

水産基盤整備開発調査委託事業（大規模砂泥域開発調査）
調査課題名 ヒラメの増殖阻害要因の解明

調査機関 (社) 日本栽培漁業協会
第一技術部
水田 洋之介 (平成 11～12 年度)
上浦事業場
有元 操 (平成 11～12 年度)
虫明 敬一 (平成 11～12 年度)
森 広一郎 (平成 11～12 年度)
西岡 豊弘 (平成 12 年度)
第二技術部
今村 茂生 (平成 13 年度)
小浜事業場
山田 達哉 (平成 13 年度)
宮津事業場
本藤 靖 (平成 13 年度)

調査実施年度 平成 11～13 年度

緒 言

ヒラメは我が国沿岸の重要種であり、ヒラメの資源増大・漁獲増大を目的に種苗放流や資源管理とともに増殖場造成（中間育成場の整備，天然・放流資源の幼稚仔保育場の整備など），魚礁の設置が行われている。しかし，ここ数年，我が国各地でヒラメの漁獲量の減少が報告され，特に日本海西部の鳥取県，島根県では大きく漁獲量が落ち込んでいる。

一方，近年，日本海をはじめとする各海域で漁獲されるヒラメ天然魚に顕著な鰓の褪色異常を呈する貧血症（仮）が発生し問題となっており¹⁾，本病に起因して天然資源量の減少²⁾及び漁獲量の減少が起こっているのではないかと危惧されている。本病は全国的に拡大しつつあることから，全国的にヒラメの天然資源への影響のみならず種苗放流・資源管理・漁場造成等による資源の増大効果を大きく損なう可能性があり，各種事業への悪影響も懸念される。すでに，種苗生産現場においても本病に類似した疾病が認められ³⁾，ヒラメの種苗生産にも支障を来し大きな問題となっている。本病の原因に関しては，これまでに病理組織及び電顕観察の結果から，ウイルスの関与が疑われる症例の報告¹⁾や養殖魚と一部の天然魚では吸血性単生類 *Neoheterobothrium hirame*⁴⁾（以下 *N. hirame*）を原因とする報告⁵⁾もあるが，特定されるまでには至っていない。そのため，早急に本病の実態を把握するとともに原因の究明とその防除対策を構築する必要がある。

本事業は，天然ヒラメの貧血症の防除のために，病理学的な調査手法を開発し，天然海域での貧血症の実態を把握するとともに本症がヒラメ天然資源に及ぼしている影響，また天然海域での防除手法や対応策を解明することにより，砂泥沿岸域におけるヒラメ資源の効率的な維持を図り，沿岸漁場整備開発事業の推進に資することを目的とした。

1. 天然ヒラメにおける貧血症の発生状況

平成 11 年度及び 12 年度は、ヒラメ貧血症に関する検査手法の開発とその手法を用いて天然ヒラメの貧血症の実態を把握することにより、本症の原因体を特定することを目的に調査を行った。

調査方法

(1) 貧血症の判定基準

事前の調査結果に基づいて作製した色見プレート（写真 1）で色の番号が No. 3 以上、及びヘモグロビン (Hb) が 3 g/dL 未満の両条件を満たす個体を貧血魚と判定した。貧血魚以外の供試魚は健常魚（＝外観上健康と思われる魚）とみなした。ここで、血液学的な判定基準をヘマトクリット (Ht) 値ではなく Hb とした理由は、供試魚によっては Ht 測定の際にヘマトクリット管内で赤血球が十分に圧縮されず空隙が形成される個体があり、その場合 Ht 値の読み取りが困難であるため、その値をそのまま貧血の基準にするには無理があると判断されたためである。なお、上述した Hb の値は良永ら⁵⁾の基準値と一致した。

(2) 供試魚

北海道から九州にかけて計 10 カ所の海域で漁獲された合計 442 尾の天然ヒラメ（平均体重 581 g ; 45 ~ 2,240 g）を搬入し、そのうち活魚の状態で入手できた 416 尾について個体別に調査を行った（表 1）。供試魚については、到着後 2 日以内（漁獲後 4 日以内）に検査した。その際、供試魚は個体別に全長と体重の測定、色見プレートを用いた鰓の褪色の有無、及び後述する調査に供した。

(3) 血液学的検査

活魚で搬入された 416 尾のうち 402 尾について、血液学的検査を行った。尾部血管からヘパリン処理したシリンジを用いて約 1 mL 採血し、得られた血液は、直ちにマイクロヘマトクリット管を用いた遠心法（12,000×g, 5 分間）による Ht の測定、自動分析装置（ドライケム、フジフィルム製）による Hb の測定及び自動血球計数装置（F-520、シスメックス製）による赤血球数（RBC）の計数に供した。

Ht 測定の際には、上述したように、赤血球がヘマトクリット管内に十分には圧縮されず、赤血球層と管壁の間に空隙が生じる個体が見られた（402 尾中 68 尾）。このような個体では、空隙の生じた部分の 50 % を赤血球層と見なして Ht 値を求めた。また、Hb 測定では自動分析装置で得られた値とシアンメトヘモグロビン法（ヘモグロビン-テストワコー、和光純薬工業製）で得られた値とは、0.1~8.5 g/dL の範囲で直線的に相関（ $R^2=0.9962$ ）したので、自動分析装置で得られた値を補正し、シアンメトヘモグロビン法の測定値として求めた。さらに、RBC では 2000 年 2 月から 6 月の間に調査した 99 尾について、自動血球計数装置と血球計算盤の両方で計数した値は直径 4 μm 以上で直線的に相関（ $R^2=0.9438$ ）したので、自動血球計数装置で得られた値を補正し、血球計算盤での計数値として求めた。なお、Ht、Hb 及び RBC の各値はマンホイットニーの U 検定により統計的に処理して比較した。

すべての個体（402 尾）で採血後にメイグリュンワルド・ギムザ染色を施して血液塗抹標本作製し、血球観察を行った。その際、ヒラメ 1 尾当たり約 1,000 細胞の赤血球を計数し、その中に占める以下の各赤血球の出現頻度を求めた。赤血球は、成熟赤血球を正常赤血球（写真 2 A）、血球の一端あるいは両端が尖った変形赤血球（写真 2 B）及び細胞質中に空隙が形成された空胞赤血球（写真 2 C）の 3 タイプに分け、幼若赤血球（写真 2 D）と併せて 4 タイプに分類した。

(4) *N. hirame* 寄生検査とふ化幼生を用いた感染実験

搬入した全個体について、口腔内・咽頭部および鰓弁におけるそれぞれ *N. hirame* 成虫（寄生痕を含む）及び未成熟虫の寄生の有無を確認した。成虫は、鰓蓋を除去した後に肉眼で観察して寄生が認められた場合にはピンセットを用いて 1 尾ずつ除去しながら計数した。また、成虫の寄生は認められないもののメラニン色素の沈着がみられた場合には、沈着部位を含む周辺部位を切開して、実体顕微鏡下で観察しながら

ら剖検して *N. hirame* の把握器が認められた場合を寄生痕ありと判定した。

一方、鰓に寄生する未成熟虫は、すべての鰓弁を切り出して 10 % ホルマリンに浸漬固定して細片に切り分け、スターラーで 30 分間強く攪拌 (1,200 rpm) して未成熟虫を鰓弁から脱落させた。そして、デカンテーションによりホルマリンを水道水に置換した後、実体顕微鏡下で計数した。

N. hirame ふ化幼生を用いた感染実験では、供試魚 1 尾に対して 30 虫となるように海水に添加した (以下 感染液)。実験には全長 10, 20 及び 100 mm に達したヒラメ種苗を各サイズとも 50 尾ずつ感染液に収容し、通気のみを施した止水条件下で 3 時間接触させてヒラメに感染させた (感染区)。3 時間経過後に流水条件に切り替えて感染液中の *N. hirame* ふ化幼生を除去した。感染から飼育にかけての水温条件はすべて自然水温 (21.1~24.6 °C) とした。対照区は海水に *N. hirame* ふ化幼生を添加しなかったこと以外は、感染区と全く同じ操作を行った後に流水飼育とした。試験期間は、10 及び 100 mm サイズで 100 日間、20 mm サイズでは 80 日間とし、感染区及び対照区とも定期的に供試魚をサンプリングした。

(5) ウイルス検査と病魚ろ液を用いた感染実験

天然ヒラメの血球におけるヒラメ貧血症ウイルス (JFAV と仮称、北海道大学吉水教授が提唱) の感染状況を把握するために、アセトン固定した血液塗抹標本を材料に抗 JFAV ウサギ血清 (吉水教授より分譲) を用いた蛍光抗体法により、供試魚 (計 127 尾) からの JFAV の検出を試みた。その際、赤血球のみあるいは赤血球と白血球の両方が蛍光を発色した場合は陽性と判定し、白血球のみが発色した場合は陰性と判定した。

また、貧血症に関与している可能性のあるウイルスを分離培養するために、既存の 5 種類の魚類由来株化細胞 (CHSE-214, EPC, RTG-2 及び SSN-1 : 途中から FHM を追加) を用いて、常法により供試魚 (貧血魚及び健全魚がそれぞれ 88 尾及び 194 尾、計 282 尾) の脳と頭腎から個別にウイルスの分離を行った。細胞変性効果の確認には 20 °C で 2 週間の観察期間を設けた。

天然ヒラメ及び養成魚で貧血症と判定された病魚の頭腎と血液の磨砕ろ液を用いて感染実験を行った。いずれの組み合わせにおいても、磨砕ろ液をフィルターろ過 (450 µm) した後に健全な供試魚 (体重 14~90 g) に注射により筋肉内に接種した。その後、自然水温条件下 (14.6~26.1 °C) で飼育を行い、天然ヒラメ及び養成魚を材料とした場合の観察期間はそれぞれ 6 ヶ月及び 1 年間とした。

(6) 細菌検査

貧血症状を呈する個体の血液、頭腎、肝臓、脾臓及び心臓から L-15 培地を用いて細菌の分離を行った。培養温度は 20 °C とし 7 日間培養した。

(7) 病理組織検査

活魚で搬入された一部の貧血魚と健全魚について、病理組織の検査を行った。血液は 1 % ピルビン酸 (PFA) +1.25 % グルタルアルデヒド (GA) +1 % オスミウム酸 (OsO₄) 液、もしくは 1 % PFA+1.25 % GA 液で固定した。頭腎、体腎、心筋、脾臓、鰓及び肝臓の組織試料は 2 % PFA+2.5 % GA+2 % OsO₄ 液、もしくは 2 % PFA+2.5 % GA 液で固定した。GA+OsO₄ 同時固定試料はそのまま、GA 固定試料は 2 % OsO₄ で固定の後、Spurr 樹脂に包埋した。光顕観察用の厚切片はトルイジン青で、電顕観察用の超薄切片は酢酸ウランルークエン酸鉛の二重染色を施して観察した。

調査結果

(1) 貧血症の発生状況

北海道周辺の 2 海域を除くすべての海域で漁獲されたヒラメに貧血魚が認められた (表 2)。合計 10 海域で延べ 416 尾を検査に供し、そのうち 130 尾 (出現率 31 %) が貧血魚と判定された (表 2)。貧血魚の出現率は、調査海域により異なるが、おおむね 6 月から 10 月にかけて低く、その後、12 月から 2 月にかけて高くなる傾向を示した (図 1)。いずれの海域においても、貧血魚の出現率と *N. hirame* 成虫の寄

生率とは比較的良好一致した。貧血魚には、顕著な鰓の褪色（写真 3）以外の外部症状は特にはみられなかったが、剖検では心臓の顕著な肥大及び肝臓の褪色が観察された（写真 4）。

天然ヒラメの全長別（10 cm 毎）の貧血魚の出現尾数では、全長 30～40 cm の範囲のヒラメが最も多かったが、*N. hirame* 成虫の寄生数は全長が小さいほど寄生数が多く、大型個体になるにつれて減少する傾向がみられた（図 2 A）。これを各全長の供試魚中に占める貧血個体の出現率で示すと、全長 10～20 cm の範囲で最も出現率が高かった（図 2 B）。

(2) 血液学的検査

健常魚と貧血魚の血液性状について検査し、Hb の値に基づいて 5 群（<1, 1～2, 2～3, 3～4, 4≤）に分けた結果、Hb の値が低い個体ほど Ht 及び RBC が低下している傾向がみられた（表 3）。特に、Hb が 3 g/dL 未満の個体では、健常魚（4≤Hb）と比較して Ht と RBC の有意な低下（ $p<0.01$ ）が認められた。

また、血液塗抹標本の観察の結果、Hb の値が低い個体ほど血液中の成熟赤血球の割合が低下し、幼若赤血球の割合が顕著に増加した（図 3）。Hb の値が 4 g/dL 以上の健常魚においては、成熟赤血球及び幼若赤血球の占有率の平均値はそれぞれ 97.2 及び 1.7 % であった。これに対して、1 g/dL 未満の重篤な貧血魚ではそれぞれ 1.2 及び 87.9 % と成熟赤血球及び幼若赤血球の占有率が健常魚に比べてそれぞれ有意（ $p<0.01$ ）に減少及び増加した。

(3) *N. hirame* の寄生検査

今回調査したすべての海域のヒラメにおいて、*N. hirame* の寄生が確認され、全供試魚における成虫及び未成熟虫の寄生率はそれぞれ 60.8 及び 35.1 % であった（表 2）。ヒラメ 1 尾当りの寄生数は成虫で最高 55 虫体、未成熟虫で最高 30 虫体であった。特に、成虫の寄生率はいずれの海域もおおむね 7 月から 10 月にかけて低く（成虫の寄生数：1～6 尾）、その後 11 月以降 5 月にかけて高い値（同 5～55 尾）を示した（図 1 の折線グラフ）。

血液検査を行ったすべての個体（402 尾）について、口腔内・咽頭部における *N. hirame* 成虫の寄生数あるいは鰓弁における未成熟虫の寄生数と Hb 含有量との関係では、成虫の寄生数が多くなるほど Hb の値が低く、有意な相関関係（ $R^2=0.7918$ ）が認められた（図 4 A）。しかし、未成熟虫との間には関連はみられなかった（図 4 B）。

貧血症と判定された計 130 尾の天然ヒラメについて、*N. hirame* 寄生の有無との関連性について検討した結果、113 尾（貧血魚の 86.9 %）の個体に *N. hirame* 成虫の寄生及びその寄生痕が認められた（図 5）。また、4 尾（同 3.1 %）については成虫及び未成熟虫は認められず成虫の寄生痕のみが認められた。さらに、5 尾（同 3.8 %）については成虫及びその寄生痕は認められなかったが、未成熟虫の寄生が確認された。しかし、8 尾（同 6.2 %）の個体については、*N. hirame* 成虫、その寄生痕及び未成熟虫のいずれも観察されなかった。なお、健常魚と判断された 286 尾の天然魚における *N. hirame* 成虫の寄生率は 42.7 % であった。

(4) ウイルス検査

貧血症の有無と血球からの蛍光抗体法による JFAV 検出率との間には特に関連性はみられなかった（図 6）。一方、貧血魚及び健常魚の脳あるいは頭腎のいずれからも 2 種類のウイルスが分離されたが、貧血症の有無とウイルス分離率との間には関連性はみられなかった。分離されたウイルスのうち、1 種類はウイルス性出血性敗血症ウイルス（VHSV）⁶⁾ で、もう 1 種類はアクアビルナウイルスであった（図 7）。貧血魚及び健常魚からの VHSV の分離率はそれぞれ 4.4 及び 7.3 %、また、アクアビルナウイルスのそれはそれぞれ 53.3 及び 33.7 % であった。貧血魚の方がアクアビルナウイルスの分離率は高いものの、このアクアビルナウイルスはヒラメに対して病原性を示さないことが実験的に確かめられた。

(5) 細菌検査

いずれの臓器からも貧血症の原因菌と考えられる細菌は分離されなかった。

(6) 感染実験

N. hirame ふ化幼生を用いた感染実験では、いずれのサイズにおいても実験終了時に *N. hirame* の寄生による貧血症状が再現された (表 4)。また、いずれのサイズの感染区でも対照区と比較すると、感染 20～50 日後から成長が若干劣る傾向を示した (図 8)。一方、貧血病魚のろ液を用いた感染実験では、実験終了時においても貧血症状は再現されなかった (表 5)。

(7) 病理組織検査

強度の貧血魚の抹消血の電顕観察では、多数の幼若赤血球とヘモグロビン含有量の低い変形した赤血球 (写真 5 上) が存在した。また、白血球細胞には管状構造物を含む特殊顆粒がみられるものの、ウイルス様粒子は認められなかった (写真 5 下)。罹病魚の頭腎及び体腎では血球形成の亢進が認められたが、顕著な退行性病変は観察されなかった。罹病魚の脾臓、腎臓及び肝臓にはヘモシデリンの異常な沈着は認められなかった。なお、強度の貧血魚では心筋繊維と肝細胞において、脂肪滴が多数存在し、脂肪変性像が認められた (写真 6)。

考 察

今回の調査の結果、北海道周辺海域を除くすべての海域で漁獲された天然ヒラメに貧血症状が認められた。また、その貧血魚の 90 % の個体に *N. hirame* の成虫の寄生が認められ、貧血症状の有無と *N. hirame* 成虫の寄生との間に高い相関関係がみられた。さらに、成虫の寄生数の増加に伴って Hb の値が低下し、寄生数と Hb との間に相関関係が認められるとともに、*N. hirame* ふ化幼生を用いた感染実験で貧血症状が再現された。一方、本症の原因としてウイルス感染の可能性も示唆されている¹⁾が、本調査においても濾過性病原体の関与の可能性について検討したが、貧血症の原因と考えられるようなウイルスは検出されなかった⁷⁾。これらの結果から、わが国周辺の沿岸海域で発生している天然ヒラメにおける貧血症には、*N. hirame* 成虫の寄生が大きく関与していると考えられた。なお、今回の調査で北海道周辺海域で漁獲された天然ヒラメには *N. hirame* の寄生は認められたが、貧血魚とは判定されなかった。これは、漁獲された時点で *N. hirame* が寄生しているものの、貧血症状を呈するまでには至っていなかったと考えられた。

今回調査した貧血魚の約 6 % (130 尾中 8 尾) には、*N. hirame* 成虫の寄生、寄生痕の存在あるいは未成熟虫の寄生が認められず、本虫の関与は考え難かった。これは、*N. hirame* 成虫の寄生により貧血状態に陥り、その後成虫は脱落したが貧血症状は持続し、その間に寄生痕が治癒したためなのか、あるいは *N. hirame* の寄生以外の他の要因に起因するものなのかについては、現段階では不明である。今後、*N. hirame* 成虫の寄生痕を示さない個体における本症に対する感染履歴の有無に関する検査手法の開発が必要である。

貧血症の発生によるヒラメの天然資源の減少が強く懸念されている。日本海の西部海域においては、*N. hirame* の寄生が新規加入群 (0 歳魚) の直接的な減耗要因となっているか否かについては議論の余地が残されているものの、0 歳魚への *N. hirame* の寄生強度がその後の天然資源の増減を左右する可能性が指摘されている²⁾。今回の調査でも若齢魚における貧血魚の出現率が高い傾向を示した。これについては、今後、天然海域での 0 歳魚における *N. hirame* の感染機構を明らかにする必要があると考えられる。

今回の貧血調査に用いた鰓の色見プレート No. と Hb とは、先に述べたように直線的な相関を示した。また、Hb と Ht との間に直線的な相関 ($R^2=0.9142$) がみられたことから、現場で貧血か否かの判定を行う際には、今回作製した色見プレートを用いる方法が簡便法として使用できるものと考えられた。

2. ヒラメ以外の異体類における貧血症の発生に関する調査

Neoheterobothrium 属の単生類は異体類に特異的に寄生すると報告されている⁴⁾。現在のところ、*N. hirame* の寄生が確認されているのはヒラメのみであるが、他の異体類に寄生している可能性もないとは言えない。そこで、ヒラメ以外の天然異体類における *N. hirame* の寄生に関する調査を行った。

調査方法

(1) 供試魚

調査した天然異体類は、駿河・相模湾で漁獲されたウシノシタ（平均全長 19.6 cm）21 尾、若狭湾で漁獲されたソウハチ（同 8.6 cm）24 尾、アカガレイ（同 11.2 cm）8 尾、マガレイ（同 10.2 cm）16 尾、及び備後灘で漁獲されたホシガレイ（同 48.3 cm）1 尾とメイタガレイ（同 23.9 cm）13 尾の計 6 魚種 83 尾であった（表 6）。なお、これらの魚種はいずれも貧血調査に供した天然ヒラメと同じ場所で漁獲されたものである。

(2) *N. hirame* 寄生調査

すべての供試魚の全長と体重を測定した後、前述の方法により鰓蓋を切除して口腔壁・咽頭部における *N. hirame* 成虫の寄生と寄生痕の有無の確認、及び個別別に鰓を切り出して鰓弁における未成熟虫の確認を行った。

調査結果

6 魚種 83 尾について *N. hirame* の寄生調査を行ったが、いずれの魚種においても成虫、寄生痕及び未成熟虫は全く確認できなかった（表 6）。

考 察

今回行った調査ではヒラメ以外の異体類に *N. hirame* の寄生は確認されなかったことから、ヒラメ以外の異体類からヒラメへの水平感染の可能性は今のところないと判断された。

3. 給餌量が *N. hirame* が寄生したヒラメに及ぼす影響（人為感染）

天然ヒラメにおける貧血症の原因は、単性類の *Neoheterobothrium hirame*（以下 *N. hirame*）であり、我が国のほとんどすべての沿岸域で本症が確認されている。本症の天然ヒラメへの影響を把握する目的で、給餌量が *N. hirame* に感染したヒラメに与える影響について試験を行った。

調査方法

ヒラメの放流サイズである全長 60mm サイズと、放流後に摂餌生態が魚食性へ移行する全長 130mm サイズのヒラメを用い実験を行った。500 L 黒色円型水槽に全長 60mm サイズ（平均全長 63.1mm，平均体重 2.5 g）と全長 130mm サイズ（平均全長 126.5mm，体重 19.4 g）のヒラメ人工種苗を、それぞれ 100 尾ずつ収容した。*N. hirame* の感染は、ヒラメに *N. hirame* ふ化幼生を 3 時間浸漬することにより感染させた。そして全長 60mm サイズは水温 18.6～20.5℃で 100 日間、全長 130mm サイズは水温 24.0～24.5℃で 50 日間流水飼育した。なお、*N. hirame* ふ化幼生の浸漬濃度はヒラメ 1 尾当たり、全長 60mm サイズでは 30 尾、全長 130mm サイズでは 60 尾とした。試験区は寄生の有無と給餌量の多寡（無給餌区，0.4%給餌区，3%給餌区）により、6 試験区を設定した。サンプリングは感染前、感染後 20，50，100 日後及び大量死亡時とした。調査項目は成長、生残、鰓の色、*N. hirame* の寄生状況及び全長 130mm サイズでは血液性状を調査した。鰓の色は色見プレート（写真 1）により測定した。*N. hirame* 成虫の寄生は、肉眼で口腔内に寄生した成虫を計数した。未成熟虫の寄生は、鰓を取り出し 10%ホルマリンで固定後スターラーで鰓を攪拌し、

脱落した未成熟虫を計数した。血液は尾部血管より採取した。ヘマトクリットはマイクロヘマトクリット管を用いた遠心法 (1,2000×g, 5 分間) により測定した。血清中の乳酸, グルコース, トリグリセライドは自動分析装置 (ドライケム, フジフィルム製) により測定した。餌料には配合飼料を用い, 0.4%給餌区では1週間に1回, 3%給餌区では毎日給餌した。

調査結果

(1) 全長 60mm サイズ

N. hirame を寄生させたヒラメの鰓の色は, 感染後 40 日目では無給餌区が 5.9, 0.4%給餌区が 5.1 と貧血の基準である 3.0 以上となりいずれも鰓が褪色し貧血症状を呈した。一方, 3%給餌区では 2.1 で貧血症状は示さなかった。しかし, 感染後 50 日目には 3%給餌区も貧血状態となった (図 9)。

未成熟虫の寄生率は, 感染後 20 日目では無給餌区が 100%, 0.4%給餌区が 90%, 3%給餌区が 50% であったが, 40 日目にはいずれの試験区でも寄生率が低下し, 3%給餌区では未成熟虫を確認できなかった。その後, 0.4%及び3%給餌区では 50 日目以降に寄生率が再び増加した。

N. hirame 成虫の寄生は, 40 日目以降に認められ, 50 日目では, 無給餌区で 80%, 0.4%給餌区で 50%, 3%給餌区で 70%となった。*N. hirame* 未成熟虫と成虫の寄生率の変化は, 未成熟虫が成虫に成長した後, 成熟した成虫が産卵し, ふ化した幼生が再びヒラメに寄生したためと考えられた。

生残率は, 無給餌区では 85 日目に全滅し, 3%給餌区より 0.4%給餌区の方が生残率は低かった。なお, *N. hirame* を感染させなかった無給餌区では 30~40 日目にかけて, 0.4%給餌区では 55~65 日目にかけてそれぞれ約 60%の急激な死亡が認められ, 無給餌区, 0.4%給餌区では, *N. hirame* の寄生と生残との関係について明らかにできないが, 3%給餌区では *N. hirame* 感染区の 100 日目の生残率は 56.6%, 対照区の *N. hirame* 非感染区が 47.3%と差がないことより, 充分摂餌ができれば, *N. hirame* が寄生しても生残に大きな影響はないことが考えられた。

(2) 全長 130mm サイズ

N. hirame が感染したヒラメの鰓の色は感染後 30 日目で褪色し, 給餌量が少ないほど貧血症状が重篤になるまでの日数が早かった (図 10)。なお, *N. hirame* を感染させない無給餌区を対照区として示した。

未成熟虫の寄生率は, 給餌量が少ない区ほど寄生率が高い傾向にあった。

成虫の寄生率は, 30 日目にすべての区で 90%以上となり, 3%給餌区では 50 日目には 30%に減少した。このような, 未成熟虫と成虫の寄生率の変化は, 未成熟虫が成虫となり, さらに産卵し未成熟虫が寄生した結果と考えられた。

生残率は感染 20 日目までは, いずれの区でも 80%以上であったが, 無給餌区では 36 日目に, 0.4%給餌区では 32 日目に全滅し, 3%給餌区では 50 日目に 82%となり, 給餌量が少ないと生残率は低かった。一方, *N. hirame* を感染させない対照区では, 無給餌でも 50 日目の生残率は 90%以上であった。

ヘマトクリット値は, 20 日目以降に無給餌区, 0.4%給餌区では 15%以下となった。

トリグリセライド値 (TG) は, 感染後 30 日目の無給餌区で 10.2mg/dℓ, 0.4%給餌区で 7.6mg/dℓとなったが, 3%給餌区では 270.5mg/dℓとなった。*N. hirame* を感染させない (対照区) 無給餌区では, 30 日後に 28.7mg/dℓ, 0.4%給餌区は 29.6mg/dℓに低下したが, 3%給餌区では 306.1mg/dℓであった (表 7)。このことから, トリグリセライドの低下は, *N. hirame* の寄生と給餌量の影響を受けると考えられた。また, 感染区は無給餌区及び 0.4%給餌区では, 感染後 35 日目には大量死亡したことから, *N. hirame* が感染し, トリグリセライド値が 10mg/dℓ以下に低下したヒラメでは, 摂餌が充分にできない場合には, 死亡する可能性が高いと考えられた。

なお、グルコース (GLU) は *N. hirame* の寄生の有無や給餌量との関係は見られず、乳酸は検出限界以下であった。

考 察

全長 60mm サイズと全長 130mm サイズのヒラメにおける人為的な感染では、給餌量が少ないと、鰓の褪色が早く進み、かつ、成虫の寄生率が高くなり、ヒラメ 1 尾当りの寄生数も多くなる傾向がみられ、その結果大きな減耗が起こることが確認された。全長 60mm サイズのヒラメでは、1 尾当り少なくとも 1, 2 尾の成虫の寄生で死亡に至る可能性が高いと考えられた。一方、*N. hirame* が感染し、貧血状態となり、トリグリセライド値が 10mg/dℓ まで低下したヒラメでは、摂餌が十分にできない場合には、死亡する可能性が高いと考えられた。

従って、天然海域での *N. hirame* の寄生がヒラメの生残に及ぼす影響を調査する場合、漁獲されたヒラメの *N. hirame* の寄生の有無とトリグリセライド値でそのヒラメが将来死亡に至るかどうかを判断できると考えられた。

4. 天然海域におけるヒラメ当歳魚の貧血症の感染状況

日本海西部ではヒラメの漁獲量が著しく減少しており、鳥取県では平成 7 年に 250 トンであった漁獲量がここ数年は 50 トン以下にまで落ち込んでいる。若狭湾においても、同時期よりヒラメの漁獲量の減少がみられ、福井県では平成 6 年に 146 トンであった漁獲量が平成 12 年には 61 トンまで、京都府では平成 7 年に 93 トンであった漁獲量が平成 11 年には 37 トンまで減少している (図 11)。鳥取県での調査では、春期の当歳魚の発生量は平年並みに多いが、その後秋口から急激に減少しており、その原因はヒラメネオヘテロボツリウム症によることが示唆されている。このため、ヒラメの漁獲減少が著しい鳥取県と共同で、天然当歳魚の *N. hirame* の寄生実態の調査に取り組み、感染機構及び貧血症と増殖阻害要因の関係を解明し、ヒラメ貧血症の影響の受けにくい条件を調査した。

調査方法

(1) 供試魚

調査は平成 13 年 4 月から平成 14 年 3 月までの 1 年間行った。調査海域は、若狭湾内の福井県小浜市小浜湾、高浜町和田浜、京都府宮津市由良浜の 3 ヲ所で行った (図 12)。全長 10cm 以下の稚魚はソリネット曳網による試験操業により、全長 10cm 以上の幼魚はエビ漕ぎ網漁業あるいは定置網漁業により混獲されるヒラメ天然当歳魚を、毎月 50~100 尾を採集した。エビ漕ぎ網漁法の禁漁期である 12~5 月の期間は特別採捕による試験操業により採集した。採集した全個体について漁獲後個別にビニール袋に収容し、直ちに冷凍した。このうち、活魚の状態ですべての個体については、貧血症の検査に供した。

供試魚は、個体別に全長、体長、体重、消化管除去重量、消化管内容物重量、心臓重量、肝臓重量、耳石、口内の成虫の数、鰓葉中の未成熟虫数の測定を行い、供試魚のうち活魚についてはさらに、色見プレート (写真 1) を用いた鰓の色調、採血によるヘマトクリット値の測定を行った。

なお、小浜湾では平成 13 年 6 月 5 日に平均全長 58mm の人工種苗 10 万尾の放流試験を行い、採捕されたヒラメのうち放流当歳魚についても天然当歳魚と同様の測定を行った。放流種苗は放流前に寄生虫の検査を行い、非寄生種苗であることを確認した。採集個体の天然当歳魚と放流当歳魚の判別は無眼側体色異常の有無で判断し、無眼側体色異常のみられるものは放流当歳魚、それ以外の個体はすべて天然当歳魚とした。

調査海域の海域的特性をできる限り明瞭にするため、各海域のヒラメ主漁場の水温・水深・底質の調査を行った。

(2) *N. hirame* 寄生調査

供試魚を解凍後、口腔内、咽頭部及び鰓弁に寄生する *N. hirame* 成虫及び未成熟虫の有無を確認した。成虫は、前述の方法により鰓蓋を除去した後に肉眼で観察して寄生が認められた場合にはピンセットを用いて1尾ずつ除去しながら計数した。また、成虫の寄生は認められない個体は非寄生個体と判断した。なお、寄生痕の確認は行わなかった。

一方、鰓に寄生する未成熟虫は、すべての鰓弁を切り出して10%ホルマリンに浸漬固定し、水道水に置換した後に細片に切り分け、スターラーで30分間強く攪拌(1,200 rpm)して未成熟虫を鰓弁から脱落させた。その後、実体顕微鏡下で計数した。

未成熟虫及び成虫の計数値をもとに、供試魚中に占める寄生を受けた個体の割合を寄生率、寄生を受けた個体の1尾当りの寄生虫の数を寄生数として、寄生率及び寄生数を月別に算出した。

(3) 貧血症の判定基準

活魚で採集された個体について、採血の困難な小型魚(全長10 cm以下)については色見プレートにより、採血可能な大型魚(全長10 cm以上)については色見プレートまたはヘマトクリット値を測定し、貧血症の検査を行った。色見プレートにおける色の番号がNo.3以上またはヘマトクリット値が20未満の個体を貧血魚と判定した。貧血魚以外の供試魚は健常魚(=外観上健康と思われる魚)とみなした。

ヘマトクリット値は、尾部血管からヘパリン処理したシリンジを用いて約0.5~1 ml採血し、得られた血液は、直ちにマイクロヘマトクリット管を用いた遠心法(12,000×g, 5分間)により行った。

ヘマトクリット値の測定の際には、赤血球がヘマトクリット管内に十分には圧縮されず、赤血球層と管壁の間に空隙が生じる個体の一部が見られた。このような個体では、空隙の生じた部分の50%を赤血球層と見なしてヘマトクリット値を求めた。

調査結果

(1) ヒラメ当歳魚の採集

ヒラメ当歳魚の採集は、着底稚魚が出現する平成13年5月から開始した。各海域とも着底直後の稚魚の採集は砕波帯でのソリネット曳網によって行い、8月以降は小浜湾ではエビ漕ぎ網、和田浜及び由良浜では定置網で漁獲されるものを採集した。なお、小浜湾では5月に数カ所で着底稚魚の採集を試みたが採集できなかった。

小浜湾では、平成13年6月から平成14年3月にかけて923尾のヒラメ当歳魚を採捕した。このうち、天然当歳魚は644尾、放流当歳魚は279尾であった。天然当歳魚のうち166尾は活魚で採集し、貧血症の調査に供した。和田浜では、平成13年5月から平成14年9月にかけて135尾のヒラメ当歳魚を採捕した。このうち、天然当歳魚は124尾、放流当歳魚は11尾であった。なお、9月以降はヒラメ当歳魚の漁獲がなかったことから採集することはできなかった。由良浜では、平成13年5月から平成14年1月にかけて350尾のヒラメ当歳魚を採捕した。再捕された当歳魚はすべて天然当歳魚であり、活魚での入手はできなかった。なお、平成14年1月以降はヒラメ当歳魚の漁獲がなかったことから採集することはできなかった。

放流当歳魚は小浜湾及び和田浜で再捕されており、小浜湾で再捕された放流当歳魚の大部分は(社)日本栽培漁業協会が小浜湾で放流した人工種苗であり、和田浜で再捕された放流当歳魚は京都大学並びに福井県立大学が中心となって行ったUJNRヒラメ放流実験によって放流された人工種苗(5月21日、平均全長6 cm、放流尾数5万尾)と推定された。由良浜でもUJNRヒラメ放流実験が行われたが、今回の調査では放流当歳魚は再捕されなかった。

各海域の天然当歳魚の成長の推移を比較すると（図 13）、小浜湾では 6 月から 12 月まで一定の成長を示し、12 月以降は成長は停滞した。和田浜及び由良浜では 7 月から 8 月にかけて急激に成長し、8 月には小浜湾の成長を上回った。若狭湾内におけるヒラメ稚魚の着底期は 4～6 月であり、2 つの着底盛期が見られることから天然当歳魚の加入は 2 群あることが報告⁸⁾されている。和田浜及び由良浜では、5～7 月にかけては砕波帯で採集された小型個体、8 月以降は定置網で漁獲された大型個体を採集したことから、前者は晩期加入群、後者は早期加入群と推定され、見かけ上急激に成長したものと考えられた。これに対し、小浜湾で採集された天然当歳魚は同一漁法（エビ漕ぎ網漁業）によって漁獲されたものであり、周年同じ加入群を採取したものと考えられた。小浜湾及び由良浜とも 12 月にはそれぞれ全長 23.2cm、22.5cm となり、成長差はみられなくなった。

なお、小浜湾に放流した放流当歳魚と天然当歳魚の成長の推移を比較すると、天然当歳魚の方が常に成長が上回っていたが、放流時の成長差がそのまま反映されて推移したものと考えられた。

(2) 海域特性の調査

小浜湾では小浜事業場地先の水深 10m の地点（平成 13 年）、由良浜ではヒラメの主漁場である水深 20m の地点（平成 10 年度）、和田浜では 8 月以降に供試魚の採集を行った定置網漁場がある水深 26m の地点（平成 13 年）を定点として水温を測定した。このうち、周年を通じて測定を行った小浜湾と由良浜における水温の年変化を比較すると、両者はほとんど同じであり、若狭湾西部から中央にかけては年間水温の推移に大きな差異はないことが窺われた（図 14）。

調査海域のヒラメ主漁場の水深 20m 地点の海底土壌における粒度組成をみると、小浜湾では粘土分・シルト分が全体の 98% 以上であったのに対し、由良浜ではシルト分・細砂分・粘土分が全体の 98%、和田浜では中砂分・細砂分・粗砂分が 90% であり（表 8、図 15）、3 海域の粒度組成には差がみられた。また、同じ海域であっても水深により組成が変わり、小浜湾内では湾周辺では粘土分・シルト分が主体であるのに対し、湾中央部から湾口ではシルト分・細砂分が主体であった。和田浜・由良浜では浅海部では粗砂分・中砂分が主体であるのに対し、沖合では粘土分・シルト分の割合が高くなった。

(3) 寄生状況の調査

調査海域別の寄生状況、摂餌状況、肥満度の測定結果を表 9 にとりまとめた。

1) 天然当歳魚の *N. hirame* 寄生率（図 16）

小浜湾では未成熟虫の寄生は 7 月に初めて確認され、その寄生率は 5.1% であったが、9 月以降急激に上昇し、1 月には 82.6% 以上となった。成虫の寄生は 6 月に初めて確認され、その寄生率は 14.2% であったが、8 月以降急激に上昇し、1 月には 91.3% となった。

由良浜では未成熟虫の寄生は 8 月まではみられなかったが、9 月に初めて 43.5% の個体で確認され、その後増減を繰り返し 11 月には 60% となった。成虫の寄生は 7 月まではみられなかったが、8 月に初めて 60% の個体で確認され、その後増減を繰り返し 12 月には 100% となった。

和田浜では成虫は 7 月に初めて確認され、その時の寄生率は 1.8% であったが、8 月には 38.8% に上昇した。未成熟虫は 8 月に初めて確認され、その時の寄生率は 2.0% であった。

3 海域とも未成熟虫及び成虫の寄生率は類似した推移を示し、8～9 月より急激に増加し、11～1 月にかけて最大となった。小浜湾では平成 14 年 3 月まで調査を行ったが、未成熟虫及び成虫とも 1 月をピークに減少する傾向がみられた。

なお、未成熟虫の出現及び寄生率の上昇は、成虫のそれに比べて約 1 ヶ月遅れていた。*N. hirame* の生活史を考えた場合、未成熟虫の出現が成虫の出現に先行すると考えられるが逆の結果となっていた。

2) 天然当歳魚の *N. hirame* 寄生数 (図 17)

小浜湾での未成熟虫の寄生数は、7月に初めて確認された時点で1.0個体/尾であったが、その後徐々に増加し12月には4.1個体/尾となった。さらに、平成14年1月には14.2個体/尾と急激に増加したが、3月には2.8個体/尾に減少した。成虫の寄生数は、6月に初めて確認された時点では1.0個体/尾であったが、8月以降急激に上昇し平成14年1月には8.3個体/尾となった。その後、3月には4.3個体/尾に減少した。

由良浜での未成熟虫の寄生数は、9月に初めて確認された時点で1.7個体/尾であったが、その後徐々に増加し11月には2.5個体/尾となり、12月には0.5個体/尾に減少した。成虫の寄生数は8月に初めて確認された時点では2.1個体/尾であったが、8月以降急激に上昇し11月には7.5個体/尾となり、12月には5.0個体/尾に減少した。

和田浜での成虫の寄生数は、7月に初めて確認された時点で1.0個体/尾、未成熟虫のそれは8月に初めて確認された時点では1.0個体/尾であった。

3 海域における未成熟虫及び成虫の寄生数は、寄生率と同様に類似した推移を示し、8~9月より急激に増加し、小浜湾では1月に、由良浜では11月にピークとなり、その後減少した。

なお、未成熟虫の寄生数は成虫の寄生数より少なく、かつ寄生数も成虫に遅れて上昇しており、寄生率と同様、成虫の方が未成熟虫に先行して増加していた。

3) 放流魚の *N. hirame* の寄生状況 (図 18, 19)

小浜湾で放流し採捕された放流当歳魚は、7月(放流後2ヵ月目)までは未成熟虫及び成虫とも寄生はみられなかったが、8月に未成熟虫で0.9%、成虫で30.3%の個体で寄生がみられた。寄生率は8月以降急激に上昇し、未成熟虫は12月に73.3%、成虫は平成14年1月に81.3%で最大となった。未成熟虫及び成虫の寄生数は、8月に初めて確認された時点ではそれぞれ1.0個体/尾、1.5個体/尾であったが、その後徐々に増加し、それぞれ最大8.2個体/尾(1月)、8.6個体/尾(12月)となり、3月には3.1個体/尾、4.8個体/尾に減少した。未成熟虫及び成虫の寄生率、寄生数は天然当歳魚と同様の推移を示した。また、天然当歳魚と同様、成虫の方が未成熟虫に先行して増加していた。

和田浜で放流し採捕された放流当歳魚は、天然当歳魚と同様、7月までは未成熟虫及び成虫とも寄生はみられなかったが、8月に45.3%の個体で成虫の寄生がみられ、その寄生数は3.0個体/尾であった。

4) 摂餌個体率・胃内容物重量比・肥満度 (図 20, 21, 22)

小浜湾における天然当歳魚は、6月から8月にかけて摂餌している個体の割合(以下、摂餌個体率)が100%から31.8%まで低下し、体重に占める胃内容物重量の割合(以下、胃内容物重量比)も4.0%から徐々に低下し12月には0.9%となった。摂餌個体率は10月から12月にかけて84.6%まで上昇するが、胃内容物重量比は0.9%から1.2%の間を推移した。肥満度は8月に1.7であったがその後徐々に低下し、12月には1.4まで低下した。

小浜湾における放流当歳魚についても、摂餌個体率、胃内容物重量比及び肥満度は天然当歳魚と同様の推移を示した。

由良浜における天然当歳魚では、5月から9月にかけて摂餌個体率が80%前後を推移し、10月に40%まで低下したが12月には100%となった。胃内容物重量比は3.2~6.4%の間を大きく増減し、9月が最も高くなった。肥満度は7月を除けば1.7~1.8を推移しているが、9月以降は低下する傾向が見られ12月には1.5となった。

小浜湾と由良浜における摂餌個体率、胃内容物重量比を比較すると、年間の推移に差がみられ、特に胃内容物重量比では8月以降は由良浜の方が小浜湾の2倍以上の値となっており、10月には最大4.7倍の差が見られた。この時期はヒラメ当歳魚がアミ類などの甲殻類から小型魚類に食性が変

化する時期にあたり、由良浜の方が餌生物の条件が適していることが窺えた。

(4) 貧血症の調査 (表 10, 11)

貧血症の調査は、和田浜及び由良浜では活魚を入手できなかったため、活魚を入手できた小浜湾について行った。

7・8月に採集した供試魚は採血が困難な小型魚であったため、色見プレートにより調査した。いずれも鰓の色調は1~2であり貧血症の個体はみられなかった。9月は活魚を入手することができなかったため、調査ができなかった。10月に初めて貧血症の個体が出現し、鰓の色調では57.1%、ヘマトクリット値では100%の個体が貧血症と判断された。貧血症の個体は11月以降も多数出現し、鰓の色調では11月に73.3%の個体が貧血症となり最も高い頻度で出現し、鰓の平均色調値も3.5と最大となった。一方、ヘマトクリット値では10月と1月が100%の個体で貧血症となり、平均ヘマトクリット値も10月に9.2で最低となり、1月も10.4で10月に次いだ。

貧血症と寄生数の関係をみると、鰓の色調及びヘマトクリット値のいずれの場合も症状が重篤になるほど成虫の寄生数が多くなる傾向がみられるが、寄生数が0の個体でも貧血症の個体はみられ、必ずしも寄生数の多い個体だけが重篤な貧血症になっているわけではなかった(表11)。今回は寄生痕については調べていないが、寄生虫の脱落も考えられることから、寄生痕の有無についても確認することが必要である。また、貧血症と成長、肥満度の関係をみると、貧血症の重篤な個体でも成長の遅れ、肥満度の低下がみられなかった。

考 察

今回の調査結果から若狭湾内3海域での寄生実態が明らかにされた。いずれの海域も天然当歳魚の大部分の個体が*N. hirame*の寄生を受けており、その寄生状況には海域による差異は認められなかった。このことは、ネオヘテロボツリウム症が全国的に広がっていることから海域環境条件に関して適応力が強いことが窺われ、若狭湾という局地内での比較ということを考えれば容認できる結果であった。

天然当歳魚の貧血症の重篤な個体の平均成虫寄生数は5~6個体であり、このレベルでの寄生数では必ずしも摂餌個体率、胃内容物重量比、肥満度に及ぼす影響は窺われなかった。貧血症の程度と寄生数の関係をみると、症状の重篤な個体ほど寄生数が多い傾向がみられた。しかし、寄生数の多い個体がすべて貧血症を引き起こしているわけではなく、*N. hirame*の寄生が必ずしも貧血症を引き起こし、死亡しているとは考えられなかった。一方、水槽における人為感染試験から、*N. hirame*が寄生した個体は寄生していない個体に比べて貧血症を引き起こしやすく、生残率も低下することが判明した。特に、給餌を制限された個体では貧血症を引き起こしやすく、死亡する個体も多いことから、*N. hirame*が寄生したヒラメは、十分に摂餌ができなければ1,2尾の成虫の寄生でも貧血症を引き起こし死亡するものと推察された。

このことから、天然海域でのヒラメ増殖阻害要因としては*N. hirame*の寄生だけによるものではなく、天然海域での餌の条件も大きな要因となっていると考えられた。今回は小浜湾と由良浜で胃内容物重量比に大きな差がみられ、海域の餌環境に違いがあることが窺われた。このため、両海域とも寄生率については同程度であったが、餌環境が良いと推測される由良浜での貧血症がどの程度であったのか興味を持たれる。なお、小浜湾での貧血症の調査から、貧血症の重篤な個体でも成長の遅れ、肥満度の低下が見られていないことから、死亡する場合にはその症状の悪化は急性的に起こることが推測された。

以上のことから、*N. hirame*の寄生はヒラメ増殖阻害要因であることが推測されるが、特に天然海域でヒラメの餌となる生物が減少した場合にはヒラメ資源に影響を及ぼすような大量死亡につながる可能性がある。今回調査を行った若狭湾内には多くの魚礁が設置され、福井県内で最もヒラメの漁獲量の多い高浜・

和田浜地区においてもヒラメ増殖場が設置されている。しかし、平成7年以降漁獲量の減少が続いており、ヒラメ貧血症（ネオヘテロボツリウム症）はヒラメ増殖場造成事業等の事業効果を損なう要因となりうる。このため、今後ヒラメ資源増大を目的とした種苗放流、増殖場造成事業を推進する際には、ヒラメの餌となる生物が豊富な場所を選定することが重要であり、魚礁については餌となる生物を増やす、もしくは増集することのできる構造を考慮することが重要である。

5. 摘 要

- 1) 鰓の色見プレートで No. 3 以上及びHb で 3 g/dL 未満の両条件を満たす個体を貧血魚と判定した。
- 2) 北海道を除くすべての調査海域（計 10 海域）で漁獲された天然ヒラメで貧血個体が確認され、貧血魚の出現率は若齢魚で高い傾向にあった。
- 3) 血液学的検査の結果、貧血個体では幼若赤血球の増加と赤血球数の減少が顕著に認められた。また、剖検では心臓の肥大と肝臓の褪色がみられるとともに、組織学的にはこの両器官で脂肪変性が認められた。
- 4) 貧血個体の約 90 % に *N. hirame* 成虫の寄生が確認され、貧血症状の有無と *N. hirame* 成虫の寄生との間に高い相関関係がみられた。
- 5) 貧血症状の有無と JFAV（ヒラメ貧血症ウイルス）の検出結果、あるいは脳と頭腎からのウイルスの分離結果との間には直接的な関連性は認められず、ウイルスが原因体である可能性は極めて低いと判断された。
- 6) 貧血症状のある個体から（原因菌と想定される）特定の細菌は分離できなかった。
- 7) *N. hirame* ふ化幼生を用いた感染実験により貧血症状が再現された。
- 8) 病魚ろ液を接種したヒラメでは貧血症状は再現されなかった。
- 9) これらの結果から、天然ヒラメにおける貧血症には *N. hirame* 成虫が大きく関与していると考えられた。
- 10) *N. hirame* が寄生したヒラメでは、給餌を制限された場合、貧血症状を引き起こしやすく、死亡する個体も多い。
- 11) 若狭湾内の 3 海域のヒラメ当歳魚における *N. hirame* 成虫の寄生率はいずれも 8～12 月にかけて急激に高くなり、90%以上の個体に寄生が認められた。
- 12) 1 尾当りの寄生個体数も 8～12 月にかけて急激に高くなった。
- 13) 天然当歳魚と放流当歳魚には寄生状況に差はみられなかった。
- 14) 小浜湾では貧血症個体は 10 月以降に急激に出現した。
- 15) *N. hirame* の寄生は天然海域でヒラメの餌となる生物が減少した場合にはヒラメ資源に影響を及ぼすような大量死亡につながる可能性が推測され、ヒラメ増殖場造成事業等の事業効果を損なう要因となりうる。

6. 引用文献

- 1) 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.
- 2) 山本栄一 (1998) : ヒラメ 0 歳魚の単生類吸虫被寄生による減耗の可能性. 平成 11 年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 557.
- 3) 森 広一郎・本藤 靖・虫明敬一・津崎龍雄・有元操・堤 信幸・小川和夫 (2000) : ヒラメ養成親魚における貧血症（仮）の発生とネオヘテロボツリウムの駆虫効果. 平成 12 年度日本魚病学会春季大会講演要旨集, 34.

- 4) Ogawa, K. (1999) : *Neoheterobothrium hirame* sp. nov. (Monogenea: Diclidophoridae) from the buccal cavity wall of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fish Pathol.*, 34, 195-201.
- 5) 良永知義・釜石 隆・瀬川 勲・熊谷 明・中易千早・山野恵祐・竹内照文・反町 稔 (2000) : 貧血ヒラメの血液性状, 病理組織および単生類 *Neoheterobothrium hirame* の寄生状況. *魚病研究*, 35, 131-136.
- 6) Takano, R., T. Nishizawa, M. Arimoto and K. Muroga (2000) : Isolation of viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV) from wild Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 20, 186-192.
- 7) 西澤豊彦・高野良子・室賀清邦・森 広一郎・虫明敬一・有元 操 (2000) : 貧血症 (仮) を呈する天然ヒラメからの濾過性病原体検出の試み. 平成 12 年度日本魚病学会春季大会講演要旨集, 32.
- 8) 桑村勝士 (1991) : 耳石日周輪による天然ヒラメ (*Paralichthys olivaceus*) 稚魚の着底日と成長過程の推定. 京大農卒論, 京都.

表1 調査に用いた天然ヒラメの漁獲場所と大きさ

漁獲海域	漁獲年月	検査尾数	平均魚体重 (g) (最小 - 最大)
北海道西部	1999 11	18	333 (232-416)
噴火湾	1999 11	5	712 (629-753)
	1999 6	39	385 (53-507)
	9	11	327 (274-399)
宮古湾	10	8	76 (45-113)
	2000 2	4	1012 (435-1824)
	5	12	446 (65-712)
	6	5	479 (400-673)
	11	8	634 (590-970)
駿河・相模湾	1999 3	10	593 (432-792)
	4	10	641 (413-811)
	6	11	632 (361-781)
	10	3	576 (549-612)
	2000 2	9	858 (545-1167)
	5	6	639 (541-698)
若狭湾	10	8	319 (283-461)
	1999 3	5	452 (408-552)
	6	1	231 (231)
	7	20	396 (172-742)
	9	10	338 (45-611)
	10	6	389 (276-502)
	11	3	534 (460-649)
	12	8	358 (85-1006)
	2000 1	10	732 (394-966)
	3	13	790 (457-1045)
	4	12	915 (527-1422)
備後灘	6	3	273 (226-307)
	11	9	397 (125-883)
	1999 4	15	663 (343-950)
	6	7	463 (241-1209)
	9	3	331 (158-541)
	10	2	675 (261-1088)
	12	4	182 (55-365)
	2000 1	15	825 (117-1266)
	3	10	761 (73-2240)
	4	10	638 (472-1023)
	6	9	471 (359-549)
	10	7	684 (98-1367)
紀伊水道	1999 3	11	435 (189-637)
	豊後水道	1999 3	10
日向灘	1999 2	8	1301 (1010-1600)
	2000 1	11	1110 (640-1485)
東シナ海	1999 4	10	899 (712-1001)
	2000 1	8	877 (616-1184)
合計		416	581 (45-2240)

表2 天然ヒラメにおける貧血魚の出現率と *N. hirame* の寄生状況

漁獲海域	漁獲年月	貧血魚の 出現率 (%)	<i>N. hirame</i> 寄生率 (%)		蛍光抗体の 陽性率 (%)
			成中*1	未成熟中*2	
北海道西部	1999 11	0 (0/18)*3	22 (4/18)	6 (1/18)	39 (7/18)*4
噴火湾	1999 11	0 (0/5)	20 (1/5)	0 (0/5)	0 (0/5)
	1999 6	23 (9/39)	31 (12/39)	8 (3/39)	100 (2/2)
	9	36 (4/11)	64 (7/11)	36 (4/11)	60 (6/10)
宮古湾	10	0 (0/8)	0 (0/8)	0 (0/8)	100 (4/4)
	2000 2	75 (3/4)	75 (3/4)	75 (3/4)	NT
	5	33 (4/12)	83 (10/12)	33 (4/12)	NT
	6	20 (1/5)	60 (3/5)	40 (2/5)	NT
	11	63 (5/8)	100 (8/8)	100 (8/8)	NT
駿河・相模湾	1999 3	80 (8/10)	100 (10/10)	90 (9/10)	0 (0/5)
	4	50 (5/10)	90 (9/10)	90 (9/10)	0 (0/5)
	6	55 (6/11)	100 (11/11)	36 (4/11)	100 (2/2)
	10	66 (2/3)	66 (2/3)	0 (0/3)	33 (1/3)
	2000 2	11 (1/9)	89 (8/9)	78 (7/9)	NT
	5	33 (2/6)	33 (2/6)	17 (1/6)	NT
	10	75 (6/8)	100 (8/8)	88 (7/8)	NT
若狭湾	1999 3	40 (2/5)	100 (5/5)	0 (0/5)	0 (0/5)
	6	0 (0/1)	100 (1/1)	0 (0/1)	0 (0/1)
	7	0 (0/20)	80 (16/20)	55 (11/20)	25 (2/8)
	9	0 (0/10)	40 (4/10)	20 (2/10)	100 (2/2)
	10	0 (0/6)	50 (3/6)	33 (2/6)	0 (0/6)
	11	67 (2/3)	100 (3/3)	67 (2/3)	33 (1/3)
	12	88 (7/8)	100 (8/8)	63 (5/8)	100 (8/8)
	2000 1	60 (6/10)	100 (10/10)	80 (8/10)	NT
	3	38 (5/13)	85 (11/13)	54 (7/13)	NT
	4	25 (3/12)	83 (10/12)	33 (4/12)	NT
	6	0 (0/3)	67 (2/3)	33 (1/3)	NT
11	56 (5/9)	67 (6/9)	67 (6/9)	NT	
備後灘	1999 4	20 (3/15)	33 (5/15)	0 (0/15)	0 (0/8)
	6	0 (0/7)	14 (1/7)	0 (0/7)	0 (0/4)
	9	33 (1/3)	67 (2/3)	0 (0/3)	0 (0/3)
	10	0 (0/2)	0 (0/2)	0 (0/2)	0 (0/2)
	12	50 (2/4)	100 (4/4)	0 (0/4)	25 (1/4)
	2000 1	20 (3/15)	20 (3/15)	13 (2/15)	NT
	3	10 (1/10)	30 (3/10)	10 (1/10)	NT
	4	10 (1/10)	40 (4/10)	10 (1/10)	NT
	6	33 (3/9)	67 (6/9)	22 (2/9)	NT
	10	57 (4/7)	57 (4/7)	14 (1/7)	NT
	12	44 (4/9)	44 (4/9)	44 (4/9)	NT
	紀伊水道	1999 3	46 (5/11)	64 (7/11)	18 (2/11)
豊後水道	1999 3	20 (2/10)	60 (6/10)	30 (3/10)	0 (0/6)
日向灘	1999 2	38 (3/8)	63 (5/8)	50 (4/8)	0 (0/5)
	2000 1	55 (6/11)	82 (9/11)	82 (9/11)	NT
東シナ海	1999 4	40 (4/10)	100 (10/10)	40 (4/10)	0 (0/8)
	2000 1	25 (2/8)	38 (3/8)	38 (3/8)	NT
合計		31 (130/41)	61 (253/416)	35 (146/416)	28 (36/127)

*1 口腔壁あるいは咽頭部に寄生する成虫。

*2 鰓に寄生する未成熟虫。

*3 (貧血魚/検査尾数)。

*4 (蛍光抗体陽性数/検体数)。

表 3 ヘモグロビン濃度別にみた天然ヒラメの血液性状検査結果

血液検査項目	ヘモグロビン濃度 (g/dL)				
	<1	1~2	2~3	3~4	4≤
サンプル尾数	28	33	69	107	165
Ht (%)	6.1±1.2* ^{1, 2}	10.2±2.8* ²	14.7±4.1* ²	21.1±3.2	26.1±4.8
RBC (10 ⁶ /μL)	1.1±0.6* ²	1.8±0.7* ²	2.1±1.2* ³	2.7±0.8	3.3±0.7

*1 平均値 ± 標準偏差.

*2 健常魚 (4≤Hb) と比較して有意差あり (p < 0.01)

*3 健常魚 (4≤Hb) と比較して有意差あり (p < 0.05)

表 4 *N. hirame* ふ化幼生を用いたヒラメ感染実験における実験終了時の血液性状

血液検査項目	10 mm サイズ		20 mm サイズ		100 mm サイズ	
	感染区	対照区	感染区	対照区	感染区	対照区
サンプル尾数	5	5	7	7	10	10
実験期間 (日)	100	100	80	80	100	100
Ht (%)	12.0±8.8*	24.5±4.1	13.7±5.4*	24.3±4.7	10.2±6.4*	25.3±3.9
Hb (g/dL)	3.2±2.5*	5.7±1.9	3.4±2.0*	5.8±1.7	2.1±0.6*	5.6±2.0
RBC (10 ⁸ /μL)	1.4±0.5*	3.1±0.6	1.6±0.7*	3.4±0.8	1.1±0.3*	3.6±0.7

* 各サイズでの対照区と比較して有意差あり (p < 0.01)

表 5 ヒラメ貧血魚の濾過性病原体に関する感染実験結果

試験 No.	供試魚		病魚の由来	人為的感染		観察期間	症状の有無 (貧血症状, 血球異常等)
	年齢	体重 (g)		材料	方法		
1	0	14.4	人工養成魚	頭腎磨砕液	注射	1年	なし
				全血	注射		
2	0	90.0	天然魚	血液磨砕ろ液	注射	6ヵ月	なし
				頭腎磨砕ろ液	注射		

表6 ヒラメ以外の天然異体類における *N. hirame* の寄生調査

調査 海域	魚種名	調査した		全長±SD (cm)	<i>N. hirame</i> の寄生		寄生痕の 有無
		時期	尾数		成虫	未成熟虫	
駿河・相模湾	ウシノシタ	H. 12. 10	21	19. 6±4. 8	0	0	なし
若狭湾	ソウハチ	H. 12. 11	24	8. 6±2. 4	0	0	なし
	アカガレイ	H. 12. 11	8	11. 2±2. 8	0	0	なし
	マガレイ	H. 12. 11	16	10. 2±2. 6	0	0	なし
備後灘	ホシガレイ	H. 12. 10	1	48. 3	0	0	なし
	メイタガレイ	H. 12. 12	13	23. 9±1. 6	0	0	なし

表7 *N. hirame* を感染させたヒラメのトリグリセライド値の変化

試験区	給餌	供試尾数 (尾)	TG (mg/dL)				
			感染後日数 (生残率：%)				
<i>N. hirame</i>			0	20	30	35	50
感染	無給餌	100	256. 0	15. 6 (99. 0)	10. 2 (39. 3)	ND (3. 1)	ND (0)
	0. 4%給餌	100	"	41. 5 (99. 0)	7. 6 (99. 0)	ND (0)	ND
	3. 0%給餌	100	"	163. 7 (98. 0)	270. 5 (79. 9)	ND (75. 3)	177. 7 (70. 7)
非感染	無給餌	100	"	27. 9 (100)	28. 7 (98. 9)	ND (98. 9)	7. 1 (96. 3)
	0. 4%給餌	100	"	33. 1 (100)	29. 6 (97. 0)	ND (97. 0)	11. 6 (94. 0)
	3. 0%給餌	100	"	226. 0 (98. 0)	306. 1 (98. 0)	ND (98. 0)	146. 0 (98. 0)

ND：実施せず

表8 調査海域におけるヒラメ主漁場の海底土の粒度組成

組成	小浜湾	和田浜	由良浜
	(水深22m)	(水深26m)	(水深20m)
粗礫分	0	0	0
中礫分	0	0. 2	0
細礫分	0	2	0
粗砂分	0	21. 6	0. 2
中砂分	0	58. 1	1. 8
細砂分	1. 4	10. 3	34. 9
シルト分	57. 5	5. 7	40. 2
粘土分	41. 1	2. 1	22. 9

表9 若狭湾におけるヒラメ当歳魚の*N. hirame*の寄生実態の調査結果

小浜湾における天然当歳魚

月日	全長 (cm)	<i>N. hirame</i> 寄生率 (%)		<i>N. hirame</i> 寄生強度		肥満度 ^{*1}	摂餌個体率 ^{*2} (%)	胃内容重量比 ^{*3} (%)
		成虫	未成熟虫	成虫	未成熟虫			
H13. 5								
6	10.6 (9.6~11.6)	14.3 (1/ 7)	0 (0/ 7)	1.0	0	1.7	100	4.0
7	11.7 (8.5~14.2)	5.2 (2/39)	5.1 (2/ 39)	1.0	1.0	1.6	66.7	2.6
8	14.7 (7.9~21.8)	32.1 (78/243)	3.7 (9/243)	2.3	1.0	1.7	32.5	3.2
9	18.6 (14.7~24.1)	45.5 (10/22)	27.3 (6/22)	4.5	2.2	1.7	31.8	1.7
10	19.9 (13.9~27.2)	63.6 (70/110)	15.5 (17/110)	2.7	2.1	1.5	48.2	1.1
11	21.7 (16.1~28.4)	77.4 (123/159)	55.8 (67/120)	7.4	3.1	1.5	44.0	1.2
12	23.2 (16.0~27.6)	76.9 (10/13)	72.7 (8/11)	6.9	4.1	1.4	84.6	0.9
H14. 1	22.2 (16.8~36.8)	91.3 (21/23)	82.6 (19/23)	8.3	14.2	1.4	65.2	1.5
2								
3	24.0 (19.3~29.5)	60.0 (18/30)	76.7 (23/30)	4.3	2.8	1.5	83.0	1.4

小浜湾における放流当歳魚

月日	全長 (cm)	<i>N. hirame</i> 寄生率 (%)		<i>N. hirame</i> 寄生強度		肥満度 ^{*1}	摂餌個体率 ^{*2} (%)	胃内容重量比 ^{*3} (%)
		成虫	未成熟虫	成虫	未成熟虫			
H13. 5								
6	9.3 (8.3~10.2)	0 (0/6)	0 (0/6)	0	0	1.5	66.7	2.2
7	11.2 (9.4~12.8)	0 (0/14)	0 (0/14)	0	0	1.6	64.3	1.3
8	14.0 (10.2~17.2)	30.3 (33/109)	0.9 (1/109)	1.5	1.0	1.7	30.3	2.2
9	15.6 (13.4~20.0)	57.2 (12/21)	9.5 (2/21)	2.9	2.0	1.6	28.6	1.0
10	18.2 (14.5~25.6)	73.9 (34/46)	4.3 (2/46)	1.8	2.5	1.5	58.7	1.4
11	20.7 (13.5~29.2)	76.1 (54/71)	63.4 (45/71)	6.7	2.6	1.5	60.6	1.3
12	20.6 (16.9~26.8)	73.3 (11/15)	73.3 (11/15)	8.6	4.1	1.4	73.3	1.4
H14. 1	20.8 (14.9~28.4)	81.3 (13/16)	68.8 (11/16)	5.1	8.2	1.4	43.8	1.1
2	-	-	-	-	-	-	-	-
3	23.8 (19.1~27.0)	50.0 (5/10)	70 (7/10)	4.8	3.1	1.6	90.0	2.1

和田浜における天然当歳魚

月日	全長 (cm)	<i>N. hirame</i> 寄生率 (%)		<i>N. hirame</i> 寄生強度		肥満度 ^{*1}	摂餌個体率 ^{*2} (%)	胃内容重量比 ^{*3} (%)
		成虫	未成熟虫	成虫	未成熟虫			
H13. 5	2.6 (1.8~3.3)	0 (0/10)	0 (0/10)	0	0	1.6	-	-
6	4.9 (3.0~6.2)	0 (0/10)	0 (0/10)	0	0	1.5	-	-
7	7.7 (5.9~15.5)	1.8 (1/55)	0 (0/55)	1.0	0	1.6	-	-
8	17.5 (13.2~22.9)	38.8 (19/49)	2.0 (1/49)	2.0	1.0	1.6	75.5	3.8

由良浜における天然当歳魚

月日	全長 (cm)	<i>N. hirame</i> 寄生率 (%)		<i>N. hirame</i> 寄生強度		肥満度 ^{*1}	摂餌個体率 ^{*2} (%)	胃内容重量比 ^{*3} (%)
		成虫	未成熟虫	成虫	未成熟虫			
H13. 5	4.6 (1.5~6.6)	0 (0/63)	0 (0/63)	0	0	1.8	71.4	4.9
6	5.4 (5.2~11.1)	0 (0/74)	0 (0/74)	0	0	1.8	81.1	5.1
7	8.0 (5.2~11.1)	0 (0/69)	0 (0/69)	0	0	1.0	85.5	3.2
8	17.5 (8.7~24.3)	60.0 (27/45)	0 (0/45)	2.1	0	1.8	78.9	5.5
9	20.9 (15.9~26.1)	43.5 (10/23)	43.5 (10/23)	3.9	1.7	1.8	78.3	6.4
10	21.0 (18.5~25.6)	70.0 (7/10)	30.0 (3/10)	2.5	1.5	1.7	40.0	5.3
11	26.0 (25.4~26.6)	66.7 (10/15)	60.0 (9/15)	7.5	2.5	1.7	66.7	3.5
12	22.5 (24.4~27.3)	100 (2/2)	50.0 (1/2)	5.0	0.5	1.5	100	4.0

*1: 肥満度 = 体重 / 全長³

*2: 摂餌個体率 = 摂餌個体 / 調査個体数

*3: 胃内容重量比 = 胃内容物重量 / (体重 - 胃内容物重量)

表10 ヒラメ天然当歳魚の貧血症状の出現状況

月	調査個体数	平均Ht値	鰓の平均色調	出現個体頻度 (%)				
				鰓の色調		Ht値		
				1~2	3~6	≥20	<20	
H13	7	29	-	1.0	100	0	-	-
	8	4	-	1.0	100	0	-	-
	9	0	-	-	-	-	-	-
	10	7	9.2	2.9	42.9	57.1	0	100
	11	75	11.1	3.5	26.7	73.3	5.3	94.7
	12	23	14.7	2.5	60.9	39.1	26.1	73.9
H14	1	28	10.4	2.9	53.6	42.4	0	100

*鰓の色調：色見プレート（日裁協基準）に基づく

表11 貧血症状別にみた成長, *N. hirame* 寄生状況及び肥満度の概要（平成13年11月：天然当歳魚）

	鰓の色調			ヘマトクリット値 (Ht値)		
	正常 1~2	軽症 3~4	重症 5~6	正常 Ht値≥20	軽症 20>Ht値≥10	重症 10>Ht値
調査個体数	15	28	12	2	29	24
平均全長 (cm)	21.6 (17.1~21.5)	23.7 (19.4~27.7)	21.5 (16.8~25.4)	18.1 (17.1~19.0)	23.3 (21.6~25.7)	22.0 (16.8~27.7)
平均鰓色調値	1.9 (1~2)	3.5 (3~4)	5.2 (5~6)	1.5 (1~2)	2.8 (2~4)	4.3 (1~6)
平均ヘマトクリット値	16.9 (8.0~21.5)	10.5 (5.0~17.3)	4.9 (2.8~9.0)	20.8 (20.0~21.5)	14.3 (10.0~19.0)	6.3 (2.8~9.3)
寄生状況						
成虫寄生個体率 (%)	80.0	75.0	75.0	100	72.4	79.2
成虫寄生数	3.5 (0~15)	4.4 (0~37)	6.0 (0~18)	1.5 (1~2)	4.2 (0~37)	5.0 (0~19)
未成熟虫寄生個体率 (%)	66.6	64.3	75.0	50.0	72.4	62.5
未成熟虫寄生数	3.3 (0~12)	3.0 (0~10)	2.9 (0~8)	1.0	3.6 (0~10)	2.5 (0~8)
肥満度	1.41 (1.22~1.53)	1.47 (1.23~1.79)	1.42 (1.12~1.56)	1.46 (1.41~1.50)	1.44 (1.26~1.52)	1.44 (1.12~1.78)

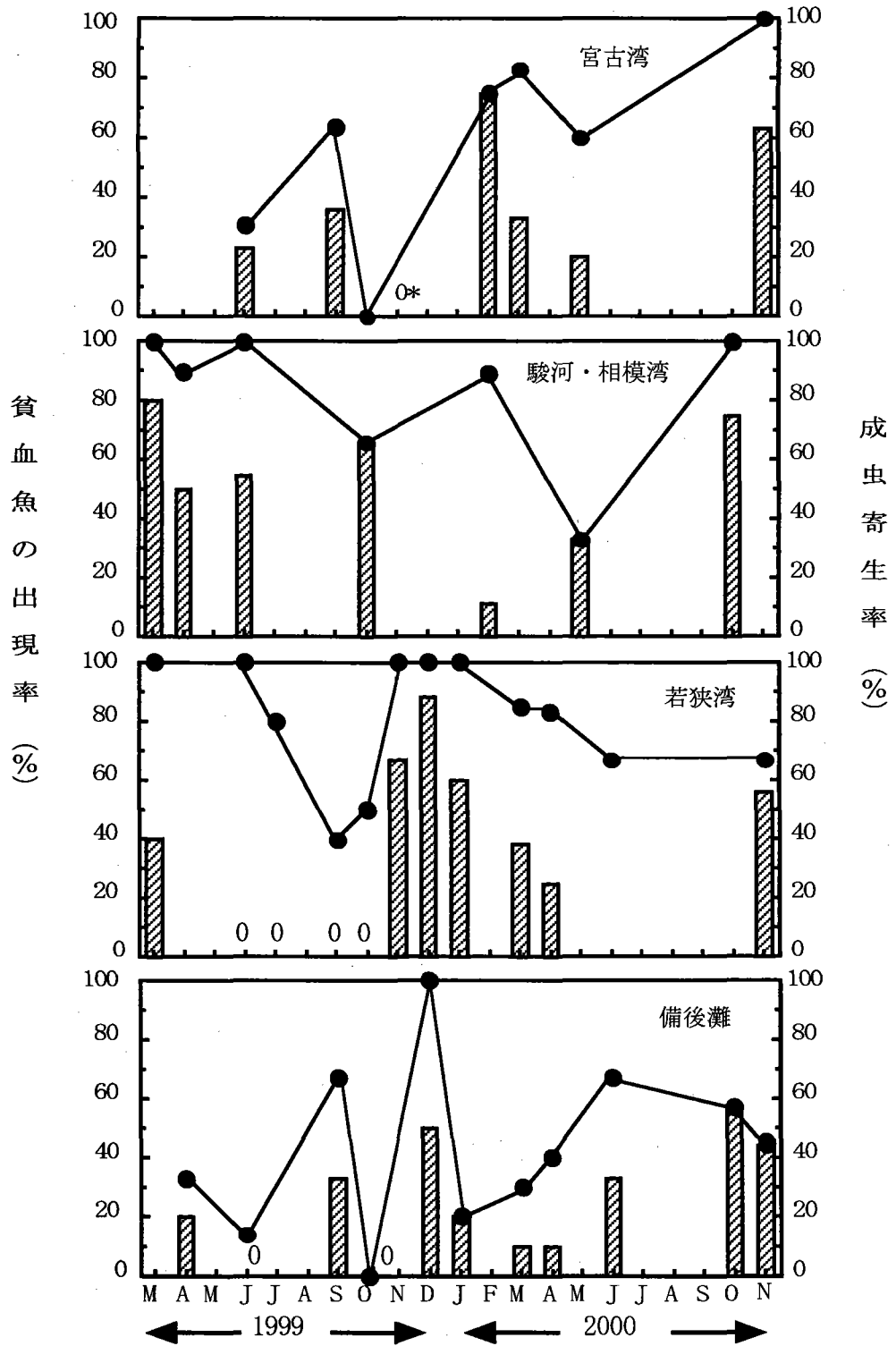



図1 各海域における貧血症状を呈する天然ヒラメの出現状況と *N. hirame* 成虫の寄生状況

 貧血魚の出現率 ● *N. hirame* 成虫の寄生率
 0* 貧血魚の出現率0%

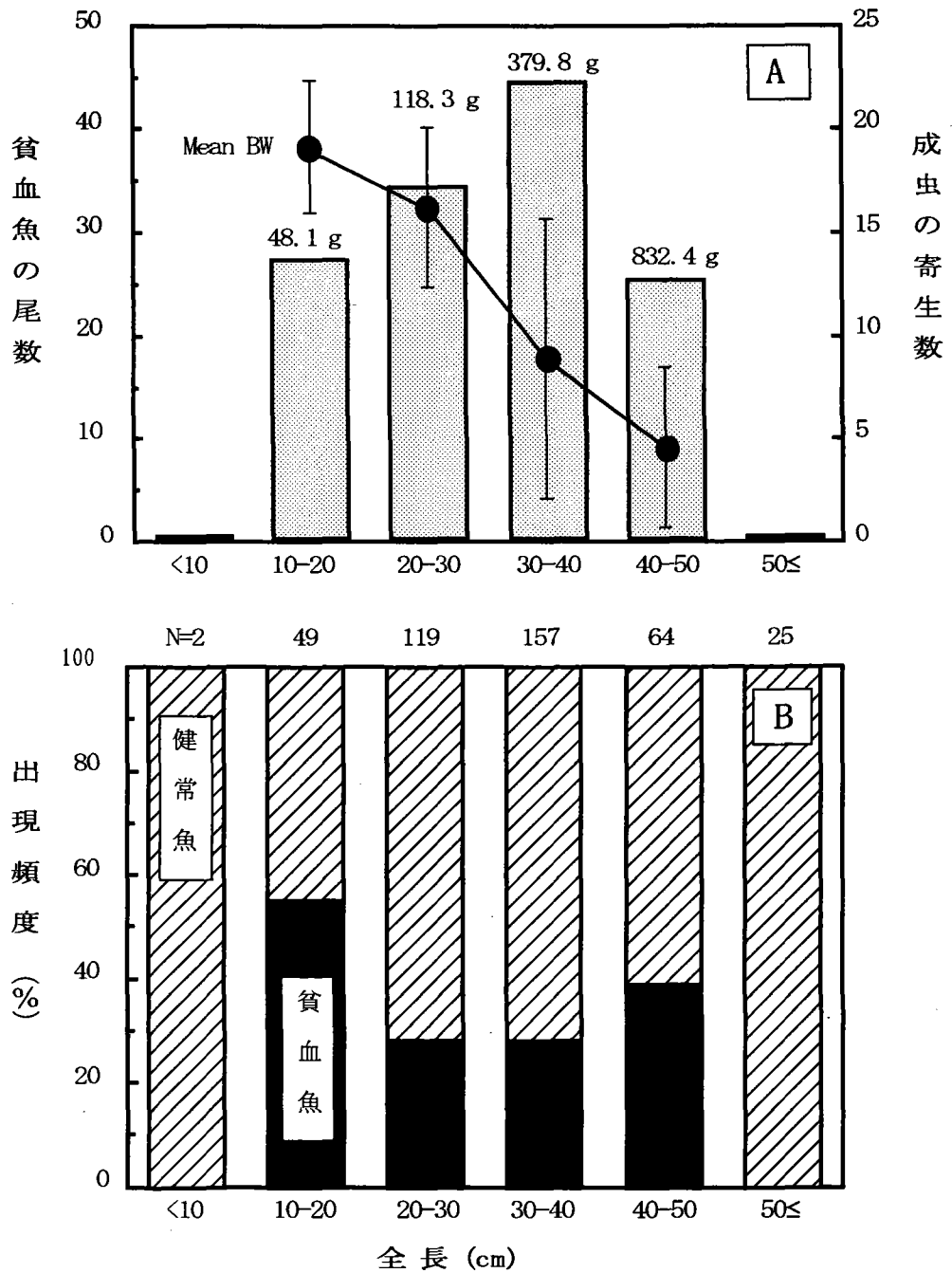


図 2 天然ヒラメの全長別にみた貧血魚の出現尾数と *N. hirame* 成虫の平均寄生数 (A) 及び貧血魚の出現頻度 (B)

▨ 貧血魚の尾数 ● *N. hirame* 成虫の寄生数

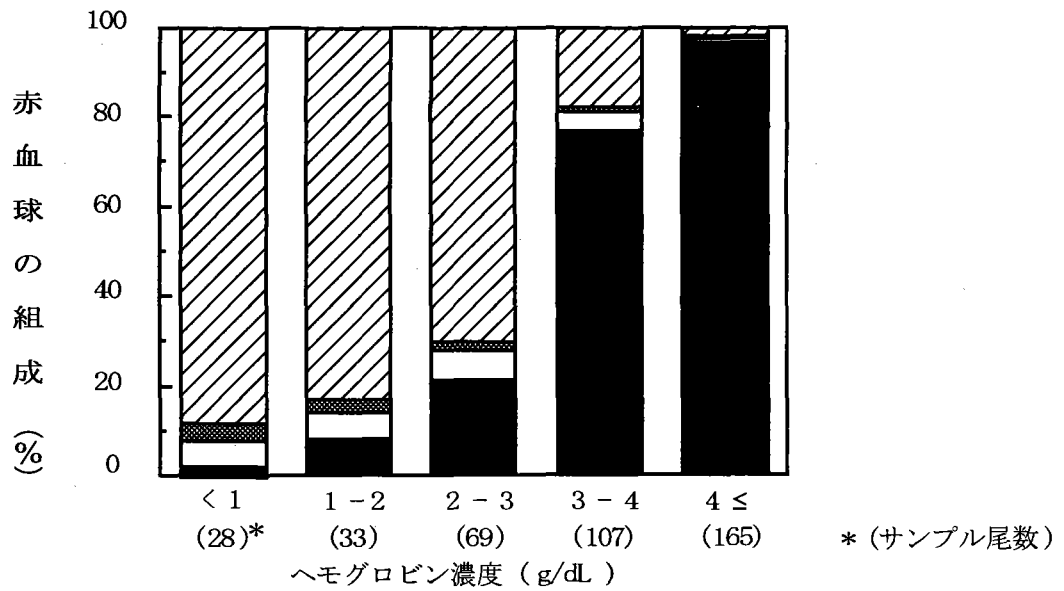


図 3 天然ヒラメのヘモグロビン濃度別にみた赤血球組成

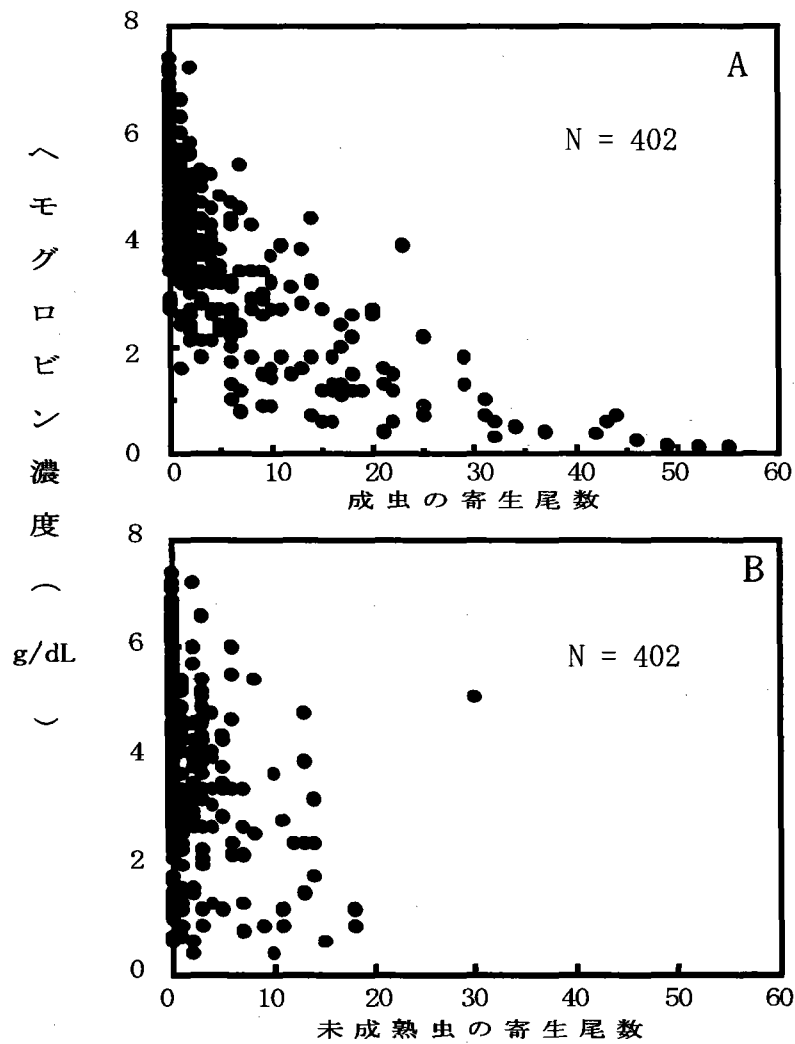


図 4 天然ヒラメのヘモグロビン濃度と成虫寄生数 (A) 及び未成熟虫寄生数 (B)

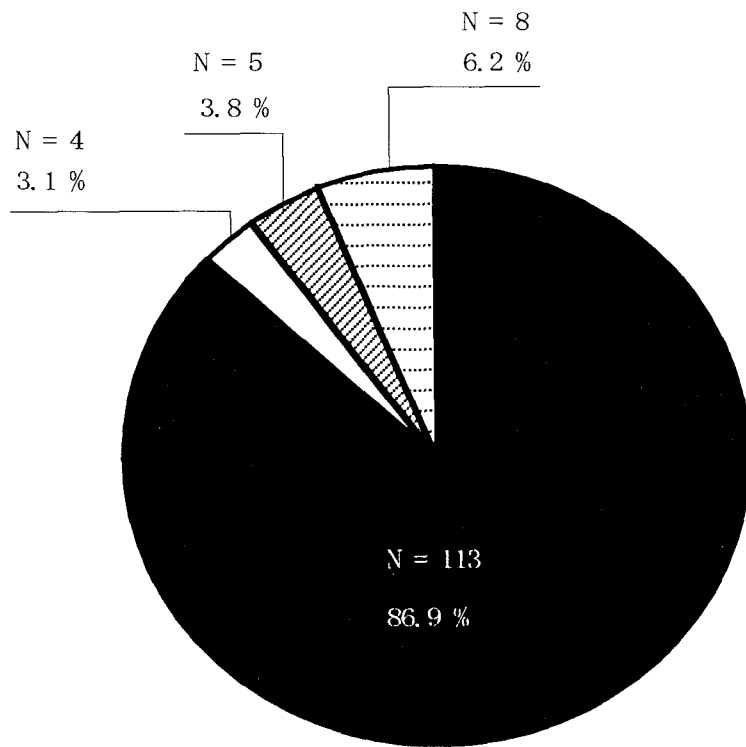


図 5 貧血魚とネオヘテロボツリウムの寄生との関係

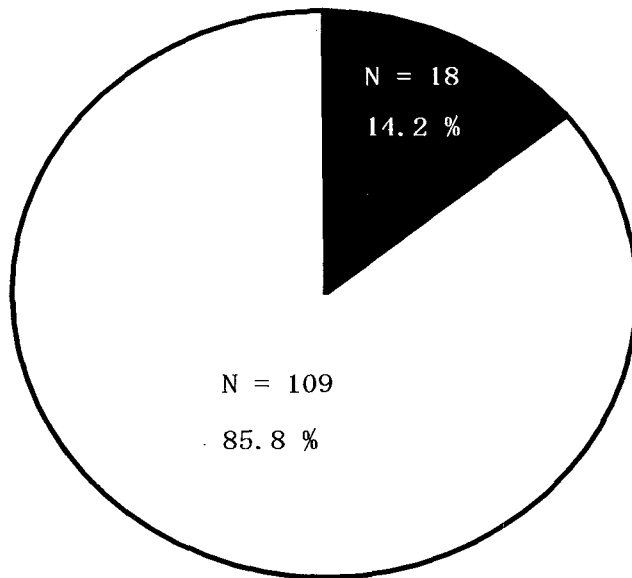
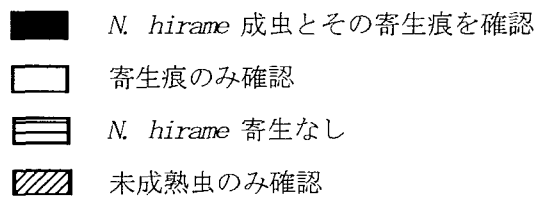


図 6 貧血魚とヒラメ貧血症ウイルス (JFAV, 仮) との関係



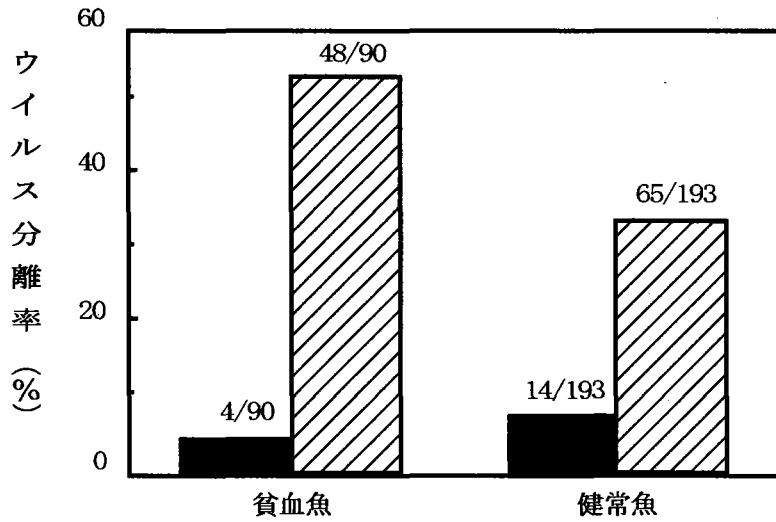


図 7 天然ヒラメからの細胞培養によるウイルス分離結果

■ VHSV ▨ アクアビルナウイルス

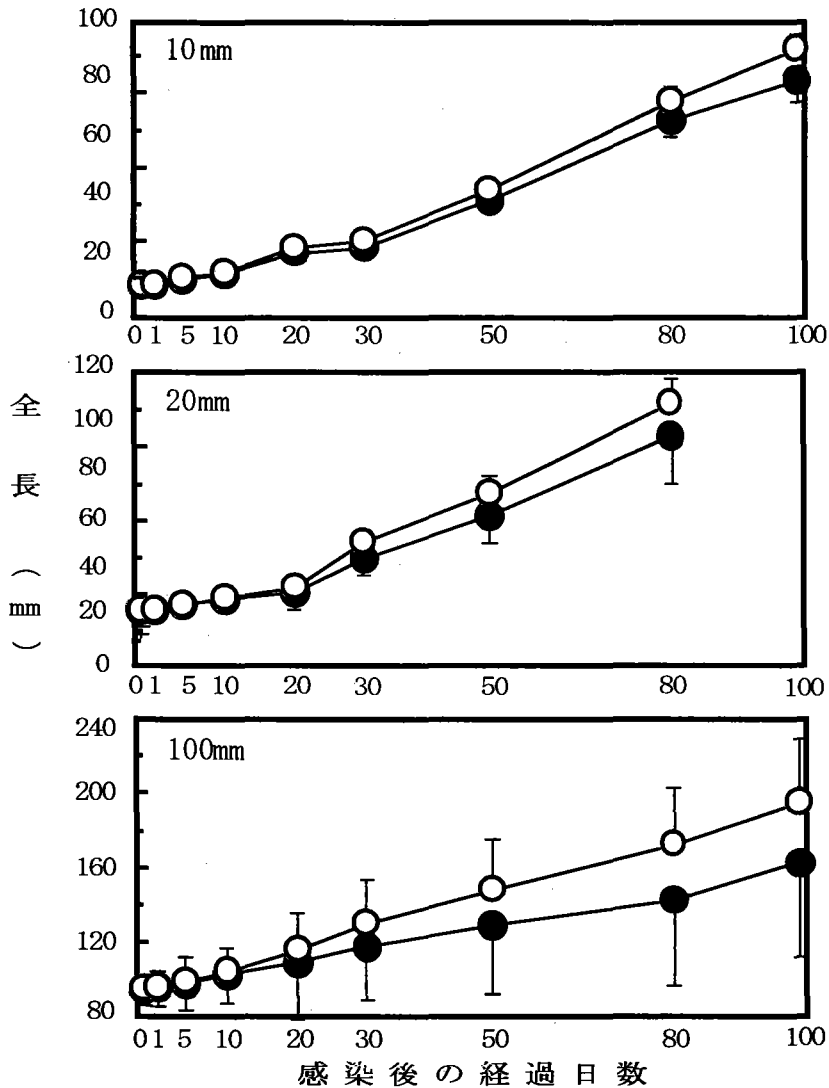


図 8 *N. hirame* ふ化幼生を用いたヒラメのサイズ別感染実験における成長

● 感染区 ○ 対照区

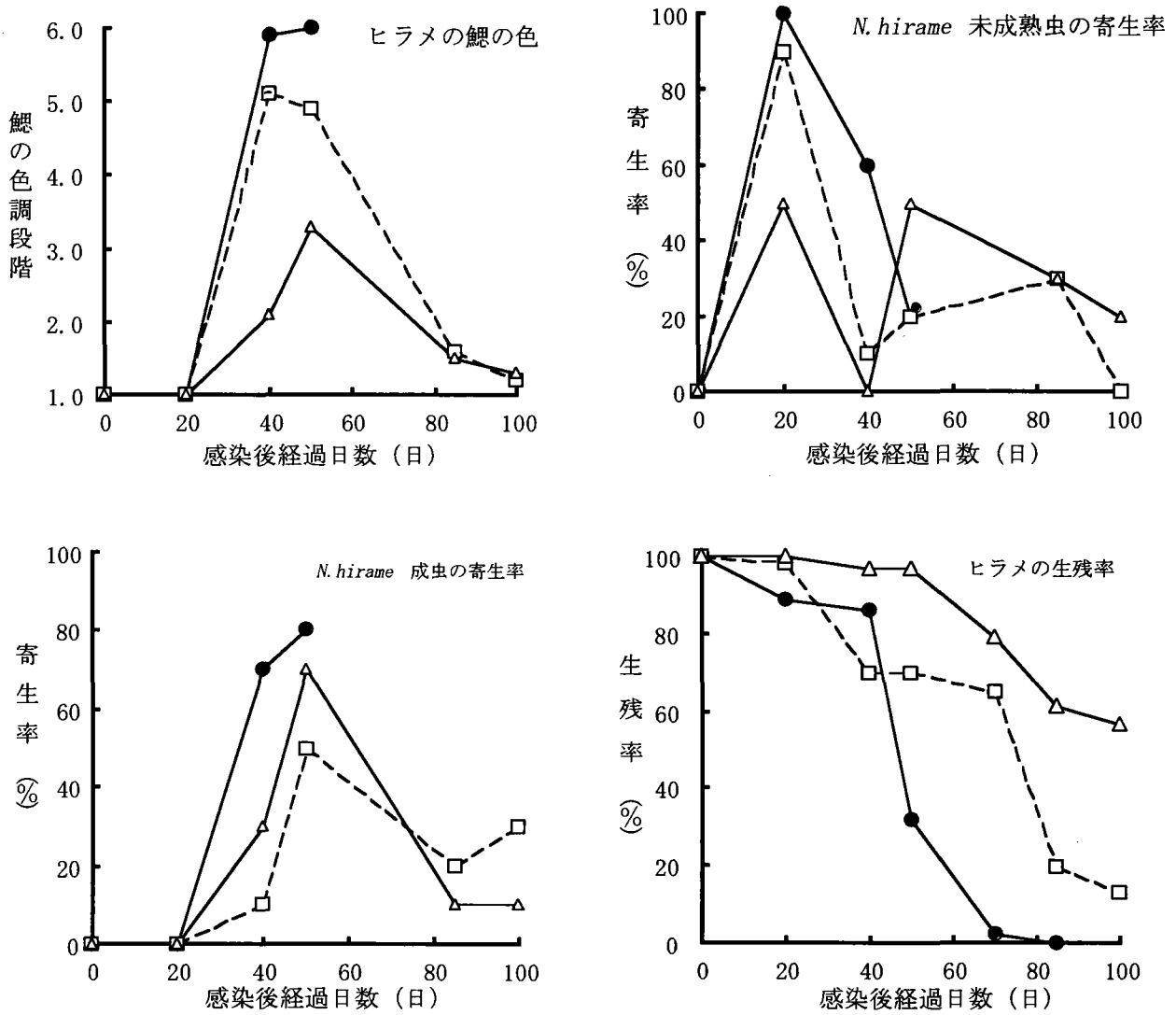


図9 *N. hirame* を人為的に感染させた全長60mmサイズのヒラメの鰓の色、*N. hirame* の寄生率及びヒラメの生残率の変化

● 無給餌区 □ 0.4%給餌区 △ 3.0%給餌区

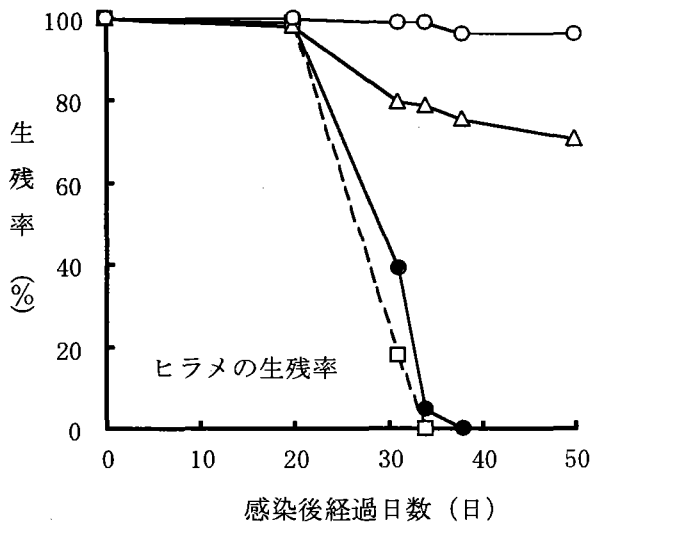
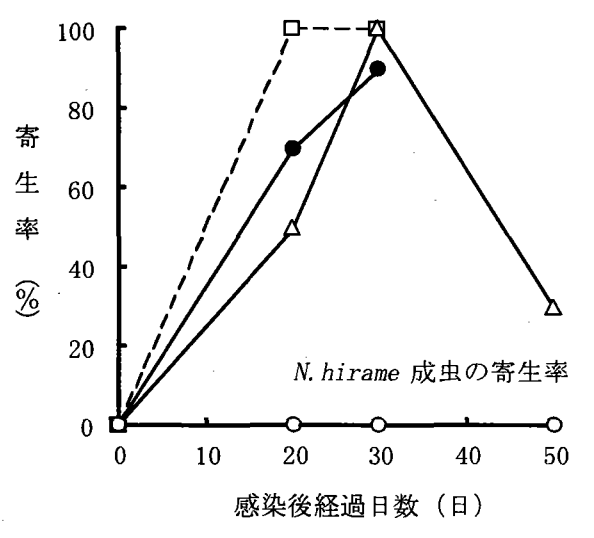
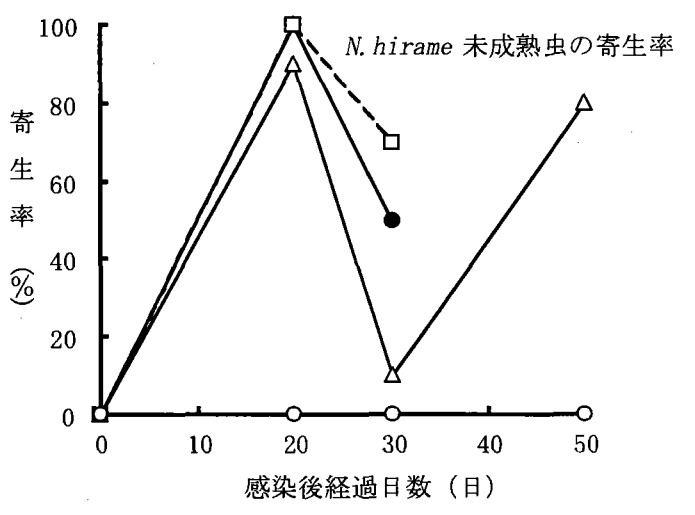
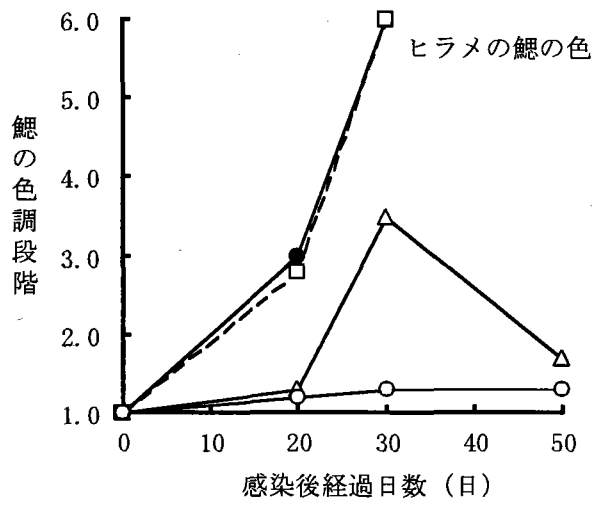


図10 *N. hirame* を人為的に感染させた全長130mmサイズのヒラメの鰓の色、*N. hirame* の寄生率及びヒラメの生残率の変化

● 無給餌区 □ 0.4%給餌区 △ 3.0%給餌区 ○ 無給餌対照区

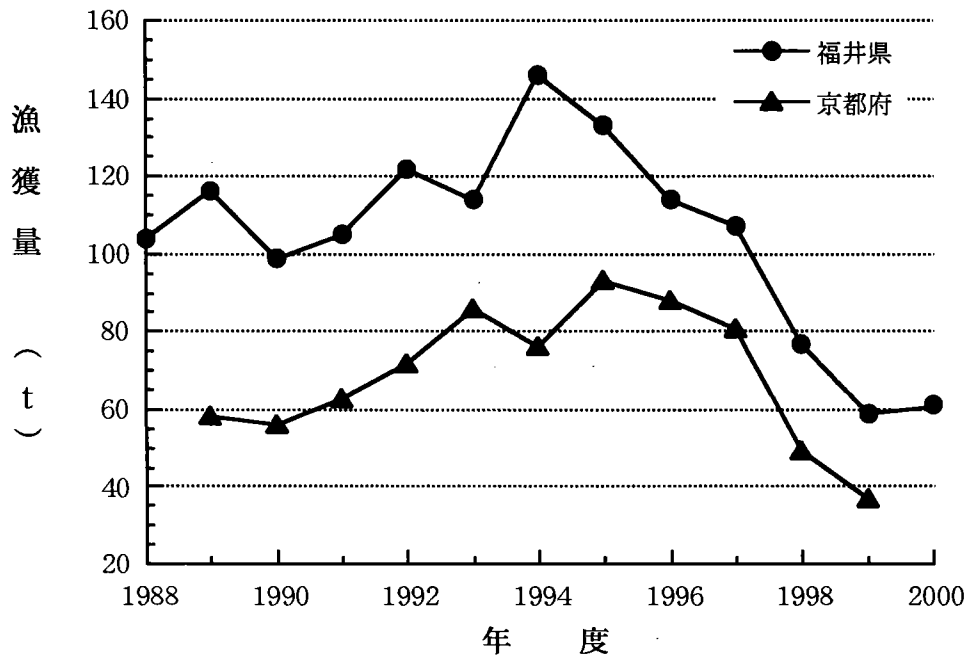
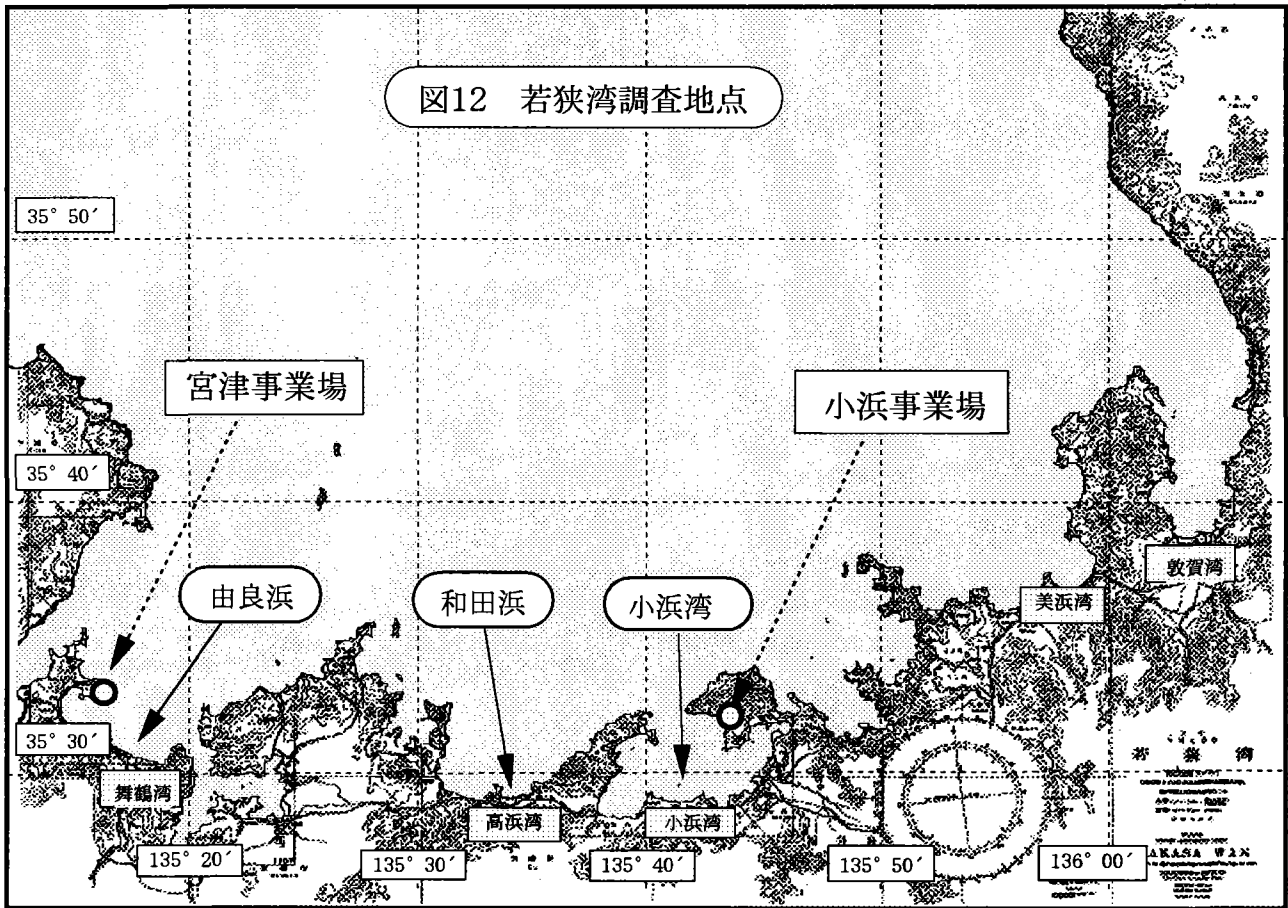


図11 福井県及び京都府におけるヒラメ漁獲量の推移
(農林水産統計：属人)



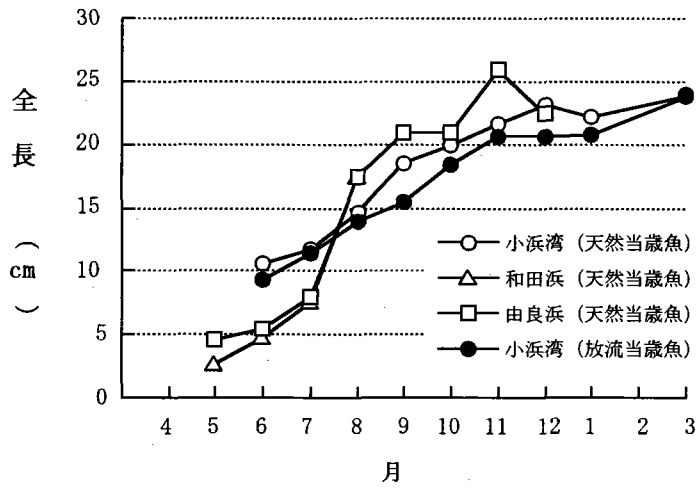


図13 若狭湾における天然当歳魚及び放流当歳魚の平均全長の推移

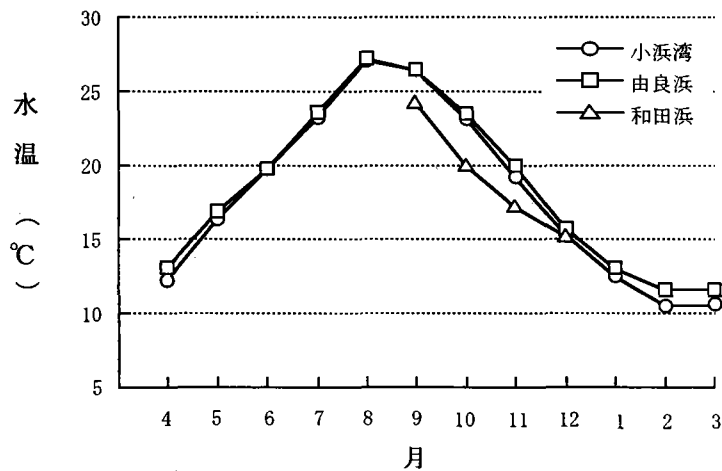


図14 若狭湾内の3調査海域の水温の年変化

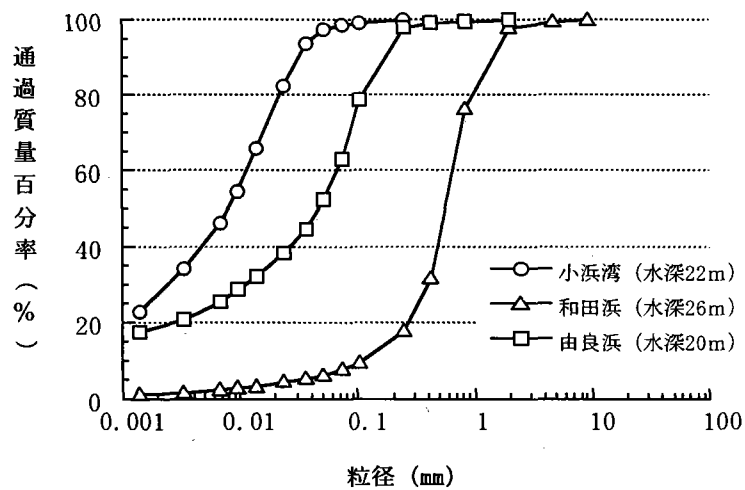


図15 調査海域における海底土の粒度組成

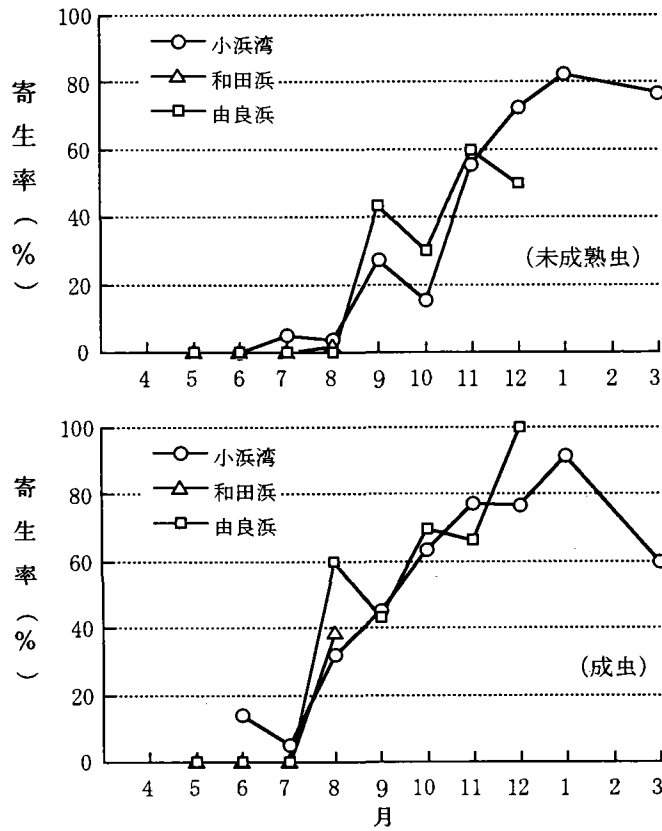


図16 若狭湾内3海域における天然当歳魚の *N. hirame* の寄生率

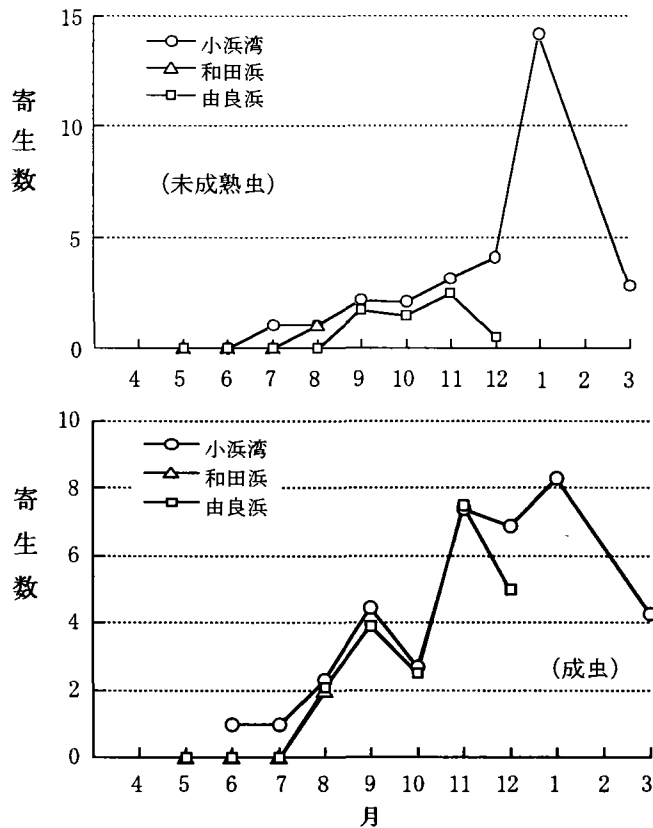


図17 若狭湾内3海域における天然当歳魚の *N. hirame* の寄生数

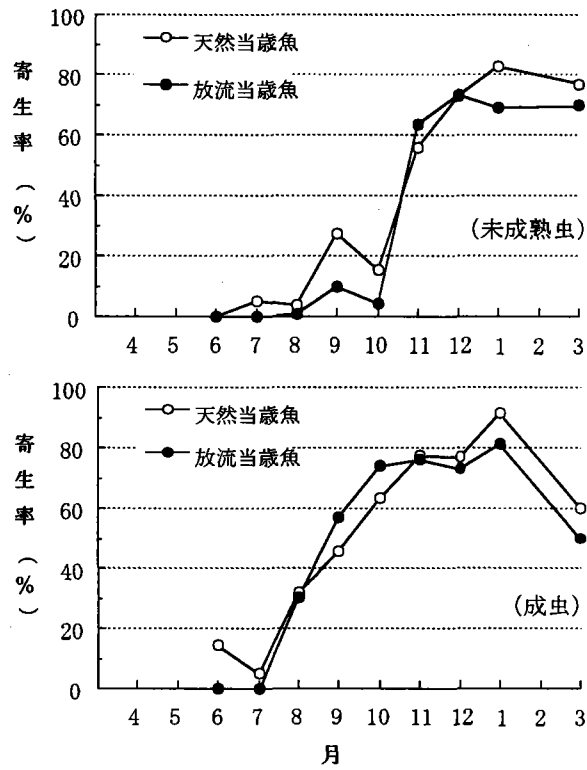


図18 小浜湾における天然当歳魚と放流当歳魚の *N. hirame* の寄生率

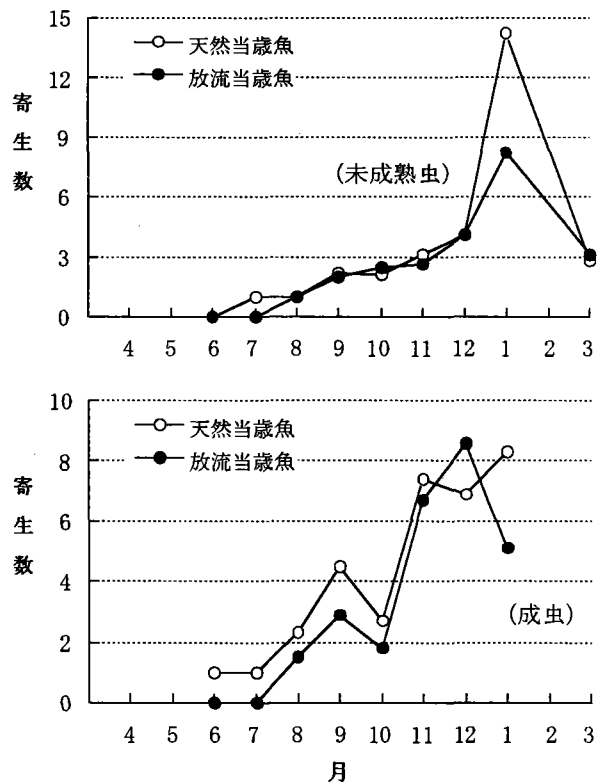


図19 小浜湾における天然当歳魚と放流当歳魚の *N. hirame* の寄生数

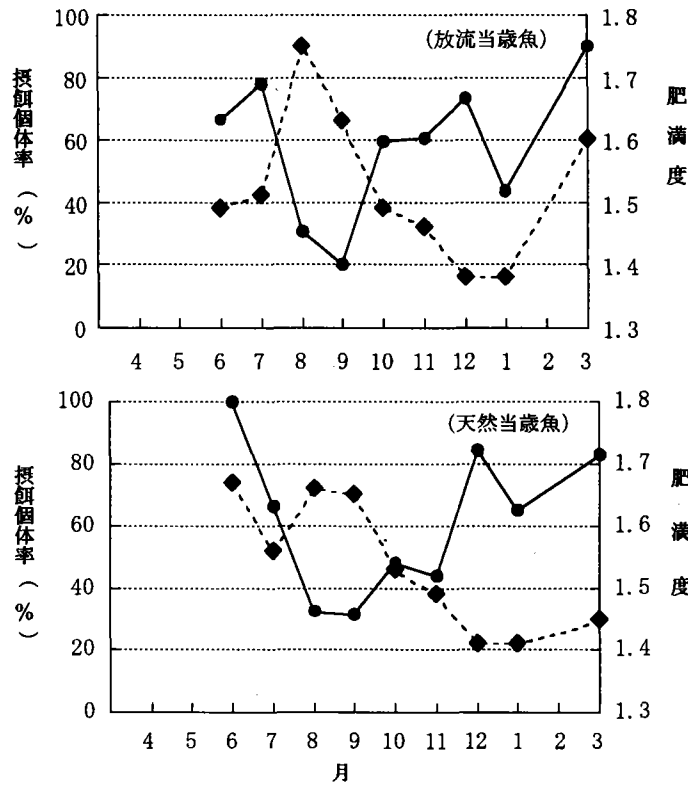


図20 小浜湾における天然当歳魚と放流当歳魚の摂餌個体率と肥満度の推移

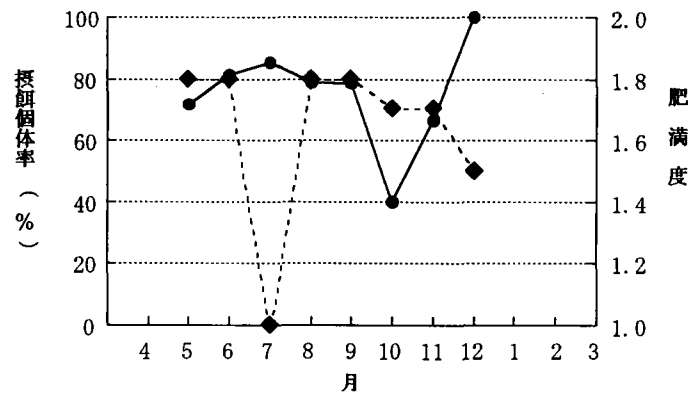


図21 由良浜における天然魚の摂餌個体率と肥満度の推移

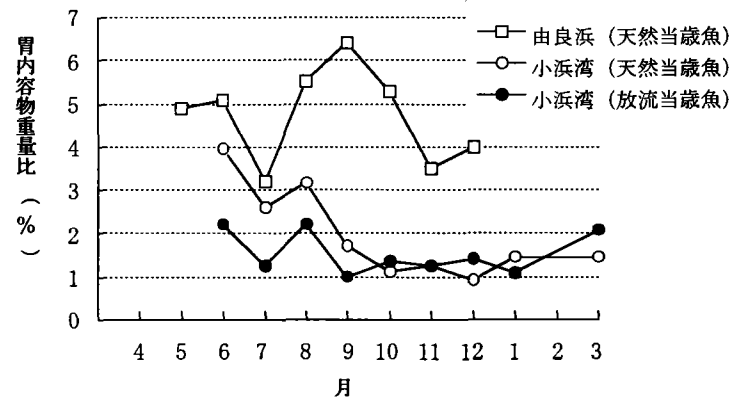


図22 小浜湾・由良浜におけるヒラメ当歳魚の胃内容物重量比
胃内容物重量比=胃内容物重量/(体重-胃内容物重量)

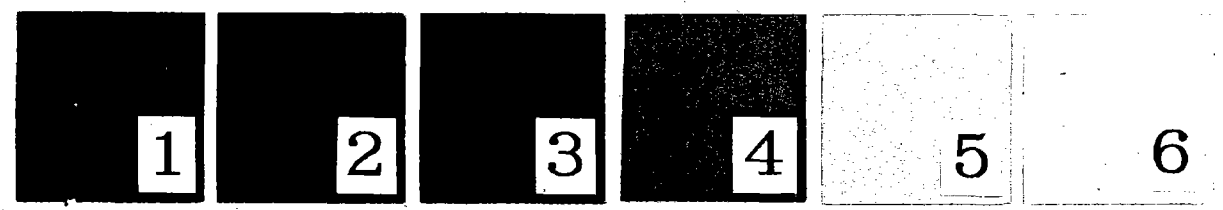


写真1. 貧血調査に用いた鰓の色見プレート



写真2. 貧血魚にみられた血球像（血液塗抹標本， $1,000\times$ ）

A：正常赤血球， B：変形赤血球
C：空胞赤血球， D：幼若赤血球



写真3. 貧血症と判定された天然ヒラメ（鰓の褪色が著しい）

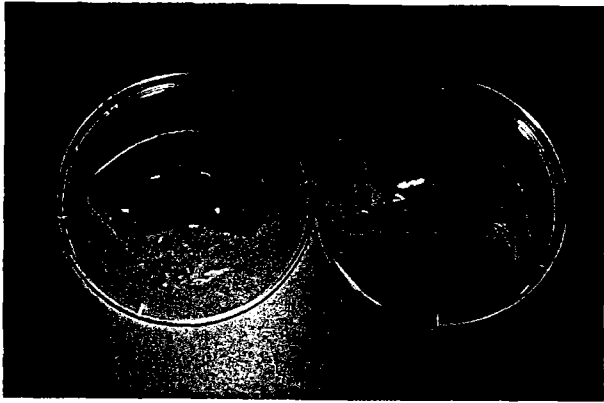


写真4. 貧血魚および健常魚における心臓（上）と肝臓（下）（いずれも体重約400g）
左側：健常魚，右側：貧血魚

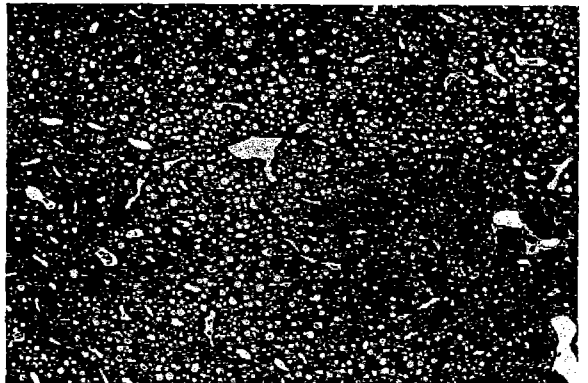
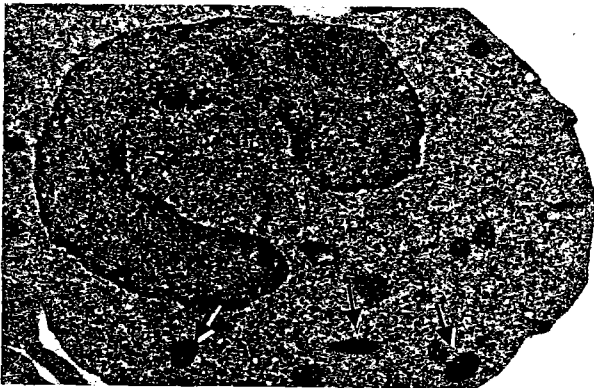
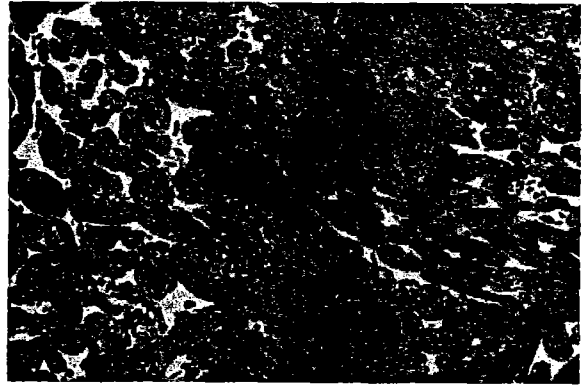
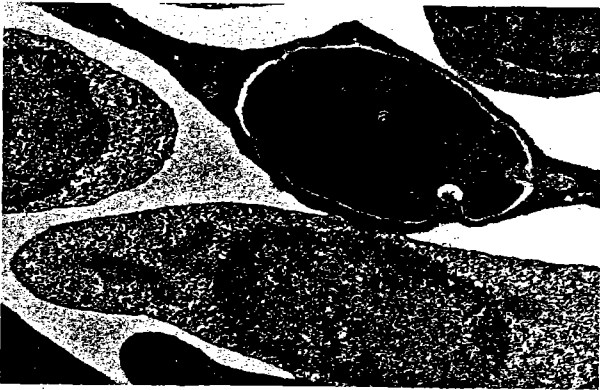


写真5. 貧血魚の赤血球（上）と白血球（下）の電顕写真（3,000×）
a：成熟赤血球 c：幼若赤血球 N：核 Nu：核小体
矢印は管状構造物を含む特殊顆粒を示す

写真6. 貧血魚の心筋繊維（上）と肝細胞（下）（1,000×）
いずれの組織も脂肪滴が多数確認され、脂肪変性を呈している。

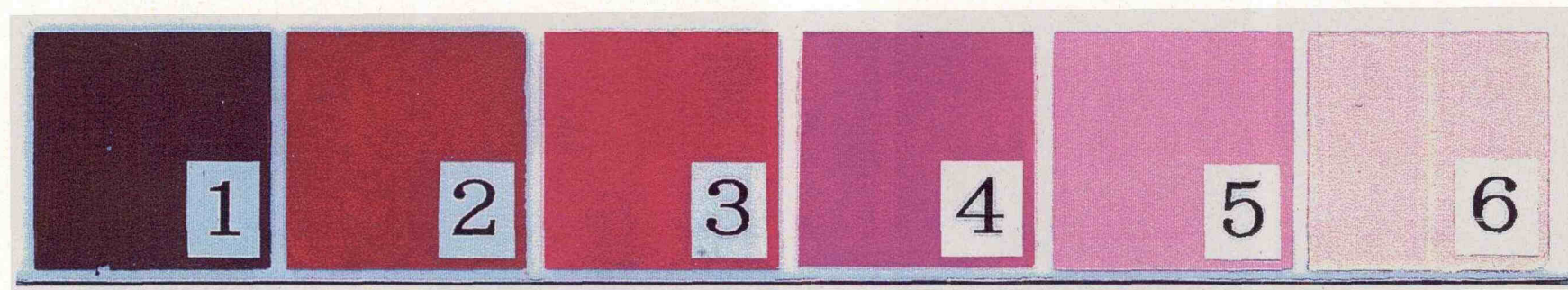


写真1. 貧血調査に用いた鰓の色見プレート

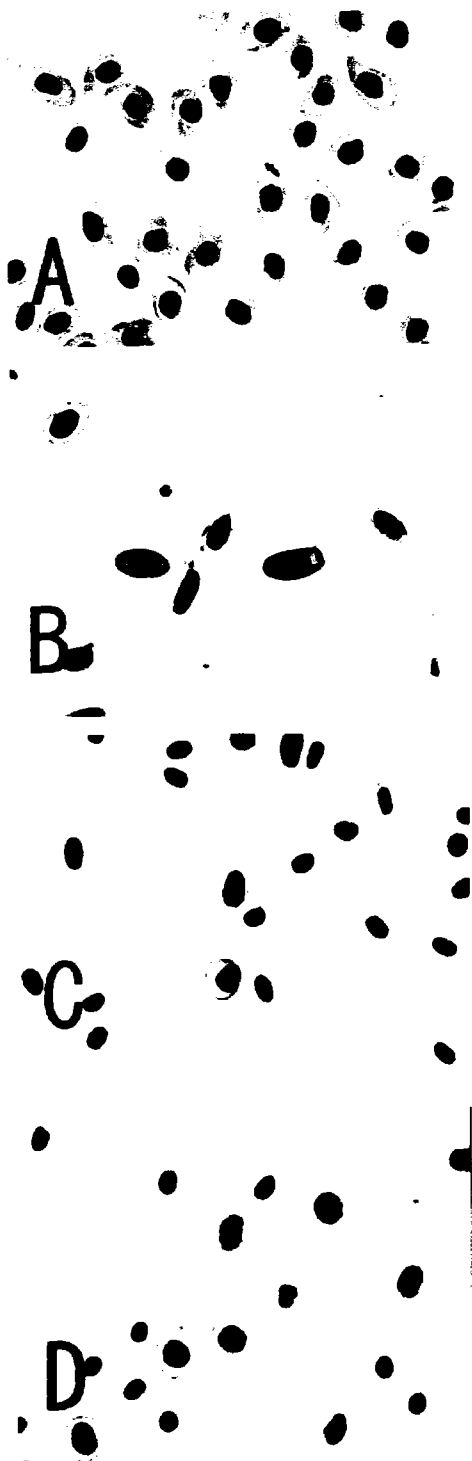


写真2. 貧血魚にみられた血球像（血液塗抹標本，
1,000×）

A：正常赤血球，B：変形赤血球
C：空胞赤血球，D：幼若赤血球

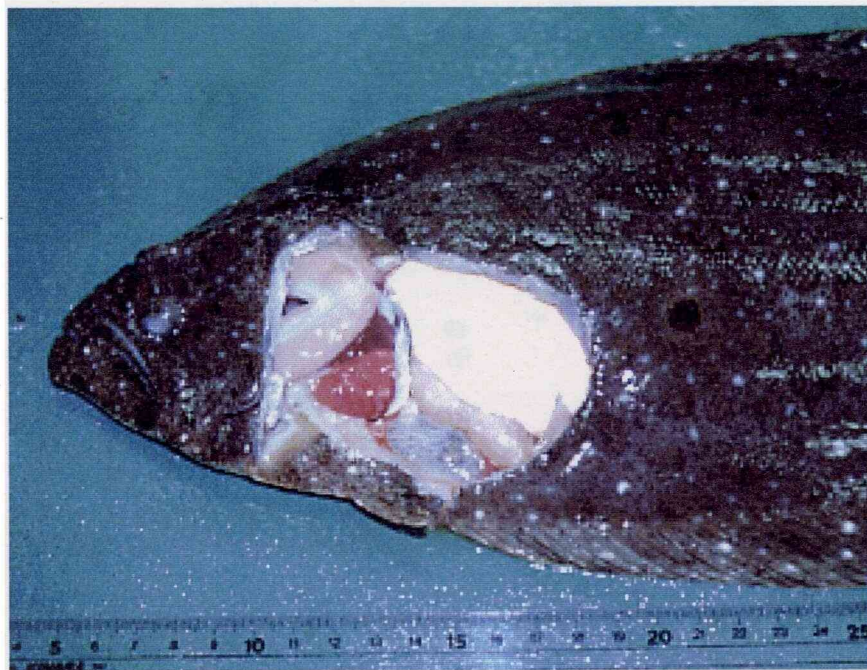


写真3. 貧血症と判定された天然ヒラメ（鰓の褪色が著しい）

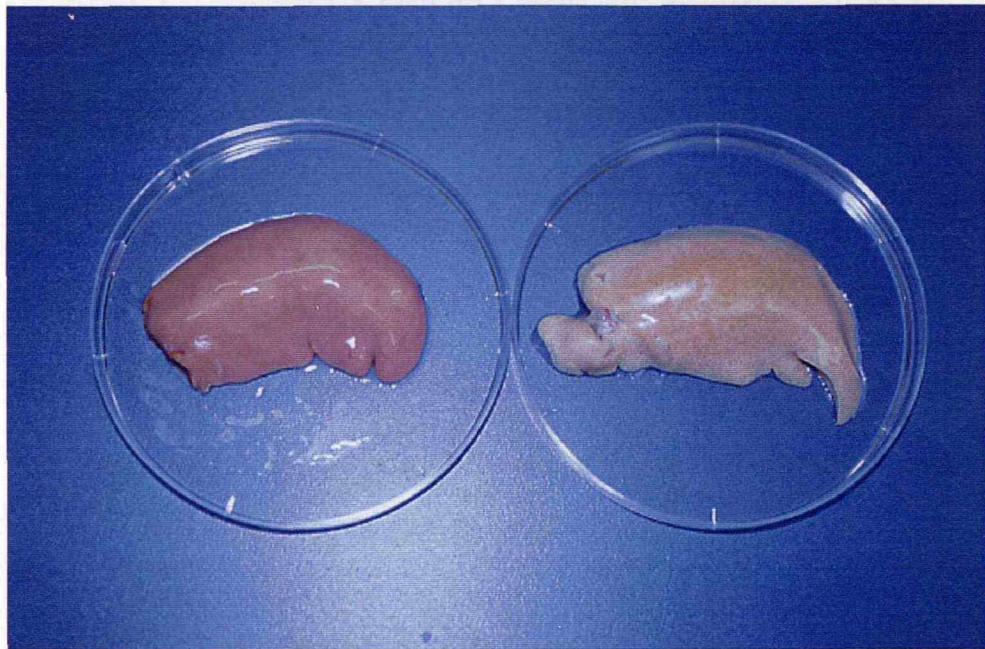
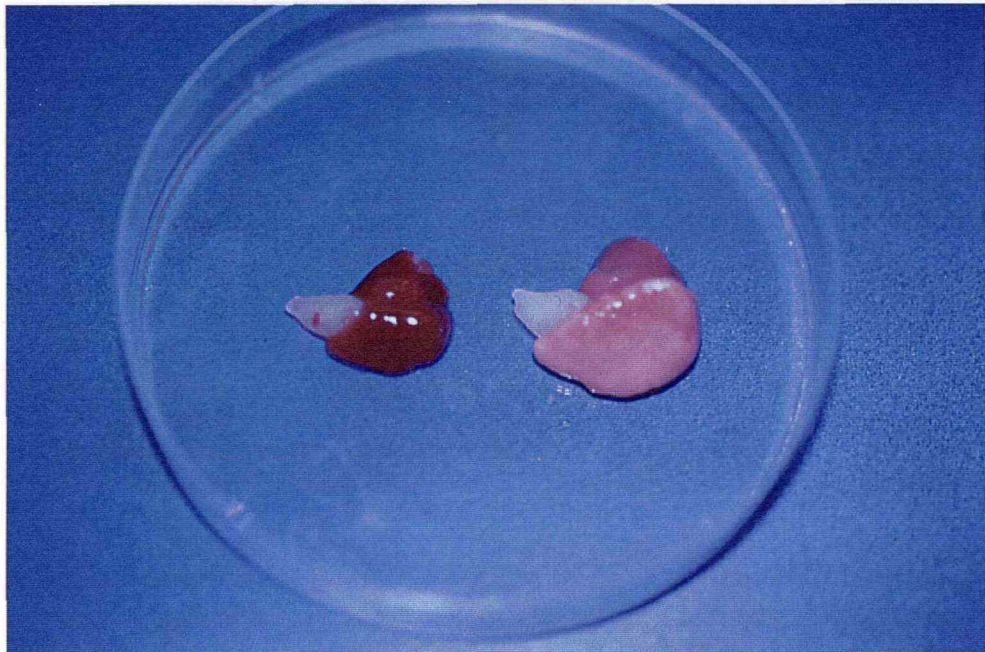


写真 4. 貧血魚および健常魚における心臓（上）と肝臓（下）（いずれも体重約 400 g）
左側：健常魚，右側：貧血魚

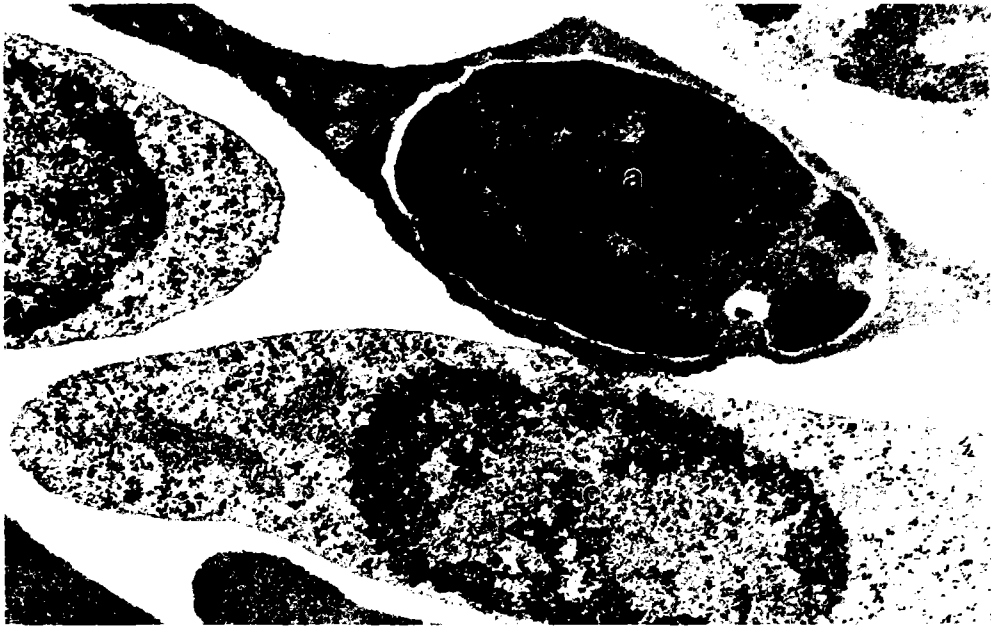


写真 5. 貧血魚の赤血球（上）と白血球（下）の電顕写真（3,000 ×）
a : 成熟赤血球 c : 幼若赤血球 N : 核 Nu : 核小体
矢印は管状構造物を含む特殊顆粒を示す

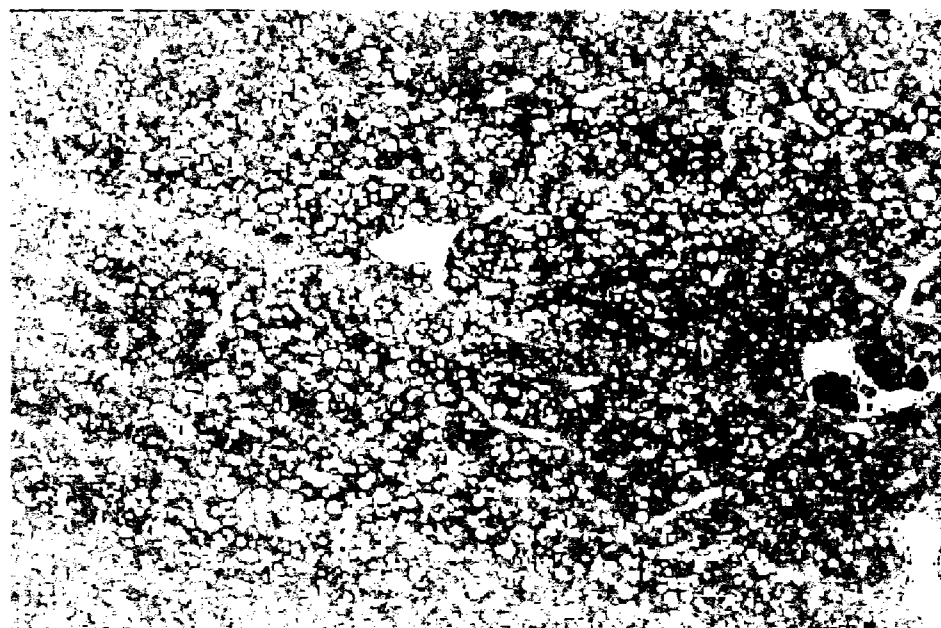
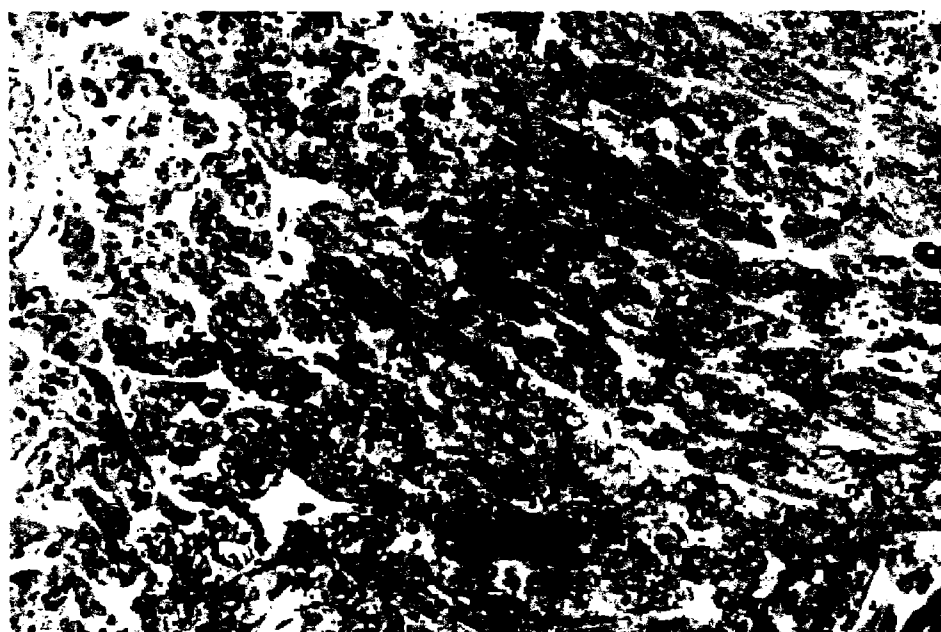


写真6. 貧血魚の心筋繊維（上）と肝細胞（下）
（1,000×）

いずれの組織も脂肪滴が多数確認され、
脂肪変性を呈している。