

## 相対産出頻度から推定母集団値を得る方法と必要な観察個体数について

鈴木紀毅\*・木田真太郎\*

How many radiolarians should be counted?: a method of estimating the relative abundance in the parent populations

SUZUKI, Noritoshi\* and KIDA, Shintaro\*

**Abstract** Quantitative analyses of radiolarian assemblages have traditionally been carried out by counting 200 specimens per sample. This number was estimated by assuming a statistical binominal distribution for a sample taken from a population with a random distribution. However, the random distribution can not be assumed unless more than 700 radiolarian individuals are examined in a sample due to an uneven distribution of individuals on an embedded slide. Furthermore, the relative frequencies of particular radiolarian taxa have often been mistaken as the true values in the parent populations. These observed values indicate only those of sample populations, and the relative abundance in the parent population need to be estimated basing on some assumptions. In order to assess extent of sampling errors, selected three glass slides of radiolarian samples were subjected to counting exercises, with each sample having been examined five times. The statistical standard deviation for one taxon was then calculated, and was extrapolated to estimate the relative abundance of other taxa in the parent populations. By this mathematical procedure, the relative abundance of a parent radiolarian population should be estimated and compared with other samples by statistical t-test, kai-square test, or other nonparametric methods.

**Key words:** Radiolaria, statistical analysis.

### はじめに

放散虫など微化石は堆積物中に大量に含まれていることが多く、群集構成を定量し環境変動などを数量的に議論する基礎データとして盛んに用いられている。定量的に測定したデータをもとに様々な解釈が加えられていくが、その測定データにどの程度信頼性があるのかを十分評価せず議論を行っている場合も少なくない。ここで例に挙げた相対産出頻度は、計測した結果を確定値として採用することがほとんどだが、統計学的に言えばこの測定値はあくまでも標本集団の値であって、母集団の値とは少なからず違いがあるかもしれない。

母集団の値は標本集団の標準偏差などからある値幅を持って示される。母集団の値とは真の放散虫群集の値であ

り、標本集団の値とはまさにカウントした値である。母集団は任意の地質年代に堆積した放散虫群集の全ての個体であるが、この任意の地質年代における堆積物の代表として岩石試料を採集して標本集団を検討するわけである。定性的に考えても両値が等しいことはあり得えず、実際、標本採集から検鏡スライドの検鏡に至るまでの過程で誤差が生じて標本集団と母集団には少なからぬ隔たりがあることが実験的に確かめられている (Brotsma, 1978; Drooger, 1978; Riedel and Sanfilippo, 1978; 鈴木, 1997)。母集団と標本集団の誤差はすでに試料を採集する時点から生じている。試料中には数え切れないほどの微化石が含まれていることから、普通は残渣の半割を繰り返し、扱える個体数になるように操作をする。この残渣の分割から個体数カウントに至る過程での誤差も定量的な検討が行われている (Drooger, 1978)。この適量な検討個体数は二項分布という統計学的分布理論から200個体でよいとされる (高柳ほか, 1978)。しかし、この理論が適用できるのは、検鏡スライドに微化石が均一に散布されているという厳しい制約条件があるにもかかわらず、多

\* 東北大学大学院理学研究科地圏環境科学教室 Institute of Geology and Paleontology, Graduate School of Science, Tohoku University, 980-8578 Japan.  
norinori@mail.tains.tohoku.ac.jp (N. Suzuki)

くの論文では意味を理解せず盲目的に目標値として200個体をカウントしている。鈴木(1997)は、通常の検鏡スライドは均一散布の条件を到底満たしておらず、600-700個体を観察しないとそもそも「均一散布」のスライドにならないことを確かめ、観察必須個体数という概念を導入した。誤差は統計的な問題だけでなく、人為的な問題も大きい。研究者によりタクサの概念に違いがあったり、熟練度に影響を強く受けたりと、群集の構成比は同じ検鏡スライドを別人が見ると異なってくることも大いに考えられる。Riedel and Sanfilippo (1978)は、分類基準が明確となっているタクサの個体数は別人が数えても近似した値となるが、分類基準に問題を抱えているタクサは大幅に測定値がずれることを実験的に示している。このように、母集団から標本集団に至る過程で生じる誤差の発生原因の検討とその定量的な評価が行われてきた。

しかし、標本集団と母集団の違いについては注意が払われていない。スライド中に含まれる個体数はたいてい必要個体数以上に多いため、実際の検鏡では一定の規則で観察個体数を間引いて600-700個体となるように検討個体数を選択している。これは言い換えれば、検鏡した結果は検鏡スライドを母集団と見なしたときの標本集団の観察結果であるといえる。つまり、標本集団から検鏡スライドの母集団での値を統計学的に推定しなければならない。

標本集団から母集団の値を統計学的に推定するためには、検鏡結果における統計的バラツキ、すなわち標準誤差が分からなければならない。ここで言う標本集団と母集団の誤差とは、同じ検鏡スライドを同じ人が同じ条件で何回も検鏡した場合、どの程度値がばらつくのかに問題は帰着する。そこで本論では3試料から作成した放散虫封入スライドについて、5回繰り返し検鏡を行い標本集団の標準誤差を明らかにし、母集団の推定を行い、従来確定値として用いられてきた相対産出頻度とどの程度異なるのか評価した。

## 検討方法

### (1) 検鏡方法

検鏡に用いた試料は、国際海洋掘削(ODP: Ocean Drilling Program)第189次航海時にオーストラリア・タスマニア島周辺海域で採集された3試料で、試料45X(189-1170A-45X-CC: 始新世)、試料10H(189-1171D-10H-CC: 中新世)、試料12H(189-1171C-12H-CC: 中新世)である。これら3試料について、De Wever et al. (2001)のActinommacea上科に属する種が全体の個体数に占める割合を求めた。

検鏡スライドは、高柳ほか(1978)に従いエンテランニューで封入を行った。透過型顕微鏡を用いて100~400倍

で検鏡した。まず予備検鏡を行い、見た目で特定の形態の個体がスライド内で偏っていないことを確かめるとともに、総個体数が約1,000個体になることを目標として検鏡測線の間隔を設定した。

予備検鏡で決めた検鏡測線間隔で、スライド全体の検鏡を行った。測線と交差した全放散虫個体数とActinommaceaの個体数をカウントした。検鏡個体数の増加に伴う相対産出頻度の変化を知るために、観察個体数が100個増える毎に相対産出頻度を求めて示した。この操作を検鏡個体数が1,000~2,000個体に達するまで続けて行い、目的個体数に達した段階で1回の検鏡(すなわち一回の試行)が終了したとする。この試行を同じスライドについて5回繰り返した。このように同じ試行を繰り返して、同じスライドで同じ観察個体数ならば相対産出頻度が同じになるか検討した。3試料でのべ15試行を行った。

### (2) 統計的処理

本論で提示するのは、各試行の累積個体数ごとにActinommaceaの相対産出頻度(%), 累積個体数ごとに求めた全試行の平均(%), 標本標準偏差(%), 信頼係数0.95の場合の区間上限と区間下限, 変動係数である(表1)。ここでいう累積個体数とは、一回の試行において、カウントした放散虫個体の総数である。この累積個体数を一回の試行において、100個体ごとに提示した。この表現によって、観察個体数が100個体増える毎に相対産出頻度がどのような変動をしたかを示す。同じ累積個体数で全試行におけるActinommaceaの相対産出頻度を比較すると、標本集団における相対産出頻度のばらつきを見ることが出来る。大数の法則により、個体数が増えればある一定の値に収束する傾向が認められる。相対産出頻度は、測線と交差した全放散虫個体数(Total number of Polycystine)とActinommacea上科の個体数の比でA/TPと呼ぶことにする。

標本標準偏差は、データが平均の周りにどの程度のばらつきを示す要約統計量であり、次に述べる区間推定を行う場合に必要になる係数である。区間推定とは、母集団平均を含む確率を決め、その確率で母集団平均が含まれる区間を示すものである。この確率のことを信頼係数または信頼度とよび、0.95(=95%の確率で母集団平均が含まれる区間のための確率)などが一般的に採用される。たとえば信頼係数0.95の場合、100個のデータのうち、95個が母集団平均の信頼区間に収まる、という意味である。信頼区間の最小値を信頼区間の下限、最大値を信頼区間の上限と呼ぶ。なお、実際に信頼区間を求めたい場合、母集団平均は未知なので、

$$t = \frac{\bar{X} - \mu}{\frac{s}{\sqrt{N}}} \dots \dots \dots (1)$$

で定義されるt統計量（スチューデントのt値）を用いて信頼区間を求める。ここで、 $\bar{X}$  は標本平均、 $\mu$ は母集団平均、 $N$ は累積個体数、 $s$ は標本標準偏差である。信頼係数を  $1-\alpha$  と表すと、

$$1-\alpha = \Pr\left(\bar{X} - t_{N-1}\left(\frac{\alpha}{2}\right) \frac{s}{\sqrt{N}} \leq \mu \leq \bar{X} + t_{N-1}\left(\frac{\alpha}{2}\right) \frac{s}{\sqrt{N}}\right) \dots\dots\dots (2)$$

となるので、信頼区間は

$$\left[\bar{X} - t_{N-1}\left(\frac{\alpha}{2}\right) \frac{s}{\sqrt{N}}, \bar{X} + t_{N-1}\left(\frac{\alpha}{2}\right) \frac{s}{\sqrt{N}}\right] \dots\dots\dots (3)$$

となる。なお、 $t_{N-1}\left(\frac{\alpha}{2}\right)$  は棄却限界（または臨界値：critical value）であり、自由度  $N-1$ 、危険率  $\frac{\alpha}{2}$  の際の  $t$  の値を示す。この棄却限界は統計の本についている  $t$  分布表から求

めるが、本研究では1サンプルあたり500個体以上の放散虫を解析の対象とするので、棄却限界は信頼係数0.95として、その場合の  $t$  値である1.960を採用する。

**結 果**

(1) 試料189-1171D-10H-CC (表1 a, 図1 a)

試料10H-CCでは、個体数の関係で1,000個体までしか観察できなかった。累積個体数1,000個体の場合のA/TRは、平均14.5%、最大値15.8%、最小値13.3%、信頼係数0.95を採用した場合の信頼区間は、13.2-15.8%で値幅2.6%になる。二項分布で十分な個体数とされる200個体では、平均15.6%、最大値21.0%、最小値13.0%、信頼係数0.95を採用した場合、11.6-19.6%と8%の幅広い値をとる。すなわち、平均値が約15%の場合に±4%という大きい誤差があることになる。

表1. 累積個体数ごとのActinomaceae上科の産出頻度。

a. 試料10H (189-1171D-10H-CC). b. 試料12H (189-1171C-12H-CC). c. 試料45X (189-1170A-45X-CC).

a.

累積個体数 (個)		100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
Actionmmacea の 相対産出頻度 (%)	試行1回目	21.0	21.0	19.0	17.0	17.0	16.2	15.7	15.9	15.7	15.8
	試行2回目	13.0	13.5	13.0	12.5	12.4	12.7	13.6	13.5	13.7	13.3
	試行3回目	17.0	16.0	15.0	14.8	13.4	13.3	13.6	13.6	13.9	13.8
	試行4回目	10.0	13.0	12.3	13.3	13.2	14.2	13.7	14.6	15.2	15.2
	試行5回目	12.0	14.5	15.3	14.8	15.0	15.3	15.6	15.1	14.9	14.4
全試行の平均値 $\bar{X}$ (%)		14.6	15.6	14.9	14.5	14.2	14.3	14.4	14.5	14.7	14.5
標本標準値差 $s$ (%)		4.39	3.23	2.61	1.73	1.83	1.43	1.11	1.02	0.86	1.01
信頼係数 0.95 の区間上限		20.1	19.6	18.2	16.6	16.5	16.1	15.8	15.8	15.7	15.8
信頼係数 0.95 の区間下限		9.15	11.6	11.7	12.3	11.9	12.6	13.1	13.3	13.6	13.2
変動係数 (%)		74.7	51.4	43.5	29.7	32.0	24.7	19.0	17.4	14.5	17.4

b.

累積個体数 (個)		100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000	1100	1200
Actionmmacea の 相対産出頻度 (%)	試行1回目	23.0	26.0	29.0	30.8	30.2	29.5	30.3	29.5	29.8	29.5	29.6	29.5
	試行2回目	25.0	26.5	28.0	27.3	27.6	28.3	28.6	28.4	28.8	29.0	29.9	29.1
	試行3回目	29.0	31.5	31.7	30.0	28.0	29.5	29.9	28.5	28.2	28.0	28.5	27.8
	試行4回目	27.0	30.0	29.3	29.5	28.8	27.5	28.0	28.0	28.7	28.7	29.1	29.3
	試行5回目	29.0	29.5	28.7	30.5	29.2	29.3	28.4	29.0	28.6	28.2	28.7	29.3
全試行の平均値 $\bar{X}$ (%)		26.6	28.7	29.3	29.6	28.8	28.8	29.0	28.7	28.8	28.7	29.2	29.0
標本標準値差 $s$ (%)		2.61	2.36	1.40	1.40	1.02	0.89	0.99	0.58	0.59	0.61	0.60	0.68
信頼係数 0.95 の区間上限		29.8	31.6	31.1	31.3	30.0	29.9	30.3	29.4	29.6	29.4	29.9	29.8
信頼係数 0.95 の区間下限		23.4	25.8	27.6	27.9	27.5	27.7	27.8	28.0	28.1	27.9	28.4	28.1
変動係数 (%)		24.3	20.4	11.9	11.7	8.84	7.67	8.48	5.03	5.11	5.24	5.15	5.83

C.

累積個体数 (個)	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000	1100	1200	
Actionmmacea の 相対産出頻度 (%)	試行1回目	65.0	69.0	70.3	71.5	71.2	72.2	71.3	70.4	70.1	69.6	68.9	69.1
	試行2回目	71.0	76.5	69.3	65.3	66.0	67.0	66.6	67.3	68.6	69.2	70.5	70.8
	試行3回目	78.0	79.0	77.0	74.3	73.0	73.0	73.1	72.6	71.6	72.6	73.1	73.2
	試行4回目	66.0	69.0	70.3	69.5	70.2	70.0	70.0	69.9	70.0	69.7	69.6	70.0
	試行5回目	63.0	66.5	70.0	71.5	70.6	71.5	72.0	71.6	72.1	72.6	73.3	73.0
全試行の平均値 X (%)	68.6	72.0	71.4	70.4	70.2	70.7	70.6	70.4	70.5	70.7	71.1	71.2	
標本標準値差 s (%)	6.02	5.42	3.16	3.34	2.58	2.36	2.52	2.04	1.40	1.71	2.00	1.82	
信頼係数 0.95 の区間上限	76.1	78.7	75.3	74.5	73.4	73.7	73.7	72.9	72.2	72.9	73.6	73.5	
信頼係数 0.95 の区間下限	61.1	65.3	67.5	66.3	67.0	67.8	67.5	67.8	68.7	68.6	68.6	68.9	
変動係数 (%)	8.783	7.528	4.422	4.742	3.676	3.335	3.575	2.899	1.993	2.415	2.818	2.554	

本試料では、試行によって平均値の変動の様子が異なる。試行一回目はとくに変動が大きいが、この試料を最初に検討したことに起因する人為的な影響と推定される。

### (2) 試料189-1171C-12H-CC (表1b, 図1b)

累積個体数が1,200個体に達するまで、試行を5回繰り返した。A/TPは、平均29.0%、最大値29.3%、最小値27.8%となり、信頼係数0.95を採用した場合の信頼区間は、28.1-29.8%となる。一方、二項分布が成立していれば十分とされる、累積個体数200個体の場合、A/TRは平均28.7%、最大値31.5%、最小値26.0%となり、標本平均のパラッキは大きい。

この試料では、累積個体数が300個体に達するまでA/TPが漸次増加する。このことは、検鏡を開始したスライドの範囲にはActinomaceaeの個体が少なく、スライドを移動すると個体密度が増加していることを反映し、作成されたスライドが不均一な分布となっていることを示す。この不均一性の影響を抑えるには300個体以上が必要である。

### (3) 試料189-1170A-45X-CC (表1c, 図1c)

累積個体数が1,200個体に達するまで、試行を合計5回繰り返した。A/TPは、1,200個体の場合で、平均71.2%、最大値73.2%、最小値69.1%、信頼係数を0.95を採用した場合の区間上限は73.5%、区間下限は68.9%であった。この結果が示すように、1,200個体では得られたすべての標本平均が信頼区間の範囲に収まった。一方、二項分布が成り立っている場合に適切な個体数といわれる、累積個体数が200個体の場合、平均72.0%、最大値79.0%、最小値66.5%、区間上限は78.7%、区間下限は65.3%となる。これは、母集団平均により近いと思われる、累積個体数1,200個体の場合の平均値71.2%に対し大きな値の幅が認められ

る。図1に示したように、累積個体数が300個体の場合までA/TPのばらつきは明らかに大きい。A/TPが収束するのは、試行2回目を除くと累積個体数が500個体からである。

## 考 察

### (1) 観測個体数は200個体で足りるか

二項分布が成立している場合、微化石群集の定量値は200個体を観測すれば十分な精度で得られるとされる。しかし、二項分布の仮定が成立するかの検証はほとんどの研究では無視されている。この仮定が成り立つ場合は、スライドの中で放散虫個体が完全にランダムに撒かれているときである。これが通常のスライドでは成り立たず、600-700個体を数えなければならないことを鈴木(1997)は既に証明しているが、あらためてここで行った試行を評価してみる。

たとえば、試料12H(189-1171C-12H-CC)において、観察個体数1,200個体のときの5試行の平均値である29.0%をA/TP値の真の値とみなしたとき、信頼区間0.95とした場合の母集団の平均値がとりうる値は28.1-29.8%となる。この範囲内に収めるには600個体以上を観察する必要がある。A/TPの平均値は28.8%、最大値29.5%、最小値27.5%、信頼係数0.95を採用した場合の信頼区間は27.7-29.9%である。この各値は累積個体数1200個体を観察したときと近い値となる。しかし、これより少なく500個体まででは、5回中1-2回の試行しか28.1-29.8%の範囲に収まらず、1,200個体を観察したときに得られた結果からほど遠い。

このように600-700個体以上の計測で平均値が安定することは試料10Hでも確かめられた。累積個体数1,000個体の

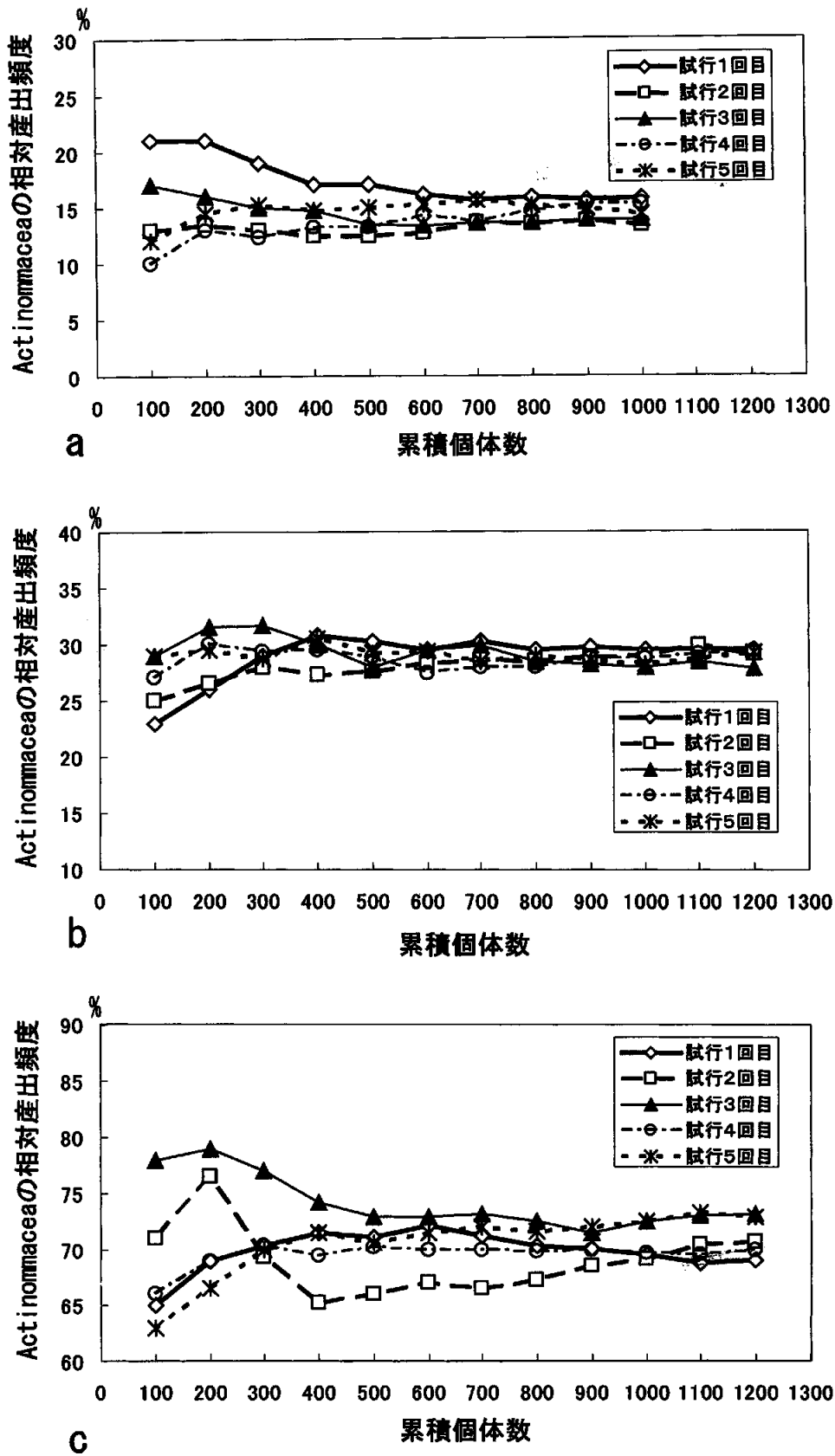


図1. 累積個体数ごとのActinomaceae上科の産出頻度の変動を图示。  
 a. 試料10H (189-1171D-10H-CC). b. 試料12H (189-1171C-12H-CC). c. 試料45X (189-1170A-45X-CC).

場合で信頼係数0.95を採用した場合にA/TPがとりえる母集団の推定値は、13.2–15.8%，すなわち平均値から±1.3%以下であった。標本平均がこの母集団推定値の範囲内に収まるのは、観察個体数が400個体では5試行回中3試行で、信頼係数0.95からの要件からかけ離れている。信頼係数0.95に見合う試行回数になるのは700個体の場合である。700個体を観察した場合、平均14.4%，最大値15.7%，最小値13.6%，信頼係数0.95を採用した場合、13.1–15.8%で変動幅は±1.35%で、1,000個体の場合とほぼ同一の精度の相対産出頻度が得られている。

試料45Xの場合、累積個体数が1,200個体の場合に得られる平均値71.2%，信頼区間68.9–73.5%を母集団と見なした場合、5回の試行中4回までがこの信頼区間におさまるのは累積個体数が500個体以上である。

まとめると、すべての試料について、母集団平均を高い精度で推定し得る累積個体数は700個体以上と結論づけられる。この個体数は、鈴木(1997)が導入した観察必須個体数、600–700個体であることを別のやり方で実験的にあらためて示したことになる。

## (2) 標本平均と推定母平均

これまで述べてきたように、観察個体数が700個体を超えてから二項分布を仮定できることを示した。この個体数以上で初めて標本平均から母集団平均を推定することに意味がある。母集団を推定するには、標本平均の標本分散の大きさが計算できなければならず、同じスライドを同じ検鏡方法で複数回の試行を繰り返す必要がある。しかし、ここで行った手法を行おうとすると5倍の労力がかかってしまう。ここで提案したいのは、いくつかの試料で複数回の試行を繰り返して標本分散の一般的な傾向を捉えて外挿するのが現実的な方法であるということである。標本分散は標本平均値に対する大きさであるため、標本分散をそのまま別の試料に適用することは困難である。ここでは変動係数を求め、この数値から各試料の標本分散を外挿することを提案したい。変動係数CVは、次のように定義されている。

$$CV = \frac{s}{\bar{X}} \times 100 \dots\dots\dots (4)$$

このように、標本分散を個々の試料すべてに与えることで、隣り合う2試料間の推定母集団平均に有意差があるか否かを検定することが出来る。ここで知りたい有意差は推定母集団が対象であるので、 $t$ 検定ないしは $\chi^2$ 検定を適用することになる。分散の違いの検定には $F$ 検定が用いられることが多いが、ここで採用している標本分散は外挿値であるので $F$ 検定をおこなうことに意味がないので注意を要

する。

微生物学において相対産出頻度という「比に関する推定や検定」を行おうのが一般的であるが、比の統計的性質には問題点が指摘されている(三中, 1999)。具体的には正規分布に従う2変量の比はどのような確率分布をするのか、比に関する推定や検定を行うにはどうすればよいのか、現在でも決着がついていない。放散虫を含め、微生物学データを統計的に処理して解析を行う場合、ノンパラメトリックな手法も含めて利用する統計処置にも注意を払う必要がある。

## まとめ

放散虫群集の相対産出頻度を解析に用いる場合、二項分布を満たすために必要な必須個体数は700個体であり、200個体では不十分であることを示した。普通に得られる個々の種の相対産出頻度は標本平均であり、この標本平均から母集団平均を推定し、解析に用いることが必須であることを強調した。母集団平均を推定するには標本分散が必要であり、同じ検鏡スライドを複数回、同じ方法で観察しなければならぬ。この作業を全ての試料で行うのは困難なので、数試料を選んで同じ検鏡スライドで複数回の試行を行って標本分散を求めて代表値と見なすことを提案した。この標本分散から変動係数を求めてこの値を利用して各々の試料における標本分散を外挿する。この外挿された標本分散と標本平均から、放散虫群集における各タクサの相対産出頻度の推定母集団平均を求め、隣り合う2試料における有意差について $t$ 検定や $\chi^2$ 検定、あるいはノンパラメトリックな手法を利用し客観基準による比較を行うことを提唱する。

## 謝 辞

懇切丁寧な査読をし、適切な指摘を行ってくださった遠藤一佳博士(筑波大学)と、編集委員の指田勝男教授(筑波大学)には厚く御礼申し上げます。

## 文 献

- Brosma, M. J., 1978, Benthonic foraminifera. In Zachariasse, W. J., Riedel, W. R., Sanfilippo, A., Schmidt, R. R., Brotsma, M. J., Schrader, H. J., Gersonde, R., Drooger, M. M. and Broekman, J. A., eds., *Micropaleontological Counting Methods and Techniques—An Exercise on an Eight Meters Section of the Lower Pliocene of Capo Rossello, Sicily*. Utr. Micropal. Bull., 17, 47-80.

- Drooger, M. M., 1978, Statistics. In Zachariasse, W. J., Riedel, W. R., Sanfilippo, A., Schmidt, R. R., Brolsma, M. J., Schrader, H. J., Gersonde, R., Drooger, M. M. and Broekman, J. A., eds., *Micropaleontological Counting Methods and Techniques – An Exercise on an Eight Meters Section of the Lower Pliocene of Capo Rossello, Sicily*. Utr. Micropal. Bull., **17**, 19-46.
- 三中信宏, 1999, 3. 形態測定学. 棚部一成・森 啓 (編) 古生物の科学2 古生物の形態と解析. 朝倉書店, 東京, 61-99.
- Riedel, W. R. and Sanfilippo, A., 1978, Radiolaria. In Zachariasse, W. J., Riedel, W. R., Sanfilippo, A., Schmidt, R. R., Brolsma, M. J., Schrader, H. J., Gersonde, R., Drooger, M. M. and Broekman, J. A., eds., *Micropaleontological Counting Methods and Techniques – An Exercise on an Eight Meters Section of the Lower Pliocene of Capo Rossello, Sicily*. Utr. Micropal. Bull., **17**, 81-128.
- 鈴木紀毅, 1997, 放散虫化石群集データの特性とデータの標準化. —デボン紀放散虫 (オクラホマ州産) を使った検討例—. 大阪微化石研究会誌, 特別号, no. 10, 1-13.
- 高柳洋吉編, 1978, 微化石研究マニュアル. 朝倉書店, 東京, 181p.