

利用糞類固醇激素監測圈養台灣黑熊 的繁殖狀態

Monitoring Reproductive Status of Captive Formosan Black Bears *Ursus thibetanus formosanus* using Fecal Steroid Hormones

楊吉宗¹ 毛嘉洪² 張耿瑞² 何東輯¹ 詹芳澤¹

Chieh-Chung Yang¹, Frank Chiahung Mao², Geng-Ruei Chang²,
Tung-Chi Ho¹ and Feng-Tse Chan¹

¹行政院農業委員會特有生物研究保育中心 南投縣集集鎮民生東路1號

²國立中興大學獸醫學系 台中市國光路250號

¹ Endemic Species Research Institute, Jiji, Nantou, Taiwan

² Department of Veterinary Medicine, National Chung-Hsing University, Taichung, Taiwan

摘 要

本研究之目的是監測圈養台灣黑熊(*Ursus thibetanus formosanus*)雌熊糞便中性類固醇代謝物雌二醇(estradiol)及孕酮(progesterone)的變化情形,藉以瞭解其繁殖狀態。經2002-2004年以3隻雌熊連續3年每週採取3次糞便,分批以酵素免疫分析法檢測結果,由雌二醇呈現最高峰期為主且輔以孕酮升高情形,推測認為台灣黑熊繁殖期(不含產期)的範圍是在2-8月,此期間概稱為繁殖季,其間可能只有1次發(動)情期(estrus)而接受交配,初步認為台灣黑熊屬季節性持續發情(seasonally constant estrus),且為單次發情(monoestrus)。另由孕酮檢測的結果,若於發情交配後其濃度仍呈現高峰起伏不定的情況,且未能在交配後約5個月或產前約2個月明顯迅速上昇,或產後未急劇下降,則懷孕及生產可能是異常的。

Abstract

The reproductive status of three female Formosan black bears (*Ursus thibetanus formosanus*) in captivity was monitored three times a week from 2002 to 2004, using fecal steroid metabolites, estradiol and progesterone. The breeding season (not include parturition) was found to be from February to August when estradiol was at peak, and the progesterone concentration was increasing. Apparently, there was a single estrus, the time for receptive mating, presuming that the Formosan black bear is an animal of

seasonally constant estrus and monoestrus. Abnormal pregnancy and birth delivery resulted, when the progesterone concentration fluctuated and did not rapidly increase about five months after mating or two months before parturition, or the concentration did not sharply dropped after the parturition.

關鍵詞：台灣黑熊、糞類固醇激素、單次發情

Key words: *Ursus thibetanus formosanus*, fecal steroid hormones, monoestrus

收件日期：94年5月30日

接受日期：94年11月10日

Received: May 30, 2005

Accepted: November 10, 2005

緒 言

生存於自然棲地的動物，因受食物供應、環境溫度及光照等影響，除熱帶地區外，繁殖形態多為季節性繁殖，其調節的機制主要是受下視丘激性腺素釋放素(hypothalamic releasing hormone; GnRH)及腦垂體激性腺素(pituitary gonadotropin)所影響，這些激素作用於卵巢而分泌性類固醇激素，以控制生殖機能的季節性變化(McDonald 1980)。性類固醇激素的代謝物部分會由糞便排出，糞中與血液中所呈現之濃度具一致性且正相關(Desaulniers *et al.* 1989; Hirata and Mori 1995; Shideler *et al.* 1993)，因糞便容易收集及分析技術可靠，故檢測糞便性類固醇代謝物作為瞭解野生動物繁殖生理狀況被認為是可行的方法(Desaulniers 1989; Wasser *et al.* 1996; Wu *et al.* 1996)。熊亞科黑熊屬之美洲黑熊(*Ursus americanus* Pallas)發情交配多在5-7月(Domico and Newman 1988; Flowerdew 1987; Ford 1981; Foresman and Daniel 1983; Seager and Demorest 1986)、亞洲黑熊(*Ursus thibetanus* Cuvier)在3-8月(孔令祿等 1998; Ford 1981; Seager and Demorest 1986; Wang 1998)或3-12月(Domico and Newman 1988)，

圈養台灣黑熊之發情交配是在3-5月(Yang *et al.* 2005)。發情期間，除了熱帶地區的馬來熊(*Helarctos malayanus*)有報告其繁殖無季節性且一年中有多次發情(polyestrus)(Schwarzenberger *et al.* 2004)及灰熊(*Ursus arctos horribilis*)在同一交配季有2個動情周期(estrus cycle)(Craighead *et al.* 1969)之外，鮮少有相關其他熊隻在繁殖季有多少個發情期的報告。本研究全年以非侵入法收集圈養台灣黑熊的糞便，並檢測雌熊之動情素(estradiol)及孕酮(progesterone)，藉以監測及瞭解發情狀況，並探討其生殖狀況。

材料與方法

本試驗之熊隻共3隻雌熊及2隻雄熊，其編號、年齡及配對時間如表1。於繁殖季將雌熊A號與雄熊A號配對，其間每年均有發生交配，於交配後無後續互動行為時再予隔離；雌熊B號與雄熊B號配對，3年間均未見有明顯的交配駕乘行為，同樣於無互動行為後予以隔離；雌熊C號未配對。糞便之收集以非侵入法每週採取3次為原則，採集時選擇較新鮮之糞堆，並避開硬塊狀殘留物，收集約20-25g暫存於-20°C，再參考陳(1994)的模式以醇

表1. 試驗熊隻資料

Table 1. Data of the experimental bears

Assigned code	Ages (years)	Duration of paired time		
		2002	2003	2004
Female A	11	3/6-5/10	2/7-5/12	2/10-4/28
Male A	15			
Female B	9	4/24-9/11	4/8-10/8	2/10-6/4
Male B	unknown			
Female C	unknown	un-paired		

素免疫分析法分析之。處理時將糞材解凍後稍加捏搓混合，再取其中1g，加入3 ml分析緩衝液，震盪混合10 min，100°C加熱10 min，再震盪混合20 min，以3,500 rpm離心30 min後抽取上清液，再以黏附液稀釋抗體，並以每孔100 μ l加入96孔免疫微滴盤中，於4°C下隔夜處理；使用前以清洗液清洗4次後甩乾微滴盤，每孔以200 μ l分析液保存；使用前以清洗液清洗4次，每孔先加入50 μ l分析液使抗體保持黏附方向；加入50 μ l標準液或經稀釋的待測樣品於4°C、30 min，再加入酵素免疫結合體50 μ l，於室溫下競爭2 hr；沖洗8次，並甩乾微滴盤；加入100 μ l的新鮮TMB受質，室溫下呈色反應10-15 min；以50 μ l硫酸中止呈色；用酵素免疫判讀機450 nm與600 nm兩波長判讀。使用之抗體及酵素免疫結合體取自中興大學獸醫學系生理實驗室，標準液為購得 (Sigma, 編號P9776)。3隻雌熊所測得結果以每3個樣本資料繪其移動平均趨勢，其中雌熊A號因懷孕生產未進食之故，在2002年10月19日至11月11日、2003年9月7日至12日及2004年11月21日至12月1日因無排遺可資收集分析，故圖有顯示中斷者。

結果與討論

雌熊糞便中雌二醇在2002-2004年檢測結果的移動平均趨勢線如圖1，月平均濃度如表2。雌熊A號2002、2003及2004年的最高峰分別出現在5月(17.00 ng/g)、2月(18.96 ng/g)及3月(6.02 ng/g)，分布在2-5月間；雌熊B號依序3年的最高峰期在6月(31.70 ng/g)、5月(28.32 ng/g)及2月(4.99 ng/g)，分布在2-6月間；雌熊C號各年的最高峰期在7月(17.66 ng/g)、4月(10.24 ng/g)及4月(7.76 ng/g)，分布在4-7月。由表2顯示同一月份不同樣本間有的變異很大，其原因認為是激素分泌的調節受許多尚未清楚的機制所影響，體液中的代謝物和其他激素的濃度，以及垂體前葉分泌激濾泡素(FSH)和黃體生成素(LH)的比例所引起之回饋機制等都有影響(McDonald 1980)。本試驗檢測糞便即檢測其體液，體液成分的濃度可能是直接影響其變異的主因。且本研究並未檢測FSH和LH，其不同比例可能引起的影響也未明。3隻雌熊的雌二醇濃度不一，有可能與個體間的差異有關。除前述原因之外，神經傳導(末梢神經及下視丘至腦垂體)及遺傳也都有可能影響(McDonald 1980)。

雌熊A號2002、2003及2004年分別在5月、4月及3月均發生交配並受孕，其中2002及2004年發生交配時適逢在雌二醇的最高峰期(如圖1及表2)。雌二醇的含量通常是代表動情素(estrogen)的活性，它可作用於中樞神經而誘導雌性動物的發情(Callard and Pasmanik 1987)，其濃度的高峰期可能就是發(動)情期(或接受交配期)。但其中2003年發生交配並非在雌二醇最高峰期，而是在4月(如表2及圖1A)，其原因Yang *et al.* (2005)已另就交配前後約2個月內縮小尺度探究其行為與性內分泌素的關係，推測可能只要在雌二醇升高持續時間之內，若有孕酮適當濃度的配合，雌熊即可接受交配。Schwarzenberger *et al.* (2004)研究馬來熊的糞中雌二醇前驅物雄性素(androgen)也發現發情期並不一定與雄性素的上升一致。至於所謂雌二醇升高持續時間，該雌熊A號2003年2月的最高峰之後逐漸下降，4月尚在下降階段(如表2)，尚未到相對的低濃度，故認為可能持續發情的期間。另外，雌熊B號可能因右後腳截肢而不利於被駕乘，致所錄之影像身軀蹲下而未能清楚分辨是否交配，該熊隻在試驗的3年間均未受孕。

但由其雌二醇之最高峰期分布是在4-6月，故而認為4-6月間均可能有發情。雌熊C號未與雄熊配對，其雌二醇在4-7月之間就各該年度來講有相對的提高。綜合2002-2004年3隻雌熊之雌二醇之最高峰期分布範圍為2-7月，其間未如Schwarzenberger *et al.* (2004)報告中有關馬來熊的情形，其動情素先驅物雄性素一年之中有多次明顯高峰，且由其圖顯示高峰之間有明顯間隔，間隔時間並沒有等距，發情期有2-4次不等，故認為馬來熊是多次發情，且發生的時間並沒有季節性，故報告稱之為非季節性繁殖者(nonseasonal breeder)，他等亦同時指稱這些發現與北半球的其他熊種(美洲及亞洲黑熊、棕熊、北極熊、懶熊及大貓熊)不一樣。本研究所顯示台灣黑熊雌二醇的最高峰期在2-7月，若就前述雌熊A號於2003年之交配是在雌二醇最高峰之後的次一月，也就是最高峰的次一月因雌二醇雖持續下跌中未達低點而仍可能發生交配時，則可能交配的繁殖期的範圍似可延伸為2-8月。此時期，似也可稱為台灣黑熊的繁殖交配期(不含產期)，在這期間的任一時段，均可能發情。除外之其他月份(9月至翌年1月)因未有相

表2. 台灣黑熊2002-2004年雌熊A號、B號及C號糞中雌二醇每月平均濃度(平均值±標準差 ng/g)表
Table 2. Average monthly concentrations (mean ± SD ng/g) of fecal estradiol of the three female Formosan black bears (A, B and C) for 2002 to 2004

Month	A			B			C		
	2002	2003	2004	2002	2003	2004	2002	2003	2004
January	11.35±9.65	8.21±6.18	1.79±1.43	21.07±7.30	12.25±8.71	4.35±5.05	14.30±8.32	4.25±6.05	1.12±1.68
February	12.08±6.85	18.96±13.48	1.61±1.09	20.15±10.74	14.20±4.60	4.99±3.92	10.26±3.37	6.83±4.29	0.48±0.77
March	6.39±3.63	12.56±7.53	6.02±9.73	18.74±5.81	13.48±12.08	1.47±1.30	8.18±2.95	0.43±0.51	2.39±2.93
April	8.88±4.47	4.63±5.41	1.18±2.23	28.21±15.13	9.24±7.02	2.74±3.64	7.23±5.03	10.34±6.13	7.76±15.23
May	17.00±7.57	2.10±2.01	2.50±1.29	17.81±8.46	28.32±32.51	3.91±2.80	8.80±3.34	7.22±4.58	0.87±0.94
June	7.83±4.60	4.98±3.01	1.75±1.23	31.70±31.86	9.75±3.04	3.29±2.80	7.18±5.89	7.78±7.52	1.07±0.64
July	7.40±4.58	1.06±2.58	0.91±1.14	23.40±11.05	4.75±5.36	4.37±4.99	17.66±14.90	1.20±2.01	2.79±8.10
August	1.46±1.40	0.04±0.65	0.03±0.04	7.75±5.59	2.64±5.46	1.93±2.93	9.24±4.26	2.06±5.57	4.08±8.64
September	7.47±11.09	0.80±1.53	0.03±0.05	7.40±4.61	4.21±5.40	0.01±0.01	6.93±5.40	1.88±1.92	0.02±0.03
October	12.31±6.48	0.56±0.56	0.01±0.01	6.25±3.42	3.62±5.09	0.11±0.020	5.23±3.84	0.86±1.07	0.01±0.00
November	3.43±3.49	1.83±2.30	2.49±6.02	2.48±1.62	0.78±1.66	1.68±3.64	1.39±1.30	1.01±0.00	1.23±2.74
December	1.34±1.78	1.10±1.79	1.65±4.33	1.90±1.91	2.49±4.18	2.67±1.08	5.95±3.07	2.00±3.71	0.01±0.00

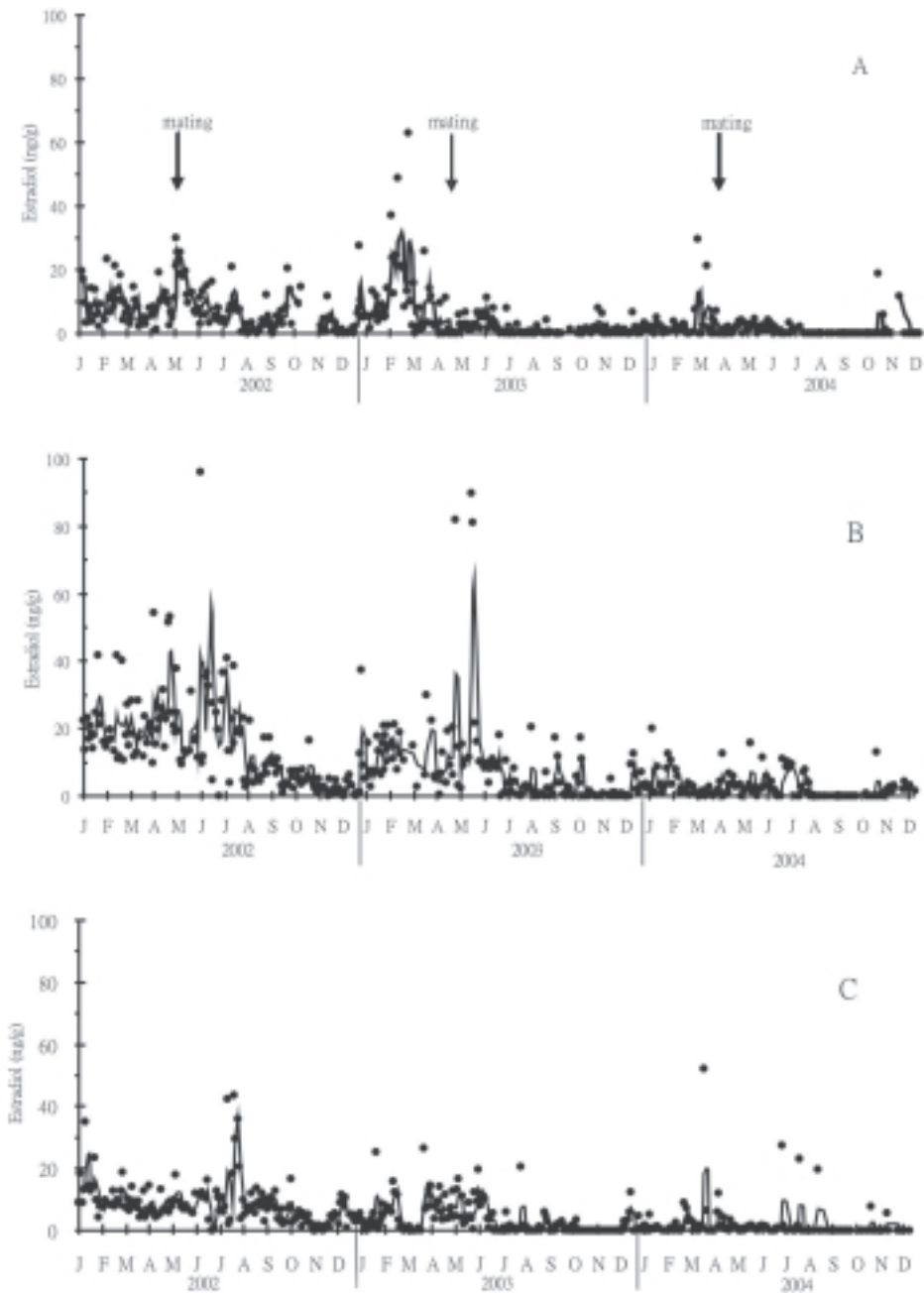


圖1. 台灣黑熊2002-2004年雌熊A號、雌熊B號及雌熊C號的糞雌二醇濃度及以3個樣本之移動平均的變化情形。

Fig. 1. The measured concentrations (solid circles) and the 3-measurement moving averages (solid lines) of fecal estradiol concentrations of three female Formosan black bears (A, B and C), January 2002 to 2004.

對的明顯高峰出現，故發情的可能性也相對降低，甚或可稱這段時間為乏情期(anestrus)。另由圖1的移動趨勢線觀之，雌二醇的上升都在2-8月之內，且在上升的時段中有一段顯得比較高的峰期，而此比較高的峰期未有多次出現，故推測牠的繁殖期是持續性的。在持續的時段中顯得比較高的峰期只有一個，此可能就是發情期，因而推測可能為單次發情。雌犬一年中通常有1-3個繁殖季，每個繁殖季僅有1個發情期，稱之為季節性地單次發情(seasonally monoestrus)，但為利於在春天哺育幼犬，多數在冬末生產(McDonald 1980)。另Smith and McDonald (1974)亦把動情前期(proestrus)與發情期通稱之為「發情」，並稱犬在繁殖季的期間只有1個動情周期。另Erickson *et al.* (1964)則報告指稱美洲黑熊呈季節性持續發情(seasonally constant estrus)。因台灣黑熊原棲地是在海拔1,000m以上，為了適應環境及仔熊的哺育，懷疑是否如同犬一樣演化成在繁殖季只有1次發情？因而，若把圖1之3隻雌熊各年2-8月雌二醇上升的期間視同Ericson *et al.* (1964)所稱美洲黑熊的持續發情，則本研究在2-8月的範圍內，雖其持續的時間長短各有不同，但在持續時間內大都僅有一個比較高的峰期，其間並沒有間隔性地降至低點後再回到約相等的高峰，故綜合歸納初步認為台灣黑熊為季節性持續發情且為單次發情。孔令祿等(1998)曾報告亞洲黑熊在一個動情周期分為發情前期、發情期、發情後期及休情期，其發情期持續3-5天之間最多可出現3次高潮期(接受交配)，其所稱的高潮期並非本文所指的發情期，對有多少個發情期並未加以敘述，故與本文所稱的單次發情並未發現有相互矛盾之處。

糞孕酮部分，在2002-2004年檢測結果的平均移動趨勢如圖2，月平均濃度如表3。就個別熊隻而言，雌熊A號在2002-2004各年依序在5、4、3月分別有交配行為，並在同年9-

12月間陸續有分娩。其交配時即為發情期，孕酮的濃度在當時均有較升高的現象(如表3)，但2002年5月及2003年4月發生交配並非在當年的最高峰期。此時孕酮的上升，是卵巢功能的生理現象，其與雌二醇的協同作用可促使雌熊接受性的行為(McDonald 1980; Yang *et al.* 2005)，結果顯示孕酮並非一定要在最高峰才能協同雌二醇促使雌熊接受性行為。至於孕酮與懷孕的關係，孕酮比雌二醇較能提供正確的懷孕診斷(Monfort *et al.* 1993)。通常熊隻在交配後胚胎延遲著床約5-6個月之久(Wimsatt 1963; Tsubota *et al.* 1991; Yang *et al.* 2003)，其間黃體是靜止的(Renfree and Calaby 1981)，因此在交配後5-6個月間孕酮是維持在低量的狀態，俟胚胎著床時，孕酮激增(Palme *et al.* 1988; Sato *et al.* 2000; Tsubota *et al.* 1987)，並於產後激降(Hellgren *et al.* 1991; Tsubota *et al.* 1987)。雌熊A號2002年於5月交配，孕酮依前述情形應在10月上升，但其卻在9月即上升，並於11月4日生產，產後孕酮沒有激降而持續維持在高濃度的狀態(如表3及圖2)；2003年於4月交配，孕酮在9月正常上升，10月3日生產之後逐漸下降，同年5、6月仍呈現在高濃度狀態(同表3及圖2)。2002及2003年分別於交配後184天及172天生產，其懷孕期與台灣黑熊懷孕225天(Yang *et al.* 2003)比較，似呈早產現象，該兩次胎兒出生時(或不久)即死亡。一般發生早產的原因很多，包括有緊迫、不當增重、懷孕次數多(龔建華 1992; Gravett 1984)以及於懷孕初期高增重或懷孕後期低增重(Schieve *et al.* 1999; Schieve *et al.* 2000)等均有可能提高早產的風險。野外熊隻多在入洞休眠前暨懷孕後期才獲取更富營養的食物並增重(Hiss 1997; Schooley *et al.* 1994)，而本研究在這兩年於懷孕初期即給予營養濃度較高的食物(蛋白質含11%改為含17%)，並依食慾給予較多的食物量(每週約增10-20%)，可能因此造成懷孕初期增重有關(作

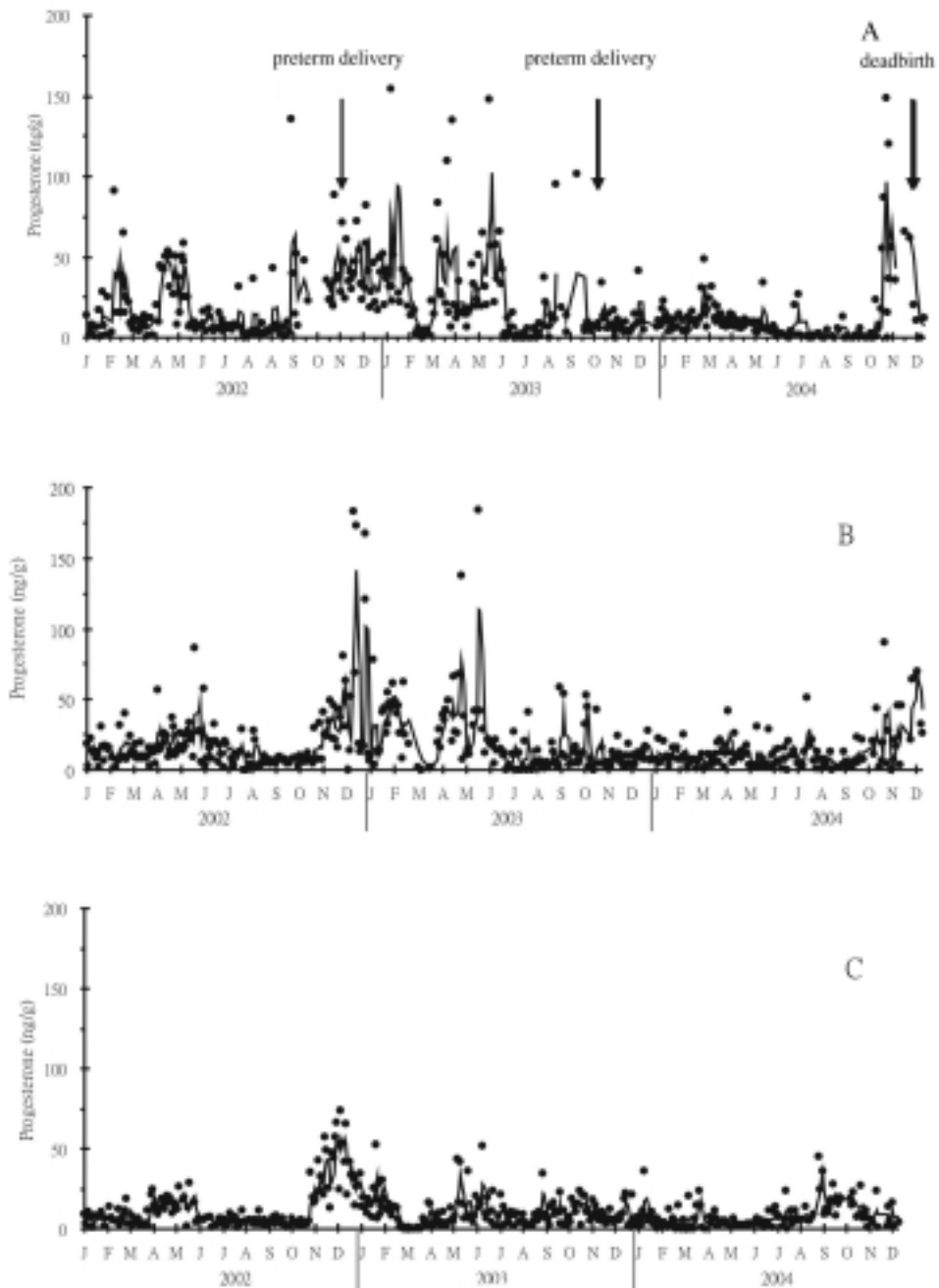


圖2. 台灣黑熊2002-2004年雌熊A號、雌熊B號及雌熊C號的糞孕酮濃度及以3個樣本之移動平均的變化情形。

Fig. 2. The measured concentrations (solid circles) and the 3-measurement moving averages (solid lines) of fecal progesterone concentrations of three female Formosan black bears (A, B and C), January 2002 to 2004.

表3. 台灣黑熊2002-2004年雌熊A號、B號及C號糞孕酮每月平均濃度(平均值±標準差 ng/g)表

Table 3. Average monthly concentrations (mean±SD ng/g) of fecal progesterone of the three female Formosan black bears (A, B and C) for 2002 to 2004

Month	A			B			C		
	2002	2003	2004	2002	2003	2004	2002	2003	2004
January	9.45±9.03	39.58±17.38	11.58±6.23	13.92±7.82	42.25±47.00	11.25±7.46	6.22±3.53	21.37±12.10	8.43±9.54
February	30.05±27.68	56.59±58.09	8.40±3.51	14.51±11.46	39.99±16.10	9.64±7.04	8.46±4.96	15.87±8.09	4.18±3.75
March	8.00±4.56	7.64±7.30	19.59±12.38	11.87±4.94	1.28±0.80	6.02±3.66	4.43±2.99	0.43±0.51	4.09±6.46
April	36.10±16.20	45.13±40.97	11.90±3.96	21.38±14.04	34.43±15.54	14.44±10.96	15.93±6.79	6.61±5.14	8.67±6.94
May	23.50±18.45	23.69±12.63	8.13±2.45	27.60±19.72	73.92±54.37	10.27±8.54	16.50±7.09	14.83±14.34	3.06±1.54
June	9.16±5.10	52.80±35.48	6.18±8.69	16.08±15.14	17.45±6.69	7.30±7.56	4.83±2.31	15.10±12.73	3.29±1.52
July	7.68±7.61	3.51±4.85	5.60±9.62	9.98±9.10	7.90±8.43	13.55±13.69	4.57±2.66	8.82±7.14	7.37±7.21
August	6.06±7.13	8.33±10.80	1.38±1.45	8.10±7.29	7.04±10.68	9.67±6.54	5.43±6.28	4.51±3.08	6.84±4.01
September	22.23±18.42	25.73±34.33	2.52±4.34	6.72±1.44	16.02±19.46	4.13±3.66	4.61±2.00	11.17±8.06	18.14±13.25
October	29.03±20.05	17.56±31.66	3.61±6.54	9.31±6.30	17.68±17.92	46.35±12.60	3.44±1.59	10.92±7.81	18.29±5.57
November	36.05±20.83	10.42±8.21	57.35±47.90	30.73±12.52	8.51±6.50	19.07±25.13	30.85±14.33	11.58±5.56	10.16±8.14
December	43.77±16.04	9.97±10.26	28.55±28.20	56.46±59.49	8.10±5.14	46.46±20.32	43.89±18.49	8.63±5.81	6.12±6.21

者，未發表)。雌熊A號的孕酮在2002及2003年早產之前的1、2個月略有上升，但不甚明顯，產前及產後的變化起伏不定而與正常的情況不同，推測此異常的變化可能與早產有某種關係存在。另2004年是在3月交配，隔了8個月的11月孕酮才上升(如表3及圖2)，其產前的變化與正常的情況相類似，沒有發生早產，但卻於懷孕252天後的12月1日死產，原因不明。以上雌熊A號3年孕酮的變化與一般的狀況有異，其懷孕及生產也發生異常，故由孕酮的變化似可利用來偵測或預估可能的繁殖狀態。

雌熊B號的孕酮由各年的相對值來看(如表3)，2002年在4-6月的濃度較高，與雌熊A號的情況類似，可能是卵巢於發情期配合雌二醇產生協同作用的一種現象。之後，於11、12月間激增約近2-3倍，其間與發情相隔約5個月，與正常懷孕產生變化的時間相似。前已述雌熊B號與雄熊未知是否有交配，但不管是否有生殖器的直接接觸，其孕酮於發情後約5個月有升高現象，但最後該熊並未生

產，推測可能發生假懷孕，且其並無其他外表徵狀，僅發現內分泌有發生變化，故屬於隱性假懷孕 (covert pseudopregnancy) (McDonald 1980)。若該假懷孕的推測成立，則因前述已知其未見駕乘的交配行為，故其有自發排卵(spontaneous ovulation)的可能性存在。2003年1、2月延續前一年(2002年)的高峰而逐漸下降，4、5月時又再上升，之後則未見如前一年(2002年)之假懷孕而呈現上升的現象；2004年則在10-12月有上升，其他月份並無上升。雌熊C號與雌熊B號孕酮的消長情形很類似(如圖2及表3)，只是高峰顯現的程度不同，月份亦有點差別，可能是個體的差異所致。綜合2002-2004年3隻雌熊孕酮的變化情形，其高峰期的分布概可分為兩個範圍，一為2-7月間，屬發情交配階段，一個是9月至翌年1月，屬於胚胎著床、真假懷孕及分娩階段。2-7月發情交配期孕酮的上升與雌二醇有同步的趨勢，可視為發情季節與促進性器官發育及接受駕乘有關。9月至翌年1月孕酮高低則與懷孕狀況有密切的關係。

謝 誌

感謝特有生物研究保育中心低海拔試驗站黃朝卿、程忠智、胡景瀚及林壯威等同仁鼎力支持及協助，特別是詹文輝的盡心盡力，才使位於偏遠地區的熊隻飼養管理及樣品的採集得以順利進行，有了您們，本文方能完成。

引用文獻

- 孔令祿、蘭岷劍、楊世奎、楊智勇、鄭穎紅、湯純香、周小平。1998。家養黑熊的繁殖行爲。獸類學報 18(2) : 150-151。
- 陳婷婷。1994。性類固醇激素免疫分析方法的建立與應用。國立中興大學獸醫學研究所碩士論文。
- 龔建華。1992。早產有關因素的研究。中華婦產科雜誌 27(1) : 22-24。
- Callard, G. V. and M. Pasmanik. 1987. The role of estrone as a parahormone in brain and pituitary. *Steroids* 50 (4-6): 475-490.
- Craighead, J. J., M. G. Homocker and J. C. Craighead Jr. 1969. Reproductive biology of young female grizzly bears. *Journal of Reproduction and Fertility* 6: 447-475.
- Desaulniers, D. M. 1989. Measurements of reproductive hormones in body fluids. *AgBiotech News and Information* 1: 505-510.
- Desaulniers, D. M., A. K. Goff, K. J. Betteridge, J. Rowell and P. F. Flood. 1989. Reproduction hormone concentrations in faeces during the oestrous cycle and pregnancy in cattle (*Bos taurus*) and muskoxen (*Ovivos moschatus*). *Canadian Journal of Zoology* 67: 1148-1154.
- Domico, T. and M. Newman. 1988. Bears of the world. Facts on file.
- Erickson, A. W., J. E. Nellor and G. A. Petrides. 1964. The black bear in Michigan, Part 1. *Research Bulletin- Michigan State University Agricultural Experiment Station* 4: 1-45.
- Flowerdew, J. R. 1987. *Mammals: Their reproductive biology and population ecology*. Edward Arnold, Great Britain.
- Ford, B. 1981. *Black bear- the spirit of the wilderness*. Houghton Mifflin Company, Boston.
- Foresman, K. and J. C. Daniel Jr. 1983. Plasma progesterone concentration in pregnant and non-pregnant black bears (*Ursus americanus*). *Journal of Reproduction and Fertility* 68: 235-239.
- Gravett, M. G. 1984. Causes of preterm delivery. *Seminars in perinatology* 8(4): 246-257.
- Hellgren, E. C., M. R. Vaughan, F. C. Gwazdauskas, B. Williams, P. F. Scanlon and R. L. Kirkpatrick. 1991. Endocrine and electrophoretic profiles during pregnancy and nonpregnancy in captive female black bears. *Canadian Journal of Zoology* 69: 892-898.
- Hissa, R. 1997. Physiology of the European brown (*Ursus atctos atctos*). *Annales Zoologici Fennici* 34: 267-287.
- Hirata, S. and Y. Mori. 1995. Monitoring reproductive status by fecal progesterone analysis in ruminants. *The Journal of Veterinary Medical Science* 57: 845-850.
- Hunt, J. P. and V. León. 1995. *Bears*. Silver Burdett Press. USA.
- McDonald, L. E. 1980. *Veterinary endocrinology and reproduction*. Lea and Febiger,

- Philadelphia.
- Monfort, S. L., C. C. Schwartz and S. K. Charles. 1993. Monitoring reproduction in captive moose using urinary and fecal steroid metabolites. *Journal of Wildlife Management*. Bethesda: Apr. 57(2): 400.
- Palmer, S. S., R. A. Nelson, M. A. Ramsay, I. Stirling and J. M. Bahr. 1988. Annual changes in serum sex steroids in male and female black (*Ursus americanus*) and polar (*Ursus maritimus*) bears. *Biology of Reproduction* 38: 1044-1050.
- Renfree, M. A. and J. H. Calaby. 1981. Background to delayed implantation and embryonic diapause. *Journal of reproduction & Fertility*. Supplement 29: 1-9.
- Sato, M., T. Tsubota, K. Yamamoto, Y. Hashimoto, A. Katayama, T. Hazumi, I. Kita and T. Kudo. 2000. Serum progesterone and estradiol-17 beta concentrations in captive and free ranging adult female Japanese black bears (*Ursus thibetanus japonicus*). *The Journal of Veterinary Medical Science* 62 (4): 415-420.
- Schieve, L. A., M. F. Cogawell and F. S. Scanlon. 1999. Maternal weight gain and preterm delivery effects by body mass index. *Epidemiology* 10: 141-147.
- Schieve, L. A., M. E. Cogswell, K. S. Scanlon, G. Perry and C. Ferre. 2000. Prepregnancy body mass index and pregnancy weight gain: Associations with preterm delivery. *Obstetrics & Gynecology* 96(2): 194-200.
- Schooley, R. L., C. R. McLaughlin, G. J. Matula Jr. and W. B. Krohn. 1994. Denning chronology of female black bears: Effects of food, weather, and reproduction. *Journal of Mammalogy* 75(2): 466-477.
- Schwarzenberger, F., G. Fredriksson, K. Schaller and L. Kolter. 2004. Fecal steroid analysis for monitoring reproduction in the sun bear (*Helarctos malayanus*). *Theriogenology* 62: 1677-1692.
- Seager, S. W. J. and C. N. Demorest. 1986. Reproduction in captive wild carnivores. pp. 852-869. *In*: Fowler, I. and E. Murray (eds.). *Zoo & Wild Animal Medicine*. W. B. Saunders Company. Philadelphia.
- Shideler, S. E., A. M. Ortuno, F. M. Moran, E. A. Moorman and E. L. Lasley. 1993. Simple extraction and enzyme immunoassays for estrogen and progesterone metabolites in the feces of *Macaca fascicularis* during non-conceptive and conceptive ovarian cycles. *Biology of Reproduction* 48: 1290-1298.
- Smith, M. S. and L. E. McDonald. 1974. Serum levels of luteinizing hormone and progesterone during the estrous cycle, pseudopregnancy, and pregnancy in the dog. *Endocrinology* 94: 404-412.
- Tsubota, T., Y. Takahashi and H. Kanagawa. 1987. Changes in serum progesterone levels and growth of fetuses in Hokkaido brown bears. pp. 335-358. *In*: P. Zager (ed.). *Bears- their biology and management*. International Conference on Bear Research and Management, Williamsburg, Virginia.
- Tsubota, T., Y. Takahashi, H. Kanagawa and K. Gohda. 1991. Embryo recovery during delayed implantation in the Hokkaido brown bear, *Ursus arctos yesoensis*. *The Journal of Veterinary Medical Science* 53(1): 141-142.

- Wang, S. 1998. China red data book of endangered animals. Science Press. Beijing.
- Wasser, S. K., S. Papageroge, C. Foley and J. L. Brown. 1996. Excretory fate of estradiol and progesterone in the African elephant (*Loxodonta africana*) and patterns of fecal steroid concentrations throughout the estrous cycle. *General and Comparative Endocrinology* 102 (2): 255-262.
- Wimsatt, W. A. 1963. Delayed implantation in the Ursidae, with particular reference to the black bear (*Ursus americanus Pallas*). pp. 49-76. *In*: A. C. Enders (ed.). *Delayed Implantation*. University of Chicago. Chicago, IL.
- Wu, L. S., C. J. Yang and J. H. Lin. 1996. Animal reproduction and fecal sex steroids. *Journal Biomedical Laboratory Science* 8: 103-110.
- Yang, C. C., F. C. Mao, F. T. Chan and T. C. Ho. 2003. Reproduction Behavior and characters of the Formosan black bear in captivity. *Endemic Species Research* 5(1): 1-13.
- Yang, C. C., W. H. Chan and F. H. Hsu. 2005. Breeding behavior of the Formosan black bear (*Ursus thibetanus*) in captivity. *Endemic Species Research* 7(1): 1-11.