

緒 言

南アメリカの西海岸に位置するチリ共和国(Republic of Chile)の南部地方は、年間の降水量が 2,500mm と多く、冷涼で湿度の高い気候であり、大小の湖が点在する美しい景観を持つ湖水地帯と広大で緑豊かな森林地帯が広がる、独自の生態系を形成している (Photo A, B).

Notofagus sp.¹⁾ はニュージーランドの一部と南米にしか分布していない樹木であり、この *Notofagus* sp. が優占種である森林地帯は世界でも類を見ない野生動植物の宝庫であり、この地域でしかみられない貴重な生物も数多く存在している。そこには森林生態系の分解者である菌類も豊富に存在しており、3 月以降の雨季になると、種々のきのこが一斉に発生する。この時期には多くの珍しいきのこが観察できるが、その中には食用とされるきのこも多く、先住民である Mapuche (マプチェ) によって昔から食されてきた。 *Cittaria espinosae* (地方名: pinatora, Digueñe, キッタリア), *Cyttaria harioti* (地方名: llau-llau, キッタリア), *Grifola gargal* (地方名: gargal, アンニンコウ), *Boletus loyo* (地方名: loyo, イグチ科) などはこの地域のみが発生するきのこである。そのほかに *Agaricus campestris* (地方名: campalla, campalla blanca, ハラタケ), *Ramaria flava* (地方名: peta de lararitija, cangle, キホウキタケ), *Armillaria mellea* (地方名: pique, ナラタケ) など日本でも食用とされる馴染みのあるきのこもあり、それらが発生する時期になると、数多くのきのこが市場に集まってくる (Photo C)。また、 *Morchella conica* (地方名: morchella, トガリアミガサタケ), *Lactarius deliciosus* (アカモミタケ), *Suillus luteus* (ヌメリイ



Photo A Maps of Chile



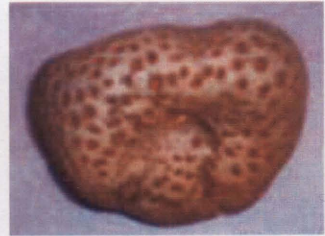
Photo B Forests of Chile



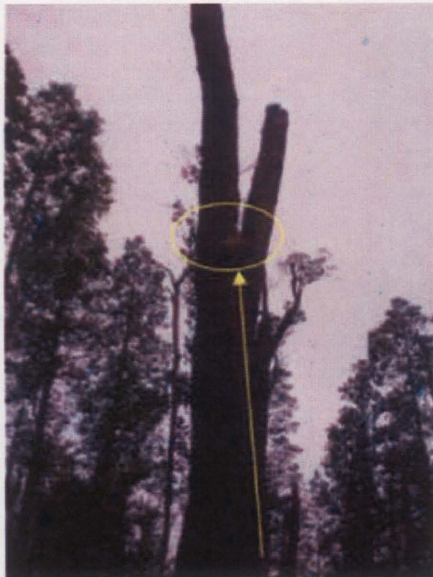
Mushrooms in the market



Cittaria espinosae (地方名: pinatora, Diguene, キッタリア)



Cyttaria horioti (llau-llau)



Grifola gargal (gargal; アンニンコウ)

Photo C-1 Edible mushrooms in Chile



Armillaria mellea (pique; ナラタケ)



Morchella conica (morchella; トリアミガサタケ)



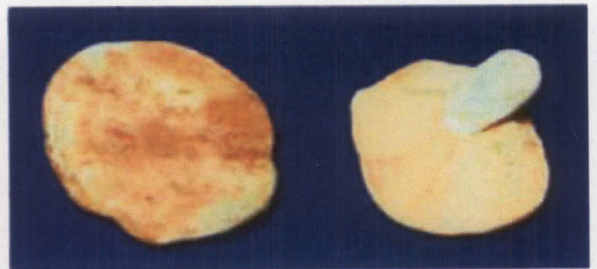
Romaria flova (cangle, キホウキタケ)



Boletus loyo (loyo, イグチ科)



Suillus luteus (ヌメリイグチ)



Lactarius deliciosus (アカモミタケ)

Photo C-2 Edible mushrooms in Chile

グチ)などのきのこは地元ではあまり食べられないが、主にヨーロッパなどの海外に輸出されており、国際的にも取引されている²⁾。

これらの市場に並ぶ天然きのこの中で最も高値で取引されているきのこが *Grifola gargar* Singer で、チリ中南部からアルゼンチン南部のパタゴニア地方に分布している木材腐朽菌である。チリ国内では北は南緯 37~38° の第 8 州 Los Angeles 付近から、南は南緯 42~43° の第 10 州 Chiloe 島、西は海岸山脈、東はアンデス山脈付近の森林地帯に分布し、主に *Notofagus oblicua* の枯木や倒木に発生する。直径 30cm, 1株の重さが 5kg ほどにもなる大型のきのこで、子実体の色は白色から淡黄色、花びらを開いたような形をしており、味が良く、食感にも優れ、杏仁またはアーモンドのような独特の香りを有しているのが大きな特徴である (Photo D)。チリ国では“gargar”という名前と呼ばれ、この名前は先住民である Mapuche (マプチェ)の言葉に由来しており、主に Mapuche によって昔から食されていた。秋から初冬の 4 月~7 月にかけて発生し、チリ南部の Osorno や Valdivia の主要都市の市場に出回り、バター炒め、煮込み料理、エンパナーダ(パイ包み:Photo E)、パスタ等さまざまな料理に調理されており、大変好まれている食用きのこである。

この *Ggargar* は 1969 年に Rolf Singer が *Mycoflora Australis*³⁾ にて報告したのが最初で、観察標本は、Singer が 1950 年から 1968 年にかけて南米および南極大陸を調査した際、チリの Valdivia にて採取したものである。記述された形態特性によると、「担子菌門(*Basidiomycota*), ヒダナシタケ目(*Aphyllorphorales*), 多孔菌科(*Polyporaceae*), マイタケ属(*Grifola*) に属する



Photo D *Grifola gargal* found on stump of *Notofagus oblicua* in the southern part of Chile.



Photo E Empanada: Chilean food

G.gargal(アンニンコウ)は共通の基部から伸展する多数の傘の集合体よりなる白色腐朽菌で、大型、食用、肉質は柔らかい。傘は無数に分岐し重なって形成され、傘の形状は扇状～へら形。表面はクリーム色から淡褐色で平滑。管孔は白色、孔口も白色、不規則に切り込んでおり、肉も白色、胞子は7-7.5×5.2-5.5 μ，楕円形、無色、平滑で非アミロイド、胞子の内側に粒状の突起が見られる。担子器は24-36×7-7.5 μ，4個の突起が付く棍棒状で、シスチジアは無いが、いくつかの菌糸は子実層を付き抜いている。菌糸は細く、隔膜があり、透明、非アミロイド、ゼラチン質では無い。クランプが確認できる。秋、*Notofagus* sp. の倒木上に発生する。この種はヨーロッパに分布する *G.frondosa*(マイタケ)とは形態的に異なる特徴を持つ」と記載されている。

近年、菌類の分類法として従来の形態学特徴を中心とした方法のほかに、分子生物学手段を援用することが試みられている。菌類の種内における遺伝的類縁関係を推定するために有効な DNA 分析法として、RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA)分析⁴⁾⁻⁶⁾、ミトコンドリア DNA(mtDNA)⁷⁾⁻⁸⁾ やリボソーム DNA(rDNA)での RFLP(Restriction Fragment Length Polymorphism)解析⁹⁾⁻¹⁴⁾ や AFLP(Amplified Fragment Length Polymorphism)分析¹⁵⁾⁻¹⁶⁾、18SrDNA、28SrDNA、β-tubulin、および EF-α1などの塩基配列解析などが挙げられており、これらの配列データを集積した後に、種間の分類学的位置が検討されている¹⁷⁾。Shenら¹⁸⁾ はヨーロッパ、北米およびアジア産で、*G.gargal* と同族の *G.frondosa*(マイタケ)のrDNA-ITS 領域および β-tubulin の塩基配列を決定し、形態的に近縁とされる *P.umbellatus*(チョレイマイタケ)、*G.sordulenta*、*ganoderma lucidum*(マンネンタケ)等の配列データを参照して地域の異なる

G.frondosa (マイタケ) の分類学的位置を検討している。しかし, *G.gargal* (アンニンコウ) の分類学的な検討としては, Rajechnberg ら¹⁹⁾ がチリやアルゼンチンに分布する *G.gargal* および *G.sordulenta* の形態学的特徴を比較して報告しているのみで, *G.gargal* の塩基配列の解析など分子生物学的検討は行なわれておらず, *G.gargal*, *G.sordulenta* および *G.frondosa* の *Grifola* 属 3 種の遺伝的類縁関係についても検討されていない。

このように, *G.gargal* は種々の特徴を有する食用担子菌であるにもかかわらず, チリおよびアルゼンチンのごく限られた地域にしか分布が確認されていないため, Singer により初めて記述されて以来, 分類や生理・生態のような基礎的研究, 栽培方法などの応用的研究のいずれの分野においてもほとんど報告されていない。

食品の美味しさは味(味覚), 香り(嗅覚), 歯ざわり(触覚), 見た目(視覚)などに影響される。“香りマツタケ, 味シメジ”といわれるように高級食材であるマツタケ (*Tricholoma matsutake*) は香りの強い丹波産のものが良いとされ, 三大珍味の一つであるトリュフ (*Tuber aestivum*) も芳醇な香りのする南仏産のものが最も高級とされるように, 素材の良さはその香りで決まると言われるほど香りは食味に大きく影響する。このことから, 杏仁やアーモンドのような特殊な香りを持っている *G.gargal* は, 歯ごたえが良く, 見た目も美しく, 味も良いことから, 食用きのこの素材としては申し分ないと考えられた。1980 年代にはマイタケ (*G.frondosa*)²⁰⁾, 2000 年代にはエリンギ (*Pleurotus eryngii*)²¹⁾ と, 近年新たに栽培方法が開発されたきのこが次々とスーパーマーケット等で出回りはじめ, それに伴いきのこの消費も増加してきた。このように, 食されるきのこも多

様化しており、家庭でも新しい食材を抵抗なく容易に受け入れる傾向にある。また、上述の *Gfrondosa* (マイタケ) は人工栽培技術が確立されたことで、生化学および薬学的な研究も盛んに行なわれるようになり、さまざまな機能が明らかになった。現在では抗腫瘍活性²²⁾⁻⁵⁴⁾、抗 HIV および抗ウイルス作用⁵⁵⁾⁻⁵⁷⁾、高血糖の低下⁵⁸⁾⁻⁶⁴⁾、高血圧の抑制^{63,64,67)-71)}、抗高脂血症^{68,70,72)-74)}、肥満抑制^{70,72,75)-76)}、抗酸化⁷⁷⁾、肝機能の改善⁷⁸⁾ など数多くの薬理作用が報告されている。これらのことから、同属の *Ggargal* も *Gfrondosa* と同じような機能性を有することも期待でき、早急な人工栽培技術の確立が必要と考えられた。

シイタケ (*Lentinula edodes*)、エノキタケ (*Flammulina velutipes*)、ブナシメジ (*Hypsizygus marmoreus*) など現在すでに人工栽培されているきのこの多くは白色腐朽菌であり、*Ggargal* も同様に白色腐朽菌であるため人工的に栽培できる可能性がある。*Gpinus densiflora* Seid. et Zucc (アカマツ) や *Quercus serrate* Thunb. ex Murray (コナラ) などに共生する *Lyophyllum shimeji* (ホンシメジ) は外生菌根菌であるため、つい数年前まで人工栽培が困難であると考えられてきたが、Ohta ら⁷⁹⁾ は菌株の選択および培地の検討を行なうことで子実体を形成させることに成功した。また、Shen ら⁸⁰⁾ はヨーロッパ、北米、アジアなど産地の異なる *Gfrondosa* の 23 菌株を比較検討したところ、菌株によって培養期間はかなり異なり、中でも中国産菌株で子実体形成までの期間が最も短かったと報告している。このため、*Ggargal* の人工栽培化を検討するにあたって、菌株の選択および培地の検討は、最重要課題であると考えられる。

Ggargal は *Notofagus*.sp 主に *Notofagus oblicua* の枯木や倒木に発生すると報告されている

が、実際には *Weinmannia trichosperma* (tineo)⁸¹⁾ や *Eucryphia cordifolia* (ulmo)⁸²⁾ 等でも発生が確認されているため、樹種選択性は比較的弱く、*Notofagus oblicua* 以外の樹種も培地基材として使用できる可能性がある。このことから、日本で入手可能な広葉樹材および針葉樹材を用いた菌床培地での *Ggargal* の人工栽培も実現可能ではないかと期待される。

近年の健康志向、安全志向の高まりと共に、食品添加物の分野でも、人工合成品よりも天然物の需要が高まっており、天然香料を得るためにバクテリア、酵母、カビ、キノコ等の菌類を利用したバイオテクノロジーの技術が応用されている。培養環境が制御しやすく、かつ短期間で生産可能な菌類の利用は天候や季節、地形の影響を受け易い植物資源に比べて有利な立場にある。さらに工業的なスケールアップも可能であることから、菌類を利用したバイオ技術による香気成分の工業的な生産の研究が盛んに行なわれている⁸³⁾。例えば、担子菌である *Pycnoporus cinnabarium* を培養することによりアーモンドの香りを持つ benzaldehyde (ベンズアルデヒド) を工業的に生産する研究等も進められている⁸⁴⁾。また食用担子菌では *Pleurotus ostreatus* (ヒラタケ) が生産する香気成分として、p-anisaldehyde (p-アニスアルデヒド) および 3-chloro-p-anisaldehyde (3-クロロ-p-アニスアルデヒド) が同定されており、これらの香気成分は抗菌活性を持つとの報告⁸⁵⁾もある。

Ggargal 子実体は前述のように杏仁やアーモンドのような芳香があり、食味特性にも優れているため、新規芳香性食用きのことしての可能性も期待できるが、培養菌糸体からも同様の強い芳香を発生する。このことからバイオ技術を利用して *Ggargal* 菌糸体を工業的に培養し、得

られた香気成分を天然香料として利用することも可能と考えられる。また、独特の芳香を放つ *G.gargal* の培養菌糸体は食品としての利用も期待されることから、このきのこの培養条件を確立する必要がある。マツタケでは可溶性デンプンが菌糸体重量を増加させ⁸⁶⁾、冬虫夏草では糖アルコールであるグリセロールが菌糸体成長を促進させる⁸⁷⁾ など、各種きのこの培養特性については多くの検討がなされているが、*G.gargal* に関しては Postemsky ら⁸⁸⁾が菌糸成長における pH, 温度および培地基材の影響を *G.sordulenta* と比較検討した報告が見られる程度で、培養菌糸体についての詳細な報告は見られない。

一般的にきのこ類はビタミンやミネラル、食物繊維が豊富で、低カロリーであるため、健康・機能性食品として注目されている。一方、きのこ類に含まれる多糖体には抗腫瘍活性があるとて医薬品にも利用されており、シイタケのレンチナン⁸⁹⁾、カワラタケのクレスチン⁹⁰⁾、スエヒロタケのシゾフィラン⁹¹⁾ の 3 種類はガンの治療薬として厚生労働省から認可されている。また、中国の最古の薬物書「神農本草経」にも青芝・赤芝・黄芝・白芝・黒芝・紫芝の 6 種類の霊芝が記載されているように霊芝、ブクリョウ、冬虫夏草などのきのこは古くから漢方薬として珍重されている⁹²⁾。近年、機能性きのことして有名なヒメマツタケ (*Agaricus blazei* Murrill) は 1975 年に岩出菌学研究所にてコンポスト栽培による人工栽培に成功し¹⁰¹⁾、1980 年に Shimura ら⁹³⁾ によって抗腫瘍活性があると報告された。サルコーマ 180 固形ガンを移植したマウスを使った経口投与方法による抗腫瘍試験を行なった結果、ヒメマツタケから抽出された β -1.6-D-グルカンで高い腫瘍抑制率を示すことが明らかとなった⁹⁴⁾。ヒメマツタケから単離された直鎖の β -1.6-D-

グルカンの構造は、糖構成のほとんどがグルコースで、糖含量 50.2%、タンパク質含量が 43.3%のグルカン-タンパク質複合体であると報告されている⁹⁵⁾⁻⁹⁶⁾。きのこ中に含まれる抗腫瘍性多糖の作用機作は、腫瘍細胞への直接的な毒性ではなく、免疫応答性細胞を活性化されることによるものであり、腸管免疫による免疫賦活作用が関与していることが示唆されている⁹⁷⁾⁻⁹⁸⁾。また、Kawagishi ら⁹⁹⁾ によって3種のステロイド類がガン細胞毒性物質として発見され、さらに Takaku ら¹⁰⁰⁾ によってヒメマツタケから抽出されたエルゴステロール(ビタミンDの前駆体)にも抗腫瘍活性があり、ガン細胞の血管新生を阻害する働きを持つと報告されている。

抗腫瘍活性および免疫賦活作用のほかにも、ヒメマツタケの肝機能改善作用¹⁰²⁾、抗アレルギー作用¹⁰³⁾、血糖降下作用¹⁰⁴⁾ や動脈硬化抑制作用¹⁰⁵⁾、シイタケに含まれるエリタデニンのコレステロール低下作用¹⁰⁶⁾、ブナハリタケのイソロイシルチロシン(ジペプチド)¹⁰⁷⁾ による血圧降下作用など、さまざまなきのこの多様な機能性が報告されている。上述のように、同属の *Gfrondosa*(マイタケ)についても抗腫瘍活性、抗 HIV および抗ウイルス作用、高血糖の低下、高血圧の抑制、抗高脂血症、肥満抑制、抗酸化、肝機能の改善など数多くの薬理作用が報告されている。さらに、きのこ類は最近大きな問題となってきた生活習慣病(メタボリックシンドローム)等を予防する食品としても、現在盛んに研究されている¹⁰⁸⁾。

このように各種きのこの機能性については多くの検討がなされているが、*Ggargal* に関しては、子実体の栄養特性および機能性に関する報告はほとんど見られない。このため、*Ggargal* に対して食品の一般成分分析を行い、*Ggargal* の栄養価値を明らかにするとともにその機能

性についても検討する必要がある。

本論文は、日本ではほとんど知られていないチリ産食用きのこ *Grifola gargar* (アンニンコウ)の人工栽培を目的とし、杏仁またはアーモンドのような独特の香気成分ときのこの含有栄養成分についての研究結果を中心にとりまとめたものである。第1章では、Singer および Rajechenberg らの南米パタゴニア地方における *Grifola* 属の形態分類の結果と比較しながら、チリ国内で採取した *G. gargar* の形態観察を行ない、さらに rDNA の塩基配列に基づいた *G. gargar* の分類学的な位置を検討するために、internal transcribed spacer (ITS) 領域の塩基配列を決定した。第2章では、*G. gargar* の人工栽培化に取り組み、周年栽培が可能で、常時きのこを供給できる菌床栽培法を試みた。まず、チリで採取した 12 菌株の菌糸成長を比較し、栽培に適した菌株の選抜を行った後、*G. frondosa* の袋栽培法を応用して子実体形成試験を行った。第3章では、*G. gargar* 子実体および培養菌糸体が放つ香気成分を明らかにし、さらに *G. gargar* を液体培養するための培養条件を設定したうえで、*G. gargar* の菌糸成長とベンズアルデヒドの生成との関係を検討した。それに加えてベンズアルデヒドの合成量に及ぼす各種化合物の添加効果についても検討した。最後に、第4章では、*G. gargar* 子実体の栄養成分分析の結果からビタミンD含有量に注目し、*G. gargar* の子実体形成時の光照射がビタミンD含有量に及ぼす影響を、プロビタミンD₂ であるエルゴステロール含有量と関連づけながら、シイタケ、マイタケなどの栽培きのこと比較検討した。