

走査型電子顕微鏡写真による獣毛の同定法

岩本 俊孝
中川 浩伸

Identification of Animal Hairs with the Scan-Electron Microscope

Toshitaka IWAMOTO
Hironobu NAKAGAWA

要 旨

哺乳動物の体毛による種の同定は、従来、単に毛の表面構造をスンプ法で見たり、横断切片を光学顕微鏡で観察したりすることによって行われていた。しかし、手間がかかる上に、なかなか明瞭に結像してくれなかった。その難点を走査型電子顕微鏡写真を使うことによって克服できた。また、その試料をつくる段階で斜めに毛を切断し、キューティクルの模様だけでなく、その切口内部の髓質の構造も同時に観察することにより、かなり容易に動物種の判定が行えることが分かった。その一つの成果として、糞の中に含まれる体毛から、糞がシカのものであるかカモシカのものであるか判定することが容易になった。

はじめに

哺乳動物が様々な痕跡に残す体毛は、姿を見ることが難しい動物においては、重要な生態情報源である。例えば、イノシシ、シカ等によるコスリ木の表面の毛、鉄状網にわずかに削りとられて残った毛、寝床に落ちている毛、さらには糞に含まれる毛等である。糞に含まれる毛からは、もし肉食動物であるならば、餌となった動物を同定できるし、また、グルーミングを頻繁に行う動物では、その糞の排泄者を判定することも可能である。そのため、これまで獣毛を同定するために膨大な努力がはられてきた(須藤, 1965; Brunner & Coman, 1974; Teerink, 1991)。

しかし、その努力は必ずしも成功したとは言にくい。というのは、これらの研究では毛の表面構造を調べるのにスンプ法を使っているため、光学顕微鏡下では立体面の周辺部で焦点が合い難いし、また透明の有機膜は写しとられた曲折部で、光を乱反射する。また、髓質の内部構造を見ようとして、横断切片を作り光学顕微鏡で観察する場合も、水が髓質内に泡をつくり、これも乱反射を起こして、時には髓質の部分を真っ黒な像にしてしまう。その点、最近利用が容易になってきた走査型電子顕微鏡写真を使うと、これらの難点を克服できると予想された。

本研究は、毛の表面構造（キューティクル）を、走査型電子顕微鏡写真でどの程度明瞭に写し取ることができるか、またその場合、表面構造によって種の判定が可能かどうかを明かにする目的で行われた。さらに、毛の髄質内部の構造も同時に写し取を試みた。それにより、判定のための情報量が増え、電顕写真による同定法をより確実にしてくれるはずである。また、この方法の応用として、これまで肉眼では同定が不可能であったシカ（*Cervus nippon*）とカモシカ（*Capricornis crispus*）の糞の同定を、その中に含まれる毛を試みたので、その結果も合わせて報告する。

方 法

1. 電子顕微鏡の試料の作成

デシケーターに保存していた獣毛を、実体顕微鏡下で、約20度から45度前後の角度をもたせて両刃のカミソリで斜めに切断する。毛は下部と上部でキューティクルの模様や髄質の構造が異なるので、毛の長さに応じて、1本の毛から5から10片に切断した試料を作る。その試料を実体顕微鏡下で、電顕用試料台（直径10mm、高さ5mm）に貼った両面テープの上に順に並べる。その際、斜断面が上方を向いてテープの上に並ぶよう注意する。これによって、髄質（medula）の構造が分かる。

毛を接着した試料台の両面テープの回りに、チャージを防ぐためのドータイトを塗る。この試料台を蒸着器、FINECOAT（JOEL, JFC-1100）にかけ、金イオンをスパッタリングする。電圧は約1200V、イオン蒸着膜の厚さは300-400オングストロームであった。

2. 試料毛の採取

試料として使用した毛のうち、シカに関しては大分県緒方町の猟師所有の剥製から、同じくカモシカも同町博物館の剥製から得た。その他の毛は、飼育動物については個人から、また野生動物などについては動物園や博物館の剥製標本から得た。いずれも横腹からの上被毛（over hair）である。下毛（うぶ毛；under hair）は、キューティクルの模様も、髄質内部の構造も上被毛と著しく異なるので、比較には使わなかった。また、同じ上被毛でも、種によって毛の付けねと上部ではキューティクルの模様が全く異なる（図1）。この研究では、比較場所を統一するため、毛の幅がもっとも広い位置（widest point）の写真を使用した。

髄質はもともと毛根部で、細胞であった場所である。しかし、毛の状態になった時には、これらの細胞は死んでいる。本研究では、この元細胞であった部分を、隔壁と呼んだ。また、その細胞膜であったと思われる壁を、隔壁と名付けた。キューティクルは、本来、上皮紋理と呼ばれていたようだ（須藤、1965）が、本研究ではなじみの深いキューティクルという語を用いることにした。

カモシカとシカの糞に含まれている毛を調べるため、それらの糞を野外で採集した。シカの糞については、シカだけしか棲息していない宮崎県えびの市えびの高原から、3月、7月、11月にそれぞれ1糞塊づつ採集した。同じ月に、大分県三重町と竹田市のカモシカ棲息地から、カモシカの糞を各1糞塊採集した。この際、粒数が200以上あり確実にカモシカの糞であるものだけを分析のため選んだ。1糞塊から乾重にして約1gの糞粒を計りとり、粉碎器で約1分間粉碎した。その試料を実体顕微鏡下でソーティングし、見つけた毛を採集しカウントした。

この作業をそれぞれの糞について3回繰り返した。

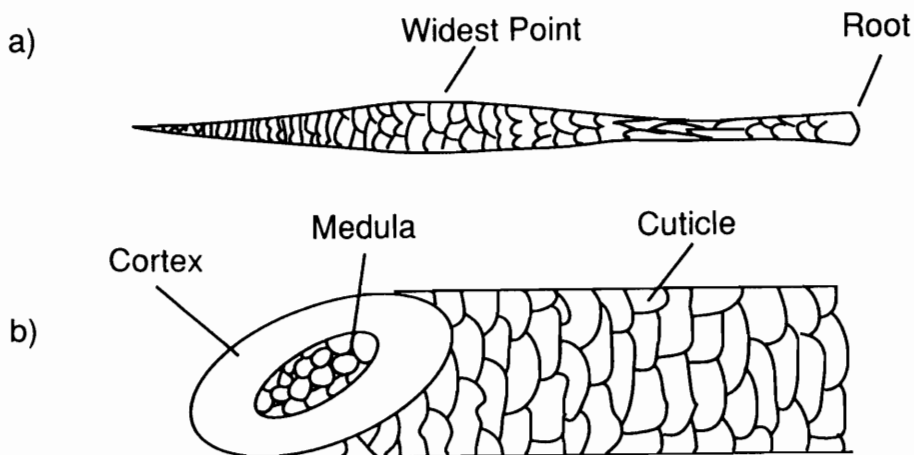


図1 毛の各部の名称. a) 毛の全体像. b) 毛の表面と、斜断面の模式図. Cortex は皮質, Medulaは髄質, Cuticle はキューティクル及び上皮紋理.

結果

1. 毛の表面構造と髄質の構造

シカ

シカの上被毛は、特に電子顕微鏡写真等を使わなくても、折り曲げて見て容易に折れるのでシカの毛だと判定できる。このような毛は他にはない。ところがシカの首から背にかけてのタテガミに当る部分に多く生える保護毛 (guard hair) は、カモシカの毛に似て柔軟性があリなかなか折れない。2種類のシカの毛は、その皮質の厚さに大きな違いのあることが分かる(写真1, 2)。保護毛の皮質の厚さは、 $10\mu\text{m}$ 以上はあるが(写真1 a), 上被毛(写真2 a)では数 μm 程度しかない。また、前者は概して、毛の太さが細い($70\mu\text{m}$)が、後者は太く($150\mu\text{m}$)多少偏平のこともある。

上被毛のキューティクルは、凹凸が少なく滑らかな輪郭を描いている(写真1 b)。しかし、保護毛の輪郭は円鋸歯上で、その点カモシカのものと区別するのは難しい。また、前者の鱗の密度は $100\mu\text{m}$ 当り8枚前後であるが、後者は13から16枚もあり1枚の鱗の幅が大変狭い(写真2 b)。

上被毛の髄質は隔壁が薄く柔らかそうで、内部にほとんど顆粒が見られない(写真2 a)。しかし、保護毛の隔壁は単純な1枚の壁ではない。小さな繊維状の組織が見られることがある(写真1 a)。部分によってはその繊維状の組織が、小室の全部分を埋めつくしていることもあ

る。しかし、シカの毛には顆粒が含まれることはほとんどない。

カモシカ

カモシカの毛はシカの保護毛とよく似ているが、皮質が厚く、20から30 μm くらいあり、シカの保護毛とは厚さが大きく異なる(写真3a)。このため、カモシカの毛は折り曲げても絶対に折れることはない。毛先に近いところでは、髓質が非常に小さくなり、後で述べるヒトやサルに近い断面を示すこともある。

キューティクルは円鋸歯状の輪郭を示す(写真3b)。シカのそれに比べると凹凸が激しい。しかし、その輪郭のみではシカの保護毛と区別することは難しい。また、古い毛のキューティクルはすり減って鱗が全く見えず、滑らかな表面構造を示すことがある。鱗の密度は100 μm 当り10から17枚(平均14枚; $n=10$)位であり、シカの保護毛とほぼ同じ程度の幅である。髓質の構造はシカに比べると、単純ではない。すなわち、隔壁は厚く、小室内に顆粒が見られることが多い。また、繊維状の組織も同時に見られることがある。

以上より、シカとカモシカの毛の区別は、皮質の厚さと、髓質に顆粒状の構造があるかどうかを基準にするのが今のところ最も良いようである。

2. シカとカモシカの糞に含まれる毛

糞1gから採取された毛の本数をみると、3月と11月においてはカモシカとシカの本数に大差はない。乾重1g(カモシカでは平均7粒, シカでは5粒)から平均2から4本の毛が発見

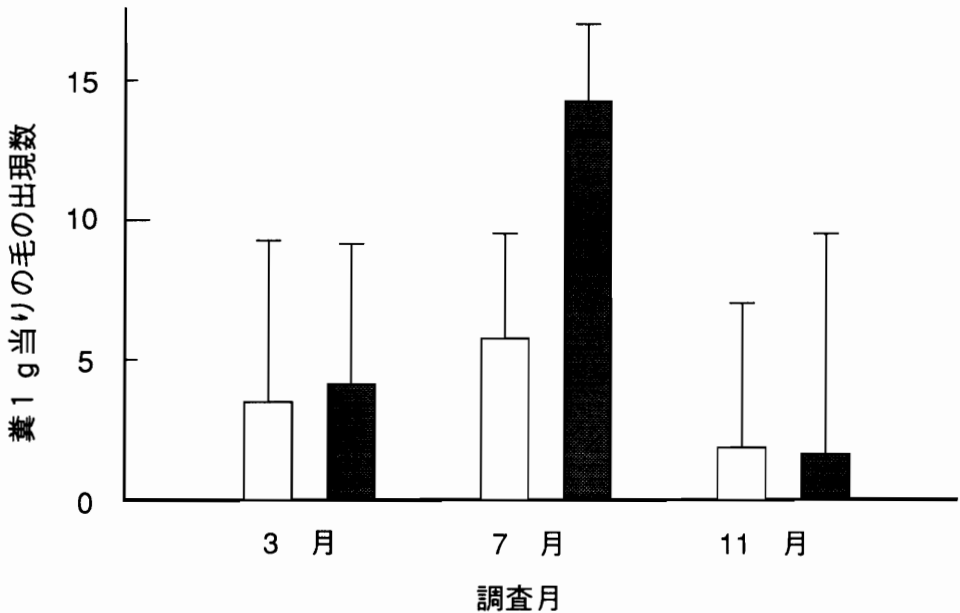


図2 3月、7月、11月に採集されたカモシカとシカ糞1g中の発見毛数。幅は95%信頼限度。白棒はカモシカ、灰色の棒はシカを示す。

されている(図2)。7月ではカモシカとシカでは大きく異なる。シカの糞からは大量の毛が発見された。カモシカに関しては他の季節より少し多い程度であった。シカにおいて夏に糞から多くの毛が発見されるのは、夏毛が抜け易いせいであるのか、あるいは動物がこの季節に特にグルーミングを頻繁に行うせいであるのか今のところ分からない。シカの糞からは、上被毛も保護毛も発見された。上被毛は中が空洞なので容易に同定できた(写真4)。しかし、保護毛が発見された場合には、必ずしも明確にはカモシカの毛とは区別つかない。その意味で、シカの糞であるとの断定は、上被毛が見つかった場合のみ比較的容易に行うことができる。ただ、カモシカの糞の中に見つかった毛は、極めて皮質が厚かった。そういう毛はシカでは見つからなかった。それ故、皮質が厚く、髓質が中央部にわずかしかない毛は、カモシカのものだと断定してよいと思われる(写真5)。

3. その他の動物の毛

イヌの毛の髓質には、密な部分と粗な部分が明瞭に分かれて表れる(写真6)。密な部分は隔壁が厚膜化してその壁の内部にさらに小部屋が出来ている。粗の部分が通常見られる隔壁の部分である。同じイヌ科のキツネの毛もその傾向が見られるようだ(写真7)。隔壁の中に小さなすまが分布している。同様にイヌ科のタヌキも、あまり良い写真がないが、隔壁の中に小部屋が存在する場所があることは分かる(写真8)。いずれの種類もカモシカに似たキューティクルの構造をもっていた。

ネコの毛の斜断面の特徴は、隔壁の大きさの不均一性である。すなわち、部屋によってはその髓質内に占める面積が極めて大きく、他の小部屋の大きさの比ではない。そういう大きな隔壁が髓室内に1から2存在する(写真9)。

ヒトの毛には髓質がほとんどない(写真10)。しかし、時には毛の中央部に髓質と思われる小さな泡状の組織の存在が認められることがある。ニホンザルの毛もヒトのそれに大変良く似ている(写真11)。両者が同時に提出された場合には、判定が難しいだろう。また、ツキノワグマの毛にも、髓質に相当する部分がほとんど見られない(写真12)。しかし、ツキノワグマでは、キューティクルの幅がヒトやサルに比べかなり狭いようである。

テンとチョウセンイタチの毛は細い。両者は髓質では区別つかないほど良く似ている(写真13, 14)。

ムササビの毛は、キューティクルの輪郭に鋸歯が少なく、滑らかで均一な模様を描いている。また、髓質内の隔壁がそれぞれ大きく、空泡状であると言ってよいと思う(写真15)。また、皮質も薄い。おそらく、滑空に必要な体重の軽減にうまく対応しているものと思われる。同じ様なキューティクルの輪郭模様を描くものに、ウサギの仲間がある。両者とも毛の位置によって模様が大きく異なるが、widest pointの所では、ムササビのそれに似た規則正しい模様が見られる。カイウサギもノウサギも毛が偏平あるいはヒョウタン状になることが多く、その場合隔壁は長方形をなし、1列か2列で規則正しく並ぶ(写真16, 17)。また両者ともに、鱗が紐状になってしまい、毛の表面を縦に不規則に走る所もある(写真18)。

最後にカモシカとは系統的に近いヤギ(アンゴラヤギ)であるが、キューティクルの輪郭、髓質内部の構造ともにカモシカに酷似している(写真19)。

考 察

本研究では、獣毛のキューティクルの表面の模様と、斜めに切断した毛の断面を走査型電子顕微鏡で観察し、その毛の持主を判定しようと試みた。その結果、従来のスンプ法に比べ、表面構造は格段に明瞭に観察できることが分かった。また、毛の斜断面を走査型の電子顕微鏡で観察すると、皮質や髄質の厚さが測れるだけでなく、髄質内部の隔壁の形や大きさ、あるいは顆粒などが手にとるように分かる。横断切片を作って髄質の構造を光学顕微鏡で観察していた、従来の方法ではなかなか得られない情報を集めることができる。

獣毛の同定は、棲息地に残された痕跡がどの動物のものかを判定する場合に重要である。従来、カモシカとシカが同所的に棲息しているか、あるいは棲息しているかもしれない地域において、糞塊数を元にした動物の密度推定がなされていた(森下と村上, 1979)。その場合、発見された糞が典型的なカモシカかシカの糞であれば問題はない。シカの糞粒は普通大ぶりで、粒数が100以内である。そして、一つの糞塊が広い範囲に散らばっている。それに対し、典型的なカモシカの糞塊は、200粒以上からなり粒形が小型である。糞も1ヶ所に固めて排泄される。しかし、問題はその範囲に入り切らなかった糞の処理である。カモシカも時には100粒以下の糞を出すし、また、シカの子の糞粒はカモシカに似て小型で粒数が多い。こういう場合、判定のしようがないので、見かけ上どちらに近いかという印象だけでシカかカモシカかに分けていたのが実情である。これは、糞の密度でカモシカやシカの密度を推定する糞塊法の最大のネックであった。最悪の場合には、カモシカが棲息していない地域で棲息をしていると判断することもありえた。また、全く逆のケースもあったと思われる。

本研究では、グルーミング行動によって糞の中に含まれることになった毛を糞の中から探し出し、判定することによって、糞の落とし主を判定できることを明かにした。とくに、シカの上被毛は毛の皮質が極めて薄く、カモシカの毛と容易に区別がつく。そして、わずかに乾重にして1g程度の糞をソーティングすれば、ほぼ必ずといってよいほど毛は見つかるので、それほど手間はかからない。手間だといえば、走査電子顕微鏡を見ること位であろうが、肉眼だけで誤った判定を下すよりはよい方法だと思われる。ただ、シカの保護毛をカモシカの上被毛から100%正確に区別することは難しいので、今後検討する余地がある。その場合、糞のサイズ、糞塊内の糞粒数、糞粒内の繊維の大きさなどを利用し、総合的な判定を行うようにすると、より正確な同定が可能になるとと思われる。

他の動物の毛の判定も、キューティクルの輪郭の模様だけで行うより、斜断面の像を同時に利用する方が同定が容易である。とくに、サルやヒトあるいはクマなどは、髄質がほとんどないといった方がよいくらい小さく、他の動物と容易に区別つく。また、ネコの毛の髄質に特有に見られる大きな隔壁などは、ネコの毛のキーとなりうる。シカの保護毛はカモシカの上被毛とよく似ているが、皮質の厚さや、中に顆粒が含まれているかどうかなどで区別が可能だと思われる。なお、文化庁と大分県教育庁による大分県カモシカ食害対策事業において、すでにこの走査型電子顕微鏡による判定法が、鉄状網に付着する獣毛の同定に役立っている(馬場他, 1992)。

今後、キューティクルの模様や鱗の間隔の統計的処理を行って、より客観的な検索が可能になるよう手順を整理していくことが必要であろう。また、毛の根元から毛先にかけてのキューティクルの模様や、髄質の構造の変化のパターンを検索基準にする方法もあろう。さらに、本

研究では、同一種の複数の個体の毛を比較することは行っていない。個体変異を知ることも今後必要であろう。

謝 辞

カモシカとシカの糞の同定法を相談した際、糞の中に含まれる毛を使ってみたらとアドバイス下さった、宮崎大学農学部川村修助教授に心からお礼申し上げます。また、九州のカモシカ調査を指導して来られた九州大学理学部の小野教授と、カモシカ大分県のカモシカの糞を快く提供下さった土肥昭夫博士に感謝します。同じく、獣毛を提供下さった、北九州市自然史博物館の伊沢雅子博士（現琉球大学理学部）、馬場稔博士、宮崎大学農学部農業博物館の中島義人氏、フェニックス自然動物園出口智久氏、宮崎医科大学動物実験施設中村豊氏に感謝いたします。また、走査型電子顕微鏡の操作法についてご指導下さった、宮崎大学教育学部の芋生絃志教授と同農学部那須哲夫助教授にお礼申し上げます。この研究は、一部文化庁と大分県教育庁文化課のカモシカ食害対策事業により資金的な援助を受けています。関係各庁にお礼申し上げます。

文 献

馬場稔, 志水輝昭, 土肥昭夫, 岩本俊孝 (1991) 平成二年度特別事業天然記念物カモシカ食害対策事業現地調査結果報告 - シイタケおよびスギ, ヒノキ植樹に対する加害について. 大分県教育庁平成2年度事業報告書.

Brunner, H. and Coman, B.J. (1974) *The Identification of Mammalian Hair*. Inkata Press, Melbourne.

森下正明, 村上興正 (1979) ニホンカモシカの生態学的研究. 森下正明生態学論集 (思索社), 第1巻: 281-342

須藤武雄 (1965) 各種動物毛の形態学的研究. 科学警察研究所報告, 18 (4) : 12-19.

Teerink, B.J. (1991) *Hair of West-European Mammals*. Cambridge University Press, Cambridge.

中川浩伸 現住所: 宮崎県えびの市大字向江 えびの市立真幸中学校

(1992年4月30日 受理)

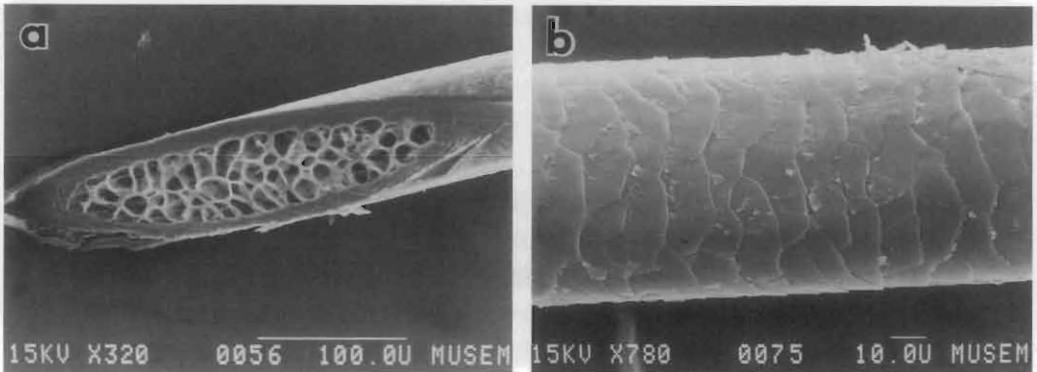


写真1 a) シカの保護毛の斜断面, b) シカの保護毛のキューティクル.

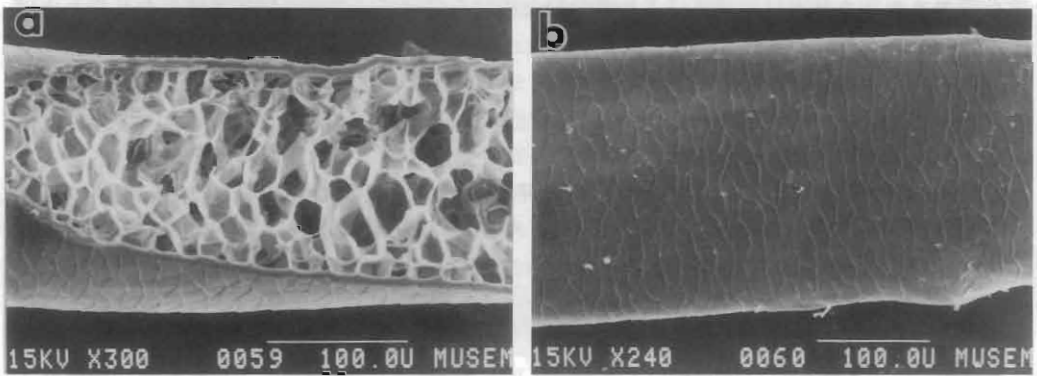


写真2 a) シカの上被毛の斜断面, b) シカの上被毛キューティクル.

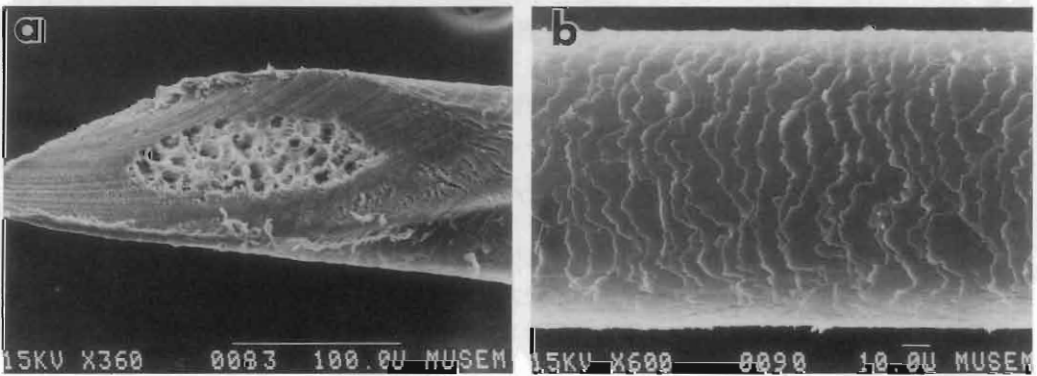


写真3 a) カモシカの毛の斜断面, b) カモシカの毛のキューティクル.

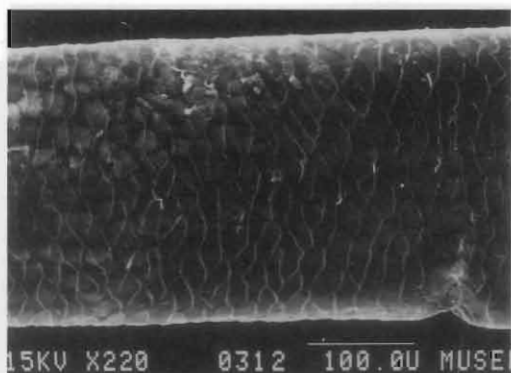


写真4 糞中から発見されたシカの上被毛.

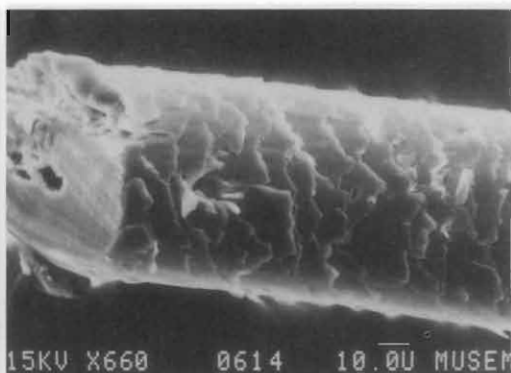


写真5 糞中から発見されたカモシカの毛.

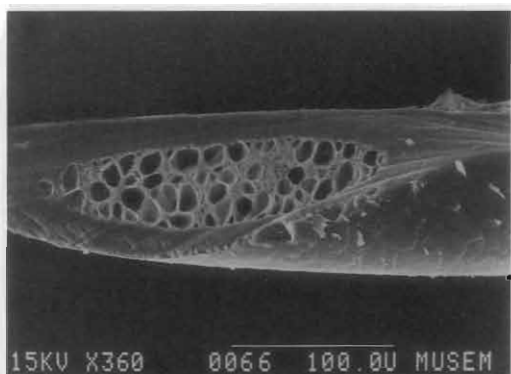


写真6 イヌの毛の斜断面.

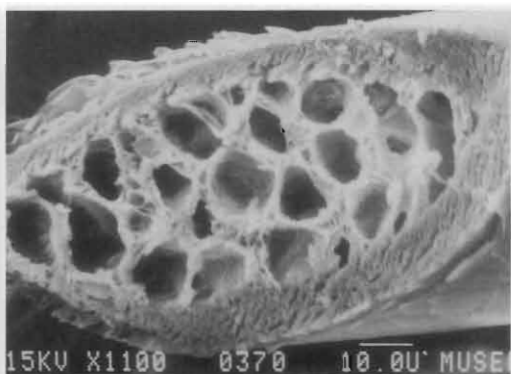


写真7 キツネの毛の斜断面.



写真8 タヌキの毛の斜断面



写真9 ネコの毛の斜断面.

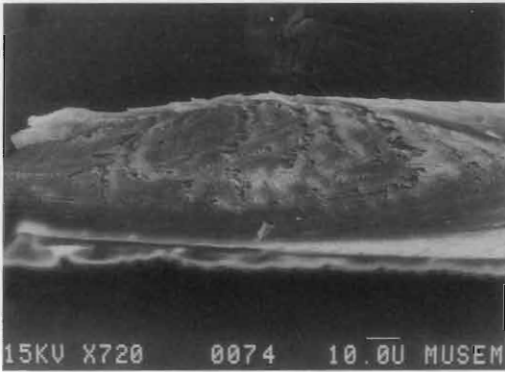


写真10 ヒトの毛の斜断面.

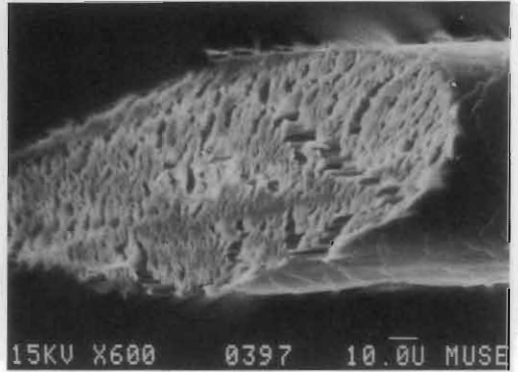


写真11 ニホンザルの毛の斜断面.

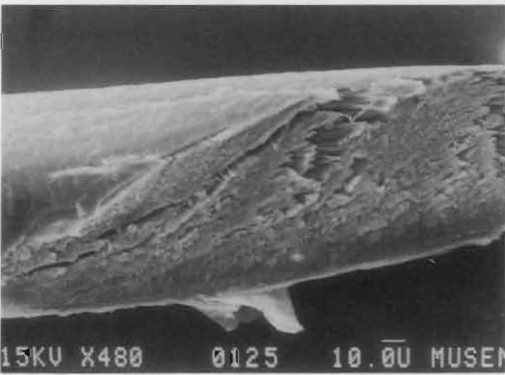


写真12 ツキノワグマの毛の斜断面.

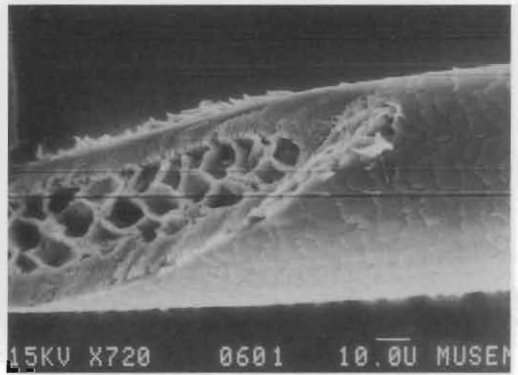


写真13 テンの毛の斜断面.

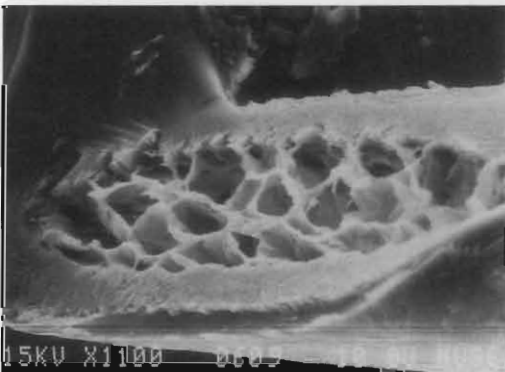


写真14 チョウセンイタチの毛の斜断面.



写真15 ムササビの毛の斜断面.

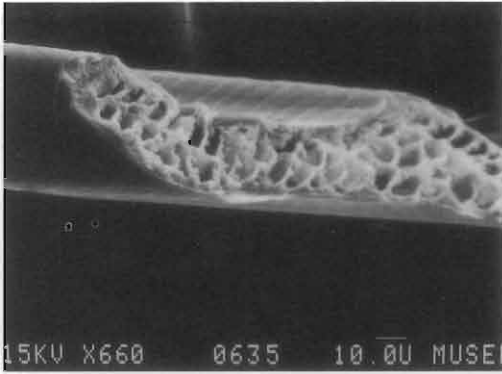


写真16 カイウサギの毛の斜断面.

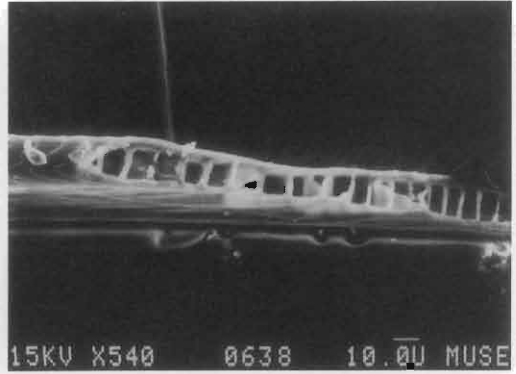


写真17 ノウサギの毛の斜断面.

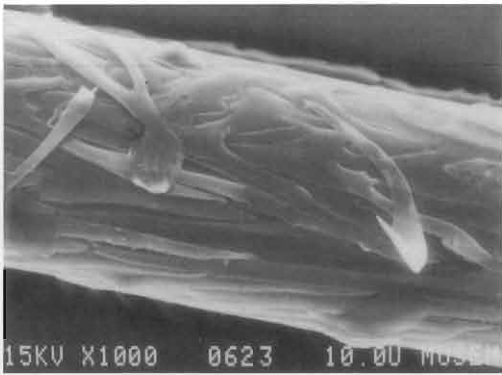


写真18 カイウサギの毛のキューティクル.
鱗が状になっているところがある.

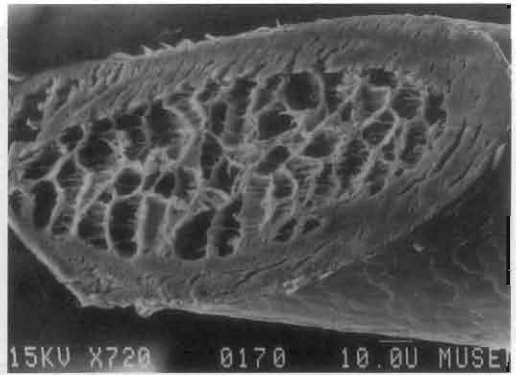


写真19 アンゴラヤギの毛の斜断面.