

底生有孔虫群集の統計評価法の検討

菊井重和¹⁾・阿部 理²⁾・横井大作³⁾・森本真紀¹⁾

1) 岐阜大学教育学部

2) 名古屋大学大学院環境学研究科

3) 愛知県立熱田高等学校

A statistical evaluation for the community structure of the modern benthic foraminifer

Shigekazu KIKUI¹⁾, Osamu ABE²⁾, Daisaku YOKOI³⁾,
and Maki MORIMOTO¹⁾

1) Faculty of Education, Gifu University

2) Graduate School of Environmental Studies, Nagoya University

3) Aichi Prefectural High School of Atsuta

要約

海底に生息する底生有孔虫の個体数と生物多様性に関して、観測値のばらつきを求める方法を検討した。伊勢湾・三河湾の4地点から採泥された試料を用いて、計数・同定時に底生有孔虫の個体群が40～80程度の小画分となるまで試料を分割し、それぞれ種別の個体数を求めた複数の画分を比較することにより、誤差を求めた。その結果、全個体群が300の場合の一種あたりの個体数の計測誤差は平均で1.5%となった。また、多様度指数の上限について検討を行った。

1. はじめに

原生動物の一群である有孔虫のうち、海底に生息する底生有孔虫は汽水～海水、熱帯～極域、岩礁～泥底とあらゆる海洋環境に適応し、無酸素下でも生息可能な種を有している。個体群密度が海底面積100cm²あたり10²～10⁴個と高いことから、比較的少量の試料で統計的に有意な解析が可能であり、さらに多くの種は数週間～数か月の寿命であることから、個体群密度や群集組成が水質・底質の変化に速やかに応答する特徴を持っている。そのため、海底環境変化のモニタリングに用いられるほか、遺骸が堆積物中に長期間保存されることから過去の環境復元のための指標としても利用されている。

底生有孔虫を環境モニターとして利用する研究サイトとして、後背地に大都市圏を有す都市型内湾が多くあげられる。都市側内湾は窒素やリン等の栄養塩の流入負荷による貧酸素底層水塊の発生や、河川・沿岸の改修工事等による底質・堆積速度の変化など、短時間で大きな海底環境の変化をもたらす要因が多いため、大きな環境適応力と環境応答速度をもつ底生有孔虫の特徴を最大に応用することができる。底生有孔虫の生態学的研究は、底砂や底泥の化学分析に基づく地球化学的研究の多くと異なり高額な分析装置を必要としないため、理科教育の観点からも優れた環境モニタリング手法といえる。

その一方、底生有孔虫の個体数や群集組成に基づくこれまでの研究では、基礎データとなる単位体積あたりの個体数について、誤差や有意性などの統計評価についての記述が見られないことがほとんどであり、あらゆる測定値には誤差を伴うことが常識となっている他分野の研究者にとっては利用しにくいデータセットとなっていると言わざるを得ない。Schönfeld *et al.* (2012)は、現生の底生有孔虫群集の時空間分布を沿岸海底環境の定量モニタリング指標として確立するために、試料採取・分類・統計解析の標準手法の

ガイドラインを作成した。彼らは群集組成の再現性（外部精度）を評価するために、1地点につき複数の採泥を実施し、採泥試料ごとに300以上の個体を計数し、相互比較することを提唱した。しかしながら、得られる試料量に制限のある堆積物コアでは、1地点の1時代から複数試料を得ることは非現実的であるため、この方法は現生試料による研究に限定的といえる。

また、1採泥試料から拾い出す最少個体数に関してもコンセンサスを得ていない。上述の論文で示した300以上は欧州の底生有孔虫研究グループの推奨値である一方で、わが国では日本第四紀学会（1993）や化石研究会（2001）などで200以上、と示されている。いずれの数値も理論的根拠は明示されておらず、それぞれの経験則に依拠する可能性が高い。

そこで本研究は、わが国の主要な都市型内湾の一つである伊勢湾・三河湾域4地点の現生の底生有孔虫の群集組成の調査結果から、生態系の時間・空間的代表性を正しく評価するための適正個体数の検討および、1地点につき1つの採泥試料から、内部精度による個体計数の統計的評価を行うことを目的とする。

2. 研究地点・方法

研究試料は2011年11月に三重大学生物資源科学部練習船勢水丸のSE1128航海により、伊勢湾3地点、三河湾1地点から採取した（図1）。船上でスミス・マッキンタイア型グラブ採泥器により得られた海底堆積物試料の表層約1cmをすくい取り、研究室に持ち帰ったのち、湿潤および乾燥重量の測定を行った。研究室における試料処理については、基本的には化石研究会（2001）に従った。以下に簡潔に記す。乾燥試料を74 μ mメッシュのふるいにかけて、ふるい上に残った砂泥を、二分割器を用いて目的個体数になるまで複数回の分割を繰り返した。化石研究会（2001）によれば、目的個体数として200以上を目安としているが、本研究では300個体以上となるように拾い出した。さらに、IS10.5地点を除く3地点の試料については、目視で確認した1画分の有孔虫の個体数がおよそ40~80になるまで分割を繰り返した。IS10.5のみ最少画分が100~150となった。その上で、顕微鏡下で画分内のすべての底生有孔虫の拾い出しと種同定を行った。そして総数が300以上となるまで、複数の画分について同様の作業を行った。

各画分、複数画分の組み合わせおよび全個体について、それぞれの群集組成および多様度指数を求めた。多様度指数とは生物群集の多様性を表す数値で、本研究では以下の式で示すShannon-Wienerの多様度指数を用いる（Shannon and Weaver, 1949）。

Shannon-Wienerの多様度指数（H'）

$$H' = - \sum_{i=1}^s \frac{n_i}{N} \log_2 \frac{n_i}{N}$$

ここで、sは種数、 n_i はi番目の種の個体数、Nは総個体数を意味する。この多様度指数は、種間の個体数配分に偏りがあるほど、すなわち、生物多様性が低いほど、値が小さくなり、0に近づく。

3. 結果と考察

各地点の個体数

各地点で拾い出した底生有孔虫の個体数について下表にまとめた。M2地点は37~75の個体数を持つ6つの画分を分析し、全個体数は327となった。M2.5地点は78~95の個体数を持つ5つの画分を分析し、全個体数は428となった。IS10.5地点は99~147の個体数を持つ3つの画分を分析し、全個体数は372と

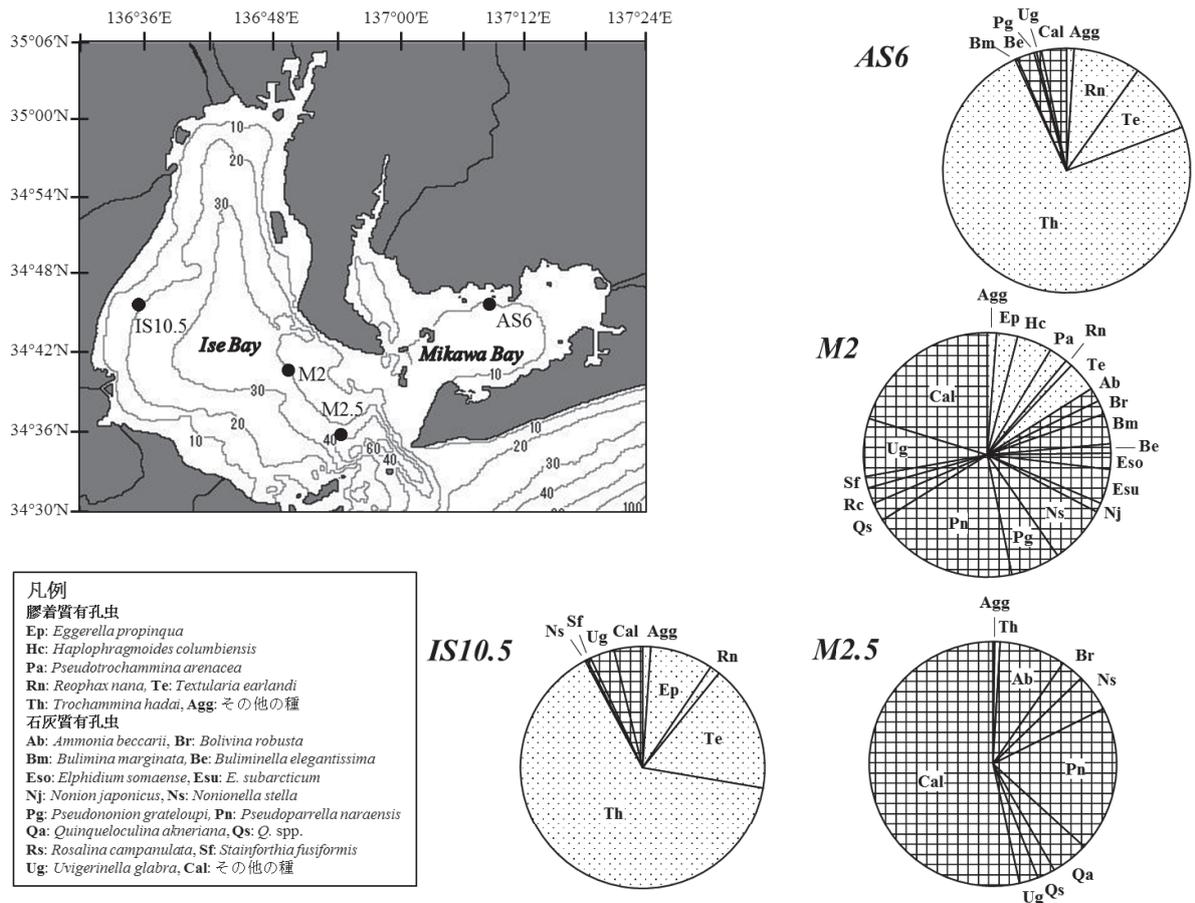


図1. (左上) 伊勢湾・三河湾の海底地形と試料採取地点(黒丸)。等深線上の数値の単位はmである。(右側) 各地点の全個体から得られた群集組成。円グラフ中でドットで示した領域は膠着質の底生有孔虫種、格子で示した領域は石灰質の底生有孔虫であることを意味する。グラフ中の記号は各有孔虫種であり、左下の凡例に学名を記す。ただし、Cal および Agg はそれぞれ相対頻度が3%以下のその他の石灰質種と膠着質種の総和である。

なった。AS6 は41~69の個体数を持つ6つの画分を分析し、全個体数は307となった。すべての地点で分割数は1024となり、全個体数は300を超えていた。

各地点の全個体から得られた群集組成

各地点の全個体数に基づく底生有孔虫の群集組成を図1に示す。いずれかの地点で相対頻度が3%を超えた種のみ表記して、それ以外についてはその他としてまとめた。伊勢湾西部のIS10.5および三河湾のAS6は、殻を持たず、周囲の鉸物片を接着する膠着質有孔虫が優占している。伊勢湾中央部から湾口部に位置するM2およびM2.5は炭酸カルシウム殻を有す石灰質有孔虫でほぼ占められている。また、IS10.5およびAS6は膠着質の*Trochammina hadai*が過半数を示し、ほか数種で構成されるのに対し、M2およびM2.5は優占種はなく種数も多い(なお、M2.5については、未同定の石灰質種が数多くあったため、“その他の石灰質種”が過半数となっている)。

bootstrap 法による個体計数の誤差評価

上述したように、通常の個体数計測法では、1つの画分が200または300以上となるように分割を行い、単一画分内のすべての個体を拾い出すことで群集組成等を求めるが、この方法では、個体計数の誤差

を得ることができない。Schönfeld *et al.* (2012) が提唱した、同一地点から複数の採泥を行い、試料間の比較から誤差（外部精度）を評価する方法もあるが、本研究では代替選択肢として、単一画分の個体数を小さくして、複数の画分を分析し、画分間の比較から誤差（内部精度）を求める方法を試みた。

一般に母集団（ここでは各地点に生息するすべての底生有孔虫）から採取した標本（ここでは拾い出して同定をした底生有孔虫）を得て誤差の評価を行う場合、その母集団の確率分布型が既知であることを前提とするが、その確認をするためには、標本数が十分に大きい（大標本）必要がある。それぞれ40~80の個体数からなる群集組成を持つ最大6つの画分から、その母集団の分布型を仮定することは難しい。とはいえ、それぞれ数百以上の個体数を持つ数百の画分を分析することは当然ながら現実的ではない。そこで、標本集団から無作為再抽出を行って、新たな母集団を形成する、bootstrap法を用いて誤差評価を行った。具体的には、例えばある種aが、A~Fの6つの画分にそれぞれ個体数(Aa~Fa)を持つ場合、6画分の誤差を評価する場合は、このAa~Faから6つを無作為に数百回抽出し、2画分の誤差を評価する場合は2つを無作為に同じく数百回抽出する。それぞれについて数百のデータセットが得られるため、その平均値と標準偏差を求めることができる。実際に、M2地点について、6画分を600回無作為抽出し、各有孔虫種の個体数を、全個体群のそれと比較したところ、ほぼ $y=x$ の回帰直線および高い相関係数を得ることができた(図2)。さらに、各地点について、全個体群から得られた多様度指数と、bootstrap抽出した1~6画分の多様度指数を比較した(表)。いずれの地点においても、多様度指数は最小から最大のすべての画分において、ほとんど変わらない結果が得られた。表の下部には参考として画分ごとに独立して求めた多様度指数を示しているが、大きくばらついていることがわかる。

各地点について、bootstrap法で求めた有孔虫種の個体計数の標準偏差を総和して得られた累積誤差を図3の左に示す。個体数、すなわち画分数、の増加に従って誤差が小さくなる。また、同じ個体数における累積誤差は、多様度指数が高いほど大きい。前者については、理論的に個体数の増加と誤差は指数関数の関係にあり、個体数が無限大になれば誤差は0となることから妥当であることがわかる。実際にも、各地点の減少傾向は、 $y = ax^{-b}$ の指数関数で近似することができる。後者については、多様度指数の高い地点

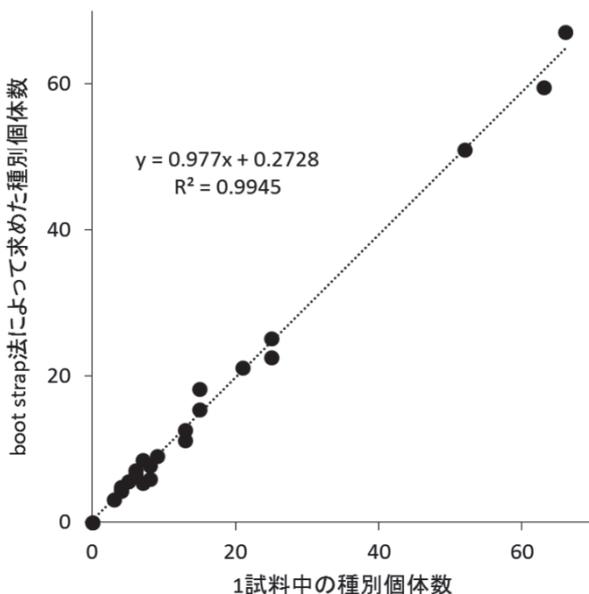


図2. M2地点の、全327個体群中の種別個体数と、boot strap法を用いて、6画分から無作為中抽出して得られた種別個体数の比較。

は種数が多く、単一種の個体数は小さいため、個々の相対的に大きな誤差が積み上がり、図のような結果となる。そこで、累積誤差を種数で割った、一種あたりの平均誤差を求めると多様度の最も低いAS6地点と最も高いM2地点でほとんど同一の誤差を持つことがわかる(図3右)。以上の結果より、一種あたりの誤差の地点間平均を求めると、個体数200および300それぞれについて、1.8%および1.5%となった。また、群集組成の累積誤差は種数の増加に伴って増加することがわかった。

多様度指数の個体数依存性について

最後に、多様度指数H'の個体数依存性について検討を行った。Shannon-Wienerの多様度指数は、標本数や種数の増加に依存して増加する、すなわち、生物多様性の指標としては限定的であるとの指摘が以前からある(木元, 1976; Warwick and Clarke, 2001; 大垣, 2008な

表. 各地点の全個体数と画分ごとの個体数と多様度指数、および bootstrap 法で求めた多様度指数。N=1~6 は、全画分からのそれぞれの抽出画分数を示す（例えば M2 地点の N=6 とは M2 地点の全 6 画分から無作為に 6 画分を抽出した結果であることを意味する。無作為のため、6 つすべてが同じ画分になることも確率的に当然あり得る）。

	M2		M2.5		IS10.5		AS6	
	多様度指数	個体数	多様度指数	個体数	多様度指数	個体数	多様度指数	個体数
全個体	3.76	327	2.16	428	1.70	372	1.40	307
<i>bootstrap 抽出法</i>								
N=1	3.78	55	2.23	83	1.71	130	1.39	51
N=2	3.78	109	2.23	166	1.71	259	1.39	102
N=3	3.79	164	2.23	250	1.71	390	1.40	154
N=4	3.79	218	2.22	333			1.40	205
N=5	3.79	272	2.22	416			1.40	256
N=6	3.79	327					1.40	307
<i>画分ごと</i>								
F1	3.06	72	1.49	95	1.70	99	1.43	48
F2	2.58	47	2.02	78	1.70	147	0.89	41
F3	3.09	52	2.51	81	1.50	126	0.89	44
F4	3.24	44	1.87	79			1.91	51
F5	3.35	75	2.00	95			1.32	69
F6	3.44	37					0.98	54

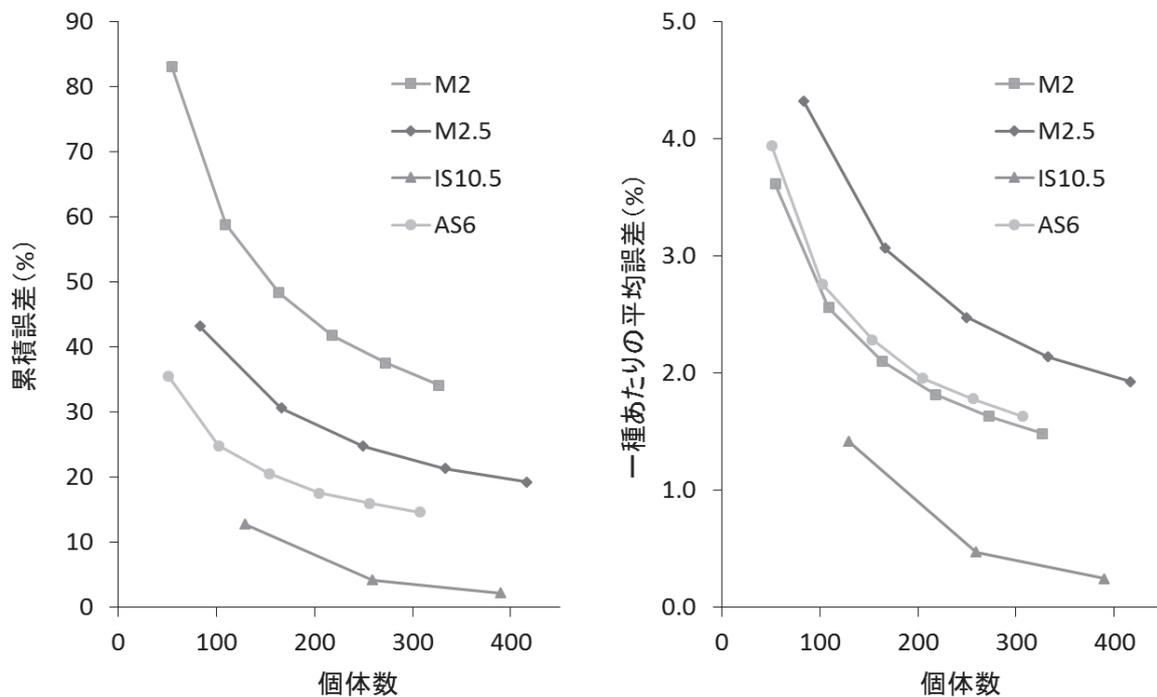


図 3. (左) bootstrap 法で得られた、各地点における、各有孔虫種の計数誤差の総和と個体数の関係。誤差は、相対値（標準偏差の総和を個体数で割る）として示している。(右) 左の各曲線をそれぞれの種数で割った、一種あたりの平均の相対誤差。

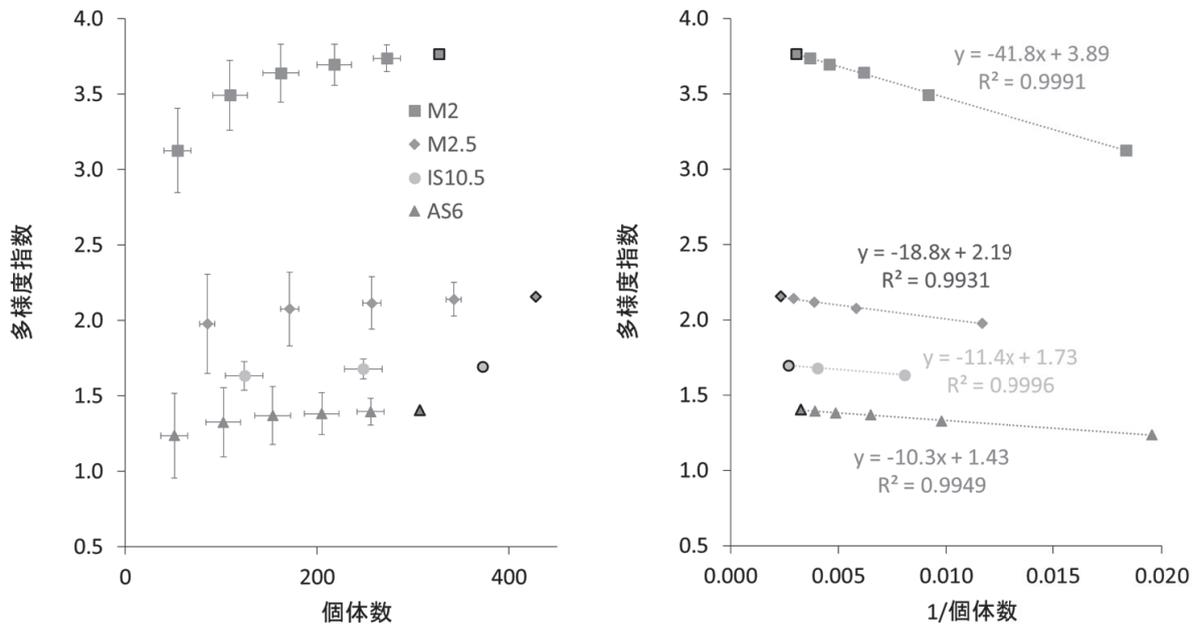


図4. (左) 画分の組み合わせから求めた各地点における多様度指数と個体数との関係。鉛直・水平方向の誤差棒はいずれも各組み合わせ集団から求めた標準偏差（例えば、6画分から2つの組み合わせの場合は15通りの数値が得られる。）を意味する。なお、各地点の右端の黒枠記号は、全個体数から求めた多様度指数であるため、誤差を伴わない。(右) 左図の X 軸を逆数にしたもの。各地点の数式は直線回帰式とその相関係数である。

ど)。前項で述べた bootstrap 法の結果からは、個体数依存性は見られなかった(表)。さらに確認のため、無作為抽出ではなく、各地点の画分の組み合わせにより多様度指数の平均と誤差の評価を実施した。M2 地点を例に挙げると、F1~F6 の 6 画分からそれぞれ 2~5 まですべての組み合わせ (2つの組み合わせは F1F2、F1F3、F1F4、F1F5、F1F6、F2F3、(中略)、F5F6 までの 15 通りとなる) を作成し、それぞれの集団について、多様度指数を求めた。

図4に、画分の組み合わせから求めた、各地点の群集組成の多様度指数と個体数の関係を示す。左図を見ると、個体数の増加とともに多様度指数が緩やかに上昇していることがわかる。しかし、個体数の増加とともに上昇率が低下し、水平方向の漸近値(上限値)があるように見えることから、X 軸を個体数の逆数とした図を作成したところ(図4右)、多様度指数と個体数の逆数は高い直線性を有することがわかった。また、多様度指数のより高い地点ほど、直線回帰式の傾きがより大きくなった。これは、同一個体数の場合であっても、多様度が高い M2 や M2.5 は種数もより多いことから、一種あたりの個体数はより小さくなる。標本数が小さくなればなるほど、発見種数も小さくなり (rarefaction : 希薄化)、多様度指数の減少が大きくなることから説明できる。

以上のことは、上述した先行研究が指摘する多様度指数が個体数に依存する一面を表しているものの、もし多様度指数が個体数依存であるならば、個体数が無限大のとき、多様度指数も無限大となるべきである。しかしながら、図4右から明らかなように、各地点の直線回帰式の切片から個体数が無限大の場合の多様度指数の上限値を求めることができる。さらには、この上限値を母集団のもつ真の多様度指数と仮定すると、適切な標本数を推定することも可能となる。実際に、M2、M2.5、IS10.5、AS6 の多様度指数上限はそれぞれ 3.89、2.19、1.73、1.43 となった。これらの上限値を真と仮定し、真値の 95%以上を許容する

とした場合、多様度指数を求めるために必要な最少個体数は、前述の各地点でそれぞれ 215、172、132、144 となった。この結果から、優占種が過半数を占めるような IS10.5 や AS6 などと比べて、生物多様性の高い M2 群集はより多くの標本が必要となることがわかった。

4. まとめ

本研究で得られた知見は以下のとおりである。

- 1) 底生有孔虫の群集組成の分析に伴うばらつきを評価するために、1 地点の 1 採泥試料からおおよそ 40~80 の小画分ごとに個体計数を行い、bootstrap 法による内部誤差を求めた。全個体群と画分の無作為抽出によって得られた多様度指数はほぼ一致していた。
- 2) 底生有孔虫種の計数の累積誤差は個体数の増加に伴い減少した。また多様度指数が高い地点ほど大きな累積誤差を持つことがわかった。このことから一種あたりの平均誤差を求めたところ、多様度指数とは無関係であり、全地点の平均値は、200 および 300 個体を拾い出した場合、それぞれ 1.8 % および 1.5 % となった。また、群集組成の累積誤差は、種数の増加に伴い増加することがわかった。
- 3) 多様度指数の個体数依存性を検証するため、各画分のすべての組み合わせによる評価を実施したところ、個体数の逆数と多様度指数の間に高い直線性があることがわかった。この直線の切片、すなわち、個体数が無限大の場合の多様度指数の上限値を求め、それを真値とみなし、多様度指数の評価に必要な最少個体数を求めた。
- 4) 生物多様性の高い群集は、低い群集に比べてより多くの標本数を必要とすることがわかった。したがって適正標本数の判断には、その生態系がどのような構造を有すかを把握することが重要である。

5. 引用文献

- 化石研究会編 (2001) 化石の研究法 – 採集から最新の解析法まで, 388 p., 共立出版.
- 木元新作 (1976) 動物群集研究法 I - 多様性と種類組成, 生態学研究法講座 14, 200 p., 共立出版.
- 日本第四紀学会編 (1993) 第四紀試料分析法, 664 p., 東京大学出版会.
- 大垣俊一 (2008) 多様度と類似度、分類学的新指標, *Argonauta* 15, 10-22.
- Schönfeld J, Alve E., Geslin E., Jorissen F., Korsun S., Spezzaferri S., and Members of the FOBIMO group (2012) The FOBIMO (Foraminiferal Bio-Monitoring) initiative – Towards a standardised protocol for soft-bottom benthic foraminiferal monitoring studies. *Mar Micropaleont* 94-94, 1-13.
- Shannon C. E. and Weaver W. (1949) The mathematical theory of communication. 125 p., University of Illinois Press, Urbana and Chicago.
- Warwick R. M., Clarke K. R. (2001) Practical measures of marine biodiversity based on relatedness of species. *Ocean Mar Biol Ann Rev* 39, 207-231.

