

～80  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  が適当な光強度であると推察されたため、更に初代培養試験 2 で水温 30°C、P-E S 改変培地、塩分濃度 34‰、試験開始密度  $40 \times 10^4 \text{ cells}/\text{ml}$  の条件下での最適光強度を求めた。その結果、60  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  で最も安定的に増殖することが明らかになった (図 2)。

シャコガイは殻長 3 mm 以上になり殻が厚くなって不透明になると、2,000  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  以上の光強度下で順調に生育する。<sup>1,12)</sup> 同時に外套膜表皮下にある共生藻が生存できるのは外套膜組織によって共生藻が強い光から守られているためである。<sup>12)</sup> 初代培養試験 2 の結果はこのことと符合した。また、シャコガイの生育に適した光強度と共生藻の増殖に適した光強度とは大きく異なっていることが推察された。

培養水温：30°C、光強度：60  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、試験開始密度： $40 \times 10^4 \text{ cells}/\text{ml}$ 、培地：P-E S 改変培地、塩分濃度：34‰の条件下で 9～11 日間初代培養すれば細胞密度は  $300 \times 10^4 \text{ cells}/\text{ml}$  に達することが明らかになった。

## 2. 継代培養条件の検討

継代培養試験 1 の結果から、P-E S 改変培地を用い保存元種を通気しながら継代培養できることが分った (図 3)。従来、ほぼ同一条件で培養してもシャコガイ生体から元種を採取した初代培養に比較して継代培養では細胞の増殖が不安定であった。この原因として P-E S 改変培地には含まれない増殖促進物質がシャコガイ体内に存在し、それが継代によって失われている可能性が考慮された。しかし、この試験では P-E S 改変培地のみで継代後の増殖が観察されたため、シャコガイ体内の成分を特別に用いなくても継代培養が可能であることが示唆された。

継代培養試験 2 はサンゴ共生藻の単離培養に用いられた実績のある ESM 培地、<sup>9)</sup> を用いて水温 30°C、光強度 60  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、塩分濃度 34‰、試験開始密度  $40 \times 10^4 \text{ cells}/\text{ml}$  の条件下で、継代後の増殖を P-E S 改変培地と比較したが、P-E S 改変培地を上回る増殖結果は得られなかった (図 4)。

継代培養試験 3 は初代培養と同様に水温 30°C、光強度 60  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、塩分濃度 34‰、P-E S 改変培地の条件下で、元種履歴が増殖に及ぼす影響について試験した。試験開始密度  $40 \times 10^4 \text{ cells}/\text{ml}$  で継代した A は培養 11 日目に  $300 \times 10^4 \text{ cells}/\text{ml}$  以上に達した (図 5)。これは初代培養及び振盪培養から試験開始密度  $80 \times 10^4 \text{ cells}/\text{ml}$  で継代培養した事例と比較しても遜色ない結果であった。振盪培養元種でなく通気培養元種からの継代はこの試験で可能となった。しかし、シャコガイ生体から藻体を取り出して 21 日間振盪培養後に初代培養を行った B は 9 日目から 11 日目にかけて増殖速度が低下した。11 日目の計数時に夾雑物 (珪藻及び藍藻) の混入が観察された。この夾雑物混入が共生藻の増殖の妨げになったと考えられた。延べ 55 日間培養した継代 3 代目の C は A と同様の増殖は見られなかった。これも B と同様に 11 日目に夾雑物が観察され、この夾雑物が共生藻の増殖の妨げになったと考えられた。この元種履歴は途中に 42 日間の振盪培養を含ん