

## — 総 説 —

## アコヤガイの閉殻力を指標とした育種・養殖管理技術の開発研究

青木秀夫 (三重県水産研究所)・古丸 明 (三重大学大学院生物資源学研究科)

Studies on the Breeding and Culture Management of Pearl Oysters  
using Shell-closing Strength as an IndicatorHideo AOKI\*<sup>1</sup> and Akira KOMARU\*<sup>2</sup>\*<sup>1</sup> Mie Prefecture Fisheries Research Institute\*<sup>2</sup> Graduate School of Bioresources, Mie University

## Abstract

The recent decline in pearl production in Japan is mainly attributed to high mortality in summer and to the low quality of pearls produced. To rectify this situation, it is necessary to implement effective breeding programs and culture management methods for the pearl oyster (*Pinctada fucata*). We have developed a new instrument for measuring shell-closing strength (SCS) – the load value necessary to open the shell of the pearl oyster by 10 mm – which consists of a force gauge and a shell opener. A series of studies was conducted to clarify the utility of SCS as a new indicator in the breeding and culture management of pearl oysters. Results from multiple rearing experiments demonstrated that SCS reflects the physiological and nutritive conditions of oysters, and that it would be useful as a selection indicator in breeding programs for the development of oyster lineages with high survival rates. Furthermore, SCS is efficient as a physiological index of the mother shell at the time of nucleus implantation, thereby facilitating the production of high quality pearls. On the basis of these results, we conclude that SCS can be an inexpensive and useful indicator in the breeding and culture management of pearl oysters for efficient production of good quality pearls.

(accepted March 7, 2011)

## 1. 真珠養殖業の産業的背景

日本のアコヤガイ真珠養殖業は、一世紀を越える歴史を持ち、1950～60年代には国際的な真珠需要の増加に伴い、輸出水産業として発展した。戦後の真珠生産量は1966年に最高の127トン記録したが、その後は養殖漁場における密殖や環境の悪化、成長の低下および病害等による生残率の低下とともに真珠価格の暴落によって生産が低迷した<sup>1,2)</sup>。1970年代後半には生産量は増加に転じ、90年代前半まで50～70トンで安定して推移した。しかし、その頃より高水温期に起こる貝の衰弱を伴うへい死の発生が、真珠養殖の生産性の向上

を妨げる要因として問題視されてきた。また、90年代には有害なヘテロカプサ赤潮によるアコヤガイのへい死が産業上大きな問題となった<sup>3,4)</sup>。さらに1994年頃より高水温期における閉殻筋の赤変化を伴う感染症(以下、赤変病)による大量へい死が加わり、真珠の国内生産量および生産額は急減した<sup>5,6)</sup>。90年代以降における国内生産量は、93年の73tをピークに、98年には29tまで減少し、現在まで低い水準で推移している。赤変病によりもたらされるダメージは、真珠の生産量が低下すること以外に、真珠の「巻き」(真珠層の厚さ)が薄くなり品質が低下することや、へい死した個

体による海域への有機物負荷に起因する環境悪化も挙げられる。赤変病については、感染症であることは確認されているものの<sup>5,7,8)</sup>、病原体は現在もお特定されていない。

現在、養殖現場では赤変病に感染した恐れのある貝の移動の自粛や、隔離漁場の設定、また発症の遅延に有効な冬季の低水温漁場の利用等の防疫・予防的対策が取られている<sup>9-11)</sup>。さらに、高水温に対して耐性があり、本症によるへい死の少ない貝として導入された中国等の外国産アコヤガイと日本産アコヤガイの交雑種（以下、交雑アコヤガイ）<sup>12,13)</sup>の使用割合が多くなったことで被害は少なくなっている。しかしながら、現状においてもアコヤガイの赤変病を含め様々な要因によるへい死率の低減と真珠品質の向上は、真珠養殖業における重要な技術的課題となっている。

交雑アコヤガイの生産に用いられる外国産アコヤガイについては、近年、アロザイム分析あるいは rRNA 遺伝子の塩基配列をもとにした系統解析による遺伝的類縁関係の推定<sup>14-18)</sup>や、種判別<sup>19-22)</sup>等の遺伝的特性に関する知見が蓄積されつつある。一方、外国産と日本産の貝の交配による形質の固定や雑種強勢の有無、交雑アコヤガイの養殖下での生理特性<sup>12,13,23,24)</sup>については不明な点も多い。また、交雑アコヤガイで生産された真珠は、従来の日本産の真珠に比べて色調面でやや劣っているなど、品質上の問題も指摘されている<sup>25,26)</sup>。さらに交雑アコヤガイの生産は、親貝として導入した外国産種苗の養殖漁場での放卵・放精による在来種（遺伝資源）や生態系への影響が懸念されるほか、貝の導入によるわが国への新たな病原体の移入の危険性もある。したがって、交雑アコヤガイを生産するには、これらの点を十分考慮し、導入した種苗を適切に管理する必要がある。

このような状況のもとで、筆者らの研究グループでは、アコヤガイの「閉殻力」を指標として、新たな高生残系統のアコヤガイの選抜育種技術や、高品質真珠を生産するための母貝の仕立て（抑制）および挿核技術の研究に取り組んできた。本総説では、本種における閉殻力と生理的形質の相関や遺伝性について述べる。さらに、選抜育種および養殖管理への閉殻力測定技術の応用を目指した研究成果について紹介するとともに解決すべき課題について整理する。

## 2. 閉殻力—新たな生理的指標としての利用

アコヤガイの健康状態を判断する生理的な指標としてこれまで利用されてきたものとしては、軟体部および閉殻筋の重量・グリコーゲン含量・軟体部水分含量・血清成分・酵素活性<sup>27-31)</sup>、肥満度（身入度）<sup>30,32)</sup>、

濾水量（摂餌率）<sup>33,34)</sup>、殻体の開閉運動<sup>35)</sup>、酸素消費量<sup>36,37)</sup>、足糸の固着力等が挙げられる。しかし、これらは測定の容易性、迅速性、継続性の面で用途が制限されるほか、貝を生かした状態で測定できない指標が多い。そのため、養殖現場におけるアコヤガイの日常的な管理や選抜育種の指標として利用されることはなかった。

筆者らは、アコヤガイの新たな生理的形質として「閉殻力」を選抜育種や養殖管理の指標としての活用の可能性について研究を実施してきた。ここでは、まず閉殻力の測定方法と、閉殻力の発生メカニズムについて述べる。

### 2-1. 閉殻力の測定方法

「閉殻力」とは、二枚貝が閉殻筋により貝殻を閉じる力の強さのことをいう。アコヤガイの貝殻を閉じる強さを生理状態の判定に用いた報告としては、挿核手術前に行う貝の仕立て（抑制飼育）における生理状態を評価する手法として検討されている。植本<sup>38)</sup>は、アコヤガイが貝殻を閉じる際に働く閉殻筋の力として、左右の貝殻の間に挟ませた金属板の応力を抵抗線歪計で測定し、その値を「閉殻筋力」としている。植本<sup>38)</sup>の報告によると、抑制飼育したアコヤガイでは、飼育に伴って閉殻筋力の低下が観察された。また阪口<sup>39)</sup>は、吸虫が寄生したアコヤガイの閉殻筋力は正常な貝に比べて弱いことを明らかにしている。これらの研究で用いられた閉殻筋力の測定装置は、その当時にアコヤガイの生理的特性を評価する専用の装置として開発されたものであり、現状において真珠養殖の現場では活用されていない。

筆者らのグループでは、真珠養殖において挿核施術時に広く使用されている「開口器」と市販の荷重計を利用して新たな閉殻力測定装置を開発した<sup>40)</sup>。本装置は、荷重計（株式会社イマダ；DPS-100R）を計測スタンドに固定し、荷重計を押し下げることで開口器を一定の幅で開くように設定したものである（Fig. 1）。開口器は挿核施術するアコヤガイの貝殻を開殻させるのに用いる器具で、数種のサイズのもので商品化されている。したがって、閉殻力を測定する貝の大きさに合わせて開口器を選択すれば、広範囲のサイズの貝を測定することができる。なお、筆者らが通常の測定で使用している開口器（NISHII；No. 5）は、先端から支点までの距離が45 mm、支点から荷重計の接点までの距離が35 mmのものである。

次に閉殻力の測定の手順について述べる。アコヤガイは海水中から取り上げると、個体によっては閉殻したままの状態となる。閉殻力の測定前における貝

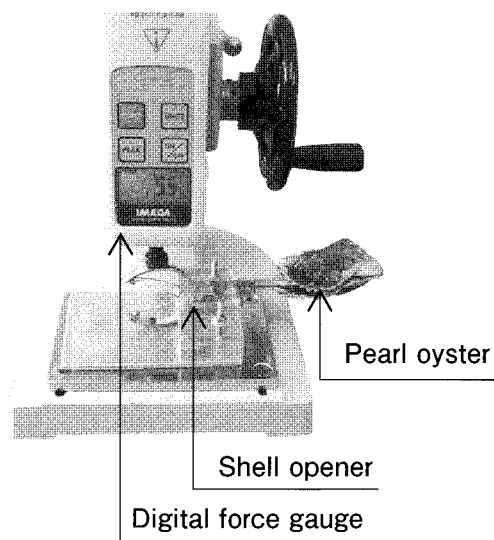


Fig. 1. Instrument for the measurement of shell-closing strength.

の開殻状態の違いは、測定値の誤差の要因となることから、筆者らは測定対象の貝をまず淡水中に10分間程度浸漬して貝を完全に閉殻させてから測定している。淡水中から貝を取り上げた後に、①貝に開口器を差し込み、②開口器と荷重計の接点を確認しながら貝を所定の位置に置き、③荷重計を押し下げて（レバー式あるいは手動）開口器に荷重を加えて閉殻筋が破断しない程度の一定幅を開殻させ、その時の荷重値を読み取る。この荷重値を開殻力と定義している（単位は重量  $\text{kg} = \text{kgf}$ ）。開殻させる幅については、測定する貝のサイズに応じて予め装置を設定する必要がある。筆者らは、全湿重量が38 g（10匁）以上の貝では開殻幅を10 mmとしているが、サイズが小さい場合にはそれ以下の幅を設定して測定する必要がある。

上記の手順により閉殻力を測定するのに要する時間は、1個体あたり30秒程度であり、処理能力は1時間当たり100個体以上である。また閉殻力の測定には、消耗品類は不要であり、極めて低コストで大量の測定が可能である。

## 2-2. 閉殻力とは何か？

アコヤガイ（二枚貝）において閉殻力とは何を反映し、その強さは何を表わしているのであろうか？二枚貝において、閉殻筋は左右の貝殻の開閉運動をつかさどるほか、グリコーゲン等の栄養を貯蔵する器官としての役割がある。生理状態の良好な二枚貝では、外部からの各種刺激に対する反射反応として、貝殻を素早く、固く、そして長時間にわたって閉じることができる。完全に閉じてしまった貝殻を人間の手でこじ開けるには、かなり力が必要である（不可能に近い）。

二枚貝が貝殻を閉じる力は、閉殻筋が収縮することにより発生する張力による。閉殻筋は、横紋筋と平滑筋の二つの異なる筋組織から構成されるが、一旦閉殻した後の筋肉の収縮状態の持続には平滑筋（キャッチ筋）が主に作用する<sup>41)</sup>。なお、収縮状態を維持する、すなわち張力を発生し続ける平滑筋において、エネルギー（ATP）を殆ど消費しないという現象は、いわゆる「キャッチ収縮現象」として古くから知られている。

本研究で測定している閉殻力については、一旦、人為的に閉殻させたアコヤガイを対象として、貝殻を開けるのに要する力とみなされる。したがって、閉殻力の測定はキャッチ収縮状態にある貝の平滑筋の張力を数値化することにほかならないと推察される。平滑筋の張力の大きさは、閉殻筋の大きさ、とりわけその貝殻と固着する部分の面積に大きく依存すると考えられる。このことから、閉殻力の発生はキャッチ筋を構成する代表的な筋繊維タンパク質であるパラミオシンやミオシンの量、および関係する他のタンパク質等との相互作用により制御されると考えられる。これまでに、キャッチ収縮を制御する因子として twitchin が同定され<sup>42,43)</sup>、制御機構の全体像が解明されつつあるが、なお二枚貝における張力発生機構については不明な部分が多い。現在、二枚貝のキャッチ運動に関する分子メカニズムの解析が進められており<sup>44)</sup>、基礎的知見の集積と真珠養殖技術への応用が期待される。

## 3. 閉殻力とへい死率および各形質との関係

アコヤガイにおける閉殻力の特性を把握するため、閉殻力と高水温期のへい死率、生理・栄養状態、および真珠分泌能力との関係を調査した。

### 3-1. へい死率との関係

岡本ら<sup>40)</sup>は、人工生産された1ロットのアコヤガイ3年貝（日本産、全湿重量：70–86 g）の閉殻力を測定し、それらの水準別に高水温期のへい死率を調査した。試験区として1 kgf区（2.0 kgf未満）、2 kgf区（2.0–2.9 kgf）、3 kgf区（3.0–3.9 kgf）、4 kgf区（4.0–4.9 kgf）、5 kgf区（5.0–5.9 kgf）を設定し、7月12日および8月12日からそれぞれ約1ヶ月間のへい死率を比較した。その結果、2回の期間とも閉殻力の低い区ほどへい死率が高くなる傾向がみられ、各区のへい死率の違いが有意（カイ二乗検定、 $P < 0.01$ ）であることが判明した（Fig. 2）。

### 3-2. 生理・栄養状態との関係

アコヤガイは高水温期において、特に餌料となる植物プランクトンが不足すると衰弱し、これがへい死

の大きな原因となる。そこで、高水温期である9月にアコヤガイ2年貝（日本産貝、平均全湿重量：42 g）318個体の閉殻力を測定し、貝殻・軟体部の諸形質との相関性を調べた<sup>40)</sup>。その結果、閉殻力との相関係数が高い形質は、軟体部乾燥重量 ( $r=0.65$ )、閉殻筋乾燥重量 (0.64)、閉殻筋グリコーゲン量 (0.63)、閉殻筋湿重量 (0.58)、肥満度 (0.55)、閉殻筋水分量 (0.54)

軟体部湿重量 (0.50)、貝殻湿重量 (0.50)、全湿重量 (0.47) であった。貝殻の形態を示す殻長、殻高、殻幅との相関係数は0.04~0.25と低かった。また、これらの貝殻・軟体部の形質を閉殻力の水準別にみると、高い相関係数を示した上述の形質については、閉殻力が強い区ほど値が大きくなる明確な関係が認められた (Fig. 3)。

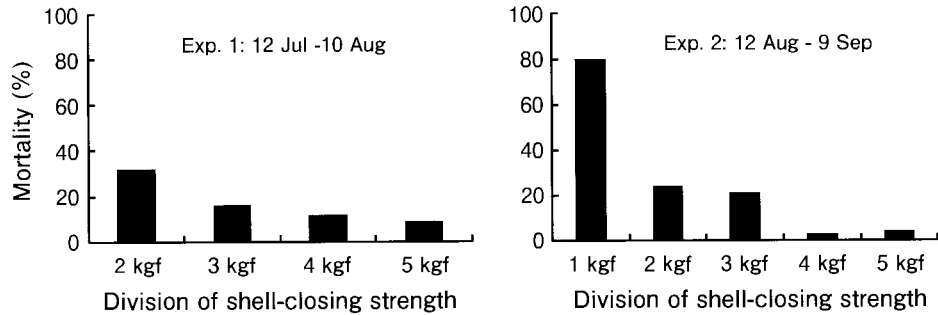


Fig. 2. Mortality (%) of the pearl oysters by division class of shell-closing strength.

Group 1 kgf: SCS 1.0–1.9 kgf; 2 kgf: 2.0–2.9 kgf; 3 kgf: 3.0–3.9 kgf; 4 kgf: 4.0–4.9 kgf; 5 kgf: 5.0–5.9 kgf.

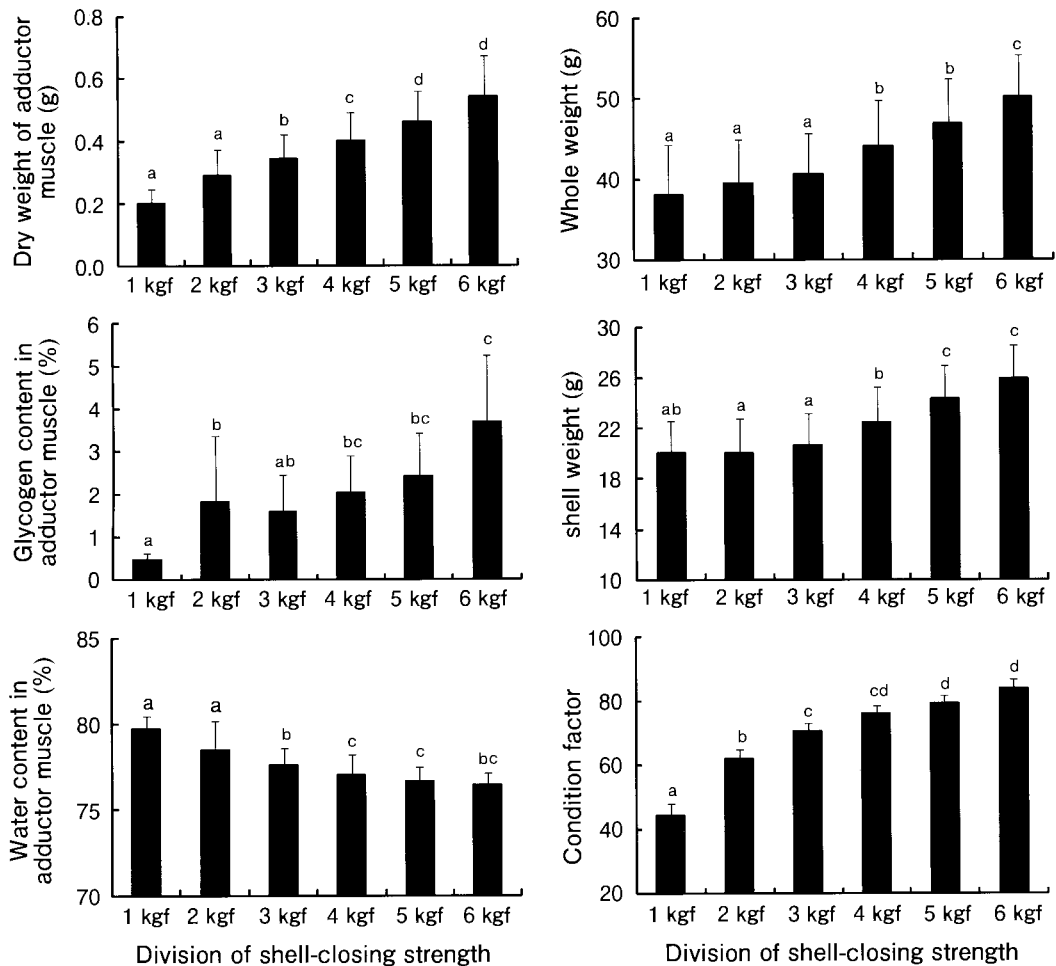


Fig. 3. Relationship between shell-closing strength and various physiological traits in the pearl oysters.

Group 1 kgf: SCS 1.0–1.9 kgf; 2 kgf: 2.0–2.9 kgf; 3 kgf: 3.0–3.9 kgf; 4 kgf: 4.0–4.9 kgf; 5 kgf: 5.0–5.9 kgf; 6 kgf: 6.0–6.9 kgf. Values with same superscript are not significant difference at  $P < 0.05$  (Scheffe's F).

これらのことから、閉殻力は軟体部・閉殻筋・貝殻の重量や、肥満度、蓄積された栄養量と相関していることが明らかとなり、アコヤガイの生理・栄養状態を反映していることが明らかになった。通常、栄養状態が悪化したアコヤガイは体力が低下して衰弱するとともに、抵抗力が弱くなっているため、漁場の環境要因の変動ストレスによってへい死しやすいと考えられている<sup>31,37)</sup>。前項で述べた、閉殻力の強いアコヤガイほど高水温期におけるへい死率が低くなるという関係は、こうした貝の栄養状態の違いが大きな要因となっていると推察される。

### 3-3. 真珠分泌能力との関係

真珠層の構造は、炭酸カルシウムの結晶（アラレ石板状結晶）と有機基質（タンパク質シート）が、レンガとモルタルのように交互に平行に積み重ねられるような層状構造をなしている<sup>44-46)</sup>。真珠層の厚さは、挿核されたアコヤガイ（母貝）の体内の核の周囲に形成される外套膜片給与体（ピース貝）由来の上皮細胞におけるカルシウム代謝の活性に影響されると考えられている<sup>44)</sup>。さらに、上皮細胞のカルシウム代謝の活性は、母貝の生理状態と関係していることが報告されている<sup>44)</sup>。真珠層（巻き）の厚さは、真珠の品質を左右する重要な要素である。そこで筆者らは、アコヤガイの挿核後の閉殻力と真珠の巻きとの関係を調査し、閉殻力と貝の真珠分泌能力の関係について検討した。

アコヤガイ3年貝（日本産貝、平均全湿重量：55g）に直径6.57mmの核を挿入し、4ヶ月後と6ヶ月後における試験貝の閉殻力と真珠の巻きの厚さ（真珠直径から核の直径を差し引いて算出）の関係を調査した。その結果、4ヶ月後にサンプリングした貝の閉殻力および巻きの厚さは、3.5～13.4kgf（平均8.1kgf）、0.14～1.10mm（0.48mm）であった。両者の間には有意（ $P < 0.01$ ）な正の相関関係（ $r = 0.59$ ）がみられた（Fig. 4）。6ヶ月後の結果もこれと同様に、閉殻力と巻きの厚さには正の相関関係が認められた。これらの結果から、アコヤガイでは閉殻力の強い個体の方が、真珠形成に関する代謝能力が優れていることが示唆された。また、挿核後の閉殻力が真珠分泌能力を評価する指標として利用できると考えられた。

## 4. 閉殻力の遺伝性

筆者らは、続いて閉殻力の遺伝性について検討した。閉殻力が遺伝形質であれば、それを指標として生理・栄養状態の優れた貝の選抜育種技術の開発が可能になる。そこで、まずアコヤガイの系統間における閉殻力の差異を明らかにし、貝の閉殻力を決定する要因

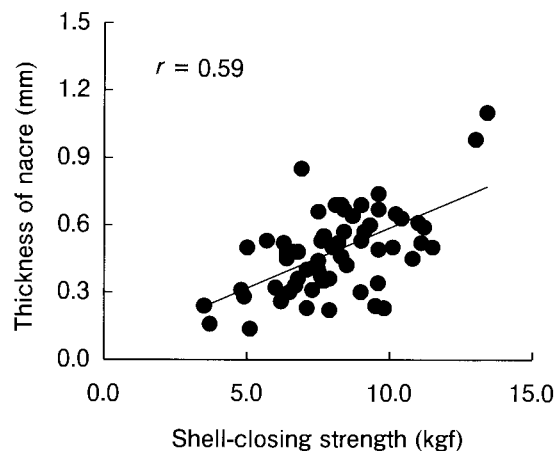


Fig. 4. Relationship between shell-closing strength and nacre thickness of pearls.

Regression line:  $y = 0.047 + 0.053x$

として遺伝の影響を検討した。さらに、閉殻力を指標として親貝を選抜し、後代を作出して遺伝率を求めて、選抜効果を調査した。

### 4-1. 系統間における閉殻力の差異

三重県科学技術振興センター水産研究部（現、三重県水産研究所）で選抜育種により継代飼育していた6家系（2年貝）を試験貝として、家系間の閉殻力の差異を調査した<sup>47)</sup>。家系の由来は以下の通りであった。①真珠層色白色系貝（2家系=W1、W2）：雌雄一対交配で継代したF3、②高真珠分泌能力系貝（厚巻き真珠生産系貝）（2家系=H1、H2）：雌雄一対交配で継代したF2、③地方系貝（2家系=Y、N）：山口県（Y）、長崎県（N）の天然集団から雌雄複数個体を交配して継代したF2であった。

これらの6家系の閉殻力と全湿重量の8月から11月にかけての変動を調査した結果、全湿重量に差がないにもかかわらず閉殻力に差がある家系が存在した。すなわち、真珠層色改良貝のW1とW2、および高真珠分泌能力系貝のH1、H2の4家系では成長に差がなかったが、W2の閉殻力は他の3家系に比べて有意（TukeyのHSD検定、 $P < 0.05$ ）に低く推移した（Fig. 5）。6家系の試験貝はいずれもほぼ同時期に生産され、同一漁場で同様に管理育成されてきたことから、閉殻力の差違には遺伝的要因が関与している可能性が示唆された。

6家系の累積へい死率（7～11月）は、閉殻力が弱かった真珠層色改良貝の2家系（W2=30.4%、W1=29.4%）が高く、次いでH1=20.5%、G=17.3%、S=12.5%であった。閉殻力が最も強かったH2のへい死率は11.6%で最も低かった。6家系全体でみた試験期間の平均閉殻力と累積へい死率の間には有意

な ( $P < 0.05$ ) 正の相関関係 ( $r = 0.84$ ) が認められた (Fig. 6)。また、6 家系全体における閉殻力の水準別のへい死率をみると、閉殻力が弱い 1 kgf 区の累積へ

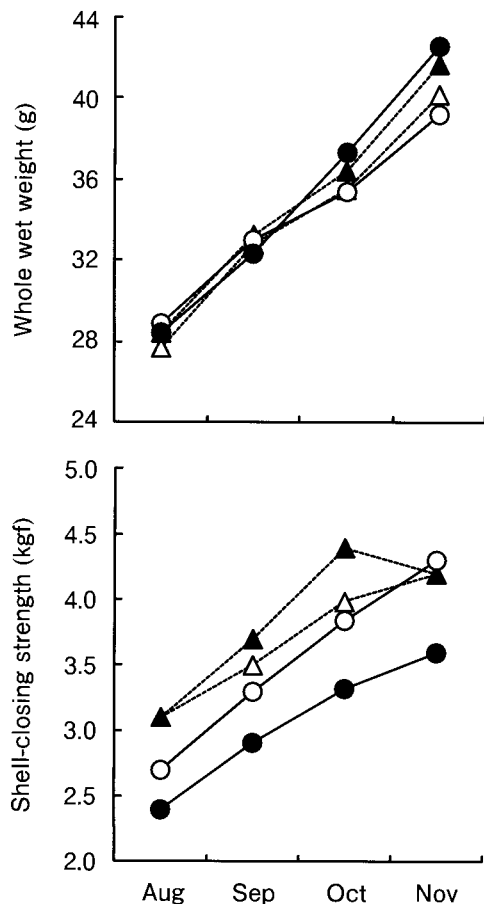


Fig. 5. Changes in shell-closing strength of several lineage of pearl oysters.

Lineage  $\triangle$ : H1;  $\blacktriangle$ : H2;  $\circ$ : W1;  $\bullet$ : W2. H1 and H2: oyster groups with a thick pearl nacreous layer; W1 and W2: oyster groups with a white color nacreous layer.

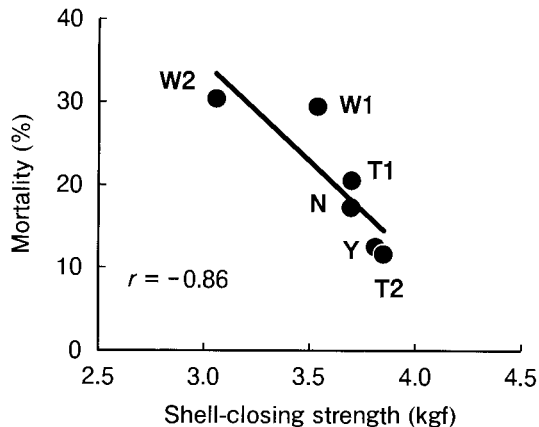


Fig. 6. Relationship between shell-closing strength and mortality. Shell-closing strength: mean values obtained in four times from July to November. Mortality: cumulative values from July to November. Regression line:  $y = 106.4 + (-23.89)x$

い死率は71%と高く、3 kgf 区以上では10%以下であった。夏期のへい死は栄養状態の悪化と関係があることが報告されており<sup>31,37</sup>、本研究の結果はこれと矛盾しなかった。このように、強い閉殻力を示す家系はへい死率が低い傾向が認められたことから、閉殻力を指標とする選抜育種が高生残系統貝の作出に有効である可能性が示された。

#### 4-2. 閉殻力を指標とした選抜実験

18ヶ月齢のアコヤガイ (日本産貝、平均全湿重量: 41 g、平均閉殻力: 4.0 kgf) 約5,500個体を母集団として、閉殻力を指標として選抜を行い、遺伝率 (実現遺伝率) から選抜の有効性を検討した<sup>48</sup>)。試験貝の閉殻力を測定して強群 (5.0 kgf 以上)、弱群 (4.0 kgf 未満) およびランダム選抜群 (対照群) を選抜し、これらを親貝に用いて第一世代を作出した。その後、各選抜群の種苗を育成し、18ヶ月齢における各群の第一世代の閉殻力を測定するとともに、次式により遺伝率 ( $h^2$ ) を求めた。

$$h^2 = (M_{10} - M_{20}) / (M_{1p} - M_{2p})$$

ここで、 $M_{1p}$ : 強群の親貝の18ヶ月齢における閉殻力の平均値

$M_{2p}$ : 弱群の親貝の18ヶ月齢における閉殻力の平均値

$M_{10}$ : 強群の第一世代の18ヶ月齢における閉殻力の平均値

$M_{20}$ : 弱群の第一世代の18ヶ月齢における閉殻力の平均値

18ヶ月齢における強群、弱群、対照群の第一世代の閉殻力は、それぞれ4.4 kgf、3.6 kgf、4.3 kgfで、これらの値は親の閉殻力の傾向を反映していた (Table 1)。また閉殻力を3群間で比較すると、強群と弱群との間では有意差がみられた (Scheffe の多重比較、 $P < 0.05$ )。

この実験で得られた閉殻力の遺伝率は0.29であった。一般的に、0.2以上の遺伝率をもつ形質は個体選抜による効果があるとされている<sup>49</sup>)。したがって、本結果から閉殻力は遺伝形質であり、閉殻力による選抜育種が高生残系のアコヤガイの作出に有効である可能性が示された。

#### 5. 閉殻力を指標とした養殖・挿核管理技術の開発～高品質真珠の効率生産を目指して

これまでに述べたように、アコヤガイの閉殻力は高水温期における貝の生理・栄養状態や真珠分泌能力と相関関係があり、閉殻力を指標とした選抜育種による形質の改良の可能性が示された。次いで筆者らは、真

Table 1. Shell-closing strength in offspring produced by shell-closing strength as selective indicator from parent population

	Parent population			Offspring				
	n <sup>*1</sup>	SCS <sup>*2</sup> (kgf)	WW <sup>*3</sup> (g)	n	SCS (kgf)	t <sup>*4</sup>	WW (g)	t
Strong group	14 (♀7, ♂7)	5.7 ± 0.50 <sup>*5</sup>	55.3 ± 2.20	236	4.4 ± 1.31	a	30.0 ± 7.84	ab
Weak group	14 (♀7, ♂7)	2.9 ± 0.70	55.2 ± 3.01	248	3.6 ± 1.17	b	28.8 ± 7.94	a
Control group	40 (♀20, ♂20)	3.9 ± 0.64	52.5 ± 5.88	100	4.3 ± 1.32	a	32.3 ± 6.89	b

<sup>\*1</sup> Number of individuals.

<sup>\*2</sup> Shell-closing strength.

<sup>\*3</sup> Whole wet weight.

<sup>\*4</sup> Values with same superscript are not significantly different at  $P < 0.05$  (Scheffe's test).

<sup>\*5</sup> Mean ± SD.

珠養殖の過程のうち挿核施術を行う前にアコヤガイの生理状態を適正なレベルにコントロールするために行う「仕立て飼育」において、閉殻力がその指標として利用できないかどうかを検討した。また、挿核時における貝の閉殻力と真珠品質との関係を調査し、閉殻力を指標とした高品質真珠の生産効率を向上させる挿核管理技術の開発を行った。

### 5-1. 真珠の品質とキズ・シミの形成メカニズム

真珠の品質は、形、色調、巻きの厚さ、光沢（テリ）、キズ（突起）・シミの有無の各要素について総合的に評価され、1級品、2級品、非商品に区分される。浜揚げされた真珠のうち、1級品の割合は低く、10～30%程度にとどまっているのが現状である。2級品以下の真珠では、キズ・シミの形成されているものが大半を占めることから、キズ・シミは品質低下の最も大きな要因となっている。

真珠のキズ・シミは、挿核してから外套膜上皮細胞が真珠袋を形成する際に、血球や生殖細胞等の異物が内包されたり、何らかの原因で引き起こされた炎症に対して上皮細胞が分泌した有機物質に由来することが報告されている<sup>50,51</sup>。また、これらの要因によるキズ・シミの形成には、挿核時におけるアコヤガイの生理状態が関係していることが明らかにされている。植本<sup>39</sup>は、挿核する前にアコヤガイを密閉性の高い専用の容器（抑制籠または仕立て籠と呼ばれる）に収容して貝の生理活動を制限する抑制飼育を行うことで、キズ・シミの形成された真珠の割合が減少したことを報告している。抑制飼育によってキズ・シミが低減するメカニズムについては、なお不明な点があるが、①キズ・シミの原因となりやすい生殖細胞の発達が抑えられた、②挿核により貝の受けるショックが軽減されて過剰な防御反応が抑えられた可能性が指摘されている<sup>38</sup>。現行の真珠養殖では、抑制飼育は挿核前の作業として、真珠の品質の向上を図るための重要な工程の一つとなっている<sup>52</sup>。

### 5-2. 抑制飼育期間における閉殻力の変動

キズ・シミのない高品質な真珠の生産効率を向上させるには、挿核前に行う抑制飼育期間においてアコヤガイの生理状態の変動を把握し、挿核に適したレベルにコントロールすることが重要である。抑制飼育中のアコヤガイは、抑制籠に高密度で収容され、外部との海水の交換が著しく制限される環境に置かれるため、代謝レベルが低下する。抑制飼育したアコヤガイの生理・栄養状態の特徴としては、生殖細胞の増殖の停止による生殖巣の発達抑制<sup>53</sup>のほか、桿晶体重量、軟体部組織の比重、血リンパ液（血清）中のタンパク質および糖含量の低下<sup>38,54</sup>が報告されている。また和田ら<sup>55</sup>は、仕立て（抑制）作業によって、貝の閉殻筋および他の軟体部の栄養成分と肥満度が低下することを明らかにしている。このように、抑制飼育したアコヤガイの生理・栄養状態は明らかに低下することが報告されている。

筆者らは、抑制飼育期間におけるアコヤガイの生理状態を判定する指標として、閉殻力の有効性について検討した<sup>56</sup>。アコヤガイ3年貝（交雑貝、平均全湿重量：44 g）を試験貝として、6月下旬から7月にかけて抑制飼育を40日間実施し、閉殻力と他の軟体部形質および栄養成分との関係を調査した。その結果、抑制飼育したアコヤガイでは、閉殻力、閉殻筋重量、閉殻筋重量/貝殻重量、軟体部のタンパク質量およびグリコーゲン量が飼育日数の経過とともに明らかに低下する傾向を示した。一方、対照区として設けた丸籠で飼育した試験貝（抑制しない貝）においては、いずれの値も上昇傾向あるいは横ばい状態で推移した。これらの形質は、アコヤガイの生理・栄養状態を示すものであり、本結果から抑制飼育に伴いそれらのレベルが低下したことは明らかである。

また、抑制飼育開始40日後の試験貝の閉殻力と各形質との関係を調査した結果、閉殻筋重量および閉殻筋重量/貝殻重量との相関係数は、それぞれ  $r = 0.84, 0.77$  で、有意 ( $P < 0.001$ ) な正の相関関係が認められた (Fig. 7)。また閉殻力と軟体部の栄養成分との間にも有意な

相関関係がみられ、タンパク質、グリコーゲン、水分との相関係数は、それぞれ  $r = 0.72, 0.80, -0.73$  であった。これらの結果から、閉殻力は抑制飼育後のアコヤガイの生理・栄養状態を反映し、抑制の程度や効果を把握する指標として有効であることが示された。

### 5-3. 閉殻力を指標とした挿核技術の開発

上述したとおり、真珠のキズ・シミは挿核時におけるアコヤガイの生理状態と関係していることが明らかにされている<sup>39)</sup>。そこで筆者らは、閉殻力が挿核に適したアコヤガイ個体を選別する生理的な指標として利用できないかと考え、挿核時の貝の閉殻力と、養殖特性および真珠品質との関係について、真珠生産者62名の協力を得て大規模な現場試験を実施した<sup>57)</sup>。高品質真珠の生産割合が挿核時のアコヤガイの閉殻力のレベルにより異なれば、閉殻力を指標として挿核に適した貝の状態を判定することで、高品質真珠を増産する技術を開発できる可能性がある。

試験貝としてアコヤガイ3年貝（交雑貝、平均全湿重量：44 g）を用いた。それらの閉殻力は、1～7 kgf の範囲にあり、閉殻力が1.0～1.9 kgf であった試験貝の集団を1 kgf 区として、以下同様に6 kgf 区（6.0～6.9 kgf）まで設定した。挿核に用いた核のサイズは2.3分（直径約6.9 mm）とし、挿核時期は4月下旬から7月上旬までの間で、同年の12月中旬に浜揚げを行っ

た。その結果、試験貝の挿核から浜揚げまでの間のへい死率については、閉殻力の最も弱かった1 kgf 区が34.9%と最も高く、次いで2 kgf 区が30.9%で、閉殻力の強い区ほど低い傾向がみられた（Fig. 8）。この要因としては、挿核時に閉殻力の強い個体では挿核後の生理状態の回復が早く、また高水温期においても良好な栄養状態を維持していたためであると考えられた。

一方、キズ・シミのない高品質真珠の生産率（挿核数に対する無キズ真珠の割合）は、2～4 kgf 区が7.7～8.5%で、1 kgf 区（1.8%）および5、6 kgf 区（2.6～2.8%）に比べて高い値を示した（Fig. 8）。この結果は、挿核時の閉殻力が強すぎても、逆に弱すぎても高品質真珠の生産性が低下し、挿核に適した閉殻力の範囲があることを示している。したがって、閉殻力は挿核時における貝の生理状態を評価する指標として有効であり、挿核に適した貝の選別や挿核適期を判断する根拠の一つになると考えられた。

## 6. 閉殻力を指標とした選抜育種および養殖管理技術の実用化について

### (1) 選抜育種技術

筆者らの研究により、閉殻力はアコヤガイの生理・栄養状態を反映する指標であり、しかも遺伝形質であることが明らかとなった。こうした知見をもとに、三重県水産研究所および財団法人三重県水産振興事業団

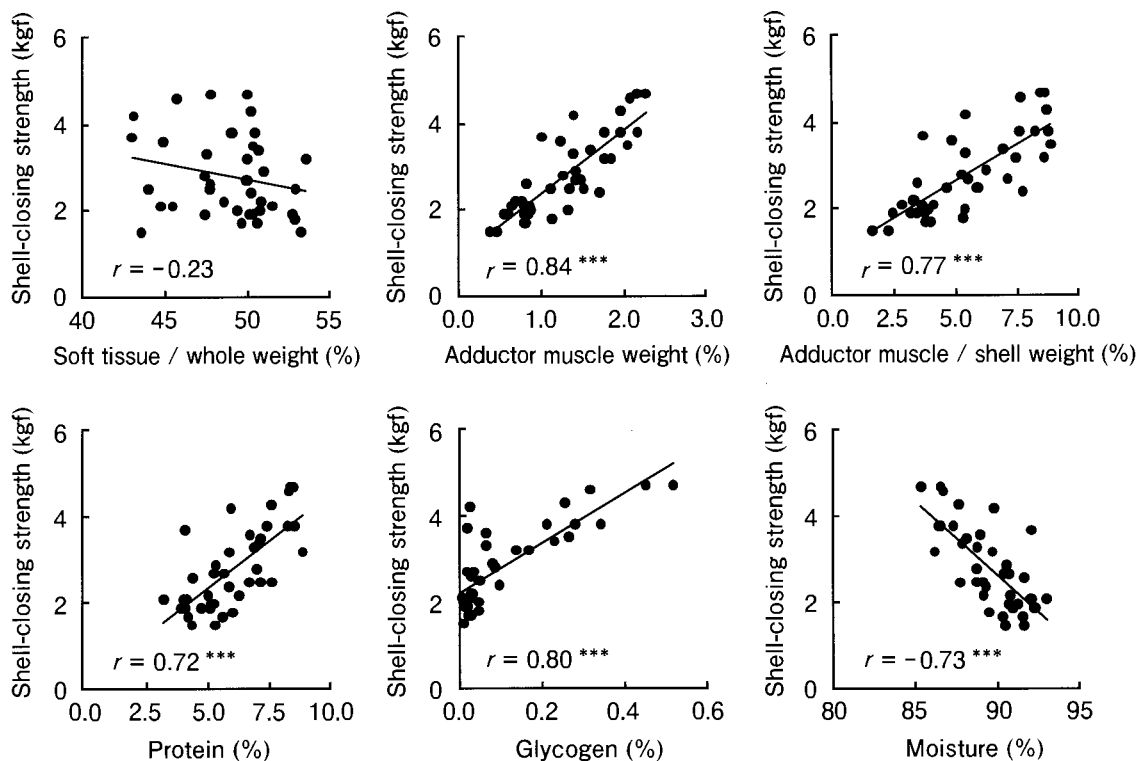


Fig. 7. Relationship between shell-closing strength and various physiological and nutritive indices in the pearl oyster. \*\*\*,  $P < 0.001$



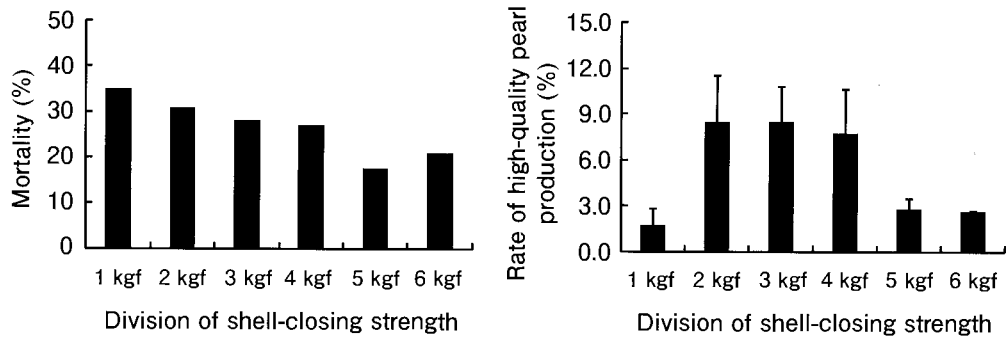


Fig. 8. Mortality and rate of high-quality pearls produced from pearl oysters by division class of shell-closing strength at the nucleus implantation.

Group 1 kgf: SCS 1.0-1.9 kgf; 2 kgf: 2.0-2.9 kgf; 3 kgf: 3.0-3.9 kgf; 4 kgf: 4.0-4.9 kgf; 5 kgf: 5.0-5.9 kgf; 6 kgf: 6.0-6.9 kgf. High-quality pearl: excluded blemishes, protrusions, organic and prismatic pearls.

(三重県栽培漁業センター)では、アコヤガイ母貝の種苗生産における親貝の選抜指標として閉殻力を取り入れ、高生残系貝を確立するために、実用的な規模での試験を実施している。

これまでに、閉殻力を活用した選抜育種の効率化を図るため、閉殻力で親貝を選抜するのに適した時期について検討した。個体識別したアコヤガイ3年貝(日本産、平均全湿重量:46g)80個体を試験貝として、6月から12月にかけての閉殻力の変化を調査した。その結果、試験貝全体のなかでの閉殻力の強さの個体別順位については、6~8月は変動が大きい、それ以降は大きく変わらないことが明らかとなった。このことから、閉殻力により個体選抜を行う時期については、9月から12月の間が適していると考えられた。

このような選抜育種技術の向上に関する取り組みとともに、閉殻力を指標とした選抜育種により作出されたアコヤガイの養殖特性を明らかにするため、生産現場で多く養殖されている交雑アコヤガイと成長、生残率、生理状態や真珠品質について比較調査を実施している。今後、これらの調査で得られた結果をもとに、育種による各形質の改良効果を検討するとともに、生産された種苗や選抜技術の普及を図る予定である。

## (2) 養殖管理技術

閉殻力はアコヤガイの生理・栄養状態を反映することから、養殖下における貝の健康状態のモニタリングやチェックに利用できると考えられる。筆者らが、上述したように6月から12月にかけてのアコヤガイ3年貝の閉殻力の変動を調査した結果、閉殻力は6月から10月にかけて漸次上昇し、その後12月までは横ばいで推移した。一方、貝の栄養状態を示すグリコーゲン量は6月から7月にかけて上昇し、その後は低下して横ばいとなり、季節による変動が大きかった。このことから、貝の健康状態を知る指標としては、栄養成分よ

りも閉殻力の方が適していると考えられる。また、閉殻力は貝を生かした状態で、簡便、迅速、かつ低コストで測定できるので現場での利便性に優れる。

挿核管理においては、閉殻力は抑制飼育から挿核までの期間において貝の生理状態を反映し、挿核に適した貝の選別や、挿核適期を判断する指標として有効であることが明らかとなった。今後は、抑制期間において閉殻力の変動に及ぼす飼育条件や漁場環境などの影響について解明して、高品質真珠の効率的な生産が実現する具体的なソリューションを提示できる挿核技術として確立を図る必要がある。現在、筆者らのグループでは、これらの技術の実用化・普及を図るため、農林水産省の「新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業」の支援を受けて、「真珠挿核技術イノベーションと高生残・高品質スーパーアコヤ貝の現場への導入による革新的真珠養殖実証研究(課題番号22065)」を実施し、現場における種々の実用化試験に取り組んでいるところである。

## 7. 要約

現在、真珠養殖業においては生産性の向上を図るため、高生残系アコヤガイの育種技術や高品質真珠を効率的に生産する養殖技術の開発が重要な課題となっている。筆者らは、アコヤガイの生理的形質である閉殻力が貝の生理・栄養状態を反映することを見出すことができた。この結果をもとに閉殻力を活用した選抜育種および養殖管理技術の開発について検討を行ってきた。本稿では、閉殻力の育種形質としての特性や遺伝性、また高品質真珠の効率生産を目的とした養殖・挿核管理技術への応用例について、これまでに実施した研究の結果を取りまとめた。

## 8. 謝辞

本研究の一部は、独立行政法人科学技術振興機構 (JST) の地域結集型共同研究事業「閉鎖性海域における環境創生プロジェクト」および地域イノベーション創出総合支援事業重点地域研究開発推進プログラム

(研究開発資源活用型)「次世代真珠養殖技術とスーパーアコヤ貝の開発・実用化」において実施した。また、本報文をとりまとめるにあたり有益なご助言を賜った、三重大学大学院生物資源学研究所 船原大輔准教授に厚く御礼申し上げる。

## 9. 文献

- 1) 丹下 孚 (1965) 真珠養殖業小史, 「真珠養殖全書」, 全国真珠養殖漁業協同組合連合会, 東京, pp. 507-547.
- 2) 和田浩爾 (1999) 宝飾品としての真珠, 「真珠の科学」, 真珠新聞社, 東京, pp. 293-308.
- 3) 松山幸彦・永井清仁・水口忠久・藤原正嗣・石村美佐・山口峰生・内田卓志・本城凡夫 (1995) 1992年に英虞湾において発生した *Heterocapsa* sp. 赤潮発生期の環境特性とアコヤガイ斃死の特徴について. 日水誌, 61: 35-41.
- 4) 松山幸彦 (2003) 有害渦鞭毛藻 *Heterocapsa circularisquama* に関する生理生態学的研究 - II *H. circularisquama* の毒性および貝類斃死機構の解明. 水研センター研報, 9: 13-117.
- 5) 黒川忠英・鈴木 徹・岡内正典・三輪 理・永井清仁・中村弘二・本城凡夫・中島員洋・芦田勝朗・船越将二 (1999) 外套膜片移植および同居飼育によるアコヤガイ *Pinctada fucata martensii* の閉殻筋の赤変化を伴う疾病の人為的感染. 日水誌, 65: 241-251.
- 6) 森実庸男・滝本真一・西川 智・松山紀彦・蝶野一徳・植村作治郎・藤田慶之・山下浩史・川上秀昌・小泉喜嗣・内村祐之・市川 衛 (2001) 愛媛県宇和海における軟体部の赤変化を伴うアコヤガイの大量へい死. 魚病研究, 36: 207-216.
- 7) 森実庸男・山下浩史・藤田慶之・川上秀昌・越智 脩・前野幸男・釜石 隆・伊東尚史・栗田 潤・中島員洋・芦田勝朗 (2002) 血リンパ接種による軟体部の赤変化を伴うアコヤガイ疾病の再現. 魚病研究, 37: 149-151.
- 8) Nakayasu, C., H. Aoki, M. Nakanishi, H. Yamashita, M. Okauchi, N. Oseko and A. Kumagai (2004) Tissue distribution of the agent of Akoya oyster disease in Japanese pearl oyster *Pinctada fucata martensii*. Fish Pathol., 39: 203-208.
- 9) 反町 稔 (2000) アコヤガイの大量斃死. 海洋と生物, 126: 39-44.
- 10) 永井清仁・岡田昌樹・郷 譲治 (2004) 低水温漁場を用いたアコヤガイの病害被害軽減方策. 日水誌, 70: 674-677.
- 11) Nagai, K., J. Go, S. Segawa and T. Honjo (2007) A measure to prevent relapse of reddening adductor disease in pearl oysters (*Pinctada fucata martensii*) by low-water-temperature culture management in wintering fisheries. Aquaculture, 262, 192-201.
- 12) 和田浩爾・山下吉宏・植村作次郎・蝶野一徳・堤 美香 (2002) 日本種アコヤガイと中国種アコヤガイ×日本種アコヤガイの第1交代雑貝の生態生理に関する比較. 全真連技術研究会報, 16: 1-18.
- 13) 堤 美香 (2002) 中国種×中国種, 中国種×日本種アコヤガイの閉殻筋の着色および生殖腺の周年変化. 全真連技術研究会報, 16: 19-30.
- 14) 渥美貴史・古丸 明・岡本ちひろ (2004) 日本産アコヤガイ *Pinctada fucata martensii* と外国産アコヤガイの遺伝的特性. 水産育種, 33: 135-142.
- 15) 小林敬典・正岡哲治 (2001) ミトコンドリア rRNA 塩基配列からみたアコヤガイ類の系統関係. DNA 多型, 9: 90-94.
- 16) 正岡哲治・小林敬典 (2002) 18SrRNA 及び 28SrRNA 領域を用いたアコヤガイ属における系統関係. DNA 多型, 10: 100-104.
- 17) 正岡哲治・小林敬典 (2003) 28SrRNA 全領域及び ITS 領域を用いたアコヤガイ属の類縁関係. DNA 多型, 11: 76-81.
- 18) 正岡哲治・小林敬典 (2005) rRNA 遺伝子を用いた真珠生産に利用されるアコヤガイ類の類縁関係とアコヤガイ属の適応放散過程の推定. DNA 多型, 13: 151-162.

- 19) Masaoka, T. and T. Kobayashi (2004) Polymerase chain reaction-based species identification of pearl oyster using nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer regions. *Fish Genet. Breed. Sci.*, 33 : 101-105.
- 20) Masaoka, T. and T. Kobayashi (2005) Species identification of *Pinctada imbricata* using intergenic spacer of nuclear ribosomal RNA genes and mitochondrial 16S ribosomal RNA gene regions. *Fish. Sci.*, 71 : 837-846.
- 21) Masaoka, T. and T. Kobayashi (2005) Species identification of *Pinctada radiata* using intergenic spacer of nuclear ribosomal RNA genes and mitochondrial 16S ribosomal RNA gene regions. *Fish Genet. Breed. Sci.*, 35 : 49-59.
- 22) 正岡哲治・小林敬典 (2006) アコヤガイとベニコチョウガイの判別手法の開発. *DNA 多型*, 14 : 193-200.
- 23) 青木秀夫・林 政博・岩城 豊・山本満彦・伊藤孝男・竹内章浩・出口明彦・小賀史哉・西川一生・野村清孝・大山清孝・山下雅彰・岩城秀夫 (2007) 日本産アコヤガイと交雑アコヤガイの養殖特性および真珠品質の比較. *全真連技術研究会報*, 21 : 1-5.
- 24) 渥美貴史・増田 健 (2008) 日本産, 中国産アコヤガイおよび交雑貝の濾過水量と水温の関係. *水産育種*, 37 : 43-49.
- 25) 真珠年鑑 2004年版 (2004) 真珠新聞社, 東京, pp. 67-110.
- 26) 真珠年鑑 2008年版 (2008) 真珠新聞社, 東京, pp. 35-89.
- 27) 四宮陽一・岩永俊介・河野啓介・山口知也 (1999) 養殖アコヤガイの糖代謝酵素活性および体成分の季節変化. *口水誌*, 65 : 294-299.
- 28) 四宮陽一・岩永俊介・山口知也・河野啓介・内村祐之 (1997) アコヤガイの秋期のへい死とグリコーゲン含量および糖代謝酵素活性との関連性. *水産増殖*, 45 : 47-53.
- 29) 岩永俊介・四宮陽一・山口知也・河野啓介 (1997) アコヤガイの糖代謝酵素活性に及ぼす絶食の影響. *水産増殖*, 45 : 339-344.
- 30) 船越将二 (1986) アコヤガイ血清蛋白質量の季節変化. *全真連技術研究会報*, 2 : 47-51.
- 31) 船越将二 (1987) 養殖中に発生したアコヤガイの衰弱およびへい死事例と血清蛋白質量. *全真連技術研究会報*, 3 : 45-48.
- 32) 滝本真一 (1995) 優良母貝育成技術開発研究. 平成 5 年度愛媛県水産試験場事業報告, 101-105.
- 33) 宮内徹夫 (1962) アコヤガイ濾過水量Ⅱ. 濾過水量におよぼす水温と比重の影響. *水産増殖*, 10 : 7-13.
- 34) 沼口勝之 (1994) アコヤガイのろ水率に及ぼす水温の影響. *水産増殖*, 42 : 1-6.
- 35) 宮内徹夫 (1970) アコヤガイの活力判定法に関する研究. *真珠技術研究会会報*, 68 : 1-221.
- 36) 植本東彦 (1968) アコヤガイの酸素消費量と水温との関係について. *国立真珠研究所報告*, 13 : 1617-1623.
- 37) 関 政夫 (1972) 養殖環境におけるアコヤガイ, *Pinctada fucata*, の成長および真珠品質に影響を及ぼす自然要因に関する研究. *三重県立水産試験場研究報告*, 1 : 32-149.
- 38) 植本東彦 (1961) アコヤガイのそう核手術に関する生理学的研究 I-III. *国立真珠研究所報告*, 6 : 619-635.
- 39) 阪口清次 (1968) アコヤガイに寄生する吸虫の生活史ならびにその病害について. *国立真珠研究所報告*, 13 : 1635-1687.
- 40) 岡本ちひろ・古丸 明・林 政博・磯和 潔 (2006) アコヤガイ *Pinctada fucata martensii* の閉殻力とへい死率および各部重量との関連. *水産増殖*, 54 : 293-299.
- 41) 船原大輔 (2009) 二枚貝キャッチ運動の分子メカニズム. *溶接学会誌*, 78 : 201-205.
- 42) Funabara, D., S. Watabe, S. U. Moors, S. Narayan, C. Dudas, D. J. Hartshorne, M. J. Siegman and T. M. Butler (2003) Twitchin from molluscan catch muscle. *J. Biol. Chem.*, 278 : 29308-29316.
- 43) Funabara, D., C. Hamamoto, K. Yamamoto, A. Inoue, M. Ueda, R. Osawa, S. Kanoh, D. J. Hartshorne, S. Suzuki and S. Watabe (2007) Unphosphorylated twitchin forms a complex with actin and myosin that may contribute to tension maintenance in catch. *J. Exp. Biol.*, 210 : 4399-4410.
- 44) 和田浩爾 (1972) 真珠袋の Ca 代謝機構と真珠の品質形成. *国立真珠研究所研報*, 16 : 1949-2027.
- 45) 和田浩爾 (1996) 真珠形成とその細胞制御 - 生物実験からのアプローチ, 「海洋生物の石灰化と硬組織」(和田浩爾・小林巖雄編著), 東海大学出版会, 東京, pp. 85-102.
- 46) 和田浩爾 (1999) 生物がつくる宝石, 「真珠の科学」, 真珠新聞社, 東京, pp. 1-32.
- 47) 岡本ちひろ・古丸 明・林 政博・青木秀夫・磯和 潔 (2006) 家系間におけるアコヤガイ *Pinctada fucata martensii* の閉殻力の差異. *水産増殖*, 54 : 293-299.

- 48) 石川 卓・岡本ちひろ・林 政博・青木秀夫・磯和 潔・古丸 明 (2006) 日本産アコヤガイ *Pinctada fucata martensii* における閉殻力の遺伝. 水産増殖, 57: 77-82.
- 49) 和田克彦 (1979) 量的形質の遺伝, 「水産生物の遺伝と育種」(日本水産学会編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 7-26.
- 50) 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.
- 51) 和田浩爾・鈴木 徹・船越将二 (1988) しみ・黒珠・有機質真珠の形成と真珠袋の異常分泌. 全真連技術研究会報, 4: 21-32.
- 52) 赤松 蔚 (2003) 真珠の養殖, 「カルチャード・パール」, 真珠新聞社, 東京, pp 53-83.
- 53) 植本東彦 (1958) アコヤガイの生殖腺に関する研究Ⅱ. 国立真珠研究所報告, 4: 287-307.
- 54) 植本東彦 (1967) 仕立て作業および挿核手術がアコヤガイの生理状態に及ぼす影響. 日水誌, 33: 705-712.
- 55) 和田浩爾・山際 優・秋山敏男・山本剛史・船越将二 (1991) アコヤガイの体力・肥満度と体成分との関係. 全真連技術研究会報, 7: 1-13.
- 56) 青木秀夫・藤原孝之・石川 卓・渥美貴史・阿部久代・神谷直明・古丸 明 (2011) 抑制飼育期間におけるアコヤガイの閉殻力および軟体部諸形質の変動. 三重県水産研究所研究報告, 20: 1-7.
- 57) 青木秀夫・渥美貴史・阿部久代・神谷直明・石川 卓・古丸 明 (2010) 挿核時のアコヤガイの閉殻力と養殖特性および真珠品質との関係. 全真連技術研究会報, 24: 1-5.