短

報

日本海若狭湾西部において見出された
底生渦鞭毛藻 *Gambierdiscus* 属畑山 裕城,¹ 石川 輝,² 夏池 真史,¹
武市 有未,² 鯨坂 哲朗,¹
澤山 茂樹,¹ 今井 一郎^{3*}

(2010 年 10 月 13 日受付, 2011 年 2 月 28 日受理)

¹京都大学大学院農学研究科,²三重大学大学院生物資源学研究科,³北海道大学大学院水産科学研究院First report of the benthic dinoflagellate of
the genus *Gambierdiscus* from western
Wakasa Bay in the Sea of JapanYUKI HATAYAMA,¹ AKIRA ISHIKAWA,²
MASAFUMI NATSUIKE,¹ YUMI TAKEICHI,²
TETSURO AJISAKA,¹ SHIGEKI SAWAYAMA¹
AND ICHIRO IMAI^{3*}¹Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Sakyo,
Kyoto 606-8502, ²Graduate School of Bioresources, Mie
University, Tsu, Mie 514-8507, ³Graduate School of Fish-
eries Sciences, Hokkaido University, Hakodate, Hokkaido
041-8611, Japanキーワード: *Gambierdiscus* 属, シガテラ, 日本海, 若
狭湾

底生性渦鞭毛藻 *Gambierdiscus* 属は、海藻などに付着した生活を行い、世界各地の熱帯、亜熱帯海域で起こる食中毒シガテラの主要毒素であるシガトキシン、マイトトキシン等を生成する微細藻として知られている。シガテラは、食物連鎖を通じてこれらの毒素が蓄積された高次食段階の魚類を喫食することにより発症する。*Gambierdiscus* 属の基準種である *G. toxicus* は、フランス領ポリネシアのガンビエル諸島で発見され、1979 年に報告されている。¹⁾ 現在ではミクロネシア、カリブ海など世界各地の熱帯、亜熱帯海域に広く分布することが確認されている。

日本では南西諸島を中心にシガテラが発生し、*G. toxicus* の分布も確認された。^{2,3)} 本州においても散発的にシガテラが発生しており、*G. toxicus* に関しては、伊豆半島における分布が 1982 年に報告されている。⁴⁾ 近年では千葉県や三重県、和歌山県などの本州太平洋沿岸各地でシガテラが発生しており、*Gambierdiscus* 属の生息も確認されていることから、*G. toxicus* をはじめとした本属渦鞭毛藻の分布の北上拡大が示唆されている。^{5,6)} また、

G. toxicus を含む付着性渦鞭毛藻が流れ藻から検出されており、⁷⁾ このような温帯域への分布拡大要因の一つとしては黒潮による流れ藻の運搬も考えられる。

日本海ではこれまでシガテラの発生報告は無く、したがって *Gambierdiscus* 属に関する調査研究もなされていない。しかしながら、日本海には東シナ海から対馬暖流が流入し、近年では海水温の上昇が指摘されており(気象庁: www.data.kishou.go.jp/kaiyou/db/maizuru/maizuru_warm/maizuru_warm_areaE.html#title)、かつ、東シナ海由来の流れ藻が流入しているため、⁸⁾ 太平洋沿岸と同じく *Gambierdiscus* 属が生息している可能性は十分に予測できる。その場合、日本海産有用魚の消費によりシガテラが発生する恐れもあることから、日本海沿岸においてシガテラ発生リスクを事前に評価することが必要と考えられる。本研究では以上のような背景から、シガテラの原因とされる *Gambierdiscus* 属の日本海沿岸における生息状況を調査した。

海藻及び海草試料の採取は、2009 年 9 月 24 日に京都府京丹後市丹後町中浜(水深 0.5~4.0 m: 35°45.65'N, 135°10.93'E)、伊根町新井崎(0.5~5.0 m: 35°41.52'N, 135°18.28'E)、宮津市宇小田宿野(0.5~2.0 m: 35°33.23'N, 135°15.27'E)、25 日には京都府舞鶴市長浜(0.5~4.0 m: 35°29.42'N, 135°22.02'E)、舞鶴市瀬崎(0.5~5.0 m: 35°32.75'N, 135°20.65'E)、福井県高浜町事代(0.5~3.0 m: 35°29.67'N, 135°33.28'E)の計 6 定点において潜水(シュノーケリング)により行い、全 29 種、62 試料が得られた。採集試料は水中でチャック付ビニール袋に入れた。現場では、採取と同時に水温と塩分の測定を水温塩分測定器(Kent, EIL5005)により行った。

海藻試料の処理と *Gambierdiscus* 属細胞の観察・計数は、石川・倉島(2010)⁵⁾にほぼ準じた。採取した試料は、ビニール袋からポリ瓶に移した後密閉し、200 回激しく震盪して付着物を剥離した。ポリ瓶の内容物は目合い 200 μ m のナイロンメッシュにより濾過し、通過濾液中の懸濁粒子を目合い 20 μ m のナイロンメッシュ上に捕集した。得られた粒子の懸濁海水には中性ホルマリンを終濃度が 1% (v/v) になるように加えて固定した。また、目合い 200 μ m のナイロンメッシュに残った海藻及び海草試料については、野菜の水切り用回転式ザル容器(市販品)を用いて手動回転による遠心分離を行い、試料に付着した余分な海水を振り落とした後、湿重量を測定した。検鏡時には、1 mg/mL に調整した Cal-

Fig. 1 *Gambierdiscus* cells from western Wakasa Bay observed by scanning electron microscopy (SEM). (A) Apical view. (B) Antapical view. (C) Oblique ventral view. (D) Close view of apical pore complex (APC) on P0. APC shows the characteristic fish hook shape. Scale bar: 10 μ m.

cofluor white M2R (Sigma-Aldrich Co, St. Louis, MO, USA) 溶液を終濃度が 10 μ g/mL になるよう試料に加えて 30 分以上静置し、試料中の渦鞭毛藻の鎧板を染色した。⁹⁾ 濃縮試料は倒立落射蛍光顕微鏡 (Nikon, TE300) により、UV 励起光 (350 nm, EX330-380, UV-2A, BA420) 下で鎧板を観察した。各試料につき 0.5 mL ずつ 3 回計数を行い、各海藻及び海草に付着していた *Gambierdiscus* 属の細胞密度を求めた。また、*Gambierdiscus* 属の細胞形態を精査するため、石川・倉島 (2010)⁵⁾ に示された方法と同様に細胞を処理して試料を作成し、走査型電子顕微鏡 (日本電子, JSM-T200) を用いた観察に供した。

高浜, 瀬崎, 宮津, 新井崎, 中浜の計 5 定点で *Gambierdiscus* 属の生息が確認された。観察された細胞 ($n=30$) は、背腹長 68.8~102.5 μ m (平均 87.6 μ m), 体幅 67.5~105.0 μ m (平均 86.0 μ m), 体長 37.5~67.5 μ m (平均 53.0 μ m) であり、上下にやや扁平、鎧板配列は P₀, 3', 7'', 5'', 1p, 2''' で *Gambierdiscus* 属の配列を示した (Fig. 1)。¹⁰⁾ また、多くの細胞では 1p が大きく、2' が手斧状、1p の背面側先端が尖っているなど、形態的特徴が原記載¹⁾ の *G. toxicus* のそれと一致し、さらに Litaker et al. (2009) の検索図¹¹⁾ から *G. toxicus* と分類できるものであった (僅かながら 1p が若干小さい細胞も見受けられた)。しかし、*Gambierdiscus* 属の形態は種間で非常に酷似しているものが多く、光学顕微鏡や走査型電子顕微鏡による観察に基づいた同定には問題があることも Litaker et al. (2009, 2010)^{11,12)} によって指摘されているため、本論文では *Gambierdiscus* 属と記述することにした。近年 PCR 法などを用いた分子生物学的手法と合

Fig. 2 Abundance of *Gambierdiscus* (cells/g wet weight) attached to the surface of macroalgae collected at 5 stations (Takahama, Sezaki, Miyazu, Niizaki, Nakahama). Circled numbers correspond to a different algal body of the same macroalgal species. Letters in parentheses, R, P and C, indicate Rhodophyceae, Phaeophyceae and Chlorophyceae, respectively.

わせて *Gambierdiscus* 属の分類が検討されており^{6,11,12)}、本研究で発見された日本海産 *Gambierdiscus* 属についても、今後遺伝子等による詳細な分類学的検討を行なう必要があろう。

各定点における *Gambierdiscus* 属の検出結果については、Fig. 2 に示した。高浜町事代においては 6 試料から検出され、最高値は紅藻 *Amphiroa zonata* (ウスカワカニノテ) の 0.8 cells/g wet weight (海藻湿重量 1 g あたりの細胞数) であった。舞鶴市瀬崎では 8 試料で検出され、最高値は褐藻 *Padina crassa* (コナウミウチワ) の 1.5 cells/g ww であった。舞鶴湾内の舞鶴市長浜からは確認されなかった。宮津市宇小田宿野においては、全試料に *Gambierdiscus* 属が存在し、最高値は褐藻 *Sargassum thunbergii* (ウミトラノオ) の 6.2 cells/g ww を記録した。伊根町新井崎では、海藻 8 試料から *Gambierdiscus* 属を検出し、最高値は紅藻 *Corallina confusa* (ミヤヒバ) の 11.5 cells/g ww が記録された。京丹後市中浜では海藻 3 種から *Gambierdiscus* 属を見出したが、細胞密度の最高値は褐藻 *Dictyopteris prolifera* (へ

ラヤハズ) の 0.4 cells/g ww と、比較的低密度であった。6 定点すべてにおける平均は 0.9 cells/g ww であった。以上のように、若狭湾本湾に面したすべての定点で *Gambierdiscus* 属の生息が確認され、特に丹後半島東側の沿岸で細胞数が多い傾向が認められた。しかし、舞鶴湾奥にある長浜では検出されなかった。また、各定点において複数種採取された褐藻綱と紅藻綱との間で、*Gambierdiscus* 属の付着細胞数に差があるか否かを解析したところ(緑藻綱では 1 種しか採取されなかったため解析不能)、高浜 (U 検定; $p < 0.05$) 以外の場所では有意な差が認められなかった (U 検定; $p > 0.05$)。このことは、*Gambierdiscus* 属には海藻類への付着特異性がみられなかったとした三重県英虞湾浜島からの報告⁵⁾とも一致する。各定点における調査時の水温は 24.1~25.2°C、塩分は 32.9~34.1 であり、過去の報告^{13,14)}から生育に適した数値範囲の環境であった。

現在、地球温暖化が進行しつつあるといわれており、このまま日本海沿岸において海水温の上昇が続くと、熱帯性である *Gambierdiscus* 属個体群の増加及び分布の拡大が進行し、シガテラ発生の危険性が高まると予想される。そのため、日本海産 *Gambierdiscus* 属の分布と毒性、及びシガテラ毒を保有する可能性のある魚類種についての毒性検査などの研究が、現時点における最重要の緊急課題と考えられる。

謝 辞

本研究を進めるにあたり、京都大学大学院農学研究科海洋環境微生物学分野の関係者の皆様、三重大学大学院医学研究科電子顕微鏡室・技術専門員の小川 寛 氏、三重大学大学院生物資源学研究科生物海洋学研究室の皆様、京都大学フィールド科学教育研究センター舞鶴水産実験所の方々、ならびに若狭高浜漁業協同組合、舞鶴市漁業協同組合、宮津市漁業協同組合栗田支所、伊根町漁業協同組合新井崎支所、丹後町漁業協同組合下宇川支所の皆様方には、情報提供と便宜供与の点において大変お世話になりました。謹んで心から感謝申し上げます。

文 献

- 1) Adachi R, Fukuyo Y. The thecal structure of a marine tox-

- ic dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus* gen. et sp. nov. collected in a ciguatera-endemic area. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1979; **45**: 67-71.
- 2) Fukuyo Y. Taxonomical study on benthic dinoflagellates collected in coral reefs. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1981; **47**: 967-978.
- 3) Koike K, Ishimaru T, Murano M. Distributions of benthic dinoflagellates in Akajima island, Okinawa, Japan. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1991; **57**: 2261-2264.
- 4) 原 慶明, 堀口健雄. 伊豆半島沿岸の海産微細藻類相. 国立科博専報 1982; **15**: 99-108.
- 5) 石川 輝, 倉島 彰. 英虞湾における底生性有毒渦鞭毛藻 *Gambierdiscus toxicus* の出現. 水産海洋研究 2010; **74**: 13-19.
- 6) Kuno S, Kamikawa R, Yoshimatsu S, Sagara T, Nishio S, Sako Y. Genetic diversity of *Gambierdiscus* spp. (Gonyaulacales, Dinophyceae) in Japanese coastal areas. *Phycol. Res.* 2010; **58**: 44-52.
- 7) Bomber JW, Morton SL, Babinchak JA, Norris DR, Morton JG. Epiphytic dinoflagellates of drift algae—Another toxigenic community in the ciguatera food chain. *Bull. Mar. Sci.* 1988; **43**: 204-214.
- 8) 小松輝久, 杉本隆成. 流れ藻の輸送過程. 月刊海洋 2004; **36**: 464-468.
- 9) Fritz L, Triemer RE. A rapid simple technique utilizing Calcofluor White M2R for the visualization of dinoflagellate thecal plates. *J. Phycol.* 1985; **21**: 662-664.
- 10) Faust MA, Gulledge RA. *Identifying Harmful Marine Dinoflagellate. Contributions from the United States National Herbarium Vol. 42.* Department of Systematic Biology-Botany, National Museum of Natural History, Smithsonian Institution. Washington DC. 2002: 144.
- 11) Litaker RW, Vandersea MW, Faust MA, Kibler SR, Chinain M, Holmes MJ, Holland WC, Tester PA. Taxonomy of *Gambierdiscus* including four new species, *Gambierdiscus caribaeus*, *Gambierdiscus carolinianus*, *Gambierdiscus carpenteri* and *Gambierdiscus ruetzleri* (Gonyaulacales, Dinophyceae). *Phycologia* 2009; **48**: 344-390.
- 12) Litaker RW, Vandersea MW, Faust MA, Kibler SR, Nau AW, Holland WC, Chinain M, Holmes MJ, Tester PA. Global distribution of ciguatera causing dinoflagellates in the genus *Gambierdiscus*. *Toxicon* 2010; **56**: 711-730.
- 13) Yasumoto T, Inoue A, Ochi T, Fujimoto K, Oshima Y, Fukuyo Y, Adachi R, Bagnis R. Environmental studies on a toxic dinoflagellate responsible for ciguatera. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1980; **46**: 1397-1404.
- 14) Bomber JW, Guillard RRL, Nelson WG. Roles of temperature, salinity and light in seasonality, growth, and toxicity of ciguatera causing *Gambierdiscus toxicus* Adachi et Fukuyo (Dinophyceae). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 1988; **115**: 53-65.