

だ継代3代目であったことから、通気による2代目の継代培養は初代培養と同様に可能ではあるが3代目以降は夾雑物の混入を防止しなければ初代培養と同様の増殖は期待できなことが推察された。

初代培養時の元種から夾雑物混入を防止する目的で行った雑藻混入防止試験の結果から次亜塩素酸ナトリウム（カルキ）で外套膜を洗浄すると58～68日目までは夾雑物が観察されることなく通気培養が可能であった。同様にエタノール処理、二酸化ゲルマニウム処理も無処理に比べると長期間の通気培養が可能であった（図6）。この結果から外套膜の薬品による洗浄処理は雑藻混入防止手法として有効であると考えられた。しかし、これらの手法を用いても夾雑物の完全な混入防止には至らず、継代培養4～5代目で夾雑物の混入が観察された。今後は希釈法やマイクロマニピレーター法で単離した夾雑物混入のない元種を増殖させると同時に、他の薬品の使用を含めた雑藻混入防止手法を検討していく必要があると考えられた。

### 3. 運動型細胞への変異条件の検討

シャコガイの共生藻は外套膜表皮下に静止型細胞として生存し、シャコガイ体外に出ると2本の鞭毛を持った運動型細胞に変異する。<sup>12,14,15,16</sup>しかし、フラスコ内で培養した共生藻の殆どは静止型細胞であり運動型細胞はごく少数しか出現しない。シャコガイ種苗生産水槽へ投与された共生藻の殆どは静止型細胞のみであることが多い。<sup>17</sup>一方、仔貝がある程度生残した飼育水槽では、運動型共生藻の存在割合が多いこと及びシャコガイ飼育下において晴天時の午前中に運動型細胞が多く存在することが観察されており、細胞の形態とシャコガイ仔貝との共生の間に何らかの関係があることが考えられた。そこで、初めに静止型細胞と運動型細胞の変異が起る条件について検討した。その結果、光刺激が運動型細胞への変異の引き金になり、刺激に慣れると同一の光強度であっても運動型細胞は減少し、暗期を経て再び光刺激によって運動型細胞が増加することが分かった（図7、8）。

培養履歴によっても運動型細胞の出現率に差が生じた（図9）。保存培養区における運動型細胞の出現率は通気培養区（初代、継代）に比べて低かった。これに対して継代培養区は初代培養と遜色ない出現率を示した。この出現率は静止型細胞の光刺激に対する感受性を示していると考えられた。この結果、継代培養区の細胞は増殖能力が初代培養と同等であるばかりでなく、静止型細胞の光刺激に対する感受性も維持していることが示唆された。

光刺激以外に適度の攪拌振動刺激によっても運動型細胞へ変異することがわかった（図10、11、12）。これらの試験結果から光刺激による運動型細胞出現ピーク時間である光刺激後3～6時間に当たる11:00～14:00頃に共生藻に攪拌による振動刺激を与えると最も効率よく運動型細胞に変異し、長時間運動型細胞が存在することが明らかになった。更にこれらの試験結果で注目される点は出現継続時間である。明期内（8:00～