

水田転換草地土壌のPythium属菌の分離法，種類，及び病原性について

誌名	北海道農業試験場研究報告 = Research bulletin of the Hokkaido National Agricultural Experiment Station
ISSN	03675955
著者名	佐藤, 徹 佐藤, 倫造 島貫, 忠幸 松本, 直幸
発行元	北海道農業試験場
巻/号	143号
巻号補足	
掲載ページ	p. 95-103
発行年月	1985年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



水田転換草地土壌の *Pythium* 属菌の 分離法, 種類, 及び病原性について

佐藤 徹* 佐藤倫造** 島貫忠幸* 松本直幸**

緒 言

草地の生産阻害要因として土壌病害が重要であることは、アルファルファ草地の衰退に関する一連の研究報告からも明らかである。

草種あるいは草地の立地条件が変わってくれば、当然、問題となる病原菌の種類も変わることが予想される。北海道の草地におけるオーチャードグラス株枯病¹⁾、イネ科牧草褐色雪腐病の発生事例からみて、低湿な草地では *Phytophthora* と並んで *Pythium* 属菌の被害が重要と思われる。これは水田再編に伴って急激に増加した湿潤な転換草地にも共通する問題であろう。日本産 *Pythium* 属菌については渡辺⁷⁻⁹⁾ が詳細に報告しているが、これは我が国における *Pythium* 属菌の分布を巨視的に調査したものであって、草地に分布する *Pythium* 属菌に関する報告は極めて少ない。

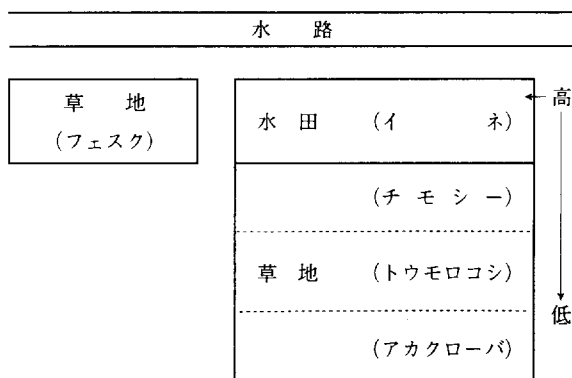
我々は、転換畑に関する別枠研究に参画して、草地土壌からの *Pythium* 属菌の検出手法について検討を行うとともに、水田及び転換草地に分布する *Pythium* 属菌の種類の解明を試みた。

本研究を行うにあたって、空知南東部地区、同南西部地区、同中央地区の各農業改良普及所には調査地点の選定に協力いただいた。雪印種苗中央研究農場には土壌採取に協力いただいた。北海道農業試験場牧草第3研究室長、但見明俊博士は本報告の取りまとめに尽力下さり、同研究室、藤平博子氏には終始実験に協力いただいた。各位に厚く感謝する。

試験方法並びに結果

1. 土壌中の *Pythium* 属菌の分離と同定手法の検討

1979年10月に北海道夕張郡長沼町の水田とこれに隣接する転換草地から根圏土壌を採取し、*Pythium* 属菌の捕捉分離に供した。200ml 容のビーカーに



第1図 *Pythium* 属菌検出に用いた水田及び草地
(北海道夕張郡長沼町)

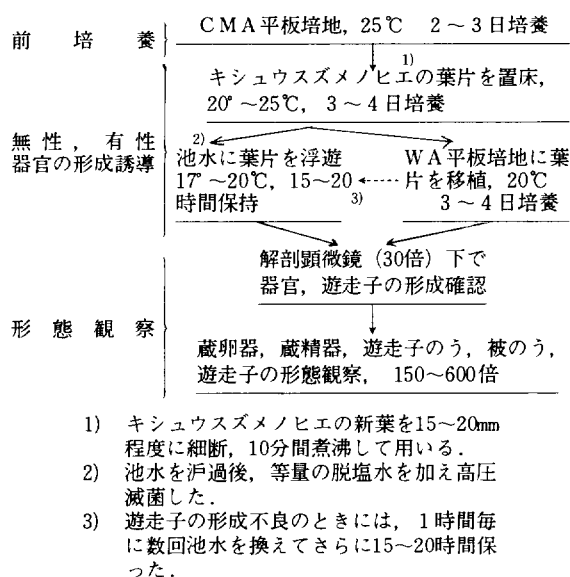
被検土壌を約5cmの深さに詰め、これに適量の殺菌水を加えて1cm程度に湛水した。次に無菌的に催芽させたアルファルファとオーチャードグラスの幼苗を、根の先端部近傍をピンセットで押しつぶしたのち、ビーカー当たり10本浸漬した。捕捉のための保持期間 (incubation) は2日間とし、温度は20℃と25℃の2段階とした。菌分離には2%素寒天培地 (WA培地) を用い、アンチホルミン溶液で表面殺菌後置床した。25℃に2～3日保ったのち、解剖顕微鏡下で単菌糸を釣菌、トウモロコシ煎汁寒天培地 (CMA培地) に移植した。分離菌株の形態観察は、第2図に示す手順で行った。

分離した菌株のなかで *Pythium* 属菌と推定された菌株 (球のう内での遊走子分化を未確認の菌株を

昭和59年11月29日受理

* 草地開発第二部牧草第3研究室 (現草地試験場環境部)

** 草地開発第二部牧草第3研究室



第2図 分離菌株の形態観察手順

第1表 草地及び水田土壌から捕捉法によって分離された *Pythium* spp. の菌株数

捕 捉 植 物	転 換 草 地										水 田	
	アカクロバ ¹⁾		チ モ シ ー		トウモロコシ		フ ェ ス ク イ		ネ			
	20℃ ²⁾	25℃	20℃	25℃	20℃	25℃	20℃	25℃	20℃	25℃	20℃	25℃
オーチャード グ ラ ス	10 ³⁾	10	8	11	10	10	9	6	10	9		
アルファルファ	8	7	12	9	10	6	8	5	11	9		

1) 土壌採取地点の作物 2) 捕捉期間 (48時間) の温度 3) 分離された菌株数

含む) は, 第1表に示す179菌株であった. このなかから, CMA 培地上での菌叢と蔵卵器の有無及び形態などから, 46菌株を選んで第2図の手順にしたがって形態を比較した結果, 次の3群に大別できた.

第1群: 蔵卵器に刺状突起を有し, hyphal swelling, 遊走子の形成を欠く 3菌株

第2群: 蔵卵器は平滑

- 1) 卵胞子未充満で遊走子のうは糸状 14菌株
- 2) 卵胞子充満で, 遊走子のうは lobate 1菌株

第3群: 蔵卵器を欠く

- 1) 遊走子のうは糸状 11菌株
- 2) lobate な hyphal swelling を生ずるが遊走子を欠く 17菌株

アルファルファとオーチャードグラスともに, 捕捉効果が高く, 平均して90%を上まわる検出率であった. アルファルファの20℃区 (incubation) の平均は98%と高いが, 25℃区では72%と比較的低率であった. これは incubation 中に軟腐して分離不能になったものが混在したためである. 発芽がよくそろえるなどの点で, アルファルファの方が捕捉植物としては扱いやすいが, incubation の温度を20℃と低く設定した方が好結果が得られるようである.

同定の基準となる蔵卵器, 遊走子のうなどの形成については, CMA 培養と組み合わせたキシュウズメノヒエ (*Paspalum distichum* L.) の葉片は, CMA, V-8, SCHMITTHENNER の各培地に比べて格段に高い効果を示した. 20~25℃, 3~4日の培養で葉組織内に蔵卵器, 遊走子のうが多数形成され, 水に浮遊した場合の球のうの形成も良好であった. 葉片組織内に形成された器官の精密な形態観察は難しいことが多いが, 葉片を更にWA培地に移すと, 葉片直下の寒天内に蔵卵器, 遊走子のうが形成されるこ

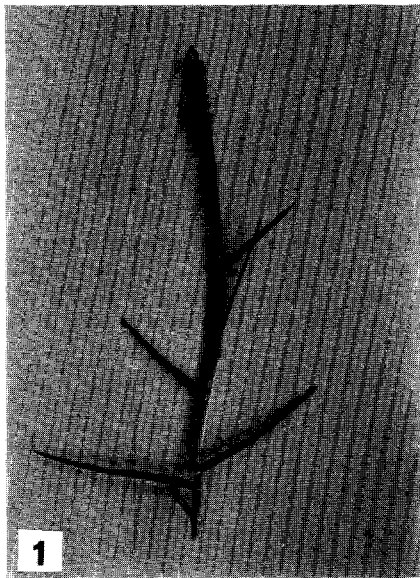
とが多く, これを切りとって検鏡すると蔵精器の形態なども比較的容易に観察可能であった (第3図).

キシュウズメノヒエの効果が認められない菌株も多く, 前述した第1群の3菌株では球のうが, 第3群1) の11菌株では蔵卵器が, また第3群2) の17菌株では蔵卵器, 球のうともに形成されなかった. 蔵卵器の形成不能については, 異株性

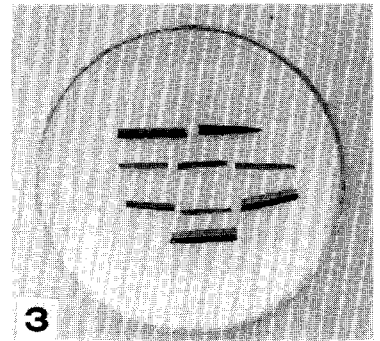
が関与していることも考えられる.

2. 長沼町の転換草地及び水田の土壌から捕捉した *Pythium* 属菌とその病原性

1980年6月と10月の2回, アルファルファの実生を用いて土壌中の *Pythium* 属菌を捕捉, 分離して, その同定と病原性の検定を行った. 土壌の採取地点試験方法は前項と同一である. 同定は HENDRIX⁴⁾ の提唱した complex の類別によった. 病原性検定には, アルファルファ (デュピュイ), オーチャードグラス (オカミドリ) とダイコン (品種不詳) の幼苗を用いた. 供試菌株の CMA 7日培養に殺菌水を加えて磨砕したのち, 育苗した鉢の表面に灌注して接種を行った. 接種後は20℃の湿室に24時間保った



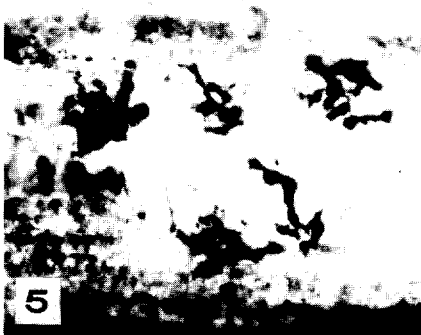
1 及び 2 キシュウスズメノヒエ
(*Paspalum distichum* L.)



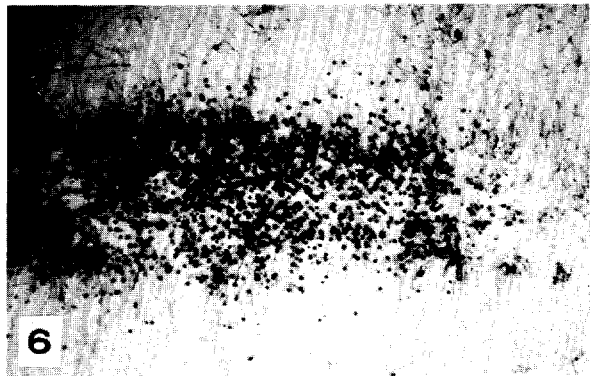
3 CMA 培養上に置床した葉片



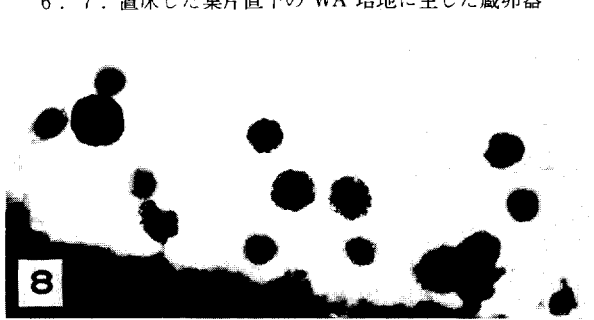
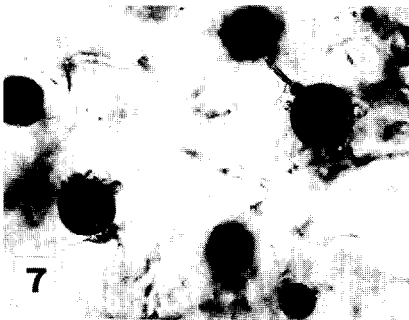
4 葉片内の蔵卵器



5 同膨状遊走子のう



6. 7. 置床した葉片直下の WA 培地に生じた蔵卵器



8. 池水に浮遊した葉片に生じた球のう

第3図 キシュウスズメノヒエ (*Paspalum distichum* L.)
とその培養によって形成された *Pythium* 属菌の器官

第2表 転換草地及び水田の土壌から分離された *Pythium* 属菌¹⁾

	水 田		転 換 草 地							
	イ ネ		アカクローバ		チ モ シ ー		トウモロコシ		メドウフェスク	
	6月	10月	6月	10月	6月	10月	6月	10月	6月	10月
<i>P. dissotocum</i> -complex		1			6	2	5	2		1
<i>P. graminicola</i> -complex		2		5				3		2
<i>P. hydnosporum</i>			1							
<i>P. irregulare</i> -complex		1	1	2						
<i>P. monospermum</i> -complex										1
<i>P. rostratum</i> -complex		2								
<i>P. sylvaticum</i> -complex				1				3		
<i>P. ultimum</i> -complex		1	1							1
<i>Aphanomyces</i> sp.				5		5				3
未同定菌株 u1	4	1	2						1	2
u2	5		1		3				7	1
u3				3		1		2		1
u4				2						
u5						1				
u6	1	2					4	2	1	
u7					1					

1) *Aphanomyces* sp. 並びに *Pythium* と推定された未同定菌株を含む

2) 表中の数値は該当する菌株数

のち、温室で管理した。病原性（病原力）は、苗枯れ率を－（0%）、＋（0～30%）、＋（30～60%）、＋（60～100%）の4段階に分けて調査した。

分離した菌株数とその同定結果は第2表に示した。HENDRIX の類別基準は満たさないが *Pythium* 属菌と推定された菌株は、CMA 上の菌叢の形状、蔵卵器、hyphal swelling、遊走子のう、球のうの有無及び形態から、便宜的に u1～u7 の7グループに類別した。このほか、*Aphanomyces* sp. が分離された。本菌株は、蔵卵器は頂生、平滑、大きさ30μ前後、卵胞子は未充満、蔵精器は2～6、遊走子は糸状の菌糸内で分化、逸出すると直ちに被のうし、その後2次遊走子を生ずる。

分離した97菌株のうち、類別できたのは半数にすぎなかったが、水田及び草地の土壌には、*P. dissotocum*-complex など7 complex にまたがる多種の *Pythium* 属菌が分布している。未同定菌株を加えると更に種はふえるものと考えられる。しかし、上述の complex の多くは、転換草地と水田の両者から共通して分離されており、complex で比較するがぎり、転換草地の *Pythium* 属菌相は、水田と大差がなかった。し

かし、季節の影響は比較的顕著で、水田、転換草地ともに、6月に比べて10月では *Pythium* 属菌の構成は多様化していた。

上述の97菌株のなかから、水田、草地の別や complex に配慮して選んだ48菌株の病原性を検討した結果（第3表）、89.6%にあたる45菌株が検定植物の全部または一部に病原性を示した。水田土壌から分離した菌株では、供試した16菌株のうち10菌株が病原性を示した。

3. アルファルファ等の根から分離された *Pythium* 属菌とその病原性

1981年にアルファルファ（札幌周辺と道東の草地）、インゲン（北海道河西郡芽室町）とトウモロコシ（同夕張郡長沼町）の根から *Pythium* 属菌を分離し、その同定とアルファルファ幼苗に対する病原性の検討を行った。供試植物の根を流水で十分に洗浄したのち、褐変部分を細断して分離に供した。その後の手順は前2項と同一である。アルファルファの幼苗に病原性を示した菌株を complex に類別したのが第4表で、WATERHOUSE^{11,12)}に従って同定した

第3表 草地及び水田土壌からの分離菌株の病原性 (北海道夕張郡長沼町)

HENDRIX の 類 別	検 定 植 物	幼 苗 に 対 す る 病 原 性						
		供 試 菌 株 の 反 応						
<i>P. dissotocum</i> -complex	アルファルファ ¹⁾	卅	卅	卅	+	-	-*	
	オーチャードグラス	卅	卅	+	-	卅	-	
	ダ イ コ ン	-	-	-		-		
<i>P. graminicola</i> -complex	アルファルファ	卅	卅	卅	+	+	-	-*
	オーチャードグラス	+	-	-	-	-	+	-
	ダ イ コ ン	-	-	-	-		卅	+
<i>P. hydnosporum</i>	アルファルファ	卅						
	オーチャードグラス	卅						
	ダ イ コ ン	卅						
<i>P. irregulare</i> -complex	アルファルファ	卅	卅*					
	オーチャードグラス	卅	-					
	ダ イ コ ン	+						
<i>P. rostratum</i> -complex	アルファルファ	-*						
	オーチャードグラス	-						
	ダ イ コ ン							
<i>P. sylvaticum</i> -complex	アルファルファ	-						
	オーチャードグラス	-						
	ダ イ コ ン	-						
<i>P. ultimum</i> -complex	アルファルファ	卅		-*				
	オーチャードグラス	+	+	-				
	ダ イ コ ン	卅						
<i>Aphanomyces</i> sp.	アルファルファ	卅						
	オーチャードグラス	-						
u1	アルファルファ	卅*	卅*	卅*	卅*	-*	+	
	オーチャードグラス	卅	卅	卅	卅	+		
	ダ イ コ ン	+	+		-	-		
u2	アルファルファ	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-
	オーチャードグラス	卅	卅	+	卅	卅	卅	+
	ダ イ コ ン	卅	卅	+	-	+	-	+
u3	アルファルファ	卅	卅	卅				
	オーチャードグラス	-	-	-				
	ダ イ コ ン	-	-	-				
u5	アルファルファ	卅						
	オーチャードグラス	-						

u6	アルファルファ	卅	卅	+	+	卅*	—*
	オーチャードグラス	+	+	+	+	—	—
	ダイコン	+	+	+	+		
u7	アルファルファ	卅					
	オーチャードグラス	+					
	ダイコン	—					

- 1) 検定植物
 2) 病原性(力)は苗立枯れ率によって4段階に評価した.
 —: 0%, +: 0~30%, #: 30~60%, 卅: 60~100%
 3) * 水田土壌から分離した菌株

第4表 アルファルファに病原性を示した *Pythium* 属菌¹⁾

HENDRIX の類別	種 名	宿 主 及 び 採 集 地
<i>P. dissotocum</i> -c	<i>P. dissotocum</i>	アルファルファ (札幌)
	<i>P. adhaerens</i> ? ²⁾	アルファルファ (江別), トウモロコシ (長沼)
	?	
<i>P. graminicola</i> -c	<i>P. graminicola</i> ?	水田土壌, トウモロコシ (長沼)
	<i>P. torulosum</i> ?	トウモロコシ (長沼)
	<i>P. vanterpoolii</i>	
	<i>P. aristosporum</i>	トウモロコシ (長沼)
	<i>P. inflatum</i>	アルファルファ (札幌)
<i>P. irregulare</i> -c	<i>P. irregulare</i> ?	アルファルファ (札幌)
<i>P. oligandrum</i> -c	<i>P. oligandrum</i> ?	アルファルファ (道東), インゲン (芽室)
<i>P. paroecandrum</i> -c	<i>P. paroecandrum</i>	アルファルファ (札幌), インゲン (芽室)
<i>P. sylvaticum</i> -c	?	水 田 土 壌 (長沼)
<i>P. tenue</i> -c	?	アルファルファ (江別)
	<i>P. scleroteichum</i>	アルファルファ (札幌)
	<i>P. ecinocarpum</i> ?	イン ゲ ン (芽室)
未同定 12菌株		アルファルファ (札幌)
		チモシー, トウモロコシ (長沼)

- 1) アルファルファ, トウモロコシ, インゲンの根から分離した.
 2) 記載はほぼ合致するが, 種名の確定に至らなかった.

種名を示した. 記載とほぼ合致したが確定に至らなかった種名は?を付した. このうち, *P. oligandrum*-complex, *P. paroecandrum*-complex, *P. tenue*-complex と *P. scleroteichum*?, *P. ecinocarpum* ? は土壌から捕捉法で検出されなかったものであり, 逆に *P. hydnosporum*, *P. monospermum*-complex, *P. rostratum*-complex は根から分離されなかった.

考 察

土壌中の *Pythium* 属菌の検出法は, 選択培地による直接分離法と捕捉法に大別される. 我々は, 牧草に病原性を有する菌株の選択的な分離を意図して, アルファルファとオーチャードグラスの実生苗を捕捉植物として用いた. *Pythium* 属菌の検出率は両植物とも90%を上まわり, 草種間の差は認められなかった. しかし, 発芽がよくそろなど使いやすさの

点でアルファルファの方が優れている。アルファルファは、病原性を有する *Pythium* 属菌の選択的な捕捉にも優れ、捕捉した48菌株の89.6%がアルファルファ、オーチャードグラス及びダイコンの全部または一部に幼苗検定で病原性を示した。アルファルファは、土壌中の *Pythium* 属菌の検出に適した材料と考えられる。捕捉の好適条件は、20℃、2～3日で、25℃に2日以上保つと軟腐して分離操作に支障をきたすことがある。

Pythium の同定の障害の一つは、分類の基準となる蔵卵器、遊走子のうなどを培地上に形成させることが困難な点にある。EMERSON³⁾ は、*Agrostis* 属、*Paspalum* 属植物の葉が形成を促すと報告した。我々もキシウスズメノヒエ (*P. distichum* L.) を用いて、CMA、V-8 juice、SCHMITTHENNER の各培地よりも良好な結果を得た。特に CMA 上で培養した葉片を WA 培地に移すと、葉片直下の寒天内に多数の蔵卵器、遊走子のうなどの形成されることが多く、形態観察が容易になることを認めた。

WATERHOUSE の検索表¹⁾ では、水を充したペトリ皿内で、CMA 培養の寒天片に *Paspalum* 属の葉を接着することが指示されているが、我々の追試では、CMA 培養上に直接葉片を置床しても効果は変わらなかった。後者の方が操作が簡便である。キシウスズメノヒエは暖地に広く分布する湿性雑草で増殖も容易であり、*Pythium* 属菌の同定に使いやすい材料の一つである。しかし、本植物の器官形成への効果も限られたものである。1980年に土壌から分離した97菌株の約半数については、蔵卵器、遊走子のうのいずれか、あるいは両者とも形成させることができなかった。

HENDRIX⁴⁾ は、*Pythium* 属分類の基準となっている諸形質が同一菌株でも必ずしも斉一でなく、菌株、培養条件などで変動しやすいことをあげ、幾つかの種を包括した complex の概念を導入した。我々も分離菌株を彼の基準に基づいて complex に類別することとした。

本研究の主眼の一つは、水田から草地への転換に伴う *Pythium* 属菌相の変動の解明にあった。このためには水田転換以外の条件を可能なかぎり同一にする必要があり、水田と転換草地の隣接地を選定したが、complex のレベルで比較するかぎり、両者の間に顕著な差異は認められなかった。しかし、土壌中の *Pythium* 属菌相が植生に影響されることは、

当然考えられることである。同一草地内でも、栽培草種が異なると、complex のレベルで *Pythium* 属菌の種類が変わり、また、6月に比較して10月には *Pythium* 属菌相が多様化していた事実は、この推測を支持するものと考えられる。形態観察からみても、我々の類別した complex 中に複数の種が含まれていることは明らかで、病原性を検討した結果はこのことを示している。*Pythium* 属菌を種のレベルで同定することは、我々には困難なことではあるが、種のレベルで比較するならば、水田と草地の差異が明確になる可能性がある。日本産 *Pythium* 属菌の分類についての渡辺の解説¹⁰⁾ は、今後の草地におけるこの種の研究にとって有益な情報である。土壌から *Pythium* 属菌を捕捉した6月と10月に、イネ及び牧草の地上部には土壌菌によるとみられる病徴は全く認められなかったが、分離菌株の大部分は病原性を有し、そのなかに若干の水田からの分離菌株が含まれていた。一方、アルファルファなどの根の褐変部位からも多種類の *Pythium* 属菌が分離され、その多くがアルファルファの幼苗に対して強い病原性を示した。

草地での *Pythium* 属菌の生態を考える上で、病原性をどのような形で評価するかは、重要な問題である。簡便という利点はあるが、幼苗検定の妥当性については、検討の余地がある。しかし、上述の結果からみて、根の褐変と苗立枯れの間にある程度の関連はあるものと思われる。

以上の結果を総合すると、草地の土壌には多種類の *Pythium* 属菌が分布し、その多くは牧草、とくにアルファルファに対して病原性を有すると考えられる。したがって草地での *Pythium* 属菌の被害は単一の種によるものではなく、他種類の *Pythium* 属菌の加害が複合した形をとるものと考えられる。しかも、通常の条件下では、これらの *Pythium* 属菌は根を加害して宿主の生育を妨げ、他病の併発をたすけるにとどまり、地上部に顕著な病変をもたらすことはまれと考えられる。

しかし、感受性の高い草種、品種の導入や地表水の停滞など、*Pythium* 属菌の加害に好適な条件が満たされたときは、その被害が顕在化するのであろう。緒言で触れた褐色雪腐病やオーチャードグラス株枯病の発生が、これにあてはまるものである。一谷⁵⁾ は、みかけ上健全な植物での *Pythium* 属菌による根の加害も重要であるとして、*Pythium* 属菌による

病害は、その本来が持つ“立枯病”，“根腐病”などの概念を変えつつあると述べている。牧草と *Pythium* 属菌の関係は、まさにこれに当てはまるもので、

Pythium 属菌は草地の衰退に、直接、間接に深くかかわっていると考えられる。

要 約

草地土壌からの *Pythium* 属菌の検出及び同定方法の検討を行い、それに基づいて水田と転換草地に分布する *Pythium* 属菌の種類を調査した。アルファルファの実生苗を用いた捕捉法によって、病原性をもつ *Pythium* 属菌を選択的に検出できた。CMA 培養に煮沸したキシウスズメノヒエの葉を加えると、蔵卵器、遊走子のうの形成が良好となり、同定に有益であるが、菌株によっては効果の認められないものもある。水田及び草地土壌からの分離菌株は、HENDRIX にしたがって *P. dissotocum*-complex など 7-complex と *P. hydnosporum* に類別された。その多くは水田、草地に共通しており、両者に分布する *Pythium* 属菌の種類は、complex のレベルでは変わらなかった。しかし、調査時期、草種によって、*Pythium* 属菌の種類が異なる傾向がみられた。水田も含めて、土壌からの分離菌株の大多数は、アルファルファなどの幼苗に病原性を示し、またアルファルファ、インゲンなどの褐変した根から分離した菌株も同様であった。以上の結果から、草地にはいくつかの complex にまたがる多種の *Pythium* 属菌が分布し、それらが複合して牧草を加害するものと推察された。

引用文献

- 1) 荒木隆男ら(1971): オーチャードグラス株枯れ病の発生について(予報). 日植病報, 37, 175.
- 2) 荒木隆男ら(1974): 道東地方に発生したイネ科牧草褐色雪腐病について. 日植病報, 40, 117.
- 3) EMERSON, R. (1958): Mycological organization. *Mycologia*, 50, 589-621.
- 4) HENDRIX, F. F. Jr. and K. E. PAPA (1974): Taxonomy and Genetics of *Pythium*. *Proc. Am. Phytopathol. Soc.* 1, 200-207.
- 5) 一谷多喜郎(1984): ピシウム菌による病害の発生生態. 植物防疫, 38, 212-217.
- 6) SPRAGUE, R. (1950) Diseases of cereals and grasses in north America. The Ronald Press Company, New York. 538p.
- 7) WATANABE, T. (1981): Distribution and populations of *Pythium* species in the northern and southern parts of Japan. *Ann. Phytopath. Soc. Jpn.*, 47, 449-456.
- 8) WATANABE, T. (1981): Detection of *Pythium deliense* in the Ryukyu Islands and its ecological implication. *Ann. Phytopath. Soc. Jpn.*, 47, 562-565.
- 9) WATANABE, T. (1983): Distribution of *Pythium aphanidermatum* in Japan: its significance. *Trans. Mycol. Soc. Jpn.*, 24, 15-23.
- 10) 渡辺恒雄(1984): 日本産 *Pythium* 菌の分類と分類・同定上の諸問題, 植物防疫, 38, 203-211.
- 11) WATERHOUSE, G. M. (1967): Key to *Pythium* PRINGSHEIM. *Mycological papers*, 109, 1-15.
- 12) WATERHOUSE, G. M. (1968): The genus *Pythium* PRINGSHEIM. *Mycological papers*, 110, 1-71.

Pythium spp. Isolated from the Soil of Paddy and Rotation Swards

Toru SATO*, Rinzo SATO**, Tadayuki SHIMANUKI* and Naoyuki MATSUMOTO**

Summary

The *Pythium* population of rhizosphere soil was surveyed by the baiting method using the seedlings of alfalfa and orchardgrass in rotation swards and paddy fields. Incubation of the baits in the submerged soil at 20°C for 48 hours provided satisfactory results; the isolation efficiency of *Pythium* exceeded 90% in both baits. About half of 97 isolates from the soil satisfied Hendrix's criterion and were identified as *P. dissotocum*-, *P. graminicola*-, *P. monospermum*-, *P. rostratum*-, *P. sylvaticum*-, *P. ultimum*-complex, and single species *P. hydnosporum*. The *Pythium* population of the sward differed little from that of the paddy field at the complex level, and most of the above complex were common to the fields. The population may change seasonally; the isolates obtained in October were more diverse than in June. More than 90% of the isolates, including 10 from paddy fields, were pathogenic to one or both the seedlings of alfalfa and orchardgrass.

Besides the soil, *P. oligandrum*-, *P. paroe-candrum*-, *P. tenue*-complex, and the above complex were isolated from brown roots of alfalfa, maize, and kidney beans collected through Hokkaido. Most were also pathogenic to alfalfa seedlings.

These results showed that various pathogenic *Pythium* distributed widely in swards and paddy fields without causing any conspicuous symptoms on grasses. Serious damage may occur, when the fungi encounter favorable conditions such as very wet soil, submergence, or the introduction of susceptible varieties.

In the course of the study, we found that the leaf blade of *Paspalum distichum* L. enhanced the formation of oogonia and zoosporangia on certain isolates which were unable to form these organs on CMA, V-8 and Schmitthenner's medium.

* National Grassland Research Institute.

** Laboratory of Diseases and Insects,
Department of Forage Crop Breeding.