

高倍率（50×）ルーペを用いたキュウリの 斑点性病害の診断

畔柳 泰典・桐野 菜美子・矢尾 幸世

Identification of Cucumber Spotted Diseases with a High Magnification (50×) Lupe

Yasunori Kuroyanagi, Namiko Kirino and Sachiyo Yao

緒言

岡山県内の露地栽培キュウリでは、褐斑病、炭疽病及びべと病などの斑点性病害の発生が問題となっている。これらの病徴は酷似しているため、圃場での目視診断のみでは判別が困難であり、実際には、試験研究機関、病害虫防除所又は農業普及指導センターにおいて、室内で生物顕微鏡を用いて分生子等の形態を観察し、その結果に基づいて診断しているのが現状である（岸・我孫子，2004）。植物病害を的確に治療・防除・予防するには、正確な診断が不可欠とされているが（難波，2008）、生物顕微鏡による形態観察の場合、圃場から試料を持ち帰るの必要があり、診断に時間を要することで、防除対策が遅れてしまうことが想定されている。また、スイカつる枯病やアスパラガス茎枯病などの、子のう殻や柄子殻を形成する糸状菌では、倍率20倍のルーペを用いて病原菌の形態を観察し、現地圃場で診断することができる（岸・我孫子，2004）が、キュウリ褐斑病、べと病は子のう殻や柄子殻を形成せず、キュウリ炭疽病の子のう殻は現地圃場で観察されない。そのため、これら病害の判別には、褐斑病の分生子、炭疽病の剛毛及び、べと病の分生子や分生子柄を、倍率100倍以上の生物顕微鏡で形態観察する必要があり、倍率20倍での形態観察は困難であった。

そこで、現地圃場でキュウリ褐斑病、炭疽病及びべと病をより簡易に診断するため、小型で操作も簡単な倍率50倍のルーペ（以下、高倍率ルーペ）を用いた診断の有用性について検討したので報告する。

試験方法

試験には、高倍率ルーペとして、「PEAK POKET MICRO SCOPE 50×（No.2001-50）」（東海産業（株））（以下、ペン型マイクロスコープ）及び「Wi-Fi接続ワイヤレスマイクロスコープ 3R-WM401WIFI」（スリーアールシステム株式会社）（以下、デジタルマイクロスコープ）を用いた。キュウリ葉上の各病害の病斑をペン型マイクロスコープ、デジタルマイクロスコープ及び倍率100倍の生物顕微鏡を用いた画像を図1に示す。なお、デジタルマイクロスコープ画像は、ペン型マイクロスコープ画像との比較を行う場合にのみ用い、以下は取り扱いのしやすいペン型マイクロスコープの実用性について検討した。ペン型マイクロスコープを用いた診断方法の有用性を評価（以下、精度評価）するため、キュウリ葉上に形成された褐斑病、炭疽病及びべと病の病斑について目視による診断（以下、目視診断）と比較した。診断者は、農業研究所病虫研究室職員とし、診断は1回目が2016年11月17日、2回目が2016年11月25日にそれぞれ3名ずつ、合計6名で行われた。1回目の診断では、診断経験1年目の者が1名、12年目が1名、16年目が1名であった。2回目の診断では、診断経験1年目の者が1名、2年目が1名、12年目が1名であった。診断前に「夏秋キュウリ栽培マニュアル」（津山農業改良普及センター・農業総合センター技術普及課，2006）の病徴画像（図2-1、図2-2）及び高倍率ルーペ使用時に観察される病原菌の画像（図1）を示し、目視診断及びペン型マイクロスコープによる診断方法について説明した。診断に用いた病斑は、岡山農研内の

本報告は平成28年度試験研究主要成果で発表した。

本研究は、交付金「病害虫防除農業環境リスク低減技術確立事業」により実施した。

2022年12月23日 受理。

露地栽培キュウリ葉から、各診断日に無作為に選定した直径5～10mmの壞疽斑とし、診断者1名あたり合計15病斑（10病斑：穂木‘ビュースター’，台木‘NEWスーパー雲竜’，2016年9月27日定植；5病斑：穂木‘SR22’，台木‘ゆうゆう一輝（黒）’，2016年8月19日定植）とし

た。各回に用いた病斑は、診断者3名に同一のものを供試した。診断に用いた病斑における各病害の発病率を生物顕微鏡（100倍）で診断した結果、11月17日では褐斑病46.7%，炭疽病20.0%，べと病20.0%，その他13.3%で、11月25日では褐斑病46.7%，炭疽病26.7%，べと病

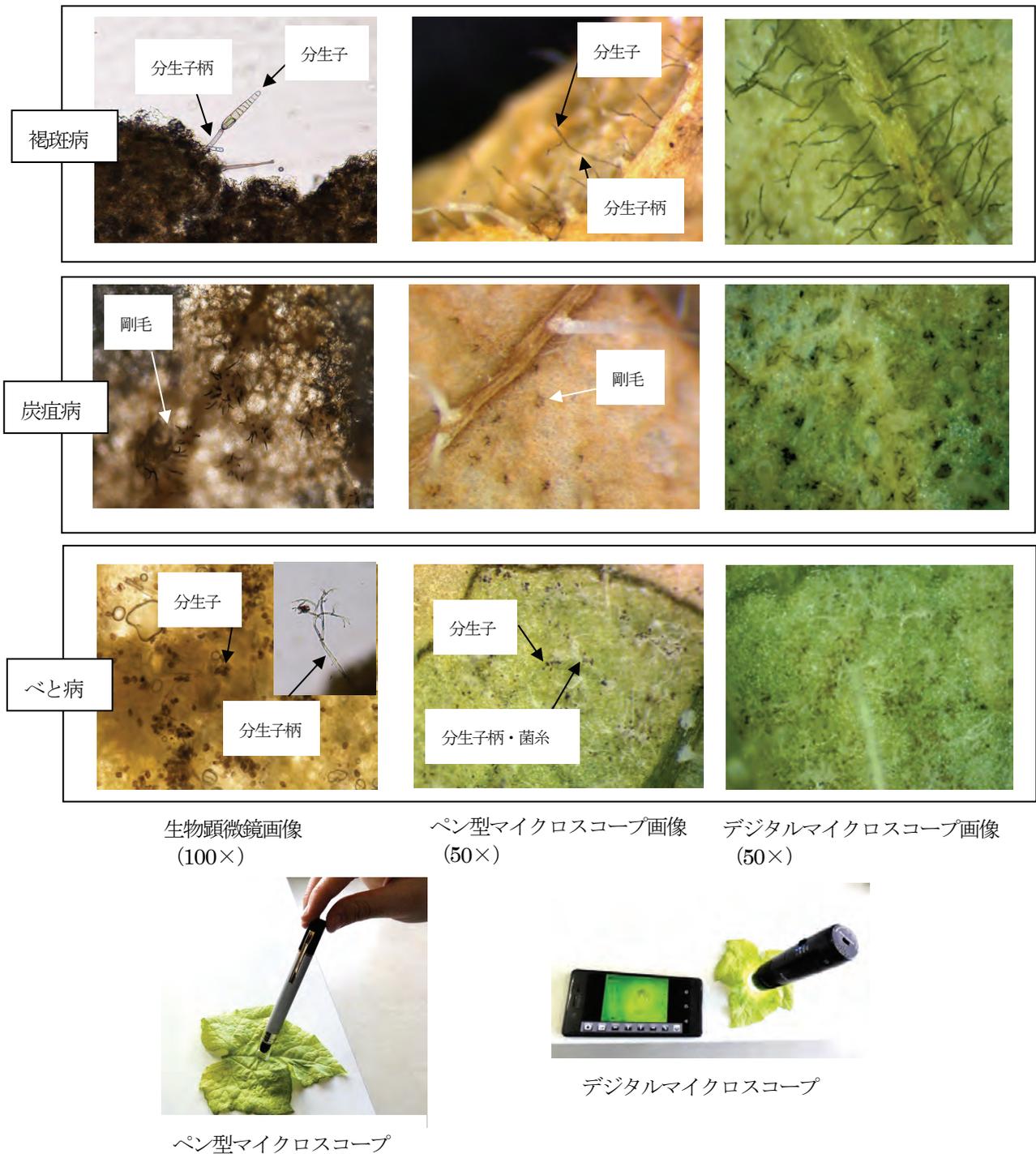


図1 拡大機器によるキュウリの3病害の診断

26.7%，その他0%であり，両日とも3種全ての対象病害が発病した条件であった。

診断の精度評価には，神田（2021）の定性テストの正確度の評価方法を用い，精度評価の算出にはEZR（改定3版）を使用した．EZRはR及びRコマンドの機能

を拡張した統計ソフトウェアである（神田，2021）．すなわち，感度（例：褐斑病である病斑のうち，実際に褐斑病の診断結果を示す割合），特異度（例：褐斑病でない病斑のうち，実際に褐斑病でないとの診断結果を示す割合），陽性的中率（例：褐斑病の結果が得られ



褐斑病の葉の病斑 a



炭疽病の葉の病斑 b



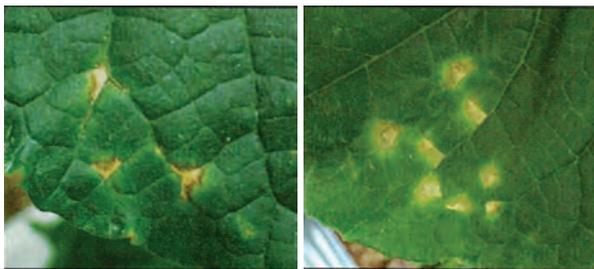
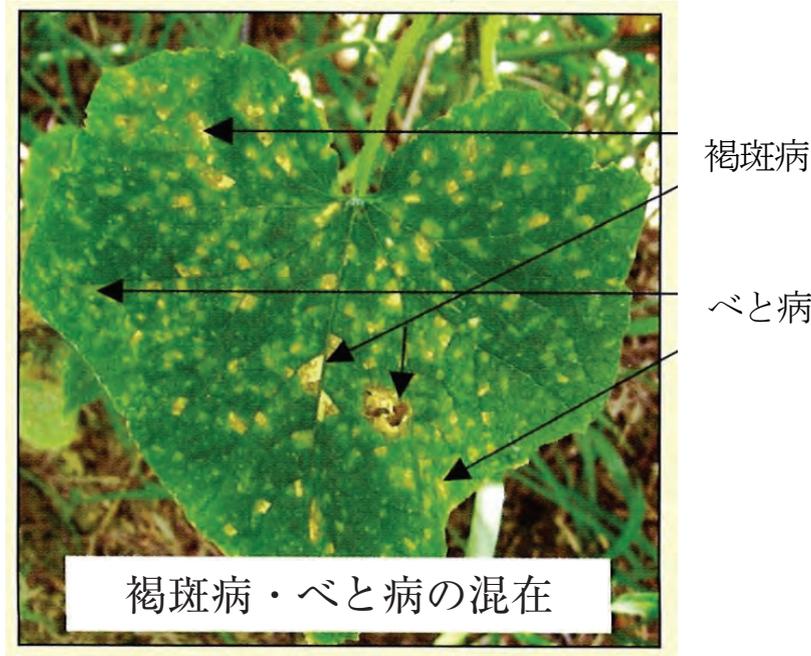
べと病の葉の病斑 c

- a：初めは葉に黄褐色の小斑点．次第に拡大して径1～3 cmの淡褐色ないし灰褐色の不整形斑となる．古い病斑は破れやすく，病斑の中央部が比較的厚く、縦に避ける
- b：初めは葉に黄色の小斑点．次第に拡大して淡褐色の円形の大型病斑となる．病斑中央部に黒い点々（柄子殻）がみえる．病斑は古くなると中央部が破れやすく、中央部が薄くなって丸い穴が空く
- c：初めは黄色の小斑点．次第に黄緑色の葉脈に囲まれた角張った病斑となる

図2-1 目視によるキュウリの3病害の診断

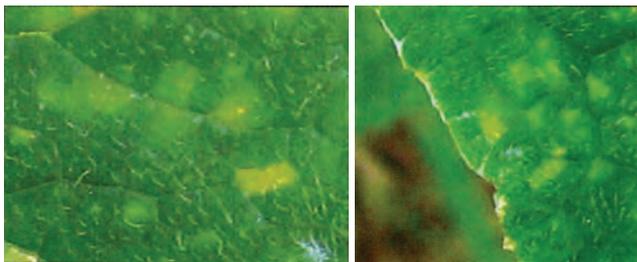
た場合に実際に褐斑病である確率), 陰性的中率 (例: 褐斑病でないとの結果が得られた場合に実際に褐斑病でない確率) とした. 病斑ごとの診断結果を生物顕微鏡による診断結果と照合し, 一致した場合を陽性, 一致しなかった場合を陰性とした. 診断者6名が15病斑を

診断した合計90事例について, 陽性と予測して実際に陽性であった診断をTP (true positive), 陰性と予測して実際に陰性であった診断をTN (true negative), 陽性と予測したが, 実際には陰性であった診断をFP (false positive), 陰性と予測したが実際には陽性であった診



褐斑病の葉の病斑

褐斑病: 病斑の拡がり葉脈に沿っていることもあるが, 葉脈をこえて拡がる. 周縁部が黄緑色の灰色または褐色の病斑が作られ, 古くなると部分は白くなる



べと病の葉の病斑

べと病: 葉脈に沿って病斑が拡がる. 黄緑色の病斑が形成され, 古くなると茶褐色~白色になる

図2-2 目視によるキュウリ褐斑病とべと病の見分け方

断をFN（false negative）とし、次式に基づいて病害ごとに感度、特異度、陽性的中率、陰性的中率を算出した（神田，2021）。

$$\text{感度} = TP / (TP + FN) \times 100$$

$$\text{特異度} = TN / (FP + TN) \times 100$$

$$\text{陽性的中率} = TP / (TP + FP) \times 100$$

$$\text{陰性的中率} = TN / (TN + FN) \times 100$$

結果及び考察

高倍率ルーペは倍率100倍の生物顕微鏡より倍率が低いいため、病斑を観察して確認できる形態の大きさはやや小さいものの、それぞれの病害に特徴的な、褐斑病菌の分生子及び分生子柄、炭疽病菌の剛毛、べと病菌の分生子及び菌糸は確認できたことから、判別は可能と考えられた（図1）。すなわち、褐斑病の病斑については、分生子は220-570×5-10 μ mと比較的大きい（米山ら，2006）ため、分生子の隔壁は認めにくい、分生子柄に単生する円筒形及び倒棍形の分生子が観察された（図1上段）。また、炭疽病の病斑については、黒褐色の剛毛が観察された（図1中段）。さらに、べと病の病斑については、薄墨色の分生子及び白色の分生子柄を含む菌糸が観察された（図1下段）。このように、胞子の大きさや形態に特徴がある病害については、倍率が50倍であっても、形態観察による診断を行うことが可能であり、キュウリ以外の他の糸状菌病害への応用も期待される。

ペン型マイクロスコープを使用した場合、褐斑病、炭疽病及びべと病に対する感度、特異度、陽性的中率及び陰性的中率は、目視診断より高く（表1）、高倍率ルーペによる診断は、目視による診断より正確な診断が可能であると考えられた。

また、ペン型マイクロスコープを使用した場合の陽性的中率は、炭疽病で87.0%、べと病で78.3%であり、褐斑病の100%が最も高かった。これは、陽性と予測

したが実際には陰性であった診断（FP：false positive）が、炭疽病及びべと病で多かったことが原因であり、今後の診断精度向上に向けた原因究明が必要と考えられる。

これまで、黒田ら（2012）は、栽培現場での使用を目的に携帯用顕微鏡の使用について報告している。しかし、携帯用顕微鏡は、水滴を垂らしたシャーレに、分生子を付着させたセロハンテープを貼り付け、倍率100倍にピントを合わせる等、準備する道具や細かい操作が必要であることから、生産者への普及は進んでいない。これに対して、ペン型マイクロスコープは、ポケットに入れて持ち運べるほど小型なため、携帯が可能であるだけでなく、先端のアクリル部分を病斑部分に押し当て、これを支点に前後に傾けてピントを合わせ、レンズを覗くのみであり、準備する道具や細かい操作が少ないことから、収穫や日々の管理作業中に生産者自身が診断する場面での使用が期待される。

近年、携帯や操作が簡易で安価な拡大観察機器としてデジタルマイクロスコープが市販されており、本試験においても、褐斑病、炭疽病及びべと病の形態が観察できた（図1）。さらに、デジタルマイクロスコープをスマートフォンと連携させることで、観察された画像を共有し、農業者自身が病原菌の形態観察の知識を蓄積することや遠隔診断への可能性が開けており、今後ともこれら拡大観察機器の使用は拡大していくと考えられる。

摘要

キュウリ褐斑病、べと病、炭疽病の診断について、倍率50倍の高倍率ルーペを用いて、病斑に形成された褐斑病の分生子、炭疽病の剛毛、べと病の分生子及び菌糸の形態観察を行うと、目視で病徴を観察するより、正確な診断ができる。

表1 診断方法による精度評価の比較

| 精度指標 | 褐斑病 | | 炭疽病 | | べと病 | |
|-----------|------|------------------------|------|------------------------|------|------------------------|
| | 目視診断 | ペン型マイクロスコープ診断 (50×) | 目視診断 | ペン型マイクロスコープ診断 (50×) | 目視診断 | ペン型マイクロスコープ診断 (50×) |
| 感度 (%) | 64.3 | 92.9 | 76.2 | 95.2 | 42.9 | 85.7 |
| 特異度 (%) | 70.8 | 100.0 | 88.4 | 95.7 | 82.6 | 92.8 |
| 陽性的中率 (%) | 65.9 | 100.0 | 66.7 | 87.0 | 42.9 | 78.3 |
| 陰性的中率 (%) | 69.4 | 94.1 | 92.4 | 98.5 | 82.6 | 95.5 |

引用文献

- 神田善伸（2021）無料統計ソフト EZRでやさしく学ぶ統計学 EBМの実践から臨床研究まで（改訂3版）．中外医学社，東京，463p.
- 岸國平・我孫子和雄（2004）野菜病害の見分け方 診断と防除のコツ（第2版）．全国農村教育協会，東京，365p.
- 黒田克利・鈴木啓史・田口裕美（2012）携帯用顕微鏡による病害診断．関西病虫研報，54:109-110.
- 難波成任（2008）植物医科学 上．養賢堂，東京，336p.
- 津山農業改良普及センター・農業総合センター技術普及課（2006）夏秋キュウリ栽培マニュアル．津山地域農業振興技術者連絡協議会，岡山，35p.
- 米山勝美・夏秋啓子・瀧川雄一・堀江博道・有江力（2006）植物病原アトラス．ソフトサイエンス社，東京，261p.