

FlowCam による 2022 年秋季の北海道太平洋沿岸域における *Karenia* 細胞密度の測定 (仮)  
(卒論中間発表)

北海道太平洋側沿岸域では 2021 年秋季に、有害藻類である *Karenia* を中心とする大規模な有害赤潮が発生した。一方で 2022 年秋季以降は、類似の赤潮は発生していない。赤潮発生の有無に関しては衛星観測により監視されているが、精度が低く、海面のみを測定するため課題が多い。そのため、現在においても現場海水を顕微鏡で調査する方法が、最も信頼性が高い手法である。しかし、従来の顕微鏡による計数では多くの時間を要すること、分析できる細胞数が少ないために、低密度時には検出できないなどの問題がある。一方で、近年発展が著しい画像解析技術を用いた測器に FlowCam がある。この測器は、短時間でナノ・マイクロサイズのプランクトン画像を得ることができ、さらに画像解析により分類も可能である。本研究では 2022 年秋季に北海道太平洋側沿岸域において採集した海水試料を用いて、FlowCam による *Karenia* 細胞の計数および分類能力を評価することを目的とした。さらに、水理環境データと比較することで、*Karenia* の増殖環境の特定を試みた。

本研究では北海道太平洋側の日高湾において、2022 年 9 月 15 日–18 日にかけておしよろ丸およびうしお丸で 42 本の海水試料 (1 L) を採取した。また、おしよろ丸では採水時に水温、塩分、濁度、クロロフィル *a* 蛍光値、FSI (Fluorescence spectral Shift Index) データを取得した。海水試料を終濃度 1% のグルタルアルデヒドで固定した後、静沈濃縮にて 20 mL まで濃縮した。濃縮試料を FlowCam で分析し、同海域における *Karenia* の細胞密度を算出した。このとき、異なる試料分析量における FlowCam での *Karenia* の検出力を検討するため、各試料 0.5 mL と 1 mL をそれぞれ 2 つの画像取得速度で分析した。また、同一試料を用いて倒立顕微鏡での計数も行い、顕微鏡と FlowCam の検出力を比較した。さらに、*Karenia* 画像 50 枚と非 *Karenia* 画像 950 枚を合わせたデータセットを作成し、5 種類のフィルター (ESD、Aspect Ratio、Average Green、Circle fit、Perimeter) を組み合わせ、FlowCam の自動分類機能を用いて *Karenia* を判別し、フィルターの組み合わせ別の正答率を 31 通りで比較した。また、得られた *Karenia* の細胞密度について、一般化線形モデル (GLM) により水理環境 (水温、塩分、濁度、クロロフィル *a* 蛍光値) との関係調べた。

FlowCam と顕微鏡によって求めた *Karenia* の細胞密度を比較した結果、ほとんど一致していたが、細胞密度が低いほどばらつきが大きかった。FlowCam による試料分析量を変化させたところ、分析量が 0.2 mL 以下の条件で、顕微鏡の結果からのずれが大きくなる傾向があった。これは、試料が少ないときは、サブサンプリングによるばらつきの影響が大きくなりやすいためと考えられる。FlowCam による自動分類では、ESD や Aspect Ratio が非 *Karenia* 画像の多くを排除できたが、Circle fit ではあまり排除できなかった。*Karenia* 検出条件としては、5 つ全ての変数を使用することで、最大 55.56% の正答率を得た。GLM では *Karenia* との有意な相関がみられた環境変数はクロロフィル *a* 蛍光値のみであった。

久保光