

ヒラメの貧血症に関する研究*

田中俊充・嶋本有志・竹内照文

目 的

ヒラメの貧血症は1995年頃に日本海に面した一部の地域で発見された貧血を主な症状とする疾病である¹⁾。この病気が発見されて以来、日本海側ではこれまでにないヒラメ資源の減少が続いており両者の関連性が危惧されている²⁾。さらに、その後の調査により貧血症のヒラメが太平洋側も含めた全国各地で確認されるようになった。本県では1998年2月に天然ヒラメではじめて貧血症が確認され、その後の調査でこのようなヒラメが紀伊水道から紀伊水道外域にかけて分布することや陸上飼育中のものにも見られることが明らかになった³⁾。

ヒラメ貧血症の原因については当初、ウイルス^{4, 5)}が疑われていたが、その後の実験でこれを肯定するような結果は得られていない^{6, 7)}。一方、貧血魚に新種の単生目吸虫である *Neoheterobothrium hirame* (以下ネオヘテロボツリウムと略す)^{8, 9)}が多く寄生していたことから、これを原因とする感染実験を行ったところ再現性が確認された¹⁰⁾。また、これまで問題であったネオヘテロボツリウムの寄生の見られない貧血魚についても、ほとんどの個体で口腔上壁や咽頭部に寄生痕が見られた¹¹⁾ことから、本疾病がネオヘテロボツリウムの寄生による失血性貧血であると考えられるようになった。

そこで本年度はネオヘテロボツリウムの寄生により引き起こされる貧血症について、陸上水槽での二次感染への影響や飼育技術による感染防除、駆虫方法を検討した。

材料および方法

1. 貧血症の二次感染への影響

1) 感染試験

供試魚 寄生区 (ネオヘテロボツリウムが寄生しているヒラメ稚魚), 対照区 (ネオヘテロボツリウムが寄生していないヒラメ稚魚: 鰓に寄生する幼虫も除去するために3%食塩加海水1時間の濃塩水浴を1回行った)

飼育条件 200 l パンライト水槽に供試魚を収容し、2001年1月29日から2月18日まで無給餌で流水により飼育した。水温は調整することなく自然水温 (12.7~15.4℃) によった。

実験方法 供試魚8尾ずつに *Edwardsiella tarda* (以下E.tと略す) の菌液 (エドワジェラ症でへい死したヒラメの腎臓から分離した菌を2%NaCl加BHI培地により25℃, 48時間の条件で培養し, 1白金耳分を1mlのPBSに溶解したもの) を0.1mlずつ筋肉注射し, へい死状況を観察した。

2) 感染試験

供試魚 1回目の試験と同様。

飼育条件 1回目の試験と同様。ただし, 供試尾数は対照区が10尾, 寄生区は9尾。試験期間は2001年2月13日から3月2日で, 水温は10.5~16.6℃。

実験方法 1回目の試験と同様。

2. 飼育技術による感染防除実験

1) 換水率試験

供試魚 ネオヘテロボツリウムが寄生していないヒラメ稚魚 (鰓に寄生する幼虫も除去するために3%食塩加海水1時間の濃塩水浴を1回行った)

飼育条件 1 t コンクリート水槽に供試魚を80尾ずつ収容し, 2000年9月26日から2001年3月2日まで

* 魚病対策技術開発研究費による。

給餌飼育した。水温は調整することなく自然水温（12.2～24.5℃）によった。

実験方法 供試魚を水量3回転/日（1区）、10回転/日（2区）、15回転/日（3区）に設定した3水槽に入れ、約1ヶ月ごとにネオヘテロボツリウム成虫の寄生状況を目視により調べた。

2) ろ過方法試験

供試魚 換水率試験と同様。

飼育条件 供試魚を1t巡流水槽に150尾ずつ収容し、2000年9月26日から2001年3月2日まで給餌飼育した。水温は調整することなく自然水温（10.8～24.7℃）によった。

実験方法 供試魚を注入水に生海水（1区）、ろ過海水（2区）、漁網を通したろ過海水（3区）を用いた3水槽に入れ、約1ヶ月ごとにネオヘテロボツリウム成虫の寄生状況を目視により調べた。

3. 駆虫試験

供試魚 ネオヘテロボツリウムが寄生したヒラメ稚魚（体重211.3～542.9g）

飼育条件 200lブライン孵化水槽にヒラメを5尾ずつ収容し、2001年2月20日から23日まで無給餌で流水により飼育した。水温は調整することなく自然水温（14.6～16.2℃）によった。

実験方法 供試魚を飼育水槽に入れ、無処理（対照1区）、濃塩水浴（実験開始時に3%食塩加海水で1時間2区）、プラジクアンテル15mg/kg/日投与（3区）及び同150mg/kg/日投与（4区）の駆虫処理を行った。なお、プラジクアンテルはスズキ目魚類のはだむし駆虫剤で、ゾンデにより1日1回経口投与した。各区の飼育水は1日ごとに90μmのネットで受けてすべて回収し、それ以上の大きさの虫体が流出しないようにした。試験期間中の排水については常時ネットで受け、先の回収物と合わせた。ネット内に残った虫体数は実体顕微鏡により計数した。

結 果

1. 貧血症の二次感染への影響

感染試験の結果を図1に示す。1回目では寄生区で8日目からへい死が始まり、16日目に全てへい死した。一方、対照区では3日目からへい死が始まり、14日目に全てへい死した。2回目では寄生区で8日目からへい死が始まり、17日目に全てへい死した。対照区では3日目からへい死が始まり17日目に全てへい死した。今回の試験では2回の結果ともに寄生区と対照区でへい死までの日数に大きな差は認められず、ネオヘテロボツリウムが寄生していることによる影響は見られなかった。

2. 飼育技術による感染防除実験

換水率による感染防除実験の結果を表1、ろ過方法による感染防除実験の結果を表2に示す。両実験とも期間中に細菌病や寄生虫病の発生はなく、実験は良好な状態で行われた。なお、期間中の供試尾数の減少は主に飛び出しによるものである。換水率試験では1、2区ともに実験期間を通して成虫が寄生することはなかった。それに対して3区では1月に1尾で成虫の寄生が確認され、実験最終日の3月2日に11尾（16.4%）に成虫の寄生が見られた。一方、ろ過方法試験では実験期間を通してすべての実験区で成虫の寄生は見られなかった。

3. 駆虫試験

駆虫試験については、今回の実験では水槽内に脱落した虫体数を計数したために、口腔上壁や咽頭に寄生する成虫と鰓に寄生する幼虫の区別は出来なかった。実験に先立って、供試魚5尾についてネオヘテロボツリウムの寄生数と血液性状を調べた。その結果、すべての個体で成虫と幼虫の寄生が見られたものの、鰓色やヘマトクリット値、ヘモグロビン量から判断して重度な貧血状態ではなかった（表3）。実験の結果、濃塩水浴区とプラジクアンテルを投与した区で虫体の脱落が認められた（表4）。特に濃塩水浴区とプラジクアンテル150mg/kgを経口投

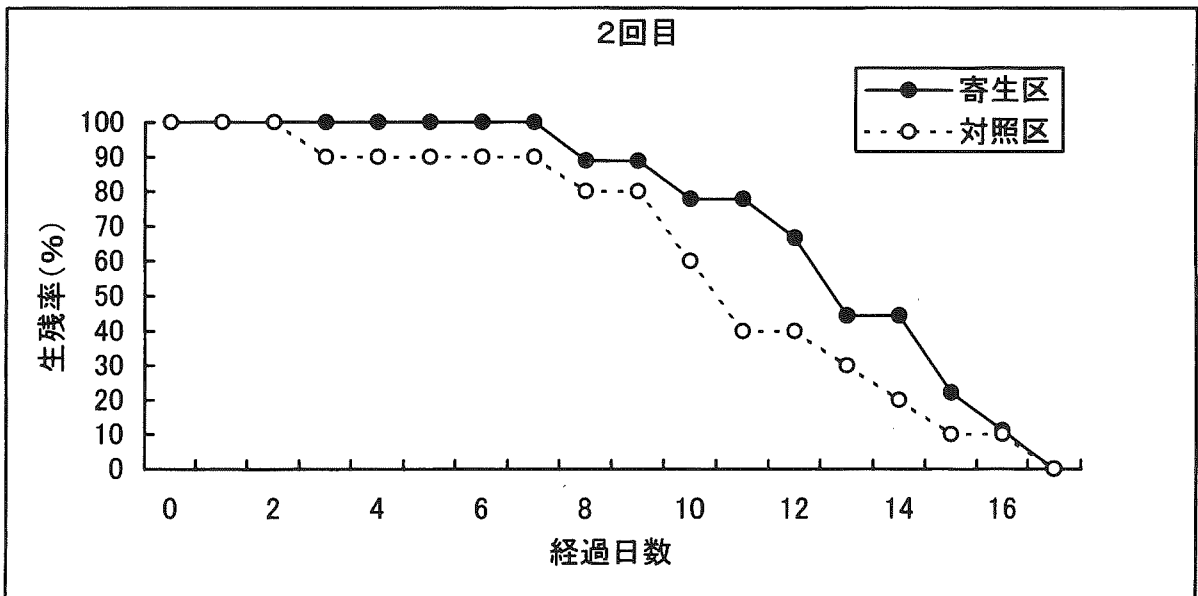
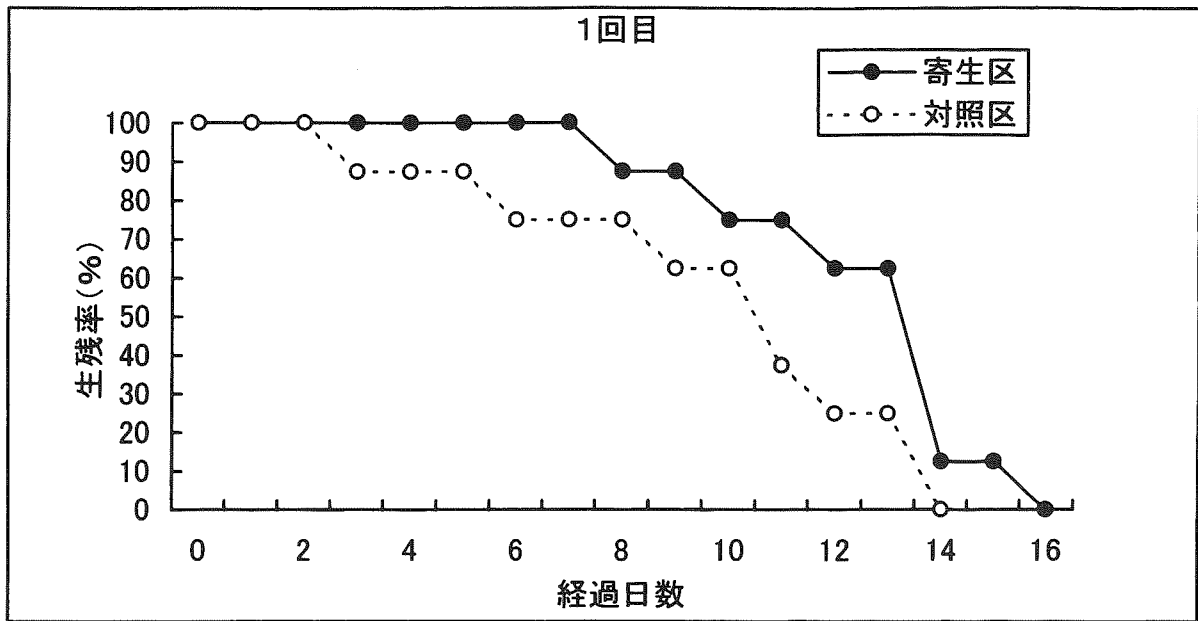


図1 ネオヘテロボツリウム寄生ヒラメに対するE.t 感染試験結果

与した区で大半の幼虫が脱落しており、効果が見られた(表5)。また、実験中に水槽内に脱落した虫体数と実験終了時に魚体に残存した虫体数との合計数から、各区における実験期間中の累積脱落率を求めた。その結果、濃塩水浴区では処理直後に約22%の虫体が脱落したものの、その後は効果がなく最終的に30%程度の脱落率であった。それに対して、プラジクアンテルを投与した区では実験中順調に虫

体が脱落し、最終的に約50%の虫体が脱落した(図2)。

考 察

ヒラメ貧血症は単生目吸虫のネオヘテロボツリウムの寄生により引き起こされることが明らかになっている。そこで本年度は陸上水槽で飼育中のヒラメが本虫の寄生を受け、さらに細菌感染症と合併症を

表1 換水率によるネオヘテロボツリウムの感染防除実験結果

月・日	1区(3回転)			2区(10回転)			3区(15回転)		
	寄生魚	非寄生魚	合計	寄生魚	非寄生魚	合計	寄生魚	非寄生魚	合計
9.26	0 (0)	80 (100)	80	0 (0)	80 (100)	80	0 (0)	80 (100)	80
11.15	0 (0)	80 (100)	80	0 (0)	80 (100)	80	0 (0)	79 (100)	79
12.12	0 (0)	80 (100)	80	0 (0)	80 (100)	80	0 (0)	79 (100)	79
1.10	0 (0)	80 (100)	80	0 (0)	80 (100)	80	1 (1.3)	78 (98.7)	79
2.2	0 (0)	69 (100)	69	0 (0)	70 (100)	70	1 (1.5)	66 (98.5)	67
3.2	0 (0)	67 (100)	67	0 (0)	70 (100)	70	11 (16.4)	56 (83.6)	67

上段は尾数, 下段は比率

表2 ろ過方法によるネオヘテロボツリウムの感染防除実験結果

月・日	1区(生海水)			2区(ろ過海水)			3区(ろ過・漁網)		
	寄生魚	非寄生魚	合計	寄生魚	非寄生魚	合計	寄生魚	非寄生魚	合計
9.27	0 (0)	150 (100)	150	0 (0)	150 (100)	150	0 (0)	150 (100)	150
11.15	0 (0)	146 (100)	146	0 (0)	145 (100)	145	0 (0)	148 (100)	148
12.12	0 (0)	146 (100)	146	0 (0)	142 (100)	142	0 (0)	147 (100)	147
1.10	0 (0)	144 (100)	144	0 (0)	142 (100)	142	0 (0)	138 (100)	138
2.2	0 (0)	143 (100)	143	0 (0)	140 (100)	140	0 (0)	134 (100)	134
3.2	0 (0)	142 (100)	142	0 (0)	137 (100)	137	0 (0)	134 (100)	134

上段は尾数, 下段は比率

表3 ネオヘテロボツリウム寄生数と血液性状(供試魚)

NO.	TL(cm)	BW(g)	鰓色	親虫	仔虫	Ht(%)	Hb(g/dl)
1	33.4	407.0	2	35	9	10.0	1.29
2	30.4	377.5	1	7	4	21.0	3.23
3	28.1	259.7	1	5	6	20.5	2.73
4	32.6	424.0	2	15	13	13.0	1.74
5	28.2	257.8	2	16	19	20.0	2.75

起こした場合の影響や飼育技術による感染防除、さらに駆虫方法について検討を行った。

まず、陸上水槽でネオヘテロボツリウムの寄生したヒラメが細菌感染症に罹病した場合の影響を調べるため、E.tによる感染試験を行った。その結果、へい死日数に寄生魚と非寄生魚で全く差が見られず、二次感染に弱いという結論は得られなかった。ただ、今回の供試魚は成虫の寄生がみられたものの実験開始時に観察した鰓色から、あまり貧血症状が進んで

いなかったと思われ、重度の貧血状態の個体でも同様の結果になるかは検討が必要である。

飼育技術による感染防除では、現在、通常の砂ろ過海水ではネオヘテロボツリウムの進入を完全に防ぐことができず、ふ化幼虫が10 μ mのフィルターでも透過することが分かっている。そこで今回は水槽への侵入を完全に防げないまでも、換水率やろ過材に漁網を用いることで被害を軽減させる方法について検討を行った。まず、換水率試験では換水率の低かった1区と2区で全く虫がつかず、最も換水率の高かった3区で虫の寄生が見られた。しかし、これは換水率が高い方が寄生が起りやすいということではなく、1月と2月の段階で寄生の見られた1尾が原因となって広がった二次感染によるものと考えられ、換水率による防除効果は分からなかった。また、ろ過方法試験についても、すべての試験区で寄生が起らず、その有効性は分からなかった。昨年、秋から春先にかけて生海水や砂ろ過海水によりヒラ

表4 水槽内に脱落したネオヘテロボツリウム数

経過日数	1区	2区	3区	4区
0		9		
1	1	2	16	11
2	0	0	8	7
3	0	1	4	3
合計	1	12	28	21

2区については濃塩水浴直後(0日目)も計数した

表5 ネオヘテロボツリウム寄生数と血液性状(実験終了時)

NO.	TL(cm)	BW(g)	鰓色	成虫	幼虫	Ht(%)	Hb(g/dl)
1区1	28.5	211.3	4	27	5	6.0	1.12
2	30.2	277.3	4	5	9	16.0	4.13
3	32.1	390.8	4	23	11	11.0	3.01
4	31.0	348.8	1	5	2	18.0	5.70
5	33.3	467.3	1	2	9	13.5	3.29
2区1	32.6	443.7	2	7	0	16.5	4.64
2	33.2	391.8	1	4	1	11.5	2.56
3	28.6	253.7	2	2	0	16.0	3.79
4	29.6	271.1	1	7	1	17.5	3.78
5	32.2	352.3	1	6	0	15.5	4.36
3区1	35.2	542.9	1	4	3	13.5	3.36
2	33.5	399.9	1	1	0	14.5	2.19
3	31.8	376.3	2	2	2	12.5	3.00
4	35.1	449.2	1	5	1	18.0	3.48
5	31.6	361.0	2	3	5	13.0	3.42
4区1	32.2	371.2	3	3	1	17.0	4.22
2	32.5	443.1	1	6	0	15.5	3.59
3	34.6	420.0	1	2	0	11.5	2.84
4	31.6	306.6	1	1	0	15.0	3.68
5	30.5	331.6	2	9	1	13.5	3.70

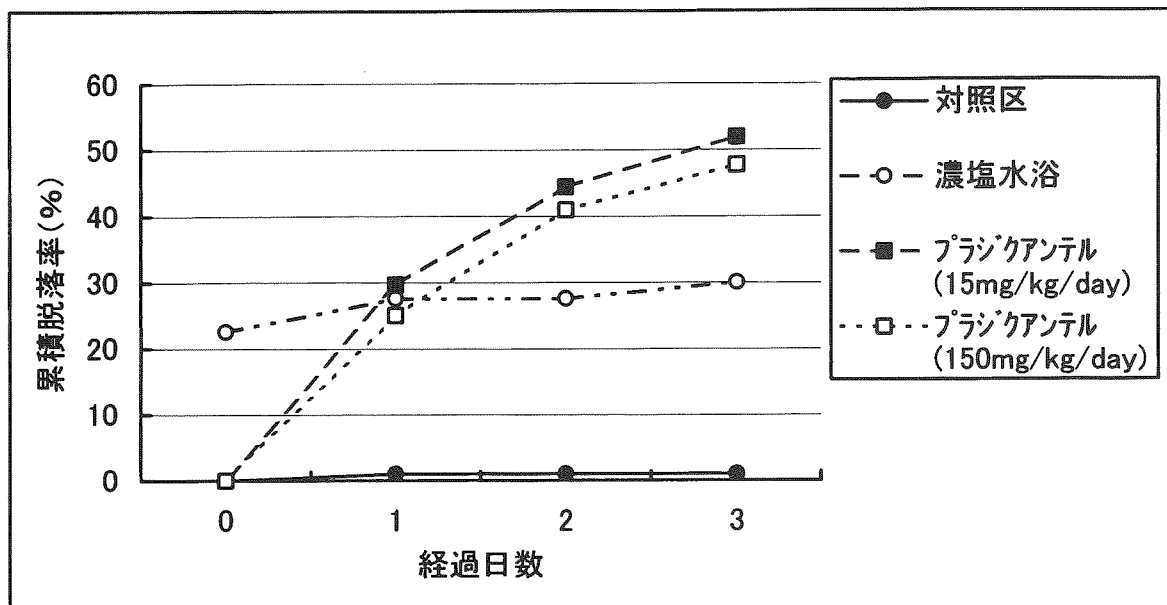


図2 駆虫試験期間中のネオヘテロボツリウムの累積脱落率

メを飼育していると高い割合で本虫の寄生が見られていたことから、本年度は何らかの原因により虫が寄生しにくい状況にあったものと思われる。その要因については確定できなかったが、ここ3年間の定置水温の変化を見ると、本年度は年末から年始にかけて例年よりも低い水温で推移し、最も低い時期には例年に比べて2°C以上の差が見られた。本虫卵の最適孵化水温は25°Cといわれており¹²⁾、この低水温が寄生率の低さに影響を与えた可能性が考えられた。

駆虫方法については、成虫はピンセットで取り除き、幼虫は濃塩水浴を2回繰り返す方法が有効であることが分かっている¹³⁾が、この方法は手間がかかり実際の養殖現場では実用的ではない。そこで、現在、スズキ目魚類のはだむし駆虫に効果が確認されているプラジクアンテル¹⁴⁾を用いて駆虫試験を試みた。その結果、スズキ目魚類に使用される規定量の150mg/kgを3日間投与した区で濃塩水浴と同様に大半の幼虫が脱落し、全体でもほぼ半数の虫体が脱落し効果が認められた。しかし、今回の実験では本来の用法である薬剤を餌に展着させて与えた

のではなく、ゾンデを用いて強制的に経口投与したため、麻酔やゾンデによる影響も考えられる。また、プラジクアンテルは非常に高価な薬剤であることや嗜好性に問題があり実際の養殖現場で強制経口投与のように規定量を連続して与えられるかなどの疑問が残っており、実用化するには検討が必要である。

文 献

- 1) 日本水産資源保護協会 (1996) : ヒラメの新しい単生虫ネオヘテロボツリウムについて. 魚類防疫センターニュース, 33, 51.
- 2) 藤井徹生 (1999) : 天然ヒラメの資源動向とネオヘテロボツリウム. 平成11年度第2回ヒラメ貧血症研究会資料.
- 3) 竹内照文・服部未夏 (1999) : ヒラメの貧血症に関する研究. 平成10年度魚病対策技術開発研究成果報告書, 日本水産資源保護協会, 209-219.
- 4) 吉水 守・紀栄興・絵面良男・山本栄一 (1997) : 大量死したクローンヒラメから分離された濾過性病原体の病原性. 平成9年度日本魚病学会春季大会講演要旨集.

- 5) 三輪 理・井上 潔 (1999) : 日本沿岸で発生している貧血を特徴とするヒラメの疾病の病理組織学的研究. 魚病研究, 34, 113-119.
- 6) 三浦宏紀・西原 豊・伊藤慎吾 (1999) : ヒラメの貧血症に関する研究. 平成10年度魚病対策技術開発研究成果報告書, 日本水産資源保護協会, 221-228.
- 7) 鈴木邦夫・西原 豊・伊藤慎吾 (2000) : ヒラメの貧血症に関する研究. 平成11年度魚病対策技術開発研究成果報告書, 日本水産資源保護協会, 213-218.
- 8) 小川和夫 (1999) : ヒラメの口腔壁に寄生する新種の単生類 *Neoheterobothrium hirame*. 魚病研究, 34, 195-201.
- 9) 道根 淳 (1999) : 養殖および養成親魚ヒラメで発見された寄生虫 *Neoheterobothrium sp.* について. 島根県栽培漁業センター調査報告, 2, 15-22.
- 10) 竹内照文・嶋本有志 (2000) : ヒラメの貧血症に関する研究. 平成11年度魚病対策技術開発研究成果報告書, 日本水産資源保護協会, 199-210.
- 11) 熊谷 明・中易千早・白幡義広・良永知義 (2000) : *Neoheterobothrium hirame* 成虫のみられない天然ヒラメ貧血症例の検討. 平成12年度日本魚病学会秋期大会, 講演要旨3.
- 12) 良永知義・瀬川 勲・釜石 隆・山本栄一・竹内照文 (1999) : ヒラメに寄生する単生類 *Neoheterobothrium hirame* のふ化生態および幼虫の駆虫方法について. 平11年度日本魚病学会秋期大会, 講演要旨5.
- 13) 山本栄一 (2000) : ヒラメのネオヘテロボツリウム症および貧血症の対策研究. 平成11年度魚病対策技術開発研究成果報告書, 日本水産資源保護協会, 187-196.
- 14) 岡部景子 : 経口投与タイプの魚類の寄生虫駆除剤「ハダクリーン」. 動物研究2000.8.NO.60別刷.