乳汁中プロジェステロン測定による分娩後の 卵巢機能の回復状況の追跡

守 野 繁・中尾敏彦・角田修男・河田啓一郎
森本龍之助*・村井義郎*

(酪農学園大学 *宗谷地区農業共済組合)

乳牛の経済的能力を十分に発揮させるための理想的な分娩間隔はほぼ 12 カ月とされている¹⁾。そのためには分娩後 80 日ころまでに受胎させなければならないが、農林水産省の昭和 49 年と 50 年の調査報告では、1 年 1 産が達成されている乳牛はわずか 31% にすぎなかったとされている²⁾。

分娩間隔を延長させる要因としては、初回発情および初回人工授精 (AI) の遅れによるものと、発情の回帰が正常でありながら授精しても不受胎の場合があげられる。後者の場合は子宮疾患に起因することが多い³⁾が、前者の場合には分娩後正常な発情が確認されるまでの過程においてさまざまな阻害要因が存在すると考えられる。すなわち、分娩後の卵巢機能の回復に要する日数は、分娩季節、栄養摂取量ならびに泌乳量などにも影響されるが⁴⁻⁶⁾、直接的には初回排卵の遅延および卵巢囊腫の発生⁷⁾などによって大きく左右される。従って分娩後の繁殖機能の回復状況を的確に把握し、異常が認められた場合は早期に治療を行うか、あるいは繁殖障害の発生を未然に防止することが望ましい。しかしながら、野外例では分娩後の繁殖機能の回復状態が詳細に調べられる機会は極めて少なく、また、従来の臨床検査だけで十分にそれを把握することは困難と思われる。そこで、分娩後の繁殖機能の回復状況を的確に診断する簡便で客観的な方法の検討が望まれる。

近年、血中および乳汁中プロジェステロン (P) 濃度の微量測定が可能となり、牛の妊娠診断、繁殖障害の診

Use of direct enzyme immunoassay of milk progesterone for monitoring postpartum ovarian activity in dairy cows.

MORINO, Shigeru, Toshihiko NAKAO, Nobuo TSUNODA, Keiichiro KAWATA, Ryunosuke MORIMOTO* & YOSHIRO MURAI* (Rakunogakuen University School of Veterinary Medicine, Ebetsu, Hokkaido 069-01, *Sarufutsu Veterinary Hospital of Soyachiku Kyosai, Sarufutsu, Hokkaido 098-62)
Japan. J. Anim. Reprod., 30 (2), 1984.

断およびホルモン療法における効果の判定などに応用されている⁷⁻¹⁶⁾。

著者らは、乳汁中 P の測定法として従来の酵素免疫測定法 (EIA) よりも一層応用しやすい有機溶媒による抽出操作を省略した直接法による EIA¹⁷⁾を開発し、これを用いて乳汁中 P を継続的に測定することにより、分娩後の卵巢機能の回復状況を判定しようと試みた。

材料と方法

1. 供試牛

供試牛は北海道宗谷管内 S 町の 17 戸に繋養されているホルスタイン種乳牛で 1982 年 5 月と 6 月に分娩した 38 頭である。供試牛の試験期間中の平均放牧時間は 10.7 時間で、分娩後 70 日までの平均 1 日乳量は約 30.6 kg であった。飼料は青草を主体に乾草、グラスサイレージおよび濃厚飼料からなり、日本飼養標準に基づく TDN 充足率は 87.1%, 平均 DCP 充足率は 124.9% であった。

2. 乳汁採取および P 測定

乳汁サンプルは分娩後 7 日目後から 70 日目まで 1 または 2 日間隔で、朝の搾乳時に 4 乳房のいずれか一つから前搾り乳を各酪農家が採取した。すなわち、予め各農家に必要数のポリスチレンチューブ (75×12 mm) を渡し、採取した乳汁はそのまま農家の冷凍庫に保管し、週 1 回これを回収した。乳汁は 3,000 rpm で 15 分間遠心分離し、上層のクリームと下層の乳泥を除去した。得られた脱脂乳は -20°C に凍結保存し、P 測定直前に解凍して再び 3,000 rpm 15 分間遠心分離し、クリーム層と乳泥を完全に除去した。P は 2 抗体法による EIA により抽出操作を省略して測定した¹⁷⁾。なお、脱脂乳中 P が 1 ng/ml 以上の高値を示す場合を黄体機能を有するものと判定した¹⁸⁾。

3. 直腸検査

分娩後の卵巢の回復状態を知るため分娩後 7 日前後か

ら 70 日目まで週 1 回直腸検査を行った。

4. 分娩後の発情

畜主による分娩後 70 日目までの発情発見観察記録を用いた。

成 績

1. 乳汁中 P 値の変動および直腸検査所見による分娩後卵巢機能の回復状態の分類

乳汁中 P 値を折れ線グラフで表わしその変動を観察した。P 値が 1 ng/ml 以上に増加し、そのまま少なくとも 3 日間高値を持続した場合、排卵が起こり黄体が形成された（卵巢機能が回復した）ものと判定した。また、その後 P 値が低下し、再び上昇して高値を持続した場合、黄体の退行、排卵および黄体形成が正常に行われたものと判定した。

分娩後の P 値の変動パターンは、P 値の上昇の時期とその後の変動により基本的に次の 4 型に分類された（図 1、表 1）。

第 I 型—正常型：P 値の上昇が分娩後 20 日までに認められ、以後正常性周期のパターンを示すもので、38 例中 7 例に認められた。

第 II 型—遅延型：分娩後 20 日までに P 値の上昇が認められないもので、21 例にみられた。

第 III 型—低値周期停止型：P 値の上昇が分娩後 20 日以内に認められるが、その後低値を持続するもので、9 例にみられた。

第 IV 型—高値周期停止型：分娩後 20 日以内に P 値の上昇を認め、次の性周期以後高値を持続するもので、1 例にのみ認められた。

第 II 型または第 III 型に属するもので P 値が 7 日間以上低値を持続した場合は卵巢静止もしくは卵胞嚢腫に罹患していることが考えられるが、P 値のみからはそれ

らの判別が困難なため、直腸検査所見を参照して鑑別を行った。その際、明らかな卵胞および黄体が認められないものおよび直径 2 cm 以下の卵胞が不定期に触知されるが発情を伴わず黄体形成が認められないものを卵巢静止とし、また直径 2 cm 以上の大型卵胞が 1 週間以上に

Fig. 1. Illustrated patterns of milk progesterone profiles in postpartum cows.

Notes: Milk progesterone profiles were classified into 4 types; Type I (normal)—early onset of the cycle followed by normal cycles, Type II (cycle delayed)—onset of the cycle delayed, Type III (cycle ceased with low P)—early onset of the cycle but ceased later with low level of P, and Type IV (cycle ceased with high P)—early onset of the cycle but ceased later with high level of P.

Table 1. Types of postpartum ovarian activity investigated by milk progesterone assay and rectal palpation

	Pattern of milk P profiles	No. of cows	%		Ovarian state	No. of cows	%
Type I	Normal	7	18.4		Normal	7	18.4
Type II	Cycle delayed	21	55.3	Type II-a	Inactive ovary	11	28.9
				Type II-b	Follicular cyst	10	26.3
Type III	Cycle ceased with low P	9	23.7	Type III-a	Inactive ovary	5	13.2
				Type III-b	Follicular cyst	4	10.5
Type IV	Cycle ceased with high P	1	2.6		Persistent corpus luteum	1	2.6
Total		38	100.0			38	99.9

わたって持続して確認されたものを卵胞嚢腫とした。その結果、遅延型では卵巣静止例 (II-a 群) が 11 例および卵胞嚢腫例 (II-b 群) が 10 例認められ、低値停止型では卵巣静止例 (III-a 群) が 5 例および卵胞嚢腫例 (III-b 群) が 4 例認められた (表 1)。

2. 各群の乳汁中 P 値の変動パターンの実例

各群における典型的な例について乳汁中 P 値の変動および発情発現状況を図 2~7 に示した。

第 I 群: 正常回復群の 2 例を図 2 に示した。図 2-① は Cow 20 のもので、分娩後 15 日から 20 日の間に初回の排卵が起こり、その後黄体機能が約 20 日間持続し、初回の性周期の長さがほぼ正常範囲内にあった。次回の周期も正常であった。図 2-② は Cow 22 のもので、分娩後 15 日から 20 日の間に初回の排卵が起こり、その後不十分な黄体機能が約 10 日間持続した後 2 回目の排卵が起きた。正常例 7 頭中、初回性周期が正常周期を示した例が 10 頭、また短発情周期を示した例が 4 頭認められた。

第 II-a 群: 本群の 2 例を図 3 に示した。図 3-① は Cow 33 のもので、P 値が分娩後 45 日から 50 日の間に初めて上昇し、その後正常性周期を経過した。図 3-② は Cow 57 のもので、分娩後 70 日間 P の上昇を認めず、この間直腸検査で不定期的に小卵胞もしくは小黄体と思われるものが触診された例である。

第 II-b 群: 本群の 2 例を図 4 に示した。図 4-① は

Fig. 2. Milk progesterone profiles of cows with normal postpartum ovarian activity (Type I).

Notes: ① Cow 20—Length of the first cycle was normal. ② Cow 22—Length of the first cycle was short. E—Estrus.

Cow 53 のもので、分娩後 52 日までは P 値の上昇が認められず、直腸検査で分娩後 15 日から 39 日まで卵胞嚢腫の存在が確認された。分娩後 55 日前後から P 値が

Fig. 3. Milk progesterone profiles of cows with inactive ovary before the first cycle postpartum (Type II-a).

Notes: ① Cow 33—The first cycle commenced at 47 days postpartum. ② Cow 57—No cyclic activity was observed by 70 days postpartum. E—Estrus.

Fig. 4. Milk progesterone profiles of cows with follicular cysts before the first cycle postpartum (Type II-b).

Notes: ① Cow 53—Spontaneous luteinization of cysts occurred. ② Cow 25—The cysts still remained after HCG treatment. F. Cyst—Follicular cyst.

上昇し、囊腫の黄体化が認められ、分娩後 82 日目に発情が発現し、その際の AI により受胎した例である。図 4-②は Cow 25 のもので、分娩後 70 日目まで P の上昇が一度も認められず、この間、分娩後 22 日目を以降直腸

Fig. 5. Milk progesterone profile of Cow 76 with inactive ovary after the first cycle postpartum (Type III-a).

Note: E—Estrus.

Fig. 6. Milk progesterone profile of Cow 78 with follicular cysts after the first cycle postpartum (Type III-b).

Notes: E—Estrus. F. Cyst—Follicular cyst

Fig. 7. Milk progesterone profile of Cow 38 with persistent corpus luteum after the first cycle postpartum (Type IV).

検査で卵胞囊腫の存続が認められ、HCG 10,000 MU 筋肉内注射にもかかわらず黄体化しなかった例である。

第 III-a 群: 図 5 は Cow 76 のもので、P が分娩後 20 日から 25 日の間に初めて上昇し、約 10 日間黄体機能が持続したが、その後は高値を示さず、直腸検査でも明瞭な黄体も卵胞も確認されないまま経過し、60 日目に初回発情が発現した。

第 III-b 群: 図 6 は Cow 78 のもので、分娩後 25 日前後に初めて P の上昇を認め、以後約 18 日間高値を維持したが、黄体退行後 P の上昇が認められず、直腸検査により卵胞囊腫が確認された。

第 IV 群: 図 7 は Cow 38 のもので分娩後 25 日前後に初めて P の上昇を認め、正常周期を経過したあと、次回周期では P 値が長期間高く持続し、黄体の退行が認められず黄体遺残と診断された。

考 察

近年、ホルモンの微量測定法の急速な進歩にともなって牛における血中および乳汁中 P 濃度を容易に測定できるようになった。このことから、乳牛の分娩後の卵巣機能の回復状況を P 値の増減を指標として追跡することが可能となり、牛の分娩後における P 値の推移には種々のパターンがあることが明らかにされつつある^{9,14,19-23)}。VAN DE WIEL *et al.*²⁴⁾ はこのような分娩後の P 値の変動パターンと臨床検査の結果を分析することによって、分娩後に多発する繁殖障害を的確に診断することができる^{9,14,19-23)}と述べている。著者らも本研究において分娩後の卵巣機能回復過程を牛乳中 P 値の推移から、正常型、遅延型、低値周期停止型および高値周期停止型の 4 種に分類できた。また週 1 回の直腸検査により P 値が長期間低いものに卵巣静止および卵胞囊腫などの異常が認められたことから、分娩後の P 値の追跡はこれらの卵巣疾患の早期発見にも有益であることを知った。

分娩後の卵巣機能が正常に回復する過程で、短い発情周期を示す例があることがしばしば報告されており^{14,22,24)}、初回発情周期は 11 日から 17 日の範囲にあるといわれている^{4,25)}。HINSHELWOOD *et al.*²⁷⁾ はこのような短発情周期例は分娩後 20 日以内に初回発情を示す牛に特に多くみられると述べている。短発情周期の長さについて ODDE *et al.*²⁶⁾ は 7 日から 10 日のものが最も多かったという。著者の正常型の 7 例中 4 例にも短発情周期が観察され、その平均日数は 12 日であった。

産褥期における短発情周期は病的というよりはむしろ生理的なものと考えるべきであり²⁸⁾、間もなく正常の長

さの発情周期に移行しうるものであることが、P 値の継続的な追跡によって裏付けられている^{14,22,24)}。このことは著者らの上述の 4 例においても同様であった。短発情周期の発生機序については、産褥期における下垂体前葉からの黄体形成ホルモン (LH) 分泌不足、黄体組織の LH に対する反応性の低下または欠如、あるいは子宮由来の黄体退行物質の作用などが推察されている²⁶⁾が、不明の点が多い。

上述のように、血中または乳汁中 P の上昇は卵巢機能の回復を判断する重要な指標となりうることは明らかである。分娩後 20 日までに乳汁中 P の上昇がみられた牛は、BULMAN & LAMMING⁹⁾ によれば 62.0%，VAN DE WIEL *et al.*²⁴⁾ によれば 51.5% であり、いずれも卵巢機能が回復していたという。これらの報告に比べ本実験では、20 日までに P 値が上昇したものは 44.7% と少なく、遅延型が多く認められた。なお、遅延型のうち約半数が卵巢静止であり、残りの半数が卵胞囊腫例であったことは注目される。

分娩後の性機能の回復は直接的には内分泌系によっている。すなわち、一般的には、分娩後早期の卵胞の発育、卵胞から分泌されるエストラジオール -17 β の上位器官へのフィードバック作用、および下垂体の LH 放出反応の回復などの過程を経て、繁殖機能を回復することが知られている^{5,28-30)}。従って、これらの一連の過程の中でどこかに障害が起これば性機能の回復が遅れるものと考えられる。例えば、KESLER *et al.*³¹⁾ は分娩後の視床下部-下垂体系の LH 放出反応の低下が卵胞囊腫の発生に深い関係があることを明らかにしている。従来、卵巢機能の回復を遅らせる要因として、高泌乳および負のエネルギーバランスがあげられており⁴⁻⁶⁾、STEVENSON & BRITT⁵⁾ も乳量の増加に関係する要因が LH の放出を抑制することを示唆している。今回の実験に用いた牛群においても、これらの要因の関与が考えられるが、他の牛群と比較調査した上で、その原因を明らかにする必要があると思われる。MARION & GIER⁴⁾ も分娩後に卵胞囊腫を発生した例では、初回排卵、初回発情および受胎までの日数が延長することを報告している。従って卵巢機能回復遅延例に対する早期治療が必要と考えられる。近年、分娩後の卵巢機能回復の遅延に対する処置として、分娩後 13 日から 15 日における性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) の投与が有効であることが報告されているので^{32,33)}、今回のように卵巢機能回復遅延例が多い牛群においては、GnRH 投与による卵巢機能賦活などの方法が検討されるべきであろう。

今回の実験では低値停止型が 38 頭中 9 頭に認められた。他の研究者によっても初回排卵の後に卵胞囊腫や卵巢静止に至る同様の例が報告されている^{4,9,21,25)}。この発生機序としては、分娩後の卵巢機能の回復の程度が十分でないことによって起こるのか、回復後の新たな要因によって生じるのか明確ではないが、この時期が泌乳の最盛期である分娩後 2 カ月前後に相当するので、泌乳の増加にともなうエネルギーバランスの崩壊などの関連が推測される。

分娩後の発情周期の異常なものとして黄体機能の延長した例が 1 例観察された。同様な例についてはいくつかの報告があるが^{8,14,22,24)}、黄体機能が延長した例において子宮疾患が併発するものと併発しないものが存在することが報告されている。しかし、著者らの例では明瞭な子宮疾患は認められなかった。このように、分娩後に短発情周期が発生しやすく、また、まれに黄体機能の延長が生じることについて、中原³⁴⁾ は内分泌学的要因が分娩後の視床下部-下垂体系の機能回復ならびに子宮修復などに関与しているものと推測している。

なお、今回の試験例の中にはみられなかったが、分娩後に黄体囊腫を発生する例があることも報告されている^{4,25)}。このような例においても P 値の測定は卵胞囊腫を鑑別する上で重要な手段となりうる。

以上のように、分娩後一定期間、牛乳中 P を測定し、補助的に直腸検査を併用すれば、卵巢機能の回復状況をかなり正確に推定できることが確認された。今後さらに飼養条件の異なる牛群においてこのような試験を行い、卵巢機能の回復と乳量および飼料摂取量との関係について検討を重ねるならば、分娩後の繁殖機能の回復における異常の原因を解明する手がかりとなるであろう。今回は乳汁中 P の測定を分娩後 7 日から 70 日まで約 63 日間行ったが、さらに例数を重ねることにより、このように長期間継続しなくとも、特定の短期間、例えば分娩後 20 日以降 2 週間程度の期間における P 値の推移とその後の直腸検査の併用により、卵巢機能の回復をかなり正確に推定することが可能と思われる。この点については今後の研究に待たなければならない。

要 約

野外の 38 頭の乳牛について分娩後 7 日目後から 70 日目まで継続的に乳汁中 P の測定を行い、これにより乳牛の分娩後の卵巢機能の回復状況を追跡した。

1) 分娩後の卵巢機能の回復にともなう P 値の変動パターンを分析し、次の 4 型に大別した。分娩後 20 日以

内に P 値が上昇し、以後正常周期を示すもの（正常型、7 例）、P 値の上昇が 20 日までに認められないもの（遅延型、21 例）、20 日以内に P 値の上昇を認めるがその後低値を持続するもの（低値周期停止型、9 例）および P 値上昇後、次回周期以後も高値を持続するもの（高値周期停止型、1 例）。

2) 遅延型および低値周期停止型では直腸検査を併用することにより卵胞嚢腫と卵巣静止とを鑑別診断することができた。

以上の結果から、従来の臨床検査に簡便な P 測定を併用することにより分娩後の卵巣機能回復状態を的確に把握することが可能となり、繁殖成績の向上に役立つものと思われた。（1983. 11. 17 受付）

文 献

- 1) LOUCA, A., J. E. LEGATES: *J. Dairy Sci.*, **51**, 507, 1968.
- 2) 中原(達): 家畜人工授精, **56**, 1, 1976.
- 3) KENDRICK, J. W.: Proceedings of International Congress on Diseases of Cattle, Tel Aviv. **2**, 773, 1980.
- 4) MARION, G. B. & H. T. GIER: *J. Anim. Sci.*, **27**, 1621, 1968.
- 5) STEVENSON, J. S. & H. T. GIER: *J. Anim. Sci.*, **48**, 570, 1979.
- 6) WHIMORE, H. L., W. J. TYLER & L. E. CASIDA: *J. Anim. Sci.*, **38**, 339, 1974.
- 7) ARNSTADT, K.-I. & W. F. CLEERE: *J. Reprod. Fert.*, **62**, 173, 1981.
- 8) BULMAN, D. C. & G. E. LAMMING: *Vet. Rec.* **100**, 550, 1977.
- 9) BULMAN, D. C. & G. E. LAMMING: *J. Reprod. Fert.*, **54**, 447, 1978.
- 10) COX, N. M., F. N. THOMPSON & D. H. CULVER: *J. Dairy Sci.*, **61**, 1616, 1978.
- 11) HEAP, R. B., R. J. HOLDSWORTH, J. E. GADSBY, J. A. LAING & D. E. WALTERS: *Br. Vet. J.*, **132**, 445, 1976.
- 12) INAUDI, P., M. BACIGALUPO, C. MONITOLA, G. LUGARO & A. R. GENAZZANI: *J. Reprod. Fert.*, **65**, 265, 1982.
- 13) H. L. KUMMERFELD, E. A. B. OLTENACU & R. H. FOOTE: *J. Dairy Sci.*, **61**, 1773, 1978.
- 14) LAMMING, G. E. & D. C. BULMAN: *Br. Vet. J.*, **132**, 507, 1976.
- 15) NAKAO, T.: *Acta endocrinol.*, **93**, 223, 1980.
- 16) NAKAO, T., A. SUGIHASHI, N. SAGA, N. TUNODA & K. KAWATA: *Br. Vet. J.*, **139**, 109, 1983.
- 17) 守野(繁)・中尾(敏)・角田(修)・河田(啓): 本誌, **30**, 1, 1984.
- 18) NAKAO, T., A. SUGIHASHI, Y. ISHIBASHI, E. TOSA, Y. NAKAGAWA, H. YUTO, T. NOMURA, T. OHE, S. ISHIMI, H. TAKAHASHI, M. KOIWA, N. TSUNODA & K. KAWATA: *Theriogenology*, **18**, 267, 1982.
- 19) BALL, P. J. H.: *Br. Vet. J.*, **138**, 546, 1982.
- 20) BOSTEDT, G.: *Vet. Med. Rev.*, No. 1, 178, 1982.
- 21) GÜNZLER, O., E. RATTEBERGER, A. GÖRLACH, R. P. HAHN, R. CLAUS, & H. KARG: *Br. Vet. J.*, **135**, 541, 1979.
- 22) SCHAMS, D., E. SCHALLENBERGER, CH. MENZER, J. STANGL, K. ZOTTMEIER, B. HOFFMAN & H. KARG: *Theriogenology*, **10**, 453, 1978.
- 23) 鈴木(修)・佐藤(匡): 本誌, **25**, 183, 1979.
- 24) VAN DE WEIL, D. F. M., C. H. J. KALIS & S. NASIR HUSSAIN SHAH: *Br. Vet. J.*, **135**, 568, 1979.
- 25) MORROW, D. A., S. J. ROBERTS, K. MCENTEE & H. G. GRAY: *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, **149**, 1596, 1966.
- 26) ODDE, K. G., H. S. WARD, G. H. KIRACOFÉ, R. M. MCKEE & R. J. KITOK: *Theriogenology*, **14**, 105, 1980.
- 27) HINSHELWOOD, M. M., P. J. HANSEN & HAUSER: *Theriogenology*, **18**, 383, 1982.
- 28) ECHTERNKAMP, S. E. & W. HANSEL: *J. Anim. Sci.* **37**, 1362, 1973.
- 29) ERB, R. E., A. H. SURVE, C. J. CALLAHAN, R. D. RANDEL & H. A. GARVERICK: *J. Anim. Sci.*, **33**, 1060, 1976.
- 30) KESLER, D. J., H. A. GARVERICK, R. S. YOUNGQUIST, R. G. ELMORE & C. J. BIERCHWAL: *J. Anim. Sci.*, **45**, 797, 1977.
- 31) KESLER, D. J., H. A. GARVERICK, C. J. BIERCHWAL, R. G. ELMORE & R. S. YOUNGQUIST: *J. Dairy Sci.*, **62**, 1290, 1979.
- 32) BRITT, J. H., R. J. KITOK & D. S. HARRISON: *J. Anim. Sci.*, **39**, 915, 1974.
- 33) NASH, J. G. JR., L. BALL & J. D. OLSON: *J. Anim. Sci.*, **50**, 1017, 1980.
- 34) 中原(達): 本誌, **30**, 10, 1975.

Summary

Progesterone (P) levels in skim milk from 38 postpartum Holstein Friesian cows were determined by a direct enzyme immunoassay. The cows were reared in commercial dairy farms in northern Hokkaido.

Milk samples for assay were prepared from whole milk obtained from any one of four udder quarters at morning milking. Samples were collected 3 times a week; Monday, Wednesday and Friday, from 1st to 10th week postpartum. The ovaries were examined by weekly rectal palpation.

Results are summarized as follows:

1. Chronological changes in the milk P levels in these cows may be classified into 4 types. Type I (normal): cyclic changes in milk P levels appears before 20 days postpartum (7 cows, 18.4%). Type II (delayed elevation of P level): cyclic changes of milk P levels did not occur before 20 days postpartum (21 cows, 55.3%). Type III: after a transient rise of milk P level the levels remained low (9 cows, 23.7%). Type IV: after the second peak a high P level was maintained (1 cow, 2.6%) (see Fig. 1.).

2. Of the cows classified as type II, 11 had inactive ovaries and remaining 10 had follicular cysts.

3. Of the cows classified as type III, 5 had inactive ovaries and 4 had follicular cysts.

4. The cows of type IV was diagnosed as bearing persistent corpus luteum.

These results indicate that P levels in milk assessed by enzyme immunoassay can be utilized for monitoring postpartum ovarian activity and would be helpful for the early detection of ovarian dysfunction in the milking cow.