

植物防疫基礎講座：

手製の柄付剃刀を用いた徒手切片法について

元 神戸植物防疫所関西空港支所 まつもと 工

は じ め に

さび病の孢子堆などの形態を観察する必要があるが、ピスを用いた徒手切片法を行ったところ、慣れないため十分な観察ができなかったことがあった。試みに剃刀を竹串に取り付け実体顕微鏡下で切片を切ったところ、比較的簡単にできた。この方法では試料を目で確認しながら切るため失敗が少なく、確実に切片を作製したい場合に適していると思われる。

この種の手法は個人差があり、また、試料により適さないこともあり、あらゆる場合にこの方法を推奨することはできないが、ピスが苦手な人にとって、本法が切片作製の問題解決になればと考え以下紹介する。

I 柄付剃刀および柄付針の作製方法

柄付剃刀および柄付針の作製のため、剃刀（炭素鋼製両刃、フェザー安全カミソリ(株)品番 FA-10、青箱両刃）、竹串（長さ約 18 cm、直径約 3 mm、市販の料理用のもの）、昆虫針（微針）およびセロハンテープを用意する。

剃刀をピンセットなどで割り、幅約 2 mm で刃先角が 45° 前後のものを作る。側面をナイフで平らにした竹串に、この剃刀をセロハンテープ（幅 5 mm 前後、長さ約 3 cm）でやや強く巻き付ける。また、柄付針も竹串にセロハンテープで微針を取り付ける（図-1）。従来、このような場合には糸で巻き固定するのが通常であるが、竹串ではセロハンテープで十分に固定できる。剃刀および針の先端は竹串から 5 mm 前後が最も使いやすいと思われる。

II 切 片 作 製

切片は図-2 のように、試料をセロハンテープでろ紙に張り付け、実体顕微鏡の下で作製する。試料を切るときは柄付剃刀に指先を添えガイドにする。切り取った切片は、剃刀または柄付針で選別した後スライドガラス上のラクトフェノールに移し、カバーガラスを掛け観察する。

Hand Section with Replaceable Razor Blade. By Takumi MATSUMOTO

（キーワード：剃刀、切片）

切片内に空気が入り見えにくい場合には加熱するが、加熱により孢子などが分散するときは、しばらくカバーガラスを掛けずに放置しておく。

III 切片作製の事例と注意点

なるべく薄く切った断片のようなものでも、観察すれば同定に必要な情報は得られる。しかし、記録として残すには、一目瞭然に菌の形態などが判明する切片が好都合である。これには多少工夫する必要があるが、以下少ない経験であるが、このことについて口絵①～⑩の写真を



図-1 柄付剃刀および柄付針

①病斑（●）を切り出す。②ろ紙に試料をセロハンテープで張り付ける。③柄付剃刀で切片を切る。

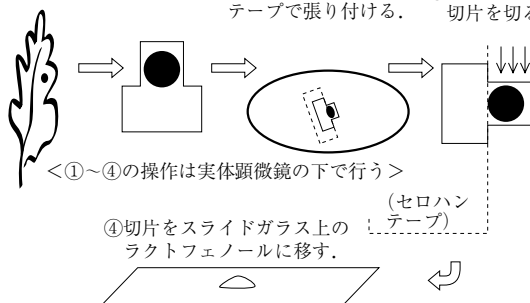


図-2 柄付剃刀を用いた徒手切片の作製手順

例に述べたい。なお、これら顕微鏡写真は微分干渉装置を用い撮影したものである。

(1) 試料の選定

ある種の病害では、若い病斑ほど切片にしたときの組織のくずれが少なく、胞子が離脱していないので観察に好都合であった。口絵①、③、④および⑤はその例でいずれも肉眼ではかなり初期の症状のものを切った。一方、口絵⑦、⑧および⑨の場合、若いものでは、分生子または子のうが未形成なため観察には適していなかった。

(2) 試料の調整

切る断面積が狭いほど病斑組織と剃刀との抵抗が少なく薄く均一に切れた。このため、観察に不要な部分はあらかじめ取り除いた方がその後の作業がやりやすい。口絵①のカーネーションは葉が肉厚なため、病斑のない裏側の部分を切り取ってから試料とした。

(3) 試料の固定

剃刀で切るときに試料が動くと言作業できないため、セロハンテープでろ紙に張り付けるが、ほとんどの事例では、試料周辺を竹串の尖った先で押さえれば、しっかりとろ紙に固定できた。

しかし、このようにしても、試料がたいへん柔らかい場合や切る断面が大きい場合には、切断時に切る部位が動き切りにくいことがあった。この対策として切る部位付近までセロハンテープで固定した。口絵⑥はブナ属植物の葉に生じた虫えいであるが、切る断面積が大きいため虫えい中央付近まで、セロハンテープで固足した。

なお、切断により汁液が多く出て、切片がろ紙の繊維に絡みつく場合があったが、このときには試料をろ紙に置く前に、セロハンテープをろ紙に張れば、この問題は生じなかった。

(4) 剃刀の動作

試料により剃刀の動かし方を変えたほうがよい結果が得られた。軟弱なものでは比較的軽くゆっくりと押し切

るようにし、一方、堅い試料では剃刀を手前に引き、速く連続して切るほうがよい切片が得られた。口絵⑦および⑧は堅い試料の事例で、これらをゆっくり切ると厚い切片となった。なお、口絵⑧は試料の位置は変えず、剃刀を横にして削るように切ったものであるが、堅いものではこのようなことも可能であった。

(5) その他

本法でいろいろな試料の切片観察を試みたが、当初予期しない観察が偶然できることもあった。参考として紹介したい。

口絵②は、適当と思われる初期の病斑が得られなかったため、既に胞子が外部に出ているものを参考まで切ったときのものである。この切片内に夏胞子（同左）および冬胞子（口絵②の右）の両方が見られ、これらの胞子堆が混生している状態を見ることができた。

べと病の卵胞子は葉の表皮を剥ぐようにして顕微鏡観察試料を作製するが、口絵⑩は切片で卵胞子の観察を試みたとき見られたものである。罹病組織が変色し、分生子柄が葉裏から形成される状態が観察できた。

Ⅳ 柄付剃刀のその他の利用方法

ここで紹介した柄付剃刀は、従来の割り箸や市販の金属製ホルダーを使用したものに比べ、柄が軽く細いという特徴があるが、これが実体顕微鏡下で行う微細な操作に適していると思われる。また、この柄付剃刀は手軽に製作できるので、徒手切片作製以外にも利用している。例えば罹病組織や培地上の糸状菌を掻き取り顕微鏡観察するときや、ネコブセンチュウの会陰門観察のための解剖で用いている。

[従来からの方法については、養賢堂刊「新編 植物病原菌類解説」p. 32～33の記載を参照下さい]