

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2013～2016

課題番号：25304010

研究課題名(和文) 北太平洋西部沿岸におけるコンブ類の種多様性とその由来の解明

研究課題名(英文) Elucidation of species diversity of kelp and the origin at the western coast of the North Pacific

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) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：ロシア極東域のペトロパブロフスクカムチャツキー周辺、マガダン周辺、コルサコフ周辺、ウラジオストク周辺の4海域において、コンブ類を対象とした潜水調査を行い、各種の生態を明らかにするとともに、暖流影響域の磯焼けの実態も記録した。更に、得られた孢子体を用いて形態調査と分子系統解析を行い、希少な地域固有種を含む現地のコンブ類の多様性を解明し、互いの系統類縁関係を推察した。そして、サハリン南東部やカムチャツカ半島南東部に生育する特定系統群が北海道産種の多様性の由来に関係していることを考察した。

研究成果の概要(英文)：The submersible survey on kelp was carried out at four coastal areas in Russian Far East, and ecology of each species was revealed. Furthermore, current status of ISOYAKE at the sites under influence of warm current was recorded. Morphological investigation and molecular phylogenetic analysis were conducted using sporophytes collected, and biodiversity of kelp including rare local endemic species was elucidated and their phylogenetic relationships were inferred. And, it is considered that kelps that belong to a phylogenetic group in the southeastern Sakhalin and the southeastern Kamchatka were related to the species diversity in Hokkaido.

研究分野：農学

キーワード：コンブ類 北太平洋 種多様性 フィールド調査 海藻

1. 研究開始当初の背景

代表者らは長年に渡り日本沿岸に生育するコンブ類の多様性研究を進めてきた。そのなかでは、北海道沿岸の寒海性コンブについて、(1)北海道本島が樺太島や千島列島と陸続きであり、日本海が形成される第3紀中新世に分化した、(2)系統学的に3群に分かれ、多くがロシア極東域と分布を共有し、今では道北や道東を主産地とする系統群がこれらの起源である、ことを論じている。一方、北太平洋沿岸はコンブ類の宝庫であり、例えば西岸の日本沿岸に37種、東岸の北米大陸沿岸には約40種が知られているが、両地域にともに分布するコンブ類は5種しかない。従って、ロシア極東域、およびアリューシャン列島の沿岸に生育する種を詳細に調べることは広く北太平洋西岸に分布する種の多様性の由来を明らかにすることに繋がる。

ロシア極東域のコンブ類に関しては、北海道大学の宮部金吾博士が1902年に千島列島の種について、1904年に南樺太の種について報告している。その後、永井政次博士が千島列島の海藻を、時田郁博士が南樺太の海藻を研究し、コンブ類についても重要な報告をしている。しかし、その後、およそ50年もの間、千島・樺太産種に関してほとんど調査報告がないこと、両地域以外に生育するコンブ類について知見は乏しいが、わずかなロシア人研究者による情報も、日本人研究者との間の分類的認識の違いから検討課題が山積みであること、近年、コンブ類の分類学的再検討が活発に行われており、新しい体系のもとでの多様性調査が求められること、から新たな調査が必要である。

2. 研究の目的

日本沿岸の寒海性コンブ類の種多様性はロシア極東域に分布する種に由来することが近年の分子系統学的研究により推察されている。しかし、ロシア極東域のコンブ類の多様性については、100年以上も前から北海道大学の宮部金吾博士やその弟子らにより調査されているものの、この50年間ほどで得られた知見は乏しい。更に、当該海域には日本沿岸とは共通の種が分布するとされているが、現地の研究者による種の取り扱いには日本人研究者とは異なっている。本研究では、ロシア極東域のコンブ類の種多様性を明らかにし、その生態を深く理解するとともに、広く北太平洋西部沿岸の多様性の由来を検討するため、ロシア極東とその周辺域を訪れて環境・生態調査と形態調査、標本採集を行う。また、現地におけるコンブ類以外の海藻に関する知見も乏しいことから、潜水および磯歩きによりコンブ藻場内外の海藻の植生を調査する。

3. 研究の方法

(1)調査地の選定：ロシア極東域において知られている海藻の地理学的区分：カムチ

ャツカ南東部沿岸・北千島沿岸・ベーリング海沿岸、オホーツク海大陸沿岸、中部千島沿岸、南千島沿岸・南サハリン沿岸、日本海ロシア沿岸、に従い、手続き上および安全上、調査の実施に問題のない：ペトロパブロフスクカムチャツキー周辺(内の8地点；渡航期間2014年7月16日-30日)；マガダン周辺(内の4地点；渡航期間2016年7月6日-21日)；コルサコフ周辺(内の5地点；渡航期間2013年8月12日-21日)；ウラジオストク周辺(内の4地点；渡航期間2015年7月6日-17日)、を、コンブ類の生長が著しい夏季に訪問した。また、アリューシャン列島に生育する種についてはUnalaskaを対象地として、The University of British Columbia(カナダ)のThe Beaty Biodiversity Museumの標本庫を訪れ、当該地域から採集されたコンブ類のさく葉標本を調査した(渡航期間：2017年2月26日-3月4日)。

(2)生態調査：各調査地点において、潜水によって種別毎に群落状況を把握した。次いで、海域全体および各種群落の典型的な様相を示す場所において海中写真撮影または海中ビデオ撮影を行い、底質を調べた後、0.25m²(50cmX50cm)の方形枠を設置して枠内のコンブ類・その他海藻のつぼ刈を行った。サンプルは陸上に持ち帰り、群落の種構成を調べ、その資源量を計量した。なお、群落内に食植動物であるウニが生息している場所については、枠内のウニを採取し、殻径と重量を測定するとともに、周辺域から集めた10個体-30個体について殻径と生殖腺指数を測定した。

一方、調査域内でコンブ群落が存在し、かつ水深が約1m、5m、10mの場所を選び出し、船上からポータブル多項目水質計を用いてpH、水温、塩分、電気伝導度を計測した。更に、各現場海域の広域のかつ長期的なデータについては、外国人協力者による協力のもと、関係機関(Kamchatka State Technical University, Magadan NIRO, Kamchatka NIRO, Sakhalin NIRO, TINRO)から入手した。

(3)形態調査：各種について、各々の群落から10個体-30個体を採取し、葉長、葉幅、葉厚、茎長、茎径、中帯部幅、成熟の有無、湿重量を計測した。また、採集したコンブ類を形態形質により個体ごとに同定してその特徴を記録するとともに、それぞれ1個体群につき1個体-30個体について、葉体全体・葉状部・茎状部・付着器を写真撮影した。更に、分類した各コンブ類の一部はさく葉標本あるいはホルマリン標本として北海道大学忍路臨海実験所内に保管した。

(4)分子系統調査：各種について、各々の群落から1個体-10個体を任意に選抜し、葉状部の生長点付近を2cm-5cmの小片に切り出した。各小片を清浄海水または水道水で洗浄し、粒状シリカゲル中に保存した。

各切片は表面の付着物を再度洗い流した

後、全ゲノム DNA を SDS-CTAB 法 (cf. Maeda et al. 2013) により抽出・精製した。次いで、各サンプルの種同定と系統解析を行うために、抽出 DNA の nDNA ITS、cpDNA RuBisCo spacer、mtDNA COI の各領域の塩基配列を解読し、既存データと比較した後 (cf. DNA Bank of Japan)、分子系統樹を作成した。更に、より詳細な解析が求められる日本産個体と近縁性が高いと思われる個体については 5SrDNA spacer 領域と、種々のマイクロサテライト領域の配列を調べ、既存の日本産個体の配列データと比較した (cf. Yotsukura et al. 2006, Maeda and Yotsukura 2013)。

一方、外国人協力者の協力のもとでロシア極東域から採集された乾燥標本 24 個体について、形態的特徴により種同定を行った。次いで、藻体から切り出した小片を用いて全ゲノム DNA を抽出し、上述の領域について塩基配列を解読・比較して系統樹の作成を行った。(5) 既存の分布に関する知見の取りまとめ: 1989 年から 2001 年までに公表されている日本語・英語・ロシア語の文献のなかでロシア極東域のコンブ類について記述のある内容について、学名・和名・観察者(採集者)・観察日・観察地点を抜粋し、最新の分類基準をもとに整理を行った。観察地点は上述の 5 つの地理的区分に分け、それぞれの種や属ごとに観察された個体数を記録した。また、整理した情報をもとに、各区分における各属の年代別の個体数を 3 つの期間 (1880 年代-1940 年代、1950 年代-1970 年代、1980 年代-2000 年代) に分けて数え、各属の個体数の割合を地図上にプロットして比較した。そして、本課題で得られたデータを追加した。

(6) 海藻の植生調査: 上述のつぼ刈調査で得られた藻体に加え、調査海域周辺を広く潜水・磯歩きをして藻体を集め、形態観察による種の同定を行った。同定の困難な個体についてはサンプル小片から全ゲノム DNA を抽出し、特定 DNA 領域の塩基配列比較により分類を行った。出現種のリストを作成するとともに、サンプルは全ての種についてさく葉標本を作成し、一部はシリカゲル標本として北海道大学総合博物館に保管した。

<引用文献>

- Maeda and Yotsukura (2013). Algal Resources, 6: 67-71.
 Maeda et al. (2013). Journal of Applied Phycology, 25: 337-347.
 Yotsukura et al. (2006). Phycological Research, 54: 269-279.

4. 研究成果

今回、サハリン南部においては 6 属 12 種が採取された。そのなかで、日本海に面した沿岸では *Saccharina japonica* の純群落が広がっていた。このうち、Gornozavodsk では 1 株当たり平均 2 個体のエゾバフンウニが生育していたのに対し Yablochny では平均 63 個体と

極めて高密度に観察された。これらの場所では水深 4m 以浅にのみ群落認められ、現場海域の高水温によるウニの活発な摂餌が群落の衰退に影響を及ぼしていると考えられる。一方、サハリン最南端の Shebunino はコンブ類の出現種数が多く (5 属 8 種) 現場付近の湧昇流が多様性に影響しているものと考えられる。そこではウニはほとんど見られず、主構成種である *S. japonica* の生育密度は 1 年目藻体と 2 年目藻体ともに上記 2 地点の値よりも高かった。また、Aniwa Bay に面した Prigorodnoy においても主構成種は *S. japonica* であったが、オホーツク海沿岸の Lesnoye の調査時のコンブ群落内の水温は日本海沿岸や Aniwa Bay に比べて 15-20 ほど低く、主構成種は別系統群に属するコンブであった。これら日本海沿岸を除く海域では何れも水深 9m まではコンブ群落が確認された。



図1 サハリン産 *Saccharina japonica* の胎子体 (A: Yablochny B: Shebunino産, C: Prigorodnoy産)

今回、Gornozavodsk 産と Shebunino 産の *S. japonica* は形態上 var. *ochitensis* に似るものと、エナガオニコンブに似るものがあった (図1)。しかし、マイクロサテライト解析によりいずれも var. *ochitensis* に相当すると推察され、サハリン南西部の個体は北海道北部沿岸の個体に移り、分布域を拡大したと考えられる。更に、国際港に近接する Prigorodnoy 産の個体は var. *ochitensis* やオオアツバコンブに酷似するものの、var. *japonica* や var. *diabolica* の遺伝特徴が得られたことから、人為的要因で遺伝資源が運ばれたことも推察される。一方、Lesnoye においては *S. japonica* は見られず、北海道の北部や東部に生育するチヂミコンブグループの種と遺伝的類似性が高く、葉縁が波打った特徴を有するコンブが優占していた。チヂミコンブグループは北海道産種のなかでは古く、また、コンブの遊走子は海流に乗って移動することが知られており、サハリンオホーツク海沿岸に生育するチヂミコンブグループの種の南下が北海道沿岸におけるコンブの分布拡大に繋がったと推察される。

カムチャツカ半島西部域の調査においては、8属14種のコンブ類が採取された。これらコンブ類は調査地点により構成種は違うものの、何れにおいても形態が異なる *S. bongardiana* の品種が優占し圧倒的な資源量を有していた。本種について、今回の調査では典型的な形態を示す *f. bongardiana* に加えて、明確な形態的相違を示す2つの品種(*f. subsessilis*, *f. taeniata*)が見いだされ、更にこれまでに知られているどの品種にも当てはまらない形態的特徴を持つ個体も採集された(図2)。これらについて塩基配列を比較した結果、何れの個体も相同な配列を示した。本種の品種についてはその独立性も指摘されているが、今回、形態的な変異が著しい上に形態的な中間形も存在し、更に比較領域で塩基配列に相違が見られなかったことから、これらの間には種レベルでの差異は存在せず、また、品種レベルで明確に区別することも難しいと考えられる。



図2 カムチャツカ産 *Saccharina bongardiana* の胞子体 (A: *f. bongardiana*, B: 中間体, C: *f. subsessilis*, D: *f. taeniata*)

今回調査したカムチャツカ半島西部域において、北海道と共通に見られるコンブ (*Saccharina* 属植物) はなかった。そのなかで、*S. gurunovae* は分子系統解析において北海道産チヂミコンブグループの種と近縁であることが示され、その形態は北海道固有種の *S. yendoana* に酷似していた。このことから、*S. gurunovae* かその近縁種が北海道東部から太平洋沿岸に至るチヂミコンブグループの分布拡大に関わっていることが示唆される。しかし、カムチャツカ半島東岸を南下する東カムチャツカ海流が北海道へと流れ込んでいるにもかかわらずカムチャツカと北海道との間で大きく種構成が異なることから、詳細を解明するためには(今回調査を果たせなかった)千島列島のコンブを対象とした調査が求められる。

ウラジオストク周辺の調査においては、4属5種のコンブ類が採取された。これらは何れも北海道沿岸に生育しており、塩基配列比較の結果、いずれの領域においても配列は北海道産個体と一致した。3地点を調べたピュートル大帝湾奥部の Troisa Bay では、僅か

に *Costaria costata* が混生する *S. japonica* 群落为主体である地点と、ほぼ *S. coriacea* の純群落となっている地点があり、生育環境の違いによる住み分けが確認された(図3)。更に、残りの地点と、ナホトカの Rifovaya Bay の周辺域は無節石灰藻とウニが優先する磯焼けの様子を呈していた。ウニについて、エゾパフンウニとキタムラサキウニが出現し、前者が出現したのは水温が最も低かった地点に限られていた。また、磯焼け地帯では殻径が小さく生殖巣指数の低いキタムラサキウニが高い密度と現存量で生息していることがわかった。

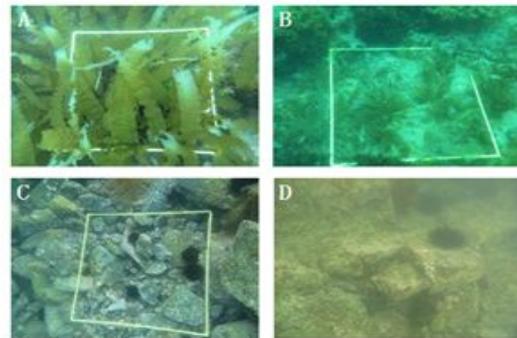


図3 ウラジオストク周辺域の海底の様子 (A~C: Troisa Bay, D: Rifovaya Bay)

マガダン周辺の調査では、コンブ類は水深12m程度まで深度別に群落を構成していたが、水深6m付近には見られず、多数のウニが生息していた。今回、採取されたコンブ類は5属6種で、他の地域では見られなかった掌状コンブである *Laminaria appressirhiza* や *L. inclinatorrhiza* が含まれていた。また、地域固有種である *Tauya basicrassa* の生育も確認され、局所的に水深9m付近に小規模群落を形成していた(図4)。分子系統解析を行ったところ、rDNA領域の塩基配列比較において *Tauya* は *Saccharina* と単系統となった。一方、2008年にマガダンで得られた小型葉体の塩基配列が *T. basicrassa* の配列と一致し、更に核染色による染色体観察から、藻体は本種の単為発生半数体であることがわかった。



図4 *Tauya basicrassa*

Unalaska から採取された65点の標本(7属15種(種名不明3点))について、その形態的特徴を調べ、各部形態撮影を画像として記録した。

今回採集されたサンプルに、ロシア極東域から広く集められたサンプルを加えて分子系統解析を行った結果、*S. bongardiana* の品種について上述の通り単一種として扱うのが妥当という結果を得た。また、2品種(*f.*

gurjanovae, f. *lanciformis*)と見なされている一方で各々の独立性も指摘されている。*S. gurjanovae*についても、それらは単一種として扱うのが妥当という結論を得た。最終的に、今回の調査とは別に集められた 20 サンプルについて、種の同定を行うことができた。

1889 年から 2001 年までの間に公表された文献中に記述のあるコンブ類について、属ごとにその報告件数を比較すると、*Saccharina* が 803 件と多く、次いで *Alaria* が 304 件であった。*Agarum*, *Alaria*, *Chorda*, *Eualaria*, *Laminaria*, *Saccharina* はロシア極東域の全ての地域で観察されたが、それ以外の属は地域が限定されていた。各地域から報告された属数は千島列島(13 属)とカムチャツカ半島(12 属)で多く、ベーリング海(8 属)で少なかった。更に、5 つの地域におけるコンブ類の生育状況の変遷を調査した結果、サハリン沿岸において生育するコンブ類の属数と種数の経年的な減少傾向が顕著であった。特に、サハリンにおいてコンブ類の観察報告数が多い 1950 年代以降に注目すると、属レベルでは 1950 年代から 1970 年代にかけて 10 属が観察されているのに対し、1980 年代から 2000 年代にかけては 6 属しか観察されていない。種レベルでは 1960 年代や 1970 年代にそれぞれ 16 種が観察されていたのに対し、1980 年代と 1990 年代ではそれらを合わせても 10 種しか観察されていない。サハリンについて、特に南西部沿岸は対馬暖流と宗谷暖流の影響下にあり、ロシア極東域のなかで最も暖流の影響を受けやすい地域である。同様に暖流の影響を強く受ける北海道の西岸では磯焼けによるコンブ類の資源量の減少や多様性の喪失が深刻化しており、サハリン南西部においても同様の現象が進行していると考えられる。

コンブ藻場内外の海藻類の調査では、サハリン南部について、日本海沿岸では先述の通り対馬海流の影響を受けており、北海道北部で見られる海藻類と共通性が見られた。一方、オホーツク海沿岸では東側の沿岸で水温が低く、西側とは異なる海藻種が生育していた。緑藻 8 種、褐藻 25 種、紅藻 32 種を採集し、押し葉標本 117 点、シリカゲル標本 73 点を作製した。カムチャツカ半島西岸について、コンブ類のみならず日本とは異なる種が多く生育することが確認できた。緑藻 9 種、褐藻 14 種、紅藻 28 種を採集し、押し葉標本 208 点、シリカゲル標本 148 点を作製した。ウラジオストク周辺について、採集地点の種構成は概ね日本の日本海沿岸のものと同様であったが、東北では見られない寒海性のナガマツモの生育が確認され、互いが異なる生育環境であることが示唆された。緑藻 5 種、褐藻 21 種、紅藻 26 種を採集し、押し葉標本 129 点、シリカゲル標本 57 点を作製した。マガダン周辺について、寒海性の種が主であったが、全体的に生育種数は多くはなく、流水の影響が大きいことがその要因の一つと考え

られる。緑藻 8 種、褐藻 10 種、紅藻 25 種を採集し、押し葉標本 166 点、シリカゲル標本 103 点を作製した。今回調査を行った地点では、各々で特徴的な海藻相が見られ、それらはその地域特有の環境を反映していると考えられる。そして、ロシア極東域および北日本周辺の多様な環境に適応して、海藻類は多様に進化してきたと推察される。

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 25 件)

Tifeng Shan, Norishige Yotsukura, Shaojun Pang. 2017. Novel implications on the genetic structure of representative populations of *Saccharina japonica* (Phaeophyceae) in the northwest Pacific as revealed by highly polymorphic microsatellite markers. *Journal of Applied Phycology*, 29: 631-638. 査読有. DOI: 10.1007/s10811-016-0888-2

Tatyana A. Klochkova, Nina G. Klochkova, Norishige Yotsukura, Gwang Hoon Kim. 2017. Morphological, molecular, and chromosomal identification of dwarf haploid parthenosporophytes of *Tauya basicrassa* (Phaeophyceae, Laminariales) from the Sea of Okhotsk. *Algae*, 32: 15-28. 査読有. DOI: 10.4490/algae.2017.32.1.31

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*, 28: 3043-3055. 査読有. DOI: 10.1007/s10811-016-0807-6

Tadashi Kawai, Nobu Nagai, Nina G. Klochkova, Norishige Yotsukura. 2015. Potential resource of *Saccharina bongardiana* for kelp fisheries in South Kamchatka, Far East Russia. *Algal Resources*, 8: 59-64. 査読有.

<http://jsap.web.fc2.com/pub.html>
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 16 件)

Tadashi Kawai. Present status of kelp *Saccharina japonica* in Far-east Russia

and Japan. 日本応用藻類学会第 15 回大会. 平成 28 年 5 月 14 日. 東京海洋大学 (東京都港区)

Tadashi Kawai. Fisheries Biology of *Saccharina bongardiana*, South Kamchatka, Far-east Russia. 日本応用藻類学会第 14 回大会. 平成 27 年 5 月 16 日. 東京海洋大学 (東京都港区)

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)

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)

Norishige Yotsukura. Present situation and assignment of biodiversity research on kelp in Japan. An international Research Meeting: Front of Diversity Research on kelp in the North Pacific. 平成 25 年 5 月 27 日. 北海道大学 (北海道札幌市)

〔図書〕(計 2 件)

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.

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〕

四ツ倉典滋. 平成 28 年度ひらめきときめきサイエンス「海の森の調査隊～おしよりの“こんぶ”の将来は！？～」. 平成 28 年 7 月 30 日. 北海道大学忍路臨海実験所

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～おしよりの“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

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～おしよりの“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

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

阿部 剛史 (ABE, Tsuyoshi)

北海道大学・総合博物館・講師

研究者番号：0 0 3 0 1 9 2 9

小亀 一弘 (KOGAME, Kazuhiro)

北海道大学・理学研究院・教授

研究者番号：8 0 2 1 5 2 1 9

川井 唯史 (KAWAI, Tadashi)

北海道立総合研究機構・水産研究本部稚内水産試験場・主査

研究者番号：9 0 6 4 4 4 1 9