

Aus dem Zentrum für klinische Tiermedizin
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Betreuer: Prof. Dr. Joachim Braun

**Untersuchungen zur Reproduktion bei Amazonasdelfinen
(*Inia geoffrensis*) im Mamirauá Reservat mittels Ultra-
schalldiagnostik, Vaginalzytologie und Hormonanalyse**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Miriam Cornelia Baur
aus Augsburg

München 2010

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Braun

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Dr. habil. Peters

Tag der Promotion: 24.07.2010

Schlagwörter:

Amazonasdelfin; *Inia geoffrensis*; Reproduktion; Sonographie; Trächtigkeit; Testosteron; Progesteron; Cortisol; Vaginalzytologie

Keywords:

Amazon River Dolphin; *Inia geoffrensis*; Sonography; Pregnancy; Testosterone; Progesterone; Cortisol; Vaginal cytology

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	12
2	LITERATUR	13
2.1	Die Biologie des Flussdelfins	13
2.1.1	Systematik	13
2.1.2	Verbreitung, Status, Habitat, Lebensweise, Ernährung	14
2.1.3	Anatomie	15
2.1.4	Männliche Geschlechtsorgane	18
2.1.5	Weibliche Geschlechtsorgane	20
2.1.6	Fortpflanzungs- und Sozialverhalten	22
2.2	Reproduktion bei Cetaceen	23
2.2.1	Weibliche Tiere	24
2.2.1.1	Sexuelle Reife	24
2.2.1.2	Zyklusablauf	25
2.2.1.3	Serumhormonwerte und erste Ovulationsinduktion	26
2.2.1.4	Trächtigkeitsdauer, reproduktives Alter, Zwischenkalbezeit	27
2.2.1.5	Morphologische Veränderung während der Trächtigkeit	28
2.2.1.6	Steroidhormone im Urin	28
2.2.2	Männliche Tiere	29
2.2.2.1	Sexuelle Reife	29
2.2.3	Saisonalität	29
2.2.4	Kryokonservierung des Samens, Ovulationsinduktion und künstliche Besamung	32
2.3	Flussdelfine: Sexuelle Reife, Saisonalität, Trächtigkeitsdauer	34
2.4	Sonographie	36
2.4.1	Sonographie bei männlichen Delfinen	37
2.4.2	Sonographie bei weiblichen Delfinen	39
2.4.2.1	Ovarien und Uterus	39
2.4.2.2	Trächtigkeiten	42

2.4.3	Der Einfluss von Ultraschall auf das Ortungs- und Sinnesorgan	43
2.5	Vaginalzytologie	43
2.5.1	Veränderungen des Vaginalepithels im Zyklus.....	43
2.5.2	Zellen in der Vaginalschleimhaut des Hundes.....	44
2.5.3	Vaginalzytologie im Verlauf des Zyklus	46
2.6	Endokrinologie	48
2.6.1	Kenntnisse der Sexualhormone bei Cetaceen.....	48
2.6.2	Männliche Tiere	48
2.6.2.1	Testosteron.....	48
2.6.3	Weibliche Tiere	50
2.6.3.1	Progesteron	50
2.6.4	Cortisol bei beiden Geschlechtern.....	51
3	MATERIAL UND METHODEN.....	55
3.1	Forschungsgebiet	55
3.2	Fangaktion der Flussdelfine.....	56
3.3	Ethik der Fangaktion	58
3.4	Altersklassen	58
3.5	Sonographie.....	59
3.6	Vaginalzytologie	60
3.6.1	Probenentnahme	61
3.6.2	Färben der Proben	61
3.6.3	Zelltypen.....	62
3.6.4	Auswertung der Vaginalzytologien	62
3.6.5	Mehrere Ausstriche pro Tier bei einem Untersucher	63
3.6.6	Ein Ausstrich bei mehreren Untersuchern	63
3.7	Hormonanalyse.....	64
3.7.1	Blutprobenentnahme	64
3.7.2	Aufbereitung der Blutproben.....	65

3.7.3	Untersuchung der Blutproben.....	65
3.7.3.1	Testosteron.....	65
3.7.3.2	Progesteron.....	66
3.7.3.3	Cortisol.....	66
4	ERGEBNISSE.....	68
4.1	Beurteilung des Lebensalters.....	68
4.1.1	Männliche Tiere.....	68
4.1.1.1	Alterseinteilung anhand der Körperlänge und dem Körpergewicht.....	68
4.1.2	Weibliche Tiere.....	70
4.1.2.1	Alterseinteilung anhand der Körperlänge und dem Körpergewicht.....	70
4.2	Sonographie.....	71
4.2.1	Männliche Tiere.....	71
4.2.1.1	Das Hodenvolumen bei den verschiedenen Altersklassen.....	72
4.2.1.2	Juvenile Hoden.....	74
4.2.1.3	Subadulte Hoden.....	74
4.2.1.4	Adulte Hoden.....	75
4.2.2	Weibliche Tiere.....	78
4.2.2.1	Ovar.....	78
4.2.2.2	Gelbkörper.....	82
4.2.2.3	Trächtigkeit.....	82
4.3	Vaginalzytologien.....	87
4.3.1	Zelltypen.....	88
4.3.1.1	Parabasalzellen.....	88
4.3.1.2	Intermediärzellen.....	90
4.3.1.3	Superfizialzellen.....	92
4.3.2	Mehrere Ausstriche pro Tier bei einem Untersucher.....	93
4.3.3	Mehrere Untersucher bei einem Ausstrich pro Tier.....	95
4.4	Hormonanalysen.....	96
4.4.1	Männliche Tiere.....	96
4.4.1.1	Der Gesamttestosteronwert bei den verschiedenen Altersklassen.....	96
4.4.1.2	Freies Testosteron.....	98

4.4.1.3	Testosteron im Vergleich mit dem Hodenvolumen	99
4.4.2	Weibliche Tiere	100
4.4.2.1	Progesteron	100
4.4.3	Cortisol bei beiden Geschlechtern	102
5	DISKUSSION	105
5.1	Alterseinschätzung	105
5.1.1	Männliche Tiere	105
5.1.2	Weibliche Tiere	107
5.2	Sonographie.....	108
5.2.1	Sonographie der männlichen Tiere.....	108
5.2.2	Sonographie der weiblichen Tiere	110
5.3	Vaginalzytologie	111
5.4	Hormonanalysen	113
5.4.1	Testosteron.....	113
5.4.2	Progesteron	114
5.4.3	Cortisol bei beiden Geschlechtern.....	115
6	ZUSAMMENFASSUNG	117
7	SUMMARY	119
8	LITERATURVERZEICHNIS	121
9	ANHANG.....	130
	DANKSAGUNG	135

Abbildungen und Diagramme

Abb. 1	Frontalansicht eines Iniakopfes	16
Abb. 2	Morphologie des Inias	17
Abb. 3	Männliche Geschlechtsorgane beim Großen Tümmler	19
Abb. 4	Weibliche Geschlechtsorgane beim Großen Tümmler	21
Abb. 5	Forschungsgebiet: Mamirauá	54
Abb. 6	Orte des Flussdelfinfangs im Mamirauásystem	55
Abb. 7	Die Netze zum Einkreisen am Boca do Mamirauá	56
Abb. 8	Ultraschall bei einem männlichen adulten Boto	59
Abb. 9	Färben der Vaginalzytologien mit DiffQuick®	61
Abb. 10	Blutentnahme beim Inia	63
Abb. 11	Alterseinteilung der männlichen Boto anhand der Körperlänge	68
Abb. 12	Alterseinteilung der männlichen Botos anhand des Körpergewichts	68
Abb. 13	Alterseinteilung der weiblichen Botos anhand der Körperlänge	69
Abb. 14	Alterseinteilung der weiblichen Botos anhand des Körpergewichts	70
Abb. 15	Das Gesamthodenvolumen im Vergleich mit dem Alter	71
Abb. 16	Das Verhältnis zwischen dem Gesamthodenvolumen und der Körperlänge	72

Abb. 17	Das Verhältnis zwischen dem Gesamthodenvolumen und dem Körpergewicht	72
Abb. 18	Longitudinale Sonographie des rechten Hodens eines juvenilen Flussdelfins	73
Abb. 19	Longitudinale Sonographie des linken Hodens eines subadulten Flussdelfins	74
Abb. 20	Longitudinale Sonographie des linken Hodens eines adulten Flussdelfins	75
Abb. 21	Longitudinale Sonographie des cranialen Hodenendes mit dem dreieckigen Caput epididymidis	75
Abb. 22	Longitudinale Sonographie des caudalen Hodenendes eines adulten Flussdelfins	76
Abb. 23	Transversale Sonographie des linken Hodens eines adulten Flussdelfins	76
Abb. 24	Transversale Sonographie des linken Ovars eines juvenilen Flussdelfins	77
Abb. 25	Longitudinale Sonographie des linken Ovars eines juvenilen Flussdelfins	78
Abb. 26	„Tram line“ im rechten Ovar eines adulten Flussdelfins	78
Abb. 27	Longitudinale Sonographie eines Ovars mit Follikel	79
Abb. 28	Longitudinale Sonographie eines in Formalin konservierten Ovars eines Flussdelfinkalbs	80
Abb. 29	Reproduktionstrakt eines Flussdelfinkalbs	80
Abb. 30	Linker Gelbkörper eines trächtigen Flussdelfins	81

Abb. 31	Harnblase mit Sediment	83
Abb. 32	Fruchtblase mit Fetus	84
Abb. 33	Thorakaler Durchmesser auf der Herzebene eines Fetus	85
Abb. 34	Thorakaler Durchmesser eines Fetus mit Brustflossen	85
Abb. 35	Kopf eines Fetus im 1. Trimester	86
Abb. 36	Fetus im 1. Trimester	86
Abb. 37	Zellhaufen mit großen Intermediärzellen und Neutrophilen	88
Abb. 38	Drei Parabasalzellen, eine kleine Intermediärzelle und Neutrophile	89
Abb. 39	Anzahl der Parabasalzellen von U1	89
Abb. 40	Kleine Intermediärzelle und Neutrophile	90
Abb. 41	Grosse Intermediärzelle	91
Abb. 42	Anzahl der Intermediärzellen insgesamt bei U1	91
Abb. 43	Superfizialzellen mit pyknotischem und ohne Kern	92
Abb. 44	Anzahl der Superfizialzellen insgesamt bei U1	93
Abb. 45	Ergebnisspanne der Intermediärzellen	94
Abb. 46	Ergebnisspanne der Superfizialzellen	94
Abb. 47	Gesamttestosteronwert im Vergleich mit dem Alter	97
Abb. 48	Gesamttestosteron in Abhängigkeit von der Körperlänge	97
Abb. 49	Gesamttestosteron im Vergleich mit Körpergewicht	98
Abb. 50	Gesamttestosteron im Vergleich mit freiem Testosteron	99
Abb. 51	Gesamthodenvolumen im Vergleich mit Gesamttestosteron	100

Abb. 52	Progesteronwerte in Abhängigkeit vom Alter	101
Abb. 53	Progesteronwerte in Abhängigkeit von der Trächtigkeit	102
Abb. 54	Cortisolwerte im Bezug auf die Erfahrung	104
Abb. 55	Cortisolwerte in Abhängigkeit der Untersuchungsdauer auf dem Flossboot	104

Tabellen

Tab. 1	Mittelwerte der Parabasalzellen	95
Tab. 2	Mittelwerte der Intermediärzellen	95
Tab. 3	Mittelwerte der Superficialzellen	96

1 Einleitung

Der chinesische Flussdelfin gilt seit kurzem als ausgestorben. Auch die Zahlen der Amazonasdelphine sind rückläufig. Dies betont die Bedeutung der Gewinnung von Kenntnissen über die physiologischen Vorgänge bei dieser Walart. Über die Fortpflanzung beim Flussdelfin gibt es bisher nur stichpunktartige Informationen, die in den meisten Fällen von Beobachtungen an Einzeltieren in Menschenhand stammen. Ziel dieser Arbeit war es, einige Reproduktionsparameter bei einer größeren Anzahl an freilebenden Tieren zu untersuchen. Erstmals wurden Ultraschalluntersuchungen, Hormonanalysen und Vaginalzytologien bei wilden Amazonasdelphinen angefertigt. Dazu wurden im November 2006, 2007 und 2008 insgesamt 179 Tiere während einer jährlichen Fangaktion als Teil eines Langzeitforschungsprojekts von wilden Botos im Mamirauá Reservat in Zentralamazonien untersucht.

2 Literatur

2.1 Die Biologie des Flussdelfins

2.1.1 Systematik

Die Flussdelfine (Platanistoidea) gehören innerhalb der höheren Säugetiere (Eutheria) zur Ordnung der Wale (Cetacea), die etwa 80 Walarten umfasst (Wandrey 2006). Es werden zwei Unterordnungen unterschieden: die Bartenwale (Mysticeti) und die Zahnwale (Odontoceti), zu der die meisten Wale gehören, darunter Vertreter wie der Pottwal und Orca sowie auch alle Delfine, Flussdelfine und Schweinswale (Wandrey 2006). Weltweit sind fünf Flussdelfinspezies bekannt: der Amazonasdelfin (*Inia geoffrensis*) auch Boto oder Inia genannt, der Ganges-Delfin (*Platanista gangetica*), der Indus-Delfin (*Platanista minor*), der La-Plata-Delfin (*Pontoporia blainvillei*) und der Chinesische Flussdelfin (*Lipotes vexilifer*). Letzterer gilt laut der Roten Liste der IUCN (International Union for Conservation of Nature) seit 1996 als kritisch gefährdet und seit 2006 als ausgestorben. Der Inia war 1996 ebenfalls auf der Roten Liste als bedrohte Art; mittlerweile wurde er in die Klasse mit unzureichenden Daten eingeteilt.

Der *Inia geoffrensis* wird in drei Subspezies unterteilt: *Inia g. humboldtiana* im Orinokoflussbecken, *Inia g. boliviensis* im Amazonasflussbecken Boliviens und *Inia g. geoffrensis* im Hauptbecken des Amazonas. Von einigen Wissenschaftlern wird, basierend auf genetischen und morphologischen Unterschieden, vorgeschlagen, die bolivianische Subspezies als eigene Spezies anzuerkennen (D'Orbigny 1834; Pilleri and Gahr 1977; da Silva 1994; Hamilton, Caballero et al. 2001; Banguera-Hinestroza, Cardenas et al. 2002; McGuire and Aliaga-Rossel 2007). Wahrscheinlich sind die frühen Iniidae vor der Bildung der Anden vor 15 Millionen Jahren aus dem Pazifik in das Amazonasbecken vorgedrungen (Grabbert 1983). Eine weitere Theorie über die Entstehungsgeschichte von Inia geht davon aus, dass Inia von der Atlantikseite her eingewandert ist (Brooks, Thorson et al. 1981; Gaskin 1982).

2.1.2 Verbreitung, Status, Habitat, Lebensweise, Ernährung

Der Inia ist in den Becken des Amazonas- und Orinokoflusses weit verbreitet. Er wird in verschiedenen Habitatformen angetroffen. Seine jahreszeitlichen Bewegungen sind abhängig von der Migration der Fische und dem Jahreszyklus der Wasserspiegelschwankung (Best and da Silva 1993; Martin and da Silva 2004c). Martin und da Silva (2004c) schätzen, dass sich circa 13.000 Inias im Mamirauá Reservat befinden, welches sich über 11.240 km² erstreckt und etwa 11% bis 18% des Überschwemmungswaldes in Brasilien ausmacht. Annähernd 260 Flussdelfine, von denen die Hälfte als ortstreue Tiere gelten, bewegen sich innerhalb des 225 km² großen Seesystems und des 84 km² umfassenden Überschwemmungsgebietes des Sektors Mamirauá (Martin and da Silva 2004c). In ganz Amazonien werden die Inias auf einige 10.000 Tiere geschätzt (Martin and da Silva 2004c).

In der Roten Liste des IUCN wird der Flussdelfin als gefährdet eingestuft und bei CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Flora and Fauna) steht er im Appendix II. Zu den Gefahren der Inias gehören die absichtliche Tötung zum Einsatz als Köderfleisch für den illegalen Fischfang des Piracatingas (*Calophysus macropterus*), sowie zufällige Todesfälle in Fischernetzen (Martin, da Silva et al. 2004b). Auch der stets zunehmende Bootsverkehr, Abholzung der ufernahen Wälder, die Errichtung von Staudämmen für Wasserkraftwerke und die Belastung der Gewässer durch Quecksilber aus der Goldwäscherei (Mallas and Benedicto 1986) bedrohen das Habitat der Inias (Mallas and Benedicto 1986; Best and da Silva 1989).

Die mittlere Lebenserwartung der Inias wird auf mehr als 30 Jahre geschätzt. Als ältestes wissenschaftlich bekanntes Tier gilt ein männlicher Boto, der von 1975 bis 2006 im Duisburger Zoo gelebt hat. Er wurde auf 55 Jahre geschätzt (Torre, Tizzi et al. 2010). Die Geschlechtsreife erreichen Botos mit 8 bis 10 Jahren. Alle 3 bis 4 Jahre bringen die adulten Weibchen ein Kalb zur Welt, welches etwa 2 bis 3 Jahre gesäugt wird (Martin and da Silva 2004c). Die einzige Bin-

dung, die Flussdelfine eingehen, besteht zwischen Muttertier und Kalb. Ansonsten sind sie Einzelgänger, die in Gebieten mit hohem Fischreichtum zufällig Gruppen bilden (Best and da Silva 1989; Martin and da Silva 2004a).

Zu der Beute der Inias zählen mindestens 50 Fischarten, wobei im Magen eines Tieres mehr Fischarten gefunden wurden, als die Gesamtanzahl an Beutefischen, die bei anderen Delfinarten bekannt sind (Best and da Silva 1989). Am häufigsten jagen sie tagaktive pelagische Fische, aber auch nachtaktive Arten, die in Ufernähe leben, fallen in ihr Beuteschema. Da deren Beute in der Regenzeit weit verbreitet und schwieriger zu fangen ist, ernähren sich die Botos in dieser Periode weniger selektiv (Best and da Silva 1989).

2.1.3 Anatomie

Am besten beschrieben ist die Anatomie des in Delfinarien gehaltenen Großen Tümmlers (*Tursiops truncatus*) (Geschke 2001). Flussdelfine haben zu letzterem sehr große Ähnlichkeit mit einigen morphologischen Abweichungen, die auf das unterschiedliche Habitat zurückzuführen sind. In der vorliegenden Arbeit wird immer wieder auf die Kenntnisse beim Tümmler zurückgegriffen.

Alle Cetacea sind charakterisiert durch die Abwesenheit der pelvischen Gliedmassen, schmücken sich dafür aber mit einer großen kaudalen Schwanzflosse (Dierauf and Gulland 2001). Die Melone, das rostrale Fettpolster auf der Stirn, ist beim Flussdelfin sehr prominent. Es ermöglicht eine ausgezeichnete Echoortung und dadurch eine optimale Anpassung an das Leben in trüben engen Gewässern. Der Inia schwimmt häufig auf dem Rücken, um die Sicht nach unten nicht durch die seitlich auf den Mandibulästen sitzenden Fettpolster zu beeinträchtigen (Carwardine 2005) (Abb. 1). Seine Augen sind sehr klein, aber es wird angenommen, dass die Sehfähigkeit nicht so schlecht ist (Phillips and McCain 1964; Boede, Mujica-Jorquera et al. 1998) wie bei deren asiatischen Ver-

wandten *Platanista minor*, die gar keine Linse im Auge haben (Carwardine 2005).



Abb. 1: Frontalansicht eines Iniakopfes (Quelle: Carwardine 2005)

Die äußeren Nasenhöhlen sind zu einer einzigen respiratorischen Öffnung vereint, dem Blasloch, welches sich sogleich in eine rechte und linke Luftröhre teilt und an oder nahe dem höchsten Punkt des Schädels sitzt. Dieses ist beim Flussdelfin häufig etwas links der Medianen (Carwardine 2005). Die äußere glatte Haut der Delfine hat eine verdickte Dermis, den Blubber (Walspeck), welcher der Thermoregulation zu gute kommt (Pabst, Rommel et al. 1998; Reynolds and Rommel 1999; Rommel, Pabst et al. 2007). Die Rückenflosse der Flussdelfine ist im Gegensatz zu den Tümmlern flach und lang. Die Halswirbelknochen sind nicht knöchern miteinander verbunden (Martin 1990; Rommel and Lowenstine 2001), wodurch der Inia nicht die delfintypischen Sprünge ausüben kann, aber im überfluteten Wald wendig zwischen den Bäumen hinter seiner Beute her schwimmt. Auch die im Gegensatz zu anderen Delfinen großen Brustflossen (Abb. 2) verhelfen ihm zu mehr Beweglichkeit. *In utero* haben die Delfine faziale Haare und fetale Falten, die sie um den Geburtszeitpunkt herum verlieren (Brecht, Preilowski et al. 1997).

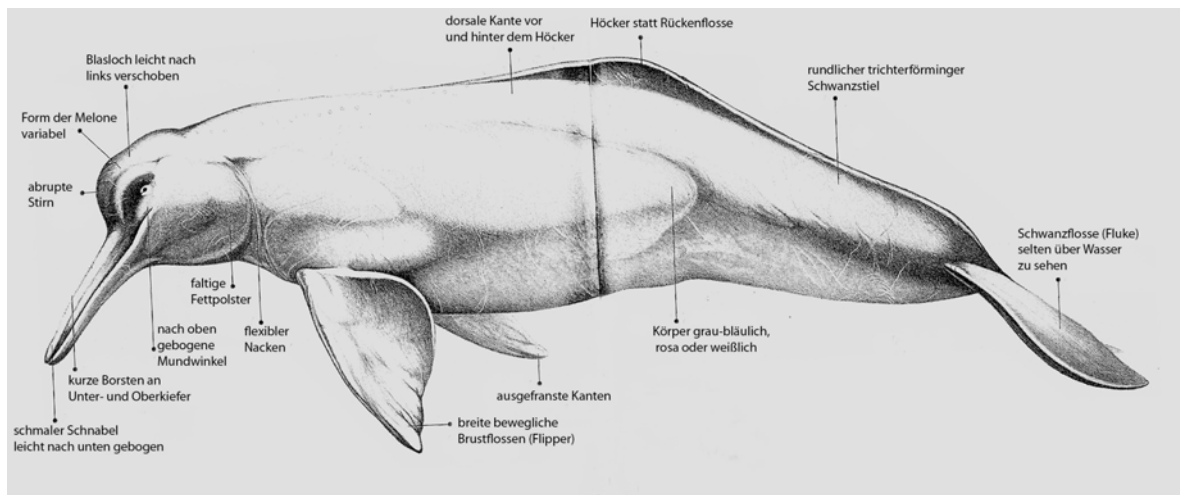


Abb. 2: Morphologie des Inias (Quelle: Carwardine 2005)

Inias sind die größten Flussdelfine mit einer maximalen Körperlänge (gemessen in einer Geraden von der Schnabelspitze bis zur medianen Flukeneinkerbung) von 255 cm und einem Höchstgewicht von 207 kg bei den männlichen, 225 cm und 153,5 kg bei den weiblichen Tieren. Es wurde von einem Männchen mit 274 cm und einem Weibchen mit 244 cm berichtet (Layne 1958). Diese Messungen könnten aber über die Rückenlinie genommen worden sein, wodurch die größere Länge zustande kommt (Best and da Silva 1989). Das Verhältnis von Gewicht zu Länge unterscheidet sich nicht zwischen den Geschlechtern, aber es kommt sexueller Dimorphismus vor (Best and da Silva 1989); Männchen werden viel länger (16%) und schwerer (55%) als Weibchen (Martin and da Silva 2006). Keine andere Flussdelfinart, zeigt solche Geschlechtsunterschiede (Martin and da Silva 2006).

Die Färbung von Inias ist sehr variabel und wahrscheinlich abhängig vom Alter, der Klarheit des Wassers und der Temperatur. Junge Tiere sind normalerweise schiefergrau. Mit zunehmendem Alter scheint das graue Pigment weniger zu werden und die Haut erscheint rosarot, was durch die durchscheinende Durchblutung in den subkutanen Kapillaren zu erklären ist. In kaltem Wasser oder bei toten Tieren verschwindet diese rosarote Färbung sehr schnell (Best and da Silva 1989; Boede, Mujica-Jorquera et al. 1998).

2.1.4 Männliche Geschlechtsorgane

Delfinhoden besitzen kein Skrotum. Aufgrund der Stromlinienförmigkeit des Delfinkörpers sind die Hoden und Nebenhoden zwischen den thermogenen axialen und abdominalen lokomotorischen Muskeln platziert. Somit sind die Reproduktionsorgane der Kerntemperatur des Körpers ausgesetzt (Boice, Swift et al. 1964; Arkowitz and Rommel 1985; Pabst, Rommel et al. 1998; Rommel, Pabst et al. 2007), die bei Cetaceen 35 bis 38 °C beträgt (Costa and Williams 1999; Williams, Haun et al. 2001; Rommel, Pabst et al. 2007). Diese Temperaturen können bei anderen Säugetierspezies effektiv die Spermatogenese blockieren (Cowles 1958; Van Demark and Free 1970; Rommel, Pabst et al. 2007) und die langzeitige Aufbewahrung der Spermatozoen im Nebenhoden schädlich beeinflussen (Bedford 1977; Rommel, Pabst et al. 2007). Im Vergleich zu anderen Säugetieren werden die Keimdrüsen der Cetaceen nicht durch die Umgebungstemperatur abgekühlt. Beim Tümmler wurde ein Wärmeaustausch zwischen dem Blut der Hodenarterien mit kühlem venösen Blut, das von superfizialen Gebieten der Rücken- und Schwanzflosse kommt, entdeckt (Rommel, Pabst et al. 2007). Diese Struktur ist analog zu anderen Tetrapoden. Allerdings gibt es bei Cetaceen zusätzlich einen einzigartigen lumbocaudalen Venenplexus, der unabhängig aber direkt neben der vaskulären Versorgung der reproduktiven Organe ist, um die Hodenarterien abzukühlen (Rommel, Pabst et al. 2007). Adulte Cetaceen haben große Hoden, die die ganze seitliche Bauchhöhle ausfüllen können (Boice, Swift et al. 1964) (Abb. 3). Der Hoden ist an der dorsolateralen Bauchwand über das Mesorchium befestigt, das sich um das laterale Hodenende legt. Der Nebenhoden liegt ventromedial entlang des Hodens. Das proximale Ende des Epididymis (Caput) zieht sich als Wölbung über den kranialen Teil des Hodens, das distale Nebenhodenende (Cauda) besteht aus einem großen Lappen, der aus den Kurven des Ductus epididymidis besteht. Letzterer setzt sich nach dem Nebenhodenende als Ductus deferens fort und vereint sich distal mit der Urethra über den Ductus ejaculatorius (Rommel, Pabst et al. 2007). Die einzige

akzessorische Geschlechtsdrüse, die bei Cetaceen beschrieben wurde, ist die Prostata (Meek 1918; Slijper 1936; Matthews 1950; Slijper 1966; Harrison, Boice et al. 1969b; Simpson and Gardner 1972; Slijper 1979; Collet and Robineau 1988; Rommel, Pabst et al. 2007), die an der Penisbasis zwischen den Beckenüberresten liegt. Ein sehr kräftiger kompressierender Prostatamuskel umgibt die Prostata (Matthews 1950). Der Penis ist mit jedem Pelvisrudiment über ein Crus verankert. Beide Crura vereinen sich in den Peniskörper und formen einen einzigen Corpus cavernosum. Die Urethra zieht sich durch den wenig entwickelten Corpus spongiosum (Simpson and Gardner 1972; Rommel, Pabst et al. 2007). Die großen bilateral gepaarten Musculi ischiocavernosi erector penis umgeben die Crura und Corpus cavernosum (Meek 1918; Collet and Robineau 1988; Rommel, Pabst et al. 2007). Diese Muskeln setzen an den Beckenrudimenten an. Der Penis wird durch spontane Kontraktion dieser Muskeln oder durch gewollte Manipulation zur Erektion gebracht (Boyd, Lockyer et al. 1999; Rommel, Pabst et al. 2007).

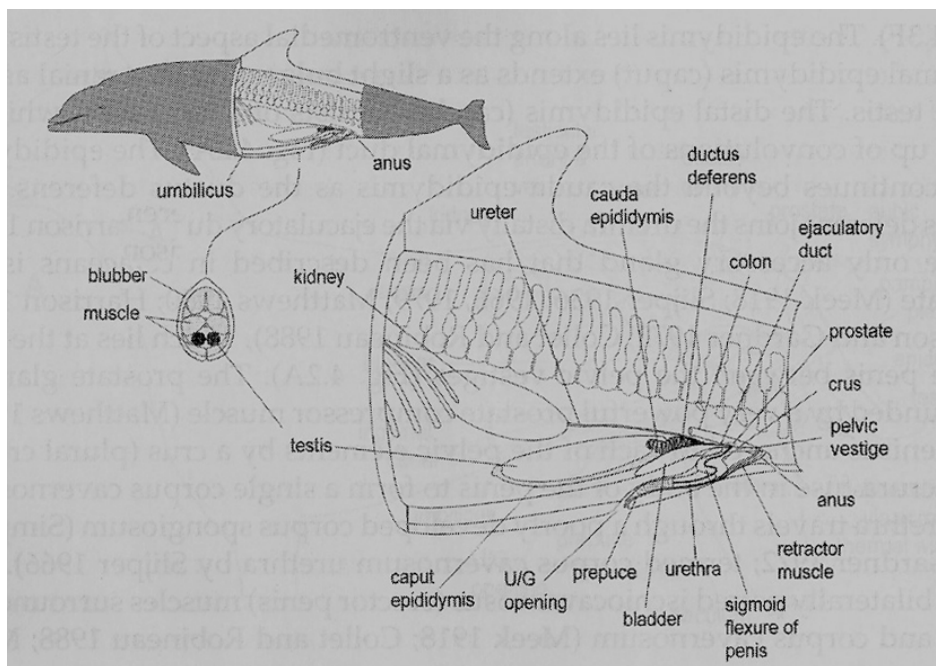


Abb. 3: Männliche Geschlechtsorgane beim Großen Tümmler, *Tursiops truncatus* (Quelle: Rommel, Pabst et al. 2007)

2.1.5 Weibliche Geschlechtsorgane

Die Lage und generelle Form der weiblichen Geschlechtsorgane der Cetaceen (Abb. 4) gleicht weitgehend denen der Landessäuger. Der vaginale Kanal endet in der Vulva, die in einer schlitzförmigen Öffnung (urogenitaler Schlitz) gemeinsam mit dem Anus und den Zitzen in der ventralen Körperwand liegt. Die paarigen Zitzen liegen ventrolateral und relativ kaudal und können auch bei männlichen Tieren ausgeprägt sein. Daher sollten sie nicht zur Geschlechtsunterscheidung herangezogen werden. Die Urethramündung befindet sich dorsal der gut ausgebildeten Klitoris am kranialen Teil des Urogenitalschlitzes (Rommel, Pabst et al. 2007). Die Vaginalöffnung führt über eine muskuläre Zervix zum bicornualen Uterus. Kaudal des Gebärmutterhalses ist die Wand der Vagina in eine oder mehrere Ringfalten gelegt, auch Pseudozervix genannt. Diese anatomische Besonderheit findet sich bei vielen Artiodactylen und ist nicht, wie fälschlicherweise von Slijper (1979) und Schroeder (1990b) angenommen, eine Besonderheit von Wassersäugetieren. Der kurze Uteruskörper befindet sich auf der Mittellinie und berührt die dorsale Harnblasenfläche (Abb. 4). Die Gebärmutterhörner ziehen vom Uteruskörper zu den seitlichen Anteilen der Bauchhöhle. Die Dimension der Cornua variiert mit dem Alter und der Reproduktionsgeschichte. Häufig dehnt der Fötus das trächtige Horn soweit aus, dass es eine ganze Bauchhöhlenseite einnimmt. Anders als bei anderen Säugetieren ist der Fötus bei Cetaceen nicht dorsoventral gefaltet, sondern ventrodorsal (Wislocki and Enders 1941; Slijper 1966; Etnier, Dearolf et al. 2004).

Der Uterus und seine lateralen Anteile werden durch breite Bänder (Mesometrium) in der Bauchhöhle gehalten (Rommel, Pabst et al. 2007). Kranial setzt sich das Mesometrium als Mesosalpinx und Mesovarium fort. Jedes Uterushorn ist über den Eileiter durch Fimbrien mit dem ipsilateralen Ovar verbunden. Die Ovarien sind paarig angelegte, flache, ovale Organe (Slijper 1966; Harrison, Boice et al. 1969b) und liegen in einer Bursa ovarica, die von der Mesosalpinx gebildet wird. Bei Flussdelfinen sind die Ovarien weniger gestielt als bei anderen

Cetaceen sind größer und rundlicher als beim Amazonas-Sotalia (*Sotalia fluviatilis*) (Harrison and Brownell 1971; Harrison, Brownell et al. 1972), einem der kleinsten Wale, die im Amazonas-Flusssystem aber auch in den Küstengewässern im nordöstlichen Südamerika vorkommen (Wandrey 2006). Das Gewicht der Ovarien reichte in einer post-mortem Studie bei immaturren Tieren von 2 g bis 6 g und bei adulten Botos von 7,5 g bis 11 g (Best and da Silva 1984).

Die Plazenta von Cetaceen ist diffus und epitheliochorial, wie die Plazenta von vielen Artiodactylen (Wislocki and Enders 1941; Schummer, Nickel et al. 1979; Benirschke and Cornell 1987).

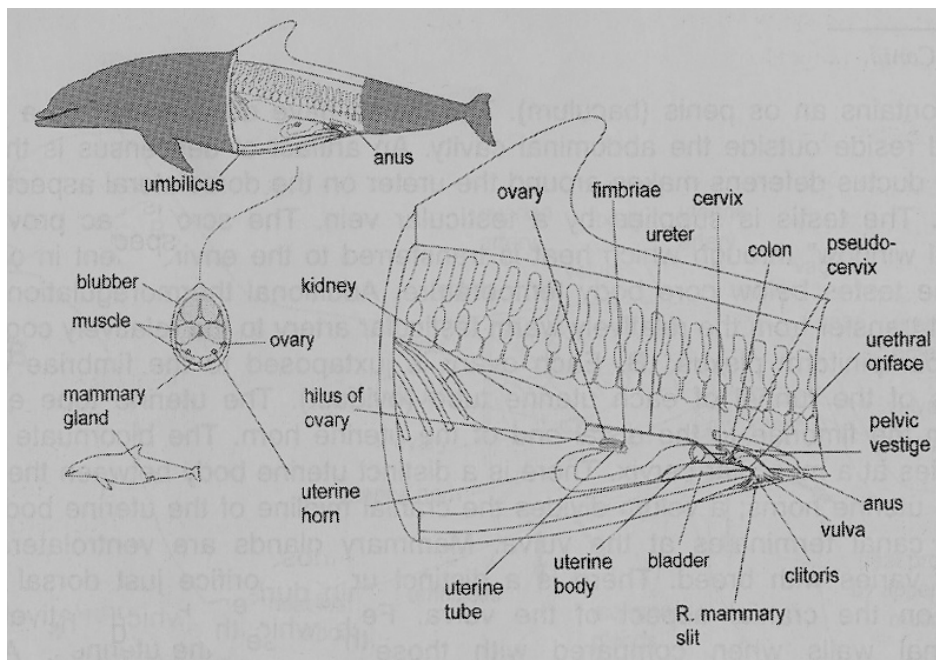


Abb. 4: Weibliche Geschlechtsorgane beim Großen Tümmler, *Tursiops truncatus* (Quelle: Rommel, Pabst et al. 2007)

Bei trächtigen Säugetieren wird circa 85% der fetalen Wärme durch Konvektion über die Plazenta an das Muttertier abgegeben (Power, Schroder et al. 1984; Gilbert, Schroder et al. 1985; Gilbert and Power 1986), um für den Fetus schädliche Temperaturerhöhungen zu umgehen. Die restlichen 15% werden über die

fetale Hautoberfläche über die Amnion- und Allantoisflüssigkeit zur Uteruswand abgeleitet (Gilbert, Schroder et al. 1985; Bell 1987). Von dort wird die Wärme über die relativ dünn bemuskelte maternale Bauchwand, auch maternales Fenster genannt, an die Umgebung verloren (Hart and Faber 1985; Gilbert and Power 1986). Cetaceen besitzen allerdings einen großen Hitze produzierenden axialen und abdominalen Muskel und isolierenden Blubber und es fehlt dieses maternale Fenster (Rommel, Pabst et al. 2007).

Walartige Säugetiere können die Temperatur der Reproduktionsorgane regulieren, um Hyperthermie zu vermeiden. Rommel, Pabst *et al.* (2007) haben neuartige vaskuläre Anordnungen beschrieben, die tief in der kaudalen Bauchhöhle als gegenläufige Hitzaustauscher (CCHes: countercurrent heat exchangers) fungieren. Diese vaskulären Strukturen bringen kühles venöses Blut, welches von der superfizialen Oberfläche der Rücken- und Schwanzflosse zurück fließt, in direkte Nachbarschaft zu arteriellen Gefäßen, die die Reproduktionsorgane versorgen (Rommel, Pabst et al. 1994; Pabst, Rommel et al. 1995; Rommel, Pabst et al. 2007).

2.1.6 Fortpflanzungs- und Sozialverhalten

In der Literatur gibt es kaum Beschreibungen des Reproduktionsverhaltens der Flussdelfine. Bei Tieren in Menschenhand wurden öfters Kopulationen beobachtet, aber es gab nur selten Nachwuchs (Huffman 1970; Caldwell and Caldwell 1972). Masturbationen und Paarungen sind häufig bei Delfinen in Menschenhand, aber scheinen nicht in Zusammenhang mit ovarieller oder testikulärer hormoneller Aktivität zu stehen (Sweeney 1990). Weibliche Inias versuchten Objekte in den Genitalschlitz einzuführen oder dagegen zu pressen (Layne and Caldwell 1964; Gewalt 1979; Pilleri, Gühr et al. 1980). Im Valencia Delphinarium in Venezuela wurde ein Kalb geboren von einem in der Wildnis gefangenen Muttertier. Die Trächtigkeit war zum Zeitpunkt des Fangs noch nicht bekannt.

Das Muttertier wurde zusammen mit dem Kalb 6 Monate lang von der restlichen Gruppe isoliert und danach erfolgreich in die Gruppe eingeführt (Boede, Mujica-Jorquera et al. 1998).

Verglichen mit dem Großen Tümmler *Tursiops truncatus* oder Schwertwal (*Orcinus orca*) eignen sich Flussdelfine schlechter zur Haltung in Delphinarien. Tümmler und Orcas sind beim Publikum beliebter als Inias durch ihre höhere Aktivität (Marks 1992; Boede, Mujica-Jorquera et al. 1998). Letztere sind hauptsächlich einzelgängerische Tiere. Zwischen 58% und 81% der wild lebenden Tiere wurden allein beobachtet (Best and da Silva 1993). Die Tiere, die paarweise gesehen wurden (12% bis 26%), sind Mutter - Kalb - Paare (Best and da Silva 1993).

Es wird auch über aggressives Verhalten bei Gruppenhaltung in Menschenhand berichtet, die zu einer verkürzten Lebensdauer geführt haben könnte (Caldwell, Caldwell et al. 1989). Eines der letzten in Menschenhand lebende Iniamännchen ist derzeit im Duisburger Zoo zu sehen. Es wurde 1975 zusammen mit weiteren Tieren (2 männliche und 2 weibliche) im Apure Fluss, Venezuela gefangen und nach Deutschland exportiert (Gewalt 1978; Boede, Mujica-Jorquera et al. 1998). Auch im Valencia Delphinarium, Venezuela gibt es noch Inias in Menschenhand (von Fersen 2010, mündliche Information).

2.2 Reproduktion bei Cetaceen

Seit Beginn des 20 Jahrhunderts werden Delfine in Menschenhand gehalten. Es ist seit einiger Zeit aus Tier- und Artenschutzgründen nicht mehr üblich, weiterhin Delfine für Delphinarien und Zoos aus der Wildnis zu entnehmen. Der Kongress der Vereinigten Staaten verabschiedete zu diesem Zweck 1972 die Marine Mammal Protection Act (P.h. 92-522, 210) (Richkind and Ridgway 1975). Damit die Bestände der Einrichtungen aber nicht genetisch verarmen und weiterhin

genügend Delfine ausstellen können, wurde es für eine erfolgreiche Nachzucht notwendig, Genmaterial untereinander auszutauschen. Zum einen wird dieser Austausch wie bei anderen Tierarten durch Tiertransporte gelöst. Zum anderen werden immer mehr Nachzuchten durch künstliche Besamung gezeugt (Robeck, Steinman et al. 2004b).

Langzeitstudien zur Etablierung von Daten über die Fortpflanzungsendokrinologie wurden begonnen. Anfangs musste für Blutproben von Tümmlern unter großem Aufwand das gesamte Wasser aus dem Becken abgelassen werden (Ridgway 1965; Richkind and Ridgway 1975). Das Training der Tiere, das bereits 1935 bei ersten Dreharbeiten für einen Unterwasserfilm begann, etablierte sich im Medical Training. Es erleichtert das Handling der Tiere und erlaubt regelmäßige Probenentnahmen (Baumgartner 2010, mündliche Information). Die Delfine lernten am Beckenrand ihre Schwanzflosse zu präsentieren, während an den zentralen Schwanzflossengefäßen Blut abgenommen wurde, ohne dabei weitere Fixationsmaßnahmen anwenden zu müssen (Keller 1986).

2.2.1 Weibliche Tiere

2.2.1.1 Sexuelle Reife

Viele Aspekte der Biologie der Cetaceen sind schwierig zu erforschen, da deren Habitat für Forscher weitgehend unzugänglich ist. Viele Informationen wurden aus morphologischen und histologischen Untersuchungen von Gonaden toter Tieren gesammelt, die zufällig in Fischernetzen gefunden wurden oder an Küsten gestrandet waren.

Best und da Silva (1984) fanden bei post-mortem Untersuchungen von sieben Inia weibchen heraus, dass die sexuelle Reife ab einer Länge von 183 cm eintritt. Bei Tümmlerweibchen ergaben post-mortem Untersuchungen, dass Corpora lutea bzw. albicantia ab einer Körperlänge von mindestens 220 cm gefunden werden, welche sie etwa im Alter von 5 Jahren erlangen (Harrison and Ridgway

1971). Dieses Alter wird durch dreijährige Untersuchungen von Serumöstrogen und -progesteronwerten bei 6 Tümmlerweibchen in Oahu, Hawaii (Schroeder 1990a) bestätigt. Im Gegensatz zur sexuellen Reife wird die reproduktive Reife erst mit 7 bis 10 Jahren erreicht. Letztere tritt ein, wenn das Weibchen regelmäßig ihren Zyklus und ihre adulte Körpergröße hat. Wird ein Tier trächtig, das noch nicht voll ausgewachsen ist, kann es eine schwierige Geburt oder eine Totgeburt erfahren und es können andere Probleme auftreten, die im Zusammenhang mit einer zu frühen Trächtigkeit stehen (Schroeder 1990a).

2.2.1.2 Zyklusablauf

Der Reproduktionszyklus der Cetaceen war bis Anfang der 80er Jahre nicht bestimmt. Die wenigen Corpora albicantia (C.A.) und der Mangel an nichtträchtigen Wildtieren, die in Verbindung mit Corpora lutea (C.L.) gefunden wurden, führten die Wissenschaftler anfänglich zur Folgerung, dass bei vielen Delfinspezies die Ovulation induziert sei (Harrison and Ridgway 1971). Die Entwicklung von Hormonassays zur Messung von verschiedenen Hormonen, wie Östradiol-17 β (E₂) und dem luteinisierenden Hormon (LH), die den Östrus und die Ovulation regulieren, ermöglichten eine Ermittlung der ovariellen Aktivität das ganze Jahr hindurch bei verschiedenen Walartigen in Menschenhand (Fukui 2007). Beim Orca und beim Tümmler wird von einer spontanen Ovulation ausgegangen, mit einer Zyklusdauer von 21 bis 42 Tagen (Benirschke, Johnson et al. 1980; Kirby and Ridgway 1984; Schroeder 1990b) schwankend zwischen polyöstrisch, saisonal polyöstrisch und anöstrisch für ein oder zwei jährige Intervalle (Cornell, Asper et al. 1977; Kirby and Ridgway 1984; Perrin and Reilly 1984; Cornell, Asper et al. 1987; Kirby 1990; Schroeder 1990b). Ist die Gesamtöstrogenkonzentration im Serum über 5 bis 7 Tage erhöht, weist dies auf die folliculäre Phase des Östruszyklus hin (Schroeder 1990a). Die luteale Phase dauert 7-19 Tage und wird durch Progesteron dominiert (Robeck, Schneyer et al. 1993).

Bei einem Indopazifischen Tümmlerweibchen wurden zwischen 1990 bis zu ihrem Tod 1999 die reproduktiven Ereignisse mit mindestens monatlichen Progesteronanalysen und wöchentlichen Ultraschalluntersuchungen verfolgt (Brook, Kinoshita R. et al. 2002). Die erste Erhöhung des Progesteronwerts wurde in einem Alter von 6 Jahren aufgezeichnet bei einer Körperlänge von 221 cm und einem Gewicht von 156 kg. Es wurden per Ultraschall insgesamt 18 Ovulationen (C.L. 1,6 - 1,9 cm im Durchmesser) ermittelt und drei Trächtigkeiten festgestellt (C.L. 2,5 - 2,8 cm im Durchmesser). Bei der Untersuchung postmortem (makro- und mikroskopisch) wurden drei C.A. gefunden (übereinstimmend mit der Anzahl der Trächtigkeiten). Mikroskopisch wurden einige *corpora atretica* entdeckt, aber die Anzahl der Narben stimmte nicht mit der Anzahl der Ovulationen (n=18) überein. Daraus folgerte Brook, dass es bei dieser Spezies möglich ist, die Anzahl der Trächtigkeiten mit der der C.A. zu korrelieren, aber dass die Ovulationsnarben nicht ersichtlich sind oder bleiben.

Bis zu zwei Jahre lange Anöstrusphasen mit geringen oder nicht messbaren Sexualsteroidwerten wurde bei *Tursiops truncatus* in Menschenhand dokumentiert (Kirby and Ridgway 1984; Wells 1984; Yoshioka, Mohri et al. 1986). Beim Orca wurde von Anöstrusphasen mit variabler Länge, die nicht in Verbindung mit der Umwelt, dem Sozialleben oder der Ernährung standen (Robeck, Schneyer et al. 1993) berichtet.

Des weiteren wurde bei einigen walartigen Spezies von Scheinträchtigkeiten berichtet (Yoshioka, Mohri et al. 1986; Atkinson, Combelles et al. 1999).

2.2.1.3 Serumhormonwerte und erste Ovulationsinduktion

Saywer-Steffen (1980, 1983) untersuchte zwei Jahre lang bei zwölf trächtigen und nicht trächtigen Großen Tümmlern im Naval Ocean System Center und Sea World, Kalifornien, ein- bis zweimal monatlich Serumwerte von Progesteron und Östrogenen mittels RIA (Radioimmunoassay). Er ermittelte keine Saisonalität.

tät der Steroidhormone bei den Tieren in Menschenhand, warnte aber davor, gleiche Aussagen über Tiere in der Wildnis zu machen, da letztere auch durch den Stress des Fangs veränderte Werte aufweisen könnten. Gefangene Tümmler mit Serumprogesteronwerten von mehr als 3 ng/ml über eine längere Periode (6 bis 8 Wochen) erwiesen sich als trächtig. Werte von > 3 ng/ml, die innerhalb eines Monats zu < 1 ng/ml zurückkehrten, wiesen auf eine Ovulation hin (Sawyer-Steffan, Kirby et al. 1983). Eine Ovulationsinduktion konnte durch intramuskulär applizierte PMSG-Injektionen, gefolgt von hCG erreicht werden. Dies stellte den Beginn einer kontrollierten erfolgreichen Zucht von Delfinen in Menschenhand dar (Sawyer-Steffan, Kirby et al. 1983). Cornell (1987) nannte Serumprogesteronwerte von > 6 ng/ml über einen Zeitraum von 4 bis 6 Wochen hinweisend auf eine Trächtigkeit. Wie auch schon Sawyer-Steffan, Kirby *et al.* (1983) zuvor, entdeckte er während der Trächtigkeit große Schwankungen der Progesteronwerte (siehe 2.6.3.1). Tiere, die das erste Mal trächtig waren, hatten niedrigere Progesteronwerte als Delfine, die schon Kälber ausgetragen hatten (Cornell, Asper et al. 1987). Tiere, die eine Totgeburt hatten, zeigten noch niedrigere Progesteronwerte. Seine Ergebnisse zur hormonalen Erkennung der graviden Tiere bestätigte Cornell (1987) mittels Ultraschall schon während des ersten Trächtigkeitsmonats.

2.2.1.4 Trächtigkeitsdauer, reproduktives Alter, Zwischenkalbezeit

Zu Beginn wurden Schätzungen gemacht, dass die Gestation des Großen Tümmlers 12 Monate beträgt (Tavolga and Essapian 1957; Essapian 1963; Wood 1977; Schroeder 1990a). Die Trächtigkeitsdauer wurde von Cornell (1987) beim Tümmler mit 11,5 bis 12 Monaten festgestellt, übereinstimmend mit seinen gesammelten Progesteronmesswerten. Die weiblichen Delfine in den Sea World Delphinarien haben im Alter von 8-9 Jahren bis 23-24 Jahren Kälber hervorgebracht. Die Zwischenkalbezeit betrug bei diesen Tieren 2 bis mehr als 3 Jahre (McBride and Kritzler 1951; Leatherwood 1977; Wood 1977; Cornell, Asper et

al. 1987). Bei Orcas, Pilotwalen (Marsh and Kasuya 1984) und Nordkapern (*Eubalaena glacialis*) (Hamilton, Knowlton et al. 1988) wurde eine postreproduktive Phase oder Seneszenz festgestellt. Diese Phase ist durch die Abwesenheit von Follikeln in den Ovarien charakterisiert. Tümmler hingegen können bereits während der Laktation wieder konzipieren. Dabei wurde von Progesteronkonzentrationen zwischen 8 und 46,5 ng/ml (in der Milch) berichtet (West 2002). Auch Amazonasdelfine können gleichzeitig lactieren und trächtig sein (Harrison and Brownell 1971; Best and da Silva 1984).

2.2.1.5 Morphologische Veränderung während der Trächtigkeit

Die Trächtigkeit wird von Veränderungen der physischen Erscheinung des Tümmlerweibchens begleitet, welche individuell sehr unterschiedlich sein können (Baumgartner 2009, mündliche Information). Bei einigen Tieren wurde eine Schwellung im Bereich der Genitalregion beobachtet, die zu einem stufenartigen Aussehen im Übergang der Milchdrüse zum Genitalschlitz führte (McBride and Kritzler 1951; Cornell, Asper et al. 1987). Bei einigen fortgeschrittenen trächtigen Amazonasdelfinen, die für diese Studie gefangen wurden, zeigte sich das laterale Abdomen vergrößert.

2.2.1.6 Steroidhormone im Urin

In drei Sea World Delphinarien hat Walker (1988) bei Orcas, den größten Vertretern der Familie der Delphinidae, Steroidhormone im Urin mit RIA (Methode nach Lasley 1985) nachgewiesen. Er stellte fest, dass bei dieser Spezies eine spontane Ovulation vorliegt. Das Gewinnen von Urin erwies sich als eine täglich anwendbare praktische, stressfreiere Methode als die invasivere Blutabnahme (Cornell, Asper et al. 1987; Robeck, McBain et al. 1990; Robeck, Schneyer et al. 1993).

2.2.2 Männliche Tiere

2.2.2.1 Sexuelle Reife

Große Tümmler zeigen ab einer Körperlänge von mindestens 260 cm testikuläre Aktivität laut histologischer und morphologischer Untersuchungen post-mortem (Harrison and Ridgway 1971). Bei Tieren in Menschenhand erreichten sie diese etwa in einem Alter von 10 Jahren.

Spätere Untersuchungen belegen, dass die sexuelle Reife beim *Tursiops truncatus* mit etwa 10 Jahren und einem Serumtestosteronwert (5 - 54 ng/ml) einsetzt (Schroeder 1990a). Juvenile Tümmler erreichen maximal Werte von 3 ng/ml, pubertäre Männchen 3-5 ng/ml.

In einer vier Jahre dauernden Untersuchung wurde festgestellt, dass Indopazifische Tümmler bereits mit 6,5 - 7,5 Jahren die Geschlechtsreife erreichen (Yuen, Brook et al. 2007). Geschlechtsreife wurde als erstes Auftreten von Sperma im Ejakulat definiert.

Robeck (2006) verglich erstmals in einer Langzeituntersuchung morphologische Veränderungen der Hoden mit dem geschätzten Alter von 10 Orcas, basierend auf Serumtestosteronkonzentrationen. Juvenile Tiere reichten bis zu einem Alter von 1 - 7 Jahren (mittlerer \pm S.D. Testosteronwert $0,13 \pm 0,20$ ng/ml), pubertäre Männchen von 8 - 12 Jahren ($2,88 \pm 3,0$ ng/ml) und sexuell reife Tiere waren 13 Jahre und älter ($5,57 \pm 2,9$ ng/ml).

2.2.3 Saisonalität

Die Saisonalität bezieht sich auf die zeitliche Regulierung des Fortpflanzungsablaufs, welcher sich zyklisch abspielt und darauf ausgerichtet ist, saisonale Veränderungen der Umweltbedingungen zugunsten des Überlebens der Spezies zu optimieren. Saisonale Muster im Reproduktionsgeschehen variieren zwischen

Spezies und Populationen aufgrund deren unterschiedlichen Lebensstils und Ökologie (Boyd, Lockyer et al. 1999).

Reproduktionssaisonalität bei weiblichen Tieren kann durch die Interaktion zwischen Faktoren, wie der Verfügbarkeit von Umweltressourcen und der Überlebensfähigkeit der Nachkommen erklärt werden. Bei männlichen Tieren geht die Saisonalität einher mit Veränderungen der Hodengröße und Fluktuationen in der Testosteronproduktion (Boyd, Lockyer et al. 1999).

Die Gonaden männlicher Delfine wurden anfangs morphometrisch und histologisch auf Saisonalität untersucht (Ridgway and Green 1967; Collet and Saint Girons 1984; Hohn, Chivers et al. 1985). Informationen über saisonale Veränderungen der Steroidhormone bei kleinen Cetaceen sind verfügbar (Yoshioka, Mohri et al. 1986; Schroeder and Keller 1989; Kirby 1990; Fukui, Mogue et al. 1996), und es wurde vorgeschlagen, den Androgenwert als Hinweis für die testikuläre Aktivität bei Männchen zu nehmen (Fukui, Mogue et al. 1996).

Eine Saisonalität beim Großen Tümmler wird von Harrison und Ridgway (1971) durch Vergleichen der Plasmatestosteronwerte mit den Geburten der Kälber beschrieben. Wells (1984) berichtet von Serumtestosteronwerten beim Spinner (*Stenella longirostris*), die auf saisonale testikuläre Aktivität hinweisen. Wood (1977) stellt dar, dass in Geburt resultierendes Paarungsverhalten beim Atlantischen Großen Tümmler im Marineland von Florida, St. Augustine nur in den Frühlingsmonaten von Februar bis Mai stattfindet. Als Beispiel dagegen ereigneten sich die Geburten im Miami Seaquarium im späten Sommer und Herbst (Zeiller 1977). Untersuchungen weisen darauf hin, dass Delfingeburten in Menschenhand in jedem Monat des Jahres vorkommen, mit Höhepunkten im Frühling und Herbst (Ridgway and Benirschke 1977; Cornell and Asper 1978). Die Abkalbesaison ist von Ort zu Ort verschieden (McBride and Kritzler 1951; Esapian 1963; Caldwell and Caldwell 1972; Ridgway and Benirschke 1977; Cornell, Asper et al. 1987; Caldwell, Caldwell et al. 1989).

Schroeder und Keller (1989) verglichen die Spermaproduktion mit Serumtestosteronwerten beim Atlantischen Großen Tümmler in drei aufeinander folgenden Zuchtsaisonen. Sie stellten fest, dass die Testosteronwerte im Juni ihren Höhepunkt (54,4 ng/ml) und im September und Oktober ihren Tiefpunkt (1,1 ng/ml) erreichten, nämlich zur Zeit der höchsten Spermadichte und des häufigsten Paarungsverhaltens. Sie gingen davon aus, dass der Testosteronspiegel in den unzugänglichen Testikulargefäßen weitaus höher war, als der gemessene, um die erhöhte Spermadichte und die Hodenvergrößerung trotz Serumtestosteronabfall erklären zu können. Bei anderen saisonal reproduktiven Spezies ist der Höhepunkt der Spermaproduktion zeitlich verzögert, nachdem die saisonale Serumtestosteronkonzentration ihr Maximum erreicht (Byers, Dowsett et al. 1983; Asher, Day et al. 1987; Matsubayashi, Watanabe et al. 1991). Diese Verzögerung könnte den beobachteten inhibitorischen Effekt des hohen Serumtestosterons auf die Spermatogenese erklären (Asher, Day et al. 1987; Matsumoto 1990; Tom, Bhasin et al. 1991). Robeck (1994) folgerte, dass submaximale Testosteronkonzentrationen für eine optimale Spermatogenese nötig sein könnten. Diese Hypothese wird durch die Beobachtung unterstützt, dass die normale Spermatogenese in Anwesenheit von niedrigen intratestikulären Testosteronkonzentrationen vorkommen kann (Cunningham and Huckins 1979). Die Verzögerung könnte auch einen normalen Zeitabstand von der Spermatozytenproduktion (welcher maximal stimuliert ist während des Testosteronhöhepunkts) bis zur Spermareifung bei Delfinen darstellen (Byers, Dowsett et al. 1983; Asher, Day et al. 1987).

Bei fünf männlichen Indopazifischen Tümmlern (*Tursiops aduncus*) wurde eine drei Jahre lange Untersuchung mit monatlichen Ultraschall-, Sperma- und Blutuntersuchungen durchgeführt (Yuen, F.M. et al. 2006). Sowohl im Hodenvolumen als auch beim Testosteronspiegel kristallisierten sich winterliche Tiefstwerte von Dezember bis Februar und sommerliche Maximalwerte von Mai bis Juli heraus. Bei der Spermadichte ließ sich kein saisonales Muster erkennen. Allerdings war der Großteil der Tiere erst seit kurzem geschlechtsreif. Das Erlangen

der vollen sexuellen Reife dauert wahrscheinlich einige Jahre, was auch an der jährlichen Zunahme des durchschnittlichen Hodenvolumens ersichtlich ist.

Auch bei Orcas stellte sich heraus, dass die Spermatogenese im Gegensatz zum Serumtestosteronwert keinen jährlichen Schwankungen unterliegt (Robeck and Monfort 2006). Die erhöhten Testosteronwerte steigern die Libido, welche wichtig für die Etablierung einer Dominanz über potentielle Konkurrenten ist. Die saisonalen Schwankungen begründet Robeck (2006) mit der Situation bei Wildtieren, bei welchen die Werte je nach geografischer Verfügbarkeit der Weibchen variieren. Auch die Erhöhung der Serumcortisolwerte unter dem Einfluss diverser Umweltstressoren (z.B. Temperaturschwankungen, reduzierter Sauerstoffgehalt im Wasser) wird in Verbindung mit dem Anstieg der Konzentration von Reproduktionshormonen gebracht (Suzuki, Uchida et al. 2003).

Best und da Silva (1984) erkannten beim Amazonasdelfin keinen saisonalen Rhythmus. Das Hodengewicht der Inias war im Mai, September und November ähnlich, allerdings war die Fallzahl sehr gering (Best and da Silva 1984).

2.2.4 Kryokonservierung des Samens, Ovulationsinduktion und künstliche

Besamung

Es wurden die ersten erfolgreichen Absamungen per Elektroejakulation und manuell bei Tümmlern in Menschenhand durchgeführt (Fleming, Yanagimachi et al. 1981; Keller 1986). Seitdem wird von Kryokonservierung des ejakulierten Samens beim Tümmler (Schroeder and Keller 1990; Schroeder 1990b; Yoshioka 1994a) und beim Weißstreifen-Delfin (*Lagenorhynchus obliquidens*) (Yoshioka 1994a) berichtet.

Die erste induzierte Ovulation mittels eCG und hCG beim Tümmler wurde bereits vor 20 Jahren beschrieben (Schroeder and Keller 1990; Schroeder 1990b). Bei der künstlichen Besamung wurde das Spermia in die Vaginalfalten direkt

distal der Zervix (auch Recessus spermathecalis oder Pseudozervix genannt) deponiert. Allerdings führte damals keine dieser künstlichen Befruchtungen zu einer Trächtigkeit. Robeck *et al.* (1994) spekulierte, dass eine intrazervikale oder intrauterine Spermaeinbringung nötig ist, um eine erfolgreiche Trächtigkeit zu erreichen. Die besondere Anatomie der Delfinzervix erfordert ein Endoskop für den Zugang zum Uterus (Green 1977; Robeck, Curry *et al.* 1994). Es wurde erstmals konsequent gezeigt, dass die folliculäre Aktivität mit Hilfe von transabdominalem Ultraschall beobachtet werden kann (Robeck, McBain *et al.* 1998). Da Follikel während des Anöstrus < 5 mm groß sind, und die Mehrheit der Follikel < 2 mm sind, wendet Robeck ein, dass es schwierig sei, Eierstöcke ohne präovulatorische Follikel (mindestens 16 mm) zu entdecken. Bei indopazifischen Tümmlern wurde Ultraschall zusammen mit dem Serumöstrogenprofil untersucht (Yoshioka, Mohri *et al.* 1986), welches sich als schwankend und nicht brauchbar für die Ovulationsvorhersage zeigte (Brook 2000a).

Altrenogest, ein synthetisches Progestagen, wird bei Cetaceen zur Langzeitunterdrückung der Ovulation benutzt (Young and Huff 1996). Bei Pferden (Webel and Squires 1982) und Schweinen (Kraeling, Dziuk *et al.* 1981) wurde es zur Östrussynchronisation eingesetzt ohne die Fruchtbarkeit zu beeinflussen (Squires, Stevens *et al.* 1979; Stevenson and Davis 1982; Squires, Heesman *et al.* 1983). Es findet auch Einsatz in der Synchronisierung des Östrus bei Orcas, Weißstreifendelfinen und Großen Tümmlern (Robeck, Jensen *et al.* 2000; Robeck, Greenwell *et al.* 2003; Robeck, Steinman *et al.* 2004b). Die Möglichkeit einer zeitlich kontrollierten Ovulation verbessert das Management einer natürlichen oder künstlichen Befruchtung (Robeck, Steinman *et al.* 2005). Mittlerweile gibt es einige Jungtiere, die durch künstliche Befruchtung gezeugt wurden (Baumgartner 2009, mündliche Information).

2.3 Flussdelfine: Sexuelle Reife, Saisonalität, Trächtigkeitsdauer

Es liegen wenige Daten über die reproduktiven Merkmale der südamerikanischen Platanistidae vor. Es ist bekannt, dass jeweils ein Nachkomme hervorgebracht wird (Cabrera and Ypes 1940). Bei einem Männchen in Menschenhand in Florida wurde von sexueller Aktivität im späten Sommer (Layne and Caldwell 1964) berichtet. Huffman (1970) erwähnte die Geburt eines 81 cm langen Kalbs im April 1969 im Fort Worth Zoological Park von einem Iniaweibchen, das bereits seit 7 Jahren in Menschenhand war.

Im Zeitraum von 1960 bis 1969 wurden Flussdelfine in Südamerika gefangen, um sie ins Marineland Kalifornien und Florida zu bringen. Einige Tiere starben schon beim Transport, andere haben in Menschenhand bis zu 18 Monate überlebt. Harrison und Brownell (1971) untersuchten die Gonaden von 9 Männchen und 9 Weibchen. Sie stellten fest, dass die sexuelle Reife bei den männlichen Inias ab einer Körperlänge von 228 cm einsetzt mit einem Hodengesamtgewicht von 1447 g und einem Tubulusdurchmesser von 200 μm . Bei allen kleineren Tieren konnten sie keine Spermatozoen in den Tubuli seminiferi nachweisen (Durchmesser $< 100 \mu\text{m}$). Letztere hatten ein Hodengesamtgewicht von 14,3 bis 613 g. Die weiblichen Tiere erreichen die sexuelle Reife nicht unter einer Länge von 175 cm, wenn die Follikel, C.L. oder C.A. noch einen Durchmesser von $< 1 \text{ mm}$ haben. Es wurden zwei trächtige Tiere gefangen, eines mit einer Körperlänge von 197 cm und einem Fötus von 3 cm Gesamtlänge. Dieses Tier wies ein C.L. (25 x 20 mm) im linken Ovar und ein C.A. (8 x 6 mm) im rechten Ovar auf. Beim anderen trächtigen Tier, das zudem laktierend war, fanden sie einen Fötus mit einer Gesamtlänge von 15 cm, ein C.L. (35 x 30 mm), ein C.A. (3 x 3 mm) im linken Ovar und ein C.A. (8 x 5 mm) im rechten Eierstock. Daraus schlossen sie, dass in Inias beidseitig C.A. persistieren und nicht nur links, wie man es in anderen Cetaceen gewöhnlich sieht (Oshumi 1964; Harrison, Boice et al. 1969a). Aus ihren Ergebnissen folgerten Harrison und Brownell (1971), dass die Konzeption von Oktober bis November oder früher statt finden musste. Die

Geburten ereignen sich von Juli bis September. Flussdelfinweibchen können bereits während der Laktationsperiode wieder trächtig werden, allerdings ist nicht klar, ob die Konzeption bereits direkt nach der Geburt stattfindet, oder ein Jahr später. Die Hoden zeigten sich im September aktiv.

Best und da Silva (1989) schätzen den Eintritt der sexuellen Reife bei Inias bereits früher ein: bei Männchen mit einer Körperlänge von > 198 cm, sobald das Hodengesamtgewicht 0,4% des Körpergewichts überschreitet. Die Hodengröße wächst kurvenförmig mit der Körperlänge und es konnte keine Saisonalität basierend auf der Hodengröße festgestellt werden, allerdings fehlen histologische Bestätigungen (Best and da Silva 1989). Weibchen erreichen die sexuelle Reife ab einer Körperlänge von 160 bis 175 cm, was anhand der Anwesenheit von Corpora oder Narben am Ovar ermittelt wurde. Frühere Arbeiten beschreiben, dass bei Flussdelfinen die Trächtigkeitsdauer 8,5 Monate beträgt (Best and da Silva 1984). Spätere Arbeiten mutmaßen, dass Inias 10 bis 12 Monate tragen (Best and da Silva 1993). Die Körperlänge des Kalbes bei der Geburt wird auf 66 bis 81 cm geschätzt (Best and da Silva 1993).

In der Wildnis scheint die Fortpflanzungssaisonalität mit den jährlichen ~ 10 m Wassertiefeschwankungen synchron zu sein (Best and da Silva 1984). Der Wasserspiegel beginnt im Juli zu sinken und erreicht den niedrigsten Spiegel im November. Geburten scheinen mit dem Wasserrückgang zusammen zu fallen, wenn die Fische im überfluteten Wald und Grasland als Beutetiere angreifbarer werden, weil sie den Zugang zu geschützten Bereichen verlieren (Best and da Silva 1989). McGuire (2007) hat dagegen beobachtet, dass Inias sich das ganze Jahr hindurch fortpflanzen mit saisonalen Höhepunkten, die von geographischen Bedingungen und Beutevorkommen abhängen.

2.4 Sonographie

Bis jetzt wurden noch keine Untersuchungen veröffentlicht, die die sonographische Anatomie des Geschlechtstraktes von Flussdelfinen erläutern.

Inzwischen ist Ultraschall eine etablierte diagnostische bildgebende Methode, mit einer anerkannten Rolle in der Beurteilung der Reproduktionsorgane. Es findet Anwendung als Diagnostikum für eine Vielzahl physiologischer und pathologischer Erscheinungen in der Fortpflanzungsmedizin beim Haus- und Nutztier. Die Sonographie erlaubt im tierärztlichen Alltag eine anspruchsvolle Ovar-diagnostik, eine zuverlässige und frühzeitige Trächtigkeitsfeststellung sowie das Erkennen von einer Vielzahl pathologischer Veränderungen am Uterus (Kähn 2004) und anderen Organen.

Bei Zoo- und Wildtieren wird seit den frühen 90er Jahren die Ultraschall-diagnostik immer häufiger (Hildebrandt and Göritz 1999) zur morphologischen Beschreibung und physiologischen Beurteilung des Reproduktionsgeschehens genutzt. Insbesondere bei der Erforschung und Etablierung erfolgreicher Zuchtprogramme ist die Ultraschalluntersuchung sehr wichtig geworden (Brook, Kinoshita et al. 2000b) und wurde bei einigen nicht-domestizierten Arten beschrieben (Adams, Plotka et al. 1991). Allerdings erfordert die sonographische Anwendung bei letzteren mechanische oder pharmakologische Fixationsmaßnahmen oder Training der Tiere.

Der Große Tümmler wird seit 1914 als häufigster kleiner Cetacea in Ozeanarien gehalten (Brook, Kinoshita et al. 2000b). Heutzutage erlaubt eine verbesserte artgerechtere Tierhaltung in diesen Einrichtungen ein Delfintraining für den Umgang in medizinischen Routineuntersuchungen. Dies ermöglicht die Abnahme von Blut, das Sammeln von Urin-, Kot-, Speichelproben und respiratorischem Sekret und sogar Vaginalzytologien (Sawyer-Steffan and Kirby 1980; Cornell, Asper et al. 1987; Walker, Cornell et al. 1988; Schroeder and Keller 1989; Kirby 1990; Brook, Kinoshita et al. 2000b). Diese Maßnahmen haben

nicht nur zum verbesserten Gesundheitszustand von Delfinen in Menschenhand beigetragen, sondern auch zur Datensammlung über die Reproduktionsphysiologie (Brook, Kinoshita et al. 2000b).

2.4.1 Sonographie bei männlichen Delfinen

Stone (1990) hat berichtet, dass man mithilfe von Ultraschall die intraabdominalen Hoden von Delfinen darstellen kann. Es wurden die Unterschiede der Hodengrößen von zehn verschiedenen Tümmlern per Ultraschall kontrolliert, um in einer Untersuchung die Effekte von Leuprolidacetat (Lupron®) auf Hodengröße und -funktion zu beurteilen (Briggs, Van Bonn et al. 1995). Außerdem sind auch die Nebenhoden, die Samenleiter, der Penis, bulbourethrale und bulbocavernöse Muskeln darstellbar.

Eine detaillierte Beschreibung der sonographischen Anatomie der Delfinhoden liefert Brook (1991, 2000a, 2000b). Sie untersuchte acht männliche Große Tümmler, sowohl subadulte als auch adulte. Das Alter wurde anhand der Körperlänge und des Gewichts eingeschätzt. Sie führte vergleichende Untersuchungen sowohl im Wasser als auch an Land durch. Für den Ultraschallscan im Wasser legten sich die gut trainierten Tiere am Poolrand seitlich auf die Beine der Trainer, die am Poolrand saßen. An Land lagen sie seitlich auf einer feuchten Schaumstoffmatte. Die Messungen waren an Land genauer als im Wasser.

Es wird wenig von pathologischen Geschehen im Geschlechtstrakt von Delfinen berichtet, außer von Orchitis als häufigste Krankheit (Brook, Van Bonn et al. 2001a). Hier werden Herdgebiete mit reduzierter Echogenität nachgewiesen. Gelegentlich können außerdem kleine einfache Zysten innerhalb des Hodens gesehen werden, die wahrscheinlich durch Obstruktionen der Tubuli verursacht werden.

Brook (2000b) hat zur sonographischen Untersuchung der Hoden den Ultraschallkopf (linear, 3,5 MHz) längs an der lateralen Bauchwand in Höhe des Genitalschlitzes angesetzt und solange dorsal oder cranial bewegt, bis der Hoden

erschien. Das proximale und caudale Hodenende wurde ermittelt und an der Hautoberfläche markiert. Zwischen den beiden Punkten wurde ein Maßband angelegt, um die Hodenlänge zu messen. Der gesamte Hoden wurde dann longitudinal untersucht und das testikuläre Parenchym sorgfältig betrachtet. An der Stelle des größten Durchmessers wurde der Ultraschallkopf um 90° gedreht, um ein transversales Bild zu zeigen. Dieses Bild wurde gespeichert, um die Höhe (dorsoventral) und Breite (laterolateral) zu messen. Das Hodenvolumen wurde mit Lambert's Formel für einen ellipsenförmigen Körper ($\text{Volumen (cm}^3\text{)} = \text{Länge} \times \text{Breite} \times \text{Höhe} \times 0,71$) berechnet. Das Hodengesamtvolumen wurde aus der Summe des rechten und linken Hodenvolumens ermittelt. Abschließend wurde das gesamte Hodenparenchym transversal von cranial nach caudal untersucht (Brook, Kinoshita et al. 2000b; Brook 2001b).

Die folgende Beschreibung der Untersuchung der männlichen Gonaden beruht auf der Veröffentlichung von Brook (2000b). Delfinhoden sind groß und durch transabdominalen Ultraschall leicht zu finden. Sie liegen longitudinal direkt caudoventral der Nieren. Deren Begrenzung ist gut abgezeichnet durch die umgebende Tunica, die sich als eine einzige echoreiche Grenze zum Parenchym darstellt. Das testikuläre Mediastinum wird als prominente echohelle lineare Struktur sichtbar entlang der gesamten Hodenlänge. Im transversalen Schnitt sind die Hoden rundlich (Abb. 23). Eine Hodenvene, die durch das mediale Parenchym zum kaudalen Hodenende verläuft, kann identifiziert werden. Ist der Hoden groß genug, dann berührt die dorsale Oberfläche den M. hypaxialis lumborum und der ventrale Teil den M. rectus abdominus. Der craniale Teil ist von Gedärmen bedeckt und der distale Teil lehnt sich an die Harnblase (Abb. 18 und 22). Die Urin gefüllte Blase wird als eine ovale echolose Struktur dargestellt, die in der Mittellinie zwischen und leicht ventral der Hoden liegt. Im transversalen Schnitt liegt der M. hypaxialis lumborum direkt anliegend oder nahe der Hoden. Das Echomuster und die Echogenität des M. hypaxialis lumborum sind bei allen Tieren ungeachtet des Alters oder der Größe gleich. Deswegen wurden diese

Werte als Referenz für die Echogenität des Hodenparenchyms genutzt. Letzteres konnte in drei unterschiedliche sonographische Muster eingeteilt werden und jedem eine Klasse zugeschrieben werden.

Die Hoden geschlechtsreifer Delfine sind homogen und haben ein mäßiges bis starkes Echo (Abb. 20). Dieses Charakteristikum trifft für viele reife Säugetierhoden zu. Im Parenchym älterer Tiere ist es möglich, ein läppchenförmiges Muster zu erkennen. Bei adulten Tieren kann der Nebenhoden von dessen dreieckigen Kopf am cranialen Ende (Abb. 21) bis zum erweiterten und gewundenen distalen Ende klar visualisiert werden. Der Übergang in den Samenleiter ist dort nicht zu erkennen. Rundliche Vorsprünge von gewundenen Tubuli können neben dem Epididymidis gesehen werden. Die sonographische Erscheinung des testikulären Gewebes subadulter Tiere ist weniger ausgeprägt. Das Echomuster des Parenchyms ist homogen, aber weniger echogen als bei reifen Tieren (Abb. 19). Unreife Hoden von juvenilen Delfinen sind relativ klein und das testikuläre Parenchym ist echoarm und wenig differenziert (Abb. 18).

2.4.2 Sonographie bei weiblichen Delfinen

2.4.2.1 Ovarien und Uterus

Wie bei den männlichen Delfinen liefert Brook *et al.* (2001b) die ausführlichste Beschreibung zur Untersuchung des weiblichen Genitaltrakts. Die folgende Beschreibung basiert auf Brooks Veröffentlichung von 2001. Sie erklärt, dass die Ovarien bei Cetaceen relativ oberflächlich, hoch im dorsolateralen Teil des Abdomens versteckt zwischen dem *M. hypaxialis lumborum* und dem *M. rectus abdominus* liegen. Sie grenzen an die Bauchhöhlenwand in variablem Abstand vom Genitalschlitz. An der Stelle, an der die beiden Muskeln aufeinander treffen, kann in der Flanke eine Einsenkung palpiert werden. Diese kann als Orientierungshilfe zum Anlegen des Ultraschallkopfs benutzt werden (Brook, Van Bonn *et al.* 2001a; Brook 2001b). Die Sonde wird transversal an dieser Stelle

aufgesetzt, am Mittelpunkt des Genitalschlitzes und dann cranial bewegt, bis die transversale Mittellinie des Ovars identifiziert wird (Abb. 24). Dann kann der Schallkopf um 90° gedreht werden, um die lange Achse des Ovars zu sehen (Abb. 25). Manchmal ist es nötig, die Sonde leicht dorsal auszurichten. Die Position des Ovars variiert beträchtlich und kann zwischen dem caudalen Pol der ipsilateralen Niere bis zur Ebene des Gebärmutterkörpers schwanken. Diese positionellen Unterschiede werden besonders bei Delfinen gesehen, die bereits geboren haben, und sind wahrscheinlich auf eine nachlassende Spannung der unterstützenden Bänder zurückzuführen (Brook, Van Bonn et al. 2001a; Brook 2001b).

Die Sonographie kann sich schwieriger gestalten, wenn die Ovarien inaktiv sind, z.B. bei Laktation oder anhaltenden Anöstrusphasen bei großen, alten, adipösen Weibchen. Die Eierstocksrinde stellt sich bei älteren Weibchen meist echoreicher dar als bei jüngeren Tieren, und die Außenlinie ist irregulärer. In der Längsachse dient eine doppelte echoreiche „tram line“ (Brook 2001b), die Reflexe des Mesovariums im Hilus, als Kennzeichen des Ovars (Abb. 26). Kleine echotransparente Areale, die im Hilus einiger Eierstöcke entdeckt werden, könnten Blut- oder Lymphgefäße verkörpern. Bei freier Flüssigkeit, die gelegentlich im Hilus gesehen wird, handelt es sich um peritoneale Flüssigkeit. Kleine, inaktive antrale Follikel bis zu 4 mm im Durchmesser können gelegentlich gesehen werden, unabhängig davon, ob ein Delfin ovarielle Aktivität aufweist oder nicht. Wachsende Follikel sind immer prominent und leicht per Ultraschall zu identifizieren, sogar bei älteren größeren Tieren, bei denen es schwieriger ist, den Eierstock klar abzugrenzen. Ein sich entwickelnder Follikel erscheint als klassische rundliche Blase, wie bei den meisten Säugetieren.

Der Gelbkörper kann auch abgebildet und beobachtet werden. Bei einem nicht-trächtigen Tier erscheint er gewöhnlich als rundliche solide Masse mit unklarer Begrenzung an der Stelle des rupturierten Follikels, welche isoechogen oder leicht echoreicher als das Eierstocksparenchym erscheinen kann. Selten stellt

sich ein Corpus luteum bei einem nichtträchtigen Tier echoarm dar. Er kann durch seine ausgedehnte Größe, dickere Wände und distale akustische Bildkontrastverstärkung von Follikeln unterschieden werden. Gelbkörper von trächtigen Delfinen sind größer als die von nichtträchtigen Tieren und sind echoarm, organisiert und haben eine regulärere Außenlinie. Diese Erscheinung ist ein nützlicher Hinweis auf eine frühe Trächtigkeit, bevor der Konzeptus entdeckt werden kann. Gelegentlich und besonders bei trächtigen Tieren kann ein Corpus luteum mit Hohlraum auftreten (Abb. 30) (Brook, Van Bonn et al. 2001).

Der Einsatz von Ultraschalldiagnostik zur Kontrolle der Zyklusaktivität bei Delfinen hat zu einer Kenntniserweiterung der Fortpflanzungsphysiologie geführt und erlaubt die Anwendung von kontrollierten selektiven Zuchtprogrammen und künstlicher Besamung (Robeck, Atkinson et al. 2001; Brook, Van Bonn et al. 2001a).

Es wird berichtet von Eierstockspathologien (Karzinome, Zystadenome, granulöse Zelltumoren) bei Cetaceen (Cockrill 1960), wobei Ovarialzysten keine Seltenheit sind (Munson, Calzada et al. 1998; Robeck, Jensen et al. 2000).

Um den Uterus zu untersuchen, wird der Schallkopf direkt oberhalb des Genitalschlitzes in die longitudinale Ebene gelegt und dorsal bewegt, bis die Zervix direkt dorsal der Harnblase liegend im Bild erscheint. Die Sonde gleitet dann cranial mit kurzen dorsoventralen Schwüngen, um den Uteruskörper und das ipsilaterale Horn zu untersuchen. Dieser Ablauf wird auch auf der anderen Seite durchgeführt. Der Uterus ist bicornual und relativ groß. Die Uterushörner biegen sich nach hinten entlang deren Länge in Richtung Ovarien. Der Uterus ist von Darm umgeben und deswegen nicht immer leicht zu untersuchen. Der normale Uterus ist weich und sehr dehnbar mit einem dünnen, wenig abgrenzbaren Myometrium. Es stellt sich als amorphe weiche Gewebsmasse im Ultraschall dar. Es können auch Teile des Endometriums gesehen werden. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um das sonographische Erscheinungsbild des Endometriums

während der ovariellen Aktivitätsperiode zu charakterisieren (Brook, Van Bonn et al. 2001a).

2.4.2.2 Trächtigkeiten

Bereits ein vier Wochen alter Tümlerembryo mit einem Durchmesser von 1 cm kann in einer sich entwickelnden Allantois als dichtes Gewebe visualisiert werden. Der fetale Thorax und Schädel kann erst mit 8 Wochen identifiziert und gemessen werden (Stone, Johnson et al. 1999; Miller, Styer et al. 2007). Stone et al. (1999) bemerkte, dass die Herztätigkeit schon früh in der Trächtigkeit beobachtet werden kann, jedoch erst nach 6 bis 8 Wochen rhythmisch wird. Fetale Bewegungen können spät im ersten Trimester gesehen werden und werden deutlich erkennbar während des zweiten Trimesters (17. - 32. Woche) (Stone, Johnson et al. 1999). Während der individuell unterschiedlichen Wachstumsphase im dritten Trimester ist die Alterseinschätzung des Delfinfetus wie beim Menschen vage (Stone, Johnson et al. 1999). Lacave *et al.* (2004) entwickelte ein Computerprogramm zur Vorhersage des Geburtstermins anhand der Eingabe des Thoraxdurchmessers (TD) und des biparietalen Durchmessers (BPD) des Fetus. Letzterer kann gemessen werden, sobald es möglich ist, den Kopf vom restlichen Körper zu unterscheiden (Lacave, Eggermont et al. 2004). Der Kopf ist symmetrisch oval (Abb. 35) und die Falx zwischen den Parietalknochen zeigt sich als Echo in der Mittellinie; für den BPD wird an der weitesten Stelle gemessen. Der TD wird an der Ebene gemessen, wo die vier Herzkammern sichtbar sind (Abb. 33); dort erscheinen oft die Brustflossen (Abb. 34).

Die sonographische Fetometrie steckt noch in den Kinderfüßen, aber sie liefert wichtige Daten, die zum Verstehen der reproduktiven Physiologie der Cetaceen beitragen (Miller, Styer et al. 2007).

2.4.3 Der Einfluss von Ultraschall auf das Ortungs- und Sinnesorgan

Flussdelfine haben einen hoch entwickelten Hörapparat. Innen- und Mittelohr sind bei Walartigen akustisch völlig vom Schädel isoliert, was ihnen ein mit beiden Ohren unabhängiges Hören ermöglicht (Wandrey 2006). Dabei empfangen sie die akustischen Signale im Bereich von 1 - 105 kHz (größte Sensibilität bei 75 - 90 kHz) über die Schnabelspitze des Unterkiefers, von wo aus sie über die Mandibulääste zum Ohr geleitet werden (Jacobs and Hall 1971). Die kontrahierbare Melone am Oberkiefer ermöglicht das sehr genaue Senden von Signalen in verschiedene Richtungen. Bei den Signalen handelt es sich um Frequenzen im Ultraschallbereich.

Bei trainierten Delfinen in Delfinarien und Zoos liegen bisher keine Publikationen über Reaktionen auf die Untersuchung mit Ultraschall vor. Die wildlebenden Flussdelfine hingegen zeigten beim Ansetzen der Ultraschallsonde manchmal Schwanzschlagen oder lautes Ausatmen durch das Blasloch, was als Abwehrreaktionen und mögliche Antwort auf die Ultraschallexposition interpretiert wurde (Martin 2008, mündliche Information). Auch im Tiergarten Nürnberg reagieren die Delfine unterschiedlich darauf, ob mit ein- oder ausgeschalteter Sonde gearbeitet wird (Baumgartner 2009, mündliche Information).

2.5 Vaginalzytologie

2.5.1 Veränderungen des Vaginalepithels im Zyklus

Die bei kleinen Haustieren gut erforschte Mukosa der Vagina verändert sich aufgrund des Östrogenanstiegs im Serum (Schutte 1967/b; Wright and Parry 1989; Feldmann and Nelson 1996). Die Vaginalschleimhaut gewinnt an Dicke, wodurch die lumenseitigen Zellen immer weiter von der Blutversorgung entfernt werden und folglich absterben (Feldmann and Nelson 1996). Mit fortschreiten-

dem Wandaufbau werden intakte runde, kleine Vaginalepithelzellen (Basal- und Parabasalzellen) größer und unregelmäßiger in der Form (kleine und große tiefe Zellen oder Intermediärzellen) (Wright and Parry 1989; Feldmann and Nelson 1996). Während des Absterbens werden die Zellkerne kleiner, dann pyknotisch (Superfizialzellen) bevor sie ganz verschwinden. Kurz vor der vollständigen Kernlosigkeit (Anukleäre Superfizialzellen oder Schollen) ist aber noch ein Kernschatten sichtbar (Wright and Parry 1989; Feldmann and Nelson 1996). Die Menge des im Kreislauf zirkulierenden Östrogens bestimmt den Veränderungsgrad der Zellen, welcher somit ein indirekter Östrogennachweis ist (Wright and Parry 1989; Feldmann and Nelson 1996).

Beim in Menschenhand gehaltenen Großen Tümmler wird die Vaginalzytologie noch nicht routinemäßig zur Zyklusdiagnostik eingesetzt. Analog zu Untersuchungen beim Hund werden verschiedene Zelltypen gefunden (Feldmann and Nelson 1996; Varela and Schmidt 2007). Spezifische Zyklusphasen mit assoziierten Hormonspiegeln korrelierten nicht mit Zellveränderungen (Robeck, Atkinson et al. 2001). Nach einer halbjährigen Untersuchung bei zwei Tümmlern wird von eindeutigen Veränderungen der Zellpopulationen während der Phase des Östruszyklus berichtet (Muraco, Muraco et al. 2003). Varela und Schmidt (2007) beobachteten kein Verschwinden des Zellkerns als späte Erscheinung des Absterbens des Vaginalepithels.

2.5.2 Zellen in der Vaginalschleimhaut des Hundes

Bei der folgenden Zellcharakterisierung handelt es sich um die beim Hund beschriebenen Zellen (Ehlers 2000).

Basalzellen:

Es handelt sich um 10 - 20 µm große, zylindrische Zellen mit randständigem Kern. Dieser ist kugelförmig, 9 x 10 µm groß und zeigt eine lockere Chromatinstruktur. Das Zytoplasma ist homogen bis feingranuliert und zeigt keine Einschlüsse oder Vakuolen.

Parabasalzellen:

Diese Zellen sind 14 - 27 µm groß, rund bis oval mit mittelständigem Kern, der im Durchmesser 6 - 16 µm beträgt und eine blasige, intakte Struktur hat. Parabasalzellen haben eine sehr hohe Kern-Zytoplasmarelation (0,7).

Große und kleine Intermediärzellen:

In ihrer Größe variieren diese Zellen von wenig größer als Parabasalzellen bis doppelt so groß, sind aber eher abgeflacht und haben eine rundliche, länglich-eiförmig bis ellipsoide Form. Der Kern entspricht dem der anderen tiefen Zellen, während das Zytoplasma deutlich vermehrt ist.

Superficialzellen:

Die Zellränder der Superficialzellen sind scharfkantig, aufgebogen und gefaltet. Sie sind 42 - 58 µm groß, polygonal und flach mit einem pyknotischen Kern der kleiner als 6 µm ist.

Anukleäre Superficialzellen:

Der Zellkern ist bei diesen, auch Schollen genannten Zellen völlig verschwunden.

2.5.3 Vaginalzytologie im Verlauf des Zyklus

Bei Cetaceen sowohl in der Wildnis als auch in Menschenhand stehen kaum Informationen über Vaginalzytologien zur Verfügung, so dass die Interpretation sich an Zytologiekenntnissen der Haussäugetieren orientiert (Perman, Alsaker et al. 1979). Man findet verschiedene Angaben über das Vorkommen der Epithelzellarten bei bestimmten Zyklusphasen beim Hund, was auf die unterschiedliche Einteilung der Zyklusstadien, die variierende Definition der Zellarten und die verschiedenen Auswertungsverfahren zurückgeführt wird (Ehlers 2000).

Proöstrus:

Beim Hund: Zusammen mit Neutrophilen und Erythrozyten liegen gemischte Epithelzellen (Parabasalzellen, kleine und große tiefe Zellen und Superfizialzellen) vor. Im Verlauf des Proöstrus werden weniger Neutrophile, große Intermediärzellen und Superfizialzellen überwiegen (Thrall and Olson 1999).

Beim Delfin: Es wird in der Literatur nichts berichtet.

Östrus:

Beim Hund: 90% aller Zellen sind Superfizialzellen mit und ohne Zellkern (Thrall and Olson 1999).

Beim Delfin: Varela und Schmidt (2007) fanden hauptsächlich Superfizialzellen mit pyknotischem Zellkern. Anukleäre Zellen kamen bei ihren Präparaten nicht vor.

Met- oder Diöstrus:

Beim Hund: Die Superfizialzellen nehmen um 20% ab, während die Parabasal- und Intermediärzellen auf 10% zunehmen, manchmal sogar über 50%.

Neutrophile und Erythrozyten erscheinen in variabler Menge und können in Verbindung mit Epithelzellen gesehen werden (Thrall and Olson 1999).

Beim Delfin: Bei einem Tümmler zeigten sich hauptsächlich Parabasal- und Intermediärzellen mit einigen Bakterien und Neutrophilen, von denen einige in den Epithelzellen selbst vorkamen (Varela and Schmidt 2007). Varela ging davon aus, dass sich das Tier im Diöstrus befinden müsste.

Anöstrus:

Beim Hund: Es dominieren Parabasal- und Intermediärzellen, während Bakterien und Neutrophile in kleiner Anzahl anwesend sein können (Cowell, Tyler et al. 1999).

Beim Delfin: Varela *et al* (2007) fand bei einem Tümmler hauptsächlich Intermediärzellen, einige Bakterien und Neutrophile, wodurch er zu dem Entschluss kam, dass sich das Tier im Anöstrus befinden müsste. Allerdings fand er keine Parabasalzellen.

Trächtigkeit:

Beim Hund: Man kann durch Zytologie die Trächtigkeit nicht vom Metöstrus oder Anöstrus unterscheiden (Christiansen 1984; Allen 1994; Parry and Ihrke 1997). Daher ist keine Trächtigkeitsdiagnose anhand der Vaginalzytologie möglich (Feldmann and Nelson 1996). Lübke (1997) schlägt vor, dass nach dem 20. Tag post ovulationem bei graviden Hündinnen Leukozyten vorhanden sind, aber es wurde noch keine klinische Relevanz als diagnostischer Hinweis nachgewiesen (Ehlers 2000).

Beim Delfin: Es wird in der Literatur nichts berichtet.

2.6 Endokrinologie

2.6.1 Kenntnisse der Sexualhormone bei Cetaceen

Ein Großteil der frühen Ergebnisse über Reproduktion bei Walartigen wurde durch Beobachtung (z.B. die Häufigkeit der weiblichen Tiere mit Kälbern zu einer bestimmten Jahreszeit in einem bestimmten Gebiet) oder Beschreibungen der Morphologie des Reproduktionstraktes von Walen und Delfinen aus Walfang oder Beifang erlangt (Atkinson and Yoshioka 2007). Fortschritte im Gebiet der Endokrinologie eröffneten Forschern neue Möglichkeiten, um den Beginn der sexuellen Reife, Trächtigkeit oder den Reproduktionsstatus zu bestimmen oder Aussagen über die Auswirkungen von Umweltveränderungen auf die Tiere zu treffen.

Die Hormone können in verschiedenartigen biologischen Proben nachgewiesen werden, z.B. Serum, Saliva, Urin, Fezes, Blasprobe und Blubber.

2.6.2 Männliche Tiere

2.6.2.1 Testosteron

Die erste Langzeitstudie über Testosteronkonzentrationen bei Tümmlern in Menschenhand wurde von Harrison and Ridgway (1971) durchgeführt. Mit einem sensitiven kompetitiven Protein-bindenden Assay wurde zwei Jahre lang Serumtestosteron gemessen. Kenntnisse über die Hormonverläufe und Fortpflanzungszyklen der Walartigen wurden vor allem über Zuchtprogramme von Tieren in Menschenhand erworben. Dabei konnte der reproduktive Status durch Serum-, Plasmahormonanalysen und Verhaltensveränderungen eines individuellen Tieres genau beobachtet werden (Atkinson, Combelles et al. 1999; Boyd, Lockyer et al. 1999; Robeck, Atkinson et al. 2001). Zusätzliche Informationen konnten post-mortem von wildlebenden Tieren gesammelt werden, die entweder aus kommerziellen Walfängen oder Forschungsschiffen mit speziellen Geneh-

migungen im Atlantischen Ozean (Kjield, Sigurjonsson et al. 1992; Suzuki, Mogue et al. 2001) stammten.

In den vergangenen Jahren haben Messungen der Sexualhormonkonzentrationen zu neuen Erkenntnissen über die Reproduktion von Cetaceen geführt (Desportes and Lacroix 1987; Yoshioka 1991; Kjield, Sigurjonsson et al. 1992). Saisonale Veränderungen in der testikulären Aktivität wurden durch Vergleiche der Serumtestosteronkonzentration mit dem Hodengewicht oder der Spermadichte diskutiert (Harrison and Ridgway 1971; Wells 1984; Schroeder and Keller 1989).

Kita (1999) verglich erstmalig die Serumtestosteronkonzentration (0,27 - 22,0 ng/ml) mit der Hodentestosteronkonzentration beim Pilotwal (*Globicephala macrorhynchus*). Letztere war 5 bis 180 Mal höher (14,4 - 287,1 ng/g). Bevor die Männchen die sexuelle Reife erreicht hatten (Serumtestosteronkonzentration < 1ng/ml), korrelierten die (Serum- und Hoden-) Testosteronkonzentrationen mit dem Hodengewicht, nicht aber bei den reifen Tieren (Serumtestosteronkonzentration 1,54 - 22 ng/ml). Es gab keine Korrelation zwischen den Hormonkonzentrationen und der Spermienkonzentration. Tiere mit gleicher Hodengröße und Durchmesser der Tubuli hatten unterschiedliche Testosteronkonzentrationen (Kita, Yoshioka et al. 1999). Es ist bekannt, dass die Aufbewahrung der Proben einen Einfluss auf einige Steroidhormone von Schweinen, Pferden und Kühen hat (Wiseman, Vincent et al. 1982/1983; Reimers, McCann et al. 1983), aber es liegen keine genaueren Daten für Cetaceen vor.

Bei einem als subadult eingestuften Orca (ungefähr 11 Jahre alt), der mit einem weiteren größeren Männchen (etwa 14 Jahre alt und eine Tonne schwerer) und einem 12 jährigen Weibchen im Becken des Kamogawa Sea World, Japan lebte, wurden niedrige Testosteronwerte beschrieben (Suzuki, Uchida et al. 2003). Er wurde von seinen Artgenossen häufig angegriffen (z.B. durch Jagen und Beißen). Der niedrige Testosteronspiegel wurde von Suzuki, Uchida *et al.* (2003) als Zeichen seiner Unreife oder seines niedrigen Sozialrangs interpretiert.

Bei den meisten Haussäugetierespezies wird von kurzzeitigen deutlichen Schwankungen (auch pulsative Sekretion) der Testosteronsekretion berichtet, die auf der episodischen Freisetzung des GnRH (Gonadotropin-releasing hormone) beruhen (Döcke 1994).

Im Tiergarten Nürnberg werden bei Tümmlern regelmäßig Serumtestosteronkonzentrationen gemessen. Bei einem adulten dominanten Tier, das erfolgreich Nachkommen erzeugt hat, wurden Schwankungen zwischen 2 - 15 ng/ml bei gleich bleibendem Hodenvolumen festgestellt (Baumgartner 2010, mündliche Information).

2.6.3 Weibliche Tiere

Progesteron ist wahrscheinlich das am häufigsten gemessene Steroidhormon bei Cetaceen. Die Gonadotropine LH (Luteinisierendes Hormon) und FSH (Follikel-stimulierendes Hormon) werden typischerweise bei kontrollierten Zuchtprogrammen (z.B. bei künstlicher Befruchtung oder der Gewinnung von Eizellen) für Forschungszwecke gemessen (Atkinson and Yoshioka 2007).

2.6.3.1 Progesteron

Progesteron ist bei der Einteilung in Altersgruppen und Reproduktionsstadien von Delfinen und Walen in Menschenhand von diagnostischem Nutzen. Bei wildlebenden Tieren kann es herangezogen werden, um den Eintritt der sexuellen Reife oder Trächtigkeit zu bestimmen (Atkinson and Yoshioka 2007). Wie bei den meisten Säugetieren ist bei immaturren und präpubertären Cetaceen die zirkulierende Progesteronkonzentration niedrig. Der Eintritt der sexuellen Reife (z.B. das Vorkommen der ersten Ovulation) ist durch einen Anstieg der zirkulierenden Progesteronkonzentration gekennzeichnet. Die Serumkonzentrationen bei immaturren Blau-Weißen Delfinen, *Stenella coeruleoalba* (Yoshioka, Aida et

al. 1989), Dall-Hafenschweinswalen, *Phocoenoides dalli* (Tempte and Spielvogel 1985), Großen Tümmlern, *Tursiops truncatus* (Sawyer-Steffan, Kirby et al. 1983), Rauzahn-Delfinen, *Steno bredanensis* (West 2002), Beluga, *Delphinapterus leucas* (Katsumata, Furuta et al. 2006a) und Pilotwalen, *Globicephala macrorhynchus* (Yoshioka, Aida et al. 1989) waren $< 1 \text{ ng/ml}$. Progesteronwerte $> 3 \text{ ng/ml}$ werden beim Tümmler als ein Anzeichen für eine Trächtigkeit angenommen und können zwischen $10 - 50 \text{ ng/ml}$ schwanken (Sawyer-Steffan, Kirby et al. 1983). Sawyer-Steffan (1983) und Katsumata *et al* (2006b) berichten von einem schnellen initialen Anstieg der Serumprogesteronkonzentrationen, gefolgt von einem allmählichen Abfall während der restlichen Trächtigkeit. Der Produktionsort von Progesteron ist noch nicht ganz geklärt. Bei vielen Spezies wird es hauptsächlich im C.L. hergestellt. Zusätzlich ist bekannt, dass in der Plazenta Progesteron produziert wird (Sawyer-Steffan, Kirby et al. 1983; Atkinson and Yoshioka 2007). Vermutlich wechselt der Ort der Progesteronsynthese während der Trächtigkeit vom C.L. (1. Trimester) zur Plazenta (2. und 3. Trimester) (Cornell, Asper et al. 1987). Progesteron wurde erfolgreich im Blubber von Cetaceen nachgewiesen und es wurde eine positive Korrelation von Progesteronwerten und der Fötuslänge erkannt (Mansour, McKay et al. 2002). Andere Untersuchungen konnten keine Korrelation zwischen Serumprogesteron und der Fötuslänge herstellen (Yoshioka, Okumura et al. 1994b).

2.6.4 Cortisol bei beiden Geschlechtern

Cortisol ist ein repräsentatives Glucocorticoid und wird als Indikator für Stress genutzt, da seine Sekretion als Antwort auf stressreiche Situationen zu verstehen ist (Suzuki, Ishikava et al. 2002). Es gibt zahlreiche Untersuchungen, die die tägliche Fluktuation der Plasma- oder Serumcortisolkonzentration in vielen Arten von Landsäugetieren beschreiben (Weitzmon, Fukushima et al. 1971; Bottoms, Roesel et al. 1972; Hudson, Mullord et al. 1975; Fulkerson, Sawyer et al. 1980; Thun, Eggenberger et al. 1981; Hoffsis, Philip et al. 1990; Flisinska-

Bojanowska, Komosa et al. 1991; Kerrigan, Veldhuis et al. 1993; Lefcourt, Bitman et al. 1993; Irvine and Alexander 1994; Sarnya, Veldhuis et al. 1995; Knutsson, Dahlgren et al. 1997; Ingram, Crockford et al. 1999). Bei tagaktiven Tieren erhöhen sich Serumcortisolkonzentrationen in den frühen Morgenstunden und nehmen zum Abend hin ab. Nachtaktive Tiere zeigen den Zyklus genau umgekehrt. Die Cortisolsekretion wird eher vom Schlafwachrhythmus geregelt, als von anderen Umweltfaktoren (Orth, Island et al. 1967; Czeisler and Klerman 1999; Luboshitzky 2000). Zusätzlich zum Basalsekretionsrhythmus ist die Cortisolausschüttung bei vielen Tieren stark durch Stress beeinflusst. Kenntnisse über die Basalausschüttung von Cortisol sind unumgänglich, um die physiologische Bedeutung der Fluktuation der Cortisolkonzentrationen als Stressindikator bei Tieren auszuwerten (Suzuki, Uchida et al. 2003). Tümmeler im Dolphin Quest Delphinarium zeigten keine signifikanten Unterschiede im Cortisollevel in Stresssituationen oder in Ruhe (Dold, Sweeney et al. 2000). Bei gestrandeten Rauzahn-Delfinen (*Steno bredanensis*) wurden Cortisolwerte von bis zu 130,4 ng/ml gemessen, die sich aber nach 50 Tagen Rehabilitation auf < 6 ng/ml senkten, was als Basalcortisolwert für diese Spezies vorgeschlagen wurde (Gaspar, West et al. 2003).

Bis jetzt wurden die Tagesschwankungen der Cortisolsekretion bei Cetaceen noch nicht vollständig beschrieben. Es wurde von abfallenden Serumcortisolkonzentrationen um 18:00 h mit einigen Höhepunkten um Mitternacht bei Großen Tümmlern berichtet (Judd and Ridgway 1977), aber das Blut wurde von Tieren genommen, die während des Experiments auf einer Trage lagen, so dass die Cortisolsekretion durch Stress beeinflusst sein könnte (Suzuki, Uchida et al. 2003). Suzuki (2003) hat herausgefunden, dass bei Orcas die Serumcortisolkonzentrationen zwischen 09:00-10:00 höher ($2,5 \pm 0,8$ ng/ml) waren als zwischen 16:00-17:00 ($1,5 \pm 0,5$ ng/ml). Die täglichen Schwankungen der Cortisolsekretion bei zwei Tümmlern (beide männlich) und drei Orcas (2 männlich, 1 weibliches) bestätigte Suzuki (2003) durch eine weitere Untersuchung. Suzuki (2003)

ergänzt, dass diese Ergebnisse aber möglicherweise nicht als allgemein gültig für Cetaceen angesehen werden können, da es sich um Tiere in Menschenhand handelte. Bei den untersuchten Orcas stellte sich eine negative Korrelation zwischen den Cortisolkonzentrationen und den Sexualsteroidhormonen dar. Bei dem trächtigen Orca stiegen die Progesteronkonzentrationen als der Cortisolspiegel abnahm. Eine ähnliche Korrelation wurde beim Afrikanischen Elefant (Bechert, Swanson et al. 1999) beobachtet. Es könnte auf die stressinduzierte Unterdrückung der Sexualfunktion (Rivier and Rivest 1991) oder die Effekte des Sexualverhaltens auf die Kortikoidkonzentrationen (Place and Kenagy 2000) zurückzuführen sein, aber es bedarf noch weiterer Untersuchungen, um diesen Punkt zu klären.

Bei einigen Landsäugetieren wurde von jährlichen Cortisolschwankungen berichtet (Agrimonti, Angeli et al. 1982; Flisinska-Bojanowska, Komosa et al. 1991; Maes, Mommen et al. 1997; Bubenik, Schams et al. 1998). Serumcortisolkonzentrationen fluktuieren aufgrund von Änderungen in Umwelt- und physiologischen Faktoren und sind generell höher während der kälteren Jahreszeit, da Cortisol als Antwort auf eine höhere Energienachfrage ausgeschüttet wird. Zusätzlich schwanken Cortisolkonzentrationen als Reaktion auf maternale endokrine Änderungen während der Trächtigkeit (Dorr, Heller et al. 1989; Bell, Wood et al. 1991; Flisinska-Bojanowska, Komosa et al. 1991; Vivrette 1994). Bei Cetaceen wurde von saisonalen Variationen der Cortisolkonzentrationen berichtet (Orlov, Mukhlya et al. 1988; St. Aubin, Ridgway et al. 1996). Orlov (1988) spricht von einem höheren Cortisolspiegel im Winter bis Frühling als im Sommer bis Herbst bei Großen Tümmlern. Dagegen dokumentiert St. Aubin (1996) keine Cortisolveränderungen während des Jahres bei wilden und halbdomestizierten Tümmlern. Cortisolwerte bei den wilden Tümmlern ($n = 36$) waren im Mittel höher ($26 \pm 0,8$ ng/ml) als bei den halbdomestizierten Tieren ($19 \pm 0,8$ ng/ml, $n = 36$) (St. Aubin, Ridgway et al. 1996). Suzuki (2002) weist auf eine negative Korrelation zwischen Körperlänge und durchschnittlichem

Cortisolwert bei 12 verschiedenen Cetaceenarten hin ($p < 0,01$), mit Werten von 2,9 ng/ml beim Orca bis 39,9 ng/ml beim *Stenella coeruleoalba*. Es wird vermutet, dass das Hormon eine wichtige Rolle bei der Energieproduktion im Körper spielt, weil die Menge der Energienachfrage in umgekehrter Proportion zur Körpergröße steht.

3 Material und Methoden

3.1 Forschungsgebiet

Das Gebiet Mamirauá befindet sich ca. 500 km westlich von Manaus, ungefähr 2500 km von der Mündung des Amazonas entfernt. Das Reservat Mamirauá umfasst etwa ein Gebiet von 11.240 km² und liegt zwischen den beiden Weißwasserflüssen Japurá und Solimões. In diesem Weißwasserüberschwemmungswald erreicht die jährliche Schwankung des Wasserspiegels 10 bis 12 Meter (Ayres, 1994).

Die Ultraschalluntersuchungen, Blutabnahmen und Vaginalzytologieentnahmen wurden während der jährlichen Fangperiode der Flussdelfine im Rahmen des Projeto Boto (INPA/RDSM, PPI - 1-3920) durchgeführt. Der Forschungsort befindet sich im Sektor Mamirauá (Abb. 5) des Reservats mit nachhaltiger Entwicklung Mamirauá.

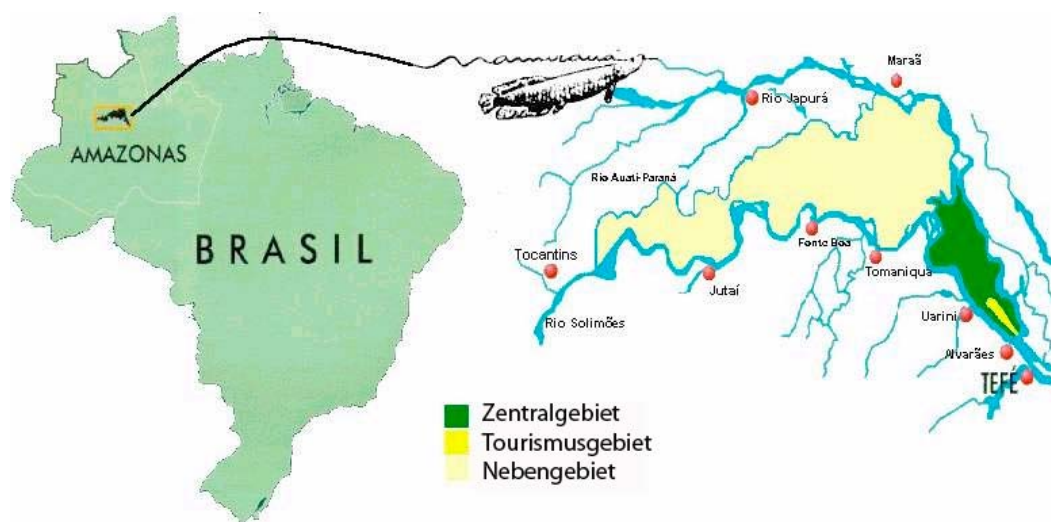


Abb. 5: Forschungsgebiet: Reservat mit nachhaltiger Entwicklung Mamirauá, Sektor Mamirauá (Quelle: GTA - RDS Mamirauá)

3.2 Fangaktion der Flussdelfine

Die Flussdelfine wurden an zwei verschiedenen Orten innerhalb des Mamirauá Reservats gefangen (Abb. 6). Die Zeit der Anwesenheit an beiden Orten war von der Anzahl der gefangenen Tiere und vom Wasserspiegel abhängig.

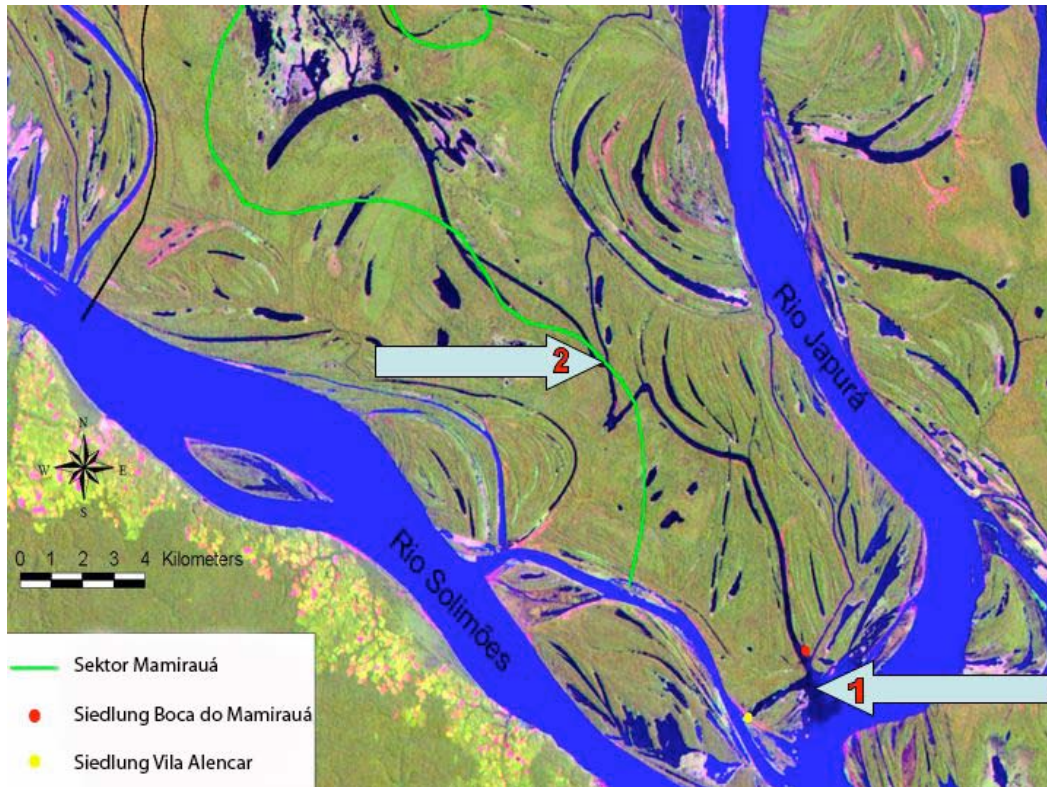


Abb. 6: Orte des Flussdelfinfangs im Mamirauásystem: 1 - Boca do Mamirauá; 2 - Paraná do Apara (Quelle: Mamirauáinstitut für nachhaltige Entwicklung)

Die Datensammlung wurde während der Fangaktion im November 2006, 2007 und 2008 durchgeführt. In dieser Periode ist der Wasserspiegel niedrig, die Kanäle schmal und somit die Delfine leichter zu fangen. Das Botoprojekt existiert bereits seit 1993, die Fangaktion wird seit 1994 jährlich wiederholt, und dient hauptsächlich dazu die Tiere zu markieren.

Es wurden verschiedene Netze mit einer Maschenweite zwischen 8 und 10 cm, einer Länge von 150 m und einer Höhe von 9 bis 12 m benutzt. Ein isoliertes Gebiet wurde mit verschiedenen Netzen unterteilt, um die Tiere einzukreisen (Abb.7).



Abb. 7: Die Netze zum Einkreisen am Boca do Mamirauá

Die Inias wurden immer einzeln gefangen und mit einer maximalen Transportzeit von ca. 5 Minuten zur Floßbootstation gebracht. Ausnahmen gab es nur, falls es sich um eine Delfinkuh mit Nachwuchs handelte. Dann wurden beide Tiere zusammen transportiert, untersucht und freigelassen. An Land angekommen wurden die Atemfrequenz und andere Vitalfunktionen überwacht. Die Haut und Augen der Delfine wurden regelmäßig befeuchtet, um eine Austrocknung oder Überhitzung zu verhindern. Die Tiere wurden im Transportnetz hängend an einer Drehmomentwaage gewogen. Danach wurden sie vermessen und mit Flüssigstickstoffbränden markiert. Diverse Proben (bakteriologische Tupfer, Milchproben, Hautstanzen) wurden für andere Untersuchungen des Botoprojekts gesammelt. Insgesamt wurden in den drei Fangperioden von 2006 bis 2008 178 Delfine (76 männliche und 102 weibliche) gefangen. Davon wurden 114 Tiere (54 männliche und 60 weibliche) per Ultraschall untersucht. Bei 49 Weibchen wurden Vaginalzytologien angefertigt und bei 112 Botos (66 weiblichen und 46 männlichen) wurden Blutproben genommen. Nach einer Untersuchungszeit von

ca. 5 bis 10 Minuten an Bord des Floßbootes wurden die Tiere vor Ort ins Wasser freigelassen und bis zur ersten Respiration beobachtet.

3.3 Ethik der Fangaktion

Der Fang und alle Untersuchungsmaßnahmen wurden an unsedierten Tieren mit jährlicher Genehmigung (Nr. 13462-2) des IBAMA (Brasilianisches Institut für Umwelt und natürliche erneuerbare Ressourcen) vorgenommen.

3.4 Altersklassen

Die Einteilung in Altersklassen basiert auf der Klassifizierung nach Best und da Silva (1984). Außer der Körperlänge und dem Gewicht wurden andere Charakteristika wie die Hautfarbe, die Anwesenheit von Kratzwunden (verursacht durch Rivalenkämpfe), Verhalten und Widerstandsfähigkeit zur Einteilung in Altersklassen herangezogen (Magalhaes Drummond de Mello 2006). Auf eine Altersbestimmung durch andere bekannte Methoden, wie z.B. die Bestimmung der jährlichen Ablagerung von dentinalen Wachstumsschichten (GLG: Growth-Layer-Group) auf den Zähnen (Sergeant, Caldwell et al. 1973; Hui 1980; Cockcroft and Ross 1990) wurde in dieser Untersuchung verzichtet, da die Zähne der Flussdelfine sehr tief im Kieferknochen verankert sind (da Silva 2006, mündliche Information,).

3.5 Sonographie

Es wurde mit einem tragbaren Sonosite 180 Plus mit der C60/5-2 MHz Sonde gearbeitet. Dabei wurde auf die Verwendung einer Schutzhülle aus Plastik für die Sonde oder das Gerät nach verschiedenen Versuchen verzichtet. Der Kontakt des Gerätes mit Süßwasser war selten, da die Tiere außerhalb des Wassers untersucht wurden. Die hohe Luftfeuchtigkeit sprach ebenfalls gegen die Benutzung einer Schutzhülle.

Aufgrund eines technischen Defekts des Ultraschallgerätes 2006 wurden die Untersuchungsergebnisse dieser Fangperiode nur bedingt berücksichtigt. Der Monitor fiel am dritten Tag der Fangaktion aus, es wurde aber noch „blind“ geschallt, und die gewonnenen Bilder wurden später am Computerbildschirm betrachtet. Die weiblichen Tiere, bei denen auf diese Art und Weise ein Fetus detektiert wurde, wurden als trächtig eingestuft. Alle anderen Ergebnisse durch „blindes“ Schallen wurden nicht verwendet. In den folgenden Fangperioden 2007 und 2008 wurde jede Ultraschalluntersuchung zusätzlich mit einer Videokamera (Panasonic NV-MX 300), die mit dem Ultraschallgerät verbunden war, aufgezeichnet (siehe www2.vetmed.uni-muenchen.de/gyn/baur).

Die Gonaden der Delfine wurden nach der Technik von Brook (2000a, 2001b) geschallt (siehe Kapitel 2.4.1 und 2.4.2, Abb. 8). Die jeweilige Untersuchungszeit war abhängig vom Zustand und Alter des Tieres, wobei Kälber und trächtige Tiere so kurz wie möglich an Land gehalten wurden. Bei den tragenden Inias wurde versucht, den Fetus anhand des biparietaler Durchmesser (BPD), des thorakalen Durchmesser (TD) und der Gesamtlänge (TL = Total length) zu vermessen. Der BPD wurde am weitesten Teil des Kopfes gemessen, wo die Parietalknochen aufeinander treffen und das Mittellinienecho der Falx sichtbar ist. Die TD -Messungen wurden an der weitesten Stelle des Thorax gemacht, wo die Brustflossen sichtbar sind. Die TL wurde vom Kopf bis zur Schwanzflosse gemessen, ohne den Schnabel einzubeziehen. Der BPD und TD wurden herangezogen, um den Fortschritt der Trächtigkeit einzuschätzen. Die Fetometrieergeb-

nisse der Botos wurden mit denen von Tümmlerfeten (Stone, Johnson et al. 1999) und Erfahrungswerten aus dem Tiergarten Nürnberg (Baumgartner 2010, mündliche Information) verglichen, um den ungefähren Konzeptionszeitpunkt und das Trächtigkeitsstadium einschätzen zu können.



Abb. 8: Ultraschall bei einem männlichen adulten Boto an der lateralen Bauchwand

3.6 Vaginalzytologie

In der Fangaktion 2007 und 2008 wurden Vaginalzytologien entnommen, um festzustellen, ob das Erscheinungsbild des Vaginalepithels beim Flussdelfin ähnlich wie bei der Hündin eine Zyklusdiagnostik zulässt.

3.6.1 Probenentnahme

Um die Vaginalzytologietupfer zu entnehmen, lagen die Delfinweibchen auf der seitlichen Bauchwand. Die biegsamen sterilen Tupfer mit Plastikgriff wurden mit steriler Kochsalzlösung befeuchtet, bevor sie in die caudale Vagina eingeführt wurden. Bei gut trainierten Tieren in Delfinarien und Zoos kann hier ein Spekulum verwendet werden, um den Tupfer ohne Berührung der äußeren Vagina einzuführen. Auch die Gefahr des Abbruchs des Tupferstiels wird somit eingedämmt. Da die Bewegungen der untersuchten wildlebenden Flussdelfine unvorhersehbar sind, und die Gefahr der Verletzung durch das Spekulum höher schien als die Gefahr des Tupferabbruchs, wurde auf den Gebrauch eines Spekulums verzichtet. Dabei wurde die äußere Vagina manuell gespreizt, um eine versehentliche Berührung mit dem Tupfer zu vermeiden. Pro Tier und Jahr wurde ein Tupfer genommen. Der Tupfer wurde in craniodorsaler Richtung 5 bis 8 cm tief in die Vagina eingeführt und dort einmal sanft an der Vaginalwand um 360° gedreht. Bei der Entnahme des Tupfers wurde darauf geachtet, dass keine Kontamination durch Superfizialzellen des Vestibulums oder der Klitoralgegend statt fand. Der Tupfer wurde dann sanft auf einem sauberen Objektträger in 3 Linien mit wenig Druck ausgerollt, um die Zellen nicht zu verzerren oder zu zerstören.

3.6.2 Färben der Proben

Nachdem die Zellen auf dem Objektträger luftgetrocknet waren, wurden sie mit DiffQuick® nach dem gängigen Protokoll (5 Sekunden pro Bad) gefärbt (Abb. 9) und nochmals luftgetrocknet.

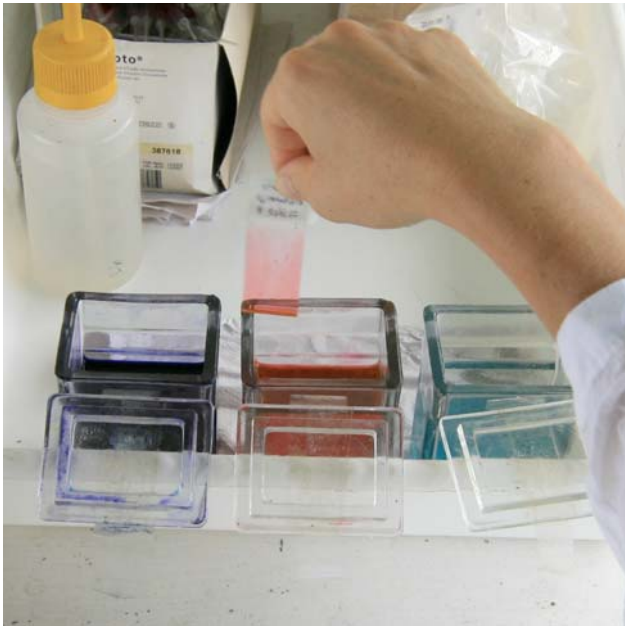


Abb. 9: Färben der Vaginalzytologien mit DiffQuick®

3.6.3 Zelltypen

Es wurde unterschieden zwischen Basalzellen, Parabasalzellen, kleinen und großen Intermediärzellen (auch kleine und große tiefe Zellen genannt) und Superficialzellen (mit und ohne Nukleus). Außerdem wurden neutrophile Granulozyten und Bakterien gefunden.

Zur einfacheren Beurteilung wurden die Basalzellen zu den Parabasalzellen gezählt, die großen und kleinen Intermediärzellen und ebenfalls die Superficialzellen mit und ohne Kern zusammengefasst, so dass es nur noch drei verschiedene Gruppen gab.

3.6.4 Auswertung der Vaginalzytologien

Von jedem Delfinweibchen wurden ein bis sechs Ausstriche vom selben Tupfer angefertigt. Ein Untersucher (U1) beurteilte alle Präparate, während zwei weitere Untersucher (U2 und U3) jeweils den ersten Ausstrich pro Tier untersuchten

(bzw. ein Präparat pro Tier pro Jahr, bei den Tieren, die 2007 und 2008 gefangen wurden).

Der Objektträger wurde mit der Beschriftung nach rechts auf dem Objektisch eingespannt. Zunächst verschafften sich die Untersucher mit der 100fachen Vergrößerung einen Überblick.

Mit der 400fachen Vergrößerung wurden die Präparate mäanderförmig von links nach rechts durchgemustert. Es wurden 100 Zellen gezählt, sofern vorhanden, ansonsten wurden die Anteile in Prozent angegeben und in die angefertigte Tabelle (Anhang 1) eingetragen.

3.6.5 Mehrere Ausstriche pro Tier bei einem Untersucher

Ein Untersucher (U1) musterte 61 Präparate von 20 Tieren (11 adulte, 4 subadulte, 3 juvenile und 2 Kälber), wobei es pro Tier mindestens zwei Abstriche waren. Dadurch sollte festgestellt werden, wie repräsentativ und aussagekräftig ein Abstrich pro Tier ist.

3.6.6 Ein Ausstrich bei mehreren Untersuchern

Um herauszufinden, ob die Vaginalzytologien der Flussdelfine bei unterschiedlichen Betrachtern zu ähnlichen Ergebnissen führen, wurde die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse untersucht. 49 Präparate wurden von drei Untersuchern (U1-U3) beurteilt. Die Vaginalabstriche waren von 7 Kälbern, 5 juvenilen, 6 subadulten und 31 adulten Delfinen. Von den Letzteren waren 8 trächtig und 23 nicht trächtig.

3.7 Hormonanalyse

3.7.1 Blutprobenentnahme

Für die Entnahme des Blutes wurden Venenpunktionskanülen mit biegsamen Flügeln (19G BD Asepto™, Fa. Becton Dickinson) benutzt mit 10 oder 20 ml Spritzen. Das Blut wurde an den ventralen Venen des Schwanzflossenansatzes genommen (Abb. 10).



Abb. 10: Blutentnahme beim Inia an der ventralen Vene des Schwanzansatzes

Das entnommene Blutvolumen schwankte zwischen 4 und 60 ml abhängig vom Alter und der Kooperation des Tieres.

3.7.2 Aufbereitung der Blutproben

Das gewonnene Blut wurde in Serum- und Plasmaröhrchen gefüllt. Die Röhrchen wurden im Kühlschrank für einen Zeitraum von maximal 8 Stunden gelagert. Danach wurden die Serumröhrchen jeweils 2 Minuten bei 2000, 4000 und 6000 U/min zentrifugiert, und weitere 10 Minuten bei 10000 U/min. Das separierte Plasma und Serum wurde abpipettiert und in 1,5 µl Reaktionsgefäße (Fa. Eppendorf, Hamburg) abgefüllt. Diese wurden 2 bis 6 Stunden im Gefrierfach bei -20°C abgekühlt, bevor sie in Flüssigstickstoff bei -196°C gefroren wurden. Am Ende der jeweiligen Fangperiode wurden die Serum- und Plasmaproben im Flüssigstickstoffbehälter per Boot nach Manaus transportiert, um dort in einem Gefrierschrank bei -50°C bis zum Weitertransport gelagert zu werden. Die Proben von 2006 bis 2008 wurden im Dezember 2008 in einer Kühlbox mit Eisschaum im Flugzeug an die Universität von São Paulo (Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnica da Universidade de São Paulo, Departamento de Reprodução Animal) gebracht und dort umgehend im Gefrierschrank bei -80°C im Reproduktionslabor (Laboratório de Dosagens Hormonais) weiter bis zum Zeitpunkt der Analyse (April 2009) gelagert.

3.7.3 Untersuchung der Blutproben

Alle Hormone wurden vom Reproduktionslabor mit Coat-A-Count® RIA Testkits (Fa. Siemens) analysiert.

3.7.3.1 Testosteron

Im Coat-A-Count® Testosteron RIA konkurriert ein ¹²⁵I-markiertes Testosteron-Analog eine vorgegebenen Zeit mit dem Testosteron in der Patientenprobe um die Bindung an Testosteron spezifische Antikörper, die auf die Innenwandung von Polypropylen-Röhrchen fest aufgebracht sind. Nach Ablauf der Inkubati-

onszeit wird der Überstand abgegossen oder abgesaugt, und die an die Antikörper gebundene Fraktion in einem Gamma-Counter gemessen. Die Counts sind umgekehrt proportional zu der Konzentration. Durch Vergleich mit unter gleichen Bedingungen behandelten Standards lässt sich die Konzentration des freien Testosterons im Serum aus der Standardkurve ablesen.

Die Sensitivität des Tests für Gesamttestosteron betrug 91%. Die Bindungskapazität lag bei 54% und die nicht-spezifischen Bindungen bei 0,3%. Der detektierbare Grenzwert von Gesamttestosteron war bei dieser Methode bei ungefähr 2,45 ng/dL, basierend auf dem niedrigsten Standard des Testkits. Der intra-assay Variationskoeffizient der niedrigen Werte des Gesamttestosterons lag bei 5,7% und der hohen Werte bei 3,5%.

Beim freien Testosteron war der intra-assay Variationskoeffizient der niedrigen Werte 7,2% und der hohen Werte bei 1,1%. Der niedrigste detektierbare Grenzwert lag bei 0,03 pg/ml.

3.7.3.2 Progesteron

Der Coat-A-Count® Progesteron RIA funktioniert analog zum Testosteron RIA. Die Sensitivität des Tests betrug 94% (niedrigste detektierbare Grenze bei 0,008 ng/ml), die Bindungskapazität 54%. Die nicht-spezifischen Bindungen lagen bei 0,4%. Der intra-assay Variationskoeffizient der niedrigen Werte war 6,6% und der hohen Werte bei 4,1%.

3.7.3.3 Cortisol

Das Prinzip des Coat-A-Count® Cortisol RIA ist das gleiche wie bei den Sexualhormonen. Der niedrigste detektierbare Wert lag bei 2 ng/ml. Die Sensitivität des Tests betrug 93%, die Bindungskapazität 49%. Die nicht-spezifischen Bin-

dungen lagen bei 0,4%. Der intra-assay Variationskoeffizient der niedrigen Werte war 3,1% und der hohen Werte 2,2%.

Die Cortisolwerte wurden mit der Dauer auf dem Floßboot (Ankunft auf dem Floßboot bis zum Freilassen) verglichen. Die Blutentnahme fand unmittelbar vor dem Freilassen statt.

4 Ergebnisse

4.1 Beurteilung des Lebensalters

Es wurde die Klassifizierung nach Best & da Silva (1984) zur Einteilung der Altersklassen verwendet.

4.1.1 Männliche Tiere

4.1.1.1 Alterseinteilung anhand der Körperlänge und dem Körpergewicht

Bei den männlichen Tieren wurden 76 vermessen (Abb. 11) und 75 gewogen (Abb. 12). Ein Boto konnte aus Sicherheitsgründen nicht gewogen werden. Davon wurden neun Botos mit einer Körperlänge von 102 cm bis 155 cm ($x = 124,7$ cm) und einem Gewicht zwischen 20 kg und 34 kg ($x = 28,6$ kg, 8 Tiere) als Kälber eingestuft. Zehn Tiere mit einer Länge von 150 cm bis 186 cm ($x = 172,1$ cm) und einem Gewicht zwischen 55 kg und 86 kg ($x = 70,3$ kg) wurden als juvenil betrachtet. 19 Botos, die zwischen 175 cm und 213 cm ($x = 192,7$ cm) lang und zwischen 66 kg und 123 kg ($x = 90,7$ kg) schwer waren, wurden als subadult eingestuft, und 38 Tiere mit einer Länge von 189 cm bis 248 cm ($x = 223,2$ cm) und einem Gewicht zwischen 78 kg und 198 kg ($x = 142,4$ kg) wurden als adult eingeteilt.

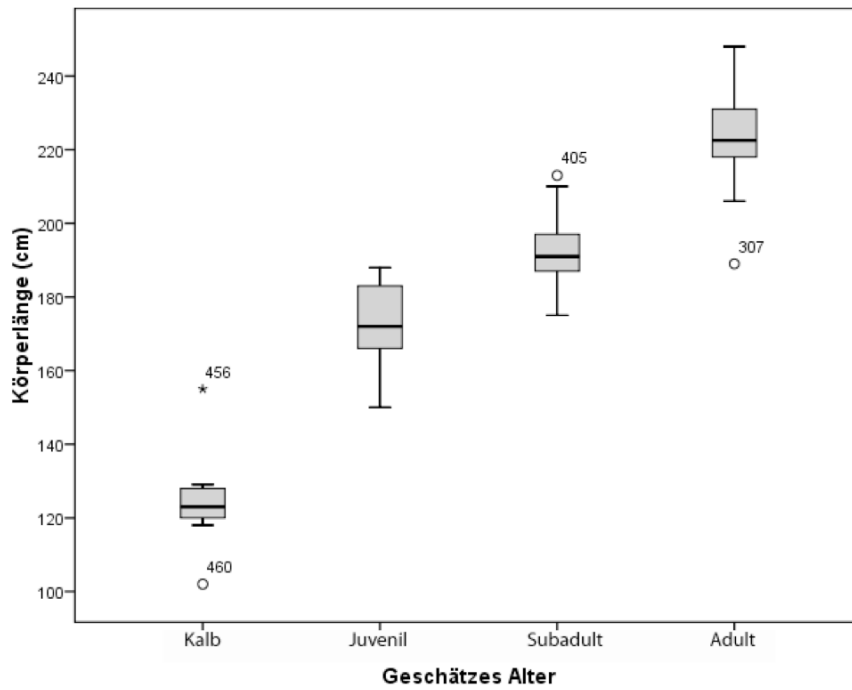


Abb. 11: Alterseinteilung der männlichen Botos anhand der Körperlänge

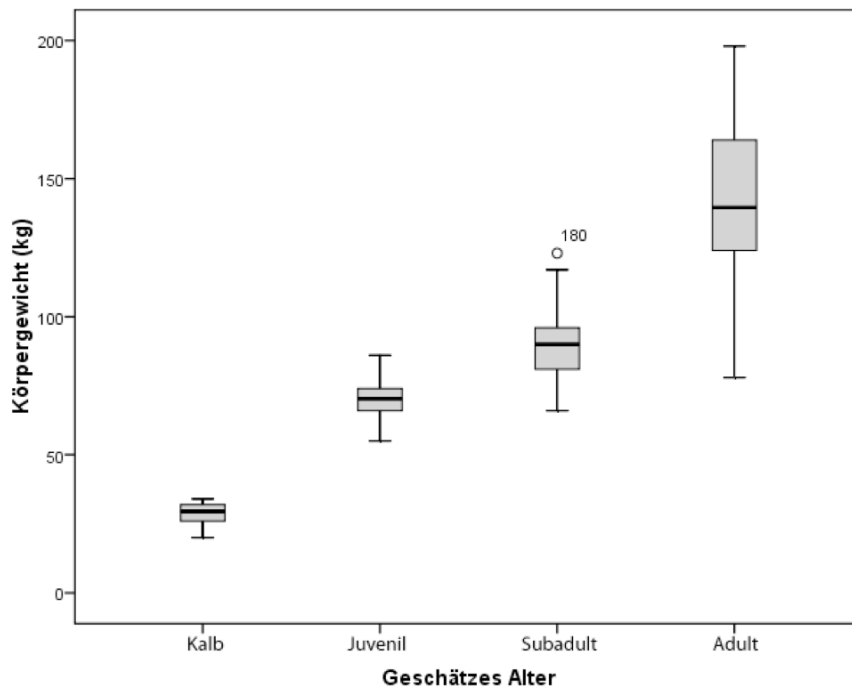


Abb. 12: Alterseinteilung der männlichen Botos anhand des Körpergewichts

4.1.2 Weibliche Tiere

4.1.2.1 Alterseinteilung anhand der Körperlänge und dem Körpergewicht

Bei den weiblichen Flussdelfinen wurden 97 vermessen (Abb. 13) und 93 Tiere gewogen (Abb. 14). Vier Tiere wurden zur Verkürzung der Untersuchungszeit nicht gewogen, weil vermutet wurde, dass sie trächtig waren. Davon wurden 14 Botos mit einer Körperlänge von 108 cm bis 148 cm ($x = 129,5$ cm) und einem Gewicht zwischen 20 kg und 47 kg ($x = 34,3$ kg) als Kälber eingestuft. 12 Tiere mit einer Länge von 146 cm bis 175 cm ($x = 163,7$ cm) und einem Gewicht zwischen 43,5 kg und 71 kg ($x = 58,7$ kg) wurden als juvenil betrachtet. Sieben Botos, die zwischen 172 cm und 187 cm ($x = 179$ cm) lang und zwischen 69 kg und 84 kg ($x = 75,1$ kg) schwer waren, wurden als subadult eingestuft und 64 Tiere mit einer Länge von 179 cm bis 222 cm ($x = 196,9$ cm) und einem Gewicht zwischen 68 kg und 130 kg ($x = 96,3$ kg, 61 Tiere) wurden als adult eingeteilt.

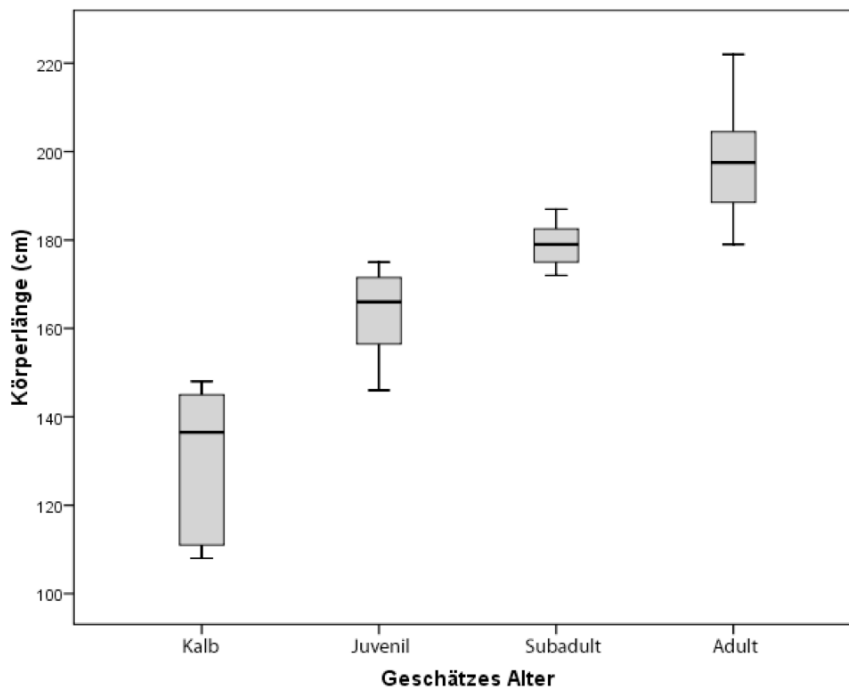


Abb. 13: Alterseinteilung der weiblichen Botos anhand der Körperlänge

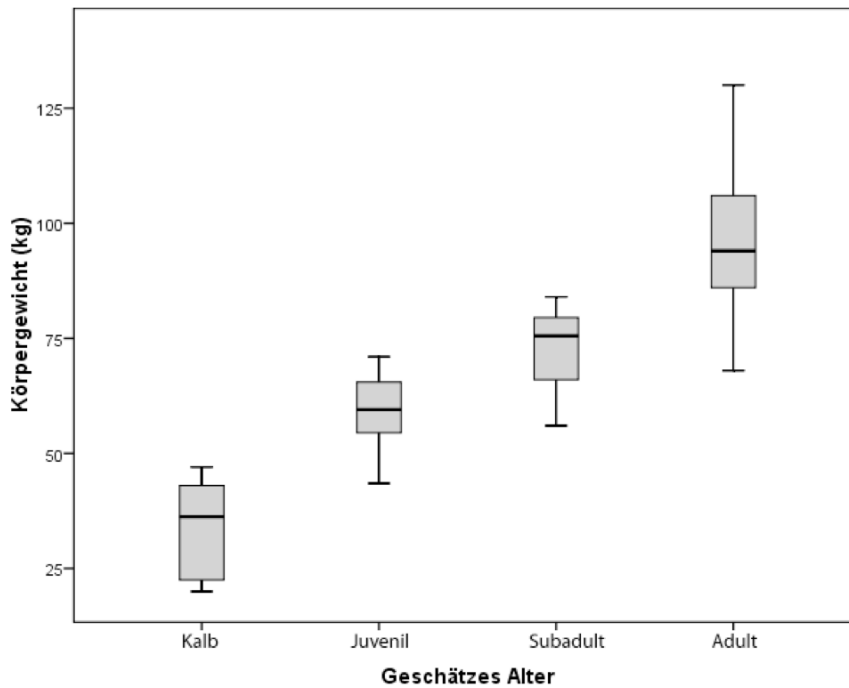


Abb. 14: Alterseinteilung der weiblichen Tiere anhand des Körpergewichts

4.2 Sonographie

4.2.1 Männliche Tiere

Bei dieser Arbeit wurden erstmals Ultraschallaufnahmen von Flussdelfinhoden angefertigt. Mit dem verfügbaren Sonosite 180 Plus Ultraschallgerät konnten feine Strukturen, die aus anderen Veröffentlichungen im Bereich der Delfine bekannt sind (Brook, Chow et al. 1991; Brook 2000a) nicht immer sicher identifiziert werden.

Insgesamt wurden die Gonaden bei 54 männlichen Tieren per Ultraschall betrachtet. Von 35 Botos konnte das Volumen des rechten Hodens (7 juvenile, 9 subadulte und 19 adulte), von 40 Tieren das des linken Hodens (7 juvenile, 8 subadulte und 25 adulte) und von 32 Tieren das Gesamthodenvolumen (6 juvenile, 7 subadulte, 19 adulte) bestimmt werden (Abb. 15). Die männlichen Kälber wurden nicht untersucht.

4.2.1.1 Das Hodenvolumen bei den verschiedenen Altersklassen

Das rechte Hodenvolumen der juvenilen Delfine schwankte zwischen $2,6 \text{ cm}^3$ bis 7 cm^3 (Mittel \pm SD: $4,9 \pm 2 \text{ cm}^3$), bei den subadulten zwischen $5,5 \text{ cm}^3$ und $293,1 \text{ cm}^3$ (Mittel \pm SD: $95,8 \pm 119,5 \text{ cm}^3$) und bei den adulten zwischen $10,3 \text{ cm}^3$ und $901,8 \text{ cm}^3$ (Mittel \pm SD: $356,4 \pm 237,8 \text{ cm}^3$). Das Volumen der linken Hoden bewegte sich bei den juvenilen Tieren zwischen $2,7 \text{ cm}^3$ und 12 cm^3 (Mittel \pm SD: $5,8 \pm 3,5 \text{ cm}^3$), bei den subadulten zwischen $4,8 \text{ cm}^3$ und $244,6 \text{ cm}^3$ (Mittel \pm SD: $47,7 \pm 6,4 \text{ cm}^3$) und bei den adulten zwischen $8,2 \text{ cm}^3$ und $1192,8 \text{ cm}^3$ (Mittel \pm SD: $348,2 \pm 275,3 \text{ cm}^3$). Das Gesamtvolumen der Hoden der juvenilen Botos erreichte minimal $5,6 \text{ cm}^3$ und maximal $18,7 \text{ cm}^3$ (Mittel \pm SD: $10,4 \pm 5,2 \text{ cm}^3$), der subadulten minimal $11,4 \text{ cm}^3$ und maximal $460,1 \text{ cm}^3$ (Mittel \pm SD: $135,6 \pm 187 \text{ cm}^3$) und der adulten Tiere minimal $18,5 \text{ cm}^3$ und maximal $1649,6 \text{ cm}^3$ (Mittel \pm SD: $753,2 \pm 473,7 \text{ cm}^3$). Das Gesamthodenvolumen korrelierte mit der Körperlänge ($r = 0,7$; $p < 0,01$, Abb. 16) und mit dem Körpergewicht ($r = 0,79$; $p < 0,01$, Abb. 17).

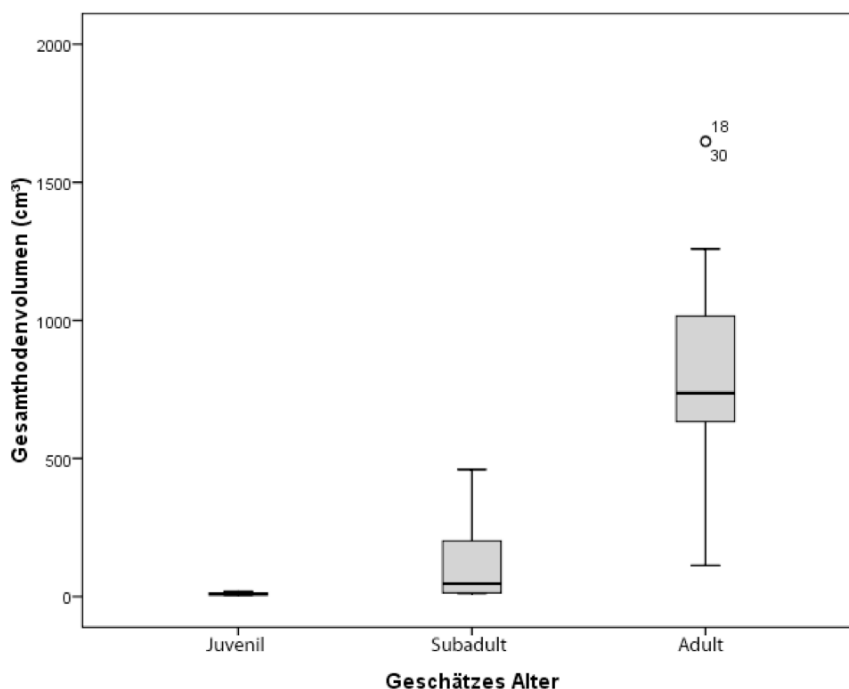


Abb. 15: Das Gesamthodenvolumen im Vergleich mit dem Alter

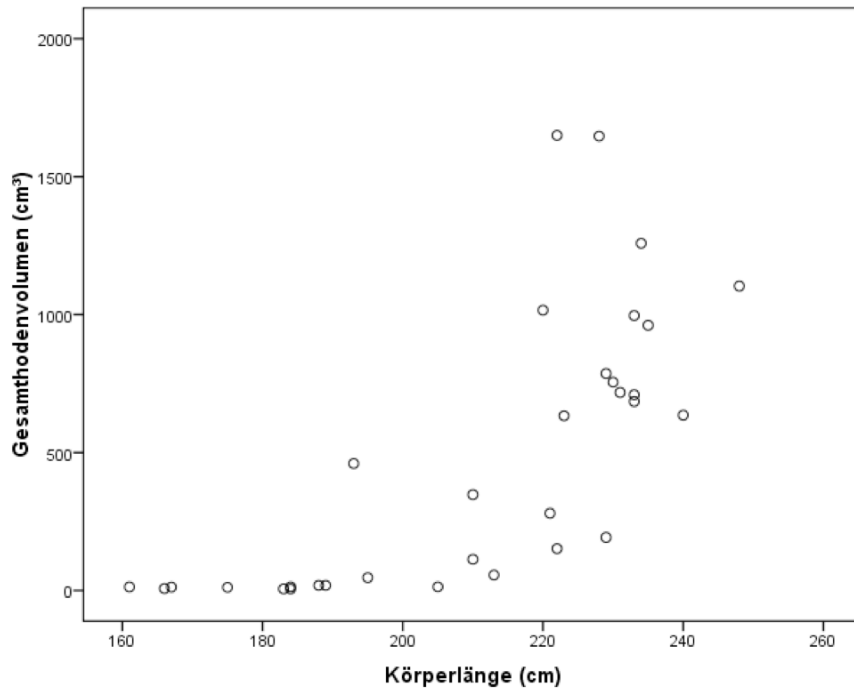


Abb. 16: Das Verhältnis zwischen dem Gesamthodenvolumen und der Körperlänge

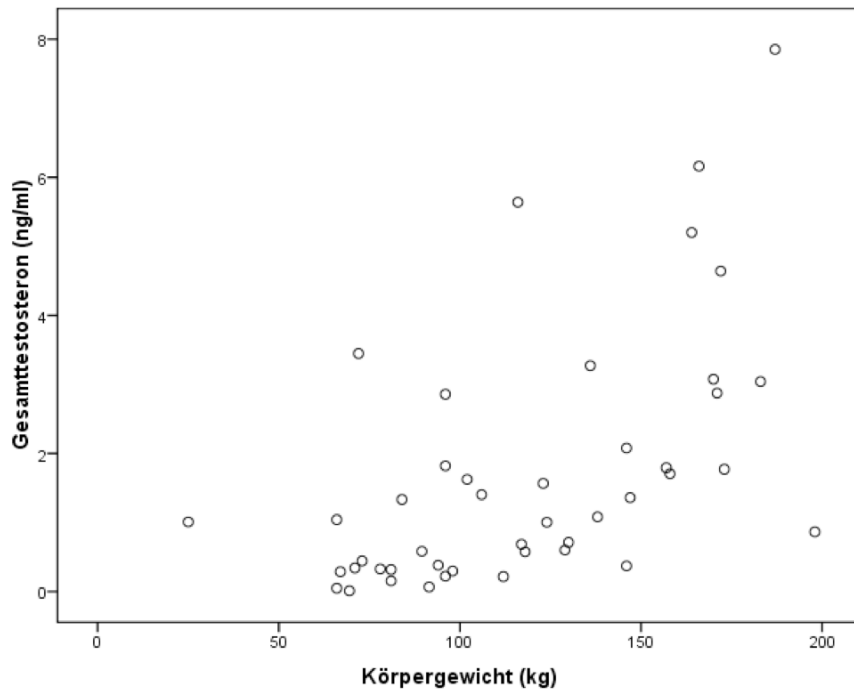


Abb. 17: Das Verhältnis zwischen dem Gesamthodenvolumen und dem Körpergewicht

4.2.1.2 Juvenile Hoden

Der Hoden eines juvenilen Flussdelfins erwies sich als länglich ovales Organ, das im Vergleich zum *M. hypaxialis lumbrorum* echoarm ist (Abb. 18). Der rechte Hoden war mit durchschnittlich $4,9 \text{ cm}^3$ kleiner als der linke mit $5,8 \text{ cm}^3$. Das Gesamthodenvolumen reichte von $5,6 \text{ cm}^3$ bis $18,7 \text{ cm}^3$ mit einem durchschnittlichen Volumen von $10,4 \text{ cm}^3$. Die Hodenlänge erstreckte sich von 2,4 cm bis 5,3 cm.

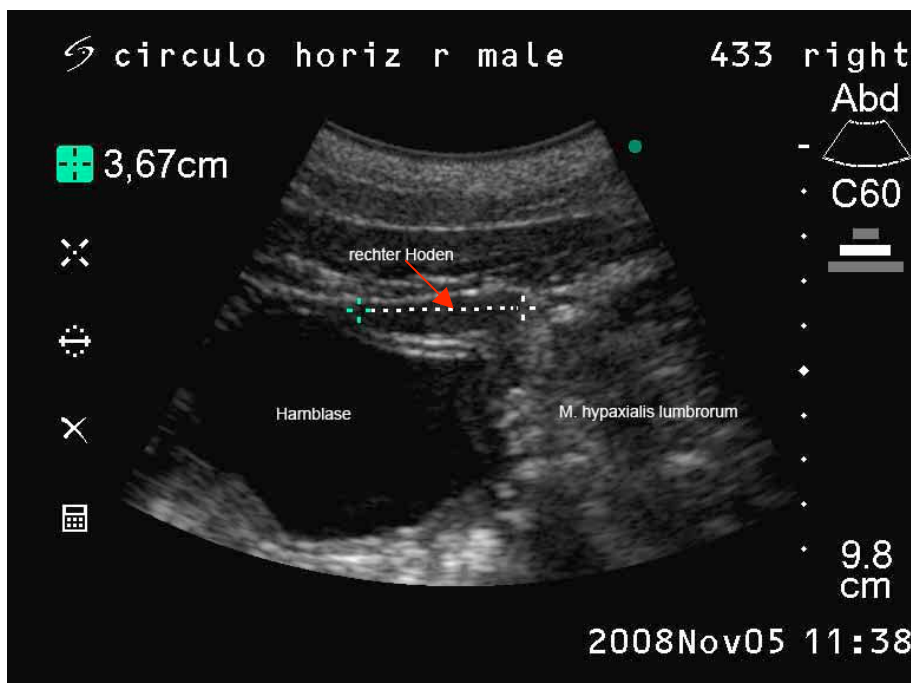


Abb. 18: Longitudinale Sonographie des rechten Hodens eines juvenilen Flussdelfins mit Längenmessung (rechts ist cranial)

4.2.1.3 Subadulte Hoden

Das testikuläre Parenchym subadulter Hoden (Abb. 19) ist weniger definiert als das der adulten Tiere. Das parenchymale Muster war homogen, aber weniger echogen als der *M. hypaxialis lumbrorum*. Der rechte Hoden war mit durchschnittlich $95,8 \text{ cm}^3$ größer als der linke mit $47,7 \text{ cm}^3$. Das Gesamthodenvolu-

men reichte von $11,4 \text{ cm}^3$ bis $460,1 \text{ cm}^3$ mit einem durchschnittlichen Volumen von $135,6 \text{ cm}^3$. Die Hodenlänge erstreckte sich von 0,8 cm bis 22 cm.

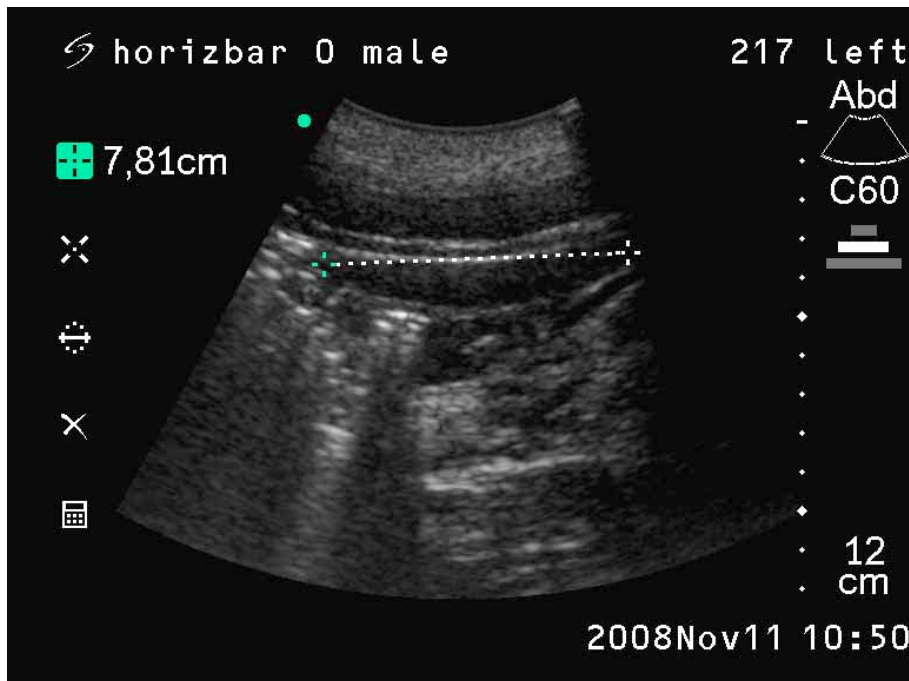


Abb. 19: Longitudinale Sonographie des linken Hodens eines subadulten Flussdelfins mit Längenmessung (links ist cranial)

4.2.1.4 Adulte Hoden

Das Echomuster adulter Hoden stellte sich als homogen „gesprenkelt“ mit mittlerer bis hoher Intensität dar (Abb. 20). Im Vergleich zum *M. hypaxialis lumbrorum* waren die Hoden isoechogen oder leicht hyperechogen. Der rechte Hoden war mit durchschnittlich $375,6 \text{ cm}^3$ größer als der linke mit $348,2 \text{ cm}^3$. Das Gesamthodenvolumen reichte von $18,5 \text{ cm}^3$ bis $1649,6 \text{ cm}^3$ mit einem durchschnittlichen Volumen von $753,2 \text{ cm}^3$. Die Hodenlänge erstreckte sich von 1,3 cm bis 25 cm.

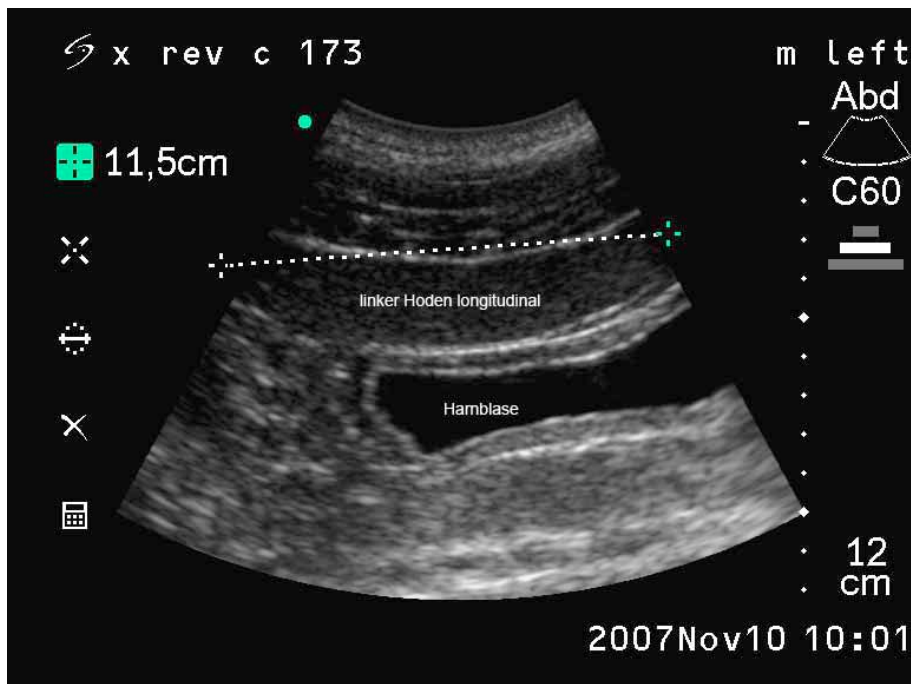


Abb. 20: Longitudinale Sonographie des linken Hodens eines adulten Flussdelfins mit Längenmessung, die auf 13 cm korrigiert wurde (links ist cranial).

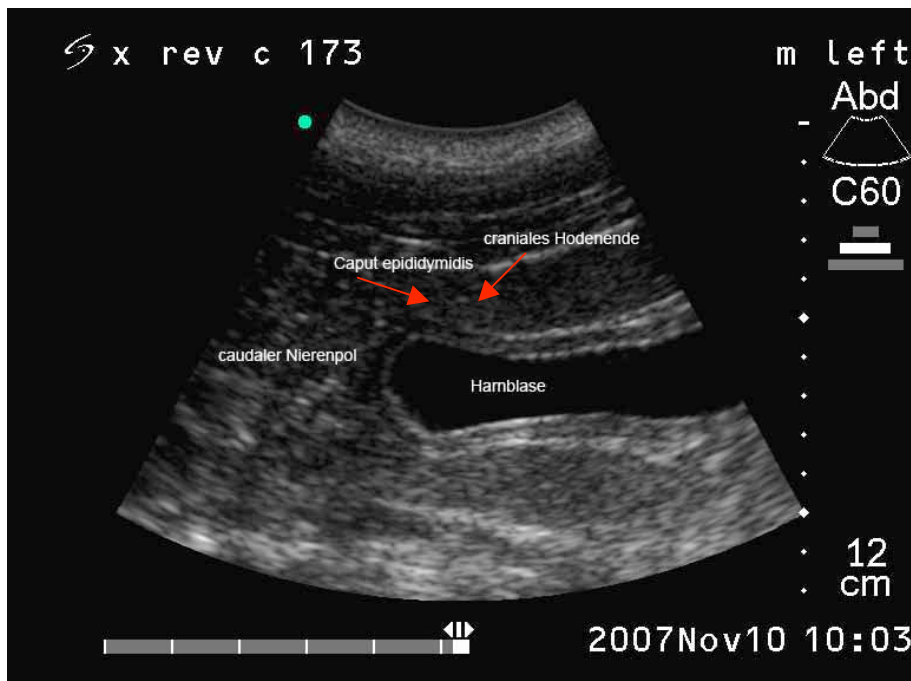


Abb. 21: Longitudinale Sonographie des cranialen Hodenendes mit dem dreieckigen Caput epididymidis eines adulten Flussdelfins (links ist cranial)

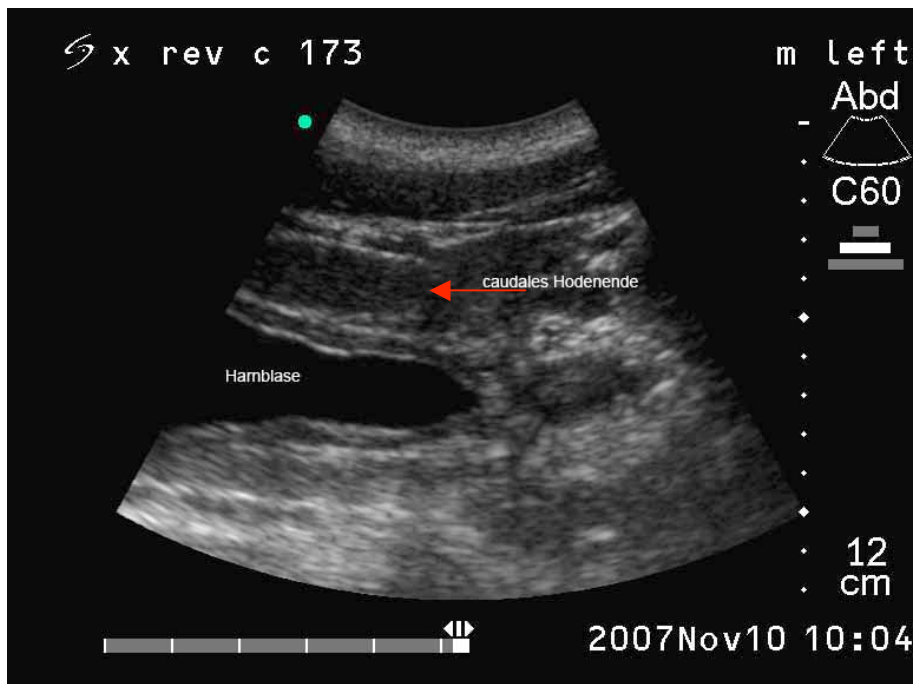


Abb. 22: Longitudinale Sonographie des caudalen Hodenendes eines adulten Flussdelfins (links ist cranial)

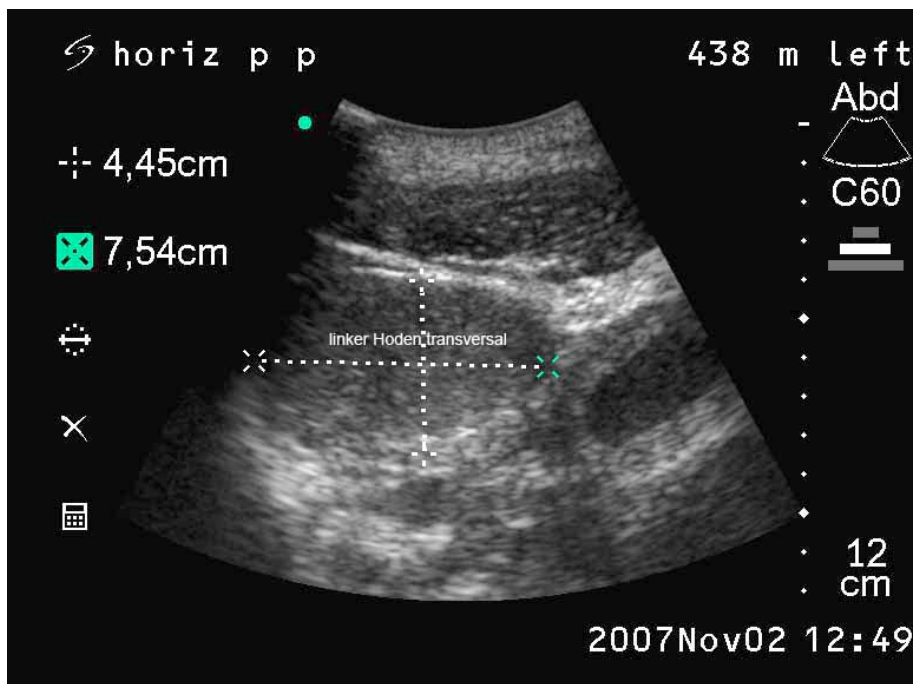


Abb. 23: Transversale Sonographie des linken Hodens eines adulten Flussdelfins (links ist cranial)

4.2.2 Weibliche Tiere

Insgesamt wurden 60 Weibchen untersucht. Es konnten nicht bei allen Tieren die Ovarien dargestellt werden. 19 Botos wurden als trächtig diagnostiziert.

4.2.2.1 Ovar

Es wurden insgesamt 16 Ovarien bei 12 Tieren (6 adulte, 3 subadulte und 3 juvenile) identifiziert. Es konnte in neun Fällen das linke Ovar und in sieben Fällen das rechte Ovar dargestellt werden. Bei vier Tieren konnten beide Ovarien untersucht werden. Gemessen wurde die Länge und Höhe in der longitudinalen Ansicht. Die Ovarien der juvenilen Tiere waren 1,1 cm x 3,4 cm, 1,9 cm x 1 cm (Abb. 25) und 4 cm x 1,1 cm, die der subadulten 2,5 cm x 0,9 cm, 2,3 cm x 1,21 cm und 2,4 cm x 1 cm. Die Größe der Ovarien der adulten Botos reichte von 2 cm x 1,1 cm bis 6,1 cm x 3,1 cm.

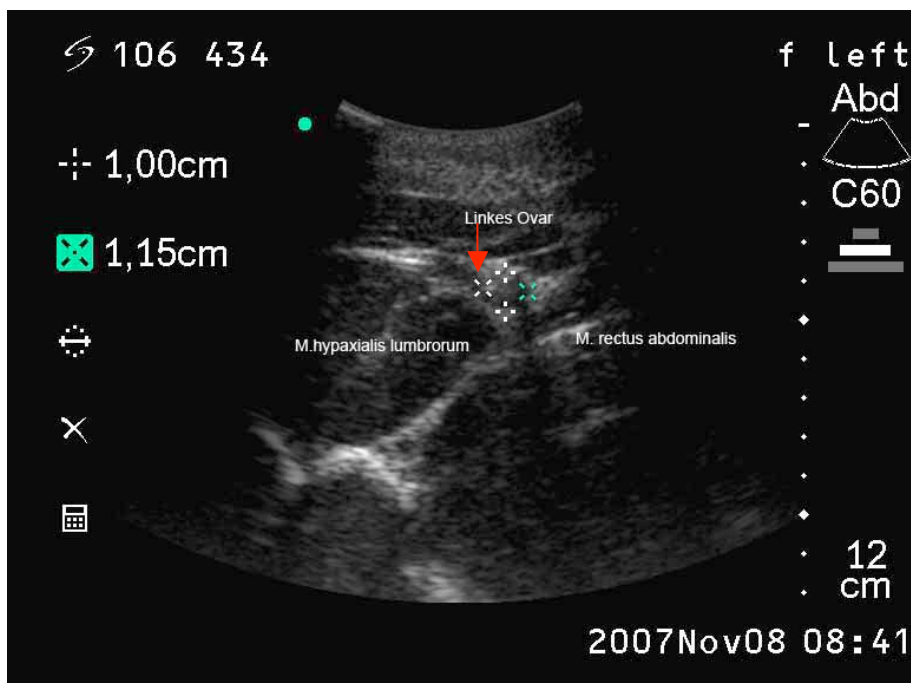


Abb. 24: Transversale Sonographie des linken Ovars eines juvenilen Flussdelfins (links ist cranial)

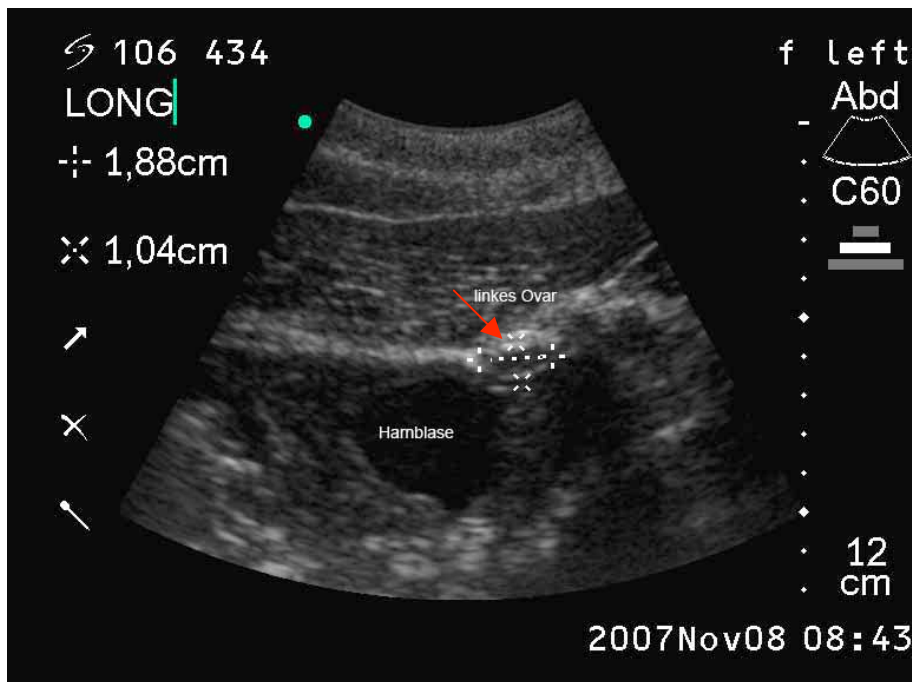


Abb. 25: Longitudinale Sonographie des linken Ovars eines juvenilen Flussdelfins (links ist cranial)

Im Ovar des Weibchens mit der Nummer 363 konnte die „tram line“ identifiziert werden, zwei echogene Linien, die Reflektionen des Mesovariums darstellen (Abb. 26) (Brook 2001b).

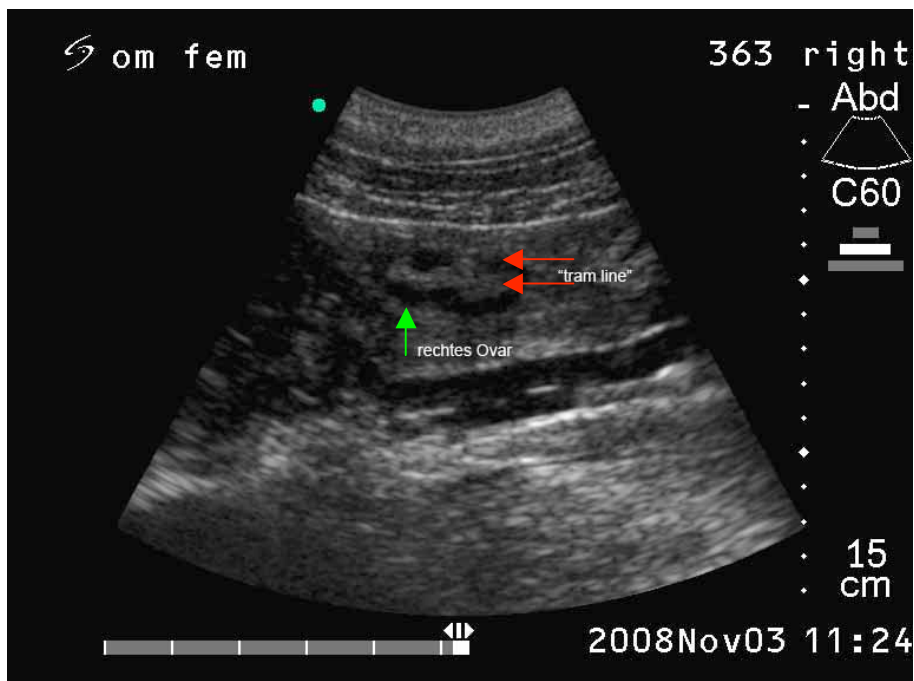


Abb. 26: „Tram line“ (rote Pfeile) im rechten Ovar (grüner Pfeil) eines adulten Flussdelfins (links ist cranial)

Beim Weibchen Nummer 209 fand sich im cranialen Pol des linken Ovars ein Follikel mit einem Durchmesser von 1,3 x 1,2 cm (Abb. 27). Um auszuschließen, dass es sich um das craniale Ovargefäß handelt, wurde das Gebiet in der longitudinalen Ansicht gemustert. Das Gefäß erscheint bei Tümmlern in dieser Ansicht in Dreiecksform und nicht in Blasenform (Salbany 2008, mündliche Information).

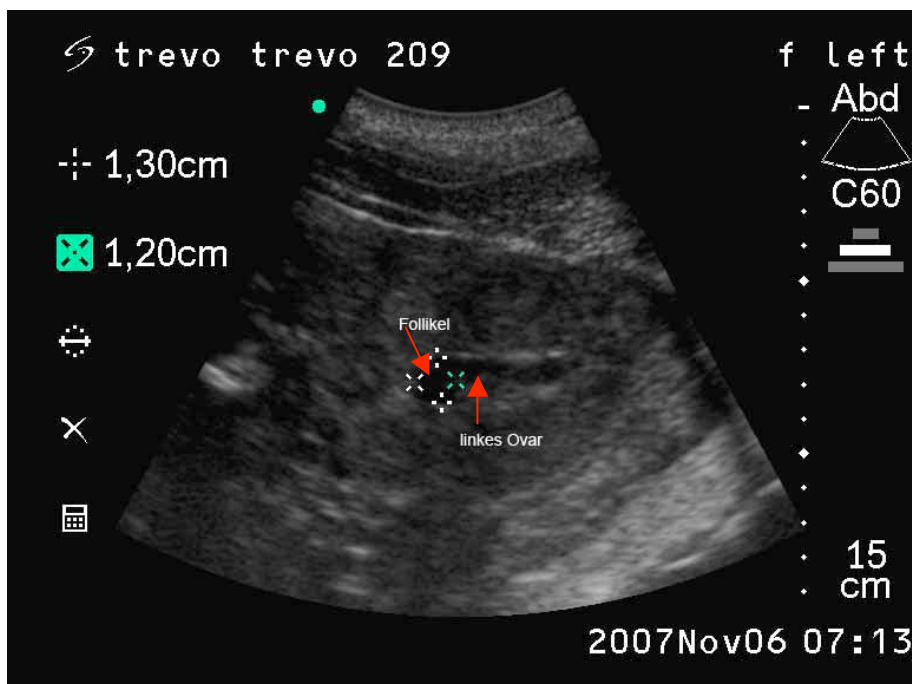


Abb. 27: Longitudinale Sonographie des linken Ovars mit einem Follikel am cranialen Pol (links ist cranial)

Das Kalb „1006“ (Länge 132,5 cm, Gewicht 34 kg) wurde 2008 tot aufgefunden. Die Ovarien wurden im Wasserbad mit Ultraschall untersucht (Abb. 28). In Abb. 29 ist der Reproduktionstrakt desselben Tieres zu sehen.

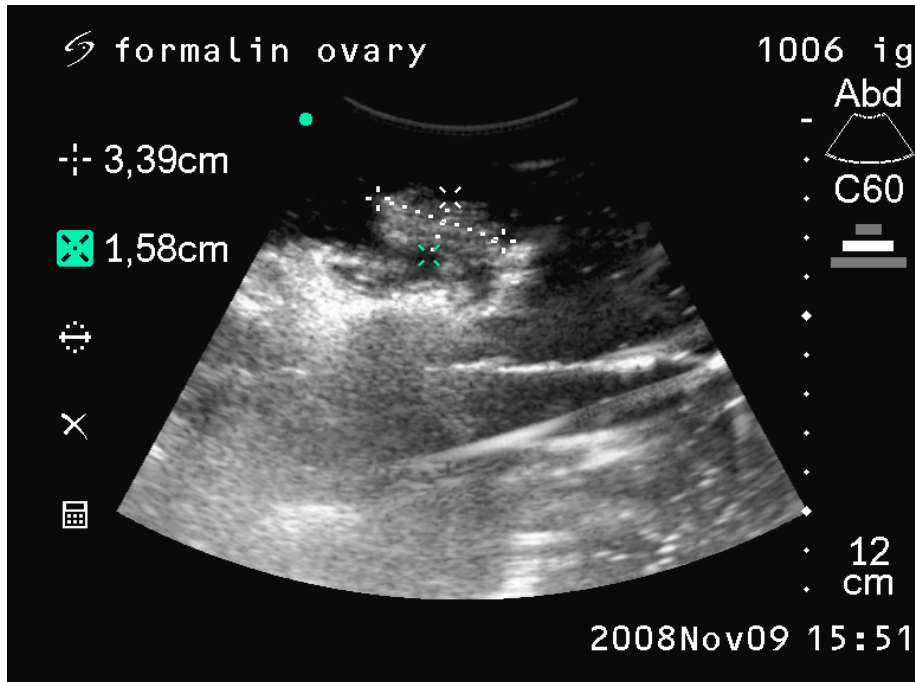


Abb. 28: Longitudinale Sonographie eines in Formalin konservierten Ovars des Flussdelfinkalbs 1006 im Wasserbad

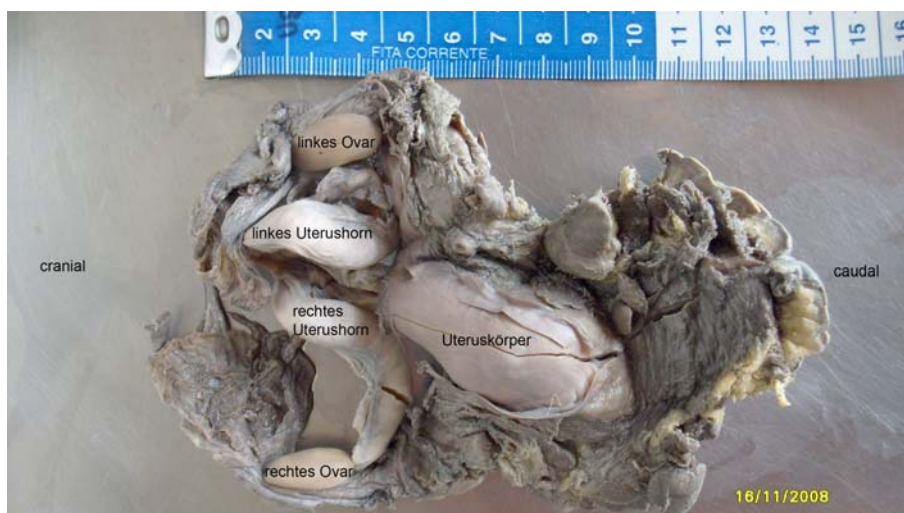


Abb. 29: Reproduktionstrakt des Flussdelfinkalbs 1006

4.2.2.2 Gelbkörper

Beim Delfin Nummer 444 wurde auf der linken Abdomenseite ein Gelbkörper mit einer Höhe von 2,2 cm und einer Länge von 3,8 cm gefunden (Abb. 30). Es handelte sich wahrscheinlich um einen Corpus luteum graviditatis. Es konnte eine Fruchtblase mit einem Embryo mit etwa 3 cm Länge dargestellt werden.

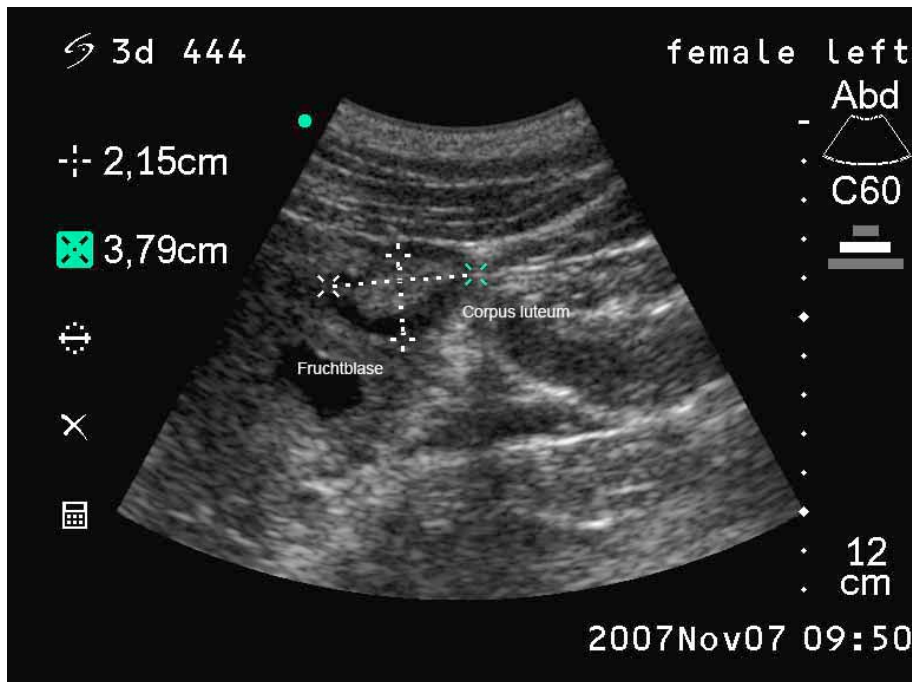


Abb. 30: Linker Gelbkörper eines trächtigen Flussdelfins (links ist cranial)

4.2.2.3 Trächtigkeit

Als Trächtigkeitsindizien galten das Vorhandensein eines Fetus in der Fruchtblase (Abb. 32 - 36), fetale Bewegungen und fetaler Herzschlag. Auf www2.vetmed.uni-muenchen.de/gyn/baur sind Ultraschallfilme von sechs trächtigen Tieren im 1. und 2. Trimester zu sehen.

Im Gegensatz zur Wand der Harnblase (Abb. 31) stellte sich die Fruchtblasenwand (Abb. 32) kontrastreicher und schärfer abgrenzbar dar. Die Fruchtblase erschien bei einigen Tieren gekammert durch vorgelagerte intraabdominale Organe, wie z.B. das Intestinum. Zu Beginn der Trächtigkeit konnte die Form des Fetus (Abb. 32) nicht eindeutig erkannt werden, aber durch die höhere Echogenität eindeutig von Sediment (Abb. 31) in der Harnblase unterschieden werden. Verwechslungsgefahr zwischen der Harn- und Fruchtblase bestand nur bei kurzen Untersuchungszeiten, oder wenn das Tier sich stark bewegte. War nicht eindeutig ein Fetus zu erkennen, wurde keine Diagnose gestellt.

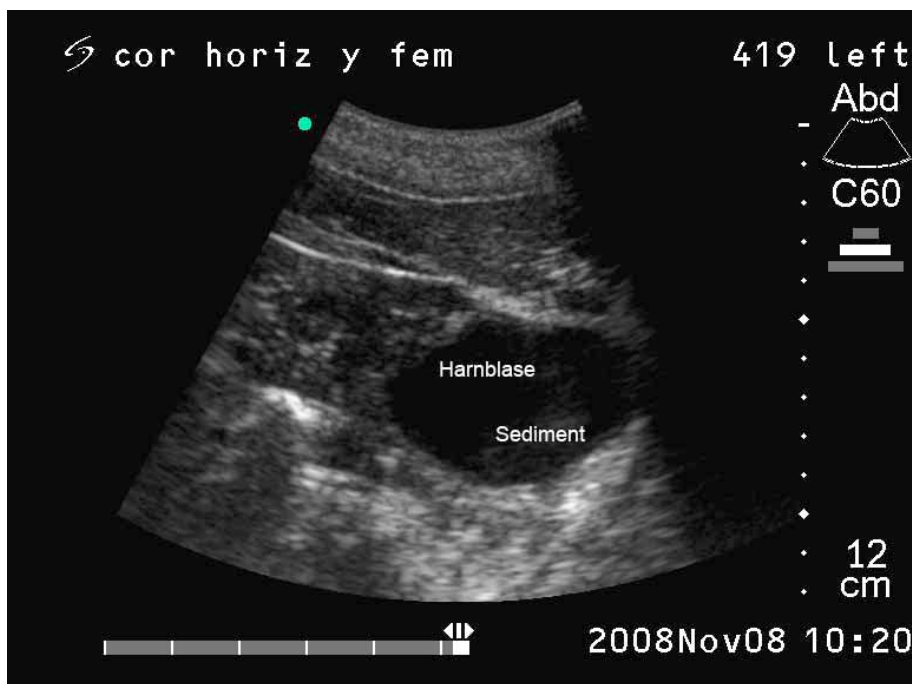


Abb. 31: Harnblase mit Sediment

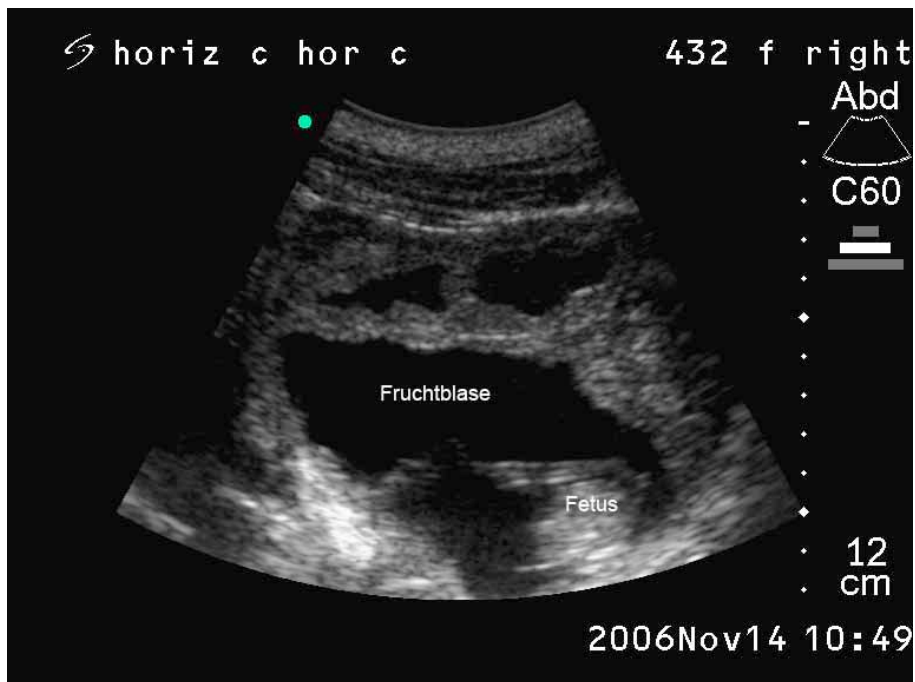


Abb. 32: Fruchtblase mit Fetus eines trächtigen Delfins im 1. Trimester

Die Fetrometrieergebnisse wurden mit denen von Tümmlern verglichen (siehe 3.5), um das Gestationsstadium festzustellen. Bei 11 trächtigen Delfinen wurde eine Trächtigkeit im 1. Trimester geschätzt (Abb. 32 bis 36). Der biparietale Durchmesser (BPD) reichte bis 2 cm, der thorakale Durchmesser (TD) lag zwischen 1,5 cm und 4 cm. Die Gesamtlänge (TL) wurde mit 5 cm bis 11 cm gemessen.

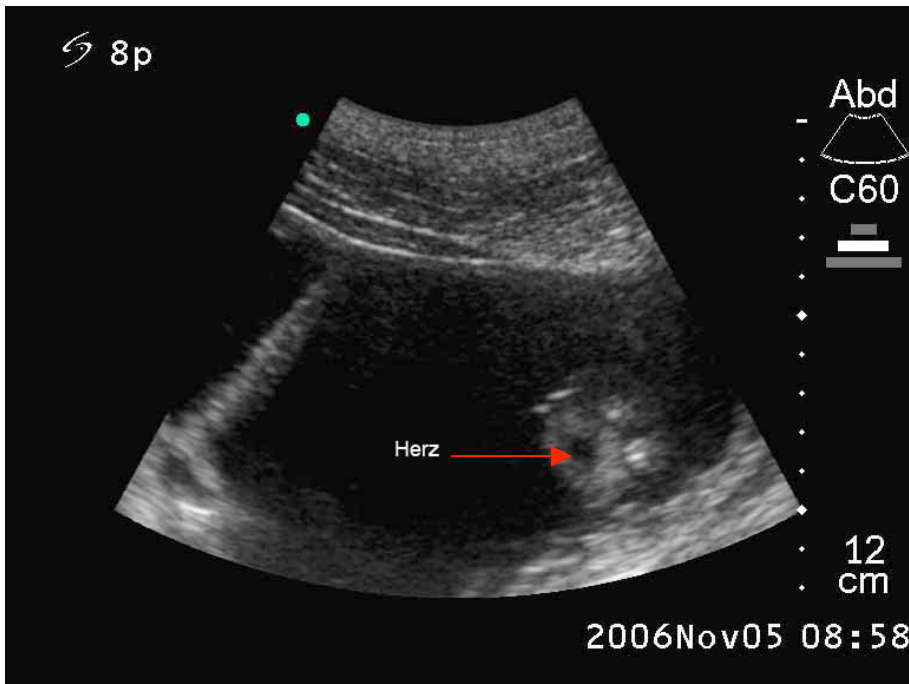


Abb. 33: TD (4cm) auf der Herzebene eines Fetus im 1. Trimester

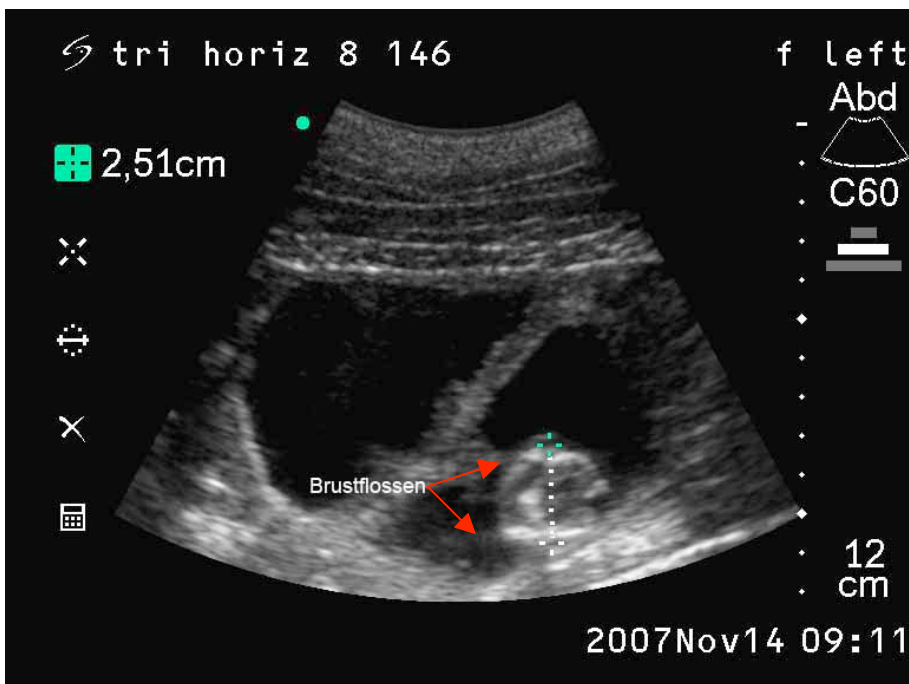


Abb. 34: TD mit Brustflossen eines Fetus im 1. Trimester

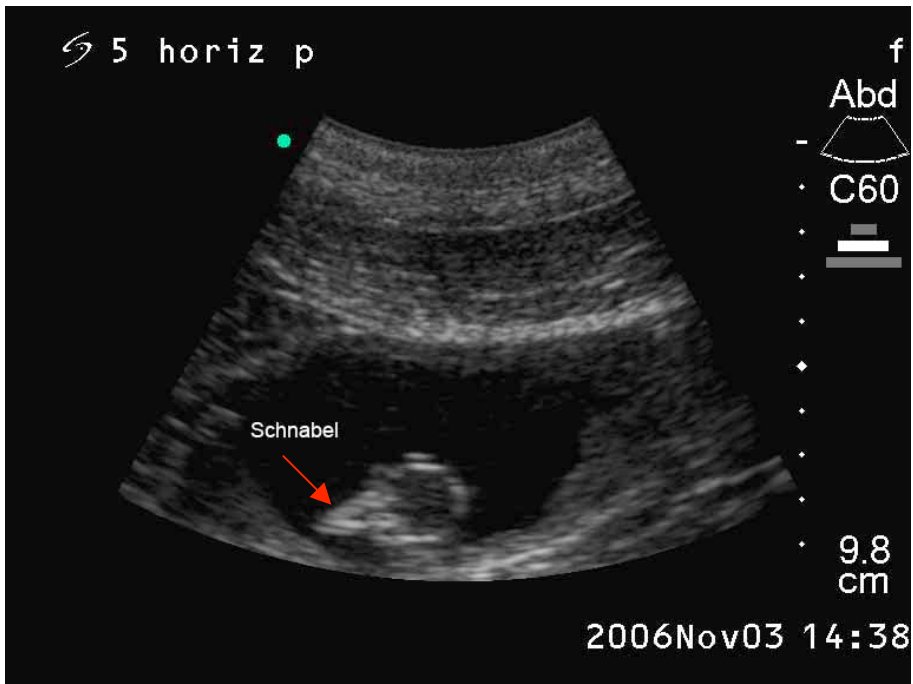


Abb. 35: Kopf eines Fetus im 1. Trimester

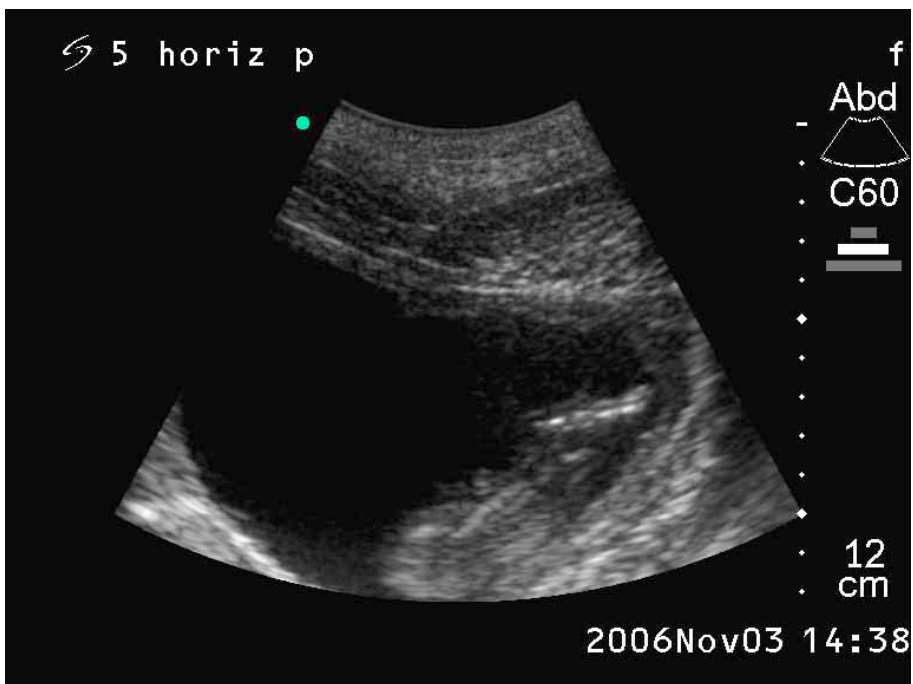


Abb. 36: Fetus im 1. Trimester, schwierig die TL zu messen

Bei drei Tieren wurde das Trächtigkeitsstadium auf das 1. bis 2. Trimester geschätzt mit einer BPD von 2,5 cm bis 5 cm. Die TD betrug 6 cm bis 7 cm und die TL lag bei 15 cm.

Bei drei Inias reichte die BPD bis zu 5 cm, die TD war zwischen 7 cm und 12 cm und die TL erreichte maximal 20 cm. Dies führte zu einer geschätzten Einstufung in das 2. Trimester der Trächtigkeit.

4.3 Vaginalzytologien

Es wurden insgesamt 49 Vaginalzytologien untersucht. Davon waren 31 Weibchen adult (fünf trächtig und nicht laktierend, drei trächtig und laktierend, 13 nicht trächtig und laktierend und 10 nicht trächtig und nicht laktierend), 5 subadult, 6 juvenil und 7 Kälber.

Manchmal lagen die Zellen einzeln nebeneinander und konnten leicht ausgezählt werden. In anderen Präparaten allerdings fanden sie sich eher gehäuft (Abb. 37) oder als Gewebefetzen mit übereinander liegenden Zellen, welches das Beurteilen erschwerte.

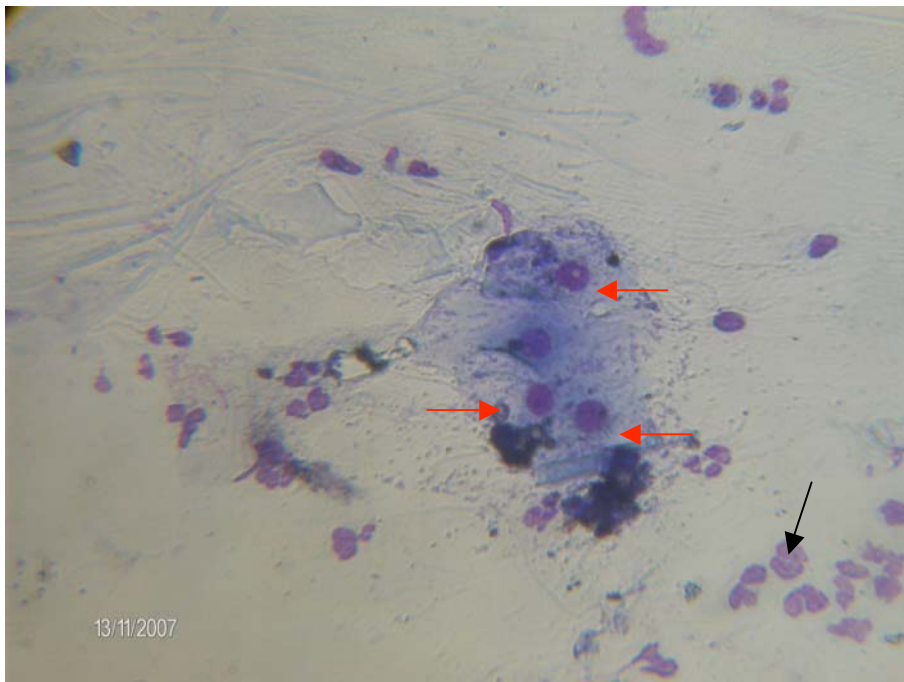


Abb. 37: Zellhaufen mit großen Intermediärzellen (rote Pfeile) und Neutrophilen (schwarzer Pfeil)

4.3.1 Zelltypen

Beim Durchmustern der Präparate wurden verschiedene Stadien von Superfiziälzellen gefunden, solche mit Zellkern und Schollen ohne Zellkern. Große und kleine Intermediärzellen kamen sehr häufig vor. Manchmal mischten sich Parabasalzellen und selten Basalzellen ins Zellbild. Neutrophile Granulozyten befanden sich sowohl extra- als auch intrazellulär. Erythrozyten und Bakterien kamen vereinzelt vor.

Die Prozentangaben der folgenden Zelltypen sind die Ergebnisse des Untersuchers U1.

4.3.1.1 Parabasalzellen

Parabasalzellen (Abb. 38) kamen bei allen Altersklassen mit durchschnittlich 3% selten vor. Die adulten nicht trächtigen Botos zeigten am meisten Parabasalzellen (5%), die Kälber 4% und die subadulten 2%. Bei den Juvenilen und Trächtigen fanden sich keine Parabasalzellen (Abb. 39).

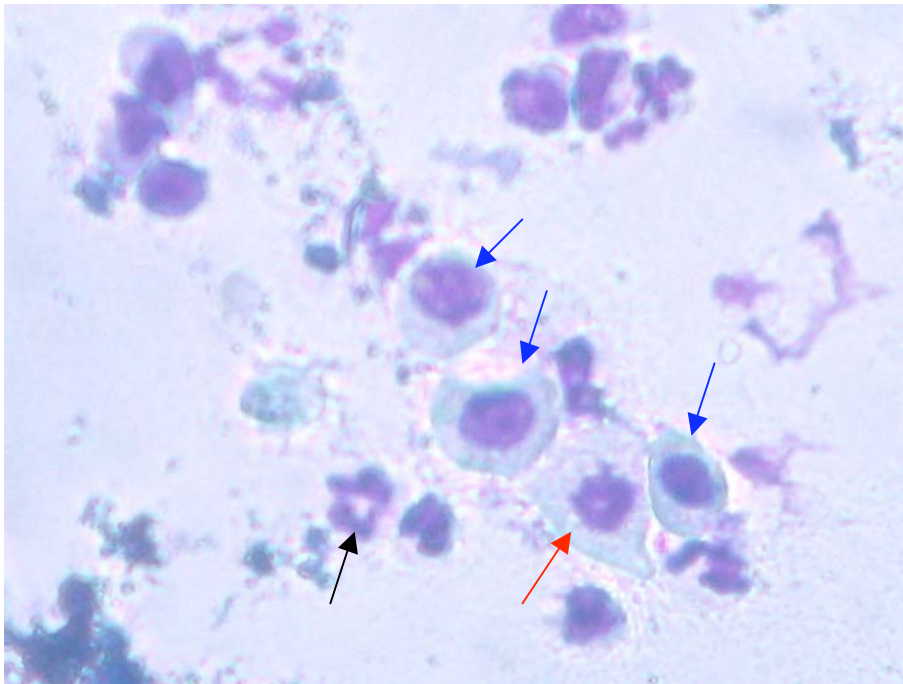


Abb. 38: Drei Parabasalzellen (15 μm x 15 μm , blaue Pfeile), eine kleine Intermediärzelle (roter Pfeil) und Neutrophile (schwarzer Pfeil) mit 40facher Vergrößerung und 9,3 Digzoom

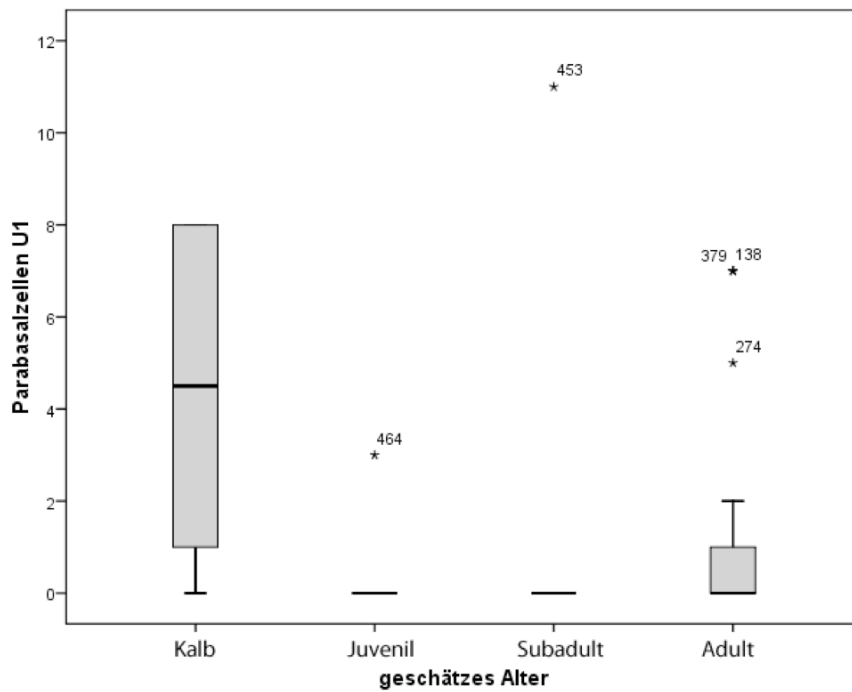


Abb. 39: Anzahl der Parabasalzellen von U1

4.3.1.2 Intermediärzellen

Die kleinen (Abb. 40) und großen Intermediärzellen (Abb. 41) wurden in eine Gruppe zusammengefasst. Bei allen weiblichen Altersgruppen wurden durchschnittlich mit 74% am meisten Intermediärzellen gefunden. Die Kälber hatten mit 82% den höchsten Anteil an Intermediärzellen, dann folgten die Juvenilen und Subadulten mit jeweils 79%, und die adulten nicht trächtigen Botos (73%). Am wenigsten Intermediärzellen fanden sich bei den trächtigen Botos (64%, Abb. 42).

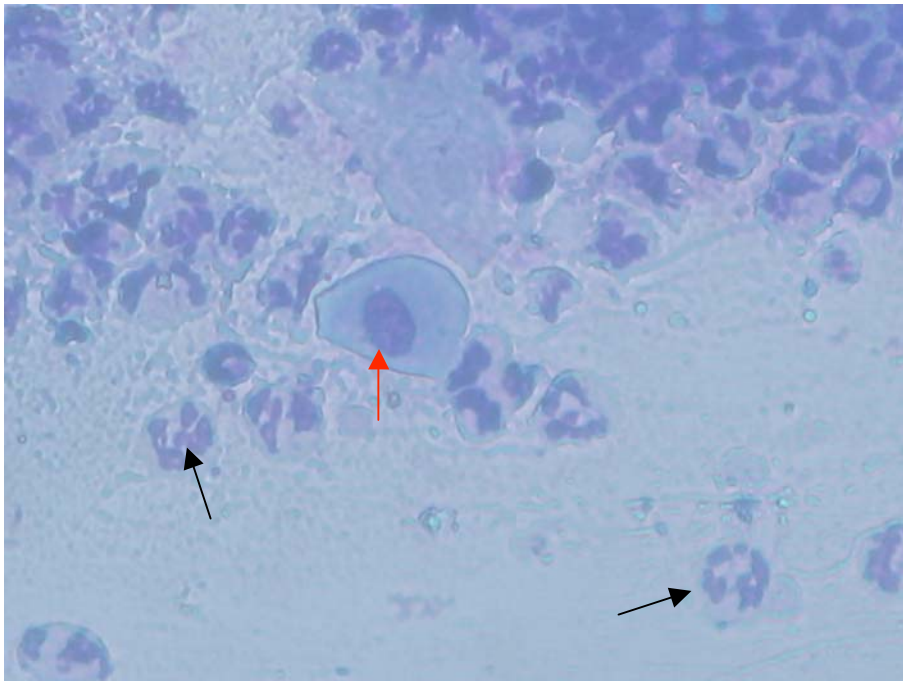


Abb. 40: Kleine Intermediärzelle (22,5 μm x 17,5 μm , roter Pfeil) und Neutrophile (schwarze Pfeile) bei 40facher Vergrößerung mit 9,3 Digzoom

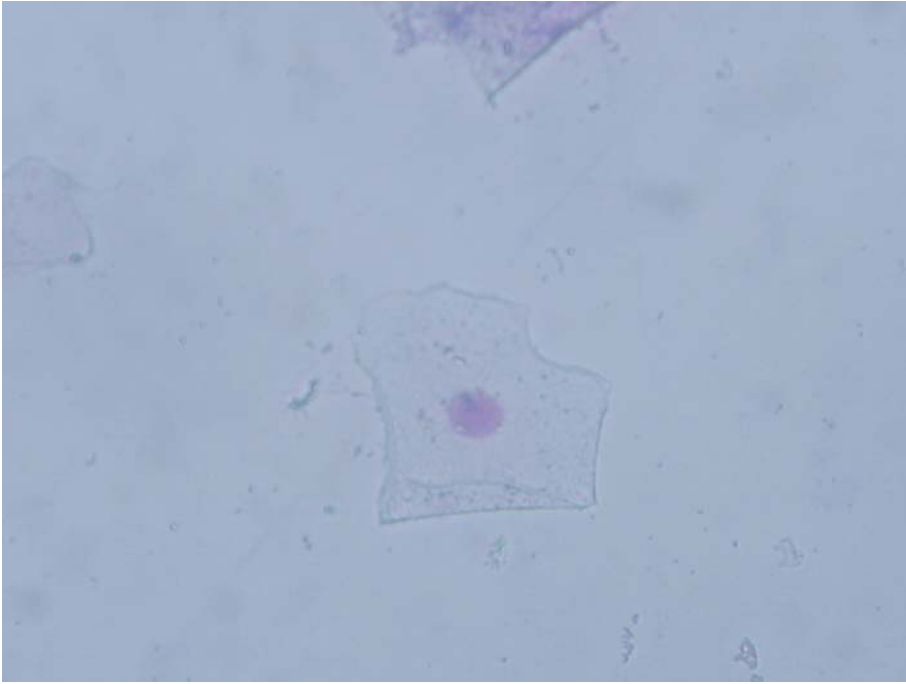


Abb. 41: Grosse Intermediärzelle (52,2 μm x 52,2 μm) mit 40facher Vergrößerung und 6,1 Digzoom

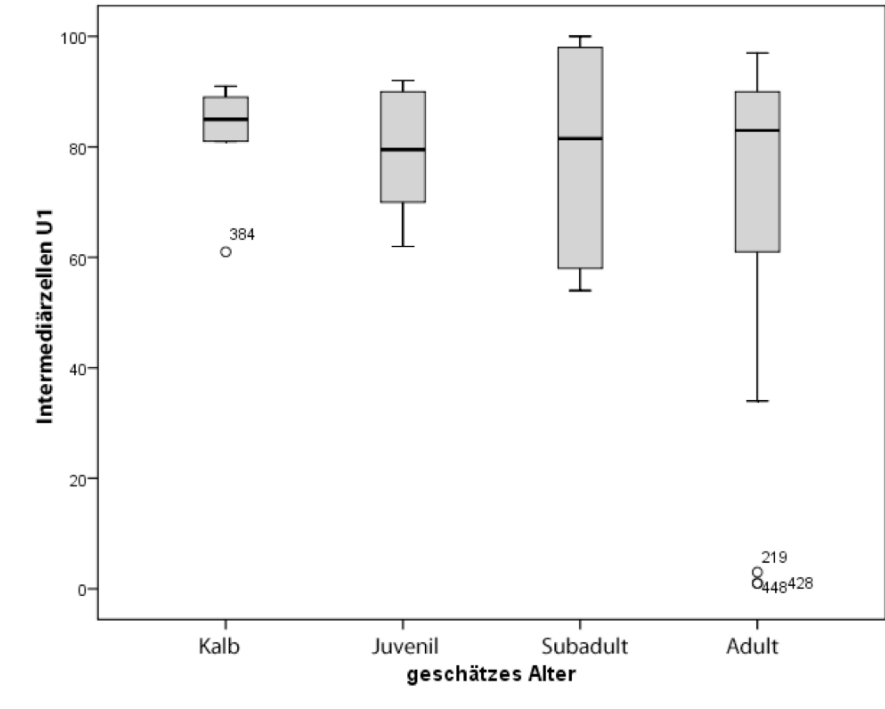


Abb. 42: Anzahl der Intermediärzellen insgesamt (große und kleine) bei U1

4.3.1.3 Superficialzellen

Superficialzellen (Abb. 43) kamen bei allen Tieren durchschnittlich zu 23% vor. Die adulten trächtigen Tiere hatten am meisten oberflächliche Zellen (36%), dann folgten die nicht trächtigen (22%), die juvenilen (21%) und die subadulten mit 19%. Bei den Kälbern fanden sich am wenigsten Superficialzellen (14%, Abb. 44).

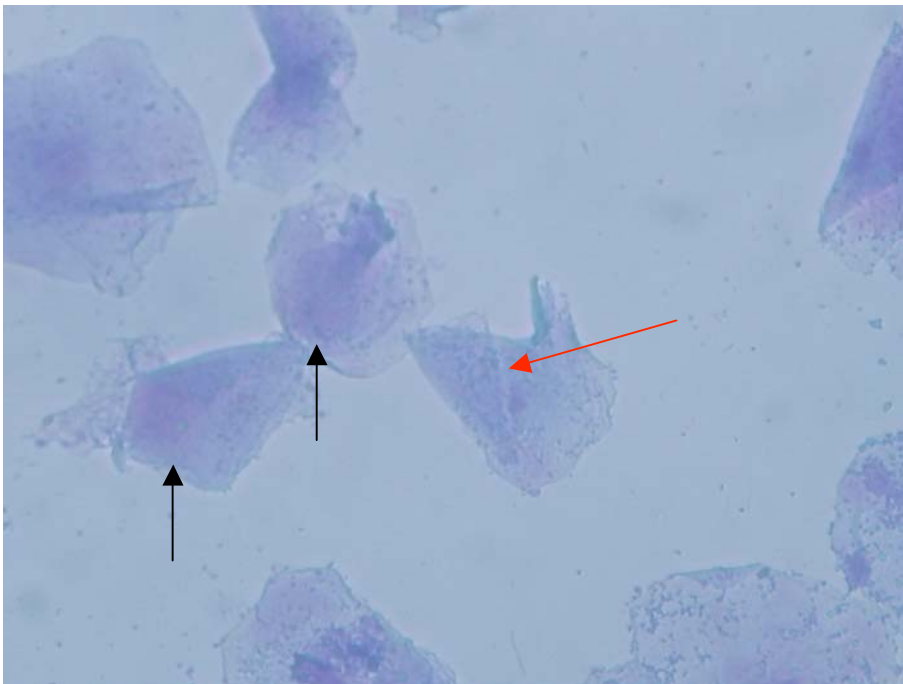


Abb. 43: Superficialzellen ($50\ \mu\text{m} \times 32,5\ \mu\text{m}$) mit pyknotischem (roter Pfeil) und ohne (schwarze Pfeile) Kern bei 40facher Vergrößerung mit 6,1 Digzoom

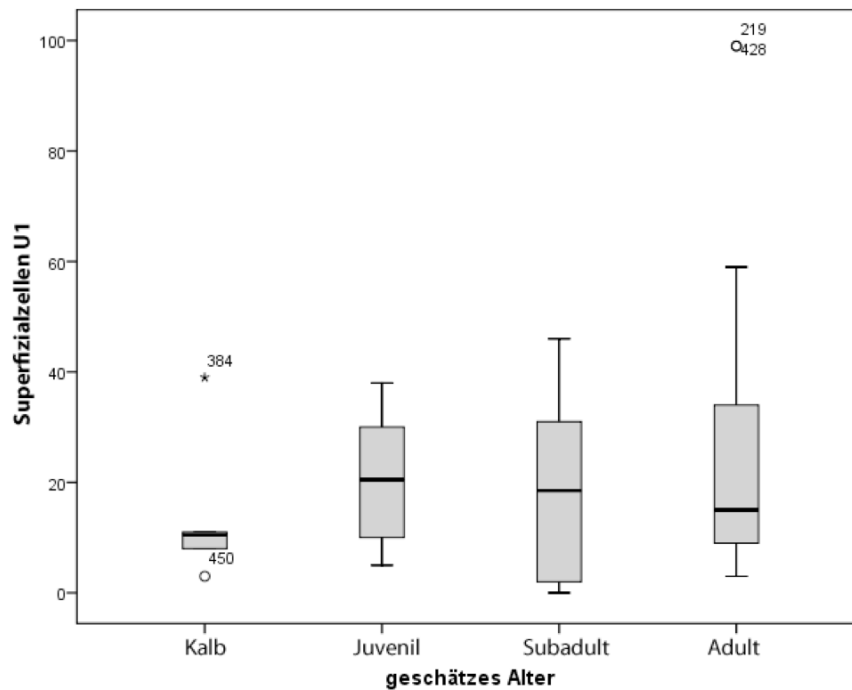


Abb. 44: Anzahl der Superficialzellen insgesamt (mit und ohne Zellkern) bei U1

4.3.2 Mehrere Ausstriche pro Tier bei einem Untersucher

Um festzustellen, ob ein einziger Ausstrich für ein Tier repräsentativ und reproduzierbar ist, wurden von einem Untersucher (U1) pro Tier ($n = 20$) zwei bis sechs Präparate untersucht (Abb. 45 und Abb. 46). Die Tiere 1 und 2 sind Kälber, 3 bis 6 juvenile, 7 bis 9 subadult und 10 bis 20 adult. Von den Adulten sind die Tiere 10 bis 12 nicht trächtig und nicht laktierend, die Tiere 13 bis 16 nicht trächtig, aber laktierend, das Tier 17 trächtig und nicht laktierend und 18 bis 20 tragend und laktierend.

Bei den meisten Ausstrichen ($n = 11$) waren auch bei wiederholtem Auswerten keine Parabasalzellen vorhanden. Bei den Präparaten, wo sie gefunden wurden, schwankten sie bei einem Tier zwischen 1% und 12% und einem anderen Tier zwischen 0% und 9%.

Bei den Intermediärzellen (Abb. 45) war die maximale Differenz deren Anzahl bei den verschiedenen Ausstrichen desselben Tieres zwischen 20% und 60%. Beim Tier 8 war die Anzahl der Intermediärzellen bei jedem Ausstrich gleich.

Bei den Superfizialzellen (Abb. 46) lag die größte Schwankung der Anzahl zwischen 32% und 75%, die kleinste Schwankung lag zwischen 5% und 12%.

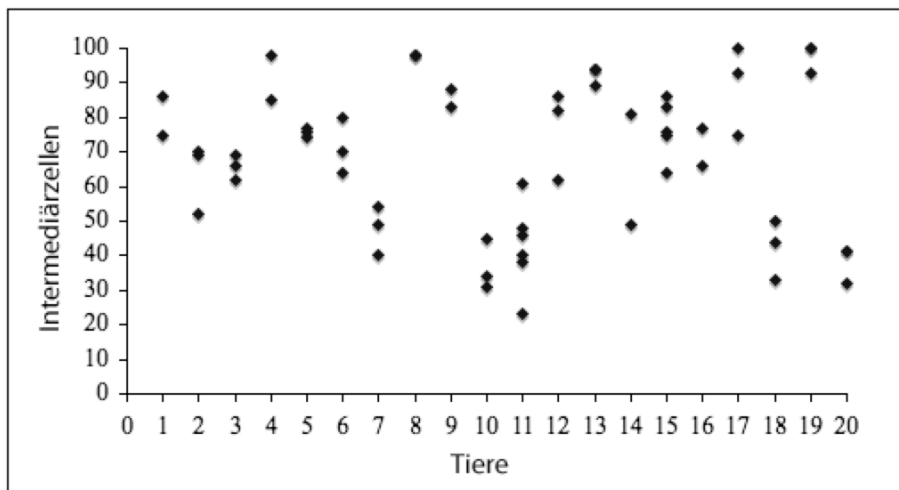


Abb. 45: Ergebnisspanne der Intermediärzellen in Prozent bei 20 Tieren und einem Untersucher. Jeder Punkt repräsentiert das Ergebnis eines Ausstrichs. Pro Tier wurden 2 bis 6 Ausstriche angefertigt.

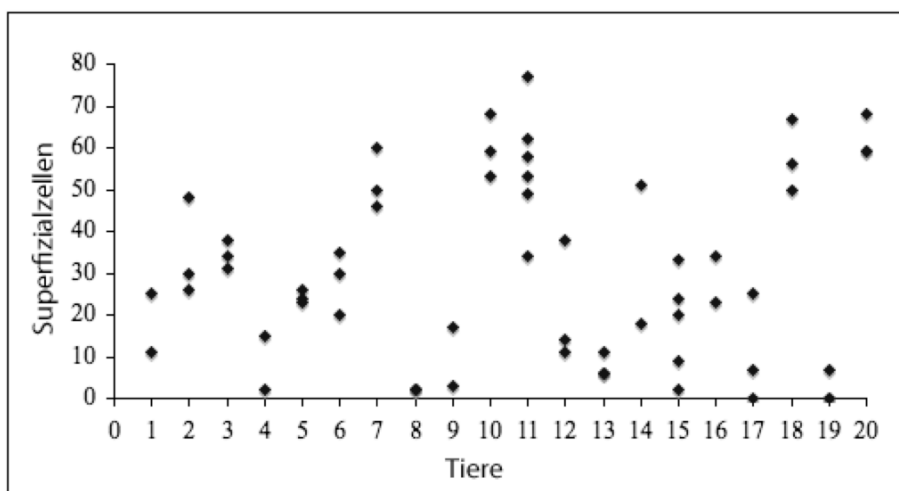


Abb. 46: Ergebnisspanne der Superfizialzellen in Prozent bei 20 Tieren und einem Untersucher. Jeder Punkt repräsentiert das Ergebnis eines Ausstrichs. Pro Tier wurden 2 bis 6 Ausstriche angefertigt.

4.3.3 Mehrere Untersucher bei einem Ausstrich pro Tier

Die Ergebnisse (Tab.1 bis Tab. 3) der einzelnen Untersucher (U1-U3) in Altersklassen zusammengefasst, waren sehr unterschiedlich. Bei U1 kamen die Intermediärzellen bei allen Altersklassen am häufigsten vor (77%). U2 und U3 dagegen zählten insgesamt mehr Superficialzellen (77% und 78%). Parabasalzellen fanden sich insgesamt bei allen Untersuchern < 4%.

Tab. 1: Mittelwerte der Parabasalzellen in Prozent bei den verschiedenen Untersuchern (U1-U3)

Reproduktionsstatus	Anzahl	U1	U2	U3
Adult alle	31	4	0,1	3,2
Adult trächtig	8	0,1	0	1,5
Adult nicht trächtig	23	5,3	0,1	3,8
Subadult	5	2,2	0	1
Juvenil	6	0,4	6,2	10,4
Kalb	7	4,3	0	2,5

Tab. 2: Mittelwerte der Intermediärzellen in Prozent bei den verschiedenen Untersuchern (U1-U3)

Reproduktionsstatus	Anzahl	U1	U2	U3
Adult alle	31	70,5	26,9	8,8
Adult trächtig	8	63,9	28,4	1
Adult nicht trächtig	23	72,9	26,4	11,3
Subadult	5	78,6	14,6	25
Juvenil	6	79	6,8	34,3
Kalb	7	82	38,5	2,5

Tab. 3: Mittelwerte der Superficialzellen in Prozent bei den verschiedenen Untersuchern (U1-U3)

Reproduktionsstatus	Anzahl	U1	U2	U3
Adult alle	31	25,5	73	88
Adult trächtig	8	36	71,6	97,5
Adult nicht trächtig	23	21,8	73,5	84,9
Subadult	5	19,2	85,4	74
Juvenil	6	20,6	87	55,3
Kalb	7	13,7	61,5	95

4.4 Hormonanalysen

4.4.1 Männliche Tiere

4.4.1.1 Der Gesamttestosteronwert bei den verschiedenen Altersklassen

Der Gesamttestosteronwert wurde bei 46 Tieren bestimmt. Zwei Kälber hatten einen Testosteronwert von 0,44 ng/ml und 1 ng/ml. Sechs juvenile Botos schwankten zwischen 0,1 ng/ml und 1,33 ng/ml ($\bar{x} = 0,58$ ng/ml). Bei 14 subadulten Männchen bewegten sich die Werte zwischen 0,48 ng/ml und 3,45 ng/ml ($\bar{x} = 1$ ng/ml) und bei 24 adulten Tieren zwischen 0,22 ng/ml und 7,85 ng/ml ($\bar{x} = 2,4$ ng/ml, Abb. 47)).

Die Gesamttestosteronwerte korrelierten mit der Körperlänge ($r = 0,4$; $p < 0,01$, Abb. 48) und dem Körpergewicht ($r = 0,5$; $p < 0,01$, Abb. 49).

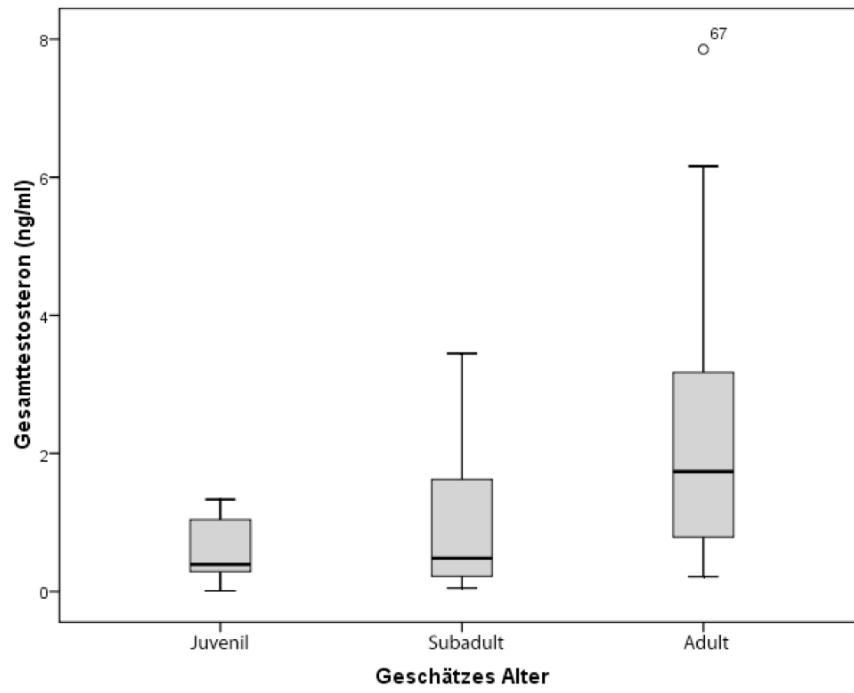


Abb. 47: Gesamttestosteronwert im Vergleich mit dem Alter

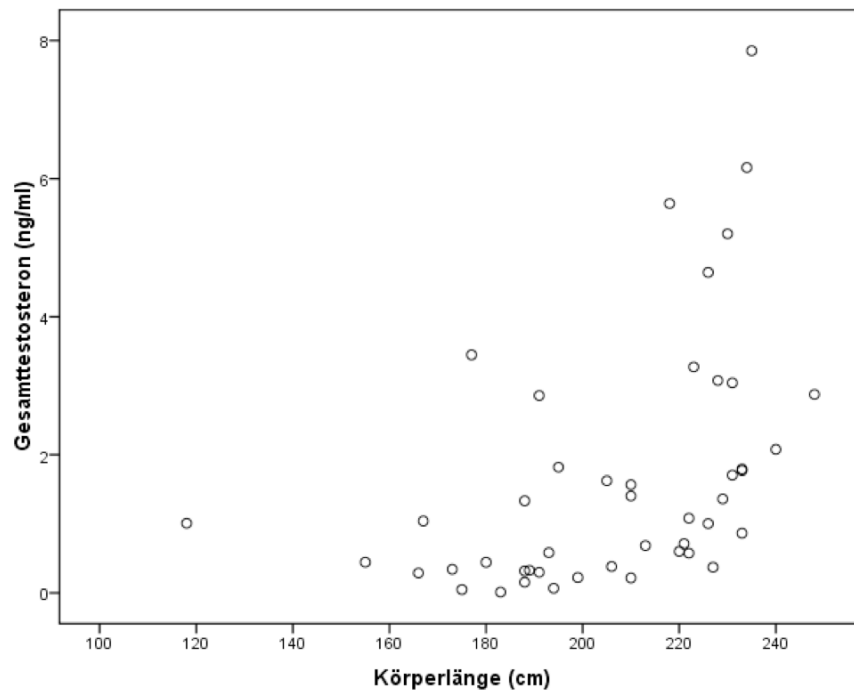


Abb. 48: Gesamttestosteron in Abhängigkeit von der Körperlänge

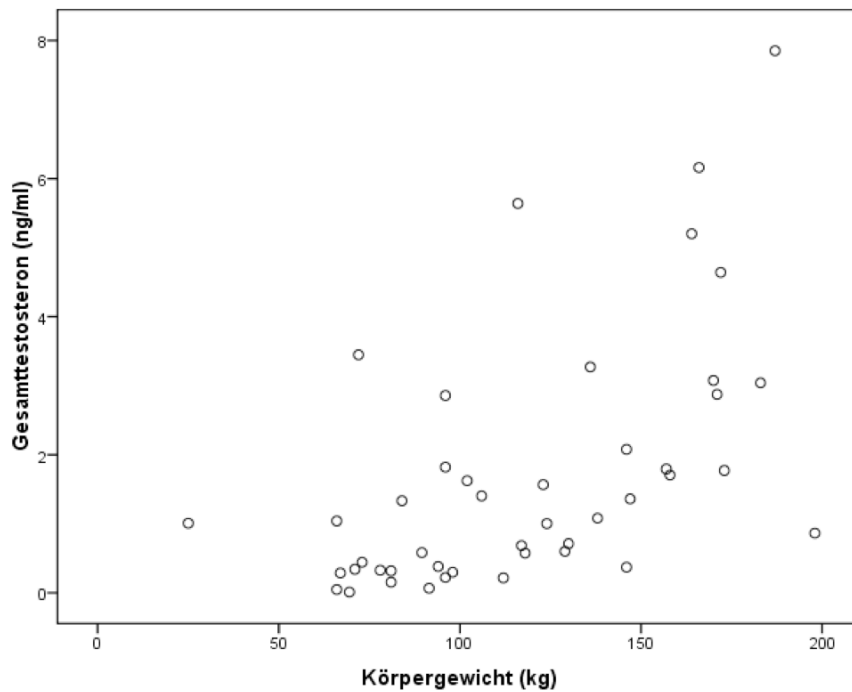


Abb. 49: Gesamttestosteron im Verlgleich mit dem Körpergewicht

4.4.1.2 Freies Testosteron

Das freie Testosteron wurde bei 46 Tieren gemessen. Die beiden Kälber hatten 0,74 pg/ml und 1,19 pg/ml. Bei den 6 juvenilen Tieren lag der Durchschnitt des freien Testosterons bei $0,66 \pm 0,72$ pg/ml und schwankte zwischen 0,03 pg/ml und 2,03 pg/ml. Die 14 subadulten Männchen hatten Werte von 0,03 pg/ml bis 6,4 ng/ml mit $1,46 \pm 1,84$ pg/ml im Mittel. Bei den 24 adulten Tieren variierte der Wert zwischen 0,43 pg/ml und 22,43 pg/ml ($x = 5,74 \pm 6,04$ pg/ml).

Die Werte des Gesamttestosterons korrelierten mit denen des freien Testosterons ($r = 0,96$; $p < 0,0001$, Abb. 50).

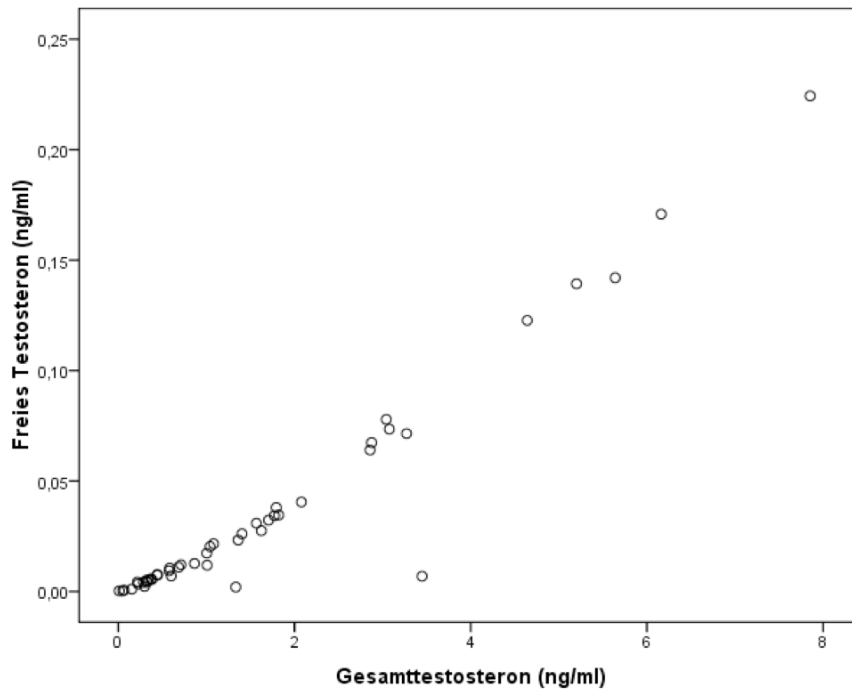


Abb. 50: Gesamttestosteron im Vergleich mit freiem Testosteron

4.4.1.3 Testosteron im Vergleich mit dem Hodenvolumen

Der Gesamttestosteronwert aller Tiere korrelierte ($r = 0,7$; $p = 0,0002$) mit dem Hodenvolumen (Abb. 51).

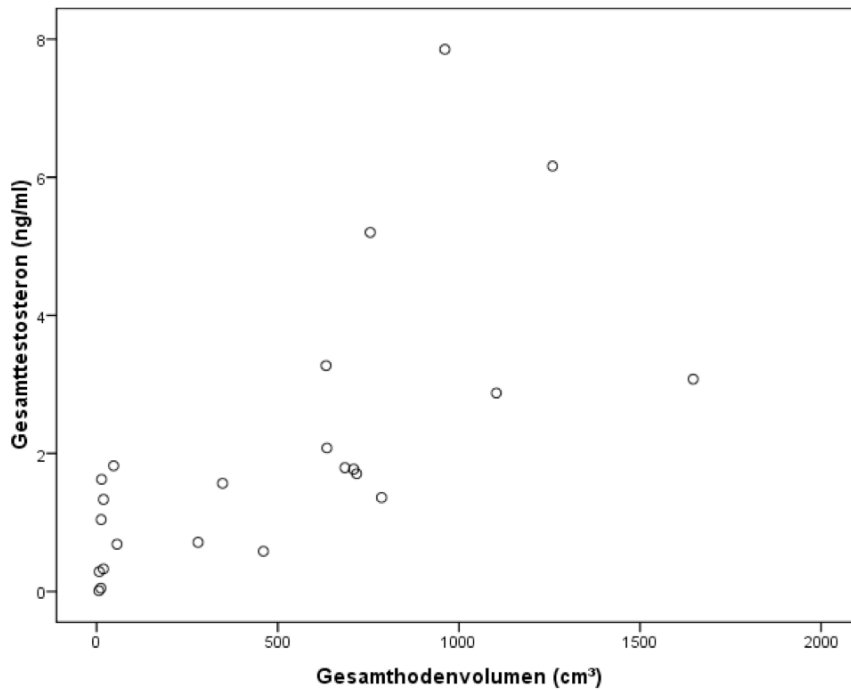


Abb. 51: Gesamthodenvolumen im Vergleich mit Gesamttestosteron

Bei zwei adulten Männchen wurde eine spontane Ejakulation während der Untersuchung beobachtet. Das Tier Nummer 118, das bereits zum dritten Mal gefangen wurde, hatte einen mittelgroßen Hoden (658 cm^3), einen niedrigen Testosteronwert ($1,79 \text{ ng/ml}$), und das Serumcortisol lag mit $31,1 \text{ ng/ml}$ im mittleren Bereich. Das andere Männchen „459“ wurde das erste Mal gefangen, es hatte den zweit höchsten Testosteronwert ($6,16 \text{ ng/ml}$), den zweit größten Hoden ($1258,6 \text{ cm}^3$) und einen Cortisolwert von $16,3 \text{ ng/ml}$. Im Anhang 5 ist das mikroskopische Bild des Spermias von diesem Männchen kurz nach der Ejakulation dargestellt.

4.4.2 Weibliche Tiere

4.4.2.1 Progesteron

Bei 61 Tieren wurde der Plasmaprogesteronwert mittels RIA ermittelt. Die Progesteronwerte aller adulten Delfine (47 Tiere) bewegten sich zwischen $0,04$ bis

29,98 ng/ml (Mittel \pm SD: 6,6 \pm 8,2 ng/ml). Bei den nicht trächtigen adulten Botos schwankten sie zwischen 0,04 ng/ml und 8,82 ng/ml (nicht laktierend, 15 Tiere, Mittel \pm SD: 1,9 ng/ml \pm 2,8 ng/ml) und 0,12 ng/ml bis 10,23 ng/ml bei den laktierenden Tieren (n = 17, Mittel \pm SD: 1,8 ng/ml \pm 3 ng/ml). Bei den trächtigen Botos reichten die Werte von 10,33 ng/ml bis 23,82 ng/ml (laktierend, 5 Tiere, Mittel \pm SD: 13,9 ng/ml \pm 5,7 ng/ml) und von 14,84 ng/ml bis 29,98 ng/ml bei den nicht laktierenden Tieren (n = 6, Mittel \pm SD: 21,2 ng/ml \pm 5,6 ng/ml). Von vier adulten Tieren ist nicht bekannt, ob sie trächtig waren oder nicht, sie hatten die Werte 9,82 ng/ml, 12,51 ng/ml, 19,27 ng/ml (nicht laktierend) und 14,8 ng/ml laktierend.

Das Serumprogesteron der drei Subadulten lag zwischen 0,13 ng/ml und 16,85 ng/ml ($x = 5,7 \pm 9,65$ ng/ml). Die neun Juvenilen hatten P4-Werte von 0,08 ng/ml bis 4,59 ng/ml ($x = 0,83 \pm 1,42$ ng/ml), die zwei Kälber 0,06 ng/ml bis 0,34 ng/ml ($x = 0,2 \pm 0,2$ ng/ml, Abb. 52).

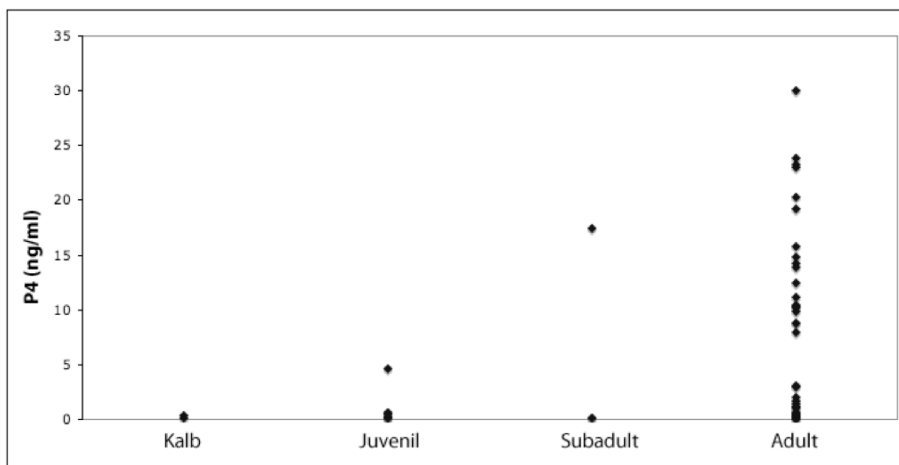


Abb. 52: Progesteronwerte in Abhängigkeit vom Alter (2 Kälber, 9 Juvenile, 3 Subadulten und 47 Adulte)

Ein juveniles Botoweibchen hatte mit 4,6 ng/ml Serumprogesteron als einzige ihrer Altersklasse > 1 ng/ml. Es ist das längste juvenile Weibchen mit 175 cm Körperlänge. Bei den subadulten Delfinen gab es ebenfalls ein Tier, das > 1 ng/ml und sogar mit 17,41 ng/ml mehr P4 als trächtige Tiere erreichte.

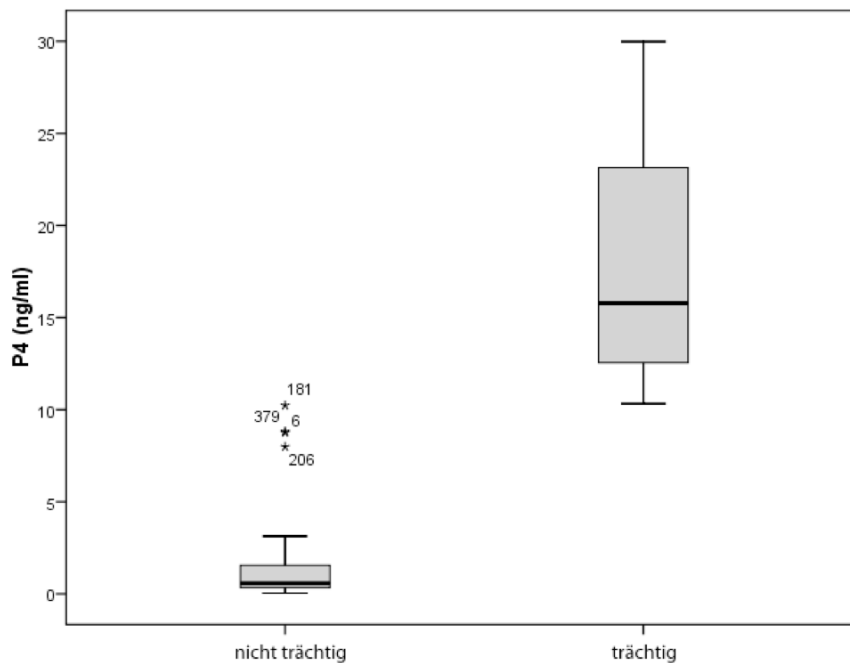


Abb. 53: Progesteronwerte in Abhängigkeit von der Trächtigkeit

Alle mittels Ultraschall als trächtig befundenen Botos wiesen > 10 ng/ml P4 auf (Abb. 53). Von den Tieren, bei denen sonographisch keine Trächtigkeit ermittelt wurde, erreichten 59% Progesteronwerte < 1 ng/ml, 22% 1 bis 2 ng/ml und 19% > 2 ng/ml. Das Tier Nummer 181 hatte als einziges nicht trächtiges 10,23 ng/ml P4 im Blut.

4.4.3 Cortisol bei beiden Geschlechtern

Nach der Einteilung in Altersklassen ergaben sich bei den 66 weiblichen Tieren folgende Cortisolwerte: 50 adulte Tiere zwischen 9,1 ng/ml und 57,8 ng/ml ($x = 31,1$ ng/ml), vier subadulte Botos zwischen 21,2 ng/ml und 30,9 ng/ml ($x = 23,9$ ng/ml), acht juvenile Tiere zwischen 16,1 ng/ml und 46,3 ng/ml ($x = 28,8$ ng/ml) und vier Kälber zwischen 17,2 ng/ml und 30,5 ng/ml ($x = 24,1$ ng/ml). Die 46 männlichen Botos hatten ähnliche Cortisolwerte: 24 adulte Delfine zwischen 7,7

ng/ml und 44,2 ng/ml ($x = 24,3$ ng/ml), 14 subadulte Tiere zwischen 9 ng/ml und 65,8 ng/ml ($x = 28$ ng/ml), sechs juvenile Botos zwischen 10,7 ng/ml und 33,6 ng/ml ($x = 25,8$ ng/ml) und zwei Kälber 4,7 ng/ml und 11,2 ng/ml.

Die Cortisolwerte bei adulten Weibchen waren bei trächtigen Tieren im Mittel 31,3 ng/ml, während die nicht trächtigen Tiere 31,1 ng/ml aufwiesen. Teilt man die Tiere ein in laktierende und nicht laktierende ergaben sich Mittelwerte von 31,5 ng/ml und 30,8 ng/ml.

Berücksichtigt man wie oft das Tier bereits gefangen wurde, ergaben sich folgende Cortisolwerte (Abb.54): 23 Tiere, die einmal gefangen wurden, lagen im Mittel bei 23 ng/ml; 30 Botos, die bereits zweimal untersucht wurden, hatten einen durchschnittlichen Cortisolwert von 28,1 ng/ml; die 37 Delfine, die dreimal bei einer Fangaktion dabei waren, hatten im Mittel 31 ng/ml Cortisol im Blut. 17 Tiere, die viermal gefangen wurden, lagen bei 28,3 ng/ml im Durchschnitt. Die fünf Tiere, die fünfmal gefangen wurden, hatten durchschnittlich 28,9 ng/ml Cortisol.

Zuletzt wurden die Cortisolwerte verglichen mit der Untersuchungszeit auf dem Flossboot (Abb. 55).

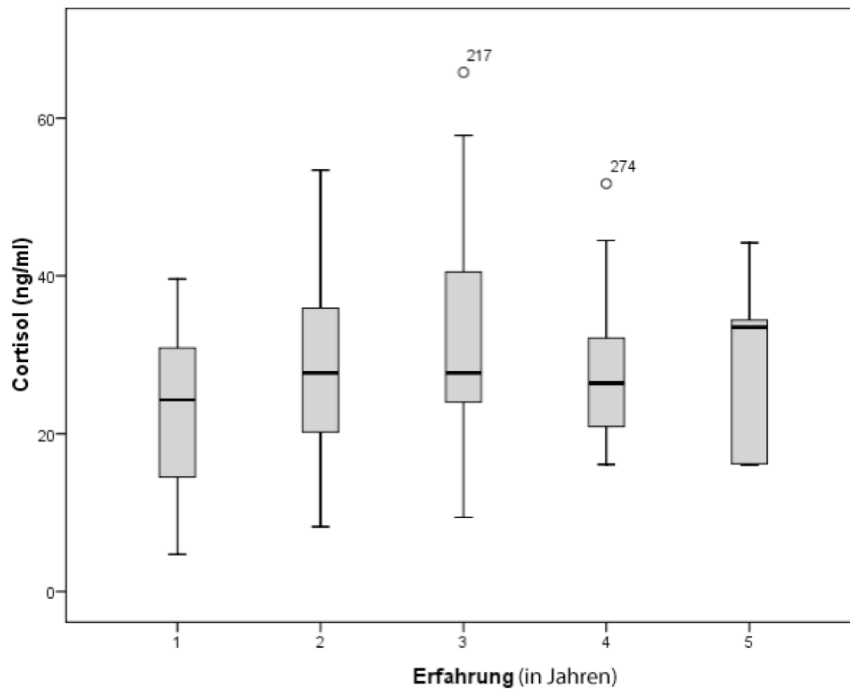


Abb. 54: Cortisolwerte im Bezug auf die Erfahrung (Anzahl der Fangjahre)

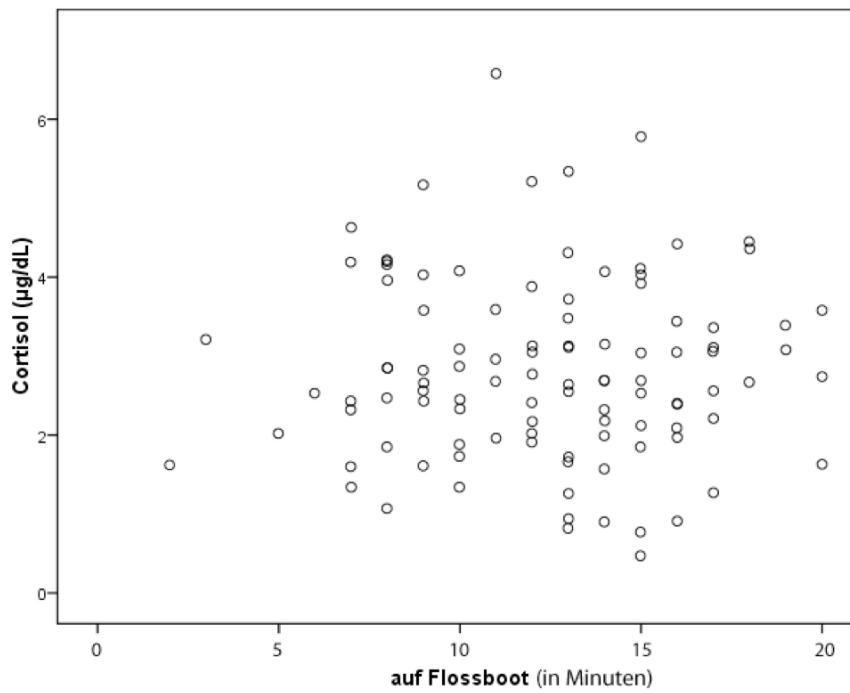


Abb. 55: Cortisolwerte in Abhängigkeit der Untersuchungsdauer auf dem Flossboot (Zeit in Minuten)

5 Diskussion

Die vorliegenden Untersuchungen liefern zum erstenmal Reproduktionsdaten des Amazonasdelfins *Inia geoffrensis*. Allerdings geben die Ergebnisse der Ultraschalluntersuchungen, der Hormonanalysen und der Vaginalzytologien bisher nur punktuelle Hinweise, vor allem weil die Datensammlung auf die Fangzeit einmal pro Jahr beschränkt war.

5.1 Alterseinschätzung

Die bisher übliche Einteilung in die vier Altersklassen Kalb, juvenil, subadult und adult anhand der Körperlänge, des Körpergewichts und der Gesamterscheinung (Hautfarbe, Anwesenheit von Kratzwunden, Verhaltens und Widerstandsfähigkeit) nach Best und da Silva (1984) erwies sich grundsätzlich als sinnvoll. Sie beruht auf der Erfahrung der Beurteiler. Es gibt keine klaren Grenzwerte zwischen den Klassen. Die Ergebnisse dieser Arbeit belegen, dass diese Einteilung keine eindeutige Zuordnung zu den Gruppen erlaubt und weitere Parameter wie Hodengröße, Testosteron-, Progesteronwert und Trächtigkeit als Unterscheidungsmerkmale wertvoll sind.

5.1.1 Männliche Tiere

Bei den männlichen Tieren zeigten sich klare Unterschiede zwischen den Kälbern und den juvenilen Botos sowohl bei der Körperlänge als auch beim Gewicht. Es gab lediglich ein Kalb (Boto „456“, Abb. 11), das anhand seiner Länge eher in die Gruppe der Juvenilen passen würde. Die Grenze zwischen juvenilen und subadulten Männchen war nicht klar zu definieren. Bei 40% der juvenilen Tiere und 42% der subadulten Tiere unterschied sich die Körperlänge nicht. Bei sogar 80% der juvenilen Tiere und 42% der subadulten Botos über-

lappte das Körpergewicht mit der jeweils anderen Altersgruppe. Auch die Abgrenzung zwischen den Altersklassen subadult und adult war nicht eindeutig. 58% der subadulten Delfine und 18% der adulten Tiere unterschieden sich nicht anhand der Körperlänge. Überschneidungen bei den Werten des Körpergewichts (Abb. 12) gab es bei 89% der subadulten und 24% der adulten Tiere. Ein als adulte eingestuftes Tier („Boto 307“) passte vom Gewicht und der Länge her besser in die Klasse der Juvenilen. Dieser Delfin wurde 2003 das erstmalig als juveniles Tier gefangen. Er war zum Zeitpunkt des Fangs 2007 ungefähr 5 Jahre alt, noch sehr jung, um sexuell reif zu sein. Die sexuelle Reife erreichen Botos erst mit ca. 8 Jahren (Martin and da Silva 2004c).

Betrachtet man bei den männlichen Tieren das Gesamthodenvolumen (Abb. 15), erkennt man klare Unterschiede zwischen den Hodenvolumina der juvenilen ($x = 10,4 \text{ cm}^3$) und adulten ($x = 753,2 \text{ cm}^3$) Tiere. Bei den Juvenilen und Subadulten ($x = 72,4 \text{ cm}^3$) gab es jeweils zu 50% und zu 42% Überschneidungen der Hodenvolumina mit der anderen Altersklasse. Zwischen den subadulten und adulten Botos waren die Hodenvolumina nicht klar abgrenzbar. Bei 29% der subadulten und 26% der adulten Tiere überschritten sich die Werte der Hodengrößen. Somit stellt das Hodenvolumen der Flussdelfine kein eindeutiges Kriterium zur Alterseinstufung dar. Die unterschiedlichen Volumina der adulten Tiere könnten sich durch eine Saisonalität erklären lassen, aber der Messzeitpunkt war jeweils im November. Entweder sind die als adult eingestuften Botos mit kleinem Hodenvolumen noch subadult oder nicht sexuell aktiv. Frühere postmortem Untersuchungen erwähnen, dass einige adulte Tiere sexuell inaktiv sind und ein kleineres Hodengewicht (0,2% des Körpergewichts) als sexuell aktive Botos (0,4% - 1,2% des Körpergewichts) aufweisen (Best and da Silva 1984). Auch bei Hengsten scheint die Spermatozoaproduktion direkt vom Hodengewicht abzuhängen und folglich stellt ein kleiner Hoden weniger Spermatozoa her (Gebauer, Pickett et al. 1974).

Erwägt man den Testosteronwert als zusätzliches Hilfsmittel zur Alterseinschätzung, erscheinen die Mittelwerte der Altersklassen der Juvenilen (Mittel \pm S.D.) $0,58 \pm 0,5$ ng/ml, der Subadulten $1 \pm 1,1$ ng/ml und der Adulten $2,4 \pm 2,1$ ng/ml geeignet. Allerdings gibt es auch hier zahlreiche Überschneidungen. Nur 25% der adulten Botos hatten höhere Testosteronwerte als die subadulten Tiere (Abb. 47).

Robeck (1989) rät beim Tümmler davon ab, den einmaligen Testosteronwert zur Beurteilung der sexuellen Reife zu nehmen. Er schlägt vor, bei Tümmlern in Menschenhand monatlich Serumtestosteron zu analysieren, um den Eintritt der sexuellen Reife und saisonale Unterschiede zu bestimmen.

5.1.2 Weibliche Tiere

Auch bei den weiblichen Botos sind die Grenzen zwischen den Altersklassen sehr unscharf. Am klarsten ließen sich Kälber von juvenilen Delfinen unterscheiden. Die meisten Überschneidungen gab es zwischen den subadulten und adulten Tieren, wobei 86% der Subadulten und 23% der Adulten im Körpergewicht überlappten (Abb. 14).

Wahrscheinlich sind einige der als subadult eingeteilten Tiere bereits sexuell reif, aber es konnte mittels Ultraschall kein Hinweis gefunden werden. Die sonographische Ovarialdiagnostik stellte sich bei wildlebenden Delfinen als problematisch heraus (siehe 5.2.2). Post-mortem Untersuchungen legen die Geschlechtsreife der weiblichen Tiere bereits bei 160 cm fest, die geringste Körperlänge bei der Funktionskörper und Narben im Ovar festgestellt wurden (Best and da Silva 1989). In der vorliegenden Arbeit war das kürzeste trächtige Weibchen 179 cm lang. Das leichteste trächtige Tier wog 73,5 kg. Dieses Tier wäre ohne Ultraschalluntersuchung als subadult eingestuft worden. Nimmt man den Progesteronwert 1 ng/ml als Grenze zur Geschlechtsreife, fallen zwei Tiere

auf (siehe 5.4.2). Sie könnten aufgrund ihres P4 - Wertes, der Länge und des Gewichts adult sein, wurden aber nicht als solche eingeteilt.

5.2 Sonographie

Ultraschall ist grundsätzlich eine schnelle und non-invasive Technik zur Beurteilung des Entwicklungsstandes, der sexuellen Aktivität oder zur Trächtigkeitsdiagnose. Bei der Untersuchung von Wildtieren sind die Bedingungen aber nicht optimal. Es muss schnell gearbeitet werden, und die Lichtverhältnisse im Feld verschlechtern die Bildqualität des Monitors. Ein besseres Gerät mit höherer Auflösung und größerem Monitor könnte dem entgegen wirken. Die Videoaufzeichnungen verbesserten die Resultate erheblich, so konnten nach den Untersuchungen nochmals die Befunde und Messungen kontrolliert und bestätigt werden. Auch wenn transabdominaler Ultraschall als non-invasive Technik gilt, haben doch einige Amazonasdelfine mit Abwehrbewegungen auf das Anlegen der Sonde reagiert. Als die Sonde jedoch mit ausgeschaltetem Gerät angelegt wurde, zeigten einige Tiere trotzdem eine Reaktion, die als Abwehr gedeutet wurde. Daraus lässt sich folgern, dass nicht nur die ausgesendeten Ultraschallwellen, sondern auch die ungewohnte Situation eine Rolle bei deren Reaktionen spielte.

Brooks Ultraschalltechnik (2.4.1 und 2.4.2) für Tümmler erwies sich mit Ausnahme der Untersuchung der Ovarien auch bei Amazonasdelfinen als gut durchführbar.

5.2.1 Sonographie der männlichen Tiere

Erstmals wurden Ultraschallaufnahmen von Flussdelfinhoden angefertigt. Die sonographische Betrachtung der Hoden zeigte bei den unterschiedlichen Alters-

klassen ein charakteristisches Bild. Adulte Hoden stellen sich als homogen gesprenkelt mit mittlerer bis hoher Echogenität im Vergleich zum benachbarten Muskel *M. hypaxialis lumbrorum* dar. Subadulte Hoden waren etwas kleiner, weniger definiert und das parenchymale Muster war weniger homogen als das des Muskels. Die Hoden von juvenilen Tieren waren deutlich kleiner und im Vergleich zum Muskel echoarm. Die Struktur der Hoden und Nebenhoden konnte klar dargestellt werden. Die Darstellung feiner Strukturen, wie der Hodenvene oder der Tubuli im Nebenhoden wäre mit einem höher auflösenden Gerät wahrscheinlich besser geglückt.

Die Ergebnisse des Gesamthodenvolumens der verschiedenen Altersklassen zeigen, dass die Hoden im Mittel bei den juvenilen Tieren $10,4 \text{ cm}^3$, bei den subadulten $135,6 \text{ cm}^3$ und bei den adulten $753,2 \text{ cm}^3$ groß sind. Es gibt zwei Grenzfälle bei den subadulten Botos „180“ und „270“, deren Hoden mit $347,6 \text{ cm}^3$ und $460,1 \text{ cm}^3$ Gesamtvolumen eher wie adulte Hoden aussahen. Bei Nachforschungen stellte sich heraus, dass beide etwa 8 Jahre alt und somit schon adult waren. Das als adult eingestufte Tier „307“, das schon wegen seiner kurzen Körperlänge auffiel, überraschte hingegen mit einem sehr kleinen Hodenvolumen ($18,5 \text{ cm}^3$). Möglicherweise war es erst juvenil.

Bei den adulten Tieren deutet ein großer Bereich des Gesamthodenvolumens ($113,1 \text{ cm}^3$ bis $1649,6 \text{ cm}^3$ ohne das Tier „307“) (Mittel \pm S.D.: $794 \pm 451,7 \text{ cm}^3$) darauf hin, dass nicht alle adulten Tiere sexuell aktiv sind. Dies wird durch post-mortem Untersuchungen (Harrison and Brownell 1971) bestätigt, bei denen die Iniahoden gewogen und histologisch untersucht wurden. Erst ab einem bestimmten Gesamtgewicht (1400g) wurden Spermatozoen in den Nebenhoden nachgewiesen. Best und da Silva (1984) vermuten, dass bei *Inias* eine monogame Fortpflanzung vorliegt und keine große „Investition“ der männlichen Tiere nötig ist. Sie folgern daraus, dass eine kleine Menge Sperma genügt, um den Fortbestand der Art zu sichern. Die Hoden der *Inias* machen im Gegensatz zu

Hoden von *Sotalias* (5%), der anderen Amazonasdelfinart (Best and da Silva 1984) nur etwa 1% der Körpermasse aus.

5.2.2 Sonographie der weiblichen Tiere

Ein Ziel der Ultraschalluntersuchungen war es, die Ovarien mit deren Funktionskörper darzustellen. Um den Zyklus von Amazonasdelfinen zu charakterisieren, sollten die Ergebnisse der Ovarialdiagnostik mit dem Progesteronwert und dem vaginalzytologischen Bild verglichen werden. Die Darstellung der Ovarien stellte sich bei den Wildtieren als schwer durchführbar heraus. Die Lichtverhältnisse und die Knappheit der Untersuchungszeit erschwerten es, diese Organe zu finden. Zudem waren bei den meisten Tieren der Verdauungstrakt mit Futter und Gas gefüllt, was eine Darstellung bei einmaliger Untersuchung beinahe unmöglich machte.

Nur in zwei Fällen wurden eindeutig Funktionsgebilde nachgewiesen. Beim Tier „209“ wurde ein Ovarfollikel (1,3 cm x 1,2 cm) gefunden (Abb. 27). In der Vaginalzytologie zeigte es 86% Intermediärzellen, 13% Superficialzellen und 1% Parabasalzellen und viele polymorphkernige Neutrophile. Der niedrige Progesteronwert (0,5 ng/ml) lässt es möglich erscheinen, dass dieser Boto sich im frühen Proöstrus befand. Beim Tümmler findet eine Ovulation ab einer Follikelgröße von mindestens 1,6 cm (Brook, Van Bonn et al. 2001a).

Als weiterer Funktionskörper zeigte sich beim Tier „444“ ein Gelbkörper mit der Größe 2,2 cm x 3,8 cm (Abb. 30). Das Tier war trächtig, also handelte es sich um einen Corpus luteum graviditatis. Beim Tümmler zeigen sich Gelbkörper von trächtigen Tieren größer (2,4 bis 3,9 cm) als die von nicht trächtigen (1,8 bis 3,2 cm) (Brook, Van Bonn et al. 2001a). In der Vaginalzytologie dieses Botoweibchens wurden außer wenigen Parabasalzellen keine weiteren Zellen gefunden. Eine Blutprobe für die Bestimmung des Progesteronwertes war nicht vorhanden.

Für die Trächtigkeitsdiagnostik stellt die transabdominale Sonographie ein geeignetes Medium dar. Unter den Feldbedingungen waren die Tiere nicht optimal gelagert, um den Schallkopf von unten an die laterale Bauchwand anzusetzen. Aus diesem Grund und wegen der kurzen und einmaligen Untersuchungszeit ist es möglich, dass sehr frühe Trächtigkeiten nicht erkannt wurden. Trotzdem gelang es 19 Tiere als trächtig zu diagnostizieren. Die meisten Trächtigkeiten befanden sich im ersten (Anzahl: 11 Tiere) und zweiten Trimester (Anzahl: 6 Tiere). Es wurde keine Trächtigkeit im dritten Trimester entdeckt. Geht man davon aus, dass die Inias ungefähr 12 Monate tragen wie der Große Tümmler, dann fiel die Hauptfortpflanzungszeit und die meisten Geburten mit der Trockenperiode (Juli bis November) zusammen. Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen die bisherige Vermutung von Best und da Silva (1989), dass die Geburten mit dem Wasserrückgang zusammen fallen. Es muss aber bedacht werden, dass die Datensammlung nur einmal im Jahr stattfand.

5.3 Vaginalzytologie

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war mit Hilfe der Vaginalzytologien festzustellen, ob das Erscheinungsbild des Vaginalepithels beim Flussdelfin ähnlich wie beim Hund eine Zyklusdiagnostik zulässt.

In einer Arbeit mit Hündinnen, bei der die Zytologien zweier verschiedener Entnahmeorte verglichen wurden, stellte sich heraus, dass sich das Zellbild der Vagina vor allem im Östrus vom Zellbild des Vestibulums unterscheidet (Röttger, Goericke-Pesch et al. 2010). Es wird vermutet, dass bei den Botozytologien der Ort der Entnahme nicht immer der gleiche war. Im Moment des Einführens des Vaginaltupfers haben sich einige Tiere bewegt und es ist möglich, dass dabei Zellen aus dem Vulvaepithel mit abgetragen wurden. Dies könnte mitunter ein

Grund sein, warum die Ergebnisse der Vaginalzytologien schwer interpretierbar sind.

Es kristallisierten sich keine deutlichen Unterschiede der Zellverteilung zwischen den verschiedenen Altersklassen (Abb. 39, 42, 44) oder den Zytologien der trächtigen und nicht trächtigen Flussdelfine (Tab. 1, 2, 3) heraus.

Mehrere Abstriche des gleichen Tupfers erzeugten sehr unterschiedliche Zellbilder, so dass der Untersucher U1 beim gleichen Tier eine sehr variierende Zellverteilung entdeckte (Abb. 45 und 46). Selbst bei wiederholter Auswertung des identischen Präparates bei Ehlers (2000) Untersuchungen von Hundezytologien erwies sich die Reproduzierbarkeit, die von einem Untersucher erzielt wurde, als begrenzt.

Die Ergebnisse der identischen Präparate der Botos wichen bei den verschiedenen Untersuchern U1 - U3 (Tab. 1, 2, 3) teilweise extrem voneinander ab. Dies lässt sich zum einen durch die unterschiedliche Erfahrung und zum andern durch die fehlende Literatur beim Delfin erklären. Betrachtet man nur die Ergebnisse von Untersucher U1 bei allen Altersklassen waren die Intermediärzellen am häufigsten vertreten. U2 und U3 dagegen zählten am meisten Superfizialzellen. Mit dem ausgearbeiteten Auswertungsprotokoll (Anhang 1) wurde versucht eine einheitliche Durchmusterung der Präparate zu erreichen. Trotzdem waren die Ergebnisse individuell sehr unterschiedlich. Das Vorkommen von Zellhaufen und Zelltrümmern in einigen Präparaten erschwerte die Charakterisierung der Zellen zudem. Zusätzlich ist es möglich, dass das Ausrollen der Vaginaltupfer auf die Objektträger mit Druck geschehen ist und einige Zellen dadurch beschädigt wurden. Diese beschädigten Zellen haben die Bewertung ebenfalls erschwert.

Letztlich kann man sagen, dass die Vaginalzytologie beim Flussdelfin vielleicht nicht im direkten Zusammenhang mit dem Reproduktionszyklus steht und dadurch zufällige Befunde das Zellbild bestimmen. Zusätzlich war es keine gute Voraussetzung, dass der Ort der Probenentnahme nicht kontrolliert war. Hinzu

kommt, dass die Entnahmezeit auf einmal im Jahr beschränkt war. Unter diesen Umständen konnten keine verwertbaren Ergebnisse über die Zykluseigenschaften der Botos gewonnen werden.

5.4 Hormonanalysen

Ziel der Analyse der Sexualsteroid Testosteron und Progesteron war es, Aussagen über die sexuelle Reife, den Reproduktionsstatus oder Trächtigkeit machen zu können. Cortisol wurde betrachtet, um erste Werte bei wildlebenden Tieren zu erhalten.

5.4.1 Testosteron

Es wurde sowohl das freie als auch das Gesamttestosteron betrachtet. Wie erwartet korrelierte das freie Testosteron mit dem Gesamttestosteron ($r = 0,96$; $p < 0,0001$). Um Aussagen über die physiologische Aktivität des Hodens zu machen, ist das Gesamttestosteron entscheidend.

Es zeigten sich klare Unterschiede im Testosteronwert zwischen den verschiedenen Altersklassen. Die juvenilen Tiere hatten im Mittel 0,58 ng/ml, die subadulten 1 ng/ml und die adulten 2,4 ng/ml. Als Grenzwert für sexuelle Reife wurde 1 ng/ml vorgeschlagen, ähnlich zu Pilotwalen (Kita, Yoshioka et al. 1999). Es scheint aber nicht sinnvoll, allein den Testosteronwert heranzuziehen, um festzustellen, ob ein Tier die sexuelle Reife erreicht hat oder nicht. Ein adulter Boto hatte einen geringeren Testosteronwert als ein juveniler, obwohl er größere Hoden hatte. Das Tier mit einem der größten Hoden (1646,7 cm³) hatte nicht gleichzeitig den höchsten Testosteronwert. Der Delfin mit dem höchsten Serumtestosteronwert (7,9 ng/ml) hatte nur mittelgroße Hoden (961,2 cm³). Auch von Großen Tümmlern wird berichtet, dass die Testosteronwerte erheblich

schwanken, z.B. bei einem dominanten Männchen zwischen 1,89 ng/ml bis 15 ng/ml. Bei einem anderen dominanten Tier, das auch erfolgreich Nachwuchs gezeugt hatte, war der Testosteronwert meist bei 2 ng/ml und seine Hoden waren kleiner als die der anderen männlichen Tümler (Baumgartner 2010, mündliche Information).

Zwei Botos ejakulierten spontan, als sie auf dem Flossboot untersucht wurden. Im Ejakulat wurde mikroskopisch Spermatozoa nachgewiesen. Dies zeigte, dass ein Tier mit einem Serumtestosteronwert von 1,79 ng/ml und einem Hodenvolumen von 658,1 cm³ Sperma produzieren kann.

Ein Boto wurde in zwei aufeinanderfolgenden Jahren gefangen. Als subadultes Tier hatte er 3,45 ng/ml Serumtestosteron und im Jahr darauf als junger Adulter nur noch 0,33 ng/ml. Dies könnte darauf hinweisen, dass die Testosteronsekretion beim Boto pulsatil erfolgt, wie bei den meisten Haussäugetierspezies (Döcke 1994).

5.4.2 Progesteron

Die Kälber und juvenilen Tiere hatten im Mittel 0,2 ng/ml und 0,83 ng/ml. Es war auffallend, dass sexuell unreife Tiere Progesteronwerte von < 1 ng/ml zeigen. Zahlreiche Untersuchungen bei verschiedenen Cetaceenarten belegen diese Annahme (Yoshioka, Aida et al. 1989), (Tempte and Spielvogel 1985), (Sawyer-Steffan, Kirby et al. 1983), (West 2002), (Katsumata, Furuta et al. 2006a) (Yoshioka, Aida et al. 1989).

Ein einziges juveniles Botoweibchen lag mit 4,6 ng/ml Serumprogesteron über dieser Grenze. Aufgrund ihrer Länge (175 cm) und ihres Gewichts (67 kg) könnte sie aber schon als geschlechtsreifes zierliches Tier eingestuft werden.

Die subadulten Botos hatten im Mittel 5,7 ng/ml und im Median 0,15 ng/ml P4. Ein als subadult eingestufte Tier mit 17,41 ng/ml war wahrscheinlich schon a-

dult. Der hohen P4 Wert lässt sich entweder durch ein Trächtigkeit im frühen per Ultraschall nicht erfassbaren Stadium erklären oder war zyklusbedingt.

Die adulten Delfine hatten durchschnittlich 6,6 ng/ml Serumprogesteron, wobei alle trächtigen Tiere > 10 ng/ml zeigten (Abb. 53).

Es ist wahrscheinlich, dass sehr frühe Trächtigkeiten mittels Ultraschall nicht detektiert worden sind. Die vorliegenden Ergebnisse weisen stark darauf hin, dass 10 ng/ml P4 als Grenzwert für eine Trächtigkeit angenommen werden kann. Beim Tümmler gelten Serumprogesteronwerte > 3 ng/ml, gemessen über einen längeren Zeitraum, als Indizien für Trächtigkeit (Sawyer-Steffan, Kirby et al. 1983).

Eine positive Korrelation zwischen Progesteron und der Fötuslänge (Mansour 2002) konnte nicht festgestellt werden, sondern eine schwache negative Korrelation. Allerdings war die Anzahl der Tiere in fortgeschrittener Trächtigkeit gering. Auch bei Tümmlern können die P4 - Werte in der zweiten Trächtigkeitshälfte abfallen, weil die Progesteronsynthese ihren Ort vom C.L. in die Plazenta verlagert (Baumgartner 2010, mündliche Information). Es liegen zu wenige Messdaten vor, um genauere Aussagen über den Progesteronverlauf beim Boto zu machen.

5.4.3 Cortisol bei beiden Geschlechtern

Cortisol schwankte bei allen Tieren zwischen 4,7 bis 65,8 ng/ml. Die Werte korrelierten weder mit dem Alter, dem Geschlecht, der Körpergröße noch mit dem Reproduktionsstatus. Knutsson (1997) kam bei seiner Untersuchung mit Menschen zu ähnlichen Ergebnissen. Er folgerte, dass die interindividuelle Variabilität groß, signifikant und Anzeichen für eine physiologische Homeostase sei. Allerdings befanden sich die Botos nicht unter natürlichen Bedingungen, sondern in einer Ausnahmesituation. Es ließ sich kein Zusammenhang zwischen Cortisol und der Dauer, in der die Tiere unter Stress waren, erkennen. Die Anzahl an vo-

rausgegangenen Fangaktionen, schien keine Rolle zu spielen (Abb. 54). Man kann also nicht davon ausgehen, dass sich die Tiere an so einen Eingriff gewöhnen oder daraus lernen. Die Cortisolwerte der Botos unter den vorliegenden Bedingungen ($x = 28,1$ ng/ml) sind vergleichbar mit Werten wilder Tümmler ($x = 26$ ng/ml) (St. Aubin, Ridgway et al. 1996). In Menschenhand zeigen Tümmler im Rahmen eines Trainings Cortisolwerte < 1 ng/ml, und wenn sie gefangen werden ca. 3 ng/ml (Baumgartner 2010, mündliche Information). Es wird angenommen, dass das gemessene Serumcortisol die Werte eines Botos unter Stress darstellt und die Basalwerte niedriger sind.

6 Zusammenfassung

Über die Reproduktion des Amazonasdelfins (*Inia geoffrensis*, Boto) ist wenig bekannt. Diese Studie wurde im November 2006, 2007 und 2008 im Mamirauá Reservat in Zentralamazonien während der jährlichen Fangaktion, die Teil eines Langzeitforschungsprojekts von wilden Botos ist, durchgeführt. Es wurden 178 (76 männlich und 102 weiblich) Delfine gemessen (Körperlänge, Körpergewicht) und 114 Tiere (54 männlich und 60 weiblich) mittels Ultraschall (mit einem tragbaren Sonosite 180 Plus und einer C60/5-2Mhz Sonde) untersucht. Bei 49 weiblichen Tieren wurden Proben zur Vaginalzytologie entnommen und bei 112 Delfinen wurden Blutproben für die Analyse von Testosteron (46 männliche Tiere), Progesteron (66 weibliche Tiere) und Cortisol (46 männliche und 66 weibliche Tiere) gewonnen.

Die bisher gängige Alterseinteilung nach Best und da Silva (1984) führte nicht in jedem Fall zu eindeutigen Ergebnissen, insbesondere bei juvenilen, subadulten und adulten Tieren. Auch die Zuhilfenahme von Parametern wie das sonographisch ermittelte Hodenvolumen und der Testosteronspiegel bei männlichen Tieren, sowie die Sonographie des Genitales und der Progesteronspiegel bei weiblichen Tieren konnte keine allgemeingültigen Hinweise zur Altersbestimmung bringen.

Die Sonographie der Hoden war einfach durchzuführen und lieferte sichere Werte für die Hodengröße. Die Testosteronwerte schwankten sehr stark, was durch die einmalige Entnahme zusammen mit einer wahrscheinlich pulsatilen Ausschüttung erklärt werden kann.

Bei den weiblichen Tieren konnten die Ovarien sonographisch nur in Ausnahmefällen dargestellt werden. Die Trächtigkeitsdiagnose mittels Ultraschall war im 1. und 2. Trimester einfach und sicher durchzuführen, nur in der sehr frühen Trächtigkeit bestanden Defizite.

Die Vaginalzytologie lieferte keine zuverlässigen Hinweise auf den Sexualzyklus der Botos.

Progesteronwerte von > 10 ng/ml waren mit einer Gravidität verbunden.

Die Cortisolwerte standen in keiner Beziehung zum Alter, Geschlecht, Reproduktionsstatus oder der Dauer der Fangaktion.

Wichtigstes Ergebnis dieser Studie ist die zuverlässige Trächtigkeitsuntersuchung mittels Ultraschall beim Boto.

Die Reproduktion beim Boto bedarf weiterer Untersuchungen.

7 Summary

There is little information available about the reproduction of Amazon River Dolphins (*Inia geoffrensis*, boto). This study was conducted in November 2006, 2007 and 2008 during an annual capture campaign as part of a long-term research project on wild botos in the Mamirauá Reserve in the central Amazon. 178 (76 male and 102 female) dolphins were measured (body length, body weight) and 114 (54 male and 60 female) animals were scanned with sonography (Sonosite 180 Plus with a C60/5-2 MHz probe). Vaginal cytologies from 49 female animals were examined and blood samples of 112 animals were analysed for testosterone (46 male botos), progesterone (66 female botos) and cortisol (46 male and 66 female botos).

The estimation of age by Best and da Silva (1984) did not provide a clear classification, particularly in the group of juvenile, subadult and adult botos. The use of additional parameters like testis volume (sonography) and testosterone level in males and sonography of the genital tract and progesterone level in females did not lead to unequivocal determination of age.

Sonography of the testes is easy to conduct and provides reliable results for testis size. The testosterone values were very variable, due to the single sampling regimen together with a probably pulsatile secretion.

In female river dolphins the ovaries could only be detected by sonography in exceptional cases. The sonographic diagnosis of pregnancy was easy to apply in the first and second trimester. Only in early pregnancy it showed deficits.

Vaginal cytology could not provide evidence about the sexual cycle of botos.

Progesterone values > 10 ng/ml were associated with pregnancy.

The cortisol values did correlate with neither age, sex, reproductional status nor with the duration of the capture action.

The most important result of this study is the reliable diagnosis of pregnancy via sonography in botos.

The reproduction of botos requires further studies.

8 Literaturverzeichnis

- Adams, G. P., E. D. Plotka, et al. (1991). "Feasibility of characterizing reproductive events in large, non-domestic species by transrectal ultrasonic imaging." Zoo Biology **10**: 247-253.
- Agrimonti, F., A. Angeli, et al. (1982). "Circannual rhythmicities of cortisol levels in the peripheral plasma of healthy subject." Chronobiologia **9**: 107-114.
- Allen, W. E. (1994). Fruchtbarkeit und Geburtshilfe beim Hund. Stuttgart, Enke Verlag.
- Arkowitz, R. A. and S. A. Rommel (1985). "Force and bending moment of the caudal muscles in the short finned pilot whale." Marine Mammal Science **1**: 203-209.
- Asher, G. W., A. M. Day, et al. (1987). "Annual cycle of liveweight and reproductive changes of farmed male fallow deer (*Dama dama*) and the effect of daily administration of melatonin in summer on the attainment of seasonal fertility." J. Reprod. Fertil. **79**: 353-362.
- Atkinson, S. K. C., C. Combelles, et al. (1999). "Monitoring of progesterone in captive female false killer whales (*Pseudorca crassidens*)." General and Comparative Endocrinology **115**: 323-332.
- Atkinson, S. K. C. and M. Yoshioka (2007). Endocrinology of Reproduction. Reproductive Biology and Phylogeny of Cetacea. D. L. Miller. Enfield, NH, Science Publishers. **7**: 171-192.
- Banguera-Hinestroza, E., H. Cardenas, et al. (2002). "Molecular identification of evolutionarily significant units in the Amazon River Dolphin *Inia* sp. (*Cetacea:Iniidae*)." J. Hered. **93**(5): 312-322.
- Bechert, U. S., L. Swanson, et al. (1999). "Serum prolactin concentrations in the captive female African elephant (*Loxodonta africana*): potential effects of season and steroid hormone interactions." Gen. Comp Endocrinol. **114**: 269-278.
- Bedford, J. M. (1977). Evolution of the scrotum: the epididymis as the prime mover. Reproduction and Evoution. J. H. Calaby and C. H. Tyndale-Biscoes. Canberra City, Australian Academy of Science: 171-182.
- Bell, A. W. (1987). Consequences of severe heat stress for fetal development. Heat Stress: Physical Exertion and Environment. J. R. S. Hales and D. A. B. Richards. Amsterdam, Elsevier: 313-333.
- Bell, A. W., C. E. Wood, et al. (1991). "Influence of reproductive state on pituitary-adrenal activity in the ewe." Domest. Anim. Endocrinol. **8**: 245-254.
- Benirschke, K. and L. H. Cornell (1987). "The placenta of the kiler whale, *Orcinus orca*." Marine Mammal Science **3**: 82-86.
- Benirschke, K., M. L. Johnson, et al. (1980). "Is ovulation in dolphins, *Stenella longirostris* and *Stenella attenuata*, always copulation induced?" Fisheries Bulletin **78**: 507-528.
- Best, R. C. and V. M. F. da Silva (1984). Preliminary analysis of reproductive parameters of the boutu, *Inia geoffrensis*, and the tucuxi, *Sotalia fluviatilis*, in the Amazon River system. Rep. Int. Whaling Comm. Special Issue **6**: 361-369.
- Best, R. C. and V. M. F. da Silva (1989). Biology, Status and Conservation of *Inia geoffrensis* in the Amazon and Orioco River basins. Biology and Conservation of the Platanistoid Dolphins, Wuhan, China, IUCN, Gland, Switzerland.
- Best, R. C. and V. M. F. da Silva (1993). "*Inia geoffrensis*." Mammalian Species **426**: 1-8.
- Boede, E. O., E. Mujica-Jorquera, et al. (1998). "Management of the Amazon River dolphin *Inia geoffrensis* at Valencia Aquarium, Venezuela." International Zoo Yearbook **36**(1): 214-222.
- Boice, R. C., M. L. Swift, et al. (1964). "Cross-sectional anatomy of the dolphin." Nor Hvalfangst **7M**(7): 178-193.
- Bottoms, G. D., O. F. Roesel, et al. (1972). "Circadian variation in plasma cortisol and corticosterone in pig and mare." Am. J. Vet. Res. **33**: 785-790.
- Boyd, I. L., C. Lockyer, et al. (1999). Reproduction of marine mammals. Biology of Marine Mammals. J. E. Reynolds III and S. A. Rommel. Washington, DC, Smithsonian Institution Press: 218-286.
- Brecht, M., B. Preilowski, et al. (1997). "Functional architecture of the mystacial vibrissae." Behav. Brain Res. **84**: 81-97.
- Briggs, M. B., W. Van Bonn, et al. (1995). Effects of leuprolide acetat in depot suspension on testosterone levels, testicular size and semen production in male atlantic bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). IAAAM Proceedings.
- Brook, F. M. (2000a). Sonographic testicular and ovarian assessment in the bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus aduncus* The Bottlenose Dolphin Breeding Workshop, Silver Springs, MD, AZA Marine Mammal Taxon Advisory Group.

- Brook, F. M. (2001b). "Ultrasonographic imaging of the reproductive organs of the female bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus aduncas*." Reproduction **121**(3): 419-28.
- Brook, F. M., D. C. M. A. Chow, et al. (1991). "Ultrasound imaging of the reproductive tract of the male bottlenose dolphin." British Journal of Radiology **763**: 645.
- Brook, F. M., R. Kinoshita, et al. (2000b). "Ultrasonographic imaging of the testis and epididymis of the bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus aduncas*." J Reprod Fertil **119**(2): 233-40.
- Brook, F. M., Kinoshita R., et al. (2002). "Histology of the ovaries of a Bottlenose Dolphin (*Tursiops aduncus*), of known reproductive history." Marine Mammal Science **18**(2): 540-544.
- Brook, F. M., W. Van Bonn, et al. (2001a). Ultrasonography. Handbook of Marine Mammal Medicine. L. A. Dierauf and F. M. D. Gulland. Boca Raton, CRC Press: 593-620.
- Brooks, D. T., T. B. Thorson, et al. (1981). Freshwater stingrays (Potamotrygonidae) and their helminth parasites: testing hypotheses of evolution and coevolution. Advances in cladistics. V. A. Funk and D. T. Brooks. New York, New York Botanic Garden: 147-175.
- Bubenik, G. A., D. Schams, et al. (1998). "Seasonal levels of metabolic hormone and substrated in male and female reindeer (*Rangifer tarandus*)." Comp. Biochem. Physiol. C **120**: 307-315.
- Byers, S. W., K. F. Dowsett, et al. (1983). "Seasonal and circadian changes of testosterone levels in the peripheral blood plasma of stallions and their relations to semen quality." J. Endocrinology **99**: 141-150.
- Cabrera, A. and J. Ypes (1940). Mamíferos Sud-Americanos. Comp. Argentina de Editores. Buenos Aires: 370.
- Caldwell, M. C. and D. K. Caldwell (1972). Behavior of marine mammals Mammals of the sea. S. H. Ridgway. Springfield, Illinois, Charles C. Thomas: 419-459.
- Caldwell, M. C., D. K. Caldwell, et al. (1989). *Inia geoffrensis* in captivity in the United States. Biology and conservation of the river dolphins, Gland, IUCN.
- Carwardine, M. (2005). Segredos da Natureza - Baleias, Golfinhos e Botos, Bertrand Editora.
- Christiansen, I. J. (1984). Reproduction in the Dog and Cat. London, Baillière Tindall.
- Cockcroft, V. G. and G. J. B. Ross (1990). "Age, Growth, and Reproduction of Bottlenose Dolphins *Tursiops truncatus* from the East Coast of Southern Africa." Fishery Bulletin **88**(2): 289-302.
- Cockrill, W. R. (1960). "Pathology of the cetacea." British Veterinary Journal **116**(Part 1): 133-144.
- Collet, A. and D. Robineau (1988). Data on the genital tract and reproduction in Commerson's dolphin (*Cephalorhynchus commersonii* (Lacepede, 1804)), from the Derguelen Islands. Reports of the International Whaling Commission. Special Issue 9: 119-141.
- Collet, A. and H. Saint Girons (1984). Preliminary study of the male reproductive cycle in common dolphins, (*Delphinus delphis*), in the Eastern North Atlantic. Rep. Int. Whal. Comm. Special Issue 6: 355-360.
- Cornell, L. H. and E. D. Asper (1978). "A census of captive marine mammals in North America." Int. Zoo Yearbook **18**: 220-224.
- Cornell, L. H., E. D. Asper, et al. (1977). Experiences of Sea World from 1963 to present with *Tursiops truncatus* reproduction and some plans for the future. Breeding Dolphins: Present Status, Suggestions for the Future. S. H. Ridgway and K. Benirschke. Washington, DC, U.S. Dept. of Commerce. **NTIS PB-273-673**: 273-673.
- Cornell, L. H., E. D. Asper, et al. (1987). "Results of a long range captive breeding programme for the bottlenose dolphin." Zoo Biology **6**: 41-53.
- Costa, D. P. and T. M. Williams (1999). Marine mammal energetics. Biology of Marine Mammals. J. E. Reynolds and S. A. Rommel. Washington, DC, Smithsonian Institution Press: 176-217.
- Cowell, R. L., R. D. Tyler, et al. (1999). Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat. St. Louis, MO, Mosby.
- Cowles, R. B. (1958). "The evolutionary significance of the scrotum." Evolution **XII**: 417-418.
- Cunningham, G. R. and C. Huckins (1979). "Persistence of complete spermatogenesis in the presence of low intra-testicular concentrations of testosterone." Endocrinology **105**: 177.
- Czeisler, C. A. and E. B. Klerman (1999). "Circadian and sleep-dependent regulation of hormone release in humans." Recent Prog. Horm. Res. **54**: 97-132.
- D'Orbigny, M. A. (1834). "Notice sur un nouveau genre de cetacé des rivieres du centre de l'Amérique meridionale." Nouveau annals du Musee d'Histoire Naturel de Paris **3**: 28-36.
- da Silva, V. M. F. (1994). Aspects of the biology of the Amazonian dolphins genus *Inia* and *Sotalia fluviatilis*. St. John's College. Cambridge, England, Cambridge University. **Ph.D.**: 327.

- Desportes, G. and A. Lacroix (1987). Preliminary study of the male reproductive cycle in the pilot whale *Globicephala melaena*, off the Faroe Islands, using testes examinations and testosterone assay. 39th IWC Scientific Committee: 15.
- Dierauf, L. A. and F. M. D. Gulland (2001). Handbook of marine mammal medicine. Boca Raton, Florida, CRC Press.
- Döcke, F. (1994). Keimdrüsen. Veterinärmedizinische Endokrinologie. F. Döcke. Stuttgart, Gustav Fischer Verlag Jena: 480-486.
- Dold, C., J. Sweeney, et al. (2000). Circulating levels of cortisol and aldosterone in the atlantic bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*): a comparative look at display animals. IAAAM 31st Annual Conference Proceedings, New Orleans, Louisiana.
- Dorr, H. G., A. Heller, et al. (1989). "Longitudinal study of progestins, mineralocorticoids, and glucocorticoids throughout human pregnancy." J. Clin. Endocrinol. Metab. **68**: 863-868.
- Ehlers, J. P. (2000). Standardisierung und Reproduzierbarkeit der Vaginalzytologie bei der Hündin und ihr Einsatz bei der Bestimmung des optimalen Belegungszeitraumes. Gynäkologische und Ambulatorische Tierklinik. München, Tierärztliche Fakultät der LMU: 146.
- Essapian, F. S. (1963). "Observations on abnormalities of parturition in captive bottlenosed dolphins, *Tursiops truncatus*, and concurrent behavior of other porpoises." Journal of Mammalogy **44**: 405-414.
- Etnier, S. A., J. L. Dearolf, et al. (2004). Postural role of lateral axial muscles in developing bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). Proceedings of the Royal Society of London.
- Feldmann, E. C. and R. W. Nelson (1996). Canine and Feline Endocrinology and Reproduction, W.B.Saunders Company Philadelphia.
- Fleming, A. D., R. Yanagimachi, et al. (1981). "Spermatozoa of the Atlantic bottlenosed dolphin, *Tursiops truncatus*." Journal of Reproduction and Fertility **63**: 509-514.
- Flisinska-Bojanowska, A., M. Komosa, et al. (1991). "Influence of pregnancy on diurnal and seasonal changes in cortisol, T, and T4 levels in the mare blood serum." Comp. Biochem. Physiol. A **98**: 23-30.
- Fukui, Y. (2007). Ovary, Oogenesis, and Ovarian Cycle. Reproductive Biology and Phylogeny of Cetacea. D. L. Miller. Enfield, NH, Science Publishers. **7**: 193-214.
- Fukui, Y., T. Mogoe, et al. (1996). "Relationships among morphological status, steroid hormones, and post-thawing viability of frozen spermatozoa of male minke whales (*Balaenoptera acutorostrata*)." Marine Mammal Science **12**(1): 28-37.
- Fulkerson, W. J., G. J. Sawyer, et al. (1980). "Investigations of ultradian and circadian rhythms in the concentration of cortisol and prolactin in the plasma of dairy cattle." Aust. J. Biol. Sci. **33**: 557-561.
- Gaskin, D. E. (1982). The ecology of whales and dolphins. Heinemann Educational Books Ltd.: 459.
- Gaspar, C., K. L. West, et al. (2003). Serum cortisol and thyroid hormone concentrations in stranded and healthy rough-toothed dolphins (*Steno bredanensis*). IAAAM 34th Annual Conference Proceedings, Waikaloa, Hawaii.
- Gebauer, M. R., N. W. Pickett, et al. (1974). "Reproductive physiology of the stallion: Daily sperm output and testicular measurements." JAVMA **165**(8): 711-713.
- Geschke, K. (2001). Veterinärmedizinische Aspekte der Zucht des Großen Tümmlers (*Tursiops truncatus*) in Menschenhand. Medizinische Tierklinik München, Tierärztliche Fakultät der LMU
- Gewalt, W. (1978). "Unsere Tonina (*Inia geoffrensis* Blainville 1817) Expedition 1975." Der Zoologische Garten **48**: 323-384.
- Gewalt, W. (1979). "Selbsterfundene Unterwasser-"Jongleur"-Spiele bei *Inia geoffrensis* (de Blainville, 1817)." Sonderdruck aus Zeitschrift für Säugetierkunde **44**: 57-58.
- Gilbert, R. D. and G. G. Power (1986). "Fetal and uteroplacental heat production in sheep." Journal of Applied Physiology **61**: 2018-2022.
- Gilbert, R. D., H. Schroder, et al. (1985). "Heat transfer pathways between fetal lamb and ewe." Journal of Applied Physiology **59**: 634-638.
- Grabbert, H. (1983). "Migration and speciation of the South American Iniidae (Cetacea, Mammalia)." Sonderdruck aus Zeitschrift für Säugetierkunde **49**: 334-341.
- Green, R. F. (1977). Anatomy of the reproductive organs in dolphins. Breeding Dolphins: Present Status, Suggestions for the Future. S. H. Ridgway and K. Benirschke. Washington, DC, USA, US Department of Commerce. **NTIS PB-273-673**: 185-191.
- Hamilton, H., S. Caballero, et al. (2001). Evolution of river dolphins. Proceedings of the Royal Society of London.

- Hamilton, P. K., A. R. Knowlton, et al. (1988). "Age structure and longevity in North Atlantic right whales (*Eubalaena glacialis*) and their relation to reproduction." Marine Ecology Progress Series **171**: 285-292.
- Harrison, R. J., R. C. Boice, et al. (1969a). "Reproduction in wild and captive dolphins." Nature **222**: 1143-1147.
- Harrison, R. J., R. C. Boice, et al. (1969b). "Reproduction and gonadal changes in some wild and captive odontocetes." J Anat **104**(Pt 1): 197-8.
- Harrison, R. J., R. L. Brownell, et al. (1972). Reproduction and gonadal appearances in some odontocetes. London and New York, Academic Press.
- Harrison, R. J. and R. L. Brownell, Jr. (1971). "The gonads of the South American dolphins, *Inia geoffrensis*, *Pontoporia blainvillei*, and *Sotalia fluviatilis*." J Mammal **52**(2): 413-9.
- Harrison, R. J. and S. H. Ridgway (1971). "Gonadal activity in some Bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*)." Journal of Zoology **165**: 355-366.
- Hart, F. M. and J. J. Faber (1985). "Fetal and maternal temperatures in rabbits." Journal of Applied Physiology **20**: 737-741.
- Hildebrandt, T. B. and F. Göritz (1999). Use of Ultrasonography in Zoo Animals. Zoo and Wild Animal Medicine. M. E. Fowler and Miller. Philadelphia, W.B Saunders Company: 41-54.
- Hoffsis, G. F., M. S. Philip, et al. (1990). "Plasma concentrations of cortisol and corticosterone in the normal horse." Am. J. Vet. Res. **31**: 1379-1387.
- Hohn, A. A., S. J. Chivers, et al. (1985). "Reproductive maturity and seasonality of male spotted dolphins, *Stenella attenuata*, in the Eastern Tropical Pacific." Marine Mammal Science **1**(4): 273-293.
- Hudson, S., M. Mullord, et al. (1975). "Diurnal variations in blood cortisol in the dairy cow." J. Dairy Sci. **58**: 30-33.
- Huffman, W. E. (1970). "Notes on the first captive conception and live birth of an Amazon dolphin in North America." Underwater Nat. **6**: 9-11.
- Hui, C. A. (1980). "Variability of dentin deposits in *Tursiops truncatus*." Can. J. Fish. Aquat. Sci. **37**: 712-716.
- Ingram, J. R., J. N. Crockford, et al. (1999). "Ultradian, circadian and seasonal rhythms in cortisol secretion and adrenal responsiveness to ACTH and yarding in unrestrained red deer (*Cervus elaphus*) stags." J. Endocrinol. **163**: 289-300.
- Irvine, C. H. G. and S. L. Alexander (1994). "Factors affecting the circadian rhythm in plasma cortisol concentrations in the horse." Domest. Anim. Endocrinol. **11**: 237-238.
- Jacobs, D. W. and J. D. Hall (1971). "Auditory thresholds of a freshwater dolphin, *Inia geoffrensis* Blainville." Journal of Acoustical Society of America **51**: 530-533.
- Judd, H. L. and S. H. Ridgway (1977). Twenty-four hour patterns of circulating androgens and cortisol in male dolphins. Breeding Dolphin: Present status, Suggestion for the future. S. H. Ridgway and K. Benirschke. Springfield, Natl. Techn. Info. Serv.: 269-277.
- Kähn, W. (2004). Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik - Gynäkologische Untersuchung und Reproduktion. Langenhagen, Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG.
- Katsumata, E., C. Furuta, et al. (2006a). "Basal body temperature method for detecting ovarian cycle in the captive beluga (*Delphinapterus leucas*)" Journal of Reproduction and Development **52**(1): 59-63.
- Keller, K. V. (1986). Training of Atlantic bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus* for artificial insemination. 14th Annual IMATA Conference.
- Kerrigan, J. K., J. V. Veldhuis, et al. (1993). "Estimation of daily cortisol production and clearance rate in normal pubertal males by deconvolution analysis." J. Clin. Endocrinol. Metab. **76**: 1505-1510.
- Kirby, V. L. (1990). Endocrinology of marine mammals. Handbook of Marine Mammal Medicine: Health, Disease and Rehabilitation. L. A. Dierauf. Boca Raton, FL, CRC Press: 303-351.
- Kirby, V. L. and S. H. Ridgway (1984). Hormonal evidence of spontaneous ovulation in captive ... Reproduction in Whales, Dolphins and Porpoises. W. F. Perrin, R. L. Brownell, Jr. and Demaster. Cambridge, Reports of the International Whaling Commission. **Special Issue 6**: 459-464.
- Kita, S., M. Yoshioka, et al. (1999). "Relationship between Sexual maturity and serum and testis testosterone concentrations in short-finned pilot whales *Globicephalus macrorhynchus*." Fisheries Science **65**(6): 878-883.
- Kjield, J. M., J. Sigurjonsson, et al. (1992). "Sex hormone concentrations in blood serum from the North Atlantic fin whale *Balaenoptera physalus*." J. Zool. **249**: 316-326.
- Knutsson, U., J. Dahlgren, et al. (1997). "Circadian cortisol rhythms in healthy boys and girls: relationship with age, growth, body composition, and pubertal development." J. Clin. Endocrinol. Metab. **82**: 536-540.

- Kraeling, R. R., P. J. Dziuk, et al. (1981). "Synchronisation of estrous in swine with ally trenbolone (RU-2267)." J Animal Science **52**: 831-835.
- Lacave, G., M. Eggermont, et al. (2004). "Prediction from ultrasonographic measurements of the expected delivery date in two species of bottlenosed dolphin (*Tursiops truncatus* and *Tursiops aduncus*)." Veterinary Record **154**: 228-233.
- Layne, J. N. (1958). "Observations on freshwater dolphins in the upper Amazon." J. Mammal **39**: 1-23.
- Layne, J. N. and D. K. Caldwell (1964). "Behavior of the Amazon dolphin, *Inia geoffrensis* (Blainville), in captivity." Zoologica **49**: 81-108.
- Leatherwood, J. S. (1977). Mother-infant interactions of bottlenosed dolphins in captivity and at sea. Breeding dolphins: present status, suggestions for the future. S. H. Ridgway and K. Benirschke. Washington, DC, U.S. Department of Commerce. **NTIS, PB 273**.
- Lefcourt, A. M., J. Bitman, et al. (1993). "Circadian and ultradian rhythms of peripheral cortisol concentrations in lactating dairy cows." J. Dairy Sci. **76**: 2607-2612.
- Luboshitzky, R. (2000). "Endocrine activity during sleep." J. Pediatr. Endocrinol. Metab. **13**: 13-20.
- Maes, M., K. Mommen, et al. (1997). "Components of biological variation including seasonality in blood concentrations of TSH, TT3, FT4, PRL, cortisol and testosterone in healthy volunteers." Clin. Endocrinol. **46**: 587-598.
- Magalhaes Drummond de Mello, D. (2006). Heamatologia e Bioquimica Sanguinea do Boto Vermelho *Inia geoffrensis* (de Blainville, 1817). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia. Manaus, Programa de Pos-Graduacao em Biologia Tropical e Recursos Naturais. **PhD**: 111.
- Mallas, J. and N. Benedicto (1986). "Mercury and goldmining in the Amazon." Ambio **15**: 248-249.
- Mansour, A. A. H., D. W. McKay, et al. (2002). "Determination of pregnancy status from blubber samples in minke whales (*Balaenoptera acutorstrata*)." Mar. Mammals Sci. **18**: 112-120.
- Marks, S. K. (1992). Diseases of the Amazon River Dolphin. Joint conference American Association of Zoo Veterinarians and the American Association of Wildlife Veterinarians, Oakland.
- Marsh, H. D. and T. Kasuya (1984). Changes in the ovaries of the short-finned pilot whale (*Globicephala macrorhynchus*) with age and reproductive activity. Report of the International Whaling Commission Special Issue 6: 311-335.
- Martin, A. R. (1990). River dolphins. Whales and Dolphins. London, United Kingdom, Salamander Books Limited: 179-187.
- Martin, A. R. and V. M. F. da Silva (2004a). "River dolphins and flooded forest: seasonal habitat use and sexual segregation of botos (*Inia geoffrensis*) in an extreme cetacean environment." Journal of Zoology **263**(3): 295-305.
- Martin, A. R. and V. M. F. da Silva (2004c). "Number, seasonal, and residency characteristics of river dolphins in an Amazonian floodplain lake system." Canadian Journal of Zoology(82): 1307-1315.
- Martin, A. R. and V. M. F. da Silva (2006). "Sexual dimorphism and body scaring in the boto (Amazon River dolphin) *Inia geoffrensis*." Marine Mammal Science **22**(1): 25-33.
- Martin, A. R., V. M. F. da Silva, et al. (2004b). "Riverine habitat preferences of botos (*Inia geoffrensis*) and tucuxis (*Sotalia fluviatilis*) in the central amazon." Marine Mammal Science **20**(2): 189-200.
- Matsubayashi, K., G. Watanabe, et al. (1991). "Seasonal changes in plasma concentrations of immunoreactive inhibin and testicular activity in male Japanese monkeys." Biol Reprod **44**: 822-826.
- Matsumoto, A. M. (1990). "Effects of chronic testosterone administration in normal men: safety and efficacy of high dosage testosterone and parallel dose-dependent suppression of LH, FSH and sperm production." J. Clin. Endocrinol. Metab. **70**: 282-287.
- Matthews, L. H. (1950). The male urogenital tract in *Stenella frontalis*. Atlantide Report. G. Cuvier. Copenhagen, Danish Sciences Press, LTD. **1**: 221-247.
- McBride, A. F. and H. Kritzler (1951). "Observations on pregnancy, parturition, and postnatal behavior in the bottlenose dolphin." J. of Mammalogy **32**: 251-266.
- McGuire, T. L. and E. R. Aliaga-Rossel (2007). "Seasonality of Reproduction in Amazon River Dolphins (*Inia geoffrensis*) in Three Major River Basins of South America." Biotropica **39**(1): 129-135.
- Meek, A. (1918). "The Reproductive Organs of Cetacea." J Anat **52**: 186-210.
- Miller, D. L., E. L. Styer, et al. (2007). Placental Structure and Comments on Gestational Ultrasonographic Examination. Reproductive Biology and Phylogeny of Cetacea - Whales, Dolphins and Porpoises. D. L. Miller. Enfield, NH, Science Publishers. **7**: 331-348.

- Munson, L., N. Calzada, et al. (1998). "Luteinized ovarin cysts in Mediterranean striped dolphins." Journal of Wildlife Diseases **34**: 656-660.
- Muraco, H., M. Muraco, et al. (2003). The use of vaginal cytology in the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) to monitor the estrous cycle. IAAAM 35th Annual Conference Proceedings, Galveston, Texas.
- Orlov, M. M., A. M. Mukhlya, et al. (1988). "Hormonal indices in the bottlenosed dolphin *Tursiops truncatus* in the normal conditions and during experimental stress." Zh. Evol. Biokhim. Fiziol. **24**: 557-563.
- Orth, D. N., D. P. Island, et al. (1967). "Experimental alteration of the circadian rhythm in plasma cortisol (17-OHCS) concentration in man." J. Endocrinol. Metab. **27**: 545-555.
- Oshumi, S. (1964). "Comparison of maturity and accumulation rate of corpora albicantia between the left and the right ovaries in Cetacea." Sci. Rep. Whales Res. Inst. **18**: 123-148.
- Pabst, D. A., S. A. Rommel, et al. (1998). The Emergence of Whales. Evolution of thermoregulatory function in cetacean reproductive systems. H. Thewissen. New York, NY, Plenum Press: 379-397.
- Pabst, D. A., S. A. Rommel, et al. (1995). "Thermoregulation of the intra-abdominal testes of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) during exercise." Journal of Experimental Biology **198**: 221-226.
- Parry, B. W. and P. J. Ihrke (1997). Miscellaneous Laboratory Techniques. Laboratory procedures for veterinary technicians. P. W. Pratt. St. Louis, Mosby- Year Book Inc.: 594-597.
- Perman, V., A. D. Alsaker, et al. (1979). Cytology of the dog and cat. South Bend, IN.
- Perrin, W. F. and S. B. Reilly (1984). Reproductive parameters of dolphins and small whales of the family Delphinidae. Rep. Int. Whale Comm.. **Special Issue 6**: 97-134.
- Phillips, J. D. and G. McCain (1964). "Black-white visual discrimination in the Amazon porpoise: *Inia geoffrensis*." American Psychologist **19**: 503.
- Pilleri, G. and M. Gihl (1977). "Observations on the Bolivian and the Amazonian bufeo with a description of a new subspecies." Investigations on Cetacea **8**: 11-76.
- Pilleri, G., M. Gihl, et al. (1980). "Play behaviour in the Indus and Orinoco dolphin (*Platanista indi* and *Inia geoffrensis*)." Investigations on Cetacea **11**: 57-108.
- Place, N. J. and G. J. Kenagy (2000). "Seasonal changes in plasma testosterone and glucocorticoids in free-living male yellow-pine chipmunks and the response to capture and handling." J. Comp. Physiol. **B 170**: 245-251.
- Power, G. G., H. Schroder, et al. (1984). "Measurement of fetal heat production using differential calorimetry." Journal of Applied Physiology **57**: 17-22.
- Reimers, T. J., J. P. McCann, et al. (1983). "Effects of storage times and temperatures on T3, T4, LH, prolactin, insulin, cortisol and progesterone concentrations in blood samples from cows." J. Anim. Sci **57**: 683-691.
- Reynolds, J. E. and S. A. Rommel, Eds. (1999). Biology of Marine Mammals. The functional morphology of marine mammals. Washington, DC, Smithsonian Institution Press.
- Richkind, M. and S. H. Ridgway (1975). "Estrogen, Corticosteroid and Progestagen patterns in the pregnant and nonpregnant bottle-nosed dolphin *Tursiops truncatus*, following the intramuscular and intravascular administration of NIH-FSH-OVINE-S9." Aquatic Mammals **3**: 15-22.
- Ridgway, S. H. (1965). "Medical care of marine mammals." J. Am. Vet. Med. Assoc. **147**: 1077.
- Ridgway, S. H. and K. Benirschke (1977). Breeding Dolphins: Present Status, Suggestions for the Future. Washington, D.C., U.S. Dept. Comm., Marine Mammal Commission.
- Ridgway, S. H. and R. F. Green (1967). "Evidence for a sexual rhythm in male porpoises, (*Lagenorhynchus obliquidens* and *Delphinus delphis bairdi*)." Norsk Hvalfangst Tidende (Norwegian Whaling Gazette) **1**: 1-8.
- Rivier, C. and S. Rivest (1991). "Effect of stress on the activity of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis: peripheral and central mechanisms." Biol. Reprod. **45**: 523-532.
- Robeck, T., S. K. C. Atkinson, et al. (2001). Reproduction. Handbook of Marine Mammal Medicine. L. A. Die-rauf and F. M. D. Gulland. Boca Raton, CRC Press: 193-236.
- Robeck, T., E. Jensen, et al. (2000). Preliminary investigations into ovulation manipulation techniques in delphinids. Joint Meeting of the American Association of Zoo Veterinarians and the International Association for Aquatic Animal Medicine, New Orleans, LA.
- Robeck, T. R., B. E. Curry, et al. (1994). "Reproductive biology of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) and the potential application of advanced reproductive technologies." J of Zoo Wildlife Medicine **25**: 321-336.

- Robeck, T. R., M. Greenwell, et al. (2003). Artificial insemination using frozen-thawed semen in the pacific white-sided dolphin (*Lagenorhynchus obliquidens*). Proceedings International Association of Aquatic Animal Medicine.
- Robeck, T. R., J. F. McBain, et al. (1990). Monitoring reproductive endocrinology of captive killer whales, *Orcinus orca*. Proc. Int. Assoc. Aquatic Anim. Med.
- Robeck, T. R., J. F. McBain, et al. (1998). "Ultrasonographic evaluation of the effects of exogenous gonadotropins on follicular recruitment and ovulation induction in the Atlantic bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*)." J Zoo Wildl Med **29**(1): 6-13.
- Robeck, T. R. and S. L. Monfort (2006). "Characterization of male killer whale (*Orcinus orca*) sexual maturation and reproductive seasonality." Theriogenology **66**(2): 242-50.
- Robeck, T. R., A. L. Schneyer, et al. (1993). "Analysis of urinary immunoreactive steroid metabolites and gonadotropins or characterization of the estrous cycle, breeding period, an seasonal estrous activity of captive killer whales (*Orcinus orca*)." Zoo Biology **12**: 173-187.
- Robeck, T. R., K. J. Steinman, et al. (2004b). "Reproductive physiology and development of artificial insemination technology in killer whales (*Orcinus orca*)." Biol Reprod **71**(2): 650-60.
- Robeck, T. R., K. J. Steinman, et al. (2005). "Estrous cycle characterisation and artificial insemination using frozen-thawed spermatozoa in the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*)." Reproduction **129**(5): 659-74.
- Rommel, S. A. and L. J. Lowenstine (2001). Gross and Microscopic Anatomy. Handbook of marine mammal medicine. Boca Raton, Florida, CRC Press: 129-164.
- Rommel, S. A., D. A. Pabst, et al. (2007). Functional Anatomy of the Cetacean Reproductive System, with Comparisons to the Domestic Dog. Reproductive Biology and Phylogeny of Cetacea - Whales, Dolphins and Porpoises. D. L. Miller. Enfield, NH, Science Publisher. **7**: 127-145.
- Rommel, S. A., D. A. Pabst, et al. (1994). "Temperature regulation of the testes of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*): evidence from colonic temperatures." Journal of Comparative Physiology B **164**: 130-134.
- Röttger, K., S. Goericke-Pesch, et al. (2010). Vergleich zweier verschiedener Entnahmeorte für die exfoliative Vaginalzytologie bei der Hündin. 43. Jahrestagung Physiologie u. Pathologie der Fortpflanzung gleichzeitig 35. Veterinär-Humanmedizinische Gemeinschaftstagung, München.
- Sarnya, Z., J. D. Veldhuis, et al. (1995). "The concordance of pulsatile ultradian release of adrenocorticotropic and cortisol in male rhesus monkeys." J. Clin. Endocrinol. Metab. **80**: 54-59.
- Sawyer-Steffan, J. E. and V. L. Kirby (1980). A study of serum steroid hormone levels in captive female bottlenose dolphins, their correlation with reproductive status, and their application to ovulation induction in captivity. US Marine Mammal Commission Report Contr. MM7AC016.
- Sawyer-Steffan, J. E., V. L. Kirby, et al. (1983). "Progesterone and estrogens in the pregnant and nonpregnant dolphin, *Tursiops truncatus*, and the effects of induced ovulation." Biol Reprod **28**(4): 897-901.
- Schroeder, J. P. (1990a). Breeding bottlenose dolphins in captivity. The bottlenose dolphin. S. Leatherwood and R. R. Reeves. San Diego, CA, Academic Press: 435-446.
- Schroeder, J. P. (1990b). Reproductive aspects of marine mammals. Handbook of marine mammal medicine: Health, diseases and rehabilitation. L. A. Dierauf. Boca Raton, FL, CRC Press: 353-369.
- Schroeder, J. P. and K. Keller (1989). "Seasonality of serum testosterone levels and sperm density in *Tursiops truncatus*." Journal of Experimental Zoology **249**: 316-321.
- Schroeder, J. P. and K. V. Keller (1990). Artificial insemination of bottlenose dolphins. The bottlenose dolphin. J. S. Leatherwood and R. R. Reeves. San Diego, CA, Academic Press: 447-460.
- Schummer, A., R. Nickel, et al. (1979). The Viscera of the Domestic Mammals. Berlin, Verlag Paul Parey.
- Schutte, A. P. (1967/b). "Canine Vaginal Cytology-II; Cyclic Changes." Journal of small Animal Practise **8**: 307-311.
- Sergeant, D. E., D. K. Caldwell, et al. (1973). "Age, growth, and maturity of bottlenosed dolphins (*Tursiops truncatus*) from northeast Florida." J. Fish. Res. Board Can. **30**: 1009-1011.
- Simpson, J. G. and M. B. Gardner (1972). Comparative microscopic anatomy of selected marine mammals. Mammals of the Sea. S. H. Ridgway. Springfield, IL, Thomas: 298-418.
- Slijper, E. J. (1936). Die Cetaceen: Vergleichend-Anatomisch und Systematisch. Amsterdam, Asher Co.
- Slijper, E. J. (1966). Functional morphology of the reproductive system in Cetacea. Whales, Dolphins, and Porpoises. K. S. Morris. Berkeley, University of California Press: 277-319.
- Slijper, E. J. (1979). Whales. Ithaca, Cornell University Press.

- Squires, E. L., C. P. Heesman, et al. (1983). "Relationship of altrenogest to ovarian activity, hormone concentrations and fertility in mares." J Animal Science **56**: 901-910.
- Squires, E. L., W. B. Stevens, et al. (1979). "Effects of an oral progestin on the estrous cycle and fertility of mares." J Animal Science **49**: 729-735.
- St. Aubin, D. J., S. H. Ridgway, et al. (1996). "Dolphin thyroid and adrenal hormones: circulating levels in wild and semi-domesticated *Tursiops truncatus*, and influence of sex, age, and season " Mar. Mammals Sci. **12**: 1-13.
- Stevenson, J. S. and D. L. Davis (1982). "Estrous synchronization and fertility in gilts after 14- or 18-day feeding of altrenogest beginning at estrus or diestrus." J Animal Science **55**: 119-123.
- Stone, L. R., R. L. Johnson, et al. (1999). Fetal ultrasonography in dolphins with emphasis on gestational aging. Zoo and Wild Animal Medicine. Current Therapy **4**. Fowler and Miller. Philadelphia, WB Saunders Company: 501-506.
- Suzuki, J., H. Ishikawa, et al. (2002). "The characteristics of adrenal glands and its hormones in cetaceans." 272-275.
- Suzuki, M., S. Uchida, et al. (2003). "Diurnal and annual changes in serum cortisol concentrations in Indo-Pacific bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus* and killer whales, *Orcinus orca*." General Comp Endocrin **132**: 427-33.
- Suzuki, T., T. Mogoe, et al. (2001). "Plasma and pituitary concentrations of gonadotropins (FSH and LH) in mink whales (*Balaenoptera acutorostrata*) during the feeding season." Theriogenology **55**: 1127-1141.
- Sweeney, J. (1990). Marine mammal behavioral diagnostics. CRC Handbook of marine mammal medicine: health, disease and rehabilitation. L. A. Dierauf. Boca Raton, FL, CRC Press: 53-72.
- Tavolga, M. C. and F. S. Essapian (1957). "The behavior of the bottle-nosed dolphin (*Tursiops truncatus*): Mating, pregnancy, parturition and mother-infant behavior." Zoologica **42**(Part 1): 11-31.
- Tempte, J. L. and S. Spielvogel (1985). "Serum progesterone and reproductive status of incidentally killed female Dall porpoises." Journal of Wildlife Management **49**: 51-54.
- Thrall, M. A. and P. N. Olson (1999). The Vagina. Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat. St. Louis, MO, Mosby: 240-248.
- Thun, R., E. Eggenberger, et al. (1981). "Twenty-four hour secretory pattern of cortisol in the bull: evidence of episodic secretion and circadian rhythm." Endocrinology **109**: 2208-2212.
- Tom, L., S. Bhasin, et al. (1991). "Male contraception: combined GnRH antagonist and testosterone enanthate." Clin. Res. **39**: 91.
- Torre, G., R. Tizzi, et al. (2010). Orinoco river dolphin (*Inia geoffrensis humboldtiana*) behavioural catalogue. EAAM, 2010 Symposium Lisbon Zoo.
- Van Demark, N. L. and M. J. Free (1970). Temperature Regulation and the testis. The testis. A. D. Johnson, W. R. Gomes and N. L. Van Demark. New York, Academic Press. **III**: 233-312.
- Varela, R. A. and K. Schmidt, et al. (2007). "Evaluation of Cetacean and Sirenian Cytologic Samples." Veterinary Clinics Exotic Animal Practice **10**: 79-130.
- Vivrette, E. D. (1994). "The endocrinology of parturition in the mare." Vet. Clin. North Am. Equine Pract. **10**: 1-17.
- Walker, L. A., L. H. Cornell, et al. (1988). "Urinary concentrations of ovarian steroid hormone metabolites and bioactive follicle-stimulating hormone in killer whales (*Orcinus orcus*) during ovarian cycles and pregnancy." Biol Reprod **39**: 1013-1020.
- Wandrey, R. (2006). Wale und Delfine. Stuttgart, Franckh-Kosmos Verlags-GmbH&Co.KG.
- Webel, S. K. and E. L. Squires (1982). "Control of estrous cycle in mares with altrenogest." J of Reproduction and Fertility Suppl **32**: 193-198.
- Weitzmon, E. D., D. Fukushima, et al. (1971). "Twenty-four hour pattern of the episodic secretion of cortisol in normal subject." J. Endocrinol. **33**: 14-22.
- Wells, R. S. (1984). Reproductive behavior and hormonal correlates in Hawaiian spinner dolphins, *Stenella longirostris*. Cambridge, UK, International Whaling Commission.
- West, K. L. (2002). Ecology and biology of the rough-toothed dolphin. Manoa, Hawaii, University of Hawaii. **Ph.D. Dissertation**: 154.
- Williams, T. M., J. Haun, et al. (2001). "A killer appetite: metabolic consequences of carnivory in marine mammals." Journal of Cellular and Comparative Physiology **A 129**: 785-796.
- Wiseman, B. S., D. J. Vincent, et al. (1982/1983). "Changes in porcine, ovine, bovine and equine blood progesterone concentrations between collection and centrifugation." Anim Reprod Sci **5**: 157-165.

- Wislocki, G. B. and R. K. Enders (1941). "The placentation of the bottle-nosed porpoise (*Tursiops truncatus*)."
American Journal of Anatomy **68**: 97-125.
- Wood, F. G. (1977). Birth of porpoises at Marineland, Florida, 1939 to 1969, and comments on problems involved in captive breeding of small cetacea. Washington, D.C., U.S. Dept. Comm., Marine Mammal Commission.
- Wright, P. J. and B. W. Parry (1989). "Cytology of the Canine reproductive System." Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice **19**: 851-874.
- Yoshioka, M. (1991). Endocrinological studies on cetacean reproduction. Tokyo, University of Tokyo.
Ph.D.thesis.
- Yoshioka, M. (1994a). "Studies on reproductive physiology in cetacean." Nippon Suisan Gakkaishi **60**: 327-333.
- Yoshioka, M., K. Aida, et al. (1989). "Correlation of serum progesteron levels with reproductive status in female striped dolphins and short-finned pilot whales." Nippon Suisan Gakkaishi **55**: 475-478.
- Yoshioka, M., T. Okumura, et al. (1994b). "A proposed technique for quantifying muscle progesterone content in minke whales (*Balaenoptera acutorostrata*)."
Canadian Journal of Zoology **72**: 368-370.
- Yoshioka, M. E., E. Mohri, et al. (1986). "Annual changes in serum reproductive hormone levels in the captive female bottle-nosed dolphins." Bulletin of the Japanese Scientific Fisheries **11**: 1939-1946.
- Young, S. J. F. and D. G. Huff (1996). Fertility management in a female killer whale (*Orcinus orca*) with altrenogest (Regu-mate). Proceedings International Association of Aquatic Animal Medicine.
- Yuen, Q. W. H., F. M. Brook, et al. (2007). Longitudinal Monitoring of sexual maturity in captive male, *Tursiops aduncus*. Proceedings of 38th IAAAM Conference Lake Buena Vista, Florida.
- Yuen, Q. W. H., B. F.M., et al. (2006). Some evidence of seasonality in reproductive parameters of male indo-pacific bottlenose dolhpins (*Tursiops aduncus*). IAAAM 37th Annual Conference Proceedings, Nassau, Bahamas.
- Zeiller, W. (1977). Miami Seaquarium dolphin breeding program. Washington, D.C., U.S. Dept. Comm., Marine Mammal Commission.

9 Anhang

40er Vergrößerung				10er Vergrößerung				an 4 Blickfeldern					
Defin Nr.	Präparat	Parabasalzellen	Intermediäre Zellen Kleine	Intermediäre Zellen Große	Superfizielle Zellen	Anukleäre Superfizielle Zellen	D tri us Ke i me Se kret Zyto lyse Leu ko zy ten	keine	< 5	bis 25	> 25	Zellverteilung	Häufungen
							kein						
							wenig						
							viel						
							keine						
							wenig						
							viel						
							nein						
							ja						
							nein						
							ja						
							keine						
							< 5						
							bis 25						
							> 25						
							einzelne						
							Häufungen						
							Bemerkungen						

Anhang 1: Auswertungsschema der Vaginalzytologien

Delfin- nummer	Alter	trächtig	laktierend	Parabasal- zellen	Intermediär- zellen	Superficialzellen
216	ad	ja	ja	0	97,7	2,3
208	ad	ja	ja	0	42,3	57,7
465	ad	ja	ja	0	38	62
211	ad	ja	nein	0	89,3	10,7
330	ad	nein	ja	5,6	76,8	17,6
6	ad	nein	ja	0	92,8	7,3
133	ad	nein	ja	19,3	65	34,5
469	ad	nein	ja	0	71,5	28,5
138	ad	nein	nein	3,3	36,7	60
274	ad	nein	nein	1,8	42,7	55,5
379	ad	nein	nein	2,3	76,7	21
384	sub			3	47,7	52
453	sub			0	98	2
471	sub			4,5	85,5	10
410	juv			0	65,7	34,3
425	juv			0,3	71,3	28,3
419	juv			0	91,5	8,5
468	juv			0	75,7	24,3
450	Kalb			1,5	80,5	18
466	Kalb			1,7	63,7	34,7

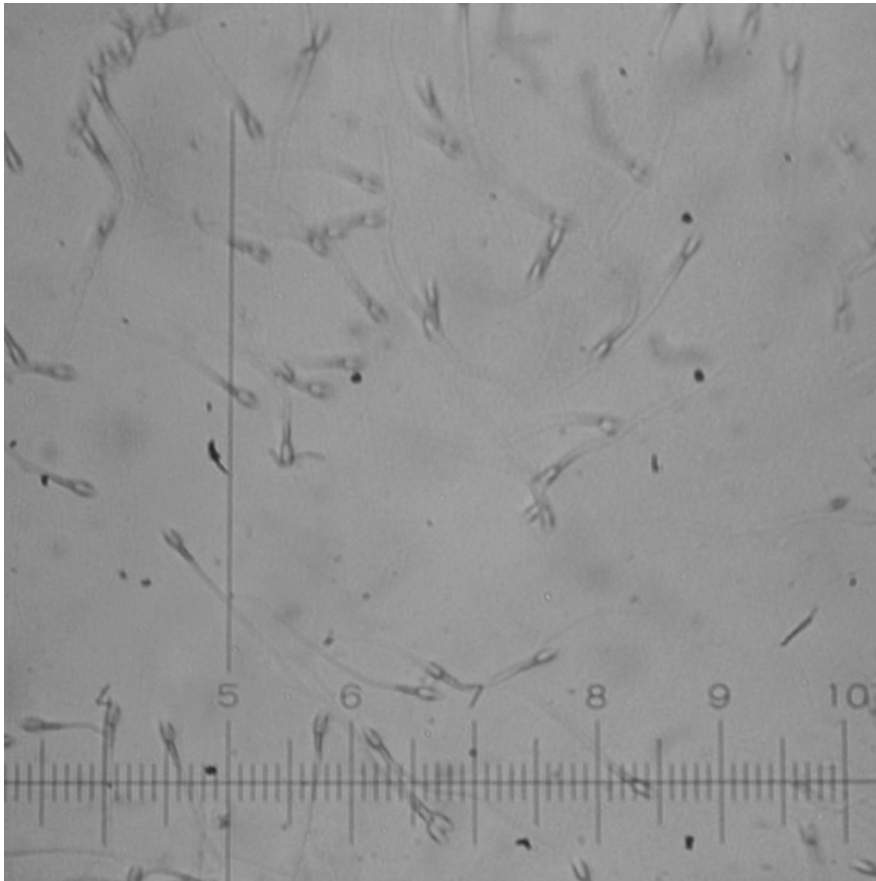
Anhang 2: Mittelwerte der Abstriche (2 – 6 pro Tier), die von einem Untersucher (U1) betrachtet wurden

Delfin- nummer	Alter	trächtig	laktierend	Parabasal- zellen	Intermediär- zellen	Superficialzellen
216	ad	ja	ja	0	4	4
208	ad	ja	ja	0	8,6	8,6
465	ad	ja	ja	0	5,2	5,2
211	ad	ja	nein	0	89,3	10,7
330	ad	nein	ja	4,4	8,5	12,3
6	ad	nein	ja	0	2,5	2,5
133	ad	nein	ja	0,7	22,6	23,3
469	ad	nein	ja	0	7,8	7,8
138	ad	nein	nein	3,2	7,4	7,5
274	ad	nein	nein	1,9	12,6	14,3
379	ad	nein	nein	4	12,9	14,8
384	sub			0,6	7,1	7,2
453	sub			0	0	0
471	sub			6,4	3,5	9,9
410	juv			0	3,5	3,5
425	juv			0,6	8,1	7,6
419	juv			0	9,2	9,2
468	juv			0	1,5	1,5
450	Kalb			2,1	7,8	9,9
466	Kalb			2,9	10,1	11,7

Anhang 3: Standardabweichungen der Abstriche (2 – 6 pro Tier), die von einem Untersucher (U1) betrachtet wurden

Delfin- nummer	Alter	trächtig	laktierend	Parabasal- zellen	Intermediär- zellen	Superficialzellen
216	ad	ja	ja	0	16,3	16,3
208	ad	ja	ja	0	74,3	74,3
465	ad	ja	ja	0	27	27
211	ad	ja	nein	0	166,3	166,3
330	ad	nein	ja	19,3	72,7	150,3
6	ad	nein	ja	0	6,3	6,3
133	ad	nein	ja	0,5	512	544,5
469	ad	nein	ja	0	60,5	60,5
138	ad	nein	nein	10,3	54,3	57
274	ad	nein	nein	3,8	158,3	204,3
379	ad	nein	nein	16,3	165,3	219
384	sub			0,3	50,3	52
453	sub			0	0	0
471	sub			40,5	12,5	98
410	juv			0	12,3	12,3
425	juv			0,3	65,3	58,3
419	juv			0	84,5	84,5
468	juv			0	2,3	2,3
450	Kalb			4,5	60,5	98
466	Kalb			8,3	102,3	137,3

Anhang 4: Variationskoeffizienten der Abstriche (2 – 6 pro Tier), die von einem Untersucher (U1) betrachtet wurden



Anhang 5: Spermien des Botos „459“

Danksagung

Herrn Prof. Dr. J. Braun danke ich herzlich für die Bereitschaft, mich als Doktorvater bei der Erstellung dieser Dissertation zu betreuen. Trotz der exotischen Tierart, war sein Spezies übergreifendes Fachwissen von unschätzbarem Wert für mich.

Dem Reservat mit nachhaltiger Entwicklung Mamirauá verdanke ich den Zugang zu den Delfinen und die großzügige logistische Unterstützung vor Ort.

Dr. Vera da Silva und Dr. Anthony Martin, den Begründern des Botoprojekts danke ich sehr für die Durchführung der Fangaktion, die fachliche Unterstützung und die vielen humorvollen Stunden auf dem Flossboot.

Durch Dr. Katrin Baumgartner vom Tiergarten Nürnberg erhielt ich einen Einblick in den tierärztlichen Alltag mit Delphinen, v.a. im Bereich der Ultraschall-diagnostik.

Dr. Ana Salbany vom Zoomarine, Portugal verdanke ich die Kenntnis der Ovarialdiagnostik und Trächtigkeitsuntersuchung mittels Ultraschall beim Großen Tümmler.

Dr. Beate Walter und Dr. Christiane Otzdorff vom Zentrum für klinische Tiermedizin waren bei den Auswertungen der Vaginalzytologien als Untersucher 2 und Untersucher 3 unermüdlich. Christiane gilt ein besonderer Dank für die Unterstützung bei statistischen Problemen.

Helen, Elena, Diogo, Jane, Joana und Marianna, den Freiwilligen des Botoprojekts danke ich für die moralische Hilfe bei den Ultraschalluntersuchungen unter schlechten Lichtbedingungen und für die Erheiterung bei stundenlangem Zentrifugieren der Blutproben bei Generatorenlärm.

Den Fischern, die die Tiere gefangen haben, danke ich für den guten Beifang (u.a. Piranhas), der bei uns auf den Tellern landete.

Dr. Priscilla Viau vom Reproduktionslabor der Universität von São Paulo danke ich für die Analyse der Blutproben.

Dem Statistischen Beratungslabor (Stablab), LMU danke ich für die Unterstützung bei der Auswertung der Daten.

Ohne Herrn van der Meijden, dem Leiter der Rechnerbetriebsgruppe der LMU wäre die Erstellung der Webseite mit den Ultraschallfilmen nicht geglückt.

Dem DAAD und dem Büro für Internationale Angelegenheiten der LMU danke ich für die Stipendien.

Meinem Vater bin ich dankbar für die finanzielle Unterstützung und die motivierende Frage: „Ist`s jetzt endlich fertig?“.

Meinem Bruder Christian, dem Computerdokter, danke ich für die stete Lösung von Formatierungsproblemen zu jeder Tages- und Nachtzeit.

Meiner Schwester Sylvia bin ich dankbar für ihre konstruktive Kritik und aufmerksame Korrektur. Ich wünsche mir, dass sie in dem Thema weiter forscht.

Meiner Tochter Sofia danke ich für die Hilfe beim Zerreißen von schlechten Entwürfen und für die beste Ablenkung.

Meiner Mutter danke ich sehr für das Babysitten, das mir einige Stunden den Rücken frei gehalten hat, sonst hätte die Arbeit noch länger gedauert.

Meinem Partner Roberto gilt mein besonderer Dank für die Unterstützung beim Blutprobentransport von Manaus nach Sao Paulo, eine logistische Meisterleistung und für seine beruhigende Geduld: „Nimm Dir Zeit!“.