

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月17日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2011

課題番号：20580306

研究課題名（和文） 東南アジアのホットスポットに生息する希少動物の生息域外保全に関する研究

研究課題名（英文） Studies on *ex-situ* conservation of endangered animals in the biodiversity hotspots of in Southeast Asia area

研究代表者

土井 守 (DOI OSAMU)

岐阜大学・応用生物科学部・教授

研究者番号：60180212

研究成果の概要（和文）：東南アジアに生息する希少動物種を飼育している日本各地の動物園と共同して、23種の動物種の繁殖生理を内分泌学的に解明し、これらのモニタリングの結果から繁殖適期を把握した交配と動物園間での個体の移動（ブリーディングローン）の実施、交配適期における人工授精、雌雄からの配偶子の採取と凍結保存を実施した。本研究の結果、東南アジアに生息する希少動物種の保護・保全（生息域外保全）活動に貢献できる知見をほぼ得ることができた。

研究成果の概要（英文）：The feasibility of using endocrinological technology for imaging reproductive physiology of 23 species of endangered animals in Southeast Asia area reared in several Japanese zoos was studied. Furthermore, after due consideration of these monitoring data the copulation and the individual movement (breeding loan) between zoos were executed, and the methods of artificial insemination at the appropriate timing of copulation and the freezing preservation of many collected gametes in males and females were studied. These findings to contribute to preservation and conservation activity in endangered animals of Southeast Asia area were almost obtained in this study.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：動物繁殖生理学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学・応用動物科学

キーワード：応用動物、動物保全、ホットスポット、希少動物、生息域外保全、ステロイドホルモン

## 1. 研究開始当初の背景

ホットスポットとは、「地球規模での生物多様性が高いにも関わらず、破壊の危機に瀕している地域」のことである。東南アジア地域では、インドネシア、フィリピン、中国南

部と中部山岳地帯、カンボジアなど9地域も指定されており、世界のホットスポットの中で最も深刻化している地域であるといわれている。これらの地域に生息している絶滅の危険性が高い動物種の例として、スマトラ

ラ、アジアゾウ、スマトラサイ、ウンピョウ、オランウータンなどが挙げられているが、いずれの種も緊急に保全対策を講じなければ絶滅する危険性が極めて高いと考えられる。世界で最も生物多様性が失われつつある東南アジア地域に生息する希少動物種を保全するためには、まず自然環境の保護・保全が重要であるが、各国の政治的状態が、これまで各地の自然環境保全活動に大きな障害となり支障を与え続けてきた。そこでこれらの希少動物種を絶滅から救うためには、生息地以外の場所で希少動物の保全を行う「生息域外保全」対策を行うことが重要となり、将来生息地に復帰させることができる希少動物の数を生息地以外の場所で確保することが急務と考えた。

## 2. 研究の目的

現在、日本国内の動物園では東南アジアに生息する希少動物を飼育しているが、それらの繁殖（出産）は決して多く成功しているとはいえない状況である。しかし、これらの動物個体を用いて繁殖生理を解明して個体数を増やすことは、国際的な希少動物の保護・保全活動、すなわち「生息域外保全」対策に貢献するため大きな意義がある。そこで、本研究では、日本の動物園で飼育されている東南アジアに生息する希少動物種の繁殖生理とモニタリング、さらには配偶子保存技術の開発と実施を目的とした。

## 3. 研究の方法

東南アジアに生息する希少動物種を飼育している日本各地の動物園と共同して、それらの動物種について、1) 発情周期や妊娠期間などにおける繁殖モニタリングと排泄物中のホルモン代謝物の定性、2) 1) のモニタリングの結果から繁殖適期を把握した交配と動物園間での個体の移動（ブリーディングローン）の実施、3) 交配適期における人工授精、4) 雌雄からの配偶子の採取と凍結保存を行った。なお、各々の動物種によって飼育されている動物園での研究実施体制が異なるため、適宜実施可能な園から繁殖モニタリングを開始した。

酵素免疫測定法により糞中の性ステロイドホルモン含量の動態を調査して、雌雄の繁殖生理を把握し、さらに各々の繁殖生理状態に排泄されるホルモン代謝物を高速液体クロマトグラフィーにより定性した。また一方で、調査期間中に死亡した雄では精巢上体および精管、雌では卵巣を摘出し、雄では精巢上体尾に貯留する精子を精管側から灌流法により、雌では卵巣卵胞から切開洗い出し法により卵母細胞を回収した。回収した精子と卵母細胞は定法に準じて性状の分析と記録を行い、良好と判定されたもののみを、近縁

の家畜種や実験動物種の方法に準じて凍結保存を行った。

## 4. 研究成果

研究対象にした動物種は、(アジア)ゾウ、サイ（インドサイ、クロサイ、シロサイ）、ネコ科動物（アムールトラ、ユキヒョウ、ペルシャヒョウ、ツシマヤマネコ、チーター、霊長類（オランウータン、キンシコウ、スローリス、フランソワルトン、ダスキールトン、シロテテナガザル、ニシゴリラ）、マレーバク、コツメカワウソ、アカワウソ、アジアスイギュウ、ローランドアノア、マンダース（移入種）、ハイイロオオカミの計23種であった。研究を着手した当初では、アジアゾウ、オランウータン、サイ、スマトラトラを含むネコ科動物7種について行う予定であったが、動物園などからの強い要望があり、より多くの動物種を対象とした。

研究対象とした動物種のうち、アジアゾウ、サイ（インドサイ、クロサイ、シロサイ）、ネコ科動物（アムールトラ、ツシマヤマネコ、ユキヒョウ、ペルシャヒョウ、チーター）、シンリンオオカミ、霊長類（キンシコウ、ゴリラ）については、長期間繁殖生理をモニタリングすることが可能であったため、各々の種特有の発情周期、繁殖季節や繁殖様式、妊娠を確認することができた。

すなわち、本研究で判明した各々の動物種の発情周期は以下の通りであった。

動物種	発情周期
アジアゾウ	15.3±0.2 週間
インドサイ	47.4±3.2 日間 (ほぼ不明確)
クロサイ	21 日間
シロサイ	不明確
アムールトラ	39.5±2.6 日間
ツシマヤマネコ	黄体期: 43~56 日間 (交尾排卵)
ユキヒョウ	38.9±10.8 日間
ペルシャヒョウ	36.8±10.7 日間
チーター	黄体期: 48.7±5.5 日間 (交尾排卵)
シンリンオオカミ	91 日間
キンシコウ	27.5 日間
ニシゴリラ	27.2±0.2 日間

また、本研究期間中に妊娠し出産した種の妊娠期間は、クロサイでは436、458、474日間、アムールトラでは106.0±1.5日間、ツシマヤマネコでは63.7±1.8日間、チーターでは92.8±0.4日間、キンシコウでは249日間であった。

これらの結果を飼育現場である動物園と

データを共有して、交配、人工授精、ブリーディングローンが可能な動物園から実施し、移動前後の環境の変化が個体に与える影響について、ストレス指標となる糞中のコルチゾール含量の動態を検討した。その結果、個体や移動環境により与えるストレスの度合いが異なることは判明したが、詳細については解明できなかった。

また、スローロリス、フランソワルトン、ダスキールトン、シロテテナガザル、ボルネオオランウータン、コツメカワウソ、ユーラシアカワウソ、ビロードカワウソ、マレーバク、アジアスイギュウ、ローランドアノアおよびアジアゾウの12種20個体（雄雌各10頭）が死亡し、このうち高齢の雌雄各1頭のビロードカワウソとアジアゾウ以外の16例から配偶子が回収でき、それらの性状を調べて不良と判定されたスローロリス、ダスキールトン、ボルネオオランウータン、コツメカワウソ、マレーバクおよびローランドアノアの卵母細胞を除く配偶子を凍結保存した。

#### 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計5件）

- ① 楠田哲士、足立 樹、下川優紀、吉崎友紀、土井 守、ツシマヤマネコを含むネコ科動物の繁殖生理に関する研究、JVM 獣医畜産新報、査読有、65(3)、2012、199-203、<http://www.buneido-syuppan.com/jvm1203.pdf>
  - ② Adachi I, Kusuda S, Kawai H, Ohazama M, Taniguchi A, Kondo N, Yoshihara M, Okuda R, Ishikawa T, Kanda I, Doi O, Fecal progesterone to detect and monitor pregnancy in captive female cheetahs (*Acinonyx jubatus*), J Reprod Dev., 査読有, 57(2), 2011, 262-266, DOI:10.1262/jrd.10-057T
  - ③ Kusuda S, Hosono O, Nakaya Y, Ogura G, Oshiro S, Takara J, Matsuda A, Doi O, Nagamine T, Murata K. Induced estrus in female small Asian mongooses (*Herpestes javanicus*) for the purpose of controlling invasive alien species in Okinawa Island, Mammal Study, 査読有, 35(3), 2010, 217-219, DOI: 10.3106/041.035.0308
  - ④ Adachi I, Kusuda S, Nagao E, Taira Y, Asano M, Tsubota T, Doi O, Fecal steroid metabolites and reproductive monitoring in female Tsushima leopard cat (*Prionailurus bengalensis euptilurus*), Theriogenology, 査読有, 74, 2010, 1499-1503, DOI:10.1016/j.theriogenology.2010.04.031
- 〔学会発表〕（計20件）
- ① 楠田哲士、足立 樹、下川優紀、吉崎友紀、土井 守、ツシマヤマネコを含むネコ科動物の繁殖生理に関する研究、公開シンポジウム「ツシマヤマネコにおける域外保全の科学」プログラム、2011年11月26日、日獣大
  - ② 楠田哲士、前野あゆみ、椎名 修、毛利 靖、横島雅一、乙津和歌、田島日出男、土井 守、川上茂久、ゾウの排卵日特定のための犬用LH検出キットの有用性の検討、第19回希少動物人工繁殖研究会議、2011年7月6-7日、姫路市
  - ③ 足立 樹、楠田哲士、皆川 至、川上茂久、大峽 芽、堀 達也、筒井敏彦、高坂哲也、土井 守、チーターの血中リラキシン測定による妊娠判定の有用性、第19回希少動物人工繁殖研究会議、2011年7月6-7日、姫路市
  - ④ Adachi I, Kusuda S, Ohazama M, Taniguchi A, Kondo N, Yoshihara M, Okuda R, Ishikawa T, Kanda I, Doi O. 2010. Fecal Progesterone Measurement to Detect and Monitor Pregnancy in Female Cheetahs (*Acinonyx jubatus*). Kyoto University International Symposium. Biodiversity, Zoos and Aquariums: "The Message from Animals", 2010年9月19日、名古屋市
  - ⑤ Matsuda A, Matsuda T, Adachi I, Maezono Y, Nakao T, Saito E, Kawakami S, Doi O, Kusuda S. 2010. Pregnancy and Pseudo-pregnancy in Wolves and Tigers: Pregnancy Diagnosis Based on the Profiles of Fecal Progesterone. Kyoto University International Symposium. Biodiversity, Zoos and Aquariums: "The Message from Animals", 2010年9月19日、名古屋市
  - ⑥ 前園優子、井本雅之、松井 睦、中尾建子、松田朋香、松田綾乃、足立 樹、楠田哲士、土井 守、アムールトラの繁殖生理状態と妊娠・出産について、第18回希少動物人工繁殖研究会議、2010年6月10-11日、静岡市

- ⑦楠比呂志、佐藤英雄、小泉純一、恩田英治、死体からの配偶子の回収状況について(2009~2010)、第18回希少動物人工繁殖研究会議、2010年6月10-11日、静岡市
- ⑧楠田哲士、松田朋香、足立 樹、土井 守、非侵襲的内分泌モニタリング法を用いたトラの排卵様式の解明と妊娠判定の有用性、第102回日本繁殖生物学会大会、2009年9月10-11日、近畿大学
- ⑨何 学貴、鈴木晶子、楠田哲士、土井 守、高橋秀明、内藤仁美、橋川 央、飼育下キンシコウの繁殖生理と繁殖の季節性について、第15回日本野生動物医学会大会、2009年9月5-6日、富山市
- ⑩足立 樹、中川千穂、川井ひとみ、奥田龍太、芹沢昭一、石川達也、茂木朋美、谷口敦、清水泰輔、近藤奈津子、松井由紀子、吉原正人、池辺祐介、佐藤 梓、楠田哲士、土井 守、チーターのブリーディングローンが繁殖機能に与える影響、第17回希少動物人工繁殖研究会議、2009年6月11-12日、姫路市
- ⑪松田朋香、楠田哲士、奥田龍太、関根潤一、西尾砂美、半澤紗由里、武田太郎、土井 守、糞中の性ステロイドホルモン動態からみたアムールトラの繁殖季節について、第17回希少動物人工繁殖研究会議、2009年6月11-12日、姫路市
- ⑫山村裕美、佐々木春菜、太田貴樹、川根孝子、稲田早香、木下こづえ、荒蒔祐輔、楠比呂志、小泉純一、恩田英治、死体からの配偶子の回収状況について(2008~2009)、第17回希少動物人工繁殖研究会議、2009年6月11-12日、姫路市
- ⑬連 有吾、松浦友貴、毛利 靖、土井 守、楠田哲士、クロサイの導入から受胎(流産)までの経過について、有蹄類研究会第6回会議、2009年2月5-6日、愛媛市
- ⑭鈴木晶子、楠田哲士、渋谷 康、近藤裕治、内藤仁美、橋川 央、土井 守、東山動物園におけるニシゴリラの繁殖にむけた繁殖生理と行動の調査の試み、第11回SAGAシンポジウム、2008年11月15-16日、東京都
- ⑮市丸奈津子、吉原正人、谷口 敦、松井由希子、清水泰輔、奥田龍太、芹沢昭一、石川達也、茂木朋美、足立 樹、楠田哲士、土井 守、チーターの短期相互ブリーディングローンの試み、第16回種保存委員会チーター種別繁殖検討委員会、2008年11月11日、多摩動物公園
- ⑯中田真一、福井大祐、中村亮平、坂東 元、小菅正夫、永野昌志、松井基純、坂元秀行、山本秀明、志村良治、藤本 智、楠田哲士、土井 守、高橋芳幸、中野 行、鈴木 実、清水隆幸、宮本大生、南 昌次、阿部 豪、橋本眞明、坂東 元、小菅正夫、アムール

トラの人工採精について、第56回動物園技術者研究会、2008年10月22-24日、多摩動物公園

- ⑰松田朋香、楠田哲士、足立 樹、宮越 聡、毛利 靖、福井利一、内藤仁美、橋川 央、土井 守、ヒョウの繁殖生理と糞中の性ステロイドホルモン代謝物の定性に関する研究、第14回日本野生動物医学会大会、2008年9月3-7日、神戸大学
- ⑱市丸奈津子、吉原正人、谷口 敦、松井由希子、清水泰輔、奥田龍太、芹沢昭一、石川達也、茂木朋美、足立 樹、楠田哲士、土井 守、チーターの短期相互ブリーディングローンの試み、第16回希少動物人工繁殖研究会議、2008年7月1-2日、北九州市
- ⑲楠田哲士、松田朋香、足立 樹、大峽 芽、横江美幸、宇佐美 均、西村裕之、中田真一、福井大祐、川上茂久、土井 守、トラの排卵様式と発情周期について、第16回希少動物人工繁殖研究会議、2008年7月1-2日、北九州市
- ⑳連 有吾、松浦友貴、毛利 靖、土井 守、楠田哲士、クロサイの導入から受胎(流産)までの経過について、第16回希少動物人工繁殖研究会議、2008年7月1-2日、北九州市

〔図書〕(計0件)

該当なし

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www1.gifu-u.ac.jp/~doi/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

土井 守 (DOI OSAMU)  
岐阜大学・応用生物科学部・教授  
研究者番号：60180212

(2) 研究分担者

楠 比呂志 (KUSUNOKI HIROSHI)  
神戸大学・農学研究科・准教授  
研究者番号：30211882

(3) 連携研究者

楠田 哲士 (KUSUDA SATOSHI)  
岐阜大学・応用生物科学部・助教  
研究者番号：20507628