

表14 細胞形態の違いによる共生試験方法

シャコガイ初期仔貝の種類	シラナミ孵化幼生
初期仔貝の飼育容器	試験区毎、組織培養プレート（5ml×12穴）3面に初期仔貝1個体/穴（水量4.5ml）になるように計36個体を飼育
飼育環境（照明）	恒温培養室（光強度60 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ で10:00～22:00、12時間照明点灯）
投与する共生藻の種類	シラナミ共生藻の初代培養
共生藻の培養方法（照明時間）	運動型細胞区：初期仔貝の飼育条件と同様に光強度60 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ で10:00～22:00、12時間照明点灯 静止型細胞区：光強度60 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ で24時間連続照明点灯
飼育方法及び観察方法	毎日、照明点灯前の9:30に培養倒立顕微鏡（×50）下で飼育水から仔貝のみをパスツールピペットを用いて新鮮な飼育水（超精密濾過海水にストレプトマイシン硫酸塩10ppm投与）を満たした別の組織培養プレートに移し、培養した共生藻を30～100個/mlになるように給餌する。 仔貝を移す際に共生関係の成立及び生死の確認を行う。
試験期間	日令0から開始して、全ての個体が死亡若しくは共生成立するまで

4. 共生藻種類の検討

シャコガイの共生藻はシャコガイの種類によって異なるものか、或いは同一のものなのかを推測するための試みとして種類の異なるシャコガイ初期仔貝（共生成立する前）に対して他の種類のシャコガイから取り出した共生藻を投与して共生成立の有無を観察する試験を行った。大型水槽を用いた試験1はシャコガイ採卵日翌日に孵化幼生を収容した飼育水槽を透明ビニールシートで覆い、夾雑物の混入が起こらないようにして単独で別種のシャコガイの共生藻を日令2から試験終了するまで投与し続けて、通常の同一種の共生藻を投与した区と比較した。生残している初期仔貝の全てが完全に共生成立するまで試験を継続した。共生藻の投与量は飼育水1ml当たり30細胞以上になるように定法で行った。換水等、他の飼育手法も通常の種苗生産と同様の手法で行った。試験2は組織培養プレートを用いて個別飼育した。別種シャコガイ初期仔貝との共生試験1、2の条件等を表15、表16に示した。

表15 別種シャコガイ初期仔貝との共生試験1の試験方法

シャコガイ初期仔貝の種類 及び 投与する共生藻の種類	試験区1: ヒレジャコ初期仔貝に対してヒメジャコ共生藻及びヒレジャコ共生藻を各々単独で投与 試験区2・3・4: ヒメジャコ初期仔貝に対してヒレジャコ共生藻及びヒメジャコ共生藻を各々単独で投与
初期仔貝の飼育容器及び 幼生収容数	試験区1・3: 500ℓポリカーボネイト水槽に各々2万個体収容 試験区2: 5ℓ及び10ℓFRP水槽に各々150~300万個体収容 (通常の種苗生産) 試験区4: 500ℓポリカーボネイト水槽に各々15万個体収容
飼育環境	温室(透明ポリカーボネイト波板構造)内に飼育水槽を設置
共生藻の培養方法 (照明時間)	恒温培養室(光強度60 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ で8:00~20:00、12時間照明点灯)
飼育方法及び観察方法	毎日、培養した共生藻を30~100個/mlになるように給餌する。 換水は7日毎に行い、飼育水を排水しながら60 μm ネットで仔貝を濾し取って回収し、新鮮な飼育水(超精密濾過海水)を満した他の同型水槽に移して行う。 換水時に生残仔貝を容積法で計数すると共に実体顕微鏡($\times 50$)下で共生関係の成立を確認する。
試験期間	日令0から開始して、全ての個体が死亡若しくは共生成立するまで

表16 別種シャコガイ初期仔貝との共生試験2の試験方法

シャコガイ初期仔貝の種類 及び 投与する共生藻の種類	試験区1: ヒレジャコ初期仔貝に対してヒメジャコ共生藻及びヒレジャコ共生藻を各々単独で投与 試験区2: ヒレナシジャコ初期仔貝に対してヒメジャコ共生藻、ヒレジャコ共生藻及びヒレナシジャコ共生藻を各々単独で投与 試験区3: ヒメジャコ初期仔貝に対してハナヤサイサンゴ共生藻(養殖研株P)コモンサンゴ共生藻(養殖研株M)及びヒメジャコ共生藻を各々単独で投与
初期仔貝の飼育容器	試験区の各組み合わせ毎に組織培養プレート(5ml \times 12穴)2面に初期仔貝1個体/穴(水量4.5ml)になるように計24個体を飼育
飼育環境(照明)	恒温培養室(光強度60 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ で8:00~20:00、12時間照明点灯)
共生藻の培養方法 (照明時間)	初期仔貝の飼育と同様に恒温培養室(光強度60 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ で8:00~20:00、12時間照明点灯)で培養
飼育方法及び観察方法	毎日、9:30に培養した共生藻を30~100個/mlになるように給餌すると共に培養倒立顕微鏡($\times 50$)下で共生関係の成立及び生死の確認をおこなう。 換水は3~7日毎に飼育水から仔貝のみをパスツールピペットを用いて新鮮な飼育水(超精密濾過海水にストレプトマイシン硫酸塩10ppm投与)を満した別の組織培養プレートに移して行う。
試験期間	日令0から開始して、全ての個体が死亡若しくは共生成立するまで