

平成 16 年度

微生物遺伝資源探索収集調査報告書

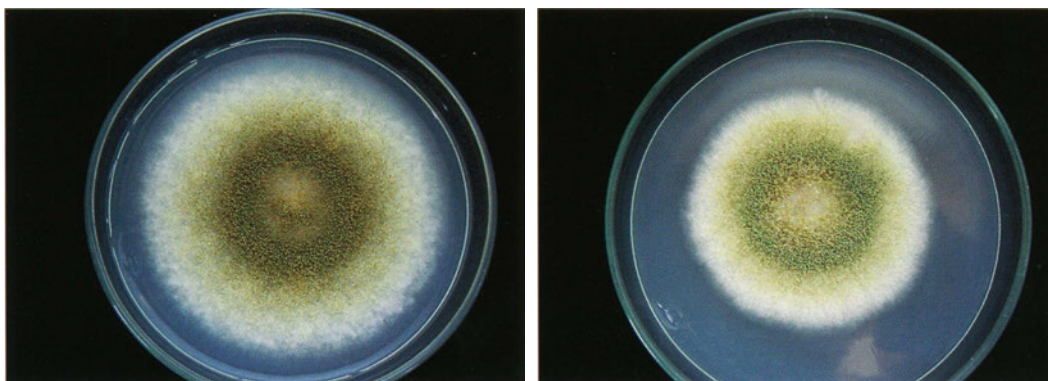
第18巻

2 0 0 5. 1 1

農業生物資源研究所

とりまとめ
独立行政法人
農業生物資源研究所
ジーンバンク
微生物資源研究チーム
佐藤 豊三・永井 利郎
富岡 啓介・竹内 香純
TEL 029-838-7053

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* の土壌からの検出 (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)

ま え が き

わが国の農林水産業・食品産業のさらなる発展を図るためには、新品種の育成やバイオテクノロジー等先端技術の利活用が不可欠であり、それらを支える生物遺伝資源の確保および利用等の知的基盤の整備が益々重要であることが「科学技術基本計画」の中で示されている。また国際的にも、品種の均一化、熱帯林の減少等により、貴重な生物遺伝資源が急速に減失してしまう恐れがあり、それらの保全と利用が重大な関心事となっている。1993年の「生物多様性条約」発効後、生物遺伝資源を巡る国際的な潮流は、「人類共通の財産」から「原産国の主権的権利」を大きく認める考え方に変化し、我が国も本条約に従いつつ国際的協力関係を一層発展させながら、生物遺伝資源の収集と保全に努める必要が生じている。

特に微生物遺伝資源については、OECD（経済協力開発機構）においてBRC（生物資源センター）構想が具体的に動き出している。そこではBRCの国際的な認証基準と認証制度の立案等が検討されていることを踏まえると、わが国においても農業生物遺伝資源の品質向上や効率的保存等に関連した、生物遺伝資源研究の一層の充実に取り組むことが重要である。

1985年に開始した農林水産ジーンバンク事業は、2001年から独立行政法人農業生物資源研究所が中心となって事業の運営にあたることになった。植物、微生物、動物、DNAの農業生物遺伝資源について、全国の農業試験研究機関、種苗管理センター、家畜改良センター等の機能と立地条件を生かし、これらの機関との有機的、組織的連携協力の下に実施している。そして、国内のみならず国際的協力関係を基に海外の生物遺伝資源の探索導入および保存を行い、それらの特性を調査・評価してデータベース化し、生物遺伝資源およびその情報を国公立試験研究機関、民間、大学等に広く提供している。

本報告書は、平成16年度事業の一環として実施された「特異な分布をとる新規アフラトキシン産生菌の探索（信越地方）」、「屋久島、奄美大島における昆虫病原糸状菌の探索・収集」および「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」の結果をとりまとめたものである。本報告書を今後の生物遺伝資源を利用した試験研究、技術指導、事業の円滑な推進等に役立てていただければ幸いである。

平成17年11月

独立行政法人 農業生物資源研究所
基盤研究推進官 小 畑 太 郎

目 次

ま え が き

基盤研究推進官 小畑太郎

I. 国内探索収集報告

1. 特異な分布をとる新規アフラトキシン産生菌の探索（信越地方） 1

信州大学農学部 応用生命科学科
後藤哲久

2. 屋久島、奄美大島における昆虫病原糸状菌の探索・収集 7

果樹研究所 生産環境部 天敵機能研究室
柳沼勝彦

II. 海外探索収集報告

1. 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 17

畜産草地研究所 家畜生産管理部 飼料調製研究室
蔡 義民

- III. これまでの探索収集調査実績 27

Annual Report on Exploration and Introduction of Microbial Genetic Resources Vol. 18

(April 2004 — March 2005)

Contents

Preface

Taro OBATA

Director of Genome and Biodiversity Research

I. Reports on Exploration in Japan

1. Collection of Unique Aflatoxigenic Fungi in Nagano Prefecture 1

Tetsuhisa GOTO

Department of Bioscience and Biotechnology, Faculty of Agriculture,
Shinshu University

2. Collection of Entomogenous Fungi in Yakushima Island and Amami-ooshima
Island in Japan 7

Katsuhiko YAGINUMA

Insect Microbiology Laboratory, Department of Plant Protection,
National Institute of Fruit Tree Science

II. Reports on Exploration in Foreign Countries

1. Collection and Evaluation of Lactic Acid Bacteria Isolated from Silage and
Animal Intestines in China 17

Yimin CAI

Forage Processing Laboratory, Department of Animal Feeding and Management,
National Institute of Livestock and Grassland Science

- III. Past Records 27

I . 国 内 探 索 収 集 報 告

I . Reports on Exploration in Japan

特異な分布をとる新規アフラトキシン産生菌の探索 (信越地方)

国立大学法人信州大学農学部
応用生命科学科
後 藤 哲 久

Collection of Unique Aflatoxigenic Fungi in Nagano Prefecture

Tetsuhisa GOTO

Department of Bioscience and Biotechnology, Faculty of Agriculture
Shinshu University
8304 Minami Minowa-mura, Kamiina-gun, Nagano 399-4598, Japan

1. 目的

発ガン性のマイコトキシンであるアフラトキシン（以下AF）類を産生する菌としては、*Aspergillus* section *Flavi*に属する*Aspergillus flavus*と*A. parasiticus*の2菌種のみが知られていた。この2菌種の内、*A. flavus*は多くの場合AFB群（以下AFBs）のみを産生し、また産生能のみられない菌株もある。一方、*A. parasiticus*はAFBsに加え、AFG群（以下AFGs）も産生し、AF非産生菌株はまれである。これに、1987年、米国のKurtzman等はハチの幼虫から、3番目のAF産生菌として、AFBs、AFGsを共に産生する*A. nomius*を分離、報告した（Kurtzman et al., 1987）。その後、著者等は国内土壌から4番目のAF産生菌である*A. pseudotamarii*を分離、報告した（Goto et al, 1996, Ito et al, 2001）。この菌は、section *Flavi*に属するAF非産生菌である*A. tamarii*と形態的特徴が酷似するもので、これまで知られていたsection *Flavi*におけるAF産生菌と非産生菌の対応（*A. flavus*と*A. oryzae*、*A. parasiticus*と*A. sojae*）に新たなペアを加えるものであった。一方、1997年にHornはsection *Flavi*に属する新たなAF非産生菌を米国内の土壌から分離、報告した（Horn, 1997）。この菌はその後広範に分布していることが示され（Horn & Dorner, 1998）、我が国の土壌中から頻繁に分離されることを確認した（Ito et al., 1999）。

これらの菌の検討を進める中で、国内養蚕現場から分離されたAF産生菌の形態的特徴、AFを含むマイコトキシン産生能が*A. flavus*や*A. parasiticus*のそれらと一致しないことが見いだされ、分離されていた菌の一部はそれまで国内での記載がなかった*A. nomius*であることが確認された（Ito et al., 1998）。しかし、一部のAF産生菌はコロニーの色が薄茶色になるなど、形態的な特徴、

あるいは42℃での生育が見られないなどの生理的な反応に、既知のいずれのAF産生菌と一致しないものがみられ、検討の結果 *A. bombycis* と命名し、新たなAF産生菌として記載した (Peterson et al., 2001)。その後、この菌に関してさらに検討を進めた結果、この菌は日本国内に留まらずインドネシアあるいはマレーシアといった地域においても、養蚕現場（蚕室内のゴミ、蚕の糞、桑の食べかす等）からのみ、しばしば分離され、その中にも若干の地域差があることが確認された (Goto et al., 2003)。

今回の探索では、国内における養蚕が衰退し養蚕農家が急激に減少する中で、遺伝資源の多様性を確保する意味も含めて養蚕現場におけるAF産生菌の存在を確認、収集することを目的とした。また同時に、国内土壌、特に養蚕現場に近い場所におけるAF産生菌の分布の有無の検討も行った。

2. 探索概要

2004年7月後半から8月初めの夏蚕の時期に、長野県の南信、中信、北信地域の4市、1村、計8カ所の養蚕場及びその周辺から、蚕室内の蚕の糞及び桑の食べかす、桑畑の土壌を採取した。採取後の試料は、花き研究所及び信州大学農学部において、定法により菌の分離を行った。

探索場所と日程は以下の通りである。

2004年7月16日：長野県駒ヶ根市（1カ所）

2004年7月20日：長野県飯田市（3カ所）及び伊那市（2カ所）

以上南信地域

2004年8月6日：長野県松本市（中信地域）及び長野県中条村（北信地域）各1カ所

3. 収集成果

1) 菌株の分離・同定

採集した蚕の糞等の試料を、滅菌したTween20溶液で懸濁し、その一部を *Aspergillus flavus* の検出用培地であるDRBC寒天培地上に塗布し、27℃、全暗条件で2～5日間培養し、生育してきたコロニーから、section *Flavi* と見られるものをPDA上に移し取り以後の検討に供した。菌の同定には、菌を標準寒天培地上に植え、その生育温度、形状、コロニー色を検討した。また補助的に、USDA-NCAURにおいてDNAの解析を行った。土壌試料も、蚕の糞と同様の処理を行った。

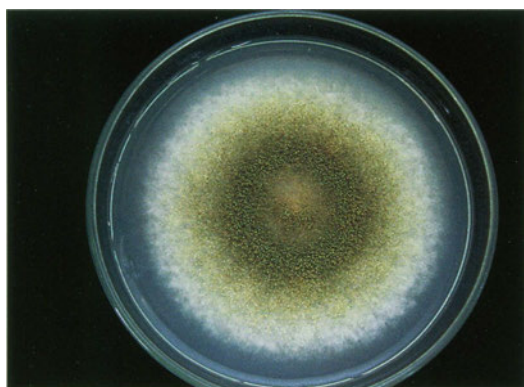


図1. *Aspergillus bombycis* MAFF239797
ツァベック寒天培地、27℃、6日間培養



図2. *Aspergillus nomius* MAFF239799
ツァベック寒天培地、27℃、6日間培養

2) マイコトキシン産生性の検討

分離した菌の、AF、サイクロピアゾン酸（以下CPA）、コウジ酸（以下KA）の産生性は、各々の解析に適した液体培地に菌を接種して行った。検討方法の概要は以下の通りである。

アフラトキシンは、18mm径の試験管に入れたYeast Extract-Sucrose液体培地（10ml）に菌を接種し、27℃、全暗で7日間静置培養後、オートクレーブし、培養液5gに、塩化カリウム、メタノールを加え、そこからクロロフォルムで2回AFを抽出、N₂ガス下で乾固した後、トルエン-アセトニトリル溶液に溶解したものを分析用試料とした。AFの確認は、蛍光を検出手段としたTLCおよびHPLCにより分析して行った。

サイクロピアゾン酸は、AFと同様の条件で、培地に改変ツァペックドックス液体培地を用い10日間培養した。培養後CPAをセライトと無水硫酸ナトリウムを入れた小試験管を用いて酢酸エチルへ抽出し、抽出液をHPLC-UVで分析した。コウジ酸は10mlの坂口らの培地に植え、14日間、30℃で培養後、培養液を移動相で希釈して、HPLC-UVにより分析した。

3) 結果

今回の探索では、土壌試料からはsection *Flavi*とみられる菌は分離されなかった。蚕関連試料からは3カ所の試料から計6株のsection *Flavi*とみられる菌が分離された。これらの菌についてその性状、マイコトキシン産生性を検討したところ以下のような結果となった。

- a. 分離された6株はすべて、AFBs、AFGs及びKAを産生したが、CPAの産生はそのいずれからもみられなかった。
 - b. 中条村下古沢の試料から分離された4株はいずれもツァペック寒天培地上で、42℃では生育がみられなかった（6日間）。残りの2株は、42℃でゆっくりと成長した。
 - c. 下古沢の試料から分離された4株は、他の2株と比較していずれも大きなvesicleを形成した。
- その他の結果を総合して、

MAFF239795（分離番号04S2-1）、MAFF239796（分離番号04S2-1-1）、MAFF239797（分離番号04S2-1-2）、MAFF239798（分離番号04S2-1-3）の4株は*Aspergillus bombycis* S. W. Peterson, Yoko Ito, B. W. Horn et T. Goto（図1）、MAFF239799（分離番号04Kume3-1）、MAFF239800（分離番号04Misuzu-1）の2株は、*Aspergillus nomius* Kurtzman, B. W. Horn et Hesseltine（図2）と同定した。またこの結果は、USDAにおけるDNA解析の結果とも一致した。

4. 所感

本探索では、長野県内の養蚕場及びその周辺の土壌においてsection *Flavi*の探索・収集を行った。*Aspergillus bombycis*は*A. nomius*に近い菌であるが、DNAのシーケンスの解析その他から独立の別種とされているもので、*A. nomius*が土壌を含めて検出されているのに対して、現在までのところ養蚕関係施設からしか分離されていない。我が国における養蚕が今よりは盛んであった1970年代末に分離され、詳細に検討されることなく*A. flavus*として保存されていた菌株にもこの*A. bombycis*が見られること、AF産生菌がしばしば土壌あるいは穀類試料からも分離されるインドネシア、マレーシアにおいても、養蚕施設からのみ分離されているなど、養蚕（蚕？）と深い

関わり（蚕への家畜化？）を疑わせる菌であり、section *Flavi* の他の菌の家畜化（*A. oryzae*、*A. sojae*）との関係においても興味深い菌である。

国内における養蚕が益々衰退して行く中、遺伝資源の多様性の確保、食品製造に用いられているものの、近縁関係にあるAF産生菌との関連（家畜化）が今ひとつ明確でないsection *Flavi* の菌種間の関係の解明の試料としても、今後もさらに国内に残る養蚕地域、及び、インド、中国といった世界の養蚕地域で探索・収集を行う必要がある。

5. 謝辞

本探索では、多くの方々にご支援とご協力をいただいた。長野県上伊那農業改良普及センターの坂井氏には、試料採集農家のご紹介をいただくとともに一部の試料採集にご同行いただき、さらに県内の養蚕の現状に関して多くのお教えをいただいた。花き研究所の伊藤主任研究官には菌の分離のお世話をいただいた。USDA-NCAURのS.W. Peterson博士には菌のDNAによる鑑定をしていただいた。ここにこれらのことを記し、ご協力、ご支援に厚く御礼申し上げます。

6. 参考文献

- Goto, T., Wicklow, D.T., Ito, Y. (1996). Aflatoxin and cyclopiazonic acid production by a sclerotium-producing *Aspergillus tamarii* strain. Appl. Environ. Microbiol., 62: 4036-4038
- Goto, T. Wicklow, D.T., McAlpin, C.E., and Peterson, S.W. (2003) *Aspergillus bombycis* genotypes (RFLP) from silkworm cultivation. Mycoscience 44: 209-215
- Horn, B.W. (1997). *Aspergillus caelatus*, a new speices in section *Flavi*. Mycotaxon, 61: 185-191
- Horn, B.W., Dorner, J.W. (1998). Soil populations of *Aspergillus* species from section *Flavi* along a transect through peanut-growing regions of the United States. Mycologia 90: 767-776
- Ito, Y., Peterson, S.W., Goto, T. (1998). Isolation and characterization of *Aspergillus nomius* from Japanese soil and silkworm excrement. Mycotoxins 46: 9-15
- Ito, Y., Peterson, S.W., Goto, T. (1999). Properties of *Aspergillus tamarii*, *A. caelatus* and related species from acidic tea field soils in Japan. Mycopathologia 144: 169-175
- Ito, Y., Peterson, S.W., Wicklow, D.T., Goto, T. (2001). *Aspergillus pseudotamarii*, a new aflatoxin producing species in *Aspergillus* section *Flavi*. Mycol. Res., 105: 233-239
- Kurtzman, C.P., Horn, B.W., Hesseltine, C.W. (1987). *Aspergillus nomius*, a new aflatoxin-producing species related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamari*. Antonie van Leeuwenhoek, 53: 147-158
- Peterson, S.W., Ito, Y., Horn, B.W., Goto, T. (2001). *Aspergillus bombycis*, a new aflatoxigenic species and genetic variation in its sibling species, *A. nomius*. Mycologia 93: 689-703

Summary

Six aflatoxigenic isolates in *Aspergillus* section *Flavi* were collected from silkworm excrement in Nagano Prefecture. Mycotoxins producibility and morphological characters of these isolates were examined. There were four *A. bombycis* which has been isolated only from silkworm related samples, and two *A. nomius* in the six aflatoxigenic isolates this time.

屋久島、奄美大島における昆虫病原糸状菌の探索・収集

果樹研究所 生産環境部

天敵機能研究室

柳 沼 勝 彦

Collection of Entomogenous Fungi in Yakushima Island and Amami-ooshima Island in Japan

Katsuhiko YAGINUMA

Insect Microbiology Laboratory, Department of Plant Protection,
National Institute of Fruit Tree Science
Fujimoto 2-1, Tsukuba, Ibaraki 305-8605, Japan

1. 目的

近年、シンクイムシ類、ハマキムシ類などのチョウ目害虫を対象とした複合交信攪乱剤が開発され、リンゴ、ナシ、モモなどの果樹園で利用されるようになった。果樹園で本製剤を利用することにより、殺虫剤散布を大幅に減らすことが可能になった。しかし、本剤単独ではシンクイムシ類の防除は不十分であり、補完防除が必要である。また本剤の対象外となるカメムシ類、ハダニ類、アブラムシ類、カイガラムシ類などに対しては防除が必要である。特にカメムシ類は生態的特徴から化学農薬による防除が難しく、西南暖地の果樹園では周期的に大被害がみられ、問題となっている。環境負荷低減を目的として、さらなる減農薬を推進するためには、これら問題となるシンクイムシ類やカメムシ類を化学農薬によらない方法で防除する必要がある。これらの害虫に対しては昆虫病原糸状菌が有力な天敵の一つとして考えられていることから、今回の探索では、シンクイムシ類やカメムシ類に対して病原性の強い昆虫病原糸状菌の収集を目的とする。また、果樹園で防除資材として利用可能な菌を得るためには、利用しようとする地域の気候に適応できる系統を収集、選抜することも重要であると考えられることから、今回は西南暖地における利用を想定して、探索場所を日本の亜熱帯地域である屋久島および奄美大島とし、昆虫病原糸状菌の分布状況を調査するとともに、亜熱帯気候に適応した系統を収集することも目的とする。

2. 探索概要

(1) 病死虫の採集

病死虫の採集は2004年10月18～20日に鹿児島県熊毛郡屋久島町、上屋久島、10月21～23日に大島郡龍郷町、大和町、宇検村、瀬戸内町、住用村、名瀬市で行った（表1）。

表1. 昆虫病原糸状菌の探索・収集日程

年月日	行 程	行 動 内 容
H16. 10. 18	つくば市→鹿児島県熊毛郡屋久島町	陸路、空路 屋久島町内探索・土壌収集
19	屋久島町→上屋久島	上屋久島町内探索・土壌収集
20	上屋久島→屋久島	屋久島町内探索・土壌収集
21	上屋久島→鹿児島市→大島郡笠利町 龍郷町→名瀬市	空路 龍郷町内探索・土壌収集
22	名瀬市→大和村→宇検村→瀬戸内町	大和村、宇検村内探索・土壌収集
23	瀬戸内町→住用村→名瀬市→笠利町 笠利町→つくば市	瀬戸内町、住用村、名瀬市内探索・土壌収集 空路、陸路

(2) 土壌採集

病死虫の探索した際に、屋久島内の44カ所、奄美大島内の34カ所で土壌のサンプリングを行った。木陰や傾斜地の湿った場所を中心に、土壌約200gをポリエチレン袋で採集し、果樹研に持ち帰った。

3. 収集の成果

(1) 方法

1) 病死虫からの昆虫病原糸状菌の分離

採集した病死虫は、湿室において分生子を形成させた。分生子をクロラムフェニコール添加 Sabouraud 寒天培地に接種して菌を分離した。分離後、コロニーの形状、検鏡による分生子の形態観察により、種を同定した。

2) 土壌からの昆虫病原糸状菌の分離

a) 選択培地による分離

使用した選択培地は *Metarhizium* 分離用選択培地（オートミール30g、寒天20g、蒸留水1,000 ml、塩基性硫酸銅0.86g、PCNB水和剤0.67g、クロラムフェニコール0.3g）、*Paecilomyces* 属菌分離用選択培地（麦芽エキス20g、寒天15g、蒸留水1,000ml、硫酸銅400mg、クロロテトラサイクリン30mg）（Bååth, 1991）、*Beauveria bassiana* 分離用選択培地（ペプトン3 g、塩化銅0.2g、クリスタルバイオレット 2 mg、寒天15g、蒸留水1,000ml pH10）（Shimazu and Sato, 1996）の3種類である。採集した土壌を0.05% Tween40添加の滅菌水で希釈し、15分間振盪後、それぞれの選択培地に接種した。14日後に出現したコロニーをSabouraud寒天培地に移植し、菌種を同定した。

b) モモシンクイガ、ナシヒメシンクイの幼虫利用による菌の分離（釣り餌法）

採集した土壌を直径10cm高さ7cmのプラスチック製の容器に入れ、幼果リングで室内飼育した

モモシクイガの終齢幼虫を放飼し（40頭/容器）、土壌中で蛹化させた。また、室内飼育したナシヒメシクイの終齢幼虫を脱脂綿に潜らせ、そこに土壌サンプルの10倍希釈液を染みこませ25℃で飼育した。2週間後、羽化した成虫数、病死虫数を調査した。病死虫からクロラムフェニコール添加のSabouraud寒天培地を用いて菌の分離を行い、菌種を同定した。

3) モモシクイガに対する病原性

分生子形成の良好な *P. fumosoroseus* 13菌株、*P. cateniannulatus* 5菌株について、モモシクイガに対する病原性を調査した。10⁸/mlの分生子懸濁液を調製し、滅菌土壌、非滅菌土壌にそれぞれ10⁴/土壌1g、10⁶/土壌1gになるように菌液を混和した。菌を混和した土壌に、モモシクイガの終齢幼虫を放飼し、蛹化させた。2週間後に羽化成虫数および病死虫数を調査した。

4) チャバネアオカメムシに対する病原性

Ihara et al. (2001) の報告に従い、*M. anisopliae* の60菌株、*B. bassiana* の8菌株についてチャバネアオカメムシに対する病原性を調査した。Sabouraud寒天培地で菌を培養し、分生子を形成したコロニー上にカメムシ成虫を放飼し、数分間歩行させた。カメムシを別の容器に移し25℃で飼育した。接種後毎日生死を確認し、供試虫の90%が死亡するまでに必要な日数を求めた。必要日数により、各菌株をClass I（4日以内）、Class II（5～7日）、Class III（8～10日）、Class IV（11日以上）に分類した。

5) 生育試験

B. bassiana 8菌株、*M. anisopliae* 20菌株、*P. fumosoroseus* 23菌株、*P. cateniannulatus* 32菌株の分生子をSabouraud寒天培地のプレートに接種し、25℃および30℃で培養した。7日、14日後のコロニー直径を測定した。なお、対照として関東および東北地方で分離された菌株をそれぞれ供試した。

(2) 結果

1) 病死虫の収集

屋久島では病死虫を収集することができなかった。奄美大島では、チョウ目蛹、セミ成虫、コナジラミ類の病死虫を収集した。収集した病死虫から、5種の昆虫病原糸状菌が分離された（表2）。このうち *Aschersonia aleyrodis* については、カンキツ害虫であるミカンコナジラミに対する病原性が確認された段階でジーンバンク登録する予定である。

表2. 病死虫の採集

菌株番号	採集場所	学名	寄主
04102101	龍郷町	<i>Isaria takamizusanensis</i>	セミ成虫
04102102	龍郷町	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	チョウ目蛹
04102201	大和村	<i>Paecilomyces tenuipes</i>	チョウ目蛹
04102202	宇検村	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	チョウ目蛹
04102203	宇検村	<i>Aschersonia aleyrodis</i>	コナジラミ類
04102204	宇検村	<i>Aschersonia aleyrodis</i>	コナジラミ類
04102205	宇検村	<i>Aschersonia aleyrodis</i>	コナジラミ類
04102206	宇検村	<i>Aschersonia aleyrodis</i>	コナジラミ類

菌株番号	採集場所	学 名	寄 主
04102207	宇検村	<i>Aschersonia aleyrodis</i>	コナジラミ類
04102208	宇検村	<i>Aschersonia aleyrodis</i>	コナジラミ類
04102209	宇検村	<i>Aschersonia aleyrodis</i>	コナジラミ類
04102210	宇検村	<i>Aschersonia aleyrodis</i>	コナジラミ類
04102211	宇検村	<i>Aschersonia aleyrodis</i>	コナジラミ類
04102212	宇検村	<i>Aschersonia aleyrodis</i>	コナジラミ類
04102213	宇検村	<i>Aschersonia aleyrodis</i>	コナジラミ類
04102214	宇検村	<i>Aschersonia aleyrodis</i>	コナジラミ類
04102215	宇検村	<i>Aschersonia aleyrodis</i>	コナジラミ類
04102216	宇検村	<i>Aschersonia aleyrodis</i>	コナジラミ類
04102217	宇検村	<i>Aschersonia aleyrodis</i>	コナジラミ類
04102218	宇検村	<i>Aschersonia aleyrodis</i>	コナジラミ類
04102219	宇検村	<i>Aschersonia aleyrodis</i>	コナジラミ類
04102220	宇検村	<i>Aschersonia aleyrodis</i>	コナジラミ類
04102221	宇検村	<i>Aschersonia aleyrodis</i>	コナジラミ類
04102222	宇検村	<i>Aschersonia aleyrodis</i>	コナジラミ類
04102223	宇検村	<i>Aschersonia aleyrodis</i>	コナジラミ類
04102301	瀬戸内町	<i>Aschersonia</i> sp.	コナジラミ類
04102302	瀬戸内町	<i>Aschersonia</i> sp.	コナジラミ類
04102303	瀬戸内町	<i>Aschersonia</i> sp.	コナジラミ類

2) 土壌からの分離

屋久島および奄美大島で採集した土壌からそれぞれ68、87菌株の昆虫病原糸状菌が分離された(表3)。分離菌は8種(未同定1種を含む)であった。両島で分離されたのは*M. anisopliae*、*P. cateniannulatus*、*P. fumosoroseus*の3種で、普通種である*B. bassiana*は奄美大島のサンプルからは分離されなかった。最も多く分離された*M. anisopliae*は、屋久島のサンプルの約55%、奄美大島のサンプルの約90%から分離された。同様に、*P. cateniannulatus*および*P. fumosoroseus*の分離頻度はそれぞれ、屋久島で23%、7%、奄美大島で50%、35%であり、両種とも両島では普通種として分布していることが確認された(表4)。

表3. 分離菌株一覧(土壌から分離)

菌株番号	採集場所	菌 種 名	分離法	MAFF
Y-1-1	屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>acridum</i>	選択培地	
Y-1-2	屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
Y-1-3	屋久町	<i>Beauveria brongniartii</i>	選択培地	
Y-2-1	屋久町	<i>Paecilomyces</i> sp.	選択培地	
Y-3-1	屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
Y-4-1	屋久町	<i>Paecilomyces</i> sp.	選択培地	
Y-6-1	屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
Y-6-2	屋久町	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	選択培地	
Y-7-1	屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	635019

菌株番号	採集場所	菌 種 名	分離法	MAFF
Y-7-2	屋久町	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	選択培地	
Y-7-3	屋久町	<i>Beauveria bassiana</i>	選択培地	
Y-7-4	屋久町	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	モモシクイガ	
Y-7-5	屋久町	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	ナシヒメシクイ	
Y-8-1	屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
Y-8-2	屋久町	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	選択培地	635020
Y-8-3	屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	モモシクイガ	
Y-10-1	屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
Y-10-2	屋久町	<i>Beauveria bassiana</i>	選択培地	
Y-10-3	屋久町	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	選択培地	
Y-11-1	屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
Y-11-2	屋久町	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	選択培地	
Y-11-3	屋久町	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	モモシクイガ	
Y-11-4	屋久町	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	ナシヒメシクイ	
Y-12-1	屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
Y-12-2	屋久町	<i>Paecilomyces</i> sp.	選択培地	
Y-15-1	屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
Y-15-2	屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	モモシクイガ	
Y-17-1	屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
Y-17-2	屋久町	<i>Paecilomyces</i> sp.	選択培地	
Y-22-1	上屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
Y-22-2	上屋久町	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	選択培地	
Y-23-1	上屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
Y-23-2	上屋久町	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	モモシクイガ	
Y-24-1	上屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
Y-24-2	上屋久町	<i>Beauveria bassiana</i>	選択培地	
Y-25-1	上屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
Y-25-2	上屋久町	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	選択培地	
Y-25-3	上屋久町	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	ナシヒメシクイ	
Y-26-1	上屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
Y-26-2	上屋久町	<i>Beauveria bassiana</i>	選択培地	
Y-27-1	上屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
Y-29-1	上屋久町	<i>Beauveria bassiana</i>	選択培地	
Y-30-1	上屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
Y-30-2	上屋久町	<i>Beauveria bassiana</i>	選択培地	
Y-31-1	上屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>majus</i>	選択培地	
Y-32-1	上屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
Y-32-2	上屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	モモシクイガ	
Y-33-1	上屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
Y-33-2	上屋久町	<i>Beauveria bassiana</i>	選択培地	
Y-34-1	上屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
Y-34-2	上屋久町	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	選択培地	
Y-35-1	上屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
Y-36-1	上屋久町	<i>Beauveria bassiana</i>	選択培地	
Y-36-2	上屋久町	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	選択培地	

菌株番号	採集場所	菌 種 名	分離法	MAFF
Y-37-1	上屋久町	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	選択培地	
Y-38-1	上屋久町	<i>Beauveria bassiana</i>	選択培地	
Y-40-1	上屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
Y-41-1	上屋久町	<i>Beauveria bassiana</i>	選択培地	635021
Y-42-1	上屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
Y-42-2	上屋久町	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	選択培地	
Y-42-3	上屋久町	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	ナシヒメシンクイ	
Y-43-1	上屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>majus</i>	選択培地	
Y-43-2	上屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
Y-44-1	上屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
Y-44-2	上屋久町	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	選択培地	
Y-44-3	上屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
Y-44-4	上屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	モモシンクイガ	
Y-44-5	上屋久町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	ナシヒメシンクイ	
A-1-1	龍郷町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-1-2	龍郷町	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	選択培地	
A-2-1	龍郷町	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	選択培地	
A-3-1	龍郷町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-3-2	龍郷町	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	選択培地	
A-3-4	龍郷町	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	モモシンクイガ	635022
A-3-5	龍郷町	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	ナシヒメシンクイ	
A-4-1	龍郷町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-4-2	龍郷町	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	選択培地	
A-4-3	龍郷町	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	モモシンクイガ	
A-4-4	龍郷町	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	ナシヒメシンクイ	
A-5-1	龍郷町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-5-2	龍郷町	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	選択培地	
A-6-1	大和村	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-6-2	大和村	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	選択培地	
A-6-3	大和村	<i>Paecilomyces tenuipes</i>	選択培地	
A-7-1	大和村	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-7-2	大和村	<i>Paecilomyces tenuipes</i>	モモシンクイガ	
A-7-3	大和村	<i>Paecilomyces tenuipes</i>	ナシヒメシンクイ	
A-8-1	大和村	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-8-2	大和村	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	選択培地	
A-8-3	大和村	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	選択培地	635023
A-8-4	大和村	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	ナシヒメシンクイ	
A-9-1	大和村	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-9-2	大和村	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	選択培地	
A-9-3	大和村	<i>Paecilomyces</i> sp.	選択培地	
A-10-1	大和村	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-10-2	大和村	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	選択培地	
A-10-3	大和村	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	モモシンクイガ	
A-10-4	大和村	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	ナシヒメシンクイ	635024
A-11-1	大和村	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	

菌株番号	採集場所	菌 種 名	分離法	MAFF
A-11-2	大和村	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	選択培地	
A-11-3	大和村	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	モモシクイガ	
A-12-1	大和村	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-12-2	大和村	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	選択培地	
A-13-1	大和村	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-13-2	大和村	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	選択培地	
A-14-1	大和村	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-14-2	大和村	<i>Paecilomyces</i> sp.	選択培地	
A-15-1	宇検村	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-15-2	宇検村	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	選択培地	
A-15-3	宇検村	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	モモシクイガ	
A-16-1	宇検村	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-17-1	宇検村	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-17-2	宇検村	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	選択培地	
A-17-3	宇検村	<i>Paecilomyces cicadae</i>	選択培地	
A-18-1	宇検村	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-18-2	宇検村	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	選択培地	
A-18-3	宇検村	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	モモシクイガ	635025
A-19-1	宇検村	<i>Paecilomyces</i> sp.	選択培地	
A-19-2	宇検村	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	モモシクイガ	
A-19-3	宇検村	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	ナシヒメシクイ	
A-20-1	宇検村	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-20-2	宇検村	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	選択培地	
A-20-3	宇検村	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	モモシクイガ	635026
A-20-4	宇検村	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	ナシヒメシクイ	
A-21-1	瀬戸内町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-21-2	瀬戸内町	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	選択培地	
A-21-3	瀬戸内町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	モモシクイガ	
A-22-1	瀬戸内町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-22-2	瀬戸内町	<i>Paecilomyces cicadae</i>	選択培地	
A-22-3	瀬戸内町	<i>Paecilomyces tenuipes</i>	選択培地	
A-22-4	瀬戸内町	<i>Paecilomyces</i> sp.	選択培地	
A-23-1	瀬戸内町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-23-2	瀬戸内町	<i>Paecilomyces</i> sp.	選択培地	
A-24-1	瀬戸内町	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	モモシクイガ	
A-25-1	瀬戸内町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-25-2	瀬戸内町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	モモシクイガ	
A-26-1	瀬戸内町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-26-2	瀬戸内町	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	選択培地	
A-27-1	瀬戸内町	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-28-1	住用村	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-29-1	住用村	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-29-2	住用村	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	選択培地	
A-30-1	住用村	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-31-1	名瀬市	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	

菌株番号	採集場所	菌 種 名	分離法	MAFF
A-31-2	名瀬市	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	選択培地	635027
A-31-3	名瀬市	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	選択培地	
A-32-1	名瀬市	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	
A-32-2	名瀬市	<i>Paecilomyces</i> sp.	選択培地	モモシンクイガ
A-32-3	名瀬市	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	モモシンクイガ	
A-32-4	名瀬市	<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	ナシヒメシンクイ	
A-33-1	名瀬市	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	選択培地
A-33-2	名瀬市	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	選択培地	
A-33-3	名瀬市	<i>Paecilomyces</i> sp.	選択培地	
A-34-1	名瀬市	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	選択培地	選択培地
A-34-2	名瀬市	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	選択培地	

表 4. 昆虫病原糸状菌が分離された土壌サンプル

菌 種 名	屋久島 (44サンプル)	奄美大島 (34サンプル)
<i>Beauveria bassiana</i>	10	
<i>Beauveria brongniartii</i>	1	
<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>acridum</i>	1	
<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	24	31
<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>majus</i>	1	
<i>Paecilomyces cateniannulatus</i>	10	17
<i>Paecilomyces cicadae</i>		2
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	3	12
<i>Paecilomyces tenuipes</i>		4
<i>Paecilomyces</i> sp.	4	7

3) モモシンクイガに対する病原性

供試した *P. fumosoroseus* の13菌株の病死率は、非滅菌土壌 (10^6 /土壌 1 g) の場合61.7~100%、滅菌土壌 (10^4 /土壌 1 g) の場合すべて100%であり、強い病原性を示した。 *P. cateniannulatus* の5菌株の病死率は非滅菌土壌で58.3~90%、滅菌土壌ですべて100%であった。特に病原性が強い *P. fumosoroseus* の6菌株、 *P. cateniannulatus* の1菌株をジーンバンクに登録した。

4) チャバネアオカメムシに対する病原性

接種試験の結果、Class II (5~7日) に分類されるものが最も多く、 *M. anisopliae* が40菌株、 *B. bassiana* が5菌株であった。最も病原力が強いとされるClass I (4日以内) に分類される菌株はなかった。最も病原性が強かった *M. anisopliae*、 *B. bassiana* のそれぞれ1菌株をジーンバンクに登録した。

5) 生育試験

供試したすべての菌株の好適培養温度は、25℃であった。30℃で菌を培養した場合、 *P.*

*fumosoroseus*はどの菌株も著しく生育阻害がみられた。*P. cateniannulatus*については関東、東北地方で分離された対照菌株が著しく生育阻害がみられたのに対し、分離菌株の生育阻害は小さかった。*M. anisopliae*と*B. bassiana*については分離菌株および対照菌株とも生育阻害は小さく、差はみられなかった。

4. 所感

今回の探索は、計画の段階から台風発生により変更を余儀なくされ、当初予定より1～2ヶ月遅い時期になってしまった。さらに屋久島滞在中にも台風が通過し、予定を大幅に変更することになった。屋久島では悪天候のため十分な探索を行えなかったせいもあり、病死虫を採集することができなかった。奄美大島でも、日程が短縮され、十分な探索ができなかったが、少ないながらも病死虫を採集することができた。しかし、過去に行った関東、東北地方での同様な調査では、10月は、短時間で多数の病死虫を採集することができる時期であり、それらの探索結果と比べると、今回の探索は非常に少ない結果であった。採集した土壌からは多数の昆虫病原糸状菌が分離されたことから、両島に菌が分布していることは明らかであり、昆虫病原糸状菌の発生盛期が関東、東北地方とは異なるのかもしれない。

病死虫の採集は少なかったが、両島で採集した土壌から、多数の菌を分離することができた。このうち、*P. fumosoroseus*はモモシンクイガに対して特に病原性が強く、また、これまで亜熱帯地域からほとんど収集されていないことから、6菌株をジーンバンクに登録した。この他、Shimazu (2001)の報告で、日本においては普通種であることが判明した種である*P. cateniannulatus*が、今回の探索で多数得られ、屋久島および奄美大島にも普通種として分布していることが明らかになった。今回の探索で得られた本種の菌株は、生育試験で、30℃においても生育阻害がほとんどみられなかったことから、西南暖地における利用が期待される。なお、上記2種は、ナシヒメシンクイに対しても病原性が強いことから、今後さらに試験を進める予定である。また、分離菌の中には昆虫に対する病原性を調査していない菌株も多く残されており、今後果樹害虫に対する病原性の調査を行う必要がある。

5. 謝辞

本調査にあたって有益なご助言をいただいた鹿児島県農業試験場大島支場林川修二氏に深く感謝の意を表する。

6. 参考文献

- Bååth, E. (1991) Tolerance of copper by entomogenous fungi and the use of copper-amended media for isolation of entomogenous fungi from soil. Mycol. Res. 95: 1140-1142.
- Ihara, F., Yaginuma, K., Kobayashi, N., Mishiro, K. and Sato, T. (2001) Screening of entomopathogenic fungi against the brown-winged green bug, *Plautia stali* Scott (Hemiptera: Pentatomidae). Appl. Entomol. Zool. 36: 495-500.

Shimazu, M. and Sato, H. (1996) Media for selective isolation of an entomogenous fungus, *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). Appl. Entomol. Zool. 31: 291-298.

Shimazu, M. (2001) *Paecilomyces cateniannulatus* Liang, a commonly found, but an unrecorded entomogenous fungus in Japan. Appl. Entomol. Zool. 36: 283-288.

Summary

For isolation of entomogenous fungi, 44 and 34 soil samples were collected in Yakushima island and Amami-ooshima island in Kagoshima Prefecture, respectively in October 2004. One hundred fifty five isolates of entomogenous fungi were isolated from soil samples by a bait method using lepidopteran larvae and three selective media for isolation of entomogenous fungi. They were identified as the fungi, *Beauveria bassiana*, *B. brongniartii*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces cateniannulatus*, *P. cicadae*, *P. fumosoroseus* and *P. tenuipes*. The isolates of *P. fumosoroseus* were highly pathogenic to the peach fruit moth, *Carposina sasakii*. The isolates of *M. anisopliae* and *B. bassiana* were moderately virulent to the brown-winged green bug, *Plautia stali*. Isolates were deposited at the Genebank, National Institute of Agrobiological Sciences, Japan (Accession No.: MAFF 635019, MAFF 635020, MAFF 635021, MAFF 635022, MAFF 635023, MAFF 635024, MAFF 635025, MAFF 635026 and MAFF 635027).

Ⅱ. 海 外 探 索 収 集 報 告

Ⅱ. Reports on Exploration in Foreign Countries

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、今日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与する乳酸菌は *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、広西壮族自治区、陝西省で調製されたサイレージおよび現地地で飼養された各種反芻家畜のフレッシュフンを収集した（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、羊フンおよび牛フン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℃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、孢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、一般の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℃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込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-Peptide 5 g / ℓ）に懸濁し、-80℃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シーケ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℃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を鋳形としてプライマー 27F（5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'）と1492R（5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'）、TaKaRa Taq™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（SUPREC™-02、宝酒造株式会社）を用いて精製した。シーケ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シーケンスの解析にはABI PRISM™ 310 Genetic Analyzerを使用した。得られた16S rDNAの塩基配列はBLAST Homology Search（Altsuchul et al. 1997）を用いてDNAデータベース（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フンから約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産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産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産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産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、稲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長蘇秀俠研究員、広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へ深謝申し上げる。

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 プランニング, 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	分離株の純粹分離・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 → 広西大学	移動
16.10. 8～ 16.10.10	金～日	広西農場飼料作物のサンプリング・乳酸菌分 離	広西大学
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	分離株の純粹分離・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 subsp. 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）と牛フン（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）

Ⅲ. これまでの探索収集調査実績

Ⅲ. Past Records

Ⅲ. これまでの探索収集調査実績

年度	調 査 課 題	対象微生物	担 当 機 関	担 当 者	派 遣 先	期 間
昭62	害虫防除に利用する微生物の探索および特性解明	昆虫寄生菌	果樹試験場	柳 沼 勝 彦	長野県 岩手県 青森県 静岡県	S62.07.27～S62.07.29 S62.10.22～S62.10.24 S62.12.07～S62.12.08
	香川県および愛媛県における魚類病原菌およびウイルスの探索収集	魚類病原細菌 魚類病原ウイルス	養殖研究所	反 町 稔 佐 古 浩 前 野 幸 男	香川県 愛媛県	S62.11.07～S62.10.13
	多糖類分解酵素の生産菌の探索および特性解明	多糖類分解菌	食品総合研究所	原 口 和 朋	千葉県	S62.10.13～S62.10.24
	北海道の各種飼料に着生する有用微生物の収集	飼料微生物	畜産試験場	原 慎一郎	北海道	S62.09.24～S62.09.29
	窒素固定菌の探索収集とその有効利用	窒素固定菌	農業生物資源研究所	蒲 生 卓 磨	タイ	S62.09.01～S62.09.22
	反芻家畜寄生性住血吸虫の探索および収集	家畜寄生性原虫	家畜衛生試験場	南 哲 郎	インドネシア	S62.11.29～S62.12.19
	小笠原諸島の亜熱帯農業環境における菌類遺伝資源の収集および特性解明	植物病原菌 木材腐朽菌	農業環境技術研究所	佐 藤 豊 三	小笠原諸島 (父島 母島)	S63.07.01～S63.07.06
昭63	果樹の根頭がんしゅ病菌およびブドウウイルス病様症状の探索収集および特性解明	植物病原ウイルス 植物病原細菌	果樹試験場	今 田 準 澤 田 宏 之	岩手県 青森県 山形県 秋田県	S63.06.20～S63.06.23
	亜熱帯地域に生息する食品関連の特殊糸状菌の収集	カビ毒生産菌	食品総合研究所	鶴 田 理	沖縄県	S63.11.05～S63.11.10
	北海道における大型褐藻分解細菌の探索収集	大型褐藻分解細菌	中央水産研究所	中 山 昭 彦 内 田 基 晴	北海道	S63.07.04～S63.07.06
	ネパール国における伝統的な発酵食品の調査および食品微生物の調査	発酵微生物	食品総合研究所	新 国 佐 幸	ネパール	S63.10.11～S63.11.01
	沖縄における食用きのこ遺伝資源の探索収集および特性解明	食用きのこ	森林総合研究所	根 田 仁	沖縄県	H01.10.13～H01.11.19
平元	都城市周辺圃場におけるアフラトキシン生産菌の探索収集	糸状菌	食品総合研究所	岡 崎 博	宮崎県	H01.08.23～H01.08.25
	タイにおけるさび病菌の重複寄生菌の調査・収集	拮抗微生物	農業環境技術研究所	佐 藤 豊 三	タイ	H01.10.02～H01.10.21
	キオビエダシャクの病原糸状菌の探索収集	糸状菌	森林総合研究所	島 津 光 明	沖縄県	H02.12.18～H02.12.21
平 2	ソルガム紫斑点病菌の交配用菌株等の探索	糸状菌	草地試験場	月 星 隆 雄	九州	H02.09.09～H02.09.12
	特殊環境微生物の探索と利用	特殊環境微生物	食品総合研究所	川 澄 俊 之	九州	H02.10.15～H02.10.18
	ニュージーランドにおけるきのこ類の探索収集	食用きのこ	森林総合研究所 沖縄県林業試験場	根 田 仁 宮 城 健	ニュージーランド	H03.03.13～H03.03.27
	高知県における木材腐朽菌遺伝資源の探索収集	木材腐朽菌	森林総合研究所	服 部 力	高知県	H03.11.12～H03.11.15
平 3	セルロース合成および分解真菌の探索収集および特性解明	鞭毛菌類・子囊菌類	農業環境技術研究所	大久保 博 人	北海道	H03.09.24～H03.09.28
	北海道におけるコムギ植物体上微小菌類の収集	微小菌類	農業生物資源研究所	青 木 孝 之	北海道	H03.07.08～H03.07.12
	米粒の品質劣化に影響する病原菌類相と侵害機作の解明	糸状菌	農業研究センター	内 藤 秀 樹	山口県	H03.09.23～H03.09.25
	タイにおける特殊環境微生物（好塩菌）の探索収集	特殊微生物	食品総合研究所	川 澄 俊 之	タイ	H03.07.25～H03.08.20
	ナシ黒星病菌のDMI剤感受性のモニタリング	糸状菌	果樹試験場	石 井 英 夫	佐賀県	H04.07.18～H04.07.20
平 4	九州における樹木寄生糸状菌類の調査と収集	糸状菌	森林総合研究所	金 子 繁	大分県 熊本県	H04.09.22～H04.09.27
	中華人民共和国雲南省におけるイネいもち病菌の探索収集	糸状菌	農業研究センター	内 藤 秀 樹	中国	H04.09.19～H04.09.29

年度	調 査 課 題	対象微生物	担 当 機 関	担 当 者	派 遣 先	期 間
平 5	小笠原諸島におけるさび病菌の重複寄生菌の調査・収集	糸状菌	四国農業試験場	佐 藤 豊 三	小笠原諸島	H05.12.08～H05.12.15
	九州地域におけるイネ白葉枯病菌各種レースの探索・収集	植物病原細菌	農業生物資源研究所	加 来 久 敏	長崎県 熊本県 宮崎県	H05.09.25～H05.09.28
	タイ国におけるサイレージ用高温性乳酸菌の探索・収集	乳酸菌	草地試験場 静岡県畜産試験場	大 桃 定 洋 片 山 信 也	タイ	H05.08.25～H05.09.13
平 6	北海道に発生する植物病原MLOの探索と収集	植物病原微生物	農業研究センター	塩 見 敏 樹	北海道	H06.08.30～H06.09.03
	東北地方におけるナラタケ属菌の生態と分類学的検討	担子菌類	森林総合研究所	長谷川 絵 里	青森県 岩手県 山形県 宮城県 福島県	H06.09.12～H06.09.13 H06.10.06～H06.10.07 H06.10.11～H06.10.12 H06.10.20～H06.10.21 H06.10.24～H06.10.25
	オーストラリアにおける <i>Agrobacterium</i> 属細菌の探索・収集	バイテク関連微生物	農業環境技術研究所 静岡県農業試験場	澤 田 宏 之 牧 野 孝 宏	オーストラリア	H07.03.08～H07.03.22
	スリランカ国におけるイネ病原微生物の探索収集	植物病原細菌	農業生物資源研究所 京都府立大学 北海道十勝農業試験場	落 合 弘 和 堀 野 修 之 宮 島 邦 之	スリランカ	H07.02.25～H07.03.08
平 7	沖縄における放線菌根菌（フランキア菌）の探査と収集	窒素固定微生物	森林総合研究所	山 中 高 史	沖縄県	H07.09.18～H07.09.21
	南西諸島における拮抗性シュードモナス属細菌の探索と収集	拮抗細菌	農業生物資源研究所	土 屋 健 一	沖縄県	H07.11.25～H07.12.04
	中国におけるダイズ根粒菌等有用微生物の探索・収集に関する共同調査	共生微生物	農業生物資源研究所 長野県中信農業試験場	横 山 正 文 村 上 敏 文	中国	H07.07.15～H07.08.01
平 8	北海道における発酵食品微生物の収集	食品微生物	食品総合研究所	森 勝 美 山田(伊豫)知枝 中 島 博 文 島 純	北海道	H08.11.26～H08.11.30
	九州地方におけるカメムシ類共生微生物の探索と収集	共生微生物	果樹試験場	三 代 浩 二	福岡県 熊本県 大分県	H08.10.14～H08.10.19
	ネパールにおける新規拮抗微生物の探索収集	拮抗微生物	農業生物資源研究所 兵庫県中央農業技術センター	堀 田 光 生 相 野 公 孝	ネパール	H08.09.24～H08.10.08
平 9	長崎県福江島、壱岐及び対馬におけるカンキツかいよう病菌の収集	細菌	果樹試験場	塩 谷 浩 浩 尾 崎 克 己	対馬 壱岐 福江島	H09.08.21～H09.08.22 H09.09.25～H09.09.26 H09.10.23～H09.10.24
	タイ国でのカンキツトリステザウイルス弱毒、強毒系統の探索・収集	ウイルス	果樹試験場	家 城 洋 之	タイ	H09.08.27～H09.09.11
	沖縄県での暖地型イネ科植物ミイラ穂病菌の探索・収集	糸状菌	草地試験場	月 星 隆 雄	沖縄本島 石垣島	H10.02.26～H10.03.02

年度	調 査 課 題	対象微生物	担 当 機 関	担 当 者	派 遣 先	期 間
平10	離島及び西日本地域のブナ帯における主要栽培きのこの野生菌株の収集と特性評価	担子菌	森林総合研究所	馬場崎 勝 彦 宮 崎 安 将	南九州 佐渡島 紀伊半島	H10.10.26～H10.11.20
	奄美大島におけるサトウキビ上生息糸状菌類の収集と特性評価	糸状菌	農業生物資源研究所	青 木 孝 之	奄美大島	H10.11.30～H10.12.06
	台湾におけるVA菌根菌の探索と収集	共生微生物	草地試験場	斉 藤 雅 典	台湾	H11.01.16～H11.01.24
平11	沖縄における乳酸菌の収集と特性評価	乳酸菌	畜産試験場	木 元 広 実	沖縄県	H11.08.25～H11.09.01
	東北地域におけるイチゴうどんこ病に対する拮抗微生物の収集と特性評価	拮抗微生物	野菜・茶業試験場	小板橋 基 夫	栃木県 福島県 青森県 岩手県 宮城県	H12.01.18～H12.01.21
	ロシア極東地域における <i>Steinernema</i> 属・ <i>Heterorhabditis</i> 属 昆虫病原性線虫およびそれらの共生細菌の収集と特性評価	線虫 共生細菌	農業環境技術研究所	吉 田 睦 浩	ロシア	H11.09.05～H11.10.07
平12	沖縄におけるいもち病菌の収集と特性評価	糸状菌	中央農業総合研究センター	宮 坂 篤 一 園 田 亮 一	沖縄県	H12.10.17～H12.10.20
	東北地方北部地域及び長野県におけるナメコ等食用きのこの収集と特性評価	担子菌	森林総合研究所 岩手県林業技術センター 青森県林業試験場	馬場崎 勝 彦 宮 崎 安 将 上 部 明 広 坂 本 尚 美	長野県 青森県 秋田県	H12.10.17～H12.10.19 H12.10.30～H12.11.02
	インドネシアにおける植物病原および共生シュードモナスの収集と特性評価	細菌	農業環境技術研究所	土 屋 健 一	インドネシア	H12.11.19～H12.12.03
	沖縄県における園芸作物病原菌等の収集と特性評価	糸状菌	農業生物資源研究所	佐 藤 豊 三	沖縄県	H13.11.01～H13.11.07
平13	沖縄県でのイネ科植物寄生性 <i>Bipolaris</i> , <i>Curvularia</i> , <i>Exserohilum</i> 属菌の収集	糸状菌	農業環境技術研究所	月 星 隆 雄	沖縄県	H14.02.18～H14.02.22
	沖縄県におけるサトウキビから分離される細菌の収集と特性解明	細菌	農業環境技術研究所	篠 原 弘 亮	沖縄県	H13.11.25～H13.12.01
	南西諸島における植物病原細菌の探索収集	細菌	農業生物資源研究所	堀 田 光 生	南西諸島	H14.01.23～H14.01.30
	南九州におけるイネ科植物内生性窒素固定細菌の収集と評価	窒素固定細菌	国際農林水産業研究センター	安 藤 康 雄	宮崎県 鹿児島県	H14.09.01～H14.09.05
平14	長野、群馬、新潟県におけるダイズシストセンチュウ並びにネコブセンチュウの収集	線虫	中央農業総合研究センター	相 場 聡 水久保 隆 之 伊 藤 賢 治	長野県 群馬県 新潟県	H14.10.21～H14.10.25 H14.11.12～H14.11.13
	富山県におけるキク立枯れ性病害の収集と特性評価	糸状菌	花き研究所	築 尾 嘉 章	富山県	H14.11.25～H14.11.26
	サトウキビ白すじ病菌の探索・収集	細菌	農業環境技術研究所	對 馬 誠 也	沖縄県	H14.12.09～H14.12.13
	北東北地域における発酵関連糸状菌の探索収集	発酵関連糸状菌	食品総合研究所	柏 木 豊	青森県	H14.12.18～H14.12.20
	冬期ベトナム北部における野菜発酵食品由来微生物の収集と特性評価	発酵関連微生物	食品総合研究所	稲 津 康 弘	ベトナム	H14.03.03～H14.03.16

年度	調 査 課 題	対象微生物	担 当 機 関	担 当 者	派 遣 先	期 間
平15	北海道でのイネ科植物寄生性 <i>Bipolaris</i> , <i>Drechslera</i> , <i>Exserohilum</i> 属菌の収集	糸状菌	農業環境技術研究所	月 星 隆 雄	北海道	H15.08.25～H15.08.29
	キク立枯れ性病害の病原菌の探索・収集	糸状菌	花き研究所	伊 藤 陽 子 築 尾 嘉 章	香川県	H15.09.04～H15.09.05
	富山県および新潟県におけるダイズシストセンチュウの収集	線虫	中央農業総合研究センター	相 場 聡	富山県 新潟県	H15.11.04～H15.11.05 H15.11.06～H15.11.07
	アメリカ合衆国の微生物遺伝資源保存機関の視察	卵菌類等	農業生物資源研究所	竹 内 香 純 飯 田 元 子	アメリカ合衆国	H15.10.07～H15.10.09
平16	特異な分布をとる新規アフラトキシン産生菌の探索 (信越地方)	糸状菌	信州大学	後 藤 哲 久	長野県	H16.07.16～H16.08.06
	屋久島、奄美大島における昆虫病原糸状菌の探索・収集	糸状菌	果樹研究所	柳 沼 勝 彦	鹿児島県	H16.10.18～H16.10.23
	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	乳酸菌	畜産草地研究所	蔡 義 民	中国	H16.09.17～H16.10.24

生 物 研 資 料

平成17年11月

平成16年度 微生物遺伝資源探索収集調査報告書 第18巻

2005年11月24日 印刷

2005年11月30日 発行

編集兼
発行者 独立行政法人農業生物資源研究所

National Institute of Agrobiological Sciences

〒305-8602 茨城県つくば市観音台2-1-2

Annual Report on Exploration and Introduction of
Microbial Genetic Resources

Vol. 18

April 2004 – March 2005

November 2005

National Institute of Agrobiological Sciences