

氏名（本籍） ^{かな}金 ^い井 ^{ゆき}幸 ^お雄（東京都）

学位の種類 農 学 博 士

学位記番号 博 乙 第 3 1 8 号

学位授与年月日 昭 和 61 年 6 月 30 日

学位授与の要件 学位規則第5条第2項該当

審査研究科 農学研究科

学位論文題目 **Studies on the oestrous cycle in the swamp buffalo**

主査 筑波大学教授 農学博士 清 水 寛 一

副査 筑波大学教授 農学博士 草 野 忠 治

副査 筑波大学教授 農学博士 花 田 毅 一

副査 筑波大学教授 医学博士 岩 崎 寛 和

論 文 の 要 旨

東南アジア一帯に分布する沼沢水牛は、これまでの労役主体の利用に加えて食肉資源としての利用が望まれているが、牛に比べて繁殖率が低く増殖が難しいという問題を抱えている。水牛の繁殖生理に関する研究は、他の家畜に比べて著しく少なく、特にその繁殖特性と飼養管理条件及び気候との関連性についてはこれまで殆んどなかった。本研究は、水牛の繁殖生理に関する基礎的な知見を収集し、今後の水牛生産に資することを目的としている。

一般に、家畜が示す繁殖特性は、本来それぞれの家畜が持つ生物学的な特性がさまざまな外的要因の影響を受けつつ発現するものであり、特に熱帯では、熱ストレスや栄養などの外的要因に大きく影響される。著者は、温帯で栄養的に十分な条件下で水牛を飼養してその繁殖型を調べることは、水牛の基本的な繁殖特性を明らかにするうえで重要であると考え、この研究を行った。

本研究では、雌家畜が営む生殖活動の中でも最も基本的なものの一つである性周期、すなわち発情及び排卵現象について、温帯における乳牛の一般的管理法に準じた飼養条件下で、水牛の性周期の生物学的な諸特性とその内分泌学的支配機構を調べ、主に牛との比較から水牛の繁殖学的特性を明らかにしようとした。実験には沖縄県石垣市から筑波大学農林技術センターに導入した雌10頭及び雄2頭の沼沢水牛を用いた。その結果、温帯で栄養的に十分な飼養条件下では、水牛の性周期は従来報告されている程不規則なものではなく、水牛は四季を通して規則的な性周期を

示すこと、発情及び排卵現象の特性とその内分泌学的統御機構は多くの点で牛に類似していることを初めて実験的に明らかにした。さらに、ホルモン処置による発情同期化試験を行い、水牛においても発情検出を必要としない定時人口授精が可能であることを示した。

主な研究題目とその成績は以下のとおりである。

I 水牛における性周期の基本的特性

性周期については、性周期日数、発情持続時間及び排卵時間の分布を調べた。導入直後の1979年の秋（実験Ⅰ）と翌年の6月から一年間（実験Ⅱ）の2回の実験を行った。1日2回朝夕各30分間精管切除雄を用いて発情を検出した。発情持続時間は3時間おきに雌を試情して測定し、排卵も3時間おきに直腸検査を行って確認した。季節及び体重の相違に基づく変動から、これらの形質に影響すると思われる諸要因について解析し、以下の成績を得た。

1) 大多数の水牛が、一年を通して規則的な性周期を維持した。性周期の大部分（79.2%）は、17～26日（以下便宜的に正常性周期という）の範囲にあり、これから外れる短周期及び長周期は、それぞれ、9.4%及び11.4%であった。これから、温帯で栄養的に十分な飼養条件下では、水牛は四季を通して性周期を維持しうることを、またその性周期日数の平均的範囲と斉一性はほぼ牛に匹敵することが示された。

2) 性周期全体に占める正常性周期の割合は、相対的に体調の劣っていたと思われる実験Ⅰ、及び実験Ⅱの春に減少する傾向が見られ、特に実験Ⅰでは短周期が数多く観察された。また実験Ⅱでは、群内の社会的順位が低く、他の個体に比べて冬期の体重減少が大きかった2頭の水牛が、冬から春にかけて長期にわたる無発情を示した。これらの成績から、環境の変化や個体間の社会的競合によって栄養水準が低下する場合には、性周期の規則性が損なわれたり、無発情になる可能性のあることが示唆された。

3) 発情の開始は、日中及び夜間のいずれの時間帯にも均等に観察され、9～27時間（平均19.9時間）持続した。排卵は発情終了後6～21時間の間に起こり、12時間で全体の50%が、15時間では75%が、排卵を完了した。発情持続時間及び排卵時間に季節差はなかった。これらの成績から、水牛の発情及び排卵は牛に比べて変動が大きいという従来の報告とは異なり、水牛における発情と排卵との時間的関係及びその変動幅は、いずれも牛に近いことが示された。

II 発情発見指標としての外部発情徴候とその信頼性

発情発見に有効と思われる諸発情徴候について検索した。すなわち、発情時に特徴的に認められる外部生殖器の臨床所見と行動観察に基づいて、各徴候の出現と雄許容との関連性を調べた結果、以下の成績を得た。

1) 外部生殖器に認められる発情徴候は、基本的には牛で見られるものと似ていたが、牛に比べていずれの徴候も微弱であった。

2) 牛では発情検出に最も信頼性の高い雌同志の乗駕行動及び発情粘液の腔からの露出は、水牛では殆ど観察されなかった。

3) 腔内に貯留する頸管粘液の一般性状及び電気伝導度は、発情前後で明瞭な変化を示した。しかしその変異が大きいため、頸管粘液の検査だけでは正確に発情の開始及び終了時間を知ることは出来なかった。

4) 他の個体との接触、あるいは人による後軀への圧迫刺激によって誘起される“不動反応”(standing reaction)は、雄許容の発現時間と良く一致したが、必ずしもすべての発情時に明瞭に認められる訳ではなかった。

以上の成績から、水牛では、雄を用いた試情検査以外に信頼性の高い発情検出法がないことが示され、水牛では牛に比べて、正確で簡便な発情検出を必要とする人工授精の実施が難しいと考えられる。

Ⅲ 水牛の性周期における内分泌的变化

性周期の支配機構の一端を明らかにする目的で、発情発現及び排卵と血中の黄体形成ホルモン(LH)、プロジェステロン(P)及びエストラジオール(E_2)濃度の動態との関連を調べた。LHについては、これまで水牛のLH標品が得られていないため、抗ヒツジLH血清と標準ウシLHを用いた異種間二抗体法ラジオイムノアッセイ(RIA)の可否を検討し、精度の高いアッセイ系を確立した。同様にP及び E_2 についても特異的な抗血清を用いた高感度のRIA系を確立した。まず、性周期の進行に伴う血中LH、P及び E_2 の消長とその相互関係について調べ、次いで、卵胞期におけるホルモンの動態をさらに詳細に追跡し、発情及び排卵との経時的関係について次の結果が得られた。

1) 水牛の末梢血中のP濃度は牛や羊に比べて低かったが、性周期におけるP濃度の動態は定型的で、周期の大部分を占める黄体相と短い卵胞相からなり、性周期の長さは、Pが高濃度で維持される黄体相の存続期間によって決定された。栄養状態の悪い個体で見られた短い性周期ではP分泌の持続期間が短く、黄体の発育不全あるいは早期の黄体退行に起因するものであることが示唆された。これから、性周期が規則的に維持されるためには、機能的黄体が一定期間存続することが重要であると考えられた。

2) 黄体相の E_2 は比較的低レベルで推移し、この間不規則な増減を繰り返した。一方、LH濃度は、終始低レベルに留まり、P濃度との間に強い負の相関が認められた。このことから、PはLH分泌に対し抑制的に働いていることが示唆された。

3) 黄体相末期の急激なP濃度の減少によってLH分泌の抑制が解除されると、LHの基礎値は速やかに上昇するのに伴って E_2 濃度が徐々に増加した。発情はPの減少から約60時間後、 E_2 濃度が最高値に達した時点で開始した。発情開始後間もなく、LHの一過性・高濃度の放出(LHサージ)が起こった。この時に卵胞からの E_2 分泌は急速に消退し、サージの後約12時間で発情は終了し、排卵はさらに15時間経過した後に確認された。

以上、初めて水牛の性周期における血中ホルモンの動態が総括的に明らかにされ、羊及び牛と同様の定型的内分泌現象がみられた。

IV PGF₂αによる性周期の同期化

人為的に黄体を退行させた場合に、その後に誘起される発情及び排卵がどの程度斉一化できるかを調べた。正常性周期を示す水牛に対し、黄体相の前期あるいは後期にPGF₂α 15mgを筋肉内注射し、発情及び排卵の発現経過を調べ、同時に血中ホルモン濃度の動態について解析し、排卵時間の調整に有効であり、水牛でも発情観察を必要としない定時人工授精による繁殖が可能であることが示された。

審 査 の 要 旨

本研究で得られた成績から、温帯で十分な飼養・管理条件のもとでは、水牛の性周期は、従来報告されているほど不規則なものではないこと、明瞭な外部発情徴候を示さない点を除けばその生物学的及び内分泌学的特性は極めて牛に類似していることを初めて明らかにした。またPGF₂αによる性周期の同期化は、可能であると考えられた。

よって、著者は農学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。