

Trächtigkeitsdiagnose durch Steroidhormonanalyse aus Kotproben bei einem Spitzmaulnashorn (*Diceros bicornis*) im Zoologischen Garten Berlin \*

von Richard Francke und Franz Schwarzenberger

Eingeg. 15.12.1990

Über Steroidhormonanalysen aus Urinproben beim Panzernashorn berichteten KASMAN et al. (1986). Untersuchungen über die Ausscheidung von Steroidhormonen in Urin und Kot beim Breitmaulnashorn wurden von HINDLE und HIDGE (1990) angestellt. Im folgenden wird über die hormonelle Trächtigkeitsüberwachung bei einem Spitzmaulnashorn berichtet, wobei auch kurz auf praktische Aspekte der Probengewinnung hingewiesen wird.

Im Januar 1988 starb unser Zuchtbulle "Mbololo" an hämolytischer Anämie. Da unser eigener Nachwuchsbulle noch nicht zuchtreif war, wurde der adulte Nashornbulle "Klaus" aus Leipzig eingestellt. Es galt nun, die Verpaarung mit drei Kühen möglichst sinnvoll zu gestalten. Da die Spitzmaulnashörner einzeln gehalten werden, wird der Bulle nur tagsüber mit einer Kuh zusammen gelassen. Eine sichere Erkennung der weiblichen Brunft ist nicht möglich. Ob eine Nashornkuh aufgenommen hatte, wurde bisher erst im letzten Drittel der Trächtigkeit mit Ausbildung des Euters zur Gewißheit. Die Ausnahme bildete dabei die Nashornkuh "Kilaguni", der man die Trächtigkeit bis zwei Wochen vor der Geburt ihres ersten Kalbes nicht ansah. Hauptziel unserer Bemühungen war die hormonelle Früherkennung der Trächtigkeit durch nicht-invasive Methoden. In Anbetracht des langen Untersuchungszeitraumes erschien es uns wichtig, daß das Probenmaterial einfach und ohne größeren Zeitaufwand für die Tierpfleger gewonnen werden konnte. Unter diesem Aspekt hat sich das Sammeln von Urin und Speichel als nicht praktisch erwiesen. Der Urin, der vom Stallboden aufgenommen werden mußte, war meist stark verunreinigt, und die Analyse, die anfangs parallel zu der der Kotproben durchgeführt wurde, war nicht aussagekräftig. Zur Gewinnung von Speichelproben waren stets zwei Personen etwa 15 Minuten lang beschäftigt, wobei der Erfolg dieser Aktionen nicht immer garantiert war. Völlig unproblematisch dagegen ist das Sammeln von Kotproben. Von dem Spitzmaulnashorn "Theluji" wurden ab Mai 1989 bis zur Geburt des Jungtieres im September 1990 wöchentlich Kotproben genommen. Nach der Geburt wurde eine Woche lang täglich gesammelt. Das Untersuchungsmaterial wurde bei minus 20 Grad C eingefroren und zur Analyse an das Institut für Biochemie der Veterinärmedizinischen Universität Wien geschickt. Die Kotproben wurden mit wässrigem Methanol versetzt und mit Petroleum-Äther entfettet. Danach wurde die Methanolphase verdünnt und mit einem Enzym-Immunoassay analysiert, der Kreuzreaktionen vorwiegend mit 20a-OH-Gestagenen (20a-G) aufwies. Dazu wurde ein Antikörper gegen 4-Pregnen-20a-01-3-on-3-CMO:BSA verwendet.

-----

\* Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. Heinz-Georg Klös zur Vollendung seines 65. Lebensjahres herzlich gewidmet.

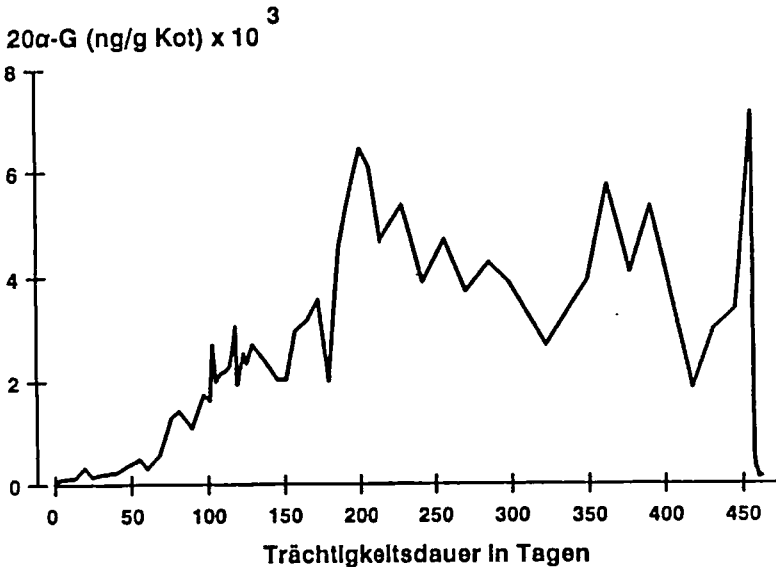


"Theluji" und ihre am 12. 10. 1990 geborene Tochter "Sita" im Alter von 5 1/2 Monaten im Zoo Berlin Foto: Kleinschmidt



"Kilaguni" und ihre am 7. 2. 1991 geborene Tochter "Saba" im Alter von 2 Monaten im Zoo Berlin Foto: Kleinschmidt

Bei "Theluji" stieg der Steroidgehalt am 75. Tag der Trächtigkeit deutlich an und erreichte nach dem 100. Tag Werte von über 2000 ng/g Kot. Ab dem 200. Tag stieg die Konzentration weiter bis über 4000 ng/g Kot an, um dann bis zum Geburtstermin mehr oder weniger konstant zu bleiben. Innerhalb von 3 - 4 Tagen nach der Geburt sank die Konzentration von 20a-G auf niedrige Werte wie vor der Paarung ab. Der Gehalt und Konzentrationsverlauf der Gestagene im Kot weisen beim Spitzmaulnashorn Parallelen zu Untersuchungsergebnissen beim Pferd auf (BAMBERG u. SCHWARZENBERGER, 1990; SCHWARZENBERGER et al., 1990). Die Bestimmung von 20a-G in Kotproben ermöglichte beim Spitzmaulnashorn die sichere Trächtigkeitsdiagnose ab dem 100. Tag der Gravidität, weshalb diese Methode noch bei den zwei weiteren Zuchtkühen "Kilaguni" und "Mzima" erprobt wird. Im Gegensatz zu Urin- und Speichelproben war die regelmäßige Gewinnung von Kotproben über einen langen Zeitraum sicher und unproblematisch.



Verlauf der Konzentration von 20a-OH Gestagenen (20a-G) im Kot des Spitzmaulnashorns "Theluji" während der Trächtigkeit (458 Tage).



"Mzima" und ihre am 4. 4. 1991 geborene Tochter "Nane" im Alter von 2 Tagen im Zoo Berlin Foto: Kleinschmidt

#### Summary

Faeces was collected weekly of Black rhinoceros (*Diceros bicornis*) "Theluji" from May 1989 to parturition in September 1990, and seven additional days thereafter. Faecal samples were stored at minus 20 degrees Celcius and shipped to Institut für Biochemie (Department of Biochemistry) of Veterinärmedizinische Universität Wien. The samples were mixed with aquos methanol and defatted with petroleum ether, dilution of the methanol phase and analysis by an enzyme-immunoassay followed which predominantly showed crossreaction of 20 a-hydroxylated progestagens (20a-G). The antibody used for EIA was against 4-pregnen-20a-01-3- one 3 CMO:BSA. On 75th day of pregnancy concentration of 20a-G increased markedly and reached over 2000 ng/g faeces after 100 days. Concentration continued to increase over 4000 ng/g faeces up until day 200, to then remain more or less constant until parturition. Within three to four days after parturition concentration decreased to values obtained before mating.

Literatur

BAMBERG E. and F. SCHWARZENBERGER (1990): Fecal steroid assay for monitoring estrous cycle and pregnancy. Proc.4.

Congr. Int. Soc. Anim. Clin. Biochem., Davis, 95 - 99.

HINDLE, J. E. and J. K. HODGES (1990): Metabolism of oestradiol-17 $\beta$  and progesterone in the white rhinoceros

KASMAN, L. H. et al. (1986): Urinary steroid evaluations to monitor ovarian function in exotic ungulates: III.

Estrone sulfate and pregnediol-3-glucuronide excretion

in the Indian rhinoceros (*Rhinoceros unicornis*). Zool.

Biol. 5, 355 - 361.

SCHWARZENBERGER, F. et al. (1990): Concentration of gesta-

gens and oestrogens in faeces of pregnant Lippizan.

Trotter and Thoroughbred mares. 5. Int. Symp. Equine

Reprod., Deauville, Abstracts, 148 - 149.

Anschrift der Verfasser:

Dr. Richard Francke

Mansfelder Straße 19

1000 Berlin 31

und

Dr. Franz Schwarzenberger

Institut für Biochemie der Veterinärmedizinischen

Universität Wien

Linke Bahngasse 11

A-1030 Wien