

総 括

本論文は、日本では全く知られておらず、分類や生理・生態のような基礎的研究や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チリ産食用きのこ *Grifola gargal* Singer (アンニンコウ) の人工栽培による商業生産を目的とし、我が国の食用きのこにはみられない 2 つの大きな特徴、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ビタミン D 含有量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* 属菌の形態分類と比較しながら、チリ国内で採取した *G.gargal* の形態観察を行なった。その結果、肉眼観察による子実体の形状、色、香りや顕微鏡観察による菌糸の特徴(クランプ結合等)、孢子・担子器の形状など報告されている *G.gargal* の形態特性とはほぼ一致した。さらに、分子生物学的な手法に基づいて *G.gargal* の分類学的な位置を検討するために *G.gargal* 菌糸体の rDNA-ITS 領域を増幅させ、同領域の塩基配列を決定した。その結果、GG010 の ITS 領域の塩基配列は 560bp であり、Blast 検索の結果、*G.gargal* と同属でヨーロッパ、アジア、北米に分布する *G.frondosa* (マイタケ) とは 96%、*G.gargal* と同様に南米パタゴニア地方にしか分布が確認されていない *G.sordulenta* とは 99% の相同性を持つことがわかった。それらの解析データを基に系統樹を作成したところ、*G.gargal* と *G.sordulenta* とは同一のクレードを形成し、*G.frondosa* とは異なるクレードに位置することが明らかとなった。また、制限酵素 *Hinf* I、*Hae* III を用いた RFLP 分析を行なったところ、*G.gargal*

と *Gfrondosa* とは異なる位置にバンドが見られ、両者は RFLP 分析にて容易に識別することができることが判明した。

第2章では、*Ggargal* の人工栽培に取り組み、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、チリ国内で採取した 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、現行のマイタケ栽培を応用し、ブナ木粉を使用した袋栽培にて子実体形成試験を行った。その結果、ブナ木粉の袋栽培により子実体が形成されることが明らかとなった。さらに培地基材を検討するために、ブナ木粉よりも入手が容易な広葉樹および針葉樹スギ木粉を使用して子実体形成試験を行ない、野生の *Ggargal* が発生する *Notofagus oblicua* と比較した。その結果、広葉樹木粉での子実体収量は *Notofagus oblicua* と比べてもほとんど変わらず、広葉樹木粉を使用することによって *Ggargal* の人工栽培による商業生産が可能であると考えられた。また、広葉樹に針葉樹スギ木粉を混合した培地でも子実体を形成させることは可能で、その添加割合は広葉樹:スギ=4:1 が適当であった。さらに広葉樹木粉を用いて *Ggargal* の 12 菌株について子実体形成試験をあらためて行なったところ、12 菌株全てで子実体が形成され、各 12 菌株の子実体収量、形状、色および肉質などに違いがみられた。これらの結果をもとに、商業的なきのこ生産に適している菌株は IWADE-GG004, GG006 および GG010 の 3 菌株と考えられた。今後はこれら特徴の異なる菌株を用いて、育種・交配を行ない、さらなる優良菌株の開発を行う必要があると考えている。

第3章では、まず独特の杏仁様の香りを持つ *Ggargal* 子実体が放つ香気成分を明らかにす

るために、子実体から発生した香気成分を活性炭に吸着させ GC および GC-MS で分析した。その結果、アーモンド、モモ、オウトウなどの核から主に抽出されるベンズアルデヒドが主成分として確認された。さらに、*G.gargal* 菌糸体を液体培養し、香気成分を分析した結果、子実体と同様にベンズアルデヒドであることが判明した。ベンズアルデヒドは食品用香料、食品添加剤、医薬品の原料などに用いられている生産量の多いフレーバーであり、微生物を使って工業的に天然のベンズアルデヒドを生産させる研究も行われている。また、*G.gargal* 菌糸体は子実体よりもさらに強い香りを発生するため、バイオ技術を利用して *G.gargal* 菌糸体から天然香料を採取できる可能性も示唆された。そこで、*G.gargal* を液体培養するための培養条件を検討したうえで、*G.gargal* 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。*G.gargal* はペプトン・グルコース・酵母エキス(PGY)液体培地を用い、初発 pH を 4.5 に調整し、20℃で培養したときに、良好な菌糸成長が得られ、ベンズアルデヒドは菌糸成長が安定期に入った後急激に増加し、培養後期になってもほぼ一定に維持され、大きく減少することはなかった。したがって、*G.gargal* を新規の香りの良い食用きのことして生産するだけでなく、近年香料としての需要が非常に高くかつ高価な天然ベンズアルデヒドの工業的生産に用いることも可能だと考えられた。さらに、アスパラギン、ベンジル酸や安息香酸などを添加することによりベンズアルデヒドの収量が2倍から3倍に増加することを明らかにした。

最後に、第4章では、*G.gargal* 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.gargal* 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比較検討した。栽培した *G.gargal* の子実体は前駆体であるエルゴステロール量には変わりがないが、ビタミンDをマイタケ 47.0 μ g の 15~20 倍、シイタケ 8.7 μ g の 50~80 倍も多量に含むことが明らかとなった。そのビタミンD含有量に関しては *G.gargal* 子実体形成時の蛍光灯の照射量に大きく影響されることが明らかとなり、さらに収穫後の *G.gargal* に波長 254nm の紫外線 C を 2 時間照射することによってさらに含有量が約 20 倍、約 5300.0 μ g にも増加することが判明した。ビタミンDは、腸からカルシウムを吸収し骨へ吸着させる骨の形成維持に関与する脂溶性のビタミンで、問題となっている骨粗鬆症を予防するためにも、適量のカルシウムおよび適度な運動とともにビタミンDの摂取が重要とされ、最近注目されているビタミンである。これらのことから、食用きのこ *G.gargal* は杏仁様の香気を有するだけでなく、生活習慣病である骨粗鬆症を防ぐためにもきわめて重要なビタミンDの供給源となると考えられ、食味特性だけではなく、栄養特性から見ても有用な食品であるといえる。

本研究によって、分布域が南アメリカのごく一部に限られていた *G.gargal* を広葉樹と針葉樹の木粉培地を用いて人工栽培することに成功し、今までにない芳香性食用きのこを市場に提供することが可能となり、さらに、天然ベンズアルデヒドおよびビタミンDの供給源としての *G.gargal* の重要性も確認された。

ひきつづき研究課題として、基礎的研究として *G.gargal* の採取場所によって DNA の塩基配列に違いが認められるか否かなどの分子生物学的な検討を続けている。また、*G.gargal* の商業生産のためにはさらなる収量の増加、栽培コストの低減化および栽培工程の短縮化などは必須条件で

あり、そのために最適な栽培環境を整える検討を行なっている。さらに、品質が良く生産性の高い菌株、あるいは生理活性が高い菌株など優良菌株を求めて開発を進めている。香りに関しては、*G.gargal* 菌糸体中におけるベンズアルデヒドの生合成経路の解明など、生化学的な面からの解析が続けられており、機能性については、破骨細胞抑制効果、骨芽細胞促進効果、抗腫瘍活性、免疫賦活活性、抗酸化作用、コレステロール低下作用、美肌効果、肥満防止など新しい機能が次々に解明されてきている。

南アメリカ大陸にはアマゾン、パンダナール、パタゴニアなど独自の生態系を持っている地域があり、その地域にしか生育していないきのこも多種多様に存在する。このため、特殊な生理活性を持つ有益で未知なきのこが存在している可能性も十分に考えられる。このように、今回検討した *G.gargal* をきっかけとして今後未開発の南アメリカ大陸のきのこについて基礎および応用の両面から研究が進められることが期待される。