

低温性餌料生物培養研究の途中経過

塩 垣 優

(青森県水産増殖センター)

近年、種苗生産対象魚種が拡大していく中で、特に、北海道・東北海域はもちろん、日本海中部以北海域では冬場の種苗生産に対応せざるを得ない局面が増加している。これらのうち、魚類ではマダラを初めとして、多くのカレイ類（ヤナギムシガレイ、ババガレイ等）、ニシン、ハタハタなどがあげられる。これらの初期餌料生物として、現状では主としてシオミズツボワムシが用いられているが、加温して培養する必要があり、これらを低水温の飼育水に投餌すると、ごく短時間で死滅し、水質悪化の原因となるなどの問題点があげられる。さらに、ワムシの餌料藻である海産クロレラの冬期培養は日照不足と低水温の2重の克服の要があり、量的確保において、その経済性の面で大きな問題となっている。従って、「海産クロレラ—シオミズツボワムシ」で代表される従来の餌料系列とは異った冷水性の新餌料系列の開発が望まれている。すなわち、冬場の低日照・低水温で十分に増殖可能で、しかも海産クロレラ並の多量の必須脂肪酸を含有する新餌料藻の探索とその培養法の確立、さらにはシオミズツボワムシの低温馴致および、これに替る低温性微小動物の探索とその培養法の確立、および仔魚飼育実験による餌料効果の確認といった一連の作業を経た検証が必要となる。

ここでは、昭和60年度指定試験、61年度特定研究「初期餌料の培養技術開発研究」の途中経過の概要と今後の方向づけ、について簡単に触れておく。

はじめに、L型ワムシのタネを提供された日本栽培漁業協会厚岸事業場の山本和久氏、同協会宮古事業場の熊谷厚志氏、同協会能登島事業場の早乙女浩一氏、および水産庁養殖研究所の岡内正典氏の各餌料担当者に謝意を表す。また、実験材料とした新顔のワムシ類の同定を依頼した日本大学の鈴木 實博士、北海道東汽水域でのワムシの採集調査にご協力いただいた釧路東部地区水産技術普及指導所の正立彰夫氏、釧路市立博物館の針生 勤氏に対し厚くお礼申し上げる。

1. 低温性初期餌料生物の探索

シオミズツボワムシという名称は現在2種のワムシを指す奇妙な和名であり、改称されてしかるべきである。これまで、大型のものをL型、小型のものをS型と亜種ないしは品種の単位で呼称してきたが、これらは別種であり、前者は *Brachionus plicatilis hepatotomus*、後者は *Brachionus rotundiformis* とされる（鈴木1985）。このうち、比較的低温性とされるL型ワムシ（以降、適当な和名がないので、単にL型ワムシと呼ぶ）は、現在、低温性餌料として最も実用化されている種である。日本栽培漁業協会能登島事業場では冬期間、水温14~15℃台で、冷凍濃縮クロレラを併用した海産クロレラを餌料藻として、間引き培養により日間増殖率12~15%の生産実績を得ている（早乙女1986）。このようなワムシの低温馴致による実用例のほか、低温性の初期餌料生物の培養を行っている事例はない。しかし、10℃前後の

低水温でも、30～40%の高い日間増殖率を示す餌料生物の開発が望ましい。

そこで、ワムシの低温馴致と、従来用いられてきたワムシに代替可能な新餌料生物として、新たに北海道、東北産の汽水性ワムシ類数種の培養実験を行った。

(1) 材 料

ここで扱ったワムシ類およびその産地は以下のとおりである。

フサワムシ科 *Synchaetidae*

フサワムシ属 *Synchaeta*

フサワムシ属の1種 *Synchaeta* sp. 青森県尾駮沼

ネズミワムシ科 *Trichocercidae*

ネズミワムシ属 *Trichocerca*

ネズミワムシ属の1種 *Trichocerca* sp. 釧路市春採湖

ツボワムシ科 *Brachionidae*

ツボワムシ属 *Brachionus*

シオミズツボワムシ (L型) *Brachionus plicatilis hepatotomus* (日裁協厚岸事業場, 宮古事業場, 能登島事業場および水産庁養殖研究所で継代培養されてきたもの)

カメガタツボワムシ *Brachionus urceolaris* 釧路市春採湖

シリミットゲワムシ *Brachionus leydizi* 釧路市春採湖

トゲワムシ属 *Notholca*

ヘラガタトゲワムシ *Notholca marina*? 釧路市春採湖, 青森県尾駮沼

(2) 培養方法

培養容器 低温恒温槽 (240ℓ容) 2台を用い, 5～17℃の範囲で, 各温度区の培養実験を行った。照明は10W蛍光灯を用い, 100～500 lux の範囲で適宜増減し, 原則的に24時間連続照射をした。培養容器は300～2,000mlの三角フラスコを用い, 通気を施した。

餌 料 23℃, 4,000 lux 前後の連続照射下で単一種培養によって, およそ3,000～6,000万 cells/mlに増殖した海産クロレラ *Nannochloropsis oculata* および, およそ200万 cells/mlに増殖したテトラセルミス *Tetraselmis tetrahele* を, 投餌直前に遠心分離し, 細胞のみを, 毎日, クロレラ換算で500万 cells/mlの濃度を目安に適度に投与した。

培養水および換水 培養水は, 蒸溜水と滅菌海水 (33～34‰) を用い, 0～80%海水に調整して用いた。培養水の換水は, ほぼ1ヶ月を目安に全換水を行った。40～90μm目合のミューラーガーゼを用い, ネットにとまったワムシをよく洗浄し, 新しい培養水に接種した。汚れがひどくなった場合には上澄み部のみからワムシをとり出し, 同様の方法で洗浄して用いた。

1) ワムシの低温馴致

60年11月に前掲の4株を導入し, 約1ヶ月間, 17℃での予備培養を行い, 12月上旬から15℃での培養を約1ヶ月半, その後13℃での馴致に入り, 現在に到っている。15℃での増殖率は10%以下と著しく低く, 13℃では約1ヶ月間は全く増殖傾向が認められなかったが, その後, 急速な増殖に転じ, 馴致の効

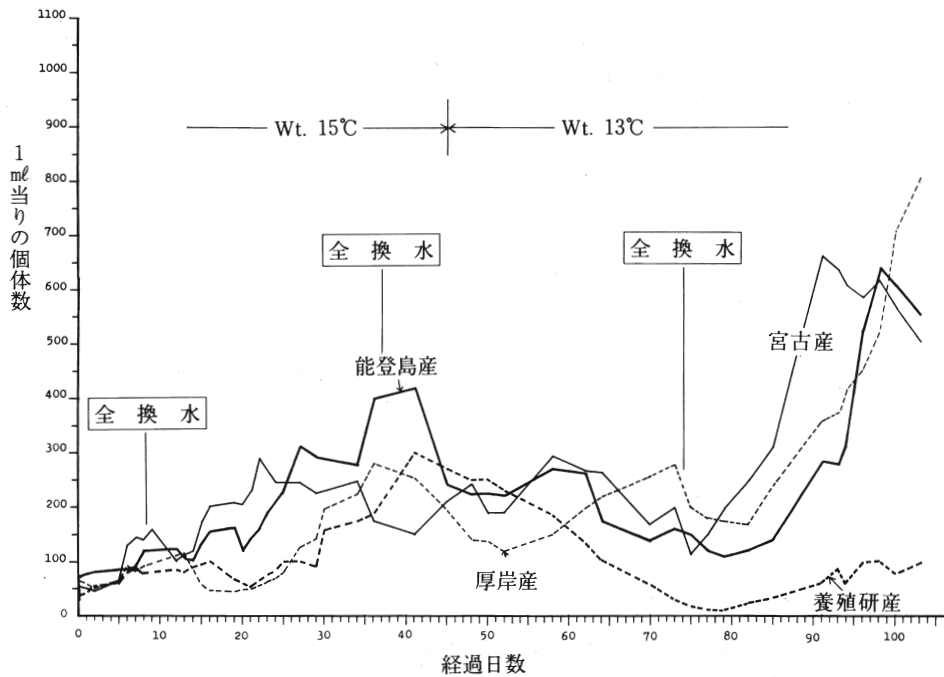


図1 シオミズツボワムシ (L型) 4産地株の低温培養
 試験期間: 1985. 12. 4 ~ 1986. 3. 17

果が認められた (図1)。4株の中で、養殖研株は低温馴致の効果が最も低く、かつ多量の♂卵を生じ、他の株とは異った。実験開始後80~95日目の宮古、能登島株の平均日間増殖率は12%前後と15°C下でのそれを上回り (図1, 2A)、さらに8ヶ月後には増殖率の向上が認められ宮古株で16~17%、能登島株で17~18%を示した (図2B)。この間の顕著な変化としては、実験当初から♂卵を生じてはいたが、ごく少数であり、♂卵を産んでも正常に♂虫が孵出せず死卵となっていたのに対し、9ヶ月後前後より、♂卵の生産が活発となり、これより正常な♂虫が孵出するようになったことである。そして、10ヶ月後前後には少数ながら耐久卵の生産を確認できるに到った (図2B)。この変化は、低温馴致が確実に進んだ証拠と考えられるが、長期間、複相単性生殖を繰返してきたことによる若返りの必要を生じた結果とも考えられ興味深い点である。

今後は、13°C下で、同一株および異株間で作らせた耐久卵をもとに、これより孵化した幹母虫 (S♀, stem mother) 群をタネとして、低温下でより安定した増殖と、増殖率の向上がみられるか検討を進める必要がある。

2) 新顔のワムシ類

材料としたワムシ類と採集地は前掲のとおりであり、また、各種の生態的特性は表1に示した。

フサワムシ属の1種 青森県太平洋岸にある汽水沼 (20~50%海水程度) に主として冬期間 (11月~4月) に優占種として出現するワムシである。成体のサイズはS型ワムシとほぼ同サイズ。被甲が柔軟であり、遊泳を止める時は頭端の繊毛環と足部を被甲内に引込め、体を球状に丸くする。真の遊泳

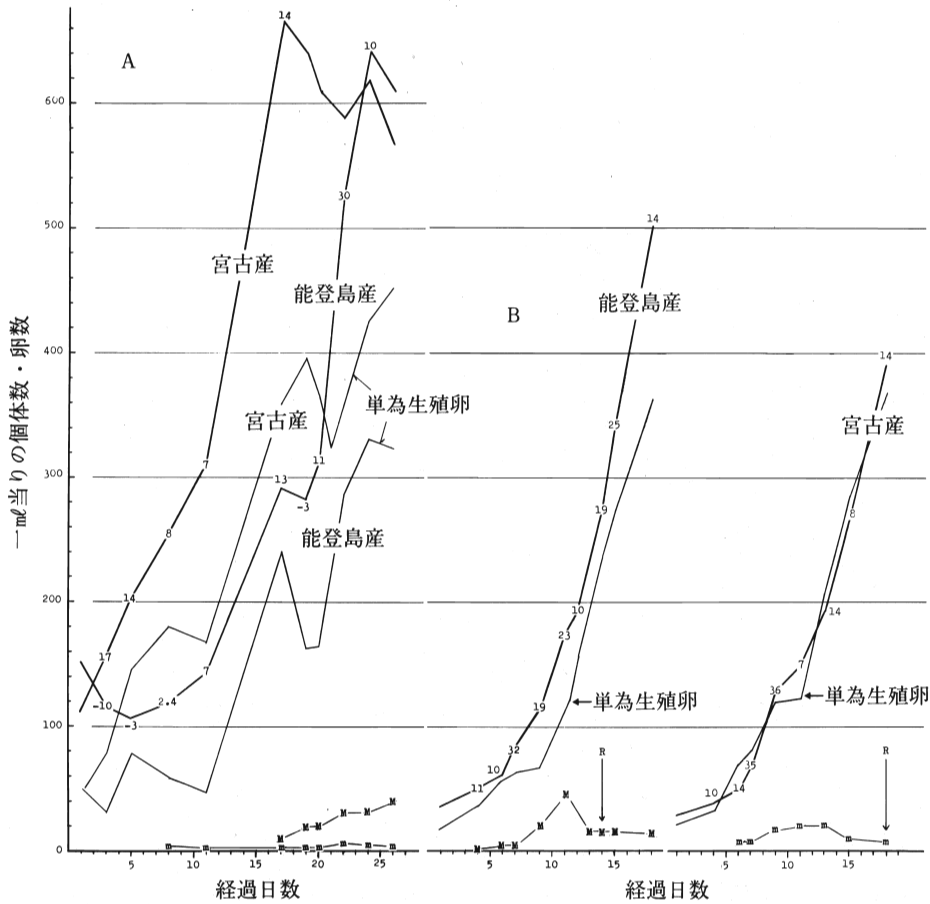


図2 シオミズツボワムシ (*Brachionus plicatilis*) の80%海水、13°C下における増殖

A, 試験期間, 1986. 2. 17~3. 14; B, 同, 1986. 10. 3~10. 20

実線の数字は, その前の期間の平均日間増殖率 (%); M, 能登島株の雄卵; m, 宮古株の雄卵; R, 耐久卵を初めて確認した日

性種であり, 動きは俊敏である。頭端に4本の長い棘毛を有し, また, 側触毛を使って体を自転させながら直進したり, 弧を描くなど活発な遊泳方法をとる。すう光性は強い。ツボワムシ科のワムシ類と異なり, 餌料の選択性が強く, テトラセルミス, パプロバ *Pavlova lutheri* などの運動性のある藻類しか摂餌しない特性を有する (図6)。耐塩性はやや強い。

野外より持帰ったタネは, 50個体/mlの低密度で耐久卵を産み, 20, 40, 60%海水のいずれの試験区 (水温 8, 13°C) でも増殖が不安定な傾向が強かった。しかし, 少数の単為生殖卵のみをとり出して培養を開始した試験区では, 著しく高い増殖を示し, 8°C, 70%海水区で日間増殖率20%前後, 13°C, 60%海水区で40~50%前後であった (図3, 4)。しかし, いずれも250~300個体/mlに達した時点で♂卵の生産が始った。この場合の用いた単為生殖卵数は各々数個であり, 全てがたまたま♀♀であったものと考えられ, 仮りにC♀ (♂♀を生ずる卵を産む♀) を生ずる卵が混っていた場合の増殖がどうなるのか, さらに検討を要する。低温馴致のL型ワムシの場合同様, 卵の発生速度が遅いため, みかけ上の

卵率は著しく高い。

表1 本試験で扱った餌料生物の生態的特徴

種名	成体のサイズ (μm)	単為生殖卵の長径 (μm), 性質	遊泳習性	塩分適応 (%海水)	増殖適温 ($^{\circ}\text{C}$)	最高密度 (n/ml)	13℃下での日間増殖率 (%)	欠点
フサワムシ属 sp. <i>Synchaeta</i> sp.	160~200	60~75 産みっ放し 粘性-	敏捷 全くの自由 遊泳性	0~80	8~15	1,600以上	70%海水 40~50	増殖が不安定 運動性のある藻類しか摂 餌しない点
ネズミワムシ属 sp. <i>Trichocerca</i> sp.	90~110	50~60 産みっ放し 粘性-	鈍い 他物に多少 まとわりつく	0~60	8~15	3,000以上	70%海水 30台	多少, 付着性がある点
カメガタツボワムシ <i>Brachionus urceolaris</i>	120~200	110 携行 粘性-	鈍い	10以下	10~15	500	10℃ 30台	塩分耐性が弱い
シリミットゲワムシ <i>Brachionus leydigii</i>	150~250	130~140 携行 粘性-	鈍い	20以下	10~15	1,200以上	10℃ 20台	塩分耐性が弱い
ヘラガタツゲワムシ <i>Notholca marina?</i>	230~280	90 産みっ放し 粘性+	鈍い 底をつつく 習性あり	0~60	8~15	3,000以上	70%海水 20台	卵膜に粘性がある点, 空 中に暴されると浮上した り団子になりやすい点, 被甲後端の突起が鋭く尖 る点
シオミズツボワムシ (L型) <i>Brachionus plicatilis</i> <i>hepatolomus</i>	240~400	130~155 携行 粘性-	鈍い	0~100	20~26	800	80%海水 15~20	餌料効率が悪い (餌食い虫)

天然での出現水温は0~15℃前後の期間であり、5℃以下では全く増殖はみられない。耐塩性はかなり強く、現時点では80%海水までは正常の増殖がみられ(図5)、本来、広塩性と考えられる。最高密度は1,600個体/mlを越す。餌料別試験では、パプロバもよく摂餌するが全く増殖はせず、これまでのところテトラセルミスが最も良い餌料藻である(図6)。

本種を実用化する上で問題となるのは、本種が海産クロレラ、イーストなどの不動細胞を全く摂餌しないことであり、海産クロレラによる二次培養(栄養強化)や、イースト併用による餌料藻の節約といった、これまで開発されてきた手法を適用できない点である。栄養価の劣るテトラセルミスで一次培養したあとの栄養強化をどうするのが最大の課題となろう。

ネズミワムシ属の1種 本種は成体のサイズが100 μm と小型である点に最大の特徴があり、また多少、他物にまとわりつく習性がある。塩分耐性は強くない。13℃、20%海水下では著しい増殖を示し、ごく短期間で3,000個体/mlの高密度に達し、多量の耐久卵を生産した(図7A)。順次、塩分濃度を高めた結果、70%海水まで一時的な増殖を示したが耐久卵を作らなくなり(図8B)、その後培養不調となり、現在は40%海水でタネの維持を行っており、高塩分馴致は困難のようである。

本種は、8、13℃下では低塩分であれば著しい増殖を示したが、23℃下では増殖しない低温性種である。60%海水での塩分馴致が可能となれば実用化の可能性はあろう。しかし、サイズが小さいことから、原生動物の混入があればワムシのみを選別することは事実上不可能であり、小容器による単一種培養が

望まれる。餌料藻は海産クロレラ、テトラセルミスともに良好である。

カメガタツボワムシ 本種は13℃でも増殖を示すが、耐塩性は著しく劣り、10%海水以上では全く増殖しない(図9)。

シリミツトゲワムシ カメガタツボワムシよりは若干塩分耐性は強いが、20%海水以上では全く増殖がみられない。8℃でも良く増殖する点で低温性ワムシとされるが、高塩分耐性に劣るため実用化の対象とはならない(図10)。

ヘラガタゲワムシ 実験当初は25%海水下でも順調な増殖を示さなかったが、4ヶ月間10%海水、5~13℃下で馴致培養を継続したところ、徐々に塩分耐性が高まり、30%海水、13℃下では著しい増殖を示し、最高密度も3,500個体/mlを越した(図11A)。しかし、70%海水まで増殖を示したものの、増殖率は低く、一時的な傾向で終わり、その後、培養不調となった。これらのことから、本種の塩分耐性

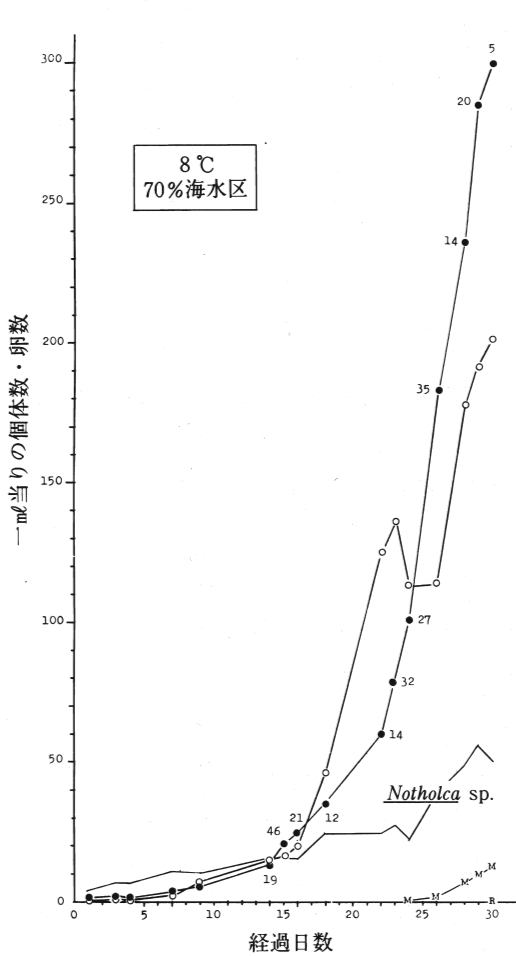


図3 フサワムシの8℃、70%海水下での増殖
M, 雄卵; R, 耐久卵
試験期間, 1986. 9. 16~10. 14

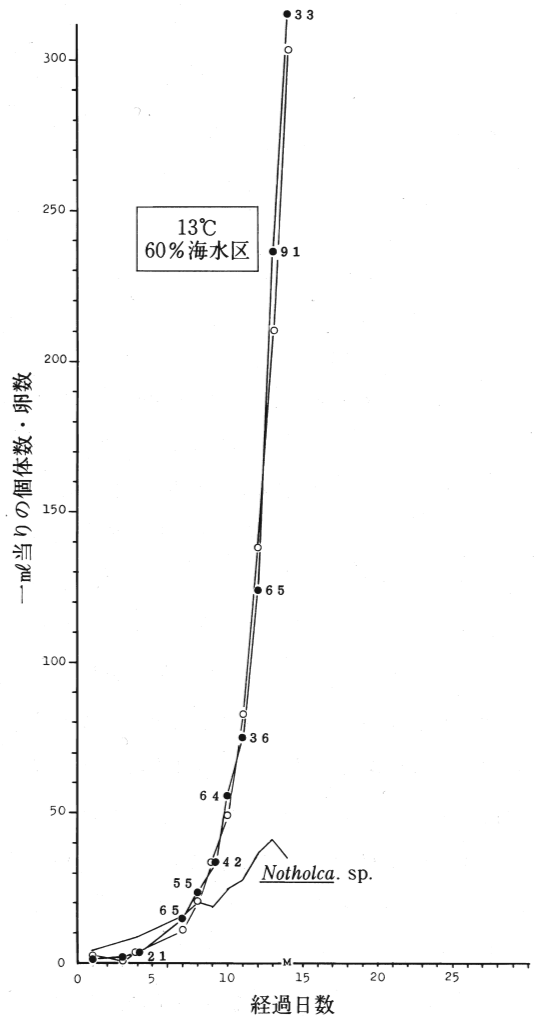


図4 フサワムシの13℃、60%海水下での増殖
試験期間, 1986. 10. 29~11. 11

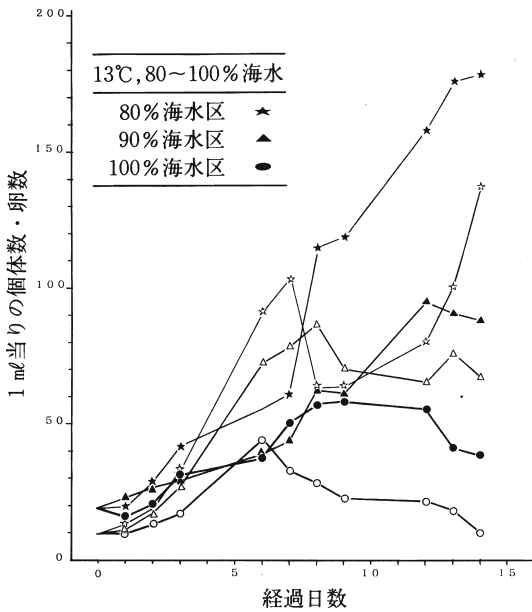


図5 フサムシの高塩分順致培養
(13°C ; 80, 90, 100% 海水区) タネは13°C, 70%海水で培養したものを
用いた。黒記号は個体数, 白記号は単為生殖卵数
試験期間, 1986. 11. 19~12. 3

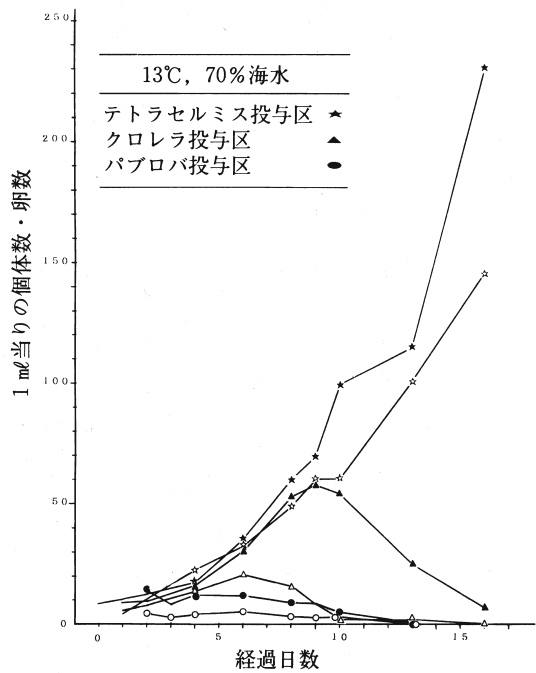
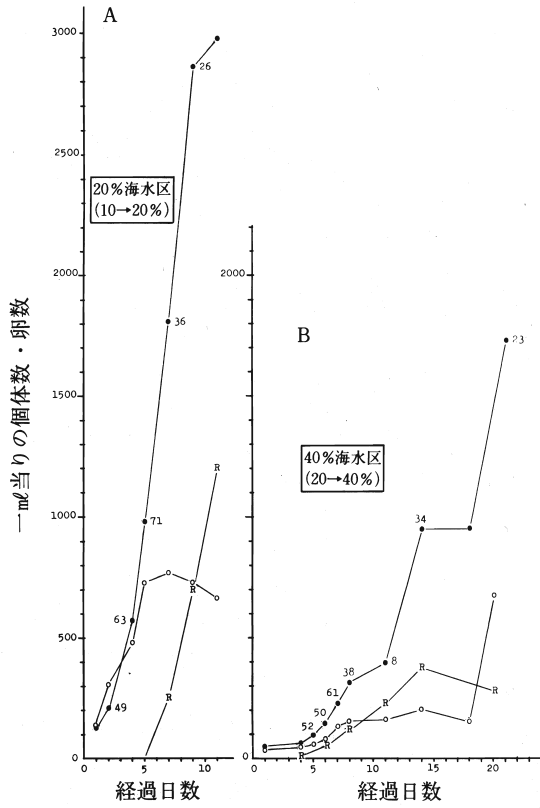


図6 フサムシの13°C, 70%海水下でのテトラセルミス, クロレラ, パブロバの三種の餌料藻を用いた増殖試験
タネは13°C, 70%海水下で培養したものを
用いた。ただし, クロレラ区では, タネとともに, 約5万 cells / mlのテトラセルミスが投与された
試験期間, 1986. 12. 2~12. 18

は弱く, 実用化は困難と考えられた。また, 本種は尾棘が尖っている点, 空中に暴すとワムシ同志が粘着して団塊をなすこと, また, 卵膜表面に粘性をもち, ゴミとりマットに吸着されるおそれがある点など, 実用化に向けて不利な面が多い。

以上, 汽水性ワムシ類の中で, 一部の種の培養を試みてきた。しかし, 羽田 (1939) が海産, 汽水産ワムシとしてあげた邦産17種の中から, 適度のサイズを有し, 低水温期に出現する種として残された種はごく僅かであり, 有望な種の探索は困難を極める。本試験の結果から有望な新顔のワムシ類としてフサムシ属の1種があげられるが, 前述のとおり, 培養の不安定性の点と特異な摂餌習性の点で, 実用化に向けて解決すべき点が多い。一方, L型ワムシの低温馴致においては, さらに高い増殖率を備えた低温株づくりが望まれる。



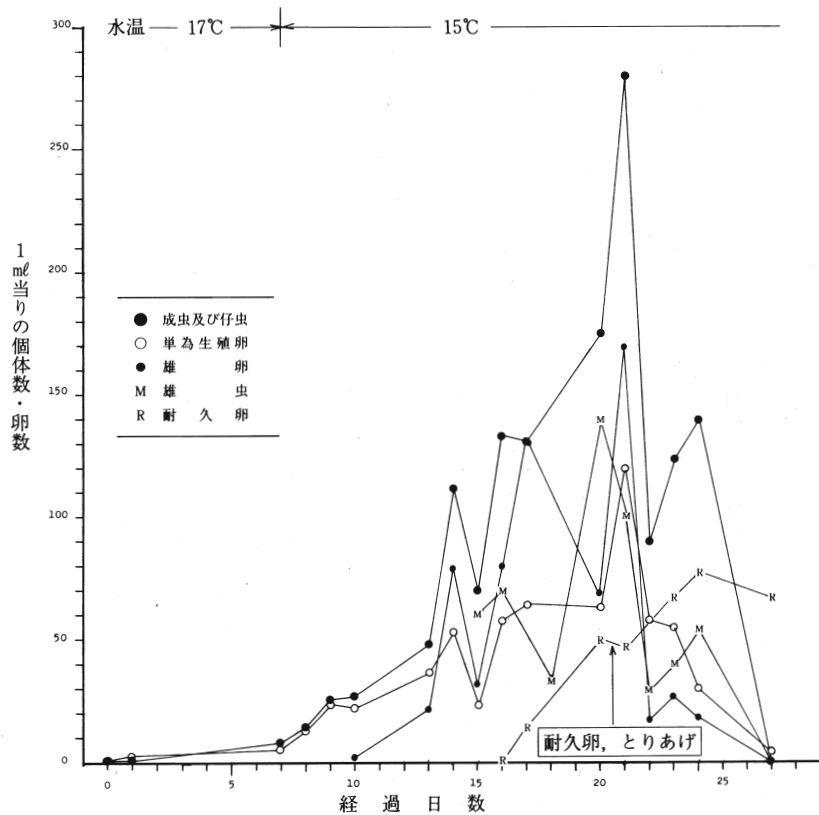


図9 カメガタツボワムシの全淡水, 17~15°C下における増殖
試験期間, 1985. 11. 25~1985. 12. 23

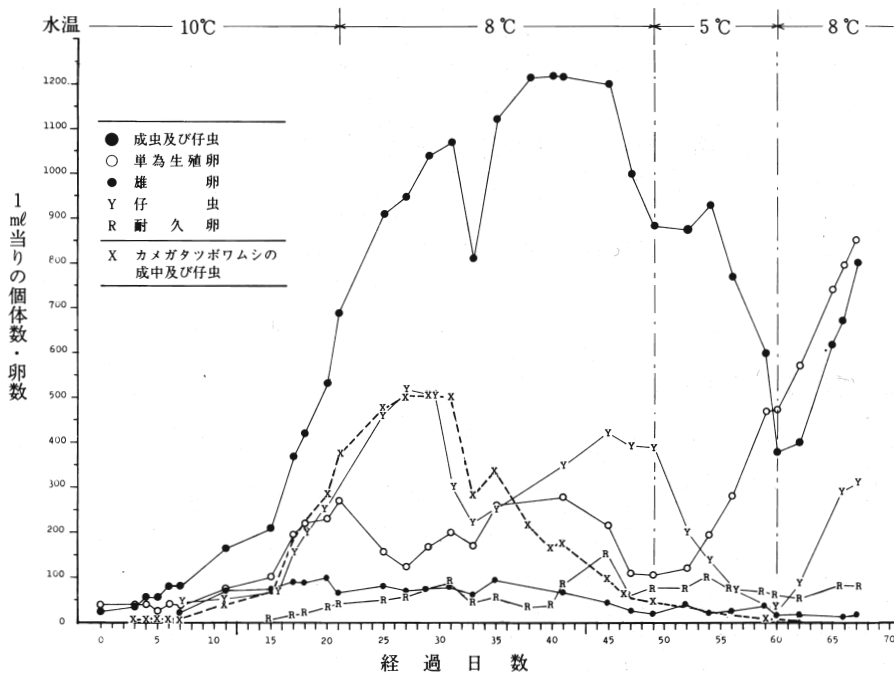


図10 シリミットゲワムシの全淡水, 10~15°C下における増殖
試験期間, 1985. 12. 20~1986. 2. 25

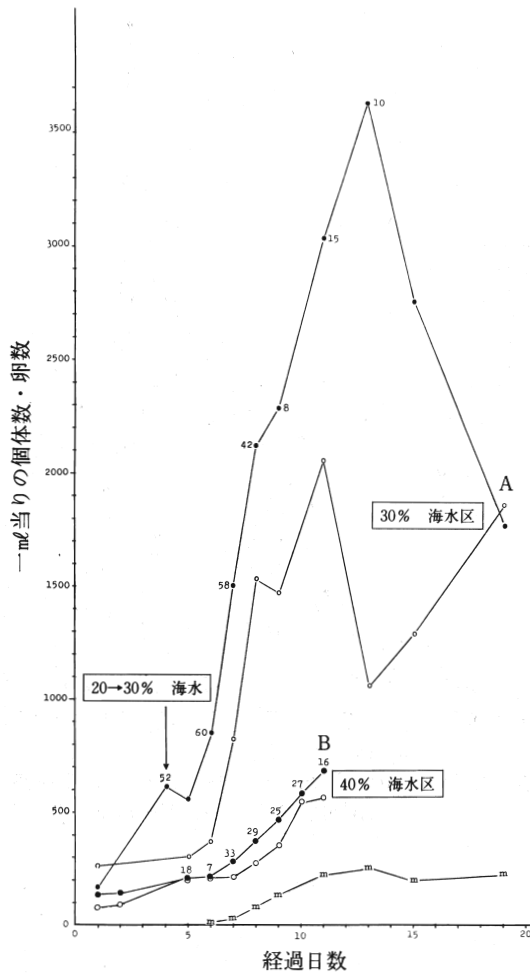


図11 ヘラガタゲムシの13°C, 30%海水(A), 40%海水(B)下での増殖

黒丸, 成虫+仔虫; 白丸, 単為生殖卵

試験期間, 1986. 5. 18~6. 5 (A);

1986. 5. 29~6. 8 (B).

2. 低温性微細藻類の探索

これまで試みられたワムシ用の餌料藻とはL・S型ワムシが対象であり, 細菌類を含む多種の藻類があげられる(表2)。この中で実用的に多用されている種を多く含むのは緑色植物門であり, クロレラ属, クラミドモナス属, テトラセルミス属などが代表的なものである。しかし, 緑色植物門の多くの種では高タンパクではあるが, 海産魚類の必須脂肪酸であるC20:5 ω 3 (エイコサペンタエン酸), C22:6 ω 3 (ドコサヘキサエン酸)などがほとんど含まれていないか, あっても少ないことが知られており, 栄養的に欠陥がある(Wood 1974; 渡辺 1978)。

一方, 海産クロレラと呼称されてきたものが, 最近になって, いわゆる緑藻綱のクロレラ類とは全く

表2 シオミズツボワムシの培養に用いられてきた餌料生物。

分類群名	呼称	種名	単独飼餌した場合の餌料価値				伊藤(1960)が 用いた餌料藻
				r ¹⁾	Ro ¹⁾	大量培養の難易	
細菌植物門	光合成細菌	<i>Thiocapsa roseopersicina</i>	—	0.62	5.0	容易	—
	パン酵母	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	—	—	—	容易	—
藍色植物門							
藍藻綱		<i>Synechococcus elongatus</i>	+++	0.96	23.5	?	—
緑色植物門	淡水クロレラ	<i>Chlorella regularis</i>	++	—	—	容易	—
緑藻綱	クラミドモナス	<i>Chlamydomonas</i> sp.	++	0.92	18.7	困難	—
		<i>Dunaliella</i> sp.	++	0.94	18.6	困難	—
		<i>Nannochloris</i> sp. ¹⁾	++	?	—	?	—
ブラシノ藻綱	テトラセルミス	<i>Tetraselmis tetrachele</i> ²⁾	+++	1.17	24.4	やや容易	—
		<i>Tetraselmis suecica</i> ¹⁾	++	?	—	?	—
ミドリムシ藻綱		<i>Eutreptiella</i> sp.	—	0.74	9.8	?	?
黄色植物門		<i>Nitzschia closterium</i>	—	0.55	9.4	?	—
珪藻綱		<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	+++	?	—	容易	—
		<i>Cyclotella cryptica</i>	—	0.51	10.4	?	?
真正眼点藻綱	海産クロレラ	<i>Nannochloropsis oculata</i> ³⁾	+++	0.88	20.0	容易	—
ハプト植物門							
ハプト藻綱	バプロバ	<i>Pavlova (Monochrysis) lutheri</i>	++	0.69	18.8	困難	+

1) 外国で用いられている餌料藻。

2) 西ドイツ、ヘルゴランド研究所より、タイ、シンガポールを経由して日本に導入されたもの。

3) 伊藤(1960)が三重県沿岸水から単離したものが全国に普及したと思われる。

4) Hirayama et al. 1979. r, 内的自然増加率; Ro, 純繁殖率(1個体が一生の間に産む総卵数)。

異った黄色植物門に属する真正眼点藻綱の *Nannochloropsis* の1種であることが明らかにされた (Maruyama et al. 1986)。この海産クロレラは伊藤(1960)が三重県沿岸水から単離したものをワムシの餌料藻として用いて以来、現在までワムシの餌料として最も重要な地位を保っているものであるが、前述の分類上の大変更は、従来の緑色植物門に対する認識を一変させた。すなわち、従来の認識ではクロレラ類のうち、海産クロレラのみが海産魚類の必須脂肪酸を高濃度に含有し(総脂質の約28%)、特異な存在とみられてきたが、この分類上の変更は、海産クロレラと同門の他種を見直させる契機を与えた。同門には珪藻綱があり、多数の種を擁しており、海の物質循環の中では一次生産者として重要な地位を占めており、且つ、低温性種が多いとされる(小久保1948)。また、Hirayama et al. (1974)は種々の微細藻類のワムシにとっての餌料価値を無菌的に、個別培養法によって検討したが、その中で、珪藻綱羽状目の1種 *Nitzschia closterium* および円心目の1種 *Cyclotella cryptica* とともに、その餌料価値は低いとしている(表2)。これらのことから、珪藻類はワムシの餌料として欠陥があるという固定観念が生じたようである。しかし、珪藻類は天然の仔稚魚の主要な餌料となるコペポダ類の餌料となっており、コペポダが高タンパク、高必須脂肪酸の高い栄養価を示す(代田1975, 渡辺1978)ことを考えれば、当然珪藻類そのものが、海産仔魚が要求する栄養を備えた餌料藻と考えられる。事実、珪藻類の脂肪酸

組成をみると、C18系列（リノール、リノレイン酸）が極めて少なく、C16:0, 16:1系列が主要なものであるが、必須脂肪酸であるC20:5も特異的に高く含有しており、11属13種につき、総脂質の7~30%を占め、さらに、海産クロレラにはみられないC22:6酸を含有する点が注目される（Wood 1974; 代田 1975）。この点は脂肪酸組成における緑色植物門の藻類のそれとは決定的に異なる点であり、注目に値する。

珪藻類をL型ワムシの餌料として試みた事例として、日裁協宮古事業場の試験がある（熊谷1986）。海産クロレラ、羽状目珪藻の1種 *Phaeodactylum tricornutum*、両者の混合区の3区を設け、24時間の増殖状況を見ている（水温20℃）。そして、混合区で高い増殖率を示し、珪藻区でもやや良好な結果を得ている。混合区では、細胞の大きい珪藻を初めに摂った後、海産クロレラを摂餌する傾向が示された。ただ、この試験では24時間の短期間の試験であるため、試験開始までのワムシに蓄積された栄養量に結果が左右される筈であり、厳密な餌料試験となっていないのが惜まれる。*Phaeodactylum tricornutum*（以降、単にフェオと称する）は本来、大西洋産種で、英国のプリマウス臨海実験所、米国のウッズホール海洋研究所で分離された株が世界各地に広まったものであり（Lewin et al. 1958）、全長20~25 μm 前後とL型ワムシの餌料藻として適度のサイズを備え、針状細胞は全くの単細胞浮遊性である。本種は珪藻の特徴の1つである珪酸質の被殻をもたないという異端的存在であり、灰分は乾燥重量の10%前後と少ない（ただし、oval typesにはうすい1枚の被殻がある）（厳佐1976、代田1975）。さらに都合の良いことは、栄養要求が単純であり、海産クロレラと同一の施肥で極めて良く増殖すること、および、水温5~10℃の低水温と冬期間の低日照で十分に増殖し、大量培養が可能なことである。筆者は、単一種培養したフェオを用いて、13℃下でのL型ワムシの増殖予備試験を行ったところ、餌料藻をテトラセルミスから急にフェオに切替えたためか、1週間ほどは卵の生産、増殖ともに伸び悩みがあったが、以降急激な増殖がみられ、日間増殖率20%台を示した。この値は海産クロレラ、テトラセルミスを経験した場合には匹敵するか、それを上回る好結果であった。ただ、フェオに切替えてから1週間前後の増殖停滞がみられることは、ワムシの消化酵素系に問題があり、新しい酵素系を作りあげるまでに要する時間であるのか、それともフェオの栄養価にワムシにとって何らかの欠陥があるのかのいずれかであろうが、今後の課題である。今後、フェオを用いて培養したワムシの一般成分組成と脂肪酸組成の解明、並びに、各種仔、稚魚の飼育実験による餌料効果の確認が必要となる。

ともかく、珪藻類を冬場のワムシの餌料藻として利用する試みは始ったばかりであり、低日照、低水温で、ビタミン要求もなく、容易に大量培養が可能で、必須脂肪酸を多量に含有し、なおかつ、細胞の大きさが30 μm 以下であり、細胞が単独浮遊性である寒海性の珪藻を探索するという、一つの方向が提起された。関係各機関で、この方面の積極的開発研究が期待される。

引用文献

- 羽田 良禾 (1939) 海産及び汽水産輪虫類. 動物学雑誌51(7), 496-503.
- HIRAYAMA, K., K. TAKAGI and H. KIMURA (1979) Nutritional effect of eight species of marine phytoplankton on population growth of the rotifer, *Brachionus plicatilis*. *Bull. Japan. J. Soc. Sci. Fish.*, 45 (1), 11-16.
- 伊藤 隆 (1960) 輪虫の海水培養と保存について. 三重県立大学水産学部報告 (3), 708-740.
- 巖佐 耕三 (1976) 珪藻の生物学 (UPバイオロジー・シリーズ12). 東京大学出版会, 136pp.
- 小久保清治 (1948) 浮遊生物分類学. 厚生閣, 東京, 394pp., 34pls.
- 熊谷 厚志 (1986) ワムシ餌料としての珪藻 (フェオダクチラム) の有効性について. 日本栽培漁業協会事業年報 昭和60年度, 109-117.
- LEWIN, J. C., R. A. LEWIN and D. E. PHILIPOTT (1958) Observations on *Phaeodactylum tricornutum*. *J. Gen. Microbiol.*, 18, 418-426.
- MARUYAMA, I., T. NAKAMURA, T. MATSUBAYASHI, Y. ANDO and T. MAEDA (1986) Identification of the alga known as "marine chlorella" as a member of the Eustigmatophyceae. *Japan. J. Phycol.*, (34), 319-325.
- 早乙女浩一 (1986) 冷凍濃縮クロレラを使用したワムシ培養について. 日本海ブロック試験研究収録 (8), 93-103.
- 代田 昭彦 (1975) 水産餌料生物学. 恒星社厚生閣, 東京, xiv + 514pp.
- 鈴木 實 (1962) 第1網輪虫類 "動物系統分類学4. 袋形動物" (内田 亨監修), 9-74, 中山書店, 東京.
- 鈴木 實 (1985) シオミズツボワムシにおける諸型と分類学. 遺伝39 (11), 52-57.
- 渡辺 武 (1978) 脂質からみた仔稚魚用生物餌料の栄養価. "養魚と餌料脂質", 93-111, 日本水産学会編, 恒星社厚生閣, 東京.
- WOOD, B. J. B. (1974) Fatty acids and saponifiable lipids. In *Algal Physiology and Biochemistry*. W. D. P. STEWART Edt. *Botanical monographs*, 10, 236-265. Blackwell Scientific Publications Ltd., Oxford, 989 pp.

[質疑応答]

- 池田 (日水研). 絨毛虫は試してみたか。
- 塩垣 絨毛虫はワムシのように増えないのではないか。