

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19H03106

研究課題名(和文)細菌叢と真菌叢の統合的解析で切り拓くサイレージ微生物制御の新機軸

研究課題名(英文) New strategies for controlling silage microbiota using integrated analysis of bacteriome and mycobiome

研究代表者

西野 直樹(Nishino, Naoki)

岡山大学・環境生命科学学域・教授

研究者番号：50237715

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、1)微生物叢とともに変動する代謝、遺伝子機能を理解すれば、サイレージ調製に関わる未解決問題に有用な突破口を示せるか、2)細菌叢と真菌叢の相互作用を明らかにすれば、カビ発生や好気的変敗の防止に革新的な知見が得られるか、3)得られた知見を基に設計した微生物製剤が、発酵促進と変敗防止という両立困難なミッションを可能にするか、を調べることである。1)および2)に関しては、新規かつ有用な知見が得られたが、実証を目的とした3)は製剤選抜における有用性を示すレベルで研究を終了することになった。実規模サイロの理解は実験室サイロより困難なことも再認識され、研究を継続して価値を高めたい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

DNA情報を利用した微生物叢の解析技術は、過去20年ほどの間に著しく高度化ならびに汎用化した。収穫・梱包機械の改良も続けられており、総合的な品質管理技術は着実に向上していると言ってよい。一方、暖地型草種の酢酸発酵、好気的変敗の防止のように、未だに解決されていない問題もある。これらの技術的頭打ちに対し、本研究では細菌叢と真菌叢の統合的解析というアプローチでブレイクスルーを試みた。暖地型牧草サイレージ、発酵TMR、新規乳酸菌製剤の評価には有効であったが、実規模のトウモロコシホールクロップサイレージの理解には不十分であった。さらなる改良、改善を加えて研究を継続したい。

研究成果の概要(英文)：The objectives of this study were 1) to determine whether understanding the metabolic functions that fluctuate with the bacterial and fungal microbiota can provide valuable breakthroughs to unresolved problems in silage production and utilization, 2) to determine whether the interactions between the bacterial and fungal microbiota can provide innovative insights into the prevention of aerobic deterioration, and 3) to develop a mixed microbial inoculant based on the integrated analyses of bacterial and fungal microbiota. We obtained novel and valuable results on the research for 1) and 2), but the results for 3) still needed to be improved in demonstrating the usefulness of integrated analyses. It was also reaffirmed that understanding practical-scale silos is more complicated than in laboratory silos, and we would like to continue this research to further improve the value of our research.

研究分野：動物生産科学

キーワード：飼料 サイレージ 微生物

1. 研究開始当初の背景

DNA 情報を利用した微生物叢の解析技術は、過去 20 年ほどの間に著しく高度化ならびに汎用化した。サイレージの発酵貯蔵および好気的変敗に関わる微生物種の解明にも多数応用されており、新しい微生物製剤の開発につながった事例もある。収穫・梱包機械の改良も続けられており、総合的な品質管理技術は着実に向上していると言ってよい。一方、暖地型草種の酢酸発酵のように未だに解決されていない問題、長期貯蔵したロールペールのカビ発生のように利用拡大で顕在化した問題もある。好気的変敗の防止は未だ決定的な技術がなく、年度、地域、ロットによる品質の変動も制御できているとは言い難い。これらの技術的な頭打ちは、細菌とくに乳酸菌に偏りがちな微生物叢の部分的理解および微生物群集の相互作用を考慮できなかった解析手法の未熟さが原因と考えられる。

次世代シーケンサー (NGS) を用いたアンプリコン解析の普及で、細菌叢はもとより真菌叢の解析も多数のサンプルに適用できるようになった。従来の 100 ~ 1000 倍の解像度で微生物叢を解析できることが大きな進展であるが、PICRUSt (Phylogenetic Investigation of Communities by Reconstruction of Unobserved States) 等の予測メタゲノムを組み合わせることで、微生物叢と関連した代謝機能の変動も調べることができる。また、定量的な情報が得られることから、ネットワーク解析による微生物叢の相互関係および鍵要因の理解も可能である。本研究では、これらを実規模サイレージの実態調査に応用し、細菌叢と真菌叢の統合的理解およびそれを基にした新しい微生物製剤およびサイレージ調製の高度化手法を提示することを目指す。

2. 研究の目的

牧草類、その他様々なバイオマスの調製利用において、サイレージ化は最も主要な貯蔵手段となった。乳肉生産の高水準化や畜産経営の大規模化で、放牧や乾草の利用は欧州でも大きく停滞している。牧草類の品種改良、新規収穫機械の開発、寒冷あるいは熱帯地域を含めた調製利用地域の拡大もあり、サイレージの発酵制御および開封後の変敗防止に関する研究ニーズは現在も非常に高い。食品の保存であれば微生物制御の 3 原則は「付けない、増やさない、殺す」であるが、経済性という縛りが大きい飼料の貯蔵では、洗浄、低温保存、加熱殺菌といった基本工程がいずれも適用できず、材料の特性や環境要因の影響を強く受ける。

材料となる牧草に付着する微生物で菌数が多いのは、Agrobacterium、Flavobacterium、Pseudomonas、Methylobacterium といった好気性細菌である。Enterobacter、Klebsiella、Morganella などの腸内細菌科菌群も乳酸菌より数オーダー多く、Clostridium は土壌が付着した材料で多くなる。Aspergillus、Fusarium、Penicillium などのカビも検出されるが、嫌気的環境が確保されればこれらがサイレージ中で優勢になることはまずない。Rhodotorula、Candida などの酵母が、牛の栄養・健康に関して問題とされることもない。これまで築きあげられたこれらの知見を基に、微生物叢解析が細菌叢に偏って行われてきたことは理解できる。産業応用が期待できるのは乳酸菌という考えも、細菌叢を重視する研究動向を後押ししている。

一方、現在なお解決されていない問題があるということは、細菌叢に偏った解析、データの解析手法、結果の解釈などに不十分な点があることを示している。真菌叢を含めて NGS で調べれば、これらが一気に解決するというのではない。微生物叢に関する膨大なデータが得られたとしても、主要菌種にのみ注目した解析および解釈をするのであれば、Clone library や DGGE で調べたものと恐らく大差ない結論になる。ブレイクスルーが期待できるのは、PICRUSt やネットワーク解析といった有用ツールが、微生物群集の代謝機能および相互作用の理解を可能にしたからである。公表済みの NGS データを再検討したところ、イネ科牧草サイレージでは極性アミノ酸の輸送体が、アルファルファサイレージでは鉄複合体の受容体が、代謝機能の差異に関連するタンパク質としてクローズアップされた。また、乳汁細菌叢と乳成分のデータでネットワーク解析を行ったところ、Enterobacteriaceae、Methylobacteriaceae、Pseudomonadaceae などが MUN (乳汁尿素窒素) と正の、Staphylococcaceae、Moraxellaceae などが負の関係にあることが示された。アンプリコン解析で膨大なデータが得られたとしても、従来の解析手法だけでこのような解釈は不可能である。

本研究の目的は、1) 微生物叢とともに変動する代謝、遺伝子機能を理解すれば、サイレージ調製に関わる未解決問題に有用な突破口を示せるか、2) 細菌叢と真菌叢の相互作用を明らかにすれば、カビ発生や好気的変敗の防止に革新的な知見が得られるか、3) 得られた知見を基に設計した細菌と真菌の混合微生物製剤が、発酵促進と変敗防止という両立困難なミッションを可能にするか、を調べることである。1) および 2) に関しては、新規かつ有用な知見が得られたと自己評価しているが、実証を目的とした 3) は製剤選抜における有用性を示すレベルで研究を終了することになった。実規模サイロの理解は実験室サイロより困難なことも再認識され、研究を続けて研究成果を実用的にも価値あるものに高めたい。

3. 研究の方法

暖地型牧草サイレージ、トウモロコシホールクロップサイレージ、トウフ粕、発酵 TMR 他を対象として、実験室サイロを調製するとともに実規模サイロのサンプルを得て実態調査を行った。発酵生成物は HPLC 等で定量し、細菌叢は 16S rRNA 遺伝子の V4 領域を、真菌叢は rRNA 遺伝子の ITS 領域を標的として MiSeq によるアンプリコン解析を行った。また、発酵 TMR から Lactobacillus と Bacillus を分離して、トウモロコシホールクロップサイレージへの添加試験を行

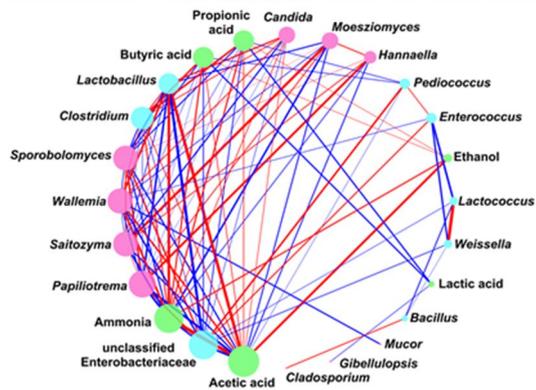
った。好気的変敗を抑制する *L. buchneri* に代わる微生物製剤が見いだせるかにチャレンジするとともに、細菌叢と真菌叢の統合的解析の有用性を検証した。

4. 研究成果

(1) 酢酸発酵を起こしやすい暖地型牧草サイレージの調査

ダイレクトカット (DM 170 g/kg) および予乾 (DM 323 g/kg) したギニアグラスを細断して実験室サイロに詰め込み、25 および 40 で 3 日、1 ヶ月および 2 ヶ月間貯蔵した。貯蔵初期は乳酸が主要な発酵生成物であり、ダイレクトカットサイレージは *Lactococcus* の占有率が高かった。25 で貯蔵したダイレクトカットサイレージは顕著な酢酸発酵を示したが、貯蔵初期は酢酸よりも乳酸の方が多く、貯蔵期間が長くなると酢酸、酪酸およびエタノールが増加した。40 で貯蔵すると、乳酸の減少および酢酸の増加が抑制された。貯蔵期間の延長にともなう微生物叢の変化は、*Lactobacillus*、*Clostridium*、*Wallemia* の増加および *Saitozyma*、*Papiliotrema*、*Sporobolomyces* の減少であった。予乾サイレージでは貯蔵温度や期間にかかわらず発酵が抑制され、乳酸と酢酸は同レベルで検出された。*Lactobacillus* の占有率はダイレクトカットサイレージよりも予乾サイレージの方が少なかった。いずれのサイレージでも、最も多かった細菌は unclassified Enterobacteriaceae であり (38.1-76.3%)、その占有率は酢酸含量と負の関係にあった。PCoA およびネットワーク解析の結果、*Lactobacillus*、unclassified Enterobacteriaceae、*Wallemia*、*Saitozyma*、*Sporobolomyces* および *Papiliotrema* が酢酸発酵に関与していること、*Lactobacillus* と *Wallemia* は促進因子として、unclassified Enterobacteriaceae、*Saitozyma*、*Sporobolomyces*、*Papiliotrema* は抑制因子であることが明らかとなった。40 で貯蔵すると酢酸発酵が抑制されたことから、高温での貯蔵は暖地型牧草サイレージの発酵に悪影響を与えない可能性が示された。また、unclassified Enterobacteriaceae が 60% 以上と多く存在しても、2,3-ブタンジオールの発酵が見られないという特徴があった。

ネットワーク解析で酢酸生成に関わる細菌叢を明らかに



(2) 乳酸優勢の発酵特性を示す暖地型牧草サイレージの調査

寒地型牧草サイレージでは糖蜜添加で乳酸生成が亢進するが、暖地型牧草サイレージでは乳酸発酵が保証されない。それらと微生物叢の関係を理解するため、ダイレクトカット (DM 176 g/kg) および予乾 (DM 266 g/kg) したギニアグラスに糖蜜 (10 g/kg 湿重量) を添加して実験室サイロで貯蔵した。25 および 40 で 2 週間および 2 ヶ月間貯蔵したが、糖蜜添加および貯蔵温度にかかわらず、乳酸が酢酸より多い発酵特性を示した。細菌数および真菌数は、25 に比べると 40 で減少した。これらのサイレージには、unclassified Enterobacteriaceae、*Lactobacillus*、*Lactococcus*、*Enterococcus* および *Pediococcus* が優勢していた。25 で貯蔵した場合、糖蜜添加にかかわらず *Lactobacillus* が優勢したが、40 で貯蔵した場合は *Pediococcus* が最も多かった。真菌では *Wallemia*、*Saitozyma*、*Ganoderma* が優勢であったが、*Candida*、*Diutina*、*Acremonium* もいくつかのサンプルで検出された。*Wallemia* はダイレクトカットサイレージで多く、*Saitozyma* は乳酸と酢酸の濃度が低い予乾サイレージで多かった。ネットワーク解析の結果、乳酸含量は *Pediococcus*、*Weissella*、*Wallemia* の占有率と正の関係が、unclassified Enterobacteriaceae、*Acinetobacter*、*Ochrobactrum*、*Enterococcus*、*Cladosporium*、*Acremonium*、*Saitozyma*、*Moesziomyces* の占有率と負の関係にあることが示された。*Pediococcus*、*Lactococcus*、*Enterococcus* といった球菌の持続的な増殖があれば、暖地型牧草サイレージでも乳酸優勢の発酵特性が得られるという興味深い知見が得られた。

(3) 食品製造副産物のサイレージ化における密封遅延の調査

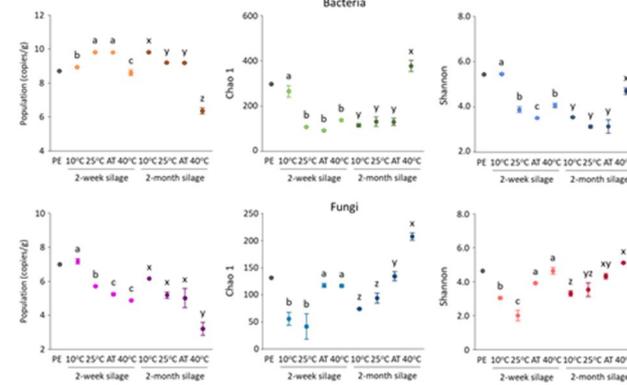
トウフ粕の産出量は年間約 14 億トンで、そのほとんどが日本、韓国、中国、シンガポールなどのアジア諸国で産出される。密封遅延で貯蔵品質が変動することが畜産部門での利用を躊躇わせることもあり、それらの要因を明らかにすることを目的とした。2 つのトウフ製造工場から得たトウフ粕に、ビートパルプを添加して実験室サイロで貯蔵した。密封は製造当日 (迅速密封) か 2 日後 (密封遅延) に行った。密封時期やビートパルプ添加の有無にかかわらず、乳酸が優勢する良好な発酵特性が示された。貯蔵前のトウフ粕で最優勢 (>67%) の細菌は *Acinetobacter* であった。迅速密封サイレージでは、*Lactobacillus*、*Pediococcus*、*Streptococcus* などの乳酸産生菌が 50% 以上の割合で検出された。密封遅延サイレージでは *Acinetobacter* が多くなり、長期貯蔵すると *Bacillus* が最優勢となる事例もあった。真菌叢は非常に多様であり、*Candida*、*Aspergillus*、*Cladosporium*、*Hannaella*、*Wallemia* が優勢種として検出された。密封遅延サイレージでも乳酸優勢の発酵特性となり、貯蔵品質の劣化と関連する微生物叢を明らかにすることはできなかったが、*Bacillus* が乳酸優勢のサイレージに高い占有率で検出されるというこれまでにない知見が得られた。

(4) 発酵 TMR の細菌叢および真菌叢の動態と貯蔵温度の関係調査

一般の牧草サイレージは開封後 1-2 日で容易に変敗するが、発酵 TMR は夏場でも数日以上変敗しない。牧草サイレージと異なり、季節を問わず製造されることも発酵 TMR の特徴である。高温貯蔵 (35-40℃) は乳酸生産量や好氣的安定性を低下させることが多くの研究で報告されている一方、熱帯地域でも食品副産物を利用する手法として発酵 TMR の製造が考えられている。飼料会社から入手した 2 種類の実用的な TMR 混合物 (A および B タイプ) を、10℃、25℃、室温 (20-35℃) および 40℃ で 2 週間および 2 ヶ月間貯蔵した。すべての発酵 TMR は乳酸主体の発酵特性を示し、開封後の好氣的安定性も非常に高かった。例外は 10℃ で 2 週間貯蔵した発酵 TMR で、25℃ で空気に曝すと乳酸と酢酸が減少して pH が大きく上昇した。貯蔵期間を 2 ヶ月とすると、10℃ で貯蔵しても好気性変敗は起こらなくなった。

TMR 材料に多かった細菌叢は *Lactobacillus*、*Acinetobacter*、*Bacillus* であった。10℃ で 2 週間貯蔵した発酵 TMR を除き、貯蔵温度に関係なく *Lactobacillus* が最優勢になったが、25℃ および室温貯蔵の発酵 TMR では、貯蔵期間を 2 ヶ月に延長すると *Lactobacillus* の占有率が減少した。40℃ で貯蔵すると *Lactobacillus* はさらに減少し、*Bacillus*、*Brevibacillus* などが 40% にまで増加した。真菌叢は細菌叢より多様であったが、TMR 材料には *Diutina* が多く (>30%)、*Aspergillus* (13%) と *Vishniacozyma* (16%) がそれに続いた。*Aspergillus* の占有率は 10℃ 貯蔵で減少し、室温保存の発酵 TMR では 25% 以上にまで増加した。*Vishniacozyma* の占有率は 10℃ および 25℃ 貯蔵で 5% 未満にまで減少したが、室温貯蔵の発酵 TMR では 50% にまで増加した。*Candida*、*Saccharomyces*、*Kluyveromyces* のような典型的な変敗菌が、貯蔵期間抑制されていたことが発酵 TMR の高い好氣的安定性を説明すると考えられた。

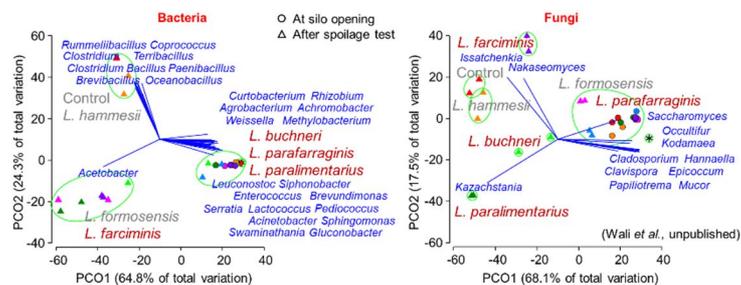
貯蔵温度の影響は細菌叢より真菌叢の方が大きい (発酵 TMR)



(5) 発酵 TMR から分離した *Lactobacillus* 属細菌の新規微生物製剤としての可能性調査

上述の実験で調査した発酵 TMR から、13 種類の *Lactobacillus* (*L. brevis*、*L. buchneri*、*L. casei*、*L. crispatus*、*L. farciminis*、*L. formosensis*、*L. hammesii*、*L. kefir*、*L. paracasei*、*L. paracasei*) と 5 種類の *Bacillus* (*B. subtilis*、*B. coagulans*、*B. hisashii*、*Paenibacillus cooki*、*Rummeliibacillus suwonensis*) を分離した。このうち、*L. buchneri*、*L. casei*、*L. farciminis*、*L. parafarraginis*、*L. paralimentarius*、*L. plantarum*、*B. subtilis* および *B. coagulans* の培養液をホールクロップトウモロコシに 10^6 cfu/g レベルで添加し、実験室サイロで 2 ヶ月間貯蔵した。トウモロコシホールクロップサイレージは好氣的変敗を起こしやすいサイレージであるが、*L. parafarraginis* は既存製品の *L. buchneri* と同等以上の、*L. farciminis* と *L. paralimentarius* はこれらより劣るが十分なレベルの変敗抑制能を示した。PCoA の結果、*L. buchneri*、*L. parafarraginis*、*L. farciminis*、*L. paralimentarius* の効果を細菌叢で識別することはできなかったが、真菌叢は *L. buchneri* が *Saccharomyces* や *Hannaella* を、*L. parafarraginis* が *Issatchenkia* や *Kazachstania* を抑制していることを明確に示した。これらは細菌叢と真菌叢を統合して調べなければできない解釈であった。

真菌叢のβ多様性解析で好氣的変敗の抑制メカニズムを明らかに



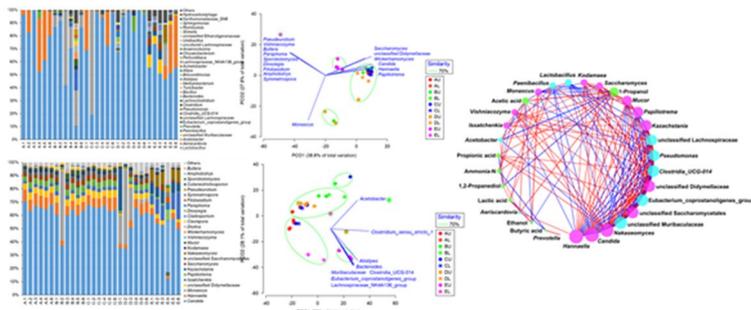
(6) バンカーサイロで生産されたホールクロップコーンサイレージの実態調査

実規模サイレージの細菌叢および真菌叢解析を実施した。バンカーサイロでトウモロコシホールクロップサイレージを生産している 5 つの農家 (A、B、C、D、E) を訪問し、上層と下層、壁側と中央部の 6 ヶ所からサンプルを採取した。5 つの農家は、ハーベスターと乳酸菌製剤を共有している。サイレージの使用状況が異なるので、貯蔵期間は 3 ヶ月から 15 ヶ月という幅があった。発酵特性はサンプリング部位の影響を受けず、乳酸とエタノール (B と D)、酢酸と 1-プロパノール (A、C、E) が優勢するという 2 種類に分けられた。これらの発酵特性は、貯蔵期間と関係しなかった。*Lactobacillus* が最優勢のサイレージが多く、細菌叢と発酵特性の関係は明確でなかったが、乳酸とエタノールというサイレージには真菌数が多かった。一部のサイレージに

は *Acetobacter* (>50%) と *Aeriscardovia* (30-40%) が高い頻度で検出された。真菌叢では、農家やサンプリング部位に関係なく *Candida* が優勢であったが、いくつかのサンプルには *Monascus* と *Kazachstania* が高い頻度で検出された。ネットワーク解析の結果、*Lactobacillus* と *Acetobacter* は乳酸あるいは酢酸含量のいずれとも関係しなかったが、*Aeriscardovia* が酢酸含量と正の関係にあることが示された。

実規模サイロにおける変動は統合的解析でも説明不十分（今後の課題）

Aeriscardovia は *Bifidobacteriaceae* に属し、乳酸よりも酢酸を多く生産する。農家 A、C、E で見られた高い酢酸含量は *Aeriscardovia* の活性によるものと考えられ、トウモロコシホールクロップサイレージ用の新しい添加剤となる可能性を示した。



細菌叢と真菌叢の統合解析は、暖地型牧草サイレージ、発酵 TMR、新規乳酸菌製剤の評価には有効であったが、実規模のトウモロコシホールクロップサイレージの理解には不十分であった。発酵貯蔵の安定化と好気性変敗の抑制を実現するには、細菌叢と真菌叢を調べるだけでなく、生菌特異的な調査やバクテリオファージの関与を解明することなどが必要と考え、今後も研究を継続したい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Nuomin, Baek, R., Tsuruta, T., and Nishino, N.	4. 巻 11
2. 論文標題 Modulatory effects of A1 milk, A2 milk, soy, and egg proteins on gut microbiota and fermentation.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Microorganisms	6. 最初と最後の頁 1194
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/microorganisms11051194	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Gathinji, P.K., Yousofi, Z., Akada, K., Wali, A., and Nishino, N.	4. 巻 10
2. 論文標題 Monitoring the milk composition, milk microbiota, and blood metabolites of Jersey cows throughout a lactation period.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Veterinary Sciences	6. 最初と最後の頁 226
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/vetsci10030226	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Wali, A., Hou, J., Tsuruta, T., and Nishino, N.	4. 巻 133
2. 論文標題 Bacterial and fungal microbiota of total mixed ration silage stored at various temperatures	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Applied Microbiology	6. 最初と最後の頁 579
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jam.15582	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hou, J. and Nishino, N.	4. 巻 8
2. 論文標題 Bacterial and fungal microbiota of guinea grass silage shows various levels of acetic acid fermentation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Fermentation	6. 最初と最後の頁 10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/fermentation8010010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Wali Ajmal, Nishino Naoki	4. 巻 8
2. 論文標題 Bacterial and fungal microbiota associated with the ensiling of wet soybean curd residue under prompt and delayed sealing conditions	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microorganisms	6. 最初と最後の頁 1334
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/microorganisms8091334	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nguyen Dang Qui, Tsuruta Takeshi, Nishino Naoki, Q.D., Tsuruta, T., Nishino, N.	4. 巻 1
2. 論文標題 Examination of milk microbiota, fecal microbiota, and blood metabolites of Jersey cows in cool and hot seasons	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Animal Science Journal	6. 最初と最後の頁 e13441
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/asj.13441	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Thuong T. Nguyen, Ayumi Miyake, Tu T.M. Tran, Takeshi Tsuruta, and Naoki Nishino	4. 巻 9
2. 論文標題 The relationship between uterine, fecal, bedding, and airborne dust microbiota from dairy cows and their environment: A pilot study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Animals	6. 最初と最後の頁 1007
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ani9121007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 Gathinji, P.K., Zabiulla, Y., Nguyen, D.Q, Aodaofu, and Nishino, N.
2. 発表標題 Milk microbiota, milk composition and blood metabolites of Jersey cows throughout a lactation period.
3. 学会等名 4th international Conference on Sustainable Agriculture and Development (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Wali, A., Hou J.J., Tran, D.P., Ton N.M.T., and Nishino, N.
2. 発表標題 Inhibited aerobic spoilage by multiple lactic acid bacteria inhabiting total mixed ration silage.
3. 学会等名 4th international Conference on Sustainable Agriculture and Development (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Nishino, N.
2. 発表標題 Wet by-products preservation as mixed silage: its potential in the tropics.
3. 学会等名 International Conference on Sustainable Agriculture for Food Security (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hou, J., Nishino, N., and Tsuruta, T.
2. 発表標題 Bacterial and fungal microbiota of guinea grass silage stored at moderate and high ambient temperatures with and without wilting
3. 学会等名 International Symposium on Animal Bioscience (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 侯建建・Wali Ajmal・西野直樹
2. 発表標題 牧草類の嫌氣的貯蔵に関わる細菌叢と真菌叢
3. 学会等名 日本草地学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hou JianJian・西野直樹
2. 発表標題 酢酸型発酵を示したギニアグラスサイレージの細菌叢と真菌叢
3. 学会等名 2021年度日本草地学会大会（第77回発表会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Wali Ajmal・西野直樹
2. 発表標題 貯蔵温度による発酵TMRの細菌叢および真菌叢の変動
3. 学会等名 2021年度日本草地学会大会（第77回発表会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hou JianJian, Wali Ajmal, Tsuruta Takeshi, Nishino Naoki
2. 発表標題 Fermentation and microbiota of guinea grass silage stored at two different temperatures
3. 学会等名 International Symposium on Symposium on Application of Advanced Technologies In Agriculture（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Wali Ajmal, Hou JianJian, Tsuruta Takeshi, Nishino Naoki
2. 発表標題 Acceptable storability and aerobic stability of by-products ensiled as a total mixed ration
3. 学会等名 International Symposium on Symposium on Application of Advanced Technologies In Agriculture（国際学会）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	鶴田 剛司 (Tsuruta Takeshi) (90728411)	岡山大学・環境生命科学学域・准教授 (15301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------