

短 報

二枚貝浮遊幼生の摘出と 計数の簡便法

赤嶺 達郎¹⁾

A Handy Method for Selecting and Counting Bivalve Larvae at Planktonic Stage

TATSURO AKAMINE¹⁾

Abstract

In selecting bivalve larvae from the plankton specimens sampled by a NORPAC net (NXX 13), pre-filtration by a GG54 net to exclude large plankton was found to be very effective.

We usually use a subsample of the plankton specimens for estimating the total number of bivalve larvae. These counts are thought to follow the binomial distributions, $\binom{n}{x} p^x q^{n-x}$. We can estimate the confidence interval by the normal distributions, $N(np, npq)$, on the $x-n$ plane.

D型幼生期以降の二枚貝浮遊幼生を摘出し計数することは、多大な労力と時間を必要とする。したがって筆者は前濾過と1/5量抜き取りという簡便法を取り入れ、その有効性について検討した。試料は1980年3、4月に鳥取県沖でノルパックネット（口径45cm, 目合NXX13）の0-70mの垂直曳きによつて採集されたものである。これらの試料をGG54ネットで濾過し、この網目を通過した試料から1/10、1/5量をピペットにて抜き取り、双眼実体顕微鏡で検鏡し、二枚貝浮遊幼生について殻長の測定、摘出、計数を行なった。

1) 〒951 新潟市水道町1丁目5939-22
日本海区水産研究所
(Japan Sea Regional Fisheries Research Laboratory, Suido-cho, Niigata 951, Japan)

前濾過の有効性

GG54 ネットによる前濾過の有効性について検討する。使用器具は300ml スチロール サンプルビンと、これに合うようにつくつたも網状のGG54 ネット（口径8cm, 網長12cm, 目合GG54）である。サンプルビンにGG54 ネットを入れておき、これに試料を入れ、水を注ぎながら棒で十分攪拌し濾過する。濾過沈澱させた試料はスポイトで全量を取りあげる。この方法により大型プランクトンは排除され検鏡が能率化されるが、浮遊生物中の硅藻等による目づまりのため通過率が著しく低下する危険性が生じた。そこでこれらを検討するためにGG54 ネットの通過分と不通過分の両方を、二枚貝幼生のみについて検鏡した。結果を第1表に示す。また濾過を2、3回続けて行なつた結果は第2表のとおりである。

表から幼生数が少ない場合は90%以上がネットを通過することがわかる。第2表において通過率が低いのは、硅藻等による目づまりが著しかつたためと推察される。したがつて、このような場合には少量ずつに分けて濾過することにより、第1表のように90%以上の通過率を維持することができる。GG54 ネットの目づまりが著しい場合はそれを取りかえてさらに1、2回濾過すればよい。

第1表 GG54 ネット濾過方法における二枚貝幼生の通過率

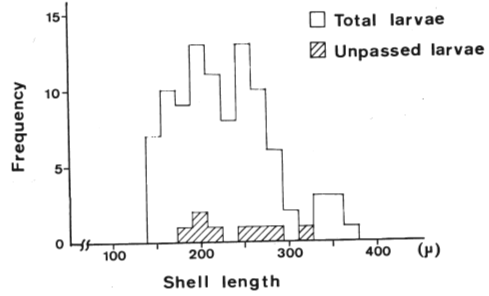
Table 1. Passed rate of bivalve larvae in the GG54 net filtration method. (March 1980 TOTTORI Area)

Number of Sample	Number of larvae			Passed rate (%)
	passed	unpassed	total	
1	51	1	52	98.1
2	68	0	68	100.0
3	89	8	97	91.8
4	134	1	135	99.3
5	155	5	160	96.9
6	165	2	167	98.8
7	192	1	193	99.5
8	285	1	286	99.7
Total	1139	19	1158	98.4

第2表 GG54 ネット連続汙過方法における二枚貝幼生の通過率

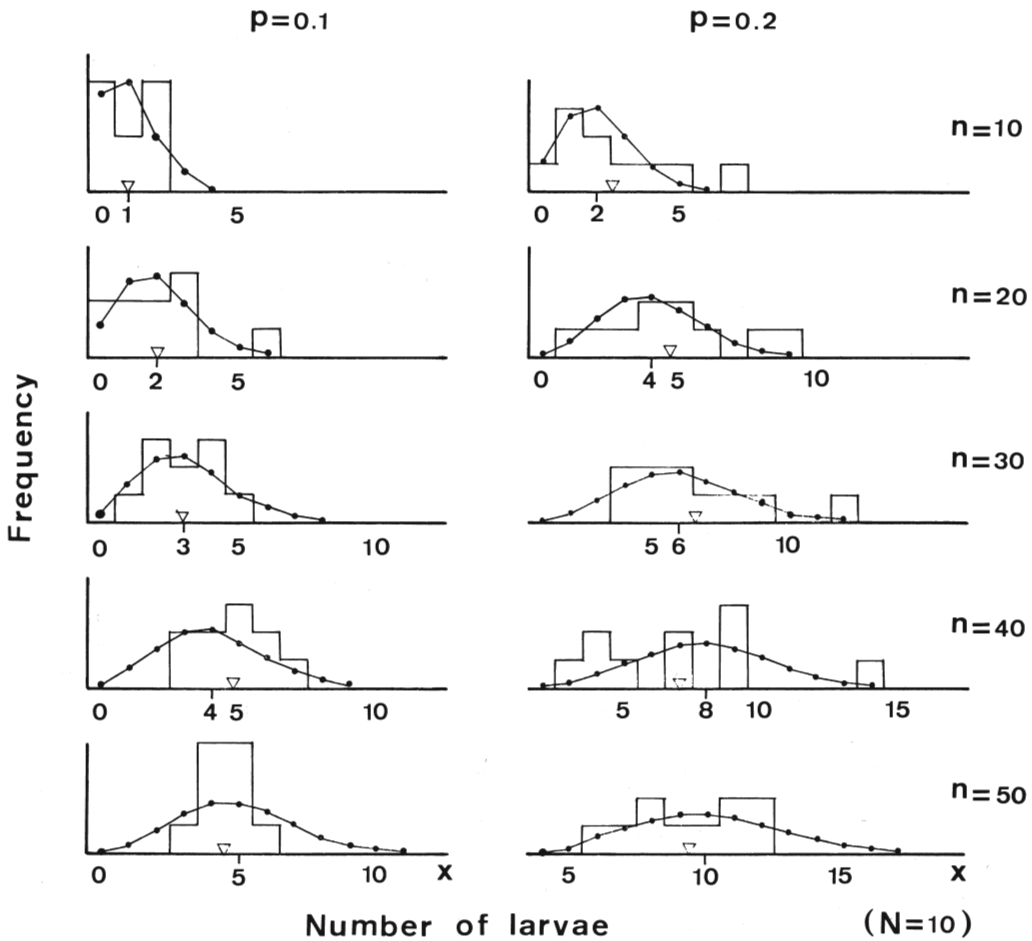
Table 2. Passed rate of bivalve larvae in the repeated GG54 net filtration method. (April 1980 TOTTORI Area)

Number of Sample	Number of larvae			Passed rate (%)			
	1st	2nd	3rd	total	1st	2nd	3rd
9	482	125	—	607	79.4	20.6	—
10	794	159	—	953	83.3	16.7	—
11	648	32	31	711	91.1	4.5	4.4



第1図 GG54 汙過実験 No. 3 における二枚貝幼生の殻長組成

Fig. 1. Shell length Composition of bivalve larvae in sample number 3 at GG54 net filtration experiment.



第2図 抜き取り実験における二枚貝幼生数の分布と二項分布 $\binom{n}{x} p^x q^{n-x}$ との比較

Fig. 2. Comparison between bivalve larvae distribution of number in selecting experiment and binomial distribution, $\binom{n}{x} p^x q^{n-x}$.

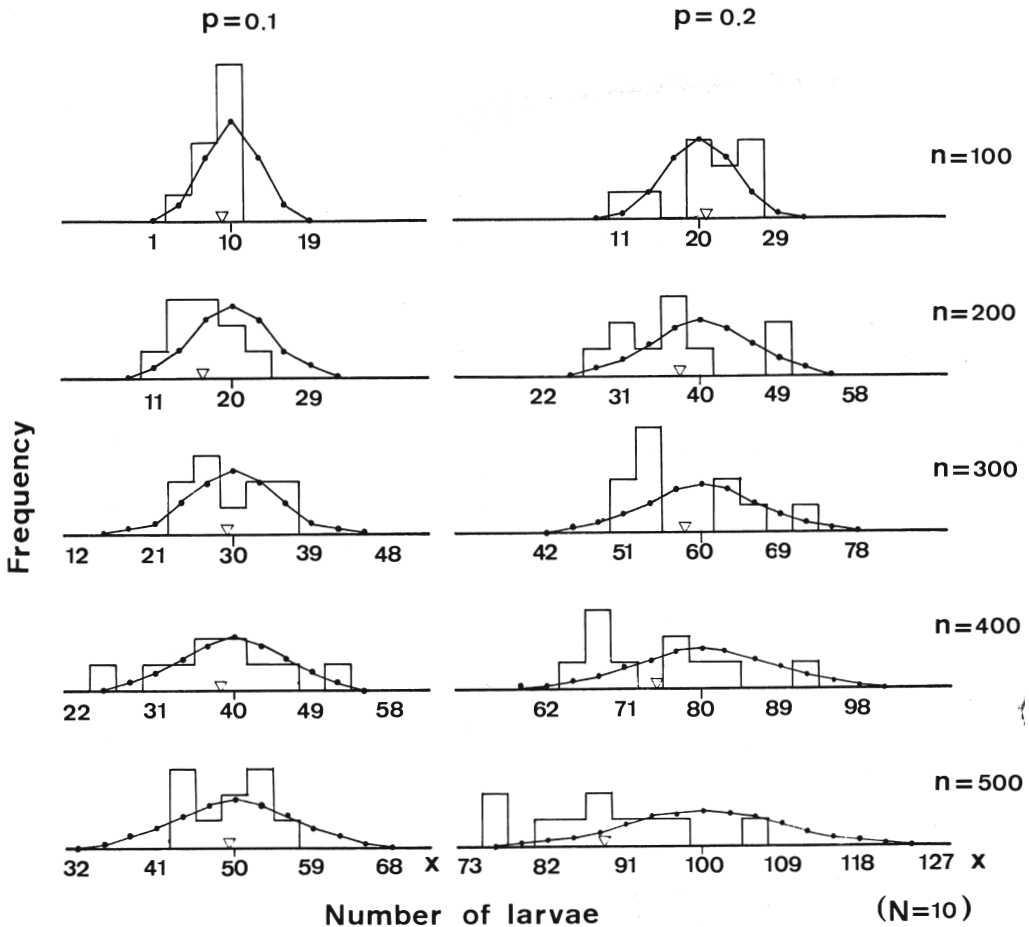
また殻長別にみた通過率の差は、殻長 400μ 以下では第1図のサンプル番号 No. 3 の例で示すように、ほとんど問題がない。このことはホルマリン固定された二枚貝浮遊幼生は一般に殻を閉じ紡垂型をしているので、他の浮遊生物に比べて網目を通過しやすいためと考えられる。また一般に、二枚貝浮遊幼生の形態は殻長 $>$ 殻高 $>$ 殻幅であるため、殻高によつて通過が制限されると考えられ、GG54 の目合ではかなり大型の幼生 (具体的には殻高 300μ 位まで) でも通過するものと判断できる。

1/10, 1/5 量抜き取り法の有効性

つぎに 1/10, 1/5 量抜き取り法の有効性について検討する。ここでは能率性を重視して、 $20ml$ のスクリー管とパストールピペット (先の細長い小型ピ

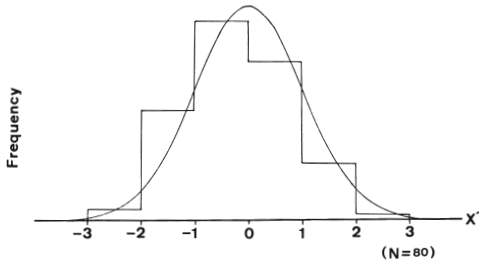
ペット: 吸い取り口の口径 $1mm$, 容量 $2ml$) を使用した。試料をスクリー管に入れ、水を加えて正確に $16ml$ にした後、十分覚押し、ピペットで正確に $1.6, 3.2ml$ を抜き取る。もし浮遊幼生がスクリー管内でランダムに存在し、抜き取られることに何の制約も受けないならば、得られた幼生数は $P=0.1, 0.2$ の二項分布: $P(x) = \binom{n}{x} p^x q^{n-x}$ (ただし $p+q=1$, n は全幼生数) にしたがうと考えられ、 n が大きければ正規分布 $N(np, npq)$ で近似できると判断できる。これは理論的に避けられない誤差である。

抜き取り法の有効性を判定するため、スクリー管に二枚貝浮遊幼生を入れて実験を行なった。入れた幼生数は $n=10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400, 500$ で、1/10, 1/5 各々 10 回宛実行した。



第3図 抜き取り実験における二枚貝幼生数の分布と正規分布 $N(np, npq)$ との比較
 Fig. 3. Comparison between bivalve larvae distribution of number in selecting experiment and normal distribution $N(np, npq)$.

ただし1/5量抜き取りは8 mlから1.6 mlを抜き取つた。その結果と二項分布との比較は第2図, 第3図に示すとおりである。ただし $n \geq 100$ は正規分布で計算し, 隣接3項の和をとつて示した。また $N=10$ のため分布が一致しているかどうかの判定が困難なので, $n \geq 100$ において変数変換 $x' = (x - \mu) / \sigma = (x - np) / \sqrt{npq}$ によつて求めた総和を標準正規分布 $N(0, 1)$ と比較した。結果を第4図に示す。ただし1/5量抜き取りで $n=400, 500$ は分布が大きく左に偏つているので除外した。この結果から実験的に抜き取られた幼生数の分布が, 理論的に求められ



第4図 標準化された二枚貝幼生数の分布と標準正規分布 $N(0, 1)$ との比較

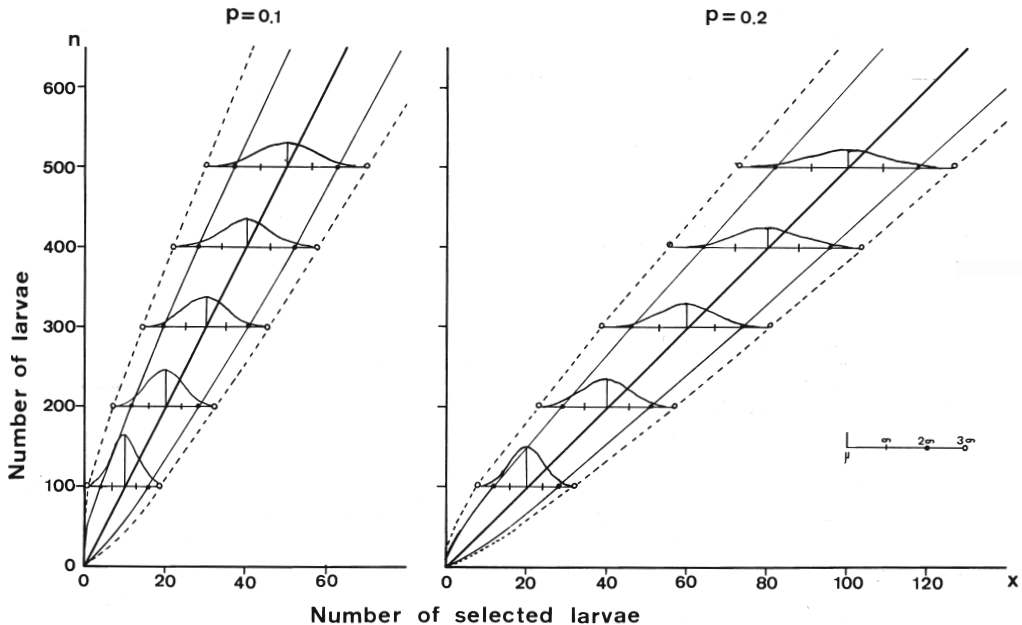
Fig. 4. Comparison between standardized bivalve larvae distribution of number and standard normal distribution $N(0, 1)$.

た二項分布にほぼ一致することがうかがわれる。ただし浮遊幼生の密度が高くなると抜き取られる幼生数が理論値より低下する傾向があり, 全般的にもやや少なくて抜き取られる傾向がある。これはピペットで吸い取るための制約と考えられる。

抜き取り法の誤差

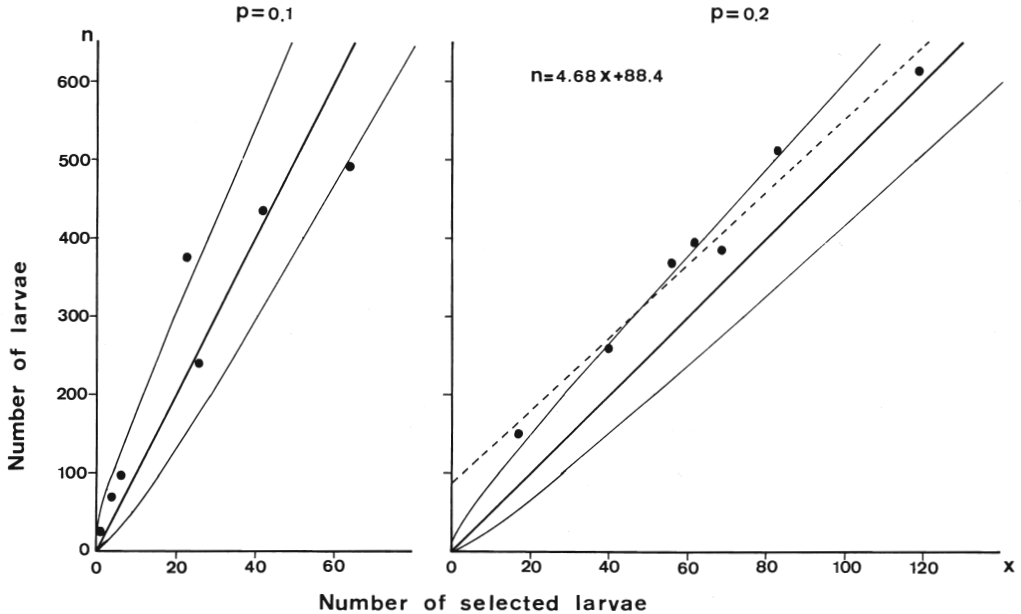
抜き取り法による理論的誤差を第5図に示す。ここで抜き取られた幼生数は二項分布にしたがうと仮定し, 計算は正規分布 $N(np, npq)$ によつて行なつた。第5図より抜き取られた幼生数から全幼生数を推定する場合, 正規分布の2 σ 点を結んだ実線内に95%の確率で全幼生数が含まれると考えてよい。これは回帰の逆推定と同じ関係である。

つぎに実際の試料について行なつた測定結果を第6図に示す。ともに16 mlから1.6, 3.2 mlを抜き取つたものであるが, 1/5量抜き取りは駒込ピペット(5 ml)を使用した。この場合二枚貝浮遊幼生以外に他の浮遊生物も多量に含まれており, この影響のため抜き取られにくくなることも考えられる。1/10量抜き取りについてはかけはなれた値もあるが, ほぼ理論値にしたがっている。しかし1/5量抜き取りは明らかに上方に偏つている。この原因はいろいろ考えられるが, 駒込ピペットの使用が一番大きいと考



第5図 正規分布 $N(np, npq)$ より求められた抜き取り法における信頼区間

Fig. 5. The confidence interval of selecting method estimated by normal distributions $N(np, npq)$.



第6図 抜き取り法における全幼生数 (n) と抜き取られた幼生数 (x) との関係
 Fig. 6. Relation between number of larvae (n) and number of larvae selected from this (x) in the selecting method.

えられる。また、目視観察によると固定された二枚貝浮遊幼生の水中落下速度は平均 0.2cm/sec であるので、沈下による影響はそれほど大きくないと考えられる。

いずれにしても同一測定者が同一器具を使用した場合の偏りは一応一定と考えられるので、抜き取り検査による補正によつて偏りを少なくすることは可能と思われる。この場合の抜き取り検査による回帰直線は $n = 4.68x + 88.4$ なので、この直線によつて推定すれば、誤差は理論的誤差より著しく大きくはならないと判断できる。

また1/10量抜き取り結果と1/5量抜き取り結果を比較すると、1/10量抜き取りでは直線の傾きが大きいため必然的に誤差が大きくなる。抜き取り率によつて誤差の幅が決定されるので、調査の目的に合った抜き取り率を求める必要がある。第6図を見る限りでは、この調査において1/10量抜き取り法によつて計数することはかなりの危険性がある。

以上の検討結果を総合すると、1/5量抜き取り法はかなり有効であると判断される。このたびの実験では対象が二枚貝浮遊幼生であり、一般に紡垂型をしていて器具等への付着も少なかったこと、殻長 400 μ 以下で GG54 ネット 汜過によつて他の浮遊生物の大きさも制限されていたことが理論的誤差の幅から著しくははずれなかつた原因であろう。いずれにしても、対象生物、使用器具、測定者等によつて有効性はさまざまに変化すると思われるが、常にチェックを怠らず補正に努めれば、この方法はかなり有効な手段として使用可能な筈である。

文 献

- 小久保清治(1963). プラクトン実験法, 恒星社厚生閣, 東京, 234pp.
- 奥野忠一(1978). 応用統計ハンドブック, 養賢堂, 東京, 827pp.