

報告 (Report)

東海地方のホソバコケシノブ (広義) *Hymenophyllum polyanthos*
sensu lato についての調査報告

田中龍作¹・藤井太一²・南基泰^{1,2}

A study on *Hymenophyllum polyanthos sensu lato* in the Tokai region, Central Japan

Ryusaku TANAKA¹, Taichi FUJII² and Motoyasu MINAMI^{1,2}

摘 要

山地渓流域の直射日光が遮られ、安定した高い空中湿度が保たれている露頭や岩には、こうした環境条件が生育に必須な着生シダ植物のホソバコケシノブ (広義) *Hymenophyllum polyanthos* (Sw.) Sw. *sensu lato* (コケシノブ科, Hymenophyllaceae) が生育している。これまで本種は一種と考えられてきたが、形態が酷似している隠蔽種 *H. fujisanense* Nakai, *H. parallelocarpum* Hayata および *H. punctisorum* Rosenst の3種を内包していることが最近明らかとなった。本研究では、東海地方において外部形態からホソバコケシノブ (広義) と同定できたサンプルを採集し、分子系統学的解析を用いて隠蔽種を同定し、それらの形態的特徴と分布域を明らかにした。その結果、東海地方には、3種すべての隠蔽種が生育していることが確認できた。本調査地域でこれら隠蔽種の生育が確認できた地点は、いずれも渓流内や溪畔林内の自然岩で、蘚苔類が生育しているようなコンクリート法面や石垣であっても生育が確認できなかった。日本の山地渓流域における土砂災害・水害等を防止するための工事は、地域固有の植物群落の衰退・消失の一因となっている。そのため、ホソバコケシノブ (広義) のように、山地渓流域に自生する種同定が困難な小型の植物種についても地域絶滅を防ぐための詳細な調査、保全が必要と考えられる。

キーワード：ホソバコケシノブ (広義), 隠蔽種, 着生シダ, 山地渓流域

Abstract

An epiphytic fern *Hymenophyllum polyanthos* (Sw.) Sw. *sensu lato* (Hymenophyllaceae) grows on outcrops and rocks in mountain streams where shading and high stable aerial humidity are retained; these environmental conditions are essential for its growth. This taxon has recently been identified as a species complex consisting of three cryptic species, *H. fujisanense* Nakai, *H. parallelocarpum* Hayata, and *H. punctisorum* Rosenst, which exhibit very similar morphology. In this study, we collected individuals that could be identified as *H. polyanthos sensu lato* based on its external morphology in the Tokai region of Central Japan, and performed molecular phylogenetic analysis to identify three cryptic species and to determine their morphological characteristics and distribution. All three cryptic species were found in this study sites growing on natural rocks in mountainous streams and riparian forests, but not on concrete slopes and stone walls where bryophytes grew. Civil engineering and construction to prevent landslides and floods in mountainous stream areas is one of the factors causing decline and loss of endemic plant communities in Japan. We therefore consider it necessary to conduct detailed surveys and conservation actions to prevent local extinctions of small native plant species, such as *H. polyanthos sensu lato*, which grow in the vicinity of mountainous streams and are difficult to identify the taxon precisely.

¹〒487-8501 愛知県春日井市松本町1200 中部大学大学院応用生物学研究科, ²〒487-8501 愛知県春日井市松本町1200 中部大学応用生物学部

¹ Graduate School of Bioscience and Biotechnology, Chubu University, 1200 Matsumoto-cho, Kasugai City, Aichi Prefecture, 487-8501 Japan,

² Department of Environmental Biology, Chubu University, 1200 Matsumoto-cho, Kasugai City, Aichi Prefecture, 487-8501 Japan

連絡著者：南基泰 (E-mail; motoyasu373@fsc.chubu.ac.jp)

Key words: *Hymenophyllum polyanthos* sensu lato, Cryptic species, epiphytic fern, mountain stream area

(2024年2月14日受付；2025年1月17日受理)

はじめに

日本の山地渓流域には、その地域固有の溪畔林や溪流辺植物群落が発達している（宮脇・奥田，1990）。山地渓流域の林床は連続的に成立している溪畔林や人工林の樹冠によって直射日光が遮られ（崎尾，2000），その林床は安定した高い空中湿度が保たれているため（秋山，1992），着生シダ植物にとって貴重な生育地となっている。一方で，急峻な山地渓流域は土石流等の土砂災害・水害等が頻繁に発生するため，土砂の貯留・調節，治水を目的とした構造物がみられる（崎尾・鈴木，1997）。このような土砂災害・水害等を防止するための工事は，山地渓流域の固有の植物群落の単調化・消失を引き起こす一因となっている（崎尾・鈴木，1997）。

山地渓流域を主な生育地とする着生シダのコケシノブ科（*Hymenophyllaceae*）は，「霞を食べて生きるシダ」とも呼ばれ，一見コケに見えるような小型の着生シダ植物である（海老原，2010）。本科の多くの種は，葉細胞が1層しかない特殊な形態のため *Filmy fern*（膜状シダ）と呼ばれている（Nitta *et al.*, 2021）。一般に植物は体表からの水分蒸発を防ぐクチク

ラ層があるが本科はこれを欠いているので，生育環境の乾燥化にきわめて脆弱な植物といわれている（Nitta *et al.*, 2021）。そのため，本科の生育地環境は，直射日光が遮られて，高い空中湿度が必須条件である。著者らがこれまでに踏査できた東海地方の渓流域において本科が生育確認できた地点は，いずれも溪流内や溪畔林内の自然岩で，蘚苔類が生育しているようなコンクリート法面や石垣であっても生育が確認できなかった（図1）。そのため，主な生育地の山地渓流域における森林伐採，治水工事などの人為的攪乱は，目に留まることが少ない本科の生育環境の劣化・消失の一因となると考えられる。

本科の一種であるホソバコケシノブ（広義）*Hymenophyllum polyanthos* (Sw.) Sw. sensu lato は，世界の熱帯から暖温帯に分布している汎世界分布種であり，日本国内では本州から琉球列島まで広く分布している（海老原，2016a）。近年，日本に分布するホソバコケシノブ（広義）は，葉緑体 *rbcL* 遺伝子および *rps4* 遺伝子と *trnS* 遺伝子の遺伝子間領域を用いた分子系統学的解析により *H. fujisanense* Nakai, *H. parallellocarpum* Hayata および *H. punctisorum* Rosenst が隠



図1. 本調査地域内のホソバコケシノブ（広義）*Hymenophyllum polyanthos* sensu lato の典型的な自生地（撮影日：2023年11月8日）。1a: *H. fujisanense* の自生地（採集地 ID：HP13）。愛知県新城市下吉田の山間部溪流沿いの露頭（写真中の点線円内）に着生。1b: *H. fujisanense* の自生地は，写真左側点線円内の露頭のみで，写真右側のコンクリート吹き付け斜面には着生していなかった。1c: *H. fujisanense* の生育状況。1b) の点線円内に着生している個体群。

Figure 1. A typical habitat of *Hymenophyllum polyanthos* sensu lato in the study area (photographed on November 8, 2023). 1a: A habitat of *H. fujisanense* on an outcrop along a mountain stream (dotted circle) in Shimoyoshida, Shinshiro, Aichi Prefecture, Japan (collecting site ID: HP13). 1b: *H. fujisanense* grew only on the outcrop (within the dotted circle) but not on the concrete-sprayed slope seen on the right side of the photo. 1c: Close-up photo of *H. fujisanense* shown with the dotted circle in Figure 1b.

蔽種として内包されていることが報告されている（Vasques *et al.*, 2019; Vasques and Ebihara, 2022）。これらの報告によると、これまでホソバコケシノブ（広義）とされてきた *H. fujisanense*, *H. parallelocarpum* および *H. punctisorum* は、東海地方にも分布している（Vasques and Ebihara, 2022）。しかし、その分布記録は、一部の地域を除いて過去に採集された押し葉標本の形態的特徴から種同定されている（Vasques and Ebihara, 2022）。*H. punctisorum* は他の2種と比べ小型で、胞子嚢包膜の形状や目立たない葉柄の翼など形態的特徴から種同定可能であるとしている（Vasques and Ebihara, 2022）。一方、*H. fujisanense* と *H. parallelocarpum* は種間で形態的特徴が重複しており、中間の形質を保持する個体がある（Vasques and Ebihara, 2022）。そのため、外部形態では種同定が困難なため、正確な種同定には DNA 情報も必要である（Vasques and Ebihara, 2022）。

本種のように広範囲に分布し、絶滅の危険性が低いと思われる生物種が、実際には異なる分類群の複合体であり、そのうち一部が希少であるか、絶滅に瀕している事例が、様々な生物種で知られている（Frankham *et al.*, 2002）。東海地方の山地渓流域でも、頻繁に発生する土砂災害・水害等防止のため土砂の貯留・調節、治水を目的とした構造物の工事が行われている。そのため、分布状況が詳しく分かっていない *H. fujisanense*, *H. parallelocarpum* および *H. punctisorum* は、人知れず消失していく可能性がある。そこで、東海地方（一部、長野県を含む）の山地渓流域において外部形態からホソバコケシノブ（広義）と同定できた個体を採集し、DNA 情報を用いて隠蔽種を同定し、それらの形態的特徴と分布域の一部を明らかにした。

本研究では、東海地方全域を網羅できていないが、ホソバコケシノブ（広義）のような山地渓流域に固有の山地溪畔林や溪流辺植物群落にのみ生育できる小型の着生シダについて本支部で注目するきっかけとなればと思い、本報告を行うことにした。

供試試料および方法

採集地点

採集地点は、国立国会図書館が運営するジャパンサーチ (<https://jpsearch.go.jp/>) を用いて、過去の記録を参考として選定した。本研究では2021年7月から2022年11月にかけて、愛知県、岐阜県を中心とした東海地方（一部、長野県を含む）（表1）で、海老原（2016b）（表2）に従い葉の外部形態からホソバコケシノブ（広義）と同定できた37サンプルと、分子系統樹のアウトグループとしたコウヤコケシノブ *H. barbatum* (Bosch) Baker（1サンプル）を採集し、供試試料とした。全てのサンプルは、押し葉標本として中部大学応用生物学部環境生物科学科南基泰研究室に保存している。

分子系統学的解析

日本に分布するホソバコケシノブ（広義）に含まれる隠蔽種のうち、*H. punctisorum* は他の2種と比べて小型で、胞子嚢包膜の形状や目立たない葉柄の翼などから種同定可能とされているが、*H. fujisanense* と *H. parallelocarpum* は種間で葉の形態的特徴がほぼ重複している（Vasques and Ebihara, 2022）。そのため、3種の隠蔽種（*H. fujisanense*, *H. parallelocarpum*, *H. punctisorum*）は、外部形態のみで同定するのが困難と考えられる。本調査では Vasques and Ebihara（2022）に従い、葉緑体 *rbcL* 遺伝子領域（以降、*rbcL*）および *rps4-trnS* 遺伝子間領域（以降、*rps4-trnS*）の分子系統学的解析によって隠蔽種を同定した。

採集したホソバコケシノブ（広義）（37サンプル）と分子系統樹のアウトグループとしたコウヤコケシノブ（1サンプル）の新鮮葉から DNeasy Plant Mini Kit（QIAGEN, Hilden, Germany）を用いて、付属の標準プロトコールに従い全 DNA を抽出し、*rbcL* および *rps4-trnS* の鋳型 DNA とした。PCR は MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.3（Takara, Shiga, Japan）を用いて、付属のプロトコールに従い、各プライマー10μM を含む反応液25μL を調整した。PCR 用プライマーとして、*rbcL* は Forward プライマー :5'-ATGTCACCAACAGAGACTAAAGC-3'（Pryer *et al.*, 2001）、Reverse プライマー :5'-CTTTCCAWAYTTTACAAGCAGCAG-3'（Pryer *et al.*, 2001）、*rps4-trnS* は Forward プライマー :5'-GCCGCTAGACAATTAGTCAATC-3'（Hennequin *et al.*, 2003）、Reverse プライマー :5'-TACCGAGGGTTCGAATC-3'（Souza-Chies *et al.*, 1997）を用いた。PCR は両領域とも DNA サーマルサイクラー（Gene Amp PCR System 9700, Applied Biosystems, Beverly, USA）を用いて、熱変性98℃2分を1回行った後、熱変性98℃10秒、アニーリング58℃15秒、伸長反応68℃30秒を1サイクルとして30サイクル行った。PCR 産物は1.5%アガロースゲル電気泳動（1× TBE, 100V, 30分間）で単一バンドであることを確認し、未反応の dNTPs や低分子 DNA を除去するため NucleoMag NGS Clean-up and Size Select（MACHEREY-NAGEL, Düren, Germany）を用いて精製した。シーケンス反応は BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit（Applied Biosystems）を用いて付属の標準プロトコールに従って行い、3500 Genetic Analyzer（Applied Biosystems）を用いてダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定した。その際、*rbcL* は前記した PCR 用プライマー（Pryer *et al.*, 2001）および Pryer *et al.*（2001）が報告したシーケンス用プライマー :5'-CGTATGTCTGGTGGAGATC-3'、さらに著者らが *rbcL* の DNA 配列を参考に受託合成したシーケンス用プライマー :5'-ACCCAATTTTGGTTTGATTGTAC-3' を用いた。*rps4-trnS* については PCR 用プライマー（Hennequin *et al.*, 2003; Souza-Chies *et al.*, 1997）を用いた。本研究で決定した *rbcL* および *rps4-trnS* の配列に、National Center for Biotechnology

表1. 本研究で供試したホソバコケシノブ（広義）*Hymenophyllum polyanthos sensu lato* の隠蔽種 *H. fujisanense*, *H. parallelocarpum* および *H. punctisorum* の採集地点、各サンプルの葉緑体 *rbcL* 遺伝子および葉緑体 *rps4-trnS* 遺伝子間領域のハプロタイプ。
 Table 1. Collecting site details for each sample of *Hymenophyllum polyanthos sensu lato* (Cryptic species: *H. fujisanense*, *H. parallelocarpum*, and *H. punctisorum*) and the haplotypes of *rbcL* gene and *rps4-trnS* intergenic spacer region for chloroplast DNA.

種名 ¹⁾ Scientific name ¹⁾	採集地 ID Collecting site ID	採集地点 Collecting site	緯度 Latitude	経度 Longitude	標高 (m) Altitude (m)	ハプロタイプ ²⁾ Haplotype ²⁾	
						<i>rbcL</i>	<i>rps4-trnS</i>
<i>H. fujisanense</i>	HP1	岐阜県加茂郡七宗町	35.577567	137.122147	263	RC1	RS1
	HP2	Hichiso-cho, Kamo-gun, Gifu Prefecture	35.577628	137.122192	260	RC1	RS1
	HP3		35.579367	137.128367	276	RC1	RS1
	HP4		35.580006	137.129081	286	RC1	RS1
	HP6		35.580939	137.131239	299	RC1	RS1
	HP7		35.580608	137.131244	299	RC1	RS1
	HP12	愛知県新城市下吉田	34.945361	137.644119	246	RC1	RS1
	HP13	Shimoyoshida, Shinshiro, Aich Prefecture	34.945839	137.644281	252	RC1	RS1
	HP14		34.945822	137.644386	257	RC1	RS1
	HP15		34.946883	137.644289	277	RC1	RS1
	HP16		34.950797	137.645203	294	RC1	RS1
	HP17		34.949814	137.643428	288	RC1	RS1
	HP34	愛知県新城市川合	35.020302	137.663513	226	RC1	RS1
	HP35	Kawai, Shinshiro, Aich Prefecture	35.020969	137.663339	217	RC1	RS1
	HP36		35.020624	137.663631	218	RC1	RS1
	HP37		35.021350	137.663669	220	RC1	RS1
	HP38		35.021342	137.663683	221	RC1	RS1
	HP39		35.021334	137.663510	215	RC1	RS1
	HP40		35.021362	137.663312	219	RC1	RS1
	HP41		35.021409	137.664324	252	RC1	RS1
	HP42		35.021562	137.663404	218	RC1	RS1
	HP43		35.021445	137.663492	217	RC1	RS1
	HP44		35.021601	137.663591	222	RC1	RS1
	HP45		35.021703	137.663808	236	RC1	RS1
	HP46		35.021801	137.663754	235	RC1	RS1
	HP47		35.021545	137.663639	225	RC1	RS1
<i>H. parallelocarpum</i>	HP5	岐阜県加茂郡七宗町 Hichiso-cho, Kamo-gun, Gifu Prefecture	35.579853	137.129536	299	RC2	RS2
	HP9	岐阜県山県市神崎 Kanzaki, Yamagata, Gifu Prefecture	35.637133	136.696031	251	RC2	RS2
	HP10	愛知県北設楽郡設楽町	35.076430	137.532766	525	RC2	RS2
	HP11	Sitara-cho, Kitashitara-gun, Aichi Prefecture	35.076430	137.532766	525	RC2	RS2
	HP21	岐阜県山県市円原 Embara, Yamagata, Gifu Prefecture	35.372825	136.740242	388	RC2	RS2
	HP23	岐阜県郡上市美並町 Minami-cho, Gujo, Gifu Prefecture	35.639703	136.926394	288	RC2	RS2
	HP24	岐阜県恵那市東野	35.435608	137.492575	778	RC2	RS2
	HP25	Higashino, Ena, Gifu Prefecture	35.639703	136.926394	288	RC2	RS2
<i>H. punctisorum</i>	HP18	岐阜県中津川市神坂 Misaka, Nakatsugawa, Gifu Prefecture	35.477039	137.614914	1156	RC3	RS3
	HP22	愛知県北設楽郡設楽町 Sitara-cho, Kitashitara-gun, Aichi Prefecture	35.160375	137.574486	898	RC3	RS3
	HP33	長野県木曽郡上松町 Agematsu, Kiso-gun, Nagano Prefecture	35.761911	137.707665	684	RC4	RS3
<i>H. barbatum</i>	outgroup	岐阜県加茂郡七宗町 Hichiso-cho, Kamo-gun, Gifu Prefecture	35.580556	137.130833	297	RC5	RS4

1) 隠蔽種同定は、Vasques and Ebihara (2022) に従い、葉緑体 *rbcL* 遺伝子および葉緑体 *rps4* 遺伝子と *trnS* 遺伝子の遺伝子間領域を用いた分子系統学的解析法で行った。

2) すべてのハプロタイプは DNA Data Bank of Japan に登録した（アクセッション番号、RC1 : LC789032, RC2 : LC789033, RC3 : LC789034, RC4 : LC789035, RC5 : LC789036, RS1 : LC789037, RS2 : LC789038, RS3 : LC789039, RS4 : LC789040）。

1) Cryptic species were identified by molecular phylogenetic analysis according to Vasques and Ebihara (2022) using the *rbcL* gene and the *rps4-trnS* intergenic spacer region for chloroplast DNA.

2) All haplotypes were registered in DNA Data Bank of Japan (Accession nos, RC1: LC789032, RC2: LC789033, RC3: LC789034, RC4: LC789035, RC5: LC789036, RS1: LC789037, RS2: LC789038, RS3: LC789039, RS4: LC789040).

表2. 本研究でホソバコケシノブ（広義） *Hymenophyllum polyanthos sensu lato* を採集する際に参考とした葉の形態的特徴（海老原，2016b）。

Table 2. Morphological characteristics of the leaves used in collecting *Hymenophyllum polyanthos sensu lato* (Ebihara, 2016b).

葉の外観	葉身長 (cm)	葉身幅 (cm)	葉柄長 (cm)	葉軸に対する側羽片角度 (°)	側羽片長 (cm)	側羽片幅 (cm)	側羽片間 距離 (cm)	葉柄の翼	孢子囊群の 位置	孢子囊包 膜形状	孢子囊包膜 長	孢子囊包膜 幅
Physiognomy of lamina	Lamina length (cm)	Lamina width (cm)	Petiole length (cm)	Angle between costa and pinnae (°)	Pinnae length (cm)	Pinnae width (cm)	Pinnae distance (cm)	Petiole wing	Location of sori involucre position	Sori involucre shape	Sori involucre length (mm)	Sori involucre width (mm)
葉身は三角状卵 形から楕円形	3.0~9.9	1.5~4.9	1.3~5.2	45~70	0.5~3.2	0.3~1.9	未記載	最上部の み	裂片先端の 脈端	三角状卵 形 ~楕円形	0.6~1.6	0.6~1.7
Lamina triangular oval to oval							Undocumented	Topmost only	Edge of vein on ultimate segment	Triangular oval to oval		

各測定項目については、図2に示した。ホソバコケシノブ（広義）の葉の形態的特徴については、海老原（2016b）より引用。なお、同定の参考とするため数値は実測値を引用した。

Morphometric details are shown in Figure 2. Descriptions of leaf characteristics of *Hymenophyllum polyanthos sensu lato* are quoted from Ebihara (2016b). Ranges of actual measurement values are shown for identification convenience.

Information (NCBI) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) から引用した隠蔽種 (*H. fujisanense*, *H. parallelocarpum*, *H. punctisorum*) の *rbcL* および *rps4-trnS* の DNA 配列を加えて、分子系統解析用のデータセットとした。分子系統解析用のデータセットは MEGA7 (Kumar *et al.*, 2016) の ClustalW でアライメントし、コウヤコケシノブをアウトグループとして RaxML-ng (Kozlov *et al.*, 2019) で最尤系統樹を構築した。最尤系統樹を構築する際、各領域の最適な塩基置換モデルは、ModelTest-NG v0.1.7 (<https://github.com/ddarriba/modeltest>) (Darriba *et al.*, 2019) を用いて *rbcL* 遺伝子は GTR モデル、*rps4-trnS* 遺伝子間領域は TVM モデルを選択した。最尤系統樹の枝の信頼度は、1000回反復によって得られたブートストラップ値 (Felsenstein, 1985) より検定した。得られた最尤系統樹の描画には FigTree (version 1.4.4) (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>) を用いた。

葉外部形態

本研究で採集された37サンプルの葉外部形態については、Vasques and Ebihara (2022) を参考に、葉の形態を測定した (図2)。ただし、Vasques and Ebihara (2022) は孢子葉 (孢子囊のある葉) のみ測定対象としているが、本研究で採集したサンプルには、孢子葉がなく栄養葉 (孢子囊のない葉) のみのサンプルもあった。本研究で葉外部形態を測定した目的は、*H. punctisorum* は他の2種と比べ小型で、孢子囊包膜の形状や目立たない葉柄の翼など形態的特徴から種同定可能であるが、*H. fujisanense* と *H. parallelocarpum* は種間で形態的特徴が重複しているため種同定困難であることを検証することである (Vasques and Ebihara, 2022)。そのため、Vasques and Ebihara (2022) より各測定項目の最小値~最大値を引用し、本研究で測定した孢子葉の各測定項目の最小値~最大値と比較した (表3)。各項目の測定数は、Vasques and Ebihara (2022) を参考に1サンプルから葉を3枚選択した (ただし、葉の一部が欠損しているため3枚選択できない場合には、2枚とした)。なお、

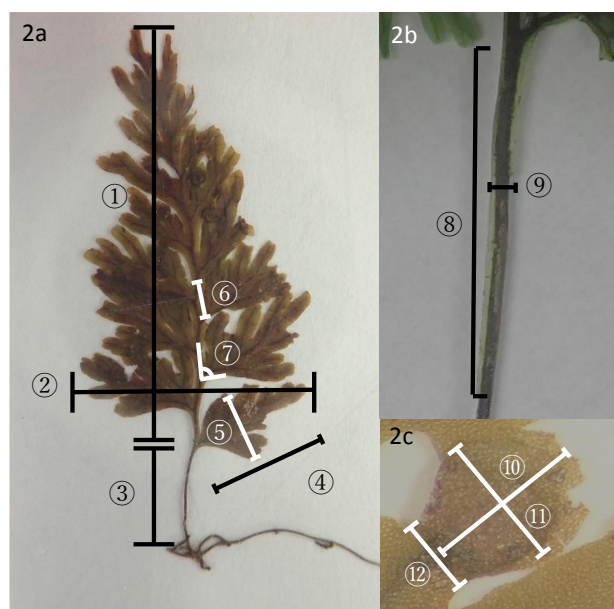


図2. 本研究で測定したホソバコケシノブ（広義） *Hymenophyllum polyanthos sensu lato* の葉形態部位。2a: ① 葉身長、② 葉身幅、③ 葉柄長、④ 側羽片長、⑤ 側羽片幅、⑥ 側羽片間距離、⑦ 葉軸に対する側羽片角度。2b: ⑧ 葉柄の翼長、⑨ 葉柄の翼幅。2c: ⑩ 孢子囊包膜長、⑪ 孢子囊包膜幅、⑫ 孢子囊包膜の狭窄指数 (孢子囊基部幅 / 孢子囊着生部下の側羽片幅の割合)。形態測定は、Vasques and Ebihara (2022) に準じた。測定部位の見本に用いたサンプルは、図2aと図2cが *H. punctisorum* (サンプル ID: HP18-1)、図2bは *H. parallelocarpum* (サンプル ID: H24-1)。

Figure 2. Morphometric descriptions of *Hymenophyllum polyanthos sensu lato* leaves; 2a: ① lamina length, ② lamina width, ③ petiole length, ④ pinna length, ⑤ pinna width, ⑥ pinnae distance, ⑦ angle between costa and pinna. 2b: ⑧ petiole wing length, ⑨ petiole wing width. 2c: ⑩ sori involucre length, ⑪ sori involucre width, ⑫ constriction index of sori involucre (width of sori basis / width of pinnae below sori insertion region). The morphometrics conform to Vasques and Ebihara (2022). Samples used for the morphometrics were *H. punctisorum* (sample ID: HP18-1) in Figs. 2a and 2c, and *H. parallelocarpum* (sample ID: H24-1) in Figure 2b.

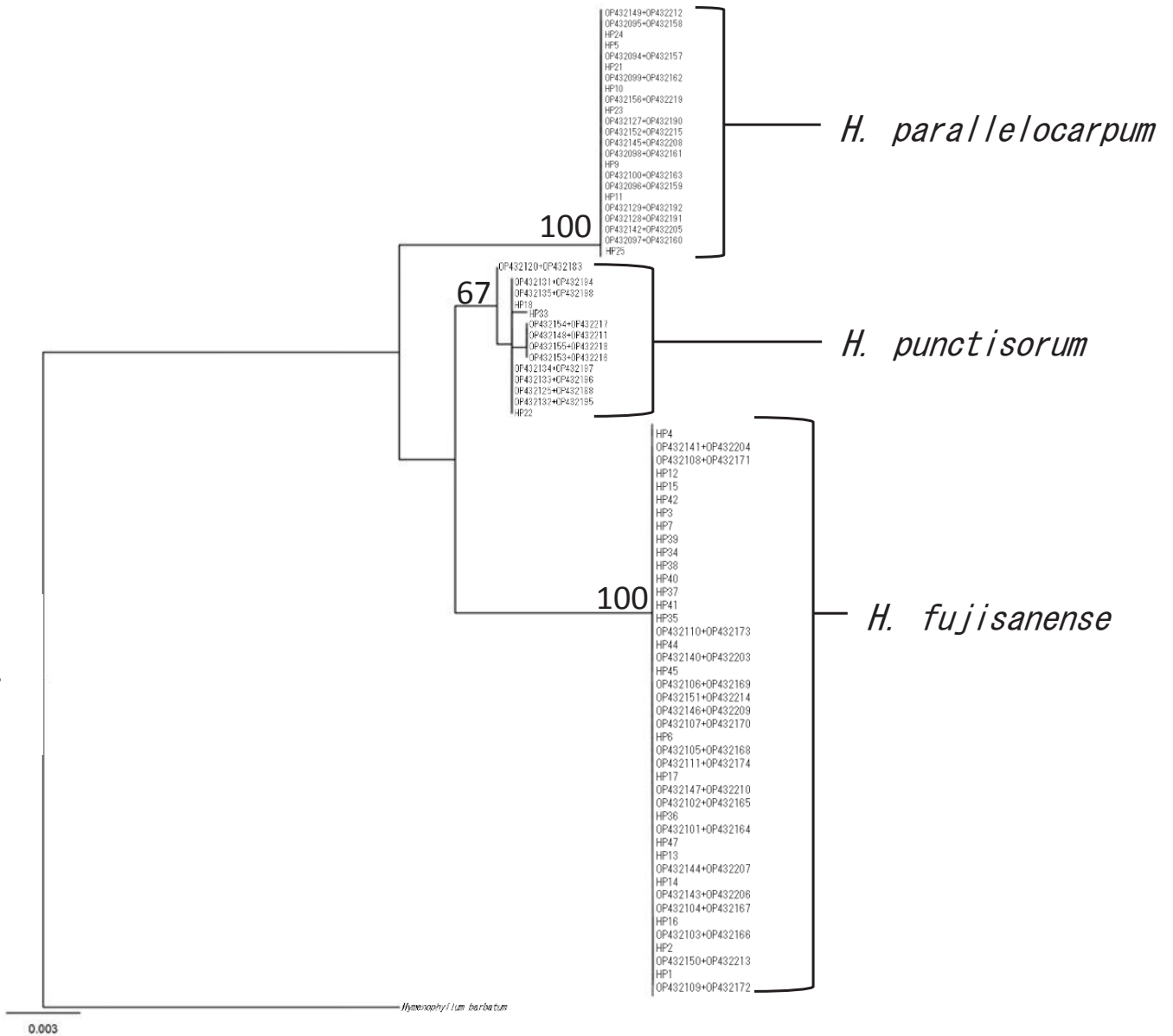


図3. ホソバコケシノブ（広義）*Hymenophyllum polyanthos* sensu lato の隠蔽種 *H. fujisanense*, *H. parallelocarpum* および *H. punctisorum* の葉緑体 *rbcL* 遺伝子および葉緑体 *rps4-trnS* 遺伝子間領域によって構築された最尤系統樹。塩基置換モデルは、葉緑体 *rbcL* 遺伝子は GTR モデル、葉緑体 *rps4-trnS* 遺伝子間領域は TVM モデルを用いた。枝上の数字は1000回のブートストラップ値が60%以上ののみを示した。図中のスケールは塩基置換数 (0.003/塩基) を示す。本研究で供試した採集地 ID は HP と数字で示した。National Center for Biotechnology Information に登録されている各隠蔽種の葉緑体 *rbcL* 遺伝子および葉緑体 *rps4-trnS* 遺伝子間領域の DNA 配列は、同一サンプルのものを引用し、それぞれのアクセッション番号を葉緑体 *rbcL* 遺伝子 + 葉緑体 *rps4-trnS* 遺伝子間領域の順に記載した。アウトグループとして本研究で採集した *H. barbatum* を用いた (DDBJ に登録したアクセッション番号は、付録 1 を参照)。

Figure 3. Maximum-likelihood tree for the *rbcL* gene and the *rps4-trnS* intergenic spacer region for chloroplast DNA of *Hymenophyllum polyanthos* sensu lato (Cryptic species: *H. fujisanense*, *H. parallelocarpum*, and *H. punctisorum*). Nucleotide substitution models used were the GTR model for the *rbcL* gene and the TVM model for the *rps4-trnS* intergenic spacer region. Numbers on the branches show bootstrap probability based on 1000 replicates; only values exceeding 60% are shown. The scale bar indicates 0.003 substitutions per site. Collecting site ID is indicated by adding HP before individual number. The DNA sequences of *rbcL* gene and *rps4-trnS* intergenic spacer region, confirmed from the same sample as the *rbcL* gene, is cited in this order by the accession number of each cryptic species registered in the National Center for Biotechnology Information. *H. barbatum* collected in the present study (DDBJ accession nos. are shown in Appendix 1) was used as the outgroup.

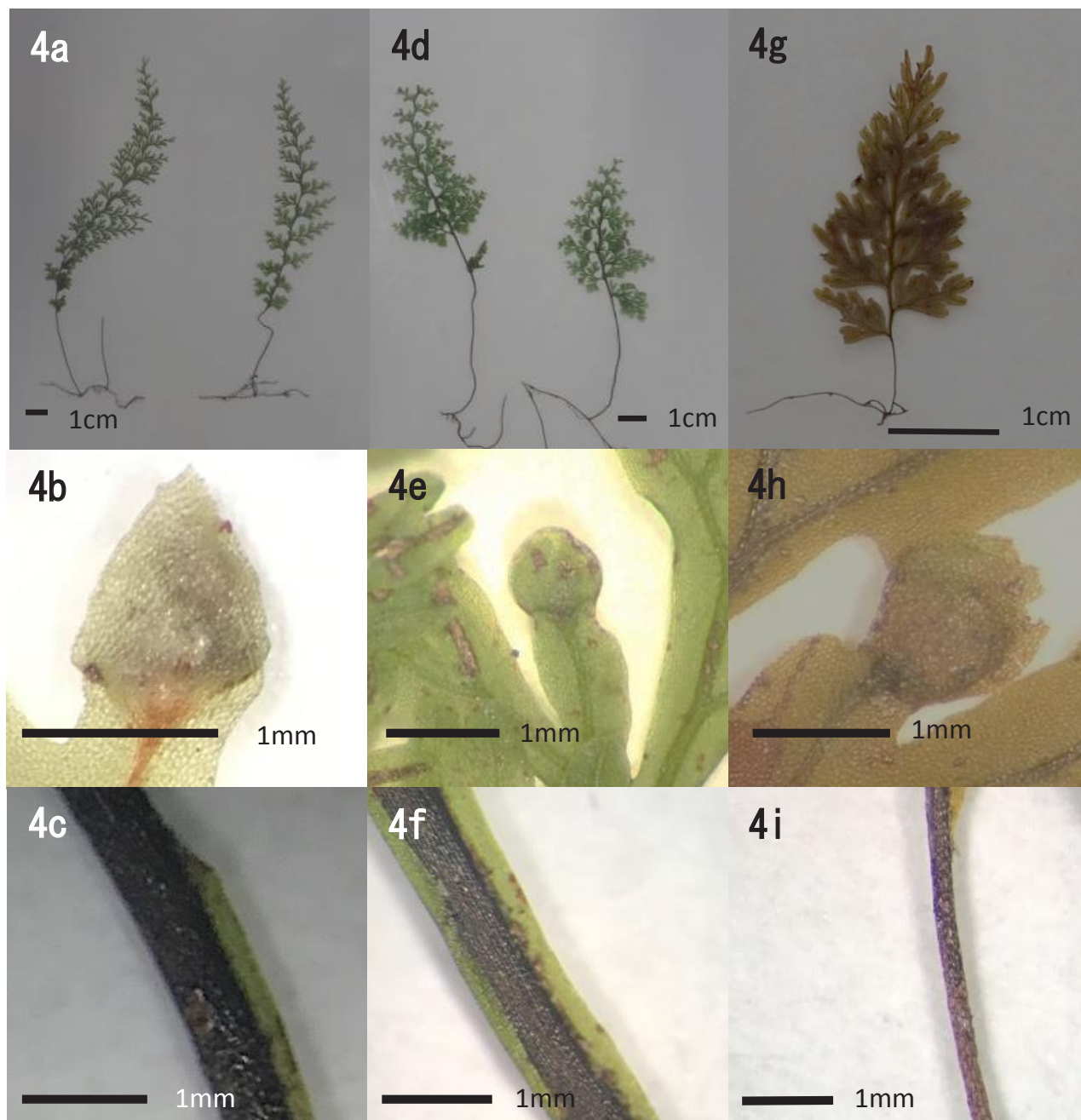


図4. 本研究で供試したホソバコケシノブ（広義）の典型的な隠蔽種 *Hymenophyllum fujisanense*, *H. parallellocarpum* および *H. punctisorum*. 種同定は, Vasques and Ebihara (2022) に従い, 葉緑体 *rbcl* 遺伝子および葉緑体 *rps4* 遺伝子と *trnS* 遺伝子の遺伝子間領域を用いた分子系統学的解析法で行った. *H. fujisanense* (サンプル ID: HP3-1): 4a 植物体外観, 4b 包膜, 4c 葉柄の翼, *H. parallellocarpum* (サンプル ID: HP24-1): 4d 植物体外観, 4e 包膜, 4f 葉柄の翼, *H. punctisorum* (サンプル ID: HP18-1): 4g 植物体外観, 4h 包膜, 4i 葉柄の翼.

Figure 4. Photographs of *Hymenophyllum polyanthos* sensu lato (Typical cryptic species: *H. fujisanense*, *H. parallellocarpum*, and *H. punctisorum*). Cryptic species were identified by molecular phylogenetic analysis using the *rbcl* gene and the *rps4-trnS* intergenic spacer region for chloroplast DNA according to Vasques and Ebihara (2022). *H. fujisanense* (sample ID: HP3-1): 4a, plant body; 4b, sori involucre; 4c, petiole wing. *H. parallellocarpum* (sample ID: HP24-1): 4d, plant body; 4e, sori involucre; 4f, petiole wing. *H. punctisorum* (sample ID: HP18-1): 4g, plant body; 4h, sori involucre; 4i, petiole wing.

表3. 本研究の供試サンプルと既報 (Vasques and Ebihara, 2022) から引用したホンバコケシノブ (広義) *Hymenophyllum polyanthos* sensu lato の隠蔽種 *H. fujisanense*, *H. parallellocarpum* および *H. punctisorum* の孢子葉の形態的特徴比較.

Table 3. Morphological comparison of fertile frond of *Hymenophyllum polyanthos* sensu lato (Cryptic species: *H. fujisanense*, *H. parallellocarpum*, and *H. punctisorum*) between this study and a previous report (Vasques and Ebihara, 2022) .

種名 Scientific name	測定項目 ¹⁾ measurement items ¹⁾						
	葉の外観 ²⁾ Physiognomy of lamina ²⁾	葉身長 (cm) Lamina length (cm)	葉身幅 (cm) Lamina width (cm)	葉柄長 (cm) Petiole length (cm)	側羽片長 (cm) Pinnae length (cm)	側羽片幅 (cm) Pinnae width (cm)	側羽片間距離 (cm) Pinnae distance (cm)
<i>H. fujisanense</i>	最も大型 Largest plant body of the three cryptic species	3.4~13.1 (3.2~16.5)	1.4~5.5 (1.5~4.8)	0.4~5.1 (1.1~8.5)	0.8~3.0 (0.8~4.0)	0.5~1.4 (0.4~2.0)	0.2~0.6 (0.2~0.9)
<i>H. parallellocarpum</i>	葉柄が相対的に長い Relatively long petioles	5.4~7.9 (3.5~10.6)	3.2~3.8 (1.4~4.5)	4.7~5.1 (0.7~5.7)	1.6~2.2 (0.6~3.8)	1.0~1.2 (0.4~1.6)	0.4 (0.2~0.6)
<i>H. punctisorum</i>	最も小型で、葉柄の翼が目立たず、 孢子嚢は小さく、卵形で基部が収縮している Smallest plant of the three cryptic species; petiole wing inconspicuous, sori involucre small and orbicular with its base prominently contracted	1.7~3.1	0.9~2.0	0.5~1.1	0.5~1.1	0.3~0.9	0.2~0.3
		(1.9~6.6)	(1.2~2.9)	(0.4~5.1)	(0.7~1.8)	(0.4~1.3)	(0.1~0.6)

種名 Scientific name	測定項目 ¹⁾ measurement items ¹⁾						
	葉軸に対する側羽片角度 (°) Angle between costa and pinnae (°)	葉柄の翼長 (mm) ()Petiole wing length (mm)	葉柄の翼幅 (mm) ()Petiole wing width (mm)	孢子嚢包膜形状 ²⁾ Sori involucre shape ²⁾	孢子嚢包膜長 (mm) Sori involucre length (mm)	孢子嚢包膜幅 (mm) Sori involucre width (mm)	孢子嚢包膜の狭窄指数 Constriction index of sori involucre
<i>H. fujisanense</i>	50~75 (40~79)	0~51.4 (0.7~47.0)	0~0.81 (0.07~0.42)	卵形。先端が鋭く尖る ovate with an acute apex	0.56~1.43 (0.55~1.90)	0.51~1.20 (0.53~1.34)	0.62~1.36 (0.65~1.26)
<i>H. parallellocarpum</i>	65~90 (50~120)	0 (0~42.0)	0 (0~0.39)	先端は円形~鋭角 round to acute apex	0.59~0.69 (0.6~1.63)	0.62~0.74 (0.65~1.28)	0.65~0.88 (0.70~1.33)
<i>H. punctisorum</i>	60~85 (50~90)	0~1.80 (0~0.90)	0~0.36 (0~0.10)	小さく球状で、基部が縮小 small, orbicular with prominently contracted base	0.59~1.46 (0.33~1.40)	0.63~1.16 (0.39~1.20)	0.55~0.93 (0.42~1.76)

表中の各数値は、本研究と Vasques and Ebihara (2022) との比較のため最小値 最大値を示した。上段は本研究での測定結果、下段の括弧内は Vasques and Ebihara (2022) Supplement Table S3 より引用したものを示した。
1) 各測定項目については、図2に示した。

2) *H. fujisanense*, *H. parallellocarpum* および *H. punctisorum* の葉外観および孢子嚢包膜形状については、Vasques and Ebihara (2022) の本文より引用した。

The range of minimum and maximum values are shown. The values in the upper row are the results of this study; values in parentheses in the lower rows are cited from the Supplement Table S3 of Vasques and Ebihara (2022) .

1) Morphometric details are shown in Figure 2.

2) Physiognomy of lamina and sori involucre shape are quoted from Vasques and Ebihara (2022) .

栄養葉も孢子嚢包膜に関する項目以外の測定項目についても参考のため、付録1に記載した。

結果および考察

分子系統学的解析

葉外部形態を測定したホソバコケシノブ（広義）37サンプルとアウトグループとした同属のコウヤコケシノブ1サンプルの合計38サンプルの *rbcL* および *rps4-trnS* の塩基配列が決定できた。本研究で供試した38サンプルの *rbcL* は5つのハプロタイプ(RC1~RC5)に、*rps4-trnS* は4つのハプロタイプ(RS1~RS4)に区分できた(表1)。また、各ハプロタイプのDNA配列については、DNA Data Bank of Japanに登録した(アクセッション番号, RC1: LC789032, RC2: LC789033, RC3: LC789034, RC4: LC789035, RC5: LC789036, RS1: LC789037, RS2: LC789038, RS3: LC789039, RS4: LC789040)。

本研究で供試した38サンプルとNCBIに登録されている *H. fujisanense*, *H. parallelocarpum*, *H. punctisorum* の *rbcL* および *rps4-trnS* の両DNA配列を合わせて、構築した最尤系統樹(図3)は、Vasques and Ebihara (2022)の報告と同様に、*H. fujisanense*, *H. parallelocarpum*, *H. punctisorum* の3つのクレードに分かれた。本研究で供試したサンプルはいずれかのクレードに含まれ、その内訳は *H. fujisanense* 26サンプル, *H. parallelocarpum* 8サンプル, *H. punctisorum* 3サンプルであった。以上のことから、本研究で採集され、葉外部形態から同定されたホソバコケシノブ（広義）は、Vasques and Ebihara (2022)の報告と同様に、*H. fujisanense*, *H. parallelocarpum*, *H. punctisorum* の種複合体であることが明らかとなった。

葉外部形態

分子系統学的解析から *H. fujisanense*, *H. parallelocarpum*, *H. punctisorum* と同定された供試サンプルの葉外部形態の各測定項目は孢子葉、栄養葉ともに付録1に示し、孢子葉のみ Vasques and Ebihara (2022) との比較のため最小値~最大値を表3に示した。また、典型的な *H. fujisanense*, *H. parallelocarpum*, *H. punctisorum* を図4に示した。

本研究で採集された3種の葉の外観は、*H. fujisanense* は他の2種に比べ大型で葉身長が13.1cmに及ぶ個体も確認され、*H. parallelocarpum* は葉柄長が相対的に長くなり、本研究においても Vasques and Ebihara (2022) の報告と同様の傾向が認められた。しかし、*H. fujisanense* と *H. parallelocarpum* の葉身、葉柄、孢子嚢包膜の量的形質は重複していた。一方、*H. punctisorum* は、Vasques and Ebihara (2022) の報告と同様に、他の2種と比べて明らかに小型で、孢子嚢包膜基部には顕著な狭窄が見られた(図4h)。しかし、葉身長以外は、*H. punctisorum* は他の2種と葉身、葉柄、孢子嚢包膜の量的形質

が重複しているため、葉の形態的特徴から3種を厳密に識別することはできなかった。

生育環境

本研究で採集された3種の生育地点の標高は *H. punctisorum* が 912.7 ± 193 m (平均±標準偏差, 以降同様) と最も高標高域で、次いで *H. parallelocarpum* が 417.8 ± 169.3 m, *H. fujisanense* は 233.8 ± 37.2 m となり, Vasques and Ebihara (2022) の標本調査による傾向と一致した。東海地方は日本屈指の高山地帯から海岸までの大きな標高差と、それに応じた多様な自然環境を擁する地域であり(環境省中部地方環境事務所, 2008), 日本列島における一大自然植物園的な植物相・植生を呈する地方である(南川, 1989)。東海地方に生育環境が異なる3種の隠蔽種すべてが生育しているのは、山地渓流域環境の多様性を象徴しているともいえる。一方、本研究で調査した山地渓流域では、土砂の貯留・調節、治水を目的とした構造物にはこれら3種だけでなく、これ以外のコケシノブ科植物の生育も確認できなかった。コケシノブ科のような着生シダは攪乱に極めて弱く、攪乱後に新しい個体群が定着するのは稀である(Watkins *et al.*, 2007)。山地渓流域における森林伐採や治水工事による生育環境の乾燥化や攪乱は、溪畔林の湿潤な環境に適応したコケシノブ科だけでなく他の動植物の衰退・消失の一因となることが危惧される(玉井, 1994)。

まとめ

日本のホソバコケシノブ（広義）を構成する3種の隠蔽種は、存在が確認されたこと自体がごく最近であり、地域個体群レベルでの詳細な研究は未だ行われていない。本研究で調査した山地渓流域では、土砂の貯留・調節、治水を目的とした構造物には *H. fujisanense*, *H. parallelocarpum*, *H. punctisorum* だけでなく、これ以外のコケシノブ科の生育も確認できなかった。本研究対象とした *H. fujisanense*, *H. parallelocarpum*, *H. punctisorum* は小型であるため目に留まることが少ないだけでなく、葉の形態では同定できないのでDNAバーコーディングを行う必要がある。そのため、同定作業は、コストだけでなく、煩雑な作業が必要になり、アカデミアでなくてはできないことも調査対象とする際の大きな課題となる。特定地域の個体群が衰退・消失することは、未分類の種の絶滅を引き起こす可能性がある(上野・江口, 2023)。Vasques and Ebihara (2022)によれば、おそらく *H. parallelocarpum* はホソバコケシノブ（広義）を構成する3種の隠蔽種の中で最も広域に分布すると報告されている。本調査では地点ごとに採集されたサンプル数に大きな偏りがあるため、東海地方での3種の詳細な分布範囲を明らかにするためには、今後はさらに広範囲の調査が必要である。

引用文献

- 秋山弘之 (1992) 蘚苔類の溪流沿い植物. *Plant Morphology*, **4** (1): 23-28.
- Darriba, D., Posada, D., Kozlov, A. M., Stamatakis, A., Morel, B. and Flouri, T. (2019) ModelTest-NG: a new and scalable tool for the selection of DNA and protein evolutionary models. *Molecular Biology and Evolution*, **37** (1): 291-294.
- 海老原淳 (2010) 謎のニューカレドニア産シダ植物 *Rosenstockia* の正体を探る. 国立科学博物館, https://www.kahaku.go.jp/research/researcher/my_research/botany/ebihara/index.html. 最終閲覧日2023年12月22日.
- 海老原淳 (2016a) ホソバコケシノブ, 日本産シダ植物標準図鑑 I, 海老原淳 (著), 日本シダの会 (企画・協力): 309. 学研プラス, 東京.
- 海老原淳 (2016b) 形態比較表ホソバコケシノブ, 日本産シダ植物標準図鑑 I, 海老原淳 (著), 日本シダの会 (企画・協力): 318. 学研プラス, 東京.
- Felsenstein, J. (1985) Phylogenies and the comparative method. *The American Naturalist*, **125** (1): 1-15.
- Frankham, R., Ballou, J. D., Briscoe, D. A. and Ballou, J. D. (2002) Introduction to conservation genetics. Cambridge University Press, Cambridge; 西田睦 (監訳), 高橋洋・山崎裕治・渡辺勝敏 (訳) (2007) 保全遺伝学入門, 文一総合出版, 東京.
- Hennequin, S., Ebihara, A., Ito, M., Iwatsuki, K. and Dubuisson, J. Y. (2003) Molecular systematics of the fern genus *Hymenophyllum* s.l. (Hymenophyllaceae) based on chloroplastic coding and noncoding regions. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **27** (2): 283-301.
- 環境省中部地方環境事務所 (2008) 平成19年度国土施策創発調査中部地域における環境と経済, 社会の統合的向上モデル検討調査報告書. https://chubu.env.go.jp/report/data/report_1_1.pdf. 最終閲覧日2023年12月22日.
- Kozlov, A. M., Darriba, D., Flouri, T., Morel, B. and Stamatakis, A. (2019) RAxML-NG: a fast, scalable and user-friendly tool for maximum likelihood phylogenetic inference. *Bioinformatics*, **35** (21): 4453-4455.
- Kumar, S., Stecher, G., Tamura, K. (2016) MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution*, **33** (7): 1870-1874.
- 崎尾均・鈴木和次郎 (1997) 水辺の森林植生 (溪畔林・河畔林) の現状・構造・機能および砂防工事による影響. 砂防学会誌, **49** (6): 40-48.
- 崎尾均 (2000) 水辺林 (溪畔林) の動態, 生態的機能および保全・再生指針. 水利科学, **44**(5): 31-54.
- 宮脇昭・奥田重俊 (1990) 日本植物群落図説. 至文堂, 東京.
- 南川幸 (1989) 中部地方における照葉樹林帯の植生. 芝草研究, **18**(2): 6-8.
- Nitta, J. H., Watkins, J. E., Holbrook N. M., Wang T. W. and Davis C. C. (2021) Ecophysiological differentiation between life stages in filmy ferns (Hymenophyllaceae). *Journal of Plant Research*, **134**: 971-988.
- Pryer, K. M., Smith, A. R., Hunt, J. S. and Dubuisson, J.-Y. (2001). rbcL data reveal two monophyletic groups of filmy ferns (Filicopsida: Hymenophyllaceae). *American Journal of Botany*, **88** (6): 1118-1130.
- Souza-Chies, T. T., Bittar, G., Nadot, S., Carter, L., Besin, E. and Lejeune, B. (1997) Phylogenetic analysis of *Iridaceae* with parsimony and distance methods using the plastid gene *rps 4*. *Plant Systematics and Evolution*, **204**: 109-123.
- 玉井元治 (1994) コンクリート材料. コンクリート工学, **32** (11): 64-69.
- 上野裕介・江口健斗 (2023) 小型サンショウウオ類から見たインターネット・オークションによる希少野生生物の取引実態. 保全生態学研究, doi.org/10.18960/hozen.2218.
- Vasques, D. T., Ebihara, A., Hirai, R. Y., Prado, J. and Motomi, I. (2019) Phylogeny of *Hymenophyllum* subg. *Mecodium* (Hymenophyllaceae), with special focus on the diversity of the *Hymenophyllum polyanthos* species complex. *Plant Systematics and Evolution*, **305**: 811-825.
- Vasques, D. T. and Ebihara, A. (2022) Phylogeny, morphology and distribution of the *Hymenophyllum polyanthos* (Sw.) Sw. species complex (Hymenophyllaceae, Polypodiidae). *Taiwania*, **67** (4): 524-538.
- Watkins Jr, J. E., Mack, M. K., & Mulkey, S. S. (2007) Gametophyte ecology and demography of epiphytic and terrestrial tropical ferns. *American Journal of Botany*, **94**(4): 701-708.

(担当編集委員: 野崎健太郎, 相山女学園大学教育学部)

東海地方のホソバコケシノブ（広義） *Hymenophyllum polyanthos sensu lato* についての調査報告

付録1. 本研究で供試サンプルとしたホソバコケシノブ（広義） *Hymenophyllum polyanthos sensu lato* の隠蔽種 *H. fujisanense*, *H. parallelocarpum* および *H. punctisorum* の葉形態データ.

Appendix 1. The data of morphological characteristics of *Hymenophyllum polyanthos sensu lato* (Cryptic species: *H. fujisanense*, *H. parallelocarpum*, and *H. punctisorum*) used in this study.

種名 ¹⁾	サンプル ID	測定項目 ²⁾												
		胞子葉 / 栄養葉 ³⁾	葉身長 (cm)	葉身幅 (cm)	葉柄長 (cm)	側羽片長 (cm)	側羽片幅 (cm)	側羽片間 距離 (cm)	葉軸に對する 側羽片 角度 (°)	葉柄の翼長 (mm)	葉柄の翼幅 (mm)	胞子嚢包膜 長	胞子嚢包膜 幅	胞子嚢包膜 の狭窄指数
Scientific name ¹⁾	Sample ID	Fertile frond / Sterile frond ³⁾	Lamina length (cm)	Lamina width (cm)	Petiole length (cm)	Pinnæ length (cm)	Pinnæ width (cm)	Pinnæ distance (cm)	Angle between costa and pinnæ (°)	Petiole wing length (mm)	Petiole wing width (mm)	Sori involucre length (mm)	Sori involucre width (mm)	Constriction index of sori involucre
<i>H. fujisanense</i> .	HP1-1	F	10.8	1.7	2.3	1.2	0.6	0.4	70	0	0	0.95	0.75	1.10
	HP1-2	F	7.4	1.9	2.4	1.6	0.5	0.4	60	0	0	1.11	0.84	1.11
	HP1-3	F	7.2	1.7	1.9	1.2	0.6	0.4	50	0	0	0.90	0.74	1.36
	HP2-1	S	6.0	1.2	1.9	0.8	0.4	0.4	65	0	0	—	—	—
	HP2-2	S	6.0	1.1	1.8	0.9	0.4	0.5	70	0	0	—	—	—
	HP2-3	S	6.5	1.3	3.5	1.1	0.5	0.2	60	0	0	—	—	—
	HP3-1	F	5.9	2.3	1.4	1.3	1.0	0.4	75	10.03	0.51	0.98	0.90	1.02
	HP3-2	F	4.2	1.6	0.4	0.8	0.7	0.3	60	4.29	0.50	0.81	0.63	1.21
	HP3-3	F	5.2	2.3	2.0	1.0	1.0	0.4	70	20.33	0.36	0.69	0.74	0.62
	HP4-1	F	3.4	1.9	0.6	0.8	0.7	0.3	70	5.66	0.69	0.96	0.81	1.20
	HP4-2	S	2.4	1.4	0.5	0.6	0.6	0.3	70	4.68	0.53	—	—	—
	HP4-3	S	3.2	1.7	0.6	0.8	0.8	0.3	80	5.77	0.38	—	—	—
	HP6-1	F	6.5	3.0	4.5	1.6	1.1	0.4	65	39.76	0.75	1.35	0.90	1.04
	HP6-2	F	7.0	3.5	3.6	2.7	1.0	0.4	55	29.54	0.69	1.28	1.02	1.12
	HP6-3	F	6.8	2.3	3.4	1.2	0.6	0.4	60	19.08	0.65	1.26	0.93	1.25
	HP7-1	F	11.4	2.1	2.3	1.1	0.8	0.4	50	4.80	0.30	1.17	0.69	1.03
	HP7-2	S	9.1	1.9	1.4	1.1	0.7	0.5	55	0	0	—	—	—
	HP7-3	S	13.7	2.1	2.4	1.5	0.7	0.4	65	0	0	—	—	—
	HP12-1	S	6.1	1.3	3.0	0.9	0.6	0.5	50	26.48	0.38	—	—	—
	HP12-2	S	3.2	1.8	0.8	0.8	0.6	0.3	60	7.62	0.38	—	—	—
	HP12-3	S	3.4	1.0	1.1	0.5	0.4	0.4	50	10.51	0.53	—	—	—
	HP13-1	S	3.7	1.7	1.0	1.0	0.6	0.4	40	9.64	0.77	—	—	—
	HP13-2	S	2.9	1.5	1.1	0.8	0.6	0.3	55	8.90	0.38	—	—	—
	HP13-3	S	2.2	1.3	0.3	0.6	0.4	0.3	50	3.21	0.59	—	—	—
	HP14-1	F	5.5	1.7	1.2	1.2	0.6	0.3	55	10.24	0.59	0.95	0.68	0.76
	HP14-2	F	4.4	1.5	1.2	0.9	0.7	0.4	45	10.97	0.47	0.90	0.74	0.73
	HP14-3	F	4.7	1.9	0.8	1.3	0.8	0.2	50	8.43	0.60	1.11	0.92	0.89
	HP15-1	S	10.5	4.8	3.7	3.6	1.1	0.4	60	30.95	0.59	—	—	—
	HP15-2	S	6.6	3.2	1.9	2.3	1.1	0.5	60	16.32	0.59	—	—	—
	HP15-3	F	9.2	3.5	3.4	2.8	0.9	0.5	60	32.63	0.45	1.14	1.20	0.79
	HP16-1	F	4.5	1.4	2.5	0.8	0.5	0.4	55	23.61	0.45	0.56	0.60	0.70
	HP16-2	F	7.6	2.3	1.7	1.3	1.0	0.4	50	14.72	0.36	1.02	0.90	1.19
	HP16-3	F	6.8	2.1	2.2	1.1	0.9	0.4	60	22.26	0.48	0.69	0.51	0.62
	HP17-1	S	5.6	1.4	0.6	1.0	0.5	0.3	50	5.95	0.47	—	—	—
	HP17-2	S	4.5	2.5	1.0	1.6	0.7	0.4	60	7.77	0.39	—	—	—
	HP17-3	S	5.9	1.5	1.7	1.4	0.8	0.4	50	16.48	0.57	—	—	—
	HP34-1	S	4.4	2.2	1.5	1.4	1.0	0.3	65	14.64	0.51	—	—	—
	HP34-2	S	5.3	2.0	1.7	1.1	0.6	0.3	65	17.41	0.39	—	—	—
	HP34-3	S	5.4	2.5	1.1	1.4	0.7	0.4	70	10.73	0.45	—	—	—
	HP35-1	F	3.8	2.0	0.7	1.0	0.5	0.3	70	6.85	0.60	0.75	0.69	1.12
	HP35-2	F	3.6	2.0	0.7	1.0	0.5	0.3	60	0	0	0.84	0.66	1.13
	HP35-3	F	3.9	1.9	0.7	1.1	0.7	0.3	75	6.65	0.44	0.84	0.69	1.03
	HP36-1	S	3.6	2.1	1.3	1.0	0.6	0.2	65	13.05	0.39	—	—	—
	HP36-2	S	2.8	1.8	1.2	0.9	0.6	0.3	75	11.87	0.38	—	—	—
	HP36-3	S	2.8	1.5	1.0	0.9	0.6	0.2	60	10.04	0.63	—	—	—
	HP37-1	S	4.1	1.9	1.3	1.0	0.7	0.3	60	12.70	0.48	—	—	—
	HP37-2	S	3.8	1.6	1.2	0.9	0.6	0.3	70	11.91	0.42	—	—	—
	HP37-3	S	3.9	1.9	1.0	1.1	0.7	0.2	70	10.29	0.45	—	—	—
	HP38-1	S	4.8	1.1	1.2	0.8	0.5	0.3	60	11.49	0.45	—	—	—
	HP38-2	S	4.0	1.7	1.5	1.0	0.5	0.3	65	15.36	0.42	—	—	—
	HP38-3	S	2.5	1.4	0.7	0.8	0.6	0.2	75	6.73	0.39	—	—	—
	HP39-1	F	5.1	4.2	2.5	2.2	1.1	0.5	70	25.23	0.66	0.98	0.63	1.06
	HP39-2	F	5.2	2.7	2.7	1.6	0.9	0.5	60	27.38	0.81	1.07	0.75	0.75
	HP39-3	S	4.8	2.5	2.5	1.3	0.8	0.4	80	24.83	0.57	—	—	—
	HP40-1	S	6.2	2.2	1.4	1.1	0.7	0.4	75	13.77	0.69	—	—	—
	HP40-2	S	2.9	1.0	0.2	0.6	0.4	0.2	45	2.32	0.47	—	—	—
	HP40-3	S	3.4	1.3	0.5	0.7	0.4	0.2	60	4.77	0.42	—	—	—

種名 ¹⁾	サンプル ID	測定項目 ²⁾ measurement items ²⁾												胞子囊包膜 の狭窄指数
		胞子葉/ 栄養葉 ³⁾	葉身長 (cm)	葉身幅 (cm)	葉柄長 (cm)	側羽片長 (cm)	側羽片幅 (cm)	側羽片間 距離 (cm)	葉軸に対す る側羽片 角度 (°)	葉柄の翼長 (mm)	葉柄の翼幅 (mm)	胞子囊包膜 長	胞子囊包膜 幅	
Scientific name ¹⁾	Sample ID	Fertile frond / Sterile frond ³⁾	Lamina length (cm)	Lamina width (cm)	Petiole length (cm)	Pinnae length (cm)	Pinnae width (cm)	Pinnae distance (cm)	Angle between costa and pinnae (°)	Petiole wing length (mm)	Petiole wing width (mm)	Sori involucre length (mm)	Sori involucre width (mm)	Constriction index of sori involucre
	HP41-1	S	5.7	1.6	0.8	1.0	0.7	0.2	55	4.67	0.30	-	-	-
	HP41-2	F	4.5	2.0	1.3	1.1	0.7	0.2	55	12.53	0.38	0.59	0.65	0.93
	HP41-3	S	5.0	1.7	1.0	1.1	0.8	0.3	55	6.07	0.59	-	-	-
	HP42-1	F	6.5	2.7	2.0	1.7	0.7	0.4	70	20.00	0.42	0.90	0.59	0.67
	HP42-2	S	4.8	1.5	1.1	0.8	0.6	0.3	70	10.76	0.33	-	-	-
	HP42-3	F	6.9	2.8	1.4	1.6	0.8	0.4	60	6.15	0.54	0.96	0.69	0.76
	HP43-1	F	4.6	2.1	1.4	1.2	0.8	0.3	70	14.41	0.50	1.10	0.87	1.13
	HP43-2	F	8.0	2.1	2.6	1.1	0.8	0.4	70	0	0	0.68	0.59	0.94
	HP43-3	S	5.9	1.9	1.9	1.3	0.7	0.3	60	18.66	0.45	-	-	-
	HP44-1	S	5.8	2.5	1.6	1.5	0.8	0.4	75	7.60	0.42	-	-	-
	HP44-2	F	6.6	3.9	2.0	2.2	0.7	0.4	70	20.21	0.45	1.43	0.84	1.00
	HP44-3	S	4.6	2.5	2.4	1.7	0.7	0.3	70	24.02	0.39	-	-	-
	HP45-1	F	12.1	4.4	5.1	3.0	1.4	0.6	60	51.37	0.60	1.26	0.78	0.97
	HP45-2	F	13.1	5.5	4.1	2.8	1.3	0.6	70	37.53	0.57	1.26	0.78	0.86
	HP46-1	F	5.6	1.7	2.3	1.0	0.7	0.3	75	23.39	0.57	0.72	0.57	0.91
	HP46-2	F	4.4	1.6	1.5	0.8	0.5	0.2	70	4.01	0.30	0.77	0.65	0.92
	HP46-3	F	4.9	2.4	2.2	1.3	0.8	0.4	70	15.93	0.39	0.96	0.77	0.91
	HP47-1	S	3.6	1.5	0.7	0.8	0.4	0.2	70	2.97	0.30	-	-	-
	HP47-2	S	3.0	1.1	0.7	0.7	0.4	0.3	70	4.66	0.36	-	-	-
	HP47-3	S	2.3	1.6	0.4	0.8	0.7	0.2	70	3.91	0.57	-	-	-
<i>H. parallelocarpum</i>	HP5-1	S	3.7	1.9	2.7	1.0	0.5	0.2	80	19.04	0.90	-	-	-
	HP5-2	S	4.5	2.1	2.3	1.1	0.5	0.2	80	15.68	0.89	-	-	-
	HP5-3	S	2.8	1.3	1.0	0.8	0.6	0.2	80	7.15	0.69	-	-	-
	HP9-1	S	3.1	2.2	2.2	1.0	0.8	0.3	80	20.54	0.51	-	-	-
	HP9-2	S	5.1	2.5	1.6	1.5	0.7	0.4	75	13.27	0.54	-	-	-
	HP9-3	S	6.0	1.6	1.5	1.3	0.7	0.3	60	8.21	0.48	-	-	-
	HP10-1	S	4.8	1.6	2.9	1.0	0.7	0.4	70	21.95	0.39	-	-	-
	HP10-2	S	3.4	1.3	3.0	0.7	0.7	0.4	70	25.54	0.44	-	-	-
	HP10-3	S	3.4	2.3	4.2	0.9	0.9	0.4	60	40.99	0.53	-	-	-
	HP11-1	S	7.2	3.0	4.9	1.9	1.1	0.4	60	0	0	-	-	-
	HP11-2	S	8.0	3.0	5.1	1.7	1.2	0.4	60	0	0	-	-	-
	HP11-3	S	5.7	1.7	4.7	1.0	0.8	0.5	60	0	0	-	-	-
	HP21-1	S	2.9	1.6	0.8	0.9	0.6	0.3	70	5.43	0.72	-	-	-
	HP21-2	S	3.2	1.7	1.2	0.9	0.6	0.3	65	11.95	0.68	-	-	-
	HP21-3	S	2.9	1.4	0.7	0.9	0.6	0.3	80	5.87	0.51	-	-	-
	HP23-1	F	7.9	3.8	4.9	2.2	1.2	0.4	65	0	0	0.65	0.66	0.88
	HP23-2	S	5.3	3.0	4.7	1.6	0.8	0.4	75	20.49	0.53	-	-	-
	HP24-1	F	5.4	3.7	5.1	2.2	1.0	0.4	90	0	0	0.59	0.62	0.77
	HP24-2	F	6.2	3.2	4.7	1.6	1.1	0.4	70	0	0	0.69	0.74	0.65
	HP24-3	S	4.4	3.1	4.0	1.6	1.1	0.4	85	21.52	0.42	-	-	-
	HP25-1	S	5.2	2.3	1.9	1.2	0.6	0.3	65	14.50	0.48	-	-	-
	HP25-2	S	3.5	1.8	1.0	1.0	0.7	0.2	70	5.23	0.42	-	-	-
	HP25-3	S	3.1	1.4	0.8	0.8	0.7	0.2	60	7.50	0.60	-	-	-
<i>H. punctisorum</i>	HP18-1	F	2.7	1.4	0.6	0.8	0.6	0.2	60	0	0	1.11	1.04	0.67
	HP18-2	F	2.4	1.4	0.9	0.7	0.5	0.3	60	0	0	0.59	0.68	0.65
	HP18-3	S	1.8	1.2	0.4	0.6	0.4	0.1	50	0	0	-	-	-
	HP22-1	F	3.1	1.7	1.1	0.9	0.6	0.3	75	0	0	1.38	1.16	0.93
	HP22-2	F	2.5	1.7	1.0	0.9	0.6	0.3	70	0	0	1.46	1.11	0.55
	HP22-3	F	1.7	0.9	0.5	0.5	0.3	0.2	70	0	0	1.25	0.75	0.67
	HP33-1	F	2.7	2.0	0.9	0.7	0.5	0.2	80	1.35	0.36	0.92	0.90	0.55
	HP33-2	F	2.9	1.9	1.0	0.9	0.7	0.3	75	1.80	0.29	0.68	0.69	0.78
	HP33-3	F	2.8	1.9	0.7	1.1	0.9	0.2	85	1.38	0.35	0.83	0.63	0.60

ー：栄養葉のため胞子囊のデータなし。

1) 種同定は、Vasques and Ebihara (2022) に従い、葉緑体 *rbcL* 遺伝子および葉緑体 *rps4* 遺伝子と *trnS* 遺伝子の遺伝子間領域を用いた分子系統学的解析法で行った。

2) 各測定項目については、図2に示した。

3) F：胞子葉，S：栄養葉。

ー：No data on sori involucre because measured samples were sterile fronds.

1) Identification of cryptic species was performed by molecular phylogenetic analysis according to Vasques and Ebihara (2022) using the *rbcL* gene and the *rps4-trnS* intergenic spacer region for chloroplast DNA.

2) The descriptions of the morphometrics are shown in Figure 2.

3) F: Fertile frond, S: Sterile frond.