



Title	土壌中よりの Rhizoctonia solani 分離法の比較
Author(s)	宇井, 格生; 生越, 明
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 5(1), 5-16
Issue Date	1964-06-25
Doc URL	<a href="http://hdl.handle.net/2115/11730">http://hdl.handle.net/2115/11730</a>
Type	bulletin (article)
File Information	5(1)_p5-16.pdf



[Instructions for use](#)

# 土壤中よりの *Rhizoctonia solani* 分離法の比較

宇井格生 生越 明

(北大農学部植物学教室)

## A comparison of techniques for isolating *Rhizoctonia solani* from soil

By

Tadao UI and Akira OGOSHI

Faculty of Agriculture  
Hokkaido University  
Sapporo, Japan

### I. 緒 言

*Rhizoctonia solani* が KÜHN (1858) により発見されてから、既に一世紀以上経過し、その間、この菌による植物の各種病害が知られ、それらについて多くの研究が行なわれて来た。然しながら、これら研究の大部分は、菌の寄生相における生態、或いは *in vitro* での生理的研究が大部分であって、土壤中における生態、特に腐生相とみなされる場面の研究は極めて少ない。この分野における研究は、BLAIR (1943) が、硝子管につめた土壤中の菌糸の行動を検討し、腐生的生育の可能性を示唆し、又 GARRETT (1956) が *R. solani* を他の土壤微生物との競争に耐え、土壤中での腐生的生活を営むことの出来る菌類の一つと記してからである。このように *Rhizoctonia solani* の土壤中における生態に関する研究が比較のおくれているのは、この菌を土壤中から分離する方法、或いは土壤中の密度、activityなどを測定する適当な方法がないことも一つの原因である。すなわち、一般の土壤微生物、特に細菌、カビ類の分離、定量には稀釈平板法が用いられ、これを有力な手段として研究が進められて来たのに対して、土壤中に多数存在する担子菌類、その他、菌糸の状態で生活する菌類は稀釈平板上に菌叢を形成しないので、この方法を利用することが全く出来ない。そのため *Rhizoctonia* のように、土壤中で菌糸が active な活動をし、植物地下組織に寄生する菌の分離、定量は稀釈平板法以外の手段によらねばならず、このため、新しい方法もいくつか発表されている。

WARCUP (1960) は、土壤中のカビの分離法を綜説し、その中で、土壤中の菌糸生育菌を分離する方法として、

土壤平板法 (soil plate)、埋没管法 (immersion tube)、埋没平板法 (screened immersion plate)、撰択法 (selected method)、或いは根よりの分離などの各種方法を挙げている。このような方法のいずれかを用いて土壤中から菌を分離し、或いはこれに基づいて菌の定量を試みているものは多いが、これら方法を同時に比較しその価値を検討したものは少なく、特に *Rhizoctonia* についての比較は殆んど見られない。

そこで、筆者らは、これら方法のうち、代表的な数種について、同一条件で比較を試みて、その長短を検討しこのうちから圃場の土壤について *Rhizoctonia solani* を最も迅速、かつ簡便に分離することが出来、さらに菌の定量的研究にも応用しうる方法を明らかにしようと試みた。

この研究を行なうに当り、多くの援助を与えられた植物学教室各位、特に三井康氏並びに論文の校閲を頂いた栃内吉彦博士に深甚な感謝の意を表す。

### II. 用いた方法

土壤中より *R. solani* を分離する方法として次の5種を比較した。また、これと対照して、Rhoosi-Cholodny法により土壤中の菌糸密度をも調査し、さらにアマの発病率も検討した。

i. 稀釈平板法 供試土壤 10 g について、常法により稀釈を行ない、PSA (馬鈴薯蔗糖寒天培養基) 上の菌叢を調査した。数段階の稀釈倍率で菌の分離を行なったが *R. solani* は分離されなかった。なお、稀釈にはゼヒロロ・ストレプトマイシン 10,000 倍水溶液を用いた。

ii. 土壤平板法 WARCUP (1960) の用いた方法を少

しく改変したもので、土壌8~10 mgを殺菌シャーレに入れ、これに固化寸前の乳酸酸性PSAを注加し、攪拌した。25°Cで3~7日間培養したのち、生育して来る菌の種類、菌叢数を調査した。

iii. ホール・スライド法 LA TOUCHE(1948)の用いた方法で、2枚のホール・スライドの凹部に酸性PSAを入れ、凹部を互いに向い合せて密着せしめ、クリップで固定して土壌中に垂直に立てる。1週間後にこれを取り出し中の寒天を4分してこれを新たなPSA平面培地上に移植し、菌類の同定を行なう。

iv. 埋設管法 CHESTERS(1940)の埋設管法をMUELLER及びDURRELL(1945)が改良しSampling tubeと称したものをを用いた。ただし、管は硬質ガラス試験管で代用し、これに5 mmの小孔8個をあけ、耐熱ビニールテープを巻いたのち、酸性PSAを充し、綿栓をしてから常法通り殺菌した。殺菌した針で小孔をあけ直ちに土壌中へ挿入する。土壌中に2~4日間保ったのち、孔より寒天培地上へ伸長した菌を分離する。

v. アマ茎 trap 法 草丈20~50 cmに生育したアマを抜き取り、葉を除き、太さ一定の部分約2 cmの長さに切断した。これを表面殺菌、あるいは加圧殺菌の何れかを施したのち、供試土壌中の深さ2~4 cmの部分に挿入した。一定期間後、これを取り出し、サラシ粉、或いは次亜塩酸ソーダ水溶液で常法に従って表面殺菌しPSA平板上におき、伸長する菌の種類と、その頻度を調査した。また、この他、上記アマ茎片100本をコルペン中に入れ、これに土壌100 gを入れ充分混合したのち、恒温器内に保って、2~4日後に、アマ茎上にcolonize

した菌類の分離を行なった。

vi. スライド法 Contact slide 法、或いはRossi-Cholodny 法とも称せられる方法を、BLAIR(1945)のやり方に略々準じて応用した。スライド硝子は一週間土壌中に垂直に挿入し、火焰で固定、或いはそのまま、アニリン青で染色したのち、付着している*R. solani*の菌糸片数を数えた。

用いた土壌は主として北大農学部付属植物園の植壇土で、湿度を土壌保水力の35~55%に保った。土壌pH 6.6であった。

供試 *Rhizoctonia solani* は、北大農学部植物学教室保存菌株中、F-1(亜麻立枯より分離)、B-5(てん菜根腐病罹病部より分離)およびP-17(馬鈴薯幼芽の被害部より分離)3菌株のうちから、適宜使用した。

### III. 実験結果

#### 1. 分離法の比較 (I)

土壌を50×30 cm、深さ30 cmの木箱に充し、そのまま1時間加圧殺菌(1.4 kg/cm<sup>2</sup>)して、*Rhizoctonia solani*の菌糸を接種した。接種源は、予め大麦粒に培養し、その50粒をワーリング・ブレンダーでホモジナイズしたものをを用いた。接種土壌は充分攪拌したのち、1週間硝子室内におき、その後アマを播種し、又各方法により菌の分離、密度の測定並びにアマ苗立枯率の調査を行なった。供試菌株は、F-1、B-5、及びP-17で、各区3個の木箱を用いた。

最初の実験終了後、土壌を攪拌し、再び前と同じ実験を繰り返し、この結果を第1表中の第2回と示した欄に

Table 1. 分離法による *R. solani* 分離率の比較  
Comparison of techniques for isolating *R. solani* from inoculated soil.

供試菌株 Isolates inoculated	<i>R. solani</i> 分離率 Isolation ratio of <i>R. solani</i>							発病率 Disease index (%)	
	稀釈 平板法 Dilution plate (%)	土壌 平板法 Soil plate (%)	ホールス ライド法 Slide trap (%)	埋設管法 Immersion tube (%)	アマ茎 trap Flax trap		スライド法 Contact slide 付着菌糸数 No. of fragments of the hyphae		
					加圧 殺菌茎 Autoclaved stem pieces (%)	表面殺菌 Surface sterilized stem pieces (%)			
F-1	第1回	0	0	25.0	6.3	73.3	46.7	19.7	21.6
	第2回	0	3.0	10.0	3.7	80.0	80.0	14.5	12.3
B-5	第1回	0	0	33.0	16.7	80.0	86.7	32.5	32.2
	第2回	0	2.0	0	3.7	86.7	73.3	4.8	9.0
P-17	第1回	0	0	16.8	14.6	86.7	46.7	13.1	38.9
	第2回	0	3.0	10.0	10.0	86.7	80.0	15.3	6.3

記した。これら実験の結果は第1表に総括したが、分離法中の値は、総て百分率で現わしたもので、その算定の基礎となるものは次の通りである。すなわち、アマ茎 trap 法では、土壤中に挿入したアマ茎片のうち、分離培地上に、*R. solani* が再分離された茎の数の割合であり、埋没管法の値は、*Rhizoctonia* の分離された小孔総計の全小孔数に対する百分率である。ホール・スライド法の値は、12組のスライドについて分離を試みた結果、*R. solani* の分離された百分率を示した。土壤平板法は計30 mgの土壤について分離を試みた結果、全分離菌数に対する *R. solani* の割合である。スライド法の結果は、各区30枚のスライドについて、その表面に付着した *R. solani* 菌糸片数を数え、1枚当りに平均した数である。

この結果から明かなように、稀釈平板法により *R. solani* は全く分離されず、土壤平板法では、第1回の実験で、3菌株何も分離し得なかったのに対し、第2回目には、3菌株とも分離されたがその率は極めて低かった。

埋没管、ホール・スライド何れの方法も、中に入れたPSA上に *R. solani* が伸長していて、再分離することも出来るが、*R. solani* よりも速かにPSA上で繁殖するカビ類が多く、*R. solani* の分離される割合は6~30%で、分離率は比較的低かった。両法を比較すると、ホール・スライド法の方が分離率はやや高かった。アマ茎 trap 法は、trap 材料であるアマ茎の表面殺菌のみしたもの、或いは加圧殺菌したものの何れからも他の方法で見られないような高い頻度で *R. solani* が分離され、分離率の最も低い場合でも、約半数のアマ茎からこの菌を分離する

ことが出来、多い場合には90%以上に達した。材料のアマ茎殺菌処理のちがいによる菌の分離率の差を見ると、加圧殺菌した茎の方がやや勝った場合が多い。

第1回目の実験終了後、続いて行なった第2回の実験の結果は、前回の結果と略々同じで、最大の分離率はアマ茎 trap で見られ、ホール・スライド法がこれに次いだ。前回と異なる点は、土壤平板法により少ないながらも *R. solani* が常に分離されたことである。

第1回、第2回と繰り返した実験の結果を見ると、アマ茎 trap 法と他の分離法、あるいは slide 法、発病率との間に著しい差が見られる。すなわち trap 法では、第1回、2回の間に分離率の差はないが、或いは逆に第2回目の方が trap 率の増加する傾向を認めたのに対し、他の方法では何れも第2回目の方が *R. solani* の分離数が減少している。スライド法による菌糸付着量の多寡を各菌株間で比較すると、第1回目はB-5が多く、F-1、P-17はこれより少なかった。第2回目は、B-5は著しく少なくなり、F-1及びP-17では前回と大差なかった。この結果については、此処に何等論ずき材料はないがあとで行なった実験の結果から見るとアマ茎 trap 法にとっては接種源量が過剰であることは確かである。

2. 分離法の比較 (2)

各分離法を更に確かめるため、前と同様の実験を、菌株F-1及びB-5について行なった。ただし、接種源としては、前回と同じ菌糸ホモジネートの他に、大麦に培養したものをそのまま土壤に混入して、接種源の形状のちがいによる分離率の差も検討した。

実験の結果は、第2表に総括した。この実験で、前回

Table 2. 分離法による *R. solani* 分離率の比較  
Comparison of techniques for isolating *R. solani* from inoculated soil.

供試菌株及び 接種源の状態 Isolate inoculated & type of inoculum	<i>R. solani</i> 分離率							発病率 Disease index (%)
	稀 釈 平 板 法 Dilution plate (%)	土 平 板 法 Soil plate (%)	埋設管法 Immersion tube (%)	アマ茎 trap 法 Flax trap		スライド法 Contact slide 付着菌糸数 No. of fragments of the hyphae		
				加 圧 殺 菌 茎 Autoclaved stem pieces (%)	表面殺菌茎 Surface sterilized stem pieces (%)			
F-1 { 菌糸ホモジネート mycelium 大麦培養粒菌 grain inoculum	0	0.7	14.3	66.7	90.0	15.0	55.8	
	0	0	0	40.0	80.0	5.9	44.3	
B-5 { 菌糸ホモジネート mycelium 大麦粒培養菌 grain inoculum	0	1.0	0	40.0	0	1.1	10.7	
	0	0	0	60.0	0	2.6	18.8	

と著しく異なった点は、菌株 B-5 の分離率及び発病率が著しく低かったことである。これは第 1 回目の実験期間に比べ、第 2 回目では気温が著しく低く、既に報告した如く (宇井, 1960), B-5 のように高温下で生育、発病の良好な菌にとっては条件が不適であり、逆に F-1 の如き低温で activity の低下しないものにあつては、その生育、寄主の侵害共に正常な状態にあつたものと認められる。

このような原因が、今回の実験、特に B-5 接種土壌における分離率の不良を来し、trap 法における結果にも混乱を来したものと考えられる。他の何れの方法でも菌は殆んど得られず、スライド法の菌糸付着率も、寄主の発病率とともに前回に比べると著しく低かった。

接種源のちがひによる菌の分離適否を見ると、菌糸ホモジネートを接種した土壌の方が、菌の分離は容易であり、大麦粒培養菌を接種源としたとき、土壌平板でも埋設管でも本菌は分離し得なかつた。然し乍ら、trap 法を見ると、このように他の方法での分離状態が全く悪いときでも、加圧殺菌したアマ茎を用いたときには、菌の分離率は極めて高く、この方法は、使用出来る部面の広いことがうかがわれる。

これら、1, 2 の実験から総括されるところは、土壌中の *R. solani* の分離はアマ茎 trap 法を用いると常に確実に行なう事が出来、スライド法も、菌の土壌中における活動がある程度推測するために利用しうるものである。

### 3. 各分離法により得られるカビの種類と割合

各種分離法を用いて、土壌中の *R. solani* の分離を行なうとき、他のカビが多数 *R. solani* と同時に分離される。前節 2 と同じ 4 種類の方法で分離実験を行ない、その結果得られた各種菌の種類、並びにそれらの分離率をそれぞれ、第 3 表及び第 1 図に示した。なお、カビ類として *Rhizopus* 及び *Mucor* を一まとめとし、これと *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium* について検討を行ない、他の各種菌類は分離数も少ないのですべて一括して其の他のカビに含めた。

これらの結果から、何れの方法でも分離されるカビの種類は、*Mucor*, *Rhizopus*, *Trichoderma* 及び *Penicillium* であった。これらは何れも土壌中で孢子を形成すると云われるものである。供試土壌は、前に記したように加圧殺菌したものであるが、大型の箱につめたまま加熱したので極めて不完全な部分殺菌であり、更にこの土は *Rhizoctonia* の接種時に攪拌して、その後 1 週間、硝子室に放置したから、これら雑菌の繁殖にはむしろ好適な条件下にあつたとも云える。実験 (1) 及び (2) の分離法の結果で記したと同じく、第 3 表及び第 1 図からも明かなように *Rhizoctonia solani* の分離率は trap 法で極めて高い。各種カビ類の得られた割合を、各分離法について見ると、次のような傾向が明らかである。すなわち、稀釈平板法では、*Rhizopus* 及び *Mucor*, *Trichoderma*

Table 3. 各分離法によって分離されたカビの種類と分離数  
Quantitative data concerning the fungi isolated by various techniques from the soil inoculated with *R. solani*.

Inoculum	分離法 Technique for isolation	分離数 Number of isolated fungi					
		<i>Rhizopus</i> & <i>Mucor</i>	<i>Tri-</i> <i>choderma</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>R. solani</i>	Others
F-1	稀釈平板法 Dilution plate	58	25	60	2	0	33
	土壌平板法 Soil plate	208	15	66	10	2	5
	埋設管法 Immersion tube	46	13	1	6	8	12
	アマ茎 trap 法 Flax trap	4	0	0	3	31	1
B-5	稀釈平板法 Dilution plate	20	26	18	3	0	10
	土壌平板法 Soil plate	45	14	21	6	1	5
	埋設管法 Immersion tube	45	24	4	5	0	14
	アマ茎 trap 法 Flax trap	2	9	0	5	9	6

並びに *Penicillium* が最も多く、F-1、B-5 各菌株接種土壤ともに、全分離菌の 80% をこれらのカビ類が占めている。土壤平板法では、これらカビ類の全分離菌類に

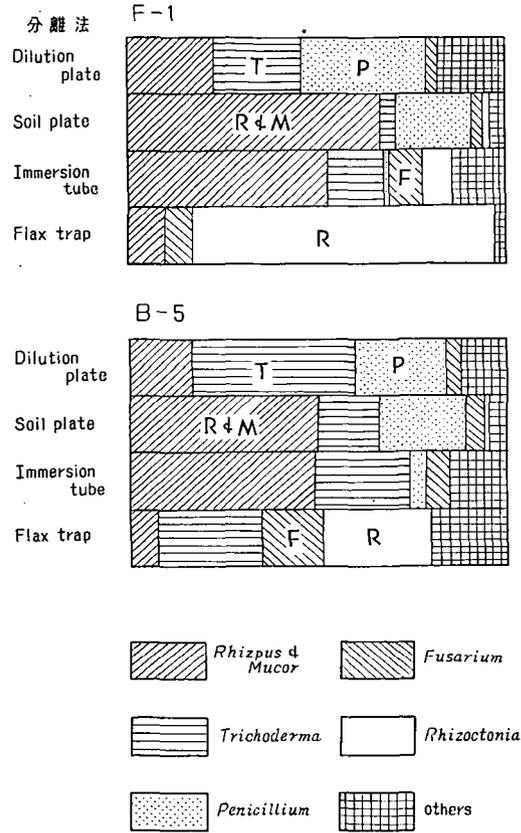


Fig. 1. 各分離法により分離されたカビの種類とその割合  
Comparative ratio of the fungi isolated from soil in each technique.

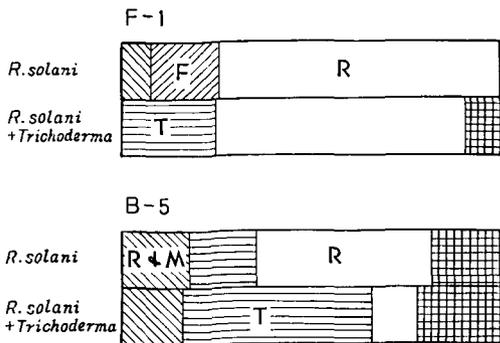


Fig. 2. アマ茎 trap よりの *R. solani* 分離に及ぼす *Trichoderma* の影響  
The influence of inoculated *Trichoderma* on the colonization of *R. solani* on the flax trap.

対し占める割合は更に増加し、約 90% となる。この中、*Trichoderma* は減少しているが、逆に *Rhizopus* 及び *Mucor* が著しく増加した。埋没管法では、これら 3 群のカビ類の割合は 70% であり、前 2 法よりやや減少している。この減少は、*Penicillium* の減少によるものである。*Rhizoctonia solani* は、F-1 菌株接種土壤でのみ分離され、その分離率は 9.3% であった。他の 3 分離法に比べアマ茎による trap 法の著しい特色は、既に記したように *Rhizoctonia solani* の分離率が極めて高く、F-1 区では約 80%、B-5 区では 29% のアマ茎から分離されている。*Fusarium* も両区でそれぞれ 7.7%、16.2% 分離された。これら両菌の分離が増加したのに反し、*Rhizopus* 及び *Mucor* は著しく減少し、10% 内外にすぎず、*Penicillium* は全く分離されなかった。*Trichoderma* は F-1 区で見られなかったが、B-5 区では約 30% の分離率であった。

このように、アマ茎 trap 法の特色は *Rhizoctonia solani* の分離率が高く、アマ茎に対する *Penicillium* の colonization が起らないこと、あるいは colonize するとしても *Rhizoctonia* よりもその速さがおそいこと、また *Rhizopus* 及び *Mucor* のような雑菌の colonization の少ないことが主な点である。F-1 及び B-5 菌株接種土壤を比較して、F-1 区の方が分離率の高いのは、F-1 は低い温度でも速く生育し、病原性も強く、土壤中におけるこの菌株の activity が 20°C 前後となっても低下しないのに対して、B-5 は 25°C 以上の気温、土壤温度のとき activity が高く、温度がそれよりも低下すると activity が急激に衰えることが大きな原因と考察される。*Trichoderma* の分離率は、F-1 区と B-5 区とで著しく異なったが一般に *Rhizoctonia* の分離率と反比例していることから、*Trichoderma* は *R. solani* の colonization に何らかの悪影響を及ぼすことも考えられる。そこで *Trichoderma* を *R. solani* 接種と同時に、土壤中に混入し、この土壤について trap による分離を試み、分離菌類の割合を調べた。接種源として、*R. solani* の F-1 及び B-5 両菌株を大麦粒に培養したものをそれぞれ用い、同時に前の実験で分離した *Trichoderma* sp. を 9 cm のシャーレに培養したもの 1 枚ずつ、土壤に混入した。土壤、その他の条件は前の実験と全く同様である。

この結果は、第 2 図に示した通りである。この図から *Rhizoctonia* のみを接種したもので、前の実験結果と同じで、F-1 菌株接種土壤では *Trichoderma* は trap からは分離されず、B-5 菌株区のみ、16% 分離されたが、その割合は前の実験よりもやや低かった。*Trichoderma*

と *R. solani* を同時に接種した土壌では、*Trichoderma* の分離率は増加し、B-5 区では 50% に達し、*Rhizoctonia* は逆に 12% と約 1/4 に低下したが、F-1 区では、*Trichoderma* は 25% も分離されたが *Rhizopus* 及び *Mucor* 並びに *Fusarium* が全く分離されず、*R. solani* の分離率の低下はわずか 6% にすぎなかった。

*Trichoderma* sp. はスライド法の試験に於て、しばしば *R. solani* の菌糸にまつわりつき、培養中にも、*R. solani* の生育を抑制していることが観察された。また *Trichoderma* の中には、*Rhizoctonia* に寄生し、その生育を抑制して、発病を低下させることも報告されている (WEINDLING 1932, 34)。然しながら、この分離実験の結果からは、*Trichoderma* がアマ茎に対する *Rhizoctonia* の colonization を抑制するのは、B-5 菌株に対してのみ、すなわち activity の低下している菌株にのみ認められた。

#### 4. 添加物を加えた土壌における *Rhizoctonia solani* 分離率の比較

土壌に植物遺体を加えたとき、*Rhizoctonia* による植物の発病が、遺体の種類によって抑制され、或いは促進されることは、既にいくつかの実験で明らかにされている所である (SANFORD, 1947, DAVEY & PAPAVIDAS, 1960)。このような土壌に対して、アマ茎 trap により *R. solani* の分離を行なうとき、分離率は如何に変わるかを知るため次の実験を試みた。

既に使用したと同じ大きさの木箱に、それぞれ、菜豆、燕麥の成熟した茎を乾燥し、細片としたもの 20 g ずつを各々木箱の土壌に混入し、また別にこの両者を等量ずつ混ぜたもの 20 g を混入した。木箱を準備し、その後土壌に充分灌水してから、一週間硝子室内において、*R. solani* 菌株 F-1 を接種した。更に *Trichoderma* の影響を見るため、これらと同じ処理を行なった別の土壌に、*Trichoderma* sp. の平面培養を、1 箱につき 9 cm のシャーレー一枚を病原菌接種時に添加して、土壌とよく混和した。

trap の材料は、加圧殺菌したアマ茎を使用し、スライド法による菌糸密度の測定も行なった。

この結果は、第 3 図に示した。これより明らかなことは、燕麥稈を添加した土壌では、*R. solania* の trap 率は低く、菌糸密度も少ないのに対し、菜豆茎添加区は、分離率が著しく高くなると同時に、菌糸密度も増加した。*Trichoderma* 添加により *R. solani* の分離率は殆んど変化せず、*R. solani* のアマ茎への colonization に対する *Trichoderma* の抑制作用、特に F-1 に対するものは、本実験全体を通じ考えに入れなくてもよいようである。

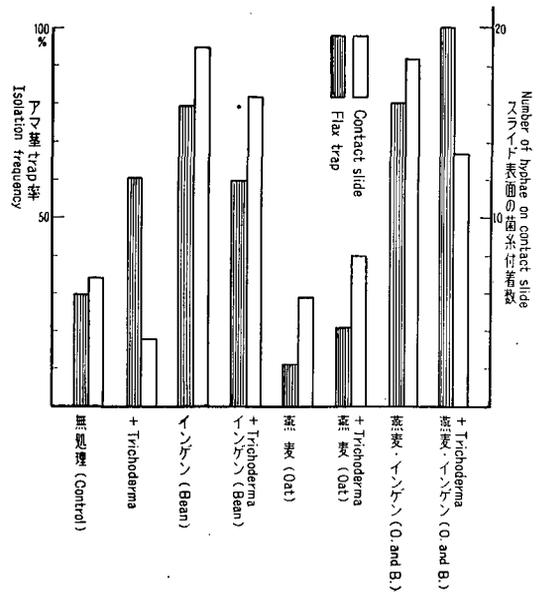


Fig. 3. 各種添加土壌における trap 法とスライド法の比較

The comparison of flax trap and contact slide techniques in the amended soil.

trap による分離率と、菌糸密度との間には、一、二わずかな変動は見られるが、概ねよく一致することが見られた。

#### 5. *Rhizoctonia solani* 接種量と trap による分離率

土壌中の菌量と、trap による分離率との関係を明らかにするため、maizemeal-sand inoculum (BUTLER, 1953) を土壌に重量比で 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 及び 8.0% の割合で混合し、これについて trap 法を行なった。maizemeal-sand inoculum は、川砂に対し、3% の玉蜀黍粉末を添加し、殺菌をしたものに *Rhizoctonia solani* F-1 或いは B-5 菌株を接種し、25°C、30 日間培養したものである。この接種源を土壌に対して、それぞれの割合で混合し、素焼植木鉢につめた。5 日間灌水し乍ら、硝子室中におき、その 100 g をコルベンに入れ、その中へ加圧殺菌したアマ茎 100 本を加えた。25°C に 3 日間保ったのち、アマ茎から *Rhizoctonia solani* の再分離を行なった。この結果は第 3 図に示したように、接種量の増加と比例して、分離率は増加した。病原菌の接種量 0.25% と菌量の極めて少ない場合にも、分離率は約 10% あり、接種量 8.0% となると、90% に達した。この結果はこのような分離法を行なうと、接種量の一定量までの増加は、

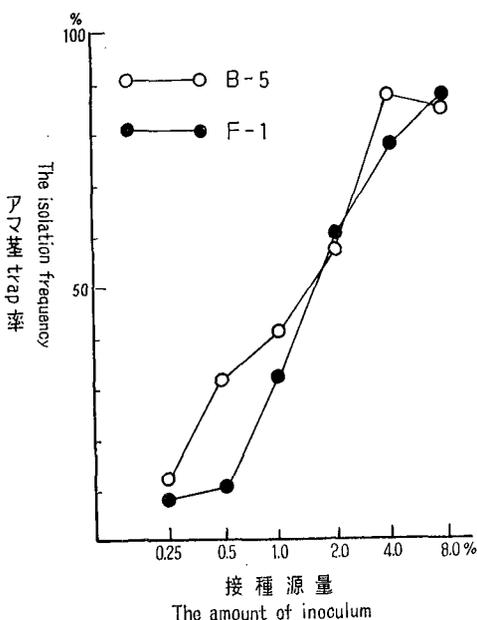


Fig. 4. 接種量と trap 率の比較

The amount of inoculum and the frequency of the isolation of *R. solani*.

trap 率の増加となって現われることを示した。

### 6. 畑土壤よりの *Rhizoctonia* の分離

畑の土壤について trap 法が実用出来るか否か、又その trap 率はリゾクトニア病の多少により如何なる変化をするかを知るために、農林省馬鈴薯原種農場胆振農場中で、馬鈴薯黒疫病の発生が認められている火山灰性土壤の畑について実験を行なった。土壤の性質、あるいはこの土壤に病原菌を接種したときの発病などについては、既に記した通りである (栃内, 宇井, 鈴木, 田中, 1956, 宇井, 1960)。

まず、供試畑の中の混層耕を行なった部分の土壤について、室内で trap 法による分離を試みた。trap 法は、前節5に記したと同じ方法によった。アマ茎 trap を土壤に混入したのち、25°C に3日及び10日おき、酸性にした水道水寒天上にアマ茎を並べ、分離を試みた。*Rhizoctonia* の分離は次表の通りである。対照は、同じ土壤を加圧殺菌したものである。

第4表に示したように、*R. solani* による馬鈴薯黒疫病の多いこの畑の土壤から、アマ茎 trap 法により、*Rhizoctonia* の分離が容易に行なわれ、その率は36%に達した。なお、trap 材料の挿入期間は、3日間の方が10日間よりも良好で、後者では、分離率が前者の1/3以下に低下した。対照とした殺菌土壤からは、*Rhizoctonia*

Table 4. 畑土壤よりの *R. solani* 分離率  
Isolation of *R. solani* from natural soil.

アマ茎 rap 挿入期間 Incubation period of flax trap	<i>R. solani</i> 分離率 % of isolation of <i>R. solani</i> from flax trap	
	3 days	10 days
畑 土 壤 Soil from potato field	36	10
対 照 (殺菌畑土壤) Control (sterilized soil)	0	0

は勿論分離されなかった。さらに次の実験で、これと同じ土壤とそこに接する馬鈴薯畑で、混層耕を行なわない表層第1, 2層の浮石質火山灰土壤、およびその下の第3層に存在する黒色の植質壤土について、それぞれ病原菌の分離を行ない、また、この畑に隣接する防風林内の未耕地土壤の表層と、第三層について同じように分離を試みた。分離はアマ茎 trap により、これと同時に、スライド法による菌糸密度を数え、アマ発病率も調査した。分離実験は、素焼植木鉢にこれら土壤を入れたものについて行なった。

結果は、第5表にまとめたように、trap よって最も多く *Rhizoctonia* の分離されたのは、混層耕を行なった畑の表土で、その率は約30%であった。これに対して、混層耕を行なわない畑では、表土からの分離率は5.6%にすぎなかった。またこの畑の第三層から *Rhizoctonia* は全く分離されなかった。スライド法による菌糸附着は混層耕畑、無処理畑の表土にわずかに認められただけで第三層では *Rhizoctonia* の存在を確かめられなかった。未耕地土壤の表層に本菌の存在することが知られたが、その第三層には存在していない。これらの土壤にアマを播種して、アマ苗の複害を供試土壤間で比較したところ表中の値に示されるように、混層耕を行なわない畑の第三層の土壤で、多くの立枯個体が見られた。この原因は *Rhizoctonia* 以外の菌類によるものが大部分で、特に *Pythium* sp. によるものが多かった。これらの菌は、試験期間中に他から混入したものか否かは明らかでない。

すなわち、この実験から、先きに記したと同じように (栃内, 宇井, 鈴木, 田中, 1956, 宇井, 1960) *Rhizoctonia* は腐植質と混合した火山灰性土壤中で著しく増加することが trap 法でも明らかにされ、trap 法によって、畑の土壤から直接土壤中の *Rhizoctonia* を分離することが出

Table 5. 畑土壌からの *R. solani* 分離率  
Isolation of *R. solani* from various parts of potato fields.

供試土壌 Type of soil		アマ茎 trap 率 (%) % of <i>R. solani</i> from isolation of flax trap	スライド法 菌糸付着数 No. of hyphae on contact slide	アマ発病率 (%) Disease index of flax
馬鈴薯畑土壌 Potato field	無処理作土(第1, 2層) Surface soil of volcanic sand	5.6	1	2.3
	無処理底土(第3層) Subsurface soil of black humus	0	0	22.9
	混 層 耕 土 Mixed soil	30.8	2	4.8
未耕地土壌 Virgin soil	Surface soil of volcanic sand	1.0	1.8	7.9
	Subsurface soil of black humus	0	0	2.1

来, かつその分離率は, ある程度, その畑における発病の多寡に伴なって変動することもうかがわれる。

#### IV. 論 議

*Rhizoctonia solani* は, 66 科, 230 種以上の植物に寄生し, これによって起る疫病の病徴は, 立枯, 茎腐, 根腐などの根, 茎などの地下部組織に見られ, あるいは, 葉, 果実など地上部にも発現する (BRAUN, 1930)。この中で最も多く見られるものは, 地下部組織に現われる被害で, その内には農作物の重要病害として知られているものが多く含まれている。*Rhizoctonia solani* の分離は普通罹病組織を培地上におく方法が用いられて来た。然しながら, この菌は地下部組織の内部や表面に生活するいわゆる寄生相と, 罹病壊死組織中の厚膜の菌糸, 或いは菌核などの休眠期, 又これらから土壌へ伸長した菌糸の時代, 更には BLAIR (1943) の実験から推測される土壌中から栄養を吸収して, 生活する腐生相もあるとされている。このような状態にある菌は, 寄生罹病組織から分離することが出来ず, 他の方法によらなければならない。

土壌中の菌類分離法は, 古くから稀釈平板法が用いられた来たが, この方法では, *Rhizoctonia* 其の他, 菌糸の状態で土壌中に生存し, あるいは生育している菌を分離することが出来ず (CHESTERS, 1949, WARCUP, 1955 b), 他の方法が工夫されている。WARCUP (1960) は土壌菌類の分離法を綜説して, その中で各種方法については菌糸棲菌分離に適するか否か, さらにその長短などを論じている。この中で菌糸状態にある菌類, 特に *Rhizo-*

*ctonia* を分離し得る方法を大別してみると, 2 群に分けることが出来る。その一つは直接法と称することの出来る方法で, 他は, 間接法である。

直接法は, 土壌中に在する菌糸を直接培地上に生育させてその分離を行なう方法であり, この代表的なものとして, WARCUP の菌糸分離法 (1955), 或いは, 土壌平板法 (WARCUP, 1950) がある。BOOSALIS ら (1959) の試みた土壌中にある *Rhizoctonia solani* の菌核を篩別して, 培地上に移植する方法も, この直接法に入れられるものである。

間接法と称しうるものは, 土壌の中に *Rhizoctonia* の colonization が起り易い材料を入れ, 一定期間その材料を取り出して, これを新たな培地上におき, そこに伸長して来る *Rhizoctonia* の菌糸を分離する方法, すなわち, 土壌中へ trap を入れ, これに菌を colonize させたのち再分離する方法である。それ故, 間接法の大部分は trap 法と称することも出来る。土壌中に挿入する材料として, 寒天培養基, 植物組織片, 或いは寄生植物の 3 つが考えられる。寒天培養基を直接土壌中に入れることは, 一般土壌微生物の分離, 或いは colonization の比較など土壌細菌の研究に用いられているが, *Rhizoctonia* のような菌類については, 未だ充分の検討がなされていない。容器の中に入れた培養基を土壌中に入れ, 小孔, 或いは細隙などを通してこの培地上に生育する菌類を分離する方法は, 特に菌糸棲菌類の分離用に工夫されたもので, CHESTERS (1940) の埋没管法がその嚆矢とされる。この方法は, MUELLER 及び DURRELL によって改良さ

れ、埋没管 (immersion tube, sampling tube) 法と云われる。LA TOUCHE (1948) の用いたホール・スライド法、或いは THORNTON (1952) の screened immersion plate なども、この範疇に属するものである。これらの方法もその小孔や、細隙に土壤中の水分が凝縮して水滴をつくり、そこに土壤中の菌糸生存菌のみが分離されるのではないとする DOBBS & HINSON (1953) の見解は、本論文に記した実験結果からも明かに支持することが出来る。

間接法の中で、植物組織を土壤の中に入れ、これに colonize する菌類を再分離する方法は、材料としていろいろのものがあるが我々はアマ茎を用いたので、アマ茎 trap 法と称した。trap 法なる語の代りに、WARCUP は baiting method と称している。trap 材料として、KENDRICK (1958) は玉蜀黍種子を、PAPAVIZAS (1959) は乾燥したソバ茎を用いている。我々がこの実験で使用したアマ茎は新鮮な緑色の茎を表面殺菌し、或いは加圧殺菌したものであるが、乾燥した成熟アマ茎でも同様の良い結果が得られ、材料としては一層良いようである。ここで、trap なる語を植物である菌類の分離に際して用いることが適当であるか否かの疑問も残る。然し、LA TONCHE (1948) がホール・スライド法を slide trap method とも称しているなど、2、3の実例があるので、あえて trap なる語を用い、埋没管法のように、人工的な trap 材料を用いる場合と区別する意味で、植物組織を土壤の中へ挿入するものをその植物名を前に付して、アマ茎 trap 法と称した。

寄生植物を土壤中に植えて、その根から再分離する方法も、一種の trap 法ではあるが、この材料が生きている植物であり、菌の病原性が多分に再分離率に関係するところから、trap 法と区別して寄生植物法と称し、又その発病率をもって、土壤中の菌の増減、activity などを推論するときは、特に指標植物法とも呼べる (宇井 1962)。

本論文は、このような各分離法のうちから、*R. solani* の分離率が高く、かつ少ない労力で最も速かに分離出来かつ土壤中の本菌棲息量、或いは相対的な菌の増減などを少なくとも定性的に判定出来る方法を知るために行なった実験の結果を記したものである。分離法のうち直接法の代表として、稀積平板法及び土壤平板法を、間接法として MUELLER 及び DURRELL の埋没管法及び LA TOUCHE のホール・スライド法、植物材料による trap 法としてアマ茎による trap 法を用いて、土壤中の *R. hizoctonia* 分離を試みた。その結果は、アマ茎 trap 法が常に最も高い分離率を示し、殆んどの場合にその値は 50% 以上であった。ホール・スライド法、埋没管法はこれに次いだ。後者の 2 方法によると、内部の寒天培地の上に

colonize した菌を新たな培地へ移植して、直ちに純粋培養を得ることは比較的容易であるが、分離用の材料を準備するために時間がかかること、分離率が低いこと、特に埋没管法では土壤中の孢子形成菌の混入率が高いことなど欠点がある。アマ茎 trap 法は、材料の調製も容易で、分離率が最も高いので、分離法として好ましいものであるが、再分離によって、純粋培養を得るのにやや難点がある。ただ再分離用に酸性水道水寒天を用いるとアマ茎からの *Rhizoctonia* の伸長が速かであるため、比較的純粋に菌が得られ易く、更に撰択培地を用い、或いは抗生物質添加によるなどして、土壤細菌の混入、増殖を防げば、純粋分離は一層容易となる。また、本菌の clonization を確かめるだけであれば、茎を直接検鏡してもよく或いはテンサイ立枯苗で行なわれるように (宇井, 1962) この組織を水に浮べてもある程度の目的は達成されるであろう。

各種分離法によって分離されるカビの種類、その割合について調査した結果、trap 法以外の何れの方法でも *Rhizopus*, *Mucor*, *Trichoderma*, *Penicillium* が優勢であり、これらは何れも土壤中の孢子形成菌と見なされているものである。この種のカビが多いためか、*Rhizoctonia* 分離率は低く、埋没管法にあってすらも、*Rhizoctonia* の分離率は低かった。この原因の一つは、供試土壤が部分殺菌を行なった土壤であり、このためこの種カビ類が旺盛に増殖していたことも一因と考えられるが、スライド法による菌糸密度の比較、アマ苗の発病率から見ても、この処理土壤中 *Rhizoctonia* の生育が抑制されていたと結論することは困難である。

trap 法が、他の方法と比較して著しい差異のある点は *Rhizoctonia* の分離率が高い事をに別して、*Penicillium* の分離される率が著しく低く、殆んど分離されなかった事であり、*Rhizopus* 及び *Mucor* の分離率も低下した点である。これに対して、土壤中の *R. solani* の株菌が異るとき、*Trichoderma* のアマ茎への colonization は著しく変動する。

*Trichoderma* の中には、*R. solani* の菌糸に寄生し (WEINDLING, 1932)、又菌糸にまつわりつく (SANFORD, 1956) などして、その生育を抑制し、一種の拮抗菌とも見なされているが、これらの実験結果から、*R. solani* の生育が好適な条件下におかれているときは、*R. solani* の colonization に対してこの菌はさ程重要な競合はして居らず、*R. solani* の activity が低下したときにのみ、アマ茎上での colonization を明らかに抑制し、あるいは *R. solani* よりも速かな colonization をするものと見られ

る。*R. solani* のアマ茎上に於ける colonization に際して *Trichoderma* 以外の菌類が、どのように競合しているか、またはどのような拮抗を示すかはこの実験からは未だ明らかにされ得ないが、*R. solani* は新鮮な植物遺体に対して、極めて速かな colonizer であることは確かである。

アマ茎 trap により、土壤中の *Rhizoctonia* の分離率と菌量との関係を検討した処では、土壤中の菌糸量が一定量以上になるまでは、菌の接種量と、分離率はよく正比例して居り、土壤に各種添加物を施したとき、その種類により、trap よりの分離率は明らかな増減を示す。これらの trap 分離率と、スライド法による土壤中の菌糸密度を比較すると少なくとも今回行なった実験の範囲内では一致した傾向と示すことが明らかである。ただ、cambridge 法により、土壤への *Rhizoctonia* 接種量を種々に変えたとき、菌の系統によっては菌の分離率は接種量の増加と逆に減少し、或いは自然土壤に 8% 程度の接種源添加では、菌が全く菌が分離されないこともしばしば認められる(宇井, 1962)。この点両実験結果の差違は、本実験では、接種源量を変えた土壤を、一定期間保ったのち、攪拌し、その一部をコルベンに入れて、この土壤にアマ茎を添加して trap を試みた点も関係するようである。すなわち、このような操作によって、土壤中に存在する静菌物質、あるいは *R. solani* の陳久物質が不活性化し、*R. solani* の活動を刺戟し旺勢にしたことがその原因の一つであるとも考えることも出来る。

アマ茎 trap 法に対するなお一つの未検討の問題は、trap の材料としてのアマ茎は PDA のような培養基と異なり、死んでいるとはいえず寄主植物組織であるということである。このような植物体を土壤中に挿入したとき、*Rhizoctonia solani* のように寄生性の高い菌株から、腐生性の極めて強いものまで、多くの系統に分化しており、それらが混在して同じ土壤中に存在するものでは、菌株によりアマ茎に対する colonization の程度に差があってその結果再分離率が著しく異なりはしないかと言う点で、今後なお検討を要する処である。

スライド法に既に BLAIR (1945) により、*Rhizoctonia* の土壤における行動の検討に利用されて来たが、スライド法を自然圃場に用いるときは、*Rhizoctonia* と極めて類似した菌が存在し (MOREAN, 1956)、付着菌糸同定を正確に行なうのが困難となる場合も指摘され、又、土壤粒子間の状態は、土壤粒子と硝子面との間の状態と異なり、スライド面における水滴の凝縮は、土壤中の孢子形成菌の発芽と伸長と促進する事も論ぜられている

(WARCUP, 1960)。然し乍ら、何れの実験でも *Rhizoctonia* 菌糸の硝子面上への付着は特に良好であり、接種量の増加にともない、その菌糸数も増加している事は、このような欠点を考慮に入れても、なお土壤中の菌の活動を把握するのは、現在の所では優れた補助手段の一つということが出来る。

このように、ただ一種類だけで、土壤中の *R. solani* を定量する方法として、完全なものは見当らないようである。然し、WARCUP (1960) も指摘しているように、“土壤中の菌の activity 研究は、顕微鏡による観察法と、分離法の適当な組合わせによって進めることが出来る”のであり、*R. solani* の土壤における消長を把握するには、植物材料による trap 法によって分離率を検討し、同時にスライド法によって菌糸密度を観察すれば、この菌の土壤中での増減と、その activity の消長を或る程度推測することは可能であろう。

## 摘 要

1. 土壤中に生存する *Rhizoctonia solani* を分離するため、稀釈平板法、土壤平板法、埋没管法、ホール・スライド法、アマ茎 trap 法の各方法を用い、*R. solani* の分離率を比較した。
2. *R. solani* 接種土壤について比較した結果では、埋没管、ホール・スライド、アマ茎 trap により *R. solani* をその土壤から分離することが出来、土壤平板法でも時に分離可能であった。このうち、最も分離率の高いものはアマ茎 trap 法である。
3. 各種方法により分離されるカビの種類を検討したところ、アマ茎 trap 法を除く各方法で、最も優勢に分離されるものは、*Rhizopus*, *Mucor*, *Trichoderma*, *Penicillium* の各菌類で、これらの総計は、全分離菌数の 70% 以上であった。これに対しアマ茎 trap 法では、最も優勢な菌は *Rhizoctonia solani* であり、*Fusarium*, 及び *Mucor*, *Rhizopus* も僅か分離され、*Trichoderma* は土壤に接種した菌株が異なると分離される割合は著しく変る。
4. *Trichoderma* は *Rhizoctonia* の activity が低下している場合にアマ茎に対する *Rhizoctonia* の colonization を抑制する。
5. 各種添加物を土壤に加えたとき、アマ茎 trap 率とスライド法による硝子面に付着した *R. solani* 菌糸片数とはよく平行した。
6. *R. solani* の trap 率は接種源の増量にともない増加し、接種源を土壤に対し 8% 添加したとき 90% に達

した。

7. 馬鈴薯黒痣病の多い畑の土壌についてアマ茎 trap 法を用いて菌の多寡の比較を行なった結果では、黒痣病発生の最も多い混層耕土壌では極めて多くの菌が分離され、混層耕を行はない処では極めて少なかった。未耕地防風林内の表層土壌からも、極くわずかながら trap 法により *R. solani* の存在が確かめられた。

8. アマ茎 trap 法による分離率とスライド法 (contact slide 法) による菌糸付着密度から、その土壌中での *R. solani* の activity はある程度推測することも可能である。

#### 引用文献

- BLAIR, I. D. (1943): Behaviour of the fungus *Rhizoctonia solani* KÜHN in the soil. *Ann. Appl. Biol.*, 30: 118-27.
- (1945): Techniques for soil fungus studies. *New Zealand Jour. Sci. and Technol.* 26: Sec. A, 258-71.
- BOOSALIS, M. G. and SCHAREN, A. L. (1959): Methods for microscopic detection of *Aphanomyces euteiches* and *Rhizoctonia solani* associated with plant debris. *Phytopath.* 49: 192-98.
- BROUN, H. (1930): *Der Wurzeltöter der Kartoffel.* 136 p. Berlin.
- BUTLER, F. C. (1953): Saprophytic behaviour of some cereal root rot fungi (1) Saprophytic colonization of wheat strow. *Ann. Appl. Biol.* 40: 284-97.
- CHESTERS, C. G. C. (1940): A method of isolating soil fungi. *Trans. Brit. myc. Soc.* 24: 352-5.
- (1949): Concerning fungi inhabiting soil. *ibid.* 32: 197-216.
- and R. H. THORNTON (1956): A comparison of techniques for isolating soil fungi. *ibid.* 39: 301-13.
- DAVEY, C. B. and G. C. PAPAIVIZAS (1960): Effect of mature plant materials and nitrogen of *Rhizoctonia solani* in soil. *Phytopath.* 50: 522-25
- DOBBS, C. G. and W. H. HINSON (1953): A wide-spread fungistasis in soil. *Nature, London*, 173: 500-1.
- GARRETT, S. D. (1956): *Biology of root-infecting fungi.* Univ. Press, Cambridge. 292 p.
- KENDRICK, J. B. and A. R. JACKSON (1958): Factors influencing the isolation of certain soil borne-pathogens from soil. *Phytopath.* 48: 394.
- KÜHN, J. G. (1858): *Die Krankheiten der Kulturgewächse, ihre Ursachen und ihre Verhütung.* Berlin; Besselmann.
- LA TOUCHE, C. J. (1948): Slide trap for soil fungi. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 31: 281-4
- MOREAU, C. and M. MOREAU (1956): (A comparative examination of the mycelium and sclerotia of various strains of *Rhizoctonia solani* and *Morchella chortensis*). *Bull. Soc. Bot. Fr.* 103: 117-20 (R.A.M.)
- MUELLER, K. E. and L. W. DURRELL (1957): Sampling tubes for soil fungi. *Phytopath.* 47: 243
- PAPAIVIZAS, G. C. and C. B. DAVEY (1959): Isolation of *Rhizoctonia solani* from natural infested and artificially inoculated soils. *Plant Dis. Repr.* 43: 404-10.
- SANFORD, G. B. (1947): Effect of various soil supplements on the virulence and persistence of *Rhizoctonia solani*. *Sci. Agr.* 27: 533-44.
- (1956): Factors influencing formation of sclerotia by *Rhizoctonia solani*. *Phytopath.* 46: 281-84.
- THORNTON, R. H. (1952): The screened immersion plate: a method of isolating soil microorganisms. *Research*, 5: 190-1.
- 柄内・宇井・鈴木・田中 (1956): *Pellicularia filamentosa* の土壌中における消長について (I). 北大農, 邦文紀要, 2: 91-100.
- 宇井格生 (1960): テン菜の主要病害とその研究. 甜菜研究報告, 2: 26-90.
- (1962): *Rhizoctonia solani* の生態. 土と微生物, 3: 1-5,
- (1962): サトウダイコンの黒根病とその病原菌の北海道における分布. 北大農, 邦文紀要 4: 60-65, 1962.
- WARCUP, J. C. (1950): The soil plate method for isolation of fungi from soil. *Nature, London*, 166: 117.
- (1955 a): Isolation of fungi from hyphae present in soil. *ibid.* 175: 953.
- (1955 b): On the origin of fungi developing on soil dilution plate. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 38: 298-301.
- (1960): Methods for isolation and estimation of activity of fungi in soil. *The ecology of soil fungi, an international symposium.* Liverpool Univ. Press. 1960, 3-21.
- WEINDLING, R. (1932): *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. *Phytopath.* 22: 837-45.
- (1934): Studies on a lethal principle effective in the parasitic action of *T. lignorum* on

*Rhizoctonia solani* and other soil fungi. *ibid.* 24: 1153-79.

### Résumé

Various techniques for isolating fungi from soil have been developed by many authors, but a few of them deal with the isolation of the organisms living in soil as hyphae. In this report, the results of comparative studies on the techniques for the isolation of *Rhizoctonia solani* from soil and the methods for estimating its activity in soil, were described.

The techniques compared were dilution plate, soil plate (WARCUP, 1950), slide trap (LATOCHE, 1948), immersion tube (modified sampling tube, described by MUELLER and DURRELL, 1957) and trap with flax stem. The contact slide technique (BLAIR, 1945) and the pathogenicity of the fungus were also tested. The trap with flax stem or flax trap technique, used by the present authors, is to induce the colonization of fungi in soil on the surface sterilized or autoclaved flax stem pieces which are incubated in the soil for a determined period and to investigate the kind and number of fungi developed from the flax trap onto agar medium. The comparison of the techniques was carried out with partial sterilized soil which was inoculated with the isolate of *Rhizoctonia solani* viz., sugar beet crown rot (B-5), flax damping off (F-1) or potato stem canker (P-17) strains.

From the results of isolation of *R. solani* with these techniques, as shown in Tables 1 and 2, the highest frequency of isolation of the fungus was always obtained by the flax trap technique. From the immersion tube and slide trap the recovery of the fungus was less and it was very rare from the soil plate.

Quantitative data concerning various kind of fungi isolated by each technique were shown in Table 3 and Fig. 1. The results obtained were as follows: the most of the fungi isolated by dilution plate, soil plate and immersion tube were *Rhizopus*, *Mucor*, *Penicillium* and *Trichoderma* sp. and they accounted for more than 70% of the total fungi obtained. On the other hand, the fungi caught by the flax trap were mostly *R. solani* accompanied by a few *Rhizopus*, *Mucor*, *Trichoderma* and *Fusarium* etc. No *Penicillium* sp. developed from the flax trap. Depending on the increased colonization of *Trichoderma* and *Fusa-*

*rium*, the recovery of B-5 isolate from flax trap was much less than that of F-1 isolate.

The competitive colonization of *Trichoderma* and *Rhizoctonia* on the flax trap was compared in the soil inoculated with both of the fungi (Fig. 2). Although the frequency in the isolation of *Trichoderma* increased in this soil, the inhibiting action of *Trichoderma* on the colonization of *R. solani* was remarkable only in the case of B-5 isolate which was less active than other isolate during the experiment, because of low temperature.

The flax trap technique was compared with the contact slide technique in the soil which was amended with dried stem pieces of bean and oat. The results shown in Fig. 3 suggested the same tendency between the number of *R. solani* isolated by the flax trap and that of the mycelial fragments adhered to the slide surface.

When the ratio of maize meal-sand inoculum to the soil was increased up to 8%, the isolation frequency of *R. solani* from flax trap increased gradually and the recovery of the fungus reached almost 90%.

The frequency in the isolation of *R. solani* from the different kinds of natural soil was compared. The soil tested was collected from the potato field of volcanic sandy soil where the black scurf of potato had been observed annually.

The results of the use of flax trap and contact slide techniques showed less frequency of *R. solani* in the soil where the volcanic sandy surface soil, poor in organic matter, was left without mixing and the annual disease incidence had been low. On the other hand, the recovery of *R. solani* from the trap was the most abundant in the part of the field where the same kind of surface soil was mixed with the subsurface layer of black humus and the severest black scurf had been observed. The results from the virgin soil of windbreak plantings surrounding the potato fields pointed out just a few *Rhizoctonia* in the soil.

From these results the authors concluded that the colonization of *Rhizoctonia solani* on the flax trap is very rapid and active not only in the artificially inoculated soil but also in natural soil. Thus the flax trap technique is well adopted for the estimation of the activity of *Rhizoctonia solani* in soil.