

データベースと記述疫学に基づいた土壌病害発生要因のスクリーニング

Screening procedure for soil disease based on descriptive epidemiology with data base

大澤剛士*・長瀬陽香・對馬誠也

Takeshi Osawa*, Haruka Nagase, Seiya Tsushima

1. はじめに

土壌病害は、気象、土壌、地形といった自然要因と、作付体系、農薬等の栽培要因、さらには社会、経済要因といった様々な要因に影響を受けて発生するため(駒田 1990)、一般にその予察は極めて困難である。しかし、ひとたび土壌病害が発生すると、その被害は極めて甚大であり、この予察は農業現場における希求の課題の一つである。土壌病害をもたらす要因のうち、土壌の性質は、病原菌の活性を通して病害の発生に強く影響すると考えられており(駒田 1990; 對馬 2010)、病害の予察に対して対象とする圃場の土壌診断を行うことは、一つの有効なアプローチであると期待されている(小山 2009)。

土壌病害に関する土壌の性質として、古くから経験的に土壌病害がほとんど問題にならない土壌、すなわち抑止的土壌の存在が知られている(小林・Ko 1983; 駒田 1990; 小林・駒田 1995)。例えば Fusarium 病であるキュウリつる割病ならびにインゲン根腐病について、関東から東海地方にかけて広域から土壌を収集し、特に pH に注目して抑止的土壌の探索および抑止機構の検討を行った研究例がある(小林・駒田 1995)。その結果、キュウリつる割病については、pH8.0 で発病が抑止され、インゲン根腐病は pH4.0 で発病が抑止されるという示唆が得られた(小林・駒田 1995)。pH 値によって Fusarium 病の発病が抑止されるという研究は他にも複数存在し(Kobayashi and Ko 1985a, b)、抑止的土壌は pH 管理という人為的な管理によっても構築できる可能性が示唆されている(小林・駒田 1995)。とはいえ、特定の土壌がなぜ病害を抑止しているのかについて、多くの場合詳細なメカニズムは不明なままである。

近年、IT、特にストレージ容量の増加と観測技術の発展に伴い、かつては想像することすらできなかった巨大データ、いわゆる「ビッグデータ」を様々な研究において利用することが注目されている(大澤・神保 2013)。巨大データを利用した研究には、データベース(本稿では統一した記述フォーマットで記述されたデータを一元化し、データ管理システム内に格納し、さらにはデータの追加が継続的に行えるものと定義する)が不可欠である。例えば生物多様性の分野においては、国際機関である Global Biodiversity Information Facility (GBIF)の protocols を利用したデータベース構築が推奨され(三橋 2010; 大澤ら 2011)、利用例も徐々に増えつつある(大澤ら 2011; 大澤・神保 2013; Osawa 2013)。土壌病害の分野においても、土壌の生物性に関する情報を格納した農耕地 eDNA データベース(對馬 2010; http://www.niaes.affrc.go.jp/project/edna/edna_jp/; 2014年4月24日時点で公開中止中)や微生物情報を集約した Web データベース microForce

*農業環境インベントリーセンター

Natural Resources Inventory Center

インベントリー, 第13号, p7-14 (2016)

(<http://www.niaes.affrc.go.jp/inventory/microorg/> 2015年12月26日確認)が構築され、それらの活用も発表されている(桐谷 2009; 2010)。

土壌病害のように、多くの要因が絡み合っ発生する事象を引き起こす要因を検討する際には、その第一歩として、対象とする事象および関連しそうな項目の情報を収集し、それを解析することによって仮説を立てるといふ記述疫学的アプローチが有効である。具体的には、結果の頻度や分布を調べる事により、原因究明のための仮説を立てるといふものである。記述疫学は、主に医学の分野において、研究の第一歩として症例等を集約する際に古くから用いられている手法である(例えば児玉・大野 1989; 矢ヶ崎・豊田 1989)。この手法で得られる結果の信頼性や精度は、基本的に検討対象とする事象の件数および質に依存する。土壌病害においても、対象とする事象、つまり病害発生程度と周辺情報、例えば土壌 pH を集積(データベース化)し、それを解析するといふ記述疫学的アプローチによって、多くが謎のままである抑止的土壌を明らかにするヒントが得られる可能性がある。

そこで本研究は、一般に発生予測が困難である土壌病害を対象に、データベースを活用し、膨大なデータに基づいた記述疫学的アプローチを利用することで、抑止的土壌となる条件を推測し、ある程度の事前発生予察を実現する手法の確立を試みた。病害の事例を多数収集し、それを解析することで発病条件等を見出す記述疫学的アプローチには前例があるが(雨宮 2007)、我々はその間にデータベース利用という考え方を追加する(詳細は後述)。ケーススタディとして、トマトおよびナス青枯病の発生土壌について疫学的解析を実施し、病害発生要因のスクリーニングを行う。その一連の流れについての解説を通して、データベース構築からデータ集積、解析に至る手法の病理学分野への適用可能性について議論する。

2. 材料および方法

1) データベース活用の基本構造

これまで実施されてきた疫学的解析は、多くの場合、実施者(研究者)が多数のデータを集めて解析を実施し、報告を行ったら、そこで終了していた。こういった手法は、それまでの知見を集約し、新たな知見を得るといふ点で極めて有効である。しかし、そこで得られた知見は、研究を実施した時点では最新であっても、その後の研究の発展によって、すぐに陳腐化してしまう可能性が高いという問題点がある。ここにデータベース利用という考え方を追加することによって、最新の情報に基づいて結果を随時更新できるようにする。データベースを利用すれば、データ管理システムによって複数の人間が同時に同じデータセットを扱うことが可能となり、過去のデータが維持されていくことはもちろん、複数の人間によって多数のデータを随時追加していくことができる。これにより、解析に利用できるデータをリアルタイムに増やすことが可能であり、それを利用することで、解析結果も更新することができる。しかし、少なくとも植物病理学分野において、病害の発生および関連情報を格納できるデータベースはほとんど存在していない。よって、この一連の流れを確立するために、データ基盤となるデータベースシステムが必要となる。次項より本研究で開発したデータベースシステムの解説を行う。なお、本研究で提示するアプローチにおいて重要なのは、関係者が共有できる基盤データシステムを持つこと自体であり、同じ機能を持つ Web システムを開発しなければならないということではない。

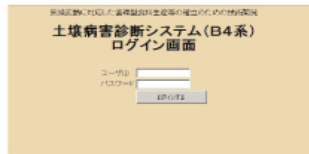
2) データ格納システム「土壌カルテ」

発病に関連する土壌情報を格納するデータベースシステムとして、Web 上で項目を入力し、データをリレーショナルデータベース (RDB) に格納してくれる Web システムを開発した。病害に関するすべての土壌情報は本システムに一元化され、解析は本システムに格納されたデータを利用して実施する。

システムはインターネットからアクセス可能で、Internet Explorer や Fire Fox といった一般的なブラウザがあれば利用できる。本研究ではシステム自体の一般公開は実施せず、ア

クセス用の URL は関係者のみに公開とし、さらに IP アドレス指定によるアクセス制限も実施した。さらにシステム利用にはユーザ ID およびパスワードの入力が求められるようにして、データの保全性およびセキュリティ対策を高めた (図 1a)。初期画面においてパスワードを入力し、システムにログインすると、データ入力画面に遷移する (図 1b)。ここで必須項目を入力すると、表示画面に遷移する。入力項目は、人間の病院で使われるカルテをイメージして、1. 調査年月日、2. 調査場所、3. 作物名、病名を基本項目として記入できるようにした (図 1b 上部)。

(a) ログイン画面



(b) 入力画面とカルテ表示画面

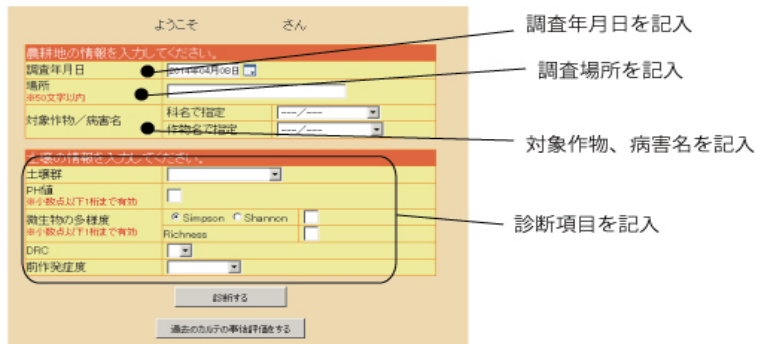


図 1 : Web システム「土壌カルテ」のログイン画面および入力画面

3) 診断項目の選定

診断項目として、土壌の物理性、化学性、生物性それぞれから測定が比較的簡便で、経験的に土壌病害に強く関連していると考えられている項目を 1~3 項目決定した (表 1, 図 1b 下部)。これらのうち最低 1 項目が入力されていれば、システムに新しいデータを登録することができる。項目を多くすれば、解析結果の予測精度は高まる可能性があるが、その分データの収集が困難になり、データを

表 1. カルテへの入力項目

	物理性	化学性	生物性	それ以外
必須項目名	土壌分類	pH 値	微生物の多様度指数 - (Shannon/Simpson)	
オプション	-	-	Dose Response Curve 前作発症度 (Murakami et al. 2002)	

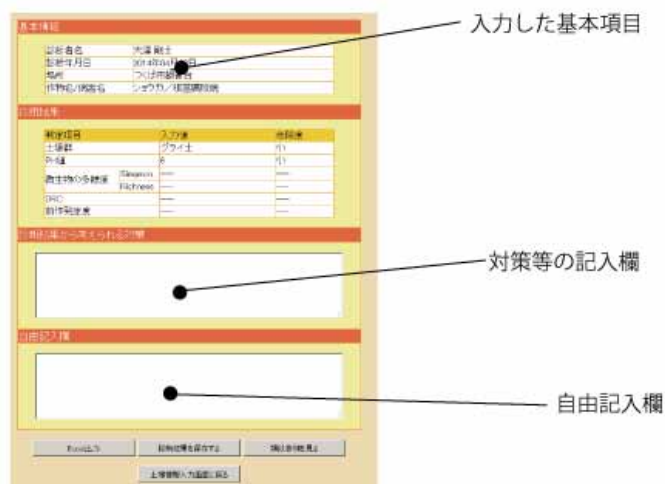
必須項目のうち、いずれか 1 項目が入力されていればデータとしてシステムに登録できる。

提供してくれる協力者に敬遠されることが予想される。そこで本研究では、最低1項目を記入すればシステムにデータ登録可能とした。この登録必須項目は、対象とする病害や過去の経験等から調整することが可能である。

4) カルテの作成

上述した基本情報 1-3 および、1項目以上の診断項目を入力すると、その情報はカルテとしてデータベース化される。データベース化された情報は Web 上での閲覧 (図 2a) および、カルテ画面はマイクロソフト社のエクセルおよび互換ソフトで開けるフォーマット形式 (xls ファイル) で出力することができる (図 2b)。出力されるエクセル形式のファイルは、特に設定することなく、カルテ様のレイアウトで印刷出力することができる。

(a) Web 上のカルテ画面



(b) エクセル形式で出力したカルテ

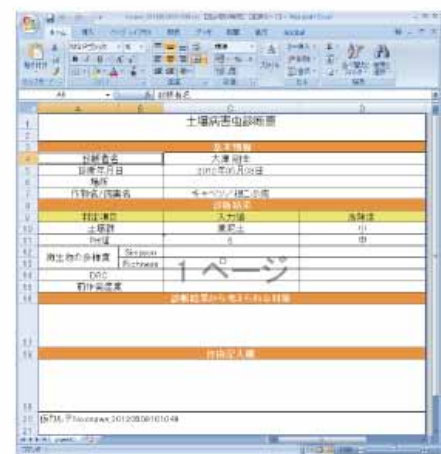


図 2 : Web システム「土壌カルテ」のカルテ表示

5) 解析のケーススタディ

岡山県におけるトマトおよび三重県におけるナス青枯病 (*Ralstonia solanacearum*) の病害発生データについての情報をデータベースに格納し、そのデータについて試験的な疫学的解析を実施した。各病害発生データのリソースとして、トマトについては主に近中試単年度試験研究成績 9 (近畿中国四国農業研究センターの 1989 年における調査研究成果資料を請求して入手) を、ナスについては主に山崎 (2004) を利用した。

青枯病の抑止的土壌となる要因候補として、pH と対象病害の関係を検討した。pH を候補とした理由は、既往研究において pH 値が抑止的土壌の指標としての活用できる可能性が示されていること (Kobayashi and Ko 1985a, b 小林・駒田 1995)、計測が容易であり、データ自体が比較的入手しやすいことによる。具体的には、pH 値を任意にクラスに分け、その値において青枯病が発生する確率を推定し、発生頻度を比較した。

まず上述「土壌カルテ」を利用して収集した症例から、岡山県におけるナスおよび三重県におけるトマト青枯病についてのレコードのうち、pH が記入されているものを抽出した。システムには他県のレコードも格納されているが、本解析はケーススタディであるため、対象をそれぞれレコード数が最も多い 1 県に絞った。抽出されたレコードについて、pH の分布をヒストグラムに描いた。ヒストグラムのクラス分けはスタージェスの公式に従った。

$$\text{範囲 } C = (\text{サンプル最大値} - \text{サンプル最小値}) / (1 + \log_2 (\text{サンプル数})) \quad (\text{式 } 1)$$

$$\text{階級 } K = 1 + \log_2 (\text{サンプル数}) \quad (\text{式 } 2)$$

同様に、「発病あり」についてのみのヒストグラム、「発病なし」についてのみのヒストグラムも作成した。

得られたヒストグラムをカーネル密度推定（植木・笛田 2003）によって確率密度関数化した。得られた密度関数を利用し、スタージェスの公式によるクラス分けに従い、pH0.5 きざみで病害の発生確率を算出した。なお、ケーススタディで実施した発生確率の算出という統計解析はあくまで例であり、実際は現場の要望や使い方に応じて手法を決定すればよい。

3. 結果

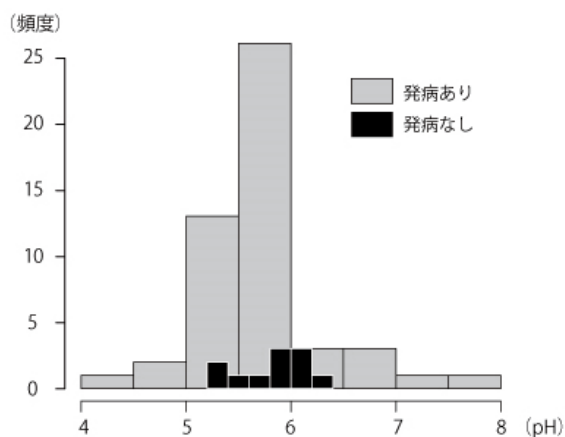
岡山県のナス青枯病について、対象病害が発生し、pH が記録されているレコードは 50 件、対象病害が発生せず、pH が記録されているレコードは 11 件となった（表 2）。同様に三重県のトマトについては、発病ありレコードが 62 件、発病なしレコードが 5 件得られた（表 2）。このレコード数は解析を実施した 2013 年 7 月時点での件数であるため、今後さらに増えていくことが期待される。それぞれの pH 値について作成したヒストグラムを図 3a,4a に示す。発病ありのヒストグラムを見ると、岡山県ナス、三重県トマトともに pH5.5-6.0 をピークに持つ正規分布に近い形を示した（図 3a, 4a）。発病なしについては、岡山県のナスは発生ありとほぼ逆の傾向を示した（図 3a）。それぞれのヒストグラムを重ねてみると、その傾向がよく見える（図 3a）。三重県のトマトについては、得られた 5 件のレコードが全て同じ pH 値であったため、発病なしのヒストグラムを描くことができなかった。

表 2. ケーススタディに利用したデータ

	岡山県ナス	三重県トマト
病害名	青枯れ病	青枯れ病
データ件数	61	67
発病データ件数	50	62
未発病データ件数	11	5

全てのデータは土壌カルテシステムに格納されている。

(a) 岡山県におけるナス青枯病の発病あり（灰）と発病なし（黒）の頻度分布



(b) 岡山県におけるナス青枯病の発病ありの確率密度

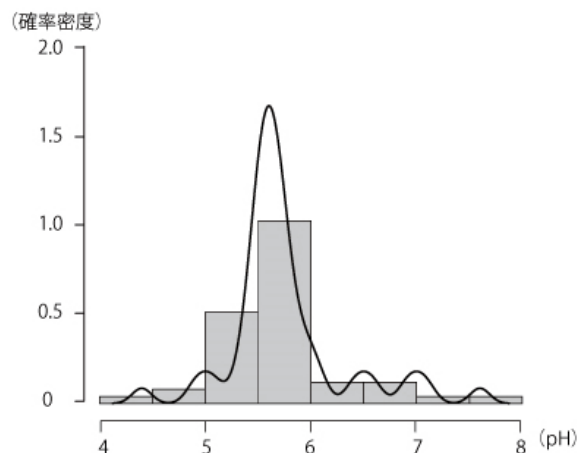


図 3：岡山県におけるナス青枯病の発生頻度分布および発生確率と土壌 pH の関係

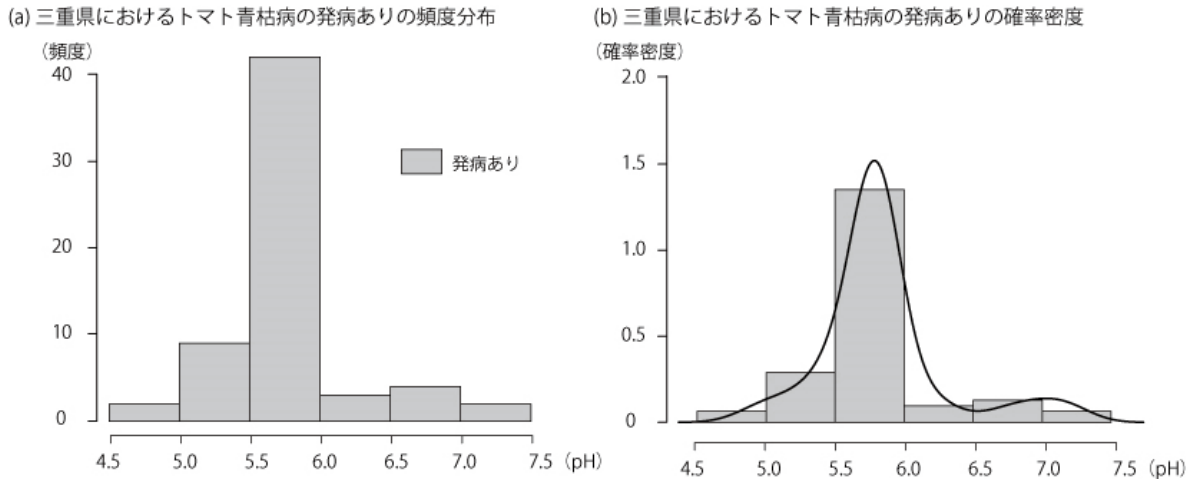


図4：三重県におけるトマト青枯病の発生頻度分布および発生確率と土壌 pH の関係

表3. 確率密度関数から推定した各 pH レンジにおける発病確率。

値は、手元の全発生データを1とした場合の割合を意味する。

pHレンジ	岡山県ナス	三重県トマト
4.5-5.0	0.0328347	0.02739528
5.0-5.5	0.211907	0.1438063
5.5-6.0	0.5547357	0.600427
6.0-6.5	0.07418786	0.1315084
6.5-7.0	0.06006171	0.05052775
7.0-7.5	0.03282269	0.04549994

確率密度関数の形を図 3b, 4b に示す。岡山県ナス、三重県トマトともに pH の低いレンジ、高いレンジで形が波打っていたが、おおむね正規分布に近い結果となった(図 3b,4b)。これらを 0.5 きざみに pH4.5 から 7.5 までの値について積分を行った確率値を表 3 に示す。すなわち、全発生レコードを 1 とした場合の、該当レンジにおける割合を意味するものである。結果、ともに pH5.5-6.0 で最も発生確率が圧倒的に高く、それ以外では低い値となった。

4. 考察

土壌病害の生起情報と、発生地土壌の性質を登録できるデータベースシステムを開発し、それに格納したデータを利用して記述疫学的な解析を行うことで、着目した性質と病害発生の関係を推定するという一連の流れを確立した。その手法を利用し、ナスおよびトマト青枯病について土壌 pH と発病の関係を推定するというケーススタディを実施した。実データに基づいた記述疫学的解析は、病害対策の現場における経験則や現場感覚を定量化するものであり、さらにその結果が容易に更新できるという仕組みは、病害発生に関する詳細研究における第一歩として有効であると考えられた。

本解析で得られる結果は、あくまでデータベースに格納されたデータから得られた共通”傾向”であり、必ずしもそのまま直接的に病害対策に利用できるというものではない。実用方法としては、圃場試験等を行う前段階で実施し、研究計画を立てる際の事前診断項目の一つとして利用するのが良いと考えられる。例えばケーススタディで得られた結果を利用すると、pH が 6 前後のレンジから外れた圃場は、ナス、トマト青枯病の発生確率は低いと判断できる。農業指導者らは、pH の値がレンジ

から外れている圃場での営農を推奨する等の指導を行うことができるだろう。農業現場においては、pH 値が発生レンジ内の圃場であればナス、トマトの栽培を行わない、あるいは耕作前に pH を調整するといった考え等が可能である。得られた結果は実データに基づいた結果であるため、少なくとも対象地域である岡山県、三重県においては、明確な根拠を持って意思決定支援に利用することが可能である。とは言え、土壌病害は多くの要因によって発生するため、一つの項目だけで診断し、それに関する対策のみで完全に防除を達成することは極めて困難である。そのため、効果と経済的な負担等を勘案し、複数の手法を適用して被害を経済水準以下に抑えるという IPM 的な考え方が必要となる（對馬 2005）。本研究で示した疫学的解析の結果は、IPM における一つのオプション、すなわち項目を選抜する手法としては十分に実用可能であろう。

今回ケーススタディを行った青枯病は、様々な農作物、様々な地域で問題になっており、多くの既往研究がある。しかし、これまで得られてきた知見は、必ずしも関係者で共有されてこなかったと筆者らは考えている。例えば公表済みの論文、本研究のケーススタディで利用した地方試験場における実験報告等にも、病害に関する様々な情報が記録されている。しかし、これらの情報の多くは農業現場や専門家の目に触れることなく、どこかにしまいこまれている。本研究で提案したように、データベースを作成し、過去の知見を集積すること、さらにそれを解析し、得られた新たな知見も含めて全ての知見を関係者で共有することで、効率的で低コストの営農指導や病害対策が実現できる可能性もある。

植物病理学分野では歴史的に多くの知見が得られているが、それらの情報が全て有効活用されているとは言い難い。IT が目覚ましく発展し、容易に様々なデータにアクセスすることが可能である現代では、本稿で提案したように、歴史的に積み重ねられた知見をまとめて活用し、新たな知見を得ることが可能となった。今回示したケーススタディでは、経験的には、pH の影響が漠然とあることが分かっていたことを明示的に、確率的に示せたことに意義があると考えられる。しかし、本成果は、あくまでデータベースを土壌病害に利用するための事例と方法を紹介したものである。今後は、今回示した方法に基づき、より多くの病害および作物を対象に、病害データの蓄積および活用が広がっていくことを期待したい。それらが実現すれば、実用的で有用な技術の確立につながっていくだろう。

引用文献

- 1) 雨宮良幹 (2007) : 堆肥等有機物を利用した土壌病害の防除. 土と微生物, 61, 123-128.
- 2) 池上八郎 (1992) : アブラナ科野菜根こぶ病菌の生態と防除(野菜・花きの土壌病害をめぐって). 土と微生物, 39, 1-10.
- 3) 桐谷圭治 編 (2009) : 田んぼの生き物全種リスト. 大同印刷株式会社, 佐賀.
- 4) 桐谷圭治 編 (2010) : 改訂版 田んぼの生き物全種リスト. 大同印刷株式会社, 佐賀.
- 5) 児玉博和・大野良之 (1989) : 尿路結石症の記述疫学的考察. 泌尿紀要, 35, 923-934.
- 6) 小川晃一郎・森 太郎・松崎弘美・松添直隆(2011) : 非病原性 *Ralstonia solanacearum* によるナス青枯病発病抑制効果. 園学研 10, 581-587.
- 7) 小林紀彦. Ko Wen-hsiung (1983) : ハワイ諸島における～に対する発病抑止土壌の探索とその抑止機構の解明. 土と微生物, 25, 1-8.
- 8) 小林紀彦 (1985) : 土壌病害に対する発病抑止土壌の存在と抑止機構, 植物防疫, 39, 271-279.
- 9) Kobayashi, N. and Ko, W. H. (1985): *Pythium splendens*-suppressive soils from different islands of Hawaii. Soil Biol. Biochem., 17, 889-891.

- 10) Kobayashi, N. and Ko, W. H. (1985): Nature of suppression of *Rhizoctonia solani* in Hawaii soil. Trans. Br. mycol. Soc., 84, 691-694.
- 11) 小林紀彦・駒田 且(1995): 関東, 東山, 東海地域における Fusarium 病の発病抑土壌の探索とその抑止性. 土と微生物, 45, 21-32.
- 12) 駒田 且(1990): 土壌病害の発生と土壌. 土壌の物理性 61, 43-47.
- 13) 三橋弘宗(2010): 生物多様性情報の整備法. 鷲谷いづみ, 宮下直, 西広淳, 角谷拓編「保全生態学の技法」. p.103-128, 東京大学出版会, 東京.
- 14) Murakami, H., Tsushima, S. and Shishido, Y. (2001): Factors Affecting the Pattern of the Dose Response Curve of Clubroot Disease Caused by *Plasmodiophora brassicae*. Soil science and plant nutrition, 48, 421-427.
- 15) 大澤剛士・栗原 隆・中谷至伸・吉松慎一(2011): 生物多様性情報の整備と活用方法-Web 技術を用いた昆虫標本情報閲覧システムの開発を例に-. 保全生態学研究, 16, 231-241.
- 16) 大澤剛士・神保宇嗣(2013): ビッグデータ時代の環境科学-生物多様性分野におけるデータベース統合、横断利用の現状と課題-. 統計数理, 61, 217-231.
- 17) Osawa, T. (2013): Monitoring records of plant species in the Hakone region of Fuji-Hakone-Izu National Park, Japan, 2001-2010. Ecological Research 28, 541.
- 18) 小山 修 (2009): 土壌診断と拮抗微生物によるジャガイモそうか病防除技術. 土と微生物, 63, 84-88.
- 19) 對馬誠也 (2010): eDNA による農耕地土壌の生物性解析・評価手法の開発. 土と微生物, 64, 64-69.
- 20) 對馬誠也 (2005): 病害防除における I P M の展望と課題-アブラナ科野菜根こぶ病防除を事例として-. 関東東山病害虫研究会報, 52, 1-8.
- 21) 植木優夫・笛田 薫 (2003): カーネル密度推定におけるカーネル関数の比較. 日本計算機統計学会大会論文集, 17, 147-150.
- 22) 矢ヶ崎信子・豊川裕介 (1989): 日本人の皮下脂肪厚の記述疫学的研究. 民族衛生, 55, 100-112.
- 23) 山崎浩道 (2004): カルシウム吸収によるトマト青枯病抵抗性の向上に関する研究. 野菜茶業研究所研究報告, 3, 1-56

問い合わせ先

農業環境インベントリーセンター 大澤 剛士
電話: 029-838-8272, e-mail: arosawa@affrc.go.jp