粘液胞子虫に起因する燻製ギンザケの milky condition について*

栗倉輝彦**・木村喬久***

(昭和 52 年 8 月 15 日受理)

On the Milky Condition in Smoked Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*) Caused by Myxosporidian Parasite

Teruhiko AWAKURA* and Takahisa KIMURA**

*Lab. Fish. Pathol., Hokkaido Fish Hatchery, Sapporo, Hokkaido, Japan

**Lab. Microbiol., Fac. Fish. Hokkaido Univ., Hakodate, Hokkaido, Japan

(Received August 15, 1977)

A milky condition in smoked coho salmon was observed at a food processing factory in Hokkaido, Japan. The incidence of milky condition was 7.8-11.7 percent of the fish after completion of the smoking process. This condition was due to an infection of the raw salmon, imported from Canada with a myxosporidian parasite identified as *Henneguya salmonicola* by its characteristic spores.

北海道内のある燻製加工業者がカナダから加工原料として冷凍ギンザケ, *Oncorhynchus kisutch* を輸入しているが, これらの原料魚を使用した燻製の加工過程において, 筋肉が部分的に乳糜化し, 商品価値の全くなくなる現象が出現した。著者らはその発生原因について検討を進めた結果, この製品変質の原因が原料魚に寄生した粘液胞子虫類の 1 種である *Henneguya salmonicola* によることを明らかにし得たのでここに報告する。なお, 北米大陸のコロンビア川河口から南東アラスカ沿岸において漁獲されるギンザケ, カラフトマス, *O. gorbuscha*, マスノスケ, *O. tshawytscha* などがかかなり高率に *H. salmonicola* に感染しており, それがいわゆる肉質の乳糜化現象 "milky conditn" の原因となることはすでに知られているところであるが (FISH, 1939; PATASHNIK & GRONIGER, 1964), わが国におけるサケ科魚類の加工において問題となったのは本例が最初の事例と考えられる。

肉質乳糜化の出現状況

北海道のある燻製工場で 1971 年および 1972 年の 2

年間にカナダから輸入したギンザケを原料とした製品における肉質乳糜化の出現状況は表 1 の通りである。

この他に, 同工場では 1972 年にベニザケ, *O. nerka* を 454 kg 輸入しているが, これらを原料とした製品には肉質乳糜化は認められなかった。なお, これらの原料魚の漁獲水域の詳細は不明である。

冷凍品として輸入されるこれらの原料魚の外観から, 加工前に肉質の異常を発見することは困難である。燻製加工の工程で, 半解凍後に三枚卸しにされるが, この時点でも切断面が完全に解凍されていないため, 肉質の異常を発見することは困難である。その後, 水切り乾燥の工程において筋断面部の一部が乳糜化し, 変質部位の識別が可能となる。しかし, この段階で識別可能なものは, ほんの一部であり, その後の燻煙による製品の着色により, 変質部位との色調の相違から識別が容易になる。なかには筋肉内部に変質部位が存在し, 製品を細切するまで見出し得ない場合もある。変質部は筋肉が乳糜化または融解しており (図 1), これらの製品は殆んどその商品価値を失う。

筋肉変質部位に見出される粘液胞子虫

前述の筋肉のミルク状部分を生理食塩水に懸濁させ, スライドガラスに塗抹して無染色のまままたは乾燥, 固

* 本報告の一部は昭和 52 年度日本水産学会秋季大会で口頭発表した。

** 北海道立水産孵化場魚病科

*** 北海道大学水産学部微生物学教室

表 1. 輸入ギンザケを原料とした燻製品における肉質乳糜化の出現状況

Table 1. The incidence of milky condition in smoked coho salmon made of frozen fish imported from Canada in 1971 and 1972 at a food processing factory in Hokkaido, Japan

	1971		1972	
	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2
Number of imported fish	1,006	16,071	31,857	857
Incidence of milky fish (%)	10.8	9.0	11.7	7.8

表 2. 胞子の計測値の比較

Table 2. Comparison of the measurements of spores of *Henneguya salmonicola* found in smoked coho salmon with those reported by other authors

	WARD (1919)	KUDO (1919)	FISH (1938)	BOYD & TOMLINSON (1965)	AWAKURA & KIMURA (1977)
Length of longer polar capsule	3.5-4.0 μ	3.70-4.55 μ	4.57 $\pm$ 0.04 μ	—	4.23 $\pm$ 0.40 μ
Length of shorter polar capsule	—	—	4.19 $\pm$ 0.04	—	3.84 $\pm$ 0.44
Breadth of longer polar capsule	2.0-2.5	1.59-2.85	2.73 $\pm$ 0.03	—	2.51 $\pm$ 0.62
Breadth of shorter polar capsule	—	—	2.70 $\pm$ 0.04	—	2.22 $\pm$ 0.38
Length of longer tail	—	30.78-38.19	34.35 $\pm$ 0.27	30 μ	34.83 $\pm$ 2.88
Length of shorter tail	—	—	28.14 $\pm$ 0.25	20	28.89 $\pm$ 2.53
Length of spore cavity	8.6-9.5	11.97-14.25	10.37 $\pm$ 0.09	11	10.68 $\pm$ 0.83
Breadth of spore	8.6-9.5	7.12-8.43	8.94 $\pm$ 0.05	7	8.67 $\pm$ 0.80
Thickness of spore	—	4.78	—	—	6.05 $\pm$ 0.08

定後ギムザ染色を行って検鏡すると、図 2~4 のごとき粘液胞子虫の胞子が共通に多数認められる。胞子は極糸を蔵する 2 個の極囊を持っており、胞子の後端中央部に著しく長い 2 本の突起を有する。以上のような胞子の形態から、この寄生体は粘液胞子虫目、(Myxosporidia), Myxobolidae 科、*Henneguya* 属に分類されるものと考えられる。米国アラスカ州、オレゴン州およびカナダなどで報告されているサケ科魚類寄生の *Henneguya* 属としては、*H. salmonicola* WARD, 1919 および *H. salmonis* FANTHAM et al., 1939 が知られている (HOFMAN, 1967; BELL & MARGOLIS, 1976)。*H. salmonicola* に関する WARD (1919), KUDO (1919) および FISH (1938) の記載を参照すると本寄生体は胞子の形態および宿主魚種などから *H. salmonicola* と推定された。生鮮胞子の計測結果を *H. salmonicola* の既往の報告値と比較して示すと表 2 の通りである。なお、計測値は 50 個の胞子についての平均値で示した。

著者らの計測した標本は、いずれも宿主の燻製加工後

に採取されたものであるため、胞子の形態に多少の伸縮が生じている可能性も懸念されるが、既往の報告、特に FISH (1938) の計測値と比較的良好一致した。なお、KUDO (1919) は *H. salmonicola* の胞子の形態的特徴として縫合隆起に 6~7 個のシワのあることを記載しているが、著者らの観察では、無染色の胞子の一部に同様なシワが認められた。

H. salmonicola は南東アラスカのステッケン川のギンザケで最初にその寄生が記録された粘液胞子虫である。また、*H. zschokkei* がカムチャッカのギンザケから記録されているが、この両種の分類学上の取扱いは研究者によって相違がみられる。特に米国、カナダの研究者には *H. salmonicola* を採用する者が多いが、ソ連の研究者では、*H. salmonicola* を *H. zschokkei* の異名とする見解と、*H. salmonicola* subsp. *salmonicola* と *H. salmonicola* subsp. *zschokkie* の 2 亜種を設定し、前者は淡水と海水に、また後者は淡水のみにみられるとする見解がある。著者らは米国やカナダの研究者の見解に

従い、本報では *H. salmonicola* を採用することとした。

胞子の極糸弾出率について

燻製ギンザケ試料のそれぞれ異ったミルク状変質部位から得られた胞子について、乾燥、固定およびギムザ染色を行って、極糸の弾出状況を観察した結果は表3の通りである。

表3には正常胞子(正常な極糸を持ち、極糸を弾出していない胞子)の出現率の高いものから順に示してあるが、変質部位の相違によって、3.4~77.6%と大きな変動が認められた。また、極糸を弾出中の胞子(図4参照)は1.7~29.5%認められ、極糸の見当らない空胞胞子(図4参照)は19.3~94.9%であった。変質部位によ

ては、殆んどが空胞胞子で占められていた。すなわち、本寄生体の胞子の一部は宿主ギンザケ筋肉が凍結、解凍、調味あるいは燻煙などの加工工程における何らかの刺激によって極糸を弾出したものと考えられる。また、これらの胞子の一部を中島・江草(1974)の方法に従い、スライドガラス上で乾燥後、5% KOH 処理をして人為的に極糸の弾出を促すと表4のような結果が得られた。

極糸弾出中の胞子は KOH 無処理の対照では 1.7~7.3% であったが、KOH 処理によって 1.7~85.6% に増加し、明らかに KOH 処理による極糸の弾出が認められた。従来、このような方法による極糸弾出の有無は、これら寄生体胞子の生死判定に有力な方法とされてきたが、もし本寄生体胞子においても適応されるならば、宿

表 3. ギンザケの肉質乳糜化部位から得られた胞子の極糸弾出状態

Table 3. The ratio of spores of *Henneguya salmonicola* extruding polar filaments in various milky parts of smoked coho salmon

Sample no.	Normal spore*	Polar filament-extruded spore*	Blank spore*
1	77.6%	3.1%	19.3%
2	74.7	5.6	19.7
3	64.8	6.2	29.0
4	64.3	2.4	33.3
5	59.1	7.3	33.6
6	49.1	1.8	49.1
7	31.7	8.9	59.4
8	26.6	2.0	71.4
9	24.9	5.6	69.5
10	23.4	2.1	74.5
11	20.6	3.7	75.7
12	18.2	29.5	52.3
13	6.1	1.8	92.1
14	4.9	2.8	92.3
15	3.4	1.7	94.9

* See Plate 1, Fig. 4.

表 4. KOH 処理による極糸弾出率の変化

Table 4. Effect of KOH treatment on the polar filament extrusion of spores of *Henneguya salmonicola* sampled from smoke coho salmon

Sample no.	Control (Untreated)			5% KOH treated		
	Normal spore*	Extruded spore*	Blank spore*	Normal spore*	Extruded spore*	Blank spore*
2	74.7%	5.6%	19.7%	3.6%	85.6%	10.8%
5	59.1	7.3	33.6	2.1	72.5	25.4
6	49.1	1.8	49.1	1.7	43.2	55.1
14	4.9	2.8	92.3	0	16.6	83.4
15	3.4	1.7	94.9	0	1.7	98.3

* See Plate 1, Fig. 4.

主が燻製加工された後においてもかなりの孢子が生存していたものと考えられる。なお、このギンザケ燻製の加工方法は欧米風の方法によるもので、温燻と云っても比較的低温で短時間に燻煙が行われるため、製品の乾燥度の低いのが特徴である。

肉質乳糜化の成因に関する考察

PATASHNIK & GRONIGER (1964) は北米太平洋岸産の魚の筋肉がミルク状になる現象について検討し、これが2種の粘液孢子虫の寄生に起因することを明らかにし、また変質部筋肉抽出液は正常部筋肉抽出液に比し、蛋白分解活性の高かったことから、これらの寄生虫により放出された蛋白分解酵素がこの様な筋肉変質現象の原因となっているものと推論している。著者らも同様の予想から、試料ギンザケ燻製の変質部筋肉と対照として外見上正常と考えられる部位の筋肉をそれぞれ2試料宛採取し、磨細後10倍量の0.2M トリスバッファー (pH 7.8) で抽出してそれぞれの抽出液の蛋白分解活性について、常法 (江上, 1953) に従い、2% カゼイン溶液を基質とし、30°C, 60 分間反応せしめ活性を比較測定したが、変質部筋肉抽出液ならびに正常部筋肉抽出液いずれの試料にも蛋白分解活性は全く認められなかった。著者らの試料はすでに燻製加工後のものであり、仮に生鮮時に蛋白分解活性があったとしても、加工工程中に失活してしまっていたものと考えられる。しかし、これらの抽出液を直ちに0.4M トリクロール酢酸で除蛋白して、試料中に存在する蛋白分解産物量を常法のフェノール試薬 (日本化学会, 1957) によりチロシン相当量として比色測定した結果、正常筋肉部2試料では、筋肉1gに換算してそれぞれ2.72 mg および2.20 mg であったが、変質部筋肉の2試料ではいずれもはるかに多く、約3倍量の7.2 mg が測定され、明らかに変質部位では筋肉蛋白の分解がより進行していることが推察された。

WARD (1919) は *H. salmonicola* の栄養体は洋梨形で直径3~6 mm, これを包む宿主由来の結合組織は多層で強固な被包膜を形成していると指摘し、また FISH (1939) も同様な胞嚢から *H. salmonicola* の孢子を見出しているが、PATASHNIK & GRONIGER (1964) は凍結されたギンザケの切身では、胞嚢は見出されず、WARD や FISH の報告した胞嚢の数倍の大きさで白い粘性のある袋状の乳糜化部位から孢子を見出したと報告している。著者らが観察した燻製ギンザケの場合も胞嚢の存在は全く認められず、PATASHNIK & GRONIGER (1964) の所見と類似した状態のもののみが観察された。BOYD & TOMLINSON

(1965) は *H. salmonicola* の寄生したギンザケを -1°C と -4°C で保存して筋肉変質の出現状態を観察し、-1°C で2週間保存したものでは8尾中3尾に出現したが、1週間後までは未だ観察されず、また -1°C で保存したものでは広範囲の筋肉変質が出現したのに対して、-4°C ではわずかに識別できる程度であったと報告している。

以上のような報告や著者らの観察結果などから類推すると、*H. salmonicola* の栄養体あるいは孢子は、本来、宿主由来の多層膜に囲まれた胞嚢として宿主筋肉組織に存在するが、宿主の保存中あるいは加工工程において、胞嚢の多層膜は栄養体あるいは孢子が放出すると考えられるある種の酵素によって分解され、さらに周辺の筋肉組織をも分解し、ついには筋肉の乳糜化状態を引き起こすものと考えられる。

謝 辞

燻製ギンザケの試料を御提供いただいた王子サーモン株式会社星洋氏ならびに柏木重則氏に対し、厚く御礼申しあげる。

文 献

- BELL, G. R. and L. MARGOLIS (1976): The fish health program and the occurrence of fish diseases in the Pacific Region of Canada. 魚病研究, 10(2), 115-122.
- BOYD, J. W. and N. TOMLINSON (1965): Myxosporidian parasite from salmon. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 22(3), 849-850.
- Bykhovskaya-Pavlovskaya and others (1962): Key to parasites of fresh water fish of U.S.S.R., Academy of Sciences of the U.S.S.R. Zoological Institute. Key to fauna of the U.S.S.R., No. 80, 919.
- 江上不二夫 (1953): 標準生化学実験. 文化堂, 東京 625.
- FISH, F. F. (1938): Observation on *Henneguya salmonicola* WARD, a Myxosporidian parasitic in Pacific salmon. *J. Parasitol.*, 25(2), 169-172.
- HOFFMAN, G. L. (1967): Parasites of North American freshwater fishes, University of California Press, Berkeley & Los Angeles, 486.
- KUDO, R. R. (1919): Atudies on Myxosporidia, *Illinois Biol. Monogr.*, 5, 265.
- 中島健次・江草周三 (1974): 粘液孢子虫の魚体外活性および各種薬物の剝孢子力. 魚病研究, 8(2), 161-164.
- 日本化学会篇 (1957): 実験化学講座, No. 23, 生物化学 I, 9, 東京, 551.

PATASHNIK, M. and H. S. GRONINGER (1964):
Observation on the milky condition in some
Pacific coast fishes, *J. Fish. Res. Bd. Canada*,

21(2), 335-346.
WARD, H. B. (1919): Notes on North American
Myxosporidia. *J. Parasitol.*, 25(2), 169-172.

図版の説明

- 図 1. 燻製ギンザケの肉質乳糜化状態。矢印は肉質乳糜化の部位を示す。×0.4
- 図 2~4. ギンザケの肉質乳糜化部位に認められる *Henneguya salmonicola* の孢子。
- 図 2. 生鮮孢子。×1,000
- 図 3. ギムザ染色孢子, ×1,000
- 図 4. 正常孢子(ns), 極糸弾出孢子(es) および空胞孢子(bs)。ギムザ染色。×400

Explanation of Plate

- Fig. 1. The milky condition in smoked coho salmon. Arrows indicate milky parts. ×0.4.
- Fig. 2-4. Photomicrographs of spores of *Henneguya salmonicola* found in the milky condition of smoked coho salmon.
- Fig. 2. Spores in fresh condition. ×1,000.
- Fig. 3. Spores stained with Giemsa. ×1,000.
- Fig. 4. Normal(ns), polar filament-extruded (es) and blank spores(bs) stained with Giemsa. ×400.