

エンドウ連作圃場と非連作圃場における根圏微生物密度の比較

家村 浩海・植原 一雄

A Comparison of Microbial Population in the Rhizosphere of Pea in the Continuous Cropping and Rotational Cropping Fields

Hiroimi JEMURA and Kazuo UEHARA

(Laboratory of Plant Pathology)

1. 緒言

エンドウの連作障害に関する研究の歴史は古く、多くの研究者によって各方面から研究されているが、いまなおその原因は明確にされていない。今日では諸説の中で、根の分泌物や植物体残渣の分解物の集積に由来するとする毒素説¹⁾²⁾³⁾⁴⁾と、土壤微生物に起因するとする微生物説⁵⁾⁶⁾が有力な地位をしめているが、今までの研究成果からみると、この両説は互に無関係のものではなく、相互に複雑な関連を保っていると考えるのが妥当なように思われる。ただ、いずれがより重要な要因であるかを明らかにするためにはさらに多くの知見の積み重ねが必要であろう。

最近クロールピクリンによる土壤消毒が本障害の発生を軽減せしめるという事実⁷⁾が明らかにされてきたが、このことは土壤微生物が本障害の発生に密接な関係をもっている可能性を強く示唆しているように思われる。また吉井は長い地道な研究によって多くの知見を得た(大部分未発表)が、その研究を通じて、土壤微生物とくに *Fusarium* が深い関係をもっているらしいと判断した⁸⁾。これらのことから、筆者らは本問題を土壤微生物の立場から改めて検討してみたいと考え、その最初の実験として、連作圃場と非連作圃場のエンドウ根圏の土壤微生物密度を比較した。本報告はその結果をまとめたものである。

本研究を行なうにあたり、九大名誉教授故吉井甫先生ならびに本学権藤道夫教授に多大の御教示をいただいた。また阿久根市役所農政課の方々にも多大の御協力をいただいた。記して感謝の意を表す。

2. 連作圃場と輪作圃場における根圏微生物密度の比較

6年間エンドウを連作している圃場と、2年毎にエンドウと他作物を輪作している圃場との根圏微生物の

密度を糸状菌と細菌について比較した。

1. 材料と方法

供試圃場は阿久根市三笠のエンドウ栽培地の圃場で、土質は安山岩を母材にした植壤土である。連作圃場としては過去6年間エンドウを連作し、前年度連作障害が顕著にあらわれた圃場を、また輪作圃場としては、エンドウを2年連作し、つぎの2年は他作物を栽培している圃場で、前年度はエンドウを栽培して障害のみられなかった圃場である。いずれの圃場もエンドウの前作あるいはエンドウ未栽培の時はムギとサツマイモを栽培した。両圃場は相接し、土質その他の条件はほとんど同じであると思われる。圃場の中に約3×15mの広さの区画をとり、1969年11月19日、エンドウ(品種ウスイ)を播種し、現地農家の慣行にしたがって栽培した。試料は12月21日、2月18日、5月13日および6月8日の4回採取した。毎回5株ずつのエンドウを土をつけて掘りとり、空中で振って余分な土を落したのち、つぎのように処理した。すなわち12月21日の実験では、(1)殺菌水に根をつけて十数回振り根についている土の大部分を落とし、(2)別の殺菌水に移して振とう培養器で15分間振り、(3)さらに別の殺菌水に移して同様な方法で20分間振ることによって3種の懸濁液を得た⁸⁾⁹⁾。2月18日以後の実験では根を殺菌水につけて、毛筆で根の土を十分落したのちよく攪拌して懸濁液を得た。上記の各懸濁液は使用に際し適当に稀釈した。またそれぞれの供試エンドウの根はくびれ、変色、根瘤の附着などの観察に供したのち、100°Cで8時間乾燥して重量を測った。また非根圏土壤として、上記の供試エンドウのすぐ近くで、しかも根の影響をうけていないと思われるところの表土を薄く取り去り、殺菌試験管を垂直に約15cmさしこんで土を採取した。この土をよく混ぜあわせたのち、殺菌水を加えて懸濁液を作った。この際 *Fusarium* 分離用は1000倍、糸状菌分離用は5000倍、細菌

分離用は 1,000,000 倍になるようにした。

このようにして得られた各供試懸濁液は稀釈平板法¹⁰⁾で、その中に含まれる菌数を測定した。その方法は次の通りである。すなわち糸状菌一般の分離には MARTIN の培地、10 ml をシャーレに流して 2~3 日間放置したのち、ヒトマイシン 1 滴を加えた供試液 1 ml をその表面になるべく均一に拡げるように加え、24°C で 4 日間暗培養し、出現した菌叢数を測定した。また *Fusarium* の分離には PCNB (Pentachloronitrobenzene) 加用ジャガイモ煎汁稀釈培地を用いて全く同様な方法で供試液を加え、20°C で 10 日間散光下で培養したのち、出現した菌叢をかぞえた。さらに細菌の分離には、土壤浸出液寒天培地を用い約 45°C の融けた培地 10 ml に供試液 1 ml を加えてよくまぜたのち、シャーレに流し込み、28°C で 3 日間暗培養し、出現したコロニーをかぞえた。培養には 1 区 7 枚のシャーレを用い、結果は供試土壤および根の乾重 1 g 当りの菌数をもって示した。*Fusarium* 分離用培地¹¹⁾: パレイショ 40 g (煎汁), グルコース 4 g, 寒天 20 g, PCNB 1 g, 蒸溜水 1 l, 使用直前に H₃PO₄ で pH 4.0~4.2 に調整。糸状菌分離用培地¹²⁾: グルコース 10 g, ペプトン 5 g, K₂HPO₄ 1 g, MgSO₄ 0.5 g, 寒天 20 g, ローゼベンガル 30 mg, 蒸溜水 1 l. 細菌分離用培地¹³⁾: 土壤に等量の水道水を加え 120°C, 30 分間加熱したのちろ過した土壤浸出液

100 ml, グルコース 1 g, K₂HPO₄ 0.5 g, 寒天 15 g, 蒸溜水 900 ml, pH 6.8~7.0.

2. 結 果

試料採取時におけるエンドウの生育状態は次のようであった。すなわち 12 月 21 日の時点では地上部、地下部ともに、連作区と輪作区の間には差はみられず、ほぼ同様な生育を示し、2 月 18 日では連作区の方がむしろ若干生育が良好であるように思われた。しかし 5 月 13 日および 6 月 8 日の観察では連作区は茎や根の生育が貧弱で明瞭な連作障害がみられ、輪作区との間には、はっきりした差が観察された。それぞれの時点での根の乾重および根瘤の附着状態は第 1 表および第 2 表の通りである。乾重では 2 月 18 日を除けば輪作区の方が重く、とくに生育後期でそれが顕著であった。根瘤の数も輪作区の方が多く、連作区では生育後期にはほとんど全部脱粒していた。非根圏土壤の微生物密度を測定した結果は第 3 表の通りである。*Fusarium*, 糸状菌, 細菌ともにいずれの測定日においても連作, 輪作両区の間にはほとんど差は認められなかった。ただ *Fusarium* の 6 月 8 日区においては輪作区の方が連作区よりも菌数が少ない傾向がみられた。つぎに根圏土壤における微生物密度を測定した結果はつぎの通りである。まず 12 月 21 日の結果を第 4 表に示した。各区とも試料の個体によって数字がかなり変動しているが、糸状菌, 細菌ともに輪作区の方が連作区

Table 1. A comparison of dry weight of root of pea in the continuous cropping and rotational cropping fields

Replication	Continuous cropping field				Rotational cropping field			
	Investigated on				Investigated on			
	Dec. 21,	Feb. 18,	May 13,	June 8	Dec. 21,	Feb. 18,	May 13,	June 8
1	0.1718g	0.1588g	0.8750g	0.3430g	0.2410g	0.1878g	1.4937g	2.6680g
2	0.1391	0.3113	0.5650	0.2672	0.1470	0.1605	0.9308	0.5475
3	0.1533	0.2595	0.3133	0.3750	0.3685	0.2097	0.6809	0.4955
4	0.3200	0.2082	0.4870	0.2150	0.2465	0.1525	0.7776	0.6935
5	0.1448	0.2533	1.0339	0.1640	—	0.2747	1.2880	0.8770
Average	0.1858	0.2382	0.6548	0.2728	0.2508	0.1970	1.0342	1.0563

Table 2. A comparison of number of root-nodule in the continuous cropping and rotational cropping fields

Field	Investigated on																		
	Dec. 21				Feb. 18				May 13				June 8						
Continuous cropping	—	—	—	—	151	217	60	102	93	14	36	0	0	129	0	0	0	0	0
Rotational cropping	—	—	—	—	133	54	81	62	88	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M

M: Mass of number root nodule

Table 3. A comparison of number of *Fusarium*, Fungi and Bacteria in the non-rhizosphere of pea in the continuous cropping and rotational cropping fields

Field	Repl- cation	<i>Fusarium</i>				Fungi ($\times 10^2$)				Bacteria ($\times 10^5$)			
		Investigated on				Investigated on				Investigated on			
		Dec. 21	Feb. 18	May 13	June 8	Dec. 21	Feb. 18	May 13	June 8	Dec. 21	Feb. 18	May 13	June 8
Continuous cropping	1	—	160	130	140	650	24	41	36	22.6	17.6	4.9	7.0
	2	—	30	60	70	460	45	27	16	16.0	25.4	7.4	4.3
	3	—	160	60	140	240	23	28	23	78.0	6.3	3.0	4.6
	4	—	100	90	80	410	40	56	21	74.0	8.7	2.1	4.0
	5	—	70	140	20	250	27	37	67	50.0	4.0	2.3	5.1
Rotational cropping	1	—	130	30	40	660	38	52	28	72.0	6.1	3.7	6.1
	2	—	110	30	10	1160	98	39	40	134.0	7.9	1.6	1.9
	3	—	100	170	60	670	48	61	48	108.0	16.9	4.6	3.3
	4	—	110	10	10	530	61	14	36	76.0	6.9	3.3	5.4
	5	—	110	10	0	—	69	29	23	—	11.7	3.3	3.0

Figures are number of microorganisms per g. of oven-dry soil.

Table 4. A comparison of number of Fungi and Bacteria in the rhizosphere of pea in the continuous cropping and rotational cropping fields, investigated on Dec. 21

Field	Repli- cation	Fungi ($\times 10^4$)			Bacteria ($\times 10^6$)		
		I	II	III	I	II	III
Continuous cropping	1	9.1	45.0	155.0	50.0	209.1	2098.4
	2	5.3	142.5	117.7	13.1	188.7	904.3
	3	7.7	185.2	646.9	55.0	1112.0	4313.4
	4	—	—	—	117.1	4873.2	7645.7
	5	—	—	—	3062.1	22237.9	47761.8
Rotational cropping	1	34.3	—	1352.4	106.6	—	31265.6
	2	60.1	1376.0	653.2	239.3	10112.0	11126.0
	3	14.4	236.1	1898.3	317.2	18911.3	92791.0
	4	11.7	63.7	207.4	124.0	2667.4	14771.0

I: Shaking in sterilized water

II: Transferred from I, shaken for 15 min. in sterilized water

III: Transferred from II, shaken for 20 min. in sterilized water

Figures are number of microorganisms per g. of oven-dry soil.

よりも多い傾向がみられた。またいずれの試験においても根に近づくにしたがって菌数が顕著に増加することが認められた。2月18日以後の結果は第5, 6, 7表に示す通りである。第5表は *Fusarium* についてしらべた結果である。この表の連作区と輪作区を比較すると2月18日には両区の間には差は認められなかったが、5月13日には連作区では2月18日より増加の傾向を示したのに対し、輪作区では1個体を除けばむしろ減少の傾向を示し、両区の間にはかなり明瞭な差がみられた。そして6月8日には、連作区では極端な増加を示したのに対し、輪作区では増加はみられるが、その割合は連作区よりはるかに低く両区の間

顕著な差が認められた。つぎに糸状菌の分離結果を第6表に示した。この表についてみると、2月18日と5月13日では、5月13日連作区の1個体に大きな値がみられた以外には連作区と輪作区の間には大きな差はみられなかった。しかし6月8日では連作区が非常に大きな値を示し、両区の間には明らかな差が認められた。なお6月8日の連作区の子実菌は大部分が *Fusarium* であった。さらに第7表の細菌の結果についてみると、各調査日とも両区の間には明瞭な差はみられなかった。上記の、菌の分離に用いたエンドウの根の乾重を測定した結果は第1表の通りである。平均についてみると、連作区では5月13日に最大値を示

Table 5. A comparison of *Fusarium* in the rhizosphere of pea in the continuous cropping and rotational cropping fields

Field	Repli- cation	Date investigated					
		Feb. 18 R($\times 10^3$) S($\times 10^3$)		May 13 R($\times 10^3$) S($\times 10^3$)		June 8 R($\times 10^3$) S($\times 10^3$)	
Continuous cropping	1	39.4	1.9	38.3	6.7	919.1	175.0
	2	18.5	0.8	22.3	2.8	26202.5	9140.1
	3	20.8	0.9	18.2	1.5	33260.8	34791.6
	4	26.2	1.0	175.1	26.4	40468.3	34677.9
	5	11.7	0.7	911.2	250.6	27036.4	13943.3
Rotational cropping	1	11.8	0.9	51.0	19.6	2.1	0.9
	2	27.0	1.9	1.5	0.4	79.8	28.9
	3	21.0	1.0	5.0	0.9	102.4	74.6
	4	22.4	1.2	1.7	0.5	160.5	201.5
	5	13.3	0.7	14.3	5.8	9.9	4.4

R : Number of microorganisms per g. of oven-dry root
S : Number of microorganisms per g. of oven-dry soil

Table 6. A comparison of number of Fungi in the rhizosphere of pea in the continuous cropping and rotational cropping fields

Field	Repli- cation	Date investigated					
		Feb. 18 R($\times 10^4$) S($\times 10^4$)		May 13 R($\times 10^4$) S($\times 10^4$)		June 8 R($\times 10^4$) S($\times 10^4$)	
Continuous cropping	1	163.3	7.9	17.8	3.1	*330.9	*63.0
	2	109.4	4.8	—	—	*3544.6	*1236.5
	3	83.7	3.8	*359.4	*28.9	*5392.8	*5641.0
	4	155.5	5.9	44.6	6.7	*4996.0	*4281.1
	5	88.4	5.1	6.8	1.9	*3384.3	*1745.4
Rotational cropping	1	214.8	16.2	47.4	18.1	6.5	2.7
	2	217.1	15.1	6.3	1.8	—	—
	3	75.9	3.6	22.3	4.0	—	—
	4	318.7	17.5	13.9	4.1	455.4	571.7
	5	113.6	6.2	24.7	10.0	30.0	13.4

R : Number of microorganisms per g. of oven-dry root
S : Number of microorganisms per g. of oven-dry soil
* All colonies are *Fusarium*.

Table 7. A comparison of number of Bacteria in the rhizosphere of pea in the continuous cropping and rotational cropping fields

Field	Repli- cation	Date investigated					
		Feb. 18 R($\times 10^7$) S($\times 10^7$)		May 13 R($\times 10^7$) S($\times 10^7$)		June 8 R($\times 10^7$) S($\times 10^7$)	
Continuous cropping	1	334.4	16.2	8.7	1.5	18.4	3.5
	2	94.9	4.0	71.3	9.1	397.5	138.7
	3	73.7	3.3	76.9	6.2	206.8	216.2
	4	137.2	5.2	16.5	2.5	1542.4	1321.7
	5	79.4	4.6	7.1	1.9	450.6	232.4
Rotational cropping	1	310.3	233.9	36.1	13.8	1.0	0.4
	2	232.9	16.2	10.0	2.9	608.4	220.6
	3	156.3	7.4	32.4	5.8	111.9	81.6
	4	191.2	10.5	25.2	7.5	402.8	505.7
	5	89.9	4.9	39.2	15.8	18.7	8.4

R : Number of microorganisms per g. of oven-dry root
S : Number of microorganisms per g. of oven-dry soil

Table 8. A comparison of number of *Fusarium*, Fungi and Bacteria in the non-rhizosphere of pea in the virgin and continuous cropping soils

Soil	<i>Fusarium</i>	Fungi	Bacteria
Virgin	30	3.8×10^3	17.6×10^5
Continuous cropping	190	12.0×10^3	25.4×10^5

Figures are number of microorganisms per g. of oven-dry soil.

し、6月8日にはかなりの減少がみられたが、輪作区では5月13日と6月8日がほぼ同じ値を示し、また6月8日の値は連作区が約0.27gに対し、輪作区では約1gと4倍近い値を示した。

3. 連作地と処女地の微生物密度の比較

2の実験の供試圃場の近くで農家の栽培しているエンドウに顕著な連作障害がみられたが、同じ圃場の畦畔に沿った一畦だけは障害が全くみられなかった。この部分は最近畦畔を切り開いて畑にしたところで、エンドウをはじめ栽培したところなのでこの両者について土壤微生物の密度を比較した。

1. 材料と方法

供試圃場は阿久根市三笠の圃場で土質は2の実験と同様である。連作地は、明確ではないがかなり長期間にわたってエンドウを連作し、顕著な連作障害がみられる圃場である。また処女地は、その圃場の一部で、最近畦畔を切り開きはじめにエンドウを栽培した土地である。エンドウを10月上旬に播種し、慣行にしたがって栽培が行なわれていた。試料の採取は5月13日に行なった。連作地、処女地とも植物体から約15cm離れた部分の表土をうすく取り除き、殺菌試験管を垂直に約10cmさしこんで土を採取した。この土をよくまぜあわせたのち、殺菌水を加えて土壤懸濁液を作り、適当に稀釈したのち、その1mlを取って、稀釈平板法で菌数を測定した。方法の詳細は2の実験と全く同様である。なお供試土壌は両区とも10カ所から採取した。

2. 結果

結果は第8表に示す通りである。*Fusarium*と糸状菌は明らかに連作地の方が処女地よりも多いことが認められたが、細菌ではそれ程顕著な差は認められなかった。

4. 考 察

エンドウの連作障害の指標になりうる具体的な異状

については、発芽障害、根の褐変、地上部および地下部の生育不良などいくつかの点があげられている^{7, 14)}。筆者らの観察した範囲では地上部の生育が不良で、明らかに連作障害をうけていると思われるエンドウは、その根の生育もまた非常にわるく、褐変、根瘤の脱落などがみられるが、障害の程度が強い場合には、根の表皮の黒褐色の腐敗がみられた。このような根の異状は連作障害圃場で共通にみられる現象である。本実験では供試圃場の連作障害の程度をその圃場に栽培したエンドウの地上部の生育状態によって判断するとともに根についても上述の観点から観察し、判断の資料とした。その結果、地上部の生育は結果の項で述べた通り、連作圃場では明らかに障害が認められたが、非連作圃場では、ほぼ正常であった。また根の状態は第1表および第2表に示したように明らかに連作圃場の方がわるかった。したがって本実験に供試した連作圃場では明らかに連作障害要因を有していたが対照として用いた輪作圃場はほぼ正常に近いものであったと考えて間違いのないであろう。まず最初に連作圃場と輪作圃場の非根圏土壌中の*Fusarium*、糸状菌、細菌の菌数を比較した(第3表)。その結果3種の菌とも連作圃場と輪作圃場の間には密度に大きな差はないように思われる。ここで12月21日の結果が糸状菌、細菌ともに非常に多くなっているが、これは前作に関係した季節的な変動ではないかと思われる。つぎに根圏土壌の微生物密度をしらべた。まず12月21日に採取した試料では(第4表)糸状菌、細菌ともに連作圃場よりも輪作圃場の方が多い傾向がみられた。2月18日の試料では*Fusarium*、糸状菌、細菌ともに両圃場の間にほとんど差がみられなかったが5月13日には連作圃場で*Fusarium*の増加がみられ輪作区より明らかに菌数の多いことが認められた(第5表)。そして6月8日になると、各菌とも両圃場において増加の傾向を示したがその増加の割合は、連作圃場の方が明らかに多く、とくに*Fusarium*と糸状菌の連作圃場における増加は非常に顕著であった。なおこ

で増加した糸状菌の大部分が *Fusarium* であったことは注目すべきことである。以上の実験は連作圃場と輪作圃場の微生物の密度を比較したものであるが、一部が連作地で一部が処女地である圃場で両者のエンドウの生育に明瞭な差が認められたので、この圃場の連作地と処女地についてその非根圏土壌について *Fusarium*, 糸状菌, 細菌の密度を比較した (第 8 表)。その結果 *Fusarium* と糸状菌は連作地の方が多いたことが認められた。この結果は、上述の連作圃場と輪作圃場の非根圏土壌の比較では *Fusarium*, 糸状菌ともに両土壌の間に大きな差が認められなかった結果と若干おもむきを異にするが、これは一方が輪作土壌であり、一方が処女地であるという違いによるものであろう。

以上のことから、連作障害発生要因を強く有していると思われる圃場では、それが弱いと思われる圃場よりもエンドウ根圏の土壌中に存在する *Fusarium* が多いということができるとであろう。これらの *Fusarium* については目下その病原性を調査中であるが、今までの結果ではかなりの分離株がエンドウに病原性をもっていると思われる (未発表)。したがって本実験の範囲内では、*Fusarium* がエンドウの連作障害に関与している可能性が強いように思われる。ただここで問題になるのはエンドウ生育の初期には連作土壌と健全土壌との間に根圏、非根圏ともに *Fusarium* 密度に差がほとんど認められないということである。エンドウの連作障害は一般に収穫直前になって顕著に現われる場合が多いが、発芽不良、子苗時における種子附着部附近の褐変、分枝不良などその生育のかなり初期にも問題があると思われるのでこの点についてはさらに詳細な検討を加えたい。

5. 摘 要

連作圃場と非連作圃場のエンドウ根圏の土壌微生物密度をしらべ、連作障害の発生と微生物密度との関係を知ろうとした。まず 6 年間エンドウを連作した圃場と 2 年毎の輪作圃場について、根圏および非根圏土壌から *Fusarium*, 糸状菌, 細菌を分離するとともに、両圃場でのエンドウの生育状態を観察した。その結果非根圏土壌においては両圃場の間に微生物密度の差は認められなかった。また根圏土壌においては生育の前

半の時期には両圃場の間に差は認められなかったが、開花期の調査では連作圃場の *Fusarium* 密度の増加がみられ収穫末期になるとその増加は非常に顕著であったが、輪作圃場では各調査時期とも大きな変化はみられなかった。またエンドウの生育状態についてしらべたところ、連作圃場では地上部、地下部ともにその生育がわるく、明らかに連作障害が認められたが、輪作圃場では特別の生育異状は認められなかった。つきにかなり長期間にわたって連作している土壌と、エンドウを栽培したことのない土壌について同様の実験を行った。その結果、連作地の方が処女地よりも *Fusarium* が多いたことが認められた。エンドウの生育についても連作地では明らかに障害がみられたが、処女地では健全であった。

以上の結果から、連作障害発生要因を強く有していると思われる土壌では、それが弱いと思われる土壌よりも、エンドウ根圏に存在する *Fusarium* の密度が高いことがわかった。

引用文献

- 1) 林 武・滝嶋康夫：農業及園芸. **34**: 971-972 (1959).
- 2) 林 武・滝嶋康夫：農業及園芸. **34**: 1417-1418 (1959).
- 3) 林武・滝嶋康夫：農業及園芸. **34**: 1573-1574 (1959).
- 4) 滝嶋康夫：化学と生物. **3**: 26-31 (1965).
- 5) 日野 巖・中田寛五郎：農学会報. **287**: 430-436 (1926).
- 6) 吉井 甫：日植病報. **6**: 83-84 (1936).
- 7) 二井内清之・興津伸二：園芸試験場報告. **D. 3**: 57-78 (1965).
- 8) S. ISHIZAWA, T. SUZUKI et al.: *Soil and plant food*. **3**: 85-94 (1957).
- 9) 辻村克良・渡辺 巖：土肥誌. **31**: 173-176 (1960).
- 10) GOHNSON, L. F., CURE, E. A., BOND, J. H. and FRIBOURG, H. A.: *Methods for studying soil microflora-plant disease relationships*, Burgess publishing company (1960).
- 11) 駒田 旦：土壌病害の手引(II). 6 (1965).
- 12) 荒木隆男：土壌病害の手引(II). 38 (1965).
- 13) 服部 勉・菊本敏雄：土壌病害の手引(II). 50 (1965).
- 14) 杉山直儀：蔬菜総論. 309-310 (1966).

Summary

For the purpose of ascertaining the relationship between occurrence of soil-sickness and soil microbial populations in pea field, the microbial populations were examined using a conti-

nuous and non-continuous pea-cropping fields. Microorganisms examined were *Fusarium*, fungi in general and bacteria, and these organisms were isolated using a dilution plate method. The media used were PDA medium containing PCNB and phytomycin for *Fusarium*, a peptone-glucose agar medium containing rosebengal and phytomycin for fungi and a soil extract agar medium for bacteria.

1) Microorganisms were isolated from the rhizosphere and non-rhizosphere soils of both the continuous cropping fields, where pea has been cultivated six years continuously, and the rotational one, where pea has been cultivated at interval in two years. And at the same time, the growing state of pea in both fields was observed.

From the results, in case of non-rhizosphere, no differences of microbial populations were recognized between the two fields at three microorganisms alike (Table 3). And at first half stage of pea-growth in case of rhizosphere, difference of population was not recognized between the two fields. But the increase of *Fusarium* population was recognized at the flowering stage in the continuous cropping field and the degree of increase became distinct at the end stage of growth (Table 5). While there was no clear change on the population of each microorganism of rotational cropping field at every time of the investigation (Table 5, 6 and 7).

It was furthermore observed in the growing state of pea, and the soil-sickness was recognized clearly in the continuous cropping field but not in the rotational.

2) Same experiments were carried out using both of the continuous cropping- and virgin-soils of pea. From the results, it was recognized that *Fusarium* population in the continuous cropping soil was richer than in the virgin soil, and also soil-sickness was observed clearly in the continuous cropping soil, but in the virgin soil (Table 8).

From the results described above, it was recognized that *Fusarium* population in rhizosphere of pea was richer in the soil possessing strong factor (s) of soil-sickness than in the soil possessing no or weak factor(s).