

## 第16回 日本植物分類学会奨励賞 受賞記念論文

## 進化生物学のモデルシステムとしてのシダ植物研究

ニッタ ジョエル

千葉大学大学院国際学術研究院 (〒263-8522 千葉市稲毛区弥生町1-33)

Joel H. NITTA (joelnitta@gmail.com): Ferns as a model system for evolutionary biology

生物学的研究においては、古くからモデル生物やモデルシステムの使用が広く行われてきた。なぜなら、一人の研究者が全ての生物を総合的に研究することが不可能だからである。その代わりに、特定の系統や種に焦点を当てて深く探求することによって、そのモデル生物の性質だけでなく、生物学における一般的な現象やメカニズムを発見することができる。最もよく知られている植物のモデル生物は主に遺伝子の役割などを解明するために利用されてきたシロイヌナズナだが、筆者は進化生物のモデルシステムとしてシダ植物に着目し、シダ植物に関連する様々な生態・進化的な現象を調べてきた。本論文では、普段論文であまり言及しない研究の背景に触れながら、これまでの研究を紹介したいと思う。

## 総合的分類学アプローチ

筆者の研究対象としてのシダ植物との出会いは2006年に受けたカリフォルニア大学パークレー校の野外実習だった。この実習は大学部生の授業では珍しく、学生は学期の多くを大学が持っているフランス領ポリネシアのモーレア島にある研究所で過ごし、現地でその島の生物にまつわるテーマを自ら選び、仮説をたて、検証し、論文を書くのが課題となっている。当時の指導教員の Brent Mishler 教授にコケシノブ科シダ植物を研究材料としてお勧めいただき、比較的シダ植物の少ないカリフォルニア出身の筆者にとっては、初めて見るこの半透明の葉を持つ不思議な植物が非常に興味深かった (図1)。その後、さらに Mishler 教授の研究室でシダ植物研究の大先輩である Alan Smith 博士に教わりながら DNA 解析を行い、卒業論文としてモーレア島のコケシノブ調査を発表した (Nitta 2008)。本論文では、DNA バーコードに基づき分類学的な混乱があった分類群を整理し、さらに系統分類上で分子データのみでなく、形態的特徴や生育環境なども考慮した総合的分類学アプローチの重要性を議論した。この総合的分類学アプローチは後の筆者の研究においても重要なテーマになった。学部卒業後、大学院に進学する前に、コスタリカで Organization for Tropical Studies (OTS) が提供している「Specialty Course on Tropical Ferns and Lycophytes」に参加することが出来、Robbin Moran 主幹、James “Eddie” Watkins Jr. 教授、Kathleen Pryer 教授、Donald Farrar 名誉教授など有名なシダ植物の研究者に集中的に熱帯シダ植物について教えていただく機会によってさらにシダ植物に対する興味を深め、特にシダ植物の系統分類学という研究テーマを追求する意思を固めた。

系統分類学は、過去に起こった進化的な事実を人間が使えるシステムに纏める試みであ

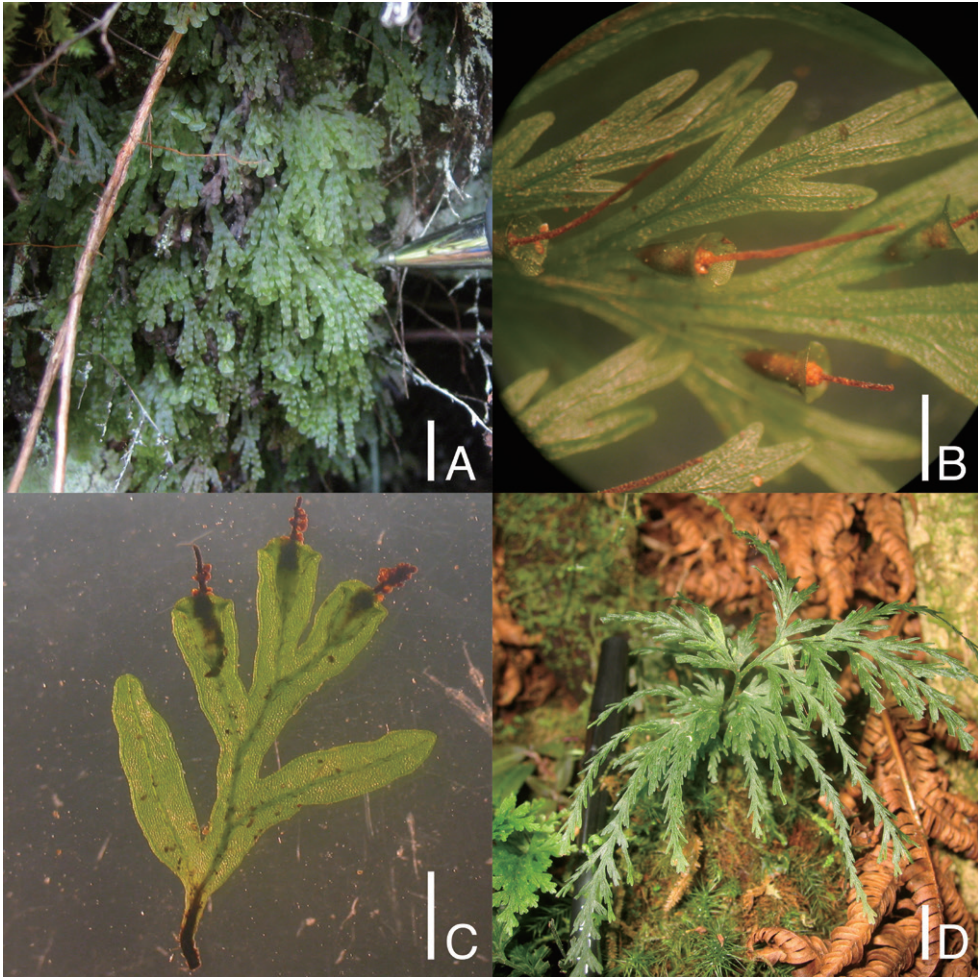


図1. モーレア島(フランス領ポレネシア)のコケシノブ科の例(Nitta 2008 を改善). A, *Hymenophyllum digitatum* (Sw.) Fosberg. B, *Abrodictyum caudatum* (Brack.) Ebihara & K. Iwats. C, *Crepidomanes kurzii* (Bedd.) Tagawa & K. Iwats. D, *Polyphlebium borbonicum* (Bosch) Ebihara & Dubuisson (= *Polyphlebium diaphanum* (Kunth) Ebihara & Dubuisson). *P. borbonicum* (D)は以前, *P. endlicherianum* (C. Presl) Ebihara & K. Iwats. と分類学的な混乱があったが, Nitta (2008)では, 形態的特徴とDNA バーコードの組み合わせによって, 二つの分類群を整理することができた.

る. 種と種との境目が明らかで, 一度分かれた系統が他の系統と合流しない限り, この試みはさほど難しいことではない. しかし, シダ植物は雑種形成や無配生殖(クローン増殖)といったプロセスによって以前別れた系統が再び一緒になる, いわゆる網状進化が頻繁に起こり, この作業を極めて困難にする(Barrington *et al.* 1989). そこで必要になってくるのは, 複数のマーカー(DNA 領域)による系統解析である. シダ植物は他の多くの植物と同様に, 葉緑体は片方の親(シダ植物では母親)からしか引き継がれないのに対して, 核は両方の親から引き継がれる(Gastony and Yatskievych 1992, Vogel *et al.* 1998). よって, 雑種の場合

では核アリルは二つ以上になる（高次倍数体の場合は三つ以上もあり得る）ので、雑種形成が起こった可能性があるグループでは、葉緑体マーカーと核マーカー、そして倍数性のデータとの組み合わせで解析する必要がある（Grusz *et al.* 2009）。

コケシノブの系統分類学研究を続けるために、東京大学の伊藤元己教授の研究室に入った。修士論文の研究テーマはウチワゴケ *Crepidomanes minutum* (Blume) K. Iwats. 近縁種群における網状進化だった（Nitta *et al.* 2011a）。ウチワゴケを研究材料に選んだ理由は、連続する形態的な変異に伴う分類学的混乱を整理する必要があったからである（Copeland 1958）。さらに、高次倍数体や無配生殖（Braithwaite 1969, 1975）の報告があったので網状進化の可能性が高いと思われたのだが、その当時までDNAによる系統解析が行われてこなかったので確かめる必要があった。Nitta *et al.* (2011a) では、葉緑体マーカーと核マーカーを一つずつ系統解析に用いることによって、本グループの進化的な歴史を解明した。まず大きな発見は、ウチワゴケ近縁種群には分布と形態が著しく異なる二つの大きなクレードが存在していることが分かった（以降、「クレード1」と「クレード2」；図2）。これは概ね先行研究に使われてきた *Crepidomanes saxifragoides* (C. Presl) P.S. Green（クレード1）と *Crepidomanes proliferum* (Blume) Bostock（クレード2）という種名に一致したが、簡単に二つの種に片づけることは難しいということが分かった。なぜなら、片方の主に東南アジアに分布しているクレード2は形態的に非常に多様である上に、雑種が頻繁に形成されているので、複数の二倍体の種とその間の雑種がこのクレードに存在しているのが示唆されたからである。一方で、日本のものを含むクレード1は比較的雑種形成及び形態的な変異が少なかった。面白いことに、二つのクレードの両方からシーケンスを持つ株が2株観察できたが、両方とも2倍体の有性のものだったことから、雑種形成ではなく、シダ植物において報告の珍しい ancient lineage sorting による組み合わせであることが示唆された。いくつか本近縁種群の進化について解明することは出来たが、旧世界に広く分布しているため、全体的に分類体系を見直すのにサンプリングが足りず、今後の課題として残されている。

### 隠されたライフステージの役割解明

シダ植物の最も興味深い特徴の一つはその独特なライフサイクルにある。種子植物やコケ植物など、他の陸上植物と同様に、シダ植物には二倍体の胞子体と一倍体の配偶体という二つのライフステージを持つが、この二つがそれぞれ独立に生育できるのはシダ植物だけである。通常、「シダ植物」として認識されているのは大きな方の胞子体だが、配偶体が有性生殖を担っている（つまり、卵子と精子を形成している）ため、シダ植物の再生産にとっては、むしろ大事な方だと言える。配偶体はとても小さい（多くのものは1cm以下）、そして形態だけで種同定が出来ないほど形態的にシンプルであるため、長い間シダ植物研究者にすら注目されてこなかったが、この状況は最近やっと変わりつつある（図3A-D）。近年はDNAバーコード法によって野外で採集された配偶体の的確な種同定が可能になったので、やっと配偶体の生態的な役割を種レベルで探ることが出来るようになった（Nitta and Chambers 2022）。

ハーバード大学の Charles Davis 教授の元で博士課程に入った筆者は、DNAバーコードにより野外で採取したシダ植物配偶体の種同定を行い、当時までわかっていなかったシダ植物にまつわる現象をいくつか解明することにした（Nitta *et al.* 2017, 2018, 2020, 2021）。筆者は博士に進学する前からカリフォルニア大学バークレー校で実施されていたモーレア島の全

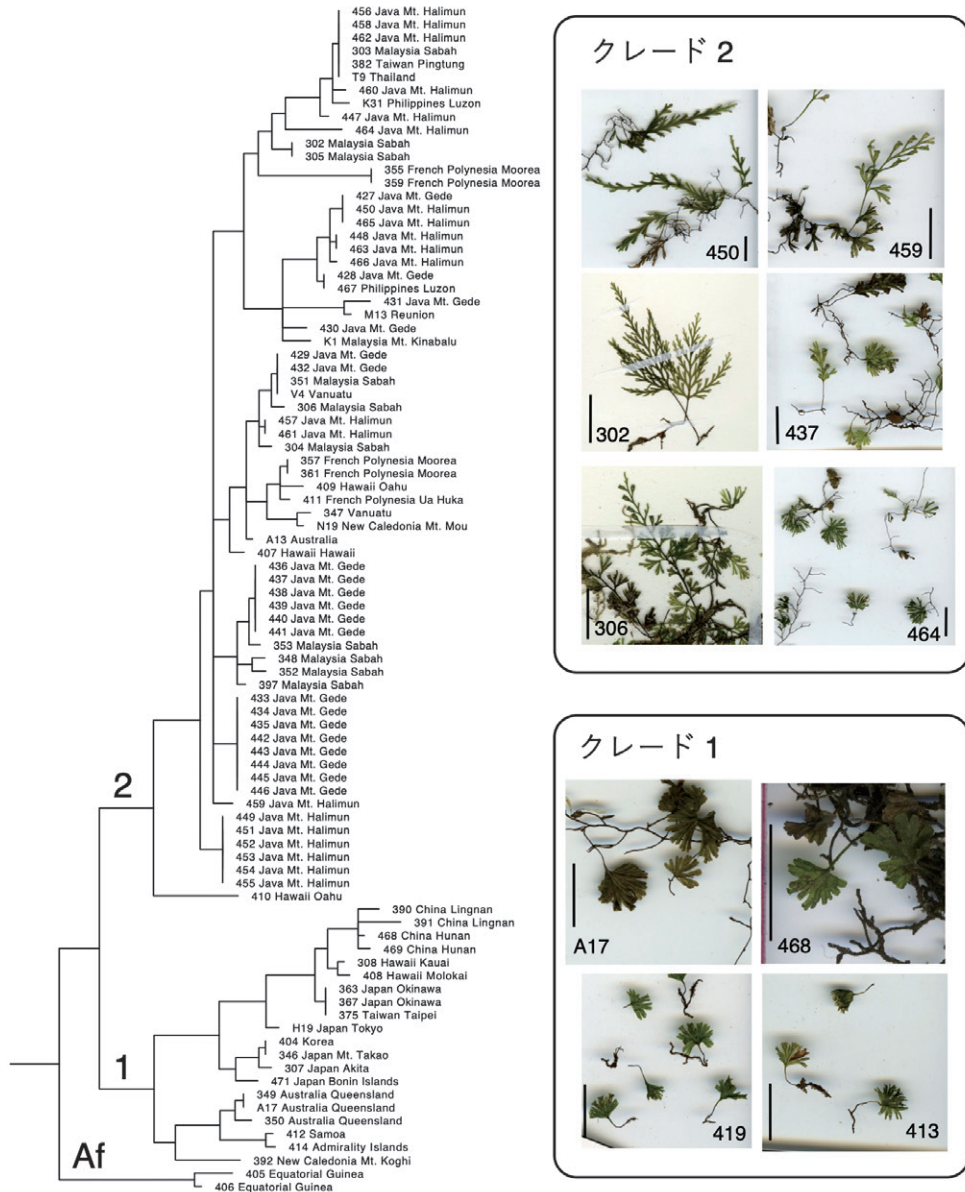


図2. ウチワゴケ近縁種群の葉緑体遺伝子 *rbcL* による系統樹 (左) および主要なクレードの代表的な形態を示す株の例 (右, Nitta *et al.* 2011a を改善). 主要なクレードは合計三つ観察したが、アフリカ産「Af」のサンプリングが足りないため形態の解析を行っていない。クレード2は形態的に多様に数多くの雑種が観察されたのに対し日本産の物を含むクレード1のものはほぼ全て小型で典型的な「ウチワ」の形をしている。スケールバーは全て1センチ。

生物調査のシダ植物部門を担当していたので、島のシダ植物 (約140種) は既に DNA データ (葉緑体 *rbcL* と *trnH-psbA*) がほぼ揃っており、配偶体の DNA バーコードを行うのに好条件だった (Nitta *et al.* 2011b). そこで、3回ほどモローア島に渡り、島全体の胞子体・配偶体の

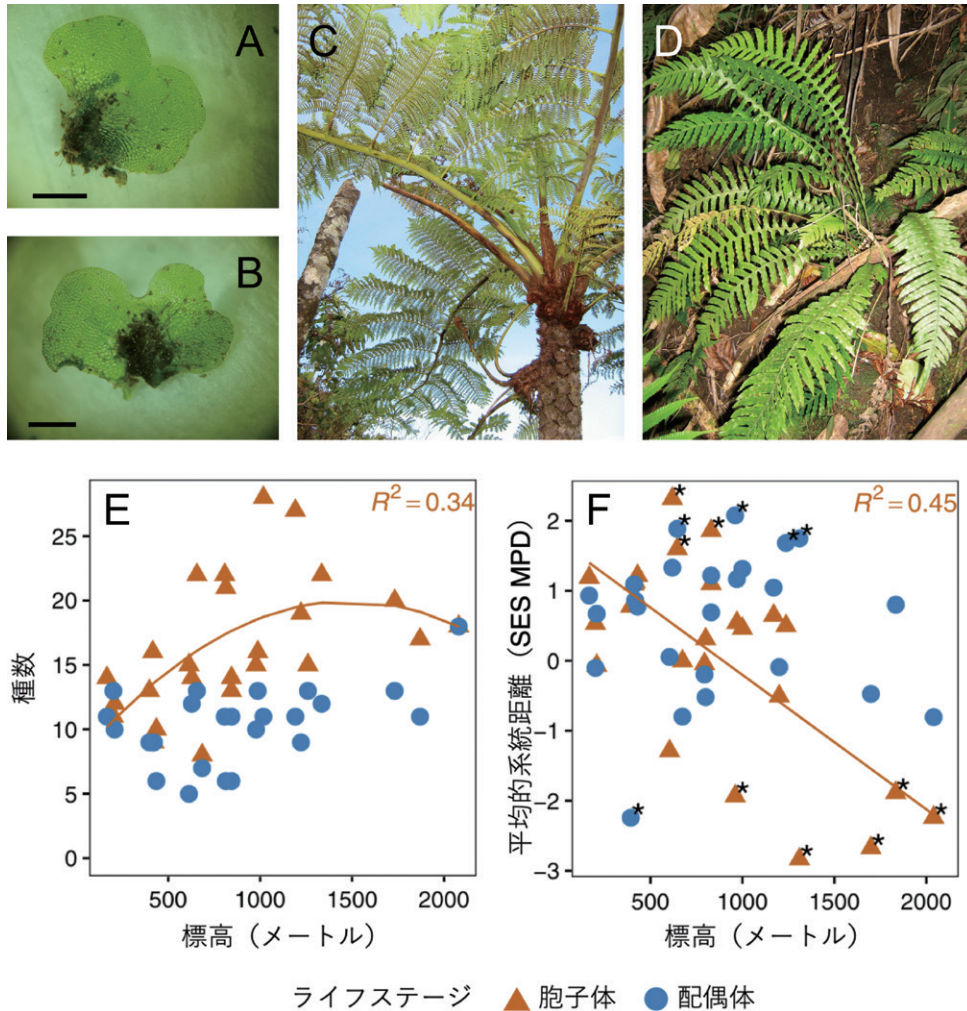


図3. モーレア島とタヒチ島（フランス領ポリネシア）におけるシダ植物の配偶体と胞子体の比較。A～D, 配偶体と胞子体の形態の例。AとC, *Sphaeropteris medullaris* (G. Forst.) Bernh. BとD, *Austroblechnum raiateense* (J. W. Moore) Gasper & V. A. O. Dittrich. 配偶体（AとB）を形態だけで種を区別することが不可能だが、胞子体（CとD）は顕著に形態が異なっている。EとF, 胞子体（赤い三角）と配偶体（青い丸）の種数（E）と平均系統的距離（F）を比較した結果（Nitta *et al.* 2017 を改善）。胞子体のみが標高と有意な関係を持っている（線型モデル, 赤い線）。星マークは平均系統的距離を計算した際、ランダムにシミュレーションした群集と有意に異なった地点を示す。

調査を行なった。なぜ改めて胞子体を採取するかというと、今度は胞子体と配偶体の群集構造を比較するのが一つの目的だったからである。標高勾配に沿って、約200m から1200m まで、さらにより標高の高いサンプルを得るために隣のタヒチ島で600m から2000m 計25調査地を設置して、胞子体と配偶体を両方とも観察し、配偶体をDNA バーコードで種同定を行なった（Nitta *et al.* 2017）。

結果として、胞子体と配偶体が違う分布パターンを示すことが分かった（Nitta *et al.* 2017）。

胞子体の群集構造は標高と密接な関係を示すのに対し、配偶体の群集構造は標高と有意な関係が見られなかった(図3E, F)。これは胞子体の方が配偶体よりも環境に強く影響されることを示唆し、先行研究(Sato and Sakai 1981, Watkins Jr. *et al.* 2007)でも示されていた配偶体の方が胞子体より厳しい(例えば、乾燥している)環境を耐えることが出来ることと一致する結果となった。しかし、コケシノブ科で胞子体と配偶体の乾燥耐性を試してみたら、逆に配偶体が弱いこともあるという意外な結果が得られた(Nitta *et al.* 2021)。野外でよく観察すると、配偶体で最も広く分布している *Callistopteris apiifolia* (C. Presl) Copel. の配偶体はそもそも乾燥しにくいマイクロハビタット(木の幹の基部のちょっとした窪みなど)に特異的に生育することが多いことが分かった(面白いことに、同種は西表島や他の南方の島でも同じように配偶体だけで広く分布していることが知られている; 米岡 私信; Dassler and Farrar 1997)。さらに、単独ではなく、複数の個体がクローン増殖によってマットを形成し、マットの内部を乾燥から守っていると思われる(図4)。つまり、シダ植物の配偶体は複数の戦略(乾燥耐性、マイクロハビタットの利用)によって生き残っていることが示唆された。同時期の研究においてこの他に、ウラボシ属の新雑種(Nitta *et al.* 2018)や着生シダ植物の形態的特徴がその当時まで思っていたよりも多様であるという発見があった(Nitta *et al.* 2020)。

#### 生物多様性の可視化と保全

群集生態学に興味を持ち始めた筆者は、さらに大きなスケールでシダ植物の多様性解析を試みたいと思った。ポスドク研究では国立科学博物館の海老原淳先生の研究室に入り、その時はちょうど先生が日本のシダ植物のデータセットを再評価していたので、ある地域全体におけるシダ植物多様性解析をするのにちょうど良い機会だった。

長い間、生物多様性の評価は種数だけが用いられたが、これは進化的な歴史を考慮しないので、どうしてもこの手法から得られる理解は限られている。その代わりに系統樹の枝の長さを使えば、進化的な多様性の計測が可能になり、ある地域の進化や生物地理を理解するには勿論、保全活動にも重要な参考となる。これはいわゆる PD (Phylogenetic diversity; Faith

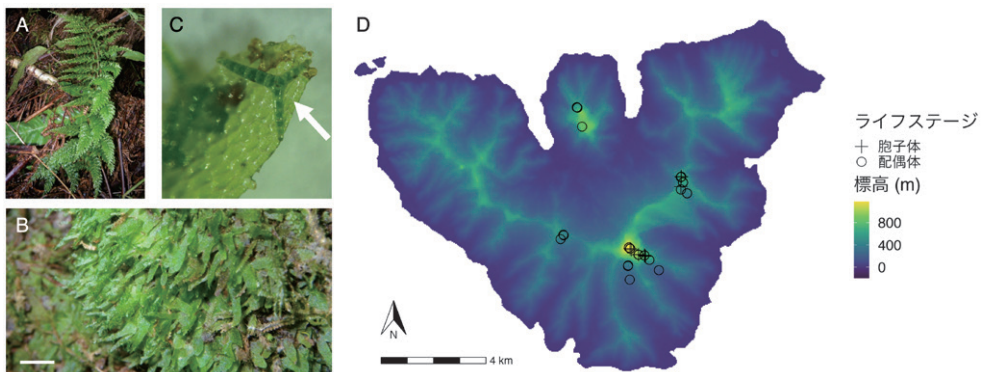


図4. モーレア島(フランス領ポレネシア)における *Callistopteris apiifolia* の胞子体と配偶体の分布と習性。A, 胞子体。B, 配偶体のマット。C, 配偶体の先端とそれに付いているゲンマ(無配生殖器官, 矢印)。D, 胞子体と配偶体の採取地点。配偶体が胞子体より広く、かつ低い標高まで分布している。スケールバー: B 5mm, C 1mm。

1992)の手法である。PD自体はさほど新しくないが、多くの種を入れた系統樹というPDを測るために必須なデータが最近まで不足していたため、広く使われてこなかった。しかし、ちょうど筆者が研究を始めた頃(2010年代)から、DNAデータとそれを生み出す技術が著しく速い速度で発展を成し遂げ、あらゆる分類群においてPDの解析が可能になってきた。そして、これに伴って生物多様性解析の面でも新しい展開があった。特に、PDと同じように系統樹の枝の長さを利用したPhylogenetic endemism (PE, 系統的固有性; Rosauer *et al.* 2009)やPEを古い過程によるもの(paleo-endemism, 古代固有性)と最近の過程によるもの(neo-endemism)に分類する方法であるCANAPE (Categorical Analysis of Neo- and Paleo-endemism; Mishler *et al.* 2014)によって、初めて地図上で生物多様性を生み出す過程の可視化が可能になった。

このような解析を行うには系統樹だけでなく、高解像度な分布データも必要である。DNAデータが最近かなり増えてきたにもかかわらず、ある地域においてDNAデータと分布データが両方とも高解像度に揃っているケースはまだ少ないが、日本のシダ植物は珍しく両方とも揃っている。なぜなら、日本はその面積の割にシダ植物の研究が随分前から活発に行われてきて、今でも日本シダの会など一般の方と研究者が協力して日本のシダ植物の観察を続けてきたからである。このデータを集計して、約10km×10kmの解像度で日本産シダ植物のほぼ全種類を含む地図を作成し、再評価した(Ebihara and Nitta 2019)。さらに、葉緑体遺伝子*rbcL*による系統樹と組み合わせ、全国においてCANAPE解析を含む系統固有性を解析した(Nitta *et al.* 2022a)。その結果、日本では特に南北(琉球列島と北海道)に起源が古い系統が密集していること、そして琉球に系統固有性が非常に高いことが分かった(図5)。これは亜熱帯の気候を持つ琉球には本土に入り込めない熱帯的な系統が数多く生育していることによると思われる。さらに、保全地域と食害で問題となっているニホンジカの分布と比べることによって、日本シダ植物の生物多様性がどのように保全されているのか、そしてどれくらい食害の危機に晒されているのか、解析した。その結果、系統固有性の高いエリアは比較的によく守られている(平均よりも保護区に入っている面積が多い)のに対して、種数が高いエリア(特に四国と九州に密集している)がニホンジカの分布とかなり重なっている、つまり、食害に晒されていることが分かった。これは保全政策において、生物多様性の評価を複数の方法で測る必要があることを示唆した。

### シダ植物のデータサイエンス

日本シダ植物の生物多様性において行ったCANAPE解析はその当時BiodiverseというGUI(グラフィカルユーザインタフェース)のソフトでしか出来ない状態だった(Laffan *et al.* 2010)。筆者は大学院博士課程後半からSoftware Carpentry(Wilson 2016)という研究者が互いに教え合うワークショップに参加することによって、データサイエンスについて学び、その時から可能な限り(将来の自分を含めて)他の研究者が自分のデータ解析の再現が出来るように努めてきた。データ解析を可能にするツールは様々あるが、基本的にはプログラミング、データとスクリプトのオープンアクセス化、計算環境の管理と大きく三つのカテゴリーに分けられる。CANAPE解析をRプログラミング言語(<https://www.r-project.org/>)で出来るようにしようと思い、新しいRパッケージ「canaper」を作成した(Nitta *et al.* 2023)。こうすることによって、その時までBiodiverseで様々なメニューを目で追ってクリックする

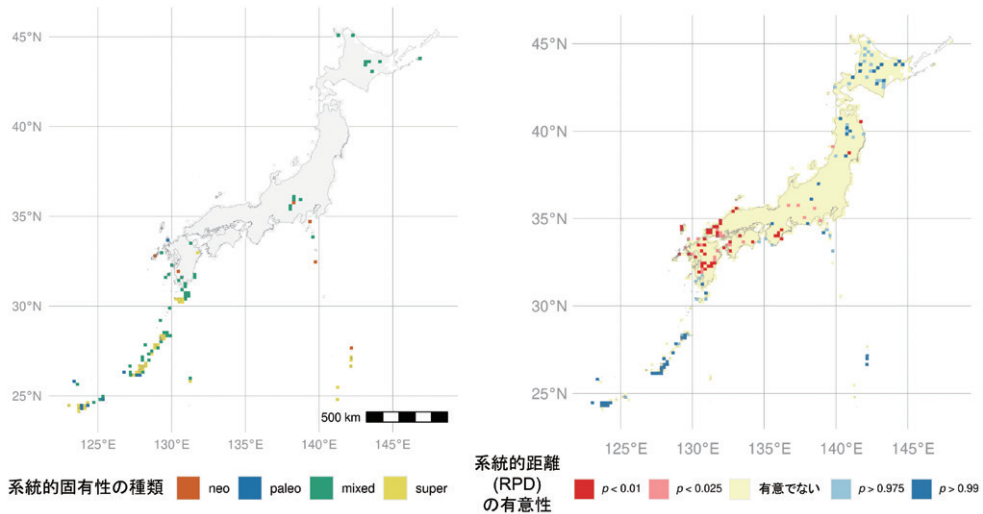


図5. 日本のシダ植物の生物多様性(Nitta *et al.* 2022a を改善). A, CANAPE による系統的固有性. B, 比較系統的多様性 (relative phylogenetic diversity). CANAPE は有意に系統的固有性があった場合, 各地点を neo (短いかつ狭い分布を持つ枝が密集している), paleo (長いかつ狭い分布を持つ枝が密集している), mixed (特に長くも短くもない狭い分布を持つ枝が多い), あるいは super (系統的固有性の有意性が  $p < 0.01$ ) という四つのカテゴリーに分類する. paleo と mixed が琉球列島に多いことはこの地域の狭い面積及び日本において珍しい亜熱帯の気候によると思われる.

(つまり, 他の研究者に再現するのが難しい状況)のではなく, 全ての解析の手順をスクリプトとして保存することによって CANAPE 解析の再現を大幅にやり易くした. さらに, 並列計算の機能もパッケージに入れることによって, 解析の効率を大幅に高めることが出来た.

このようにデータサイエンスを身に付けた筆者はシダ植物の系統樹にも応用しようと考えた. Hasebe *et al.* (1994) をはじめ, その当時の「全シダ植物系統樹」を作る試みが今まで数回あった (Lehtonen 2011, Schuettpelez and Pryer 2007, Testo and Sundue 2016). しかし, 全シダ植物系統樹を作るのはもちろん簡単な作業ではないので, 5-7年くらいのペースで論文が出ていた. その間に新しいデータが「GenBank」という公開データベースに蓄積されているにも関わらず, 新しい系統樹が発表されないので, 最新の系統樹を使うには, 自分で一から作るか, 他者が作るのを待つのかという, どちらも好ましくない選択肢しかなかった. そこで, 筆者はデータサイエンスのツール (つまり, プログラミングや計算環境の管理など) を使うことによって, 常に最新状態を保つ全シダ類系統樹作成システムを作ることにした. スミソニアン博物館でのポストドクのアドバイザーの Eric Schuettpelez 主幹とその後特任助教を務めた東京大学の岩崎渉先生との共同研究でこのシステムを作成し, 発表した (Nitta *et al.* 2022b). このシステムによる「最も多きな」系統樹はその時まで最も大きな系統樹 (Testo and Sundue 2016) より種数が約40%増えて, いくつかその時までではっきりしていなかった深い分岐点を明らかにすることができた (Nitta *et al.* 2022b). しかし, この結果よりむしろ重要だと筆者が思うのは, この系統樹を誰でも簡単に使えるようにポータルサイト (<https://fernphy.github.io/>) と R パッケージ (<https://github.com/fernphy/ftolr>) の提供, そして定



期的（GenBank のアップデートに紐付けて年に4回ほど）にこの系統樹を更新することである。これにより、系統解析は一回の論文として終わるのではなく、今後ともシダ植物に関する様々な研究に役立つことを期待している（図6）。

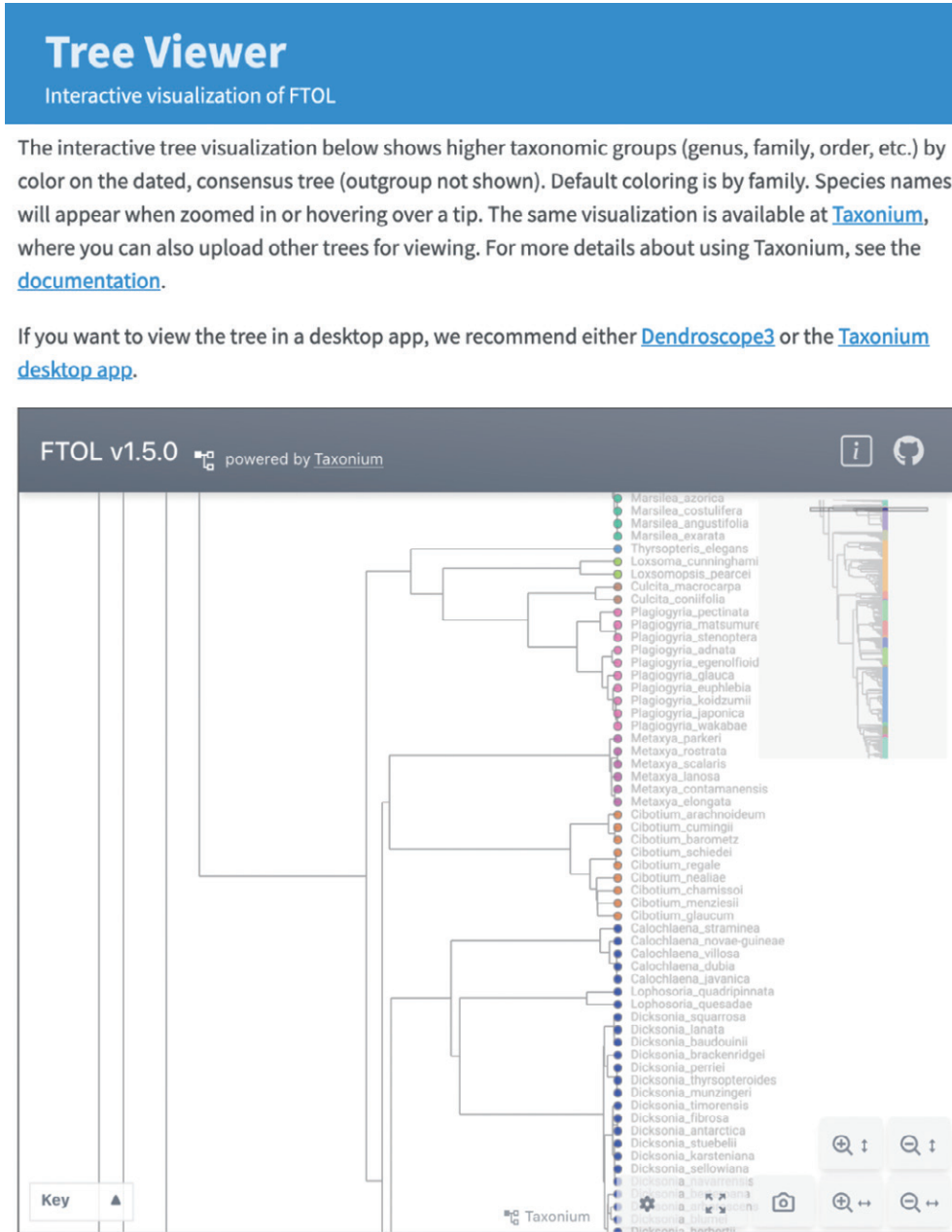


図6. 全シダ類系統樹「FTOL」(Fern Tree of Life) のウェブサイト (<https://fernphy.github.io/>) の一部。ウェブサイトで最新の系統樹の可視化やダウンロードが出来るようになっている。

データサイエンスや再現可能なデータ解析のツールを研究しながら身に付けた筆者は自らの経験から、まだ日本であまり普及していない Software Carpentry とその親組織の The Carpentries を広めるように務めている (<https://swcarpentry-jp.github.io/>)。多くの場合、研究者は試行錯誤しながら独学で研究に必要な解析ツールを学ぶのだが、必ずしもそうである必要はない。コミュニティとなって、お互いにベストプラクティスを教え合うことによって、効率よく、楽しく出来るということは The Carpentries の活動を通じて筆者が痛感した。具体的には、研究施設で The Carpentries が無料で提供している教材を使って、数日に渡るワークショップを教える・受けることによって、最新ツールの基本的な使い方と概念を身に付けて、自分の研究を加速させるだけでなく、他の研究者とのネットワークも作ることで、研究生活をより楽しくかつ生産的に過ごすことに繋がる (図7)。

### 終わりに

「なぜシダ植物（を研究する）？」という質問をよく受ける。理論的な理由はいくつかある：陸上植物の中で孢子体と配偶体がそれぞれ独立に生育できるのはシダ植物だけであるとか、種子植物の姉妹群として系統的に非常に重要であるとか。しかし、筆者にとって最も大きな理由は、個人的に非常に強く惹かれているからである。シダ植物を自然の中で観察し、その進化や生態学に色々と思いを巡らせることがなんと言っても楽しいし、面白い。これだ



図7. 東京大学岩崎研究室にて筆者が Software Carpentry のワークショップを教えている様子 (2023年3月)。ワークショップでは、参加者がインストラクターの説明を聞くだけでなく、自分のラップトップで一緒にコードを打っていく、いわゆるライブ・コーディング形式が使用される。このようなインターアクティブなアプローチによって、参加者がより自信を持って、スキルの取得と研究効率の上昇に繋がる。写真：黒木健。

けに長く、様々な面から自分の好きな物を研究することが出来たことはとてもラッキーだと思う。そして、このように自分の思いついたアイデアを自由に追求させてくれた指導教員に深く感謝している。長く研究活動が続けられるのに、飽きない好奇心とそれを追って行く根性が必要だと思われる。

指導していただいた先生方や共同研究者にいつも応援していただいたお蔭でここまで来られたと思う。この場をお借りして、御礼を申し上げます： Brent D. Mishler 教授, Alan R. Smith 博士, James E. Watkins Jr. 教授, Kathleen M. Pryer 教授, Donald R. Farrar 名誉教授, Robbin C. Moran 主幹, 海老原淳主幹, 伊藤元己教授, N. Michele Holbrook 教授, Jonathan Losos 教授, Charles C. Davis 教授, Eric Schuettpelz 主幹, 岩崎渉教授。

### 引用文献

- Barrington D. S., C. H. Haufler and C. R. Werth. 1989. Hybridization, reticulation, and species concepts in the ferns. *Amer. Fern J.* **79**: 55-64.
- Braithwaite A. 1969. The cytology of some Hymenophyllaceae from the Solomon Islands. *British Fern Gaz.* **10**: 81-91.
- Braithwaite A. 1975. Cytotaxonomic observations on some Hymenophyllaceae from the New Hebrides, Fiji and New Caledonia. *Bot. J. Linn. Soc.* **71**: 167-189.
- Copeland E. B. 1958. Fern Flora of the Philippines.
- Dassler C. L. and D. R. Farrar. 1997. Significance of form in fern gametophytes: clonal, gemmiferous gametophytes of *Callistopteris baueriana* (Hymenophyllaceae). *Int. J. Plant Sci.* **158**: 622-639.
- Ebihara A. and J. H. Nitta. 2019. An update and reassessment of fern and lycophyte diversity data in the Japanese Archipelago. *J. Plant Res.* **132**: 723-738.
- Faith D. P. 1992. Conservation evaluation and phylogenetic diversity. *Biol. Conserv.* **61**: 1-10.
- Gastony G. J. and G. Yatskievych. 1992. Maternal inheritance of the chloroplast and mitochondrial genomes in cheilanthoid ferns. *Am. J. Bot.* **79**: 716-722.
- Grusz A. L., M. D. Windham and K. M. Pryer. 2009. Deciphering the origins of apomictic polyploids in the *Cheilanthes yavapensis* complex (Pteridaceae). *Am. J. Bot.* **96**: 1636-1645.
- Hasebe M., T. Omori, M. Nakazawa, T. Sano, M. Kato and K. Iwatsuki. 1994. *rbcL* gene sequences provide evidence for the evolutionary lineages of leptosporangiate ferns. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **91**: 5730-5734.
- Laffan S. W., E. Lubarsky and D. F. Rosauer. 2010. Biodiverse, a tool for the spatial analysis of biological and related diversity. *Ecography* **33**: 643-647.
- Lehtonen S. 2011. Towards resolving the complete fern tree of life. *PLoS ONE* **6**: e24851.
- Mishler B. D., N. Knerr, C. E. González-Orozco, A. H. Thornhill, S. W. Laffan and J. T. Miller. 2014. Phylogenetic measures of biodiversity and neo- and paleo-endemism in Australian *Acacia*. *Nat. Commun.* **5**: 4473.
- Nitta J. H. 2008. Exploring the utility of three plastid loci for biocoding the filmy ferns (Hymenophyllaceae) of Moorea. *Taxon* **57**: 725-736.
- Nitta J. H., S. Amer and C. C. Davis. 2018. *Microsorium* × *tohiaense* (Polypodiaceae), a new hybrid fern from French Polynesia, with implications for the taxonomy of *Microsorium*. *Syst. Bot.* **43**: 397-413.
- Nitta J. H. and S. M. Chambers. 2022. Identifying cryptic fern gametophytes using DNA barcoding: A review. *Appl. Plant, Sci.* **10**: e11465.
- Nitta J. H., A. Ebihara and M. Ito. 2011a. Reticulate evolution in the *Crepidomanes minutum* species complex (Hymenophyllaceae). *Am. J. Bot.* **98**: 1782-1800.
- Nitta J. H., S. W. Laffan, B. D. Mishler and W. Iwasaki. 2023. canaper: Categorical analysis of neo- and paleo-endemism in R. *Ecography* **9**: e06638.

- Nitta J. H., J.-Y. Meyer and A. R. Smith. 2011b. Pteridophytes of Mo'orea, French Polynesia: Additional new records. *Am. Fern J.* **101**: 36-49.
- Nitta J. H., J.-Y. Meyer, R. Taputuarai and C. C. Davis. 2017. Life cycle matters: DNA barcoding reveals contrasting community structure between fern sporophytes and gametophytes. *Ecol. Monogr.* **87**: 278-296.
- Nitta J. H., B. D. Mishler, W. Iwasaki and A. Ebihara. 2022a. Spatial phylogenetics of Japanese ferns: Patterns, processes, and implications for conservation. *Am. J. Bot.* **109**: 727-745.
- Nitta J. H., E. Schuettpelez, S. Ramirez-Barahona and W. Iwasaki. 2022b. An open and continuously updated fern tree of life. *Front. Plant Sci.* **13**: 909768.
- Nitta J. H., J. E. Watkins Jr. and C. C. Davis. 2020. Life in the canopy: Community trait assessments reveal substantial functional diversity among fern epiphytes. *New Phytol.* **227**: 1885-1899.
- Nitta J. H., J. E. Watkins Jr., N. M. Holbrook, T. W. Wang and C. C. Davis. 2021. Ecophysiological differentiation between life stages in filmy ferns (Hymenophyllaceae). *J. Plant Res.* **134**: 971-988.
- Rosauer D., S. W. Laffan, M. D. Crisp, S. C. Donnellan and L. G. Cook. 2009. Phylogenetic endemism: A new approach for identifying geographical concentrations of evolutionary history. *Mol. Ecol.* **18**: 4061-4072.
- Sato T. and A. Sakai. 1981. Cold tolerance of gametophytes and sporophytes of some cool temperate ferns native to Hokkaido. *Canad. J. Bot.* **59**: 604-608.
- Schuettpelez E. and K. M. Pryer. 2007. Fern phylogeny inferred from 400 leptosporangiate species and three plastid genes. *Taxon* **56**: 1037-1050.
- Testo W. and M. Sundue. 2016. A 4000-species dataset provides new insight into the evolution of ferns. *Mol. Phylogenet. Evol.* **105**: 200-211.
- Vogel J. C., S. J. Russell, F. J. Rumsey, J. A. Barrett and M. Gibby. 1998. Evidence for maternal transmission of chloroplast DNA in the genus *Asplenium* (Aspleniaceae, Pteridophyta). *Bot. Acta* **111**: 247-249.
- Watkins Jr. J. E., M. C. Mack, T. R. Sinclair and S. S. Mulkey. 2007. Ecological and evolutionary consequences of desiccation tolerance in tropical fern gametophytes. *New Phyt.* **176**: 708-717.
- Wilson G. 2016. Software Carpentry: lessons learned. *F1000Research* **3**: 62.

(受付日2023年8月22日, 受理日2023年8月22日)