モモせん孔細菌病の効率的防除に向けた 疫学的アプローチ

岡山県農林水産総合センター農業研究所 **川**

はじめに

モモせん孔細菌病はモモの葉、枝、果実に病斑を形成して被害を起こす細菌性病害(図-1;口絵①)であり、本病の発生が高品質なモモ生産の障害の一つとなっている。岡山県における本病の防除体系は、開花前と収穫後の銅水和剤の散布、生育期の抗生物質剤およびその他の系統の殺菌剤の散布が基本となっている。しかし、耐病性品種や卓効を示す殺菌剤が少ないうえに、殺菌剤の使用時期の制限により収穫期に近づくにつれて使用できない剤が増え、多発生時には薬剤防除だけでは被害を防ぎきれない場合があるなど、防除上多くの問題を抱えており、現在も本病はモモの難防除病害である。

殺菌剤の効果を最大限に発揮させるためには、防除適期を正確に把握しなければならないが、そのためには、農業生産者が栽培している現地圃場における初発生および病勢が進展する時期を理解する必要がある。本報告では、防除適期を把握するための方法の一つとして、疫学的な研究アプローチを紹介する。なお、本研究は農林水産省の農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業「主要作物をキサントモナス属病害から守る新規微生物農薬の開発(2011~13年度)」において実施した。本稿の一部は既に報告したので(川口、2013;Каwаgucн,2014)、併せて参照いただければ幸いである。

I 調査時期別の発病程度に関する コホート内症例対照研究

1 病害虫防除所の調査データの活用

特に露地栽培における農作物の病害の発生に影響を与える要因として、気象条件(誘因)、その地域または圃場における過去の発病程度(伝染源の有無;主因)、植物の感受性(品種の抵抗性、罹病性の性質など;素因)が考えられる。素因については、モモは永年生作物であり、産地の主力品種の変遷には少なくとも10年以上の

Nested Case-control Study and Epidemiological Study by Logistic Regression Model on Bacterial Spot on Peach. By Akira Kawaguchi

(キーワード:モモせん孔細菌病,コホート内症例対照研究,ロジスティク回帰,病害虫防除所)

期間が必要になることから、ここでは考慮から外した。 誘因の気象条件については、気象庁による各地域の定点 観測のデータ (アメダスデータ) を活用することで、現 在と過去の気象データを入手できる。しかし、主因の圃 場における過去の発病程度のデータは、その圃場で実際 に調査をしないとわからない。しかも、発病の推移を当 年の時期別で知ること、さらにその年次変動まで把握し ようと思えば、同じ圃場に毎年通い続けてデータを蓄積 する必要がある。こういった研究を来年から開始すると した場合. あらかじめ設定した複数の調査地域と複数の 調査圃場を、少なくとも5~10年間は継続して調査を しなければならないが, 近年の厳しい研究予算配分, 人 員などから考えると、その研究を継続するのは困難と考 えられる。そこで、そういった研究に応用できると思わ れる既に蓄積された膨大なデータ(ビッグデータ)を有 効活用すること (データマイニング) を考えた。主因の データとなり得るものとして注目したのは、 都道府県の 病害虫防除所で実施されている病害虫発生予察事業の定 期巡回調査データである。

発生予察事業における定期巡回調査は、あらかじめ決められた地点、圃場を定期的に調査し、そのときの様々な病害虫の発生程度を記録する。そのデータは毎月の予報の根拠として活用されるだけでなく、最終的には病害虫発生予察年報として毎年発刊され、保存される。根拠法令に基づき毎年必ず行う事業なので、これまで数十年に渡り蓄積された巡回調査データは一つの県だけでも膨



図-1 モモせん孔細菌病の葉の症状

大なものになる。調査方法は病害虫の種類ごとに決められており、担当者が変わっても基本的に調査方法は変わらない。これらのデータを目的別に整理し、複数年をまとめて解析することによって、一年間のデータではわからない、何らかの傾向を抽出することが可能である。近年、病害虫防除所の巡回調査データを活用した研究として、岩手県におけるリンゴ斑点落葉病の多発生要因を解析したコホート内症例対照研究(猫塚ら、2009;猫塚、2010)が挙げられる。

岡山県病害虫防除所では、モモ病害虫の巡回調査を毎年8回(4月下旬に1回、5~7月は毎月2回(上、下旬)、8月中旬に1回)実施している。この蓄積されたデータの中から、過去12年間(2002~13年)に調査した県南部地域(主要な産地が集中)のモモ産地7地点28~30 圃場(2~5 圃場/地点)における5月上旬~7月下旬の発病程度に関する321事例を抽出した。一つの事例の中には、特定のモモ園におけるせん孔細菌病の初発生から病勢が進展する様子が6回に分けて記録されており、毎年の発病程度のダイナミクスが保存されている貴重なデータである。このデータを解析に活用した。

2 調査基準と質的データの変換、カテゴリー分け

岡山県では、発病程度は以下のように定義して調査を 行っている。すなわち、1 圃場当たり3~5 樹の新梢約 20 本を任意で選び、発病葉割合を算出、この発病葉割 合に基づき発病程度を「無」~「甚」の5段階で評価した。

発病程度 無:発病なし

微:発病葉割合5%未満

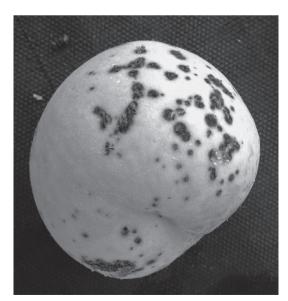


図-2 モモせん孔細菌病の果実の症状

少:同5%以上~10%未満

中:同10%以上~30%未満

多:同30%以上~50%未満

甚:同50%以上

すなわち、一つの調査圃場では、その調査時に上記の 順序カテゴリーデータ (順序尺度) のいずれかが記録さ れる。この順序カテゴリーデータを二値データ(○か×. あるかないか、1か0のような二つのみのデータ、名義 尺度または質的変数という)に変換して解析に用いた。 解析の目的は収穫時期の「中|発生以上に最も影響を与 えるのは、いつの時期のどの発病程度なのかを明らかに することである。収穫時期に「中 | 発生レベルになると、 落葉や果実での発病等の実害が及ぶ場合が多いためであ る。露地栽培におけるモモ中生種の収穫期は7月下旬で、 特に岡山県において主力品種である'清水白桃'の収穫最 盛期がこの時期である。ここでは、二値データの変換を、 5月上旬~7月上旬までの発病程度については「少|発 生以上の圃場には「11、「微 | 発生以下の圃場には「0| というダミー変数を与えて行った。調査の結果「無」発 生となった圃場でも、わずかに存在する発病葉を見逃し ていた可能性が残るので、「微」発生と「無」発生はま とめた。さらに、7月下旬の発病程度については「中」 発生以上の圃場を「1」、「少」発生以下の圃場を「0」と した。この変換により、圃場の発病程度のダイナミクス を二値データに置き換えることができる。モモせん孔細 菌病のような、特に初発生時に発生圃場が非常に少ない 場合には、サンプルサイズが不足して統計解析上の有意 差が出にくい場合(統計解析上の TypeI エラーという) があるため、ここではそれぞれ「少」以上、「中」以上 のカテゴリーを合算して解析した。

症例群 = 7月下旬の「中」発生以上の圃場

対照群=7月下旬の「少|発生以下の圃場

曝露群 = 5月上旬~7月上旬の「少」発生以上の圃場 非曝露群 = 5月上旬~7月上旬「微」発生以下の圃場 さらに、曝露と症例との関連性を統計的に明らかにす るため、以下の4カテゴリーに分類して2×2のクロス 集計を行った。

- (A) 曝露群で症例群
- (B) 曝露群で対照群

表-1 2×2クロス集計表とオッズ比の計算例

	症例群	対照群	オッズ	オッズ比
曝露群	A	В	A/B	AD/BC
非曝露群	С	D	C/D	

(C) 非曝露群で症例群

(D) 非曝露群で対照群

(図-1; □絵①, 図-2; □絵②)。

3 解析方法とオッズ比の算出

質的な関連性を示すため、Fisher の直接確率検定を行 った。また、量的な関連性を示すため、オッズ比を求め た。オッズ比は曝露群(発病程度「中」または「少」) における症例になった事例数(「中」以上)と症例にな らなかった対照の事例数(「少」以下)のオッズ(A/B) と、非曝露群(発病程度「微 | 以下)におけるオッズ(C/ D) の比 (AD/BC) で表される (表-1)。ここでは、 7月下旬に発生程度「中 | 以上になるリスクを示す。疫 学分野では一般的に、「症例群|と「対照群」の比較を 行い、その差に影響を与えている要因を過去に溯って追 跡する (疫学では後ろ向き調査と呼ぶ) 研究手法を「症 例対照研究 | と呼ぶ。今回のような病害虫防除所の巡回 調査データは発病前から発病とその後の病害の進展につ いて未来に向かって調査を行っている(前向き調査とい い、集団を調べているときにはコホート研究という) デ ータを扱っており、その中の限定した調査期間のデータ を抽出して解析を行うことを「コホート内症例対照研究」 と呼ぶ。この研究手法は、後ろ向き症例対照研究に比べ、 曝露要因の思い出しバイアスが入らない。対照群の履歴 が明確であるため、より正確な解析が可能というメリッ トがある。

4 コホート内症例対照研究

結果を表-2に示す。6月上旬,6月下旬,7月上旬の発病程度と7月下旬の発病程度には関連性が認められた(Fisherの直接確率検定で有意差あり)。つまり,6月上

旬以降に発病程度「少」以上の発病があった圃場では、7月下旬に「中」以上になるリスクが高いことが示唆された。これが定性的な検定結果である。次に、オッズ比を見てみると、他の時期に比べて6月上旬のオッズ比が最も高かった。つまり、あるモモ栽培圃場が6月上旬に「少」以上の発病程度になってしまった場合、その時期に「微」以下の発病程度の圃場に比べて、7月下旬に「中」以上の発病程度になるリスクが最も高いことを示している。発病が希な事例や、症例対照研究のように対照群の母数に変動がある場合には、オッズ比は相対危険度(リスク比)の近似値として活用できる。

以上のことから、岡山県南部のモモ栽培圃場では、7月下旬(収穫期)の発病程度を「少」以下にさせるためには、6月上旬以降の発病程度を「微」以下(発病薬割合5%未満)に抑えておくことが必要であり、防除はそれを目指すように計画する必要があると考えられる。病害防除は予防が基本であることから、防除は5月下旬までにしっかり行っておくことが重要であると推察される。この結果は、岡山県の現地圃場における実際の経験的な防除タイミングと合致するもので、収穫期が7月下旬の場合、本病に対して防除効果が比較的高い抗生物質剤の使用基準(収穫60日前まで)に適合する5月下旬までに当剤を散布しておくことが、収穫期に被害を出さない対策として重要と考えられる。

II 気象要因と発病要因の相関関係

1 本病と気象要因の関連性

特に露地栽培における本病の発生と気象との関係を推察した研究については過去にいくつかの事例がある。福

表-2 モモせん孔細菌病現地発生圃場における7月下旬の発病程度に対する各調査時期の発病程度の影響に関するコホート内症例対照研究(2002~2013年)

		7月下旬の発病程度				Fisher の直接
調査時期	発病程度	「中」以上	「少」以下 (対照群)	計 (割合)	- オッズ比 (95%信頼区間)	確率検定 (p 値)
5月上旬	「少」以上(曝露群) 「微」以下(非曝露群)	0 25	0 324	0 (0) 349 (100)	_	_
5月下旬	「少」以上(曝露群) 「微」以下(非曝露群)	1 24	1 323	2 (0.6) 347 (99.4)	13.5 (0.8 ~ 1285.9)	0.138
6月上旬	「少」以上(曝露群) 「微」以下(非曝露群)	8 17	1 323	9 (2.6) 340 (97.4)	152.0 (18.0 ~ 1285.9)	< 0.001
6月下旬	「少」以上(曝露群) 「微」以下(非曝露群)	15 10	8 316	23 (6.6) 326 (93.4)	59.3 (20.4 ~ 171.7)	< 0.001
7月上旬	「少」以上(曝露群) 「微」以下(非曝露群)	19 6	18 306	37 (10.6) 312 (89.4)	53.8 (19.1 ~ 151.3)	< 0.001

島県においては、5月の気温が高い場合と、6~8月の 気温が低く降水量および降雨日数が多い場合に発病が多 い傾向が認められている(落合・林、1989)。和歌山県 においては、最大風速 10 m/s 以上であれば、少雨条件 でも発病に正の相関が認められている(森本,2011)。 しかしながら、こういった研究事例ではあらかじめ対象 を絞り込んだ気象要因と当年の発病との関係を示してい るものの、発病要因としての前年の発病程度(つまり前 年からの伝染源)、当年の時期別の発病程度と収穫期の 発病程度との関係が明らかでなく、 気象要因と発病要因 の中で、どの発病リスク因子が最も重要なのかという順 位付けができていない。そこで、気象要因(基準となる 気温、風速、降水量に到達した日数) はアメダスデータ から、発病要因は病害虫防除所の定期巡回調査データか ら説明変数を選抜し、目的変数を"7月下旬の「中」発 生以上の発生圃場数"として、ロジスティック回帰を行 った。

2 ロジスティック回帰

ロジスティック回帰とは一般化線形モデルの一つであり、回帰分析を行う元データに、二値データ(質的変数)と量的変数が混合している場合に用いる多変量解析である。症例群(A:ある程度以上の発病程度に含まれる圃場数)を対照群(B:それ以外の発病程度に含まれる圃場数)で割った値がオッズ(A/B)となることは表-1で示したが、症例群の割合p=A/(A+B) に対するオッズはp/(1-p) で表される。ロジスティック回帰で算出されるオッズ比は回帰係数rの指数関数 e^r で表される。仮に説明変数p0のオッズ比がp0で表される。仮に説明変数p0のオッズ比がp1の表される。板に説明変数p2のオッズ比がp3であったとすると、ある時期のモモ現地圃場において事象p2が観察された場合に、その圃場がp3月下旬に「中」発生以上の発病程度になる確率(リスク)がp3倍増加することを意味する。尤度はp4 AIC(p6 Akaike's Information Criterion)を採用し、AIC の値が比較的高い要因を削除していき、回

表-3 7月下旬の「中」発生レベル以上の発生圃場割合に影響を 与える要因のロジスティック回帰(2002~2013)

要因	回帰係数	回帰係数 の 標準誤差	z値	p値	オッズ 比
前年8月中旬 の発生圃場数	3.654	0.75	4.859	< 0.0001	38.6
当年 6 月の 5 mm 以上の 降雨日数	0.227	0.10	2.385	0.0171	1.3
切片	- 6.371	1.01	- 6.317	< 0.0001	0

帰係数が0であるという帰無仮説に対するP値が0.05 以下になるような要因を選抜した(AICによるステップワイズ変数選択法)。予測式の尤度はAICの値で示され、その値が低いほうがモデルに対するあてはまりがよいことを示す。

結果を表-3に示す。影響が高い要因(回帰係数が大きい)順に、"前年8月中旬の発生圃場数のオッズ(aとする)"、"本年6月の5 mm 以上の降雨日数(b)"が選抜された。"前年8月中旬の発生圃場数"のオッズが最も高かったことから、「前年の発生が多いと、翌年も発生が多い」傾向が認められた。さらに、選抜された各要因の回帰係数から本病の発生予測式を導くと、 $\ln(p/(1-p)) = 3.654$ a + 0.227 b - 6.371(AIC = 136.9)となった。発生圃場割合の観測値と上記の予測式による予測値の単回帰分析によって得られた補正決定係数(R^2) = 0.750 となったことから(データ省略)、前年の発病データと当年6月の降雨日数により、約1か月先の発病程度を予測できると考えられた。

以上より、岡山県内で7月下旬に「中」発生以上の発病程度になる発生圃場数に最も影響を与える要因は、前年8月中旬の発病圃場数と推定されたことから、現地圃場では気象要因よりも前年から持ち越される伝染源のほうが、翌年の発生程度に強い影響を与えると考えられた。さらに、6月に降水量が多い場合には、その後の発病程度が高くなる可能性が考えられた。防除のタイミングとしては、前年の伝染源が当年の発生に強く影響を与えていると考えられるため、銅剤などによる秋期防除または開花前防除の重要性を再認識する必要があり、伝染源量を低減させることに主眼を置いた防除を徹底する必要がある。さらに、6月に降雨日数が多い場合には発生が助長されると考えられるため、降雨の前に防除を実施するよう情報発信を強化する必要がある。

おわりに

本報告で示した方法は、圃場ごとの発病程度を継続的に調査したデータがあれば、本病に限らず様々な病害虫で応用可能である。病害虫防除所の定期巡回調査データを有効に活用することで、各都道府県で問題になっている病害の防除適期について新たな知見や既存のデータを補完する知見が得られると考えられる。もちろん、病害虫防除所以外でも定期的に同じ方法で調査したデータが複数年あれば同様の疫学的アプローチが活用できる。しかしながら、病害虫防除所ほど、病害虫に関する定期的な調査を長年行っている機関はないと思われるので、是非一度、各都道府県の病害虫防除所や公設試験研究機関

の研究者は、自県のデータの活用をお勧めする。

こういった疫学的アプローチは、基本的には調査データ間の相関関係を明確にするものであり、因果関係の立証については介入試験などの別の研究手法で検証しなければならないことを知っておく必要がある。とは言え、介入試験が困難な事例や、既存のデータの有効活用という点においては、疫学的アプローチはその力を発揮する。本研究で導かれた結果については、農業生産現場に

おいて慎重に運用しつつ,新たに調査データが得られた ら再度解析を行う必要がある。

引 用 文 献

- 1) 川口 章 (2013): EBC 研究会誌 9:33~37.
- 2) Kawaguchi, A. (2014): J. Gen. Plant Pathol. 80: 435 ~ 442.
- 3) 森本涼子(2011): 植物防疫 $65:210\sim214$.
- 4) 猫塚修一ら (2009): 目植病報 75: 314~322.
- 5) ——— (2010): EBC 研究会誌 6:11~17.
- 6) 落合政文·林 重昭 (1989):福島果試研報 13:11~17.

新しく登録された農薬 (27.4.1~4.30)

掲載は,**種類名**,登録番号:**商品名**(製造者又は輸入者)登録年月日,有効成分:含有量,**対象作物**:対象病害虫:使用時期等。ただし,除草剤・植物成長調整剤については,**適用作物**,適用雑草等を記載。

「殺虫剤」

●シアントラニリプロール水和剤

23651: **ブレイクショット** (シンジェンタジャパン) 15/4/8 シアントラニリプロール: 18.7%

芝:スジキリヨトウ,シバツトガ,コガネムシ類幼虫,シバ オサゾウムシ,タマナヤガ:発生前~発生初期

樹木類:ケムシ類:発生前~発生初期

● BPMC 粉剤

23653: 協友バッサ粉剤 30DL (協友アグリ) 15/4/22

BPMC: 3.0%

稲:ツマグロヨコバイ,ウンカ類:収穫7日前まで**小麦**:ヤギシロトビムシ:は種前(種子粉衣)

「殺虫・殺菌剤」

● ブプロフェジン・BPMC・イソプロチオラン粉剤 23648: アスリード EX 粉剤 DL (日本農薬) 15/4/8 ブプロフェジン: 1.0%

BPMC: 2.0%

イソプロチオラン:2.5%

稲:いもち病, ツマグロヨコバイ, ウンカ類:収穫 14 日前まで

「殺菌剤」

●ペンチオピラド・TPN 水和剤

23646: ベジセイバー(三井化学アグロ)15/4/8

23647:**SDS ベジセイバー** (エス・ディー・エス バイオテッ

ク) 15/4/8

ペンチオピラド:6.4%

TPN: 40.0%

キャベツ: べと病: 収穫 14 日前まで

メロン:うどんこ病:収穫3日前まで

きゅうり: うどんこ病, 灰色かび病, 褐斑病, べと病: 収穫 前日まで

トマト:うどんこ病,灰色かび病,葉かび病,疫病:収穫前 日まで

ミニトマト: うどんこ病, 灰色かび病, 葉かび病, 疫病:収 穫開始7日前まで

なす:うどんこ病,灰色かび病,すすかび病,菌核病:収穫 前日まで

ピーマン: うどんこ病, 炭疽病: 収穫前日まで **たまねぎ**: 灰色かび病, べと病: 収穫7日前まで

●イミノクタジンアルベシル酸塩・ピリオフェノン水和剤

23649: 石原ラミック顆粒水和剤(石原産業) 15/4/8 23650: **日曹ラミック顆粒水和剤**(日本曹達) 15/4/8

イミノクタジンアルベシル酸塩:15.0%

ピリオフェノン:4.0%

きゅうり:うどんこ病,灰色かび病:収穫前日までいちご:うどんこ病,灰色かび病:収穫前日まで

「除草剤」

●グリホサートイソプロピルアミン塩液剤

23652: **フリーパスシャワー** (アグリマート) 15/4/22

グリホサートイソプロピルアミン塩:0.50%

樹木等(公園,庭園,堤とう,駐車場,道路,運動場,宅地, のり面等): 一年生雑草及び多年生広葉雑草