

学 位 論 文 要 旨

氏名	原田栄津子
題目	チリ産食用担子菌 <i>Grifola gargal</i> の香気および栄養成分に関する研究 (Studies on the flavor and nutritional components of <i>Grifola gargal</i> , the Chilean edible mushroom)
<p>杏仁様の香りを放つ食用きのこ <i>Grifola gargal</i> Singer (アンニンコウ) は南米のチリや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、日本では全く知られておらず、分類や生理・生態などの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が見られない。そこで本研究では、<i>G. gargal</i> の分類学的位置を明らかにした後、商業生産を目的に人工栽培化を試み、きのこの独特の香気成分およびその栄養成分について検討した。</p> <p><i>G. gargal</i> の野生株の形態的特徴は、Singerらによって報告されている <i>Grifola</i> 属のものとはほぼ一致した。<i>G. gargal</i> の rDNA-ITS 領域の塩基配列は 560bp であり、<i>G. sordulenta</i> とは 99%、<i>G. frondosa</i> (マイタケ) とは 96% の相同性を持ち、系統樹では <i>G. gargal</i> は <i>G. sordulenta</i> と同一のグレートを形成し、<i>G. frondosa</i> とは異なるグレートに位置することが明らかとなった。</p> <p><i>G. gargal</i> の子実体形成試験をマイタケの袋栽培法に準じて行なったところ、ブナおよび広葉樹の木粉にて子実体が形成されることが明らかとなった。広葉樹木粉培地を用いて優良菌株の選択を行なったところ IWAD-GG006 および GG010 の 2 菌株が商業的なきのこ生産に適していると考えられた。</p> <p>次に <i>G. gargal</i> の子実体および菌糸体から放出される香気成分を活性炭に吸着させ、GC および GC-MS で分析した結果、いずれもベンズアルデヒドが主成分として確認された。また、<i>G. gargal</i> を液体培養すると、培養器内のベンズアルデヒドは菌糸成長が安定期に入った後に急激に増加し、その後ほぼ一定で推移することが明らかとなった。さらに、培地に L-アスパラギン、L-フェニルアラニンなどを添加することでベンズアルデヒド生成量が増加することも判明した。これらのことから、<i>G. gargal</i> を近年香料としての需要が高い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。</p> <p><i>G. gargal</i> の栄養価値を評価するために成分分析を行なったところ、ビタミン D がマイタケの 15~20 倍、シイタケの 50~80 倍も多量に含まれることが明らかとなった。そのビタミン D 含有量は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、さらに収穫後の紫外線照射によってさらに増加することが判明した。これらのことから、<i>G. gargal</i> は骨粗鬆症を防ぐための重要なビタミン D の供給源の 1 つとなると考えられた。</p> <p>以上の研究により、南米のごく一部の地域にしか分布していない <i>G. gargal</i> の人工栽培に成功し、杏仁様の芳香をもちビタミン D を豊富に含む新規の食用きのこを市場に提供するとともに、液体培養による天然ベンズアルデヒドの工業的生産の可能性をも示した。</p>	

学 位 論 文 要 旨	
氏名	ETSUKO HARADA
題目	Studies on the flavor and nutritional components of <i>Grifola gargal</i> , the Chilean edible mushroom (チリ産食用担子菌 <i>Grifola gargal</i> の香気および栄養成分に関する研究)
<p><i>Grifola gargal</i> Singer (Anninko), which is an edible mushroom with a characteristic almond favor, is naturally found only in limited areas of Chile and Argentina in South America. Thus, very few studies of this wood-rotting fungus not only regarding its morphological, physiological and biological characteristics but about its cultivation have been reported. In this research, aimed at commercial mushroom production, the fruit body formation of <i>G. gargal</i> in artificial wood meal media was investigated, and the flavor and nutritional components of <i>G. gargal</i> were determined. An investigation of the taxonomic position of <i>G. gargal</i> was also included.</p> <p>The morphological features of some wild strains of <i>G. gargal</i> were mostly consistent with those of <i>Grifola</i> sp. as described with Singer. The sequences for the ITS-rDNA of GG010 strain are 560bp and showed a 99% similarity to <i>G. sordulenta</i> and a 96% similarity to <i>G. frondosa</i>. The phylogenetic trees using the data of these sequences indicated that <i>G. gargal</i> and <i>G. sordulenta</i> formed the independent clade from <i>G. frondosa</i>.</p> <p>The fruit bodies of <i>G. gargal</i> could be formed in Buna (<i>Fagus crenata</i>) and mixed hardwood (<i>Quercus serrata</i> et.) media. Sugi (<i>Crytomeria Japonica</i>) was also able to be used as a component of media (hardwoods : sugi = 4 : 1). Of the 12 strains examined for fruit-body production in mixed hardwood media, the two strains of GG006 and GG010 were found to be suitable strains for the commercial cultivation of the mushroom judging from their yield, shape and color.</p> <p>The major flavor product from the fruit bodies and the mycelia of <i>G. gargal</i> was identified by gas chromatography-mass spectrometry analysis to be benzaldehyde. The mycelia of <i>G. gargal</i> grew favorably in peptone-glucose-yeast extract liquid media adjusted at 20°C. Under this growth condition, the production of benzaldehyde from <i>G. gargal</i> significantly accumulated after the linear growth phase, and the amount did not decline during the stable stage of mycelial growth. The production of benzaldehyde was promoted by adding phenylalanine, asparagine and benzoic acid to the liquid media. Therefore, <i>G. gargal</i> could be a potential producer of benzaldehyde, which is a very expensive and a popular natural aroma.</p> <p>The cultivated mushroom of <i>G. gargal</i> contained remarkably high amounts of vitamin D as compared to those of cultivated mushrooms such as maitake (<i>G. frondosa</i>) and shiitake (<i>Lentinula edodes</i>). The amount of vitamin D in <i>G. gargal</i> significantly increased with exposure to the light of fluorescent lamps during the period of fruiting body formation. In addition, the vitamin D content of <i>G. gargal</i> increased up to 20-fold after irradiation by UV-light at the wavelength 245nm for 2 hours. Therefore, as a potential source of vitamin D, <i>G. gargal</i> can be expected to be a healthy food for preventing rickets in children and osteoporosis in adults.</p> <p>From these results, it would become possible in the near future to commercially supply a new type edible mushroom with an almond flavor and rich vitamin D to the Japanese market by artificially cultivating <i>G. gargal</i> in wood meal media and also to biologically produce benzaldehyde as a natural aroma by the mycelial incubation of <i>G. gargal</i> in liquid media.</p>	

学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏 名	原田 栄津子
審査委員	主査 宮崎大学教授 目黒 貞利
	副査 宮崎大学教授 藪谷 勤
	副査 鹿児島大学教授 八木 史郎
	副査 琉球大学准教授 金城 一彦
	副査 鹿児島大学教授 菅沼 俊彦
審査協力者	宮崎大学名誉教授 河内 進策
題 目	チリ産食用担子菌 <i>Grifola gargal</i> の香気および栄養成分に関する研究 (Studies on the flavor and nutritional components of <i>Grifola gargal</i> , the Chilean edible mushroom)
<p>杏仁様の香りを放つ食用きのこ <i>Grifola gargal</i> Singer (アンニンコウ) は南米のチリや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、日本では全く知られておらず、分類や生理・生態などの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が見られない。そこで本研究では、<i>G. Gargal</i> の分類学的位置を明らかにした後、商業生産を目的に人工栽培化を試み、きのこの独特の香気成分およびその栄養成分について検討した。</p> <p><i>G. gargal</i> の野生株の形態的特徴は、Singerらによって報告されている <i>Grifola</i> 属のものとはほぼ一致した。<i>G.gargal</i> の rDNA-ITS 領域の塩基配列は 560bpであり、<i>G.sordulenta</i> とは 99%、<i>G.froncosa</i>(マイタケ)とは 96%の相同性を持ち、系統樹では <i>G.gargal</i> は <i>G.sordulenta</i> と同一のクレードを形成し、<i>G.froncosa</i> とは異なるクレードに位置することが明らかとなった。</p> <p><i>G.gargal</i> の子実体形成試験をマイタケの袋栽培法に準じて行なったところ、ブナおよび広葉樹の木粉にて子実体が形成されることが明らかとなった。広葉樹木粉培地を用いて優良菌株の選択を行なったところ GG006 株および GG010 株の 2 菌株が商業的なきのこ生産に適していると考</p>	

えられた。

次に *G.gargal* の子実体および菌糸体から放出される香気成分を活性炭に吸着させ、GC および GC-MS で分析した結果、いずれもベンズアルデヒドが主成分として確認された。また、*G.gargal* を液体培養すると、培養器内のベンズアルデヒドは菌糸成長が安定期に入った後に急激に増加し、その後ほぼ一定で推移することが明らかとなった。さらに、培地に L-アスパラギン、L-フェニルアラニンなどを添加することでベンズアルデヒド生成量が増加することも判明した。これらのことから、*G.gargal* を近年香料としての需要が高い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。

G.gargal の栄養価値を評価するために成分分析を行なったところ、ビタミンDがマイタケの 15～20 倍、シイタケの 50～80 倍も多量に含まれることが明らかとなった。そのビタミンD含有量は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、さらに収穫後の紫外線照射によって著しく増加することが判明した。これらのことから、*G.gargal* は骨粗鬆症を防ぐための重要なビタミンDの供給源の1つとなると考えられた。

以上のように、本論文では南米のごく一部の地域にしか分布していない食用担子菌 *G.gargal* が芳香成分としてベンズアルデヒドを多量に生成し、栄養成分としてビタミンDを豊富に含むなど従来の栽培食用きのこにはない特徴を有していることを明らかにした。さらにこの新しいタイプの食用きのこの人工栽培に成功するとともに、液体培養による天然ベンズアルデヒドの工業的生産の可能性も示した。したがって、本論文は博士(農学)の学位論文として十分な価値をもつものと判断した。

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏 名	原田 栄津子
審査委員	主査 宮崎大学教授 目黒 貞利
	副査 宮崎大学教授 藪谷 勤
	副査 鹿児島大学教授 八木 史郎
	副査 琉球大学准教授 金城 一彦
	副査 鹿児島大学教授 菅沼 俊彦
審査協力者	宮崎大学名誉教授 河内 進策
実施年月日	平成19年 6月30日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) (口答)・筆答	
<p>主査及び副査は、平成19年6月30日の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め関連事項について諮問をおこなった。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は申請者が博士(農学)の学位を受けるに必要な十分な学力ならびに識見を有すると認めた。</p>	

学位申請者	
氏名	原田 栄津子

[質問1] 優良品種を *Grifola gargal* の 12 種類の菌株から選抜しているが、これらは遺伝的に異なっているのか？このさい香気成分を選抜項目に含めていないが、菌株ごとにかなり差があるのか？

[回答] 遺伝的解析は現在検討中ではあるが、菌糸成長や子実体形成までの期間、子実体の収量、色や形質などに大きな違いが見られ、バラージ現象も確認できた。香りについても菌株によって大きく異なり、傘の色が濃い菌株では香りが少なく、クリーム色ないしは白色のもが強い傾向にある。12 菌株のうちでは GG004 が特に香りが強く、ベンズアルデヒドの生産には適しているのではないかと期待している。

[質問2] *G. sordulenta* は *G. gargal* と遺伝的に近いということであるが、香りはあるのか？

[回答] アニスアルデヒド系の香りがあるといわれているが、チリでは見たことはない。もしかすると現地では *G. sordulenta* もガルガルと呼んでいるのかもしれない。ただ *G. sordulenta* は食用とはいわれていない。

[質問3] 菌糸体量とベンズアルデヒドとの関係を検討しているが、具体的にはどのようにして菌糸体量を求めているのか？

[回答] PGY 液体培地で培養後、濾紙を用いてろ過し、得られた菌糸体を乾燥して、その重量から求めた。

[質問4] アンニンコウとは *G. gargal* の和名か？ *G. gargal* を生で販売した場合に、香りはどの程度持続するのか？また、味はどうか？

[回答] *G. gargal* にはまだ和名がなく、アンニンコウはわれわれが名付けたものである。菌学会等で提案したいと思っている。香りはきのこの鮮度によるが、通常1週間は持続する。乾燥きのこは臭わない。味はマイタケよりも美味しいと思う。

[質問5] *G. gargal* 中のビタミンD含有量は栽培中の蛍光灯の光照射量によって強く影響を受けるといことは、きのこごとに含有量が大きく異なるということか？だから紫外線 254nm を照射してビタミンD含有量を最大量にそろえる必要があるということか？

[回答] そうではなく、蛍光灯の光によって *G. gargal* のビタミンD含有量は市販のマイタケの約 20 倍に増加し、紫外線を照射すればさらに増加させることが可能であるという意味である。

[質問 6] *G. gargal* のなかでも野生きのこは、栽培きのこよりビタミン D 含有量が低い、これは日光があまり当たらないからか？

[回答] 通常きのこは雨期に、直射日光の当たらない薄暗い場所に発生するので光照射量が不足しているのかもしれない。ただ、エルゴステロール含有量も低いので、菌株の違いによる可能性もある。

[質問 7] *G. sordulenta* は *G. gargal* とは rDNA-ITS の塩基配列では類似度が非常に高く、近縁種として見なして良いことになるが、同種の可能性はないのか？

[回答] Singer らの観察でも *G. sordulenta* と *G. gargal* では形態的特徴に明らかな違いが見られるので、別種と考えている。rDNA-ITS の塩基配列に加えて、今後はさらに他の分子データも集積し、*G. gargal* の分類学的位置を明らかにしたい。

[質問 8] 育種の目的として、高収量と高品質があげられているが、高品質とは具体的には何か？収量、香り、ビタミン D 含有量のほかに食味も重要になると考える。これらすべてを満たすことは困難に思えるが、キノコの場合可能か？

[回答] 確かに、収量は高いが色が悪いとか、食感が良くないなど菌株にそれぞれ個性があるので、用途に適した品種、あるいは全体にバランスのとれた品種などを念頭に、作出していきたい。

[質問 9] 子実体や菌糸体の香气成分はベンズアルデヒドのようにみえるが、実際は量的には少ないがいくつかの成分から構成されているのではないか。

[回答] GC 分析では微量ながらいくつかの化合物も検出されているので、ベンズアルデヒドはあくまで香りの主成分と考えている。菌株、培養条件や培養期間によって香りが微妙に変化することはあるかもしれない。

[質問 10] 一端生成したベンズアルデヒドが培養期間中に他の物質に変化することはあるのか？

[回答] 今回検討した培養条件では、培養 60 日間ではベンズアルデヒド量に大きな変化は見られなかった。

[質問 11] ビタミン D 含有量以外に *G. gargal* に期待される機能性にはどのようなものがあるのか？

[回答] 人工栽培が可能になり多量のきのこが得られるようになって、機能性に関する検討もかなり進んできた。現在期待される *G. gargal* の機能としては、破骨細胞抑制効果、骨芽細胞促進効果、抗腫瘍活性、免疫付活活性、抗酸化作用、コレステロール低下作用などがある。