

雌牛の繁殖成績の向上を期して



東京農工大学大学院共生科学技術研究院
動物生命科学部門（兼務／農学部・獣医学科）
獣医臨床繁殖学研究室
教授 加茂前 秀夫

ただいまご紹介いただきました加茂前です。「雌牛の繁殖成績の向上を期して」と題して一時間ほどお話をさせていただきます。

最近、牛の繁殖現場から発情が分かりにくくなった、短くなった、あるいは受胎率が低下しているというような声が聞こえてまいります。そのような事象の実態について、科学的な調査が必要であり、事実であればその原因および対策についての研究が必要となります。しかし、当面の現実的な対応策としては、従来の基本的な知識と技術を基に、発情や発情徴候を的確に発見して、適期に授精し、受胎率、受胎成績の向上を計ることが大事であると考えます。そこで本講演では雌牛の繁殖に関する基本的な知識および私が経験した事象を紹介させていただきます。

私は古いものが好きなのですが、江戸時代に作られた寄木細工や螺鈿細工などを見ますと現代の感覚に決して劣らない、現代では作れないような素晴らしいものもあります。同じように、家畜繁殖の分野にも、古いながらも色あせず光るものがあります。そのような古いながらも光っているデータを含めて紹介させていただきます。

I. 発情とは

まず、発情の定義を確認しておくことが非常に大事だと思いますので、確認させていただきます。発情は雄の交尾を許容する状態をいいます（図1）。同じ状態として、

他の牛の乗駕を許容する状態のスタンディング発情があります。スタンディング発情も乗っているのが雄だとすれば、乗られている牛は雄の交尾を許容している状態と同じとみなせることから発情とします。発情は、雄の交尾を許容する状態とスタンディング発情の2つです。

混同していただきたいくないのは、発情徴候と発情です。発情徴候は発情に伴って、徴候としてみられる所見です。それらはあくまでも発情徴候であって、発情ではありません。

それでは、発情とか発情徴候をもたらしているものは何かというと、エストロジェンです。このエストロジェンは、黄体が退化しますと黄体からプロゲステロンが分泌されなくなり、プロゲステロンが分泌されなくなると黄体と共存していた卵胞が成熟してエストロジェンを旺盛に分泌する

**発情 = ・雄の交尾を許容する状態
・スタンディング発情
(乗駕を許容する状態)**

≠ 発情徴候

●黄体が退化してプロゲステロンが分泌されなくなり、卵胞が成熟してエストロジェンを旺盛することにより起こる

●発情期 = 発情状態を継続している時間(期間)
牛の発情持続時間; 10~27時間 (平均14~18時間)

図1 発情の定義と発情期

ことよりもたらされます。このエストロジェンが発情や発情徴候を起こします。

発情期というのは、発情（雄の交尾を許容している状態）を継続している期間（時間）をいいます。従来から言われている牛の発情持続時間は10時間から27時間の範囲で、未経産の牛では平均14時間、経産牛では平均18時間とされています。最近では、乗駕された場合の圧を感知するセンサーを背仙部につけて、テレメトリーで調べると、10時間に満たないとする情報もあります。

図2はスタンディング発情の様子を示します。私どもは発情同期化試験においてスタンディング発情を1日4回6時間間隔

で観察しながら、発情の発現状況に基づいて人工授精を行い、受胎成績を調べてきました。乗られて足を踏ん張って静止して許容している状態をスタンディング発情と判定します。乗られて逃げたりするとスタンディング発情ではないことになります。

表1はプロスタグランジン $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) を投与して発情を同期化した牛における発情の持続時間を、20～30年前のものですけれど、まとめたものです。平均すると19時間～13時間です。よく見てみますと、4～5時間しか発情を継続しないものもあり、長いものは24～26時間持続する状況であり、かなりばらつきがあったことがわかります。



図2 スタンディング発情(乗駕されて静止している状態)

表1 $PGF_{2\alpha}$ を投与して発情を同期化した牛*1における発情持続時間*2

試験地	品種／状態	頭数	平均発情持続時間(範囲)hr	発表者(年)
O	肉牛／経産	12	13.0 (4~26)	金田ら(1975)
Y	乳牛／育成	32	13.1 (4~24)	金田ら(1976)
O	乳・肉牛／経産・育成	10	9.4 (5~14)	金田ら(1977)
Y	乳牛／育成	15	11.3 ± 6.0	金田ら(1978)

*1 $PGF_{2\alpha}$ 3～6 mg子宮内注入あるいは10～20 mg筋肉内注射し、処置後37～96時間に発情が発現した例

*2 発情観察を4～6時間間隔で行ない、乗駕許容を示してから示さなくなるまでの時間(hr)

II. 発情徴候とは

発情徴候は、血液中のエストロジェン濃度の増加によって起こる外部から観察される変化や内部生殖器に見られる変化をいいます(図3)。外部から観察される変化を外部発情徴候、内部生殖器に見られる変化を内部発情徴候といいます。それらの発情徴候は、先にもお話ししたように、黄体が退行し、卵胞が成熟してエストロジェンを旺盛に分泌し始める時期から発現してくるので、通常、発情開始前1~2日から見られます。発情徴候は、発情開始時から発情期の初期にかけて顕著になり、その後次第に減退し、発情期の後期から発情終了時には概ね弱くなってきます。舎飼いでスタンディング発情を確認できない牛について

血液中のエストロジェン濃度の増加によって起こる、外部から観察される変化や内部生殖器に見られる変化

1. 外部発情徴候
2. 内部発情徴候

◆発情徴候は発情開始前1~2日から発現し、発情開始時~発情期の初期に顕著となり、発情期の後期から減弱する

◆エストロジェン濃度が生理的に増加する時期(排卵後3~5日)、エストロジェン濃度の増加を伴う卵巢疾患時(卵巢囊腫等)に発現する

図3 発情徴候

は、このことをよく認識しておくことが、適期授精を行う上で参考になります。

エストロジェン濃度が生理的に増加する時期は、実は発情期以外にもあります。図4に示すように、排卵後3~5日の時期に、黄体と同期して発育する卵胞が、発情期ほどではありませんが、かなりエストロジェンを分泌します。その時期に外陰部が充血したり、粘液が出たりする発情徴候がみられることがあります。その時期は発情から起算すると、5~7日前後のところにあたります。また、病的な卵巢囊腫などの場合にはエストロジェン濃度が常に高い状態になりますから、そのようなときにも発情徴候は発現します。

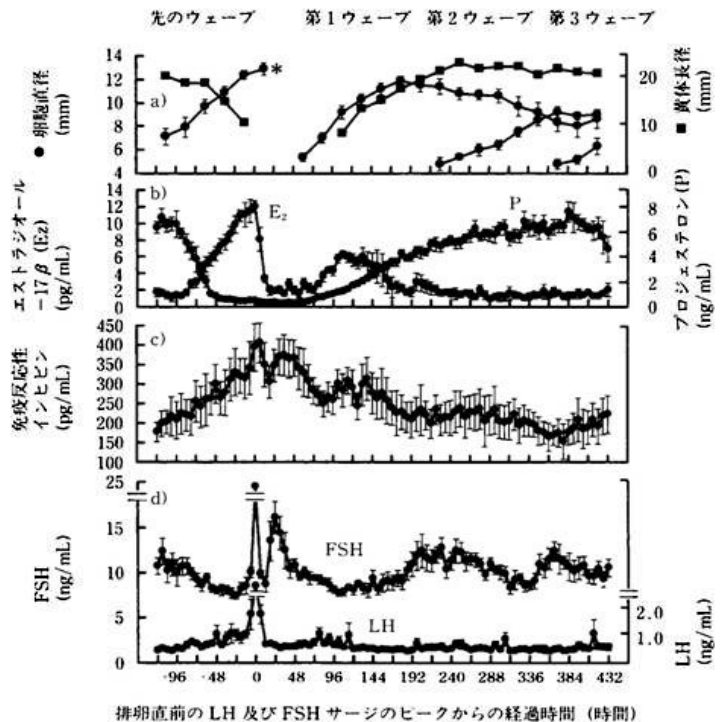


図4

牛の発情周期における主席卵胞及び黄体の発育と退行(a), 血液中的エストロジオール-17βとプロジェステロン(b), 免疫反応性インヒビン(c)及びFSHとLH濃度(d)の推移 (n=7) *印は排卵確認時、数値は平均±SEを示す。排卵直前のLH及びFSHサージのピークを0としてデータをまとめた。

(Kaneko H.ほか, 1995 一部改変)

1. 外部発情徴候

外部発情徴候は外部生殖器や挙動の変化であり、外陰部の充血（赤くなる）、腫脹（腫れて大きくなる）、透明な水様あるいは幾分粘調な粘液が流出する、咆哮（よく鳴く）、他の牛への乗駕、雄牛を求めて活発に行動する、乳量が減少する、食欲が減退するなどが見られます（図5）。

2. 内部発情徴候

内部発情徴候は腔検査や直腸検査で認められる副生殖器の変化であり、子宮腔部の充血と腫脹および皺壁の弛緩（ゆるむ）、外子宮口の開大、外子宮口からの透明水様

1、外部発情徴候：外部生殖器や挙動等の変化

- ・外陰部の充血（赤くなる）・腫脹（腫れて大きくなる）
- ・透明な水様～幾分粘調な粘液の流出
- ・咆哮（よく鳴く）
- ・他の牛への乗駕
- ・雄牛を求めて活発に行動
- ・乳量減少、食欲減退等

2、内部発情徴候：腔検査や直腸検査で認められる副生殖器の変化

- ・子宮腔部の充血・腫脹
- ・子宮腔部の皺壁の弛緩（緩く大きくなる）
- ・外子宮口の開大
- ・外子宮口からの透明水様粘液の流出
- ・子宮の腫脹（子宮角の直径増大）
- ・子宮収縮の亢進（増える）

図5 外部発情徴候と内部発情徴候

粘液の流出、子宮の腫脹（子宮角の直径が増大する）、子宮収縮が亢進（増大）する、などが見られます。

Ⅲ. 発情周期

発情とか発情徴候は発情周期の中で認められます。では発情周期は何かといいますと、妊娠していない成熟雌動物において営まれる生殖活動の周期的営みです。妊娠していない成熟雌動物で見られる生殖活動の周期的営みは、発情を基準として発情周期、排卵を基準として排卵周期といいます。さらに卵巣における卵胞発育、排卵、黄体形成、黄体退行の変化を基準にして卵巣周期といいます。発情周期は、牛の場合は、正常なものでは、平均21日、正常範囲は18～24日あるいは17～25日といわれています。すなわち、幅があることを認識して、発情を予測する場合には、17～25日と幅を持たせて予測をしていただく必要があります。

図6は1951年のデータなのですが、人工授精の実施間隔から見た発情周期の長さを示しています。実施間隔では21日前後と42日前後さらに63日あたりにピークがみら

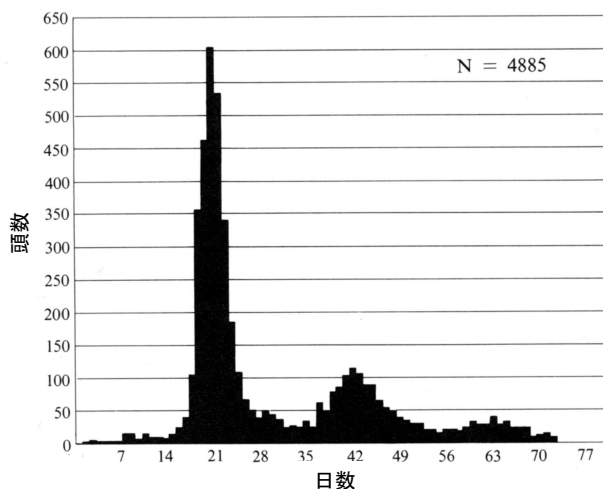


図6 経産牛における人工授精実施間隔からみた発情周期の長さの分布図
〔From Moeller and VanDemark, 1951〕

(Salisbury, et al., 1978)

れます。人工授精実施間隔からみると、この21日前後に発情が発現するのは、全体の61%程度であるといわれています。

図7は発情周期中に、卵巢周期として見られる卵巢の変化を示します。すなわち、発情が発現して排卵が起こった後に黄体ができます。その後黄体が退行して、次にまた発育・成熟した卵胞が排卵する、このような現象が17～25日の間に起こっています。卵巢周期において、黄体が存在している間にも、卵胞波（卵胞ウェーブ）が見られ、2回の卵胞ウェーブのものと3回の卵胞ウェーブのものとが見られます。それらの卵胞ウェーブのなかで、黄体が退行するときに発育している卵胞が、成熟して排卵します。従って、20日前後の短い周期の場合には卵胞ウェーブは2つ、黄体の退行が遅れて、発情周期が23日前後と長くなる場合には卵胞ウェーブは3つになるようです。

卵巢周期におけるこのような変化を直腸

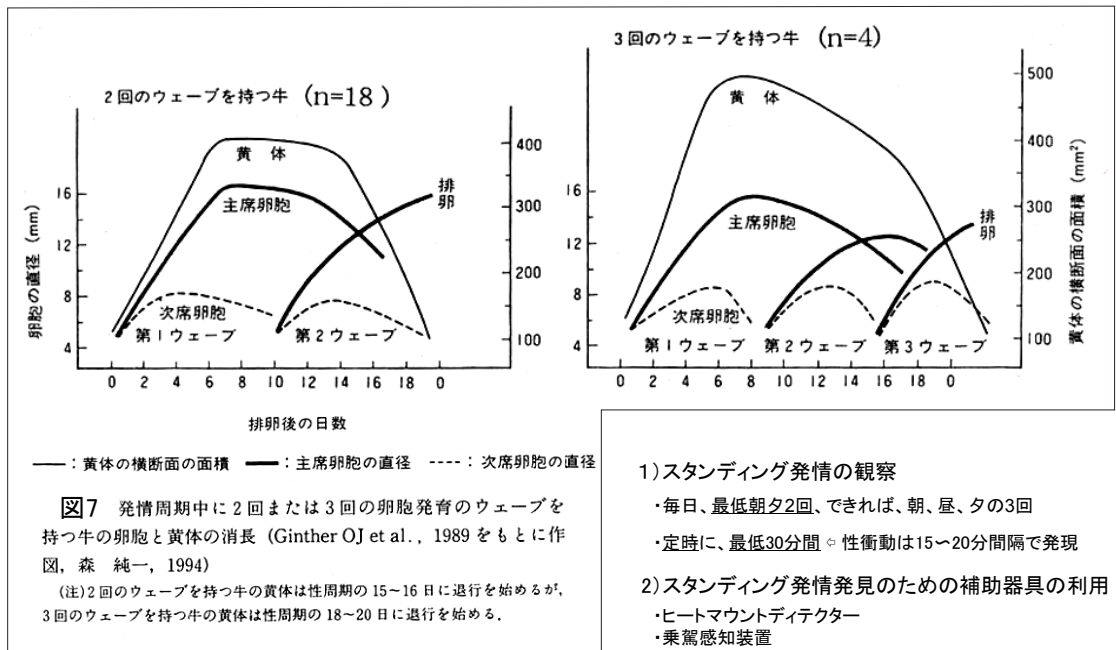
検査や超音波で画像検査を正確に把握できるようになると、その牛の卵巢周期のステージあるいは発情周期のステージを見極めるうえで非常に参考になり、「今このあたりのステージかな」ということが大体わかります。

IV. 発情および発情徴候の観察

繁殖成績を向上・維持する上で一番大事なことは、発情および発情徴候を適切に観察して、発見することです。そうすれば発情を見逃さないで適期授精ができることにつながります。

1. 放し飼い式牛舎およびパドックでの発情観察

発情および発情徴候の観察についてですが、放し飼い牛舎およびパドックでの発情観察ということになりますと、まず一番大事なのはスタンディング発情の観察です（図8）。これについては、従来から、毎



1) スタンディング発情の観察

- ・毎日、最低朝夕2回、できれば、朝、昼、夕の3回
- ・定時に、最低30分間○性衝動は15～20分間隔で発現

2) スタンディング発情発見のための補助器具の利用

- ・ヒートマウントディテクター
- ・乗駕感知装置
- ・テイルペイント(テイルチョーク)
- ・歩数測定装置
- ・チンボール
- ・その他

図8 放し飼い式牛舎およびパドックでの発情観察

日、最低朝夕2回、定時に観察することが大事であると言われていました。可能であれば朝夕の3回が良く、作業をしながらの観察は良くないと言われていました。また、発情観察時間は最低30分必要と言われていました。その理由はリピドー（性衝動）があって、その性衝動に従ってマウンティング（乗駕）等の性行動が起るのですが、乗駕するものがないとスタンディング発情は確認できないこととなります。その性衝動は、15～20分間隔で発現すると言われており、最低30分は観察しないと、その性行動によって乗駕行動が起った時に、発情がチェックできないこととなります。また、牛が寝そべっている状態で30分観察しても意味がないので、牛群全体を揺り動かして動的な状態にしてから、30分間観察することが必要です。このようにスタンディング発情を観察していただき、スタンディング発情の発現が確認できれば、その後12時間前後に授精すれば良いこととなります。

スタンディング発情観察の補助器具としては、ヒートマウントディテクター、テイルペイント（テイルチョーク）の他、乗駕感知センサーを装備したテレメトリーシステムがアメリカでは開発されています。歩数測定装置やチンボール法は発情徴候の観察の1つであると思います。これらの補助器具を有効に活用することも大切だと思います。

話が少し前後しますが、**図4**は牛の発情周期における主席卵胞（卵胞ウエーブにおいて最大の卵胞として発育した卵胞）および黄体の発育と退行を示します。横軸は発情のときに見られる黄体形成ホルモン（LH）のサージを0としてその後の時間経過を示します。最上段の図は卵巣における黄体と卵胞の変化です。四角が黄体で、黒丸が卵胞を示します。上から2段目の図はプロゲステロンとエストロゲン濃度の推移を示します。インヒビンやLHおよび卵胞刺激ホルモン（FSH）についてはここでは

触れないで進めます。まず発情周期において、黄体が退行しますと、プロゲステロン濃度が減少し、プロゲステロン濃度が減少するとLHの脈動性分泌（パルス）が増えます。そうすると、卵胞がLHの刺激を受けて成熟し、エストロジェンを盛んに分泌します。その結果、発情徴候ならびに発情が発現してきます。さらに、黄体が退行してプロゲステロン濃度が低くなった状態でエストロゲン濃度が増加しますと、増加したエストロジェンは発情を起こすと同時に、LHの一過性の大量放出（サージ）を起こします。このLHサージが成熟している卵胞に働き、エストロジェンの分泌を中止させると同時に、排卵しなさいという指示を与えます。すなわち、LHサージが起こると、血中エストロゲン濃度が急激に減少し、卵胞は排卵に向かいます。排卵した卵胞は黄体となって発育し、排卵後1週間前後に黄体はほぼ発育を完了し、通常、ホルスタイン種では25mm前後、黒毛和種では20mm前後の大きさになります。さらに、黄体の発育の時期に一致して、第1卵胞ウエーブの主席卵胞が1個発育してきます。この第1卵胞ウエーブの主席卵胞は、黄体が発育する時期には、LHのパルス状分泌は頻繁に起っているのですが、このLHパルスを受けてエストロジェンを産生し、排卵後3～5日にエストロゲン濃度が増加します。従って、排卵後3～5日すなわち、発情後5～7日の時期に発情徴候が発現することとなります。それ以外の時期には、通常、発情徴候は発現しません。

図9は、牛の発情前後から排卵までの間における発情、排卵および性ホルモンの動きを示します。スタンディング発情を3時間間隔で調べ、スタンディング発情を初めて示した時点を発情の開始、スタンディング発情を示さなくなった時点を終了としました。この成績は5例を平均したのですが、発情の持続時間は平均14時間でした。

排卵もやはり3時間間隔で調べたところ、発情開始から排卵までの時間は平均31時間でした。図示した発情および排卵の内分泌背景をお話しますと、プロゲステロン濃度は1 ng/ml以下の低い値で推移します。エストラジオール-17βは、エストロゲンの中で一番生物活性の高いエストロゲンですが、その濃度が発情の開始に向かって急激に増加し、発情開始時にピークに達します。このエストロゲンが、プロゲステロン濃度が1 ng/ml以下の低値となった状態において、発情開始とLHサージをほぼ同時に起こさせます。そうするとこのLHサージが卵胞に働き、エストロジェンの産生を中止させ、卵胞を排卵に向かわせます。その結果、エストロゲン濃度が急激に減少していき、発情終了の時期には低値となり、その後は低値のまま排卵まで推移します。エストロジェンのこのような推移を見ると、血中エストロゲン濃度と発情徴候にはいくらかタイムラグがあり、発情徴候の変化のほうがエストロゲン濃度の変化よりも少し遅れますが、発情徴候は

発情開始に向かってだんだん強くなり、発情開始時に最も強く、発情終了前後にはエストロゲンが減少していますので、発情終了や排卵時には減衰している状態です。

発情開始とLHサージと排卵の関係は、発情開始とLHサージの開始はほぼ同時に起こり、LHサージは発情開始後6時間前後にピークとなり、排卵はLHがピークになってから25時間前後に起こります。すなわち、発情が開始されると、基本的に同時にLHサージも開始されます。さらに、LHサージにより排卵が起こりますから、排卵は発情開始後30時間前後に起こることになります。発情開始、LHサージ、排卵の関係はこのようプログラムされた状態になっていると理解していただきたいと思います。

発情を確認する補助手段の1つとして、マーカーがあります。何回も乗駕を許容するとマーカーが赤くなって、溶液収納部分が押しつぶされて扁平に変形し、マーカーの布の部分が汚れて黒くなります(図10)。発情でないのにたまたま乗られると、マーカーは赤くなりますが、布は真っ白という

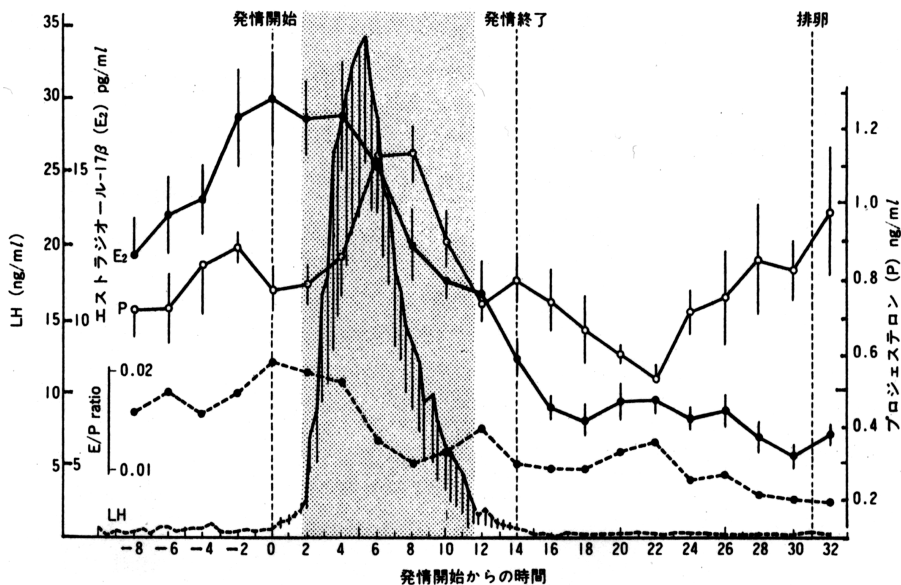


図9 牛の周排卵期における末梢血中エストロゲン(E)、プロゲステロン(P)、LHおよびE/P比の推移 (百目鬼 郁男ら, 1984)

ような状態となります。溶液収納部分が扁平に変形し、布が黒くなっていれば、何回も乗られた証拠と見ることができます。また、仙骨部分および尾根部の付け根ところが脱毛する場合があります(図10)。このような脱毛が起こっていれば、マーカーがなくても発情を察知できます。鋭く詳細に観察していただければ、いろいろな徴候が見てとれると思います。

1. 繋ぎ飼い方式牛舎での発情徴候の観察

繋ぎ飼いでもスタンディング発情やその他の発情行動が全く観察できないときの対応としては、やはり、外部発情徴候と内部発情徴候の観察が一番大事であり、それに基づいて授精適期を判定することになります。外部発情徴候は、つなぎ飼いの場合も最低朝夕2回、定時に、例えば朝夕の搾乳前とか搾乳後に観察することが大事です(図11)。また、私の経験ですけれども、外部発情徴候が発現している場合に、背後に回って腰とか臀部を圧迫してやりますと、尻尾を上げて、雄許容に似た姿勢を示す場合があります、参考になります。

外部発情徴候が見られたものについては、内部発情徴候の検査と観察を必ず行っていただきたい。その理由は、内部発情徴候は

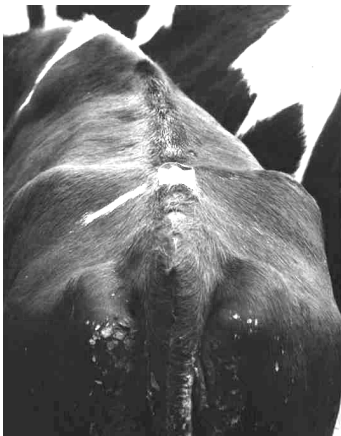


図10 マーカーの赤変、扁平化および布部の汚れならびに背仙部の脱毛

外部発情徴候が軽微な場合あるいは不明瞭な場合でも、膣検査によって明瞭に見られる場合があります、また直腸検査によって子宮の収縮や腫脹も分かります。

私どもは、種付けする場合には常に膣検査を行って、子宮腔部と外子宮口を調べます。図12は発情期の子宮腔部と外子宮口の写真です。子宮腔部が充血して幾分腫脹しています(図13)。外子宮口は幾分開いています。また、分かりにくのですが、気泡を作った粘液が見られます。さらに大事なことは、子宮頸管粘液が透明で、膿様物がないことが重要であり、膿様物や膿を含む粘液が出てくるようですと子宮内膜炎が疑われます。子宮内膜炎の場合には治療が必要です。子宮収縮については、発情終了前後の授精適期に全く収縮がなくなる時期があります。これは子宮が悪いからではなく、エストロゲン濃度の減少等のホルモン環境の変化による可能性が大きいと思われ、授精を中止するような状態ではなく、むしろ授精適期の可能性があります。内部発情徴候には含まれない卵巣所見についてですが、通常、長径12~14mmの小さく、硬く、表面が粗造な退行黄体が認められます。成熟卵胞は、通常、ホルスタイン種では直径18mm前後、黒毛和種では直径15~18mm前後の大きさで、発情開始時前後には球形を呈し、表面が平滑で、非常に緊張感があり、

1) 外部発情徴候の観察

- ・毎日、最低朝夕2回、定時(朝と夕の搾乳前)に観察
- ・背後から腰〜臀部を圧すると雄許容の姿勢を取る場合有り

↓(外部発情徴候がみられたものに実施)

2) 内部発情徴候の観察

- ・外部発情徴候が軽微あるいは不明瞭な場合でも、膣検査により明瞭な内部発情徴候がみられる場合あり

図11 つなぎ飼い方式牛舎での発情徴候の観察

鉄とかガラス球のような硬いものを触っている触感があります。発情終了前後になると、多くの場合、柔軟になります。排卵直前には、さらに柔軟になって波動感を呈するようになり、輪郭が不明瞭になって存在が確認し辛くなり、卵胞がないと思うような状態になる場合もあります。しかし、中には発情終了後にも柔らかくならないで、卵円形あるいはおむすび状に歪になった状態で、緊張感を保持したまま排卵する場合もあります。このように排卵のパターンは、柔らかくなって排卵するワンパターンではなくて、いろいろなパターンがあるようです。また、排卵が近づくと、卵巣が周囲の

組織に抱きこまれ、触診のために引き出すのに苦勞する状態になります。この状態は卵子を卵管の中へ取り込むためのものかもしれません。この所見も排卵期の特徴のように思われます。

V. 発情徴候の発現から発情開始までの時間

繋ぎ飼いされている場合には、スタンディング発情が確認できません。そこで、外部発情徴候が発現してから発情開始までの時間経過について、黄体開花期にPGF_{2α} 20mg 前後を筋肉内注射した未経産牛について調べてみました。そうしますと、表2に



図12 発情期の子宮腔部ならびに外子宮口(腔底に気泡を含む粘液が見られる)

(1) 腔検査

- ・子宮腔部; 充血、腫脹、皺壁の弛緩
- ・外子宮口; 開大と透明粘液の流出
 - (・流出粘液は気泡を作ることあり)
 - (・粘液中に膿様物 ⇨ 子宮内膜炎が疑われる)

(2) 直腸検査

- ・子宮; 腫脹、収縮亢進(発情期終了前後に弛緩する場合あり)
- ・卵巣;
 - 退行黄体
 - ・通常、長径12～14 mmと小さく、硬く、表面粗造
 - 成熟卵胞(通常、直径15～18 mm、
 - ・発情開始時; 球状、表面平滑、緊張感あり
 - ・多くは、発情期終了後に柔軟 ⇨ 排卵直前に輪郭不明瞭
 - ・発情期終了後に卵円形で扁平 ⇨ 緊張感のまま排卵
 - 排卵が近づくと、周囲組織に包み込まれる

図13 内部発情徴候の観察と発情～排卵期の卵巣所見

示しますように、6～<12時間が3頭（35%）、12～<18時間以内が10頭（50%）、18～<24時間が7頭（15%）でした。この場合、外部発情徴候として、外陰部の充血と腫脹および粘液の流出を、少し大まかですが、12～24時間で観察しました。このような観察によりますと、外部発情徴候が発現してから12時間後あたりにスタンディング発情が発現します。従って、繋ぎ飼いされている牛では、外部発情徴候が発現した時点から12時間後あたりにスタンディング発情が開始し、その後30時間前後に排卵が起ると推測されます。このように概算しますと、外部発情徴候が発現してから排卵までは42時間前後と予測できます。

VI. 発情開始から排卵までの時間

発情開始と共に LH サージが起り、その LH サージが排卵を起こします。このこ

とから、牛では発情開始から排卵までは31時間前後であることを既にお話しました。表3は発情、排卵と LH サージの関係を調べた成績です。牛 Nos. G-2、121、132、133、135の5例で見ますと、スタンディング発情の開始から終了までの時間は12～17時間、平均14時間であり、発情開始から終了までの時間は、30～33時間、平均31時間と非常に良く揃っています。それに比べて発情終了から排卵までは15～19時間とかなりバラツキがみられます。また、良く揃っているのが、発情開始から LH ピーク（頂値）までの5.5～7時間、平均6.1時間と LH ピークから排卵までの24～26.5時間、平均25.1時間です。これらのことから、発情開始と共に LH サージが開始し、LH サージにより排卵が起ることが認識できます。なお、上述の5例とは様相を異にする1例（牛 No. 134）がみられました。当該例は、発情

表2 黄体開花期にPGF_{2α}^{a)}を筋肉内注射した未経産牛における外部発情徴候^{b)}発現からスタンディング発情開始^{c)}までの時間

経過時間 (時間)	6～<12	12～<18	18～<24	全体
頭数(%)	7 (35.0)	10 (50.0)	3 (15.0)	20
平均±SD	8.1±0.4	14.8±2.0	21.3±1.5	13.5±4.8

a) ジノプロスト 20mg、b) 外陰の充血、腫脹および粘液の流出を12～24時間間隔で観察、

c) 同居雌牛の乗駕許容を6時間間隔で観察

(加茂前、2003)

表3 発情、排卵の時間経過と血中LHの動態

牛No.	発情開始 から終了	発情開始 から排卵	発情終了 から排卵	発情開始 からLH頂値	LH頂値か ら排卵	LH放出* の時間幅	LH頂値
	時間	時間	時間	時間	時間	時間	ng/ml
G-2	17.0	33.0	16.0	7.0	26.0	10.0	4.05
121	12.0	31.0	19.0	6.5	24.5	8.0	28.5
132	12.0	30.0	18.0	6.0	24.0	8.0	12.3
133	12.0	30.0	18.0	5.5	24.5	8.5	38.5
135	17.0	32.0	15.0	5.5	26.5	8.0	81.5
平均 ± 標準偏差	14.0 ± 2.4	31.2 ± 1.2	17.2 ± 1.5	6.1 ± 0.6	25.1 ± 1.0	8.5 ± 0.8	4.03 ± 22.9
134	22.0	37.0	15.0	13.0	24.0	8.0	9.7
平均 ± 標準偏差	15.3 ± 3.7	32.2 ± 2.4	16.8 ± 1.6	7.2 ± 2.6	24.9 ± 1.0	8.4 ± 0.7	35.2 ± 23.8

*LHが≥2ng/mLの濃度水準を保持した時間

(百目鬼ら、1981)

開始から排卵までが37時間と幾分長く、発情開始から LH ピークまでの時間が13時間と長く、LH サージの開始が通常よりも遅いことが認められ、排卵遅延と考えられます。

VII. 授精適期

授精適期は、受精能力を有する新鮮な精子と新鮮な卵子が受精部位である、卵管膨大部で会合し、受精が成立する、そのような時期と言えます(図14)。この授精適期に関連する事象としては、次の4～5項目が挙げられます。①排卵時間です。牛では発情開始後30時間前後です。②受精が成立するのに必要な数の精子が受精部位である

卵管膨大部に到達するのに要する時間です。これに要する時間は2時間程度と言われていましたが、最近では、7～10時間とも言われています。③精子が雌の生殖器内で受精能力を獲得するのに要する時間です。射出された精子はそのままでは受精能力を持っておらず、雌の生殖器の中に3～4時間存在することにより、受精能力を備えるようになります。④精子が雌の生殖器の中で受精能力を保有している時間です。牛では大体24時間と考えられています。⑤排卵された卵子が受精する能力を保有している時間で、牛では12時間といわれています(授精適期とは直接関係しません)。これら①、②、

受精能力を有する新鮮な精子と新鮮な卵子が受精部位である卵管膨大部で会合するような授精時期

※適期授精に関する牛の事象

- ① 排卵時間：発情開始後30時間前後
- ② 受精成立に必要な数の精子が受精部位に到達するのに要する時間：約2時間？ ◊ [最近では約7-10時間]
- ③ 精子が受精能力を獲得するのに要する時間：3～4時間？
- ④ 精子の雌性生殖器内での受精能力保有時間：約24時間
- (⑤ 排卵された卵子の受精能力保有時間：約12時間)

計算上、授精適期は発情開始後26[最近では20]時間前後となる？

図14 授精適期と関連事象

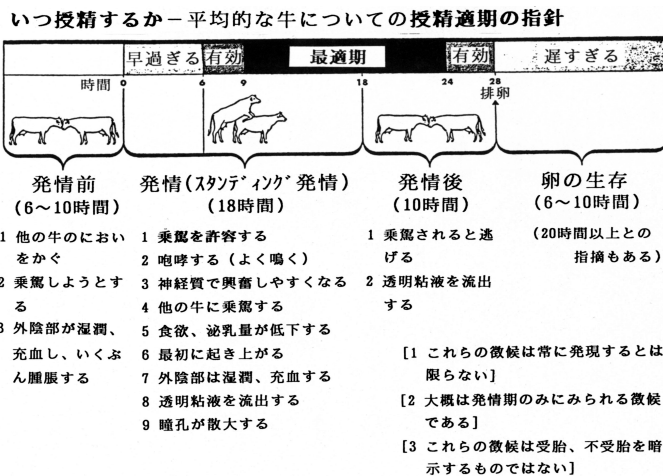


図15 多くの畜産酪農家が有効であることを実証した広く受け入れられている授精適期の指針 (Perry E.J.,1960; in McDonald L.E.,1988)

③、④を考慮しますと、計算上の授精適期は、発情開始後26時間（②を7～10時間とすると、発情開始後20～23時間）になります。

1. スタンディング発情を確認した牛

図15は、アメリカで畜産農家の実証し、広く受け入れられている授精適期の指針です。スタンディング発情の持続時間は18時間であり、授精最適期はスタンディング発情開始後9～24時間、適期は同6～28時間とされています。

図16は、発情後の授精時間と受胎率の関係を調べた成績です。データの中身は1940年代後半のTrimbergerらの成績を集計したものです。発情の持続時間は18時間であり、発情開始後6～24時間に授精を行なつ

た場合に60%以上の受胎率が得られることが示されています。現在、一般的に推奨されている授精適期はこの成績に基づいています。

図17は、現在の畜産草地研究所の前身である農林省畜産試験場で行なわれ、畜産試験場報告第56号（1950）に報告されている成績です。スタンディング発情の持続時間は21時間であり、受胎率が最も良いのは発情終了前後に授精した場合で、15頭中14頭（93%）が受胎したことが示されています。なお、この場合の交配は自然交配と人工授精の両方が行なわれ、人工授精には液状精液が用いられた時代です。

まとめてみますと、Trimbergerらの成

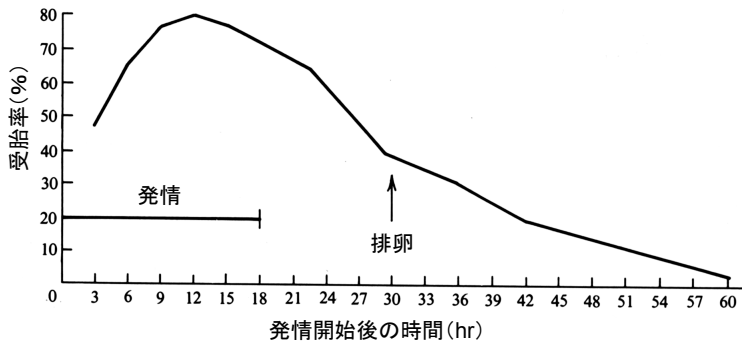


図16 受胎率に対する発情後の授精時間の影響 [TrimbergerとDavis(1943)およびTrimberger(1948)の成績を纏めて]

(Salisbury, et al., 1978)

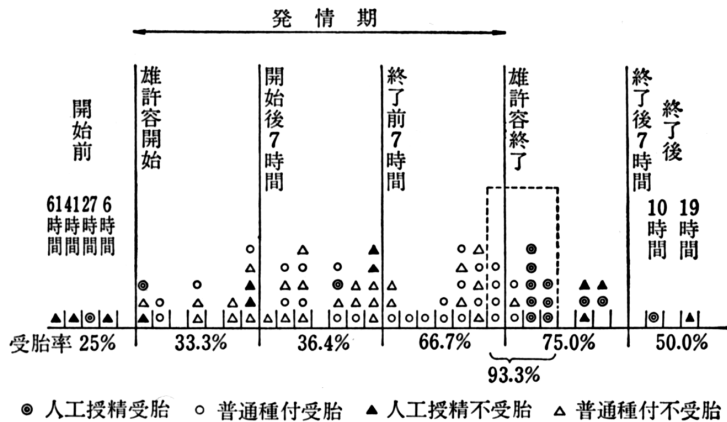


図17 乳牛の交配時期と受胎との関係 (榎田, 1950)

績はスタンディング発情開始後6～24時間に授精すると受胎率が60%以上と良好であることを示しました。それらの成績を基にして、Trimbergerは、表4に示しました、実情指針を呈示しました。それが現在一般的に推奨されている人工授精の指針になっています。

表4 人工授精実施の実用的指針

発情発見	人工授精時期
午前 9時以前	当日の午後
午前 9～12	当日の夕方～翌日の早朝
午後	翌日の午前中

(Trimberger,1951)

図18は、乗駕されたことを感知するセンサーを使って発情の発現状況を調べ、スタンディング発情開始後の経過時間別に人工授精を実施し、受胎率を調べたNebelらの2000年に報告された成績です。同様の成績が、同グループからもう1報報告されています。人工授精を発情開始後4～12時間に行なった場合の受胎率が50%前後と高いことが示されています。この成績は、従来考えていた時期よりも少し早い時期に人工授精を行うことにより高い受胎率が得られることを示しています。この点については、今後さらに検討、確認する必要があると考えます。

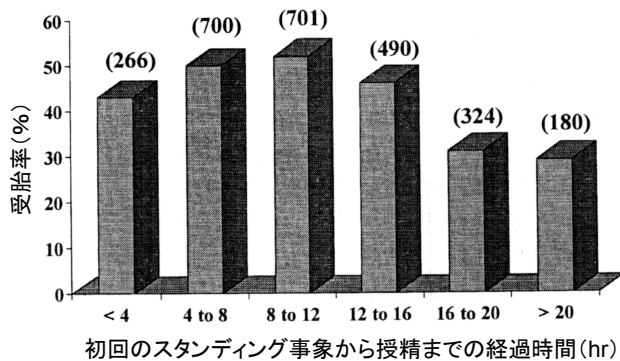


図18 乗駕感知器(HeatWach®)で検出した初回のスタンディング事象を基準にし、実施した人工授精を4時間間隔で区分した場合の17牛群の2661頭における受胎成績 ()内は4時間間隔で行なった (Nebel R.L., et al.,2000)

外部発情徴候
内部発情徴候:子宮腔部・外子宮口・子宮状態 } 総合的に判断
直腸検査による黄体と卵胞の所見

参考事項

- 発情開始後9～24時間の授精適期の頃には血中エストロゲン濃度は減少し、外部および内部発情徴候が減弱している状態
- 外部発情徴候発現からスタンディング発情開始まで12時間前後
↓
- 外部発情徴候発現後42時間前後で排卵が起こる
↓↓
- 授精時期の目安は、発情徴候発現後24～36時間の発情徴候が減弱している時期

図19 スタンディング発情を確認できない牛の授精適期判定

基本的に雄を許容して交配するという事は、その時期は生物学的に妊娠が成立する状態になっていると考えられます。そうすると、授精時間（時期）を厳密に特定する必要はなく、雄を許容している時期に交配すれば良い、とかなり幅を持たせる考え方もあると思います。人工授精の場合には、精子数が自然交配の場合に比べて著しく少ないことを含め、今後の検討課題かもしれません。

2. スタンディング発情を確認できない牛

スタンディング発情を確認できない牛についての適期授精ですが、これが一番難しいと思います。これについて、私が考え、実践している対応法は、外部発情徴候、内部発情徴候、直腸検査による黄体と卵胞所見、これら3者を総合して授精適期と思われる時期を判定し、授精を行なう方法です(図19)。何か指標になる所見がありますか？と尋ねられても、具体的に答えられるものは今のところありません。ただ、以下の点が参考になると思います。すなわち、図9

に示しましたように、スタンディング発情を示した牛において発情開始後9～24時間の授精適期のころには、血中エストロゲン濃度は減少して、外部および内部発情徴候は既に減衰している、あるいは、した状態です。さらに、先にもお話ししましたように、卵巣所見として、通常、退行して長径12～14 mmになった硬くて表面の粗造な黄体と直径18 mm前後の柔軟で球状あるいは緊張感を呈しておむすび状の歪な形状となった卵胞が存在し、卵巣が周囲の組織に抱き込まれている状態が挙げられます。さらに、表2に示しましたように、外部発情徴候が発現してからスタンディング発情が開始するまでには12時間程度間があり、外部発情徴候が発現してから42時間前後に排卵が起こります。以上の所見を総合して授精適期を判断するのが最良と思われます。授精時期の目安としては、外部発情徴候発現後24～36時間の発情徴候が減衰している時期あたりと考えております。

表5 人工授精*1後6～24時間々隔で排卵確認を行なった牛の受胎成績

試験地	牛	頭数	PGF _{2α} 処置*2	発情同期化*1頭数(%)	受胎成績*3(%)	発表者(年)
O	肉牛/経産	15	6 mg・IU	12 (80.0)	9/12 (75.0)	金田ら(1975)
Y	乳牛/育成	32	3-4 mg・IU	27 (84.3)	21/27 (77.8)	金田ら(1976)
O	乳・肉牛/経産・育成	14	10 mg・IM	10 (71.4)	6/10 (60.0)	金田ら(1977)
Y	乳牛/育成	19	20 mg・IM	15 (79.0)	11/14 (78.6)	金田ら(1978) ^a
Y	乳牛/育成	15	15 mg・IM	13 (86.7)	7/13 (53.8)	金田ら(1978) ^b
Y・T・O	乳牛/育成	50	15 mg・IM	40 (80.0)	30/40 (75.0)	金田ら(1981)
T	乳牛/育成	・	15 mg・IM	30 (80.4)	20/30 (66.7)	金田ら(1982) [†]
T	乳牛/育成	・	15 mg・IM	33 (72.7)	18/33 (54.5)	加茂前ら(1986) [†]
T	乳牛/育成	・	15 mg・IM	18 (79.2)	11/18 (61.0)	加茂前ら(1991) [†]
T	乳牛/育成	・	15 mg・IM	13 (74.0)	10/13 (76.9)	加茂前ら(1997) [†]
計 10	・	・	・	211 (・)	143/210 (68.1)	・

*1PGF投与後4～9時間間隔で発情を観察し、処置後37～96時間に発情が発現した例

*2IU;子宮内注入、IM;筋肉内注射 *3授精後40～70日に直腸検査により診断 †学会発表

VIII. 排卵確認

私がここで話したいことは、排卵確認の必要性です。なぜかと言いますと、スタンディング発情が確認できない場合には、発情開始の時期を推定して、適期と思われる時期に授精することになります。授精した精子は牛では受精能力を少なくとも24時間は持っていることを考えますと、高い受胎率を得るためには授精時期が適期であったことを確認することがどうしても必要であると考えています。そのような理由から、私はスタンディング発情が確認できない場合には、排卵確認が必要と考えます。また、スタンディング発情を示しても、排卵が起こらない無排卵や卵巣嚢腫のような異常もありますので、授精後24時間に排卵確認を行なうことをお勧めします。

粗暴な排卵確認を執拗に行なって顆粒細胞を剥がしてしまうと、その後の黄体機能が悪くなり、不妊の原因になる可能性が懸念されています。しかし、私どもはPGF_{2α}を用いた発情同期化試験において、スタンディング発情の確認を6時間間隔で行ない、スタンディング発情確認後12~24時間に後述する方法で人工授精を実施し、授精後6~24時間間隔で排卵確認を行なって受胎成績を調べ、実施した種々の受胎促進処置等の効果を検討してきました。表5は、それらの試験において、PGF_{2α}のみを処置した群の受胎成績を示します。受胎率は、低い場合には54%、高い場合には79%であり、平均は68%と良好でした。このような受胎成績から、通常の注意深い排卵確認であれば、受胎率を低下させるような悪影響はおよぼ

- スタンディング発情が確認できない場合には、
 - 発情開始の時期を推定して
 - 適期と思われる時期に授精する



- **授精時期が適切であったことを確認するため、排卵確認が必要**

図20 排卵確認の必要性

さないと考えています。また、私どもが指導した学生2名が附属農場で飼養されているホルスタイン種経産牛を供試して進めた卒業研究において、供試した乳牛はすべてがスタンディング発情を示すわけではないため、スタンディング発情の有無とは関係なく、直腸検査を2日間隔で行なって黄体の退行開始を確認した場合には、その後連日直腸検査と超音波画像検査を行ない、黄体と卵胞の状態を調べました。さらに、外部および内部発情徴候が発現してからは連日腔検査を行ない、外部発情徴候と内部発情徴候ならびに直腸検査による黄体と卵胞の所見から、前述のように、総合的に授精適期と思われる時期を判定して人工授精を行ない、授精後24時間に排卵確認を行なって研究を進めました。この場合、排卵確認時に排卵していない場合には、追い授精を行ない、その24時間後に再度排卵確認を行っております。その結果、例数は多くありませんが、経産の乳牛21頭中17頭(81%)が受胎しました(未発表)。このように、注意深い排卵確認は受胎を損なわないと思われしますので、適期授精であったことを確認するために排卵確認を実施していただきたいと思います。

少し話が横道にそれますが、人工授精において、適期授精を行なうと共に、衛生的に授精を行なうことも重要と考えます。図21は私どもが人工授精時に留意している点

- 腔の細菌 { 1) 腔前庭: 常在細菌が多い
2) 腔深部~子宮外口部: 細菌は殆どいない
- 子宮の細菌感染抵抗性 { 1) 発情期: エストロジェンは感染を防御するよう
作用
2) 黄体期: プロゲステロンは感染防御能を抑制し、
細菌の発育に適した状態を作る



人工授精における原則(獣医学的見地から)

子宮頸管深部~子宮体部へ精液を注入するのであるから、腔鏡等を用いて、腔前庭部で注入器具が汚染しないように、衛生的に行なう

図21 著者らの人工授精における留意点

を示します。膣の細菌は膣前庭に多く、膣深部や外子宮口にはほとんどいないようです。さらに、発情期にはエストロゲン濃度が高くなるため、子宮は細菌感染に抵抗性を示し、感染を防御・排除するように働きます。ところが、黄体期にはプロゲステロンが高くなり、感染防御能力を抑制するため、子宮は細菌の増殖に適した状態となり、細菌感染を起り易くなります。発情期の子宮は細菌感染に抵抗性を有し、感染を防御するように働くようになっているとはいえ、また、凍結精液の中にはペニシリンとストレプトマイシンが入っていますが、獣医学的見地から人工授精は原則として無菌的に行なうべきであると考えています。

表6は、鈴木らが行なった、牛の発情期と黄体期の膣前庭と子宮頸管における細菌検査の成績です。膣前庭から菌が分離できなかった例は33%および18%と僅かであり、殆どの例から菌が分離されています。ところが、子宮頸管については、発情期および黄体期共に、菌が分離されたものは極少数例であり、93%および91%が無菌的であったことが示されています。このように膣前庭には常在細菌が多いことから、人工授精の実施に当たっては、膣鏡やシースを使って精液注入器が膣前庭で細菌汚染しないように注意し、膣深部あるいは子宮頸管のところまで無菌的に挿入して人工授精する方法が勧められます。私どもが行なっている人

表6 牛の発情周期別膣前庭、子宮頸管の細菌学的検査成績

発情周期 検査部位	発情期		黄体期	
	膣前庭	子宮頸管	膣前庭	子宮頸管
検査頭数	1	15	22	22
検出菌種	検出頭数 (%)	検出頭数 (%)	検出頭数 (%)	検出頭数 (%)
Streptococcus	9 (60.0)	0 (0)	14 (63.7)	2 (9.1)
Staphylococcus	1 (6.7)	0 (0)	3 (13.7)	0 (0)
Micrococcus	0 (0)	0 (0)	2 (9.1)	0 (0)
Corynebacterium	1* (6.7)	0 (0)	9*** (40.9)	1 (4.6)
Bacillus	1 (6.7)	0 (0)	9 (40.9)	0 (0)
Pasteurella	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Neisseria	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Escherichia	1* (6.7)	0 (0)	2 (9.1)	0 (0)
グラム陰性桿菌	0 (0)	1 (6.7)	0 (0)	0 (0)
Fungi	0 (0)	0 (0)	1 (4.5)	0 (0)
無菌	5 (33.3)	14 (93.3)	4 (18.2)	22 (90.9)

*リポートブリーダー

***流産経験牛2頭を含む

(鈴木ら、1982)

表7 乳牛の分娩後における卵巣周期の開始

分娩後 の日数	卵巣周期を 開始した頭数*	累積%
1-10	13	2.6
11-20	240	50.4
21-30	157	81.7
31-40	54	92.4
41-50	16	95.6
51->160	22	100

* 2~3日間隔で採取した乳汁中のプロゲステロン濃度が >3 ng/mlを連続して2点以上示したもの (Lamming, G.E., et al., 1981)

工授精の方法は、腔鏡を挿入して開き、精液注入器を腔前庭に触れないように無菌的に腔深部に挿入した後、腔鏡を抜去し、直腸腔法により精液注入器を排卵が見込まれる成熟卵胞が存在する卵巣と同側の子宮角の基部～子宮角中央部まで挿入し、授精するやり方です。

IX. 分娩後の卵巣周期の開始、初回発情発現、Voluntary waiting period (VWP)

最近、発情が不明瞭あるいはみられない、受胎率が低い、などと言われていますが、それらと関連する事象について少しお話をさせていただきますと思います。

1. 分娩後の卵巣周期の開始

分娩後の卵巣周期の開始について、表7は乳牛についての1981年に報告されたイギリスの成績です。これは乳汁中のプロジェステロン濃度を2～3日間隔で調べ、連続して3 ng/ml以上を示した場合に卵巣周期が開始したと判定しています。当時の乳量はおおよそ6,000 kg と思われます。卵巣周期

は、分娩後20日までに50%で開始され、分娩後50日以内にはほとんどのもので開始されています。1980年頃には分娩後の卵巣周期の開始はこのような状況であったと認識されます。

一方、最近の乳牛の状態を見ますと、この20～30年の間に乳量が4,000 kgほど増えて8,000～9,000 kgになりました。すなわち、乳牛では、泌乳に伴ってエネルギーバランスは負の状態になりますが、近年の乳量の増加は重度な負のエネルギーバランス状態をもたらしていると考えられます。図22は、エネルギー出納と泌乳量の関係を示したものです。乳量が増加するとエネルギー出納のマイナス割合が高くなる、マイナスの相関関係があることがわかります。さらに、負のエネルギーバランスと分娩後の卵巣周期の開始（初回排卵）時期は関連しており、負のエネルギーバランスが重度の場合には、分娩後の卵巣周期の開始が遅れることが知られています。図23は、エネルギー出納と分娩後の初回排卵までの日数

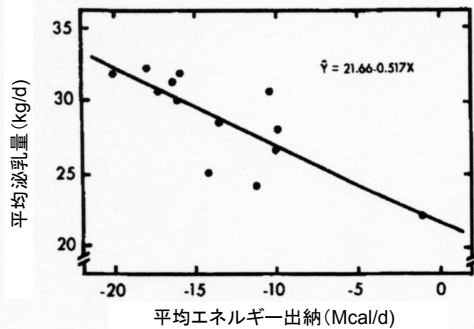


図22 乳牛の泌乳開始後20日間における平均エネルギー出納と平均泌乳量との関係【Butler et al.,1981より】
(Butler and Smith,1989)

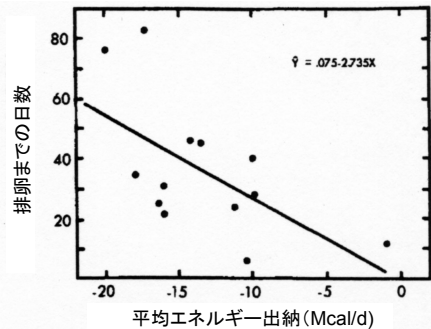


図23 乳牛における泌乳開始後20日間の平均エネルギー出納と排卵までの日数との関係【Butler et al.,1981より】
(Butler and Smith,1989)

表8 分娩後の初回排卵までの所要日数(黒毛和種)

産 歴	分 娩 後 日 数 (日)										計	平均日数 (日)
	14~ 21	22~ 28	29~ 35	36~ 42	43~ 49	50~ 56	57~ 63	64~ 70	71~ 77			
経産	頭数(頭) 2	11	8	7	1	1					30	31.1±7.7
	割合(%) 6.7	36.7	26.7	23.3	3.3	3.3					100.0	
初産		4	2	1	4	1	3		2		17	45.2±17.2
	割合(%)	23.5	11.8	5.9	23.5	5.9	17.6		11.8		100.0	

(高橋政義ら、1979)

の関係を示しています。エネルギー出納がマイナスになると分娩後の卵巢周期の開始（初回排卵）がだんだん遅くなる、マイナスの相関関係があることがわかります。この点に関して、分娩後の初回排卵は、負のエネルギーバランスが最下点（どん底）となった後、それが回復し始めた後10日前後に起こることが知られています。エネルギーバランスが最下点に達するのが遅いと、卵巢周期の開始（初回排卵）も遅くなることとなります。すなわち、乳量が増えてエネルギーバランスの負の状態が重度になると、卵巢周期の開始が遅れることとなります。

表8は、黒毛和種牛の分娩後の初回排卵日数を調べた高橋ら（1979）の成績です。分娩後の初回排卵までの日数は、経産牛では平均31日であり、肉牛の場合は乳牛よりも10日前後遅れると言われています。それは哺乳刺激が性腺刺激ホルモンの分泌を抑

制することに因ります。

2. 分娩後の初回発情

分娩後の卵巢周期の開始に伴う発情の発現状況は、初回排卵時には70～80%のものが発情を示さずに鈍性発情となり、その後、第2、3回排卵時と進むにつれて鈍性発情を示す割合が次第に減少し、発情を示すものが次第に増加することが知られています。

図24は乳牛についての1966年に発表されたアメリカの成績です。正常に分娩したのもので、分娩後の初回、第2回、第3回排卵時には鈍性発情が79、55、35%と高率に発生することが示されています。鈍性発情は、卵巢周期は営まれるが、卵胞が成熟して排卵する時期に発情が発現しない状態を言います。発情徴候は弱いものから不明なものまで様々です。

表9は、同じく乳牛について、分娩後の

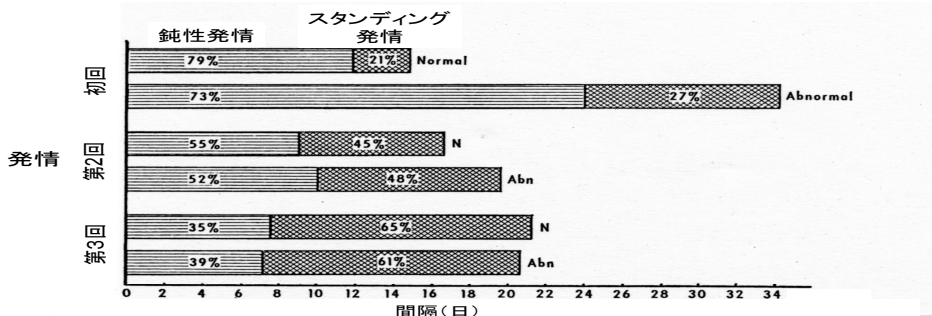


図24 分娩から初回発情、初回から第2回発情、第2回から第3回発情までの間隔と発情行動

Normal: 正常分娩, Abnormal: 異常分娩

(Morrow, et al., 1966)

表9 乳牛200頭における分娩後の発情観察と乳汁中のプロゲステロン濃度との関連

卵巢周期の時期※	頭数※※	発情を示した牛の割合%
初回排卵時	200	29.5
第2回排卵時	197	62.9
第3回排卵時	177	84.2
第4回排卵時	103	86.4
第5回排卵時	44	90.9
第6回排卵時	13	92.3
卵巢周期≥1回を示した後に発情を示した頭数割合 (%)		77.5

※乳汁中のプロゲステロン濃度から判定

※※卵巢周期が進むと、授精されて妊娠するため、対象牛が減少 (Lamming, G.E. et al., 1976)

卵巣周期の再開に伴う発情発現状況を調べた、1976年に発表されたイギリスの成績です。これも同様に、初回排卵時には鈍性発情が70%と高率ですが、排卵回数が進むにつれて次第に鈍性発情の割合が減少して、第4回排卵時には鈍性発情の割合は14%と僅かになり、発情を示すものが86%に増加して、第5、第6回排卵時には発情を示すものが91~92%となることを示しています。このように、分娩後の初回排卵から第3あるいは第4回排卵時における鈍性発情は、異常ではなく、生理的な現象であると理解、認識されています。

3. VWP（積極的授精待機期間）

VWPは、分娩後発情が発現しても交配を控える期間を言います。その背景は、分娩後の相当期間は発情が発来して交配（自然交配および人工授精）を行なっても受胎率が低いことに因ります。現状では45~60日、標準的には50日が設定されます。

これに関連して、1968~1970年のアメリカの報告を見ますと、①分娩後の子宮修復には30~40日かかる、②分娩後の初回発情

は、通常、分娩後30~60日に発来する、③卵巣周期は発情発現よりも早期に開始する、④子宮内の細菌は95%の牛において分娩後55日までに消失する、⑤分娩後の交配実施時期と受胎の関係は、**図25**に示すように、分娩後60日に授精をした場合の受胎率は58%、分娩後80日には最高値に達して60%となる、ことが示されています。これらのことから、1970年代のアメリカでは、VWPとして60日が推奨されていました。しかし、現状をみると、先にもお話ししましたように、高泌乳化によって当時に比べて乳量が4,000 kgも増加して8,000~9,000 kgになっており、それに伴って分娩後の卵巣周期の再開が遅くなり、発情の発来も遅くなってきている可能性があります。さらに、それと共に、子宮環境の修復も遅れることになれば、分娩後の早期における高い受胎率は生理的に望めないこととなります。すなわち、現状における乳牛の生理的状态を考慮しますと、VWPを以前の60日や現状の45~60日より、もっと長く設定するのが妥当ではなかろうかと考えられます。

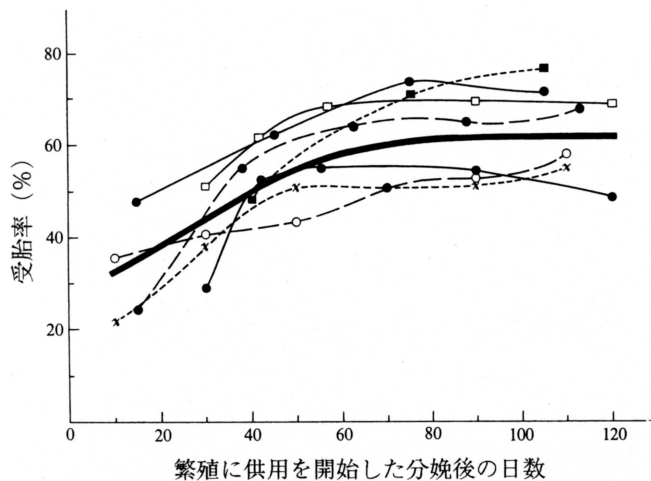


図25 乳牛における分娩後の繁殖供用開始時期と受胎率の関係。太線は7件の研究成果による概括的傾向を示す

(Salisbury, G. W., et al., 1978)

参考文献

- (1) Butler W.R. and Smith R.D.: Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J.Dair Sci.*,72,767-783,1989.
- (2) Dransfield M.B.G. Nebel R.L. Pearson R.E. and warnick L.D.: Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by a radiotelemetric estrus detection system. *J.Dairy Sci.*,81,1874-1882,1998.
- (3) Gutierrez C.G. Gong J.G. Bramley T.A. and Webb R.: Selection on predicted breeding value for milk production delays ovulation independently of changes in follicular development, milk production and body weight. *Anim Reprod Sci.*,95,193-205,2006.
- (4) 浜名克己、中尾敏彦、津曲茂久 編：獣医繁殖学 第3版、文永堂出版、東京、2006.
- (5) Hopkins S.M. and Evans L.E.: Artificial insemination. In: Pineda M.H. and Dooley M.H. eds., *Veterinary endocrinology and reproduction*. 5th ed., 341-375, Iowa State Press, Iowa, 2003.
- (6) 獣医繁殖学教育協議会編：獣医繁殖学マニュアル第2版、文永堂出版、東京、2007.
- (7) 家畜繁殖学会 編：新家畜繁殖学辞典、文永堂出版、1992.
- (8) Kaneko H., Kishi H., Watanabe G., Taya K., Sasamoto S. and Hasegawa Y. : Changes in plasma concentrations of immunoreactive inhibin, estradiol and FSH associated with follicular waves during the estrous cycle of the cow. *J. Reprod. Dev.*, 41, 311-320,1995.
- (9) Lamming G.E. and Bulman D.C.: The use of milk progesterone radioimmunoassay in the diagnosis and treatment of subfertility in dairy cows. *Br.Vet.J.*,132, 507-517,1976.
- (10) Lamming G.E., Wathes D.C. and Peters A.R.: Endocrine patterns of the post-partum cow. *J.Reprod.Fert.*, Suppl.30,155-170,1981.
- (11) Lopez H., Satter L.D. and Wiltbank M.C.: Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. *Anim.Reprod Sci.*,81,209-223,2004.
- (12) 榎田精一、大西靖彦、工藤篤：牛の発情に関する研究．畜産試験場報告．第56号 ,55-96 ,1950.
- (13) Morrow D.A., Roberts S.J., McEntee K. and Gray H.G.: Postpartum ovarian activity and uterine involution in dairy cattle. *J.Am.Vet.Med.Assoc.*,149,1596-1609,1966.
- (14) Nebel R.L. Dransfield M.G. Jobst S.M. and Bame J.H.: Automated electronic systems for the detection of oestrus and timing of AI in cattle. *Anim.Reprod.Sci.*,60-61,713-723,2000.
- (15) 農林水産省経済局 編：家畜共済の診療指針Ⅱ 平成15年4月、全国農業共済協会、東京、2003.
- (16) 農林水産省経営局編：家畜共済における臨床病理検査要領 平成17年改定、全国農業共済協会、東京、2005
- (17) 奥田 潔：直長検査の問題点とその背景．家畜人工授精 ,239,20-30,2007.
- (18) Salisbury G.W., VanDemaek N.L. and Lodge J.R.: *Physiology of reproduction and artificial insemination of cattle*. 680-732, W.H.Freeman and Company, San Francisco, 1978.
- (19) 鈴木達行、高橋芳幸、下平乙夫：牛の膣、子宮頸管内細菌叢の飼育形態、性周期にともなう変化、日獣会誌 . 35. 235-241. 1982
- (20) 高橋正義、菊池武昭、滝沢静雄、久馬忠：黒毛和種における春季分娩牛の発情再帰について、東北農試研究報、第60号 , 63-72, 1979.
- (21) 高橋芳幸：牛の授精適期について．家畜人工授精 ,232,22-31,2006.
- (22) 山内 亮 監修：最新家畜臨床繁殖学、朝倉書店、東京、1998.