

外套膜の異なる部位から採取したピースを移植して得られた アコヤガイ真珠の特性

劉 瀟¹・佐藤 友¹・古丸 明^{1,*}・渥美貴史¹・淡路雅彦²
山本貴志³・樋口恵太³・岩橋徳典³・永井清仁³

Characteristics of pearls produced by implantation of different mantle area pieces

Xiao LIU¹, Yu SATO¹, Akira KOMARU^{1,*}, Takashi ATSUMI¹, Masahiko AWAJI²,
Takashi YAMAMOTO³, Keita HIGUCHI³, Yasunori IWAHASHI³ and Kiyohito NAGAI³

Abstract: We examined the characteristics of pearls produced from different areas of the same donor oyster mantle tissue. A small piece of tissue was dissected from different mantle areas and implanted with pearl nucleus into mother oysters that were then cultured. Pearls were harvested after 90 days or 150 days. In Exp.I the pearls from oysters implanted with a piece of tissue from along the dark line near the mantle edge (X: ventral area of pigmentation line, Y; dorsal area of pigmentation line) had thicker nacreous layer and thinner aragonite crystals than those from oysters implanted with a piece from near the adductor muscle (Z). Yellowness Index (YI) in X was larger than those in Z. In Exp.II oysters were implanted with a piece from three different areas near the mantle edge (A; ventral area of pigmentation line, B: area include the pigmentation line, C; dorsal area of pigmentation line). YI from B was larger than those from C. Thickness of pearl and one aragonite crystals from A were larger than C. The present study suggests that amount of yellow pigment, thickness of the nacreous layer, and one aragonite crystal could be controlled by selecting the area of mantle of donor oysters.

Key words: Pearl oyster; Nacreous layer; Mantle; Implantation

日本における真珠養殖では、アコヤガイ *Pinctada fucata* が挿核用母貝として主に用いられている。真珠養殖における工程の一つとして、母貝の生殖巣内にピース貝から採取した外套膜片（ピース）と真珠核を移植する挿核手術を行う。母貝は外套膜片と核を挿入される貝であり、ピース貝は外套膜片を提供する貝である。母貝とピース貝の特性は真珠の品質を左右する重要な要因であり、育種によってそれぞれの系統が作出されている（和田 1985; Wada and Komaru 1996; 林 1999; Aoki et al. 2010）。外套膜片の貝殻側上皮細胞が

分裂し、核に沿って伸張して真珠核を完全に覆うようになる。この上皮細胞からなる袋状の構造を真珠袋と呼んでいる。この真珠袋の上皮細胞の働きによって真珠基質タンパク質と炭酸カルシウムが分泌され、真珠層が核の周辺に形成される（和田 1999）。

アコヤガイ外套膜は、最も腹側の外套膜縁部（ME部）、外套縁膜部（MP部）と外套中心部（MC部）の3つの部位に分けられている（小島 1949）。外套膜の部位によって貝殻形成の特性が異なる。ME部の外面上皮細胞は外殻層の稜柱層を分泌し、MP部および

2016年7月7日受付；2017年1月27日受理。

¹三重大学生物資源学研究科（Graduate school of Bioresources, Mie University, Tsu, Mie 514-8507, Japan）。

²国立研究開発法人水産研究・教育機構 増養殖研究所（Japan Fisheries Research and Education Agency, National Research Institute of Aquaculture, Minami-ise, Mie 516-0193, Japan）。

³ミキモト真珠研究所（Pearl Research Institute, Mikimoto Co., Ltd, Shima, Mie 517-0430, Japan）。

*連絡先（Corresponding author）: Tel, (+81)59-231-9527; E-mail, komaru@bio.mie-u.ac.jp（A. Komaru）。

MC 部の外面上皮細胞はそれぞれ中殻層と内殻層の真珠層を分泌することが知られている (和田 1999)。さらに、この外套膜の部位による分泌特性の差異は挿核手術後、真珠袋上皮細胞となっても維持されることが報告されている (青木 1966; 和田 1999)。実際に過去に行われた挿核試験では、ME 部をピースとして挿核すると商品価値の低い稜柱層真珠とよばれる低品質真珠の採取率が高く、MP 部において肉眼で認められる黒褐色の「色線」とよばれている線を含む部位をピースとして使うと、高品質真珠層真珠の採取率が高かった事が示されている (青木 1966)。

真珠の品質を決める要因のうち、実体色は真珠に含まれる黄色色素の多寡により黄色系と白色系に大きく分けられている (沢田 1962)。一般的に白色系のホワイト真珠やピンク真珠が好まれ、黄色い真珠の経済価値は低い (和田 1969)。白色系の真珠を効率的に生産できるピース貝が黄色度を指標とした選抜育種により生産され (和田 1985; Wada and Komaru 1996; 林 1999)、業界で広く用いられるようになった。近年、黄色系真珠の中でも特に濃黄色を呈するゴールド真珠に注目が集まってきた (田中ら 2012)。ゴールド系真珠を効率的に作出するため、真珠層における黄色色素について選抜育種の対象にもなっている。また、真珠層における黄色色素の含有量の多寡はピース貝の外套膜細胞の黄色色素分泌能力に依存する (和田 1999)。林 (1999) により、アコヤガイ貝殻において外套膜の MP 部に対応する部位の真珠層では黄色度が高く、MC 部では黄色度が低い傾向があることが示唆されている。さらにピースを採取する際の外套膜の部位が真珠黄色度に影響する可能性を指摘している。

また、真珠の品質を決める重要な要因である干渉色の色については、真珠層を構成する結晶 1 層の厚さに依存していることが明らかになっている (和田 1981)。高品質なピンク色の干渉色を示す真珠では真珠層の 1 層の厚さが $0.35 \sim 0.43 \mu\text{m}$ であるとされている (和田 1962)。また、系統や個体によって真珠層干渉色の強さや色が異なり、ピース貝における選抜育種の対象となり得る形質であることが明らかになっている (岩永ら 2008)。

真珠養殖において、挿核手術に用いるピースの採取部位は真珠品質に影響を及ぼす大きな要因であることは明らかである。しかし、ピースの形状、採取部位による真珠分泌特性の違いや得られた真珠の特性の違いについては、小竹・河村 (1957a)、宮村・牧戸 (1958) の先行的な研究があるが、真珠の微細構造や色について定量的に調べられた研究は乏しい。こうした背景をふまえ、本研究ではアコヤガイ外套膜の異なる部位から採取したピースを用いて挿核実験を行った。採取部

位別に得られた真珠の特性、主に黄色度と巻き、真珠層微細構造について比較することで、外套膜の異なる部位が真珠袋を形成した時の上皮細胞の分泌特性の違いを明らかにする事を目的とした。

材料および方法

ピースの採取部位と挿核実験

実験 I

真珠層白色系のアコヤガイ (人工交配による満二年貝) をピース貝および母貝として使用した。2014年 7 月 24 日に 4 個体のピース貝外套膜から、外套縁膜部 (MP 部) の色線より貝殻腹縁側部位 (X) と蝶番側部位 (Y)、外套中心部 (MC 部) の閉殻筋付近部位 (Z) の 3 通りのピース (Fig. 1C) を採取した。ピースの大きさは一片 $2 \sim 3 \text{ mm}$ 程度とした。なお色線 (PL) とは外套膜腹縁部の外面上皮細胞に肉眼で認められる褐色の細い線で (Fig. 1C) (青木 1966)、ピースを採取する際の目安とした。採取したピースは真珠核 (直径 7.5 mm) とともに各区 56 個体、合計 168 個体の母貝の生殖巣に挿核した。部位はふくろとよばれる生殖巣腸管下降部に核を 1 個のピース片とともに挿入した。

挿核した貝を養生カゴに入れて濾過海水を満たした水槽 (平均 27.4°C , 33 psu) に収容し、無給餌で 14 日間養生した。8 月 7 日 (挿核後 14 日目) に貝をポケットカゴに移して英虞湾の真珠養殖場に垂下養殖した。10 月 23 日 (挿核後 90 日目) に各区の母貝から合計 127 個の真珠を採取した。真珠の品質を低下させる大きな要因であるキズ・シミの形成、有機質の分泌は、真珠形成初期に起きる事が多いので、本研究では実際の養殖期間より短い期間で真珠の採取を行った (実験 I)。ただし、干渉色、光沢は浜上げまでの水温の低い時期に良くなるとされており、本研究では評価を行わなかった。棟朝 (1994) の基準を改変し、キズ・シミが真珠表面全体の 25% 以下の真珠層真珠のみを真珠層真珠として分析に供した。

実験 II

真珠層黄色系アコヤガイ (満二年貝) をピース貝および母貝として使用した。2012 年 7 月 18 日に 1 個体のピース貝の外套縁膜部 (MP 部) から外套膜貝殻腹縁側部位 (A)、色線を挟む部位 (B) と蝶番線に近い部位 (C) の 3 通りのピース (Fig. 1B) を採取し、真珠核 (直径 4.6 mm) とともに各区 30 個体 (合計 90 個体) の母貝に挿核した。挿核後の母貝を英虞湾の真珠養殖場で垂下飼育し、適宜養殖カゴを交換して 12 月 4 日 (約 5 ヶ月後) に浜上げした。得られた真珠のうち、棟朝 (1994) の基準を改変し、キズ・シミが真珠表面全体の 25% 以

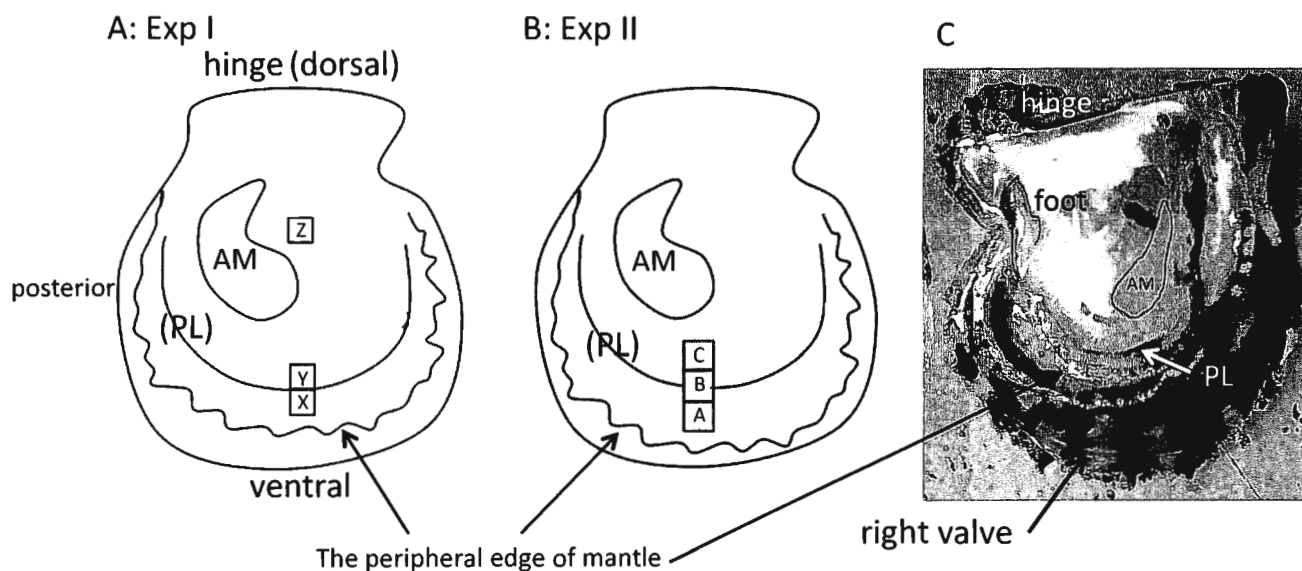


Fig. 1. A, B: Schematic drawing of the area of mantle dissected from donor oysters as “mantle piece” for implantation experiment I and II. Right valves were removed. PL; pigmentation line along the ventral edge of mantle, AM; adductor muscle. In Exp I ventral (X) and dorsal (Y) area from the pigmentation line of mantle and area near the adductor muscle (Z) were dissected as mantle pieces. In Exp II the ventral area (A) of PL, the area including the PL (B), and dorsal area (C) of PL were dissected and implanted in experiment II. C; The pigmentation line on the mantle along the ventral area. In Fig. 1C left valve was removed.

下の真珠層真珠のみを真珠品質の分析に供した。

真珠品質の分析

真珠黄色度 (Yellowness index, YI) の測定

実験 I では色彩色差計 (CR-400, コニカミノルタ) により, 1 個の真珠について部位を変えて黄色度 YI 値を測定し, 3 回の測定値の平均値を求めてその真珠の黄色度とした (田中ら 2012)。

実験 II では高速分光光度計 (CMS-35SP, 村上色彩技術研究所) を用いて放射輝度率を測定し, CIE1931 表色系により三刺激値 (X, Y, Z) を求め, 川上ら (1980) に従い, 黄色度 (YI) を以下の式で求めた。

$$YI = (1.250X - 1.038Z) / Y$$

真珠断面の微細構造の観察及び計測

真珠をエポキシ樹脂 (SpeciFix-40, Struers 社) に包埋, 重合後, 真珠の中央部をディスコプラン TS (株式会社ディスコ) で切断し 2 つに分割した。なお, キズ・シミのある真珠においては, その部位をさけて分割した。切断面を 3M インベリアルラッピングシートにより, 粒度 40 μm , 30 μm , 12 μm , 3 μm の順に研磨して表面を平滑にした。卓上走査型電子顕微鏡 (SEM, Miniscope TM-1000, 日立ハイテクノロジーズ) により, 真珠断面の 8 ケ所 (Fig. 2) を観察し, 画像を取得した。その後, 画像ソフト Image J により, 真珠層全体の厚さ (巻き) と真珠層 20 層分の厚さを測定した。

真珠層 1 層の厚さについては, Fig. 2 に示したように, まず真珠表層, 中層および内層の 3 つの異なる部

位の各 20 層分の厚さを計測した。その値を 20 で除し, 得られた平均値を 1 層の厚さとした。さらに, 真珠の真円度と真珠層 1 層の厚さの一定性を評価するため, 一個の真珠について 8 ケ所における巻きの厚さと真珠

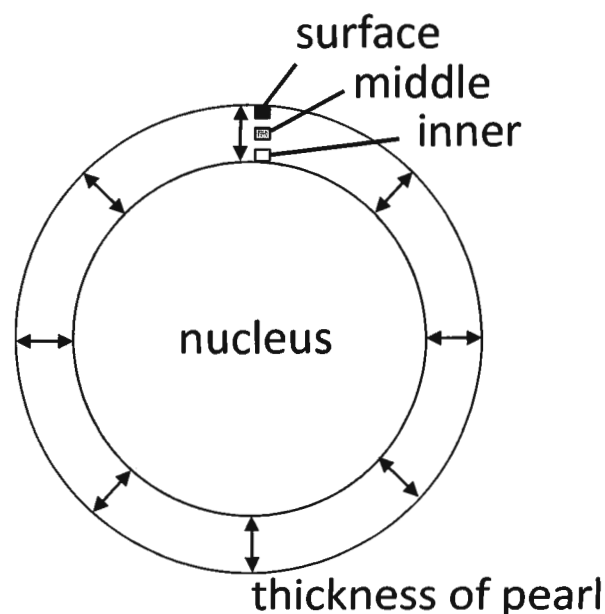


Fig. 2. Schematic drawing of the cross section of pearl. The thickness of pearls at different eight sites (two direction arrows) were measured on each pearl. In three different layers shown by rectangles, the width of one crystals were estimated in experiment I. Black, gray, and white rectangles show the surface, middle and inner layers where we estimated the thickness of the crystals, respectively. In experiment II only surface layer shown in black rectangle were examined.

Table 1. Category of the pearls obtained by implantation of the different area of mantle tissues (X,Y, and Z) dissected from donor oysters as shown in Fig. 1

category of pearls		area of mantle dissected		
		X	Y	Z
nacreous pearls	(area of blemish or dark staining less than 25%)*	28(59.6)	22(48.9)	13(37.1)
	(area of blemish or dark staining more than 25%)	9(19.1)	10(22.2)	6(17.1)
	thin pearls	1(2.1)	1(2.2)	0(0)
prismatic pearls		2(4.3)	3(6.7)	3(8.6)
no deposition		7(14.9)	9(20)	13(37.1)
total		47(100)	45(100)	35(100)

* The area of the blemishes and deformities to the surface area of pearl.

表層の真珠層 1 層の厚さの変動係数 (CV 値) を求めた ($CV=SD/\text{mean}$)。

データが等分散と見なせる場合には Tukey-HSD 法により, 等分散で無いと判断された場合には Games-Howell 法により検定を行った。

実験 II において暗黄色真珠と明黄色真珠が出現した。両者の差は明確であったので, 目視で分けて真珠の巻きに対する柱状構造の厚さの比率を比較した。有意性の検定は Mann-Whitney 法によった。

結 果

実験 I

得られた真珠の内訳

挿核後90日目に取り上げた真珠の個数は, 脱核個体があったため X 部位をピースとして得られた区 (以下 X と略記) の真珠47個, Y, Z をそれぞれピースとした区 (以下Y, Z と略記) では Y 区45個, Z 区35個であった。これらの真珠の表面を肉眼で観察し, 真珠層真珠, 真珠層が薄いすまき真珠, 真珠層以外の層が形成されている稜柱真珠, シラダマ (全く分泌物が真珠核表面に認められない状態) に分類した (Table 1)。真珠層真珠の出現率は X で78.7%, Y で71.1%, Z で54.2%であった。真珠層が全く巻いていないシラダマの出現率は X で14.9%, Y で20%, Z で37.1%であった。さらに, 本研究で得られた真珠層真珠においては, キズ・シミの多い真珠が多かったため, 棟朝 (1994) の基準を改変し, キズ・シミが真珠全表面の25%以上を占める真珠と25%未満の真珠に分けた。キズ・シミが真珠表面全体の25%以下の真珠層真珠の比率は X で59.6%, Y で48.9%, Z で37.1%であった。本研究では黄色度や真珠の巻き, 真珠層 1 層の厚さなどの解析に用いたのはキズ・シミが25%未満の真珠層真珠, X 28個, Y 22個, Z 13個を選んで以下の解析に用いた。

真珠の黄色度 (YI 値)

真珠の黄色度 YI 値の測定結果を Fig. 3 に示した。

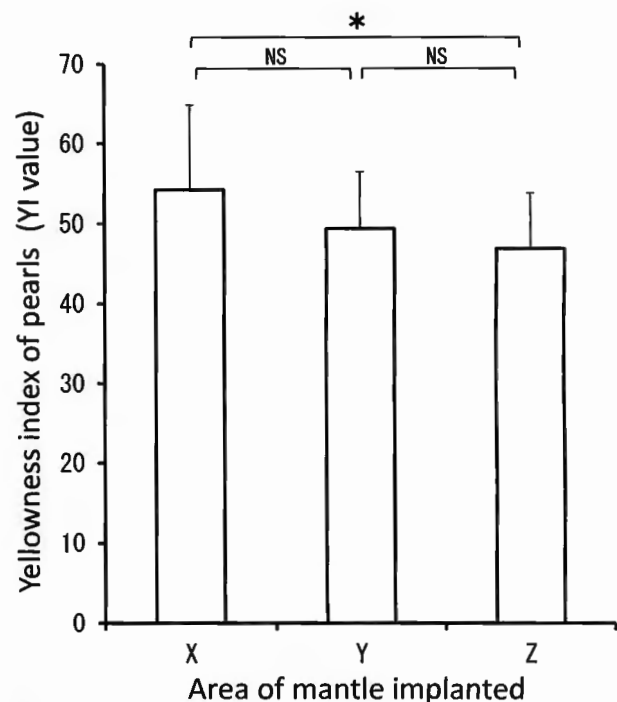


Fig. 3. The yellowness index (YI) of pearls estimated by spectrophotometer. The different area of mantle (X,Y, and Z) were dissected as shown in Fig.1, and implanted with pearl nucleus. After 90 days culture in Ago Bay the pearls were harvested and estimated. Only nacreous pearls were estimated. The number of the nacreous pearls estimated in X, Y, and Z were 28, 22, and 13, respectively. * $p < 0.05$ by Games-Howell, NS; not significant.

YI 値の平均値は X で54.2, Y で49.4, Z で46.9であった。値が最も高かったのが X で, X と Z の平均値の差は有意であった (Tukey-HSD, $p < 0.05$)。X は Y よりも平均値が大きい傾向が見られたが, 有意差は認められなかった。

真珠層全体の巻き, 真珠層 1 層の厚さ

真珠断面における真珠層の巻きの結果を Fig. 4 に示した。巻きの 8 ヶ所の平均値は X で189.7 μm , Y で214.3 μm , Z で162.2 μm であった。真珠層の巻きが最も厚かったのが Y であった。さらに, Y の平均値は Z

よりも有意に厚かった (Games-Howell法, $p < 0.05$)。Xの平均値はYよりも低かったが、有意差は認められなかった。

真珠層結晶の1層の厚さを Fig. 5 に示した。平均値はXで0.389 μm , Yで0.359 μm , Zで0.390 μm であった。真珠層1層の厚さの平均値はZが最も厚く, X, Yよりも有意に厚かった。真珠表層1層の厚さのCV

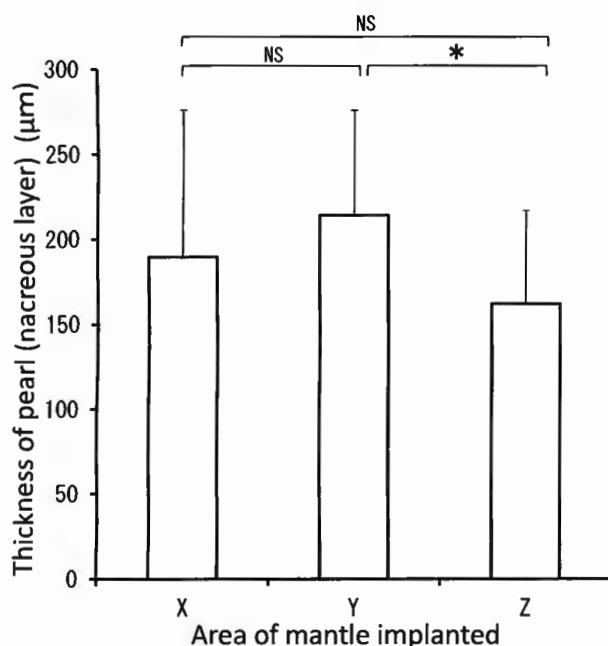


Fig. 4. The thickness of pearls. The number of the nacreous pearls examined in X, Y, and Z were 28, 22, and 13, respectively. * $P < 0.01$ by Tukey-HSD, NS; not significant.

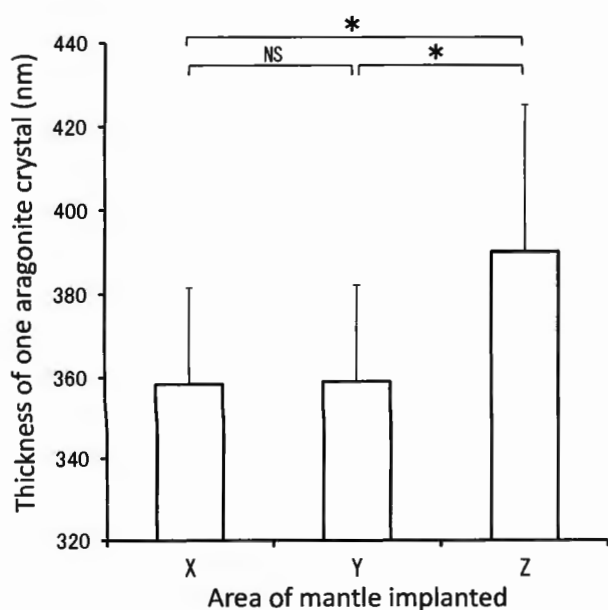


Fig. 5. The thickness of one aragonite crystal estimated at three different layers of pearl (inner; white bars, middle; gray bars and surface; black bars) as shown in Fig. 2. * $P < 0.01$ by Tukey-HSD, NS; not significant.

値の平均値はXで10.7%, Yで7.9%, Zで25.5%であった (Fig. 6)。Zの平均値はX, Yよりも有意に大きかった (Tukey-HSD, $p < 0.001$)。

実験Iにおいては、実験IIで高い頻度で観察された柱状構造 (Fig. 10) が真珠核の上に形成された真珠の割合は、Xにおいて28個のうち4個 (14.3%) のみであった。Y, Zで得られた真珠ではこの構造は認められなかった。

シワ珠の出現

青木 (1966) により表面に細かな縮緬皺状の凹凸がある真珠はシワ珠と記載されており、本研究でも Fig. 7に示したように同様な真珠が出現したので以下シワ珠と記載する。Zをピースにした場合、得られた真珠層真珠13個のうち真珠表面に肉眼で認められる細かな凹凸があるシワ珠が7個 (53.6%) 出現した。それに対して、X, Yをピースとした場合、シワ珠の出現率は0%であった。シワ珠を肉眼で観察すると真珠層の厚さが部位によって一様ではなく、真珠表面の凹凸が顕著であった (Fig. 7A)。真珠の凹部においても真珠層は形成されているが、巻きが薄い状態であった (Fig. 7B, C)。同じ真珠でも部位によって著しく真珠層の厚さが異なっていた。

Zにおいて、シワ珠7個における真珠層の厚さ8ヶ所におけるCV値の平均値は32.1%であり、Zでシワ珠ではないと肉眼で判断された真珠層真珠6個のCV値の平均値は17.9%であった。

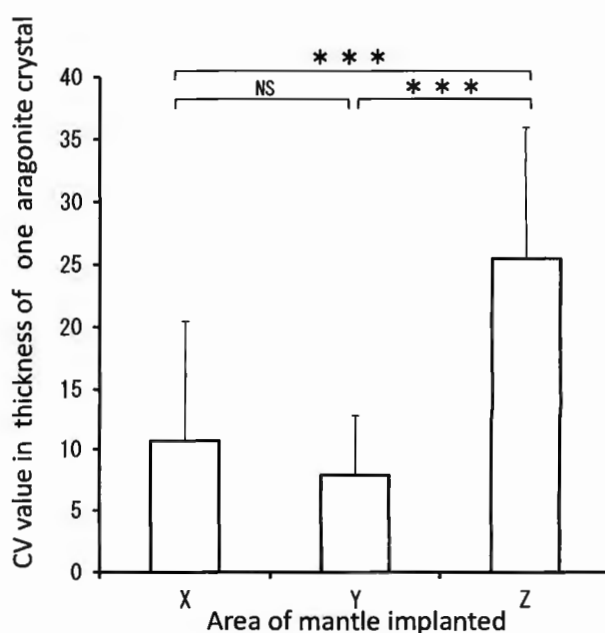


Fig. 6. The CV value in thickness of the each aragonite crystal surface layers at eight sites around the pearl. *** $p < 0.001$ by Tukey-HSD, NS; not significant.

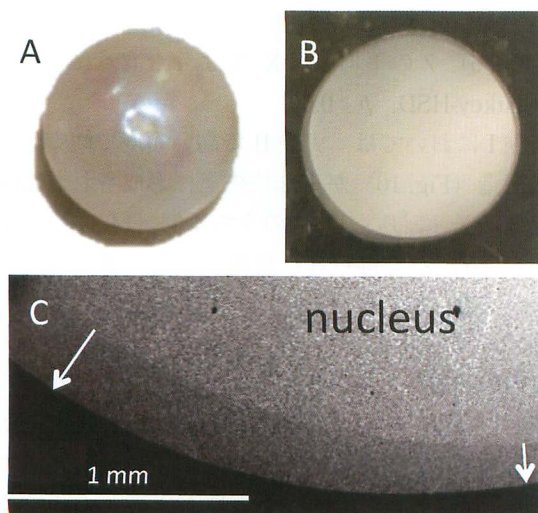


Fig. 7. A; The whole image of pearl with rough surface called “Shiwa dama” frequently observed in the group implanted Z as mantle piece. B; The light micrograph of cross section of pearl shown in A. C; SEM image of cross section of pearl shown in A at low magnification. The arrows indicate the thickness of the whole nacreous layer. Nucleus; the round pearl nucleus made by the shell of freshwater mussels.

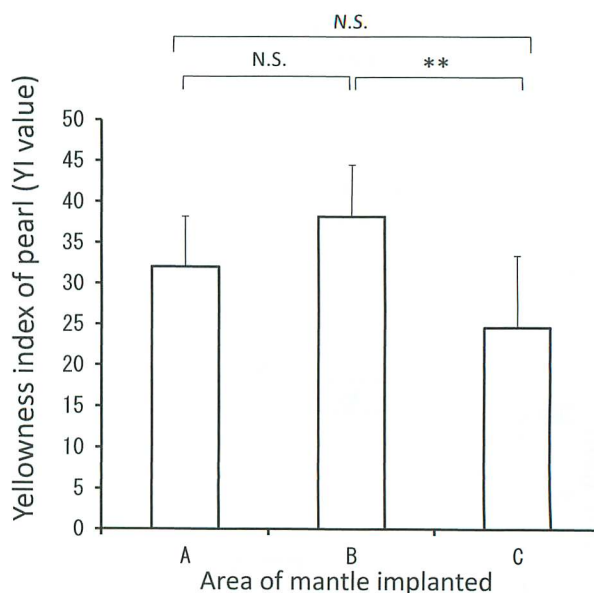


Fig. 9. The yellowness index (YI) of the pearls estimated by spectrophotometer. The different area of mantle (A, B, and C) were dissected as shown in Fig. 1, and implanted with pearl nucleus. After 5 months culture in Ago bay the pearls were harvested and estimated (A; n=11, B; n=7, C; n=5). ** $p < 0.01$ by Tukey-HSD, NS; not significant.

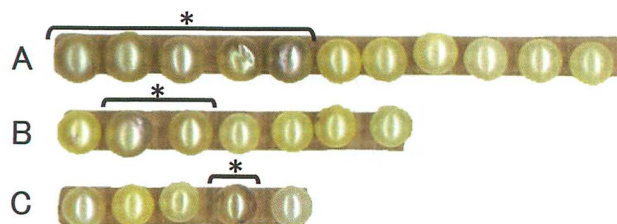


Fig. 8. Whole images of pearls obtained by implantation of the different area of the mantle. A, B, and C indicate the area of mantle dissected as shown in Fig. 1 at the implantation. Asterisks indicate the pearls with dark yellow color. The pearls without asterisk showed light yellow color.

実験Ⅱ

真珠品質分析に供した真珠

得られた真珠は A で19個, B で14個, C で16個であった。そのうち, キズ・シミが真珠表面全体の25%以下であった真珠層真珠の比率は A で11個 (57.9%), B で7個 (35.7%), C で5個 (43.8%)であった (Fig. 8)。これらの23個の真珠を以下の解析に用いた。

真珠の黄色度

真珠の黄色度の測定結果を Fig. 9 に示した。真珠の黄色度の平均値は A で32.0, B で38.1, C で24.6であった。黄色度が最も高かったのが B で, C との差は有意であった (Tukey-HSD, $p < 0.01$)。B は A よりも平均値が大きい傾向が見られたが有意ではなかった。

真珠断面の微細構造

真珠層の下に柱状構造がある真珠の比率

SEM による真珠断面の像を Fig. 10に示した。真珠の断面を見ると, 実験Ⅱでは真珠核の上に柱状構造を持つものが多かった (Fig. 10A, C)。真珠層真珠において, 核の上に柱状構造が形成されている真珠の比率は A で90.9%, B で71.4%, C で80.0%であった。この構造は薄層構造を示す真珠層 (Fig. 10B) とは明らかに異なっていた。この構造は貝殻稜柱層と異なり, やや電子密度の高い網目状の不規則な構造であった。この構造は貝殻稜柱層とは明らかに構造が異なっていた。本研究では, この構造を古丸ら (2014) の記載にならって柱状構造と記載する。

真珠の巻き, 真珠層と柱状構造の厚さ, 及び真珠層1層の厚さ

真珠の巻き (真珠層全体と柱状構造の合計) の厚さ, 真珠層全体の厚さ, 及び柱状構造の厚さについて Fig. 11, 12, 13に示した。真珠全体の巻き (真珠層と柱状構造を含む) の平均値は A で346.4 μm , B で250.8 μm , C で169.4 μm であった (Fig. 11)。真珠層の厚さの平均値は A で298.0 μm , B で233.1 μm , C で158.2 μm (Fig. 12) であった。柱状構造の厚さの平均値は A で48.2 μm , B で17.7 μm , C で11.2 μm であった (Fig. 13)。真珠層の厚さの平均値 (Fig. 12) において, A と C の間でのみ有意な差が認められた (Tukey-HSD, $p < 0.05$)。

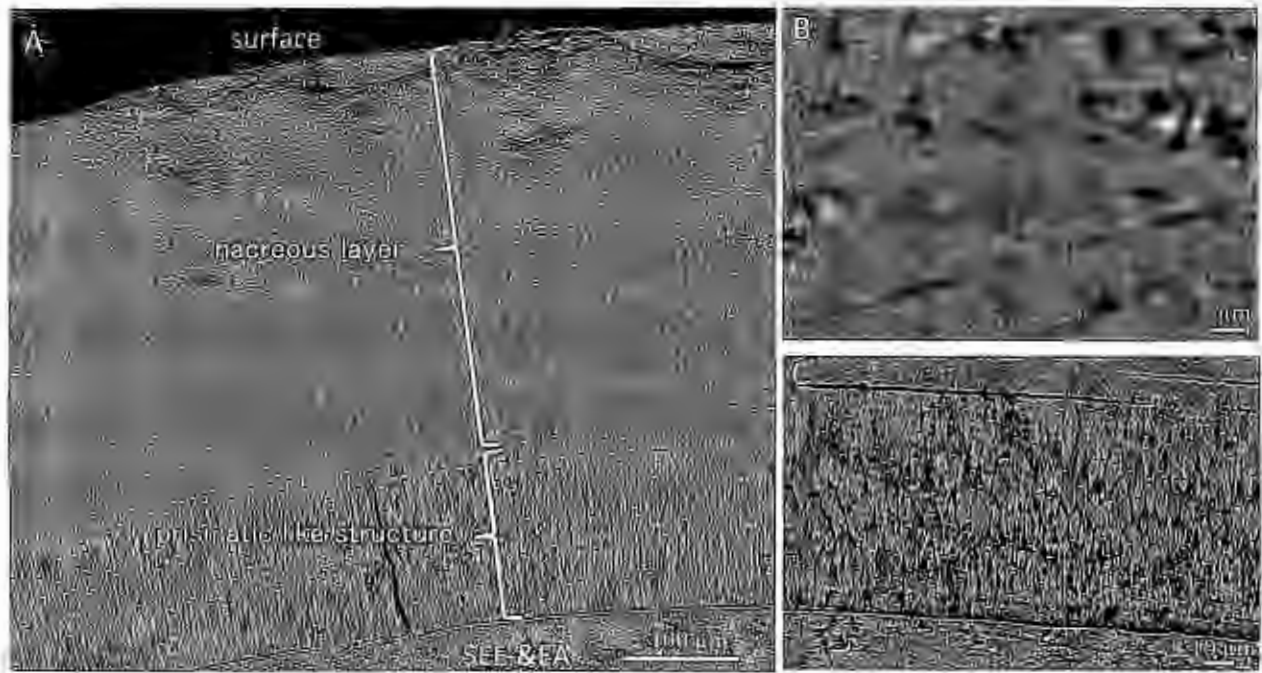


Fig. 10. SEM images of cross section of the pearl with irregular layer (prismatic like structure) on the pearl nucleus at low magnification (A). The nacreous layer at higher magnification (B). The prismatic like structure on the pearl nucleus at the high magnification (C).

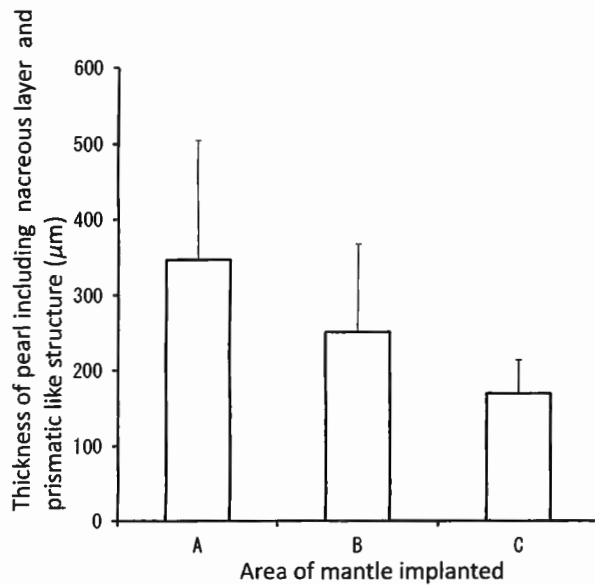


Fig. 11. The thickness of pearl including nacreous layer and prismatic like structure estimated at 8 different sites per one pearl. The different area of mantle (A, B and C) were dissected as shown in Fig. 1, and implanted with pearl nucleus. After 5 months culture the pearls were harvested and estimated. The number of pearls estimated were as follows (A; n=11, B; n=7, C; n=5). Between A, B, and C the difference was not significant. $p > 0.05$ by Tukey - HSD.

真珠層1層の厚さを Fig.14 に示した。真珠層1層の厚さの平均値はAで0.436 μm, Bで0.360 μm, Cで0.314 μmであった。Aの平均値は, B, Cよりも有意に厚かった (Tukey-HSD, $p < 0.01$)。真珠層1層の厚

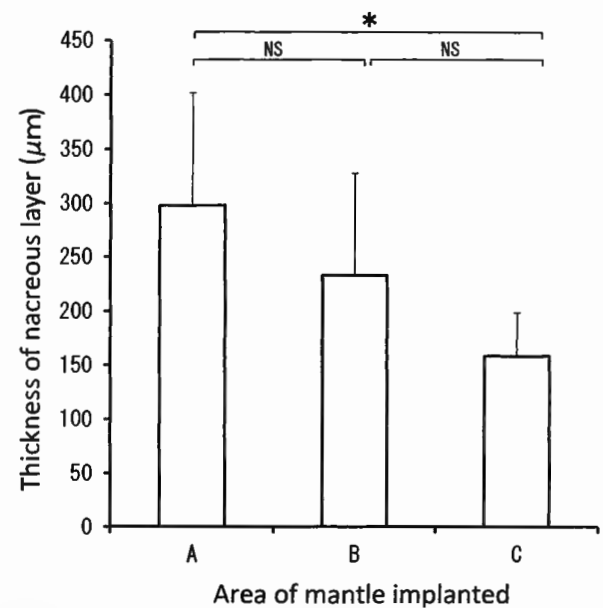


Fig. 12. The thickness of nacreous layers of pearls. The different area of mantle (A, B, and C) were dissected as shown in Fig.1, and implanted with pearl nucleus. After 5 months culture in Ago bay the pearls were harvested and estimated (A; n=11, B; n=7, C; n=5). * $p < 0.05$ by Tukey-HSD, NS; not significant.

さと真珠層の厚さに関しては, Aでは巻きも真珠層1層も厚く, Cではいずれも薄い傾向があった。Bは両者の中間に位置していた。真珠の巻きと真珠層1層の厚さの関係をみると相関がなかった (Fig. 15)。また, 真珠層の厚さの CV 値の平均値はAで14.5%, Bで8.7%, Cで5.9%であり (Fig. 16), 有意な差は認め

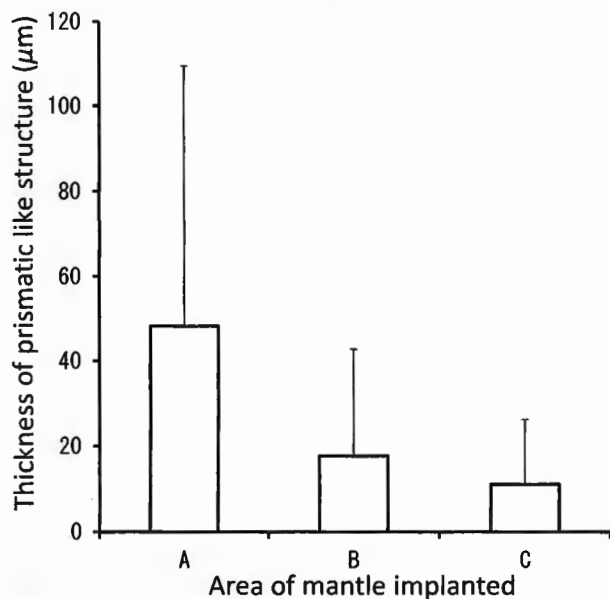


Fig. 13. The thickness of prismatic like structure on the pearl nucleus as shown in Fig. C. The differences of means between A, B, and C were not significant. $*p < 0.05$ by Games-Howell.

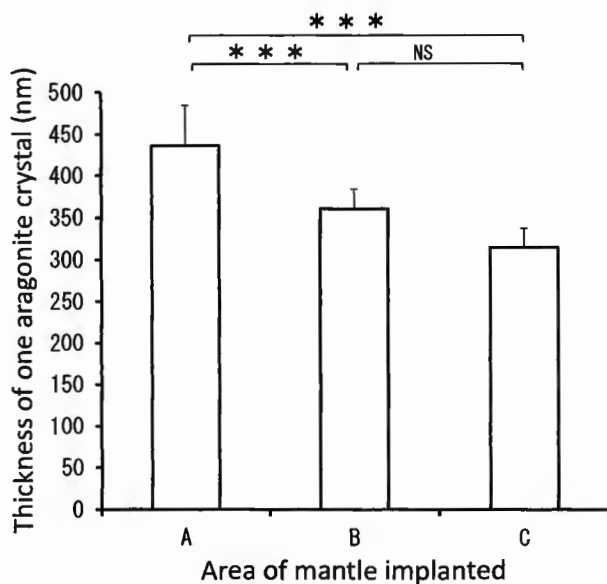


Fig. 14. The thickness of one aragonite crystal at surface of pearls. $***p < 0.01$ by Tukey-HSD, NS; not significant.

られなかった。

真珠の呈色と柱状構造の厚さとの関係

肉眼で黒っぽく見える暗黄色真珠と明黄色真珠が出現した (Fig. 8)。得られた真珠のうち、暗黄色真珠の割合は A で 45.5%、B で 28.6%、C で 20% であった。真珠の巻きに対する柱状構造の厚さの比率を比較した。暗黄色真珠においては、真珠の巻きに対する柱状構造の厚さの比率の平均値は 22.3% であった。一方、明黄色真珠の平均値は 2.5% であった。さらに、真珠全体

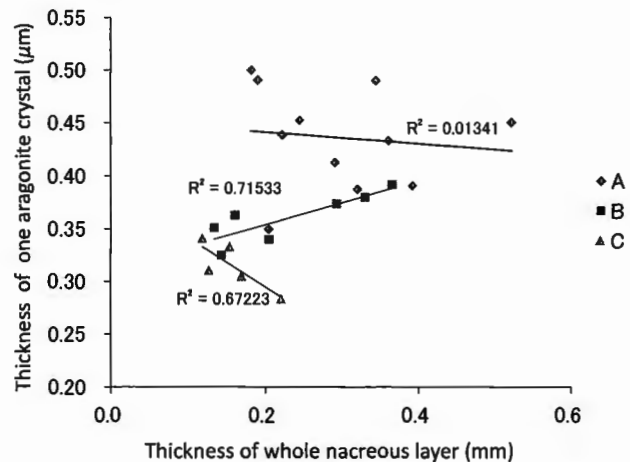


Fig. 15. The relationship of thickness of whole nacreous layers and thickness of one aragonite crystal.

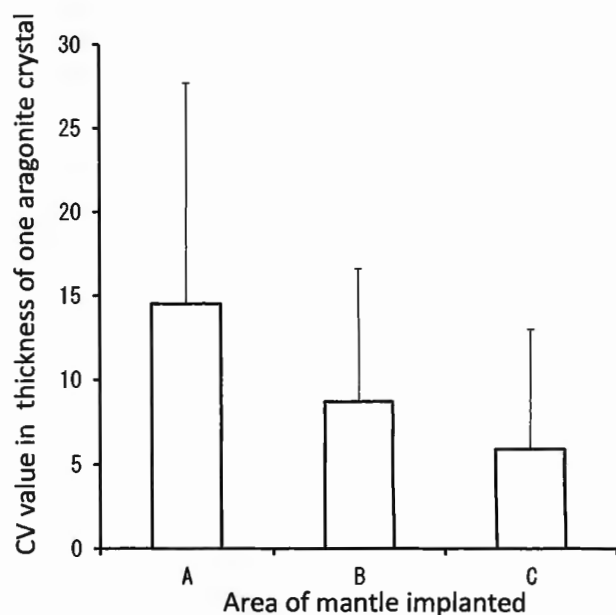


Fig. 16. Coefficient of variation of one aragonite crystal thickness near the surface of the pearl. The mean values of thickness of one aragonite crystal were estimated per one pearl. The differences of means between A, B, and C were not significant. $p > 0.05$ by Games-Howell.

の巻きに対する柱状構造の厚さの比の平均値は、暗黄色真珠は明黄色真珠よりも有意に大きかった (Fig. 17, Mann-Whitney, $p < 0.001$)。

考 察

ピース採取部位と真珠黄色度の関係

本研究において、色線付近部位が黄色色素の分泌能力が最も高い事が明らかになった。一方、真珠の黄色度は真珠層に含まれる色素の量できまるので、真珠が厚く巻くほど黄色度が高くなる。黄色色素分泌能力が同等であった場合、真珠分泌能力が高ければ黄色度の値は大きくなることが想定される。黄色度において B

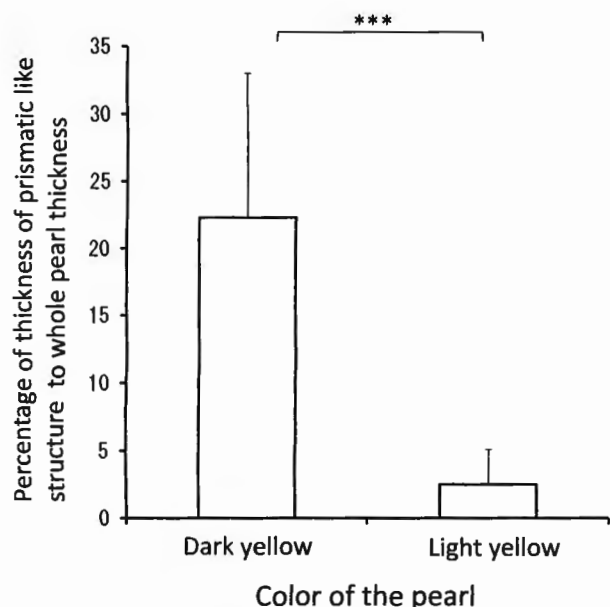


Fig. 17. The percentage of thickness of prismatic like structure to thickness of pearls of dark yellow (n=8) and light yellow color (n=15) shown in Fig. 8. The colors were determined by visual inspection of the pearl. *** $p < 0.001$ by Mann - Whitney.

がCより有意に高い事が明らかになった (Fig. 9)。一方、真珠層の巻きに関してはB、C間に差は見られなかったことから、Bの部位の黄色色素分泌能力が高いことが想定される。黄色度には外套膜部位による黄色度には差が無かったという先行的な研究 (宮村・牧戸 1958) があるが、実験Ⅱでピースを採取した貝は真珠層黄色度において選抜育種された貝であることも、結果の相違に関係している可能性がある。

色線とは外套膜外面上皮細胞において外套膜腹縁部 (MP部) 縁辺にそって肉眼で認められる黄褐色、茶褐色あるいは黒褐色の細い線である (青木 1966)。黒ないし黒褐色の色素が上皮細胞に多く含まれているため、肉眼で黒い線として観察される。色線部位がもっとも真珠の分泌や、色素の分泌の活性が高い事が想定されるが、色線として観察される物質の生成機構について詳細は不明であり今後の検討課題である。

貝殻においても、外套膜のMP部に対応する貝殻部位の黄色度が高く、MC部が形成する貝殻中央部の黄色度が低いことが報告されている (林 1999)。したがって、ピースが真珠袋を形成したのちも、MP部の色線付近の細胞はMC部の細胞より、黄色色素の分泌能力が高く維持されていると考えられる。

真珠の巻きと真珠層1層の厚さ

Fig. 4とFig. 5の結果から、真珠の巻きはYと比較してZが有意に薄かったが、逆に真珠層1層の厚さはZがX、Yよりも有意に厚いことが明らかになっ

た。したがって、和田 (1962) が指摘するように巻きと真珠層1層の厚さには関係がなく、真珠の巻きは単位時間内に形成された真珠層の層数に関係すると考えられる。すなわち、巻きの厚いMP部をピースとして得られた真珠においては、1層の厚さが厚いのではなく、形成された結晶の層の数が多いという事が明らかになった。MP、MCのいずれの部位も真珠層を形成する能力を持っているが、真珠層の分泌能力はMP部がMC部よりも優れていると考えられる。Fig. 4とFig. 12の結果から、外套膜採取部位が貝殻腹縁部に近いほど、真珠の巻きが良い事が読み取れる。

真珠層1層の厚さは閉殻筋の近傍をピースとすると最も厚かった (Fig. 5)。ただし、色線をはさんだ部位X、Yでは有意差は無かった。一方、実験Ⅱにおいて、色線周辺では、貝殻腹縁部ほど、1層の厚さが有意に厚いという結果が得られた。真珠の干渉色は真珠層の薄膜構造により生じるとされ、この1層の厚さが干渉色そのものの色を決定的することが明らかになっている (和田 1981)。これらの外套膜部位による真珠層1層の厚さの相違は、今後効率的な干渉色制御技術開発に向けて有用な知見となるであろう。また、宮村・牧戸 (1958) は、ピース片を貝の前方から採取した場合には、中央部、後部から採取した場合よりも、得られた真珠の巻きが薄いことを報告している。本研究ではピース片の採取部位については前後方向の区別は行わなかった。今後は前後方向の外套膜真珠分泌能力の相違についても留意すべきである。

真珠層1層の厚さのCV値

Fig. 6に示したように、Z部位を挿核して得られた真珠の真珠層1層の厚さのCV値が、X、Yより有意に高かったが、色線周辺のXとY間では有意差は無かった。前項の真珠の巻きだけでなく、1層の厚さにおいても外套膜の部位によってCV値が異なる事が明らかになった。Fig. 16の結果では、真珠層1層の厚さのCV値は、通常ピースとする色線付近を挿核した区では、縁辺部Aほど値が大きい傾向はあるが、有意差はなかった。

真珠層結晶の一定の厚さの薄膜構造が美しい干渉色を産む (和田 1962) ことから考察すると、閉殻筋近傍の外套膜部位は巻きが色線周辺より劣るだけでなく、干渉色の美しさからも実用的で無いと判断できる。色線付近がピースとされているのには、真珠層全体の巻きだけでなく、干渉色という観点でも理にかなっていると判断される。

柱状構造と真珠の品質

実験Ⅱにおいて (Fig. 10)、真珠断面微細構造を観

察した結果、真珠核の上に最初に柱状構造が分泌され、次に真珠層が分泌されていたことから、Kawakami (1952) による外套膜上皮細胞における分泌機能は固定的なものではないという仮説が支持された。貝殻が形成される際には、稜柱層の内面に真珠層が形成される。貝の成長に伴いまず稜柱層が形成された後、その内側に真珠層が形成される。その過程において、fibrous aragonite とよばれる不定形の構造がまず形成され、その上にさらに薄層状の真珠層が形成されるようになる (Dauphin et al. 2008; Saruwatari et al. 2009)。真珠形成初期においてもこのような移行過程が同様に起きている可能性がある。ただし本研究で観察された核の上に最初に形成される柱状構造は、貝殻稜柱層とは明らかに微細構造が異なっていた。柱状構造が fibrous aragonite に相当する構造であるかどうかについては今後の検討課題である。

Fig. 17 から判断すると、この柱状構造が真珠の巻きの20%以上になると、品質に影響が出ると判断される。実験IIで柱状構造を持つ真珠は X で14.3%であったが、Y と Z ではこの構造は認められなかった。一方、実験 II で柱状構造を持つ真珠は A, B, C とも70%以上出現しており、実験 I よりも明らかに出現頻度が高かった。これらの結果から、外套膜縁辺（腹縁側）に近い部位を挿核すると柱状構造を作りやすいという傾向はある。ただし、実験 I と II では出現頻度が著しく異なるので、ピース片採取部位だけでは説明ができず、挿核時の母貝の生理的な要因 (Uchimura et al. 2011)、あるいはそれ以外の要因もこの構造の形成に関与していると考えざるをえない。この構造が厚く形成されると品質に悪影響を与えるので、形成要因解明については今後の重要な課題として残る。

真珠の真円度

実験 I の Fig. 6 において、CV 値が大きく真円度が低い真珠の頻度が多かったのが Z 部位をピースとした区であった。さらに、Z においては、シワ珠の出現率も最も高かった。Z をピースとして挿核して形成された真珠袋上皮細胞において、真珠分泌能力が真珠袋の部位によって著しく異なっていた事を意味している。真珠の光沢や干渉色という観点からも、このような真珠は商品価値がほとんどない。MP 部ではこのような真珠は全く出現しなかったことから、外套膜でも部位によって著しく真珠の分泌能力が著しく異なる細胞が混在している可能性、あるいは真珠分泌に直接貢献しない粘液細胞等の頻度が異なることが想定される。その特性が真珠袋の上皮細胞になった後も維持されているのであろう。

MP 部をピースの採取部位にする理由

真珠養殖の現場では、MP 部の外套膜の腹縁側に沿って平行に肉眼で認められる黒褐色の色線を中心とした部位からピースが採取される (Fig. 1C)。本研究で閉殻筋周辺の外套膜をピースとして得られた真珠は MP 部と比べると、巻きと真円度において著しく品質が悪かった。さらに、シラダマの出現率も高かったことから、おそらく、MC 部を挿核に用いると遊出する上皮細胞の伸張速度や分裂頻度が低く、真珠袋とよばれる構造が真珠核の周辺に正常に形成されなかった個体の頻度が高かったのではないかと推察される。

さらに、MP 部の色線に近い部位をピースとすると真珠の巻きが厚い傾向がみられた。ただし、真珠層1層の厚さや真珠の黄色度については部位によって異なる事も明らかになった。また、小竹・河村 (1957b) によると、前方、中央、後方からピースを作成して挿核すると、前方をピースとした区が一番薄巻きであったことが明らかになっている。本研究では前後方向の特性の相違に関する検討を行っていないが、外套膜の分泌能力には前後方向にも差があることを想定する必要がある。これらの外套膜の分泌特性を理解することによって、育種により実体色を制御したり、ピースを採取する際に部位を選択する事によって干渉色の強度を効率的に制御することが可能と思われる。

要 約

異なる部位から採取した外套膜片（ピース）を用いて挿核試験を行い、得られた真珠の黄色度、巻き、真珠層1層の厚さ等の比較を行った。外套縁膜部（MP 部）の色線を挟む部位(Y)をピースとした区では、閉殻筋近傍の外套中心部周辺(Z)をピースとした区より真珠の黄色度は高かった。真珠の巻きは Y で最も厚く、Z では薄かった。逆に真珠結晶1層は色線周辺(X, Y)において閉殻筋周辺 Z より有意に厚かった（実験 I）。外套縁膜部（MP 部）をピースとした実験 II では、色線部より蝶番側をピースとした区(C)よりも腹縁側(A)ほど真珠の巻きが厚く、真珠層1層も厚い傾向がみられた。真珠黄色度については、B は C より黄色度が高かった。本研究の結果から、ピース部位の選択により、真珠の巻き、干渉色、黄色度の制御も可能であることが示唆された。

謝 辞

本研究を進めるにあたり有益なご指導、ご助言を賜った三重大大学大学院生物資源学研究科水圏資源生物学研究室 佐野菜採博士、水産工学研究所 山田充哉

博士, さらに統計解析の指導をいただいた 日本海区水産研究所 宮原寿恵博士, 増養殖研究所 井上誠章博士に深く御礼申し上げます。本研究は JSPS 科研費 (JP26292108) の助成を受けたのでここに記して感謝の意を表します。

文 献

- 青木 駿 (1966) 異常真珠の出現防止に関する研究. 真珠技術研究会会報, **53**, 1-204.
- Aoki, H., T. Ishikawa, T. Fujiwara, T. Atsumi, H. Nishikawa, C. Okamoto and A. Komaru (2010) Utility of shell closing strength as the indicator of good health in breeding and culture management of Japanese pearl oyster *Pinctada fucata*. *Aquaculture*, **308**, S115-118.
- 小島吉雄 (1949) アコヤガイ外套膜の組織学的研究. 生物, **4**, 201-205.
- Dauphin Y., A. D. Ball, M. Cotte, J. P. Cuif, A. Meibom, M. Salome, J. Susini and T. Williams (2008) Structure and composition of the nacre-prism transition in the shell of *Pinctada margaritifera* (Mollusca, Bivalvia). *Anal. Bioanal. Chem.*, **390**, 1659-1669.
- 林 政博 (1999) アコヤガイの殻体真珠層色の改良について. 全真連技術研究会報, **14**, 1-13.
- 岩永俊介・山田英二・川口健・細川秀毅 (2008) アコヤ貝殻体真珠層の a 値を指標としたピース貝生産用親貝の選抜. 水産増殖, **56**, 167-173. [Iwanaga, S., E. Yamada, K. Yamaguchi and S. Hosokawa (2008) A method of selecting parental-shells of the pearl oyster, *Pinctada fucata martensii*, for use as piece oysters based on a-value of the pearl layer. *Aquacult. Sci.*, **56**, 167-173 (in Japanese with English abstract).]
- Kawakami, I. K. (1952) Studies on pearl-sac formation. I. On the regeneration and transplantation of the mantle piece in the pearl oyster. *Mem. Fac. Sci. Kyushu Univ. Ser. E (Biol.)*, **1**, 83-88.
- 川上元郎・福田 保・杉山芳雄 (1980) 第 8 章 色差「色彩科学ハンドブック」(日本色彩学会編) 東京大学出版社, 東京, pp. 257-297.
- 古丸 明・佐藤 友・井上誠章 (2014) 真珠の品質と真珠袋における遺伝子発現. 真珠研究の最前線 (淡路雅彦・古丸明・船原大輔編) 恒星社厚生閣, 東京, pp. 100-114.
- 小竹子之助・河村光保 (1957a) アコヤガイ養殖真珠に関する研究-I. 異なる型の外套膜ピースで養殖された真珠の性状について. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **23**, 363-365. [Kotake, K. and M. Kawamura (1957a) Studies on the culture pearls with *Pinctada martensii*-I. Notes on the natures of pearls, operated by the different types of mantle-piece. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **23**, 363-365 (in Japanese with English abstract).]
- 小竹子之助・河村光保 (1957b) アコヤガイ養殖真珠に関する研究-II. うすまき真珠のできる原因について. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **23**, 366-367. [Kotake, K. and M. Kawamura (1957b) Studies on the culture pearls with *Pinctada martensii*-II. Note on the formation of "thin layered pearls" *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **23**, 366-367. (in Japanese with English abstract).]
- 宮村光武・牧戸二彦 (1958) 挿核手術に使用する外套膜片 (ピース) に採取部位によるアコヤガイの養殖真珠の品質の相違について. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **24**, 441-444. [Miyamura, M. and T. Makido (1958) Quality of the pearl examined in association with the graft tissues taken from various parts of the mantle. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **24**, 441-444. (in Japanese with English abstract).]
- 棟朝淳州 (1994) 「真珠の常識2000」. 柏書店松原. 東京, pp. 119 (in Japanese).
- Saruwatari, K., T. Matsui, H. Mukai, H. Nagasawa and T. Kogure (2009) Nucleation and growth of aragonite crystals at the growth front of nacre in pearl oyster, *Pinctada fucata*. *Biomaterials*, **30**, 3028-3034.
- 沢田保夫 (1962) 真珠の色調に関する研究. 国立真珠研報, **8**, 913-919. [Sawada, Y. (1962) Studies on the color of pearls. *Bull. Natl. Pearl Res. Lab.*, **8**, 913-919 (in Japanese).]
- 田中真二・阿部久代・渥美貴史・青木秀夫 (2012) 養殖条件がアコヤガイ真珠の黄色度に及ぼす影響. 三重水研報, **21**, 7-14. [Tanaka, S., H. Abe, T. Atsumi and H. Aoki (2012) Effect of culture conditions on yellow index of Akoya pearl. *Bull. Mie Pref. Fish. Res. Inst.*, **21**, 7-14 (in Japanese with English abstract).]
- Uchimura Y., M. Kuramoto and K. Sone (2011) An analysis of Brick-colored pearls harvested from Japanese pearl oysters infected with Akoya oyster disease. *Aquacult. Science*, **59**, 573-577.
- 和田克彦 (1985) アコヤガイ貝殻真珠層色系統で生産された真珠について. 養殖研報, **7**, 1-7. [Wada, K.T. (1985) The pearls produced from the groups of pearl oysters selected for color of nacre in shell for two generation. *Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture*, **7**, 1-7 (in Japanese with English abstract).]
- Wada, K.T. and A. Komaru (1996) Color and weight of pearls produced by grafting the mantle tissue from a selected population for white shell color of the Japanese pearl oyster *Pinctada fucata martensii* (Dunker). *Aquaculture*, **142**, 25-32.
- 和田浩爾 (1962) 真珠形成機構の生鉱物学的研究. 国立真珠研報, **8**, 948-1059. [Wada, K. (1962) Biomineralogical studies on the mechanism of pearl formation. *Bull. Natl. Pearl Res. Lab.*, **8**, 948-1059 (in Japanese).]
- 和田浩爾 (1969) 黄色真珠の形成に関する実験生物学的研究. 国立真珠研報, **14**, 1765-1820. [Wada, K. (1969) Experimental biological studies on the occurrence of yellow color in pearls. *Bull. Natl. Pearl Res. Lab.*, **14**, 1765-1820 (in Japanese with English abstract).]
- 和田浩爾 (1981) 真珠の微細構造と光沢. 鉱物学雑誌, **15**, 143-150. [Wada, K. (1981) Color and fine structure of pearls. *Mineralogical Journal*, **15**, 143-150. (in Japanese with English abstract).]
- 和田浩爾 (1999) 「真珠の科学」. 真珠新聞社, 東京, pp. 336.