

混合剤の効力を評価するための簡単な統計的方法^{1) 2)}

—相乗効果検出のための要因分析法について—

河野達郎

(四国農業試験場)

はじめに

労働力の不足を反映して、防除の省力化をはかるためのいろいろな工夫がなされている。その一つに同時防除があり、すでにそのための混合剤が何種類も出回っている。こうした混合農薬の狙いが防除作業の省力化にあるとしても、もし混合することによって相乗効果(synergism)のような効果面で有利な現象が起こるとすれば願ってもないことにちがいない。しかし、このような特殊な効果は、そうざらに見られるものではない。最近、混合農薬についての試験で、構成成分のあいだに相乗効果の存在を認めたとする報告を散見するが、立証の根拠としているデータをしらべてみると、その判定がきわめて主観的で、相乗効果に対する客観的保証に乏しいものが少なくない。経済的利益につながるこのような効果を期待するのは人情であるが、判定にあたってはあくまで冷静な科学的判断によらねばなるまい。これを軽視すると、最近よく風聞するような開発面での好ましくない過当競争をますます激化させ、農民をさえあざむく不当表示農薬の氾濫をともなって斯界の混乱を招きかねない。

こうした行き過ぎが起こる原因は、科学的良識の不足もさることながら、このような場合の効力評価を客観的・定量的に行なう方法がない——いや、むしろ知られていないのではないかと思われる。

混合殺虫剤の効力評価については既に BLISS (1939), FINNEY (1949), 酒井(1960)ほか多くの研究者によってすぐれた数理的解析がなされているが、演者(1967)も混合剤の効力評価に関して一つの提言をした。ここでは圃場試験やポット試験などのような、データにバラツキが出やすいような場面にも十分に適用できる一つの方法について述べてみたいと思う。

混合剤の効力評価のための要因分析法の応用

室内での生物検定でよく用いられる薬量反応率回帰線による分析法は野外での試験には役に立たない。不測の誤差が介入しやすい圃場試験などには分散分析の手法を取り入れることが賢明と思われるが、ここでとりあげた要因分析法(factorial design)はその一つであって、それぞれの処理の方法(薬剤の種類)ごとにその効果が評価できる点で応用範囲の広い方法である。

いま、2種類の薬剤AおよびBと、その混合剤(A+B)について効力比較試験を行なう場合を考える。したがって、試験区の種類はA剤区、B剤区、A+B混合剤区および無散布区(0区)の4種となる(3種の単剤を問題にするときは8区となる)。この場合にA、B両薬剤の主効果だけでなく、両剤間の相乗効果を検出するためには、各区とも n 回のくりかえしが必要である。くりかえしを n 個のブロックで行なう場合、ブロック内での4試験区の配置をランダムにきめることはもちろんで

1) A statistical method for estimating the efficacy of pesticides applied jointly. By Tatsuro KONO.

2) 昭和43年度総会シンポジウム講演記録。

Proc. Assoc. Pl. Prot. Sikoku, No. 4 : 93—97 (1969)

ある。ここで (A+B)混合剤区は A, B 各単剤区で用いる薬量(有効成分量)が一緒に含まれていなければならない。いま、各区の効果を x (百分率は用いられない) で評価して、試験データを整理すると次表のようになる。

ブロック 区	1	2	n	計	平均
A	x_{11}	x_{12}	x_{1n}	t_A	\bar{x}_A
B	x_{21}	x_{22}	x_{2n}	t_B	\bar{x}_B
A + B	x_{31}	x_{32}	x_{3n}	t_{A+B}	\bar{x}_{A+B}
O	x_{41}	x_{42}	x_{4n}	t_O	\bar{x}_O
計	t_1	t_2	t_n	T	

このデータを要因分析するために次の計算を行なう。

$$\begin{aligned} \text{全変動} \quad V_T &= \sum x_{ij}^2 - c \cdot f \cdot & c \cdot f \cdot &= \frac{T^2}{4n} \\ \text{ブロック間変動} \quad V_b &= \frac{1}{4}(t_1^2 + t_2^2 + \dots + t_n^2) - c \cdot f \cdot \\ \text{処理間変動} \quad V_g &= \frac{1}{n}(t_A^2 + t_B^2 + t_{A+B}^2 + t_O^2) - c \cdot f \cdot \\ \text{誤差変動} \quad V_e &= V_T - V_b - V_g \end{aligned}$$

処理間変動を主効果変動と相乗効果変動に分析するために次の表を作る。

区 分	Bに無関係な区	Bに關係ある区	計
Aに無関係な区	t_O	t_B	T_a
Aに關係ある区	t_A	t_{A+B}	T_A
計	T_b	T_B	T

$$\begin{aligned} \text{主効果変動} \quad V_A &= \frac{1}{2n}(T_a^2 + T_A^2) - c \cdot f \cdot \\ V_B &= \frac{1}{2n}(T_b^2 + T_B^2) - c \cdot f \cdot \\ \text{相乗効果変動} \quad V_{A \times B} &= V_g - V_A - V_B \end{aligned}$$

このようにして分析した各効果の変動の有意性を比較検定するには、それぞれの変動がもつ自由度で割って不偏分散を求めればよい。これを分散分析表にまとめると次のようになる。

(分散分析表)

要因	平方和	自由度	不偏分散	分散比	有意性
ブロック	V_b	$n-1$	$V_b/(n-1) = U_b$	$U_b / U_e = F_b$	1%水準で有意のとき
処理	V_g	$4-1$	$V_g/(4-1) = U_g$	$U_g / U_e = F_g$ **
A効果	V_A	1	$V_A = U_A$	$U_A / U_e = F_A$	5%水準で有意のとき
B効果	V_B	1	$V_B = U_B$	$U_B / U_e = F_B$ *
相乗効果	$V_{A \times B}$	1	$V_{A \times B} = U_{A \times B}$	$U_{A \times B} / U_e = F_{A \times B}$	
誤差	V_e	$(n-1)(4-1)$	$V_e/(n-1)(4-1) = U_e$		
全体	V_T	$4n-1$			

検定水準(1%, 5%)をきめてF分布表から得られるFの限界値にくらべて、計算した分散比が大きければその要因の効果はその水準で有意であると判定してよい。相乗効果の場合を例にとると、

$$F_{(n-1)(4-1)}^1(\alpha) < F_{A \times B}$$

であれば、 α 水準で有意、すなわち相乗効果があると結論してよい。もっとも、負の相乗効果(拮抗作用)がある場合も同様に有意となるから、はじめに \bar{x}_{A+B} の値について見当をつけておく必要がある。次に実例でこの方法を使ってみる。

適用例 (稲胡麻葉枯病に対する殺菌剤の効力比較試験)

次のデータは、四国農試病害研究室で、稲胡麻葉枯病に対するカスガマイシン、ジマンダイセンの単剤および両者の混合剤の効果をポット試験で検定した成績のうちで、一見最も相乗効果がありそうに思われた試験結果の一つである。薬剤散布して5日後に接種し、その後稲葉に現われた病斑数をしらべた結果が次表である。

(試験成績)

区	ブロック				計	平均
	I	II	III			
カスガマイシン 1,500倍区	90.7	57.3	70.6		218.6	72.9
ジマンダイセン 800倍区	7.9	11.6	40.9		60.4	20.1
混合剤 区*	4.7	8.3	38.9		51.9	17.3
無散布区	94.3	71.3	88.1		253.7	84.6
計	197.6	148.5	238.5		584.6	

(* 単剤区の有効成分量を合わせたもの)

この試験は3回に分けて行なわれたので、ブロック数 $n=3$ である。ちょっと見たところでは混合剤の効果をもっとも高く、主観的には相乗効果があるかのように見える。以下、要因分析法を適用して検討してみよう。

$$\text{全変動 } V_T = (90.7^2 + 7.9^2 + \dots + 38.9^2 + 88.1^2) - c \cdot f \cdot = 13226.14$$

$$c \cdot f \cdot = \frac{584.6^2}{3 \times 4} = 28479.76$$

$$\text{ブロック間変動 } V_b = \frac{1}{4}(197.6^2 + 148.5^2 + 238.5^2) - c \cdot f \cdot = 1015.3$$

$$\text{処理間変動 } V_g = \frac{1}{3}(218.6^2 + 60.4^2 + 51.9^2 + 253.7^2) - c \cdot f \cdot = 11017.38$$

$$\text{誤差変動 } V_e = 13226.14 - 1015.3 - 11017.38 = 1193.46$$

処理間変動 V_g を分析するために、次のような四分表を作る。便宜上カスガマイシンをK、ジマンダイセンをGの記号で示して、

区 分	Gを散布しなかった区	Gを散布した区	計
Kを散布しなかった区	253.7	60.4	314.1
Kを散布した区	218.6	51.9	270.5
計	472.3	112.3	584.6

主効果変動

$$K \text{ 効果} \quad V_K = \frac{1}{6}(314.1^2 + 270.5^2) - c \cdot f \cdot = 158.41$$

$$G \text{ 効果} \quad V_G = \frac{1}{6}(472.3^2 + 112.3^2) - c \cdot f \cdot = 10800$$

相乗効果変動

$$V_{K \times G} = 11017.38 - 158.41 - 10800 = 58.97$$

分散分析表にまとめると、

要 因	平方和	自由度	不偏分散	分散比	有意性
ブ ロ ッ ク	1015.30	2	507.65	2.55	
処 理	11017.38	3	3672.46	18.46	**
K 効果	158.41	1	158.41	0.79	
G 効果	10800.00	1	10800.00	54.29	**
相乗効果	58.97	1	58.97	0.29	
誤 差	1193.46	6	198.91		
全 体	13226.14	11			

求めた分散比について、有意性を検定するにはF分布表からそれぞれの自由度に対応するFの限界値を求めて分散比と比較する。

$$F_6^2(0.05) = 4.76 > F_b = 2.25$$

$$F_6^3(0.01) = 10.92 < F_g = 18.46 \quad **$$

$$F_6^1(0.05) = 5.99 > F_k = 0.79$$

$$F_6^1(0.01) = 13.74 < F_g = 54.29 \quad **$$

$$F_6^1(0.05) = 5.99 > F_{k \times g} = 0.29$$

この試験では有意となった処理効果の中でもG効果(ジマンダイセンを含ませるか否かによって起こる効果の変動)がきわめて大きいことが示されたが、問題の相乗効果は認められなかった。すなわち、はじめに混合剤の効果が一段とすぐれていたように見えたのは、実は、単なる相加の効果にすぎなかったことになる。

お わ り に

ここで述べた方法は、ブロックと処理の2要因だけをとりあげたが、相乗効果のようなものは周囲の条件いかんによって表われたり、表われなかったりするものである。したがって、他の違った要因も組入れて試験することが望ましい。くりかえしを多くすることによって、ややもすれば偶然変動のかけにかくれがちな相乗効果変動も検出できるというものである。こうした方法については、すでに良い解説書が出ているので参考にされることをおすすめする(松田, 1955; 佐久間, 1964)。今後ますます必要となる混合農薬の効力評価を客観的・定量的に行なううえに、今日の話がいささかでもお役に立てば幸いである。

引用文献

- BLISS, C. I. (1939) : *Ann. Appl. Biol.*, **26** : 585.
FINNEY, D. J. (1947) : *Probit Analysis*. Cambridge Univ. Press.
河野達郎 (1967) : 防虫科学, **32** : 34.
松田勝一 (1955) : エメンズ, 医学と薬学のための応用推計学. 共立出版.
酒井清六 (1960) : 殺虫剤の連合作用に関する昆虫毒物学的研究. 東京.
佐久間昭 (1964) : 生物検定法 — その計画と分析. 東大出版社.

討 論

桐谷圭治(高知・農研) : 両薬剤(A, B)の単独の効果をそれぞれ a, b とした場合, 相乗効果の一次的な目安として, 両薬剤の効果が相互に独立と仮定した場合の混合剤の効果は, $C = (1-a)(1-b)$ で期待できる。演者の示された具体例の平均値を使用して C を計算すると, 実験値 17.3 とほぼ同じ値になり, 相乗効果がないことは簡単に見当がつく。したがって, このような簡単な計算によって第1次のスクリーニングをした上で, 相乗効果が期待できるものだけについて提案された計算を行ない, 検討を加えるのが, 能率的だと思うがどうか。

河野 : 原則的には賛成です。しかし, 相乗効果が明らかにない場合はよいが, C で計算した値より混合剤の効果値が高い場合こそ, チェックされなければならないから, あまり簡単な計算法を奨励するわけにはいかない。

大竹昭郎(四国農試) : このような統計的方法を, 単にデータの処理の方法として考えるのは危険である。この方法にしても, 試験をやる前の設計の段階が重要であって, 設計をいい加減にして計算だけにこだわっても意味はないと思う。

清家安長(愛媛農試) : これまでほとんど無視されていた混合剤の効力評価法について, すぐれた提言をうけたまわり, 参考になった。ただ, 実用的には意味のある相加的效果と相乗的效果をはっきり区別できるかどうか疑問である。

河野 : この方法は, 単純相加的效果を基準にして相乗効果を検出するものであるが, 質的な作用機構がはっきりしないかぎり, 両者を明らかに区別することは困難である。しかし, 効果の量的側面から相乗効果の存在を主観的に主張するような弊害はチェックすることができると思う。

山本勉(徳島農試) : 負の相乗効果 — 相殺的な効果がみられたとき, それが真の相殺的な負の影響であることを検出する方法はあるか。

河野 : この方法は効果の量的側面だけから吟味する方法だから, 相乗効果の質的内容がわからないと絶対的な結論は下せない。相乗効果の存在する可能性を確率的に検討でき, 結論の確からしさを客観的に保証する方法として使えばよいだろう。

以西信夫(徳島農試) : 百分率を効果の値として使うことはできないとすれば, 害虫の発生数や被害茎数などを直接用いねばならないが, これらの値がきわめて大きい場合には計算が大変である。被害茎率をゼット変換して使うようなことは許されないか。

河野 : この検定法の対象となる母集団の型は正規分布であるから, 変換値の分布がそれを満足する保証があればよいと思う。しかし, 母集団の型想定の変換による検出力の低下を考えると, できるだけ, もとの数値を使う方がよい。現在の小型電子計算機を使えば, ケタ数の多いことぐらい問題ではないと思う。

斎藤正(高知農研) : 混合剤の成分量が各薬剤の成分量の合計とちがう場合の検定方法について教えてほしい。

河野 : 室内レベルでのバイオアッセイでは精密な検定法があるが, 野外では使えない。機会があれば考えてみたい。