

# 高知県柏島の特産品「めのり」に加工される 野生ノリの種名について

松下 桜子<sup>1</sup>・荻田 淑彦<sup>2,3</sup>・二羽 恭介<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup> 東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科 (〒 108-8477 東京都港区港南 4-5-7)

<sup>2</sup> 高知県水産試験場古満目分場 (〒 788-0315 高知県幡多郡大月町古満目 330)

<sup>3</sup> 現所属：高知県宿毛漁業指導所 (〒 788-0265 高知県宿毛市小筑紫町湊 208-16)

<sup>4</sup> 東京海洋大学学術研究院海洋生物資源学部門 (〒 108-8477 東京都港区港南 4-5-7)

Sakurako Matsushita<sup>1</sup>, Toshihiko Ogita<sup>2,3</sup> and Kyosuke Niwa<sup>4\*</sup>: Species identification of wild *Pyropia* processed as the local specialty “menori” in Kashiwajima, Kochi Prefecture, Japan. Jpn. J. Phycol. (Sôru) 72: 97–105, July 10, 2024

In Kashiwajima, Kochi Prefecture, dried nori sheets referred to as “menori” are manually processed as a local specialty. However, the wild *Pyropia* blades harvested for “menori” in Kashiwajima have not been identified. To clarify the species, we conducted morphological observations and molecular analyses using the gametophytic blades and the dried nori sheet. The morphological features of the blade samples collected from Kashiwajima were highly similar to those of *Pyropia suborbiculata*. The sequence analyses of the plastid RUBISCO spacer region and the nuclear 18S rRNA (V9) region also supported that the blade samples and the dried nori sheet “menori” were identified as *P. suborbiculata*. The phylogenetic analysis of the *rbcL* gene indicated that wild *Pyropia* collected from Kashiwajima was resolved into a clade including *P. suborbiculata*, and that it was genetically closed to *P. suborbiculata* in Busan, Korea. These results of morphological observations and molecular analyses revealed that the dried nori sheets “menori” in Kashiwajima were made from the *P. suborbiculata* blades.

*Key Index Words*: bladed *Bangiales*, molecular phylogeny, molecular phylogeny, *Pyropia suborbiculata*, *rbcL*, taxonomy

<sup>1</sup>Graduate School of Marine Science and Technology, Tokyo University of Marine Science and Technology, Minato, Tokyo 108-8477, Japan

<sup>2</sup>Kochi Prefectural Komame Fisheries Experimental Station, 330 Komame, Otsuki-cho, Hata-gun, Kochi 788-0315, Japan

<sup>3</sup>Present address: Sukumo Fisheries Guidance Office, Kochi Prefectural Government, Sukumo, Kochi 788-0265, Japan

<sup>4</sup>Department of Marine Biosciences, Tokyo University of Marine Science and Technology, Minato, Tokyo 108-8477, Japan

\* Author for correspondence: kniwa00@kaiyodai.ac.jp

## 緒言

高知県西南端に位置する大月町の沿岸域は、黒潮の影響を受けるため年間を通じて水温が高く、クロマグロ、ブリ、タイ、カンパチ等の養殖漁業や宝石サンゴ漁などが行われている。海藻の植生としては、土佐湾の沿岸域とは一変して、亜熱帯性の海藻が多く見られる (大野 1970)。

冬季には大月町柏島を中心に潮間帯の岩場に繁茂する天然の岩ノリをへら (籠) などで掻き取り、天日干しにして 60 × 30 cm 程度の「めのり」と呼ばれる大きな乾海苔に加工し、この地域の特産品として販売されている (Fig. 1)。加工されためのりは、軽く火にあぶっておにぎりにして食されたり、年越しの時期にチリメンジャコや刻んだ「たくあん」をご飯に混ぜた郷土料理「こうし飯」にまぶして食されたりする。

しかし、これまで当地域でめのりに加工される岩ノリの種は、詳しく調査されていなかった。大野 (1970) は、室戸岬から足摺岬に至る土佐湾では、冬季にオニアマノリ *Pyropia dentata* (Kjellman) N. Kikuchi & Miyata やマルバアマノリ *P. suborbiculata* (Kjellman) J.E. Sutherland, H.G. Choi, M.S. Hwang & W.A. Nelson などの岩ノリが岩礁の最上部を覆い、その下にフクロフノリ *Gloiopeltis furcata* (Postels & Ruprecht) J. Agardh やマフノリ *G. tenax* (Turner) Decaisne が着生すると報告している。しかしながら、これらの岩ノリについて形態観察や DNA 解析に基づく種同定は行われておらず、土佐湾のさらに西南に位置する沿岸域でめのりに加工される岩ノリの具体的な種名までは調査されていなかった。そこで本研究では、めのりに加工される原藻が採取されている高知県柏島

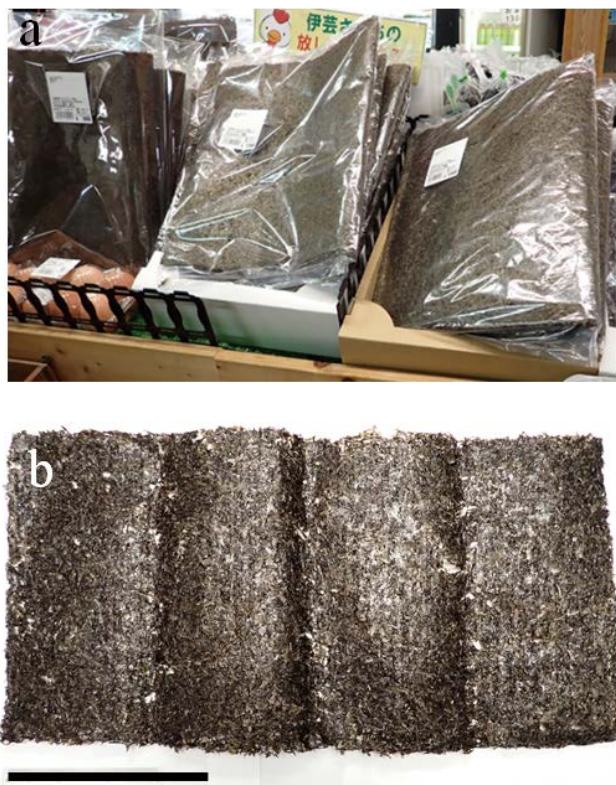


Fig. 1. Dried nori sheets, referred to as “menori”, sold as the local specialty in Otsuki-cho, Kochi Prefecture, Japan (a), and overview of “menori” (b). Scale bar = 20 cm.

の海岸で天然の岩ノリを採集し、種名を明らかにするため分類形質に基づく形態観察と DNA 解析を行った。さらに、実際にめりに利用されている岩ノリの種名を明らかにするため、柏島産の岩ノリから加工された乾海苔からも DNA を抽出し、解析を行った。なお、本研究では Zuccarello *et al.* (2022) の分類改訂に従ってアマノリ類の学名を記述する。

## 材料と方法

### 形態観察

2023 年 2 月 6 日および 2023 年 3 月 8 日に高知県幡多郡大月町柏島の潮間帯の岩場で岩ノリを採集した (Fig. 2)。採集した岩ノリを冷蔵で郵送またはクーラーボックスに入れて持ち帰り、東京海洋大学の研究室において  $-20^{\circ}\text{C}$  の冷凍庫に保管した。解凍後、採集した葉状体を筆でケント紙に広げ、標本撮影を行った。2023 年 2 月 6 日に採集したサンプルのうち 4 個体と、2023 年 3 月 8 日に採集したサンプルのうち 4 個体を形態観察に用いた。形態観察では、葉状体の外形や色、基部の形状を観察し、光学顕微鏡 BX53 (Olympus) と顕微鏡用デジタルカメラ DP23 (Olympus) を用いて、葉状体縁辺部、栄養細胞の表面観と断面観、生殖細胞の表面観と断面観の観察を行った。栄養細胞と生殖細胞の断面観については、カミソリの刃を用いて徒手切片を作製した。

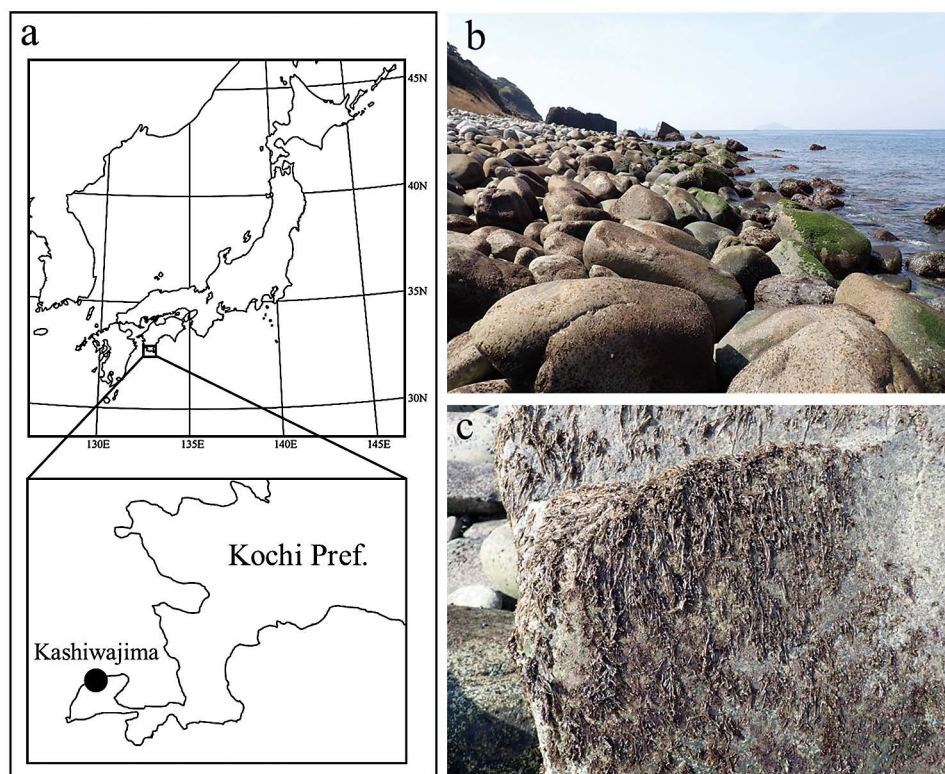


Fig. 2. Map showing the sampling locality, Kashiwajima, Kochi Prefecture, Japan. (a) Black circle indicates the sampling site. (b, c) Gametophytic blades of wild *Pyropia* grew in the high intertidal zone of the rocky shore.

## DNA 解析

標本撮影および形態観察に用いた葉状体を含め、2023年2月6日に採集した6個体、2023年3月8日に採集した9個体、2023年2月6日に柏島で収穫され、乾海苔に加工されためのり1枚から切り出した10切片の計25サンプルをDNA解析用試料として用いた。DNA解析については、下記の手法によりDNAを抽出して、色素体 RUBISCO spacer 領域 77 bp を含む 134 bp または核 18S rRNA の V9 領域 (331 bp) の塩基配列を決定した。2023年3月8日に採集した1サンプルについては、分子系統解析を行うため色素体 *rbcL* 遺伝子 (1,281 bp) の塩基配列を決定した。

DNA抽出のため、蒸留水と筆を使って各試料 (1×1 cm 程度の葉片) をよく洗い、市販のDNA抽出キット ISOPLANT II (ニッポンジーン) を用いて、Niwa *et al.* (2005) の方法に従って抽出した。抽出したDNAから核V9領域、RUBISCO spacer 領域および *rbcL* 遺伝子を増幅するため、Okamoto *et al.* (2023) の方法に従ってPCR法を行った。V9領域、RUBISCO spacer 領域および *rbcL* 遺伝子の増幅には、Table 1 に示したプライマーを用いた。PCR mixture については、DNA抽出液を1.5 μL、各プライマーを0.5 μL、Ex Premier DNA Polymerases Dye Plus (タカラバイオ) を12.5 μL 加え、蒸留水で25 μL にメスアップして作製した。V9領域のPCR条件は、98°Cで10 s、55°Cで15 s、68°Cで1 min を35サイクル、最終伸長を68°Cで5 min に設定した。RUBISCO spacer 領域と *rbcL* 遺伝子のPCR条件は、98°Cで10 s、55°Cで15 s、68°Cで1 min を35サイクル、最終伸長を68°Cで5 min に設定した。PCR増幅後、電気泳動によりDNA断片の増幅を確認した。

得られたPCR産物をExoSAP-IT (Applied Biosystems) によって精製した後、DNAシーケンス解析サービス (FASMAC) を利用し、塩基配列を決定した。*rbcL* 遺伝子のシーケンス解析では、Rh1-2 (5'-TGCCAGTAGCTTATCTAAA-3') と LS1-2 (5'-GTAATCAAGAAGTTGGTGC-3') のプライマー (Niwa *et al.* 2008) を追加し、解析を依頼した。FASMACの解析結果について、SnapGene Viewer (GSL Biotech) を用いて配列の品質値を確認し、AliView (Larsson 2014) を用いて塩基配列を決定した。決定した塩基配列は国際塩基配列データベースに登録し、accession number は次のとおりである (RUBISCO spacer 領域を含む134 bp は LC805002、V9 領域は LC804932、*rbcL*

遺伝子は LC805001)。各領域の決定した塩基配列について、Nucleotide Basic Local Alignment Search Tool (BLAST, Johnson *et al.* 2008) を用いて、配列一致度 (Per. Ident) が99%以上一致した相同性の高い塩基配列を検索した。

## 分子系統解析

系統樹の作成には、本研究のDNA解析で得た *rbcL* 遺伝子の塩基配列と先行研究 (Koh & Kim 2020) で示されているマルバアマノリの26ハプロタイプと Yang *et al.* (2020) および Zuccarello *et al.* (2022) の系統樹を参考に相同性の高かった近縁種と外群を用いた (Table 2)。系統解析は最尤法 (Maximum Likelihood method) とベイズ法で行い、どちらの解析も第1-3コドン位置ごとに最適な置換モデルを赤池情報量規準 (AIC) に従って選択した。最尤系統解析では、Kakusan4 (Tanabe 2011) で最適とされた置換モデル (第1コドン GTR+G, 第2コドン TIM+G, 第3コドン J1+G) に基づいてパーティションを設定し、IQ-tree v.1.6.12 (Nguyen *et al.* 2015) で系統樹を構築した。信頼度の確認は1,000回のBootstrap解析によって行った。ベイズ系統解析では、Kakusan4 (Tanabe 2011) を用いて第1-3コドン位置ごとにモデル選択を行い、全てのコドン位置においてGTR+GモデルがAIC最小であったため、MrBayes ver 3.2.7 (Ronquist *et al.* 2012) では、GTR+Gモデルを適用し、マルコフ連鎖モンテカルロ (MCMC) 反復4連鎖によって、50万世代分の解析を行い、100世代ごとにサンプリングした。Average standard deviation of split frequencies (ASDSF) が0.01未満になるよう Tracer1.6 (Rambaut *et al.* 2014) で確認しながら収束後の計算量が充分と確認できた50万世代で計算を終了し、定常状態に至るまでの最初の10万世代を棄却した後、事後確率の算出を行った。得られた系統樹は FigTree (Rambaut 2016) を用いて編集した。また、系統樹作成に用いたマルバアマノリの *rbcL* 遺伝子の塩基配列について、MEGA 11 (Tamura *et al.* 2021) を用いて遺伝的距離 (*p*-distance) を計算した。

## 結果

### 形態観察

高知県柏島で採集した岩ノリの葉状体は潮間帯上部の岩場に生育していた (Fig. 2b, c)。葉状体の標本写真を Fig. 3 に示す。採集した葉状体は、卵形や腎臓形、基部は、円形、心臓

Table 1. List of primers for PCR used in this study.

DNA regions	Primer name	Primer sequences (forward and reverse)	References
Plastid RUBISCO spacer	rbc-sp-F	5'-GGACATCCTGATGGTATCCAAG-3'	Sano <i>et al.</i> (2020)
	rbc-sp-R	5'-GGAATTTCTTGGATGAGGATC-3'	Sano <i>et al.</i> (2020)
Nuclear 18S rRNA (V9)	G06	5'-GTTGGTGGTGCATGGCCGTTTC-3'	Saunders & Kraft (1994)
	G15.1	5'-CTTGTTAGGACTTCTCCTTCC-3'	Müller <i>et al.</i> (1998)
Plastid <i>rbcL</i>	rbcL-Rh1	5'-AAGTGAACGTTACGAATCTGG-3'	Hanyuda <i>et al.</i> (2004)
	rbcS1	5'-AAAAGYYCCTTGTTARTCTCAC-3'	Hanyuda <i>et al.</i> (2004)

Table 2. List of accession numbers acquired from International Nucleotide Sequence Database for molecular phylogenetic analyses of the *rbcL* gene.

Species	Locality	Country	<i>rbcL</i>
<i>Pyropia</i> KIS-1	Kashiwajima, Kochi	Japan	LC805001
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Yamaguchi	Japan	AB118580
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Okinawa	Japan	AB287947
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Kanagawa	Japan	AB287948
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Weihai	China	MG604382
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Nagasaki	Japan	AB671542
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Iwate	Japan	AB671544
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Zhejiang	China	MG604445
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Busan	Korea	MN561499
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Busan	Korea	MN561501
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Ishikawa	Japan	MN561534
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Jejudo	Korea	MN561474
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Miyagi	Japan	MN561527
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Niigata	Japan	MN561539
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Gyeongsangnamdo	Korea	MN561502
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Gyeongsangbukdo	Korea	MN561492
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Zhejiang	China	GQ427219
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Zhejiang	China	GQ427220
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Zhejiang	China	GQ427221
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Atlantic	Spain	JQ327838
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Okinawa	Japan	LC277172
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Fujian	China	MG604392
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Fujian	China	MG604393
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Zhejiang	China	MG604449
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Zhejiang	China	MG604485
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Zhejiang	China	MG604548
<i>Pyropia suborbiculata</i>	Zhejiang	China	MG604561
<i>Pyropia acanthophora</i>	Okinawa	Japan	LC277171
<i>Pyropia denticulata</i>	Queensland	Australia	HQ687521
<i>Pyropia lunae</i>	Batanes	Philippines	KY272471
<i>Pyropia onoi</i>	Hokkaido	Japan	HQ687529
<i>Pyropia pseudobobata</i>	Hainan	China	MG604428
<i>Pyropia sukshma</i>	Karnataka	India	MK234907
<i>Pyropia tanegashimensis</i>	Kagoshima	Japan	HQ687542
<i>Pyropia vietnamensis</i>	Kerala	India	HQ687544
<i>Pyropia</i> sp. DUM	Batanes	Philippines	KY272489
<i>Boreophyllum aestivale</i>	Alaska	USA	EU223033
<i>Clymene coleana</i>	North I	NZ	FJ263672
<i>Fusciifolium papenfussii</i>	Alaska	USA	EU223120
<i>Lysithea adamsiae</i>	Antipodes Islands	NZ	HQ687515
<i>Neomiuraea migitae</i>	Osaka-Bay	Japan	EU521643
<i>Neothemis ballesterosii</i>	La Fosca	Spain	KJ182954
<i>Porphyra purpurea</i>	Somerset	UK	HQ687516
<i>Wildmania amplissima</i>	Hokkaido	Japan	HQ687560



Fig. 3. Gametophytic blades of wild *Pyropia* collected from Kashiwajima, Kochi Prefecture, Japan. Scale bar = 3 cm.

形、臍形、葉状体の色は赤みのある褐色を呈していた (Fig. 3)。顕微鏡下で観察したところ、葉状体の縁辺部に微小な鋸歯が見られた (Fig. 4a)。形態観察した 8 サンプル中 7 サンプルで湾曲した鋸歯が見られ、鋸歯全体の半分以上で湾曲が見られ、基部を向くものと逆方向のものがあつた。栄養細胞は、1 細胞当たり 1 個の星状の色素体を持つ。栄養細胞部分は 1 層の細胞層からなり、厚さは 21–30  $\mu\text{m}$  であつた (Fig. 4b, c)。葉状体上部の成熟部分では、精子嚢と接合胞子嚢が混在して形成されており、雌雄同株であつた。精子嚢の分裂表式は 64 (a/4, b/4, c/4)、接合胞子嚢の分裂表式は 16–32 (a/2–4, b/2, c/4) であつた (Fig. 4 d–h)。

#### 色素体 RUBISCO spacer 領域の塩基配列

2023 年 2 月 6 日と 2023 年 3 月 8 日に採集した岩ノリのうち、それぞれ形態観察に用いたサンプルを含む 6 個体と 9 個体、加えて乾海苔に加工されたための 1 枚から切り出した 2 切片を用いて、RUBISCO spacer 領域 (77 bp) を含む 134 bp の塩基配列を決定したところ、いずれも同一の塩基配列であつた (accession number, LC805002)。決定した配列を用いて Nucleotide BLAST で相同性検索した結果、国際塩基配列データベースで公開されている沖縄県産 (LC277172, LC277174)、長崎県産 (AB671542)、岩手県産 (AB671544) のマルバアマノリの塩基配列と 100% 一致し、配列の差異は見られなかつた。

#### 核 V9 領域の塩基配列

2023 年 2 月 6 日と 2023 年 3 月 8 日に採集した岩ノリのうち、それぞれ形態観察に用いた 2 個体と 4 個体、加えて乾海苔に加工されたための 1 枚から上記の RUBISCO spacer 領域の配列決定に用いた 2 切片を含む 10 切片から、核 V9 領域 (331 bp) の塩基配列を決定したところ、いずれも同一の塩基配列であつた (LC804932)。決定した塩基配列を用いて Nucleotide BLAST で相同性検索した結果、スペイン産 (KJ395116)、ニュージーランド産 (AF378665)、オーストラリア産 (AF378660)、メキシコ産 (AF378657) のマルバアマノリと配列一致度が 100% で配列の差異は見られなかつた。

#### 色素体 *rbcL* 遺伝子を用いた分子系統解析と遺伝的距離

2023 年 3 月 8 日に採集し、形態観察に用いた葉状体 1 個体が

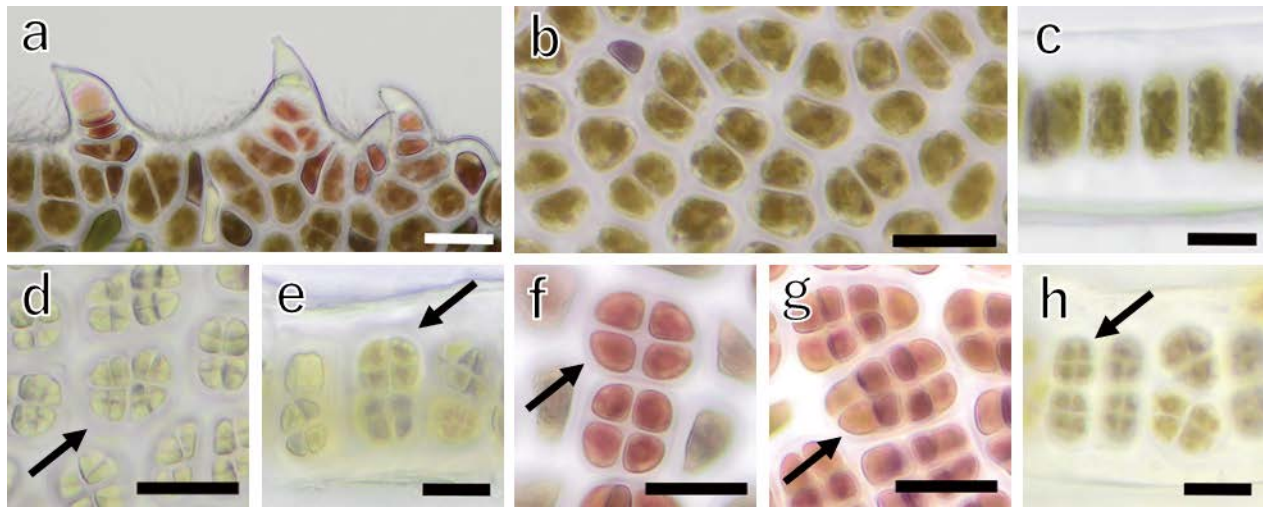


Fig. 4. Morphology of gametophytic blades of wild *Pyropia* collected from Kashiwajima, Kochi Prefecture, Japan. (a) Marginal portion with microscopic denticulae. (b) Surface view of vegetative cells. (c) Section of vegetative cells. (d) Surface view of spermatangia composed of 16 cells (a/4, b/4) (arrow). (e) Section of spermatangia containing four cell layers (c/4) (arrow). (f) Surface view of zygotosporangia composed of 4 cells (a/2, b/2) (arrow). (g) Surface view of zygotosporangia composed of 8 cells (a/4, b/2) (arrow). (h) Section of zygotosporangia composed of four cell layers (c/4) (arrow). Scale bars = 20  $\mu\text{m}$ .

ら、*rbcl* 遺伝子 (1,281 bp) の塩基配列を決定した (LC805001)。決定した *rbcl* 遺伝子の塩基配列と Yang *et al.* (2020) と Zuccarello *et al.* (2022) の系統樹を参考に、相同性の高かった近縁種と外群を加えた塩基配列データセットを用いて (Table 2), 最尤法により系統樹を構築した (Fig. 5)。ベイズ法による系統樹も、統計的支持率の低い枝を除き、最尤法と同様の樹形を示した。高知県柏島の岩ノリは、100% BP, 1.00 PP の支持率でマルバアマノリと単系統群を形成した。一方、本研究の岩ノリは、インドの *P. sukshma* (M.G. Kavale & M.A. Kazi) Santiañez & M.J. Wynne および *P. vietnamensis* (Tak. Tanaka & P.H. Hó) J.E. Sutherland & Monotilla, 鹿児島県種子島のタネガシマアマノリ *P. tanegashimensis* (Shinmura) N. Kikuchi & E. Fujiyoshi, 沖縄県のツクシアマノリ *P. acanthophora* (E.C. Oliveira & Coll) M.C. Oliveira, D. Milstein & E.C. Oliveira, フィリピン *P. lunae* Dumilag, 中国の *P. pseudolobata* (L.-E. Yang, J. Brodie & Q.-Q. Lu) Santiañez & M.J. Wynne, オーストラリアの *P. denticulata* (Levring) J.A. Phillips & J.E. Sutherland, フィリピンの *Pyropia* sp. DUM とは異なる分岐群に属した。

分子系統解析で用いた *rbcl* 遺伝子の塩基配列から算出した遺伝的距離 (*p*-distance) を Table 3 に示す。柏島の岩ノリと他のマルバアマノリ間における遺伝的距離は 0.09–0.83% で、最も遺伝的距離が近かったのは、韓国釜山産 (MN561501) で 0.09% (1 bp), 次に中国産 (MG604445) の 0.18% (2 bp) であり、最も遺伝的距離が離れていたのは山口県産 (AB118580) で 0.83% (9 bp) であった。柏島の岩ノリを含むマルバアマノリ全体における遺伝的距離の範囲は 0.09–1.19% で、最も遺伝的距離が離れていたのは山口県産 (AB118580) と韓国の慶尚南道産 (MN561502) 間の 1.19% (13 bp) であった。一方、

柏島の岩ノリとマルバアマノリ以外の種との遺伝的距離で最も近かったのは、*P. sukshma* で 7.90% (86 bp), 最も離れていたのは *P. vietnamensis* で 8.91% (97 bp) であった。

### 考察

本研究で用いた柏島の岩ノリの形態的特徴は、葉状体の外形、基部の形状、体色、鋸歯の存在、性のタイプ、生殖細胞の分裂表式において、既知種の中ではマルバアマノリに最も近似していた (殖田 1932, Tanaka 1952)。既報のマルバアマノリ (殖田 1932, Tanaka 1952) と柏島の岩ノリを比較すると (Table 4), 葉状体の色、栄養細胞の厚さにおいて若干の差異が見られるものの、各形態項目でほぼ一致していた。本研究で観察された湾曲した鋸歯は、玉城ら (2017) もマルバアマノリで同様に湾曲した鋸歯が見られたことを報告している。また、柏島で採集した岩ノリ 15 個体と乾海苔に加工されたためのり 10 切片の RUBISCO spacer 領域または核 V9 領域の塩基配列は、国際塩基配列データベースで公開されているマルバアマノリの塩基配列と 100% 一致した。さらに、*rbcl* 遺伝子を用いた分子系統解析の結果、柏島の岩ノリはマルバアマノリと同じ分岐群に含まれた。したがって、形態観察と DNA 解析の結果から、本研究で分析した柏島の岩ノリと乾海苔に加工されたためのりはマルバアマノリであると考えられる (以下、柏島の岩ノリをマルバアマノリとする)。

*rbcl* 遺伝子の塩基配列から算出したマルバアマノリの種内間の遺伝的距離は 0.09–1.19% であった。ウシケノリ目 (Bangiales) の *rbcl* 遺伝子領域では、種内で通常 0–1% の違いがあり、最大で 2% の違いがあることもある (Lindstrom & Fredericq 2003, Lindstrom 2008, Nelson & Broom 2010,

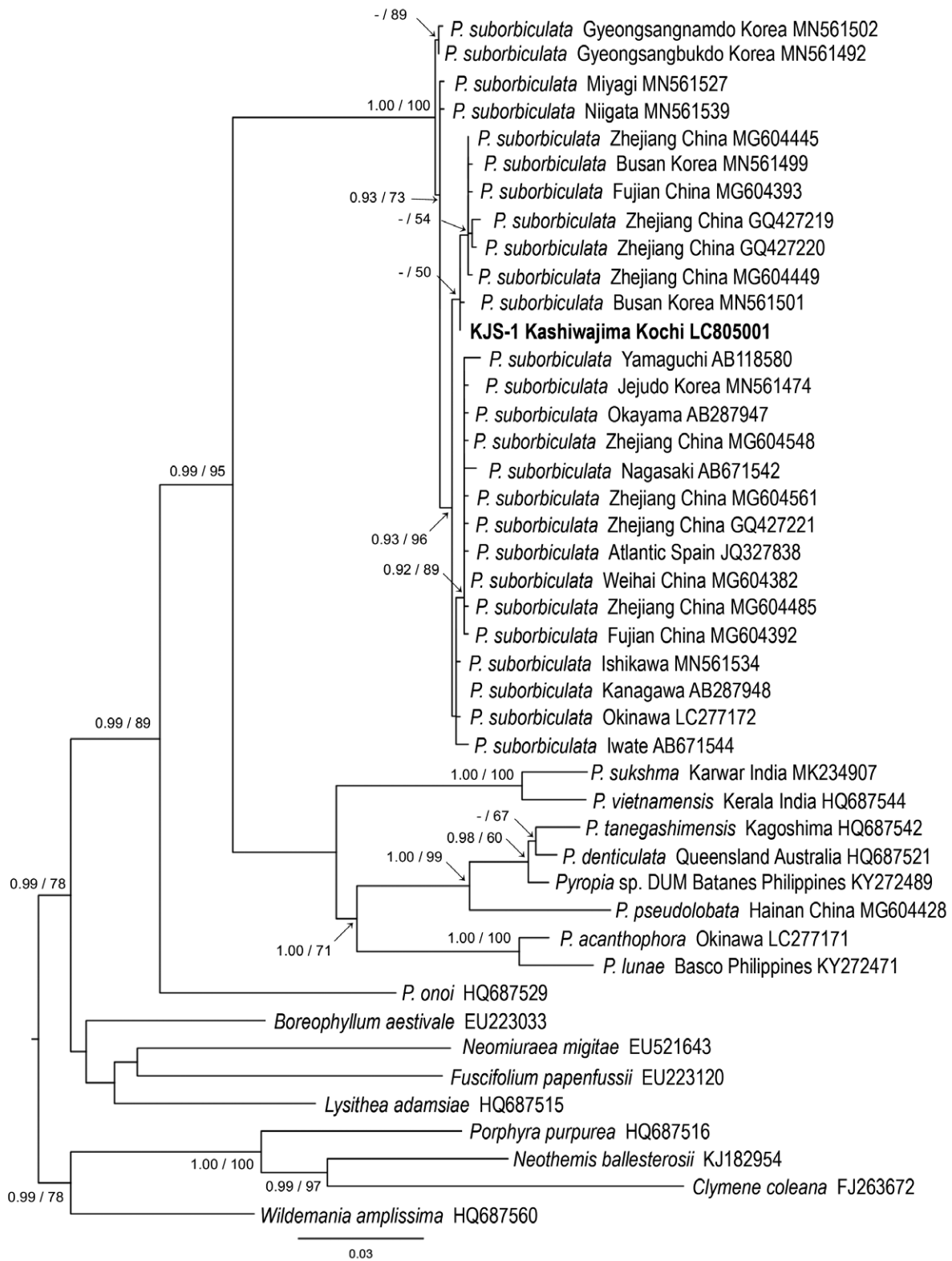


Fig. 5. Maximum likelihood (ML) phylogenetic tree based on *rbcL* sequence data (1,008 bp). Numbers below the branches indicate the bootstrap values (BP, right) and Bayesian posterior probability (PP, left). Only BP  $\geq$  50% and PP  $\geq$  0.85% are shown.



Table 4. Morphological features of wild *Pyropia* collected from Kashiwajima (present study) and *Pyropia suborbiculata*.

Features	Present study	<i>Pyropia suborbiculata</i>
Blade shape	Ovate, reniform	Ovate, reniform
Shape of basal portion	Rounded, Cordate, umbilicate	Cordate, umbilicate
Blade color	Reddish brown	Light pink, purplish red
Blade margin	Microscopic denticulae	Microscopic denticulae
Plastid	Single, stellate	Single, stellate
Blade section	Monostromatic	Monostromatic
Shape of vegetative cells in sectional view	Quadrangle with rounded angles	Quadrangle with rounded angles
Thickness of vegetative portion	21–30 $\mu\text{m}$	25–48 $\mu\text{m}$
Sexuality	Monoecious	Monoecious
Division formula of spermatangia	64 (a/4, b/4, c/4)	64 (a/4, b/4, c/4)
Division formula of zygotosporangia	16–32 (a/2–4, b/2, c/4)	16–32 (a/2–4, b/2, c/4)
Habitat	Upper intertidal zone	Upper intertidal zone
References		Ueda (1932), Tanaka (1952)

Kucera & Saunders 2012, Mols-Mortensen *et al.* 2012, Vergés *et al.* 2013b)。また, Sano *et al.* (2020) は, ハイタンアマノリ *P. haitanensis* (T.J. Chang & B.F. Zheng) N. Kikuchi & Miyata の種内では 1.3% 以下の違いがあると報告している。これらの結果から, 柏島のマルバアマノリを含むマルバアマノリの分岐群内の遺伝的距離は, 種内変異の範囲であると判断できる。

一方, マルバアマノリの近縁種の中で, 柏島のマルバアマノリと最も遺伝的距離の近かったインドの *P. sukshma* (MK234907) は 86 塩基の違いが見られ, 遺伝的距離は 7.90% であった。また, 柏島を含むマルバアマノリと近縁種である *P. acanthophora*, *P. denticulate*, *P. lunae*, *P. pseudolobata*, *Pyropia* sp. DUM, *P. sukshma*, *P. tanegashimensis*, *P. vietnamensis* では 81–100 塩基の違いがあり, 遺伝的距離の範囲は 7.44–9.18% であった。これらの結果から, 柏島を含むマルバアマノリは近縁種とは遺伝的に独立した種であると言える。

Koh & Kim (2020) の報告によると, マルバアマノリの *rbcl* 遺伝子では, 26 のハプロタイプが確認され, 高い遺伝的多様性を示した韓国沿岸部の日本海と黄海において最終氷期最盛期 (LGM) 前後の海流の影響が考えられたものの, ハプロタイプの中には分布パターンにおいて生物地理学的な親和性を示さなかったものもあったことから, マルバアマノリの分散の中には海流や地理的な原因によるものとそうでないものがあると推察されている。本種は, 北太平洋, 南太平洋, インド洋, 北大西洋, 南大西洋といった北半球および南半球の両方に分布しており, 太平洋地域から西大西洋地域に移入した可能性も報告されている (Kjellman 1897, Silva *et al.* 1987, 1996, Broom *et al.* 2002, Vergés *et al.* 2013a, Milstein *et al.* 2015)。マルバアマノリは高水温耐性で繁殖力があることから, 船舶の移動 (バラスト水) や大規模な海運活動, 藻類やカキ・ムール貝の商業養殖など様々な媒介物や経路によって地理的に広範囲に分散, 移入することも示唆されている (Broom *et al.* 2002, Milstein & Oliveira 2005, Neefus *et al.* 2008, Vergés *et al.* 2013a)。また, マルバアマノリは原胞子を放出しやすく, 無

性生殖でも盛んに繁殖しやすい点も (Freshwater & Kapraun 1986, Nelson *et al.* 1998, Notoya 1999), 分散, 移入の要因の 1 つと考えられている。

*rbcl* 遺伝子による分子系統解析および *p*-distance の結果, 柏島のマルバアマノリは地理的に離れた韓国釜山産 (MN561501) のマルバアマノリと遺伝的に近かったことから, 海流や地理的な要因だけでなく, 商業活動等による人為的な要因による分散, 移入の可能性も示唆された。今後, 両地域で遺伝的に近いマルバアマノリが生育していた原因を明らかにするためには, 両地域で人為的な移入の可能性があったのか調査するとともに, まだ報告されていない日本太平洋沿岸部の地域でも採集・遺伝子解析を行い, 採集場所やサンプル数を増やして分子データの蓄積も必要と思われる。

## 謝辞

本論文の作成に当たり丁寧な校閲と適切なコメントを下さった 2 名の査読者に感謝します。本研究の一部は, JSPS 科研費 (課題番号 22H02418) の助成を受けて実施された。

## 引用文献

- Broom, J. E., Nelson, W. A., Yarish, C., Jones, W. A., Aguilar-Rosas, R. & Aguilar-Rosas, L. E. 2002. A reassessment of the taxonomic status of *Porphyra suborbiculata*, *Porphyra carolinensis* and *Porphyra lilliputiana* (Bangiales, Rhodophyta) based on molecular and morphological data. *Eur. J. Phycol.* 37: 227–235.
- Freshwater, D. E. & Kapraun, D. F. 1986. Field, culture and cytological studies of *Porphyra carolinensis* Coll et Cox (Bangiales, Rhodophyta) from North Carolina. *Jpn. J. Phycol.* 34: 251–262.
- Hanyuda, T., Suzawa, Y., Suzawa, T. *et al.* 2004. Biogeography and taxonomy of *Batrachospermum helminthosum* (Batrachospermales, Rhodophyta) in Japan inferred from *rbcl* gene sequences. *J. Phycol.* 40: 581–588.
- Johnson, M., Zaretskaya, I., Raytselis, Y., Merezuk, Y., McGinnis, S. & Madden, T. L. 2008. NCBI BLAST: a better web interface. *Nucleic Acids Res.* 36: W5–W9.



- Kjellman, F. R. 1897. Japanska arter af släktet *Porphyra*. Bihang till K. Svenska Vet. Akad. Handlingar. 23: 1–34.
- Koh, Y. H. & Kim, M. S. 2020. Genetic diversity and distribution pattern of economic seaweeds *Pyropia yezoensis* and *Py. suborbiculata* (Bangiales, Rhodophyta) in the northwest Pacific. *J. Appl. Phycol.* 32: 2495–2504.
- Kucera, H. & Saunders, G. W. 2012. A survey of Bangiales (Rhodophyta) based on multiple molecular markers reveals cryptic diversity. *J. Phycol.* 48: 869–882.
- Larsson, A. 2014. AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large data sets. *Bioinformatics* 30: 3276–3278.
- Lindstrom, S. C. 2008. Cryptic diversity, biogeography and genetic variation in northeast Pacific species of *Porphyra sensu lato* (Bangiales, Rhodophyta). *J. Appl. Phycol.* 20: 951–962.
- Lindstrom, S. C. & Fredericq, S. 2003. *rbcl* gene sequences reveal relationships among north-east Pacific species of *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) and a new species, *P. aestivalis*. *Phycol. Res.* 51: 211–224.
- Milstein, D., Medeiros, A. S., Oliveira, E. C. & Oliveira, M. C. 2015. Native or introduced? A re-evaluation of *Pyropia* species (Bangiales, Rhodophyta) from Brazil based on molecular analyses. *Eur. J. Phycol.* 50: 37–45.
- Milstein, D. & Oliveira, M. C. 2005. Molecular phylogeny of Bangiales (Rhodophyta) based on small subunit rDNA sequencing: emphasis on Brazilian *Porphyra* species. *Phycologia* 44: 212–221.
- Mols-Mortensen, A., Neefus, C. D., Nielsen, R. *et al.* 2012. New insights into the biodiversity and generic relationships of foliose Bangiales (Rhodophyta) in Iceland and the Faroe Islands. *Eur. J. Phycol.* 47: 146–159.
- Müller, K. M., Sheath, R. G., Vis, M. L., Crease, T. J. & Cole, K. M. 1998. Biogeography and systematics of *Bangia* (Bangiales, Rhodophyta) based on the Rubcisco spacer, *rbcl* gene and 18S rRNA gene sequences and morphometric analyses. 1. North America. *Phycologia* 37: 195–207.
- Neefus, C. D., Mathieson, A. C. & Bray, T. L. 2008. The distribution, morphology and ecology of three introduced Asiatic species of *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) in the northwestern Atlantic. *J. Phycol.* 44: 1399–1414.
- Nelson, W. A. & Broom, J. E. S. 2010. The identity of *Porphyra columbina* (Bangiales, Rhodophyta) originally described from the New Zealand subantarctic islands. *Aust. Syst. Bot.* 23: 16–26.
- Nelson, W. A., Knight, G. A. & Hawkes, M. W. 1998. *Porphyra lilliputiana* sp. nov. (Bangiales, Rhodophyta): A diminutive New Zealand endemic with novel reproductive biology. *Phycol. Res.* 46: 57–61.
- Nguyen, L. T., Schmidt, H. A., von Haeseler, A. & Minh, B. Q. 2015. IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum likelihood phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 32: 268–274.
- Niwa, K., Kato, A., Kobiyama, A., Kawai, H. & Aruga, Y. 2008. Comparative study on wild and cultivated *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta) based on molecular and morphological data. *J. Appl. Phycol.* 20: 261–270.
- Niwa, K., Kikuchi, N. & Aruga, Y. 2005. Morphological and molecular analysis of the endangered species *Porphyra tenera* (Bangiales, Rhodophyta). *J. Phycol.* 41: 294–304.
- Notoya, M. 1999. 'Seed' production of *Porphyra* spp. by tissue culture. *J. Appl. Phycol.* 11: 105–110.
- Okamoto, M., Ikeura, A., Tamaki, M. & Niwa, K. 2023. Confirmation of *Neoporphyra cf. dentata* on Shikinejima, Izu Islands, southcentral Japan, and comparison with co-occurring *Neoporphyra haitanesis*. *Phycol. Res.* 71: 209–216.
- 大野正夫 1970. 土佐湾の海藻. 高知県 (編) 海洋資源開発基礎調査報告書. pp. 17–28. 高知県.
- Rambaut, A. 2016. FigTree v1.4.3. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- Rambaut, A., Suchard, M. A., Xie, D. & Drummond, A. J. 2014. Tracer v1.6 computer program and documentation distributed by the author. <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>
- Ronquist, F. M., Teslenko, P., van der Mark, D. L. *et al.* 2012. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model selection across a large model space. *Syst. Biol.* 61: 539–542.
- Sano, F., Murata, K. & Niwa, K. 2020. Identification, growth, and pigment content of a spontaneous green mutant of *Pyropia kinositae* (Bangiales, Rhodophyta). *J. Appl. Phycol.* 32: 1983–1994.
- Saunders, G. W. & Kraft, G. T. 1994. Small-subunit rRNA gene sequences from representatives of selected families of the Gigartinales and Rhodymeniales (Rhodophyta). I. Evidence for the Plocamiales ord. nov. *Can. J. Bot.* 72: 1250–1263.
- Silva, P., Basson, P. & Moe, R. 1996. Catalogue of the benthic marine algae of the Indian Ocean. *Univ. Calif. Publ. Bot.* 79: 1–1259.
- Silva, P., Menez, E. & Moe, R. 1987. Catalogue of the benthic marine algae of the Philippines. *Smithsonian Contrib. Mar. Sci.* 27: 1–179.
- 玉城泉也・藤吉栄次・藤田雄二ら 2017. 沖縄諸島、先島諸島および南大東島で採集された紅藻ツクシアマノリおよびマルバアマノリの形態および DNA 分析. *水産増殖* 65: 293–301.
- Tamura, K., Stecher, G. & Kumar, S. 2021. MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Mol. Biol. Evol.* 38: 3022–3027.
- Tanabe, A. S. 2011. Kakusan4 and Aminosan: Two programs for comparing nonpartitioned, proportional and separate models for combined molecular phylogenetic analyses of multilocus sequence data. *Mol. Ecol. Resour.* 11: 914–921.
- Tanaka, T. 1952. The systematic study of the Japanese Protofloridae. *Mem. Fac. Fish. Kagoshima Univ.* 2(2): 1–92.
- 殖田三郎 1932. 日本産あまのり属ノ分類学的研究. *水産講習所研究報告* 28: 1–45.
- Vergés, A., Comalada, N., Sánchez, N. & Brodie, J. 2013a. A reassessment of the foliose Bangiales (Rhodophyta) in the Balearic Islands including the proposed synonymy of *Pyropia olivii* with *Pyropia koreana*. *Bot. Mar.* 56: 229–240.
- Vergés, A., Sánchez, N., Peteiro, C., Polo, L. & Brodie, J. 2013b. *Pyropia suborbiculata* (Bangiales, Rhodophyta): first records from the northeastern Atlantic and Mediterranean of this North Pacific species. *Phycologia* 52: 121–129.
- Yang, L. E., Deng, Y. Y., Xu, G. P., Russell, S., Lu, Q. Q. & Brodie, J. 2020. Redefining *Pyropia* (Bangiales, Rhodophyta): four new genera, resurrection of *Porphyrella* and description of *Calidia pseudolobata* sp. nov. from China. *J. Phycol.* 56: 862–879.
- Zuccarello, G. C., Wen, X. & Kim, G. H. 2022. Splitting blades: why genera need to be more carefully defined; the case for *Pyropia* (Bangiales, Rhodophyta). *Algae* 37: 205–211.

(2024年3月22日受付, 2024年5月8日受理)

通信担当編集委員: 芹澤(松山)和世