

1 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

2  
3 日本海の *Gambierdiscus* 属

4  
5 畑山裕城,<sup>1</sup> 石川 輝,<sup>2</sup> 夏池真史,<sup>1</sup> 武市有未,<sup>2</sup> 鯨坂哲朗,<sup>1</sup> 澤山茂樹,<sup>1</sup>  
6 今井一郎<sup>3\*</sup>

7  
8 <sup>1</sup>京都大学大学院農学研究科, <sup>2</sup>三重大学大学院生物資源学研究科, <sup>3</sup>北海道大学大  
9 学院水産科学研究所

10  
11 First report of the benthic dinoflagellate of the genus *Gambierdiscus* from  
12 western Wakasa Bay in the Sea of Japan

13  
14 YUKI HATAYAMA,<sup>1</sup> AKIRA ISHIKAWA,<sup>2</sup> MASAFUMI NATSUIKE,<sup>1</sup> YUMI  
15 TAKEICHI,<sup>2</sup> TETSURO AJISAKA,<sup>1</sup> SHIGEKI SAWAYAMA<sup>1</sup> AND ICHIRO IMAI<sup>3\*</sup>

16  
17 <sup>1</sup>*Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Kyoto 606-8502, Japan,*

18 <sup>2</sup>*Graduate School of Bioresources, Mie University, Tsu, Mie 514-8507, Japan,*

19 <sup>3</sup>*Graduate School of Fisheries Sciences, Hokkaido University, Hakodate,*  
20 *Hokkaido 041-8611, Japan*

21  
22 

23 

24 

26 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  
27 畑山裕城 (京大院農), 石川 輝 (三重大院生資), 夏池真史 (京大院農),  
28 武市有未 (三重大院生資), 鯨坂哲朗 澤山茂樹 (京大院農),  
29 今井一郎 (北大院水)

30 シガテラの主要毒素は、底生性渦鞭毛藻 *Gambierdiscus* 属が生成すると考え  
31 られている。シガテラが散発する本州太平洋岸においては、有毒種  
32 *Gambierdiscus toxicus* の出現が 1980 年代から確認されている。一方、日本海  
33 沿岸ではシガテラの発生報告がなく、*Gambierdiscus* 属の生息も報告されてい  
34 ない。本研究では 2009 年 9 月に若狭湾西部の 6 定点で調査を行い、  
35 *Gambierdiscus* 属が日本海沿岸においても生息していることを見出した。今後  
36 は日本海産 *Gambierdiscus* 属の詳細な分類や広域的な分布を含め、その毒性や  
37 高次捕食魚類の毒化状況など包括的な研究の必要性が示唆される。

38  
39 キーワード:*Gambierdiscus* 属 シガテラ 日本海 若狭湾  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50

51 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  
52 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  
53 ン、マイトトキシ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  
54 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  
55 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  
56 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。<sup>1)</sup> 現在では  
57 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  
58 が確認されている。

59 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  
60 た。<sup>2,3)</sup> 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  
61 は、伊豆半島における分布が1982年に報告されている。<sup>4)</sup> 近年では千葉県や三  
62 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、  
63 *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  
64 た本属渦鞭毛藻の分布の北上拡大が示唆されている。<sup>5,6)</sup> また、*G. toxicus* を含  
65 む付着性渦鞭毛藻が流れ藻から検出されており、<sup>7)</sup> このような温帯域への分布  
66 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。

67 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*  
68 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  
69 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：  
70 [www.data.kishou.go.jp/kaiyou/db/maizuru/maizuru\\_warm/maizuru\\_warm\\_a](http://www.data.kishou.go.jp/kaiyou/db/maizuru/maizuru_warm/maizuru_warm_a)  
71 [reaE.html#title](http://www.data.kishou.go.jp/kaiyou/db/maizuru/maizuru_warm/maizuru_warm_a))、かつ、東シナ海由来の流れ藻が流入しているため、<sup>8)</sup> 太平洋  
72 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  
73 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、  
74 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  
75 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

76 *Gambierdiscus* 属の日本海沿岸における生息状況を調査した。

77 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  
78 (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°  
79 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'  
80 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  
81 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  
82 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  
83 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  
84 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  
85 (Kent, EIL5005)により行った。

86 海藻試料の処理と *Gambierdiscus* 属細胞の観察・計数は、石川・倉島(2010)  
87 <sup>5)</sup>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、  
88 200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 µmのナ  
89 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 µmのナイロ  
90 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  
91 度が1% (v/v)になるように加えて固定した。また、目合い200 µmのナイロン  
92 メッシュ上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  
93 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  
94 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  
95 Calcofluor white M2R (Sigma-Aldrich Co, St. Louis, MO, USA) 溶液を終濃度  
96 が10 µg / 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  
97 鎧板を染色した。<sup>9)</sup>濃縮試料は倒立落射蛍光顕微鏡(Nikon, TE300)により、  
98 UV励起光(350 nm, EX330-380, UV-2A, BA420)下で鎧板を観察した。各試料  
99 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  
100 *Gambierdiscus* 属の細胞密度を求めた。また、*Gambierdiscus* 属の細胞形態を

101 精査するため、石川・倉島 (2010)<sup>5)</sup> に示された方法と同様に細胞を処理して試  
102 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。

103 高浜、瀬崎、宮津、新井崎、中浜の計 5 定点で *Gambierdiscus* 属の生息が確  
104 認された。観察された細胞 (n=30) は、背腹長 68.8~102.5  $\mu\text{m}$  (平均 87.6  $\mu\text{m}$ )、  
105 体幅 67.5~105.0  $\mu\text{m}$  (平均 86.0  $\mu\text{m}$ )、体長 37.5~67.5  $\mu\text{m}$  (平均 53.0  $\mu\text{m}$ ) であ  
106 り、上下にやや扁平、鎧板配列は P<sub>0</sub>, 3', 7'', 5''', 1p, 2''''で *Gambierdiscus* 属の  
107 配列を示した (Fig. 1)。<sup>10)</sup> また、多くの細胞では 1p が大きく、2' が手斧状、1p  
108 の背面側先端が尖っているなど、形態的特徴が原記載<sup>1)</sup>の *G. toxicus* のそれと  
109 一致し、さらに Litaker et al. (2009) の検索図<sup>11)</sup>からも *G. toxicus* と分類でき  
110 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、  
111 *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  
112 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  
113 et al. (2009, 2010)<sup>11, 12)</sup>によって指摘されているため、本論文では  
114 *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  
115 的手法と合わせて *Gambierdiscus* 属の分類が検討されており<sup>6, 11, 12)</sup>、本研究で  
116 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  
117 分類学的検討を行なう必要がある。

Fig.1

118 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。  
119 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  
120 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  
121 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  
122 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  
123 なかった。宮津市字小田宿野においては、全試料に *Gambierdiscus* 属が存在し、  
124 最高値は褐藻 *Sargassum thunbergii* (ウミトラノオ) の 6.2 cells/g ww を記録し  
125 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

Fig.2

126 紅藻 *Corallina confuse* (ミヤヒバ) の 11.5 cells/g ww が記録された。京丹後市  
127 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  
128 藻 *Dictyopteris prolifera* (ヘラヤハズ) の 0.4 cells/g ww と、比較的低密度であ  
129 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  
130 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  
131 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  
132 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  
133 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  
134 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 ;  $p$   
135  $< 0.05$ ) 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  
136 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  
137 た三重県英虞湾浜島からの報告<sup>5)</sup>とも一致する。各定点における調査時の水温は  
138 24.1~25.2°C、塩分は 32.9~34.1 であり、過去の報告<sup>13, 14)</sup>から生育に適した数  
139 値範囲の環境であった。

140 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  
141 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  
142 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  
143 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  
144 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  
145 急課題と考えられる。

146

147

## 謝 辞

148

149

150

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

151 覚 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  
152 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  
153 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  
154 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  
155 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。  
156

## 158 文 献

- 159
- 160 1) Adachi R, Fukuyo Y. The thecal structure of a marine toxic dinoflagellate  
161 *Gambierdiscus toxicus* gen. et sp. nov. collected in a ciguatera-endemic  
162 area. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1979; **45**: 67–71.
- 163 2) Fukuyo Y. Taxonomical study on benthic dinoflagellates collected in coral  
164 reefs. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1981; **47**: 967–978.
- 165 3) Koike K, Ishimaru T, Murano M. Distributions of benthic dinoflagellates  
166 in Akajima island, Okinawa, Japan. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1991; **57**:  
167 2261–2264.
- 168 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;  
169 **15**: 99–108.
- 170 5) 石川 輝, 倉島 彰. 英虞湾における底生性有毒渦鞭毛藻 *Gambierdiscus*  
171 *toxicus* の出現. 水産海洋研究 2010; **74**:13–19.
- 172 6) Kuno S, Kamikawa R, Yoshimatu S, Sagara T, Nishio S, Sako Y . Genetic  
173 diversity of *Gambierdiscus* spp. (Gonyaulacales, Dinophyceae) in  
174 Japanese coastal areas. *Phycol. Res.* 2010; **58**: 44–52.
- 175 7) Bomber JW, Morton SL, Babinchak JA, Norris DR, Morton JG. Epiphytic

- 176 dinoflagellates of drift algae – Another toxigenic community in the  
177 ciguatera food chain. *Bull. Mar. Sci.* 1988; **43**: 204–214.
- 178 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.
- 179 9) Fritz L, Triemer RE. A rapid simple technique utilizing Calcofluor White  
180 M2R for the visualization of dinoflagellate thecal plates. *J. Phycol.* 1985;  
181 **21**: 662–664.
- 182 10) Faust MA, Gulledge RA. *Identifying Harmful Marine Dinoflagellate.*  
183 *Contributions from the United States National Herbarium Vol. 42.*  
184 Department of Systematic Biology-Botany, National Museum of Natural  
185 History, Smithsonian Institution. Washinton DC. 2002:144.
- 186 11) Litaker RW, Vandersea MW, Faust MA, Kibler SR, Chinain M, Holmes  
187 MJ, Holland WC, Tester PA. Taxonomy of *Gambierdiscus* including  
188 four new species, *Gambierdiscus caribaeus*, *Gambierdiscus carolinianus*,  
189 *Gambierdiscus carpenteri* and *Gambierdiscus ruetzleri* (Gonyaulacales,  
190 Dinophyceae). *Phycologia* 2009; **48**: 344–390.
- 191 12) Litaker RW, Vandersea MW, Faust MA, Kibler SR, Nau AW, Holland  
192 WC, Chinain M, Holmes MJ, Tester PA. Global distribution of ciguatera  
193 causing dinoflagellates in the genus *Gambierdiscus*. *Toxicon* 2010; **56**:  
194 711–730.
- 195 13) Yasumoto T, Inoue A, Ochi T, Fujimoto K, Oshima Y, Fukuyo Y, Adachi  
196 R, Bagnis R. Environmental studies on a toxic dinoflagellate  
197 responsible for ciguatera. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1980; **46**:  
198 1397–1404.
- 199 14) Bomber JW, Guillard RRL, Nelson WG. Roles of temperature, salinity  
200 and light in seasonality, growth, and toxicity of ciguatera causing



201 *Gambierdiscus toxicus* Adachi et Fukuyo (Dinophyceae). *J. Exp. Mar.*  
202 *Biol. Ecol.* 1988; **115**:53–65.

203

204

205

206

207

208

209

210

211

212

213

214

215

216

217

218

219

220

221

222

223

224

225

226 Fig. 1 *Gambierdiscus* cells from western Wakasa Bay observed with  
227 scanning electron microscopy (SEM).

228 (A) Apical view. (B) Antapical view. (C) Oblique ventral view. (D) Close view  
229 of apical pore complex (APC) on P0. APC shows the characteristic fish hook  
230 shape. Scale bars: 10  $\mu$ m.

231

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

237

238

239

240

241

242

243

244

245

246

247

248

249

250

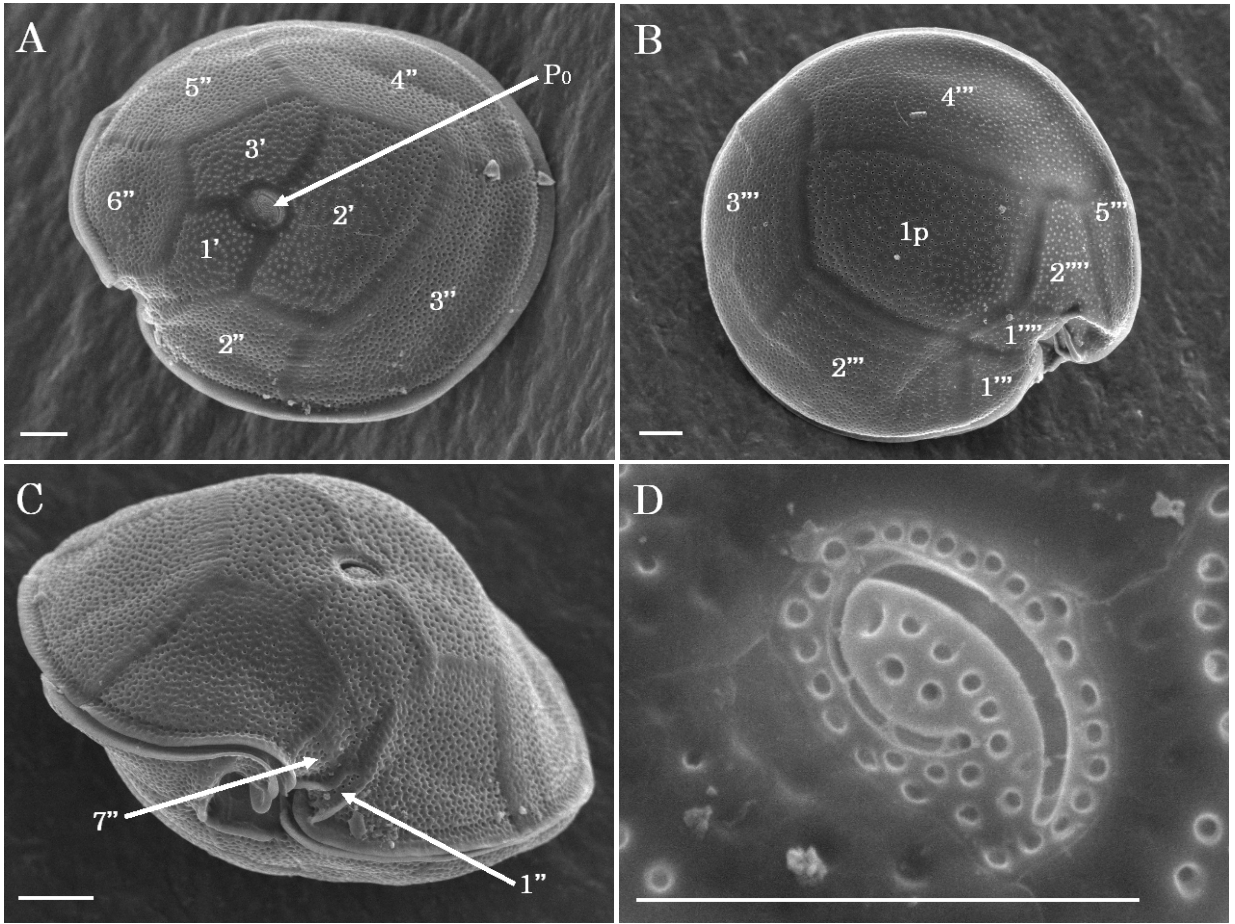


Fig. 1

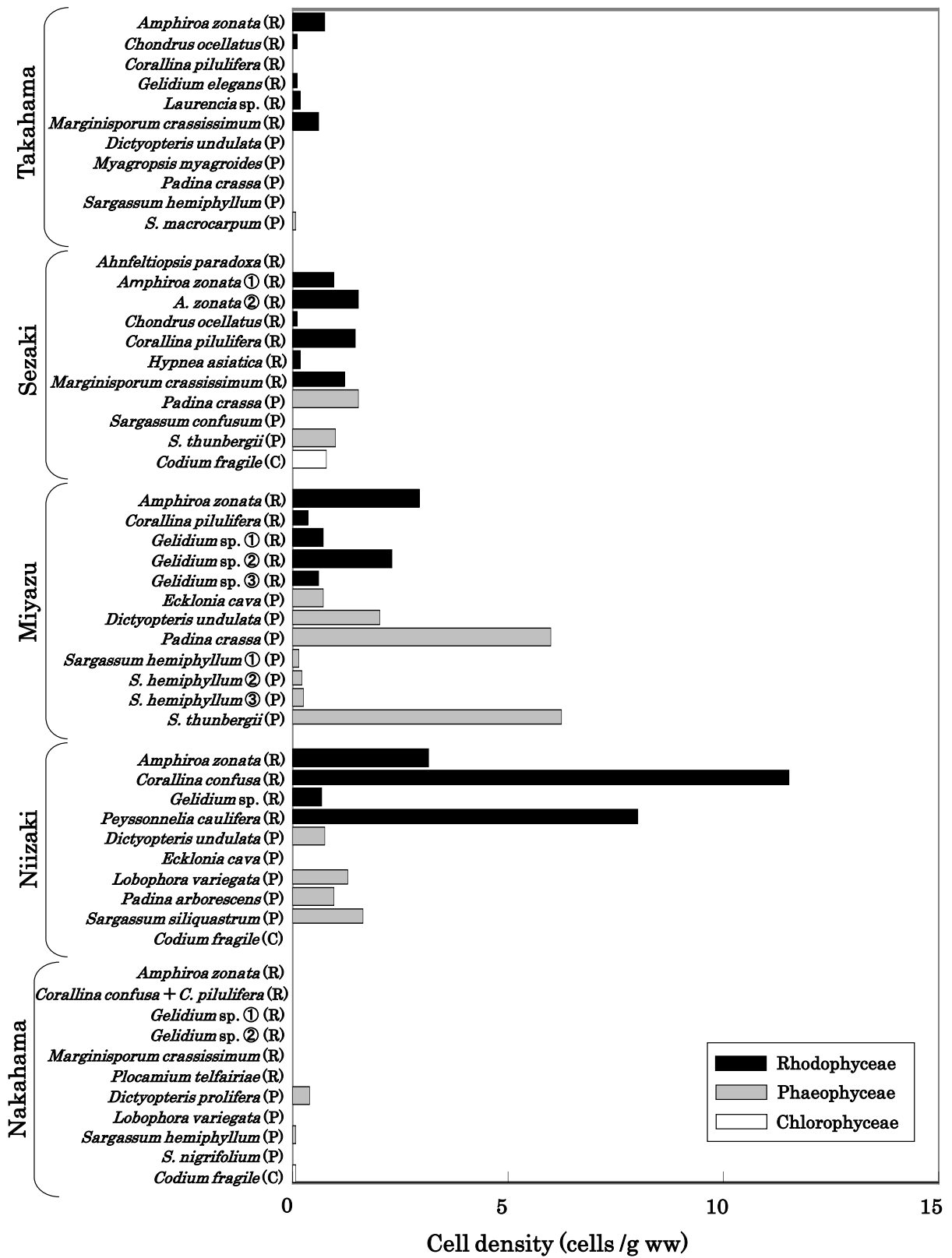


Fig. 2