

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

国際塩基配列データベースから見る日本の外生菌根菌相：子囊菌門 チャワンタケ目 tuber-helvella 系統セイヨウショウロ科

Ectomycorrhizal fungal flora in Japan revealed by the International Nucleotide Sequence Database: Tuberaceae (the lineage tuber-helvella), Pezizales, Ascomycota

小長谷 啓介

Keisuke Obase

森林総合研究所 北海道支所 森林生物研究グループ, 〒062-8516 北海道札幌市豊平区羊ヶ丘7番地
Hokkaido Research Center, Forestry and Forest Products Research Institute, 7 Hitsujigaoka, Toyohira,
Sapporo, Hokkaido 062-8516, Japan

E-mail: obase_keisuke090@ffpri.go.jp

要旨

日本におけるセイヨウショウロ科菌（チャワンタケ目、子囊菌門）のフロラの解明状況を把握するため、国際塩基配列データベースに登録された塩基配列（ITS領域）を収集した。得られた433配列は、配列の相同性によるグループ分けと最尤系統解析の結果に基づき、セイヨウショウロ属の7クレード（/puberulum、/latisporum、/maculatum、/turmericum-japonicum、/rufum、/melanosporum、/macrosporum）に属する計29サブクレードに分類された。サブクレード数は、/puberulum（8）および/latisporum（8）が、他のクレード（2~3）よりも高かった。配列の約半分の由来は子実体、残りの大部分は外生菌根であった。17サブクレードは既知種を含み、そのうち6種は日本産標本に基づいて記載された新種であった。しかし、その他は既知種を含まず、特に種が豊富な/puberulumおよび/latisporumの多くの分類群は種レベルの分類属性が不明であった。多様なセイヨウショウロ属菌が生息する日本では、子実体標本に基づく記載報告が着々と進められているものの、多様な種で構成される/puberulumおよび/latisporumについては、子実体が未発見または未記載・未解析の状態では保管されたままの分類群が多数存在することが示唆された。

Abstract

To understand the status of research on ectomycorrhizal fungal flora in Japan, sequence data (ITS region) for fungi belonging to Tuberaceae, Pezizales, Ascomycota, registered in the International Nucleotide Sequence Database were compiled. In total, 433 sequences were obtained and classified into 29 subclades in seven clades (/puberulum, /latisporum, /maculatum, /turmericum-japonicum, /rufum, /melanosporum, and /macrosporum) in the genus *Tuber* by the maximum likelihood phylogenetic analysis. The number of subclades was higher in clades /puberulum (8) and /latisporum (8) than those in the others (2–3). Approximately half of the sequences originated from ascocarps, while most of remaining were from ectomycorrhizal roots. Seventeen subclades included described species, six of which were originated from Japanese specimens (/turmericum-japonicum; *T. japonicum*, *T. flavidosporum* and *T. torulosum*, /melanosporum; *T. longispinosum*, /macrosporum; *T. iryudaens* and *T. tomentosum*), but the other subclades did not, remaining the species-level taxonomic attribute unclear, especially those in species-rich clades /puberulum and /latisporum. Japan is home to a diverse range of *Tuber* species, and a relatively large number of ascocarps have been collected, leading to descriptive reports based on

these specimens. However, it was indicated that for the species-diverse clades *puberulum* and *latisporum*, there are several taxa for which ascocarps have not been discovered or described.

Article Info: Submitted: 17 February 2026 Accepted: 4 March 2026 Published: 31 March 2026

序論

子囊菌門チャワソウ目には、樹木の根に共生して外生菌根を作る菌類を含む系統が多数存在する (Tedersoo et al., 2010, 2013; Tedersoo & Smith, 2017)。その中の 1 系統である *tuber-helvella* 系統は、現在、セイヨウショウロ科 (Tuberaceae Bercht. & J. Presl)、Geomoriaceae Kraisit., Pfister & M.E. Sm. (Kraisitudomsook et al., 2020)、ノボリリュウタケ科 (Helvellaceae Fr.) の 3 科の多様な種で構成される単系統群である (Hansen & Pfister, 2006; Kraisitudomsook et al., 2020; O'Donnel et al., 1997; Tedersoo et al., 2006)。胞子の形成組織が外皮に覆われた地下生の子嚢果、いわゆるトリュフを作るセイヨウショウロ科の菌類は、子嚢果の高い食用価値に注目が集まりがちであるが、その高い種多様性、子嚢果の希少性、そして未だ多くが明かされていない生態は、多くの菌類研究者および愛好家の関心を惹きつけて止まない。

分子系統解析を用いて日本のセイヨウショウロ科菌の多様性を調査した研究は、日本各地で採取されたセイヨウショウロ属 (*Tuber P. Micheli ex F.H. Wigg.*) の子嚢果標本を解析した木下らが初めてである (Kinoshita et al., 2011)。その研究では日本には約 20 種のセイヨウショウロ属菌が確認されており、潜在的には 40 種程度存在する可能性も示されている。そして、当該研究で解析された 5 種とその後に見つかった 1 種については新種記載報告がなされるなど、分類の整理が進められている (Kinoshita et al., 2016, 2018a, 2021, 2022)。一方で、近年、野外の外生菌根を対象とした DNA 解析に基づく菌類の多様性調査により、子嚢果として確認されていない、または確認されてはいても記載・分子系統解析に供されていない可能性のあるセイヨウショウロ属菌が、日本の様々な森林生態系において複数存在することが明らかになってきた (e.g., Janowski & Nara, 2024; Miyamoto et al., 2018; Obase et al., 2021, 2022)。また、中国などアジアにおけるセイヨウショウロ科菌の新種記載も多数報告され続けている (e.g., Fan et al., 2022)。このように、日本におけるセイヨウショウロ科菌の多様性に関する DNA 情報は、子嚢果または外生菌根などの別の素材を対象とした研究から新たに集積されつつあるが、これらの情報を集約して日本における本菌の多様性や分布・生態解明の状況把握を試みた研究は未だ見られない。

そこで本研究では、全世界の塩基配列情報が集約されている国際塩基配列データベース (International Nucleotide Sequence Database; INSD) に登録されている日本由来のセイヨウショウロ科菌の配列情報を収集し、系統解析を行うことによって、日本に

おけるセイヨウショウロ科菌のフロラおよび生態解明の実態把握を試みた。

材料および手法

配列の取得および分子系統解析

日本産の配列の取得と分子系統解析の方法は小長谷 (2026) に倣った。セイヨウショウロ科は主に北半球に分布するセイヨウショウロ属および *Choiromyces* Vittad. と南半球に分布する *Dingleya* Trappe, *Labyrinthomyces* Boedijn, *Nothojafnea* Rifai, *Reddellomyces* Trappe, Castellano & Malajczuk で構成される (Bonito et al., 2013)。セイヨウショウロ属は複数のクレードで構成されるため (Bonito et al., 2013; Cseh et al., 2024; Fan et al., 2016)、各クレードの代表的な既知種の ITS (Internal transcribed spacer) 配列を INSD から取得した (表 1)。さらに Kinoshita et al. (2011) で示された日本産の 20 種から各 1 配列を取得した。セイヨウショウロ属以外の属については、代表的な既知種や未記載種の ITS 領域の塩基配列を取得した。各配列に対して NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) の BLAST 検索 (データベース: Core nucleotide BLAST database、アルゴリズム: blastn) を行い、登録情報中に "Japan" が含まれ、検索に供試した配列 (クエリ配列) と相同性 80% 以上、カバー率 50% 以上の配列を取得した。得られた配列と既知種の配列を MAFFT version 7 (Katoh & Standley, 2013) でアライメントし、MEGA version 12.0.11 (Kumar et al., 2024) を用いて最尤法による分子系統樹を作成した。外群は *Geomorium australianum* (B.C. Zhang & Minter) Kraisit., Pfister & M.E. Sm. および *G. singeri* (Gamundi & E. Horak) Kraisit., Pfister, Kuhar & M.E. Sm. とした。置換モデルは改良された赤池情報量規準 (AICc) の値が低かった GTR+G+I を用いた。ブートストラップ解析には標準誤差の閾値を 5% 以下とした Adaptive bootstrap 法を用いた。Mothur (Schloss et al., 2009) を用いて相同性が 95% 以上の配列を操作的分類単位 (OTU: Operational Taxonomic Unit) にグループ分けし、最尤系統樹の結果と照らし合わせた。基本的に、同じ OTU に含まれ、高いブートストラップ値 (概ね 80% 以上) で単系統が支持される分類群をサブクレードと定義した。サブクレードに既知種が 1 種のみ含まれた場合は、その既知種をサブクレードの分類属性とした。2 種以上の既知種が含まれていた場合は、それらの種複合体 (species complex) とみなした。学名と区別するため、クレード名は初めにスラッシュを付し、小文字および直立体で表記した。なお、ホンセイヨウショウロ *T. japonicum* Hir. Sasaki, A. Kinosh. & Nara を

表 1. BLAST 検索および分子系統解析に供した参照配列

Table 1. Reference sequences for BLAST search and/or phylogenetic analysis

Taxon	Clade in <i>Tuber</i>	Collection (ID) number	Country	ITS_Genbank
<i>Tuber aestivum</i>	/aestivum	AQUI 10150***	Italy	MZ423173
<i>Tuber magnatum</i>	/aestivum	TO HG3458****	Italy	MZ423175
<i>Tuber mesentericum</i>	/aestivum	AQUI 9717***	Italy	OL711593
<i>Tuber pulchrosporium</i>	/aestivum	VN091*	Greece	MK113975
<i>Tuber sinoaestivum</i>	/aestivum	BJTC FAN487	China	OM256773
<i>Tuber suave</i>	/aestivum	AQUI 7131*	Italy	OL711623
<i>Tuber excavatum</i>	/excavatum	BM100	Spain	FJ748899
<i>Tuber fulgens</i>	/excavatum	M2435	Italy	HM485358
<i>Tuber pseudofulgens</i>	/excavatum	BJTC FAN399*	China	NR 182567
<i>Tuber verrucosivoluum</i>	/excavatum	HKAS 88863*	China	NR 154956
<i>Tuber gennadii</i>	/gennadii	JT9627**	Spain	HM485360
<i>Tuber lacunosum</i>	/gennadii	M1904	Italy	HM485361
<i>Tuber bellisporum</i>	/gibbosum	JT11679*	USA	FJ809855
<i>Tuber gibbosum</i>	/gibbosum	JT26632	USA	FJ809862
<i>Tuber oregonense</i>	/gibbosum	GB284*	USA	FJ809874
<i>Tuber conditum</i>	/latisporum	YAAS L3385*	China	ON454665
<i>Tuber elevatireticulatum</i>	/latisporum	XTAM3*	Taiwan	MF540618
<i>Tuber latisporum</i>	/latisporum	HKAS 44315	China	DQ898183
<i>Tuber luyashanense</i>	/latisporum	BJTC FAN1031*	China	OM256769
<i>Tuber luyashanense</i>	/latisporum	BJTC FAN803**	China	OM256771
<i>Tuber parvomurphium</i>	/latisporum	BJTC FAN323	China	KP276185
<i>Tuber parvomurphium</i>	/latisporum	BJTC FAN298*	China	KP276186
<i>Tuber pseudosphaerosporum</i>	/latisporum	BJTC FAN250*	China	KF744063
<i>Tuber qujingense</i>	/latisporum	HKAS 95823*	China	NR 199203
<i>Tuber songlu</i>	/latisporum	HKAS 95771*	China	KX904883
<i>Tuber songlu</i>	/latisporum	HKAS 95851	China	KX904886
<i>Tuber thailandicum</i>	/latisporum	SDBR-CMU-MTUF002	Thailand	KP196329
<i>Tuber thailandicum</i>	/latisporum	SDBR-CMU-MTUF001*	Thailand	KP196328
<i>Tuber calosporum</i>	/macrosporium	HKAS 88790*	China	KT444598
<i>Tuber glabrum</i>	/macrosporium	BJTC FAN228*	China	KF002731
<i>Tuber macrosporium</i>	/macrosporium	Macro1	Italy	AF106885
<i>Tuber monosporium</i>	/macrosporium	ACAMTub455	Greece	PP918907
<i>Tuber sinomonosporium</i>	/macrosporium	BJTCFan150*	China	KF002729
<i>Tuber beyleri</i>	/maculatum	JT32597*	USA	HM485408
<i>Tuber brennemanii</i>	/maculatum	FLAS-F-61235*	USA	MF611779
<i>Tuber castilloi</i>	/maculatum	ITCV 149	Mexico	HM485403
<i>Tuber excelsum-reticulatum</i>	/maculatum	BJTC FAN863*	China	OM265272
<i>Tuber foetidum</i>	/maculatum	HMJAU65128	China	OQ750212
<i>Tuber foetidum</i>	/maculatum	B-2452	Hungary	AJ557543
<i>Tuber leptoderum</i>	/maculatum	ACAMTub475*	Greece	PQ877422
<i>Tuber maculatum</i>	/maculatum	A15	Italy	AM406673
<i>Tuber pseudomagnatum</i>	/maculatum	BJTC FAN163*	China	JQ771192
<i>Tuber shearii</i>	/maculatum	JT12498	USA	GQ221450
<i>Tuber whetstonense</i>	/maculatum	JT25783**	USA	HM485392
<i>Tuber wumengense</i>	/maculatum	BJTC FAN218A*	China	NR 147441
<i>Tuber brumale</i>	/melanosporium	GB52	Italy	HM485345
<i>Tuber formosanum</i>	/melanosporium	HKAS 62628*	Taiwan	JN655530
<i>Tuber himalayense</i>	/melanosporium	HKAS 25689	China	AY773356
<i>Tuber melanosporium</i>	/melanosporium	GB200	Italy	FJ748904
<i>Tuber pseudobrumale</i>	/melanosporium	BJTC FAN322	China	OM287839
<i>Tuber pseudohimalayaense</i>	/melanosporium	BJTC FAN122	China	MF627983
<i>Tuber sinense</i>	/melanosporium	BJTC FAN110	China	MF627970
<i>Tuber variabilisporum</i>	/melanosporium	BJTC FAN 362*	China	OM287845
<i>Tuber yigongense</i>	/melanosporium	BJTC FAN731*	China	MF663714
<i>Tuber multimaculatum</i>	/multimaculatum	OSC62169**	Spain	HM485377
<i>Tuber anniae</i>	/puberulum	JT13209*	USA	HM485338
<i>Tuber anniae</i>	/puberulum	JT22695	USA	HM485339
<i>Tuber anniae</i>	/puberulum	BJTC FAN644	China	OM286869
<i>Tuber borchii</i>	/puberulum	GB1	Italy	FJ809852
<i>Tuber californicum</i>	/puberulum	JT28058	USA	HM485346

表 1. (続き)

Table 1. (continued)

Taxon	Clade in <i>Tuber</i>	Collection (ID) number	Country	ITS_Genbank
<i>Tuber cistophilum</i>	/puberulum	AH 39275	Spain	JN392231
<i>Tuber dryophilum</i>	/puberulum	GB35	Italy	JQ925644
<i>Tuber koreanum</i>	/puberulum	GB20004*	Republic of Korea	OK275104
<i>Tuber lijiangense</i>	/puberulum	BJTC FAN307	China	KP276188
<i>Tuber microsphaerosporum</i>	/puberulum	BJTC Fan152	China	KF805726
<i>Tuber oligospermum</i>	/puberulum	M1828	Italy	HM485341
<i>Tuber pacificum</i>	/puberulum	OSC 62159	USA	EU837241
<i>Tuber sphaerosporum</i>	/puberulum	JT12487	USA	FJ809853
<i>Tuber xuanhuaense</i>	/puberulum	BJTC FAN618	China	MK045627
<i>Tuber bernardinii</i>	/regianum	2172	Italy	KY420104
<i>Tuber magentipunctatum</i>	/regianum	ZB4293*	Hungary	JQ288909
<i>Tuber regianum</i>	/regianum	ZB3081	Slovakia	KY420098
<i>Tuber huidongense</i>	/rufum	BJTC FAN103	China	MH115294
<i>Tuber huidongense</i>	/rufum	BJTC FAN101	China	OM311172
<i>Tuber lannaense</i>	/rufum	SDBR-CMU-MTUF006*	Thailand	KT758730
<i>Tuber liaotongense</i>	/rufum	BJTC FAN550	China	MH115302
<i>Tuber lyonii</i>	/rufum	GB108	USA	FJ748910
<i>Tuber malacodermum</i>	/rufum	JT32319	Spain	FJ809889
<i>Tuber microspermum</i>	/rufum	BJTC FAN149*	China	OM311180
<i>Tuber microspiculatum</i>	/rufum	BJTC FAN138*	China	MH115317
<i>Tuber nitidum</i>	/rufum	BM105	Spain	FJ809885
<i>Tuber sinoalbidum</i>	/rufum	BJTC FAN105*	China	JF921164
<i>Tuber cf. sinoalbidum</i>	/rufum	BJTC FAN167	China	OM311183
<i>Tuber subglobosum</i>	/rufum	BJTC FAN153*	China	JX267043
<i>Tuber subglobosum</i>	/rufum	BJTC FAN432	China	MH115323
<i>Tuber taiyuanense</i>	/rufum	T42 HM75888	China	GU979033
<i>Tuber taiyuanense</i>	/rufum	BJTC FAN133	China	OM311175
<i>Tuber umbilicatum</i>	/rufum	T2 HKAS 44316	China	GU979031
<i>Tuber umbilicatum</i>	/rufum	BJTC FAN225	China	MH115325
<i>Tuber turmericum</i>	/turmericum-japonicum	BJTC FAN475	China	KT758839
<i>Geomorium australiana</i>	-	OSC-130601	Australia	JQ925629
<i>Geomorium singeri</i>	-	MES-2266	Chile	MK430931
<i>Choioomyces alveolatus</i>	-	MES97	USA	HM485332
<i>Choioomyces cerebriformis</i>	-	YAAS 8890*	China	MW209701
<i>Choioomyces helanshanensis</i>	-	KUN-HKAS 80634*	China	KP019346
<i>Choioomyces magnusii</i>	-	AH19770	Spain	JF300143
<i>Choioomyces meandriformis</i>	-	RH691	USA	HM485330
<i>Choioomyces sichuanensis</i>	-	YNAU003*	China	MW380902
<i>Choioomyces venosus</i>	-	AH38935	United Kingdom	JF300145
<i>Dingleya</i> sp.	-	JT31036	Australia	JQ925628
<i>Dingleya</i> sp.	-	JT27686	Australia	JQ925627
<i>Dingleya</i> sp.	-	JT20122	Australia	JQ925626
<i>Labyrinthomyces varius</i>	-	AWC5466	Australia	JF300129
<i>Labyrinthomyces</i> sp.	-	JT25359	Australia	JQ925633
<i>Labyrinthomyces</i> sp.	-	JT28801	Australia	JQ925634
<i>Labyrinthomyces</i> sp.	-	JT28821	Australia	JQ925635
<i>Nothojafnea thaxterii</i>	-	FLAS-F-65961	Chile	MT366731
<i>Reddellomyces donkii</i>	-	AH7156	Spain	JF300140
<i>Reddellomyces westraliensis</i>	-	OSC JT31993	Australia	PX136885
<i>Reddellomyces</i> sp.	-	JT27723	Australia	JQ925641
<i>Reddellomyces</i> sp.	-	JT27724	Australia	HM485336
<i>Reddellomyces</i> sp.	-	JT4985	Australia	JQ925642
<i>Reddellomyces</i> sp.	-	JT6873	Australia	HM485337

*Holotype, **Paratype, ***Epitype, ****Neotype.

含むクレードは、初め「japonicum」と命名されたが (Kinoshita et al., 2011)、本クレードで初めて記載報告された中国産の種の種小名「turmericum」もクレード名に提案されている (Fan et al., 2015)。近年では両名を合わせた「turmericum-japonicum」も使用されていることから、本稿では同名を採用した。

各種情報の取得

NCBI の GenBank に登録されている各配列の由来 (子嚢果、外生菌根など)、宿主植物、採取地に関する情報を抽出した。各配列を引用している文献が閲覧できる場合は、文献を精査し、より詳細な情報 (標本番号、宿主植物、調査地の植生など) に置き換えた。

菌の分布

日本に生息する菌類の世界的な分布を推定するため、得られた日本の各配列の参照番号 (Accession No.) を UNITE (<https://unite.ut.ee/index.php>) で検索した。INSD および UNITE 独自で保有する配列を用いて定期的に生成されている種レベルの操作分類群 Species hypothesis (SH) のいずれに検索配列が属するのかわかると明らかにした。最も近縁な SH 間の最小距離 (配列の変

異) を 0.5% から 3.0% まで 0.5% 刻みで変更して設定した時の、検索配列を含む SH に含まれる他の配列の採取地を記録した。

結果

分子系統解析

予備的に行った分子系統解析 (近隣接合法およびブートストラップの回数を 10 回に減らした最尤法) によって、得られた全配列はセイヨウショウロ属菌のクレードに属することが分かった。そのため、セイヨウショウロ属以外のセイヨウショウロ科菌を除いて分子系統解析を行った。得られた計 433 配列 (表 S1) は、セイヨウショウロ属の 7 クレード (*/puberulum*、*/latisporum*、*/maculatum*、*/turmericum-japonicum*、*/rufum*、*/melanosporum*、*/macrosporum*) (図 1) に属した。各クレードは概ね高いブートストラップ値 (93–100%) で支持されていたが、*/latisporum* の値は比較的低かった (83%)。また、*/regianum* の菌類は多系統であった。

95% 閾値で区分された各 OTU は、少数の分岐群を除き統計的に強く支持される単系統群を形成していた。*/puberulum* の 2 分岐群 */tuber-JP3* および */tuber-JP4* は同じ OTU に区分される単系統であったが、ブートストラップによる支持はやや低かった (74%)。Kinoshita et al. (2011) では、両分岐群をそれぞれ「*Tuber*

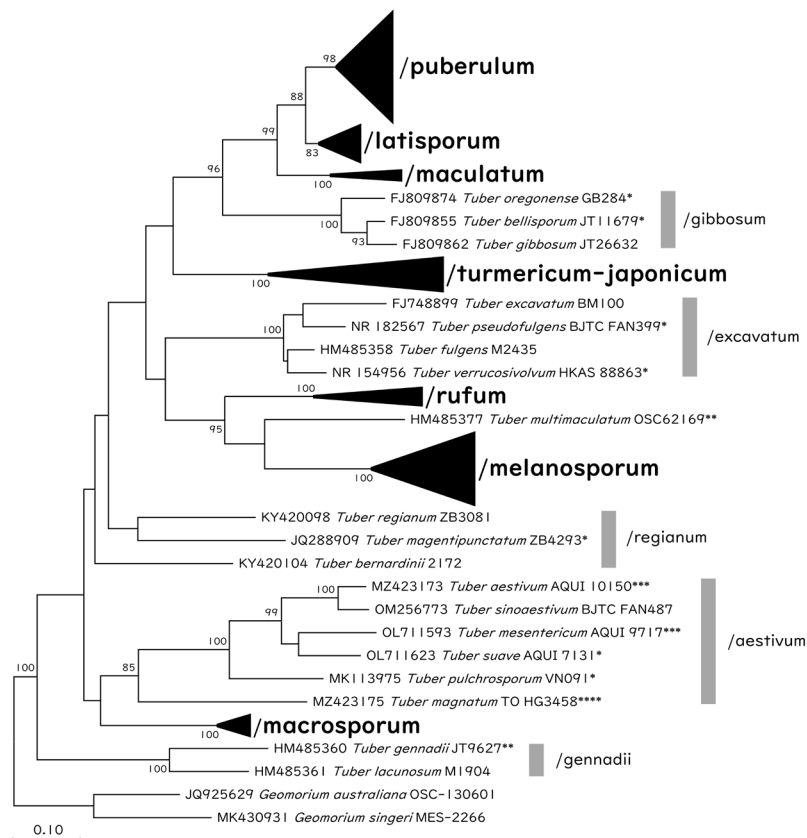


図 1. 日本のセイヨウショウロ属菌および近縁種の系統関係。系統関係は rDNA-ITS 配列に基づく最尤法を用いて推定した。80% 以上のブートストラップ値を分岐上に示した。日本の配列を含むクレード名は太字で示した。各クレードのサブツリーは図 2–8 に示した。* ホロタイプ、** パラタイプ、*** エピタイプ、**** ネオタイプ。

Fig. 1. Phylogenetic relationships of fungi belonging to the genus *Tuber* in Japan and their allied species. Phylogenetic relationships were inferred with the use of the maximum likelihood method based on rDNA-ITS sequences. Bootstrap values greater than 80% are designated at the nodes. Clades including sequences derived from Japan are indicated in bold. Subtrees for each clade are indicated in Figs. 2–8. * holotype, ** paratype, *** epitype, **** neotype.

sp. 20」および「*Tuber* sp. 19」と異なる分類群に分けていたことを踏まえて、本稿においても両分岐群はそれぞれ異なるサブクレードとみなした。*/tuber-JP6* は2つの OTU の配列を含んでいたが、配列間の変異は比較的小さかったため（最大 5.4%）、一つのサブクレードとみなした。*/latisporum* の */tuber-JP9* は、複数配列で構成される OTU に 1 配列で構成される複数の OTU

(LC711450、LC364214、LC667206) と既知種 (KF744063) の 1 配列が混在していた。これらの配列間の変異は最大で 9.9% と高かったが OTU 間の境界が分子系統樹上で明確でなかったため、本研究では複数種を含むサブクレードとして一つにまとめた。これらの結果、本研究で得られた日本産の全配列は計 29 サブクレードに分類されると判断した (図 2-8)。各クレードの配

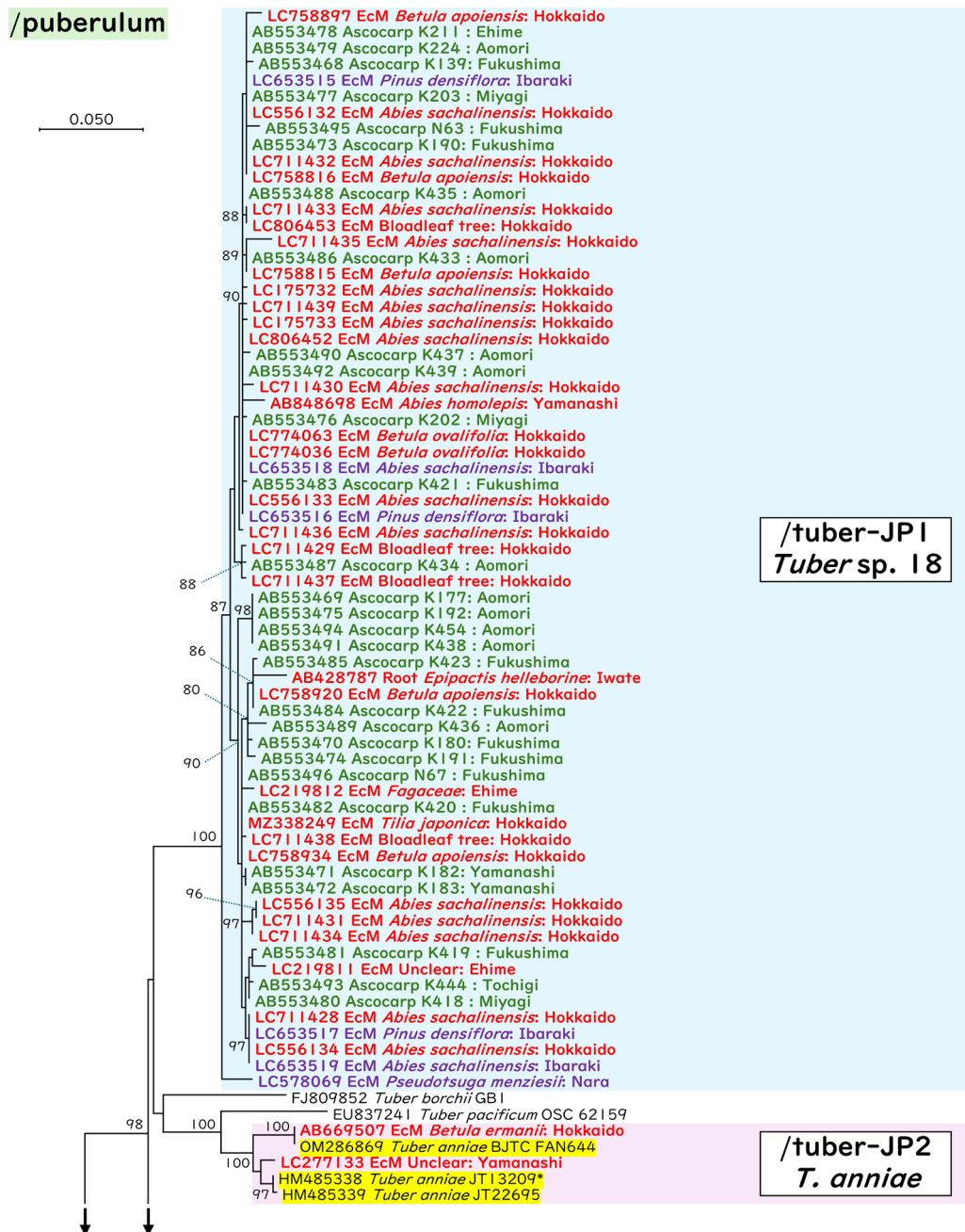


図 2. 図 1 における */puberulum* の菌類間の系統関係を示す部分系統樹。日本由来の配列は太字で示し、起源の種類に対応する異なる色で区別した (赤：野外から採集した根、紫：実験条件下 (外生菌根合成など) で採取した根、緑：子嚢果)。サブクレードに含まれる既知種は黄色でハイライト表示した。各サブクレードの分類属性として、本研究で付与したサブクレード名 (*/tuber-JPxx*)、Kinoshita et al. (2011) で使用した系統分類名 (*Tuber* sp. xx)、および既知種名を記載した。* ホロタイプ。

Fig. 2. Sub-tree showing phylogenetic relationships within */puberulum* in Figure 1. Sequences derived from Japan are indicated in bold with different colors corresponding to the types of origin: those originated from roots in fields are shown in red, those from experimental conditions (ectomycorrhization etc.) are in purple, and those from ascocarps are in green. Described species that included in subclades are highlighted. For classification attributes, subclade names assigned in this study (*/tuber-JPxx*) are described, along with the phylogenetic names used in Kinoshita et al. (2011) (*Tuber* sp. xx) and the described species names. * holotype.

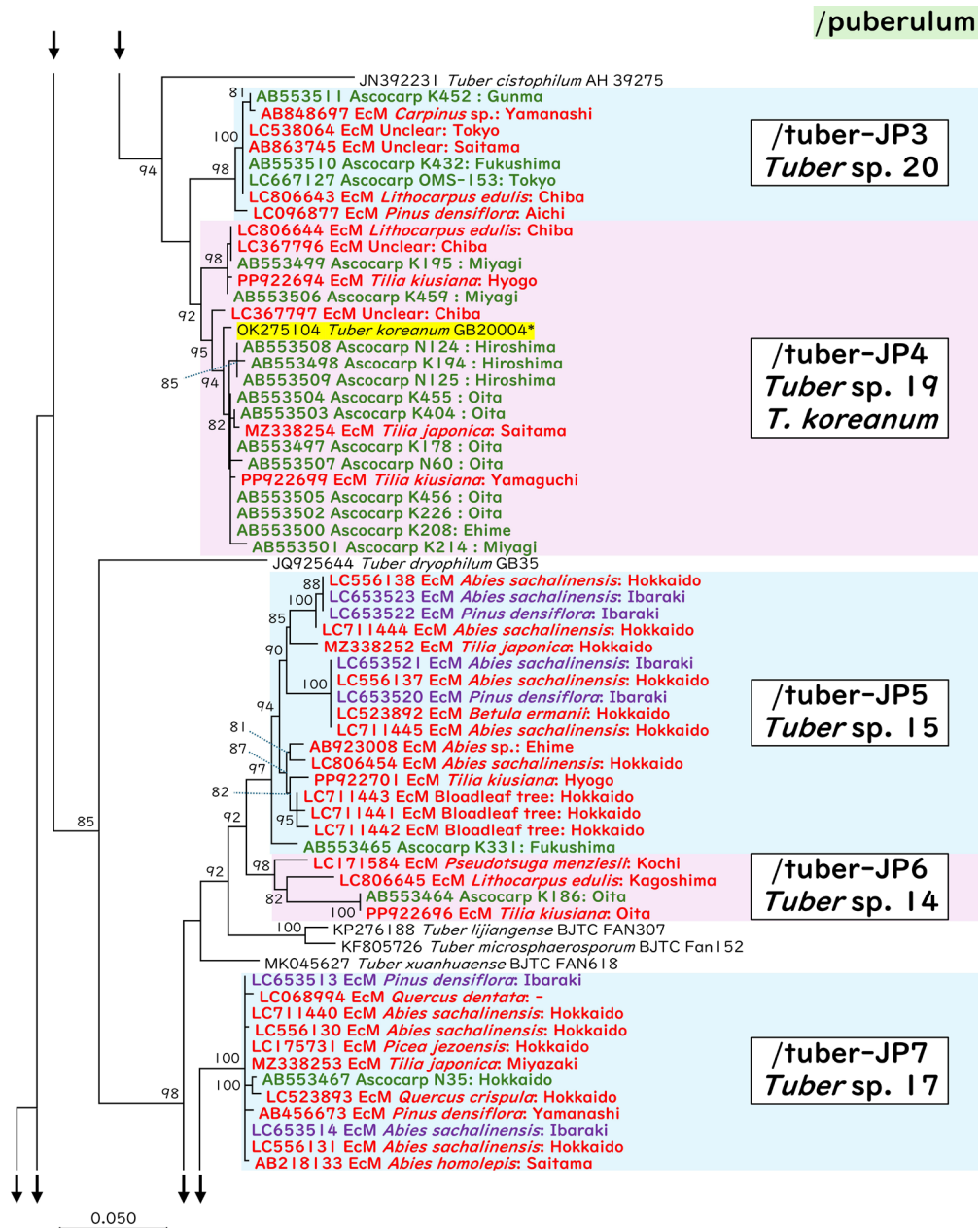


図 2. (続き).
Fig. 2. (continued).

列数およびサブクレード数は以下の通りである：/puberulum；183 配列 8 サブクレード、/latisporum；33 配列 8 サブクレード、/maculatum；6 配列 2 サブクレード、/turmericum-japonicum；56 配列 3 サブクレード、/rufum；13 配列 3 サブクレード、/melanosporum；110 配列 3 サブクレード、/macrosporum；32 配列 2 サブクレード。

このうち 18 サブクレードは既知種を含んでいた (表 S1)：/puberulum；/tuber-JP2 (*T. anniae* W. Colgan & Trappe)、/tuber-JP4 (*T. koreanum* H. Park & A.H. Eom)、/latisporum；/tuber-JP9 (*T. pseudosphaerosporum* L. Fan)、/tuber-JP10 (*T. thailandicum* Suwannar., Kumla & Lumyong)、/tuber-JP12 (*T. parvomurphium*

L. Fan)、/tuber-JP13 (*T. songlu* S.P. Wan)、/maculatum；/tuber-JP17 (*T. excelsumreticulatum* L. Fan & Ting Li)、/tuber-JP19 (*T. foetidum* Vittad.)、/turmericum-japonicum；/tuber-JP19 (ジュズダマセイヨウシヨウロ *T. torulosum* A. Kinosh., Koh. Yamam. & A. Yamada)、/tuber-JP20 (ウスキシヨウシヨウロ *T. flavidosporum* Hir. Sasaki, A. Kinosh. & Nara)、/tuber-JP21 (ホンセイヨウシヨウロ *T. japonicum* Hir. Sasaki, A. Kinosh. & Nara)、/rufum；/tuber-JP22 (*T. huidongense* 他数種)、/tuber-JP23 (*T. sinoalbidum*, *T. subglobosum*)、/tuber-JP24 (*T. taiyuanense* Y. Wang 他数種)、/melanosporum；/tuber-JP26 (アジアクロセイヨウシヨウロ *T. himalayense* B.C. Zhang & Minter)、/tuber-JP27 (イボセイヨ

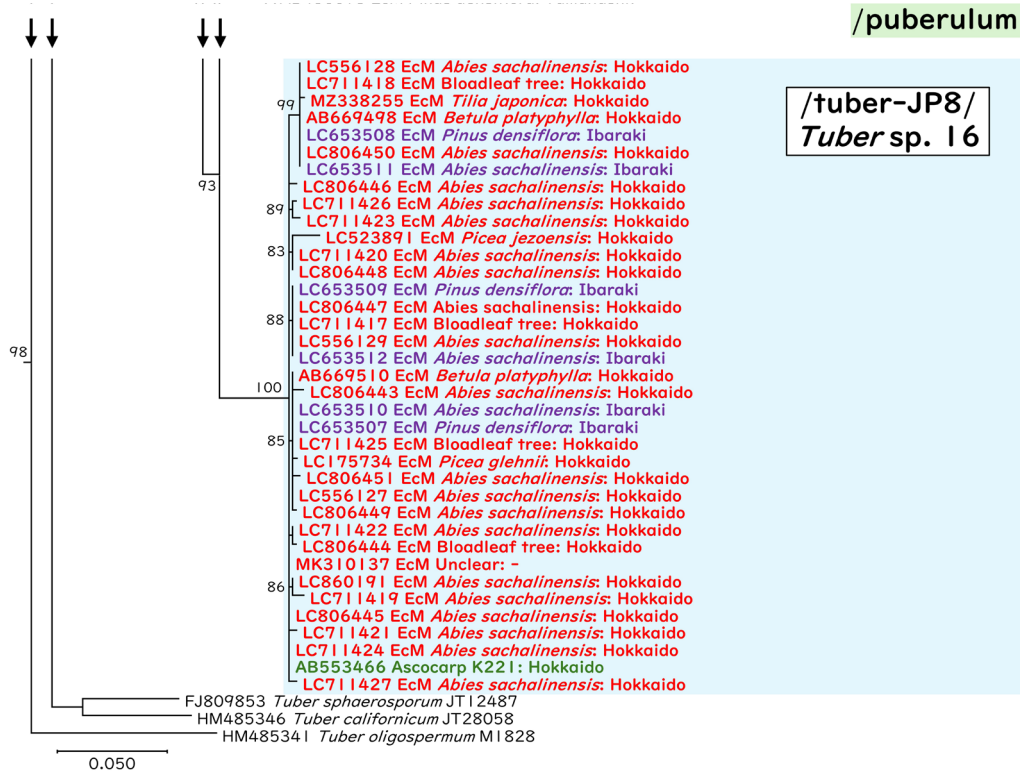


図 2. (続き).
Fig. 2. (continued).

ウシヨウロ *T. longispinosum* A. Kinosh.)、/macrosporum ; /tuber-JP28 (キチャセイヨウシヨウロ *T. iryudaense* Hir. Sasaki, A. Kinosh., Min. Nakaj., Orihara & Nara)、/tuber-JP29 (チャセイヨウシヨウロ *T. tomentosum* Hir. Sasaki, A. Kinosh. & Nara)。その他のサブクレードは未記載種の子嚢果または子嚢果以外の由来（主に外生菌根）の配列で構成されていた (/puberulum : 6 サブクレード、/latisporum : 4 サブクレード、/melanosporum : 1 サブクレード)。

配列の由来

配列の由来は、不明なもの 1 つを除くと多い順から子嚢果 (235 配列)、外生菌根 (191)、外生菌根以外の根 (5)、土壌 (1) であった。由来別の配列の比率はクレード毎に異なっていた (図 9)。/puberulum では外生菌根由来の占める配列の比率 (73%) が子嚢果由来よりも高かったが、/turmericum-japonicum、/rufum、/melanosporum では子嚢果由来の配列の比率 (それぞれ 82%、85%、73%) が外生菌根由来の比率よりも高かった。ちなみに /turmericum-japonicum、/melanosporum の外生菌根由来の配列のほとんどは人工的に苗木に菌を共生させて形成した外生菌根であり、野外の森林の外生菌根由来の配列は 1 つのみと少ない。/latisporum では約半数を子嚢果由来の配列が占めていた (52%)。/maculatum では子嚢果由来の配列が無かったのに対し、/macrosporum では外生菌根由来の配列が無かった。

宿主植物

日本のセイヨウシヨウロ属の菌類と菌根共生していた樹木は、針葉樹のモミ属 (ウラジロモミ、トマツ)、カラマツ属 (カラマツ)、トウヒ属 (エゾマツ、アカエゾマツ)、マツ属 (ヤクタネゴヨウ、アカマツ、クロマツ)、トガサワラ属 (ペイマツ) と、広葉樹のカバノキ属 (アポイカンバ、ダケカンバ、ヤチカンバ、シラカンバ)、クマシデ属、マテバシイ属 (マテバシイ)、コナラ属 (クヌギ、ミズナラ、カシワ、ウバメガシ、コナラ)、ブナ属、シナノキ属 (シナノキ、ヘラノキ、オオバボダイジュ) であった (表 S1)。その他にラン科草本植物のササバギシラン (/latisporum; /tuber-JP9)、ムヨウラン (/latisporum; /tuber-JP9)、エゾスズラン (/puberulum; /tuber-JP1、/maculatum; /tuber-JP18、/rufum; /tuber-JP24) の根からも本菌は検出されていた。各クレードの宿主樹種の種数は /puberulum が計 19 (針葉樹 8 種、広葉樹 11 種) と最も高かった (図 10)。続いて /latisporum の 9 種 (針葉樹 3 種、広葉樹 6 種)、/turmericum-japonicum および /melanosporum の 4 種 (各針葉樹 1 種、広葉樹 3 種) と続いた。/rufum は広葉樹 1 種のみであった。/macrosporum は外生菌根由来の配列が無かったため、正確な宿主植物は不明であった。

配列数の少ないクレード (/maculatum、/rufum、/macrosporum) を除くと、いずれのクレードも針葉樹および広葉樹の外生菌根からの検出例があった (図 10)。樹種の科別に見ると、カバノキ属樹種の外生菌根から検出されたセイヨウシヨウロ属菌は全て

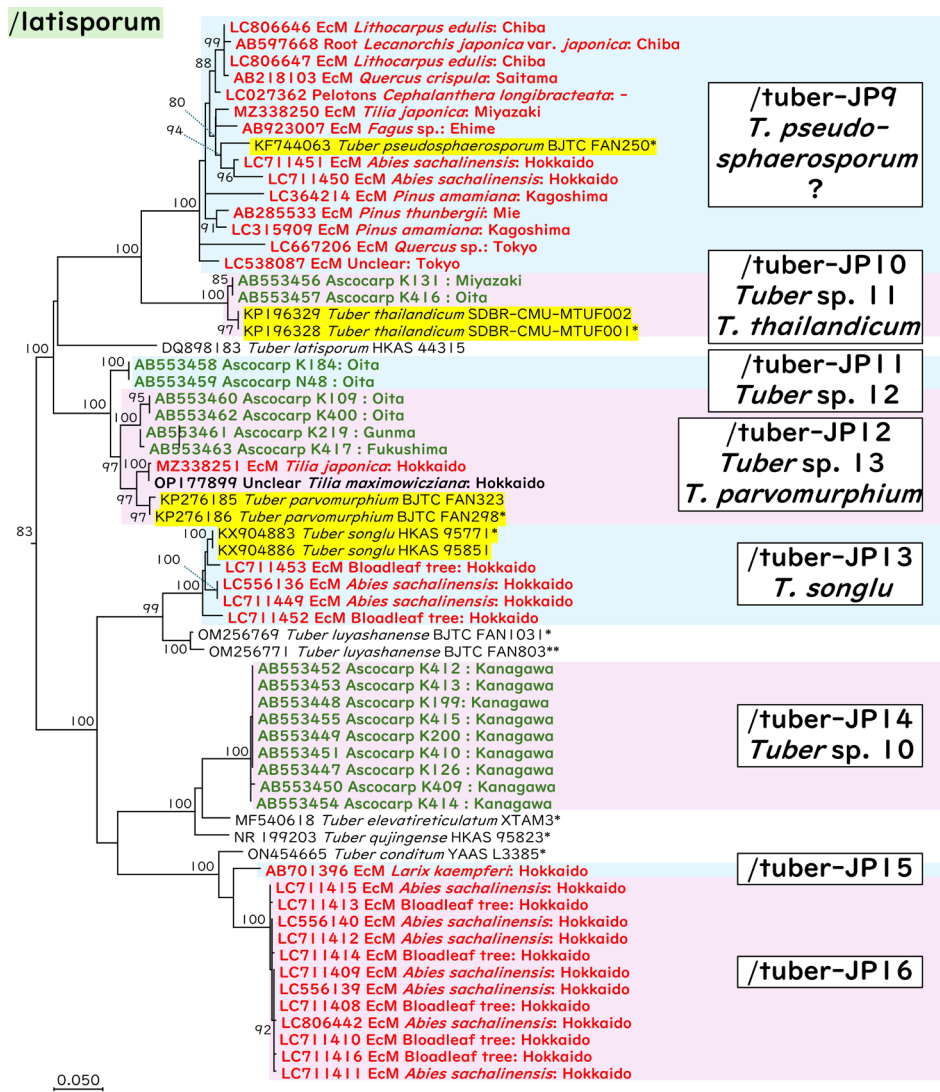


図 3. 図 1 における /latisporum の菌類間の系統関係を示す部分系統樹。日本由来の配列は太字で示し、起源の種類に対応する異なる色で区別した（赤：野外から採集した根、緑：子嚢果）。サブクレードに含まれる既知種は黄色でハイライト表示した。* ホロタイプ、** パラタイプ。

Fig. 3. Sub-trees showing phylogenetic relationships within /latisporum in Figure 1. Sequences derived from Japan are indicated in bold with different colors corresponding to the types of origin: those originated from roots in fields are shown in red and those from ascocarps are in green. Described species included in subclades are highlighted. * holotype, ** paratype.

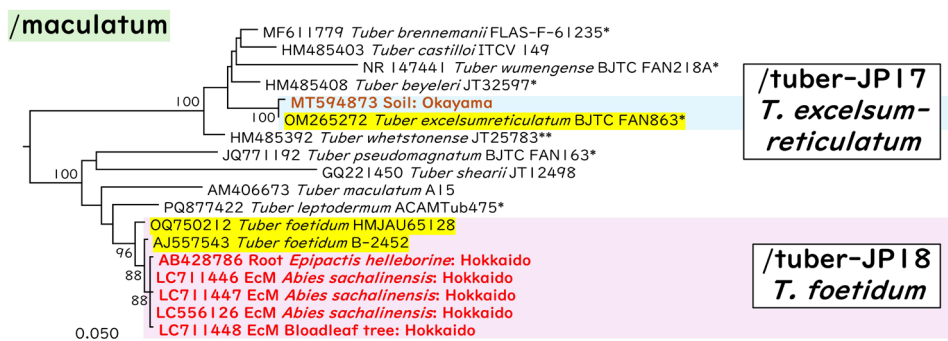


図 4. 図 1 における /maculatum の菌類間の系統関係を示す部分系統樹。日本由来の配列は太字で示し、起源の種類に対応する異なる色で区別した（赤：野外から採集した根、茶：土壌）。サブクレードに含まれる既知種は黄色でハイライト表示した。* ホロタイプ、** パラタイプ。

Fig. 4. Sub-trees showing phylogenetic relationships within /maculatum in Figure 1. Sequences derived from Japan are indicated in bold with different colors corresponding to the types of origin: those originated from roots in fields are shown in red and those from soil are in brown. Described species included in subclades are highlighted. * holotype, ** paratype.

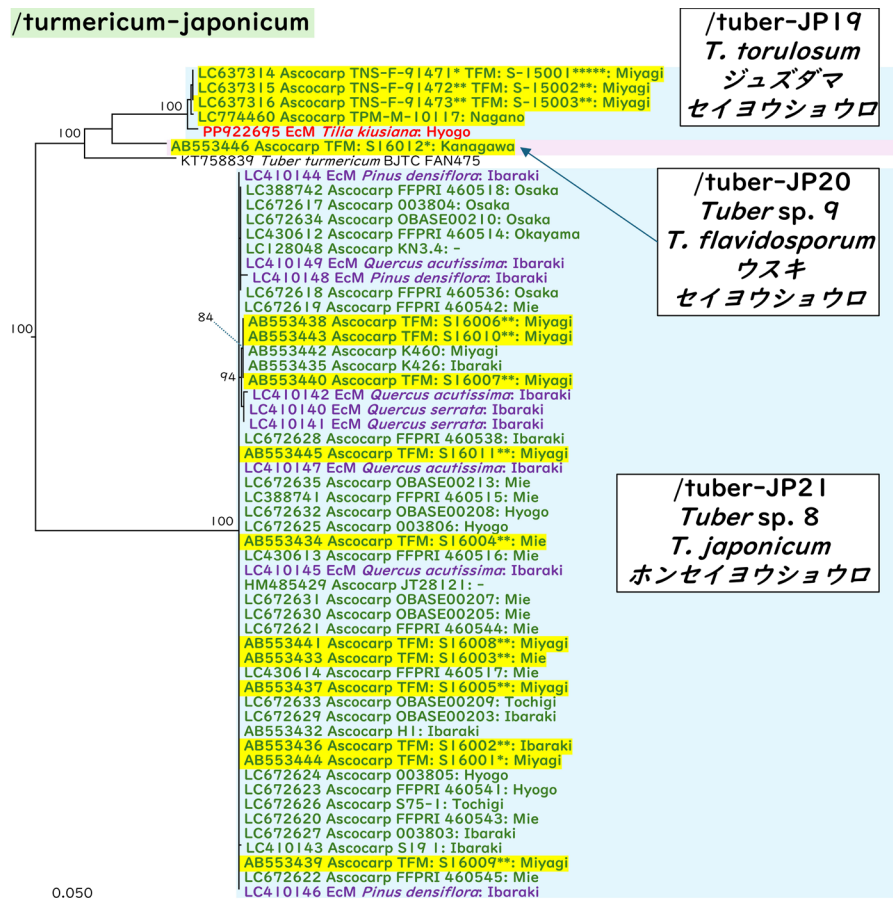


図 5. 図 1 における /turmericum-japonicum の菌類間の系統関係を示す部分系統樹。日本由来の配列は太字で示し、起源の種類に対応する異なる色で区別した（赤：野外から採集した根、紫：実験条件下で採取した根、緑：子嚢果）。サブクレードに含まれる既知種は黄色でハイライト表示した。* ホロタイプ、** パラタイプ、***** アイソタイプ。

Fig. 5. Sub-trees showing phylogenetic relationships within /turmericum-japonicum in Figure 1. Sequences derived from Japan are indicated in bold with different colors corresponding to the types of origin: those originated from roots in fields are shown in red, those from experimental conditions (ectomycorrhization etc.) are in purple, and those from ascocarps are in green. Described species that included in subclades are highlighted. * holotype, ** paratype, ***** isotype.

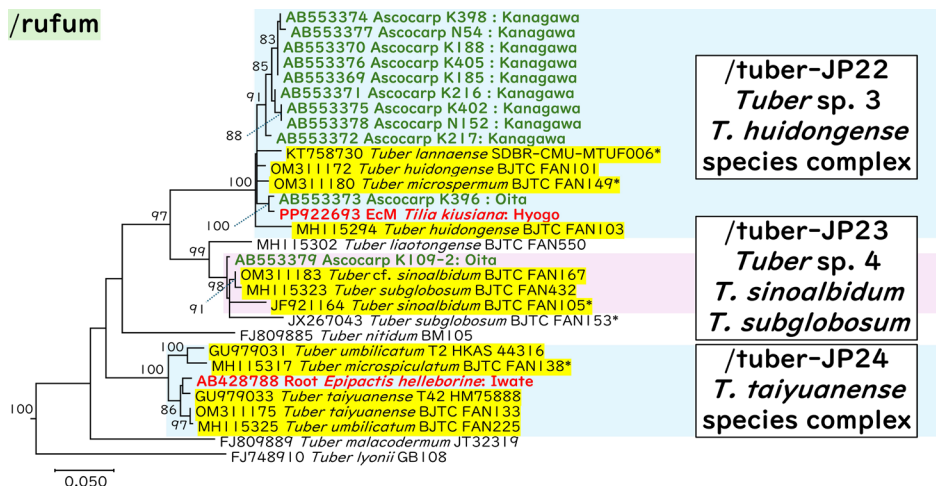


図 6. 図 1 における /rufum の菌類間の系統関係を示す部分系統樹。日本由来の配列は太字で示し、起源の種類に対応する異なる色で区別した（赤：野外から採集した根、緑：子嚢果）。サブクレードに含まれる既知種は黄色でハイライト表示した。* ホロタイプ。

Fig. 6. Sub-trees showing phylogenetic relationships within /rufum in Figure 1. Sequences derived from Japan are indicated in bold with different colors corresponding to the types of origin: those originated from roots in fields are shown in red and those from ascocarps are in green. Described species that included in subclades are highlighted. * holotype.

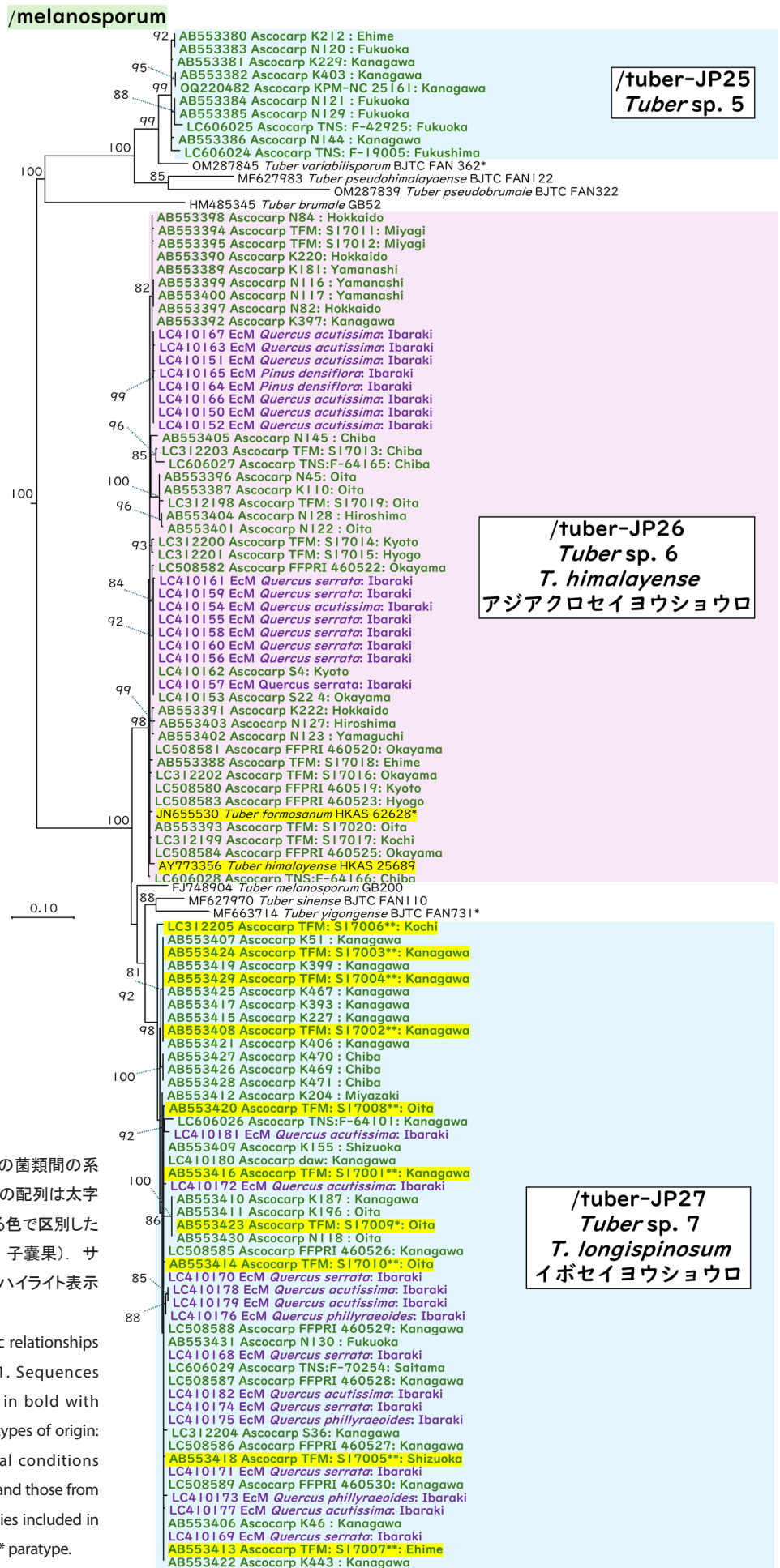


図7. 図1における /melanosporum の菌類間の系統関係を示す部分系統樹。日本由来の配列は太字で示し、起源の種類に対応する異なる色で区別した(紫: 実験条件下で採取した根, 緑: 子嚢果)。サブクレードに含まれる既知種は黄色でハイライト表示した。* ホロタイプ, ** パラタイプ。

Fig. 7. Sub-tree showing phylogenetic relationships within /melanosporum in Figure 1. Sequences derived from Japan are indicated in bold with different colors corresponding to the types of origin: those originated from experimental conditions (ectomycorrhization etc.) are in purple and those from ascocarps are in green. Described species included in subclades are highlighted. * holotype, ** paratype.

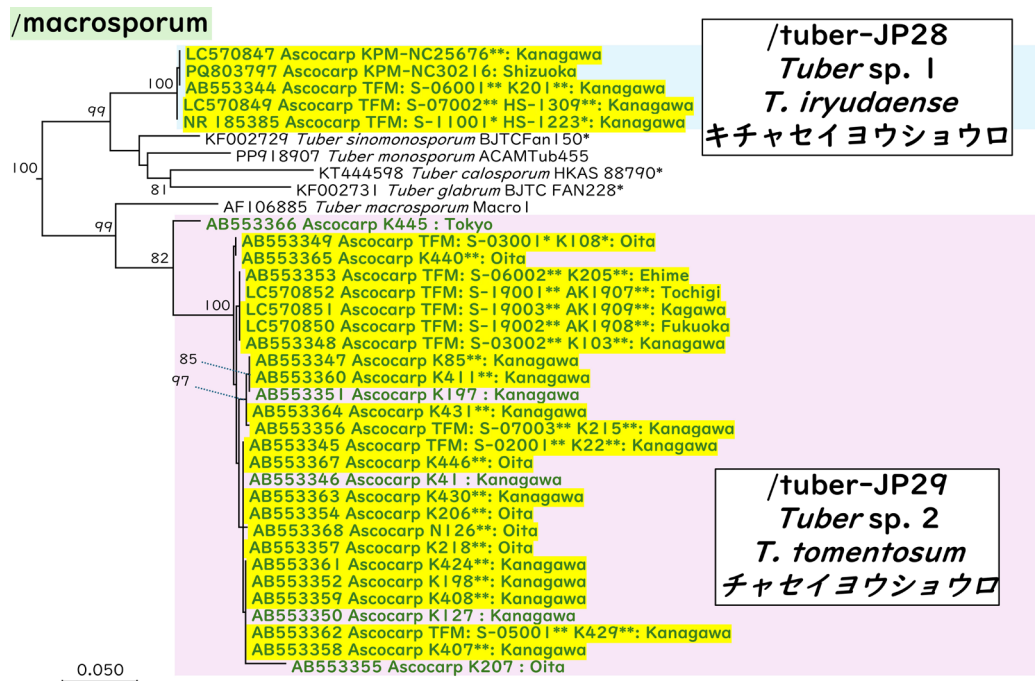


図 8. 図 1 における /macrosporum の菌類間の系統関係を示す部分系統樹. 日本由来の全配列は子実体由来であり、太字で緑色で示した. サブクレードに含まれる既知種は黄色でハイライト表示した. * ホロタイプ, ** パラタイプ.

Fig. 8. Sub-tree showing phylogenetic relationships within /macrosporum in Figure 1. All sequences derived from Japan are originated from ascocarps and indicated in bold with green color. Described species included in subclades are highlighted. * holotype, ** paratype.

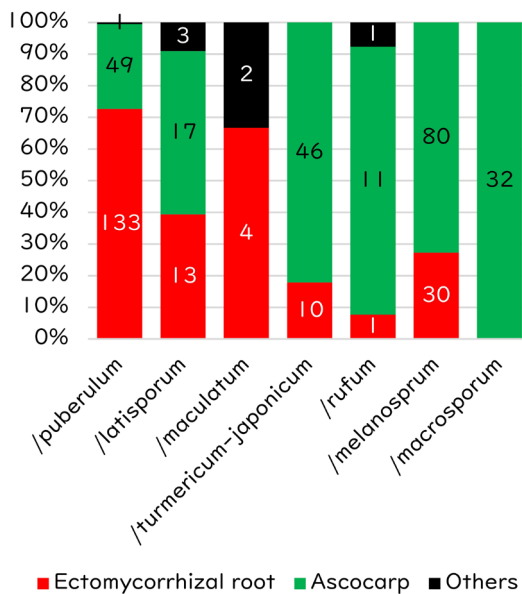


図 9. 日本のセイヨウシヨウロ属菌の各クレードにおける、異なる起源 [外生菌根, 子嚢果, その他 (ランの根, 土壌, 不明を含む)] に由来する配列数の割合.

Fig. 9. Ratio of the numbers of sequences originated from different origins in Japan for each clade of the genus *Tuber*: ectomycorrhizal roots, ascocarps and others (including orchid roots, soil and those of unknown origin).

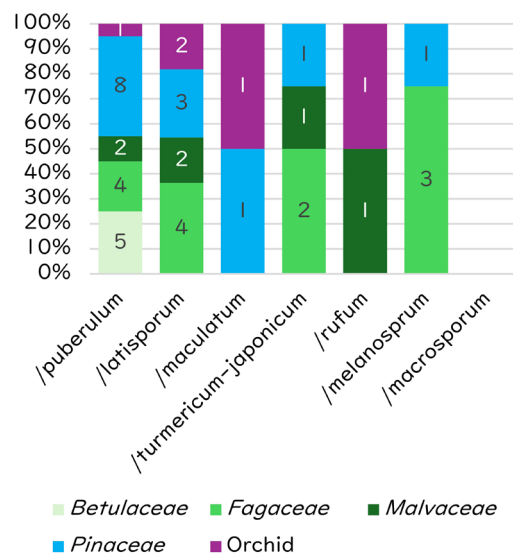


図 10. 日本のセイヨウシヨウロ属菌の各クレードにおける、宿主植物の分類群別に見た種数の割合.

Fig. 10. Ratio of the numbers of host plant species of the different plant taxa in Japan for each clade of the genus *Tuber*.

/puberulum に属していた。マツ科、ブナ科樹種は配列数の少ない3クレード以外の全てのクレードの菌類が検出された。アオイ科は配列数の少ない3クレードと/melanosprum 以外のクレードの菌類が検出された。

菌の分布

セイヨウシヨウロ属菌は北海道から鹿児島県に至る31都道府県で検出された。総じて、外生菌根菌と共生する樹木で構成される山間部の針広混交林や、針葉樹または広葉樹の優占する天然林・二次林、そして針葉樹人工林から検出されていた。/puberulum、/latisporum、/melanosporum の菌類が検出された国内の範囲は北海道～九州地方であった。/turmericum-japonicum は東北～中国地方、/macrosporum は関東～九州地方、/rufum は東北～九州地方であった。/maculatum は北海道と岡山の2道県であった。

UNITE における配列検索では、15のサブクレード (/puberulum; /tuber-JP1, 3, 5, 6, 8, /latisporum; /tuber-JP9, 11, 14, 15, 16, /turmericum-japonicum, /tuber-JP20 [ウスキシヨウシヨウロ], 21 [ホンセイヨウシヨウロ], /melanosporum; /tuber-JP25, /macrosporum; /tuber-JP28 [キチャセイヨウシヨウロ], 29 [チャセイヨウシヨウロ]) の配列は、SH 間の最小変異が3.0%と高い時においても日本のみの配列を含む SH に含まれた。そのため、これらの系統群は日本にのみ分布する可能性が高いと判断された (図 11)。2 サブクレード (/puberulum; /tuber-JP7, /melanosporum; /tuber-JP27 [イボセイヨウシヨウロ]) の配列は、SH 間の最小変異が3.0%の時に日本以外の東アジアや欧州または北米の配列を含み、SH 間の変異が2.5%以下の時は、日本のみの配列を含む SH に含まれた。これらの系統群は海外にも分布する種である可能性はあるが、日本の種は海外のもの

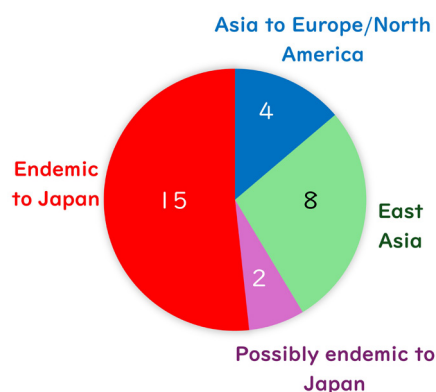


図 11. 日本のセイヨウシヨウロ属菌の異なる分布パターン別に見たサブクレード数の割合。

Fig. 11. Ratio of the numbers of *Tuber* subclades in Japan by different distributional patterns.

分子系統学的に区別できる可能性があるため、本稿ではおそらく日本にのみ分布すると判断した。8 サブクレードの配列 (/puberulum; /tuber-JP4 [*T. koreanum*]、/latisporum; /tuber-JP10 [*T. thailandicum*]、12 [*T. parvomorphium*]、13 [*T. songlu*]、/turmericum-japonicum; /tuber-JP19 [ジズダマセイヨウシヨウロ]、/rufum、/tuber-JP22 [*T. huidongense* 種複合体]、23 [*T. sinoalbidum-T. subglobosum* 種複合体]、24 [*T. taiyuanense* 種複合体]) は、SH 間の変異が高くて1.5% およびそれ以下の時に中国や韓国、タイなどの配列を含む SH に含まれた。そのためこれらの系統群は日本を含む東アジアに分布すると判断した。4 サブクレード (/puberulum; /tuber-JP2 [*T. anniae*]、/maculatum; /tuber-JP17 [*T. excelsumreticulatum*]、18 [*T. foetidum*]、/melanosporum; /tuber-JP26 [アジアクロセイヨウシヨウロ]) の配列は、SH 間の変異が高くて1.5% およびそれ以下の時に、東アジア、欧州、北米または南米・ニュージーランド (/tuber-JP2) の配列を含む SH に含まれた。これらの系統群は主に北半球に広く分布すると判断された。

考察

本研究から、日本にはこれまでに子嚢果として確認されていた21種に、外生菌根や根、土壌から検出された種を加えた計29種類の多様なセイヨウシヨウロ属菌が生息することが明らかとなった。その中には、これまで日本において子嚢果が発見されていない/maculatum の2サブクレードも含まれている。そして、日本または海外の子嚢果標本に基づく記載や系統分析が着々と進められ、日本に生息するセイヨウシヨウロ属菌の約6割の系統群は種レベルまたはそれに相当する分類属性の推定が可能である現状が分かった。しかし一方で、子嚢果が未発見または未記載・未解析の状態のままの分類群がまだ多数存在すること、特にそれは種が豊富な/puberulum および/latisporum の菌類群に集中していることも明らかとなった。Kinoshita et al. (2011) によると、/puberulum の種のごく一部は他種と明確に区別できる形態的特徴を有しているが、その他の種は明確な形態差に乏しく区別が難しいとされている (注：当時は/latisporum は/puberulum の一部と認識されていたので、上記内容は/latisporum にも当てはまると思われる)。また併せて、各種の利用可能な標本が限られていることも指摘している。本研究結果は、これらの課題解決が今後の日本におけるセイヨウシヨウロ属の分類の整理を進める上で特に重要であることを示唆している。

/puberulum の菌類は宿主範囲が広く、様々な森林から外生菌根として多く検出されていることから、同クレードの菌類は日本で一般的とされる弱酸性 (pH5 ~ 6) の土壌の森林環境に適応して広範囲に分布する分類群と考えられる。これに対し、子嚢果由来の配列数は比較的多いにもかかわらず、野外の自然環境の外生菌根からの検出例が未だ全く無い/turmericum-japonicum、

/melanosporum、/macrosporum については、一般的な日本の森林内とは異なる環境の立地に局所的に生息している可能性がある。その代表的なものが /melanosporum のアジアクロセイヨウショウロ (/tuber-JP26) およびイボセイヨウショウロ (/tuber-JP27) であり、これらの種は弱酸性から弱アルカリ性（土壌 pH6 ~ 8）の、日本では比較的 pH の高い土壌の森林で子嚢果の発生が確認されている（古澤ら 2020）。/macrosporum の海外産の *Tuber macrosporum* Vittad. や *Tuber mesentericum* Vittad. についても、中性から弱アルカリ性の石灰質の土壌を好むという報告がある（Benucci et al., 2016）。林地や林縁で子嚢果が見つかる /turmericum-japonicum のホンセイヨウショウロは、カルシウムなどの養分が乏しい土壌を好む可能性が指摘されている（古澤ら 2020）。セイヨウショウロ属の子嚢果は、林縁（e.g., Kinoshita et al., 2021）や定期的に落ち葉掻きされる公園内で発見されることも多いことから、そのようなマイクロハビタットに依存している種も多く存在すると思われる。日本において石灰質土壌などアルカリ性の土壌上に成立する森林や、林縁などの微地形において外生菌根菌の多様性を調べた研究例は少ない。今後、こうした様々な立地環境を対象とした外生菌根の調査が日本で増えていくことで、これまで外生菌根から検出例の少ない、または未だ検出例の無いセイヨウショウロ属の分類群が新たに発見される可能性がある。

日本におけるセイヨウショウロ属の宿主範囲は、子嚢果の発生地、樹種構成から、針葉樹～広葉樹まで広範であると類推されている（Kinoshita et al., 2011, 2018b）。本研究結果はその推定を支持するものであった。本調査で新たに見出されたセイヨウショウロ属菌の宿主は、トウヒ属、カラマツ属の樹種であり、前者は /puberulum の /tuber-JP7 および 8 と、後者は /latisporum の /tuber-JP15 と共生していた。一方、少ないながらラン科草本植物の根からもセイヨウショウロ属菌の検出例があった。海外でもセイヨウショウロ属を含む外生菌根菌がランの根から検出される報告例は多数ある（e.g., Gryndler, 2016）。今回ラン科植物から検出された 4 サブクレードのうち 3 は日本で子嚢果としては確認されていない分類群であったことから、樹木の外生菌根に並んで、ランの根（ラン菌根）の解析も日本におけるセイヨウショウロ属菌のフロラ解明に部分的に寄与する可能性がある。

日本の 29 のサブクレードのうち 12 ~ 14 は国外にも分布している可能性が高いと考えられた。その多く（8 サブクレード）は主に中国と、台湾、韓国やタイから検出されていることから、主に東アジアに分布していると考えられる。また、由来が子嚢果以外の配列を解析に加えたことにより、欧州（*T. foetidum*、アジアクロセイヨウショウロ）や北米（*T. excelsumreticulatum*）、南米・ニュージーランド（*T. anniae*）にまで広域分布する系統も、少数ながら日本に存在することも確認された。主に中国におけるセイヨウショウロ属の分類研究の進展（e.g., Fan et al., 2022）と配列情報の蓄

積により、これまで考えられていたよりも、海外、特に中国を含む東アジアに分布する種の占める割合が日本において高いことが明らかとなった。しかし、残りの 15 のサブクレード、すなわち日本全体の約半数の種は現状、日本のみに分布する固有種と思われ、その生物多様性の保全価値は依然として高いことが再認識された。

本研究では、セイヨウショウロ属以外のセイヨウショウロ科菌は検出されなかった。またセイヨウショウロ属の複数のクレードの菌類も検出されなかった。*Dingleya*、*Labyrinthomyces*、*Nothojafnea*、*Reddellomyces* は主に南半球に、セイヨウショウロ属の /gibossum は北米、/regianum、/gennadii は欧州に分布し、中国を含む東アジアでは発見例がないことから、日本に生息する可能性は低いと思われる。一方で、*Choiromyces* については北米や欧州に広く分布し、隣国の中国でも数種確認されている（e.g., Chen et al., 2016）。セイヨウショウロ属の /aestivum は種は少ないながらも、中国（*T. sinoaestivum* J.P. Zhang & P.G. Liu; Fan et al., 2022）やタイ（*T. magnatum* Picco; Suwannarach et al., 2017）など東アジア～東南アジアで報告例がある。また、/excavatum は中国では 7 種が報告されている（Fan et al., 2022）。これらの分類群は日本にも分布する可能性はあるが、子嚢果や菌根などからの発見例は知る限り報告されていない。

本研究では、近年利用が増加している次世代シーケンス解析で得られる大量の塩基配列情報は検索対象としていない。そのため本研究が提示する日本のセイヨウショウロ科の外生菌根菌相は、当フロラの実態を過小評価したものであることは間違いないだろう。しかし、本研究成果は日本の外生菌根菌相の理解状況を評価する上で貴重な一視点を提供すると思われる。それが、日本における外生菌根菌の分類・多様性研究の進展を促す契機に繋がることを願う。

補足資料

以下の補足資料は Truffology 9 巻 1 号のウェブページからダウンロードできる：表 S1。

Supplementary files

The following supplementary file can be downloaded from the Truffology Volume 9, Issue 1 website: Table S1.

引用文献

Benucci G.M.N., Csorbai A.G., Falini L.B., Marozzi G., Suriano E., Sitta N., Donnini D. (2016) Taxonomy, biology and ecology of *Tuber macrosporum* Vittad. and *Tuber mesentericum* Vittad. In: Zambonelli A., Iotti M., Murat C. (eds), True Truffle (*Tuber* spp.) in the world: soil ecology, systematics and biochemistry. Springer International Publishing, Cham, pp. 69–86.

- Bonito G., Smith M.E., Nowak M., Healy R.A., Guevara G., Cázares E., Kinoshita A., Nouhra E.R., Domínguez L.S., Tedersoo L., Murat C., Wang Y., Moreno B.A., Pfister D.H., Nara K., Zambonelli A., Trappe J.M., Vilgalys R. (2013) Historical biogeography and diversification of truffles in the Tuberales and their newly identified southern hemisphere sister lineage. *PLOS ONE* 8: e52765.
- Chen J., Sun L.H., Su Y., Zhao W.Q., Liu P.G. (2016) *Choiromyces helanshanensis* sp. nov., a new species of subterranean truffle from China. *Mycoscience* 57: 279–286.
- Cseh P., Merényi Z., Bóna L., Varga T., Bóka K., Nagy I., Kaounas V., Vidal J.M., Paz A., Bratek Z. (2024) Taxonomic characterisation of the Regianum clade (genus *Tuber*) and the trait evolution of spore size among true truffles. *Mycological Progress* 23: 11.
- Fan L., Han L., Zhang P.R., Yan X.Y. (2016) Molecular analysis of Chinese truffles resembling *Tuber californicum* in morphology reveals a rich pattern of species diversity with emphasis on four new species. *Mycologia* 108: 344–353.
- Fan L., Li T., Xu Y.Y., Yan X.Y. (2022) Species diversity, phylogeny, endemism and geography of the truffle genus *Tuber* in China based on morphological and molecular data. *Persoonia* 48: 175–202.
- Fan L., Liu X., Cao J. (2015) *Tuber turmericum* sp. nov., a Chinese truffle species based on morphological and molecular data. *Mycological Progress* 14: 111.
- 古澤仁美・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ヨウロおよびホンセイヨウシヨウロ) の生息地の土壌特性. 森林総合研究所研究報告 19: 55–67.
- Gryndler M. (2016) True truffle host diversity. In: Zambonelli A., Iotti M., Murat C. (eds), True Truffle (*Tuber* spp.) in the world: soil ecology, systematics and biochemistry. Springer International Publishing, Cham, pp. 267–281.
- Hansen K., Pfister D.H. (2006) Systematics of the Pezizomycetes—the operculate discomycetes. *Mycologia* 98: 1029–1040.
- Janowski D., Nara K. (2024) *Tilia* trees are preferred hosts of several ectomycorrhizal Ascomycota—New insights supported by the first community study of the endemic *Tilia kiusiana*. *Global Ecology and Conservation* 54: e03187.
- 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.
- Kinoshita A., Nara K., Sasaki H., Feng B., Obase K., Yang Z.L., Yamanaka T. (2018a) Using mating-type loci to improve taxonomy of the *Tuber indicum* complex, and discovery of a new species, *T. longispinosum*. *PLOS ONE* 13: e0193745.
- Kinoshita A., Obase K., Yamanaka T. (2018b) Ectomycorrhizae formed by three Japanese truffle species (*Tuber japonicum*, *T. longispinosum*, and *T. himalayense*) on indigenous oak and pine species. *Mycorrhiza* 28: 679–690.
- Kinoshita A., Sasaki H., Nara K. (2011) Phylogeny and diversity of Japanese truffles (*Tuber* spp.) inferred from sequences of four nuclear loci. *Mycologia* 103: 779–794.
- Kinoshita A., Sasaki H., Nara K. (2016) Two new truffle species, *Tuber japonicum* and *Tuber flavidosporum* spp. nov. found from Japan. *Mycoscience* 57: 366–373.
- Kinoshita A., Sasaki H., Orihara T., Nakajima M., Nara K. (2021) *Tuber iryudaense* and *T. tomentosum*: Two new truffles encased in tomentose mycelium from Japan. *Mycologia* 113: 653–663.
- Kinoshita A., Yamamoto K., Tainaka T., Handa T., Yamada A. (2022) *Tuber torulosum*: A new truffle species decorated with moniliform cystidia from Japan. *Mycoscience* 63: 26–32.
- Kraisitudomsook N., Healy R.A., Pfister D.H., Truong C., Nouhra E., Kuhar F., Mujic A.B., Trappe J.M., Smith M.E. (2020) Resurrecting the genus *Geomorium*: Systematic study of fungi in the genera *Underwoodia* and *Gymnohydnotrya* (Pezizales) with the description of three new South American species. *Persoonia* 44: 98–112.
- Kumar S., Stecher G., Suleski M., Sanderford M., Sharma S., Tamura K. (2024) Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 12 for adaptive and green computing. *Molecular Biology and Evolution* 41: 1–9.
- Miyamoto Y., Narimatsu M., Nara K. (2018) Effects of climate, distance, and a geographic barrier on ectomycorrhizal fungal communities in Japan: A comparison across Blakiston's Line. *Fungal Ecology* 33: 125–133.
- 小長谷啓介 (2026) International Nucleotide Sequence Database から見る日本の外生菌根菌相：子囊菌門チャワタケ目 marcellina-ionopezia gerardii 系統. 日本菌学会会報 (印刷中).
- Obase K., Yamanaka S., Kinoshita A., Tamai Y., Yamanaka T. (2021) Phylogenetic placements and cultural characteristics of *Tuber* species isolated from ectomycorrhizas. *Mycoscience* 62: 124–131.
- Obase K., Yamanaka S., Yamanaka T., Ozaki K. (2022) Short-term effects of retention forestry on the diversity of root-associated ectomycorrhizal fungi in Sakhalin fir plantations, Hokkaido, Japan. *Forest Ecology and Management* 523: 120501.
- O'Donnell K., Cigelnik E., Weber N.S., Trappe J.M. (1997) Phylogenetic relationships among ascomycetous truffles and the true and false morels inferred from 18S and 28S ribosomal DNA sequence analysis. *Mycologia* 89: 48–65.
- Schloss P.D., Westcott S.L., Ryabin T., Hall J.R., Hartmann M., Hollister E.B., Lesniewski R.A., Oakley B.B., Parks D.H., Robinson C.J., Sahl J.W., Stres B., Thallinger G.G., Van Horn D.J., Weber C.F. (2009) Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology* 75: 7537–7541.
- Suwanarach, N., Kumla, J., Meerak, J., Lumyong, S. (2017) *Tuber magnatum* in Thailand, a first report from Asia. *Mycotaxon* 132: 635–642.
- Tedersoo L., Hansen K., Perry B.A., Kjølner R. (2006) Molecular and morphological diversity of pezizalean ectomycorrhiza. *New Phytologist* 170: 581–596.

- Tedersoo L., May T.W., Smith M.E. (2010) Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages. *Mycorrhiza* 20: 217–263.
- Tedersoo L., Smith M.E. (2013) Lineages of ectomycorrhizal fungi revisited: foraging strategies and novel lineages revealed by sequences from belowground. *Fungal Biological Review* 27: 83–99.
- Tedersoo L., Smith M.E. (2017) Ectomycorrhizal fungal lineages: detection of four new groups and notes on consistent recognition of ectomycorrhizal taxa in high-throughput sequencing studies. In: Tedersoo L. (ed), *Biogeography of mycorrhizal symbiosis*. Springer International Publishing AG, Cham, pp. 125–142.
-