

原著論文 (査読有) (Original peer-reviewed article)

オオショウロ (イグチ目ショウロ科) の分布、系統および分類学的扱いについて

Distribution, phylogeny and taxonomic treatment of a truffle-like fungus *Rhizopogon boninensis* (Rhizopogonaceae, Boletales)

折原 貴道^{1*}, 山本 航平², 保坂 健太郎³

Takamichi Orihara^{1*}, Kohei Yamamoto², Kentaro Hosaka³

¹ 神奈川県立生命の星・地球博物館, 〒250-0031 神奈川県小田原市入生田 499

Kanagawa Prefectural Museum of Natural History, 499 Iryuda, Odawara, Kanagawa 250-0031, Japan

² 栃木県立博物館, 〒320-0865 栃木県宇都宮市睦町 2-2

Tochigi Prefectural Museum, 2-2 Mutsumi-cho, Utsunomiya-shi, Tochigi 320-0865, Japan

³ 国立科学博物館植物研究部, 〒305-0005 茨城県つくば市天久保 4-1-1

Department of Botany, National Museum of Nature and Science, Amakubo 4-1-1, Tsukuba, Ibaraki 305-0005, Japan

* 主著者 (Corresponding author)

E-mail: t_orihara@nh.kanagawa-museum.jp

要旨

オオショウロは 1936 年に小笠原諸島父島産の標本に基づいて記載された種であるが、種の実体や分類学的扱いにおいて、統一的な見解が得られていない菌である。本研究では、タイプ標本および新たにタイプ産地周辺から得られた標本を基に、本種の実際の分布や系統的位について明らかにするとともに、学名の再検討およびレクトタイプ指定を含む再記載を行った。分子系統解析の結果、本種の分布域は、小笠原諸島および日本本土だけでなく、南西諸島（琉球列島）や中国大陸まで及ぶことが確認された。また、スペイン産 *Rhizopogon buenoi* とともに、属内の他種とは系統的に独立していることが示唆された。分類学上は、本種にこれまで充てられていた学名 *R. nigrescens* とは系統のおよび形態的に異なる菌であり、正名として *R. boninensis* を適用すべきことを示した。

Abstract

A truffle-like basidiomycete, *Rhizopogon boninensis* was described based on specimens from Bonin Islands in 1936. Species recognition and taxonomic treatment of the species, however, have been unclear. We examined one of the syntypes and fresh specimens newly collected near the type locality as well as other specimens collected throughout Japan. Molecular phylogenetic analyses revealed that the species distributes not only in Bonin Islands and the mainland of Japan (i.e., generally known distribution) but also in Ryukyu Islands and South and East China, associated with *Pinus densiflora* and *P. luchuensis* as well as other two-needle pines. Moreover, the analyses suggested that *R. boninensis* and its sister species, *R. buenoi*, are phylogenetically distant to any sequences of *Rhizopogon* available from the International Nucleotide Sequences Database. Taxonomically, *R. boninensis* has been treated as a synonym of a North American species, *R. nigrescens*, but they proved to be phylogenetically and morphologically distinct. Accordingly, we taxonomically redescribed *R. boninensis* and newly designated a lectotype. Both English and Japanese taxonomic descriptions are provided.

Article Info: Submitted: 25 January 2019 Accepted: 28 February 2019 Published: 28 March 2019

序論

ショウロ属 *Rhizopogon* Fr. (イグチ目ショウロ科) はマツ科樹木に特異的に外生菌根を形成する地下生菌からなる属で、分類学的再検討が必要な種を含めると、北半球を中心に約 160 種が知られている (Kirk et al., 2008 ; Grubisha et al., 2002 ; Koizumi & Nara, 2016 ; Li et al., 2016 ; Martín et al., 2015 ; Mujic et al., 2014 ; Sugiyama et al., 2017)。国内では、古くから食用にされているショウロ *R. roseolus* (Corda) Th. Fr. をはじめ 10 種ほどが知られるが、今後の精査により、より多くの種の存在が明らかになるものと思われる。

Ito & Imai (1937) は 1936 年 11 月に行われた小笠原諸島での菌類調査の際に、父島旧扇村で採集された標本をもとに、*Rhizopogon boninensis* S. Ito & S. Imai を記載し、和名をムニンショウロと名付けた。興味深いことに、同月のその直後、まさに同一地点で小林義雄博士により同種と考えられる菌が採集され、北米原産である *R. nigrescens* Coker & Couch (和名：オオショウロ) と同定・記載された (Kobayasi, 1937)。その後、小林 (1938) は *R. boninensis* を *R. nigrescens* のシノニムとし、「ムニンショウロ」という和名はオオショウロの別名とされた。小林 (1938) による記載は、伊藤 (1959) においても転載されている。しかし、これらの記載以後は、オオショウロの特徴を明示的に示した文献がなく、また、タイプ標本の検討も行われておらず、種の実体が不明瞭なままである。

著者らは、2018 年 11 月に実施した小笠原父島および母島での地下生菌調査において、リュウキュウマツ樹下でオオショウロ (ムニンショウロ) と同一の特徴を有する子実体を採集した。本研究では、過去の文献の記録やタイプ標本および他地域産標本との比較などから、「ムニンショウロ」および「オオショウロ」についての分類学的扱いや分子系統、分布について再検討を行った。

材料および手法

子実体のサンプリングおよび観察法

子実体の採集は、小笠原諸島 (父島・母島) をはじめとする日本国内のアカマツ及びリュウキュウマツ林で行った。子

実体組織からの DNA 抽出後、送風乾燥もしくは真空凍結乾燥により標本を作製した。標本は神奈川県立生命の星・地球博物館 (KPM) および国立科学博物館植物研究部 (TNS) に所蔵されている。光学顕微鏡観察にはメイジテクノ社製 MT5310L を用い、観察法は常法に従った。光学顕微鏡像撮影にはレイマー社製カラーカメラ WRAYCAM-NOA2000 を用いた。顕微鏡下での計測にはレイマー社製 Microstudio および Windows 版 ImageJ (アメリカ国立衛生研究所 (NIH); <https://imagej.nih.gov/ij/download.html>) を用い、胞子径および Q 値 (胞子長径 / 短径) の平均値はランダムに計測した 30 個の胞子から算出した。

分子的手法

子実体組織からの DNA 抽出には Whatman 社製 Indicating FTA Card を用いた。核リボソーム RNA 遺伝子 (rDNA) ITS 領域および大サブユニット (LSU) の PCR 増幅には、それぞれ ITS1F (Gardes & Bruns, 1993) ・ ITS4 (White et al., 1990)、LR0R ・ LR5 (Vilgalys & Hester, 1990) のプライマーペアを用いた。PCR 以降、シーケンスデータを得るまでの手法は Orihara et al. (2012) に従った。本研究で得られたシーケンスデータを表 1 に示した。

ITS 領域のデータセット作成には、本研究で得られたシーケンスデータの他、GenBank BLAST 検索 (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) により得られた、国際ヌクレオチドシーケンスデータベース (INSD) に登録されている相同性スコアの高い複数のシーケンスデータを利用した。小笠原父島産オオショウロ (KPM-NC 26928) の ITS シーケンスと相同性 90% 以上かつ Query coverage 80% 以上の 4 シーケンス、*R. nigrescens* およびそれと相同性の高い上位 3 種、さらにリファレンスとして、国内で最も一般的なショウロ *R. roseolus* とそれに近縁な 3 種の ITS シーケンスデータを解析用データセットに含めた。データセットのアラインメントには SeaView version 4.6 (Gouy et al., 2010) および MAFFT v. 7 (Katoh & Standley, 2013) を用い、後者使用時には “gap opening penalty” を 1.1 に、“Offset value” を 0.1 に変更した他は、デフォルトの設定

表 1. 本研究で新たに得られた DNA シーケンス。

Table 1. DNA nucleotide sequences newly obtained in this study.

分類群	産地	発生環境	標本番号	DNA 領域	
				ITS	LSU
<i>Rhizopogon boninensis</i>	岡山県多賀郡和气郡和气町	アカマツ樹下	KPM-NC 26862	MK395367	-
<i>R. boninensis</i>	沖縄県渡嘉敷村渡嘉敷 (渡嘉敷島)	リュウキュウマツ樹下	KPM-NC 23383	MK395368	-
<i>R. boninensis</i>	沖縄県国頭村 与那覇岳登山道周辺 (沖縄本島)	リュウキュウマツ樹下	KPM-NC 23980	MK395369	-
<i>R. boninensis</i>	沖縄県島尻郡久米島町 (久米島)	リュウキュウマツ樹下	KPM-NC 26882	MK395370	-
<i>R. boninensis</i>	沖縄県八重山郡竹富町古見 (西表島)	リュウキュウマツ樹下	KPM-NC 26898	MK395371	-
<i>R. boninensis</i>	東京都小笠原村父島 中央山園地	リュウキュウマツ樹下	KPM-NC 26928	MK395372	MK396904
<i>R. boninensis</i>	東京都小笠原村母島 玉川ダム沿い	リュウキュウマツ樹下	KPM-NC 26945	MK395373	MK396905

表 2. オオショウロのタイプ標本、新たに採集された小笠原諸島父島産標本および本州産標本と、原記載その他過去の記載における、担子孢子径の比較。北米産 *R. nigrescens* の原記載中のデータも示す。Ito & Imai (1937) の記載は、今回供試したレクトタイプ標本 (TMI 37363) を含む試料に基づくものである。なお、Kobayasi (1937) による "*R. nigrescens*" の記載には、孢子径の記述は無い。

Table 2. Comparison of basidiospore dimensions among the *Rhizopogon boninensis* lectotype (TMI 37363), newly obtained a specimens from Chichi-jima (Bonin Isls.) and Honshu (KPM-NC 26869), and the original and subsequent descriptions by Ito & Imai (1937) and Kobayasi (1938) as well as the original description of *R. nigrescens*. Note that Kobayasi (1937) did not show spore dimensions in his description of *R. nigrescens sensu Kobayasi (= R. boninensis)*.

種名 Taxon	オオショウロ <i>Rhizopogon boninensis</i>					<i>R. nigrescens s. str.</i>
標本産地・出典 Locality or references	小笠原諸島父島産 レクトタイプ標本 Chichi-jima, Bonin Islands (TMI 37363 ; lectotype)	小笠原諸島父島産 Chichi-jima, Bonin Islands (KPM-NC 26928)	本州 (伊豆半島) 産 Honshu (Izu Peninsula), Japan (KPM-NC 26869)	原記載 (父島産) Ito & Imai (1937) Chichi-jima, Bonin Islands original description	小林 (1938) (父島産) Kobayasi (1938) Chichi-jima, Bonin Islands	原記載 (北米産) Original description (Coker & Couch, 1928)
外皮の厚さ Peridium thickness	ca. 700 μ m	500–1500 μ m	500–1200 μ m	500–2000 μ m	700–1000 μ m	ca. 290–440 μ m
担子孢子径 Basidiospore dimensions	5.8–7.7 \times 3.0–4.1 μ m (mean 6.7 \times 3.3 μ m; n = 30)	5.2–8.1 \times 2.8–4.0 μ m (mean 6.7 \times 3.4 μ m; n = 30)	5.6–7.8 \times 2.7–3.9 μ m (mean 6.5 \times 3.1 μ m; n = 30)	6.5–10 \times 2.5–3.5 μ m	(5–)6.5–7(–8.5) \times 3–3.5 μ m	6–9 \times 2.4–3 μ m
Q 値 (長径 / 短径) Q value	1.6–2.4 (mean 2.0; n = 30)	1.5–2.6 (mean 2.0; n = 30)	1.7–2.6 (mean 2.1; n = 30)	N/A	N/A	N/A

を用いた。アラインメント完了後、Gblocks (Castresana, 2000) のアルゴリズムによりギャップを多く含むサイトおよび曖昧なアラインメントサイトを除外したデータセットを系統解析に用いた。本研究で得られた LSU シーケンスについては、GenBank BLAST による相同性検索のみ実施した。

分子系統解析は最尤法およびベイズ推定により実施した。塩基置換モデル推定には jModeltest2 (Darriba et al., 2012) を用い、ITS1、5.8S および ITS2 の 3 領域にパーティションし、それぞれについてモデル推定を行った。ベイズ解析のモデルは赤池情報量基準 (AIC) に基づき決定し、ITS1 には HKY+I、5.8S には K80、ITS2 には SYM+G モデルを採用した。最尤法は RAxML v. 8.2.10 (Stamatakis, 2014) 上で実施し、上述の 3 領域にパーティションした各々について、塩基置換に関する各パラメータの推定を行った。各ノードの樹形の確からしさの検定には “rapid bootstrap analysis” を用いた (1000 回施行)。ベイズ推定での解析は MrBayes 3.2 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003) により行った。ベイズ事後確率の算出は Metropolis-coupled Markov chain Monte Carlo method (Geyer, 1991) により行い、解析は 300 万世代繰り返し、樹形は 1000 世代ごとに採取した。2 つの同時進行する各ランのマルコフ鎖はそれぞれ 4 本に設定し、“average standard deviation of split frequencies (ASDSF)” が定常的に 0.01 を下回った時点で収束した判断した。収束する前の樹形は破棄し、残りの樹形に基づき事後確率の推定を行った。また、最終的に各パラメータの “effective sample size (ESS)” の値が 200 を十分に上回っていることを確認し、解析完了とした。

結果

形態的特徴の比較検討

2018 年 11 月に小笠原諸島父島および母島のリュウキュウマツ樹下で採集されたオオショウロ (ムニンショウロ) 子実体

(KPM-NC 26928, 26933, 26945) は、外皮が部分的に赤みを帯び、他種に比べ著しく厚くなる点 (最大 1.3 mm)、表面に外皮より暗色の根状菌糸束が散在し、乾燥すると子実体全体が黒褐色になる点、および担子孢子径において、Ito & Imai (1937)、Kobayasi (1937)、小林 (1938) および伊藤 (1959) によるオオショウロ (ムニンショウロ) の記載と一致した。また、複数の本州産オオショウロ標本とも形態的特徴は一致した。さらに、著者の一人 (折原) は一般財団法人日本きのこセンター菌蕈研究所 (TMI) 所蔵の *R. boninensis* のシタイプに相当する標本 (TMI 37363) の観察を実施した。3% 水酸化カリウム溶液で処理した結果、担子孢子の形状は部分的にしか完全に戻らなかったものの、上記の記載および標本のいずれとも形態的にほぼ一致することが確認された。主要な形態的特徴の標本間での比較 (文献からのデータを含む) を表 2 に示す。

分子同定

小笠原諸島父島産および母島産標本 (KPM-NC 26928, 26945) から得られた ITS 領域のシーケンスは、岡山県産のオオショウロ標本 (KPM-NC 26862) からのシーケンスと 99–100% の一致が見られた (それぞれ 698 bp/703 bp, 720 bp/721 bp)。さらに、これらのシーケンスと、沖縄県の沖縄本島、渡嘉敷島、久米島および西表島のリュウキュウマツ樹下で採集されたショウロ属菌の標本からのシーケンスとの間で、99–100% の一致が見られた (639–644 bp/644 bp)。

分子系統解析

分子系統解析に用いた ITS データセットは合計 19 シーケンス、661 bp となった。ベイズ推定による解析では、約 1,570,000 世代後に定常状態となり、収束したと判断された。したがって、初めの 1,570,000 世代分の施行を破棄し、残りの施行から採

集した 2862 個の系統樹をベイズ事後確率の算出に用いた。全てのパラメータの ESS は 200 を十分に上回っていた。並行する 2 つのランの合計の尤度 (lnL) の算術平均は -1903.83、調和平均は -1929.47 であった。RAxML による最尤法の尤度 (lnL) は -1851.198047 であった。ベイズ推定および最尤法で得られた系統樹の樹形はほぼ同一であったため、最尤法系統樹のみを図 1 に示す。

解析の結果、前述の小笠原諸島産、本土産、南西諸島産のオオショウロ子実体からのシーケンスに加え、日本と中国の湖南省および浙江省から得られていた外生菌根の環境シーケンス (Huang et al., 2012 [中国湖南省と日本の環境シーケンス]) もオオショウロのクレードに含まれることが示された (図 1)。オオショウロとの姉妹関係が支持されたのは、スペインか

ら記載された *R. buenoi* Calonge & M.P. Martín であり、この両種は、他の既知亜属の種 (Grubisha et al., 2002) とは系統的に大きく分化していることが示唆された (他種のシーケンスとは ITS 領域の相同性 90% 未満)。現在、オオショウロの学名となっている *R. nigrescens* のシーケンス (MH910566; 米国ノースカロライナ州産) はオオショウロとは系統的に離れており、*Rhizopogon* subg. *Versicolores* に含まれた。

分類

上記の結果から、小笠原諸島および本州に分布する「オオショウロ」はいずれも形態的・系統的に同一種であることが確認されたほか、これまで標本情報に基づく確実な記録が無かった南西諸島においても広く分布していることが示された。それゆ

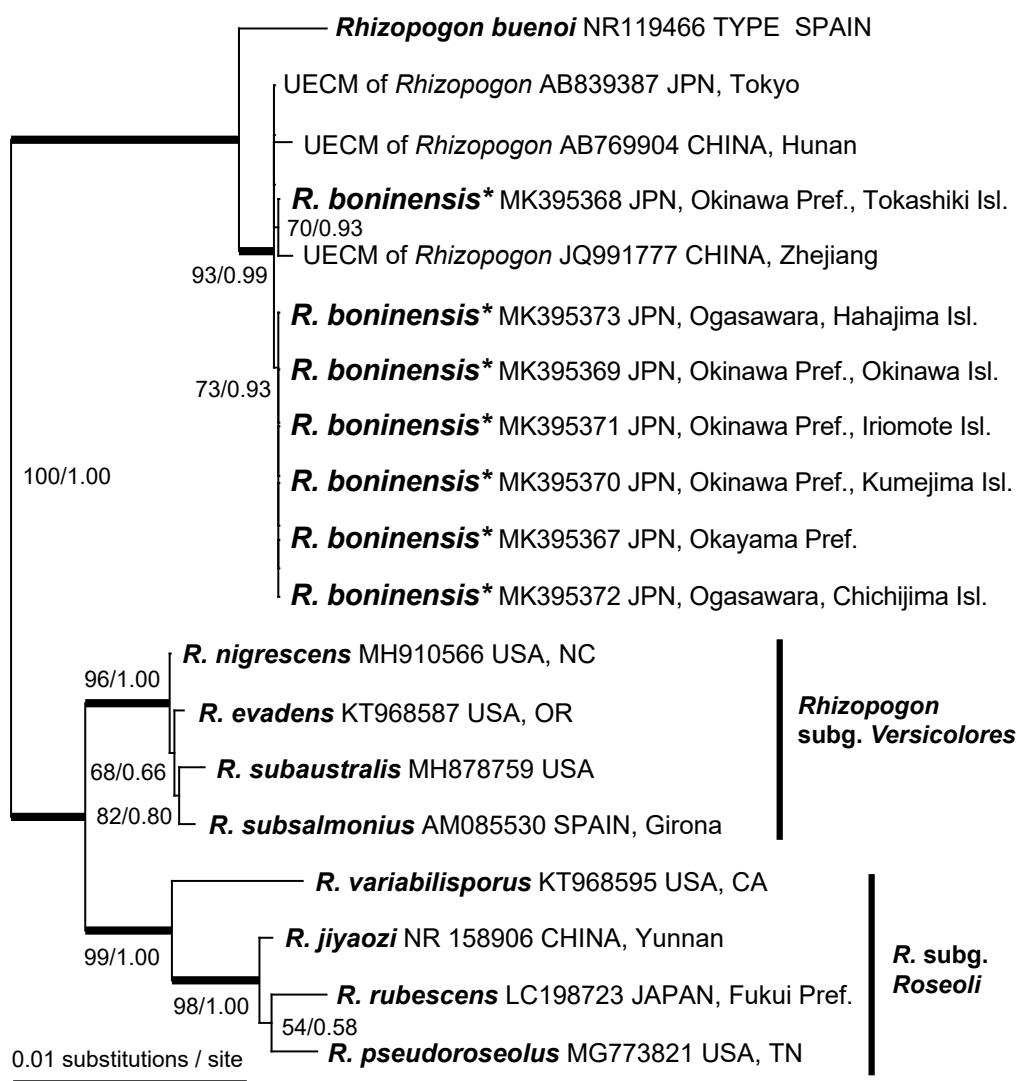


図 1. オオショウロ *R. boninensis* とその近縁分類群の ITS データセットに基づく最尤法系統樹。ノード部に示された数値は最尤法ブートストラップ値 (RAxML rapid bootstrap values; MLBS) およびベイズ推定事後確率 (PP) ([MLBS (%)]/[PP]) として表示。統計的に信頼性の高い分岐 (MLBS ≥ 75% かつ PP ≥ 0.95) を太線で示した。本研究で新たに得られたシーケンスには、アスタリスクを付した。"UECM" は外生菌根の環境シーケンス。

Fig. 1. Maximum likelihood (ML) phylogeny of *Rhizopogon boninensis* and its allied taxa based on ITS dataset. Scores at the nodes indicate RAxML rapid bootstrap values (MLBS) and Bayesian posterior probabilities (PP) as [MLBS]/[PP]. Branches supported by both BS ≥ 70% and PP ≥ 0.95 are shown as thickened black lines. Sequences newly obtained in this study are designated by asterisks. UECM = uncultured ectomycorrhiza.

え、本種は国内のアカマツ林およびリュウキュウマツ林のいずれにおいても広く分布していると考えられた。また、現在オオショウロの学名に充てられている *R. nigrescens* は系統的にオオショウロと大きく離れていることも示された (図 1)。

北米原産である *R. nigrescens* は、子実体が大型になる点 (最大径 6 cm) や古くなり乾燥すると外皮が黒色を帯びる点等においてオオショウロと類似するが、子実体表面が多少粘性を帯び、外皮が著しく薄い点 (400 μm 以下)、担子胞子がより細長い点 (6–9 \times 2.4–3 μm) 等においてオオショウロと相違がある (Coker & Couch, 1928; 表 2)。図 1 の ITS 領域の系統樹だけでなく、LSU の塩基配列の比較でも、両者は系統的・遺伝的に同一種ではないことが示された ([*R. nigrescens* シーケンス GU187594 (bp)] / [母島産オオショウロシーケンス MK396905 (bp)] = 851/919 [93%])。

次に、和名の扱いについてであるが、「ムニンショウロ」、「オオショウロ」とともに 1937 年に提案されているが、ムニンショウロの記載を含む論文 (Ito & Imai, 1937) の出版の方が、オオショウロの記載を含む論文 (Kobayasi, 1937) の出版に比べ 2 か月ほど早い。しかし、菌類の和名は、現状では必ずしも学名のように先取権が適用されないこと、本菌が小笠原諸島に限らず、本州や南西諸島に広く分布していることから、本菌の和名は引き続き「オオショウロ」を用いることが最も混乱が少ないと考えられる。

以上から、「オオショウロ」の学名として、*R. boninensis* を当てることを提案する。なお、Ito & Imai (1937) による原記載において、本種のタイプは複数存在する (シタイプである) 旨が書かれていることから、本論文において、これらシタイプの中からレクトタイプを 1 点指定する。

***Rhizopogon boninensis* S. Ito & S. Imai**, Transactions of the Sapporo Natural History Society 15: 11. 1937.

図 2 (Fig. 2)

= *Rhizopogon nigrescens* sensu Kobayasi. The Botanical Magazine 51: 757. 1937; non: Coker & Couch, The Gasteromycetes of the Eastern United States and Canada: 30. 1928.

Lectotype (designated here!): Ogimura, Chichishima, Ogasawara Islands (小笠原諸島父島旧扇村), JAPAN, 5 Nov., 1936, S. Imai (TMI 37363).

Japanese name: *Ōshoro* (和名: オオショウロ)

Macroscopic features: Fruitbodies subglobose or somewhat tuberiform, up to 6 cm in diam., surface felt-like in texture, basically whitish but varying in color such as pale yellow, yellowish brown and pale reddish brown, roughly covered with rhizomorphs almost the same color as the peridial surface.

Peridium 0.5–1.5 mm thick, surface gradually turning pale red where rubbed or bruised, finally becoming blackish brown to black, context whitish to pale ochre, gradually turning the same color as surface where rubbed or bruised. Reaction of peridium to 3% KOH: turning wine red.

Microscopic features: Peridium composed of filamentous hyphae mostly 2.5–12 μm broad running subparallel to surface and pseudoparenchymatous cells up to 28 μm with abundant extracellular brown to blackish brown pigments throughout the context, hyphal walls up to 1.5 μm thick. Trama of interwoven, colorless filamentous hyphae 2.5–6 μm , walls 0.6–1 μm . Subhymenium present, of 1–2 longitudinally arranged cells. Cystidia not seen. Hymenium composed of basidia and numerous, colorless basidioles. Basidia cylindrical to lageniform, colorless, mostly 4–6-spored. Basidiospores 5.2–8.1 \times 2.8–4.0 μm , average 6.7 \times 3.4 μm , Q = 1.5–2.6, Qmean = 2.0 (n = 30; based on the specimen KPM-NC 26928 from Chichi-jima, Bonin Islands), ellipsoid or capsule-like, smooth, colorless to pale yellowish brown, containing 1–2 guttulae, walls ca. 0.5 μm thick. Clamp connections absent in all tissues.

Habitat, distribution and season: Hypogeous or sub-epigeous, solitary or scattered under *Pinus densiflora* Sieb. & Zucc., *P. luchuensis* Mayr or other two-needle pines; Japan (southern part of the mainland, Ogasawara Isls., Ryukyu Isls.), South and East China; almost all year round.

Specimens examined: JAPAN: Tokyo, Ogasawara Islands, Chichishima (Chichi-jima Isl.), Ogimura, 5 Nov., 1936, S. Imai, TMI 37363; Chichi-jima Isl., Chūo-san Park, under *P. luchuensis*, 7 Nov. 2018, leg. Kentaro Hosaka, KPM-NC 26928; Chichi-jima Isl., along the trail to Mt. Tsutsujiyama, under *P. luchuensis*, 8 Nov. 2018, K. Yamamoto & M. Ohmae, KPM-NC 26933; Haha-jima Isl., along the Tamagawa Dam, under *P. luchuensis*, T. Orihara & K. Hosaka, KPM-NC 26945; Shizuoka Prefecture, Izunokuni-shi, Ukihashi, under *P. densiflora*, 6 Nov. 2017, M. Nakajima, KPM-NC 26869; Okayama Prefecture, Wake-cho, Taga, under *P. densiflora*, 12 Sep. 2008, T. Orihara, KPM-NC 26862; ibid, 5 July 2009, M. Chishiki, KPM-NC 26863; Hyogo Prefecture, Kobe-shi, Kita-ku, Shimotanigami, Shiogahara, under *P. densiflora*, 21 June 2009, K. Sanjo, KPM-NC 26867; Takarazuka-shi, Nakayamadera, under *P. densiflora*, 15 July 2012, T. Orihara, KPM-NC 26872; Kagoshima Prefecture, Tokunoshima Island, Amagi-cho, Mt. Yamatogusuku, under *P. luchuensis*, 25 June 2014, T. Orihara, KPM-NC 23894; Okinawa Prefecture, Tokashiki Island, Tokashiki-mura, Tokashiki, under *P. luchuensis*, 14 April 2013, K. Yamamoto

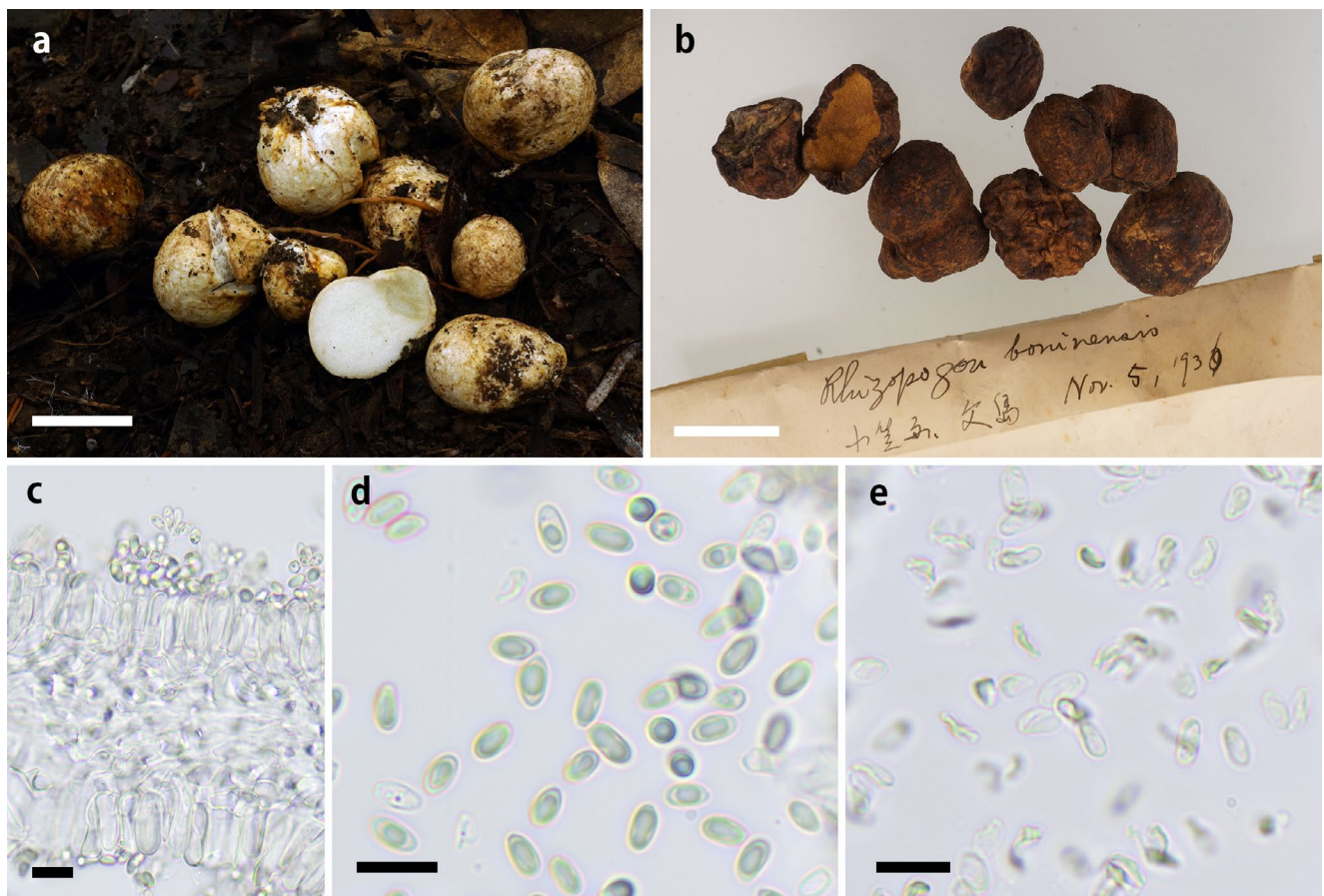


図 2. オオショウロ *Rhizopogon boninensis*: a. 子実体 (小笠原村父島産: KPM-NC 26928); b. レクトタイプ標本 (小笠原村父島産, 1936 年 11 月 5 日採集: TMI 37363); c. 子実層および基層板の菌糸 (KPM-NC 26869); d. 担子胞子 (KPM-NC 26869); e. レクトタイプ標本の担子胞子 (TMI 37363). スケール: a, b = 2 cm; c-e = 10 μ m.

Fig. 2. *Rhizopogon boninensis*: a. Fruitbodies collected from Chichi-jima Isl., Bonin Islands (KPM-NC 26928); b. Lectotype specimen collected from Chichi-jima Isl., Bonin Islands on 5 Nov. 1936 (TMI 37363); c. Hymenophore and trama (KPM-NC 26969); d. Basidiospores (KPM-NC 26969); e. Basidiospores of the lectotype specimen (TMI 37363). Bars: a, b = 2 cm; c-e = 10 μ m.

& T. Orihara, KPM-NC 23383, Okinawa Island, Kunigami-son, along the trail to Mt. Yonaha, under *P. luchuensis*, 1 Sep. 2014, T. Orihara, KPM-NC 23980; Kume Island, Kumejima-cho, Nishime, between Darumayama Park and Shirase 2nd Dam, under *P. luchuensis*, 19 May 2015, Y. Takashima, T. Orihara & K. Yamamoto, KPM-NC 26882; *ibid*, K. Yamamoto & T. Orihara, KPM-NC 26883; Iriomote Island, Taketomi-cho, Komi, the basin of the Aira River, under *P. luchuensis*, 27 June 2018, N. Maekawa, K. Yamamoto & T. Orihara, KPM-NC 26898.

肉眼的特徴：子実体は類球形～亜球形、直径最大 6 cm、表面はフェルト状、白色、淡黄色、黄褐色、赤褐色など色彩の変異に富み、幅 0.5–1 mm 程度のほぼ同色の根状菌糸束にやや疎に覆われる。外皮は厚さ 0.5–1.5 mm、初め類白色～黄褐色、表面および実質いずれも、擦るか傷つけると徐々に淡赤色に変色し、古くなるか乾燥すると黒褐色～黒色になる。3% 水酸化カリウム (KOH) による外皮の呈色反応：赤ワイン色に変色。匂いは温和。味については、外皮には著しい渋みがあり、グレバは温和。

顕微鏡的特徴：外皮は表面にほぼ平行に走る幅 2.5–12 μ m 程度の糸状菌糸と直径最大 28 μ m の偽柔組織からなり、菌糸壁の厚さは最大 1.5 μ m、細胞間には褐色～黒褐色の色素胞が多数みられる。基層板 (グレバ実質) は無色の錯綜する菌糸組織からなり、菌糸の幅は 2.5–6 μ m、菌糸壁は厚さ 0.6–1 μ m。子実下層は 1–2 細胞からなる。シスチジアは見られない。子実層は柵状に密生する無色の担子器と偽担子器からなる。担子器は円筒形～先端が急に細まる瓶型、無色、多くは 4–6 胞子性。担子胞子は 5.2–8.1 \times 2.8–4.0 μ m、平均 6.7 \times 3.4 μ m、 $Q = 1.5–2.6$ (平均値 2.0) ($n = 30$; 父島産 KPM-NC 26928 標本に基づく)、楕円形 (カプセル型)、平滑、無色～淡黄褐色、内部に 1 つまたは 2 つの大きな油球を含む。担子胞子外壁は厚さおよそ 0.5 μ m。菌糸にクランプは見られない。

発生環境・生態：アカマツ、リュウキュウマツなどの二針葉マツ林に単生または散生、地下生または半地下生、外生菌根性;
分布：日本 (小笠原諸島、南西諸島全域を含む本州以南)、中国; **発生時期**：通年。

観察標本：上記英文記載を参照。

備考：子実体および担子胞子の特徴から、佐々木ほか (2016)

において、「ゴムショウロ *Rhizopogon* sp.」として掲載されている菌が本種（オオショウロ；*R. boninensis*）と推察され、「オオショウロ」として掲載されている菌は別種と考えられる。

考察

本研究では、種の実体および分類学的扱いに検討の余地が多かったオオショウロについて、タイプ産地である小笠原諸島を含む日本各地から採集されたサンプルおよび *R. boninensis* のタイプ標本を用い、系統的位置と分布について明らかにするとともに、オオショウロの学名として *R. boninensis* を用いるべきことを結論付けた。これまで、本種は小笠原諸島のほか、日本本土から知られていたが、標本情報に基づく南西諸島からの報告は無かった（伊藤、1959；吉見、2008）（なお、佐々木ほか（2016）には、「ゴムショウロ」と同定された種が沖縄県にも産する旨の記述がある）。本研究における分子系統解析の結果、本種は南西諸島に広く分布しているだけでなく、中国にまで分布していることが明らかになった。この結果は、今後、まだ十分に進展していない東アジア～極東アジア地域のショウロ属の分類学的研究を進める上で、まず考慮すべき知見である。中国から先行研究により得られた当該のサンプルはいずれも外生菌根から得られた環境シーケンスで、そのうちの1つはガビショウ *Pinus massoniana* Lamb. の外生菌根から得られたシーケンスである（Huang et al., 2012）。今後、本研究による分布の知見を基に、中国においてもオオショウロ子実体の発見・報告がなされることで、より正確な分布域が明らかになることが期待される。

系統的には、本種は *R. buenoi* と共に、亜属以下のいずれの高次分類群にも含まれないことが示唆された。両種は、糸状菌糸に垂球形の細胞が混じる“Corsicus type”の外皮組織をもつ点において共通する（Martín, 1996；Martín & Calonge, 2001）。これまでに系統解析がなされていない属内の種も含め、ITSのみならずDNA複数領域に基づいた分子系統解析を行うことで、*R. boninensis*-*R. buenoi* クレードの構成種の把握および亜属レベルの系統分類学的検討を今後進めていくことが望まれる。

今回、日本きのこセンター菌茸研究所において再発見され、レクトタイプ指定を行った *R. boninensis* 標本（TMI 37363）は標本台紙に包まれ、良好な保存状態であった（図 2b）。このレクトタイプ標本は本研究で供試されたオオショウロ標本と形態的に一致し、オオショウロ *R. boninensis* の種の実体がより詳細に把握されることとなった。さらに、分子系統解析においては、各地でサンプリングされた標本に加え環境シーケンスを含めたことで、本種がこれまでの想定以上に広い分布域を有していることが明らかになった（図 1）。すなわち、戦前に採集・記載されたような古い種であっても、タイプ標本探索と広域サン

プリング、および環境シーケンスのデータを連関させることにより、種の実体把握と分布域についてのより正確な理解が可能になると言える。今後、同様の手法を適用することで、今井三子博士や小林義雄博士らが過去に記載し、その後情報不足となっている数々の地下生菌の実体把握が促進されるであろう。

謝辞

標本の収集にあたって、山上公人氏、知織恵氏、中島稔氏、盛口満氏、大前宗之氏、高島勇介博士および前川直人氏にご協力いただいた。ここにお礼申し上げる。本研究は公益財団法人発酵研究所 平成 29 年度一般研究助成、独立行政法人日本学術振興会 科研費 若手研究 (B)（研究課題番号：17K15184、25840149）の助成を受けて行われた。

引用文献

- Castresana J. (2000) Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. *Molecular Biology and Evolution* 17: 540–552.
- Coker W.C., Couch J.N. (1928) *The Gasteromycetes of the Eastern United States and Canada*. University of North Carolina Press, Chapel Hill, North Carolina, USA.
- Darriba D., Taboada G.L., Doallo R., Posada D. (2012) jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9: 772.
- Gardes M., Bruns T.D. (1993) ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes: application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology* 2: 113–118.
- Geyer C.J. (1991) Markov chain Monte Carlo maximum likelihood. In: Keramidas E.M. (ed.), *Computing Science and Statistics. Proceedings of the 23rd Symposium on the Interface*. Fairfax Station: Interface Foundation, USA: pp. 156–163.
- Gouy M., Guindon S., Gascuel O. (2010) SeaView version 4: a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. *Molecular Biology and Evolution* 27: 221–224.
- Grubisha L.C., Trappe J.M., Molina R., Spatafora J.W. (2002) Biology of the ectomycorrhizal genus *Rhizopogon*. VI. Re-examination of infrageneric relationships inferred from phylogenetic analyses of ITS sequences. *Mycologia* 94: 607–619.
- Huang J., Nara K., Lian C., Zong K., Peng K., Xue S., Shen Z. (2012) Ectomycorrhizal fungal communities associated with Masson pine (*Pinus massoniana* Lamb.) in Pb-Zn mine sites of central south China. *Mycorrhiza* 22: 589–602.
- 伊藤誠哉 (1959) 日本菌類誌 第 2 巻第 5 号 担子菌類. 養賢堂, 東京.
- Ito S., Imai S. (1937) Fungi of the Bonin Islands I. *Transactions of the Sapporo Natural History Society* 15: 1–12.
- Katoh K., Standley D.M. (2013) MAFFT Multiple sequence

- alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution* 30: 772–780.
- Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W., Stalpers J.A. (2008) *Dictionary of the Fungi*. 10th ed. CAB International, Wallingford, UK.
- Kobayasi Y. (1937) *Fungi Austro-Japoniae et Micronesiae*. I. The *Botanical Magazine* 51: 749–758.
- 小林義雄 (1938) 大日本植物誌 ヒメノガスター亜目及スツボンタケ亜目. 三省堂, 東京. [Kobayasi Y. (1938) *Nova Flora Japonica*. Hymenogastrineae et Phallineae. The Sansendo Co. Ltd., Tokyo. (in Japanese)]
- Koizumi T., Nara K. (2016) Two new species of *Rhizopogon* associated with *Pinus pumila* from Japan. *Mycoscience* 57: 287–294.
- Li L., Zhao Y.C., Zhou D., Yu F.Q., Zheng L.Y., Wang Y., Zhang X.L., Duan Z.J., Zhao X.Y., He Z.H., Li S.H. (2016) Three new species of *Rhizopogon* from Southwest China. *Phytotaxa*. 282:151–163.
- Martín M. P. (1996) The genus *Rhizopogon* in Europe. *Societat Catalana de Micologia Vol.5*, Barcelona, Spain.
- Martín M.P., Calonge F.D. (2001) *Rhizopogon buenoi* (Boletales, Basidiomycota) a new species from Spain. *Mycotaxon* 79: 101–105.
- Martín M.P., Dueñas M., Telleria M.T. (2015) Fungal planet description sheet 363 – 10 June 2015 *Rhizopogon granuloflavus* M.P. Martín, M. Dueñas & Telleria, sp. nov. *Persoonia* 34: 248–249.
- Mujic A.B., Hosaka K., Spatafora J.W. (2014) *Rhizopogon togasawariana* sp. nov., the first report of *Rhizopogon* associated with an Asian species of *Pseudotsuga*. *Mycologia* 106: 105–112.
- Orihara T., Smith M.E., Ge Z.-W., Maekawa N. (2012) *Rossbeevera yunnanensis* (Boletaceae, Boletales), a new sequestrate species from southern China. *Mycotaxon* 120: 139–147.
- Ronquist F., Huelsenbeck J.P. (2003) MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572–1574.
- 佐々木廣海・木下晃彦・奈良一秀 (2016) 地下生菌識別図鑑. 誠文堂新光社, 東京.
- Stamatakis A. (2014) RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30: 1312–1313.
- Sugiyama Y., Murata M., Nara K. (2017) A new *Rhizopogon* species associated with *Pinus amamiana* in Japan. *Mycoscience* 59: 176–180.
- Vilgalys R., Hester M. (1990) Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *Journal of Bacteriology* 172: 4238–4246.
- White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J. (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J., White T.J. (eds.) *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press, USA, pp. 315–322.
- 吉見昭一 (親族 (編)) (2008) 地下生菌図版集 ミクロの世界へ第一歩. 吉見一子, 京都.