



Title	光合成細菌Thiocapsa roseopersicinaのシオミズツボウムシBrachionus plicatilisに対する餌料価値
Author(s)	坂本, 久; 平山, 和次
Citation	長崎大学水産学部研究報告, v.54, pp.13-20; 1983
Issue Date	1983-02
URL	http://hdl.handle.net/10069/30419
Right	

This document is downloaded at: 2019-03-25T18:39:05Z

光合成細菌 *Thiocapsa roseopersicina* のシオミズツ
ボワムシ *Brachionus plicatilis* に対する餌料価値

坂本 久*・平山 和次

Dietary Effect of *Thiocapsa roseopersicina*
(Photosynthetic Bacteria) on the Rotifer
Brachionus plicatilis

Hisashi SAKAMOTO and Kazutsugu HIRAYAMA

Mass production of the rotifer *Brachionus plicatilis* is currently conducted mainly by feeding a marine type of *Chlorella* or a baker's yeast. However, it is still desired to develop the complete substitute for or supplementary diet with *Chlorella* sp. or the baker's yeast.

In Lake Kaiike of Kamikoshiki Island, Kagoshima Prefecture, photosynthetic bacteria (Chromatiacea) is the main primary producer. It supports the production of the first consumers in which the rotifer is usually dominant.

In the present study, the sterilized rotifer was cultured in three kinds of the cell suspensions of *Thiocapsa roseopersicina* collected from Kaiike; the cells without any supplement, a mixture with *Chlorella* sp. or a baker's yeast and the cells reinforced with some nutrients. The single cells suspension of *Thiocapsa roseopersicina* had a low nutritive effect on the population growth of the rotifer, and the cells under stationary stage of growth in particular had almost no effect. The mixture with *Chlorella* sp. or the baker's yeast improved considerably the nutritive quality of the cell suspension of *Thiocapsa roseopersicina* for the population growth of the rotifer. Even at a very low concentration, the addition of the cells of *Chlorella* sp. to the cell suspension of *Thiocapsa roseopersicina* was sufficiently effective in strengthening the nutritive quality. This fact suggests that in supporting the rotifer's growth, *Thiocapsa roseopersicina* plays dietary role mainly as the reserve of the energy.

The addition of vitamin A to the cell suspension of *Thiocapsa roseopersicina* strengthened the nutritive quality for the growth of the rotifer. This indicates that vitamin A must be one of the essential elements in the nutritive requirement of the rotifer.

シオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis* (以下ワムシと略記) は主要水産動物の種苗生産用初期餌料として極めて重要なものであり(1, 2), その大量培養は主として海産クロレラを餌料として行われている。

しかし、海産クロレラの生産には大きな水槽を必要とするし、その安定供給の点からもこれに代わる、また補足的に使用しうる餌料の開発が望まれている。近年、このような観点から、酵母類が餌料として利用される

ようになり、海産クロレラを餌料とするよりも高密度でワムシを生産することが可能となった(3, 4)。しかし、パン酵母単独で生産されたワムシはマダイやイシダイの稚仔魚に対して栄養的欠陥があることが判明し(5, 6, 7)、海産クロレラとの併用(8, 9, 10)や、必須脂肪酸を供給するためにイカ肝油等を添加してその栄養的欠陥を補強しようとする試みもなされている(11, 12)。また、実験的には海洋細菌を餌料とすることも行われ、菌株によってはかなり有効なものも見出されている(13)。しかし、これらの餌料はいずれも栄養価や生産の安定性の点で必ずしも完全なものとはいえない。

一方、ほぼ閉鎖的な自然環境下にある鹿児島県上甕島貝池では、Chromatiaceae 科の光合成細菌がワムシを主とするより高次の生産を支えていることが松山ら(14)により明らかにされている。

本研究ではこの光合成細菌に着目し、ワムシ培養用餌料としての餌料価値について厳密に検討した。その結果、光合成細菌は単独ではワムシに対する餌料価値が低いことがわかったので、これにパン酵母または海産クロレラを混合して餌料とした場合、どの程度餌料価値の改善がはかれるかを調べた。さらに、各種栄養素の添加効果を調べ、これによってワムシの栄養要求の一端を解明することも試みた。

材料及び方法

実験に用いたワムシは、Hirayama et al. (15) が各種藻類の餌料価値を求めたのと同じ系統の、いわゆるL型に属するものである(16)。なお本実験中に両性生殖は全く観察されなかった。

本研究に用いた光合成細菌 *Thiocapsa roseopersicina* は長崎大学水産学部松山通郎助教授によって1978年7月に貝池より分離されたものである。Fullerの無機培地(17)を用い、100ml容の密閉容器中で100 W 白熱電球による連続照明下、約3000 lux、約25°Cにより単一種培養したものを実験に使用した。Chromatiaceae 科の光合成細菌は、硫化物を酸化して硫黄を体内に蓄積して増殖する段階と、さらにそれを硫酸塩に酸化して消費しつくす段階とがある(18)。本報告では2つの段階を色調から肉眼的に区別してそれぞれ対数増殖期、定常期とした。パン酵母は協和発酵工業 KK より譲与されたものである。それを麴抽出液により枝付200ml容平底フラスコを用いて室温23±1°Cで通気培養し対数増殖期に達したものを実験に用いた。海産

の *Chlorella* sp. は Erd-Schreiber 改変培養液で23±1°Cで無菌的に静置培養しておいたものを用いた。実験に用いたフィードオイルは理研ビタミン KK から譲与されたタラ肝油である。

パン酵母の栄養価を求めた研究(19)と同様、実験には無菌のワムシ初産卵を用いた。活発に増殖しているワムシ群から採取した卵が孵化し、初めてつけた卵を採取し、これをメチレンブルー(16ppm)および抗生物質含有液(Table 1)(20)を用いて滅菌し十分洗浄した。実験にはこのような操作によって無菌となった初産卵のうちから、すでに卵殻内で繊毛冠を動かしているもののみを用いた。卵の無菌検査はチオグリコレート無菌検査培地によって行った。

実験用飼育海水は、活性炭で処理した稀釈海水(13~14% Cl)を用いた。稀釈海水は実験に使用する2~3日前にオートクレーブにより加熱滅菌した(以下飼育海水と略記)。

Thiocapsa roseopersicina およびパン酵母を餌料とした場合は、その培地を去除し菌体だけを用いるため、飼育海水により遠心分離法で数回洗浄した。*Chlorella* sp. を餌料として用いる場合は、その使用濃度が極めて低かったので、培養液ごと飼育海水で稀釈した。

このようにして得られた餌料懸濁液の濃度は分光光度計(HITACHI MODEL 102)で測定した吸光度から換算して求めた。それぞれの餌料の濃度と吸光度との関係は、波長420nm、2cm cellを用いた時、次のような回帰直線式によって示された。餌料濃度をD、吸光度をCとすると、

Thiocapsa roseopersicina の場合；

$$D = 7.00 C \times 10^7 \text{ (cells/ml)}$$

パン酵母の場合；

$$D = 704 C \quad (\mu\text{g/ml})$$

Chlorella sp. の場合；

$$D = 213 C \times 10^5 \text{ (cells/ml)}$$

Table 1. Composition of antibiotics mixture (1 ml).

Antibiotics	Content
Polymixin B, Sulfate	140 units
Dihydrostreptomycin Sulfate	6.6 mg
Tetracycline HCl	0.26 mg
Chloramphenicol	0.56 mg
Penicillin G	4950 units
Neomycin Sulfate	240 units

と表わされる。なお *Chlorella* sp. については Hira-yama et al. (21) の報告によった。

Thiocapsa roseopersicina に対する添加効果を調べた脂溶性ビタミン、フィードオイルはエチルアルコールに溶かして冷蔵庫内に保存しておいた。実験に先だてて蒸留水中に注射針から噴射することによりエマルジョンとし、オートクレーブ滅菌を行った。*Thiocapsa roseopersicina* の洗浄細胞を飼育海水に添加して餌料懸濁液を作成するときにエマルジョンを無菌的に添加した。

各実験では同一個体群のワムシ初産卵を用い、条件の異なる複数の餌料懸濁液により飼育し、相互の増殖の様子を比較して餌料価値の検討を行った。

実験はすべて無菌的に行い、実験水温は $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、pH は7.8~8.1であった。

餌料価値の判定には次の2つの方法を用いた。その1つは「バッチ飼育法 (batch culture 法)」と称すべきものである。餌料懸濁液 5 ml を入れた各試験管に初産卵を5個ずつ収容し、餌料懸濁液を更新することなくそのまま約1週間放置し、その間の個体増加数を指標値とするものである。なお、餌料の沈んでを防ぐために飼育期間中1日2回試験管をかく振り、餌料を均一に懸濁させた。初産卵の供試数は各餌料につき10~30個体である。

他の1つは、「個別飼育法 (individual culture 法)」と称すべきものである。各試験管に餌料懸濁液 4 ml と初産卵2個ずつを収容して、毎日同じ時間帯に観察を行い、最初に収容したワムシの生死、産卵数、仔虫数を記録した。その際、親虫から離れた卵と仔虫は全部取り除き、親虫とそれについている卵のみを新しい餌料懸濁液に移しかえて、その一生を追跡した。初産卵の供試数は、それぞれの餌料について11~18個体である。この操作により毎日の生残率と1個体当り産卵数との経過が求まるので、このような特性をもったワムシ群を想定し、その群の内的自然増加率 (intrinsic rate of population increase, r) * と純繁殖率 (net reproduction rate, R_0) ** とを Birch (22) の方法により算出して増殖に関する指標値とした。

2つの餌料価値判定方法にはそれぞれ次のような特

徴がある。バッチ飼育法では、一定期間放置後の増殖数を指標とするのであるから、その期間内に世代を繰り返すことが考えられ、予備飼育中にえられた生理的活性の影響が個別飼育法に比べて少ない。しかし、餌料濃度を一定にすることが極めてむずかしく、代謝産物の除去も不可能である。

一方、個別飼育法では、産出された卵がすべて孵化し増殖に参加するとの仮定のもとに指標値が算出されるので、産出されても孵化しない卵がある場合には、指標値が実際の増殖よりも高い値を示すことになる。また、毎日の操作の繰り返しにより個体に障害が引き起こされる可能性もある。また、個体の一生を追うので、予備飼育中の生理的活性の影響を大きく受ける危険がある。しかし、飼育懸濁液を毎日更新するので、餌料濃度を含めた飼育環境を一定に保つことができるし、ワムシ自体の糞や代謝産物などの影響も避けることができる。

結 果

単独投与

まず *Thiocapsa roseopersicina* の餌料価値を対数増殖期、定常期にある細胞をそれぞれ単独でワムシに与えることにより比較した。

バッチ飼育法による結果 (Table 2) も個別飼育法の2回の結果 (Table 3) も、対数増殖期の細胞では幾分ワムシは増殖したのに反し、定常期のものではほとんどワムシの増殖は見られなかった。なお、それぞれの実験で対数増殖期のものと定常期のものとで細胞数濃度に差があるのは、定常期のものでは菌体が幾分縮んでいるので量的に両者がほぼ等しくなるようにしたためである。

定常期の *Thiocapsa roseopersicina* ではワムシはほとんど増殖しなかったため、以後の実験ではすべて対数増殖期のものを用いた。

Thiocapsa roseopersicina の濃度とワムシ増殖との関係を求めるため *Thiocapsa roseopersicina* を数段階の濃度にわけてワムシに与えた。その結果は Table 4 (バッチ飼育法) と Table 5 (個別飼育法) にそれ

* 個体群の齢構成が安定しており、環境の収容力に制限がない場合の個体の増加率を示す式；

$$dN/dt = rN \quad (N: \text{個体数}, t: \text{時間})$$

の微分係数として示される。すなわち、 r は個体群の瞬間生長係数を示すもので、この値が高い程個体群は単位時間内に急速に増加することを示す (23)。

** 1個体当たり平均総産卵数で、ワムシ1個体が次世代に残す個体数のことである。すなわち $R_0 = 1$ ならば世代間の個体数の増減はなく、 $R_0 > 1$ ならば増加、 $R_0 < 1$ ならば減少することになる。

ぞれ示した。

バッチ飼育法では *Thiocapsa roseopersicina* ($5.6\sim 28.0$) $\times 10^6$ cells/mlの濃度範囲を2回の実験で調査した。その結果、 10×10^6 cells/ml以上の濃度になるとワムシの増殖が低下することがわかった。さらに個別飼育法では、 3.5×10^6 cells/mlの濃度で内的自然増加率0.62、純繁殖率5.00と、それぞれの指標値の

最大値をえた。しかし 14×10^6 cells/mlになるとそれらの指標値はかなり低下した。

混合投与

Thiocapsa roseopersicina にパン酵母を混合してワムシに投与した場合のバッチ飼育法による結果は Table 6 に、個別飼育法による結果は Table 7 にそれぞれ示した。それぞれの餌料を単独で与えた場合より

Table 2. Growth of the rotifer by batch culture in the cell suspension of *Thiocapsa roseopersicina* growing at exponential and stationary stages of growth.

<i>Thiocapsa roseopersicina</i>		Number of individuals				
Growth stage	Concentration (10^6 cells/ml)	At inoculation	On the 8th day from inoculation			
			Survived	Eggs	Dead	Total
Exponential	3.5	30	39	21	26	86
	10.5	30	7	32	50	89
Stationary	4.8	30	17	16	15	48
	14.3	30	9	16	12	37

Table 3. Population growth indices obtained by culturing the rotifer individually in the cell suspensions of *Thiocapsa roseopersicina* growing at the exponential and stationary stages of growth.

Number of experiment	<i>Thiocapsa roseopersicina</i>		Intrinsic rate of population increase (r)	Net reproduction rate (R_0)
	Growth stage	Concentration (10^6 cells/ml)		
I	Exponential	4.9	0.36	2.83
	Stationary	6.7	0.002	0.12
II	Exponential	7.0	0.42	3.30
	Stationary	9.5	0.002	0.08

Table 4. Growth of the rotifer by batch culture in the cells of *Thiocapsa roseopersicina* under exponential stage at various concentrations.

Number of experiment	Concentration of <i>Thiocapsa roseopersicina</i> 10^6 cells/ml)	At inoculation	Number of individuals			
			On the 5th day (experiment I) and the 7th day (experiment II) from inoculation			
			Survived	Eggs	Dead	Total
I	5.6	30	72	66	3	141
	10.5	15	34	26	12	72
II	7.0	30	46	57	50	153
	14.0	30	10	21	50	81
	28.0	30	3	22	21	46

Table 5. Population growth indices obtained by culturing the rotifer individually in the cell suspensions of *Thiocalpsa roseopersicina* under exponential stage at various concentrations.

Concentration of <i>Thiocalpsa roseopersicina</i> (10 ⁶ cells/ml)	Intrinsic rate of population increase (r)	Net reproduction rate (R ₀)
1.4	0.39	3.61
3.5	0.62	5.00
7.0	0.58	4.52
14.0	0.36	2.36

Table 6. Growth of the rotifer by batch culture in the mixed suspensions of *Thiocalpsa roseopersicina* and baker's yeast.

Concentration		At inoculation	Number of individuals			
<i>Thiocalpsa roseopersicina</i> (10 ⁶ cells/ml)	Baker's yeast (μg/ml)		On the 7th day from inoculation			
			Survived	Eggs	Dead	Total
7.0	0	30	102	51	63	216
7.0	8.6	30	312	15	50	377
7.0	50.0	30	573	27	69	669
0	50.0	30	18	7	12	37

Table 7. Population growth indices obtained by culturing the rotifer individually in the mixed suspensions of *Thiocalpsa roseopersicina* and baker's yeast.

Number of experiment	Concentration		Intrinsic rate of population increase (r)	Net reproduction rate (R ₀)
	<i>Thiocalpsa roseopersicina</i> (10 ⁶ cells/ml)	Baker's yeast (μg/ml)		
I	7.0	0	0.37	4.29
	5.3	13.0	0.69	10.28
	1.8	40.0	0.49	5.40
	0	53.0	0.14	1.46
II	7.0	0	0.62	4.70
	7.0	5.0	0.86	9.06
	0	5.0	0.002	0.58

も混合したものの方が餌料価値は高かった。バッチ飼育法では特にパン酵母を50μg/ml混合したものでワムシの増殖は良かった。個別飼育法では、各飼育例の投餌量がほぼ等しくなるように *Thiocalpsa roseopersicina* とパン酵母の混合割合をかえた実験と、*Thiocalpsa roseopersicina* の濃度を一定にし、添加するパン

酵母の濃度を低くした場合の実験とを行った。パン酵母の添加割合がかなり低い場合でも *Thiocalpsa roseopersicina* の餌料価値が改善されることがわかった。

Thiocalpsa roseopersicina に *Chlorella* sp. を混合してワムシに投与した場合のバッチ飼育法による結果は Table 8 に、個別飼育法による結果は Table 9 にそれ

Table 8. Growth of the rotifer by batch culture in the mixed suspensions of *Thiocapsa roseopersicina* and *Chlorella* sp..

Concentration (cells/ml)		Number of individuals				
<i>Thiocapsa roseopersicina</i>	<i>Chlorella</i> sp.	At inoculation	On the 5th day from inoculation			
			Survived	Eggs	Dead	Total
5.6×10^6	0	30	72	66	3	141
5.6×10^6	3.2×10^5	30	344	146	4	494
10.5×10^6	0	15	34 (68)*	26 (52)	12 (24)	72 (142)
10.5×10^6	3.2×10^5	10	183 (549)	100 (300)	0 (0)	283 (849)
0	3.2×10^5	30	138	58	1	197

* : In parentheses are shown the converted numbers on the assumption that the inoculated individuals were 30.

Table 9. Population growth indices obtained by culturing the rotifer individually in the mixed suspensions of *Thiocapsa roseopersicina* and *Chlorella* sp.

Number of experiment	Concentration (cells/ml)		Intrinsic rate of population increase (r)	Net reproduction rate (R_0)
	<i>Thiocapsa roseopersicina</i>	<i>Chlorella</i> sp.		
I	7.0×10^6	0	0.58	4.52
	7.0×10^6	5.0×10^4	0.83	15.41
	0	5.0×10^4	0.21	3.13
II	7.0×10^6	0	0.62	4.70
	7.0×10^6	5.0×10^4	0.94	18.05
	0	5.0×10^4	0.41	6.49

それぞれ示した。

バッチ飼育法では *Thiocapsa roseopersicina* の 2 段階の濃度に *Chlorella* sp. (3.2×10^5 cells/ml) を混合し、個別飼育法では 7.0×10^6 cells/ml の *Thiocapsa roseopersicina* に *Chlorella* sp. (5.0×10^4 cells/ml) を混合した実験を 2 回行った。いずれの実験においても、混合した *Chlorella* sp. の濃度は *Thiocapsa roseopersicina* に対してかなり低く、その濃度は *Chlorella* sp. を単独で餌料とした場合最適であるとされている 1.5×10^6 cells/ml (15) に比べて、バッチ飼育法で約 1/5、個別飼育法で約 1/30 であった。それにもかかわらず、両者を混合したものでは両者をそれぞれ単独で投与した場合に比べて、餌料価値を示す指標値は著しく高い値を示した。

脂溶性ビタミン、フィードオイルの添加効果

Thiocapsa roseopersicina (7.0×10^6 cells/ml) に脂溶性ビタミン類 (Vitamin A, Vitamin D, Vitamin E)

とフィードオイルをそれぞれ個別に添加した場合のバッチ飼育法の結果は Table 10 に、個別飼育法の結果は Table 11 にそれぞれ示した。

Vitamin A を添加した場合は、バッチ飼育法ではどの添加濃度でもワムシの増殖数は大きくなった。また個別飼育法でも、Vitamin A の添加効果はみとめられた。

Vitamin D を添加した場合は、バッチ飼育法の $0.1 \mu\text{g/ml}$ 添加区では無添加区よりよく増殖したが、 $0.4 \mu\text{g/ml}$ 添加区では 7 日目の生残数は 0 であり、増殖数も無添加区より少なかった。また、個別飼育法の $0.5 \mu\text{g/ml}$ 添加区でも無添加の場合よりもその指標値は低い値を示した。Vitamin E を添加した場合は、バッチ飼育法、個別飼育法ともに指標値は低かった。特にバッチ飼育法において 7 日目の生残数が非常に少なく、増殖数も少なかった。

フィードオイルを添加した場合は、バッチ飼育法の

Table 10. Growth of the rotifer by batch culture in the cell suspensions (7.0×10^6 cells/ml) of *Thiocapsa roseopersicina* reinforced with each of oil soluble vitamins or feed oil.

Vitamin or feed oil	Concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Number of individuals				
		At inoculation	On the 7th day from inoculation			
			Survived	Eggs	Dead	Total
—	—	30	102	51	63	216
Vitamin A	1.0	30	300	101	296	697
	4.0	30	618	29	19	666
Vitamin D	0.1	30	196	107	119	442
	0.4	30	0	10	79	89
Vitamin E	0.5	30	2	10	77	89
	2.0	30	4	10	56	70
Feed oil	1.0	30	457	45	35	537
	4.0	30	530	27	40	597

Table 11. Population growth indices obtained by culturing the rotifer individually in the suspensions (7.0×10^6 cells/ml) of *Thiocapsa roseopersicina* reinforced with each of oil soluble vitamins or feed oil.

Vitamin or feed oil	Concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Intrinsic rate of population increase (r)	Net reproduction rate (R_0)
—	—	0.42	3.30
Vitamin A	2.5	0.58	6.30
Vitamin D	0.5	0.02	1.04
Vitamin E	1.2	0.20	1.70
Feed oil	5.0	0.32	2.75

1.0, 4.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 添加区では添加効果が認められたが, 5.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で添加した個別飼育法では添加効果が認められなかった。

考 察

Thiocapsa roseopersicina を単独で餌料とした場合, 定常期ではほとんど餌料価値を持たないことがわかった。また対数増殖期のもを用いた濃度別の個別飼育法による実験で, *Thiocapsa roseopersicina* の濃度が 3.5×10^6 cells/ml の時, 内的自然増加率 (r) と純繁殖率 (R_0) の最高値をえたが, *Chlorella* sp. を単独餌料として得られた最高値 (r, 0.88 : R_0 , 20.0) (15) に比べるとかなり低い値であった。濃度をかえて餌料価値を検討した結果, *Thiocapsa roseopersicina* を餌料と

する場合の最適餌料濃度は $10^6 \sim 10^7$ cells/ml と考えられた。白水 (24) は貝池産のワムシに *Thiocapsa roseopersicina** を投与して求めたワムシの摂餌速度, 同化速度が 10^6 cells/ml の濃度で最大となり, それ以上の濃度では低下するという結果を得ている。貝池産のワムシが本実験で用いられたワムシよりも小型の S 型に属するものである (16) ことを考慮するなら, 本研究の結果と白水の結果とはよく一致しているといえる。

Thiocapsa roseopersicina にパン酵母を混合すると, 互いに補強し合い, それぞれが単独の場合よりもかなり餌料価値が高められることがわかった。*Chlorella* sp. を混合した場合にも, *Chlorella* sp. の混合割合は非常に低かったにもかかわらず, その補強効果は著しく, 個別飼育法でえられた 2 つの指標値はいずれも *Chlorella* sp. 単独投与の場合の最高値に近かった。

* 白水は *Chromatium* sp. として報告しているが, その後改めて同定なおされた。

これらの事実から、*Thiocapsa roseopersicina* は単独ではワムシに対して完全な餌料価値を備えたものではないが、エネルギー源としてはかなり有効に利用されることがわかる。貝池におけるワムシの高い生産も光合成細菌単独ではなく、他の微細藻類や細菌類の補強によって支えられているのであろう。またワムシの大量培養においても、海産クロレラが不足した場合などには、*Thiocapsa roseopersicina* を補強餌料として有効に活用できることを示している。

各種栄養素を添加した結果から、ワムシは明らかに Vitamin A を要求することがわかった。他の脂溶性ビタミン類については、その添加濃度が高すぎたためか、その効果を明らかにすることはできなかった。今後、より低濃度での実験を行い、その添加効果を検討する必要があると考える。

水溶性ビタミン (Vitamin B₁, Vitamin B₂, Biotin) の添加効果についても求めたが、いずれも明確な添加効果は認められなかった (未発表)。パン酵母に Vitamin B₁₂ を添加すると、ワムシに対する餌料価値がかなり改善される (19) という結果を得ている。したがって、*Thiocapsa roseopersicina* の場合には Vitamin B₁₂ が栄養上の制限要因にはなっていないのであろう。

謝辞：本研究を遂行するに当たり、材料及び資料を提供していただいた本学部海洋学教室、松山通郎助教授、および協発酵工業KKならびに理研ビタミンKKの関係者の方々に深く感謝する。

引用文献

- 伏見徹(1975)。稚魚の摂餌と発育、水産学シリーズ, No. 8。恒星社厚生閣, 東京, 67-87。
- 平野礼次郎(1975)。海洋の微小生物その開発と利用, 恒星社厚生閣, 東京, 162-180。
- 平田八郎・森保樹(1967)。栽培漁業, 5, 36-40。
- 古川一郎・日高勝義(1973)。日本プランクトン学会報, 20, 61-71。
- 隅田征三郎・尾脇満雄・浦田勝喜(1974)。昭和48年度熊本水試事業報告, 373-382。
- 北島力・耕田隆彦(1976)。長崎水試研報, 2, 113-116。
- 福所邦彦(1977)。長崎水試研報, 3, 152-154。
- 渡辺武・北島力・荒川敏久・福所邦彦・藤田矢郎(1978)。日水誌, 44, 1109-1114。
- 北島力・藤田矢郎・大和史人・米康夫・渡辺武(1979)。日水誌, 45, 469-471。
- 渡辺武・大和史人・北島力・藤田矢郎・米康夫(1979)。日水誌, 45, 883-889。
- 福所邦彦・岩本浩・松岡正信・今田克・藤田矢郎(1978)。水産増殖, 26, 71-81。
- 今田克・影山百合明・渡辺武・北島力・藤田矢郎・米康夫(1979)。日水誌, 45, 955-959。
- 安田公昭・多賀信夫(1980)。日水誌, 46, 933-939。
- Matsuyama, M. and E. Shirouzu (1978). *Jap. J. Limnol.*, 39, 103-111。
- Hirayama, K., K. Takagi and H. Kimura (1979). *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 45, 11-16。
- 伊藤史郎・坂本久・堀正和・平山和次(1981)。本誌, 51, 9-16。
- Bose, S. K. (1963)。Media for anaerobic growth of photosynthetic bacteria. In H. Gest et al. (eds.) *Bacterial Photosynthesis*, Antioch Press, 501-510。
- 畑幸彦(1974)。海洋微生物, 海洋学講座11, 多賀信夫編。東京大学出版会, 東京, 187-203。
- Hirayama, K. and H. Funamoto (1983 in press). *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 49。
- Provasoli, L., K. Shiraishi and J. R. Lance (1959). *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 77, 205-261。
- Hirayama, K. and S. Ogawa (1972). *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 38, 1207-1214。
- Birch, L. C. (1948). *J. Animal Ecology*, 17, 15-26。
- ウイルソン, E. O. and W. H. ボサート (1977)。集団の生物学入門 (巖俊一・石和貞男訳)。培風館, 東京, 87-147。
- 白水英二(未公刊)。長崎大学大学院水産学研究所 1980年修了, 修士論文。