

植物防疫基礎講座：

農薬の効果判定：密度指数と補正密度指数

独立行政法人農業環境技術研究所 ^{やま}山 ^{むら}村 ^{こう}光 ^じ司
 独立行政法人農業研究機構中央農業研究センター ^{すず}鈴 ^き木 ^{よし}芳 ^と人

はじめに

2001年から施行された農薬登録の新ガイドラインにおいては、農薬の薬効薬害を判定する際に公正かつ適切なデータを用いることが強く求められている。それに呼応して、2001年に日本植物防疫協会により「農薬委託試験実施の手引き」（現在は「新農薬実用化試験実施の手引き」）が刊行され、圃場試験の計画から評価法にいたるまでの基本事項が定められた（日本植物防疫協会、2003）。さらに、作物別にも各病害虫の試験方法に関する基準が作成されており、それらは Web 上で公開されている（<http://www.jpnp.ne.jp/jpp/public/index.html>）。現在は、これらの資料に基づいて薬効試験が実施されている。

薬剤効果の判定に当たっては、無処理区と試験区における害虫発生量の推移とその反復間のバラツキなどが総合的に勘案される。そこでは特に「密度指数」と「補正密度指数」が多用されている。しかし、害虫密度の低い条件下で試験が実施される場合には、密度指数や補正密度指数の数値は不安定であることが経験的に知られている。そのため、少発生時にどのように効果を判定するかがかねてから問題となってきた。近年では、農薬登録のための委託試験において、生物農薬の試験が増加している。生物農薬の場合には、害虫発生の初期段階で天敵を放飼することにより、高い「天敵/害虫」比を実現することが防除成功の鍵となる。このため、害虫密度が非常に低い状況で試験が行われることが多い。本稿では、このように害虫密度が低い状況を念頭におき、圃場試験のデザイン設計とそのデータ解析において配慮すべき点を示したい。

I 密度指数と補正密度指数の違い

一般に、処理効果を数値化する場合には、その処理を行わなかった場合に生じる密度（背景密度）からどれだ

け隔たった密度になるかで数値化する必要がある。すなわち

$$\text{処理 A の効果} = \frac{\text{処理 A 後の密度}}{\text{処理 A 区での背景密度}} \quad (1)$$

ここで「無処理も一つの処理である」という点に注目しよう。この無処理の効果は同様にして

$$\text{無処理の効果} = \frac{\text{無処理後の密度}}{\text{無処理区での背景密度}} \quad (2)$$

処理 A と無処理の効果の比は式(1)と式(2)の比を計算することにより

$$\frac{\text{処理 A の効果}}{\text{無処理の効果}} = \frac{\frac{\text{処理 A 後の密度}}{\text{処理 A 区での背景密度}}}{\frac{\text{無処理後の密度}}{\text{無処理区での背景密度}}} \quad (3)$$

もし「処理 A 区での背景密度」と「無処理区での背景密度」が同じであると考えられるならば式(3)は

$$\frac{\text{処理 A の効果}}{\text{無処理の効果}} = \frac{\text{処理 A 後の密度}}{\text{無処理後の密度}} \quad (4)$$

この値に100を掛けたものが密度指数（あるいは「対無処理比」）と呼ばれている値である。もし「背景密度が試験前の密度に比例する」と考えられるならば、それを式(3)に代入すれば

$$\frac{\text{処理 A の効果}}{\text{無処理の効果}} = \frac{\frac{\text{処理 A 後の密度}}{\text{処理 A 区での試験前密度}}}{\frac{\text{無処理後の密度}}{\text{無処理区での試験前密度}}} \quad (5)$$

この値に100をかけたものが補正密度指数である。

試験前の密度が異なっていれば、処理 A 区と無処理区で背景密度も異なっていると予想されるため、密度指数は妥当ではないと予想される。しかし「試験前の密度が異なっている場合には密度指数の代わりに補正密度指数を用いればよい」とはならないことに注意すべきである。補正密度指数は試験前の密度が背景密度に比例する場合にのみ妥当であろう。例えば、試験前の密度に差があり、試験期間中に外部から試験区にランダムに移入があった場合にはこの仮定は成立しない。補正密度指数は、(1)試験区が閉鎖系であり、かつ(2)試験区内の密度が密度非依存的に一定率で変化する場合など、ごく限ら

Assessment of the Effectiveness of Pesticides : Density Index and Adjusted Density Index. By Kohji YAMAMURA and Yoshito SUZUKI

(キーワード：農薬, 効果判定, 密度指数, 補正密度指数, 信頼区間, R)

れた条件でのみ妥当である。試験室内での殺虫率試験などではこの条件は成立するであろう。しかし、圃場試験では、試験がごく短期間のうちに行われる場合を除き、一般にこの二つの条件は満たされない。したがって、補正密度指数が妥当である場面はかなり少ないと考えられる。圃場試験では、背景密度をできるだけ均質に保って試験を行い、その試験から密度指数を計算して議論を行うのが多くの場合に妥当であろう。生物農薬の場合には、先述のように効果が害虫密度に依存して変わることが多い。したがって、試験前密度に著しい差がある場合には、妥当な試験を行うこと自体が不可能だといえるであろう。

II 害虫が低密度のときの問題

背景密度が均質であり、しかも薬剤効果の発現にバラツキがない場合には、密度指数の基本定義式(式(4))を用いて正確に処理Aの効果と無処理の効果の比を推定できるはずである。しかし、この場合にもサンプリング誤差の問題が残っている。実際には「真の密度」は不明なので、真の密度の代わりに観測個体数を式(4)に代入することになる。その結果、サンプリングに伴うバラツキにより、実際には効果がないのに効果があると判定してしまう場合がある。これを数値例で示してみよう。

いま三つの試験区(処理区, 対照区, 無処理区)で害虫の背景密度が同じであると仮定しよう。委託試験においては、アブラムシ・ハダニ類, チャノホコリダニ, ミナキイロアザミウマ・ミカンキイロアザミウマ以外の害虫に関しては、無処理区に対する供試薬剤区の指数が50を下回ることが「効果あり」と判定する目安となっている(日本植物防疫協会, 2003)。また、生物農薬の試験では、アブラムシ類なども含むすべての害虫に対し

てこの判定基準が適用されている。そこで、実際には処理効果がないにもかかわらず、密度指数がたまたま50以下となる確率、すなわち実際には効果がないのに「効果あり」と誤判定する確率を計算する。

処理によって決まるのは、害虫の期待密度であって害虫個体数そのものではない。処理は実際には限られた面積に対して行われるが、それは「広面積にわたって等しい条件で処理を行ったうちの一部分を取り出して観測している」とイメージするのが妥当であろう。完全に期待密度が同じであったとしても、たまたま多くの個体が観測される場合もあれば、少しの個体しか観測されない場合もある。このとき害虫の頻度分布はポアソン分布に従う。なお、実際の圃場における個体数分布はポアソン分布ではなく何らかの集中分布であるが、それは局所的な期待密度自体が場所によって異なるからだと考えるべきであろう。いまの計算では「背景密度が均質であり、かつ薬剤効果の発現にバラツキがない」と仮定しているため、期待密度が均質となり、したがってポアソン分布を用いることができる。

図-1はポアソン分布を用いて計算した誤判定確率を示している。害虫の期待密度が低いときには、誤って「効果あり」と判定してしまう確率が極めて大きくなる。完全に同じ期待密度であるにもかかわらず処理区の観測個体数が無処理区のその半以下になり「効果あり」と誤判定を行う確率(実線)を見てみると、この確率が5%より小さくなるのは真の期待密度が約14以上のときだけであることがわかる。また、処理区と対照区の真の密度が同じであるのに、処理区の観測個体数が対照区のその半以下あるいは2倍以上となり誤判定を行う確率(破線)を見てみると、この誤判定確率が5%より小さくなるのは真の期待密度が約19以上のときだけであることがわかる。平均個体数が少ないときには、一般に密度指数はかなり慎重に取り扱う必要がある。たとえ処理前の平均個体数が十分に多くても、効果判定時に無処理区の個体数が少なければ、同じように注意しなければならない。

III 信頼性の表示方法

「科学的推論」と「占い」はいずれも予測を行う手段であるが、前者はその推論の信頼性が明記されるという点で後者と異なっている。論文で推定値を報告する際には、必ずその信頼性を明記することが要求される。信頼性は、一般的には95%信頼区間などの信頼区間によって示すことができる。ただし、推定値の分布が正規分布にしたがう場合には、例えば95%信頼区間は標準誤差

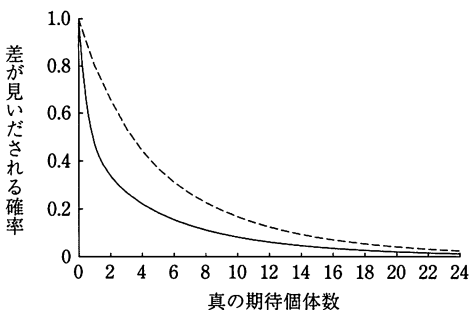


図-1 処理区, 対照区, 無処理区の真の期待個体数が等しいのに誤って「効果あり」と判定する確率
実線は、処理区が無処理区の半以下の観測個体数となる確率。破線は、処理区と対照区の観測個体数が2倍以上の開きが出る確率。真の期待個体数が少ないときに誤判定が多くなる。

の1.96倍で表されるので、その汎用性を考えて、信頼区間の代わりに標準誤差(SE)を記載する習慣になっている。ここで、標準誤差自体には別に意味はないことに注意すべきである。標準誤差は「そこから任意のパーセントの信頼区間を描くことができる」という点でだけ意味がある。

前章では、害虫の平均密度が低いときには密度指数を慎重に用いる必要があると述べた。そのような場合には、信頼区間を計算して、その信頼性を表示しておくことが望ましい。ポアソン分布に基づく信頼区間を計算するためには、以前は高価な統計解析ソフトウェアを使用する必要があった。しかし、最近では無料の統計解析ソフトウェア「R」で簡単に計算を行うことができる。このソフトウェアはホームページから自由にダウンロードすることができる(<http://cran.r-project.org/>)。インストールの際に「中国語/日本語/韓国語向けインストール」を選択すれば日本語版として使用することが可能である。具体的に計算例を示してみよう。表-1は、初めに述べた植物防疫協会のホームページに置かれている「新農業実用化試験実施の手引き」に例示されているデータの一部である。この試験では三つのブロックで試験が反復されている。説明を簡単にするために、以下の計算ではブロック効果を無視し「無作為に3反復が行われた」とみなすことにする。この試験では反復が設けられているが、ポアソン分布に基づく信頼区間は、たとえ反復がなくても計算可能であることに注意してほしい。今このデータを次のようなテキストファイルとしてdata1.txtという名前でもDドライブに保存しておくことにする。ここにblkはブロック、treatは処理、yは観測個体数である。

blk	treat	y
B1	T1	25
B1	T2	18
B1	T0	153
B2	T1	18
B2	T2	13
B2	T0	148
B3	T1	24
B3	T2	11
B3	T0	73

このデータではblkとtreatは離散的な要因なので、そのように取り扱われるように数字ではなく文字で記入しておく。また、無処理区の名前が、数字・アルファベット順で最も先になるように名前を工夫しておく。今は処理区をT1、対照区をT2、無処理区をT0で表すことに

表-1 薬剤処理試験の数値例

試験区	ブロック		
	I	II	III
処理区	25	18	24
対照区	18	13	11
無処理区	153	148	73

する。次に、Rを立ち上げて、画面に次のコマンドを入力する。

```
data1<-read.table("d:/data1.txt", header=TRUE)
```

これにより、data1という名前の内部データが作成され、以降の分析で使用できるようになる。ファイル名の部分には、ファイルを保存したディレクトリをきちんと指定する。また、header=TRUEという指定を行うことにより、データファイルの1行目が項目名として読み込まれる。

密度指数の基本定義式(式(4))には、密度が割り算の形で影響する。また、一般に効果はかけ算の形で影響することが多い。これら「かけ算・割り算」は対数スケールでは「足し算・引き算」になり、いわゆる「線型モデル」で表現することができる。そのため、これらの推定問題では対数スケールで効果を分析するのが普通である。対数スケールにおける効果は、Rでは次のような簡単なコマンドにより推定することができる。

```
summary(glm(y~treat, family=poisson, data=data1))
```

このコマンドでは、まず「一般化線形モデル」用の関数glmを用いて計算を行い、その結果を表示用の関数summaryを使って表示している。glm関数の中では、まず「y~treat」により、個体数yをtreatによって説明するように指定し、さらに、分布としてはポアソン分布を使うこと、そしてデータとしては先ほど作成したdata1を使うように指定している。計算を実行すると最尤推定値とその漸近的な標準誤差(SE)は次のようになる。

	推定値	SE
(切片)	4.83	0.05
T1	-1.72	0.13
T2	-2.19	0.16

最尤推定値は漸近的に正規分布に従う。したがって、その95%信頼区間は大雑把には先述のように「推定値±1.96×SE」で計算することができる。例えば処理区(T1)に関する推定値は-1.72であり、95%下側信頼限界は-1.72-1.96×0.13=-1.98、95%上側信頼限界は-1.72+1.96×0.13=-1.46である。ただし、これらは対数スケールにおける推定値であるから、それを真

数スケールに戻す必要がある。処理の効果 (T1) の推定値を真数スケールに戻すと $\exp(-1.72) = 0.18$ である。これは密度指数の基本定義式 (式(4)) を用いて、 $(25 + 18 + 24)/(153 + 148 + 73) = 0.18$ として計算される値と当然のことながら正確に一致する。95%信頼区間は対数スケールでの95%信頼区間 $-1.98 \sim -1.46$ を真数スケールに直すことにより $0.14 \sim 0.23$ となる。信頼区間を計算することにより、この推定値の信頼性がかなり高いことが示された。同様にして、対照区 (T2) の効果の推定値は 0.11 、その95%信頼区間は $0.08 \sim 0.15$ となる。

なお、Rでは「端点制約」を採用して計算を行っているために上記のような手法で密度指数を推定することができるのであるが、それ以外の制約条件を採用しているソフトウェア (例えば有料の統計解析ソフトウェアのSやJMP) ではこのような形では推定することはできない。特に、SではRと同じコマンドにより計算を実行することができるが、内部の仕様が異なっているため、デフォルト状態ではRとは異なる推定値を生じることには注意する必要がある (VENABLES and SMITH, 2005)。

IV 反復の魔法

上に述べた推定法では「背景密度が均質で、かつ薬剤効果の発現にバラツキがない」と仮定していた。しかし、これらの条件は十分には満たされていないかもしれない。これらの条件が満たされているか否かは程度の問題である。慎重に試験を計画していれば、ある程度は満たされているはずであるが、厳密に満たされることはまずありえない。そのため「仮定が満たされているか否か」を議論しても水掛け論になりやすい。

試験に反復が設けてある場合には、このような水掛け論を回避することができる。これは、いわば「反復の魔法」である。背景密度の変動も含め、効果の発現に変動があるときに、そこに分布を仮定する。今のように、かけ算で効果が影響する場合には対数スケールで正規分布を仮定するのが自然である。実際に観測される個体数の変動は、この正規分布に由来する変動とポアソン分布に由来する変動の複合になる。この複合された分布を厳密に扱うのは少し面倒なので、今この複合分布を一つの等分散の正規分布で近似してみよう。すると、対数変換後の観測値に普通の分散分析を適用することになる。ただし、個体数のカウントは連続量ではなく $0, 1, 2, 3, \dots$ という離散量であるので、その離散幅の半分 0.5 を足してから対数変換を行う必要がある (山村, 2002)。なお、1単位当たりの平均値を分析するときには、離散幅

が1よりも小さくなるので注意する必要がある。例えば4株を調査し1株当たりの個体数に換算してから計算を行う場合には、離散幅は $1/4$ であるからその半分の $1/8$ を足してから対数変換を行う必要がある。

先ほどのデータに対して、Rで対数変換後の分析を行う場合には、次のようなコマンドになる。

```
summary(lm(log(y+0.5)~treat, data=data1))
```

ここでは「一般化線形モデル」用の関数 `glm` の代わりに「線形モデル」専用の関数 `lm` を用いている。計算を実行すると推定値と標準誤差は次のようになる。

	推定値	SE
(切片)	4.78	0.17
T1	-1.66	0.24
T2	-2.12	0.24

これら対数スケールにおける推定値を先ほどと同様にして真数スケールに戻せば、処理区 (T1) の効果の推定値は 0.19 、95%信頼区間は $0.12 \sim 0.31$ である。また、対照区 (T2) の効果の推定値は 0.12 、95%信頼区間は $0.07 \sim 0.19$ である。推定値は先ほどの分析の場合とほぼ同じであるが、信頼区間が少しだけ広がっている。この試験例の場合、「背景密度が均質で、かつ薬剤効果の発現にバラツキがない」という仮定はおおむね妥当だったようである。

正規分布とポアソン分布の複合を厳密に扱うためには、「一般化線形混合モデル」の枠組みを用いた計算が必要となる。こちらの計算手法も最近では発展しており、ある程度はRで計算することも可能であるが、現時点ではそこまで厳密に行う必要はないであろう。ちなみに、有料の統計解析ソフトウェアSASのプロシジャ `glimmix` や `nlmixed` を用いて厳密な推定を行うと以下のようなになる。信頼区間は上の分散分析の結果とほぼ同じである。

	推定値	SE
(切片)	4.79	0.14
T1	-1.69	0.23
T2	-2.15	0.25

おわりに

補正密度指数が妥当となる条件は圃場ではあまり満たされないため、補正密度指数よりも密度指数を使用するほうが一般に望ましい。試験に反復が設けられていない場合には「背景密度が均質で、かつ薬剤効果の発現にバラツキがない」と仮定して、密度指数を計算するのがよいであろう。また、この密度指数の信頼区間を上述の手順で計算しておくことが望ましい。特に、図-1に示さ

れるように、害虫密度が低い場合には信頼性が不十分になることが多い。したがって、そのような少発生の場合には、きちんと信頼区間を計算して信頼性を数値で示しておくべきであろう。また、十分な信頼性を得るためには、試験計画を調整すべき場面もあるであろう。試験前に圃場で害虫密度が低いことが判明した場合には「調査株数を増やす」あるいは「放虫試験を検討する」などの対応を行う必要があると思われる。

「背景密度が均質で、かつ薬剤効果の発現にバラツキがない」という仮定を妥当なものにするためには、試験条件を慎重に整備しなければならない。処理前の対象害虫の密度や齢構成に顕著な差が認められた場合には、この仮定は成立していないであろう。ただし、もし反復を設けることができるならば、この条件は少し緩和される。試験区によって背景密度や薬剤効果の発現にバラツキがあっても、上述の手順により正しく密度指数とその信頼区間を推定することができる。「背景密度が均質で、かつ薬剤効果の発現にバラツキがない」という仮定に自信がもてない場合には、きちんと反復を設けるべきである。

う。概念としては、「均質にするための労力」と「反復を設けるための労力」との兼ね合いで最適な試験計画が決まると考えることができる。「完全に試験区を均質にして薬剤効果の発現のバラツキをなくすほうが試験コストが安い」という場面もあるであろうし、逆に「完全に均質にする代わりに反復をいくつか設けるほうが試験コストが安い」という場面もあるであろう。それぞれの状況に応じて、適切な判断を行うことが重要だと考えられる。

実際の圃場試験では様々な制約があり、理想的な試験設定を行うことが困難なケースも多いであろう。そのような制約条件の中で、試験をより好ましいデザインで実行し、得られたデータからより適切な効果判定を行う必要がある。その際に本稿が少しでも役立てば幸いである。

引用文献

- 1) 日本植物防疫協会 (2003): 新農業実用化試験実施の手引き—薬効薬害圃場試験編— (<http://www.jpnp.ne.jp/jpp/data/tebiki1.pdf>).
- 2) VENABLES, W. N. and D. M. SMITH (2005): An introduction to R. (<http://cran.r-project.org/doc/manuals/R-intro.pdf>).
- 3) 山村光司 (2002): 植物防疫 56: 436 ~ 441.

登録が失効した農薬 (13 ページから続き)

「除草剤」

- クロメプロップ・プレチラクロール粒剤
- 20994: センテ粒剤 (バイエルクロップサイエンス) 2006/1/8
- クロメプロップ・テニルクロール水和剤
- 21008: バイエルターシャルカットフロアブル (バイエルクロップサイエンス) 2006/1/8
- シクロスルファミロン水和剤
- 20320: ダブルアップ水和剤 (BASF アグロ) 2006/1/13
- DCPA 水和剤
- 20322: スタム DF80 (ダウ・ケミカル日本) 2006/1/13
- ピフェノックス・ピリブチカルブ・プロモブチド水和剤
- 18615: [DIC] レトリーフロアブル (日本曹達) 2006/1/25
- 18617: 日産レトリーフロアブル (日産化学工業) 2006/1/25
- 18618: ホクコーレトリーフロアブル (北興化学工業) 2006/1/25
- アジムスルフロン・エスプロカルブ・ベンスルフロンメチル粒剤
- 19500: ゼネカ・フジグラス A1 キロ粒剤 36 (日産化学工業) 2006/1/31

- 19498: フジグラス A1 キロ粒剤 36 (デュボン) 2006/1/31
- 19499: 日農フジグラス A1 キロ粒剤 36 (日本農薬) 2006/1/31
- アジムスルフロン・ダイムロン・ベンスルフロンメチル・メフェナセット粒剤
- 19490: クミアイザーク DA1 キロ粒剤 36 (クミアイ化学工業) 2006/1/31
- 19491: バイエルザーク DA1 キロ粒剤 36 (バイエルクロップサイエンス) 2006/1/31
- 19493: SDS ザーク DA1 キロ粒剤 36 (エス・ディー・エス バイオテック) 2006/1/31
- アジムスルフロン・ピリミノバックメチル・ベンスルフロンメチル・メフェナセット粒剤
- 19506: バイエルプロスパー A1 キロ粒剤 36 (バイエルクロップサイエンス) 2006/1/31
- アジムスルフロン・ベンスルフロンメチル・ベンチオカーブ・メフェナセット粒剤
- 19483: ウルフエース A1 キロ粒剤 36 (デュボン) 2006/1/31
- 19484: クミアイウルフエース A1 キロ粒剤 36 (クミアイ化学工業) 2006/1/31
- 19485: バイエルウルフエース A1 キロ粒剤 36 (バイエルクロップサイエンス) 2006/1/31