

学 位 論 文 題 名

ニホンジカ (*Cervus nippon*) の
歯牙微細成長線を用いた齢査定方法の開発

学位論文内容の要旨

本研究はニホンジカ歯牙に観察される微細成長線を用いて、年単位より細かい齢査定方法を開発することを目的とした。供試動物に飼育個体群の0歳獣を用いて、時刻描記法により微細成長線の出現様式および周期を明らかにし、新産線を特定した。そして、実際に日齢既知の個体を用いて微細成長線による日齢査定を試み、その精度について検討した。

- 1) 繰り返しの蛍光色素投与により時刻描記を施した6個体を用いて、乳切歯から研磨および脱灰の2種の横断切片を作成し、それぞれ蛍光ラベリング線と微細成長線の観察に用いた。その結果、脱灰 Bodian 染色切片では蛍光ラベリング線が濃染された太い線として認められることが明らかとなり、微細成長線との同時観察により、象牙質成長線の日周期性が示唆された。しかし、歯牙の発達に伴い微細成長線が不明瞭になること、基線となる新産線が認められなかったことから、出生から死亡までの成長線を計数することはできなかつた。微細成長線を齢査定に用いるために解決すべき問題点を明らかにした。
- 2) 乳歯に比べ永久歯の方が、長期間にわたって一定の成長を続けることが期待される。また、象牙質だけでなくエナメル質の微細成長線も観察する必要があったため、上記と同じ個体を用いて、第一後臼歯から縦断研磨切片を作成し、偏光・蛍光顕微鏡による観察を行った。その結果、エナメル質には1日周期の成長線が、象牙質内には2.3日周期の成長線が形成されることが明らかとなった。また、エナメル質は遅くとも5か月齢までには形成が終了するものと考えられ、より長期にわたり形成が続く象牙質の方が齢推定に適することが示唆された。さらに永久歯の縦断切片を用いることで、歯牙の発達が進ん

でもから微細成長線の計数が可能であることが示された。

- 3) 日齢既知個体 16 個体を用いて第一後臼歯の縦断研磨切片を作成し、時刻描記法により日齢推定の基線となる新産線を特定した。エナメル質内新産線は透過光では濃い茶褐色の特徴的な成長線として観察され、象牙質内新産線は偏光下で異なる色調の境界線として、比較的容易に認識できた。新産線とエナメル象牙境との交点は歯頸側およそ 1/3 の場所に位置していた。これらの特徴を用いて日齢不明の野生個体でも新産線の同定が可能となることが期待される。上記の結果と併せて、出生から死亡まで全ての成長線の計数が可能であり、微細成長線を用いた日齢査定も可能であると考えられた。
- 4) 成長線が明瞭に観察された日齢既知の 6 個体を用いて分析したところ、成長線数と日齢の間には $y=2.295x$ の回帰式が導かれ、極めて高い精度で回帰されることが示された。一次式の回帰に最もあてはまりが良かったことから周期の一定性が確認され、成長線数を周期倍すれば正確な日齢の推定も可能であることが示された。実際に 16 個体の日齢既知個体で日齢推定を試みたところ、13 個体 (82%) で成長線のカウントが可能であった。しかし -15 日から 43 日の広い誤差範囲が生じていた。そこで最も誤差の少ない観察部位である、頬側歯頸部から得られた値のみを分析した。16 個体中 8 個体 (50%) で計数可能であり、誤差範囲は -15 日から 19 日であった。そのため月齢単位での日齢推定であれば、十分に可能であると考えられた。

本研究によって、ニホンジカの微細成長線を用いた日齢査定方法を開発し、0 歳獣において日齢推定が可能であることが示された。本手法を野生個体群に応用することで、成長途中の若齢個体でも個体群間あるいは年次間で形態を比較できるようになり、生後成長と生息地の質との詳細な関係を明らかにすることが期待される。

本手法は半永久的に保存される歯牙硬組織を用いることで、これまで実際の観察に頼っていた時間情報を死体から得ることも可能となった。このことは直接観察が困難な動物種において生活史の解明に役立つだけでなく、化石種に応用することで、現生種との比較により進化学的な貢献も期待できる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 大 泰 司 紀 之
副 査 教 授 葉 原 芳 昭
副 査 教 授 昆 泰 寛
副 査 助 教 授 鈴 木 正 嗣

学 位 論 文 題 名

ニホンジカ (*Cervus nippon*) の 歯牙微細成長線を用いた齢査定方法の開発

本研究はニホンジカ歯牙に観察される微細成長線を用いて、年単位より細かい齢査定方法を開発することを目的とした。供試動物に飼育個体群の0歳獣を用いて、時刻描記法により微細成長線の出現様式および周期を明らかにし、新産線を特定した。そして、実際に日齢既知の個体を用いて微細成長線による齢査定を試み、その正確性について検討した。

- 1) 繰り返しの蛍光色素投与により時刻描記を施した6個体を用いて、乳切歯から研磨および脱灰の2種の横断切片を作成し、それぞれ蛍光ラベリング線と微細成長線の観察に用いた。その結果、脱灰 Bodian 染色切片では蛍光ラベリング線が濃染された太い線として認められることが明らかとなり、微細成長線との同時観察により、象牙質成長線の日周期性が示唆された。しかし、歯牙の発達に伴い微細成長線が不明瞭になること、基線となる新産線が認められなかったことから、出生から死亡までの成長線を計数することはできなかった。微細成長線を齢査定に用いるために解決すべき問題点を明らかにした。
- 2) 乳歯に比べ永久歯の方が、長期間にわたって一定の成長を続けることが期待される。また、象牙質だけでなくエナメル質の微細成長線も観察する必要があったため、上記と同じ個体を用いて、第一後臼歯から縦断研磨切片を作成し、偏光・蛍光顕微鏡による観察を行った。その結果、エナメル質には1日周期の成長線が、象牙質内には2.3日周期の成長線が形成されることが明らかとなった。また、エナメル質は遅くとも5か月齢までには形成が終了するものと考えられ、より長期にわたり形成が続く象牙質の方が齢査定に適することが示唆された。さらに永久歯

の縦断切片を用いることで、歯牙の発達が進んでからも微細成長線の計数が可能であることが示された。

- 3) 日齢既知個体 16 個体を用いて第一後臼歯の縦断研磨切片を作成し、時刻描記法により齢査定の基線となる新産線を特定した。エナメル質内新産線は透過光では濃い茶褐色の特徴的な成長線として観察され、象牙質内新産線は偏光下で異なる色調の境界線として、比較的容易に認識できた。新産線とエナメル象牙境との交点は歯頸側およそ 1/3 の場所に位置していた。これらの特徴を用いて日齢不明の野生個体でも新産線の特定が可能となった。上記の結果と併せて、出生から死亡まで全ての成長線の計数が可能であり、微細成長線を用いた日齢査定も可能であると考えられた。

- 4) 成長線が明瞭に観察された日齢既知の 6 個体を用いて分析したところ、成長線数と日齢の間には $y=2.295x$ の回帰式が導かれ、極めて高い精度で回帰されることが示された。一次式の回帰に最もあてはまりが良かったことから周期の一定性が確認され、成長線数を周期倍すれば正確な日齢の推定も可能であることが示された。実際に 16 個体の日齢既知個体で齢推定を試みたところ、13 個体 (82%) で成長線のカウントが可能であった。しかし -15 日から 43 日の広い誤差範囲が生じていた。そこで最も誤差の少ない観察部位である、頬側歯頸部から得られた値のみを分析した。13 個体中 8 個体 (62%) で計数可能であり、誤差範囲は -15 日から 19 日であった。そのため月単位での齢査定であれば十分に可能であると考えられた。

本研究によって、ニホンジカの微細成長線を用いた齢査定方法を開発し、0 歳獣において月齢査定が可能であることが示された。本手法を野生個体群に応用することで、成長途中の若齢個体でも個体群間あるいは年次間で形態を比較できるようになり、生後成長と生息地の質との詳細な関係を明らかにすることが期待される。

本手法は半永久的に保存される歯牙硬組織を用いることで、個体の齢や生活史のイベントを経験した時期など、これまで実際の観察に頼っていた時間情報を死体から得ることも可能となった。このことは直接観察が困難な動物種において生活史の解明に役立つだけでなく、化石種に応用することで、古生物学や古生態学への貢献も期待できる。

よって、審査委員一同は、上記博士論文提出者飯沼康子の博士論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第6条の規定による本研究科の行う博士論文の審査等に合格と認めた。