

御蔵島のミナミバンドウイルカにおける糞中ステロイドホルモン測定法の確立に関する研究

宮迫真代¹⁾・渡辺元²⁾・田谷一善²⁾

1) 愛知県名古屋市長住, masayo.miyasako@gmail.com

2) 東京農工大学農学部獣医学科獣医生理学研究室, 〒183-0057 東京都府中市晴見町 3-8-1

1. 緒言

バンドウイルカの概要

バンドウイルカ (*Tursiops sp.*) はハクジラ亜目マイルカ科に属し、ほとんどの熱帯、亜熱帯、温帯の沿岸海域に生息している (粕谷ら, 1997)。バンドウイルカの寿命は長く、雌では 50 年以上、雄では 40 年以上生きると言われている (Hohn *et al.*, 1989; Wells and Scott, 1999)。バンドウイルカは比較的大型で吻が短いバンドウイルカ (*tursiops truncatus*) と、比較的小型で吻が長く、成長すると腹部に斑点が現れるミナミバンドウイルカ (*tursiops aduncus*) の 2 種が存在するが、御蔵島周辺海域で観察されるバンドウイルカは、DNA 解析によりミナミバンドウイルカであることが確認されている (Wang *et al.*, 1999; Kakuda *et al.*, 2002)。

性成熟は、雌で 5~13 歳 (Mann *et al.*, 2000)、雄で推定 8~13 歳 (Wells *et al.*, 1987) である。雌は 12 ヶ月の妊娠期間 (Schroeder and Keller, 1990) の後、1 頭の子を出産し、子は数年間にわたって母親に依存する (Mann *et al.*, 1999)。雌の最年少初産年齢は、オーストラリアのシャーク湾では 12 歳 (Mann *et al.*, 1999) 御蔵島では 9 歳 (御蔵島バンドウイルカ研究会, 2003) である。平均出産間隔はシャーク湾で 4~6 年 (Mann *et al.*, 2000)、御蔵島では 3.4 年 (Kogi *et al.*, 2004) である。

雌の繁殖生理

周期的なホルモン変動があり、排卵、着床および交尾行動といった繁殖に関する現象が見られることは、イルカにおいても他の哺乳類と同様である。ラジオイムノアッセイ法により今日では微量な血液試料を使って、雄雌のイルカの繁殖状況を把握できる。飼育下の歯クジラ類においては経時的に血液を採取し、血中ホルモン濃度を測定することにより繁殖のモニタリングが行われている (Sawyer-Steffan and

Kirby, 1980; Kirby and Ridgway, 1981)。それにより、雌のバンドウイルカ (*tursiops truncatus*) ではプロジェステロンは春から秋 (3~10月) にかけて、約 30 日を周期とする規則的な上昇を 2~7 回繰り返すことが明らかとなった (Ridgway 1984; Yoshioka *et al.*, 1986; Schroeder, 1990; Schroeder and Keller, 1990)。また、飼育個体と野生個体における妊娠中あるいはその前後の血中プロジェステロン濃度とその変動から、鯨類においても他の哺乳類と同様に、妊娠中、高濃度のプロジェステロンが持続的に分泌されることが明らかになった。そして、この高レベルのプロジェステロンは、分娩に伴って急激に低下することも判明した。このことから、血中プロジェステロン濃度の測定を飼育鯨類の早期妊娠診断法として応用することが可能であることが報告されている (吉岡, 1991)。

雄の繁殖生理

鯨類の雄の繁殖活動についての研究では、これまで性成熟の判定基準の決定をめぐって主に議論がなされ、それをもとに性成熟体長や性成熟年齢が求められてきた (Lockyer, 1984; Perrin and Reilly, 1984)。また、成熟個体における繁殖活動の季節性については、精巣重量や精子形成段階の季節変動を見ることによって検討されている。その結果、精巣重量に大きな季節変化が見られる種類はいくつかあるものの、精子形成の見られない季節が組織学的に確認された種類はごくわずかしか知られていない (Perrin and Donovan, 1984)。また、これらの研究はいずれも捕獲試料を用いた個体群レベルでの論議であり、個々の雄個体が年間を通じて同じレベルで繁殖活動を行っているか否かは明らかでない。

テストステロンは、哺乳類の雄において、精巣中での精子形成を刺激する最も主要な性ステロイドホルモンである。これまでに、この末梢血中濃度をモニターすることにより、多くの動物で精巣活動の季節性やその有無が明らかにされている (Levasseur and Thibault, 1980; Pepler and Stone, 1981; 和, 1982; 稲葉ら, 1985)。イルカ類については、Harrison and Ridgway (1971) が、バンドウイルカの血中に、ヒトとほぼ同じ濃度のテストステロンが存在していることを初めて報告している。こうしたことから、鯨類でも精巣活動の季節性を調べるには、このホルモンの変化をひとつの指標とすることが有効な手段であると考えられる。

吉岡 (1991) は、飼育イルカの血中テストステロン濃度の季節変動をとらえることにより、個体レベルで精巣活動の季節性を検討した。それによると、血中テストステロン濃度は1-2月期には比較的低値であるが、春の3-4月期に急激に上昇し、その高値はほぼ夏の7-8月期まで維持され、9-10月期になって低下した。そして、11-12月期も低い値のままであった。このことから、オスでは血漿テストステロンと精子濃度は春から秋にかけて季節的な上昇を示すと推察された (Schroeder and Keller, 1989)。

糞中性ステロイドホルモン測定法

採血して血中のホルモンの量や変動を知る事により、生物の体内の状態を知ることができ、生態や行動を理解する上で重要な情報となる。しかし、実験動物や家畜・家禽以外の動物からの採血には多くの困難と問題がある。野生の動物では捕獲に必要な許可を得るなどの手続きが必要である。また、捕獲に際しては罠などの捕獲装置あるいは催眠剤などの薬品を必要とし、技術的にも困難が伴う。更に、捕獲の際のケガやストレスによるショックなども懸念され、ホルモンの濃度にも影響を及ぼす可能性がある（佐藤ら，1998）。

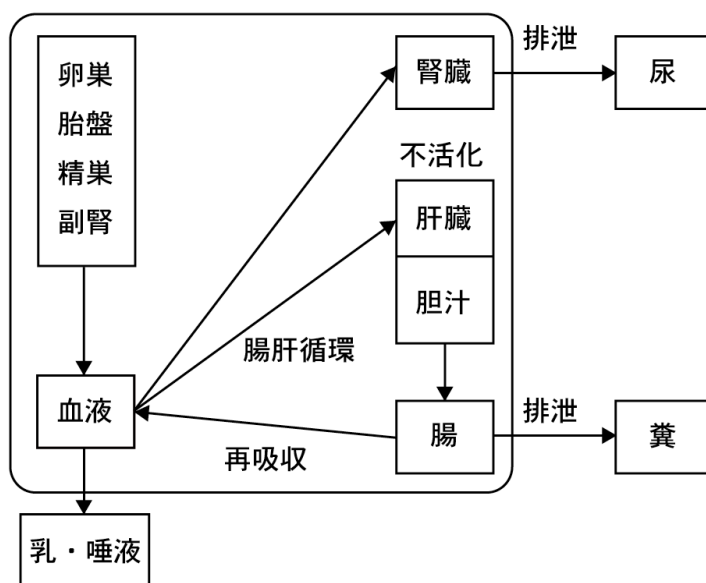


図 1. ステロイドホルモンの産生・代謝・排出に関わる器官とその経路 (Schwarzenbergerら を一部改定)

そこで、多くの野生動物において非侵襲的な方法として血液に代わり糞からステロイドホルモンを測定する方法が確立され、内分泌状態を調べる方法として用いられている (Massimo et al, 2003)。卵巢や胎盤などで産生されたホルモンは、標的器官に作用した後に代謝され、図 1 のような経路で主に肝臓や腎臓でグルクロン酸抱合あるいは硫酸抱合化されて、糞あるいは尿へと排泄されると言われている (Schwarzenberger et al., 1997)。従って、これらの排泄物中に含まれるホルモンあるいはその代謝物の量を測定することで血中の性ホルモン濃度の動態を推測できるものと考えられる。海洋哺乳類においてもトド (Kathleen et al., 2004; Kendall and Shannon, 2004) やマナティー (Iskande, 2000) において糞中ホルモンを測定する研究が行われている。

研究の目的

飼育下では個体ごとの長期的なモニタリングが可能であるため一個体に起こる生理現象を捉えるのに適しているが、飼育頭数に限界があるため、ホルモン濃度が社

会関係や行動とどう関係するのか研究することは困難である。社会性のある歯クジラ類においては、様々な行動を理解する上で、野生下での内分泌状態を調べることが重要であると思われるが、非侵襲的に血液をサンプリングすることが困難なことから、生存する野生のイルカからは、ほとんど調べられていないのが現状である。

本研究では、御蔵島周辺海域に生息する野生のミナミバンドウイルカ個体群を対象に、水中で排泄された糞を採取し、糞中のプロジェステロン、テストステロン濃度を測定することで個体の内分泌状態を調べ、繁殖状態を知ることが目的とした。

2. 材料および方法

御蔵島（北緯 33 度 52 分, 東経 139 度 36 分）は、東京都伊豆諸島に属し、東京から南南西約 200km の場所に位置する、周囲 16.92km、面積 20.58km² の島である。本島は黒潮の流路上に位置しており、周りは世界有数の海食崖に囲まれている。海は透明度が高く、海岸から 150m 付近までは水深最大 20m 程度で、調査は海岸から約 300m 以内の範囲で行った。調査期間は、2004 年 7 月 31 日－9 月 27 日であった。

群れ・性・年齢グループの定義

イルカの“群れ”の定義は、小木（2001）に従い、「すべての個体が完全に同じでなくても、ほぼ同じ移動方向で、同じ行動状態にあり、明白な共同関係が見られるイルカの集団」とした。

御蔵島バンドウイルカ研究会で使用した定義に基づき、映像による生殖孔の形状の違いによって識別個体の雌雄を判別した。また、腹部の斑点の有無、体長、体色、行動の特徴などから、オトナ、ワカモノ、コドモ、当歳時の 4 つの年齢グループに便宜的に区分した（Kogi *et al.*, 2004）。

本研究ではこの性・年齢の定義に従ったほか、0～10 歳で年齢が判明している場合にはその年齢を、10 歳以上の場合は 1994 年時点での年齢グループを目安に最低年齢を算出し、使用した。

調査方法

1) 船上観察

御蔵島の北西にある栈橋からイルカウォッチング船で出港し、海岸線から約 300 m の範囲で航行し、イルカの群れを探索した。イルカを発見したらウォッチング船上からイルカを観察し、発見場所・行動・頭数等を記録した。

2) 水中観察

その後船頭の指示に従いシュノーケルで入水し、水中でイルカが接近するまで待機した。イルカが接近したら、水中ビデオカメラでヒレの欠けや体の傷を中心に一頭一頭撮影した。また水中で目視による群れの個体識別、子の有無、行動の観察等を行い、船上に戻った際に記録した。

3) 糞の採取と保管

糞をした個体がいたらその個体を追跡し、個体識別を行いながら撮影した。糞はくるぶし丈のストッキングで採取し、すぐに海水を切ってサンプル管に入れ、個体及び採取時間を記録した。船上に戻ったらサンプル管は保冷剤の入ったクーラーボックスに保管した。その後、再度同じ群れに接近するか、あるいは別の群れを探索して、同様の手順と方法を約2時間繰り返した。調査後、ストッキングから糞を掻き出しアシストチューブに入れ、家庭用冷蔵庫の冷凍室（約-20℃）で保管した。

個体識別

水中で撮影した映像をもとに、群れごとに個体識別を行った。個体識別には、2002年、2003年の御蔵島バンドウイルカ研究会の水中ビデオ映像と各個体の全身の特徴をスケッチした個体シートを用いて、主としてヒレの欠けや傷などの natural mark との照合を行った。類似個体が見つかった場合、過去の映像との照合を行い、原則的に3つ以上の natural mark が一致した場合は同一個体とした。性別は生殖孔の映像もしくは直接観察により決定した。

採取糞から測定用試料の調製

- 1) 研究室に戻った後、アシストチューブは蓋を取って凍結乾燥機の専用フラスコに入れ、凍結乾燥機で48時間吸引乾燥させた。
- 2) 糞からのステロイドホルモン抽出法は楠田(2003)のメタノール抽出法を一部改変して行った。乾燥させた糞は重量を測定し、2 mlのアシストチューブに入れた。
- 3) 80%エタノール 1.6 ml を加え30分間攪拌し、ステロイドホルモンを抽出した。
- 4) 4℃下 1700g で10分間遠心分離して上清を別のアシストチューブにとりラジオイムノアッセイ測定用試料とし、アッセイまで-20℃で保管した。

ラジオイムノアッセイ (RIA) による糞中性ステロイドホルモンの測定

テストステロンおよびプロジェステロン濃度は、田谷ら(1985)の方法で測定した。ジエチルエーテルによる1回抽出法を用いて測定し、第一抗体として G. D. Niswender 博士 (Colorado State University, Fort Collins, CO, USA) から供与された抗プロジェステロン血清 [GDN#337, (Gibori et al, 1977)]、および抗テストステロン血清 [GDN#250, (Gay et al, 1978)] を使用した。

標識抗原はそれぞれ progesterone-11 α - glucurconide-[¹²⁵I]iodohistamine (IM140, Amasham Pharmacia Biotec co. LTD, Tokyo)、および testosterone-3-(0-carboxymethyl)oximino-82-[¹²⁵I]oxiamino-(2-[¹²⁵I]iodohistamine) (IM128, Amasham Pharmacia Biotec co. LTD, Tokyo) を用いた。第2抗体として、抗ヒツジγグロブリンロバ血清 (AB220K) を使用した。測定値は乾燥糞 1g あたりに補正し比較検討した。アッセイ内およびアッセイ間変動は、それぞれ、テストステロンは 6.5% および 7.2%、プロジェステロンは 9.5% および 16.4% であった。

統計処理

結果は、全て平均値±標準誤差で示した。2群間の比較を行う場合、まず両群の正規性を検討した。両群共に正規分布している場合はF検定を行い、 p 値 ≥ 0.05 ならばt検定、 p 値 < 0.05 ならばWelchのt検定を行った。両群あるいはどちらか一方の群が正規分布をしていない場合は、Mann-WhitneyのU検定を行った。いずれの検定においても、 p 値 < 0.05 で有意差があると判断した。

3. 結果

調査努力量および識別個体数と糞サンプル

本研究の調査は、2004年7月31日—9月27日のうち調査日数43日、調査回数81回、ビデオ撮影時間582.3分であった。撮影した映像をもとに、過去の研究会の調査結果も参考にして、個体識別を行った。その結果オトナオス18頭、ワカモノオス53頭、オトナメス35頭、ワカモノメス19頭、コドモ32頭を個体識別した。本研究では以上の156頭を調査対象とした。

糞サンプルは、115個を採取した。115個のうち個体識別できたものは63個であった。採取した糞重量は0.6 mgから94.9 mgの範囲であり平均 15.8 ± 2.1 mgであった。

糞中性ステロイドホルモンのRIA法の評価

糞サンプルから80%エタノールでテストステロンとプロジェステロンを抽出し、適当な濃度に希釈した抽出試料におけるテストステロンとプロジェステロン標準曲線との平行性試験の結果を図2に示した。抽出試料における用量反応曲線(●)とテストステロンおよびプロジェステロン標準曲線(○)との間には平行性が認められた。これにより本アッセイ系でミナミバンドウイルカの糞中テストステロンおよびプロジェステロン濃度を測定することが可能であると判断した。

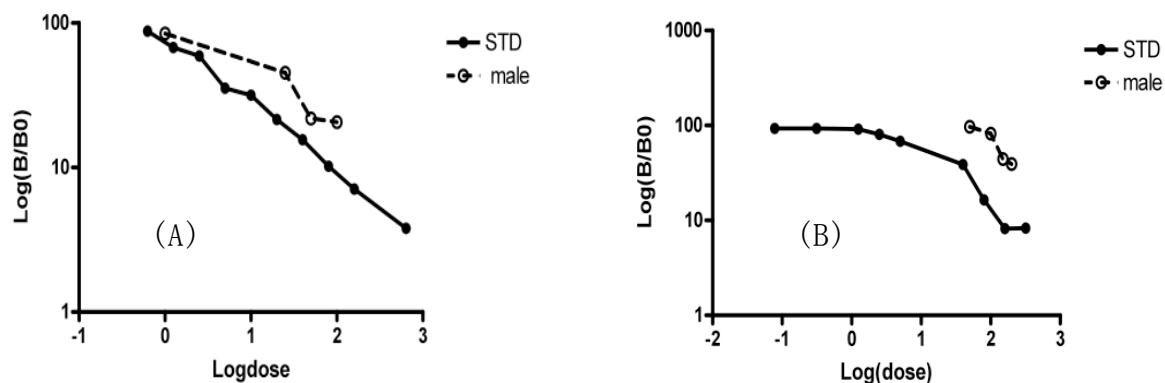


図2. RIAを用いた用量反応曲線 (A)テストステロン(B)プロジェステロン

テストステロン値

1) 性別テストステロン値

糞中テストステロン値は雄で $19913.40 \pm 3084.83 \text{pg}$ 、雌で $18904.55 \pm 4596.99 \text{pg}$ であり、雄の方がやや高かったが、有意差は見られなかった（図 3）。

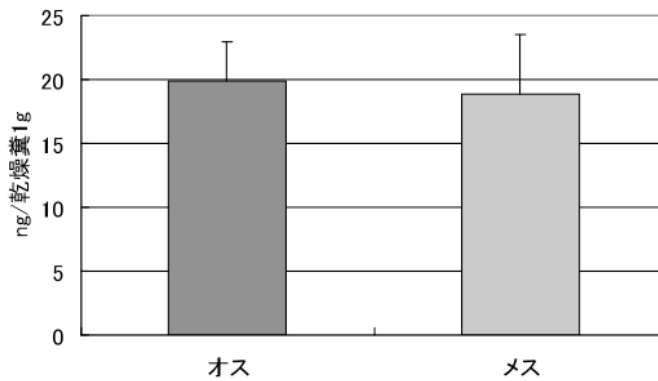


図 3. 性別糞中テストステロン値

2) 年齢別テストステロン値

糞が採取できて個体識別できた雄 18 頭について糞中テストステロン値を比較したところ、オスの最低年齢が 11 歳まででは低い値を示し、13 歳で高くなる傾向が示された。そして、16 歳以上でまた低い値に戻った（図 4）。

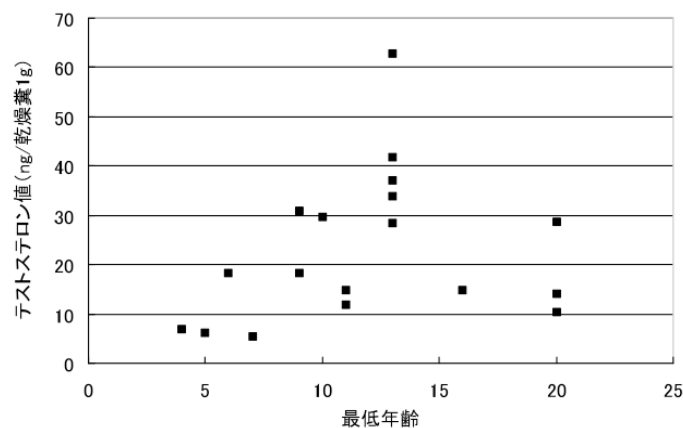


図 4. 雄の年齢別糞中テストステロン値

プロジェステロン値

1) 性別プロジェステロン値

糞中プロジェステロン値は雌で $12975.11 \pm 3225.44 \text{pg}$ 、雄で $18250.36 \pm 4074.38 \text{pg}$ であり、雄の方が高かったが、有意差は見られなかった（図 5）。

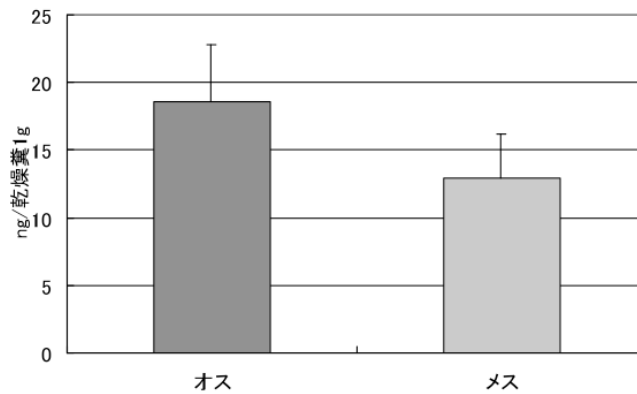


図 5. 性別糞中プロジェステロン値

2) 年齢別プロジェステロン値

糞が採取できて個体識別できた雌 24 頭について糞中プロジェステロン値を比較したところ、雌の最低年齢とは明らかな相関が見られなかった。しかしながら、最低年齢 6 歳で 1 個体、18 歳で 1 個体高い値を示すものがいた (図 6)。

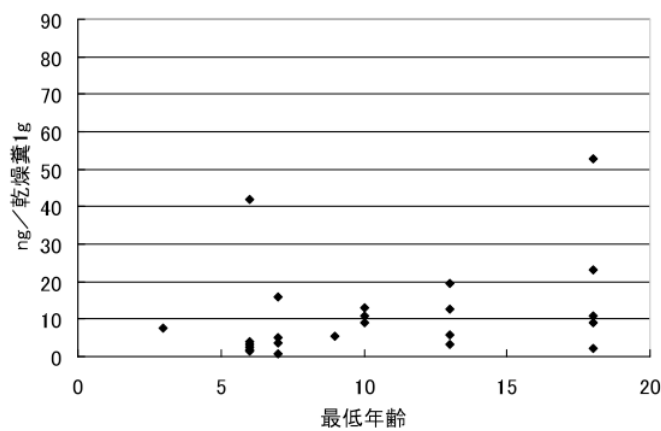


図. 6 雌の年齢別糞中プロジェステロン値

4. 考察

4-1 個体識別

御蔵島のミナミバンドウイルカ個体群は、研究会によって 1994 年から 2003 年までの 10 年間、7 月から 9 月にかけて、御蔵島沿岸 300m 以内で観察され、個体識別調査が行われてきた (Kogi *et al.*, 2004)。2003 年までは個体を映像で照合する際にビデオテープを用いていたが、2004 年には、映像ソフト premiere を用いて個体ごとに映像を抜き出した 2002 年と 2003 年の映像集を用いた。また、新しい個体ごとの映像も映像集に随時追加して、個体識別作業を行った。それにより、従来の方

法と比較して格段に速やかに照合の作業が行えるようになった。

4-2 糞中性ステロイドホルモンの測定

平行性試験

平行性試験の結果抽出試料における用量反応曲線とテストステロンおよびプロジェステロン標準曲線との間には平行性がみられた。これにより、測定試料の適正な希釈濃度を算出した。すなわち、測定用試料をRIAに200 μ lずつの量で使用した。

テストステロン値

1) 性別テストステロン値

性別糞中テストステロン値は、有意差はなかったが雌よりも雄で高い傾向が見られた。本海域での雌雄の判別は生殖孔の直接観察によるが、生殖孔が観察できなかったり、他海域で生殖孔の観察が困難であったりした場合の雌雄判別法として、糞中テストステロン値の高低で判別できる可能性が示された。

2) 雄の年齢別テストステロン値

雄の年齢別糞中テストステロン値は最低年齢11歳までは低い値を示し、13歳で高くなる傾向が示された。そして16歳以上でまた低い値に戻った。テストステロンは、哺乳類の雄において、精巣中での精子形成を刺激する最も主要な性ステロイドである。バンドウイルカの性成熟は雄で推定8~13歳(Wells *et al.*, 1987)であるが、この結果より、御蔵島のミナミバンドウイルカは13歳前後で繁殖能力が高くなる可能性が示唆された。しかし、今後、より正確な性成熟年齢を調べるためには、サンプルの数や量を増やし、より多くの個体で糞中テストステロン値を調べ比較する必要があると思われる。

プロジェステロン値

1) 性別プロジェステロン値

性別糞中プロジェステロン値は雌よりも雄で高い傾向が見られた。プロジェステロンは一般に黄体ホルモンと呼ばれ、プレグネノロンから生成されるステロイドホルモンである。雌では卵巣と胎盤から分泌され黄体機能や妊娠に深く関っており、その90%程度が結合蛋白と結合している。プロジェステロンは子宮内膜と子宮筋に作用し、妊娠の維持を行うホルモンである。そのため、雄よりも雌で高くなると予測されたが、逆の傾向が見られたことは、雄でも雌と同程度、糞中にプロジェステロンが分泌されている可能性が示唆された。よって、今回採取したサンプルでは、糞中プロジェステロン値で雌雄を判別するのは不可能であることがわかった。

2) メスの年齢別プロジェステロン値

雌の年齢別プロジェステロン値は、年齢とは明らかな相関が見られなかった。プロジェステロンは、バンドウイルカにおいて春から秋(3~10月)にかけて、約30

日を周期とする規則的な上昇を2~7回繰り返すことがわかっている。そのため、年齢が高ければプロゲステロン値が高くなるのではなく、性周期の中でちょうど上昇した場合や、妊娠している場合に高くなるものと思われる。御蔵島周辺海域に生息する雌のミナミバンドウイルカは4月から10月にかけて出産することが確認されている。バンドウイルカの妊娠期間は約12ヶ月（Schroeder and Keller, 1990）であることから、交尾期と出産期が重なっている。そのため、本研究の調査期間である7月31日から9月27日は繁殖期であり、妊娠個体がいるものと推測される。そして妊娠個体の糞中プロゲステロン濃度は高くなっていると予測される。しかし、残念ながら2005年に出産が確認されたオトナメスは9頭いたが（高縄私信）、いずれの糞も採取できていなかったため、本研究では妊娠診断が可能かどうかはわからなかった。

4-3 本研究の成果と今後の課題

本研究によって、野生のミナミバンドウイルカの微量な糞からテストステロンとプロゲステロンが測定できることが明らかとなった。また、糞中テストステロン値がオスの性成熟の指標として使える可能性があることがわかった。

今後、サンプル数を増やすことで、個体ごとに性成熟の年齢が異なるのか、また、DNAの解析と合わせることで、身体的な性成熟の年齢と、メスと交尾し父親となる年齢が異なるのか、判る可能性がある。

今回は妊娠していると思われるイルカの糞を採取できなかったため、糞中プロゲステロン値が妊娠診断に使えるかどうかわからなかった。今後、妊娠個体がどの位の糞中プロゲステロン値なのか調べ、妊娠個体と非妊娠個体でどの程度の差があるのか比較し、妊娠診断に使えるかどうか検討する必要がある。

イルカの糞は半水溶性であるため排泄された糞を全て回収するのが困難であり、得られた糞もごく僅かであった。そのため測定用試料を作製する際にホルモンの抽出に採取できた糞全量を用い、乾燥糞1gあたりでホルモン値を比較した。その結果一定量の糞からホルモンを抽出する方法と比べ誤差が生じた可能性がある。今後は糞の回収方法を検討し、より多くの糞を回収することが望まれる。それとともに、ホルモン値の補正方法として乾燥重量以外の指標を用いることも検討しなければならない。

今後、糞からストレスホルモンであるコルチゾールの測定法も検討することで、イルカのストレスの評価ができるようになることを期待する。

5. 謝辞

本研究を遂行するにあたり、多大なるご指導ご鞭撻をいただきました、東京農工

大学農学部獣医学科獣医生理学研究室の田谷一善教授、渡辺元助教授に深く感謝するとともに、厚く御礼申し上げます。また、研究及び研究室生活における様々な場面でお世話になった、博士課程の皆様、学部生の先輩方に感謝の意を表します。

御蔵島での調査を遂行するにあたり、調査や生活全般にわたり様々なご支援をいただいた御蔵島村の皆様感謝し、御礼申し上げます。特に、広瀬惣次氏、広瀬小夜子氏、広瀬吉彦氏には調査・生活全てにわたり終始多大なるご支援を頂きました。ここに厚く御礼申し上げます。また、栗本重顕氏、栗本研一氏、栗本道雄氏、菱井徹氏、黒田正道氏には御蔵島で調査を行うにあたり、生活全般にわたり多くの便宜を図っていただき、広瀬信郎氏、加藤啓司氏には快くウォッチング船に乗せていただきました。心より御礼申し上げます。

酒井麻衣氏、小木万布氏には研究を進めるにあたってご指導ご助言を頂きました。正木慶子氏、高縄奈々氏には快くサンプリングに協力していただきました。御蔵島バンドウイルカ研究会には、貴重なデータをお借りしました。原口涼子氏とは、終始励まし合いながら共に卒業研究に取り組んできました。深甚なる感謝の意を表します。

最後に、陰ながら支えてくれた私の家族に深く感謝の意を表します。

6. 引用文献

- Harrison, R. J. and Ridgway, S. H., 1971. Gonadal activity in some bottlenosed dolphins, *Tursiops truncatus*. *J. Zool., London*, 165:355-366.
- Hohn, A. A., Scott, M. D., Wells, R. S., Sweeney, J. C., and Irvine, A. B. 1989. Growth layers in teeth from known-age, free-ranging bottlenose dolphins. *Mar. Mamm. Sci.* 5:315-42.
- Islkande Lieve Vandeveld Larkin, 2000. Reproductive endocrinology of the florida manatee (*Trichechus manatus latirostris*): estrous cycles, seasonal patterns and behavior. University of florida doctoral dissertation
- Kathleen E. H., Andrew W. T. and Samuel K. W. 2004. Validation of a fecal glucocorticoid assay for Steller sea lions (*Eumetopias jubatus*) *Physiology & Behavior.* 80:595-601
- Kogi K., T. Hishii, A. Imamura, T. Iwatani, and K. M. Dudzinski 2004. Demographic parameters of Indo-pacific bottlenose dolphins (*Tursiops aduncus*) around Mikura Island, Japan. *Marine Mammal Science*, 20(3):510-526
- Kendall L. M. and Shannon A. Evaluation of adrenal function in serum and feces of Steller sea lions (*Eumetopias jubatus*): influences of molt, gender,

- sample storage, and age on glucocorticoid metabolism. *General and Comparative Endocrinology*. 136:371-381
- Kirby, V.L., and S.H. Ridgway. 1984. Hormonal evidence for spontaneous ovulation in captive dolphins, *Tursiops truncatus* and *Delphinus delphis*. In Perrin, W.F., R.L. Brownell jr., and D.P. DeMaster, eds., *Reproduction in Whales, Dolphins, and Porpoises*. Rept. Int. Whaling Comm. Spec., Issue 6, Cambridge, U.K., pp. 459-464.
- 楠田哲士 2001, バクの生殖周期と発情判定法に関する研究, 岐阜大学大学院博士論文
- Levasseur, M. C. and Thibault, C., 1980. Reproductive life cycles. Pp.130-149. In: *Reproduction in Farm Animals*, 4th Edition (E. S. E. Hafez, ed.), Lea & Febiger, Philadelphia, 627pp.
- Lockyer, C. H., 1984. Review of ballen whale (Mysticeti) reproduction and implications for management. Rep. Int. whaling Comm. Spec., Issue 6, Cambridge, U. K., pp. 27-50.
- Massimo Bardi, Keiko Shimizu, Gordon M. Barrett, Michael A. Huffman, Silvana M. B., 2003 Differences in the endocrine and behavioral profiles during the peripartum period in macaques. *Physiology & Behavior* 80 (2003) 185-194
- 御蔵島バンドウイルカ研究会 2005, 御蔵島周辺のミナミバンドウイルカ個体識別調査報告書 (1994年~2003年)
- Peppler, R. D. and Stone, S. C., 1981. Annual pattern in plasma testosterone in the male armadillo, *Dasypus novemcinctus*. *Anim. Reprod. Sci.*, 4:49-53
- Perrin, W. F. and Donovan, G. P., 1984. Report of the workshop. Rept. Int. Whaling Comm. Spec., Issue 6, Cambridge, U. K., pp. 1-24.
- Perrin, W. F. and Reilly, S. B., 1984. Reproductive parameters of dolphins and small whales of the family Delphinidae. Rep. Int. whaling Comm. Spec., Issue 6, Cambridge, U. K., pp. 97-133.
- Mann, J., Connor, R. C., Barre, L. M., and Heithaus, M. R. 2000. Female reproductive success in wild bottlenose dolphins (*Tursiops* sp.). : Life history, habitat, provisioning, and group size effects. *Behav. Ecol.* In press.
- Mann, J., and Smuts, B. B. 1999. Behavioral development of wild bottlenose dolphin newborns. *Behaviour* 136:529-66
- M. Sato, H. Sakai, S. Morii, C. Minowa, and M. Shioya. 1998 The study of Endocrinology in Zoo. *動物園研究* Vol. 2 No. 2 (17 - 20)
- Sawyer-Steffns, J. E., and V. L. Kirby. 1980. A study of serum steroid hormone

- levels in captive female bottlenose dolphins, their correlation with reproductive status, and their application to ovulation induction in captivity. Natl. Tech. Info. Serv., PB80-177199
- Schroeder, P. J., and Keller, K. V. 1990. Artificial insemination of bottlenose dolphins. In the bottlenose dolphin, ed. S. Lesterwood and R. R. Reeves. San Diego: Academic Press.
- Schwarzenberger F, Palme R, Bamberg E, and Mostl E. A review of faecal progesterone metabolite analysis for non-invasive monitoring of reproductive function in mammals. Int. J. Mammal. Biol., 62 (Suppl. II), 214-221, 1997
- 田谷一善, 渡辺元, 笹本修司 1985, ^{125}I 標識ホルモンを用いたプロジェステロン、エストラジオール 17β のラジオイムノアッセイについて 家畜繁殖雑誌 31:186-297
- 吉岡基 1991, 鯨類の繁殖生態に関する内分泌学的研究, 東京大学大学院博士論文
- Wells, R. S., Scott, M. D., and Irvine, A. B. 1987, The social structure of free-ranging bottlenose dolphins. In: Current Mammalogy, Vol. 1. (ed. by Genoways, H. H.), pp. 247-305, New York and London, Plenum Press.
- Wells, R. S., and Scott, M. D. 1999. Bottlenose dolphin — *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821) In Handbook of marine mammals, vol. 6, The second book of dolphins and porpoises, ed. S. H. Ridgway and R. Harrison. San Diego: Academic Press.