アコヤガイ真珠の干渉色および結晶厚におよぼすピース貝の影響について

藤村 卓也,^{1*} 古丸 明²

(2016 年 6 月 15 日受付, 2017 年 6 月 13 日受理, 2017 年 10 月 10 日 J-STAGE 早期公開)

¹若狭大月真珠養殖株式会社, ²三重大学大学院生物資源学研究所

The influence of nacreous crystal thickness of donor oysters on interference color appearance and crystal thickness of pearls in *Pinctada fucata* (Japanese pearl oyster)

TAKUYA FUJIMURA^{1*} AND AKIRA KOMARU²

¹Wakasa Otsuki Pearl Co., Ltd., Shima, Mie 517-0502, ²Graduate School of Bioresources, Mie University, Tsu, Mie 514-8507, Japan

The interference color of Akoya pearls from *Pinctada fucata* is one of the important factors which determine their quality. Interference color is determined by pearl crystal thickness of the aragonite layer. We established two oyster lines by selective breeding of donor oysters with average shell crystal thicknesses of 300 and 360 nm, respectively. A pallial piece of mantle tissue from the donor oysters and a nucleus were grafted into the gonad of recipient oysters ($n=383$) and cultured for 15 months. Pearl crystal thickness in recipient shells was correlated with the nacreous crystal thickness of the donor shell at all time points between 7 and 15 months after grafting ($p < 0.01-0.05$). Although the relationship was weak, it is suggested that the recipient shell crystal thickness was also correlated with the crystal thickness of the pearl. Additionally, the shell crystal thickness was negatively correlated with growth. These results suggest that the interference color of pearls can be improved by selective breeding of donor oysters.

キーワード：アコヤガイ, 干渉色, 結晶, 真珠, 制御, 選抜育種, ピース貝, 母貝

真珠の品質には、大きさ、巻き、形状、キズの有無、色など様々な要素が関与するが、「テリ」は特に重要な要素である。「テリ」とは色彩や光沢のシャープさに加え、真珠層の厚さがもたらす重厚感なども含めた、光沢由来の多様な質感を総合的に表す業界用語である。¹⁾ 真珠が宝石として扱われるのは、美しい光沢を放つからで、内在する色素や下地色等から成る実体色と干渉色などが合成されて真珠光沢となる。特に日本産アコヤガイ *Pinctada fucata* で作った真珠にはピンクや緑等を発色するものもある。これら美しい色彩は、真珠層色素由来の実体色ではなく、主に厚さ 450 nm 以下の炭酸カルシウム結晶の多層薄膜構造から生じる干渉色に由来する。²⁾ 干渉色に由来する鮮やかな色彩をもつ珠は商品価値が極めて高いが、現行の養殖技術では出現頻度は著しく低い。

干渉色発現については光学的な仕組みについては解っているものの、³⁻⁵⁾ 理想的な真珠結晶形成へ応用させる

養殖技術開発には至っていない。現在までに真珠養殖技術と干渉色を結びつける研究は非常に少ない。^{6,7)} 研究があまり進展していない理由として、干渉色の計測（数値評価）が困難なことがあげられる。そこで本研究では、発現している干渉色を色度計によって計測するのではなく、結晶の一層の厚み（結晶厚）を計測してその値から発現する干渉色を推測した。干渉色は構造色とも言われ、結晶厚がわかれば生じる干渉色が特定できるためである。

現在、アコヤガイに限らず、養殖真円真珠は西川藤吉によって開発された「ピース式」という技法によって生産されている。⁸⁾ これは業界専門用語で「ピース貝」と呼ばれる供与体の外套膜片を「母貝」と呼ばれる移植体に真珠核と密着させて移植する真珠形成法である。我々のグループは干渉色を最大限に発揮させて色彩豊かなアコヤガイ真珠を効率的に生産するために、ピース式養殖

技術の向上を目指している。その第一歩として、本研究では継代選抜により得られた貝殻真珠層の結晶厚の異なる2系統のピース貝を用いて挿核実験をおこない、ピース貝が真珠の結晶厚を決める要因になっているか否かについて明らかにした。

なお、貝殻内面の真珠層から部位によって色や強弱が異なる干渉色が発せられる。このような現象は、結晶厚が一様でないために生じるが、貝殻の結晶厚分布を調べた研究は著しく少ない。⁷⁾ そのため本研究で結晶厚の比較に用いた測定点の位置が妥当な選択であったかを検証するために、貝殻全域にわたる結晶厚についても調査をおこなった。

加えて、母貝の貝殻結晶厚と真珠の結晶厚の関係についても検討をおこなった。

材料と方法

ピース貝の選抜育種と選抜方法 挿核試験には貝殻内面の真珠層干渉色で継代選抜した青系統 (Fig. 1a) と赤系統 (Fig. 1b) の2系統のピース貝を使用した。青系統および赤系統ピース貝は、日本産アコヤガイから切開法による人工交配で作出した。青系統ピース貝については、2001年から2010年の実験使用時まで、2, 3年おきに貝殻真珠層全体が鮮やかな青色の雌雄各2-6個体を選抜して、5世代の継代を行った。赤系統ピース貝については4世代目の青系統ピース貝の中から鮮やかな赤色の貝殻真珠層を持った雌4個体を選抜し、別系統の赤色選抜雄5個体と交配して得られた系統である。色彩の鮮明さの選抜はいずれも目視評価によっておこなった。

挿核実験における外套膜移植片採取用のピース貝は以下の方法で選抜を行った。生後20か月の両系統からそれぞれ約100個体を選び、左殻内面の真珠層全面の干渉色を貝殻に対し垂直方向から観察し、青系統 (F_5) からは青を強く発色する8個体、赤系統 (F_1) からは赤を強く発色する10個体を選んだ。本研究で赤と表現している干渉色は厳密には紫を少し含む赤みの強い赤紫である。青については青紫から青緑の範囲とした。発色の強さはすべて肉眼の判定によった。さらに選抜した個体すべてについて貝殻を観察する角度を浅く変えて (より水平に)、より短波長の色に (青は紫に、赤は緑に) 変化することを確認し、判定に用いた色は干渉色であることを確認した。

挿核方法 挿核実験に使用した外套膜片は、これらの選抜された個体の右外套膜から挿核作業で常用するメスを用いて約2-3 mm四方の大きさに切出した。青系統ピース貝と赤系統ピース貝の2つの試験区は、外套膜片を取る位置によってさらに3グループに分けた (Fig. 1b)。右殻の蝶番を下にして内面側を見たときに時計文字盤の5時から2時方向を前方、2時から11時方向を中央、11時から8時方向を後方とした。これらの部位から外套膜片を約7片ずつ採取した。生後18か月の人工採苗した日本産アコヤガイ383個体を母貝として、2011年10月28日から11月2日にかけて直径5.45 mm (1分8厘) の真珠核1個と外套膜片1枚を生殖巢内に挿入した。

挿核貝の飼育 手術後の貝は養生のため養生籠に収容し、三重県志摩市賢島 (英虞湾) にある若狭大月真珠養殖場の地先の筏に、2011年11月24日までの約3週間

Fig. 1 Shells with intense interference color used as donor oysters for selective breeding for interference color (a, b) and recipient oysters (c). Pieces of mantle were prepared from the donors. Black arrows indicate the striped zone of interference colors. Nacreous crystal thickness in the shells was measured 1 cm from the boundary between the prismatic and nacreous layers (★). (a) Shell with intense blue interference color. Closed circles (●) represent SEM observation points for comparison among shells. An open triangle (△) indicates the boundary between the prismatic and nacreous layers. (b) Shell with intense red interference color. The labels anterior, center, and posterior signify zones where the mantle grafts were dissected. Black arrows, beginning with the one labeled R, indicate the intense red zones of interference color. White arrows indicate the positional relationship in three dimensions: the *x* axis denotes the boundary between the prismatic and nacreous layers; the *y* axis shows a line through the umbo-anterior end of the adductor muscle; the *z* axis indicates the growth direction of nacreous crystal thickness. (c) Reflected interference colors in the nacreous layer of a recipient shell. The orange bar indicates the location of the cross section otherwise diagrammed in Fig. 6. At the edge of the nacreous layer, the color transition in recipient oysters was more conspicuous than that seen in donor oysters (cf. a, b). Black arrows labeled R, Y, and G point to the red, yellow, and green zones, respectively.

垂下した。その後、ブランコ籠とよばれるネットに移し、さらに沖の水域で実験終了まで垂下養殖した。2011年12月7日から4月15日までの間と2012年12月4日以降は、冬期の低水温による斃死を避けるため三重県海山町の白石湖に移動し、そこで採集をおこなった。ただし、13か月後の2012年12月用の試料は、挿核貝を避寒させずに賢島で採集した。採集は挿核から約3か月後(2月5日)、7か月後(5月24日)、9か月後(8月2日)、13か月後(12月9日)、15か月後(2月15日)の計5回行った。試料は青系統ピース貝と赤系統ピース貝を用いた試験区からそれぞれ、3か月後は9個体ずつ、7か月後は15個体と16個体、9か月後は13個体と14個体、13か月後は12個体と26個体、15か月後は4個体と5個体を採集した。採集した真珠から商品価値を欠く低品質真珠を除いた93個の真珠を分析に用いた。

走査型電子顕微鏡用標本の作製 走査型電子顕微鏡による真珠断面の観察を行うために、エポキシ樹脂SpediFix-20(Struers社製)により包埋した真珠試料をエポキシ樹脂接着剤でスライドガラスに接着した後、垂直な真珠層断面が得られるようにダイヤモンドカッターで半球状に真珠を切断した。

挿核時に使用したピース貝の左殻および母貝の左殻と右殻はFig. 1(a), (b)に示した切断面が得られるように、内面側が下になるように伏せ、殻頂部から閉殻筋前端を結ぶy軸(Fig. 1b)に沿ってダイヤモンドカッターで切断した。樹脂包埋は切断時に得られた断面の垂直角(断面と貝殻真珠層の結晶c軸が並行)を維持するため、湾曲した切断面で貝殻を支えて立てたまま行った。その後、真珠試料と同様にスライドガラスに接着し、厚さ2 mm程度の薄片になるようダイヤモンドカッターで接着面の反対側を切除した。真珠と貝殻試料の切断面は約40, 12, 3 μm の研磨材(住友3Mラッピングフィルムシート)で研磨し表面を平滑にした。研磨した標本は走査型電子顕微鏡(TM1000, 日立)で観察に供した。一部の標本については研磨後の標本表面にエッチングを施し、さらに金蒸着した後に観察した。エッチングは、8%水酸化ナトリウム・1%ホウ砂水溶液に、試料を約15分浸漬することによって行った。

走査型電子顕微鏡による真珠層結晶厚の計測 真珠層z軸(結晶c軸)方向の結晶厚(Fig. 1b)の計測は以下の観察部位で行った。真珠断面については、異常分泌の痕跡がない真珠層のみから構成される任意の1か所の表層部とした。ピース貝および母貝の貝殻断面については、結晶厚に関する情報が著しく少ないことから、⁷⁾測定点を以下のように定めてその表層部とした。アコヤガイ貝殻内面の真珠層縁辺部では干渉色の帯が見られるが、干渉色の色彩の移行は一般的に貝殻真珠層縁辺から

1 cm程度の幅において顕著で移行様式も個体差が大きかった。それより内側(蝶番側)では色彩は緩やかに移行していくので、殻頂-閉殻筋前端線上の真珠層縁辺から1 cmの箇所を測定点とし(Fig. 1a, 星印)、貝殻間の比較に用いた。入射光は真珠層の各結晶層で反射して干渉を起こすが、結晶厚によって干渉を起こす波長(色彩)が決定され、「結晶厚 d 」と「干渉色 λ (光の波長)」の間には $2d\mu \cos \theta = n\lambda$ (屈折率 μ , 光の入射角度 θ , 干渉の次数 n で自然数1, 2, 3, ...)という関係がある。しかし、測定点での結晶厚計測値が、最も厚かった青系統ピース貝と最も薄かった赤系統ピース貝の貝殻についてはこの条件を満たさなかった。これら2つの貝については理論から導かれる色と観察した色が一致しなかった理由を探るために、上述の測定点以外に、殻頂-閉殻筋前端線上の真珠層縁辺から1 cmごとに(Fig. 1a, 黒丸印)、最深層から表層までの結晶厚の調査を行い、貝殻全域で再比較を行った。

上記の貝殻測定点(Fig. 1a, 星印)および真珠においては真珠層断面の表層部を倍率1万倍で撮影し、その印刷画像の約10 μm 分の距離を結晶層数で除した平均値を「結晶厚」とした。なお、本研究では「真珠および貝殻の真珠層を構成する炭酸カルシウム結晶のc軸方向の厚み(結晶1層の厚さ)」を「結晶厚」と表記する。貝殻全域の結晶厚計測(Fig. 1a, 黒丸印)では、真珠層断面の表層から最深層までの全層を5000倍で連続撮影し、50 μm の深度毎に真珠層約20層分の距離を印刷画像より計測し、層数で除した平均値を結晶厚とした。最深層の結晶厚は、表層側50 μm 毎で計測した20層と重複しないよう、繊維状アラゴナイト層⁹⁾に隣接する10-28層の距離より平均値を求めた。これらの計算によって得られた貝殻や真珠の結晶厚および真珠の直径の比較には t 検定を用いた。

結 果

ピース貝が真珠の結晶厚に及ぼす影響について

1. 青系統、赤系統ピース貝の貝殻真珠層結晶厚の比較 使用した貝の殻長と殻高はそれぞれ、干渉色青系統ピース貝で 6.0 ± 0.3 cm(平均値 $\pm$ 標準偏差)と 6.5 ± 0.4 cm、赤系統ピース貝で 6.8 ± 0.6 cmと 6.9 ± 0.7 cmであった。青系統ピース貝と赤系統ピース貝の各個体における左殻真珠層の結晶厚をTable 1に示した。表層から深さ10 μm に到る結晶1枚当たりの平均結晶厚は、青系統で 294.6 ± 53.6 nm、赤系統で 361.8 ± 49.7 nmを示し、 t 検定によりその平均値の差は有意であった($p < 0.05$)。

同じ個体の右殻は左殻と同様の干渉色を有し、青系統では青色(Fig. 1a)を、赤系統では赤色(Fig. 1b)を呈していた。干渉色の移行様式も左右で類似しており

Table 1 Observed interference colors and nacreous crystal thickness at the measurement point (see ★ in Fig. 1) in shells of donor oyster, and theoretical interference colors based on the measured values

Blue-line donors		Red-line donors		Theoretical interference colors		
Observed reflected interference colors	Crystal thickness at measuring point (nm)	Observed reflected interference colors	Crystal thickness at measuring point (nm)	<i>n</i> = 1	<i>n</i> = 2	<i>n</i> = 3
Bluish green, purplish red, purple	396	Purplish red, green	420	—	Red	Blue
		Purplish red, greenish blue	413	—	Red	Blue
		Purplish red, bluish green	396	—	Red	Purple
		Purplish red, green	396	—	Red	Purple
		Purplish red, bluish green, purple	382	—	Red	Purple
		Purplish red, bluish green, purple	359	—	Orange	Purple
Green, purple	336	Purplish red	357	—	Orange	Purple
	332			—	Green	—
Green, greenish blue, purple				—	Green	—
				—	Green	—
Bluish green	294	Green	328	—	Green	—
Greenish blue	268	Green, purplish red	319	—	Green	—
Blue	257			—	Blue	—
Purple	257			—	Blue	—
				—	Purple	—
				—	Purple	—
Purple	217	Green	248	—	Purple	—
				Red	—	—
Average	294.6 ± 53.6		361.8 ± 49.7			

The color descriptions denote order of light intensity; *n* = 1, 2, 3 indicate the order spectra of interference.

(Fig. 1a, b), 縁辺域は干渉色が鮮やかであったが、殻頂部に向かい干渉色の強さは低下した。なお、左右の貝殻における干渉色やその移行様式の対称性は、母貝にも共通して認められた (Fig. 1c)。ただし、干渉色に関して選抜を行っていない母貝の貝殻内面においては、縁辺から殻頂の方向に向かって赤色から青色に移行する干渉色の帯が、縁辺部に帯状に集中していた (Fig. 1c)。一方、干渉色で選抜を行ったピース貝では、移行する干渉色の帯幅が広く、色彩は貝殻全域にかけて移行していた (Fig. 1a, b)。

Figure 1(a), (b)の黒矢印で示したピース貝貝殻の干渉色は真珠層縁辺 (Fig. 1b, *x* 軸) に並行な縞状に発現し、連続的に色が移行していた。色むらを排除するために測定点 (Fig. 1a, 星印) を直径 1 mm に限定し、観察した干渉色と結晶厚の関係を Table 1 に記載した。理論上の干渉色は前記した $2d\mu \cos \theta = n\lambda$ により求めた。なお、右項の $n\lambda$ は見る角度 $\cos \theta$ 次第で変化するので、 θ は肉眼による観察条件と同条件の 0° (垂直) とした。各個体の測定点における表層結晶厚計測値と観察された干渉色との対応関係は、以下のとおりであった。青系統ピース貝の 8 個体では 257 nm の 2 個体は紫色と青色、

294 nm 以上の 3 個体で緑色が認められるようになり、最も厚い結晶厚を示した 396 nm の 1 個体は青緑色と微弱な赤紫もしくは紫色を呈していた (Fig. 1a, 星印)。赤系統ピース貝の 10 個体では、結晶厚が 328 nm 以下の 3 個体から緑色、357 nm 以上の 7 個体から赤紫色が安定して観察された。これらの局所的な干渉色は、選抜判定の根拠となった貝殻全体で優占する干渉色と異なる個体もあった。

Table 1 に示したように青系統および赤系統ピース貝での観察結果と理論上の色との比較においては概ね 2 次の干渉色の理論値と一致したが、青系統ピース貝で最も結晶厚の厚かった個体 (396 nm) において観察された干渉色は、3 次の干渉色の理論値と波長域に近いものであった。また、赤系統ピース貝で最も結晶厚の薄かった個体 (248 nm) において観察された干渉色は、理論値の紫色ではなく、緑色であった。

2. 青系統, 赤系統ピース貝で作出した真珠の結晶厚 Fig. 2 に青系統と赤系統ピース貝の外套膜片を母貝に移植して作成した真珠の結晶厚を示した。挿核後約 3 か月の 2 月標本 (母貝の平均殻長 6.8 ± 0.5 cm) では、青系統ピース貝による真珠 (以後、青系統区の真珠と記載)

Fig. 2 Box plot of the nacreous crystal thickness in pearls that were formed by blue-line donors (stippled square) and red-line donors (open square). Each box and the surrounding bars represent the quartile range and the maximum/minimum ranges, respectively. Pearls collected in February, May, August, December 2011 and February 2012 were taken at 3, 7, 9, 13 and 15 months after implantation, respectively.

では6個のうち2個が、赤系統ピース貝による真珠（以後、赤系統区の真珠と記載）では8個のうち2個が真珠層の形成まで至っていなかったため、これらについては分析を行わなかった。青系統区および赤系統区の2月の真珠結晶厚は、それぞれ 423.3 ± 103.8 nm（平均値 $\pm$ 標準偏差）と 404.5 ± 109.1 nm を示し、両区の間には有意差は認められなかった。また、2月の青系統区および赤系統区の真珠の直径は、それぞれ 5.71 ± 0.09 mm と 5.73 ± 0.14 mm で有意差は認められなかった。

挿核後約7か月の5月に採集した真珠においては（母貝の平均殻長 7.1 ± 0.7 cm）、青系統区の真珠結晶厚は 391.8 ± 34.8 nm で、赤系統区の真珠結晶厚の 453.9 ± 86.0 nm に比べ薄かった（ $p < 0.05$ ）。青系統区および赤系統区の真珠の直径は、それぞれ 5.84 ± 0.09 mm と 5.84 ± 0.09 mm で有意差は認められなかった。

しかし、挿核後約9か月の8月に採集した真珠では（母貝の平均殻長 7.3 ± 0.6 cm）、結晶厚は青系統区と赤系統区でそれぞれ 312.7 ± 47.7 , 350.6 ± 92.3 nm と青系統区の方が薄い傾向が続いていたものの有意差は認められなかった。また、赤系統区の真珠結晶厚の分布範囲は189–512 nm と青系統区の246–424 nm よりも大きかった。なお、8月においてはごく表層に極端に薄い結晶層の形成が認められ、真珠結晶厚の平均値が2月、5月よりも小さくなった。8月に採集した青系統区の13個中6個、赤系統区14個中7個の真珠において、表面から1–5 μ m の結晶はそれ以前に形成された結晶に比べ1/2–2/3の厚さしかなかった。この極端に薄い表面の結晶を除外して計算すると、青系統区の真珠の平均結晶厚は 338.3 ± 53.6 nm で、赤系統区の真珠の平均結晶厚の 424.4 ± 65.7 nm より薄いという結果になった（ $p < 0.01$ ）。青系統区および赤系統区の真珠の直径については、それぞれ 6.05 ± 0.16 mm と 6.14 ± 0.15 mm で有意差は認められなかった。

青系統区と赤系統区の真珠の平均結晶厚は、挿核13か月目の12月（母貝の平均殻長 7.3 ± 0.7 cm）でそれぞれ 334.1 ± 47.2 nm と 426.0 ± 52.8 nm、挿核15か月目の2月（母貝の平均殻長 7.4 ± 0.4 cm）で 300.3 ± 16.5 nm と 437.2 ± 60.8 nm となり、青系統区の真珠の方が赤系統区の真珠よりも結晶厚が薄かった（ $p < 0.01$ ）。12月の青系統区および赤系統区の真珠の直径は、それぞれ 6.44 ± 0.24 mm と 6.53 ± 0.16 mm で有意差は認められなかった。一方、翌2月の青系統区および赤系統区の真珠の直径は、それぞれ 6.59 ± 0.09 mm と 6.16 ± 0.17 mm で有意差が認められた（ $p < 0.01$ ）。

真珠層が十分に形成され、有意差が認められるようになった5月以降の真珠結晶厚の変化をみると、8月の高水温期に青系統区と赤系統区ともに極端に薄い層が表面に形成され、結晶厚の平均値を押し下げた。この極端に薄い層を除外して計算すると、青系統区では5月以降徐々に薄くなったのに対し、赤系統区では顕著な変化がなかったため、養殖期間が長くなるにつれ、ピース貝による真珠結晶厚の差が顕著になった。

なお、外套膜前方、中央および後方（Fig. 1b 参照）から採取した外套膜片を用いて作った真珠の結晶厚の比較に関して、挿核15か月後の2月の真珠サンプルはすべて中央の外套膜片由来であったことから、5月と12月の結果を示す。青系統区の5月の真珠では前方、中央、後方の順に、 392.6 ± 41.2 , 379.3 ± 30.7 , 407.3 ± 16.9 nm、12月の真珠では 326.0 ± 49.9 , 339.5 ± 45.5 , 353.0 ± 32.0 nm であった。また、赤系統区の5月の真珠では 476.3 ± 117.6 , 450.2 ± 75.9 , 436.3 ± 46.5 nm、12月の真珠では 436.3 ± 54.6 , 382.8 ± 19.6 , 459.0 ± 43.9 nm であった。真珠の結晶厚に外套膜の採取部位による有意差は認められなかった。

3. 貝殻真珠層断面全体から得られた結晶厚 Table 1 で示したように、青系統ピース貝の測定点での最大値

Fig. 3 Diagram of actual measurements by SEM of cross sections through the umbo-anterior end of the adductor muscle of donor shells. Data are for (a) a whole section of the shell shown in Fig. 1(a), and (b) a whole section of the shell shown in Fig. 1(b). Each number in a cell represents the average thickness (nm) per crystal at each 50-μm-depth increment from the shell's surface; the colors of the cells correspond to those at the bottom of the figure showing the ranges of nacreous crystal thicknesses. Colors represent the graded degrees of crystal widths. d = distance from the surface to the nacre-calcite boundary; t = thickness of the shell's nacreous layer.

は赤系統ピース貝での最小値を上回っていた。この現象は貝殻全体の干渉色から予測された選抜結果に反していたため、左殻について貝殻縁部から蝶番線に及ぶ貝殻断面全体にわたる結晶厚調査から再比較を行った。青系統ピース貝では83か所、赤系統ピース貝では71か所の結晶厚計測結果を50 nm単位の等級に分け、等級に応じて着色を施し、Fig. 3に示した。

赤系統ピース貝 (b) に青系統ピース貝 (a) の区画71か所を対応させた結果、赤系統ピース貝 (b) の方が約68%の区画で薄く、結晶厚も平均で28 nm薄かった。特に、比較的新しく形成された深さ150 μm以浅の結晶層のうち、縁辺と殻頂部周辺を除いた縁辺から1 cmから4 cmかけての16区画に注目すると、差はより顕著となる。赤系統ピース貝 (b) はすべての区画において青系統ピース貝 (a) より薄く、結晶厚平均値も118 nm薄かった。

青系統ピース貝 (Fig. 3a) および赤系統ピース貝 (Fig. 3b) の表層から厚さ400 μmまでの結晶厚は、縁辺から4, 5 cmの殻頂に近い部位で最も厚く、縁辺から1 cmの測定点に向かって徐々に薄くなっていた (y 軸方向)。また、赤系統ピース貝の縁辺から1 cmの測定点においては、稜柱層との境界部である表層から400 μmの最深層での結晶厚は409 nmと厚く、表層から200 μmの中層で310 nm、さらに表層の248 nmに向かって次第に薄くなっていた (z 軸方向)。この現象は

他にも赤系統ピース貝の2, 5.5 cmや青系統ピース貝の2, 3, 6 cmの測定点にもみられ、最深層に厚い結晶が形成され、その上に1-2ランク (50-100 nm) 薄い層が積層する傾向は貝殻全域に認められた。このように「貝殻縁辺に向かう y 軸方向」と「貝殻内面に向かう z 軸方向」の2方向へ薄くなる傾向が、2つの異なる系統の貝から共通して認められた。

母貝が真珠の結晶厚に及ぼす影響について

1. 左右貝殻結晶厚の相称性について 12月の母貝標本11個体について、左右貝殻間での結晶厚の関係をFig. 4に示した。右殻の結晶厚が260 nmと最も薄い結晶厚をもつ個体は左殻においても結晶厚は285 nmと最も薄く、右殻の結晶厚が566 nmと最も厚かった個体は左殻も543 nmと厚かった。左殻と右殻の測定点における平均値及び標準偏差はそれぞれ 443.6 ± 83.8 nm と 445.1 ± 86.7 nm で、左右の貝殻は対応する測定点に關してほぼ同じ値を示した。両貝殻間の相関係数は $r = 0.76$ を示し、貝殻結晶厚は左右均等であることが明らかになった。

2. 母貝の貝殻結晶厚とその母貝が形成した真珠の結晶厚 母貝の貝殻結晶厚とその母貝が形成した真珠の結晶厚との間に相関関係があるかどうかを調べた。ここでは母貝左殻における測定点 (Fig. 1a 参照) の表層結晶厚とその母貝が生産した真珠表層部結晶厚との関係について12月の標本を解析し、Fig. 5に示した。青系統区と

Fig. 4 Relationship between nacreous crystal thickness in the left and right shells of recipient oysters collected in December. The dotted line indicates an approximate curve.

Fig. 5 Relationship between nacreous crystal thickness in the left shell of recipient oysters and the pearls of the recipient oysters, collected in December. The closed and open circles indicate thicknesses of nacreous crystals in pearls that were formed by the blue-line and red-line donors, respectively; the continuous line and dotted line indicate approximate curves corresponding to the thicknesses denoted by the closed and open circles, respectively.

赤系統区の両区の真珠とも母貝の結晶厚が増すに従って、真珠の結晶厚が増す傾向が認められた。青系統区と赤系統区における真珠と母貝の結晶厚の相関係数はそれぞれ 0.31 と 0.29 であった。

考 察

理論上は貝殻真珠層の干渉色を肉眼で見ることで結晶厚がどの範囲にあるかを知ることができる。例えば、透過型電子顕微鏡用の試料作成においても、干渉色

から薄切された切片の厚みを知ることができる。¹⁰⁾ 超薄切片の灰、銀、金、紫、青、緑、黄の干渉色は、それぞれ厚さ 60 nm 未満、60–90、90–150、150–190、190–240、240–280、280–320 nm に対応する。なお、真珠における干渉現象は、各結晶層の反射同士の干渉が重要なので、大森¹¹⁾ が採用している「波の位相が π だけずれる $2d\mu \cos \theta = n/2\lambda$ 」ではなく、Raman³⁾ が採用している「波の位相がずれない $2d\mu \cos \theta = n\lambda$ 」の光路差関係式を引用した。Table 1 に示した干渉色に変化する結晶厚の境界値を代入して干渉色の次数 n を算出してみると $n \approx 2$ がえられた。代入した数値は以下のとおりである。炭酸カルシウムのアラゴナイト結晶の屈折率にはいくつかの候補があるが、最もよく使われる^{2,12)} $\mu = 1.68$ を用いた。紫色光、青色光、緑色光と赤色光の波長 λ はそれぞれ 380–450、450–495、495–570 と 620–750 nm とした (JIS Z8120 の定義による)。この条件下で、青系統ピース貝から得られた紫と青の両方の干渉色が観察された結晶厚 $d = 257$ に対し紫色光と青色光の境界値 $\lambda = 450$ nm を代入すると次数は $n = 1.92$ となる。また青系統ピース貝において緑の干渉色が出始めた $d = 294$ nm に対し青色光と緑色光の境界値 $\lambda = 495$ nm を代入すると次数は $n = 2.00$ となる。さらに赤系統ピース貝において、赤の干渉色が安定的に出始めた $d = 357$ nm に対し赤色光の最小値 $\lambda = 620$ nm を代入すると次数は $n = 1.93$ となる。したがって、使用ピース貝の選抜に利用した青紫色光 415 nm～緑青色光 533 nm、赤色光 620–750 nm はともに 2 次 ($n = 2$) の干渉光を肉眼で認識していたことになる。よって、光の波長と結晶厚 d の関係は $1.68d = \lambda$ となり ($2d\mu \cos \theta = n\lambda$ に $\cos 0^\circ = 1$, $n = 2$ を代入)、本研究における干渉色の違いは、結晶厚の違いを反映していることが実証された。

真珠結晶厚が「薄い青系統」および「厚い赤系統」の 2 系統のピース貝を用いた本研究の挿核実験で、青系統ピース貝は結晶厚の薄い真珠を、それに対して赤系統ピース貝は厚い結晶厚の真珠を作ることを実証した (Fig. 2)。これによりピース貝の外套膜上皮細胞に備わっていた結晶厚を制御する能力は、挿核後に真珠袋上皮細胞に変化した後も維持されていることが明らかになった。

本研究でも確認されたように、アコヤガイの貝殻および真珠においては純粋な赤色の干渉色は観察されない (Fig. 1b, c の R を参照)。これは 2 次の赤干渉色域には 3 次の紫-青干渉色が重なり (Table 1 の $n = 2$ の赤と $n = 3$ の紫-青)、2 色が合成されて赤紫色になるためと考えられる。和田⁴⁾ はアコヤガイ真珠に内在する稜柱層や有機質成分による干渉色以外の赤色系 (ピンク) の発色例を示している。青系統ピース貝の中で最も厚い 396 nm 結晶厚を示した個体の場合も、理論的には 2 次の赤

干渉色と3次の青干渉色の合成で赤紫になるところが、赤の発色が真珠層の内在成分により反射を抑えられたために目視では青系統に判別された可能性が想定される。このような理論通りの干渉が発色しない例は青系統ピース貝8個体および赤系統ピース貝10個体の計18個体中1個体と少なかったが、2次よりも3次の干渉色の影響が強く出る場合もあるので、干渉色による結晶厚推定の際には注意を要する。なお、以下のような実体色も結晶厚推定に誤りをきたす可能性があるので注意を要する。赤系統ピース貝の中で最も薄い248 nm 結晶厚を示した個体の貝殻では、色彩の中に黄色の実体色も確認された。測定点における10 μm ほどのより詳細な測定では深度50, 70, 80, 90 μm では青色、深度60, 100 μm では緑色を干渉する結晶厚であったが、表層から40 μm まではすべて紫色を干渉する結晶厚であった。これは、干渉色の紫色と実体色の黄色は補色関係（色度図で反対側の色彩）にあるので、表層の干渉色が打ち消され無色となり、深層の干渉色が認識されたと考えられる。

アコヤガイ真珠の収穫作業（浜揚げ）は真珠のテリが最も美しくなるとされる水温の下がる初冬に行われる。テリの要素の1つである光沢が水温の下降とともに増大することが知られているが、この現象は真珠表面の結晶が大きくなるとともに結晶の各面が非常に平らになり、表面反射での散乱が抑えられるために起こるとされている。^{4,13,14} なお、「表面付近の厚い結晶厚」や「厚さの乱れ」は光沢量の低減に関与しているとされているが、⁴ これら2つの結晶構造の成因と水温あるいは季節との関連についてはまだ調べられていない。本研究の青系統区および赤系統区のそれぞれの真珠結晶厚は、それぞれ5月には 391.8 ± 34.8 , 453.9 ± 86.0 nmであったのに対し、8月には 312.7 ± 47.7 , 350.6 ± 92.3 nmの結晶厚を示し、最適水温の5月に比べ生存限界水温（高水温）¹⁵ の8月に両区の真珠の結晶厚がともに薄くなる現象が見られた。原因は12月や2月には結晶が一定の厚みで整然と積層しているのに対し、8月には最表層に極めて薄い結晶が積層し、平均値を減少させたことにある。この現象は、冬季の浜揚げ前は一切の作業が控えられるのに対し、夏季は高水温に加え、激増する付着生物への対処で頻繁な貝掃除が強いられるため、そのストレスが真珠結晶の積層を乱すために起こる可能性が想定される。結晶厚で干渉する色が決まり、その結晶厚が整然と維持される層数で干渉色の強さが決まるので、作業ストレスや高水温による生理的活性の低下が結晶配列の規則性に及ぼす影響について今後調査が必要と思われる。

貝殻断面からは稚貝から現在に至るまでの結晶厚の変遷を読み取ることができる。Figure 3に示されているように成長に従い形成される結晶は次第に薄層化するが、その変化のパターンにおいては共通した規則性が2

つあった。1つめは貝殻殻頂側から縁辺側に向かう貝殻成長に伴う変化で、貝殻面に対し水平方向（y軸方向）におきる薄層化である。2つめは貝殻の厚み成長に伴う変化で、貝殻面に対し垂直方向（z軸方向）におきる薄層化である。

垂直方向（z軸方向）と水平方向（y軸方向）の2タイプの貝殻結晶厚の薄層化は、稚貝から成貝にいたるまでの結晶厚の変遷を示す。これは、真珠結晶厚に対する制御効果がピース貝の成長段階により変化することも意味する。例えば、Fig. 3bの貝を現在の半分の大きさでピース貝として使用したとすると、若齢期の表層は現在の表層から深さ450 μm の層になるので、真珠層境界から1 cmの結晶厚は438 nmとなる。これは現在248 nmに比べ結晶厚が190 nmも厚いことを示しており、同一の貝でも結晶厚が変化することを意味する。したがって、同じ系統のピース貝でも使用に際しては、干渉色から使用時期を見極めることが重要である。

貝殻真珠層の生長量に関して、中原¹⁶ および和田¹⁷ は貝殻中央域で少なく、縁辺域で多いと報告している。宮村、牧戸¹⁸ は、実際の挿核作業においても縁辺部に近い外套膜片ほど真珠の巻きが厚くなることを報告している。これらの既往の知見に今回の観察結果を加えて考察すると、真珠層の形成は、貝殻中央域では一層の厚みが厚い結晶がゆっくりと形成されるのに対し、縁辺部では一層の厚みが薄い結晶が頻度高く形成されるということになる。また、結晶厚の総合計となる真珠層の「巻き」に関しては、2月から12月にかけて、赤系統区と青系統区の間には有意差は認められなかった。「真珠の巻き」が結晶厚に相関していないということは、一定期間に積層される結晶数は決まっていないことを示唆している。

水温下降期に真珠光沢が増す原因は、結晶形状や大きさの変化にともない表面反射での散乱が抑えられるためである。^{13,18} 結晶構造の変化に関して、本研究では青系統区の真珠結晶厚が冬に向かって薄くなる現象が認められた。しかし、赤系統区の真珠には認められなかったことから、水温が主な原因とは考えにくい（Fig. 2）。真珠の結晶厚変化の原因については、ピース貝が持っていた垂直方向への薄層化する傾向（z軸方向の変化）が真珠にも受継がれ、系統間の特性の差が結晶厚の変動幅の差となって現れた可能性が考えられる。

岩永ら⁶ はa(+)群（赤色系）とa(-)群（緑色系）について貝殻真珠層の色調を色度計で測定しているが、a値およびb値はともに生後約1年で、それぞれ赤色から緑色へ、黄色から青色への移行を示している。アコヤガイの貝殻真珠層の実体色は黄色の濃淡が主なので、色度計で測定された色は主に干渉色と考えられる。したがって、干渉色が短波長側に移行するということは結晶が薄くなっていることを示しており、本研究で解明され

た貝殻における y 軸と z 軸の薄層化 (Fig. 3) と結果が一致する。また, a 値の低下, すなわち貝殻結晶厚の薄層化が $a(+)$ 群 (赤色系) に比べ $a(-)$ 群 (緑色系) でより進んでいく現象は, 前節で考察した真珠結晶厚の系統間の変動幅の差と整合する (Fig. 2)。

貝殻真珠層縁辺から約 1 cm 幅の領域は y 軸方向の変化と z 軸方向の変化が複合して現れる。Figure 1(c) に示したのは挿核試験に使用した母貝の貝殻真珠層である。干渉色に関する選抜をかけていない母貝の貝殻において, この貝殻は色彩豊かな干渉色の縞が真珠層縁辺域に集中する典型的な例を示している。貝殻全域にかけて幅の広い干渉色の帯が移行するピース貝の発色様式 (Fig. 1a, b) と異なるが, この母貝の発色様式は普通に見られる。この縁辺部で干渉色が小刻みな間隔で大きく変化して移行する様相 (Fig. 1c) は, Fig. 1(a), (b) および Fig. 3(a), (b) に示した表層部 0 cm の結晶厚から 1 cm のより薄い結晶厚に向かう結晶厚の連続的变化をより明確に示している。最も縁辺部は暗青色, それから内側に向かって鮮やかな赤色, 黄色, 緑色, 青色を示す。認識される干渉色は表層から 15–30 μm の結晶層, 層数にして 40–80 枚ほどが関係することがわかったので,⁴⁾ 干渉色が示す短波長色への移行は, 表層の結晶厚が内側 (殻頂側) で薄く, 縁辺に向かって厚くなっていることを示している。荻村, 並木⁷⁾ によるとクロチョウガイの縁辺部にみられる虹色は表層結晶厚を反映した干渉色であることを示しており, アコヤガイと同様, 結晶厚は縁辺方向に厚くなることを報告している。これら貝殻縁辺部における現象を模式図に示すと Fig. 6 のようになる。これは, 先に述べてきた y 軸「縁辺側」に向かう薄層化 (Fig. 3) に逆行する現象である。この領域は縁辺に向かうほど稜柱層上に真珠層が分泌されてから間がない。例えば, 稜柱層との境界部であるもっとも右側の区画では薄層化の初期段階で, 結晶はまだ厚く, 干渉色は赤である。左隣 (殻頂側) の区画では薄層化が少し進んでいるので干渉色は, 赤色より短波長の橙色となる。左側の区画にいくほど薄層化が進行しているので, 最表層の結晶は, 次第に黄色, 緑色, 青色の干渉色を反射するようになる。このように, 縁辺部では z 軸方向の結晶厚変化の過程を y 軸上に見ているだけで, これまで述べてきた y 軸「縁辺側」に向かう薄層化と矛盾するものではない。

色線部に対応する貝殻部位は, 外套膜の縁辺方向への伸展成長に伴い, より外套膜中央域からの結晶形成を受けるようになる。外套膜の対応部位の移動によって, 結晶厚の形成能力が変化し, 縁辺部における大きな結晶厚変化をもたらしたと考えられる。一方, 本研究で用いたピース貝は, 貝殻結晶厚を人為的に操作したものであるが, 結晶厚の変化は縁辺から 1 cm から 3 cm の部位で

Fig. 6 Relationship between nacreous crystal thickness and interference color in the nacreous layer of the shell. Schematic diagram of a cross section of a recipient shell (shown in Fig. 1c) based on theoretical transitions in thickness toward the outer nacreous layer.

最も薄く安定していた (Fig. 3)。また, Fig. 3 で示されたように, 成体の縁辺から 1 cm の区画は他の区画の結晶厚を代表しており, 本研究でこの部位 (Fig. 1, 星印) を測定点として選択したことは妥当であったと考えられる。

一方, 本研究の結果, 前方, 中央および後方の外套膜片から作成した真珠間で結晶厚の差は認められなかった。 x 軸方向における制御効果については, 貝殻干渉色の扇状の移行様式からも裏付けられるように, 前方から後方にいたるとこの外套膜片を使っても差異はないと推測される。また, この干渉色移行様式の左右対称性 (Fig. 1) や母貝の結晶厚調査 (Fig. 4) で明らかになったように, 貝殻結晶厚は左右均等であった。したがって, 左右両側の外套膜を前方から後方にかけて使用する現在の細胞片の採取方法に関して, 結晶厚の制御における問題は見出されなかった。

母貝と真珠品質の関係については, 巻きや斃死率を扱った研究はあるが,^{18–20)} 干渉色との関連を示したものはない。本研究では Fig. 5 において, 母貝の結晶厚が厚いほど真珠結晶厚も厚い傾向を示し, 弱いながらも正の相関関係が認められた (相関係数約 0.3)。加えて, 真珠の結晶厚は全期間にわたって, 使用したピース貝の結晶厚に比べ同等かもしくは厚かった。青系統においてはピース貝の平均結晶厚 295 nm に対し (Table 1), 得られた真珠の平均結晶厚の範囲は挿核から 15 か月後の 300 nm から 3 か月後の 423 nm であった (Fig. 2)。赤系統ではピース貝の平均結晶厚 362 nm に対し (Table 1), 得られた真珠の平均結晶厚の範囲は 9 か月後の 351 nm から 7 か月後の 454 nm であった (Fig. 2)。今回使用した母貝の結晶厚分布は 350–550 nm の範囲にあり (Figs. 4, 5), ピース貝より厚い結晶厚を備えていた。このことから, 真珠結晶厚はピース貝だけでなく母貝の影響も受けている可能性が示唆された。

結晶厚による選抜をかけていない母貝の貝殻結晶厚は、Fig. 4 と Fig. 5 に示したように 260–607 nm、主体は 350–550 nm で、過去の調査結果の 350–600 nm とほぼ一致した。⁴⁾ 結晶厚は厚さが増すほど 3 次以上の干渉色との合成がおこるので、発色の彩度が低下する。このため鮮やかな干渉色を得るためには 2 次 ($n=2$) までの干渉が望ましいとされ、²⁾ 結晶厚に換算すると 450 nm 以下となる。この値は今回使用した干渉色に関して選抜していない母貝の中央値以下に相当することから、この基準を満たす結晶厚を備えた細胞貝の出現率は約 1/2 と推測される。選抜育種によって得られた赤系統ピース貝の結晶厚は 248–420 nm (平均 361.8 ± 49.7 nm) で、全個体が無選抜貝の中央値以下の結晶厚であった。さらに青系統ピース貝の結晶厚 217–396 nm (平均 294.6 ± 53.6 nm) に至っては、無選抜貝の結晶厚分布の薄い方から 1/4 の範囲にあり、この条件を満たす細胞貝の出現率はさらに少なくなると推測される。真珠の干渉色を効率よく発現させるには、ピース貝によって真珠の結晶厚を制御することが効果的である。通常では希少な結晶厚の薄い貝でも人工採苗によって作出は可能である。しかし、使用の際には成長段階に留意し、結晶厚が目標の厚さに達しているかの確認作業も怠れない。

濃ピンク系のテリをもつ真珠は「花珠」と称され、商品価値が最も高いとされる。⁶⁾ 小松¹²⁾ は真珠の色彩について、「テリとして現れる色彩」と「真珠層の干渉色」の関係を詳細に調査した。それによると「テリ」として現れる色彩は、真珠層の結晶厚によって決定されていること、さらに暗黒下で下方から光を照射すると、下半球に「真珠層の干渉色」と上半球に「テリとして現れる色彩」が現れ、それぞれ対称の位置に現れる「テリとして現れる色彩」と「真珠層の干渉色」は補色関係にあることを示した。¹²⁾ したがって、本研究で示した「ピース貝の真珠層結晶厚」による「真珠の真珠層結晶厚」の制御は、「テリとして現れる色彩」も制御できる可能性を示している。ただし、制御精度を上げるためには、関与が示唆された母貝との関連についても、より詳細な調査が必要である。

謝 辞

この研究は株式会社三重ティーエルオー取締役副社長 松井 純氏のご支援の下、独立行政法人科学技術振興機構 (JST) の研究成果展開事業「研究成果最速展開支援プログラム A-STEP」の助成によって行われた。三重大学 和田浩爾名誉教授には真珠層の結晶構造についてご教授いただいた。㈱アクアテックインターナショナルの荻村亨博士、真珠科学研究所の小松博博士、三重大学の間野静雄博士ならびに原田麻里奈氏には試料作成に関す

るご指導や有益な助言をいただいた。また、若狭大月真珠養殖㈱の梶原天氏にはピース貝の選抜育種や供試貝の管理など養殖作業全般を手伝っていただいた。本研究にご支援いただいたことに対し、厚くお礼申し上げる。

文 献

- 1) 赤松 蔚. 「カルチャード・パール 真珠の魅力」真珠新聞社, 東京. 2003.
- 2) 和田浩爾. 「真珠の科学」真珠新聞社, 東京. 1999.
- 3) Raman CV. On iridescent shells. II. Colors of laminar diffraction. *Proc. Ind. Aca. Sci.* 1935; **1**: 574–589.
- 4) 和田浩爾. 真珠形成機構の生鉱物的研究. 国立真珠研究所報告 1962; **8**: 948–1059.
- 5) 小松 博, 鈴木千代子, 小倉繁太郎. 淡色系, 濃色系真珠に現れる光の干渉現象とその測定. 宝石学会誌 2002; **23**: 5–15.
- 6) 岩永俊介, 山田英二, 川口 健, 細川秀毅. アコヤガイ殻体真珠層の a 値を指標としたピース貝生産用親貝の選抜. 水産増殖 2008; **56**(2): 167–173.
- 7) 荻村 亨, 並木俊裕. クロチョウガイ *Pinctada margaritifera* およびアコヤガイ *Pinctada fucata* 貝殻リップ部の干渉色と結晶層の厚さの関係. 月刊マルガリータ 2011 年 7 月号, No. 236. 真珠科学研究所, 東京. 2011; 1–3.
- 8) 丹下 孚. 真珠養殖小史. 「真珠養殖全書」(真珠養殖全書編集委員会編) 全国真珠養殖漁業協同組合連合会, 東京. 1965; 507–545.
- 9) Dauphin Y, Ball AD, Cotte M, Cuif JP, Meibom A, Salome M, Susini J, Williams CT. Structure and composition of the nacre-prisms transition in the shell of *Pinctada margaritifera* (Mollusca, Bivalvia). *Anal. Bioanal. Chem.* 2008; **390**: 1659–1669.
- 10) Peachey, LD. Thin sections I. A study of section thickness and physical distortion produced during microtomy. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1958; **4**: 233–242.
- 11) 大森啓一. 真珠の内部構造と色及び光沢. 地質学雑誌 1948; **54**: 33–38.
- 12) 小松 博. 真珠に現れる光の干渉現象(「テリ」)の研究. (㈱真珠科学研究所, 東京. 2006.
- 13) 和田浩爾. 真珠袋の Ca 代謝機構と真珠の品質形成. 国立真珠研究所報告 1972; **16**: 1949–2027.
- 14) 和田浩爾. 真珠養殖過程におけるアコヤガイの生活活動の変化が真珠形成に及ぼす影響 II. 表面構造と光沢の季節変化. 国立真珠研究所報告 1961; **6**: 586–606.
- 15) 和田浩爾. 「科学する真珠養殖—真珠養殖 Q&A—」真珠新聞社, 東京. 1991.
- 16) 中原 皓. テトラサイクリンの使用における真珠層の生長度の測定. 国立真珠研究所報告 1961; **6**: 607–614.
- 17) 和田浩爾. 二枚貝貝殻石灰化における CaCO_3 結晶の成長. 日本結晶成長学会誌 1985; **12**: 57–70.
- 18) Miyamura M, Makido T. Quality of the pearl examined in association with the graft tissues taken from various parts of the mantle. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1958; **24**: 441–444 (in Japanese with English abstract).
- 19) 林 政博, 青木秀夫. アコヤガイ母貝の選抜育種による真珠の巻き(真珠層の厚さ)の改良について. 全真連技術研究会報 2001; **15**: 1–7.
- 20) 林 政博, 青木秀夫. アコヤガイ母貝の選抜育種による真珠の巻きの改良について—II. 全真連技術研究会報 2004; **18**: 27–31.