

白山高山帯のホコリタケ属菌 (担子菌門, ハラタケ科)

糟谷大河 千葉科学大学危機管理学部環境危機管理学科
河原 栄 金沢大学医薬保健研究域保健学系
榎 典雅 石川県白山自然保護センター
保坂 健太郎 国立科学博物館植物研究部

The genus *Lycoperdon* (Basidiomycota, Agaricales) in the alpine zone of Mt. Hakusan, central Japan

Taiga KASUYA, *Department of Environmental Risk and Crisis Management, Faculty of Risk and Crisis Management, Chiba Institute of Science*

Ei KAWAHARA, *Department of Laboratory Sciences, Division of Health Sciences, Kanazawa University*

Norimasa TOGA, *Hakusan Nature Conservation Center, Ishikawa*

Kentaro HOSAKA, *Department of Botany, National Museum of Nature and Science*

はじめに

石川きのこ会では、環境省ほか関係行政機関および土地所有者による許可の下、白山の高山帯から亜高山帯にかけての菌類相、特にきのこ相の調査を1992年より継続している(榎ら, 1998; 糟谷ら, 2015a)。その結果、白山の高山帯から約50種、亜高山帯から約200種のきのこ類が報告されている(糟谷ら, 2015b; 白山産大型菌類調査報告書編集委員会, 2016)。しかし、担子菌門ハラタケ科に所属するホコリタケ属菌については、白山の高山帯における報告はこれまでになく、亜高山帯からホコリタケ *Lycoperdon perlatum* Pers., クロゲチャブクロ *L. purpurascens* Berk. & M.A. Curtis およびヒラセホコリタケダマシ (仮称) *Lycoperdon* sp. の3種が記録されているのみである(白山産大型菌類調査報告書編集委員会, 2016)。また日本では、高山帯の菌類相がこれまでほとんど調査されていない(糟谷ら, 2015b) こともあり、白山以外の高山帯においても、ホコリタケ属菌の分布についての知見は皆無である。

一方で、ユーラシア大陸の高山帯では、ホコリタケ属菌の分布に関する報告がいくつかなされている。Kreisel (2001) はヨーロッパアルプスの標高

2,000m以上の地域において、*L. decipiens* Durieu & Mont., *L. frigidum* Demoulin, *L. niveum* Kreisel, *L. turneri* Ellis & Everh., ツブホコリタケ *L. umbrinum* Pers. およびキクメタケ *L. utrifforme* Bull. の分布を記録した。

アジアでは、パキスタンのヒンドークシュ山脈最高峰であるテイリチミール周辺において、Eckblad (1957) が標高3,500mの地点でチビホコリタケ *L. dermoxanthum* Vittad. とヒメホコリタケ *L. pretense* Pers. の分布を報告した。Thind and Thind (1987) はインドのヒマラヤ山脈北西部の高山帯で採集された標本に基づき、4新種 (*L. nainitalense* K.S. Thind & I.P.S. Thind, *L. himalayense* K.S. Thind & I.P.S. Thind, *L. gulmargense* K.S. Thind & I.P.S. Thind および *L. indicum* K.S. Thind & I.P.S. Thind) のホコリタケ属菌を記載した。また、ネパールのヒマラヤ山脈では、Kreisel (1969, 1976) が標高2,400 ~ 5,400mの高山帯において、*L. altimontanum* Kreisel, *L. lambinonii* Demoulin, コゲホコリタケ *L. molle* Pers., *L. niveum*, ホコリタケ, クロゲチャブクロ, タヌキノチャブクロ *L. pyriforme* Schaeff. および *L. yetisodale* Kreisel を報告した。さらに中国では、四川省とチベット自治区の標高3,000 ~ 4,600mの高山帯において、Eckblad (1984) が *L. atropurpureum* Vittad., *L.*

niveum, ワタゲホコリタケ *L. mammiforme* Pers., コゲホコリタケ, ホコリタケ, ヒメホコリタケおよびキクメタケの分布を報告している。

このように、ユーラシア大陸の高山帯には多様なホコリタケ属菌が分布することが知られており、日本列島の高山帯においても、同様のホコリタケ属菌の分布が推測される。そこで筆者らは、2014年と2015年に行われた石川きのこ会による白山高山帯と亜高山帯のきのこ相の調査に参加し、ホコリタケ属菌の子実体を探索した。その結果、2014年の調査で、白山高山帯のハイマツおよびオオシラビソ群落の周囲において4点のホコリタケ属菌の子実体を発見し、採集した。そして、これらについて形態的特徴の観察と分子系統解析を行った結果、ヒタチノスナジホコリタケ *L. ericaeum* Bonord. およびクロホコリタケ *L. nigrescens* Pers. と同定した。

ヒタチノスナジホコリタケは、日本では糟谷 (2011) および糟谷ら (2013) により茨城県での分布が報告されているが、それ以外の地域からの記録はない。また、クロホコリタケは日本では千葉県 (Kasuya, 2004), 石川県 (池田, 2014) および高知県 (山本・山本, 2007) から知られ、石川県では津幡町と金沢市から記録があるのみであった (池田, 2014)。このように、日本の高山帯における両種の分布はこれまでに知られていない。そこで、ここに白山高山帯産ヒタチノスナジホコリタケおよびクロホコリタケの子実体の形態的特徴、発生環境および分子系統的位置について報告する。

材料および方法

野外で採集した子実体は、食品用乾燥機 (Snackmaster Express FD-61, Nesco/American Harvest, WI, USA) を用いて46°Cで36時間熱乾燥させ、乾燥標本を作製した。乾燥標本に加えて、Hosaka and Castellano (2008), Hosaka et al. (2010), Kasuya et al. (2012) の方法に従い、新鮮な生の子実体から剃刀の刃を用いて基本体 (グレバ) の一部を切り取り、100mM Tris-HCl (pH 8.0) および0.1M 亜硫酸ナトリウム (Na₂SO₃) を添加したDMSOバッファー (Seutin et al. 1991) 中に浸漬し、4°Cで保存した。供試標本は国立科学博物館植物研究部の菌類標本庫 (TNS) に保管した。

子実体の肉眼的特徴は新鮮な生の子実体に基づき観察した。光学顕微鏡観察には乾燥標本を用いて基本体の切片を作成し、それらを水酸化カリウム

(KOH) 3% (w/v) 水溶液で封入して観察した。担子胞子の大きさは、光学顕微鏡の1,000倍の倍率下で無作為に抽出した40個を用いて測定した。

子実体からのDNA抽出は、DMSOバッファー中に浸漬した試料を用いて行った。DNA抽出は、グラスミルクを用いた改変CTAB抽出法 (Hosaka, 2009; Hosaka and Castellano, 2008) により行った。これにより得られたDNAを鋳型とし、PCRにより核rDNA 遺伝子の転写領域内部スペーサー (ITS) 領域を増幅した。ITS領域の増幅にはITS5とITS4 (White et al., 1990) のプライマーセットを用いた。PCRは、反応液を20 μ l [1 μ lの精製DNA, 1 μ lのdNTP (4 mM), 1 μ lの各プライマー (8 μ l), 0.5 unitsのTaqポリメラーゼ (タカラバイオ, 大津), 2 μ lのMgCl₂ (25mM), 2 μ lのBovine Serum Albumin (BSA)] とし、以下の温度プログラムにより行った: 前処理, 94°C 3分を1サイクル; 熱変性, 94°C 35秒, アニール, 51°C 30秒, 伸長, 72°C 1分を30サイクル; 後処理, 72°C 10分を1サイクル。

PCR産物は1%アガロースゲルで電気泳動した後、エチジウムブロマイドにより染色し、紫外線照射により可視化させた。これにより遺伝子の増幅が確認された場合、PCR産物をillustra ExoStar (GE Healthcare, UK) を用いて精製し、Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems Inc., Norwalk, CT, USA) により定法に従ってダイレクトシーケンシングを行い、塩基配列を決定した。

なお、白山高山帯産ホコリタケ属菌に加えて、系統解析において比較する目的で、2012年から2014年にかけて茨城、富山、石川の各県で筆者らが採集し、国立科学博物館植物研究部の菌類標本庫に保管したホコリタケ属菌の標本についても同様にDNA抽出、PCRとシーケンシングを行い、ITS領域の塩基配列を決定した。

本研究により新たに得られたITS領域の塩基配列はATGC Ver. 6 (GENETYX, 東京) を用いてアセンブルし、NCBI GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) に登録した。その後、GenBank上に公開されているヒタチノスナジホコリタケとクロホコリタケを含むホコリタケ型きのこ類の塩基配列を加えて系統解析を行った。データセット (Table 1) はMuscle v.3.6 (Edgar, 2004a, b) によりアライメントを行い、さらにBioEdit ver. 7.0.1 (Hall, 1999) を用いてその結果を目視で確認し、必要に応じて補正

Table 1. Sequence data of rDNA ITS region used for the present phylogenetic analyses. Asterisks (*) indicate sequences newly generated from the present study.

Species	Voucher specimen no.	Locality	GenBank accession no.
<i>Arachnion album</i>	NCP 28	USA	HQ235046
<i>Bovista aestivalis</i>	STB 075 (hb. Bates)	USA	EU833650
<i>B. dermoxantha</i>	SCP 2	USA	HQ235050
<i>B. plumbea</i>	NYGD 01	Pakistan	JX183694
<i>B. pusilla</i>	Lp 1	Japan, Chiba	AB067724
<i>Calvatia candida</i>	PB 101	India	GU939632
<i>C. candida</i>	GB M. Jeppson 3514	Hungary	DQ112624
<i>C. craniiformis</i>	TNS Kasuya B734	Japan, Ibaraki, Tokai	KF551248
<i>C. fenzi</i>	Jz 01	China	FJ772413
<i>C. fragilis</i>	GFW (Kreisel) Lopez 1990	France	AJ617493
<i>C. gigantea</i>	9-7A	China	HM237179
<i>C. pachydermica</i>	AN 014692 (ARIZ)	USA	EU833653
<i>Disciseda bovista</i>	GB M. Jeppson 5078	Sweden	DQ112627
<i>D. candida</i>	GB M. Jeppson 3588	Sweden	DQ112626
<i>D. candida</i>	STB 304 (hb. Bates)	USA	EU833654
<i>Handkea fumosa</i>	STB 776 (hb. Bates)	USA	EU833655
<i>Lycoperdon altimontanum</i>	Dobremez-holotypus (Kreisel)	Nepal	DQ112589
<i>L. caudatum</i>	GB R-G. Carlsson 920818	Sweden	DQ112633
<i>L. echinatum</i>	GB M. Jeppson 6498	Sweden	DQ112578
<i>L. ericaeum</i>	INM-2-71749	Japan, Ibaraki, Hitachinaka	KF551245
<i>L. ericaeum</i>	INM-2-71760	Japan, Ibaraki, Hitachinaka	KF551246
<i>L. ericaeum</i>	TNS-F-70019	Japan, Ibaraki, Tokai	KU507381*
<i>L. ericaeum</i>	TNS-F-70020	Japan, Ibaraki, Tokai	KU507382*
<i>L. ericaeum</i>	TNS-F-70021	Japan, Ibaraki, Tokai	KU507383*
<i>L. ericaeum</i>	TNS-F-70023	Japan, Ishikawa, Mt. Hakusan	KU507385*
<i>L. ericaeum</i>	TNS-F-70026	Japan, Ibaraki, Kitaibaraki	KU507388*
<i>L. ericaeum</i>	TNS-F-70027	Japan, Toyama, Arimine	KU507389*
<i>L. ericaeum</i>	TNS-F-70029	Japan, Ishikawa, Komatsu	KU507391*
<i>L. ericaeum</i>	TNS-F-70030	Japan, Ishikawa, Komatsu	KU507392*
<i>L. ericaeum</i>	ASIS 23416	Korea	KP004925
<i>L. ericaeum</i>	KA 13-1463	Korea	KP340185
<i>L. ericaeum</i>	GB M. Jeppson 5395	Sweden	DQ112605
<i>L. ericaeum</i>	GB M. Jeppson 4866	Sweden	DQ112606
<i>L. ericaeum</i>	BCN M.P. Martín 2673	Spain	JN572904
<i>L. lambinonii</i>	GB M. Jeppson 5245	Norway	DQ112576
<i>L. molle</i>	GB M. Jeppson 4260	Norway	DQ112566
<i>L. nigrescens</i>	TENN 58035	Germany	AJ237623
<i>L. nigrescens</i>	TNS-F-70022	Japan, Ishikawa, Mt. Hakusan	KU507384*
<i>L. nigrescens</i>	TNS-F-70024	Japan, Ishikawa, Mt. Hakusan	KU507386*
<i>L. nigrescens</i>	TNS-F-70025	Japan, Ishikawa, Mt. Hakusan	KU507387*
<i>L. nigrescens</i>	KA 13-1471	Korea	KP340188
<i>L. nigrescens</i>	GO-2009-231	Mexico	KC152158
<i>L. nigrescens</i>	GB M. Jeppson 5376	Sweden	DQ112577
<i>L. norvegicum</i>	GB M. Jeppson 5453	Sweden	DQ112631
<i>L. perlatum</i>	TENN 58040	Czech	AJ237627
<i>L. perlatum</i>	TNS Kasuya B723	Japan, Ibaraki, Tokai	KF551247
<i>L. perlatum</i>	TNS Kasuya B780	Japan, Ishikawa, Suzu	KF551249
<i>L. perlatum</i>	TNS-F-70028	Japan, Ishikawa, Komatsu	KU507390*
<i>L. perlatum</i>	GB M. Jeppson 4684	Sweden	DQ112630
<i>L. perlatum</i>	s.n.	USA	AY264919
<i>L. pretense</i>	Vp 1	Japan, Chiba	AB067725
<i>L. pulcherrimum</i>	STB 066 (hb. Bates)	USA	EU833663
<i>L. pyriforme</i>	REG 181091Os	Germany	AJ237620
<i>L. pyriforme</i>	TENN 57468	USA	AJ237618
<i>L. pyriforme</i>	TENN 57467	USA	AJ237619
<i>L. pyriforme</i>	DSH 96-054	USA	AY854075
<i>L. rimulatum</i>	STB 112 (hb. Bates)	USA	EU833664
<i>L. subincarnatum</i>	REG 106/81	Germany	AJ237626
<i>L. subincarnatum</i>	INM-2-71757	Japan, Ibaraki, Naka	KF551244
<i>L. turneri</i>	C Lange 08-95	Greenland	DQ112596
<i>L. umbrinum</i>	GB M. Jeppson 4556a	Sweden	DQ112593
<i>L. utrifforme</i>	MGW 541 (hb. Bates)	USA	EU833659
<i>Mycenastrum corium</i>	MEL s.n.	Australia	JX984568
<i>M. corium</i>	GB M. Jeppson 5467	Sweden	DQ112628
<i>M. corium</i>	STB 113 (hb. Bates)	USA	EU833666
<i>Tulostoma domingueziae</i>	MLHC 3 (CORD)	Argentina	HQ667593

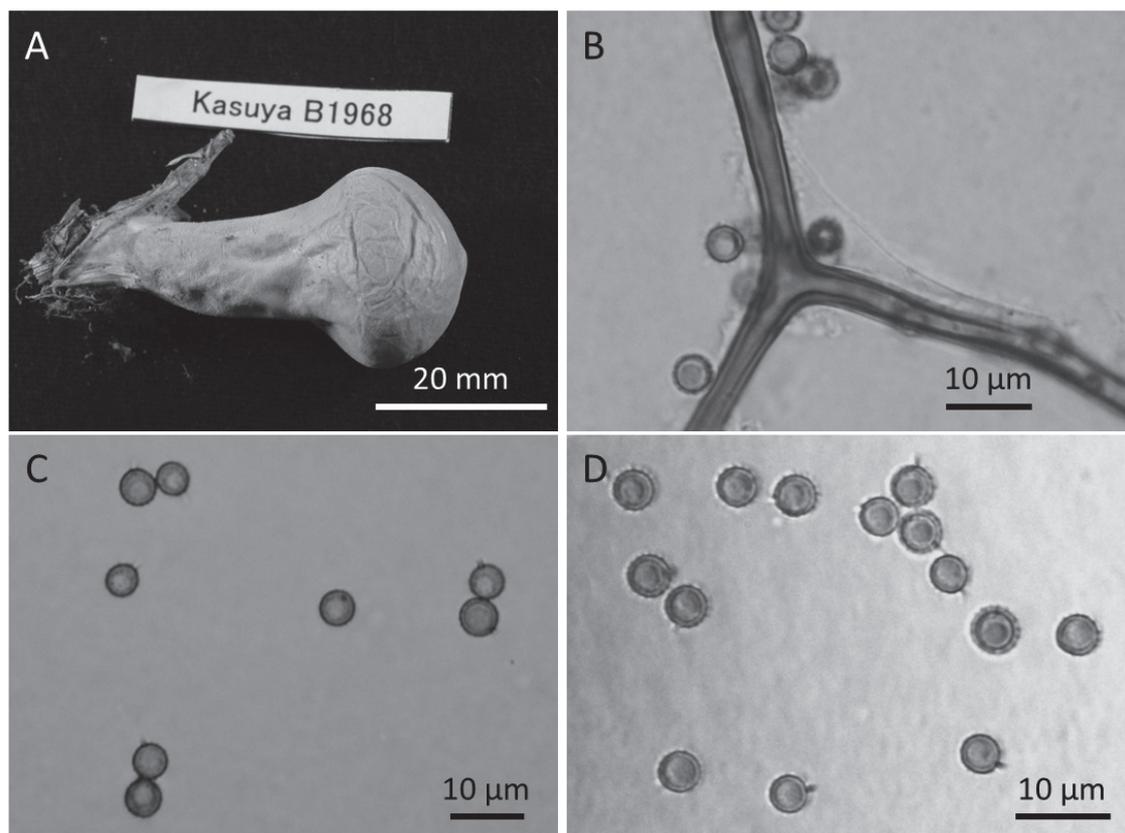


Fig. 1. Morphological characteristics of *Lycoperdon ericaeum* collected from the alpine zone of Mt. Hakusan (TNS-F-70023). A: A mature basidioma. B: Capillitium. C: Basidiospores focused on the surface. D: Basidiospores focused on the margin.

した。そして、PAUP* ver. 4.0b10 (Swofford, 2002) を用いて最節約法により系統樹を作成した。最節約系統樹の探索にはMULTREESオプションを用いて発見的探索法を、また、初期系統樹の作製には random addition オプションを用いて1,000回反復を行った。すべてのキャラクターはunorderedおよび equal weightとした。枝の位置交換はtree-bisection-reconnection (TBR) に設定した。また、総体一致指数 (consistency index = CI), 保持指数 (retention index = RI), 修正一致指数 (rescale consistency index = RC) についても求めた。さらに、最節約法により得られた系統樹の各枝の支持率には、ブートストラップ解析を10,000回反復して行った。なお、外群にはホコリタケ属と同様にハラタケ科に属するケシボウズタケ属の *Tulostoma domingueziae* Hern. Caff.を用いた。

結果および考察

1. 種の記載

Lycoperdon ericaeum Bonord., Bot. Zeit. 15: 596, 1857 (Fig. 1).

和名：ヒタチノスナジホコリタケ (糟谷, 2011)

肉眼の特徴：子実体 (Fig. 1A) は小頭形、明瞭な無性基部を有し、高さ40mm、基本体の直径は20mm、無性基部の直径は基本体との境界部付近で17mm、子実体の基部で10mm。子実体の上部を構成する外皮の刺状突起は白色あるいはクリーム色～灰白色を帯び、微細な円錐形で、先端部が周辺の突起の先端部と癒合して星形をなし、もろく剥落しやすい。子実体の下部では、外皮は微細な粉状～糠状の顆粒状突起からなる。子実体の上部では刺状突起と顆粒状突起が混在する。外皮の突起が剥落した後は、内皮表面は平滑となり、網目状をなさない。内皮は紙質で薄く、子実体が成熟すると黄褐色～淡褐色となる。基本体の内部は幼時白色～クリーム色で密、やがて黄褐色の粘土状となり、成熟すると粉状で、オリーブ褐色の担子胞子が充満する。無性基部の内部は海綿状で密、幼時白色～クリーム色、成熟すると黄褐色となる。

顕微鏡の特徴：弾糸 (Fig. 1B) は *Lycoperdon* 型、黄褐色～オリーブ褐色、直径 4–7.5 μ m、厚壁で壁の厚さ1.5–2 μ m、叉状に分枝しながら徐々に細くなり、

先端は尖る。弾糸表面には球形～類球形の小孔を有する。偽弾糸を欠く。担子孢子 (Fig. 1C-D) は球形，直径3.5-5 μm (突起を含まない)，厚壁，長さ2 μm 程度の小柄を有するか欠く。担子孢子的表面は高さ1-2 μm 程度の微細な突起が散在し，黄褐色～オリブ褐色。

供試標本：石川県白山市白山，油坂の頭（標高2,200m），ハイマツ・オオシラビソ群落周囲の地上に単生，2014年8月30日，中垣幸雄採集，TNS-F-70023. Specimen examined: Japan, Ishikawa Pref., Hakusan-shi, Mt. Hakusan, Aburazaka-no-kashira, ca 2,200 m alt., solitary on the ground near the community of *Pinus pumila* and *Abies mariesii*, August 30, 2014, coll. Y. Nakagaki, TNS-F-70023.

ノート：本種は形態的に，白色あるいはクリーム色～灰白色を帯びる刺状突起と顆粒状突起が混在した外皮を形成する点，外皮が剥落した後は内皮表面が平滑で，網目状にはならない点，そして担子孢子的表面に微細な突起が散在する点により特徴づけられる（糟谷，2011）。白山産標本の形態的特徴は，これまでのヒタチノスナジホコリタケの記載（Pegler et al., 1995; Calonge, 1998; 糟谷，2011; 糟谷ら，2013）とよく一致していた。このため，筆者らは白山産標本をヒタチノスナジホコリタケと同定した。日本に広く分布するキホコリタケ *L. lividum* Pers. は本種と形態的に類似するが，キホコリタケは子実体が成熟すると金属光沢を帯びる点や，担子孢子表面の突起は光学顕微鏡下ではほとんど観察できず，ほぼ平滑に見える点（Calonge, 1998; 糟谷，2011）で，ヒタチノスナジホコリタケとは明らかに区別できる。

ヒタチノスナジホコリタケは，これまでヨーロッパ，日本や北アメリカにかけての北半球一帯から報告されている（Pegler et al., 1995; Calonge, 1998; 糟谷，2011; 糟谷ら，2013）。本種は，糟谷（2011）により茨城県産標本に基づき日本新産種として報告され，日本ではその後も茨城県のみで知られていた（糟谷ら，2013）。本報告は石川県でのヒタチノスナジホコリタケの初記録であるとともに，日本の高山帯における本種の初記録である。

なお，白山産標本と比較する目的で，2012年から2014年にかけて筆者らが採集し，国立科学博物館植物研究部の菌類標本庫に保管したホコリタケ属菌の標本についても形態的特徴の観察を行った。その結果，以下に示す標本も形態的特徴からヒタチノスナ

ジホコリタケと同定した。

追加供試標本：茨城県那珂郡東海村白方，マツ科樹林内の砂地上，2012年11月16日，糟谷大河採集，TNS-F-70019, TNS-F-70020, TNS-F-70021. 茨城県北茨城市華川町小豆畑，草地上，2014年10月11日，糟谷大河採集，TNS-F-70026. 富山県富山市有峰，草地上，2014年10月17日，糟谷大河・小林一樹採集，TNS-F-70027. 石川県小松市吉竹町，草地上，2014年10月18日，糟谷大河・麻本賢治採集，TNS-F-70029. 同所，マツ科樹林内地上，2014年10月18日，糟谷大河・麻本賢治採集，TNS-F-70030. Additional specimens examined: Japan, Ibaraki Pref., Naka-gun, Tokai-mura, Shirakata, on the sandy soil under *Pinus* spp. trees, November 16, 2012, coll. T. Kasuya, TNS-F-70019, TNS-F-70020, TNS-F-70021. Japan, Ibaraki Pref., Kitaibaraki-shi, Hanakawa-cho, Azuhata, on the meadow, October 11, 2014, coll. T. Kasuya, TNS-F-70026. Toyama Pref., Toyama-shi, Arimine, on the meadow, October 17, 2014, coll. T. Kasuya and K. Kobayashi, TNS-F-70027. Ishikawa Pref., Komatsu-shi, Yoshitake-machi, on the meadow, October 18, 2014, coll. T. Kasuya and K. Asamoto, TNS-F-70029. Same place, on the ground under *Pinus* spp. trees, October 18, 2014, coll. T. Kasuya and K. Asamoto, TNS-F-70030.

これらのうち，これまで富山県ではヒタチノスナジホコリタケの記録はなく，本報告が初記録となる。また，石川県では小松市の低標高の地域にも本種が分布することが示され，本種は県内では低地から高山帯まで広く分布することが明らかとなった。

Lycoperdon nigrescens Pers., Neues Mag. Bot. 1: 87, 1794: Pers., Syn. Meth. Fung. 1: 146, 1801 (Fig. 2).

和名：クロホコリタケ（Kasuya, 2004）

肉眼的特徴：子実体 (Fig. 2A-B) は洋ナシ形～洋コマ形あるいは類球形，明瞭な無性基部を有し，高さ17-40mm，基本体の直径は18-35mm，無性基部の直径は基本体との境界部付近で15-30mm，子実体の基部で10-20mm。子実体の上部を構成する外皮の刺状突起は脆く，淡茶褐色～濃褐色あるいは黒褐色を帯び，微細な円錐形で，先端部が周辺突起の先端部と癒合して星形をなし，成熟するともろく剥落しやすい。外皮の刺状突起が剥落した後は，茶褐色～濃褐色で微細な粉状～糠状の顆粒状突起が内皮表面に散在して不規則な網目状を呈する。子実

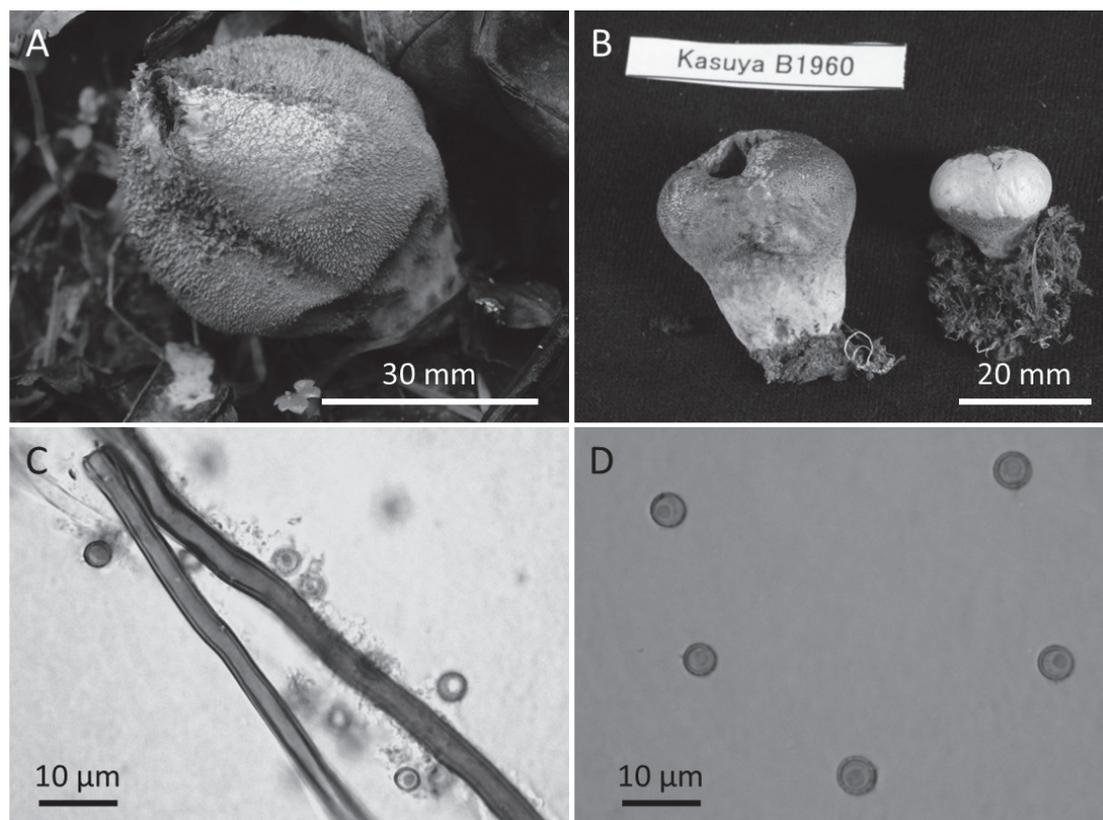


Fig. 2. Morphological characteristics of *Lycoperdon nigrescens* collected from the alpine zone of Mt. Hakusan. A: A mature basidioma in the natural habitat (TNS-F-70024). B: Two mature basidiomata (TNS-F-70025). C: Capillitium (TNS-F-70025). D: Basidiospores (TNS-F-70025).

体の下部では、外皮は微細でもろく剥落しやすい粉状～糠状の顆粒状突起からなる。内皮は紙質で薄く、子実体が成熟すると黄褐色～淡灰褐色となり、鈍い金属光沢を有し、頂部に小孔が一つ開く。基本体の内部は幼時白色～クリーム色で密、やがてオリーブ色の粘土状となり、成熟すると粉状で、オリーブ褐色の担子胞子が充満する。無性基部の内部は海绵状で密、幼時白色～クリーム色、成熟するとオリーブ褐色となる。

顕微鏡的特徴：弾糸 (Fig. 2C) は *Lycoperdon* 型、黄褐色～オリーブ褐色、直径 4–7 μm 、厚壁で壁の厚さ 1–2 μm 、叉状に分枝しながら徐々に細くなり、先端は尖る。弾糸表面には球形～類球形の小孔を有する。偽弾糸を欠く。担子胞子 (Fig. 2D) は球形、直径 3.5–4.5 μm (突起を含まない)、厚壁、長さ 1.5–2 μm 程度の小柄を有するか欠く。担子胞子の表面には高さ 1 μm 程度の非常に微細な突起が散在し、黄褐色～オリーブ褐色。

供試標本：石川県白山市白山、油坂 (標高 2,200m)、ハイマツ・オオシラビソ群落周囲の地上に散生、2014年 8 月 30 日、河原栄採集、TNS-F-70022。石

川県白山市白山、室堂平 (標高 2,500m)、ハイマツ群落周囲の地上に単生、2014年 8 月 31 日、糟谷大河採集、TNS-F-70024。同所、ハイマツ群落周囲の地上に散生、2014年 8 月 31 日、河原栄採集、TNS-F-70025。Specimens examined: Japan, Ishikawa Pref., Hakusan-shi, Mt. Hakusan, Aburazaka, ca 2,200 m alt., scattered on the ground near the community of *P. pumila* and *A. mariesii*, August 30, 2014, coll. E. Kawahara, TNS-F-70022. Japan, Ishikawa Pref., Hakusan-shi, Mt. Hakusan, Murodo-daira, ca 2,500 m alt., solitary on the ground near the community of *P. pumila*, August 31, 2014, coll. T. Kasuya, TNS-F-70024. Same place, scattered on the ground near the community of *P. pumila*, August 31, 2014, coll. E. Kawahara, TNS-F-70025.

ノート：本種は形態的に、外皮の刺状突起が淡茶褐色～濃褐色あるいは黒褐色を帯び、刺状突起が剥落した後は内皮表面が不規則な網目状を呈する点、担子胞子の表面に光学顕微鏡下でわずかに確認できる程度の微細な突起が散在する点で特徴づけられる (Pegler et al., 1995; Kasuya, 2004)。白山産標本の

形態的特徴は、これまでのクロホコリタケの記載 (Pegler et al., 1995; Kasuya, 2004; Rimóczy et al., 2011) とよく一致していた。このため、筆者らは白山産標本をクロホコリタケと同定した。日本に広く分布するホコリタケは本種と形態的に類似するが、ホコリタケは外皮の刺状突起が白色～クリーム色あるいは淡褐色である点、担子孢子表面の突起が高さ $2\ \mu\text{m}$ 程度に達し、光学顕微鏡下でも明瞭に確認できる点 (Pegler et al., 1995; Kasuya, 2004) で、クロホコリタケとは区別できる。

クロホコリタケはヨーロッパ、日本や北アメリカにかけての北半球一帯から報告されている (Pegler et al., 1995; Kasuya, 2004; Rimóczy et al., 2011)。本種は、Kasuya (2004) により千葉県産標本に基づき日本新産種として報告された。国内では、本種は千葉県 (Kasuya, 2004)、石川県 (池田, 2014) および高知県 (山本・山本, 2007) の低標高の地域のみから記録されており、本報告は日本の高山帯における本種の初の分布記録である。また石川県では、本種は低地から高山帯まで分布することが明らかとなった。

クロホコリタケはヨーロッパでは低地から高山帯まで分布し、高山帯ではお花畑にも発生することが知られており (Rimóczy et al., 2011)、日本でも高山帯の同様の環境に広く分布している可能性がある。

2. 分子系統解析

白山高山帯産ホコリタケ属菌を含むホコリタケ型きのこ類のITS領域 (Table 1) を用いて最節約法による系統解析を行った結果、786サイトから構成されるITS領域の部分配列のうち182サイトに変異があり、それらは最節約法における系統学上、有用な情報であった。PAUP* ver. 4.0b10を用いた最節約法による解析では、89,960ステップからなる297個の系統樹が得られた (CI=0.3514, RI=0.5945, RC=0.2089)。

この解析の結果、日本 (白山を含む石川県、茨城県、富山県)、韓国、スウェーデン、スペイン産のヒタチノスナジホコリタケは単系統群をなし、これらの中で明瞭な地理的分布様式は認められなかったものの、種内で3塩基の変異が見られた (Fig. 3)。また、このクレードの単系統性は最節約法の高いブートストラップ値 (86%) により支持された (Fig. 3)。日本各地、韓国とスウェーデン産標本は同一の塩基配列を持っていたが、白山産標本の塩基配列は

これらとわずかに異なっていたことから、今後も標本収集を行い、複数標本での解析により同種性を検討する必要がある。

さらに、日本 (白山)、韓国、スウェーデン、ドイツ、メキシコ産のクロホコリタケも同様に単系統群をなすことが明らかとなり、このクレードの単系統性は最節約法の高いブートストラップ値 (90%) により支持された (Fig. 3)。これらについても、明瞭な地理的分布様式は認められなかったものの、種内で数塩基の変異が見られたため、同種性については今後も検討が必要である。

以上のように、今回白山高山帯で採集されたホコリタケ属菌はヒタチノスナジホコリタケとクロホコリタケであることが、分子系統的位置からも支持された。同時に、これらのホコリタケ属菌は北半球一帯に分布することが今回の系統解析により支持された。なお、今後は白山以外の高山帯でも野外調査を行い、日本の高山帯におけるホコリタケ属菌の分布をより詳細に把握していくとともに、日本における本属菌の多様性や系統地理学的特徴についても解明していく必要がある。

また、白山の高山帯から亜高山帯には、未同定種や未記載種と考えられるきのこ類が多数発見されている (榎ら, 1998; 池田, 2014; 糟谷ら, 2015a, 2015b; 白山産大型菌類調査報告書編集委員会, 2016)。したがって、今後もこれらの地域におけるきのこ類の調査研究を継続し、その多様性や分布の特徴を明らかにしていくことが必要である。

謝 辞

本研究を実施するにあたり、白山高山帯および亜高山帯での菌類の野外調査に参加する機会を与えて頂いた、池田良幸氏をはじめとする関係各位に感謝申し上げます。白山での野外調査では、石川きのこ会会員の畠中譲二氏、星野保博士、金津五雄氏、北林慶子氏、水谷友紀氏、中垣幸雄氏、都野展子博士、千葉科学大学の塙祥太氏、小林一樹氏にご協力頂いたことを深謝します。また、分子生物学実験に際してご協力頂いた、国立科学博物館植物研究部の南京沃氏ならびに千葉科学大学危機管理学部糟谷研究室の学生諸氏に感謝します。本研究は白山自然保護調査研究会平成26～27年度研究課題「白山におけるきのこ類の多様性と地理的分布に関する研究」の成果の一部であり、研究費を助成頂いたことに謝意を表します。

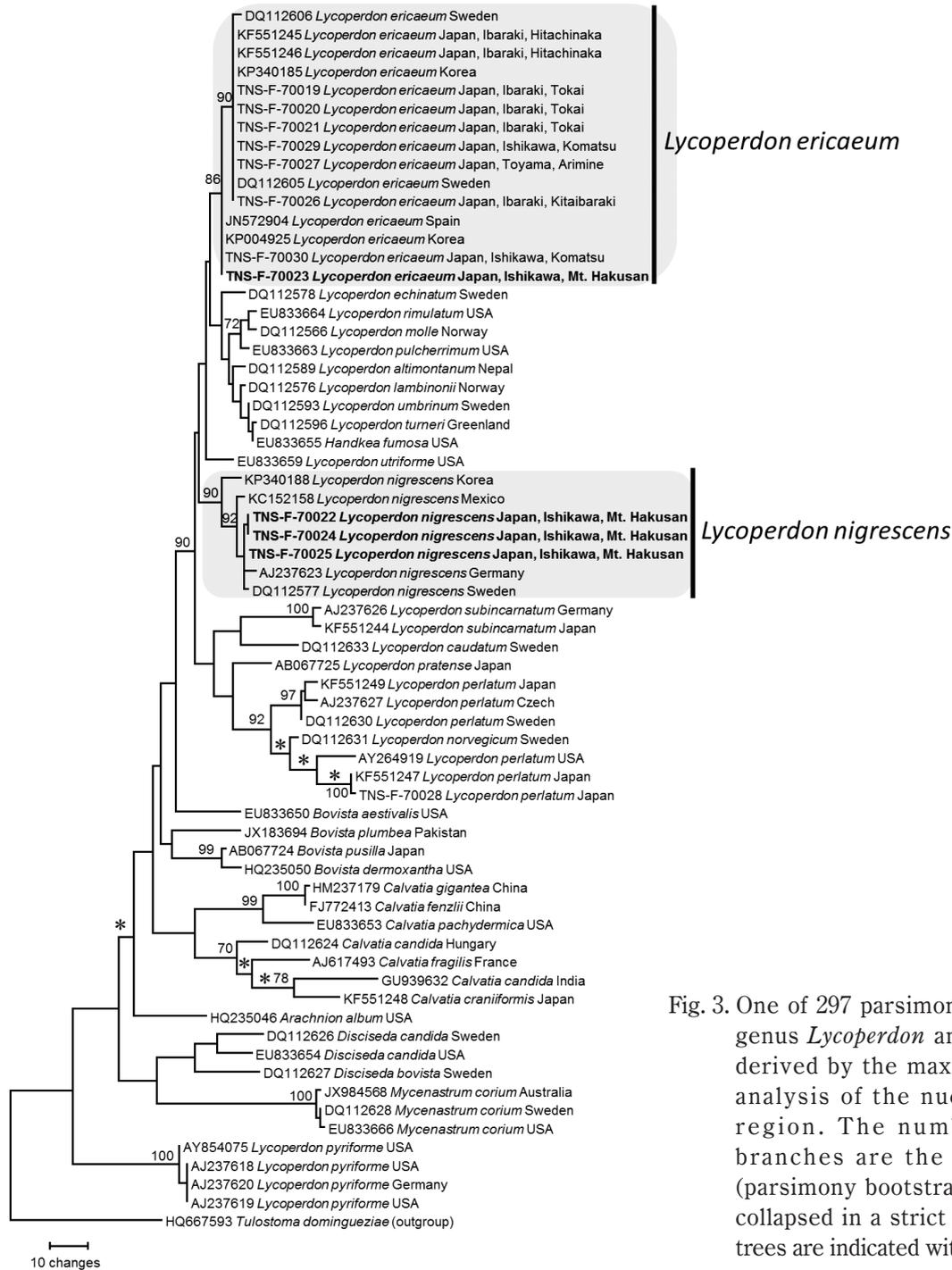


Fig. 3. One of 297 parsimonious trees of the genus *Lycoperdon* and related genera derived by the maximum parsimony analysis of the nuclear rDNA ITS region. The numbers along the branches are the nodal supports (parsimony bootstrap values). Nodes collapsed in a strict consensus of 297 trees are indicated with asterisks (*).

引用文献

Calonge, F. D. (1998) Gasteromycetes, I. Lycoperdales, Nidulariales, Phallales, Sclerodermatales, Tulostomatales. Flora Mycologica Iberica vol. 3. Real Jardín Botánico, Madrid, 271pp.

Eckblad, F. E. (1957) Some Gasteromycetes from Tirich Mir, Chitral State, Western Pakistan. Nytt Magasin for Botanikk 5: 37-39.

Eckblad, F. E. (1984) Gasteromycetes from China collected by Dr. Harry Smith 1921-1923, 1924-1925 and 1934. Sydowia

37: 29-42.

Edgar, R. C. (2004a) MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. Nucleic Acids Research 32: 1792-1797.

Edgar, R. C. (2004b) MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. BMC Bioinformatics 5: 113.

白山産大型菌類調査報告書編集委員会 (2016) 白山産大型菌類 (キノコ) 調査報告—石川県側1977～2010—. 橋本 確文堂, 金沢, 96pp.

- Hall, T. A. (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95-98.
- Hosaka, K. (2009) Phylogeography of the genus *Pisolithus* revisited with some additional taxa from New Caledonia and Japan. *Bulletin of the National Museum of Nature and Science, Series B* 35: 151-167.
- Hosaka, K. and Castellano, M. A. (2008) Molecular phylogenetics of Geastrales with special emphasis on the position of *Sclerogaster*. *Bulletin of the National Museum of Nature and Science, Series B* 34: 161-173.
- Hosaka, K., Kasuya, T., Reynolds, H. T. and Sung, G. H. (2010) A new record of *Elaphomyces guangdongensis* (Elaphomycetaceae, Eurotiales, Fungi) from Taiwan. *Bulletin of the National Museum of Nature and Science, Series B* 36: 107-115.
- 池田良幸 (2014) 追補北陸のきのこ図鑑 付石川県菌草集録. 橋本確文堂. 金沢, 360pp.
- Kasuya, T. (2004) Gasteromycetes of Chiba Prefecture, Central Honshu, Japan. I. The family Lycoperdaceae. *Journal of Natural History Museum and Institute, Chiba* 8: 1-11.
- 糟谷大河 (2011) 日本産ホコリタケ科知見. 6. 茨城県から採集された日本新産種 *Lycoperdon ericaeum*. *日本菌学会会報* 52: 49-53.
- Kasuya, T., Hosaka, K., Uno, K. and Kakishima, M. (2012) Phylogenetic placement of *Geastrum melanocephalum* and polyphyly of *Geastrum triplex*. *Mycoscience* 53: 411-426.
- 糟谷大河・保坂健太郎・榎 典雅 (2015a) 白山高山帯で新たに発見されたホコリヤグラタケ (*Collybia cirrata*). *石川県白山自然保護センター研究報告* 41: 1-8.
- 糟谷大河・河原 栄・榎 典雅 (2015b) 白山高山帯・亜高山帯のきのこ. *白山の自然誌* 35: 1-21.
- 糟谷大河・宇野邦彦・保坂健太郎 (2013) 茨城県におけるヒタチノスナジホコリタケ (担子菌門, ハラタケ科) の追加記録およびその系統的位置. *茨城県自然博物館研究報告* 16: 43-49.
- Kreisell, H. (1969) Gasteromyceten aus Nepal. *Khumbu Himal* 6: 25-36.
- Kreisell, H. (1976) Gasteromyceten aus Nepal II. *Feddes Repertorium* 87: 83-107.
- Kreisell, H. (2001) Checklist of the gasteral and secotioid Basidiomycetes of Europe, Africa, and the Middle East. *Österreichische Zeitschrift für Pilzkunde* 10: 213-313.
- Pegler, D. N., Læssøe, T. and Spooner, B. M. (1995) British puffballs, earthstars and stinkhorns. *Royal Botanic Gardens, Kew*, 255pp.
- Rimóczi, I., Jeppson, M. and Benedek, L. (2011) Characteristic and rare species of Gasteromycetes in Eupannonicum. *Fungi non Delineati* 56: 1-230.
- Seutin, G. B., White, N. and Boag, P. T. (1991) Preservation of avian blood and tissue samples for DNA analyses. *Canadian Journal of Zoology* 69: 82-90.
- Swofford, D. L. (2002) PAUP*: phylogenetic analysis using parsimony and other methods (*PAUP version 4.0 beta 10). Sinauer, Sunderland.
- Thind, K. S. and Thind, I. P. S. (1987) The Gasteromycetes of the Himalayas-VII. *Indian Phytopathology* 40: 451-458
- 榎 典雅・米山競一・池田良幸 (1998) 高山帯・亜高山帯のキノコ. 平成 9 年度生態系多様性地域調査 (白山地区) 環境庁委託業務報告書, pp. 44-60. 岐阜県・石川県.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J. W. (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J. and White, T. J. (eds.), *PCR protocols*. pp. 315-322. Academic Press, New York.
- 山本幸憲・山本里佐恵 (2007) 四国産腹菌類 (1). *高知県の植物* 20: 91-125.