

マナマコにおける色彩変異の定量的定性的評価

菅野愛美・木島明博

(2002年2月4日受理)

Quantitative and Qualitative Evaluation on the Color Variation of the Japanese Sea Cucumber *Stichopus japonicus*

Manami KAN-NO^{*1} and Akihiro KIJIMA^{*1}

Abstract: In order to evaluate the color variation (Red, Green and Black) of the Japanese sea cucumber *Stichopus japonicus*, we quantified its skin color by RGB and L*a*b* models using digital camera and graphic editing software, and classified its pigment according to microscopic visual color. The results showed that, (1) L*a*b* was found to be more effective for the evaluation of color variation than was RGB, though both models could be considered useful. (2) The distribution of L*a*b* values in the Red type were clearly divided from both the Green and Black types. The mode of L*a*b* distribution in the Green type was different from that of the Black type but their distributions overlapped and were not clearly divided. (3) All of the Red type individuals had unique vivid red pigments which were not observed in the Green and Black types. (4) The Green and Black type individuals had the same color pigments. These results indicate the qualitative and quantitative differences existing in this species of Japanese sea cucumber.

Key words: *Stichopus japonicus*; Color variation; L*a*b* and RGB; Pigment

マナマコ (*Stichopus japonicus*) は、日本周辺において北海道から九州までの全域、及びロシアから朝鮮半島、中国北部の渤海湾に到る沿岸域の、潮間帯から水深20~30mの上浅海に広く生息している¹⁾。本種は中国においては乾燥品、日本では主に生食用として利用され、水産重要種の1つとして現在、北海道をはじめいくつかの県で人工種苗生産及び放流事業が行われている²⁾。

崔・大島³⁾は、マナマコに色彩の異なるアカ、アオ、クロの3型が存在することを示し、それらの形態的、生態的特徴を報告している。しかし、崔・大島³⁾が示した色彩上の特徴は、目視で判定されているため客観的な評価とは言えず、3型の色彩における差異が量的に異なる形質であるのか、質的に異なる不連続変異であるのかに対する知見は得られていない。このことを明らかにするためには色彩を定量的および定性的に評価する必要がある。

色彩を定量化する方法としては、分光感度センサーで感知した物体の色をL*a*b*やXYZなどの表色系で数

値表示をする色彩色差計や、物体の持つ分光反射率を測定する分光測色計などが一般に用いられている⁴⁾。水産生物においては、千田・木島⁵⁾が、色彩色差計によるサクラマスのスモルト化の定量的測定を行っている。しかしこれら色彩計測機器は、色彩の絶対値を得られるという特徴がある一方、高価で簡便性に欠けるという側面が挙げられる。現在、デジタルカメラで撮影した画像を画像編集ソフトで解析することで、より簡便にRGBモデルやL*a*b*モデルでの色彩表記を行うことが可能になった。

本研究は、マナマコの体色の違いをデジタル機器を用いて数量的に捉えるとともに、色彩を構成する色素の観察を行い、マナマコの色彩変異の存在様式を定量的定性的に明らかにすることを目的とする。

材料と方法

実験に用いたマナマコ (*Stichopus japonicus*) は、2001年1月から2月にかけて主に潜水漁法で採取された宮城県牡鹿半島沿岸域の60個体、青森県陸奥湾の92個体、

^{*1}東北大学農学研究科附属海洋生物資源教育研究センター (Education and Research Center of Marine Bio-resources (ERCOMB), Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, Onagawa, Miyagi 986-2242, Japan).

大分県佐伯湾の32個体である (Table 1)。各地のマナマコは崔・大島³⁾に従い、腹部側の色彩から目視によりアカ型、アオ型、クロ型に分けた。調べた3型の代表的な個体を Fig. 1 に示す。その基準は、腹部体色が「例外なく赤色を呈する」ものをアカ型、「一般に暗青緑色を呈し、淡青緑色から黄茶褐色、暗茶褐色の変化がみられる」ものをアオ型、「黒色を呈し、体色の変化が認めがたい」ものをクロ型とした。各個体は、体色に及ぼす生息環境の影響及び餌料の違いによる影響を取り除くために入手後、同型の水槽に産地別、色彩型別に分け、実験を行った2001年6月まで東北大学大学院農学研究科附属海洋生物資源教育研究センター (略称：海生センター) において自然海水により流水飼育した。餌料には理研ビタミン社製の海藻粉末リ

ピックBWを飽食量与えた。飼育期間中、全ての個体において区分した色彩型の変化は認められなかった。

色彩測定

マナマコの色彩測定は、正反射光を抑え自然色に近い色が再現されるよう設定した Fig. 2 に示す撮影装置を用いて行った。すなわち、一定条件下 (被写体からの距離30 cm, 光源-東芝 Photo Reflector Lamp 500W 色温度5500, 受光角度45°, 照度4150 LUX, 倍率1倍, オート露出, オートフォーカス, フラッシュなし) で、各サンプルの腹部全体像をデジタルカメラ (CAMEDIA C-3040 ZOOM) で撮影した。

次に、得られた画像を数値化するため、画像をパー

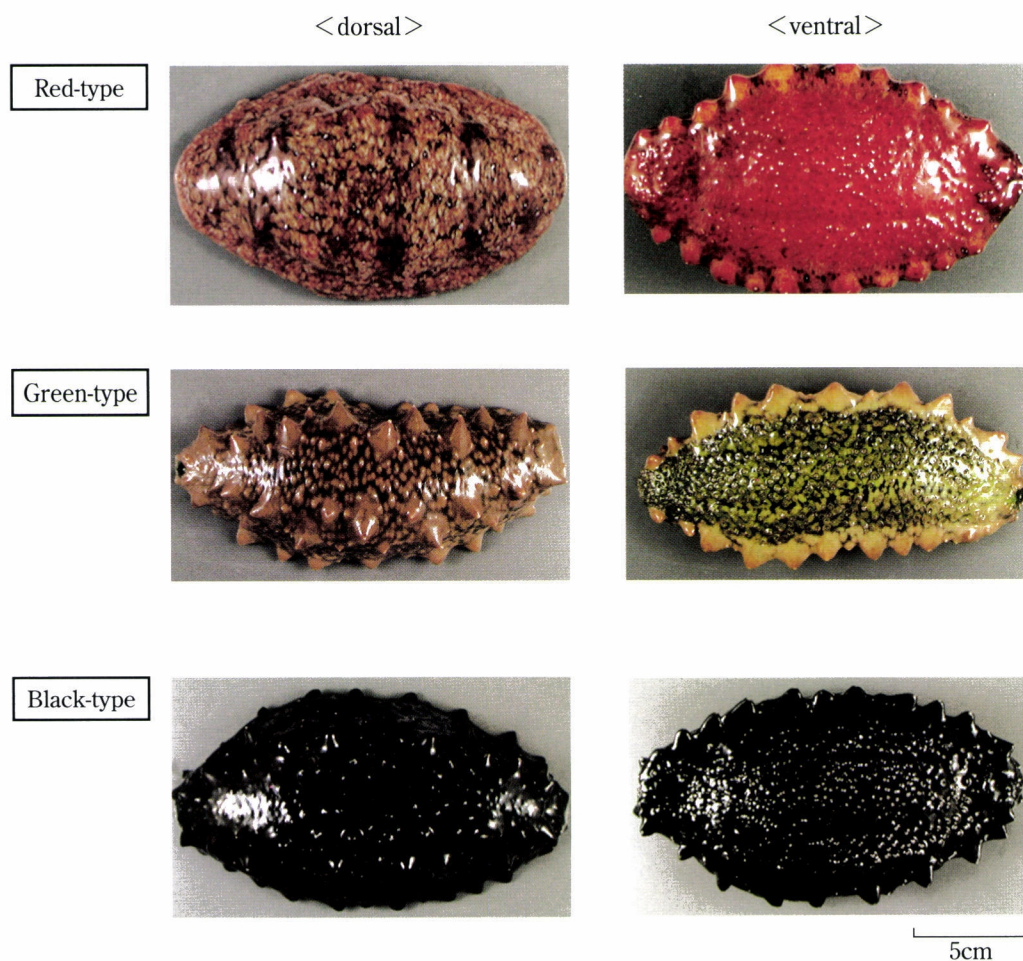


Fig. 1. Typical color types of *S. japonicus*.

Table 1. Specimens of *S. japonicus* surveyed

Collection Site	Date	No. of Samples	Average body wall weight (g)	Color type		
				Red	Green	Black
Miyagi (Onagawa-Bay)	Jan. 2001	60	81.6±44.0	14	27	19
Aomori (Mutsu-Bay)	Jan. 2001	92	87.4±41.1	0	55	37
Oita (Saeki-Bay)	Feb. 2001	32	236.8±99.0	3	19	10

ソナルコンピューター (Power Mac G4) の画像編集ソフト Adobe Photoshop 4.0J に取り込み、微小な測定点の違いによる誤差を避けるため解像度を1にした状態で、ランダムに10箇所 (10ピクセル) の色を抽出した。抽出した色は、RGB 表色系及び $L^*a^*b^*$ 表色系で数値化し、10箇所の平均値をその個体の腹部色彩を表す数値とした。

RGB法は可視スペクトルの3原色である赤、緑、青 (RGB) の加算混合の割合で色彩を表記するモデルである。0 から255の範囲で R, G, B 各構成要素の強調の値が割り当てられ、全ての値が255のときは純粋な白、0のときは純粋な黒、3つの値が等しいときにはグレースケールとなる。

$L^*a^*b^*$ 法は国際機関 CIE が1931年に開発した色の計測規格で、明度の構成要素である L^* と、色彩構成要素の a^* 、 b^* の3つの構成要素で色彩を表記するモデルである。明度の構成要素 L^* は0 ~ 100までの値であり、0に近い程黒の度合いが強いことを示す。緑から赤の構成要素である a^* は +120 ~ -120 で表され、+120に近い程赤の度合いが強く、-120に近い程緑の度合いが強いことを示す。黄から青の構成要素である b^* は +120 ~ -120 で表され、+120に近い程黄色の度合いが強く、-120に近い程青の度合いが強いことを示す。

体表における色素の観察

体表における色素を調べるために、マナマコ腹部中央の皮膚約1cm²をメスで削り取りスライドガラスに貼付した。次にその上にカバーガラスをのせ×100で検鏡した。顕微鏡は OLYMPUS BX60F5 を使用した。観察された色素は目視による色調の違いにより種類分けを行った。

結 果

RGB 表色系による宮城県産3型の色彩分析

宮城県産マナマコ60個体 (アカ型14, アオ型27, クロ型19) の腹部色彩を、RGB 表色系により数値化したときの個体分布を Fig. 3 に示す。横軸に G, 縦軸に B をとり各個体の値をプロットしたところ、3型の分布は大きく重なった (Fig. 3-a)。横軸に R, 縦軸に G または B をとり各個体をプロットしたところ、アオ型とクロ型の分布は重なったが、アカ型はそれらとは不連続に異なる領域に分布した (Fig. 3-b, c)。

3型それぞれの分布について R, G, B 各値の平均値を求めると、アカ型は $R=107.1 \pm 21.1$, $G=28.6 \pm 7.2$, $B=21.2 \pm 5.5$, アオ型は $R=32.6 \pm 17.7$, $G=29.3 \pm 15.8$, $B=20.1 \pm 6.4$, クロ型は $R=10.3 \pm 6.4$, $G=10.2 \pm 6.1$, $B=9.5 \pm 5.5$ であった。各型間のパラメータにおいて

差があるかどうかを t-検定によって比較したところ、アカ型-アオ型間及びアカ型-クロ型間の R 値において有意差が認められた。アオ型-クロ型間ではいずれのパラメータにおいても有意差は認められなかった。

$L^*a^*b^*$ 表色系による宮城県産3型の色彩分析

宮城県産マナマコ60個体の腹部色彩を、 $L^*a^*b^*$ 表色系により数値化したときの色彩分布を Fig. 4 に示す。横軸に L^* , 縦軸に b^* をとって各個体の値をプロットしたところ、型ごとに分布の中心は異なっていた。また、アカ型とクロ型は不連続に分布したが、アカ型とアオ型、アオ型とクロ型の分布は重なっていた (Fig. 4-a)。横軸に a^* , 縦軸に L^* または b^* をとり3型の値

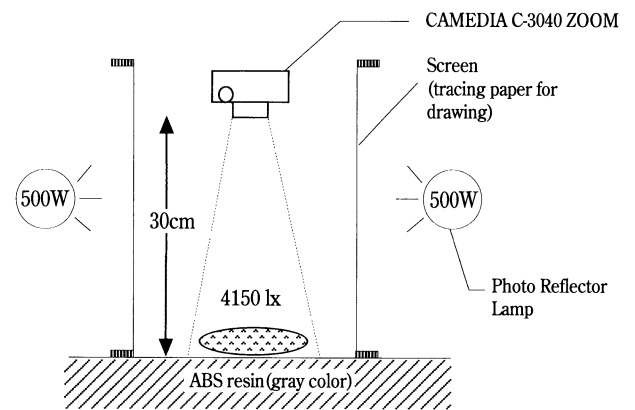


Fig. 2. Photographic condition by digital camera (CAMELIA C-3040ZOOM).

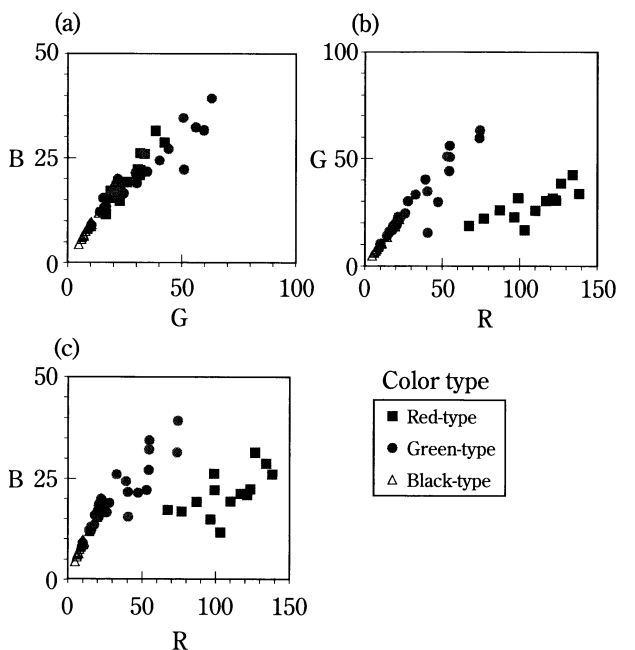


Fig. 3. Distribution of color value measured by RGB in *S. japonicus* collected from Miyagi Prefecture.

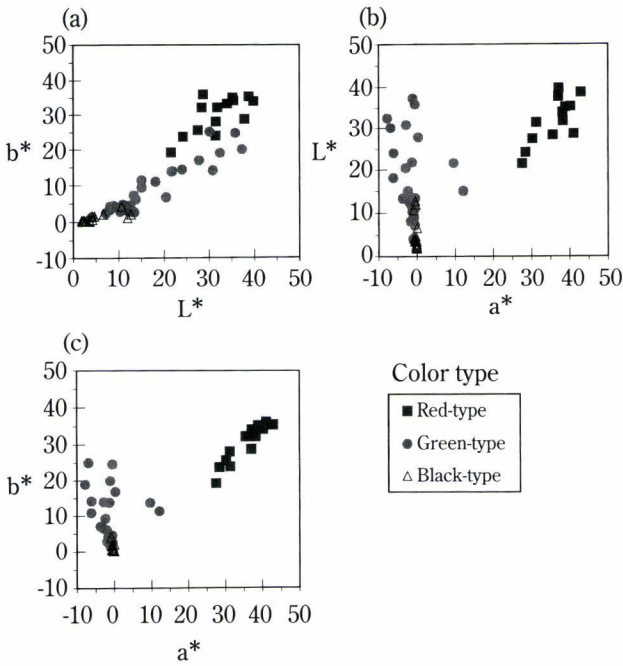


Fig. 4. Distribution of color value measured by L*a*b* in *S. japonicus* collected from Miyagi Prefecture.

をプロットしたところ、型ごとに分布の中心は異なり、アオ型とクロ型では分布が重なるが、アカ型はそれらとは不連続に分布した (Fig. 4-b, c)。

3型のそれぞれについてL*, a*, b*各パラメータの平均値を求めた。その結果、アカ型はL*=31.9±5.4, a*=35.5±4.9, b*=30.0±5.3, アオ型はL*=17.6±9.3, a*=-1.3±4.8, b*=9.4±8.0, クロ型はL*=4.7±4.3, a*=-0.4±0.3, b*=0.8±1.2であった。これらの値に差があるかどうかをt-検定で比較したところ、アカ型-アオ型間のa*値, b*値, アカ型-クロ型間のL*値, a*値, b*値で有意差が検出された。アオ型-クロ型間ではいずれの値にも有意差は認められなかった。

宮城県産3型の表皮色素の顕微鏡観察

腹部色彩の違いが、表皮色素の種類の違いによるかどうかを明らかにするために、3型の腹部表皮の顕微鏡写真撮影 (×50) を行った (Fig. 5)。また、色素構成ごとの出現個体数をTable 2に示した。

その結果、アカ型の表皮では14個体全てに鮮赤色の色素と茶色の色素が観察された。アオ型の表皮では29個体中、茶色の色素と緑色の色素を保有するものが27個体、茶色の色素のみを保有するものが2個体が観察された。アカ型でみられた鮮赤色の色素を保有する個体は認められなかった。クロ型の表皮では19個体中、茶色の色素と緑色の色素を保有するものが18個体、茶色の色素のみを保有するものが1個体が観察された。鮮赤色の色素を保有する個体はアオ型同様認められなかった。茶色の色素は、分布密度による濃淡で色調が異なって見えるため細分化は行わなかったが、アカ型では薄茶、アオ型やクロ型では赤茶や濃茶が多く観察された。またアオ型とクロ型の間には、黒い個体ほど茶や緑の色素の分布密度が高いという傾向がみられたが、色素の構成には違いがみられなかった。

他地域における色彩および色素構成

宮城県産のマナマコで得られた結果が、地域が異なっても認められるかどうかを明らかにするために、青森県産の92個体、大分県産の32個体を用いて同様の測定を行った。青森県産についてはアカ型が採取でき

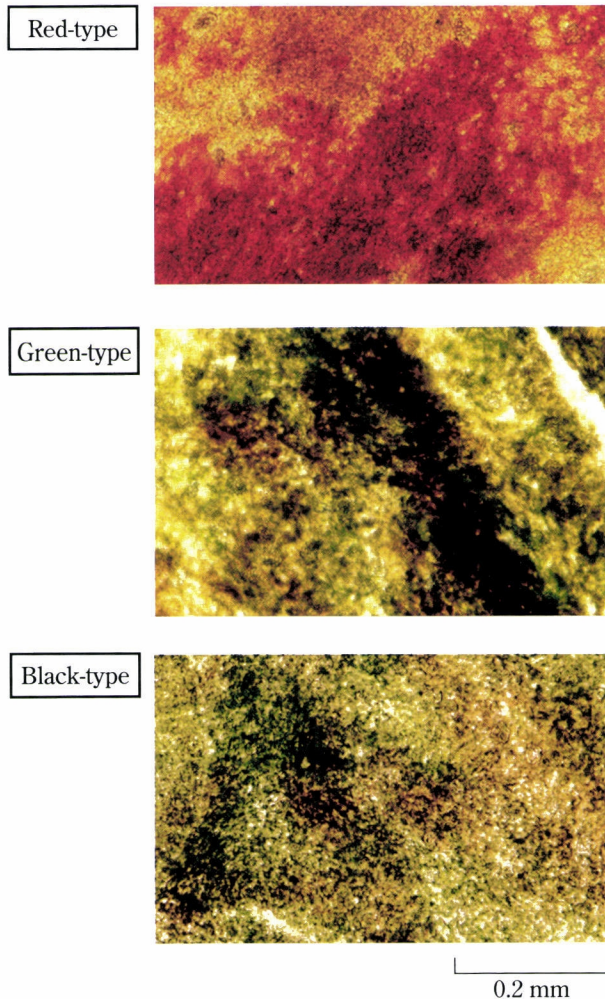


Fig. 5. Microscopic photographs of pigments on the skin of three color types of *S. japonicus*.

Table 2. Constitution of pigments observed in each color type of *S. japonicus* (collected from Miyagi Pref.)

Pigment			Color type		
red	brown	green	Red(14)	Green(27)	Black(19)
+	+	-	14	0	0
-	+	+	0	27	18
-	+	-	0	2	1

() No. of Samples.

なかったため、アオ型とクロ型のみを用いた。また、色彩分析は両地域ともにL*a*b*表色系で行った。

各地域のL*a*b*表色系による色彩の個体分布をFig. 6およびFig. 7に示す。青森県産及び大分県産マナモコの色彩の分布は、宮城県産と同様に、アオ型とクロ型において2型の分布の中心は異なっていたが、分布域は大きく重なっていた。また大分県産のアカ型

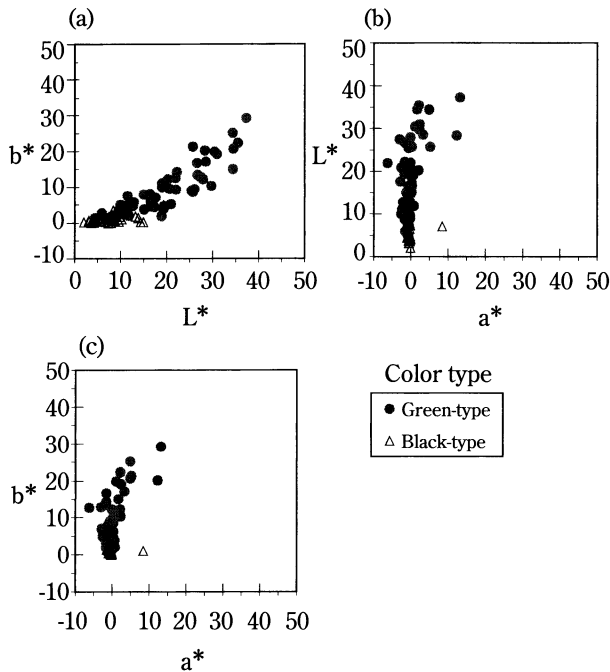


Fig. 6. Distribution of color value measured by L*a*b* in *S. japonicus* collected from Aomori Prefecture.

はアオ型及びクロ型とは不連続の分布域を示した。各型の色彩のL*, a*, b*の平均値は、青森県産ではアオ型がL*=19.3±8.7, a*=0.3±3.2, b*=9.2±6.9, クロ型がL*=7.5±3.8, a*=-0.3±1.5, b*=0.9±1.0となり、各値における2型間のt-検定ではいずれのパラメータにおいても有意差は検出されなかった。大分県産においてはアカ型が平均値でL*=25.5±5.7, a*=31.4±5.2, b*=19.7±5.5, アオ型はL*=12.7±5.7, a*=-1.2±0.7, b*=4.2±3.3, クロ型はL*=10.0±4.3, a*=-0.8±0.8, b*=1.5±1.9となった。これらの値をt-検定で比較したところ、アカ型-アオ型間のa*値, b*値, アカ型-クロ型間のL*値, a*値, b*値で有意差が検出され、アオ型-クロ型間ではいずれの値においても差は認められなかった。

各地域の色素構成をTable 3に示す。大分県産のアカ型は、全ての個体で鮮赤色と茶色の色素が観察され、緑色の色素は認められなかった。アオ型とクロ型は、青森県産大分県産共に、茶色の色素のみを保有する個体も一部観察されたが、殆どの個体で茶色と緑色の色素がみられ、また全ての個体で鮮赤色の色素は認められなかった。

考 察

本研究で用いた色彩計測法は、色彩色差計の感度センサをデジタルカメラに、解析機能を画像編集ソフトに代用した方法である。色彩の計測に際しては、光源の波長等を始め様々な測定条件がJISなどで規格されており、厳密な条件管理が必要とされる。そのため本手法は、色彩の科学的測定を目的とするものには不十分である。しかし、本研究のように多数の個体を色彩により大別するなど、微小な数値差を検出することを

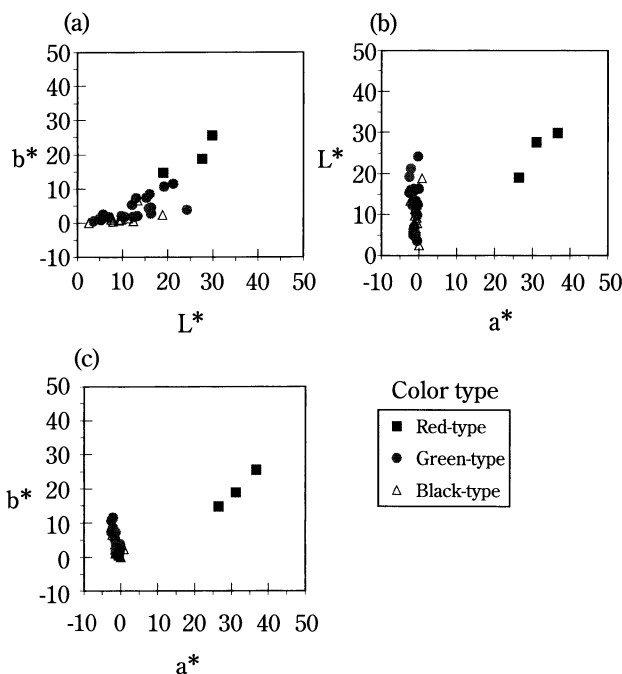


Fig. 7. Distribution of color value measured by L*a*b* in *S. japonicus* collected from Oita Prefecture.

Table 3. Constitution of pigments observed in each color type of *S. japonicus* (collected from Miyagi and Oita Pref.)

Aomori Prefecture					
Pigment			Color type		
red	brown	green	Red(0)	Green(55)	Black(37)
+	+	-	/	0	0
-	+	+		53	35
-	+	-		2	2
Oita Prefecture					
Pigment			Color type		
red	brown	green	Red(3)	Green(19)	Black(10)
+	+	-	3	0	0
-	+	+	0	17	8
-	+	-	0	2	2

() No. of Samples.

目的としないものに関しては、この手法は簡便性が高く有用であると考えられる。

宮城県産マナマコのRGB法及び $L^*a^*b^*$ 法による色彩分析では、両表色系ともにアカ型が他2型とは独立した不連続な分布域を示した。アカ型と他型との境界線については、RGB法では1つのパラメータでは表せず、R-GまたはR-B間での判別関数の設定が必要であった。一方 $L^*a^*b^*$ 法では緑から赤の色調の度合いを表す a^* 値のみで判別可能であった。 a^* 値は、アカ型は全ての個体で $a^* \geq 27.5$ を示し、アオ型及びクロ型の示す $a^* \leq 12.7$ に比べ、少なくとも a^* 値で14以上の高い値を示した。 $L^*a^*b^*$ 法では、2試料間の色差が $\Delta E = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}}$ で表され、 $\Delta E > 6.0$ であれば目視によっても“著しく差が目立つ (appreciable)”とされている。ゆえに a^* 値のみで $\Delta E > 14$ であることは、アカ型が他型と比べ目視でも明らかに赤の色調が強いことを示している。また、色素の観察においても、アカ型では全個体において、他型にはみられない特徴的な鮮赤色の色素が観察され、鮮赤色の色素を持つものと持たないものとの、アカ型と他型とは定性的にも明確に区分することができた。さらに、大分県産マナマコにおいてもアカ型と他型の間で色彩、色素ともに明確な分離がみられ、色彩の分布域は宮城県産とほぼ同じであった。このことはマナマコのアカ型が、普遍的に他の2型とは質的に独立した形質を保有していることを示している。しかしマナマコの色素の違いは顕微鏡観察によるものであるため、今後色素の物質の違いについても明らかにしていく必要がある。ナマコ綱ではMukai⁶⁾が、ムラサキクマナマコ (*Polycheira rufescens*) からナフトキノ系色素を同定し、ナマコクローム (Namako chrome) と命名している。マナマコの色素については、Matsuno & Tsushima⁷⁾が、カロテノイドの比較生化学的研究において、マナマコ体壁からcanthaxanthin及びastaxanthinを検出している。しかし、これらと体色の変異との関係に関しては言及されていない。

アオ型とクロ型は、宮城県産の色彩分析においてRGB法でも $L^*a^*b^*$ 法でも、2型の分布域が重なり明確な分離は示さなかった。 $L^*a^*b^*$ 法において2型は、明度を表す L^* 値と、黄から青の色調の度合いを表す b^* 値で連続性を示し、両パラメータにおいてクロ型が低い値をとった。このことは、アオ型は色彩において明度が高く黄の要素が強い個体であるのに対し、クロ型は明度が低く青の要素が強い個体であることを表している。そして値の連続性はこれら典型的なアオ型とクロ型の間に、両者の中間の色彩を持つ個体が存在することを示している。色素の観察においても、2型の表皮は茶色と緑色の同じ色素構成から成っており、アカ

型にみられるような明確な色調の違いはみられなかった。しかし色素の分布ではクロ型はアオ型と比べ密度が高い傾向がみられた。ゆえに、2型の色彩の連続性は、色素の分布密度の違いによるものと考えられた。また、青森県産及び大分県産のアオ型とクロ型においても、宮城県産と同様の関係がみられた。このことはアオ型-クロ型間の連続性が普遍的であることを示し、2型間の変異が、連続変異を示す量的形質として捉えられることを示唆している。

崔・大島³⁾は、マナマコ体部5箇所(背部、腹部、触手、管足、肉)における色彩を調べ、その違いからアカナマコ、アオナマコ、クロナマコ、のほかに「アカナマコとアオナマコの間中型らしきもの」としてType I, Type IIを提示している。このうちType Iは「体背部はアオナマコの体色を呈し、体腹部はアカナマコの赤色を呈するもの」、Type IIは「その逆の体色を呈するもの」とし、前者は1~2%、後者はこれよりも低い頻度で出現することがあると記載している。本研究ではType I及びType IIは認められず、また崔・大島³⁾は表皮の色素の種類については言及していないため、中間型に関して直接比較することはできなかった。一方、崔¹⁾及び崔・大島³⁾は3型におけるクロの位置付けについてはふれておらず、アオ型-クロ型間に色彩の連続性が存在することは今回新たに示された事実である。

以上の結果から、マナマコの色彩変異には量的形質としての違い及び質的形質としての違いが存在し、定量的定性的データにおいて3型の存在が支持された。崔・大島³⁾は2年間に及ぶ飼育と観察から、色彩型は相互移行のみられない固定的な形質であるとしている。本研究においても数カ月ではあるが同条件下で飼育し、その間色彩型の移行は認められなかった。このことからマナマコにおける色彩変異は、遺伝的な要因による変異であると考えられる。このことを明らかにするためには、色彩型3型を親とした交配実験を行い、各色彩型の遺伝支配を明らかにしなければならない。

一方、色彩変異型の違いが種による違いなのか、あるいは同じ種内に保有される変異であるのかは、本研究の結果から判断することはできない。3型の分類学的位置の違いを遺伝学的に明らかにするためには、分子マーカーを用いて、同所的に生息する3型と異所的に生息する3型の遺伝的な差異を評価する必要がある。Kan-no and Kijima⁸⁾は、マナマコのアイソザイム分析を行い、10アイソザイム遺伝子座で遺伝的変異があることを示し、マナマコ集団中に極めて高い変異性が保有されていることを報告している。また、その変異性の高さからアイソザイムが、分子マーカーとしてマナ

マコの種や集団構造の解析に有用であることを報告している。

大分県海洋水産研究センターの山本義博氏に深く感謝致します。本研究の一部は文部科学省科学研究費補助金 (No.13460080) によった。

要 約

マナマコにみられる色彩変異3型の色彩を、定量的・定性的に評価するため、宮城県、青森県、大分県のマナマコを対象に、デジタルカメラと画像編集ソフトを用いて、RGB及びL*a*b*表色系による色彩分析を行うと共に、色彩を構成する色素の観察を行った。その結果、(1) RGB表色系、L*a*b*表色系共に、3型の色彩分布を示すことができたが、L*a*b*表色系でより明確に区分が可能であった。(2) 色彩分析において、アカ型はアオ型及びクロ型とは不連続に独立した分布域を示した。一方アオ型とクロ型は互いに連続した分布域を示したが、分布の中心は異なっていた。(3) 色素の観察では、アカ型は全個体において、他型にはみられない特徴的な鮮赤色の色素が観察された。また、アカ型にはアオ型及びクロ型に認められた緑色の色素は観察されなかった。(4) 一方アオ型とクロ型は、色素の構成には違いが認められず、色素の分布密度による違いが示唆された。

謝 辞

本研究の実験を行うにあたりサンプルを提供して頂いた青森県水産増殖センターの小坂善信博士、並びに

文 献

- 1) 崔 相 (1963): なまこの研究. 海文堂, 東京, pp. 1-13.
- 2) 石川県・大分県・福井県・山口県 (1998): 地域特産種量産放流技術開発事業総括報告書 棘皮類. 水産庁補助事業.
- 3) 崔 相・大島泰雄 (1961): ナマコにみられる「アオ」と「アカ」の形態および生態的差異について. 日本水産学会誌, **27**(2), 97-104.
- 4) ミノルタ(株) (2001): 色を読む話—色彩管理は「感覚」から「知覚」へ—.
- 5) 千田康司・木島明博 (1994): 色彩色差計によるサクラマスのスモルト化の定量的測定法について. 水産育種, **20**, 55-61.
- 6) Mukai, T. (1958): A new pigment from the sea cucumber, *Polycheira rufescens* (Brandt). Mem. Fac. Sci. Kyushu Univ., **3**, 29-33.
- 7) Matsuno, T. and M. Tsushima (1995): Comparative biochemical studies of carotenoids in sea cucumbers. Comp. Biochem. Physiol, **111**(4), 597-605.
- 8) Kanno, M. and A. Kijima (2000): High genetic variability of isozymes in japanese sea cucumber, *Stichopus japonicus*. Proceedings of the 11th JSPS Joint Seminar on Marine Science, 306-315.