

Buskey, E. J. and C. J. Hyatt (2006)

Use of the FlowCAM for semi-automated recognition and enumeration
of red tide cells (*Karenia brevis*) in natural plankton samples

Harmful Algae, 5: 685–692

天然プランクトン試料中の赤潮細胞 (*Karenia brevis*) の
半自動認識と定量化における FlowCAM の利用

近年、有害有毒藻類ブルーム (HAB) の発生頻度と規模が世界的に高まっている。HAB の影響を緩和するためには、早期発見が最も効果的である。しかし、従来の倒立顕微鏡による細胞の計数は時間と手間がかかり、細胞密度が低い場合には精度も低下するという問題がある。これらの問題を解決できる新しい機器として、FlowCAM があげられる。FlowCAM はマイクロサイズの粒子を撮影し、画像認識ソフトウェアを用いることでその種判別を短時間で行うことができる。本研究では HAB 種である *Karenia brevis* を対象とし、そのサイズ及び蛍光強度を調べた。その後、*K. brevis* と培養した他の渦鞭毛藻及び天然植物プランクトン群集との混合試料、さらに天然植物プランクトン群集のみの試料に対して FlowCAM を使用し、対象種の細胞を識別する能力を評価した。

本研究では、テキサス州沿岸で 5 つ、フロリダ州で 2 つの *K. brevis* 株と、サウスダコタ州の *K. mikimotoi* 株を使用した。また、他の 4 種の渦鞭毛藻類の株についても培養した。まず、全ての株を対数増殖期、定常期、死滅期それぞれにおいて FlowCAM で測定し、自然界の *Karenia* に期待されるサイズと蛍光強度の範囲を決定した。株毎、成長条件毎のサイズと蛍光強度について Kruskal-Wallis 検定を行った。次に、*K. brevis* と他の種類の渦鞭毛藻を混ぜた試料について、FlowCAM で 200 細胞ずつ撮影した。8 枚の *K. brevis* の参照画像を用いて、撮影した画像の *K. brevis* との類似度閾値を操作し、画像認識ソフトウェアによる同定能力を検証した。また、2002 年 12 月、2003 年 1 月に採水した 3 試料における天然プランクトン群集に *K. brevis* の培養細胞を添加して、各試料から 200 細胞を撮影し、画像認識ソフトウェアで分析した。

実験の結果、*K. brevis* の細胞サイズや細胞当たりの蛍光強度は、各株の対数増殖期、定常期、死滅期それぞれの間には有意差があり、また同じ成長条件下の株間でも有意差があった。このため、FlowCAM を用いて天然プランクトン群集から *K. brevis* を計数するには細胞サイズや蛍光強度を広範囲に設定する必要があると言える。類似度閾値を 80%とした場合、培養細胞の混合物において *K. brevis* の 10–20%のみを正しく識別した。類似度閾値を 40%とした場合、ほぼ全ての *K. brevis* を正しく識別したが、*K. brevis* 以外の細胞の誤認が多かった。天然プランクトン群集に培養した *K. brevis* を加えた実験でも同様の結果が得られた。FlowCAM は短時間で多くの細胞を観察することができるが、本研究では画像認識ソフトウェアが *K. brevis* を正しく識別する能力に限界があることが判明した。しかし、低い類似度閾値を用いることで、標的細胞の 80%以上を正しく識別し、オペレーターによる選別が必要な非標的細胞の半分以上を平均して排除できると見込まれる。

久保光

今回のゼミ (7 月 10 日 (月) 9:00~, W303) は高さん、張さんの発表です。