

シアノバクテリア／ラン藻の分類の現状と今後

須田 彰一郎^{1*}・Philipus Uli Basa Hutabarat²・Nuryadi Handung²・上原 洋志²¹ 琉球大学理学部海洋自然科学科 (〒 903-0213 沖縄県中頭郡西原町字千原 1 番地)² 琉球大学理工学研究科海洋環境学専攻 (〒 903-0213 沖縄県中頭郡西原町字千原 1 番地)Shoichiro Suda^{1*}, Philipus Uli Basa Hutabarat², Nuryadi Handung² and Hiroshi Uehara²: Current status and future of the taxonomy of Cyanobacteria/Cyanophyta. Jpn. J. Phycol. (Sôru) 70: 13–23, March 10, 2022

This paper describes the current status of the Cyanobacteria/Cyanophyta classification updated in CyanoDB 2.0 (Hauer & Komárek 2021) based on the report by Komárek *et al.* (2014), although it is still in the process of being organized. Currently, Cyanobacteria is classified into ten orders: Gloeobacterales, Thermostichales, Synechococcales, Chroococcales, Pseudanabaenales, Chroococciopsidales, Pleurocapsales, Oscillatoriales, Spirulinales, and Nostocales. The classification is based on polyphasic taxonomy that combines molecular phylogeny using 16S rRNA gene sequences and morphological characteristics of the cells. The 16S-23S ITS gene sequence and its secondary structure are also taxonomic criteria at the species and genus levels in certain cases. Taxonomic status of some taxonomically problematic members such as *Nostoc*-like cyanobacteria, *Synechococcus*-like cyanobacteria, Oscillatoriales, and *Lyngbya* and *Lyngbya*-like cyanobacteria is discussed individually. We also introduce our current laboratory methods for cyanobacteria classification for the readers' reference.

Key Index Words: Cyanobacteria/Cyanophyta, higher classification system, polyphasic taxonomy, taxonomy

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

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

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

緒言

シアノバクテリア／ラン藻は同じ生物群を表しており、歴史的には藻類の一部としてラン藻の呼称の方が早く用いられてきた。藻類学の立場からすれば、「ラン藻」を用いたいという気持ちはあるが、最近用いられる用語は、主に「シアノバクテリア」である。調べた限り全ての高等学校の生物の教科書(吉里ら 2018, 嶋田ら 2018, など)の索引に「シアノバクテリア」はあるものの、「ラン藻」が見あたらないことは、そのことを如実に表している。細胞体制が原核生物であり、系統的にも細菌上界に属していることから、「シアノバクテリア」の呼称の方が適切であろう。本稿でも、タイトルを「シアノバクテリア／ラン藻」としたが、以下では、「シアノバクテリア」を用いる。

シアノバクテリアの出現によって、還元的だった地球の表層は酸化環境に変化し、様々な生物の進化がもたらされたということはよく知られている。原生代(25億年前から5億4千万年前まで)は、「シアノバクテリアの時代」(the age of blue-green algae)とも呼ばれており、太古の地球には、地球表層の環境を変えるほどのシアノバクテリアが優占していたことに間違いない。とは言え、シアノバクテリアの出現時期については、さまざまな議論がある。37億年前には出現して

いたとするものから、25億年前には出現していたとするものなどがある(Oren 2014)。いずれにしてもシアノバクテリアが、長い歴史を持つことに間違いはなく、現生のシアノバクテリアはその長い歴史の中で様々な進化過程を経てきたことが容易に類推できる。時間の長さが進化・種分化に関与するのであれば、シアノバクテリアには途方もない数の種が出現し、絶滅し、今生きていると考えるのが妥当だろう。当然、現生のシアノバクテリアも進化の途上にあるといえる。

歴史的に、シアノバクテリアは、植物の仲間として国際植物命名規約(ICBN)のもとに、形態学的特徴に基づいて分類されてきた。1970年代に、Stanierとその研究グループにより、細胞体制が細菌そのものであることから、細菌学の分類体系(国際細菌命名規約, ICNB)により分類されるべきだとの主張がなされた(Stanier *et al.* 1978)。しかしながら、植物として扱われてきた歴史は破棄されず、ICBNに基づく分類体系はそのままだに残った。この辺りの歴史的な変遷は渡辺(1995)に詳述されているが、その後の混乱はいまだに続いている状況にある(Palinska & Surosz 2014)。

その後、ICBNは、国際藻類・菌類・植物命名規約(ICN)に、ICNBは、国際原核生物命名規約(ICNP)にそれぞれ改訂されそれぞれが扱う生物の範囲が変更された。これに伴いシア

ノバクテリアを ICNP の下で再分類する必要に迫られている。しかし、シアノバクテリアを ICNP に従って分類するにあたっての大きな問題は、ICNP の規則 28a 付記 1 にある、「1980 年 1 月 1 日より以前に使われていた名称は、その名が細菌学名承認リストに掲載された場合に限って、すでに正式に発表されたものとみなされる。」(仲田 2012) という部分にある。つまり、1980 年 1 月 1 日以前に植物学の下に分類・出版された多くのシアノバクテリアの名称は一切リストに掲載されていないため、それらの未記載種はそれらの属が細菌分類学の下に復活名として命名・正式発表されるまでは細菌分類学の下で発表できない。また、1980 年 1 月 1 日以降に ICNP の下に正式発表されていない名称も用いることはできない。このため、シアノバクテリアは生物としては細菌ではあるものの、「藻類」として分類・命名されてきた歴史的経緯から、現状において分類を行うにあたっては、多くの場合 ICNP ではなく、ICN に従った分類を続ける必要がある。

我国の藻類学の教科書におけるシアノバクテリアの解説では、もっぱら形態に基づく Geitler (1932) の分類体系に基づく記述がされている。具体的には、まずシアノバクテリア全体を細胞体制に基づいて、単細胞性または群体性のクロオコックス目 (Chroococcales)、単細胞性または群体性で内生胞子を形成するプレウロカプサ目 (Pleurocapsales)、異質細胞を持たない糸状体性のユレモ目 (Oscillatoriales)、異質細胞を持ち糸状体性のネンジュモ目 (Nostocales)、糸状体性で真分枝するスチゴネマ目 (Stigonematales) の 5 目に大別している (大塚 2010, 田辺 2012) (図 1)。この分類体系のメリットは目が形態的な特徴によって明確に特徴付けられており、直感的に分かりやすい点である。しかしながら、近年の分子系統解析により、同一の形態的な特徴を持つシアノバクテリアが、必ずしも単系統ではなく、多くの場合遺伝的に異なる多系統のシアノバクテリアにより構成されていたことが明らかになっている。形態的に区別できない系統的に隔たったシアノバクテリアには“隠蔽分類群 (cryptotaxa)”という言葉が用いられることもある (Komárek 2016)。このように、細胞体制に基づく伝統的な形態分類体系は、現代の系統分類と合致しないことが明らかになっている。

本稿では、系統学的種 (進化学的種, monophyletic species concept) を最小の分類学的単位として用いて話を進める。種そのものをどのように考えるかについては様々であり、それだけで大変な論議が必要になるので深入りはしない。では、最小の分類学的単位とはどういうことか。有性生殖を行う真核生物においては、生物学的種概念として「同一地域に存在する自然交配する集団」を種として扱う場合が一般的である。では、有性生殖を行わないシアノバクテリアを含めた細菌の種をどのように考えるか。分子系統解析が一般化した現在、単系統となる一群を種と捉える系統学的種 (進化学的種, monophyletic species concept) の考え方が広く用いられてきている。近年の分類体系は、分子系統解析に基づく最小の単系統群を一つの種としてみなし、その姉妹群からなる単系統

群のまとまりを属、さらにその姉妹群からなるまとまりを科などの上位分類群とする考え方ということになる。

本稿では、Komárek *et al.* (2014) により提案された最新のシアノバクテリアの高次分類体系と、これを元にしてオンラインデータベースとして更新されている CyanoDB 2.0 (Hauer & Komárek 2021) (図 1) を紹介し、新たな分類群の提案がなされている現状とシアノバクテリアの分類に関する方向性について解説を試みる。シアノバクテリアを含め、藻類全般については AlgaeBase (Guiry & Guiry 2021) が広く利用されており事実本項でも後半の *Nostoc* 様シアノバクテリアや *Lyngbya* 様シアノバクテリアについてはタイプ種の情報や何種が所属しているかなどの情報を得るのに用いており、個々の属の情報などは AlgaeBase の方が利用しやすい部分もある。しかし、CyanoDB 2.0 は、シアノバクテリアに特化し、本項で取り上げた Komárek *et al.* (2014) の分類体系に則っており、近縁な分類群やタイプの情報などがまとまっており、比較もしやすい。塩基配列やゲノム情報を利用する場合、NCBI taxonomy や SILVA NR Ref Database などが用いられるが、正しくない分類に基づいた情報が含まれている場合があることから、利用には注意を要するデメリットもある。この様な点から、CyanoDB 2.0 を紹介することにした。しかしながら、Komárek *et al.* (2014) による高次分類体系の提案は、今後の方向性は示されているものの、決定版ではなく整理途上である。分子系統解析に基づく分類が当然の方法として定着し、さらにはゲノム解析の進展、メタゲノム解析の生態学分野での頻繁な利用、シングルセルゲノム解析までも一般化されてゆく状況の中で、これらの成果を取り入れつつ現在進行形でシアノバクテリアの多くの新規分類群が発表されている現状について紹介しておくことが必要であろう。

細菌の種

Yarza *et al.* (2014) により 16S rRNA 遺伝子塩基配列の分子系統解析に基づく細菌と古細菌の分類に関する論文が発表された。シアノバクテリアを含めて、細菌と古細菌の分類の基準は 16S rRNA 遺伝子塩基配列の分子系統位置とされている。詳しくは原典にあたっていただくとして、ここでは、この論文で提案されている分類群の基準となる境界 (しきい値) から話を進めていく。この論文では多くの文献およびデータベースの情報から 16S rRNA 遺伝子塩基配列 (1450 塩基以上の長さ) の相同性の値を比較し、属を 94.5% 以上、科を 86.5%、目を 82.0%、綱を 78.5%、門を 75.0% の相同性という基準となるしきい値を示している (表 1)。多くの研究を総合すると、種については 98% から 99% の間に異なる種を分ける境界が来るとされ、98.7%、99.0%、99.5% という 3 つの境界が提案されており、シークエンスのエラーも考慮すると、最も低い 98.7% を種の境界として用いるのが妥当であるとされている。16S rRNA 遺伝子塩基配列の長さについては、出来るだけ長い塩基配列を比較する方が良いのだが、データベースに 900 塩基以上が登録されているのはわずかに 23% である

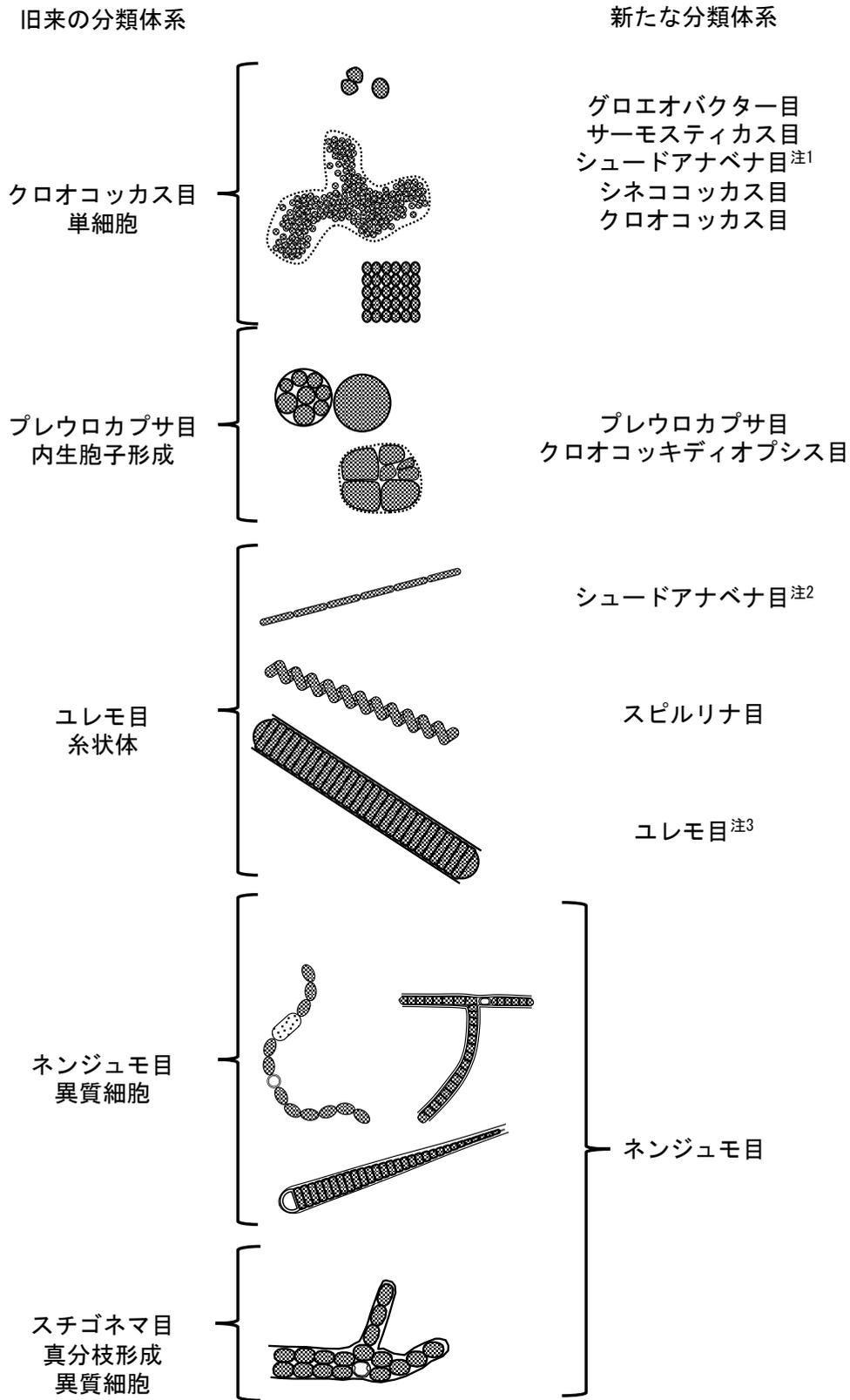


図1. シアノバクテリアの新旧分類体系の比較の模式図.

注1 シュードアナベナ目のうち単細胞性の仲間 (*Thermosynechococcus* 属) が含まれる.

注2 シュードアナベナ目の糸状体性の仲間.

注3 単細胞性の仲間 (*Cyanothece* 属) が含まれる.

表 1. 16S rRNA 遺伝子塩基配列の相同性による細菌および古細菌の分類学的しきい値.

	種	属	科	目	綱	門
分類群数	8602	568	201	85	39	23
相同性の中央値	-	96.4%	92.25%	89.2%	86.35%	83.68%
相同性の最小値	-	94.8%	87.65%	83.55%	80.38%	77.43%
相同性のしきい値	98.7%	94.5%	86.5%	82.0%	78.5%	75.0%

Yarza *et al.* (2014) を改変

という (Yarza *et al.* 2014)。これは、短い配列を用いた環境 DNA 解析のデータが多くあるためである。実際に短い配列を用いる場合、16S rRNA 遺伝子塩基配列のどの部分を用いるかによっても相同性の解釈が異なる。分類学的報告から細菌と古細菌の種分類を論議するに足る塩基数を求めると最初の 750 塩基あれば 90% の識別ができることとあるが、実際の分類では 1300 塩基以上の比較が必要であると報告している (Yarza *et al.* 2014)。

本当に 16S rRNA 遺伝子塩基配列に基づく系統解析によりシアノバクテリアの分類は可能なのか。この点に関して 16S rRNA 遺伝子塩基配列と 23 種類の保存性の高い単一コピーのタンパク質コード遺伝子の塩基配列を用いた系統解析結果を比較した報告がある (Mareš 2018)。全ゲノム情報が多くのシアノバクテリアからも報告されており、この研究では 191 のゲノムを用いている。ただし、多くのゲノムデータが報告されている *Synechococcus* (系統的に異なる *Parasynechococcus*, *Thermostichus*, *Thermosynechococcus* などを含む) や *Prochlorococcus* などのデータが利用され、ゲノムデータの報告がない分類群は解析されていないという偏りがある。それでも、16S rRNA 遺伝子塩基配列系統解析と全ゲノム情報由来の塩基配列の系統解析の両者に共通するノードの 55% が存在し、43% が高いサポート (ブートストラップ値で 70% を超える) が与えられていることから、現状の 16S rRNA 遺伝子塩基配列に基づく分子系統解析結果が、シアノバクテリアの系統関係を適切に示していることが明らかにされている。ただし、ゲノムデータから同一のゲノム中に系統的にかけ離れた 16S rRNA 遺伝子塩基配列を含む *Leptolyngbya* sp. O-77 コピーが見出されており、単に 16S rRNA 遺伝子塩基配列だけから系統関係を論じることの危険性も指摘されている。同様に、同一の DNA サンプルからクローニングにより 16S rRNA 遺伝子塩基配列を解析した例によると、クローン内の違いが 0.1–1.1% であったという報告 (Engene *et al.* 2010) がある。単純に考えるなら 16S rRNA 遺伝子塩基配列の 1300 塩基を比較して、13 塩基程度の違いは同一クローン内で存在する可能性があるということを示している。また、特殊な例として *Scytonema hyalinum* N.L. Gardner では、同一株の持つ 16S rRNA 遺伝子配列の不均一性は 7.3–9.0% という高い値をとるという報告もある (Johansen *et al.* 2017)。この報告では、同一クローン株だけではなく、いくつかの *S. hyalinum* 株を用い、16S rRNA 遺伝子塩基配列には大きく異なる 2 つの系統的位が示され、他の単一コピー遺伝子である *rbcLX*,

rpoC1, *nifH* を用いた系統解析結果では一方の 16S rRNA 遺伝子の系統的位と同様になったことから、この系統的位が *S. hyalinum* の真の系統を示し、同様の位にならなかった 16S rRNA 遺伝子塩基配列がもたらされたのは、HGT によると考察している。このように、16S rRNA 遺伝子の水平伝播の可能性を否定することはできないため、16S rRNA 遺伝子塩基配列に基づく分子系統樹が絶対的にシアノバクテリアの系統関係を示していると言い切ることができない。しかし、一般的には 16S rRNA 遺伝子塩基配列に基づく系統解析結果は、シアノバクテリアの系統関係を示していると言えることになる。よく知られた細菌の分類群の場合、16S rRNA の V3-V4 領域などを用いれば、短い配列でも分類を行うことができるという報告もあるが、出来るだけ長い塩基配列データを用いて系統解析を行うことが望ましく、少なくとも 1000 塩基は比較すべきだろう。

さてそのように得られた 16S rRNA 遺伝子塩基配列に基づく系統解析により高いブートストラップ値で信頼性の高いクレード (系統群) が得られた場合、このクレードは何を表しているのか。16S rRNA 遺伝子塩基配列に基づく系統樹は概ね系統関係を示しているということなので、先に示した細菌・古細菌の相同性の境界値を用いると、16S rRNA 遺伝子塩基配列の相同性が 98.7% を超える OTU のまとまりのクレードが単一の種を、94.5% から 98.7% の相同性のまとまりであるクレードは属を、86.5% から 94.5% のまとまりが科を示すといった、数値で示された基準は分かりやすく、混乱が生じることもなさそうである。このような考え方をさらに推し進める形で、原核生物の命名基準に DNA 塩基配列を用いようという意見も提案されている (Rosselló-Móra & Whitman 2019)。実際には、塩基配列決定の高速化とバイオインフォマティクス、低コストのゲノム解析、短い断片のメタゲノム解析を統合解析する方法などの開発、単細胞 (単一群体) 由来遺伝子のゲノム (シングルセルゲノム) 解析などが急速に進展しており、ゲノム情報を用いた分類方法が加速していく状況にあることは間違いない。シアノバクテリアにおいても、同様な方向性からの提案 (Walter *et al.* 2017) がなされているが、既知の分類群との関係や命名法上の問題も指摘され (Komárek 2020) ており、Walter *et al.* (2017) による大幅な分類学的見直し (33 の新属, 87 の新種) は受け入れられていない状況にある。なお、Komárek *et al.* (2020) の補足データとして、2019 年におけるシアノバクテリアの分類の状況が未発表情報も含めて表にまとめられているので参考にさせていただきたい (Komárek

2020)。DNA 塩基配列を用いた分類体系への移行は、原核生物全体の分類の方向性に合致し、今後の趨勢となると考えられる。実際に、表現形質にほとんど違いがなく、塩基配列の相同性の数値を根拠に新たな分類群を提案するという整理の仕方では報告されている場合も見受けられる。これらの新規分類群のほとんどは、形態的に分類することが困難で、これらのシアノバクテリアが野外サンプル中に出現した場合、記載論文と同じ方法で分子系統解析を行わない限り分類することはほぼ不可能である (Komárek 2020)。

一方、原核生物の分類学のためのゲノムデータの使用に関する最小限の基準の提案がなされている (Chun *et al.* 2018)。元々、細菌分類の基準としては、DNA-DNA 相同性 (DDH) 70% という数値が用いられ、現在、多くの原核生物のゲノムが解析されていることから、ゲノム全体の相同性 (the overall genome related index, OGRI) を用いるという方向性も示されつつある状況である。シアノバクテリアの場合も、細菌分類の方法をとることになることが予想されるが、前述した様に、過去に植物分類学の下に分類された多くの分類群が既に存在している状況にあることが問題となる。

Komárek *et al.* (2014) の分類体系

彼らは、ゲノム解析がなされている細菌 (シアノバクテリアも含む) の 31 の保存性の高いタンパク質遺伝子の塩基配列から、5689 アミノ酸配列を結合し、146 OTU を用いて系統解析を実施した。彼らの構築した系統樹をもとに、重要な形態形質 (異質細胞の有無など) や生殖様式 (二分裂か、内生孢子形成かなど)、チラコイドの配向の微細構造などから次の 8 目; ネンジュモ目, クロオコッキディオブシス目, ユレモ目, プレウロカプサ目, スピルリナ目, クロオコックス目, シネココッカス目, グロエオバクター目を提案し、さらにそれらの中の科レベルの分類を試みている。その後、*Synechococcus* 様のシアノバクテリアの分類学的見直しの報告 (Komárek *et al.* 2020) があり、シネココッカス目は、シネココッカス目に加え、シュードアナベナ目とサーモスティカス目の 3 目に分類する提案がなされている。目の分類について、旧来の形態による分類体系と分子系統に基づく最新の分類体系を図 1 に示した。彼らの系統解析でも、その後の他の研究の系統解析 (例えば、Walter *et al.* 2017, Mareš 2018, Wang *et al.* 2019, Mareš *et al.* 2019, 本研究 図 2) でも、概ね単系統の目といえるのは、ネンジュモ目, クロオコッキディオブシス目, スピルリナ目, サーモスティカス目, グロエオバクター目で、これに対して、クロオコックス目, ユレモ目, プレウロカプサ目, シュードアナベナ目, シネココッカス目は大幅な見直しが必要な目である。なお、Komárek *et al.* (2014) の重要な形質として取り上げられていたチラコイドの配向の微細構造に関しては、Mareš *et al.* (2019) により広範な分類群に対して調査され、概ね分類学的な形質としては利用できるものの、例外も存在することから、目の基準に用いることが難しいことが明らかにされている。提案された科レベルの分類は、科の基準

となる属の 16S rRNA 遺伝子塩基配列情報も不足している状況にあり、評価する段階にはない。科レベルについては、この Komárek らの形態形質による分類ではなく、16S rRNA 遺伝子塩基配列に基づく系統解析に加えて、*rpoC1* や 16S-23S ITS 領域の塩基配列の相同性の値および二次構造の特徴を用いて *Leptolyngbya* 属と近縁な糸状体の仲間の整理が提案されている (Mai *et al.* 2018)。16S-23S ITS 領域の塩基配列とその二次構造は、分類形質として用いられる報告が増えている (e.g. Sciuto & Moro 2016, Cai *et al.* 2020a, b) (図 3)。一方、*Anabaena/Dolichospermum/Aphanizomenon* の 3 属については、近縁性が指摘されているが、ゲノム系統解析 (phylogenomic analysis) による見直しの可能性についても報告されている (Österholm *et al.* 2020)。これらの報告では、Yarza *et al.* (2014) が示した、16S rRNA 遺伝子塩基配列の相同性のしきい値による分類基準の提案が利用されている。補足の表は、正式な発表がなされていない分類群も含めている分類体系ではあるが、Moreira *et al.* (2017) のグロエオマルガリータ目をシネココッカス目を含め、新たにシュードアナベナ目を作っており、シアノバクテリアの分類状況を見るのには、参考にすることができる。各目について概略を示す。

Gloeobacterales グロエオバクター目: 単細胞性の種類でシアノバクテリアの基部に位置する。チラコイド膜を持たず、光合成の場合は細胞膜である。*Gloeobacter violaceus* Rippka, J. Waterbury & Cohen-Bazire がタイプ種で PCC7421 株が有名である。ゲノムも解析されている。

Thermotichales サーモスティカス目: 単細胞性で円筒型から桿形、細胞の長さは幅の数倍ある場合が多い。温泉産で、米国のイエローストーン国立公園の温泉から分離された "*Synechococcus yellowstonii*" JA 33Ab 株など、シネココッカス属とされていたが、系統的に異なることから新たな目として設立された (Komárek *et al.* 2020)。

Pseudanabaenales シュードアナベナ目: 糸状体性で細胞の幅が狭いシュードアナベナ科に属する種類が多く、遺伝的に異なる多くの新属が設立されているが、多数の未記載属を含む仲間になる。一部シネココッカス属とされていた単細胞性で温泉産の *Thermosynechococcus* 属を含むサーモシネココッカス科を含む。

Synechococcales シネココッカス目: 単細胞性で、淡水産の *Synechococcus* 属に加え、海域のピコプランクトンとして出現する *Parasynechococcus* 属や *Prochlorococcus* 属を含む。

Oscillatoriales ユレモ目: 糸状体性の種類が多い。遺伝的に異なる分類群から構成されているため、今後も整理されいくつかの分類群に分けられると考えられる。単細胞性の *Cyanothece* 属も含まれる。

Chroococcales クロオコックス目: 旧来の形態分類では単細胞性および群体性の種類は全てこの目とされてきた。内生孢子を形成せず、チラコイドの配列に統一性が無い。アオコで問題になる *Microcystis* 属が含まれる。

Spirulinales スピルリナ目: 糸状体がスクリー状に捻れるこ

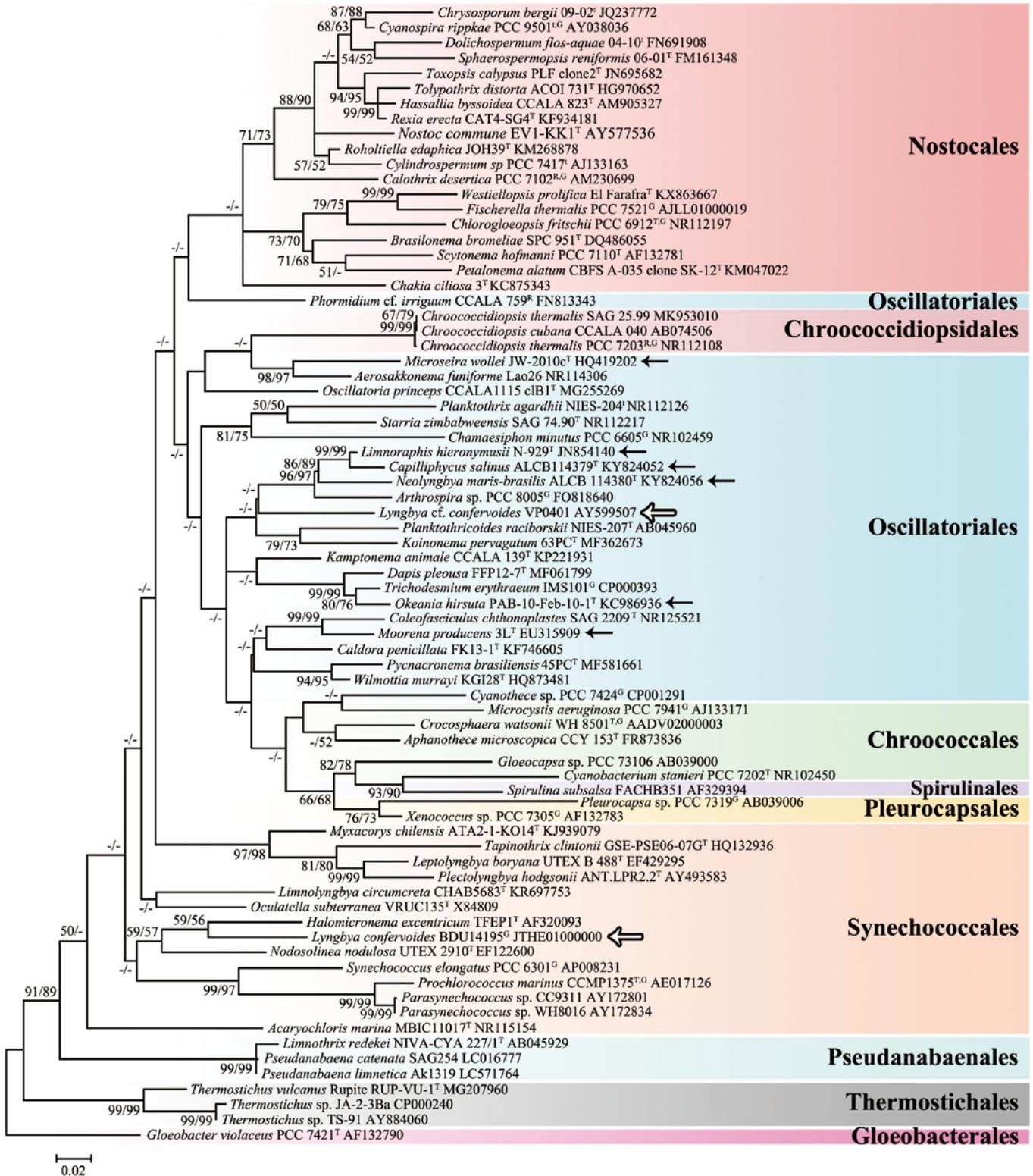


図 2. 16S rRNA 遺伝子部分塩基配列の基づくシアノバクテリア全体の系統樹. 現状で分類されているすべての目を含め、遺伝的に異なる 75 の塩基配列を用いた. MUSCLE (Edgar, 2004) でアライメント後、手で修正した. 最尤 (ML) 系統樹は GTR+G+I モデルを用い、近隣結合 (NJ) 系統樹は Maximum Composite Likelihood モデルを用い、MEGA X (Kumar *et al.* 2018) で構築した. ブートストラップはいずれも 1000 回の複製を行い (NJ/ML), 50% 未満の値は表示していない. 外群には、*Gloeobacter violaceus* PCC7421 を用いた. *Lyngbya* 属のタイプ種である *L. confervoides* のデータとして用いられている系統的に異なる 2 データを示した (白抜き矢印). 矢印: 形態的に *Lyngbya* 属とされ、新たに設立された分類群.

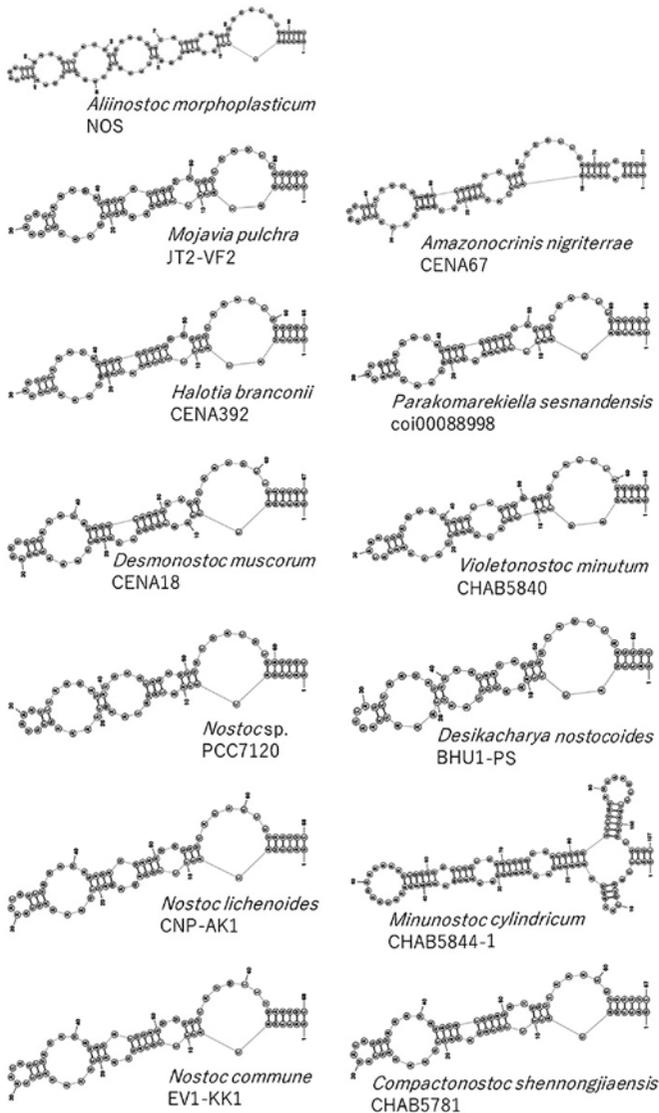


図3. 16S-23S ITS 領域の二次構造の例，ネンジュモの仲間の D1-D1' 領域の構造の一部を示した。二次構造の構築は，RNAstructure 6.3 (Mathews lab. 2019) を用いた。

とが特徴となる。遺伝的に異なるため新たな目として設立されている。なお、「スピルリナ」として健康食品などで有名な *Arthrospira* 属はこの目ではなく，ユレモ目に含まれる。

Pleurocapsales プレウロカプサ目：気生藻類として陸上の岩盤などの基質に付着して層状や立体状に群体を形成する 경우가多く，単一シアノバクテリア株にすることも困難な場合が多い。研究が少ないため，今後の整理が必要である。

Chroococciopsidales クロオコッキディオプシス目：内生胞子を形成することで増殖する種類が多く，陸上の乾燥した環境にも生育している。前目との関連性が深いと考えられていたが，遺伝的に異なることから別の目にされている。

Nostocales ネンジュモ目：糸状体性で異質細胞（ヘテロサイト）を形成する種類が多い。真分枝形成することで別の目にされていた *Stigonema* 属なども含まれる。

最近提案された属について

過去 20 年ほどでシアノバクテリアの系統関係についても 16S rRNA 遺伝子塩基配列の基づく分子系統解析により論議することが可能になっている。その間に特異的プライマーの開発，解析試薬や技術の進展に伴い，データ精度も向上している。一般的に，16S rRNA 遺伝子塩基配列として 1300 塩基以上の解読が求められており，分類を行うにあたり基本的な作業になっている。その上で，他の分子を用いることと形態や生態的な特徴を用いて，種内変異や種レベルの分類形質を見極めることになる。こういった分類を多相分類 (polyphasic taxonomy) と呼び，現在のシアノバクテリア分類は全てこの方法に則っている。しかしながら，しばしば形態に基づく分類と，分子系統解析との乖離が認められる。また，分離培養株を作成し分類に用いることも大変重要になっている。ただし，正確な形態分類がなされていない培養株の分子データが，不明確な分類名のままデータベースに登録されている場合があり，参考にできない。また，それらの不明確な分類名の分子データとの相同性によって分類され，たとえ塩基配列の解析が信頼できても，混乱が上乘せされている場合もあり，注意を要する。実際に分類学的整理がどの様になされているかというと，前述の分子遺伝学的な形質に加えて，多方面の形質，一般的には形態形質と生態学的な特徴を評価し分類する多相分類法が主流である。この様な方法論により，近年多くの分類群が報告されており，2015 年から 2020 年 9 月までの期間では，85 属が提案されている状況にある。それらの提案は，16S rRNA 遺伝子塩基配列の基づく分子系統解析，16S-23S ITS 領域の二次構造解析，形態形質の多相分類によって行われている。

次に，いくつかよく知られている有名な属の分類の現状について例を挙げてみたい。

Nostoc 様シアノバクテリア

例えば，異質細胞を持つ *Nostoc* (ネンジュモ) 属は，タイプ種を *N. commune* Vaucher ex Bornet & Flahault とし，現状では 106 種が存在している (AlgaeBase, Guiry & Guiry 2021)。植物学分野でのスターティングポイントは，1980 年より遥か以前の 1886 年まで遡る。*N. commune* に関しては，特異な形状から世界中の多くの地域から報告され，全て同一種とされており，タイプ産地は明瞭になっていない。なお，1980 年の細菌学名承認リストにはシアノバクテリアの学名は含まれていない。つまり，*Nostoc* 属も含まれていないことから，*Nostoc* 属が復活名として細菌分類学で命名・正式発表されるまでは未記載種に関する報告は細菌分類学に従って行うことはできないことになる。実際のところ，最近の記載論文としては，今まで知られている *Nostoc* 属とは形態的に異なる *N. oromo* M. Mesfin & J.R. Johansen (Mesfin *et al.* 2020) がある。今までの分類基準に照らすと形態的に *Nostoc* 属ではなく，*Chroococciopsis* 属に分類されるが，分子遺伝的に *Nostoc*

属に分類されるという分類群である。これとは逆に形態的に *Nostoc* 属とされていた分類群から遺伝的に *Nostoc* 属とは異なる系統群であることを主な根拠として, *Aliinostoc* (Bagchi et al. 2017), *Amazonocrinis*, *Atlanticothrix*, *Dendronalium* (Alvarenga et al. 2021), *Compactonostoc* (Cai et al. 2019), *Desikacharya* (Saraf et al. 2019), *Desmonostoc* (Hrouzek et al. 2013), *Halotia* (Genuário et al. 2015), *Komarekiella* (Hentschke et al. 2017), *Minunostoc* (Cai et al. 2019), *Mojavia* (Řeháková et al. 2007), *Violetonostoc* (Cai et al. 2020a) などが多数報告されている状況にある。これらの新規分類群は, 多くの場合少数の(往々にして1種だけ)種の16S rRNA 遺伝子部分塩基配列に基づく系統解析により, 既知分類群との遺伝的な差異, つまり既知系統群とは異なる系統(群)になることに基づいて新たな属が設立されていると言って良い。分類形質としては, 16S-23S ITS 領域の二次構造の違いもあげられている(図3)。もちろん, 既知の *Nostoc* 様分類群との形態的な比較検討もなされているが, 十分になされていると言えない場合も認められる。このような遺伝子の塩基配列に基づくという分類の方向性は変わりがないことから, 環境中に出現した *Nostoc* 様シアノバクテリアを形態のみで分類することは不可能な状況にある。生態的な情報とを合わせて, 種類を推定することはできても, 最終的な同定には, 遺伝子解析が必須になってくる。

Synechococcus 様シアノバクテリア

Komárek et al. (2020) により *Synechococcus* 様シアノバクテリアの分類学的見直しがなされている。単細胞性で細胞サイズが2-3 μm 程度と小さく, 桿状の形態を示し粘液質の鞘を持たない, いわゆるピコプランクトンとして淡水域や海域で生態的にも重要な位置を占める。これらは, 全て単一の *Synechococcus* 属として扱われてきた。遺伝的に多系統な生物から構成されていることは多くの研究で明らかにされていながら, 正しい分類学的な整理がなされないままであった。たとえば, 温泉産の仲間には "*Thermosynechococcus*" (Katoh et al. 2001, nom. inval.) という分類学的に正しくない手続きで命名されてきた状況であった。Komárek et al. (2020) では, それらの無効な学名を正式発表することと, 命名されていない系統的に異なる分類群に対して新たな属名の設立を行っている。詳しくは原典をあたっていただくとして, ここでは簡単な紹介にとどめる。温泉産の種類に, *Thermostichus* 属(新規属)と *Thermosynechococcus* 属(validation, 正式発表), 海産の *Parasynechococcus* 属(正式発表), 淡水産で付着性の *Synechococcus* 属, 淡水産で浮遊性の *Picosynechococcus* 属(新規属)などである。これらの属の分類学的見直しで *Synechococcus* 様シアノバクテリアの分類の整理が, ようやく進めていける状況になった。なお, 大きく遺伝的に異なることから, *Synechococcus* 属は, シネココッカス科(Synechococcaceae), シネココッカス目(Synechococcales)に, *Parasynechococcus* 属は, *Prochlorococcus* 属と *Cyanobium* 属と共に, プロクロコッカス科(*Prochlorococcaceae*), シネココッカス目

(*Synechococcales*)に, *Thermostichus* 属は, サーモスティカス科(*Thermostichaceae*), サーモスティカス目(*Thermostichales*)に, *Thermosynechococcus* 属は, サーモシネココッカス科(*Thermosynechococcaceae*), シュードアナベナ目(*Pseudanabaenales*)に, *Picosynechococcus* 属は, アファノテカ科(*Aphanothecaceae*), クロオコックス目(*Chroococcales*)に分類される。それぞれ正式に発表された属にはタイプ種が存在し, その他にも遺伝的に異なり, 培養株の名称で論文上扱われてきたものと, 環境試料のメタゲノム解析などから遺伝的に異なるとされる未記載種が多数存在している事になる。これらについての分類学的な発表も正式になされる必要があり, それらを待つてようやく *Synechococcus* 様のシアノバクテリアの整理が進むことになる。

ユレモ目(Oscillatoriales)について

糸状体性で分枝せず, 異質細胞(ヘテロサイト)を持たないシアノバクテリアはユレモ目として認識されてきた。しかし, 分子系統解析によりユレモ目は異なる系統の分類群に分散することが, 多くの研究で明らかになっている(e.g. Komárek et al. 2014)。ユレモ目 *Oscillatoriales* の基準になる *Oscillatoria* 属のタイプ種は, *O. princeps* Vaucher ex Gomont である。最近, 本種の分類学的見直しがタイプ産地近くから新たに分離培養された株をもとになされ, エピタイプが指定された(Mühlsteinová et al. 2018)。この研究により多数の株保存機関に保存されている *O. princeps* として形態的に分類された株のほとんどが近縁な単系統群を形成し, 形態分類と分子分類がほぼ一致した例として示されている。タイプ種である *O. princeps* の系統群が *Oscillatoria* 属ということになるので, それと異なる系統群になる *Oscillatoria* 属とされていた種は分類学的な見直しが必要になるだろう。なお, この研究で示された系統樹は, 異質細胞を持つグループが含まれておらず, 単細胞性の種類も少なく, 用いられているデータに偏りがあり, ほとんどの糸状体性の種類が大きなまとまりとして示され, ユレモ目としてまとまっているように作られている。このように, 発表されている論文の多くの系統樹が, 著者の意図に合わせて, 用いる OTU を選別して構築されている可能性も否めない。一方, *O. kawamurae* Negoro に関する最近の研究(Thu et al. 2020)で示された16S rRNA 遺伝子に基づく系統樹からは, *O. princeps* を含む真のユレモ目と, 異なる系統群にユレモ目とされていた分類群が分散することが示されている。同様にブートストラップ値が低いので信頼性には欠けるものの, 図2に示した系統樹でもユレモ目(*Oscillatoriales*)が多系統であることが示されている。これらの真のユレモ目(*O. princeps* を含む)の系統群と異なる単系統群それぞれに対して, 今後, 系統学的分類を適用するのであれば, 未記載の分類群として見直しを行う必要性も出てくると考えられる。

Lyngbya 属と Lyngbya 様分類群について

Lyngbya 属は, スペイン南部大西洋沿岸のカディスをタイプ産地とする海産の *Lyngbya confervoides* C. Agardh ex Gomont

をタイプ種とする (Guiry & Guiry 2021)。鞘を有し、細胞の長さは、常に幅よりも短く、偽分枝がない糸状体性のユレモ目の仲間になる。分類形質として、先端部の細胞の形態（丸くなるか、先細りかなど）とカリプトラと呼ばれる肥厚部の有無とその形態、藻塊および細胞の色調、細胞の幅などがあげられ、加えて生態的な特徴も分類に用いられてきた。ほぼ単一の種類から構成される巨視的な群体（シアノバクテリアマット）を形成する種類も多く採集が容易なこともあり、二次代謝産物の研究材料に用いられ、非常に多くの生理活性物質が報告されてきた (e.g. Huang & Zimba 2019)。あまりに多様な生理活性物質の報告があり、それらの多くが *Lyngbya majuscula* Harvey ex Gomont あるいは *Lyngbya* 属種 (*Lyngbya* sp.) と同定された採集物から報告されてきたことから、遺伝的な多様性が研究されることになった。その結果、これらのシアノバクテリアは、形態的には類似しているものの、系統的に異なる多様な分類群で構成されることが明らかにされた (Engene *et al.* 2010)。これらの系統的に異なる分類群に対して、真の *Lyngbya* 属とされるタイプ種を含む系統群として扱われる分子データとして、系統的に大きく異なる2つのデータが存在する (図2, 白抜き矢印)。しかしながら、いずれの産地もタイプ産地とは異なり、一方はカリブ海 (米国フロリダ州沿岸)、他方はインド沿岸である。これらの2つのデータに加えて、GenBank に存在する起源の異なる *L. confervoides* の16S rRNA 遺伝子部分塩基配列 (600塩基程度) 3データも含めて解析してみると、どちらかの系統と近縁になることから、どちらかは真の *Lyngbya* 属であり、他方には別の属を設立する必要があるか、いずれも真の *Lyngbya* 属ではないという可能性もある。いずれにしても、形態的に *Lyngbya* 様であるが、系統的に異なる属として設立された *Microseira*, *Capilliphycus*, *Limnorphis*, *Neolyngbya*, *Dapis*, *Okeania*, *Moorena* 属 (図2, 黒矢印) は、いずれの *L. confervoides* の塩基配列データ (図2, 白抜き矢印) とも系統的に異なっている。現状では、タイプ産地であるスペインのカディスから形態的に *L. confervoides* と同定できるサンプルを採集し、形態的な解析を行った上でエピタイプを指定し、分子情報を得てタイプ種の遺伝子データとし、そのタイプの遺伝子データと単系統になるものを真の *Lyngbya* 属をした後に、新たに設立された属を含めて見直しを行う必要がある。インドから報告された *L. confervoides* BDU141951 はドラフトゲノムが報告されているが (Chandrababunaidu *et al.* 2015)、タイプ産地からの分離株ではないために、タイプ種のデータであると言えない状況のままさまざまなゲノム情報を利用した研究に用いられる恐れがあり、なお一層混乱をおよぼしかねない状況にある。

シアノバクテリアの分類は、様々な問題がありつつ多相分類により分類が行われている現状であることを述べた。この様な状況の中で、我々の研究室で行っている研究方法の概要を紹介し、興味を持った方々の参考にしていただければありがたい。現在我々の研究室では、主に2つのテーマについて

研究を行っている。一つは気生シアノバクテリア、もう一つは海浜域のシアノバクテリアである。肉眼で確認できるシアノバクテリアの群体は、塊として採集している。採集した群体が乾燥している場合は、そのまま不織布製のお茶パック (100円ショップなどで購入している) などに入れ、シリカゲルとチャック付きポリ袋に入れて標本とする。採集物が濡れているか湿っている場合は、濾紙で水分を取り除いた後標本とする。海浜域の採集物では塩分を取り除くために蒸留水や水道水などで手早く洗浄し、水分を取り除く場合もある。シリカゲルを交換し、デシケーター中に保管する。壁や岩、樹皮などの表面に生育しているが、削り取ることが困難な場合は、あらかじめミリQ水を染み込ませ、滅菌処理しておいたメラミンスポンジを用い、生育しているシアノバクテリアを拭う様にして採集する。別に、セロハンテープなどを用いて、貼り付けて剥がしとる採集方法も用いる場合もある。この場合は、メラミンスポンジやテープごと乾燥させて保存する。採集したシアノバクテリアは、部分的に分離培養と単細胞-単一糸状体からのDNA抽出を行う場合と、BG11などのシアノバクテリアの培養に用いられている培養液を用いて粗培養し、増殖が認められたシアノバクテリアの分離培養を行う。海浜域の糸状のシアノバクテリアでは、培養することが困難な場合が多く、採集物の形態観察と、単一糸状体などからのDNA抽出から塩基配列決定を行う。単一シアノバクテリア培養を得るためや、単細胞-単一糸状体を用いたPCR反応などを行う際には、ピペット洗浄法で単一細胞や単一糸状体を取り上げて行う。この時付着している従属栄養細菌や他のシアノバクテリアなどを除くことと、PCR反応を阻害する粘液質や鞘を除くために、滅菌した2枚のライドグラスでサンプルを挟み、すり潰す様にして粘液質や鞘から細胞を露出させ、拾い上げて行っている。16S rRNA 遺伝子塩基配列や16S-23S ITS領域の遺伝子の解析には、シアノバクテリア特異的プライマーを用いる (表2)。定法にしたがってPCRを行い、得られたPCR産物の塩基配列を決定し、Blast searchにより近縁なGenBankのデータを調べ、MEGA X (Kumar *et al.* 2018) などを用いて系統解析を行う。形態分類は、Komárek (2013) や Komárek & Anagnostidis (1998, 2005) を用いる。16S rRNA 塩基配列の相同性が98%などと高く、形態的にも生態的にも既知の種類と同定できる場合は、既知種として扱う。塩基配列の相同性が97%などと、同一種にはできない範囲の場合は、ITS領域の解析から二次構造の解析を行い、参考にできる文献との比較をすることになる。残念ながら、多くの形態分類で分類された既知種には、信頼できる遺伝情報が欠けている場合が多く、GenBankの情報にある分類名は、多くの場合詳細な分類学的検討がなされないまま名付けられているため、そのまま用いることはほぼできない状況にあり、正しく利用できる分類学的なデータの更新が望まれる。有難いことに、AlgaeBase (Guiry & Guiry 2021) を調べることでタイプ種の情報などを得やすくなっている。一方、形態観察に基づく同定に頼らざるを得ない生態学的な研究では、形

表 2. シアノバクテリアの 16S rRNA 遺伝子および 16S-23S ITS 領域の解析に用いるプライマー。

Primer 名称	5'-3' sequence	文献
27F	AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG	Neilan <i>et al.</i> (1997)
CYA106F	CGG ACG GGT GAG TAA CGC GTG A	Nübel <i>et al.</i> (1997)
CYA359F	GGG GAA TYT TCC GCA ATG GG	Nübel <i>et al.</i> (1997)
CYA781F	AAW GGG ATT AGA TAC CCC WGT AGT C	Nübel <i>et al.</i> (1997)
1371R1	GTT RCR GTA AYG ACT TCG GGC RTG A	Murakami <i>et al.</i> (2004)
23S30R	CTT CGC CTC TGT GTG CCT AGG T	Taton <i>et al.</i> (2003)

態的に区別できない遺伝的に異なる属が提案されても困るのが実情であろう。形態観察に用いたサンプルから、DNA 解析を行って何にあたるかを示す必要がある。単一細胞や単一糸状体を用いた分子系統解析も進展しており、海産巨視的群体形成糸状シアノバクテリア (Marine macroscopic colony forming filamentous cyanobacteria, MMCFF cyanobacteria) の *Okeania* KiyG1 株についてドラフトゲノムを報告している (Lewaru *et al.* 2020)。しかしながら、まだまだお手軽かつ安価にデータが得られるという訳ではなく、今後を待たなければならぬだろう。

最後に、シアノバクテリアの分類は、整理が進行中で今後さらに細かく分類されることも考えられる。本来であれば整理がついてから紹介した方が良いだろうが、旧来の形態分類が未だにまかり通っている状況ではまずかろうと考え、敢えて現状を知らせることにした。

謝辞

本稿に含まれる筆者らの研究の一部は、JSPS 科研費 (19K06090) の支援を受けて行われた。

引用文献

Alvarenga, D. O., Andreote, A. P. D., Branco, L. H. Z. *et al.* 2021. *Amazonocrinis nigriterrae* gen. nov., sp. nov., *Atlanticothrix silvestris* gen. nov., sp. nov., and *Dendronalium phyllosphericum* gen. nov., sp. nov., nostocacean cyanobacteria from Brazilian environments. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 71: 004811, doi.org/10.1099/ijsem.0.004811

Bagchi, S. N., Dubey, N. & Singh, P. 2017. Phylogenetically distant clade of *Nostoc*-like taxa with the description of *Aliinostoc* gen. nov. and *Aliinostoc morphoplacticum* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 67: 3329–3338.

Cai, F., Li, X., Geng, R., Peng, X. & Li, R. 2019. Phylogenetically distant clade of *Nostoc*-like taxa with the description of *Minunostoc* gen. nov. and *Minunostoc cylindricum* sp. nov. *Fottea* 19: 13–24.

Cai, F., Peng, X. & Li, R. 2020a. *Violetonostoc minutum* gen. et sp. nov. (Nostocales, Cyanobacteria) from a rocky substrate in China. *Algae* 35: 1–15. doi.org/10.4490/algae.2020.35.3.4

Cai, F., Wang, Y., Yu, G., Wang, J., Peng, X. & Li, R. 2020b. Proposal of *Purpurea* gen. nov. (Nostocales, Cyanobacteria), a novel cyanobacterial genus from wet soil samples in Tibet, China. *Fottea* 20: 86–97. doi.org/10.5507/fot.2019.018

Chandrababunaidu, M. M., Sen, D. & Tripathy, S. 2015. Draft genome sequence of filamentous marine cyanobacterium *Lyngbya confervoides* strain BDU141951. *Genome Announc.* 3: e00066-15. doi.org/10.1128/genomeA.00066-15

Chun, J., Oren, A., Ventosa, A. *et al.* 2018. Proposed minimal standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 68: 461–466.

Edgar, R. C. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nuc. Acids Res.* 32: 1792–1797. doi.org/10.1093/nar/gkh340

Engene, N., Coates, R. C. & Gerwick, W. H. 2010. 16S rRNA gene heterogeneity in the filamentous marine cyanobacterial genus *Lyngbya*. *J. Phycol.* 46: 591–601.

Geitler, L. 1932. Cyanophyceae. In: Kolkwitz, R. (ed.) *Dr. L. Rabenholst's Kryptogamen-Flora von Deutschland, Oesterreich und der Schweiz*, 2nd ed. 14: pp. 1–1196. Akad. Verlagsges., Leipzig.

Genuário, D. B., Vaz, M. G. M. V., Hentschke, G. S., Sant'Anna, C. L. & Fiore, M. F. 2015. *Halotia* gen. nov., a phylogenetically and physiologically coherent cyanobacterial genus isolated from marine coastal environments. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 65: 663–675.

Guiry, M. D. & Guiry, G. M. 2021. *AlgaeBase*. (Accessed October 8, 2021). <https://www.algaebase.org/>

Hauer, T. & Komárek, J. 2021. *CyanoDB 2.0—On-line database of cyanobacterial genera*. (Accessed October 8, 2021) <http://www.cyanodb.cz/>

Hentschke, G. S., Johansen, J. R., Pietrasiak, N., Rigonato, J., Fiore, M. F. & Sant'Anna, C. L. 2017. *Komarekiella atlantica* gen. et sp. nov. (Nostocaceae, Cyanobacteria): a new subaerial taxon from the Atlantic Rainforest and Kauai, Hawaii. *Fottea* 17: 178–190. doi.org/10.5507/fot.2017.002

Hrouzek, P., Lukešová, A., Mares, J. & Ventura, S. 2013. Description of the cyanobacterial genus *Desmonostoc* gen. nov. including *D. muscorum* comb. nov. as a distinct, phylogenetically coherent taxon related to the genus *Nostoc*. *Fottea* 13: 201–213.

Huang, I.-S. & Zimba, P. V. 2019. Cyanobacterial bioactive metabolites—A review of their chemistry and biology. *Harmful Algae* 86: 139–209.

Johansen, J. R., Mareš, J., Pietrasiak, N. *et al.* 2017. Highly divergent 16S rRNA sequences in ribosomal operons of *Scytonema hyalinum* (Cyanobacteria). *PLoS One* 12: e0186393.

Katoh, H., Itoh, S., Shen, J.-R. & Ikeuchi, M. 2001. Functional analysis of *psbV* and a novel c-type cytochrome gene *psbV2* of the thermophilic cyanobacterium *Thermosynechococcus elongatus* strain BP-1. *Plant Cell Physiol.* 42: 599–607.

Komárek, J. 2013. Cyanoprokaryota. 3: Heterocytous genera. In: Büdel, B., Gärtner, G., Krienitz, L. & Schagerl, M. (eds.) *Süßwasserflora von Mitteleuropa* 19/3. pp. 1–1130. Springer Spektrum, Berlin.

Komárek, J. 2016. A polyphasic approach for the taxonomy of cyanobacteria: principles and applications. *Eur. J. Phycol.* 51: 346–353.

Komárek, J. 2020. Quo vadis, taxonomy of cyanobacteria (2019). *Fottea* 20: 104–110.

- Komárek, J. & Anagnostidis, K. 1998. Cyanoprokaryota 1: Chroococcales. In: Ettl, H., Gärtner, G., Heynig, H. & Mollenhauer, D. (eds.) Süßwasserflora von Mitteleuropa 19/1. pp. 1–548. Spektrum, Heidelberg.
- Komárek, J. & Anagnostidis, K. 2005. Cyanoprokaryota 2: Oscillatoriales. In: Büdel, B., Krienitz, L., Gärtner, G., Schagerl, M. (eds.): Süßwasserflora von Mitteleuropa 19/2. pp. 1–759. Spektrum, Heidelberg.
- Komárek, J., Johansen, J. R., Šmarda, J. & Strunecký, O. 2020. Phylogeny and taxonomy of *Synechococcus*-like cyanobacteria. *Fortea* 20: 171–191.
- 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., Li, M., Niyaz, C. & Tamura, K. 2018. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 35: 1547–1549.
- Lewaru, M. W., Nishikawa, Y., Ide, K. *et al.* 2020. Draft genome sequence of *Okeania* sp. strain KiyG1, assembled from single-amplified genomes collected from cape Kiyan, Okinawa, Japan. *Microbiol. Resour. Announc.* 9: e00837-20. doi.org/10.1128/MRA.00837-20
- Mai, T., Johansen, J. R., Pietrasiak, N., Bohunická, M. & Martin, M. P. 2018. Revision of the *Synechococcales* (Cyanobacteria) through recognition of four families including *Oculatellaceae fam. nov.* and *Trichocoleaceae fam. nov.* and six new genera containing 14 species. *Phytotaxa* 365: 1–59.
- Mareš, J. 2018. Multilocus and SSU rRNA gene phylogenetic analyses of available cyanobacterial genomes, and their relation to the current taxonomic system. *Hydrobiologia* 811: 19–34. doi.org/10.1007/s10750-017-3373-2
- Mareš, J., Stunecky, O., Bucinská, L. & Wiedermannová, J. 2019. Evolutionary patterns of thylakoid architecture in cyanobacteria. *Front. Microbiol.* 10: 277. doi.org/10.3389/fmicb.2019.00277
- Mathews lab. 2019. RNAstructure 6.3. (Accessed October 8, 2021). <http://rna.urmc.rochester.edu/RNAstructure.html>
- Mesfin, M., Johansen, J. R., Pietrasiak, N. & Baldarelli, L. M. 2020. *Nostoc oromo* sp. nov. (Nostocales, Cyanophyceae) from Ethiopia: a new species based on morphological and molecular evidence. *Phytotaxa* 433: 81–93.
- Moreira, D., Tavera, R., Benzerara, K. *et al.* 2017. Description of *Gloeomargarita lithophora* gen. nov., sp. nov., a thylakoid-bearing, basal-branching cyanobacterium with intracellular carbonates, and proposal for *Gloeomargaritales* ord. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 67: 653–658.
- Mühlsteinová, R., Hauer, T., De Ley, P. & Pietrasiak, N. 2018. Seeking the true *Oscillatoria*: a quest for a reliable phylogenetic and taxonomic reference point. *Preslia* 90: 151–169.
- Murakami, A., Miyashita, H., Iseki, M., Adachi, K. & Mimuro, M. 2004. Chlorophyll d in an epiphytic cyanobacterium of red algae. *Science* 303: 1633.
- 仲田崇志 2012. 連載「微生物の命名規約と関連情報」第5回 国際細菌命名規約（1990年版）からの規約改訂と、国際原核生物命名規約への規約名称変更. *日本微生物資源学会誌* 28: 135–147.
- Neilan, B. A., Jacobs, D., Del Dot, T. *et al.* 1997. rRNA sequences and evolutionary relationships among toxic and nontoxic cyanobacteria of the genus *Microcystis*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47: 693–697.
- Nübel, U., Garcia-Pichel, F. & Muyzer, G. 1997. PCR primers to amplify 16S rRNA genes from cyanobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 3327–3332. doi.org/10.1128/aem.63.8.3327-3332.1997
- Oren, A. 2014. Cyanobacteria: biology, ecology and evolution. 3–20 pp. *In* Cyanobacteria: an economic perspective. [Sharma, N.K., Rai, A.K. & Stal L.J. Eds.], Wiley Blackwell, UK.
- Österholm, J., Popin, R. V., Fewer, D. P. & Sivonen, K. 2020. Phylogenomic analysis of secondary metabolism in the toxic cyanobacterial genera *Anabaena*, *Dolichospermum* and *Aphanizomenon*. *Toxins* 12: 248. doi.org/10.3390/toxins12040248
- 大塚重人 2010. シアノバクテリア. 大嶋泰治・荒井基夫・駒形和男ら（編）IFO 微生物学概論. pp. 270–275. 培風館, 東京.
- Palinska, K. A. & Surosz, W. 2014. Taxonomy of cyanobacteria: a contribution to consensus approach. *Hydrobiologia* 740: 1–11.
- Řeháková, K., Johansen, J. R., Casamatta, D. A., Xuesong, L. & Vincent, J. 2007. Morphological and molecular characterization of selected desert soil cyanobacteria: three species new to science including *Mojavia pulchra* gen. et sp. nov. *Phycologia* 46: 481–502. doi.org/10.2216/06-92.1
- Rosselló-Móra, R. & Whitman, W. B. 2019. Dialogue on the nomenclature and classification of prokaryotes. *Syst. Appl. Microbiol.* 42: 5–14.
- Saraf, A. G., Dawda, H. G. & Singh, P. 2019. *Desikacharya* gen. nov., a phylogenetically distinct genus of cyanobacteria along with the description of two new species, *Desikacharya nostocoides* sp. nov. and *Desikacharya soli* sp. nov., and reclassification of *Nostoc thermotolerans* to *Desikacharya thermotolerans* comb. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 69: 307–315. doi.org/10.1099/ijsem.0.003093
- Sciuto, K. & Moro, I. 2016. Detection of the new cosmopolitan genus *Thermoleptolyngbya* (Cyanobacteria, Leptolyngbyaceae) using the 16S rRNA gene and 16S–23S ITS region. *Mol. Phylogenet. Evol.* 105: 15–35. doi.org/10.1016/j.ympev.2016.08.010
- 嶋田正和・坂井建雄・塩川光一郎ら 2018. 改訂版 生物. 数研出版, 東京.
- Stanier, R. Y., Siström, W. R., Hansen, T. A. *et al.* 1978. Proposal to place the nomenclature of the cyanobacteria (blue-green algae) under the rules of the International Code of Nomenclature of Bacteria. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 28: 335–336.
- 田辺雄彦 2012. 第1編第1章第2節1. ラン藻類. 渡邊信・井上勲・沖野龍文ら（編）藻類ハンドブック. pp. 11–13. エヌ・ティー・エス, 東京.
- Taton, A., Grubisic, S., Brambilla, E., De Wit, R. & Willemotte, A. 2003. Cyanobacterial diversity in natural and artificial microbial mats of Lake Fryxell (McMurdo Dry Valleys, Antarctica): a morphological and molecular approach. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 5157–5169.
- Thu, N. K., Tanabe, Y., Matsuura, H. & Watanabe, M. M. 2020. Morphological, biochemical, and molecular characterization of *Oscillatoria kawamurae* (Oscillatoriales, Cyanobacteria) isolated from different geographical regions. *Phycol. Res.* 68: 216–226.
- Walter, J. M., Coutinho, F. H., Dutilh, B. E., Swings, J., Thompson, F. L. & Thompson, C. C. 2017. Ecogenomics and taxonomy of Cyanobacteria phylum. *Front. Microbiol.* 8: 2132. doi.org/10.3389/fmicb.2017.02132
- Wang, Y., Cai, F., Jia, N. & Li, R. 2019. Description of a novel coccoid cyanobacterial genus and species *Sinocapsa zengkensis* gen. nov. sp. nov. (Sinocapsaceae, *incertae sedis*), with taxonomic notes on genera in Chroococciopsidales. *Phytotaxa* 409: 146–160.
- 渡辺信 1995. シアノバクテリアの分類に関する歴史的考察. *日本微生物資源学会誌* 11: 105–119.
- Yarza, P., Yilmaz, P., Pruesse, E. *et al.* 2014. Uniting the classification of cultured and uncultured bacteria and archaea using 16S rRNA gene sequences. *Nat. Rev. Microbiol.* 12: 635–645. doi.org/10.1038/nrmicro3330
- 吉里勝利・阿形清和・倉谷滋ら 2018. 高等学校改訂 生物. 第一学習社, 広島.

(2021年10月8日受付, 2021年12月14日受理)

通信担当編集委員: 仲田 崇志