

殺菌剤ベノミル施与が植物への VA 菌根菌の 感染及びリン吸収に及ぼす影響

俵谷 圭太郎・佐藤 寛*・我妻 忠雄
(山形大学農学部土壌学・肥料学研究室)
(平成3年9月2日受理)

Effects of Fungicide, Benomyl, on Vesicular-arbuscular Mycorrhizal Infection and Phosphorus Uptake of Plants

Keitaro TAWARAYA Hiroshi SATOH and Tadao WAGATSUMA
Laboratory of Soil Science and Fertilizer Science, Faculty of Agriculture,
Yamagata University, Tsuruoka 997, Japan
(Received September 2, 1991)

Summary

Effect of fungicide, benomyl, on indigenous vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and phosphorus uptake was studied in field with white clover, adzuki bean and maize growing in low or high available phosphorus. Vesicular-arbuscular mycorrhizal infection of white clover and adzuki bean was decreased with fungicide application. Phosphorus concentration of white clover and phosphorus uptake of adzuki bean and maize were decreased with fungicide application. In maize fungicide application reduced the growth of shoot at both phosphorus treatments, but in adzuki bean it reduced the growth without phosphorus treatment. The results suggest that indigenous vesicular-arbuscular mycorrhizal infection of white clover and adzuki bean is reduced by fungicide application and reductions of infection decrease the phosphorus uptake of those plants.

1. 緒 論

VA 菌根菌が高等植物の根に感染すると宿主植物のリン栄養が改善されることが知られている^{1,2)}。これは根の周りのリン欠乏領域を越えて、根の表面から数 cm の路離まで伸長した外生菌糸がリン酸を宿主へ輸送することによるものである³⁾。これらの研究の多くはポット実験で行われているが、圃場における土着の菌のリン吸収に及ぼす影響についてはほとんど明らかにされていない。これはポット実験の多くが殺菌土壌を用いて行われているのにたいして、圃場実験では土壌を殺菌できないため、他の生物の影響を排除できないことによるものである。一方、圃場において接種実験を行う際にはその土

壌に土着の菌の生態をあらかじめ明らかにする必要がある。すなわち VA 菌根菌の有無、種類、宿主へのリン吸収能などを調べた上で、土着の菌の利用あるいは新たな菌の導入を検討すべきである。

土着の VA 菌根菌が感染した植物に殺菌剤を葉面散布すると、感染と生育⁴⁻⁶⁾、リン吸収⁷⁻⁹⁾および微量要素吸収¹⁰⁾が低下することが報告されている。これらの研究はポットを用いて行われている。野外では FITTER¹¹⁾が野草に殺菌剤を葉面散布し感染とリン吸収を低下させたことを報告しているのみで、圃場における土着の菌の作物生育への影響はほとんど明らかにされていない。

我が国においては圃場において各種植物の根における

*：現在三井東圧化学株式会社 (Mitsui Toatsu Chemicals, Inc.)

VA菌根菌の感染が認められているが¹²⁾、それらのリン吸収に及ぼす影響については明らかにはされていない。

そこで本研究では可給態リン酸含量の低い黒ボク土にホワイトクローバ、アズキ及びトウモロコシを生育させ、殺菌剤を用いて土着のVA菌根菌の感染を調節することにより、この土壌中の菌のリン吸収への影響を明らかにした。

2. 実験方法

供試土壌

1990年5月から9月にかけて山形県東田川郡羽黒町川代の黒ボク土において圃場実験を行った。1986年まで未耕地であったところに無リン酸施与(-P)区とリン酸施与(+P)区を設け、+P区には毎年20g P₂O₅/m²となるように過リン酸石灰を施与した。栽培前の土壌中の可給態リン酸含量(STRUOG法)は-P区で0.4mg P₂O₅/100g、+P区で64.7mgであった。栽培前に土壌のpHが6.0となるように炭酸カルシウムを施与した。窒素は硫酸アンモニウムを20g N/m²、カリウムは硫酸カリウムを20g K₂O/m²となるようにそれぞれを全層に施与し

た。4年間過リン酸石灰を施与した+P区の可給態リン酸含量は栽培前に64.7mgであり、作物の生育には十分量であったため1990年にはリン酸質肥料を施与しなかった。

栽培

ホワイトクローバ(*Trifolium repens* L. 品種カリフォルニアラジノ)は1.5g/m²となるように条播し、アズキ(*Vigna angularis* L. 品種宝)は5粒、トウモロコシ(*Zea mays* L. 品種バイオニア3352)は4粒を株間30cmで播種した。畝間は60cmとし1区あたり各作物2列とし、2反復で栽培した。発芽後アズキは3個体、トウモロコシは1個体に間引いた。播種後33, 43, 73日目にペノミル(ベンレート水和剤0.5g/liter)を葉面散布した。

分析

植物体の採取は播種後23日目から10日毎に計7回行った。地上部は80℃で3日間通風乾燥後乾物重を測定した。ホワイトクローバは発芽にばらつきがあったため乾物重を測定しなかった。地上部は粉碎し、混酸(HNO₃ :

第1表 アズキおよびトウモロコシの地上部乾物重

播種後日数	地上部乾物重(g/個体)			
	-P-F	-P+F	+P-F	+P+F
アズキ				
23		0.184		0.166
33		0.218		0.625
43	0.409	0.32	1.03	1.13
53	0.847	0.482	1.71	1.45
63	1.19	1.30	6.07	3.38
73	1.13	1.40	10.8	7.57
83	1.50	2.12	10.7	9.13
トウモロコシ				
23		0.184		0.319
33		0.798		1.500
43	0.845	0.949	4.71	3.2
53	2.35	2.91	14.2	11.5
63	6.27	4.76	15.1	21.9
73	7.80	5.92	31.1	27.7
83	24.4	13.8	83.5	56.7

-P : リン酸無施与

+P : リン酸施与

-F : 殺菌剤無施与

+F : 殺菌剤施与

HClO₄:H₂SO₄=5:2:1) 中で湿式灰化後、バナドモリブデン酸イエロー法でリン含有率を測定した。

根は10% KOH 中で90℃で洗浄後、0.05% トリパンブルーで染色した¹³⁾。囊状体と樹枝状体の有無を光学顕微鏡で観察し、slide±法¹⁴⁾により VA 菌根菌感染率を測定した。

3. 実験結果

生育

リン酸施与によりいずれの作物の地上部乾物重も著しく増大した(第1表)。アズキの地上部乾物重は+P区では播種後53日目から殺菌剤施与区で無施与区より小さくなり、その差は73日目にもっとも大きかった(第1表)。-P区では73日目と83日目を除き殺菌剤施与区で無施与区より小さかった。

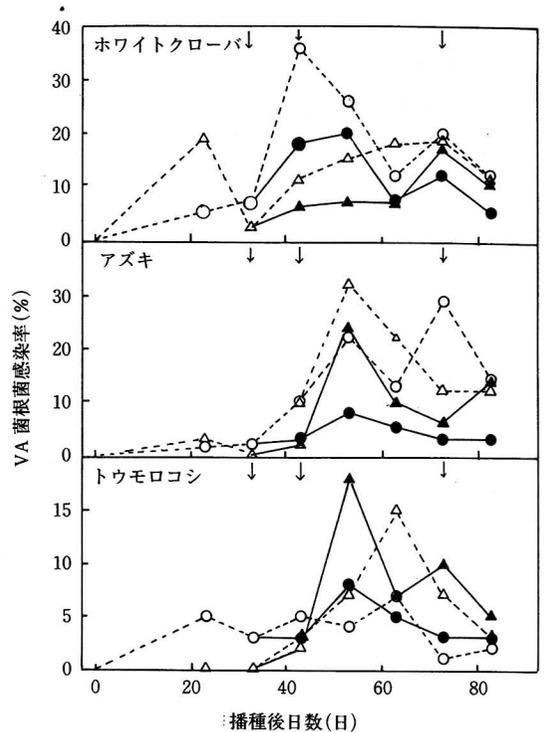
トウモロコシの乾物重は+P区では53, 73および83日目に殺菌剤施与区で無施与区より小さく、-P区で63日目を降殺菌剤施与区で小さかった(第1表)。

VA 菌根菌の感染

ホワイトクローバの VA 菌根菌感染率は-P, +P区とも殺菌剤施与により低下した(第1図)。また殺菌剤無施与区では播種後23日目を除き+P区で-P区より低かった。アズキの感染率は+P区の83日目を除き殺菌剤施与により低下した。トウモロコシの感染は43日目と63日目に-P, +P両区で殺菌剤施与により低下した。またホワイトクローバではリン酸施与により感染率が低下した。一方ホワイトクローバとアズキの根における根粒の形態には殺菌剤施与区と無施与区の間で差が認められなかったことから、ペノミルは根粒形成に影響を及ぼさなかったと思われる。

リン吸収

-P区ではいずれの作物も地上部リン含有率が0.1%前後で、地上部にはリン欠乏症がみられた。リン酸施与によりリン含有率は上昇した。ホワイトクローバの地上部リン含有率は-P区では播種後43日目を除き殺菌剤施与により低下し、+P区では43日目と73日目を除き殺菌剤施与により低下した(第2表)。アズキのリン含有率は-P区では43, 73及び83日目に殺菌剤施与により低下し、+P区では殺菌剤施与により上昇した。地上部リン吸収量は-P区では43, 53及び73日目に、+P区では63, 73及び83日目に+P区で殺菌剤施与により低下した。トウ



第1図 各作物の VA 菌根菌感染率

○…○: -P-P, ●…●: -P+F
△…△: +P-F, ▲…▲: +P+F
↓: 殺菌剤施与

モロコシのリン含有率は-P区では43, 53及び73日目に、+P区では43から73日目まで殺菌剤施与により低下した。リン吸収量は53日目の-P区を除き殺菌剤施与により低下した。

4. 考察

殺菌剤施与により全ての作物の VA 菌根菌感染率は低下し、低下の度合いは作物種により異なった。DODDとJEFFRIES¹⁵⁾は殺菌剤施与が孢子の発芽と感染に及ぼす影響を比較し、菌の種類によって薬剤への耐性が異なることを報告している。本実験を行った土壤中から数種類の *Glomus* 属菌が分離されているが、各作物に感染した菌は明らかにできなかった。従って作物種により VA 菌根を形成した菌が異なっていた可能性があり、これにより殺菌剤施与による感染度合いの低下が異なるとも考えられる。

NEMEC⁶⁾は11種類の殺菌剤を用いて、MANJUNATH⁸⁾

第2表 ホワイトクローバー、アズキおよびトウモロコシのリン含有率

播種後日数	地上部リン含有率(%)			
	- P - F	- P + F	+ P - F	+ P + F
ホワイトクローバ				
23		0.118		0.378
33		0.056		0.355
43	0.052	0.079	0.258	0.362
53	0.086	0.075	0.303	0.294
63	0.088	0.042	0.292	0.220
73	0.116	0.091	0.213	0.248
83	0.082	0.093	0.255	0.189
アズキ				
23		0.062		0.462
33		0.035		0.307
43	0.084	0.061	0.266	0.324
53	0.084	0.092	0.237	0.295
63	0.080	0.096	0.277	0.279
73	0.127	0.089	0.194	0.209
83	0.124	0.104	0.202	0.221
トウモロコシ				
23		0.116		0.499
33		0.119		0.326
43	0.088	0.068	0.379	0.369
53	0.058	0.056	0.309	0.276
63	0.085	0.091	0.219	0.124
73	0.085	0.08	0.158	0.147
83	0.075	0.104	0.216	0.227

- P : リン酸無施与 + P : リン酸施与
 - F : 殺菌剤無施与 + F : 殺菌剤施与

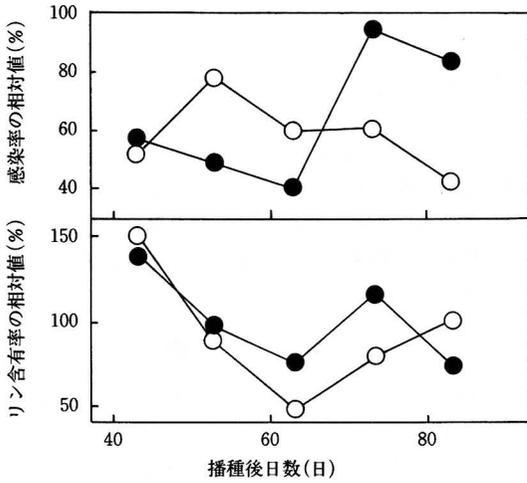
は5種類の殺菌剤を用いてVA菌根菌に対する殺菌効果を比較し、ベノミルの効果が大きいことを報告している。そこで本研究ではVA菌根菌の感染を低下させる殺菌剤としてベノミルを用いた。播種後33、43及び73日目の3回に分けて殺菌剤施与を行ったが、感染を完全に抑制することは出来なかった。

一方トウモロコシでは感染が全生育期間を通じて18%以下と低く推移した。根はホワイトクローバとアズキに比べて深く伸長したが、いずれの作物も深さ20cmまでの根を採取したため、生育中期以降にはほかの作物に比べて根の回収が不十分であったと思われる。したがって先端部位の感染を測定していない可能性も考えられる。このため殺菌剤による感染の低下がほかの作物に比

べて小さくなったとも考えられる。

ホワイトクローバは乾物重を測定しなかったのでリン含有率の結果から、ほかの作物はリン吸収量の結果から殺菌剤施与がリン吸収に及ぼす影響について考察する。ホワイトクローバでは播種後53日目以降殺菌剤施与により地上部のリン含有率は低下し、-P区で低下の度合いが大きく、播種後63日目には無施与区の50%であった(第2図)。地上部乾物重は測定することができなかったが、殺菌剤施与区と無施与区の地上部生育の間に顕著な差は認められなかったことからリン吸収量もリン含有率と同様の傾向を示すと推察される。

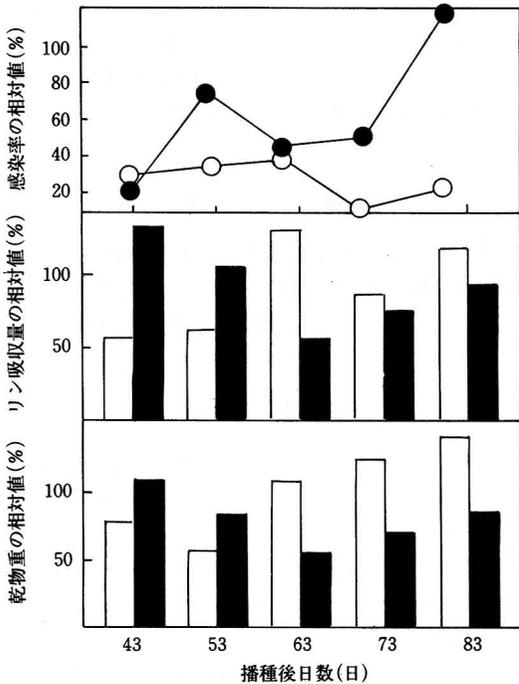
一方 VERKADE⁴⁾は殺菌土壌に生育させた *Liriodendron tulipifera* にベノミルを葉面散布し、リン吸収には



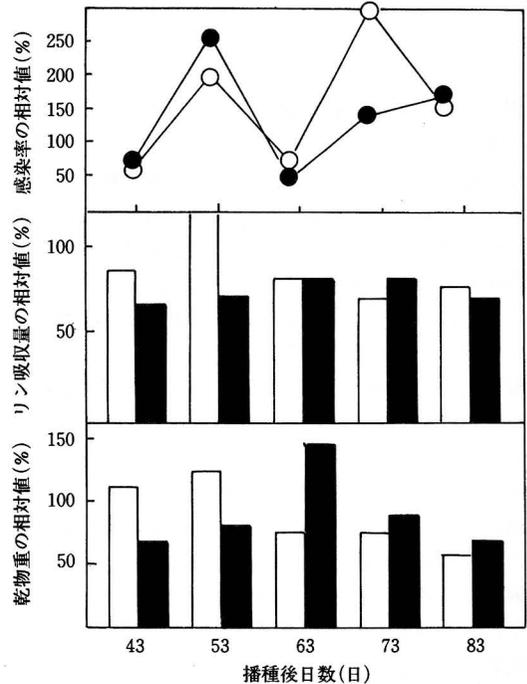
第2図 ホワイトクローバの感染率およびリン含有率の相対値
 -F区を100としたときの+F区の値
 ○—○：-P，●—●：+P区

影響を及ぼさなかったと報告している。ペノミルがホワイトクローバ、アズキおよびトウモロコシの根の生長に及ぼす影響については検討していないが、殺菌剤施与区の地上部および根部には葉害などの症状は認められなかったことから、本実験で用いたペノミル濃度は根の生長に直接影響を及ぼさなかったと思われる。

アズキでは殺菌剤施与により-P区では43, 53および73日目に、+P区では63, 73, 83日目にリン吸収量が低下した(第3図)。感染は+P区の83日目を除き殺菌剤施与により低下していることから、感染の低下によりリン吸収が感少したと考えられる。一方各採取時の間のリン吸収速度をとると-P区では播種後53から63日目と73から83日目に、+P区では53から63日目にリン吸収速度が殺菌剤無施与区で施与区より低くなり、感染の低下が短時間にリン吸収の低下となって現れていない場合も認められた。今後葉面散布の時期および回数を変えて感染の低下がリン吸収に現れる時間について検討する必要がある。地上乾物重についてみるとリン吸収と同様の傾向を



第3図 アズキの感染率、リン吸収量および乾物重の相対値
 -F区を100としたときの+F区の値
 ○—○，□：-P区，●—●，■：+P区



第4図 トウモロコシの感染率、リン吸収量および乾物重の相対値
 -F区を100としたときの+F区の値
 ○—○，□：-P区，●—●，■：+P区

示した。殺菌剤施与により-P区では43と53日目に、+P区では53日以降に地上部の生育は低下した。リン酸以外の養分については測定していないがアズキにおける殺菌剤施与による初期生育の低下はリン吸収の低下によるものと考えられる。

トウモロコシでは殺菌剤施与により-P区の53日目を除き殺菌剤施与によりリン吸収量は低下した(第4図)。また地上部の生育は-P区では63日目以降、+P区では63日目を除き殺菌剤施与により低下した。一方前述の理由で感染には差がなかったため、トウモロコシにおける感染がリン吸収に及ぼす影響は明らかにできなかった。

これらのことから本実験を行った黒ボク土壌に土着のVA菌根菌はホワイトクローバおよびアズキの根に感染し、これらの根におけるリン吸収に寄与していることが示された。さらにホワイトクローバにおいてはリン酸欠乏下において寄与の度合いが大きかったことから、低リンストレスでのVA菌根の重要性が確認された。

ホワイトクローバとアズキの根における感染に対する殺菌剤の施与効果を比較すると、いずれの植物も播種後43日目に殺菌剤施与により感染が低下し、低下の度合いは-P区、+P区ともにアズキで大きかった(第2, 3図)。この理由として、①ホワイトクローバとアズキの根に感染した菌の種が異なるため、これらのベノミルへの耐性が異なること、②宿主植物の根のVA菌根菌-宿主植物境界面に対するベノミルの作用機構が異なることが考えられる。前者については本実験では根に感染した菌の種を同定できなかったため、各植物の根から土着の菌を分離し殺菌剤への耐性を明らかにする必要がある。後者についてはベノミルの作用機構の作物種間差について検討する必要がある。

殺菌剤施与はホワイトクローバのリン含有率を播種後53日目以降に、アズキのリン吸収量を43日目以降に低下させた。これは43日目における感染の低下の度合いがアズキでホワイトクローバに比べて大きかったことによると思われる。このことからアズキの生育初期における感染の著しい低下(70%)は短時間(10日以内)にリン吸収を抑制したと考えられる。また生育後期においては殺菌剤施与による感染率の低下の度合いに比べてアズキのリン吸収量とホワイトクローバのリン含有率の低下の度合いが小さいが、これは根がある程度伸長したためVA菌根に対するリン吸収の依存度合いが小さくなったことによるものと考えられる。

ベノミルのほかに多くの種類の殺菌剤がVA菌根菌

の感染を低下させることが知られている¹⁶⁾。これらの薬剤は病原菌を防除する目的で一般的に施与されているが、VA菌根に対するリン吸収の依存が大きい作物への施与は病害を軽減させるだけでなく、リン吸収を抑制させることも考える必要がある。現在までのところVA菌根菌以外の菌にたいして効果のある選択性殺菌剤は開発されていないため、可給態リン酸が低い土壌に生育している作物への殺菌剤の使用はこのことを考慮して行うべきである。

5. 要 約

殺菌剤ベノミルを用いてホワイトクローバ、アズキおよびトウモロコシの根におけるVA菌根菌の感染を調節することにより、黒ボク土壌に土着のVA菌根菌がリン吸収と生育におよぼす影響について明らかにした。殺菌剤施与によりホワイトクローバとアズキのVA菌根菌感染率は低下し、低下の度合いは-P区で大きかった。殺菌剤施与によりホワイトクローバのリン含有率、アズキとトウモロコシの吸収量が低下した。さらにアズキの-P区とトウモロコシでは殺菌剤施与により地上部の乾物重が低下した。これらのことからホワイトクローバ、アズキおよびトウモロコシの根に感染した土着のVA菌根菌は宿主植物のリン吸収に寄与していることが示された。

謝 辞

本報告の一部は平成2年度文部省科学研究費補助金(課題番号02660061)の援助を受けた。また圃場実験を行うにあたっては月山ろく土地改良区の菅井清雄氏にご協力いただいた。ここに深く感謝いたします。

引用文献

- 1) GERDEMAN, J. W. : Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 6, 397-418(1968)
- 2) MOSSE, B. : Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 11, 171-186(1973)
- 3) RHODES, L. H. and GERDEMANN, J. W. : Phosphorus uptake zones of mycorrhizal and non-mycorrhizal onions. *New Phytol.*, 75, 555(1975)
- 4) VERKADE, S. D. and HAMILTON, D. F. : Effects of benomyl on growth of *Liriodendron tulipifera* L.

- seedlings inoculated with the vesicular-arbuscular fungus, *Glomus fasciculatus*. *Scientia Horticulturae* 21, 253-260(1983)
- 5) BAILEY, J. E. and SAFIR, G. R. : Effect of benomyl on soybean endomycorrhizae. *Phytopathol.* 68, 1810-1812(1978)
- 6) NEMEC, S. : Effects of 11 fungicides on endomycorrhizal development in orange. *Can. J. Bot.* 58, 522-526(1980)
- 7) HALE, K. A. and SANDERS, F. E. : Effects of benomyl on vesicular-arbuscular mycorrhizal infection of red clover and consequences for phosphorus inflw. *J. Plant Nutrition*, 5, 1355-1367(1982)
- 8) MANJUNATH, A. and BAGYARAJ, D. J. : Effect of fungicides on mycorrhizal conlonization and growth of onion. *Plant Soil*, 80, 147-150(1984)
- 9) GNEKOW, M. A. and MARSCHNER, H. : Influence of the fungicide pentachloronitronenzen on VA-mycorrhizal and total root length and phosphorus uptake of oats. *Plant Soil*, 114, 91-98(1989)
- 10) FITTER, A. H. and NICHOLS, R. : The use of benomyl to control infection by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.*, 110, 201-206(1988)
- 11) FITTER, A. H. : Effects of benomyl on leaf phosphorus concentration in alpine grasslands : a test of mycorrhizal benefit. *New Phytol.* 103, 767-776(1986)
- 12) 俵谷圭太郎・但野利秋・田中 明 : 北海道における作物の VA 菌根菌感染状態, *土肥誌*, 56, 141-146(1985)
- 13) PHILLIPS, J. M. and HAYMAN, D. S. : Improved procedures tor cleaning and stining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 55, 158-160(1970)
- 14) GIOVANETTI, M. and MOSSE, B. : An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.*, 84, 489-500(1980)
- 15) DODD, J. C. and JEFFRIES, P. : Effect of fungicides on three vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with winter wheat. *Biol. Fertil. Soils*, 7, 120-128(1989)
- 16) MENGE, J. A. : Effect of soil fumigants and fungicides on vesicular-arbuscular fungi. *Phytopathol.*, 72, 1125-1132(1982)