

水生放射菌類與養殖環境及魚體產生異味之關係

Aquatic Actinomycetes: Their Role in Causing Muddy Odor in Culturing Environment and Cultured Fishes

閻 立 平

東海大學食品科學系

前 言

很早以前人們就知道養殖環境中因有放射菌 (Actinomycetes) 之滋長而造成養殖池水及魚體帶有異味之問題。早在1929年 Adams⁽²⁾ 即指出埃及尼羅河河水中偶然發生之泥土味係由於水中之放射菌所產生之揮發性代謝物而引起。Thaysen^(3,6) 在1936年發表了第一篇關於魚體泥土味係由放射菌引起之報告，他指出在不列顛群島河流中之鱒魚有帶泥土味之現象，特別是在河岸邊長有半浸於水中蘆葦之污泥地區所捕獲者，而這些岸邊污泥中之放射菌含量也特別高，水域中之放射菌含量反而少，因此他認為具泥土味物質主要由放射菌在富含植物有機質及半浸於水中含有充份氧氣之河岸地區產生後，流入鄰近水域中，經魚體吸收後而造成魚體帶有泥土味。本省養殖魚類如風目魚、吳郭魚等於民國71年亦有發生帶泥土味影響其品質而產生嚴重滯銷問題，對養殖戶經濟損失頗大⁽¹⁾。除了前述之放射菌外，養殖環境中之藻類亦會產生泥土味之代謝物，本文乃針對放射菌與養殖環境及魚體發生異味之關係做一概括性介紹。

放 射 菌 之 簡 介

放射菌是一種被發現了有上百年歷史之微生物，在微生物之分類上屬於細菌的一種。據1974年出版之 *Bergey's Manual of Descriptive Bacteriology*⁽⁷⁾ 放射菌歸屬於第17綱 (Part 17-Actinomycetes and Related Microorganisms) 中之放射菌目 (Actinomycetales) 中，而根據 Goodfellow and Cross⁽¹³⁾ 之分類，將所有之放射菌分為50個屬。在1950年以前，微生物學家尚無法確定放射菌究屬細菌或真菌，後來由於其菌體微細構造，化學組成及原核性質等特性才確其在分類上之地位。

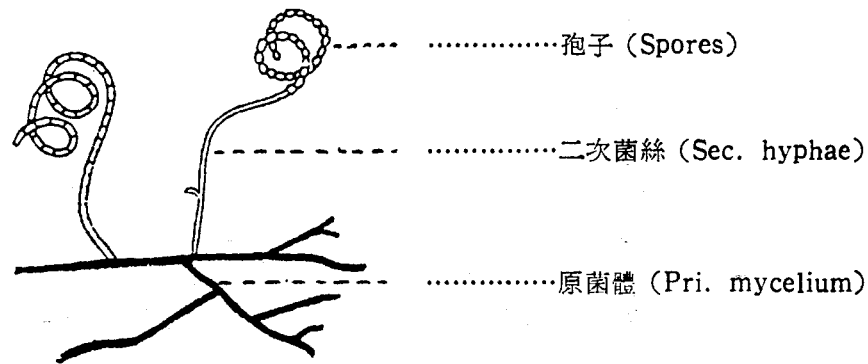
放射菌在形態上之特徵為其菌體常形成分枝狀或絲狀，在顯微鏡下觀察與真菌之菌絲很相近，有些並會形成氣生孢子，此點亦與真菌相似。

放射菌廣泛地存在自然界中，土壤及水中是最常存在之場所，此外如空氣及動植物體中亦可發現。有些土壤放射菌如 *Streptomyces* 屬，具有產生抗生素之能力，是對人類有益之微生物，但有些如 *Mycobacterium*, *Corynebacterium* 及 *Actinomyces* 屬則會成為造成疾病之病原菌，有些水生之放射菌則會產生具有異味之代謝物質，影響飲用水，養殖魚類甚或加工魚製品之品質。本文主要介紹之放射菌即為會產生異味代謝物之水生放射菌。

產異味水生放射菌之種類

水生放射菌 (Aquatic Actinomycetes) 係指可以從水中或有水之環境中分離出來之放射菌，其來源可能是絕對水生之放射菌亦可能為一些土壤中之放射菌經由天然或人為方式引入水中而生長⁽⁴⁾。常見之水生放射菌有 Actinomyces, Streptomyces, Micromonospora, Actinoplanes, Nocardia 等五個屬^(8,2)，其中以 Streptomyces 為最常見之產異味水生放射菌，其次為 Nocardia 屬及不歸屬於上述五屬之 Microbispora, Actinomadura 及 Nocardiopsis 等屬亦有報告指出會在水中產生異味⁽¹¹⁾。現就以 Streptomyces (鏈黴菌屬) 之特性作一簡介。

Streptomyces 廣泛地存在土壤中，在其整個生活史中大部份以休眠孢子之型式存在，在外界有適當之動植物腐殖質時，孢子萌發而形成分枝狀的菌體稱為原菌體 (Primary mycelium)，在氧氣充份情況下原菌體可再發展成為氣生性之二次菌絲 (Secondary or aerial hyphae)，而在此菌絲末端帶有成串之孢子 (圖一)。孢子可以不斷地被雨水沖入河流中或養殖池內而開始其水生之生活史。Streptomyces 之孢子可用薄膜過濾法 (membrane-filtration) 從水中⁽²²⁾ 或底土⁽³⁾ 中分離出來。



圖一：鏈黴菌 (Streptomyces sp.)

水中或養殖池土壤中孢子之數量並不代表養殖環境發生異味之程度，因為異味之產生乃由於孢子在發展成為二次菌絲時所產生之代謝物而來，所以如果孢子保持休眠狀況或僅萌發形成原菌體則不會有異味之問題⁽⁴⁾。

由放射菌產生之異味之化學性質

由放射菌產生之異味最常見者為泥土味，其它異味種類尚有草味、霉味、金屬味、石油味及酸敗味等⁽²⁰⁾。其化學性質主要有以下幾種：

1. Geosmin

為最常見之引起水質或魚體發生泥土味之物質。最初係由 Streptomyces odorifer 及 Streptomyces griseoluteus 之培養液中分離出來^(8,27)。其化性在1965年由 Gerber⁽¹²⁾ 等人用氣相層析法 (gas chromatography) 予以確定並予以定名。Geosmin 之 ge 為西臘文之「泥土」之意，osme 為「味道」之意。其分子式為 $C_{12}H_{22}O$ ，化學結構如圖二所示。為一種飽和環狀四級醇類，沸點約為 $254^{\circ}C$ 。在實驗室中可經由蒸餾 Streptomyces 之培養液，然後將蒸餾液經 methylene chloride 粹取而獲得⁽¹⁰⁾。經氣相層析純化後之 geosmin 為一種無色之液體。

發生泥土味之虹鱒⁽³⁹⁾、鼓眼魚 (walleye)⁽⁴⁰⁾ 之魚體經搗碎及高真空低溫 (high-vacuum low-temperature) 蒸餾, methylene chloride 粹取及氣相層析分析後, 證明泥土味之化學結構確與由 *Streptomyces* 所產生之 geosmin 相同。魚體味道閾值 (taste threshold concentration) 為 $0.6 \mu\text{g geosmin}/100 \text{g 魚肉}$ ⁽³⁹⁾。

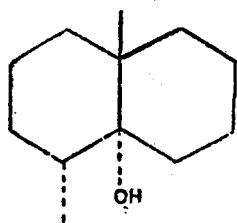
在發生泥土味之水中亦可分析出 geosmin, 其味道閾值由 0.05 ppb ⁽²³⁾ 到 0.2 ppb ⁽²⁸⁾。

可產生 geosmin 之放射菌除了 *Streptomyces* 屬外, 尚有 *Nocardia* 及 *Microbispora* 等屬⁽¹¹⁾。

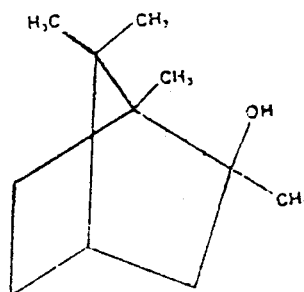
其它水生微生物如藻類之 *Symploca*,⁽²⁹⁾ *Oscillatoria*,⁽¹⁹⁾ *Anabaena*⁽⁷⁾ 等屬及水生真菌 *Basidiobolus*⁽⁷⁾ 等屬亦會產生 geosmin。

2. Methylisoborneol (MIB)

最初在1969年由 Medsker⁽²⁴⁾ 及 Gerber⁽⁹⁾ 等人從放射菌中分離出來。亦為一種環狀飽和四級醇 (圖三) 分子式為 $\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{O}$, 較 geosmin 更具揮發性, 沸點約在 210°C , 由氣相層析備製出來之 MIB 具有類似薄荷或薄荷醇的味道⁽¹¹⁾。



圖二：Geosmin



圖三：Methylisoborneol

在發生泥土味之水質或魚體中可經蒸餾、methylene chloride 粹取及氣相層析法分離出來⁽⁴⁰⁾。MIB 在水中之氣味閾值 (threshold-odor concentration) 為 $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 或 0.01 ppb ⁽³⁸⁾。

會產生 MIB 之放射菌亦多屬 *Streptomyces* 屬, 此外如 *Actinomadura* 及 *Nocardopsis* 屬亦會產生⁽¹¹⁾。藻類如 *Oscillatoria*, *Anabaena*⁽¹⁹⁾ 及 *Lyngbya*⁽³⁵⁾ 等屬亦會產生 MIB。

3. Isopropylmethoxypyrazine⁽¹¹⁾

亦為一種在高稀釋倍數下具有泥土味之物質, 其化學結構如圖四所示, 沸點約在 190°C 。

可產生此物質之放射菌屬 *Streptomyces* 屬, 在實驗室中可經蒸餾其培養液再以 Silica gel chromatography 及 thin layer chromatography 方法純化而得。其氣味閾值較 geosmin 及 MIB 為更低, 約在 0.002 ppb 。

4. Mucidone

亦為一種具有泥土味之物質, 最初由 Dougherty 及 Morris⁽⁶⁾ 在造成魚體產生泥土味之 *Streptomyces* 培養液, 經蒸餾及氣相層析分析後確定其構造並予以命名。分子式為 $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_2$ 化學結構如圖五所示, 其閾值較前述三種物質為高約為 3.3 ppb 。

5. 其它⁽¹¹⁾

尚有多種由水生 *Streptomyces* 屬產生之具泥土味腐敗味或木頭味之物質, 與前述四種不同處為

彼等之氣味閾值很高，即在高倍稀釋情況下會喪失其濃縮態時所具有之異味。這些物質如 5-methyl-3-haptanone, 1-phenyl-2-propanone, 2-phenylethanol, cadin-4-ene-1-ol 等。

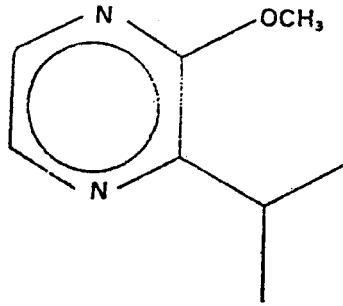


圖 四：Isopropylmethoxypyrazine

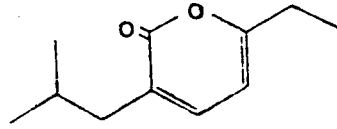


圖 五：mucidone

由放射菌引起異味之原因

1. 養殖環境之關係

(1) 養殖池內之有機質含量

許多報告指出養殖池內之有機質含量愈高則放射菌含量愈大，異味發生之程度也愈嚴重^(26, 27, 33)。因此在養殖池岸邊若緊鄰施有機肥之農田、養殖池岸密生什草或其它植物、池水受下水道污水或工業污水污染，飼料投置過多或不平均，以及本省養殖池之農牧綜合經營方式等，極可能造成養殖池內大量動植物性有機質之流入。而高有機質含量為放射菌孢子萌發產生 geosmin 及 MIB 等物質所必需之條件。Persson⁽²⁶⁾ 指出當水中之氮磷比 (N/P ratio) 在 7.4~9.1 範圍或總氮量 (mg/l) 在 1.61~2.00 範圍以上時會使得鯛 (Abramis brama) 魚體帶泥土味。此外，高有機質養分亦可造成養殖環境中藻類大量繁殖，而有些藻類如 Cladophora 屬⁽³⁴⁾ 可提供放射菌之養分及棲息場所。

(2) 溶氧量

除有機物外，養殖環境中之氧氣濃度亦為決定放射菌孢子萌發之重要條件。孢子在氧氣充足之情況下可萌發生長形成二次菌絲產生異味物質，在氧氣不足的情況下孢子無法萌發或僅形成原菌體，而不產生泥土味之代謝物⁽¹⁴⁾。

在養殖池岸由於水位上下波動，造成岸邊泥土處於一個潮濕且有氧之情況，非常利於孢子萌發與菌體生長，而在底土與水之界面區由於溶氧量低幾乎沒有放射菌之生長⁽⁴⁾。放射菌在水深 6~11 呎處生長較好，而在水深 40 呎以下幾乎不生長⁽³⁵⁾。因此，池水較淺之養殖池較池水較深之養殖池易發生池土味之問題。

(3) 溫度

一般而言，泥土味之發生多在溫度較高之夏秋雨季，養殖環境中 Streptomyces 孢子發芽形成二次菌絲之最低必需溫度為 15°C，而在 17°C 以上其所產生之泥土時物質方可從水中粹取出來⁽³⁶⁾。對大多數水生放射菌而言其最適合產生異味之溫度約在 25~30°C，溫度低於 7°C 則所有生長皆停止^(30, 32)。此與藻類 (Oscillatoria 屬) 在水中產生 MIB 之最適溫度 (~25°C) 亦相近⁽¹⁹⁾。

(4) 酸鹼度

放射菌較喜好在水質偏鹼性之情況下生長⁽³³⁾。

(5)光線

一般而言發生泥土味之養殖池水較不受到光線之影響^(11, 33)，亦即在清微與混濁之養殖環境皆會有異味之產生。實驗室中培養放射菌，無論在有光或無光之情況下皆會產生異味代謝物。

2. 魚體吸收水中異味物質之型式

將鱒魚或美國河鯰飼養在含有異味物質之環境中，魚體很快地會在幾天到十幾天的時間呈現泥土味^(21, 37)。魚體吸收溶於水中異味之方式有的報告指出乃由於經過魚鰓吸收，由血液運送至肌肉而蓄積⁽³⁷⁾，亦有報告指出消化管道亦為魚體經口吸收異味之主要場所⁽²¹⁾。一般而言異味物質無法由魚體表面直接吸收而進入肌肉。

養殖環境及魚體異味之防除

1. 養殖環境之改善

(1)養殖池中有機物質含量之控制

此為最重要之防除方法，可造成不利於放射菌產生異味之環境。例如：①池岸附近之水草、植物等應時常予以清除，最好能以水泥磚塊圍築池岸。②避免池水受到含高有機質污水之污染及過多牛豬家禽排泄物之流入。③養殖池應避免緊鄰農田，以免有機肥料流入池中。④適當之養殖密度以避免過多之魚體排泄物存在水中。⑤使用高品質飼料及適量、均勻投餌，使殘餌量減至最少⁽¹⁾。⑥池塘應經常換水及曝曬⁽¹⁾。

(2)化學藥劑控制

尚無有效之化學藥劑來抑制水中放射菌之生長，目前可使用之方法乃在於消除水中放射菌之藻類養分，及吸收分解放射菌所產生之異味物質。例如：①使用殺藻劑 (Algicide) 如硫酸銅 (0.34 kg/ha)⁽¹⁾ 來殺死水中藻類，減少放射菌養分及棲息場所。②使用活性碳粉末 (activated carbon powder) 25 ppm 以上之用量可吸收水中異味⁽⁶⁾。③使用氯氣 (1 ppm) 及 $KMnO_4$ (10 ppm) 來氧化分解異味物質 (主要針對 mucidone)⁽⁶⁾，對 geosmin 及 MIB 效果不大。④施用 $NaCl$ (10 ppm) 可抑制水中 *Streptomyces* 之生長⁽³³⁾。

(3)生物防治

Silvey 及 Roach⁽³¹⁾ 指出在養殖池上層水 (Surface water) 中存在之藍綠藻類，異營性革氏陰性 (Gram -) 及陽性 (Gram +) 細菌、放射菌四者彼此形成消長，含量在一年中不同時間各自達到其最高峯，而革氏陽性產孢桿菌 (G+ spore-forming bacilli) 之高峯在放射菌之後，因此他認為水中某些革氏陽性桿菌能利用放射菌生長巔峯所產生之代謝物做養分，而隨放射菌之後成為水中之優勢族群。Hohen⁽¹³⁾ 及 Narayand Nunez⁽²⁵⁾ 隨後分別證實了水中之革氏陽性桿菌 (*Bacillus cereus* 及 *Bacillus subtilis*) 確能氧化分解 geosmin 做為養分。Hohen 並將 *B. cereus* 經培養後置入發生異味之養殖池中 (1×10^5 /ml) 後，異味可在 4~5 天後消除。

2. 魚體異味之消除

(1)鮮魚之處理

Iredale 及 York⁽¹⁶⁾ 將發生泥土味之虹鱒置養於流水式養殖池 (水溫 9.5°C, 流速每45分鐘完全換水一次)，水質經加氯及 Sodium thiosulfate 處理，經過 5 天後可完全去除泥土味。若置養於無異味之湖水中則需 16 天的時間。另有相似之報告⁽³⁹⁾ 指出帶泥土味之虹鱒經飼養於流水式 (水質亦經 Sodium thiosulfate 處理) 養殖池，經過 14 天後可使魚體內 geosmin 含量降至 0.6 $\mu\text{g}/100\text{g}$

以下而感覺不出泥土味。發生泥土味之鮭魚亦可經飼養於木炭過濾 (charcoal-filtered) 後之乾淨水中，經過10天即可消除泥土味⁽²¹⁾。

另有報告指出延緩魚獲時間，等到池溫度降低及藻菌類含量最低時方予收穫亦可自然消除異味⁽¹⁸⁾。

(2)加工魚類之處理

將帶異味之虹鱒在經過80%飽合食鹽水之醃漬及煙燻 (32.2C/35min~85min. 60% R.H.)，可有效地去除魚體之泥土味⁽¹⁶⁾。另外可在醃漬液中添加醋酸及在製罐前予以蒸煮及添加玉米油或具有煙燻味之植物油亦有去除泥土味之效果⁽¹⁷⁾。其原理為 geosmin 可經酸之作用而轉變為不具泥土味之 Argosmin，而此物質較 geosmin 更具揮發性可經煙燻蒸煮過程去除之，添加植物油之目的在於將魚體之 geosmin 溶出而稀釋之。

結 語

由以上介紹可知，養殖環境及魚體中產生異味與放射菌之代謝物有很密切關係。由於放射菌廣泛地存在於土壤中，以及其孢子很容易流入養殖環境中，所以養殖池內無論是水中，底土或岸邊土壤皆無法避免地可發現其存在。但其若僅以孢子型式存在並非代表養殖池一定會發生異味問題，重要的是如何控制養殖環境，使其孢子發芽產生二次菌絲及隨之而來之異味代謝物產生之程度減至最低。當然，若能發展出一種能應用於養殖環境而能有效殺死放射菌菌體或孢子之化學藥劑應為治本之計。然而目前尚無此一藥劑之問世，使用其它化學藥劑處理亦各有其缺點，例如長期使用硫酸銅會造成藻類之抗藥性，其用量勢必逐次增加，且硫酸銅會殺死許多池底微生物，此為魚類養分之另一重要來源。由於孢子對氯氣抗性甚高及 Geosmin 與 MIB 屬飽和醇類，能抗化學物質之氧化分解，因此氯氣及高錳酸鉀僅能破壞部份之異味物質 (如 mucidone)。其它如使用活性炭吸收異味及換水處理帶異味之鮮魚在成本上及實際執行上亦有困難。至於生物防治如添加 *Bacillus cereus* 類之細菌至養殖池中，雖可有效分解 Geosmin，但 *B. cereus* 為病原菌之一種，其應用於食品上不得不謹慎，且是否會造成二次公害亦足堪考慮。所以，在防治由放射菌引起之異味問題，將來努力之方向應著重於養殖環境之改善及抗放射菌藥劑之發展方面。又泥土味之問題並非全年皆會發生，如何勸導養殖戶在發生較嚴重之夏秋兩季多加防範，亦為重要課題之一。

參 考 文 獻

1. 湯弘吉，1983，養殖魚類之異味問題，中國水產，368: 22-27.
2. Adams, B.A. 1929 Odors in water of Nile River. *Water Water Eng.* 31: 309-314.
3. Buchana, R. E., and N. E. Gibbons. 1974 *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 8th ed. The William and Wilkins Co., Baltimore, MD.
4. Cross, T. 1981 Aquatic actinomycetes: A critical survey of the occurrence, growth and role of actinomycetes in aquatic habitats. *J. Appl. Bacteriol.* 50: 397-423.
5. Cross, T., and R.W. Attwell. 1974 Recovery of viable thermoactinomycetes spores from deep mud cores. in "Spore Research" pp 11-20, Academic Press, London and New York.
6. Dougherty, T.J., and R.L. Morris. 1967 Studies on the removal of actinomycete musty taste and odors in water supplies. *J. Am. Water Works Assoc.* 59: 1320-1326
7. Drechsler, C. 1956 Supplementary developmental stages of *Basidiobolus ranarum* and

- Basidiobolus haptosporus*. *Mycologia* 48:655.
8. Gaines, H.D., and R.P. Collins. 1963 Volatile Substances Produced by *Streptomyces odorifer*. *Lloydia*: 26: 247.
 9. Gerber, N. N. 1969 A Volatile Metabolite of Actinomycetes, Z-methylisoborneol. *J. Antibiot.* 22: 508-509.
 10. Gerber, N. N. 1974 Microbiological production of geosmin. *Environ. Prot. Technol. Ser.*, EPA-670/2-74-094.
 11. Gerber, N. N. 1979 Volatile substances from actinomycetes: Their role in the odor pollution of water. *CRC Crit.Rev. Microbiol.* 7: 191-214.
 12. Gerber, N. N., and H. A. Lechevalier. 1965 Geosmin, an earthy smelling substance isolated from actinomycetes. *Appl. Microbiol.* 13: 935-938.
 13. Goodfellow, M., and T. Cross. 1983 Classification in "The Biology of the Actinomycetes" PP 7-164, Academic Press, London and New York.
 14. Higgins, M. L., and J. K. G. Silvey, 1966 Slide culture Observations of two freshwater actinomycetes. *Trans. Am. Microscop. Soc.* 85: 390-398.
 15. Hohen, R. C. 1965 Biological methods for the control of taste and odors. *Southwest water works J.* 47: 26.
 16. Iredale, D. G., and D. Rigby. 1972 Effect of smoke-processing on muddy odor and taste in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish. Res. Board Can.* 29: 1365-1366.
 17. Iredale, D. G., and K. J. Shaykewich. 1973 Masking or neutralizing muddy flavor in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) by smoking and canning processes. *J. Fish. Res. Board Can.* 30: 1235-1239.
 18. Iredale, D. G., and R.K. York. 1976 Purging a muddy-earthy flavor taint from rainbow trout (*Salmo gairdneri*) by transferring to artificial and natural holding environments. *J. Fish. Res. Board Can.* 33: 160-166.
 19. Izaguirre, G., C. J. Hwang, S. W. Krasner, and M. J. Mc Guire. 1982 Geosmin and 2-methylisoborneol from cyanobacteria in three water supply systems. *Appl. Environ. Microbiol.* 43: 708-714.
 20. Lovell, R. T. 1983 New off-flavors in pond-cultured channel catfish. *Aquaculture* 30: 329-334.
 21. Levell, R. T., and L. A. Sackey, 1973 Absorption by channel catfish of earthy-musty flavor compounds synthesized by cultures of blue-green algae. *Trans. Am. Fish. Soc.* 102: 774-777.
 22. Macky, S. J. 1977 Improved enumeration of streptomyces on a starch casein salt medium. *Appl. Environ. Microbiol.* 33: 227-230.
 23. Medsker, L. L., D. Jenkins, and J. F. Thomas. 1968 Odorous compounds in natural waters. An earthy-smelling compound associated with blue green algae and actinomycetes. *Environ. Sci. Technol.* 2: 461-464.
 24. Medsker, L. L., D. Jenkins, J. F. Thomas, and C. Koch. 1969 Odorous compounds in natural waters. 2-Exo-hydroxy-2-methylbornane, the major odorous compound produced by several actinomycetes. *Environ. Sci Technol.* 3: 476.
 25. Narayan, L. V., and W. J. Nunez. 1974 Biological control: Isolation and bacterial

- oxidation of the taste-and-odor compound geosmin. *J. Am. Water Works Assoc.* 66: 532-536.
26. Persson, P.E. 1979 The source of muddy odor in Bream (*Abramis brama*) from the Porvoo sea area (Gulf of Finland). *J. Fish. Res. Board Can.* 36: 883-890.
 27. Romano, R.H., and R.S. Safferman. 1963 Studies on actinomycetes and their odors. *J. Am. Water Works Assoc.* 55: 169-176.
 28. Rosen, A.A., R.S. Safferman, C.I. Mashni, and A.H. Romano. 1968 Identify of odorous substances produced by *streptomyces griseoluteus*. *Appl. microbiol.* 26: 178-179.
 29. Safferman, R.S., A.A. Rosen, C.I. Mashni, and M.E. Moris. 1967 Earthy-smelling substance from a blue-green alga. *Environ. Sci. Technol.* 1: 429.
 30. Silvey, J.K.G., and A.W. Roach. 1959 Laboratory culture of taste-and odor-producing aquatic actinomycetes. *J. Am. Water Works Assoc.* 51: 20-32.
 31. Silvey, J.K.G., and A.W. Roach, 1964 Studies on microbiotic cycles in surface water. *J. Am. Water Works Assoc.* 56: 60-72.
 32. Silvey, J.K.G., and A.W. Roach. 1975 The taste and odor producing aquatic actinomycetes. *CRC Crit. Rev. Environ. Control.* 5: 233-273.
 33. Silvey, J.K.G., J.C. Russell, D.R. Redden, and W.C. Cormick. 1950 Actinomycetes and common tastes and odors. *J. Am. Water Works Assoc.* 42: 1018-1026.
 34. Silvey, J.K.G., and A.W. Roach. 1953 Actinomycetes in the Oklahoma city water supply. *J. Am. Water Works Assoc.* 45: 409.
 35. Tabachek, J.L., and M. Yurkowski. 1976 Isolation and identification of blue-green algae producing muddy odor metabolites, geosmin and 2-methylisoborneol, in saline lakes in Manitoba. *J. Fish. Res. Board Can.* 33: 25-35.
 36. Thaysen, A.C. 1936 The origin of an earthy or muddy taint in fish, I. the nature and isolation of the taint. *Ann. Appl. Biol.* 23: 99-104.
 37. Thaysen, A.C., and F.T.K. Pentelow. 1936 The origin of an earthy or muddy taint in fish, II. The effect on fish of the taint produced by an odoriferous species of Actinomycetes. *Ann. Appl. Biol.* 23: 105-109.
 38. Wood, N.F., and V.L. Snoeyink. 1977 2-methylisoborneol, improved synthesis and a quantitative gas chromatographic method for trace concentrations producing odor in water. *J. Chromatogr.* 132: 405-420.
 39. Yurkowski, M., and J.L. Tabachek. 1974 Identification, analysis, and removal of geosmin from muddy-flavored trout. *J. Fish. Res. Board Can.* 31: 1851-1858.
 40. Yurkowski, M., and J.L. Tabachek. 1980 Geosmin and 2-methylisoborneol implicated as a cause of muddy odor and flavor in commercial fish from Cedar Lake, Manitoba. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 37: 1449-1450.