

信州大学審査学位論文

カキシメジ類を含む日本産 *Tricholoma* 属の資源探索と
その利用可能性に関する研究

2023 年 3 月学位授与

青木 渉

第1章 緒言	1
1-1. 食用きのことしての <i>Tricholoma</i> 属の重要性	
1-2. <i>Tricholoma</i> 属の分類学的背景	
1-3. <i>Tricholoma</i> 属の外生菌根	
第2章 カキシメジ類の分類学的検討	5
2-1. 目的	
2-2. 材料と方法	
2-2-1. 標本の収集	
2-2-2. 形態観察	
2-2-3. DNA 抽出	
2-2-4. PCR 増幅	
2-2-5. 塩基配列解析	
2-2-6. クローニング	
2-2-7. アラインメントおよび系統解析	
2-2-8. 分子年代推定	
2-3. 結果	
2-3-1. カキシメジ類の分子系統学的位置	
2-3-2. nuc rDNA ITS 領域の系統樹	
2-3-3. nuc rDNA IGS1 領域の系統樹	
2-3-4. <i>rpb2</i> 領域の系統樹	
2-3-5. <i>tef1</i> 領域の系統樹	
2-3-6. <i>atp6</i> 領域の系統樹	
2-3-7. <i>gapdh</i> 領域の系統樹	
2-3-8. mt rDNA SSU 領域の系統樹	
2-3-9. カキシメジ類の分岐年代推定	
2-3-10. カキシメジ類を構成する 5 クレードの形態的特徴	
2-4. 記載	
2-5. 考察	

第3章 カキシメジ類の培養特性..... 40

3-1. 目的

3-2. 材料と方法

3-2-1. 子実体の組織分離

3-2-2. 濃度の異なる MNC 寒天培地条件下における菌糸伸長の比較

3-2-3. 異なる栄養条件下で形成されたコロニーの菌糸形態の比較

3-3. 結果

3-3-1. 培養株の確立

3-3-2. カキシメジ類のコロニー形態

3-3-3. 培養条件の違いによるカキシメジ類培養株の菌糸伸長

3-4. 考察

第4章 カキシメジ類の菌根合成..... 50

4-1. 目的

4-2. 材料と方法

4-2-1. 菌糸体接種源の調製

4-2-2. 土壌の調製

4-2-3. アカマツ種子の無菌発芽

4-2-4. 菌根合成

4-2-5. 苗の回収と観察・計測

4-2-6. 菌根苗の室内順化

4-2-7. 野外採取したカキシメジ類外生菌根の形態観察

4-3. 結果

4-3-1. 菌根合成により形成されたカキシメジ類の外生菌根

4-3-2. 外生菌根の形成量

4-3-3. 室内順化した菌根苗における菌根形成状況

4-3-4. 室内順化菌根苗のもとで発生した *T. kakishimeji* の子実体

4-3-5. 野外で採取されたカキシメジ類の外生菌根

4-4. 考察

第5章 カキシメジ類のブナ科植物およびアカマツとの宿主関係..... 70

5-1. 目的

5-2. 材料と方法

5-2-1. 菌根苗

5-2-2. ブナ科無菌根苗の作出	
5-2-3. 母樹法によるブナ科樹種へのカキシメジ類の菌根形成	
5-3. 結果	
5-3-1. ブナ科宿主上における外生菌根形成	
5-3-2. ブナ科宿主上における外生菌根の形態	
5-4. 考察	
第6章 カキシメジ類のウスタル酸産生	85
6-1. 目的	
6-2. 材料と方法	
6-3. 結果	
6-4. 考察	
第7章 日本産キシメジ属の多様性解明と分類学的位置づけ	89
7-1. 目的	
7-2. 材料と方法	
7-2-1. 使用標本	
7-2-2. 分子系統解析と種同定	
7-2-3. 形態観察	
7-3. 結果	
7-3-1. <i>Tricholoma</i> 属の系統解析	
7-3-2. 系統解析に基づく分類群の所属検討	
7-3-3. 記載	
7-3-4. 日本産 <i>Tricholoma</i> 属種の分類学的解釈	
7-4. 考察	
第8章 総合考察	120
謝辞	123
引用文献	124
付表	138

第1章 緒言

1-1. 食用きのことしての *Tricholoma* 属の重要性

Tricholoma 属は、林産物として重要なマツタケやシモフリシメジなどの食用きのこを含む一方で、カキシメジなど毒きのこも含む（今関・本郷, 1987; 長沢, 2009）。古来より高い資源価値が認められてきたマツタケは、Ito and Imai (1925) による *Armillaria matsutake* としての新種記載以降、分類学的変遷を経て、現在は *Tricholoma matsutake* (Sing.) S. Ito & S. Imai として広く知れ渡っている。本種は、奈良時代に編纂された万葉集以来、「松茸」として無数の記述が知られ（小川, 1978; 有岡, 1997）、江戸時代には精密な描画や記述が散見されるようになった（例えば、市岡, 1799; 坂本, 1835）。現在では高い経済価値を有し、近年では 10,000~30,000 円/kg で取引される（Yamanaka et al., 2020）。*Tricholoma* 属にはマツタケ以外にも多数の食用菌が含まれ、日本国内だけでも過去に 28 種が食利用された記述がある（山田, 2002）。また、*Tricholoma* 属菌は欧州圏でも食利用されており、Romagnesi (1971) は 9 種程度を食用菌として掲載している。以上のことから、*Tricholoma* 属は世界各地で食利用され、野生きのことしての資源価値が高いと言える。

一方で、日本国内では毒きのこのカキシメジも古来より知られてきた。信陽菌譜（市岡, 1799）には、「木株上には生えず、その色は紅紫色になることから名前はこれに由来する、ぬめりのあるものは有毒であり、腹痛を起こす。木の上に生えるものは別の菌である」と記述されている。今日でも、カキシメジは特に国内で食中毒事例の多いきのことして知られており（山浦, 1993）、ウスタル酸を主要毒素とし腹痛、嘔吐や下痢などの消化器系の症状を引き起こす（Sano et al., 2002）。カキシメジは毒きのこと考えられる一方で、岐阜県北部や九州沿岸域では食利用が記録されている（小山, 1999; 黒木, 2015）。このようなきのこの利用は、真正の毒きのこを除毒により食材として利用している可能性とともに、毒きのこに酷似した無毒種が存在する可能性が推察される。このため、毒きのこを含めた野生きのこの食文化を記録し科学的に検証することは、野生きのこの資源利用の観点から重要と考えられている（山田, 2018）。

1-2. *Tricholoma* 属の分類学的背景

Tricholoma 属（キシメジ属）は、Basidiomycota（担子菌門）、Agaricomycotina（ハラタケ亜門）Agaricales（ハラタケ目）、Tricholomataceae（キシメジ科）に属す（Kirk et al., 2008）。本属は、Fries (1821) により設立された *Agaricus* trib. *Tricholoma* をもとに Staude (1857) により *Tricholoma* (Fr.) Staude として独立属に格上された。一方、現在、*Tricholoma* 属のタイプ種とされる *Tricholoma equestre* (L.) P. Kumm. は、*Agaricus equestris* L. の原記載（Linnaeus, 1753）をもとに Kummer (1871) により *T. equestre* として転属された。現状、*Tricholoma* 属では、およそ 200 種が有効種と考えられている（Christensen and Heilmann-Clausen, 2013; Kirk et al., 2008）。過去には世

界全体で 1000 種以上が記載されたが、その中には *Lepista* 属, *Leucopaxillus* 属, *Lyophyllum* 属, *Melanoleuca* 属, *Tricholosporum* 属, *Macrocybe* 属, *Calocybe* 属, *Leucocalocybe* 属, *Gerhardtia* 属, *Rhodopaxillus* 属, *Dermoloma* 属, *Porpoloma* 属, *Tricholomopsis* 属, *Tephrocybe* 属に再分類された種が含まれる (Christensen and Heilmann-Clausen et al., 2013; Harmaja, 1974; Baroni, 1982; Pegler et al., 1998; Boekhout, 1988; Hofstetter et al., 2002; Matheny et al., 2006; Endo et al., 2019; Maire, 1913, 1924; Herink and Kotlaba, 1975; Singer, 1939, 1952; Donk, 1962) .

Tricholoma 属の下位分類群として Singer (1975) は, *Tricholoma*, *Sericeicutis*, *Pardinicutis*, *Contextocutis* の 4 亜属 (および 9 節) を認めた. 当時の分類体系は, 主に形態学的基準に基づいていたが, 1990 年代以降, *Tricholoma* 属の分類体系では DNA 塩基配列の情報が考慮されるようになった. *Tricholoma* 属は北半球を中心に分布するが (Sánchez-García et al., 2021) , *Tricholomataceae* 科では *Dermoloma* 属や *Pseudotracholoma* 属 (ともに日本国内からは未報告) などの, 北米や東南アジアなどに分布する属に近縁である (Sánchez-García et al., 2014, 2021) . Christensen and Heilmann-Clausen (2013) および Heilmann-Clausen et al. (2017) では, クランプコネクションの有無や傘表皮菌糸の構造, 胞子径, つばの有無などの形態学的特徴, および分子系統解析の結果に基づき, *Tricholoma* 属種は *Tricholoma*, *Caligata*, *Sericella*, *Lasciva*, *Pardinicutis*, *Genuina*, *Megatracholoma*, *Contextocutis*, *Atrosquamosa* および *Terrea* の 10 節に区分された. さらに Reschke et al. (2018) は, *Muscaria* 節を追加し, 計 11 節を区分した (表 1-1) . 本研究では Reschke et al. (2018) の体系に基づき研究に着手した. *Tricholoma* 属は現在, 子実体の形態的特徴, すなわち, 傘と柄を有し, つばは形成せず, ひだは湾性し, 胞子は白色で細胞壁が薄く表面が平滑で, 傘表皮菌糸は ixocutis または ixotrichoderm を呈することで定義されている (Christensen and Heilmann-Clausen, 2013) .

表 1-1. *Tricholoma* 属の各節の識別形質

節	傘の色	ひだの色	つば	傘表面	クランプコネクション
<i>Tricholoma</i>	灰色, 黄色, 白色, オリーブ色	白色～黄色	なし	湿性または乾性	なし
<i>Caligata</i>	褐色	白色	綿状	乾性, 鱗片状	なし
<i>Sericella</i>	黄～黄土色, 白色	白色～黄色	なし	乾性	あり
<i>Lasciva</i>	白色	白色	なし	乾性	あり
<i>Pardinicutis</i>	灰色	白色	なし	乾性, ささくれる	あり
<i>Genuina</i>	褐色	白色～黄色	膜状または綿状	湿性または乾性	なし
<i>Megatracholoma</i>	褐～淡褐色	白色	膜状	湿性または乾性	なし
<i>Contextocutis</i>	灰～オリーブ色	白色	なし	乾性	あり
<i>Atrosquamosa</i>	灰色	白色	なし	乾性, 鱗片状	なし
<i>Terrea</i>	灰色	白色	蜘蛛の巣状から綿状	乾性	なし
<i>Muscaria</i>	灰～黄色, オリーブ色	白色	なし	乾性, 鱗片状	なし

Heilmann-Clausen et al. (2017) および Reschke et al. (2018) をもとに作成.

Tricholoma 属種の地域レベルのモノグラフでは、北米では Peck (1875) により 60 種あまり報告されたのち、Murrill (1914) により *Tricholoma* 属のいくつかの節が *Melanoleuca* 属や *Cortinellus* 属へと移動する措置がとられた。Ovrebo (1980) は、五大湖周辺の標本を中心に検討を行い、48 種を報告した。Jacques et al. (2022) は、特にカナダの標本を中心に *Tricholoma* 属の節ごとに ITS 領域の分子系統学的解析を行い、68 種を有効と見做している。アジアでは、川村 (1925) が日本産 *Tricholoma* 属を 10 種報告した事例が最初であり、その後、伊藤 (1959) や今関・本郷 (1987) の成果を踏まえ、勝本 (2010) では 40 種が有効と見做されている。中国では、日本の研究以降に *Tricholoma* 属のモノグラフ的な研究が進展すると同時に、分子系統学的な研究も進むようになり、Reschke et al. (2018) による雲南省の標本を用いた分子系統学的研究を踏まえると 65 種が有効と見做される (Hosen et al., 2016; Cui et al., 2022; Xu et al., 2020; Reschke et al., 2018; Ding et al., 2022)。

日本国内における *Tricholoma* 属種の記載は、川村 (1925) による *Tricholoma ustale* (カキシメジ) の報告以降、特に戦後は Singer (1965) の分類体系に基づいて進められてきた (今関・本郷, 1957, 1987)。1990 年代以降、国内の地域レベルで個別に記載が進み、学名検討が必ずしも十分ではない中での新種および日本新産種の報告や、亜高山帯や高山帯の調査に基づく、既知種とは異なる形態を持つ種の報告がなされている (例えば、池田, 2005; 工藤・長沢, 1998; 石川県白山自然保護センター, 2015)。しかし、1990 年代以降に発展した分子系統解析の手法による日本産 *Tricholoma* 属全体を再検討する研究はなされていない。このため、日本国内にどの程度 *Tricholoma* 属が分布するのか不明な点が多い。

1-3. *Tricholoma* 属の外生菌根

Tricholoma 属は森林樹木と外生菌根を形成する (Trappe, 1960; Smith and Read, 2008)。外生菌根は、維管束植物と糸状菌との共生体である菌根の一形態である (Smith and Read, 2008)。外生菌根では、菌糸が宿主植物細根の表面を覆って組織化した菌鞘 (fungal sheath または mantle) が形成される。このため、植物細根の表皮細胞が根毛へと発達せずに退縮するとともに、皮層細胞の肥大化が確認される。また、菌糸は皮層細胞の間隙に侵入してハルティヒネット (Hartig net) を形成する。

Tricholoma 属の外生菌根の外観は、一般的に白色で光沢を持ち、一部の種では菌鞘菌糸にクランプコネクションが見られ、菌鞘内部には細胞外分泌物に由来すると考えられる結晶構造を有する (Agerer and Waller, 1993; Yamada et al., 2001a)。 *Tricholoma* 属の外生菌根については、経済的に重要なマツタケに関する知見が数多く存在する。マツタケの菌根は、Masui (1927) により最初に記載された。同記載図では外生菌根の構造が示されているが、ハルティヒネットに関する記述が必ずしも十分ではなかった。その後、小川・浜田 (1965) は「菌根の形は枝分かれの多いテングス状の黒色菌根、ハルティヒネットを形成せず、菌糸が細胞内にも侵入し寄生的である、菌

が根端を犯さず根の発育を促す」と記載した。その一方で、Yamada et al. (1999a) は Masui (1927) の記載図に相当する形態学的特徴を再確認するとともにハルティヒネットの存在を明示し、マツタケが外生菌根を形成すると結論づけた。さらに、菌根合成法によりマツタケ培養菌糸体がアカマツ実生に外生菌根を形成することを報告した (Yamada et al., 1999b)。菌根合成法により外生菌根を形成させ、野外で採取した外生菌根との形態比較を行うことで、外生菌根菌の生物学的ならびに生態学的特性を解明できるだけでなく、応用展開につなげることも可能である (Yamada et al., 2001a, b; Fangfuk et al., 2010; Endo et al., 2013, 2015)。

本論文では、(1) カキシメジ類の分類学的検討、(2) カキシメジ類の外生菌根に関する形態学的並びに生理学的解析、(3) 日本産 *Tricholoma* 属の分布と資源探索を主な研究目的とした。従来、毒きのことして知られるだけであったカキシメジ類に関して、毒成分の生産（化合物に関する研究）や食利用の可能性（資源利用に関する研究）を視野に研究を進め、毒きのこを用いた新たな研究アプローチを確立することを目指した。

第2章 カキシメジ類の分類学的検討

2-1. 目的

毒きのこととして知られるカキシメジは秋から晩秋に発生し、暗赤褐色の傘は湿時に粘性を有する。本種には、これまで *Tricholoma ustale* (Fr.) P. Kumm. の学名が充てられてきた (川村, 1925, 今関・本郷, 1957; 勝本, 2010; Aoki et al., 2021)。 *Tricholoma ustale* は *Genuina* 節に属す。日本国内においては食中毒を引き起こすカキシメジは主要毒素としてウスタル酸を含有するが (河岸, 2017), 欧州産 *T. ustale* による中毒は知られていない (Breitenbach and Kranzlin, 1991; Christensen and Heilmann-Clausen, 2013)。カキシメジは、長野県の飯縄山山麓にて採取された標本をもとに川村 (1925) により初記載され、*Tricholoma ustale* Fr. の学名が採用された。カキシメジはその後、今関・本郷 (1987) や山下・古川 (1993) において毒きのこととして記述されているが、本種の分類と毒性との関係については多くの議論がある。とりわけ、近縁種として知られるマツシメジが食用菌とされてきたため (廣瀬, 1949; 今関, 1942; 今関・本郷, 1957), 両種の混同も推察される。これまでに、カキシメジに近縁な国産既知種として、オオカキシメジ (*T. pessundatum*), マツシメジ (*T. albobrunneum*), アザシメジ (*T. maculatipus*), ムレワシメジ (*T. populinum*), カキシメジモドキ (*T. ustaloides*), ニガシメジ (*T. ustaloides*) の 6 種が報告されている (Imai, 1938; 松田・本郷, 1962; 村田, 1979; 宮内, 1989, 2010; 勝本, 2010; 池田, 2005)。なお、カキシメジモドキとニガシメジにはともに *T. ustaloides* の学名が充てられている。これらの多くは、日本新産種や新種としての記載以降、分子系統解析などの検証は殆どされておらず、それらの異同や採用されている学名の有効性については不明な点が多かった。

本章では、2018 年から 2022 年にかけてカキシメジ類の標本収集を行うとともに、国内外の博物館よりカキシメジ類標本を借用し、分子系統解析と形態観察に基づきこれら種群の分類学的検討を行うことを目的とした。

なお、本章では、著者の既報成果 (Aoki et al., 2021) を含めて、その後に得られた知見も併せて記述した。

2-2. 材料と方法

2-2-1. 標本の収集

信州大学農学部応用真菌学研究室に保存されているカキシメジおよび近縁種の子実体乾燥標本 57 点に加え、国立科学博物館 (TNS), 日本きのこセンター菌蕈研究所 (TMI), 大阪市立自然史博物館 (OMNH), 鳥取大学附属菌類資源研究センター (TUMH), コペンハーゲン大学標本庫 (C) より借用した 40 点の標本からなる計 97 点を供試した (表 2-1)。2018 年以降に野外で採取した子実体は、DNA 解析用の組織片採取、外部形態の観察、並びに組織分離の各実験操作の後に、60 °C の熱風乾燥を一晩行うか、凍結乾燥を 2-3 間日行った後に 60 °C で一晩熱風乾燥を行

い、乾燥標本として保存した。なお、本研究では、川村（1925）におけるカキシメジの記載を基準として、同種または類似種の識別・同定を進めた。子実体の採取時には、外観及び発生環境を一眼レフカメラ（Nikon D5300, 株式会社ニコン；東京）にて撮影するとともに、採取地の GPS 情報を記録した。

表 2-1. 本研究で使用した *Tricholoma* 属カキシメジ類標本

種名	標本 ID	子実体標本の採取情報			標本 状態 ³
		採取日時 (年/月/日)	採取場所の地名	林冠樹種 ²	
(Genuina 節; カキシメジ様菌種群)					
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	AT-0612 ¹	1997/11/4	茨城県那珂市那珂	Pd	C
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	AT-0610 ¹	1997/11/21	茨城県那珂市那珂	Pd	C
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-67, 68	2018/10/8	長野県中野市斑尾山	Fc	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	AY-2101103-001 (TUA-19)	2010/11/3	長野県信濃町霊仙寺山麓	Qs	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-75	2018/10/17	長野県飯綱町飯縄山山麓	Pa	F, D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-76, 77	2018/10/17	長野県飯綱町飯縄山山麓	Qs	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-78	2018/10/17	長野県飯綱町飯縄山山麓	Pd	F, D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-126	2019/11/8	長野県飯綱町飯縄山山麓	Qs	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	OMNH 2802	1963/10/7	長野県山ノ内町蓮池	ND	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-38	2018/9/20	長野県松本市乗鞍高原	Qc	F, D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-40	2018/9/20	長野県松本市乗鞍高原	Td	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-58	2018/10/2	長野県松本市乗鞍高原	Td	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-59–61, 63–65	2018/10/2	長野県松本市乗鞍高原	Qc	F, D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-62	2018/10/2	長野県松本市乗鞍高原	Td	F, D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-113, 114	2019/10/10	長野県松本市乗鞍高原	Td	F, D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-96	2019/9/26	長野県佐久市蓼科山	Td, Av	F, D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-101–105	2019/10/3	長野県小海町八ヶ岳	Td	F, D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-35	2018/9/14	長野県川上村十文字峠	Td	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-41	2018/9/20	長野県川上村十文字峠	Td	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-42–46	2018/9/25	長野県川上村十文字峠	Td	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-106, 107	2019/10/3	長野県川上村十文字峠	Td	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-71	2018/10/14	長野県辰野市横川溪谷	Qs	F, D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	AY-2001029-001 (TUA-6)	2000/10/29	長野県中川村折草峠	Qs	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-70	2018/10/10	長野県中川村折草峠	Qs, Pd	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-74	2018/10/16	長野県中川村折草峠	Qs	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-118, 119	2019/10/30	長野県中川村桑原	Pd	F, D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-66	2018/10/5	長野県中川村田島沢	Qa	F, D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-72	2018/10/16	長野県中川村田島沢	Qa	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	AY-2001027-001 (TUA-8)	2000/10/27	長野県松川町小渋	ND	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	AY-2001029-001 (TUA-9)	2000/10/29	長野県松川町小渋	ND	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-69	2018/10/10	長野県大鹿村菖蒲沢	Ts	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-73	2018/10/16	長野県大鹿村菖蒲沢	Ts	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-117	2019/10/30	長野県大鹿村菖蒲沢	Ts	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	AY-2070706-001 (TUA-4)	2007/6/28	長野県豊丘村	Pd	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-79	2018/10/31	静岡県浜松市水窪	Pd	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	OMNH 1938	1958/10/24	滋賀県大津市石山外畑町	ND	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	OMNH 1947	1958/10/30	滋賀県大津市里	ND	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	OMNH 3008	1964/10/31	滋賀県大津市千町	ND	D

<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	OMNH 3606	1967/11/9	滋賀県大津市	ND	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TaY20191104-101	2019/11/4	奈良県橿原市橿原神宮	Qg	F, D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-81	2018/12/26	和歌山県	Pd	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-127	2019/11/13	鳥取県鳥取市鳥取砂丘	Pt	F, D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-143	2019/11/14	鳥取県鳥取市鳥取砂丘	Pt	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUMH 62876	2016/11/12	鳥取県鳥取市国府町	Qg, Qm	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-134	2019/11/13	鳥取県鳥取市国府町	Qg, Qm	F, D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-138, 141, 142	2019/11/13	鳥取県鳥取市国府町	Qg	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUMH 62707	2016/12/16	鳥取県鳥取市浜坂	Pt	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-128	2019/11/13	鳥取県鳥取市浜坂	Pt	F, D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-129-132	2019/11/13	鳥取県鳥取市浜坂	Pt	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUMH 62228	2015/11/24	鳥取県鳥取市大池	Qg, Qm	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-133, 134, 136, 137	2019/11/13	鳥取県鳥取市大池	Qg, Qm	F, D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUA-140, 145	2019/11/13	鳥取県鳥取市布施	Qa	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUMH 62875	2016/11/3	鳥取県鳥取市槇原	F	F, D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	OMNH 1756	1958/4/13	宮崎県宮崎市一ツ葉	ND	D
<i>T. ustale</i> (カキシメジ)	TUMH 61677	2013/11/23	宮崎県高原西麓	F	D
<i>T. albobrunneum</i> (マツシメジ)	TMI 5588	1938/10/8	北海道札幌市石狩	ND	D
<i>T. albobrunneum</i> (マツシメジ)	TMI Fukuti 6	(1930 年代)	北海道札幌市石狩	ND	D
<i>T. albobrunneum</i> (マツシメジ)	TMI Fukuroda 52	1937/10/11	茨城県大子町袋田	ND	D
<i>T. albobrunneum</i> (マツシメジ)	TMI Mizu 5	1940/9/27	山梨県北斗市瑞牆山	ND	D
<i>T. albobrunneum</i> (マツシメジ)	TMI 12A, 12B	1940/10	山梨県鳴沢村	ND	D
<i>T. albobrunneum</i> (マツシメジ)	TaY20181117-001	2018/11/17	鳥取県鳥取市鳥取砂丘	Pt	D
<i>T. albobrunneum</i>	MC97-233	1997/10/17	Denmark: Rømø, Vråby Plantage	Pn, Pm	D
<i>T. albobrunneum</i>	MC96-221	1996/10/19	Denmark: E Jylland, Skramsø Plantage, Djursland	Pin	D
<i>T. albobrunneum</i>	JV04-471	2004/10/3	Denmark: Ålbæk Kliplantage, Wend	Pin	D
<i>T. albobrunneum</i>	JV08-269	2008/9/19	Estonia: Saaremaa, Kihelkonna commune, Odalätsi Landscape reserve	Psy	D
<i>T. albobrunneum</i>	JHC91-718	1991/10/13	Denmark: Anholt	Pin	D
<i>T. stans</i> (マツバラシメジ)	TUMH 62879	2016/12/16	鳥取県鳥取市浜坂	Pt	D
<i>T. stans</i>	MC95-304	1995/10/15	Denmark: E Jylland, Skragen Klitplantage		D
<i>T. stans</i>	MC95-131	1995/9/13	Sweden: Medelpad, Borgsjö, Bergåsens sydbergsslutning	Pin, Pic	D
<i>T. stans</i>	MC95-145	1995/9/15	Sweden: Medelpad, Borgsjö, ved Folketshus (Västna by)	Pin, B	D
<i>T. pessundatum</i> (オオカキシメジ)	TMI 5615	1934/10/8	北海道札幌市	ND	D
<i>T. pessundatum</i> (オオカキシメジ)	TMI 5614	1933/10/8	北海道札幌市定山溪	ND	D
<i>T. pessundatum</i> (オオカキシメジ)	TMI 25	1940/10/4	山梨県富士河口湖町西湖	ND	D
<i>T. pessundatum</i> (オオカキシメジ)	TUMH 63117	2017/11/16	鳥取県鳥取市大池	Qg, Qm	D
<i>T. ustaloides</i> (ニガシメジ)	TNS-F-18995	1975/10/14	石川県能登市柏木	Qs	D
<i>T. ustaloides</i> (ニガシメジ)	TNS-F-18996	1978/10/14	石川県能登市国重	Pd, F	D
<i>T. ustaloides</i> (ニガシメジ)	TNS-F-18997	1985/10/19	石川県能登市秋吉	Pd	D
<i>T. ustaloides</i> (ニガシメジ)	TNS-F-18999	1994/10/9	石川県能登市松波	Pd, F	D
<i>T. ustaloides</i> (ニガシメジ)	TNS-F-18998	1986/10/10	石川県金沢市小原	Pd, F	D
<i>T. ustaloides</i> (ニガシメジ)	TNS-F-19000	2002/10/27	石川県能美市辰口	Pd, F	D
<i>T. ustaloides</i> (ニガシメジ)	TNS-F-38557	2008/10/11	石川県能登市神和住	Pd, F	D
<i>T. ustaloides</i> (ニガシメジ)	TNS-F-38558	2010/10/24	石川県津端町七黒	Pd, F	D
<i>T. maculatipes</i> (アザシメジ)	OMNH 2392	1961/10/22	山形県小国町小玉川	Fc	D
<i>T. maculatipes</i> (アザシメジ)	OMNH 3162	1965/10/2	山形県米沢市	ND	D

<i>Tricholoma</i> sp.	AY-2080904-001, 002 (TUA-1, 2)	2008/9/4	北海道利尻町利尻岳	Pp	D
<i>Tricholoma</i> sp.	AY-2161105-001 (TUA-18)	2016/11/5	青森県むつ市下北半島	Pd	D
<i>Tricholoma</i> sp.	AY-2111014-001 (TUA-17)	2011/10/14	長野県松本市旭	Pa	D
<i>Tricholoma</i> sp.	TUA-125	2019/11/5	長野県松本市旭	Pd	F, D
<i>Tricholoma</i> sp.	TUA-95	2019/9/20	長野県中川村折草峠	Fj	D
<i>Tricholoma</i> sp.	TUA-48	2018/9/26	長野県中川村田島沢出合	Qs, Qa	D
(その他 <i>Tricholoma</i> 属種)					
(Genuina 節)					
<i>T. imbricatum</i>	AY-2011020-001 (TUA-5)	2001/10/20	長野県中川村桑原	Pd	D
(Megatracholoma 節)					
<i>T. japonicum</i>	AY-2101020-001, 002 (TUA-20, 21)	2010/10/20	長野県中川村桑原	Qs, Qa, Pd	D
<i>T. japonicum</i>	AY-2001029-001 (TUA-10)	2000/10/29	長野県中川村小渋	ND	D
<i>T. japonicum</i>	AY-2001102-001 (TUA-11)	2000/11/2	長野県中川村小渋	ND	D
<i>T. aff. acerbum</i>	AY-2000925-001 (TUA-14)	2000/9/25	茨城県	ND	D
(Caligata 節)					
<i>T. matsutake</i>	TUA-84	2018/10/10	長野県塩尻市関沢	Ts	D
(Tricholoma 節)					
<i>T. flavovirens</i>	AY-1970920-001 (TUA-15)	1997/9/20	茨城県常陸大宮市盛金	Pd	D

¹ 培養株

²Pd: *Pinus densiflora* (アカマツ), Pm: *P. mugo*, Pn: *P. nigra*, Pp: *P. pumila* (ハイマツ), Pt: *P. thunbergii* (クロマツ), Psy: *P. sylvestris* (ヨーロッパアカマツ), Pin: *Pinus* sp., Pa: *Picea abies* (ドイツトウヒ), Pic: *Picea* sp., Td: *Tsuga diversifolia* (コメツガ), Ts: *T. sieboldii* (ツガ), Av: *Abies veitchii* (シラビソ), F: Fagaceae (ブナ科), Fc: *Fagus crenata* (ブナ), Fj: *F. japonica* (イヌブナ), Qa: *Quercus accutissima* (クヌギ), Qc: *Q. crispula* (ミズナラ), Qg: *Q. glauca* (アラカシ), Qm: *Q. myrsinifolia* (シラカシ), Qs: *Q. serrata* (コナラ), Cc: *Castanopsis sieboldii* (スダジイ), B: *Betula* sp., ND: 無記載.

³C: 培養菌糸体, D: 乾燥標本, F: 凍結子実体.

2-2-2. 形態観察

62 標本について、孢子、担子器、小柄、傘表皮の顕微鏡観察を行った。生鮮標本の場合は、ひだの一片を切り取り、剃刀刃を用いて薄層切片を作製し、乳酸で封入しプレパラートを作製した。顕微鏡観察には微分干渉顕微鏡 (Axio Imager A1, Carl ZEISS ; Germany) を用い、対物レンズ乾式 40 倍もしくは油浸 100 倍を使用した。観察した画像は、デジタルカメラ (Nikon D90, ニコン, 東京) で撮影し、JPEG 画像として保存した。孢子径の計測に際しては、Clémenton et al. (2012) に従い長径と短径を定義し、嘴状突起が確認できるものを用いた。各細胞の計測には ImageJ (Schneider et al., 2012) を用い、担子孢子 50 個、担子器 50 細胞、小柄 50 本、傘表皮菌糸 50 本について計測した。

2-2-3. DNA 抽出

採取した新鮮な子実体または乾燥標本のひだの一片を切り出して 1.5 mL 容マイクロチューブ (Thermo Fischer Scientific ; Massachusetts) に移し, β メルカプトエタノール 100 μ L を添加した 2 $\times$ CTAB 緩衝液 (0.02 g/mL) を 300 μ L 加えて -60°C のディープフリーザー (日本フリーザー ; 東京) にて 5 分間凍結させ, 65°C のヒートブロック (タイテック CTU-Neo ; 川越) にて 2 分間融解させた. この凍結と融解の操作をさらに 2 反復行った. その後, マイクロチューブに滅菌済みの石英砂 (微粉末) を耳かき一杯分加え, 電動ドリル (RYOBI ; 広島) に装着したホモジナイザーペッスルを用いて 2 分間破碎した. 破碎試料は, 65°C のヒートブロックに 30 分間静置したのち 300 μ L の CIA (クロロホルム : イソアミルアルコール = 24 : 1, v/v) を加え, 転倒混和した. その後, 卓上微量遠心機 (CT15E, 日立工業 ; 東京) を用いて 6,000 rpm で 10 分間遠心分離した. 上清をピペッティングにて新しい 1.5 mL 容マイクロチューブへ回収し, 上清の 1/10 量の 3 M 酢酸ナトリウム溶液 (pH 5.2) を添加し, 混和した. その後, 上清の体積を 100 μ L 上回るイソプロピルアルコールを添加して転倒混和し, 10 分間から一晩静置した. これを 15,000 rpm, 20 分間遠心分離し, 上清をデカンテーションで除去した. 沈殿物の残ったマイクロチューブに, 1 mL の 70%エタノールを加えて混和し, 15,000 rpm で 20 分間遠心し, 上清をデカンテーションで除去した. その後, 65°C のヒートブロックにて沈殿物を 15 分間乾燥させ, $0.1\times$ TE 緩衝液 30 μ L に溶解し抽出 DNA 試料とした.

2-2-4. PCR 増幅

上記の抽出 DNA 試料を鋳型 DNA とし, Dream Taq DNA polymerase (Thermo Fisher Scientific ; 東京) もしくは Tks GFlex® DNA polymerase (タカラバイオ ; 草津) を用いて PCR 増幅を行った (表 2-2). 使用したプライマーの組み合わせは表 2-3 に, サーマルサイクラー (ProFlex™ PCR System, Applied Biosystems ; Carlsbad) のプログラムは表 2-4 にそれぞれ示した. PCR 増幅産物 2 μ L と BPB loading buffer 1 μ L を混合し, サブマリン型ミニ電気泳動層 (Mupid ; 東京) にセットした 1.5%アガロースゲル (Agarose for ≥ 1 kbp fragment, ナカライテクス ; 京都) のウェルにアプライし, 100 V で 25 分間電気泳動した. ゲルの作製および泳動バッファーには $0.5\times$ TBE 緩衝液を用いた. 泳動終了後, エチジウムブロマイドを添加 (最終濃度 0.001%) した $0.5\times$ TBE 緩衝液に浸し, レシプロシェーカー (NA-201, 日神理科 ; さいたま) を用いて振盪しながら 20 分間染色した. 染色したゲルを UV トランスイルミネーター (NM-15, UVP ; Upland) 上に移して紫外線を照射し, 蛍光バンドの確認を行った.

表 2-2. PCR 増幅の反応溶液組成

試料および試薬	最終濃度	使用量 (μL)
滅菌蒸留水		14.375
10×buffer	1×	2.5
dNTP mix (2mM each)	0.2 mM	2.5
Forward primer (5 μM)	0.5 μM	2.5
Reverse primer (5 μM)	0.5 μM	2.5
DreamTaq polymerase	0.625 U	0.125
抽出 DNA		0.5
合計		25.0

表 2-3. 使用したプライマー一覧

標的領域	プライマー名	塩基配列 (5'→3')	Tm 値 (°C)	出典
nuc rDNA ITS	ITS1F (F)	CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA	55	Gardes and Bruns (1993)
	ITS4B (R)	CAGGAGACTTGTACACGGTCCAG	65	Gardes and Bruns (1993)
	ITS4 (R)	TCCTCCGCTTATTGATATGC	60	White et al. (1990)
nuc rDNA IGS1	CNL12 (F)	CTGAACGCCTCTAAGTCAG	56	Anderson and Stasovski (1992)
<i>rpb2</i>	5S-Anderson (R)	CAGAGTCCTATGGCCGTGGAT	66	Henrion et al. (1992)
	rpb2_tu_f1 (F)	CTGTCGGYTCYTATTCTGC	53	本研究
	rpb2_tu_r1 (R)	GCTRGATGAATCTCACAATG	52	本研究
<i>tef1</i>	tef1_tu_f1 (F)	GTGAACAAGATGGACACAC	53	本研究
	tef1_tu_r1 (R)	GACAACGTYGGYTTCAAC	51	本研究
<i>atp6</i>	ATP-3f (F)	TCTCCTTTAGAACAATTTGA	46	Kretzer and Bruns (1999)
	ATP-6r (R)	AACTAATARAGGAAGTAAAGCTA	48	Binder and Hibbett (2003)
<i>gapdh</i>	gpd_tu_f1 (F)	ATGTTGTTGTTGACGCTA	53	本研究
	gpd_tu_r1 (R)	AGGTCTACATGTTAAARTACG	51	本研究
mt rDNA SSU	MS1 (F)	CAGCAGTCAAGAATATTAGTCAATG	52	White et al. (1990)
	MS2 (R)	GCGGATTATCGAATTAAATAAC	48	White et al. (1990)

表 2-4. PCR 増幅のプログラム

反応ステップ ¹	温度 (°C)	反応時間
初期変性	95	3 分
変性	95	30 秒
アニーリング	(表 2-3 参照)	30 秒
伸長	72	30 秒
最終伸長	72	7 分

¹ 変性～伸長のプロセスは 35 回繰り返す。

2-2-5. 塩基配列解析

得られた PCR 増幅産物は、QIAGEN PCR Purification kit (QIAGEN ; Germany) を用いて、メーカー添付のプロトコルに沿って精製した。サイクルシーケンシングには、Big Dye® Terminator v.3.1 CycleSequencing Kit (Thermo Fisher Scientific ; 東京) を用い、添付のプロトコルに沿って反応溶液を調製した (表 2-5) 。反応条件は表 2-6 に示した。

サイクルシーケンシング後の PCR 増幅産物 10 μL を 1.5 mL マイクロチューブに移し、125 mM EDTA 1 μL を加え混合、さらに 3 M 酢酸ナトリウム溶液 (pH 5.2) 1 μL を加えて混合、99% エタノールを 25 μL 加えて混合した後、15 分間静置した。15,000 rpm で 30 分間遠心分離し、上清をデカンテーションで除去した。70%エタノールを 50 μL 加え、15,000 rpm で 10 分間遠心し、上

清をデカンテーションで除去した。デカンテーション後、10 μ L 容のマイクロピペットを用いてエタノールを完全に除いた後、65 $^{\circ}$ Cで 10 分間乾燥させた。その後、信州大学旭総合研究棟機器分析部門に塩基配列決定を依頼した。使用した機器は 3730xl DNA Analyser (Thermo Fisher Scientific ; 東京) である。波形の配列解析には Chromas (Affinity Science ; 東京) を用いた。また、得られた配列のフォワード、リバース配列のコンフィギュレーションには MEGA7 (Kumar et al., 2016) を用いた。配列は FASTA 形式のファイルで出力した。

表 2-5. サイクルシーケンシングの反応溶液組成

試料および試薬	最終濃度	使用量 (μ L)
滅菌蒸留水		0~2
2 $\times$ BigDye Buffer	0.4 $\times$	2
鋳型プライマー	0.5 μ M	1
Ready to Premix		1
PCR 産物		4~6
合計		10

表 2-6. サイクルシーケンスのプログラム

反応ステップ ¹	温度 ($^{\circ}$ C)	反応時間
初期変性	96	1 分
変性	96	10 秒
アニーリング	(表 2-3 参照)	5 秒
伸長	72	4 分
最終伸長	72	7 分

¹ 変性~伸長のプロセスは 25 回繰り返す。

2-2-6. クローニング

上記 2-2-5 の塩基配列解析において、いくつかの標本の nuc rDNA ITS 領域、nuc rDNA IGS1 領域、mt rDNA SSU 領域、*gapdh* では、得られたデータに波形重複が認められた。このことから、一つの遺伝子領域から 2 つ以上のハプロタイプまたはリピート配列が得られたと判断されたため、大腸菌コンピテントセルを用いたクローニングを行った。Dream Taq polymerase を用いて PCR 増幅した精製済の DNA を鋳型とし、TaKaRa T-vector pMD20 (タカラバイオ ; 草津市) および DNA Ligation kit (Mighty Mix) を用いてライゲーション反応を行った。滅菌蒸留水 2 μ L, TA-Vector 1 μ L, 鋳型 DNA 2 μ L, Ligation mighty mix 5 μ L とし、全量を 10 μ L とするにした。コンピテントセルには *E. coli* JM109 (タカラバイオ, 草津市) を用い、100 μ L とするに新しい 1.5 mL マイクロチューブに移した。ライゲーション反応物の全量をコンピテントセルに加え、30 分間氷冷した。その後、ヒートブロック (タイテック CTU-Neo ; 川越市) を用いて 42 $^{\circ}$ Cで 1 分間形質転換を行った。反応後、直ちに氷冷し 1 分間静置したのち、37 $^{\circ}$ Cに温めておいた SOC 液体培地 (タカラバイオ ; 草津市) を 890 μ L 加え、37 $^{\circ}$ Cで 1 時間、転倒混和しながら培養した。その後、クリーンベンチ内にて、培養物 50 μ L をアンピシリン添加 LB 培地 (表 2-7) に接種してコンラージ棒で塗り広げ、30 $^{\circ}$ Cで 24 時間培養した。LB 培地上に形成されたコロニーを青白選択により、白

色コロニーを 8 個選抜した。コロニーPCR は表 2-2 と同様の組成で、プライマーには M13 primer RV (CAGGAAACAGCTATGAC) および M13 primer M4 (GTTTTCCCAGTCACGAC) を用いた。選抜したコロニーをマイクロピペット用の 10 μ l 容チップの先につけ、PCR マスターミックスに懸濁することでテンプレートとした。また、テンプレートに使用したコロニーは別の LB 培地を用意し、レプリコを作成した。標的配列の PCR 増幅の確認は電気泳動にて行い、増幅の確認できた産物は 2-2-5 と同様の方法で精製およびシーケンス反応、配列決定に供試した。シーケンス反応には M13 primer RV と M13 primer M4 を用いた。解読した配列中に一部ベクター配列が含まれたため、VecScreen により検出、対象領域を除いたものをアラインメントに用いた (VecScreen: <https://www.ddbj.nig.ac.jp/services/vecscreene.html>)。

表 2-7. アンピシリン添加 LB 培地の組成

試薬名	使用量
Bacto Tryptone	10.0 g
Bacto Yeast Extract	5.0 g
NaCl	10.0 g
寒天末	15.0 g
20 mg/mL アンピシリン Na 溶液 ¹	1 mL
2% X-gal 溶液	50 μ L/plate
100 mM IPTG 溶液	25 μ L/plate
蒸留水	Up to 1000 mL

¹滅菌済みの LB 培地を容器へと分注する直前に混釈した。

2-2-7. アラインメントおよび系統解析

それぞれの標本試料で得られた配列同士のアラインメントには、MEGA7 (Kumar et al., 2016) に搭載された ClustalW を用いた。分子系統解析に用いたダウンロード配列は付表 2 に示した。分子系統解析には最尤法 (Maximum Likelihood 法) およびベイズ法を用いた。最尤法では、Modeltest-NG を用いてアラインメントに対して対数尤度 ($-\ln L$) が最大となる塩基置換モデルを推定した。その後に RAxML-NG により 1000 反復で系統樹を推定した (Darriba et al., 2020; Kozlov et al., 2019)。ベイズ法による系統解析では、PAUP*4 および Mrmodeltest2.3 を用いてモデル推定を行った。ベイズ推定には MrBayes3.1.2 (Ronquist et al., 2012) を用いた。塩基置換モデルには全て SYM+G model が最も高い $-\ln L$ を示したため、これを用いた。10,000,000 世代で解析を行い、全ての解析で最初の 2500 世代の系統樹は ASDSF (Average standard deviation of split frequencies) の値が 0.01 以上となり収束していないと判断できたので、解析から除外した。得られた系統樹の修正と編集には FigTree v1.4.4 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>; 2022 年 10 月現在) を用いた。

2-2-8. 分岐年代推定

MEGA7 に搭載された ClustalW を用いてアラインメントを行い、FASTA 形式のファイルに出力したのち、BEAST2 (Drummond and Bouckaert, 2015) を用いて分岐年代を推定した。なお、分子

年代推定にあたって、ゲノム配列の一部をJGI (<https://genome.jgi.doe.gov/portal/>) よりダウンロードし、*Lyophyllum atratum* (JACGCN0000000000) および *Tricholoma populinum* (2016PMI031) の部分配列を得てアラインメントファイルを作成した。分岐年代推定の設定には BEAUti を用い、本実験では nuc rDNA ITS, nuc rDNA IGS1, *rpb2*, *tef1* の 4 領域を用いた。各領域に最適な塩基置換モデルの選定には jModelTest (Posada, 2008) を用いた。各アラインメントの系統樹の統合 (Link tree) および分子年代モデルの統合 (Link Clock) を行い、出力される系統樹の結果を統合した。塩基置換モデルには GTR + G model を用いた。Clock Model には Strict model を用い、Clock late は 0.01 とし、集団の個体数変化に関する推定に Birth-Death model を用い、上記の ML 法系統樹により推定された系統樹を参考に、アウトグループと解析対象の系統を識別・校正点として用いた。校正点を決定する prior の設定は、S = 1.0, M = 1.25, Offset = 25.0 を用いたとき γ 分布を示したため、本研究では Sánchez-García et al. (2016, 2021) の系統解析で示された *Tricholoma* 属の起源 30–25 Mya を校正点とした。設定したファイルを XML 形式のファイルに保存した。MCMC 解析には 10,000,000 世代を生成し、1000 世代ごとに系統樹のサンプリング、はじめの 10% は収束していないと考えられることから、解析から除外する設定とした。ベイズ解析には BEAST2 を用いた。出力結果は Tracer v1.7.1 にて系統樹の推定結果を確認し、posterior および likelihood の ESS 値を確認した (表 2-10)。得られた系統樹は TreeAnnotator にて Consensus tree の出力を行った。Consensus tree の結果は Figtree v1.4.4 により結果を参照し、系統樹の編集を行った。また地質年代については Cohen et al. (2013) を参照した。

2-3. 結果

2-3-1. カキシメジ類の分子系統学的位置

本研究で取得した DNA 配列のうち、遺伝子領域についてはイントロンを除くとともに、信頼性の低い配列を除いて系統解析に用いた。その結果、データセットは以下の塩基長となった：nuc rDNA ITS 領域 645 bp, nuc rDNA IGS1 領域 467 bp, *tef1* 領域 448 bp, *rpb2* 領域 568 bp, *atp6* 領域 373 bp, mt rDNA SSU 領域 599 bp, *gapdh* 領域 646 bp。また、IGS1 および *gapdh* では 1 標本から 2 種類以上の異なる配列が得られた。7 つの DNA 領域に関する系統解析の結果、カキシメジ類は 5 クレードに識別された (図 2-1–2-8)。

2-3-2. nuc rDNA ITS 領域の系統樹

ITS 領域の系統樹 (図 2-1) では、識別された日本産標本 5 クレードのうち、クレード I が欧州産 *T. albobrunneum* を、クレード IV が欧州産 *T. stans* をそれぞれ内包した。一方、クレード II, III および V は既知種を内包せず、未記載種に相当すると判断された。クレード II, III および V は、それぞれ欧州産 *T. albobrunneum*, 欧州産 *T. pessundatum* (JV04-482 : エピタイプ標本), 欧州産 *T. ustaloides* の姉妹クレードと見做された。クレード I とクレード II は近縁であり、さらにそれら

に対する姉妹クレードとして中国産 *T. albobrunneum* が位置し、さらに北米産 *T. albobrunneum* がその外側に位置した。すなわち、クレードIIは、欧州、中国、北米でそれぞれ *T. albobrunneum* と同定されてきた3つの独立したクレードに近縁であると見做された。

なお、欧州産 *T. ustale* は、日本産カキシメジ類のいずれとも一致しなかった。

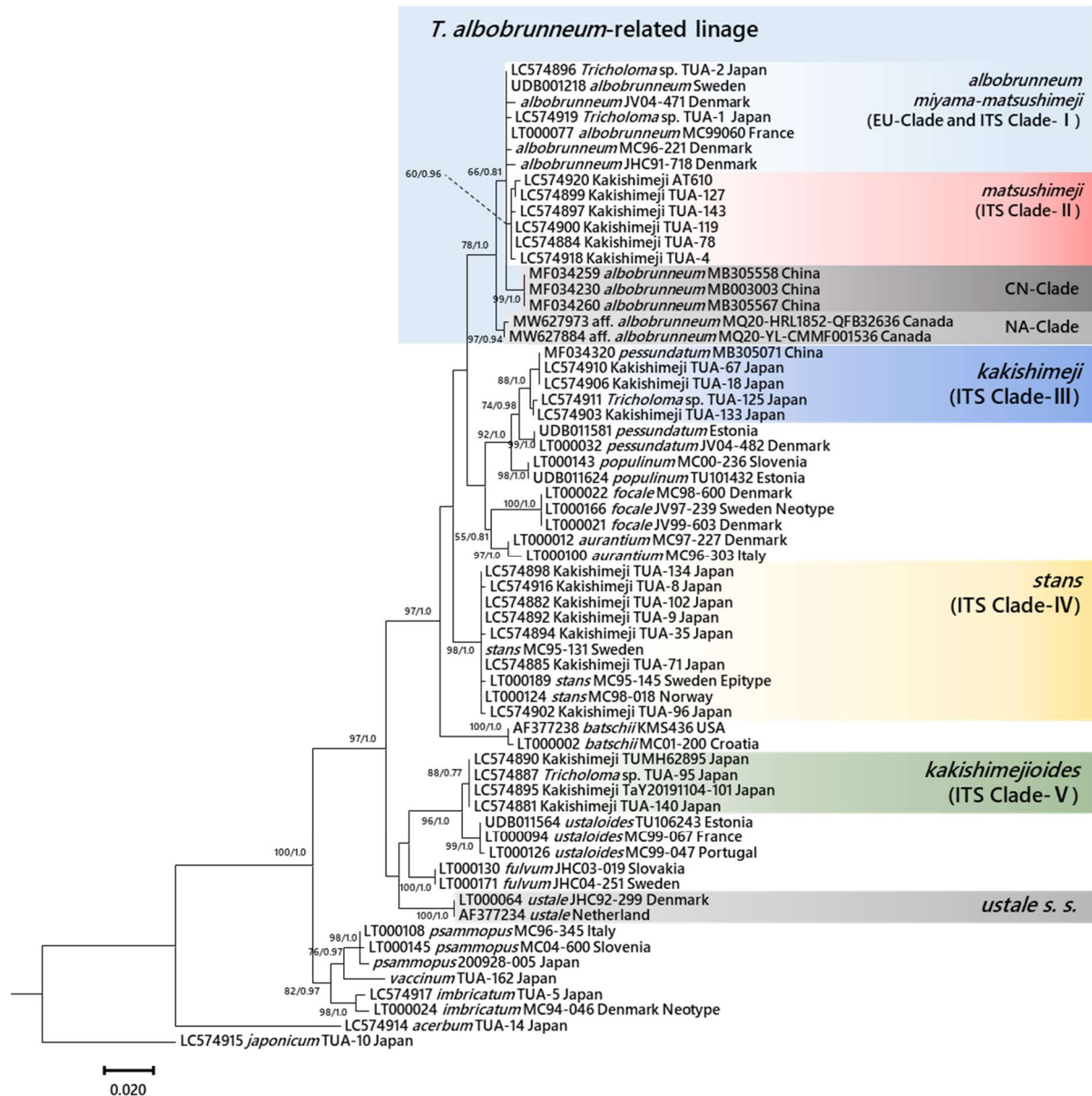


図 2-1. 核 rDNA ITS 全領域の ML 法による系統樹. 分岐上の数字は BP (最尤法)/PP (ベイズ法) を示す。

2-3-3. nuc rDNA IGS1 領域の系統樹

IGS1 領域の系統樹 (図 2-2) でも、カキシメジ類は5クレードに識別され、それらについて ITS 系統樹と矛盾する点はなかった。欧州産既知種との関係でも ITS 系統樹と矛盾する点はなかった。なお、ITS クレード I の1標本、ITS クレード II の3標本、ITS クレード III の3標本、ITS クレー

ドIVの 5 標本, ITS クレドVの 2 標本で, それぞれ 2 つ以上の配列が得られた. 標本内の配列同士の相同性は 98.4~99.2%であり, 多くは 1 塩基レベルの塩基置換や挿入/欠損であった.

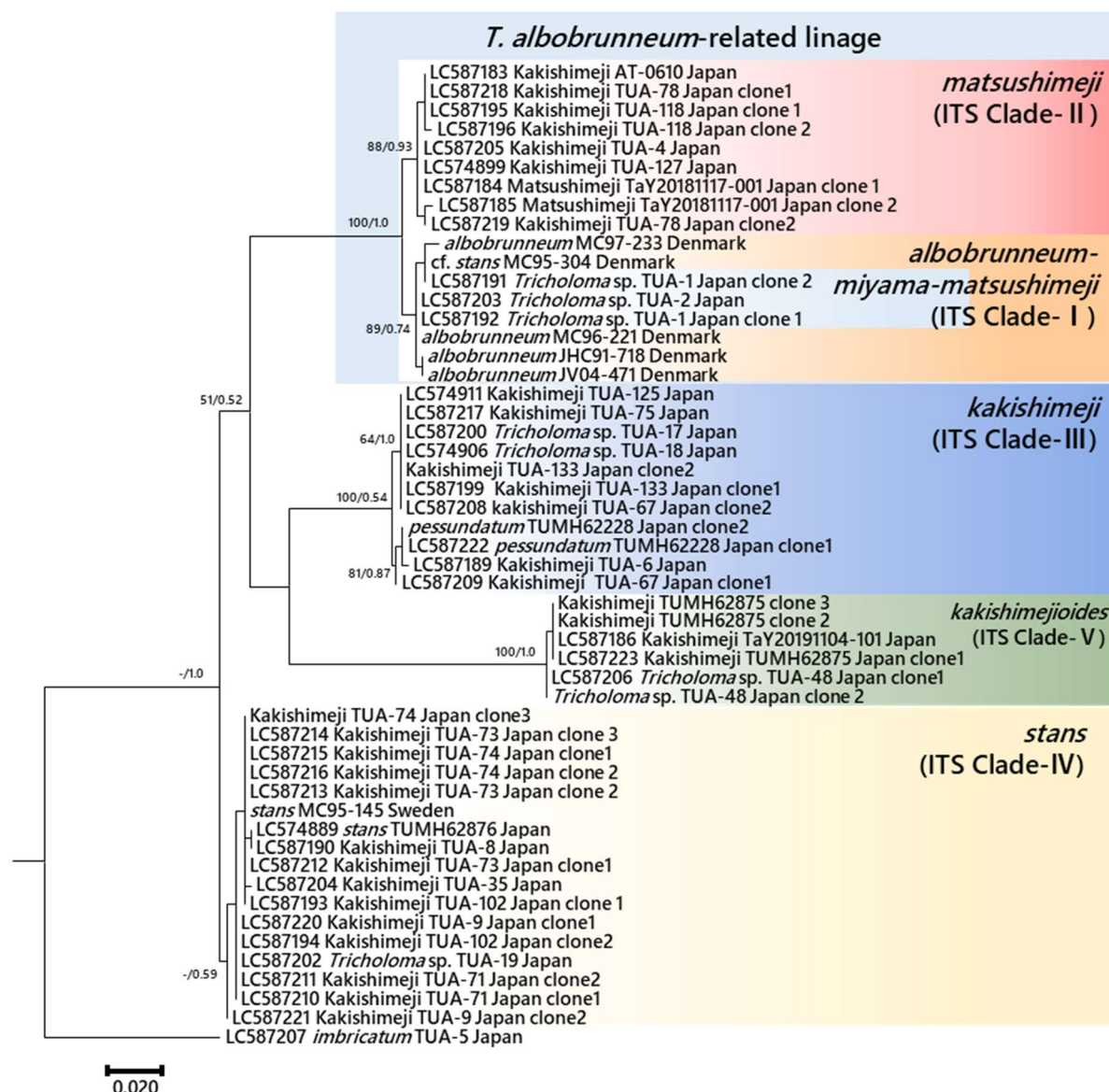


図 2-2. 核 rDNA IGS1 領域の ML 法による系統樹. 分岐上の数字は BP (最尤法)/PP (ベイズ法)を示す.

2-3-4. *rpb2* 領域の系統樹

rpb2 領域の系統樹 (図 2-3) では, ITS 系統樹や IGS1 系統樹とはやや異なり, カキシメジ類は 4 クレドに識別された. すなわち, ITS クレド I と II に相当する日本産標本が 1 つのクレドに収束し, かつ, 欧州産 *T. albobrunneum* がその姉妹クレドとなった. すなわち, ITS クレド II に相当する標本に, ITS クレド I に含まれていた北海道利尻島産の標本が加わり, それらが ITS クレド I に内包されていた欧州産 *T. albobrunneum* とは区分された形となった (表 2-8). 欧州産 *T. stans* と日本産 *T. stans* との関係では, ITS 系統樹や IGS1 系統樹と矛盾しなかった.

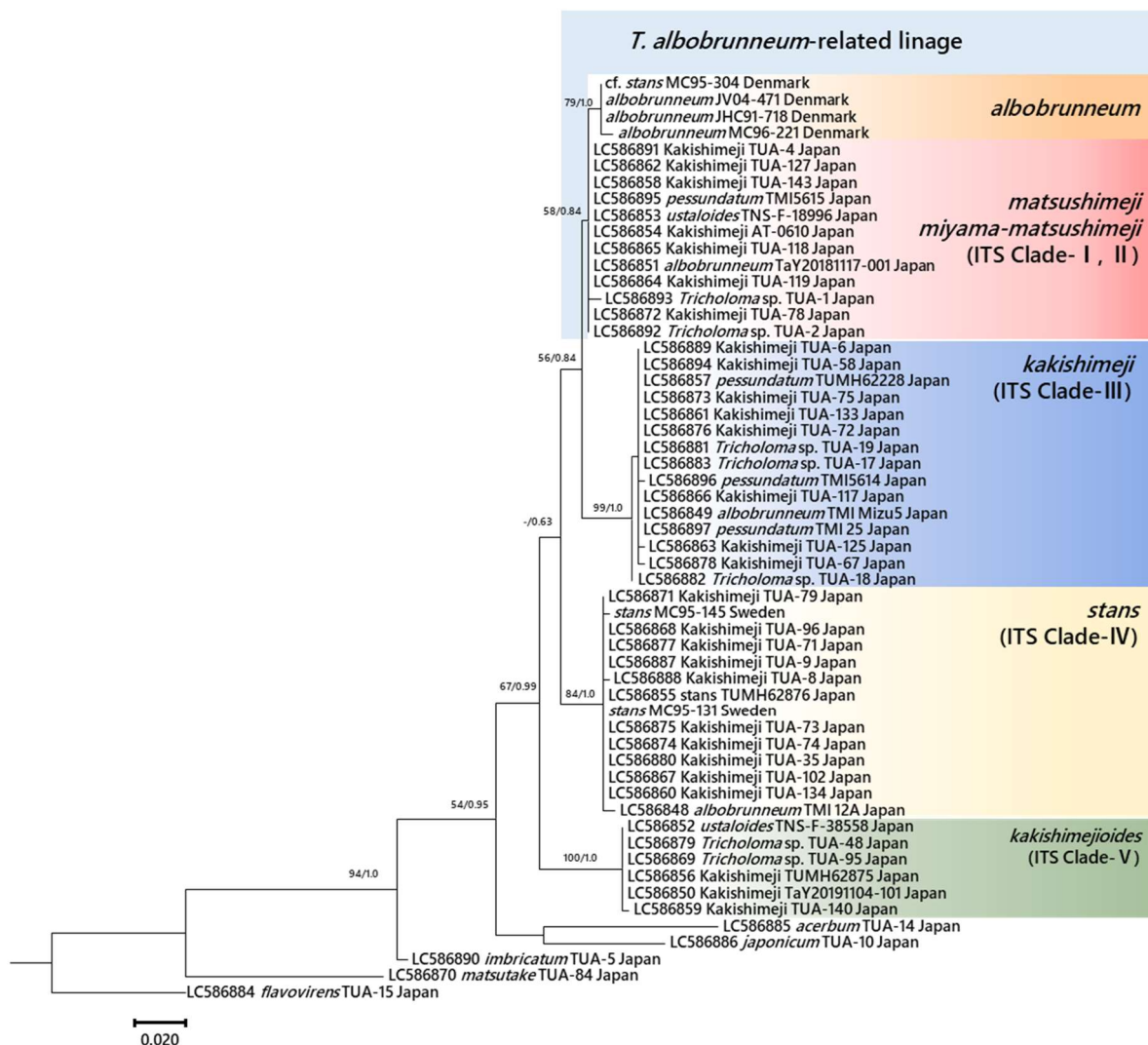


図 2-3. *rpb2* の ML 法による系統樹. 分岐上の数字は BP (最尤法)/PP (ベイズ法)を示す.

2-3-5. *tefl* 領域の系統樹

tefl 領域の系統樹 (図 2-4) でも, カキシメジ類は 4 クレードに識別され, それらは *rpb2* 系統樹と矛盾しなかった. 既知種との関係でも *rpb2* 系統樹と矛盾しなかった (表 2-8) .

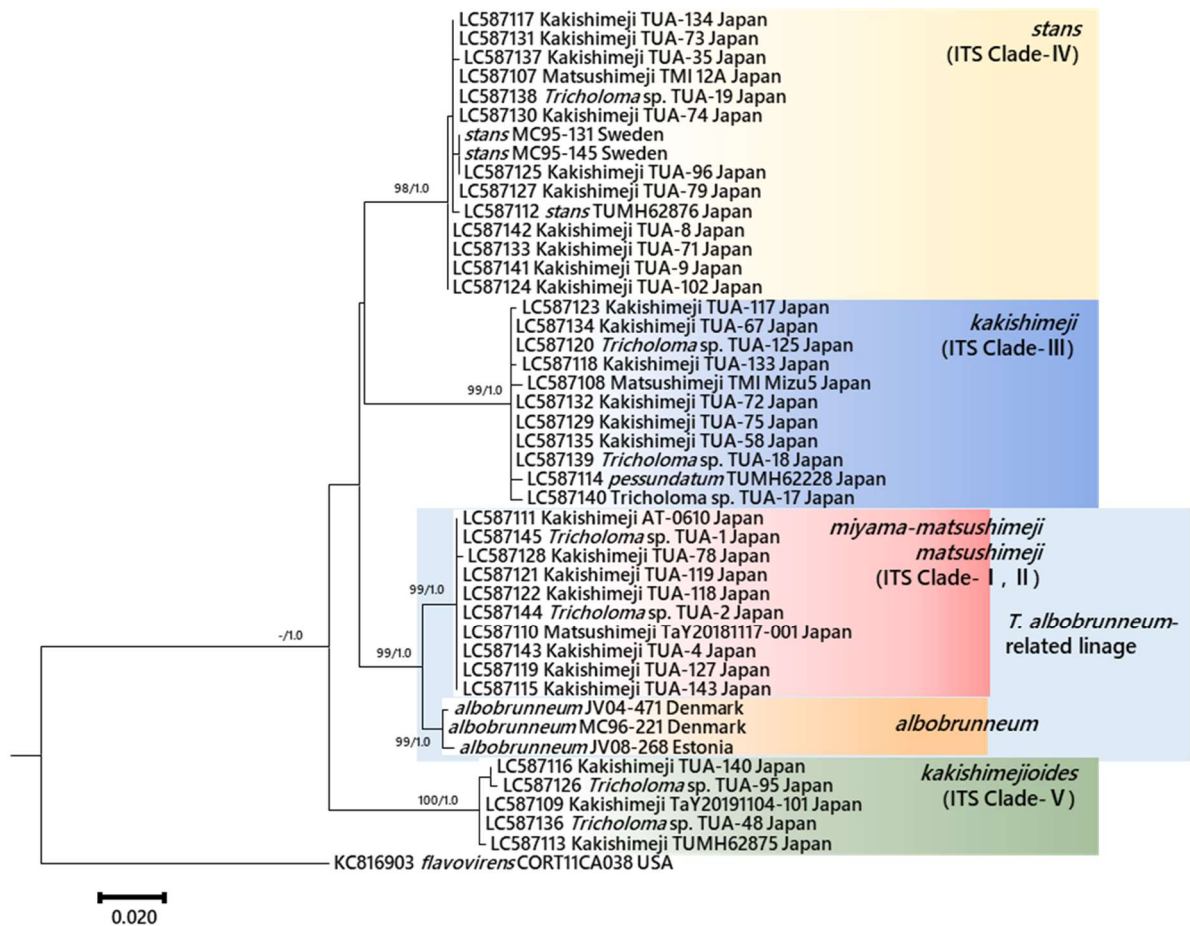


図 2-4. *tef1* の ML 法による系統樹. 分岐上の数字は BP (最尤法)/PP (ベイズ法)を示す.

2-3-6. *atp6* 領域の系統樹

atp6 領域の系統樹 (図 2-5) でも, カキシメジ類は 4 つのクレードに識別され, それらについて *rpb2* 系統樹や *tef1* 系統樹と矛盾しなかった (表 2-8). 欧州産 *T. stans* と *T. albobrunneum* は未解析のため, それらとの関係は不明であった.

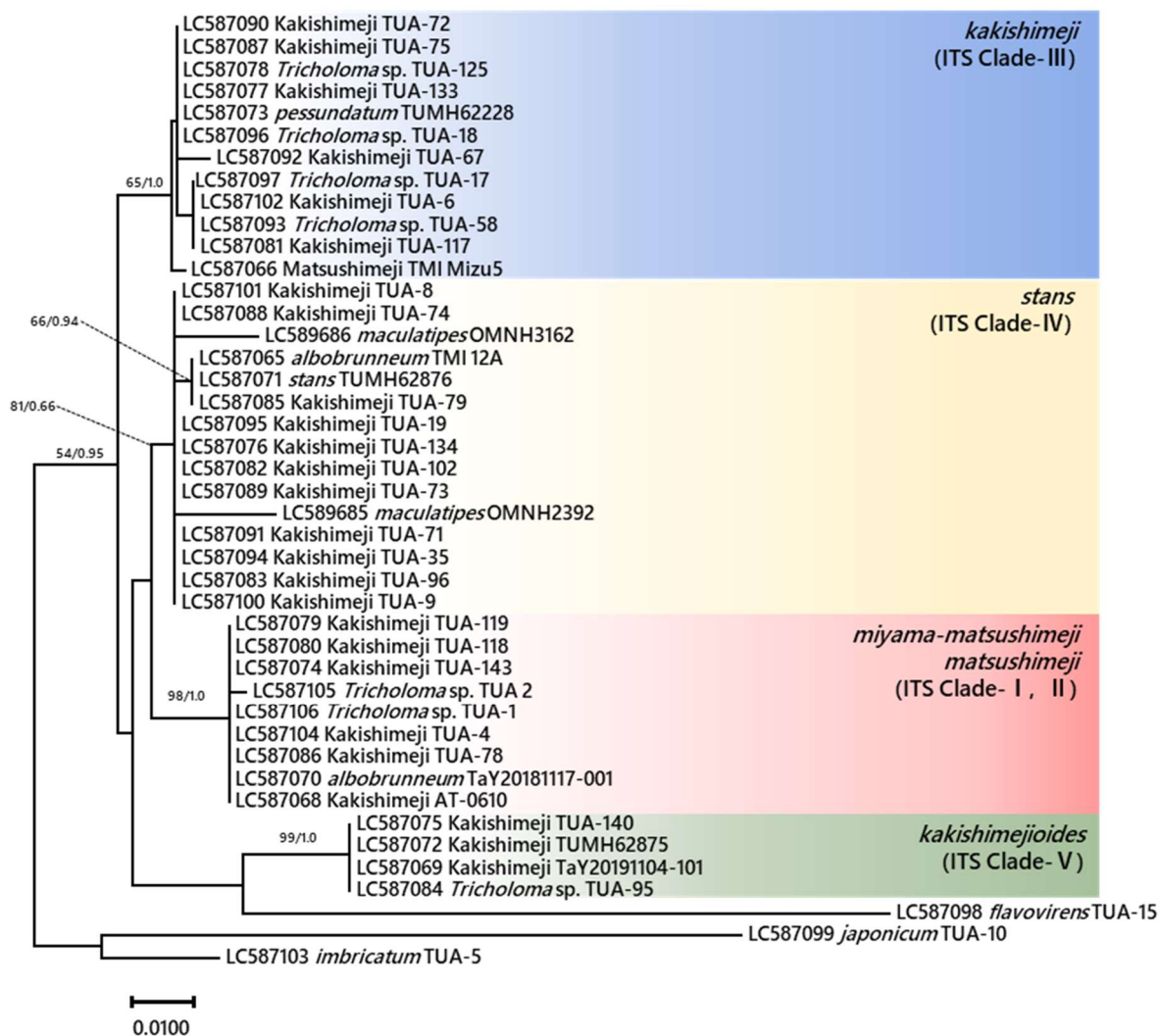


図 2-5. *atp6* の ML 法による系統樹. 分岐上の数字は BP (最尤法)/PP (ベイズ法)を示す.

2-3-7. *gapdh* 領域の系統樹

gapdh 領域の系統樹 (図 2-6) でも, カキシメジ類は 4 クレードに識別され, それらについて *rpb2* 系統樹, *tefl* 系統樹ならびに *atp6* 系統樹と矛盾しなかった (表 2-8). 欧州産 *T. stans* と *T. albobrunneum* は未解析のため, それらの種との関係は不明であった.

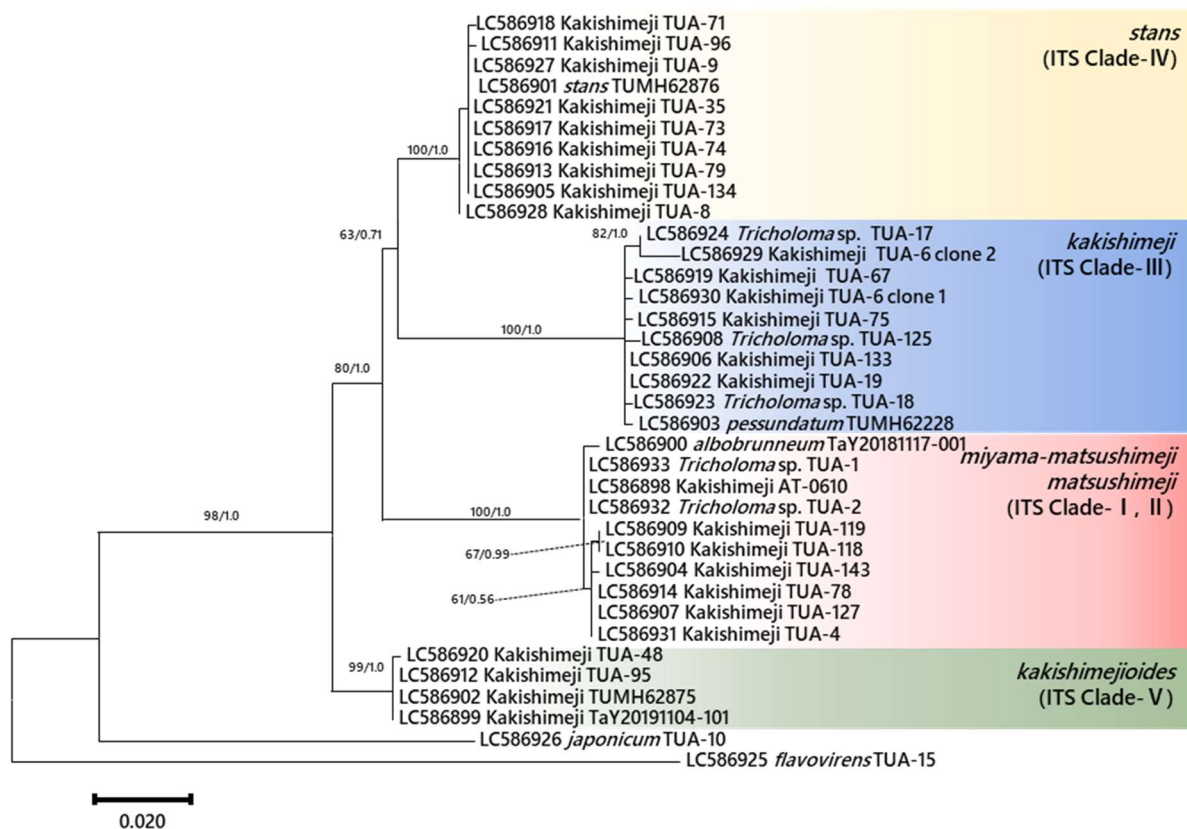


図 2-6. *gapdh* の ML 法による系統樹. 分岐上の数字は BP (最尤法)/PP(ベイズ法)を示す.

2-3-8. mt rDNA SSU 領域の系統樹

mt rDNA SSU 領域の系統樹 (図 2-7) でも, カキシメジ類は 4 クレードに識別され, それらについて *rpb2* 系統樹, *tefl* 系統樹, *atp6* 系統樹ならびに *gapdh* 系統樹と矛盾する点はなかった (表 2-8). 欧州産 *T. stans* と *T. albobrunneum* は未解析のため, それらの種との関係は不明であった.

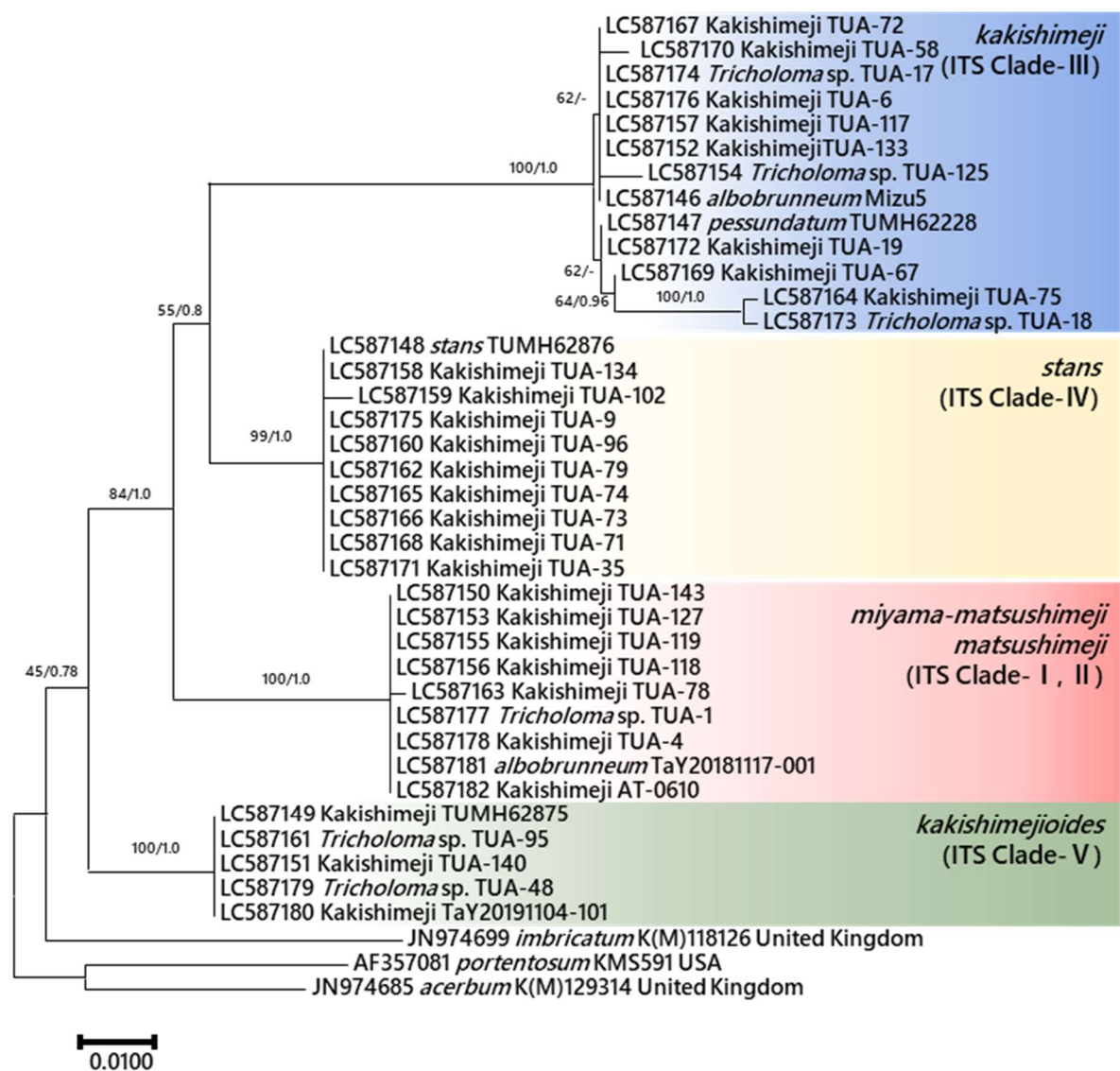


図 2-7. mt rDNA SSU の ML 法による系統樹. 分岐上の数字は BP (最尤法)/PP (ベイズ法)を示す.

表 2-8. ITS 領域の分子系統解析結果 (クレード) と各遺伝子領域の分子系統解析結果との対応関係

遺伝子領域	欧州産 Talb	日本産標本の ITS クレード					欧州産 Tsta
		1	2	3	5	4	
nuc rDNA ITS	1	2	3	5	4		
nuc rDNA IGS1							
tefl	Talb	1+2			4		
rpb2							
atp6	未解析				4		未解析
gapdh							
mt rDNA SSU							

Talb: *Tricholoma albobrunneum*, Tsta: *T. stans*.

2-3-9. カキシメジ類の分岐年代推定

欧州産 *T. albobrunneum* と *T. stans*, ならびに日本産カキシメジ類を対象として nuc rDNA ITS と IGS1, *rpb2*, *tef1* の 4 領域を統合して解析した分岐年代推定の結果, ITS クレード V が 5.53–8.88 Mya (553–888 万年前) にその他のカキシメジ類から分岐し, ITS クレード III と *T. populinum* が 1.71–3.27 Mya にその他のカキシメジ類から分岐し, ITS クレード IV (= *T. stans*) が 2.59–4.67 Mya にその他のカキシメジ類から分岐したと推定された. そして, 更新世 (Pleistocene) にあたる 0.38–0.98 Mya に欧州産 *T. albobrunneum* (ITS クレード I を構成) と, 日本産の ITS クレード I と ITS クレード II の複合群の祖先系統が分岐し, 0.21–0.64 Mya に日本産の ITS クレード I (利尻島集団) と ITS クレード II (本州集団) に分岐したと推定された.

本研究では, ITS および IGS1 系統樹で区分された日本産標本 5 クレードのうち 4 クレードが未記載種の可能性が高いと判断し, 以下の形態学的観察を進めた.

表 2-9. BEAST2 によるベイジアン解析の posterior および likelihood の結果

統計値	Posterior	Likelihood
平均	-6388.1298	-6347.1055
標準誤差	4.6752	0.1411
標準偏差	11.5767	4.9504
分散	134.021	24.5068
中央値	-6386.6022	-6346.7758
値の幅	[-6446.1524, -6359.3112]	[-6369.7429, -6332.1622]
幾何平均	n/a	n/a
95% HPD	[-6410.1683, -6367.5668]	[-6357.2769, -6338.0941]
自己相関(ACT)	1.47E+06	7311.3693
Effective sample size (ESS)	6.1	1231.1
標本数	9001	9001

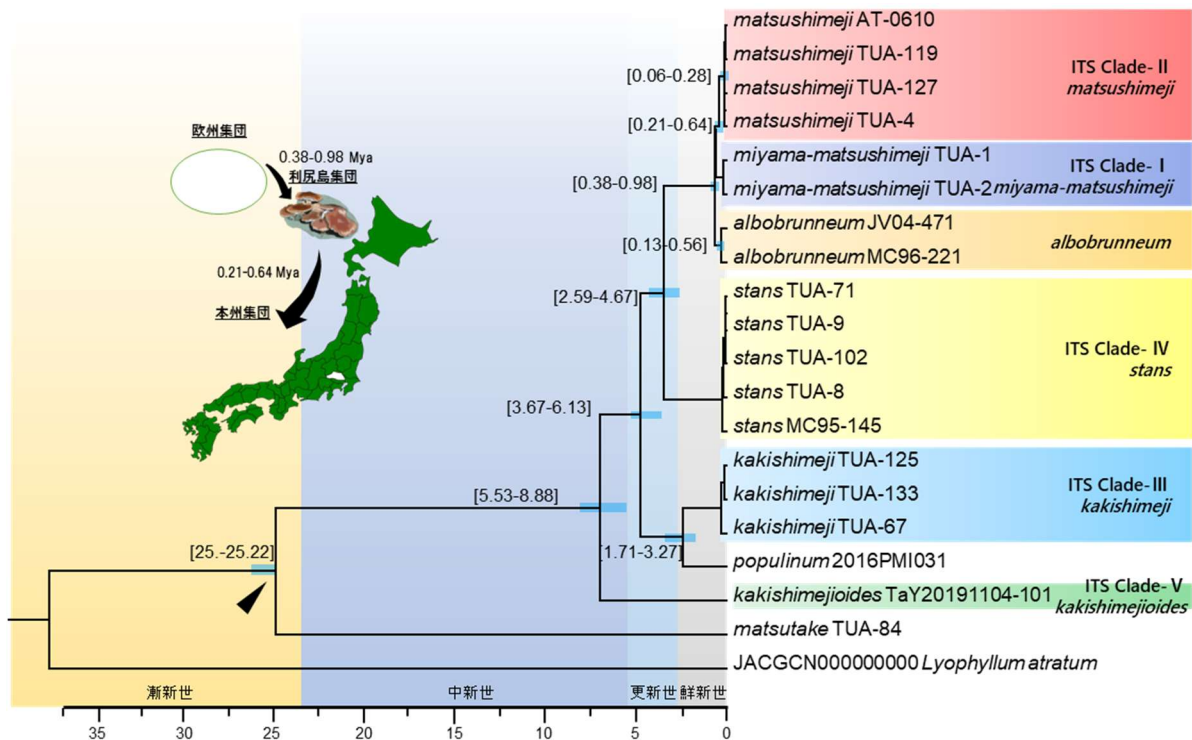


図 2-8. 4 遺伝子領域 (ITS + IGS1+*tef1*+*rpb2*) の配列に基づくカキシメジ類の分岐年代推定. 分岐上の青色のバーは年代の変動幅 (95% HPD) を示している.

2-3-10. カキシメジ類を構成する 5 クレードの形態的特徴

ITS クレード I から V に相当するカキシメジ類標本の形態観察結果を表 2-10 ならびに表 2-11 に示した. また, *T. albobrunneum* の関連する ITS クレード I と II について, 代表的な標本の観察結果を表 2-12 に示した.

カキシメジ類のすべての標本で, 傘表皮は暗褐色から赤褐色を示し, 確認できた子実体の全てで湿時に粘性を有していた (図 2-9A, 2-10A, 2-11A, 2-12A, 2-13A). ITS クレード II の標本では, 傘縁部に条線が見られる傾向にあったが, 近縁の ITS クレード I の標本 (TUA-1, TUA-2) では, 条線は認められなかった (図 2-12). ITS クレード III の標本では傘表皮に黒い小斑点もしくは小鱗片が点在していた (図 2-9C). ITS クレード V の標本では, 特に成熟した子実体で乾燥時に傘表皮 (特に縁部) がひび割れる傾向にあった. ITS クレード IV では, 傘表皮では上記のような識別的特徴を欠いていたが, 柄上部に明瞭な細かいささくれが認められるとともに, 柄表皮の痛んだ場所で菌糸繊維に沿って褐色のしみが認められる場合があり (図 2-13B), 柄表皮を擦った場合にも時間の経過とともに褐色のしみが認められた. また, ITS クレード I の標本では, 他クレードの標本に比べてひだが粗い傾向にあった. これらの肉眼的特徴は, クレード内の標本間でもややばらつく傾向にあり, 肉眼的所見だけで ITS クレード I から V を明確に識別することは困難な場合もあった.

グアヤク反応では、ITS クレード I, II および V は陰性を示し（図 2-10A），クレード III と IV は陽性を示した（図 2-9B, 2-13E）。

担子胞子は共通して楕円形から類球形を示し，細胞内に 1 個の大きな油滴が見られた．胞子径は各クレード間で傾向が認められ，Q 値も ITS クレード V が小さい傾向にあった（表 2-10）．担子器は共通していくつかの油滴を含んでおり，ITS クレード III の担子器長は他のクレードに比べて短い傾向にあった．担子器幅は各系統間で傾向が認められた．小柄は ITS クレード III で短い傾向にあった．傘表皮菌糸は共通して円柱状で，クランプコネクションを持たず，細胞内に褐色の色素が充満していた．また傘表皮組織では，菌糸が不規則に入り組んでいた（図 2-9G, 2-10G, 2-11G, 2-12D, 2-13I）．菌糸長は ITS クレード III がクレード I, II および IV に比べて短い傾向にあった．菌糸幅は ITS クレード IV がクレード I, II および III に比べて小さい傾向にあった（表 2-10）．

Aoki et al. (2021) の報告の時点では，ITS クレード I と II の間に必ずしも明瞭な系統学的差異が見られなかったため，内包されていた欧州産 *T. albobrunneum* 配列に基づき，そこに含まれる全ての日本産標本を *T. albobrunneum*（マツシメジ）と同定していた．しかし，デンマーク産のタイプ標本を加えた解析により ITS クレード I と II を区別することが可能となった（図 2-1，表 2-8）．IGS1（図 2-2），*rpb2*（図 2-3），*tefl*（図 2-4）のデータをもとにした分岐年代推定の結果（図 2-8）に基づくと，ITS クレード I 日本産集団（利尻産標本），ITS クレード I 欧州産集団（= *T. albobrunneum*），ITS クレード II 日本産集団（本州以南産標本）の 3 集団に区分して比較解析する必然性が生じた（表 2-8）．ITS クレード II 標本と *T. albobrunneum*（= ITS クレード I 欧州産）の傘表面縁部には明瞭な条線が観察される一方で，利尻産標本（= ITS クレード I 日本産）には条線が見られなかった．胞子径に関してこれら 3 集団間に顕著な違いは見られなかった．担子器では，*T. albobrunneum* の文献値が ITS クレード II や利尻産標本に比べて大きかったが，*T. albobrunneum* MC97-233 標本の実測値は文献値よりもやや小さく，3 集団間に顕著な違いは見られなかった．担子器幅に関しても 3 集団間に顕著な違いは見られなかった．利尻産標本は五葉松類のハイマツ樹下に発生する点で，*T. albobrunneum* や ITS クレード II 集団とは異なっていた．

以上の形態観察所見，生態学的所見，ならびに関係する分子系統学的解析結果をもとにすると，ITS クレード I から V までの 5 クレードを構成する日本産標本は，それぞれ別種に相当すると判断された．このうち，ITS クレード IV を構成する日本産標本は欧州産 *T. stans* と区別できず，*T. stans* と同定された．一方，ITS クレード I と II は，先にも述べた通り Aoki et al. (2021) の時点では同一種と見做され，かつ *T. albobrunneum* と同定されたが，欧州産 *T. albobrunneum* とは別種であることが新たに判明した．すなわち，ITS クレード I, II, III ならびに V は未記載種と判断されたため，以下に記載を行った．

表 2-10. ITS クレード I から V を構成する標本集団の細胞形態の比較

測定形質		クレード I		クレード II		クレード III		クレード IV (= <i>T. stans</i>)		クレード V	
		N ¹	Min-Max (μm)	N	Min-Ave- Max (μm)	N	Min-Ave- Max (μm)	N	Min-Ave- Max (μm)	N	Min-Ave- Max (μm)
担子 孢子	L		4.6-4.9		4.5-4.9-5.7		4.1-4.6-5.0		4.9-5.5-6.2		5.4-5.8-6.6
	W	2	3.3-3.4	10	3.1-3.5-3.9	14	3.0-3.3-3.9	27	3.5-3.9-4.3	4	4.2-4.5-5.1
	Q		1.4		1.3-1.4-1.5		1.3-1.4-1.6		1.3-1.4-1.5		1.2-1.3-1.4
担子 器	L	2	27.1-27.9	10	23.1-26.0- 27.9	12	20.6-23.9- 27.0	21	23.3-27.9-31.5	3	25.6-27.5- 29.1
	W		5.3-6.3		4.9-5.5-6.3		4.7-5.2-6.2		3.9-5.9-6.8		6.1-6.8-8.0
小柄	L	2	3.6-3.7	9	2.4-3.1-3.8	12	1.4-2.0-3.1	21	1.5-3.0-4.2	3	3.3-3.6-3.8
	W		1.4-1.5		0.9-1.3-1.5		1.0-1.3-1.5		0.9-1.2-1.5		1.2-1.6-2.3
傘菌 糸	L	1	60.3	8	49.4-61.3- 72.9	8	41.6-50.6- 56.2	13	41.8-52.6-68.9	3	54.4-56.3- 58.0
	W		5.1		4.6-5.2-5.8		4.0-5.1-7.0		3.2-3.9-4.9		3.7-3.9-4.2

¹各細胞の N 数は 50 細胞の計測値の平均を 1 標本としている。

表 2-11. ITS クレード I から V を構成する標本集団の外部形態および生態の比較

形質	クレード I	クレード II	クレード III	クレード IV (= <i>T. stans</i>)	クレード V
傘形態と 傘表面の 性状	はじめ中高， 後に平ら，縁 は波打つ，湿 時粘性	はじめ中高，後 に平ら，縁は波 打つ，湿時粘性	はじめ中高で後に 平らになる，暗褐 色，黒い斑点を有 する	はじめ半球形から中 高，後に中高から平 ら，時折黒い斑点が 現れる	はじめ中高，の ちに平ら，乾 時，ささくれる
傘の色	赤褐色，中央 は暗褐色，縁 に向かうほど 淡色	赤褐色，中央は 暗褐色，縁に向 かうほど淡色	中央は暗褐色から 褐色，縁は赤褐色 から淡褐色	中央は暗赤褐色，縁 は赤褐色から淡褐色	中央は暗褐色か ら赤褐色，縁は 赤褐色から淡赤 褐色
ひだ	やや密	やや粗	密	密	やや密
柄の色と 形態	白色から褐色 ，傘の上部 は粉状	白色から褐色	白色から褐色，中 空	白色，後に淡褐色， 傘の上部はささくれ を有する	淡褐色から褐色
推定宿主 と気候帯	マツ属，高山 帯	マツ属，温帯	ブナ科・マツ科， 温帯	ブナ科・マツ科，温 帯から亜高山帯	ブナ科，温帯

表 2-12. ITS クレード I と II を構成する標本集団の外部形態および生態の比較

形質		ITS クレード II		ITS クレード I	
		TUA-127	TUA-2	<i>T. albobrunneum</i> ¹	MC97-233 (= <i>T. albobrunneum</i>)
傘		中高, 赤褐色～暗褐色, 条線が現れる	平から丸山型, 赤褐色, 条線はない, 繊維質	30–90mm, 中高から平, 橙褐色から赤褐色, 繊維質	-
ひだ		白色, やや密, 褐色のしみ	白色, やや疎, 褐色のしみ	上生から湾生, やや疎, 白からピンク, 褐色のしみ	-
柄		白色または淡褐色, 中髄～中空, 円柱状から下方が太くなる	白色または淡褐色	30–100×7–20mm, 下方に向けて太くなる	-
孢子	長径 (μm)	4.5–4.9–5.7	3.7–4.6–5.9	4.3–6.4, Ave. 5.0–5.7	4.2–4.9–5.7
	短径 (μm)	3.1–3.5–3.9	2.7–3.3–4.3	2.9–4.3, Ave. 3.3–3.8	2.8–3.2–3.9
	Q 値	1.3–1.4–1.5	1.1–1.4–1.7	1.2–1.9, Ave. 1.44–1.56	1.4–1.6–1.8
	形状	長楕円形	長楕円形	長楕円形	-
担子器	長径 (μm)	23.3–27.9–31.5	23.0–27.1–34.1	30–40	20.9–24.2–31.9
	短径 (μm)	3.9–5.9–6.8	5.3–6.3–7.5	4.0–6.0	3.7–5.1–5.8
傘表皮菌糸	長径 (μm)	49.4–61.3–72.9	28.6–60.3–124.6	30–80	-
糸	短径 (μm)	4.6–5.2–5.8	3.3–5.1–9.0	4.0–5.0	-
	形状	円柱状, クランプなし	円柱状, クランプなし	円柱状, クランプなし	-
宿主と子実体発生		二針葉マツ属樹下, 砂質の貧栄養土壌, 9–12 月, まれに 6 月	ハイマツ樹下, 9 月	二針葉のマツ属樹下, 砂質の貧栄養土壌, 9–10 月	<i>Pinus nigra</i> または <i>P. mugo</i> 樹下
生息域		本州～九州	北海道利尻島	欧州南～北部	デンマーク

¹Christensen and Heilmann-Clausen (2013)より記述を引用.

2-4. 記載

Tricholoma kakishimeji W. Aoki & A. Yamada, sp. nov.

和名：カキシメジ

図 2-9

Mycobank no.:MB837875

標徴：*Tricholoma kakishimeji* は分子系統学的には *T. pessundatum* の近縁系統であり, 両種は形態的には傘表皮菌糸の幅で識別可能である (図 2-1) .

タイプ：日本, 長野県飯綱町霊仙寺山麓：北緯 36 度 44 分 48.20 秒, 東経 138 度 11 分 24.32 秒, 標高 842 m：コナラ, ミズナラ, アカマツの混交林に覆われたドイツトウヒ植栽林内に発生：2018 年 10 月 17 日：採取者, 青木渉 (Holotype, TNS-F-82064 [TUA-75]) .

ホロタイプの配列：LC589085 (nuc rDNA ITS；クレード III：図 2-1), LC587217 (nuc rDNA IGS1), LC587129 (*tef1*), LC586915 (*gapdh*), LC586873 (*rpb2*), LC587164 (mt rDNA SSU), LC587087 (*atp6*) .

語源：種小名 *kakishimeji* は, 古来より毒きのこととして呼称されてきた「カキシメジ」 (市岡, 1799) に由来する.

記載：傘は径 6–8 cm，中央は暗褐色から褐色，縁に向かうにつれて赤褐色から淡褐色で，初め中高，丸山形を経て成熟時に平らとなる．傘表面は平滑，湿時には粘性があり光沢を持ち，傘表面に黒い小斑点（1–2 mm）を点在させるが，注視しないと気づかない程度の頻度である（図 2-9A–C）．柄は白色から淡褐色，中空，円柱状から下方に向けてやや太くなる．ひだは白色，密，湾性，成熟時に褐色のしみを生じる．傘および柄の内部組織は白色，グアヤク試薬陽性，やや強い粉臭がある．傘表皮は苦みがあり，傘内部組織は無味または弱い苦みがある．担子胞子は 4.1–4.6–5.0 × 3.0–3.3–3.9 μm，Q 値は 1.3–1.4–1.6，長楕円形，胞子内には 1 個の油滴が見られ，非アミロイド（図 2-9D）．担子器は 20.6–23.9–27.0 × 4.7–5.2–6.2 μm，棍棒状から類棍棒状，4 孢子性，細胞内に多数の油滴が見られる（図 2-9E）．小柄は 1.4–2.0–3.1 × 1.0–1.3–1.5 μm（図 2-9E）．傘表皮菌糸は 41.6–50.6–56.2 × 4.0–5.1–7.0 μm，円柱状で細胞内は褐色を呈し，ixocutis 構造を示す（図 2-9F, G）．柄表皮菌糸は 19.5–38.7–63.6 × 3.6–5.8–8.8 μm で，透明から淡褐色，表面は平滑，円柱状．柄シスチジアは柄の上部に見られ，棍棒状で無色透明（図 2-9H）．どの細胞にもクランプコネクションは見られない．

ホロタイプ以外の観察標本：日本：青森県：TUA-18（山田明義）；長野県：TUA-6（山田明義），TUA-17（遠藤直樹），TUA-19（山田明義），TUA-58（青木渉），TUA-67（青木渉），TUA-75（青木渉），TUA-117（青木渉），TUA-125（山田明義）；鳥取県：TUA-133（青木渉），TUMH 62228（遠藤直樹）；北海道：TMI 5614（今井三子）；山梨県：TMI Mizu5（今井三子）．
生態：本種は温帯のブナ科の樹下やマツ科との混交林で，10–11 月に発生する．

注釈：本種の顕微鏡下の特徴は，孢子サイズでは川村（1925）のカキシメジ（*T. ustale*）や Imai（1938）のマツシメジ（*T. albobrunneum*）の値にほぼ一致するが，担子器サイズは Imai（1938）の *T. albobrunneum* の値よりも小さい．本種の傘表面には，分子系統学的には近縁種関係にある欧州産 *T. pessundatum* (Fr.) Quél. と同様に小黑斑が見られる（Christensen and Heilmann-Clausen, 2013）．しかし，小黑斑は日本産 *T. stans* にもしばしば観察される（欧州産 *T. stans* では小黑斑は報告されていない）．*Tricholoma pessundatum* の傘表皮菌糸の幅は 2.0–4.5 μm で，本種の値よりも小さい．本種と欧州産 *T. pessundatum* は，ブナ科樹科に発生する点では共通している．Imai（1938）が日本新産種として報告した *T. pessundatum*（オオカキシメジ）は，該当する TMI 標本（TMI Mizu5, 25, 5614）の *rpb2* に関する系統学的な位置（図 2-3）と TMI 5614 の形態的特徴から，*T. kakishimeji* のシノニムとして扱うのが妥当である．なお，Imai（1938）が日本新産種として報告した *T. albobrunneum* と同定した標本のうち，TMI Mizu5 も本種に含まれた．



図 2-9. *Tricholoma kakishimeji* 子実体の外部形態と顕微鏡下における細胞形態. A, B: 発生環境と外観, C: 傘表皮の小黑斑, D: 担子孢子, E: 担子器, F: 傘表皮菌糸, G: 傘表皮菌糸構造, H: 柄シスチジア. Bar = F, G, J: 5 μ m; H: 10 μ m; I: 20 μ m.

Tricholoma kakishimejioides W. Aoki & A. Yamada, sp. nov.

和名：カキシメジモドキ

図 2-10

MycoBank no.:MB837876

標徴：*Tricholoma kakishimejioides* は分子系統学的に近縁な *T. ustaloides* Romagn. とは傘表皮菌糸の幅によって形態的に識別可能である（図 2-1）。

タイプ：日本，奈良県橿原市橿原神宮：北緯 34 度 29 分 11 秒，東経 135 度 47 分 26 秒，標高 72 m：スダジイおよびアラカシの優占林に発生：2019 年 11 月 4 日：採取者，遠藤直樹（Holotype, TNS-F-82065[TaY20191104-001]）。

ホロタイプの配列：LC574895（nuc rDNA ITS；クレード V：図 2-1），LC587186（nuc rDNA IGS），LC587109（*tef1*），LC586899（*gapdh*），LC586850（*rpb2*），LC587180（mt rDNA SSU），LC587069（*atp6*）。

語源：*Tricholoma kakishimeji* に似る（-oides）。

記載：傘は直径 3–6cm，中央は暗褐色から赤褐色，縁は赤褐色から淡褐色，初め中高，成熟時平らになり，縁は内側に巻く．傘表面は平滑からやや繊維質，乾燥時に表面がひび割れ，湿時は粘性を持つ（図 2-10A, B）．柄は淡褐色から褐色，中空，円柱状から下方に向けて太くなる．ひだは白色，やや密，湾性，成熟すると褐色のしみを生じる（図 2-10C）．傘の内部組織は白色で厚く，グアヤク試薬ではほとんど陰性だが部分的に陽性（図 2-10A），強い紛臭がある．傘表皮は苦く，傘内部組織やその他の部位は無味またはわずかに苦い．担子胞子は $5.4\text{--}5.8\text{--}6.6 \times 4.2\text{--}4.5\text{--}5.1\text{ }\mu\text{m}$ ，Q 値は 1.2–1.3–1.4，球形から類球形，非アミロイド，生鮮標本の胞子内には油滴が見られる（図 2-10D）．担子器は $25.6\text{--}27.5\text{--}29.1 \times 6.1\text{--}6.8\text{--}7.9\text{ }\mu\text{m}$ ，棍棒状から円柱状，4 孢子性，生鮮標本の細胞内にはいくつかの油滴が見られ，非アミロイド（図 2-10E）．小柄は $3.3\text{--}3.6\text{--}3.8 \times 1.2\text{--}1.6\text{--}2.3\text{ }\mu\text{m}$ （図 2-10E）．傘表皮菌糸は ixocutis から ixotrichoderm，平滑， $54.4\text{--}56.3\text{--}58.0 \times 3.7\text{--}3.9\text{--}4.2\text{ }\mu\text{m}$ ，円柱状で細胞内は褐色を呈す（図 2-10F, G）．柄表皮細胞は $30.3\text{--}51.1\text{--}85.7 \times 2.3\text{--}3.9\text{--}6.2\text{ }\mu\text{m}$ ，透明で淡褐色，平滑，円柱状，柄シスチジアは柄の上部に見られ，棍棒状で無色透明（図 2-10H）．観察したすべての細胞でクランプコネクションは確認されなかった．

ホロタイプ以外の観察標本：日本：長野県：TUA-48（青木渉），TUA-95（青木渉）；鳥取県：TUA-140（青木渉），TUMH 62875（遠藤直樹）；奈良県：TaY20191104-101（遠藤直樹）；石川県：TNS-F-38558（池田良幸）．

生態：本種は暖温帯でブナ科の優占する広葉樹林内で，9–11 月に発生する．

注釈：本種は，分子系統学的には姉妹関係にある *T. ustaloides* とは傘表皮菌糸の長さおよび担子器径で識別可能である．また，*T. kakishimeji*，*T. matsushimeji*（後述），*T. miyama-matsushimeji*（後述）または *T. stans*（後述）とは胞子の形状で識別が可能である．池田（2005）が記載した *T. ustaloides*（新称，ニガシメジ）の元になった 2 つの標本（TNS-F-18996 と TNS-F-38558）は，分子系統解析と記載の形態学的な検証から *T. kakishimejioides* と *T. matsushimeji*（後述）に同定された（2 種を 1 種とみなした記載）．したがって，本研究では「ニガシメジ」を *T. kakishimejioides* の和名には採用せず，発生生態や形態学的特徴から *T. kakishimejioides* に相当すると考えられる池田（2005）以前から呼称されてきた「カキシメジモドキ」（宮内，1989，2010）を本種の和名に適用した．

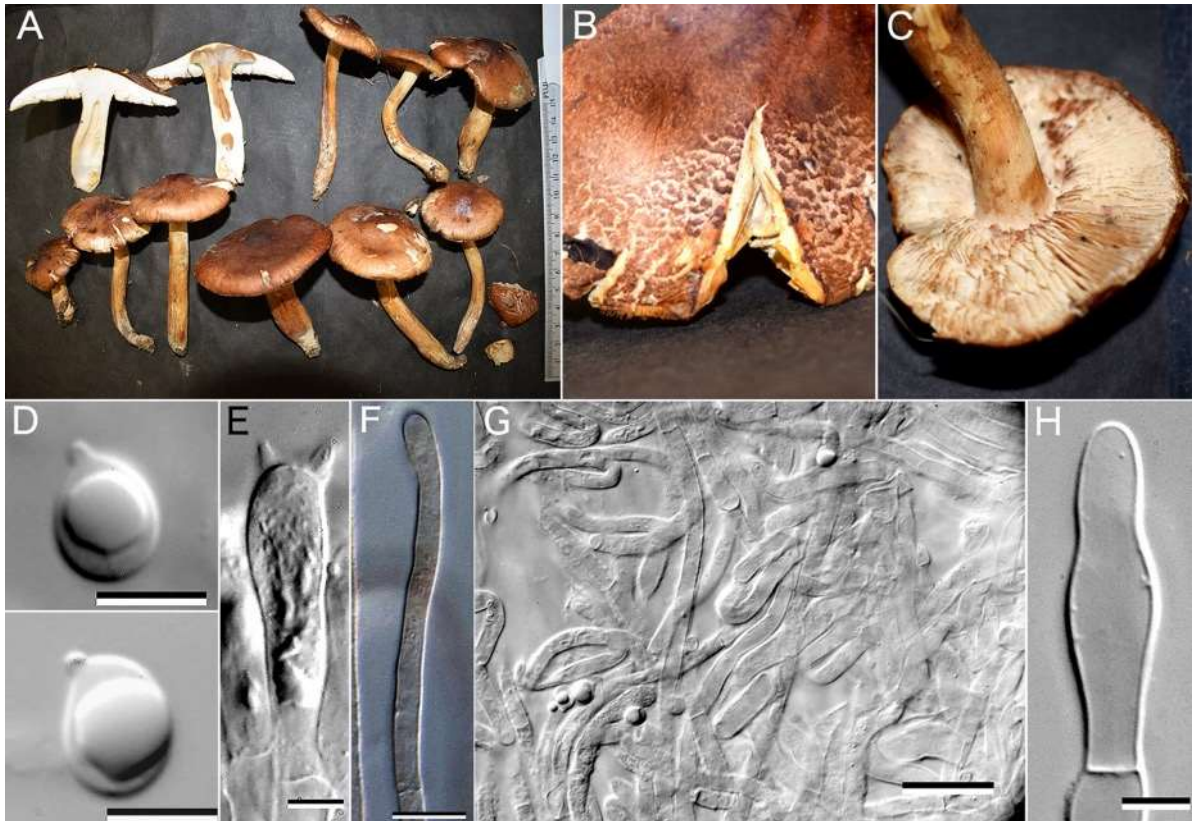


図 2-10. *T. kakishimejioides* 子実体の外部形態と顕微鏡下における細胞形態. A: 外観, B: 傘表面の模様, C: ヒダのしみと形態, D: 担子孢子, E: 担子器, F: 傘表皮菌糸構造, G: 傘菌糸構造, H: 柄シスチジア, Bar = D–H: 5μm; F: 10 μm; G: 20μm.

Tricholoma matsushimeji W. Aoki & A. Yamada, sp. nov.

和名：マツシメジ

図 2-11

MycoBank no.:MB847767

= *T. albobrunneum* (Pers. ex Fr.) Quél., Imai, S. (1938). Studies on the Agaricaceae of Hokkaido. I, Journal of the Faculty of Agriculture, Hokkaido Imperial University, 43, 68.

= *T. albobrunneum* (Pers.) P. Kumm., Aoki et al. (2021). Mycoscience, 62, 319.

= *T. ustale* (Fr.) Kummer, Imazeki and Hongo (1965). Colored illustrations of fungi of Japan vol. II, 24.

標徴：*Tricholoma matsushimeji* はヨーロッパ産 *T. albobrunneum* と近縁であるが，系統学的には別種である（図 2-1）．胞子の Q 値および担子器のサイズから両種は識別可能である（表 2-10）．

タイプ：日本，鳥取県鳥取市浜坂クロマツ林下：北緯 35 度 32 分 03.3 秒，東経 134 度 12 分 58.2 秒，標高 35 m：2019 年 11 月 13 日：採取者，青木渉（Holotype, [TUA-127]）．

ホロタイプの配列：LC574899 (nuc rDNA ITS；クレードII：図 2-1)，LC587198 (nuc rDNA IGS)，LC587119 (*tef1*)，LC586907 (*gapdh*)，LC586862 (*rpb2*)，LC587153 (mt rDNA SSU)。

語源：種小名 *matsushimeji* の接頭語「matsu」は日本語でマツを意味し、「shimeji」はきのこを意味する。*matsushimeji* は Imai (1938) が日本新産種 *T. albobrunneum* を記載する際に和名として用いたことに由来する。

和名：マツシメジは Imai (1938) において *T. albobrunneum* に与えられたが、当該標本が *T. matsushimeji* と同定されたことから転用した。

記載：傘は初め中高で後に平らになり、縁部は内側に巻き、成熟するとしばしば波打つ。全体に赤褐色、中央は暗褐色で縁部は淡褐色、表面は平滑～繊維質、縁部に条線が現れ、湿時粘性 (図 2-11A–C)。柄は白色から褐色、円柱状で基部に向けて太くなり、中実または中空、柄の上部は粉状。ひだは白色からわずかにピンク、やや密、古くなると褐色のしみを生ずる (図 2-11B)。傘の内部組織は白色で厚く、粉臭があり、味は温和だが傘表皮に苦味がある。グアヤク反応は陰性。担子孢子は $4.5\text{--}4.9\text{--}5.7 \times 3.1\text{--}3.5\text{--}3.9\text{ }\mu\text{m}$ ，Q 値は 1.3–1.4–1.5，長楕円形から類楕円形，生鮮標本では孢子内には油滴が認められる (図 2-11D)。担子器径は $23.1\text{--}26.0\text{--}27.9 \times 4.9\text{--}5.5\text{--}6.3\text{ }\mu\text{m}$ ，棍棒状から円柱状，4 孢子性，生鮮標本では細胞内に複数の油滴が見られる。担子器基部にクランプコネクションは見られない (図 2-11E)。小柄は $2.4\text{--}3.1\text{--}3.8 \times 0.9\text{--}1.3\text{--}1.5\text{ }\mu\text{m}$ (図 2-11E)。傘表皮菌糸は $49.4\text{--}61.3\text{--}72.9 \times 4.6\text{--}5.2\text{--}5.8\text{ }\mu\text{m}$ ，円柱状，細胞内は褐色を呈し，クランプコネクションは見られない (図 2-11F)。柄表皮菌糸は $31.3\text{--}53.6\text{--}82.5 \times 5.0\text{--}6.7\text{--}9.6\text{ }\mu\text{m}$ ，無色，円柱状，柄上部にはシスチジアが見られる (図 2-11G)。

ホロタイプ以外の観察標本：日本：北海道：TMI 5615 (今井三子)；長野県：TUA-4 (山田明義)，TUA-78 (青木渉)，TUA-118 (青木渉)，TUA-119 (青木渉)，OMNH 2802 (本郷次雄)；鳥取県：TUA-127 (青木渉)，TUA-143 (青木渉)，TaY20181117-001 (遠藤直樹)；石川県：TNS-F-18996 (池田良幸)；茨城県：TMI Fukuroda 52 (今井三子)；滋賀県：OMNH 1756 (本郷次雄)，OMNH 1938 (本郷次雄)，OMNH 1947 (本郷次雄)，OMNH 3008 (本郷次雄)，OMNH 3606 (本郷次雄)。

生態：本種はアカマツやクロマツなど二針葉松の樹下，本州から九州にかけての海岸林から山地の稜線や砂地の林分で，(6–)9–12 月に発生する。

注釈：本種の担子器は欧州産 *T. albobrunneum* のそれよりも小さい傾向にあり，かつ傘表皮菌糸が長い傾向にある。本種は Imai (1938) により日本新産種 *T. albobrunneum* として報告された一部の標本とともに，今関 (1942) や今関・本郷 (1965, 1987) においてカキシメジ (*T. ustale*) と同定されてきた種も相当する。Imai (1938) において *T. pessundatum* (オオカキシメジ) として同定された標本 TMI 5615 は，本研究では *rpb2* の系統解析で *T. matsushimeji* のクレードに含まれた。Imai (1938) が *T. albobrunneum* (マツシメジ) の記載に用いたと考えられる標本 TMI Mizu 5 と TMI

12A は, *rpb2* の系統解析の結果, それぞれ *T. kakishimeji* および *T. stans* として同定された. 本研究では Imai (1938) が *T. albobrunneum* (マツシメジ) と同定した標本中から *T. matsushimeji* の配列を得ることはできなかったが, *T. albobrunneum* TMI Fukuroda 52 標本は茨城県の内陸松林 (おそらくアカマツ林) で採取された標本で, *T. matsushimeji* の形態や発生生態と一致した. なお, Imai (1938) 以前にマツシメジについて記載したと思われる資料として, 南方熊楠が 1917 年に記録した *T. cryptica* が挙げられる (萩原, 2007). この *T. cryptica* は正式な報告がなされておらず, 孢子径なども記載がないため, 本研究では分類学的検証を行わなかった. 本郷次雄博士が *T. ustale* (カキシメジ) と同定した標本 (OMNH 1756, OMNH 1938, OMNH 1947, OMNH 3008, OMNH 3606) は, 子実体の描画と孢子径の計測結果に基づき, そのすべてが *T. matsushimeji* と同定できた (図 2-11C). Imai (1938) の標本は, 上記のように当時の記載や同定で種間関係が錯綜しており, 保存状態も必ずしも良好ではないため *T. matsushimeji* のタイプ指定は困難と考えられた. 本郷標本は, 形態学的観点からは保存状態は比較的良好だが, DNA 解析を十分に行うことができないため, やはりタイプ指定は難しいと判断した. なお, *T. matsushimeji* の組織分離株である AT-0610 および AT-0612 は Yamada et al. (2010) において *T. ustale* として *in vitro* 条件下での菌根合成によりアカマツに外生菌根を形成することが報告されているが, 菌鞘構造の詳細な記載はなされていない.



図 2-11. *Tricholoma matsushimeji* 子実体の外部形態と顕微鏡下における細胞形態. A, B: 子実体外観, C: 本郷標本の図版 (No. 1938 および No. 1947; 大阪市立自然史博物館収蔵), D: 標本 TUA-127 の担子孢子, E: 担子器, F: 傘表皮菌糸構造, G: 柄表皮菌糸. Bar = A–C: 2 cm; D, E: 5 μ m; F, G: 20 μ m.

Tricholoma miyama-matsushimeji W. Aoki & A. Yamada, sp. nov.

和名：ミヤママツシメジ

図 2-12

MycoBank no.:MB847768

=*Tricholoma albobrunneum* (Fr.) P. Kummer, Aoki et al. (2021). Mycoscience, 62, 319.

標徴：*Tricholoma miyama-matsushimeji* は分子系統学的に *T. albobrunneum* と *T. matsushimeji* の中間的な位置付けにあるが、高山帯のハイマツ樹下で発生し、ひだがやや粗い点で区別できる。

タイプ：日本，北海道利尻島利尻岳：ハイマツ樹下に発生：2008年9月4日：採取者，山田明義（Holotype, AY-2080904-001[TUA-1]）。

ホロタイプの配列：LC574919（nuc rDNA ITS；クレードI：図 2-1），LC587191_clone1，LC587192_clone2（nuc rDNA IGS），LC587145（*tef1*），LC586933（*gapdh*），LC586893（*rpb2*），LC587177（mt rDNA SSU），LC587106（*atp6*）。

語源：種小名 *miyama-matsushimeji* の接頭語の「miyama」は，日本語で「深い森」を意味する。

和名：ミヤママツシメジは深山のハイマツ帯で発見された，マツシメジに近縁な種に由来する。

記載：傘は平らまたは中高で縁は波打ち，中央は褐色で縁は淡褐色，表面は平滑から繊維質，湿時粘性，縁部に条線が現れないかわずかにある（図 2-12A）。柄は淡褐色で上部は粉状（図 2-12A）。ひだは白色でやや粗，湾性，古くなると褐色のしみが現れる（図 2-12A）。胞子径は $3.7\text{--}4.6\text{--}5.9 \times 2.7\text{--}3.3\text{--}4.3\text{ }\mu\text{m}$ ，Q 値は $1.12\text{--}1.41\text{--}1.68$ （図 2-12B）。担子器は $23.0\text{--}27.1\text{--}34.1 \times 5.3\text{--}6.3\text{--}7.5\text{ }\mu\text{m}$ ，棍棒状から円柱状，2-4 胞子性，基部にクランプコネクションは見られない（図 2-12C）。小柄は $1.9\text{--}3.6\text{--}5.5 \times 1.1\text{--}1.5\text{--}1.8\text{ }\mu\text{m}$ （図 2-12C）。傘表皮菌糸は $28.6\text{--}60.3\text{--}124.6 \times 3.3\text{--}5.1\text{--}9.0\text{ }\mu\text{m}$ ，円柱状，細胞内は褐色を呈し，構造は Ixotrichoderm の形態を示し，クランプコネクションは見られない（図 2-12D）。

ホロタイプ以外の観察標本：日本：北海道：AY-2080904-002（TUA-2）（山田明義）。

生態：本種はハイマツ樹下に9月に発生する。

注釈：分岐年代推定の結果から，本種は *T.*

albobrunneum が *T. matsushimeji* へ種分化する過程で派生した種とみなされる（図 2-8）。*T. albobrunneum* と *T. matsushimeji* が二針葉松を宿主とする点を踏まえると，*T. miyama-matsushimeji* がハイマツと関係していることは，氷河期の遺存種と推定される。本種は北海道利尻島利尻岳のハイマツ帯でのみ確認されているが，北海道本島や本州のハイマツ帯にも分布する可能性が否定

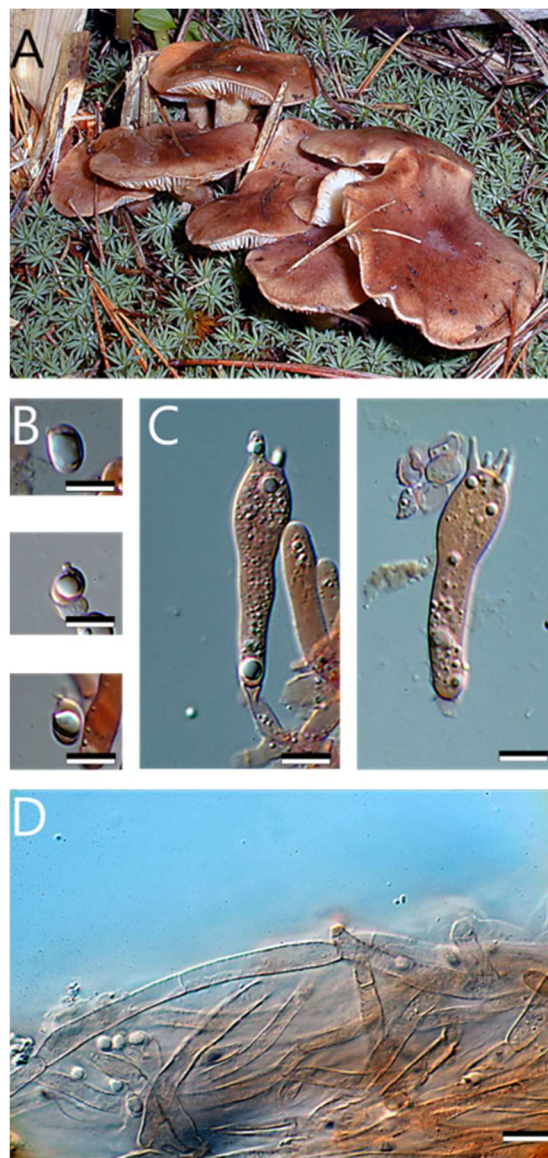


図 2-12. *T. miyama-matsushimeji* 子実体の外部形態と顕微鏡下における構造. A: 外観, B: 胞子, C: 担子器と小柄, D: 傘表皮菌糸, E: 傘表皮菌糸構造. Bar = B, C: $5\mu\text{m}$; D: $10\mu\text{m}$.

できない。分子系統学的に最も近縁な *T. matsushimeji* は温帯の二針葉松下においてのみ確認されているが、両種の発生が確認されている植生帯の間に位置する亜高山帯の五針葉松林における分布調査は十分でないため、今後、生息域の新たな発見が予想される。

***Tricholoma stans* (Fr.) Sacc. Sylloge fungorum, Sylloge Hymenomycetum, Vol. 1. Agaricineae, 5: 94, 1887**

和名：アザシメジ

図 2-13

= *Tricholoma maculatipus* Matsuda & Hongo, The Journal of Japanese Botany, 37: 369, 1962.

= *Tricholoma maculatipes* Hongo & Matsuda, Memories of the Faculty of Education, Shiga University, Natural Science, 33: 38, 1983.

記載：傘は直径 6–13 cm，初め半球形型から中高，成熟すると中高から平らとなり（図 2-13A, B），中央は暗褐色で縁は淡褐色，表面は平滑からやや繊維質，湿時粘性，まれに暗褐色から黒色の小斑点を生ずる（図 2-13A, B）。柄は白色，成熟すると褐色を帯び，菌糸繊維に沿って褐色にしみを生ずることがある。円柱状から下方に向けて太くなり，中空から中実，柄の上部は明瞭にささくれる（図 2-13C, D）。ひだは密，白色，湾性，成熟すると褐色のしみを生ずる（図 2-13C）。傘の内部組織は白色，紛臭，無味，傘表皮のみ少し苦みがあり，グアヤク試験は陽性（図 2-13E）。担子胞子は $4.9\text{--}5.5\text{--}6.2 \times 3.5\text{--}3.9\text{--}4.3 \mu\text{m}$ ，Q 値は 1.3–1.4–1.5，類楕円形から楕円形で，生鮮標本では胞子内部に油滴が見られ，非アミロイド（図 2-13F）。担子器は $23.3\text{--}27.9\text{--}31.5 \times 3.9\text{--}5.9\text{--}6.8 \mu\text{m}$ ，棍棒状から円柱状，4 孢子性，生鮮標本では細胞内にいくつかの油滴構造が見られ，非アミロイド（図 2-13G）。小柄は $1.5\text{--}3.0\text{--}4.2 \times 0.9\text{--}1.2\text{--}1.5 \mu\text{m}$ （図 2-13G）。傘表皮菌糸は ixocutis から ixotrichoderm，菌糸は $41.8\text{--}52.6\text{--}68.9 \times 3.2\text{--}3.9\text{--}4.9 \mu\text{m}$ ，円柱状，細胞内は褐色を呈す（図 2-13H, I）。柄表皮菌糸は $22.8\text{--}46.1\text{--}91.7 \times 2.9\text{--}4.6\text{--}7.6 \mu\text{m}$ で，無色からわずかに褐色，平滑，円柱状，柄上部にはシスチジアが発達し，無色（図 2-13J）。クランプコネクションはどの細胞にも確認されない。

ホロタイプ以外の観察標本：日本：長野県：TUA-9（山田明義），TUA-102（青木渉），TUA-8（青木渉），TUA-73（青木渉），TUA-96（山田明義），TUA-35（青木渉），TUA-74（青木渉）；静岡県：TUA-79（山田明義）；鳥取県：TUMH 62876（遠藤直樹），TUA-134（青木渉）；山梨県：TMI 12A（今井三子）；山形県：OMNH 2392（本郷次雄），OMNH 3162（本郷次雄）；スウェーデン：MC95-131（Morten Christensen），MC95-145（Jacob Heilmann-Clausen；neotype）。

生態：日本国内の *T. stans* は本州の暖温帯のブナ科・マツ科の樹下から亜高山帯の針葉樹林までの比較的広い範囲で、9月から11月に発生する。本州中部の亜高山帯針葉樹林（シラビソ、コメツガ）では比較的普通に発生する。

注釈：本種の胞子は *T. kakishimeji* や *T. matsushimeji* のそれに比べて大きい傾向にあり、*T. kakishimejioides* の胞子 Q 値よりも大きい。傘表皮菌糸幅も *T. kakishimeji*, *T. matsushimeji* および *T. miyama-matsushimeji* のそれより大きい。これらの *T. stans* の特徴は Imai (1938) により日本新産種として記載された *T. pessundatum* (オオカキシメジ) の記載に似るが、それら標本はすべて欧州産 *T. stans* 標本を含むクレードに内包され、欧州産 *T. pessundatum* 標本のクレードとは異なるものであった。また、新潟県においてマツバラシメジと呼称される種に *T. stans* の学名が充てられているが(宮内, 2010), 同種は傘表面が鱗片状であるためアカゲシメジ (*T. imbricatum*) に近縁と考えられる。アザシメジは、松田・本郷 (1962) により新種記載された *T. maculatipus* に与えられた新称和名である。本研究では *T. maculatipus* 標本 (OMNH 2392, OMNH 3162) を *atp6* 系統樹解析の結果に基づき *T. stans* と同定し、微細形態の観察からその妥当性を確認したため、*T. maculatipus* を *T. stans* のシノニムと判断しアザシメジを後者の和名に転用した。なお、勝本 (2010) がアザシメジの学名に採用している *T. maculatipes* (Hongo, 1983) はスペルの誤りであり、原記載 (松田・本郷, 1962) の *T. maculatipus* が命名上正しい。

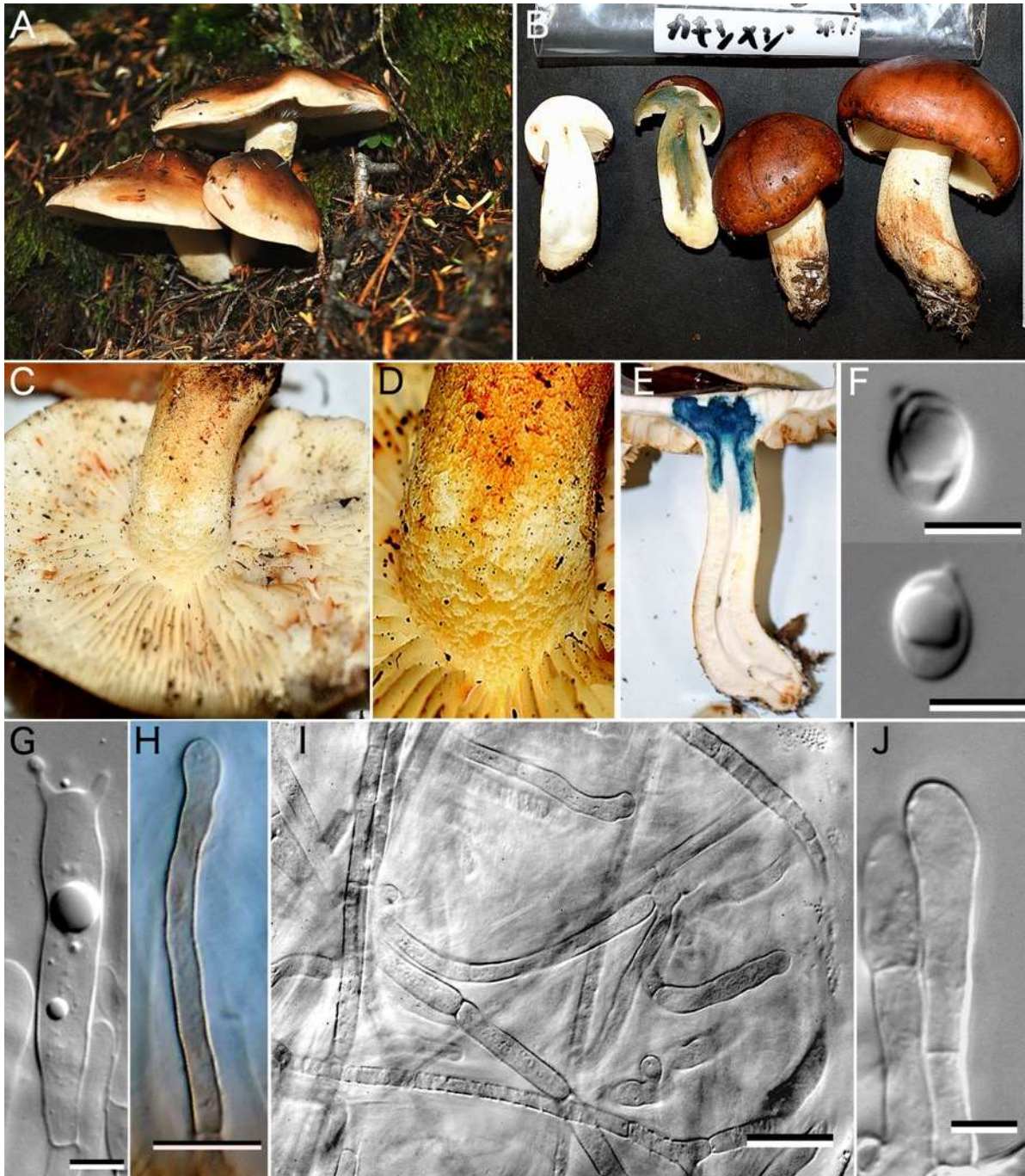


図 2-13. *T. stans* の外観と顕微鏡下における形態. A: 発生環境と外観, B: 外観, C: ヒダの外観, D: 傘と柄の付け根の拡大写真, E: グアヤク試験, F: 担子孢子, G: 担子器, H: 傘表皮菌糸, I: 傘表皮菌糸構造, J: 柄シスチジア. Bar = F, G, J: 5 μ m; G, H: 10 μ m.

2-5. 考察

日本国内で古来より呼称されてきた「かキシめじ」に対して *Tricholoma ustale* の学名を与え独立種としたのは川村（1925）まで遡るが、その後一貫してこの和名と学名の組み合わせが採用されてきた（勝本，2010）。同時に、古来より呼称されてきた「まつしめじ」には Imai（1938）が *T. albobrunneum* の学名を与え、カキシメジとは区別された。しかし、その後、両種は混同されて解釈されることとなった（今関，1942; 今関・本郷，1957，1965，1987; 池田，2005）。今関・本

郷（1957）がマツシメジ（*T. albobrunneum* (Fr.) Quélet）として記載した子実体は、川村（1925）が記載したカキシメジ（*T. ustale* Fr.）に合致し、逆に今関・本郷（1965, 1987）がカキシメジとして記載した子実体は Imai（1938）が記載したマツシメジに合致する。また、マツシメジ以外でカキシメジに近縁種とされるオオカキシメジ、アザシメジ、ムレワシメジ、カキシメジモドキ、ならびにニガシメジは、いずれもカキシメジに関する記載を踏まえて、形態学的ならびに生態学的な相違点のもとに記載がなされてきたと言える（Imai, 1938; 伊藤, 1959; 松田・本郷, 1962; 村田, 1979; 宮内, 1989; 池田, 2005）。一方、国内におけるカキシメジ類の分類学的研究では、欧州産や北米産の近縁種に関するタイプ標本との比較検討が十分とは言い難い形で進められてきた。このため、和名に紐付けされた学名と、欧州や北米で記載された同名のきのこが、互いに異なる種である危惧を孕む形であったとも言える。特にカキシメジはきのこ中毒を引き起こす代表的な菌種であるため、その学名の妥当性は、本研究において早急に詰めるべき課題であった。

本研究では日本産のカキシメジ類について、欧州産の *T. albobrunneum* と *T. stans* 標本を加えて分子系統解析と形態観察を行い、最終的に未記載種 4 種と既知種である *T. stans* からなる 5 種が分布することを確認した。これら 5 種の分類学的取り扱いで最も重要な点は、有毒種のカキシメジ（第 6 章参照）が欧州で記載された *T. ustale* ではなく、現時点では日本国内および恐らくは中国国内に限り分布すると考えられる新種 *T. kakishimeji* としたことである（Aoki et al., 2021）。さらに、カキシメジとの混同が確実視されていたマツシメジについても、欧州産の近縁系統種 *T. albobrunneum* と区分する形で新種 *T. matsushimeji* を設立するとともに、その近縁種としてもう一つの新種 *T. miyama-matsushimeji*（ミヤママツシメジ）も設立した。さらに、松田・本郷（1962）により新種記載された *T. maculatipus*（アザシメジ）が欧州で記載された *T. stans* と同種であること（*T. maculatipus* を *T. stans* のシノニムとすること）も明らかにした。また、宮内（1989, 2010）によりカキシメジに酷似するが別種とされたカキシメジモドキが、*T. ustaloides* とは分子系統学的に近縁ながら未記載種に相当するため *T. kakishimejioides* として新種記載した。この過程で、Imai（1938）が記載したオオカキシメジはカキシメジの異名とし、池田（2005）が記載したニガシメジは複合的な種の記載であるため非合法名とした。このようなカキシメジ類における分類学的取り扱いの変更には、従来の形態分類に加えて分子系統学的解析が重要な役割を果たしたと言える。

本研究において新種記載した *T. kakishimeji* は、ブナ科とマツ科の幅広い宿主と外生菌根を形成すると考えられる（第 5 章参照）。一方、分子系統学的に *T. kakishimeji* に最も近縁な欧州産 *T. pessundatum* は、マツ科針葉樹林に限定して発生する種である（Christensen and Heilmann-Clausen, 2013）。本研究においてマツ科針葉樹下で採取された *T. kakishimeji* の事例は、人工林や公園敷地内に限られる傾向にあった。これらの点を総合的に俯瞰すると、*T. kakishimeji* は自然環境では主に広葉樹下に発生するが、植林されたマツ科植物へと二次的に感染すると思われる。すなわち、本種はマツ科樹種よりもブナ科樹種との親和性が高いことが推察される。Bessette et al.（2013）は北米産の *T. pessundatum* を孢子径に基づいて 2 群に識別し、五大湖周辺で採取される集団の胞

子径が $5.7\text{--}6.7 \times 3.8\text{--}4.8 \mu\text{m}$ で、その他の地域の集団は $4.8\text{--}5.7 \times 2.9\text{--}3.8 \mu\text{m}$ であると報告した。後者は日本産 *T. kakishimeji* や欧州産 *T. pessundatum* のそれと概ね一致する。後者については、Jacques et al. (2022) による北米産 *Tricholoma* の系統解析で、欧州産 *T. pessundatum* タイプ標本とともに単系統を形成することから、北米にも *T. pessundatum* が生息すると考えられる。また、Reschke et al. (2018) により報告された中国産標本の ITS 配列 *T. pessundatum* MB305071 は *T. kakishimeji* のクレードに内包されたことから (図 2-1), *T. kakishimeji* は中国 (雲南省) にも分布すると考えられる。

欧州産 *T. ustaloides* の姉妹系統として新種記載した *T. kakishimejioides* は、ブナ科樹下に発生する。欧州産 *T. ustaloides* もブナ科樹下に発生することや、*T. kakishimejioides* 標本の多くが照葉樹林帯で採取されていることから、*T. kakishimejioides* は *T. kakishimeji* 以上にブナ科樹種との親和性が高く、ブナ科と特異的な関係にあることが推察される。現在までに中国産標本に由来する *T. kakishimejioides* に該当する配列情報は報告されていない (Reschke et al., 2018)。照葉樹林帯での *T. kakishimejioides* の分布をもとに推察すると、中国大陸に *T. kakishimejioides* が分布する可能性は少なくないと考えられる。

本研究で唯一既知種 *T. stans* と同定されたアザシメジは、ブナ科とマツ科の双方の樹下で発生し、採取地点も温帯から亜高山帯と幅が広い。このため、当初 ITS 領域の系統解析で本種と同定された集団は、多遺伝子解析により複数の集団に区分されることが予想されたが、集団内に遺伝的差異を見出すことはできなかった。欧州産 *T. stans* は主に北欧でマツ属樹木下に発生する。日本産 *T. stans* のうち、亜高山帯のシラビソやコメツガ林で発生する集団は欧州産 *T. stans* によく合致するが、温帯のコナラ・ミズナラ林やシイ・カシ林に発生する集団は生態学的には特異と言える。このため、ユーラシア大陸北部を中心に分布する *T. stans* の一部集団が地史的時間スケールのごく近年、日本列島で生息環境の幅 (宿主範囲) を急速に拡張させたと解釈できる。仮に、温帯のブナ科樹下に発生する集団が種分化していたと仮定すると、DNA マーカーを増やして識別感度を上げることで、亜高山帯の集団と区別できると予想される。今後、こうした観点の解析には、比較ゲノムデータを用いることが望ましいと考えられる。

本研究では、Aoki et al. (2021) の時点で *T. albobrunneum* と同定された日本産集団が、*T. albobrunneum* にごく近縁ながら系統学的・形態学的に識別可能な 2 つの新種 *T. matsushimeji* と *T. miyama-matsushimeji* として設立された。系統解析から、これら 3 種にごく近縁な独立クレードとして、*T. albobrunneum* と同定されている中国集団と北米集団の 2 つが存在する (図 2-1)。すなわち、欧州産 *T. albobrunneum* にごく近縁な 4 種が、それぞれ異なる地域に存在すると判断できる。*Tricholoma* 属においてこのような種分化のパターンは、他の *Tricholoma* 種群の集団解析では確認されておらず (例えば Grubisha et al., 2012; Jargeat et al., 2010)、本属全体の進化や種分化を考察する上でも興味深い系統群と考えられる。分岐年代推定 (図 2-8) に基づくと、カキシメジ類 5 種の種分化は過去 1000 万年のスパンで進行したと推察されるため、その過程の解明にはより

多くの標本解析と地史年代イベントとの具体的対応関係の解明が不可欠である．欧州産 *T. albobrunneum*，本州産 *T. matsushimeji* ならびに北海道産 *T. miyama-matsushimeji* の 3 種に限ると，およそ 330 万年前に欧州産 *T. albobrunneum* の祖先系統と近縁の日本産種群の祖先系統が分化し，その後，日本列島において，およそ 190 万年前に本州産 *T. matsushimeji* と北海道産 *T. miyama-matsushimeji* の祖先系統に分化したと推定される．この間の時間経過だけでも，大規模な気候変動や植生変化は何度も生じている（Jouzel et al., 2007）．したがって，現状ではこれら 3 種の地理分布を十分説明することはできないが，現在のマツ属の地理分布に大きく依存していると考えられる．

第3章 カキシメジ類の培養特性

3-1. 目的

外生菌根菌はその生理生態学的特性から、分離培養が困難である。このため、外生菌根菌の生理学的特性に関する知見の多くは比較的培養の容易な分類群に関する研究から得られている (Cairney and Chambers, 1999)。培養菌糸に関する生理学的特性の解明は、外生菌根菌の共生機構や宿主特異性の研究を進める上で基盤的な知見と言える。*Tricholoma* 属では、経済的価値の高いマツタケで 1940 年代より培養研究が進み、比較的多くの知見が得られている (Yamanaka et al., 2020; Yamada, 2022)。

一般に外生菌根菌の培養では、炭素源としてグルコース（単糖類）が用いられる。多くの外生菌根菌はセルロースの資化性を殆ど持たず、デンプンなどの多糖類の資化性も低い傾向にあり、二糖類のスクロースであっても資化性が低いことが多い。これは *Tricholoma* 属のマツタケについても同様である (川合・阿部, 1976)。マツタケの菌糸成長は C/N 比によって左右されるが、培地中の窒素源 0.5~1 %, 炭素源（糖類）1~2 % の条件が一般に用いられる (川合・阿部, 1976; Yamanaka et al., 2020)。窒素源には有機態の各種アミノ酸や乾燥酵母とともに、無機態のアンモニウム塩が利用可能である (川合・阿部, 1976)。外生菌根菌の培養では一般に改変 Melin-Norkrans 培地 (MMN 培地; Marx, 1969) が用いられる。国内ではマツタケやホンシメジの培養に関する研究を中心に、浜田培地 (浜田, 1964) や太田培地 (Ohta, 1990) が一般に用いられてきた。また、改変 Norkrans' C 培地 (MNC 培地; Yamada and Katsuya, 1995) も知られており、*Tricholoma* 属を含む様々な分類群の培養例が報告されている (山田, 2001; Endo et al., 2013, 2014; Fangfuk et al. 2010; Ogawa et al. 2019)。特に MNC 培地は菌根合成実験にも利用可能であり、マツタケでは MMN 培地よりも適している (Yamada et al., 2006)。

カキシメジ類の培養株を用いた研究事例として、AT-0610 株 (*T. matsushimeji*) を用いた菌根合成が報告されているが (Yamada et al., 2010)、培地上での培養特性は記述されていない。カキシメジ類以外の *Tricholoma* 属菌では、*T. terreum* の培養株で PDA, BAF, 麦芽寒天, MMN, 改変 M40 の異なる 5 種類の培地を比較し、PDA 培地と BAF 培地で菌糸伸長（菌糸密度）が比較的良好なことが報告されている (Kibar and Peksen, 2011)。また、マツタケの孢子分離株を用いた培養実験から、遺伝的に類縁な姉妹株間でも、MNC 培地の CN 比の違いに対する反応で顕著な差異が報告されている (Yamada et al., 2019)。

前章で記載したカキシメジ類の生態学的特徴から、カキシメジ類は種ごとに宿主や分布域がそれぞれ異なるため、培養株の特性も種間で異なることが予想される。本章では、前章で記載したカキシメジ類 4 種 (*T. kakishimeji*, *T. kakishimejioides*, *T. matsushimeji*, *T. stans*) の培養株を確立し、MNC 培地の窒素濃度と炭素濃度の条件を変えることで、菌糸伸長に対する影響を明らかにするとともに、各種カキシメジ類に最適な栄養条件の模索を目的とした。

3-2. 材料と方法

3-2-1. 子実体の組織分離

採取した子実体の表面に付着した土や落葉をキムワイプや筆を用いて取り除き、石突をメスで切り落とした。ひだの隙間に多数のトビムシが見られた場合、しばらく光源に当てて除去した。これらの処理を施した子実体は、クリーンベンチにてメスまたは素手で傘部を半分に割き、5–10 mm 四方の内部組織をメスで切り出し、MNC 寒天培地（表 3-1）に接種した。接種後、20 °C の暗条件下にて 1 ヶ月間培養した。目的とする菌糸体コロニーが確認できた場合には、コロニー周縁部の菌糸体を切り出して新たな MNC 培地へ移植し、培養菌株として確立した。雑菌汚染が見られた場合には、汚染を生じていない組織片を新たな MNC 寒天培地へ移植し分離操作を続けた。

3-2-2. 濃度の異なる MNC 寒天培地条件下における菌糸伸長の比較

3-2-1 にて確立した培養株ならびに信州大学農学応用真菌学研究室で保存されているカキシメジ類の培養株について、MNC 培地全体と窒素源の濃度を変更し培養操作を行った。使用した培養株は、*T. kakishimeji* 2 株（TUA-133C, TUA-75C）、*T. stans* 2 株（TUA-134C, TUA-101C）、*T. matsushimeji* 2 株（AT-0610, TUA-118C）、*T. kakishimejioides* 1 株（TUMH 62875）の合計 7 株である。通常濃度の MNC 寒天培地を対照区とし、窒素源（酒石酸アンモニウム、カゼイン加水分解物、酵母抽出物）を 0.3 倍または 2 倍にした条件（0.3×N, 2×N）と培地濃度全体を 0.3 倍または 2 倍にした条件（0.3×, 2×）を設定した（表 3-1）。直径 9 cm のプラスチックシャーレに 20 mL の上記条件の MNC 寒天培地をそれぞれ作製し、その上に膨潤・滅菌した φ90 mm のセロハン被せのち、5 mm 角で切り出した培養菌糸体（MNC 培地であらかじめ前培養して調製）を接種した。接種後、20 °C の暗黒条件下で 1 ヶ月間培養した。

表 3-1. *Tricholoma* 属 4 種の培養に用いた MNC 寒天培地の濃度条件

組成	1×	0.3×N	0.3×	2×N	2×
リン酸水素カリウム	1.0 g	1.0 g	1.0 g	1.0 g	1.0 g
硫酸マグネシウム	0.5 g	0.5 g	0.5 g	0.5 g	0.5 g
酒石酸アンモニウム	0.5 g	0.15 g	0.15 g	1.0 g	1.0 g
ブドウ糖	10.0 g	10.0 g	3.0 g	10.0 g	20.0 g
カゼイン加水分解物	0.23 g	0.069 g	0.069 g	0.46 g	0.46 g
酵母抽出物 (Difco)	0.5 g	0.15 g	0.15 g	1.0 g	1.0 g
硫酸亜鉛 (0.2%保存液)	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL
クエン酸鉄 (1.0%保存液)	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL
チアミン (100 ppm 保存液)	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL
寒天	15.0 g	15.0 g	15.0 g	15.0 g	15.0 g
(C/N 比)	8.3	27.0	8.3	4.1	8.3

培養期間終了後、セロハン上に伸長した菌糸体コロニーをデジタルカメラ（D5300, Nikon ; 東京）で撮影するとともに、ノギスで直径（長径と短径）を計測した。その後、スパチュラを用いて菌糸体をセロハン上から剥離し、計量小皿に乗せて電子天秤で菌糸体湿重量を計測した。計測後、菌糸体コロニーを 60 °Cで一晩熱風乾燥させ、乾燥重量を計測した。得られた数値データを基に、培地の C/N 比による菌糸伸長および菌糸体乾燥重量への影響を一元配置分散分析（Excel 2019）で解析した。有意差検定には Tukey post hoc test ($P<0.05$) を用い、必要に応じて t 検定 ($P<0.05$) も用いた（Excel 2019）。また、得られた数値とその有意差を基に、1×MNC 栄養条件とのコロニー直径と乾燥重量の比較を図 3-2-3-4 に示した。

3-2-3. 異なる栄養条件下で形成されたコロニーの菌糸形態の比較

菌糸形態の顕微鏡観察方法は第 2 章を参照した。微分干渉顕微鏡観察した細胞はデジタルカメラ（D50, Nikon ; 東京）で撮影し、ImageJ（Schneider et al., 2012）で細胞直径を計測した。観察した各コロニーについて、50 個の細胞を計測し、平均値を算出した。

3-3. 結果

3-3-1. 培養株の確立

Tricholoma kakishimeji 4 株, *T. stans* 15 株, *T. matsushimeji* 4 株, *T. kakishimejioides* 1 株をそれぞれ確立した（表 3-2）。各株の種同定は、第 2 章において決定した ITS 領域や *RPB2* の塩基配列を基に行った。

表 3-2. 確立した *Tricholoma* 属培養株

種名	No.	採取場所	分離操作日	林冠植生 ¹
<i>T. kakishimeji</i>	TUA-67C	長野県中野市斑尾山	2018/10/8	Fc, Qc
<i>T. kakishimeji</i>	TUA-75C	長野県飯綱町飯縄山山麓	2018/10/18	Pa
<i>T. kakishimeji</i>	TUA-133C	鳥取県鳥取市大池	2019/11/5	Qg, Qm
<i>T. kakishimeji</i>	TUA-125C	長野県松本市旭	2019/11/13	Pd
<i>T. stans</i>	TUA-34C	長野県川上村十文字峠	2018/9/14	Td
<i>T. stans</i>	TUA-38C	長野県松本市乗鞍高原	2018/10/2	Qc
<i>T. stans</i>	TUA-59C	長野県松本市乗鞍高原	2018/10/2	Qc
<i>T. stans</i>	TUA-60C	長野県松本市乗鞍高原	2018/10/2	Qc
<i>T. stans</i>	TUA-61C	長野県松本市乗鞍高原	2018/10/2	Qc
<i>T. stans</i>	TUA-62C	長野県松本市乗鞍高原	2018/10/2	Qc
<i>T. stans</i>	TUA-63C	長野県松本市乗鞍高原	2018/10/2	Qc
<i>T. stans</i>	TUA-64C	長野県松本市乗鞍高原	2018/10/2	Qc
<i>T. stans</i>	TUA-65C	長野県松本市乗鞍高原	2018/10/2	Qc
<i>T. stans</i>	TUA-101C	長野県小海町八ヶ岳	2019/10/4	Td
<i>T. stans</i>	TUA-102C	長野県小海町八ヶ岳	2019/10/4	Td
<i>T. stans</i>	TUA-105C	長野県小海町八ヶ岳	2019/10/4	Td
<i>T. stans</i>	TUA-134C	鳥取県鳥取市国府	2019/11/13	Qg, Qm
<i>T. stans</i>	TUA-136C	鳥取県鳥取市国府	2019/11/13	Qg, Qm
<i>T. stans</i>	TUA-145C	鳥取県鳥取市布施	2019/11/14	Qa
<i>T. matsushimeji</i>	TUA-78C	長野県飯綱町縄山山麓	2018/10/18	Pd
<i>T. matsushimeji</i>	TUA-118C	長野県中川村桑原	2019/10/30	Pd
<i>T. matsushimeji</i>	TUA-127C	鳥取県鳥取市鳥取砂丘	2019/11/13	Pt
<i>T. matsushimeji</i>	TUA-128C	鳥取県鳥取市鳥取砂丘	2019/11/13	Pt
<i>T. kakishimejioides</i>	TaY20191104-101C	奈良県橿原市橿原神宮	2019/11/6	Qg

¹Pd: *Pinus densiflora* (アカマツ), Pt: *P. thunbergii* (クロマツ), Pa: *Picea abies* (ドイツトウヒ), Td: *Tsuga diversifolia* (コメツガ), Fc: *Fagus crenata* (ブナ), Qc: *Quercus crispula* (ミズナラ), Qg: *Q. glauca* (アラカシ), Qm: *Q. myrsinifolia* (シラカシ), Q. *acutissima* (クヌギ).

3-3-2. カキシメジ類のコロニー形態

Tricholoma kakishimeji は、分離直後のコロニーは白色または褐色でコロニーの縁部は薄く広がらず、継代培養後のコロニーは褐色で菌糸伸長速度の大きい白色菌糸体がセクター状に伸長した（図 3-1A, B）。表面はフェルト状からビロード状であった。0.3×N MNC および 0.3×MNC 寒天培地上では、コロニーから白色のセクター状菌糸体が伸長し、コロニーは部分的に褐色であった。2×N MNC および 2×MNC 寒天培地では、コロニーは白色から褐色を呈し、セクター状の白色菌糸体も伸長した（図 3-1B）。コロニーを構成する菌糸は、どの培地条件においても顕著な形態的違いは見られなかった。また 0.3×N MNC 寒天培地または 0.3×MNC 寒天培地において、洋こま状のシスチジアが多数観察された（図 3-1C, D）。

Tricholoma stans は、分離直後のコロニーは白色または褐色、表面はフェルト状で、コロニー縁部では菌糸体が薄く広がり、継代培養後のコロニーは正円形で白色～褐色、表面はフェルト状からビロード状で、気中菌糸はあまり発達しなかった（図 3-1E, F）。分離した株によってコロニーの色彩にバリエーションがあり、白色もしくは褐色であった。0.3×N MNC 寒天培地上で、TUA-101C および TUA-134C の両方で、コロニーは正円形、クリーム色から淡褐色だった（図 3-1E）。この形状は 0.3×MNC, 1×MNC, 2×N MNC, 2×MNC の条件で共通したが、TUA-134C の 2×MNC 寒天培地上のコロニーは、他の培養株のコロニーに比べて明らかに小型で、褐色でいびつな形態

を示した（図 3-1F）．また、いずれのコロニーもセクター状菌糸体を形成しなかった．コロニーを構成する菌糸の形態的な差異は見られなかったが、主に 2×N MNC と 1×MNC 寒天培地上のコロニーで洋こま状のシスチジアが観察された（図 3-1G, H）．

Tricholoma matsushimeji は、分離直後のコロニーは白色でフェルト状、コロニー縁部で菌糸体は薄く広がらず、継代培養後のコロニーは、白色でフェルト状からビロード状で、殆どのコロニーで環状の模様が見られ、気中菌糸はあまり発達しなかった（図 3-1I）．またコロニーからはセクター状の菌糸体が多数形成された（図 3-1I, J）．またコロニーを構成する菌糸にはしばしば架橋構造が確認された（図 3-1K, L）．

Tricholoma kakishimejioides は他のカキシメジ近縁種よりも菌糸伸長が遅く、コロニーは褐色、フェルト状で、形状は不規則であり、培地上に褐色の色素を生成する場合があった（図 3-1M）．顕微鏡下においては、菌糸末端細胞に厚壁細胞が確認され（図 3-1N）．菌糸間に架橋構造が確認されたとともに（図 3-1O）．他のカキシメジ類菌糸と比較してねじれた菌糸を有していた（図 3-1P）．

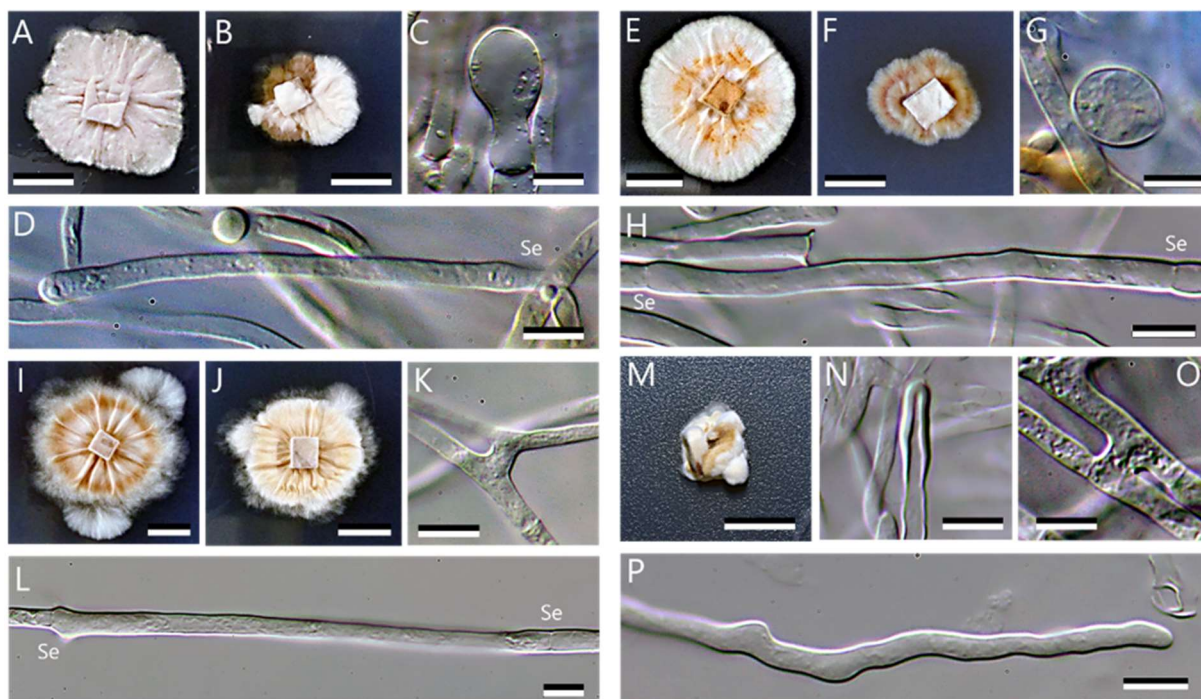


図 3-1. 各種条件の MNC 寒天培地上における各系統菌株のコロニー形体とコロニーを構成する菌糸の形態. A–D: *T. kakishimeji* TUA-133C 株, A: 1×MNC, B: 2×MNC, C: 洋こま状のシスチジア (0.3×N MNC), D: 栄養菌糸 (1×MNC), E–H: *T. stans* TUA-134C 株, E: 1×MNC, F: 2×N MNC, G: 洋こま状のシスチジア (2×N MNC), H: 栄養菌糸 (1×MNC). I–L: *T. matsushimeji* AT-0610 株, I: 1×MNC, J: 0.3×N MNC, K: 菌糸架橋 (1×MNC), L: 栄養菌糸 (1×MNC). M–P: *T. kakishimejioides* TUMH 62875 株, M: 1×MNC, N: 厚壁菌糸, O: 菌糸架橋, P: 栄養菌糸. Bar = A, B, E, F, I, J, M: 1 cm; C, D, G, H, K, L, N–P: 5 μm.

表 3-3. 各条件の MNC 寒天培地上に形成されたコロニーを構成する菌糸の幅 (N=50)

培地濃度	<i>T. kakishimeji</i> TUA-133C	<i>T. stans</i> TUA-134C	<i>T. matsushimeji</i> AT-0610	<i>T. kakishimejioides</i> TUMH 62875
1×MNC	1.0–1.5–2.1 (0.2)*	1.6–2.5–4.1 (0.5)	1.0–2.1–2.9 (0.4)	1.9–2.7–4.3 (0.5)
0.3×N MNC	1.4–2.4–3.4 (0.5)	1.3–2.0–3.5 (0.5)	1.2–1.9–2.7 (0.3)	1.6–2.6–3.7 (0.5)
0.3×MNC	1.2–2.0–2.6 (0.4)	1.3–2.1–3.4 (0.5)	1.3–1.8–2.6 (0.3)	1.7–2.3–3.1 (0.3)
2×N MNC	1.4–2.3–4.4 (0.6)	1.9–2.8–3.9 (0.5)	1.3–2.0–3.4 (0.4)	1.7–2.3–4.6 (0.5)
2×MNC	1.1–1.5–2.2 (0.3)	1.6–2.2–2.9 (0.3)	1.4–2.0–4.0 (0.5)	1.6–2.3–3.2 (0.4)

*数値は、最小値-平均値-最大値 (標準誤差)を示す。

3-3-3. 培養条件の違いによるカキシメジ類培養株の菌糸伸長

Tricholoma kakishimeji では、TUA-133C は 1×MNC 条件下でコロニー直径と乾燥重量で最大の平均値をとり、0.3×および 2×MNC 条件下で両者の平均値は有意に減少した (図 3-2, 3-3; 表 3-4–3-7) 。 TUA-75C は 0.3×MNC 条件で有意にコロニー直径が拡大した。また 2×MNC 条件ではコロニー直径が拡大傾向にあった。

Tricholoma stans では、TUA-134C 株は 1×MNC 条件に対して 0.3×MNC 条件下で乾燥重量が減少傾向にあり、2×MNC 条件下ではコロニー直径と乾燥重量の平均値が有意に減少した (図 3-2, 3-3; 表 3-4–3-7) 。 TUA-101C では、培地濃度条件の違いに対する反応の差は微小だった (図 3-2, 3-3) 。

Tricholoma matsushimeji では、1×MNC 条件に対して 0.3×MNC 条件下で AT-0610 と TUA-118C の両株で有意なコロニー直径の拡大が見られた。TUA-118C では 1×MNC 条件に対して 2×N および 2×MNC 条件下でコロニー直径の値が有意に増加し、AT-0610 では 2×N 条件下で有意な増加が見られた (図 3-2, 3-3; 表 3-4–3-7) 。

Tricholoma kakishimejioides TUMH 62875 では、1×MNC 条件に対して 0.3×MNC 条件下でコロニー直径と乾燥重量が減少傾向にあり、0.3×N MNC 条件下では有意にコロニー直径が減少した。2×MNC 条件下では、コロニー直径と乾燥重量は増加傾向にあった (図 3-2, 3-3; 表 3-4–3-7) 。

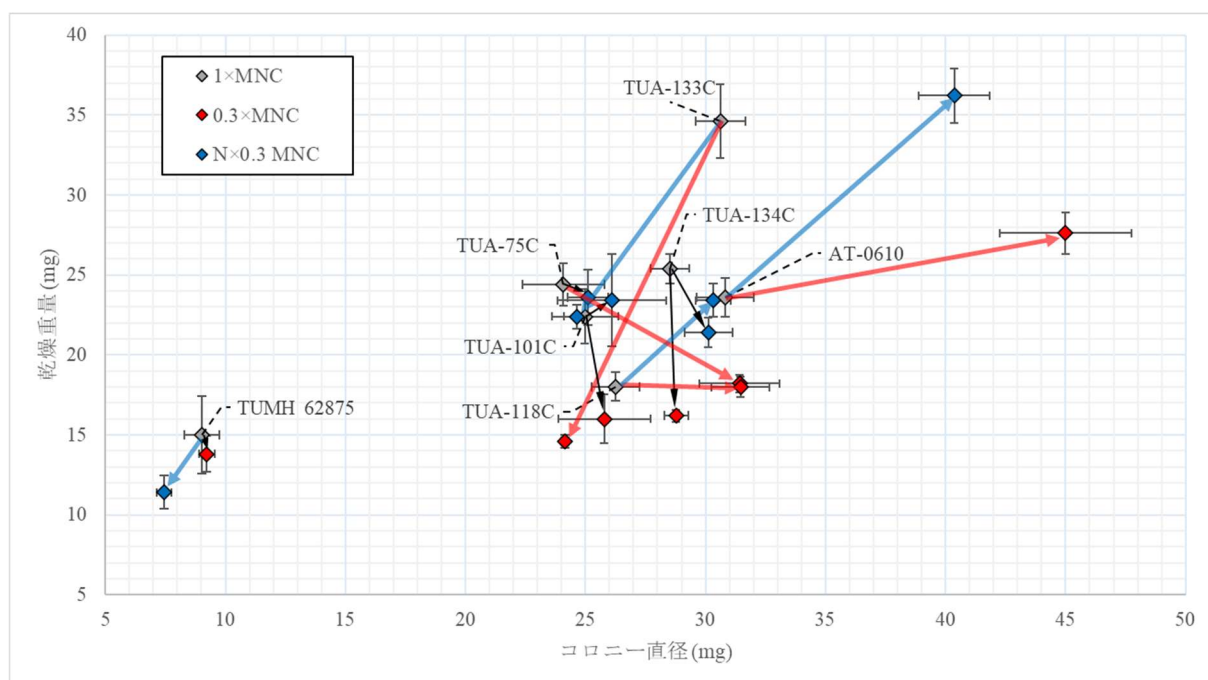


図 3-2. 1×MNC を基準とした 0.3×MNC および 0.3×N MNC 条件下での *Tricholoma* 属 4 種の各培養株のコロニー直径と乾燥重量の関係。 *T. kakishimeji* (TUA-133C, TUA-75C), *T. stans* (TUA-101C, TUA-134C), *T. matsushimeji* (TUA-118C, AT-0610), *T. kakishimejioides* (TUMH 62875)。矢印は 1×MNC 条件に対するコロニー直径と重量の変化を示し、太い有色の線は変化が有意なことを示す。エラーバーは標準誤差を示す。

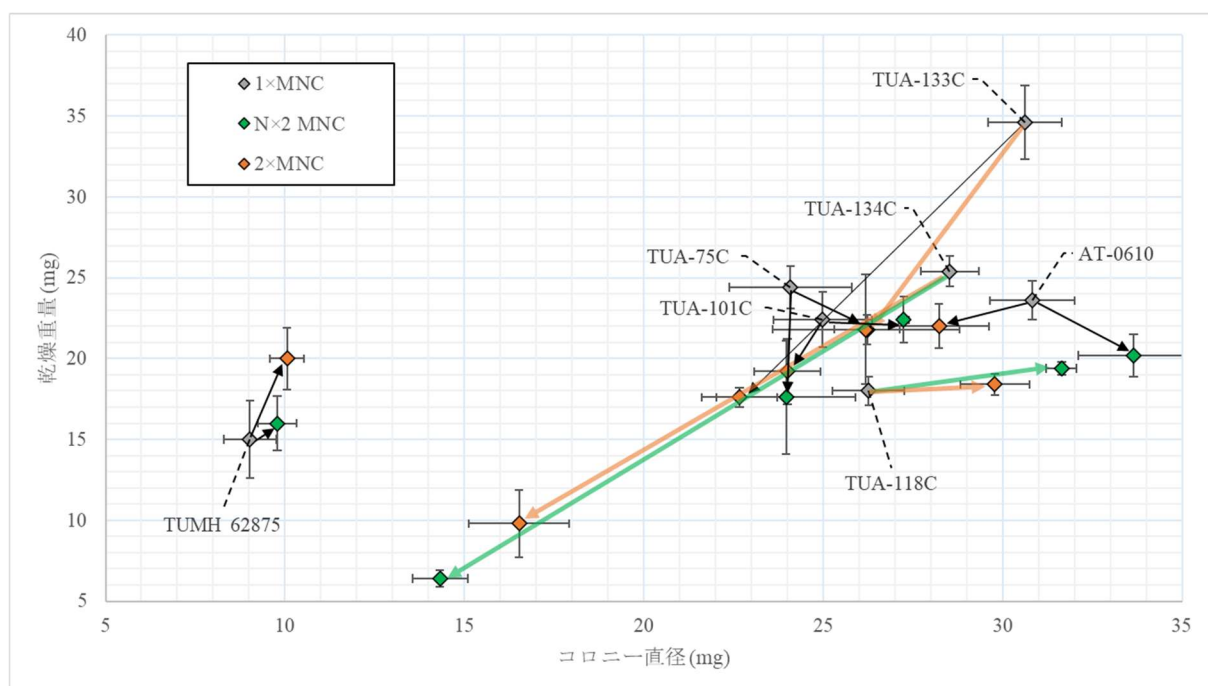


図 3-3. 1×MNC を基準とした 2×MNC および 2×N MNC 条件下での *Tricholoma* 属 4 種のコロニー直径と乾燥重量の関係。 *T. kakishimeji* (TUA-133C, TUA-75C), *T. stans* (TUA-101C, TUA-134C), *T. matsushimeji* (TUA-118C, AT-0610), *T. kakishimejioides* (TUMH 62875)。矢印は 1×MNC 条件に対するコロニー直径と重量の変化を示し、太い有色の線は変化が有意なことを示す。エラーバーは標準誤差を示す。

表 3-4. 各培養条件における菌株間の菌糸伸長の比較（一元配置分散分析）

培地条件	各培養株のコロニー直径 (mm)													
	TUA-133C		TUA-75C		TUA-134C		TUA-101C		AT-0610		TUA-118C		TUMH 62875	
1×MNC	30.6 (1.0)	a	24.6 (1.7)	bc	28.5 (0.8)	a	25.0 (1.4)	ab	30.8 (1.2)	b	26.3 (1.0)	b	9.0 (0.7)	a
0.3×N MNC	24.6 (0.6)	b	25.4 (0.8)	bc	30.1 (1.0)	a	26.1 (2.3)	ab	40.4 (1.5)	a	30.3 (0.7)	a	7.4 (0.3)	b
0.3×MNC	24.1 (0.2)	b	31.1 (1.7)	a	28.8 (0.5)	a	25.8 (1.9)	ab	45.0 (2.7)	a	31.5 (1.2)	a	9.2 (0.3)	a
2×N MNC	24.0 (1.9)	b	26.6 (0.1)	b	14.3 (0.8)	b	26.2 (0.9)	a	33.6 (1.5)	b	31.6 (0.4)	a	9.8 (0.5)	a
2×MNC	26.2 (2.6)	ab	23.6 (0.9)	c	16.5 (1.4)	b	22.7 (1.1)	b	28.2 (1.4)	b	29.8 (1.0)	a	10.1 (0.5)	a

*数値は、反復数 5 で平均値 (標準誤差) 菌株ごとに栄養条件間で平均値を比較. アルファベットは有意差を示す.

表 3-5. 各培養条件における菌株間の菌糸体重量の比較（一元配置分散分析）

培地条件	各培養株のコロニー乾燥重量 (mg)													
	TUA-133C		TUA-75C		TUA-101C		TUA-134C		AT-0610		TUA-118C		TUMH 62875	
1× MNC	34.6 (2.3)	a	24.4 (1.3)	a	22.4 (1.7)	ab	25.4 (0.9)	a	23.6 (1.2)	bc	18.0 (0.9)	b	15.0 (2.4)	ab
0.3×N MNC	22.4 (0.7)	b	23.6 (1.7)	ab	23.4 (2.9)	a	21.4 (0.9)	a	36.2 (1.7)	a	23.4 (1.0)	a	11.4 (1.0)	b
0.3×MNC	14.4 (0.4)	c	18.2 (0.5)	c	16.0 (1.5)	c	16.2 (0.4)	ab	27.6 (1.3)	b	18.0 (0.6)	b	13.8 (1.1)	b
2×N MNC	17.6 (3.5)	bc	22.4 (1.4)	abc	21.8 (0.9)	ab	6.4 (0.5)	c	20.2 (1.3)	c	19.4 (0.4)	b	16.0 (1.7)	ab
2×MNC	21.8 (3.4)	bc	19.2 (2.0)	bc	17.6 (0.6)	bc	9.8 (2.1)	c	22.0 (1.4)	c	18.4 (0.7)	b	20.0 (1.9)	a

*数値は、反復数 5 で平均値 (標準誤差) 菌株ごとに栄養条件間で平均値を比較. アルファベットは有意差を示す.

表 3-6. 各培養条件における菌種間の菌糸伸長の重量の比較（一元配置分散分析）

培地条件	各種のコロニー直径 (mm)							
	<i>T. kakishimeji</i>		<i>T. stans</i>		<i>T. matsushimeji</i>		<i>T. kakishimejioides</i>	
1×MNC	27.6 (1.3)	a	26.8 (0.9)	a	28.5 (1.0)	bc	9.0 (0.5)	ab
N×0.3 MNC	25.0 (0.5)	a	28.1 (1.3)	a	35.3 (1.8)	ab	7.4 (0.2)	b
0.3×MNC	27.6 (1.3)	a	27.3 (1.0)	a	38.2 (2.5)	a	9.2 (0.2)	a
N×2 MNC	25.3 (1.0)	a	20.3 (2.0)	b	32.6 (0.8)	ab	9.8 (0.4)	a
2×MNC	24.9 (1.3)	a	19.6 (1.2)	b	35.3 (0.8)	b	10.1 (0.3)	a

*数値は、平均値 (標準誤差) を示し、菌種間で平均値を比較. 反復数 10 は表 3-4 および 3-5 で示した各種内 2 菌株の反復数 5 の合算であり、これを母数として統計解析に供試した.

表 3-7. 各培養条件における菌種間の菌糸体重量の比較（一元配置分散分析）

培地条件	各種のコロニー乾燥重量 (mg)							
	<i>T. kakishimeji</i>		<i>T. stans</i>		<i>T. matsushimeji</i>		<i>T. kakishimejioides</i>	
1×MNC	29.0 (2.1)	a	23.9 (0.1)	a	20.8 (1.1)	b	15.0 (1.7)	abc
N×0.3 MNC	23.4 (0.9)	b	22.4 (1.4)	a	29.8 (2.2)	a	11.4 (0.7)	c
0.3×MNC	16.3 (0.6)	c	16.1 (0.7)	b	22.8 (1.6)	b	13.8 (0.8)	bc
N×2 MNC	19.2 (1.8)	bc	14.1 (2.5)	b	19.8 (0.6)	b	16.0 (1.2)	ab
2×MNC	19.9 (1.9)	b	13.7 (1.6)	b	20.2 (0.9)	b	20.0 (1.3)	a

*数値は、平均値 (標準誤差) を示し、菌種間で平均値を比較. 反復数 10 は表 3-4 および 3-5 で示した各種内 2 菌株の反復数 5 の合算であり、これを母数として統計解析に供試した.

3-4. 考察

今回実験に供試したカキシメジ類 4 種 7 菌のうち、*T. kakishimeji* 2 菌株 (TUA-133C 株, TUA-75C 株) と *T. stans* 2 菌株 (TUA-101C 株, TUA-134C 株) では通常濃度の MNC 寒天培地上で、*T. matsushimeji* 2 菌株 (AT-0610 株, TUA-118C 株) では 0.3×MNC 培地上で、*T. kakishimejioides* TUMH 62875 株では 2×MNC 培地でそれぞれ良好なコロニー成長を示す傾向にあった. このうち特に *T. matsushimeji* AT-0610 および TUA-118C 株は 0.3×N MNC 寒天培地上で顕著に良好な菌糸伸

長を示したが、この点は本菌が比較的低栄養の土壌条件下に成立するマツ属の林分で見出されること（Christensen and Heilmann-Clausen, 2013; Aoki et al., 2021）に関連する可能性が推察される。本研究では 0.3×C MNC 条件のデータが得られていないため、野外調査から推察される低 N 条件が影響しているのか、低 N 条件と低 C 条件の総合作用が影響しているのか、さらに今後検討する余地がある。

菌株ごとの培養条件に対する反応に着目すると、*T. stans* TUA-134C 株において MNC 培地区に対する窒素濃度が 2 倍の区（2×N MNC と 2×MNC 寒天培地）での菌糸伸長量の低下がもっとも顕著であった。これに対して、*T. stans* TUA-101C 株ではそのような傾向は全く見られないことから、両株は種内の生理学的差異として捉えることができる。同様に、*T. kakishimeji* TUA-133C 株で 0.3 倍の区（0.3×N MNC と 0.3×MNC 寒天培地）および 2 倍の区でコロニー直径と乾燥重量の両方で値が減少した。一方で、TUA-75C では 0.3×MNC 条件でコロニー直径が有意に増加したことから、本種も種内で生理学的な差異が存在すると考えられる。*T. kakishimeji* である TUA-133C 株はアカマツの混在する照葉樹林、TUA-75C 株は造林地のマツ科樹木下に由来する子実体組織から分離、*T. stans* である TUA-134C 株は暖温帯照葉樹林、TUA-101C 株は亜高山帯針葉樹林で採取された子実体から分離された点を考慮すると、今後、本種の分類との関連で改めて検討する余地があると考えられる。また、本実験では温度特性については調査していないが、子実体採取地点の気候帯の違いは、培養株の温度特性の違いとしても現れる可能性も推察されるため、今後、そうした点についても調査することが望ましいと考えられる。

今回実験に供試したカキシメジ類 4 の菌糸伸長パターンを概括すると、*T. kakishimejioides* TUMH 62875 株ではコロニー直径が顕著に小さいものの、コロニーの乾燥重量の値の変化は必ずしも顕著ではないため、MNC 培地上における本種コロニーの密度が高いと考えられる。細胞の特徴（後述）からは種間の著しい形態的差異はみとめられなかったが、菌糸細胞の直径や隔壁の間隔などにおいてもわずかながら質的差異を生じていた可能性が推察される。今回の実験では、0.3×から 2×のレンジの MNC 培地上での反応を調査したが、0.1×から 3×のレンジ幅で調査することにより、今回得られた種間の菌糸伸長パターンの特性をより明確にできると考えられる。

MNC 培地上でコロニーを構成する菌糸体には、*T. matsushimeji* では特に 0.3×MNC 培地条件下で、*T. stans* TUA-134C 株では 2×MNC 条件下で、洋こま状のシスチジアが多数観察されたことから、培養菌糸体においてカキシメジ類を特徴づける形質であることが示唆された。一方、*T. matsushimeji* や *T. kakishimejioides* ではそのようなシスチジアは認められないため、この構造は *Genuina* 節に共通するような系統学的意義を有するものではなく、個々の種を識別する上で有用な形質であることが示唆された。

他のカキシメジ種に比べて菌糸伸長速度が遅い *T. kakishimejioides* は、褐色のコロニーを形成する傾向にあった。またコロニーを構成する栄養菌糸が他菌種に比べてねじれる特徴があるうえ、厚壁菌糸も多数見られた。これらの形態学的特徴は、MNC 培地上において *T. kakishimejioides* を

特徴づける利点と評価できる一方、MNC 培地が本種の培養に用いる基本培地として必ずしも適切ではない可能性も考えられる。外生菌根菌の培養に用いられる MMN 培地や太田培地などについても、今後検討することが望ましいと考えられる。

第4章 カキシメジ類の菌根合成

4-1. 目的

室内実験環境下で外生菌根を形成させる研究は、外生菌根菌の生理生態学的特性を解明するうえで重要である (Yamada et al., 2010) . 同時に、菌根の形態形成、宿主植物に対する菌根形成能、菌と宿主の相互作用などを解明する上でも欠かせない。同一の菌種であっても、野外で収集した外生菌根と実験的に作出された外生菌根とで、異なる形態学的特徴を有する場合がある (遠藤, 2015) . このような菌根形成に関わる生物的または非生物的要因を探る研究を進める上で、培養菌糸体と無菌植物との間で外生菌根を形成させる菌根合成法が最も合理的である。

外生菌根菌の生理生態学的な特性の解明を目的とした外生菌根の合成実験は、Melin (1922a, b) による *Pinus sylvestris* と *Suillus luteus* および *Larix* 属と *S. grevillei* を用いた実験が最初である。菌根合成実験は、その後に様々な実験系の改良が行われているが (例えば Peterson and Chakravarty, 1991) , Melin (1922a, b) の用いた培地を改変した MMN 培地 (Marx, 1969) は今日でも最も普及している。菌根合成法をベースとした外生菌根菌の宿主特異性に関する研究例として、北米の林業において重要なマツ科と *Rhizopogon* 属や *Suillus* 属との幅広い組み合わせの実験例が行われている (Massicotte et al., 1994; Molina and Trappe, 1994; Molina et al., 1997) . Molina and Trappe (1994) はマツ属、ツガ属、モミ属を宿主とした *Rhizopogon* 属 4 節 29 株の培養株との菌根合成を行った。 *Villosuli* 節と *Fulviglebae* 節の菌種は、モミ属とは比較的多量の外生菌根を形成する一方で、ツガ属およびマツ属との菌根形成は微弱であり、自然条件下で観察される菌根形成の宿主特異性との関係が議論された。日本国内で菌根合成法が定着したのは 1990 年代以降であるが (Yamada and Katsuya, 1995) , これまでに多様な菌種と宿主との関係が解明されている (例えば Yamada et al., 2001b, 2007; Endo et al., 2013, 2014, 2015) .

外生菌根の形態学的研究では、Masui (1927) による日本国内の多様な菌種に関する詳細な記載が知られる。その後は、Trappe (1967) による合成菌根に関する比較解析や、Chilvers (1968) や Dominik (1969) による詳細なタイプ分けが試みられた。1990 年代からは Agerer (1991) による菌種レベルの包括的な記載を目的とした研究が進展し、その後、分子同定を統合させた菌根の記載がなされるようになった。外生菌根の菌鞘や菌糸束を構成する菌糸体には菌種固有の特徴が見出される (例えば Agerer and Waller, 1993; Agerer et al., 1993, 1994, 1995, 1996a, b, c) . このため、子実体の形態に基づく分類形質の重要性と同様に、外生菌根の菌鞘や菌糸束を菌種や特定の分類群の分類形質として評価することが行われている (Agerer, 2001, 2006) . 例えば、*Russula* 属や *Tuber* 属は特有のシスチジアを形成し、*Tricholoma* 属や *Boletus* 属は多くの菌糸束を形成する。近年は、菌根性食用きのこの栽培化研究の中で、実験的に作出された外生菌根の発達状態や菌根の持続的定着を評価するため、自然条件下で形成された菌根との形態学的照合も取り組まれている。世界的に高い市場価値を持つ *Tuber* 属では 2000 年代から、実験条件下において作出された菌根の

形態比較がなされるようになった (Giomaro et al., 2000, 2005; Jeandroz et al., 2008) . その結果, 異なる宿主植物種の根系上に形成された外生菌根であっても, 共通した形態的特徴が見出されている (例えば Geng et al., 2009; Bonito and Smith, 2016; Obase, 2022; Huang et al., 2021) .

これまでに報告されている *Tricholoma* 属の外生菌根は, 一般的に白色で光沢を持つ外観とともに菌糸束が発達する. また, *T. saponaceum* など一部の菌種ではクランプコネクションを有し, 菌鞘の表層や内部には細胞外分泌物に由来すると考えられる結晶構造が観察されている (Yamada et al., 2001c) . *Tricholoma* 属の外生菌根の菌鞘を構成する菌糸配列パターンは一般的に Type B で, 菌糸束は Boletoid 型 (Type C もしくは Type E) を示す (Agerer, 1991) . 一方, *Tricholoma* 属の菌根合成では, マツタケに関して多くの研究事例が知られている (Yamada et al., 2022) . マツタケとアカマツの外生菌根に関する形態学的研究では, Masui (1927) による記載以降, 1980 年代までは新たな知見はあまり得られなかった (小川, 1978) . 1990 年代には自然条件下で形成された外生菌根と実験条件下での菌根合成された外生菌根の形態が詳細に観察された (Yamada et al., 1999a, b) . その後, マツタケの宿主範囲や宿主特異性に関する実験検証がなされるようになった (Yamada et al., 2010, 2014; Endo et al., 2015) . カキシメジ類に関する外生菌根の形態記載や菌根合成法に基づく実験解析は限られているが (Norkrans, 1949; Scheidegger and Brunner, 1993; Duñabeitia et al., 1996) , マツタケの外生菌根形態の比較検証として用いられた *T. matsushimeji* 培養株 (AT-0610 株) で, 外生菌根形成が報告されている (Yamada et al., 2010) .

本章では, 第 3 章にて確立されたカキシメジ類の培養株を用いてアカマツを宿主とする菌根合成実験を行い, カキシメジ類の形成する外生菌根の基本構造を明らかにすることを第一の目的とした. また, 菌根合成により作出された外生菌根とその順化後の菌根の比較, ならびに野外から採取した外生菌根との形態比較を行い, カキシメジ類の菌根形成に関する環境要因の影響を明らかにすることを第二の目的とした.

4-2. 材料と方法

4-2-1. 菌糸体接種源の調製

菌根合成に使用した分離株を表 4-1 に示す. 75 mL 容広口瓶に MNC 液体培地 10 mL を分注し, 高圧蒸気滅菌 (124 °C, 20 分間) を行い, クリーンベンチ内にて放冷した. MNC 寒天培地上で 1 ヶ月間培養した各菌株の菌糸体コロニーの周縁部より, 5 × 5 mm の菌糸体片を 5 片切り出し, 作製した MNC 液体培地に接種した. 20 °C 暗黒条件下で 1 ヶ月間培養し, 接種源を調製した.

表 4-1. *In vitro* 条件による菌根合成に用いた *Tricholoma* 種の菌株

種名	菌株番号	合成菌根の目的と用途	分離源の採取場所	林冠宿主 ¹
<i>T. kakishimeji</i>	TUA-67C	形態観察・量的評価	長野県中野市斑尾山	Fc, Qc
<i>T. kakishimeji</i>	TUA-75C	形態観察・量的評価	長野県飯綱町飯縄山山麓	Pa
<i>T. kakishimeji</i>	AT-0709	形態観察 (+5 章の実験)	長野県中川村	Qs
<i>T. kakishimeji</i>	TUA-133C	形態観察 (+5 章の実験)	鳥取県鳥取市大池	Qg, Qm
<i>T. kakishimeji</i>	TUA-125C	形態観察 (+5 章の実験)	長野県松本市旭	Pd
<i>T. stans</i>	TUA-34C	形態観察・量的評価	長野県川上村十文字峠	Td
<i>T. stans</i>	TUA-65C	形態観察・量的評価	長野県松本市乗鞍高原	Qc
<i>T. stans</i>	TUA-101C	形態観察 (+5 章の実験)	長野県小海町八ヶ岳	Td
<i>T. stans</i>	TUA-134C	形態観察 (+5 章の実験)	鳥取県鳥取市国府	Qg, Qm
<i>T. stans</i>	AT-0705	形態観察 (+5 章の実験)	長野県中川村	Qs
<i>T. matsushimeji</i>	TUA-78C	形態観察 (+5 章の実験)	長野県飯綱町飯縄山山麓	Pd
<i>T. matsushimeji</i>	AT-0610	形態観察・量的評価	茨城県常陸大宮市那珂	Pd
<i>T. matsushimeji</i>	TUA-118C	形態観察・量的評価	長野県中川村桑原	Pd
<i>T. matsushimeji</i>	TUA-127C	形態観察 (+5 章の実験)	鳥取県鳥取市鳥取砂丘	Pd
<i>T. kakishimejioides</i>	TaY20191104-101C	形態観察 (+5 章の実験)	奈良県橿原市橿原神宮	Qg
<i>T. kakishimejioides</i>	TUMH 62875	形態観察 (+5 章の実験)	鳥取県鳥取市橿原	Qg

¹Pd: *Pinus densiflora* (アカマツ), Pt: *P. thunbergii* (クロマツ), Pa: *Picea abies* (ドイツトウヒ), Td: *Tsuga diversifolia* (コメツガ), Fc: *Fagus crenata* (ブナ), Qs: *Quercus serrata* (コナラ), Qc: *Q. crispula* (ミズナラ), Qg: *Q. glauca* (アラカシ), Qm: *Q. myrsinifolia* (シラカシ).

4-2-2. 土壌の調製

信州大学農学部手良沢山演習林において風化花崗岩質の B 層土壌を採取し、天日乾燥した。乾燥土壌 6 L に滅菌蒸留水 1.5 L を加え、相対含水率を 75% に調整したのち、250 mL 容のキャップ付きポリカーボネート製広口円筒容器 (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA ; 以下, PC ボトルと表記) に 125 mL (約 200 g) 詰めた。蓋には培養 UM サンプル瓶 200 mL 用 (アズワン ; 大阪) の中央に 5 mm 径の穴をあけ、ミリシール (Hydrophobic Fluoropore Membrane, Merck ; Darmstadt, ドイツ) を貼り付けたものを高圧蒸気滅菌 (124 °C, 120 分間) して使用した。

4-2-3. アカマツ種子の無菌発芽

菌根合成の宿主植物として、冷蔵保存していたアカマツ種子 (長野県中箕輪産 ; 長野県林業総合センターより分譲) を用いた。種子の表面殺菌操作は Yamada et al. (1999a, b) を参考に行った。表面殺菌した種子を滅菌蒸留水中に移して 1 日給水させた後、MNC 寒天培地上に移して密閉し、20 °C 下で 1 週間ほどかけて発芽させた。

4-2-4. 菌根合成

クリーンベンチ内において、上記 4-2-1 で調製した培養瓶 1 本分の菌糸体をピンセットで 5 片に細断し、上記 4-2-2 で調製した土壌の底部より約 2.5 cm の位置にそれぞれ接種した。土壌上面の中心部に、上記 4-2-3 で無菌発芽させたアカマツ苗 1 本を植え付け、蓋と容器の隙間をリケンテープで密閉した。苗は、20 °C, 光量子密度 140 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ の 24 時間明期に設定したインキュベーター内 (FLI-2010, 東京理科器械株式会社 ; 東京) で、約 6 ヶ月間培養した。培養開始から 1

ヶ月間隔で培養容器の総重量を計測し、培養初日との重量差に相当する滅菌蒸留水をクリーンベンチ内で無菌的に灌水した。

4-2-5. 苗の回収と観察・計測

6ヶ月間の培養了後、培養容器より苗を取り出し、根系第一分岐点で切断して地上部と根系に分けた。地上部は基部から第一子葉までの幹部と第一子葉から頂芽までの葉茎に分け、定規を用いて長さを計測した。根系は実体顕微鏡下にて、シャーレ上にて水道水を用いて菌糸が剥がれないように丁寧に洗浄し、土壌を十分に取り除いた後、菌根数を計測した。菌根長ならびに全根長は、山田（2001）を参考に行った。菌根長の測定には根系の全量を、全根長の測定には根系の4分の1量を用いた。計測後、地上部および根系を60℃で24時間以上送風乾燥し、電子天秤で重量を計測した。また、菌根の一部は実体顕微鏡下でカミソリを用いて切片を作製し、乳酸で封入しプレパラートを作製した。微分干渉顕微鏡を用いて（第2章参照）、Yamada et al. (1999a, b) ならびに Gill et al. (1999) を参考に菌糸束、菌鞘構造およびハルティヒネットについて観察した。菌鞘構造や菌糸束の構造は Agerer (2001, 2006) を参考に記載した。

上記操作で得られた計測値をもとに、地上部重量（幹重+葉茎重）、実生総重量（幹重+葉茎重+根重）、菌根化率（菌根長/根長×100）、SR比（地上部重量/根重）を算出した。これらの数値を菌種間、種内の菌株間で一元配置分散分析（Excel 2019）により比較した。有意差検定には Tukey post hoc test ($P<0.05$) を用い、必要に応じて t 検定 ($P<0.05$) も用いた。

4-2-6. 菌根苗の室内順化

菌根合成した苗（表 4-1）の一部について、室内環境下（非無菌的環境下）で6ヶ月間養苗を継続した。月毎に培養容器全体の重量を測定し、減少分に相当する滅菌蒸留水を灌水した。養苗期間終了後に容器を開封し、苗の根系を水道水で洗い流した後、バット上で筆やピンセットを用いて菌根根系から土壌を丁寧に取り除いた。得られた外生菌根の一部について、薄切片を作製し顕微鏡観察（4-2-5 参照）に用いた。

4-2-7. 野外採取したカキシメジ類外生菌根の形態観察

カキシメジ類の子実体直下の土壌を5×5×5cmの大きさに掘り出し、その日のうちに土壌から根系を洗い出した。実体顕微鏡下にて、白色外観を呈して菌糸束を発達させ *Tricholoma* 属と推定される外生菌根を回収した。その後、微分干渉顕微鏡下での形態観察と DNA 分析による植物種と菌種の同定を行った。植物種の同定には葉緑体関連遺伝子の *rbcL* および *matK* を用い（Kress and Erickson, 2007; 表 4-2）、菌種の同定には nuc rDNA ITS 領域（ITS1F/ITS4B）を用いた（Gardes and Bruns, 1993; 第2章参照）。それぞれの DNA 領域について塩基配列を決定し、相同性検索により種を同定した。

表 4-2. 植物種同定に用いたプライマー

標的領域	プライマー名	配列 (5'→3')	Tm 値 (°C)
<i>rbcL</i>	rbcLa_F	ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC	57
	rbcLa_R	GTAAAATCAAGTCCACCRG	53
<i>matK</i>	3F_KIM	CGTACAGTACTTTTGTGTTTACGAG	54
	1R_KIM	ACCCAGTCCATCTGGAAATCTTGGTTC	60

4-3. 結果

4-3-1. 菌根合成により形成されたカキシメジ類の外生菌根

アカマツを宿主とするカキシメジ類 4 種の外生菌根は、いずれも二叉分岐、白色で光沢を有し、綿状の菌糸束を発達させていた（図 4-1A, F, K, P）。このうち *T. kakishimeji* と *T. kakishimejioides* では、皮層部の黒色化（carbonization）が観察された（図 4-1A, P）。菌鞘は複数の細胞層に分化しており、最外層と最内層は菌糸型組織（plectenchyma）、その間（内層）では細胞壁が肥厚し部分的に擬柔組織（pseudoparenchyma）が発達していた（図 4-1C, D, H, I, M, N, R）。しかし、*T. kakishimejioides* では菌鞘組織の発達が弱く、層分化は確認できなかった（図 4-1R）。また、菌鞘組織内には、しばしば結晶構造が観察された（図 4-1C, D, H, I, M, N）。ハルティヒネットは、*T. kakishimeji*, *T. stans*, *T. matsushimeji* の 3 種ではアカマツ皮層細胞間隙全体に発達していたが（図 4-1B, G, L）、*T. kakishimejioides* では皮層表層への侵入にとどまる傾向にあった（図 4-1Q）。これら 4 種の外生菌根の形態的特徴を表 4-3 に示した。

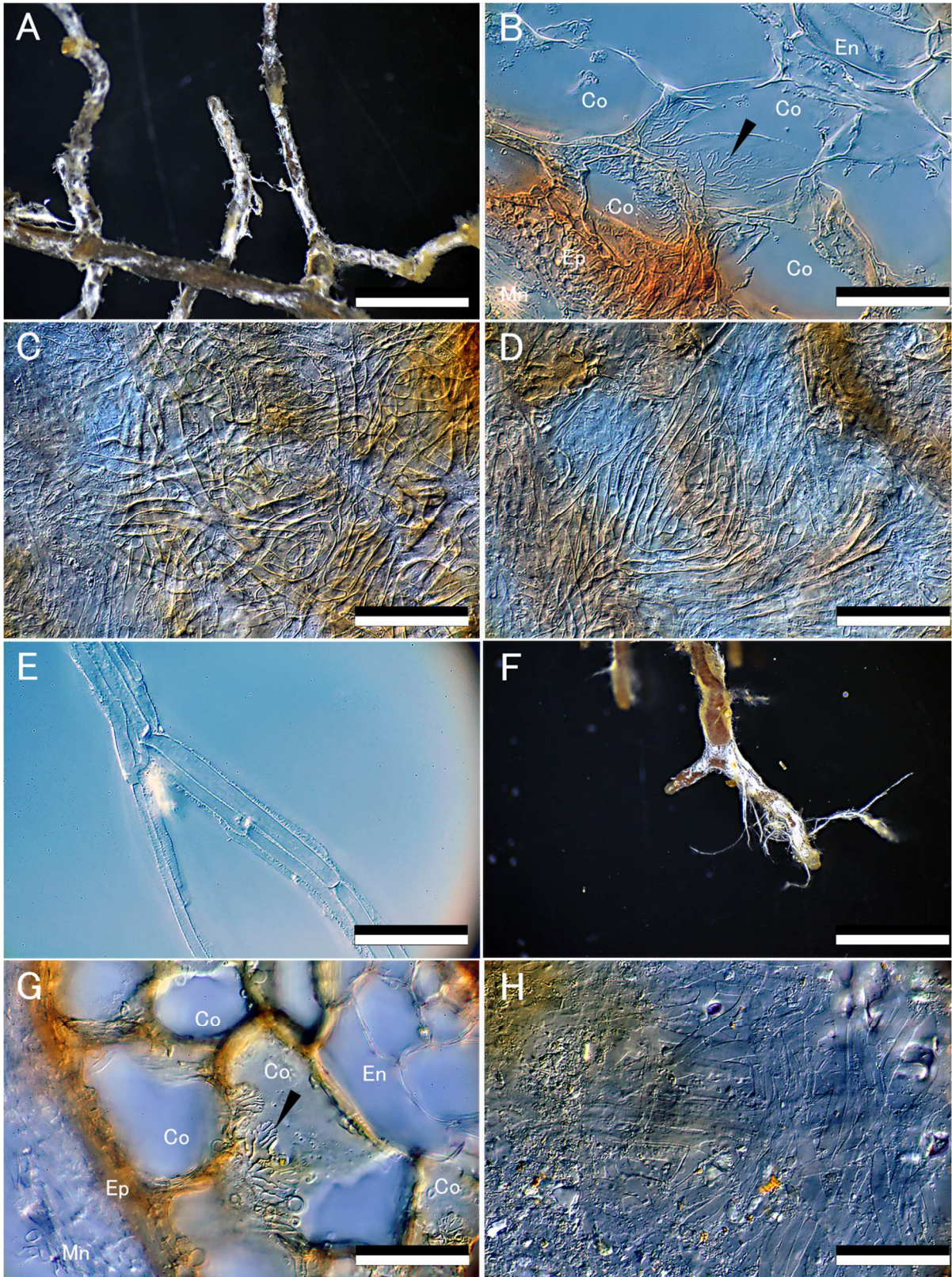


図 4-1. 菌根合成によりアカマツ根系上に形成された外生菌根. *T. kakishimeji* TUA-125C (A-E), *T. stans* TUA-101C (F-H). A, F: 外生菌根外観, B, G: 菌根横断面 (Mn: 菌鞘, Ep: 表皮細胞, Co: 皮層細胞, En: 内皮細胞. 矢印はハルティヒネットを示す), C, H: 菌鞘外層, D: 菌鞘内層, E: 菌糸束. Bar = A, F: 1 mm; B-E, G, H: 10 μ m.

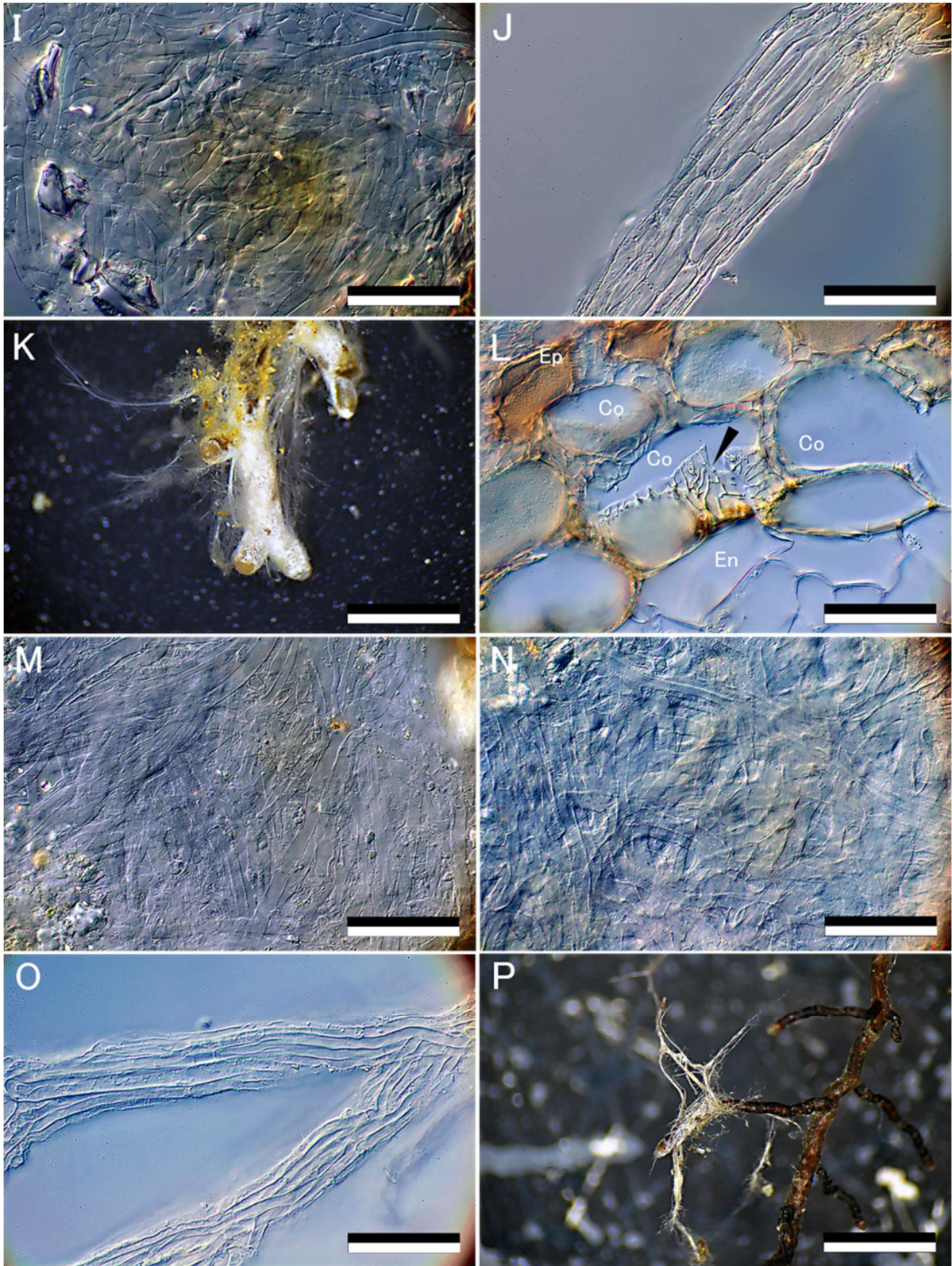


図 4-1. (続き). *T. stans* TUA-101C (I, J), *T. matsushimeji* TUA-127C (K–O), *T. kakishimejioides* TaY20191104-001C (P): K, P: 外生菌根外観, L: 菌根横断面とハルティヒネット (Mn: 菌鞘, Ep: 表皮細胞, Co: 皮層細胞, En: 内皮細胞. 矢印はハルティヒネットを示す), M: 菌鞘外層, I, N: 菌鞘内層, J, O: 菌糸束. Bar = K, P: 1 mm; I, J, L–O: 10 μ m.

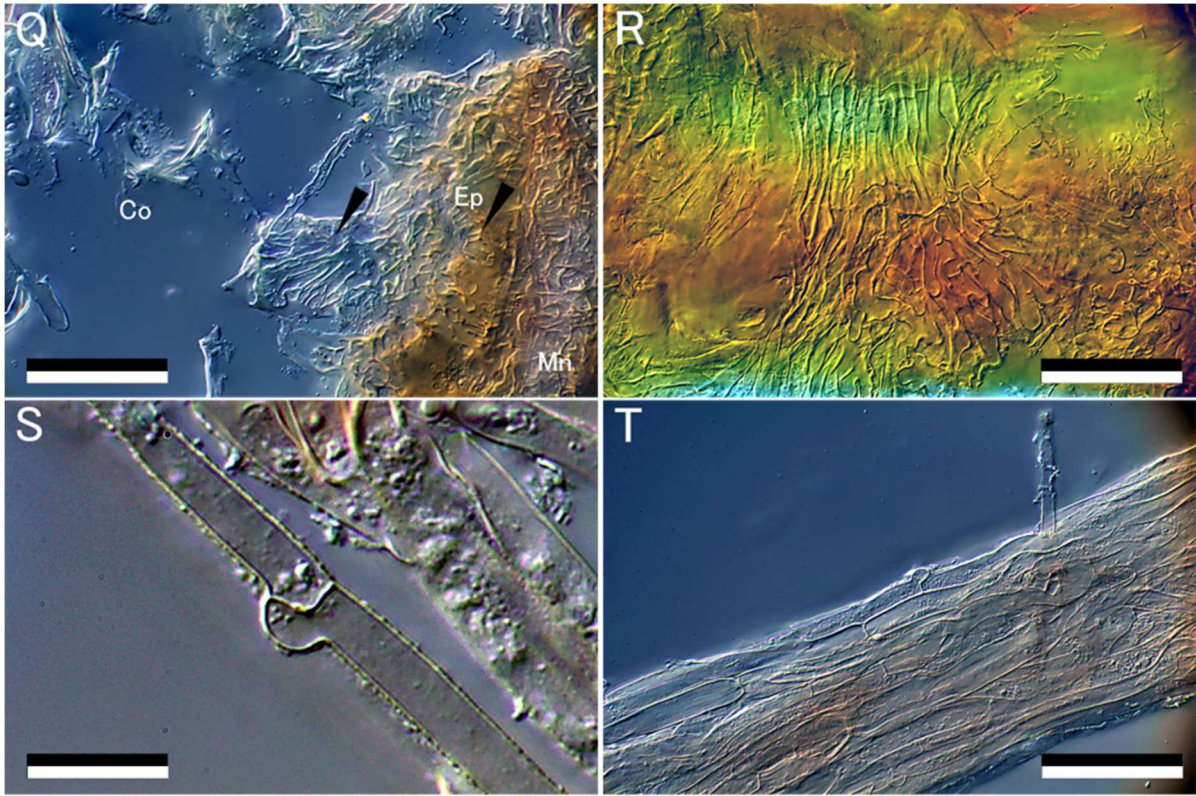


図 4-1. (続き). *T. kakishimejioides* TaY20191104-001C (Q-T): Q, 菌根横断面とハルティヒネット (Mn: 菌鞘, Ep: 表皮細胞, Co: 皮層細胞, En: 内皮細胞. 矢印はハルティヒネットを示す), R: 菌鞘外層, S: *T. kakishimejioides* 上のクランプコネクション形態, T: 菌糸束. Bar = Q, R, T: 10 μ m, S: 5 μ m.

表 4-3. 菌根合成により形成された *Tricholoma* 属 4 種の外生菌根形態の比較

種名	<i>T. kakishimeji</i>	<i>T. stans</i>	<i>T. matsushimeji</i>	<i>T. kakishimejioides</i>
外観	2.8–4.5 $\times$ 0.3–0.4 mm, 白色, 光沢, 二叉分岐, 円柱状; 菌糸束は多数, 膜状に広がり, 白色; 菌根は黒色化する.	2.1–3.3 $\times$ 0.3 mm, 白色, 光沢, 二叉分岐, 円柱状; 菌糸束は多数, 白色.	0.9–4.7 $\times$ 0.2–0.4 mm, 白色, 光沢, 二叉分岐, 円柱状; 菌糸束は多数, 毛状, 白色.	0.5–5.5 $\times$ 0.2–0.4 mm, 白色, 光沢, 二叉分岐, 円柱状; 菌糸束は多数, 白色; 菌根は黒色化する.
ハルティヒネット	幅 1.0–1.4 μ m, 細胞壁厚は 0.2–0.4 μ m.	幅 1.1–2.1 μ m, 細胞壁厚は 0.3–0.5 μ m.	幅 1.2–2.6 μ m, 細胞壁厚は 0.3–0.7 μ m.	幅 0.7–2.2 μ m, 細胞壁厚は 0.2–0.4 μ m.
菌鞘	厚さ 17.4–27.8 μ m, 不規則に並ぶ (Type B); 外層を構成する菌糸は平滑, 幅 2.8–4.5 μ m, 細胞壁厚は 0.2–0.3 μ m. 内層菌糸は幅 2.2–4.0 μ m, 細胞壁厚は 0.3–0.5 μ m.	厚さ 17.5–34.8 μ m, 不規則に並ぶ (Type B); 外層を構成する菌糸は平滑, 幅 2.7–4.4 μ m, 細胞壁厚は 0.2–0.3 μ m; 内層菌糸は幅 2.7–4.4 μ m, 細胞壁厚は 0.3–0.5 μ m. 細胞外に結晶を有する.	厚さ 23.3–27.2 μ m, 不規則に並ぶ (Type B); 外層を構成する菌糸は平滑, 幅 2.6–5.0 μ m, 細胞壁厚は 0.2–0.3 μ m; 内層菌糸は幅 2.1–6.1 μ m, 細胞壁厚は 0.3–0.7 μ m. 細胞外に結晶を有する.	厚さ 17.0–33.1 μ m, 不規則に並ぶ (Type B); 菌鞘を構成する菌糸は平滑, 幅 2.2–4.3 μ m, 細胞壁厚は 0.3–0.5 μ m.
菌糸束	クランプコネクションを欠く (Type C). 中心菌糸は幅 3.8–5.4 μ m, 細胞壁厚は 0.2–0.3; 外周菌糸は幅 2.8–5.2 μ m, 円柱状, 平滑, 細胞壁厚は 0.1–0.3 μ m.	クランプコネクションを欠く (Type C). 中心菌糸は幅 4.7–5.5 μ m, 細胞壁厚は 0.2–0.4 μ m; 外周菌糸は幅 2.2–5.5 μ m, 円柱状, 平滑, 細胞壁厚は 0.3–0.4 μ m.	クランプコネクションを欠く (Type C). 中心菌糸は幅 3.2–5.6 μ m, 細胞壁厚は 0.2–0.4 μ m; 外周菌糸は幅 2.2–3.6 μ m, 円柱状, 平滑, 細胞壁厚は 0.2–0.3 μ m.	クランプコネクションを有す (Type C). 中心菌糸は幅 4.7–6.5 μ m, 細胞壁厚は 0.3–0.5 μ m; 外周菌糸は幅 2.4–5.0 μ m, 円柱状, 平滑, 細胞壁厚は 0.2–0.5 μ m.

4-3-2. 外生菌根の形成量

アカマツ実生の根系上に形成された外生菌根の根端数は *T. matsushimeji* AT-0610 株で平均値が最大, *T. kakishimeji* TUA-75C 株において有意に多く, 菌根化率は *T. matsushimeji* AT-0610 および TUA-78C の両株で有意に大きかった. 菌根長は *T. matsushimeji* AT-0610 が有意に大きく, *T. stans* では有意に低かった. 総根長は *T. matsushimeji* が低い傾向にあったが, 有意差はなかった (表 4-3). *T. kakishimejioides* は *T. kakishimeji* や *T. matsushimeji* と比較して菌根形成数が有意に少なく, 全菌種中で最少であった.

菌根数と菌根化率の値はともに *T. matsushimeji* と *T. kakishimeji* で有意に大きかった. *T. stans* については有意に菌根化率が低い傾向にあった. また総根長は *T. matsushimeji* が最も短い傾向にあった. 菌根化率では, *T. matsushimeji* が有意に高く, 次いで *T. kakishimeji*, *T. stans* が有意に低い菌根化率を示した (表 4-4).

表 4-4. *In vitro* 条件下のアカマツ苗に対する菌根形成状況

種名 ¹	培養株	反復	菌根数 ²	S ³	菌根長 (cm)	S	総根長 (cm)	S	菌根化率 (%)	S
<i>T. k.</i>	TUA-67C	3	72.0 (28.4)	abc	23.6 (9.6)	ab	88.6 (33.6)	a	25.0 (5.4)	abc
	TUA-75C	3	63.3 (23.8)	abc	18.5 (8.9)	ab	125.0 (12.9)	a	14.6 (6.1)	bc
<i>T. s.</i>	TUA-34C	2	15.0 (7.3)	bc	4.7 (2.6)	ab	115.1 (40.2)	a	3.7 (1.0)	c
	TUA-65C	3	19.6 (14.7)	c	4.6 (3.5)	b	99.4 (23.4)	a	5.8 (4.2)	c
<i>T. m.</i>	AT-0610	3	104.1 (14.2)	a	30.1 (6.4)	a	96.6 (13.7)	a	31.0 (4.6)	ab
	TUA-78C	3	96.0 (19.8)	ab	29.2 (6.0)	ab	80.1 (17.2)	a	36.5 (2.4)	a
<i>T. ko.</i>	TaY20191104-101	2	6.0 (3.0)	c	-	-	-	-	-	-

¹ *T. k.*: *Tricholoma kakishimeji*, *T. s.*: *T. stans*, *T. m.*: *T. matsushimeji*, *T. ko.*: *T. kakishimejioides*.

² 数値は, 宿主植物 1 本あたりの平均値 (標準誤差) を示す.

³ 異なるアルファベットは株間における平均値が有意に異なることを示す.

4-3-3. 室内順化した菌根苗における菌根形成状況

室内順化した菌根苗では, *T. kakishimeji*, *T. stans*, *T. matsushimeji* の 3 種は外生菌根を維持したが, *T. kakishimejioides* は外生菌根が消失した. *Tricholoma kakishimeji*, *T. stans* および *T. matsushimeji* の外生菌根は, いずれも二叉分岐し, 白色で光沢を有する外観を呈し, 菌糸束を多数発達させていた (図 4-2A, F, K, P). このうち *T. matsushimeji* と *T. kakishimeji* では, 皮層部の黒色化が確認された (図 4-2A, K). いずれの菌種でも菌鞘は複数の菌糸層に分化しており, 最外層と最内層は菌糸型組織 (plectenchyma), その間 (内層) では細胞壁が肥厚し部分的に偽柔組織 (pseudoparenchyma) が発達していた (図 4-2C, D, H, I, M, N). また, 菌鞘組織内には, しばしば結晶構造が観察された (図 4-2C, D, H, I, M, N). ハルティヒネットは, 皮層細胞間隙全体で内皮細胞との境界まで発達していた (図 4-2B, G, L). これら 3 菌種の外生菌根の形態的特徴は表 4-5 に示した.

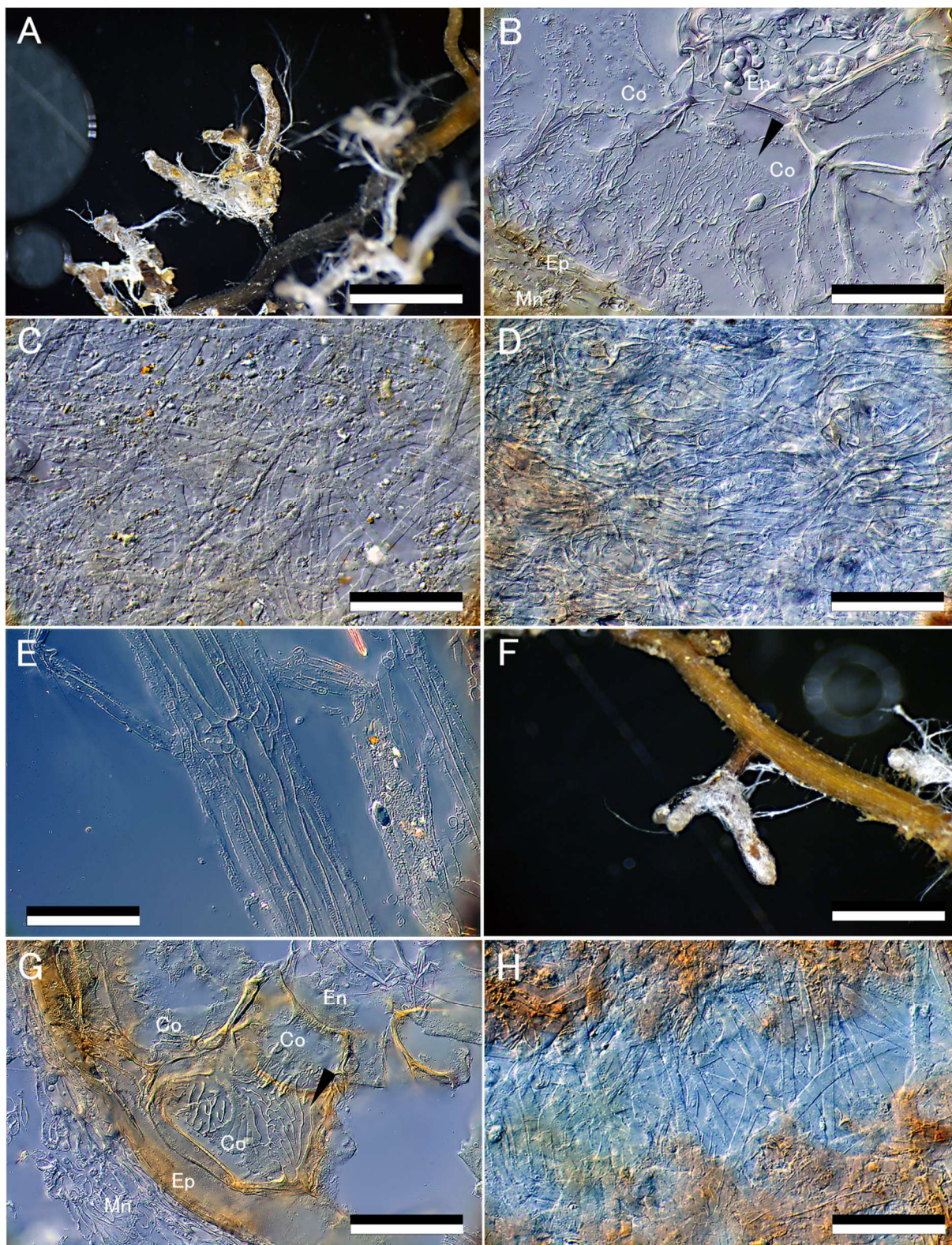


図 4-2. 室内順化条件下でアカマツ上に形成された外生菌根. *Tricholoma kakishimeji* TUA-125C (A-E), *T. stans* TUA-101C (F-H). A, F: 外生菌根外観, B, G: 菌根横断面とハルティヒネット (Mn: 菌鞘, Ep: 表皮細胞, Co: 皮層細胞, En: 内皮細胞. 矢印はハルティヒネット), C, H: 菌鞘外層, D: 菌鞘内層, E: 菌糸束. Bar = A, F: 1 mm, B-E, G, H: 10 μ m.

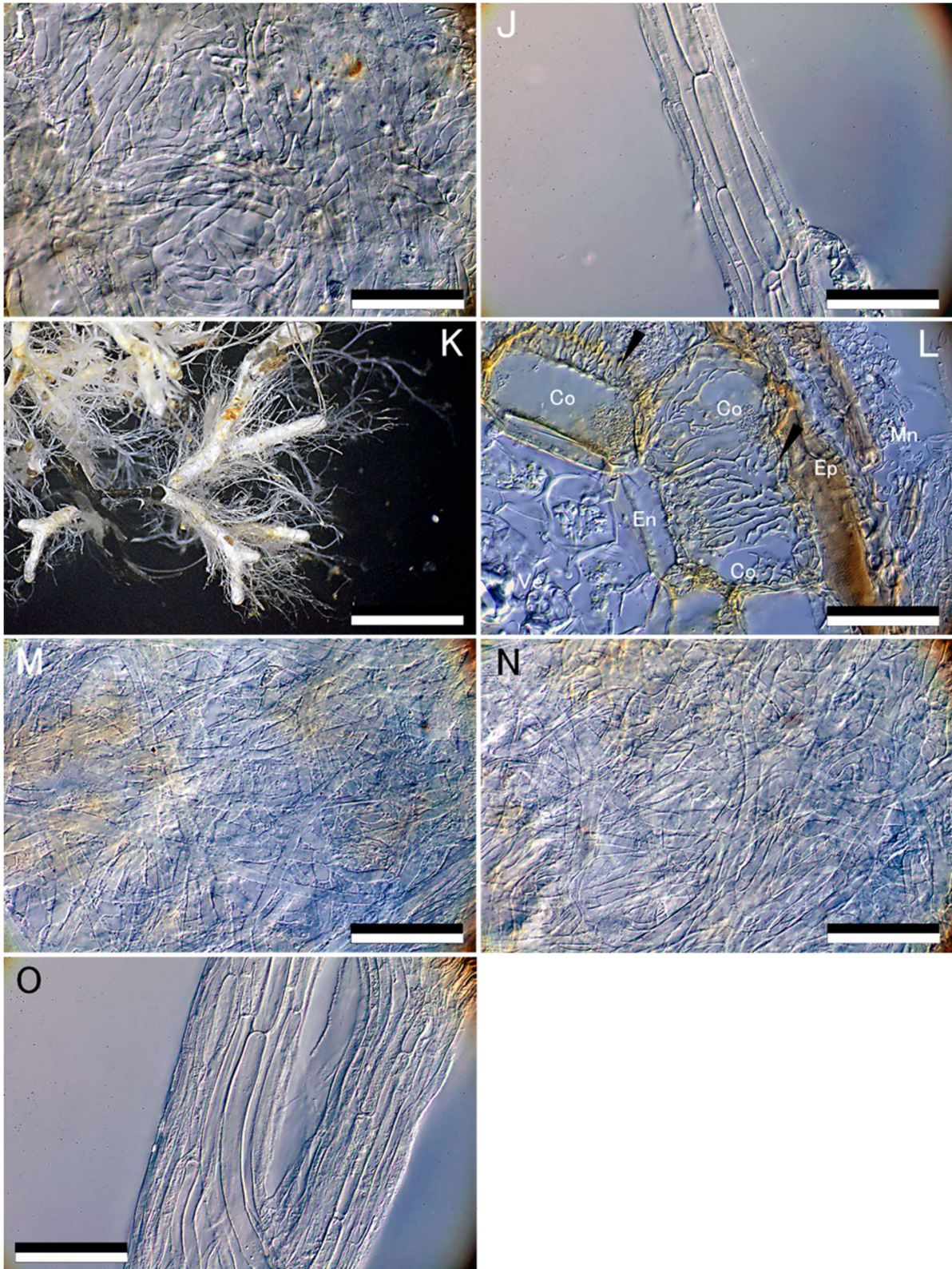


図 4-2. (続き). *T. stans* TUA-101C (I, J), *T. matsushimeji* TUA-127C (K–O). K: 外生菌根外観, L: 菌根横断面とハルティヒネット (Mn: 菌鞘, Ep: 表皮細胞, Co: 皮層細胞, En: 内皮細胞. 矢印はハルティヒネット), M 菌鞘外層, I, N: 菌鞘内層, J, O: 菌糸束. Bar = K: 1 mm, I, J, L–O: 10 μ m.

表 4-5. 室内順化条件下でアカマツ上に形成された外生菌根の形態比較

種名	<i>T. kakishimeji</i>	<i>T. stans</i>	<i>T. matsushimeji</i>
外観	1.6–2.5 × 0.2–0.3 mm, 白色, 光沢, 二叉分岐, 円柱状または多少ねじれる; 菌糸束は多数, 白色. 一部の菌根は黒色化.	0.6–2.9 × 0.2–0.3 mm, 白色, 光沢, 二叉分岐, 円柱状; 菌糸束は多数, 白色.	0.5–2.3 × 0.2–0.4 mm, 白色, 光沢, 二叉分岐, 円柱状; 菌糸束は多数, 白色. 一部の菌根は黒色化.
ハルデ イヒネ ット	幅 1.0–2.4 μm, 皮層細胞に広がり, 内皮細胞まで至る, 細胞壁厚は 0.3–0.5 μm.	幅 0.9–2.2 μm, 皮層細胞に広がり, 菌糸は内層細胞に至る, 細胞壁厚は 0.3–0.5 μm.	幅 1.3–2.9 μm, 皮層細胞に広がり, 内皮細胞まで至る, 細胞壁厚は 0.2–0.4 μm.
菌鞘	厚さ 11.0–37.0 μm, 不規則に並ぶ (Type B); 最外層では, 菌糸は平滑, 幅 2.2–4.2 μm, 細胞壁厚は 0.2–0.4 μm; 内層は平滑, 幅 3.1–4.8 μm, 細胞壁厚は 0.4–0.7 μm.	厚さ 6.2–31.4 μm, 不規則に並ぶ (Type B); 最外層では, 菌糸は平滑, 幅 2.1–4.2 μm, 細胞壁厚は 0.2–0.3 μm; 内層は平滑, 幅 2.6–5.6 μm, 細胞壁厚は 0.3–0.6 μm.	厚さ 19.0–39.3 μm, 不規則に並ぶ (Type B); 最外層では, 菌糸は平滑, 幅 2.8–3.9 μm, 細胞壁厚は 0.2–0.3 μm; 内層は平滑, 幅 2.5–4.1 μm, 細胞壁厚は 0.3–0.7 μm.
菌糸束	細胞幅の異なる菌糸から構成, 隔壁は欠失せず, クランプコネクションを欠く (Type E); 中心菌糸は幅 6.4–7.3 μm, 細胞壁厚は 0.2–0.5 μm; 外周菌糸幅は 0.9–4.1 μm, 円柱状, 平滑, 細胞壁厚は 0.3–0.4 μm.	細胞幅の異なる菌糸から構成, 隔壁は欠失せず, クランプコネクションを欠く (Type E); 中心菌糸は幅 3.6–6.5 μm, 細胞壁厚は 0.3–0.4 μm; 外周菌糸幅は 2.1–6.5 μm, 円柱状, 平滑, 細胞壁厚は 0.3–0.4 μm.	細胞幅の異なる菌糸から構成, 隔壁は欠失せず, クランプコネクションを欠く (Type E); 中心菌糸は幅 4.5–6.3 μm, 細胞壁厚は 0.3–0.5 μm; 外周菌糸幅は 1.9–3.9 μm, 円柱状, 平滑, 細胞壁厚は 0.2–0.4 μm.

4-3-4. 室内順化菌根苗のもとで発生した *T. kakishimeji* の子実体

TUA-133C 株を用いたアカマツ菌根苗で, 室内順化 4 ヶ月の時点で, 菌核様の菌糸塊が 1 つ観察され, その上に 1 本の小さな子実体が観察された (Fig. 4-3A, B). 子実体は菌核様の菌糸塊から発生しており, 傘, 柄およびひだの分化が観察された (Fig. 4-3C–E). 菌核様菌糸塊の直径は約 5 mm, 子実体の傘直径は約 2 mm だった. 傘の形態は赤褐色から褐色, 柄は褐色から淡褐色, ヒダは白色でやや疎だった. 担子胞子形成も観察され, 4.0–4.3–4.8 × 2.8–3.1–3.9 μm, Q 値は 1.3–1.4–1.6, 楕円形, 細胞壁は薄く, 平滑, 細胞内に一個もしくは複数の油滴構造が認められる (Fig. 4-3F). また, 担子器も観察され, 内部に複数の油滴構造がみられた (Fig. 4-3G). 菌核は球形で, 外観は赤褐色から褐色で, 中空だった. 菌糸束は白色で, 外生菌根と接続していた (Fig. 4-3C, E).

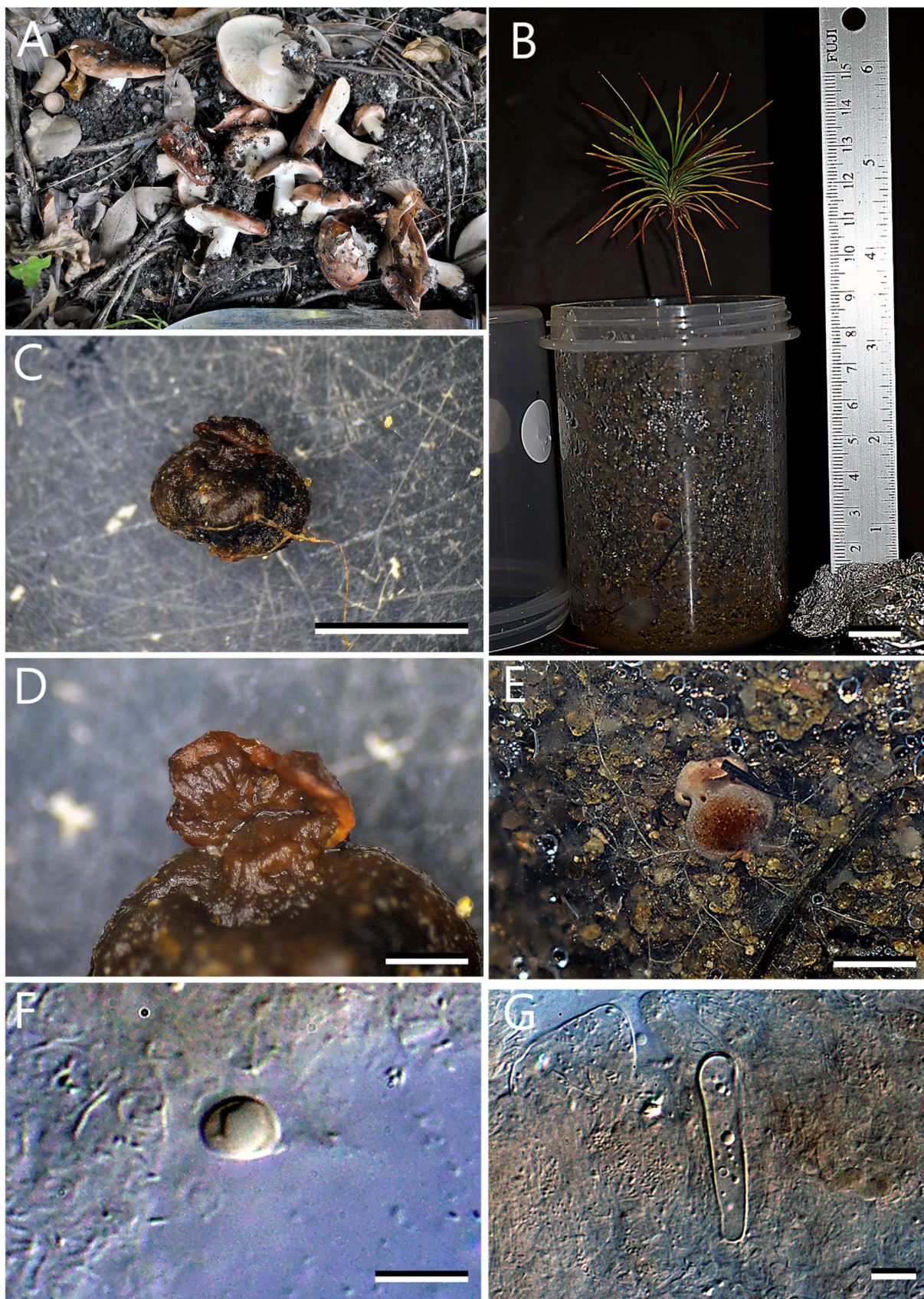


図 4-3. *T. kakishimeji* TUA-133C 感染苗 に形成された子実体と菌核の構造. A: TUA-133 子実体外観, B: TUA-133C 苗と形成された子実体の外観, C: 子実体および子実体外観, D: 菌核上に形成された子実体と子実層, E: B の拡大図, F: 子実体に形成された孢子, G: 若い担子器. Bar = B: 10 mm; C, E: 5 mm; D: 1 mm; F, G: 5 μ m.

4-3-5. 野外で採取されたカキシメジ類の外生菌根

野外で採取した菌根 6 試料が，DNA 分析によりカキシメジ類と同定された（表 4-6）．

コナラ属上に形成された *T. kakishimeji* の外生菌根（#TUA-165-root）は，樹枝状に分岐し，菌鞘は白色で光沢を有し，多数の菌糸束が観察された（図 4-4A）．スダジイ上の外生菌根（#211026; 図 4-4A）も同様の形態を示した．どちらの菌根も黒色化は観察されなかった．菌鞘は最外層と内層菌で菌糸が不規則に交差し（Type B），結晶構造が確認され，内層菌糸は細胞壁が厚かった（図 4-4C, D）．ハルティヒネットは皮層と内層の境界まで達していた（図 4-4B）．菌糸束の中心には細胞幅の大きい菌糸が存在し，その周囲を細胞幅の小さい菌糸が取り巻き，Boletoid 様の構造を呈したが，前者の菌糸隔壁は消失していなかった（図 4-4E）．

シラカンバの細根上に形成された *T. stans* の外生菌根（#211014-004）は，単軸で分岐せず，菌鞘は白色で光沢があり，多数の菌糸束が観察され，菌根の黒色化も観察された（図 4-4F）．ハルティヒネットは皮層と内層の境界まで達していた（図 4-4G）．菌鞘は最外層と内層の菌糸ともに不規則に交差し（Type B），結晶構造が確認され，内層菌糸は細胞壁が厚かった（図 4-4H, I）．菌糸束の中心には細胞幅の大きい菌糸が存在し，その周囲を幅の小さい菌糸が取り巻き，Boletoid 様を呈し，前者の菌糸隔壁は消失していなかった（図 4-4J）．

クロマツの細根上に形成された *T. matsushimeji* の外生菌根（#SuR20211219-004）は，二叉分岐し，菌鞘は白色で光沢があり，多数の菌糸束が観察され，菌根の黒色化が見られた（図 4-4K）．ハルティヒネットは皮層と内層の境界まで発達していた（図 4-4M, L）．菌鞘は最外層と内層菌糸ともに菌糸が不規則に交差し（Type B），結晶構造が確認され，内層菌糸は細胞壁が厚かった（図 4-4N）．菌糸束の中心には細胞幅の大きい菌糸が存在し，その周囲を幅の小さい菌糸が取り巻き，Boletoid 様を呈し，前者の菌糸隔壁は消失していなかった（図 4-4O）．

これら 3 菌種 5 試料の外生菌根の形態的特徴は表 4-7 に示した．

表 4-6. 野外より採取されたカキシメジ類の外生菌根

種名	菌根試料	採取場所	宿主植物 ¹	<i>rbcL</i>	<i>matK</i>
<i>T. kakishimeji</i>	#TUA-165-root	新潟県糸魚川市美山公園	<i>Castanopsis sieboldii</i> (スダジイ) ²	○	○
	#211026	北海道帯広市明野ヶ丘公園	<i>Quercus</i> sp. (コナラ属)	○	○
<i>T. stans</i>	#TUA-34-root	長野県川上村十文字峠	<i>Tsuga diversifolia</i> (コメツガ)	○	-
	#211014-004	長野県松本市乗鞍高原	<i>Betula platyphylla</i> var. <i>japonica</i> (シラカンバ)	-	○
	#211014-006	長野県松本市乗鞍高原	<i>Q. crispula</i> (ミズナラ)	○	○
<i>T. matsushimeji</i>	#SuR20211219-004	鳥取県鳥取市浜坂	<i>Pinus thunbergii</i> (クロマツ)	○	-

○: 増幅した配列

¹*rbcL* もしくは *matK* 遺伝子による BLAST 同定結果を参照．

²BLAST の結果 *Castanopsis* sp. として同定されたが，標本データを加味して同定．

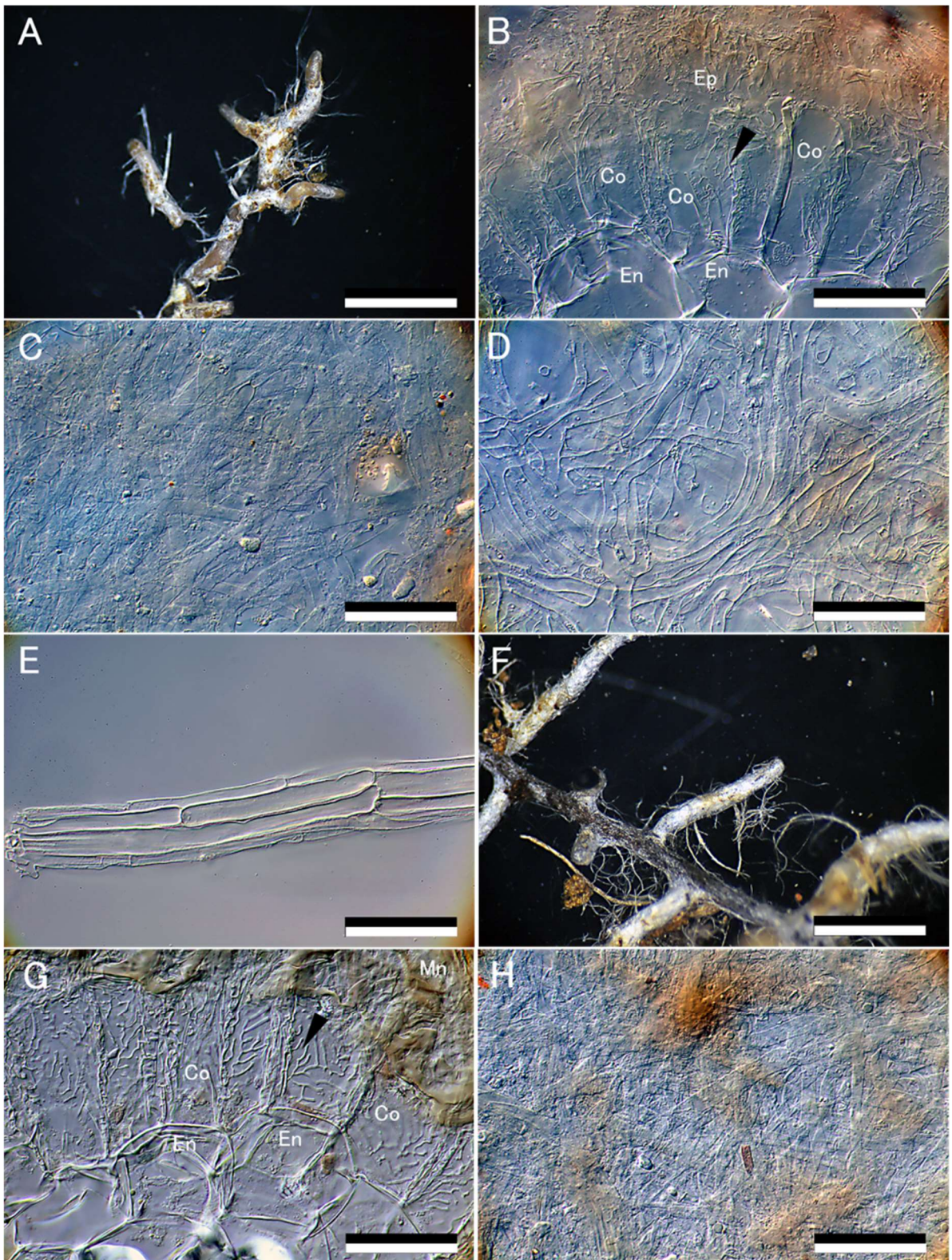


図 4-4. 野外土壌試料より採取されたカキシメジ類の外生菌根. *Tricholoma kakishimeji* × コナラ属の菌根試料#211026 (A-E), *T. stans* × シラカンバの菌根試料#211014-004 (F-H). A, F: 外生菌根外観, B, G: 菌根横断面とハルティヒネット (Ep: 表皮細胞, Co: 皮層細胞, En: 内皮細胞. 矢印はハルティヒネットを示す), C, H: 菌鞘外層, D: 菌鞘内層, E: 菌糸束. Bar = A, F: 1 mm; B-E, G, H: 10 μ m.

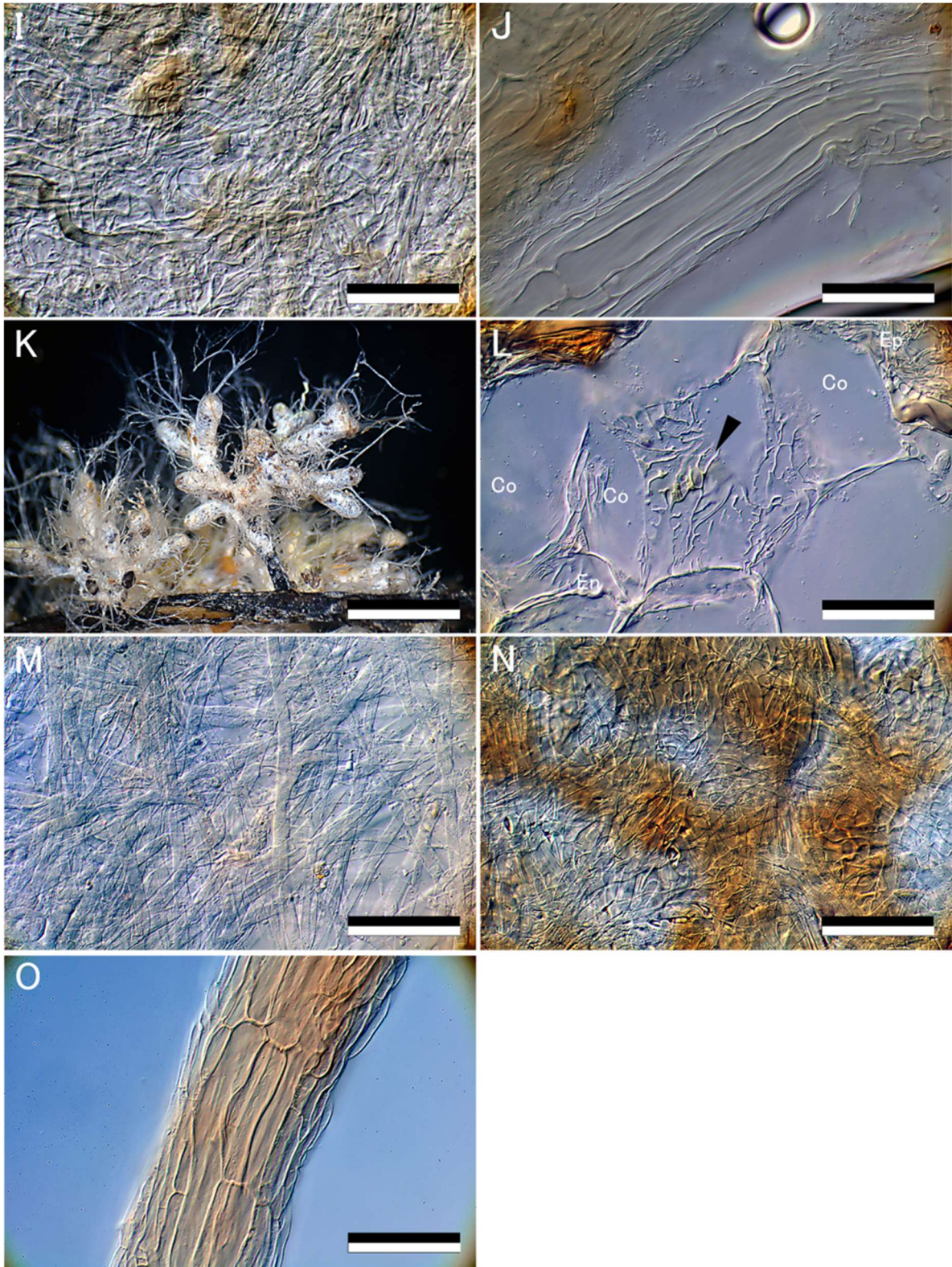


図 4-4. (続き). *T. stans* × シラカンバの菌根試料#211014-004 (I, J), *T. matsushimeji* × クロマツの菌根試料#SuR20211219-004 (K–O). K: 外生菌根外観, L: 菌根横断面とハルティヒネット (Ep: 表皮細胞, Co: 皮層細胞, En: 内皮細胞. 矢印はハルティヒネットを示す), M: 菌鞘外層, I, N: 菌鞘内層, J, O: 菌糸束. Bar = K: 1 mm; I, J, L–O: 10 μ m.

表 4-7. 野外採取した *Tricholoma* 属の菌根形態と宿主との関係

形態	<i>T. kakishimeji</i>		<i>T. stans</i>		<i>T. matsushimeji</i>
	#211026 (コナラ属)	#TUA-165-root (スダジイ)	#211014-004 (シラカンバ)	#211014-006 (ミズナラ)	#SuR20211219-004 (クロマツ)
外観	1.2–4.5 × 0.3–0.5 mm, 白色, 光沢, 枝状分岐または分岐なし, ねじれて伸び円柱状; 菌糸束多数, 白色.	0.9–1.5 × 0.3 mm, 白色, 光沢あり, 二叉分岐, 真っすぐ伸び円柱状; 菌糸束多数, 白色.	0.9–3.6 × 0.2–0.3 mm, 白色, 光沢あり, 枝状に分岐または分岐なし, 真っすぐ伸び円柱状; 菌糸束多数, 白色; 菌根は黒色化.	0.2–0.3 × 0.5–0.9 mm, 白色, 光沢あり, 枝状に分岐, 円柱状; 菌糸束は多数形成され, 白色; 菌根は黒色化.	0.4–1.1 × 0.2–0.3 mm, 白色, 光沢があり, 二叉分岐, 真っすぐ伸び円柱状; 菌糸束は多数, 白色; 菌根は黒色化.
ハルティヒネット	皮層全体に広がり内皮細胞に至る, 菌糸幅 2.6–5.0 μm, 細胞壁厚は 0.3–0.4 μm.	皮層全体に広がり内皮細胞に至る, 菌糸幅 0.9–1.8 μm, 細胞壁厚は 0.2–0.3 μm.	皮層全体に広がり内皮細胞に至る, 菌糸幅 0.8–3.3 μm, 細胞壁厚は 0.3–1.0 μm.	皮層全体に広がり内皮細胞に至る, 菌糸幅 0.5–2.5 μm, 細胞壁厚は 0.3–0.6 μm.	皮層全体に広がり内皮細胞に至る, 菌糸幅 1.2–2.9 μm, 細胞壁厚は 0.4–0.8 μm.
菌鞘	厚さ 14.4–40.4 μm, 不規則に並ぶ (Type B); 最外層の菌糸は平滑, 幅 2.6–5.0 μm, 細胞壁厚は 0.3–0.4 μm; 内層の菌糸は平滑, 幅 2.3–4.8 μm, 細胞壁厚は 0.3–0.5 μm.	厚さ 9.5–29.8 μm, 菌鞘菌糸は不規則に並ぶ (Type B); 最外層の菌糸は平滑, 幅 1.6–4.6 μm, 細胞壁厚は 0.2–0.3 μm; 内層の菌糸は平滑, 幅 2.0–3.9 μm, 細胞壁厚は 0.3–0.4 μm.	厚さ 8.1–36.6 μm, 菌鞘菌糸は不規則に並ぶ (Type B); 最外層の菌糸は平滑, 幅 2.6–5.2 μm, 細胞壁厚は 0.2–0.3 μm; 内層の菌糸は平滑, 幅 2.6–4.1 μm, 細胞壁厚は 0.3–0.8 μm.	厚さ 14.8–36.6 μm, 菌鞘菌糸は不規則に並ぶ (Type B); 最外層の菌糸は平滑, 幅 2.6–4.2 μm, 細胞壁厚は 0.2–0.3 μm; 内層の菌糸は平滑, 幅 2.7–5.8 μm, 細胞壁厚は 0.3–0.6 μm.	厚さ 5.4–23.8 μm, 菌鞘菌糸は不規則に並ぶ (Type B); 最外層の菌糸は平滑, 幅 2.5–4.3 μm, 細胞壁厚は 0.2–0.4 μm; 内層の菌糸は平滑, 幅 2.5–4.3 μm, 細胞壁厚は 0.3–0.4 μm.
菌糸束	細胞幅の異なる菌糸から構成され, 隔壁は消失しない, クランプコネクションを欠く (Type E); 中心菌糸は幅 4.4–6.8 μm, 細胞壁厚は 0.5–0.7 μm; 外周菌糸幅は 2.1–3.8 μm, 円柱状, 平滑, 細胞壁厚は 0.3–0.4 μm.	細胞幅の異なる菌糸から構成され, 隔壁は消失しない, クランプコネクションを欠く (Type C); 中心菌糸は幅 5.2–6.1 μm, 細胞壁厚は 0.4–0.6 μm; 外周菌糸幅は 1.8–4.1 μm, 円柱状, 平滑, 細胞壁厚は 0.2–0.3 μm.	細胞幅の異なる菌糸から構成され, 隔壁は消失しない, クランプコネクションを欠く (Type E); 中心菌糸は幅 6.7–12.5 μm, 細胞壁厚は 0.5–0.9 μm; 外周菌糸幅は 2.0–4.4 μm, 円柱状, 平滑, 細胞壁厚は 0.2–0.4 μm.	細胞幅の異なる菌糸から構成され, 隔壁は消失しない, クランプコネクションを欠く (Type E); 中心菌糸は幅 7.0–14.9 μm, 細胞壁厚は 0.4–1.0 μm; 外周菌糸幅は 2.2–6.0 μm, 円柱状, 平滑, 細胞壁厚は 0.2–0.4 μm.	細胞幅の異なる菌糸から構成され, 隔壁は消失しない, クランプコネクションを欠く (Type E); 中心菌糸は幅 5.2–12.9 μm, 細胞壁厚は 0.6–1.0 μm; 外周菌糸幅は 1.9–5.8 μm, 円柱状, 平滑, 細胞壁厚は 0.2–0.4 μm.

4-4. 考察

菌根合成によりアカマツ上に形成され室内順化した *Tricholoma saponaceum* (Contextocutis 節), *T. flavovirens* や *T. portentosum* (Tricholoma 節) の外生菌根では, 菌鞘内に星状結晶が観察され, 同時に *T. saponaceum* と *T. portentosum* では菌糸にクランプコネクションを持つことが報告されている (Yamada et al., 2001). 一方, *T. matsutake* (Caligata 節) の場合, 自然条件ならびに菌根合成によりアカマツ上に形成された外生菌根では, それらの構造は確認されていない (Yamada et al., 1999a, b, 2006).

本研究で示された *T. kakishimejioides* 以外のカキシメジ類 3 種の外生菌根では, 菌鞘には結晶構造が確認されたが, クランプコネクションは確認されなかった. これらの形態学的相違から, 種々の分類群でも既に明示されているように, *Tricholoma* 属の外生菌根でも菌種のレベルで識別

が可能であり、分類学的位置づけとの対応で考察が可能である。このうち、*T. kakishimeji* と *T. matsushimeji* では、合成菌根では見られなかった黒色化が室内順化後にはじめて観察される一方で、*T. stans* では室内順化後でも黒色化は見られなかった。このため、外生菌根の黒色化には、菌と宿主の組み合わせの中でも菌種に依存した形質であるとともに、根系の十分な発達や外生菌根の老化が要因であると推察された。*Tricholoma stans* は日本国内ではコナラ属、ツガ属、モミ属の樹下に発生するが（第2章）、欧州では *Pinus* 属の樹下に限り発生する（Christensen and Heilmann-Clausen, 2013）。本研究ではコメツガ樹下で採取された子実体に由来する *T. stans* TUA-101C 株とアラカシ樹下で採取された子実体に由来する TUA-134C を用いたが、これら培養株とアカマツの組み合わせでは、外生菌根の黒色化を生じなかっただけかもしれない。菌鞘中の結晶構造についても、菌根の発達状態に依存した特徴であると考えられる。

菌根合成により形成された *T. kakishimejioides* の外生菌根は、菌鞘が一層の菌糸体組織で構成され、カキシメジ類の他 3 の種とは顕著な違いがあった。第3章の菌糸培養実験の結果と本実験の順化後の菌根消失を併せて考えると、菌鞘の十分な発達に至っていなかった可能性も否定できないが、*T. kakishimejioides* とアカマツの親和性が低いことが示唆された。

菌糸のクランプコネクションについては、本章で供試した *T. kakishimeji*, *T. stans*, *T. matsushimeji* の3種において、合成菌根と室内順化後の菌根の両者に共通してその形成は確認されず、菌種に固有の形質であると考えられる。この点は、第2章の子実体観察結果や第3章の培養菌糸の観察結果とも一致する。*Tricholoma* 属内の亜属および節レベルの分類において、*Sericeicutis* 亜属の *Lasciva* 節と *Sericella* 節、*Pardinicutis* 亜属の *Pardinicutis* 節、*Contextocutis* 亜属の *Contextocutis* 節では子実体組織上でクランプコネクションが確認されているが、*Genuina* 節を含めた *Tricholoma* 亜属ではクランプコネクションは確認されていない（Heilmann-Clausen et al., 2017）。このため、*T. kakishimejioides* の外生菌根上に形成された菌糸束でクランプコネクションが見出されたことは、*Tricholoma* 属の分類を考える上での外生菌根の重要性を示すものと言える。また、菌根合成および室内順化条件下のアカマツを宿主とする *T. stans* の菌根ならびに野外から採取したシラカンバおよびミズナラを宿主とする菌根では、ハルティヒネット菌糸幅や外観にやや差異が観察されたが、それ以外の形態には大きな差異は見られなかった。また、亜高山帯針葉樹林由来の TUA-101C 株と暖温帯シイカシ林由来の TUA-134C の培養株により形成された外生菌根の間には、形態学的差異は見られなかった。*T. kakishimeji* や *T. matsushimeji* も同様に、採取地点や宿主植物が異なる培養株由来であっても、形成された外生菌根では顕著な形態学的差異は見られなかった。以上のことから、外生菌根の形態は菌種に大きく依存し、外生菌根の形態が菌種の分類学的な指標としても重要なことを示している。

カキシメジ類4種の菌根合成において、*T. matsushimeji* AT-0610 株で菌根量が最大となり、次いで *T. matsushimeji* TUA-78C 株であった。本種は二針葉マツ類の樹下でのみ子実体が採取され（第2章）、かつ両菌株ともアカマツ樹下で採取された子実体に由来する分離株であるため、ア

カマツとの高い親和性が予想されていた。本実験結果はこの事前予想に概ね合致するため、カキシメジ類と宿主の親和性を比較する上でアカマツを宿主に用いることは適切であると考えられた。一方で、野外ではブナ科とともに亜高山帯の針葉樹下で子実体を発生させる *T. stans* は、*T. matsushimeji* のみならず *T. stans* と同様の子実体発生生態を示す *T. kakishimeji* と比べても、菌根形成量が有意に低かった。欧州産 *T. stans* はマツ属樹下で発生するため (Christensen and Heilmann-Clausen, 2013), この点を踏まえると *T. stans* TUA-34C 株および TUA-65C 株もアカマツとの親和性は高いと予想されたが、それに反した結果となった。*T. stans* TUA-34C 株は亜高山帯コメツガ林、TUA-65C 株は冷温帯上部のミズナラ林でそれぞれ採取された子実体に由来するため、アカマツに対する菌根形成能は有するものの、親和性は必ずしも高くないことが推察された。したがって、種レベルでの *T. stans* とアカマツとの親和性を厳密に考察するためには、マツ属樹下で採取された *T. stans* 培養株について実験検証する必要があると考えられる。以上の *T. matsushimeji* と *T. stans* に関する考察を踏まえると、*T. matsushimeji* に準じた *T. kakishimeji* の比較的良好な菌根形成の結果からは、*T. kakishimeji* が遺伝的にはマツ属との親和性が高い特性を有すると推察される。第 2 章でも考察したように、*T. kakishimeji* は自然植生下ではブナ科樹下でも採取例が多く、マツ科樹下での採取例は植栽地や公園が多い傾向にあった。すなわち、*T. kakishimeji* は自然宿主としてはブナ科を嗜好するが、環境攪乱の要素を含むマツ科樹下での菌根定着能力を有していると推察される。また、*T. kakishimejioides* の菌根形成数は 4 系統のうちで最も低い菌根形成数を示したことから、本種もアカマツとの親和性が低い系統であると考えられる。

TUA-133C の定着した菌根苗では、室内順化 4 ヶ月の時点で小形の子実体発生が確認された。発生した子実体は担子胞子を形成し、培養株の分離源である TUA-133 標本の胞子径と概ね一致した。*Tricholoma* 属培養株で菌根合成を行い子実体に至った例は、これまでに 3 例報告されており、*T. portentosum*, *T. saponaceum* および *T. terreum* の定着したアカマツ菌根苗を室内順化にて 3 年間培養した際に複数回の子実体発生が確認されている (Yamada et al., 2007)。今後、TUA-133C の定着したアカマツ菌根苗を大型容器へ移植することで、より大形の子実体が発生すると予想される。これが実現すれば、ウスタル酸合成機構の解明や子実体発生メカニズムの解明が進むことが期待される。

Tricholoma kakishimeji, *T. matsushimeji* および *T. stans* の実験条件下で形成された外生菌根と自然環境下で形成された外生菌根の間には、菌種内の顕著な形態的差異はなく、いずれの種でも、菌鞘と菌糸束を発達させ、ハルティヒネットは皮層全体に発達していた。すなわち、宿主や環境条件の違いに依存しない、菌種固有の形態学的特徴が見出されたと考えられる。一方、実験条件下でアカマツ上に形成された *T. kakishimejioides* の外生菌根では、近縁菌種の菌根に比べて菌鞘の発達が弱く、本種はアカマツとの親和性が低い可能性が高い。*T. kakishimejioides* は第 2 章の結果から、ブナ科樹下でのみ子実体発生が見られるため、自然条件下ではブナ科と特異的に外生菌根を形成していると推察された。第 2 章の結果から、これらカキシメジ類 4 種の系統関係では、*T.*

kakishimejioides が最初に他 3 種と分岐している．このため，カキシメジ類はブナ科と特異的に菌根を形成する祖先系統からマツ科も宿主としうる系統が出現した可能性が予想される．この点については次章の実験において，さらに検証する．

第5章 カキシメジ類のブナ科植物およびアカマツとの宿主関係

5-1. 目的

一般的に外生菌根菌は、複数の科にまたがって菌根形成する種や、特定の科・属に限定して菌根形成する種があるなど、宿主となる植物の分類群は菌種によって異なる (Smith and Read, 2008) . このような菌根菌と宿主との特異的な関係は宿主特異性と呼ばれるが (Harley and Smith, 1983; Smith and Read, 2008) , それを制御する生物的・非生物的因子の相互作用やそれらの分子機構については、未だ多くが未解明である.

外生菌根菌の宿主特異性に関する研究は、マツ科樹木に対して特異性を有する *Suillus* 属や *Rhizopogon* 属を例に多くの研究がなされている (Nguyen et al., 2016) . 本分類群の外生菌根については Trappe (1967) や Molina et al. (1992) をはじめとして、マツ科の特定の分類群に対して特に高い親和性を示すことが菌根合成法をもとに明らかにされてきた. 外生菌根菌が宿主に対する特異性を持つ利点として、特定の樹種下で集中的に子実体を発生させることで、共生のコストパフォーマンスを向上させることが推察されている (Molina et al., 1992) . また、*Suillus* 属を含むいくつかの分類群は、菌糸束を多数形成することで、土壤栄養塩の吸収効率や菌糸ネットワーク内の炭素輸送能を向上させていると推察されている (Agerer, 2001) . 一方で、*Russula* 属のような宿主範囲の広い菌は、菌糸束をあまり発達させない傾向にあるとともに、子実体発生のための菌糸体の維持に多くの炭素を必要としていると推察されている (Vogt et al., 1982; Gardes and Bruns, 1996; Bonello et al., 1998; Molina et al., 1999) . Lofgren et al. (2021) は *Suillus* 属の外生菌根形成に関するゲノム構造との関係について着目し、*Suillus* 属のテルペン類産生関連遺伝子と非リボソーム関連遺伝子 (NRPS) の発現が他の外生菌根菌に比べて有意に多様化していることを報告した.

Tricholoma 属では *T. vaccinum* と *Picea abies* の外生菌根形成に関する研究で、菌根合成により得られた菌根と野外で採取された外生菌根には菌糸束と菌鞘の形態的差異が見出されることが報告されている (Brunner et al., 1992) . Henke et al. (2015) は、*P. abies* と *T. vaccinum* の菌根合成実験のもとでハイドロフォビンの発現解析を行い、培養菌糸体、外生菌根、子実体で発現レベルが変化することを明らかにした. *Tricholoma* 属の外生菌根形成に関する宿主特異性では、*T. matsutake* がマツ科の *Pinus* 属、*Picea* 属、*Tsuga* 属および *Abies* 属では連続的なハルティヒネット (すなわち外生菌根) を発達させる一方で、*Larix* 属やブナ科の *Quercus* 属ではハルティヒネットが不連続な形成に留まるか全く形成されないことが報告されている (Yamada et al., 2010) . しかし、カキシメジ類を含むその他の *Tricholoma* 属種については、宿主特異性や宿主範囲といった生理生態学的特性に関する実験解析は知られていない.

野外における子実体発生の状況から、*T. kakishimejioides* がブナ科と、*T. matsushimeji* と *T. miyama-matsushimeji* がマツ属と、そして *T. kakishimeji* と *T. stans* がマツ科とブナ科の双方と、そ

れぞれ外生菌根を形成していると推察される（第2章参照）。このため、カキシメジ類の宿主特異性を実験的に検証することで、カキシメジ類の生態学的特性の解明が進むと考えられる（第4章参照）。また、前章では、菌根合成により作出されたカキシメジ類の菌根苗を室内順化するとともに、自然条件下で形成されたカキシメジ類の外生菌根を採取し、それぞれの菌根試料について比較解析を行い、菌種レベルでの外生菌根の形態的特徴を見出した。それらの形態形質に着目し、アカマツおよびブナ科を宿主とする外生菌根形成の定性的・定量的な解析を行うことで、カキシメジ類の外生菌根形成に関する宿主特異性を解明できると考えられる。

本章では、菌根苗を母樹として共植した無菌根苗に菌根を定着させる母樹法（Massicotte et al., 1994）を応用し、カキシメジ類とブナ科植物との菌根形成を試みた。すなわち、アカマツを宿主とするカキシメジ類の菌根をブナ科植物へと定着させ、カキシメジ類の宿主特異性について検証することを目的とした。

5-2. 材料と方法

5-2-1. 菌根苗

第4章で作出したアカマツを宿主とする菌根合成苗を約6ヶ月間室内順化して以下の実験に用いた（表5-1）。菌根合成苗の順化過程で菌根が消失した *T. kakishimejioides* については対象とはしなかった。

表 5-1. 供試したアカマツを宿主とする *Tricholoma* 属種の菌根苗

種名	No. ¹	菌根合成開始	菌根苗順化開始
<i>T. kakishimeji</i>	AT-0709	2020/3/19	2020/11/9
<i>T. kakishimeji</i>	TUA-133C	2020/3/19	2020/11/9
<i>T. kakishimeji</i>	TUA-125C	2020/3/19	2020/11/9
<i>T. stans</i>	TUA-101C	2020/3/19	2020/11/9
<i>T. stans</i>	TUA-134C	2020/3/19	2020/11/9
<i>T. stans</i>	AT-0705	2020/3/19	2020/11/9
<i>T. matsushimeji</i>	AT-0610	2020/3/19	2020/11/9
<i>T. matsushimeji</i>	TUA-118C	2020/3/19	2020/11/9
<i>T. matsushimeji</i>	TUA-127C	2020/3/19	2020/11/9
<i>T. kakishimejioides</i>	TaY20191104-101C	2020/3/19	2020/11/9
<i>T. kakishimejioides</i>	TUMH 62875	2020/3/19	2020/11/9

¹各菌株については、表 4-1 参照。

5-2-2. ブナ科無菌根苗の作出

コナラ (*Quercus serrata*) , ミズナラ (*Q. crispula*) , スダジイ (*Castanopsis sieboldii*) の殻斗果を、長野県辰野市横川溪谷、長野県松本市乗鞍岳善五郎の滝、新潟県糸魚川市美山公園にて、それぞれ採取した。殻斗果は、虫害のないものを選んで収集し、実験室で水道水に浮かべて沈んだものを使用した。選別した殻斗果は 0.1% Tween80 水溶液に浸し、ガラス棒で5分間かき混ぜて洗浄し、蒸留水ですすいだ。その後 70%エタノールに浸し、ガラス棒で5分間かき混ぜて表面殺菌し、蒸留水ですすいだ。その後、殻斗果をバットに広げて霧吹きで湿らせ、乾燥しないよう

にして，コナラおよびミズナラはおよそ7日間，スダジイは30日間で発芽させた．発芽した植物体は滅菌した B 層土（信州大学農学部手良沢山演習林で採取）を 500 mL 詰めたポリカーボネート製 1 L 広口円筒容器に植え付け，3 ヶ月間養苗した．

5-2-3. 母樹法によるブナ科樹種へのカキシメジ類の菌根形成

調製したカキシメジ類の菌根苗（表 5-1）を，母樹として 1 L の PC ボトルの B 層土に植えつけた（図 5-1）．同時に，養苗したコナラ，ミズナラ，スダジイ無菌根苗を 3 本ずつ植えつけた．苗は 20 °C，光量子密度 100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ で 6 ヶ月間培養し，月毎に滅菌蒸留水を灌水した．また，ブナ科植物同士で光照射を妨げられないように，枯死した葉は適宜取り除いた．6 ヶ月間の培養後，母樹（菌根苗）と共植したブナ科植物の苗を分離し，それぞれ滅菌 B 層土 250 mL を充填した 250 mL 容 PC ボトルへと移植した（図 5-1）．

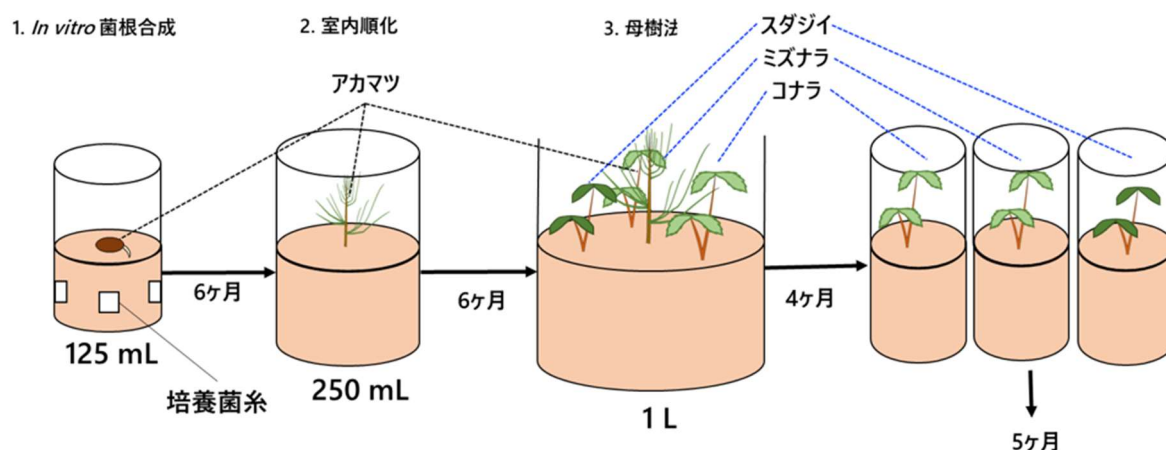


図 5-1. 実験の流れとポット内での宿主の位置関係．

5-3. 結果

5-3-1. ブナ科宿主上における外生菌根形成

1 L ポットの共植により，*T. kakishimeji*，*T. stans* および *T. matsushimeji* のいずれも，すべてのブナ科宿主上に外生菌根を形成した（表 5-2）．これら 3 菌種のアカマツ母樹とブナ科上の外生菌根の外観は，前章の合成菌根との顕著な差異は見られなかった（表 5-3）．母樹法による共植が終了した時点では，アカマツ上の菌根量は *T. stans* で多い傾向にあった（表 5-2，5-3）．ブナ科宿主上の菌根形成は，*T. kakishimeji* で多い傾向にあり，スダジイ上の *T. stans* 菌根はごく僅かだった．

共植後に単独の苗として育苗してから 5 ヶ月後の菌根は，*T. kakishimeji* では，アカマツおよびブナ科植物 3 種における菌根数は増加傾向にあった．*T. stans* ではアカマツで菌根数が減少傾向に

あったが、ブナ科植物では増加傾向にあった。 *T. matsushimeji* ではアカマツで菌根数が増加傾向にあり、ブナ科植物では減少傾向にあった（表 5-4）。

表 5-2. 共植苗における菌根数の計測結果と単離培養後の菌根数

菌種	分離株	共植 ポット 苗 ID	菌根数							
			共培養 (4 ヶ月)				単独養苗 (5 ヶ月)			
			母樹	ブナ科						
			アカ マツ	コナ ラ	ミズ ナラ	スダ ジイ	アカマ ツ	コナ ラ	ミズ ナラ	スダ ジイ
<i>T. kakishimeji</i>	TUA-125C	2C	360	25	180	32	1992	373	807	6
	AT-0709	1C	460	15	0	0	456	nt	nt	nt
	TUA-133C	1C	1097	910	637	518	1793	1005	1039	894
<i>T. stans</i>	TUA-101C	1C	1723	39	nt	5	393	127	nt	0
	AT-0705	1C	2326	195	405	0	2291	nt	nt	nt
	TUA-134C	1C	1469	33	23	nt	1164	127	127	nt
<i>T. matsushimeji</i>	AT-0610	1C	501	55	0	0	1367	68	8	0
	TUA-118C	1C	792	73	10	0	1693	118	0	14
	TUA-127C	1C	1938	0	125	170	2378	nt	nt	nt

nt: not tested.

表 5-3. 共植後の菌根数

菌種	アカマツ		コナラ		ミズナラ		スダジイ	
	N	菌根数 (SE)	N	菌根数 (SE)	N	菌根数 (SE)	N	菌根数 (SE)
<i>T. kakishimeji</i>	3	639 (189)	3	316 (242)	3	272 (155)	3	183 (137)
<i>T. stans</i>	3	1839 (208)	3	89 (43)	3	143 (107)	3	2 (1)
<i>T. matsushimeji</i>	3	1077 (358)	3	43 (18)	3	45 (33)	3	57 (46)

表 5-4. 単独養苗後の菌根数

菌種	アカマツ		コナラ		ミズナラ		スダジイ	
	N	菌根数 (SE)	N	菌根数 (SE)	N	菌根数 (SE)	N	菌根数 (SE)
<i>T. kakishimeji</i>	3	1413 (394)	2	689 (223)	2	923 (82)	2	450 (314)
<i>T. stans</i>	3	1282 (450)	2	127 (0)	2	64 (45)	2	0 (0)
<i>T. matsushimeji</i>	3	1818 (243)	2	93 (18)	2	4 (3)	2	7 (5)

5-3-2. ブナ科宿主上の外生菌根の形態

ブナ科植物上に形成された外生菌根は、菌鞘が白色で菌糸束を形成し、ハルティヒネットが皮層全体に形成される共通した特徴を示した（図 5-2-5-4）。どの宿主と菌種の組み合わせでも菌根皮層部の黒色化は見られなかった。菌鞘の外層と内層は菌糸が不規則に並ぶ Type B で、結晶構造も観察され（図 5-2H, M, R, 5-3H, M, R, 5-4H, M, R），内層菌糸の細胞壁が厚い傾向にあった。菌糸束は Boletoid 様で、クランプコネクションを持たず、中心にある太い菌糸の隔壁は消失していなかった（図 5-2J, O, T, 5-3J, O, T, 5-4J, O, T）。アカマツとブナ科植物の間で菌鞘と菌糸には形態的差異は認められなかったが、ハルティヒネットを構成する菌糸の幅はブナ科植物上よりもアカマツ上で大きくなる傾向にあった（表 5-5-5-7）。どの宿主と菌種の組み合わせでもハルティヒネットの発達には皮層に限られた（図 5-2B, G, L, Q, 5-3B, G, L, Q, 5-4B, G, L, Q）。

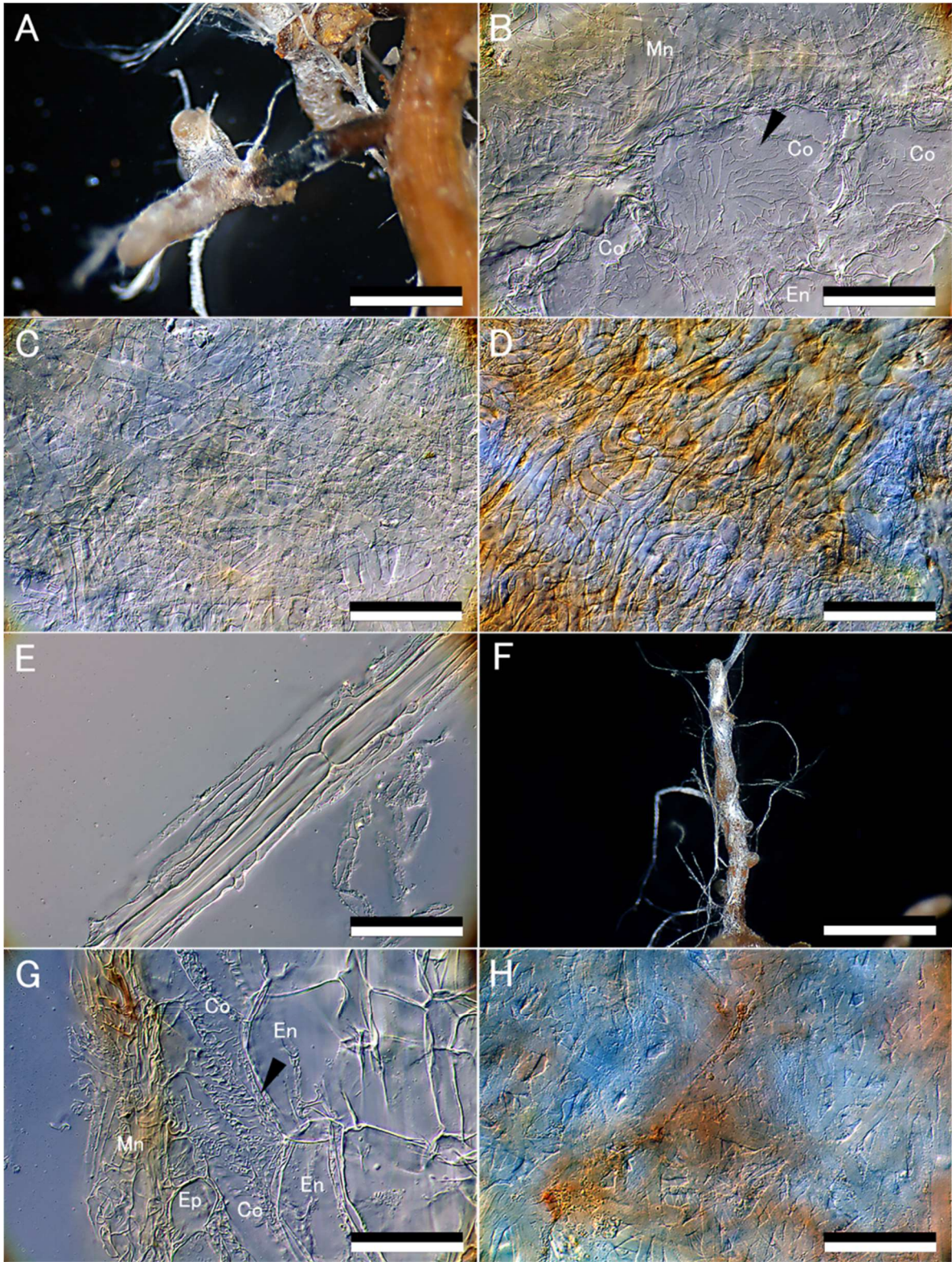


図 5-2. 母樹法により形成された *T. kakishimeji* の外生菌根. アカマツ (A-E), コナラ (F-H). A, F: 外生菌根外観, B, G: 菌根縦断面とハルティヒネット (Mn: 菌鞘, Ep: 表皮細胞, Co: 皮層細胞, En: 内皮細胞. 矢印はハルティヒネットを示す), C, H: 菌鞘外層, D: 菌鞘内層, E: 菌糸束. Bar = A, F: 1 mm; B-E, G, H: 10 μ m.

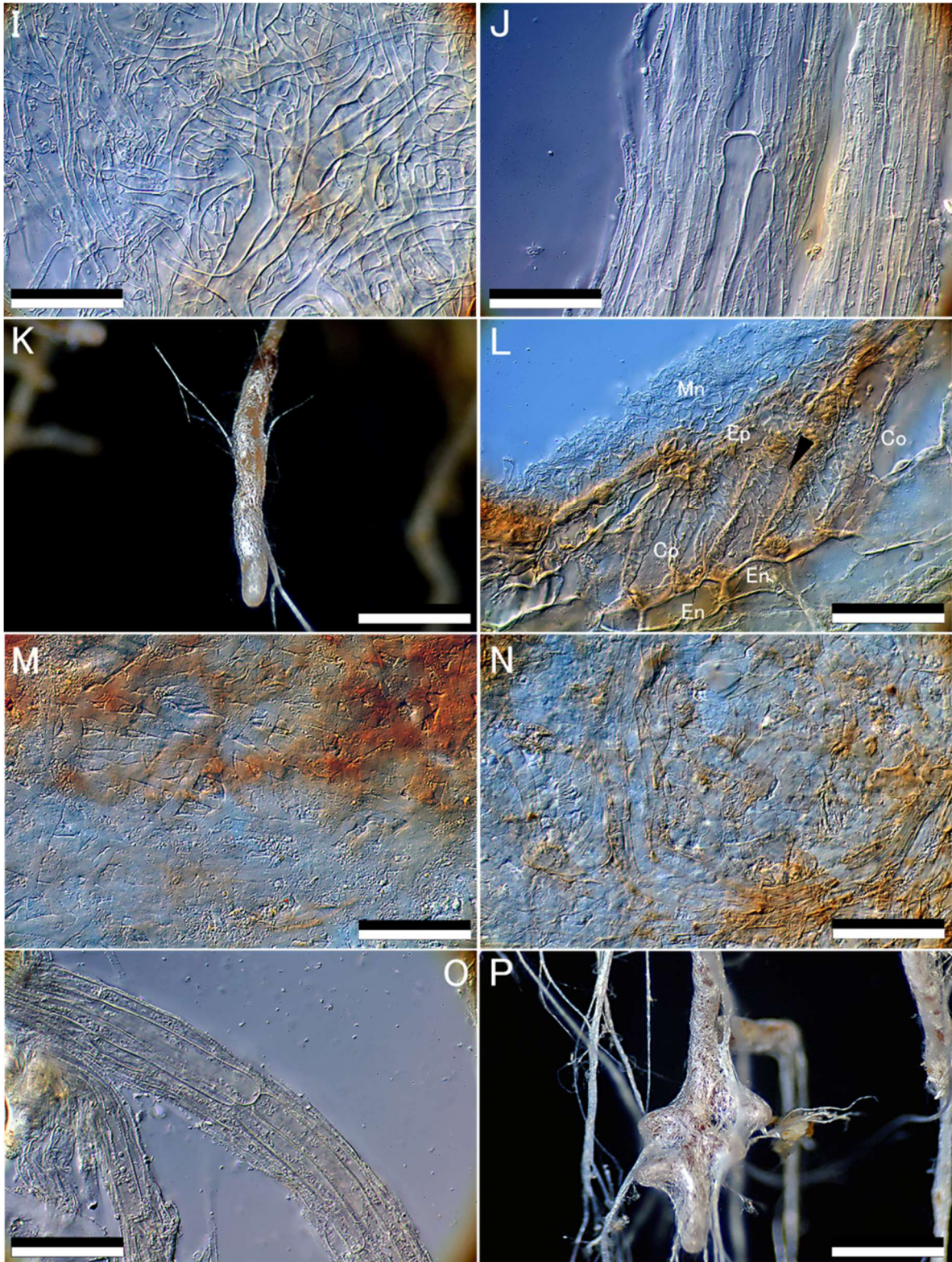


図 5-2. (続き). コナラ (I, J), ミズナラ (K-O), スダジイ (P). K, P: 外生菌根外観, L: 菌根縦断面とハルティヒネット (Mn: 菌鞘, Ep: 表皮細胞, Co: 皮層細胞, En: 内皮細胞. 矢印はハルティヒネットを示す), M: 菌鞘外層, I, N: 菌鞘内層, J, O: 菌糸束. Bar = K, P: 1 mm; I, J, L-O: 10 μ m.

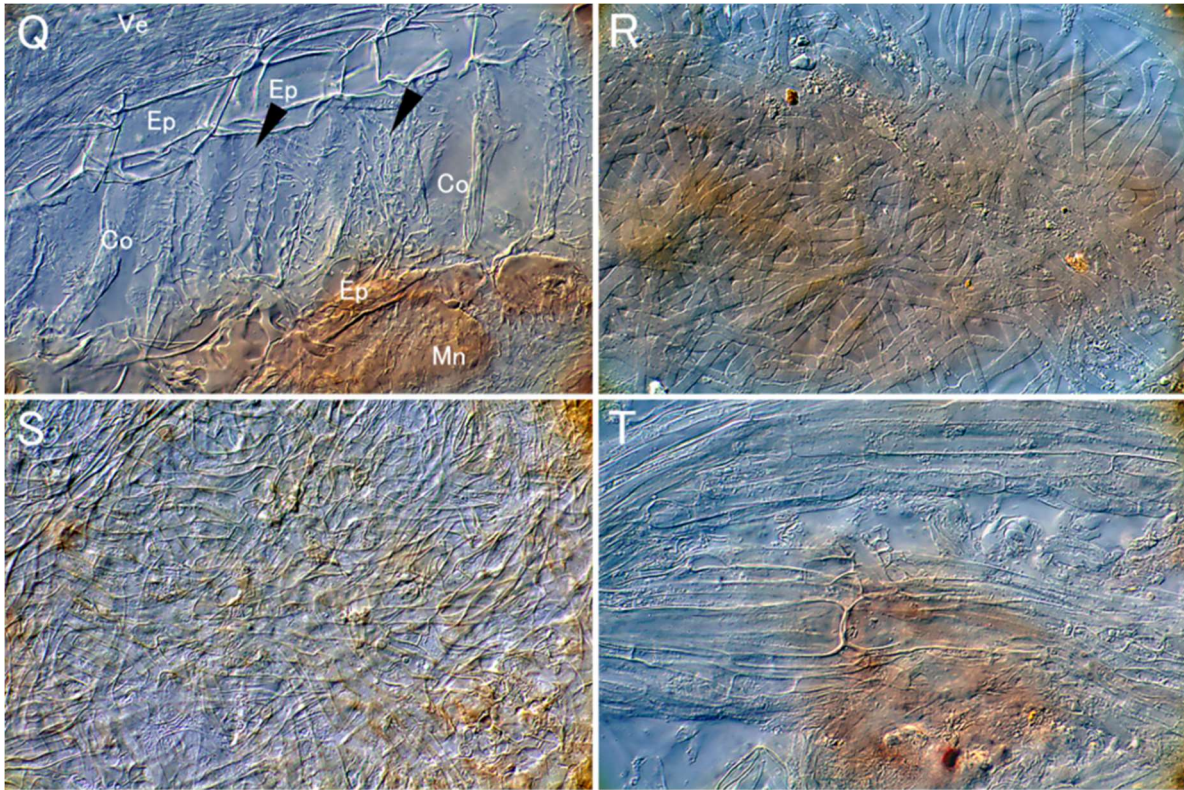


図 5-2. (続き). スダジ (Q-T). Q: 菌根縦断面とハルティヒネット (Mn: 菌鞘, Ep: 表皮細胞, Co: 皮層細胞, En: 内皮細胞, Ve: 維管束. 矢印はハルティヒネットを示す), R: 菌鞘外層, S: 菌鞘内層, T: 菌糸束. Bar = Q-T: 10 μ m.

表 5-5. *Tricholoma kakishimeji* (TUA-133C) の外生菌根形態

宿主名	<i>Pinus densiflora</i>	<i>Quercus serrata</i>	<i>Quercus crispula</i>	<i>Castanopsis sieboldii</i>
肉眼的特徴	2.5–1.6 $\times$ 0.3–0.2 mm, 白色, 光沢, 二叉分岐, 円柱状; 菌糸束は多数, 白色.	2.7–0.4 $\times$ 0.3–0.1 mm, 白色, 光沢, 枝状に分岐, 同心円状; 菌糸束は多数, 白色.	2.1–0.4 $\times$ 0.3–0.1 mm, 白色, 光沢, 枝状に分岐または分岐せず, 同心円状; 菌糸束は多数, 白色.	2.5–0.9 $\times$ 0.3–0.2 mm, 白色, 光沢, 枝状に分岐, 円柱状; 菌糸束は多数, 白色.
ハルティヒネット	幅 1.0–2.4 μ m, 細胞壁厚は 0.3–0.5 μ m.	幅 0.7–2.0 μ m, 細胞壁厚は 0.2–0.5 μ m.	幅 0.9–1.6 μ m, 細胞壁厚は 0.2–0.4 μ m.	幅 0.7–1.9 μ m, 細胞壁厚は 0.2–0.5 μ m.
菌鞘	厚さ 11.0–37.0 μ m, 菌糸が不規則に並ぶ (Type B); 最外層の菌糸は平滑, 幅 2.2–4.2 μ m, 細胞壁厚は 0.2–0.4 μ m; 内層の菌糸は平滑, 幅 3.1–4.8 μ m, 細胞壁厚 0.4–0.7 μ m.	厚さ 17.8–33.5 μ m, 菌糸が不規則に並ぶ (Type B); 最外層の菌糸は平滑, 幅 3.0–1.6 μ m, 細胞壁厚は 0.3–0.4 μ m; 内層の菌糸は平滑で, 幅 2.3–6.8 μ m, 細胞壁厚 0.4–1.0 μ m.	厚さ 11.3–20.4 μ m, 菌糸が不規則に並ぶ (Type B); 最外層の菌糸は平滑, 幅 2.5–3.9 μ m, 細胞壁厚は 0.3–0.2 μ m; 内層の菌糸は平滑, 幅 3.5–4.7 μ m, 細胞壁厚 0.3–0.8 μ m.	厚さ 4.2–23.0 μ m, 菌糸が不規則に並ぶ (Type B); 最外層の菌糸は平滑, 幅 2.2–5.2 μ m, 細胞壁厚は 0.2–0.4 μ m; 内層の菌糸は平滑, 幅 2.0–4.2 μ m, 細胞壁厚 0.4–1.0 μ m.
菌糸束	幅の異なる菌糸で構成 (Type E); 中心菌糸は幅 7.3–6.4 μ m, 細胞壁厚 0.5–0.2 μ m; 外周菌糸幅 4.1–0.9 μ m, 円柱状, 平滑, 細胞壁厚 0.4–0.3 μ m.	幅の異なる菌糸で構成 (Type E); 中心菌糸は幅 5.6–12.1 μ m, 細胞壁厚 0.4–0.6 μ m; 外周菌糸幅 1.8–4.7 μ m, 円柱状, 平滑, 細胞壁厚 0.3–0.5 μ m.	幅の異なる菌糸で構成 (Type E); 中心菌糸は幅 5.6–13.2 μ m, 細胞壁厚 0.3–0.8 μ m; 外周菌糸幅 1.8–3.5 μ m, 円柱状, 平滑, 細胞壁厚 0.3–0.5 μ m.	幅の異なる菌糸で構成 (Type E); 中心菌糸は幅 5.5–11.6 μ m, 細胞壁厚 0.3–0.9 μ m; 外周菌糸幅 2.0–4.8 μ m, 円柱状, 平滑, 細胞壁厚 0.3–0.5 μ m.

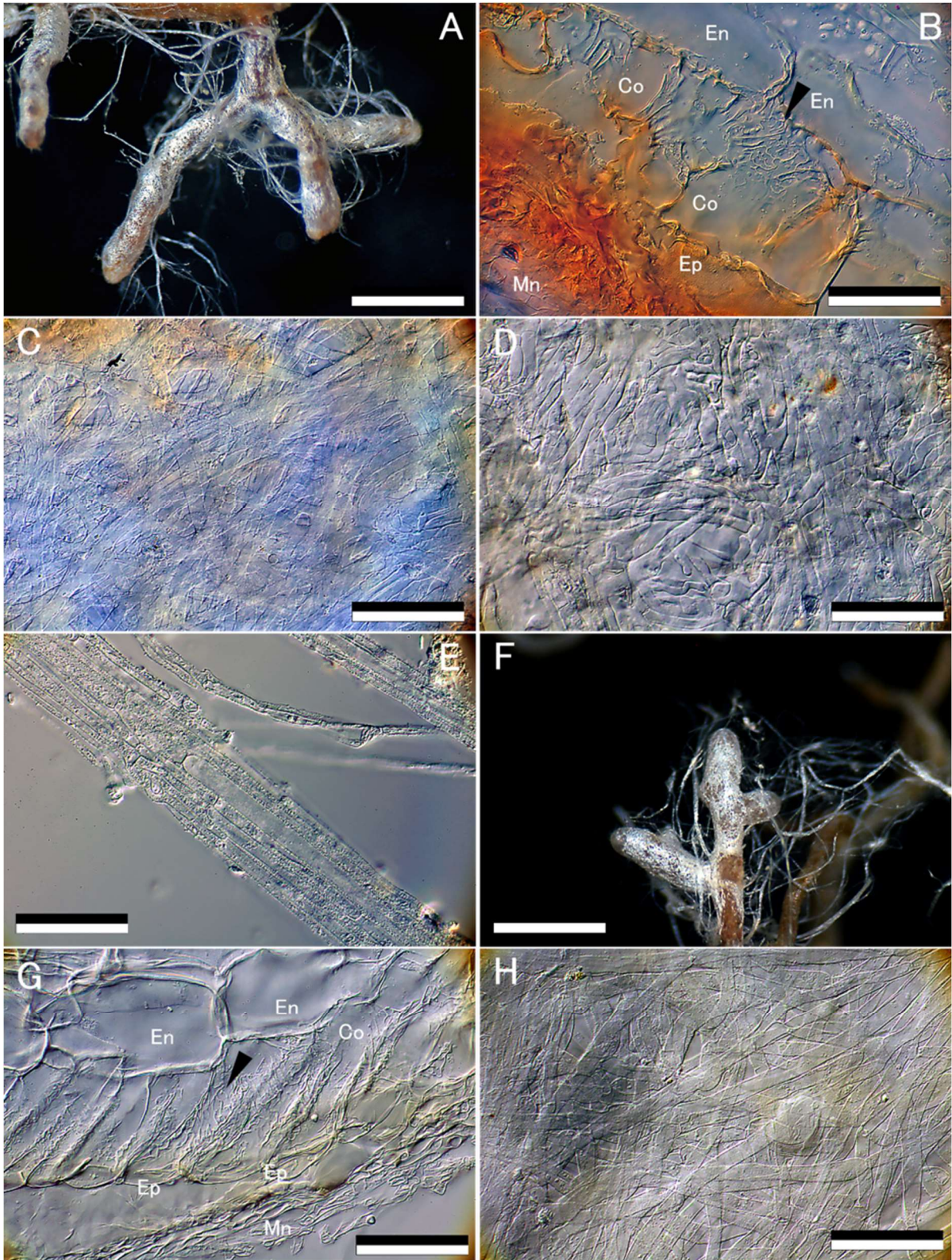


図 5-3. 母樹法により形成された *T. stans* の外生菌根. アカマツ (A-E), コナラ (F-H). A, F: 外生菌根外観, B, G: 菌根縦断面とハルティヒネット (Mn: 菌鞘, Ep: 表皮細胞, Co: 皮層細胞, En: 内皮細胞. 矢印はハルティヒネットを示す), C, H: 菌鞘外層, D: 菌鞘内層, E: 菌糸束. Bar = A, F: 1 mm; B-E, G, H: 10 μ m.

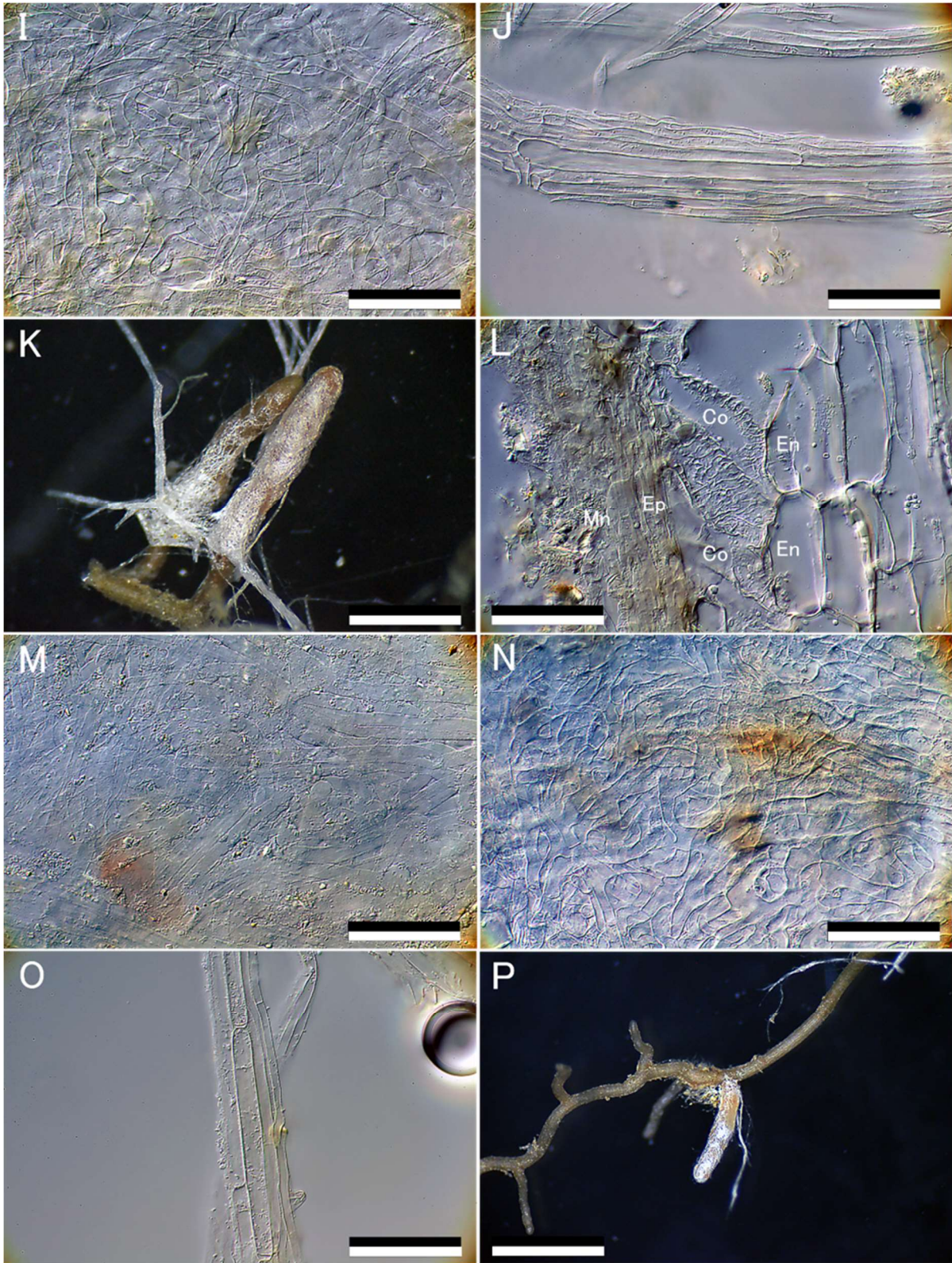


図 5-3. (続き). コナラ (I, J), ミズナラ (K-O), スダジイ (P). K, P: 外生菌根外観, L: 菌根縦断面とハルティヒネット (Mn: 菌鞘, Ep: 表皮細胞, Co: 皮層細胞, En: 内皮細胞. 矢印はハルティヒネットを示す), M: 菌鞘外層, I, N: 菌鞘内層, J, O: 菌糸束. Bar = K, P: 1 mm; I, J, L-O: 10 μ m.

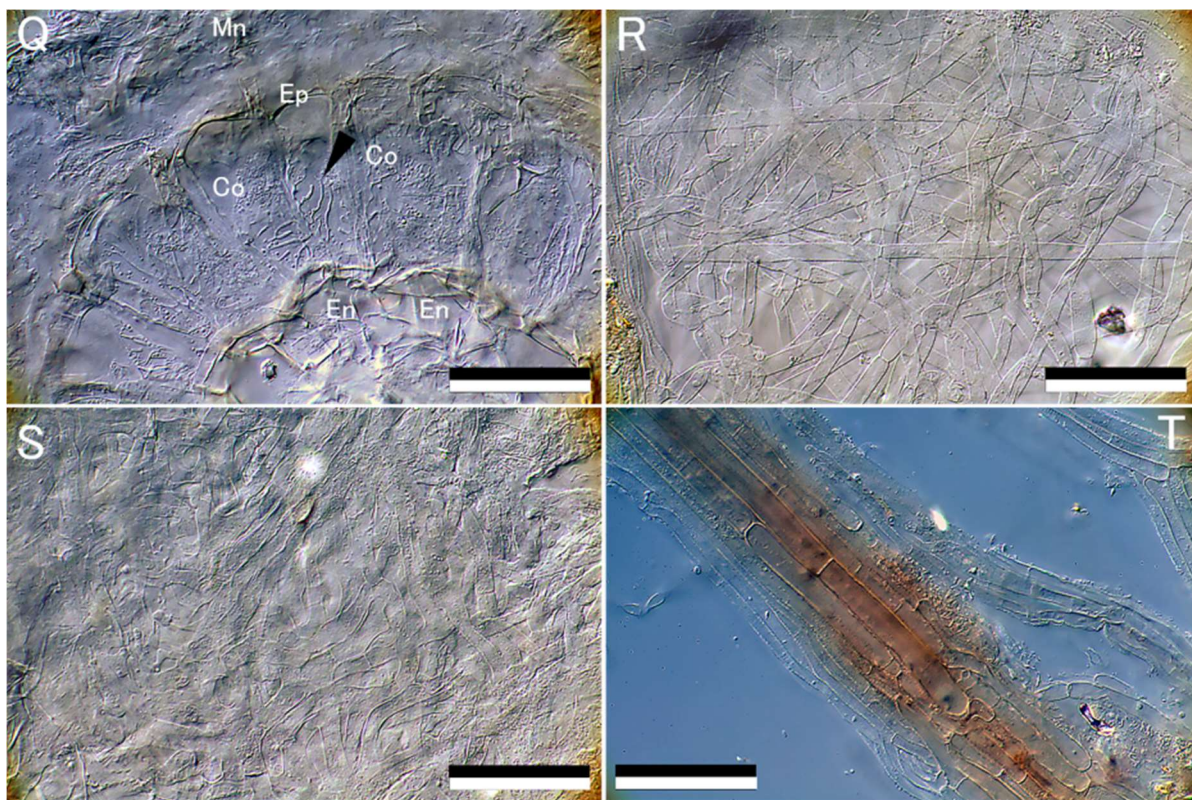


図 5-3. (続き). スダジイ (Q-T). Q: 菌根縦断面とハルティヒネット (Mn: 菌鞘, Ep: 表皮細胞, Co: 皮層細胞, En: 内皮細胞. 矢印はハルティヒネットを示す), R: 菌鞘外層, S: 菌鞘内層, T: 菌糸束. Bar = Q-T: 10 μ m.

表 5-6. *Tricholoma stans* (TUA-134C) の外生菌根形態

宿主名	<i>Pinus densiflora</i>	<i>Quercus serrata</i>	<i>Quercus crispula</i>	<i>Castanopsis sieboldii</i>
肉眼的特徴	0.6–2.9 $\times$ 0.2–0.3 mm, 白色, 光沢, 二叉分岐, 円柱状; 菌糸束は多数, 白色.	0.4–1.4 $\times$ 0.2–0.3 mm, 白色, 光沢, 枝状に分岐または分岐せず, 円柱状; 菌糸束は多数, 白色.	0.2–2.0 $\times$ 0.2 mm, 白色, 光沢, 枝状に分岐または分岐せず, 円柱状; 菌糸束は多数, 白色.	0.6–1.3 $\times$ 0.2–0.3 mm, 白色, 光沢, 枝状に分岐または分岐せず, 円柱状; 菌糸束は多数, 白色.
ハルティヒネット	幅 0.9–2.2 μ m, 細胞壁厚は 0.3–0.5 μ m.	幅 0.5–1.4 μ m, 細胞壁厚は 0.3–0.5 μ m.	幅 0.7–1.7 μ m, 細胞壁厚は 0.2–0.3 μ m.	幅 1.1–1.8 μ m, 細胞壁厚は 0.3–0.4 μ m.
菌鞘組織	厚さ 6.2–31.4 μ m, 菌糸は不規則に並ぶ (Type B); 外層を構成する菌糸は平滑, 幅 2.1–4.2 μ m, 細胞壁厚 0.2–0.3 μ m; 内層を構成する菌糸は平滑, 幅 2.6–5.6 μ m, 細胞壁厚は 0.3–0.6 μ m.	18.4–34.1 μ m, 菌糸は不規則に並ぶ (Type B); 外層を構成する菌糸は平滑, 幅 2.1–6.4 μ m, 細胞壁厚 0.1–0.3 μ m; 内層を構成する菌糸は平滑, 幅 2.4–6.8 μ m, 細胞壁厚は 0.6–0.2 μ m.	10.8–25.3 μ m, 菌糸は不規則に並ぶ (Type B); 外層を構成する菌糸は平滑, 幅 4.4–2.8 μ m, 細胞壁厚 0.3–0.2 μ m; 内層を構成する菌糸は平滑, 幅 4.8–2.4 μ m, 細胞壁厚は 0.4–1.0 μ m.	22.3–35.0 μ m, 菌糸は不規則に並ぶ (Type B); 外層を構成する菌糸は平滑, 幅 2.8–4.8 μ m, 細胞壁厚 0.2–0.3 μ m; 内層を構成する菌糸は平滑, 幅 3.6–6.9 μ m, 細胞壁厚は 0.3–0.6 μ m.
菌糸束組織	幅の異なる菌糸で構成 (Type E); 中心菌糸は幅 3.6–6.5 μ m, 細胞壁厚 0.3–0.4 μ m; 外周菌糸幅 2.1–6.5 μ m, 円柱状, 平滑, 細胞壁厚 0.3–0.4 μ m.	幅の異なる菌糸で構成 (Type E); 中心菌糸は幅 3.5–6.2 μ m, 細胞壁厚 0.2–0.6 μ m; 外周菌糸幅 1.7–4.1 μ m, 円柱状, 平滑, 細胞壁厚 0.2–0.4 μ m.	幅の異なる菌糸で構成 (Type E); 中心菌糸は幅 4.3–6.1 μ m, 細胞壁厚 0.2–0.4 μ m; 外周菌糸幅 2.2–3.8 μ m, 円柱状, 平滑, 細胞壁厚 0.2–0.4 μ m.	幅の異なる菌糸で構成 (Type E); 中心菌糸は幅 3.0–5.9 μ m, 細胞壁厚 0.2–0.4 μ m; 外周菌糸幅 2.1–4.2 μ m, 円柱状, 平滑, 細胞壁厚 0.2–0.3 μ m.

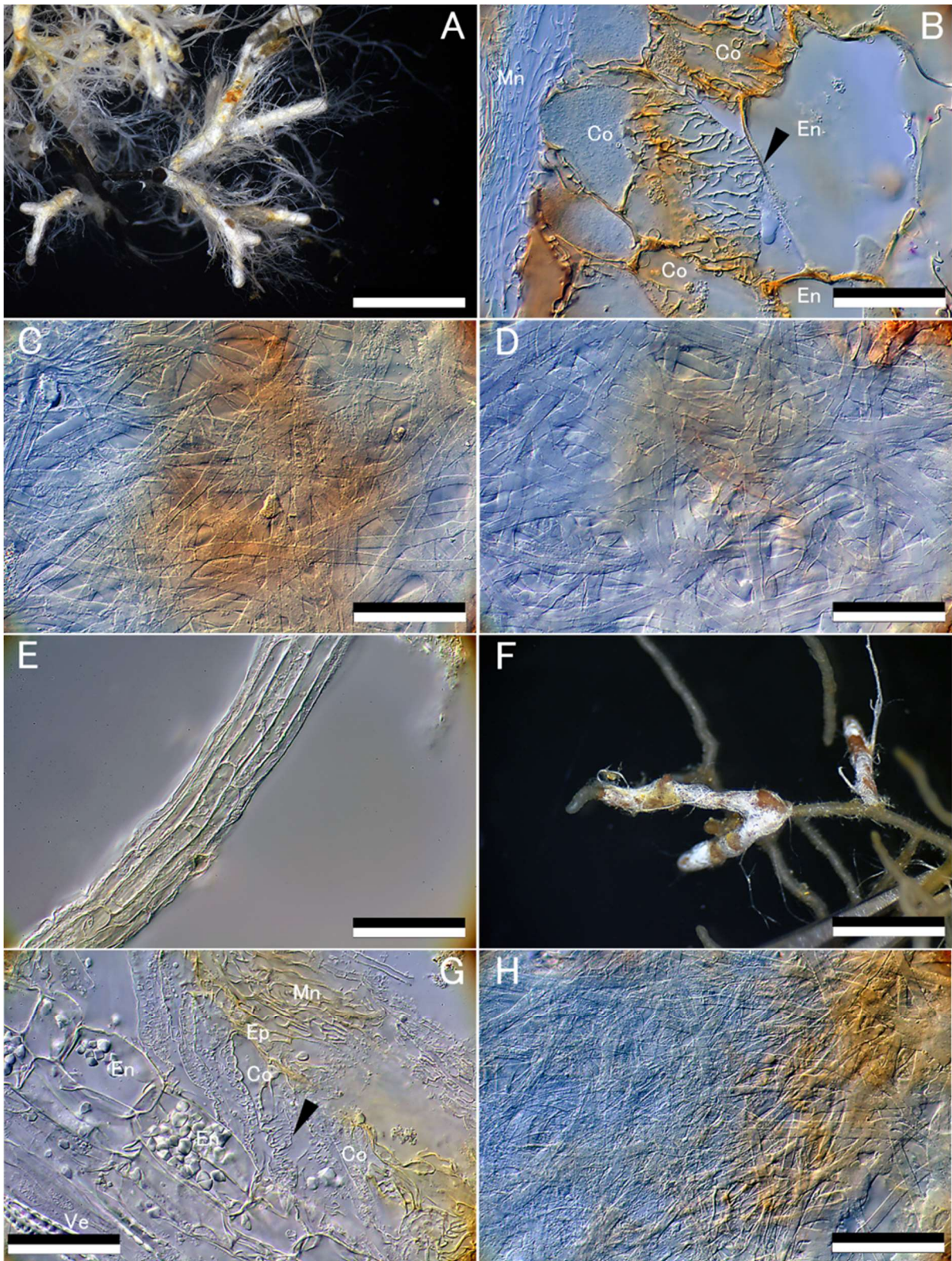


図 5-4. 母樹法により形成された *T. matsushimeji* の外生菌根. アカマツ (A-E), コナラ (F-H). A, F: 外生菌根外観, B, G: 菌根縦断面とハルティヒネット (Mn: 菌鞘, Ep: 表皮細胞, Co: 皮層細胞, En: 内皮細胞, Ve: 維管束. 矢印はハルティヒネットを示す), C, H: 菌鞘外層, D: 菌鞘内層, E: 菌糸束. Bar = A, F: 1 mm; B-E, G, H: 10 μm.

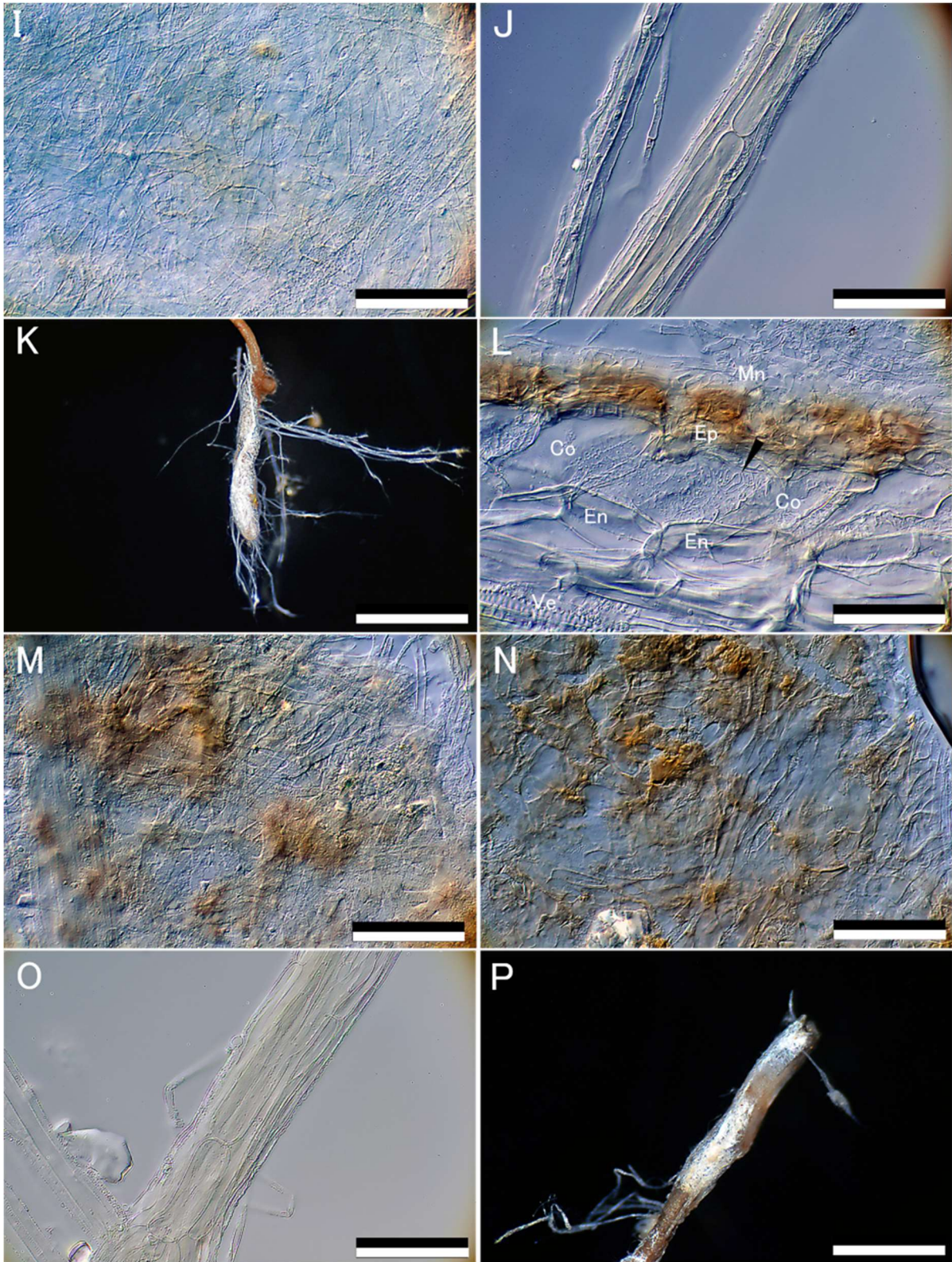


図 5-4. (続き). コナラ (I, J), ミズナラ (K-O), スダジイ (P). K, P: 外生菌根外観, L: 菌根縦断面とハルティヒネット (Mn: 菌鞘, Ep: 表皮細胞, Co: 皮層細胞, En: 内皮細胞, Ve: 維管束. 矢印はハルティヒネットを示す), M: 菌鞘外層, I, N: 菌鞘内層, J, O: 菌糸束. Bar = K, P: 1 mm; I, J, L-O: 10 μ m.

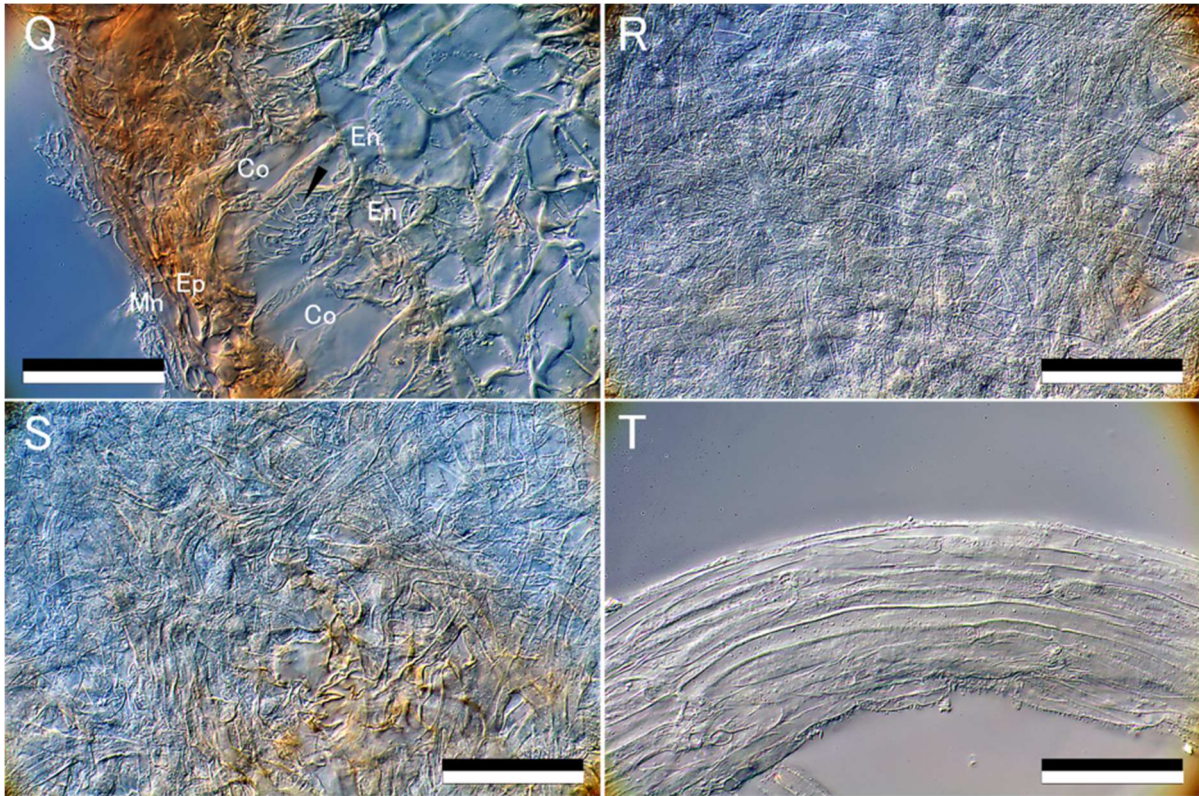


図 5-4. (続き). スダジ (Q-T). Q: 菌根縦断面とハルティヒネット (Mn: 菌鞘, Ep: 表皮細胞, Co: 皮層細胞, En: 内皮細胞. 矢印はハルティヒネットを示す), R: 菌鞘外層, S: 菌鞘内層, T: 菌糸束. Bar = Q-T: 10 μ m.

表 5-7. *Tricholoma matsushimeji* (AT-0610) の外生菌根形態

宿主名	<i>P. densiflora</i>	<i>Quercus serrata</i>	<i>Quercus crispula</i>	<i>Castanopsis sieboldii</i>
肉眼的特徴	0.5–2.3 $\times$ 0.2–0.4 mm, 白色, 光沢, 二叉分岐, 円柱状; 菌糸束は多数, 白色.	0.6–1.3 $\times$ 0.2–0.4 mm, 白色, 光沢, 枝状に分岐, 円柱状かねじれる; 菌糸束は多数, 白色.	0.6–1.6 $\times$ 0.1–0.3 mm, 白色, 光沢, 枝状に分岐, 円柱状; 菌糸束は多数, 白色.	0.9–2.2 $\times$ 0.2–0.3 mm, 白色, 光沢, 枝状に分岐, 円柱状; 菌糸束は多数, 白色.
ハルティヒネット	幅 1.3–2.9 μ m, 細胞壁厚は 0.2–0.4 μ m.	幅 0.6–1.3 μ m, 細胞壁厚は 0.2–0.4 μ m.	幅 0.5–1.2 μ m, 細胞壁厚は 0.3–0.2 μ m.	幅 0.5–1.7 μ m, 細胞壁厚は 0.4–0.3 μ m.
菌鞘	厚さ 19.0–39.3 μ m, 菌糸は不規則に並ぶ (Type B); 最外層の菌糸は平滑, 幅 2.8–3.9 μ m, 細胞壁厚 0.2–0.3 μ m; 内層の菌糸は平滑, 幅 2.5–4.1 μ m, 細胞壁厚 0.3–0.7 μ m.	厚さ 6.8–18.5 μ m, 菌糸は不規則に並ぶ (Type B); 最外層の菌糸は平滑, 幅 2.5–3.8 μ m, 細胞壁厚 0.2–0.4 μ m; 内層の菌糸は平滑, 幅 2.2–5.7 μ m, 細胞壁厚 0.3–0.8 μ m.	厚さ 6.8–31.2 μ m, 菌糸は不規則に並ぶ (Type B); 最外層の菌糸は平滑, 幅 2.3–4.0 μ m, 細胞壁厚 0.2–0.4 μ m; 内層の菌糸は平滑, 幅 2.3–6.3 μ m, 細胞壁厚 0.4–0.8 μ m.	厚さ 6.5–25.2 μ m, 菌糸は不規則に並ぶ (Type B); 最外層の菌糸は平滑, 幅 2.3–3.9 μ m, 細胞壁厚 0.2–0.3 μ m; 内層の菌糸は平滑, 幅 2.3–3.9 μ m, 細胞壁厚 0.2–0.3 μ m.
菌糸束	幅の異なる菌糸から構成 (Type E); 中心菌糸は幅 4.5–6.3 μ m, 細胞壁厚 0.3–0.5 μ m; 外周菌糸幅 1.9–3.9 μ m, 円柱状, 平滑, 細胞壁厚 0.2–0.4 μ m.	幅の異なる菌糸から構成 (Type E); 中心菌糸は幅 3.9–7.3 μ m, 細胞壁厚 0.3–0.5 μ m; 外周菌糸幅 1.7–3.3 μ m, 円柱状, 平滑, 細胞壁厚 0.2–0.4 μ m.	幅の異なる菌糸から構成 (Type E); 中心菌糸は幅 4.9–9.1 μ m, 細胞壁厚 0.2–0.5 μ m; 外周菌糸幅 1.9–3.9 μ m, 円柱状, 平滑, 細胞壁厚 0.2–0.4 μ m.	幅の異なる菌糸から構成 (Type C); 中心菌糸は幅 4.3–5.7 μ m, 細胞壁厚 0.3–0.5 μ m; 外周菌糸幅 2.0–4.9 μ m, 円柱状, 平滑, 細胞壁厚 0.2–0.4 μ m.

5-4. 考察

アカマツを宿主としたカキシメジ類の外生菌根（第 4 章参照）と、本章にて作出したブナ科を宿主としたカキシメジ類の外生菌根では、菌糸構造に顕著な差異は認められなかった。*Castanopsis tibetana* と *Pinus yunnanensis* をそれぞれ宿主とする *Tricholoma fulvocastaneum* の外生菌根でも、菌鞘やハルティヒネットに顕著な形態学的差異は認められないことが報告されている（Herrea et al., 2022）。すなわち、*Tricholoma* 属種では、マツ科とブナ科の双方を宿主とする外生菌根の菌糸構造が、宿主樹種間で安定していることが示唆された。ハルティヒネットの菌糸幅がアカマツ上でやや大きい傾向にあったが、今回の微分干渉顕微鏡観察では詳細を解明するには至らなかった。

マツ属樹下に限定して子実体を発生させる *T. matsushimeji*（第 2 章参照）の姉妹系統に位置する *T. albobrunneum* も、欧州では二針葉松の樹下に限定して子実体を発生させる（Christensen and Heilmann-Clausen, 2013）。また、第 4 章においても *T. matsushimeji* と *P. densiflora* との高い親和性を示唆する定性・定量的知見が得られていたため、本菌種とブナ科の親和性は低く、外生菌根の形成は限定的と仮定していた。共植ならびにその後の単独養苗の結果から、*T. matsushimeji* が各種ブナ科植物に対してアカマツと同一の菌糸形態を持つ外生菌根を形成したが、菌根形成量は限定的な傾向にあり、菌根形成を生じない組み合わせが最も多かった。この結果は、野外における *T. matsushimeji* の子実体発生生態を十分に説明できるものではないが、マツ属と比べてブナ科への菌根親和性は低いと考えられた。日本の自然環境下では、マツ科とブナ科が混在することはきわめて普通であり、マツ属の優占する林分であってもブナ科樹種が点在することは十分にありうる。そのような林分状況に生息する *T. matsushimeji* 生存戦略として、ブナ科樹種の根系を忌避するよりは、たとえ限定的であっても栄養獲得を目的として菌根形成に向かうことが適応戦略上有利なことが推察される。第 2 章の系統解析結果より、カキシメジ類ではブナ科を宿主とする祖先系統からマツ科を主に宿主とする系統が発生したと推察される。このため、マツ属樹下に限定して子実体を発生させる *T. matsushimeji* であっても、ブナ科植物との菌根形成能を保有し続けてきたことが推察される。進化的観点からは、外生菌根の宿主特異性は固定的なものではなく、宿主の乗り換えや宿主範囲の変化が広範に生じている可能性がある（例えば Hibbett et al., 2000; Murata et al., 2013; Miyauchi et al., 2020）。したがって、生態学的に規定される宿主特異性や宿主範囲を上回る形で、より幅広い宿主との関係（潜在的な宿主関係）が実験的に示されうると考えられる。

自然条件下でマツ科とブナ科の双方の樹下で子実体を発生させる点で *T. kakishimeji* と *T. stans* はジェネラリスト的であるが、本章の共培養実験からもその兆候が確認された。特に *T. kakishimeji* は供試したブナ科 3 種のすべてにおいて菌根形成量が比較的多く、ブナ科植物との親和性が高いことが示唆された。一方、*T. kakishimeji* の姉妹系統に位置する欧州産 *T. pessundatum* の生息環境は、*Pinus* 属、*Abies* 属、*Picea* 属などのマツ科に限定されている（Christensen and

Heilmann-Clausen, 2013) . 系統学的序列からは, *T. kakishimeji* と *T. pessundatum* の分岐の上流にヤナギ科の *Populus* 属と特異的な関係を有する *T. populinum* の分岐が位置付けられる (第二章; 図 2-1) . すなわち, 子実体発生の特性から推定される *T. kakishimeji* と *T. pessundatum* の異なる宿主特異性に対して, 菌根合成のような実験解析の観点からそのような違いを菌種レベルで明確にすることは難しいと考えられる. 上記の *T. matsushimeji* の事例で考察したように, 菌根合成では, 生態学的に定義される宿主範囲を上回る宿主範囲を示す可能性が高いためである. 日本列島に現存する *T. kakishimeji* 集団は, マツ科を中心とする亜高山帯針葉樹林から, 多様な樹種によって構成される冷温帯林を経て, ブナ科の照葉樹林に代表される暖温帯林にまで, 幅広く適応し分布していると考えられる. 一方で, *T. stans* では, 共植の時点で3菌株とも *C. sieboldii* とほとんど菌根を形成せず, 本種が照葉樹林帯に定着しない可能性が推察される. 第2章でも考察したように, 欧州産 *T. stans* 集団はマツ科樹種と特異的な関係を有するため, 日本産 *T. stans* 集団が後発的にブナ科樹林への適応性を高めたか, 逆に欧州産 *T. stans* 集団が後発的にブナ科樹林への適応性を低下させた可能性が推察される. 共培養とその後の単独培養における *T. stans* と *C. sieboldii* の関係を踏まえると, 日本列島の *T. stans* 集団の分布中心は亜高山帯から冷温帯であり, 暖温帯における分布域は中間温帯に近い範囲に限られると推察される.

外生菌根菌の宿主特異性や宿主範囲について考察する上で, 種の定義が重要である. 病原性菌類では産業上の重要性から, その点の実験解析を通じて詳細に調査されている事例が多い (Baroncelli et al., 2016) . 一方, 外生菌根の宿主特異性や宿主範囲に関する実験解析は, 病原性菌類に比べると著しく少ない状況にある. このため, 実験解析に基づき詳述される形質を裏付ける遺伝子解析 (すなわち, 宿主特異性を決定している遺伝子の解析) には至っておらず, 宿主特異性と正相関を有する分子マーカーの探索にとどまっている (Lofgren et al., 2021; Lebreton et al., 2022) . 比較的研究事例の多いマツタケでは, 日本産集団や欧州産集団がマツ科と特異的に関係することが以前から知られている一方で (小川, 1978) , チベット山麓の中国雲南省やブータンの集団はマツ科とともにブナ科とも関係することが近年報告されるようになり (Yamanaka et al., 2014; Vaario et al., 2017; 成松, 2019) , 宿主範囲を広く捉える視点が重視される傾向にあった. しかし, 中国雲南省やブータンのマツタケ集団は, ゲノム構造において日本や中国東北部のマツタケ集団とは明確に区分できる (Murata et al., 2013) . すなわち, マツタケ集団間の分子系統学的識別点を重視すると, マツタケの宿主特異性に関する議論は, マツタケの種の定義に関する議論に発展することになる (Aoki et al., 2022b) . 本研究では, カキシメジ類が関係しうる多くの宿主植物種の一部について解析したにとどまるため, 高い精度での宿種関係の解明には至っていないが, マツ科とブナ科の宿主上で, 菌種レベルでの異なる反応を見出すことができた. 今後, この解析アプローチを発展させることで, カキシメジ類の宿主特異性や宿主範囲がどのように制御されているのか解明できると予想される.

第6章 カキシメジ類のウスタル酸産生

6-1. 目的

ウスタル酸 (ustalic acid) は、カキシメジの含有毒性物質である (Sano et al., 2002) . カキシメジは日本国内で中毒件数の多い毒きのこであり、誤食により嘔吐、腹痛、下痢等の中毒症状が引き起こされる (河岸, 2017) . 第2章において、日本産カキシメジ類には少なくとも5種が含まれることを明らかにした。この中には、マツシメジとして記載され、無毒と考えられてきた種も含まれる。また、ウスタル酸がどのような生物学的プロセスで産生されるのか解明できれば、その生成の制御やウスタル酸の資源利用 (生理活性物質としての応用) についての新たな展開も予想される。

本章では、第2章で示したカキシメジ類の分類学的知見に基づき種同定された子実体についてウスタル酸分析を試み、カキシメジ類のウスタル酸含有状況を種レベルで解明することを目的とした。なお、ウスタル酸分析自体は、共同研究として岐阜薬科大学 (現：岐阜医療科学大学薬学部) の伊藤哲朗博士に依頼したため、本章ではその分析結果 (Ito et al., 2021) とカキシメジ類の分類学的関係について考察することを目的とした。

6-2. 材料と方法

第2章において採取された子実体標本について、採取した標本を冷凍試料と乾燥試料に分け、計39標本、55試料について分析を行った (表6-1) . また、第4章で使用した培養株についても分析を行った。培養株については、MNC液体培地で1ヶ月間培養した菌糸体を用いた。

6-3. 結果

子実体分析の結果一覧を表6-1へ示す。*T. kakishimeji* では、分析を行ったすべての子実体標本で一定量のウスタル酸が検出された (表6-1) . ウスタル酸抽出量は乾燥標本では42–156 µg/mL, 冷凍標本では277–1498 µg/mL 検出された。*T. stans* ではTUA-9でのみ微量ながら検出された。*T. matsushimeji* および *T. kakishimejioides* では、分析したすべての試料でウスタル酸が検出されなかった。また、培養株では *T. kakishimeji* と *T. stans* でも検出されなかった (表6-2) .

表 6-1. カキシメジ類の各試料ごとのウスタル酸含有状況

種名	試料名 (標本名)	性状	採取地点	推定宿主	採取日時	ウスタル酸(μg/mL)
<i>Tricholoma stans</i>	TUA-8	乾燥	長野県 松川町	(未記録)	2000/10/27	N. D.
	TUA-9	乾燥	長野県 松川町	(未記録)	2000/10/29	2
	TUA-34	冷凍	長野県 川上村	コメツガ	2018/9/14	N. D.
	TUA-35	乾燥	長野県 川上村	コメツガ	2018/9/14	N. D.
	TUA-44	冷凍	長野県 川上村	コメツガ	2018/9/25	N. D.
	TUA-62	冷凍	長野県 松本市	ミズナラ	2018/10/2	N. D.
	TUA-65	冷凍	長野県 松本市	ミズナラ	2018/10/2	N. D.
	TUA-71	冷凍	長野県 辰野町	コナラ	2018/10/14	N. D.
	TUA-101	冷凍	長野県 小海町	コメツガ	2019/10/3	N. D.
	TUA-102	冷凍	長野県 小海町	コメツガ	2019/10/3	N. D.
	TUA-105	冷凍	長野県 小海町	コメツガ	2019/10/3	N. D.
	TUA-113	冷凍	長野県 松本市	ミズナラ	2019/10/10	N. D.
	TUA-114	冷凍	長野県 松本市	コメツガ	2019/10/10	N. D.
	TUA-134	冷凍	鳥取県 鳥取市	アラカシ	2019/11/13	N. D.
	TUA-145	冷凍	鳥取県 鳥取市	クスギ	2019/11/13	N. D.
	猪名 2	冷凍	兵庫県 猪名町	マツ科	2019/12/11	N. D.
	猪名 4	冷凍	兵庫県 猪名町	マツ科	2019/12/11	N. D.
	猪名 5	冷凍	兵庫県 猪名町	マツ科	2019/12/11	N. D.
	TUA-34C	培養株	長野県 川上村	コメツガ	2019/2/8	N. D.
	TUA-62C	培養株	長野県 松本市	ミズナラ	2019/2/8	N. D.
	TUA-71C	培養株	長野県 辰野町	コナラ	2019/2/8	N. D.
<i>T. matsushimeji</i>	TUA-2	乾燥	北海道 利尻岳	ハイマツ	2008/9/4	N. D.
	TUA-4	冷凍	長野県 豊丘村	アカマツ	2007/6/28	N. D.
	TUA-78	乾燥	長野県 長野市	アカマツ	2018/11/17	N. D.
	TUA-118	冷凍	長野県 中川村	アカマツ	2019/10/30	N. D.
	TUA-119	冷凍	長野県 中川村	アカマツ	2019/10/30	N. D.
	TUA-127	冷凍	鳥取県 鳥取市	クロマツ	2019/11/13	N. D.
	TUA-130	冷凍	鳥取県 鳥取市	クロマツ	2019/11/13	N. D.
	TUA-131	冷凍	鳥取県 鳥取市	クロマツ	2019/11/13	N. D.
	TUA-132	冷凍	鳥取県 鳥取市	クロマツ	2019/11/13	N. D.
	TUA-143	冷凍	鳥取県 鳥取市	クロマツ	2019/11/14	N. D.
	TaY20181117-001	乾燥	鳥取県 鳥取市	クロマツ	2018/11/17	N. D.
	TUA-78C	培養株	長野県 長野市	アカマツ	2019/2/8	N. D.
	AT-0612	培養株	茨城県 那珂市	アカマツ	2019/2/8	N. D.
<i>T. kakishimeji</i>	TUA-17	乾燥	長野県 松本市	ドイツトウヒ	2011/10/14	72
	TUA-18	乾燥	青森県 下北半島	(未記録)	2016/11/5	147
	TUA-19	乾燥	長野県 信濃町	コナラ	2010/11/3	42
	TUA-67	乾燥	長野県 中野市	ブナ	2018/10/8	156
	TUA-75	冷凍	長野県 飯綱町	ドイツトウヒ	2018/10/17	418 (85 ¹)
	TUA-125	冷凍	長野県 松本市	アカマツ	2019/11/5	898
	TUA-126	冷凍	長野県 飯綱町	コナラ	2019/11/8	277
	TUA-133	冷凍	鳥取県 鳥取市	アラカシ, シラカシ	2019/11/13	496
	TUA-67C	培養株	長野県 中野市	ブナ	2019/2/8	N. D.
	TUA-75C	培養株	長野県 飯綱町	ドイツトウヒ	2019/2/8	N. D.
	猪名 1	冷凍	兵庫県 猪名川町	マツ科	2019/12/11	1094
	猪名 3	冷凍	兵庫県 猪名川町	マツ科	2019/12/11	1498
<i>T. kakishimejioides</i>	TUA-48	乾燥	長野県 中川村	コナラ	2018/9/26	N. D.
	TUA-81	冷凍	和歌山県	マツ属	2018/12/26	N. D.
	TaY20191104-101	冷凍	奈良県 橿原神宮	アラカシ	2019/11/4	N. D.
	TUA-167	冷凍	和歌山県 和歌山市	スダジイ, コナラ	2020/10/25	N. D.
	TUA-168	冷凍	和歌山県 和歌山市	スダジイ, コナラ	2020/10/25	N. D.

¹ 冷凍試料を乾燥後に分析した値.

表 6-2. カキシメジ類の試料性状別のウスタル産含有状況

種属	試料の性状	推定宿主	N	ウスタル酸 (μg/mL)
<i>Tricholoma. stans</i>	乾燥子実体	(未記録)	1	2
		(未記録)	2	N.D.
	冷凍子実体	マツ科	9	N.D.
		ブナ科	6	N.D.
	培養株		3	N.D.
<i>T. miyama-matsushimeji</i>	乾燥子実体	マツ科	1	N.D.
<i>T. matsushimeji</i>	冷凍子実体	マツ科	10	N.D.
	培養株		2	N.D.
<i>T. kakishimeji</i>		(未記録)	1	147
	乾燥子実体	マツ科	1	72
		ブナ科	2	42-156
		マツ科	4	418-1498
	冷凍子実体	ブナ科	2	277-496
	培養株		2	N.D.
	乾燥子実体	ブナ科	1	N.D.
<i>T. kakishimejioides</i>		マツ科	1	N.D.
	冷凍子実体	ブナ科	3	N.D.

6-4. 考察

ウスタル酸は、カキシメジ (*T. ustale* Fr.) の主要毒素として Sano et al. (2002) により初めて報告された。この報告以降、カキシメジはウスタル酸を主要毒素とする毒きのこと見なされてきた。しかし、第 2 章でも論じた通り、カキシメジとその近縁種（すなわちカキシメジ類）は分類学的に混乱する状況であったため、カキシメジ類のそれぞれの種ごとのウスタル酸含有状況は未解明であった。

第 2 章で明確に識別したカキシメジ類のそれぞれの種とウスタル酸含有状況の照合の結果、特に *T. kakishimeji* 子実体から一定濃度のウスタル酸が一貫して検出されたことから、*T. kakishimeji* (カキシメジ) が食中毒の原因菌であることが示唆された。一方で、子実体からウスタル酸が検出されなかった *T. matsushimeji* (マツシメジ) と *T. kakishimejioides* (カキシメジモドキ) は、無毒の可能性が高く、食中毒の原因菌とはならないと考えられる。いわゆるマツシメジは一部地域で食用とされてきたが (廣瀬, 1949; 黒木, 2015), その後長らく、カキシメジとの異同が長らく議論され、一般には食用とされてこなかった。この食用そして利用されていきた種は、*T. matsushimeji* に相当すると推察される。このマツシメジの例のように、かつては食用利用され、後に毒きのこととして扱われるようになった近年の事例として、シモコシとキシメジが挙げられる。それら菌種は、和名に紐付けされた学名の欧州産集団で重篤な中毒事例が報告されたのち、分類学的な検証 (すなわち、和名と学名の対応の妥当性) がなされないまま、毒きのこと見なされてきた。その後、分子系統学的検証により (Moukha et al., 2013), シモコシおよびキシメジと、それらに長らく使用されてきた学名との対応が必ずしも正しくないことが判明した。すなわち、シモコシとキシメジを毒きのことみなす科学的根拠は失われた。しかし、きのこ中毒を予防するための公衆衛生の政策において、この学術的知見は未だ反映されていない。

一方、*T. stans* (アザシメジ) については、乾燥標本 TUA-9 からの検出量は 2 µg/mL と低く、この試料以外ではウスタル酸は不検出であったため、*T. stans* が中毒原因となる可能性は低いことが示唆される。しかし、*T. kakishimeji* において乾燥標本のウスタル酸含有量は、冷凍標本のそれと比べて低いため、*T. stans* の生鮮試料を用いるとウスタル酸がさらに検出される可能性も推察される。このため、*T. stans* を食資源として利用することを検討する際には、多数の生鮮試料での分析データやヒトで食中毒を引き起こすウスタル酸摂取量の下限值についての知見を、事前に集積する必要があると考えられる。

Tricholoma kakishimeji は 10 月頃 (中秋から晩秋)、比較的人里に近い里山や公園、キャンプ場などの林分での子実体発生が確認されている (第 2 章参照)。このような林分環境には *T. kakishimeji* に類似するチャナメツムタケ (食用きのこ) も発生し、*T. kakishimeji* が誤食されることがありうる (山浦, 1993)。一方、*T. stans* は亜高山帯針葉樹林での発生は多いものの、低地で発生は限られる傾向にある。そのため、食中毒予防の観点からは、人里に近い広葉樹やマツ林木で秋季に発生する *T. kakishimeji* が警戒を要すると考えられる。なお、*T. kakishimeji* 冷凍試料の分析では、広葉樹よりもマツ樹下に発生した子実体でウスタル酸が高濃度で検出される傾向にあった。分析した試料数が限られるため結論を導くには至らなかったため、今後、地理的環境、立地環境、気象条件などを考慮した試料の収集と化学分析が望まれる。

外生菌根菌の子実体で、その生息環境と化合物含量との関係は十分には解明されていない。*Amanita phalloides* (タマゴテングタケ) やその近縁種では、有毒化合物であるアマトキシシン類やファロトキシシンの検出量において種間差があるが (Cai et al., 2014)、*A. phalloides* では発生環境の違いによりそれらの検出量が異なる (Enjalbert et al., 1999)。自然条件下で発生する子実体の化合物含量は、種々の生物学的・非生物学的要因が影響することに伴う変動が予想される。このため、一定の培養条件下で発生した子実体を分析できれば、化合物含量の差異を菌の遺伝的背景にもとづき詳細に解析できると考えられる。第 4 章において、菌根合成実験のもとで *T. kakishimeji* の子実体発生が確認されているため、今後その制御方法を検討することで新たな展開が期待できる。そうした研究を進めることで、今後、ウスタル酸の生物学的機能 (例えば抗生物質活性の有無やスペクトル) やウスタル酸産生の量的相違の意義についても解明が進むと予想される。

第7章 日本産キシメジ属の多様性解明と分類学的位置づけ

7-1. 目的

Tricholoma 属には 200 種以上が含まれ、それらの多くは 11 節に分類されるが (Heilmann-Clausen et al., 2017; Reschke et al., 2018), 幾つか未分類の系統が残されている. 日本国内でこれまでに報告された *Tricholoma* 属種は 40 種が有効とされるが (勝本, 2010), 分子系統学的手法が導入される以前に記載された事例が多数を占めるため, 種多様性解明の観点からは十分な研究がなされているとは言い難い. 日本産 *Tricholoma* 属種の多くが, 欧州や北米あるいは中国で行われている大規模な分子系統学的研究において分析対象となっていないこともあり, 同一の学名が使用されていても未記載種の可能性が残されている (第2章参照). *Tricholoma* 属にはマツタケのような有用食用きのこも含まれるため, 生物保全や有用資源の探索の観点からも, さらなる調査が望まれる状況と言える.

本章では, 著者が 2018 年から 2022 年の間に長野県内の亜高山帯から高山帯において収集した *Tricholoma* 属標本ならびに信州大学農学部応用真菌学研究室に保管されている標本について分子系統学的解析を行い, 日本産 *Tricholoma* 属の種多様性解明と分類学的位置づけについて検討することを主な目的とした. また, この過程で未記載種と判断された標本については, 新種記載することを目的とした. 本章の後半には, Aoki et al. (2022a) において新種記載した *T. alpinum* の内容を邦文として再掲載するとともに, 新規に収集した標本を追加して解析し記述した.

7-2. 材料と方法

7-2-1. 使用標本

2018 年 9 月から 2022 年 10 月にかけて子実体を採取し実験に供試した (表 7-1). 分子系統解析と形態観察に先立つ *Tricholoma* 属種同定では, 外部形態および孢子・担子器の形態情報をもとに, 今関・本郷 (1987), Reschke et al. (2018), Aoki et al. (2021) に従った. 標本作製の手順は第2章の方法に従った.

日本産標本の分類学的検証 (形態比較) のため, カナダの Cercle des Mycologues de Montreal Fungarium (CMMF), アメリカ合衆国の New York State Museum (NYS) から *T. fimosoluteum* の標本 7 点を借用した (表 7-1).

表 7-1. 解析に用いた *Tricholoma* 属標本

和名 (同定名)	種小名 (同定名)	標本番号	採取日	採取場所	林冠植生
カキシメジ	<i>kakishimeji</i>	TUA-164	2020/11/4	長野県大鹿村, 菖蒲沢	Qs, Ts
カキシメジ	<i>kakishimeji</i>	TUA-202	2022/10/14	長野県飯綱町, 飯縄山山麓	Qs, Pd
アザシメジ	<i>stans</i>	TUA-44	2018/9/25	長野県川上村, 十文字峠	Td
マツシメジ	<i>matsushimeji</i>	TUA-175	2021/6/20	長野県諏訪市, 永明寺山公園	Pd

マツシメジ	<i>matsushimeji</i>	TUA-203	2022/10/14	長野県飯綱町, 飯縄山山麓	Qs, Pd
マツタケモドキ	<i>robustum</i>	S-2	2015/9/17	北海道十勝岳	Pp
マツタケモドキ	<i>robustum</i>	AY-20150922-001	2015/9/22	北海道雌阿寒岳 5 合目	Pp
マツタケモドキ	<i>robustum</i>	AY-20211119-001 ²	2021/11/19	長野県松川町	Pd
カキシメジモドキ	<i>kakishimejioides</i>	SuR20191104-008	2019/9/13	北海道砂川市北海道子供の国	Qc
カキシメジモドキ	<i>kakishimejioides</i>	TUA-168	2020/10/25	和歌山県紀伊風土記の丘公園 花木園	Cs, Qs
カキシメジモドキ	<i>kakishimejioides</i>	TUA-167	2020/10/25	和歌山県紀伊風土記の丘公園 花木園	Cs, Qs
カキシメジモドキ	<i>kakishimejioides</i>	SuR20190917-019-02	2019/9/17	北海道上川郡当麻町	Qc, As
キヒダマツシメジ	<i>fulvum</i>	TUA-55	2018/10/1	長野県茅野市, 西天狗岳	Av, Td
キヒダマツシメジ	<i>fulvum</i>	SuR20200928-311	2020/9/28	長野県松本市, 乗鞍岳	nd
キヒダマツシメジ	<i>fulvum</i>	AY-2201007-3	2020/10/2	長野県安曇野市, 上高地岳沢	nd
キヒダマツシメジ	<i>fulvum</i>	SuR20200929-101	2020/9/29	長野県茅野市, 麦草峠丸山	nd
クダアカゲシメジ	<i>vaccinum</i>	TUA-162	2020/10/30	岐阜県高山市, 鍋平高原	Af, Fc
カラマツシメジ	<i>psammopus</i>	AY-2200928-005	2020/9/28	長野県松本市, 乗鞍岳	Lk, Po
アカゲシメジ	<i>imbricatum</i>	TUA-154	2020/10/21	長野県伊那市, 千代田湖	nd
マツタケ	<i>matsutake</i>	TUA-84	2018/10/10	長野県塩尻市, 本山	Ts
シロシメジ	<i>japonicum</i>	TUA-11	2000/11/2	長野県中川村	Qsp
シロシメジ	<i>japonicum</i>	TUA-20	2010/10/20	長野県中川村, 四徳川流域	nd
シロシメジ	<i>japonicum</i>	TUA-21	2010/10/20	長野県中川村, 四徳川流域	nd
シロシメジ	<i>japonicum</i>	TUA-39	2018/9/20	長野県松本市, 乗鞍岳	Qc
オオニガシメジ	<i>acerbum</i>	TUA-12	2000/9/25	茨城県	nd
オオニガシメジ	<i>acerbum</i>	TUA-13	2000/9/25	茨城県	nd
オオニガシメジ	<i>acerbum</i>	TUA-14	2000/9/25	茨城県	nd
(なし: 黒色系)	<i>atroviolaceum</i>	TUA-161	2020/10/30	岐阜県高山市, 鍋平高原	Fc
クマシメジ	<i>terreum</i>	AY-2180913-58	2018/9/13	長野県佐久市, 大河原峠	Av, Td
クマシメジ	<i>terreum</i>	TUA-204	2022/10/19	長野県辰野町, 横川溪谷	Qs, Lk
クマシメジ	<i>terreum</i>	TUA-120	2019/11/1	長野県辰野町, 大字小野	Lk
ハエトリシメジ	<i>muscarium</i>	25	2007	長野県中川村, 折草峠	Qs, Fj
トガリシメジ(仮称)	<i>aff. davisiae</i>	TUA-176	2021/9/21	長野県川上村, 十文字峠	Td
(呼称なし: 黒黄色系)	(未同定)	TUA-195	2022/10/7	山梨県鳴沢村, 富士山	Pd, Av
(呼称なし: 黒黄色系)	(未同定)	TUA-197	2022/10/7	山梨県鳴沢村, 富士山	Pd, Av
(呼称なし: 黒黄色系)	(未同定)	TUA-198	2022/10/7	山梨県鳴沢村, 富士山	Pd, Av
(呼称なし: 黒黄色系)	(未同定)	TUA-199	2022/10/7	山梨県鳴沢村, 富士山	Pd, Av
(和名なし)	<i>aff. arvernense</i>	TUA-109	2019/10/1	長野県川上村, 十文字峠	Td
ネズミシメジ	<i>virgatum</i>	AY-2190917-003	2019/9/17	長野県安曇野市, 燕岳	Td
ネズミシメジ	<i>virgatum</i>	TUA-53	2018/10/1	長野県茅野市, 硫黄岳	Av, Td
ネズミシメジ	<i>virgatum</i>	TUA-52	2018/10/1	長野県茅野市, 西天狗岳	Av, Td
ネズミシメジ	<i>virgatum</i>	AY-2201007-5	2020/10/7	長野県茅野市, 麦草峠	Av, Td
カラキシメジ	<i>aestuans</i>	TUA-112	2019/10/10	長野県松本市, 乗鞍高原	Av, Td
カラキシメジ	<i>aestuans</i>	TUA-151	2020/9/9	長野県茅野市, 北横岳	Td
シモフリシメジ	<i>portentosum</i>	TUA-121	2019/11/1	長野県辰野町, 横川溪谷	Qs
シモフリシメジ	<i>portentosum</i>	TUA-159	2020/10/30	岐阜県高山市, 鍋平高原	Fc

シモフリシメジ	<i>portentosum</i>	AY-2200930-1	2020/9/30	長野県宮田村, 木曾駒ヶ岳	Pp
シモフリシメジ	<i>portentosum</i>	AY-2201028-1	2020/10/28	長野県飯山市, 関峠	Fc
アイシメジ	<i>sejunctum</i>	AY-2201002-8	2020/10/2	長野県松本市, 上高地	Av, Td
アイシメジ	<i>sejunctum</i>	AY-2201002-7	2020/10/2	長野県松本市, 上高地	Av, Td
アイシメジ	<i>sejunctum</i>	TUA-30	2018/9/13	長野県松本市, 乗鞍岳	Td, Av
アイシメジ	<i>sejunctum</i>	TUA-196	2022/10/7	山梨県鳴沢村, 富士山	Td, Av
シモフリシメジ	<i>portentosum</i>	AY-2201007-2	2020/10/7	長野県茅野市, 麦草峠	Av, Td
アイシメジ	<i>sejunctum</i>	AY-2200928-002	2020/9/28	長野県松本市, 乗鞍岳	Qc
シモコシ	<i>auratum</i>	TUA-97	2019/9/26	長野県佐久市, 大河原峠	Td, Av
シモコシ	<i>auratum</i>	TUA-135	2019/11/13	鳥取県鳥取市, 大池	Qm, Pd
キシメジ	<i>flavovirens</i>	EN-5	2008/10/21	長野県伊那市, 大芝高原	Pd
キシメジ	<i>flavovirens</i>	TUA-158	2020/10/30	岐阜県高山市, 鍋平高原	Qc
キシメジ	<i>flavovirens</i>	TUA-155	2020/10/21	山梨県鳴沢村, 青木ヶ原	Ah, Td
キシメジ	<i>flavovirens</i>	TUA-174	2021/6/21	長野県中川村, 桑原	Pd
キシメジ	<i>flavovirens</i>	TUA-190	2022/9/29	長野県佐久市, 大河原峠	Av, Td
キシメジ	<i>flavovirens</i>	TUA-15	1997/9/20	茨城県常陸大宮市	Pd
シモコシ	<i>auratum</i>	TUA-178	2021/9/22	長野県佐久市, 大河原峠	Av, Td
キシメジ	<i>flavovirens</i>	AY-2210922-002	2021/9/22	長野県佐久市, 大河原峠	Av, Td
ミネシメジ	<i>saponaceum</i>	AY-2200924-002	2020/9/24	岐阜県高山市, 西穂高岳	Ppu
ミネシメジ	<i>saponaceum</i>	TUA-177	2021/9/22	長野県佐久市, 上小田切	Pd, Qs
ミネシメジ	<i>saponaceum</i>	TUA-23	2018/8/14	長野県佐久市, 大河原峠	Av, Td
ミネシメジ	<i>saponaceum</i>	TUA-32	2018/9/13	長野県松本市, 乗鞍岳	Av
ミネシメジ	<i>saponaceum</i>	AY-2190902-001	2019/9/2	長野県安曇野市, 燕岳	Td, Av
ミネシメジ	<i>saponaceum</i>	AY-220924-2	2020/9/24	岐阜県高山市, 西穂高岳	Pp
ミネシメジ	<i>saponaceum</i>	S-91	2008/9/21	北海道利尻島, 利尻岳	Pp
ミネシメジ	<i>saponaceum</i>	TUA-150	2020/9/9	長野県小海町, ニュウ	Td
ミネシメジ	<i>saponaceum</i>	TUA-189	2020/9/29	長野県佐久市, 大河原峠	Td, Av
クマシメジ	<i>terreum</i>	TUA-120	2019/11/1	長野県辰野町, 大字小野	Lk
クマシメジ	<i>terreum</i>	TUA-204	2022/10/19	長野県辰野町, 横川溪谷	Lk, Qs
ツバササクレシメジ	<i>cingulatum</i>	AY-2000903-23	2000/9/3	長野県松川町, 小渋ダム湖畔	Pd, Qs
アシボソシロシメジ (仮称)	<i>aff. acerbum</i>	AY-2220914-001	2022/9/14	長野県辰野町, 横川溪谷	Qs, Lk
ニセシモフリシメジ	<i>Tricholoma</i> sp.	TUA-92	2019/9/19	長野県川上村, 甲武信ヶ岳	Av, Td
ニセシモフリシメジ	<i>Tricholoma</i> sp.	TUA-188	2022/9/9	静岡県御殿場市, 富士山須走口5合目	Pd
(なし: 灰色系)	<i>Tricholoma</i> sp.	TUA-173	2021/6/21	長野県大鹿村, 菖蒲沢	Ts
(なし: 黒色系)	<i>Tricholoma</i> sp.	TUA-160	2020/10/30	岐阜県高山市, 鍋平高原	Fc
(なし: 黒色系)	<i>Tricholoma</i> sp.	TUA-161	2020/10/30	岐阜県高山市, 鍋平高原	Fc
(なし: 黒色系)	<i>Tricholoma</i> sp.	1997-1	1997	茨城県大子町	nd
(なし: 黒色系)	<i>Tricholoma</i> sp.	TUA-25	2018/8/29	長野県松本市, 乗鞍岳	Av, Td
(なし: 黒色系)	<i>Tricholoma</i> sp.	TUA-179	2021/9/10	長野県松本市, 乗鞍岳	Td
(なし: 黒色系)	<i>Tricholoma</i> sp.	TUA-94	2019/9/19	長野県川上村, 甲武信ヶ岳	Av, Td
(なし: 黄色系)	<i>Tricholoma</i> sp.	TUA-156	2020/10/15	長野県信濃町, 野尻湖湖畔	nd
(なし: 黄色系)	<i>Tricholoma</i> sp.	TUA-187	2022/9/9	静岡県御殿場市, 富士山須走口5合目	Td, Av
(なし: 黄色系)	<i>aff. fumosoluteum</i>	TUA-89	2019/9/17	長野県安曇野市, 燕岳	Ppu
(なし: 黄色系)	<i>aff. fumosoluteum</i>	TUA-90	2019/9/17	長野県安曇野市, 燕岳	Ppu

(なし: 黄色系)	<i>aff. fumosoluteum</i>	TUA-93	2019/9/19	長野県川上村, 十文字峠	Ppa
(なし: 黄色系)	<i>aff. fumosoluteum</i>	TUA-99	2019/9/26	長野県宮田村, 木曽駒ヶ岳	Ppu
(なし: 黄色系)	<i>aff. fumosoluteum</i>	AY-2200909-4	2020/9/24	岐阜県高山市, 西穂高岳	Ppu
(なし: 黄色系)	<i>aff. fumosoluteum</i>	AY-2200909-9	2020/9/24	岐阜県高山市, 西穂高岳	Ppu
(なし: 黄色系)	<i>aff. fumosoluteum</i>	AY-2200930-2 (TNS-F-82066)	2020/9/30	長野県宮田村, 木曽駒ヶ岳	Ppu
(なし: 黄色系)	<i>aff. fumosoluteum</i>	AY-2200930-5	2020/9/30	長野県宮田村, 木曽駒ヶ岳	Ppu
(なし: 黄色系)	<i>aff. fumosoluteum</i>	TUA-185	2022/9/12	長野県松本市, 乗鞍岳剣ヶ峰	Ppu
(なし: 黄色系)	<i>aff. fumosoluteum</i>	TUA-186	2022/9/12	長野県松本市, 乗鞍岳剣ヶ峰	Ppu
(なし: 黄色系)	<i>aff. fumosoluteum</i>	TUA-182	2022/8/30	長野県松本市, 蝶ヶ岳	Ppu
(トリコローマ・フ モソルテウム)	<i>fumosoluteum</i>	CMMF002067	1993/9/24	Saint-Adolphe-d'Howard, MRC Les Pays-d'en-Haut, Quebec, Canada	N.D.
(トリコローマ・フ モソルテウム)	<i>fumosoluteum</i>	CMMF003829	2003/10/5	Saint-Jovite, Quebec, Canada	N.D.
(トリコローマ・フ モソルテウム)	<i>fumosoluteum</i>	CMMF004866	1999/9/15	Sept-Iles, MRC Sept-Rivières, Quebec, Canada	Asp
(トリコローマ・フ モソルテウム)	<i>fumosoluteum</i>	CMMF006936	2006/10/13	Lachute, MRC Argenteuil, Quebec, Canada	Pr
(トリコローマ・フ モソルテウム)	<i>fumosoluteum</i>	CMMF010550	2008/10/9	Lac-Beauport, MRC La Jacques- Cartier, Quebec, Canada	Ab
(トリコローマ・フ モソルテウム)	<i>fumosoluteum</i>	CMMF015845	1998/9/29	Lac Kenogami, Quebec, Canada	Pr
(トリコローマ・フ モソルテウム)	<i>fumosoluteum</i>	¹ NYSf1289	1874/9	Forestburgh, New York, USA	N.D.
コガネシメジ	<i>Tricholoma</i> sp.	TUA-85	2019/8/29	長野県佐久市, 大河原峠	Av, Td
コガネシメジ	<i>Tricholoma</i> sp.	TUA-88	2019/9/5	長野県佐久市, 大河原峠	Av, Td
コガネシメジ	<i>Tricholoma</i> sp.	TUA-98	2019/9/26	長野県佐久市, 大河原峠	Av, Td
コガネシメジ	<i>Tricholoma</i> sp.	AY-2150904-001	2015/9/4	長野県佐久市, 大河原峠	Av, Td
コガネシメジ	<i>Tricholoma</i> sp.	TUA-183	2022/9/7	長野県辰野市, 横川溪谷	Qs
コガネシメジ	<i>Tricholoma</i> sp.	TUA-192	2022/10/2	長野県飯山市, 鍋倉高原	F

¹ ホロタイプである本標本は、バシオニムである *Agaricus fumosolutea* がラベルされている。

Ab: *Abies balsamea*, Af: *A. firma*, Ah: *A. homolepis*, Av: *A. veitchii*, Asp: *Abies* sp., Fc: *Fagus crenata*, Fj: *F. japonica*, F: *Fagaceae*, Lk: *L. kaempferii*, Pd: *Pinus densiflora*, Ppa: *P. parviflora*, Ppu: *P. pumila*, Pr: *P. resinosa*, Pt: *P. thunbergii*, Po: *Populus* sp., Qc: *Quercus crispula* Qs: *Q. serrata*, Qsp: *Quercus* sp., Qm: *Q. myrsinifolia*, Ts: *Tsuga sieboldii*, Td: *T. diversifolia*.

² AY-20211119-001 は孢子形態観察にのみ用いた。

7-2-2. 分子系統解析と種同定

各標本の nuc rDNA ITS 領域を対象とした分子系統解析を行った（方法の詳細は第 2 章参照）。
なお、分子系統解析には、GenBank および NCBI よりダウンロードした *Tricholoma* 属の既知配列（付表 1）も併用した。

7-2-3. 形態観察

主にハイマツ帯にて採取され、黄色の傘を持ち *T. aff. fumosoluteum* と同定された標本、およびコガネシメジ標本について、孢子、担子器、小柄、傘表皮菌糸の顕微鏡観察を行った（方法の詳細は第 2 章参照）。

7-3. 結果

7-3-1. *Tricholoma* 属の系統解析

系統解析の結果，国内で採取した標本の多くは *Genuina* 節（カキシメジ節），*Terrea* 節（クマシメジ節），*Tricholoma* 節（キシメジ節），*Contextocutis* 節（ミネシメジ節），*Caligata* 節（マツタケ節），*Megatracholoma* 節（シロシメジ節），*Lasciva* 節（アシボソシロシメジ），*Sericella* 節（ニオイキシメジ節）および *Muscaria* 節（ハエトリシメジ節）に属した（図 7-1）．一方，*Atrosquamosa* 節（クロゲシメジ節），*Pardincutis* 節（ヒョウモンクロシメジ節）に含まれる標本はなく，データベース上の日本産標本の既知配列にもこれらの節に含まれる配列は確認できなかった．

一部の標本は，Heilmann-Clausen et al. (2017) および Reschke et al. (2018) に基づく 11 節に属さない *fumosoluteum* クレードおよび *melleum* クレードとして位置付けられた．また，高い BP 値が得られなかったが，*Tricholoma* 節がキシメジ系統とシモフリシメジ-アイシメジ系統に大別された．

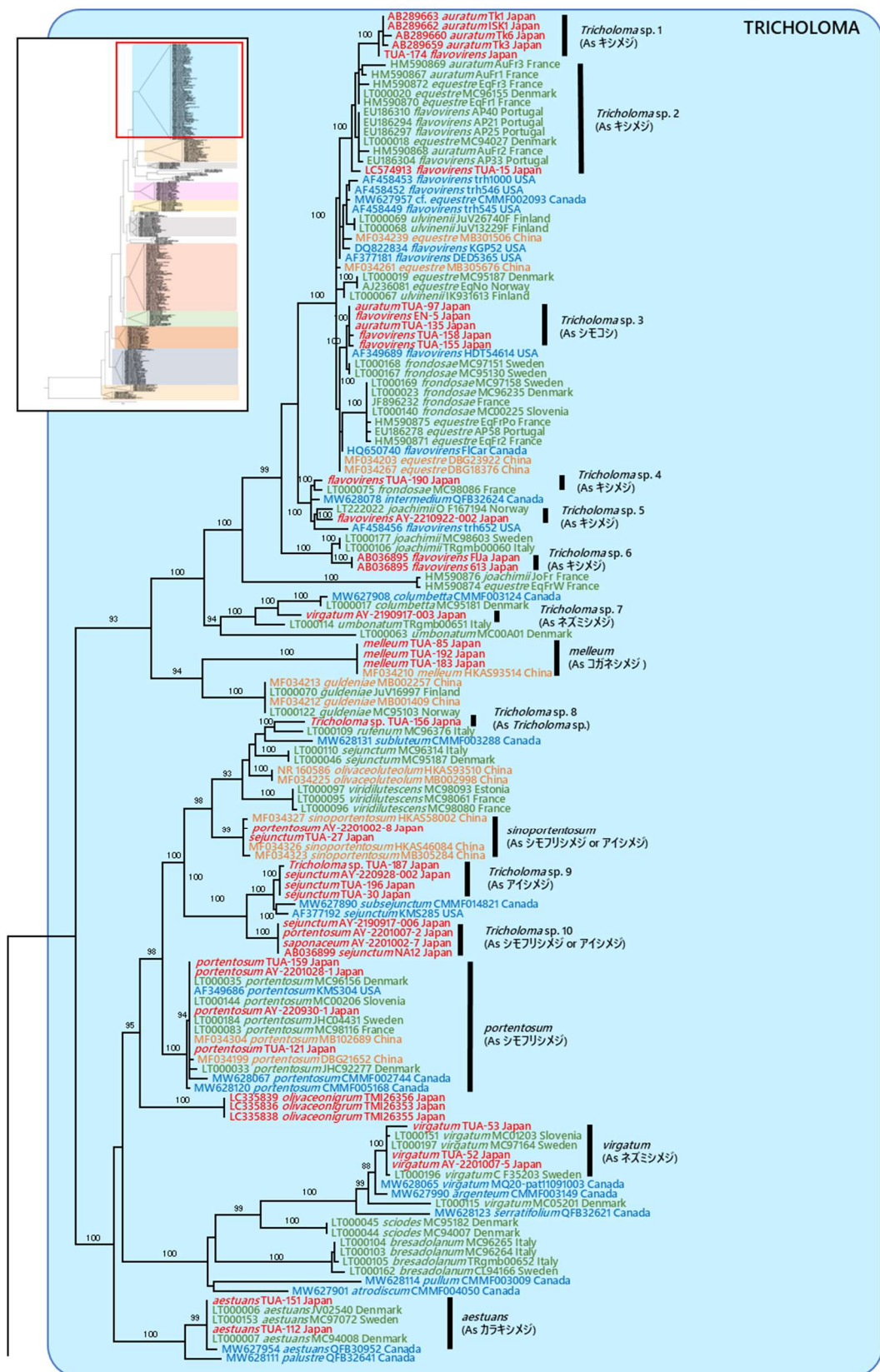


図 7-1. ITS 領域の塩基配列に基づく *Tricholoma* 属の系統樹. BP は 70 以下を非表示とする. 左上の系統樹は全体象を示し, 右側にはその上半部を拡大した詳細を示す. 各標本は Acc. No/種名/標本番号/採取国を示す. 色分けした枠内の右側に節名を大文字で表記した. 各標本の色は標本の由来するエリアを示す. 赤: 日本, 緑: 欧州, 青: 北米, 黄色: 中国, 東南アジア圏, 黒: ニュージーランド.

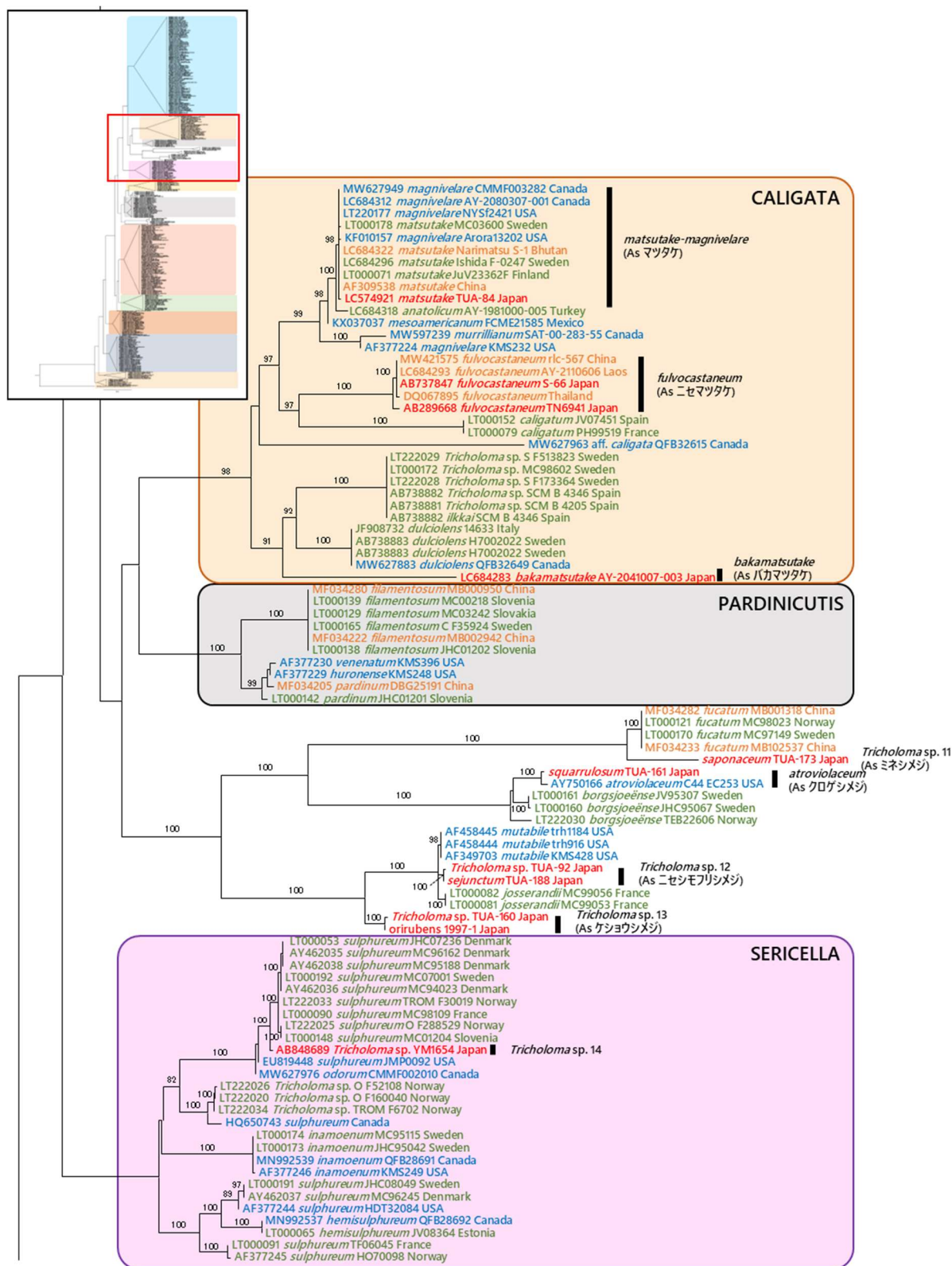


図 7-1. (続き) . 系統樹全体象の一部を拡大した詳細を示す.

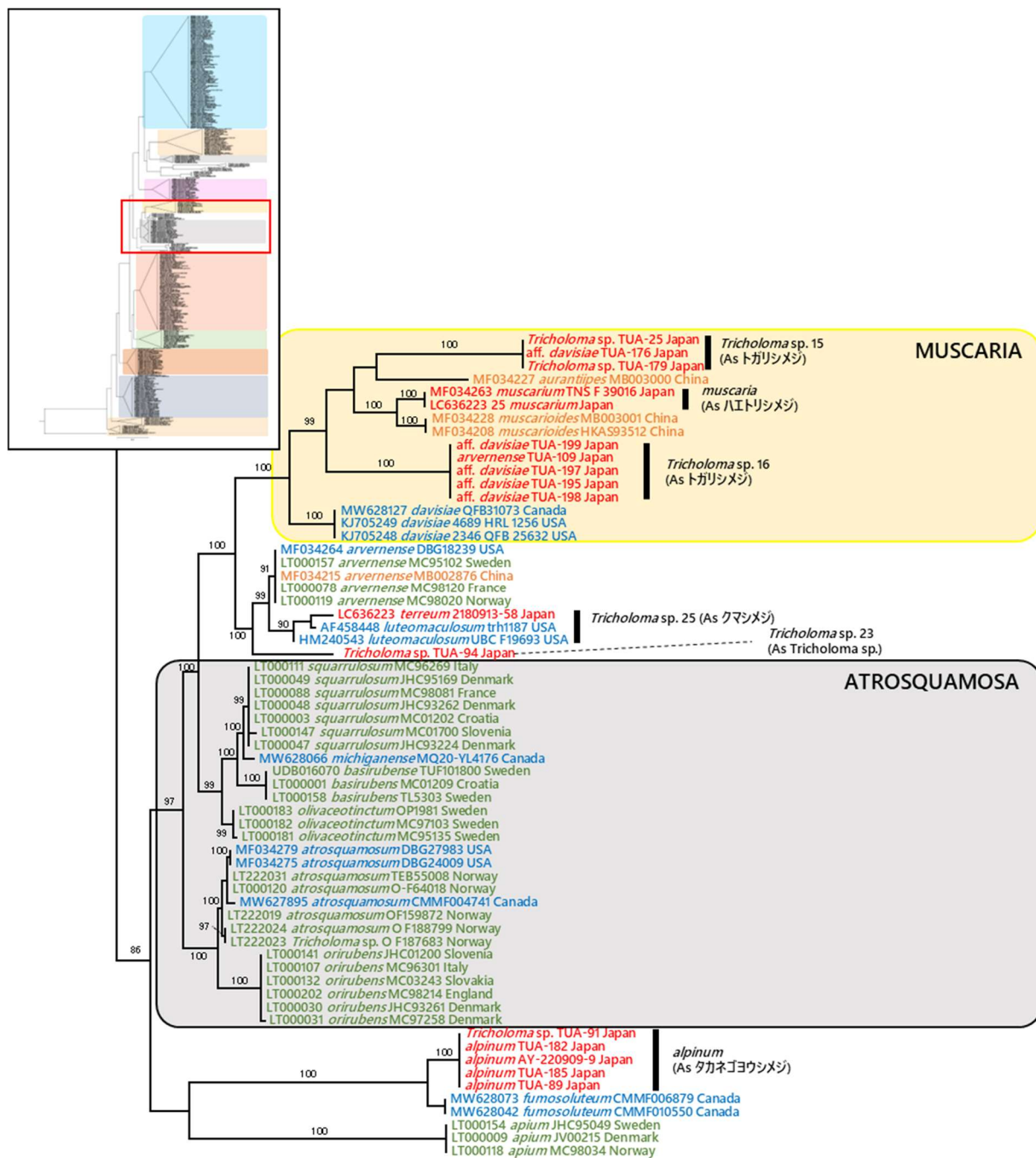


図 7-1. (続き). 系統樹全体象の一部を拡大した詳細を示す.

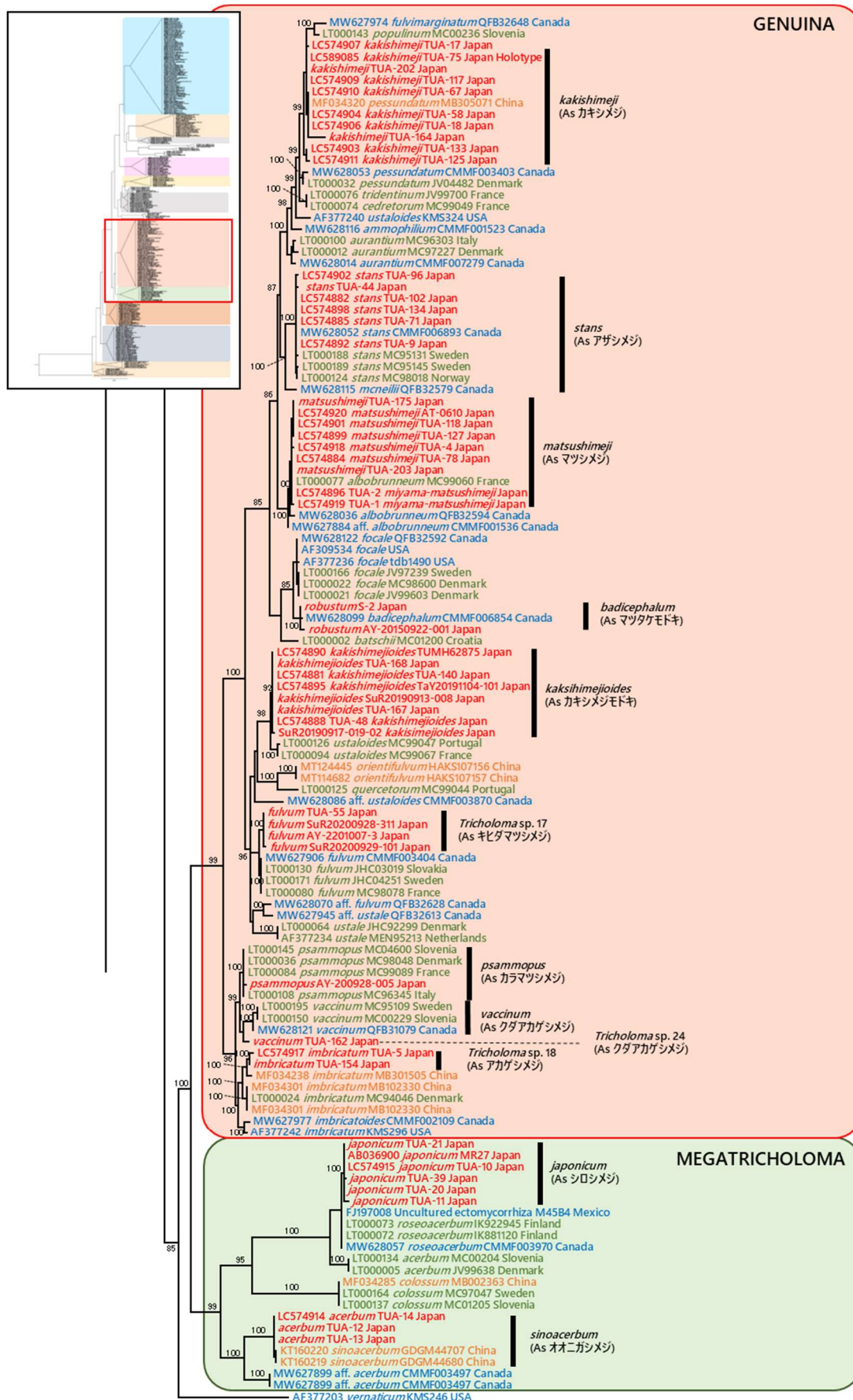


図 7-1. (続き) . 系統樹全体象の一部を拡大した詳細を示す.

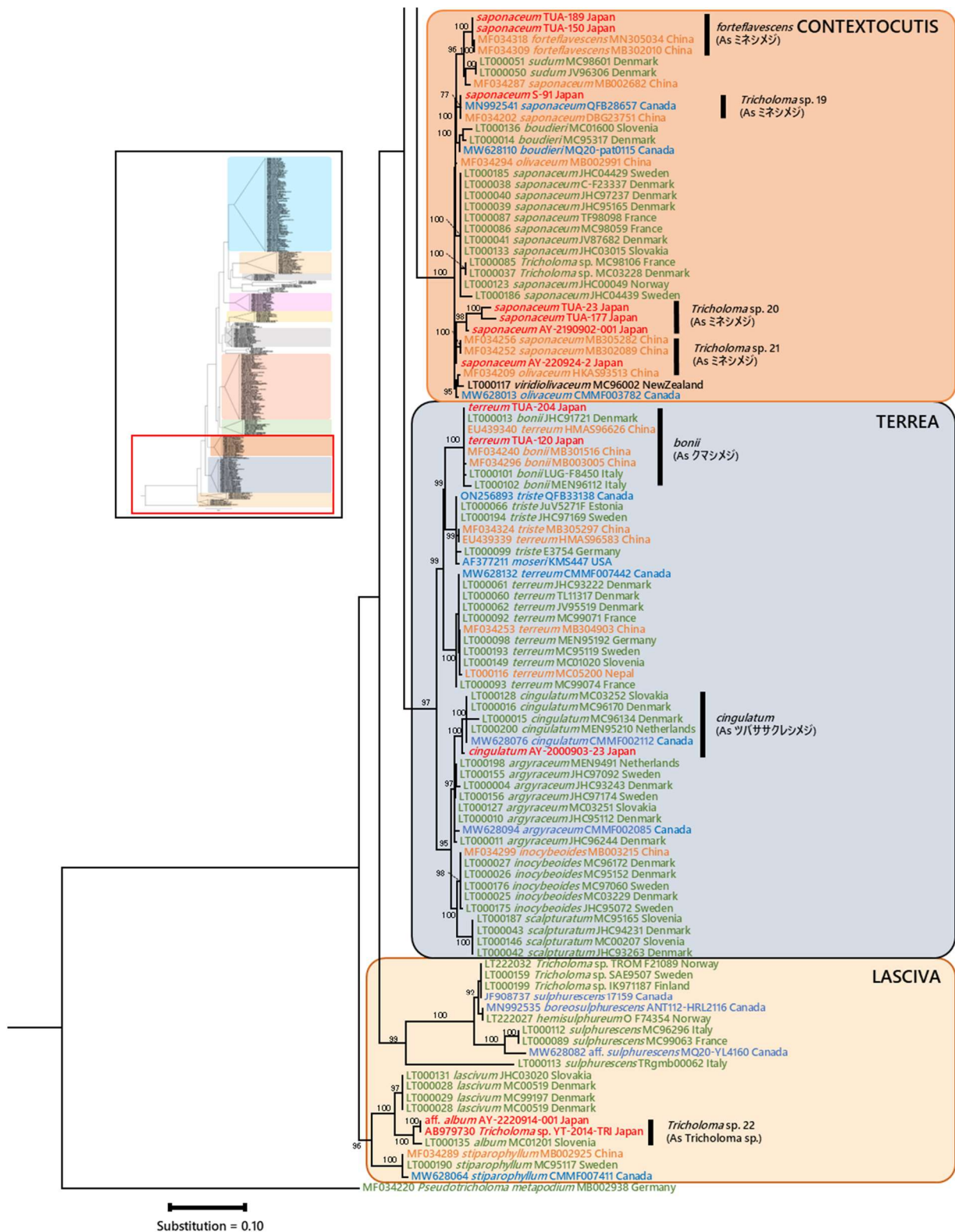


図 7-1. (続き). 左上の系統樹全体象の一部を拡大した詳細を示す.

7-3-2. 系統解析に基づく分類群の所属検討

本章で用いた日本産 *Tricholoma* 属種の同定は形態学的特徴を主としていたため、系統学的情報を加味した結果との対応関係を表 7-2 に示した。90 標本中 47 標本が既知の 24 種（BP70 以上の単系統性）、43 標本が未記載と推定される 25 種と判断された（図 7-1）。

Genuina 節（カキシメジ節）では、第 2 章で識別したカキシメジ類 4 種に加え、ブナ帯に由来するクダアカゲシメジ TUA-162 標本が北米産 *T. vaccinum* と同一クレードを構成したが、欧州産 *T. vaccinum* とは独立クレードと見なされた。カラマツシメジ AY-200928-005 標本（図 7-2M）はイタリア産 *T. psammopus* と同一クレードを構成した。キヒダマツシメジと同定された *Tricholoma* sp. 17 クレードの 4 標本（TUA-55, SuR20200928-311, AY-2201007-3, SuR20200929-101）は、欧州産と北米産の標本で構成される *T. fulvum* クレードとは姉妹関係だった（図 7-2L）。マツタケモドキと同定された 2 標本（S-2, AY-20150922-008）は、北米産 *T. badicephalum* と同一クレードを構成した（図 7-2K）。

Muscaria 節（ハエトリシメジ節）のハエトリシメジと同定された標本#25 は、*T. muscarium* と同定された。また、傘が中高から円錐型に発達するため *Muscaria* 節に属すると推定された仮称トガリシメジの 5 標本（TUA-109, TUA-195, TUA-197, TUA-198, TUA-199）と、仮称トガリシメジの 1 標本およびそれよりも黒色系だった 2 標本の計 3 標本（TUA-176, TUA-179, TUA-25）は、それぞれ *Tricholoma* sp. 16（図 7-2I）と *Tricholoma* sp. 15（図 7-2H）のクレードを構成した。このうち富士山の亜高山帯で採取された *Tricholoma* sp. 16 の 4 標本（TUA-195, TUA-197, TUA-198, TUA-199）は、北米から報告された *T. davisiae* と形態学的に類似し、傘が円錐状、黄色でやや黒色を呈し、ひだ縁部が黒色を呈し顕微鏡下では縁シスチジアが確認された。

Tricholoma 節（キシメジ節）は、いわゆるキシメジの標本を含む系統群とシモフリシメジを含む系統群に大別された。ハイマツ帯で採取された AY-220930-1 標本およびブナ帯で採取された 2 標本（TUA-159, AY-20201028-1）は *T. portentosum* クレードに内包された。すなわち、シモフリシメジは形態同定の結果が分子系統学的に支持された。一方、アイシメジと同定され亜高山帯針葉樹林で採取された AY-2201002-8 標本は、中国雲南省産標本を基に記載された *T. sinoportentosum* と同一クレードを構成した（図 7-2C）。アイシメジ 4 標本（AY-2200928-002, TUA-30, TUA-187, TUA-196）は *Tricholoma* sp. 9 クレードを構成し（図 7-2D）、北米産標本を基に記載された *T. subsejunctum* の姉妹クレードに位置した。亜高山帯針葉樹林で採取されたアイシメジ 2 標本（AY-2201002-7, AY-2190917-006）とシモフリシメジ 1 標本（AY-20201007-2）は *Tricholoma* sp. 10 クレードを構成し（図 7-2E）、欧州産 *T. sejunctum* および *T. portentosum* とは区別された。また、アイシメジとシモフリシメジに類似し冷温帯で採取された TUA-156 標本も、独立した *Tricholoma* sp. 8 クレードを構成した。キシメジを含む系統群では、供試標本は 7 クレードに識別された。アカマツ林に由来するキシメジ 1 標本（TUA-15）は *Tricholoma* sp. 2 クレードを構成し、欧州産の黄色系標本集団で構成されるクレードに近縁種であった。キシメジと同定され

た TUA-174 標本は既知 4 配列 (AB289663, AB289662, AB289660, AB289659) とともに *Tricholoma* sp. 1 クレードを構成した (図 7-2A) . 亜高山帯で採取されたキシメジ 1 標本 (TUA-190) と別のキシメジ 1 標本 (AY-2210922-002) は, それぞれ *Tricholoma* sp. 4 と *Tricholoma* sp. 5 クレードを構成した. ただし, 両クレードとも北米産や欧州産の複数種の標本と近縁な関係にあり, それらが連続的に変異する一集団とも見做せる樹形を示した. 亜高山帯針葉樹林と低地の広葉樹林で採取されたシモコシの 2 標本 (TUA-97, TUA-135) と冷温帯で採取されたキシメジの 3 標本 (EN-5, TUA-155, TUA-158) は, *Tricholoma* sp. 3 クレードを構成した (図 7-2B) . また, 亜高山帯で採取されたネズミシメジの 1 標本 (AY-2190917-003) は, *Tricholoma* sp. 7 として *T. columbetta* から分岐した. ネズミシメジの 3 標本 (TUA-53, TUA-52, AY-2201007-5) は, 欧州産 *T. virgatum* とともに単一クレードを構成した (図 7-2F) . また, 亜高山帯針葉樹林で採取されたカラキシメジの 2 標本 (TUA-112, TUA-151) は, 欧州産 *T. aestuans* とともに単一クレードを構成した (図 7-2L) . コガネシメジの 3 標本 (TUA-185, TUA-192, TUA-183) は, 中国雲南省で記載された *T. melleum* とともに単一クレードを構成した (図 7-2T) .

Contextocutis 節 (ミネシメジ節) では, ミネシメジ 7 標本は 3 つの系統に大別された. 中間温帯で採取された 1 標本 (TUA-177) と亜高山帯で採取された 2 標本 (TUA-23, TUA-32) は, *Tricholoma* sp. 20 クレードを構成した (図 7-2R) . ハイマツ帯で採取された 1 標本 (AY-220924-2) は, 中国産 *T. saponaceum* とともに *Tricholoma* sp. 21 クレードを構成した. 利尻岳のハイマツ帯に由来する 1 標本 (S-91) は, 北米産および中国産 *T. saponaceum* の標本とともに *Tricholoma* sp. 19 クレードを構成した. 亜高山帯で採取されたミネシメジ 2 標本 (TUA-189, TUA-150) は, 中国雲南省で記載された *T. forteflavescens* として同一クレードを構成した (図 7-2Q) .

Terrea 節 (クマシメジ節) では, 中間温帯で採取されたツバササクレシメジ 1 標本 (AY-2000903-23) が *T. cingulatum* クレードに内包された. クマシメジ 2 標本 (TUA-120, TUA-204) は, 欧州産および中国産 *T. bonii* のクレードに内包された (図 7-2S) .

Megatracholoma 節 (シロシメジ節) では, シロシメジ 4 標本は, 欧州産および北米産 *T. roseoacervum* クレードに近年な独立クレードを構成した (図 7-2O) . オオニガシメジの 3 標本 (TUA-12, TUA-13, TUA-14) は, 中国産 *T. sinoacervum* (Hosen et al., 2016) とともに同一クレードを構成した (図 7-2P) .

Lasciva 節 (アシボソシロシメジ節) では, アシボソシロシメジ 1 標本 (AY-2220914-001) は, 欧州産 *T. album* に近縁ながら独立した *Tricholoma* sp. 22 クレードを構成した (図 7-2V) .

既知の 11 節に含まれない系統として, 亜高山帯で採取されたニセシモフリシメジ 1 標本 (TUA-92) とハイマツ林で採取されたアイシメジ 1 標本 (TUA-188) は, *Tricholoma* sp. 12 クレードを構成した (図 7-2U) . クロゲシメジの 1 標本 (TUA-161) は, 北米産 *T. atroviolaceum* と単一クレードを構成した. ミネシメジの 1 標本 (TUA-173) は, 欧州および中国産 *T. fucatum* と近

縁ながら独立した *Tricholoma* sp. 11 として分岐した. ケショウシメジ 1 標本 (TUA-160) も独立した *Tricholoma* sp. 13 クレードを構成した.

以上の未記載と考えられる 25 クレードについては更なる分類学的検討が必要だが, 本章では日本産 *Tricholoma* 属の種多様解明にとどめた. このうち 1 クレードについては, ハイマツ帯に特有な種である点を重視して以下に新種記載した (Aoki et al., 2022a). また, 長野県内で食用とされてきたが分類学的措置のなされてこなかったコガネシメジを日本新産種 *T. melleum* として以下に記載した.

表 7-2. 供試した日本産 *Tricholoma* 属種の系統解析に基づく分類学的所属

和名 (同定名)	種小名 (同定名)	標本番号	系統解析に基づく分類学的所属	
			学名	節
カキシメジ	<i>kakishimeji</i>	TUA-164	<i>kakishimeji</i>	<i>Genuina</i>
カキシメジ	<i>kakishimeji</i>	TUA-202	<i>kakishimeji</i>	<i>Genuina</i>
アザシメジ	<i>stans</i>	TUA-44	<i>stans</i>	<i>Genuina</i>
マツシメジ	<i>matsushimeji</i>	TUA-175	<i>matsushimeji</i>	<i>Genuina</i>
マツシメジ	<i>matsushimeji</i>	TUA-203	<i>matsushimeji</i>	<i>Genuina</i>
マツタケモドキ	<i>robustum</i>	S-2	<i>badicephalum</i>	<i>Genuina</i>
マツタケモドキ	<i>robustum</i>	AY-20150922-001	<i>badicephalum</i>	<i>Genuina</i>
カキシメジモドキ	<i>kakishimejioides</i>	SuR20191104-008	<i>kakishimejioides</i>	<i>Genuina</i>
カキシメジモドキ	<i>kakishimejioides</i>	TUA-168	<i>kakishimejioides</i>	<i>Genuina</i>
カキシメジモドキ	<i>kakishimejioides</i>	TUA-167	<i>kakishimejioides</i>	<i>Genuina</i>
カキシメジモドキ	<i>kakishimejioides</i>	SuR20190917-019-02	<i>kakishimejioides</i>	<i>Genuina</i>
キヒダマツシメジ	<i>fulvum</i>	TUA-55	<i>Tricholoma</i> sp. 17 (未記載種)	<i>Genuina</i>
キヒダマツシメジ	<i>fulvum</i>	SuR20200928-311	<i>Tricholoma</i> sp. 17 (未記載種)	<i>Genuina</i>
キヒダマツシメジ	<i>fulvum</i>	AY-2201007-3	<i>Tricholoma</i> sp. 17 (未記載種)	<i>Genuina</i>
キヒダマツシメジ	<i>fulvum</i>	SuR20200929-101	<i>Tricholoma</i> sp. 17 (未記載種)	<i>Genuina</i>
クダアカゲシメジ	<i>vaccinum</i>	TUA-162	<i>Tricholoma</i> sp. 24 (未記載種)	<i>Genuina</i>
カラマツシメジ	<i>psammopus</i>	AY-2200928-005	<i>psammopus</i>	<i>Genuina</i>
アカゲシメジ	<i>imbricatum</i>	TUA-154	<i>Tricholoma</i> sp. 18 (未記載種)	<i>Genuina</i>
マツタケ	<i>matsutake</i>	TUA-84	<i>matsutake</i>	<i>Caligata</i>
シロシメジ	<i>japonicum</i>	TUA-11	<i>japonicum</i>	<i>Megatricholoma</i>
シロシメジ	<i>japonicum</i>	TUA-20	<i>japonicum</i>	<i>Megatricholoma</i>
シロシメジ	<i>japonicum</i>	TUA-21	<i>japonicum</i>	<i>Megatricholoma</i>
シロシメジ	<i>japonicum</i>	TUA-39	<i>japonicum</i>	<i>Megatricholoma</i>
オオニガシメジ	<i>acerbum</i>	TUA-12	<i>sinoacerbum</i>	<i>Megatricholoma</i>
オオニガシメジ	<i>acerbum</i>	TUA-13	<i>sinoacerbum</i>	<i>Megatricholoma</i>
オオニガシメジ	<i>acerbum</i>	TUA-14	<i>sinoacerbum</i>	<i>Megatricholoma</i>
ハエトリシメジ	<i>muscarium</i>	25	<i>muscarium</i>	<i>Muscaria</i>
トガリシメジ(仮)	<i>aff. davisiae</i>	TUA-176	<i>Tricholoma</i> sp. 15 (未記載種)	<i>Muscaria</i>
トガリシメジ(仮)	<i>aff. davisiae</i>	TUA-195	<i>Tricholoma</i> sp. 16 (未記載種)	<i>Muscaria</i>
トガリシメジ(仮)	<i>aff. davisiae</i>	TUA-197	<i>Tricholoma</i> sp. 16 (未記載種)	<i>Muscaria</i>
トガリシメジ(仮)	<i>aff. davisiae</i>	TUA-198	<i>Tricholoma</i> sp. 16 (未記載種)	<i>Muscaria</i>
トガリシメジ(仮)	<i>aff. davisiae</i>	TUA-199	<i>Tricholoma</i> sp. 16 (未記載種)	<i>Muscaria</i>
(和名無し)	<i>aff. arvernense</i>	TUA-109	<i>Tricholoma</i> sp. 16 (未記載種)	<i>Muscaria</i>
ネズミシメジ	<i>virgatum</i>	AY-2190917-003	<i>Tricholoma</i> sp. 7 (未記載種)	<i>Tricholoma</i>
ネズミシメジ	<i>virgatum</i>	TUA-53	<i>virgatum</i>	<i>Tricholoma</i>
ネズミシメジ	<i>virgatum</i>	TUA-52	<i>virgatum</i>	<i>Tricholoma</i>

ネズミシメジ	<i>virgatum</i>	AY-2201007-5	<i>virgatum</i>	<i>Tricholoma</i>
カラキシメジ	<i>aestuans</i>	TUA-112	<i>aestuans</i>	<i>Tricholoma</i>
カラキシメジ	<i>aestuans</i>	TUA-151	<i>aestuans</i>	<i>Tricholoma</i>
シモフリシメジ	<i>portentosum</i>	TUA-121	<i>portentosum</i>	<i>Tricholoma</i>
シモフリシメジ	<i>portentosum</i>	TUA-159	<i>portentosum</i>	<i>Tricholoma</i>
シモフリシメジ	<i>portentosum</i>	AY-2200930-1	<i>portentosum</i>	<i>Tricholoma</i>
シモフリシメジ	<i>portentosum</i>	AY-2201028-1	<i>portentosum</i>	<i>Tricholoma</i>
シモフリシメジ	<i>portentosum</i>	AY-2201007-2	<i>Tricholoma</i> sp. 10 (未記載種)	<i>Tricholoma</i>
アイシメジ	<i>sejunctum</i>	AY-2201002-8	<i>sinoportentosum</i>	<i>Tricholoma</i>
アイシメジ	<i>sejunctum</i>	AY-2201002-7	<i>Tricholoma</i> sp. 10 (未記載種)	<i>Tricholoma</i>
アイシメジ	<i>sejunctum</i>	TUA-30	<i>Tricholoma</i> sp. 9 (未記載種)	<i>Tricholoma</i>
アイシメジ	<i>sejunctum</i>	TUA-196	<i>Tricholoma</i> sp. 9 (未記載種)	<i>Tricholoma</i>
アイシメジ	<i>sejunctum</i>	AY-2200928-002	<i>Tricholoma</i> sp. 9 (未記載種)	<i>Tricholoma</i>
シモコシ	<i>auratum</i>	TUA-97	<i>Tricholoma</i> sp. 3 (未記載種)	<i>Tricholoma</i>
シモコシ	<i>auratum</i>	TUA-135	<i>Tricholoma</i> sp. 3 (未記載種)	<i>Tricholoma</i>
キシメジ	<i>flavovirens</i>	EN-5	<i>Tricholoma</i> sp. 3 (未記載種)	<i>Tricholoma</i>
キシメジ	<i>flavovirens</i>	TUA-158	<i>Tricholoma</i> sp. 3 (未記載種)	<i>Tricholoma</i>
キシメジ	<i>flavovirens</i>	TUA-155	<i>Tricholoma</i> sp. 3 (未記載種)	<i>Tricholoma</i>
キシメジ	<i>flavovirens</i>	TUA-174	<i>Tricholoma</i> sp. 1 (未記載種)	<i>Tricholoma</i>
キシメジ	<i>flavovirens</i>	TUA-190	<i>Tricholoma</i> sp. 4 (未記載種)	<i>Tricholoma</i>
キシメジ	<i>flavovirens</i>	TUA-15	<i>Tricholoma</i> sp. 2 (未記載種)	<i>Tricholoma</i>
キシメジ	<i>flavovirens</i>	AY-2210922-002	<i>Tricholoma</i> sp. 5 (未記載種)	<i>Tricholoma</i>
ミネシメジ	<i>saponaceum</i>	TUA-23	<i>Tricholoma</i> sp. 20 (未記載種)	<i>Contextocutis</i>
ミネシメジ	<i>saponaceum</i>	TUA-177	<i>Tricholoma</i> sp. 20 (未記載種)	<i>Contextocutis</i>
ミネシメジ	<i>saponaceum</i>	AY-2190902-001	<i>Tricholoma</i> sp. 20 (未記載種)	<i>Contextocutis</i>
ミネシメジ	<i>saponaceum</i>	AY-220924-2	<i>Tricholoma</i> sp. 21 (未記載種)	<i>Contextocutis</i>
ミネシメジ	<i>saponaceum</i>	S-91	<i>Tricholoma</i> sp. 19 (未記載種)	<i>Contextocutis</i>
ミネシメジ	<i>saponaceum</i>	TUA-150	<i>forteflavescens</i>	<i>Contextocutis</i>
ミネシメジ	<i>saponaceum</i>	TUA-189	<i>forteflavescens</i>	<i>Contextocutis</i>
クマシメジ	<i>terreum</i>	TUA-120	<i>bonii</i>	<i>Terrea</i>
クマシメジ	<i>terreum</i>	TUA-204	<i>bonii</i>	<i>Terrea</i>
クマシメジ	<i>terreum</i>	AY-2180928-58	<i>Tricholoma</i> sp.25 (未記載種)	/luteomaculosum clade
クロゲシメジ	<i>squarrulosum</i>	TUA-161	<i>atroviolaceum</i>	/atroviolaceum
ツバササクレシメジ	<i>cingulatum</i>	AY-2000903-23	<i>cingulatum</i>	<i>Terrea</i>
アシボソシロシメジ(仮)	aff. <i>acerbum</i>	AY-2220914-001	<i>Tricholoma</i> sp. 22 (未記載種)	<i>Lasciva</i>
ニセシモフリシメジ	<i>Tricholoma</i> sp.	TUA-92	<i>Tricholoma</i> sp. 12 (未記載種)	/mutabile
ニセシモフリシメジ	<i>Tricholoma</i> sp.	TUA-188	<i>Tricholoma</i> sp. 12 (未記載種)	/mutabile
(なし: 灰色系)	(未同定)	TUA-173	<i>Tricholoma</i> sp. 11 (未記載種)	/fucatum clade
(なし: 黒色系)	(未同定)	TUA-160	<i>Tricholoma</i> sp. 13 (未記載種)	(novel clade)
(なし: 黒色系)	(未同定)	1997-1	<i>Tricholoma</i> sp. 13 (未記載種)	(novel clade)
(なし: 黒色系)	(未同定)	TUA-25	<i>Tricholoma</i> sp. 15 (未記載種)	<i>Muscaria</i>
(なし: 黒色系)	(未同定)	TUA-179	<i>Tricholoma</i> sp. 15 (未記載種)	<i>Muscaria</i>
(なし: 黒色系)	(未同定)	TUA-94	<i>Tricholoma</i> sp. 23 (未記載種)	(novel clade)
(なし: 黄色系)	<i>Tricholoma</i> sp.	TUA-156	<i>Tricholoma</i> sp. 8 (未記載種)	<i>Tricholoma</i>
(なし: 黄色系)	<i>Tricholoma</i> sp.	TUA-187	<i>Tricholoma</i> sp. 9 (未記載種)	<i>Tricholoma</i>
(なし: 黄色系)	aff. <i>fumosoluteum</i>	TUA-89	<i>alpinum</i>	/fumosoluteum
(なし: 黄色系)	aff. <i>fumosoluteum</i>	TUA-91	<i>alpinum</i>	/fumosoluteum
(なし: 黄色系)	aff. <i>fumosoluteum</i>	TUA-182	<i>alpinum</i>	/fumosoluteum
(なし: 黄色系)	aff. <i>fumosoluteum</i>	TUA-185	<i>alpinum</i>	/fumosoluteum
(なし: 黄色系)	aff. <i>fumosoluteum</i>	AY-220909-9	<i>alpinum</i>	/fumosoluteum
コガネシメジ	(未同定)	TUA-85	<i>melleum</i>	/melleum

コガネシメジ	(未同定)	TUA-183	<i>melleum</i>	/melleum
コガネシメジ	(未同定)	TUA-192	<i>melleum</i>	/melleum



図 7-2. *Tricholoma* 属種の子実体外観。A: *Tricholoma* sp. 1 (TUA-174), B: *Tricholoma* sp. 3 (TUA-135), C: *T. sinopotentosum* (AY-2201002-8), D: *Tricholoma* sp. 9 (AY-2201002-7), E: *Tricholoma* sp. 10 (AY-2201007-2), F: *T. virgatum* (TUA-52; ネズミシメジ), G: *T. aestuans* (TUA-112; カラキシメジ), H: *Tricholoma* sp. 15 (TUA-25).



図 7-2. (続き). I: *Tricholoma* sp. 16 (TUA-198; トガリシメジ), J: *T. alpinum* (TUA-185; タカネゴヨウシメジ), K: *T. badicephalum* (マツタケモドキ), L: *Tricholoma* sp. 17 (AY-2201007-3; キヒダマツシメジ), M: *T. psammopus* (2200928-005; カラマツシメジ), N: *Tricholoma* sp. 18 (アカゲシメジ), O: *T. japonicum* (TUA-39; シロシメジ), P: *T. sinoacerbum* (オオニガシメジ).



図 7-2. (続き). Q: *T. forteflavescens* (TUA-151), R: *Tricholoma* sp. 20 (TUA-23; ミネシメジ), S: *T. bonii* (TUA-204; クマシメジ), T: *T. melleum* (TUA-183; コガネシメジ), U: *Tricholoma* sp. 12 (ニセシモフリシメジ), V: *Tricholoma* sp. 22 (AY-20220914-001; アシボソシロシメジ), W: (AY-2180928-58; *Tricholoma* sp. 25).

7-3-3. 記載

Tricholoma melleum K. Reschke, F. Popa, Z.L. Yang & G. Kost

和名：コガネシメジ

図 7-2

標徴（和名）：“コガネシメジ”は、長野県内において慣習的に用いられている呼称（信州きのこの会，2002）を適用した。

記載：傘は直径 30–90 mm，初め丸山形から成熟すると中高，傘の縁は内側に巻き（図 7-3 A, B），老成すると裂ける．傘表面は平滑～粒状，黄色～黄土色，中央はやや茶褐色．柄は長さ 75–90 mm，直径 10–25mm，下方が太くなり，中髄もしくは中空，表面は全体的には傘と同色，繊維質．ひだは湾性，やや疎，白色またはクリーム色，ひだの間隔は 2–3 mm，他の *Tricholoma* 属に比べて深く発達する（図 7-3B）．乾いたときに桃に似た甘い香りを有し，湿ったときは香りが弱いが無臭，無味．

担子胞子は 7.5–8.9–10.6×5.7–6.7–8.0 μm，Q 値は 1.2–1.3–1.5（TUA-85），広楕円形から楕円形，非アミロイド，生鮮標本では一個の油滴を有す（図 7-2C）．担子器は 15.5–18.5–21.3×3.1–3.6–3.9 μm，4 孢子性，細胞内に複数の油滴を有し，基部隔壁と子実下層に時折クランプコネクションを有しする（TUA-192：図 7-3D–F）．傘表皮菌糸は 32.3–40.7–54.2×7.5–9.6–12.0 μm，円柱状，黄色～褐色の色素を有し，菌糸は一方向に規則正しく並ぶか不規則に交差し連続的に入り混じり，油滴構造および色素を含み棍棒状から脛骨状で厚壁の傘シスチジアを有す（図 7-3G, H）．

生態：日本国内の亜高山帯のコメツガやシラビソの樹下，または冷温帯のブナ科樹下で，8–10 月に発生する．中国雲南省にも分布する．

観察に供試した標本：日本：長野県：佐久市，TUA-98（山田明義），TUA-88（青木渉），TUA-85（山田明義），AY-2150904-001（山田明義）；辰野市：TUA-183（山田明義）；飯山市：TUA-192（清水宏幸）．

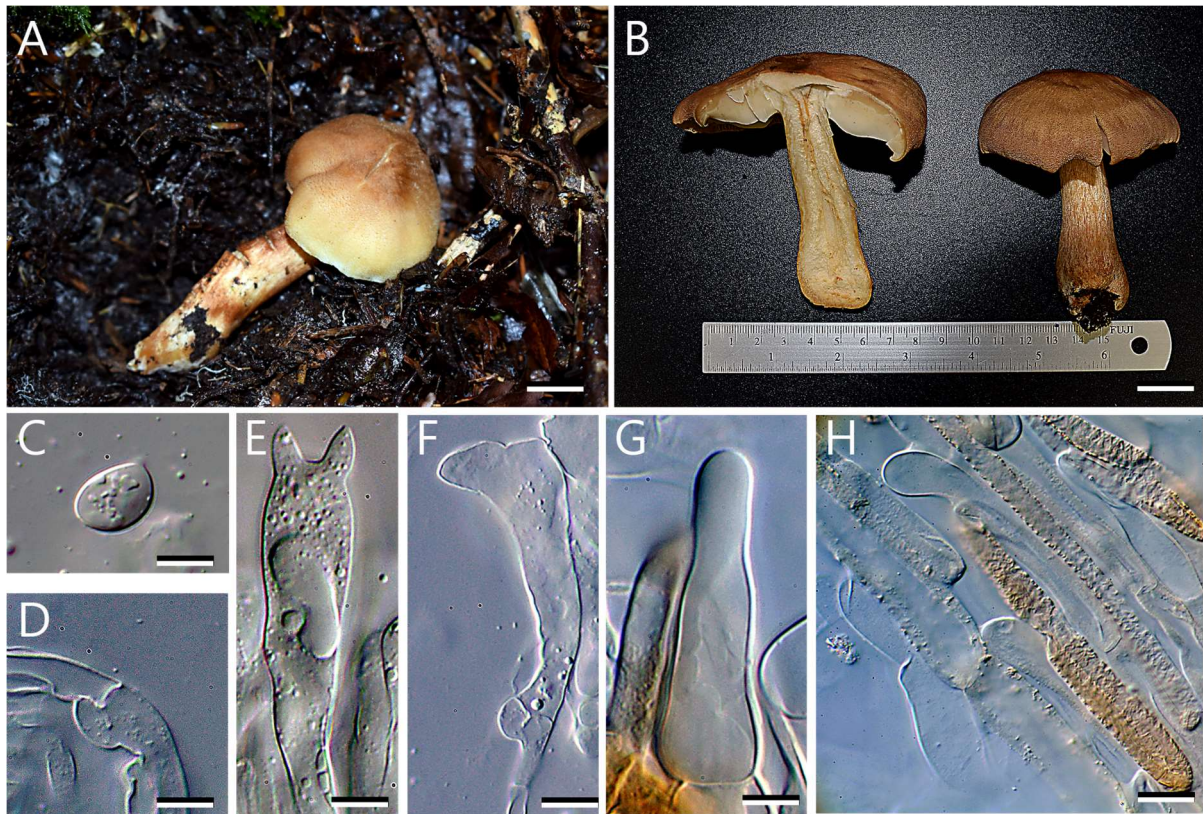


図 7-3. *Tricholoma melleum* (TUA-183) の子実体の外観形態と細胞形態. A: 発生環境, B: 外観, C: 担子孢子, D: 子実下層のクランプコネクション, E: 担子器, F: 若い担子器と基部隔壁のクランプコネクション, G: 傘シスチジア細胞, H: 傘表皮菌糸と構造. A, B: 2 cm; C–G: 5 μ m; H: 10 μ m.

注釈: *Tricholoma melleum* は中国雲南省の標本をもとに記載された (Reschke et al., 2018). 中国産 *T. melleum* はコナラ属樹下に発生するが, コガネシメジは亜高山帯マツ科針葉樹林から冷温帯のブナ科やマツ科の樹下までの幅広い植生下で発生する (信州きのこの会, 2002). このため, 現状では ITS 領域の系統解析結果に基づき *T. melleum* と同定されたコガネシメジが, 多遺伝子解析により未記載の隠蔽種として識別される可能性が残されている. 橙色から褐色の子実体で甘い果物臭を有するキシメジ属種は他にないため, 他種との識別は比較的容易である. 本種は *Tricholoma* 属の既知節に含まれないと報告されたが (Reschke et al., 2018), 本研究の結果からは本種が *Tricholoma* 節に属す系統と判断された. ただし, *Tricholoma* 節の各系統間で配列のバリエーションが大きいことを考慮すると, 長枝誘引による統計的な誤謬の可能性もありうるため, 近縁種を用いて詳しく解析する必要がある.

Tricholoma alpinum W. Aoki & A. Yamada, sp. nov.

和名: タカネゴヨウシメジ

図 7-3

MycoBank.: MB840122

標徴：北米に分布する *T. fumosoluteum* と系統的に識別可能であり，胞子や担子器の形態的差異からも識別できる．

タイプ：日本，長野県宮田村木曾駒ヶ岳北の稜線：北緯 35 度 47 分 50.5 秒，東経 137 度 49 分 04.1 秒：ハイマツ低木林内：2020 年 9 月 30 日：採取者，山田明義（Holotype, TNS-F-82066[220930-2]）．

ホロタイプの配列：LC636230（nuc rDNA ITS：図 7-1），LC636257（*tef1*），LC636275（*gapdh*），LC636251（*rpb2*），LC636425（mt rDNA SSU），LC636291（*atp6*）．

語源：*alpinum* は alpine を意味し，本菌の生息環境を反映したものである．和名のタカネゴヨウシメジは，高山に自生するゴヨウマツ類の樹下に発生することによる．

記載：傘は直径 15–55 mm，初めは三角錐から釣鐘型，縁が内側に巻き，次第に中高から平になり，縁は内側にわずかに巻くか波打ち，表面は絹状で光沢がある（図 7-4A–C）．傘表面は平滑，湿時わずかに粘性があり繊維質，曇った淡橙色～黄色～くすんだ黄褐色で，時折，中央が暗色になる，初めは灰黄色で縁に行くほど淡色になる．古くなると中央が暗い色になる．匂いや味は紛臭がある．ヒダは湾性，やや密で時折やや疎，白色からクリーム色，わずかに鋸歯状になる．柄は長さ 30–90 mm，直径 10–15 mm，白色からクリーム色，下方が淡黄色になり，表面は繊維質または平滑で円柱状から下方に向けて太くなり，中髄から中実（図 7-4B, C）．肉は白色からクリーム色．

担子胞子は(5.5–)6.5–6.6–7(–8) × (4–)5–5.3–5.5(–6.5) μm，Q 値は(1.05–)1.21–1.27–1.35(–1.60)，類球形から楕円形，非アミロイド（30 分間浸漬），平滑，細胞内に油滴が見られる（図 7-4D）．担子器は(26–)37–38–42(–52) × (6–)7–7.4–8(–10) μm，殆どは 1–2 胞子性でまれに 4 胞子性，棍棒状で細胞内には油滴構造が見られる（図 7-4E）．小柄は(2.5–)4–5.4–7.5(–14) × (1–)1.5–1.7–2(–2.5) μm，側シスチジアと縁シスチジアは確認されない．傘表皮菌糸は一方向に規則正しく並び（図 7-3G），大きさは(20–)40–50–61(–109) × (3.5–)5–5.5–6.5(–12) μm，平滑，菌糸は真っすぐ伸長し，乳酸封入時は細胞内が黄色を呈す（図 7-4F）．柄表皮菌糸は規則正しく伸長し，大きさは(22–)60–65–70(–123) × (3.5–)5.5–6–6.5(–10.5) μm，表面は平滑，真っすぐ伸長するかわずかに曲がる（図 7-4H）．柄シスチジアは錐体状から棍棒状．観察したすべての菌糸でクランプコネクションを欠いていた（図 7-4I）．

生態：日本国内，飛騨山脈（燕岳，蝶ヶ岳，西穂高岳，乗鞍岳），木曾山脈（木曾駒ヶ岳），関東山地（十文字峠）などのハイマツやゴヨウマツの樹木下に 8–9 月に発生する．

ホロタイプ以外の観察標本：日本：長野県：燕岳：TUA-89（青木渉），TUA-90（青木渉）；蝶ヶ岳：TUA-182（山田明義）；乗鞍岳：TUA-185（山田明義），TUA-186（山田明義）；十文字峠：TUA-93（山田明義）；木曾駒ヶ岳：TUA-99（青木渉），220930-2（山田明義），220930-5（山田明義）；岐阜県：西穂高岳：220909-4（山田明義），220909-9（山田明義）．



図 7-4. *Tricholoma alpinum* の外観と顕微鏡下における細胞形態 (220930-2). A: 発生環境, B: 子実体外観, C: 幼菌の外観, D: 担子孢子形態, E: 担子器と小柄, F: 傘表皮菌糸, G: 傘表皮菌糸構造, H: 柄菌糸, I: 柄シスチジア. Bar = B, C: 10 mm; D: 5 μ m; E-I: 10 μ m.

注釈 : *Tricholoma alpinum* (図 7-4A, B) は巨視的には *T. fumosoluteum* (図 7-5A, B) に似るが, *T. alpinum* の担子器や傘表皮菌糸は *T. fumosoluteum* のそれらよりも小さい傾向にある (表 7-3) . 加えて, *T. fumosoluteum* 傘表皮菌糸は平行配列と入り組んだ配列が連続的に混在する (図 7-4H) . Bigelow (1979) には, *T. fumosoluteum* の縁シスチジアが記載されているが, 本研究ではカナダ産 *T. alpinum* 標本と米国産タイプ標本 *Agaricus fumosoluteus* NYSf1289 においてそのような構造は確認できなかった (図 7-5E, G; 表 7-4) . *Tricholoma alpinum* はハイマツと密接に関係すると考えら

れるが、日本国内のハイマツ帯は温暖化による衰退が懸念されるため (Horikawa et al., 2009) , 本菌種も絶滅が危惧される。

表 7-3. *T. alpinum* と *T. fumosoluteum* の形態比較

計測項目		各種における計測値			
		<i>T. alpinum</i>		<i>T. fumosoluteum</i>	
		<i>N</i>	Min-Ave-Max	<i>N</i>	Min-Ave-Max
担子孢子	長径 (μm)	7	6.4-6.6-6.8	6	5.4-5.9-6.2
	短径 (μm)		5.0-5.3-5.6		4.5-4.8-5.1
	Q 値		1.1-1.3-1.4		1.1-1.3-1.4
担子器	長径(μm)	6	37.0-38.4-41.8	5	30.1-32.7-35.5
	短径(μm)		6.9-7.4-7.9		6.6-7.0-7.3
小柄	長径(μm)	6	4.0-5.4-7.6	5	3.5-4.3-4.8
	短径(μm)		1.4-1.7-2.0		1.4-1.5-1.6
傘表皮菌糸	長径(μm)	6	40.0-49.8-61.1	5	61.4-67.8-71.6
	短径(μm)		5.2-5.7-6.4		5.2-6.2-6.8
柄表皮菌糸	長径(μm)	4	59.6-65.3-70.3	5	67.7-74.8-87.3
	短径(μm)		5.5-5.9-6.6		5.7-6.0-6.5

表 7-4. *T. fumosoluteum* と *T. alpinum* の比較表

<i>T. alpinum</i>		<i>T. fumosoluteum</i>			
220930-2 (TNS-F-82066)		(Peck, 1875) <i>Agaricus fumosoluteus</i>	NYSf1289 (≡ <i>Agaricus fumosoluteus</i> Peck)	CMMF010550 (epitype)	(Bigelow, 1979)
傘の形態	くすんだ黄色から淡い黄色, 三角錐から中高型, 縁が内側に巻く, 平滑から繊維質.	くすんだ黄色, 中高から平, 平滑.	-	くすんだ黄色から淡い黄色, 三角錐から中高型, 縁が内側に巻くか波打つ, 平滑.	はじめ三角錐から釣鐘型で縁が内側に巻くが, 成熟すると波打つ. 多くは黄色, 老成するとオレンジ色.
柄の形態	白色からクリーム色, 基部は淡黄色, 繊維質もしくは平滑, 円柱状から下方が太くなる, 中空から中髄.	頑丈で, 平滑, 中空, 白色.	-	白色からクリーム色, 基部は淡黄色, 繊維質もしくは平滑, 円柱状から下方が太くなる.	基部は肥大し, 時折棍棒状になる.
ひだの形態	湾性, やや密からやや疎, 白色からクリーム色.	上性, やや密でひだが深い.	-	湾性から上性, やや密からやや疎, 白色からクリーム色.	上生から湾性, やや密, 白色もしくは傘の縁が黄色.
担子孢子的形態	6.4-6.6-6.8 × 5.0-5.3-5.6 μm, 類球形から橢円形.	類球形, 4-5 μm (00018' -, 0002' inch).	4.6-5.5-6.7 × 4.0-4.5-5.2 μm, 類球形から橢円形.	5.4-5.9-6.2 × 4.5-4.8-5.1 μm, 球形から類橢円形.	5.5-6(-7) × 5-5.5(-6) μm, 球形から類球形.
担子器	37.0-38.4-41.8 × 6.9-7.4-7.9 μm, 棍棒状, 1もしくは2孢子性, まれに4孢子性.	-	26.0-30.1-39.0 × 6.0-7.1-8.0 μm, 棍棒状, 4孢子性.	30.1-32.7-35.5 × 6.6-7.0-7.3 μm, 棍棒状, 4孢子性.	-
生息域	高山帯では <i>P. pumila</i> 樹木下, 亜高山帯では <i>P. parviflora</i> 樹下に発生.	森林地上.	-	針葉樹林内.	多くはカシの木など, 時折針葉樹下に発生.

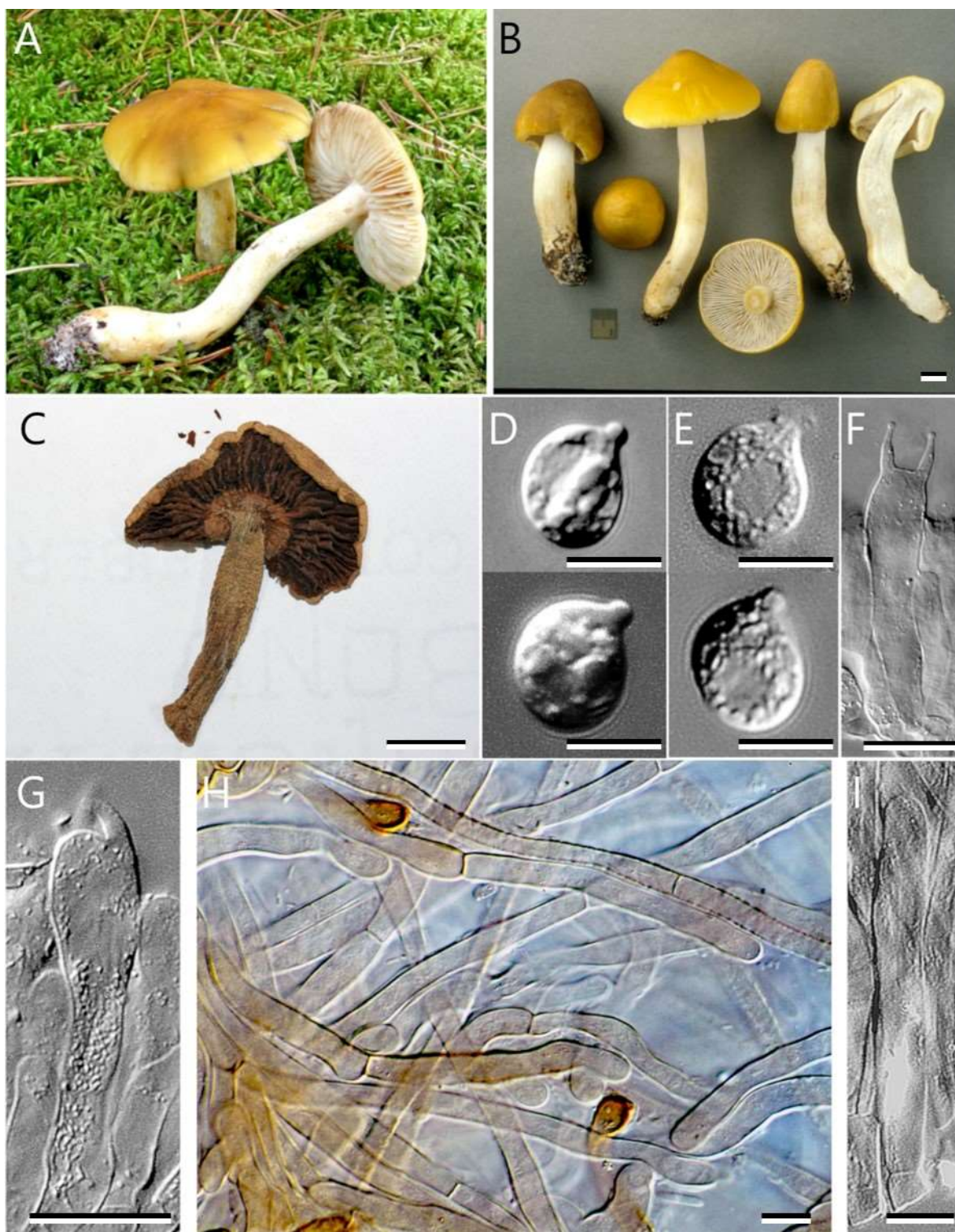


図 7-5. *Tricholoma fumosoluteum* (CMMF010550: NYSf1289: Holotype)の外観と顕微鏡像. A:発生環境, B: 子実体外観, C: Holotype 標本 (NYSf1289) の外観, D: 担子孢子形態, E: NYSf1289 の担子孢子, F: 担子器, G: NYSf1289 の担子器, H: 傘表皮菌糸構造, I: NYSf1289 の傘表皮菌糸. Bar = B, C: 10 mm; D, E: 5 μ m; F-I, S: 10 μ m.

7-3-4. 日本産 *Tricholoma* 属種の分類学的解釈

以上の日本産 *Tricholoma* 属種に関する解析結果と文献データとを照合し、学名の修正・統合を図り、以下の表 7-5 を作成した。本表は、これまでに報告のあった全ての種について解析した訳ではなく、あくまで情報の統合を図ることを目的とした。このため、表 7-5 は日本産 *Tricholoma* 属種モノグラフの要約ではなく、きのこ資源としての日本産 *Tricholoma* 属種の一覧である。

勝本（2010）により報告された *Tricholoma* 属は 40 種であるが、本研究の結果、67 種が国内に分布することが判明した（学名未詳の 25 種を含む）。ただし、勝本（2010）に掲載された種のうち 7 種の学名は除外されたため、この点を踏まえると 17 種程度が新たに追加されたことになる。

表 7-5. 日本産地キシメジ属（*Tricholoma* 属）の一覧

勝本 (2010)による種名提示				分子系統解析に基づく種名			
学名提示	和名	節 ²	学名 (種小名)	学名の処遇	新和名	文献 ³	同定
<i>ustale</i>	カキシメジ	I	<i>kakishimeji</i>	新種		1	M+ P
<i>ustaloides</i>	カキシメジモドキ	I	<i>kakishimejioides</i>	新種		1	M+ P
<i>albobrunneum</i>	マツシメジ	I	<i>matsushimeji</i>	新種		5	M+ P
(未掲載)	(未掲載)	I	<i>miyama-matsushimeji</i>	新種	ミヤママツシメジ	5	M+ P
<i>maculatipes</i>	アザシメジ	I	<i>stans</i>	新産種		1	M+ P
<i>fulvum</i>	キヒダマツシメジ	I	<i>Tricholoma</i> sp. 17	新種		14	M+ P
<i>psammopus</i>	カラマツシメジ	I	<i>psammopus</i>	変更なし		2	M+ P
<i>imbricatum</i>	アカゲシメジ	I	<i>Tricholoma</i> sp. 18	新種		14	M+ P
<i>vaccinum</i>	クダアケゲシメジ	I	<i>vaccinum</i>	変更なし		14	M+ P
(未掲載)	(未掲載)	I	<i>Tricholoma</i> sp. 24	新種		5	P
<i>populinum</i>	ムレワシメジ	I	<i>populinum</i>	(未解析)		16	M
<i>robustum</i>	マツタケモドキ	I	<i>robustum</i>	変更なし		12	M
(未掲載)	(未掲載)	I	<i>badicephalum</i>	新産種		5	M+ P
<i>matsutake</i>	マツタケ	II	<i>matsutake</i>	変更なし		4	M+ P
<i>bakamatsutake</i>	バカマツタケ	II	<i>bakamatsutake</i>	変更なし		4	M+ P
<i>fulvocastaneum</i>	ニセマツタケ	II	<i>fulvocastaneum</i>	変更なし		4	M+ P
<i>colossus</i>	サマツ	III	<i>colossus</i>	(未解析)		13	M
<i>acerbum</i>	オオニガシメジ	III	<i>sinoacerbum</i>	新産種		12	M+ P
<i>japonicum</i>	シロシメジ	III	<i>japonicum</i>	変更なし		1 3	M+ P
<i>atrosquamosum</i>	クロゲシメジ	IV	<i>atrosquamosum</i>	変更なし		5	M
<i>orirubens</i>	ケショウシメジ	IV	<i>orirubens</i>	(未解析)		24	M
<i>aff. davisiae</i>	トガリシメジ(仮) ¹	V	<i>Tricholoma</i> sp. 16	新種	トガリシメジ	27	P

(未掲載)	(未掲載)	V	<i>Tricholoma</i> sp. 15	新種	クロトガリシメジ	5	P
<i>aurantiipes</i>	フタイロシメジ	V	<i>aurantiipes</i>	変更なし		20	M+ P
<i>muscarium</i>	ハエトリシメジ	V	<i>muscarium</i>	変更なし		18	M+ P
<i>pardinum</i>	ヒョウモンクロシメジ	VI	<i>pardinum</i>	(未解析)		21	M
(未掲載)	コガネシメジ ¹	VII	<i>melleum</i>	新産種		5	M+ P
<i>columbetta</i>	シロケシメジ	VII	<i>columbetta</i>	(未解析)		14	M
<i>flavovirens</i>	キシメジ	VII	<i>flavovirens</i>	変更なし		5	P
<i>auratum</i>	シモコシ	VII	<i>Tricholoma</i> sp. 3	新種		14	M
(未掲載)	(未掲載)	VII	<i>Tricholoma</i> sp. 1	新種		5	P
(未掲載)	(未掲載)	VII	<i>Tricholoma</i> sp. 2	新種		5	P
(未掲載)	(未掲載)	VII	<i>Tricholoma</i> sp. 4	新種		5	P
(未掲載)	(未掲載)	VII	<i>Tricholoma</i> sp. 5	新種		5	P
(未掲載)	(未掲載)	VII	<i>Tricholoma</i> sp. 6	新種		5	P
<i>sejunctum</i>	アイシメジ	VII	<i>Tricholoma</i> sp. 9	新種		5	P
<i>portentosum</i>	シモフリシメジ	VII	<i>portentosum</i>	変更なし		2	M+ P
(未掲載)	(未掲載)	VII	<i>olivaceonigrum</i>	新種	クロミドリシメジ	2	M+ P
<i>virgatum</i>	ネズミシメジ	VII	<i>virgatum</i>	変更なし		12	M+ P
(未掲載)	(未掲載)	VII	<i>Tricholoma</i> sp. 8	新種		5	P
(未掲載)	(未掲載)	VII	<i>sinoportentosum</i>	新産種	ウンナンアイシメジ	5	P
<i>aestuans</i>	カラキシメジ	VII	<i>aestuans</i>	変更なし		19	M+ P
<i>saponaceum</i>	ミネシメジ	VIII	<i>Tricholoma</i> sp. 20	新種		22	P
<i>saponaceum</i> var. <i>saponaceum</i>	ミドリシメジ	VIII	<i>saponaceum</i> var. <i>saponaceum</i>	変更なし		24	M
<i>atrovirescens</i>	モエギシメジ	VIII	<i>atrovirescens</i>	変更なし		18	M
(未掲載)	(未掲載)	VIII	<i>Tricholoma</i> sp. 19	新種		5	P
(未掲載)	(未掲載)	VIII	<i>Tricholoma</i> sp. 21	新種		5	P
(未掲載)	(未掲載)	VIII	<i>forte flavescens</i>	新産種	キゾメミネシメジ	5	P
<i>sulphureum</i>	ニオイキシメジ	XI	<i>sulphureum</i>	(未解析)		22	M
(未掲載)	(未掲載)	XI	<i>Tricholoma</i> sp. 14	(未解析)		5	P
<i>album</i>	アシボソシロシメジ(仮) ⁴	X	<i>Tricholoma</i> sp. 22	新種	アシボソシロシメジ	7 4	P
<i>myomyces</i>	ハマシメジ	IX	<i>terreum</i>	学名変更		26	M
<i>cingulatum</i>	ツバササクレシメジ	IX	<i>cingulatum</i>	変更なし		11	M+ P
<i>argyraceum</i>	アクゲシメジ	IX	<i>argyraceum</i>	変更なし		14	M
<i>terreum</i>	クマシメジ	IX	<i>bonii</i>	新産種		12	M+ P
(未掲載)	(未掲載)		<i>alpinum</i>	新種	タカネゴウシメジ	3	M+ P
<i>radicans</i>	シロマツタケモドキ		<i>radicans</i>	(未解析)		17	M
<i>chrysenterum</i>	オニタケ		<i>chrysenterum</i>	変更なし		29	M
(未掲載)	(未掲載)		<i>Tricholoma</i> sp. 13	(未解析)		5	P
(未掲載)	(未掲載)		<i>Tricholoma</i> sp. 25	新種		5	P
(未掲載)	(未掲載)		<i>Tricholoma</i> sp. 23	新種		5	P
(未掲載)	(未掲載)		<i>atroviolaceum</i>	新種		5	P
(未掲載)	(未掲載)		<i>Tricholoma</i> sp. 11	新種		5	P
(未掲載)	ニセシモフリシメジ ¹		<i>Tricholoma</i> sp. 12	新種		9	P
(未掲載)	アイゾメハエトリシメジ ¹		(学名未詳)	(未解析)		8	M
(未掲載)	ナベシメジ ¹		(学名未詳)	(未解析)		6	M

重複名 (シノニム, 異名)						
<i>pessundatum</i>	オオカキシメジ	<i>kakishimeji</i>		(カキシメジ)	14	M
<i>striatum</i>	マツシメジ	<i>matsushimeji</i>		(マツシメジ)	14	M
学名除外 (疑問種)						
<i>stans</i>	マツバラシメジ	(学名未詳)	(未解析)	(マツバラシメジ)	10	M
除外 (非合法名)						
<i>ustaloides</i>	ニガシメジ				15	M
除外 (転属)						
<i>porphyrophyllum</i>	ウラムラサキシメジ	<i>Tricholoma porphyrophyllum</i>		ウラムラサキシメジ	28	M
<i>foliicola</i>	コノハシメジ	<i>Gerhardtia foliicola</i>		コノハシメジ	23	M
<i>giganteum</i>	ニオウシメジ	<i>Macrocybe gigantea</i>		ニオウシメジ	27	M

¹ 勝本 (2010) の時点で和名としては国内で認知されていたが、学名未詳のため *Tricholoma* 属の一覧から除外されていた種。

² I: *Genuina*, II: *Caligata*, III: *Megatracholoma*, IV: *Atrosquamosa*, V: *Muscaria*, VI: *Pardinitis*, VII: *Tricholoma*, VIII: *Contextocutis*, IX: *Terrea*, X: *Lasciva*, XI: *Sericella*.

³ 1: Aoki et al. (2021), 2: Ushijima et al. (2021), 3: Aoki et al. (2022a), 4: Aoki et al. (2022b), 5: 本論文, 6: 田中 (1982), 7: 高橋 (2012), 8: 本郷・長沢 (1998), 9: 小山・小沢 (1994), 10: 宮内 (2010), 11: 工藤ら (1998), 12: 今関・本郷 (1957), 13: 川村 (1925), 14: Imai (1938), 15: 池田 (2005), 16: 村田 (1979), 17: Hongo (1968), 18: 川村 (1954), 19: Nagasawa and Hongo (1985), 20: Hongo (1991), 21: 宮内 (1997), 22: 今関・本郷 (1965), 23: Endo et al. (2019), 24: 今関・土岐 (1954), 25: 今関・本郷 (1987), 26: 長沢 (1992), 27: <http://www.ne.jp/asahi/mushroom/tokyo/> (2022年11月), 27: Pegler et al. 1998, 28: Baroni et al. 1982, 29: 原 (1954).

⁴ シロシメジ *Tricholoma album* として記載, アシボソシロシメジの命名は大菌輪 (<http://mycoscouter.coolblog.jp/daikinrin/>) を参照,

7-4. 考察

日本国内における *Tricholoma* 属の分類では、明治時代から昭和初期になされた川村清一や今井三子の研究を母体として、戦後は本郷次雄の研究が大きな比重を占めてきた (川村, 1925; Imai, 1938; 伊藤, 1959; 今関・本郷, 1957, 1987; 勝本, 2010)。また、今関・本郷 (1957, 1987) では、Rolf Singer の分類体系 (Singer, 1939, 1975, 1986) が主に採用されてきた。

勝本 (2010) に収録された日本産 *Tricholoma* 属種の多くは、タイプ標本との照合や分子系統解析がなされていないため、採用されている学名の妥当性や種多様性の評価についての客観性が十分担保されているとは言い難い状況にあった (Aoki et al., 2021)。近年の分類学研究では核 rDNA の LSU や ITS 領域のデータ提示が不可欠である。このため、それらデータを欠く日本産 *Tricholoma* 属種は、早急な解析が望まれていた。本章では、日本産 *Tricholoma* 属種の分類学的精査を進めるにあたり、歴史的に食用利用の観点から注目されることも多かった点を重視して、和名により認識されてきたそれぞれの種を上位概念として、その学名の妥当性を検証する研究アプローチを採用した。核 rDNA ITS 領域の系統解析の結果、長野県内を中心に収集した日本産標本の多くが既知種クレードに含まれたが、同時に未記載種と推定される標本や国内未報告種に相当する標本が多数見出された (図 7-1; 表 7-2, 7-5)。

Tricholoma 節では、特にシモフリシメジ (*T. portentosum*) やアイシメジ (*T. sejunctum*) の系統群で複数の日本新産種の存在が示唆された。TUA-188, AY-220928-002, TUA-196, TUA-30 の 4 標本を含む *Tricholoma* sp. 9 クレードは *T. subsejunctum* と姉妹関係にあり、欧州産 *T. sejunctum* とは明確に識別された。欧州産 *T. sejunctum* は柄が部分的に白色から淡黄色を示す一方で、*Tricholoma* sp. 9 クレードを構成するアイシメジ標本は柄全体が黄色を呈し、形態的な差異が見られる (図 7-2D; Christensen and Heilmann-Clausen, 2013)。また本種がミズナラ林で採取されていることを踏まえると、古くから国内で食利用されているアイシメジである可能性が高く、新種記載の必要がある。また国内の亜高山帯針葉樹林にて採取されたシモフリシメジ 3 標本 (AY-2201007-2, AY-2201002-7, AY-2190917-006) を含む *Tricholoma* sp. 10 クレード (図 7-2E) も未記載種の可能性が高い。同じ *Tricholoma* 節に含まれるキシメジ類の系統群については、6 クレードが識別された。このうち *Tricholoma* sp. 3 クレードは未記載種の可能性が高い。ここに含まれるすべての標本は 10 月後半～11 月に発生する特徴から、シモコシの生態に合致する (図 7-2B)。シモコシは北陸地方の海岸クロマツ林に発生するきのこの地方名に由来し、1700 年代には松岡 (1761) により、食用菌として古くから利用されているきのことして記録されている。この記録を背景に、川村 (1954) はキシメジとシモコシを同種としながら後者を前者の種内変異と見なしている。のちに今関・本郷 (1987) は、海岸のクロマツ林由来の標本を用いてシモコシとキシメジの関係を再検討し、川村 (1954) の示したキシメジとシモコシの記載と図は全くの正反対であると主張している。しかし、今関・本郷 (1957, 1987) のシモコシの図版の特徴は、川村 (1954) のキシメジではなくシモコシにむしろ合致しており、今関・本郷 (1987) の記述は妥当性を欠いていると言わざるを得ない。今関・本郷 (1957) のキシメジは、今関・本郷 (1987) によりシモコシであると訂正された。一方、今関・本郷 (1957) ののちに出版された図鑑の多くは、キシメジを苦味のある種と認識し、そのように記載してきた (山田, 2002)。すなわち、戦前には、苦味がなく美味で、晩秋にかけて主にマツ林で発生する黄色系のきのことしてキシメジとシモコシ (分類学的には同種として) が認識されていたが (川村, 1954)、戦後に解釈の違いもあって、苦味のある黄色系のきのこをキシメジ、苦味がなく美味で主に晩秋にマツ林に発生するきのこをシモコシとして、それぞれ別種として認識するようになった。すなわち、川村 (1954) を優先すると、戦後にキシメジとして認識されてきた苦味のある黄色系のきのこは、キシメジやシモコシとは別の種であると考えべきである。本研究で採取された標本のうち、アカマツ純林に発生した EN-5 と TUA-15 標本は苦味のない系統で、今関・本郷 (1987) に従えばシモコシと考えられる。しかし、これらは異なる系統であるため、むしろ、川村 (1954) が種内変異として定義したキシメジならびにシモコシに相当し、それらが種内変異ではなく互いに別種であると解釈するのが合理的である。黄色系の *Tricholoma* sp. 1, 4, 5 の 3 系統は 9 月初頭から中旬または初夏に採取されている (図 7-2A)。これら系統北米種、欧州種、日本国内の種で入れ子状になっており、厳密な種の同定には至らなかった。また GenBank の登録配列 AB036895 (613 標本; 日本産) は欧州産

T. joachimii と姉妹関係にあったが、独立した系統を形成したことから未記載種と考えられる。キシメジやシモコシは日本国内では食用種として知られるが、欧州では近縁種の *T. equestre* が横紋筋融解症を引き起こす猛毒種として知られる (Nieminen et al., 2008) 。 Moukha et al. (2013) の系統解析では、日本国内に分するキシメジ類と欧州の近縁種は異なるクレードを形成するが、当該文献における日本産キシメジ系統は本研究の *Tricholoma* sp. 1 が該当する (図 7-1) 。 Moukha et al. (2013) は *T. flavovirens*, *T. auratum* および *T. equestre* の 3 種を *T. equestre*-complex として識別したが、本研究でも同様の樹形が示され (図 7-1) , そこにキシメジ類の TUA-15 標本が独立クレードながら内包された。なお、*T. flavovirens* は *T. equestre* (L.) P. Kummer のシノニムとして扱われる場合があり、Index Fungorum でも後者の学名が有効名として採用されているが、分子系統学的には担保されないことが Deng and Yao (2005) でも報告されている。以上のことから、*T. equestre*-complex (Moukha et al., 2013) は少なくとも 4 種以上を含むと考えられ、本系統については包括的な分類学的検討が必要である。また本研究では TUA-15 を暫定的に *Tricholoma* sp. 2 としたが、有毒種である狭義 *T. equestre* (欧州産) との異動を中心に精査する必要がある。なお、勝本 (2010) は *T. aequestre* (L.) P.Kumm. に対して和名：シモコシを適用しているが、これは *T. equestre* (L.) P.Kumm. の過りである (Kummer, 1871) 。

Genuina 節では、第 2 章において記載したカキシメジ類 5 種以外に 4 クレードが見出された。亜高山帯から高山帯にて採取されたマツタケモドキ 2 標本 (S-2, AY-20150922-001) は、北米産 *T. badicephalum* と同一クレードを構成した (図 7-2K) 。 *Tricholoma badicephalum* は外観的に類似する近縁種である *T. focale* や *T. robustum* とは孢子径で識別が可能である：*T. badicephalum* は $4.5\text{--}5.5(-6) \times 3\text{--}3.5\text{ }\mu\text{m}$ (Jacques et al., 2022) , *T. robustum* は $6\text{--}7 \times 4.5\text{--}5.5\text{ }\mu\text{m}$ (Orton, 1964) , *T. focale* は $3.9\text{--}5.8 \times 2.7\text{--}4.3\text{ }\mu\text{m}$ (Christensen and Heilmann-Clausen, 2013) 。 本研究では予備的に別のマツタケモドキ標本 2 点について形態観察を行ったが、低地アカマツ林で採取された AY-20211119-001 標本の孢子径は $5.4\text{--}5.9\text{--}6.7 \times 3.4\text{--}3.9\text{--}4.2\text{ }\mu\text{m}$ (N = 50) で、今関・本郷 (1957) が国内で報告したマツタケモドキの孢子径 $6\text{--}7 \times 3.5\text{--}4\text{ }\mu\text{m}$ および Orton (1964) の報告と概ね一致した。一方で、S-2 標本と AY-20150922-001 標本では、孢子径が $4.4\text{--}5.0\text{--}5.5 \times 2.9\text{--}3.5\text{--}3.8\text{ }\mu\text{m}$ (N = 50) とやや小さく、むしろ *T. badicephalum* や *T. focale* の値に近かった。このため、日本産マツタケモドキは少なくとも 2 種を含み、亜高山帯から高山帯にかけて分布する日本新産種 *T. badicephalum* と、低地マツ林に分布する *T. robustum* s.l. に区分されると考えられる。このうち、後者が古くからマツタケモドキと呼称されている種と判断されるため、日本新産種 *T. badicephalum* には新称和名を与える措置が望ましい。なお、本研究で得られたマツタケモドキ AY-20211119-001 標本の ITS 配列が部分的であったため、本標本の正確な分子系統額的位置付けには至らなかった (付表 3) 。 亜高山帯で採取されたキヒダマツシメジ 4 標本 (TUA-55, SuR20190917-019-02, AY-2201007-3, SuR20200929-101 ; 図 7-2L) を含む *Tricholoma* sp. 17 は、欧州産の *T. fulvum* 系統とは識別され、未記載種の可能性が高い。またアカマツ林で採取されたアカゲシメジ 2 標本 (TUA-154, TUA-

5 ; 図 7-2N) についても欧州産 *T. imbricatum* とは識別され、未記載種の可能性が高い。クダアカゲシメジと同定された TUA-162 標本も、欧州産 *T. vaccinum* の姉妹クレードに位置し、未記載種の可能性が高い。

Muscaria 節として識別された国内産標本は 3 クレードに区分され、うち 2 クレードは未記載種であると考えられる (図 7-1) 。このうち *Tricholoma* sp. 15 は亜高山針葉樹林に由来する標本で構成され、黒色の傘を有する (図 7-2H) 。一方で *Tricholoma* sp. 16 はトガリシメジ (仮称) に相当し、三角錐型～中高の傘と、ひだが黒色に縁どられる特徴を有する (図 7-2I) 。*Muscaria* 節内において高い BP で支持された *T. arvernense* は、クランプコネクションを有するため *Muscaria* 節の形態学的定義とは異なるが、傘表皮菌糸が円柱状の細胞をもつ外層と楕円形の細胞をもつ内層で構成される点では *Muscaria* 節に一致する (図 7-1; Reschke et al., 2018; Christensen and Heilmann-Clausen, 2013) 。現在までに、*Muscaria* 節は欧州からは未報告であるがアジア圏において多様な種によって構成され、日本産ハエトリシメジ *T. muscarium* は食用菌として知られる。このため、*Muscaria* 節種は、今後、資源利用を踏まえた培養研究が望まれる。

Contextocutis 節のミネシメジには、種内変異として識別されるミドリシメジおよびモエギシメジが報告されており (川村, 1925, 1954; 今関, 1942) , 分類学的検討が必要である。西穂高岳稜線のハイマツ帯で採取されたミネシメジ AY-2200924-2 標本は、中国産 *T. saponaceum* と単一クレードを構成した (図 7-1) 。また、北海道利尻島のハイマツ帯で採取された S-91 標本は、北米および中国産の *T. saponaceum* と単一クレードを形成した。これら 2 つのクレードは、欧州産 *T. saponaceum* とは別クレードであるため、ともに未記載種の可能性が高い。さらに、亜高山帯で採取された傘縁部が黄色で、内部組織に明瞭な黄変性が認められるミネシメジ 2 標本 (TUA-150, TUA-189; 図 7-2Q) は、Reschke et al. (2018) により報告された *T. forteflavescens* と単一クレードを構成し、形態的な特長が一致したことから、日本新産種であると考えられる。亜高山帯から低地にかけて採取されたミネシメジ標本集団も *T. saponaceum* から独立したクレードを構成したため未記載種と考えられる (図 7-2R) 。

Lasciva 節では、コナラ林で採取されたアシボソシロシメジ AY-2220914-001 標本が欧州産 *T. album* の姉妹クレードに位置付けられたため、新種記載が必要であると考えられる (図 7-2V) 。

Megatracholoma 節では、TUA-10 標本および TUA-11 標本を含むシロシメジ *T. japonicum* が、Riva (1984, 1988) により記載された欧州産 *T. roseoacervum* の姉妹クレードに位置した (図 7-1) 。*Tricholoma japonicum* Kawamura は川村 (1925) により記載された。欧州産 *T. roseoacervum* は Jacques et al. (2022) および Heilmann-Clausen et al. (2017) では独立種と見做されているが、Index Fungorum では *Tricholoma acervum* (Bull.) Quél. のシノニムとされている。*Tricholoma acervum* は、1792 年に記載された *Agaricus acervus* Bull. がバソニムである。一方、日本国内ではオオニガシメジに対して *T. acervum* が充てられている。オオニガシメジとして同定された 3 標本 (TUA-12, TUA-13, TUA-14) は、中国で記載された *T. sinoacervum* (Hosen et al., 2016) と単一クレード

を形成したため、オオニガシメジを *T. sinoacervum* として日本新産種報告を行う必要がある（図 7-2P）。

日本国内ではカラマツやコナラ樹木下での採取記録があるクマシメジでは、TUA-120 と TUA-204 の 2 標本が、*Terrea* 節の *T. bonii* クレードに内包されたため、クマシメジ *T. bonii* Basso & Candusso として日本新産種報告を行う必要がある（図 7-1, 7-2S）。また、クマシメジの近縁種として知られるハマシメジに充てられている学名 *T. myomyces* は、Index Fungorum では *T. terreum* のシノニムとされる。クマシメジとハマシメジは形態的な共通点が多く、分類学的検討の余地があるが、本研究ではハマシメジを入手できず両者の比較解析には至らなかった。なお、クマシメジと同定された AY-2180913-58 標本は、*Muscaria* 節の姉妹群（節末所属）に位置づけられ、北米で記載された *T. luteomaculosum* と単系統を形成したが、本種は傘表面の性状が *T. luteomaculosum* のそれとは異なり、また塩基置換率が高いことがわかる（図 7-1）。本種は色彩において *T. terreum* に類似するが、より大形であり、ひだも暗色を示す（図 7-2W）。このため、AY-2180913-58 標本はクマシメジと誤同定されたと考えられるが、系統学的データからは新種に相当するため、*Tricholoma* sp. 25 として報告した。

本章の ITS 領域の系統解析では、*Tricholoma* 属の既知の節に属さない 7 クレードが識別された。そのうちニセシモフリシメジと同定された 2 標本（TUA-92, TUA-188）は、欧州種 *T. josserandii* および北米種 *T. mutabile* に近縁な独立クレードとして位置付けられた。これらの種はいずれも傘が灰色系の色彩を示すが、この他にも複数の近縁種系統が北米から欧州にかけて報告されている（Ovrebo et al., 2019）。このため、形態学的な共通点を見出すことができれば、新節として定義される可能性がある。

本研究では、欧州、中国、および北米より記載された既知種を含むとともに、新規クレードが多数見い出された。このため、日本国内に分布する *Tricholoma* 属種は多様であり、単にユーラシア大陸に分布する *Tricholoma* 属種の小集団、あるいは中国大陆を中心に分布する *Tricholoma* 属種の小集団という枠には収まらないと考えられる。日本列島は南北に長く標高帯も変化に富むため、生理生態学的にも多様な *Tricholoma* 属種が生息すると考えられる。とりわけ、海洋に囲まれた島嶼域と地理学的特性から過去数百万年の間に生じた氷河期においても陸域が植生を保持していたことから、多様なルートで移入してきた *Tricholoma* 属種が定着・生残・種分化してきたことが推察される。加えて、*T. fumosoluteum* の近縁種は現在までのところ、本研究で報告した *T. alpinum* が初めての報告であることと、北米、欧州の両方に見られる *Tricholoma* 属種が日本国内にも分布していることは、日本列島が *Tricholoma* 属の分布上、重要な地理要因である可能性が高い。

本研究では、日本列島に現存する *Tricholoma* 属種を分析対象として十分にカバーできたとは言えず、追加調査によりさらに多くの種を発見できると考えられ、それらの資源価値や利用可能性についてはさらに追及する必要がある。実際、近年日本国内で記載されたアジアクロセイヨウシヨウロ（*Tuber himalayense*）やホンセイヨウシヨウロ（*T. japonicum*）は栽培化研究が行われてい

るが，国内では消費されていた記録は存在しない（Kinoshita et al., 2018; 古澤ら，2020）．ただし，近縁種が欧州などユーラシア大陸の国々で古くから食利用されており，その中には *T. himalayense* も流通している（Bonito and Smith, 2016）．*T. himalayense* の例から考慮すると，未知・未利用のきのこを食資源として利用する場合，第 6 章でも触れた通り，実際にきのこを利用していた地域での文献調査や聞き取り調査による利用文化の背景等から総合的に判断すべきである．一方で，食毒の安全性に関しては，個別に培養細胞動へのきのこ抽出物の投与や動物実験等による安全性の評価が必要となる．*Tricholoma* 属には食用価値のある菌種も少なくないため，継続的な研究により有益な資源の発見も期待できると予想される．

第8章 総合考察

本研究では、*Tricholoma* 属のカキシメジ類について多遺伝子領域を用いた分子系統解析と分岐年代推定をもとに分類学的検討を行い、4 新種—*T. kakishimeji* (カキシメジ) , *T. matsushimeji* (マツシメジ) , *T. miyama-matsushimeji* (ミヤママツシメジ) , *T. kakishimejioides* (カキシメジモドキ) —を記載した。また、*T. maculatipus* として日本国内から記載されていたアザシメジを *T. stans* に再同定した。そして、これらのカキシメジ類 5 種の培養株確立と培養特性、ウスタル酸分析、外生菌根の形態と宿主との関係について、それぞれ研究を進めた。

日本産カキシメジ類については、川村清一によるカキシメジ (*T. ustale* Fr.) の記載以降、数種の近縁種が報告されていたが、著者による研究以前には分子系統解析がほぼ行われていなかった。このため、本研究によりカキシメジ類の多様性が初めて明らかとなった。毒きのこととして知られてきたカキシメジの毒成分として *T. ustale* の名に由来するウスタル酸 (ustalic acid) が同定されているが (Sano et al., 2002) , ウスタル酸を含むカキシメジは欧州で記載された *T. ustale* とは異なる種であるため、*T. kakishimeji* として記載した (Aoki et al., 2021) 。同時に、近縁なその他 4 種はウスタル酸を含有しないかごく微量の含有に留まるため (第 6 章) , きのこ中毒を引き起こすことはないと考えられた。本研究成果は、我が国の公衆衛生にも関わる重要な新知見であり、今後、学術成果の幅広い周知が望ましいと考えられる。

上記のような学名の大きな変更の背景には、日本産のきのこではタイプ標本との十分な検証がないまま、長年慣例的に学名を使用してきた状況がある。分子系統学的データをもとに学名を十分に精査することで、真に同一生物として国内外のきのこについて生物学的な議論や比較検討が可能となる。これにより、第 4~6 章で論じたように、カキシメジ類の宿主との関係、集団の種分化、生態学的適応に関する具体的な論点が浮き彫りとなった。日本列島に分布するカキシメジ 5 種のうち、現状のデータでは、4 種が日本固有、1 種がユーラシア一帯に分布する種と見做される。このうち日本固有と考えられる 4 種については、それぞれ姉妹系統種が欧州に分布するため、地史年代の比較的短期の間に、アジア固有種 (日本列島固有種) として分化した可能性が高いと考えられる。今後、このような種分化の具体的なシナリオを紐解くためには、地域集団の遺伝的構成の解明や宿主との細かな対応関係の調査が不可欠である。同時に、本研究では試料の入手に至らなかったムレワシメジ (*T. populinum*) やその他の未発見種に関する探索調査も重要であると考えられる。至近的な課題としては、宿主との関係から予想される *T. kakishimejioides* の中国大陆での分布の可能性や、北海道利尻岳のハイマツ帯で採取された *T. miyama-matsushimeji* の本州高山帯 (ハイマツ帯) での分布の可能性の検証が挙げられる。

第 3 章にて分離したカキシメジ類培養株を接種源として、カキシメジ類の外生菌根形態の記載と、カキシメジ類の種ごとの自然界における生態的な特性について第 4 章、第 5 章と続けて議論した。今日まで、毒きのこであるカキシメジとその近縁種を材料とした外生菌根に関する知見は

限られており、カキシメジ類は秋から晩秋にかけて広く雑木林に発生するとされてきた（川村，1925; 今関・本郷，1957）。第2章において詳述された分類学的情報を基に、カキシメジ類4種の外生菌根形成について形態学的解析を行った結果、カキシメジ類はアカマツとブナ科宿主に関する定着能に違いが見られた。特にウスタル酸を含有する *T. kakishimeji* が公園やキャンプ場などの人工林にも発生する傾向にあり、これがきのこ中毒を引き起こしやすい原因の一つと考えられた。またウスタル酸が検出されない *T. matsushimeji* は、第4章と第5章においてアカマツに対する親和性が高いことに加え、第3章の培養実験において窒素源の多少が菌糸伸長に影響した可能性を考慮すると、本種の自然環境における生態をある程度反映すると考えられる。一方で、第4章と第5章の結果から、日本産 *T. stans* はブナ科広葉樹とも外生菌根形成可能であり、欧州産 *T. stans* の生態的特性（マツ科針葉樹林に限定して分布）とは必ずしも一致しない。一般的にマツ科樹種と特異的な共生関係にある *Suillus* 属の中で、例外的に *Quercus* 属との親和性を持つ *S. subaureus* が知られている（Nguyen et al., 2016; Lofgren et al., 2018）。この *S. subaureus* の例では、宿主であるマツ科生息域の衰退・消滅に伴い、その祖先系統が生存戦略としてブナ科へと宿主を切り替えたと推察されている。このような現象は遺産効果（legacy effect）として知られているが、日本産 *T. stans* 集団の生息域には多様なマツ科とブナ科が共存するため、この集団がブナ科と共生関係を結ぶ理由として、遺産効果が機能しているとは言い難い。第2章のカキシメジ類の分子年代推定の結果もあわせて考察すると、欧州集団とは異なる日本産 *T. stans* 集団の宿主範囲の成り立ちには、少なくとも第四期の気候および植生パターン（相馬・辻，1988）が関係していると推察される。

第7章では、長野県の山岳域を中心に *Tricholoma* 属標本の網羅的収集を行い、得られた試料について rDNA ITS 配列の系統解析をもとに種多様性を調査した。特に亜高山帯針葉樹林で採取された標本には、未記載種ならびに本邦新産種が複数含まれていると判断された。このうち、系統地理学上、また資源利用の観点から重要と考えられる新種 *Tricholoma alpinum*（タカネゴヨウシメジ）および新産種 *Tricholoma melleum*（コガネシメジ）の2種を記載した。しかし、ITS 領域の解析で未記載種や新産種と判断されたその他の系統については、本研究では種多様の解明にとどめ、それらの分類学的検討の詳細は今後の研究に委ねることとした。ITS 領域の解析だけでは十分な識別感度が担保されない場合もあるため（例えば Aoki et al., 2022b）、今後は *rpb2* や *tef1* など複数遺伝子を用いた系統解析、または全ゲノム解析による比較が今後必要になると考えられる。そのような解析をおこなうことで、日本国内の *Tricholoma* 属の種多様性解明が進み、新たな菌類資源研究の基盤データとして役立つと考えられる。その一方で、第7章で多数検出された未利用の菌類が多数検出されたが、今後の菌類分類学研究を考える上では、それらの利用可能性を追求する研究は資源利用の観点からは必須である。第2章のマツシメジでも触れた通り、地域的に利用されてきた菌類が、同定の難易度や海外の近縁種との比較例を理由として毒きのこへカテゴライズされる場合があるが、そうした菌類は分類学的な精査・検討が不十分であったりする場合が

多いことはカキシメジ類、キシメジ類等で報告されている（第 2 章; Moukha et al., 2013）．特に主要毒素が特定されている場合は、毒素の分析や関連遺伝子群に基づいた系統解析を行うことがきのこの資源利用に関して直接的な解明に繋がる．そのような意味でも、本研究においてカキシメジ類の主要毒素であるウスタル酸の分布や、過去の文献からそれら菌類利用の歴史を探索したことは、資源利用研究に一石を投じた研究であると言えるだろう．

本研究では特に有毒系統と考えられるカキシメジ類の分類学的な精査、ウスタル酸分析、外生菌根の記載ならびに宿主植物との関係について研究を進め、野生きのこの資源利用の基盤となる多数の知見を得ることができた．今後、本研究の成果を応用研究へと発展・展開することで、きのこに関係するさまざまな学術分野や産業分野の進展にも貢献することを期待したい．

謝辞

本研究を遂行するにあたり終始ご指導いただきました信州大学農学部山田明義博士に心より感謝の意を表します。また、きのこ遺伝学の基本概念をご教授いただきました同農学部の福田正樹博士，ならびに審査にご担当いただきました信州大学農学部の松島憲一博士と斎藤勝晴博士，ならびに国立科学博物館の保坂健太郎博士に厚く御礼申し上げます。

本研究を遂行する上で標本と培養株をご提供いただくとともにカキシメジの試料採取にご協力いただきました鳥取大学農学部附属菌類きのこ遺伝資源研究センターの遠藤直樹博士および菅原遼氏に御礼申し上げます。カキシメジ類標本の登録と借用でご支援いただきました国立科学博物館の保坂健太郎博士に厚く御礼申し上げます。カキシメジ類標本の借用および形態観察や DNA 解析のご助言をいただきました大阪自然史博物館学芸員の佐久間大輔氏には厚く御礼申し上げます。標本借用でご支援いただきました牛島秀爾博士に厚く御礼申し上げます。また、野外採取菌根の試料をご提供いただいた帯広畜産大学の橋本靖博士に厚く御礼申し上げます。

カキシメジ類菌根の顕微鏡観察と論文作成についてご指導いただきました山本航平博士に厚く御礼申し上げます。共同研究としてのウスタル酸分析のご担当をはじめ、カキシメジ類の研究に関して多岐にわたりご指導を賜りました岐阜県保健環境研究所の永井宏和博士ならびに岐阜薬科大学生薬学研究室の伊藤哲朗博士には、厚く御礼申し上げます。

本研究で用いた欧州産 *T. albobrunneum* および *T. stans* 標本の借用では Copenhagen University の Christian Lange 博士および Nikolaj Scharff 博士，カナダ産 *T. fumosoluteum* 標本の借用では Jardin botanique de Montréal (CMMF) の Raymond Archambault 博士および Jean Bérubé 博士，米国産 *T. fumosoluteum* タイプ標本の借用では New York State Museum (NYS) の Diana Hurlbut 博士にそれぞれお世話になりました。厚く御礼申し上げます。

最後に、研究遂行にあたり必要な技能をご教示くださいました信州大学農学部応用真菌学研究室の古平美友紀氏，竹田結美氏，高橋翔氏，鈴木健太郎氏，茂木彩妃穂氏，佐藤岳志氏，許斐峻太郎氏に厚く御礼申し上げます。また日頃から試料収集を手伝っていただきました同研究室の丸山博也氏，江川夏氏，Xu Wenjun 氏，水野藍ら氏，倉掛真優理氏，鈴木悠花氏，佐々木未唯氏，飛田楓真氏には、深く感謝いたします。

- Agerer R. 1991. 2 Characterization of Ectomycorrhiza. In: *Methods in Microbiology*, vol. 23, *Techniques for the study of mycorrhiza*, eds by Norris JR, Read DJ, Varma AK. London: Academic Press, pp 25–73.
- Agerer R, Waller K. 1993. Plate 82: *Tricholoma acerbum*. In: *Colour atlas of Ectomycorrhizae*, eds by Agerer R. Schwäbisch Gmünd: Einhorn-Verlag Eduard Dietenberger.
- Agerer R, Waller K, Treu R. 1993. Die Ektomykorrhizen und Sklerotien von *Gyrodon lividus*. *Zeitschrift für Mykologie* 59: 131–140.
- Agerer R, Franz F, Acker G. 1994. The ectomycorrhizae of *Russula acrifolia*: an anatomical and ultrastructural treatise. *Mycologia Helvetica* 6: 23–48.
- Agerer R, Klostermeyer D, Steglich W. 1995. *Piceirhiza nigra*, an ectomycorrhiza on *Picea abies* formed by a species of Thelephoraceae. *New Phytologist* 131: 377–380.
- Agerer R, Klostermeyer D, Steglich W, Franz F, Acker G. 1996a. Ectomycorrhizae of *Albatrellus ovinus* (Scutigeraceae) on Norway spruce with some remarks on the systematic position of the family. *Mycotaxon* 59: 289–307.
- Agerer R, Kraigher H, Javornik B. 1996b. Identification of ectomycorrhizae of *Hydnum rufescens* on Norway spruce and the variability of the ITS region of *H. rufescens* and *H. repandum* (Basidiomycetes). *Nova Hedwigia* 63: 183–194.
- Agerer R, Müller WR, Bahnweg G. 1996c. Ectomycorrhizae of *Rhizopogon subcaerulescens* on *Tsuga heterophylla*. *Nova Hedwigia* 63: 397–415. <https://doi.org/10.2307/3792970>
- Agerer R. 2001. Exploration types of ectomycorrhizae. *Mycorrhiza* 11: 107–114. <https://doi.org/10.1007/s005720100108>
- Agerer R. 2006. Fungal relationships and structural identity of their ectomycorrhizae. *Mycological Progress* 5: 67–107. <https://doi.org/10.1007/s11557-006-0505-x>
- Anderson JB, Stasovski E. 1992. Molecular phylogeny of northern hemisphere species of *Armillaria*. *Mycologia* 84: 505–516. <https://doi.org/10.1080/00275514.1992.12026170>
- 青木実. 1970. 日本きのこ図版. No. 477. 神戸：日本きのこ同好会.
- Aoki W, Endo N, Ushijima S, Nagai H, Ito T, Fukuda M, Yamada A. 2021. Taxonomic revision of the Japanese *Tricholoma ustale* and closely related species based on molecular phylogenetic and morphological data. *Mycoscience* 62: 307–321. <https://doi.org/10.47371/mycosci.2021.06.002>
- Aoki W, Archambault R, Bérubé J, Lamoureux Y, Fukuda M, Yamada A. 2022a. *Tricholoma alpinum*, sp. nov., under five-needle pines in alpine and subalpine zones in Japan. *Mycologia* 114: 190–202. <https://doi.org/10.1080/00275514.2021.2018889>
- Aoki W, Bergius N, Kozlan S, Fukuzawa F, Okuda H, Murata H, Ishida TA, Vaario LM, Kobayashi H, Kalmiş E, Fukiharu T, Gisusi S, Matsushima K, Terashima Y, Narimatsu M, Matsushita N, Ka K, Yu F, Yamanaka T, Fukuda M, Yamada A. 2022b. New findings on the fungal species *Tricholoma matsutake* from Ukraine, and revision of its taxonomy and biogeography based on

- multilocus phylogenetic analyses. *Mycoscience* 63: 197–214.
<https://doi.org/10.47371/mycosci.2022.07.004>
- 有岡利幸. 1997. 松茸. 東京：法政大学出版局.
- Baroncelli R, Amby DB, Zapparata A, Sarrocco S, Vannacci G, Floch GL, Harrison RJ, Holub E, Sukno SA, Sreenivasaprasad S, Thon MR. 2016. Gene family expansions and contractions are associated with host range in plant pathogens of the genus *Colletotrichum*. *BMC Genomics* 17: 555. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2917-6>.
- Baroni TJ. 1982. *Tricholosporum* and Notes on *Omphaliaster* and *Clitocybe*. *Mycologia* 74: 865–871.
<https://doi.org/10.1080/00275514.1982.12021604>.
- Bessette AE, Bessette AR, Roody WC, Trudell SA. 2013. *Tricholomas of North America: a mushroom field guide*. Austin: University of Texas Press.
- Bidartondo MI, Bruns TD. 2002. Fine-level mycorrhizal specificity in the Monotropoideae (Ericaceae): specificity for fungal species groups. *Molecular Ecology* 11: 557–569.
<https://doi.org/10.1046/j.0962-1083.2001.01443.x>
- Bigelow HE. 1979. A contribution to *Tricholoma*. *Sydowia Beiheft* 8: 54–62.
- Binder M, Hibbett D. 2003. Oligonucleotides.
http://www2.clarku.edu/faculty/dhibbett/Protocols_Folder/Primers/Primers.pdf
- Boekhout T. 1988. Notulae ad Floram agaricinam neerlandicam — XVI. New taxa, new combinations in *Melanoleuca* Pat. and notes on rare species in the Netherlands. *Persoonia* 13: 397–431.
- Bonello P, Bruns T, Gardes M. 1998. Genetic structure of a natural population of the ectomycorrhizal fungus *Suillus pungens*. *New phytologist* 138: 533–542. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1998.00122.x>
- Bonito GM, Smith ME. 2016. General systematic position of the truffles: Evolutionary theories. In: *True truffle (Tuber spp.) in the world*, eds by Zambonelli A, Lotti M, Murat C. Berlin: Springer.
<https://doi.org/10.1007/978-3-319-31436-5>
- Breitenbach J, Kranzlin F. 1991. *Fungi of Switzerland*, volume 3: Boletes and Agarics. Luzern: Verlag Mykologia.
- Brunner I, Amiet R, Zollinger M, Egli S. 1992. Ectomycorrhizal syntheses with *Picea abies* and three fungal species: a case study on the use of an *in vitro* technique to identify naturally occurring ectomycorrhizae. *Mycorrhiza* 2: 89–96. <https://doi.org/10.1007/BF00203255>
- Cai Q, Tulloss RE, Tang LP, Tolgor B, Chen ZH, Yang ZL. 2014. Multi-locus phylogeny of lethal amanitas: Implications for species diversity and historical biogeography. *BMC Ecology and Evolution* 14: 143. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-14-143>
- Cairney JW, Chambers SM. 1999. *Ectomycorrhizal fungi: key genera in profile*. Springer: Berlin.
- Chapela IH, Garbelotto M. 2004. Phylogeography and evolution in matsutake and close allies inferred by analyses of ITS sequences and AFLPs. *Mycologia* 96: 730–741.
<https://doi.org/10.1080/15572536.2005.11832921>
- Chilvers GA. 1968. Some distinctive types of eucalypt mycorrhiza. *Australian Journal of Botany* 26:49–70.

- Christensen M, Heilmann-Clausen J. 2013. The genus *Tricholoma* – Fungi of Northern Europe. Vol. 4. Tilst: Svampetryk.
- Cléménçon H, Emmett V, Emmett EE. 2012. Cytology and plectology of the hymenomycetes, 2nd edn. Stuttgart: J. Cramer.
- Cline ET, Ammirati JF, Edmonds RL. 2005. Does proximity to mature trees influence ectomycorrhizal fungus communities of Douglas-fir seedlings? *New Phytologist* 166: 993–1009.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01387.x>
- Cohen KM, Finney SC, Gibbard PL, Fan JX. 2013. The ICS international chronostratigraphic chart. *Episodes* 36: 199–204. <https://doi.org/10.18814/epiiugs/2013/v36i3/002>
- Cui YY, Ding XX, Kost G, Yang ZL. 2022. *Tricholoma* sect. *Tricholoma* (Tricholomataceae) from China: molecular phylogeny and taxonomy. *Mycological Progress* 21: 35.
<https://doi.org/10.1007/s11557-022-01788-y>
- Darriba D, Posada D, Alexey MK, Stamatakis A, Morel B, Flouri T. 2020. ModelTest-NG: A new and scalable tool for the selection of DNA and protein evolutionary models. *Molecular Biology and Evolution* 37: 291–294. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz189>
- Deng H, Yao YJ. 2005. *Tricholoma equestre*, the correct name for *T. flavovirens* (Agaricales). *Mycotaxon* 94: 325–329.
- Ding XX, Cui YY, Yang ZL. 2022. Two new species of *Tricholoma* sect. *Genuina* (Agaricales) from China based on molecular phylogenetic and morphological evidence. *Mycological Progress* 21: 37.
<https://doi.org/10.1007/s11557-022-01797-x>
- Dominik T. 1969. Key to ectotrophic mycorrhizas. *Folia Forestalia Polonica Seria A, Leśnictwo* 15: 309–328.
- Donk MA. 1962. The generic names proposed for Agaricaceae. *Beihefte zur Nova Hedwigia Heft* 5. 1–320.
- Drummond AJ, Bouckaert RR. 2015. Bayesian evolutionary analysis with BEAST. Cambridge: Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139095112>
- Duñabeitia MK, Hormilla S, Salcedo I, Peña JI. 1996. Ectomycorrhizae synthesized between *Pinus radiata* and eight fungi associated with *Pinus* spp. *Mycologia* 88: 897–908.
<https://doi.org/10.1080/00275514.1996.12026730>
- 遠藤直樹. 2015. 難培養性食用担子菌タマゴタケの人工栽培化に関する基礎的研究. 博士論文, 信州大学.
- Endo N, Gisusi S, Fukuda M, Yamada A. 2013. *In vitro* mycorrhization and acclimatization of *Amanita caesareoides* and its relatives on *Pinus densiflora*. *Mycoscience* 23: 303–315.
<https://doi.org/10.1007/s00572-012-0471-x>
- Endo N, Kawamura F, Kitahara R, Sakuma D, Fukuda M, Yamada A. 2014. Synthesis of Japanese *Boletus edulis* ectomycorrhizae with Japanese red pine. *Mycoscience* 55: 405–416.
<https://doi.org/10.1016/j.myc.2013.11.008>

- Endo N, Dokmai P, Suwannasai N, Phosri C, Horimai Y, Hirai N, Fukuada M, Yamada A. 2015. Ectomycorrhization of *Tricholoma matsutake* with *Abies veitchii* and *Tsuga diversifolia* in the subalpine forests of Japan. *Mycoscience* 56: 402–412. <https://doi.org/10.1016/j.myc.2014.12.004>
- Endo N, Ushijima S, Nagasawa E, Sugawaara R, Okuda Y, Sotome K, Nakagiri A, Maekawa N. 2019. Taxonomic reconsideration of *Tricholoma foliicola* (Agaricales, Basidiomycota) based on basidiomata morphology, living culture characteristics, and phylogenetic analyses. *Mycoscience* 60: 323–330. <https://doi.org/10.1016/j.myc.2019.07.002>
- Enjalbert F, Cassanas G, Salhi SL, Guinchard C, Chaumont JP. 1999. Distribution of the amatoxins and phallotoxins in *Amanita phalloides*. Influence of the tissues and the collection site. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie* 322: 855–862. [https://doi.org/10.1016/S0764-4469\(00\)86651-2](https://doi.org/10.1016/S0764-4469(00)86651-2)
- Fangfuk W, Okada K, Petchang R, To-anun C, Fukuda M, Yamada A. 2010. *In vitro* mycorrhization of edible *Astraeus* mushrooms and their morphological characterization. *Mycoscience* 51: 234–241. <https://doi.org/10.1007/s10267-009-0031-1>
- Fries EM. 1821. *Systema mycologicum*. Vol. 1. Lundae: Ex Officina Berlingiana. <https://www.biodiversitylibrary.org/item/25498#page/5/mode/1up>
- 古沢仁美, 山中高史, 木下晃彦, 仲野翔太, 野口享太郎, 小長谷 啓介. 2020. 日本における 2 種のトリュフ (アジアクロセイヨウショウロおよびホンセイヨウショウロ) の生息地の土壌特性. 森林総合研究所研究報告: 55–67.
- Gardes M, Bruns TD. 1993. ITS primer with enhanced of specificity for basidiomycetes – application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology* 2: 113–118. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.1993.tb00005.x>
- Gardes M, Bruns TD. 1996. Community structure of ectomycorrhizal fungi in a *Pinus muricata* forest: above- and below-ground views. *Canadian Journal of Botany* 74: 1572–1583. <https://doi.org/10.1139/b96-190>
- Geng LY, Wang XH, Yu FQ, Deng XJ, Tian XF, Shi XF, Xie XD, Liu PG, Shen YY. 2009. Mycorrhizal synthesis of *Tuber indicum* with two indigenous hosts, *Castanea mollissima* and *Pinus armandii*. *Mycorrhiza* 19: 461–467. <https://doi.org/10.1007/s00572-009-0247-0>
- Gill W, Lapeyrie F, Gomi T, Suzuki K. 1999. *Tricholoma matsutake*– an assessment of *in situ* and *in vitro* infection by observing cleared and stained whole roots. *Mycorrhiza* 9: 227–231. <https://doi.org/10.1007/s005720050271>
- Giomaro G, Zambonelli A, Sisti D, Cecchini M, Evangelista V, Stocchi V. 2000. Anatomical and morphological characterization of mycorrhizas of five strains of *Tuber borchii* Vittad. *Mycorrhiza* 10: 107–114. <https://doi.org/10.1007/s005720000065>
- Giomaro G, Sisti D, Zambonelli A. 2005. Cultivation of edible ectomycorrhizal fungi by *in vitro* mycorrhizal synthesis. In: *In vitro culture of mycorrhizas, Soil Biology series, vol. 4*, eds by Declerck S, Strullu DG, Fortin JA. Berlin: Springer, pp 253–267. https://doi.org/10.1007/3-540-27331-X_14

- Grubisha LC, Levens N, Olson MS, Taylor DL. 2012. Intercontinental divergence in the *Populus*-associated ectomycorrhizal fungus, *Tricholoma populinum*. *New Phytologist* 194: 548–560. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04066.x>
- 萩原博光. 2007. 南方熊楠 菌類図譜. 東京：新潮社.
- 浜田稔. 1964. マツタケおよび類縁菌の菌糸純粋培養法. マツタケ—研究と増産—, マツタケ研究懇話会, 京都：マツタケ研究懇話会. pp 97–100.
- 原摂祐. 1954. 日本菌類目録. 東京：日本菌類学会.
- Harley JL, Smith SE. 1983. Mycorrhizal symbiosis. London: Academic Press.
- Harmaja H. 1974. Three new taxa of *Lepista*: *L. fasciculata* n. sp., *L. singer* n. sp. and *Lepista* subgenus *Laevispora* n. subg. *Karstenia* 14: 129–132.
- Heilmann-Clausen J, Christensen M, Frøslev TG, Kjølner R. 2017. Taxonomy of *Tricholoma* in Northern Europe based on ITS sequence data and morphological characters. *Persoonia* 38: 38–57. <https://doi.org/10.3767/003158517X693174>
- Henke C, Jung EM, Kothe E. 2015. Hartig' net formation of *Tricholoma vaccinum*-spruce ectomycorrhiza in hydroponic cultures. *Environmental Science and Pollution Research* 22: 19394–19399. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4354-5>
- Herink J, Kotlaba J. 1975. What is *Rhodocybe xylophila* Vasil'k. and *Omphalina lilaceorosea* Svr. et Kub.? *Česká mykologie* 29: 157–166.
- Henrion B, Tacon LF, Martin F. 1992. Rapid identification of genetic variation of ectomycorrhizal fungi by amplification of ribosomal RNA genes. *New Phytologist* 122: 289–298. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1992.tb04233.x>
- Herrea M, Wang R, Zhang P, Yu FQ. 2022. The ectomycorrhizal association of *Tricholoma matsutake* and two allied species, *T. bakamatsutake* and *T. fulvocastaneum*, with native hosts in subtropical China. *Mycologia* 114: 303–318. <https://doi.org/10.1080/00275514.2022.2025563>
- Hibbett D, Gilbert LB, Donoghue M. 2000. Evolutionary instability of ectomycorrhizal symbioses in basidiomycetes. *Nature* 407: 506–508. <https://doi.org/10.1038/35035065>
- 廣瀬勇. 1949. 茸類の科学. 大阪：富民社.
- Hofstetter V, Clemençon H, Vilgalys R, Moncalvo J. 2002. Phylogenetic analyses of the Lyophylleae (Agaricales, Basidiomycota) based on nuclear and mitochondrial rDNA sequences. *Mycological Research* 106: 1043–1059. <https://doi.org/10.1017/S095375620200641X>
- Hongo T. 1968. Notulae Mycologicae (7). *Memoirs of the Faculty of Education, Shiga University, Natural Science* 18: 47–52. https://shiga-u.repo.nii.ac.jp/?action=pages_view_main&active_action=repository_view_main_item_detail&item_id=1420&item_no=1&page_id=13&block_id=21
- Hongo T. 1983. Notulae Mycologicae (18). *Memoirs of the Faculty of Education, Shiga University, Natural Science* 11: 37–41. https://shiga-u.repo.nii.ac.jp/?action=pages_view_main&active_action=repository_view_main_item_detail&item_id=1420&item_no=1&page_id=13&block_id=21

u.repo.nii.ac.jp/?action=pages_view_main&active_action=repository_view_main_item_detail&item_id=1590&item_no=1&page_id=13&block_id=21

Hongo T. 1991. Materials for the fungus flora of Japan, 45. *Transactions of the Mycological Society of Japan* 32: 464.

本郷次雄, 長沢栄史. 1998. 青森のきのこ. 青森: グラフ青森.

Horikawa M, Tsuyama I, Matsui T, Kominami Y, Tanaka N. 2009. Assessing the potential impacts of climate change on the alpine habitat suitability of Japanese stone pine (*Pinus pumila*). *Landscape Ecology* 24: 115–128. <https://doi.org/10.1007/s10980-008-9289-5>

Hosen MI, Li TH, Li T, Zhong XJ, Chen Y. 2016. *Tricholoma sinoacerbum*, a bitter species from Guangdong Province of China. *Mycoscience* 57: 233–238. <https://doi.org/10.1016/j.myc.2016.02.002>

Huang LL, Guerin-Laguette A, Wang R, Li YM, Yu FQ. 2021. Mycorrhizal synthesis of *Tuber pseudohimalayense* with seven broad-leaved trees and *Pinus armandii*. *Mycoscience* 62: 322–330. <https://doi.org/10.47371/mycosci.2021.06.004>

市岡智寛. 1799. 信陽菌譜. 飯田: 中山晴延. <https://dl.ndl.go.jp/info:ndljp/pid/2537202/9>

池田良幸. 2005. 北陸のきのこ図鑑. 金沢: 橋本確文堂.

Imai S. 1938. Studies on The Agaricaceae of Hokkaido. I & II. *Hokkaido Imperial University* 43: 1–178.

今関六也. 1942. 原色きのこ: 茸の採集と見分け方. 東京: 三省堂.

今関六也, 本郷次雄. 1957. 原色日本菌類図鑑. 大阪: 保育社.

今関六也, 本郷次雄. 1965. 原色日本菌類図鑑 続. 大阪: 保育社.

今関六也, 本郷次雄. 1987. 原色日本新菌類図鑑 (I). 大阪: 保育社.

今関六也, 土岐晴一. 1954. 浅川実験林のキノコ. *林業試験場研究報告* 67: 19–71 (図版 1–7).

石川県白山自然保護センター. 2015. 白山の自然史 35: 白山高山帯・亜高山帯のきのこ. 金沢: 石川県白山自然保護センター.

<https://www.pref.ishikawa.lg.jp/hakusan/publish/sizen/documents/sizen35.pdf>

伊藤誠哉. 1959. 日本菌類誌, 第2巻5号. 仙台: 養賢堂.

Ito S, Imai S. 1925. On the taxonomy of shii-take and matsu-take. *The Botanical Magazine, Tokyo* 39: 319–328.

Ito T, Nagai H, Aoki W, Yamada A, Kawagishi H, Fukaya M, Konishi H. 2021. Quantification of ustalic acid, a chemotaxonomic marker, in *Tricholoma ustale* using liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Natural Medicines* 75: 688–691. <https://doi.org/10.1007/s11418-021-01496-z>

Jacques L, Lamoureux Y, Lebeuf R. 2022. Répertoire des tricholomes du Québec. Québec: MycoQuébec.

Jargeat P, Martos F, Carriconde F, Gryta H, Moreau PA, Gardes M. 2010. Phylogenetic species delimitation in ectomycorrhizal fungi and implications for barcoding: the case of the *Tricholoma*

- scalpturatum* complex (Basidiomycota). *Molecular Ecology* 19: 5216–5230.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04863.x>
- Jeandroz S, Murat C, Wang Y, Bonfante P, Tacon FL. 2008. Molecular phylogeny and historical biogeography of the genus *Tuber*, the ‘true truffles’. *Journal of Biogeography* 35: 815–829.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2007.01851.x>
- Jouzel J, Delmotte VM, Cattani O, Dreyfus G, Falourd S, Hoffmann G, Minster B, Nouet J, Barnola JM, Chappellaz J, Fischer H, Gallet JC, Johnsen S, Leuenberger M, Loulergue L, Luethi D, Oerter H, Parrenin F, Raisbeck G, Raynaud D, Schilt A, Schwander J, Selmo E, Souchez R, Spahni R, Stauffer B, Steffensen JP, Stenni B, Stocker TF, Tison JL, Werner M, Wolff EW. 2007. Orbital and millennial antarctic climate variability over the past 800,000 years. *Science* 317: 793–796.
<https://doi.org/10.1126/science.1141038>
- 勝本謙. 2010. 日本産菌類集覧. 東京：日本菌学会関東支部.
- 河岸洋和. 2017. きのが産生する生体機能性物質に関する研究. *日本きのこ学会誌* 25: 122–128.
- 川合正允, 阿部重雄. 1976. まつたけの培養に関する研究 - 1 - まつたけの栄養生長におよぼす C 源および N 源の影響. *日本菌学会会報* 17: 159–167.
<https://iss.ndl.go.jp/books/R100000002-I000000018315-00>
- 川村清一. 1925. 日本菌類図譜. 第 5 輯. 東京：農商務省山林局.
<https://doi.org/10.11501/1014702>
- 川村清一. 1954. 原色日本菌類図鑑, 第四卷. 東京：風間書房.
- Kibar B, Peksen A. 2011. Nutritional and environmental requirements for vegetative growth of edible ectomycorrhizal mushroom *Tricholoma terreum*. *Žemdirbystė* 98: 409–414.
- Kikuchi K, Matsushita N, Suzuki K. 2007. Discrimination of *Tricholoma* species by species-specific ITS primers. *Mycoscience* 48: 316–320. <https://doi.org/10.1007/S10267-007-0368-2>
- Kinoshita A, Nara K, Sasaki H, Feng B, Obase K, Yang ZL, Yamanaka T. 2018. Using mating-type loci to improve taxonomy of the *Tuber indicum* complex, and discovery of a new species, *T. longispinosum*. *Plos One* 13: e0193745. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193745>
- Kirk P, Cannon P, Minter D, Stalpers J. 2008. Dictionary of the Fungi, 10th edn. Wallingford: CABI.
- 小山昇平, 小沢良行. 1994. 信州のキノコ. 長野：信濃毎日新聞社.
- 小山昇平. 1999. 毒きのこ・絶品きのこ狂騒記. 東京：講談社.
- Kozlov AM, Darriba D, Flouri T, Morel B, Stamatakis A. 2019. RAxML-NG: a fast, scalable and user-friendly tool for maximum likelihood phylogenetic inference. *Bioinformatics* 35: 4453–4455.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz305>
- Kranabetter JM, Friesen J, Gamiet S, Kroeger P. 2009. Epigeous fruiting bodies of ectomycorrhizal fungi as indicators of soil fertility and associated nitrogen status of boreal forests. *Mycorrhiza* 19, 535–548. <https://doi.org/10.1007/s00572-009-0255-0>

- Kress WJ, Erickson DL. 2007. A two-locus global DNA barcode for land plants: The coding *rbcl* gene complements the non-coding *trnH-psbA* spacer region. *PloS one* 2: e508.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000508>
- Kretzer AM, Bruns TD. 1999. Use of *atp6* in fungal phylogenetics: an example from the Boletales. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 13: 483–492. <https://doi.org/10.1006/mpev.1999.0680>
- 工藤伸一, 長沢栄史. 1998. 日本新産種 *Tricholoma cingulatum* (ツバササクレシメジー新称) について. 財団法人日本きのこセンター菌茸研究所研究報告 36: 16–20.
- 工藤伸一, 手塚豊, 米内山宏. 1998. 青森のきのこ. 青森: グラフ青森.
- Kumar S, Stecher G, and Tamura K. 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33: 1870–1874.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
- Kummer P. 1871. Der Führer in die Pilzkunde: Anleitung zum methodischen, leichten und sichern Bestimmen der in Deutschland vorkommenden Pilze: mit Ausnahme der Schimmel- und allzu winzigen Schleim- und Kern-Pilzchen. Zerst: Verlag von E. Luppe's Buchhandlung.
<https://www.biodiversitylibrary.org/item/106672#page/5/mode/1up>
- 黒木秀一. 2015. 宮崎のきのこ. 宮崎: 鉾脈社.
- Lebreton A, Tang N, Kuo A, LaButti K, Andreopoulos W, Drula E, Miyauchi S, Barry K, Clum A, Lipzen A, Mousain D, Ng V, Wang R, Dai Y, Henrissat B, Grigoriev IV, Guerin-Laguette A, Yu F, Martin FM. 2022. Comparative genomics reveals a dynamic genome evolution in the ectomycorrhizal milk-cap (*Lactarius*) mushrooms. *New Phytologist* 235: 306–319.
<https://doi.org/10.1111/nph.18143>
- Linnaeus C. 1753. Species Plantarum: Tomus II. Holmiae: Impensis Laurentii Salvii, pp 1173.
- Lofgren L, Nguyen NH, Kennedy P. 2018. Ectomycorrhizal host specificity in a changing world: can legacy effects explain anomalous current associations? *New Phytologist* 220: 1273–1284.
<https://doi.org/10.1111/nph.15008>
- Lofgren LA, Nguyen NH, Vilgalys R, Ruytinx J, Liao H, Branco S, Kuo A, LaButti K, Lipzen A, Andreopoulos W, Pangilinan J, Riley R, Hundley H, Na H, Barry K, Grigoriev IV, Stajich JE, Kennedy PG. 2021. Comparative genomics reveals dynamic genome evolution in host specialist ectomycorrhizal fungi. *New Phytologist* 230: 774–792. <https://doi.org/10.1111/nph.17160>
- Maire R. 1913. Études Mycologiques (Fascicule 1). *Annales Mycologici* 11. Berlin: R. Friedlaender & Sohn.
- Maire R. 1924. Études mycologiques (Fascicule 2). *Bulletin Trimestriel de la Société Mycologique de France* 40: 293–317.
- Marx DH. 1969. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infection. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. *Phytopathology* 59: 153–163.

- Masui K. 1927. A study of the ectotrophic mycorrhizas of woody plants. *Memories of the College of Science, Kyoto Imperial University Series B III* 2: 152–279.
- Massicotte HB, Molina R, Lumor DL, Smith JE. 1994. Biology of the ectomycorrhizal genus, *Rhizopogon* II. Patterns of host-fungus specificity following spore inoculation of diverse hosts grown in monoculture and dual culture. *New Phytologist* 126: 677–690. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1994.tb02962.x>
- Matheny PB, Curtis JM, Hofstetter V, Aime MC, Moncalvo JM, Ge ZW, Yang ZL, Slot JC, Ammirati JF, Baroni TJ, Bougher NL, Hughes KW, Lodge DJ, Kerrigan RW, Seidl MT, Aanen DK, DeNitis M, Daniele GM, Desjardin DE, Kropp BR, Norvell LL, Parker A, Vellinga EC, Vilgalys R, Hibbett DS. 2006. Major clades of Agaricales: a multilocus phylogenetic overview. *Mycologia* 98: 982–995. <https://dx.doi.org/10.5943/mycosphere/3/1/10>
- 松岡玄達. 1761. 怡顔齋菌品 2 卷. 林権兵衛：平安.
- 松田一郎, 本郷次雄. 1962. 飯豊山北麓温帯落葉樹林の高等菌類. *植物研究雑誌* 37 : 15–21.
- Melin E. 1922a. *Boletus*-Arten als Mykorrhizenpilze der Waldbäume. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 40: 94–97.
- Melin E. 1922b. Untersuchungen über die *Larix*-Mykorrhiza. I . Synthese der Mykorrhiza in Reinkultur. *Svensk Botanisk Tidskrift* 16: 96–161.
- Morris MH, Pérez-Pérez MA, Smith ME, Bledsoe CS. 2009. Influence of host species on ectomycorrhizal communities associated with two co-occurring oaks (*Quercus* spp.) in a tropical cloud forest. *FEMS Microbiology Ecology* 69: 274–287. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2009.00704.x>
- Miyamoto Y, Nakano T, Hattori M, Nara K. 2014. The mid-domain effect in ectomycorrhizal fungi: range overlap along an elevation gradient on Mount Fuji, Japan. *The ISME Journal* 8: 1739–1746. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.34>
- Miyauchi S, Kiss E, Kuo A, Drula E, Kohler A, Sánchez-García M, Morin E, Andreopoulos B, Barry KW, Bonito G, Buée M, Carver A, Chen C, Cichocki N, Clum A, Culley D, Crous PW, Fauchery L, Girlanda M, Hayes RD, Kéri Z, LaButti K, Lipzen A, Lombard V, Magnuson J, Maillard F, Murat C, Nolan M, Ohm RA, Pangilinan J, Freitas Pereira M, Perotto S, Peter M, Pfister S, Riley R, Sitrit Y, Stielow JB, Szöllősi G, Žifčáková L, Štursová M, Spatafora JW, Tedersoo L, Vaario LM, Yamada A, Yan M, Wang P, Xu J, Bruns T, Baldrian P, Vilgalys R, Dunand C, Henrissat B, Grigoriev IV, Hibbett D, Nagy LG, Martin FM. 2020. Large-scale genome sequencing of mycorrhizal fungi provides insights into the early evolution of symbiotic traits. *Nature Communications* 12: 5125. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18795-w>
- 宮内信之助. 1989. キノコその文化. 見附：文化社.
- 宮内信之助. 1997. 日本新産の有毒きのこ *Tricholoma pardinum* (ヒョウモンクロシメジ新称) について. *日本菌学会会報* 38 : 85–86.
- 宮内信之助. 2010. 新潟県のきのこ. 新潟：新潟日報事業社, pp 35–37.

- Molina R, Massicotte H, Trappe JM. 1992. Specificity phenomena in mycorrhizal symbioses: community-ecological consequences and practical implications. In: *Mycorrhizal functioning: an integrative plant-fungal process*, eds by Allen MF. New York: Chapman and Hall, pp 357–423.
- Molina R, Trappe JM. 1994. Biology of the ectomycorrhizal genus, *Rhizopogon* I. Host associations, host-specificity and pure culture syntheses. *New Phytologist* 126: 653–675.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1994.tb02961.x>
- Molina R, Smith JE, McKay D, Melville LH. 1997. Biology of the ectomycorrhizal genus, *Rhizopogon*: III. Influence of co-cultured conifer species on mycorrhizal specificity with the arbutoid hosts *Arctostaphylos uva-ursi* and *Arbutus menziesii*. *New phytologist* 137: 519–528.
<https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1997.00836.x>
- Molina R, Massicotte HB, Grubisha LC, Spatafora JW JW. 1999. *Rhizopogon*. In: *Ectomycorrhizal fungi: Key Genera in Profile*, eds by Cairney JWG, Chambers SM. Berlin: Springer, pp 129–161.
- Moukha S, Férandon C, Beroard E, Guinberteau J, Castandet B, Callac P, Creppy E, Barroso G. 2013. A molecular contribution to the assessment of the *Tricholoma equestre* species complex. *Fungal Biology* 117: 145–155. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2013.01.003>
- Murata H, Yamada A, Maruyama T, Endo N, Yamamoto K, Ohira T, Shimokawa T. 2013. Root endophyte interaction between ectomycorrhizal basidiomycete *Tricholoma matsutake* and arbuscular mycorrhizal tree *Cedrela odorata*, allowing in vitro synthesis of rhizospheric “shiro”. *Mycorrhiza* 23: 235–242. <https://doi.org/10.1007/s00572-012-0466-7>
- 村田義一. 1979. 北海道産褶菌類記 (1) . *日本菌学会会報* 20: 241–247.
- Murrill WA. 1914. (Agaricales) Agaricaceae. *North American Flora* 10: 1–76.
- Nagasawa E, Hongo T. 1985. Some Agarics from the San-in District, Japan. *Memoirs of the National Science Museum* 18: 73–88.
- 長沢栄史. 1992. ハマシメジ (*Tricholoma myomyces*) について. *日本菌学会大会講演要旨集*, pp 59.
- 長沢栄史. 2009. 増補改訂 フィールドベスト図鑑 Vol. 13 日本の毒きのこ. 東京: 学研教育出版.
- 成松眞樹, 寺嶋芳江, 渡辺和夫, 松下範久, Penjor D. 2019. ブータン王国西部のマツタケの宿主樹種の推定. *日本菌学会第63回大会*: 秋田.
https://doi.org/10.11556/msj7abst.63.0_72a.
- Nguyen NH, Vellinga EC, Bruns TD, Kennedy PG. 2016. Phylogenetic assessment of global *Suillus* ITS sequences supports morphologically defined species and reveals synonymous and undescribed taxa. *Mycologia* 108: 1216–1228. <http://dx.doi.org/10.3852/16-106>
- Nieminen P, Kärjä V, Mustonen AM. 2008. Indications of hepatic and cardiac toxicity caused by subchronic *Tricholoma flavovirens* consumption. *Food and Chemical Toxicology* 46: 781–786.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.10.014>
- Norkrans B. 1949. Some mycorrhiza-forming *Tricholoma* species. *Svensk Botanisk Tidskrift* 43: 485–490.

- Obase K. 2022. Morphological characteristics of ectomycorrhizas formed by *in vitro* synthesis between conifer seedlings and *Tuber* mycelial strains of the *Puberulum* clade isolated in Japan. *Mycoscience* 63: 39–44. <https://doi.org/10.1016/j.myc.2019.10.002>
- 小川真, 浜田稔. 1965. マツタケおよびその近縁種における“シロ”の微生物生態学的研究 I. マツタケの“シロ”とそこに形成される菌根について. *日本菌学会会報* 6: 67–71.
- 小川真. 1978. マツタケの生物学. 東京: 築地書館.
- Ohta A. 1990. A new medium for mycelial growth of mycorrhizal fungi. *Transcriptions of the Mycological Society of Japan* 31: 323–334.
- Orton PD. 1964. Notes on British Agarics II. *Notes from the Royal Botanic Garden, Edinburgh* 26: 43–65.
- Ovrebo CL. 1980. A taxonomic study of the genus *Tricholoma* (Agaricales) in the Great Lakes region [PhD dissertation]. Ontario: University of Toronto.
- Ovrebo CL, Hughes KW, Halling RE. 2019. Three new species of *Tricholoma* from Costa Rica. *Phytotaxa* 392: 33–44. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.392.1.3>
- Palmer JM, Lindner DL, Volk TJ. 2008. Ectomycorrhizal characterization of an American chestnut (*Castanea dentata*)-dominated community in Western Wisconsin. *Mycorrhiza* 19: 27–36. <https://doi.org/10.1007/s00572-008-0200-7>
- Peay K, Bruns TD, Kennedy PG, Bergemann SE, Garbelotto M. 2007. A strong species–area relationship for eukaryotic soil microbes: island size matters for ectomycorrhizal fungi. *Ecology Letters* 10: 470–480. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01035.x>
- Peck CH. 1875. Report of the Botanist. *Annual Report on the New York State of Museum Natural History* 27: 92–93.
- Pegler DN, Lodge DJ, Nakasone KK. 1998. The pantropical genus *Macrocybe* gen. nov. *Mycologia* 90: 494–504. <https://doi.org/10.1080/00275514.1998.12026934>
- Peterson RL, Chakravarty P. 1991. 3. Techniques in synthesizing ectomycorrhiza. In: *Methods in Microbiology, vol. 23, Techniques for the study of mycorrhiza*, eds by Norris JR, Read DJ, Varrma AK. London: Academic Press, pp 75–106.
- Posada D. 2008. jModelTest: Phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25: 1253–1256. <https://doi.org/10.1093/molbev/msn083>
- Reschke K, Popa F, Yang ZL, Kost G. 2018. Diversity and taxonomy of *Tricholoma* species from Yunnan, China, and notes on species from Europe and North America. *Mycologia* 110: 1081–1109. <https://doi.org/10.1080/00275514.2018.1512295>
- Riva A. 1984. A new species of *Tricholoma* (*Tricholoma roseoacereum*). *Mycologia Helvetica* 1: 177–184.
- Riva A. 1988. *Tricholoma* (Fr. Staude). Saronno: Libreria editrice Biella Giovanna.
- Romagnesi H. 1971. Petit atlas des champignons tome 2. Paris: Bordas.
- Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S. 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 61: 539–542. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>

- 坂本浩然. 1835. 坂本浩然菌譜. 紀伊 : 刊本. <https://doi.org/10.11501/2533107>
- Sánchez-García M, Matheny PB, Palfner G, Lodge DJ. 2014. Deconstructing the Tricholomataceae (Agaricales) and introduction of the new genera *Albomagister*, *Corneriella*, *Pogonoloma* and *Pseudotricholoma*. *Taxon* 63: 993–1007. <https://doi.org/10.12705/635.635.3>
- Sánchez-García M, Matheny PB. 2016. Is the switch to an ectomycorrhizal state an evolutionary key innovation in mushroom-forming fungi? A case study in the Tricholomatineae (Agaricales). *Evolution* 71: 51–65. <https://www.jstor.org/stable/48575922>
- Sánchez-García M, Adamčíková K, Moreau PA, Vizzini A, Jančovičová S, Kiran M, Caboň M, Matheny PB, Slavomír AS. 2021. The genus *Dermoloma* is more diverse than expected and forms a monophyletic lineage in the Tricholomataceae. *Mycological Progress* 2: 11–25. <https://doi.org/10.1007/s11557-020-01651-y>
- Sanmee R, Lumyong S, Dell B, Lumyong P. 2007. First record of *Tricholoma fulvocastaneum* from Thailand. *Mycoscience* 48: 131–133. <https://doi.org/10.1007/S10267-006-0341-5>
- Sano Y, Sayama K, Arimoto Y, Inakuma T, Kobayashi K, Koshino H, Kawagishi H. 2002. Ustalic acid as a toxin and related compounds from the mushroom *Tricholoma ustale*. *Chemical Communication* 13: 1384–1385. <https://doi.org/10.1039/b202607d>
- Scheidegger C, Brunner I. 1993. Freeze-fracturing for low-temperature scanning electron microscopy of Hartig net in synthesized *Picea abies*–*Hebeloma crustuliniforme* and –*Tricholoma vaccinum* ectomycorrhizas. *New phytologist* 123: 123–132. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1993.tb04538.x>
- Schneider CA, Rasband WA, Eliceiri KW. 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
- 信州きのこの会. 2002. 食べられるキノコ 200 選. 長野 : 信濃毎日新聞社.
- Singer R. 1939. Phylogenie und Taxonomie der Agaricales. *Schweizerische Zeitschrift für Pilzkunde* 17: 52–57.
- Singer R. 1952. The white- and pink-spored agarics of the Argentine Sector of Tierra del Fuego and limitrophous regions of the Magallanes area. *Sydowia* 6: 165–226.
- Singer R. 1965. Die Röhrlinge T.1-T.2. In: *Die Pilze Mitteleuropas*, Ramsauer Weg: J. Klinkhardt.
- Singer R. 1975. The Agaricales in modern taxonomy, 3rd edn. Vaduz: J. Cramer.
- Singer R. 1986. The Agaricales in modern taxonomy, 4th edn. Koenigstein: Koeltz Scientific Books.
- Smith SE, Read DJ. 2008. Mycorrhizal symbiosis, 3rd edn. London: Academic Press.
- 相馬寛吉, 辻誠一郎. 1988. 植物化石からみた日本の第四期. *第四期研究* 26 : 281–291.
- Staude F. 1857. Die Schwämme Mitteldeutschlands, in besondere des Herzogthums (Germany). Coburg: Thienemann.
- 高橋郁雄. 2012. 北海道きのこ図鑑. 北海道 : 亜璃西社.
- 田中豊雄. 1982. 信州きのこ百科. 長野 : 信濃毎日新聞社出版局.

- Trappe JM. 1960. Some probable mycorrhizal associations in the Pacific Northwest. II. *Northwest Science* 34: 7–113.
- Trudell SA, Xu J, Saar I, Justo A, Cifuentes J. 2017. North American matsutake: names clarified and a new species described. *Mycologia* 109: 379–390. <https://doi.org/10.1080/00275514.2017.1326780>
- Trappe JM. 1967. Pure culture synthesis of Douglas-fir mycorrhizae with species of *Hebeloma*, *Suillus*, *Rhizopogon*, and *Astraeus*. *Forest Science* 13: 121–130. <https://doi.org/10.1093/forestscience/13.2.121>
- Ushijima S, Nagasawa E, Endo N, and Yamada A. 2021. *Tricholoma olivaceonigrum*, a new species of the section *Tricholoma* (Agaricales) from Japan. *Mycoscience* 62: 233–238. <https://doi.org/10.47371/mycosci.2021.03.005>
- Vaario LM, Yang X, Yamada A. 2017. Biogeography of the Japanese gourmet fungus, *Tricholoma matsutake*: A review of the distribution and functional ecology of matsutake. In: *Biogeography of mycorrhizal symbiosis, Ecological Studies, vol 230*, eds by Tedersoo L. Berlin: Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-56363-3_15
- Vogt KA, Grier CC, Meier CE, Edmonds RL. 1982. Mycorrhizal Role in Net Primary Production and Nutrient Cycling in *Abies Amabilis* Ecosystems in Western Washington. *Ecology* 63: 370–380. <https://doi.org/10.2307/1938955>
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor JW. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR protocols: a guide to the methods and applications*, eds by Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, and White TJ. Academic Press: New York, pp 315–322.
- Xu X, Cui Y, Yang ZL. 2020. Two new species of *Tricholoma* sect. *Genuina* (Agaricales) from China. *Phytotaxa* 443: 155–166. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.443.2.3>
- 山田明義. 2001. 菌類実験技術講座(1)菌類の採集・検出と分離:外生菌根菌(1)採集法ならびに採集試料の前処理法. *日本菌学会会報* 42 : 33–39.
- 山田明義. 2002. 日本産菌根性きのこ類の食資源としての利用性. *信州大学農学部紀要* 38: 1–17. <http://hdl.handle.net/10091/915>
- 山田明義. 2018. 日本のきのこ食文化とその背景に関する考察. *Foods & Food Ingredients Journal of Japan* 223 : 154–164.
- Yamada A, Katsuya K. 1995. Mycorrhizal association of isolates from sporocarps and ectomycorrhizas with *Pinus densiflora* seedlings. *Mycoscience* 36: 315–323. <https://doi.org/10.1007/BF02268607>
- Yamada A, Kanekawa S, Ohmasa M. 1999a. Ectomycorrhiza formation of *Tricholoma matsutake* on *Pinus densiflora*. *Mycoscience* 40: 193–198. <https://doi.org/10.1007/BF02464298>
- Yamada A, Maeda S, Ohmasa M. 1999b. Ectomycorrhiza formation of *Tricholoma matsutake* isolates on *Pinus densiflora* in vitro. *Mycoscience* 40: 455–463. <https://doi.org/10.1007/BF02461022>
- Yamada A, Ogura T, Degawa Y, Ohmasa M. 2001a. Isolation of *Tricholoma matsutake* and *T. bakamatsutake* cultures from field-collected ectomycorrhizas. *Mycoscience* 42: 43–50. <https://doi.org/10.1007/BF02463974>.

- Yamada A, Ogura T, Ohmasa M. 2001b. Cultivation of mushrooms of edible ectomycorrhizal fungi associated with *Pinus densiflora* by *in vitro* mycorrhizal synthesis. *Mycorrhiza* 11: 67–81. <https://doi.org/10.1007/s005720000093>
- Yamada A, Ogura T, Ohmasa M. 2001c. Cultivation of mushrooms of edible ectomycorrhizal fungi associated with *Pinus densiflora* by *in vitro* mycorrhizal synthesis. II. Morphology of ectomycorrhizas in open-pot soil. *Mycorrhiza* 11: 67–81. <https://doi.org/10.1007/s005720000093>
- Yamada A, Maeda K., Kobayashi H, Murata H. 2006. Ectomycorrhizal symbiosis *in vitro* between *Tricholoma matsutake* and *Pinus densiflora* seedlings that resembles naturally occurring ‘shiro’. *Mycorrhiza* 16: 111–116. <https://doi.org/10.1007/s00572-005-0021-x>
- Yamada A, Kobayashi H, Ogura T, Masaki F. 2007. Sustainable fruit-body formation of edible mycorrhizal *Tricholoma* species for 3 years in open pot culture with pine seedling hosts. *Mycoscience* 48: 104–108. <https://doi.org/10.1007/s10267-006-0338-0>
- Yamada A, Kobayashi H., Murata H, Kalmış E, Kalyoncu F, Fukuda M. 2010. *In vitro* ectomycorrhizal specificity between the Asian red pine *Pinus densiflora* and *Tricholoma matsutake* and allied species from worldwide Pinaceae and Fagaceae forests. *Mycorrhiza* 20: 333–339. <https://doi.org/10.1007/s00572-009-0286-6>
- Yamada A, Endo N, Murata H, Ohta A, Fukuda M. 2014. *Tricholoma matsutake* Y1 strain associated with *Pinus densiflora* shows a gradient of *in vitro* ectomycorrhizal specificity with Pinaceae and oak hosts. *Mycoscience* 55: 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.myc.2013.05.004>
- Yamada A, Hayakawa N, Saito C, Horimai Y, Misawa H, Yamanaka T, Fukuda M. 2019. Physiological variation among *Tricholoma matsutake* isolates generated from basidiospores obtained from one basidioma. *Mycoscience* 60: 102–109. <https://doi.org/10.1016/j.myc.2018.12.001>
- Yamada A. 2022. Cultivation studies of edible ectomycorrhizal mushrooms: successful establishment of ectomycorrhizal associations *in vitro* and efficient production of fruiting bodies. *Mycoscience* 63: 235–246. <https://doi.org/10.47371/mycosci.2022.08.004>
- Yamanaka K, Ota Y, Konno M, Kawai M, Ohta A, Neda H, Terashima Y, Yamada A. 2014. The host ranges of conifer-associated *Tricholoma matsutake*, Fagaceae-associated *T. bakamatsutake* and *T. fulvocastaneum* are wider *in vitro* than in nature. *Mycologia* 103: 397–406. <https://doi.org/10.3852/13-197>
- Yamanaka T, Yamada A, Furukawa H. 2020. Advances in the cultivation of the highly-prized ectomycorrhizal mushroom *Tricholoma matsutake*. *Mycoscience* 61: 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.myc.2020.01.001>
- 山下衛, 古川久彦. 1993. きのこと中毒. 東京: 共立出版.
- 山浦由朗. 1993. 毒きのこと食中毒. *食品と微生物* 10: 113–119.

付表 1. MNC 培地におけるカキシメジ類の菌糸培養データ (第 3 章)

種	培養株	No.	長径 (mm)	短径 (mm)	湿重 量 (g)	含水率 (%)	乾燥重 量 (g)	No.	長径 (mm)	短径 (mm)	湿重 量 (g)	含水 率 (%)	乾燥重量 (g)
		N×0.3						×0.3					
<i>T. kakishimeji</i>	TUA-133C	6	23.6	22.8	0.129	82	0.023	11	24.2	20	0.106	87	0.014
		7	23.6	22.3	0.148	86	0.021	12	24.3	19.2	0.119	87	0.016
		8	24.3	22.5	0.134	84	0.022	13	24.5	22.5	0.107	87	0.014
		9	25.2	23.1	0.131	84	0.021	14	24.2	22.9	0.14	89	0.015
		10	26.5	22.7	0.156	84	0.025	15	23.5	17.4	0.116	88	0.014
	TUA-75C	6	22.7	22	0.118	84	0.019	11	30.5	28.5	0.215	91	0.019
		7	24.5	23.1	0.149	83	0.026	12	33	27.3	0.184	90	0.019
		8	26.1	24.4	0.16	84	0.026	13	28.2	27.3	0.19	91	0.018
		9	27.6	24.7	0.151	81	0.029	14	27.2	27.2	0.144	89	0.016
		10	26.2	24	0.136	84	0.022	15	36.5	29.1	0.194	91	0.018
<i>T. stans</i>	TUA-101C	6	21.1	18	0.107	86	0.015	11	32.2	32	0.191	90	0.02
		7	20.7	18.2	0.111	84	0.018	12	20.5	16.6	0.08	86	0.011
		8	29.6	29.4	0.168	84	0.027	13	24	19	0.155	90	0.016
		9	27.2	28.2	0.183	85	0.028	14	25.3	22.8	0.188	90	0.018
		10	31.9	28.3	0.183	84	0.029	15	26.9	24.2	0.168	91	0.015
	TUA-134C	6	31.9	29.2	0.149	84	0.024	11	30	27.9	0.172	91	0.016
		7	28.2	26.6	0.128	84	0.02	12	29	25.5	0.164	91	0.015
		8	31.4	27.2	0.147	86	0.021	13	28.9	24.6	0.17	90	0.017
		9	27.2	22.3	0.129	85	0.019	14	29	25.9	0.216	92	0.017
		10	31.9	29	0.173	87	0.023	15	27	25.8	0.189	92	0.016
<i>T. albobrunneum</i>	AT-0610	6	40.9	30.7	0.219	83	0.037	11	40	34.2	0.179	87	0.024
		7	36.6	29	0.176	82	0.032	12	47.1	46.5	0.257	88	0.03
		8	43.1	31.2	0.222	81	0.042	13	52	47.6	0.267	89	0.029
		9	43.9	37.8	0.226	84	0.036	14	48.6	47.1	0.254	88	0.03
		10	37.3	33.3	0.206	83	0.034	15	37.3	34.5	0.286	91	0.025
	TUA-118C	6	29.6	28.1	0.143	83	0.024	11	28.3	25.1	0.136	88	0.016
		7	31.8	28.7	0.142	82	0.026	12	31.9	26.3	0.143	87	0.018
		8	30.8	26.8	0.134	84	0.021	13	33.4	23.5	0.148	88	0.018
		9	31.6	29.1	0.16	84	0.025	14	29.1	26.5	0.171	88	0.02
		10	27.8	25.4	0.127	83	0.021	15	34.6	27.1	0.168	89	0.018
<i>T. kakishimejioides</i>	TUMH 62875	6	8.4	5.2	0.107	90	0.011	11	10	7.3	0.162	90	0.016
		7	7.9	5.1	0.055	85	0.008	12	8.6	8	0.143	91	0.013
		8	7.1	5.6	0.094	86	0.013	13	9	9	0.184	91	0.016
		9	6.8	6	0.103	86	0.014	14	8.5	7.2	0.145	90	0.014
		10	7	6.1	0.078	86	0.011	15	10	7.9	0.115	91	0.01
		×1						N×2					
<i>T. kakishimeji</i>	TUA-133C	16	31.8	28.2	0.148	81	0.028	26	23.8	20.4	0.106	86	0.015
		17	26.7	26.7	0.231	83	0.039	27	19.8	16.4	0.08	86	0.011
		18	31.7	25.5	0.21	81	0.04	28	30	23.4	0.161	82	0.029
		19	32.4	27.2	0.185	81	0.035	29	26.2	18.8	0.134	84	0.022
		20	30.5	26.7	0.173	82	0.031	30	20	16.5	0.078	86	0.011
	TUA-75C	16	31.4	23.8	0.111	80	0.022	26	26.2	21.6	0.093	83	0.016
		17	22.3	22.3	0.13	79	0.027	27	26.3	23.9	0.122	81	0.023
		18	23.8	21.8	0.137	84	0.022	28	26.7	23.3	0.109	83	0.019
		19	22.8	22.8	0.137	81	0.026	29	26.9	23	0.128	82	0.023
		20	22.9	19.5	0.111	82	0.02	30	26.8	23.1	0.178	87	0.023
<i>T. stans</i>	TUA-101C	16	28.6	26.7	0.161	83	0.027	26	29.5	25.5	0.16	85	0.024
		17	25.2	22.8	0.135	83	0.023	27	26.6	23.7	0.172	86	0.024
		18	27.2	24.2	0.131	81	0.025	28	25.8	24.6	0.126	83	0.021
		19	22.8	20.1	0.11	84	0.018	29	24.6	21.9	0.155	87	0.02
		20	21.1	19.4	0.119	84	0.019	30	24.6	24.4	0.129	84	0.02
	TUA-134C	16	29.2	27	0.139	83	0.024	26	16.3	12.6	0.075	91	0.007
		17	27.9	26.2	0.171	84	0.028	27	14	13.9	0.057	89	0.006
		18	27.6	26.2	0.15	85	0.023	28	12.8	10.9	0.054	91	0.005
		19	31.3	26.6	0.199	86	0.027	29	15.9	13	0.077	90	0.008
		20	26.6	25.7	0.146	83	0.025	30	12.6	11.9	0.063	90	0.006
<i>T. albobrunneum</i>	AT-0610	16	34.5	24.5	0.156	83	0.026	26	35	26.3	0.15	86	0.021

		17	28.8	23	0.129	83	0.022	27	30.2	24.8	0.145	87	0.019
		18	29	25	0.126	83	0.021	28	30.9	28.1	0.142	85	0.021
		19	29	23.6	0.136	84	0.022	29	33.3	23.8	0.116	86	0.016
		20	32.8	29	0.17	84	0.027	30	38.8	28.2	0.159	85	0.024
	TUA-118C	16	23.8	21.5	0.096	83	0.016	26	32.2	28.5	0.136	85	0.02
		17	24.4	22.7	0.121	84	0.019	27	31.7	28	0.145	86	0.02
		18	26	25.3	0.139	85	0.021	28	30	26.7	0.14	87	0.018
		19	28.6	24.7	0.093	82	0.017	29	32	29.9	0.109	83	0.019
		20	28.5	25.1	0.098	83	0.017	30	32.3	30.9	0.13	85	0.02
<i>T. kakishimejioides</i>	TUMH 62875	16	8	7.9	0.087	84	0.014	26	10.3	8.5	0.122	84	0.02
		17	11.2	8.2	0.126	84	0.02	27	9.4	6	0.067	85	0.01
		18	9.9	8.4	0.122	84	0.02	28	8	6.1	0.099	85	0.015
		19	9	6.5	0.082	83	0.014	29	11.3	8	0.105	83	0.018
		20	7	6.1	0.057	88	0.007	30	9.9	6.9	0.104	84	0.017
培養試験		×2											
<i>T. kakishimeji</i>	TUA-133C	31	29.4	25.1	0.155	81	0.03						
		32	29	21.1	0.124	81	0.023						
		33	18.1	13.6	0.073	86	0.01						
		34	22.2	17.3	0.113	82	0.02						
		35	32.2	26.2	0.143	82	0.026						
	TUA-75C	31	21.4	17.9	0.062	82	0.011						
		32	27	23.4	0.11	79	0.023						
		33	22.9	21.9	0.092	82	0.017						
		34	23.5	21.7	0.109	83	0.019						
		35	23.2	21.6	0.113	82	0.02						
<i>T. stans</i>	TUA-101C	31	23.4	19.2	0.107	84	0.017						
		32	21.5	18.6	0.12	86	0.017						
		33	20.4	19.3	0.108	85	0.016						
		34	26.4	20	0.126	85	0.019						
		35	21.6	19.9	0.144	87	0.019						
	TUA-134C	31	17	14	0.071	89	0.008						
		32	14.7	12.4	0.069	90	0.007						
		33	16.8	14	0.076	88	0.009						
		34	12.9	11.4	0.07	90	0.007						
		35	21.2	19.9	0.146	88	0.018						
<i>T. albobrunneum</i>	AT-0610	31	22.8	19.6	0.118	86	0.017						
		32	30.1	24.2	0.152	86	0.022						
		33	29.7	27.1	0.157	85	0.024						
		34	30.3	25.1	0.175	86	0.025						
		35	28.2	24	0.168	87	0.022						
	TUA-118C	31	26.5	23.3	0.118	86	0.016						
		32	29.3	24.6	0.134	86	0.019						
		33	30.4	29.2	0.128	85	0.019						
		34	32.3	27	0.119	85	0.018						
		35	30.4	26.9	0.136	85	0.02						
<i>T. kakishimejioides</i>	TUMH 62875	31	10	7.8	0.106	83	0.018						
		32	11.9	10.4	0.132	80	0.027						
		33	9.3	7.4	0.1	83	0.017						
		34	9.6	8	0.101	79	0.021						
		35	9.5	7.3	0.103	83	0.017						

付表 2. 第 7 章の分子系統解析で使用した *Tricholoma* 属種の配列情報

GenBank No	種小名	標本	採取国	引用元
LT000134	<i>acerbum</i>	MC00-204	スロベニア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000005	<i>acerbum</i>	JV99-638	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LC574914	<i>acerbum</i>	TUA-14	日本	Aoki et al. 2021
LT000006	<i>aestuans</i>	JV02-540	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000153	<i>aestuans</i>	MC97-072	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000007	<i>aestuans</i>	MC94-008	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
MW627954	<i>aestuans</i>	QFB30952	カナダ	Jacques et al. 2022
MW628111	<i>aestuans</i>	QFB32641	カナダ	Jacques et al. 2022
MW628082	aff. <i>sulphurescens</i>	MQ20-YL4160	カナダ	Jacques et al. 2022
MW627899	aff. <i>acerbum</i>	CMMF003497	カナダ	Jacques et al. 2022
MW627884	aff. <i>albobrunneum</i>	CMMF001536	カナダ	Jacques et al. 2022
MW627963	aff. <i>caligatum</i>	QFB32615	カナダ	Jacques et al. 2022
MW628070	aff. <i>fulvum</i>	QFB32628	カナダ	Jacques et al. 2022
MW627945	aff. <i>fulvum</i>	QFB32613	カナダ	Jacques et al. 2022
MW628086	aff. <i>ustaloides</i>	CMMF003870	カナダ	Jacques et al. 2022
LT000077	<i>albobrunneum</i>	MC99-060	フランス	Heilmann-Clausen et al. 2017
MW628036	<i>albobrunneum</i>	QFB32594	カナダ	Jacques et al. 2022
LT000135	<i>album</i>	MC01-201	スロベニア	Heilmann-Clausen et al. 2017
MW628116	<i>ammophilium</i>	CMMF001523	カナダ	Jacques et al. 2022
LC684318	<i>anatolicum</i>	AY-1981000-005	トルコ	Aoki et al. 2022b
LT000154	<i>apium</i>	JHC95-049	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000009	<i>apium</i>	JV00-215	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000118	<i>apium</i>	MC98-034	ノルウェー	Heilmann-Clausen et al. 2017
MW627990	<i>argenteum</i>	CMMF003149	カナダ	Jacques et al. 2022
LT000198	<i>argraceum</i>	MEN9491	オーストリア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000155	<i>argraceum</i>	JHC97-092	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000004	<i>argraceum</i>	JHC93-243	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000156	<i>argraceum</i>	JHC97-174	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000127	<i>argraceum</i>	MC03251	スロバキア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000010	<i>argraceum</i>	JHC95-112	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
MW628094	<i>argraceum</i>	CMMF002085	カナダ	Jacques et al. 2022
LT000011	<i>argraceum</i>	JHC96-244	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
MF034264	<i>arvernense</i>	DBG18239	アメリカ合衆国	Jacques et al. 2022
LT000157	<i>arvernense</i>	MC95-102	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
MF034215	<i>arvernense</i>	MB002876	中国	Reschke et al. 2018
LT000078	<i>arvernense</i>	MC98-120	フランス	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000119	<i>arvernense</i>	MC98-020	ノルウェー	Heilmann-Clausen et al. 2017
MW627901	<i>atrodiscum</i>	CMMF004050	カナダ	Jacques et al. 2022
MF034279	<i>atrosquamosum</i>	DBG27983	アメリカ合衆国	Jacques et al. 2022
MF034275	<i>atrosquamosum</i>	DBG24009	アメリカ合衆国	Jacques et al. 2022
LT222031	<i>atrosquamosum</i>	TEB55008	ノルウェー	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000120	<i>atrosquamosum</i>	O F64018	ノルウェー	Heilmann-Clausen et al. 2017
MW627895	<i>atrosquamosum</i>	CMMF004741	カナダ	Jacques et al. 2022
LT222019	<i>atrosquamosum</i>	O F159872	ノルウェー	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT222024	<i>atrosquamosum</i>	O F188799	ノルウェー	Heilmann-Clausen et al. 2017
AY750166	<i>atroviolaceum</i>	C44 EC253	アメリカ合衆国	Cline et al. 2005
MF034227	<i>aurantipes</i>	MB003000	中国	Reschke et al. 2018
LT000100	<i>aurantium</i>	MC96-303	イタリア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000012	<i>aurantium</i>	MC97-227	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
MW628014	<i>aurantium</i>	CMMF007279	カナダ	Jacques et al. 2022
AB289663	<i>auratum</i>	Tk1	日本	Kikuchi et al. 2007
AB289662	<i>auratum</i>	ISK1	日本	Kikuchi et al. 2007
AB289660	<i>auratum</i>	Tk6	日本	Kikuchi et al. 2007
AB289659	<i>auratum</i>	Tk3	日本	Kikuchi et al. 2007

HM590869	<i>auratum</i>	AuFr3	フランス	Moukha et al. 2013
HM590867	<i>auratum</i>	AuFr1	フランス	Moukha et al. 2013
HM590868	<i>auratum</i>	AuFr2	フランス	Moukha et al. 2013
MW628099	<i>badicephalum</i>	CMMF006854	カナダ	Jacques et al. 2022
LC684283	<i>bakamatsutake</i>	AY-2041007-003	日本	Aoki et al. 2022b
UDB016070	<i>basirubense</i>	TUF101800	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000001	<i>basirubense</i>	MC01-209	クロアチア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000158	<i>basirubense</i>	TL5303	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000002	<i>batschii</i>	MC01-200	クロアチア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000013	<i>bonii</i>	JHC91-721	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
MF034240	<i>bonii</i>	MB301516	中国	Reschke et al. 2018
MF034296	<i>bonii</i>	MB003005	中国	Reschke et al. 2018
LT000101	<i>bonii</i>	LUG-F8450	イタリア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000102	<i>bonii</i>	MEN96112	イタリア	Heilmann-Clausen et al. 2017
MN992535	<i>boreosulphurescens</i>	ANT112-HRL2116	カナダ	Jacques et al. 2022
LT000161	<i>borgsjoeense</i>	JV95-307	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000160	<i>borgsjoeense</i>	JHC95-067	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT222030	<i>borgsjoeense</i>	TEB22606	ノルウェー	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000136	<i>boudieri</i>	MC01-600	スロベニア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000014	<i>boudieri</i>	MC95-317	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
MW628110	<i>boudieri</i>	MQ20-pat0115	カナダ	Jacques et al. 2022
LT000104	<i>bresadolanum</i>	MC96-265	イタリア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000103	<i>bresadolanum</i>	MC96-264	イタリア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000105	<i>bresadolanum</i>	TRgmb00652	イタリア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000162	<i>bresadolanum</i>	CL94166	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000152	<i>caligatum</i>	JV07-451	スペイン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000079	<i>caligatum</i>	PH99519	フランス	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000074	<i>cedretorum</i>	MC99-049	フランス	Heilmann-Clausen et al. 2017
MW627957	cf. <i>equestre</i>	CMMF002093	カナダ	Jacques et al. 2022
LT000128	<i>cingulatum</i>	MC03-252	スロバキア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000016	<i>cingulatum</i>	MC96-170	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000015	<i>cingulatum</i>	MC96-134	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000200	<i>cingulatum</i>	MEN95210	オーストリア	Heilmann-Clausen et al. 2017
MW628076	<i>cingulatum</i>	CMMF002112	カナダ	Jacques et al. 2022
MF034285	<i>colossum</i>	MB002363	中国	Reschke et al. 2018
LT000164	<i>colossum</i>	MC97-047	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000137	<i>colossum</i>	MC01-205	スロベニア	Heilmann-Clausen et al. 2017
MW627908	<i>columbetta</i>	CMMF003124	カナダ	Jacques et al. 2022
LT000017	<i>columbetta</i>	MC95-181	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
MW628127	<i>davisiae</i>	QFB31073	カナダ	Jacques et al. 2022
KJ705249	<i>davisiae</i>	4689-HRL-1256	アメリカ合衆国	Jacques et al. 2022
KJ705248	<i>davisiae</i>	2346-QFB-25632	アメリカ合衆国	Jacques et al. 2022
JF908732	<i>dulciolens</i>	14633	イタリア	Heilmann-Clausen et al. 2017
AB738883	<i>dulciolens</i>	H7002022	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
MW627883	<i>dulciolens</i>	QFB32649	カナダ	Jacques et al. 2022
LT000020	<i>equestre</i>	MC96-155	フランス	Heilmann-Clausen et al. 2017
HM590870	<i>equestre</i>	EqFr1	フランス	Moukha et al. 2013
LT000018	<i>equestre</i>	MC94-027	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
MF034239	<i>equestre</i>	MB301506	中国	Reschke et al. 2018
MF034261	<i>equestre</i>	MB305676	中国	Reschke et al. 2018
LT000019	<i>equestre</i>	MC95-187	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
AJ236081	<i>equestre</i>	EqNo	ノルウェー	Moukha et al. 2013
EU186278	<i>equestre</i>	AP58	ポルトガル	Direct submission
HM590871	<i>equestre</i>	EqFr2	フランス	Moukha et al. 2013
MF034203	<i>equestre</i>	DBG23922	中国	Reschke et al. 2018
MF034267	<i>equestre</i>	DBG18376	中国	Reschke et al. 2018

HM590874	<i>equestre</i>	EqFrW	フランス	Moukha et al. 2013
MF034280	<i>filamentosum</i>	MB000950	中国	Reschke et al. 2018
LT000139	<i>filamentosum</i>	MC00-218	スロベニア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000129	<i>filamentosum</i>	MC03-242	スロバキア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000165	<i>filamentosum</i>	C-F35924	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
MF034222	<i>filamentosum</i>	MB002942	中国	Reschke et al. 2018
LT000138	<i>filamentosum</i>	JHC01-202	スロベニア	Heilmann-Clausen et al. 2017
EU186310	<i>flavovirens</i>	AP40	ポルトガル	Direct submission
EU186294	<i>flavovirens</i>	AP21	ポルトガル	Direct submission
EU186297	<i>flavovirens</i>	AP25	ポルトガル	Direct submission
EU186304	<i>flavovirens</i>	AP33	ポルトガル	Direct submission
LC574913	<i>flavovirens</i>	TUA-15	日本	Aoki et al. 2021
AF458453	<i>flavovirens</i>	trh1000	アメリカ合衆国	Direct submission
AF458452	<i>flavovirens</i>	trh546	アメリカ合衆国	Direct submission
AF458449	<i>flavovirens</i>	trh545	アメリカ合衆国	Direct submission
DQ822834	<i>flavovirens</i>	KGP52	アメリカ合衆国	Peay et al. 2007
AF377181	<i>flavovirens</i>	DED5365	アメリカ合衆国	Bidartondo and Bruns 2002
AF349689	<i>flavovirens</i>	HDT54614	アメリカ合衆国	Bidartondo and Bruns 2001
HQ650740	<i>flavovirens</i>	FlCar	カナダ	Moukha et al. 2013
AF458456	<i>flavovirens</i>	trh652	アメリカ合衆国	Direct submission
AB036895	<i>flavovirens</i>	613	日本	Direct submission
MW628122	<i>focale</i>	QFB32592	カナダ	Jacques et al. 2022
AF309534	<i>focale</i>	-	アメリカ合衆国	Chapela and Garbelotto, 2004
AF377236	<i>focale</i>	tdb1490	アメリカ合衆国	Chapela and Garbelotto, 2004
LT000166	<i>focale</i>	JV97239	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000022	<i>focale</i>	MC98-600	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000021	<i>focale</i>	JV99-603	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
MF034318	<i>forteflavescens</i>	MN305034	中国	Reschke et al. 2018
MF034309	<i>forteflavescens</i>	MB302010	中国	Reschke et al. 2018
LT000168	<i>frondosae</i>	MC97-151	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000167	<i>frondosae</i>	MC95-130	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000169	<i>frondosae</i>	MC97-158	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000023	<i>frondosae</i>	MC96-235	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
JF896232	<i>frondosae</i>	-	フランス	Moukha et al. 2013
LT000140	<i>frondosae</i>	MC00-225	スロベニア	Heilmann-Clausen et al. 2017
HM590875	<i>frondosae</i>	EqFrPo	フランス	Moukha et al. 2013
LT000075	<i>frondosae</i>	MC98-086	フランス	Heilmann-Clausen et al. 2017
MF034282	<i>fucatum</i>	MB001318	中国	Reschke et al. 2018
LT000121	<i>fucatum</i>	MC98-023	ノルウェー	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000170	<i>fucatum</i>	MC97-149	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
MF034233	<i>fucatum</i>	MB102537	中国	Reschke et al. 2018
MW627974	<i>fulvimarginatum</i>	QFB32648	カナダ	Jacques et al. 2022
MW421575	<i>fulvocastaneum</i>	rlc-567	中国	Reschke et al. 2018
LC684293	<i>fulvocastaneum</i>	AY-2110606	ラオス	Aoki et al. 2022b
AB737847	<i>fulvocastaneum</i>	S-66	日本	Direct submission
DQ067895	<i>fulvocastaneum</i>	CMU 25007	タイ	Sanmee et al. 2007
AB289668	<i>fulvocastaneum</i>	TN6941	日本	Kikuchi et al. 2007
MW627906	<i>fulvum</i>	CMMF003404	カナダ	Jacques et al. 2022
LT000130	<i>fulvum</i>	JHC03-019	スロバキア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000171	<i>fulvum</i>	JHC04-251	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000080	<i>fulvum</i>	MC98-078	フランス	Heilmann-Clausen et al. 2017
MW628073	<i>fumosoluteum</i>	CMMF006879	カナダ	Jacques et al. 2022
MW628042	<i>fumosoluteum</i>	CMMF010550	カナダ	Jacques et al. 2022
MF034213	<i>guldeniae</i>	MB00-2257	中国	Reschke et al. 2018
LT000070	<i>guldeniae</i>	JuV16997	フィンランド	Heilmann-Clausen et al. 2017
MF034212	<i>guldeniae</i>	MB00-1409	中国	Reschke et al. 2018

LT000122	<i>guldeniae</i>	MC95-103	ノルウェー	Heilmann-Clausen et al. 2017
MN992537	<i>hemisulphureum</i>	QFB28692	カナダ	Jacques et al. 2022
LT000065	<i>hemisulphureum</i>	JV08-364	エストニア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT222027	<i>hemisulphureum</i>	O F74354	ノルウェー	Heilmann-Clausen et al. 2017
AF377229	<i>huronense</i>	KMS248	アメリカ	Bidartondo and Bruns 2002
AB738882	<i>ilkkai</i>	SCM B-4346	スペイン	Heilmann-Clausen et al. 2017
MW627977	<i>imbricatoides</i>	CMMF002109	カナダ	Jacques et al. 2022
AF377242	<i>imbricatoides</i>	KMS296	カナダ	Jacques et al. 2022
LC574917	<i>imbricatum</i>	TUA-5	日本	Aoki et al. 2021
MF034238	<i>imbricatum</i>	MB301505	中国	Reschke et al. 2018
MF034301	<i>imbricatum</i>	MB102330	中国	Reschke et al. 2018
LT000024	<i>imbricatum</i>	MC94046	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
MF034301	<i>imbricatum</i>	MB102330	中国	Reschke et al. 2018
LT000174	<i>inamoenum</i>	MC95-115	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000173	<i>inamoenum</i>	JHC95-042	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
MN992539	<i>inamoenum</i>	QFB28691	カナダ	Jacques et al. 2022
AF377246	<i>inamoenum</i>	KMS249	アメリカ合衆国	Jacques et al. 2022
MF034299	<i>inocybeoides</i>	MB003215	中国	Reschke et al. 2018
LT000027	<i>inocybeoides</i>	MC96-172	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000026	<i>inocybeoides</i>	MC95-152	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000176	<i>inocybeoides</i>	MC97-060	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000025	<i>inocybeoides</i>	MC03-229	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000175	<i>inocybeoides</i>	JHC95-072	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
MW628078	<i>intermedium</i>	QFB32624	カナダ	Jacques et al. 2022
AB036900	<i>japonicum</i>	MR27	日本	Direct submission
LC574915	<i>japonicum</i>	TUA-10	日本	Aoki et al. 2021
LT222022	<i>joachimii</i>	O F167194	ノルウェー	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000177	<i>joachimii</i>	MC98603	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000106	<i>joachimii</i>	TRgmb00060	イタリア	Heilmann-Clausen et al. 2017
HM590876	<i>joachimii</i>	JoFr	フランス	Moukha et al. 2013
LT000082	<i>josserandii</i>	MC99-056	フランス	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000081	<i>josserandii</i>	MC99-953	フランス	Heilmann-Clausen et al. 2017
LC574907	<i>kakishimeji</i>	TUA-17	日本	Aoki et al. 2021
LC589085	<i>kakishimeji</i>	TUA-75	日本	Aoki et al. 2021
LC574909	<i>kakishimeji</i>	TUA-117	日本	Aoki et al. 2021
LC574910	<i>kakishimeji</i>	TUA-67	日本	Aoki et al. 2021
LC574904	<i>kakishimeji</i>	TUA-58	日本	Aoki et al. 2021
LC574906	<i>kakishimeji</i>	TUA-18	日本	Aoki et al. 2021
LC574903	<i>kakishimeji</i>	TUA-133	日本	Aoki et al. 2021
LC574911	<i>kakishimeji</i>	TUA-125	日本	Aoki et al. 2021
LC574890	<i>kakishimejioides</i>	TUMH 62875	日本	Aoki et al. 2021
LC574881	<i>kakishimejioides</i>	TUA-140	日本	Aoki et al. 2021
LC574895	<i>kakishimejioides</i>	TaY20191104-101	日本	Aoki et al. 2021
LC574888	<i>kakishimejioides</i>	TUA-48	日本	Aoki et al. 2021
LT000131	<i>lascivum</i>	JHC03-020	スロバキア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000028	<i>lascivum</i>	MC00-519	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000029	<i>lascivum</i>	MC99-197	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000028	<i>lascivum</i>	MC00-519	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
AF458448	<i>luteomaculosum</i>	trh1187	アメリカ合衆国	Jacques et al. 2022
HM240543	<i>luteomaculosum</i>	UBC-F19693	アメリカ合衆国	Jacques et al. 2022
MW627949	<i>magnivelare</i>	CMMF003282	カナダ	Jacques et al. 2022
LC684312	<i>magnivelare</i>	AY-2080307-001	カナダ	Aoki et al. 2022b
LT220177	<i>magnivelare</i>	NYSf2421	アメリカ合衆国	Trudell et al. 2017
KF010157	<i>magnivelare</i>	Arora13202	アメリカ合衆国	Trudell et al. 2017
AF377224	<i>magnivelare</i>	KMS232	アメリカ合衆国	Bidartondo and Bruns 2002
LC574920	<i>matsushimeji</i>	AT-0610	日本	Aoki et al. 2021

LC574901	<i>matsushimeji</i>	TUA-118	日本	Aoki et al. 2021
LC574899	<i>matsushimeji</i>	TUA-127	日本	Aoki et al. 2021
LC574918	<i>matsushimeji</i>	TUA-4	日本	Aoki et al. 2021
LC574884	<i>matsushimeji</i>	TUA-78	日本	Aoki et al. 2021
LT000178	<i>matsutake</i>	MC03-600	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000071	<i>matsutake</i>	JuV23362F	フィンランド	Heilmann-Clausen et al. 2017
AF309538	<i>matsutake</i>		中国	Chapela and Garbelotto, 2004
LC574921	<i>matsutake</i>	TUA-84	日本	Aoki et al. 2021
LC684322	<i>matsutake</i>	Narimatsu S-1	ブータン	Aoki et al. 2022b
LC684296	<i>matsutake</i>	Ishida F-0247	スウェーデン	Aoki et al. 2022b
MW628115	<i>mcneilii</i>	QFB32579	カナダ	Jacques et al. 2022
MF034210	<i>melleum</i>	HKAS93514	中国	Reschke et al. 2018
KX037037	<i>mesoamericanum</i>	FCME21585	メキシコ	Jacques et al. 2022
MW628066	<i>michiganense</i>	MQ20-YL4176	カナダ	Jacques et al. 2022
LC574896	<i>miyama-matsushimeji</i>	TUA-2	日本	Aoki et al. 2021
LC574919	<i>miyama-matsushimeji</i>	TUA-1	日本	Aoki et al. 2021
AF377211	<i>moseri</i>	KMS447	アメリカ合衆国	Jacques et al. 2022
MW597239	<i>murrillianum</i>	SAT-00-283-55	カナダ	Jacques et al. 2022
MF034228	<i>muscarioides</i>	MB003001	中国	Reschke et al. 2018
MF034208	<i>muscarioides</i>	HKAS93512	中国	Reschke et al. 2018
MF034263	<i>muscarium</i>	TNS-F-39016	日本	Reschke et al. 2018
LC636223	<i>muscarium</i>	25	日本	Aoki et al. 2022a
AF458445	<i>mutabile</i>	trh1184	アメリカ合衆国	Direct submission
AF458444	<i>mutabile</i>	trh916	アメリカ合衆国	Direct submission
AF349703	<i>mutabile</i>	KMS428	アメリカ合衆国	Bidartondo and Bruns 2002
MW627976	<i>odorum</i>	CMMF002010	アメリカ合衆国	Jacques et al. 2022
NR 160586	<i>olivaceoluteorum</i>	HKAS93510	中国	Reschke et al. 2018
MF034225	<i>olivaceoluteorum</i>	MB002998	中国	Reschke et al. 2018
LC335839	<i>olivaceonigrum</i>	TMI 26356	日本	Ushijima et al. 2021
LC335836	<i>olivaceonigrum</i>	TMI 26353	日本	Ushijima et al. 2021
LC335838	<i>olivaceonigrum</i>	TMI 26355	日本	Ushijima et al. 2021
LT000183	<i>olivaceotinctum</i>	OP1981	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000182	<i>olivaceotinctum</i>	MC97-103	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000181	<i>olivaceotinctum</i>	MC95-135	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
MF034294	<i>olivaceum</i>	MB002991	中国	Reschke et al. 2018
MF034209	<i>olivaceum</i>	HKAS93513	中国	Reschke et al. 2018
MW628013	<i>olivaceum</i>	CMMF003782	カナダ	Jacques et al. 2022
MT124445	<i>orientifolium</i>	HAKS107156	中国	Xu et al. 2020
MT114682	<i>orientifolium</i>	HAKS107157	中国	Xu et al. 2020
LT000141	<i>orirubens</i>	JHC01-200	スロベニア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000107	<i>orirubens</i>	MC96-301	イタリア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000132	<i>orirubens</i>	MC03-243	スロベニア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000202	<i>orirubens</i>	MC98-214	イングランド	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000030	<i>orirubens</i>	JHC93-261	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000031	<i>orirubens</i>	MC97-258	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
MF034205	<i>pardinum</i>	DBG25191	中国	Reschke et al. 2018
LT000142	<i>pardinum</i>	JHC01-201	スロベニア	Heilmann-Clausen et al. 2017
MF034320	<i>pessundatum</i>	MB305071	中国	Reschke et al. 2018
MW628053	<i>pessundatum</i>	CMMF003403	カナダ	Jacques et al. 2022
LT000032	<i>pessundatum</i>	JV04-482	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000143	<i>populinum</i>	MC00-236	スロベニア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000035	<i>portentosum</i>	MC95-156	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
AF349686	<i>portentosum</i>	KMS304	アメリカ合衆国	Bidartondo and Bruns 2002
LT000144	<i>portentosum</i>	MC00-206	スロベニア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000184	<i>portentosum</i>	JHC04-431	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000083	<i>portentosum</i>	MC98-116	フランス	Heilmann-Clausen et al. 2017

MF034304	<i>portentosum</i>	MB102689	中国	Reschke et al. 2018
MF034199	<i>portentosum</i>	DBG21652	中国	Reschke et al. 2018
LT000033	<i>portentosum</i>	JHC92-277	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
MW628067	<i>portentosum</i>	CMMF002744	カナダ	Jacques et al. 2022
MW628120	<i>portentosum</i>	CMMF005168	カナダ	Jacques et al. 2022
LT000145	<i>psammopus</i>	MC04-600	スロベニア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000036	<i>psammopus</i>	MC98-048	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000084	<i>psammopus</i>	MC99-089	フランス	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000108	<i>psammopus</i>	MC96-345	イタリア	Heilmann-Clausen et al. 2017
MF034220	<i>Pseudotricholoma metapodium</i>	MB002938	ドイツ	Reschke et al. 2018
MW628114	<i>pullum</i>	CMMF003009	カナダ	Jacques et al. 2022
LT000125	<i>quercetorum</i>	MC99-044	ポルトガル	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000073	<i>roseoacerbum</i>	IK922945	フィンランド	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000072	<i>roseoacerbum</i>	IK881120	フィンランド	Heilmann-Clausen et al. 2017
MW628057	<i>roseoacerbum</i>	CMMF003970	カナダ	Jacques et al. 2022
LT000109	<i>rufenum</i>	MC96-376	イタリア	Heilmann-Clausen et al. 2017
MF034287	<i>saponaceum</i>	MB002682	中国	Reschke et al. 2018
MN992541	<i>saponaceum</i>	QFB28657	カナダ	Jacques et al. 2022
MF034202	<i>saponaceum</i>	DBG23751	中国	Reschke et al. 2018
LT000185	<i>saponaceum</i>	JHC04-429	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000038	<i>saponaceum</i>	C-F23337	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000040	<i>saponaceum</i>	JHC97-237	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000039	<i>saponaceum</i>	JHC95-165	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000087	<i>saponaceum</i>	TF98098	フランス	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000086	<i>saponaceum</i>	MC98-059	フランス	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000041	<i>saponaceum</i>	JV87-682	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000133	<i>saponaceum</i>	JHC03-015	スロバキア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000123	<i>saponaceum</i>	JHC00-049	ノルウェー	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000186	<i>saponaceum</i>	JHC04-439	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
MF034256	<i>saponaceum</i>	MB305282	中国	Reschke et al. 2018
MF034252	<i>saponaceum</i>	MB302089	中国	Reschke et al. 2018
LT000187	<i>scalpturatum</i>	MC95-165	スロベニア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000043	<i>scalpturatum</i>	JHC94-231	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000146	<i>scalpturatum</i>	MC00-207	スロベニア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000042	<i>scalpturatum</i>	JHC93-263	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000045	<i>sciodes</i>	MC95-182	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000044	<i>sciodes</i>	MC94-007	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000110	<i>sejunctum</i>	MC96-314	イタリア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000046	<i>sejunctum</i>	MC95-187	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
AF377192	<i>sejunctum</i>	KMS285	アメリカ	Bidartondo and Bruns 2002
AB036899	<i>sejunctum</i>	NA12	日本	Direct submission
MW628123	<i>serratifolium</i>	QFB32621	カナダ	Jacques et al. 2022
KT160220	<i>sinoacerbum</i>	GDGM44707	中国	Hosen et al. 2016
KT160219	<i>sinoacerbum</i>	GDGM44680	中国	Hosen et al. 2016
MF034327	<i>sinoportentosum</i>	HKAS58002	中国	Reschke et al. 2018
MF034326	<i>sinoportentosum</i>	HKAS46084	中国	Reschke et al. 2018
MF034323	<i>sinoportentosum</i>	MB305284	中国	Reschke et al. 2018
LT000111	<i>squarrulosum</i>	MC96-269	イタリア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000049	<i>squarrulosum</i>	JHC95-169	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000088	<i>squarrulosum</i>	MC98-081	フランス	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000048	<i>squarrulosum</i>	JHC93-262	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000003	<i>squarrulosum</i>	MC01-202	クロアチア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000147	<i>squarrulosum</i>	MC01-700	スロバキア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000047	<i>squarrulosum</i>	JHC93-224	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LC574902	<i>stans</i>	TUA-96	日本	Aoki et al. 2021
LC574882	<i>stans</i>	TUA-102	日本	Aoki et al. 2021

LC574898	<i>stans</i>	TUA-134	日本	Aoki et al. 2021
LC574885	<i>stans</i>	TUA-71	日本	Aoki et al. 2021
MW628052	<i>stans</i>	CMMF006893	カナダ	Jacques et al. 2022
LC574892	<i>stans</i>	TUA-9	日本	Aoki et al. 2021
LT000188	<i>stans</i>	MC95-131	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000189	<i>stans</i>	MC95-145	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000124	<i>stans</i>	MC98-018	ノルウェー	Heilmann-Clausen et al. 2017
MF034289	<i>stiparophyllum</i>	MB002925	中国	Reschke et al. 2018
LT000190	<i>stiparophyllum</i>	MC95-117	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
MW628064	<i>stiparophyllum</i>	CMMF007411	カナダ	Jacques et al. 2022
MW628131	<i>subluteum</i>	CMMF003288	カナダ	Jacques et al. 2022
MW627890	<i>subsejunctum</i>	CMMF014821	カナダ	Jacques et al. 2022
LT000051	<i>sudum</i>	MC98-601	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000050	<i>sudum</i>	JV96-306	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
JF908737	<i>sulphurescens</i>	17159	カナダ	Jacques et al. 2022
LT000112	<i>sulphurescens</i>	MC96-296	イタリア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000089	<i>sulphurescens</i>	MC99-063	フランス	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000113	<i>sulphurescens</i>	TRgmb00062	イタリア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000053	<i>sulphureum</i>	JHC07-236	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
AY462035	<i>sulphureum</i>	MC96-162	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
AY462038	<i>sulphureum</i>	MC95-188	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000192	<i>sulphureum</i>	MC07-001	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
AY462036	<i>sulphureum</i>	MC94-023	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT222033	<i>sulphureum</i>	TROM-F30019	ノルウェー	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000090	<i>sulphureum</i>	MC98-109	フランス	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT222025	<i>sulphureum</i>	O F288529	ノルウェー	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000148	<i>sulphureum</i>	MC01-204	スロベニア	Heilmann-Clausen et al. 2017
EU819448	<i>sulphureum</i>	JMP0092	アメリカ合衆国	Palmer et al. 2008
HQ650743	<i>sulphureum</i>		カナダ	Kranabetter et al. 2009
LT000191	<i>sulphureum</i>	JHC08-049	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
AY462037	<i>sulphureum</i>	MC96-245	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
AF377244	<i>sulphureum</i>	HDT32084	アメリカ	Jacques et al. 2022
LT000091	<i>sulphureum</i>	TF06-045	フランス	Heilmann-Clausen et al. 2017
AF377245	<i>sulphureum</i>	HO70098	ノルウェー	Heilmann-Clausen et al. 2017
LC636223	<i>terreum</i>	2180913-58	日本	Aoki et al. 2022a
EU439340	<i>terreum</i>	HMAS96626	中国	Reschke et al. 2018
EU439339	<i>terreum</i>	HMAS96583	中国	Reschke et al. 2018
MW628132	<i>terreum</i>	CMMF007442	カナダ	Jacques et al. 2022
LT000061	<i>terreum</i>	JHC93-222	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000060	<i>terreum</i>	TL11317	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000062	<i>terreum</i>	JV95-519	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000092	<i>terreum</i>	MC99-071	フランス	Heilmann-Clausen et al. 2017
MF034253	<i>terreum</i>	MB304903	中国	Reschke et al. 2018
LT000098	<i>terreum</i>	MEN95192	ドイツ	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000193	<i>terreum</i>	MC95-119	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000149	<i>terreum</i>	MC01-020	スロベニア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000116	<i>terreum</i>	MC05-200	ネパール	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000093	<i>terreum</i>	MC99-074	フランス	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT222029	<i>Tricholoma</i> sp.	S F513823	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000172	<i>Tricholoma</i> sp.	MC98602	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT222028	<i>Tricholoma</i> sp.	S F173364	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
AB738882	<i>Tricholoma</i> sp.	SCM B-4346	スペイン	Heilmann-Clausen et al. 2017
AB738881	<i>Tricholoma</i> sp.	SCM B-4205	スペイン	Heilmann-Clausen et al. 2017
AB848689	<i>Tricholoma</i> sp.	YM1654	日本	Miyamoto et al. 2014
LT222026	<i>Tricholoma</i> sp.	O F52108	ノルウェー	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT222020	<i>Tricholoma</i> sp.	O F160040	ノルウェー	Heilmann-Clausen et al. 2017

LT222034	<i>Tricholoma</i> sp.	TROM-F6702	ノルウェー	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT222023	<i>Tricholoma</i> sp.	O F187683	ノルウェー	Heilmann-Clausen et al. 2017
FJ197008	<i>Tricholoma</i> sp.	M45B4	メキシコ	Morris et al. 2009
LT000085	<i>Tricholoma</i> sp.	MC98-106	フランス	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000037	<i>Tricholoma</i> sp.	MC03-228	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT222032	<i>Tricholoma</i> sp.	TROM-F21089	ノルウェー	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000159	<i>Tricholoma</i> sp.	SAE9507	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000199	<i>Tricholoma</i> sp.	IK971187	フィンランド	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000076	<i>tridentinum</i>	JV99-700	フランス	Heilmann-Clausen et al. 2017
ON256893	<i>triste</i>	QFB33138	カナダ	Jacques et al. 2022
LT000066	<i>triste</i>	JuV5271F	エストニア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000194	<i>triste</i>	JHC97-169	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
MF034324	<i>triste</i>	MB305297	中国	Reschke et al. 2018
LT000099	<i>triste</i>	E3754	ドイツ	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000069	<i>ulvinenii</i>	JuV26740F	フィンランド	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000068	<i>ulvinenii</i>	JuV13229F	フィンランド	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000067	<i>ulvinenii</i>	IK931613	フィンランド	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000114	<i>umbonatum</i>	TRgmb00651	イタリア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000063	<i>umbonatum</i>	MC00-A01	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000064	<i>ustale</i>	JHC92-299	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
AF377234	<i>ustale</i>	MEN95213	オーストリア	Heilmann-Clausen et al. 2017
AF377240	<i>ustaloides</i>	KMS324	アメリカ	Jacques et al. 2022
LT000126	<i>ustaloides</i>	MC99-047	ポルトガル	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000094	<i>ustaloides</i>	MC99-067	フランス	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000195	<i>vaccinum</i>	MC95-109	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000150	<i>vaccinum</i>	MC00-229	スロベニア	Heilmann-Clausen et al. 2017
MW628121	<i>vaccinum</i>	QFB31079	カナダ	Jacques et al. 2022
AF377230	<i>venenatum</i>	KMS396	アメリカ合衆国	Bidartondo and Bruns 2002
AF377203	<i>vernaticum</i>	KMS246	アメリカ合衆国	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000151	<i>virgatum</i>	MC01-203	スロベニア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000197	<i>virgatum</i>	MC97-164	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000196	<i>virgatum</i>	C-F-35203	スウェーデン	Heilmann-Clausen et al. 2017
MW628065	<i>virgatum</i>	MQ20-pat11091003	カナダ	Jacques et al. 2022
LT000115	<i>virgatum</i>	MC05-201	デンマーク	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000097	<i>viridilutescens</i>	MC98-093	エストニア	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000095	<i>viridilutescens</i>	MC98-061	フランス	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000096	<i>viridilutescens</i>	MC98-080	フランス	Heilmann-Clausen et al. 2017
LT000117	<i>viridiolivaceum</i>	MC96-002	ニュージーランド	Heilmann-Clausen et al. 2017

付表 3. マツタケモドキ標本の ITS 領域配列 (第 7 章)

S-2	1	T A C C T G A T T T G A G G T C A A A T T G T C A G G A A A T G T C C G A A G A C G A T T A G A A A G C A G T A A C C T	60
AY-20211119-001			
AY-20150922-001			
S-2	61	C C A A T T T A A A G C T G C T T C A C A T A A T G G C G T A G A T A A T T A T C A C A C C A A A A G T T A A G G N A A	120
AY-20211119-001		 N	
AY-20150922-001		 C	
S-2	121	C A A A G G T C C C T A C T A A T G A A T T T A A G G A G A G C C G A C T N T A N A A A A G C C C G C A A A C T C C C A	180
AY-20211119-001		 N N	
AY-20150922-001		 T G	
S-2	181	C A T C C A A G C C T A A T C A A C T T T G G G A A A A G C C G A A A A G G T T G A G A A T T T C A T G A C A C T C A A	240
AY-20211119-001		 A	
AY-20150922-001			
S-2	241	A C A G G C A T G C T C C T C G G A A T A C C A A G G A G C G C A A G G T G C G T T C A A A G A T T C G A T G A T T C A	300
AY-20211119-001		 A	
AY-20150922-001			
S-2	301	C T G A A T T C T G C A A T T C A C A T T A C T T A T C G C A T T T C G C T G C G T T C T T C A T C G A T G C G A G A G	360
AY-20211119-001			
AY-20150922-001			
S-2	361	C C A A G A G A T C C G T T G T T G A A A G T T G T A T A A G G T T T A T T T G G A C A A T A A A G T C C T A T A A T A	420
AY-20211119-001			
AY-20150922-001			
S-2	421	A T A A C A T T C T T A T G A C A T A C A A A T G G T G T A T A T G A A G A C A T A G A C C G G A A A T G T A A G G A A	480
AY-20211119-001			
AY-20150922-001			
S-2	481	A G C C G G C T T T A A A T G C A C A G C A G T C C T C A T A C C G A G T T T C C T C G A G A G A T A T C C A G G T C T	540
AY-20211119-001			
AY-20150922-001			
S-2	541	A C A A A A G G T G C A C A G G T G G T A A A G A A G A T T G G T G T T A G G C G T G C A C A T G C T C C G A A A A G C	600
AY-20211119-001			
AY-20150922-001			
S-2	601	C A G C A A C A A C C C A A C C A A G	619
AY-20211119-001			
AY-20150922-001			

¹・は S-2 と一致した塩基を示す。