

Notice on Plankton Seminar #23015

9:00–12:00, 11 Sep. (Mon.) 2023 at room #W103 (2nd Research Building)

Ayala, Z.R., S. Judge, S. Anglès and D.I. Greenfield (2023)

A comparison between the FlowCam 8100, microscopy, and sandwich hybridization assay for quantifying abundances of the saxitoxin-producing dinoflagellate, *Alexandrium catenella*

Harmful Algae, **125**: 102423

サキトキシン産生渦鞭毛藻 *Alexandrium catenella* 細胞密度の定量における

FlowCam 8100、顕微鏡および sandwich hybridization 分析の比較

有害有毒藻類ブルーム (HAB) 種のモニタリングには、一般的に倒立顕微鏡による計数が用いられている。倒立顕微鏡による分析は汎用性が高く、過去のデータとの比較もできる。しかし、顕微鏡法では分析に時間がかかる上に、分類学的な専門知識も必要であり、形態的に類似した種の区別が難しい。これらの課題を解決する技術として、FlowCamと sandwich hybridization 分析 (SHA) が挙げられる。FlowCam は粒子を画像化して同定することで定量化し、SHA は rRNA 標的ヌクレオチドを用いてプランクトンの迅速な同定と定量を行う。顕微鏡法、FlowCam、SHA は HAB のモニタリングに使用されてきたが、これらの手法間の比較は行われていない。近年、ブルームの監視強化のためにモニタリングネットワークが重要視されるようになっており、これらの異なる手法によって蓄積されたデータについて、どこまで比較できるかの検討が求められている。以上のことから、本研究ではこれら 3 つの手法でサキトキシン産生渦鞭毛藻 *Alexandrium catenella* を定量化し、各手法の特徴と、データ比較の妥当性について議論した。

本研究では、北米で採取した *A. catenella* 分離株を使用し、高、中、低密度の *A. catenella* 培養細胞を含む試料を作製した。また、2021 年 6–8 月に西部ロングアイランド湾 (WLIS) の 4 地点で海水を採取し、分析試料とした。加えて、WLIS 内で同時期に採取した *A. catenella* を含む地点と含まない地点の 2 つの海水試料について、*A. catenella* 培養細胞を添加し、高密度、低密度、コントロール (無添加) の 3 つの混合試料を作製した。各試料中の *A. catenella* を倒立顕微鏡、FlowCam、SHA により定量化した。SHA は 650 nm と 450 nm の 2 つの波長で吸光度を測定し、以降は高感度であった 450 nm で測定した。手法間における平均細胞密度の差の有意性を ANOVA により検定した。

SHA では、波長 450 nm の方が 650 nm よりも高感度であった。650 nm での測定は、450 nm で吸光度が飽和した場合に有用であると言える。粒子密度の高い試料では、FlowCam は顕微鏡と比較して *A. catenella* の細胞密度をわずかに低く定量した。これは粒子の凝集による水流の阻害が原因の可能性があり、細胞の定量に与える影響についてはさらなる研究が必要である。*A. catenella* 培養細胞の試料、野外試料及び混合試料中における定量化では、ほぼ全ての試料において手法間で平均細胞密度に有意差がなかった。このため、顕微鏡、FlowCam 及び SHA が *A. catenella* 細胞の定量化において同等の結果を示し、これらのデータは統合可能であると言える。分析に時間がかかるが利用しやすい顕微鏡と、特殊な装置が必要だが分析時間の短い FlowCam や SHA を併用することで、*A. catenella* の早期発見が容易になると考えられる。久保光

次回のゼミ (9 月 19 日 (火) 9:00~, W103) は高さん、張さんの発表です。