

乳牛の繁殖技術における最近の進歩

酪農学園大学 河田 啓一郎

過去半世紀の間わが国の酪農は飛躍的發展をとげたが、この間いくつかの技術革新がなされている。その第一は人工授精の普及で、とくに第二次大戦後の凍結精液の広汎な利用がわが国のみならず世界の酪農の發展、とりわけ乳牛の改良増殖に果たした役割は他の何ものにも換えがたいものがある。第二には、従来乳牛の繁殖を阻害する重大な要因となっていた感染性原因による繁殖阻害、たとえばトリコモナス病、ブルセラ病、ビブリオ病といった病原微生物による受胎障害あるいは流産などが、優れた抗生物質、サルファ剤の出現と人工受精の応用によりもはや恐ろしい疾病ではなくなったことである。同時にブドウ球菌、レンサ球菌、大腸菌、コリネバクテリウム属細菌などの化膿菌による子宮内膜炎も繁殖阻害要因としての重要性が著しく軽減した。

しかし、これらに代わっていわゆる機能性不妊症と呼ばれる内分泌学的原因による卵巣疾患群は依然として不妊症の大きな割合を占めているが、近年ホルモンの微量測定法が急速に進歩したことにより原因の解明が進み、診断や予後判定にも応用されつつあること、またプロスタグランジンや視床下部放出ホルモンなどの新しい薬剤の開発によって治療が効果的に行われるようになりつつあることによって、これらの疾病の防除についても進展がみられている。一方、ここ10~15年間に酪農家の規模拡大に伴う多頭飼育が進み、このような経営形態における繁殖性向上に役立つ新しい技術、たとえば発情同期化とか受精卵移植などが、一部は現実の問題として、一部は近い将来の課題として取り上げられてきている。

このような観点から最近の乳牛繁殖技術の進歩について述べてみたい。

1. 発情同期化について^{6,7)}

乳牛の多頭飼育が進むにつれ、少ない労働力で多数の牛の繁殖管理を省力的に行う必要が生じてきた。このことは育成牧場などの大規模飼養形態における繁殖性の向上にはとくに大きな利点を得られよう。

すなわち多数の牛の発情発見、発情牛の捕獲、人工受精などの一連の繁殖業務を通常の方法で行うとすれば多大の労力を要するが、発情、排卵を人為的に調節して一定の時期に種付できるならば、労力を節減できるほか、発情の見逃しも少なくなり、また分娩時期も揃うので、妊娠牛の管理や、子牛の育成、衛生管理も集中的に行うことができ、この面でも省力化が達成される。

発情同期化または性周期同調の方法には次のようなものがある。

- ① Progesterone およびその類似物質投与方法
- ② Oxytocin 注射法
- ③ 子宮刺激法
- ④ Prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) およびその類縁物質 (analog) 投与方法

①の方法は progesterone あるいは medroxy-progesterone acetate (MAP), chlormadinone acetate (CAP), melengestrol acetate (MGA) などの合成 gestagen を注射、経口投与、皮下移植または陰内挿入などの方法で連続投与すると、投与期間中は卵胞の発育が抑制されるが、投与を中止すると2~8日以内に80%以上のものに発情が出現する。しかし多くの場合処置後初回発情の受胎率は低い。次回発情ではほぼ正常な受胎率が得られている。実際にこれらの方法を応用するには薬物を飼料に混ぜて内服させるか陰内に挿入するのが比較的実行しやすいが、前者ではすべての牛が一定量の薬物を採食するとは限らず、後者では挿入物が陰より脱落しやすいなどの欠点がある。

②の方法は黄体期の初期に Oxytocin を連日注射すると、黄体の寿命を短縮し発情の発見が早められることを利用したものであるが、連日注射を行う労力とか性周期を確認する必要があるなどの点で実用化に至っていない。

③の方法は黄体期の牛の子宮内に液状粘性物質やヨード液などの異物を注入して子宮粘膜に刺激を与えると、黄体の寿命を支配する子宮因子が影響を受

け、性周期が延長または短縮することを利用したものである。処置後の発情での受胎率は良好で経費も安い、多数の牛に应用するには牛の保定、子宮内注入の労力、子宮感染の危惧などの難点がある。

④の方法は強力な黄体退行作用をもつ PGF_{2α} またはその analog を筋肉注射、子宮内注入その他の方法により投与し、性周期を短縮することにより発情を同期化させる方法で、野外で多数の牛に应用するにはもっとも実用的である。PGF_{2α} は不飽和脂肪酸の1種で(図1)、牛などでは子宮内膜から

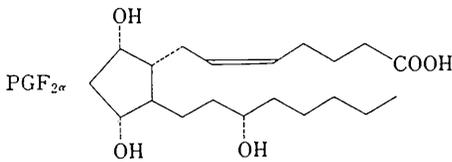


図1. プロスタグランジンF_{2α}の化学構造

産生されるPGF_{2α}が黄体の寿命を支配する重要な因子と認められている。1972年RowsonらがPGF_{2α}を牛の子宮内に注入し急速に黄体を退行させることを初めて報告して以来、PGF_{2α}およびそのanalogの投与による牛の発情同期化の試みが内外の多数の研究者によって行われている。

黄体期の牛にPGF_{2α}を投与し直腸検査によって黄体の退行状態をみると、黄体の大きさが投与後24時間では約1/2、48時間では約1/4に縮小している。投与後の血中progesterone値の経時的低下もこのことを裏付けている(図2)。PGF_{2α}は黄体が形成されていない牛に投与しても性周期を短縮することはできない。排卵後5日以降の黄体期に投与すると、発情は投与後4日前後に集中して起こる。

野外で多数の牛に短時間にPGF_{2α}を投与するには筋肉内注射がもっとも便利である。良好な発情同期化効果を得るには体重500kg前後の牛では20~25mgの注射量が必要である。子宮内注入では1/4~1/3程度の投与量でも足りる。とくに黄体の存在する卵巣と同側の子宮角内に注入すれば効果が確実である。しかし子宮内注入法は労力的にも技術的にも多数例に应用するには適していない。現在PGF_{2α}はまだかなり高価であるから20~25mgを多数の牛に应用するとすればかなりの経済的負担となる。

最近PGF_{2α}よりも数10倍も強力な黄体退行作用を有するanalogが合成され、牛の発情同期化に用いられるようになった。筆者らもこのようなanalogの1種ONO-1052を用い表1に示すような結

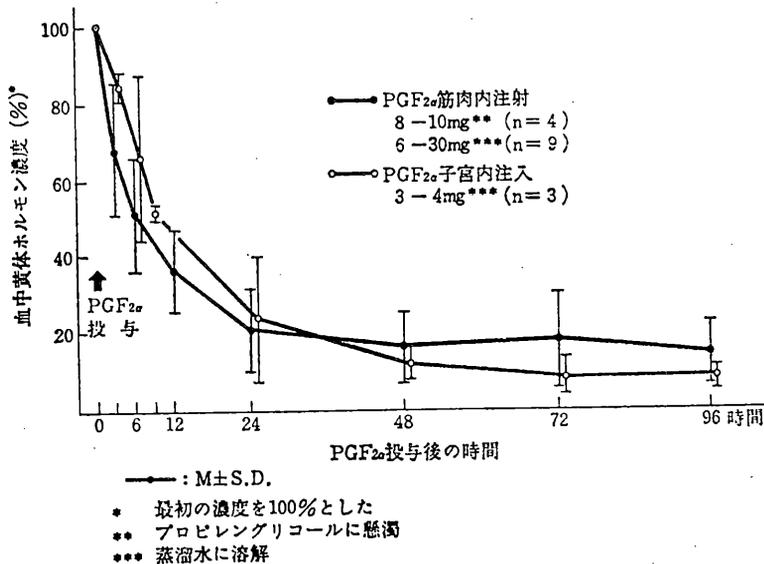


図2. 牛におけるPGF_{2α}子宮内注入および筋肉内注射後の末梢血中黄体ホルモンの消長(百目鬼ら, 1974)⁷⁾

表1. プロスタグランジン類似体 ONO-1052 による乳牛発情同期化試験の成績 (河田ら, 1978)⁸⁾

投与量 _{mg}	発情誘起率(%)	排卵率(%)	受胎率(%)
0.25	1/3 (33.3)	1/1 (100.0)	1/1 (100.0)
0.5	48/65 (73.8)	35/37 (94.6)	30/46 (65.2)
1.0	5/5 (100.0)	5/5 (100.0)	4/5 (80.0)
1.5	4/5 (80.0)	4/4 (100.0)	3/3 (100.0)
計	58/78 (74.4)	45/47 (95.7)	38/55 (69.1)

果を得ている。⁸⁾ PGF_{2α} analog はわずか 0.5～1.0 mg 程度の筋肉内注射で発情を同期化し、誘起発情時の受胎率も良好であるので、経済的にも引合うようになると期待される。

前に述べたように、PGF_{2α} とその analog は排卵後 5 日目以降の黄体を有する牛に対してのみ性周期を短縮し発情同期化効果を示すので、野外で無選択的に応用する場合には、卵胞期に相当する牛には無効である。しかし 1 日間隔で 2 回注射¹⁸⁾ すれば、初回注射により性周期が短縮した牛も初回注射で反応を示さなかった牛も 2 回目の注射時にはともに黄体期にあることになるので、全頭発情同期化が可能となるはずである (表 2)。このように 2 回注射法

表 2. ONO-1052 10 日間隔 2 回投与による未経産牛の発情同期化試験 (大沼ら, 1978)¹⁸⁾

投与量 _{mg}	発情誘起率 ^{*1} (%)	受胎率 ^{*2} (%)	対象牛 ^{*3} の受胎率(%)
0.5 × 2	18/20 (90.0)	10/20 (50.0)	4/8 (50.0)
1.0 × 2	21/21 (100.0)	8/21 (38.1)	14/31 (45.2)

- *1 注射日を 0 日とし、第 2～3 日に発情誘起したものを有効とした。
- *2 第 4 日以降に発情誘起したのもを含む。受胎確認は 60～90 日の直腸検査による。
- *3 同一種雄牛の精液により同一月に授精されたもの。
(本表は筆者が改変したものである)

は薬品代は倍になるが黄体期確認の手間が省けるので実用的価値は大きい。

野外で発情同期化を行う場合、牛の栄養状態が成績に影響を及ぼすことに留意すべきである。寒冷地帯で冬期に実施すると夏季の成績に比べ劣ることが

多いが、これは冬季には対象牛のうち卵巣が不活発で静止状態となり黄体のないものが増えるためと思われる。

2. 受精卵移植について^{5,22)}

種雄牛の優良形質を広範囲に利用して乳牛改良を行う手段は凍結精液による人工授精によって達成されたが、一方雌牛側の優良形質の利用はきわめて限られ、一生涯にわずか 10 数頭の子牛を生産できるにすぎない。卵巣内には生まれながらにして数万～数 10 万個の原始卵胞を保有するので、これを効率的に利用し優秀な雌畜の子を多数生産しようとする試みはかなり古くから行われ、兎などでは 19 世紀末から受精卵移植技術が成功している。牛で受精卵移植により子畜の生産に成功したのは 1951 年 Willett らが最初である。今日では米国、カナダ、オーストラリアなどで牛の受精卵移植は企業的に行われている。

1) 受精卵移植 (人工妊娠, 人工受胎) の利点
これを列記すれば次のようである。

- ①優れた母親の遺伝形質を受け継いだ子畜の多数生産
- ②特定の品種または系統の増産
- ③家畜導入に利用の可能性 (牛を輸入する代わりに受精卵を輸入する)
- ④人為的多胎に利用の可能性
- ⑤産子の性支配に利用の可能性

2) 受精卵移植の方法

受精卵移植技術の概略を説明すると次の通りである (図 3 参照)。

①供卵牛の過剰排卵誘起

多数の卵胞を发育させるための処置として妊馬血清性腺刺激ホルモン (PMS) または馬や豚の下垂体前葉性性腺刺激ホルモン (APG) — 卵胞刺激ホルモン (FSH) 作用が強い — を注射し、ついで排卵を促進するため絨毛性性腺刺激ホルモン (HCG) または羊などの APG — 黄体形成ホルモン (LH) 作用が強い — を注射する。

②人工授精

過剰排卵した卵を効率よく受精卵にするため発情時に 12 時間間隔で 2～3 回の人工授精を行う。

③供卵牛の発情調整

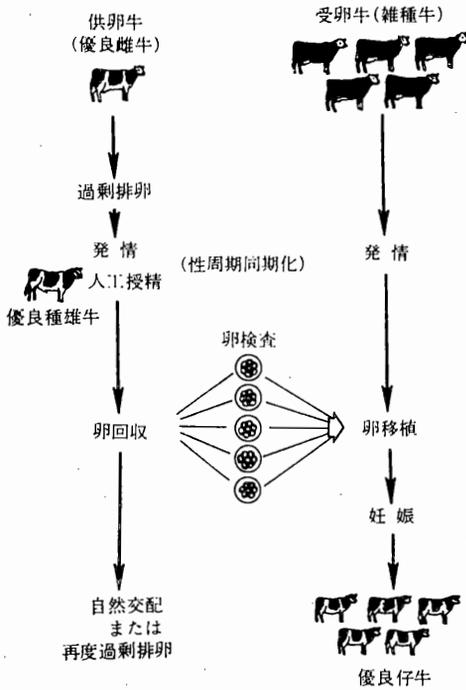


図3. 牛受精卵移植の概要(金川, 1979)⁵⁾

これは必ずしも必要ではないが、受精卵の採取を計画的に行うには供卵牛の発情を一定の時期に調整するのが有利である。この目的には供卵牛にPMSを注射後2日目にPGF_{2α}を投与する。

④受精卵の採取

初期の頃の卵回収方法は供卵牛を全身麻酔し仰臥位に保定し、開腹手術を行って卵管または子宮内還流する方法によったが、最近ではほとんど開腹せずに子宮頸管を経由して子宮を洗浄することにより卵を採取する方法が行われている。受精卵は受精後6日目頃に子宮内に進入するので、開腹手術によらない方法では人工授精後6～7日目頃に卵回収を行うのが普通である。移植後の妊娠率は7日目前後の桑実期卵がもっともよい。子宮還流液はTMC-199その他が用いられる。

⑤受精卵の検査と保存

回収された還流液は実体顕微鏡で無菌的に検査して卵を発見し、採取された卵はBMOC-3などの液中に移植まで保存する。この間に強拡大の倒立顕微鏡下で卵を検査し一定の基準によって移植可能かどうか

分類する。

⑥受精卵の移植

受卵牛に卵を移植する方法としては、従来から局所麻酔による臍部切開法が主に行われているが、最近では手術によらないで人工授精と同様に子宮頸管を経由して移植する方法あるいは膈門蓋部を小切開して頸管を迂回して子宮内に移植する方法も試みられている²³⁾(表3)。

表3. 異なる受精卵移植法による妊娠率の比較 (高橋ら, 1979)²³⁾

採卵日 ^{*1}	手術的方法	頸管迂回法	頸管経由法
6日目	5 ^{*2} / ₁₀ (50)	2 ^{*3} / ₉ (22)	1/ ₅ (20)
7日目	5/ ₈ (63)	0/ ₂ (0)	4 ^{*3} / ₁₀ (40)
計	10/ ₁₈ (56)	2/ ₁₁ (18)	5/ ₁₅ (33)

*1 8頭の卵供給牛から子宮洗浄による

*2 流産2例 *3 流産1例

() 受胎率=受胎頭数/移植頭数, % 40日と60日2回直検

⑦受卵牛の発情調整

受卵牛と供卵牛の性周期を同期化することはきわめて重要で、人工授精後7日目に採取した桑実期卵は発情後7日目の受卵牛に移植することが望ましい。ただし24時間以内のずれは妊娠率に大きな影響を及ぼさない。このため受卵牛の候補牛を多数確保できるときは別として、少数の場合にはあらかじめ受卵牛の性周期を調整しておくことが必要となる。この目的には前述したPGF_{2α}投与による発情同期化の技術が応用されている。供卵牛の発情調整を行うときは同じ日に受卵牛にもPGF_{2α}処理を行う。

3) 受精卵移植における今後の課題

①受精卵の凍結保存

凍結精液と同じように受精卵も長期保存にたえるならば受卵牛の発情同期化の必要もなくなり、常時多数の受卵牛を確保する必要もなくなるので、受精卵移植は格段のスピードで普及するであろう。室温または低温(4℃)における受精卵の保存では24時間が限度で、それ以上長びくと妊娠率は甚しく低下する。したがって長期間保存するためには精液の場合と同様に凍結保存が望ましいが、凍結保存受精

卵による産子の成功例は1973年英国で報告されて以来全世界でまだ40~50例程度と思われ、今日なお確立した技術とはいえない。しかし近い将来受精卵の凍結技術は完成されると思われるので、そうなれば現在の人工受精所に凍結卵も保管されるようになり、酪農家は自分の雌牛に発情が来て授精師に連絡するとき精液か卵のどちらを持ってきてもらうのかを告げることになる。

②過剰排卵の効率向上

供卵牛の過剰排卵には前述のように主にPMSが応用されるが個体により反応が一定せず10個以上の受精卵を回収できることもあればわずか1~3個程度しか回収できないこともある。また同じ個体に反復して過剰排卵処理を施すと卵巣の反応がしだいに弱くなり、期待した数の受精卵が得られにくくなる。これらの点も今後改善を要する問題である。

過剰排卵処理は成熟した牛ばかりではなく生後2~3カ月の子牛に対しても可能である。子牛から受精卵を回収すれば世代のスピードアップ化が達成でき乳牛改良上利点大きい。子牛の卵巣は成牛よりも性腺刺激ホルモンに対して強く反応し50個前後の過剰排卵も珍しくないが、未成熟生殖器内で受精卵を得るには困難な点があるので、体外受精の研究も必要となろう。

③妊娠率の向上（とくに非手術的移植法において）

表3に見られるように、受卵牛の妊娠率は手術的方法では通常の人工授精の受胎率と大差がないが、非手術的方法では改善の余地がある。後者の移植法の妊娠率を一層向上させる工夫が必要となろう。最近米国やカナダでは10~12カ月位の未経産牛を受卵牛に用い、正規の分娩をさせずに帝王切開により産子を摘出したのち、受卵牛は屠殺する方法がかなり広く行われているという。このように若い未経産牛を受卵牛にすることにより高い妊娠率が得られるとのことである。

④人為的な双児の生産

ホルモン処理によって発情時に2個の排卵を誘発し双児を得ようとする実験は肉牛ではかなり前から行われているが、まだ実用の域に達していない。この目的で受卵牛の左右子宮角にそれぞれ1個ずつ受精卵を移植して双児を得ようとする研究が英国のケンブリッジ大学で行われている。²⁰⁾ また分化の進ま

ない若い受精卵を2つや4つに分割してそれぞれ独立した正常な2頭または4頭の個体を作るとは理論的には可能である。これが実際に応用できるようになれば自然にはめったに得られない一卵性双児の人為的作出が可能となり、生理学的研究や栄養学的研究に大いに役立つことになる。

⑤性別の支配

生まれる産子の性別を自由にコントロールできるならば人間社会では問題が多いが、畜産界では大きな利益につながる。受精の時点で雌雄を決定するのは精子であるから、X精子とY精子を分別しようとする試みは世界中で数多く行われ種々の方法が報じられているが、まだ成功してはいない。妊娠中に羊水を採取して羊水中の浮遊細胞を培養して染色体を調べ胎児の性別を判定する方法があるが、流産の危険も多いので牛ではまだ実用化されない。

牛受精卵では14日齢の胚の一部の組織を切り取り染色体検査によって性別を判定する実験が報告されている。実用化までにはまだ多くの問題が残されているが、移植前に性別を判定できるならば産子の性を完全に支配できることになる。

3. プロスタグランジンの臨床的応用について^{3,13)}

すでに発情同期化の項で述べたように、PGF_{2α}は強力な黄体退行作用を有するため牛の発情同期化に広く応用されているが、一方黄体の退行遅延に起因する種々の繁殖障害にも有力な治療剤として使用され優れた効果を發揮している。

乳牛において黄体退行遅延による疾患としてもっとも一般的なのは黄体遺残症（永久黄体）であるが、これの治療法としては従来直腸内からの黄体用手除去法が主に用いられていた。黄体を除去すれば2~3日後には発情が誘起され治療の目的が達せられるが、かなりの出血を伴うので術後まれに出血死することがあり、また卵巣・卵管付近の癒着などの後遺症が懸念される。他の方法としてはPMS剤の注射などもあるが治療率は低い。本症にPGF_{2α}を筋肉内、子宮内、頸管内、卵巣実質内などに投与することにより何らの後遺症を来すことなく黄体除去法と同等の治療効果を得ることが実証されている。とくに卵巣実質内に投与すればわずか1mgの注射量で正常の発情・排卵を誘起し、その際の人工授精によって良好な受胎率が得られる。⁹⁾

卵巣嚢腫に対しては 200 μ g 程度の GnRH analog 剤の筋肉内注射により従来の HCG 10,000 MU の投与と同程度の治療効果が得られている。^{15,18)} GnRH は分子量が小さいため反復投与しても生体内に抗体を作りにくいこと、また合成が比較的容易であるなどの利点がある。これに反し、HCG は大量を反復投与すると牛の血中に anti-HCG を産生し、HCG の効果を減じ期待される治療成績が得られなくなることがある。また HCG は合成不可能で妊婦尿から精製されるが、将来は材料の入手が困難になることが予想される。このような事情から GnRH は今後家畜の卵巣疾患の治療薬として益々重視されるものと思われる。

5. ホルモンの微量測定法の進歩と家畜繁殖への応用

家畜の繁殖現象は各種のホルモン、とりわけ生殖ホルモンまたは性ホルモンと呼ばれる性腺ホルモン、下垂体前葉ホルモンなどによって支配調節される部分が多いため、これらのホルモンの動態を解明することにより繁殖現象の理解が一層深められることはいうまでもない。

性ホルモン、とくに性ステロイドホルモンの測定法²⁾としては 1920 年代から 1940 年代までは主として生物学的測定法が行われた。たとえば検査材料をマウス陰内に注入する Sulman の estrogen 測定法やマウスの子宮内に注入する Hooker-Forbes の gestagen 測定法などである。1950 年代になると化学的測定法が行われるようになったが、これらの方法は操作が煩雑で熟練を要する上に測定感度は 4g (マイクログラム) すなわち 10^{-6} g/ml 程度にすぎず、牛のように性ステロイドの血中濃度の低い動物では多量の材料を必要とするため応用範囲が限られていた。1960 年代前半にはホルモンと蛋白の特異的結合を利用する競合蛋白結合法 Competitive protein binding assay が、また 1960 年代後半から 1970 年代にかけては免疫化学の進歩につれてラジオアイソトープを利用する放射免疫測定法 radioimmunoassay がステロイドホルモンにも応用できるようになり、少量のサンプルを用いてきわめて微量の血中濃度のホルモンを正確迅速に測定できるようになった。これらの方法によれば、ng (ナノグラム) すなわち 10^{-9} g/ml (10 億分の 1g)、さらには pg (ピコグラム) すなわち 10^{-12} g/ml (1 兆分

の 1g) の濃度まで測定可能となった。過去 10 年足らずの間にこれらの優れた微量測定法の導入によって牛のみならず各種家畜の性周期、妊娠、分娩などにおける estrogen, gestagen, corticoids などの動態が明らかにされるとともに、種々の繁殖障害時におけるそれらのホルモンの変化も解明されつつある。さらに FSH や LH, GnRH などの微量測定も可能となりつつある。¹¹⁾

しかし、radioimmunoassay 法は放射性同位元素を使用するので環境汚染防止上一定のアイソトープ実験施設で行わなければならない。一般の家畜診療所などでは使用できない。筆者の研究室の中尾講師はアイソトープの代わりにある種の酵素を標識させた抗体を用いて測定する酵素免疫測定法 enzyme immunoassay 法を開発し、黄体ホルモンの測定に利用している。¹⁴⁾ この方法は放射性物質の規制を受けないので、分光光度計があれば小規模の試験室でも実施できるため、将来臨床例の診断や予後判定などに広く利用されるようになるであろう。

6. その他の問題

近年細胞遺伝学、とくに染色体検査法が急速に進歩した結果、家畜においても白血球培養法により種々の染色体異常が発見され、性染色体異常と不妊または繁殖性低下との関連が検討されるようになった。⁴⁾ 牛の双胎以上の多胎の際に多発するフリーマーチンでは 60, xx/xy の性染色体キメラ現象がみられるので、染色体検査法がフリーマーチンの早期診断法として血液型判定法とともに応用されている。

乳牛の育種において近親繁殖が特定の疾病の多発をもたらすことがしばしば指摘されている。1930~40 年代にスウェーデンの高地種における遺伝的精巣發育不全症と卵巣發育不全症の多発は乳脂率を高める選抜の結果起きたものといわれている。¹²⁾ 最近各地で牛の卵巣嚢腫の発生が増加の傾向にあると指摘されているが、従来から本病は特定の雄牛や雌牛の家系に多発することが報告されている。^{1,10)} 近年ホルモン療法の進歩とともに卵巣嚢腫の治療率が向上したこと、あるいは人工授精の普及により特定の種雄牛の供用頻度の増加などが本病にかかりやすい素因をもつ雌牛のポピュレーションを高める結果を招いてはいないであろうか。能力や体型の選抜を重視する結果繁殖性の低下を来たすような疾病が増加

することのないよう警戒すべきであろう。

飼料の量と質が繁殖障害とくに乳牛の卵巣疾患の発生と深い関連があることは今さらいうまでもない。牛の卵巣嚢腫はかつては濃厚飼料を多給する都市近郊型の酪農形態に多発し、草地酪農では少ないとされていたが、最近は本道の草地酪農地帯においてとくに放牧期に多く発生している。このことは放牧期には舎飼期に比べ、乾物摂取量の不足、DCPの過剰、TDNの不足が起こりやすく、乳量の多い牛ではそれがストレスとなって体内のホルモン平衡を乱すためと指摘されている。¹⁹⁾飼養管理と繁殖性との関連については多頭飼育化が進行している本道酪農においてはますます重要な問題と考えられるが、紙面の都合上他の執筆者によって扱われることを念じ、ここでは省略させて頂く。

おわりに

以上乳牛の繁殖に関連した最近の技術上の進展あるいは今後の問題点などについて概説を試みたが、きわめて間口が広く深みのない内容になってしまった。個々の問題についてさらに深く知りたい方は参考文献をお読み頂くようお願いしたい。

最後に受精卵移植について種々御教示を頂いた北大獣医学部家畜臨床繁殖学教室金川弘司助教授に深くお礼申上げる。

文 献

- 1) CASIDA, L.E. and CHAPMAN, A.B. (1951) Factors affecting the incidence of cystic ovaries in a herd of Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, **34**, 1200.
- 2) 百目鬼郁夫 (1978) : 牛リビートブリーダーにおける血中性ステロイドの動態, 山内亮編 家畜繁殖学—最近の歩み— 東京, 文永堂, 417~433.
- 3) 池本安夫, 黒田武, 堀口隆男, 加納公雄, 草刈直吉, 南部栄一, 山崎大輔, 笠原喜七, 笠井克己, 田中卓二, 山口佳男 (1977) : Prostaglandin F_{2α} による乳牛卵巣疾患の治療. 家畜繁殖誌, **23**, xxix~xxxiv.
- 4) 石川恒 (1978) : 染色体異常と牛馬の繁殖障害. 山内亮編 家畜繁殖学—最近の歩み— 東京, 文永堂, 435~450.
- 5) 金川弘司 (1979) : 家畜の受精卵移植・人工妊娠. 産婦の世界, **31**, 704~714.
- 6) 金田義宏 (1977) : Prostaglandin F_{2α} による牛の発情同期化. 家畜繁殖誌, **23**, ix~xv.
- 7) 金田義宏 (1978) : 牛の発情同期化. 山内亮編. 家畜繁殖学—最近の歩み— 東京, 文永堂. 417~433.
- 8) 河田啓一郎, 中尾敏彦, 角田修男, 野村武, 石橋泰 (1978) : プロスタグランディンF_{2α} 類似体ONO-1052による乳牛の発情同期化. 第86回獣医学会講演要旨, 127.
- 9) 九里謙一, 岡井健, 藤田光雄, 九島純一, 佐藤輝一, 河田啓一郎 (1976) : 牛の無発情または発情微弱に対するプロスタグランディンF_{2α}の卵巣内直接注射による発情誘発試験の成績について. 北獣会誌, **20**, 21~24.
- 10) MENGE, A.C., MARES, S.E., TYLER, W.J. and CASIDA, L.E. (1962) : Variation and association among postpartum reproduction and production characteristics in Holstein Friesian cattle. *J. Dairy Sci.*, **45**, 233.
- 11) 森純一 (1978) : 牛におけるゴナドトロピンならびにゴナドトロピン放出ホルモンの動態, 山内亮編, 家畜繁殖学—最近の歩み— 東京, 文永堂, 21~38.
- 12) 内藤元男・正田陽一 (1957) : 牛の繁殖性に関する遺伝的要因, 家畜繁殖研究会編, 家畜繁殖学—最近の歩み— 東京, 文永堂, 106~118.
- 13) 中原達夫 (1976) : 家畜繁殖領域におけるProstaglandinの応用, 日獣会誌, **29**, 51~58.
- 14) NAKAO, T. (1980) : Practical procedure for enzyme immunoassay of progesterone in bovine serum. *Acta Endocrinol.*, **93**(投稿中).
- 15) NAKAO, T., KAWATA, K. and NUMATA, Y. (1979) : Therapeutic effects of an analog of luteinizing hormone-releasing hormone (Des-Glg¹⁰-LH-RH-ethylamide) on cows with cystic ovaries. *Jap. J. vet. Sci.*, **42**(投稿中).
- 16) NAKAO, T., KAWATA, K., NUMATA, Y. and IINUMA, M. (1979) : The use of analog of prostaglandin F_{2α}(ONO-1052) in cows with luteinized ovarian cysts following treatment with an analog of luteinizing hormone-releasing hormone(TAP-031) and/or polyvinyl pyrrolidone-iodine solution. *Jap. J. vet. Sci.*, **42**(投稿中).
- 17) NAKAO, T., TSURUBAYASHI, M., HORIUCHI S., NOMURA, T., ISHIBASHI, Y., KUBO, M. and KAWATA, K. (1979) : Effect of a systematic application of human chorionic gonadotropin-releasing hormone analog and bovine anterior pituitary gonadotropin in cows with cystic ovarian disease. *Theriogenology*, **11**, 385~897.
- 18) 大沼秀男, 内田正博, 袴田新一, 坂田正次, 太田襄二 (1978) : Prostaglandin F_{2α} analog(ONO-1052) 2回筋肉内注射による牛の発情同期化. 第86回獣医学会講演要旨, 127.
- 19) 小野斉 (1978) : 牛の副腎皮質機能と卵巣疾患, 山内亮編, 家畜繁殖学—最近の歩み— 東京, 文永堂, 487~500.
- 20) ROWSON, L.E.A. (1971) : Production of twins in cattle by egg transfer. *J. Reprod.*,

Fertil., 25, 261~268.

- 21) 菅徹行(1977): Prostaglandin による牛の分娩誘発, 家畜繁殖誌, 23. xvi~xx,
- 22) 杉江信(1978): 家畜の授精卵移植, 山内亮編, 家畜繁殖学—最近の歩み— 東京, 文永堂, 365~385.
- 23) 高橋芳幸, 工藤茂, 中野省三, 菊池克憲, 堀田仁一, (1979): ウン受精卵移植方法の比較, 第88回獣医学会講演要旨, 213.
- 24) 山内亮(1978): 牛の卵巣疾患のホルモン治療に関する2, 3の問題, 山内亮編, 家畜繁殖学—最近の歩み— 東京, 文永堂, 465~485.
- 25) ZEROBIN, K., JOCHLE, W. and STEINGRUBER, C. (1973): Termination of pregnancy with prostaglandin E₂(PGE₂ α) and F₂ α (PGF₂ α) in cattle. Prostaglandins, 4, 891~901.