

光学顕微鏡による植物プランクトンの分析結果の変動について

近藤桂一・中根 徹

1. はじめに

どのような測定値にも誤差は生じる。その変動要因には、技術的に除去可能な原因によるものと偶然に支配されるものがあり、前者は系統誤差、後者は偶然誤差と呼ばれる。

系統誤差は測定結果に特定のパターンで影響を与えるもので、その原因が解れば除去可能な誤差であり、顕微鏡による生物分析では、顕微鏡の性能（解像度・倍率）だけでなく、分析者の能力（経験）に依存する。我が社の主要業務である生物分析の精度（品質）管理においては、人為的な誤差を極力排除する努力が常に払われるべきであるが、偶然誤差による変動についても検討・認識しておくことが必要である。本稿では、採集された植物プランクトン試料を繰り返し分析し、偶然誤差に伴う分析結果の変動を検討した。

2. 方法

一般に行われている植物プランクトン分析では、現場で採集・固定保存された試料を実験室内で沈殿・濃縮し、その一部あるいは全量を顕鏡し、出現する種類数と細胞数を同定・計数する。試料として採集された全量を分析すれば分取（分割）という操作から生ずる誤差は回避できるが、試料の保存、分析の効率化を図る上では、許容できる誤差範囲内で結果を示す必要がある。

ここでは、分取回数を分析回数とみなし、繰り返し分析による結果の変動を検討した。

2.1 分析試料

1997年10月31日に東京湾において水深5mからバンドーン採水器により採水し、500mlをポリ容器に採取後、グルタルアルデヒド（2%）で固定した。

2.2 分析

試料500mlを実験室内で静置し、上澄みを排水して20mlに濃縮した。沈殿試料を沈殿管に移し、さらに0.5mlまで濃縮した。最終沈殿物0.5mlから、ピペットで0.05mlをプレパラートに分取し、24mm×24mmのカバーガラスをかけ、倍率100倍で植物プランクトンの出現種の同定と細胞数の計数を行った。これを1分析とし、同様の操作を10回繰り返した。

2.3 分析結果の検討

細胞数の変動は、最小値、最大値、平均値、標準偏差、変動係数、出現回数から検討した。なお、各分析回数で出現しなかった種の細胞数は0として統計量を算出した。出現種数は、Arrhenius (1921) の種数面積曲線（次式）を用いて、分析回数と出現種数の関係を検討した。

$$S_q = cq^m$$

ここで、 q は分析回数（1～10回、組合せは考慮していない）、 S_q は出現種数、 c と m は定数である。

3. 結果と考察

表1に10回の分析から得られた植物プランクトンの出現種と細胞数および諸統計量を示す。総出現種類数は19種で、珪藻類が13種、渦鞭毛藻類が4種、ハプト藻類、微小鞭毛藻類が各1種であった。平均細胞数では微小鞭毛藻類が718cells/500mlと最も多く、ついで珪藻類の *Cerataulina bergonii*、*Skeletonema costatum*、*Thalassiosira rotula*、*Thalassiosira sp.*が281～619cells/500ml出現した。

各出現種の細胞数の変動係数は18.9～316%で、平均細胞数が多かった *Thalassiosira sp.* (18.9%)、微小鞭毛藻類 (39.6%)、*Cerataulina bergonii* (42.5%)、*Skeletonema costatum* (92.7%) の変動係数が小さかった（図1）。この4種のうち *Skeletonema costatum* を除く3種は、10回の分析すべてにおいて出現した種である。これは出現する細胞数が多い種ほど、分析回数に伴う誤差は小さいことを示している。変動係数が200%以上の種は、渦鞭毛藻類や珪藻類 *Eucampia zoodiacus* など、10回の分析回数で1～3回出現したのみであった。

分析回数と累積種類数の関係を図2に示す。各回の出現種数は5～11種で、分析回数が増えると累積種類数も増加した。10回分析での累積種類数19種を全種類数とすると、1回目の分析では8種（全種類数の42%）が出現し、80%以上の種類数を得るためには5回（16種、累積種類数の82%）の分析が必要となる。

10回の分析のうち7回以上出現した5種について、分析回数と平均細胞数の関係を図3に示す。これら5種は *Thalassiosira rotula* を除いて、変動係

数が100%未満の種であり、3回目以降の分析では、10回の平均細胞数±標準偏差の範囲内であった。また、総細胞数の変動係数は15.6%で、1回目の分析では平均値の1.5倍の細胞数であったが、3回目以降では平均値の10%以内で変動していた。

今回は、光学顕微鏡による植物プランクトン分析結果の変動について、種類数と細胞数から検討した。その結果、種類数では5回で全体の80%の種を、総細胞数では3回で10%の変動範囲内で総数を把握できた。許容できる分析精度を維持するためには、単に分析回数を増やすだけでなく、試

表1 植物プランクトン分析結果と諸統計量

分類群	種名	平均	最小	最大	標準偏差	変動係数	出現回数
		cells/500ml				%	/10
珪藻類	<i>Cerataulina bergonii</i>	619	288	1104	263	43	10
	<i>Chaetoceros affine</i>	46	0	216	85	186	3
	<i>Chaetoceros debile</i>	43	0	384	121	279	2
	<i>Chaetoceros lorenzianum</i>	132	0	1104	345	261	3
	<i>Coscinodiscus</i> spp.	14	0	96	30	211	4
	<i>Ditylum brightwellii</i>	7	0	72	23	316	2
	<i>Eucampia zoodiacus</i>	7	0	72	23	316	1
	<i>Leptocylindrus danicus</i>	26	0	96	43	163	3
	<i>Nitzschia closterium</i>	22	0	72	26	122	5
	<i>Nitzschia pungens</i>	106	0	312	127	120	5
	<i>Skeletonema costatum</i>	516	0	1296	478	93	7
	<i>Thalassiosira</i> sp.	281	192	384	53	19	10
	<i>Thalassiosira rotula</i>	370	0	1224	437	118	8
渦鞭毛藻類	<i>Oxyphysis oxytoxoides</i>	2	0	24	8	316	1
	Peridinales	5	0	24	10	211	2
	<i>Prorocentrum minimum</i>	7	0	48	16	225	2
	<i>Prorocentrum triestinum</i>	5	0	24	10	211	2
ハプト藻類	Haptocoeae	10	0	24	12	129	5
微小鞭毛藻類		718	384	1152	285	40	10
	総細胞数	2935	1296	4248	860	29	—

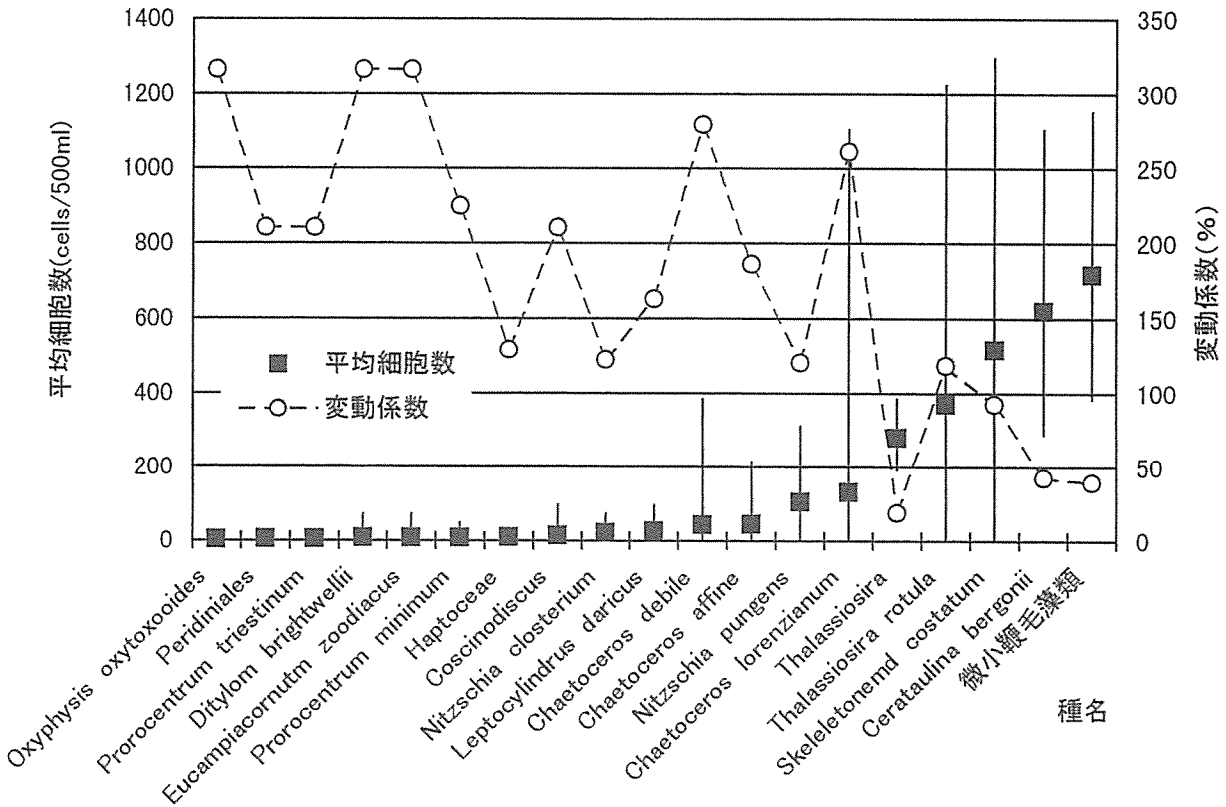


図1 各出現種の平均細胞数と変動係数 (棒線は範囲を示す)

料の質によって適正な分析方法を選択することも必要である。試料の質とは植物プランクトンの場合、細胞の大きさ、連鎖状態、さらには優占する種となろう。これらは、海域や季節により変化するものである。現場の生物分布や生物量を代表す

るサンプリング方法の検討だけでなく、このような生物分析段階での変動要因についても、様々な質の試料について今後とも検討を加え、統計的に評価する必要がある。

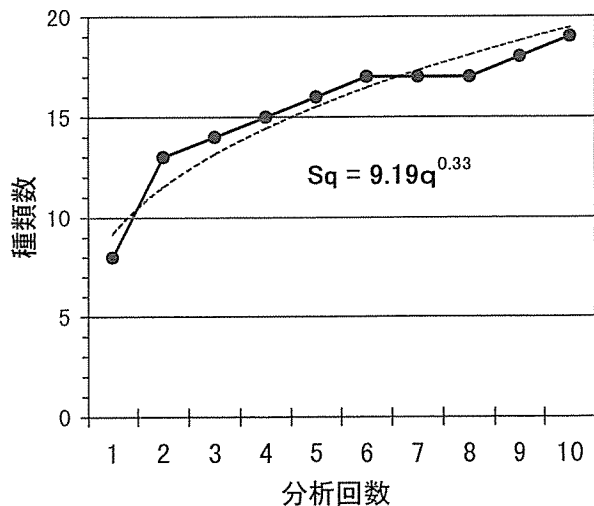


図2 分析回数と累積種類数の関係
(点線は Arrhenius の指数回帰式)

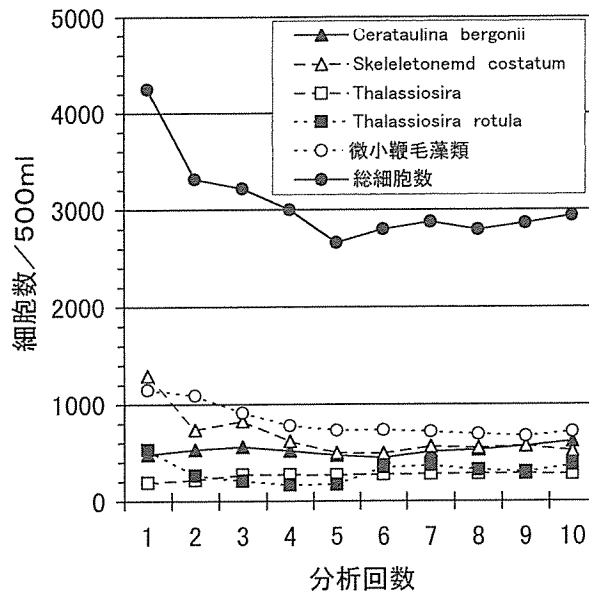


図3 分析回数と平均細胞数の関係