

めん羊における日長調節ならびに メラトニン給与による季節外繁殖誘起

太田克明・石川靖之・堀 聖美・斉藤 治*
信州大学農学部 動物生産利用学講座・附属農場*

Alteration of Timing of Reproductive Onset in Ewes by Photoperiodic Control and Melatonin Feeding

Katuaki ÔTA, Yasuyuki ISHIKAWA, Kiyomi HORI and Osamu SAITO*
Laboratory of Animal Science and Research Farm*,
Faculty of Agriculture, Shinshu University

Summary

As trials to control artificially the breeding season of ewes, effects of the change in daylength and the melatonin feeding on the induction of estrus and ovulation were investigated. In the 1st experiment, started in March, 2 each of Suffolk gimmers and ewes were fed under the long day lighting condition (16L-8D) for 4 weeks and then under the short day (10L-14D) for 5 weeks, and cohabitation with rams was started from the 5th week. Feeding with melatonin in the 2nd experiment was started at the end of April and lasted for 10 weeks in 5 ewes. The hormone (4 mg/day/head), dissolved in ethanol and sprayed to a small amount of pellet for calf, was given at 2-3 p.m. everyday. The hormone was also given to rams from the 4th week of experiment and they were cohabited with ewes from the 7th week and after. Plasma progesterone level was monitored to check the occurrence of ovulation. Alteration of lighting condition employed here could neither provoke estrus nor affect the timing of the onset of breeding season. The duration of short day treatment might be too short to get a successful result. Melatonin feeding hastened clearly the recurrence of estrous cycle in ewes. All ewes began to mate with rams even during the period of hormone feeding, late June-early July, and 4 of them conceived in July. The average date of fertile mating was the 11th of July, about two and half months earlier than that in normal ewes kept in the neighboring district.

(Jour. Fac. Agric. Shinshu Univ. 31 : 35-44, 1994)

Keywords : daylength, melatonin, breeding season, ewe

緒 言

近年におけるラム肉を中心とする羊肉需要の急激な増加にもかかわらず、我国におけるめん羊飼養は非常に少なく、冷涼な気候と豊かな植生に恵まれた長野県の高地でもその普及は遅々たるものである。その原因の一つとして、めん羊が季節繁殖動物であるため羊肉の通年供給が困難なことがあげられる。ことに現在の長野県にあっては、羊肉の生産は観光と結びついた地場産業として夏季にその需要が最も増すが、出産期が2～4月のため、4ヶ月ラムはともかく、6～7ヶ月ラム、9～10ヶ月ラムのいずれの出荷も需要期から大きく外れる。この点からも、めん羊の周年繁殖化技術の確立は産業的に大きな意味をもつ。

めん羊における季節外繁殖誘起のため従来行われてきた方法としては、短日処理、黄体ホルモン/性腺刺激ホルモン処理、メラトニン処理の3種がある。このうち最も広く行われてきたのは黄体ホルモンと性腺刺激ホルモンの併用による発情誘起法であり、実績も少なくない^{1,2)}。しかし、もともと外因性のホルモンによる強制的な排卵誘起のため異常多胎を来たし易く、さらに事後に卵巣機能異常をもたらす懸念があるほか、ことに非繁殖季においては、受胎率が正常繁殖季のそれをかなり下回るなど、難点も多い³⁾。また、ホルモン投与のための膻スポンジ挿入・除去、注射など獣医師による処置が、さらにそのために動物の捕獲、保定が必要なことや、処理対象が雌のみに限られ雄生殖機能の季節的变化に対する対策が別に必要なことなども実用化に当たって問題になる。

舎飼条件のもとでの短日処理による発情誘起は古くから行われ、かなり確実な効果があるとされる。しかし、相当長期にわたる処理を必要とするうえ、舎飼に伴う労力、畜舎冷房などの問題があり、実用性は乏しいとされてきた。だが、長野県の高冷地などでは冬季厳寒期に舎飼をするところも多く、こうしたところでは畜舎冷房の必要はない。日長による繁殖季節の調節に関しては、光不応の形成で説明されることが多い。動物をある光周期下で長く飼育すると、一定期間後にその光周期に対する反応性を失うと言う現象である。めん羊の場合で言えば、夏から秋にかけての短日周期に反応して性腺活動が開始するものの繁殖季節終了の頃には短日周期に対する光不応状態が成立する、そして、春になり日長周期が長日になるとこの不応状態が解除され、動物はあらためて夏以後の短日に反応出来るようになると言う^{4,5)}。それならば正常繁殖季節の終わった後、一旦長日条件を与えて人為的に光不応状態を解除し、その後あらためて短日処理を施すならば、比較的短期間の処理でも発情誘起が可能ではないかと思われる。

めん羊における秋季発情発来の機構として、夏以降の日長減少、すなわち暗期の増大が、松果体からのメラトニンの分泌時間の延長をもたらし、これが引き金となって脳-下垂体-性腺軸の活性化が始まり発情発来に至ることが明らかにされてきた^{6,7)}。以来、この機構を利用した同ホルモン投与による季節外発情誘起の試みが国内外で行われ好成績を得始めている⁸⁾。メラトニン自体には毒性も、また生体リズムの調節に関わる以外目立った生理作用もないため過剰投与による副作用の心配がなく、また外因性のホルモンを使用せず動物自体の生殖内分泌機構を基盤とするため異常多胎、繁殖障害誘発などの恐れもまずない、雌雄同時処理も可能である。投与方法としては、注射のほか、ホルモン充填カプセルの皮下植え込み、餌、水

への混合による経口投与など種々試されている。欧米，オーストラリアなどでは既に実用化の段階に至っているとされるが，我国の場合，薬事法により動物医薬としてのメラトニンの使用が規制されていることもあって，まだ試行例も少なく基礎データも十分でない。

こうした状況から，本研究ではめん羊における季節外発情・排卵誘起の手段として，春季からの長日・短日処理およびメラトニン処理を行い，その効果を確かめることとした。メラトニンの投与方法としては将来における実用性を考慮し経口投与方法を採用した。

材料及び方法

1. 動物および飼養管理

本学農場飼養のサフォーク種めん羊成雌9頭，成雄2頭を用いた（表1）。

実験2に用いた経産羊5頭はすべて産後51～61日のもので，分娩翌日に子が死亡した1例（No. 148）を除き他は実験開始時になお哺育中であったが，その後1ヶ月以内に子を離した。

使用動物はいずれも運動場付き畜舎に飼養，青刈コーンサイレージおよびチモシー乾草を朝（8：30～9：30），夕（15：00～16：00）2回給与し，鈹塩，水とともに自由摂取させた。同居時以外，雌雄は同一畜舎内の隣接した畜房に分けられた。

2. 実験日程

(1) 実験1：日長処理実験 雌4頭（未経産2頭，経産2頭）を使用。実験用畜舎として畜房の一つをベニヤ板で囲って完全遮蔽した上，蛍光灯を動物の目の高さで約100ルクスの照度になるよう設置し，タイムスイッチにより日長を調節した。明期で照明の必要がないときは窓および運動場出入口を開放し自然光を入れた。

3月16日までは自然光条件で飼養，この日より16時間明（4時点灯）—8時間暗の長日条件として4週間飼養した。4月13日，実験第5週よりは，10時間明（7時点灯）—14時間暗

表1 実験使用動物一覧

	実験	個体番号	年齢(生年月日)	産歴	体重(kg)
雌	実験 1 (日長処理)	202	1 (1992- 4-20)	0	32.3
		203	4 (1989- 5-14)	0	39.2
		205	4 (1989- 5-14)	2	72.2
		209	3 (1989-12- 2)*	2	53.0
	実験 2 (メラトニン給与)	37	2 (1991- 2-21)	2	50.4
		144	6 (1987- 3- 5)	6	90.2
		148	6 (1987- 4- 1)	2	78.0
		201	2 (1991- 3- 2)	2	55.0
		207	6 (1987- 3- 2)	6	71.8
	雄		180	5 (1987-11- 7)*	—
		181	4 (1989- 5-11)	—	81.6

* 性腺刺激ホルモン/プロゲステロン投与による季節外発情・排卵誘起により受胎

の短日条件に切り替え、以後5週間同条件におき、その後、5月18日に自然光条件に戻した。短日処理4週経過の時点から雄を導入、以後2頭の雄の1頭を1週交替で雌と同居させた。なお、これら雄は実験2と共用したため、5月21日以降はメラトニン結与を受けた。短日期間終了後は自然光条件下で6週間、6月29日まで(実験期間総計15週)飼養し、その後、雌雄ともに放牧場に移した。

(2) 実験2:メラトニン給与実験 雌5頭(経産5頭)を使用。飼養はすべて自然光条件下である。

4月30日より10週間、7月8日までメラトニンを投与した。メラトニン(Sigma Chem.)は1日1頭分4mgをエタノール5mlに溶解、哺育子牛用ペレット(日本配合飼料)100gに噴霧し乾燥させたものを、期間中毎日14時から15時の間に給与した。給与4週目よりは雄2頭にも同様投与を行い、7週目(6月11日)以降、それらを1週交替で1頭ずつ雌群内に導入した。7月8日でメラトニン投与を停止し、以後8月6日まで4週間そのまま畜舎で飼養(実験期間総計14週)、以後雌雄ともに放牧場に移した。

3. その他実験処理

実験1では長日処理期間、実験2ではメラトニン給与第5週まで週1回、以降は週2回、午後(13:00-15:00)頸静脈より採血、ヘマトクリット、血漿グルコース濃度測定のほか、血漿プロジェステロン(P)濃度測定用試料とした。血漿グルコース濃度は市販キット(グルコースCIIテストワコー:和光純薬)による酵素法により、P濃度はラジオイムノアッセイにより測定した。

雌群導入の雄にはマーキング・ハーネスを装着し、雌腰部へのクレヨン付着程度が山内(1993)⁹⁾の分類3以上の場合を交尾成立とみなした。同一個体で複数回の交尾があり、かつ受胎した場合は出産日より逆算し、 147 ± 7 日前の期間内に行われた交尾を受胎交尾とし、さらに同期間で交尾が繰り返された場合は、より後の日に行われた交尾を受胎交尾とみなした。

9月28日、10月7日、同13日の3回にわたり超音波映像診断(リニア電子走査型HITA-CHI・EUB-26、日立製作所)を行い、全頭について受胎の有無を確認した。

結 果

実験1、2ともに舎飼期間中は全般に体重は下降気味で、15または14週間に2~5%、多いものでは12%までの体重減少がみられた(図1、2)。ヘマトクリット、血漿グルコース濃度は、実験2で用いた2頭(Nos. 37, 201)で実験開始4~5週までやや異常な低値、高値がそれぞれみられたが、ほかは全頭、全期間を通じほぼ一定の範囲内にあり、健康状態はまず良好に保たれた。異常値を示した2頭も実験第5週に駆虫を行った後、グルコース濃度は急激に、ヘマトクリット値もやや徐々にではあるが他と同範囲に入るようになった。

1. 実験 1

短日処理第5週の雄導入日(5月11日)当日の夕刻に1頭、3日後(5月14日)に1頭、いずれも経産個体で腰部に不完全なマーキングが認められた。しかし、その後は放牧期になるまでマーキング、交尾行動とも一度もみられなかった。血漿P濃度は、4頭全例とも、上

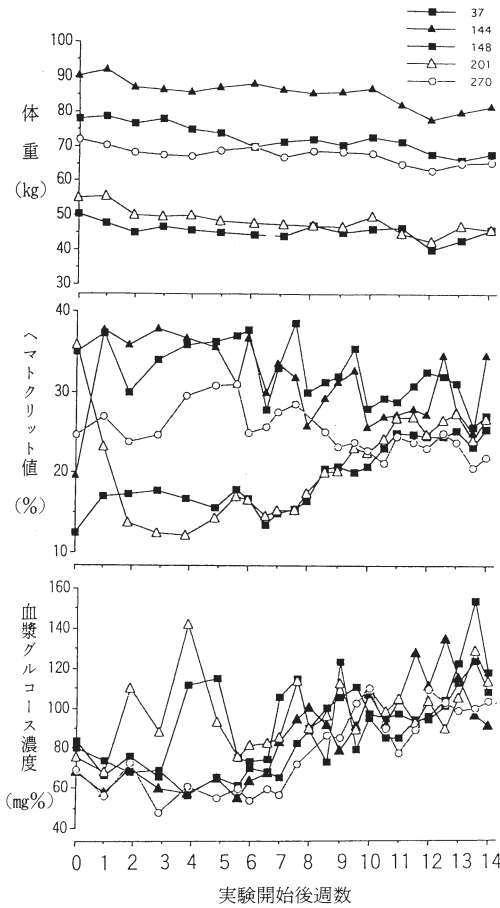


図1 実験期間内における個体別体重，ヘマトクリット値および血漿グルコース濃度の推移（実験1）

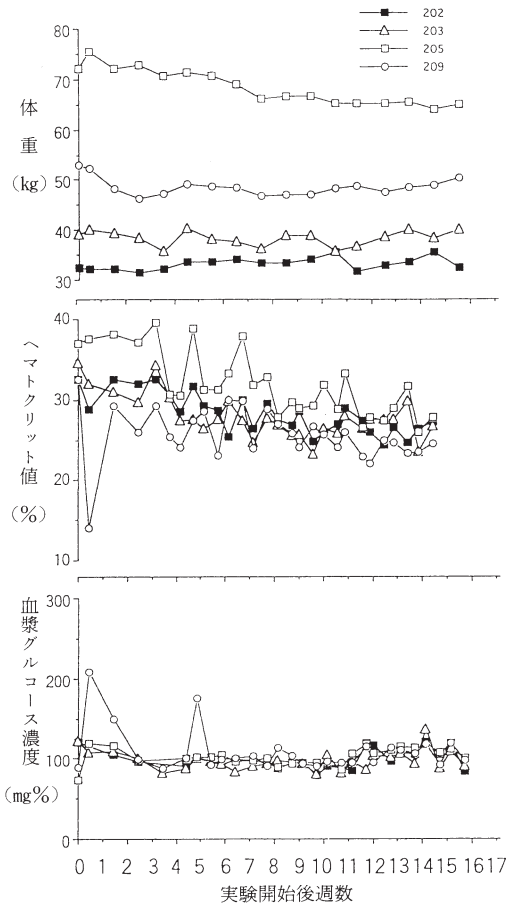


図2 実験期間内における個体別体重，ヘマトクリット値および血漿グルコース濃度の推移（実験2）

記マーキングの有無に関わりなく，実験期間15週を通じて低値を続け，大幅な変動はなかった（図3）。

実験期間が終了放牧に出して1ヶ月以上経過した7月下旬から8月上旬にかけて，前記経産2頭では再び山内の分類1，2のマーキングがみられるようになった。ことに8月6日の1例は3に近いマーキングであり，雄の乗駕行動も目撃され，交尾成立を十分疑わせるものであった。その後，8月下旬になりこれら2頭はいずれも明確に交尾し，10月の超音波映像診断でも受胎が確認された。これらは，本年1月，妊娠期間148,150日で各1頭の子を出産した。

未経産2頭のうち1頭では10月に交尾が確認されたが受胎せず，1頭では観察し得た全期間を通じ交尾は1度も起こらなかった。

2. 実験 2

メラトニン給与期間，舎飼観察期間およびその後の放牧期を通じ，使用した5頭全頭で総

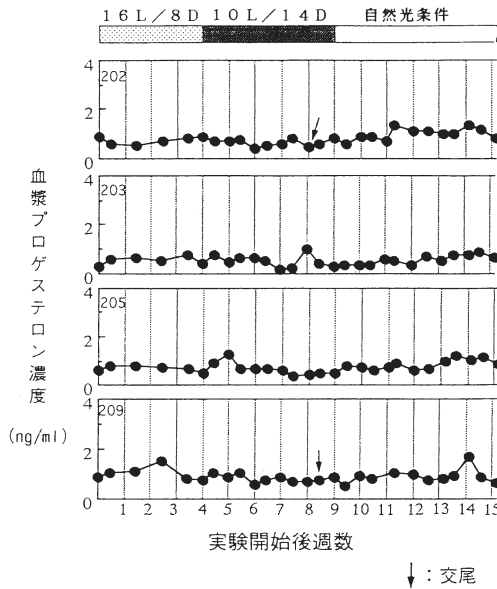


図3 日長処理実験(実験1)期間内における
個体別血漿プロゲステロン濃度の推移なら
びに交尾記録

日長処理は3月16日開始。図中の黒丸は
実測値、白丸は4.0ng/ml以上または0.05
ng/ml以下の値を示す。

計11回の交尾が観察された。とくにメラト
ニン給与の第8週から10週(6月24日~7月
4日)の間で全頭で初回交尾がみられ、その平
均は7月1日、メラトニン給与開始から数え

て 61.6 ± 4.7 (標準偏差)日目であった。1頭はこの初回交尾で、1頭は翌日の再交尾で受
胎、2頭は初回交尾後17および23日後の次回発情で再び交尾し受胎した。これら4頭の受胎
交尾日の平均は7月11日、メラトニン給与開始から 73.0 ± 9.4 日目であった。残り1頭は初
回交尾後、6日、さらに20日後と交尾を繰り返したが受胎に至らず、その後は交尾行動がみ
られなかった。受胎した4頭のうち3頭は1子を11月下旬~12月上旬の間に(妊娠期間146,
147日)、1頭は雌雄2子を12月中旬(妊娠期間149日)に出産した。

実験2での個体別血漿P濃度の推移および交尾日を図4に示す。交尾後すぐに血漿P値の
上昇が起こらなかったケースが2頭(Nos. 37, 201)で3回、逆に血漿Pの上昇はあってもそれに先立って交尾のみられなかったケースが3頭(Nos. 144, 148, 270)で各1回認められた。なお、交尾後P濃度が著しい高値を示しているにもかかわらず、交尾が観察されたケースが2件(Nos. 144, 270)あり、しかもうち1件(No. 144)では出産日からの逆算でこの時の交尾を受胎交尾とみなさざるを得なかった。交尾は繰り返したが受胎に至らな

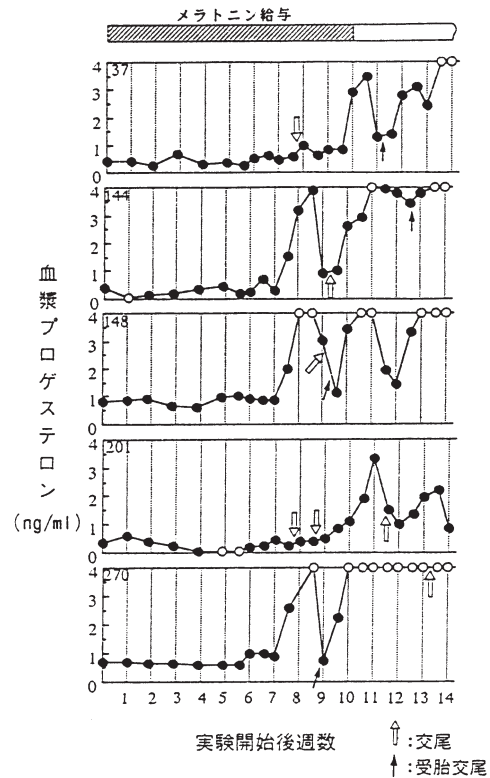


図4 メラトニン給与実験(実験2)期間内
における個体別血漿プロゲステロン濃度の
推移ならびに交尾記録

メラトニン給与は4月30日開始。図中の
黒丸は実測値、白丸は4.0ng/ml以上また
は0.05ng/ml以下の値を示す。

った1頭 (No. 201) では、他4頭の場合ほど、交尾に続く血漿P濃度の上昇が顕著でなかった。

考 察

本実験では使用動物頭数、畜舎設備などの事情から実験1, 2ともに対照群を設けることが出来なかった。そのため、これに代わるものとして、長野県畜産試験場 (塩尻市片丘) より過去16年間にわたる同場飼養サフォーク種めん羊の分娩記録を借り受け、これから同種における平均妊娠日数を147日として逆算し自然交配条件下での受胎交配日データとした (図5)。同場であれば当農学部と地理的にも近く、標高をはじめ気候風土的にもほぼ似た条件にあるとみなされ、そこでのデータは本実験結果に対する対照として十分利用できるものと思われる。同データによれば総計77例における受胎交尾日の平均は9月25日 (±24.5日) であり、これにくらべれば今回実験2で得られた受胎交尾日の平均、7月11日 (±9.4) は明らかに早いと言ってよい ($P < 0.001$)。また、平均値を中心としたバラツキも小さくなる傾向がみられた ($P < 0.1$)。これだけの結果ではまだ、メラトニン給与により発情・排卵が誘起されたとまでは結論し難い。しかし、少なくとも発情季節の到来を早めたとは言ってよいだろう。本実験では、メラトニン給与開始が4月30日と晩春期まで遅れ、おそらくそのためであろうが、自然交配時の受胎交尾日最早例と観察例の間に明確なギャップを得るまでには

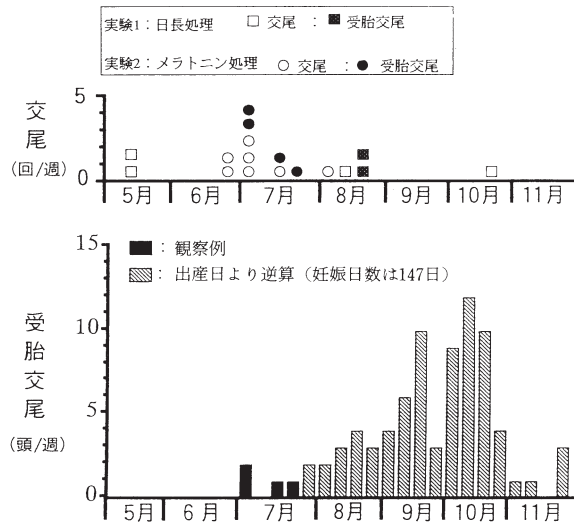


図5 サフォーク種めん羊における交尾および受胎交尾日の月別分布
 上段：観察例 (実験1, 2) における交尾および受胎交尾日分布,
 下段：観察例 (実験2) および自然条件飼養下正常めん羊における
 受胎交尾日分布。正常めん羊のデータは、長野県畜産試験場
 飼養羊の分娩記録 (n=77) より、妊娠日数147日として逆
 算し求めたもの

至らなかつた。冬季ないし早春からの給与開始の場合どのような結果が得られるか、なお確かめる必要がある。本実験ではメラトニン給与は10週間、70日継続したが、発情、排卵の誘起は7~8週で既に始まっていた。給与期間をいまだ少し短縮することも可能と思われるが、ただ、この点には給与開始の時期や雄処理の問題も絡むと思われ、なお今後の検討が必要である。

交尾記録と血漿P測定結果を併せ見たとき、受胎に至る交尾成立に先立って無排卵性発情あるいは無発情性排卵がかなりの頻度で起こっていると思われる結果が得られた。しかし、これがメラトニン給与により特に多発したものか、自然状態でも繁殖季節到来時には普通に見られる現象かは、照合すべきデータがなく、現段階ではいずれとも言い難い。ただ、いずれの動物種でも、性腺活動開始から完全な発情周期の確立に至るまでの性成熟過程では発情、排卵の一方を欠く不完全な周期が現れることは珍しくない。とくにメラトニン給与と関連するものとは思えない。

長日処理による光不応状態からの脱却とその後の短日処理による季節外発情・排卵の誘起を狙った実験1の結果は期待を裏切るものであった。5月の雄導入直後にみられた不完全なマーキングが果たして雌の発情を示したものであるかどうかはわからない。しかし、仮にこれらが発情を示したものであったとしても、それがその後排卵を伴うものでなかつたことは血漿P濃度測定結果からみても明らかである。一方、7月後半から始まった不完全な交尾行動の方は、8月下旬で明確な受胎交尾が起こった以上、その前触れと言うべきであろう。しかし、この時期まで来れば、対照データからもわかるように、自然状態で発情、排卵が起こっても不思議はなく、これを日長処理の影響とみることは到底できない。

光周期の調節実験では用いた光の照度や波長が時に問題になる。しかし、本実験で用いた照度100ルクスは、めん羊でのこれまでの同種実験^{4,5,10,11)}で用いられている50~350ルクスに比してとくに低いとは言えない。また、いずれの実験も光源として一般的な蛍光灯を使用しており、波長の点でも相違はない。やはり、長日、短日各期間における明期、暗期の長さ、あるいは長日、短日期間の長さ、のいずれか、ないし両者の不足が不成功の原因と思われる。北海道滝川畜産試験場の草刈は、冬季から本実験と同様な長日4週、短日5週の光処理を経産羊5頭に対して行い全例で発情誘起、受胎に成功している(私信)。ただ、彼の場合、長日は18L-6D、短日は13L-11Dと、とくに長日における明期が長い。本実験と同様な長日16L-8D、短日10L-14Dの条件はJacksonら¹⁰⁾が用いている。彼らは冬至から始め30または60日間長日条件で飼育、その後短日に移したが、長日30日群では6頭中5頭、60日群では6頭全例で、短日に移行してから約60日後に発情の回復がみられたと言う。また、Kennawayら¹¹⁾は、日照時間を最長16時間から最短8時間の間で半年周期で徐々に変更する実験、および16L-8D、8L-16Dの長日、短日条件を3カ月ごとに繰り返す実験を行い、前者の場合は最大長日から、後者の場合は長日終了から、いずれも80~90日後に発情の回復を見たと言う。これらの結果とくらべると、本実験の場合、4週28日の長日処理はともかく、5週35日の短日処理は余りに短か過ぎたと思われる。せめて後1ヶ月短日処理を続ければ6月中・下旬での発情、排卵誘起が出来たかも知れない。また、敢えて短期処理を目指すならば、本実験で使用したより、より強い長日、短日条件の設定を考慮する必要がある。

要 約

めん羊における繁殖季節の人為的統御の一法として、日長変更およびメラトニン給与の季節外発情・排卵誘起効果を調べた。第1実験は3月に開始、サフォーク種成雌未經産、経産各2頭を最初4週間16時間明、8時間暗の長日条件で、次いで5週間10時間明、14時間暗の短日条件で飼育した。実験第5週より雄と同居させた。第2実験は経産5頭を用いて4月末より始め、4 mg/頭/日のメラトニンをアルコール溶液にし子牛用ペレットに噴霧したものを、10週の間、毎日午後2～3時に給与した。第4週以後同様給与を雄にも行い第7週以後雌雄を同居させた。排卵、発情周期回帰のチェックは血漿プロジェステロン定量により行った。

第1実験の長日/短日処理では発情・排卵の誘起ないし同回帰の促進はみられなかった。短日処理の期間が短か過ぎたためではないかと思われる。

メラトニン給与実験では発情周期回帰の明らかな促進がみられた。全頭で6月下旬～7月上旬のホルモン給与期間中から既に発情、交尾行動が始まり、うち4頭は7月中旬に受胎した。受胎交尾日の平均は7月11日で、この日付は近隣地域で飼養される正常雌めん羊の受胎交尾日平均より約2ヶ月半早い。

キーワード：日長，メラトニン，繁殖季節，雌めん羊

謝 辞

本実験の実施に当たり農場内諸設備使用の便宜を与えられたうえ、実験進行中も種々ご援助、ご協力を頂いた本学部附属農場長 有馬 博教授ならびに同場職員各位に深く感謝の意を表す。本実験でのラジオイムノアッセイによる血漿プロジェステロン濃度測定は、名古屋大学農学部動物生殖制御学教室 前多敬一郎助教授により行われたものである。厚く御礼申し上げる。

長野県畜産試験場には同場飼養めん羊の分娩記録の借覧を快くお許し頂き、また、その整理、解析に当たっては同場酪農部研究員 井出忠彦氏に多大のご協力を頂いた。獣医師 山内節夫氏には超音波映像診断装置の貸与を頂いた。併せて厚く御礼申し上げる。

文 献

1. 福井 豊：「めん羊の繁殖技術」，東京農業大学出版会，東京，1989.
2. 登内徳一郎・関川 堅・清水康博：めん羊の周年繁殖の実用化試験. 1. ホルモン処理によるめん羊の季節外繁殖について，長野県畜産課「肉めん羊の周年繁殖実用化事業」試験報告，pp. 1-12, 1990.
3. 北海道立滝川畜産試験場：めん羊における2年3回繁殖技術に関する試験，平成元年度北海道農業試験会議成績会議資料，pp. 1-20, 1990.
4. Almeida, F. O. X. and Lincoln, G. A: Reproductive photorefractoriness in rams and

- accompanying changes in the patterns of melatonin and prolactin secretion, *Biol. Reprod.*, **30**, 143-158, 1984.
5. Karsch, F. J., Robinson, J. E., Woodfill, G. J. I. and Brown, M. B. : Circannual cycles of luteinizing hormone and prolactin secretion in ewes during prolonged exposure to a fixed photoperiod : evidence for an endogenous reproductive rhythm, *Biol. Reprod.*, **41**, 1034-1046, 1989.
 6. Karsch, F. J., Bittman, E. L., Foster, D. L., Goodman, R. K., Legan, S. J. and Robinson, J. E. : Neuroendocrine basis of seasonal reproduction, *Recent Progr. Horm. Res.*, **40**, 185-232, 1984.
 7. 森 裕司・前多敬一郎 : 季節繁殖の内分泌機構, *家畜繁殖誌*, **33**, 1P-10P, 1987.
 8. Kusakari, N., Tajima, Y., Itoh, S., Sen'na, K., Serikawa, S., Hatta, T., Ohara, N. and Mori, Y. : Diurnal changes in plasma melatonin and the timing of reproductive onset in anestrus sheep fed melatonin, *J. Vet. Med. Sci.*, **53**, 457-461, 1991.
 9. 山内和律 : マーキング・ハーネスの使い方と交配の確認, *シーブ・ジャパン*, **7**, 9-12, 1993.
 10. Jackson, G. L., Gibson, M. and Kuehl, D. : Photoperiodic disruption of photorefractoriness in the ewe, *Biol. Reprod.*, **38**, 127-134, 1988.
 11. Kennaway, D. J., Sanford, L. M., Godfrey, B. and Friesen, H. G. : Patterns of progesterone, melatonin and prolactin secretion in ewes maintained in four different photoperiods, *J. Endocr.*, **97**, 229-242, 1983.