

日本産ツムギハゼの遺伝的集団構造とテトロドトキシン含有量

Genetic population structure and tetrodotoxin content of yellowfin toxic goby *Yongeichthys criniger* in the Japanese coastal area

野原健司¹·鉄 多加志¹·河野裕美²·斎藤俊郎¹

Kenji Nohara*, Takashi Tetsu, Hiroyoshi Kohno, Toshio Saito

1 東海大学海洋学部,静岡県静岡市清水区折戸 3-20-1

2 東海大学沖縄地域研究センター,沖縄県八重山郡竹富町上原 870-277

¹Scholl of Marine Science and Technology, Department of Marine Biology, Tokai University, 3-20-1 Orido, Shimizu, Shizuoka 424-8610, Japan, ²Okinawa Regional Research Center, Tokai University, 870-277 Uehara, Taketomi-cho Yaeyama district, Okinawa 907-1541, Japan.

*Corresponding author; e-mail: knohara@tokai-u.jp, Tel: +81-54-334-0411.

Abstract

We investigated genetic population structure and tetrodotoxin (TTX) content of yellowfin toxic goby *Yongeichthys criniger* in the Japanese coastal area. Two divergent mitochondrial lineages (lineages A and B) were found, and the frequencies were clearly different among Okinawa-Iriomote Island, Amami Oshima Island and northward of Yakushima Island. Genetic heterogeneity among three groups were supported by principal coordinate analysis based on the pairwise F_{ST} values. TTX contents were measured in goby samples from Kochi Prefecture (Kashiratsudoi River) and Yakushima Island (Isso Port and Anbo River). TTX contents of skin and muscle tissues of Kashiratsudoi River and Isso Port samples were relatively high, while TTX was not detected in most individuals collected in the Anbo River. Therefore, it is suggested that the TTX contents of this species considerably vary even among geographically close areas and/or seasonally.

Key words: biogeography, food safety, Gobiidae, Kuroshio Current, Tokara gap, tetrodotoxin

緒言

ツムギハゼ Yongeichthys criniger はスズキ目
ハゼ科ツムギハゼ属の魚類である。本種の体
側には3つの大きな斑紋があり、この特徴に
よって他のハゼ類と区別できる (Fig. 1)。本種
はインド洋と太平洋に広く分布するが (Fish
base; https://www.fishbase.se/summary/49161)、
分布の中心は熱帯・亜熱帯域にあり、日本で
は奄美大島以南に生息すると考えられてきた。
しかし、1999 年には高知県(高橋・岡本 2000)、
2004 年には和歌山県で(和歌山県食品衛生課;
https://www.pref.wakayama.lg.jp/prefg/031600/

consumer/cyudoku/tumugihaze.html) それぞれ生 息が確認されており、分布の北上が示唆され る。ツムギハゼはハゼ科で唯一、神経毒であ るフグ毒(tetrodotoxin, TTX)を保有する有毒 魚として知られている(Noguchi et al. 1971)。 関東圏では同じハゼ科のマハゼ Acanthogobius flavimanus を江戸前料理として好んで利用す ることから、誤食による TTX 中毒が懸念され る。本種は河口汽水域の軟泥性の海底を好ん で生息しており、毒化原因生物は軟泥中の底 生生物もしくはフグ毒産生細菌の捕食による ものであると考えられるが、これまでのとこ

ろ有毒化の詳細なメカニズムは明らかになっ ていない。そのため本州産のツムギハゼが熱 帯・亜熱帯域のツムギハゼと同様に TTX を有 するか否かについては不明な点が多いが、北 上個体群の有毒化に関する報告は日比ら (2017)による1件しかない。また、ツムギ ハゼの TTX 含有量に関して、同一島内の河川 間でも無毒から有毒まで大きく異なることも 知られており(齋藤・杉浦 1997)、毒化状況に ついてより詳細な把握が必要である。本研究 では、熱帯・亜熱帯域から本州沿岸まで分布 を広げつつあるツムギハゼの日本沿岸域にお ける遺伝的集団構造を明らかにするとともに、 新たに発見された北上個体群のTTX含有量を 評価することを目的とした。

材料と方法

標本

2008 年から 2012 年までの間に、沖縄県西 表島(IR)、沖縄本島(NH)、鹿児島県奄美大 島 (AM)、屋久島 (YK)、高知県大月町 (KC) および和歌山県串本町 (KS) において、潜水 およびタモ網によって採集した 86 個体を分 析に用いた (Fig. 2, Table 1)。採集した個体に ついては、現地で胸鰭または尾鰭の一部を切 り出し 99%エタノールに浸透したのち DNA 分析用として研究室に持ち帰った。毒量計測 用の標本については、生存時に体表からガー ゼに皮膚毒を吸着させたのち、そのガーゼお よび個体を現地で冷凍して持ち帰った。

DNA 分析

DNA 抽出については、Puregene Core Kit A (QIAGEN 社製)を用いて行い、TE buffer (10 mM Tris-HCI, 1 mM EDTA: pH 8) で溶解後、粗 全 DNA として冷蔵保存した。ミトコンドリア DNA (mtDNA)の調節領域 (Control Region; CR) の部分塩基配列を対象に PCR 増幅を行った。 この領域の増幅には CR 領域の前半部と tRNA^{Phe}遺伝子領域に新たに設計した以下の



Fig. 1. Yellowfin toxic goby Yongeichthys criniger.

Aquatic Animals | October 10, 2019 | Nohara et al. AA2019-10

Table 1. Descriptions of local samples of *Yongeichthys criniger* used in this study.

Drofooturo	District	Logality	Data	Locality		BL (mm)
Fletectule	District	Locality	Date	code	11	(average±SD)
Wakayama	Kushimoto	Arita Port	Oct., 2010	KS	5	70-121 (95±16)
Kochi	Otsuki	Kashiratsudoi River	Sep., 2012	KC	4	61-68 (64±3)
Kagoshima	Yakushima	Isso Port and Anbo River	Sep., 2012	YK	17	61-114 (90±18)
	Amami Ohshima	Sumiyo and Tekebu Bay	Sep., 2011	AM	38	26-60 (41±7)
Okinawa	Naha	Okukubi River	Aug., 2008	NH	7	61-79 (71±7)
	Iriomote Island	Yonada and Urauchi River	May, 2010	IR	15	81-108 (93±8)
			Jun., 2011			



Fig. 2. Map of sampling localities of *Yongeichthys criniger* in Japan. Details of six local samples (KS, KC, YK, AM, NH, IR) are shown in Table 1.

プライマーセットを用いた;YcrDLspF (5'-CAGAGTATGTACCAGAACCAT-3') および YcrDLspR (5'-TATGCTTTAGTTAAGCTACG-3')。PCR 反応には S1000 TM Thermal Cycler (BIO-RAD 社製)を使用した。反応液1標本 あたり 10.0 µl の組成は、4.95 µl の滅菌蒸留水、 1.0 µl の 10×EX buffer、1.0 µl の 2.5 mM dNTP mixture、L 鎖および H 鎖伸長用 primer 各 1.0 µl、 0.05 µl (0.25 Units) の EX Taq DNA polymerase (TAKARA 社製)、1.0 µl の粗全 DNA である。反応条件はプレヒートを 95 ℃で 2 分 間行った後、熱変性を 95 ℃で 30 秒、アニー リングを 50 ℃で 30 秒間、伸長反応を 72 ℃で 1 分 30 秒を 1 サイクルとし、これを 35 サイ クル行った後、最後に 72 ℃で 5 分間の伸長反 応を行った。ExoSAP-IT (USB 社製)を用いて

PCR 産物を精製し、これを鋳型として BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (ABI 社製) によるサイクルシーケンス反応を行い、3500 Genetic Analyzer (ABI 社製)を用いて塩基配 列を決定した。得られた配列は DNA データバ ンクで相同性検索を行い、標的領域であるこ とを確かめた。決定した塩基配列は、Clustal W (Thompson et al. 1994)を用いて整列した。 ハプロタイプの類縁関係については、TCS 1.21 (Clement et al. 2000)を用いた Statistical Parsimony Network によって推定した。また、 ネットワーク解析によって見いだされた 2 系 統のグループ内およびグループ間の純塩基置 換率については Kimura's two parameter (K2P) model (Kimura 1980)を用いて MEGA ver. 6

(Tamura et al. 2013) により算出した。各標本 内のハプロタイプ多様度(h)、K2P モデルに 基づく塩基多様度(π)、地域標本間の遺伝的 分化指数である F_{ST} および分子分散分析 (Analysis of Molecular Variance: AMOVA) に ついては ARLEQUIN v. 3.5 (Excoffier and Lischer 2010)を用いて算出した。ペアワイズ F_{ST} の遺伝距離に基づく主座標分析 (PCoA) については、GenAlex v.6.5 (Peakall and Smouse 2012)を用いた。

毒量の測定

毒量の計測については、高知県で採集され た5個体および屋久島の一湊港(n=6)と安 房川河口(n=11)で採集された17個体を使 用した。比較のため、日比ら(2017)および齋 藤・杉浦(1997)において同様の手法によって 計測された和歌山県と沖縄県西表島の個体の 毒量データも使用した。冷凍で輸送されたツ ムギハゼ標本および体表の毒吸着ガーゼを解 凍したのち、毒量の計測を行った。はじめに、 現地にて 5×5 cm のガーゼを用いて両体側の 体表を 5 回ずつ拭いた毒吸着ガーゼに 0.1 % 酢酸を加えてガーゼに吸着した毒を抽出した。 この抽出液について毒量を測定したものをガ ーゼ毒量とした。皮膚、筋肉および肝臓の組 織片をそれぞれ全量切り出し、各部位の毒量 を測定した。個体の総毒量は、各組織の総毒 量 (MU; mouse unit) にガーゼ毒量を加えたも のとした。毒量測定と毒の同定にはマウスア ッセイ法および Liquid Chromatography-Mass spectrometry (LC/MS) 分析法を用いた。マウ スアッセイ法については、基本的に食品衛生 検査指針II(厚生省環境衛生局 1978)のフグ 毒検査法に従った。毒抽出液 1.0 ml を ddy 系 クリーンマウス(4週齢、オス、18-20g)に腹 腔内投与し、その致死時間から毒量を算出し た。なお、本検査法において、1 MUは 20gの マウスを 30 分で致死させる量と定義されて いる。検出限界は5 MU/gとし、この値未満を 0 (ND=not detected) として扱った。ガーゼ抽 出液の一部を DISMIC-25cs Cellulose Acetate 0.45 µm コマ型フィルターに通したものに 50 %アセトニトリルを加えて LC/MS 分析を 行った。また、標準試料として TTX 標品 (Wako 社製)を用いた。デゾルプジョン湿度 240 ℃、 イオン室温度 120 ℃、Waters LCT、Amide-80 (1.5×1.5 mm) カラム、移動相には 0.1% ギ酸 20%アセトニトリルを用い、流量は 200 µl/min、

20%) ビドニドリルを用い、加重は 200 µ/min イオン化はエレクトロスプレー (ELS) の条件 下で LC/MS 分析を行った。

結果

DNA 分析

調節領域(CR)前半部の塩基配列 620 塩基
 を決定できた。DNA データベースによる相同
 性検索(BLAST)の結果、データベースに登

録されているツムギハゼのCR領域の配列(ア クセッション番号; KT894736) と 99%一致し た。DNA 分析に用いた 85 個体から合計 41 個 のハプロタイプが検出された。配列情報を DNA データベースに登録した (DDBJ Accession No. LC488193- LC488233)。標本内の 遺伝的多様度指数であるハプロタイプ多様度

(h)と塩基多様度(π)の値は、沖縄(NH)、
西表島(IR)の標本でそれぞれ0.676±0.105~
0.714±0.127、0.001±0.001~0.008±0.004で
あり、その他の標本(それぞれ0.833±0.222~
1.000±0.127、0.016±0.011~0.023±0.014)と

比較して低かった (Table 2)。ハプロタイプ間 の類縁関係をネットワーク解析により検証し た結果、遺伝的に大きく異なる 2 つの系統 (lineage A および lineage B) が存在すること がわかった (Fig. 3)。Lineage A の出現頻度は 奄美 (AM) 以北で高い傾向にあり、沖縄本島 (NH) では出現せず、西表島 (IR) において もその出現頻度は極めて低かった (Table 2)。 Lineage 内の個体間の平均遺伝距離は共に 0.92%であり、lineage 間の純塩基置換率は 2.4%であった。 F_{ST} を指標とすると、沖縄本島 (NA) と西表島 (IR) 間には遺伝的な異質性



Fig. 3. Haplotype network of Yongeichthys criniger. Circle size represents number of individual.

Table	2.	Haplot	type	(<i>h</i>)	and	nucleotide	(π)
diversi	ties	of six	loca	l san	ples	of Yongeich	thys
crinige	er. S	ee Fig.	3 for	two l	ineag	es (A and B)).

critiger. See Fig. 5 for two inteages (rf and D).							
	Diversity	lineage					
	h	π	A : B				
KS	1.000 ± 0.127	0.023 ± 0.014	0.40 : 0.60				
KC	0.833 ± 0.222	0.016 ± 0.011	0.25:0.75				
YK	0.975 ± 0.030	0.017 ± 0.009	0.25:0.75				
AM	$0.949{\pm}0.018$	0.018 ± 0.009	0.34 : 0.66				
NH	0.714 ± 0.127	0.001 ± 0.001	0.00:1.00				
IR	0.676 ± 0.105	$0.008 {\pm} 0.004$	0.07:0.93				

は認められなかったが、この 2 標本は奄美 (AM)以北の標本とすべての組み合わせで有 意に異なった (Table 3)。奄美 (AM) 標本は、 和歌山 (KS) を除くすべての標本と有意に異 なった。また、屋久島以北の標本間 (YK,KC, KS)の比較ではどの組み合わせにおいて異質 性はなかった。主座標分析 (PCoA) において も琉球列島 (NH および IR) と屋久島以北の

Table 3. Pairwise <i>F</i> st values between local samples.								
	KS	KC	YK	AM	NH			
KS								
KC	-0.024							
YK	-0.011	0.004						
AM	0.015	0.092*	0.039*					
NH	0.155*	0.236*	0.138*	0.135*				
IR	0.198*	0.270*	0.173*	0.160*	-0.056			
See	Table 1	for a	bbreviate	ed locali	ty code.			

*Significant difference (p < 0.05).

グループに第一成分で明瞭に分離し、さらに 奄美(AM)標本はこの2つのグループと第2 成分で大きく異なった(Fig. 4)。これら3グ ループのAMOVA分析の結果、グループ間の 変異は全遺伝分散の13.8%であり、グループ 間で有意に異なった(Table 4, $F_{CT} = 0.14$, p < 0.05)。



Coord. 1 (87.3%)

Fig. 4. Principal coordinate analysis (PCoA) based on pairwise F_{ST} values between local samples.

Table 4. Analysis of molecular variance (AMOVA) for mitochondrial DNA data set in *Yongeichthys criniger*. Population grouping was performed based on the PCoA analysis (Fig. 4).

Source of variation	d.f.	Sum of squares	Percentage of variation	Group composition				
among groups	2	4.275	13.79*	(KS, KC, YK): AM: (NH, IR)				
among populations within groups	3	1.087	-2.13					
within populations	79	34.991	88.34**					
total	84	40.353						
*P < 0.05, $**P < 0.001$; statistical probabilities derived from 10000 permutations.								

毒量測定

LC/MS 分析の結果、サンプルには TTX に 特徴的な 3 つのイオンピーク(m/z 320、m/z 321 および m/z 322)が認められ、かつ、それ らの保持時間が標品と一致したことから、サ ンプルにフグ毒が存在していることが確かめ られた(Fig.5)。毒量の分散は、個体ごとの組 織間、個体間、地域標本間で大きかった(Table 5)。特に、屋久島の島内標本間(一湊港:YK- IS および安房川: YK-AB) において毒化の傾 向は明らかに異なり、安房川の標本では、平 均総毒量 8 (±11) MU とわずかな毒量しか検 出されず多くの個体では検出限界以下であっ た。毒化が新たに確認された高知と屋久島一 湊港 (YK-IS) の標本間では、皮膚組織を除く すべての毒量比較で有意に異なった (t-test, p < 0.05)。また、各組織の毒量を過去の斎藤・ 杉浦 (1997) および日比ら (2017) のデータも



Fig. 5. Liquid Chromatography-Mass spectrometry (LC/MS) analysis for the tetrodotoxin (TTX). Standard material of TTX (a) and Ion peaks of TTX extracted from skin sample (b).



Fig. 6. Toxic amounts of skin (a), muscle (b) and liver (c) of four local samples. The values of KS (Wakayama Pref.) and IR (Iriomote Is.) were reported by Hibi et al. (2017) and Saito and Sugiura (1997), respectively. The p-values derived from Wilcoxon rank sum tests are annotated at the asterisk (*p < 0.05, **p < 0.01).

Aquatic Animals | October 10, 2019 | Nohara et al. AA2019-10

Locality	no	Sex	BL	Toxic amount (MU/g)			Gauze	Total toxic amount
Locality			(mm)	Skin	Muscle	Liver	(MU/gauze)	(MU/individual)
Wakayama ¹	KS1	M	121	52	9	8	850	1118
(KS)	KS2	M	80	182	73	312	758	1950
(KS)	KS2 KS2	M	00	102	20	175	300	638
	KSJ VS4	IVI E	99	167	20 66	20	247	1121
	K34 VS5	Г	04	74	17	43	247	200
	KSJ VSC	I' IM	71 110	15		45 ND	213	122
	K50 V97	INI	110	13	ND 16	ND 150	90	155
	KS/		0/	45	10	130	522	040
	K29		/0	133	24	182	049	/96
V 1'	average	±5D	95±10	9/±3/	50±24	113±101	430±203	849±520
Kochi	KC1 KC2	F	61	118	27	20	50	214
(KC)	KC2	IIVI E	00	20	22 45	20	30 20	100
	KC3	Г	01	29 50	45	20	29	168
	KC4	F	68	29	26	20	53	127
	KC5		65	23	34	45	40	145
T 7 1 1 1	average	±SD	64±3	/8±59	3/±14	3/±26	43±9	151±43
Y akushima	YKOI	IM	61	12	11	ND	28	60
(YK-IS*)	YK02	IM	/0	15	9	ND	36	68
	YK03	IM	61	30	20	ND	26	/8
	YK04	IM	61	28	17	ND	39	63
	YK05	IM	66	15	7	ND	ND	22
	YK06	F	98	76	13	16	23	204
T 7 1 1 1	average	$\pm SD$	70±13	29±22	13±5	3±6	25±13	<u>83±57</u>
Y akushima	YK0/	IM	96	ND	ND	ND	ND	ND
(YK-AB**)	YK08	IM	102	ND	ND	ND	ND	ND
	YK09	IM	86	10	ND	ND	19	27
	YKIO	IM	83	ND	ND	ND	ND	ND
	YKII	IM	107	ND	ND	ND	16	16
	YK12	IM	109	ND	ND	ND	ND	ND
	YK13	IM	107	ND	ND	ND	ND	ND
	YK14	IM	114	ND	ND	ND	ND	ND
	YK15	IM	109	ND	ND	ND	ND	ND
	YK16	IM	90	ND	ND	ND	14	14
	YK1/	F	106	10	ND	ND	15	30
T T T T T	average	±SD	101±10	2±4	ND	ND	6±8	8±11
Iriomote Is. ²	1	M	79	113	14	133	-	-
	2	M	/9	91	23 ND	165	-	-
	3	F	//	205	ND	1334	-	-
	4	F	/5	194	14	277	-	-
	2	F		154	23	ND	-	-
	6	M	/0	110 ND	12	ND 120	-	-
	/	F	88	ND 202	12 ND	130	-	-
	8	F	0/	202	ND	137	-	-
	9	F M	18	13/	ND 11	352 ND	-	-
	10	M	00	224 ND	11	ND 401	-	-
	11	M	0/	ND 217	11	491	-	-
	12	TAT M	// Q1	21/ Q/		1040	-	-
	15	M	01 72	94 201	ND 11	1/0	-	-
	14	IVI M	73 72	291		251	-	-
	15	IVI E	75	274 163	12		-	-
	10	T. M	70	75		2/2	-	-
	19	M	7∠ 80	338		2 4 5 1524	-	-
	10	IVI E	68	102	10	586	-	-
	20	M	70	754	19 21	300	-	-
	20	M	88	81		13/	-	-
	∠1 average		76+6	202+150	15+4	537±471	-	-
	average.	-00	10-0	202-130	TTCT	JJ I ± T I I	-	-

Table 5. Comparison of toxic contents of tissue samples (skin, muscle and liver) of Yongeichthys criniger.

¹data from Hibi et al. (2017), ²data from Saito and Sugiura (1997). IS* = Isso Port, AB** = Anbo river. F = female, M = male, IM = immature. ND = Not detected.

含めて比較した結果、3 つの組織すべてにお いて地域標本間で有意に異なった(Kruscal-Wallis test, p < 0.01)。各組織の毒の保有は、筋 肉が最も低く、次いで皮膚、肝臓の順に大き かった(Fig. 6)。西表島の標本(IR)では、毒 量の平均値や個体のもつ毒量の分散が非常に 大きく、各地域標本との多重比較の結果でも 多くの組み合わせで有意な差異が検出された (Fig. 6)。

考察

ツムギハゼはこれまでに八丈島、静岡、和 歌山県、高知県、屋久島、奄美大島、八重山諸 島での出現が確認されている(瀬能ら 2004; 中坊 2013)。本研究ではこのうち、八丈島と 静岡を除く日本沿岸域の分布域の遺伝的集団 構造解析を行った。その結果、遺伝的に大き く分化した2つの系統(lineage A およびlineage B)の存在が明らかとなり、その出現頻度は地 理的に偏ることがわかった(Fig. 3, Table 2)。 ツムギハゼと同じハゼ科のキヌバリ Pterogobius elapoides およびチャガラ P. zonoleucus (Akihito et al. 2008)、シロウオ Leucopsarion petersii (Kokita and Nohara 2011), アゴハゼ Chaenogobius annularis (Hirase et al. 2012)、ドロメ Chaenogobius gulosus (Hirase and Ikeda 2014) などで遺伝的に大きく分化し た種内2系統の存在が知られており、これら 系統間の遺伝的分化はミトコンドリア DNA の Cytb 遺伝子領域で 1.2-10% 程度と報告され ている。ツムギハゼでは、Cytb 遺伝子領域よ り進化速度の速い調節領域において 2 系統間 の純塩基置換率は2.4%であった。このことか ら、今回見出された2系統については、隠蔽 種の存在を示唆するものというより、種内系 統と判断するのが妥当と考えられたが、引き 続き核ゲノムの分析や形態学的分析も含めた 精査が必要である。

ツムギハゼの受精卵は紡錘形の粘着卵であ り、泥場に巣穴を掘って産卵すること、孵化 仔魚は 2.5 mm 程度で約 20 日間の浮遊仔魚期 を送ることが飼育実験で確かめられている (田中ら 2005)。ツムギハゼの着底後の能動 的な分散はそれほど大きくないと考えられる ことから、分散は生活史初期の仔稚魚期に起 こると想定される。北方への分布の拡大には 黒潮による仔稚魚の受動的輸送が大きな役割 を果たしていると考えられるが、一方で黒潮 は奄美大島と屋久島の間に存在するトカラ海 峡(Fig.2)を横断することで分散の障壁とし ても機能することも知られている(瀬能ら 2006)。本研究で見いだされた琉球列島 (IR お よびNH)、奄美大島(AM)、屋久島以北(YK、 KC、KS)の3つの遺伝グループの存在は、瀬 能ら(2006)による、日本沿岸の黒潮流域にお ける浅海性魚類の出現種の類似性を検証した 結果と整合している。黒潮は屋久島周辺から 分枝して対馬暖流となることから、九州西岸 への分布域の拡大も想定される。今後、より 広範囲のモニタリングが必要である。また、 ハゼ科のマハゼやアカオビシマハゼ Tridentiger trigonocephalus が本来自然分布し なかった地中海、アメリカ大陸、オーストラ リアまで分布を広げ定着していることも知ら れている (Goren et al. 2009; Pondella and Chinn 2005; Workman and Merz 2007; Middleton 1982) これはハゼ科魚類がバラスト水など非意図的 な人為輸送によっても分布を拡大し得ること を示唆している。この可能性の検証について は、分布域全体を通じた系統地理的分析が必 要である。

高知県と屋久島の標本における毒量測定の

結果、この2海域のツムギハゼからはじめて TTX が同定されるとともに、その有毒性につ いても確認された。個体あたりの総毒量の平 均値は、本研究と同様の方法で調査された日 比ら(2017)の和歌山の値と比較して低かっ たが、高知と屋久島の一湊港の個体はすべて TTX を含有していた (Table 5)。一方、屋久島 の安房川河口の標本ではTTXはほとんど検出 されず、毒化の傾向は同一島内でも大きく異 なっていた。同様の手法を用いて西表島で行 われた齋藤・杉浦(1997)の先行研究において も、同一島内の河川間で有毒化の傾向が著し く異なることが報告されており、局所的な環 境の違いによりツムギハゼの有毒化の程度は 大きく異なる可能性が改めて示された。この ような有毒化の地域差については、同じ TTX 含有魚であるフグ科魚類においても知られて いるが (松居ら 2000)、そのような偏りが生じ る要因についてはこれまでのところ不明であ る。また、北方個体群(和歌山・高知・屋久島) における個体あたりの総毒量で最も高い値を 示したのは、日比ら(2017)で報告された和歌 山の個体で 1,950 MU であった。ヒトの最小致 死量は 10,000 MU と考えられていることから

(橋本・野口 1991)、高毒性のツムギハゼ数 個体を誤食することで致死量となる。フグ毒 結晶は 300 ℃でも分解しないことが報告され ており(橋本 1977)、実際に台湾では死亡例が ある(野口 1996)。本研究で調査した高知や屋 久島の個体の毒性検査においても 200 MU を 超える個体が存在したことから食品衛生学的 に注意を要する。また、ツムギハゼの皮膚、筋 肉および内蔵の各組織の毒量について、松居 ら(2000)は、皮膚が最も高く、次いで内蔵、 筋肉の順に含有量が多くなると報告している。 本研究と日比ら(2017)および斎藤・杉浦(1997) の先行研究の値を総合的に勘案しても内蔵や 皮膚の含有が高く、筋肉はどの地域において も少ないことから同様の傾向があるといえる。 今後は、北方個体群の時空間的な TTX 含有量 のモニタリングと本種の毒化メカニズムの解 明を行っていく必要がある。

謝辞

本研究を進めるにあたり、東海大学海洋学 部海洋学研究科の柴原康広氏、星野雄仁氏に はサンプル収集やデータ取得において多大な 貢献を頂いた。長崎大学大学院水産・環境科 学総合研究科荒川 修博士、黒潮研究所主任研 究員中地シュウ氏、ダイブクーザの上田直史 氏にはサンプル収集においてご協力いただい た。元東海大学海洋研究所岸本浩和博士には ツムギハゼに関する貴重な情報を頂いた。ま た、編集委員や査読者の方々からは本論文を 作成するにあたり貴重なご意見を多数いただ いた。以上の方々に深謝いたします。

引用文献

- Akihito, Fumihito, A., Ikeda, Y., Aizawa, M., Makino, T., Umehara, Y., Kai, Y., Nishimoto, Y., Hasegawa, M., Nakabo, T., Gojobori, T. (2008). Evolution of Pacific Ocean and the Sea of Japan populations of the gobiid species, *Pterogobius elapoides* and *Pterogobius zonoleucus*, based on molecular and morphological analyses. Gene 427: 7–18.
- Clement, M., Posada, D., Crandall, K. A. (2000). TCS: a computer program to estimate gene genalogies. Mol. Ecol. 9: 1657–1659.
- Excoffier, J., Lischer, H. E. L. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Mol. Ecol. Resour. 10: 564–567.
- Goren, M., Gayer, K., Lazarus, N. (2009). First record of the Far East chameleon goby *Tridentiger trigonocephalus* (Gill, 1859) in the Mediterranean Sea. Aquat. Inv. 4: 413– 415.

橋本周久・野口玉雄 (1991). 魚類生理学. (編)

板沢靖男・羽生功編. 恒星社厚生閣, 東 京, p.520-537.

- 橋本芳郎 (1977). 魚介類の毒. 学会出版セン ター, 東京.
- 日比慶久・鉄 多加志・落合芳博・斎藤俊郎 (2017). 魚類のゲリラ的毒化の実態と事 前予測による安全性確保. 冷凍 92: 196-201.
- Hirase, S., Ikeda, M., Kanno, M., Kijima, A. (2012). Phylogeography of the intertidal goby *Chaenogobius annularis* associated with paleoenvironmental changes around the Japanese Archipelago. Mar. Ecol. Prog. Ser. 450: 167–179.
- Hirase, S., Ikeda, M. (2014). Divergence of mitochondrial DNA lineage of the rocky intertidal goby *Chaenogobius gulosus* around the Japanese Archipelago: reference to multiple Pleistocene isolation events in the Sea of Japan. Mar. Biol. 161: 565–574.
- Kimura, M (1980). A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. J. Mol. Evol. 16: 111–120.
- Kokita, T., Nohara, K. (2011). Phylogeography and historical demography of the anadromous fish *Leucopsarion petersii* in relation to geological history and oceanography around the Japanese Archipelago. Mol. Ecol. 20: 143–164.
- 厚生省環境衛生局編 (1978). 魚介類の自然毒. 食品衛生検査指針II, p. 232–240.
- 松居 隆・大塚 幸・酒井 浄 (2000). フグ 毒研究の最近の進歩. Yakugaku Zasshi 120: 825–837.
- Middleton, M. J. (1982). The Oriental Goby, *Acanthogobius flavimanus* (Temminck and Schlegel), an introduced fish in the coastal waters of New South Wales, Australia. J. Fish Biol. 21: 513–523.
- 中坊徹次(編)(2013). 日本産魚類検索 全種の 同定第三版. 東海大学出版会.
- Noguchi, T., Kao, H., Hashimoto, Y. (1971). Toxicity of the goby, *Gobius criniger*. Nippon Suisan Gakkaishi 37: 642–647.
- 野口玉雄 (1991). 魚類生理学. (編) 板沢靖男・ 羽生功. 恒星社厚生閣, 東京, p. 59-60.

- 野口玉雄 (1996). フグはなぜ毒をもつのか. 日本放送出版協会,東京.
- Peakall, R., Smouse, P. E. (2012). GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. Bioinformatics 28: 2537–2539.
- Pondella, D. J., Chinn, Z. K. J. (2005). Records of chameleon goby, *Tridentiger Trigonocephalus*, in San Diego Bay, California. Calif. Fish Game 91: 57–59.
- 齋藤俊郎・杉浦孝典 (1997). 西表島産フグ毒 保有ハゼ(ツムギハゼ Yongichthys criniger) の毒性に関する研究. 東海大学研究所研 究報告 18: 35-41.
- 瀬能 宏・鈴木寿之・渋川浩一・矢野維幾 (2004). 日本のハゼ. 平凡社, 東京.
- 瀬能 宏・松浦啓一・篠原現人 (2006). 相模灘 産魚類目録および黒潮流域の沿岸性魚類 の動物地理. 国立科学博物館専報 41: 389-542.
- 高橋弘明・岡本 充 (2000). 高知県で採集さ れたツムギハゼ. I. O. P. DIVING NEWS 11: 6–7.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. Mol. Biol. Evol. 30: 2725–2729.
- 田中洋一・山田一幸・今井啓介・高柳直人・岸 本浩和 (2005). 飼育下におけるツムギハ ゼの繁殖と育成. 東海大学海洋研究所報 告 26:45-64.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G., Gibson, T. J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positionspecific gap penalties and weight matrix choice. Nucl. Acids Res. 22: 4673– 4680.
- Workman, M. L., Merz, J. E. (2007). Introduced yellowfin goby, *Acanthogobius flavimanus*: diet and habitat use in the lower Mokelumne River, California. San Francisco Estuary and Watershed Science 5: 1–13.

Received: 16 August 2019 | Accepted: 3 October 2019 | Published: 10 October 2019