

## 北海道に生育するアオサ属藻類

畠田 智<sup>a</sup>, 横山奈央子<sup>b</sup>, 増田道夫<sup>b</sup>

<sup>a</sup>北海道大学創成科学共同研究機構 060-0810 札幌市北区北10条西 8 丁目

<sup>b</sup>北海道大学大学院理学研究科 060-0810 札幌市北区北10条西 8 丁目

### *Ulva* (Ulvophyceae, Chlorophyta) in Hokkaido, Japan

Satoshi SHIMADA<sup>a</sup>, Naoko YOKOYAMA<sup>b</sup> and Michio MASUDA<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Creative Research Initiative Sousei, Hokkaido University, Sapporo, 060-0810 JAPAN;

<sup>b</sup>Department of Natural History Sciences, Faculty of Science, Hokkaido University, Sapporo, 060-0810 JAPAN  
E-mail: sshimada@sci.hokudai.ac.jp

(Received on December 7, 2006)

The genus *Ulva* in Hokkaido, Japan was investigated using a molecular phylogenetic technique based on nuclear encoded ITS2 (Internal Transcribed Spacer 2) sequences and morphological observations of ten species, including two unidentified species detected from 78 samples growing in this area. Six samples of *U. prolifera* O. F. Müller distributed in the estuary of the Nobusha River and Furubira River possessed an identical sequence of the ITS2 region with *U. procera* (K. Ahlner) Hayden & al. from its type locality, Sweden. Unidentified species 1 (*Ulva* sp. 1) had distinctive morphological characteristics such as a large crescent blade. Unidentified species 2 (*Ulva* sp. 2) was not discriminated from *U. compressa* L. by morphology.

**Key words:** *Enteromorpha*, Hokkaido, ITS2, molecular phylogeny, taxonomy, *Ulva*.

緑藻アオサ・アオノリ類は、世界各地の沿岸域に生育しており、海岸で最も目立つ海藻類の一つとして広く知られている (Abbott and Hollenberg 1976, Adam 1994, Bliding 1963, 1968, Burrows 1991, Womersley 1984, 吉田 1998). この藻群には、食品として利用されているスジアオノリや (平岡・畠田 2004)、水質浄化のためのバイオフィルター、血液凝固抑制剤などの医薬品としての有効利用が考案されているアナアオサなどが含まれる (能登谷 1999). また一方では、ミナミアオサなどのグリーンタイド種が博多湾や東京湾で大量発生し、環境問題になっている (Shimada et al. 2003).

アオサ属 *Ulva* は分類学的な歴史が古く、18世紀から登場する (Linnaeus 1753). その

後、Link (1820)によってアオサ属は2層膜状の種に限定され、1層管状の種は新設されたアオノリ属 *Enteromorpha* に含められた。最近になって、世界各地のアオサ・アオノリ類に関する分子系統学的研究が盛んに行われ、アオノリ属はアオサ属の異名にすべきことが示唆された (Blomster 2000, Shimada et al. 2003). その後、Hayden et al. (2003)によってアオノリ属はアオサ属のシノニムとされ、日本においてもこの見解が取り入れられた (平岡・畠田 2004, 吉田ら 2005). 現在、アオサ属は世界で103種、12変種、39品種が認識され (Algae base: <http://www.algaebase.org/>), 日本では18種が確認されている (吉田ら 2005).

北海道にはこれまでにアオサ属5種: アオサ *U. pertusa* Kjellman, オオバアオサ *U.*

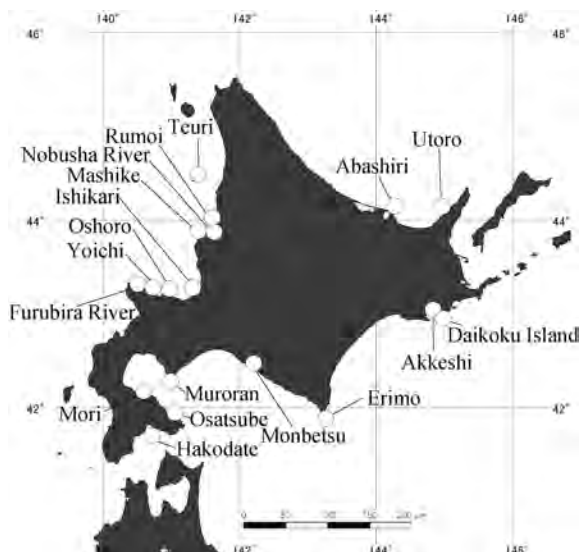


Fig. 1. Map of the sampling locations in Hokkaido, Japan.

*lactuca* L., ウ斯巴アオノリ *U. linza* L. [*E. linza* (L.) J. Agardh], ヒラアオノリ *U. compressa* L. [*E. compressa* (L.) Nees], ボウアオノリ *U. intestinalis* L. [*E. intestinalis* (L.) Nees], スジアオノリ *U. prolifera* O. F. Müller [*E. prolifera* (O. F. Müller) J. Agardh]が報告されている(阿部 1997, 藤田・津田 1987, 川井・黒木 1982, 名畑 1991, 佐藤 1993, Shimada et al. 2003, 山田 1942)。

しかし、アオサ属は体制が単純で分類形質が少なく同定が容易ではない。しかも種によっては、その分類形質が環境によって変化しうることが報告されている：外部形態 (Mshigeni and Kajumulo 1979), 分枝の有無 (Blomster et al. 1998), 藻体の厚さ (Bliding 1968, Phillips 1988), 細胞の大きさ (Koeman and van den Hoek 1980), 基部の細胞形態 (Coat et al. 1998), 藻体縁辺部分の鋸歯の有無 (Phillips 1988), ピレノイドの数 (Malta et al. 1999)。したがって、天然藻体は形態データだけでは正しい同定が出来ない。

近年、アオサ属藻類に関しては核コード ITS (Internal Transcribed Spacer) 領域や葉緑体コード *rbcL* (large subunit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase) 遺伝子など

の DNA マーカーを用いた系統分類学的研究が進み、世界中のデータが蓄積されている (Blomster et al. 1998, 1999, Coat et al. 1998, Malta et al. 1999, Tan et al. 1999, Woolcott and King 1999, Blomster 2000, Bae and Lee 2001, Hayden et al. 2003, Shimada et al. 2003, Hayden and Waaland 2004, Hiraoka et al. 2004)。同定したい株の塩基配列を明らかにし、これらのデータと比較することで、世界中のアオサ属藻類との系統関係が明らかになり、種同定の一助となっている。

そこで本研究では、北海道に生育するアオサ属藻類相を明らかにすることを目的とし、北海道内各地でのサンプリング、核コード ITS2 領域を用いた分子系統解析および外部形態・細胞形態に関する観察・測定を行った。

#### 材料および方法

2004年4月から10月までの期間、北海道内各地の沿岸域18カ所で78個体を採集した。これら採集月日と採集地点は Fig. 1, Table 1 に示した。採集した藻体は生かしたまま研究室に持ち帰り、藻体全体と顕微鏡による藻体中部縁辺部の細胞表面観および断面観を観察し、藻体長、藻体幅、表面観での細胞長径、

Table 1. Samples of *Ulya* species used for molecular phylogeny in this study

Species	Locality	Collection date	Sample and accession number	
<i>U. pertusa</i>	Oshoro	2004/4/8	NY3 (AB275771), 5 (AB275772)	
		2004/6/22	NY75 (AB275773)	
	Teuri	2004/7/5	NY77 (AB275774), 78 (AB275775), 79 (AB275776)	
	Murooran	2004/5/18	NY82 (AB275777), 86 (AB275778)	
		2004/8/17	NY98 (AB275780), 101 (AB275781)	
	Abashiri	2004/8/15	NY95 (AB275779)	
		2004/8/17	NY122 (AB275784)	
	Ishikari	2004/8/19	NY115 (AB275782)	
	Mashike	2004/8/19	NY116 (AB275783)	
	Yoichi	2004/9/15	NY127 (AB275785)	
	Osatsube	2004/10/4	NY142 (AB275786)	
	Akkeshi	2004/10/19	NY143 (AB275787)	
	<i>U. lactuca</i>	Mashike	2004/4/16	NY10 (AB275805)
		Ishikari	2004/4/16	NY11 (AB275806), 12 (AB275807), 13 (AB275808)
2004/8/19			NY110 (AB275819)	
Erimo		2004/4/22	NY31 (AB275809), 32 (AB275810), 34 (AB275811), 45 (AB275814)	
Monbetsu		2004/4/22	NY41 (AB275812), 42 (AB275813)	
Mori		2004/4/30	NY66 (AB275815), 67 (AB275816), 68 (AB275817)	
Utoro		2004/8/15	NY90 (AB275821)	
Murooran		2004/8/17	NY100 (AB275818)	
Daikoku Island		2004/9/7	NY125 (AB275820)	
<i>U. armoricana</i>		Hakodate	2004/4/30	NY54 (AB275824), 57 (AB275825), 62 (AB275826)
<i>U. compressa</i>		Hakodate	2004/4/30	NY53 (AB275827), 59 (AB275828), 61 (AB275829), 63 (AB275830)
	Oshoro	2004/6/22	NY73 (AB275831)	
	Rumoi	2004/8/19	NY118 (AB275832)	
<i>U. intestinalis</i>	Utoro	2004/8/15	NY91 (AB275836), 92 (AB275837)	
<i>U. flexuosa</i>	Oshoro	2004/6/22	NY74 (AB275834)	
	Ishikari	2004/8/19	NY114 (AB275835)	
<i>U. linza</i>	Oshoro	2004/4/8	NY8 (AB275788)	
		2004/6/22	NY76 (AB275800)	
	Monbetsu	2004/4/22	NY20 (AB275789), 21 (AB275790), 22 (AB275791), 23 (AB275792), 24 (AB275793), 25 (AB275794)	
	Hakodate	2004/4/30	NY51 (AB275795), 52 (AB275796), 55 (AB275797), 58 (AB275798)	
	Teuri	2004/5/13	NY71 (AB275799)	
	Murooran	2004/8/17	NY102 (AB275801), 103 (AB275802)	
	Ishikari	2004/8/19	NY111 (AB275803), 112 (AB275804)	
	<i>U. prolifera</i>	Nobusha River	2004/8/19	NY104 (AB275838), 105 (AB275839), 106 (AB275840), 107 (AB275841), 108 (AB275842), 109 (AB275843)
		Furubira River	2004/9/15	NY128 (AB275844), 129 (AB275845)
	<i>Ulva</i> sp. 1	Oshoro	2004/4/8	NY4 (AB275822)
Mashike		2004/4/16	NY9 (AB275823)	
Hakodate		2004/4/30	NY56 (AB281135)	
<i>Ulva</i> sp. 2	Rumoi	2004/8/19	NY117 (AB275846), 119 (AB275847)	
	Yoichi	2004/9/15	NY126 (AB275872)	

断面観での藻体の厚さを計測し、葉緑体の位置を確認した。細胞当たりのピレノイド数は、細胞内顆粒によって計測することが不可能な場合が多く、本研究では計測しなかった。DNA 抽出用サンプルは、藻体の一部（湿重量約100 mg）を滅菌海水で洗浄し、滅菌乾

燥させた。藻体は押し葉標本とし北海道大学大学院理学研究科標本庫（SAP 100099–100125, 100127–100144, 100433, 100434）に保存した。

上述の DNA 抽出用乾燥サンプルから DNeasy Plant Mimi Kit (QIAGEN 社)を用いて

DNA を抽出した。PCR 反応における 1 サンプル当たりの分量は Takara Ex taq = 0.2  $\mu$ L, PCR バッファ = 3.0  $\mu$ L, dNTPmix = 2.3  $\mu$ L (以上 Takara 社), Forward プライマー = 0.5  $\mu$ L (5'-CTCTCAACAACGGATATCT-3'), Reverse プライマー = 0.5  $\mu$ L (5'-TGATATGCTTAAGTTCAGC-3'), DMSO = 1.5  $\mu$ L, DW = 21.0  $\mu$ L, 抽出 DNA = 1.0  $\mu$ L の合計 30  $\mu$ L で, 反応条件は 94 °C = 45 秒, 50 °C = 45 秒, 68 °C = 60 秒を 35 サイクルで行った。PCR 産物 5  $\mu$ L を, Mupid EXU (Advance 社) を用いて 1% アガロースゲルにて電気泳動し, バンドの有無を確認した。バンドが現れた残りの PCR 産物は, PCR Purification Kit (Qiagen 社) で精製し, ダイターミネーター法シークエンスキット・BIG DYE v. 3.1 (Applied Biosystems 社) を用いてサイクルシークエンスを行った。反応条件は, 96 °C 30 秒, 50 °C 15 秒, 60 °C 240 秒の 25 サイクルである。サイクルシークエンス反応産物は BIG DYE v. 3.1 のプロトコルに従い, エタノール沈殿にて精製し, ダイレクトシークエンス法で塩基配列を決定した (ABI PRISM 310 Genetic Analyzer, Applied Biosystems 社)。

GenBank に登録されている 27 種の配列をダウンロードし, 本研究で決定した 78 サンプルとともに二次構造を考慮してアライメントを行った (Zuker 1989)。アウトグループには著者らが以前の研究で使用した *Umbraulva amamiensis* (Tanaka) Bae & Lee と *Umbraulva japonica* (Holmes) Bae & Lee を用いた (Shimada et al. 2003)。同一の配列およびアライメントが不明確な部位 (113bp–128 bp, 152 bp–162 bp) はアライメントから除き, 系統解析を行った。最尤法による系統解析には PAUP 4.0b10 (Swofford 2002) を用い, Takahashi and Nei (2000) に従いモデルは JC69 (Jukes and Cantor 1969) に設定し, heuristic search (simple addition), TBR branch swapping option にて最尤系統樹を構築した。Bootstrap 値は 100 回繰り返して算出した。

本研究で採集した藻体の種同定は, まず, 分子系統樹の結果を参考にし GenBank に登録されている配列と同一もしくは近縁になった種を第一候補とした。その後, 本研究による外部形態・細胞形態観察の結果を, その候

補種と比較して同定した。

### 結果および考察

最尤系統樹を Fig. 2 に示した。系統解析と形態学的観察の結果から, 北海道には 10 種のアオサ属が生育していることが示唆された。以下にこれら 10 種の北海道での採集地点, 形態, 系統的位置, 分布およびノートについて記載・考察する。

#### 1. アナアオサ *Ulva pertusa* Kjellman

採集地点: 忍路 Oshoro, 天売 Teuri, 室蘭 Muroan, 網走 Abashiri, 石狩 Ishikari, 増毛 Mashike, 余市 Yoichi, 尾札部 Osatsube, 厚岸 Akkeshi.

形態: 長さ 22–360 mm, 幅 22–392 mm, 厚さ 30.9–(平均 47.5)–77.2  $\mu$ m, 円形もしくは不規則な楕円形で, 大小不同の多くの孔が存在し, 不規則に破れる場合が多い。基部を囲むように藻体が生長する (Fig. 3)。藻体縁辺に微細な鋸歯は無い。細胞は比較的大きく, 長さ 18.6–(平均 20.1)–29.1  $\mu$ m, 不規則な四~五角形で角が丸く, 表面観では葉緑体が細胞の縁辺に位置する (Fig. 4)。

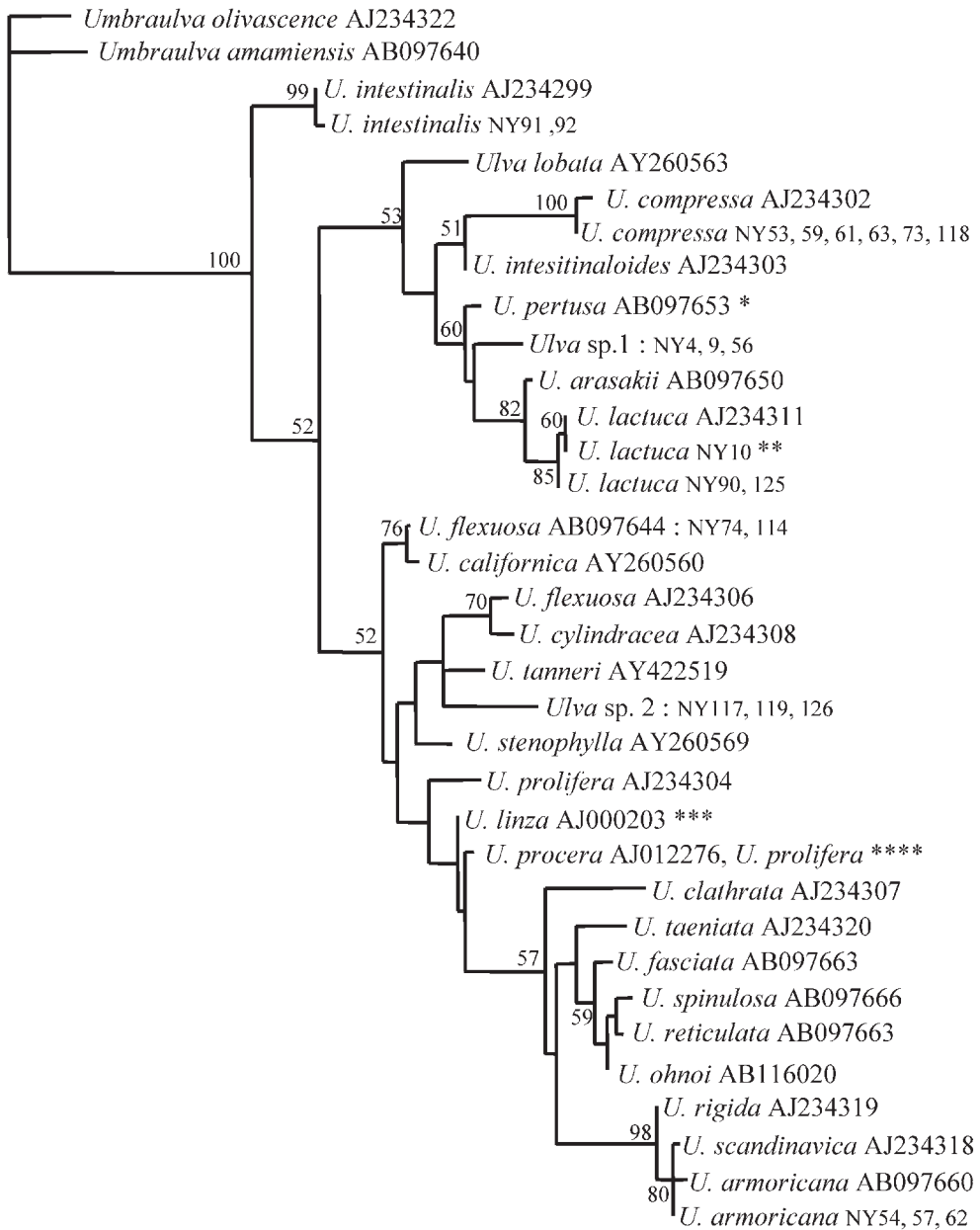
系統的位置: オオバアオサ *U. lactuca* L. やナガアオサ *U. arasaki* Chihara と近縁で, 藻体縁辺に微細な鋸歯が無い系統群を構成する。

分布: 本種は日本各地に生育する普遍種で, これまで日本近海でしか報告がなかったが, 最近になって南カリフォルニアでも生育が確認された (Hayden and Waaland 2004)。

ノート: 平岡・大野 (1999) は, 本種とオランダ産 *U. rigida* C. Agardh が交雑することからアナアオサの学名として *U. rigida* が相応しい可能性を示した。一方で羽生田ら (2006) は, 本種が極東アジアからヨーロッパやオーストラリアに移入した可能性を示している。*U. rigida* のタイプ標本やタイプ産地 (Cadiz, スペイン) での詳細な調査が待たれる。

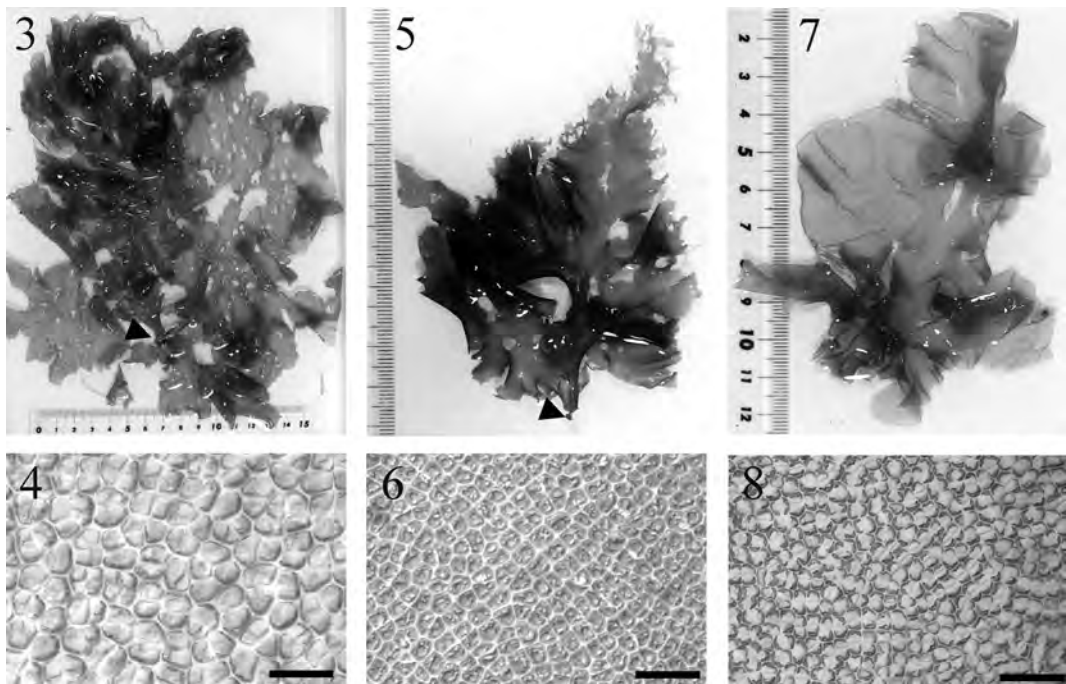
#### 2. オオバアオサ *Ulva lactuca* L.

採集地点: 増毛 Mashike, 石狩 Ishikari, 襟裳 Erimo, 門別 Monbetsu, 森 Mori, 宇土路 Utoro, 室蘭 Muroan, 大黒島 Daikoku-jima Island.



— 0.01 substitutions/site

Fig. 2. Phylogenetic tree of the maximum likelihood analysis inferred from the nuclear encoded ITS2 region of *Ulva*. *Umbraulva amamiensis* and *Umbraulva japonica* were used as outgroups. Numerals at internal nodes are bootstrap values when >50% of 100 replicates. Shades indicate the species of *Ulva* distributed in Hokkaido. \*includes NY3, 5, 75, 77, 78, 79, 82, 86, 95, 98, 101, 115, 116, 122, 127, 142, 143; \*\*includes NY11, 12, 13, 31, 32, 34, 41, 42, 45, 66, 67, 68, 100, 110; \*\*\*includes NY8, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 51, 52, 55, 58, 71, 76, 102, 103, 111, 112; \*\*\*\*includes NY104, 105, 106, 107, 108, 109, 128, 129.



Figs. 3–8. Living thalli and cells of *Ulva* species. Fig. 3. *U. pertusa* (NY130), with holdfast (arrow head). Fig. 4. Cells in surface view of *U. pertusa* (NY127). Fig. 5. *U. lactuca* (NY125), with holdfast (arrow head). Fig. 6. Cells in surface view of *U. lactuca* (NY13). Fig. 7. *U. armoricana* (NY54). Fig. 8. Cells in surface view of *U. armoricana* (NY57).

形態：長さ33–286 mm，幅35–213 mm，厚さ30.5–(平均48.3)–80.4  $\mu\text{m}$ ，基部が楔形になることが多く，藻体は長楕円形，円形もしくは不規則な楕円形で，大小不同の多くの孔が存在し，不規則に破れる場合が多い．アナアオサのように基部が囲まれるように生長することはない (Fig. 5)．藻体縁辺に微細な鋸歯は無い．細胞は小さく，長さ13.1–(平均14.8)–16.6  $\mu\text{m}$ ，四角形で規則正しく並ぶことが多い．表面観で葉緑体は細胞全体に広がる傾向にある (Fig. 6)．

系統的位：ナガアオサに最も近縁で，ナガアオサ，アナアオサと共に藻体縁辺に微細な鋸歯が無い系統群を構成する．

分布：主にヨーロッパ北部に生育している (Tan et al. 1999)，北米でも確認されている (Hayden and Waaland 2004)．日本での生育が不確定であったが (吉田 1998)，Shimada et al. (2003) による根室からの報告に続き，本研究でも北海道内上記8ヶ所で確認できた．

これまでのところ本種の日本における分布は北海道に限られている．

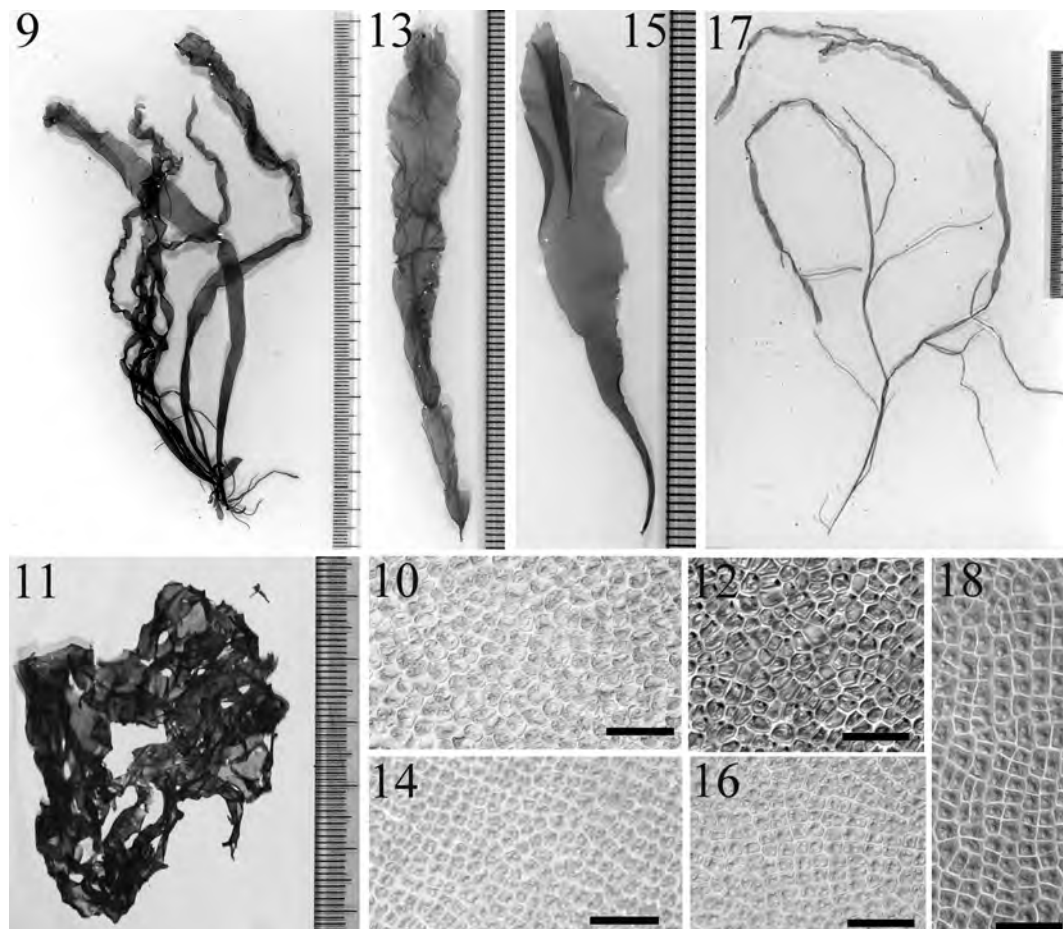
ノート：本種はアオサ属のタイプ種である．本種は藻体の上部方向への生長が強く基部は楔形になり，基部を取り囲むように生長するアナアオサと区別できる．両種は藻体中部縁辺部の厚さでは区別できない．

### 3. アオサリカ *Ulva armoricana* Dion & al.

採集地点：函館 Hakodate.

形態：長さ95–110 mm，幅43–74 mm，厚さ22.7–(平均30.9)–52.0  $\mu\text{m}$ ，円形もしくは不規則な楕円形で，大小不同の孔は少なく，藻体が破れることはない． (Fig. 7)．藻体縁辺に微細な鋸歯がある．細胞は小さく，長さ8.3–(平均10.0)–11.9  $\mu\text{m}$ ，不規則な四～五角形で角が丸く，表面観で葉緑体は細胞の縁辺や全面に位置する (Fig. 8)．

系統的位：本種はミナミアオサ *U. ohnoi* Hiraoka & Shimada など藻体縁辺に微細な鋸



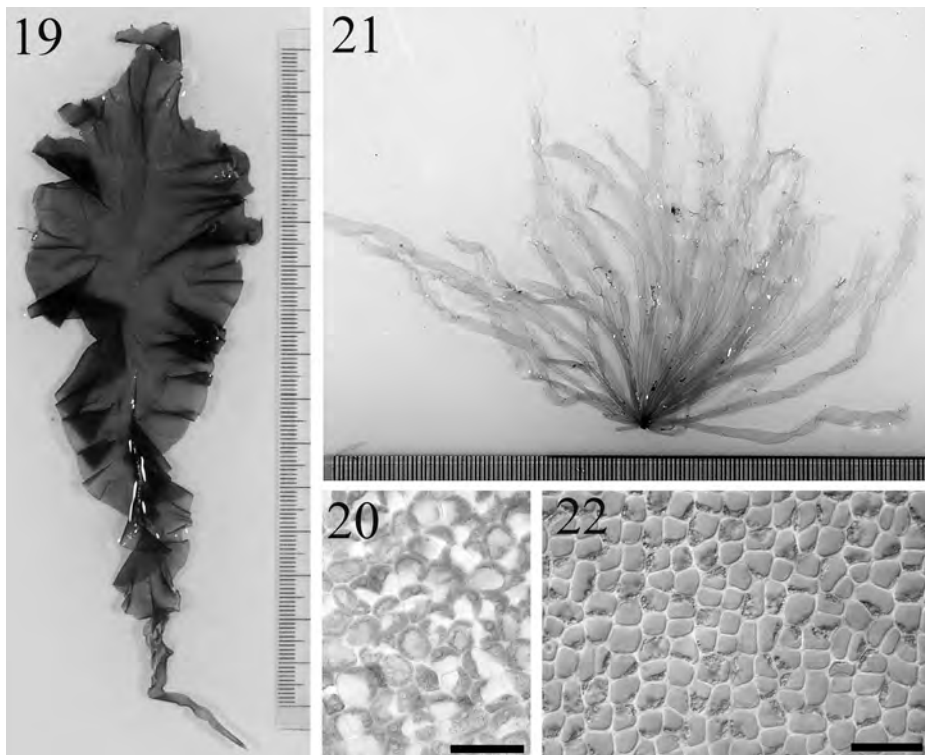
Figs. 9–18. Living thalli, dry specimen and cells of *Ulva* species. Fig. 9. *U. compressa* (NY61). Fig. 10. Cells in surface view of *U. compressa* (NY118). Fig. 11. Dry specimen of *U. intestinalis* (NY92). Fig. 12. Cells in surface view of *U. intestinalis* (NY92). Fig. 13. *U. flexuosa* (NY114). Fig. 14. Cells in surface view of *U. flexuosa* (NY114). Fig. 15. *U. linza* (NY112). Fig. 16. Cells in surface view of *U. linza* (NY112). Fig. 17. *U. prolifera* (NY109). Fig. 18. Cells in surface view of *U. prolifera* (NY109).

歯を持つ系統群に含まれ、*U. rigida* や *U. scandinavica* Bliding と系統的に非常に近縁である。フランス産の本種とイギリス産・オランダ産の *U. scandinavica* の ITS2 領域の塩基配列を比較すると、GAP も含めて 4 bp 異なっているが、函館で採集した藻体はフランス産アオサリカと GAP も含めて 2 bp、イギリス産・オランダ産 *U. scandinavica* と 2 bp 異なっていた。つまり、本研究で採集した藻体はフランス産アオサリカと *U. scandinavica* の中間的な位置にある。

分布：本種は本州（広島湾や東京湾）でグ

リーンタイドを引き起こす種として知られ、ヨーロッパから移入した可能性が示唆されている（Shimada et al. 2003, 畠田ら 2003）。北海道では函館においてのみ確認できた。

ノート：ヨーロッパに生育する鋸歯のあるアオサ3種（*U. rigida*, *U. scandinavica*, 本種）の間には、ほとんど遺伝的な差がない。Bliding (1968)によると、*U. scandinavica* は無性種で *U. rigida* よりも細胞が大きい。Hoeksema and van den Hoek (1983)によると、*U. scandinavica* の基部には縦に入る筋状脈が無い。Dion et al. (1998)によると、本種と *U.*



Figs. 19–22. Living thalli and cells of *Ulva* species. Fig. 19. *Ulva* sp. 1 (NY4). Fig. 20. Cells in surface view of *Ulva* sp. 1 (NY4). Fig. 21. *Ulva* sp. 2 (NY117). Fig. 22. Cells in surface view of *Ulva* sp. 2 (NY117).

*rigida* および *U. scandinavica* とはピレノイドの数や基部の細胞形態で区別できるとしているが、ピレノイドの数は環境によって大きく変化すると本種の原記載論文で報告し、さらに基部の細胞形態も変化するため同定には使えない事を筆者自ら報告している (Coat et al. 1998). つまり、本種と *U. scandinavica* を区別できる形態の違いは基部の縦に入る筋状脈の有無だけである。ただし、この形態形質で区別した藻体が遺伝的にも区別できる、といった分子と形態との比較調査はされておらず、これら近縁種を区別する有効な形態形質なのか疑問が残る。本研究で採集できた4藻体のうち、2個体に基部があり、そのうち1個体は基部の縦に入る筋状脈が観察できた。以上のように、これら3種は形態的にも遺伝的にも類似していて種としての独立性が疑わしく (Malta et al. 1999)、分類学的関係に関

してはヨーロッパでの詳細な調査を待ち、本研究では、細胞サイズが小さいこと、鋸歯が小さいことにより、ひとまず本種に同定しておく。本種は、藻体縁辺に微細な鋸歯を持つ点と細胞が小さい点でアナアオサと区別できる。

#### 4. ヒラアオノリ *Ulva compressa* L.

採集地点：函館 Hakodate, 忍路 Oshoro, 留萌 Rumoi.

形態：長さ32–467 mm, 幅4–14 mm, 厚さ41.3–(平均61.8)–84.0  $\mu\text{m}$ , 藻体は無分枝もしくは下部で分枝する (Fig. 9). 藻体下部は細く茎状で、よく扁平するが、上部は筒状になることが多い。細胞はやや大きめで、長さ14.1–(平均17.3)–19.6  $\mu\text{m}$ , かなり丸みを帯びた四角形で、規則正しく並ぶことはない。表面観で葉緑体は必ず細胞の縁辺に位置する



(Fig. 10).

系統的位置：形態的にも類似する *U. intestinaloides* (Koeman & Hoek) Hayden & al. との近縁性が示された。

分布：世界中に分布しており，日本でも長崎 (Shimada et al. 2003) と本研究の北海道での生育が分子同定で確認できている。

ノート：ボウアオノリ *U. intestinalis* L. との区別が難しい種である。これまでは，ヒラアオノリが藻体下部で分枝し扁平状になり，ボウアオノリはほとんど分枝せず円筒状の藻体であると考えられていた (千原 1983, 吉田 1998)。しかし，Blomster et al. (1998) によって，これら2種は塩分が低いと分枝し，また，扁平の度合いも個体による変異が大きいことが示唆された。北海道では，藻体下部で分枝し扁平する典型的な藻体 (Fig. 9) の他に，無分枝で円筒状の藻体も生育していた。細胞形態でもボウアオノリとヒラアオノリは区別できず (Blomster 2000, Blomster et al. 1998)，形態情報だけで両者を区別することは非常に難しい。

##### 5. ボウアオノリ *Ulva intestinalis* L.

採集地点：宇登路 Utoro.

形態：長さ33–95 mm，幅6–12 mm，厚さ55.2–(平均63.0)–69.2  $\mu\text{m}$ ，藻体は円筒状で凹凸があり，分枝は無い (Fig. 11)。細胞はやや丸みを帯びた四角形で，長さ8.7–(平均11.1)–13.8  $\mu\text{m}$ ，規則正しく並ぶことはない (Fig. 12)。乾燥標本の観察のため，葉緑体の位置は不明である。

系統的位置：アオサ属の最も祖先的な種であることが示唆された。

分布：海外では，汽水域 (McAvoy and Klug 2005) や，淡水域 (Canter-Lund and Lund 1995) での報告がある。Shimada et al. (2003) によって北海道島牧からも報告された種で，本研究では知床の宇登路でのみ確認できた。

ノート：上述の通り，ヒラアオノリとの区別が難しく，正確な種同定には分子同定が必要である。

##### 6. キヌイトアオノリ *Ulva flexuosa* Wulfen

採集地点：忍路 Oshoro, 石狩 Ishikari.

形態：長さ85–335 mm，幅3–8 mm，厚さ28.8–(平均29.0)–29.1  $\mu\text{m}$ ，藻体は管状で無分枝，もしくは良く対生・互生に分枝する。細胞は中間的な大きさの四角形で，長さ11.6–(平均14.5)–16.3  $\mu\text{m}$ ，比較的整然と並び，表面観で葉緑体は細胞の全面に広がる (Fig. 14)。

系統的位置：2層膜状の *U. californica* Wille との近縁性が示されている。以前の分子系統解析の結果 (Shimada et al. 2003) と同様に，日本–ギリシャ産とスウェーデン産とは異なる位置にあり，タイプ産地 (Duino, イタリア) からのデータが待たれる。

分布：忍路と石狩でのみ確認できた。Shimada et al. (2003) は和歌山と静岡でも本種を報告している。

ノート：本種の外部形態は非常に多様で Bliding (1963) は5亜種1変種を記載している。忍路産は良く分枝する一般的なキヌイトアオノリの形態を示していたが (Bliding 1963, p. 76, fig. 39a, Koeman and van den Hoek 1982, p. 45, fig. 113)，石狩産は分枝しない *U. flexuosa* subsp. *linziformis* Bliding に類似していた (Fig. 13)。種内分類群に関しては，種の分類学的問題と共に再調査が必要である。

##### 7. ウスバアオノリ *Ulva linza* L.

採集地点：忍路 Oshoro, 門別 Monbetsu, 函館 Hakodate, 天売 Teuri, 室蘭 Murooran, 石狩 Ishikari.

形態：長さ20–380 mm，幅4–37 mm，厚さ19.0–(平均34.2)–47.3  $\mu\text{m}$ ，基部から細長い柄を出し，やや幅の広い波打つ葉状部を持つ。基部と藻体縁辺以外は2層膜状である (Fig. 15)。基部付近で分枝する藻体もある。細胞は中間的な大きさで，長さ11.4–(平均14.4)–18.1  $\mu\text{m}$ ，正方形に近い四角形で，表面観で葉緑体は細胞の全面に広がる (Fig. 16)。

系統的位置：*U. prolifera* O. F. Müller と *U. procera* (K. Ahlner) Hayden & al. との間に位置し，特に *U. procera* との近縁性が示されている。

分布：世界各地で報告されている。

ノート：基部付近で分枝する藻体が数個体みられた。

8. スジアオノリ *Ulva prolifera* O. F. Müller

採集地点：信砂川 Nobusha River, 古平川 Furubira River.

形態：長さ54–285 mm, 幅0.5–4 mm, 厚さ15.7–(平均25.0)–43.3  $\mu\text{m}$ , 藻体は細い管状で, 無分枝もしくは第3枝まで良く分枝する (Fig. 17). 細胞は中間的な大きさで, 長さ11.9–(平均14.4)–19.0  $\mu\text{m}$ , 正方形に近い四角形で, 表面観で葉緑体は細胞の全面に広がり, ウスバアオノリのそれと区別できない (Fig. 18).

系統的位置：*U. prolifera* と同定されたスコットランド Ythan 川の河口域 (Ythan Estuary) 産株よりも, *U. procera* のタイプ産地であるスウェーデンの株と近縁であることが示された.

分布：低塩分環境の河口に生育していた.

ノート：名倉 (1921) は愛知県の河口域などの汽水に産するアオノリについて「・・・必ス淡水湧出ノ處ナリトス, 又河口ノ水道ニ接シタル筈上ニアリ」と記載し, スジアオノリという和名を付け, *Enteromorpha prolifera* (O. F. Müller) J. Agardh の学名を当てた. それ以来, 日本では河口などの汽水域に生育する分枝の多い藻体をスジアオノリと呼び, *U. prolifera* (*E. prolifera* を含む) の学名を当ててきた (吉田 1998, 吉田ら 2005). *U. prolifera* のタイプ産地はデンマーク・ロラン島 (約10 PSU) である. 本研究の分子系統解析で日本産スジアオノリと近縁性が示された *U. procera* のタイプ産地はスウェーデン・ウプサラ (約5 PSU) で, 両者ともヨーロッパ・バルト海の汽水域である. Blomster (2000) はアオノリ属の検索表で, 塩分20 PSU以上で生育するのが *E. prolifera* で, 低塩分 (15 PSU) で生育しているのが *E. procera* であるとしている.

分子系統解析で近縁性が示されたこれら2種はヨーロッパで記載されており, 形態的にも区別が難しい. これらの分類学的関係の解明には, 生殖的隔離の有無や形態的・生理的な違いを調査する必要がある. 日本の河川などに生育するスジアオノリの学名に関しては, 本研究ではこれまで通り *U. prolifera* とし, ヨーロッパでの研究を待ちたい.

9. 未同定種 1 *Ulva* sp. 1

採集地点：忍路 Oshoro, 増毛 Mashike, 函館 Hakodate.

形態：長さ185–246 mm, 幅48–56 mm, 厚さ13.3–(平均19.3)–22.3  $\mu\text{m}$ , 藻体は幅広く大型の葉状で, 三日月状に弧を描くのが特徴である (Fig. 19). 細胞は非常に大きく丸みを帯びた四角形で, 長さ26.3–(平均28.4)–31.9  $\mu\text{m}$ , 表面観で葉緑体は細胞の縁に位置する (Fig. 20).

系統的位置：アナアオサと最も近縁で, ITS2 領域267 bp 中 GAP も含め11 bp 異なっていた (4.12%).

分布：分布域も広く藻体も大きめで発見しやすいが, 生育期間が短い.

ノート：三日月状に弧を描く大型の藻体はこれまで報告が無いことから, 本種は新種の可能性が高く, 詳細な分類学的研究を行う必要がある.

10. 未同定種 2 *Ulva* sp. 2

採集地点：留萌 Rumoi, 余市 Yoichi.

形態：長さ86–164 mm, 幅4–6 mm, 厚さ26.4–(平均35.2)–59.9  $\mu\text{m}$ , 藻体は叢生し, 管状・無分枝でヒラアオノリに類似している (Fig. 21). 細胞は比較的大きく丸みを帯びた四–五角形で, 長さ17.8–(平均22.7)–25.6  $\mu\text{m}$ , 表面観で葉緑体は細胞の縁に位置する (Fig. 22).

系統的位置：最も遺伝的距離の近いキヌイトアオノリ (日本産) と ITS2 領域256 bp 中 GAP も含め15 bp 異なっていた (5.86%).

分布：大型の藻体なので見逃すことは考えにくく, 分布域は狭いと考えられる.

ノート：現段階ではヒラアオノリとの形態的な区別が付かず, 新種記載にあたり更なる調査が必要である.

本研究を行うに当たり, ご指導をいただきました北海道大学理学研究科堀口健雄助教授, 小亀一弘助教授に厚くお礼申し上げます. また, 材料採集にご協力頂きました北海道大学理学部博物館阿部剛史助手, 同大学理学研究科の谷昌也氏, 山口愛果氏, 同大学水産研究科伊藤元裕氏, 同大学水産学部浜田明美氏, 神戸大学加藤重記博士に心から感謝いたします.

## 摘 要

核コード ITS2 領域を用いた分子系統解析と形態観察に基づいて検討した結果、北海道産アオサ属に未同定種 2 種を含む 10 種が認められた。河口域に生育するスジアオノリは、これまで *Ulva prolifera* O. F. Müller [= *Enteromorpha prolifera* (O. F. Müller) J. Agardh] とされてきたが、信砂川と古平川の河口域に生育していた 6 個体の ITS2 領域の塩基配列は *U. procera* (K. Ahlner) Hayden & al. の基準産地産と同一であった。未同定種 1 は藻体が大型で三日月状に弧を描くなど明瞭な形態的特徴があった。未同定種 2 はヒラアオノリとの形態的な区別が付かなかった。

## 引用文献

- Abbott I. A. and Hollenberg G. J. 1976. Marine Algae of California. 827 pp. Stanford University Press, Stanford.
- 阿部剛史 1997. 第 8 章 海藻相. p. 427-484. 新奥尻町史 上巻. 奥尻町役場.
- Adam N. M. 1994. Seaweeds of New Zealand. 360 pp. Canterbury University Press, Christchurch.
- Bae E. H. and Lee I. K. 2001. *Umbraulva*, a new genus based on *Ulva japonica* (Holmes) Papenfuss (Ulvaceae, Chlorophyta). *Algae* **16**: 217-231.
- Bliding C. 1963. A critical survey of European taxa in Ulvales. Part I. *Capsosiphon*, *Percursaria*, *Blidingia*, *Enteromorpha*. *Op. Bot. Soc. bot. Lund* **8**: 1-160.
- 1968. A critical survey of European taxa in Ulvales. II. *Ulva*, *Ulvaria*, *Monostroma*, *Kornmannia*. *Bot. Notiser* **121**: 535-629.
- Blomster J. 2000. Molecular and morphological approaches to the evolutionary history of the *Enteromorpha-Ulva* species complex. W. & A. de Nottbeck Foundation Sci. Rep. **20**: 1-24.
- , Maggs C. A. and Stanhope M. J. 1998. Molecular and morphological analysis of *Enteromorpha intestinalis* and *E. compressa* (Chlorophyta) in the British Isles. *J. Phycol.* **34**: 319-340.
- , — and — 1999. Extensive intraspecific morphological variation in *Enteromorpha muscoides* (Chlorophyta) revealed by molecular analysis. *J. Phycol.* **35**: 575-586.
- Burrows E. M. 1991. Seaweeds of the British Isles. Vol.2 Chlorophyta. 238 pp. National History Museum Publications, London.
- Canter-Lund H. and Lund J. W. G. 1995. Freshwater Algae. Their microscopic world explored. 360 pp. Biopress Limited, Bristol.
- 千原光雄 1983. 学研生物図鑑「海藻」. 292 pp. 学研, 東京.
- Coat G., Dion P., Noailles M. C., De Reviers B., Fontaine J. M., Bergaer-Perrot Y. and Loiseaux-De Goër S. 1998. *Ulva armoricana* (Ulvales, Chlorophyta) from the coasts of Brittany (France). II. Nuclear rDNA ITS sequences analysis. *Eur. J. Phycol.* **33**: 81-86.
- Dion P., De Reviers B. and Coat G. 1998. *Ulva armoricana* sp. nov. (Ulvales, Chlorophyta) from the coasts of Brittany (France). I. Morphological identification. *Eur. J. Phycol.* **33**: 73-80.
- 藤田大介, 津田秀夫 1987. 北海道江差町鷗島の海藻相. *南紀生物* **29**: 45-50.
- 羽生田岳昭, 寫田 智, 新井章吾, 川井浩史 2006. 緑藻アオサ (*Ulva pertusa*) の越境移入に関する分子系統地理学的研究. *藻類* **54**: 67.
- Hayden H. S. and Waaland J. R. 2004. A molecular systematic study of *Ulva* (Ulvaceae, Ulvales) from the northeast Pacific. *Phycologia* **43**: 364-382.
- , Blomster J., Maggs C. A., Silva P. C., Stanhope M. J. and Waaland J. R. 2003. Linnaeus was light all along: *Ulva* and *Enteromorpha* are not distinct genera. *Eur. J. Phycol.* **38**: 277-294.
- 平岡雅規, 大野正夫 1999. 日本産アオサとオランダ産 *U. ridiga* の形態比較と交雑について. *藻類* **47**: 84.
- , 寫田 智 2004. 四万十川の特産品スジアオノリの生物学. *海洋と生物* **155**: 508-515.
- Hiraoka M., Shimada S., Uenosono M. and Masuda M. 2004. A new green-tide-forming alga *Ulva ohnoi* (Ulvales, Ulvophyceae) from Japan. *Phycological Research* **52**: 17-29.
- Hoeksema B. W. and van den Hoek C. 1983. The taxonomy of *Ulva* (Chlorophyceae) from the coastal region of Roscoff (Brittany, France). *Bot. Mar.* **26**: 65-86.
- Jukes T. H. and Cantor C. H. 1969. Evolution of protein molecules. In: Munro H. M. (ed.), *Mammalian Protein Metabolism*. pp. 21-123. Academic Press, New York.
- 川井浩史, 黒木宗尚 1982. 北海道オホーツク海沿岸の海藻相. 北海道大学大学院環境科学研究科紀要 **5**: 79-90.
- Koeman R. P. T. and van den Hoek C. 1980. The taxonomy of *Ulva* (Chlorophyceae) in the Netherlands. *Br. Phycol. J.* **16**: 9-53.
- and — 1982. The taxonomy of *Enteromorpha* Link, 1820, (Chlorophyceae) in the Netherlands. II. The section Proliferae. *Crypt. Algal.* **3**: 37-70.
- Link H. F. 1820. Epistola de algis aquaticis in genera disponendis. In: Nees von Esenbeck C. D. (ed.), *Horae Physicae Berolinensis*. pp. 1-8. Bonn.
- Linnaeus C. 1753. *Species plantarum*, Tomus II. Stockholm. pp. 561-1200 [+1-31]. Laurentius

- Salvius, Holmiae.
- Malta E. J., Draisma S. G. A. and Kamermans P. 1999. Free-floating *Ulva* in the southwest Netherlands: species or morphotypes? A morphological, molecular and ecological comparison. *Eur. J. Phycol.* **34**: 443–454.
- McAvoy K. M. and Klug J. L. 2005. Positive and negative effects of riverine input on the estuarine green alga *Ulva intestinalis* (syn. *Enteromorpha intestinalis*) (Linnaeus). *Hydrobiologia* **545**: 1–9.
- Mshigeni K. E. and Kajumulo A. A. 1979. Effects of the environment on polymorphism in *Ulva fasciata* Delile (Chlorophyta, Ulvaceae). *Bot. Mar.* **22**: 145–148.
- 名畑進一 1991. 北海道後志沿岸の海藻. 北海道立水産試験場研究報告 **36**: 19–38.
- 名倉閏一郎 1921. 海藻報告第六. 愛知県水産試験場試験報告 **24**: 1–18.
- 能登谷正浩 1999. アオサの利用と環境修復. 171 pp. 成山堂, 東京.
- Phillips J. A. 1988. Field, anatomical and developmental studies on southern Australian species of *Ulva* (Ulvaceae, Chlorophyta). *Aust. Syst. Bot.* **1**: 411–456.
- 佐藤輝夫 1993. 北海道積丹半島沿岸の海藻 (第2報) —追加目録および海藻相について. 北海道札幌清田高等学校研究紀要 **18**: 1–15.
- 寫田 智, 平岡雅規, 能登谷正浩 2003. アオサ類の分子情報による集団生態学的解析と応用. pp. 70–87. 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. 成山堂, 東京.
- Shimada S., Hiraoka M., Nabata S., Iima M. and Masuda M. 2003. Molecular phylogenetic analyses of the Japanese *Ulva* and *Enteromorpha* (Ulvales, Ulvophyceae), with special reference to the free-floating *Ulva*. *Phycological Research* **51**: 99–108.
- Swofford D. L. 2002. PAUP\*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and other methods), Version 4. Sinauer Associates Inc., Sunderland.
- Takahashi K. and Nei M. 2000. Efficiencies of fast algorithms of phylogenetic inference under the criteria of maximum parsimony, maximum evolution, and maximum likelihood when a large number of sequences are used. *Mol. Biol. Evol.* **17**: 1251–1258.
- Tan I. H., Blomster J., Hansen G., Leskinen E., Maggs C. A., Mann D. G. Sluiman H. J and Stanhope M. J. 1999. Molecular phylogenetic evidence for a reversible morphogenetic switch controlling the gross morphology of two common genera of green seaweeds, *Ulva* and *Enteromorpha*. *Mol. Biol. Evol.* **16**: 1011–1018.
- Womersley H. B. S. 1984. The Marine Benthic Flora of Southern Australia. Part I. 329 pp. South Australian Government Printing Division, Adelaide.
- Woolcott G. W. and King R. J. 1999. *Ulva* and *Enteromorpha* (Ulvales, Ulvophyceae, Chlorophyta) in eastern Australia: comparison of morphological features and analyses of nuclear rDNA sequences data. *Aust. Syst. Bot.* **12**: 709–725.
- 山田幸男 1942. 渡島国小島の海藻. 生態学研究 **8**: 99–100.
- 吉田忠生 1998. 新日本海藻誌. 329 pp. 内田老鶴圃, 東京.
- , 寫田 智, 吉永一男, 中島 泰 2005. 日本海藻目録 (2005年改訂版). 藻類 **53**: 179–228.
- Zuker M. 1989. On finding all suboptimal foldings of an RNA molecule. *Science* **244**: 48–52.