

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25292116

研究課題名(和文) 環境変化に適応可能なコンブ株の作出とバイオフィレーバーを活用した種苗育成方法の開発

研究課題名(英文) Production of kelp strains which have environment adaptability and development of the cultivation method utilizing bio-flavor

研究代表者

四ツ倉 典滋 (YOTSUKURA, Norishige)

北海道大学・北方生物圏フィールド科学センター・准教授

研究者番号：60312344

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,900,000円

研究成果の概要(和文)：北海道産のコンブ産業6種について、配偶体の無菌保存株を作出し、選抜と交配により貧栄養条件下や高水温条件下で育てた8株について遊走子を単離・育成することができた。また、コンブ遊走子種苗の着生媒体としてセルロースを選定し、野外において種苗の散布実験を行ったところ、半年後調査において種苗由来と考えられる個体の生育が確認された。一方、コンブ葉体から抽出したバイオフィレーバーの担持基材として、アルギン酸ナトリウムゲルを選定し、屋内実験において香気成分がウニの誘因にはたらくことを確かめた。野外においても香気成分を含ませた基材を用いて多数のウニが捕獲できたことから、種苗の育成に向けての活用が期待される。

研究成果の概要(英文)：Gametophyte of six industrial kelp species in Hokkaido were stocked under axenic condition. Zoospores were isolated from eight sporophytes, that were produced by selection or crossing, including individuals that cultured under high water temperature and low nutrient conditions, and the germinations were cultivated. Meanwhile, cellulose was picked as an epiphytic medium for seedling of kelp. In the inspersion experiment of seedling at the field, the growth of sporophytes that were thought to be germination of the seedlings was found after the half a year of execution. Furthermore, AgNa gel was picked as a supported substrate of bio-flavor extracted from kelp. It was confirmed that aroma substances work on attracting of sea urchin in the laboratory experiment. Because efficiency of the substrates containing the substances was confirmed for capture of sea urchin at the field, the application for cultivation of seedling is expected.

研究分野：農学

キーワード：コンブ バイオフィレーバー 種苗 環境適応株

1. 研究開始当初の背景

北海道沿岸は世界で最もコンブ類(褐藻コンブ目植物)の種多様性に富む海域である。これらコンブ類は形態的特徴により細かく種が区別され、その産的価値にも違いが見られるが、一方で、代表者らは分子系統学的に支持されるグループ内では遺伝的多様性が極めて乏しいことを報告している。地球規模の環境変化が生態系へ及ぼす影響がさまざま指摘されている昨今、北海道沿岸部では各地でコンブ藻場の縮小が叫ばれており、多様性の損失も危惧されている。ただ、それを示す定量データは多くはないが、天然漁獲量の減少-戦後 2~3 万トンで推移していた値はこの数年は 1 万トン強になっている-から判断して多くの産業種について資源量の減少は否めない。これまで、北海道内で最もコンブ藻場(コンブの森)の衰退・消失の著しい南西部沿岸におけるさまざまな磯焼け研究を通して知見が集められており、磯焼けの発生要因は“対馬暖流の流量増大による海水温の上昇や栄養塩濃度の低下”、持続要因は“キタムラサキウニの高い摂食圧による食害”とされている。今後、更なる環境変化が予測されるなかで、海水温や海中栄養塩濃度を野外フィールドでコントロールすること、また人力で広範囲のウニを駆除することは決して容易ではないが、予測される環境に適応できる株を作り出し、それを適切に海中へ投入することは多様性の保全のみならず海洋生態系の保全、および日本の伝統文化を保存するうえで有益であると考えられる。

2. 研究の目的

北海道沿岸では、海洋生物の生命の拠り所として、また重要な一次産物生産の場としてはたらくコンブ藻場の衰退や消失が各地で見られ、これには海水温の上昇や栄養塩濃度の低下が関与していることが報告されている。更に、一部海域ではコンブ類と植食動物-特にキタムラサキウニ-の数のバランスが崩れ、各地で藻場造成事業が行われているにも関わらずウニの食害により藻場の回復は困難を極めており、本研究では、①将来予測される環境に適応可能なコンブ株を探索・活用するため、多様性の保全を考慮した選抜・交配を行い、高水温耐性株、および貧栄養耐性株の作出を試みるとともに、②得られた種苗を効率よく海底に着生させるための技術を確認する。一方、③ウニがコンブ類の香気成分に引き寄せられる性質を実験的に確かめ、その化合物と高分子ゲルを組み合わせた基材による効率的なウニの密度管理技術の開発を行う。

3. 研究の方法

(1) 環境適応株の作出

マコンブ(函館)、ホソメコンブ(小樽)、リシリコンブ(稚内)、ミツイシコンブ(様似)、ナガコンブ(厚岸)の各成熟胞子体を採取し、

放出遊走子を単離して発芽配偶体の無菌培養株を作成した。これらの雌雄配偶体と、既存のカルチャーコレクションにあるオニココンブ(厚岸)の雌雄配偶体を用いて自殖と交配による作出株の培養観察を種々の水温条件(5.0℃から20.0℃まで2.5℃刻み)と栄養塩濃度(栄養強化海水(PES)をもとに、窒素濃度とリン濃度をそれぞれ0倍量、1/4倍量、1/2倍量、3/4倍量、1倍量に設定、水温10℃)のもとで行った。それぞれの条件下で得られた受精によって得られた幼胞子体は、シャーレからファルコンチューブ、培養フラスコに移し、継時的に観察を行った。葉長が1cmほどに成長した藻体は10℃の条件下に移し、順次青森県水産総合研究所の角型水槽(12-17L→150L)のなかで育て成熟誘導を施した(短日~中日、15℃)。一方、雌雄それぞれの配偶体培養により単為発生による未受精卵の発芽体や、無配生殖による雄性配偶体の体細胞から形成された発芽体の作出を試みた。角型水槽で育てられた成熟胞子体から遊走子を単離し、無菌培養株として保存するとともに、再度培養条件を変えた発生実験を継続した。

高水温条件化で育てられた生存株についてはYotsukura et al. (2010)に従いタンパク質のプロファイリングを行い、二次元電気泳動による環境ストレス応答タンパク質の発現を調べた。一方、貧栄養条件で幼体に生長した株について、北海道大学忍路臨海実験所において貧栄養海域の生海水を用いたかけ流し培養を春季に行い、その初期生長を観察した。

(2) 種苗着生媒体の開発

①媒体素材の探索と遊走子に対する影響評価：培養保存配偶体を用いた胞子体の作出と、その屋内水槽における成熟誘導が可能なることから、配偶体や胞子体に比べて着生効果が高い遊走子を種苗とした着生媒体を高分子素材に求めた。今回は、増粘剤に類する天然高分子原料の粘性を利用することとし、毒性がなく、環境への負荷がないように工業的に安価、かつ安定して入手できる天然原料を検討した。

選定した原料候補について、1%、2%、4%の溶液を冷海水で調整し、粘性を確認した。次いで、効果が期待できる上限濃度以下の数段階の濃度条件において等量の遊走子懸濁栄養強化海水(PES 培地)を加えて十分攪拌したのち1mLを計り取り、5mLの2%PESI添加栄養海水中に静かに流し入れ遊走子の沈降と遊走子およびその発芽体の着生、生存、発芽を調べた。

②野外フィールドにおける種苗着生媒体の有効性の検証：雑海藻による種苗着生阻害の影響を考慮し、雑海藻駆除が実施される様似町平宇地区と、稚内市宝来地区を対象フィールドとした。雑海藻駆除前に海中画像を取得した。種苗の海中投入の前日に母藻となるミツイシコンブ(稚内はリシリコンブ)を採取

し、洗浄後新聞紙に包んで屋内施設内で冷暗保存した。一方、清浄海水 1,125L を用いて媒体原料 15kg を攪拌・溶解させ（稚内では 0.6%液を 30L 作成）、0°C以上の条件下で屋内保管した。種苗の海中投入の当日（様似：平成 26 年 11 月 13 日；稚内市：平成 26 年 12 月 15 日）に媒体原料濃度 0%、0.25%、0.5% の遊走子液を作成し、10m×50m の範囲（0% は 1 範囲、0.25% と 0.5% は 2 範囲）に各々 1t 量を散布した。なお、散布にあたっては重機で雑海藻駆除した場所に船上から GPS で位置を確認しながら、電動ポンプを用いて種苗を海底付近に流し込んだ（稚内では濃度 0.3% の遊走子液 60L を作成し、散布はダイバーが手作業で雑海藻駆除をした 10m² の範囲に種苗を流し込んだ）。

種苗の海中投入からおおよそ半年後（様似：平成 27 年 6 月 23 日；稚内：平成 27 年 8 月 13 日（平成 27 年 4 月 22 日に簡易調査）、一年後（様似：平成 27 年 12 月 14 日；平成 27 年 12 月 10 日）に実施海域の画像を取得し、枠取りによる対象域の出現動植物を調べた。

（3）香气成分担持用基材の開発

①コンブバイオフレーバーの抽出と担持用基材を用いたウニ誘因効果の検証：様似町冬島で採取したミツイシコンブ孢子体の葉状部を蒸留水でよく洗浄した後、1-2cm 角に細断して液体窒素で急速凍結、-80°C で保存した。そのうち 16 g について、液体窒素を加えながら磨り潰した。次いで、0.05 M 2-(N-モルホリノ)エタンスルホン酸 (MES) buffer を 80 mL 加えてポリトロンホモジナイザーを用いて破碎した。その後、組織懸濁液を穏やかに攪拌しながら、4°C で 80 分間インキュベートした。懸濁液は 8 重にしたガーゼで濾過し、バイオフレーバー抽出液として 4°C で保存した。基材については、生分解性で環境負荷がほとんどないことや、ゲル化の際に温度変化を伴わないこと、さらにはゲル化の際に熱を放出しないことに加え、香气成分の徐放効果や、簡便な現場作業が可能であることを考慮して検討した。

バイオフレーバーを含有した 1.0% の基材と生コンブ葉体を屋内水槽（120cm×50cm）の両端に静かに沈め、ウニの行動（移動の様子・基材に接触後の様子）からバイオフレーバーの誘因効果を判定した。さらに、バイオフレーバーを含有した 1.5% の基材と、無添加の基材を用いて、誘引効果をゲル投入後からのウニがゲル表面に接触するまでの時間から評価した。

②コンブに含まれる特定揮発性化合物添加機材を用いたウニの誘引効果の検証：MS 分析によって明らかにされたコンブ孢子体含有する香气成分のなかで、11 種類の揮発性化合物について 4 段階の濃度で混合溶液を調整し、1.25% の基材に取り込ませて屋内水槽に沈めて 60 分間ウニの行動を観察し、上記に従ってウニの誘因効果を評価した。

また、野外フィールドにおける誘因効果と、

ウニの捕獲に対する機材の有用性を検証するため、磯焼け海域である稚内市西浜地区を対象フィールドとした。屋内実験で効果の見た濃度とその 15 倍および 75 倍に調整した揮発性化合物と、さらには類似する成分を有するキュウリ（1kg）の破碎液を含ませた基材を作成した。各々の基材はメッシュ袋にまとめてコントロールの生コンブや生キュウリとともにカニ籠（底面径 ca. 60cm、開口部径 ca. 15cm）に収容し（各条件 2 籠）、6 月 22 日から 3 日間ウニの捕獲実験を行った（9 月にも追試を実施）。

〈引用文献〉

① Yotsukura et al. (2010). Journal of Applied Phycology, 22: 443-451.

4. 研究成果

（1）環境適応株の作出

マコンブグループ（マコンブ・ホソメコンブ・リシリコンブ・オニココンブ）とミツイシコンブグループ（ミツイシコンブ・ナガコンブ）について、自殖と交配を含めたそれぞれ 170 通りおよび 75 通りの培養を進め、試験環境下における配偶体の生長と成熟、受精卵の発芽とその初期生長を詳細に記録し、幼胞子の生長についても約 1 週間毎に観察・撮影を行った。このうち、22.5°C と 25.0°C で培養した配偶体は色素体の崩壊や、未成熟のまま生長が停止し、精子・卵の形成は確認できなかった。一方、20.0°C を上限とする高水温条件下や、栄養強化海水（PES）をもとに窒素濃度とリン濃度をそれぞれ 0 倍量あるいは 1/4 倍量に調整した貧栄養条件下においては配偶体の成熟や受精が確認され、幼胞子体を得ることができた。その後、ファルコンチューブと培養フラスコによる育成を経て 4 か月目以降、すべての種が何れかに関わる 37 通りの組み合わせで得られた胞子体を子嚢班形成に向けて青森県水産総合研究所の角型水槽で培養を行うことができた。成熟誘導を施して 3 か月目以降には胞子体に徐々に子嚢班が形成され、これまでに窒素濃度とリン濃度それぞれ 1/4 量の培養液で育てたホソメコンブ♂♀や、20°C の高温条件下で育てたミツイシコンブ♂♀を含む 8 株について成熟胞子体から遊走子を単離することができた（図 1、表 1）。引き続き培養を継続しており、更に窒素とリン濃度をともに含まない培養液で育てたりシリコンブ♂×ホソメコンブ♀など 3 株について子嚢班の形成が確認されるようになった。遊走子を単離した株は再度同条件下で培養を続けているが、そのうちの 6 株について採集株とともに無菌株として北海道大学忍路臨海実験所のカルチャーコレクションに加えることができた（図 1）。また今回、小樽市忍路産



図1 環境適応株の作出
A: 高水温条件下(17.5°C)で育てられ、成熟誘導によって子嚢班を形成したミツイシコンブ; B: 無菌培養による保存株(窒素濃度とリン濃度がともに1/4量のPES培地で育てられたホソメコンブ)

表1 作出された培養保存株

No.	水温条件(°C)	栄養条件	雄性配偶体	雌性配偶体	培養本数	無菌保存
1	15.0	PES培地	ミツイシコンブ	ミツイシコンブ	3	○
2	17.5	PES培地	ミツイシコンブ	ミツイシコンブ	3	○
3	10.0	NP1/4	ミツイシコンブ	ミツイシコンブ	3	○
4	10.0	リン濃度1/4のPES培地	ミツイシコンブ	ミツイシコンブ	3	○
5	10.0	窒素濃度およびリン濃度1/4のPES培地	ホソメコンブ	ホソメコンブ	3	○
6	15.0	PES培地	ホソメコンブ	リシコンブ	4	○
7	20.0	PES培地	ミツイシコンブ	ミツイシコンブ	4	○
8	17.5	PES培地	ミツイシコンブ	ナガコンブ	4	○

ホソメコンブ遊走子由来の配偶体から雌の単為発生体、および雄の無配生殖体を得ることができたが生長は鈍く、無配生殖体の1株で角型水槽での培養まで進んだが、未だ子囊班の形成までには至っていない。

20°Cの条件下で育てられたマコンブ♂♀の葉体から抽出したタンパク質の二次元電気泳動像において、バナジウム依存性プロモペルオキシターゼ(vBPO)と思われる濃いスポットが検出された。vBPOはマコンブで高水温期に発現量が増加することが知られており、今回の高水温条件下で育てられた株は高水温による環境ストレスを受けているものと考えられる。一方、窒素濃度とリン濃度それぞれ1/4量の培養液で育てたホソメコンブ♂♀の幼体について海水かけ流しによる培養では、海水とともに流入する泥の影響で長期培養はできなかったが、葉長5cmまで健全な生長が確認された。

(2) 種苗着生媒体の開発

①媒体素材の探索と遊走子に対する影響評価：先に方法で述べた特徴を有する天然高分子原料のなかで、海藻類を含む植物を構成する成分として知られるセルロースがある。一般的なセルロースは水に難溶であるが、様々な化学処理が施され、水への溶解性を高めたものや、少量でも溶解後の粘度が高くなるよう分子量が調整されたものが存在し、今回、特に冷海水にも溶解しやすく、コンブの遊走子が滞留するのに適した粘度が調整可能なセルロース原料を選定した。数種類について溶解条件を検討した結果、水溶性セルロース粉体A(メーカー・型番は非公開)は、冷海水に添加して15分ほど攪拌したのち、大まかに残った固形分をへらなどで潰して静置したところ、10時間以内に完全に溶解した。漁業従事者が溶液調製に拘束される時間が短く済み、十分実用の範囲内と言える原料候補を選定できた。

濃度別粘性試験の結果、2%以上では極端に流動性が低下していることがわかり、野外作業におけるポンプでの吸い上げや、海底での拡散に支障が出る可能性があることから、1%を上限とする事とした。さらにコンブ遊走子混合液を用いた24時間後の遊走子の着底率から0.5%程度の濃度が流動環境下で最も成果があり、その後遊走子は正常に発芽することを確認した。

②野外フィールドにおける種苗着生媒体の有効性の検証：様似町平宇地区において、種苗散布時、対象海域は磯焼けのような状態であった。今回の調査においても周辺域にコンブはほとんど認められなかったことから、生育コンブは散布種苗に由来すると考えられ、種苗散布の有効性が示された。コンブの生育

が確認された場所は、ほとんどがセルロース濃度0.5%の種苗散布区内で見られ、そこでは75cm×75cm平方枠内に146個体、553g(平均葉長47.36cm)、別平方枠内では22個体、75g(平均葉長20.36cm)であった(表2)。従って、種苗散布の効果は野外フィールドにおいても高濃度下(0.5%)で高くなることが示された。なお、散布区内に生育するコンブは、石や岩の間の隙間から目立って伸長していた。これは粘性のあるセルロース孢子混液がそのような場所に滞留し、コンブ幼体が発芽したことによると考えられる。

表2 各種苗散布区に設置した方形枠内に出現したコンブおよび他生物(A:様似町平宇地区;B:稚内市宝来地区)

A		セルロース濃度 0.5% (I)		セルロース濃度 0.25% (II)		セルロース濃度 0.25% (III)	
ウニ	82g (1個体)	ウニ	0g (0個体)	ウニ	0g (0個体)	ウニ	0g (0個体)
種海綿	157g	種海綿	354g	種海綿	254g	種海綿	259g
ミツイシコンブ	4個体	ミツイシコンブ	0g (0個体)	ミツイシコンブ	0g (0個体)	ミツイシコンブ	0g (0個体)
	平均葉長: 3.25cm (最大葉長: 5.0cm) (最小葉長: 2.0cm) (標準偏差: 1.089725)						
セルロース濃度 0.5% (I)		セルロース濃度 0.5% (II)		セルロース濃度 0.5% (III)		セルロース濃度 0.5% (IV)	
ウニ	173g (4個体)	ウニ	0g (0個体)	ウニ	0g (0個体)	ウニ	0g (0個体)
種海綿	72g	種海綿	604g	種海綿	59.36cm	種海綿	59.36cm
ミツイシコンブ	553g (146個体)	ミツイシコンブ	75g (22個体)	ミツイシコンブ	75g (22個体)	ミツイシコンブ	75g (22個体)
	平均葉長: 47.36cm (最大葉長: 5.0cm) (最小葉長: 2.0cm) (標準偏差: 25.85387)		平均葉長: 20.36cm (最大葉長: 5.0cm) (最小葉長: 4.0cm) (標準偏差: 18.81987)		平均葉長: 20.36cm (最大葉長: 5.0cm) (最小葉長: 4.0cm) (標準偏差: 18.81987)		平均葉長: 20.36cm (最大葉長: 5.0cm) (最小葉長: 4.0cm) (標準偏差: 18.81987)
		アナバ	2個体				
B-1		B-2		B-3		B-4	
セルロース濃度 0.3%	セルロース濃度 0.3%	セルロース濃度 0.3%	セルロース濃度 0.3%	セルロース濃度 0.3%	セルロース濃度 0.3%	セルロース濃度 0.3%	セルロース濃度 0.3%
10個体	10個体	10個体	10個体	10個体	10個体	10個体	10個体
全重量 238g	全重量 238g	全重量 421.2g	全重量 421.2g	全重量 238g	全重量 238g	全重量 238g	全重量 238g
ウニ	ウニ	ウニ	ウニ	ウニ	ウニ	ウニ	ウニ
0個体	0個体	0個体	0個体	0個体	0個体	0個体	0個体
種海綿	種海綿	種海綿	種海綿	種海綿	種海綿	種海綿	種海綿
18.5g	18.5g	18.5g	18.5g	18.5g	18.5g	18.5g	18.5g
平均	平均	平均	平均	平均	平均	平均	平均
1.3g	1.3g	1.3g	1.3g	1.3g	1.3g	1.3g	1.3g
最大	最大	最大	最大	最大	最大	最大	最大
4.9cm	4.9cm	4.9cm	4.9cm	4.9cm	4.9cm	4.9cm	4.9cm
最小	最小	最小	最小	最小	最小	最小	最小
1.0cm	1.0cm	1.0cm	1.0cm	1.0cm	1.0cm	1.0cm	1.0cm
標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差
0.821215	0.821215	0.821215	0.821215	0.821215	0.821215	0.821215	0.821215
種海綿	種海綿	種海綿	種海綿	種海綿	種海綿	種海綿	種海綿
18.5g	18.5g	18.5g	18.5g	18.5g	18.5g	18.5g	18.5g
平均	平均	平均	平均	平均	平均	平均	平均
1.3g	1.3g	1.3g	1.3g	1.3g	1.3g	1.3g	1.3g
最大	最大	最大	最大	最大	最大	最大	最大
4.9cm	4.9cm	4.9cm	4.9cm	4.9cm	4.9cm	4.9cm	4.9cm
最小	最小	最小	最小	最小	最小	最小	最小
1.0cm	1.0cm	1.0cm	1.0cm	1.0cm	1.0cm	1.0cm	1.0cm
標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差
0.821215	0.821215	0.821215	0.821215	0.821215	0.821215	0.821215	0.821215

一方、稚内市宝来地区では、種苗非散布区(対象区)の16個体/m²(50cm×50cm×4枠)に対して散布区では192個体/m²が観察され、散布区の生育藻体は散布種苗に由来すると考えられる(表2、図2)。種苗非散布区では16個体の全重量が421.2gであるのに対して、散布区では192個体で238gであった。さらに、それぞれ無作為に抽出した大型30個体について、平均葉長は種苗非散布区では48.2cmに対して散布区では10cm、平均葉幅は種苗非散布区では4.9cmに対して散布区では2.0cm、平均葉重量は種苗非散布区では18.5gに対して散布区では1.3gであった。両地区における数値の違いは、種苗散布における散布時期が天然の孢子放出時期に比べて遅かったことによると考えられる。



図2 種苗散布区に生育が確認されたリシリコンブ

一年後調査については、平宇地区で散布区にウニの集塊が見られ、コンブがウニによる食害を受けていたものの、両地区においてコンブの生残が確認された。

(3) 香り成分担持用基材の開発

①担持用基材を用いたウニ誘因効果の検証：担持用ゲル基材として、先に方法で述べた特徴を有する天然高分子原料のなかで、アルギン酸ナトリウムゲル(AlgNa)は食品添加物としても使用されており、コンブやウニに対する毒性はない。ベース溶液を多価イオンが含まれる海水に投入するだけでゲル化が進行するため、別途カルシウム水溶液などを用意する必要は無く、簡便な沖出し作業が

可能であることもふまえ、ゲルの海水中における1か月程度の耐性試験(1.0%-2.0%)を通して実用的な原料候補を選定できた。

ウニの誘因効果の検証において、観察開始直後は33%の個体が基材(1.0%AlgNa)へ、17%の個体がコンブ葉体へ向かい、開始24分後には83%の個体が基材周辺に留まった(図2)。一方、バイオフィレーバー添加基材(1.5%AlgNa)と無添加基材の比較において、開始1分以内に前者にウニが接触する様子が見られたものの管足をゲル表面に短時間伸ばすにとどまり、管足を離れた後は水槽壁面で静止していたことから、添加したバイオフィレーバーの誘引効果が目立って現れなかった。このことからAlgNaの濃度調整によりバイオフィレーバーの放出速度を制御することが可能であり、濃度1%のゲルが徐放性に優れていると考えられるが、ゲルの耐性試験の結果を踏まえ、1.25%程度のゲルの実用性が高いと見込まれた。

②コンブに含まれる特定揮発性化合物添加基材を用いたウニの誘引効果の検証:ゲル重量と同量のコンブ葉体に含まれる揮発成分を含ませた基材は、その5倍量を含ませた基材や、全く含ませなかった基材と同様にウニの基材への接触はほとんど見られず、わずかに接触したウニも管足を接触させるには至らなかった。一方、10倍量を含ませた基材には開始2分ほどからウニが接触し始め、接触した多くのウニは基材の摂食を行い、実験終了までその場に留まっていた(図3)。添加した疎水性化合物はバイオフィレーバー溶液に比べてゲルから放散しにくいと考えられるが、ゲルの特性を生かし、濃度調整を行うことによりウニの誘因にはたらくことが示された。



図3 コンバイオフィレーバー添加基材と特定揮発性化合物添加基材に見られるウニの集塊(A&B)、およびゲル基材を用いた捕獲されたキタムラサキウニ(C)

稚内市西浜地区でのウニ捕獲実験の結果、コンブ揮発成分実験区:1個体(15倍量)・3個体(75倍量)、キュウリ破砕液実験区:6個体、であった。一方、対象区は、生コンブ実験区:4個体、生キュウリ実験区:15個体、何も入れない実験区:0個体、のウニが捕獲され、ウニ除去に対するバイオフィレーバー基材の有用性が示された(図3)。なお、コンブの揮発成分については野外フィールドにおいては水槽環境より高い濃度が求められると考えられる。9月の追試においてもキュウリ破砕液の有益性が示されたが、キュウリは臭気成分として2E)-ノネナールやヘキサノールが含まれることから、今後これを活用することで安全かつ安価にウニを駆除することができるかと期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計15件)

- ① Honglei Guo, Takayuki Kurokawa, Masakazu Takahata, Wei Hong, Yoshinori Katsuyama, Feng Luo, Jamil Ahmed, Tasuku Nakajima, Takayuki Nonoyama, Jian Ping Gong. 2016. Quantitative Observation of Electric Potential Distribution of Brittle Polyelectrolyte Hydrogels Using Microelectrode Technique, *Macromolecules*, accepted. 査読有. DOI: 10.1021/acs.macromol.6b00037
- ② Norishige Yotsukura, Takashi Maeda, Tsuyoshi Abe, Masahiro Nakaoka, Tadashi Kawai. 2016. Genetic differences among varieties of *Saccharina japonica* in northern Japan as determined by AFLP and SSR analyses. *Journal of Applied Phycology*, Online First. 査読有. DOI: 10.1007/s10811-016-0807-6)
- ③ Tomoya Miyashita, Hisato Kunitake, Norishige Yotsukura, Yoichiro Hoshino. 2015. Assessment of genetic relationships among cultivated and wild *Rubus accessions* using AFLP markers. *Scientia Horticulturae*, 193: 165-173. 査読有. DOI: 10.1016/j.scienta.2015.07.004
- ④ 秋野秀樹・川井唯史・四ツ倉典滋・河野時廣. 2015. 北海道泊村沿岸表層におけるホソメコンブ遊走子の移送と空間的分布. *水産工学*, 52: 1-9. 査読有. <http://wwb.jp/zoushoku/journal.html>
- ⑤ Tadashi Kawai, Dmitrii Galanin, Zhanna Tskhay, Elena Latokovskaya, Nobu Nagai and Norishige Yotsukura. 2014. Relationship between occurrence of kelp species and water temperature in northern Hokkaido, Japan and southern Sakhalin, Russia. *Algal Resources*, 7: 107-116. 査読有. <http://jsap.web.fc2.com/pub.html>

[学会発表](計31件)

- ① Takayuki Kurokawa. Effect of electrostatic interaction on sliding friction of hydrogel. DYFP2014. 平成27年3月30日. Rolduc abbey, Kerklade (The Netherlands)
- ② Norishige Yotsukura. Population genetic structure of *Saccharina japonica* in northern Japan. 7th Asian Pacific Phycological Forum. 平成26年9月21日. The East Lake International Conference Center, Wuhan (China)

- ③ Tadashi Kawai. Relationship between occurrence of kelp species and water temperature in northern Hokkaido, Japan and southern Sakhalin, Russia. 日本応用藻類学会第 13 回大会. 平成 26 年 5 月 31 日. 東京海洋大学(東京都港区)
- ④ Kangsadan Boonprab. Flavor Chemistry for the Selection of Algal Biotechnology Material to Produce Bioflavor from Edible Kelp, *Saccharina* spp. 1st Joint ACS AGFD-ACS ICSCS Symposium on Agricultural and Food Chemistry. 平成 26 年 3 月 5 日. Montien Riverside Hotel, Bangkok (Thailand)
- ⑤ Kangsadan Boonprab. Bioflavor formation in an rdible algae, *Saccharina japonica*. 21st International Seaweeds Symposium. 平成 25 年 4 月 25 日. Nusa Dua Convention Center, Bali (Indonesia)

[図書] (計 2 件)

- ① 四ツ倉典滋, 生物研究社、水産海洋ハンドブック第 3 版、2016、pp. 65-69.
- ② 四ツ倉典滋. 北海道新聞社. 北海道つながる海と川の生き物. 2015. pp. 64-76.

[その他]

ひらめき☆ときめきサイエンス :

- ① 四ツ倉典滋. 平成 27 年度ひらめき☆ときめきサイエンス「海の森の調査隊～おしよろの“こんぶ”を守るには！？～」. 平成 27 年 7 月 25 日. 北海道大学忍路臨海実験所
- ② 四ツ倉典滋. 平成 26 年度ひらめき☆ときめきサイエンス「海の森の調査隊～おしよろの“こんぶ”を調べよう～」. 平成 26 年 8 月 3 日. 北海道大学忍路臨海実験所
- ③ 四ツ倉典滋. 平成 25 年度ひらめき☆ときめきサイエンス「“こんぶの森”の未来を考える～ゆたかな海をいつまでも～」. 平成 25 年 7 月 27 日. 北海道大学忍路臨海実験所

6. 研究組織

(1) 研究代表者

四ツ倉 典滋 (YOTSUKURA, Norishige)
北海道大学・北方生物圏フィールド科学センター・准教授

研究者番号 : 6 0 3 1 2 3 4 4

(2) 研究分担者

星野 洋一郎 (HOSHINO, Yoichiro)
北海道大学・北方生物圏フィールド科学センター・准教授

研究者番号 : 5 0 3 0 1 8 7 5

黒川 孝幸 (KUROKAWA, Takayuki)
北海道大学・生命科学研究院・准教授

研究者番号 : 4 0 4 5 1 4 3 9

(3) 連携研究者

川井 唯史 (KAWAI, Tadashi)
北海道立総合研究機構・稚内水産試験場・主査

研究者番号 : 9 0 6 4 4 4 1 9