

広島の新帰化植物 7. ハイニシキソウとアレチニシキソウ

坪田博美^{1,2*}・武内一恵³・井上侑哉¹・中原 - 坪田美保⁴・向井誠二⁵

TSUBOTA, H., TAKEUCHI, K., INOUE, Y., NAKAHARA-TSUBOTA, M. AND MUKAI, S. 2016. Notes on naturalized and invasive plants in Hiroshima Prefecture, SW Japan: 7. *Euphorbia prostrata* Aiton and an unidentifiable species of *Euphorbia*. Hikobia 17: 161–167.

Two naturalized plants of the Euphorbiaceae, *Euphorbia prostrata* Aiton and an unidentifiable *Euphorbia* sp. aff. *prostrata* Aiton, were newly found from the cities of Hiroshima and Hatsukaichi in Hiroshima Prefecture, Japan. In this study, morphology and habitat are described for these two species. In addition, DNA barcoding and phylogenetic analyses based on nr ITS and *psbA-trnH* sequences were carried out. The sequences obtained from the unidentifiable *Euphorbia* were different from those of *E. prostrata* and no identical sequence of plants was found in the database. Additional work is needed to identify the invasive *Euphorbia* species in Japan.

Hiromi Tsubota & Yuya Inoue, Miyajima Natural Botanical Garden, Graduate School of Science, Hiroshima University, Mitsumaruko-yama 1156–2, Miyajima-cho, Hatsukaichi-shi, Hiroshima 739–0543, Japan.

**chubo @hiroshima-u.ac.jp (author for correspondence)*

Kazue Takeuchi, Hiroshima-shi, Hiroshima 731–5137, Japan.

Miho Nakahara-Tsubota, Cooperative Research Fellow of Natural History Museum and Institute, Chiba, Japan, Hatsukaichi-shi, Hiroshima 739–0402, Japan.

Seiji Mukai, Hatsukaichi-shi, Hiroshima 738–0042, Japan.

はじめに

ハイニシキソウ *Euphorbia prostrata* Aiton とアレチニシキソウ *Euphorbia* sp. aff. *prostrata* Aiton [学名不詳. 詳細については黒沢 (2001) や勝山 (2001) に説明あり. 本稿では浅井 (2015) の表記に従った] はトウダイグサ科 Euphorbiaceae の草本植物である. 両種とも 1950 年ころ日本で帰化が確認され, 関東以南の暖地に広く帰化している (黒沢 2001, 2003; 勝山 2001; 清水・濱崎 2006; 太刀掛・中村 2007; 浅井 2015). ハイニシキソウは南北アメリカ

大陸原産で, 現在では世界の熱帯と亜熱帯に広く分布している (黒沢 2003). 広島県から報告はないが, 近隣県 (岡山県や山口県, 愛媛県) では報告されている (岡 2001; 太刀掛・中村 2007). アレチニシキソウについては, 日本からは村田 (1953) が *E. chamaesyce* L. subsp. *massiliensis* (DC.) Thell. の学名で報告した. その後の研究で蒴果の毛の状態や附属体の大きさなどが異なることから, この学名は適切ではないことがわかり該当する学名が明確になっていない (黒沢 2001, 2003; 勝山 2001). 本種については広島県からの報告はなく, 中国・四国地方の他県からも記録がない (清水・濱崎 2006; 太刀掛・中村 2007). 著者らは, 標本調査を行っている過程で, 広島県内で採集されたハイニシキソウとアレチニシキソウ標本を確認した. 本稿では, 広島県で記録されていない両種の生育を報告するとともに, 核 ITS 領域と葉緑体 *psbA-trnH* 遺伝子間領域の塩基配列を決定し DNA バーコーディングを行い, 系統的位置を明らかにすることを目的とした. なお, 黒沢 (2001, 2003) や勝山 (2001) ではこれらの種をニシキソウ

¹739–8526 広島県東広島市鏡山 1–3–1, 広島大学大学院理学研究科生物科学専攻

²739–0543 広島県廿日市市宮島町三ツ丸子山 1156–2 外, 広島大学大学院理学研究科附属宮島自然植物実験所

³731–5137 広島県広島市

⁴739–0402 広島県廿日市市, 千葉県立中央博物館・共同研究員

⁵738–0042 広島県廿日市市

属 *Chamaesyce* として扱っているが、その後の分子系統学的な研究や文献 (Wurdack *et al.* 2005; Bruyns *et al.* 2006; Tokuoka 2007; Yang & Berry 2011, 浅井 2015 など) では広義のトウダイグサ属 *Euphorbia* として扱う見解が示されているので、本稿では後者に従った。

材料と方法

ニシキソウ属 *Chamaesyce* の標本調査を行うとともに、2013年から2016年にかけて野外調査を行った。本研究で確認した標本の詳細については、Appendix に示した。標本および野外から得られたサンプルを用いて実験および解析を行った。DNA抽出は Suzuki *et al.* (2013) に従った。PCRは Inoue & Tsubota (2014) の条件を用いた。マーカーとして、データベースへの登録数が多い核 ITS 領域 (nuclear ribosomal internal transcribed spacer) と、変異が多く DNA バーコーディングで利用されることが多い葉緑体 *psbA-trnH* 遺伝子間領域 (chloroplast *psbA-trnH* intergenic non-transcribed spacer) を用いた。マーカー選択には、Bruyns *et al.* (2006) と Yang & Berry (2011) の研究を参照した。PCR およびシーケンスの際、核 ITS 領域について Oguri *et al.* (2003) と坪田ほか (2009, 2012, 2013) のプライマーを、葉緑体 *psbA-trnH* 遺伝子間領域については Hamilton (1999) と坪田ほか (2015) のプライマーをそれぞれ用いた。得られた配列は国際塩基配列データベース (DDBJ/EMBL/GenBank International Nucleotide Sequence Database Collaboration; INSDC) に登録した。得られた配列について、NCBI の DNA データベースを用いて BLASTN 2.5.1+ (Zhang *et al.* 2000, Morgulis *et al.* 2008) による BLAST 検索を行い、DNA バーコーディング用の情報を得た。その後分子系統解析を行って系統的位置を明らかにした。外群は Wurdack *et al.* (2005) や Bruyns *et al.* (2006), Tokuoka (2007), Yang & Berry (2011), Maya-Lastra & Steinmann (2015) の先行研究を参考に選定した。MAFFT version v7.306b (Katoh & Standley 2013) を用いてアライメントを行った。Kakusan4 version 4.0.2015.01.23 (Tanabe 2011) により塩基置換モデルを選択後、系統解析を行った。BLAST 検索で得られた上位の約 500 配列から配列長が短い配列を除いたデータセットに対して、予備的解析として、MEGA version 6 (Tamura *et al.* 2013) を用いて近隣結合法 (Saitou & Nei 1987) で系統樹を計算した。この系統樹を参考に用いる OTU を選択し、

再度アライメントを行った。RAxML version 8.1.5 (Stamatakis 2014) を用いて最尤法で系統解析を行うとともに、1,000 回ブートストラップ確率を求めた。また、BEAST version 1.8.3 (Drummond *et al.* 2012) を用いて事後確率を求めた。得られたブートストラップ確率および事後確率のうち 50 % 以上の値のものを最尤系統樹上に示した。

結果と考察

広島県内での分布状況と生育状況

標本調査および野外調査の結果、ハイニシキソウ *Euphorbia prostrata* は広島市 (中区) と廿日市市 (宮島口西) で、アレチニシキソウ *Euphorbia* sp. aff. *prostrata* は広島市 (南区) と廿日市市 (地御前, 大野, 上の浜) でそれぞれ生育が確認された (Appendix A, Fig. 1)。野外調査では、いずれの種も直射日光があたる乾燥した路傍や建築物の脇に生育していた。アレチニシキソウはとくに港湾や海岸の道路端などの海に近い場所では群生しているのが確認された。

形態と類似種との比較

本研究で確認できた標本また野外での観察にもとづいたハイニシキソウとアレチニシキソウの特徴を以下に記す。

ハイニシキソウは一年生の草本。茎は這って地面に平面的に広がり、先端が斜上する (Fig. 1A)。茎の上面にだけ短軟毛があり、下面は無毛。葉は低い鋸歯があり、葉の表裏とも基本的には毛がないが、枝葉や茎頂に近い葉には縁や裏面の先端にだけ多少毛が残る。杯状花序は各節に単生し、総苞腺体は赤く、附属体は小さく目立たない。蒴果は成熟すると稜部だけにやや短い剛毛が残る。種子は四稜で、不規則な横しわがある。

アレチニシキソウは、一年生の草本。茎は斜上する (Fig. 1B)。ハイニシキソウに比べて、植物体の大きさが大きくなることが多い。ハイニシキソウ同様に茎の上面にだけ軟毛があり、下面は無毛またはわずかに軟毛がある。葉は低い鋸歯があり、葉の表面には毛がないか長毛がわずかに生え、裏面の葉柄近くや葉縁部を中心にやや密生した伏毛が残る。杯状花序は各節に単生し、総苞腺体は赤く、附属体は小さくあまり目立たない。蒴果は成熟すると稜部を中心に長めでやや曲がった剛毛が残り、側面にも多少残る。種子は四稜で、不規則で明瞭な横しわがある。学名については不明であり、本稿では浅井 (2015) に従っているが、黒沢 (2001) にあるように他種と

の類似点も存在する。

今回確認された標本や野外で得られたアレチニシキソウの形態の特徴は、一部の標本で植物体の大きさがやや小型であった点を除いては、黒沢 (2001, 2003) や勝山 (2001), 清水ほか (2011), 浅井 (2015), 植村ほか (2015) の記載や図, 写真などと一致した。長田 (1972, 1976) でハイニシキソウとされている図は、果実表面の毛等の状態からアレチニシキソウと考えられる。

ハイニシキソウは外観では植物体の大きさがアレチニシキソウに比べてやや小型で、紫から青みを帯びることが多く、茎の下面が無毛で、葉の裏面が無毛または先端に近い部分だけに毛が残る。一方のアレチニシキソウでは植物体の大きさがハイニシキソウに比べて

大きく茎が斜上し、茎の下面にも毛が残る場合が多く、葉の裏面の基部に近い部分に伏毛が残り、蒴果表面の毛がやや長めで稜部に加えて側面にもわずかに残る点で区別できる。

これまで広島県からは、広義トウダイグサ属 *Euphorbia* ニシキソウ亜属 Subg. *Chamaesyce* の種として、オオニシキソウ *Euphorbia nutans* Lag., コニシキソウ *E. maculata* L., コバノニシキソウ *E. makinoi* Hayata, シマニシキソウ *E. hirta* L., ニシキソウ *E. humifusa* Willd. ex Schtdl. の5種が報告されている (広島大学理学部附属宮島自然植物実験所・比婆科学教育振興会 1997; 吉野ほか 2007; 世羅ほか 2010)。これらのうち、ハイニシキソウやアレチニシキソウに外見が類似する種として、コニシキソウとコバノニシキソウ、ニシキソウがあげられる。コニシキソウは杯状花序が単生せず、蒴果の表面全体に短毛が生



や Fig. 1. Invasive plants of the genus *Euphorbia* (Euphorbiaceae) in Hiroshima Prefecture, south-western Japan. A: *Euphorbia prostrata* Aiton. (August 14, 2016). B: *Euphorbia* sp. aff. *prostrata* Aiton (August 4, 大 2016).

え、しばしば葉の表面の中央に斑紋があることでハイニシキソウやアレチニシキソウと区別できる。コバノニシキソウは植物体の全体が無毛で、茎の各節から根が出やすく、蒴果も無毛で、種子にしわがないこと、葉が全縁である点などで両種と区別できる。ただし広島県のものについては、吉野ほか (2007) で最初に報告されたものの、世羅ほか (2010) ではあげられておらず、証拠標本の再検討や系統解析が必要である。ニシキソウは植物体の全体が無毛で、茎がより細く、蒴果が無毛で、種子にしわがない点などで容易に両種と区別できる。

DNA バーコーディングと系統解析

本研究では乾燥標本と野外で採集できたサンプルから核 ITS 領域 (アクセッション番号 LC191843–

LC191849) と葉緑体 *psbA-trnH* 遺伝子間領域 (アクセッション番号 LC191850–LC191856) の塩基配列を得た。2 標本からデータを得ることができたアレチニシキソウについては、ITS および *psbA-trnH* ともに種内変異が確認されなかった。得られた配列各々について NCBI の BLASTN を用いて検索を行った結果、ITS 領域については、ハイニシキソウ (LC191847) は HQ645329 (メキシコ産) の配列と 100 % 一致し (カバー率は 78 %, 配列長は 720 塩基)、アレチニシキソウ (LC191846 および LC191849) は KF800668 (Uncultured eukaryote clone CMH579) の配列と 100 % 一致した (カバー率 90 %, 配列長 826 塩基)。後者のデータは Rittenour *et al.* (2014) で発表されたもので、北米のミズーリ州カンザスシティの環境 DNA から検出されている配列であった。一

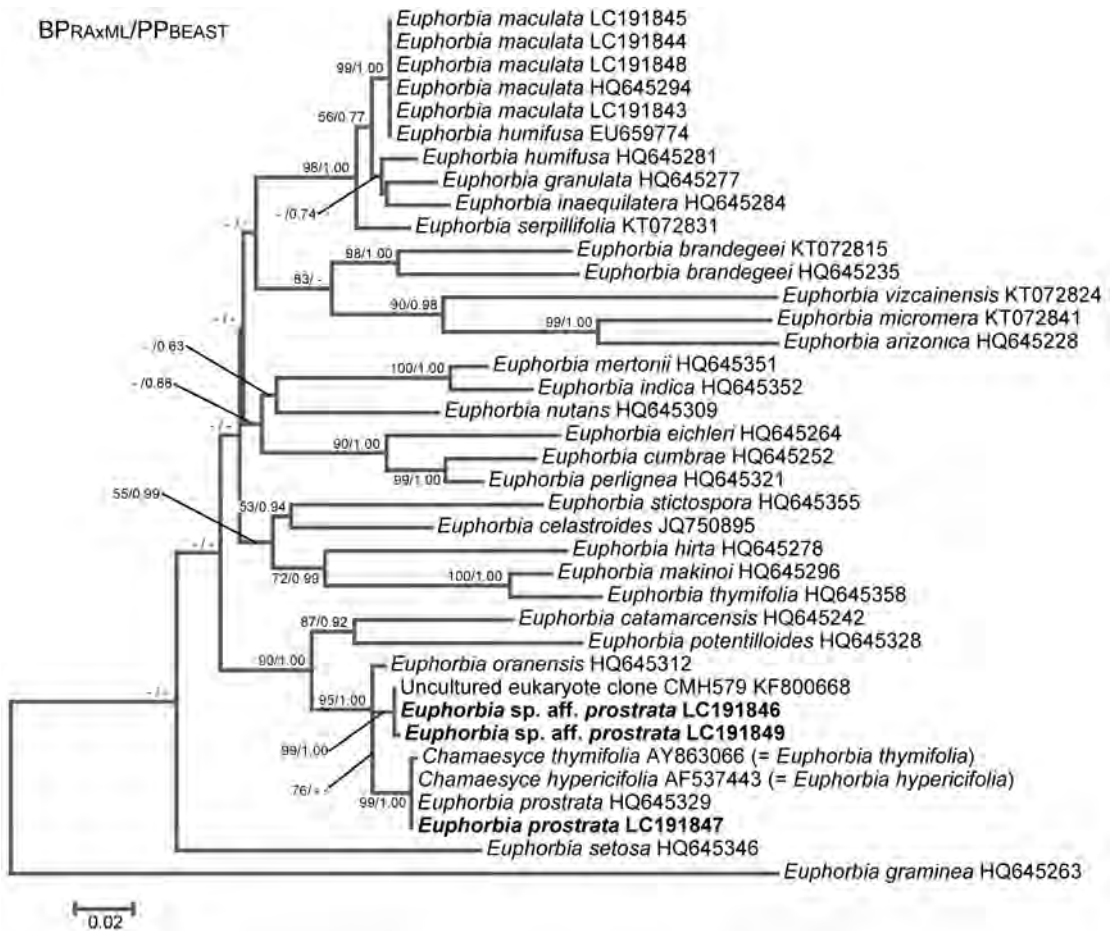


Fig. 2. Phylogenetic tree based on analysis of the nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region, depicted by RAxML. Supporting values more than 50 % obtained by RAxML for bootstrap probabilities (BP) with 1,000 replicates and BEAST for Bayesian posterior probabilities (PP) are shown on or near each branch (BP/PP; in %). The root is arbitrarily placed on the branch leading to *Euphorbia graminea* (HQ645263).

方, DNA データベースに登録されている植物に限定すると, アレチニシキソウについては該当する配列がなかった. *psbA-trnH* 遺伝子間領域については, 今回得られたハイニシキソウの配列 (LC191854) とアレチニシキソウ (LC191853 および LC191856) の配列が共通する部分については完全に一致した. また, *psbA-trnH* の塩基配列についてはハイニシキソウとアレチニシキソウともに DNA データベースへの登録がなく KT072881 (*E. serpillifolia*) や KC758665 (*E. maculata*) の配列が 98% 一致したが, ITS 領域で明らかになった情報以上のものは得られなかった.

系統解析の結果については, ITS と *psbA-trnH* のいずれの塩基配列を用いた解析でも, DNA バーコーディングと同様の結果が得られた (Figs. 2 & 3). ITS の塩基配列にもとづく最尤系統樹では, ハイニシキソウ (LC191847) は HQ645329 (*E. prostrata*) や AY863066 (*Chamaesyce thymifolia*), AF537443 (*C. hypericifolia*) とクレードを形成した (Fig. 2). 一

方, アレチニシキソウ (LC191846 および LC191849) は KF800668 (Uncultured eukaryote clone CMH579) とクレードを形成した. *psbA-trnH* の塩基配列にもとづく最尤系統樹では, ハイニシキソウ (LC191854) はアレチニシキソウ (LC191853 および LC191856) とクレードを形成した (Fig. 3).

以上の DNA バーコーディングおよび分子系統解析の結果からも, 今回塩基配列が得られた標本 (標本番号 HIRO MY-119785) はハイニシキソウであることが支持された. 一方, 形態からアレチニシキソウと考えられる標本 (標本番号 HIRO-MY-82427 と HIRO MY-119791) についてはハイニシキソウとは別種として扱うべきものであることが明らかになった. ハイニシキソウとアレチニシキソウは形態では非常に区別が困難な場合があるが, 核 ITS の配列が明確に異なる. これらの結果から, アレチニシキソウはハイニシキソウに非常に近縁であるが, 同属別種と考えられる. また, 同じ配列が環境 DNA から検出されたことから北米大陸にも生育する可能性が

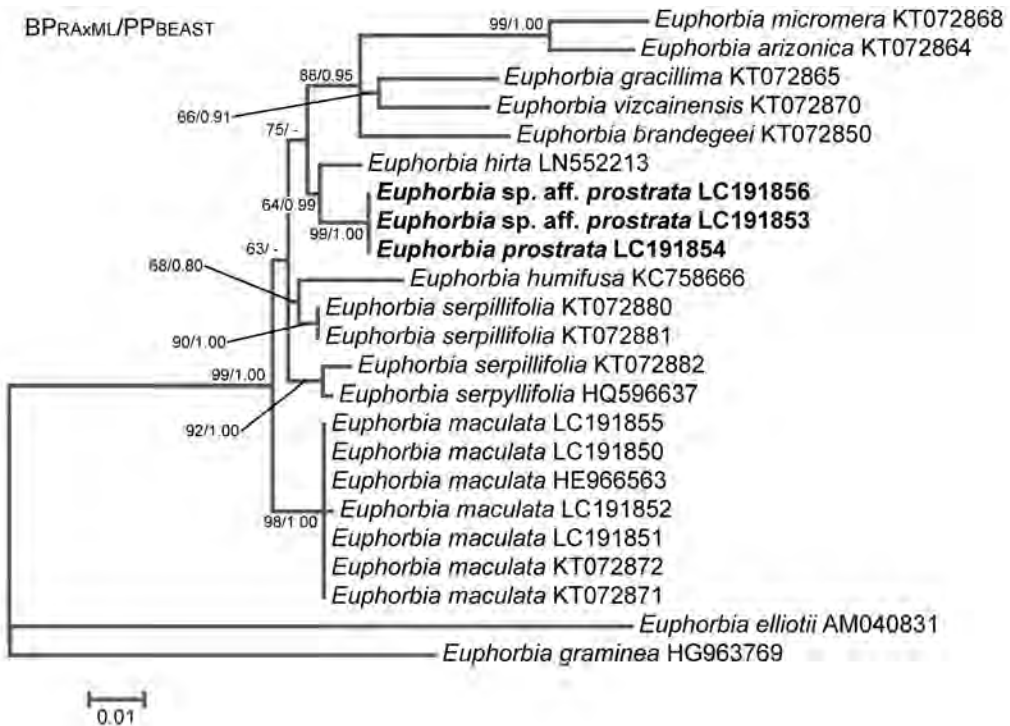


Fig. 3. Phylogenetic tree based on analysis of the chloroplast *psbA-trnH* intergenic non-transcribed spacer (cp *psbA-trnH*), depicted by RAxML. Supporting values more than 50% obtained by RAxML for bootstrap probabilities (BP) with 1,000 replicates and BEAST for Bayesian posterior probabilities (PP) are shown on or near each branch (BP/PP; in %). The root is arbitrarily placed on the branch leading to *Euphorbia graminea* (HG963769) and *E. elliotii* (AM040831).

高い。しかしながら、本種の学名については、植物として登録された配列には一致する塩基配列が無く、BLAST 検索で値の高い配列の種についても外部形態が異なることから、本研究でも学名の決着を得ることができなかった。黒沢（2001）などの先行研究で示されているように、今後分類学的な検討が必要である。

謝辞

本研究の一部は科研費 MEXT/JSPS (16K07481) の助成を受けた。シークエンスは広島大学自然科学研究支援開発センター生命科学実験部門生命科学機器分析部で行われた。また、タスマニア大学の P. J. Dalton 氏には、英文校閲頂いた。福島大学の黒沢高秀博士にはハイニシキソウとアレチニシキソウに関する分類学的取り扱いについてご教示頂いた。広島大学名誉教授の関太郎博士にはハイニシキソウの標本および情報の提供を頂いた。広島市植物公園の久保晴盛氏には広島市植物公園標本庫の標本調査ならびに文献提供を頂いた。上村恭子氏と若木小夜子氏、広島大学技術センターの内田慎治氏には研究をすすめるにあたり補助頂いた。心より感謝申し上げる。

引用文献

- 浅井元朗. 2015. 植調雑草大鑑. 359 pp. 全国農村教育協会, 東京.
- Bruyns, P. V., Mapaya, R. J. & Hedderson, T. 2006. A new subgeneric classification for *Euphorbia* (Euphorbiaceae) in Southern Africa based on ITS and *psbA-trnH* sequence data. *Taxon* 55: 397–420.
- Drummond, A. J., Suchard, M. A., Xie, D. & Rambaut, A. 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Mol. Biol. Evol.* 29: 1969–1973.
- Hamilton, M. B. 1999. Four primer pairs for the amplification of chloroplast intergenic regions with intraspecific variation. *Mol. Ecol.* 8: 521–523.
- 広島大学理学部附属宮島自然植物実験所・比婆科学教育振興会(編). 1997. 広島県植物誌. 832 pp. 中国新聞社, 広島.
- Inoue, Y. & Tsubota, H. 2014. On the systematic position of the genus *Timmiella* (Dicranidae, Bryopsida) and its allied genera, with the description of a new family Timmiellaceae. *Phytotaxa* 181: 151–162.
- Katoh, K. & Standley, D. M. 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Mol. Biol. Evol.* 30: 772–780.
- 勝山輝男. 2001. トウダイグサ科 Euphorbiaceae. 神奈川県植物誌調査会, 神奈川県植物誌 2001, pp. 930–941. 神奈川県立生命の星・地球博物館, 小田原.
- 黒沢高秀. 2001. 日本産雑草性ニシキソウ属 (トウダイグサ科) 植物の分類と分布. *APG* 51: 203–229.
- . 2003. トウダイグサ科 Euphorbiaceae. 清水建美 (編), 日本の帰化植物, pp. 130–133. 平凡社, 東京.
- Maya-Lastra, C. A. & Steinmann, V. W. 2015. Two new species of *Euphorbia* subg. *Chamaesyce* (Euphorbiaceae) from Baja California Sur, Mexico and their phylogenetic relationships. *Phytotaxa* 221: 265–278.
- Morgulis, A., Coulouris, G., Raytselis, Y., Madden, T. L., Agarwala, R. & Schäffer, A. A. 2008. Database indexing for production MegaBLAST searches. *Bioinform.* 24: 1757–1764.
- 村田 源. 1953. 植物分類雑記 1. *APG* 15: 44–47.
- Oguri, E., Yamaguchi, T., Tsubota, H. & Deguchi, H. 2003. A preliminary phylogenetic study of the genus *Leucobryum* (Leucobryaceae, Musci) in Asia and the Pacific based on ITS and *rbcL* sequences. *Hikobia* 14: 45–53.
- 岡 国夫 (編). 2001. 山口県産高等植物目録 2000. 92 pp. 山口県植物研究会, 下松.
- 長田武正. 1972. 日本帰化植物図鑑. v + 254 pp. 北隆館, 東京.
- . 1976. 原色日本帰化植物図鑑. xvi + 64 pls. + 425 pp. 北隆館, 東京.
- Rittenour, W. R., Ciaccio, C. E., Barnes, C. S., Kashon, M. L., Lemons, A. R., Beezholda, D. H. & Green, B. J. 2014. Internal transcribed spacer rRNA gene sequencing analysis of fungal diversity in Kansas City indoor environments. *Environ. Sci.: Processes Impacts* 16: 33–43.
- Saitou, N. & Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4: 406–425.
- 世羅徹哉・坪田博美・松井健一・浜田展也・吉野由紀夫. 2010. 広島県植物誌補遺. 広島市植物公園紀要 28: 1–74.
- 清水矩宏・森田弘彦・廣田伸七 (編・著). 2011. 日本帰化植物写真図鑑, Plant invader 600 種, 一部改訂. 554 pp. 全国農村教育協会, 東京.
- 清水建美・濱崎恭美. 2006. 都道府県別帰化植物分布表. 近田文弘・清水建美・濱崎恭美(編), 帰化植物を楽しむ, pp. 165–237. トンボ出版, 大阪.
- Stamatakis, A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinform.* 30: 1312–1313.

- Suzuki, T., Inoue, Y., Tsubota, H. & Iwatsuki, Z. 2013. Notes on *Aptychella* (Sematophyllaceae, Bryopsida): *Yakushimabryum longissimum*, *syn. nov.* Hattoria 4: 107–118.
- 太刀掛優・中村慎吾 (編). 2007. 改訂増補帰化植物便覧. 676 pp. 比婆科学教育振興会, 庄原.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipowski, A. & Kumar, S. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 30: 2725–2729.
- Tanabe, A. S. 2011. Kakusan4 and Aminosan: two programs for comparing nonpartitioned, proportional, and separate models for combined molecular phylogenetic analyses of multilocus sequence data. *Mol. Ecol. Resour.* 11: 914–921.
- Tokuoka, T. 2007. Molecular phylogenetic analysis of Euphorbiaceae *sensu stricto* based on plastid and nuclear DNA sequences and ovule and seed character evolution. *J. Plant Res.* 120: 511–522.
- 坪田博美・久保晴盛・向井誠二. 2009. 広島県宮島近海で見つかったヤマトウミヒルモ *Halophila nipponica* J.Kuo について. *Hikobia* 15: 339–347.
- ・———・武内一恵・中原・坪田美保・井上侑哉・内田慎治・向井誠二. 2012. 広島の帰化植物 3. トゲザシヤとマルバトゲザシヤ. *Hikobia* 16: 197–202.
- ・———・大野彰洋・井上侑哉・中原・坪田美保・武内一恵・松井健一・内田慎治・向井誠二. 2013. 広島の帰化植物 4. イヌカキネガラシおよびその近縁種. *Hikobia* 16: 321–334.
- ・恵良友三郎・池田誠慈・久保晴盛・武内一恵・中原・坪田美保・内田慎治・向井誠二. 2015. 広島の帰化植物 6. マメカミツレ. *Hikobia* 17: 73–79.
- 植村修二・勝山輝男・清水矩宏・水田光雄・森田弘彦・廣田伸七・池原直樹 (編・著). 2015. 増補改訂日本帰化植物写真図鑑. 第2巻. *Plant invader* 500種. 595 pp. 全国農村教育協会, 東京.
- Wurdack, K. J., Hoffmann, P. & Chase, M. W. 2005. Molecular phylogenetic analysis of uniovulate Euphorbiaceae (Euphorbiaceae *sensu stricto*) using plastid *rbcL* and *trnL-F* DNA sequences. *Am. J. Bot.* 92: 1397–1420.
- Yang, Y. & Berry, P. E. 2011. Phylogenetics of the *Chamaesyce* clade (*Euphorbia*, Euphorbiaceae): Reticulate evolution and long-distance dispersal in a prominent C4 lineage. *Am. J. Bot.* 98: 1486–1503.
- 吉野由紀夫・太刀掛優・関太郎. 2007. 広島県における外来植物の現状とその問題点. *比婆科学* 224: 1–18.
- Zhang, Z., Schwartz, S., Wagner, L. & Miller, W. 2000. A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *J. Comput. Biol.* 7: 203–214.
- Appendix**
- Specimens examined.**
- Euphorbia maculata* L. コニシキノウ (Euphorbiaceae), Sp. Pl. 1: 455, 1753.
- JAPAN, Honshu, Hiroshima Pref.: Hatsukaichi-shi, Ono-cho, Kamino-hama:** *H. Tsubota & K. Takeuchi* s.n. in hb. HIRO-MY 82428 (11 September 2013, HIRO), DNA voucher for accession numbers LC191845 for nr ITS region and LC191852 for cp *psbA-trnH* spacer; **ibid.**, **Hatsukaichi-shi, Taigenzan:** *H. Tsubota* s.n. in hb. HIRO-MY 120087 (4 August 2016, HIRO), DNA voucher for accession numbers LC191848 for nr ITS region and LC191855 for cp *psbA-trnH* spacer; **ibid.**, **Kyushu, Kagoshima Pref.: Kumage-gun, Yakushima-cho, Anbo (Yakushima Isl.):** *Y. Inoue* s.n. in hb. HIRO-MY 119753 (31 August 2016, HIRO), DNA voucher for accession numbers LC191843 for nr ITS region and LC191850 for cp *psbA-trnH* spacer; **ibid.**, *Y. Inoue* s.n. in hb. HIRO-MY 119754 (31 August 2016, HIRO), DNA voucher for accession numbers LC191844 for nr ITS region and LC191851 for cp *psbA-trnH* spacer.
- Euphorbia prostrata* Aiton ハイニシキノウ (Euphorbiaceae), Hort. Kew. 2: 139, 1789.
- JAPAN, Honshu, Hiroshima Pref.: Hiroshima-shi, Naka-ku, Hacchobori:** *T. Seki* s.n. in hb. HIRO-MY-120151 (30 September 2016, HIRO); **ibid.**, **Hatsukaichi-shi, Miyajimaguchi-nishi:** *H. Tsubota* s.n. in hb. HIRO-MY 119785 (4 August 2016, HIRO), DNA voucher for accession numbers LC191847 for nr ITS region and LC191854 for cp *psbA-trnH* spacer; **ibid.**, *H. Tsubota & M. Nakahara-Tsubota* s.n. in hb. HIRO-MY 119783 (14 August 2016, HIRO).
- Euphorbia* sp. aff. *prostrata* Aiton アレチニシキノウ (Euphorbiaceae)
- JAPAN, Honshu, Hiroshima Pref.: Hiroshima-shi, Minami-ku, Kasumi:** *H. Tsubota* s.n. in hb. HIRO-MY 119791 (4 August 2016, HIRO), DNA voucher for accession numbers LC191849 for nr ITS region and LC191856 for cp *psbA-trnH* spacer; **ibid.**, **Hatsukaichi-shi, Ono-cho, Kamino-hama:** *H. Tsubota & K. Takeuchi* s.n. in hb. HIRO-MY 82427 (11 September 2013, HIRO), DNA voucher for accession numbers LC191846 for nr ITS region and LC191853 for cp *psbA-trnH* spacer; **ibid.**, *K. Takeuchi* s.n. in hb. HIRO-MY 73896c (31 October 2012, HIRO).

