

北海道立水産試験場報告

第 17 号

SCIENTIFIC REPORTS

OF

HOKKAIDO FISHERIES EXPERIMENTAL STATION

No. 17

北海道立水産試験場

(昭和 50 年 1 月)

(January, 1975)

北海道立水産試験場報告

第 17 号

目 次

岩 田 宗 彦

テトラゾリウム・オキシダーゼの多型現象による
スケトウダラ繁殖群についての集団遺伝学的研究…………… 1

新 原 義 昭

リシリコンブの生理学的研究
幼体の光合成と呼吸におよぼす温度，光および塩分の影響について……………11

中村全良・田元 馨・笠原賀代子・西堀幸吉

スケトウダラ臭に関する研究
第1報 包装かまぼこのカルボニル部，酸性部および
塩基性部中の臭気成分の同定……………19

(昭和50年1月)

SCIENTIFIC REPORTS
OF
HOKKAIDO FISHERIES EXPERIMENTAL STATION

No. 17

CONTENTS

IWATA, Munehico

- Population genetics of the breeding groups of walleye pollock
(*Theragra chalcogramma*) based on tetrazolium oxidase polymorphism..... 1

NIHARA, Yoshiaki

- Physiological studies of *Laminaria japonica* var. *ochotensis*
The effect of temperature, light intensity and salinity upon
photosynthesis and respiration of young sporophytes.....11

NAKAMURA, Masayoshi, Kaoru TAMOTO,

Kayoko KASAHARA and Kokichi NISHIBORI

- Studies on odor of walleye pollock-1
Identification of odor constituents in carbonyl, acidic, and basic
fraction of the casing "Kamaboko" (Japanese style fish paste).....19

(January, 1975)

テトラゾリウム・オキシダーゼの多型現象による
スケトウダラ繁殖群についての集団遺伝学的研究*

岩田 宗彦**

(北海道立中央水産試験場)

Population Genetics of the Breeding Groups of Walleye
Pollock (*Theragra chalcogramma*) Based on Tetrazolium
Oxidase Polymorphism

Munehico IWATA**

(Hokkaido Central Fisheries Experimental Station)

A study based on the population genetics was carried out to detect reproductive units of the walleye pollock, *Theragra chalcogramma* (PALLAS). Sixteen sample lots were collected widely from the coastal regions of northern Japan and from the Bering Sea. Extracts of the brain tissues from 1013 specimens were analyzed by 13% starch gel electrophoresis. Sliced gel was incubated in a reaction mixture containing nitro-blue tetrazolium and phenazine methosulfate.

Tetrazolium oxidase polymorphisms were classified into three phenotypes, S, SF, and F, whose frequencies agreed closely with the expected frequencies from the Hardy-Weinberg law. Statistical tests show that there are two major breeding groups of the walleye pollock in the examined regions, viz. in the vicinity of Japan and in the Bering Sea.

序

北太平洋のスケトウダラ資源の重要性は、利用方法の発達とともに近年急速に増大している。1970年の世界のスケトウダラ総水揚げ量は366万トンに達した。他方カムチャッカ半島水域で見られるような1965年の量産開始後のCPUEの低下、魚体の小型化、成熟年齢の低下などの現象も生じているが(北野ほか, 1972)この海域の漁業では、スケトウダラ資源にかける期待は漸次大きくなるであろう。

このような漁業の対象とする魚の集団は、形態学的、生理学的、生態学的、あるいは遺伝学的な特性によって区別され、品種、系統群、地方群などの術語で呼ばれる場合がある。大西洋ニシンの研究過程で論議され、産卵生態と形態から地方型を定義した HEINKE の考え方は EHRENBAUM (1928: 相川, 1960より引用) の定義へと伝えられた。相川や沼知 (1974) によると EHRENBAUM は HEINKE の考えを變形し、同一時期に同一の海況の下に産卵され孵化した稚仔群は、同一の形態的特性を獲得するという定義を地方群にあたえた。この考え方は東部太平洋産ニシンの脊椎骨数の経年変化の事実によって否定され (TESTER, 1937), TÅNING (1946, 50, 52) や HAMAI *et al.* (1971) の sea trout やスケトウダラの人為環境下での孵化、飼育実験によっても、環境の変化が形態に与える影響力の存在が明らかにされた。海洋環境の時間的変

* 報文番号 A84

本研究の一部は農林水産技術会議の特別研究費による。

** 現住所: 東京大学海洋研究所 (東京都中野区南台1-15-1)

動はむろんのこと、これらの研究結果より形態的特徴が地域個体群の指標とされる価値を問いなおされなければならなくなった (IWATA & HAMAI, 1972)。したがって形態的形質はむろんのこと、生態的特徴にも環境の影響が一世代の時間内で多様に働き、それらの特徴を非常に複雑にし、解釈しにくくなると思われる。

漁業対象種の種内の集団とは“資源の再生産単位”であると考えれば、その集団内での交配様式が非選択的であるかぎり、“遺伝子給源 (gene pool) を共有する種個体群”と同義的に考えることができる。したがって集団の遺伝的組成が直接研究されれば、短時間の環境変化による集団の特徴の複雑さを問題にすることなく、資源の再生産の機構を共通にしているか否かを直接的に判断することができるはずである。

血清タンパクや乳酸脱水素酵素では、ある種の健康状態で、その電気泳動の各分画の量が変動することが知られているが (松本, 1966; KARLSSON & CARLSSON, 1968)、一方、数世代程度の環境の変化では変異しない遺伝子に支配された血液型が発見された (松本, 1966参照)。そして近年では同様の特徴をもつ多くの酵素やタンパク質の多型が各種の生物で次々見い出されて、これを遺伝的な指標とした集団の研究がショウジョウバエやヒトなどでも進展し (JOHNSON *et al.*, 1964, GRELL *et al.*, 1965)、同時に集団についての数理論的展開が高度に行なわれている (CROW and KIMURA, 1970)。

水産生物についても血液型や抗原型の研究が1950年ころから進み (CUSHING, 1964, 鈴木, 1967)、ゲル電気泳動法の発達によって各種の緩衝液を用い、血液や血球中のタンパク質の多型、ついで各種の酵素の多型が発見され、それらをもとに魚類集団の遺伝学的研究が行われるようになった (LIGNY, 1969)。

本論文では、北太平洋に生息するスケトウダラが、幾つの資源の再生産単位を持っているかを知る目的で、遺伝子給源の分離を試みた結果について報告する。この目的で調査された酵素タンパクは、人間の1家系3世代にわたって調査されて indophenol oxidase と名付けられた約 66,000 の分子量をもつ酵素で (BREWER, 1967)、後に tetrazolium oxidase と名前が変えられたものである。

本論にさきだち、ご指導いただいた東京大学海洋研究所沼知健一博士、元北海道大学水産学部教授浜井生三博士、またアラスカ湾での追証実験をしていただいた F. M. UTTER, A. G. JOHNSON 両博士 (米国立モントレーク漁業研究所) に感謝いたします。標本採集にご協力いただいた北海道大学北洋研究施設、北海道区水産研究所、東北海区水産研究所、道立水産試験場の関係各位にお礼申し上げます。

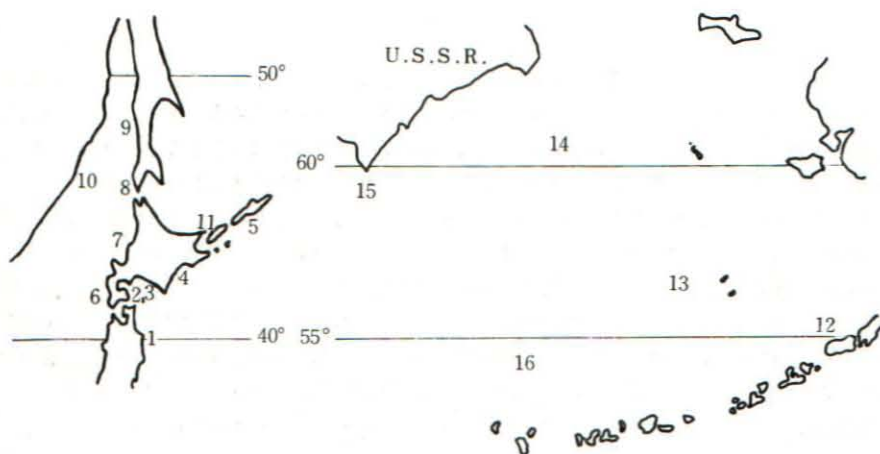


Fig. 1. Map showing sixteen sample lots in the vicinity of Japan and in the Bering Sea.

材 料・方 法

スケトウダラの tetrazolium oxidase (TO) の電気泳動で検出し得る多型現象を調べるために集められた標本は、日本近海より東部ベーリング海までの16標本で (Fig. 1, Table 1.), 1 標本は30個体から145個体を含んでいる。

漁獲の対象とされている体長 25 cm 程度以上の各個体の電気泳動パターンには体長による特別な変化が認められなかったので性成熟に達した体長約 35 cm 以上の個体を標本として扱った。標本個体は採集後急速凍結し、実験室に持ち帰ってから測定と同時に組織を摘出して、再び冷凍庫で約 -20°C で実験まで保存した。各組織のアイソザイム・パターンは、染色した場合の分画の明瞭度と大きさから推定される濃度に差は認められるが、組織間でアイソザイム・パターンに差異はないため (IWATA, 1974), 抽出処理の最も容易な脳を用いて TO 遺伝子頻度の水域間比較を行なった。また性による TO 遺伝子頻度の統計的有意差も認められないので (IWATA, 1973), 雌雄は分離しないで解析した。

標本の脳組織は 2.5 ml の CF トレイ (96穴) に入れ凍結保存した。実験に使用する場合には、室温で解凍しながら、すばやく 8 ml の遠心管に入れ、組織とはほぼ等量の蒸留水を加えてイボ付ガラス棒でホモジナイズした。遠心分離は 4°C , 20,000 G で20分間行い、上澄液を Toyo No. 2 の 4×6 mm のろ紙に吸着させてデンブロン・ゲルに挿入した。

加水分離されたデンブロンを 0.03 M tris [Tris (hydroxymethyl) aminomethane], 0.005 M クエン酸緩衝液に13%の濃度になるようにし、 95°C まで加熱してゲル化した。電気泳動槽は 5 mm 厚さのガラス板 (150×300 mm) 上に $120\times 250\times 1$ mm のアクリル樹脂製の枠を6枚重ねて流動パラフィンを塗布した後ゲルを流し込み 5 mm 厚さのアクリル樹脂製あるいはガラスの上蓋をかぶせ、約 1 kg の重り2個のをせ、約 80°C の湯をかけて上蓋の歪みを補正した。なお泳動槽はあらかじめゲルの温度に近づけるため $70\sim 80^{\circ}\text{C}$ に加温した。

泳動はろ紙をブリッジとして電極槽と連結し、デンブロン・ゲルの表面は non-pore film で被い、ゲルの乾燥を防いだ。電極槽の緩衝液は 0.06 M LiOH と 0.3 M H_3BO_3 を含んだ RIDGWAY *et al.* (1970) の方法を用いた。電気泳動は $0.5\sim 2.0$ mA/cm² の直流を18~6時間通電した。

電気泳動の終了したデンブロン・ゲルは、1 mm あるいは 2 mm の厚さにスライスして、100 ml 中に nitroblue-tetrazolium を 20 mg と phenazine methosulfate を 14 mg 含む染色液を 35°C に保ち、これに 1~2時間浸し、非特異的に紺色に染色されるデンブロン・ゲル上に無色の TO バンドが現れるまで染色した。

結 果

標本個体の脳組織を用いて泳動を行うと、TO のアイソザイム・パターンは個体によって異なった像を示し、これまで分析された1,013尾のスケトウダラは Fig. 2 に示す3つの型に分けることができる。

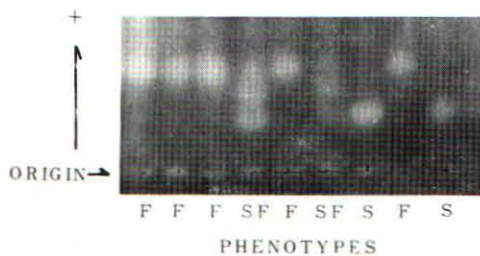


Fig. 2. Zymogram of tetrazolium oxidase which was actualized by the electrophoresis in 13% starch gel in the Ridgway's (1970) buffer system.

各アイソザイム・バンドは標本を挿入した原点よりいずれも陽極側に移動した。ただし、個体によってもっとも早く泳動する1バンドのみをもつもの、もっとも遅く泳動する1バンドのみをもつもの、およびこれらの2つのバンドに加えてその中間に泳動する1バンドをもつものがある。これらを Fig. 2 に示すようにそれぞれF型、S型、SF型と称した。F型のバンドはSF型のもっとも速く泳動する1バンドと泳動度が一致し、一方S型のバンドはSF型のもっとも遅く泳動する1バンドと同じ位置まで泳動することが Fig. 2 で

も明らかである。泳動像はスケトウダラの TO が 1 遺伝子の座に支配されて発現するサブユニット（ポリペプチド）の 2 量体で、S 型、SF 型、F 型の 3 型がこの遺伝子の座に 2 つの対立遺伝子があるために生じたことを示している。すなわち SF 型は 2 つの対立遺伝子 TO^s と TO^f をもち、この 2 つの遺伝子によってそれぞれ発現した 2 種類のサブユニット S と F が、互いに無作為に結合し、SS, SF, FF の 3 種類のアイソザイムを構成しているものと考えられる。

このように S 型、SF 型および F 型が 2 対立遺伝子によって生ずる 2 つの同型接合体と 1 異型接合体であるならば、環境に対する適応値がほぼ同じであるかぎり、これらの 3 型は Hardy-Weinberg の法則で期待される頻度で存在するはずである。そこで各標本について、分離されたパターンから遺伝子頻度を求め、その頻度から Hardy-Weinberg の法則にもとづいて表現型の 3 型の期待値を算出した (Table 1)。

Table 1. Observed and expected* (in parentheses) frequencies of tetrazolium oxidase phenotypes in walleye pollock from Hokkaido vicinity and the Eastern Bering Sea.

Sample number and area†	No. of fish	phenotypes			Allelic frequency		
		S	SF	F	TO^s	TO^f	χ^2
1 Hachinohe	96	14 (11.3)	38 (43.3)	44 (41.4)	0.344	0.656	1.443
2 Usujiri	59	8 (10.2)	33 (28.7)	18 (20.2)	0.415	0.585	1.358
3 Sahara	60	12 (12.5)	33 (29.9)	15 (16.6)	0.475	0.525	0.634
4 Kushiro	48	8 (7.9)	23 (23.2)	17 (16.7)	0.406	0.594	0.002
5 Iturup Is	49	8 (8.6)	25 (23.8)	16 (16.6)	0.418	0.582	0.129
6 Kumaishi	94	26 (24.5)	44 (46.9)	24 (22.6)	0.511	0.489	0.378
7 Ofuyu	145	26 (26.5)	72 (71.0)	47 (47.5)	0.428	0.572	0.030
8 Northern Wakkanai	60	8 (10.4)	34 (29.2)	18 (20.4)	0.417	0.583	1.648
9 Western Sakhalin	60	16 (16.0)	30 (30.0)	14 (14.0)	0.517	0.483	0.002
10 Belkina	72	12 (14.7)	41 (35.7)	19 (21.7)	0.451	0.549	1.615
11 Rausu	108	19 (20.9)	57 (53.2)	32 (33.9)	0.440	0.560	0.545
12 Northern Unimak Is	31	0 (0.3)	6 (5.4)	25 (25.3)	0.097	0.903	0.486‡
13 Western Pribilof Is	30	0 (0.1)	4 (3.7)	26 (26.1)	0.067	0.933	
14 C. Navarin	31	0 (0.3)	6 (5.4)	25 (25.3)	0.097	0.903	0.357
15 C. Olyutorskiy	37	1 (1.1)	11 (10.7)	25 (25.1)	0.176	0.824	0.026
16 Bowers Bank	33	0 (0.2)	5 (4.6)	28 (28.2)	0.076	0.924	0.223

* Assuming Hardy-Weinberg equilibrium.

† See the numbered localities in Fig. 1.

‡ Two collections were pooled to increase the expected value.

$\chi^2_{(0.05)} = 5.99$

Table 2. Chi square values and significance of differences between the observed frequencies of tetrazolium oxidase S, SF and F phenotypes (right upper), and between the frequencies of TO^s and TO^f allele (left below).

Sample number and area	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1 Hachinohe		4.3	6.8*	1.4	2.4	9.9**	4.4	4.7	8.8*	6.9*	5.8	12.5**	23.0**	23.0**	6.5*	15.9**
2 Usujiri	1.6		1.1	0.7	0.3	4.2	0.8	0.0	3.3	0.4	0.5	21.2**	25.4**	25.4**	13.2**	25.5**
3 Sahara	5.3*	0.9		1.4	0.8	1.4	0.6	1.1	0.7	0.2	0.5	25.7**	36.8**	36.8**	18.4**	31.4**
4 Kushiro	1.1	0.0	1.0		0.1	2.7	1.2	0.8	2.6	1.2	0.5	16.6**	24.1**	24.1**	9.8**	20.2**
5 Iturup Is	1.6	0.0	0.7	0.0		2.4	0.1	0.4	2.2	0.6	0.2	18.5**	22.3**	22.3**	11.4**	22.3**
6 Kumaishi	10.8**	2.6	0.4	2.8	2.2		3.5	4.4	0.2	3.2	2.9	31.0**	37.7**	37.7**	22.5**	36.5**
7 Ofuyu	3.4	0.1	0.8	0.1	0.0	3.2		1.0	2.8	1.1	0.3	23.1**	30.5**	30.5**	16.4**	30.9**
8 Northern Wakkanai	1.7	0.0	0.8	0.0	0.0	2.6	0.0		3.4	0.4	0.5	21.7**	26.4**	26.4**	21.7**	26.1**
9 Western Sakhalin	9.1**	2.4	0.4	2.6	2.1	0.0	2.7	2.4		1.9	2.1	27.1**	33.2**	33.2**	20.9**	33.5**
10 Belkina	4.0*	0.3	0.1	0.4	0.3	1.1	0.2	0.3	1.1		0.5	26.8**	31.6**	31.6**	18.1**	31.5**
11 Rausu	3.9*	0.2	0.4	0.3	0.1	2.0	0.1	0.2	1.8	0.0		26.7**	31.7**	31.7**	17.6**	32.1**
12 Northern Unimak Is	14.1**	19.4**	25.8**	17.7**	18.9**	33.1**	24.0**	19.6**	30.8**	24.1**	24.5**		0.3	0.0	1.9	0.2
13 Western Priblof Is	17.5**	23.1**	29.8**	21.3**	24.4**	37.3**	27.9**	23.3**	34.9**	28.0**	28.4**	0.4		0.3	3.7	0.2
14 C. Navarin	14.1**	19.4**	25.8**	17.7**	18.9**	33.1**	24.0**	19.6**	30.8**	24.1**	24.5**	0.0	0.4		1.9	0.2
15 C. Olyutorskiy	6.5*	13.2**	18.3**	10.0**	11.4**	22.4**	16.4**	13.8**	25.8**	18.1**	15.7**	2.1	3.8	2.1		1.2
16 Bowers Bank	20.8**	25.5**	30.5**	20.2**	22.3**	36.4**	30.9**	26.1**	33.5**	31.6**	32.1**	0.2	0.1	0.2	3.2	

* Significant at the 5 per cent level of significance.

** Significant at the 1 per cent level of significance.

期待値に対する適合を χ^2 で算出すると、Table 1 に示すように稚内北方の日本海より採集した標本では χ^2 値が最大であるが、1.648 ($P=0.44$) となり、すべての各標本は3型を理論的期待値によく一致した頻度でふくむと考えられる。このことは先に推測したスケトウダラの TO の遺伝的支配が、1 遺伝子座における2対立遺伝子の制御によるものであることを示唆しているようである。

各表現型の頻度は標本群によって異なり、SF 型が最も多く、S型とF型がほぼ等しいものと、S型が極端に少なくF型が多く出現するものの2種類に大分できる。前者に属する標本は1~11標本で日本近海の太平洋、オホーツク海および日本海より採集されたものである。後者には12~16標本が入り、ベーリング海より得られた標本である。そこで標本間で表現型の各頻度および遺伝子頻度間の統計的有意差を調べるために、各標本間では等しい各表現型頻度、あるいは遺伝子頻度を含むであろうという帰無仮説によりカイ2乗検定を行った (Table 2)。この場合 $P=0.05$ を仮説適合の一般的上限と考えるなら $\chi^2=5.99$, 3.84 (d.f.=2, 1) となり、八戸沖標本を除いて、日本近海の10標本とベーリング海産の5標本とは強い有意性で表現型頻度および遺伝子頻度に差異が認められる。八戸沖標本は TO_J に遺伝子頻度がかたよったため日本近海の数標本との間に有意差がみられる。これを除く日本近海の各標本間、およびベーリング海産の5標本間ではそれぞれ、表現型頻度の間、ならびに遺伝子頻度間に統計的有意差は認められない。表現型頻度ならびに遺伝子頻度に有意差 (危険率1%または5%) の認められるカイ2乗検定は、日本近海の11標本群とベーリング海の5標本群間の組合せである。なおアラスカ湾産のスケトウダラの TO の遺伝子頻度は (Drs. JOHNSON & UTTER に依頼、私信、1973)、本報告の Unimak 島北側の標本や、Pribilof 島西側の標本とほぼ等しいことが明らかとなった。

論 議

近年のスケトウダラの系統群についての研究は石田 (1954, 1956, 1957) にはじまり、彼は、耳石の輪紋を用いて行なった年齢査定による成長の違い、耳石と体長との相対成長の差、耳石表面の形状や輪紋の明瞭さの海域間比較より、これらの特徴を異にする複数のポピュレーションが日本近海にあり、たがいに入り混じることがないという推定は相当信頼性の高いものとみるべきである、としている。耳石の相対成長については久新ら (1961) が襟裳岬西方水域に生息する A・B 2 型について、この A・B 2 型の論議を受けて橋本・小谷地 (1969) は多項目間の相対成長の検討を行った。体節の研究では尾形 (1959) が脊椎骨数で日本海産のスケトウダラを4つの population に分類し、IWATA & HAMAI (1972) は日本近海に8つの local form があると結論した。しかし同時に、形態的、体節の特徴の変異に関する実験的研究についての論議から形態的特徴を population 分類の指標とするには問題があり、そのため "local form" (地方型) という語を暫定的に提案した。ベーリング海東部大陸棚については、前田 (1972) は産卵場の違い、産卵時期の差、相対成長より2つの群の存在を主張した。

上述の各報告はスケトウダラの各水域の形態的特徴は各々に異なり、幾つもの水域的・形態的な集団のであることを示唆するものである。一方1930年ころより継続されているスケトウダラの標識放流は (尾形, 1956; 辻, 1973; 辻, 1974)、日本海の西部と東部の1930年代の交流の事実をはじめとし、1970年以降のオホーツク海北海道沿岸より少数個体ではあるが、樺太西岸、北海道西岸の武蔵堆、根室海峡、樺太東岸、エトロフ島南岸、カムチャツカ半島水域にまで広がり再捕された事実を明らかにした。ベーリング海では高橋・山口 (1972) が東部大陸棚上で大きく移動した4個体の報告を行い、またオリュートル岬沖からナヴァリン岬まで移動した1個体の再捕記録もある (吉田, 1973)。これらの標識放流試験の短期再捕結果から見ると、1~2週間で100~180マイルも移動することがあり、標識放流の実施しやすい産卵直後の魚群は索餌活動の過程でかなり大規模な回遊をする場合もあると考えられる。各再捕個体が大きな移動を示している場合には、産卵活動を特定の1水域のみで行っているのか、移動の結果これまでの知見で異なる系統群とされている水域の産卵場でも再生産活動を行なうのか、あるいは、移動は標識された個体の特殊な行動であったのか、などの疑問点が検討されなければならないと思われる。しかし大胆な推定をすると、カムチャツカ半

島周辺水域より日本近海まで、またオリュートル岬より東部ベーリング海大陸棚までの2つの海域は、独立したスケトウダラの大回遊域の範囲である可能性もある。本報告の TO 遺伝子頻度より結論される遺伝子給源を共通にする繁殖集団は、カムチャツカ半島周辺の資料の不足はあるが、これらの2つの海域の回遊範囲と一致している。

スケトウダラの TO が優劣関係のない2種類の対立遺伝子をふくむ1遺伝子座の支配下にあるために電気泳動的に区別できる3型が生ずることを示した。この遺伝子座が常染色体上にあり、集団中における2つの対立遺伝子 S と F の頻度をそれぞれ p と q とし、対立遺伝子間に適応値の差がなく、集団間の混合がなければ、

$$(pF+qS)^2 = p^2 FF + 2pq FS + q^2 SS$$

となり、2種の遺伝子に何らかの外力が加わらない限り、この分離比は維持されるはずである。魚類の酵素についての最近の研究は、MARKERT (1963) がウシの乳酸脱水素酵素の LDH-1 と LDH-5 の2つのアイソザイムを人為的に遊離会合することによって、この酵素が2種類のポリペプチドのサブユニットが4量体として構成されていることを証明して以来、30種以上の多型を持つ酵素の発見や、TO の異なるホモ接合体の個体の交配より、ヘテロ接合体の酵素を持つ F_1 が生まれるという実験的事実 (WHITT *et al.*, 1973 a, b; WHEAT *et al.*, 1973) によって遺伝学的証明がなされた。メスケ類、ニジマス、サケ・マスでも1遺伝子座の2対立遺伝子によって支配される2量体酵素であることが報告され、それぞれ集団遺伝学的に集団分離に用いられている。(JOHNSON, 1972; JOHNSON *et al.*, 1970; ALLENDORF, 1973; UTTER, 1971)。また NUMACHI (1972) はメバルには3対立遺伝子の存在を報じているが、これらも2量体構造であるとしている。以上の魚類における TO の報告は全て本研究の依拠するアイソザイム・パターンの解釈と一致している。

現在の漁業資源研究に用いられている“系統群”は漁業の実体に即した漁況予測の単位であると思われるが、沿岸漁業を対象とする水域での資源研究は、かなり狭い範囲に生息する魚群を系統群としている。スケトウダラを含めた沿岸漁業の対象種の酵素多型による集団遺伝学的研究が、扱う酵素の種類を増して多くの遺伝子座の組合せより繁殖の結果遺伝子を交換し合う集団と系統群との生物学的関係を明らかにする必要がある。

要 約

1. 資源の再生産単位は遺伝子給源を共有する種個体群であると考え、スケトウダラの再生産単位を明らかにする目的でテトラゾリウム・オキシダーゼ (TO) の遺伝的多型を調べた。
2. 日本近海より11標本、ベーリング海より5標本、合計16標本1,013個体を実験に供した。
3. TO のアイソザイム・パターンはS型、SF型、F型の3種類に分類され、各標本で、観察頻度と Hardy-Weinberg 法則より期待される頻度とはよく一致した。
4. TO の表現型頻度、遺伝子頻度の全標本間比較を行い、日本近海の11標本とベーリング海の5標本間で強い統計的有意差が認められた。このことは両海域に生息するスケトウダラは異なる繁殖集団に属するものと考えられた。

文 献

- 相川広秋 (1960) : 資源生物学 1-418 金原出版 東京
- ALLENDORF, F. W. (1973) : Genetic variation, inheritance, and preliminary population distribution of some proteins of *Salmo gairdneri*. M. S. thesis Univ. Washington, 1-61.
- BREWER, G. J. (1967) : Achromatic regions of tetrazolium stained starch gels : Inherited electrophoretic variation. *Am. J. Hum. Genet.* 16, 674-680.
- CROW, J. F. & M. KIMURA (1970) : An introduction to population genetics theory. Harper & Row

Publishers, N. Y. 1-591.

CUSHING, J. E. (1964): The blood groups of marine animals. *Advance Mar. Biol.* 2, 85-131.

GRELL, E. H., K. BRUCE JACOBSON, & J. B. MURPHY (1965): Alcohol dehydrogenase in *Drosophila melanogaster*: isozymes and genetic variants. *Science* 149, 80-82.

HAMAI, I., K. KYUSHIN, & T. KINOSHITA (1971): Effect of temperature on the body form and mortality in the developmental and early larval stages of the Alaska pollack, *Theragra chalcogramma* (PALLAS), *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 22, 11-29.

橋本良平・小谷地栄(1969): 東北海区および北海道襟裳漁場以南太平洋岸のスケトウダラについて 第1報 東北水研報(29) 37-92

石田昭夫(1954): 北海道周辺のスケトウダラの年齢査定と、耳石にあらわれた形質の海区による差異について 北水研報(11) 36-67

——(1956): 北海道の機船底曳網漁業とその資源 スケトウダラ (*Theragra chalcogramma* (PALLAS)) 50-69 北水研・北水試

——(1957): 耳石の輪紋の状態からみた室蘭近海のスケトウダラのポピュレーションの構造について 北水研報(16) 63-69

IWATA, M. (1973): Genetic polymorphism of tetrazolium oxidase in walleye pollock. *Jap. J. Genet.* 48, 147-149.

——(1974): Genetic identification of walleye pollock (*Theragra chalcogramma*) populations of the basis of tetrazolium oxidase polymorphism. *Comp. Biochem. Physiol.* 50B (in printing).

——& I. Hamai (1972): Local forms of walleye pollock, *Theragra chalcogramma* (PALLAS), classified by number of vertebrae. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 38, 1129-1142.

JOHNSON, F. M. & C. DENNISTON (1964): Genetic variation of alcohol dehydrogenase in *Drosophila melanogaster*. *Nature* 204, 906-907.

JOHNSON, A. G. (1972): An electrophoretic investigation of the family *Scorpaenidae*. Ph. D. Thesis 1-56. Univ. of Washington.

JOHNSON, A. G., F. M. UTTER, & H. O. HODGINS (1970): Interspecific variation of tetrazolium oxidase in *Sebastes* (Rockfish). *Comp. Biochem. Physiol.* 37, 281-285.

KARLSSON, B. W. & E. I. CARLSSON (1968): Levels of lactic and malic dehydrogenase isoenzymes in mammary gland, milk and blood serum of the rat during pregnancy, lactation and involution. *Comp. Biochem. Physiol.* 25, 949-971.

北野裕・吉田久春・金丸信一(1972): スケトウダラの資源—カムチャツカ周辺 日本水産学会シンポジウム 日水誌 38 400-409

久新健一郎・木下哲一郎・林清(1961): 北海道襟裳以西水域におけるスケトウダラの魚群構造について (予報) 北水試月報 18 84-90

LIGNY, De W. (1969): Serological and biochemical studies on fish populations. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.*, 7, 411-513.

前田辰昭(1972): スケトウダラの漁業—漁場について 日本水産学会シンポジウム 日水誌 38 362-371

MARKERT, C. L. (1963): Cytodifferential and macromolecular synthesis. Academic Press, N. Y. 1-65.

松本秀雄(1966): 血清型因子 医学書院 東京 1-229

NUMACHI, K. (1972): Genetic polymorphism of tetrazolium oxidase in black rockfish. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 38, 789.

沼知健一(1974): 集団の遺伝学的特性 海洋学講座 13 東大出版会 東京 1-36

尾形哲夫(1956): 日本海の底魚漁業とその資源: スケトウダラ 日水研報(4) 93-140

- (1959) : 日本海におけるスケトウダラの Population 構造の解析-I 日水研年報 5 119-125
- RIDGWAY, G. J., S. W. SHERBURNE, & R. D. LEWIS (1970) : Polymorphism in the esterases of Atlantic herring. *Trans. Am. Fish. Soc.* 99, 147-151.
- 鈴木秋果 (1967) : 魚類の血液型 日水誌 33 372-381
- 高橋善弥・山口閑常 (1972) : スケトウダラの資源—ペーリング海東域 日本水産学会シンポジウム 日水誌 38 389-399
- TÄNING, Å. V. (1946) : Stage of determination of vertebrae in teleostean fishes. *Nature* 157, 594-595.
- (1950) : Influence of the environment of number of vertebrae in teleostean fishes. *Nature* 165, 28.
- (1952) : Experimental study of meristic characters in fishes. *Biol. Rev.* 27, 169-193.
- TESTER, A. L. (1937) : Populations of herring (*Clupea pallasii*) in the coastal waters of British Columbia. *J. Biol. Bd. Canada* 3 (2), 108-144.
- 辻 敏 (1973) : オホーツク海南西部のスケトウダラ調査について 北水試月報 30 (6) 1-22
- (1974) : 主として北海道周辺のスケトウダラ系統群について (原稿)
- UTTER, F. M. (1971) : Tetrazolium oxidase phenotypes of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and Pacific salmon (*Oncorhynchus* spp.). *Comp. Biochem. Physiol.* 39 B, 891-895.
- WHITT, G. S., W. F. CHILDERS, & P. L. CHO (1973 a) : Allelic expression at enzyme loci in an intertribla hybrid sunfish. *J. Heredity* 64 (2), 53-61.
- , ——, J. Tranquilli, & M. Champion (1973 b) : Extensive heterozygosity at three enzyme loci in hybrid sunfish populations. *Biochem. Genet.* 8, 55-72.
- WHEAT, T. E. and G. S. WHITT (1973) : Linkage relationships of six enzyme loci in interspecific sunfish hybrids (*Genus Lepomis*). *Genetics* 74, 343-350.
- 吉田久春 (1973) : スケトウダラの標識放流について—カムチャッカ半島東岸 農林水産技術会議中間報告 70-72

リシコンブの生理学的研究*

幼体の光合成と呼吸におよぼす温度、光および塩分の影響について

新 原 義 昭

(北海道立稚内水産試験場)

Physiological Studies of *Laminaria japonica* var. *ochotensis*

The effect of temperature, light intensity and salinity upon
photosynthesis and respiration of young sporophytes

Yoshiaki NIIHARA

(Hokkaido Wakkanai Fisheries Experimental Station)

1. Photosynthesis and respiration of young sporophytes of *Laminaria japonica* var. *ochotensis* in culture are measured by using the manometric method in order to study the effect of temperature, light intensity and salinity.
2. Photosynthesis measured at a light intensity of 10 Klux various in different temperatures. The optimum temperature in photosynthesis is between 8 and 15°C and the maximum value is obtained at 10°C. Respiration quotient (R. Q.) at this situation is from 0.94 to 1.03.
3. At a temperature of 15°C the compensation point is 130 lux and the saturation point 10 Klux with the value of net photosynthesis of 45.0 O₂μl/mg dry wt./hr. The optimum salinity at this situation is between 28.00‰ and 36.00‰.
4. Photosynthesis increases during the growth of young sporophytes derived from the 1-year-old and 2-years old plants. The result shows that the higher value is always obtained in the descendant derived from the 1-year-old plant.

ま え が き

海藻の光合成と呼吸に関する生理学的研究はアマノリ属をはじめ、他海藻の数種類についてなされてきた (CHAPMAN, 1961; BROWN & JOHNSON, 1963; 尾形, 1963; OGATA & MATSUI, 1965; 敦賀・新田, 1965; NEWELL & PYE, 1968; KJELDSEN & PHINNEY, 1971; YOKOHAMA, 1971)。

コンブ属 (*Laminaria*) では配偶体期の成熟と光、温度および塩分との関係についての知見は多い (木下 1947; HASEGAWA, 1962, 1971; YABU, 1964; KAIN, 1964)。一方、幼体期については KAIN (1969) が培養によって *L. hyperborea* の生長に関しての適正照度および水温を報告しており、DRUEHL (1967) は *L. saccharina* と *L. groenlandica* の分布が水温と塩分濃度との関係で説明できるとしている。また LUNING (1971) は *L. hyperborea* の生長は季節ごとの光合成量の変化のリズムで示されると報告している。このように水温、光、塩分濃度と栄養類などが植物の生長ならびに分布を規制する重要な要因となっているが、実際のコンブ漁場ではこれらと生育環境との関係が十分把握されるに至っていない。このため生育

* 報文番号 A85

要因を知る目的で培養によって得た幼体の呼吸量と光合成量を生長量の指標とし、これらにおよぼす照度、温度および塩分の影響に関する実験を行った。また1年目コンブと2年目コンブからの遊走子に由来する幼体の各生長に伴う光合成量の変化も比較実験を試みたので、その結果を報告する。

本論に入るに先だちご校閲を賜った北海道大学教授正置富太郎博士に、またマンメトリック法のご指導を賜った札幌医科大学助教授藪英世博士に衷心より感謝の意を表する。

材料と方法

用いた材料は1971年9月礼文島船泊、1972年10月利尻島船泊で採集したリシリコンブ (*Laminaria japonica* var. *ochotensis*) の1年目および2年目の葉体を母藻として遊走子を放出させ、それを培養して得た幼体である。培養に際しては水温 14°C 、14時間照明(光源は白色蛍光灯、照度は $4,000\text{ lux}$) の条件下でオートクレーブ処理した滅菌海水 100 ml あたりに ESI 培地 (TATEWAKI, 1966) 2 ml を添加したものをを用いた。

光合成量ならびに呼吸量はマンメトリック法(ワールブルグ検圧計、柳本 K. K., G-2-14 型、振幅: 0.89 秒)で測定し、方法はワールブルグの間接法にしたがった。容器の容量は $17.0\text{--}18.0\text{ ml}$ のものを使用し、海水容量は 5.0 ml 、呼吸量の測定には副室中に $15\%\text{ KOH}$ 水溶液 0.2 ml 、炭酸ガスの貯留測定には側室中に $3\text{ N-H}_2\text{SO}_4$ を 0.2 ml 用いた。実験開始前15分間を空振りさせ試料が平衡状態に達してから実施した。重量測定は実験終了後、葉体を蒸留水で洗浄し、 105°C で乾燥させたものを乾重として用い、乾重量 1 mg 、1時間当たりの見掛け上の酸素放出量を光合成量とし、これから暗黒時の呼吸量を引いたものを純光合成量とした。照射光は上部照射(白色蛍光灯: 東芝白色 FL 20 S-W/NL)と側面照射(東芝レフランプ、 $100\text{ V-}200\text{ W}$ 、フトリフレクタ ($100\text{ V-}300\text{ W}$) により $2,000\text{ lux}$ までは蛍光灯と白熱電球(東芝レフランプ)の2種を $2,000\text{ lux}$ 以上の場合は3種の光源を使用した。照度は水中の容器面を基準として東芝照度計5号型により測定した。また塩素量の測定は海洋観測指針(1969)に、クロロフィル量測定は実験農芸化学(1964)にしたがった。

結 果

1) 温度の影響(光合成—温度曲線)

使用した葉体(根部は除く)は1年目コンブの遊走子から由来した平均葉長 2.8 cm 、葉幅 0.6 cm の個体であり、実験開始前に24時間各水温で培養した。照度 10 Klux に保ち水温 $5\text{--}20^{\circ}\text{C}$ の範囲で光合成量を測

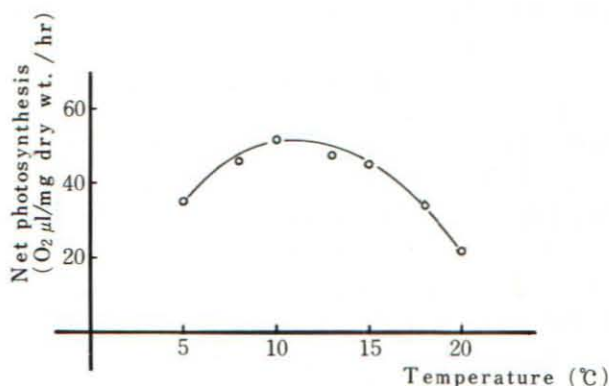


Fig. 1. Net photosynthesis of young sporophytes of *Laminaria japonica* var. *ochotensis* in various temperature. The experiment is conducted at a light intensity of 10 Klux .

定した (Fig. 1)。光合成の最高値は10°Cで示し、光合成のための適水温範囲は8-15°Cである。暗黒での呼吸量は水温5°Cで $17.5 \text{ O}_2 \mu\text{l}/\text{mg dry wt./hr}$ 、水温20°Cで $19.0 \text{ O}_2 \mu\text{l}/\text{mg dry wt./hr}$ 、水温8-15°Cで $14.5-15.5 \text{ O}_2 \mu\text{l}/\text{mg dry wt./hr}$ であった。水温20°C以上については酸素放出量が不規則であったために図示しなかった。水温10°C以下の場合には15°C以上の時に比べて酸素放出量は漸次減少した。すなわち減少の割合は最高値を示した水温10°Cの時の値に比べ5°Cでは29.5%、20°Cでは58.8%であった。この光合成-温度曲線を得たときの呼吸係数 (R. Q.) は0.94-1.03であった。

2) 照度の影響 (光合成-光曲線)

使用した葉体 (根部は除く) は温度の実験に用いたものと同じく1年目コンブの遊走子から由来した平均葉長2.8cm、葉幅0.6cmの幼体である。水温15°Cに保ち、照度を0-40 Kluxまで変化させて得た曲線がFig. 2である。なお実験前に各照度に1時間供試材料を順応させた。照度0 luxの時の呼吸量は $15 \text{ O}_2 \mu\text{l}/\text{mg dry wt./hr}$ であり補償点は130 luxを得た。酸素放出量は10 Kluxまでは漸次増加し、10 Kluxで光飽和に達する。その光飽和における純光合成量は $45.0 \text{ O}_2 \mu\text{l}/\text{mg dry wt./hr}$ であった。

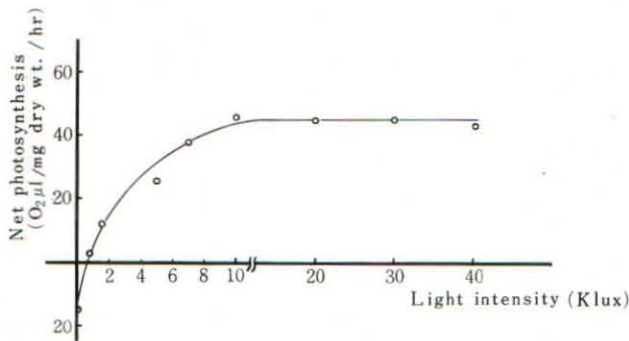


Fig. 2. Net photosynthesis of young sporophytes of *Laminaria japonica* var. *ochotensis* in various light intensities. The experiment is conducted at a temperature of 15°C.

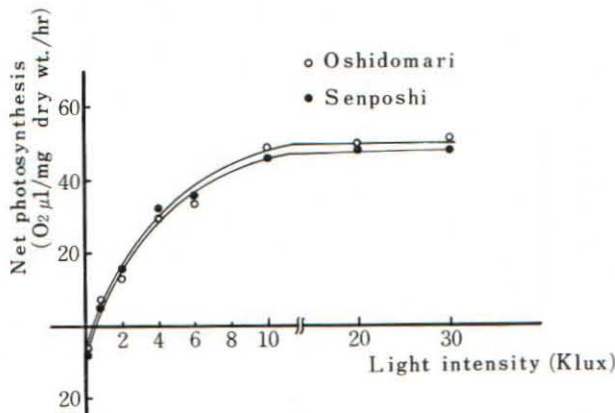


Fig. 3. Net photosynthesis of young sporophytes of *Laminaria japonica* var. *ochotensis* collected at two different sites in Rishiri Island in various light intensities. The experiment is conducted at a temperature of 15°C.

また利尻島鷺泊、仙法志の水深 0.5m 前後のところから採集した天然 コンプ (平均葉長 3.0 cm, 葉幅 0.8 cm) の幼体を使用した場合の光合成—光曲線を Fig. 3 に示した。呼吸量はそれぞれ 5.0, 8.0 $\text{O}_2\mu\text{l}/\text{mg dry wt./hr}$ であり, 光飽和は共に 11 Klux その時の純光合成量はそれぞれ 40, 42 $\text{O}_2\mu\text{l}/\text{mg dry wt./hr}$ であった。

3) 塩分濃度の影響 (光合成—塩分曲線)

本実験に使用した海水は天然海水 (塩分: 33.12%) を煮沸して濃縮し, あるいは蒸留水で稀釈したもので, リシリコンプの幼体の光合成に対する塩分濃度の影響を調べた。1 年目コンプを母藻として培養によって得た葉体 (根部は除く, 平均葉長 2.7 cm, 葉幅 0.6 cm) を種々の海水濃度に入れ24時間後実験に供した。ただしその間, 葉体の周辺部が緑色に変化し明らかにコンプ葉体が弱っている試料は実験に供しなかった。その時の光合成の値を図示したのが Fig. 4 である (水温 15°C , 照度 10 Klux, 濃縮した海水を 0.1 N-HCl で pH 8.15 に調整)。光合成のための適塩分範囲は 28.00–36.00 ‰ であり, 33.12‰ で最高値となった。塩分濃度 43.00‰ 以上で培養したコンプは呼吸のみがみられ, 塩分濃度 18.00‰ では最高の酸素放出量を得た時に比べ 66% の低下をみた。

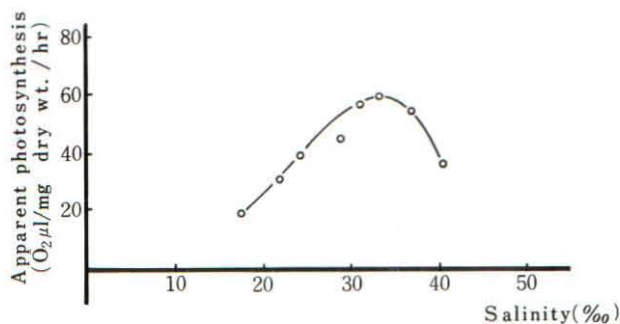


Fig. 4. Apparent photosynthesis of young sporophytes of *Laminaria japonica* var. *ochotensis* in various salinities. The experiment is conducted at a temperature of 15°C and at a light intensity of 10 Klux.

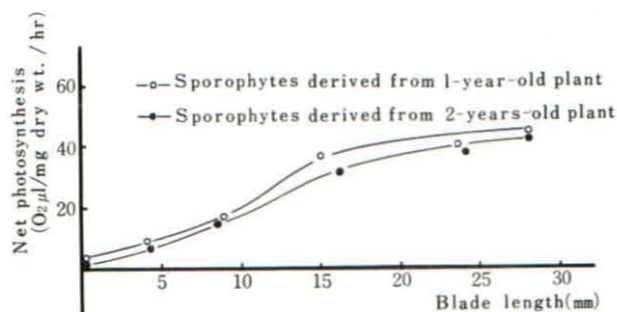


Fig. 5. Net photosynthesis of young sporophytes of *Laminaria japonica* var. *ochotensis* derived from 1-year-old and 2-years-old plants in various stages of development. The experiment is conducted at a temperature of 15°C and at a light intensities of 10 Klux.

4) 1年目コンブおよび2年目コンブを母藻にして得た幼体の生長に伴う光合成量の変化

1年目と2年目のリシリコンブをそれぞれ母藻とし、培養して得た幼体の平均葉長 130 μm から 2.8 cm までの生長に伴う光合成量の変化を測定した (Fig. 5)。1年目と2年目コンブからそれぞれ得られた幼体は生長に伴って光合成量が約 3.0 $\text{O}_2\mu\text{l}/\text{mg dry wt.}/\text{hr}$ から漸次増加していった。2年目コンブから得た幼体は1年目コンブから得た幼体に比較して生長の度合はほとんど同じであったが光合成値 (平均89%) は若干低かった。なおこの際の測定条件は水温15°C、照度 10 Klux である。

5) 天然産リシリコンブの幼体における色素体の吸収曲線について

利尻島仙法志の水深 0.5m 前後のところから採集した天然コンブの幼体を使用し、色素体の吸収曲線を葉長約 1 cm のものと、約 4 cm のものについて調べ Fig. 6 に示した。642.5 $\text{m}\mu$ と 660 $\text{m}\mu$ における吸

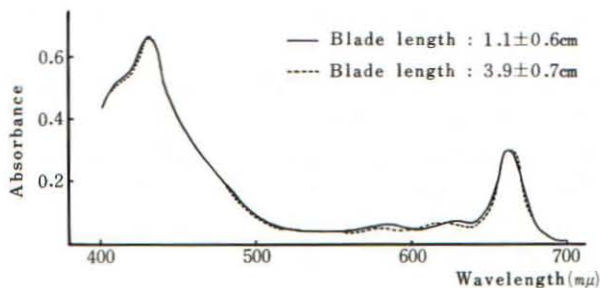


Fig. 6. The absorption spectra of each fraction in young sporophytes of *Laminaria japonica* var. *ochotensis*. The solvent is ethyl-ether.

光度から次式によりクロロフィル a 量を求めた。

$$\text{クロロフィル a (mg\%)} = (9.93 D_{660} - 0.777 D_{642.5}) \times \frac{\text{溶剤容量 (ml)}}{1000} \times \frac{100}{\text{試料 (g)}}$$

$D_{642.5}$: エーテル層を 1 ℓ に稀釈した時の 642.5 $\text{m}\mu$ における吸光度

D_{660} : " " 660 $\text{m}\mu$ " "

すなわち平均葉長 1.1 $\pm$ 0.6 cm の葉体では乾重量当たり 721.7 mg%, 3.9 $\pm$ 0.7 cm の葉体では 815.0 mg% を得た。

考 察

KAIN (1969) は *Laminaria hyperborea*, *L. digitata*, *L. saccharina* と *Saccorhiza polyschides* の 4 種の配偶体期と幼体期の生長と温度および照度との関係を調べ、生長に要する最低照度は 4 種共に 10-20 lux (1-2 $\mu\text{g cal}/\text{cm}^2 \text{ sec.}$) であり、温度については *L. digitata* と *L. hyperborea* では 10°C から 17°C の範囲で同程度の生長率であるが *S. polyschides* では 10°C より 17°C の方がより生長すること、ならびに *L. saccharina* では 17°C で他の種に比較して余り生長がよくないことを観察した。また KJELSEN & PHINNEY (1971) は 7 種の海藻について温度、塩分変化が光合成におよぼす影響を調べた。その中で *L. saccharina* の生長の適温度は 10-13°C で適塩分濃度は 30.0-35.0% であり、20°C 以上で光合成および呼吸係数が減少することから、この種では高水温と低塩分の両方が天然における分布の制限要因であるとした。DRUEHL (1967) は *L. groenlandica* では最も生長に良い条件は低水温、高塩分であり、これらの要因がこの種の天然における分布を規制するが、*L. saccharina* では河口付近のような特殊な場合は別として *L. groenlandica* よりも広範囲な温度と塩分に適応していると述べている。著者はリシリコンブの光合成量を測定した結果、光合成のための適温度は 8-15°C であり、*L. digitata* と *L. hyperborea* に似た傾向であった。しかし本種の補償点は 15°C において 130 lux であることを考えると生長に必要な最低照度は KAIN

(1969)の結果と比較してかなり高い値であった。このことからリシリコンブの初期幼体の生長には低水温、高照度の条件が必要といえる。照度の影響については 40 Klux までの測定値を示したが、実際には 50 Klux で光合成値は低下したのでこれ以上の高照度では阻害効果として働くものと思われる。なお天然産のコンブの場合でも Fig. 3 には 30 Klux までしか示していないが 40 Klux あたりから光合成値が低下して光の阻害がみられた。これは培養で得た結果と異なることを示している。木下 (1947) はホソメコンブ (*L. religiosa*) を用いて種々の塩分濃度別による発生試験を行い、15.40-38.74% (比重から換算) までの範囲で造胞体を形成し、また YABU (1964) も天然海水 (塩分濃度32.087%) に河水を5%, 10%, 20%と添加した場合には、ホソメコンブの配偶体と造胞体の生長が天然海水のみの場合と同じ位良好であると報告している。リシリコンブで光合成のための適塩分濃度範囲は28.00-36.00%を得たが、これは KJELSEN & PHINNEY (1971) が報告した *L. saccharina* の値とほとんど同じ塩分濃度である。一定条件のもとで1年目コンブと2年目コンブのそれぞれを母藻として遊走子を培養した場合、発芽から幼体に至るまでの生長の度合はほとんど同じであったが、光合成値は1年目コンブからの幼体が若干高かった。このことは、阪井ら (1967) がリシリコンブの1年目のものは通常9月に子嚢斑が出現はじめる。そして2年目のリシリコンブは1年目のものより早く7月中旬以降に成熟個体が現れはじめ、成熟の進み方も1年目のものより早いと述べているように、成熟時期と成熟の進み方の差などが一原因となっているのかもしれない。また葉長3.0 cm まで生長と共に光合成量が漸次増加したのはコンブの細胞がほとんど多層になり組織分化が認められることと色素体の含有量変化と思われる。後者については生長とともにクロロフィルaが増加したことだけからみても光合成量との関係が明らかであると考えられる。

要 約

1. 培養したリシリコンブの幼体を使用し、光合成と呼吸を測定することにより照度、水温、塩分濃度の影響と生長に伴う光合成の変化について試験を行った。
2. 温度変化による光合成のための適温度範囲は 8-15°C であり、光合成の最高値は 10°C の時示され、R. Q. は 0.94-1.03 であった。
3. 水温 15°C における補償点照度は 130 lux であり、10 Klux で光飽和に達し、その時の純光合成量は 45.0 O₂ μl/mg dry wt./hr であった。また塩分濃度については光合成のための適塩分濃度範囲が 28.00-36.00% であった。
4. 生長に伴う光合成の変化は幼体の生長とともに光合成量が漸次増加し、1年目と2年目コンブをそれぞれ母藻として得た幼体では1年目コンブから由来した幼体の光合成値が若干高かった。

文 献

- BROWN, J. M. A. and ANNE JOHNSON (1963): *Bot. Marina*, 4 (3/4), 233-246.
 CHAPMAN, V. J. (1961): *Ibid.*, 3 (3/4), 102-122.
 DRUEHL, L. D. (1967): *J. Phycol.*, 3 (2), 103-108.
 HASEGAWA, Y. (1962): *Bull. Hokkaido Reg. Fish. Res. Lab.*, (24), 116-138.
 ——— (1971): *Ibid.*, (37), 49-52.
 KAIN JOANNA, M. (1964): *J. mar. biol. Ass. U. K.*, 44 (2), 415-433.
 ——— (1969): *Ibid.*, 49 (2), 455-473.
 木下虎一郎 (1947): コンブとワカメの増殖に関する研究, 札幌
 KJELSEN, C. K. and H. K. PHINNEY (1971): *Proc. 7th Intern. Seaweed Symp.*, 301-308.
 LÜNING, K. (1971): *4th Mar. Europ. Mar. Biol. Symp.*, 347-361.
 NEWELL, R. C. and V. I. PYE (1968): *J. mar. biol. Ass. U. K.*, 48 (2), 341-348.
 日本海洋学会 (1969): 海洋観測指針, 東京

- 尾形英二 (1963) : *Bull. Jap. Soc. Fish.*, 29 (2), 139-145.
- OGATA, E. and T. MATSUI (1965) : *Jap. Jour. Bot.*, 19 (1), 83-98.
- 阪井与志雄・石川政雄・蒲原八郎・金子孝・渋谷賢仁・中津俊行 (1967) : 北水試月報, 24 (11), 454-467.
- 関根隆光・笹川泰治・森田茂広・高橋甫 (1965) : 続ワールブルグ検圧計, 東京
- TATEWAKI, M. (1966) : *Phycologia*, 6 (1), 62-66.
- 東京大学農学部農芸化学教室 (1964) : 実験農芸化学 下巻, 東京
- 敦賀花人・新田忠雄 (1957) : 内水研報, (10), 37-41.
- YABU, H. (1964) : *Mem. Fac. Fish., Hokkaido Univ.*, 12 (1), 1-72.
- 吉川春寿・小倉安之・関根隆光・森田茂広・高橋甫 (1954) : ワールブルグ検圧計, 東京
- YOKOHAMA, Y. (1971) : *Proc. 7th Intern. Seaweed Symp.*, 286-291.

スケトウダラ臭に関する研究*

第1報 包装かまぼこのカルボニル部、酸性部および 塩基性部中の臭気成分の同定

中村 全良・田元 馨

(北海道立中央水産試験場)

笠原賀代子・西堀 幸吉

(ノートルダム清心女子大学)

Studies on Odor of Walleye Pollock-1

Identification of odor constituents in carbonyl, acidic, and basic
fraction of the casing "Kamaboko" (Japanese style fish paste)

Masayoshi, NAKAMURA Kaoru TAMOTO,

Kayoko KASAHARA** and Kokichi NISHIBORI**

(Hokkaido Central Fisheries Experimental Station)

***(Notre Dame Seishin University)*

For the purpose of qualitative improvements of processed foods which was produced from the Walleye pollock meat, some problems to be solved lie, and one of them is the peculiar odor observed only in the Walleye pollock's products and has been disliked by the consumer.

In the present work the volatile components of casing "Kamaboko" produced from the Walleye pollock meat were studied gas chromatographically.

The results obtained were as follows :

1. The water-bleaching process in "Kamaboko" manufacturing brought about many changes quantitatively in volatile components of the finished product, but not qualitatively.
2. In the volatile components of "Kamaboko", four kinds of carbonyl compounds (acetaldehyde, propionaldehyde, n-butyraldehyde or iso-valeraldehyde or methylethylketone and n-caproaldehyde), seven kinds of volatile fatty acids (acetic, iso-butyric, n-butyric, iso-valeric n-valeric, n-caproic and sorbic) and four kinds of amines (trimethylamine, dimethylamine, methylamine and ammonia) were identified gas chromatographically and infra red spectroscopically.
3. The acidic fraction volatilized at relatively high boiling point-sorbic acid which was added artificially as antiseptic and unidentified two components-was found to be important components of the peculiar odor in "Kamaboko".

緒 言

わが国総漁獲量は遂に1千万トンを超えたが、今後、漁業専管水域の設定などにより、わが国の漁業生産

* 報文番号 A86

は大きな制約をうけることが予想される。

こうした状況にあって、これら資源を栄養的にも嗜好的にも、より効果的に利用するためには魚の鮮度ならびに加工食品の品質向上が生産者、消費者の一致した要望であり、特にこれまで低位利用に甘んじてきた多獲性魚類については、加工方法の改善、新需要法の開発などが当然考えられなければならない。

年間300万トンを超える多獲性魚類の筆頭ともいべきスケトウダラは、魚卵を採取してしまえば、あとは冷凍すり身以外、一部凍塩乾品に利用される程度で、近年輸出向フィッシュ・ブロックの生産が伸びているといっても、相変わらずミール生産に利用されるものが多い。

動物性蛋白質源として重要な地位を占めるスケトウダラを食品として利用する上で、大きな障害の一つとしてスケトウダラ特有の臭が問題となっている。

西堀ら¹⁾はスケトウダラ凍乾品の臭気成分について研究し、スケトウダラ臭を特徴づけている成分を見出し、そのうちの1成分はイソバレルアルデヒドであること、残る2成分は中性成分であると推定している。さらにこれらの他に、カルボニル4成分、酸7成分、塩基3成分を同定している。

スケトウダラの臭は凍乾品だけに限らず、生魚でも、ねり製品でもみられるが、今回は包装かまぼこの臭気成分について検討し、凍乾品の臭気成分との比較を行ったので、報告する。

実 験 方 法

1. かまぼこ試料の調製

鮮度中位のスケトウダラを落し身とし、無晒区(1)はそのまま、水晒区(2)は5回水晒、脱水を繰返した後、それぞれに食塩3%，でん粉10%，重合リン酸塩0.2%，砂糖5%，グルタミン酸ソーダ0.5%および合成殺菌料ソルマイティ1%を添加し、40分間らい潰した。次いで、径4cmの塩化ビニリデンケースに詰め、90℃で40分間加温してかまぼことし、放冷後試料とした。

2. ガスクロ用試料調製法およびガスクロ分析条件

(1) 全臭気成分

試料調製：かまぼこ20gを細切し、50ml容三角フラスコに入れ、熱湯20mlを加えてアルミ箔で密封し、直ちにこれを沸騰湯浴中で5分間加温し、その三角フラスコ中のヘッド・スペース・ペーパー（以下H.S.V.と略）5mlをガスクロ分析の試料とした。

分析条件：装置は島津GC-4A型を用い、カラムは長さ3m、径3mmのステンレス、カラム温度40°→160°、4℃/分の昇温で行った。保持相はCarbowax 20M 5%、Diasolid L 60~80 meshを用い、キャリアーガスはN₂を流量15ml/分で、検出器は水素炎イオン化検出器で行った。

(2) カルボニル成分

カルボニル成分の分離：細切したかまぼこに等量の蒸留水を加え、丸底フラスコに入れ、マントルヒーターで80℃に加温しながら、N₂ガスを60ml/分の流量で通気させ、カルボニル成分を0.2% 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンの2N塩酸溶液中に導びき、かまぼこ中のカルボニル成分をヒドラゾンとして分離した。得られたヒドラゾンは試料(1)、(2)とも1.8kgを用いて、各々9.1mgと5.9mgであった。

試料調製法：得られたヒドラゾン0.2~0.3mgを10ml容三角フラスコに入れ、2N硫酸数滴を加え、直ちにパラフィルムとアルミ箔で密封し、沸騰湯浴中で1分間加温した。その三角フラスコ中のH.S.V. 5mlをガスクロ分析の試料に用いた。

分析条件：全臭気成分の分析条件と同じ。

(3) 酸性成分

酸性成分の分離：細切したかまぼこ試料(1)と(2)を各々3kgと4kgを水蒸気蒸留し、留液を2%炭酸水素ナトリウム溶液で中和後、減圧濃縮、乾固して、酸性成分をナトリウム塩として分離した。

試料の調製：このナトリウム塩を再び酸で分解し、遊離した酸性成分をエーテルで抽出し、ジアゾメタンでメチルエステルとした。この脂肪酸メチルエステル濃縮エーテル液をガスクロ分析に用いた。

分析条件：装置は島津 GC-5 A 型を用い、カラムは長さ 3m, 径 3mm のステンレス, カラム温度80°C 恒温で行った。保持相はPEG 6,000, 10%, Shimalite W 60~80 mesh を用い、キャリアーガスは He を流量 20 ml/分で、検出器は熱電導度検出器で行った。

(4) 塩基性成分

塩基性成分の分離：酸性成分の場合と同様にして得た水蒸気蒸留液に稀塩酸を加えて微酸性とし、次いで減圧濃縮、乾固して、揮発性塩基塩酸塩を得た。収量は試料(1), (2)各 2 kg より、各々 0.7690 g と 0.1530 g であった。

試料の調製法：得られた塩基塩酸塩数 10 mg を小試験管に入れ、濃アルカリ溶液を数滴加え、直ちにパラフィルムとアルミ箔で密封し、沸騰湯浴中で10秒間加熱して、塩基成分を遊離せしめ、この小試験管中の H.S.V. 10~20 μ l をガスクロ分析の試料とした。

分析条件：装置は日立 GC-063 型を用い、カラムは長さ 2m, 径 3mm のステンレス, カラム温度40° 恒温で行った。保持相は Squalane 20% と Glycerol 2.5%, Diasolid L (2.5% KOH) 60~80 mesh を用い、キャリアーガスは N₂ を流量 15 ml/分で、検出器は熱電導度検出器で行った。

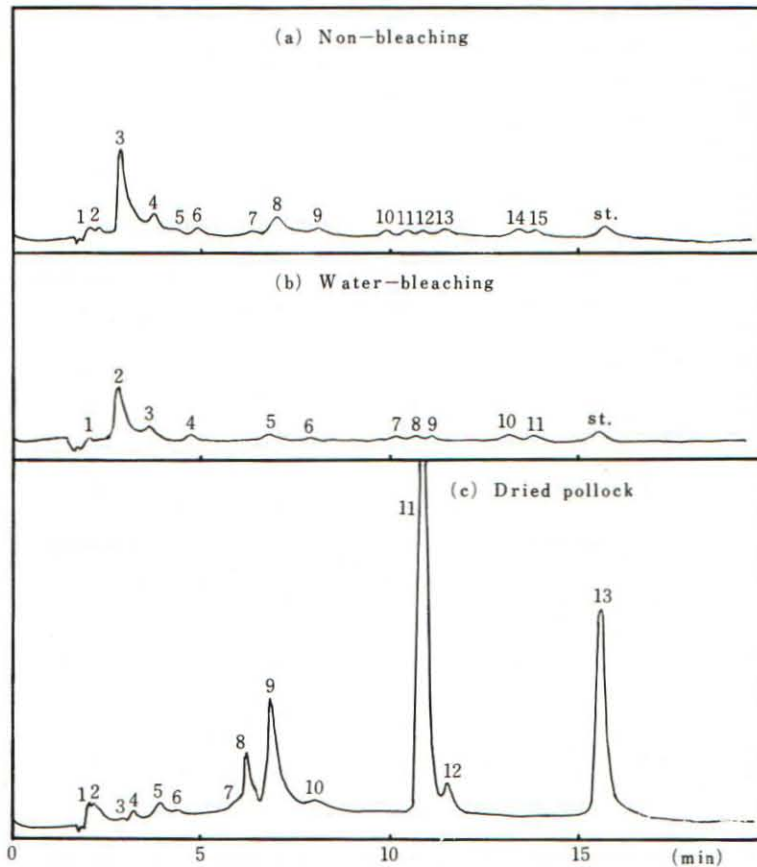


Fig. 1. GLC of whole flavor.

Column: 3m $\times$ 3mm stainless steel tube packed with 5% Carbowax 20 M on 60-80 mesh Diasolid L. Column temp.: 40°-160° (4°C/min).
Detector: FID. Carrier gas: N₂ at 15 ml/min.

実験結果

1. 全臭気成分

試料としたかまぼこは試料(1)の無晒区、試料(2)の水晒区とも著しい刺激臭をもっていたが、無晒区はその上に強いアミン臭を伴っていた。これをガスクロ分析した結果は Fig. 1 のとおりである。

このように無晒区では15個、水晒区では11個のピークがみられたが、比較的大きなピークは両者とも全く同様に、Carbowax 20 M を保持相とするガスクロマトグラムからは無晒区と水晒区の全臭気成分に差異は認められない。下の図(c)はかまぼこを調製した同じ原料を凍干した棒干しスケトウダラの全臭気成分をガスクロ分析した結果である。これらの間にはあまり類似性は認められず、加工処理中の影響が大きく現れてい

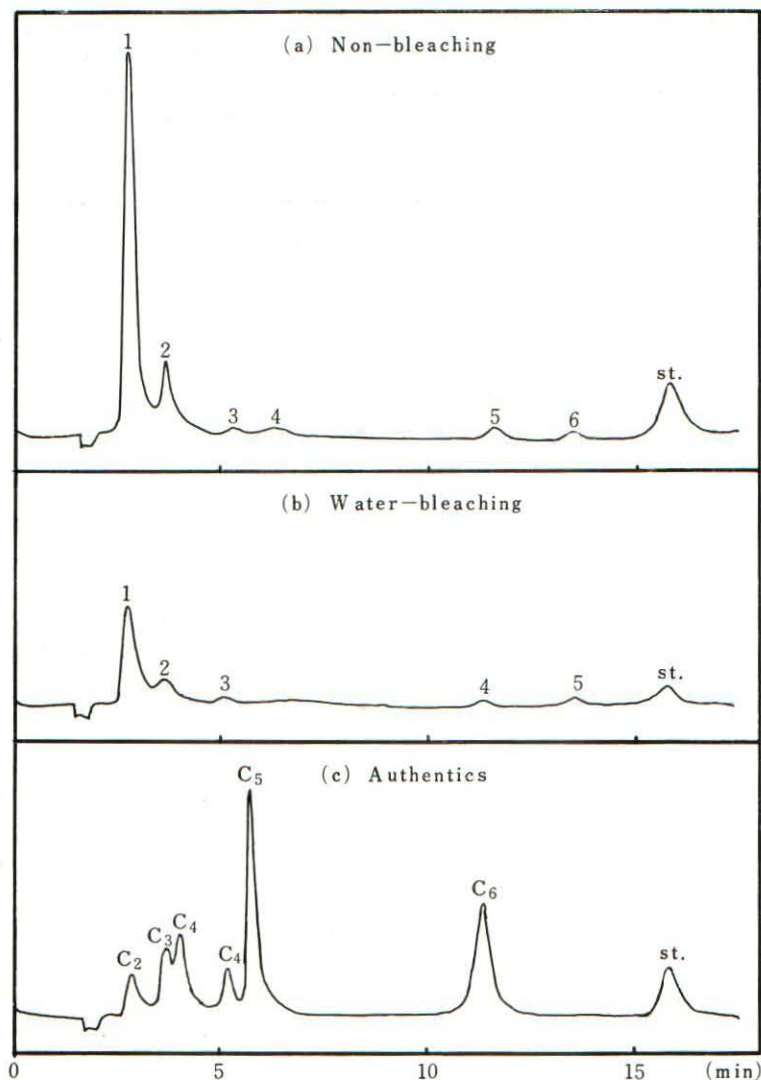


Fig. 2. GLC of carbonyl fraction.

Column: 3m×3mm stainless steel tube packed with 5% Carbowax 20 M on 60-80 mesh Diasolid L. Column temp.: 40°~160° (4°C/min).
Detector: FID. Carrier gas: N₂ at 15 ml/min.

るものと考えられる。

2. カルボニル成分

得られた結果は Fig. 2 のとおりである。成分同定のため、標品についても同条件でガスクロ分析を行ない、イソアミルアルコールを内部標準として相対保持時間（以下 t_R と略）を求めた結果は Table 1 である。

Table 1. t_R carbonyl fraction

Non-bleaching		Water-bleaching		Authentics	
Peak No.	t_R	Peak No.	t_R	Name	t_R
1	0.17	1	0.17	Acetaldehyde	0.17
2	0.23	2	0.23	Propionaldehyde	0.23
				iso-Butyraldehyde	0.25
				Acetone	0.25
				n-Butyraldehyde	0.32
3	0.34	3	0.34		
				iso-Valeraldehyde	0.36
				Methylethylketone	0.36
4	0.41				
5	0.73	4	0.72	n-Caproaldehyde	0.72
6	0.86	5	0.85		
(7)	(1.00)	(6)	(1.00)	iso-Amyl alcohol	(1.00)

このように、無晒区と水晒区のガスクロパターンは、全般に無晒区の方のピークが大きいだけで極めて類似している。

同定された成分はもっとも大きいピークのアセトアルデヒドと、それにプロピオンアルデヒド、それからノルマルブチルアルデヒドかイソバレルアルデヒドあるいはメチルエチルケトンと思われるもの、およびカプロアルデヒドの4成分で、その他に無晒区2成分、水晒区1成分が同定されずに残った。

3. 酸性成分

結果は Fig. 3-(1) に示すとおりである。

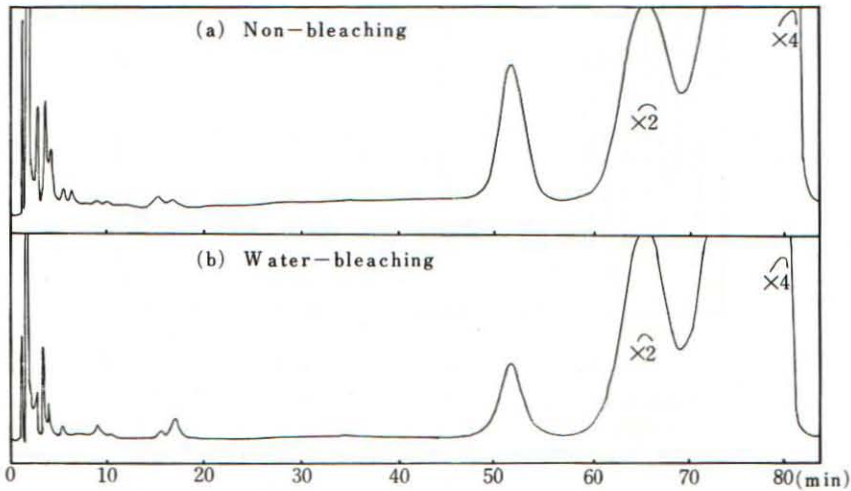


Fig. 3-(1). GLC of acidic fraction.

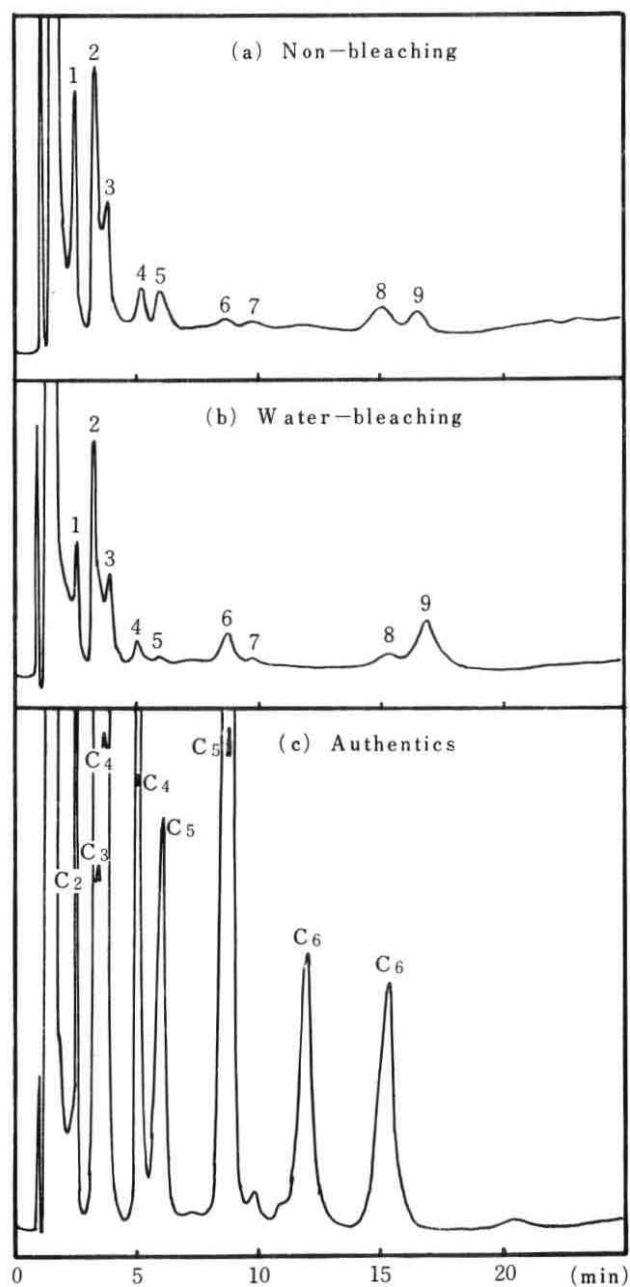


Fig. 3-(2) GLC of acidic fraction.

Column: 3m×3mm stainless steel tube packed with 10% PEG 6000 on 60-80 mesh Shimalite W. Column temp.: 80°. Detector: TCD. Carrier gas: He at 20 ml/min.

酸性成分も無晒区、水晒区ともそのパターンはよく類似している。ここで注目されるのは比較的高沸点部の3つの大きなピークで、ともに独特の刺激臭をもっていた。

まず、成分同定のため、標品脂肪酸メチルエステルのガスクロ結果と比較すると Fig. 3-(2) のとおりで、これをノルマル酪酸を基準に t_R を求めると Table 2 のとおりである。

Table 2. t_R of acidic fraction

Non-bleaching		Water-bleaching		Authentics	
Peak No.	t_R	Peak No.	t_R	Name	t_R
1	0.49	1	0.48	Acetic	0.49
2	0.64	2	0.63	Propionic	0.68
3	0.74	3	0.74	iso-Butyric	0.73
4	1.00	4	1.00	n-Butyric	1.00
5	1.18	5	1.17	iso-Valeric	1.18
6	1.70	6	1.70	n-Valeric	1.71
7	1.93	7	1.92	iso-Caproic	2.34
8	3.00	8	3.00	n-Caproic	2.99
9	3.28	9	3.27		

このように、酢酸、イソ酪酸、ノルマル酪酸、イソ吉草酸、ノルマル吉草酸およびノルマルカプロン酸の6成分が同定され、ピーク番号2, 7, 9と高沸点部の3成分が同定されずに残った。

高沸点部の大きな3成分が果してスケトウダラ肉に由来するのか、あるいは添加物に由来するのかを知るため、試料としたかまぼこの調製のさい用いた添加物の中で臭気成分に影響すると思われる防腐剤について、水蒸気蒸留により酸性成分を分離し、メチル化後、ガスクロ分析に供した。

その結果は Fig. 4 のとおりで、大きなピークの中のもっとも大きい最後のピークは防腐剤に由来することを示している。この部分に分取し、Nujol 法により赤外スペクトルを調べたのが Fig. 5 である。

このように、酸性成分の高沸点部におけるもっとも大きいピークは添加した防腐剤中のソルビン酸であることがわかる。

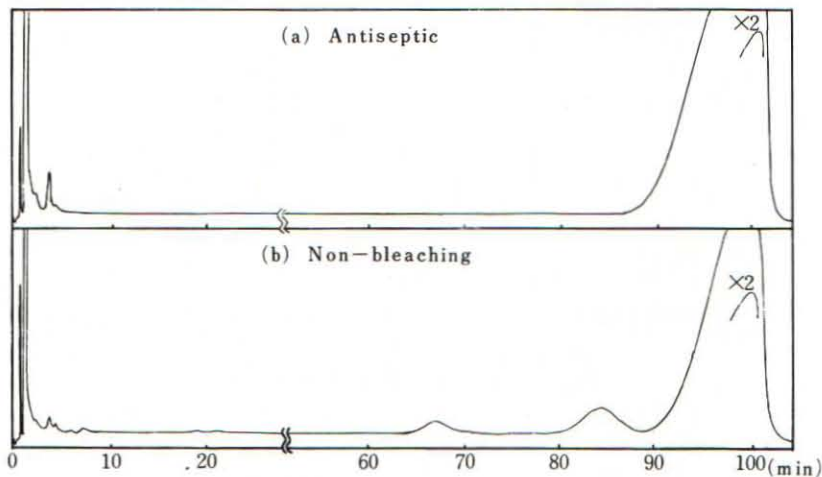


Fig. 4. GLC of acidic fraction in the antiseptic.

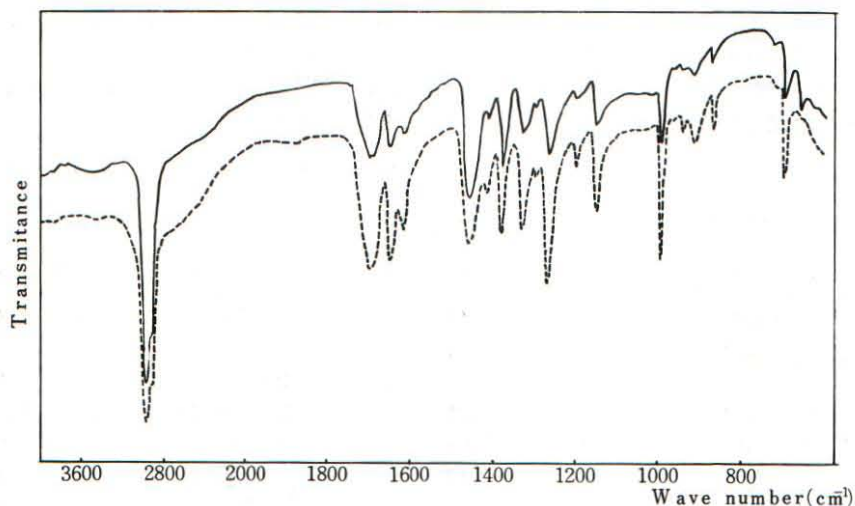


Fig. 5. IR spectra of authentic sorbic acid and acid fraction in the antiseptic. The solid line indicates authentic sorbic acid and the dotted line indicates the antiseptic.

4. 塩基性成分

得られた結果は Fig. 6 のとおりである。

成分同定のため、その t_R をトリメチルアミンを基準に求めると、Table 3 が得られる。

このように、無晒区と水晒区の各ピークは量比の違いはあるが、成分的には全く差異はなく、トリメチルアミン、ジメチルアミン、モノメチルアミンおよびアンモニアが同定された。

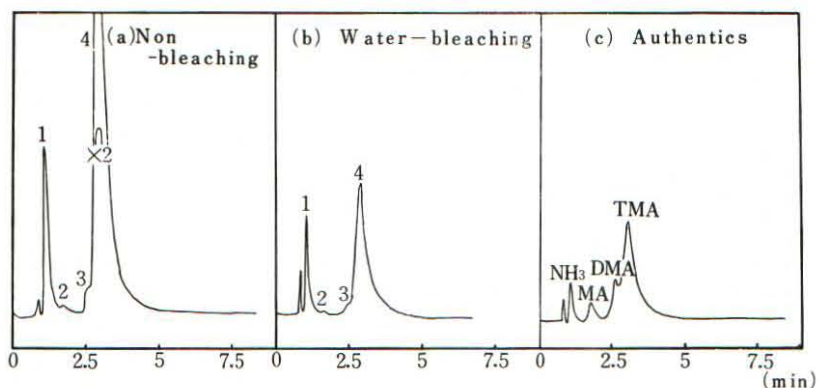


Fig. 6. GLC of volatile basic fraction.

Column : 2m×3mm stainless steel tube packed with 20% Squalane and 2.5% Glycerol on 60-80 mesh Diasolid L. (2.5% KOH). Column temp. : 40°. Detector : TCD. Carrier gas : N₂ at 15 ml/min.

Table 3. t_R of volatile base fraction

Non-bleaching		Water-bleaching		Authentics	
Peak No.	t_R	Peak No.	t_R	Name	t_R
1	0.36	1	0.36	Ammonia	0.36
2	0.57	2	0.57	Methylamine	0.57
3	0.87	3	0.87	Dimethylamine	0.87
4	1.00	4	1.00	Trimethylamine	1.00

考 察

試料とした包装かまぼこの臭いは、官能的には無晒区と水晒区とも独特な刺激的悪臭があり、無晒区ではその上にアミン臭が強かった。このことは各臭気画分のガスクロ分析の結果も良く示している。すなわち各臭気成分とも全般に水晒区に少なく、水晒により除去されるようだが、その度合は塩基性成分に特に顕著で、酸性成分は割合少ない。両区に共通の刺激的悪臭には酸性成分、とくにその中でも高沸点部の3つのピークが関与していると思われる。このうちの最大のピークは防腐剤として添加したソルビン酸に由来することが分った。他の2成分については今後の検討をまたねばならないが、これらはスケトウダラ肉に由来するかあるいはスケトウダラ成分と添加物から二次的に生じたものと推測される。

凍乾スケトウダラの臭気成分と比較すると、低級脂肪酸成分あるいは塩基性成分には量比の点を除けば大きな差異はみられないが、カルボニル成分、特に凍乾スケトウダラ悪臭の特徴といわれるイソパレルアルデヒドおよび中性成分と推定される2成分はかまぼこにはほとんど認められなかった。

要 約

スケトウダラを原料とする包装かまぼこを調製し、この臭気成分をガスクロ分析し、次の結果を得た。

1. 製造工程中の水晒操作は、かまぼこ臭気成分の量的変化をもたらすが、質的变化をもたらさない。
2. かまぼこ臭気成分として、カルボニル4種、酸性成分7種、塩基性成分4種、計15成分を同定した。
3. 包装かまぼこ特有の臭いは酸性成分、特にその高沸点部の防腐剤ソルビン酸を含む3成分によりもたらされると推察された。

文 献

- 1) 西堀・笠原・田元 (1973) : 昭和48年度日本水産学会春季大会講演要旨

リシリコンブの天然における雌性配偶体および幼体の形態

金子 孝

稚内の水深0.3~1mのコンブ礁で採集したリシリコンブの雌性配偶体と、1ミリ以下の幼体について形態学的に研究した。天然における本種の雌性配偶体と造胞体発達の初期形態を細胞数との関係で確めた。形態学的特徴は KANDA(1946)の結果とかなりよく一致した。また細胞数は造胞体の葉長と比例的関係があり、造胞体の葉長と葉幅の相関関係は $+0.968$ と高い値を示した。

1972年2月調査

A78 北水試報(15) 1-8 1973

ホタテガイ *Patinopecten yessoensis* (JAY) の生態に関する研究 第2報 軟体部肥満の周年変化について

丸 邦義・小原昭雄

貝類は殻の成長と軟体部の肥満が両者相互に関連し合って成長するもので、3~5年貝が肥満度高く、一般には3月から5月上旬に最高、8~9月が最低を示す。軟体部位指数は多套膜では5月上旬と7月下旬に高く、6月と8~9月に低い値を示す。内臓塊は5月上旬最高値、生殖巣は5月に最高値で7~9月最低値を示し、その変動は他の部位よりも大きい。また、生殖巣の成長段階は、未熟、濾胞、成長、成熟、放出の5期に分かれている。

A80 北水試報(15) 23-32 1973

エゾバフンウニの漁業生物学的研究

川村 一 広

エゾバフンウニの自然個体群の生活と資源の動態を、北海道各地のウニ漁場で研究した。ウニの発育過程は浮遊期と底生期に大きく二分され、発育と成長、生殖巣の質・量変化、食物摂取、生活領域、減耗などの生活内容は発育過程に従って変化している。ウニ個体群の数量は漁場により変化が著しいが、その水準を規定する主要因としては、添加群となる幼稚仔の数量、成長の速度、漁獲死亡などがあげられる。

A82 北水試報(16) 1-54 1973

余市沿岸フゴッペ岬におけるスサビノリの生態

船 野 隆

スサビノリの生態調査を1969年2月から7月にかけて行い次の結果を得た。アマノリのうち、スサビノリ、ウップルイノリ、オオノノリが出現しており、3月に最大の面積となり4月にかけて繁殖する。調査区の固定枠(50 cm²)の7枠中5枠にアマノリが出現し、うち3枠は4月初旬に最高の密度となった。固定枠に出現したおもなものは、緑藻類5種、褐藻類3種、紅藻類38種で、着生層が幅広く、繁殖期に優占するものはエゾヒトエグサとウスバアオノリで、着生層は狭いが長期優占するのがテングサの一種クロフノリ、フジマツモであった。スサビノリが着生している潮間帯と飛沫帯についてみると、その密度は潮間帯の方が約3倍で生長や末枯れが著しく葉体も細長い。また単胞子嚢の形成も潮間帯が著しい。一方、精子嚢や囊果の形成については飛沫帯の方が早い。

A79 北水試報(15) 9-22 1973

ホタテガイ *Patinopecten yessoensis* (JAY) の生態に関する研究 第3報 ホタテガイ幼生の昼夜による垂直分布について

丸 邦義・小原昭雄・菊地和夫・桶作博之

サロマ湖内で24時間にわたりホタテガイ幼生の定量採集を行い、幼生の垂直分布、移動など生態の一部について若干の知見を得た(1968, '69年実施)。ホタテガイ幼生は、日中は下層に、夜間は表面付近に移動する。各発育段階ごとの幼生は、各層に、また昼夜にかかわらず等分に分布している。産卵はほとんど同時に行われているものと思われる。垂直分布の主要因は潮汐と密接な関連があり、上げ潮時に逸散し、下げ潮時には集中しやすい。

A81 北水試報(15) 33-52 1973

ホタテガイ貝がら中におけるスサビノリ糸状体の殻胞子放出と生長の経年変化について

垣内政宏・辻 寧昭

ホタテガイ貝がらを基質とし、1cm² 当り約10個の果胞子付けをしたスサビノリ糸状体の生長と殻胞子放出を5年間継続調査した結果、糸状体は約1年で貝がらを貫通しその両面で密に生長した。殻胞子の放出は5年間みられたが、4年以上になると放出数が減少し、その周期も不規則となる。また、古い糸状体ほど殻胞子の放出は、培養中の環境条件の影響を受けやすい傾向を示すが、適切な培養を行えば3年間は人工採苗に使用可能なことがわかった。

A83 北水試報(16) 55-67 1973

テトラゾリウム・オキシダーゼの多型現象によるスケトウダラ繁殖群についての集団遺伝学的研究

岩田 宗彦

漁業対象種の種内集団での交配様式が非選択的に行われているかぎり、その資源の再生産単位は遺伝子給源を共有している種個体群と考えられる。そこで日本近海からベーリング海東部までの広い水域から集めた16標本のスケトウダラのテトラゾリウム・オキシダーゼを支配する遺伝子座の2種類の対立遺伝子の頻度を電気泳動を用いたツアイモグラム法により求め、日本近海とベーリング海とに生息する個体群間では再生産を異にしていると考えられる結果を得た。

A84 北水試報 (17) 1-9 1975

スケトウダラ臭に関する研究 第1報 包装かまぼこのカルボニル部、酸性部および塩基性部中の臭気成分の同定

中村全良・田元 馨・笠原賀代子・西堀幸吉

スケトウダラを原料とする包装かまぼこの臭気成分をガスクロ分析し、次の結果を得た。

1. 製造工程中の水晒操作により、かまぼこ臭気成分の量的変化はあるが、質的变化はない。
2. かまぼこ臭気成分としてカルボニル4種、酸性成分7種、塩基性成分4種、計15成分を同定した。
3. 包装かまぼこ特有の臭いは、酸性成分、とくに、その高沸点部の防腐剤ソルビン酸を含む3成分によりもたらされると推察された。

A86 北水試報 (17) 19-27 1975

リシリコンブの生理学的研究 幼体の光合成と呼吸に及ぼす温度、光および塩分の影響について

新原 義昭

コンブの生長ならびに分布を規制しているのは、水温、光、塩分濃度および栄養類などが考えられる。このための生育要因を知る目的で培養したリシリコンブの幼体を使用し、光合成と呼吸を測定することにより、照度、水温、塩分濃度の影響と生長に伴う光合成の変化について試験した。その結果、光合成の最高値は照度10 k lux で水温10°Cの時に示された。水温15°Cにおける補償点照度は130 luxであり、10 k luxで光飽和に達した。また、1年目コンブから由来した幼体の光合成値は、2年目コンブから由来した幼体の値と比較して若干高かった。

A85 北水試報 (17) 11-17 1975

北海道立水産試験場

北海道立中央水産試験場 (Hokkaido Central Fisheries Experimental Station)	046 余市郡余市町 (Yoichi, Hokkaido, Japan)
北海道立中央水産試験場有珠分場 (Usu Branch, Hokkaido Central Fisheries Experimental Station)	059-01 伊達市有珠町 (Usu, Date, Hokkaido, Japan)
北海道立函館水産試験場 (Hokkaido Hakodate Fisheries Experimental Station)	042 函館市湯ノ川 1-2 (Yunokawa, Hakodate, Hokkaido, Japan)
北海道立函館水産試験場室蘭分場 (Muroran Branch, Hokkaido Hakodate Fisheries Experimental Station)	051 室蘭市舟見町 1-10 (Funamicho, Muroran, Hokkaido, Japan)
北海道立釧路水産試験場 (Hokkaido Kushiro Fisheries Experimental Station)	085 釧路市浜町 2-6 (Hamacho, Kushiro, Hokkaido, Japan)
北海道立網走水産試験場 (Hokkaido Abashiri Fisheries Experimental Station)	099-31 網走市鱒浦 31 (Masuura, Abashiri, Hokkaido, Japan)
北海道立網走水産試験場紋別分場 (Monbetsu Branch, Hokkaido Abashiri Fisheries Experimental Station)	094 紋別市港町 5 (Minatomachi, Monbetsu, Hokkaido, Japan)
北海道立網走水産試験場サロマ分場 (Saroma Branch, Hokkaido Abashiri Fisheries Experimental Station)	093-02 常呂郡常呂町栄浦 (Sakaeura, Tokoro, Hokkaido, Japan)
北海道立稚内水産試験場 (Hokkaido Wakkanai Fisheries Experimental Station)	097 稚内市宝来 4-5-4 (Horai, Wakkanai, Hokkaido, Japan)
北海道立栽培漁業総合センター (Hokkaido Marine Cultivation Center)	041-14 茅部郡鹿部村 (Shikabe, Hokkaido, Japan)

昭和50年1月25日印刷

昭和50年1月31日発行

編集兼
発行者 北海道立中央水産試験場
北海道余市郡余市町

印刷者 山 藤 邦 男

印刷所 山藤印刷株式会社
札幌市大通西6丁目