Original Article (原著論文)

下顎骨の組織形態に基づくハシボソミズナギドリ
Puffinus tenuirostris の齢査定

今村知子^{1,*}・川原田史治²・杉森文夫³

A Possible Determination of Age in the Short-tailed Shearwater
Puffinus tenuirostris Based upon Tissue
and the Layered Structure of the Mandible

Tomoko Imamura^{1,*}, Shiharu Kawarada² and Fumio Sugimori³

Abstract. The present study examined a possible determination of age in the Short-tailed Shearwater *Puffinus tenuirostris* by microscopic observation of sliced sections of the lower mandible. The section samples obtained from 14 individuals, aged from about one month-old to five or more years old, were prepared by decalcifying then staining with Delafield's haematoxylin. Results indicated that morphological changes in the mandible tissue were useful for the age determination of individuals during the growing period from one to six months-old, within nestling to fledgling. It was also found that morphological differences in the layered structure of the mandible were of use in distinguishing between sub-adults and adults. However, the number of layered structures was not consistent with the age of adult individuals.

Key words: Age determination, Layered structure, Mandible, Short-tailed Shearwater, *Puffinus tenuirostris*.

キーワード: 齢査定, 層状構造, 下顎骨, ハシボソミズナギドリ, *Puffinus tenuirostris*.

はじめに

ハシボソミズナギドリ *Puffinus tenuirostris* は、タスマニア島や周辺島嶼・オーストラリア南東部の沿岸域で、9月下旬から5月上旬にかけて集団で繁殖する海鳥である。本種は、繁殖終

Received 17 July 2014, Revised 17 January 2015, 2nd Revision 1 February 2015, Accepted 10 February 2015.

¹ 〒302-0034 茨城県取手市戸頭1634-2-609. E-mail: t-imamura@mbr.nifty.com

² 〒143-0014 東京都大田区大森中3-1-4.

³ 〒302-0031 茨城県取手市新取手3-22-8.

* 責任著者

¹ 1634-2-609, Togashira, Toride, Ibaraki 302-0034, Japan. E-mail: t-imamura@mbr.nifty.com

² 3-1-4, Oomorinaka, Ota-ku, Tokyo 143-0014, Japan.

³ 3-22-8, Shintoride, Toride, Ibaraki 302-0031, Japan.

* Corresponding author.

了後北太平洋亜寒帯域まで渡り、春から夏にかけて北太平洋で過ごした後、秋には再び繁殖地へ南下する。繁殖参加年齢は、雌雄とも早くても5歳、ふつう7歳以上で、繁殖に参加する成鳥は、9月下旬に繁殖地に到着後ただちに地面に巣穴を確保し、11月上旬にかけてそれを整備する。産卵数は1個で、約85%の卵が、平均産卵日である11月25～26日の前後3日以内に産みおとされ、約52日間の抱卵期間を経て、1月20日前後ほぼいっせいに孵化する。4月上旬には、親鳥は雛を巣に残して繁殖地を離れ、雛は親鳥から遅れること約1ヶ月後の4月下旬から5月上旬に渡りを開始する (Serventy 1963, Naarding 1980, Carboneras 1992)。渡りの経路としては、足環を装着した標識鳥の回収結果に基づき、Serventy (1953) が提唱した“環太平洋逆8の字渡りルート”が有名であるが、Shuntov (1972) は、太平洋沿岸部と外洋域での観察記録をもとに、ハシボソミズナギドリが太平洋の広範囲を面状に渡っていることを提示した。その後、丸山ほか (1986) によって、成鳥は太平洋上をほぼ真北に向かい一気に北上するが、その年生まれの幼鳥は北上途中の貿易風帯で卓越東風により西太平洋地域に入り日本沿岸部を北進するという、齢によって渡りのルートが異なることが確認された。

ハシボソミズナギドリは、北上時の5月下旬から6月上旬をピークとして、日本沿岸部で毎年斃死する個体がいることが知られており (Oka *et al.* 1985)、年によっては斃死体や衰弱した個体が多数漂着する大量死が起こる (川口・丸茂 1964, 小沢 1964, 黒田 1967, 杉森ほか 1976)。西貝ほか (1981) は、死亡および衰弱の原因を明らかにするため、死体回収および採集した34体について生殖巣やファブリシウス嚢の観察、病理組織検査、血液検査、寄生虫検査を行った結果、栄養失調による衰弱個体の自然死であると推定した。このような大量死はほぼ10年周期で起こることが知られており (Oka & Maruyama 1986)、大量死のメカニズムを解明する過程で、頭骨の接合、縫合線の消失、眼窩の形など骨化の程度によりその年生まれの個体を判別する方法が開発された (Sugimori *et al.* 1985)。これによって、回収された斃死体の保存状況にあまり影響を受けない骨格から、成鳥であるか幼鳥であるかを判断することができるようになり、斃死体の99%以上が幼鳥であることが判明した (Oka & Maruyama 1986)。その後、繁殖地のルッカリーにおける雛の成長パターンを調べた結果、日本沿岸部におけるハシボソミズナギドリの大量斃死が起こった年は、巣立ち時の雛の体重が著しく軽く、栄養状態が悪いことが明らかになった (岡ほか 1986a, b)。さらに本種の個体群動態に関する研究を進める上では、個体群の齢構成を知るために成鳥と幼鳥を判別するだけでなく、成鳥の年齢を査定する方法の開発が必要となった。

鳥類の齢査定法としては、羽の色や形、頭骨の気室化などの形質を利用した報告がある。鳥類の多くの種では、幼鳥と成鳥で羽の色や形が異なり、幼鳥羽から成鳥羽に換羽する前の時期であれば、幼鳥と成鳥の区別ができる (山階 1934, 1941, Ginn & Melville 1983, Grant 1986, Pyle 1997, 2008, Svensson 2011)。また、鳥類の頭骨は、はじめは一層であるが、骨の海綿状組織が吸収されて上下二層にわかれ、次にこの上下二層は細かい柱状骨で結合され、気室構造となる。スズメ目の多くの種では、頭骨の全域が気室化するので、その過程が齢を判定する指標となる (Nero 1951, Serventy *et al.* 1967, Leberman 1970, Hogstad 1971, Winkler 1972, Pyle 1997, 2008, Svensson 2011)。しかし、これらによる齢段階の分類は、幼鳥か成鳥かを区別するには有効であるが、成鳥の年齢を査定することは難しい。

哺乳類では、歯の萌出・交換・咬耗の進行などによる肉眼的な所見に基づいて齢を推定する方法 (宮尾 1971, 藤巻ほか 1976, 森井 1978, 八谷・大泰司 1994) のほか、歯や骨、角など

の硬組織中に年周期で形成される層状構造、いわゆる年輪をカウントする齢査定法が普及してきた（大泰司 1977, Miura 1985, 八谷・大泰司 1994）。年輪が形成されるのは、各種哺乳類の年周期の成長リズムのうち、成長の停滞する季節であると推定されている。この成長停滞期に形成される硬組織は、夏期に比べ量が少ない上石灰化が強いため、ヘマトキシリンで染色すると濃染され、年輪として現われる（八谷・大泰司 1994）。

同様に、鳥類でも年輪法の適用が試みられた例があり（Van Soest & Van Utrecht 1971, Klevezal' *et al.* 1972, Lewis 1979, Manikowski & Kazimierz 1980, Nelson & Bookhout 1980, Koubek & Hrabě 1984, Klomp & Furness 1992, Mitani & Fujimaki 1992, Broughton *et al.* 2002）、種によっては骨組織に年齢と関連する層状構造が形成されることが確認されている。

本研究では、ハシボソミズナギドリの下顎骨から組織標本を作製して、雛から成鳥に至るまでの期間における骨の組織形態の変化を調べた。同時に、組織形態に基づく齢査定の可能性、さらに絶対年齢が判定できる年輪の有無とその齢査定の可能性についても検討した。

方 法

本研究では、齢が判明しているハシボソミズナギドリ14個体の右下顎骨を材料とした（Table 1）。内訳は、平均孵化日（Serventy 1976）や頭骨の形態（Sugimori *et al.* 1985）をもとに約1ヶ月齢から約6ヶ月齢までと判定された雛から幼鳥までの11個体、1歳以上と判定された亜成鳥1個体、抱卵斑の存在（Serventy 1976）によって5歳以上と判定された成鳥2個体である。5ヶ月齢とされた幼鳥の1個体には、足環が装着されていた。採集地がルッカリーの4個体は繁殖地で採取された新鮮な材料で、それ以外の10個体はいずれも斃死体として採集後乾燥保存されていた骨標本である。Van Soest & Van Utrecht (1971) は、セグロカモメの下顎骨を用い、外基礎層板に形成された層状構造と年齢が一致したと述べている。本研究でもそれに従い、層状構造を観察する部位として下顎骨を選定した。

組織の観察は、組織標本を作製したのちに行った。通常のパラフィン包埋法では、その作製過程で組織の強い収縮と硬化が起こり、脱灰後の骨組織を薄切することが難しくなるため、比較的固い組織を標本にするのに用いられるセロイジン・パラフィン包埋法（日本病理学会 1981）を用いた。

除肉した下顎骨は、10%ホルマリン・メタノールで48時間以上固定し、脱灰促進のため70, 80, 90, 95%メタノール、100%エタノールというアルコール系列に1時間ずつ入れて脱脂し、1時間水洗した。5%蟻酸を用い、途中新液と交換して約48時間の脱灰を行った後、5%硫酸ナトリウムで24時間中和し、12時間以上水洗した。脱灰後中和した下顎骨をかみそりで9等分し、8箇所の切断部位には嘴の先端方向からM-1～M-8という名称をつけた（Fig. 1）。切り出した骨片は、上記と同様のアルコール系列で1時間ずつ脱水し、2%セロイジンに約72時間浸し、クロロホルムに通してから、パラフィン包埋した。セロイジン・パラフィン包埋した骨片から、回転式ミクロトームを用い、10 μ mの連続横断切片を作製した。組織標本の染色には、ヘマトキシリンとエオシンの二重染色を用いるのが一般的であるが、ここでは年輪様の層状構造の観察にはヘマトキシリンの単染色が適しているという報告（Klevezal' & Kleinenberg 1967, 粕谷 1983）に従い、デラフィールドのヘマトキシリンで30分間染色した。染色した切片をスライドガラスで封入した後、光学顕微鏡で組織形態を観察した。

Table 1. Description of the specimens of Short-tailed Shearwaters examined in the present study.

No.	Date of collection	Collection site	Estimated age	Sex	Condition of materials
1	February 27, 1984	Clifton Bluff rookery, Tasmania, Australia	about 1 month ^{*1} (nestling)	unknown	fresh
2	Unknown date in spring, 1978	Tasmania, Australia	about 2 months ^{*2} (nestling)	unknown	macerate
3	March 22, 1984	Clifton Bluff rookery, Tasmania, Australia	about 2 months ^{*1} (nestling)	unknown	fresh
4	April 20, 1984	Pineapple rookery, Tasmania, Australia	about 3 months ^{*1} (nestling)	male	fresh
5	June 8, 1983	Kujukuri-hama, Asahi, Chiba Prefecture, Japan	about 5 months ^{*3} (juvenile)	unknown	macerate
6	June 4, 1982	Kujukuri-hama, Asahi, Chiba Prefecture, Japan	about 5 months ^{*4} (juvenile)	unknown	macerate
7	June 8, 1983	Kujukuri-hama, Asahi, Chiba Prefecture, Japan	about 5 months ^{*4} (juvenile)	unknown	macerate
8	June 10, 1978	Nobi, Yokosuka, Kanagawa Prefecture, Japan	about 5 months ^{*4} (juvenile)	unknown	macerate
9	June 10, 1980	Kujukuri-hama, Asahi, Chiba Prefecture, Japan	about 5 months ^{*4} (juvenile)	unknown	macerate
10	June 15, 1979	Kujukuri-hama, Asahi, Chiba Prefecture, Japan	about 5 months ^{*4} (juvenile)	unknown	macerate
11	July 21, 1983	Bering Sea, North Pacific	about 6 months ^{*4} (juvenile)	male	macerate
12	May 8, 1978	Jougashima, Miura, Kanagawa Prefecture, Japan	more than 1 year ^{*4} (sub-adult)	unknown	macerate
13	Unknown date in spring, 1978	Tasmania, Australia	more than 5 years ^{*5} (adult)	unknown	macerate
14	January 26, 1984	Clifton Bluff rookery, Tasmania, Australia	more than 5 years ^{*5} (adult)	male	fresh

^{*1} estimated by the average date of hatching (Serventy 1976) and the collected date.

^{*2} by the degree of skull ossification (Sugimori *et al.* 1985).

^{*3} ringed at nestling age in Griffith Island, Victoria, Australia on April 16, 1984, estimated by the average date of hatching (Serventy 1976) and the collected date.

^{*4} estimated by the average date of hatching (Serventy 1976), the collected date, and the degree of skull ossification (Sugimori *et al.* 1985).

^{*5} by the presence of incubation patch (Serventy 1976).

Fig. 1. Scheme on microscopic examination of the right mandible.

組織標本をM-1～M-8まで作製し各部位を予備的に鏡検したところ、下顎骨の中央部分にあたるM-4が観察や組織の比較にもっとも適していると判断されたので、ここを全個体の鏡検部位とした。

結 果

約1ヶ月齢から6ヶ月齢の幼鳥の組織形態をFig. 2に、1歳以上の亜成鳥の組織形態をFig. 3に、5歳以上の成鳥の組織形態をFig. 4と5に示した。各個体における組織所見は、以下のとおりであった。

No. 1 約1ヶ月齢の雛 (Fig. 2-A)

軟組織 (ST) が背側と腹側および舌側中央部から入り込んでおり、骨全体には不規則な形をした腔所である侵食窩 (RC) が多く、ハバース系は認められなかった。骨幹には外基礎層板や内基礎層板は形成されておらず、骨表面の凹凸は激しく、骨組織は未発達であった。髓腔には、デラフィールドのヘマトキシリンで赤紫色に染色された軟骨 (MCT) と、青色に染色された神経 (N) があった。

No. 2, 3 約2ヶ月齢の雛 (Fig. 2-B, C)

約2ヶ月齢では、1ヶ月齢よりも軟組織 (ST) の入り込む範囲が狭くなっていた。No. 2 (Fig. 2-B) では、背側と腹側に軟組織 (ST) の入り込みが認められたが、舌側中央部では骨質に転化していた (ST')。No. 3 (Fig. 2-C) では、さらに軟組織の骨質転化が進んでおり、背側に軟組織 (ST) の入り込みが認められたものの、腹側には痕跡があるのみで骨質に転化していた (ST')。骨全体には侵食窩 (RC) が依然多く存在し多孔性であったが、不整形ではあるものの中心管の周りに同心円状に形成されるハバース系 (HS) が部分的に存在した。骨表面に沿って外基礎層

Fig. 2. Microscopic observation of the slice section of the lower mandible, aged from about one-month-old to six-months-old, within nestling to fledgling. A: No. 1, age about one month. Soft tissues (ST) get into the dorsal, ventral and lingual side. Many resorption cavities (RC) exist in bone matrix. Mass of chondroid tissue (MCT) and nerves (N) occur in medullary cavity. B: No. 2, age about two months. Soft tissues (ST) are present in the dorsal and ventral side, and the marks of soft tissue (ST'). Haversian systems (HS) exist partially. Outer (OBL) and inner basic lamellae (IBL) are formed partially. C: No. 3, age about two months. Soft tissue (ST) is present in the dorsal side, and the marks of soft tissue (ST') are found in the ventral side. D: No. 4, age about three months. Haversian systems (HS) exist partially. Outer (OBL) and inner basic lamellae (IBL) are formed partially. E: No. 5, age about five months. Haversian systems (HS) are markedly clear. Outer basic lamellae (OBL) is formed partially, inner basic lamellae (IBL) is formed completely, except the ventral side. F: No. 11, age about six months. Outer basic lamellae (OBL) is formed partially, inner basic lamellae (IBL) is formed completely.

Fig. 3. Microscopic observation of the slice section of the lower mandible, aging from more than one-year-old within sub-adult. No. 12, age more than one year. One layered structure (arrow) is relatively elongate.

Fig. 4. Microscopic observation of the slice section of the lower mandible from adult. No. 13, age more than five-years-old. A: Four layered structures (arrow) are partially formed. B: Two layered structures (arrows) are partially formed. Resorption line (RL) occurs along the layered structures.

Fig. 5. Microscopic observation of the slice section of the lower mandible from adult No. 14, age more than five-years-old. Six layered structures (arrows) are formed partially.

板 (OBL), 髓腔に沿って内基礎層板 (IBL) の形成が認められたが, 骨幹を連続的に被うことはなく, 外基礎層板は舌側中央部に, 内基礎層板は舌側と頬側中央部に形成されていた。骨表面の凹凸は激しいものの, 1 ヶ月齢に比べるといくらかなめらかであった。No. 2 は, 新鮮材料ではなく骨標本から組織標本を作製したため, 軟骨 (MCT) と神経 (N) は萎縮していた。

No. 4 約3 ヶ月齢の雛 (Fig. 2-D)

背側, 腹側とも軟組織の入り込みは見られず, 全体が骨質に転化していた。ハバース系 (HS) は, 不整形ながら部分的に存在していた。外基礎層板 (OBL) および内基礎層板 (IBL) は, 2 ヶ月齢にくらべ連続しており, 中央部から腹側に認められた。骨表面は, 外基礎層板が存在している部分はなめらかだが, 存在しないところは凹凸があった。

No. 5 約5 ヶ月齢の幼鳥 (Fig. 2-E)

ハバース系 (HS) は不整形であったが, 全体に形成されていた。舌側および頬側中央部から腹側に外基礎層板 (OBL) が, また髓腔の腹側を除くほぼ全周に内基礎層板 (IBL) が観察された。骨表面は, 外基礎層板が存在している部分はなめらかで, 存在していないところは凹凸があった。この個体は, 酵素を使って骨標本を作製したため, 軟骨と神経は消失していた。

No. 6~10 約5ヶ月齢の幼鳥

すべて、No. 5と同様の組織形態を示していた。

No. 11 約6ヶ月齢の幼鳥 (Fig. 2-F)

ハバース系 (HS) は全体に形成されており、約5ヶ月齢の個体にくらべ、より整った形状を示していた。舌側および頬側中央部から腹側に外基礎層板 (OBL) が、髄腔のほぼ全周に内基礎層板 (IBL) が観察されており、骨表面はかなりなめらかであった。

No. 12 1歳以上の亜成鳥 (Fig. 3)

ハバース系 (HS) は完成しており、外基礎層板 (OBL) および内基礎層板 (IBL) はほぼ全周に形成されていて、骨表面はなめらかであった。外基礎層板の頬側中央部から腹側と舌側中央部の広い範囲で、1本の年輪様の層状構造が認められた (Fig. 3)。

No. 13 5歳以上の成鳥 (Fig. 4)

外基礎層板の頬側の腹側に4本 (Fig. 4-A)、舌側の背側に2本 (Fig. 4-B) の年輪様の層状構造が認められた。No. 12の1歳以上の亜成鳥では広範囲にわたって層状構造が認められたが (Fig. 3)、本個体では部分的にしか存在しなかった。また、頬側の背側、舌側の背側とも、外基礎層板にハバース系 (HS) の侵入が見られ、層状構造が侵食されていた (Fig. 4-A, B)。また、哺乳類において外基礎層板とハバース系などの間に見られることがあるリゾープションライン (RL) が認められた。

No. 14 5歳以上の成鳥 (Fig. 5)

外基礎層板の頬側の腹側に6本 (Fig. 5)、舌側の背側に2本の年輪様の層状構造が認められた。層状構造が認められたのはNo. 13と同じ箇所、No. 13と同様に頬側の腹側、舌側の背側とも、外基礎層板にハバース系 (HS) の侵入が見られ、層状構造が侵食されていた (Fig. 5)。

以上の組織所見をもとに、各年齢における組織形態の特徴をTable 2に示した。約1ヶ月齢の下顎骨はすでに成鳥と同じくらいの大さに達しているにもかかわらず骨組織は未発達で、そこから約6ヶ月齢にかけて徐々に発育していく様子が観察された (Fig. 2, Table 2)。1ヶ月齢ではいずれの骨層板も不完全だが、それぞれ成長に伴って少しずつ形成されていった。ただし、骨内部のハバース系と、骨幹を被う外基礎層板および内基礎層板の完成時期は異なっていた。渡りのために日本近海を通過している約5ヶ月齢やベーリング海域にまで達している約6ヶ月齢の幼鳥でも、外基礎層板の欠如する部分があるなど、依然として骨組織は未完成のままであった。1歳以上の亜成鳥になると、骨組織は完成しており、外基礎層板には年輪様の層状構造も認められた (Fig. 3, Table 2)。5歳以上の成鳥では、複数の年輪様の層状構造が認められた (Figs. 4 & 5, Table 2)。しかし、骨は常に吸収と形成を繰り返し、ハバース系なども更新されていくため (Bloom & Fawcett 1975)、その骨代謝の結果として外基礎層板にハバース系が侵入し、年輪様の層状構造も侵食されて、連続性の低いものがあった (Figs. 4-A, B & 5)。

Table 2. Results on tissue and layered structure of the mandible in relation to aging.

Age	Soft tissue	Formation of osseous lamellae			Layered structure		
		Haversian systems	Outer basic lamellae	Inner basic lamellae	The edge of bone	Appearances	Numbers
about 1 month (nestling)	get into the dorsal, ventral and lingual side	not developed	not formed	not formed	rudded	not formed	0
about 2 months (nestling)	get into the dorsal and ventral side, or get into the dorsal side and the marks of soft tissue are find in ventral side	partially	partially	partially	rudded to some extent	not formed	0
about 3 months (nestling)	not find	partially	partially	partially	rudded to some extent	not formed	0
about 5 months (juvenile)	not find	considerably clear	partially	completely	smooth fairly	not formed	0
about 6 months (juvenile)	not find	considerably clear	partially	completely	smooth	not formed	0
more than 1 year (sub-adult)	not find	clear	completely	completely	smooth	formed relatively long	1
more than 5 years (adult)	not find	clear	completely	completely	smooth	partially, and haversian systems encroach upon the outer basic lamellae	2-6

論 議

ハシボソミズナギドリの下顎骨から組織標本を作製し、約1ヶ月齢の雛から約6ヶ月齢の幼鳥までを月齢ごとに、さらに1歳以上の亜成鳥と5歳以上の成鳥を加えて、骨組織の変化を観察した。その結果、きわめて未熟な状態から骨組織が完成に向かっていく様子 (Fig. 2, Table 2) と、骨組織が完成した後は年輪様の層状構造が形成される (Figs. 3, 4 & 5, Table 2) ことが判明した。

成長は連続的に進行するので突然大きく変化することはないが、年齢ステージで区切って見てみると、それぞれの時期に組織学的な特徴が認められた (Figs. 2, 3, 4 & 5, Table 2)。そのため組織標本を作製して、ハバース系や外基礎層板・内基礎層板の発達状態、軟組織の入り込み、年輪様の層状構造の形成状態を観察することにより、ハシボソミズナギドリの月齢の識別、および亜成鳥と成鳥の判別が可能であることがわかった (Table 2)。

1ヶ月齢では、骨基質ははっきりした形態を示さず、軟組織が背側と腹側および舌側中央部より大きく入り込んでいて、ハバース系は未発達で侵食窩が多数存在し、骨表面の凹凸は激しく、外基礎層板と内基礎層板は形成されていなかった (Fig. 2-A, Table 2)。2ヶ月齢では、腹側において軟組織の骨質転化が認められ、不整形ながらハバース系が形成されており、部分的ではあるものの外基礎層板や内基礎層板が確認された (Fig. 2-B, C, Table 2)。3ヶ月齢では、軟組織はすべて骨質に転化しており、ハバース系は不整形ながら部分的に存在し、外基礎層板と内基礎層板が部分的に確認された (Fig. 2-D, Table 2)。5ヶ月齢では、ハバース系は不整形ながら全体に形成されていた (Fig. 2-E, Table 2)。6ヶ月齢では、外基礎層板や内基礎層板の発達が見られた (Fig. 2-F, Table 2)。

また下顎骨の骨化という観点から組織の変化を見ると、1ヶ月齢では背側・腹側とも軟組織が入り込んだ状態で、骨は頬側と舌側に分断されていた。2ヶ月齢では骨化が進み、背側だけが分断された状態であるが、3ヶ月齢では残っていた背側も骨化していた。この時点で、ハバース系、介在系、外基礎層板、内基礎層板の骨基質は未完成であるが、下顎骨全体が骨質に転化したことになる。これらのことから、下顎骨中央部では、頬側と舌側で別々に薄い板状の骨ができ、その間隙はまず腹側にある軟組織の骨化が完了してふさがれ、その後背側にある軟組織の骨化が完了してふさがれるという順に進行することが確認された。なお、下顎骨は複数の骨が癒合して形成されるが、今回観察したのは歯骨の位置にあたる。

外基礎層板に形成される年輪様の層状構造は、1歳以上の3個体すべてで認められ、その最大数は、亜成鳥では1本、成鳥である No. 13 では4本、No. 14 では6本であった (Fig. 3, 4 & 5, Table 2)。また、亜成鳥では比較的広い範囲にわたって形成されていた (Fig. 3) が、成鳥ではハバース系の侵食によって亜成鳥ほど広い範囲には認められなかった (Figs. 4-A, B & 5)。年輪様の層状構造は、いずれの個体でも同一組織標本内で頬側の腹側と舌側の背側の2箇所に認められたが、成鳥ではそれぞれ本数が異なっており、頬側の腹側のほうが舌側の背側の本数よりも多かった。

本研究では、年輪様の層状構造が1歳以上の亜成鳥で1本、5歳以上の成鳥である No. 14 で6本確認できたものの、5歳以上の成鳥である No. 13 では4本しか認められず、年齢よりも少なかった。このことから、ハシボソミズナギドリでは年輪様の層状構造の本数が実年齢を反映す

るとは限らないということがわかった。おそらく、ハシボソミズナギドリの下顎骨における層状構造の形成は、初め外基礎層板において比較的広い範囲で見られるが、年を経るとともに骨内部からハバース系の侵食を受け、実際の年齢よりも本数が少なくなるものと推測される。本研究では1歳以上の亜成鳥と5歳以上の成鳥の比較にとどまったので、層状構造が何年目のどの時期に形成が始まるか、あるいはいつ頃からハバース系の侵食を受けるかについては検証できなかった。しかし、層状構造がある程度広範囲に認められるか、あるいはハバース系の侵食を受けて部分的にしか認められていないかという現われ方の違いは、亜成鳥と成鳥を判別する一つのポイントになると思われる。

哺乳類の多くの種では、一年のうち成長リズムが滞る時期に骨組織の有機成分が乏しくなり石灰化が強くなって、硬組織中に年周期で層状構造が形成される (Klevezal' & Kleinenberg 1967, 大泰司 1976, 1977, Ohtaishi *et al.* 1976, 三浦 1977, 大隈 1977, 粕谷 1983)。ハシボソミズナギドリにおける層状構造は、哺乳類と同様、渡りや繁殖による生態的要因が成長リズムを滞らせて形成されるものと考えられる。ハシボソミズナギドリは年2回長距離の渡りをするが (Carboneras 1992), この長距離の渡りが骨の形成にどのような影響を与えているかについては、確認することができなかった。仮に渡りが層状構造の形成に関与しているとするれば、層状構造は年に2本形成されると推測できるが、層状構造が亜成鳥で1本しか確認できなかったことと成鳥は短期間に効率的な渡りを行うこと (鈴木ほか 1986) から、渡りが層状構造の形成にそれほど影響を与えていない可能性も考えられる。あるいは、亜成鳥で層状構造が1本確認できたということから、年齢による渡りの経路の違いが1本目の層状構造の形成に関係している可能性もあり、その場合、1本目とそれ以降での層状構造のでき方に違いがある可能性もある。本種は、9月下旬北太平洋から繁殖地に到着直後巣穴の整備をし、約20日間南極海周辺で集中的に採餌、その後産卵、抱卵、育雛を行うが (Serventy 1963), これら繁殖活動が層状構造の形成と関連があると考えられる一方、非繁殖個体である亜成鳥にも確認されたことから、繁殖活動が層状構造の形成に関与していない可能性もある。また、7歳以上と推定される成鳥2個体における層状構造の最大数がそれぞれ4本と6本と推定年齢よりも少なかったことから、一定年齢以上になると、ハバース系の侵入が起こることによって層状構造が一定本数以上にならないことも考えられる。また産卵などの繁殖生態の違いにより、雄と雌では層状構造のでき方に違いがある可能性もあるが、今回は性別が判明している材料が揃わなかったことから、性別の違いが層状構造の形成に関与しているかどうかを確認することはできなかった。層状構造は、年2回の長距離の渡りや年齢による渡りの経路の違い、繁殖活動や繁殖に至るまでの年齢など、各種の要因が複合的に関連した結果形成された可能性も考えられる。

今回は下顎骨の中央部分を観察したが、切片を作製する部位によっては層状構造の現われ方に違いがあると思われる。したがって、下顎骨における層状構造を立体的に把握するため、連続切片を作製し、観察することも重要であると考えられる。

また、ヨーロッパオオライチョウ *Tetrao urogallus* では上腕骨と頬骨 (Klevezal' *et al.* 1972), セグロカモメでは下顎骨の層状構造の最大数と年齢が一致した (Van Soest & Van Utrecht 1971) というように、鳥種によって層状構造の現われ方に違いがあり、観察に最適な部位があることが報告されている。ハシボソミズナギドリにおいても、下顎骨が層状構造を観察する最適部位であるとは限らないので、他の部位についても今後検討する必要があると思われる。

謝 辞

本研究において、材料を提供していただいた National Parks and Wildlife Service of Tasmania の Irynej Skira 氏と北海道大学名誉教授の小城春雄氏、組織標本作製をご指導いただいた東京慈恵会医科大学名誉教授の吉村不二夫氏、同大学元教授で日本歯科大学歯学部客員教授の石川 博氏、組織標本の鏡検にあたって助言していただいた帝京大学医学部解剖学講座助教授の関野佳久氏、適切なアドバイスをいただいた早稲田大学人間科学学術院教授の三浦慎悟氏、山階鳥類研究所元所長の黒田長久氏、山階研究所自然誌研究室上席研究員の岡 奈理子氏、文献収集の際お世話になった山階鳥類研究所自然誌研究室室長の鶴見みや古氏、標本閲覧の際お世話になった山階鳥類研究所自然誌研究室研究員の山崎剛史氏、専門員の小林さやか氏、さまざまな面でお世話になったハシボソミズナギドリ研究グループの研究スタッフ、本研究をご指導いただいた日本大学生物資源科学部元教授の今井 清氏に厚く御礼申し上げます。本研究は、トヨタ財団研究助成の分担研究として行った。多大なる援助に感謝する。

摘 要

齢既知のハシボソミズナギドリ *Puffinus tenuirostris* 14 個体の下顎骨を用い、雛から成鳥まで、成長とともに変化する骨の組織形態を調べ、年齢との関係について考察を行った。「脱灰標本法」により組織標本作製し、デラフィールドのヘマトキシリンで染色したのち、鏡検した。その結果、成長に伴う組織形態の形成過程が明らかになり、1 ヶ月齢から6 ヶ月齢までの雛と幼鳥の月齢の識別ならびに亜成鳥と成鳥の判別が可能であることが見出された。年齢とともに発達する年輪的な層状構造は1 歳以上の3 個体すべてにおいて観察されたが、年齢とは一致しなかった。ハシボソミズナギドリの下顎骨における層状構造の形成は、初め外基礎層板において広い範囲に見られるが、年齢を経るとともに、形成と同時に骨内部からハバース系の発達による侵食を受け、実際の年齢よりも本数が少なくなると考えられた。

引用文献

- Bloom, W. & Fawcett, D. W. 1975. *A Textbook of Histology*, 10th edition. W. B. Saunders Co. Philadelphia.
- Broughton, J. M., Rampton, D. & Holanda, K. 2002. A test of an osteologically based age determination technique in the Double-crested Cormorant *Phalacrocorax auritus*. *Ibis* **144**: 143–146.
- Carboneras, C. 1992. Family Procellariidae (Petrels and Shearwaters). In *Handbook of the Birds of the World. Vol. 1. Ostrich to Ducks*. (eds. J. del Hoyo, A. Elliott & J. Sargatal), pp. 216–257. Lynx Edicions, Barcelona.
- 藤巻裕蔵・水島俊一・出羽 寛 1976. アカネズミ2種の年齢査定. *日本生態学会誌* **26**: 19–23.
- Ginn, H. B. & Melville, D. S. 1983. *Moult in Birds. BTO Guide 19*. The British Trust for Ornithology, Hertfordshire.
- Grant, P. J. 1986. *Gulls, A Guide to Identification. 2nd edition*. T. & A. D. Poyser, Calton.
- 八谷 昇・大泰司紀之 1994. 歯の組織標本による年齢査定法. 骨格標本作製法, pp. 99–122, 北海道大学図書刊行会, 札幌.
- Hogstad, O. 1971. Age determination of Goldcrests *Regulus regulus* (L.) in summer and early autumn. *Ornis Scandinavica* **2**: 1–3.
- 粕谷俊雄 1983. 自然科学がとらえる歯, 鯨類の歯と年齢査定II. *科学と実験* **34**(5): 47–53.
- 川口弘一・丸茂隆三 1964. 駿河湾におけるハシボソミズナギドリの大量斃死について. 山階鳥類研究所研究報告 **4**: 106–113.
- Kleveval', G. A., Kallar, A. V. & Kirpichev, S. P. 1972. Determination of age in birds by layered in the periosteal

- zone. Zoologichesky Zhurnal **51**: 1726–1730 (in Russian with English summary).
- Klevezal', G. A. & Kleinenberg, S. E. 1967. *Age Determination of Mammals from Annual Layers in Teeth and Bones*. Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem (Translated from Russian).
- Klomp, N. I. & Furness, R. W. 1992. A technique which may allow accurate determination of the age of adult birds. *Ibis* **134**: 245–249.
- Koubek, P. & Hrabě, V. 1984. Estimating the age of male *Phasianus colchicus* by bone histology and spur length. *Folia Zoologica* **33**: 303–313.
- 黒田長久 1967. 宮崎県のハシボソミズナギドリの大量死及び考察. 鳥 **18**: 198.
- Leberman, R. C. 1970. Pattern and timing of skull pneumatization in the Ruby-crowned Kinglet. *Bird-Banding* **41**: 121–124.
- Lewis, J. C. 1979. Periosteal layers do not indicate ages of Sandhill Cranes. *The Journal of Wildlife Management* **43**: 269–271.
- Manikowski, J. S. & Walasz, K. 1980. An attempt to age pigeons using layered structure of tibia. *Ornis Scandinavica* **11**: 73–74.
- 丸山直樹・岡 奈理子・渡部良樹・黒田長久・Skira, I.・河野裕美 1986. ハシボソミズナギドリの渡り経路の再検討—太平洋横断調査結果から—。トヨタ財団助成研究報告書 ハシボソミズナギドリ *Puffinus tenuirostris* の大量斃死に関する総合的研究 (ハシボソミズナギドリ研究グループ編), pp. 36–42. ハシボソミズナギドリ研究グループ, 我孫子.
- Mitani, A. & Fujimaki, Y. 1992. Age determination of the Hazel Grouse and Carrion Crow based on the layered structure of the mandible. *Japanese Journal of Ornithology* **40**: 109–111.
- 三浦慎悟 1977. 陸棲哺乳類の齢査定技術, ノートリアを中心に. 哺乳類科学 (34): 43–53.
- Miura, S. 1985. Horn and cementum annulation as age criteria in Japanese Serow. *The Journal of Wildlife Management* **49**: 152–156.
- 宮尾嶽雄 1971. ニホンリスにおける歯数異常と頬歯の萌出順序. 哺乳動物学雑誌 **5**: 142–143.
- 森井隆三 1978. 香川県産アブラコウモリの生物学的研究 2. 歯の交換について. 哺乳動物学雑誌 **7**: 219–223.
- Naarding, J. A. 1980. *Study of the Short-tailed Shearwater Puffinus tenuirostris in Tasmania*. National Park and Service, Tasmania.
- Nelson, R. C. & Bookhout, T. A. 1980. Count of periosteal layers invalid for aging Canada Geese. *The Journal of Wildlife Management* **44**: 518–521.
- Nero, W. R. 1951. Pattern and rate of cranial 'ossification' in the House Sparrow. *The Wilson Bulletin* **63**: 84–88.
- 日本病理学会(編) 1981. 病理技術マニュアル3. 病理組織標本作製技術(上). 医歯薬出版, 東京.
- 西貝正彦・佐伯百合夫・石谷類造・杉森文夫・石橋順子・岡 奈理子・仲真晶子 1981. ハシボソミズナギドリの死亡原因に関する調査—主として城ヶ島沖で採集された衰弱鳥における病理学的検査成績. 山階鳥類研究所研究報告 **13**: 228–235.
- 大隅清治 1977. 鯨類の年齢査定. 哺乳類科学 (34): 54–65.
- 大泰司紀之 1976. 哺乳動物の寿命に関する一考察. 哺乳類科学 (32): 23–39.
- 大泰司紀之 1977. 齢査定法に関する総説. 哺乳類科学 (34): 1–7.
- Ohtaishi, N., Hachiya, N. & Shibata, Y. 1976. Age determination of the hare from annual layers in the mandibular bone. *Acta Teriologica* **21**: 168–171.
- Oka, N. & Maruyama, N. 1986. Mass mortality of Short-tailed Shearwaters along the Japanese coast. *Tori* **34**: 97–104.
- 岡 奈理子・丸山直樹・治田則男・黒田長久 1986a. ハシボソミズナギドリのヒナの成長パターン. トヨタ財団助成研究報告書 ハシボソミズナギドリ *Puffinus tenuirostris* の大量斃死に関する総合的研究 (ハシボソミズナギドリ研究グループ編), pp. 90–100. ハシボソミズナギドリ研究グループ, 我孫子.
- 岡 奈理子・丸山直樹・鈴木あき子 1986b. ハシボソミズナギドリの栄養生態と大量死. トヨタ財団助成研究報告書 ハシボソミズナギドリ *Puffinus tenuirostris* の大量斃死に関する総合的研究 (ハシボソミズナギドリ研究グループ編), pp. 13–25. ハシボソミズナギドリ研究グループ, 我孫子.
- Oka, N. Sugimori, F. & Ishibashi, Y. 1985. Mortality count of Short-tailed Shearwater *Puffinus tenuirostris* at Shiinauchihama of Kujukuri-beach, 1976–1982. *Journal of the Yamashina Institute for Ornithology* **17**: 113–117.

- 小沢敬二郎 1964. 東海道沖合におけるハシボソミズナギドリの大量死について. 山階鳥類研究所研究報告 **4**: 114-117.
- Pyle, P. 1997. *Identification Guide to North American Birds. Part I*. Slate Creek Press, California.
- Pyle, P. 2008. *Identification Guide to North American Birds. Part II*. Slate Creek Press, California.
- Serventy, D. L. 1953. Movement of pelagic sea-birds in the Indo-Pacific region. Proceedings of the 7th Pacific Science Congress **4**: 394.
- Serventy, D. L. 1963. Egg-laying timetable of the Slender-billed Shearwater. Proceedings of the XIIIth International Ornithological Congress **2**: 338-343.
- Serventy, D. L. 1976. The biology behind the mutton-bird industry. Papers and Proceedings of the Royal Society of Tasmania **107**: 1-9.
- Serventy, D. L. Nicholls, C. A. & Farner, D. S. 1967. Pneumatization of the cranium of the Zebra Finch *Taeniopygia castanotis*. Ibis **109**: 570-578.
- Shuntov, V. P. 1972. *Sea Birds and Biological Structure of the Ocean*. National Technical Information Service, United States Department of Commerce, Washington, DC (Translated from Russian).
- Sugimori, F., Oka, N. & Ishibashi, Y. 1985. The degree of skull ossification as a mean of aging Short-tailed Shearwaters. Journal of the Yamashina Institute for Ornithology **17**: 159-165.
- 杉森文夫・岡 奈理子・岩瀬順子 1976. アンケート調査によるミズナギドリ類の斃死に関する報告: 主としてハシボソミズナギドリについて. 山階鳥類研究所研究報告 **8**: 113-131.
- 鈴木あき子・神崎伸夫・丸山直樹・岡 奈理子 1986. ハシボソミズナギドリのエネルギー消費からみた渡り経路の検討. トヨタ財団助成研究報告書 ハシボソミズナギドリ *Puffinus tenuirostris* の大量斃死に関する総合的研究 (ハシボソミズナギドリ研究グループ編), pp. 43-62. ハシボソミズナギドリ研究グループ, 我孫子.
- Svensson, L. 2011. ヨーロッパ産スズメ目の識別ガイド. 村田 健(訳). 文一総合出版, 東京.
- Van Soest, R. M. W. & Van Utrecht, W. L. 1971. The layered structure of bones of birds as a possible indication of age. Bijdragen tot de Dierkunde **41**: 61-66.
- Winkler, par R. 1972. La pneumatization du crâne chez *Larus argentatus michahellis*. Alauda **40**: 272-277.
- 山階芳麿 1934. 日本の鳥類と其の生態 第一巻. 梓書房, 東京.
- 山階芳麿 1941. 日本の鳥類と其の生態 第二巻. 岩波書店, 東京.