

北海道産コンブ属植物の系統分類の現状 - リシリコンブを中心に -

川井唯史¹⁾・四ツ倉典滋²⁾

¹⁾ 〒046-0123 北海道共和町宮丘 261-1 北海道原子力環境センター

²⁾ 〒051-0003 北海道室蘭市母恋南町 1-13 北海道大学北方生物圏フィールド科学センター 室蘭臨海実験所

Current Remarks of Phylogeny and Taxonomy on Genus *Laminaria*

Tadashi KAWAI¹⁾ and Norishige YOTSUKURA²⁾

¹⁾Hokkaido Nuclear Energy Environmental Research Center, Kyowa, Hokkaido 045-0123, Japan

²⁾Muroran Marine Station, Field Science Center for Northern Biosphere, Hokkaido University,
Muroran, Hokkaido 051-0003, Japan.

Abstract. The laminarian species distributed in the coast of Hokkaido, Japan. Phylogeny and taxonomy of genus *Laminaria*, particularly *L. ochotensis*, based on molecular analyses were overviewed. Phylogenetic relationship was estimated from the comparison of ribosomal RNA genes (rDNA) internal transcribed spacer (ITS) -1 and *rbc* (RuBisCo)- spacer arrangements, and it was suggested that little divergence among member of *L. japonica* group; *L. japonica*, *L. religiosa*, *L. ochotensis*, *L. diabolica*, and *L. longipedalis*. Furthermore, from comparison of tandem 5S ribosomal RNA genes and the spacer region sequences, it is expected that gene flow would be happened among member of the group. However, three species among *L. japonica* group, *L. japonica*, *L. religiosa*, and *L. ochotensis*, genetically discriminated by using RAPD analysis.

Key words: Molecular Phylogeny, Taxonomy, *Laminaria*, *Laminaria ochotensis*

褐藻コンブ目にはコンブ科、アイヌワカメ科、ニセツルモ科、ツルモ科など8科が属しており、世界の沿岸域に約100種が分布している。なかでもコンブ科は、世界で約30種 (Druehl, 2000)、北海道沿岸には13種生育している (川嶋, 1993)。北海道沿岸のコンブ属の分類は北海道大学の宮部金吾博士が基礎を築いた (Miyabe, 1957)。これにより、利尻島などに分布するリシリコンブを始めとする13種が新種として記載された。その後も分類研究は進み、2004年現在、北海道沿岸には29種のコンブ目植物が分布するとされている (川嶋,

1993) (図1)。

種分類

コンブ属には形態的特徴が類似した種群があり、これらはしばしば「グループ」と称される。リシリコンブを始めマコンブ、ホソメコンブ、オニココンブ、エナガコンブは以下に示す形態が共通しているため一つのまとまりのあるグループと考えられ、マコンブグループと称されている (例えば川嶋, 1993)。このグループは葉状部 (図2参照) が帯状で、中帯部は葉幅の1/2-1/3、幼体時には二列に形成され

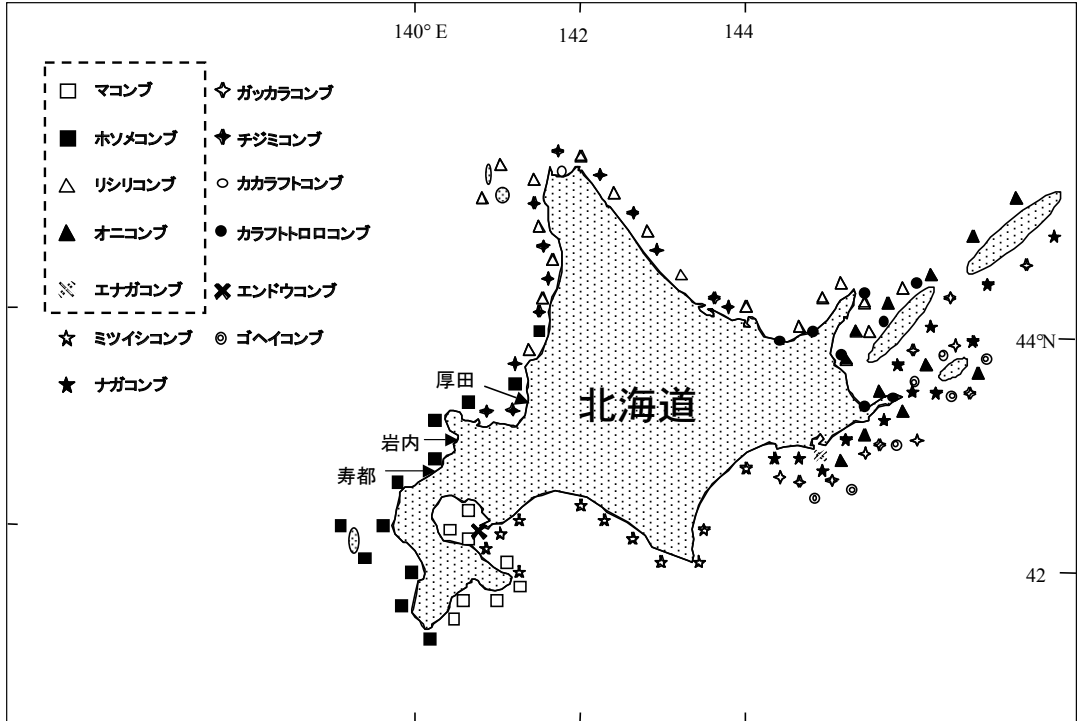


図1. 北海道沿岸のコンブ属各種の分布.

船野 (1983b), 北海道立水産試験場 (1979), 川嶋 (1993) を参考に作成. 点線はマコンブグループ構成種を示す.

る円形の凹凸紋様が葉状部に見られるが、やがて凹凸紋様が消失する点で共通している. このグループの構成種のうち、特に日本海に分布する前3者は形態が類似しているが (図3), 各種の特徴を表1に示した.

なぜ分子情報を解析するのか

従来のコンブ属の分類は主に形態的特徴に基づいており、これは簡易な形態観察だけでも多くの場合、種を識別できる長所があった. しかし、次のような欠点もある.

留萌地方をリシリコンブとホソメコンブの分布境界域とする考えがある (川嶋, 1993) が、当該地区では両種の間中間的な形質の藻体が出現することもあり、これを形態的特徴で分類することは難しい. その他にもコンブ類は安定した分類形質に乏しく、例えばリシリコンブとホソメコンブを識別する形質は、葉状部の長さ (葉長), 茎状部の長さ (茎長)



図2. コンブ属の藻体各部の名称. 川嶋(1993)を改変.

表1. マコンブグループの識別形質 (川嶋, 1993 を参考に作成)

種類	茎長 (cm)	茎径 (mm)	葉長 (m)	葉幅 (cm)	基部	中帯部 / 葉幅	縁辺部	寿命
マコンブ	5~12	5~15	1.5~3.0	20~35	円形	1/2~1/3	大きく波打つ	2年
ホソメコンブ	4~6	3~6	0.4~1.0	5~10	円形~楔型	1/3~	僅かに波打つ	1年
リシリコンブ	5~9	5~10	1.5~2.5	13~20	円形~楔型	1/2~1/3	僅かに波打つ	2年
オニココンブ	6~10	8~15	1.5~3.0	20~30	円形	1/2~1/3	大きく波打つ	2年

などとされている (川嶋, 1993). しかし, これらの形質は成長段階によって大きく変化し, 一つの群落内でも強壯な生長を示す藻体と, その下草となる貧弱な藻体で著しく異なることがある. また, リシリコンブやホソメコンブは一つの地先でも, 葉長や茎長が大きく変化することがある. 例えば, 小樽市の忍路湾は湾奥から湾口にかけての距離が800m程の小規模な湾であり, そこに生育するホソメコンブは湾奥が湾口に比べて大型の藻体が多い (船野, 1983a). また, 一般にリシリコンブの葉長などは年により大きく変化することも知られている.

このように, コンブ属の形態分類においてはいくつかの問題点があり, 新たな分類基準が長年求められてきた. 近年, 生物系統分類の新しい手法として,

分子情報が利用されることがある. DNA 情報を数値化することで, より客観的に生物間の系統縁関係が推定できる. そのため分子情報の解析は形態観察に基づく分類の問題点を補っている.

DNA 情報の解析で分かったこと

海藻類の DNA 解析比較対象領域は, 高等植物の手法に準じている部分が多く, タンパク質合成に関わる「リボゾーム RNA の遺伝子 (rDNA)」や光合成の過程で二酸化炭素を固定する「リブロース2リン酸カルボキシル化酵素を構成する大小サブユニット遺伝子 (rbcL, rbcS)」に関する報告が多くなされてきた. 例えばコンブ属が含まれる褐藻類では分類階級の目や科のレベルの解析には「rDNA の小サブユニット (Small

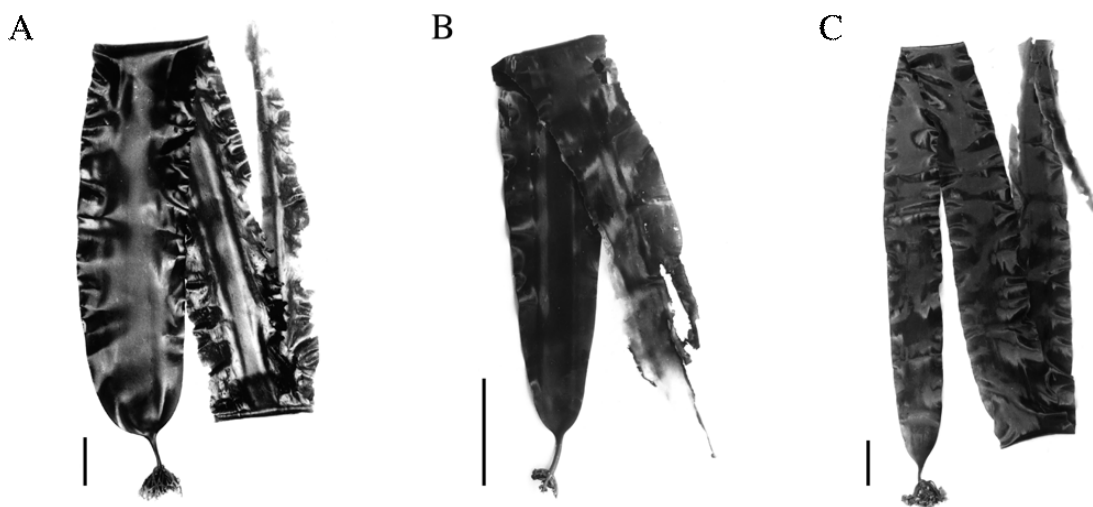


図3. マコンブグループの4種類.

A, マコンブ *Laminaria japonica* (1990年7月9日戸井町で採集). B, ホソメコンブ *L. religiosa* (1991年6月18日小樽市で採集). C, リシリコンブ *L. ochotensis* (1993年6月16日利尻町で採集). スケールは10cm. 四ツ倉・川井 (2003), 川嶋 (1993) より引用.

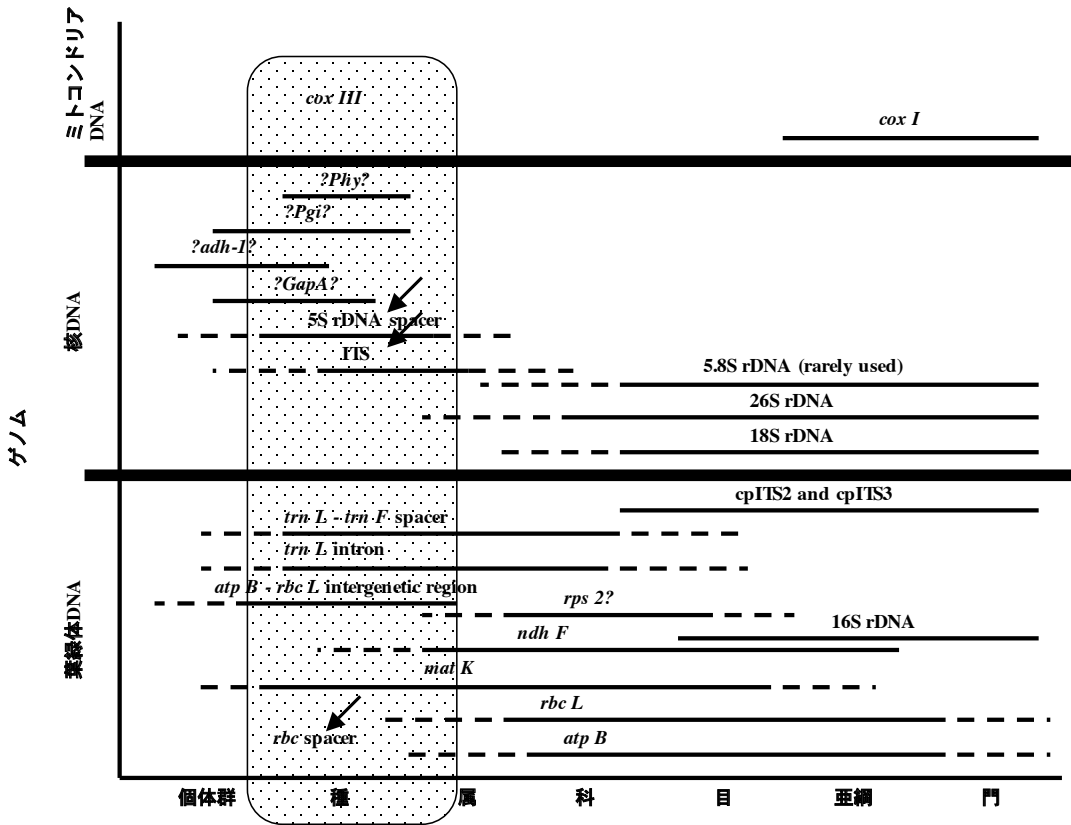


図4. 分析対象と分析領域の概念図. Soltis et al., (1998) を参考に作成.

Subunit: SSU)」や「*rbcL*」などの配列を、属や種さらには個体群レベルの解析には「rDNA の転写スペーサー領域 (Internal Transcribe Spacer: ITS-1, 2)」や「*rbcL*-*rbcS* 間のスペーサー領域 (*rbc*-spacer)」などの配列を比較対照にすることが多い (図4). rDNA ITS-1 と *rbc*-spacer の解析に基づき、北海道産を中心としたコンブ目の系統樹を作成したところ (四ツ倉・川井 2003) (Yotsukura, et al, 1999), 以下のことが示された.

まず、コンブ目は以下の6系列に分かれた (図5-A). 系列1: ひだ状の胞子葉が形成されるワカメなど, 系列2: なた豆状の胞子葉を形成するチガイソなど, 系列3: 葉面に穴が開き, 葉幅が広がるスジメなど, 系列4: 葉面に裂け目が入り, 中帯部が無いゴヘイコンブ, 系列5: 葉状部が帯状で中帯部が形成されるリシリコンブなど, 系列6: 葉面に

耳形体を形成するネコアシコンブ. この中で系列5は4つに細分化される (図5-B). ①: 龍紋を終生形成するガゴメなど, ②: 凹凸紋様を終生形成するチヂミコンブ, カラフトコンブ, アツバスジコンブなど, ③: 凹凸紋様を終生形成しないミツイシコンブなど, ④: 凹凸紋様が生長の過程で消失するリシリコンブ, マコンブなど. ここで, 特筆すべきこととして, ④はマコンブ, ヤヤンコンブ (通常はマコンブの地方変異とされる), ホソメコンブ, リシリコンブ, オニコンブ, エナガコンブが属しており, これはマコンブグループと種構成が同一である. また, マコンブグループは種間で形態が類似していることが従来から指摘されていたが (川嶋, 1993), rDNA ITS-1 と RuBisco スペーサーの塩基配列は④に含まれる全ての種で完全に一致していた.

多くの褐藻類で種の違いを検出するのに有効な

rDNA ITS-1 と RuBisco スペーサーで塩基配列が完全に一致したマコンブグループは、種分化の程度が極めて低いことが示唆される。従来、別種として認識されていたマコンブグループは、別種として扱うのが妥当か再検討する必要がある。

さらなる分子情報解析から分かったこと

rDNA ITS-1 と RuBisco スペーサーで塩基配列が完全に一致している種間で、さらに詳細な解析を行うため、より置換速度の速い 5SrDNA のスペーサー領域 (図 4) の塩基配列比較に基づき (Yotsukura et al., 2002), リシリコンブが含まれる、葉状部が帯状で中帯部が形成される系列 5 (図 5-A) の 4 系統 (①~④) (図 5-B) で無根の系統樹を作成した (四ツ倉・川井, 2003) (図 6)。この解析の結果, 系列①と②, 系列③と④に大別され, 系列①と②では, 枝分かれの状況は必ずしも種, 産地の違いを反映していなかった。そして③と④はあまり遺伝的な距離が離れていないが, ④は一つの系列と見なすことができる。④では形態による類似性でまとめられたマコンブグループ全種が属しているが, この遺伝的距離は短く, その値は例えばチヂミコンブの個体間よりも遺伝的な距離が短かった。このことからマコンブグループの種分化の程度は低いことが改めて確認された。

遺伝子解析の結果と、染色体数・交雑・移植試験との比較

生物種の一つの概念として「生殖的隔離」があり, 同一種では交雑して子孫を残すことができるが, 異種間では交雑して子孫を残せないことが多い。この概念に基づくと, 交雑の可否は同一種か別種かを判別する参考となる。北海道大学の藪熙博士は, エナガコンブを除くマコンブグループ間で交雑試験を行った結果, リシリコンブ, マコンブ, ホソメコンブが相互に, またオニコンブとマコンブが交雑し, 当グループは種分化が進んでいないと考えている (Yabu, 1964)。このことはマコンブグループの種分化の程度が低いとした上記の遺伝子の解析結果と整合性がある。

また種が異なると染色体数が異なることが多い

が, マコンブグループの 4 種は染色体数がすべて $n=32$ で同一であり (Lewis, 1996), 遺伝子解析結果を裏付けている。

一方, 水産庁の三本菅善明博士は, マコンブグループのマコンブ, ホソメコンブ, リシリコンブを同一養殖施設で育成して形態を比較した (Sanbonsuga, 1984)。その結果, リシリコンブとマコンブは葉長, 葉幅, 葉厚が大きく, ホソメコンブは小型であった。さらにマコンブとリシリコンブは再生現象を示したマコンブは全く再生することが無かった。

DNA 多型解析とは

これまでの遺伝子解析, 染色体数, 交雑・移植試験の結果を総合的に勘案すると, マコンブグループは種分化の程度が低いと考えて良いだろう。ところで, リシリコンブ製品の「出し汁」は, マコンブグループの他種と異なり, 薄い塩味の最高級の出し汁が取れ, マコンブは澄んでいてまろやかで甘味のある出し汁, オニコンブは黄色く濁り濃厚で甘味のある出し汁が取れ, ホソメコンブは出し汁の香りが弱い (上田ら, 2003)。「味の違い」は系統分類の関係と必ずしも対応したものではないが, 留意すべき情報となろう。そのため分子情報にグループ内の種を識別することが可能な違いがあるかもしれない。そこで, マコンブグループを分子情報の違いから区別する方法について検討した。

形態によるグループ分けが困難なサンプルを, 遺伝子情報に基づき区別する場合, DNA 多型解析の一手法である RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) が適用されることがある。この方法は, 任意に作成したプライマーを数種類用意して, 全 DNA を対象にして増幅させた後に, 電気泳動法でバンドを出現させる。これをいくつかのサンプルにおいて行くと, 各サンプルにおいて通常数本のバンド (DNA 断片) が出現するが, 各サンプル間におけるバンドの相対的な類似性に基づき各サンプルの遺伝的変異を検出できる。

DNA 多型解析で分かったこと

リシリコンブを中心としたマコンブグループ各種

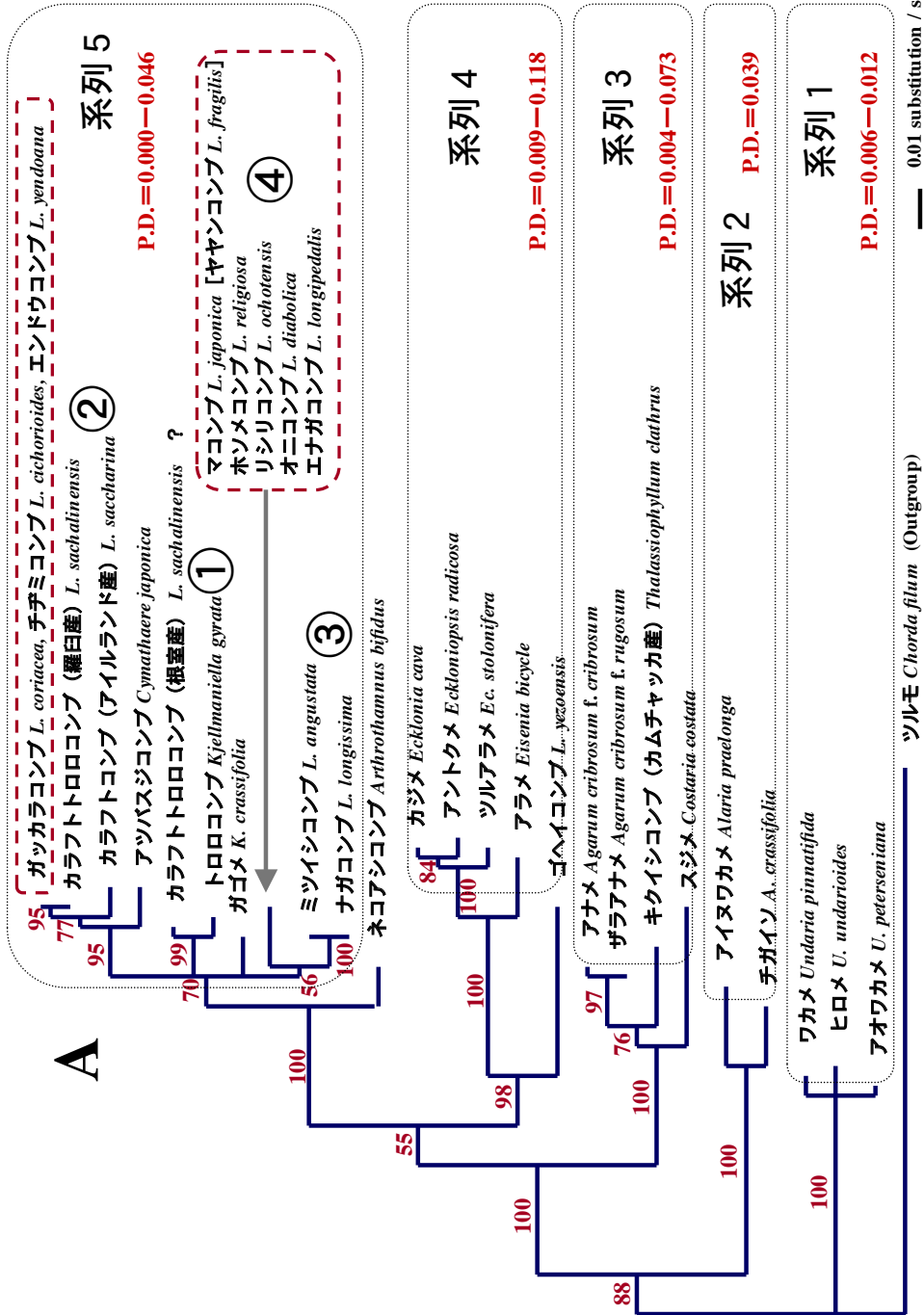
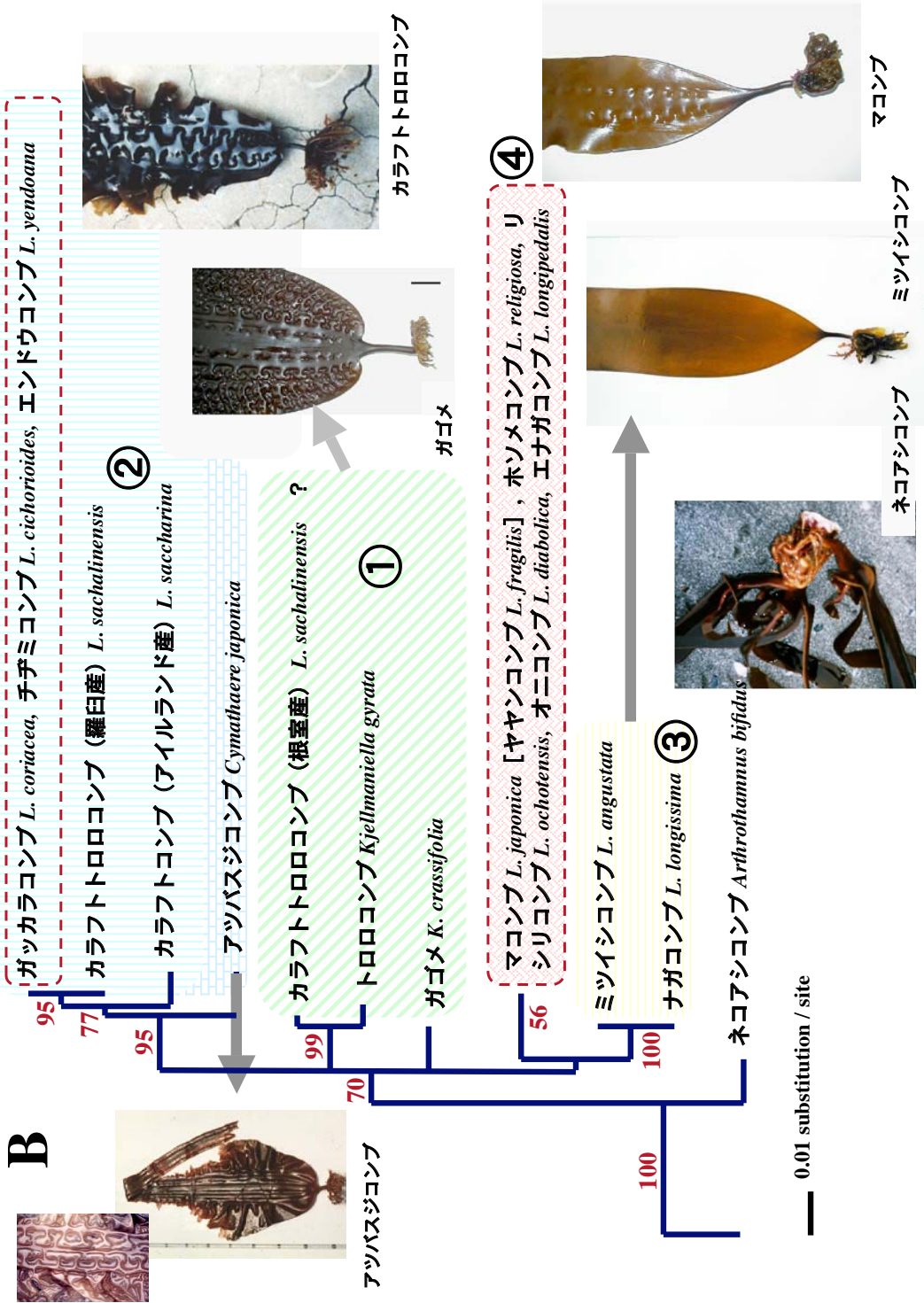


図5. rDNA ITS-1 および RuBisco スペーサーの塩基配列比較に基づく北海道産コンブ目(アイランド産カラフトコンブを含む)の近隣接合系統樹. A.5 系列に分かれた.

B. 系列5は①～⑤に分かれた. 枝上の数字はブートストラップ値 (1000rep., 50%以上を表示). P. D. = Pairwise distances. (四ツ倉・川井, 2003より引用).



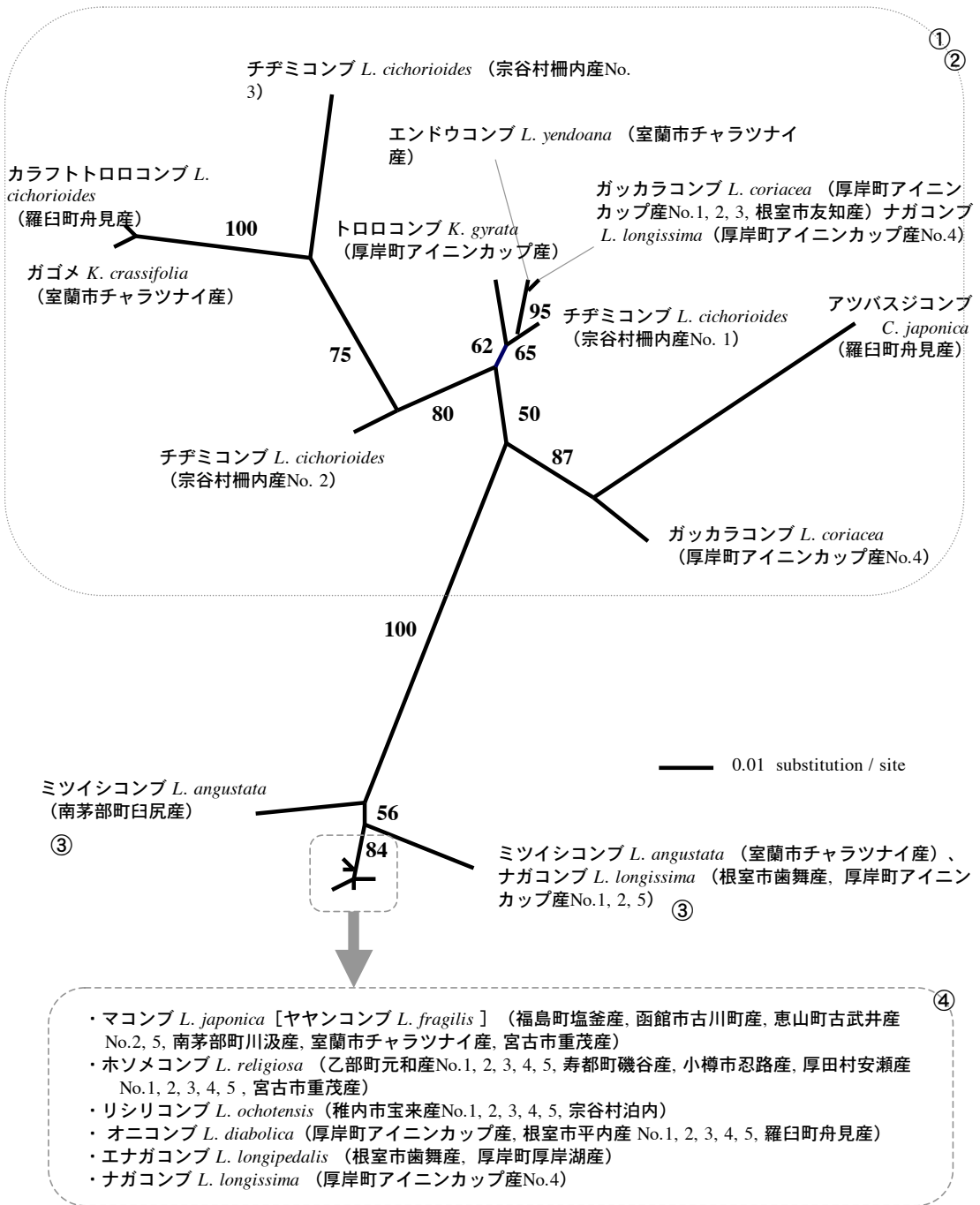


図6. 5S rDNA スペーサーの塩基配列比較に基づく北海道産コンブ目の近隣接合系統樹。枝上の数字はブートストラップ値 (50% 以上を表示) (四ツ倉・川井, 2003 より引用)。

でDNA多型分析を行ったところ、マコンブ、ホソメコンブ、リシリコンブのバンドの出現状況は、それぞれ異なり、各種固有のバンドが出現し、3者は遺伝的に識別できることが明らかになった(図7)。DNA多型解析の結果も加味して、著者らは「マコンブグループの各種は遺伝的に類似しているが、グループの各種はそれぞれ分布の中心域の藻体についてDNA多型解析により明確に区別できる」との考えを持った。

日本海でのリシリコンブの分布

北海道日本海沿岸におけるリシリコンブとホソメコ

ンブの分布域に関しては、複数の見解がある。神田(1946)はリシリコンブが宗谷地方から石狩地方に分布し、ホソメコンブは石狩地方から渡島地方まで分布しているとしているが、石狩地方に明瞭な分布境界域が存在するのではなく、リシリコンブは渡島地方の白神岬まで出現することもあるとしている。それに対し、長谷川(1959)は利尻・礼文島でのホソメコンブの生育を記録している。船野(1983b)は、遠藤(1911)を始め長谷川(1959)、北海道立水産試験場(1979)を参考にして、リシリコンブは石狩地方まで分布してとしている。また川嶋(1993)は、リシリコンブの日本海側の分布は留萌地方までであるが、後志地方の寿都

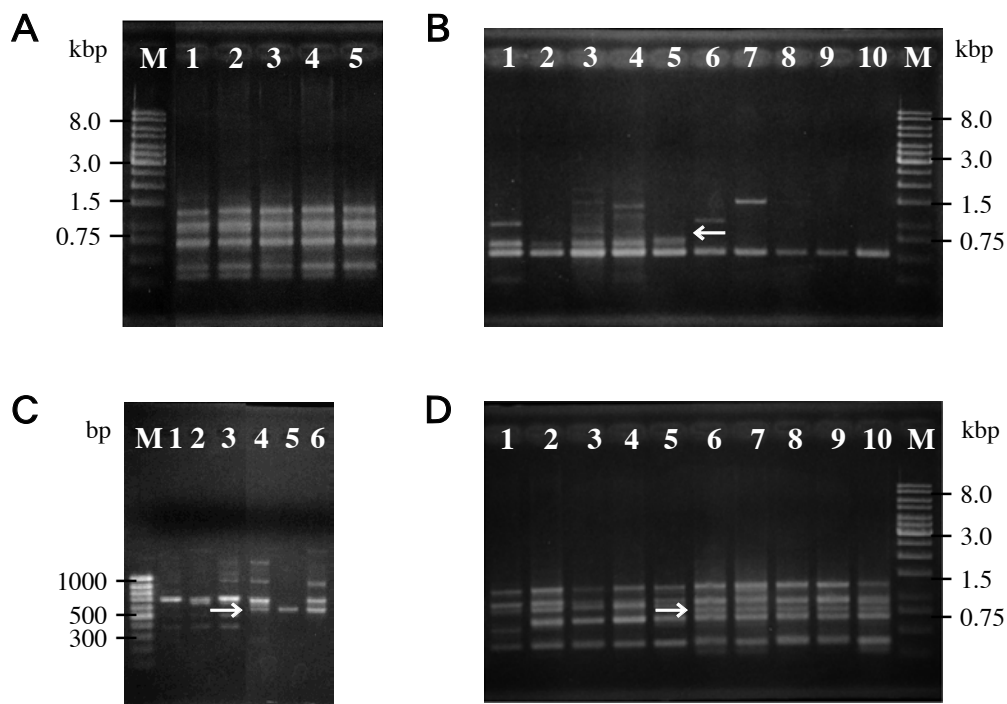


図7. 日本海に分布するマコンブグループにおけるRAPDによるバンドパターン
(矢印は種特異的なRAPDマーカ、Mはバンドの基準値を示す)。

A,1-5: ホソメコンブ *Laminaria religiosa* (乙部町元和産)

B,1-5: マコンブ *L. japonica* (戸井町古武井産), 4-6: ホソメコンブ *L. religiosa* (小樽市忍路産)

C,1-5: マコンブ *L. japonica* (戸井町古武井産), 6-10: リシリコンブ *L. ochotensis* (稚内市宝来産)

D, 1-5: ホソメコンブ *L. religiosa* (小樽市忍路産), 6-10: リシリコンブ *L. ochotensis* (稚内市宝来産)

Aでは各レーン同一個体から別々に抽出・精製したDNAを用いた。B,C,Dでは各個体から抽出・精製したDNAを用いた(四ツ倉・川井, 2003より引用)。

町周辺には特異的にリシリコンブと形態が類似する地域個体群が分布するとしている。このように日本海におけるリシリコンブとホソメコンブの分布に関しては、いくつかの見解があるが、総じて石狩・留萌地方以北では主にリシリコンブが、以南では主にホソメコンブが生育しており、両種の分布境界は不明瞭である。

離散的個体群

北海道日本海南西部に位置する寿都町磯谷地区、岩内町野東地区、厚田町嶺泊地区（図1）のホソメコンブ3地域個体群の外部形態は、マコンブやリシリコンブに酷似し、2年目に移行する（通常ホソメコンブは1年生）（表1）藻体の出現頻度が高い（船野, 1983b；川嶋, 1993；赤池ら, 2002）。

これら2年生の地域個体群のうち、厚田地区の藻体についてRAPDを行った結果、それらは（1年生）ホソメコンブやマコンブよりもリシリコンブと遺伝的に近いことが明らかになった（Yotsukura et al., 2001）。すなわちリシリコンブは主産地である利尻島周辺から離れた、ホソメコンブ生育地帯に生育しているとも考えられる。

名畑ら（1993）は、1年生のホソメコンブと2年生の寿都町磯谷産のコンブを、小樽市忍路の同一養殖施設で養成した。その結果として、2年目への再生率は磯谷産コンブ類の藻体の方がホソメコンブより有意に高く、ホソメコンブと寿都町磯谷産コンブにおける寿命に関係する遺伝子情報に差があることを示唆している。

コンブ属の遊走子は、最速およそ160 μ mm/sec（Fukuhara et al, 2002）で遊泳し、その遊泳時間は低水温環境下で長くなることが確かめられている（神田, 1946；Fukuhara et al, 2002）。例えばリシリコンブが遊走子を放出するのは主に秋から冬であり（新原ら, 1980）、この時期、利尻島が位置する日本海では水温が低下し、波浪は激しくなることから（川井ら, 2003）、放出された遊走子が遠い距離まで移動できると考えられる。例えば周囲にリシリコンブ群落がなく見当たらない沖合に設置された定置網の浮玉にリシリコンブが付着することがあり、また海藻群落が殆ど見られない磯焼け地帯に新基質を冬季に設置すると翌

年には大量のリシリコンブが繁茂することは一般的なことである。先述した厚田村などの2年生の藻体が生育する場所では、周辺の1年生ホソメコンブ分布域から遊走子が移入して来ると思われるが、周辺の1年生の個体群と遺伝的に識別可能である。どのような機構でこのような遺伝的差異が保たれるのかは今後明らかにすべき問題である。

著者らによる最近のコンブ属を初めとしたコンブ目各種の遺伝子解析により、リシリコンブが含まれるコンブ属の系統的な位置が明らかになり、マコンブグループ各種の種分化の程度が極めて低いものの、主産地におけるリシリコンブ、マコンブ、ホソメコンブは遺伝的に識別可能となった。そして、リシリコンブが一般的に分布する場所より南の石狩地方以南で、リシリコンブと遺伝的に近縁な地域個体群が離散的に存在することも明らかになった。今後は、リシリコンブに関して、マコンブグループ内の系統的な位置、周辺に分布するホソメコンブ、オニココンブとの遺伝子交流の実態を把握することなどが求められる。

謝辞

本稿の作成に対して協力いただいた川嶋昭二博士、佐藤雅彦学芸員を始めとした利尻町立博物館の皆様へ深謝します。本稿は利尻島調査研究事業の助成を受けて作成した。

文献

- 赤池章一・津田藤典・桑原久実, 2002. 北海道岩内沿岸における天然コンブ群落の形成と維持. 北海道水産試験場研究報告, 63: 41-54.
- Druehl, L., 2000. Pacific seaweeds. A guide to common seaweeds of the west coast. Harbour Publishing, BC Canada.
- Fukuhara, Y., H. Mizuta, & H. Yasui, 2002. Swimming activities of zoospores in *Laminaria japonica* (Phaeophyceae), Fisheries Science, 68: 1173-1181.
- 船野 隆, 1983a. ホソメコンブの生態—第2報, 小樽市忍路湾の年齢と着生地の異なる個体群の生

- 態, および総合考察一. 北海道水産試験場研究報告, 25: 111-186.
- 船野 隆, 1983b. 北海道の産業種コンブの種分化と品種改良. 水産育種, 8: 54-62.
- 長谷川由雄, 1959. 北海道沿岸産有用コンブ族植物の分布. 北水試月報, 16 (6): 3-8.
- 北海道立水産試験場, 1979. 北海道周辺における浅海資源の概況. 北水試月報, 36(12): 65-75.
- 神田千代一, 1946. 北海道沿岸産コンブ族植物の発生学的研究. 函館水産専門学校水産科学研究所報告, 1: 1-44.
- 川井唯史・金田友紀・桑原久実, 2003. ウニ侵入防止フェンス内におけるホソメコンブ群落に適する底面波浪平均流速とウニ類除去時期. 水産工学, 39(3): 213-218.
- 川嶋昭二, 1993, 日本産コンブ類図鑑. 北日本海洋センター, 札幌.
- Lewis. R. J., 1996. Chromosomes of the brown algae. *Phycologia*, 35(1): 19-40.
- Miyabe, K., 1957. On the Laminariaceae of Hokkaido (1902) (An English Edition). *The Journal of the Sapporo Agricultural College*, 1: 1-50 with plates 1-29.
- 名畑進一・阿部英治・垣内政宏, 1993. 寿都町磯谷産2年生コンブの生態と移植実験. 北海道立水産試験場研究報告, 43: 25-35.
- 新原義昭・名畑進一・松谷 実・武井文雄, 1980. リシリコンブの成熟と胞子体発芽数の周年変動及び日周変動. 北海道立水産試験場報告, 22: 7-16.
- Sanbonsuga, Y., 1984. Studies of the growth of *Laminaria japonica*. *Bulletin of Hokkaido Region Fisheries Research Laboratory*, 49: 1-78.
- Soltis, D. E., P. S. Soltis, & J. J. Doyle, 1998. *Molecular systematics of plants II, sequencing*. Kluwer Academic Publishing, Boston.
- 上田吉幸・前田圭司・嶋田 宏・鷹見達也(編集), 2003. 新北のさかなたち. 北海道新聞社. 札幌.
- Yabu, H. 1964. Early development of several species of *Laminaria* in Hokkaido. *Memories of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University*, 12:1-72.
- 遠藤吉三郎, 1911(復刻版1994). *海産植物学*. 成山堂. 東京.
- 四ツ倉典滋・川井唯史, 2003. コンブ類の育種研究と分子情報. 能登谷正浩編, シリーズ応用藻類学の発展 1, 海藻利用への基礎研究—その課題と展望—: 21-47. 成山堂書店. 東京.
- Yotsukura, N., Kawai, T., Motomura, T., Ichimura, T. 2001. Random amplified polymorphic DNA markers for three Japanese laminarian species. *Fisheries Science*, 67: 857-862.
- Yotsukura, N., Kawai, T., Motomura, T., Ichimura, T. 2002. Tandem 5S ribosomal RNA genes and the spacer region sequences of three Japanese *Laminaria* species. *Journal of Applied Phycology*, 14:233-239.
- Yotsukura, N., Denboh, T., Motomura, T., Horiguchi, T., Coleman, A. W. & Ichimura, T. 1999. Little divergence in ribosomal DNA internal transcribed spacer-1 and -2 sequences among non-digitate species of *Laminaria* (Phaeophyceae) from Hokkaido, Japan. *Phycological Research*, 47:71-80.