

豆類菌核病防除薬剤の室内検定法*

斎藤 泉† 高桑 亮† 馬場 徹代†

A LABORATORY METHOD FOR EVALUATING THE EFFECTIVENESS OF FUNGICIDE ON BEAN STEM ROT

Izumi SAITO, Makoto TAKAKUWA and Tetsushiro BABA

菜豆の切離葉を用いて菌核病に対する防除薬剤を室内で探索する場合、PDA培養の菌叢 (Agar inoculum) を接種して検定すると、その発病阻止効果はほ場における防除効果とほとんど相関しない。他方罹病葉組織片 (Leaf inoculum) を接種源として用いた検定結果はほ場における効果とよく一致した。自然感染の模式として感染した花卉を接種しても、同様の結果がえられたので Leaf inoculum 接種はほ場感染の条件にかなり近いといえる。またすでに感染を起し、寄主体内へ侵入した菌糸に対する効果についても、ほ場における効果との相関がみられた。したがって菜豆切離葉上におけるこれらの効果特性を検討すれば、ほ場における効果を予測することが可能と考えられる。

I 緒 言

Sclerotinia sclerotiorum (Ltb.) de BARY については、すでに多数の植物がその寄主として報告されており、いわゆる多犯菌とされている¹⁾。このように、本菌は寄生性の分化が低いため、普通寄生病にみられるような抵抗性品種の育成は困難であると考えられる。したがってその防除は主として薬剤にたよるざるをえない場面が多いが、薬剤防除は従来多くの試みがなされたにもかかわらず、いまだ的確な防除技術は確立されていない。本邦における被害作物の主なるものはナタネならびに豆類およびそ菜類等であるが、とくに北海道においては十勝地方および洞爺湖周辺の豆類に近年被害が増大し早急な防除対策の確立が望まれている。

菌核病の薬剤による防除には薬剤の土壌処理による子う胞形成のそ止、および茎葉散布による胞子感染のそ止の二法がある。薬剤の土壌処理については、一般ほ場における石灰窒素、PCNB 剤

および PCP 剤の使用があげられるが、経済効果、使用法について問題を残している²⁾ ので、豆作のような広い面積のほ場においては、当面茎葉散布による防除対策を確立する必要があると考えられる。菌核病に対する茎葉散布剤としては 2-6-Dichloro-4-nitroaniline の効果がレタス、green bean について報告されており¹⁾²⁾、北海道では豆類に対する試験が実施されている。

いわゆる in vitro でみとめられる病原菌に対する薬剤の防除効果が実際の使用場面では必ずしも発揮されない傾向があったにもかかわらず、従来その迅速性、画一性から第一次の薬剤スクリーニングにシャーレ内の抗菌性の強弱が慣用されてきた。この欠点をとり除くためには生体上での薬剤効果を確認することが必要であるので、ポット栽培による温室内での効果検定が行なわれているが、多数の薬剤について検定するには簡便性、迅速性の点から検定方法としては十分なものとはいえない。高坂³⁾ は切離したソラマメの葉を用いて稲紋枯病菌に対する薬剤の効果を検討した結果、簡便でしかもほ場との相関の高い結果をうる方法があることを報告しており、生葉を用いる室内検定方法として現在広く応用されている。筆者らは

† 中央農業試験場

* 本報文の一部は昭和42年度日本植物病理学会北海道支部講演会において発表した。

高坂氏法を豆類菌核病について応用し、*S. sclerotiorum* の PDA 培養菌叢を接種源として菜豆切離葉上における薬剤の侵入阻止効果を比較したが、その結果とは場における効果とはかならずしも一致しなかった¹⁰⁾。このことは主として本病害の発生生態における特異性に起因するものと考えられ、従来常識的に接種源として用いられてきた培養菌糸以外に罹病した寄生体を接種源として用いて侵入阻止効果を調べ、さらに罹病組織内菌糸に対する抑制効果、およびほ場における防除効果との相関を検討した。

試験を行なうに当たって、北海道大学農学部宇井格生教授、および中央農業試験場成田武四博士には終始有益なご助言とご指導をいただき、また十勝農業試験場病虫科赤井純科長、坪木和男研究員にはほ場における試験成績を提供いただいた。ここに記して深く謝意を表する。

II 方法および試験結果

1. 切離葉に対する接種条件の比較

菜豆（品種「大正金時」）の開花期個体から切離した第四節本葉を用いて、薬剤の効果検定を行なうための接種方法ならびに接種温度について以下の実験を行なった。

菌糸状態の接種源としては、単個子のう胞子培養した Sm-5 菌を PDA 平板上に 2 日間 20°C で培養し、菌叢周辺部より直径 7 mm の平板に打ちぬいたもの（以下 Agar inoculum と略）および発病した切離葉の病斑周辺部より Agar inoculum と同大か、それ以下に切りとったもの（以下 Leaf inoculum と略）の 2 種類を用いそれぞれ切離葉の中心に接種した。

接種源としての子のう胞子は、ほ場で採取した子のう盤から噴出させて胞子懸濁液としたもの、あるいは子のう盤をそのまま供試した。すなわち噴出させた胞子は蒸留水および 5% グルコース水溶液に懸濁し（200倍率の 1 視野中胞子 25~35 個）、切離葉表面に噴霧した。また、子のう盤は葉面に直接あるいは van Tieghem Cell をへだてて間接的にのいた。さらに蒸留水懸濁胞子は切離葉にカーボランダムおよび灼熱した針による付傷処理を施して接種を行なった。

接種後の切離葉はポリエチレン製バットに濾紙

を敷いて湿室としたものにならべ、ポリエチレン袋で密封して室温（18~23°C）に保った。結果は Table 1 に示したとおりで、接種 4 日後の発病の

Table 1 Inoculation with different types of inocula of *S. sclerotiorum* on detached leaves of Kidney bean

Inoculum and treatment	No. infected leaves*/No. inoculated leaves		
	Treatment to detached leaves		
	None	Wounded with carbundum	Wounded with hot needle
Ascospores suspended in distilled water	0/9	0/9	9/9
Ascospores suspended in 5% glucose solution	0/9**	—	—
Apothecia attached to leaf surface	0/9**	—	—
Apothecia suspended above leaf	0/9	—	—
Mycelial mat on PDA (Agar inoculum)	9/9	—	—
Infected leaf tissue (Leaf inoculum)	9/9	—	—
Water control	0/9	0/9	0/9

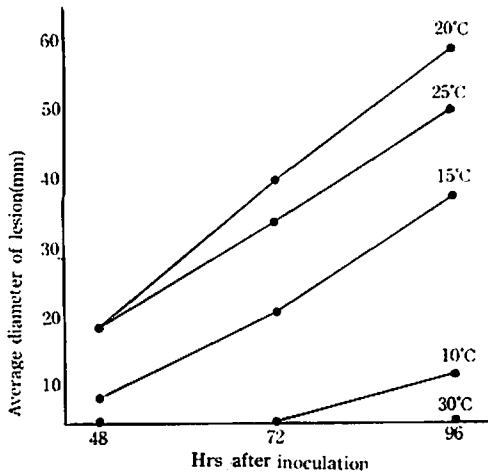
* At 4 days after inoculation

** Infection occurred at rate of 1/9, at 13 days after inoculation

有無をみると、子のう胞子は無処理葉には全く感染しえず、ただグルコース 5% 溶液に懸濁した場合および子のう盤を葉面に直接おいた場合にのみ、接種 13 日後にわずかな発病を認めた。また蒸留水に懸濁した場合、葉に対する付傷処理別に発病の有無をみるとカーボランダム処理では全く発病しないが、焼傷処理では全葉に発病を認めた。これらの結果にくらべて、供試無処理健全葉に対しても感染したのは、菌糸状態の接種源のみであったので、薬剤の効果検定には菌糸状態で接種を行なうこととした。

次に切離葉に Agar inoculum を接種し、10~30°C の範囲で発病および病斑の拡大に及ぼす温度の影響を検討したが、その結果を Fig. 1 に示した。すなわち 30°C では全く発病せず、10°C では感染がおくれたが、病斑の拡大程度によって判定すれば薬剤の初果検定は 20°C で行なうのが最も適当であると考えられる。

Fig. 1 Effect of temperature on infection and development of *S. sclerotiorum* on detached leaves of Kidney bean



2. 薬剤の発病そ止効果に及ぼす接種源の影響

薬剤の供試濃度は、そのほ場散布濃度を考慮した4段階をとるようにしたが、単一濃度で試験する場合はすべて慣行散布の最高濃度によった。「大正金時」の第1節葉展開期前後の幼植物から切離した初生葉を所定薬液に瞬時浸漬し、風乾してから接種を行なった。薬液浸漬に際し、付着を良好にするため、展着剤（ポリオキシエチレンアルキルアリルエーテルおよびリグニンスルホン酸塩含有のもの）を成分量で 300 ppm 添加した。接種源は一葉当たり2カ所接種し、Agar inoculum については、葉面からの薬剤拡散を防ぐため、ポリエチレンフィルムあるいはカバーガラスを下に敷いてワセリンで葉面に固着した。接種後の切離葉は前述したとおり20°C温室中に保ち、3日後の病斑直径の大小により薬剤の発病そ止効果を判定した。

薬剤の発病そ止効果に及ぼす接種源の影響をみるため、以下の6薬剤について効果を比較した。Polyoxin B, Cadmium propylxanthate (以下 CDX と略), Tetramethylthiurammonosulfide (以下 TMTM と略), 2, 3-Dihydro-5-carboxanilido-6-methyl-1,4-oxathiin (以下 DCMO と略), 2, 6-Dichloro-4-nitroaniline (以下 DCNA と略), N'- (Dichloro fluoromethylthio) N, N-dimethyl-N'-phenyl sulfamide (以下 DDP と略)。

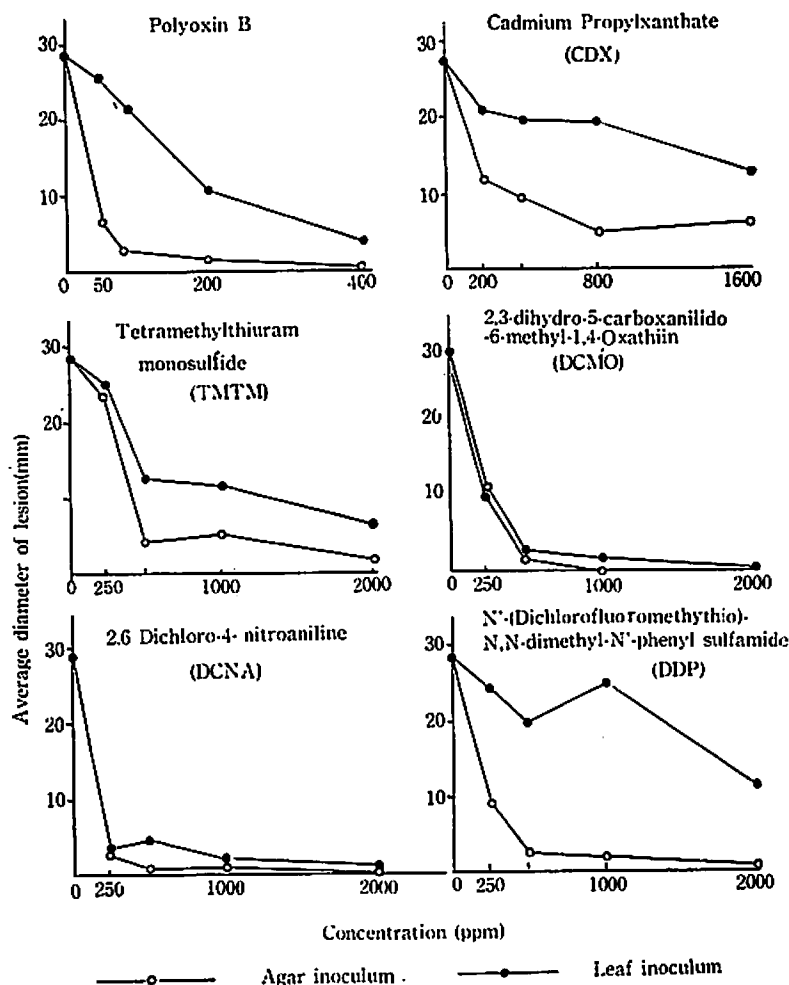
Table 2 Protectable activity of fungicide on detached leaves of Kidney bean inoculated with different types of inocula-(3)

Fungicide	Concentration (ppm)	Average diameter of lesion (m.m)	
		Leaf inoculum	Agar inoculum
PMF	20 (as Hg)	26.9	4.3
MEMC	20 (as Hg)	34.5	33.8
EMP	20 (as Hg)	39.6	29.4
Basic copper sulfide	1,838	35.7	33.0
MALS	165	34.4	18.3
Manneb	1,750	29.1	24.7
Triazine	1,250	25.8	21.6
Pentachlorophenylacetate (CPA)	500	4.4	1.7
O, O-Diethyl-S-benzyl thiophosphate (EBP)	600	18.3	21.3
Tetrachloro-isophthalonitrile (TPN)	1,875	22.3	1.7
Difoltan	2,000	29.1	7.8
TPTH	200	22.8	14.1
TPTA	200	38.8	22.8
Methylam	1,250	35.5	28.5
ETM	1,250	14.8	16.5
Streptomycin	120	39.8	18.4
Blastcidin S	20	17.4	9.4
Glyceofulvin	1,000	33.3	16.6
Actidione	5	31.1	20.2
Kasugamycin	20	39.2	32.6
Controll		41.2	36.3

この結果によると、Agar inoculum の場合に示された発病そ止効果は Leaf inoculum に対する効果にくらべて高く現われるが、その程度は薬剤によりかなり異なる (Fig. 2)。すなわち TMTM, Polyoxin B, CDX, DDP では DCNA, DCMO にくらべて Leaf inoculum 接種に対する効果の低下が著しい。これら切離葉上における発病そ止効果とは場効果とを対比すると、Leaf inoculum 接種によってその効果が著しく低下する薬剤 (例えば DDP) は、ほ場における効果も劣るようである (Table 3)。

さらに自然ほ場における感染を模式的に再現するために、枯凋し離脱しかけた花卉に菌糸をまんえんさせたものを接種源として、薬剤の発病そ止効果を、ほかの接種源と比較した。この場合、子のう胞子を接種すれば、自然状態により近いとい

Fig. 2 Protectable activity of fungicide on detached leaves of Kidney bean inoculated with different types of inocula-(1)



えるが、均一に発病した花卉をうることが困難であるので、一応菌糸接種によった。

DCNA, DDP, DCMO の 3 薬剤を供試して、感染花卉に対する発病阻止効果を Agar および Leaf inoculum と残較し、さらに Leaf inoculum の下にポリエチレンフィルムを敷いた場合についても検討を加えた (Fig. 3)。その結果、薬剤の発病阻止効果は Agar inoculum, Leaf inoculum, 感染花卉の順に低下する。

Leaf inoculum については、ポリエチレンフィルムの介在によって葉面への接触をさまたげると侵入力が低下した。また感染花卉接種に対する発

病阻止効果を薬剤別にみると、DDP では濃度を高めてもほとんど阻止効果を示さない。これに対して DCNA, DCMO ではかなり高い阻止効果を示した。

次にこれら接種源を異にした場合の同一薬剤における発病阻止効果の差異が、つねに Leaf inoculum > Agar inoculum のようになるか否かを知らため、市販 20 薬剤について検討を行なった。Table 4 に示すとおり、Agar inoculum に比較して Leaf inoculum を用いた場合、薬剤の種類によってその程度は異なるが、効果の低下が認められた。とくに PMF, TPN, Difoltan および Blast-

Fig. 3 Protectable activity of fungicide on detached leaves of Kidney bean inoculated with different types of inocula-(2)

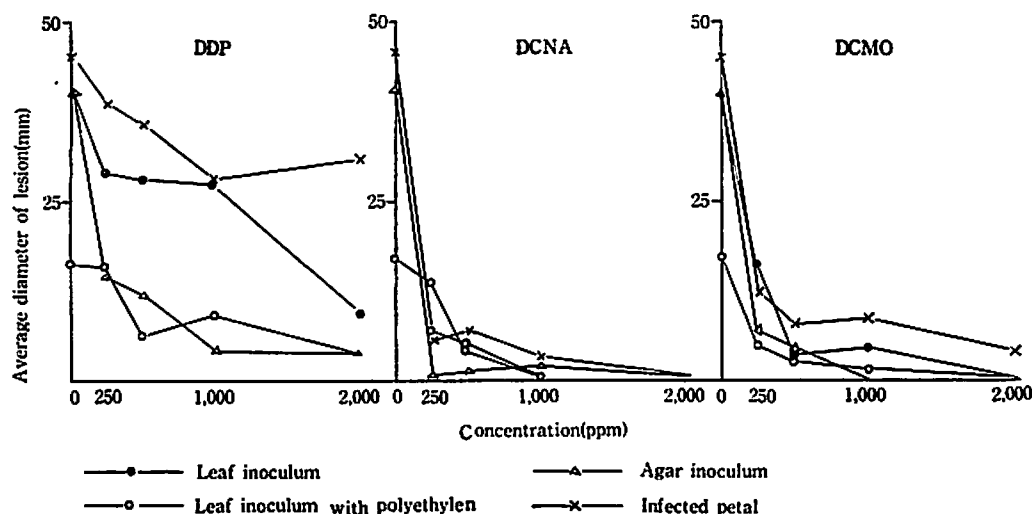


Table 3 Relation of fungicidal value in laboratory to controlling value in field

Fungicide	Conc. (ppm)	Protectable activity on detached leaves inoculated with		Eradicative activity on detached leaves	Controlling value in field*** (Disease index)
		Leaf inoculum	Agar inoculum		
DCNA	1,000	1.2 m.m.*	0.7 m.m.*	3.0 m.m.**	16.3
DDP	1,000	25.0	1.7	32.1	37.9
	500	20.0	2.2	36.4	36.7
CDX	800	19.6	4.7	30.8	28.1
	400	19.6	9.1	31.3	28.8
DCMO	1,000	0.4	0	1.8	8.1
TMTM	1,000	12.0	5.7	14.9	23.5
Polyoxin B	400	3.6	0	—	25.4
Controll		28.3	28.3	33.7	27.1

* Average diameter at 3 days after inoculation

** Average diameter at 41hrs after application of fungicide

*** Results at Tokachi Agricultural Experiment Station (August 8, 1966)

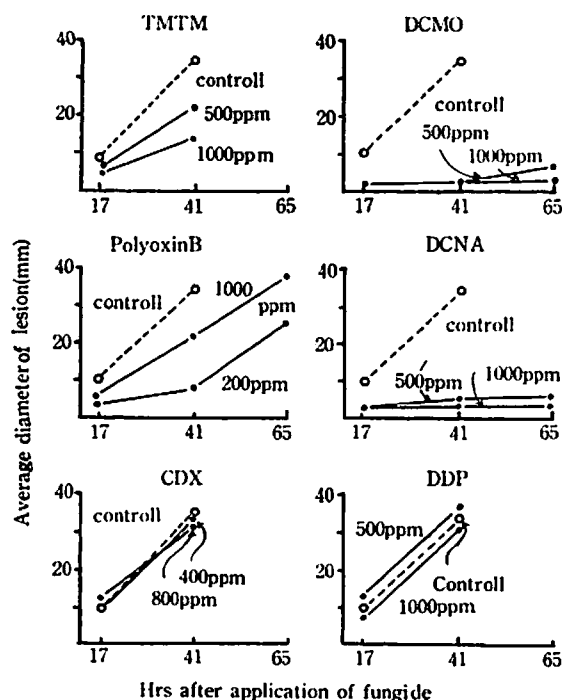
cidin S はそのような傾向が著しい。

3. 病勢進展阻止効果

ここでのべる効果は、すでに感染し発病した罹病組織中の菌糸に対する効果であって、いわゆる治療効果、あるいは高坂²⁾による進展阻止作用と同義である。初生葉を切離し中心部に Agar inoculum を接種し、2日後、病斑直径のほぼ同一の罹病葉(病斑直径 13~20mm)のみを集めて供試した。罹病葉は所定薬液に瞬時浸漬し、風乾後20℃湿室中に保って、一定時間ごとに病斑直径を測定

した。Fig. 4 に示したとおり、薬剤の種類および濃度によって病勢進展阻止効果とその持続性に明らかな差異があり、一般に Leaf inoculum に対する発病阻止効果の高い薬剤は、病勢進展阻止効果も高い傾向を示した。すなわち DCNA ならびに DCMO は病勢進展阻止効果が著しく、これに対し Polyoxin B, TMTM, CDX, DDP の順に効果が劣り、とくに DDP, CDX は濃度を高めてもほとんど効果が認められない。これらの傾向についてもほ場における効果とほぼ一致した (Table 3)。

Fig. 4 The enlargement of lesion after application of fungicide on detached leaves of Kidney bean



III 考 察

Sclerotinia sclerotiorum の子のう胞子は健全茎葉に感染しえないが、接種の際、付傷処理あるいは胞子懸濁液に栄養を添加した場合には感染がおこるとされている⁽¹⁰⁾⁽¹²⁾。筆者らが切離葉に対して子のう胞子を接種した結果では、灼熱した針による付傷処理を行なった場合にのみ全処理葉に感染を認めた。しかしこのような処理は不自然であり、また簡便性を必要とする室内検定の接種方法としては適当でないばかりでなく、活力のある子のう胞子を常にうることも現状では困難である。一方、自然ほ場における本菌の感染は、寄生植物の枯凋した花卉または茎葉の枯死部分からおこることが多いとされており⁽¹⁰⁾、それらの部位で腐生的に増殖した菌糸によってはじめて健全な茎葉への侵入がおこるとするならば、室内においても、むしろ菌糸接種によって薬剤の効果検定を行なうことは現実に則していると考えられる。

菌核病の発病適温については、すでに報告があ

るが⁽⁶⁾⁽¹³⁾、菜豆切離葉を用いて行なった実験では、20℃で感染が最も早くおこり、また病斑の拡大も早かった。切離葉上の病斑の拡大は培地上の生育適温20℃～25℃⁽¹³⁾に大体一致するが、切離葉の寿命をより長く保たせるためにはなるべく低温に保つことが好ましいので、接種および培養温度は20℃が適当と考えられる。WEINSTEIN ら⁽¹⁵⁾は、タバコの切離葉あるいは切離した植物体は窒素代謝に変化をきたし、遊離アミノ酸およびアミド類の濃度が全植物 (Whole plant) より増加することを認め、実験材料として切離した葉などを用いることは適当でないことを指摘している。このような切離にともなう生理的变化は、菜豆についても考えられるが、薬剤の効果検定にはより感染が起こりやすい状態が必要であるので、*S. sclerotiorum* のような腐生性の強い病原菌に対する検定の場合には、その影響は少ないとみなしうる。

自然ほ場における直接の感染源は菌糸であると考えられるが、Agar inoculum を接種源として、室内で薬剤のスクリーニングを行なった結果と、ほ場における結果とは必ずしも一致しない⁽¹¹⁾。このことは、Agar inoculum 接種がほ場における菌糸感染の状態を再現していないことを示すものであって、主として感染能力の相異にもとづくものと考えられる。そこで寄生体の一部で増殖した菌糸の侵入に対する薬剤の効果的模式的に検討するため、罹病葉の切片を接種源 (Leaf inoculum) として用いて、Agar inoculum と比較した結果、同一薬剤濃度での発病阻止効果の低下が認められた。このような阻止効果の低下は薬剤の種類によってもことなるが、DDP に代表されるとおり、Agar inoculum による接種では、他薬剤との効果の差異があまり顕著でない薬剤でも Leaf inoculum 接種に対する効果では明らかに区別しえた。また自然ほ場における接種源の役割りを果たしているとみられる感染花卉を接種した場合も、Leaf inoculum とほぼ同様の傾向を示した。したがって Leaf inoculum 接種は Agar inoculum より自然条件に近いものと考えられる。接種源を異にする場合の発病阻止効果の差異は、ほかの市販20種の薬剤についても、おおむね認められたが、その原

因については、1) 菌の寄生体通過による侵入力の増加、2) 罹病組織中に含まれると考えられる toxin⁹⁾¹⁰⁾ および酵素等による寄生体抵抗力の低下、あるいは接触面での薬剤の不活性化、3) 接種源の栄養条件の相異などを含めた広い意味での感染能力の差異にもとづくものと考えられる。また、DDP については、Vapour action が認められており⁹⁾、この種の薬剤に対しては、罹病組織中の菌糸よりも PDA 培地上の菌糸が、より薬剤の Vapour action を受けやすいことも相像される。これらの諸点については、今後さらに検討する予定である。

室内における発病阻止効果とは場における防除効果との相関を、接種源別に比較すると、Agar inoculum ではほとんど相関を示さないが、Leaf inoculum に対する効果はほ場効果とかなり高い相関を示した (Fig. 5)。これらの事実から、Agar inoculum による接種のみによって、その薬剤の発病阻止効果を判定することは、きわめて危険であって、自然ほ場における本病原菌の菌糸の感染能力はかなり高いことに留意すべきものと考えられる。また Leaf inoculum は感染花卉より感染能力がやや低い、これは接種源の大きさの相異によるものと思われ、さらに自然の感染条件に近づけるためには接種量 (接種源の大きさ) についても

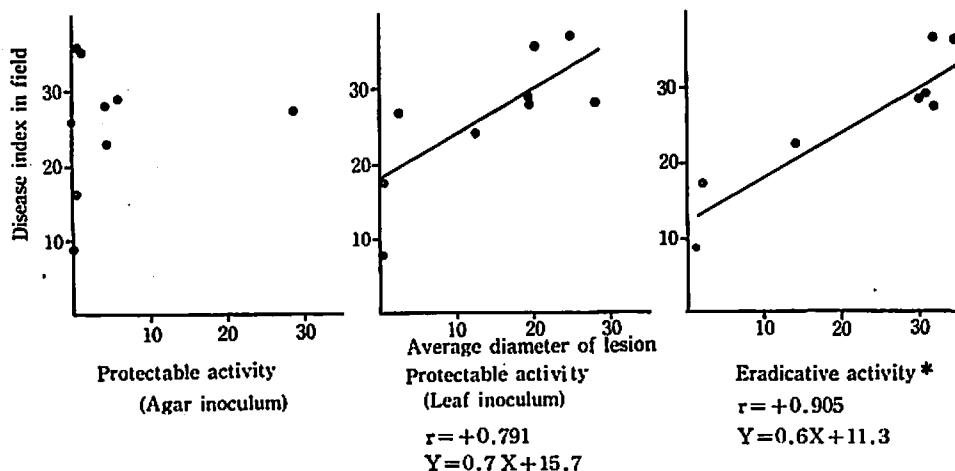
検討を必要とするものである。

次に、供試した薬剤のうち、Leaf inoculum に対する効果の高い薬剤は、病勢進展阻止効果も高い傾向を示した。高坂⁹⁾ は稲紋枯病菌に対する銅剤と水銀および砒素剤のソラメ切離葉上における効果特性を比較し、前者が主として菌糸侵入に対する保護的効果のみ高いことにくらべて、後2者が保護的ならびに治療的效果をあわせ示すことを明らかにしている。菌核病菌に対しての銅剤の効果は、ほとんど認められなかったが、稲紋枯病菌に対する銅剤のように保護的効果のみを有する薬剤の存在の可能性は否定できないが、この点については明かでない。

切離した菜豆の茎を用いて病勢進展阻止効果を見ると、葉における効果の高い薬剤 (例えば DCNA のような薬剤) でも効果がかなり低下する (未発表)。したがって、ほ場でも病勢のかなり進行した時期には、この効果はあまり期待できないものと考えられる。しかし本効果についても、ほ場効果との相関がかなり高いので (Fig. 5)、感染のごく初期、例えば、花卉感染あるいは葉における侵入および発病があまり進展していないような状態で効果が現われているとみなされる。

以上の論議から結論されることは、菜豆切離葉を用いた室内検定によって、豆類菌核病防除薬剤

Fig. 5 Relation of fungicidal value in laboratory to controlling value in field



*Average diameter at 41hrs
after application of fungicide.

のほ場における効果をかなり予測することは可能であるが、その場合発病阻止効果を判定するための接種方法については、本病の発生生態から考えて Leaf inoculum 接種が自然条件に近くかつ簡便な方法である。また実際場面において発現されているか否かについては疑問があるが、病勢進展阻止効果もほ場における防除効果との相関が高いことから、Leaf inoculum 接種に対する発病阻止効果とともに検討することが必要と考えられる。しかし、これらの方法で知りうるのは、ほ場における相対的な効果のみであるので、さらに Weathering に対する耐性等の効果持続性および薬剤の渗透移行性などについて検討し、総合的效果を判定する必要がある。

IV 摘 要

1. 豆類菌核病に対して、ほ場における防除効果の高い茎葉散布薬剤を室内で探索するため、菜豆切離葉を用いた薬剤検定法の適否について検討を行なった。

2. 切離葉に対する *Sclerotinia sclerotiorum* の接種法ならびに接種温度を検討した結果、子のう胞子接種は付傷等の処理を必要とし、かつ発病にかなり時間を要するので、菌糸状態での接種が適当であると考えられた。また、接種培養温度は 20°C が感染および進展に好適であり、切離葉に対する影響も少ないと思われた。

3. PDA 培地上の菌叢 (Agar inoculum) を接種源として薬剤の発病阻止効果を判定した結果はかならずしもほ場効果と一致しない。例えば DDP では Agar inoculum 接種に対する効果がかなり認められるが、ほ場における防除効果はほとんどみられなかった。このような薬剤は罹病葉組織片 (Leaf inoculum) を接種した場合、発病阻止効果が低下する。しかしほ場における防除効果の高い薬剤例えば DCNA, DCMO では Leaf inoculum 接種に対してもかなりの阻止効果を示した。

4. 供試薬剤の室内における発病阻止効果とほ場における防除効果との相関を接種源別にとると、Agar inoculum を接種した場合はほとんど相関がみられないが、Leaf inoculum 接種ではかな

りの相関を示した。

5. 自然ほ場で接種源の役割りをはたしていると考えられる感染花卉を接種した結果、Leaf inoculum とほぼ同様の傾向が認められた。したがって Leaf inoculum 接種は上にのべたほ場における防除効果との相関の高いという事実とともに、かなり自然条件に近いものと考えられた。

6. 切離葉上における病勢進展阻止効果も、ほ場における防除効果と高い相関を示した。

7. 以上の結果から切離葉を用いて Leaf inoculum に対する発病阻止効果ならびに病勢進展阻止効果を検討すれば菌核病に対する茎葉散布薬剤のほ場における防除効果をかなり正確に予測することが可能と考えられた。

引用文献

- 1) BALLANTYNE, B., 1964; Fungicidal control of *Sclerotinia* rot and grey mould of Lettuce. The Agric. Gaz. May, 1048-1050.
- 2) BECKMAN, K. M. and E. P. JACK, 1965; Fungicidal control of *Sclerotinia* wilt in green beans. Pl. Dis. Repr., 49: 357-358.
- 3) DÉMETRIADÉS, S. D., 1950; A substance toxic to plants secreted by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) Masse. Ann. Inst. phytopath. Benaki, 4: 27-33. (Rev. Appl. Mycol., 31: 30, 1952).
- 4) KEAY, M. A., 1939; A study of certain species of the genus *Sclerotinia*. Ann. Appl. Biol., 26: 227-246.
- 5) 高坂沖爾, 1961; 稲紋枯病に関する研究, 中国農業研究, 第20号.
- 6) LAURITZEN, J. I., 1932; Development of certain storage and transit disease of carrot. Jour. Agric. Res., 44: 861-912.
- 7) MCLEAN, D. M., 1958; Role of dead flower parts in infection of certain crucifers by *Sclerotinia sclerotiorum*. Pl. Dis. Repr., 42: 663-666.
- 8) 成田武四, 1966; *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de BARY による豆類, その他の作物の菌核病に関する研究総説, 北海道立十勝農業試験場資料, 第2号.
- 9) NETZER, D. and I. DISHON, 1967; Selective media to distinguish between two *Botrytis* species on Onion. Phytopathology, 57: 795-796.
- 10) 小河原進, 松浦 義, 1939; 菜豆菌核病に関する研究 (第1報) 福井県立農業試験場試験調査報告, 第2号.
- 11) OVERELL, B. T., 1955; A toxin in culture filtrates of *Sclerotinia sclerotiorum*. Aust. Jour. Sci., 14: 197-198. (Rev. Appl. Mycol., 32: 167, 1953).
- 12) PURDY, L. H., 1958; Some factors affecting penetration and infection by *Sclerotinia sclero-*

- tiorum*. *Phytopathology*, 48: 605-609.
- 13) RAMSEY, G. B., 1925; *Sclerotinia* species causing decay of vegetables under transit and market conditions. *Jour. Agric. Res.*, 31: 597-632.
 - 14) 斎藤 泉, 高桑 亮, 馬場徹代, 1966; マメ類菌核病防除薬剤の切離葉法による室内検定 (予報) ((講要)), 日本植物病理学会報, 32: 313.
 - 15) WEINSTEIN, L. H. and A. P. CLARK, 1962; Changes in free amino acid and amide levels of leaf pieces, detached leaves, detached plants, and intact plants of Tobacco at different times. *Contrib. Boyce Thompson Inst.*, 57: 795-796.

Summary

A laboratory method, using the detached leaves of Kidney bean, was employed in order to evaluate the effectiveness of fungicide for controlling Bean stem rot, caused by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de BARY. Especially the effect of a type of inoculum was investigated with respect to the availability for the screening test.

Inoculation with the fungus in mycelial stage was more suitable for the test than in the ascospore stage, because the ascospore could not invade directly into healthy leaf tissue without treatments such as addition of certain nutrients into spore suspension or wounding the leaves (Table 1).

Experiments on the fungicidal test were carried out on both the protectable and eradicated activity of test fungicides.

For protectable activity, three kinds of inoculum were compared for effects on fungicidal action; mycelial mat of *S. sclerotiorum* on PDA (Agar inoculum), infected leaf tissue of Kidney beans (Leaf inoculum), infected petals of the same host. The detached leaves were inoculated with each of inoculum mentioned above after application of fungicide by dipping and

air-drying. Treated leaves were then incubated at 20°C in moist chamber, and after 3 days the diameter of lesions were measured. The results showed that the protectable activity of certain fungicide (for example DDP) seemed to be high on detached leaves inoculated with agar inoculum, but on leaves inoculated with leaf inoculum (Fig. 2) or on leaves inoculated with the infected petals (Fig. 3) did not appear as valuable in the same concentration of the fungicide. The leaf inoculum on detached leaves reacted similarly to that of infected petals which may be considered as a model system of natural infection. The fungicidal value found in the laboratory test by leaf inoculum correlated with that in the field test, whereas no correlation was found between that of agar inoculum and the field evaluation (Fig. 5). On the basis of these facts it is suggested that leaf inoculum is suitable for evaluating protectable effects in laboratory screening.

To test the eradicated effects, detached leaves were inoculated with agar inoculum and incubated at 20°C in moist chamber. After 2 days, the detached leaves having the lesions appearing equally were treated with fungicide, then reincubated at 20°C in moist chamber. The enlargement of lesions were measured at definite times (Fig. 4). This activity of fungicide on detached leaves also correlated with the effects of the fungicide in field application (Fig. 5).

From the facts mentioned above, it is concluded that the protectable activity found on detached leaves inoculated with more aggressive inoculum such as infected leaf tissue, and eradicated activity of test fungicide on detached leaves may be important check points in laboratory screening to estimate the controlling value of the fungicide in the field.