422	98		14.12.98	-144	627	
16.03.98	-417		Paarung	21.12.98	-137	580	
18.03.98	-415	113		28.12.98	-130	611	
25.03.98	-408	117		04.01.99	-123	479	
01.04.98	-401	142		11.01.99	-116	491	
08.04.98	-394	123		25.01.99	-102	633	
15.04.98	-387	129		01.02.99	-95	699	
22.04.98	-380	173		08.02.99	-88	324	
29.04.98	-373	208		15.02.99	-81	939	
06.05.98	-366	227		22.02.99	-74	879	
13.05.98	-359	233		01.03.99	-67	923	
20.05.98	-352	247		08.03.99	-60	838	
27.05.98	-345	280		15.03.99	-53	910	
03.06.98	-338	205		22.03.99	-46	797	
10.06.98	-331	328		29.03.99	-39	962	
17.06.98	-324	365		04.04.99	-33	885	
24.06.98	-317	410		12.04.99	-25	504	
01.07.98	-310	324		19.04.99	-18	636	
08.07.98	-303	441		26.04.99	-11	758	
15.07.98	-296	504		03.05.99	-4	633	
22.07.98	-289	523		07.05.99	0	266	Geburt
29.07.98	-282	479		08.05.99	1	176	
05.08.98	-275	772		09.05.99	2	145	
10.08.98	-270	879		10.05.99	3	95	
19.08.98	-261	586		11.05.99	4	83	
26.08.98	-254	564		12.05.99	5	69	
02.09.98	-247	655		13.05.99	6	109	
09.09.98	-240	548		14.05.99	7	113	
16.09.98	-233	564		15.05.99	8	126	
23.09.98	-226	491		16.05.99	9	113	
30.09.98	-219	633		17.05.99	10	109	
05.10.98	-214	375		19.05.99	12	66	
12.10.98	-207	616		21.05.99	14	69	

Tabelle XXXV: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) des Spitzmaulnashorns "Saba" während der Gravidität

Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen
05.10.98	-462	72		21.06.99	-203	595	
12.10.98	-455	69		28.06.99	-196	397	
19.10.98	-448	95		05.07.99	-189	617	
26.10.98	-441	95		12.07.99	-182	252	
02.11.98	-434	91		19.07.99	-175	306	
09.11.98	-427	101		26.07.99	-168	658	
16.11.98	-420	117		02.08.99	-161	491	
23.11.98	-413	101		09.08.99	-154	356	
30.11.98	-406	101		16.08.99	-147	441	
06.12.98	-400		nervös	20.08.99	-143	328	
07.12.98	-399	142		26.08.99	-137	532	
08.12.98	-398		nervös	30.08.99	-133	428	
14.12.98	-392	142		02.09.99	-130	277	
21.12.98	-385	154		06.09.99	-126	391	
28.12.98	-378	176		10.09.99	-122	444	
04.01.99	-371	236		13.09.99	-119	643	
11.01.99	-364	252		16.09.99	-116	513	
18.01.99	-357	428		20.09.99	-112	765	
25.01.99	-350	416		23.09.99	-109	561	
01.02.99	-343	384		27.09.99	-105	460	
08.02.99	-336	662		30.09.99	-102	328	
15.02.99	-329	296		07.10.99	-95	397	
22.02.99	-322	321		11.10.99	-91	362	
01.03.99	-315	504		14.10.99	-88	400	
08.03.99	-308	337		18.10.99	-84	425	
15.03.99	-301	589		21.10.99	-81	432	
22.03.99	-294	551		25.10.99	-77	381	
29.03.99	-287	463		28.10.99	-74	284	
05.04.99	-280	507		01.11.99	-70	564	
12.04.99	-273	627		04.11.99	-67	592	
19.04.99	-266	718		08.11.99	-63	438	
26.04.99	-259	473		11.11.99	-60	450	
03.05.99	-252	932		15.11.99	-56	419	
10.05.99	-245	321		18.11.99	-53	447	
17.05.99	-238	592		22.11.99	-49	324	
24.05.99	-231	866		25.11.99	-46	463	
31.05.99	-224	602		29.11.99	-42	318	
07.06.99	-217	662		02.12.99	-39	227	
14.06.99	-210	567		03.12.99	-38	649	

Fortsetzung nächste Seite

## Fortsetzung von Tabelle XXXV

Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene in ng/g Kot	Beobach- tungen	Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene in ng/g Kot	Beobach- tungen
04.12.99	-37	995,4		04.01.00	-6	428,4	
05.12.99	-36	771,8		05.01.00	-5	658,4	
06.12.99	-35	589,1		06.01.00	-4	548,1	
07.12.99	-34	655,2		07.01.00	-3	529,2	
08.12.99	-33	529,2		08.01.00	-2	374,9	
09.12.99	-32	595,4		09.01.00	-1	469,4	
10.12.99	-31	683,6		10.01.00	0	422,1	Geburt
11.12.99	-30	875,7		11.01.00	1	189,0	Abtrennung Jungtier
12.12.99	-29	724,5					
14.12.99	-27	532,4		12.01.00	2	122,9	
15.12.99	-26	598,5		13.01.00	3	113,4	
17.12.99	-24	500,9		14.01.00	4	72,5	
18.12.99	-23	604,8		16.01.00	6	88,2	Euter zurück- gebildet
19.12.99	-22	494,6					
20.12.99	-21	384,3					
21.12.99	-20	888,3		17.01.00	7	78,8	
22.12.99	-19	538,7		18.01.00	8	88,2	
24.12.99	-17	686,7		19.01.00	9	85,1	
25.12.99	-16	516,6		20.01.00	10	59,9	
26.12.99	-15	541,8		21.01.00	11	53,6	
27.12.99	-14	538,7		22.01.00	12	100,8	
28.12.99	-13	453,6		23.01.00	13	72,5	
29.12.99	-12	648,9		24.01.00	14	63,0	
30.12.99	-11	803,3		25.01.00	15	77,2	
31.12.99	-10	491,4		26.01.00	16	69,3	
01.01.00	-9	784,4		27.01.00	17	91,4	
02.01.00	-8	340,2		28.01.00	18	74,0	
03.01.00	-7	548,1	Vulva/ Euter ödema- tisiert	29.01.00	19	85,1	
				30.01.00	20	61,4	
				31.01.00	21	85,1	

Tabelle XXXVI: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) des Spitzmaulnashorns "Siwa" während der Gravidität

Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen
11.05.99	-531		Paarung ?	22.09.00	-31	449	
28.08.00	-56	603		25.09.00	-28	567	
29.08.00	-55	495		27.09.00	-26	454	
30.08.00	-54	324		02.10.00	-21	439	
31.08.00	-53	312		06.10.00	-17	397	
01.09.00	-52	299		09.10.00	-14	435	
02.09.00	-51	413		11.10.00	-12	370	
03.09.00	-50	567		13.10.00	-10	460	
04.09.00	-49	460		16.10.00	-7	384	
05.09.00	-48	317		18.10.00	-5	398	
06.09.00	-47	649		23.10.00	0	288	Totgeburt
07.09.00	-46	339		24.10.00	1	126	
08.09.00	-45	328		25.10.00	2	110	
09.09.00	-44	543		26.10.00	3	101	
12.09.00	-41	573		27.10.00	4	98	
13.09.00	-40	572		28.10.00	5	85	
14.09.00	-39	526		08.11.00	16	107	
18.09.00	-35	649		10.11.00	18	110	
20.09.00	-33	567					

Tabelle XXXVII: Einzelne Gestagenkonzentrationen im Kot (in ng/g) des Spitzmaulnashorns "Mana" im Zeitraum von September bis Oktober 2001

Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen	Datum	Tage a. p./p. p.	Gestagene	Beobach- tungen
24.04.01	-460		Paarung	30.09.01	-301	293	
09.09.01	-322	435		03.10.01	-298	307	
13.09.01	-318	299		07.10.01	-294	403	
17.09.01	-314	288		28.07.02	0		fiktiver Geburts- termin
20.09.01	-311	326					
24.09.01	-307	342					
26.09.01	-305	414					

---

## Danksagung

Ich möchte mich bei allen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, herzlich bedanken.

Besonders zu danken habe ich Herrn Prof. Dr. K. Eulenberger, sowohl für die Überlassung des Themas dieser Arbeit als auch für die intensive Unterstützung bei Durchführung und Korrektur.

Ein spezieller Dank gilt Prof. Dr. E. Grün für die detaillierte fachliche Beratung bei der Auswertung und der Korrektur dieser Arbeit.

Frau Dr. J. Gottschalk und Frau G. Lochmann danke ich ganz herzlich für die Einführung in die immunologischen Techniken und für die wertvolle Hilfe, sowohl bei der Durchführung der hormonanalytischen Untersuchungen als auch bei der Auswertung dieser Arbeit.

Allen Kollegen und Mitarbeitern des Veterinär-Physiologisch-Chemischen Instituts und der Veterinärmedizinischen Abteilung des Zoologischen Garten Leipzig danke ich für die freundschaftlichen Aufmunterungen und das angenehme Arbeitsklima, wodurch mir die Zeit der Dissertation immer positiv in Erinnerung bleiben wird.

Bei allen Tierpflegern der Giraffen und/ oder Spitzmaulnashörner der zoologischen Gärten in Dortmund, Erfurt, Hamburg, Karlsruhe, Krefeld, Leipzig und Magdeburg möchte ich mich für das geduldige und zuverlässige Sammeln der Kotproben und für das zur Verfügung stellen von Angaben aus Revierbüchern bedanken.

Mein Dank gilt insbesondere den Zoodirektoren, Tierärzten und/ oder Veterinäringenieuren der zoologischen Gärten in Dortmund, Erfurt, Hamburg, Karlsruhe, Krefeld, Leipzig und Magdeburg für das Bereitstellen von Proben. Ohne ihr Verständnis und ihre Hilfsbereitschaft wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Herrn A. Richter danke ich für die Anleitung in der statistischen Auswertung dieser Arbeit.

Schließlich möchte ich besonders meinen Eltern und meiner Großmutter danken, dass sie mir durch ihre uneingeschränkte, liebevolle Unterstützung und durch die Finanzierung des Studiums, kostspieliger Praktika und sogar des Lebensunterhalts während der Dissertation diesen Berufsweg ermöglicht haben.

Außerdem danke ich meinem Freund für sein liebevolles Verständnis während der zum Teil recht schwierigen Zeit und für die Kraft, die er mir immer wieder gegeben hat.