

Bachelorarbeit



vorgelegt zur Erlangung des Grades Bachelor of Science
an der Fakultät für Biologie der Ruhr-Universität Bochum

Untersuchungen bei Zootieren: Bestimmung von Progesteron über Raubwanzen (Reduviidae) und der Parasitierung bei der Aufzucht von Königspinguinen

Medical examination of zoo animals: Analysis of progesterone with reduviid bugs and of parasitization of the king penguin during breeding

von

Vivienne Dobrzinski

angefertigt in der Arbeitsgruppe Zoologie/Parasitologie

Referent: Prof. Dr. G.A. Schaub

Korreferent: Prof. Dr. K. Störckuhl

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die heute eingereichte Bachelorarbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt sowie Zitate kenntlich gemacht habe. Bei der vorliegenden Bachelorarbeit handelt es sich um in Wort und Bild völlig übereinstimmende Exemplare.

Weiterhin erkläre ich, dass digitale Abbildungen nur die originalen Daten enthalten und in keinem Fall inhaltsverändernde Bildbearbeitung vorgenommen wurde.

Erstgutachter ist: Prof. Dr. G. A. Schaub

Als Zweitgutachter schlage ich vor: Prof. Dr. K. Störkuhl

Bochum, den

(Unterschrift)

Danksagung

Herr Prof. Dr. Günter A. Schaub danke ich für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes, für die gute Betreuung während der gesamten Bachelorarbeit und die Hilfeleistung bei allen Fragen.

Ein großer Dank gilt Herrn Dr. U. Schürer und Herrn Dipl. Biol. A. Stadler für die Erlaubnis, meine Arbeit im Zoo Wuppertal verrichten zu dürfen und die Überlassung des Themas. Darüber hinaus danke ich Herrn Dipl. Biol. A. Stadler für seine andauernde Unterstützung und Wissensvermittlung und die hervorragende Betreuung im Zoo. Bei Herrn Dr. A. Lawrenz und Frau K. Gries bedanke ich mich für die großartige Hilfe und Anleitung in allen veterinärmedizinischen Fragen. Des Weiteren gilt ein großer Dank den Tierpflegern des Zoos Wuppertal, die mich bei meiner Arbeit immer unterstützt haben und mir stets geduldig zur Seite standen.

Außerdem danke ich Herrn Dipl. Biol. R. Holland und dem veterinärmedizinischen Team des Zoos Leipzig für die Bereitstellung seiner Forschungsergebnisse.

Vielen lieben Dank möchte ich auch Herrn Prof. Dr. K. Störtkuhl für die Übernahme des Korreferats und Herrn Dipl. Biol. C. Soukou für die Nachbestimmung der Parasiten aussprechen.

Ich möchte mich darüber hinaus bei allen Mitgliedern der AG Zoologie/Parasitologie für das gute Arbeitsklima und die immerwährende Hilfsbereitschaft bedanken.

Ich danke auch dem Labor Stein u. Kollegen, das sich für alle Fragen bezüglich der Blutanalyse stets Zeit genommen und die Proben schnellstmöglich analysiert hat.

Mein besonderer Dank gilt den Tieren des Zoo Wuppertal, die bei dieser Studie mitgewirkt haben, sowie allen Wanzen, die für diese Arbeit ihr Leben lassen mussten.

Schließlich danke ich meinen Freunden und besonders meiner Familie für die moralische Unterstützung.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung

1.1 Minimal- und Nichtinvasive Untersuchungsmethoden bei Zootieren.....	1
1.2 Blutentnahme mit Raubwanzen (Triatominae).....	1
1.3 Progesterontiter bei <i>Loxodonta africana</i> und <i>Elephas maximus</i>	2
1.4 Aufzucht von Jungtieren als Stressauslöser bei Pinguinen	3
1.5 Parasitierung von Pinguinen.....	4
1.6 Fragestellung.....	5

2. Material und Methoden

2.1 Material.....	6
2.1.1 Chemikalien und Lösungsmittel	6
2.1.2 Geräte und andere Materialien.....	6
2.2 Tiere.....	7
2.2.1 Tiere für die Progesteron-Analysen.....	7
2.2.2 Königspinguine.....	8
2.3 Methoden.....	9
2.3.1 Blutentnahme mit Raubwanzen bei trächtigen Säugetieren.....	9
2.3.2 Membranfütterung.....	12
2.3.3 Blutentnahme bei Raubwanzen.....	13
2.3.4 Blutanalyse	14
2.3.5 Verhaltensbeobachtungen bei der Königspinguin-Aufzucht.....	15
2.3.6 Parasitologische Untersuchungen.....	16

3. Ergebnisse

3.1 Progesterontiter bei <i>Loxodonta africana</i>	18
3.2 Progesterontiter bei <i>Elephas maximus</i>	21
3.3 Vergleich der Ergebnisse von <i>Loxodonta africana</i> und <i>Elephas maximus</i>	22
3.4 Progesterontiter bei <i>Rattus rattus</i>	23
3.5 Ergebnisse der Verhaltensbeobachtungen bei Königspinguinen.....	24
3.5.1 Abwehrverhalten der Pinguinelterne.....	24
3.5.2 Fütterung des Jungtiers.....	25

Inhaltsverzeichnis

3.5.3 Körperhygiene und Schlafverhalten der Pinguinelterne	26
3.5.4 Zuwendungen und Zurechtweisungen	27
3.6 Parasitierung der Pinguine	28
3.7 Ergebnisse der Parasitierung und der Verhaltensbeobachtung der Pinguine im Vergleich	33
4. Diskussion	
4.1 Methodische Probleme	34
4.1.1 Probleme bei der Beprobung von trächtigen Zootieren mit Raubwanzen	34
4.1.2 Probleme bei der Analyse der Blutproben	37
4.1.3 Probleme bei den Fäzes-Analysen der Königspinguine	38
4.2 Progesteron-Konzentrationen bei trächtigen Zootieren	39
4.3 Verhalten und Parasitologie von Königspinguinen bei der Aufzucht	40
4.3.1 Aufzuchtverhalten von Königspinguinen	41
4.3.2 Parasitierung der Königspinguine während der Aufzucht	42
4.3.3 Korrelation von Aufzuchtverhalten und Parasitierung	43
4.4 Ausblick	44
5. Zusammenfassung	46
6. Abstract	48
7. Anhang	50
8. Literaturverzeichnis	55
9. Abkürzungsverzeichnis	59

1. Einleitung

1.1 Minimal- und Nichtinvasive Untersuchungsmethoden bei Zootieren

Die Gesundheit von Zootieren spielt eine maßgebliche Rolle für die Zucht und damit die Arterhaltung in Zoologischen Gärten. Oftmals sind gesundheitliche Untersuchungen jedoch mit erheblichem Stress für das jeweilige Tier verbunden. Die Blutabnahme ist eine der geläufigsten und verlässlichsten Untersuchungsmittel zur Bestimmung des Gesundheitszustands von Mensch und Tier. Allerdings müssen viele Wild- und Zootiere dafür narkotisiert oder zumindest fixiert werden (Stadler et al. 2007, 2011). Zusätzlich gestaltet sich die Blutgewinnung mit der Spritze bei sehr kleinen Tieren mit dünnen Venen und einem geringen Blutvolumen oft als große Herausforderung (Voigt 2004). Eine Möglichkeit zu einer weniger invasiven und damit stressfreieren Blutgewinnung bietet die Entnahme von Blut mittels Raubwanzen (Reduviidae, Heteroptera) (zusammengefasst von Stadler et al. 2011).

Eine nicht invasive Untersuchungsmethode stellt die Analyse von Kotproben zur Ermittlung von Stresshormonen oder Darmparasiten dar (Huber et al. 2003, Golemansky 2011). Durch diese Methode werden die Tiere in ihrem natürlichen Tagesablauf weitaus weniger gestört, als durch eine Blutentnahme. Gerade im Zoo ist diese Methode sehr vorteilhaft, weil ein früher Nachweis von Parasiten und die Therapie lebensrettend sind.

1.2 Blutentnahme mit Raubwanzen (Triatominae)

Insekten der Unterfamilie Triatominae sind von den USA bis zum südlichen Argentinien beheimatet und wurden bereits Anfang des 20. Jahrhunderts als „lebende Spritzen“ zur Diagnose der Chagas-Krankheit eingesetzt (Brumpt 1914, Schaub 2009). Der Erreger dieser Krankheit ist *Trypanosoma cruzi*. Bei der sog. Xenodiagnose saugen im Labor gezüchtete Wanzenlarven, die frei von Parasiten sind, beim Patienten Blut. Sind Trypanosomen im Blut enthalten, vermehren sich diese in der Wanze und können somit leichter nachgewiesen werden. Diese Methode ist notwendig, wenn die Konzentration der Parasiten im menschlichen Wirt zu niedrig ist, um eine direkte mikroskopische Diagnose zu stellen (Meiser & Schaub 2011).

Die Blutentnahme mittels Raubwanzen wurde schon vereinzelt im 19. Jahrhundert als minimal-invasive Untersuchungsmethode praktiziert und wird seit etwa vier Jahrzehnten

verstärkt eingesetzt (zusammengefasst von Stadler et al. 2011). Sehr erfolgreich war die Raubwanzenmethode bei Wild- und zahlreichen Zootieren, u.a. bei Microchiroptera zur Ermittlung des Energieverbrauchs, beim Nebelparder (*Neofelis nebulosa*) zur Bestimmung klinisch relevanter Blutparameter wie z.B. der Anzahl der Leukozyten und des Natriumgehalts sowie bei Kaninchen (*Oryctolagus cuniculus*) zur Hormonanalytik (von Helversen & Reyer 1984, Voigt et al. 2004, 2006, Stadler et al. 2007). Während bei der Konzentration von Testosteron und Progesteron bei *Oryctolagus cuniculus* keine statistisch signifikante Abweichung zwischen dem durch Spritze und Raubwanze entnommenen Blut auftrat (Voigt et al. 2004), waren die Konzentrationen von Progesteron, Oestrogen und Cortisol von Elenantilopen (*Taurotragus oryx*) in dem von Wanzen aufgenommenen Blut um das Sechs- bis Zehnfache erhöht (Hubmer et al. 2010).

1.3 Progesterontiter bei *Loxodonta africana* und *Elephas maximus*

Der Erfolg von kontrollierten Zuchtprogrammen bei Elefanten in menschlicher Obhut ist u.a. von der Bestimmung des Reproduktionszyklus abhängig. Seit etwa zwei Jahrzehnten wird der Zyklus von weiblichen Elefanten durch regelmäßige Messungen von Progesteron im Blutserum überprüft (Olsen et al. 1994). Auch die Trächtigkeit lässt sich über die Progesteron-Konzentrationen erfolgreich überwachen (Mc Neilly 1983), da das Gestagen Progesteron zu den Steroidhormonen gehört und bei trächtigen Säugetieren in der Plazenta gebildet wird. Bei weiblichen Afrikanischen Elefanten ist der Progesterongehalt im Vergleich zu den meisten anderen Säugetierarten ziemlich gering, was eine zuverlässige Methode zur Progesteronanalyse während der etwa 22 Monate andauernden Trächtigkeit notwendig macht (Schwarzenberger et al. 2002). Progesteron-Konzentrationen von trächtigen Afrikanischen Elefanten sind mit durchschnittlich $1,414 \pm 0,092$ ng/ml signifikant höher als die von nicht trächtigen weiblichen Elefanten mit $0,707 \pm 0,077$ ng/ml (Mc Neilly 1983). Allerdings finden sich mitunter größere Überlappungen zwischen den Progesteronwerten trächtiger und nicht trächtiger Elefanten, was die Diagnose einer Trächtigkeit ausschließlich durch Messung von Progesteron erschwert. Zur Mitte der Trächtigkeit ist die Progesteron-Konzentration bei Afrikanischen Elefanten am höchsten (Smith & Buss 1975). In der zweiten Hälfte der Trächtigkeit fällt die Progesteron-Konzentration leicht und zum Partus hin stark ab (Magunna 1995).

1.4 Aufzucht von Jungtieren als Stressauslöser bei Pinguinen

Stress wird u.a. definiert als unspezifische Antwort des Organismus auf die Störung des homöostatischen Gleichgewichts und dem Versuch auf diese Störung zu reagieren (Birbaumer & Schmidt 2005). Dabei beschreibt der Begriff Homöostase die Balance zwischen Umwelтанforderungen und der Möglichkeit eines Individuums zur Reaktion darauf (Cannon 1927a, 1929a; Goldstein & Frank 2001). Die Funktionen des Nerven- und Immunsystems beeinflussen sich dabei stets gegenseitig. Besonders der im Verhalten erkennbare Stress eines Individuums kann die Immunantwort beeinflussen (Ader et al. 1990).

Beim Fütterungsverhalten und der Nahrungssuche von Magellan-Pinguinen (*Spheniscus magellanicus*) während der Brutzeit und Aufzucht spielt die Konzentration des Stresshormons Corticosteron eine bedeutende Rolle. Die Aufzucht kann körperlich sehr stressig für die Pinguine werden, wenn die Fastenzeiten unnatürlich lang oder ihre Fettreserven unzureichend sind (Hood et al. 1998). Bei hohen Corticosteron-Konzentrationen verlassen Elterntiere sogar das Jungtier (Love et al. 2004). Dem gegenüber lag bei Makkaroni-Pinguinen (*Eudyptes chrysolophus*) während der Aufzucht ein positiver Effekt von einem künstlich erhöhten Corticosteron-Level der Pinguinmütter auf die Futtermversorgung des Jungtiers vor (Crossin et al. 2012).

Auch frei lebende Königspinguinelterne sind bei der zwischen 14-15 Monate andauernden Aufzucht erheblichem Stress ausgesetzt (Otley et al. 2007). Diese Zeit ist für die an den Meeresküsten subantarktischer Inseln des 45°S bis 55°S Breitengrads brütenden Elterntiere sehr anstrengend, weil sie über einen langen Zeitraum sowohl für den Schutz als auch die Ernährung des Jungtiers zuständig sind (Descamps et al. 2002, Bost et al. 2011). Die Königspinguinelterne wechseln sich regelmäßig bei der Brut, Nahrungssuche und Aufzucht ab (Bost et al. 2002). Zusätzlich müssen die Eltern ihr Jungtier in den Anfangsmonaten kontinuierlich wärmen, damit es nicht unterkühlt. Da sie in dieser Zeit fasten, müssen sie, ähnlich wie die Magellan-Pinguine, stets Hungerperioden bei der Aufsicht über das Jungtier überstehen und haben daher vorher bis zu vier Kilogramm Körperfettreserven aufgebaut (Weimerskirch et al. 1992, Cherel et al. 1993, Gauthier-Clerc et al. 2001).

1.5 Parasitierung von Pinguinen

Parasiten werden als Lebewesen definiert, die in bzw. auf einem andersartigen Wirtsorganismus leben und diesen schädigen, ihn nicht sofort, möglicherweise aber zu einem späteren Zeitpunkt töten (Wülker & Schaub 2002). Dies gilt jedoch nur, solange der Wirt keine starke Beeinträchtigung und damit eine Immunsuppression z.B. durch weitere Erkrankungen, Mangelernährung oder Stress erfährt, welche zu einer starken Vermehrung des Parasiten im Wirt führen kann (Mehlhorn 2002). Über Endoparasiten bei Königspinguinen und deren Auswirkung in Verbindung mit Stress ist bisher nur wenig bekannt. Parasitäre Infektionen hängen von vielen Faktoren ab, u.a. der Präsenz eines für den Parasiten kompatiblen Zwischenwirtes bzw. Vektors, dessen Nahrungspräferenzen und dem allgemeinen Nahrungsangebot sowie der Populationsdichte des Vektors (Jones & Shellam 1999). Blutparasiten der Gattungen *Plasmodium*, *Babesia*, *Leucocytozoon*, *Eimeria*, *Isospora* und *Trypanosoma* wurden bereits bei frei lebenden Pinguinen und bis auf letztere auch bei Pinguinen in Zoos nachgewiesen (Stoskopf & Beier 1979, Fix et al. 1988, Jones & Shellam 1999, Golemansky 2011). Die Kokzidien *Eimeria pygoscelyi*, *Eimeria* sp. and *Isospora* sp. wurden in Fäzes dreier Pinguinarten (*Pygoscelis antarctica*, *P. papua*, *P. adeliae*) entdeckt, welche auf Livingston und King George Island in der Antarktis brüteten (Golemansky 2011).

Helminthen, u.a. Cestoden und Nematoden, treten häufig im Darm von Pinguinen auf (Duignan 2001). Cestoden der Gattung *Tetrabothrius* wurden im Darm von Adélie-, Blau-, Felsen-, Gentoo-, Magellan-, Kaiser-, Königs- und Zügelpinguinen gefunden (Jones 1988, Duignan 2001, Vidal et al. 2012).

Die Pathologie von Infektionen mit Parasiten bei Pinguinen in der Natur ist schwierig nachzuvollziehen (Bennet et al. 1993). Während bei wilden Pinguinen kein Beweis für Krankheitssymptome durch diese Parasiten erbracht ist, verlaufen Infektionen mit *Plasmodium* sp. bei Pinguinen in menschlicher Obhut häufiger mit schwerwiegenden Auswirkungen bis hin zum Tod (Jones & Shellam 1999).

1.6 Fragestellung

In der vorliegenden Studie wurden die Blutentnahme mit Raubwanzen sowie Verhaltensbeobachtungen und parasitologische Analysen von Kotproben als minimal- bzw. nicht-invasive Untersuchungsmethoden bei Zootieren angewandt. Trächtigen Elefanten (*Loxodonta africana*, *Elephas maximus*) und Ratten (*Rattus rattus*) wurde mit *Dipetalogaster maxima* und *Rhodnius prolixus* Blut entnommen, um im Vergleich zu konventioneller Entnahme mit der Spritze die Konzentration von Progesteron zu bestimmen. Da die Afrikanischen Elefanten im Zoo Wuppertal auf die konventionelle Blutentnahme trainiert sind, wurden sie als Modelltier für diese Studie verwendet. Ihnen wurde sowohl mit der Wanze als auch mit der Spritze regelmäßig Blut abgenommen, um einen direkten Vergleich zwischen beiden Progesteronwerten zu schaffen und somit zu validieren ob eine Progesteronbestimmung mit Raubwanzen bei den Elefanten möglich ist. Zusätzlich wurde einer Asiatischen Elefant in im Zoo Leipzig regelmäßig Blut mit der Wanze entnommen. Zur Dokumentation des Progesterongehalts über eine vollständige Trächtigkeitperiode wurden zwei weibliche Ratten der Zucht des Zoo Wuppertals mit Raubwanzen beprobt. Ratten haben eine relativ kurze Trächtigkeit von ca. 21 Tagen und eignen sich für diesen Zweck somit besser als Elefanten mit einer langen Trächtigkeitsdauer von ca. 22 Monaten.

Bei einem Königspinguinpärchen (*Aptenodytes patagonicus*) im Zoo Wuppertal wurden parasitologische Kotprobenanalysen in Verbindung mit Verhaltensbeobachtungen während der Aufzucht durchgeführt. Da die Erfolgsquote bei der Handaufzucht von Königspinguinküken in den letzten Jahren niedrig lag, entschloss man sich zum ersten Mal die Aufzucht des im Oktober 2011 geborenen Jungtiers den Elterntieren selbst zu überlassen. Die elterliche Fürsorge und das Stressverhalten der Pinguinelterne wurden mit Verhaltensbeobachtungen überprüft. Dies sollte die Versorgung des Jungtiers sicherstellen und zeigen, ob die Aufzucht unter den im Vergleich zur Natur erleichterten Umweltbedingungen eines Zoos erhöhten Stress bei Königspinguinen auslöste. Parallel zur Verhaltensbeobachtung diente eine regelmäßige Analyse von Kotproben während der Aufzucht der Bestimmung der Anzahl der Parasiten im Kot der Eltern im Vergleich zum Rest der Pinguingruppe. Hypothetisch sollten sich Parasiten durch Stress, weitere Erkrankungen oder Mangelernährung stark im Wirt vermehren (Mehlhorn 2002). Stress durch die Aufzucht des Jungtiers könnte sich demnach auf den Immunstatus der Elterntiere auswirken.

2. Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Chemikalien und Lösungsmittel

„ECLIA“- Testlösungen		Roche
Streptavidin-Mikropartikel-Lösung		
Anti-Progesteron-Ak Biotin		
Progesteron-Peptid-Lösung		
Entellan		Merck
„Diff-Quick“		Lehmann
Fixierlösung (Methanol)		
Farblösung I (Eosin)		
Farblösung II (Methylenblau)		
Natriumchlorid		J.T. Baker
Zinkchlorid		VWR International

2.1.2 Geräte und andere Materialien

Analysewaage	P1200	Mettler
Autoklav	Typ 26	Melag
Deckgläser	18x18 mm	Menzel-Gläser
Einmalkanülen	21Gx1/0,8x25mm	WDT
Einmalspritzen	1 ml	Henry Schein
Einmalspritzen	5 ml	Braun
Fotosystem	Typ 20	ALTRA-Soft Imaging System
Handzählgerät		Hand Tally Upgreen Counters
Heizplatte	Medax 15800	Nagel
Latexmembran	C/144	Microtex, Brasilien
Mikroskope	BH2, BX40	Olympus
Monovette	7,5 ml	Sarstedt
Multivette	600 LH	Sarstedt
Multivette	600 Z	Sarstedt

Mörser und Pistill		Haldenwanger
Objektträger	76x26 mm	Menzel-Gläser
Pasteurpipetten	3 ml	VWR International
Zentrifuge Universal	30 RF	Hettich
Zentrifuge	EBA 8S	Hettich
Zentrifugenröhrchen	50ml	BD Falcon

2.2 Tiere

2.2.1 Tiere für die Progesteron-Analysen

Neun Afrikanische Elefanten (*Loxodonta africana*) leben im Zoo Wuppertal in einer Gruppe von drei halbwüchsigen, einem ausgewachsenen Bullen und fünf Elefantenkühen zusammen auf einer Innen- und zwei Außenanlagen mit einer Fläche von insgesamt 4340m² (Tab. 2.1). Im Zoo Leipzig leben vier Asiatische Elefantenkühe (*Elephas maximus indicus*) und ein Bulle zusammen auf einer Innenanlage und vier Freibereichen von insgesamt ca. 7000 m². Im Zoo Wuppertal werden Hausratten (*Rattus rattus*) in Ställen von 0,2 m² für jeweils ein Pärchen gezüchtet.

Tab. 2.1: Daten der für die Blutgewinnung genutzten Elefanten

Name	EAZA-Nr.	Geschlecht	Geburtsjahr	Geburtsort	Standort
<i>Loxodonta africana</i>					
Punda	9206	0,1	1992	Kruger Nationalpark	Wuppertal
Sabie	9204	0,1	1992	Kruger Nationalpark	Wuppertal
Sweni	9303	0,1	1993	Kruger Nationalpark	Wuppertal
<i>Elephas maximus indicus</i>					
Hoa	unbekannt	0,1	1985	Vietnam	Leipzig

Raubwanzen der Art *Dipetalogaster maxima* und *Rhodnius prolixus* wurden für die Blutgewinnung genutzt. Die Wanzen wurden bei ca. 26 °C, 70-80% relativer Luftfeuchtigkeit und einem 16/8 Hell-Dunkel-Rhythmus im Labor gezüchtet (Schaub, 1989). Tiere im 5. Nymphenstadium (N5) wurden vor der Beprobung mindestens drei Wochen lang nicht gefüttert, um die Aggressivität zu steigern und somit eine schnelle Blutaufnahme zu gewährleisten.

2.2.2 Königspinguine

Bei den 16 Königspinguinen (*Aptenodytes patagonicus*) des Zoos Wuppertal wurde während der Aufzucht das Verhalten beobachtet. Gleichzeitig entnommene Kotproben wurden auf Parasiten untersucht. Die Wuppertaler Königspinguine leben auf einer 100 m² Innenanlage aus Land- und Wasserfläche mit einem 220 m³ Wasserbecken zusammen mit 15 Eselspinguinen. Es wurden Charakteristika zur Unterscheidung der 16 Königspinguine protokolliert (Tab. 2.2 und 2.3). Mit Hilfe dieser Unterscheidungsmerkmale wurden die sozialen Interaktionen zwischen den Elterntieren, der Gruppe und dem Jungtier dokumentiert.

Tab. 2.2: Angaben zu den Königspingueltern und dem Jungtier

Nr.	Name	Geschlecht	Geburtsdatum	Geburtsort	Charakteristika
1	Hillary	0,1	02.02.93	Sea World Orlando	Mutter, zweitgrößtes Tier, dick, gerader Schnabel, humpelt mit rechtem Fuß
2	Boston	1,0	23.01.93	Sea World Orlando	Vater, größtes Tier, dick, aufgeplustert, Schnabel leicht gewölbt, intensive Gelbfärbung
3	Jorau	0,0,1	04.11.11	Zoo Wuppertal	Jungtier, dunkelbraunes Daunengefieder, klein, grauer Schnabel

Tab. 2.3: Angaben zur Königspinguingruppe

Nr.	Name	Charakteristika
4	Hanke	mittelschlank, gerader Schnabel, läuft den Tierpflegern hinterher, Handaufzucht, eiernder Gang
5	Joris	klein, schlank, starke Wölbung nach unten am Schnabelansatz, Handaufzucht
6	Arcta	groß, dick, Verkrustung am rechten Flügel und den Augen, Plastikband zur Erkennung
7	Oma	mittelschlank, humpelnder Gang, verkratzter Schnabel, bildet öfter eine Brutfalte obwohl sie kein Ei hat
8	-	schlank, besonders schlanker Hals, rechtes Auge verkrustet
9	-	mittelschlank, Hakenschnabel, kurzer Schnabel
10	-	schlank, immer an der Seite von Arcta
11	-	schlank, überstreckt den Nacken oft nach hinten
12	-	schlank, brauner Fleck unterhalb des rechten Flügels
13	-	groß, mittelschlank, verschmutzter Schnabel mit zwei Kerben
14	-	mittelgroß, mittelschlank, hinkender Gang wegen Hüftschaden
15	-	mittelschlank, klappt oft einen Flügel ab, leicht gebogener Schnabel mit Kerbe
16	-	dick, leicht gekrümmter Schnabel

2.3 Methoden

2.3.1 Blutentnahme mit Raubwanzen bei trächtigen Säugetieren

Im Zoo Wuppertal wurden die trächtigen Afrikanischen Elefanten „Punda“, „Sabie“ und „Sweni“ freistehend und im direkten Kontakt mit den Tierpflegern in ihren Ställen mit den Raubwanzen *D. maxima* (N5) und *R. prolixus* (N5) beprobt. Die Elefantin „Punda“ musste nach zwei erfolgreichen Beprobungen aus der Studie herausgenommen, da sie aggressiv auf die Wanzen reagierte. Von den insgesamt 74 Blutproben „Sabie“ und „Sweni“ wurden 26 Proben direkt von Raubwanzen am Tier aufgenommen und 48 Proben mit heparinisierten Spritzen entnommen. Von letzteren wurden 20 Proben nach der Entnahme spätestens nach 20 min unter eine Membran gegeben und dann durch die Raubwanzen aufgenommen.

Während der Beprobung wurden die Elefanten mit Futter in Form von Luzerne, Möhren oder Brot abgelenkt. Jeweils drei *D. maxima* oder bis zu sechs *R. prolixus* wurden in einer durchsichtigen Kunststoffdose mit Papptrennwänden angesetzt (Abb. 2.1a). Die

Trennwände dienten den Wanzen als Halt und Möglichkeit zur Positionierung für den Einstich. Die Dose wurde ohne Abdeckung für einige Minuten an den Vorderlauf der Elefantenkühe gehalten. Sobald eine oder mehrere Wanzen begonnen hatten zu saugen, wurde die Dose mit den übrigen Wanzen wieder entfernt, um die Elefanten durch Bewegungen der nicht saugenden Wanzen nicht unnötig zu stören. Die saugenden Wanzen bewegten sich nicht und wurden daher frei am Vorderlauf belassen (Abb. 2.1b). Nach Beendigung des Saugaktes wurden die Wanzen vom Vorderlauf der Elefantenkühe entfernt und das Blut spätestens nach 20 min aus dem Magen entnommen, um die Konzentrierung des Blutes und damit eine mögliche Verfälschung der Blutwerte zu minimieren. Wenn mehrere Wanzen gleichzeitig an einer Elefantenkuh Blut saugen, wurde dieses vereinigt, um ein größeres Probenvolumen zu erhalten.



Abb. 2.1a, b: *D. maxima* an *Loxodonta africana*

Im Zoo Leipzig wurden bei der trächtigen Asiatischen Elefantin „Hoa“ vom 03.11.11-18.04.12 insgesamt 59 Blutproben entweder mit *D. maxima* (19 Proben) oder der Spritze (37 Proben) entnommen. Solange die Wanze saugte, wurde Hoa mit Futter abgelenkt. Die Proben wurden der Wanze nach etwa 20 min entnommen, zentrifugiert und das Plasma danach sofort zur Analyse in ein Labor gesendet.

Außerdem wurden zwei weibliche Ratten der Rattenzucht im Zoo Wuppertal zwischen dem 26.06. und 30.07.12 mit *R. prolixus* (N5) beprobt, um die Progesterontiter über den vollständigen Verlauf einer Trächtigkeit zu erfassen. Die beiden Rattenweibchen,

die frisch Jungtiere geworfen hatten, wurden zu jeder Beprobung ca. 20 min einzeln gehalten und danach wieder zu ihren Männchen gesetzt, um die Wahrscheinlichkeit einer erneuten Trächtigkeit zu erhöhen. Es wurden unterschiedliche Beprobungsweisen getestet, um eine möglichst reproduzierbare und erfolgreiche Art der Blutgewinnung zu finden. Zunächst wurde ein Filmdöschen mit Wanzen für 15 min an den Rücken der Ratte gehalten. Bei einer anderen Methode wurde der Ratte eine Versteckmöglichkeit geboten, während sich die Wanzen im Käfig frei bewegten und sich den Weg zum Wirt selbst suchten (Abb. 2.2.). Die effizienteste Methode war eine mit Gaze überspannte Streichholzschachtel, die mit 5-7 Wanzen bestückt und mit einem Klebeband auf dem Rücken der Ratte wie ein Rucksack fixiert wurde. Während der Blutentnahme wurden die Rattenweibchen mit Futter abgelenkt, um starke Bewegungen und somit eine Störung der Wanzen bei der Blutaufnahme zu verhindern. Nach ca. 15 min wurden die vollgesogenen Wanzen entfernt und deren Mageninhalt sofort entnommen. Bei Versuchen den Rattenweibchen unter Narkose Kontrollblut an den Venen des Schwanzes und Halses zu entnehmen, reichte dies nicht für die Analyse aus. Von einer Herzpunktion oder der Tötung der Tiere zur Gewinnung von Kontrollblut wurde abgesehen. Die Progesteron-Konzentrationen der Elefanten und Ratten wurden gemittelt, auf Normalverteilung geprüft und die Abweichungen mit Student's *t*-test auf Signifikanz geprüft (Microsoft Excel 2010, Statistica).



Abb. 2.2: *R. prolixus* saugt an *Rattus rattus*

2.3.2 Membranfütterung

Nach ausschließlich direkter Beprobung mit Raubwanzen vom 12.04.-24.05.12 an den Elefanten im Zoo Wuppertal, wurden Membranfütterungen von Raubwanzen mit Elefantenblut durchgeführt. Außerdem wurde *R. prolixus* einmal pro Woche direkt bei den Elefantenkühen angesetzt. Die Membranfütterungen vergrößerten das aufgenommene Blutvolumen, da die Raubwanzen z.T. Probleme hatten mit dem Stechrüssel durch die Haut der Elefanten zu den Blutgefäßen zu gelangen. Außerdem irritierten Bewegungen der Elefanten die Wanzen oftmals, sodass sie die Blutaufnahme vorzeitig abbrachen und nur wenig Blut gesogen hatten. Durch die Membranfütterung fielen solche Störfaktoren weg, und es wurden mehr verwertbare Blutproben gewonnen. Darüber hinaus wurde die Probenentnahme beschleunigt, da die konventionelle Blutabnahme nur wenige Minuten dauerte. Der Tierarzt des Zoos Wuppertals, Dr. Arne Lawrenz, entnahm vom 25.06.-16.07.12 mehrmals pro Woche zwei Blutproben zur selben Uhrzeit. Beide Blutproben wurden mit der Spritze direkt in Lithium-Heparin Monovetten aufgezogen, um eine Blutgerinnung zu vermeiden. Eine Probe wurde für die Membranfütterung verwendet, während die zweite Probe als Kontrolle direkt bei ca. 2000 G zentrifugiert wurde. Das Kontrollplasma wurde in 600 Z-Multivetten bei -20° C bis zur Analyse aufbewahrt.

Für die Fütterung wurden Latex-Membranen eingesetzt. Die Präservativa wurden vor dem ersten Gebrauch abgewaschen und abgekocht um das Talkum-Puder und den Weichmacher zu entfernen und somit einen möglichen Störfaktor für die Wanzen zu eliminieren. Für die Fütterung wurden die autoklavierten Membranen flach auf einer Glasplatte ausgebreitet, welche durch eine Heizplatte (Nagel: Medax, Typ 15800) bei einer Temperatur von 36-38 °C gehalten wurde (Schaub 1990). Eine Erwärmung der Blutproben war notwendig, da diese Temperatur die Raubwanzen zur Nahrungsaufnahme animierte (Lazzari & Núñez 1989, Schofield 1979). Bei jeder Fütterung wurden je 3-4 ml einer Blutprobe auf die Glasplatte unter eine Membran gespritzt. Hierbei durften sich keine größeren Luftbläschen bilden, weil diese das Blutvolumen in den Wanzenmägen verringert hätten. Auf die Membran wurden mit Gaze verschlossene Plexiglasröhren mit jeweils fünf *R. prolixus* (N5) verwendet (Abb. 2.3 a). gesetzt. Die Wanzen stachen zwischen die Fäden der Gaze und saugten durch die Membran Blut (Abb. 2.3 b). Die Plexiglasröhren wurden während der Fütterung mit einem Tuch abgedunkelt, da die meisten Raubwanzen bevorzugt

nachts in der Dunkelheit saugen und sich tagsüber in dunklen Ritzen oder Nischen verstecken (Weinke & Burchard 2010). Nach jeder Fütterung wurden die Membranen mit kaltem Wasser abgewaschen und bei einem Druck von 1 bar für 45 min autoklaviert.

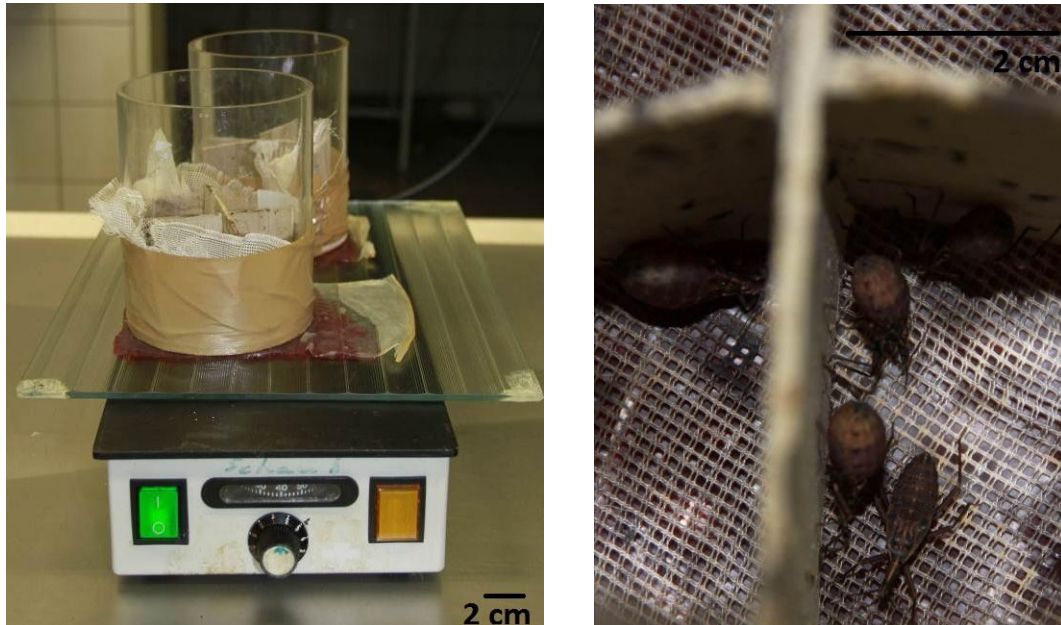


Abb. 2.3 a, b: *R. prolixus* bei der Membranfütterung

2.3.3 Blutentnahme bei Raubwanzen

Zur Blutentnahme wurden die Raubwanzen mit einer Pinzette fixiert (Abb. 2.3). Mit einer 0,8 x 25 mm-Kanüle (21 G) auf einer Spritze wurde ihnen im 45°-Winkel, bezogen auf die Körperlängsachse, in den Magen gestochen (Voigt et al. 2004, Stadler et al. 2007). Das Blut wurde aufgezogen und für die Zentrifugierung in nicht beschichtete Serum-Multivetten gefüllt. Das von den Wanzen direkt am Tier aufgenommene Blut wurde in die Lithium-Heparin-Multivetten 600 LH gefüllt. Anschließend wurden die Proben für die Plasmagewinnung 10 min bei ca. 2000 G zentrifugiert. Bis zur Analyse wurden die Plasma-Proben bei -20 °C gelagert. Die Kontrollproben und dazugehörigen durch Wanzen aufgenommenen Blutproben wurden stets für dieselbe Dauer, maximal bis zu einer Woche, gelagert und dann gemeinsam zum Labor geschickt.



Abb. 2.4: *R. prolixus* fixiert

2.3.4 Blutanalyse

Das Labor Stein und Kollegen (Velbert), welches die Blutproben aus dem Zoo Wuppertal analysierte und das Labor des Zoos Leipzig nutzten denselben immunologischen in vitro Test zur quantitativen Bestimmung des Progesterons in den Blutproben, den Elektro-ChemiLumineszenz-ImmunoAssay („ECLIA“) bzw. „Elecsys Progesterone II“-Test. Die Mindestanforderungen an das Blutvolumen für diesen Test waren 500-600µl Vollblut bzw. 200-300µl Plasma/Probe. Das Plasma der Proben aus dem Zoo Wuppertal wurde in Serum-Multivetten ohne Beschichtung bei -20°C bis zum Transport in das Labor gelagert. Bei dieser Lagermethode ist der Test mit Blutplasma bis zu einem halben Jahr später erfolgreich. Die Proben wurden jedoch spätestens nach einer Woche gesammelt zum Labor gesandt.

Für die Analyse wurden 30µl Plasma einer Blutprobe zur Freisetzung des Progesterons mit Danazol in Gegenwart eines für Progesteron spezifischen biotinylierten Antikörpers sowie eines mit einem Ruthenium-Komplex markierten Progesteronderivats nach Angaben des Herstellers inkubiert. Das Derivat und das Progesteron der Probe standen in Konkurrenz um die Bindungsstellen des Antikörpers. Bei einer zweiten Inkubation wurden mit Streptavidin beschichtete Mikropartikel hinzugefügt, welche den Komplex für die Markierung des Progesteronderivats an die Festphase banden (Biotin-Streptavidin-Wechselwirkung). Der Anteil an gebundenem Progesteronderivat ist umgekehrt proportional zum Progesterongehalt in der Probe. In einer Messzelle wurden danach die Mikropartikel auf die Oberfläche einer Elektrode fixiert und ungebundene Substanzen entfernt. Schließlich wurde eine Spannung angelegt. Diese löste eine Chemilumineszenzemission aus, welche

photometrisch gemessen und mit einer Kalibrationskurve verglichen wurde. Mit diesem Test kann ein Progesterongehalt zwischen 0,095-191 nmol/l bzw. 0,03-60 ng/ml ermittelt werden.

2.3.5 Verhaltensbeobachtungen bei der Königspinguin-Aufzucht

Im Zoo Wuppertal wurden vier Wochen lang Verhaltensbeobachtungen bei den Königspinguinen durchgeführt. Zu Beginn der Untersuchungen im Rahmen eines S-Blocks war das Jungtier sechs Wochen alt. Die erste Beobachtungswoche wurde als Eingewöhnung genutzt, um sich mit den Tieren und ihrem Verhalten vertraut zu machen. Die Eselspinguine wurden bei den verhaltensbiologischen Beobachtungen nicht unterschieden, da sie sich dem Jungtier nur selten annäherten und mit den Königspinguinen überwiegend nicht in soziale Interaktion traten. Sie wurden nur bei der Dokumentation des Abwehrverhaltens der Elterntiere mit einbezogen.

Als Beobachtungszeitraum wurde der Vormittag von 9:00-13:00 Uhr ausgewählt, da die Pinguine dann meistens aktiver agierten als am Nachmittag. Fütterungen fanden bei den Königspinguinen, abgesehen vom Freitag, zweimal täglich um 11:00 und 15:00 Uhr statt. Die Pinguinelterne wurden auch am Freitag gefüttert, um die bestmögliche Entwicklung des Jungtiers zu garantieren, welches durch die Elterntiere gefüttert wurde. Bei der Beobachtung wurden Fokus-Tier und Sequence-Sampling Methode miteinander kombiniert (Geissmann 2002, Naguib 2006). Mit letzterer wurde zwischen dem 14.11-11.12.11 von 9-13 Uhr stündlich das Putz- und Schlafverhalten beim Muttertier, beim Vater des Jungtiers und bei einem täglich randomisiert ausgewählten Individuum protokolliert. Die Messung erfolgte dabei als Dauer eines gezeigten Verhaltens in Minuten.

Das Abwehrverhalten der Individuen pro Stunde wurde mit der Fokus-Tier Methode erfasst. Pinguine, welche sich bedroht fühlten, hackten nach ihren Nachbarn und schrien dabei. Dieses Verhalten dauerte i.d.R. nur 1-2 Sekunden und wurde daher nur als Häufigkeit aufgenommen, d.h. als Anzahl ohne Dauer. Darüber hinaus wurden die durchschnittliche Häufigkeit der Zuwendungen und Zurechtweisungen dem Jungtier gegenüber sowie das Fütterungsverhalten der Eltern dokumentiert. Die soziale Interaktion von anderen Tieren der Gruppe mit dem Jungtier wurde ebenfalls bewertet, um Aufschluss über die Aufnahme des Jungtiers in die Gruppe zu erhalten. Schließlich wurde zur Evaluation des Schutzinstinkts der

Pinguinelterne die Dauer des Körperkontakts zum Jungtier [min/h] sowie die geschätzte Entfernung [m] dokumentiert, wenn kein Körperkontakt bestand. Während der Verhaltensanalyse wurde die Anlage bis auf die Säuberung gegen 9 Uhr und die vom Tierpfleger ausgeführte tägliche Fütterung um 11 Uhr nicht betreten, um das natürliche Verhalten der Königspinguine so wenig wie möglich zu beeinflussen.

2.3.6 Parasitologische Untersuchungen

Vor und im Rahmen der Bachelorarbeit wurden zwischen dem 17.10. und 10.12.11 sowie vom 25.01.-06.06.12 Kotproben der Königspinguinelterne und von randomisierten Kontrolltieren der Pinguingruppe zur Bestimmung der Anzahl der Parasiten gesammelt. Die Entnahme der Fäzes erfolgte nach dem Schlupf des Jungtiers zweimal wöchentlich und 2012 einmal in der Woche, bis die Tiere am 28.05 schließlich völlig gemausert waren. Die Königspinguine sonderten zuweilen relativ wenig Kot ab, ≤ 2 g. Die Proben wurden in mit Datum und Zugehörigkeit beschrifteten Röhrchen bis zur Auswertung eingefroren.

Vor der parasitologischen Analyse wurden die Kotproben aufgetaut und ausgewogen. Die Analyse wurde nach dem Flotationsverfahren mit gesättigter Zinkchlorid-Kochsalz-Lösung durchgeführt (Bürger & Stoye 1983). Dazu wurden 310 g NaCl mit 220 g $ZnCl_2$ in 800 ml destilliertem Wasser bis zur Sättigung auf dem Magnetrührer gelöst. Die Kotproben wurden im Mörser mit der Zinkchlorid-Kochsalz-Lösung verrührt, und die Suspension durch ein Sieb (Maschenweite: 250-300 μm) in 50 ml Zentrifugenröhrchen gegeben. Die Proben wurden bei 1250 G für 7 Min zentrifugiert, da mit dieser Einstellung in einer früheren Studie bei Kotanalysen von Erdmännchen (*Suricata suricatta*) quantitativ gute Ergebnisse erzielt wurden (Stadler 2005). Bei der Zentrifugation mit höheren Umdrehungszahlen werden eher Nematodeneier erfasst. Da Nematodeneier vergleichsweise schwerer sind als Kokzidien, haben sie eine höhere Dichte und würden sich daher bei zu schwacher Zentrifugierung im Sediment konzentrieren, anstatt im Überstand (Stadler 2005). Nach der Zentrifugation wurde jeweils ein Deckglas (18x18 mm) für 30 min auf die Oberfläche der Lösung gelegt. Durch Adhäsionskraft sammelten sich die Parasiten an der Oberfläche der Deckgläser. Diese wurden auf Objektträger überführt und im Mikroskop betrachtet. Die Auszählung erfolgte nach Mac Master (Bürger & Stoye 1983). Dabei wurden bei 1000-facher Vergrößerung zehn Gesichtsfelder des Deckgläschens ausgezählt und auf das gesamte Zählfeld umgerechnet.

Anschließend wurden die ausgezählten Parasiten für die jeweilige Probe einheitlich auf ein Gramm Kot umgerechnet. Die statistischen Analysen wurden mit Student's *t*-test durchgeführt (Microsoft Excel 2010, Statistica)

Da die frischen Präparate in einem feuchten, luftdicht abgeschlossenen Behältnis nicht lange ihre Qualität behielten, sondern die Salze nach mehreren Tagen kristallisierten, wurden direkt bei der Erstellung einiger Präparate zusätzlich „Häma-Quick“-Färbungen (vergleichbar mit Pappenheim-Färbungen) durchgeführt. Dazu wurden Ausstrich-Präparate mehrmals kurz in eine methanolhaltige Fixierlösung und die Farbstofflösungen Eosin und Methylenblau eingetaucht und jedes Mal getrocknet. Danach wurden die Präparate mit Wasser abgespült, um sie von überflüssiger Farbe zu reinigen, und abschließend mit Entellan eingedeckt. So waren die Proben länger haltbar und wurden schließlich im Olympus-Mikroskop BX40 mit dem „ALTRA 20-Soft Imaging System“ fotografiert.

3. Ergebnisse

3.1 Progesterontiter bei *Loxodonta africana*

Bei insgesamt 52 der 74 der im Zoo Wuppertal entnommenen Blutproben reichte das Blutvolumen für eine Analyse aus (Tab. 3.1). Sieben Wanzenproben ergaben nach der Zentrifugation zu wenig Blutplasma. Weitere 17 zwischen dem 12.04. und 22.05.12 genommene Proben wurden versehentlich als Vollblut eingefroren und waren daher nicht auswertbar.

Tab. 3.1: Plasma-Proben zur Hormonanalyse bei *Loxodonta africana*

Datum	Sweni	Sabie	Kontrolle	Membranfütterung*
Plasma				
31.05	(w)	(w)	-	-
05.06	-	(w)	x	-
14.06	-	-	x	x
26.06	-	-	x	x
27.06	x	x	x	x
28.06	-	-	x	x
05.07	x	(w)	x	x
06.07	-	-	x	x
09.07	(w)	(w)	x	x
11.07	-	-	x	x
12.07	x	(w)	x	x
16.07	-	-	x	x
19.07	-	-	x	t
x Probenvolumen ausreichend		- keine Probenentnahme		(w) zu wenig Plasma
t Membrantest		* Aliquot der Kontrollprobe		

Um die **Genauigkeit des Testverfahrens** zu überprüfen, wurde am 03.08.12 je eine Blutprobe pro Elefantin mit der Spritze entnommen, diese Proben auf drei Röhrchen verteilt, einzeln ausgewertet und die Ergebnisse verglichen. Die mit dem „ECLIA-Test“ ermittelten Progesteron-Konzentrationen der Probe der Elefantin „Sabie“ lagen bei 0,24-0,32 ng/ml Plasma ($1,27 \pm 0,12$ ng/ml), die von „Sweni“ bei 1,15-1,43 ng/ml ($0,28 \pm 0,04$ ng/ml). Die prozentualen Abweichungen vom Mittelwert betragen 9,4 % bzw. 12,9%.

Beim zeitlichen Verlauf der Progesteron-Konzentration beider Kühe zeigte sich bei der konventionellen Blutabnahme eine abfallende Tendenz mit zwischenzeitlichen Anstiegen (Abb. 3.1 und 3.2). Bei der Elefantin „Sabie“ lagen die Progesteron-Konzentrationen zwischen 0,71 und 7,64 ng/ml, bei „Sweni“ bei 1,67-6,89 ng/ml. Der Progesterontiter bewegte sich bei „Sabie“ und „Sweni“ um einen Mittelwert von $2,02 \pm 1,89$ bzw. $3,69 \pm 1,99$ ng Progesteron/ml Plasma.

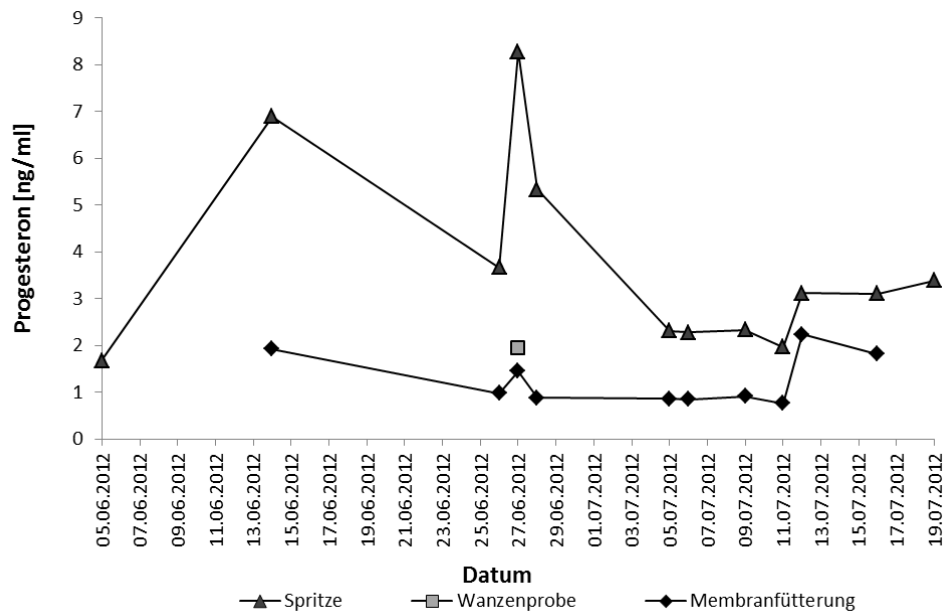


Abb. 3.1: Progesteron-Konzentrationen der Afrikanischen Elefantin „Sabie“

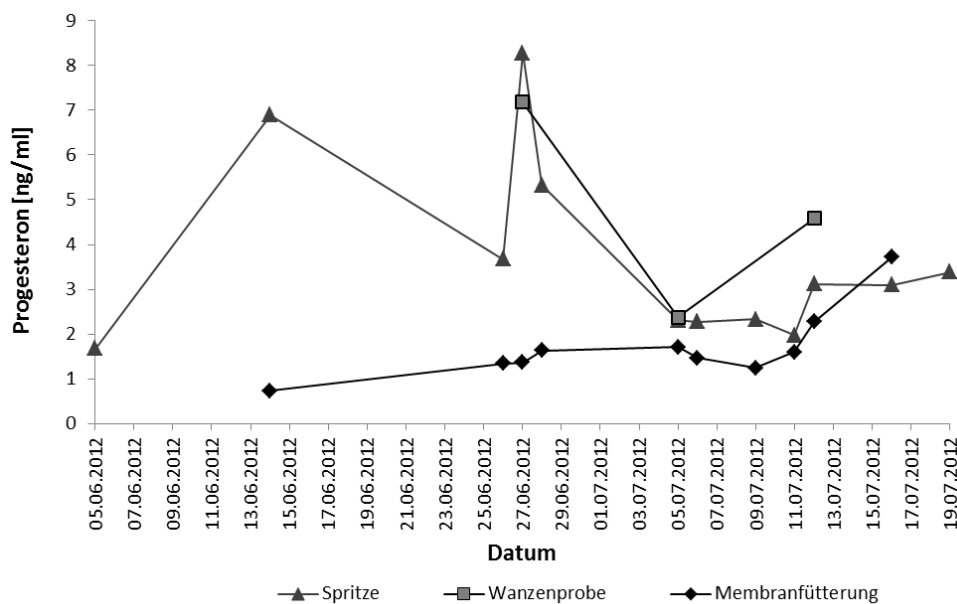


Abb. 3.2: Progesteron-Konzentrationen der Afrikanischen Elefantin „Sweni“

Die Progesteron-Konzentrationen der **Wanzenproben** lagen bei „Sabie“ bei 1,94 ng/ml Plasma und bei der Probe von „Sweni“ bei $4,71 \pm 1,96$ ng/ml. Bei den insgesamt vier Wanzenproben beider Elefantenkühe betrug die durchschnittliche Abweichung zu den Kontrollproben 0,71 ng/ml. Sie unterschieden sich bei beiden Kühen nicht signifikant von den Kontrollproben („Sweni“: $p=0,55$; „Sabie“: $p=0,89$).

Die Progesteronwerte bei den **Proben der Membranfütterung** lagen mit $1,26 \pm 0,51$ und $1,71 \pm 0,77$ ng/ml Plasma sowohl bei der Elefantin „Sabie“ als auch bei „Sweni“ durchschnittlich niedriger als bei den konventionell gewonnenen Kontrollproben (Abb. 3.1 und 3.2). Dabei unterschied sich die Progesteron-Konzentration der Proben von „Sweni“ signifikant von den Kontrollproben ($p=0,01$), während die von „Sabie“ eine nicht signifikante Abweichung aufwies ($p=0,22$). Die durchschnittliche Abweichung des Progesterongehalts der Membranproben von den Kontrollwerten lag ohne Berücksichtigung der stark abweichenden Werte bei „Sabie“ bei 0,81 ng/ml und bei „Sweni“ bei 1,0 ng/ml (Tab. 3.2). Lediglich bei vier Messungen waren die Progesteron-Konzentrationen der Membranproben 0,06-1,1 ng/ml höher als die der Kontrollwerte. Je höher die Progesteron-Konzentration der Kontrollprobe war, desto größer waren auch die Abweichungen der Werte nach der Membranfütterung.

Tab. 3.2: Abweichung der Progesteron-Konzentrationen [ng/ml Plasma] zwischen Membranfütterung und Spritze

Datum	„Sabie“	„Sweni“
14.06.	- 5,37*	- 6,15*
26.06.	- 1,37	- 2,33
27.06.	- 0,68	- 6,92*
28.06.	- 2,9	- 3,7
05.07.	- 0,31	- 0,6
06.07.	- 0,18	- 0,82
09.07.	+ 0,06	- 1,09
11.07.	- 0,02	- 0,37
12.07.	+ 0,94	- 0,84
16.07.	+ 1,1	+ 0,62
Median*	0,81	1,0
Mittelwert*	1,29	2,34

* ohne die stark abweichenden Werte

Um zu überprüfen ob die Latexmembranen die niedrige Konzentration in den Blutproben der Membranfütterungen verursacht haben, wurde ein **Membrantest** durchgeführt. Dafür wurde konventionell entnommenes Blut der beiden Afrikanischen Elefantinnen vom 19.07.12 unter die Membranen gespritzt und nach ca. 30 min auf der Heizplatte wieder aufgenommen. Im Vergleich zu den Werten der Kontrollproben mit 1,57 ng/ml bei „Sabie“ und 3,38 ng/ml bei „Sweni“, lag die Progesteron-Konzentration der Proben des Membrantests mit 0,36 bzw. 1,0 ng/ml um 76,8 und 70,5 % niedriger.

3.2 Progesterontiter bei *Elephas maximus*

Bei den insgesamt 59 Blutproben der trächtigen asiatischen Elefantin „Hoa“ aus dem Zoo Leipzig zeigte der Verlauf der Progesteron-Konzentrationen der konventionell entnommenen Blutproben eine überwiegend abfallende Tendenz von einem Anfangswert bei 4,71 ng/ml Progesteron am 03.11.11 auf 0,53 ng/ml am 03.04.12 (Abb. 3.3). In den letzten Tagen vor der Geburt am 09.04.12 fiel die Konzentration vom 30.03. auf den 03.04.12 stark um 2,57 ng/ml ab.

Die Konzentrationen der **Wanzenproben** nahmen ebenfalls von 5,32 ng/ml auf 0,81 ng/ml Progesteron ab (Abb. 3.3). Sie lagen im Durchschnitt bei $3,33 \pm 1,48$ ng/ml und somit oberhalb der Konzentration der konventionell gewonnenen Proben mit $2,40 \pm 0,84$ ng/ml. Bei einem deutlich höheren Wert der Wanzenprobe am 14.02 fand sich mit 8,76 ng/ml eine 2,5-fach höhere Progesteron-Konzentration als durchschnittlich bei den durch Spritzen entnommenen Proben. Diesen stark erhöhten Wert ausgenommen ergab sich beim Median eine positive Abweichung von 0,60 ng/ml zwischen den Wanzenproben und der venösen Blutentnahme. Die Progesteron-Konzentrationen der durch Wanzen aufgenommenen Proben unterschieden sich deshalb nicht signifikant von den Kontrollproben ($p=0,09$).

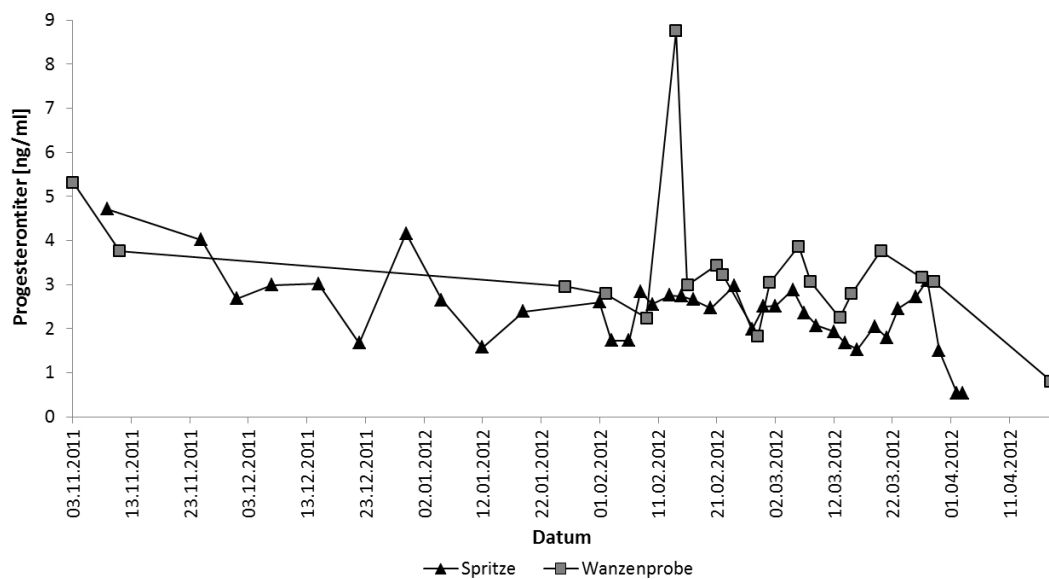


Abb.3.3: Progesterontiter bei der asiatischen Elefantin „Hoa“ [ng/ml]

3.3 Vergleich der Ergebnisse von *Loxodonta africana* und *Elephas maximus*

Während im Zoo Wuppertal am selben Tag sowohl Blut mit Raubwanzen als auch mit der Spritze Blut entnommen wurde, wurden im Zoo Leipzig beide Methoden abwechselnd angewandt. Die Progesteron-Konzentration der konventionell entnommenen Proben von *Loxodonta africana* lag bei $2,98 \pm 2,11$ ng/ml ($n=2$) und von *Elephas maximus* bei $2,4 \pm 0,84$ ng/ml ($n=1$). Im Zoo Leipzig lag der Progesterontiter der Wanzenproben von „Hoa“ im Mittel $0,6$ ng/ml oberhalb der Kontrollwerte. Im Zoo Wuppertal hingegen lag die Konzentration des Progesterons i.d.R. unterhalb jener der Kontrollproben. Die durchschnittlichen Abweichungen des Progesterontiters der Wuppertaler Membranproben von den Kontrollwerten waren bei „Sabie“ $0,81$ ng/ml und bei „Sweni“ $1,0$ ng/ml. Die Wanzenproben der beiden Afrikanischen Elefanten wiesen mit $0,71$ ng/ml eine etwas höhere Abweichung von den Kontrollproben als bei die der Asiatischen Elefantin. Allerdings lagen die Werte zweier Wanzenproben aus Wuppertal, im Gegensatz zu denen aus Leipzig, etwas niedriger als die der Kontrollproben.

3.4 Progesterontiter bei *Rattus rattus*

Bei den weiblichen Ratten des Zoo Wuppertals lag der Progesterongehalt bei insgesamt neun über *R. prolixus* bei Trächtigkeit der Tiere gewonnenen Proben meist außerhalb der Messbereichs des „ECLIA“-Tests, sodass die Proben schließlich 1:10 mit Kochsalzlösung verdünnt wurden, um genaue Werte zu erzielen. Daher ist bei zwei Proben die Progesteronkonzentration lediglich mit >60 ng/ml angegeben, während bei den anderen Proben vom Labor die Verdünnung durchgeführt wurde (Tab. 3.3). Während mit den Raubwanzen Blutproben mit einem Volumen von durchschnittlich 200µl gewonnen werden konnten, ergab Kontrollblut aus Schwanz- oder Halsvenen nur ca. 100 µl Blut und somit nicht genügend Blut für die Analyse.

Tab. 3.3: Progesterontiter bei *Rattus rattus* [ng/ml]

Datum	Progesteron [ng/ml]	
	R1	R2
14.06.2012	>60	(w)
02.07.2012	(w)	> 60
09.07.2012	(w)	(w)
11.07.2012	32,8	101,3
24.07.2012	11,48	5,46
26.07.2012	59,29	4,54
30.07.2012	(w)	6,38

(w) zu wenig Blut

Die Progesteron-Konzentration der beiden weiblichen Ratten lag durchschnittlich bei $37,92 \pm 32,21$ ng/ml. Das Rattenweibchen R1 warf nur am 04.07 Jungtiere und bekam danach bis zum Ende Beprobung am 30.07.12 keinen Nachwuchs mehr. Die während der ersten Trächtigkeit am 14.06 gewonnene Probe ergab einen Progesterontiter >60 ng/ml. Die Werte der beiden Proben vom 11.7 und 24.7 lagen mit 32,8 und 11,48 ng/ml weitaus niedriger. Die letzte Probe vom 30.07. enthielt wieder eine Progesteron-Konzentration um die 60 ng/ml. Das Weibchen R2 war zwischen dem 02.07 und 23.07.12 trächtig. In diesem Zeitraum lag die Progesteron-Konzentration der beiden Proben bei >60 ng/ml. Bei den drei Proben nach dem Wurf lag die Progesteron-Konzentration von R2 bei durchschnittlich $5,46 \pm 0,92$ ng/ml. Die Progesteronwerte von *Rattus rattus* lagen signifikant höher als die von *Loxodonta africana* ($p=0,02$) und *Elephas maximus* ($p=0,01$).

3.5 Ergebnisse der Verhaltensbeobachtungen bei Königspinguinen

3.5.1 Abwehrverhalten der Pinguinelterne

Das durchschnittliche Abwehrverhalten der Elterntiere war gegenüber einem täglich randomisiert festgelegten Individuum der Gruppe über den gesamten Beobachtungszeitraum vom 14.11.-09.12.11 signifikant verstärkt ($p=0$; $t=-6,81$) (Abb. 3.4 a, b). Die Kontrolltiere verteidigten sich Artgenossen gegenüber nur gering oder gar nicht. Im zeitlichen Verlauf zeigte sich immer bei demjenigen Elterntier eine erhöhte Verteidigung, welches gerade das Jungtier betreute. Das jeweils andere Elterntier äußerte in seiner Ruhezeit i.d.R ein vermindertes Abwehrverhalten.

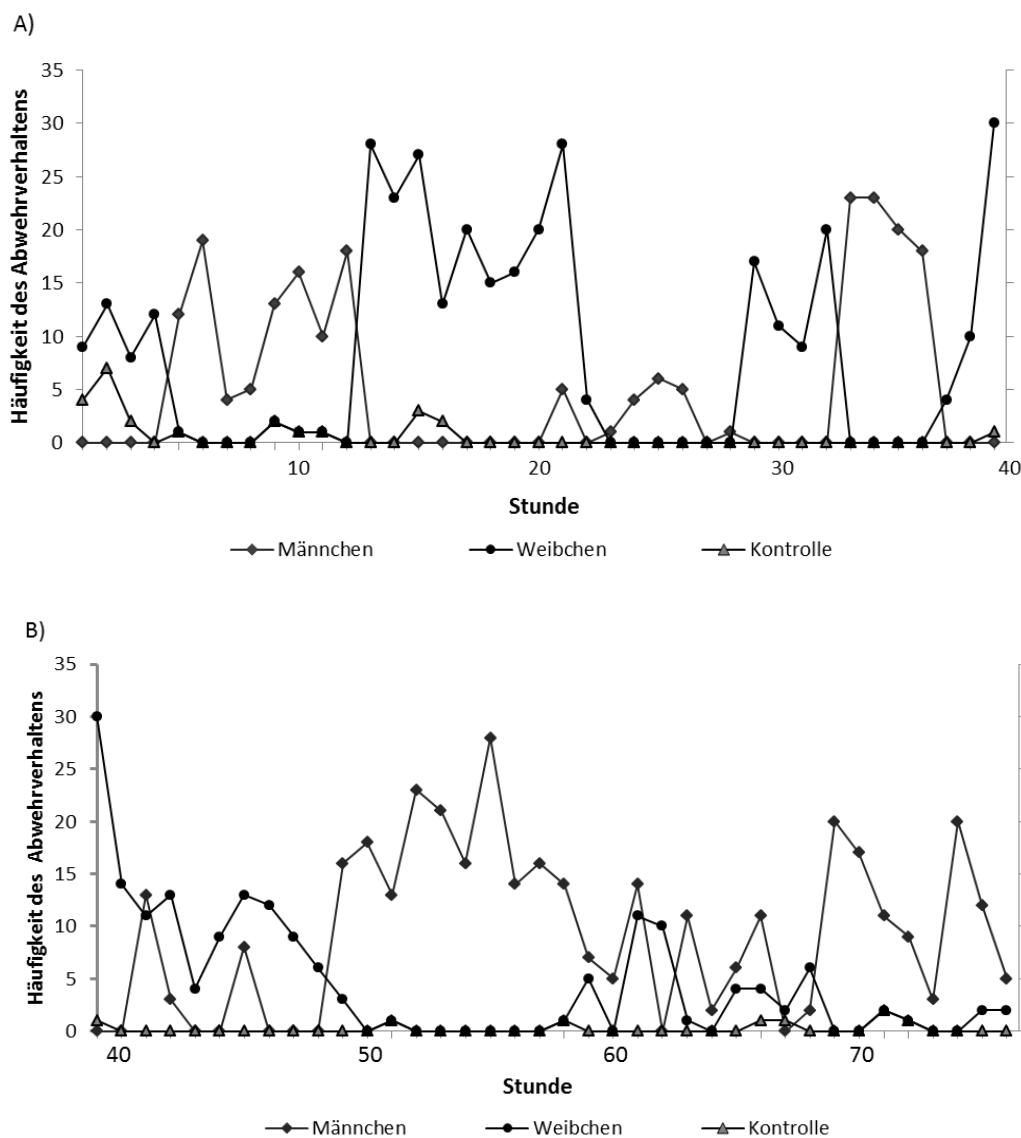


Abb. 3.4 a, b: Häufigkeit des Abwehrverhaltens der Königspinguine pro Stunde zwischen dem 14.11.-28.11.11 (A) und dem 28.11.-09.12.11(B)

Der Vater beschützte das Jungtier mit durchschnittlich sieben Verteidigungen/h häufiger als die Mutter mit nur etwa sechs Verteidigungen/h. Von insgesamt 1092 Annäherungen wurden 659 von den Eltern abgewehrt. Die Pinguinelterne verteidigten ihr Jungtier, sobald ein Artgenosse ihm zu nahe kam. Dabei war es meistens unerheblich, ob die Annäherung eines Gruppenmitglieds soziopositiv, sozionegativ oder neutral war. Die Elterntiere wehrten 359 Mal auch Artgenossen ab, die sich nur in der unmittelbaren Umgebung aufhielten, das Jungtier aber nicht näher beachteten. Der überwiegende Anteil der Annäherungen anderer Gruppenmitglieder gegenüber dem Jungtier war mit 45,33% neutral. Soziopositive und sozionegative Annäherungen waren mit 25,73% und 28,94% in einem ähnlichen Prozentsatz vertreten. Wenn ein Elterntier ruhte, wurde die Beschützerrolle solange vom anderen Elterntier übernommen. Ruhten beide gleichzeitig, übergaben sie die Aufsicht an eine der beiden Handaufzuchten „Hanke“ oder „Joris“. Diese näherten sich dem Jungtier stets auf soziopositive Weise.

3.5.2 Fütterung des Jungtiers

Die Fütterungen des Jungtiers erfolgten sowohl durch die Eltern als auch durch „Hanke“ und „Joris“. Das Jungtier wurde während der Beobachtungszeit zwischen 9:00 Uhr und 13:00 meistens einmal gefüttert; vom 14.11.-09.12.11 erfolgten vormittags insgesamt 20 Fütterungen. Der Vater fütterte das Jungtier mit einem Anteil von 40 % am häufigsten (Abb. 3.5). Die Mutter und „Hanke“ beteiligten sich zu 25 % und „Joris“ nur zu 10 % an den Fütterungen des Jungtiers.

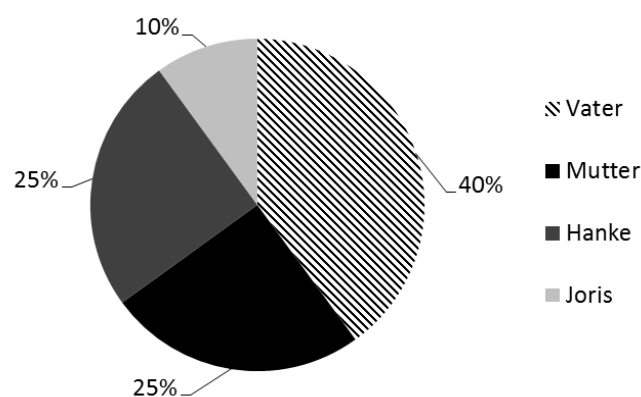


Abb. 3.5: Anteil der Fütterungen des Jungtiers durch den jeweiligen Beschützer an der Gesamtanzahl [%]

3.5.3 Körperhygiene und Schlafverhalten der Pinguinelterne

Während der Aufzucht des Jungtiers widmeten die Elterntiere der Pflege ihres Federkleids nur wenig Zeit. Durch die gesteigerte Neugier der Gruppe für das Jungtier und das somit stark erhöhte Abwehrverhalten der Elterntiere verringerte sich ihr Putz- und Schlafverhalten erheblich, da sie das Jungtier beschützten (Abb. 3.6). Während die täglich randomisiert gewählten Kontrolltiere sich im Durchschnitt etwa 11 min/h ihrer Körperhygiene widmeten, kamen Mutter und Vater durch ihre Schutzfunktion dieser nur jeweils 0,5 und 2 min/h nach. Somit unterschied sich das Putzverhalten der Eltern während der Aufsicht über das Jungtier signifikant zu dem der Kontrolltiere ($p=0$; $t=-6,78$). Im Gegensatz dazu putzten sie sich durchschnittlich 8,97 und 3,66 min/h mehr, sobald sie ihre Schutzfunktion an ein anderes Individuum übergeben hatten. In den Ruhephasen der Elterntiere unterschied sich ihr Putzverhalten damit nicht signifikant von den anderen Individuen ($p=0,09$).

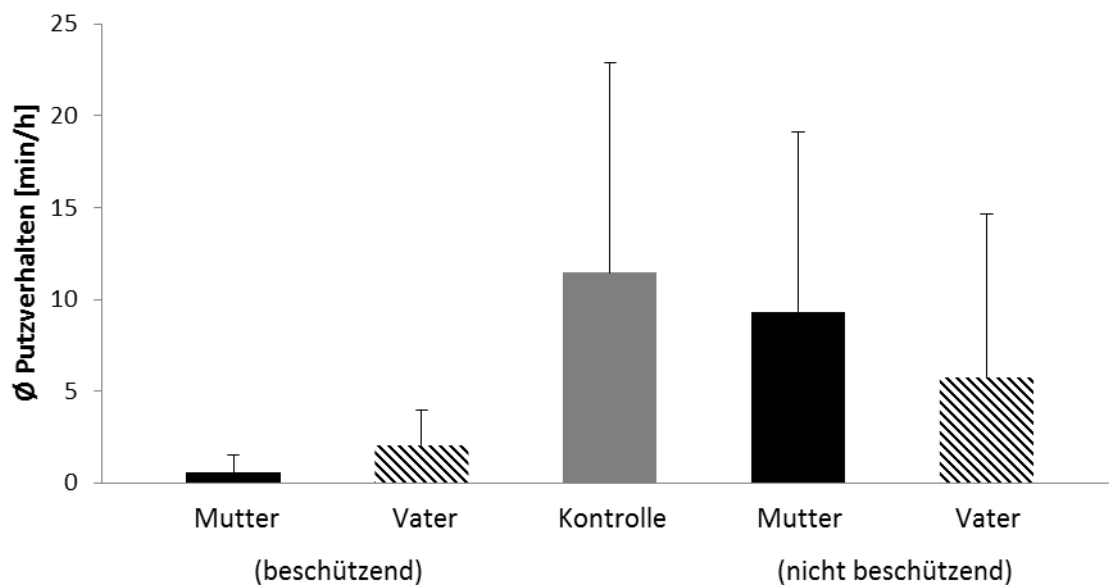


Abb. 3.6: Durchschnittliches Putzverhalten der Königspinguine [min/h] im Vergleich

Die durchschnittlichen Ruhezeiten der Mutter und des Vaters waren mit 1,3 min/h bzw. 2,13 min/h sehr gering im Vergleich zu den Kontrolltieren mit 12,55 min/h und unterschieden sich daher signifikant ($p=0$; $t=-6,77$) (Abb. 3.7). Während die Elterntiere ihr Jungtier beschützten, schliefen sie nicht. Hatten sie die Aufsicht an ein anderes Tier abgegeben, ruhten sie häufiger und schliefen durchschnittlich 8,33 min/h und 11,64 min/h.

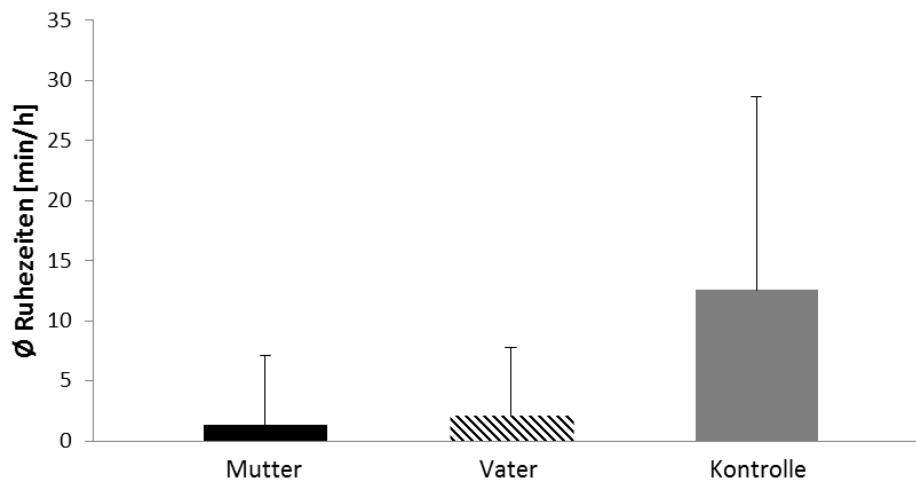


Abb. 3.7: Durchschnittliche Ruhezeiten der Königspinguine [min/h]

3.5.4 Zuwendungen und Zurechtweisungen

Neben Schutz und Nahrung bekam das Jungtier regelmäßig die Zuwendung von seinen Eltern, indem sie es putzten oder an sich drückten. Die Häufigkeit der Zuwendungen/h lag mit rund acht (Mutter), sieben (Vater) und neun (Hanke und Joris) sehr nah beieinander (Abb. 3.8). Gelegentlich wiesen die Pinguinelterne das Jungtier auch mit einem gezielten Nackenbiss zurecht, wenn es sich zu weit entfernte oder zu neugierig gegenüber einem Artgenossen wurde. Die Zurechtweisung des Jungtiers überließen „Hanke“ und „Joris“ der Mutter und dem Vater mit durchschnittlich etwa 1 und 0,22 Abmahnungen/h (Tab. 3.6).

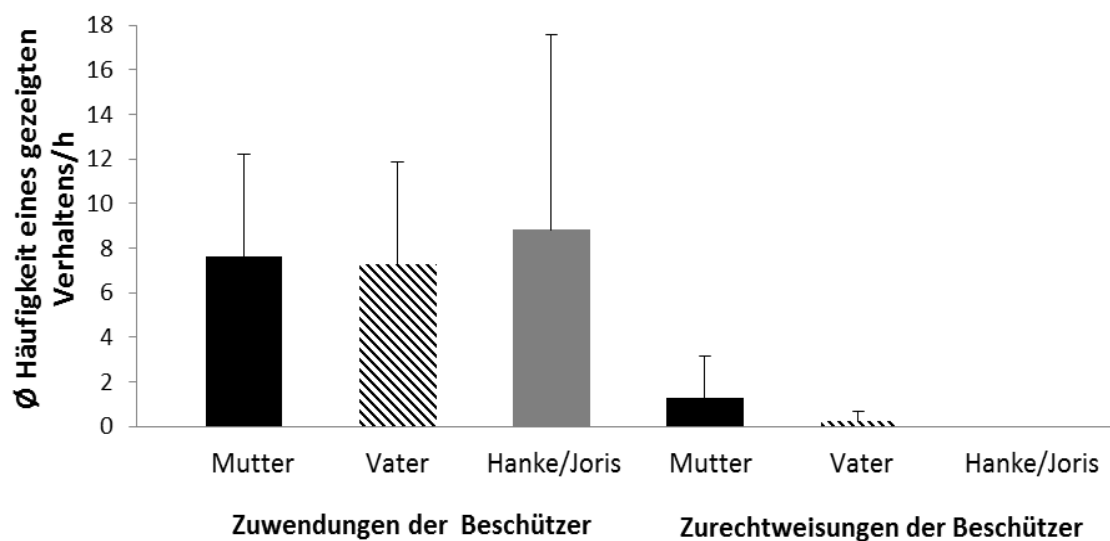


Abb. 3.8: Durchschnittliche Häufigkeit der Zuwendungen/Zurechtweisungen an das Jungtier durch die Beschützer pro Stunde

Die Eltern, „Hanke“ und „Joris“ achteten stets auf Körperrnähe zum Jungtier. Dieses hatte einen durchschnittlichen Körperkontakt von 52,1 min/h mit seinen Beschützern. In den vier Wochen der Beobachtungszeit lag insgesamt 132 Mal kein Körperkontakt mit seinen Beschützern vor (Tab. 3.4). Dabei war die Entfernung zwischen dem jeweiligen beschützenden Individuum und dem Jungtier 109 Mal kleiner und nur 23 Mal größer als 1 m. Die Dauer ohne Körperkontakt war bei Entfernungen < 1 m für mit durchschnittlich 6,3 min größer als bei Entfernungen > 1 m mit durchschnittlich 1,6 min. Die Beschützer oder das Jungtier entfernten sich demnach nur für kurze Zeit und auf kleine Distanzen. Die Entfernungen über 1 m kamen oftmals nur durch einen Beschützerwechsel zustande.

Tab. 3.4: Körperkontakt und Entfernung des Jungtiers zum Beschützer

Zeitraum	Ø Entfernung < 1m [m]	Ø Dauer ohne Körperkontakt [min/h]	Ø Entfernung >= 1m [m]	Ø Dauer ohne Körperkontakt [min/h]
16.11-18.11	0,18	6,64	1,25	3,5
21.11-25.11	0,18	6,86	1,8	1
28.11-02.12	0,22	5,41	1	1
05.12-09.12	0,22	6,15	2,5	1
16.11-09.12	0,2	6,27	1,64	1,63
Gesamtsumme Entfernungen des Jungtiers		< 1 m 109		>/= 1 m 23
Ø Gesamtdauer [min/h]	kein Körperkontakt zu Beschützer		Körperkontakt	
	7,9		52,1	

3.6 Parasitierung der Pinguine

Zwischen dem 17.10. und dem 10.12.11 wurde von den Tierpflegern des Zoos Wuppertals 1-2 Mal wöchentlich und danach in Abständen von 2-4 Wochen Kotproben von den Königspinguinen gesammelt (Tab. 3.8). Es wurden insgesamt 40 Kotproben ausgewertet. Davon wurden 14 Proben dem Pinguinvater, 8 der Mutter und 18 der Gruppe zugeordnet. In den Fäzes der Königspinguine wurden mit Hilfe des Flotationsverfahrens mit Zinkchlorid-Kochsalzlösung Sporozoa und vereinzelt Helmintheneier nachgewiesen. Bei den Elterntieren wurden auffällig viele Kokzidien in den Kotproben gefunden, während dies bei den Proben der Gruppe seltener vorkam (Tab. 3.5 und 3.6). Während bei der Gruppe nur 8 von 18

Proben Kokzidien (44%) enthielten, waren sie beim Vater des Jungtiers in 11 von 14 (79%) und beim Muttertier in 7 von 8 (88%) Proben zu finden. Dabei wiesen die Fäzes der Mutter mit durchschnittlich $7,1 \times 10^5 \pm 5,85 \times 10^5$ Kokzidien/g mehr Parasiten auf als die des Vaters mit $4,81 \times 10^5 \pm 4,7 \times 10^5$ Kokzidien/g, während die Fäzes der Kontrolltiere bei einem Befall im Durchschnitt nur $2,84 \times 10^5 \pm 1,73 \times 10^5$ Kokzidien/g enthielten. Damit unterschied sich der Befall der Elterntiere mit Kokzidien signifikant von dem der Gruppe ($p=0,01$).

Tab. 3.5: Anzahl der Parasiten in den Kotproben der Königspinguinelterne

Tier	Datum	Gewicht der Probe [g]	Anzahl der Kokzidien $\times 10^4$ /g Fäzes	Anzahl der Nematodeneier $\times 10^3$ /g Fäzes
Vater	17.10.2011	0,2	0	0
	20.10.2011	0,3	0	0
	24.10.2011	1,8	4,91	6,94
	31.10.2011	0,8	0	0
	12.11.2011	1	11,3	1,39
	14.11.2011	0,4	83	0
	30.11.2011	0,4	84,8	0
	10.12.2011	0,2	174	0
	25.01.2012	1,6	53,6	0
	01.02.2012	1,4	50,3	0
	09.05.2012	1	19,3	0
	16.05.2012	0,5	18,5	0
	24.05.2012	1,1	15,8	0
	06.06.2012	0,6	13,8	0
Mutter	27.10.2011	1,6	0	3,47
	03.11.2011	1,5	19,1	2,16
	06.11.2011	0,3	113	10,8
	23.11.2011	0,3	78,3	0
	25.01.2012	0,8	40,7	0
	30.03.2012	1	40,3	0
	09.05.2012	1,2	66,1	0
	16.05.2012	0,8	210	0

Tab. 3.6: Anzahl der Parasiten in den Kotproben der Kontrolltiere der Gruppe

Datum	Gewicht der Probe [g]	Anzahl der Kokzidien $\times 10^4$ /g Fäzes	Anzahl der Nematodeneier $\times 10^3$ /g Fäzes
17.10.2011	0,5	0	0
24.10.2011	0,8	17,9	8,65
27.10.2011	1,7	0	0
03.11.2011	0,8	0	0
06.11.2011	1	0	0
09.11.2011	1	0	0
23.11.2011	0,6	0	0
30.11.2011	1	36,8	0
03.12.2011	0,6	0	0
07.12.2011	0,5	9,6	0
10.12.2011	0,7	0	0
25.01.2012	0,8	0	0
01.02.2012	1,2	64,9	0
08.02.2012	2,4	26,3	0
30.03.2012	1,8	0	0
13.04.2012	3,5	9,32	0
09.05.2012	0,6	27	0
18.05.2012	0,5	14,7	0

Die Anzahl der Kokzidien stieg beim Vatertier beinahe kontinuierlich von $4,91 \times 10^4$ am 24.10.11 auf das Maximum von $1,74 \times 10^6$ Kokzidien/g Kot am 10.12.11 an und fiel danach auf $1,38 \times 10^5$ Kokzidien/g Kot am 06.06.12 ab (Abb. 3.9). Bei der Mutter stieg die Konzentration der Kokzidien nach Beginn der Aufzucht auf ein erstes Maximum bei $1,13 \times 10^6$ Kokzidien/g am 06.11.11, fiel bis 30.03.12 ab und stieg danach erneut bis zu einem zweiten Maximum am 16.05.12 mit $2,10 \times 10^6$ Kokzidien/g Kot. Die acht Proben der Kontrolltiere, bei denen Kokzidien vorlagen, wiesen verglichen mit jenen der Elterntiere im zeitlichen Verlauf meistens niedrigere Werte auf.

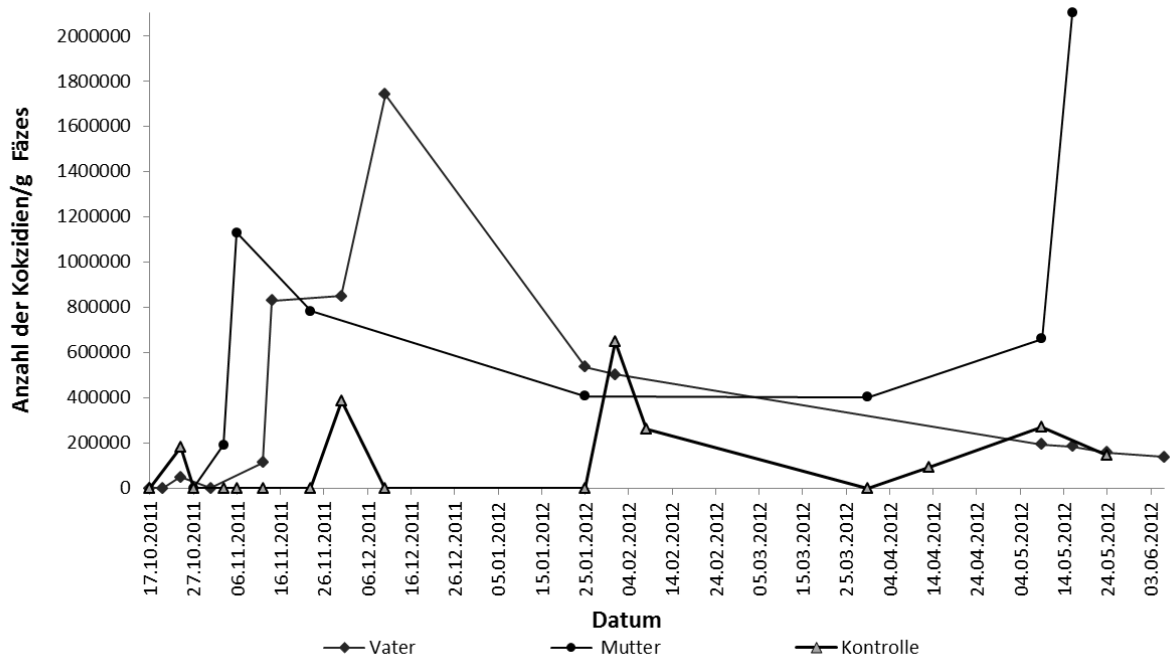


Abb. 3.9: Zeitlicher Verlauf der Anzahl Kokzidien/g Fäzes bei den Königspinguinelttern

Mikroskopische Präparate von Tieren mit Kokzidiosen wiesen bei 1000-facher Vergrößerung Oocysten auf, die vermutlich den Gattungen *Isospora* und *Eimeria* angehörten, wobei letztere deutlich kleiner waren (Abb. 3.11).

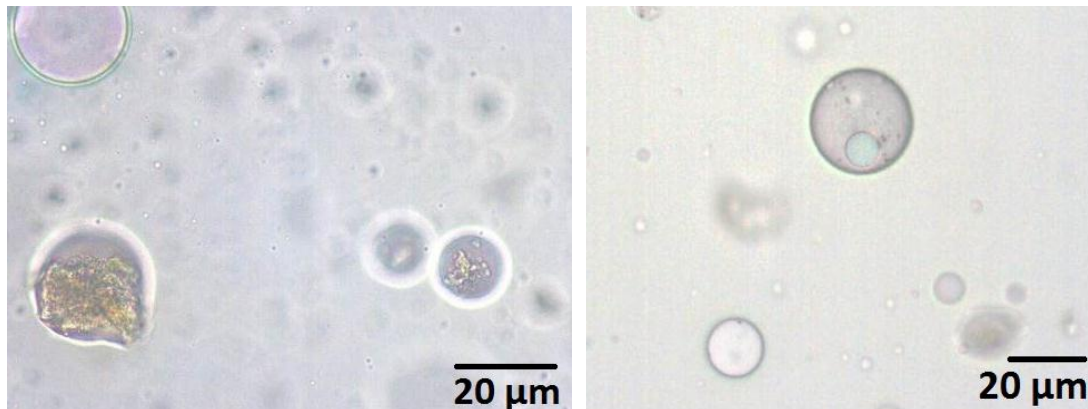


Abb. 3.11 a, b: Oocysten der Gattung *Isospora* bei der Pinguinmutter am 16.05.12

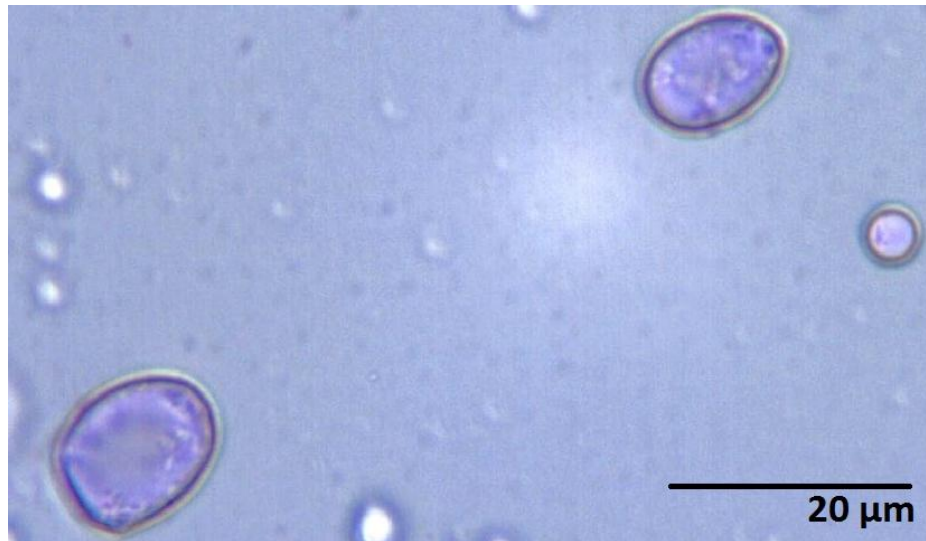


Abb. 3.12: Oocysten der Gattung *Eimeria* beim Vater am 01.02.12

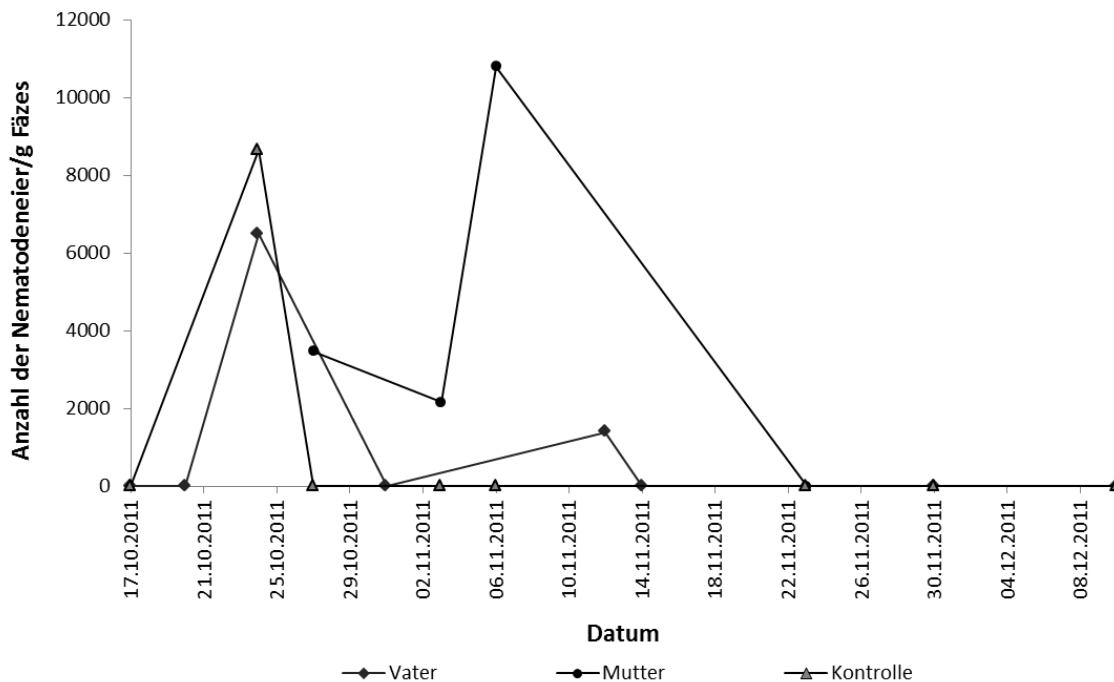


Abb. 3.10: Zeitlicher Verlauf der Anzahl Nematodeneier/g Fäzes bei den Königspinguinelterern

Der Befall mit Kokzidien war bei Königspinguinen wesentlich höher als der mit Nematodeneiern. Insgesamt enthielten nur 6 von 44 Proben Nematodeneier, hingegen 30 von 44 Kokzidien (Tab. 3.5 und 3.6). Die von der Mutter gesammelten Proben enthielten Nematodeneier der Gattung *Oxyuris*, die Kotproben des Vaters vom 24.10. und 12.11. sowie jene der Gruppe vom 24.10.11 enthielten Eier der Gattung *Trichuris*. Der Befall der Elterntiere mit Nematoden unterschied sich kaum signifikant von dem der Kontrolltiere ($p=0,05$).

3.7 Ergebnisse der Parasitierung und der Verhaltensbeobachtung der Pinguine im Vergleich

Das Jungtier schlüpfte am 04.10.11. In der Anfangsphase der Aufzucht, zwischen dem 17.10. und dem 10.12.11 stieg die Parasitierung mit Kokzidien des Vaters rapide an (Abb. 3.9). Auch der Parasitentiter der Mutter schnellte bis zum 06.11.11 in die Höhe. Zwischen dem 14.11. und 28.11.11 verteidigte die Mutter das Jungtier noch ebenso gut wie die Vater (Abb. 3.4 a, b). Während dieser Zeit wechselten sich die Eltern regelmäßig bei der Aufsicht über das Jungtier ab. Zwischen dem 28.11.11 und dem 09.12.11 nahm der Schutz durch die Mutter stark ab, da sie das Jungtier aufgrund einer Fuß-Entzündung öfter und für längere Zeit verließ, um zu ruhen. In dieser Zeit übernahm der Vater zunehmend die Schutzfunktion. Der Parasitentiter des Muttertiers fiel in diesem Beobachtungszeitraum und darüber hinaus kontinuierlich bis zum 30.03.12. Nach diesem Zeitpunkt stieg ihre Parasitierung wieder bis zum 16.05.12 auf $2,10 \times 10^6$ /g Fäzes an. Dies entsprach beinahe der doppelten Konzentration an Kokzidien im Vergleich zum ersten Maximum am 06.11.11 mit $1,13 \times 10^6$ /g Fäzes. Nach dem 09.12.11 kümmerte sich das Muttertier kaum noch um das Jungtier. Aufgrund einer Verschlimmerung ihrer Fußentzündung konnte sich die Pinguinmutter Mitte Mai kaum noch bewegen und verstarb schließlich am 17.05.12. Obwohl der Vater den Schutz des Jungtiers nach dem 10.12.11 fast vollständig übernehmen musste, fiel die Kokzidien-Konzentration seiner Kotproben beinahe kontinuierlich bis zum Ende der Beprobung am 06.06.12.

Der Befall der Eltern mit Nematoden wurde beim Vergleich der Parasitierung mit dem Verhalten nicht berücksichtigt, da die Parasitierung zu gering war, um eine Korrelation zu erlauben.

4. Diskussion

4.1 Methodische Probleme

4.1.1 Probleme bei der Beprobung von trächtigen Zootieren mit Raubwanzen

Die Bedeutung der im Rahmen der vorliegenden Studie erarbeiteten Resultate soll durch die Diskussion der aufgetretenen methodischen Probleme besser einschätzbar sein. Bei der **Auswahl der Versuchstiere** wurden Elefanten (*Loxodonta africana*, *Elephas maximus*) als Modelltiere ausgesucht, da sie auf die konventionelle Blutabnahme trainiert waren und somit ausreichend Kontroll-Blutproben zur Validierung der Progesteronbestimmung mittels Raubwanzen gewonnen werden konnten. Da die sich über ca. 22 Monate erstreckende Trächtigkeit der Elefantenkühe aus Zeitgründen nicht vollständig erfasst werden konnte, sollten zusätzlich Nagetiere mit kurzer Trächtigkeitsdauer beprobt werden, um den Verlauf der Progesteron-Konzentrationen zu verfolgen. Anfänglich wurde bei Mäusen (*Mus musculus*) mit verschiedenen Methoden versucht Blut durch Wanzen zu gewinnen. Um die Entwicklung der Föten nicht zu gefährden bzw. die Induktion von Aborten zu vermeiden, durften die Mäuse weder narkotisiert noch in kleinen Käfigen fixiert werden. Die Blutgewinnung durch Wanzen gelang bei Mäusen im Zoo Wuppertal nur über Nacht in einem Stall mit doppeltem Boden, da sie sich tagsüber zu stark bewegten. Die Proben wurden jeweils am nächsten Morgen aufgearbeitet. Die Analyse im Labor ergab allerdings keine Resultate, da ein großer Anteil der Erythrozyten durch die längere Lagerung in den Wanzenmägen über Nacht lysiert war. Dies ist möglicherweise auf die Beprobung mit *R. prolixus* zurückzuführen, bei welcher eine große Anzahl von Bakterien im Magen starke hämolytische Aktivitäten verursacht (Azambuja et al. 2004).

Deshalb wurde die Blutentnahme bei Ratten (*Rattus rattus*) durchgeführt. Diese bewegten sich erheblich weniger als die Mäuse und machten so eine direkte Beprobung durch Wanzen möglich. Es mussten jedoch zuerst Methoden getestet werden, um ein ausreichendes Blutvolumen für die Analyse zu erlangen. Wurden die Wanzen frei auf die Ratte gesetzt, wurden sie meistens rasch erkannt und gefressen. Mit Gaze überspannte Filmdöschen mit Wanzen, die an die Ratten gehalten wurden, beunruhigten diese und führten bei ihnen zu permanenter Bewegung, die eine Blutentnahme auf diese Weise

unmöglich machte. Schließlich wurde ein Mini-Rucksack aus einer Streichholzschachtel gebaut, mit dem es gelang regelmäßig und innerhalb kurzer Zeit ein ausreichendes Blutvolumen bei beiden Rattenweibchen zu gewinnen.

Während in früheren Untersuchungen die Wirtstiere durch die Beprobung mit Raubwanzen keine Verhaltensirritation zeigten (Dan et al. 1999, Stadler et al. 2007), waren in der vorliegenden Studie die **Reaktionen der Versuchstiere auf die Raubwanzen** unterschiedlich. Die Afrikanische ElefantIn „Punda“ aus dem Zoo Wuppertal musste aus der Studie genommen werden, da sie nach wenigen Ansätzen aggressiv auf die Raubwanzen reagierte. Auch die Elefantenkuh „Sabie“ reagierte nach dem durch vorübergehende Probleme bei der Zucht der Raubwanzen bedingten Wechsel von *D. maxima* zu *R. prolixus* am 31.05.12 zunehmend unruhig bei der direkten Blutabnahme. Dies erschwerte es den Wanzen ein für die Analyse genügendes Blutvolumen aufzunehmen. Vermutlich fühlten die Elefanten sich durch die Bewegungen der Wanzen unmittelbar vor dem Saugakt gestört. Möglicherweise gab es bei der ElefantIn „Sabie“ auch eine leichte Hautreaktion auf *R. prolixus*, die zur ihrer Nervosität bei der Beprobung beigetragen haben könnte. Da einige Menschen bei der Xenodiagnose allergisch auf den Speichel dieser Art reagieren, wird bei *R. prolixus* empfohlen, das Blut mit der Spritze zu entnehmen und unter einer Membran an die Nymphen zu verfüttern (Meiser & Schaub 2011). Der Einstich selbst war vermutlich nicht die Ursache für die Verhaltensreaktion der Elefantenkühe auf die Beprobung. Obwohl der Nachweis einer anästhesierenden Wirkung des Einstichs bisher nur bei *T. infestans* erfolgt ist, wird er bei den meisten Wanzenarten als schmerzlos beschrieben (Hase 1932, Dan et al. 1999). Die ElefantIn „Sweni“ zeigte während Blutentnahme mit *D. maxima* und *R. prolixus* keinerlei Irritation. Die Asiatische ElefantIn „Hoa“ aus dem Zoo Leipzig reagierte hin und wieder leicht unruhig bei der Beprobung.

Auch das **Verhalten der Raubwanzen** während der Beprobung war z.T. problematisch. Während *D. maxima* nur verhältnismäßig wenig auf Bewegungen der Elefanten reagierte, unterbrach *R. prolixus* den Saugakt, sobald die Elefanten das Bein verlagerten oder die Ratten sich ausgiebig putzten. Deshalb reichte bei vielen Wanzenproben das Blutvolumen für die Analyse nicht aus, auch wenn Nymphen von *R. prolixus* unmittelbar nach der Unterbrechung erneut anstachen. Sie verhielten sich somit aggressiver als Nymphen von *D. maxima*, welche teilweise erst nach 1-2 min anstachen. Dies

deckt sich mit anderen Studien, in denen *R. prolixus* ebenfalls als aggressivere Wanzenart beschrieben wurde (Marsden 1986, Stadler et al. 2011).

Nach dem 22.05.12 gab es einen Methodenwechsel bei der Beprobung der Elefanten im Zoo Wuppertal von ausschließlich direkter Blutentnahme zur **Membranfütterung** und direkter Blutentnahme (2.3.2). Dieser Wechsel war erforderlich, weil bei den zwischen dem 12.04. und 22.05.12 gewonnenen Wanzenproben die Blutzellen vor dem Einfrieren nicht abzentrifugiert worden waren und das Plasma deshalb vom Labor für die Progesteronanalyse nicht verwendet werden konnte. Mit der Membranfütterung war es möglich bis zu drei Blutproben in der Woche und zusätzlich eine Wanzenprobe von den Elefanten zu nehmen, anstatt nur 1-2 Mal/Woche direkt zu beproben. Da die Elefanten an die konventionelle Blutentnahme mehr gewöhnt waren als an die Beprobung mit Raubwanzen, konnte so die Anzahl der Proben erhöht werden, und die Elefanten wurden entlastet.

Außerdem wurde durch die Membranfütterung auch das Blutvolumen der einzelnen Proben erhöht, da potenzielle Störfaktoren für die Wanzen entfielen, wie z.B. Irritation durch Bewegungen der Elefanten, zu dicke Haut oder zu niedrige Temperaturen. Bei der Membranfütterung war es leichter Verhaltensbesonderheiten der Raubwanzen zu berücksichtigen. Die meisten Triatominen begeben sich nachts auf Beutesuche, wenn ihre Wirte schlafen und somit bewegungslos verharren (Ryckman & Ryckman 1963). Darüber hinaus liegt die Körpertemperatur der Tiere, von denen sich die Wanzen ernähren, bei ca. 37°C. Aus kürzeren Distanzen werden Raubwanzen über spezielle Rezeptoren ihrer Antennen durch thermale Differenzen zur Blutaufnahme angelockt (Ferreira et al. 2007). Auch die Dicke der Membran war vorteilhaft für die Wanzen. Obwohl die Haut der Elefanten die meisten von ihnen zur Nahrungsaufnahme animierte, brauchten sie oftmals mehrere Versuche um eine passende Einstichstelle zu finden, wodurch sich die Dauer der Probenentnahme verlängerte. In einer früheren Studie stachen auf dem Rücken von *Loxodonta africana* angesetzte Wanzen zwar in die Haut der Elefanten, konnten jedoch kein Blut aufnehmen, da die Epidermis der Elefanten in dieser Region vermutlich zu dick war (Stadler et al. 2007).

Mit dem Methodenwechsel ging auch ein **Wechsel der Wanzenart** einher. Im Zeitraum der Beprobungen traten in der AG Zoologie/Parasitologie vorübergehend Zuchtprobleme bei *D. maxima* auf. Deswegen musste auf die kleineren Arten

T. infestans (N5) und *R. prolixus* (N5) mit einem geringeren Magenvolumen zurückgegriffen werden. Beide Arten sind neben *D. maxima* aber durchaus als „lebende Spritzen“ verwendbar (von Helversen et al. 1986, Stadler et al. 2007, 2011). Mehrere Fütterungsversuche mit den beiden kleineren Raubwanzenarten am Tier und an der Membran zeigten erneut eine wesentlich höhere Aggressivität von *R. prolixus* (s.o.). Während *T. infestans* gar nicht am Tier und nur bedingt an der Membran Blut aufnahm, saugte *R. prolixus* stets innerhalb von 15 Minuten. Dabei waren 4 von 6 Larven beinahe gänzlich gefüllt. Die schnelle Blutaufnahme am Wirt wird bei *R. prolixus* durch Nitrophenole im Speichel verursacht, welche NO-Radikale tragen, die eine Erweiterung der Kapillaren verursachen (Kaneko et al. 1999). Aufgrund der geringeren Größe dieser Art, wurde ab dem 15.06.12 die Anzahl der Wanzen pro Beprobung von drei N5 von *D. maxima* auf 5-7 N5 von *R. prolixus* erhöht.

4.1.2 Probleme bei der Analyse der Blutproben

Das größte Problem für die Analyse stellten die erforderlichen **Volumina** dar. Es konnten nur Blutproben für die Progesteron-Analyse verwendet werden, die nach der Zentrifugation bei 2000 G mindestens 200 µl Plasma ergaben. Ein weiteres Problem trat durch die **Hämolyse** der Blutproben auf. Während das Plasma der konventionellen Blutproben vom Blutkuchen getrennt werden konnte, gelang dies bei den Wanzenproben wegen der Lyse der Erythrozyten z.T. weniger gut. Ein drittes Problem waren die **Progesteron-Konzentrationen**. Während sie bei den Elefanten im Messbereich des „ECLIA“-Tests lagen, befanden sie sich bei den Ratten außerhalb bei >60 ng/ml. Daher mussten die Blutproben der Ratten mit Kochsalzlösung im Verhältnis 1:10 verdünnt werden, um genaue Ergebnisse zu erzielen.

Auch der Wechsel zur **Membranfütterung** führte zu Problemen. Die Progesteron-Konzentration dieser Blutproben lag bisweilen weit unterhalb der Werte der Wanzenproben. Bei einer Lagerung des Blutes der Elefantenkühen „Sabie“ und „Sweni“ unter einer Membran ohne Verfütterung an die Wanzen, lag die Progesteron-Konzentration 76,8 und 70,5 % niedriger als bei den Kontrollproben. Die Raubwanzen konnten somit als Ursache für die Verringerung der Hormonkonzentration ausgeschlossen werden. Die Latex-Membranen selbst waren demnach wohl die Ursache für den Progesteronverlust in den Blutproben. Vermutlich wurde das Progesteron durch Adhäsion an die Membranoberfläche gebunden

und konnte so nur im geringeren Maße von den Raubwanzen aufgenommen werden. Obwohl Infektionen mit Blutparasiten durch Membranfütterung übertragen werden können (Schaub 1990), eignet sich die Methode scheinbar nicht für einen Progesteronnachweis.

4.1.3 Probleme bei den Fäzes-Analysen der Königspinguine

Bei den parasitologischen Untersuchungen gab es mehrere methodische Probleme. Da die Pinguine nur mit geringer Häufigkeit defäkierten und der Beobachtungszeitraum sich auf den Vormittag beschränkte, konnten die Fäzes oftmals nicht sofort nach der Abgabe eingesammelt werden. Eine relativ gute **Zuordnung der Kotproben** war von Oktober bis Anfang Dezember 2011 möglich, als das Jungtier sich stets zwischen zwei bestimmten Niststellen von Eselpinguinen aufhielt. Die Elterntiere wechselten sich in dieser Zeit täglich mit der Aufsicht ab, was die Zuordnung der Kotproben erleichterte. Danach bewegte sich das Jungtier mit zunehmender Häufigkeit von dieser Stelle weg, wobei es stets von einem Elterntier begleitet wurde. Der Vater übernahm durch eine Erkrankung der Mutter öfters die Beschützerrolle oder wechselte sich zunehmend mit Handaufzuchten der Gruppe ab, die kurzzeitig die Aufsicht über das Jungtier übernahmen. Diese hielten sich somit auch an besagten Niststellen auf und sonderten dort Kot ab. So erklären sich möglicherweise durch Fehlzuordnungen die teilweise extremen Schwankungen bei der Konzentration der Nematodeneier im Kot der Elterntiere (Abb. 3.10). Beim Muttertier blieb die Kotprobenentnahme einfach, da sie sich durch eine Fußentzündung zunehmend geschwächt immer weniger bewegte. Obwohl die Fäzes baldmöglichst eingesammelt wurden, ist zwischen der Defäkation und der **Entnahme der Kotproben** eine Kontaminierung mit Parasiten möglich. Da die Parasiten in Kotproben absterben können und danach lysiert werden (Matern 1995), wurden die Proben möglichst bald nach der Defäkation analysiert, um eine Verfälschung der Parasitenzahlen zu vermeiden.

Eine weitere Problematik ergab sich durch die Nutzung der Zinkchlorid-Kochsalz-Lösung als **Flotationsmittel**. Durch die stark hyperosmotische Lösung deformierten die Parasitenstadien nach längerer Zeit in der Lösung. Zusätzlich begannen Salze in den Präparaten auch bei feuchter Lagerung nach mehreren Tagen zu kristallisieren. Dies erschwerte die Bestimmung der Parasiten. Daraufhin wurden von Proben von allen Fäzes mit Entellan eingedeckelt. Dies reduzierte die Kristallisierung und erlaubte eine längerfristige

Nutzung der Präparate. Trotz dieser Schwierigkeiten wurde dieses Flotationsmittel gewählt, da damit in einer früheren Studie im Vergleich zur S.A.F.-Methode 20-30% bessere Ergebnisse erzielt wurden (Stadler 2005). Zur besseren Erkennung der Parasiten und Differenzierung gegenüber Darmepithelzellen wurden an einigen Präparaten Hämatoxylin-Schnellfärbungen durchgeführt. Viele Nematodeneier gingen jedoch beim Färbeprozess evtl. durch den Abstrich oder das Abspülen verloren, was die Nachbestimmung erschwerte.

Durch teils starke Schwankungen der Parasitierung war die Streuung der Werte sehr groß. Während die Schwankungen der Kokzidien-Konzentration wahrscheinlich überwiegend natürlichen Ursprungs waren, lassen sich die starken **Schwankungen der Parasiten-Konzentration** bei den Nematodeneiern möglicherweise durch zwei Fehlzuordnungen erklären. In nur insgesamt sechs Kotproben wurden Nematodeneier gefunden. Davon wurden drei Proben der Mutter, zwei dem Vater und eine der Gruppe zugeordnet. Vom 06.11.11 auf den 23.11.11 fiel die Konzentration der Nematodeneier in den Kotproben der Mutter vom maximalen Wert mit $10,8 \times 10^3$ Nematoden/g Kot auf null. Eine ebenso starke Schwankung war bei der Probe des Vaters am 31.10.11 zu beobachten, als die Konzentration von $6,49 \times 10^3$ Nematoden/g Kot auf null absackte und am 12.11.11 wieder auf $1,39 \times 10^3$ Nematoden/g Kot anstieg. Vermutlich waren die Parasiten-freien Kotproben von Mutter und Vater am 31.10. und 23.11.11 Fehlzuordnungen und stammten von Tieren der Gruppe. In der Probe des Vaters vom 30.10. wurden keine Kokzidien gefunden, obwohl sie in früheren und späteren Proben nachgewiesen wurden. Dies spricht ebenfalls für eine Fehlzuordnung dieser Kotprobe.

4.2 Progesteron-Konzentrationen bei trächtigen Zootieren

Bei einer Studie mit trächtigen Afrikanischen Elefanten lag die Progesteron-Konzentration signifikant höher als bei nicht trächtigen Kühen, mit maximalen Werten während dem 9.-12. Monat der Trächtigkeit (McNeilly 1983). Die Konzentration des Progesterons bei *Loxodonta africana* variierte dabei zwischen 0,38-3,74 ng/ml, wobei trächtige Elefanten mit durchschnittlich $1,41 \pm 0,92$ ng/ml i.d.R einen höheren Progesterongehalt aufwiesen als nicht trächtige Kühe mit $0,71 \pm 0,77$ ng/ml. Bei den beiden trächtigen Afrikanischen Elefanten „Sabie“ und „Sweni“ aus dem Zoo Wuppertal enthielten die auf konventionelle Weise entnommenen Blutproben durchschnittlich bei $2,02 \pm 1,89$ und $3,69 \pm 1,99$ ng Progesteron/ml Plasma. Diese im Vergleich zu früheren Studien relativ hohen Werte könnten durch den

Beprobungszeitraum bedingt sein, da die Wuppertaler Kühe sich zu Beginn der Messung im 13. und 15. Monat befanden, d.h. nahe der Mitte der Trächtigkeit, und die Progesteron-Konzentrationen dann höher liegen (Mc Neilly et al. 1983, Magunna 1995, Meyer et al. 2004).

Bei der Asiatischen Elefantin „Hoa“ aus dem Zoo Leipzig lag die Progesteron-Konzentration im letzten Schwangerschaftsdrittel bei durchschnittlich $2,4 \pm 0,84$ ng/ml. Die Abweichung dieses Wertes zu dem gemittelten Progesteronwert der früheren Studie begründet sich möglicherweise in der unterschiedlichen Artzugehörigkeit der Elefantin „Hoa“. Darauf deutet ein Vergleich zwischen der Progestagen-Konzentration im Serum von 19 Asiatischen und 8 Afrikanischen Elefanten während der Trächtigkeit hin (Meyer et al. 2004). Dieser zeigte zwar durchschnittlich ähnliche Progestagen-Konzentrationen bei beiden Elefantenarten, jedoch lagen sie zwischen dem 8. und 15. Monat der Trächtigkeit bei den Asiatischen deutlich höher als bei den Afrikanischen Elefanten.

In einer früheren Studie mit *Oryctolagus cuniculus* wurden die Konzentrationen der Steroidhormone Progesteron, Testosteron und Cortisol in von *D. maxima* (N5) gesogenem Blut ermittelt (Voigt et al. 2004). Die durchschnittliche Progesteron-Konzentration der konventionell entnommenen Proben lag bei $0,51 \pm 0,33$ ng/ml. Die durch die Raubwanzenmethode gewonnenen Blutproben enthielten $0,75 \pm 0,53$ ng Progesteron/ml Plasma und wichen somit nicht signifikant von den Kontrollproben ab (Voigt et al. 2004). Progesteronanalysen bei Elenantilopen (*Taurotragus oryx*) ergaben allerdings sechsfach erhöhte Hormonkonzentrationen in dem von Raubwanzen gesogenen Blut im Vergleich zu konventionell gewonnenen Kontrollproben (Hubmer et al. 2010). Es stellte sich die Frage, ob Metabolite der Raubwanzen mit einer Komponente der Analysemethode dieser Studie kreuzreagiert hatten (Stadler et al. 2011). Bei der Analyse des Progesterons in den Blutproben der Elenantilopen wurden gruppenspezifische Enzym-Immunoassays genutzt, während in der vorliegenden Studie Chemolumineszenz-Immunoassays durchgeführt wurden. Im Gegensatz zu den Ergebnissen der Studie mit Elenantilopen, wichen die Progesteron-Konzentrationen der direkt durch Wanzen aufgenommenen Blutproben von *Loxodonta africana* und *Elephas maximus* nicht signifikant von den Kontrollproben ab. In der vorliegenden Studie fand mit dem „ECLIA“-Test demnach keine Kreuzreaktion statt. Die negativen Abweichungen von zwei direkten Wanzenproben der Afrikanischen Elefanten lassen sich möglicherweise durch eine unterschiedliche Progesteron-Konzentration in

verschiedenen Körperregionen erklären. Das Blut der konventionellen Proben wurde großen Blutgefäßen an den Ohren der Elefanten entnommen. In diesen Gefäßen war der Progesterongehalt evtl. höher als in den peripheren Blutgefäßen des Vorderlaufs, aus welchen die Wanzen Blut aufnahmen.

Die durchschnittliche Progesteron-Konzentration von *Rattus rattus* unterschied sich mit $37,92 \pm 32,21$ ng/ml signifikant von jener, die in der vorliegenden Studie bei den beiden Elefantenarten ermittelt wurde (s.o.), was wahrscheinlich auf die unterschiedliche Familienzugehörigkeit zurückzuführen ist. In einer früheren Studie fiel die Progesteron-Konzentration im Plasma von Ratten nach dem Wurf der Jungtiere signifikant von 114 ng/ml auf 10 ng/ml ab (Grotta & Kristen 1966). Dies deckt sich in etwa mit den höchsten und niedrigsten Werten von *Rattus rattus* in der vorliegenden Studie mit 101,3 ng/ml während der Trächtigkeit und 4,54 ng/ml nach dem Wurf.

4.3 Verhalten und Parasitologie von Königspinguinen bei der Aufzucht

4.3.1 Aufzuchtverhalten von Königspinguinen

Die elterliche Fürsorge bei Pinguinen beinhaltet die Verteidigung, das Wärmen, Säubern und Füttern des Jungtiers (Descamps et al. 2002, Bost et al. 2011). Auch die Ergebnisse der im Zoo Wuppertal erstmals quantifizierten, detaillierten Verhaltensbeobachtungen zum Aufzuchtverhalten von Königspinguinen belegten die Erfüllung dieser elterlichen Pflichten. Die Pinguinelterne vernachlässigten während der Aufsicht jedoch ihre eigene Körperhygiene und Ruhezeiten stark. Sie putzten sich im Vergleich zu allen anderen Individuen der Gruppe während des gesamten Beobachtungszeitraums im Durchschnitt signifikant weniger und schliefen nie während der Aufsicht. Außerdem erhöhte sich das Abwehrverhalten der Pinguinelterne stark.

Natürlich waren die Aufzuchtbedingungen in menschlicher Obhut, z.B. durch die von den Tierpflegern durchgeführten Extra-Fütterungen der Eltern, erheblich erleichtert. So mussten die Pinguinelterne nur einen kleinen Teil ihrer aufgenommenen Nahrung für die Ernährung ihres Jungtiers opfern und somit während der Aufzucht nicht hungern. In der Natur fasteten erwachsene Magellan-Pinguine (*Spheniscus magellanicus*) während der Bebrütung ca. 17-18 Tage (Hood et al. 1998). Königspinguine besitzen bis zu 4 kg

Fettreserven für die Fastenzeit zu Beginn der Aufzucht (Weimerskirch et al. 1992, Cherel et al. 1993, Gauthier-Clerc et al. 2001).

Überdies wechselten sich die Elterntiere im Zoo Wuppertal bei der Aufzucht und Fütterung nicht nur miteinander, sondern auch mit zwei anderen Tieren der Gruppe ab, welche das Jungtier ebenfalls gut umsorgten. Alloparentale Fütterungen, d.h. Fütterungen eines Jungtiers durch andere Individuen als die Eltern, wurde schon in einer Studie von Lecomte et al. aus dem Jahr 2006 bei Königspinguinen in der Natur nachgewiesen. Dabei fütterten 22 % von 103 markierten Brutpaaren 65% von 70 Küken, ohne wiederholt dasselbe Jungtier zu versorgen. Obwohl solche altruistischen Fütterungen in der Natur eher vorkamen wenn die elterliche Versorgung gering war (Lecomte et. al 2006), fütterten die Individuen „Hanke“ und „Joris“ aus der vorliegenden Studie das Jungtier schon von Beginn der Aufzucht an trotz guter elterlicher Fürsorge und verstärkten ihre alloparentalen Tätigkeiten lediglich mit nachlassender Versorgung des Muttertiers. Trotz der erleichterten Aufzuchtbedingungen der Königspinguinen durch menschliche Obhut und Ammenfütterung des Jungtiers, belegen die ununterbrochene Wachsamkeit der Eltern und die stark verminderte Erfüllung der eigenen Bedürfnisse während der Aufzucht erhöhten Stress in dieser Phase.

Die Königspinguinmutter erkrankte im Laufe der Aufzucht an einer Fuß-Entzündung, die sich gegen Ende des Jahres 2011 zeitweilig verbesserte, sich im Frühjahr 2012 jedoch wieder verschlimmerte. Diese Erkrankung war vermutlich der Grund für den Rückgang der mütterlichen Fürsorge, da sie sich durch die Entzündung oft nur eingeschränkt bewegen konnte. Schließlich verstarb die Mutter am 17.05.12. Die Obduktion ergab als Todesursache Herzversagen durch Herzinsuffizienz. Wahrscheinlich schwächten die Fuß-Entzündung, der Stress bei der Aufzucht und die erhöhte Parasitierung die Pinguinmutter zusätzlich zur Herzerkrankung und trugen somit zu ihrem vorzeitigen Ableben bei.

4.3.2 Parasitierung der Königspinguine während der Aufzucht

In Fäzes von freilebenden Adélie-, Esels- und Zügelpinguinen wurden bereits die Kokzidiengattungen *Eimeria* und *Isospora* nachgewiesen (Golemansky 2011). In denen der Königspinguine des Zoos Wuppertal wurden ebenfalls Parasiten der Gattungen *Isospora* und *Eimeria* gefunden. Eine genaue Artbestimmung war im Rahmen der vorliegenden Arbeit jedoch nicht möglich. Die erstmalig erfassten Intensitäten der Parasitierung bei der Pinguinmutter und dem Vater über einen längeren Zeitraum waren mit $7,1 \times 10^5 \pm 5,9 \times 10^5$

bzw. $4,8 \times 10^5 \pm 4,7 \times 10^5$ Kokzidien/g Kot im Vergleich zur Gruppe mit durchschnittlich $2,8 \times 10^5 \pm 1,7 \times 10^5$ Kokzidien/g deutlich höher. Dies ist vermutlich auf den erhöhten Stress durch die Aufzucht zurückzuführen. Während bei wilden Pinguinen wenig nachhaltige Beweise für den Einfluss der Parasitierung auf die Gesundheit oder Populationsdynamik erbracht sind (Barbosa & Palacios 2009), wirkten sich parasitäre Infektionen bei Pinguinen in Menschenhand negativ auf ihre Gesundheit aus (Jones & Shellam 1999). Der Verlauf der Parasitierung der Pinguinmutter mit einem Anstieg kurz vor ihrem Tod deutet aber eher auf eine Beeinflussung der Parasitenanzahl durch den schlechten Gesundheitszustand hin als auf einen Einfluss der Parasiten selbst.

Zur gastrointestinalen Parasitierung von antarktischen Vögeln sind bisher nur wenige Untersuchungen erfolgt (Vidal et al. 2012). Cestoden der Gattung *Tetrabothrius* wurden bereits im Darm zahlreicher Pinguinarten nachgewiesen, u.a. beim Königspinguin (Jones 1988, Duignan 2001, Vidal et al. 2012). Bei freilebenden Zügelpinguinen wurden Cestoden der Gattung *Parorchites* und Nematoden der Gattung *Stegophorus* gefunden (Vidal et al. 2012). Während die im Rahmen der vorliegenden Studie beobachteten Kokzidien demnach schon bei Königspinguinen entdeckt wurden, sind die Nematoden der Gattung *Oxyuris* und *Trichuris* bei ihnen noch unbekannt. Auch hierbei war eine genaue Artbestimmung aus zeitlichen Gründen nicht möglich.

4.3.3 Korrelation von Aufzuchtverhalten und Parasitierung

Bei andauerndem Stress und einem dadurch geschwächten Immunsystem ist die Wahrscheinlichkeit der kontinuierlichen Vermehrung eines Parasiten hoch (Mehlhorn 2002). Soziale Ereignisse, wie z.B. Rangänderungen ließen sich bei Erdmännchen direkt im Parasitenbefall ablesen (Stadler 2005). Der Einfluss von Stress auf die Parasitierung zeigte sich auch zu Beginn der Königspinguin-Aufzucht im Oktober 2011, als der Befall mit Kokzidien sowohl bei der Mutter als auch beim Pinguinvater stark anstieg. In dieser Zeit wechselten sich die Elterntiere beinahe täglich mit der Aufsicht über das Jungtier ab, welches zu diesem Zeitpunkt noch völlig unselbstständig war.

Die adrenokortikale Antwort von Pinguin Eltern auf Stress während der Aufzucht wird u.a. von Körpermasse und Gesundheitszustand beeinflusst (Hood et al. 1998). Erhöhter Stress kann zur Verringerung des Reproduktionserfolgs, z.B. durch eine vorzeitige Beendigung

der Aufzucht durch Verlassen des Nests führen (Boersma et al. 1990, Yorio & Boersma 1994). Ähnliches wurde gegen Ende November 2011 im Zoo Wuppertal bei der Pinguinmutter beobachtet. Ihre Fürsorge für das Jungtier reduzierte sich merklich, da sie dieses immer häufiger für ausgedehnte Ruhezeiten verließ. Der zunehmende Rückzug der Mutter von der Aufzucht resultierte wahrscheinlich aus einer zusätzlichen Belastung durch eine Fuß-Entzündung, welche die Pinguinmutter in ihrer Beweglichkeit stark behinderte. Der Vater und die beiden Handaufzuchten „Hanke“ und „Joris“ übernahmen ab diesem Zeitpunkt häufig die Beschützerrolle und die Fütterungen des Jungtiers. Die Entlastung der Mutter durch Reduktion ihrer Aufgaben spiegelte sich in einem leichten Abfall ihres Kokzidien-Befalls zwischen dem 06.11.11 und dem 30.03.12 wieder. Danach erhöhte sich ihre Parasitierung wieder, obwohl die Mutter auch in dieser Phase ihr Jungtier kaum betreute. Dieser Anstieg der Anzahl der Kokzidien in ihren Kotproben korrelierte mit einer starken Verschlimmerung der Fuß-Entzündung. Durch diese wurde die Mutter schließlich beinahe bewegungsunfähig. Ihr Kokzidien-Befall erreichte am 16.05.12, einen Tag vor ihrem Tod durch Herzversagen, ein absolutes Maximum mit $2,10 \times 10^6$ /g Kot.

Der Vater übernahm den größten Anteil der Aufzucht. Sein Befall mit Kokzidien aber verringerte sich bis zum Ende der Beprobung am 06.06.12. Die allmähliche Erholung der Parasitierung des Vaters, von $1,74 \times 10^6$ am 10.12.11 auf $1,38 \times 10^5$ Kokzidien/g Fäzes am 06.06.12, lässt sich wohl durch den Einfluss mehrerer Faktoren erklären. Zum einen bekam er bei der Aufzucht regelmäßig Unterstützung durch zwei andere Individuen der Gruppe, zum anderen wurde das Jungtier zunehmend selbstständiger und lernte sich selbst zu verteidigen.

4.4 Ausblick

Die Progesteronanalysen der vorliegenden Studie bei *Loxodonta africana* und *Elephas maximus* zeigten die Problematik der Progesteronwerte der über Raubwanzen gewonnenen Blutproben. Die Abweichung der Progesteron-Konzentration in über Latex-Membranen an Raubwanzen gefüttertem Blut gegenüber konventionell gewonnenem Blut war erheblich, sodass diese methodische Variante nicht empfehlenswert ist. Die Abweichung der Wanzenproben der Elefanten zu den Kontrollproben stellte sich als nicht signifikant heraus. Die Anzahl der Wanzenproben im Zoo Wuppertal war sehr niedrig und im Zoo Leipzig waren keine Kontrollproben zu den Wanzenproben am gleichen Tag genommen

worden. Um eine verlässliche Aussage über die Abweichung des Progesterontiters der über Raubwanzen gewonnenen Blutproben zu treffen, sollte der Probenumfang erheblich vergrößert werden, und es sollten stets Kontrollproben zur Validierung genommen werden. Die Ausweitung des Probenumfangs war aus Zeitgründen in der vorliegenden Studie nicht mehr möglich. Solange bleibt die Überwachung des Progesterontiters durch konventionelle Blutentnahme vorerst die genaueste Methode.

In der vorliegenden Studie wurde eine Korrelation zwischen Aufzuchtverhalten und Parasitierung bei Königspinguinen beobachtet. Um diese Ergebnisse zu validieren, könnten zusätzlich zu den Verhaltensbeobachtungen und parasitologischen Analysen Messungen des Stresshormons Corticosteron während der Aufzucht durchgeführt werden, da es genaue Daten über das Stresslevel der Vögel geben kann (Boersma et al. 1990, Yorio & Boersma 1994, Hood et al. 1998). Da dies im Zoo Wuppertal die erste Aufzucht eines Königspinguinjungtiers durch die eigenen Eltern war, wurde die Stresshormonanalyse während der vorliegenden Studie aus Gründen der Vorsicht unterlassen, um weiteren Stress durch Blutabnahmen für die Tiere zu vermeiden und so die Aufzucht nicht zu gefährden. Mit einer Stresshormonanalyse vor dem Schlupf des Jungtiers und während der Aufzucht könnte ermittelt werden, ob Elterntiere die Aufzucht problemlos verkraften würden oder ob ein Risiko durch erhöhte Stressanfälligkeit besteht und somit eine Handaufzucht ratsam wäre. Eine andere Möglichkeit wäre die Durchführung einer Kokzidiose-Behandlung vor der Eiablage als vorbeugende Maßnahme.

5. Zusammenfassung

Die Blutabnahme mit Raubwanzen (Triatominae) wird bereits regelmäßig bei Zoo- und Wildtieren angewendet, da sie als stressfrei gilt und die Blutgewinnung bei kleinen Tieren mit schwer zugänglichen Venen erleichtert. Die Bestimmung der Progesteron-Konzentration in durch Wanzen aufgenommenem Blut von trächtigen Afrikanischen und Asiatischen Elefanten (*Loxodonta africana*, *Elephas maximus*) sowie Hausratten (*Rattus rattus*) über Raubwanzen sollte validiert werden. In einer zweiten Versuchsreihe sollte erfasst werden, ob die Aufzucht bei Königspinguinen im Zoo erhöhten Stress bei den Elterntieren auslöst und inwiefern dieser deren Parasitierung beeinflusst.

- Die Progesteron-Konzentration der mit der Spritze entnommenen Proben von *Loxodonta africana* lag bei $2,98 \pm 2,11$ ng/ml (n=2) und von *Elephas maximus* bei $2,4 \pm 0,84$ ng/ml (n=1). Die Abweichungen der Progesteron-Konzentrationen der Wanzenproben gegenüber den konventionell entnommenen Blutproben waren $\pm 0,71$ ng/ml bei *Loxodonta africana* und $+0,6$ ng/ml bei *Elephas maximus*. Die Konzentration der über eine künstliche Membran durch Raubwanzen aufgenommene Blutproben von *Loxodonta africana*, wick bei der Elefantin „Sabie“ 0,81 ng/ml und bei „Sweni“ 1,0 ng/ml von den Kontrollwerten ab, da das Progesteron vermutlich an die Membranen gebunden wurde und somit weniger davon durch die Raubwanzen aufgenommen werden konnte.
- Bei Ratten ist die Blutentnahme mittels Raubwanzen empfehlenswert, da so schmerzbringende Eingriffe wie eine Herzpunktion oder die Tötung der Tiere zur Ermittlung von Blutwerten vermieden werden können. Die Blutentnahmen bei *Rattus rattus* mit *R. prolixus* ergaben i.d.R ein Blutvolumen von ca. 200 µl, während aus Blutgefäßen in Hals und Schwanz mit der Spritze nur ca. 100 µl Blut gewonnen werden konnten, das nicht für die Analyse ausreichte. Die Progesteronwerte trächtiger Ratten lagen zwischen 59,3-101,3 ng/ml. Waren sie nicht trächtig variierten die Werte von 4,5-32,8 ng/ml.
- Trotz der Erleichterungen durch die menschliche Obhut im Zoo, trat bei Königspinguinelteren durch die Aufzucht erhöhter Stress im Vergleich zu den Tieren in der Gruppe ohne Nachwuchs auf. Sie vernachlässigten die Körperhygiene und reduzierten ihre Ruhephasen, während ihr Verteidigungsverhalten und ihre

Wachsamkeit stets erhöht waren. Die Eltern wechselten sich bei der Aufsicht und Fütterungen regelmäßig miteinander und mit zwei weiteren Individuen der Gruppe ab.

- In Fäzes der Pinguinelterne wurde im Vergleich zu den Individuen ohne Nachwuchs eine stark erhöhte Anzahl von Kokzidien gefunden. Die Kokzidien sind vermutlich Arten der Gattungen *Isospora* und *Eimeria*. Beim Muttertier traten mehrmals wenige Nematodeneier der Gattung *Oxyuris* auf, beim Vatertier solche der Gattung *Trichuris*. Die erhöhte Anzahl der Kokzidien in den Elterntieren korrelierte mit dem erhöhten Stress durch die Aufzucht, da sie beim Vatertier gegen Ende der Aufzucht deutlich reduziert waren. Beim Muttertier führte eine bakterielle Infektion zusätzlich zu einem starken Anstieg.

6. Abstract

Blood sampling with bugs (Triatominae) is frequently used for medical examination of zoo and wild animals, because it is regarded as a stress-free method and facilitates the obtaining of blood from small animals with veins, which are difficult to access. The analysis of progesterone in the blood of pregnant African and Asian elephants (*Loxodonta africana*, *Elephas maximus*) and common rats (*Rattus rattus*) via bugs should be validated. A second examination should detect, if breeding in a zoo provokes increased stress in king penguin parents and in which way this influences their parasitization.

- The concentration of progesterone in the conventional blood samples of *Loxodonta africana* was $2,98 \pm 2,11$ ng/ml (n=2) and in those of *Elephas maximus* $2,4 \pm 0,84$ ng/ml (n=1). The deviation of progesterone in the blood samples which had been directly obtained via bugs from the check values amounted to $\pm 0,71$ ng/ml in *Loxodonta africana* and $+0,6$ ng/ml in *Elephas maximus*. The concentration of those samples from *Loxodonta africana* which were sucked by bugs via an artificial membrane, deviated about 0,81 ng/ml and 1,0 ng/ml from the data of the conventional samples in the elephants "Sabie" and "Sweni". This deviation can probably be related to the membranes, which bound progesterone to its surfaces and thereby reduced the amount of blood consumed by the bugs.
- The blood sampling via bugs in rats is recommendable, because severe surgery like cardiocentesis or the killing of the animals in order to investigate blood parameters can be prevented through this method. The blood samples from *Rattus rattus* sucked by the bugs comprised a volume of about 200 μ l, whereas the obtaining of blood from veins of throat and tail via syringe provided merely 100 μ l blood, which was insufficient for analysis. The progesterone values of pregnant rats varied between 59,3-101,3 ng/ml, when they were not heavy with young the values decreased to 4,5-32,8 ng/ml.
- Despite relieved conditions through human custody in a zoo, breeding provokes increased stress in the king penguin parents compared to the animals of the group without offspring. The parents neglected personal hygiene and resting behaviour, whereas their defence and alertness were always increased. They took their turns in

supervision and feeding and shared parental duties with two further individuals of the group, which participated in the breeding of the chick.

- The feces of the penguin parents showed a heavily increased amount of coccidia in comparison to the individuals without offspring. The coccidia supposedly belonged to the genus *Isospora* and *Eimeria*. Several fecal samples of the penguin mother presented nematode eggs of the genus *Oxyuris*, in those of the father there were found *Trichuris*. The increased parasitization of the parental animals correlated with the increased level of stress caused by breeding, because the parasites were strongly reduced in the feces of the penguin father at the end of breeding. A bacterial infection of the mother additionally led to a heavy increase of the parasitization.

7. Anhang

Tab. 7.1: Probenumfang bei *Loxodonta africana* im Zoo Wuppertal (Vollblut-Proben)

Datum	Sweni	Sabie	Kontrolle*	Membranfütterung**
Vollblut				
12.04	x	x	-	-
16.04	x	x	-	-
24.04	x	-	-	-
27.04	x	x	-	-
03.05	x	-	-	-
11.05	-	x	x	-
15.05	x	x	-	-
18.05	x	x	-	-
22.05	x	x	-	-

x Probe erfolgreich entnommen

- keine Probe

* je zwei Proben pro Elefant (Spritze)

** je eine Probe pro Elefant

Tab. 7.2: Progesteron-Konzentration von *Loxodonta africana*

Datum	Progesteron bei Afrikanischen Elefanten [ng/ml]					
	„Sabie“			„Sweni“		
	Membran- fütterung	Direkt- probe	Spritze	Membran- fütterung	Direkt- probe	Spritze
05.06.2012			1,01			1,67
14.06.2012	1,92		7,64	0,737		6,89
26.06.2012	0,979		2,35	1,34		3,67
27.06.2012	1,45	1,94	2,13	1,36	7,18	8,28
28.06.2012	0,874		3,77	1,63		5,33
05.07.2012	0,859		1,17	1,71	2,38	2,31
06.07.2012	0,843		1,02	1,46		2,28
09.07.2012	0,911		0,853	1,24		2,33
11.07.2012	0,762		0,779	1,6		1,97
12.07.2012	2,23		1,29	2,28	4,58	3,12
16.07.2012	1,81		0,707	3,72		3,1
19.07.2012			1,57			3,38

Tab. 7.3: Progesteron-Konzentrationen von *Elephas maximus*

Progesteron-Konzentrationen bei der Asiatischen Elefantin „Hoa“ [ng/ml]					
Datum	Spritze	Wanze	Datum	Spritze	Wanze
03.11.2011		5,32	24.02.2012	2,97	
09.11.2011	4,71		27.02.2012	1,99	
11.11.2011		3,77	28.02.2012		1,83
25.11.2011	4,02		29.02.2012	2,51	
01.12.2011	2,68		01.03.2012		3,05
07.12.2011	2,99		02.03.2012	2,52	
15.12.2011	3,02		05.03.2012	2,89	
22.12.2011	1,68		06.03.2012		3,87
30.12.2011	4,16		07.03.2012	2,36	
05.01.2012	2,65		08.03.2012		3,07
12.01.2012	1,58		09.03.2012	2,07	
19.01.2012	2,39		12.03.2012	1,94	
26.01.2012		2,96	13.03.2012		2,26
01.02.2012	2,6		14.03.2012	1,68	
02.02.2012		2,8	15.03.2012		2,8
03.02.2012	1,73		16.03.2012	1,53	
06.02.2012	1,73		19.03.2012	2,05	
08.02.2012	2,84		20.03.2012		3,77
09.02.2012		2,25	21.03.2012	1,80	
10.02.2012	2,56		23.03.2012	2,46	
13.02.2012	2,76		26.03.2012	2,72	
14.02.2012		8,76	27.03.2012		3,17
15.02.2012	2,74		28.03.2012	3,10	
16.02.2012		2,99	29.03.2012		3,08
17.02.2012	2,66		30.03.2012	1,50	
20.02.2012	2,47		02.04.2012	0,53	
21.02.2012		3,45	03.04.2012	0,53	
22.02.2012		3,22	18.04.2012		0,81

Tab. 7.4: Progesteron-Testmessung am 03.08.12

Progesteron-Testmessung [ng/ml]		
Probe	„Sabie“	„Sweni“
1	1,23	0,281
2	1,15	0,323
3	1,43	0,235

Tab. 7.5: Fütterungen des Königspinguin-Jungtiers durch seine Beschützer

Datum	Anzahl der Fütterungen/ Vormittag	fütterndes Individuum (Nr.)	Dauer der Fütterung [min]
14.11.2011	2	4	3
		2	6
15.11.2011	0		
16.11.2011	1	5	5
17.11.2011	0		
18.11.2011	1	4	1
21.11.2011	1	1	2
22.11.2011	3	4	4
		4	2
		1	8
		3	4
23.11.2011	2	5	1
		3	4
24.11.2011	3	1	2
		1	12
		2	1
		2	7
25.11.2011	2	2	3
		2	3
		1	10
28.11.2011	1		
29.11.2011	0		
30.11.2011	0		
01.12.2011	1	2	17
02.12.2011	1	2	4
05.12.2011	0		
06.12.2011	0		
07.12.2011	1	5	0
08.12.2011	1	2	5
09.12.2011	0		

Tab. 7.6: Häufigkeit des Putz- und Schlafverhaltens der Königspinguine [min/h]

Wert	Putzverhalten bei Beschützung des Jungtiers			Putzverhalten ohne Beschützung des Jungtiers		
	Mutter	Vater	Kontrolle	Mutter	Vater	Kontrolle
Mittelwert	0,55	2,05	-	9,34	5,71	11,44
Median	0	2	-	3	2	9,5

Tab. 7.7: Häufigkeit der Zuwendungen und Abmahnungen/Stunde bei den Königspinguinen

Wert	Zuwendungen zum Jungtier [Anzahl/h]			Abmahnen des Jungtiers durch das beschützende Individuum [Anzahl/h]		
	Mutter	Vater	„Hanke“ +„Joris“	Mutter	Vater	„Hanke“ +„Joris“
Mittelwert	7,62	7,82	8,82	1,26	0,22	0
Median	7	7	4,5	1	0	0

Tab. 7.8: Zuordnung der Kotproben bei den Königspinguinen

Datum	Vater	Mutter	Gruppe	Jungtier
17.10.11	x	-	x	-
20.10.11	x	-	-	-
24.10.11	x	-	x	-
27.10.11	-	x	x	-
31.10.11	x	-	-	-
03.11.11	-	x	x	-
06.11.11	-	x	x	-
09.11.11	-	-	x	-
12.11.11	x	-	-	-
14.11.11	x	-	-	-
15.11.11	-	-	-	-
23.11.11	-	x	x	-
30.11.11	x	-	x	-
03.12.11	-	-	x	-
07.12.11	-	-	x	-
10.12.11	x	-	x	-
25.01.12	x	x	x	-
01.02.12	x	-	x	-
08.02.12	-	-	x	-
30.03.12	-	x	x	-
13.04.12	-	-	x	-
09.05.12	x	x	x	-
16.05.12	x	x	-	x
18.05.12	-	-	x	x
24.05.12	x	-	-	x
06.06.12	x	-	-	x

x = Kotprobe - = keine Kotprobe

8. Literaturverzeichnis

- Ader R, Felten D, Cohen N (1990): Interactions between the brain and the immune system. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 30: 561-602
- Azambuja P, Feder D, Garcia ES (2004): Isolation of *Serratia marcescens* in the midgut of *Rhodnius prolixus*: impact on the establishment of the parasite *Trypanosoma cruzi* in the vector. *Exp Parasitol* 107: 89-96.
- Barbosa A, Palacios MJ (2009): Health of antarctic birds: a revision of their parasites, pathogens and diseases. *Polar Biol* 32: 1095-1115
- Bennet GF, Peirce MA, Ashford RW (1993): Avian haematzoa: mortality and pathogenicity. *J Nat Hist* 27: 993-1001.
- Boersma PD, Stokes DL, Yorio P (1990): Reproductive variability and historical change of magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*) at Punta Tombo, Argentina. In: Davis LS, Darby JT (Eds). *Penguin biology*. Academic Press, San Diego: 15-43
- Birbaumer N, Schmidt RF (2005): Sexualhormone und die Regulation der Gonadenfunktion. In: Birbaumer N, Schmidt RF (Eds) *Biologische Psychologie*. 6.Auflage, Springer, Heidelberg: 133
- Bost CA, Zorn T, Le Maho Y, Duhamel G (2002): Feeding of diving predators and diel vertical migration of prey: king penguin diet versus trawl sampling at Kerguelen islands. *Mar Ecol Prog Ser* 227: 51-62.
- Bost CA, Delord K, Barbraud C, Cherel Y, Pütz K, Cotte C, Péron C, Weimerskirch H (2011): The king penguin: life history, current status and priority conservation actions. In: Boersma PD, Borboroglu PG (Eds) *Penguins book*. University of Washington Press, Washington: 1-25
- Braun BC, Frank A, Dehnhard M, Voigt CC, Vargas A, Göritz F, Jewgenow K (2009): Pregnancy diagnosis in urine of Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *Theriogenology* 71: 754-761
- Brumpt E (1914): Le xénodiagnostic, application au diagnostic de quelque infection parasitaires et en particulier á la trypanosome de Chagas. *Bull Soc Pathol Exot* 77: 706-710
- Bürger HJ, Stoye M (1983): Kotuntersuchungstechniken. In: Böckeler W, Wülker W (Eds) *Parasitologisches Praktikum*. Verlag Chemie, Weinheim: 119-126
- Cannon WB (1929): Organization for physiological homeostasis. *Physiol Rev* 9: 399-431
- Cannon WB (1939): *The wisdom of the body*. W.W. Norton. (Ed) New York: 1939
- Cherel Y, Charrassin JB, Handrich Y (1993): Comparison of body reserve buildup in prefasting chicks and adults of king penguins (*Aptenodytes patagonicus*). *Physiol Zool* 66: 750-770
- Crossin GT, Trathan PN, Phillips RA, Gorman KB, Dawson A, Sakamoto KQ, Williams TD (2012): Corticosterone predicts foraging behavior and parental care in macaroni penguins. *Amer Nat* 180: 31-41
- Dan A, Perreira M, Pesquero JL, Diotaiuti L, Beiroa PSL (1999): Action of the saliva of *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae) on sodium channels. *J Med Entomol* 36: 875-879
- Descamps S, Gauthier-Clerk M, Gender JP, Le Maho Y (2002): The annual breeding cycle of unbanded king penguins *Aptenodytes patagonicus* on Possession Island (Crozet). *Avi Sci* 2: 1-12
- Ferreira RA, Lazzari CR, Lorenzo MG, Pereira MH (2007): Do haematophagous bugs assess skin temperature to detect blood vessels? *PLoS ONE* 2 (9): e 932

- Fix AS, Waterhouse C, Greiner EC, Stoskopf MK (1988): *Plasmodium relictum* as a cause of avian malaria in wild-caught magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*). J Wild Dis 24: 610–619.
- Gauthier-Clerc M, Le Maho Y, Gendner JP, Durant J, Handrich Y (2001): State-dependent decisions in long-term fasting king penguins, *Aptenodytes patagonicus*, during courtship and incubation. Anim Behav 62: 661-669
- Geissmann T (2002): Beobachtungstechniken. In: Geissmann T (Ed) Verhaltensbiologische Forschungsmethoden: Eine Einführung. Schöningh Verlag, Münster: 1-17
- Goldstein DS, Frank SM (2001): The wisdom of the body revisited: the adrenomedullary response to mild core hypothermia in humans. Endocr Regul 35: 3–7
- Golemansky V (2011): Coccidian parasites (*Apicomplexa*) of penguins (*Pygoscelis* ssp.) from Livingston Island and King George Island, the Antarctic. Pol Polar Res 32: 263-268
- Grota LJ, Kristen BEN (1967): Plasma progesterone concentrations during pregnancy and lactation in the rat. J Reprod Fert 13: 83-91
- Hase A (1932): Beobachtungen an venezolanischen *Triatoma*-Arten, sowie zur allgemeinen Kenntnis der Familie der Triatomidae (Hemipt.-Heteropt.). Z Parasitenkd 4: 585-652
- Hood LC, Dee Boersma P, Wingfield JC (1998): The adrenocortical response to stress in incubating magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*). Auk 115: 76-84
- Huber S, Palme R, Arnold W (2003): Effects of season, sex and sample collection on concentrations of fecal cortisol metabolites in red deer (*Cervus elaphus*). Gen Comp Endocrinol 130: 48-54
- Hubmer I, Kotrba R, Stadler A, Schwarzenberger F (2010): Minimally invasive pregnancy monitoring in captive elands (*Taurotragus oryx*) – faecal steroid hormone metabolites and bloodsucking bugs (*Dipetalogaster maxima*). In: Wibbelt G (Ed) Proceedings of the International Conference on Diseases of Zoo and Wild Animals 2010, Madrid: 200-203
- Jones HI (1988): Notes on parasites in penguins (Spheniscidae) and petrels (Procellariidae) in the Antarctic and Subantarctic. J Wild Dis 24: 166-7
- Jones HI, Shellam GR (1999): Blood parasites in penguins and their potential impact on conservation. Mar Ornithol 27: 181-184
- Kaneko Y, Shojo H, Yuda M, Chinzei Y (1999): Effects of recombinant nitrophorin-2 nitric oxide complex on vascular smooth muscle. Biosci Biotechnol Biochem 63: 1488-1490
- Lazzari CR, Núñez JA (1989): Blood temperature and feeding behaviour in *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae). Entomol Gen 14: 183-188
- Lecomte N, Kuntz G, Lambert N, Gendner JP, Handrich Y, Le Maho Y, Bost CA (2006): Alloparental feeding in the king penguin. Anim Behav 71: 457–462
- Love OP, Breuner CW, Vézina F, Williams TD (2004): Mediation of a corticosterone-induced reproductive conflict. Horm Behav 46: 59–65
- Magunna C (1995): Oestrus cycle and pregnancy in Asian elephant (*Elephas maximus*). Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover
- Marsden PD (1986): *Dipetalogaster maxima* or *D. maximus* as a xenodiagnostic agent. Rev Soc Bras Med Trop 19: 205-207
- Matern B (1995): Parasitologische Überwachung der Tiere. In: Göldenboth R, Klös HG (Eds) Krankheiten der Zoo- und Wildtiere. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin: 10
- McNeilly AS, Martin RD, Hodges JK, Smuts GL (1983): Blood concentrations of gonadotrophins, prolactin and gonadal steroids in males and in non-pregnant and pregnant female African elephants (*Loxodonta africana*). J Reprod Fert 67: 113-120

- Mehlhorn H (2002): Terminologie. In: Mehlhorn, H., Piekarski, G. (Eds) Grundriß der Parasitenkunde. 6. Auflage. Gustav Fischer Verlag Jena: 1-15
- Meiser CK, Schaub GA (2011): Xenodiagnosis. In: Mehlhorn H (Ed) *Nature Helps...*, Parasitology Research Monographs 1, Springer, Heidelberg: 273-299
- Meyer JM, Walker SL, Freeman EW, Steinetz B, Brown JL (2004): Species and fetal gender effects on the endocrinology of pregnancy in elephants. *Gen Comp Endocrinol* 138: 263–270
- Naguib M (2006): 4. Kapitel Quantifizierung von Verhaltensabläufen. In: Naguib M (Ed) Verhaltensbiologische Methoden. Springer Verlag, Heidelberg: 69-89
- Olsen JH, Chen CL, Boules MM, Scott Morris L, Coville BR (1994): Determination of reproductive cyclicity and pregnancy in Asian Elephants (*Elephas maximus*) by rapid radioimmunoassay of serum progesterone. *J Zoo Wild Med* 25: 349-354
- Otley H, Clausen A, Christie D, Huin N, Pütz K (2007): Breeding patterns of king penguins on the Falkland Islands. *Emu* 107: 156–164
- Ryckman RE, Ryckman AE (1963): Loma Linda University's 1962 expedition to Baja California. *Med Arts Sci* 17: 65-76
- Schaub GA (1989): *Trypanosoma cruzi*: quantitative studies of development of two strains in small intestine and rectum of the vector *Triatoma infestans*. *Exp Parasitol* 68: 260-273
- Schaub GA (1990): Membrane feeding for infection of the reduviid bug *Triatoma infestans* with *Blastochrithidia triatomae* (Trypanosomatidae) and pathogenic effects of the flagellate. *Parasitol Res* 76: 306-310
- Schaub GA (2009): Interactions of trypanosomatids and triatomines. *Adv Insect Physiol* 37: 177-242
- Schofield CJ (1979): The behaviour of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae): a review. *Bull Entomol Res* 69: 363-379
- Schwarzenberger F, Strauss G, Hoppen HO, Schaftenaar W, Dieleman SJ, Zenker W, Pagan O (1997): Evaluation of progesterone and 20-oxo-progestagens in the plasma of Asian (*Elephas maximus*) and African (*Loxodonta africana*) elephants. *Zoo Biol* 16: 403–413
- Smith NS, Buss IO (1975): Formation, function and persistence of the corpora lutea of African elephant, *Loxodonta africana*. *J Reprod Fert* 20: 111-117
- Stadler A (2005): Einfluss des Geschlechts und psychoimmunologischer Faktoren auf die Parasitierung von Zootieren. Diplomarbeit Fakultät für Biologie, Ruhr-Universität-Bochum
- Stadler A, Lawrenz A, Schaub GA (2007): Der Einsatz von Raubwanzen zur Gewinnung von Blutproben bei Zootieren. *Zeit. Kölner Zoo* 4: 163-173
- Stadler A, Meiser CK, Schaub GA (2011): „Living syringes“: Use of hematophagous bugs as blood samplers from small and wild animals. In: Mehlhorn H (Ed), *Nature Helps...*, Parasitology Research Monographs 1, Springer Verlag, Heidelberg: 243-271
- Stoskopf MK, Beier JR (1979): Avian malaria in African black-footed penguins. *J Amer Vet Med Ass* 175: 944–947.
- Jewgenow K, Braun BC, Göritz F, Voigt CC, Martínez F, Lourdes A, Vargas A, Dehnhard M (2008): Pregnancy diagnosis in Iberian lynx (*Lynx pardinus*) based on urinary and blood plasma hormones. In: Vargas A (Ed) Iberian Lynx ex-situ conservation: 376-389

- Vidal V, Ortiz J, Diaz JI, Ruiz de Ybañez MR, Amat MT, Palacios MJ, Benzal J, Valera F, de la Cruz C, Motas M, Barbosa A (2012): Gastrointestinal parasites in chinstrap penguins from Deception Island, South Shetlands, Antarctica. *Parasitol Res* 111: 723-727
- Voigt CC, Faßbender M, Dehnhardt M, Wibbelt G, Jewgenow K, Hofer H, Schaub GA (2004): Validation of a minimally invasive blood-sampling technique for analysis of hormones in domestic rabbits, *Oryctolagus cuniculus* (Lagomorpha). *Gen Comp Endocrin* 135: 100-107
- Voigt CC, Peschel U, Wibbelt G, Fröhlich K (2006): An alternative less invasive blood sampling collection technique for serologic studies utilizing triatomine bugs. *J Wildl Dis* 42: 446-469
- von Helversen O, Reyer HU (1984): Nectar intake and energy expenditure of a flower visiting bat. *Oecologia* 63: 178-184
- von Helversen O, Volleth M, Nunez J (1986): a new method for obtaining blood from a small mammal without injuring the animal: use of triatomid bugs. *Experientia* 42: 809-810
- Weimerskirch H, Stahl JC, Jouventin P (1992): The breeding biology and population dynamics of king penguins *Aptenodytes patagonicus* on the Crozet Islands. *Ibis* 134: 107-117.
- Weinke T, Burchard GD (2010): Amerikanische Trypanosomiasis oder Chagas-Krankheit. In: Löscher T, Burchard GD (Eds) *Tropenmedizin in Klinik und Praxis*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart: 630-638
- Wülker W, Schaub GA (2002): Parasiten/Parasitismus/Parasitologie. In: Sauermost R, Freudig D, Lay M, Genaust H, Gack C, Bogenrieder A, Collatz KG, Kössel H, Maier U, Osche G, Schön G (Eds). *Lexikon der Biologie*. Vol 10, 2nd ed. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg: 381-390
- Yorio P, Boersma PD (1994): Causes of nest desertion during incubation in the magellanic penguin (*Spheniscus magellanicus*). *Condor* 96: 1076-1083.

9. Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
Abb.	Abbildung
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
ca.	circa
cm	Zentimeter
d.h.	das heißt
ECLIA	Elektro-Chemilumineszenz-Immuno-Assay
g	Gramm
G	Gravitationsbeschleunigung an der Erdoberfläche
h	Stunde
i.d.R.	in der Regel
Kap.	Kapitel
L	Liter
ng	Nanogramm
N5	5. Nymphenstadium
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
s	Sekunde
S.A.F.	Sodium acetate-acetic acid-Formalin
s.o.	siehe oben
u.a.	unter anderem
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil