

Der asiatische Elefant (*Elephas maximus*) gehört zu den Spezies, deren Überleben in der freien Wildbahn stark bedroht ist. Weltweite Bemühungen, die Tiere in Gefangenschaft zu vermehren, werden dadurch erschwert, daß nur wenige Informationen zur Reproduktionsendokrinologie existieren, und daß non-invasive Methoden zur Kontrolle des Zyklusstand nicht verfügbar sind.

Ziel dieser Studie war es daher, Hormonkonzentrationen im Plasma mit der Hormonausscheidung in Urin und Faeces zu vergleichen und ihren Wert bei der Beurteilung des Reproduktionsstatus abzuschätzen. Dafür wurden Blut-, Urin- und Kotproben von drei Elefantenkühen wöchentlich über acht Monate und von einem Elefantenbullen über vier Monate gesammelt. LH, Progesteron, Testosteron, Gesamtöstrogene, Pregnandiol und  $20\alpha$ -Hydroxyprogesteron wurden in diesem Material mittels Radioimmunoassay (RIA) oder Enzymimmunoassay (EIA) bestimmt.

Bei den Elefantenkühen konnten basierend auf einem Anstieg der Plasmaprogesteronwerte über 400 pg/ml sechs ovarielle Zyklen mit einer durchschnittlichen Dauer von  $13,6 \pm 1,5$  Wochen bestimmt werden. Die Lutealphase erstreckte sich über  $9,5 \pm 0,8$  Wochen und wurde von einer Follikelphase (Interlutealphase) von  $4,1 \pm 1,8$  Wochen getrennt. Bei jedem Anstieg der Östrogenkonzentration über 30 pg/ml ergab sich im Anschluß ein LH-Gipfel ( $\geq 15$  ng/ml), der gleichzeitig oder eine Woche vor einem Progesteronanstieg erfolgte. Im Verlauf des weiteren Zyklus wurden kleinere Anstiege sowohl der LH-Konzentration ( $\leq 10$  ng/ml), als auch der Gesamtöstrogenkonzentrationen ( $< 30$  pg/ml) in Intervallen von zwei bis drei Wochen beobachtet.

Die Östrogenausscheidung im Harn korrelierte signifikant mit der Östrogenkonzentration im Plasma ( $r = + 0,67$ ;  $p < 0,001$ ). Die

Ausscheidung von  $20\alpha$ -Hydroxyprogesteron und Pregnandiol im Kot waren vom Zyklusstand abhängig und zeigten eine hochsignifikante Korrelation mit dem Progesteron im Plasma ( $r = + 0,81$ ,  $p < 0,001$ ; bzw.  $r = + 0,67$ ,  $p < 0,001$ ). Große Schwankungen der Pregnandiolwerte am Ende der Lutealphase erschweren jedoch eine deutliche Abgrenzung der Zyklusphasen. Die Progesteronwerte im Kot zeigten keine signifikante Korrelation mit dem Zyklusstand.

Die im Plasma, Harn und Kot ermittelten Testosteronkonzentrationen beim Elefantenbullen koinzidierten mit den äußerlich erkennbaren Symptomen der Musth. Es konnte eine hohe Korrelation in den beschriebenen Musthperioden zwischen den Testosteronkonzentrationen im Plasma und den Hormonwerten im Harn und Kot ( $r = + 0,75$ ,  $p < 0,001$ ;  $r = + 0,75$ ,  $p < 0,001$ ) nachgewiesen werden.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, daß die Bestimmung von  $20\alpha$ -Hydroxyprogesteron im Kot und von Gesamtöstrogenen im Harn gut geeignet sind, den Zyklusstand bei Elefantenkühen festzustellen. Die Testosteronkonzentrationsbestimmung im Harn oder im Kot bietet sich für ein frühzeitiges Erkennen der Musth bei Elefantenbullen an.

Die Anwendung dieser non-invasiven Methoden ist eine praktische Alternative zur Beurteilung des Fortplantungsstatus bei Zootieren.

Díaz-Samayoa de Aguirre, Laura

A comparative study of the sex hormones in plasma, urine and faeces in male and female asiatic elephants (*Elephas maximus*).

### SUMMARY

The Asian elephant (*Elephas maximus*) belongs to the group of highly endangered species. World wide efforts to improve fertility in captivity are hampered by the lack of knowledge of their reproductive endocrinology and by the lack of non-invasive methods to monitor the reproductive status.

The aim of the present study was to compare hormone concentrations in plasma with hormone excretion in urine and faeces and to relate these values to the animal's reproductive status. Blood, urine and faeces were collected from three female elephants over eight months and from one male over four months. LH, progesterone, testosterone, total oestrogens, pregnanediol and  $20\alpha$ -hydroxyprogesterone were determined by radioimmunoassay (RIA) or enzymeimmunoassay (EIA).

According to the rise of progesterone over a value of 400 pg/ml, six ovarian cycles averaging  $13.6 \pm 1.5$  weeks were observed in the females. The luteal phase lasted  $9.5 \pm 0.8$  weeks and was separated by a follicular phase (interluteal phase) of  $4.1 \pm 1.8$  weeks. Oestrogen increases above 30 pg/ml were associated with LH surges ( $\geq 15$  ng/ml) which occurred at the same time or one week prior to the rise of the progesterone in plasma. Small peaks of LH ( $\leq 10$  ng/ml) and total oestrogens ( $< 30$  pg/ml) occurred every two or three weeks during the rest of the cycle.

Oestrogen concentrations in plasma correlated significantly with oestrogen secretion in the matching urine samples ( $r = 0.67$ ;  $p < 0.001$ ). Faecal excretion of  $20\alpha$ -hydroxyprogesterone

and pregnanediol depended on the stage of cycle and correlated significantly with plasma progesterone ( $r= 0.81, p< .001$ ;  $r= 0.67, p< 0.001$  respectively). Large variations of pregnanediol values around the end of the cycle made it difficult to use this parameter for cycle monitoring. Faecal progesterone did not correlate with plasma progesterone or stage of cycle.

In the male elephant testosterone in plasma, urine and faeces increased with the external signs of Musth. There was a high correlation of the hormone values in plasma, urine and faeces ( $r= 0.75, p< 0.001$ ;  $r= 0.65, p< 0.001$ ).

These results demonstrate that measurements of  $20\alpha$ -hydroxyprogesterone in faeces and total oestrogens in urine are valuable tools to monitor ovarian cycles in the female elephant. Testosterone in urine or faeces signals the approaching Musth in the male.

The use of these non-invasive methods offers a practicable alternative to evaluate the reproductive status in Zoo animals.

Díaz-Samayoa de Aguirre, Laura

Estudio comparativo de las hormonas sexuales en plasma, orina y heces en el Elefante Asiático (*Elephas maximus*), hembra y macho.

### RESUMEN

El elefante asiático (*Elephas maximus*) pertenece a una de las especies que en la naturaleza se encuentran mayormente amenazadas de extinción. Los esfuerzos mundiales para aumentar su fertilidad en cautiverio se ven afectados debido a los escasos conocimientos de su endocrinología reproductiva así como a la carencia de métodos no invasivos que permitan el estudio de su ciclo sexual.

El objetivo de este trabajo fue comparar las concentraciones hormonales en plasma con la eliminación de estas y sus correspondientes metabolitos en heces y orina a fin de determinar si los valores excretados permiten evaluar el estado reproductivo en el animal. Las muestras de plasma, heces y orina se colectaron semanalmente durante ocho meses en tres elefantas asiáticas y por un período de cuatro meses en un elefante. En el material recolectado se determinaron las concentraciones de LH, Progesterona, Testosterona, total de Estrogenos, Pregnanolol y  $20\alpha$ - Hidroxiprogesterona mediante Radioinmunoensayo (RIA) o Enzimoimmunoensayo (EIA).

De acuerdo al aumento de Progesterona plasmática sobre un valor de 400 pg/ml, se determinaron en las hembras seis ciclos ováricos con una duración de  $13,6 \pm 1,5$  semanas; una fase luteal de  $9,5 \pm 0,8$  semanas y una fase folicular (interluteal) de  $4,1 \pm 1,8$  semanas. En todos los ciclos se observó que al elevarse la concentración de Estrogenos sobre 30 pg/ml ocurría un peak de LH ( $\geq 15$  ng/ml) el cual coincidió u ocurrió una semana antes de que se observara el aumento de

Progesterona. Durante el resto del ciclo se observaron pequeñas alzas tanto en la concentración de LH ( $\leq 10$  ng/ml) como en la de Estrogenos ( $< 30$  pg/ml) a intervalos de dos o tres semanas.

La correlación entre la excreción de estrogenos en orina y los niveles de estos en plasma fue estadísticamente significativa ( $r= 0.67$ ,  $p < 0.001$ ). Tanto la excreción de  $20\alpha$ -Hidroxiprogesterona como la de Pregnandiol en heces mostraron ser dependientes de la etapa del ciclo sexual y presentaron una correlación altamente significativa con la progesterona plasmática ( $r= 0.81$ ,  $p < 0.001$ ;  $r=0.67$ ,  $p < 0.001$  respectivamente). Sin embargo, los valores de Pregnandiol presentaron grandes fluctuaciones al final de la fase luteal, lo cual dificulta el uso de este parámetro para la determinación de la fase del ciclo reproductivo. Los valores de Progesterona determinados en heces no presentaron una correlación significativa con los valores de la hormona en plasma ni se observó un patrón cíclico en su excreción.

En el macho las concentraciones de Testosterona determinadas en plasma, orina y heces aumentaron junto con las manifestaciones externas del Musth. La correlación entre los niveles de Testosterona plasmática y los valores de la hormona en orina y heces fue altamente significativa ( $r= 0.75$   $p < 0.001$ ;  $r= 0.65$   $p < 0.001$  respectivamente).

Los resultados de este estudio señalan que la determinación de  $20\alpha$ -Hidroxiprogesterona en heces y el total de estrogenos en orina es aplicable para el seguimiento del ciclo ovárico en la elefanta. Por medio de la determinación de Testosterona en orina o heces puede reconocerse tempranamente el Musth en el elefante.

El uso de estos métodos no invasivos ofrece ser una alternativa práctica para establecer el estado reproductivo en animales de zoológico.