短 報

日本産アコヤガイにおける貝殻真珠層
黄色度の地理的変異

青木秀夫

(2020年7月16日受付, 2020年9月28日受理,

2020年11月25日J-STAGE早期公開)

三重県水産研究所

Geographic variation in yellowness index of nacreous
layer of Akoya pearl oyster *Pinctada fucata* in Japan

HIDEO AOKI

Mie Prefecture Fisheries Research Institute, Hamajima,
Shima, Mie 517-0404, Japanキーワード: アコヤガイ, 遺伝形質, 黄色度, 貝殻真珠
層, 地理的変異

アコヤガイ *Pinctada fucata* は、わが国の真珠養殖において母貝ならびに外套膜片のドナー（ピース貝）として使用されている。アコヤガイの貝殻真珠層には有機基質中に黄色色素が含まれ、この色素の量の違いにより真珠層の色調は白色から濃黄色を呈する。アコヤガイから作られる真珠の色調は、主に黄色色素による実体色（色素色）と真珠層を構成する炭酸カルシウム結晶の層状構造による干渉色（構造色）により決定され、これらはいずれも真珠の品質を決定する重要な要素である。このうち真珠の実体色は、挿核に用いるピース貝の貝殻真珠層の黄色の度合い（黄色度）と関係していることが知られている。¹⁾ これは、ピース貝の外套膜の色素分泌能力が、挿核後に母貝体内に形成される真珠袋に受け継がれるためである。すなわち、真珠の実体色はピース貝の貝殻真珠層の黄色度を指標にコントロールすることが可能である。^{2,3)} また、アコヤガイの貝殻真珠層の黄色度は量的な遺伝形質であることから、選抜育種による品種改良が可能である。^{3,4)} したがって、貝殻真珠層の黄色度は、高品質真珠の生産においてアコヤガイの重要な育種形質となり、種苗生産機関では適切な交配計画を実現するため、黄色度を指標とした育種素材の確保と系統保存を計画的に行うことが必要とされる。そこで本研究では、アコヤガイの育種素材の確保に係る基礎的知見を得るため、日本国内におけるアコヤガイの貝殻真珠層の黄色度について調査を行い、地域個体群の特性を明らかにすることを目的とした。

日本産アコヤガイの貝殻真珠層色について、和田¹⁾は1960年代に濃黄色、淡黄色、白色の3タイプの比率を調査し、鹿児島県奄美大島のアコヤガイが本州・四国・九州のものより濃黄色の比率が高いものの、本州、四国、九州の各地域間では真珠層色の比率に顕著な違いはみられなかったとしている。その後、和田⁴⁾は1970年代と1980年代に詳細な再調査を行っているが、和田¹⁾と同様の傾向がみられたことを報告している。これらの先行研究では、真珠層の黄色度を3タイプに類型化し

た評価が行われており、各地域のアコヤガイにおける黄色度の分布の特徴を表す統計量は示されていない。また真珠層の色調の評価を貝殻内面の目視により行っており、問題点として色調については真珠層の外側に形成される稜柱層の色調の影響を受けている可能性が挙げられる。さらに、貝殻内面からの観察では、外套縁膜部と外套中心部の外面上皮細胞から分泌される中殻層と内殻層の真珠層の色調を全体的に評価することとなり、挿核の際に外套膜片として使用される外套縁膜部の色素分泌能力が正確に評価されない可能性もある。本研究ではこれらの問題の解決策として、貝殻から稜柱層を除去して真珠層のみをサンプルとして使用し、外套縁膜部の外面上皮細胞が分泌したと考えられる真珠層の中殻層（稜柱層に面している側）の黄色度（YI）を色彩色差計により計測して、⁵⁾ その中央値や四分位範囲に基づく、先行研究より高精度かつ客観性の高い形質評価による調査を行った。

材料のアコヤガイは石川県穴水町（84個体）、島根県西ノ島町（隠岐島、34個体）、長崎県対馬市（対馬、57個体）、長崎県川棚町（114個体）、静岡県静岡市清水区（76個体）、三重県志摩市（30個体）、三重県尾鷲市（55個体）、高知県宿毛市（94個体）、鹿児島県薩摩川内市（上甕島海鼠池、11個体）、沖縄県座間味村（座間味島、5個体）、沖縄県石垣市（石垣島、27個体）、沖縄県竹富町（西表島、16個体）の12地点で採集した個体で、計603個体を用いた（Fig. 1）。採集場所は、1) 真珠養殖の履歴のない海域、2) 20年以上に渡り真珠養殖の行われていない海域、3) 周辺に真珠養殖場のない海域のいずれかに該当する場所とし、2000年9月から12月にかけて採集した。入手したアコヤガイの貝殻を10%水酸化カリウム溶液に浸して110°Cで10分間オートクレーブ処理することで稜柱層を除去し、真珠層のみのサンプルとした。得られた真珠層を水洗し、十分乾燥させた後、林³⁾の方法に従い、色彩色差計（ミノルタ、CR-300）を用いて右殻の真珠層（中殻層）の黄色度を計測した。各地域のアコヤガイの黄色度の値についてKruskal-Wallis検定により全地域の均一性を検定した後、事後検定としてMann-WhitneyのU検定を行い、地域間の有意差について調べた。なお、多重比較においてはBenjamini and Yekutieli⁶⁾の方法による検定水準の補正を行った。また黄色度と生息水温の対応をみるため、気象庁の月平均海面水温分布データを用い、2000年1月から12月までの平均値を各採集地点における水温として使用した。

各地域のアコヤガイの黄色度の中央値は、琉球諸島に属する沖縄県の座間味島、石垣島、西表島と鹿児島県の上甕島海鼠池の4地域が36.1–46.3となり、本州・四国・九州の8地域（24.8–30.8）よりも5以上高い結果となった（Fig. 2a）。また前者の四分位範囲は5.3–8.2、後者の値は5.0–8.7であった。Kruskal-Wallis検定においては黄色度の有意な異質性が認められ（ $p < 0.001$ ）、事後検定において石垣島と西表島の黄色度については本州・四国・九州の複数の地域との間で有意差（ $p < 0.05$ ）が認められた（Table 1）。最も黄色度が低かったのは清

Fig. 1 Sampling locations of *Pinctada fucata* used in this study.

Fig. 2 Yellowness index of nacreous layer of 12 populations of *Pinctada fucata* in Japan: (a) box plot, (b) relationship between water temperature and the median of yellowness index.

水地域で、琉球諸島の3地域、上甕島海鼠池のほか、本州の志摩地域との間にも有意差 ($p < 0.01$) が認められた。

黄色度と各地域の水温の関係についてみると、水温の高い座間味島、石垣島、西表島および上甕島海鼠池では本州・四国・九州のアコヤガイよりも黄色度が高い傾向がみられた。本州・四国・九州の各地域の黄色度は何れも27前後の値を示し、水温との間に有意な相関は認められなかった ($r^2 = 0.0065$, $p = 0.8028$) (Fig. 2b)。

アコヤガイの貝殻真珠層の黄色度は遺伝形質であり、環境の影響もある程度受ける量的形質であると考えられる。⁴⁾ 日本産アコヤガイの遺伝的特徴として、和田^{4,7)}は貝殻真珠層の黄色度のほか、稜柱層色、貝殻形態やアロザイムの地理的変異から、沖縄・八重山地方ならびに上甕島海鼠池のアコヤガイが国内の他地域と遺伝的に分化している可能性を指摘している。最近、Takeuchi *et al.*⁸⁾は、日本各地のアコヤガイについて RAD-seq 法により得られた DNA 塩基配列情報を用いて集団解析を行い、日本産アコヤガイは遺伝的に本州・四国・九州からなる北方系集団と南西諸島の南方系集団の2つに大きく分かれることを明らかにした。またこの結果において、上甕島海鼠池のアコヤガイは北方系集団に属するものの、他地域との間で遺伝的差異がみられるとしている。これらの知見に基づく本研究に用いた日本産アコヤガイは、琉球諸島からなる南方系集団、本州・四国・

九州からなる北方系集団および上甕島海鼠池の大きく3系統からなることを考えることができる。したがって、貝殻真珠層の黄色度が量的遺伝形質であることを考慮すると、本研究でみられた黄色度の地理的変異は Takeuchi *et al.*⁸⁾の結果とよく対応し、3系統間での遺伝的分化に因るものと考えることができる。すなわち、アコヤガイの貝殻における真珠層の黄色度の違いは黄色色素代謝や色素分泌に関する遺伝的特性の違いが影響していると思われる。

本研究では真珠層の黄色度と水温の関係について調査を行った。その結果、水温の高かった琉球諸島の3地域と上甕島海鼠池のアコヤガイが、本州・四国・九州の8地域より黄色度が高かった一方、本州・四国・九州の各地域の間では水温差があるにもかかわらず黄色度にはほとんど差はなかった。この結果は、黄色度の地理的変異が水温による影響よりも、上述した3系統の遺伝的特性に基づいていることを示している。和田¹⁾は、真珠層の色調と採集地点の間に違いはみられず、また真珠層の色調の年変動に一定の傾向がみられないことから、黄色度の発現に対する環境要因の影響は小さいとしている。これに対し、貝殻真珠層と同様、アコヤガイの外殻膜外面上皮細胞(真珠袋)により分泌される真珠の黄色度は、養殖場の立地条件や養殖水深等の条件で異なることが報告されている。⁹⁻¹¹⁾ 貝殻真珠層は炭酸カルシウム結晶と有機基質を分泌する外殻膜外面上皮細胞が自己組

Table 1 P-value of Mann-Whitney U-test for yellowness index of nacreous layer among 12 populations of *Pinctada fucata* in Japan

	Anamizu	Oki	Tsushima	Kawatana	Shimizu	Shima	Owase	Sukumo	Kamikoshiki	Zamami	Ishigaki	Iriomote
Anamizu	—											
Oki	1.000	—										
Tsushima	1.000	1.000	—									
Kawatana	1.000	1.000	1.000	—								
Shimizu	0.193	0.787	0.837	0.339	—							
Shima	0.785	0.856	0.485	0.504	0.002**	—						
Owase	0.998	1.000	1.000	1.000	0.964	0.298	—					
Sukumo	0.998	1.000	1.000	1.000	0.858	0.216	1.000	—				
Kamikoshiki	0.217	0.269	0.097	0.109	0.001**	0.986	0.053	0.041	—			
Zamami	0.273	0.284	0.157	0.183	0.011*	0.917	0.108	0.102	1.000	—		
Ishigaki	0.027	0.088	0.007*	0.004*	0.000***	0.991	0.002**	0.001**	1.000	0.999	—	
Iriomote	0.014	0.035	0.004*	0.003*	0.000***	0.875	0.001**	0.001**	1.000	1.000	1.000	—

Significance of the U-test was adjusted by region, using B-Y corrections (Benjamini and Yekutieli, 2001).

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

織であるのに対し、真珠の場合はピース貝由来という点で異なるが、いずれも真珠層の形成機構は同じである。挿核されたアコヤガイの真珠袋の上皮細胞における真珠層形成に関わるカルシウム代謝は、貝の生理状態に対する生息環境の影響が大きいことが知られている。¹²⁾したがって、環境要因により外套膜外面上皮細胞の持つ黄色色素の合成および分泌能力が左右されることで、貝殻真珠層の黄色度が変化する可能性が考えられる。貝の生理状態に影響を与える具体的な環境要因として、水温、塩分等の物理的要因だけでなく、餌料生物等の生物要因が挙げられる。アワビなど他の貝類においては、餌料由来の色素が貝殻真珠層の色調に影響を及ぼすことが知られている。^{13,14)}本研究でサンプリングを行った2000年の各採集地点における餌料プランクトンの出現状況は不明であるが、海域によって異なる可能性もありうることから、今後、餌料プランクトンの影響について検討が必要と思われる。

本研究ではアコヤガイの貝殻真珠層の黄色度において、沖縄県の座間味島、石垣島、西表島と鹿児島県上甕島海風池の4地域のアコヤガイが他の本州・四国・九州の各地域よりも高いことが明らかとなった。一方、本州・四国・九州の間では黄色度にはほとんど差がみられないことが分かった。また黄色度の地理的変異の要因として、環境要因より遺伝的要因が大きく影響している可能性が考えられた。こうした知見は、アコヤガイの育種素材としての活用や交配計画の策定を図るうえで貴重な知見であるといえる。アコヤガイの真珠と貝殻真珠層の黄色色素については、1950年代より研究が行われているものの、色素の実体や発現機構についてはまだ完全には判っていない。近年、アコヤガイの黄色色素に関する知見として、貝殻真珠層の黄色発現には鉄(Ⅲ)イオンが大きく関与していることが明らかにされ、¹⁵⁾黄色色素に関係する遺伝子の特定が行われている。¹⁶⁾今後、アコヤガイにおける黄色色素の化学構造ならびにこの色素の発現を支配する遺伝子が特定されれば、環境要因の影響を含め真珠の黄色度の発現の仕組みが明らかにされることが期待される。

謝 辞

本研究を行うにあたり、アコヤガイの採集にご協力いただいた関係者の皆様に深く感謝申し上げます。また本研究を取りまとめるにあたり、データ解析手法についてご指導いただいた三重大学の河村功一博士、ご校閲の労を賜った三重大学の古丸 明博士に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 和田浩爾. 黄色真珠の生成に関する実験生物学的研究. 国立真珠研究所報告 1969; **14**: 1765–1820.
- 2) Wada KT and Komaru A. 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* 1996; **142**: 25–32.
- 3) 林 政博. 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 1999; **14**: 1–13.
- 4) 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.
- 5) 青木秀夫, 渥美貴史, 古丸 明. アコヤガイの改良と新しい養殖技術. 「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. 2014; 23–37.
- 6) Benjamini Y and Yekutieli D. The control of the false discovery rate in multiple testing under dependency. *Ann. Statist.* 2001; **29**: 1165–1188.
- 7) 和田克彦. 鹿児島県上甕島海風池産アコヤガイについて. 国立真珠研究所報告 1975; **19**: 2169–2185.
- 8) Takeuchi T, Masaoka T, Aoki H, Koyanagi R, Fujie M, Satoh N. Divergent northern and southern populations and demographic history of the pearl oyster in the western Pacific revealed with genomic SNPs. *Evol Appl.* 2020; **13**: 837–853.
- 9) Watabe N, Okada Y, Miyamura M, Inoue Y. Studies on the relationship between the qualities of cultured pearls and culture-depth-II. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 1957; **23**: 235–240 (in Japanese with English abstract).
- 10) 山口一登, 蓮尾真澄. 黄色真珠の出現と真珠漁場との関係について. 国立真珠研究所報告 1974; **18**: 2132–2139.
- 11) 蓮尾真澄, 山口一登. 産地の異なる母貝によって生産された真珠品質の比較. 国立真珠研究所報告 1965; **10**: 1254–1263.
- 12) 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.
- 13) 堀口吉重, 木村昭一, 上野隆二. 天然色素添加人工餌料投与によるアワビ真珠層の着色. 三重大学水産学部研究報告 1987; **14**: 101–111.
- 14) 堀口吉重, 木村昭一, 岩城健一, 上野隆二. 天然色素添加人工餌料投与によるアワビ真珠層の着色Ⅱ. 三重大学水産学部紀要 1994; **12**: 209–214.
- 15) Kakinuma M, Yasumoto K, Suzuki M, Kasugai C, Koide M, Mitani K, Shidoji K, Kinoshita S, Hattori F, Maeyama K, Awaji M, Nagai K, Watabe S. Trivalent iron is responsible for the yellow color development in the nacre of Akoya pearl oyster shells. *Mar. Biotechnol.* 2020; **22**: 19–30.
- 16) Shinohara M, Kinoshita S, Tang E, Funabara D, Kakinuma M, Maeyama K, Nagai K, Awaji M, Watabe S, Asakawa S. Comparison of two pearl sacs formed in the same recipient oyster with different genetic background involved in yellow pigmentation in *Pinctada fucata*. *Mar Biotechnol.* 2018; **20**: 594–602.