アコヤガイ血清中総炭水化物含量を用いた選抜育種

森 拓也,¹ 高木基裕^{2*}

(2017年11月26日受付, 2018年5月13日受理, 2018年8月10日J-STAGE 早期公開)

¹愛媛県農林水産研究所水産研究センター栽培資源研究所, ²愛媛大学南予水産研究センターSelection experiment of serum carbohydrate content in Akoya pearl oyster *Pinctada fucata martensii*TAKUYA MORI¹ AND MOTOHIRO TAKAGI^{2*}¹Fisheries Research Center, Research Institute of Cultivation Resources, Ehime Research Institute of Agriculture, Forestry and Fisheries, Iyo, Ehime 799-3125, ²South Ehime Fisheries Research Center, Ehime University, Ainan, Ehime 798-4292, Japan

To breed physically strong strains of Akoya pearl oyster *Pinctada fucata martensii*, a selection experiment was conducted for one generation from a local population. Parents were selected by serum carbohydrate (SC) content for high (H) and low (L) content groups. The first generation (H-G1 and L-G1) produced from these groups showed a significant difference in SC content at the age range of 12–18 months, reflecting the parent phenotype. H-G1 also showed superior trends to L-G1 in serum protein content, carbohydrate content of adductor muscle, and delta-a value of adductor muscle color (a diagnostic indicator of the Akoya oyster disease). Pearl production experiments using H-G1 indicated that the quality of obtained pearls, evaluated by size, weight and nacre thickness, was comparable to those harvested from two other commercially available strains bred several generations from Japanese or Chinese populations. These results present a possible practical method for selective breeding of Akoya pearl oyster based on SC content, to produce new strains suitable for pearl production.

キーワード：アコヤガイ, 親貝選抜, 血清タンパク質, 血清中総炭水化物, 真珠, 選抜育種, 閉殻筋a値, 閉殻筋グリコーゲン含量

アコヤガイ真珠養殖では, 日本沿岸に自生していたアコヤガイ *Pinctada fucata martensii* (日本貝) 由来の天然採苗稚貝を養成し母貝として用いてきたが, 1994年頃から顕在化したアコヤガイ赤変病¹⁾によって, 中国産アコヤガイ *P. fucata fucata* (中国貝) を中心とした耐病性のある人工採苗貝を用いるようになった。人工採苗貝は, より高生残で品質の優れた真珠を生産できるように選抜育種が進められている。具体的には, 殻高および全湿重量といった外見の他にアコヤガイ赤変病への耐性を目的とした血球状態,²⁾ 高生残を目的とした血清タンパク質含量,³⁾ 閉殻力⁴⁾ による選抜がなされている。これらの選抜育種は天然貝集団のように大量のアコヤガイ同士の自由交配ではなく, 限られた貝同士での種苗生産がおこなわれており, 継代を繰り返すことで遺伝的多様性の低下や, 成育不良が危惧されている。^{5,6)} シロチョウ

ガイ *P. maxima* およびクロチョウガイ *P. margaritifera* といった真珠生産に関する貝類では, 継代数の増加に伴う遺伝的多様性の低下が報告されている。⁷⁻⁹⁾ アコヤガイにおいても, 遺伝的多様性の低下と成育不良には関連があることが報告¹⁰⁾ されており, 限られた家系を継代すると, 優れた形質を有していてもいずれは活用できなくなる危険性がある。

この危険性を未然に防ぐためには, 親貝集団の数を多くするほか, 天然生息集団 (天然貝) から選抜された家系の導入が提案されており,^{5,11)} 天然貝から早い世代で実用的な真珠が生産できる, 優良な選抜育種が必要であると考えられる。しかし, これまで天然貝からの選抜育種は, アコヤガイ赤変病の耐病性についておこなわれた程度である。天然貝からの選抜の場合, 外国からの天然貝の輸入は遺伝資源保護や防疫等の観点から困難であ

り、今後は国内天然貝からの選抜育種について検討する必要があると考えられる。筆者らは地先海域に生息している天然貝を対象として、血清中に含まれている炭水化物含量（血清中総炭水化物含量）を分析したところ、9月に含量が多い個体は翌年1月においても多く、含量が少ない個体は、翌年1月においても少ない傾向にあることを明らかにした。この血清中総炭水化物含量は、アコヤガイの栄養蓄積状態を示す閉殻筋グリコーゲン含量と正の相関があり、栄養蓄積状態の優れた親貝選抜指標となりうると示唆されている。¹²⁾

そこで本研究では、天然貝を用いて血清中総炭水化物含量の多寡によって親貝を選抜し、種苗生産をおこない、第1世代の生育を調査し、血清中総炭水化物含量が選抜指標として有効かどうかについて検討をおこなった。さらに、本研究で得られた家系の第1世代の一部とこれまで選抜育種されてきた日本貝および中国貝を用い、それらから生産される真珠品質の差異について、血清中総炭水化物含量による天然貝の選抜育種の有効性についての検討をおこなった。

材料と方法

母集団の育成と測定 選抜試験の母集団は、前報にて個体変異の調査に用いた集団である。¹²⁾ すなわち、2011年5-6月にかけて高知県宿毛市で、天然採苗にて殻高10 mm程度のアコヤガイ稚貝を約1,000貝採取し、愛媛県宇和島市下波の愛媛県農林水産研究所水産研究センター（当センター）にて飼育管理をしつつ、目視にて同程度の平均殻高および平均全湿重量を有し、貝殻の鱗片状突起の伸長が観察された180貝を選抜した（Fig. 1）。

血清中総炭水化物含量およびタンパク質含量測定には、血リンパを採取した後、遠心分離をおこなった上清を採取し、96 well プレートに分注したものをを用いた。血清タンパク質含量は、SIGMA 社から公開されているマイクロプレートリーダーを用いたブラッドフォード法（SIGMA 社 Bradford Reagent）によって測定した。血清中総炭水化物含量は、マイクロプレートリーダーを用いて、血リンパとアンスロン硫酸との反応液の吸光値を測定した。¹²⁾ 前報で報告したように、これらの測定は2012年9月および2013年1月におこない、これらの形質の2回の測定値はよく似た正規分布を示した。

また、選抜時の平均全湿重量（ $g \pm$ 標準偏差）および平均殻高（ $mm \pm$ 標準偏差）は、 $24.2 \pm 6.2 g$ および $54.8 \pm 6.8 mm$ であった。赤変病感染の指標となる赤色度を把握するために、色彩色差計（KONICA MINOLTA CR-13）を用いて閉殻筋の a 値¹⁾ を測定した。栄養蓄積状態を把握するために硫酸アントロン法¹³⁾ によって閉殻筋内のグリコーゲン含量（%）¹⁴⁾ を、種苗生産時にあたる2013年5月に測定した。

Fig. 1 Location of sites for wild spat collection (Sukumo), nursery (Shitaba), and pearl culture (Uchiumi, Shimonada and Misaki).

親貝選抜および第1世代（Generation 1）集団 2013年1月の血清中総炭水化物含量が上位25%の値を示した貝を高含量区、下位25%の値を示した貝を低含量区とし、2013年3-4月に両区の雌雄判別をおこなった。高含量区では値が高い順に雌雄が判別できた貝、低含量区では値が低い順に雌雄が判別できた貝をそれぞれ親貝として、2013年5月に当センターアコヤガイ種苗生産手法¹⁵⁾に基づき高含量区（親貝の含量が高い順に High 1 および 2）および低含量区（親貝の含量が低い順に Low 1 および 2）を、各区雄親2貝、雌親2貝を用いて種苗生産をおこなった（Table 1）。これら4家系を第1世代（Generation 1, 以下 G1）として、ふ化後日齢42日に当センター地先に各家系を垂下し、以降飼育管理をおこなった。

ふ化後8か月にあたる2014年3月から同年12月までの10か月間中、成長調査のために月1回、各家系50貝の平均全湿重量（g）および平均殻高（mm）を測定した。また、2014年7月から同年12月までの6か月間中、生理状態調査のために月1回、各家系20貝の閉殻筋からシリンジで血リンパを採取し、血清中総炭水化物含量および血清タンパク質含量を測定した。¹²⁾ 赤色度および閉殻筋グリコーゲン含量は、母集団の測定と同様の手法を用いて、2014年7月から同年12月までの6か月間測定した。^{1,13)}

真珠生産試験 血清中総炭水化物含量による選抜家系

Table 1 Physical condition of parent pearl oysters selected by serum carbohydrate content

Serum carbohydrate content	Family name	<i>n</i> ^{*1}	Serum carbohydrate (mg/mL) ^{*2}		Serum protein (mg/mL)		Δ a-Value of adductor muscle	Adductor muscle glycogen content (%)
			Sep	Jan	Sep	Jan		
Highest group	High 1	4	0.22 ± 0.03 (a)	0.17 ± 0.04 (a)	1.07 ± 0.34	0.87 ± 0.30 (a)	-1.25 ± 0.91	3.08 ± 2.09
Second highest group	High 2	4	0.16 ± 0.02 (ab)	0.13 ± 0.03 (a)	0.74 ± 0.15	0.65 ± 0.12 (ab)	-2.38 ± 0.85	4.01 ± 2.67
Lowest group	Low 1	4	0.07 ± 0.03 (b)	0.05 ± 0.06 (b)	0.51 ± 0.29	0.21 ± 0.07 (b)	-1.98 ± 1.86	1.11 ± 0.73
Second lowest group	Low 2	4	0.12 ± 0.04 (b)	0.09 ± 0.01 (b)	0.47 ± 0.11	0.25 ± 0.10 (b)	-1.43 ± 1.08	1.06 ± 0.56

^{*1} *n*, number of parent oysters used for seed production

^{*2} Mean ± SD

Different letters in parentheses denote statistically significant difference ($p < 0.01$).

For Δ a-value and glycogen content of adductor muscle, a significant difference was not detected.

を用いて、従来の選抜手法による家系と同等の真珠が生産できるか確認するために、真珠生産試験を愛媛県宇和島市下灘地区（下灘）、同県愛南町内海地区（内海）でおこなった（Fig. 1）。供試貝として、本選抜試験で育成した天然貝由来の家系 High 1 の G1、当センターにて継代されている日本産アコヤガイ由来の選抜系統（以下「日本貝」とする）および、民間で種苗生産されていた集団由来で当センターにて継代された系統（以下「中国貝」とする）を用いた。供試貝のうち、日本貝は2003年に愛媛県真珠養殖業協同組合によって作出され、2006年から当センターにて継代されている家系から2013年3月に生産し、中国貝は産地不明の中国南部の貝を基礎集団として民間で種苗生産されていた集団を親に用いて2013年5月に天然貝と同様に生産した。ふ化後日齢42日以降から、2014年11月までの18か月間、内海のアコヤガイ母貝養殖業者が飼育管理をおこない、その後、当センターにて2015年6月までの7か月間飼育管理をおこなった。2015年6月に下灘および内海に各区200–300個体を輸送した。挿核試験をおこなうまで下灘および内海のアコヤガイ真珠養殖業者が母貝の養成をおこなった。挿核手術は下灘では2015年6月20日、内海では2015年7月7日にアコヤガイ真珠養殖業者がそれぞれの地区にて、直径7.12 mmの真珠核を用い、1個体につき真珠核1個を生殖巣（ふくろと呼ばれる腸管う曲部）に挿核した。それぞれの供試貝への挿核数はTable 2に示す。外套移植片（ピース）は、各業者とも同系統のピース用のアコヤガイ（ピース貝）集団から採取したものをを用いた。挿核手術後は、下灘は同地区内において数週間の養生をおこない、養生後は適宜表面の付着物を落としつつ飼育をおこなった。内海は同地区内において数週間の養生をおこなった後、真珠採取まで三崎にて下灘同様に付着物を落としつつ飼育をおこなった。^{5,6)} 真珠の採取（浜揚げ）を、下灘では2016年1月8日、内海では2016年1月6日におこなった。

浜揚げをおこなった各家系の真珠は、挿核貝数と採取された真珠数から真珠採取率¹⁶⁾を算出した。また、真

珠の品質は既報^{17,18)}の方法により真珠を目視選別し、直径（mm）および重量（g）を測定し、直径から核直径を引き、真珠層の厚さ（巻き）（mm）を算出した。真円真珠のうち、シミおよびキズが目視において確認できなかったもしくは、該当箇所が1 mm以下を High-quality とし、シミおよびキズが確認されたが、珠全体が真珠層真珠であるものを Low-quality とした。

統計解析 成長および生理調査、真珠生産試験での統計的な有意差は統計解析ソフト Statcel 3（星雲社）を用いて Tukey-Kramer 法およびカイ二乗検定によって検定した。何れも $p < 0.01$ を統計的に有意であると判断した。

結 果

成長調査 2014年3月から同年12月までの各月の4家系の平均殻高（mm ± 標準偏差）および平均全湿重量（g ± 標準偏差）を Fig. 2 に示す。

平均殻高は、2014年3月には親貝の血清中総炭水化物含量が高含量由来の家系（高含量区）の平均値は、High 1 が 38.3 ± 6.0 mm, High 2 が 41.2 ± 2.9 mm で、低含量由来の家系（低含量区）Low 1 が 33.2 ± 4.2 mm, Low 2 が 35.5 ± 3.7 mm であった。その後、測定終了時12月の平均値は、High 1 が 67.5 ± 5.2 mm, High 2 が 68.5 ± 6.8 mm, Low 1 が 64.0 ± 5.6 mm, Low 2 が 66.6 ± 5.5 mm であった。家系別の成育では、家系 High 2 が最も高く、家系 Low 1 が最も低く推移した（Fig. 2a）。

統計的な有意差は、測定開始時には家系 High 1 と Low 1, Low 2 間、家系 High 2 と Low 1, Low 2 間において確認された（ $p < 0.01$ ）。測定終了時の12月には家系 High 2 と Low 1 間において確認された（ $p < 0.01$ ）。調査期間中、家系間に有意な差が確認されない場合もあったが、家系 High 2 と Low 1 間においては測定終了時まで有意な差が継続して確認された（ $p < 0.01$ ）。

平均全湿重量は、2014年3月には High 1 が 7.6 ± 1.7 g, High 2 が 8.2 ± 2.0 g で、Low 1 が 4.8 ± 1.6 g, Low 2 が 5.7 ± 1.7 g であった。その後、測定終了時の12月は

Fig. 2 Monthly changes in shell height (a) and whole wet weight (b) of 4 families of pearl oysters at the nursery farm. High 1 and 2, the first and second group of offspring produced from pearl oysters selected for high serum carbohydrate content; Low 1 and 2, the first and second group of offspring produced from pearl oysters selected for low serum carbohydrate content.

High 1 が 41.5 ± 4.9 g, High 2 が 43.1 ± 10.1 g で, Low 1 が 35.3 ± 8.6 g, Low 2 が 36.3 ± 8.2 g であった。家系別の成育では平均殻高同様, 家系 High 2 が最も高く, 家系 Low 1 が最も低く推移した (Fig. 2b)。

統計的な有意差は, 測定開始時には家系 High 1 と High 2, Low 1, Low 2 間, 家系 High 2 と Low 1, Low 2 間において確認された ($p < 0.01$)。測定終了時の 12 月には, 家系 High 1 と Low 1, Low 2 間, 家系 High 2 と Low 1, Low 2 間において確認された ($p < 0.01$)。調査期間中, 家系間に有意な差が確認されない場合もあったが, 家系 High 1 と Low 1 間, 家系 High 2 と Low 1 間においては測定終了時まで有意な差が継続して確認された ($p < 0.01$)。

なお, それぞれの家系の生残率は, 選抜効果を把握する上で非常に重要であるが, 今回は測定できなかった。

生理調査 2014 年 7 月から同年 12 月までの各月の家系別の血清中総炭水化物含量 (mg/mL), 血清タンパク質含量 (mg/mL), 閉殻筋 a 値および閉殻筋グリコーゲン含量 (%) を Fig. 3 に示す。

Fig. 3 Monthly changes of four physiological traits of four families from July to December 2014. (a), serum carbohydrate content; (b), serum protein content; (c), Δa -value of adductor muscle; (d), glycogen content of adductor muscle. For the name of each group, see captions for Fig. 2. Different letters denote statistically significant difference in each month ($p < 0.01$).

血清中総炭水化物含量は, 2014 年 7 月には High 1 が 0.26 ± 0.11 mg/mL, High 2 が 0.17 ± 0.08 mg/mL, Low 1 が 0.17 ± 0.07 mg/mL, Low 2 が 0.13 ± 0.05 mg/mL であった。その後, 全ての家系において 9 月から 10 月にかけて減少し 12 月には High 1 が 0.10 ± 0.03 mg/mL, High 2 が 0.09 ± 0.04 mg/mL, Low 1 が 0.03 ± 0.03 mg/mL, Low 2 が 0.03 ± 0.02 mg/mL となった。家系別では, 家系 High 1 が最も高く, Low 1 および Low 2 が同程度の推移を示した。(Fig. 3a)。含量が減少した 10 月以降では, 家系 High 1 と Low 1, Low 2 間, 家系 High 2 と Low 1, Low 2 間においては 12 月の測定終了時まで有意な差が継続して確認された ($p < 0.01$)。

血清タンパク質含量は, 2014 年 7 月には High 1 が 1.26 ± 0.62 mg/mL, High 2 が 0.80 ± 0.44 mg/mL, Low 1 が 0.77 ± 0.56 mg/mL, Low 2 が 0.91 ± 0.47 mg/mL であった。その後, 全ての家系において 9 月以降から明確な減少傾向となり 12 月には High 1 が 0.83 ± 0.31 mg/mL, High 2 が 0.59 ± 0.28 mg/mL, Low 1 が 0.21 ± 0.12 mg/mL, Low 2 が 0.33 ± 0.18 mg/mL となった。家系別では, 血清中総炭水化物含量と同様に家系 High 1 が最も高く, 家系 Low 1 が最も低く推移した (Fig. 3b)。有意差は, 家系 High 1 と Low 1, Low 2 間においては 9 月から 12 月の測定終了時まで有意な差が継続して確認された ($p < 0.01$)。また, 家系 High 1 と High 2 間において 10 月から 12 月まで有意な差が継続して確認された ($p < 0.01$)。

閉殻筋 a 値は, 2014 年 7 月には High 1 が -1.1 ± 0.7 , High 2 が -1.1 ± 1.1 , Low 1 が -1.1 ± 0.7 , Low 2 が -0.8 ± 0.8 であった。その後, 全ての家系において増加傾向となり 12 月には High 1 が 0.7 ± 0.5 , High 2 が -0.1 ± 0.6 , Low 1 が 1.4 ± 0.9 , Low 2 が 1.4 ± 0.9 となった。

家系別では家系 Low 1 が最も高く, 家系 High 2 が最も低く推移した (Fig. 3c)。有意差は 10 月以降において確認され, 家系 High 2 と Low 1 間においては 12 月の測定終了時まで有意な差が継続して確認された ($p < 0.01$)。

閉殻筋グリコーゲン含量は, 2014 年 7 月には High 1 が $8.0 \pm 1.3\%$, High 2 が $9.1 \pm 2.4\%$, Low 1 が $7.1 \pm 1.7\%$, Low 2 が $8.2 \pm 1.6\%$ であった。その後, 全ての家系において 9 月以降から明確な減少傾向となり, 12 月には High 1 が $1.8 \pm 1.9\%$, High 2 が $3.8 \pm 2.5\%$, Low 1 が $0.2 \pm 0.5\%$, Low 2 が $0.6 \pm 0.9\%$ となった。家系別では家系 High 2 が最も高く, 家系 Low 1 が最も低く推移した (Fig. 3e)。減少が確認された 10 月以降, 家系 High 2 と Low 1, Low 2 間においては 12 月の測定終了時まで有意な差が継続して確認された ($p < 0.01$)。

真珠生産試験 真珠生産試験の結果を Table 2 に示す。真珠採取率を家系別, 地区別に評価したところ, 下灘では日本貝 (Japan) の採取率が 75.5%, 家系 High 1 (High 1) と中国貝 (China) の採取率がそれぞれ, 70.5%, 70.8% であった。内海では日本貝の採取率が 78.2%, High 1 の採取率が 78.0%, 中国貝の採取率が 73.7% であった。なお, 統計学的な有意差が確認できなかったものの, 両地区とも日本貝からの採取率が高い傾向にあった。

また, 得られた真珠の各品質別の割合 (%) を地区別の試験区ごとに比較すると, 真珠層真珠の真円 (Round pearls) の割合では, 下灘では High 1 が 47.6%, 日本貝が 37.7%, 中国貝が 7.1% であった。内海では High 1 が 52.0%, 日本貝が 62.2%, 中国貝が 47.6% であった。地区ごとに家系間の品質において統計的な有意差を調べたところ, 下灘では High-quality において China が有意に低い結果であった ($p < 0.01$)。Low-quality に

Table 2 Results of pearl production with three different families of pearl oyster

Culture site	Family	Number of host oysters	Number of harvested pearls	Pearl collection rate (%) ^{*1}	Nacreous pearls ^{*2}			Non-nacreous pearls ^{*2,4}
					Round pearls		Deformed pearls	
					High-quality pearls ^{*3}	Low-quality pearls		
Shimonada	High 1	200	141	70.5	17 (12.1)	50 (35.5)**	56 (39.7)**	18 (12.8)
	Japan	200	151	75.5	23 (15.2)	34 (22.5)	82 (54.3)	12 (7.9)
	China	120	85	70.8	0 (0.0)**	6 (7.1)**	70 (82.4)**	9 (10.6)
Uchiumi	High 1	200	156	78.0	31 (19.9)	50 (32.1)	47 (30.1)	28 (17.9)
	Japan	193	151	78.2	47 (31.1)**	47 (31.1)	42 (27.8)	15 (9.9)
	China	114	84	73.7	11 (13.1)	29 (34.5)	36 (42.9)	8 (9.5)

^{*1} Pearl collection rate (%) = (number of harvested pearls × 100) / (number of host oysters)

^{*2} Numbers in parentheses indicate percentage to the total number of harvested pearls.

^{*3} Asterisks denote statistically significant difference ($p < 0.01$).

^{*4} Non-nacreous pearls included prismatic pearls, organic pearls and pearl nuclei without any deposits.

Table 3 Quality of pearls harvested from three different families of pearl oyster

Culture site	Family	Number of round pearls	Diameter ^{*1,2} (mm)	Weight of a pearl (g)	Thickness of the nacreous layer ^{*3} (mm)	High-quality pearl rate ^{*4} (%)
Shimonada	High 1	67	8.32±0.30 (a)	0.84±0.08 (a)	1.21±0.30 (a)	25.40
	Japan	57	8.15±0.25 (b)	0.79±0.08 (b)	1.04±0.25 (b)	40.40
	China	6	8.26±0.29 (ab)	0.82±0.08 (ab)	1.15±0.29 (ab)	0.00
Uchiumi	High 1	81	8.14±0.23	0.80±0.06	1.02±0.23	38.30
	Japan	94	8.04±0.23	0.77±0.07	0.93±0.23	50.00
	China	40	8.09±0.19	0.78±0.06	0.97±0.19	27.50

*1 Mean ± SD

*2 Different letters in parentheses denote statistically significant difference ($p < 0.01$).

*3 Thickness of the nacreous layer = (pearl diameter) - (nucleus diameter)

*4 High-quality pearl = (number of high-quality pearls × 100) / (number of round pearls)

おいては High 1 が有意に高く、中国貝が低い結果であった ($p < 0.01$)。Deformed においては中国貝が有意に高く、High 1 が有意に低い結果であった ($p < 0.01$)。Non-nacreous では有意な差が見られなかった。内海では High-quality において日本貝が有意に高い結果であった ($p < 0.01$)。

Table 2 のうち真珠層真珠の真円に限り、平均直径 (mm)、平均重量 (g)、巻き (mm) および、真円真珠のうちシミキズのない真珠 (High-quality pearls) の割合 (%) を測定した結果を Table 3 に示す。家系別平均直径、平均重量および巻きの統計的な有意差を地区別に調べたところ、下灘では平均直径、平均重量および巻きにおいて、High 1 と日本貝において有意な差が確認された ($p < 0.01$)。内海では、統計的な有意な差が確認できなかったものの、High 1 が平均直径、平均重量および巻きにおいて他 2 家系より高い傾向にあった。

真円真珠のうち High-quality pearl が占める割合を確認したところ、両地区において試験家系間で統計的な有意差が確認できなかったが、日本貝が高い傾向にあった。

考 察

血清中総炭水化物含量選抜による第 1 世代への影響
アコヤガイの生理状態を把握する指標は種々の手法が報告されており、季節によって値が変化することも明らかになっている。^{14,19,20)} また、アコヤガイ赤変病への耐性を高めるための血球状態、²⁾ 優良な日本貝系統作出のための閉殻力、⁴⁾ 生残率を高めるための血清タンパク質含量³⁾ においては第 1 世代に形質が遺伝することが明らかになっている。本研究において着目した血清中総炭水化物含量について、選抜指標として第 1 世代に遺伝するか、他の生理指標との関係について検討をおこなうために、含量の多寡によって親貝を選抜し、種苗生産をおこない第 1 世代への影響を評価した。その結果、高含量区由来家系第 1 世代では、低含量区由来の家系に比べて

血清中総炭水化物含量が高く推移することが分かった。この推移は 10 月以降において顕著に差を示すことも分かった。この傾向は親集団を高含量集団と低含量集団に分け、季節的な推移を調査した前報¹²⁾ と同様であり、血清中総炭水化物含量は遺伝性のある指標であると示唆された。

選抜による第 1 世代の血清タンパク質含量への影響
アコヤガイの血清タンパク質含量においても、第 1 世代では高含量区由来の家系は、低含量区由来の家系に比べて高く推移することが分かった。また、高含量区では親貝の血清中総炭水化物含量の多寡が、第 1 世代の血清タンパク質含量に明確に反映されることが分かった。この結果から、血清中炭水化物含量と血清タンパク質含量には何らかの関連があることが示唆された。

選抜による第 1 世代の閉殻筋 a 値およびグリコーゲン含量への影響
閉殻筋 a 値について、高含量区由来の家系は低含量区由来の家系に比べて低く推移することが分かった。閉殻筋 a 値は赤変病の発症度合いを示しており、¹⁾ 高含量区由来の家系が低い傾向を示したことから、血清中総炭水化物含量による選抜は赤変化に対して耐性のあるアコヤガイの選抜にも繋がると示唆された。

閉殻筋グリコーゲン含量において、高含量区由来の家系は低含量区由来の家系に比べて高く推移することが分かった。種苗生産時の親貝の閉殻筋グリコーゲン含量を測定したところ、High 1 に比べて High 2 家系の方が高い傾向があった。第 1 世代の推移は High 2 家系が High 1 家系より高く推移する傾向にあった。この傾向は閉殻筋 a 値と同様であり、親貝の閉殻筋グリコーゲン含量の多寡が閉殻筋 a 値同様、第 1 世代に反映される可能性が示された。閉殻筋グリコーゲン含量の推移は季節性があり、¹⁴⁾ 一度の測定で断定することは難しいが、本研究において閉殻筋グリコーゲン含量の高い親貝から家系は、閉殻筋グリコーゲン含量が高い傾向にあった。このことから、閉殻筋グリコーゲン含量も遺伝性の

ある生理指標であることが示唆された。

作出家系による真珠生産の可能性 真珠品質のひとつである巻きはピース貝の系統によって異なる知見が報告されているが,²¹⁾ 本研究ではピース貝 1 系統のみ使用したことを考慮すると, 系統間での巻きの差はピース貝の系統間の差異によるものではなく, 母貝の生理状態が大きく関係していると考えられる。真円真珠の直径, 重量, 巻きおよび真円真珠のうち高品質真珠の割合について調べたところ, High 1 は高品質真珠の割合では日本貝に劣るものの, 巻きについては日本貝に勝る場合もあることから, 従来の家系と比較して特に劣ることはないと考えられた。また, 真珠採取率は挿核手術や飼育管理をおこなう者によってことなることが報告されている。^{21,22)} これらの結果から, 血清中総炭水化物含量による選抜をおこなった第 1 世代から, 真珠生産が可能であることが示唆された。

血清中総炭水化物含量を用いた選抜育種の有効性 本研究から, 簡便な手法による血清中総炭水化物含量を用いた選抜育種によって, 天然貝から実用的な真珠生産が可能な家系が早い世代で作出できることが示唆された。このことから, 優良な真珠生産ができるアコヤガイ家系の作出には, 選抜系統の近親交配を続けるのみでなく, 天然貝からの親貝選抜も手法の一つになりうる可能性があることが示唆された。また, 天然貝からの選抜により, 近親交配による悪影響の回避も期待できる。

今後は, 各地の天然貝集団からの第 1 世代の生育および生残率を調査し, 各地のアコヤガイ真珠養殖に適した家系の選抜をおこなうことが, 育種を進めるために重要な調査であると考えられる。同時に, 血清中総炭水化物含量の多寡によって生残率にどのような差異が生じるか調査する必要がある。また, 天然貝の継代を繰り返すことで血清中総炭水化物含量の形質が固定化できるかどうか検証し, 集団ごとにどの程度遺伝性があるか遺伝率の検討をおこなうことが望まれる。

謝 辞

本研究のとりまとめにおいて, 貴重なコメントを頂いた和田克彦博士に深謝いたします。本研究を進めるにあたり, アコヤガイの挿核試験において各地区の真珠養殖業者の方々に協力をいただいた。また, 本研究を進めるにあたり, 愛媛県農林水産研究所水産研究センターの荒木恵子氏, 二宮里美氏, 山下須喜恵氏および米澤光子氏にはアコヤガイの飼育管理をはじめ分析作業において多大な協力をいただいた。ここに記して感謝を示したい。

文 献

- 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. 愛媛県宇和海における軟体部の赤変化に伴うアコヤガイの大量へい死. 魚病研究 2001; **36**: 207-216.
- 内村裕之, 西川 智, 浜田耕示, 兵頭勝也, 広瀬琢磨, 石原浩二, 杉本 学, 中島伸佳. 感染症の症状を軽減したアコヤガイ系統の開発. 水産育種 2005; **34**: 91-97.
- Iwanaga S, Kuwahara K, Hosokawa H. Selection of superior parent-shells of the pearl oyster *Pinctada fucata martensii* based on the serum protein contents. *Aquaculture Science* 2008; **56**: 453-461 (in Japanese with English abstract).
- Ishikawa T, Okamoto C, Hayashi M, Aoki H, Isowa K, Komaru A. The heritability of the shell-closing strength in the Japanese pearl oyster, *Pinctada fucata martensii*. *Aquaculture Science* 2009; **57**: 77-82 (in Japanese with English abstract).
- 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; 214 pp.
- 和田克彦. 「真珠をつくる」 成山堂書店, 東京. 2011; 188 pp.
- Benzie JAH, Smith-Keune C. Microsatellite variation in Australian and Indonesian pearl oyster *Pinctada maxima* populations. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 2006; **314**: 197-211.
- Herbinger CM, Smith CA, Langy S. Development and characterization of novel tetra- and dinucleotide microsatellite markers for the French Polynesia black-lipped pearl oyster, *Pinctada margaritifera*. *Mol. Ecol.* 2006; **6**: 107-109.
- Huang X, Yu F, Zhu J, Chen X, Wang Y. Characterization of novel microsatellite markers in the black-lipped pearl oyster, *Pinctada margaritifera* (Linnaeus, 1758). *Conserv. Genet. Resour.* 2014; **6**: 63-64.
- Mori T, Odawara K, Ono Y, Motomiya M, Takagi M. The influence of genetic variability on the growth survival rates and quality of pearls for Akoyagai pearl oyster culture. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2016; **82**: 727-736 (in Japanese with English abstract).
- 和田克彦. アコヤガイ *Pinctada fucata* の改良に関する研究. 養殖研究所研究報告 1984; **6**: 79-157.
- 森 拓也, 小田原和史, 高木基裕. アコヤガイ血清成分中の総炭水化物含量の周年変化および優良天然貝選抜指標としての利用可能性. 水産育種 2017; **47**: 17-24.
- 日本食品工業学会食品分析法編集委員. 「食品分析法」 光琳, 東京. 1982; 208-210.
- 足利千枝. アコヤガイの生化学的研究 (第 1 報) 貝肉成分の季節的变化特にグリコーゲンの消長について. 生理生態 1948; **2**: 160-167.
- 小田原和史, 曾根謙一, 薬師寺房憲, 久枝弘幸, 伊藤冬樹. 5. アコヤガイ. 愛媛県農林水産研究所水産研究センター事業報告書 平成 21 年度, 愛媛県農林水産研究所水産研究センター, 宇和島. 2011; 130-131.
- Atsumi T, Aoki H, Tanaka S, Komaru A. Effect of duration of post-operative holding in low salinity water on pearl quality. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2014; **80**: 761-768 (in Japanese with English abstract).
- Atsumi T, Ishikawa T, Inoue N, Ishibashi R, Aoki H, Nishikawa H, Kamiya N, Komaru A. Improvement of the production of high-quality pearls by keeping post-operative pearl oyster *Pinctada fucata* in low-salinity seawater. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2011; **77**: 68-74 (in Japanese with English abstract).
- Sone K, Yamashita H, Sugita T. Influences of autumn preconditioning on proximate composition, carbohydrate-

- metabolizing enzyme activity of hybrid pearl oyster *Pinctada fucata martensii* and pearl quality. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2012; **78**: 413-420 (in Japanese with English abstract).
- 19) 船越将二. 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 1986; **2**: 47-51.
- 20) 田中正三, 波多野博行. 真珠に関する生化学的研究 (第1報) あこや貝成分の季節的变化について. 日本化学雑誌 1952; **73**: 870-873.
- 21) 林 政博, 出口明彦, 小賀史哉, 山本隆文, 岩城 豊, 岩城秀夫, 伊藤孝男, 山本満彦, 野村清孝, 西川一生, 竹内章浩. 系統間の巻きの差違および左右の外套膜による巻きの差違. 全真連技術研究会報 2005; **19**: 1-4.
- 22) 奥村宏征, 林 政博, 竹内章浩, 伊藤孝男, 小賀史哉, 出口明彦. 挿核数の違いによる真珠の生産性比較. 全真連技術研究会報 2003; **17**: 1-5.