

高知県中追溪谷産気生性藍藻ムラサキクダモ属 (ユレモ目, ミクロコレウス科) の分子系統位置

福岡将之¹・Xuan Hoa Nguyen²・鈴木秀和¹・田中次郎¹・須田彰一郎^{3*}

¹ 東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科 (〒108-8477 東京都港区港南 4-5-7)

² 琉球大学理工学研究科海洋環境学専攻 (〒903-0213 沖縄県西原町千原 1 番地)

³ 琉球大学理学部海洋自然科学科 (〒903-0213 沖縄県西原町千原 1 番地)

Masayuki Fukuoka¹, Xuan Hoa Nguyen², Hidekazu Suzuki¹, Jiro Tanaka¹ and Shoichiro Suda^{3,*}; Phylogenetic position of aerophytic Cyanophyta/Cyanobacteria, the genus *Porphyrosiphon* Kützing ex Gomont (Oscillatoriales, Microcoleaceae) from Nakaio Valley, Kochi Prefecture, Japan. Jpn. J. Phycol. (Sôru) 66: 17–23, March 10, 2018

Detailed morphological characteristics of an aerophytic cyanobacterium *Porphyrosiphon notarisii* Kützing ex Gomont var. *notarisii* was reported using both natural samples and a cultured strain. In addition, the phylogenetic position based on a partial 16S rRNA gene sequence was reported for the first time. *P. notarisii* var. *notarisii* has a velvet or wooly-like thallus, and the color is purple-brown. Sheaths are lamellated, orange or brown-red in color, with the tip being closed. These features define the genus *Porphyrosiphon*. Under culture conditions, there was an increase in BG-11-N medium. These results suggest that *P. notarisii* var. *notarisii* performs nitrogen fixation. The sheath did not have coloration under weak light. Therefore, it is thought that the coloration of sheath is caused by scytonemin, which is a sunscreen-pigment. It is estimated that this taxon belongs to one of the filamentous cyanobacteria groups as a result of phylogenetic analysis inferred from 16S rRNA gene sequences. Unidentified filamentous cyanobacterium (MF109120) that isolated from Brazilian biological soil crusts was the closest relative and sister data of this taxon. However, in the GenBank database via Blast search, there were no sequences that were closely related with other correctly identified Oscillatoriales taxa. From this, we concluded that *P. notarisii* var. *notarisii* occupies an original phylogenetic position.

Key Index Words: Aerophytic, Cyanophyta/Cyanobacteria, Japan, Kochi Prefecture, Morphology, Phylogeny, Porphyrosiphon, Porphyrosiphon notarisii var. notarisii

¹Graduate School of Marine Science and Technology, Tokyo University of Marine Science and Technology, 4-5-7, Konan, Minato-ku, Tokyo, 108-8477, Japan.

²Marine and Environmental Science, Graduate School of Engineering and Science, University of the Ryukyus, 1 Senbaru, Nishihara, Okinawa 903-0213, Japan.

³Department of Chemistry, Biology and Marine Science, Faculty of Science, University of the Ryukyus, 1 Senbaru, Nishihara, Okinawa 903-0213, Japan

*Author for correspondence: sudas@sci.u-ryukyu.ac.jp

緒言

藍藻類の分類は、現在大幅な見直しが必要とされ、新規分類群の発表・提案が相次いでいる。近々の5年間に *Aitellella* (Rigonato *et al.* 2016), *Ancylothrix* (Martins *et al.* 2016), *Dapsisostemon* (Hentschke *et al.* 2016), *Macrochaeta* (Goméz *et al.* 2016), *Phyllonema*, *Foliisarcina* (Alvarenga *et al.* 2016) 等の新属の記載が行われた。この要因は、Komárek & Anagnostidis (1998, 2005) と Komárek (2013) による種レベルのモノグラフの出版、分子系統解析を行うための藍藻特異プライマー (Nübel *et al.* 1997 や Murakami *et al.* 2004 など) の開発、調査がほとんど行われてこなかった南米や極地からの報告が増加したこと等が挙げられる。さらに、既知の属のタイプ種あるいは参考となる種の 16S rRNA 遺伝子塩基配列が EMBL/GenBank/DDBJ に公開されたことが、新規分類群の提案を加速している。Komárek *et al.* (2014) 以降、ほとんどの研究が、16S rRNA 遺伝子塩基配列に基づく分子系統解析と微細構造観察を含めた形態観察を組み合わせた多相分類手法 (polyphasic approach) によりなされている。藍藻の系統分類研究の進展を促すためには、

過去に形態分類により記載された多くの既知分類群のタイプとなる種の培養株を確立し、16S rRNA 遺伝子塩基配列を得、正確な形態観察による再記載とともに報告し、データの蓄積・公開を行う必要がある (e.g. Ramos *et al.* 2017)。本研究が対象としたムラサキクダモ属 *Porphyrosiphon* Kützing ex Gomont は、EMBL/GenBank/DDBJ にも一切遺伝子データがない。Komárek *et al.* (2014) による藍藻の大分類の見直しの中では、「近年の多相分類 (特に分子系統解析) による見直しがなされていない、過去に報告された属」というカテゴリーに当たる。

ムラサキクダモ属 *Porphyrosiphon* は、*P. notarisii* Kützing ex Gomont をタイプ種とし、Gomont (1892) によって設立された糸状体性藍藻である。Geitler (1925) は、形態学的特徴に基づく分類体系において、本属をネンジュモ目 Nostocales Borzi ユレモ科 Oscillatoriaceae Engler に分類した。Geitler (1932) は、目の所属を連鎖体目 Hormogonales Atkinson に変更したが、Fritsch (1945) 以降は再びネンジュモ目に戻された。Anagnostidis & Komárek (1988) は、従来用いられていた細胞や藻塊の外部形態、生殖様式に加えて、

細胞分裂の様式，細胞壁の構造，細胞内部のチラコイドの配列，生化学的性質，分子系統学的形質を考慮した新しい分類体系を構築し，ユレモ目 Oscillatoriales Schaffner ナガレクダモ科 Phormidiaceae Anagnostidis *et* Komárek に所属を移した。その後，Komárek *et al.* (2014) の形態学的・生態学的・系統学的手法を組み合わせた多相分類手法を用いた分類体系では，ユレモ目 Oscillatoriales Schaffner，ミクロコレウス科 Microcoleaceae Struncky, Johansen *et* Komárek に分類され，現在は 18 種 3 変種が分類学上有効とされている (Guiry & Guiry 2017)。本属の分類群の多くは気生性で，湿った土壌や岩，木の幹，コケ植物の上などから記載されている (Komárek & Anagnostidis 2005)。最新のユレモ目のモノグラフである Komárek & Anagnostidis (2005) が定義した本属の特徴は次の 1) ~ 7) である。1) 糸状体 (filament) は単独で生育または様々な基質に付着する藻塊 (thallus, plant mass) を形成する，2) 藻塊はマット状で，青緑色，茶色，赤色を呈する，3) 糸状体は互いにもつれあい，波打ち，*Tolypothrix* 型偽分枝 (*Tolypothrix*-type false branching) を形成することもある，4) 粘質鞘 (sheath) には 1 本のトリコーム (trichome) を含むが，ごく稀に 2 本含まれることがある，5) 粘質鞘は厚く，通常層状となって赤色，赤褐色，紫色，黄色，黄褐色などに着色し，老成すると先端部は閉じて細くなる，6) トリコームを構成する細胞の長さは，細胞の幅とほぼ等しい，7) 先端細胞 (apical cell または terminal cell) はドーム形か円錐形で，頂冠 (カリプトラ: calyptra) をもたない。本邦では，気生性の *P. notarisii* var. *notarisii* のみが報告されている (東 1934, 平松 1967, 1973, 廣瀬・平野 1977, Umezaki & Watanabe 1994)。

ムラサキクダモ属の分類学的研究は，世界的には Gomont (1892), Geitler (1925, 1932), Anagnostidis & Komárek (1988), Komárek & Anagnostidis (2005) 等で行われているが，これらはすべてモノグラフ的研究や，目など大きな分類群全体を扱った研究であり，本属に属する分類群を取り上げたのは一部にすぎない。一方，本邦では，*P. notarisii* var. *notarisii* のフロラ報告に付随した短い形態学的記載や学名のリストアップに留まり，その詳細は未だ明らかとなっていない。

今回著者らは，高知県吾川郡いの町中追溪谷 (33° 54' N, 133° 43' E; Fig. 1) にてムラサキクダモ属と同定される試料を得た。本研究では，採集した試料を用いて生態観察，光学顕微鏡による観察に基づく形態の記載，培養観察及び 16S rRNA を用いた分子系統解析を行い，本試料の分類学的位置を明らかにすることを目的とした。

材料と方法

試料の採集・観察

試料は，高知県吾川郡いの町中追溪谷の崖の上の岩上に付着しているマット状の藻塊を採集し (Fig. 1)，実験室に持ち帰った後，光学顕微鏡を用いた形態観察，培養実験及び分

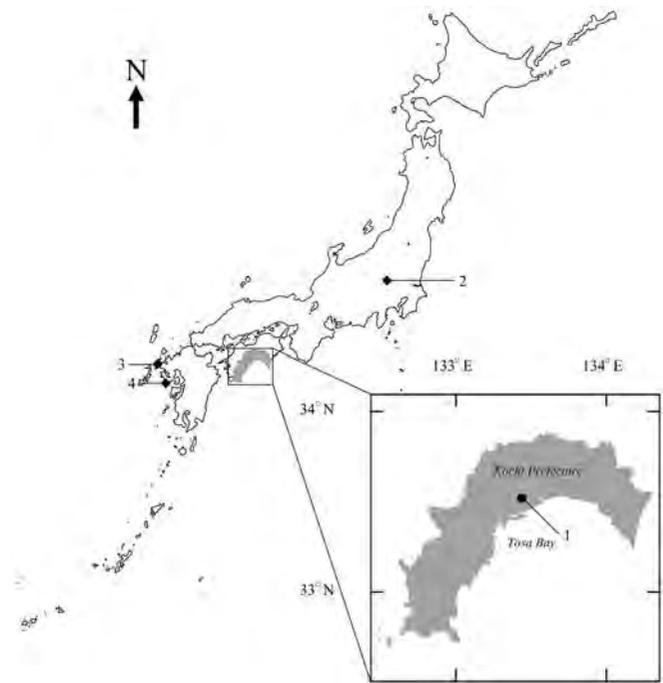


Fig. 1. Sampling sites of this study and previous studies. ● : Sampling site of this Study. ◆ : Sampling sites of previous studies. 1: Sampling site of this study: Nakaioi-Valley, Agawa District, Ino Town, Kochi Prefecture, Japan. 2: Sampling site of Higashi (1934): Aokura-River, Kanra District, Shimonita Town, Gunma Prefecture, Japan. 3: Sampling site of Hiramatsu (1967): Hirado-Island, Hirado City, Nagasaki Prefecture, Japan. 4: Sampling site of Hiramatsu (1973): Nomo Peninsula, Nagasaki City, Nagasaki Prefecture.

子系統解析に供した。一部は 10% 蒸留水ホルマリンで固定して保存した。

試料は，光学顕微鏡を用いて糸状体の形態観察・写真撮影を行い，各細胞の幅及び長さ，粘質鞘の厚さを，画像処理ソフト (NIH ImageJ) を用いて計測した。これらの情報を基に形態学的記載と種の同定を行った。本稿で用いた藍藻類の形態に関する術語は Komárek (2013), Komárek & Anagnostidis (2005), 新山 (2012), 新山ら (1993), Umezaki (1961), 山岸 (2007) を参考にした。

標本情報

標本番号: MTUF-AL-50241, 採集地: 高知県吾川郡いの町中追溪谷, 採集日: 2017年3月26日, 採集者: 福岡将之・須田彰一郎, 基質及び生育環境: 溪谷の崖の岩上。

分離・培養

分離培養には BG-11 および BG-11-N (BG11 から硝酸ナトリウムを除いた窒素固定藍藻用の培地) を用い，倒立顕微鏡下で滅菌蒸留水に藻体をほぐし入れ，鞘から出た単糸状体をピペット洗浄法で単離した。培養は， $24 \pm 2^\circ \text{C}$ ，白色蛍光灯を用い，光量子束密度 $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ，16 時間明期 8 時間暗期の条件で行った。

分子系統解析

単一糸状体 PCR 法は次のように行った。前述の分離・培養と同様に、鞘から抜け出した単一糸状体をピペット洗浄法で単離した。PCR 反応チューブに反応液、シアノバクテリア特異プライマーである CYA106F (Nübel *et al.* 1997) と CYA1371R1 (Murakami *et al.* 2004) と単離糸状体を入れ、PCR 反応を行った。PCR 反応条件と 16S rRNA 遺伝子部分塩基配列の決定は、Suda *et al.* (2013) に従い、分子系統解析には MEGA7.0 (Kumar *et al.* 2016) を用いた。

結果および考察

Porphyrosiphon notarissii Kützing ex Gomont var. *notarissii*: Gomont M. 1892. Monographie des Oscillariées (Nostocacées Homocystées). Annales des Sciences Naturelles, Botanique, Série 7: 331, Pl. 12, Figs 1, 2 (as '*Notarissii*').

気生性藍藻 *Porphyrosiphon notarissii* は、Gomont (1892) によりイタリアのロンバルディア州とピエモンテ州にまたがるマッジョーレ湖付近の湿った岩上から新種記載された。本分類群は記載されて以降、北極圏エルズミア島 (Croasdale 1973), スペイン・カタルーニャ州 (Ballesterosi Sagarra & Romero Martinengo 1982), オーストラリア・ビクトリア州 (Day *et al.* 1995), コロンビア・マグダレーナ県 (Díaz-Pulido & Díaz-Ruiz 2003), ミクロネシア・ポンペイ州 (Tsuda 2006), アメリカ・アーカンソー州 (Smith 2010), ルーマニア・コンスタンツァ県 (Caraus 2017) などの極地から熱帯域まで世界各国から報告がある。本邦では、東 (1934) が群馬県甘楽郡下仁田町青倉川のカワノリ *Prasiola japonica* Yatabe 生育地の溪谷にて初めて報告し、その後、平松 (1967, 1973) が長崎県野母半島の藍藻フロラ研究で報告している (Fig. 1)。廣瀬・平野 (1977) では、本邦産ムラサキクダモ属唯一の種として掲載されている。

本研究で採集した試料は、溪谷の崖の岩上に付着し、大きな群落を形成していた (Fig. 2a)。藻塊は複数の糸状体が不規則に絡まり合い、紫褐色を呈するピロード状または羊毛状となって基質に広がる (Fig. 2a, b)。糸状体の幅は 19.7–26.0 (22.4 ± 1.4) μm ($n=100$)。粘質鞘は橙色や赤褐色を呈し、層状となる。先端部は細くなって閉口する。粘質鞘の厚さは 1.0–4.1 (2.4 ± 0.7) μm ($n=100$)。トリコームを構成する細胞は青緑色またはオリーブ色を呈する。細胞の幅は 15.2–19.3 (17.3 ± 1.1) μm ($n=100$)、細胞の長さは 3.0–13.5 (7.0 ± 2.4) μm ($n=100$)、L/W 比は 0.2–0.8 (0.4 ± 0.1 , $n=100$)。隔壁部 (cross-wall) においてややくびれることがある。先端細胞はやや細くなり、ドーム状となる。カリプトラはもたない (Fig. 2c–e)。連鎖体 (hormogone) はわずかに滑走運動を行う (Fig. 2f, g)。

上記の形態学的特徴及び生育環境が原記載の記載文及びスケッチにほぼ一致したことから *P. notarissii* var. *notarissii* と同定した。



Fig. 2. Morphology of *Porphyrosiphon notarissii* Kützing ex Gomont var. *notarissii*. (a) Habit. (b) Plant mass. (c) Tip of sheath. (d) Tip of filament. (e) Middle part of filament. (f), (g) hormogonia. Scale Bars = 2cm (b), 10 μm (c to g).

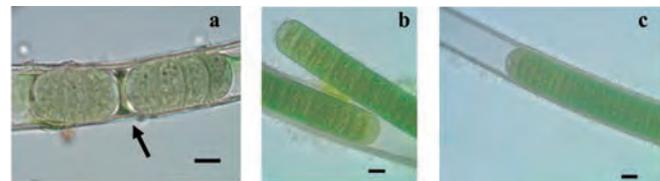


Fig. 3. Light micrographs of strain KHS17 isolated from Kochi. (a) Dividing filament with necrotic cell (arrow), (b) False branching, (c) A filament with thick sheath. Scale bars = 10 μm .

P. notarissii には、基本変種 *P. notarissii* var. *notarissii* の他に var. *canus* A. F. Baker *et* Bold, var. *minor* Y. Li, var. *major* N. L. Gardner の 3 変種が知られている。var. *canus* 及び var. *minor* は、それぞれ細胞の幅が 5.0–6.0 μm (Baker & Bold 1970), 4.0–5.0 μm (Komárek & Anagnostidis 2005) とされ、var. *notarissii* と比較して明らかに細いことから区別できる。var. *canus* は、ムラサキクダモ属として記載されていながらも、粘質鞘の存在が確認されていない (Baker & Bold 1970, Komárek & Anagnostidis 2005)。このような形質は、本属の定義と一致しないため、var. *canus* はムラサキクダモ属へ所属させるべきではない。var. *major* は、var. *notarissii* と比較すると、糸状体の幅、細胞の幅及び長さがそれぞれ 22–28 μm , 18–23 μm , 6–23 μm と、var. *notarissii* よりも大きくなることから区別できる。基

Table 1. Comparison of the genus *Porphyrosiphon*.

Species name		Sample of this study	<i>P. notarisii</i> var. <i>notarisii</i>
Type locality		(Nakaio Valley, Ino town, Agawa county, Kochi Prefecture)	Maggiore Lake, Italy ^a
Thallus	Color	purple-brown	purple-brown ^{a,d} , brownish-red ^{e,d}
	Shape	tomentose, wooly, expanded	tomentose, expanded ^{a,c,d} , wooly, felt-like, tufty ^d
Width of filament (μm)		22.4 \pm 1.4	18.1 \pm 0.4 ^{c*} , up to 28.0 ^d
Sheath	Color	orange, brown-red	purple ^a , orange, pink, violet ^b , brown-red, purple-red ^{e,d}
	Thickness (μm)	2.4 \pm 0.7	4.5 \pm 0.4 ^{c*}
	Properties	thick, lamellated, narrowing to the apex	thick, lamellated, narrowing to the apex ^{a,c,d}
Trichome	Color	blue-green, olive-green	blue-green ^{a,b,c,d} , grey-violet, olive-brownish ^d
	Width of cell (μm)	17.3 \pm 1.1	8–9 ^{a,b} , 9.7 \pm 0.2 ^{c*} , 8–23 ^d
			4.5–12.0 ^{a,b} , 6.0 \pm 0.5 ^{c*} , 4.5–18.0 ^d
			0.3–1.0 ^{a,d} , 0.6 \pm 0.1 ^{c*}
	L/W ratio	0.4 \pm 0.1	0.3–1.0 ^{a,d} , 0.6 \pm 0.1 ^{c*}
	Constriction	○, ×	○ ^{a,b,c,d} , × ^d
	Granule	○	○ ^{a,b,c,d}
	Shape of apical cell	slightly attenuated, rounded, without caryoptra	slightly attenuated, rounded ^{a,b,c,d} , without caryoptra or with thickened outer cell wall ^d
Substrate	cliffs of the valley	barks of tree, rock, wall, among mosses ^{a,b,c,d}	

a: Gomont (1892); c: Geitler (1932); c: Hirose & Hirano (1977); d: Komárek & Anagnostidis (2005);

*: measurement based on figure.

準種以外では、同じく気生性で、Gardner (1927) がプエルトリコのウトゥアドで記載した *P. robustus* Gardner と形態が類似しているが、var. *notarisii* は隔壁部がややくびれ、細胞内に顆粒を有するのに対し、*P. robustus* は隔壁部でくびれることはなく、細胞内に顆粒も有しないことから区別が可能である (Table 1)。

培養の性状

採集試料をスライドグラスに滴下した滅菌蒸留水中でピンセットを用いてほぐしたところ、鞘から抜け出した糸状体が認められた。これをピペット洗浄法で分離し、BG-11 培地と BG-11-N 培地を 10 mL ずつ入った試験管にそれぞれ 1 糸状体ずつを分離し、3 クローンずつの培養を行ったところ、BG-11 培地では増殖せず、BG-11-N 培地で 2 本の増殖が認められた。糸状体の幅は、鞘を含めて 20.9–26.5 μm 、細胞の長さは 5.2–12.2 μm 、幅は 19.6–22.6 μm で採集試料とほぼ同じ大きさであり、色調も青緑色で、異質細胞 (heterocyte) はなかった (Fig. 3a-c)。これらの形態は試料の観察結果に一致し、培養株として確立できたことが認められた。増殖は遅く、数ヶ月でも糸状体が数本肉眼で確認できる程度であっ

た。BG-11 培地での増殖がなかったことから本藻は窒素固定を行うものと考えられるが、予備的に藍藻の窒素固定酵素であるニトロゲナーゼ遺伝子の特異プライマーにより PCR 増幅を試したが PCR 産物を得ることはできなかった。野外からの試料は鞘にオレンジ色の着色があった (Fig. 2c-e) が、培養藻体の鞘には着色がなかった。この鞘の着色は紫外線吸収物質であるスキトネミン (scytonemin) と考えられる (Rastogi & Incharoensakdi 2014)。スキトネミンは、マイコスポリン様アミノ酸 (mycosporine-like amino acids) と同様に、藍藻の紫外線吸収物質として知られており、名前の由来は陸生の糸状藍藻である *Scytonema* C. Agardh ex Bornet et Flahault に由来する。培養条件がガラス製の試験管を用い、野外に比べてはるかに低い 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ という光量子束密度の条件であることから鞘の着色色素であるスキトネミンが誘導されていないか、肉眼で識別できない程度しかないものと考えられる。

分子系統解析

16S rRNA 遺伝子 822 塩基を得た。これを用い、主な藍藻のグループと系統樹を構築したところ統計的な支持は得ら

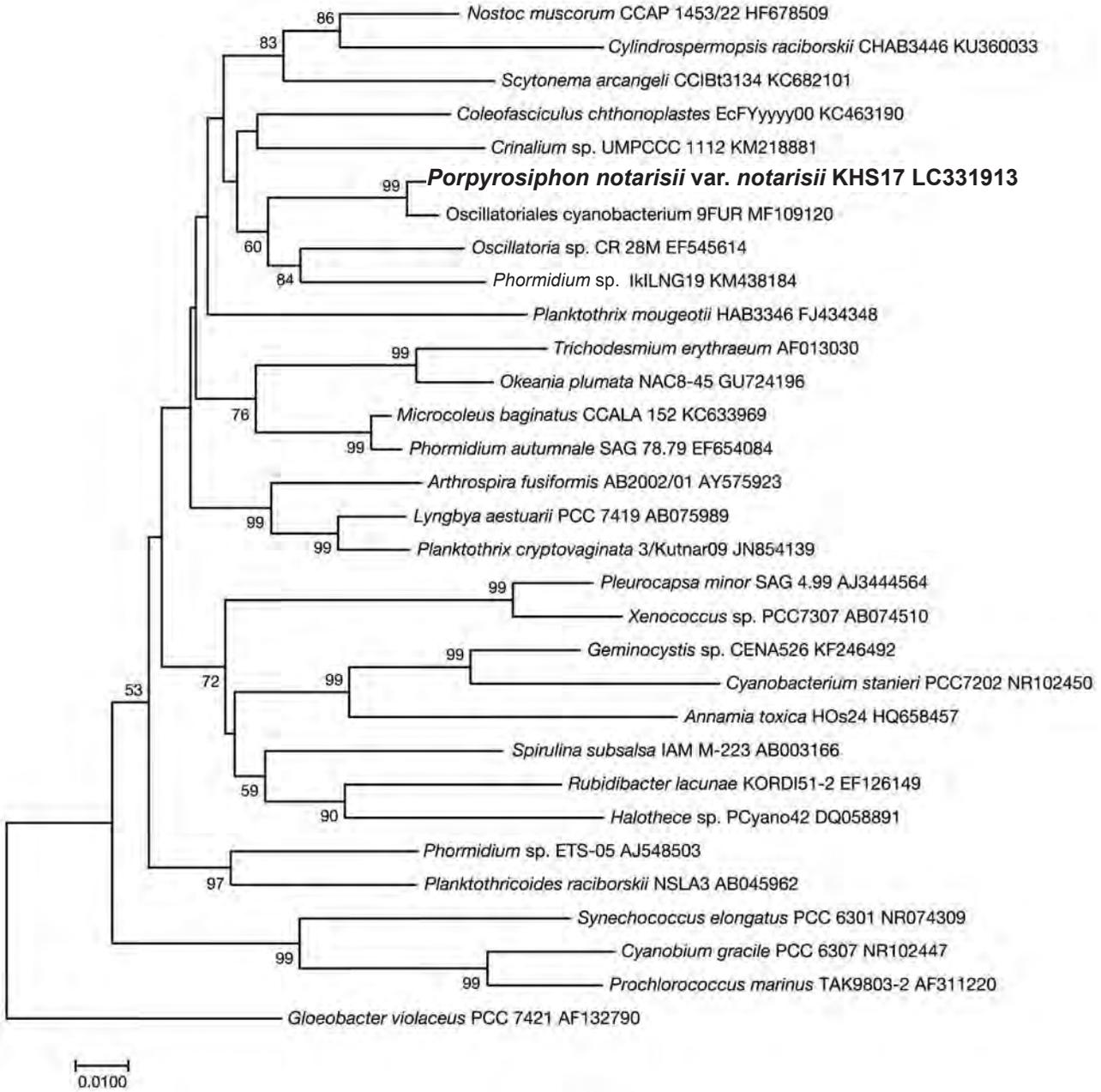


Fig. 4. Maximum Likelihood phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences was constructed. The outgroup selected as *Gloeobacter violaceus* PCC 7421 (AF132790). Bootstrap values were tested 1,000 times using the rapid bootstrap option (>50%). Boldface indicates the sample from this study.

れないものの形態的には糸状体が優占するユレモ目に属することが推定された (data not shown)。そこで、本種が形成する系統群およびその姉妹群のブートストラップ値が高くなり、統計的に系統的位置が支持される系統樹の構築を目指して OTU を変更して解析を行った。その結果、分類学的に信頼性のあるデータを用いて構築した系統樹では統計的支持は得られず、ブラストサーチ上位データを用いた結果、比較的高い単系統性を示す系統群中に本種が位置する系統樹が得られた (Fig. 4)。本種と 99% の確率で同一クレードに位置したのはブラジルの biological soil crust (生物性表土) から得られた未同定の糸状シアノバクテリア (Oscillatoriales

cyanobacterium 9FUR MF109120) であった。次いで 60% の確率で姉妹群を形成したのは、*Oscillatoria* sp. CR 28M EF545614 と *Phormidium* sp. Ik1LNG19 KM438184 で、前者はコスタリカ産、後者はギリシャ産のいずれも温泉の糸状シアノバクテリアの未発表データであった。さらにこれらの形成する系統群と姉妹群になったのは、統計的には支持されないものの、*Coleofasciculus chthonoplastes* EcFYyyyy00 KC463190 と *Crinalium* sp. UMPCCC1112 KM218881 といずれも糸状のシアノバクテリアであった。これらから、*Porphyrosiphon notarisii* var. *notarisii* は、気生・陸生の糸状体シアノバク

テリアと近縁であり、分類学的に信頼性のある 16S rRNA 遺伝子が登録されているシアノバクテリアの分類群とは異なる系統的位置を占めることが明らかとなった。この原因としては、本種のような気生・陸生のシアノバクテリアで正確な分類がなされているデータがデータベースに少ないことが挙げられる。また、今回用いたデータは 882 塩基と短いため、データの不足も一因と考えられた。今後は、培養株が得られていることから、16S rRNA 遺伝子の全長の解析を始め、窒素固定能力が推定されることから窒素固定関連遺伝子などを解析し、それらを用いてより統計的に支持される系統関係を示す予定である。

まとめ

高知県吾川郡いの町中追溪谷から採集した陸生藍藻マットは、世界各地から報告されている *Porphyrosiphon notarisii* var. *natarisii* と同定でき、BG-11-N 培地で培養株を確立することができた。単一糸状体から得られた 16S rRNA 遺伝子部分塩基配列 (822 塩基) を用いた系統解析により、本種の系統的位置は未同定の気生・陸生の糸状シアノバクテリアと統計的に支持される系統群を形成した。しかしながら、分類学的に同定されている近縁なデータは存在せず、シアノバクテリア全体の中での本種の分子系統位置を確定するまでには至らなかった。本報告では、採集試料から直接単一糸状体を分離し、藍藻特異プライマーを用いた PCR 法により増幅できたやや短い塩基配列を用いた解析であったため、ブートストラップ値が低かった可能性もある。培養株が確立できたことから、今後は、異なるプライマーを使用し、より長く塩基配列を得て解析に用いる予定である。また、BG-11-N 培地でしか培養できなかったことは、本藻が窒素固定を行うことを示しているが、予備的な実験では、藍藻の窒素固定遺伝子 (*nifH*) のプライマーを用いた増幅が失敗したため、培養により多くの藻体を得て再度増幅を試みたい。鞘の着色から紫外線吸収色素であるスキトネミンの生産が考えられ、気生藍藻でもあることからマイコスポリン様アミノ酸も生産する可能性がある。これらは、化粧品などへの有効利用も考えることができ (Derikvand *et al.* 2016)、今後の応用研究も期待できる。

本研究では、詳細な形態観察と文献との比較研究を行い、*Porphyrosiphon* 属のタイプ種である本藻の培養株を確立した。加えて、部分塩基配列ではあるが、16S rRNA 遺伝子の配列を報告できたことは今日の藍藻の分類研究に大変重要な情報を与えたことになる。もちろん、分類学的に明確にするためには、イタリアのタイプ産地から形態的に記載に一致する試料を得、そこから得られた塩基配列と一致するかどうかを確かめることが必要となる。そのような研究が行われるまでは、本研究から得られた塩基配列と培養株は *Porphyrosiphon notarisii* var. *natarisii* の参考塩基配列と参考株として用いることができるだろう。

謝辞

本研究で用いた試料は 2017 年 3 月高知県高知市にて開催された日本藻類学会第 41 回大会ワークショップの実施中に採集されたものである。ワークショップの開催に伴い、試料採集の機会を設けてくださった広島県環境保健協会の半田信司氏をはじめとする、ワークショップの企画運営を担当された方々に深く謝意を表する。

引用文献

- Alvarenga, D. O., Rigonato, J., Henrique, L., Branco, Z., Melo, I. S. & Fiore, M. F. 2016. *Phyllonema avicenniicola* gen. nov., sp. nov. and *Foliusarcina bertioensis* gen. nov., sp. nov., epiphyllitic cyanobacteria associated with *Avicennia schaueriana* leaves. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 66: 689-700.
- Anagnostidis, K. & Komárek, J. 1988. Modern approach to the classification system of Cyanophytes. 3. Oscillatoriales. *Arch. Hydrobiol., Suppl.* 80 (Alogol. Stud. 51-53): 327-472.
- Baker, A. F. & Bold, H. C. 1970. *Phycological Studies X. Taxonomic studies in the Oscillatoriaceae.* University of Texas Publication 7004: 1-105.
- Ballesterosi, Sagarra, E. & Romero Martinengo, J. 1982. *Catálogo de las algas bentónicas (con exclusión de las diatomeas) de la Costa Catalana.* *Col. Bot. (Barcelona)* 13: 723-765.
- Carau, I. 2017. *Algae of Romania. A distributional checklist of actual algae.* Version 2.4. *Studii si Cercetari Biologie* 7: 1-1002.
- Croasdale, H. T. 1973. *Freshwater algae of Ellesmere Island, N. W. T. (exclusive of diatoms and flagellates).* *Nat. Mus. Natur. Sci., Publ. Bot.* 3: 1-131.
- Day, S. A., Wickham, R. P., Entwisle, T. J. & Tyler, P. A. 1995. *Bibliographic check-list of non-marine algae in Australia. Flora of Australia supplementary Series* 4: 1-276.
- Derikvand, P., Llewellyn, C. A. & Purton, S. 2016. Cyanobacterial metabolites as a source of sunscreens and moisturizers: a comparison with current synthetic compounds. *European J. Phycol.* 52: 43-56.
- Díaz-Pulido, G. & Díaz-Ruíz, M. 2003. Diversity of benthic marine algae of the Colombian Atlantic. *Biota Colombiana* 4: 203-246.
- Fritsch, F. E. 1945. *The Structure and Reproduction of the Algae.* Vol. II. University Press, Cambridge.
- Gardner, N. L. 1927. *New Myxophyceae from Porto Rico.* *Mem. New York Bot. Garden* 7: 1-144.
- Geitler, L. 1925. *Cyanophyceae.* In: A. Pascher (ed.) *Süßwasser-Flora Mitteleuropas* 12. Gustav Fischer, Jena: 1-481.
- Geitler, L. 1932. *Cyanophyceae.* In: L. Rabenhorst (ed.) *Kryptogamen-Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz* 14. Akademische Verlagsges., Leipzig: 1-1196.
- Gómez, E. B., Johansen, J. R., Kastovsky, J., Bohunická, M. & Capková, K. 2016. *Microchaete* gen. nov. (Nostocales, Cyanobacteria), a taxon morphologically and molecularly distinct from *Calothrix*. *J. Phycol.* 52: 638-655.
- Gomont, M. 1892. *Monographie des Oscillariées (Nostocacées homocystées).* *Ann. Sci. Nat. Bot. Ser.* 7: 263-368.
- Guiry, M. D. & Guiry, G. M. 2017. *AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway.* <http://www.algaebase.org>; searched on 7 September 2017.
- Hentschke, G. S., Johansen, J. R., Pietrasiak, N., Fiore, M. F., Rigonato, J., Sant'anna, C. L. & Komárek, J. 2016. Phylogenetic placement of *Dapisostemon* gen. nov. and *Stephostemon*, two tropical heterocystous genera (Cyanobacteria). *Phytotaxa* 245: 129-143.
- 東道太郎 1934. 藻類雑記 (9). 薬水会誌 29: 86-92.
- 平松信夫 1967. 長崎県産藍藻類. 植物研究雑誌 42: 33-43.

- 平松信夫 1973. 長崎県野母半島の陸産藍藻類. 植物研究雑誌 48: 87-94.
- 廣瀬弘幸・平野実 1977. 藍藻綱. In: 廣瀬弘幸・山岸高旺 (編) 日本淡水藻類図鑑. 内田老鶴圃新社. 東京: 1-151.
- Komárek, J. 2013. Cyanophyceae pt. 3: Heterocystous genera. Süßwasserflora Mitteleuropa (2nd ed.), 19/3. Springer Spektrum. Berlin: 1130pp.
- Komárek, J. & Anagnostidis, K. 1998. Cyanophyceae pt. 1: Chroococcales. Süßwasserflora Mitteleuropa (2nd ed.), 19/1. Spektrum Akademischer Verlag, Berlin: 548pp.
- Komárek, J. & Anagnostidis, K. 2005. Cyanophyceae pt. 2: Oscillatoriales. Süßwasserflora Mitteleuropa (2nd ed.), 19/2 Spektrum Akademischer Verlag, Berlin: 760pp.
- Komárek, J., Kaštovský, J., Mareš, J. & Johansen, J. R. 2014. Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. Preslia 86: 295-335.
- Kumar, S., Stecher, G. & Tamura, K. 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. Mol. Biol. Evol. 33: 1870-1874.
- Martins, M. D., Rigonato, J., Taboga, S. R. & Branco, L. H. Z. 2016. Proposal of *Ancyllothrix* gen. nov., a new genus of Phormidiaceae (Cyanobacteria, Oscillatoriales) based on a polyphasic approach. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 66: 2396-2405.
- Murakami, A., Miyashita, H., Iseki, M., Adachi, K. & Mimuro, M. 2004. Chlorophyll *d* in an epiphytic cyanobacterium of red algae. Science 303: 1633.
- 新山優子 2012. 藍藻類ユレモ目の新分類体系の紹介. 陸水学雑誌 73: 187-196.
- 新山優子・渡辺真之・梅崎勇 1993. Anagnostidis・Komárek の藍藻類の新分類体系の紹介. 藻類 41: 55-67.
- Nübel, U., Garcia-Pichel, F. & Muyzer, G. 1997. PCR primers to amplify 16S rRNA genes from cyanobacteria. Appl. Environ. Microbiol. 63: 3327-3332.
- Ramos, V., Morais, J. & Vasconcelos, M. 2017. Data descriptor: a curated database of cyanobacterial strains relevant for modern taxonomy and phylogenetic studies. Scientific Data 4: 170054, DOI: 10.1038/sdata.2017.54.
- Rastogi, R. P. & Incharoensakdi, A. 2014. Characterization of UV-screening compounds, mycosporin-like amino acids, and scytonemin in the cyanobacterium *Lyngbya* sp. CU2555. FEMS Microbiol. Ecol. 87: 244-256.
- Rigonato, J., Gama, W. A., Alvarenga, D. O., Henrique, L., Branco, Z., Brandini, F. P., Genuário, D. B. & Fiore, M. F. 2016. *Aliterella atlantica* gen. nov., sp. nov., and *Aliterella antarctica* sp. nov., novel members of coccoid cyanobacteria. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 66: 2853-2361.
- Smith, T. E. 2010. Revised list of algae from Arkansas, U. S. A. and new additions. Int. J. on Algae 12: 230-256.
- Suda, S., Moriya, R., Sumimoto, S., Ohno, O. & Suenaga, K. 2013. Genetic diversity of filamentous cyanobacteria from shore regions of Okinawa. J. Mar. Sci. Tech. (Taiwan) 21: Suppl. 175-180.
- Tsuda, R. T. 2006. Checklist and bibliography of the marine benthic algae within Chuuk, Pohnpei and Kosrae states, Federated States of Micronesia. Bishop Museum Press, Honolulu: 1-43.
- Umezaki, I. 1961. The Marine Blue-green Algae of Japan. Mem. Coll. Agric. Kyoto Univ. 83: 1-149.
- Umezaki, I. & Watanabe, M. 1994. Enumeration of the Cyanophyta (blue-green algae) of Japan I. Chroococcales and Oscillatoriales. Japanese J. Phycol. 42: 175-219.
- 山岸高旺 2007. 淡水藻類 淡水産藻類属総覧. 内田老鶴圃, 東京: 1428pp

(Received Nov. 9, 2017; Accepted Dec. 8, 2017)