

富浦湾養殖ハマチより分離された *Streptococcus* 属について

村田 靖彦

緒 言

連鎖球菌症は現在類結節症とともに養殖ハマチに大きな被害を与え、1974年頃から全国的に流行している。本県はハマチ養殖の歴史が浅く、その経営体も少ないが、1975年に鋸南町勝山で初めて本症がみられた。又富浦町では、養殖2年目の1977年10月にかなりの被害があった。

これら病魚の診断はまず病徴観察からはじまるが、

細菌性疾病の場合には、出来るだけ早く、その病原菌の鑑別と薬剤感受性試験を行ない投薬等の指導をしなければならぬ。また、菌の詳細な性状を知ることは予防、防疫を考えるために重要なことである。

そこで、1977年10月に千葉県富浦湾養殖場(図1)ハマチの病魚から分離した *Streptococcus* 属の性状について調べその類似菌や他の流行地のそれと比較検討したので、ここに報告する。

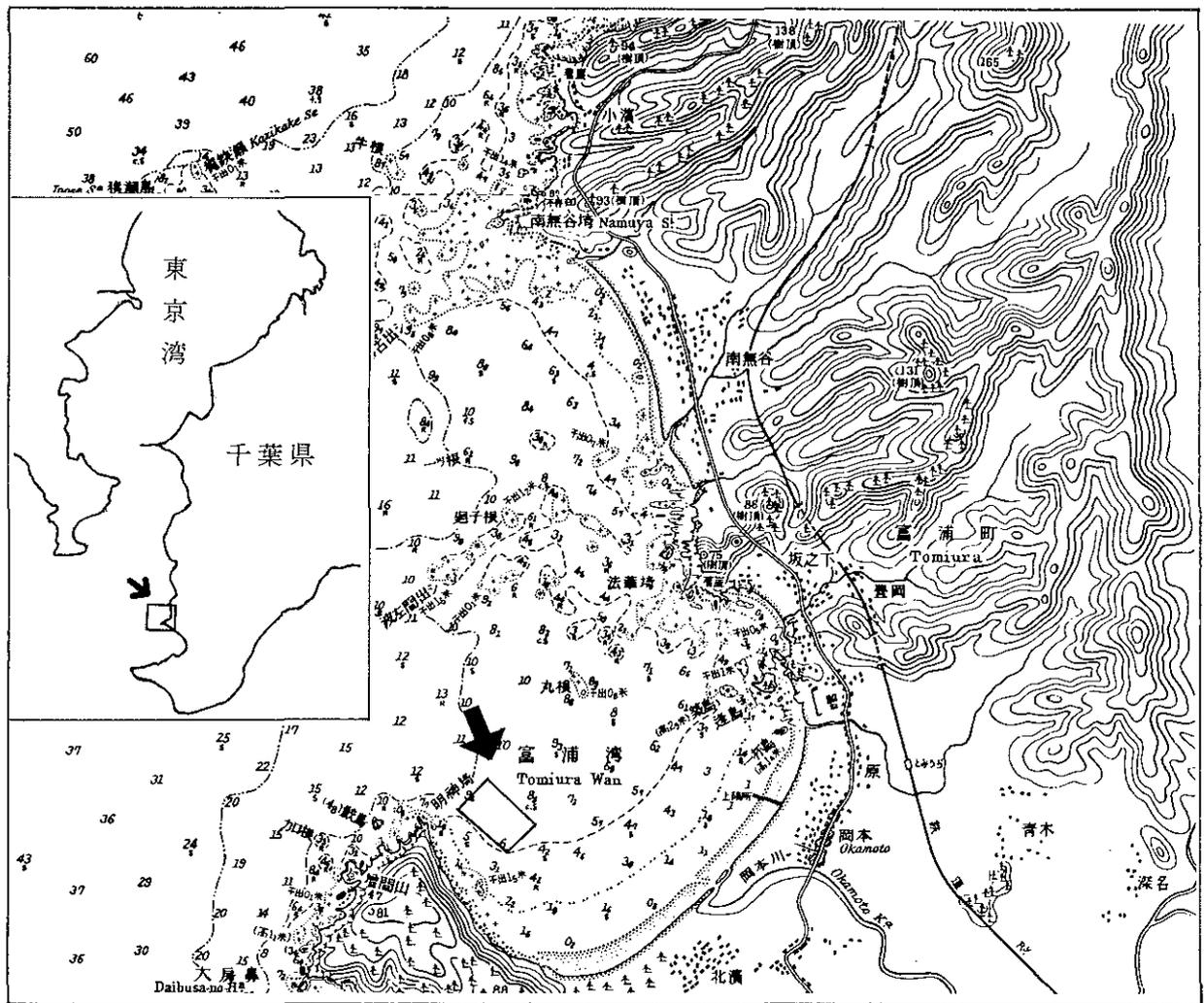


図1 富浦湾のハマチ養殖場の位置

材料及び方法

供試魚：1977年10月27日千葉県富浦湾養殖場ハマチの二年魚3尾，当才魚5尾を材料とし病徴を観察した後，BHI agar（日水）で各臓器から菌の分離を行なった。

形態学的性状：グラム染色性は Hucker の変法及び劉鑑別法で行ない，形態観察は Loeffler の Methylene Blue 染色で行なった。運動性は，SIM 培地（栄研）及び懸滴標本で観察した。また，芽胞染色は，Moeller の変法で行なった。

生物学的性状：

1) 各培地での発育

BHI agar（日水），Nutrient agar（日水），Mac-Conkey agar（日水），SS agar（日水），BTB Tee-pol agar（日水），Ogawa Medium（日水），Endo agar（栄研），EF agar（日水），PEA agar（日水），および SF broth（日水）をそれぞれ使用し，その発育を調べた。又 blood agar には羊面脱線維血液，Bile agar には牛生血清，MB milk には，新鮮全乳を用いた。

2) 各種温度での発育

分離菌をブイオン（極東）に接種し，各温度（5℃～40℃）で24 hr. 培養し660 nm の吸光度を求めた。

3) 各種 pHでの発育

各 pH（4～10）のブイオン（日水）で25℃ 24 hr. 培養し 660 nm の吸光度を求めた。

4) 各種塩分濃度での発育

ペプトン（Difco），肉エキス（極東）を用い，各塩分濃度（0～6%）を調整し，25℃ 48 hr. 培養後 660 nm の吸光度を求めた。

5) 熱耐性及び pH 9.6での発育

熱耐性は60℃ 30 min. の耐性を，pH 9.6での発育には，ブドウ糖フェノールフタレインブイオンを使用した。

生化学的性状：Cytochrome oxidase には Kovács 法，Hugh-Leifson test には，Hugh-Leifson 培地（栄研），Indole は Indole 産生試験用口紙（日水），MR test には VP-MR 培地（栄研），VP reaction は，VP 半流動培地（栄研），Citrate utilization はシモンズ・クエン酸寒天（栄研），硫化水素産生は，SIM 培地（栄研）をそれぞれ用いた。又，硝酸塩還元は硝酸塩寒天，尿素利用は尿素培地（日水），胆汁溶解性は牛血清ブイオンを使用した。そして，チロシン溶解はチロシン寒天，ゼラチン液化はゼラチン寒天，デンプン分解はデンプン寒天，馬尿酸分解は Hare &

Colebrook の法，エスクリン分解は，エスクリンブイオン，そしてアルギニン分解にはアルギニンブイオンを用いた。リジン脱炭酸はリジン脱炭酸試験用培地（日水），アルギニン脱炭酸は Müller の方法で行なった。糖の分解性は糖分解用半流動培地（栄研）に各種糖類を1%に調整して行なった。

これらの性状検査のほとんどは，Cowan & Steel¹⁾（1974）の Manual および Harrigan et al.²⁾（1976）の Laboratory Methods によって行なった。

薬剤感受性試験：感受性はディスク法と平板希釈法を行なった。ディスク感受性試験は昭和1濃度ディスクで，感性ディスク用培地（日水）を用いて行なった。平板希釈法は日本化学療法学会標準法により最少阻止濃度を求めた。MIC で使用した薬剤は，塩酸テトラサイクリン，硫酸ストレプトマイシンである。

結果

病徴および菌の分離状態：この結果は表1に示した。

Streptococcus 属が分離された病魚は健康群から離れ浮上して遊泳し，外見的症状は，眼球突出，眼球白濁，腹部発赤，尾鳍発赤，尾柄発赤がみられたが，鳃蓋内側は特に異常なく，内臓諸器管にも異常はみられなかった。又この菌は特に眼，腎臓，心臓に多くみられた。

各種温度での発育：この結果は図-2に示した。すべての株で同じ傾向を示し，25℃で最もよく発育し，15℃以下の発育は悪かったが，30～40℃でもかなりの発育を示した。

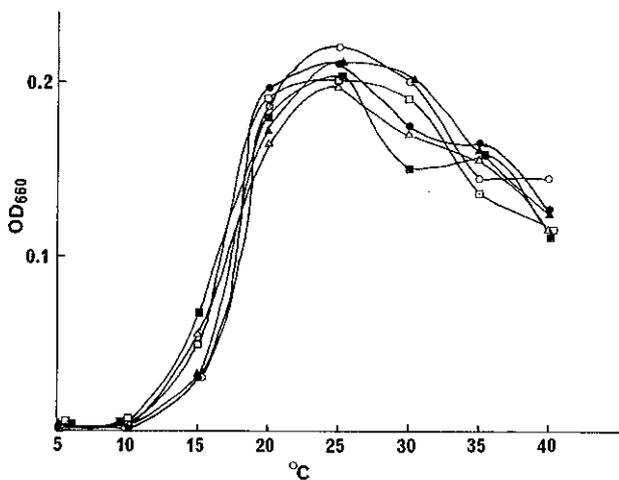


図2 分離菌の各種温度での発育 (△: T-1, ●: T-2, ▲: T-3, ○: T-4, ■: T-5, □: T-6)

各種 pH での発育：この結果は図-3 に示した。すべての株で同じ傾向を示し、pH 5 ~ pH 9 でかなりの発育がみられた。

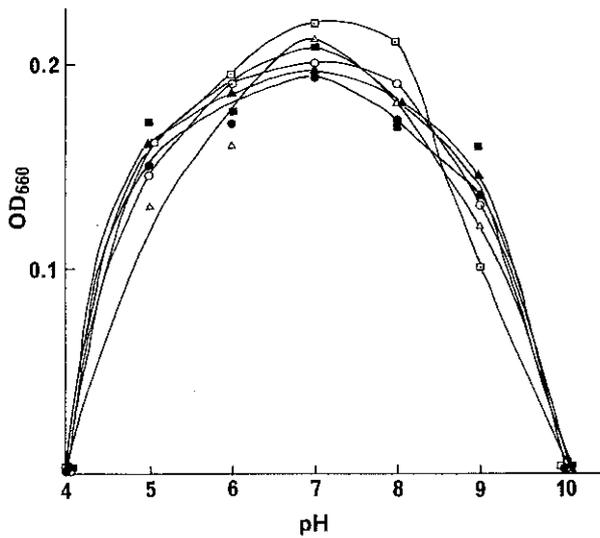


図3 分離菌の各PHでの発育 (△: T-1、●: T-2、▲: T-3、○: T-4、■: T-5、□: T-6)

各種塩分濃度での発育：この結果は図-4 に示した。値のバラツキがみられたが、傾向としては、すべて塩分濃度が低い程発育がよかった。

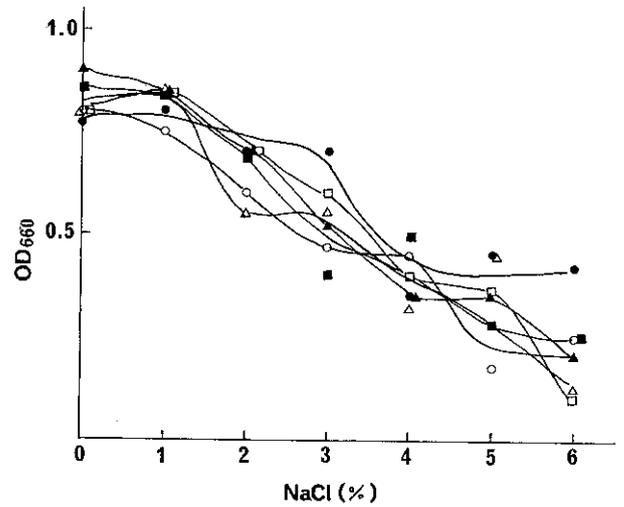


図4 分離菌の各塩分濃度での発育 (△: T-1、●: T-2、▲: T-3、○: T-4、■: T-5、□: T-6)

表1 病魚の外部所見および菌の分離状況

No.	体重	全長	遊泳状態	外見的症狀	菌の分離状況
1	2.7 kg	66.2 cm	群から離れ遊泳が弱い。	下顎、臀鳍、腹部発赤	肝臓 — 腎臓 — 脾臓 — 心臓 —
2	3.1	64.3	同 上	左眼球突出、眼球白濁、腹部、臀鳍発赤	肝臓 ビブリオ様菌, Streptococcus sp. (T-1) 心臓 Streptococcus sp. (T-2) 脾臓 ビブリオ様菌 腎臓 Streptococcus sp. (T-3) 眼 Streptococcus sp. (T-4)
3	3.2	63.1	同 上	眼球白濁、下顎、臀鳍、尾柄発赤、ベネデニア寄生	肝臓 — 心臓 Streptococcus sp. (T-5) 脾臓 ビブリオ様菌 腎臓 — 眼 Streptococcus sp. (T-6) ビブリオ様菌
4	300 g	31.4	同 上	下顎、腹部、臀鳍、尾柄、背鳍発赤、鳃蓋内側充血	肝臓 ビブリオ様菌 心臓 ♪ 脾臓 ♪ 腎臓 ♪
5	290	37.0	同 上	下顎、腹部、臀鳍発赤、眼球白濁、鳃蓋内側充血	肝臓 ♪ 心臓 ♪ 脾臓 ♪ 腎臓 ♪
6	480	34.7	正 常	下顎、尾鳍、腹部発赤	肝臓 — 心臓 — 脾臓 — 腎臓 —
7	260	27.4	同 上	腹部、尾柄やや発赤、ベネデニア寄生	肝臓 — 心臓 — 脾臓 — 腎臓 —
8	590	36.1	同 上	腹部、尾柄、下顎やや発赤、ベネデニア寄生	肝臓 — 心臓 — 脾臓 — 腎臓 —

形態学的性状：この結果は表-2に示した。グラム染色性は、Hucker 変法ですべて陽性，劉鑑別でも陽性を示した。Methylene Blue 染色での観察ではすべて長連鎖状球菌でその大きさは約0.7 μmであった。又、芽胞は観察されなかった。

各種培地での発育：この結果は表-2に示した。すべての株で同じ結果で、BHI agar, Blood agar, Nutrient agar, Ogawa medium, Endo agar, 10% Bile agar, 40% Bile agar, EF agar, PEA agar, 0.1% MB milk, 10℃, 45℃, 6.5% NaCl, pH 9.6ではそれぞれ陽性で、MacConkey agar, SS agar, BTB Tee-pol agar, SF broth で陰性であった。又blood agarでの溶血性は、羊面血液を用いたためか判然としなかった。

生化学的性状：結果は表-3に示した。すなわち分離菌はすべて、Hugh-Leifson test で醗酵、MR test, VP reaction, PT test でそれぞれ陽性、Catalase, Cytochrome oxydase, Indole, Citrate utilization, H₂S production, casein digestion, Litmus milk, Nitrate, Urease, MB reduction, Gluconate, Bile dissolutionはそれぞれ陰性であった。加水分解では、Esculin, Arginineが陽性、Gelatin, Starch, Tyrosin, Hippurateで陰性であった。

糖の分解：この結果は表-4に示した。すなわち

表3 分離菌の生化学的性状

Characters	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5	T-6
Catalase	-	-	-	-	-	-
Cytochrome oxidase	-	-	-	-	-	-
Hugh-Leifson test	F	F	F	F	F	F
Indole	-	-	-	-	-	-
MR test	+	+	+	+	+	+
VP reaction	+	+	+	+	+	+
Citrate utilization	-	-	-	-	-	-
H ₂ S	-	-	-	-	-	-
Casein digestion	-	-	-	-	-	-
Litmus milk	+	+	+	+	+	+
Nitrate	-	-	-	-	-	-
Urease	-	-	-	-	-	-
MB reduction	-	-	-	-	-	-
Gluconate	-	-	-	-	-	-
Bile dissolution	-	-	-	-	-	-
PT test (0.03%)	+	+	+	+	+	+
TTC test	+	+	+	+	+	+
Hydrolysis of:						
Gelatin	-	-	-	-	-	-
Starch	-	-	-	-	-	-
Tyrosin	-	-	-	-	-	-
Hippurate	-	-	-	-	-	-
Esculin	+	+	+	+	+	+
Arginine	+	+	+	+	+	+
Decarboxylation of:						
Lisine	-	-	-	-	-	-
Arginine	+	+	+	+	+	+
Ornithine	-	-	-	-	-	-

F: 醗酵

表2 分離菌の形態及び各種培地での発育

Test	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5	T-6
Cell form	S	S	S	S	S	S
Size	約0.7 μm					
Gram	+	+	+	+	+	+
Motility	-	-	-	-	-	-
Growth on:						
BHI agar	+	+	+	+	+	+
Blood agar	+	+	+	+	+	+
Nutrient agar	+	+	+	+	+	+
MacConkey agar	-	-	-	-	-	-
SS agar	-	-	-	-	-	-
BTB Teepol agar	-	-	-	-	-	-
Ogawa medium	+	+	+	+	+	+
Endo agar	+	+	+	+	+	+
10% Bile agar	+	+	+	+	+	+
40% Bile agar	+	+	+	+	+	+
EF agar	r	r	r	r	r	r
PEA agar	+	+	+	+	+	+
Growth in:						
0.1% MB milk	+	+	+	+	+	+
SF broth	-	-	-	-	-	-
Growth at:						
10℃	+	+	+	+	+	+
45℃	+	+	+	+	+	+
6.5% NaCl	+	+	+	+	+	+
pH 9.6	+	+	+	+	+	+

r : 赤色, S : 球状

表4 分離菌の各種糖類の利用性

	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5	T-6
Gas from carbohydrates	-	-	-	-	-	-
Acid from:						
Arabinose	-	-	-	-	-	-
Xylose	-	-	-	-	-	-
Rhamnose	-	-	-	-	-	-
Glucose	+	+	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+
Cellobiose	+	+	+	+	+	+
Lactose	-	-	-	-	-	-
Sucrose	-	-	-	-	-	-
Trehalose	+	+	+	+	+	+
Melibiose	-	-	-	-	-	-
Starch	-	-	-	-	-	-
Dextrin	+	+	+	+	+	+
Raffinose	-	-	-	-	-	-
Melezitose	-	-	-	-	-	-
Glycogen	-	-	-	-	-	-
Mannitol	+	+	+	+	+	+
Glycerol	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-
Salicin	+	+	+	+	+	+
Esculin	+	+	+	+	+	+
Inositol	-	-	-	-	-	-
Dulcitol	-	-	-	-	-	-
Adonitol	-	-	-	-	-	-

Glucose, Mannose, Galactose, Maltose, Cellobiose, Trehalose, Dextrin, Mannitol, Salicin, Esculinでそれぞれ陽性, Arabinose, Xylose, Rhamnose, Lactose, Sucrose, Melibiose, Starch, Raffinose, Melezitose, Glycogen, Glycerol, Sorbitol, Inositol, Dulcitol, Adonitol, でそれぞれ陰性であった。

薬剤感受性：この結果は、表-5~6に示した。Optochin, Bacitracin はすべて陰性, その他のディスクでは、特に、Tetracycline, Oxytetracycline, Demethylchlortetracycline にそれぞれ強い感受性を示した。最少阻止濃度は、Tetracycline で 0.4 mcg, Streptomycin で 100<mcg であった。

表5 分離菌のオプトヒン, バシトラシンに対する感受性

Strain	Optochin	Bacitracin
T-1	—	—
T-2	—	—
T-3	—	—
T-4	—	—
T-5	—	—
T-6	—	—

表6 分離菌の各種薬剤に対する感受性

Antibiotics	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5	T-6
Penicillin	+	+	+	+	+	+
Streptomycin	—	—	—	—	—	—
Kanamycin	+	+	+	+	+	+
Tetracycline	+	+	+	+	+	+
Chloramphenicol	+	+	+	+	+	+
Erythromycin	+	+	+	+	+	+
Leucomycin	+	+	+	+	+	+
Oleandomycin	+	+	+	+	+	+
Colistin	—	—	—	—	—	—
Sulfisoxazol	—	—	—	—	—	—
Oxytetracycline	+	+	+	+	+	+
Spiramycin	+	+	+	—	+	+
Novobiocin	+	+	+	+	+	+
Dihydroxymethylfatoridin	+	+	+	+	+	+
Polymyxin B	—	—	—	—	—	—
Sulfamonomethoxin	—	—	—	—	—	—
Sulfamethizole	—	—	—	—	—	—
Nalidixic acid	—	—	—	—	—	—
Lincomycin	+	+	+	+	+	+
Demethylchlortetracycline	+	+	+	+	+	+
Mynocycline	+	+	+	+	+	+

考察

Streptococcus 属の最少定義は Cowan (1974)¹⁾によれば、二連または連鎖状のグラム陽性球菌、典型的には、非運動性、無芽胞性、好気性、通気嫌気性、カタラーゼ陰性、オキシダーゼ陰性、糖を酵素的に分解するものである。このことから、今回の分離菌は、通気性の確認は行なわなかったが、*Streptococcus* 属に入ることはまちがいない。

次に、*Streptococcus* 属は、Buchanan & Gibbons

(1974)³⁾によると、4つのグループに分けられている。すなわち、第1のグループに入るものは、10℃あるいは45℃で発育しなくて、6.5% NaCl brothで発育しないし、pH 9.6あるいは0.1%メチレンブルーミルクでも発育しないもの。第2のグループに入るものは、10℃で発育しないが45℃で発育し、6.5% NaCl broth, pH 9.6あるいは0.1%メチレンブルーミルクで発育しない。第3のグループは、10℃と45℃で発育する。第4のグループは、45℃で発育せず、10℃で発育し、又

6.5% Nacl brothあるいはpH 9.6で発育しないが、0.1%メチレンブルーミルクで発育する。このことから本菌株は、この第3のグループに入る。

この第3グループはさらに3区分され、A区分は6.5% Nacl, pH 9.6, 0.1%メチレンブルーミルクで発育し、B区分は6.5% Nacl, pH 9.6で発育するが、0.1%メチレンブルーミルクで発育しない。C区分は、6.5% Nacl, pH 9.6, 0.1%メチレンブルーミルクで発育しないものとなっている。

したがって、本菌株は、6.5% Nacl, pH 9.6, 0.1%メチレンブルーミルクで発育することからA区分に入ってくる。そしてこの中に入っているものは、*Streptococcus faecalis* と *Streptococcus faecium* だけである。これら腸球菌に関しては、Deibel (1964)⁽⁴⁾, Barnes (1956)⁽⁵⁾, および橋本 (1964)⁽⁶⁾ に詳しく報告されており、楠田ら (1976)⁽⁷⁾ は、新魚病細菌としての *Streptococcus* 属をこれら、腸球菌 *S. faecalis*, *S. faecium* との類似菌であるとしている。

魚病としての *Streptococcus* 属に関する研究は、海産魚では、ハマチについての楠田ら (1976)⁽⁷⁾ に詳しいが、その他高知水試⁽⁸⁾, 和歌山水試⁽⁹⁾, 宮崎水試⁽¹⁰⁾ 等で当面の養殖の魚病被害の問題として報告がなされている。

Wilkinson (1973)⁽¹¹⁾ も魚類の *Streptococcus* をとりあげているが、10% Bile および 40% Bile に発育しない、r-溶血性としているほか、Plumb et al (1974)⁽¹²⁾ も数種の魚から分離しているが、これも r-溶血性であり分離菌と異なる。淡水魚では、Robinson et al (1966)⁽¹³⁾ が、r-溶血性の *Streptococcus* を、Hoshina et al (1958)⁽¹⁴⁾ はニジマスから、腸球菌 *S. faecalis* を分離している。

本菌株の性状と、これらの報告例をこの結果と比較すると、各種温度別における発育では、楠田ら⁽⁷⁾ とほぼ同じ傾向である。各 pH 別での発育でも彼等の Y T-5 とほとんど同じであるが、pH4 の発育に相異がみられる。塩分濃度別発育では、YT-3, YT-5 が4% から5% にかけて急激に低下しているのに対し、ここでの T-1 ~ T-6 では0% から直線的に低下して多少の相違はみられるが傾向としては、ほぼ同じとみてよい。又 Hoshina らの結果と比較すると、温度別では、15℃での発育で相異がみられる。pH の影響に関しては Hoshina らの *S. faecalis* の結果と異なり少しピークが酸性側によっており、pH 10 でかなりの発育がみられるのに対し本菌では発育がみられない。

薬剤感受性では、テトラサイクリン系のものに、非

表7 分離菌と類似菌の比較

Test	The isolates of Chiba pre. Fish. Sta. (T-1~T-6)	Kusuda's isolates (YT-3, YT-5)	The isolates of Wakayama F. S. (ws 19~28)	The isolates of Wakayama F. S. (ws 17~18)	Bergey's manual	
					<i>S. faecalis</i>	<i>S. faecium</i>
Hugh-Leifson test	F	F	F	—	F	F
VP reaction	+	+	+	—	+	+
EF agar	r	r	r	yr		
Growth at:						
10°C	+	+	+	—	+	+
45°C	+	+	+	—	+	+
6.5% NaCl	+	+	+	—	+	+
pH 9.6	+	+			+	+
40% Bile	+	+			—	—
0.04% PT	—	—			+	—
0.1% MB milk	+	+	+		+	+
Hydrolysis of:						
Starch	—	—	—	+	—	—
Hippurate	—					
Acid from:						
Lactose	—	—	—	+		
Sucrose	—	—	—	+		
Starch	—	—	—	+		
Glycerol	—	—	—	+	+	
Esculin	+	+	+	—		
Sorbitol	—	+	—	(+)	+	d
Decarboxylation of:						
Arginine	+	+	+	—	+	—
Litmas milk 60°C 30min.	+		d	—		

F: 醗酵, r: 赤色, yr: 黄赤色, d: 多様性, (): 弱い

常に高い感受性を示しており、このことは和歌山水試⁽⁹⁾の報告と一致する。Bacitracin, Optochin の感受性は陰性で、腸球菌 *S. faecalis* と同じである。このことは、Bacitracin は A 群 B 型溶血球菌と区別するのに用いられ、Optochin は肺炎球菌と区別するために用いられるので、当然の結果である。ちなみに、腸球菌類は Lancefield D 群に入っている。ここで溶血型についてふれると、楠田らはこのハマチ魚病菌を α 型としている。本試験では、血液寒天の発育状態をみると、羊面血液を用いたためか、溶血型の判別が出来なかったので、今後別の血液で確認しておく必要がある。

次に、今回の分離菌 T-1 ~ T-6 株と楠田らの YT-3, YT-5 株、和歌山水試の ws 19~28 株および ws 17~18, それに Bergey's manual の *S. faecalis*, *S. faecium* の性状をそれぞれの報告書から、引き出して比較してみると表 7 のようになる。T-1 ~ 6 と YT-3, 5 を比較した場合、Sorbitol 分解で異なる他は一致している。又 ws 19~28 との比較では、pH 9.6, 40% Bile でのデータがないが、Sorbitol 分解性も一致している。又、きわめて特異的な株 ws 17~18 が報告されているが、病原性があるということなので今後の調査で十分注目していく必要がある。

以上のことから今回千葉県内房海域の養殖ハマチから分離された菌株は、他県流行地で分離された *Streptococcus* とほぼ同一のものと考えられる。しかし、高知水試⁽¹⁰⁾では、分離株の培養的性状とタイプ分けを試みており、多少の性状のちがいから、グループ分けも可能のようである。今回は病原性の確認に関する実験も加えて行なう予定である。又これら病原性をもつ *Streptococcus* 属の由来や伝播については海泥中、種苗の保菌についてのわずかな研究があるにすぎず、これら感染機構の解明が急がれる。

要 約

- 1) 1977年10月千葉県富浦湾の養殖ハマチから、*Streptococcus* 属の分離を行なった。
- 2) これらの菌株の性状検査、薬剤感受性について試験を行なった。
- 3) その結果、他流行地の連鎖球菌症の病原菌とほぼ同一のものであることがわかった。

文 献

- 1) Cowan, S.T.: Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria, 2nd ed., Cambridge University press, London. (1974)
- 2) Harrigan, W.F. and Margaret E. McCance.:

Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology. Academic Press. (1976)

- 3) Buchanan, R.E. and N.E. Gibbons: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th ed., Williams and Wilkins, Baltimore. (1974)
- 4) Deibel, R.H.: The group D Streptococci, Bacteriological Reviews. Vol. 28. P.330~366. (1964)
- 5) Barnes, E.M.: Tetrazolium Reduction as a Means of Defferentiating *Streptococcus faecalis* from *Streptococcus faecium*. Journal gen. Microbiology, Vol. 14, 57~68. (1956)
- 6) 橋本秀夫: 腸球菌群の分類—特に *Str. faecium* 鑑別のための P T 試験と T T C 試験—メデアサークル Vol. 54, P. 163~168 (1964)
- 7) Riichi Kusuda, Kenji Kawai, Toshio Toyoshima and Isao Komatu.: A New Pathogenic Bacterium belonging to the Genus *Streptococcus*, Isolated from an Epizootic of Cultured Yellowtail. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. Vol. 42. P. 1345~1352. (1976)
- 8) 高知県水産試験場: 昭和51年度指定調査研究総合助成事業, 魚病研究 V. (1977)
- 9) 和歌山県水産試験場: 昭和51年度指定調査研究総合助成事業, 「病害研究」報告書 (プリの類結節症, ノカルデア症, 連鎖球菌症) (1977)
- 10) 宮崎県水産試験場: 「病害防除研究」昭和51年度指定調査研究総合助成事業 (プリの類結節症, ノカルデア症, 連鎖球菌症) (1977)
- 11) Wilkinson, H.W., Thacker, L.G. and R. R. Facklam: Nonhemolytic Group B Streptococci of Human, Bovine, and Ichthyic Origin. Infection and Immunity. Vol. 7, No.3 P. 496~498 (1973)
- 12) Plumb, J.A., Schanhte, J.H., Gaines, J.L., Peltier, W., and B. Carroll.: *Streptococcus* sp. from Marine Fishes along the Alabama and Northwest Florida Coast of the Gulf of Mexico. Transactions of the American Fisheries Society. No.2 P. 358~361 (1974)
- 13) Robinson, J.A. and F.P. Meyer: Streptococcal Fish Pathogen. Journal of Bacteriology. Vol. 92, No.2 P. 512 (1966)
- 14) Toshikazu Hoshina, Tokuo Sano and Yoshimasa Morimoto.: A Streptococcus Pathogenic

to Fish. Journal of the Tokyo University of
Fisheries, Vol. 44P. 57~68 (1958)