

6. Diskussion

Im folgenden Abschnitt werden die erlangten Ergebnisse diskutiert, die aktuellen Möglichkeiten assistierter Reproduktionstechnologien aufgezeigt und zusammenfassend denkbare Modell-Bärenarten für bedrohte Bären herausgearbeitet.

6.1. Möglichkeiten und Grenzen der angewandten Methoden

6.1.1. Morphologische und sonomorphologische Untersuchungsmethoden

Erwartungsgemäß und in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Göritz (1996), Hildebrandt und Göritz (1995) und Quest (2001) entsprechen die sonographisch transrektal gemessenen Werte des Geschlechtstraktes der männlichen Bären den morphologischen *in situ* bzw. transkutanen Messungen in hohem Maße. Abweichungen der sonographischen Messergebnisse von den in der Sektion ermittelten Werten können sich durch die Platzierung des Schallkopfes mit daraus resultierend abweichender Lage der Schnittebenen durch das Organ ergeben. Sie treten jedoch in einem tolerierbaren Rahmen auf, so dass die sonographisch ermittelten Messergebnisse als zuverlässige Grundlage auch im Vergleich mit den Ergebnissen anderer Autoren oder Untersuchungsgruppen gelten können. Deshalb wurde auf den morphologisch/sonomorphologischen Vergleich bei den weiblichen Bären verzichtet.

Der Vorteil des transrektalen Ultraschalls liegt im Einsatz am lebenden Tier. Er lässt sich auf alle Reproduktionsorgane, außer ihrer geringen Größe nur schwer darstellbaren Samen- und Eileiter, anwenden und kann wiederholt am gleichen Individuum während unterschiedlicher Reproduktionsstadien durchgeführt werden. Zusätzlich lässt sich der Aktivitätszustand der Geschlechtsorgane ermitteln. Die Untersuchungen können aufgezeichnet, archiviert und zu einem späteren Zeitpunkt sowie zu unterschiedlichen Fragestellungen herangezogen und ausgewertet werden. Der Nachteil bei der Anwendung dieser Methode an Wildtieren, wie zum Beispiel den Bären, liegt in der unbedingt erforderlichen Narkotisierung der Tiere mit all ihren Risiken und Gefahren für die Gesundheit des Patienten.

Die transabdominale Ultraschalluntersuchung weist gegenüber der transrektalen Methode den Vorteil auf, am nicht narkotisierten Tier durchgeführt werden zu können (Ringleb *et al.* 2003). Jedoch besitzt sie keine solch Detailtiefe. Hellgren *et al.* (1990) und Tsubota (1990) beschreiben die Trächtigkeitsdiagnose beim Braunbären mittels transabdominalem Ultraschall erst im fortgeschrittenen Stadium. Die Darstellung von nicht bzw. früh graviden Uteri und Ovarien gelingt im Gegensatz dazu nur mittels transrektalem Ultraschall (Göritz *et al.* 1997). Längenmessungen von Organen, deren Ausmaße die Schallkopflänge überragen, sind nur schwer durchführbar. Die intraabdominale Lage der Organe kann mittels der Eindringtiefe des Adapters bestimmt werden (Göritz *et al.* 1997). Zur exakten Bestimmung der Organlänge (z.B. Uterus) bedarf es jedoch der morphologischen Präparation *in situ*.

Das Wissen über die Ausmaße und die Lage der Reproduktionsorgane in der Bauch- bzw. Beckenhöhle der Bären ist essentiell für die Entwicklung und Anwendung von Instrumenten

zur assistierten Reproduktion, z.B. zur Elektroejakulation oder der mikroinvasiven Chirurgie. So müssen die Länge und Stärke der Instrumente sowie ihr Einsatz an die Größe des zu untersuchenden Tieres und dessen Reproduktionstraktes angepasst werden. Mittels der hier dargestellten Untersuchungsergebnisse lässt sich bereits vor der Untersuchung die Organgröße und -lage abschätzen.

Die vorliegende Studie greift neben den eigenen Ultraschalluntersuchungen auf sonomorphologische Aufzeichnungen zurück, die unter Benutzung desselben Protokolls erstellt worden waren. Sie bestehen größtenteils aus Braunbär-Untersuchungen. Von den anderen Bärenarten stehen weniger Aufzeichnungen zur Verfügung. So konnte eine umfangreiche Sammlung sonographischer Vermessungen zusammengestellt werden. Nach Einordnung in die unterschiedlichen Reproduktionsstadien lässt ihre Anzahl jedoch eine schließende statistische Auswertung nicht zu.

6.1.2. Spermatologische Untersuchungsmethoden

Die Samenentnahme mittels Elektroejakulation setzt die Narkose des Tieres mit den bereits erwähnten Gefahren voraus. Abgesehen davon ist sie jederzeit und bei jedem Bären durchführbar. Die größte Ausbeute und das fertilsten Sperma werden bei adulten Männchen während der Paarungszeit der Bären gewonnen. Die Ergebnisse beim Großen Panda liegen im Bereich der in der Literatur beschriebenen Werte (Chen *et al.* 1994; Feng *et al.* 1991; Kojima *et al.* 2001; Liu *et al.* 1999; Moore *et al.* 1984; Platz, Jr. *et al.* 1983; Tang *et al.* 1991; Zhang *et al.* 1987).

Ein wichtiger Aspekt bei der Samengewinnung ist die Vermeidung von Urinkontaminationen. (Anel *et al.* 2002; Boone 1997). Diese treten in dieser Studie sowohl bei Brillen- als auch bei Braunbären auf. Die untersuchten Bären befinden sich in einem hohen Alter von über 20 Jahren. Bei einem Brillenbären handelt es sich um ein blindes Tier, das in der Rangordnung der Gruppe, in der es gehalten wird, die unterste Stellung einnimmt und daher nie zur Verpaarung gekommen ist. Diese Faktoren bewirken eine Reduktion der Spermatogenese und eine Atrophierung der akzessorischen Geschlechtsdrüsen. Aufgrund verkleinerter Drüsen, zu hoher Spannungseinstellung am Impulsgeber oder durch Fehlplatzierung der Elektroden wirkt der elektrische Stimulus während der Entnahme zu einem Großteil auf den Blasenmuskel ein. Dieses führt zur Kontraktion der Blase und folglich zu einem Auswurf von Urin (siehe oben). Abgesehen davon ist aber auch eine retrograde Ejakulation möglich, bei der der Samen in die Harnblase abgegeben wird (Günzel-Apel 1994). Weiterhin sind die muskelrelaxierenden Eigenschaften einiger Narkotika zu bedenken, wie z.B. beim Xylazin, die einen Ausfluss von Urin begünstigen. Die Urinkontamination bewirkt einen osmotischen Membrandefekt der Spermien. Die Qualität des Spermias fällt dadurch rapide ab (Weitze 2001).

6.1.3. Laboranalytische Untersuchungsmethoden

Mit laboranalytischen Methoden ist es inzwischen möglich, Hormonkonzentrationen in den unterschiedlichsten Medien festzustellen, wie z.B. in Blut, Kot oder Urin (z.B. Hodges *et al.* 1984; Meyer *et al.* 1997). Die Werte aus dem Blut bzw. Serum spiegeln aufgrund der Bestimmung der aktiven Substanzen den aktuellsten Hormonstatus des Tieres wider. Hierfür ist aber beim Bären wiederum eine Narkose unabdingbar. Bei den nicht invasiven Ansätzen ist es möglich, auf eine Narkose zu verzichten, da die Exkrete und Sekrete der Tiere auf Hormonmetaboliten untersucht werden. Diese Metaboliten müssen erst im Körper verstoffwechselt und danach ausgeschieden werden. Je nach Hormon bzw. Ausscheidungsweg kann dies mehrere Stunden dauern, so dass der tatsächliche Hormonstatus erst im Nachhinein bestimmt werden kann.

Grundvoraussetzung für die Erstellung von Hormonprofilen ist eine korrekte, standardisierte Probenentnahme in regelmäßigen Abständen. Jede Probe muss eindeutig seinem Besitzer zugeordnet werden können. Bei Blut- bzw. Speichelproben ist diese Voraussetzung gegeben. Jedoch stellt die Beprobung von in Gruppen gehaltenen Tieren bei Kot und Urin eine besondere Herausforderung dar. Im Falle von Kot kann die individuelle Markierung mittels unverdaulicher Stoffe wie z.B. trockenen Maiskörnern oder Lebensmittelfarbe durchgeführt werden. Ist dies nicht möglich, müssen die Tiere ebenso wie bei der Sammlung von Urin für den Zeitraum der Probennahme vom Rest der Gruppe getrennt werden. Auf eine saubere Beprobung ist dabei zu achten und Vermischungen müssen vermieden werden.

In dieser Studie wurden Kot-, Urin- und Speichelproben gesammelt und ausgewertet. Das Sammeln von Kotproben war für die meisten Zoos die praktikabelste Methode, da die Probennahme durch die Pfleger mit einem minimalen Aufwand vor der täglichen Reinigung der Gehege durchgeführt werden konnte. Jedoch verhinderte in vielen Zoos die Gruppenhaltung die Sammlung individueller Kotproben, da diese nicht zugeordnet werden konnten. In Haltungen, bei denen eine separate Aufstallung der Tiere während der Nacht möglich war, wurden Urinproben gesammelt. In einigen Zoos war es nicht möglich, Kot zu sammeln, und auch die Urinbeprobung stieß auf größere Schwierigkeiten. Hier wurde nach einem alternativen Beprobungsverfahren gesucht, welches eine individuelle Entnahme in regelmäßigen, einheitlichen Abständen auch in Großanlagen gewährleisten sollte. Die Entnahme von Speichel war in diesen Fällen die einzig mögliche Art und Weise, individuelle Proben zu erhalten. So flossen in diese Studie Proben unterschiedlicher Medien aus mindestens einer gesamten Reproduktionsphase ein. Hierdurch war es möglich, praktikable Methoden zur Hormonbestimmung beim Bären anzugeben. Die Anzahl der erstellten Profile ist jedoch zur Erstellung einer schließenden Statistik zu gering.

6.2. Männlicher Bär

6.2.1. Morphologische und somomorphologische Untersuchungen

Die Größe der in dieser Studie vermessenen Hoden stimmt mit Berichten aus der Literatur überein. Je nach Saison kann die Größe variieren, wie dies bereits beim männlichen Bären (Garshelis und Hellgren 1994; Howell-Skalla *et al.* 2002; Platz, Jr. *et al.* 1983) und auch für andere saisonale Säuger beschrieben wurde, etwa beim Rind (Weitze 2001) oder beim Reh (Schön 2004). Während der Brunftzeit erreichen die Hoden aufgrund der zu diesem Zeitpunkt aktiven Spermatogenese maximale Ausmaße. Zudem ist die Größe der Hoden von der Körpergröße und dem Alter des jeweiligen Tieres abhängig. Setzt man den Durchmesser der Hoden in Bezug zum Körpergewicht, so weisen die leichteren Tiere verhältnismäßig größere Organe auf (siehe unten). Abweichend hiervon besitzt jedoch der Große Panda sowohl relativ als auch absolut die größten Gonaden. Auch in der Anatomie des äußeren Geschlechtsorgans weicht der Große Panda von den anderen Bären ab; sein Penis ist sehr klein, weist nach kaudal und besitzt ein unter den Bären einzigartiges, kürzeres und breiteres *Baculum*. In der Evolution scheint der Penis des Großen Pandas auf einer ursprünglicheren Entwicklungsstufe stehen geblieben zu sein wie der der anderen *Arctoidea*. Einzig der Katzenbär (*Ailurus fulgens*) ähnelt in dieser Hinsicht dem Großen Panda (Davis 1964). Da Ersterer jedoch eine eigene Unterfamilie, die Ailurinae, darstellt (Yonzon 2001), sind gemeinsame Merkmale hier als konvergente Entwicklungen anzusehen (Kitchener 2000). Bären besitzen, wie auch Hunde, zwei akzessorische Geschlechtsdrüsen: *Ampulla ductus deferentis* (Ampulla) und *Glandula prostatica* (Prostata). Die in dieser Studie erzielten Messergebnisse zeigen, dass die Größe dieser Drüsen, im Gegensatz zu den Gonaden, linear zur Körpergröße der Tiere zunimmt und im saisonalen Verlauf nur geringgradige Veränderungen erfährt (siehe unten). Eine Ausnahme bildete der Große Panda, dessen Prostata sich saisonal während der Brunft beinahe verdoppelt. Bei einem kastrierten Kragenbärenmann wurden auffallend kleine akzessorische Geschlechtsdrüsen gefunden. Wie für Haus- und Nutztiere häufig berichtet, kommt es bei Spätkastraten zur Atrophierung der inneren Geschlechtsorgane mit Einstellung der Sekretion, da die geschlechtshormoninduzierte Steuerung des Wachstums und der Funktion entfällt (Schummer und Vollmerhaus 1987).

Um die Größenveränderungen von Hoden, Ampulla und Prostata in Bezug auf die Spermatogenese zu untersuchen, wurden spermatologische Untersuchungen in diese Studie mit einbezogen.

6.2.2. Spermatologische Untersuchungen

Die Ejakulate des Großen Pandas sind überdurchschnittlich fertil und liegen im Bereich der Beschreibungen von Feng *et al.* (1991) und Platz, Jr. *et al.* (1983). Sie weisen in den ersten beiden Fraktionen die besten Qualitätsparameter auf. Das geringere Volumen im Verhältnis zu den folgenden Fraktionen kann aufgrund unvollständiger Stimulierung zu Beginn der Untersuchung zustande kommen. Vor dem Östrusmaximum des Weibchens wurde das

fertilste Sperma gewonnen. Danach befindet sich die Spermatogenese bereits in Abbildung, was anhand des höheren Anteils malformierter Spermien zu erkennen ist. Hervorzuheben ist, dass auch außerhalb der Paarungszeit Ejakulat gewonnen werden kann. Es ist jedoch in seiner Qualität herabgesetzt. Dies widerspricht der Erwartung, dass die Spermatogenese außerhalb der Paarungszeit sistiert und nur kleinvolumiges, unfruchtbares Ejakulat gewonnen werden kann (Moore *et al.* 1984). Die von Chen *et al.* (1994) berichtete Häufung von Plasmotropfen kann nicht beobachtet werden.

Drei der untersuchten Brillenbären hatten nachweislich erfolgreich Jungtiere gezeugt. Auch bei diesen Tieren sind die ersten Fraktionen am fruchtbarsten. Während der Brunft werden ebenfalls größere Ejakulate gewonnen als während der Ruhephase. In dieser Zeit ist das Volumen sehr klein, weist jedoch eine sehr hohe Spermiedichte auf. Dieses lässt zwei Rückschlüsse zu: Zum einen ist bei Brillenbären die Frage der Saisonalität nicht abschließend geklärt. Finden mehrere Östruszyklen während eines Jahres statt (Moseley 1994), kann ebenfalls eine Fortsetzung der Spermatogenese während des restlichen Jahres angenommen werden. Zum anderen könnten Spermien auch in den akzessorischen Geschlechtsdrüsen gespeichert werden. In beiden Fällen ist der Bär während eines längeren Zeitraumes, eventuell auch das gesamte Jahr über fruchtbar. Ebenfalls ungeklärt ist, ob es sich bei Brillenbärenweibchen um induzierte Ovulierer handelt. Da die Tiere in sehr zerklüfteten, schwer zugänglichen Bergregionen beheimatet sind, kommt es nur sehr selten zur Zusammenkunft zweier Bären. Aufgrund dieser Lebensumstände sollte gewährleistet sein, dass es bei einer solchen Zusammenkunft zu einer erfolgreichen Verpaarung der Tiere kommen kann. Aufgrund der gleich bleibenden Lichtintensität in Äquatornähe, dem Verbreitungsgebiet des Brillenbären, fehlt die Regulation der Hormone durch die Photoperiode. Es wird vermutet, dass Brillenbären ihren Reproduktionszyklus über das Nahrungsangebot regulieren (Kühme 1991; Nowak 1999). Da in Zoos regelmäßig und ausreichend gefüttert wird, entfällt hier dieser Regulationsmechanismus und sie verpaaren sich das ganze Jahr über, wie dies bei der Bärin „Peruana“ zu beobachten ist.

6.2.3. Zusammenhang der Morphologie und der Spermatogenese beim männlichen Bär

Bei Hunden besteht ein unmittelbarer Zusammenhang zwischen der Hodengröße und der Spermienzahl im Ejakulat. Die Hodengröße stellt hier ein indirektes Maß für die Fruchtbarkeit dar (Günzel-Apel 1994; Günzel-Apel *et al.* 1994; Kowalzik 1996). Auch andere Säuger weisen moderate bis hohe Korrelationskoeffizienten zwischen Hodengröße und Spermatogenese auf (Amann 1970; Curtis und Amann 1981; Swanepoel *et al.* 1993; Walkden-Brown *et al.* 1994). Anhand der vorliegenden Studie kann beim Großen Panda und erstmals beim Brillenbären bestätigt werden, dass die Hoden während der reproduktiv aktiven Phase aufgrund der angeregten Spermatogenese ihre größte Ausdehnung erfahren. Während der Brunft sind beim Großen Panda die Qualität und Quantität der Spermien erhöht und liegen im Bereich der Literaturbeschreibungen. Die spermatologischen Parameter beim Brillenbären liegen in ihrem Größenbereich innerhalb der Parameter anderer Bären während der Paarungszeit. Die mit zunehmendem Alter verstärkt auftretenden Hodenfibrosierungen haben keinen Einfluss auf die Ejakulatqualität. Beim Braunbären sind die Hoden ebenfalls

vergrößert, jedoch konnten bei dieser Art nur urinkontaminierte Ejakulate gewonnen werden, die aufgrund ihrer stark verminderten Qualität nicht berücksichtigt wurden. Eine spermatogen bedingte Vergrößerung des Hodenvolumens ist somit bei dieser Art nicht nachzuweisen. Literarische Beschreibungen saisonal bedingter Veränderungen der Ejakulatparameter fehlen bislang beim Braunbären.

Eine Erklärung, weshalb bei den Bären der Durchmesser der Hoden in Bezug zum Körpergewicht abnimmt, findet sich darin, dass alle Bären eine annähernd gleiche Menge Spermien pro Ejakulat produzieren. Hierfür benötigen kleinere Arten im Verhältnis zur Körpergröße voluminösere Hoden, was in dieser Arbeit herausgearbeitet wurde. Im Vergleich der Spermiedichte pro Ejakulat liegen die Werte bei allen Bären sowohl in den eigenen Untersuchungen als auch in Literaturangaben mit $250 - 500 \times 10^6$ Spermien/ml im gleichen Größenbereich. Eine Ausnahme bildet wiederum der Große Panda, der sowohl absolut als auch relativ die größten Gonaden sowie die höchste Spermienkonzentration von bis zu 4.000×10^6 Spermien/ml besitzt. Ist eine kurze Reproduktionszeit verbunden mit einer hohen Anzahl von Kopulationen, wie dies beim Großen Panda der Fall ist, so ist eine Selektion auf hohe Spermienproduktion zu erwarten, was wiederum eine Selektion von großen Hoden nach sich zieht. Konkurrieren mehrere Männchen um ein oder mehrere Weibchen und sind die Weibchen nicht monopolisierbar, ist ein postkopulativer Wettbewerb mit großen Hoden zu erwarten (Clutton-Brock 1991; Clutton-Brock und Harvey 1978; Kappeler 1996).

Die akzessorischen Geschlechtsdrüsen produzieren Sekrete, die dem Ejakulat beigemischt werden. Kurz vor der Brunft wird beim Großen Panda ein Anstieg des Ejakulatvolumens gemessen, das während der Brunft um weitere 7% ansteigt. Moore *et al.* (1984) berichten sogar von 10%. Der Brillenbär, der die kleinsten akzessorischen Geschlechtsdrüsen besitzt, weist ein geringeres Ejakulatvolumen auf als der Große Panda. Außerhalb der Paarungszeit ist hier die Samenentnahme nur bedingt möglich. Die Größen der akzessorischen Geschlechtsdrüsen verändern sich jedoch saisonal nur geringfügig und spiegeln die saisonal variierende Produktion der Samenflüssigkeit nicht wider. Inwieweit die histologische An- und Rückbildung des Drüsenepithels diese Produktion beeinflussen, kann mittels Ultraschall nicht verifiziert werden. Des Weiteren können Ampulla oder Prostata als Samenreservoir dienen. So konnte ein Brillenbär nach der Sterilisation im Januar eine Brillenbärin erfolgreich im Mai decken, die im darauf folgenden Dezember Junge gebar. Weitere Würfe sind seither jedoch ausgeblieben (Eulenberger, persönliche Mitteilung).

6.3. Weiblicher Bär

6.3.1. Morphologische und sonomorphologische Untersuchungen

Die Längen der Uteri *in situ* entsprechen den von Dittrich und Kronberger (1963) und Göritz *et al.* (1997) beschriebenen. Sie korrelieren mit der Größe der Tiere und sind, wie ebenfalls von Göritz *et al.* (1998) beschrieben, durch saisonale Größenveränderungen geprägt. In der vorliegenden Studie wird weiterhin gezeigt, dass die Uteri während der reproduktiv inaktiven Phase kürzer sind als während der Diapause.

Das Verhältnis von Uteruskörper zu den Uterushörnern ist reziprok abhängig von der Körpergröße: Kleine Bären besitzen verhältnismäßig längere Uterushörner als Uteruskörper. Dieses Verhältnis wird in der Literatur größer angegeben als das in dieser Studie ermittelte. Es ist anzunehmen, dass dieses Verhältnis durch die artspezifische Anzahl der Jungtiere innerhalb einer Schwangerschaft beeinflusst wird. Schwarzbären, die die höchste Anzahl Jungtiere bekommen, zeigen die längsten Uterushörner im Verhältnis zum Uteruskörper. Hierbei handelt es sich um eine anatomische Adaptation zur optimalen Versorgung der Früchte. Ein weiterer Faktor, der die Uteruslänge sowie das Verhältnis von Uteruskörper zu Uterushörnern beeinflussen könnte, ist die Anzahl der durchlebten Trächtigkeiten. Die Beobachtung von Schummer und Vollmerhaus (1987), dass „erst wenn der Uterus seine ihm von der Natur zugedachte Funktion als Brutraum in morphologischer und physiologischer Hinsicht erfüllt hat, (...) die weiblichen Geschlechtsorgane insgesamt die „Hochform“ ihrer Entwicklung eingenommen“ haben, kann faktisch nicht bewiesen werden, da nur sehr wenige Geschlechtstrakte zur Verfügung stehen. Jedoch besitzen alle nachweislich tragend gewesenen Tiere (1 Braunbär, 1 Eisbär und 1 Schwarzbär) sehr lange Uterushörner. Bei den Braunbären zeigt sich dies sehr eindeutig im direkten als auch gewichtsabhängigen Vergleich: Die trächtig gewesene Braunbärin „Monika“ hat längere Uterushörner sowie ein größeres Verhältnis von Uteruskörper zu den Uterushörnern als das viel schwerere Weibchen „Jolly“, welches sich nie fortgepflanzt hatte. Einzig bei der Eisbärin „Penny“, die mehrmals nachzüchtete, ist das Verhältnis annähernd gleich, jedoch hat die Bärin einen mehr als doppelt so langen Uterus wie alle anderen Bären. Der in dieser Studie untersuchte Reproduktionstrakt einer Malaienbärin weist sehr lange Uterushörner im Verhältnis zum Uteruskörper auf. Allerdings fehlen Angaben über Trächtigkeiten bei diesem Tier. Da Malaienbären zumeist nur ein Junges werfen, könnte dies ein Hinweis auf eine erfolgreiche Zuchtgeschichte sein. Auch Aune *et al.* (1994) berichten von verlängerten Hörnern bei älteren Bären. Ob diese Tiere zuvor eine Trächtigkeit durchlebt hatten, was aufgrund des Alters anzunehmen ist, ist jedoch nicht bekannt.

Die Durchmesser der Uteri wurden durch transrektale Ultraschalluntersuchungen bestimmt. Zwischen dem Uteruskörper und den Hörnern ergeben sich jeweils nur minimale Abweichungen. Der gewichtsbezogene Uterusdurchmesser nimmt bei allen Arten mit zunehmender Körpermasse ab. Eine Ausnahme bildet der Große Panda während der aktiven Reproduktionsphasen Östrus, Diapause und Trächtigkeit. Er weist den größten gewichtsbezogenen Uterusdurchmesser auf, dessen Proliferation hormonell induziert zu sein scheint: Die Große Pandabärin „Yan-Yan“ scheidet mit dem Urin eine um Zehnerpotenzen höhere Hormonkonzentration aus als die anderen untersuchten Bären.

Bei den untersuchten Arten schwankt der gewichtsbezogene Uterusdurchmesser während der verschiedenen Reproduktionsstadien. Es ist jedoch kein saisonal zu erwartender Verlauf der Größenveränderungen mit einem Maximum während der Trächtigkeit zu erkennen. Auch zwischen den einzelnen Bären konnte kein einheitlicher Verlauf festgestellt werden. Dies kann einerseits an individuellen Schwankungen liegen, andererseits hat der jeweilige Ernährungszustand einen großen Einfluss auf das Gewicht der Tiere und somit auf den gewichtsbezogenen Uterusdurchmesser.

Beim Endometrium ist während der reproduktiv aktiven Phase unter dem Einfluss von Östrogenen mit einer Proliferation zu rechnen (Aurich *et al.* 1996; Kroker 2003). In dieser Studie kann jedoch kein Bezug der Endometriumproliferation zum Zyklusstand

nachgewiesen werden. Wiederum ist zwischen den einzelnen Bären kein einheitlicher Verlauf festzustellen.

Eine Detektion von Trächtigkeiten vor der Implantation anhand des Uterusdurchmessers ist ausgeschlossen. Ebenso verhält es sich mit der Darstellung von Oozyten oder Blastozysten, die während der Diapause frei im Uterus liegen. Bei einem Schwarzbären wurde eine Oozyte mittels Uterusspülung gewonnen, die zuvor sonographisch nicht detektiert werden konnte. Trächtigkeiten können eindeutig erst nach der Implantation bestimmt werden, wie dies auch von Göritz *et al.* (1997) und Quest (2001) beschrieben wurde. Erst nach der Implantation der Blastozyste zeigen sich an der Implantationsstelle eine Umfangvermehrung des Uterushorns sowie eine Proliferation des Endometriums. Der übrige Uterus bleibt unverändert und ähnelt in seinem Erscheinungsbild dem nicht trächtiger Tiere. Es lässt sich folglich am Uterus keine Zyklusdiagnostik betreiben. Trächtigkeiten bestätigen sich nur durch den sonographischen Nachweis der Fruchtanlagen bzw. ihrer Implantationsstellen. Erst die weitere Embryonal- bzw. Fetalentwicklung kann sonographisch verfolgt werden.

Ganz anders hingegen verhält es sich mit den Ovarien. Ein reziprok körpergrößenabhängiger Trend wie beim Uterus ist nur während des Anöstrus und der Trächtigkeit vorhanden. Zu allen anderen Reproduktionsstadien korreliert die Ovargröße mit der Körpergröße der Tiere. Der Große Panda bildet wiederum die Ausnahme – seine Gonaden sind drei- bis viermal so groß wie die der anderen Bären. Das Volumen des Ovars schwankt saisonal und ist von der Anbildung der Funktionskörper abhängig. Die Funktionskörper, Follikel sowie Gelbkörper, lassen sich sonographisch gut darstellen und in ihrem Erscheinungsbild differenzieren. Wie auch bei Haus- und Nutztieren beschrieben, unterliegen sie Wachstums-, Reifungs- und Rückbildungsprozessen (Schummer und Vollmerhaus 1987). Im Anöstrus ist das Ovar inaktiv und sein Volumen am geringsten. Unter der saisonal gesteuerten Einwirkung gonadotroper Hormone der Adenohypophyse finden Follikelwellen statt. Primärfollikel reifen bis zum Tertiärstadium an, atresieren jedoch in diesem frühen Stadium. Während des Östrus kommt es zu einer weiteren Anbildung der Follikel und zu einer Zunahme des Ovarvolumens. Die Anbildung der Follikel erreicht mit dem Graaf Follikel das Endstadium.

Beim Braunbären wird während des Östrus ein Volumenmaximum erreicht. Beim Großen Panda werden so viele Follikel angebildet, dass das Ovar sich im Ultraschallbild beerenartig darstellt. Da in den Follikeln Östrogen produziert wird, erklärt dies beim Großen Panda die hohen Estradiolkonzentrationen im Urin. Beim Brillenbären „Lee“ wird zwar eine Ovaraktivität diagnostiziert, aufgrund einer Verwachsung der Vulva sind Kopulationen jedoch nicht möglich. Um seine Gene dennoch der Zoopopulation zu Verfügung zu stellen, stellt dieses Tier ein ideales Spendertier für den Oozyten Pick-Up dar.

Nach dem Eisprung entsteht an der Stelle des ovulierten Follikels ein Gelbkörper, der sich während der Diapause organisiert. Beim Großen Panda werden in dieser Periode die größten Ovarien gemessen. Dieses lässt sich durch den Sprung mehrerer Follikel erklären, welche sich dann im Ovarparenchym zu Gelbkörpern umbilden, jedoch im sonographischen Bild aufgrund ihrer hohen Anzahl sehr indifferent erscheinen.

Zum Zeitpunkt der Implantation werden die Gelbkörper bei trächtigen Tieren aktiviert und nehmen an Größe weiter zu. Die Zahl der Fruchtanlagen stimmt mit der Anzahl detektierter Trächtigkeitsgelbkörper überein. Bei nicht trächtigen Tieren verharren die Gelbkörper in ihrem Diapausenzustand und beginnen sich zurückzubilden. Diese Gelbkörperan- und rückbildung hat auf das Ovarvolumen einen direkten Einfluss, der sich beim Brillenbären am

besten verfolgen lässt: Während der Trächtigkeit erreichen die Ovarien Maximalwerte, bei nicht trächtigen Tieren jedoch sind die geringsten Volumina neben dem Anöstrus zu verzeichnen.

Beim Großen Panda wurde am 21.09.1998 mittels einer Ultraschalluntersuchung ein Fetus in Resorption festgestellt. Dies erklärt die beginnende Atresie der Gelbkörper und das geringe Ovarvolumen während der Trächtigkeit. Das größere Ovarvolumen in der nicht trächtigen Phase rührt von auffallend vielen reifen Gelbkörpern her, die durch zahlreiche Follikelsprünge entstanden sind. Sie sind das Resultat der hormonellen Stimulationen während mehrerer Jahre der Azyklie, welche viele Follikel zur Anreifung brachte, aus denen daraufhin Gelbkörper entstanden.

Bei Brillen- und Braunbären wurden nach der Implantation neben Trächtigkeits- (*C.l.grav.*) auch Anbildungsgelbkörper (*C.häm*) gefunden. Diese müssen kurz zuvor aus Follikeln entstanden sein, was einen Hinweis auf eine Herbstbrunst oder Superfetation gibt. Bei nicht trächtigen Tieren hingegen ist die folliculäre Aktivität weitestgehend eingestellt. Um dieses Phänomen weiter zu beobachten, sind nachfolgende Untersuchungen nötig.

Zusammenfassend ist eine Diagnose des Zyklusstandes anhand der Ovardiagnostik in Verbindung mit der Interpretation der Funktionskörper möglich. In nachfolgenden Studien könnte mittels computergestützter Graustufenanalyse versucht werden, die Anbildung des Endometriums während des Östrus sowie während der Trächtigkeit nachzuweisen, wie dies bereits beim Reh erfolgreich gelungen ist (Hermes 1998). Die praktische Anwendbarkeit dieses Verfahrens in der Routinepraxis ist fraglich, jedoch stellt es ein weiteres Hilfsmittel für die ART dar.

6.3.2. Laboranalytische Untersuchungen

Das endokrinologische Reproduktionsmonitoring lässt sich bei Bären mittels nicht-invasiver Methoden anhand von Kot oder Urin und invasiv im Serum betreiben. Die nicht-invasive Messung fäkaler als auch urinärer Steroidhormone weist gegenüber der herkömmlichen Beprobung von Blut den Vorteil auf, dass sie ohne stressauslösende Immobilisation der Probanden uneingeschränkt für physiologische Studien durchgeführt werden kann. Jedoch müssen verschiedene Assays für Östrogen- und Progesteronmetaboliten sowie adäquate Medien (Kot, Urin) getestet werden, um vergleichende Informationen über die endokrinologischen Abläufe bei den einzelnen Bärenarten zu erlangen. Diese werden hauptsächlich von der Art der Exkretion, dem metabolischen Endprodukt, der Mikroflora des Darmes und aus Sicht der analytischen Perspektive von der Spezifität des benutzten Antikörpers beeinflusst. Hierbei werden große artspezifische Unterschiede bezüglich der Medien und der Nachweismethode deutlich. Das Monitoring anhand von Speichel, wie es beim Menschen (Braat *et al.* 1998; Lu *et al.* 1997; Riad-Fahmy *et al.* 1983; Voss 1999), beim Zwergflusspferd (Dathe und Kuckelkorn 1989), beim Panzernashorn (Kuckelkorn und Dathe 1990) oder der Mönchsrobbe (Pietraszek *et al.* 1994) beschrieben wird, ergibt bei den Bären keine interpretierbaren Ergebnisse. Weitere Studien können aber auch bei dieser Art die Vorteile solch einer individuell angepassten, nicht-invasiven Methode ermöglichen. Hierfür müssen geeignete Probenentnahme-Systeme und Assays gefunden werden.

Die An- bzw. Rückbildung der Funktionskörper lässt sich auch in den laboranalytischen Profilen erkennen, die zur Ovulationsdiagnostik sowie zum Trächtigkeitsmonitoring angewendet werden.

6.3.2.1. Ovulationsdetektion

Zur Ovulationsdetektion werden beim Großen Panda in einigen Laboratorien urinäre Estradiolmessungen routinemäßig eingesetzt. Die Ergebnisse der Studie bestätigten, dass ein etwa acht Tage andauernder, gradueller Anstieg der Estradiolsekretion dem präovulatorischen Estradiolpeak vorausgeht, dem wiederum ein abrupter Abfall auf das Basisniveau folgt. Dieser Anstieg und Abfall läuft mit der Anbildung der Follikel und der anschließenden Ovulation konform und wird durch die Berichte von Hodges *et al.* (1984) und Lindburg *et al.* (2001) bestätigt. Dabei hat die Anzahl der sich anbildenden Follikel einen direkten Einfluss auf die Hormonsekretion. Durch hormonelle Stimulation kommt es zu einer massiven Follikelanreifung, die eine zeitverzögerte, übernatürlich hohe Estradiolausschüttung zur Folge hat. Das Große Pandaweibchen wurde während der maximalen Empfänglichkeit, die normalerweise nach dem Abfall der Östrogene auftritt, besamt, was jedoch zu keiner Trächtigkeit führte.

Die Braunbärin demonstrierte einen urinären Östrogenpeak sechs Tage nach den letzten Paarungsbeobachtungen. Der sonographische Nachweis einer frisch implantierten Blastozyste Ende November erbrachte sowohl die Bestätigung der Ovulation als auch der erfolgreichen Befruchtung. Wird der Östrogenabfall wie beim Großen Panda als Zeitpunkt der Ovulation angesehen, lässt sich der Zeitunterschied zwischen den Paarungsaktivitäten und dem Östrogenpeak damit erklären, dass zum einen vermutlich nicht alle Paarungen beobachtet wurden, zum anderen könnte im Weibchen ein Spermienreservoir existieren bzw. die Spermien eine lange Überlebenszeit im weiblichen Genitaltrakt besitzen. Diese Überlebenszeit wird für den Menschen mit fünf Tagen angegeben (Baker und Bellis 1995). Andererseits wäre die Ovulation nicht östrogenabhängig und somit Estradiol nicht in der Lage, die Ovulation zu detektieren, so dass nach alternativen Methoden gesucht werden muss.

Weder die Brillenbärin, die kontinuierlich gedeckt wurde, noch zwei weitere Brillenbären, bei denen keine Verpaarungen beobachtet wurden, weisen deutliche Östrogenpeaks in Verbindung zum Paarungsverhalten auf, wie dies nach den Ergebnissen beim Großen Panda zu erwarten war. Dieses kann durch ein artspezifisch unterschiedliches metabolisches Endprodukt und/oder dessen Sekretionsweg erklärt werden. Analysen von Estradiol im Serum bei Schwarzbären (Tsubota *et al.* 1998) erbringen keine deutliche Unterscheidung zwischen der Zeit vor der Ovulation (März) und der Paarungszeit (Juni). Auch am Tag der Verpaarungen werden im Vergleich zu den Tagen danach keine höheren Östrogenkonzentrationen gemessen. Dies weist darauf hin, dass minimale Estradiolerhöhungen, die ausreichen, um den Östrus zu indizieren, wahrscheinlich nicht mittels urinärer Steroidanalysen detektiert werden können. Ein weiteres Indiz für den arteigenen Metabolismus und/oder die Sekretion stellt die Analyse fäkalen Epiandrosterons dar. Beim Malaienbären verfolgten Schwarzenberger *et al.* (1998) mittels dieser Methode die folliculäre Phase, beim Braunbären erbringt sie jedoch keine auswertbaren Ergebnisse.

Eine alternative Methode der Östrusdetektion bei Bären könnte der Nachweis östrusabhängiger Pheromone sein, deren Funktion in der Signalisierung des

Reproduktionsstatus anzusehen ist. Aufgrund ihrer einzelgängerischen Lebensweise müssen Bärenweibchen den Männchen rechtzeitig Signale über ihre bevorstehende Empfängnisbereitschaft vermitteln. Beim Großen Panda wurde nachgewiesen, dass das Weibchen eine überdurchschnittlich aktive Rolle bei der Initiierung und Kontrolle der Interaktionen des Paares vor der Verpaarung einnimmt (Kleiman *et al.* 1979). Ihr Markierungsverhalten tritt vorzugsweise während des Östrus auf (Schaller *et al.* 1985; Swaisgood *et al.* 2002). Die Ergebnisse dieser Studie am Großen Panda ergeben einen zwei bis drei Tage andauernden Peak in der Sekretion urinärer Fettsäuren, der mit dem saisonalen Östrogenanstieg und den hierdurch bedingten Verhaltensveränderungen in Verbindung steht. Diese Substanzen könnten als Pheromone dienen, um die Männchen anzulocken und müssten diesbezüglich vor der Ovulation ausgeschieden werden. Der zeitliche Zusammenhang zwischen der Sekretion freier Fettsäuren und dem Anstieg der Fortpflanzungshormone ist ein wichtiges Schlüsselindiz dieser Theorie. 2002 und 2003 erreichten die Fettsäuren acht Tage vor dem Zeitpunkt der höchsten Empfängnisbereitschaft, die 2003 durch eine Ultraschalluntersuchung bestätigt wird, einen Höhepunkt. Der Fettsäureanstieg folgte sowohl dem Beginn der Follikelphase – nach Monfort *et al.* (1989) wird sie durch einen ersten FSH-Anstieg eingeleitet – als auch den Verhaltenbeobachtungen, die durch die ersten Markierungsaktivitäten sechs Tage vor dem Östrogenpeak gekennzeichnet waren (McGeehan *et al.* 2002). Der geringe Fettsäuregehalt des Blasenurins im Verhältnis zum abgesetzten Urin deutet auf einen Herkunftsort der Fettsäuren im distalen Geschlechtstrakt hin. Die Zirkumanal-Gegend ist beim Großen Panda mit Drüsen durchsetzt, die ein öliges Sekret absondern. Ob die Fettsäuren mit dem Sekret sezerniert werden oder es sich um ein Abbauprodukt der Mikroflora des Vestibulums oder der Vagina handelt, ist ungewiss.

Die Fettsäuren treten auch in Proben bei Braunbären während des Östrus und in mehreren Urinproben beim Brillenbären auf. Daraus lässt sich rückschließen, dass ihr Vorkommen nicht nur auf den Großen Panda begrenzt ist. Bei den beiden anderen Arten werden zusätzlich zu den Fettsäuren noch andere Volatiles detektiert, die während des Östrus Peakwerte erreichen. Es handelt sich dabei um einfache und verzweigte Alkohole und ihre Ester. Diese treten bei mikrobiologischen Abbauprozessen freier Fettsäuren auf. Ihr Vorkommen während des Östrus bestätigt die vermehrte Sekretion von Fettsäuren in dieser Zeit. Bei Brillenbären kann ein Monocaprin-Peak detektiert werden. Diese Substanz ist ein Monoglycerinderivat der Caprinsäure, ein Synonym für Dekansäure (C10), und wird aus dieser vom Körper hergestellt (Enig 2004). Somit liefert ihr Vorkommen ein weiteres Indiz für den erhöhten Fettsäurestoffwechsel kurz vor dem Östrus.

Mit einem kommerziell erhältlichen Testkit zur Bestimmung freier Fettsäuren kann der Nachweis dieser Volatiles im Urin unabhängig von einem Speziallabor in unmittelbarer Nähe der Tiere durchgeführt werden. Die Ergebnisse erbringen eine eindeutige Übereinstimmung mit den per GCMS ermittelten Werten. Trübungen, die falsch positive Ergebnisse bei der Photometrie ergaben, konnten makroskopisch ausgeschlossen werden.

Obwohl die Rolle der freien Fettsäuren als Pheromon und ihre Bedeutung in Bezug auf das Verhalten der Tiere weiterer Untersuchungen bedarf, könnten sich diese Volatiles in Zukunft als nützliches Werkzeug in der Östrusvorhersage erweisen.

Zibeton wurde nur beim Großen Panda detektiert. Diese makrozyklische Substanz findet sich in Zibet, dem Sekret der taschenartigen Drüsen der Zibetkatze (*Viverra civetta*), und wird von dieser als Paarungs- bzw. Reviermarkierungspheromon eingesetzt. Die Sekretion beim

Großen Panda wies ein saisonales Muster auf, eine genaue Funktion konnte ihm bisher jedoch nicht zugesprochen werden und ist Inhalt weiterer Forschungen.

6.3.2.2. Trächtigkeitsmonitoring

Beim Großen Panda werden routinemäßig Analysen urinären Pregnandiols zur Darstellung der Lutealaktivität durchgeführt. In der vorliegenden Studie waren die Konzentrationen in den Jahren, in denen künstlich besamt wurde, deutlich höher als im Jahr 2000, als nicht besamt wurde. Der Pregnandiolanstieg nach der Implantation, der jeweils länger als eine normale Trächtigkeit andauerte, deutet auf eine Gelbkörperaktivität ohne Embryo hin. Es ist zu vermuten, dass durch die künstlichen Besamungen lokale Reize am Genitaltrakt ausgelöst wurden, die sonographisch nachweislich zur Ovulation und Anbildung mehrerer Gelbkörper geführt haben. 2000 wurde nach dem Östrus keine Ultraschalluntersuchung durchgeführt. Somit ist ungewiss, ob eine Ovulation stattgefunden hat. Das Pregnandiolprofil dieses Jahres zeigt allerdings ein Profil ähnlich dem der anderen Jahre, jedoch auf niedrigerem Niveau, was auf das Vorhandensein zumindest eines Gelbkörpers hindeutet. Somit wird deutlich, dass es beim Großen Panda, wie von Durrant *et al.* (1998, 2002) beschrieben, spontan zur Ovulation kommt, dieses jedoch durch Penetrationsreize potenziert wird, was zur Anbildung mehrerer Gelbkörper und somit zu höheren Gestagenspiegeln führt.

Die Analyse urinären Pregnandiols war weder beim Braun- noch beim Brillenbären geeignet, um die Lutealaktivität darzustellen. Der Grund hierfür mag darin liegen, dass die Tiere vorzugsweise andere Metaboliten ausscheiden. Als erfolgreiche Alternative wurden deshalb beim Braunbären in Anlehnung an Göritz *et al.* (2001) und Quest (2001) Progesteronanalysen im Kot sowie im Urin durchgeführt. Die Lutealphase wird durch einen Anstieg des Progesterons nach der Implantation im November angezeigt, wie auch von Tsubota *et al.* (1991) beschrieben. Dieser Anstieg wird durch die Reaktivierung der Gelbkörper hervorgerufen, wie die Ultraschalluntersuchungen zeigen. Die untersuchte Braunbärin wurde 2001 und 2002 kurz nach der Implantation mit Antigestagenen behandelt. Die Progesteronwerte sowie die Östrogene stiegen nach diesem Zeitpunkt steil an und fielen bereits nach drei Wochen wieder ab. Da während einer regulären Trächtigkeit eine Progesteronerhöhung über acht bis zehn Wochen zu erwarten ist, bleibt unklar, ob der Progesteronanstieg die beginnende Trächtigkeit darstellt, die durch das Kontrazeptivum unterbrochen wurde, oder ob es sich um einen Effekt des Antigestagens handelt.

Bei der Brillenbärin konnte deutlich ein urinärer Progesteronanstieg in Verbindung zur Trächtigkeit festgestellt werden. Dieser fiel wenige Tage vor der Geburt auf Basiswerte ab. Im Gegensatz hierzu versagte die fäkale Progesteronanalyse, die Trächtigkeit bei dieser Art wiederzuspiegeln. Die durchgeführten Hormonuntersuchungen am Brillenbären sind die ersten ihrer Art und bedürfen zukünftiger Bestätigung.

6.4. Schlussbetrachtung und Ausblick

Von vielen Bärenarten wurde der Geschlechtstrakt erstmals sonomorphologisch untersucht und beschrieben. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sowohl in der Anatomie als auch in der Topographie des Geschlechtstraktes der Bären grundsätzlich vergleichbare Verhältnisse vorliegen, die in ihren Ausmaßen von der Größe der Tiere abhängig sind.

Zur Entwicklung von Bestecken und Instrumenten zur Elektroejakulation, für Oozyten Pick-Ups oder mikroinvasive Chirurgie können Modell-Arten verwendet werden, die in etwa die gleichen Körpermaße wie die Zieltierart aufweisen. Auch die Technologien zur Samenentnahme können zwischen den Arten direkt übertragen werden. Je nach Lokalisation weiterer Forschungsvorhaben an bedrohten Bären empfehlen sich verschiedene Modell-Bärenarten. Für Europa bietet sich der Braunbär an, der hier seine weiteste Verbreitung erfährt. In Südost Asien wird der Kragenbär favorisiert, da sehr viele dieser Tiere dort in Bärenfarmen gehalten werden und somit für Untersuchungen leicht zugänglich sind. In Nordamerika werden bereits extensive Studien an Schwarzbären durchgeführt. Von Johnston *et al.* (1994) ist die Empfehlung ausgesprochen worden, sie als Modell-Art für bedrohte Bären zu verwenden.

In den endokrinen Mechanismen jedoch unterscheiden sich die Bären erheblich, so dass für jede Art eigene Nachweisverfahren zur Ovulationsdetektion und zum Trächtigkeitsmonitoring entwickelt werden müssen. Eine Unterscheidung der Trächtigkeit von der Pseudoträchtigkeit ist bisher ebenfalls nicht möglich. Beim Großen Panda ist die Analyse urinären Estradiols sowie Pregnandiols bereits etabliert. Beim Braunbären wird die Lutealphase durch fäkales und urinäres Progesteron, beim Brillenbären durch urinäres Progesteron dargestellt. Beim Malaienbären lässt sich die Follikelaktivität mittels fäkalem Epiandrosteron verfolgen. Die Messung von Volatiles erscheint viel versprechend, jedoch bedarf sie aufgrund der geringen Probandenzahl in dieser Studie weiterer Untersuchungen zur Absicherung der Ergebnisse.

Wie alle Untersuchungen an Zoo- und Wildtieren wird auch die vorliegende Studie durch die limitierte Tierzahl begrenzt. Eine statistische Auswertung der Ergebnisse ist somit nicht möglich. Außerdem konnten einige Untersuchungen nur an einzelnen Individuen durchgeführt und oft nicht wiederholt werden. Dies resultiert zum einen aus der Tatsache, dass den Probanden mehrfache Narkosen, wie sie beispielsweise zur transrektalen Ultraschalluntersuchung nötig sind, nicht zugemutet werden sollten; zum anderen konnten, aufgrund des gesetzten zeitlichen Rahmens, nur aus einer Reproduktionssaison Proben zur laboranalytischen Arbeit gesammelt und analysiert werden.

Um ein erfolgreiches Fortpflanzungsmonitoring zu betreiben, ist die Kombination verschiedener Verfahren wie Verhaltensbeobachtungen, nicht-invasive endokrinologische Untersuchungen und Untersuchungen auf Volatiles, Ultraschall und/oder Vaginozytologie notwendig. Es gibt bisher keine Methode, die all diese Untersuchungen vereint; Dies bleibt einstweilen den männlichen Bären überlassen.