

技術報告

市販材料を用いた微小ワムシ *Proales similis* 栄養強化の試行友田 努^{*1}・古板博文^{*2}・鴨志田正晃^{*1}・
黒木洋明^{*3}・瀧野拓郎^{*3}・田中秀樹^{*2}・手塚信弘^{*4}Nutritional Enrichment Trials of the Minute Rotifer *Proales similis*
Using Commercial MaterialsTsutomu TOMODA, Hirohumi FURUITA, Masaaki KAMOSHIDA,
Hiroaki KUROGI, Takurou SHIBUNO, Hideki TANAKA and Nobuhiro TEZUKA

We conducted preliminary nutritional enrichment trials of the minute monogonont rotifer *Proales similis*, taking account of feeding of Japanese eel *Anguilla japonica* larvae. *P. similis* was raised in 100 and 200-L cylindroconical polycarbonate tanks using the thinning culture method by replacing 20-40% of the culture water. Cultures were continued for up to 4-10 days at 24-25°C and a salinity (psu) of 17, and then *P. similis* at the exponential growth phase in cultivation was enriched with two types of commercial materials (frozen shark eggs and essential nutritional compounds) under the same conditions. Population size and activity (motility) of *P. similis* showed a tendency to decline in the case of shark-egg enrichment. On the other hand, we observed increased population growth and maintained activity in the case of nutritional-compound enrichment. In both treatments, the docosahexaenoic acid (DHA) and n-3 highly unsaturated fatty acid (n-3 HUFA) contents of enriched *P. similis* were higher than in primary-cultured *P. similis*. These results show that nutritional enrichment of *P. similis* with commercial materials other than microalgae is available similarly as in the euryhaline rotifer *Brachionus*.

2013年8月9日受付, 2013年10月29日受理

体サイズが極めて小さく、被甲を持たず体が柔軟であるスナワムシ科の極小ワムシ *Proales similis* (以下、プロアレス) は生態からみて大量培養が可能であり、マハタ *Epinephelus septemfasciatus*¹⁾ やウナギ *Anguilla japonica*²⁾ などの口径や咽頭部の狭小な魚種に対する新たな初期餌料となる可能性がある。しかし、プロアレスの安定培養や餌料価値についての研究は少なく^{1,3,4)}、培養工程以降における栄養強化手法の妥当性に着眼した研究は見当たらない。

特に、ウナギ仔魚の種苗生産では、国際自然保護連合 (IUCN, 2009) により絶滅危惧種に指定されているアブラツノザメ *Squalus acanthias* 卵を主成分としたペースト状餌料⁵⁾ が唯一有効な餌料であるが、将来的な供給量に限りがあるため早急にその代替餌料を確立する必要がある。

本研究では、ウナギ仔魚へのプロアレス給餌を視野に入れ、適正かつ効率的な栄養強化手法を検討するための一環として、サメ卵同様に活発な摂餌が認められ

*1 独立行政法人水産総合研究センター 増養殖研究所南伊豆庁舎
〒415-0156 静岡県賀茂郡南伊豆町石廊崎 183-2

National Research Institute of Aquaculture, Fisheries Research Agency, Minami-izu Laboratory, Minami-izu, Shizuoka 415-0156, Japan
ttomoda@fra.affrc.go.jp

*2 独立行政法人水産総合研究センター 増養殖研究所南勢庁舎

*3 独立行政法人水産総合研究センター 増養殖研究所横須賀庁舎

*4 独立行政法人水産総合研究センター 日本海区水産研究所能登島庁舎

た*5 市販強化剤を用いて栄養強化を試行した。加えて、これらプロアレスの成分分析から餌料価値を検討した。

材料と方法

培養と栄養強化 プロアレス（平均体長 $80.7 \pm 9.0 \mu\text{m}$ ）は、長崎大学大学院生産科学研究科から（独）水産総合研究センター日本海区水産研究所能登島庁舎に譲渡され継代培養していたものを同増養殖研究所南伊豆庁舎で拡大培養して用いた。栄養強化に供試するプロアレスを準備するために、100L アルテミアふ化槽（SBF-100, アース株式会社）6面と200L アルテミアふ化槽（SBF-200, アース株式会社）2面を用いて延べ28例の間引き培養^{6,7)}を行った。培養開始時のプロアレス密度は200～700個体/mLとした。経過日数に応じて、培養開始2日目以降の回収率を20～40%と増した。培養水には、 $1 \mu\text{m}$ カートリッジフィルター（TCW-1N-PPDE, アドバンテック東洋株式会社）で精密濾過した50%稀釈海水（実用塩分単位 psu; 17）を有効塩素濃度100 ppmで殺菌して用い、水温管理は恒温飼育室内の空調設備（ $24.6 \pm 0.3^\circ\text{C}$ ）により行った。培養餌料には、市販の冷凍濃縮ナンノクロロプシス *Nannochloropsis oculata*（冷凍ナンノ K2, クロレラ工業株式会社）を用い、残餌状況に応じて500～1,000万細胞/mLを毎日給餌した。通気は $\phi 50 \text{ mm}$ のエアストーン（丸50, アース株式会社）1個で行った。培養水槽には22×24 cmの合成樹脂製マット（サランロック OM-150, 旭化成ホームプロダクツ株式会社）を経過日数に応じて1～4枚投入し、死亡個体・残餌・糞など懸濁物質の除去を行った。また、培養不調の原因となる有害細菌・原生動物などの混入を防ぐため、水槽上部を農業用ポリエチレンフィルム（農ポリ, 東ソー・ニッケミ株式会社）で覆った。栄養強化は、Wullur *et al.*¹³⁾に準じて培養の過程で併行して実施した。培養期間中は毎日鏡検観察を行い、対数増殖を示した段階で事前に調製した栄養強化用の乳化液を培養水槽に添加した。強化材料には、市販の冷凍サメ卵（アブラツノザメ卵, 太平洋貿易株式会社；以下サメ卵区）とサメ卵同様に活発な摂餌が認められた栄養強化剤粉末（インディベプラス, 株式会社サイエンテック；以下インディベ区）を用いた。強化開始時のプロアレス密度は500～1,000個体/mLに調整した。

試験区の設定 試験区として、培養水量10Lに対してサメ卵（湿重量）2g区、4g区、およびインディベ（乾重量）1g区の計3区を設けた。サメ卵区では冷凍サメ卵を解凍した後、卵膜を除去した卵1に対して蒸留水4の割合で混合し、自転・公転ミキサー（あわとり練太郎 ARE-310, 株式会社シンキー）で攪拌（2,000 rpm×3分

間）・脱泡（2,200 rpm×3分間）処理し、テフロン製ホモジナイザー（アズワン株式会社）を用いて3,500 rpmで2回すり潰し、 $150 \mu\text{m}$ メッシュで濾過した乳化液を培養水槽に添加した。一方、インディベ区では栄養強化剤粉末1に対して蒸留水9の割合で混合し、以降の処理は上記同様とした。

プロアレスの観察 プロアレスは培養期間中、毎日観察した。日間増殖率の算出方法は、ワムシ培養ガイドブック⁸⁾に準じた。栄養強化したプロアレスについては、強化18時間後の生存個体数、回収率および活性（運動性）を調査した。回収率の算出は次式に従い、栄養強化に伴う個体数の増減割合（%）で示した。

$$\text{回収率 } R_t (\%) = N_t / N_0 \times 100$$

ただし、 N_0 : 強化開始時の密度、 N_t : 強化終了時の密度、 t : 強化時間を示す。活性については、ルゴール液（細菌染色用グラム液 B, 和光純薬工業株式会社）で固定する前に生存個体の遊泳割合から概算し、便宜上以下の基準で判定した。すなわち、S: 90%以上が活発に遊泳、A: 約70%が遊泳、B: 半数近くが底に沈み緩慢な動きを示す。

成分分析 プロアレスの一般組成と脂肪酸組成を分析するため、栄養強化前に2回、強化18時間後に7回、延べ9回のサンプル採取を行った。採取時には、 $20 \mu\text{m}$ プランクトンネット（NY20-HC, アース株式会社）を用いてプロアレスを回収した。これらのサンプルは、淡水でよく洗浄した後、水分を十分に切りビニール袋に入れて -80°C で凍結保存し、後日の分析に供した。サンプルはYamamoto *et al.*⁹⁾の方法に基づき、水分を 110°C ・10時間乾燥により、粗タンパクをセミアマイクロケルダール法（ $N \times 6.25$ ）により、粗脂肪をクロロホルム/メタノール混液を用いるFolch *et al.*¹⁰⁾の方法により調査した。脂肪酸は宮下ら¹¹⁾の方法よりメチルエステル化した後、ガスクロマトグラフ（GC-2010, 株式会社島津製作所）で分離して組成比を求め、Furuuta *et al.*¹²⁾に準拠して定量した。

結 果

プロアレスの状況 延べ28例の間引き培養において、平均日間増殖率は培養2日目まで-5、-6%と減少傾向であったものの、3～8日目は80～110%台に転じて対数増殖を示し、9～10日目には50%台に低下した（図1）。栄養強化は、概ね培養5～7日目の時点で行った。表1に栄養強化試験の概要を示した。平均回収率はサメ卵2g区101.9%、4g区60.7%、およびインディベ1g区159.9%となり、サメ卵を用いた事例では強化中に個体

*5 友田（未発表）

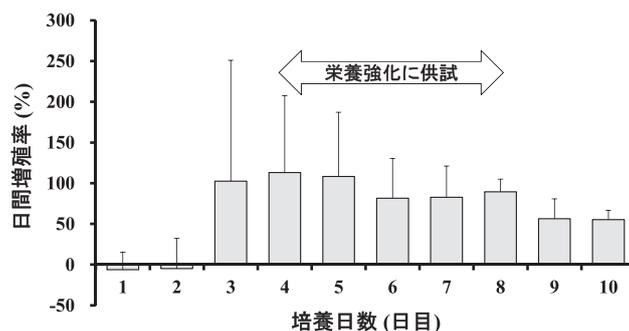


図1. 培養経過ともなう *Proales similis* の日間増殖率
エラーバーは標準偏差を示す (n=3-28)

表1. 市販材料を用いた *Proales similis* 栄養強化試験の概要

試験区	事例 No.	開始密度 (個体/mL)	終了密度 (個体/mL)	回収率 (%) ^{*1}	水量 (L)	総個体数 (万個体)	強化後の活性 ^{*2}	
サメ卵2g区	1	698	460	65.9	100	4,600	B	
	2	1,025	1,140	111.2	80	9,120	B	
		1,038	800	77.1	80	6,400	B	
	3	756	652	86.2	80	5,216	B	
		853	708	83.0	80	5,664	A	
	4	471	460	97.6	80	3,680	B	
		488	470	96.4	80	3,760	B	
	5	570	580	101.8	80	4,640	A	
		738	720	97.6	80	5,760	A	
		607	890	146.6	100	8,900	S	
6	933	1,150	123.2	150	17,250	S		
7	908	930	102.5	80	7,440	A		
	894	1,010	113.0	80	8,080	A		
8	818	1,000	122.2	80	8,000	A		
9	1,223	1,400	114.5	80	11,200	S		
10	998	910	91.2	80	7,280	A		
平均		813.5	830.0	101.9	86.9	7,311.9		
サメ卵4g区	1	863	476	55.2	80	3,808	B	
		1,013	670	66.2	80	5,360	B	
平均		937.5	573.0	60.7	80.0	4,584.0		
インディペ1g区	1	953	2,460	258.1	90	22,140	S	
		1,007	2,400	238.4	90	21,600	S	
	2	867	1,540	177.7	90	13,860	S	
		822	1,520	184.9	90	13,680	S	
	3	700	1,230	175.7	90	11,070	S	
		713	1,000	140.2	90	9,000	S	
	4	818	560	68.5	160	8,960	A	
	5	1,013	990	97.7	90	8,910	A	
	6	809	960	118.7	90	8,640	A	
	7	894	1,240	138.7	80	9,920	A	
	平均		859.6	1,390.0	159.9	96.0	12,778.0	

水温 24-25℃, 塩分 (psu) 17 で 18 時間強化

*1 回収率 (%) = 強化終了時の密度 / 強化開始時の密度 x 100

*2 活性判定基準; S: 90% 以上が活発に遊泳, A: 約 70% が遊泳, B: 半数近くが底に沈み緩慢な動き

表 2. 市販材料で栄養強化した *Proales similis* の一般組成と脂肪酸組成

分析項目	ナンノクロブシス培養			サメ卵強化						インディベ強化			
	強化前			2g区			4g区			1g区			
	No.1	No.2	平均	No.1	No.2	No.3	平均	No.1	No.2	平均	No.1	No.2	平均
水分 (%)	90.1	90.0	90.0	87.2	88.3	86.2	87.2	87.3	87.0	87.2	89.5	89.5	89.5
タンパク質 (%、d.b.) ^a	72.7	75.6	74.1	62.0	62.9	54.9	59.9	61.3	62.3	61.8	67.7	72.3	70.0
脂質 (%、d.b.) ^a	21.4	15.6	18.5	32.1	28.3	27.6	29.3	34.3	25.7	30.0	22.8	23.8	23.3
脂肪酸 (%)													
14:0	2.56	3.19	2.87	1.84	1.98	1.98	1.93	1.44	1.36	1.40	3.62	3.70	3.66
14:1	0.91	0.93	0.92	0.23	0.41	0.36	0.33	0.26	0.16	0.21	0.88	0.88	0.88
15:0	0.30	0.37	0.33	0.23	2.70	0.39	1.11	0.18	0.15	0.16	0.15	0.24	0.19
16:0	14.16	14.23	14.19	15.62	16.63	16.12	16.12	16.99	16.41	16.70	16.47	17.10	16.78
16:1n-7	11.61	10.31	10.96	7.10	6.36	6.11	6.52	5.28	5.23	5.26	8.74	8.94	8.84
17:0	0.66	0.65	0.65	0.44	0.60	0.55	0.53	0.47	0.43	0.45	0.58	0.59	0.59
16:3n-6	0.68	0.39	0.54	1.26	1.25	1.18	1.23	1.00	0.95	0.97	1.13	1.18	1.15
16:3n-3	0.18	0.32	0.25	0.27	0.40	0.30	0.32	0.27	0.28	0.28	0.24	0.77	0.51
18:0	3.53	4.02	3.78	3.41	3.13	3.09	3.21	3.07	3.08	3.08	2.61	2.81	2.71
18:1n-9	3.91	4.38	4.14	12.91	12.70	12.71	12.77	13.25	13.53	13.39	8.55	8.43	8.49
18:1n-7	6.79	7.37	7.08	6.75	5.43	5.45	5.88	5.69	5.94	5.81	4.03	4.32	4.17
18:2n-6	1.96	2.01	1.98	1.82	1.97	1.89	1.89	1.82	0.17	0.99	2.65	2.65	2.65
18:3n-6	0.37	0.33	0.35	0.15	0.01	0.20	0.12	0.22	0.15	0.19	0.22	0.19	0.20
18:3n-3	0.94	0.24	0.59	0.16	0.16	0.24	0.19	0.13	0.15	0.14	0.16	0.35	0.26
18:4n-3	0.23	0.16	0.19	0.21	0.23	0.16	0.20	0.14	0.16	0.15	0.38	0.18	0.28
20:0	0.33	0.30	0.32	0.17	0.00	0.00	0.06	0.30	0.27	0.29	0.16	0.10	0.13
20:1	0.94	1.60	1.27	4.32	4.61	4.50	4.48	5.05	4.89	4.97	3.02	1.47	2.24
20:2n-6	0.32	0.28	0.30	0.28	0.31	0.38	0.32	0.33	0.27	0.30	0.18	0.18	0.18
20:3n-6	1.22	1.27	1.24	0.33	0.40	0.30	0.34	0.40	0.32	0.36	0.46	0.51	0.49
20:4n-6 (ARA)	5.10	4.77	4.93	3.86	4.34	4.11	4.11	4.47	4.45	4.46	3.34	3.46	3.40
20:3n-3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
20:4n-3	0.29	0.26	0.27	0.33	0.46	0.45	0.41	0.63	0.56	0.59	0.22	0.23	0.22
20:5n-3 (EPA)	26.92	23.28	25.10	16.84	18.74	17.74	17.78	16.21	15.95	16.08	21.71	21.63	21.67
22:0	0.30	0.28	0.29	0.14	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.17	0.20	0.18
22:1	0.00	0.00	0.00	2.31	1.96	2.77	2.35	2.67	2.23	2.45	0.32	0.15	0.23
22:4n-6	0.56	1.16	0.86	0.61	0.31	0.23	0.38	0.61	0.54	0.58	0.52	0.51	0.52
22:5n-6	0.00	0.00	0.00	0.26	0.23	0.00	0.16	0.13	0.38	0.26	0.00	0.00	0.00
22:4n-6	0.56	0.77	0.66	0.24	0.00	0.00	0.08	0.00	0.13	0.06	0.75	0.70	0.72
22:5n-3 (DPA)	6.09	7.01	6.55	3.00	3.28	3.16	3.15	3.16	3.23	3.19	2.91	2.92	2.92
22:6n-3 (DHA)	0.97	0.64	0.81	8.21	8.78	8.67	8.55	11.51	11.47	11.49	8.93	8.58	8.75
ARA (%、d.b.) ^a	1.09	0.75	0.92	1.24	1.23	1.13	1.20	1.53	1.14	1.34	0.76	0.82	0.79
EPA (%、d.b.) ^a	5.77	3.64	4.71	5.41	5.31	4.89	5.21	5.56	4.10	4.83	4.95	5.15	5.05
DHA (%、d.b.) ^a	0.21	0.10	0.15	2.64	2.49	2.39	2.50	3.95	2.95	3.45	2.03	2.04	2.04
Σn-3 HUFA ^b (%、d.b.)	7.35	4.88	6.12	9.12	8.85	8.28	8.75	10.80	8.02	9.41	7.70	7.95	7.82
DHA/EPA ^c	0.04	0.03	0.03	0.49	0.47	0.49	0.48	0.71	0.72	0.71	0.41	0.40	0.40
DHA/ARA ^c	0.19	0.13	0.16	2.13	2.02	2.11	2.08	2.57	2.58	2.58	2.67	2.48	2.57
EPA/ARA ^c	5.28	4.89	5.08	4.36	4.32	4.31	4.33	3.63	3.59	3.61	6.49	6.25	6.37
18:1/Σn-3 HUFA ^c	0.31	0.38	0.34	0.69	0.58	0.60	0.63	0.60	0.62	0.61	0.37	0.38	0.38
タンパク質/脂質 ^c	3.39	4.83	4.11	1.93	2.22	1.99	2.05	1.79	2.42	2.10	2.97	3.03	3.00

^a 乾物重

^b Σn-3 HUFA = 20:3n-3 + 20:4n-3 + 20:5n-3 + 22:5n-3 + 22:6n-3

^c 単位なし

数が減耗した。また、強化後のプロアレスの活性はサメ卵 2g 区で B 判定が 6/16 事例、4g 区で 2/2 事例となり、S、A 判定のみのインディベ 1g 区よりも顕著に劣った。S 判定はサメ卵 2g 区で 3/16 事例、インディベ 1g 区で 6/10 事例となった。

プロアレスの成分組成 表 2 に栄養強化前・強化後の一般組成と脂肪酸組成を示した。全区とも栄養強化によりナンノクロブシス単独で培養した強化前よりも平均脂

質含量が増加し（相対比：25.7～61.8%増）、タンパク質含量が減少した（5.6～19.2%減）。なお、インディベ区（70.0%）ではサメ卵区（59.9, 61.8%）よりもタンパク質含量が高い傾向であった。平均 n-3 HUFA 含量は、サメ卵 2g 区 8.75%、4g 区 9.41% およびインディベ 1g 区 7.82% となり、強化前（6.12%）よりも高くなった（相対比：27.9～53.9%増）。特に、DHA 含量は、サメ卵区（2.50, 3.45%）およびインディベ区（2.04%）となり、強化前（0.15%）よりも顕著に高くなった。

考 察

プロアレス特有の脆弱性やそれに対応した培養・栄養強化工程における適切な処置について、既往知見^{1,3,4)}には詳細に記述されていない。プロアレスは一般的な海産ツボワムシ類と異なり、植え替えや栄養強化に伴うネット回収などの物理的なハンドリングに対して極めて脆弱であり、特に環境変化（水質・細菌叢・原生動物など）の影響を受けやすいことが経験的に知られる^{*6}。このため、現状の培養技術においては、ハンドリングによる減耗を避けるため、植え替え・栄養強化の元種を古い培養水ごと利用し新たな希釈海水との比率を適宜調整する手法や培養と栄養強化を同時併行で行う手法³⁾が採用されている。また、微細藻類と同等サイズの微小原生動物と共存するような培養状況が良好である傾向もどうかかわれ、水槽内の残餌を元に発生した細菌や原生動物を摂餌している可能性も示唆されている^{*7}。特に、成体は水槽底面に堆積しているフロックなどにブドウの房状に卵を産みつけるため（写真1）、遊泳している携卵個体はまれにしか観察されない。このため、総卵率¹³⁾などの指標値で増殖状況を予測することが極めて困難である。さらに、植え替え時にはフロックやゴミ除去フィルターに付着した産出卵の回収が困難であるため、必然的に遺棄せざるを得ず、新たに開始する培養には大きなロスが伴う。その結果、植え替え後の速やかな増殖が望めず、生産量が頭打ちになることも多々ある^{*8}。このように、プロアレスの生物学的特性や大量培養・効果的利用に関す

る情報は少なく^{1,3,4)}、端緒を開いたばかりといっても過言ではない。特に、量産種に対応した1kL水槽規模での安定培養事例や培養マニュアル等は皆無であり、未だ都道府県等の種苗生産現場への普及には至っていない。

本報告は、微細藻類と全く異なる物性の市販材料を用いてプロアレス栄養強化を行った初めての事例である。本研究では、培養過程における対数増殖期のプロアレスに対して、一般的な培養餌料である微細藻類と市販強化剤を併用給餌することで個体数減耗や活性低下を招くことなく、海産ツボワムシ類と同様に栄養強化が可能となることを明らかにした。海産仔魚の栄養要求^{14,15)}は多様であり、強化剤の選定基準も大きく異なることが予想される。ウナギ仔魚の栄養要求は依然として不明であるものの、本研究における強化プロアレスのDHA, n-3 HUFA含量は一般的な量産対象種の要求量¹⁴⁾を充たしていた（表2）。また、強化後の活性（運動性）についても餌料生物として供する上で問題ないものと推察された（表1）。本研究結果から、微細藻類と強化剤の種類・併用比率を調整することで様々な対象種の栄養要求に見合う初期餌料としての供給も実現可能と考えられる^{3,6,7)}。また、栄養強化レベルについては、海産ツボワムシ類と同様に培養履歴¹⁶⁾、培養条件^{17,18)}や強化剤の種類・添加濃度^{19,20)}の精査により、さらなる向上が期待される。今後、種苗生産の多様化に伴い、プロアレスに関する要望と利用価値は高まってくることが予想されるため、連続



写真1. フロックにブドウの房状に産みつけられた *Proales similis* の卵塊
矢印；多数の半透明卵

*6 萩原（私信）

*7 小磯（私信）

*8 友田（未発表）

培養法²¹⁾などを活用した安定培養手法の開発と併せて栄養強化手法のバリエーションを再検討する必要がある。

謝 辞

本研究を実施するにあたり、貴重なご助言を賜りました長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科の萩原篤志教授ならびに西海区水産研究所八重山庁舎の小磯雅彦博士に深く感謝する。また、研究推進にあたり格段のご配慮と激励のお言葉を賜り、支え続けてくださった日本海区水産研究所資源生産部長の有元 操博士に衷心より感謝申し上げる。本研究は農林水産技術会議委託プロジェクト研究「天然資源に依存しない持続的な養殖生産技術の開発」の一環として行われた。

文 献

- 1) WULLUR, S., Y. SAKAKURA, and A. HAGIWARA (2009) The minute monogonont rotifer *Proales similis* de Beauchamp: Culture and feeding to small mouth marine fish larvae. *Aquaculture*, **293**, 62-67.
- 2) YOSHIMATSU, T. (2011) Early development of preleptocephalus larvae of the Japanese eel in captivity with special reference to the organs for larval feeding. The Bulletin of the Graduate School of Bioresources Mie University, **37**, 11-18.
- 3) WULLUR, S., Y. SAKAKURA, and A. HAGIWARA (2011) Application of the minute monogonont rotifer *Proales similis* de Beauchamp in larval rearing of seven-band grouper *Epinephelus septemfasciatus*. *Aquaculture*, **315**, 355-360.
- 4) 平井慈恵・小磯雅彦・照屋和久・奥澤公一・小林真人・武部孝行・佐藤 琢・中村 航・後藤敬行・萩原篤志 (2012) メガネモチノウオ仔魚の飼育条件と微小餌料生物プロアレ *Proales similis* の餌料価値の検討. 水産技術, **4**, 57-64.
- 5) TANAKA, H., H. KAGAWA, and H. OHTA (2001) Production of leptocephali of Japanese eel *Anguilla japonica* in captivity. *Aquaculture*, **201**, 51-60.
- 6) DHERT, P., G. SUANTIKA, G. ROMBAUT, and P. SORGELOOS (2001) Advancement of rotifer culture and manipulation techniques in Europe. *Aquaculture*, **200**, 129-146.
- 7) LUBZENS E., O. ZMORA, and Y. BARR (2001) Biotechnology and aquaculture of rotifers. *Hydrobiologia*, **446/447**, 337-353.
- 8) 日本栽培漁業協会 (2000) 栽培漁業技術シリーズNo.6 海産ワムシ類の培養ガイドブック. (社)日本栽培漁業協会, 東京, 137 pp.
- 9) YAMAMOTO, T., T. SHIMA, H. FURUITA, and N. SUZUKI (2002) Influence of feeding diets with and without fish meal by hand and by self-feeders on feed intake, growth and nutrient utilization of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, **214**, 289-305.
- 10) FOLCH, J., M. LEES, and GHS. STANLEY (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497-509.
- 11) 宮下和夫・犬飼信子・太田 亨・佐々木茂文・太田智樹 (1999) 魚卵水溶性画分のPC リポソームに対する抗酸化活性. 日水誌, **65**, 488-494.
- 12) FURUITA, H., T. YAMAMOTO, T. SHIMA, N. SUZUKI, and T. TAKEUCHI (2003) Effect of arachidonic acid levels in broodstock diet on larval and egg quality of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, **220**, 725-735.
- 13) SARMA, S.S.S., R.D. GULATI, and S. NANDINI (2005) Factors affecting egg-ratio in planktonic rotifers. *Hydrobiologia*, **546**, 361-373.
- 14) 竹内俊郎 (2001) 栄養要求に関する基礎理論, 栽培漁業技術体系化事業, 基礎理論コーステキスト集XIV - 魚介類幼生の栄養要求と餌料の栄養強化. (社)日本栽培漁業協会, 東京, 1-32 pp.
- 15) BELL, J.G., and J.R. SARGENT (2003) Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. *Aquaculture*, **218**, 491-499.
- 16) 友田 努・小磯雅彦・桑田 博・陳 昭能・竹内俊郎 (2005) 増殖ステージが異なるシオミズツボワムシのヒラメ仔魚に対する餌料価値. 日水誌, **71**, 555-562.
- 17) 友田 努・小磯雅彦・島 康洋 (2008) シオミズツボワムシ培養水温がヒラメ仔魚飼育に及ぼす影響. 日水誌, **74**, 625-635.
- 18) 友田 努・團 重樹・芦立昌一・小磯雅彦・榮 健次 (2011) 異なる塩分で培養したシオミズツボワムシのヒラメ仔魚に対する餌料価値. 水産増殖, **59**, 41-50.
- 19) 竹内俊郎・鄭 鋒・興世田兼三・廣川 潤・渡邊 武 (1994) DHA 強化ワムシのマダラ仔魚に対する栄養価. 日水誌, **60**, 641-652.
- 20) MATSUNARI, H., D. ARAI, M. KOISO, H. KUWADA, T. TAKAHASHI, and T. TAKEUCHI (2005) Effect of feeding rotifers enriched with taurine on growth performance and body composition of Pacific Cod larvae *Gadus macrocephalus*. *Aquaculture Sci.*, **53**, 297-304.
- 21) FU, Y., A. HADA, T. YAMASHITA, Y. YOSHIDA, and A. HINO (1997) Development of a continuous culture system for stable mass production of the marine rotifer *Brachionus*. *Hydrobiologia*, **358**, 145-151.