

微粒子人工飼料で飼育したヒラメ仔稚魚の成長と
形態変化について

松本正樹²・平田貴司¹・神垣正宏²・沖増英治¹・雨村明倫¹

福山大学内海生物資源研究所¹・太陽化学(株)総合研究所²

Studies on Growth and Morphological Changes of the Larvae and juveniles of Japanese Flounder, Paralichthys olivaceus, Fed on Artificial Diet.

Masaki Matsumoto², Takashi Hirata¹, Masahiro Kamigaki², Eiji Okimasu¹ and Akinori Amemura¹

(Research Institute of Marine Bioresources, Fukuyama University, Ohama-cho, Innoshima, Hiroshima 722-21, Japan¹; Central Research Laboratories, Taiyo Kagaku Co. Ltd., Takara-machi, Yokkaichi, Mie 510, Japan¹)

Report Res Inst. Marine Bioresources, Fukuyama Univ., No. 3, 1-18 (1992).

Growth and morphological changes of the larvae and juveniles of Japanese flounder, Paralichthys olivaceus, were compared between those fed on live foods consisted of rotifer, Brachionus plicatilis, and brine shrimp nauplii, Artemia salina, and those fed on three kinds of artificial diets. The artificial diets No.1 and No.2 were prepared by us and No.3, a commercial preparation. Relative growth expressed by measuring the total length, preanal length, body height, mouth cleft and eye diameter were measured and development of fins and internal organs were contrasted during the rearing period (36 days). The results after 24 days were : Larvae fed on natural diet showed better growth bringing earlier

morphological change than those fed on artificial diet No.1. However after 36 days the larvae and juveniles fed on artificial diet No.1 brought the best growth and showing a higher survival rate than those fed on live foods. Furthermore morphological change of the fish fed on No.1 diet was completed relatively in a short term. Larvae and juveniles fed on artificial diets No.2 and No.3 resulted in a reasonable growth with higher survival rates than those fed on natural diet, although the morphological change of the fish fed on No.2 occurred earlier than those fed on No.1 and No.3.

水産養殖業は年々盛んになってきており、特に海面養殖業はブリ、マダイ、ヒラメ、トラフグなど多種にわたって行われている。しかし、養殖魚の生産性を高めるためには種苗の確保が必然である。現在、マダイ、ヒラメなどの親魚養成が可能となり、いわゆる完全養殖が実現している。

現在、マダイ、ヒラメ、トラフグの種苗生産には、初期餌料としてシオミズツボムシ、アルテミア幼生などの動物性プランクトンに依存している。これらの生物餌料は種苗生産の確立以来、使用されてきたが、種苗の大量生産に伴い、大量培養が必要となってきた。それには多大の設備、維持、管理費が必要である。しかも、それらの培養が環境に左右されることや、培養不良の生物餌料による仔稚魚の疾病発生などにより、安定した種苗生産量を確保できない。そのため種苗生産に、生物餌料に代わる水中に安定で、仔稚魚が消化し易く、栄養価に富んだ微粒子人工飼料の開発が急務の研究課題になりつつある。

海産養殖で有用魚種であるヒラメの仔稚魚の形態変化に関する研究は天然魚や生物餌料によって飼育されたものについて多くの報告があるが^{1~5)}、人工飼料で飼育されたその形態変化に関する研究はなされていない。

本研究はヒラメの孵化仔魚を用いて、人工飼料の効果を調べると共に、生物餌料で飼育した仔稚魚との成長、形態変化などの違いを比較することを目的として飼育試験を試みた。

実験材料および方法

供試魚には、1991年4月28日愛媛県伯方島栽培漁業センターより分譲された受精卵を孵化させ得られたヒラメ仔魚を用いた。飼育水槽には500ℓ容の青色ポリエチレン水槽を用いた。受精卵は各水槽に約10,000粒を収容し、人工飼料給餌区として3試験区、対照区として生物餌料給餌の1試験区、計4試験区を設けた。受精卵収容から孵化までは止水で飼育し、その後は毎分約200mℓの濾過海水を注入し、飼育6日令(1991年5月5日)から36日間飼育した。未孵化、斃死魚を除いた飼育6日令の飼育開始時の仔魚数は各試験区約6,500尾とした。なお、飼育期間中ヒーターを各水槽に設置し、飼育期間中の温度は15.7～20.7℃に保った。

仔稚魚の餌料として、対照区にはテトラセルミス *Tetraselmis tetraathele* またはナンノクロロプシス *Nannochloropsis oculata* で培養したシオミズツボムシ *Brachionus plicatilis* (以下ワムシ)、アルテミア *Artemia salina* の孵化幼生(nauplius)をナンノクロロプシスで2次培養したのを用い、1日2回に分けて給餌した。給餌量は対照区にはワムシを1日1,000万個体、アルテミア幼生は飼育26日目より200万個体を、ワムシと同様1日2回に分けて給餌した。人工飼料区は飼料を1日8回に分けて給餌した。1日当りの給餌量は飼育開始時から18日までは3.2gを、19日から26日までは4.0g、27日から36日までは4.8gとした。また、18日までは粒径250μm以下ものを19日から36日目までは粒径250～500μmの飼料を50%量混合し、用いた。なお試験区には対照区の20%量のワムシを併用した。

人工微粒子飼料No.1とNo.2は、魚粉、イカ粉末、オキアミ粉末を蛋白源とし、タラ肝油、オキアミ抽出油、大豆レシチン、高度不飽和脂肪酸を多く含むエステル85(理研ビタミン)を脂質源とし、仔稚魚が消化吸收し易いように飼料原料をタカジアスターゼで処理した後、風乾、破碎、分粒し調製した。飼料の組成をTable 1に、また、給餌方法、給餌量および給餌日数はFig. 1に示す。ワムシ給餌期間に限り、飼育水中にナンノクロロプシスを添加した。また、1日1回水槽底の沈澱物を掃除し、同時に斃死数を調べ、3日毎に集計した。

Table 1. Composition of artificial diet No.1 and No.2.

	No.1	No.2
1)Whole hen egg powder	20.0 %	20.0 %
2)White fish meal	26.0	24.0
3)Squid meal	19.0	17.0
4)Krill meal	10.7	9.7
5)Cod liver oil	1.0	1.0
6)Krill oil	0.5	0.5
7)Squid liver oil	2.0	2.0
8)Soybean lecithin	2.0	2.0
9)n-3 HUFA* ¹	1.0	1.0
10)Dextrin	5.0	5.0
11)Vitamin mixture* ²	5.0	5.0
12)Mineral mixture	3.0	3.0
13)Shellfish extract* ³	2.5	2.5
14)Taurine	0.5	0.5
15)Carrageenan	1.5	1.5
16)Takadiastase	0.3	0.3
17)Rotifer powder* ⁴	-	5.0

*¹ n-3 Highly unsaturated fatty acid (Ester 85).

*² Followed according to Halver (1957).

*³ Scallop and short-necked clam extract.

*⁴ Freeze-dried rotifer.

Table 2. Feeding of larvae and juveniles of Japanese flounder.

Larvae used : 6days after hatching, 6,500 indiv./tank;
initial average total length, 4.4 mm

Rearing system:

Aquarium 500 liters polyethylene tank
supply seawater running water (200ml/min.)
water temperature 15.7-20.7 °C

Groups examined:

A 100%Live foods(rotifer and/or brine shrimp nauplii)*
B Artificial diet No.1 + rotifer 20%
C Artificial diet No.2 + rotifer 20%
D Artificial diet No.3 + rotifer 20%

Frequency of feeding:

Artificial diet 8times /day ; live foods twice/day

* Brine shrimp nauplii were given larvae during test period from 27th to 36th day.

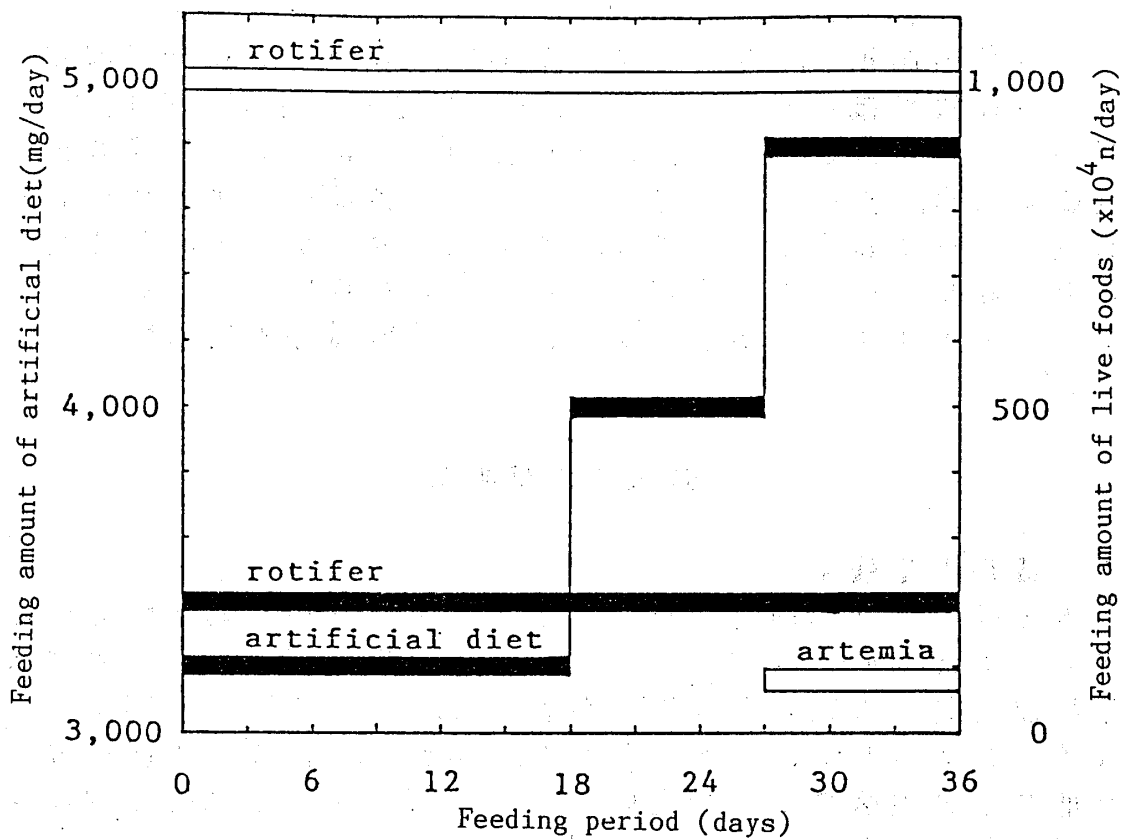


Fig.1. Amount of diet and schedule of feeding.
 □, Live foods group; ■, artificial diet group.

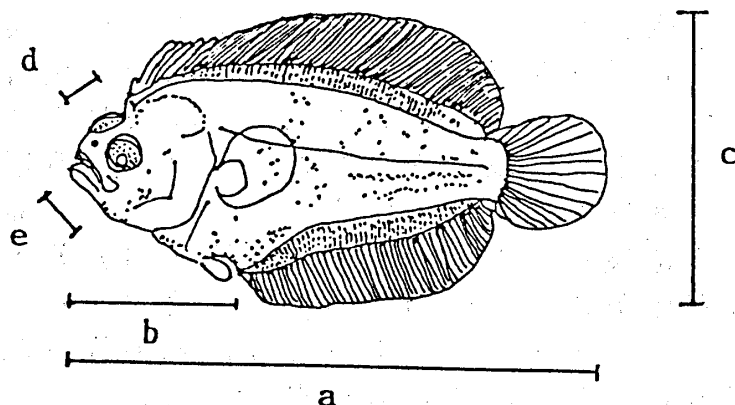


Fig.2. Parts measured of larvae and juveniles of Japanese flounder.
 a, Total length; b, preanal length; c, body height; d, eye diameter;
 e, mouth cleft.

仔稚魚の測定は、3日毎に1試験区より無作為に20尾取り上げ、万能投影機(Nikon V-1型)を用いて全長、体高、前肛門長、眼径、口裂を測定した。測定部位をFig. 2に示す。形態変化、内臓諸器官、摂餌の様子等については、各部位の測定に供した20尾について観察し、その際、奇形魚の発生が認められる場合はその観察も行った。測定後、仔稚魚の写真撮影を行い、次いで、10%ホルマリン溶液により固定し、組織標本用試料とした。

結果および考察

1. 成長と生残率

本実験の全長、前肛門長、体高、口裂、眼径、累積斃死数測定の結果はFig. 3~Fig. 8に示した。全長は飼育9日目までは生物餌料区(A区)と人工餌料区(B, C, D区)の間に大きな差は認められなかった。しかし、飼育12日目よりA区の成長が他の3試験区のそれを上回った。A区に次いでNo. 2飼料を給餌したC区がよかったが、飼育27日目以降はNo. 1飼料のB区がA区、C区を上回るよい成長を示した。D区は飼育12日目頃から他の試験区に比べ、成長がやや劣っていた。飼育実験終了時の36日目の全長は、A区12.5mm, B区13.2mm, C区10.7mm, D区10.7mmであった。

前肛門長は各試験区とも飼育12日目以降、成長率の停滞がみられた。これはヒラメが成長と共に形態が変化し、肛門の位置が前方に移行するためである。試験区の中で、A区は飼育12日目まで著しい成長を示し、その後、前肛門長の成長が停滞した。人工餌料区のC区は前半、成長がよかったが、飼育15日目ごろより停滞した。B区とD区は飼育21日目までは大きく停滞することなく、ゆるやかな成長を示した。しかし、B区はその後、急成長してA区を超越して、飼育27日目頃より停滞傾向を示した。これらの結果から人工餌料区は生物餌料給餌区に比べ、肛門の位置の変化が遅れる傾向にあり、変態が遅れることがわかった。また、シオミズツボワムシの凍結乾燥物を添加した人工餌料給餌区のC区が前肛門長の停滞を示したことより、ワムシには飼育実験前半において成長促進効果のある栄養成分が含ま

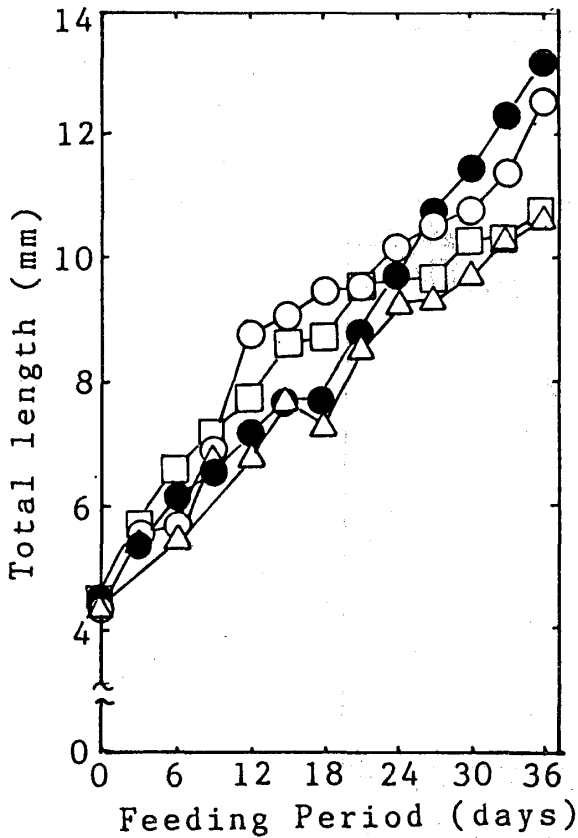


Fig.3. Growth expressed by total length of larvae and juveniles of Japanese flounder. ○—○, group A; ●—●, group B; □—□, group C; △—△, group D.

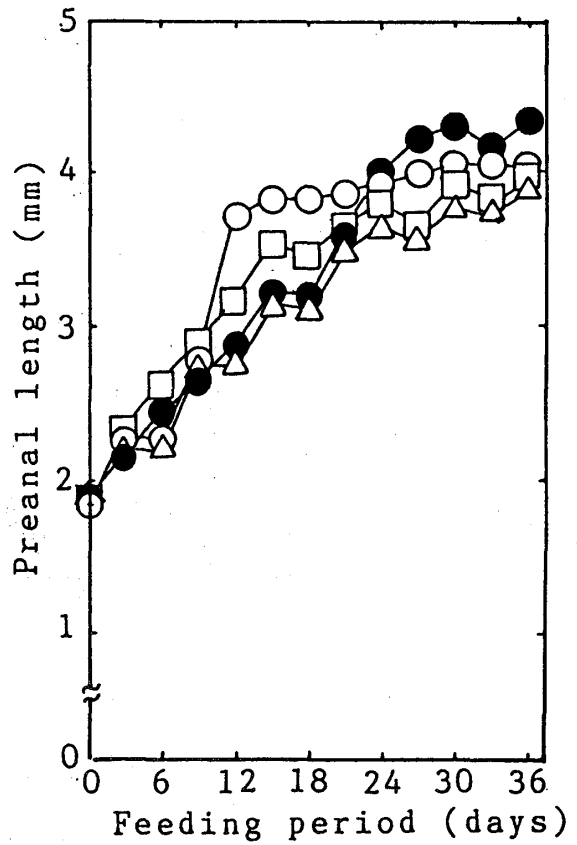


Fig.4. Growth expressed by preanal length of larva and juveniles of Japanese flounder. Symbols are the same as those in Fig.3.

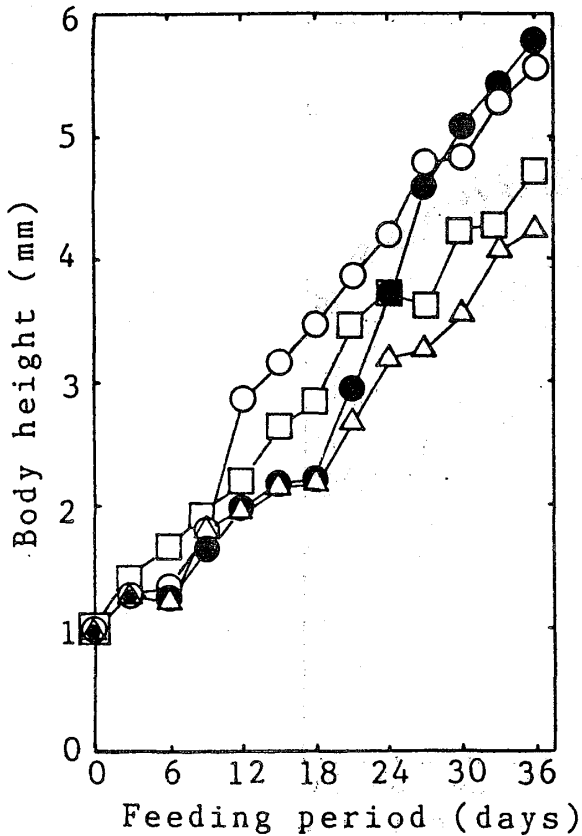


Fig.5. Growth expressed by body height of larvae and juveniles of Japanese flounder. Symbols are the same as those in Fig.3.

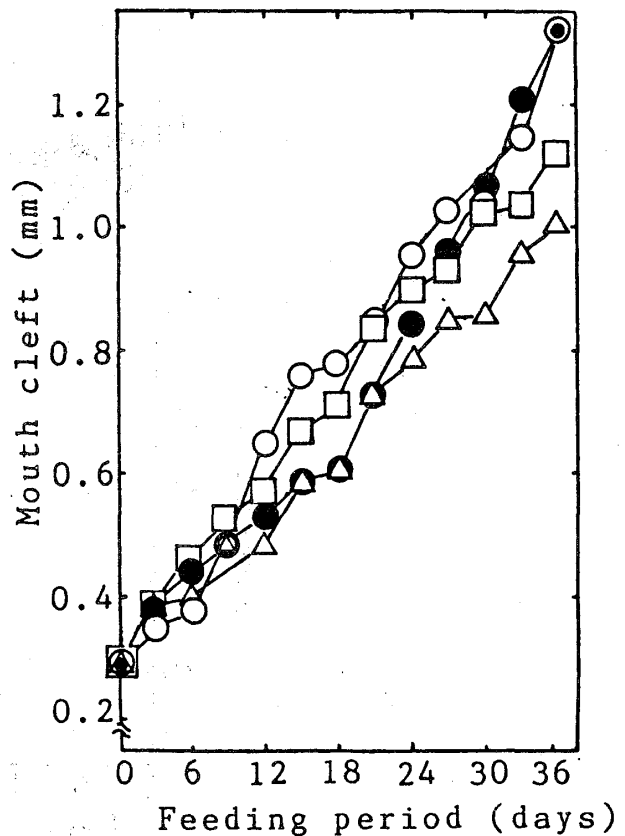


Fig.6. Growth expressed by mouth cleft of larvae and juveniles of Japanese flounder. Symbols are the same as those in Fig.3.

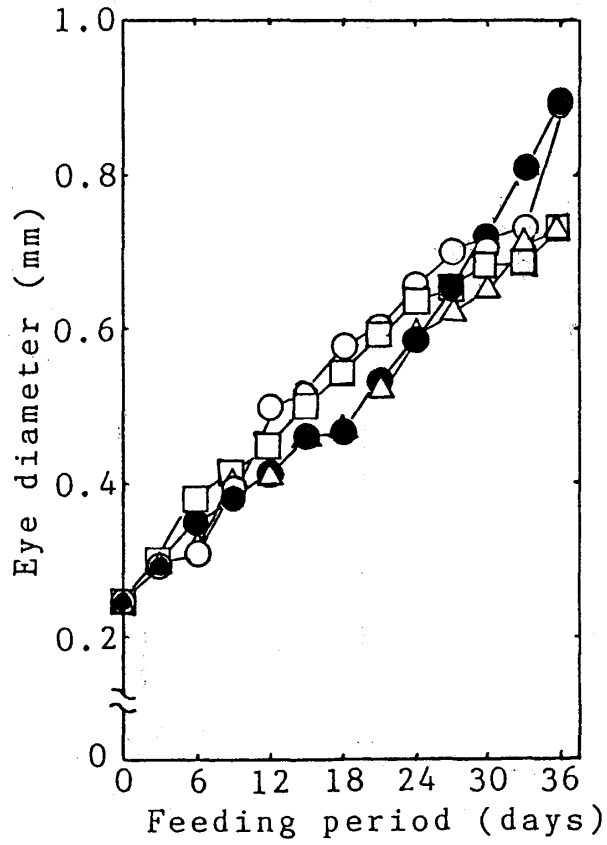


Fig.7. Growth expressed by eye diameter of larvae and juveniles of Japanese flounder. Symbols are the same as those in Fig.3.

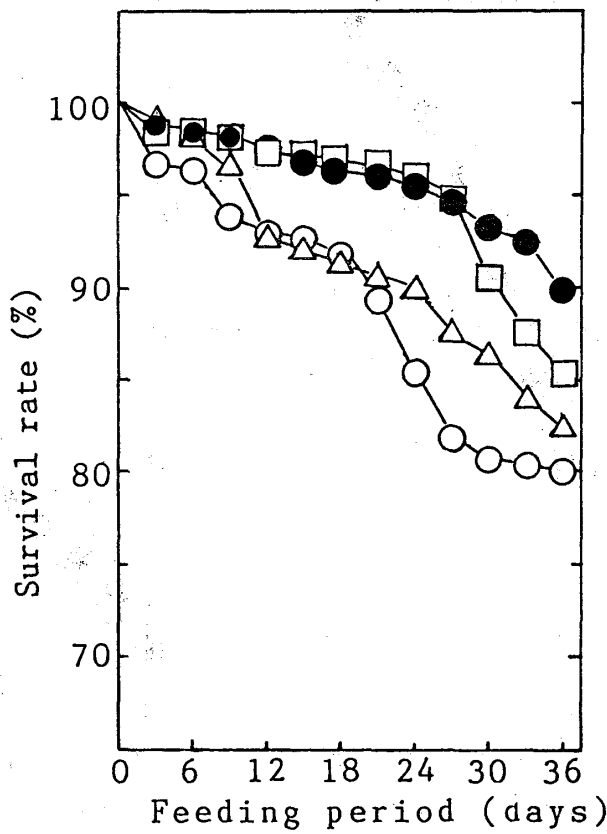


Fig.8. Survival rate of larvae and juveniles of Japanese flounder. Symbols are the same as those in Fig.3.

れていると推測された。

体高も全長と同様な傾向にあり、飼育24日目まではA区が最もよい成長を示したが、飼育27日目にはB区が追いつき、その後さらに上回る結果となった。C区は飼育21日目まではB区、D区を上回っていたが、その後、体高の成長は劣り、D区と共にA区、B区に比べ劣った。ヒラメは偏平化により体高が急激に増加する時期があるが、A区は飼育9から12日目にかけてよい成長を示したのに対し、人工飼料区のB区は18から27日目にかけてよい成長を示し、生物餌料給餌区に比べて、遅れる傾向が認められた。

口裂はA区とC区が飼育21日目頃まで良好な成長を示したが、飼育30日目には、B区がA区とC区を上回り、飼育36日目にはA区とほぼ変わらない結果となった。

眼径は前半はA区とC区が良好だったが、他との差は小さかった。口裂と同様飼育30日目にはA区よりB区の眼径が大きくなり、飼育36日目にはA区とB区がいずれも、他に比べて良好な成長を示した。

生残率は飼育21日目まではB区とC区が共に高く、A区とD区が低かった。その後、A区とD区の斃死数がさらに増え、飼育36日後の生残率はA区が79.9%、B区が89.9%尾、C区が85.4%尾、D区が82.4%で、B区が最も生残率が高く、A区より約10%も高かった。生物餌料区に比べ、人工飼料区の方が生残率が高く、人工飼料、特にNo.1が有効であることが判った。

2. 形態変化

1) 伸長鰭条鰭の形成と消失、眼球の移動

ヒラメ仔魚は変態過程において、背鰭前端部鰭条の伸長と眼球の移動が起こることが大きな特徴である。飼育期間中に認められた伸長鰭条の形成と消失、眼球の移動、歯の形成の経過をFig. 9に示す。飼育開始時の6日令には4試験区とも、すでに背鰭前端部鰭条の原基が確認され、飼育6日目には、これらが3条に分化した。飼育9から15日目までに4試験区とも新たに2鰭条が分化し、5鰭条となった。形成された鰭条の伸長はさらに続いたが、飼育後30日頃より徐々に短くなりはじめ、B区では飼育後33日目で、ほぼ半数が消失し、A区では、飼育後36

日に約70%が消失した(Fig. 20)。しかしC区, D区では消失したものは数尾に過ぎなかった(Fig. 10)。

眼球の移動が最初に確認されたのは飼育21日目で, A区とC区において, わずかに右目が背中線よりに移動していた。次いで24日目にB区とD区に同様に移動が観察された(Fig. 19b)。B区は眼球の移動開始がA区及びC区に遅れたが, 飼育後半の急成長に伴い, 短期間で眼球の移動が完了した。飼育33日目には約70%以上が完了していた。他の試験区では数尾しか確認できなかった(Fig. 11)。

2) 各鰭の形成

鰭の形成と分化をFig. 12に示すが, 鰭の分化は背鰭先端部鰭条を除くと尾鰭から始まった。各試験区とも飼育12日目(18日令)に尾鰭原基が確認され, その後, 鰭条の分岐が見られたが, それと共に脊索末端の上屈が始まった。上屈の最も早かったのはA区とC区で, 飼育12日目であった。B区とD区は15日目に認められた。尾鰭の鰭条数が定数に達したのは, A区が最も早く21日目で, 次いでC区, B区, D区の順に尾鰭の形成が確認された。背鰭と臀鰭の形成と分化は担鰭骨が形成された後, 始まった。担鰭骨は臀鰭側より形成されるが, 臀鰭の担鰭骨の形成が早かったのはA区とC区で飼育15日目に確認され, 18日目には背鰭側の担鰭骨の形成が確認された(Fig. 18a)。D区は飼育18日目より担鰭骨の形成が始まり, 飼育21日目に両側の担鰭骨形成が確認された。B区は最も遅く, 飼育21日目に両側の担鰭骨の形成が認められた(Fig. 13)。背鰭, 臀鰭の形成が最も早かったのはA区で飼育15日目に臀鰭の形成が, 飼育18日目に背鰭の形成が確認された(Fig. 18a)。人工飼料区ではC区が早く, 臀鰭が18日目, 背鰭が21日目で形成が確認された。B区とD区では臀鰭が21日目, 背鰭が24日目に形成が確認された(Fig. 19-b)。全試験区とも飼育12日目に腹鰭の原基が確認された。腹鰭の形成はA区が最も早く, 飼育18日目で(Fig. 18a), 次いでC区が早く21日目に確認された。B区とD区は24日目に確認された(Fig. 14, 19b)。胸鰭は孵化直後より膜鰭状に存在していたが, 飼育実験期間中に鰭条の形成は認められなかった。

3) 臓器の形成

ヒラメ仔稚魚の消化器官の発達経過はFig. 15に示す。消化管

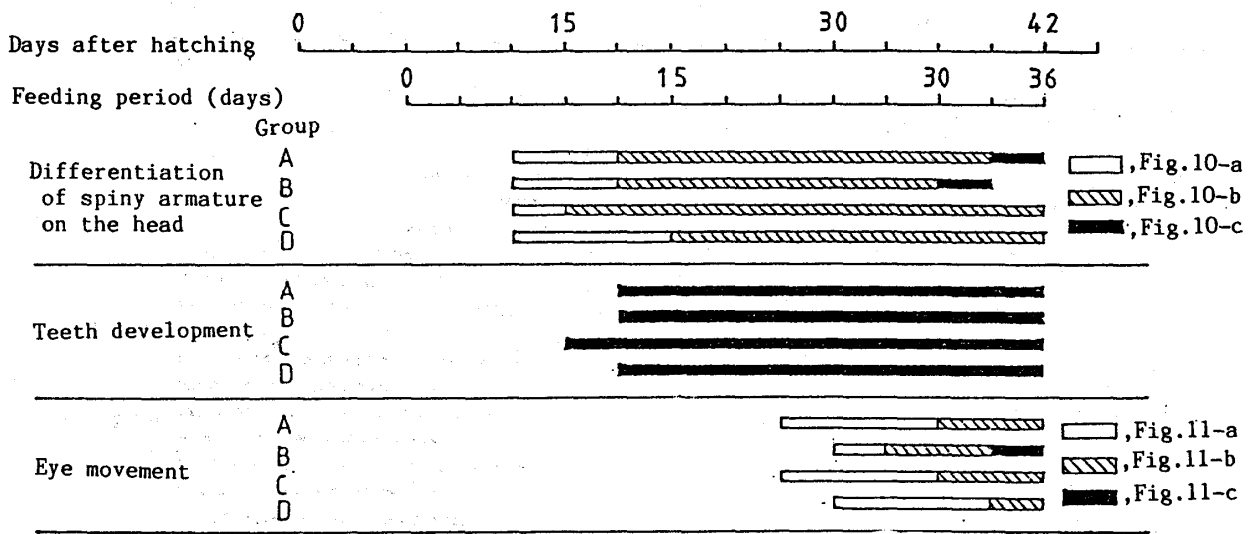


Fig.9.. Morphological changes in larvae and juveniles of Japanese flounder.

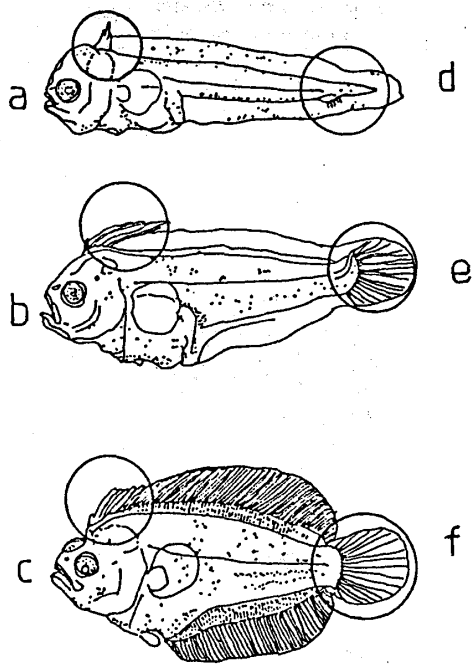


Fig.10. Development of caudal fin and dorsal fin of Japanese flounder.

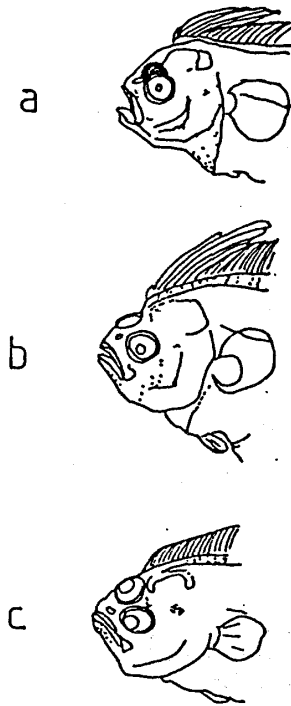


Fig.11. Eye movement of Japanese flounder.

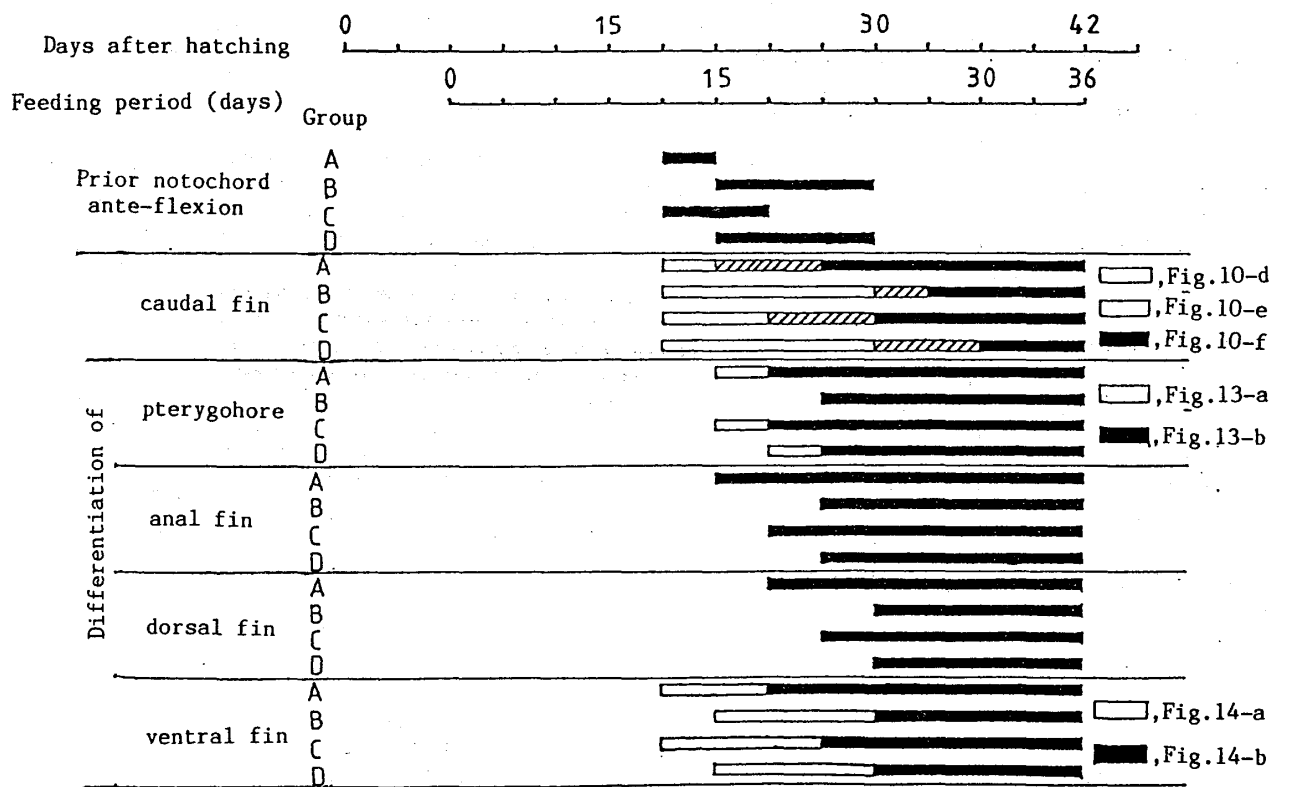


Fig.12. Development of fins in larvae and juveniles of Japanese flounder.

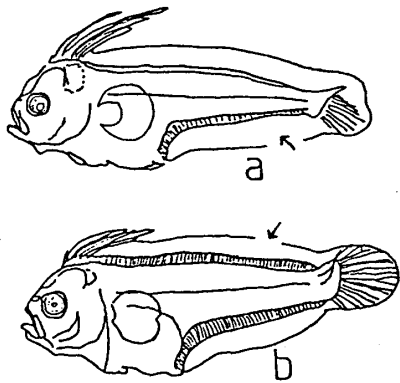


Fig.13. Development of pterygophore of Japanese flounder.

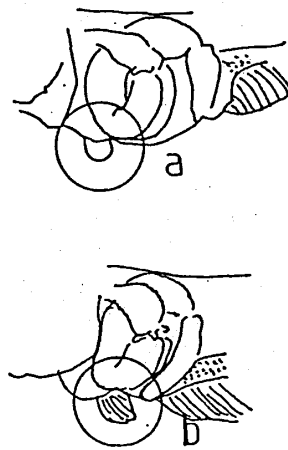


Fig.14. Development of ventral fins of Japanese flounder.

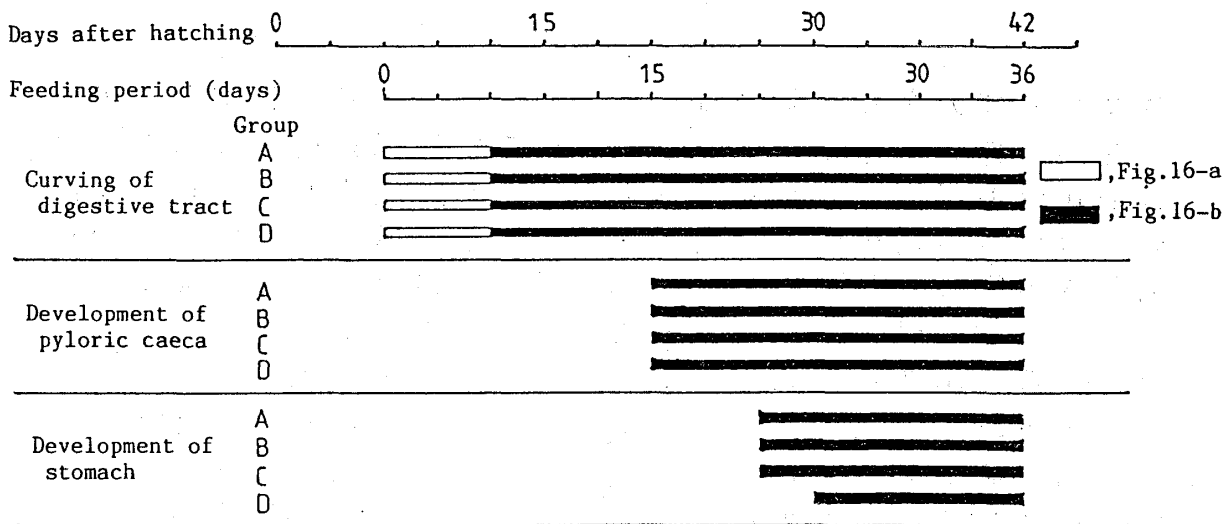


Fig.15. Development of internal organs in larvae and juveniles of Japanese flounder.

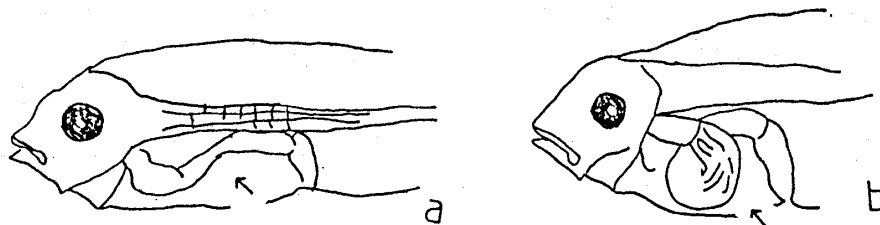


Fig.16. Development of digestive tract of Japanese flounder.

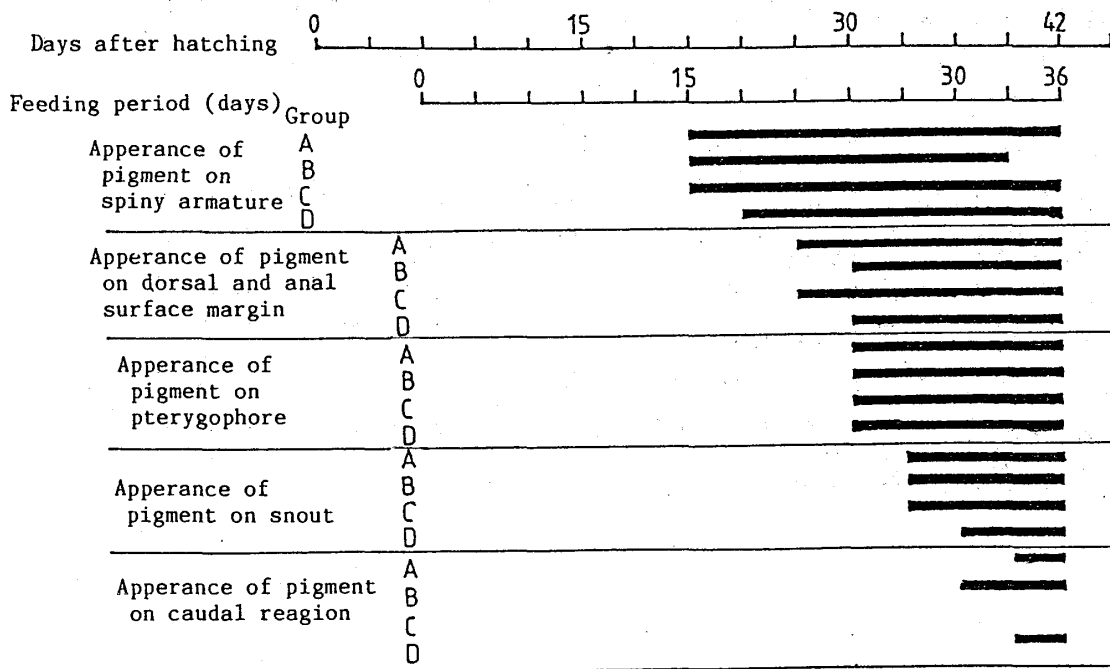


Fig.17. Pigmentation in Japanese flounders.

は2日令で卵黄を吸収するに伴い、太くなり肛門に向かって折れ曲がる部分にくびれが生じた。飼育実験開始時(6日令)には消化管前半部分でねじれるようになり、飼育6日目には4試験区の仔魚の消化管が1回転しているのが確認された。その後、消化管の膨らみが増し、飼育15日目に4試験区とも直腸部分との間にくびれ付近に小指状の幽門垂状のものが確認された。安永によると幽門垂は31から35日令に分化すると報告されているが¹⁾本実験では21日令と早期に幽門垂が確認された。今後、組織学的に確かめる必要がある。21日目にはA区、B区、C区、24日目にはD区の消化管前半部分が肥大し、胃の形成が確認された(Fig. 16, 19)。

4) 色素沈着

孵化後4日目には脊索に沿って色素沈着が、また消化管の下部にも認められた。飼育実験3日目(9日令)には4試験区とも膜鰭縁辺部にも黒色素胞が多数に現れた。飼育6日目には黒色素胞は体表全体に広がった。Fig. 17に示したように、背鰭先端部の伸長鰭条が発達するにつれその部分における黒色素胞の出現はA区、B区、C区とも飼育15日目に、D区は飼育18日目に認められた。また、背鰭、臀鰭縁辺部への発現はA区とC区が早く飼育21日目頃であった。B区とD区は24日目で発現が見られた。担鰭骨帯付近への発現は4試験区とも飼育24日目に認められた。この段階になると黒色素胞密度が高くなり、腹部や頭部にも星形状に広がっていた。尾鰭先端部分から尾柄部の黒色素胞の発現はB区が最も早く、飼育30日目で確認された。A区とD区は飼育33日目で認められた。C区は飼育期間中発現がみられなかった。

5) 着底および奇形発生率

ヒラメは形態変化が完了すると着底するが、飼育36日後における各試験区の着底率はA区とB区が約70%であった。しかし、C区とD区では約40%に過ぎなかった。奇形の発生数はサンプリングを行った各試験区の260尾中、A区では6尾、B区では10尾、C区では11尾、D区では15尾であった。白化個体はC区とD区が多かった。脊椎の異常は各区に見られた。特にD区では吻部の変形、腹部の陥没などがみられた。

以上、述べたようにヒラメ仔魚の成長は当初においては生物餌料の給餌区（A区）が良好な成長を示した。しかし、人工飼料No.1給餌区（B区）の飼育27日目前後に生物餌料区の成長を追い越した。消化器官の発達にはD区がやや遅れる傾向にあったが他の試験区間には大きな差は認められなかった。そのため4試験区とも同時期に胃が形成され、消化酵素の分泌も始まったと考えられる。ヒラメは孵化後30から35日目に胃腺細胞が分化すると報告されており⁶⁾、本実験のヒラメも同様と考え、飼育27日目には胃腺細胞より消化酵素が分泌され、人工飼料中のタンパク質や脂質等をよく分解吸収したと考えられる。しかしB区の飼育開始時にワムシを併用したワムシ以外に人工飼料もよく摂餌しているのが観察され(Fig.18a)、成長していることから、飼育前半の胃腺がまだ分化していない時期においても人工飼料は利用されることが示唆された。胃腺細胞が未分化の仔魚期の消化吸収は脂質は前中腸上皮細胞から、タンパク質は直腸上皮細胞から飲作用によって細胞内消化されるとされている^{6, 7)}。また、人工飼料No.1およびNo.2は消化酵素によって飼料原料を処理しているため、腸上皮より消化吸収し易くなっていると推測される。

人工飼料区の中、飼育前半にC区がA区に次いでよい成長を示したが、飼育21日目頃からは成長が停滞した。D区は飼育開始時から成長が他に比べ劣っていた。また、累積斃死数についてもB区が低く、生物餌料給餌区のA区がむしろ高いことから、人工飼料No.1がヒラメ仔稚魚の種苗生産の歩留まり向上に有効であることが明かとなった。仔稚魚用人工微粒子飼料についていくつかの報告があるが⁸⁻¹⁰⁾、現在の市販微粒子飼料ではワムシを併用しないと成長、生残率に良好な成果が得られないのが現状であり、成長ならびに生残率がワムシを通常の20%の併用で良好な結果が得られたことは生物餌料に代わる飼料として期待される。

生物餌料給餌区はシオミズツボワムシ、アルテミア幼生の栄養不良、細菌感染などにより斃死を引き起こし、生残率が低くなったと考えられる。No.2人工飼料給餌区（C区）はB区と同じ飼料原料にワムシの凍結乾燥物を添加した飼料で、飼育前半においてはよい結果であったのは、ワムシ中にある生理活性物

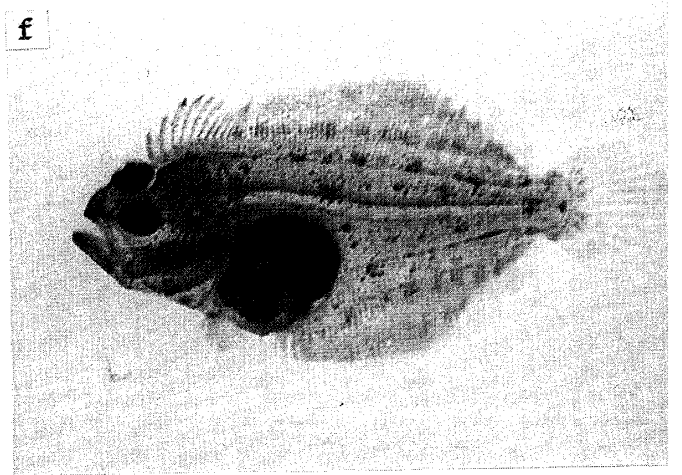
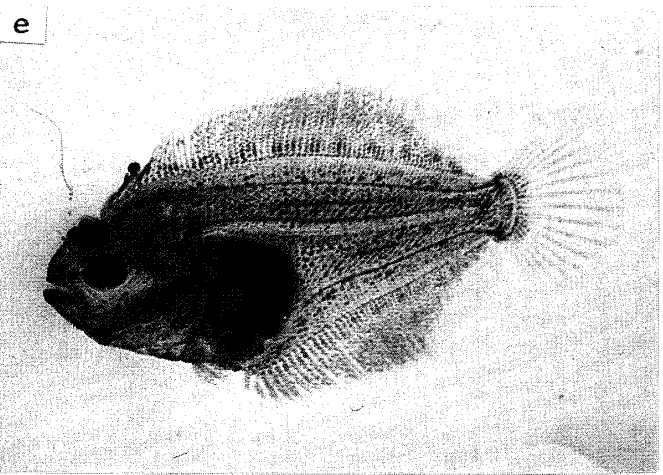
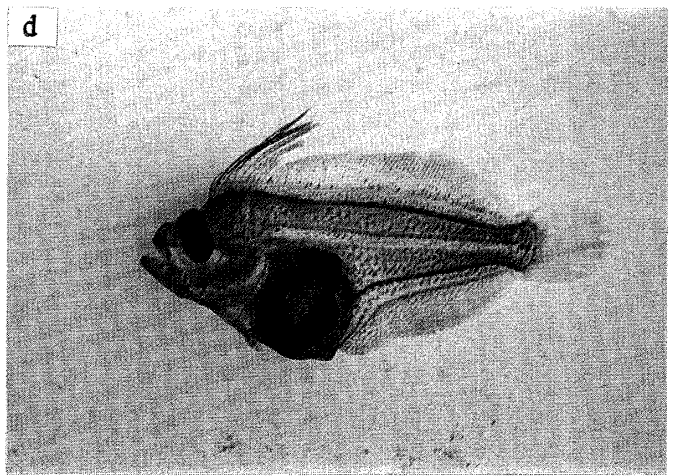
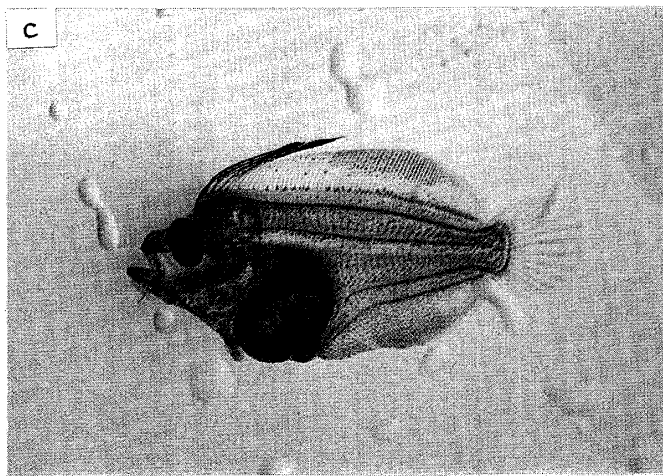
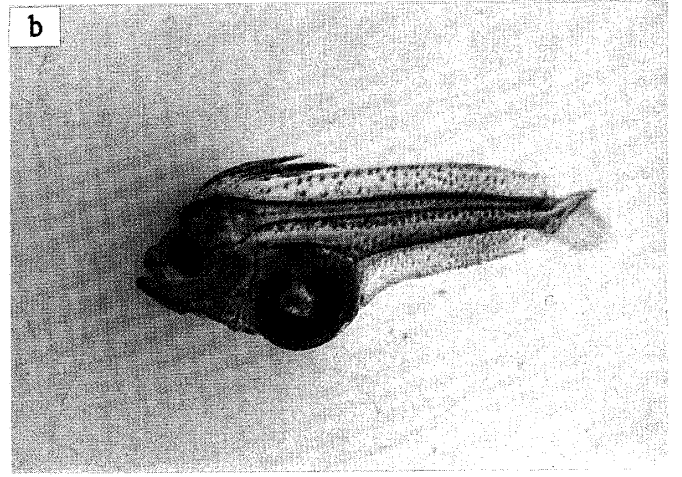
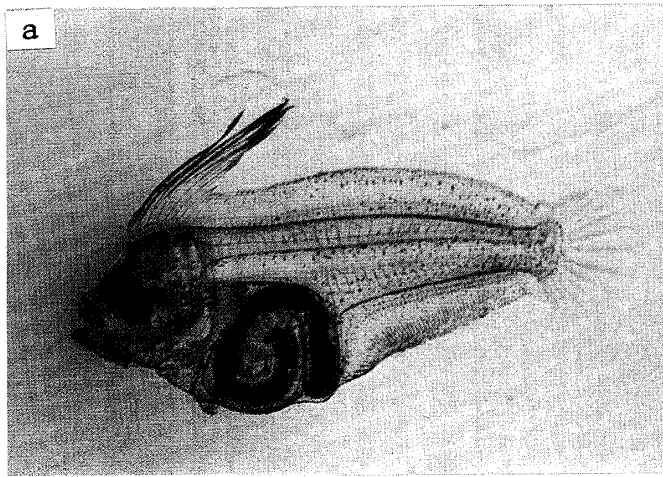


Fig.18. Larvae of Japanese flounder fed on live foods (a,c,e) and fed on artificial diet No.1 (b,d,f). Stage: 24 days after hatching (a,b), 30 days after hatching (c,d), 42 days after hatching (e,f).

質の効果とも推測されるが今のところ明かではない。

ヒラメ仔稚魚の形態変化についての報告があるが⁴⁾が、その結果は本実験の生物餌料給餌区のそれとほぼ同じである。しかし本研究のB区は成長結果かわかるように、飼育後半から急成長を示した。担鰭骨の分化、尾鰭の分化などの形態変化は生物餌料給餌区より遅れたが、飼育後半で短期間で変態を完了した。右眼の移動はA区とC区が21日目に開始したが、飼育期間36日間中に完全に目の移動を完了したものはなかった。B区はやや遅れて24日目頃から移動を開始したが、飼育30日目には大部分の魚の移動が完了していた。また、シオミズツボワムシを添加した人工飼料C区の変態開始はA区と同時期に他の人工飼料区よりも早く始まった。シオミズツボワムシの摂餌は早期仔魚の成長ならびに形態の発達を促進するかもしれないが、今後の研究に委ねたい。

要 約

生物餌料または、人工飼料で飼育したヒラメ仔稚魚の成長と形態変化について調べることを目的として飼育実験を行った。36日間の飼育の結果、人工飼料No.1給餌区が生物餌料給餌区よりも良好な成長と高生残率を示した。No.2人工飼料給餌区は生物餌料区より成長は劣るが、生残率は高かった。飼育前半においては生物餌料給餌区とワムシを人工飼料原料として添加したNo.2飼料区の方が上回っていたが、飼育27日目よりNo.1飼料給餌区が急成長した。形態変化も、飼育前半、生物餌料区と人工飼料No.2給餌区が早く進んだ。しかし、No.1飼料給餌区は飼育後半、急成長にともない短期間で完了した。このことより人工飼料No.1を給餌することで仔稚魚の成長を促進すると共に、歩留まり向上の効果が認められた。その形態学的変化は前半生物餌料に劣るものの、後半の変態期に良好な成長と共に短期間で変態を完了することを特徴とした。ワムシを添加した飼料は前半の成長と形態変化が良好であったが、後に遅れる傾向が見られた。

謝 辞

本研究を行うにあたり、ヒラメ受精卵を恵与賜りました、社団法人、日本栽培漁業協会伯方島分場の場長、他皆様方に謝意を表します。

文 献

- 1) 安永義暢：東海水研報， **69**， 75-89 (1972)。
- 2) 南 卓志：日水誌， **48**， 1581-1588 (1982)。
- 3) 高橋庸一：水産増殖， **33**， 43-52 (1985)。
- 4) O. Fukuhara: Nippon Suisan Gakkaishi, **52**, 81-91(1986)。
- 5) G. Kawamura and K. Ishida: Nippon Suisan Gakkaishi, **51**, 155-165 (1985)。
- 6) 田中 克：稚魚の消化系。稚魚の摂餌と発育，水産学シリーズ No. 8，恒星社厚生閣，1975， pp. 7-23。
- 7) 渡辺良朗：仔魚の消化吸收機構。養魚飼料，水産学シリーズ No. 54，恒星社厚生閣，1985， pp. 89-98。
- 8) 金沢昭夫：微粒子飼料。養魚飼料，水産学シリーズ No. 54，恒星社厚生閣，1985， pp. 99-110。
- 9) A. Kanazawa, S. Teshima, S. Inamori, S. Sumida and T. Iwashita: Mem. Fac. Fish., Kagoshima Univ., **31**, 185-192 (1982)。
- 10) A. Kanazawa, S. Teshima, S. Inamori and H. Matsubara: Mem. Fac. Fish., Kagoshima Univ., **32**, 109-114 (1983)。