

中国における飼料作物・家畜腸内由来乳酸菌の収集と評価

畜産草地研究所 家畜生産管理部

飼料調製研究室

蔡 義民

Collection and Evaluation of Lactic Acid Bacteria Isolated from Silage and Animal Intestines in China

Yimin CAI

Forage Processing Laboratory

Department of Animal Feeding and Management

National Institute of Livestock and Grassland Science

Nasushiobara, Tochigi 329-2793, Japan

1. 目的

乳酸菌は動物・植物界を中心に生息し、今まで人類に多大な恩恵を与え続けている安全性の高い菌群である（富田2000）。サイレージ発酵に関する乳酸菌は *Lactobacillus*、*Leuconostoc*、*Lactococcus*、*Enterococcus*、*Pediococcus* および *Weissella* など多数の属に分類される（Cai 1999、蔡2002、Cai et al. 1998、1999、Zhang et al. 2000、Ennahar et al. 2003）。飼料作物に付着する乳酸菌の種類、その菌数、発酵形式および生成乳酸の光学異性は、サイレージの発酵品質ばかりでなく、栄養価値や反芻家畜の生理代謝に影響を与える（蔡2001）。また、材料草に共生する酪酸菌、好気性細菌、糸状菌および酵母などの微生物は、乳酸菌の発酵を競合的に阻害し、サイレージ品質の劣化や発酵損失を招く原因となる（McDonald et al. 1991、蔡2001、Ohmomo et al. 2002）。したがって高品質サイレージを調製するための微生物的制御が必要であり、サイレージ乳酸菌の分離、分類及び機能解析など、有用な菌株の探索や発掘は重要である。

近年、乳酸菌のプロバイオティックスとしての多くの機能が取り上げられ、とくにプロバイオティック乳酸菌が腸内菌叢の維持と調節に重要な意味を持ち、有害な微生物の増殖を阻止し、腸管の免疫機能を賦活するなど、宿主の健康に深く関わっている。また乳酸菌による整腸作用と共に、免疫賦活、抗腫瘍性、抗変異原、血清コレステロール低下作用、血圧低下作用など、宿主の生体防御機構を活性化する効果が期待される(Tannock 1999)。最近、畜産分野でもプロバイオティック乳酸菌

を活用し、抗生物質に頼らない健全な家畜生産技術の開発が行われている。

微生物多様性の研究から、中国では多種多様な乳酸菌を有し、畜産生産への利用をしながら、未知・未利用な菌種が少なくないと推察された。今回、中国産飼料作物・家畜腸内由来乳酸菌を探索、収集し、それら微生物の分子分類と系統保存を行うとともに、プロバイオティック乳酸菌のスクリーニングと家畜生産性能の向上への有効活用を図る。

2. 探索概要

2004年9月17日から10月24日にわたって、中国の北京市、浙江省、江蘇省、南京市、吉林省、広西壯族自治区、陝西省で調製されたサイレージおよび現地で飼養された各種反芻家畜のフレッシュファンを採集した（表1、写真1、写真2）。収集したサンプルは真空パックで密封して、冷蔵した状態で実験室へ持ち帰り分離源とした（写真3、写真4）。

3. 収集成果

1) 乳酸菌の分離・同定

野外でサンプリングする時、サイレージや家畜ファンの試料を採取してから乳酸菌の分離操作に取りかかるまでの経過時間は短ければ短いほど、サイレージの菌叢の変化が少ないため、運送中は可能な限り、アイスボックスを利用して低温に保存した。試料はポリ袋で100 g 無菌的に採取し、口をひねって結んだ。

サイレージ、羊ファンおよび牛ファン10 g 取り出してストマッカー用ビニール袋に入れ、滅菌した生理食塩水90 mlを加えてから激しく振とうして10倍希釈液とし、つぎにこの液を 10^{-8} まで希釈した。乳酸菌はGYP白亜寒天培地（小崎ら1992）、MRS寒天培地および酢酸寒天培地（山里ら1986）などを使用して嫌気培養装置で30°C下に2-3日間培養した。これらの培地から純粋分離した菌株はグラム染色、形態観察、カタラーゼ反応、胞子形成及び乳酸生成試験を行った。

乳酸菌分離株の保存には、一般的微生物保存と同じように、継代培養保存法、凍結保存法および凍結乾燥保存法が用いられる。今回、継代培養保存法と凍結保存法を用いた。

乳酸菌は通性嫌気微生物であることから、その継代培養は通常、MRSを使用した。乳酸菌が乳酸を生成するので、寒天培地に酸の中和剤として沈降性炭酸カルシウムを添加する場合がある。火炎滅菌した後冷した白金線の先端で乳酸菌コロニーをひっかけた。その白金線を高層培地の中心部を通過させるようにして、試験管の底に到達するまで刺した。培養は接種した乳酸菌の至適温度で培養した。穿刺溝に沿った乳酸菌の生育が確認された時点で、その試験管を5°Cの冷蔵庫に入れ低温保管した。この保存状態で2-3か月間、生きながらえさせることができる。日本へ持ち帰る前に、改めて新鮮培地に接種しなおす必要がある。白金線を乳酸菌が生育している穿刺溝に刺しこみ乳酸菌細胞を拾い、そのまま新鮮な高層培地に穿刺して培養・保存した。

凍結保存については、MRS寒天培地に生育したコロニーを滅菌棉棒で集め、10%Dimethyl sulfoxideを入れたNA液体培地（Bacto-Beef Extract 3 g + Bacto-Peptone 5 g / ℥）に懸濁し、-80°Cのディープフリーザーに入れて保存した。なお、凍結保存する際、乳酸菌細胞の入った培地

はヌックに0.5mlずつ何本か小分けした。復元させるときは、凍結培地を室温程度でゆっくりと解凍させたのち、白金耳でMRS寒天培地に塗抹して、至適温度で培養した。

16S rRNAシークエンスに基づく分子系統の研究手順について、まず分離株はMRS寒天培地に植菌し、30°Cでの培養物を供試菌体とした。N-Acetylmuramidase（生化学工業株式会社、東京）とLysozyme（生化学工業株式会社）などの酵素処理と界面活性剤で溶菌させ、菌体からゲノムDNAを抽出した。得られたゲノムDNAを鋸形としてプライマー27F（5'-AGAGTTGATCCTGGCTCAG-3'）と1492R（5'-GGTTACCTGTTACGACTT-3'）、TaKaRa TaqTMキット（宝酒造株式会社、京都市）およびGeneAmp PCR System 9700（Applied Biosystems, USA）を使用し、PCR法により16S rDNAの塩基配列約1500bpを増幅した。PCR産物はDNA回収用フィルター付遠心チューブ（SUPRECTM-02、宝酒造株式会社）を用いて精製した。シークエンス反応および産物の精製はBigDye Primer Cycle Sequencing KitとGeneAmp PCR System 9700（Applied Biosystems, USA）を使用して、Applied Biosystemsプロトコールに従って行った。DNAシークエンスの解析にはABI PRISMTM 310 Genetic Analyzerを使用した。得られた16S rDNAの塩基配列はBLAST Homology Search (Altschul et al. 1997) を用いてDNAデータバンク（GenBank/EMBL/DDBJ）に対する照合検索を行った。分離菌株と近縁基準株との分子系統樹は、CLUSTAL Wプログラム (Thompson et al. 1994) を使って複数の配列間の進化距離を計算し、近隣結合法 (Saitou and Nei 1987) により作成した。

2) 結果

中国北京市、浙江省、江蘇省、南京市、吉林省、広西壮族自治区、陝西省で調製されたサイレージおよび現地で飼養された各種反芻家畜新鮮糞から約250菌株を分離した。まず北京市からの一部分離株を整理し、MAFFに登録した。分離菌株の形態・生理的特性および同定結果を表2に示した。

MAFF516169、MAFF516171、MAFF516173、MAFF516174、MAFF516175、MAFF516177、MAFF516178、MAFF516179、MAFF516181、MAFF516182、MAFF516183、MAFF516191、MAFF516194、MAFF516195はグラム陽性、カタラーゼ陰性、グルコースからガスを產生するヘテロ発酵型で、主にD型の乳酸異性体を生成する *Weissella* 属および *Leuconostoc* 属の乳酸球菌であった。

MAFF516170、MAFF516172、MAFF516176、MAFF516180およびMAFF516190はグラム陰性、カタラーゼ陰性で、グルコースからガスを產生しないホモ発酵型で、酢酸を生成する *Gluconobacter* 属の桿菌であった。

MAFF516184はグラム陽性、カタラーゼ陰性、グルコースからガスを產生しないホモ発酵型で、主にL型の乳酸異性体を生成する *Lactococcus* 属の乳酸球菌であった。

MAFF516185、MAFF516186、MAFF516187、MAFF516188、MAFF516189、MAFF516192およびMAFF516193はグラム陽性、カタラーゼ陰性、グルコースからガスを產生しないホモ発酵型で、主にDL型の乳酸異性体を生成する *Lactobacillus* 属の乳酸桿菌であった。

16S rRNA遺伝子の全領域塩基配列の解析結果に基づき、以上の分離菌株はそれぞれ、

Weissella confusa、*Leuconostoc* sp.、*Leuconostoc mesenteroides*、*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*、*Lactobacillus plantarum*、*Lactobacillus* sp.、*Weissella cibaria*、*Gluconobacter* sp. および*Gluconobacter cerinus* に同定された。

4. 所感

中国においては、トウモロコシの子実収穫後に産出される農産副産物である茎葉の潜在量は膨大であるにも関わらず、サイレージとしての飼料利用は限定され、その品質が極めて不安定なのが実状である。そのため、中国ではサイレージ調製技術の早急な技術開発の発展を必要としている。すなわち、稻ワラやトウモロコシ茎葉など豊富な未利用資源を有効に活用できる技術が開発されれば、家畜の基幹的な飼料資源として利用することが可能となる。このことは農産副産物の消却処理などで中国において深刻な課題となっている環境の保全にも貢献できるばかりでなく、草地における放牧強度の軽減や退化草原の回復にもつながる。一方、中国の畜産が発展している地域では従来から行われているトウモロコシ茎葉のサイレージ生産に加えて、トウモロコシの子実と茎葉を合わせて調製するホールクロップサイレージや牧草サイレージの調製システムへの移行が急速に進みつつあるが、技術的基盤の強化が求められている。

日本では高栄養価飼料の通年的給与を目指したサイレージの生産がますます重要となっている。このため、飼料作物の調製に関する新技術の開発や、省力的な貯蔵・給与システムの確立に関する研究が重点的に行われている。特にサイレージ発酵乳酸菌をスクリーニングし、それを利用した食品製造副産物・農産副産物などバイオマス未利用資源の飼料化技術や高品質サイレージ調製技術の開発は、極めて重要な家畜飼料の調製技術として注目されている。そのため、日本と中国の関係研究機関とが共同参画して共同研究を実施することができれば、中国における粗飼料調製・貯蔵技術の向上や循環型草地畜産の推進などに極めて有益である。

近年、動物腸管に定着した乳酸菌によるプロバイオティクス効果が取り上げられ、乳酸菌による家畜飼料の品質向上、動物の整腸効果および家畜生産性向上への応用について注目を浴びている (Tannock 1999)。畜産の分野でも先端的な視点から乳酸菌の役割を見つめることにより、未知乳酸菌の探索や潜在している機能の発掘も期待されている。今回の探索により収集された乳酸菌株については、優良菌株のスクリーニングと利用により、良質な飼料調製や健全な家畜生産に役立てば幸いである。

5. 謝辞

本探索の調査地点の選考並びに現地でのご案内には中国科学院微生物研究所周培謹教授、周宇光研究員、中国農業大学草地研究所長韓建国教授、浙江大学動物科学学院副院長劉建新教授、俞頌東教授、江蘇省農業科学院土壤肥料研究所長常志州研究員、畜牧研究所副所長顧洪如研究員、南京農業大学動物科技学院副院長沈益新教授、東北師範大学草地研究所長王德利教授、吉林省農業科学院畜牧科学分院副院长蘇秀俠研究員、廣西大学生命科学と技術学院院長武波教授、柏学亮教授、西北農林科技大学動物科技学院副院長劉小林教授に多大なご支援を頂いた。乳酸菌の分離と保存には中国農業大学工学院韓魯佳教授、劉賢博士、興麗博士

にご協力を頂いた。ここに記して深く感謝の意を表する。

中国農業大学動物科技学院、中国農業大学工学院、浙江大学動物科学学院、南京農業大学動物科技学院、広西大学生命科学と技術学院、西北農林科技大学動物科技学院の要請により、6回の研究セミナー（学術報告会）を開き、研究紹介の機会を与えていただいたことに感謝したい。

また、今回の探索の機会を賜り、ご尽力頂いたジーンバンク事業関係の皆様に深謝申し上げる。

6. 参考文献

- Altschul, S.F., T.F. Madden, A.A., Schaffer, J. Zhang, W. Miller and D.J. Lipman (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.* 25, 3389-3402.
- Cai, Y. (1999) Identification and characterization of *Enterococcus* species isolated from forage crops and their influence on silage fermentation. *J. Dairy Sci.* 82, 2466-2471.
- 蔡義民 (2001) サイレージ乳酸菌の役割と高品質化調製. 日本草地学会誌 47: 527-533.
- 蔡義民 (2002) サイレージ発酵の微生物的制御. 土と微生物 56, 75-83.
- Cai Y., S. Kumai, M. Ogawa, Y. Benno and T. Nakase (1999) Characterization and Identification of *Pediococcus* species isolated from forage crops and their application for silage preparation. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 2901-2906.
- Cai, Y., Y. Benno, M. Ogawa, S. Ohmomo, S. Kumai and T. Nakase (1998) Influence of *Lactobacillus* spp. from an inoculant and of *Weissella* and *Leuconostoc* spp. from forage crops on silage fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 2982-2987.
- Ennahar, S., Y. Cai and Y. Fujita (2003) Phylogenetic Diversity of Lactic Acid Bacteria Associated with Paddy Rice Silage as Determined by 16S Ribosomal DNA Analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 444-451.
- McDonald P., N. Henderson and S. Heron (1991) The Biochemistry of Silage. 2nd ed. Chalcombe Publications. Berkshire. pp.11-162.
- Ohmomo, S., O. Tanaka, H. Kitamoto and Y. Cai (2002) Silage and microbial performance, old story but new problems. *Japan Agricultural Research Quarterly* 36, 59-71.
- 小崎道雄・内村泰・岡田早苗 (1992) 乳酸菌実験マニュアル. 朝倉書店. 東京. pp. 34-64.
- Saitou, N. and M. Nei (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4, 406-425.
- Tannock, G. W. (1999) Probiotics -A Critical Review. Horizon Scientific Press, Norfolk, pp.1-4.
- Thompson, J.D., D.G. Higgins and T.J. Gibson (1994) CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighing position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acid Res.* 22, 4673-4680.

富田房男 (2000) 乳酸菌のニューバイオテクノロジー：乳酸菌研究の動向. *HEALTH DIGEST* 15, 1-8.

山里一英・宇田川俊一・児玉徹・森地敏樹 (1986) 微生物の分離法. R and D プラシニング. 東京. pp. 435-444.

Zhang, J., Y. Cai, R. Kobayashi and S. Kumai (2000) Characteristics of lactic acid bacteria isolated from forage crops and their effects on silage fermentation. *J. Sci. Food Agric.* 80, 1455-1460.

Summary

Silage is now the most common preserved cattle feed in many countries, including China and Japan. It is well established that lactic acid bacteria (LAB) play an important role in silage fermentation and animal health. The LAB naturally present on forage crops, silage and animal intestines, therefore, collection and identification of LAB isolated from silage and animal intestines in China and Japan are very important.

Twenty-seven strains of LAB and acetic acid bacteria were isolated from silage, and their identification and characterization were studied. The strains MAFF516169, MAFF516171, MAFF516173, MAFF516174, MAFF516175, MAFF516177, MAFF516178, MAFF516179, MAFF516181, MAFF516182, MAFF516183, MAFF516191, MAFF516194 and MAFF516195 were Gram-positive, catalase-negative and facultatively anaerobic cocci that produce gas from glucose and formed D-lactic acid. Strain MAFF516184 was Gram-positive, catalase-negative, and facultatively anaerobic cocci that did not produce gas from glucose, formed L-lactic acid. The strains MAFF516185, MAFF516186, MAFF516187, MAFF516188, MAFF516189, MAFF516192 and MAFF516193 were Gram-positive, catalase-negative and facultatively anaerobic rods that did not produce gas from glucose, formed DL-lactic acid. The strains MAFF516170, MAFF516172, MAFF516176, MAFF516180 and MAFF516190 were Gram-negative, catalase-negative rods that did not produce gas from glucose and formed acetic acid. Based on 16S rRNA gene sequence analysis, these isolates were identified as *Weissella confusa*, *Leuconostoc* sp., *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus* sp., *Weissella cibaria*, *Gluconobacter* sp. and *Gluconobacter cerinus*, respectively.

表1. 探索・収集日程

年月日	曜	行程及び用務	用務先
16. 9.17	金	畜産草地研究所 → 空港第2ビル	移動
"	"	空路 空港第2ビル → 北京 → 微生物研究所	移動
16. 9.18～ 16. 9.20	土～月	野外用培地の調製・準備	中国科学院微生物研究所
16. 9.21	火	空路 バス 北京 → 杭州 → 浙江大学	移動
16. 9.22～ 16. 9.25	水～土	浙江省牧場の飼料作物・サイレージのサンプリング・乳酸菌の分離	浙江大学 浙江農業科学院
16. 9.26	日	電車 バス 杭州 → 南京 → 南京農業科学院	移動
16. 9.27～ 16. 9.28	月～火	南京牧場の飼料作物のサンプリング・乳酸菌の分離・培養	江蘇省農業科学院 南京農業大学
16. 9.29	水	空路 バス 南京 → 北京 → 中国農業大学	移動
16. 9.30～ 16.10. 2	木～土	分離株の純粋分離・保存	中国科学院微生物研究所 中国農業大学
16.10. 3	日	空路 電車 北京 → 長春 → 公主嶺	移動
16.10. 4～ 16.10. 6	月～水	吉林牛牧場のサンプリング・腸内乳酸菌の分離	吉林省農業科学院 東北師範大学
16.10. 7	木	電車 空路 バス 公主嶺 → 長春 → 南寧 → 广西大学	移動
16.10. 8～ 16.10.10	金～日	廣西農場飼料作物のサンプリング・乳酸菌分離	廣西大学
16.10.11	月	空路 電車 バス 南寧 → 成都 → 重慶 → 西南農業大学	移動
16.10.12～ 16.10.15	火～金	西南農業大学試験研究農場の飼料作物のサンプリング・乳酸菌分離	西南農業大学
16.10.16	土	電車 空路 バス 重慶 → 成都 → 西安 → 咸陽	移動
16.10.17～ 16.10.18	日～月	陝西農場・牧場のサンプリング・乳酸菌分離	西北農林科技大学
16.10.19	火	空路 バス 西安 → 北京 → 微生物研究所	移動
16.10.20～ 16.10.23	水～土	分離株の純粋分離・保存、帰国準備	中国科学院微生物研究所 中国農業大学
16.10.24	日	北京→空港第2ビル→畜草研(那須)	移動

表2. 各種サイレージから分離された乳酸菌、酢酸菌の性質と同定

菌株番号	分離源	分離地	細胞形態	グラム染色	カタラーゼ反応	ガス生成	乳酸異性体	同定属・種*	MAFF番号
CAG 1	コンサイレージ	中国北京市	球菌	陽性	—	+	D(-)	<i>Weissella confusa</i>	516169
CAG 2	コンサイレージ	中国北京市	桿菌	陰性	—	—	nd	<i>Gluconobacter</i> sp.	516170
CAG 3	ソルガムサイレージ	中国北京市	球菌	陽性	—	+	D(-)	<i>Leuconostoc</i> sp.	516171
CAG 4	ソルガムサイレージ	中国北京市	桿菌	陰性	—	—	nd	<i>Gluconobacter</i> sp.	516172
CAG 5	イネサイレージ	中国北京市	球菌	陽性	—	+	D(-)	<i>Weissella confusa</i>	516173
CAG 6	イネサイレージ	中国北京市	球菌	陽性	—	+	D(-)	<i>Leuconostoc</i> sp.	516174
CAG 7	コンサイレージ	中国北京市	球菌	陽性	—	+	D(-)	<i>Weissella confusa</i>	516175
CAG 8	コンサイレージ	中国北京市	桿菌	陰性	—	—	nd	<i>Gluconobacter</i> sp.	516176
CAG 9	コンサイレージ	中国北京市	球菌	陽性	—	+	D(-)	<i>Weissella confusa</i>	516177
CAG11	コンサイレージ	中国北京市	球菌	陽性	—	+	D(-)	<i>Weissella confusa</i>	516178
CAG12a	コンサイレージ	中国北京市	球菌	陽性	—	+	D(-)	<i>Weissella confusa</i>	516179
CAG12b	コンサイレージ	中国北京市	桿菌	陰性	—	—	nd	<i>Gluconobacter</i> sp.	516180
CAG13	コンサイレージ	中国北京市	球菌	陽性	—	+	D(-)	<i>Weissella confusa</i>	516181
CAG16a	アルファルファサイレージ	中国北京市	球菌	陽性	—	+	D(-)	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	516182
CAG17	イネサイレージ	中国北京市	球菌	陽性	—	+	D(-)	<i>Weissella confusa</i>	516183
CAG18a	イネサイレージ	中国北京市	球菌	陽性	—	—	L(+)	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	516184
CAG19a	イネサイレージ	中国北京市	桿菌	陽性	—	—	DL	<i>Lactobacillus plantarum</i>	516185
CAG20	アルファルファサイレージ	中国北京市	桿菌	陽性	—	—	DL	<i>Lactobacillus plantarum</i>	516186
CAG21	アルファルファサイレージ	中国北京市	桿菌	陽性	—	—	DL	<i>Lactobacillus plantarum</i>	516187
CAG22	ソルガムサイレージ	中国北京市	桿菌	陽性	—	—	DL	<i>Lactobacillus plantarum</i>	516188
CAG23	ソルガムサイレージ	中国北京市	桿菌	陽性	—	—	DL	<i>Lactobacillus plantarum</i>	516189
CAG10a	コンサイレージ	中国北京市	桿菌	陰性	—	—	nd	<i>Gluconobacter cerinus</i>	516190
CAG14a	コンサイレージ	中国北京市	球菌	陽性	—	+	D(-)	<i>Weissella cibaria</i>	516191
CAG19b	イネサイレージ	中国北京市	桿菌	陽性	—	—	DL	<i>Lactobacillus</i> sp.	516192
CAG18b	イネサイレージ	中国北京市	桿菌	陽性	—	—	DL	<i>Lactobacillus</i> sp.	516193
CAG10b	コンサイレージ	中国北京市	球菌	陽性	—	+	D(-)	<i>Weissella cibaria</i>	516194
CAG16b	アルファルファサイレージ	中国北京市	球菌	陽性	—	+	D(-)	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	516195

* 16S rRNAシーケンスに基づき同定。−, 陰性; +, 陽性; nd, 未分析。



写真1. コン茎葉部サイレージの調製（左、江蘇）と半地下サイロでの貯蔵（右、陝西）



写真2. 分離源となった水牛（左、広西）とヤギ（右、陝西）



写真3. サイレージ（左、浙江）と牛糞（右、浙江）の採取

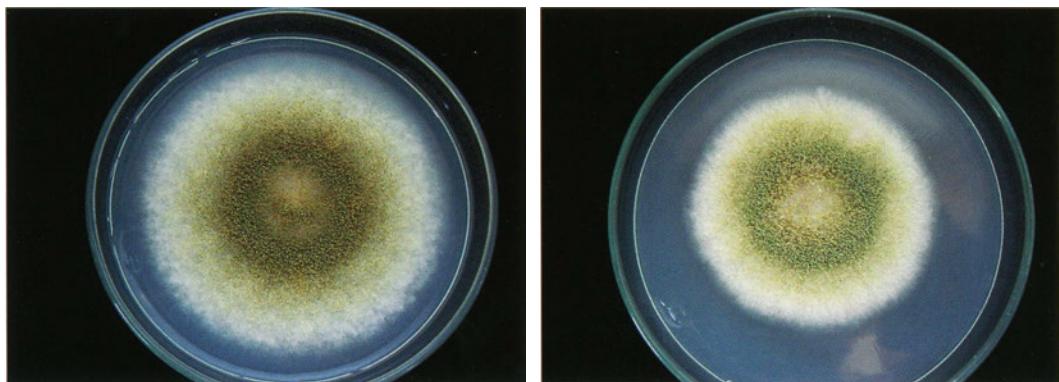


写真4. 左：乳酸菌の分離（中国農業大学にて。左から劉賢博士、興麗博士、著者）
右：大学院生セミナー（南京農業大学にて）



写真5. お世話になった方々
左：浙江大学動物科学学院副院長劉建新教授、俞頌東教授（左から俞頌東教授、著者、劉建新教授）
右：南京農業大学動物科技学院副院長沈益新教授ら（左から3番目：沈益新教授、右から3番目：著者）

微生物の探索収集プロフィール



長野県内の養蚕場から分離・同定した *Aspergillus bombycis* MAFF239797 (左) および *Aspergillus nomius* MAFF239799 (右) (後藤)



釣り餌法による昆虫病原糸状菌 *Paecilomyces fumosoroseus* の土壤からの検出 (柳沼)



中国江蘇省におけるコン茎葉部サイレージの調製 (左) および陝西省における半地下サイロでの貯蔵 (右) (蔡)