

TUMSAT-OACIS Repository - Tokyo

University of Marine Science and Technology

(東京海洋大学)

日本産クチビルマガイケイソウ属Seminavisの形態
分類学的研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2021-06-21 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 笹野, 凧 メールアドレス: 所属:
URL	https://oacis.repo.nii.ac.jp/records/2138

修士学位論文

日本産クチビルマガイケイソウ属 *Seminavis* の
形態分類学的研究

2020 年度

(2021 年 3 月)

東京海洋大学大学院
海洋科学技術研究科
海洋資源環境学専攻

笹野 風

目次

I. 緒言	1
II. 材料と方法	
1. 珪藻試料の採集	5
2. 培養・保存方法	5
3. 試料処理	6
4. 光学顕微鏡観察用永久プレパラートおよび走査電子顕微鏡観察用試料の作製	7
5. 観察方法	9
6. 分子系統解析	10
III. クチビルマガイケイソウ属の分類学的位置	15
IV. 用語	
1. 被殻 各部名称	16
2. 殻 各部名称	16
3. 殻帯 各部名称	19
V. 結果	
1. 生細胞および被殻の形態	
1-1. <i>Seminavis exigua</i> Changping Chen, Suqing Zhuo & Yahui Gao	20
1-2. <i>Seminavis robusta</i> Danielidis & D.G. Mann	23
1-3. <i>Seminavis strigosa</i> (Hustedt) Danielidis & Economou-Amilli	27
1-4. <i>Seminavis</i> sp. 1	31
1-5. <i>Seminavis</i> sp. 2	34
2. 分子系統解析	37

VI. 考察

1. 属ランクの分類形質 38
2. 種ランクの分類形質 41
3. *Pseudogomphonema* および *Navicula sensu stricto* との類縁関係 41
4. 本邦産 *Seminavis* の種と分布 44

VI. 結論 45

VII. 謝辞 46

VIII. 参考文献 47

I. 緒 言

珪藻類は、不等毛植物門 Heterokontophyta に属する単細胞微細藻類の一群である。地球上の一次生産のうち 20–25% に寄与していると見積もられており (Werner 1977), 基礎生産者として重要な役割を担う巨大な分類群である。細胞は珪酸質の被殻 (細胞壁) に被われ, 主に原形質と被殻の形態による分類が行われている。あらゆる水域に生育する珪藻はそれぞれの環境で多様に分化し, 記載された属の数は 1000 を超え (Fourtanier & Kociolek 1999), その種数は 10 万種にのぼるとも推定されている (Mann & Vanormelingen 2013)。本研究は, 珪藻類の属のひとつであるクチビルマガイケイソウ属 *Seminavis* を対象とした。

クチビルマガイケイソウ属 *Seminavis* は, フナガタケイソウ目 Naviculales フナガタケイソウ科 Naviculaceae に属する羽状類双縦溝珪藻である。細胞単体で生育する底生付着珪藻で, 堆積物上などで活発な滑走運動を行う。多くの種は海水および汽水生で, 淡水域からの出現も報告されている (渡辺 2005, Wachnicka & Gaiser 2007)。属名は, 「半分」を表す接頭辞 semi- と「船」を表す名詞 navis からなる (Stern 1992)。

Seminavis の殻面の外形は背腹性をもつ半披針形であり, 背側殻縁は弧状に湾曲, 腹側殻縁はほぼ直線状。このような殻面の外形の特徴から, 古くはニセクチビルケイソウ属 *Amphora* やクチビルケイソウ属 *Cymbella* として記載された。その後, 電子顕微鏡観察によって明らかになった殻微細構造の特徴をもとに, *Amphora angusta* var. *gracilentata* Grunow ex A.W.F. Schmidt から新組合せされた *Seminavis gracilentata* (Grunow ex A.W.F. Schmidt) D.G. Mann をタイプ種として, クチビルマガイケイソウ属 *Seminavis* が新設された (Mann in Round et al. 1990)。

Mann (in Round et al. 1990) によると, *Seminavis* は以下のように定義される。

1. 細胞は単体で生育。背腹性があり, 殻帯に沿うように 2 つの葉緑体が存在する。腹側葉緑体よりも背側葉緑体の方が大きい。

2. 殻面の外形は半披針形．背側殻縁は一様に湾曲，腹側殻縁は直線形またはわずかに湾曲．背側の殻套は広く，腹側では殻套を欠く．軸域は腹側よりも背側で広い．
3. 条線は単列の胞紋からなり，殻内面では肥厚した肋の間に開口．胞紋は長軸方向に細長いスリット状．
4. 縦溝の外中心裂溝はわずかに拡張して腹側に向けて終わるか，腹側から翼状の構造がのびる．極裂は鉤状に曲がり，背側に向けて終わる．縦溝は，殻中央部と殻端を除き，殻内面では山形の肥厚領域の頂点で直線状に開口．内中心裂溝は拡張しない．
5. 殻帯は腹側よりも背側で広く，無紋の 3 枚の帯片からなる．殻に接する 1 枚目は 3 枚の中で最も幅が広く，片端開放型．2 枚目は 1 枚目の帯片の欠損部を占めるセグメント型．3 枚目は幅が最も狭い．

上記の定義をもとに新種記載および既存種の属の組合せが行われ，現在までに世界で記載された種は *Seminavis aegyptiaca* Saber, El-Belely, El-Refaey, El-Gamal, S. Blanco & Cantonati (in Saber et al. 2020), *S. arranensis* Danielidis & D.G. Mann (in Danielidis & Mann 2002), *S. atlantica* M. Garcia (in Garcia 2007), *S. barbarae* Witkowski, Lange-Bertalot & Metzeltin (in Witkowski et al. 2000), *S. basilica* Danielidis (in Danielidis & Mann 2003), *S. cymbelloides* (Grunow) D.G. Mann (in Round et al. 1990), *S. cyrtorapha* Wachnicka & E.E. Gaiser (in Wachnicka & Gaiser 2007), *S. delicatula* Wachnicka & E.E. Gaiser (in Wachnicka & Gaiser 2007), *S. eulensteinii* (Grunow) Danielidis, K. Ford & Kennett (in Danielidis et al. 2006), *S. exigua* Chen, Zhuo & Gao (in Chen et al. 2019), *S. gracilenta* (Grunow ex A.W.F. Schmidt) D.G. Mann (in Round et al. 1990), *S. heidenii* D.G. Mann (in Danielidis & Mann 2003), *S. insignis* Álvarez-Blanco & S. Blanco (in Álvarez-Blanco & Blanco 2014), *S. latior* (A.W.F. Schmidt) Danielidis & D.G. Mann (in Danielidis & Mann 2003), *S. macilenta* (W. Gregory) Danielidis & D.G. Mann (in Danielidis & Mann 2002), *S. norae* (Metzeltin, Lange-Bertalot & García-Rodríguez) Talgatti & Torgan (in Talgatti et al. 2014), *S. obtusiuscula* (Grunow) Danielidis & D.G. Mann (in Danielidis & Mann 2003), *S. ostefeldii* (Hustedt) Clavero &

Hernández-Mariné (in Clavero i Oms 2009), *S. robusta* Danielidis & D.G. Mann (in Danielidis & Mann 2002), *S. strigosa* (Hustedt) Danielidis & Economou-Amilli (in Danielidis & Mann 2003), *S. ventricosa* (W. Gregory) M. Garcia-Baptista (in Danielidis & Mann 2002), *S. witkowskii* Wachnicka & Gaiser (in Wachnicka & Gaiser 2007) の 22 種である (Guiry in Guiry & Guiry 2021). このうち、本邦では海産種として *S. gracilentia* (鈴木・南雲 2003), 汽水産種として *S. basilica* (金子卒論 2015, 笠原卒論 2019), *S. robusta* (金子卒論 2015, 横畠卒論 2017), *S. macilentia* (真山ら 2018), 淡水産種として *S. strigosa* (渡辺 2005) の計 5 種が報告されている. 本属の形態に関する先行研究では、洗浄により被殻から帯片が除かれ、殻のみとなった状態で観察が行われた. そのため、殻形態が明らかになっているのに対して、生細胞や帯片に関する知見はきわめて少なく、殻と帯片が組み合わさった状態で被殻の微細構造を観察した例は皆無である. また、本邦の珪藻フロラ研究により本邦産種の形態は光学顕微鏡レベルで明らかになったが、電子顕微鏡観察を行った研究は存在しない. 珪藻類の属や種の分類には、光学顕微鏡観察だけでなく電子顕微鏡観察により得られる情報も大きな手掛かりになるため、本邦産 *Seminavis* の生細胞および被殻の形態を電子顕微鏡を用いて観察することには、属および種ランクの分類形質を解明するうえで重要な意義がある.

また、本属の帰属種の多くは未だ分子系統解析が行われておらず、これまでに分子系統解析が行われた種は既存 22 種のうち *S. robusta*, *S. latior*, *S. obtusiuscula* の 3 種のみである (Genbank: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). Bruder & Medlin (2008) による *rbcL* 遺伝子の解析では、*Seminavis* cf. *robusta* はニセクサビケイソウ属 *Pseudogomphonema* および狭義のフナガタケイソウ属 *Navicula sensu stricto* と近縁であるとされた. 帰属種の分子データをさらに収集することで、本属の系統的位置を明らかにする手掛かりを得ることができる.

本研究は、*Seminavis* の属および種ランクの分類形質を明らかにすることを目的とし、属全体で共通する形質および種ごとに相違する形質に着目して、本邦産 3 種 2 未記載種の生細胞および被殻の形態を詳細に観察した. さらに、一部のサンプルについて分子系統解析を

行い，形態学的知見を踏まえて近縁属とされる *Pseudogomphonema* および *Navicula* s. s. との類縁関係について考察した.

II. 材料と方法

1. 珪藻試料の採集

珪藻試料は、本邦各地の淡水・汽水・沿岸域にて採集した海藻、岩、砂、泥、コンクリート上より得た (Table 1). 岩盤、コンクリート上に生育する海藻はスクレイパーを用いて基部から採集し、微小な海藻は歯ブラシで藻体を削り取ったものを水中でスポイトを用いて採集した。微小な海藻は藻体に砂が付着することがあり、この場合は付着した砂ごと採集した。砂や泥はスポイトを用いて採集した。試料は 50 mL 採集瓶に入れて実験室に持ち帰った。

2. 培養・保存方法

本研究では、滑走運動を行っている細胞を生細胞とし、サンプルを採集後すぐにその観察を行った。また、一部のサンプルについて粗培養中の培地から 1 個体を摘出して単離培養を行い、これを分子系統解析の材料とした。培養時に有性生殖を開始した材料については、形成した増大胞子を観察した。培養条件は 20°C, 10–30 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (L:D = 12:12 h) とし、培養株はすべて海産種であったため、培養液は 2% PES 培地 (Provasoli 1966) を用いた。培養株の植え継ぎは、1 か月に 1 度の周期で行った。

形態観察に用いる試料は、50 mL 採集瓶に入れて冷凍保存した。薬品固定する必要があるものは、解凍したのち 25% グルタルアルデヒド溶液を数滴滴下し、2.5% まで希釈して固定、常温で保存した。

3. 試料処理

試料の被殻洗浄は、排水管洗浄剤法 (南雲 1995, 長田・南雲 2001) または過酸化水素水による洗浄法を用いた。それぞれの方法を以下に記す。

① 排水管洗浄剤法

【使用器具・薬品】

(1) 試料, (2) 排水管洗浄剤 (ジョンソン株式会社 パイプユニッシュ), (3) 70%エタノール溶液, (4) 蒸留水, (5) 遠心分離機, (6) パスツールピペット, (7) スピッツ管, (8) ピンセット

【手順】

1. ピンセットを用いて、試料をスピッツ管の 1/3 程度まで入れる。
2. スピッツ管に蒸留水を加えてよく攪拌し、遠心分離機にかける。その後、沈殿と上澄みが混ざり合わないよう注意して、パスツールピペットを用いて上澄みを捨てる。
3. 試料が海水を含む場合、手順 2 を数回繰り返すことで塩抜きをする。
4. 試料が浸かるまで蒸留水を加え、排水管洗浄剤を適量加えて攪拌する。10 分程度放置した後、試料が海藻である場合は藻体を取り除き、手順 2 を数回繰り返す。
5. 70%エタノール溶液を適量加え、手順 2 を数回繰り返す。
6. 蒸留水をスピッツ管の 1/2 程度まで加えて攪拌する。不純物が沈殿するまで静置した後、珪藻試料が含まれる上澄みを新しいスピッツ管に移し、排水管洗浄剤が十分に除去されるまで新しいスピッツ管で手順 2 を繰り返す。

② 過酸化水素水による洗浄法

【使用器具・薬品】

- (1) 試料, (2) 30% 過酸化水素水 (和光製薬工業株式会社), (3) 蒸留水, (4) 遠心分離機, (5) ガスバーナー, (6) パスツールピペット, (7) 耐熱性試験管, (8) 300 mL ビーカー, (9) スピッツ管, (10) ピンセット

【手順】

1. ピンセットを用いて、試料を耐熱性試験管の 1/3 程度まで入れる。
2. 蒸留水を加えたのち、過酸化水素水を蒸留水と同量程度加える。
3. 蒸留水を適量入れたビーカーに耐熱性試験管を入れ、湯煎する。
4. 過酸化水素水の反応終了後、湯煎をやめ、耐熱性試験管を取り出す。
5. パスツールピペットを用いて耐熱性試験管内の試料をスピッツ管内に移す。
6. スピッツ管に蒸留水を加えてよく攪拌し、遠心分離機にかける。その後、沈殿と上澄みが混ざり合わないよう注意して、パスツールピペットを用いて上澄みを捨てる。
7. 蒸留水をスピッツ管の 1/2 程度まで加えて攪拌する。不純物が沈殿するまで静置した後、珪藻試料が含まれる上澄みを新しいスピッツ管に移し、過酸化水素水が十分に除去されるまで新しいスピッツ管で手順 6 を繰り返す。

4. 光学顕微鏡観察用永久プレパラートおよび走査電子顕微鏡観察用試料の作製

① 光学顕微鏡観察用永久プレパラートの作製方法

【使用器具・薬品】

- (1) 洗浄済み珪藻試料, (2) 封入剤 (和光純薬工業株式会社 マウントメディア), (3) 蒸

留水, (4) ホットプレート, (5) スライドガラス, (6) カバーガラス, (7) パスツールピペット, (8) ピンセット, (9) 竹串

【手順】

1. ホットプレート上にのせた状態のカバーガラスに, パスツールピペットを用いて蒸留水をドーム状に盛り, そこに洗浄済みの珪藻試料を滴下する.
2. ホットプレートを加熱し, カバーガラス上の試料を完全に乾燥させる.
3. 加熱したホットプレート上にのせた状態のカバーガラスに蒸留水を滴下し, 沸騰し始めたら吸い取る作業を数回繰り返し, カバーガラスを洗浄する.
4. 竹串を用いてスライドガラスに封入剤を適量のせ, 珪藻試料が付着している面が封入剤と接するようにカバーガラスをのせる.
5. 4をホットプレートで加熱する. 気泡が出たらホットプレートから下ろし, カバーガラスを上からピンセットで軽く押す. その後, 室温で冷やす.

② 走査電子顕微鏡観察用試料の作製方法

【使用器具・薬品】

(1) 洗浄済み珪藻試料, (2) ドータイト (日新 EM 株式会社), (3) 蒸留水, (4) 両面粘着カーボンテープ, (5) ホットプレート, (6) 試料台, (7) 円形カバーガラス, (8) パスツールピペット, (9) ピンセット, (10) 竹串, (11) イオンスパッタ装置 (HITACHI E101)

【手順】

1. ホットプレート上にのせた状態のカバーガラスに, パスツールピペットを用いて蒸留水をドーム状に盛り, そこに洗浄済みの珪藻試料を滴下する.
2. ホットプレートを加熱し, カバーガラス上の試料を完全に乾燥させる.

3. 加熱したホットプレート上にのせた状態のカバーガラスに蒸留水を滴下し、蒸発し始めたら吸い取る作業を数回繰り返し、カバーガラスを洗浄する.
4. 適当な長さに切った両面粘着カーボンテープを試料台に貼り、その上に、試料が乗っている面を上にして 3 を張り付ける.
5. カバーガラスと試料台の両方に触れるように、ドータイトを試料台の両端に乗せる.
6. イオンスパッタ装置を用いて、試料を白金パラジウムでコーティングする (10 mA, 120 秒間).

5. 観察方法

光学顕微鏡は Nikon OPTIPHOT HFX-DX II を使用した. 走査電子顕微鏡は日本電子株式会社 電界放射形電子顕微鏡 JSM-6330F (日本歯科大学 新潟生命歯学部) を使用し, 観察時の加速電圧は 5 kV, 作動距離は 15 mm, エミッション電流は 10–12 μ A とした.

① 光学顕微鏡による生細胞の観察

生細胞を得られた種については, 光学顕微鏡の 40 倍対物レンズを用いて (1) 付着様式, (2) 滑走運動の様子, (3) 葉緑体の形態, (4) 葉緑体の配置, (5) 葉緑体の枚数 の 5 項目を観察し, デジタルカメラ (SONY ILCE-QX1) による写真撮影を行った.

② 光学顕微鏡による殻構造の観察

珪藻の殻は, 永久プレパラートに封入したのちカバーガラス中央部分にイメージンオイル (Carl Zeiss Microscopy, LLC) を滴下し, 光学顕微鏡の 70 倍油浸レンズを用いて (1) 殻形, (2) 殻端の形, (3) 縦溝の位置, (4) 条線の配列, (5) 中心域の形, (6) 軸域の形, (7) その他特徴的な構造 の 7 項目を観察し, デジタルカメラ (Nikon D5200) に

よる画像撮影を行った。また、撮影した画像をもとに (1) 殻長, (2) 殻幅, (3) 背側条線密度, (4) 腹側条線密度 の 4 項目を計測した。

③ 走査電子顕微鏡による殻と帯片の微細構造の観察

珪藻の殻と帯片は、走査電子顕微鏡を用いて (1) 外面および内面の殻面観, (2) 背側および腹側の被殻帯面観, (3) 外裂溝および内裂溝中心末端の曲がり方, (4) 外裂溝および内裂溝極末端の曲がり方, (5) 帯片の枚数, (6) 帯片の微細構造, (7) その他特徴的な構造 の 7 項目を観察し、写真撮影を行った。

④ 増大胞子の観察

増大胞子を形成した種については、光学顕微鏡および走査電子顕微鏡を用いて (1) 増大胞子の外形, (2) インキュナブラの微細構造, (3) ペリゾニウムの配置および微細構造 の 3 項目を観察し、写真撮影を行った。また、撮影した画像をもとに、増大胞子が内包する初生殻の殻長を計測した。

6. 分子系統解析

本研究では、単離培養を行った 3 つの培養株について分子系統解析を行った。培養株は、茨城県東茨城郡大洗町にて採集した紅藻ベニヒバ *Psilothallia dentata* 標本番号 MUTF-43737 上から単離した Strain 1 (Pl. 33, Fig. 2), 茨城県ひたちなか市平磯にて採集した海草エビアマモ *Phyllospadix japonicus* 標本番号 MUTF-43738 上から単離した Strain 2 (Pl. 33, Fig. 3), 静岡県賀茂郡南伊豆町逢ヶ浜にて採集した緑藻オオハイミル *Codium dimorphum* 標本番号 MUTF-43739 上から単離した Strain 3 (Pl. 33, Fig. 4)を使用した。

① プライマー情報

解析に用いた分子マーカーは、葉緑体ゲノムのリブロース 1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ RubisCO 大サブユニット *rbcL* および小サブユニット *rbcS* 領域のうち 1428 塩基対である。解析に用いたプライマー情報は以下の通り。それぞれのプライマーがアニールする位置は Pl. 33, Fig. 1 に示す。

DIArbcL-1F AAGGAGAAATHAATGTCTCAATCTG (Tm 値: 59.2–60.9°C)

珪藻 *rbcL* の -12 bp から下流にアニールする PCR 用フォワードプライマー。

DIArbcL-3F TGTGGTCAAATGCACCAATTA (Tm 値: 55.4°C)

珪藻 *rbcL* の 1159 bp から下流にアニールするシーケンス用フォワードプライマー。

DIArbcL-1R TTCTAAAGCAACACGGTTWGC (Tm 値: 57.5°C)

元配列: GCWAACCGTGTTGCTTTAGAA

珪藻 *rbcL* の 1284 bp から上流にアニールするシーケンス用リバースプライマー。

DIArbcL-2R AAGAAACGYTCTCTCCAACGCAT (Tm 値: 60.9–62.9°C)

元配列: ATGCGTTGGAGAGARCGTTTCTT

珪藻 *rbcL* の 668 bp から上流にアニールするシーケンス用リバースプライマー。

DIArbcS-2R GGATCATCTGTCCAYTCAACRTT (Tm 値: 59.2–62.9°C)

元配列: AAYGTTGARTGGACAGATGATCC

珪藻 *rbcS* の 122 bp から上流にアニールする PCR 用リバースプライマー。

② DNA 抽出

【使用器具・薬品】

(1) 珪藻単離培養株, (2) 10 mM Tris-HCl に Chelex (Bio-Rad Laboratories 株式会社) を溶かした 5% Chelex 溶液, (3) 1.5 mL マイクロチューブ, (4) DNA 抽出液用チューブ,

(5) パスツールピペット, (6) ニップル, (7) マイクロピペット, (8) すり棒, (9) 遠心分離機, (10) ミニブロックバス (アズワン株式会社)

【手順】

1. 1.5 mL マイクロチューブに培養株の培地を入れ, 遠心分離機で細胞を沈殿させたのち, パスツールピペットで上澄みを取りのぞく.
2. すり棒ですりつぶす. その後, マイクロピペットを用いて 5% Chelex 溶液を約 100 μ L 加える. その後, ミニブロックバスを用いて, 100°C で 10 分間加熱する.
3. 加熱後, 遠心分離機に 10 分間かける.
4. 沈殿を崩さないように注意しながら上澄みを 50–75 μ L 取り出し, DNA 抽出液とした. これを DNA 抽出液用チューブに入れ, 保存する.

③ PCR (Polymerase Chain Reaction) 法による遺伝子増幅

【使用器具・薬品】

(1) PCR 反応液 [1 サンプルあたりの組成 (計 10 μ L): 蒸留水 0.8 μ L, 2 $\times$ PCR Buffer 5.0 μ L, 10 mM dNTP 2.0 μ L, KOD FX Neo (東洋紡株式会社) 0.2 μ L, 10 μ M PCR 用フォワードプライマー 0.5 μ L, 10 μ M PCR 用リバースプライマー 0.5 μ L, DNA 抽出液 1.0 μ L], (2) 12 $\times$ Loading Buffer, (3) 50 $\times$ UltraPower (ジェレックスインターナショナル株式会社), (4) 1.5% アガロースゲル, (5) 1 $\times$ TAE 緩衝液, (6) ExoSAP-IT (USB 社), (7) 蒸留水, (8) サーマルサイクラー用チューブ, (9) サーマルサイクラー GeneAtlas G タイプ (アステック株式会社), (10) 電気泳動装置 Mupid[®]-2plus (タカラバイオ株式会社), (11) イルミネーター (MAESTROGEN 株式会社)

【手順】

1. サーマルサイクラー用チューブに PCR 反応液を入れる.
2. 94°Cで 2 分間加熱する (1st denature).
3. 98°Cで 30 秒間 (denature: 変性), 50°Cで 30 秒間 (annealing: アニール), 68°Cで 90 秒間 (extension: 伸長反応) を 1 サイクルとし, これを 35 サイクル繰り返す.
4. 68°Cで 7 分間おく (final extension). ここまでの反応が完了したものを PCR 産物とし, 保存する.
5. PCR 産物 3 μL に 12 $\times$ Loading Buffer 0.5 μL と 50 $\times$ UltraPower 0.5 μL を加え, 1.5% アガロースゲルと TAE 溶液 (泳動用緩衝液) を用いて 100 V で約 30 分間の電気泳動を行う.
6. 電気泳動後, イルミネーターを用いてバンドを確認する. バンドが複数見られた場合, 温度条件を変更して手順 1 からやり直す.
7. 電気泳動により濃いバンドが 1 本のみ検出された PCR 産物 7 μL を新しいサーマルサイクラー用チューブに入れ, そこに精製用酵素 ExoSAP-IT 0.5 μL および蒸留水 2.5 μL を加えて混合する.
8. 37°Cで 15 分間, 80°Cで 15 分間の反応を行い, PCR 産物を精製する.

④ シーケンス

得られた精製物 1.0 μL を 10 μM シーケンス用プライマー1.0 μL および蒸留水 19.0 μL と混合し, ユーロフィン DNA シーケンス受託サービス (ユーロフィンジェノミクス株式会社) を利用して塩基配列を解読した.

⑤ 系統樹の作成

塩基配列の解読結果は、BioEdit Sequence Alignment Editor (Hal 1999) を用いてアラインメントを行った。その後、MEGA-X (Kumar et al. 2018) を用いて近隣結合法 (Saitou & Nei 1987) により系統樹を作成し、ブートストラップ法 (Felsenstein 1985) により信頼性を評価した (1000 回)。進化距離は、p-距離 (Nei & Kumar 2000) により推定した。系統樹に組み込む種は、Bruder & Medlin (2008) により *Seminavis* と近縁であるとされた *Navicula sensu stricto* および *Pseudogomphonema* のうち、国際塩基配列データベース (Genbank: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) 上に *rbcL* 遺伝子の配列が登録されているものを対象とした。外群にはクサリケイソウ目クサリケイソウ科 *Nitzschia palea* (FN557020) を設定した。

Ⅲ. クチビルマガイケイソウ属の分類学的位置

クチビルマガイケイソウ属 *Seminavis* はフナガタケイソウ科 *Naviculaceae* に属する (Round et al. 1990, Cox 2015). 分類体系および和名を小林ら (2006), 鈴木・南雲 (2013), Cox (2015) および Adl et al. (2019) に準拠し, 本属の分類学的位置をまとめたものを以下に記す.

Seminavis D.G. Mann 1990

Type: *Seminavis gracilenta* (Grunow ex A.W.F. Schmidt) D.G. Mann 1990

(Basionym: *Amphora angusta* var. *gracilenta* Grunow ex A.W.F. Schmidt 1875)

真核生物ドメイン **Eukaryota** Chatton

ディアフォレティケス **Diaphoretickes** Adl et al.

ストラメノパイル **Stramenopiles** Patterson

不等毛植物門 **Heterokontophyta** van den Hoek et al.

(= オクロ植物門 **Ochrophyta** Cavalier-Smith)

クサリケイソウ亜門 **Bacillariophytina** Medlin & Kaczmarek

クサリケイソウ綱 **Bacillariophyceae** Haeckel

クサリケイソウ亜綱 **Bacillariophycidae** D.G. Mann

フナガタケイソウ目 **Naviculales** C.E. Bessey

フナガタケイソウ亜目 **Naviculineae** Hendey

フナガタケイソウ科 **Naviculaceae** Kützinger

クチビルマガイケイソウ属 ***Seminavis*** D.G. Mann

IV. 用 語

本論文の執筆にあたり使用した用語は、千原 (1997)、渡辺 (2005) および小林ら (2006) に準拠した。先行研究で日本語に訳された例のない外国語用語については、筆者が和訳を行った (該当語には「*」を付した)。以下に用語およびその内容について示す。

1. 被殻 各部名称

被殻 frustule

細胞を被うすべての要素が合わさったもの。珪藻細胞の細胞壁の役割を果たす。

上半被殻 (epitheca) と下半被殻 (hypotheca) が組み合わさってできている。

殻 valve

被殻の構成要素の中で、両外に対置する平板状または凸状の板。1つの被殻は2

枚の殻をもち、両者のうちやや大きい方の殻を上殻 (epivalve)、やや小さい方の

殻を下殻 (hypo valve) という。

殻帯 girdle

被殻の構成要素の中で、上殻と下殻の間にある帯状の構造。

殻面観 valve view

細胞または被殻を正面 (殻面) から見た状態。

帯面観 girdle view

細胞または被殻を側面 (帯面) からみた状態。

2. 殻 各部名称

殻長 valve length

殻の長軸の長さ。羽状縦溝珪藻類における長軸は、縦溝と並行になる軸を指す。

殻幅 valve width

殻の短軸の長さ。羽状縦溝珪藻類における短軸は、縦溝と垂直になる軸を指す。

一次側 primary side

殻の形成過程において、先に形成され始める側。

二次側 secondary side

殻の形成過程において、遅れて形成が始まる側。

殻端 apex

殻長軸の末端部分。

殻縁 valve margin

殻面観から見た際の、殻の外縁。

殻套 valve mantle

殻の縁に存在し、傾斜しているか、場合により構造的に殻面と区別がつく部分。

無紋域 hyaline area

胞紋によって貫通されていない珪酸質の区域。

軸域 axial area

長軸に沿って存在する無紋域。

中心域 central area

軸域の中間にある広がり、または目立った無紋域を指す。

縦溝 raphe

殻を貫通する長くのびた裂け目、または長軸方向に対になって存在する裂け目。

縦溝が長軸方向に対になっている場合、それぞれの裂け目のことを縦溝枝 (raphe branch) という。

極裂 terminal fissure

殻端にある縦溝の裂け目で、殻を貫通していない部分。殻外面にのみ存在する。

中心裂溝 central fissure

縦溝の裂け目が殻を貫通せず，単なる裂け目として中心節の上に存在する，またはそれをよぎってのびる部分．殻外面の中心裂溝を外中心裂溝 (external central fissure)，殻内面の中心裂溝を内中心裂溝 (internal central fissure) という．

蝸牛舌 helictoglossa

殻面観の縦溝の終点部分 (縦溝末端) にある突出した唇状構造．

条線 stria

胞紋または長胞の列，または列の一部ではない 1 個の長胞．本論文で使した条線の様子を表す用語は以下のとおりである．

平行 parallel

条線が殻の中央線または縦溝に対して直角方向に走っている状態．

放射状 radiate

条線が殻縁から殻の中心部に向かって走っている状態．

収斂 convergent

条線が殻縁から殻端部に向かって走っている状態．

ボアグの欠落 voigt fault

軸域に接する片側での条線配列の一部欠落をいう．

間条線 interstria

隣り合う 2 本の条線の間は無紋の線．

胞紋 areola

珪酸基底層を貫通し，通常篩板または薄皮，またはその両方で塞がれている規則的に連続した穿孔．小型の胞紋はしばしば点紋 (puncta) とも呼ばれる．

篩板 velum

胞紋をふさぐ穿孔のある珪酸質の薄い層．穿孔は円形とは限らない．

肋* costa / rib

殻の一部が伸長した中実の肥厚部を指す。本研究では、先行研究の英語論文中使用された用語 **rib** への対訳としても「肋」を用いた。

修飾肋* accessory rib

軸域内面の一次側に存在し、縦溝と並行にのびる肋。Cox (1999) で使用された用語 **accessory rib** への対訳として、本研究で初めて用いた名称である。

3. 殻帯 各部名称

半殻帯 cingulum

殻帯のうち、一方の殻と結合している 1 つまたは一連の帯片。半被殻から殻を除いた部分。被殻を構成する上半被殻と下半被殻について、上半被殻は上殻と上半殻帯 (**epitheca**) からなり、下半被殻は下殻と下半殻帯 (**hypotheca**) からなる。

帯片 band / segment

殻帯の構成単位。開放型 (**open / sprit**) と閉鎖型 (**closed / complete**) がある。

中間帯片 copula

半殻帯のうち殻により近い方の帯片。

接殻帯片 valvocopula

中間帯片のうち最も殻に隣り合う帯片。

帯片内接部 pars interior

帯片の一部で、殻または他の帯片と重なる部分。

帯片表出部 pars exterior

帯片の一部で、殻または他の帯片と重ならず露出する部分。

V. 結 果

1. 生細胞および被殻の形態

本邦沿岸 14 地点にて 3 種 2 未記載種を採集した (Table. 1). 以下にそれぞれの種の生細胞および被殻形態の観察結果を, 種形容語のアルファベット順に記載する.

1-1. *Seminavis exigua* Chen, Zhuo & Gao in Chen et al. (2019), Diatom Research **34**(2): 87, Figs 2-25.

【原記載情報】

Type Locality: 中国・福建省^{フーチェン} 崇武鎮^{チョンウーチン} 砂浜

Holotype: N201801, 厦門大学^{シァメン} 生命科学学院

Isotype: N201802, 厦門大学 生命科学学院

Chen et al. (2019) により新種として記載された. 種形容語は, 被殻が小さいことから, ラテン語で「小さな領域」を表す *exiguus* をもとに名付けられた. 殻長 8-13 μm , 殻幅 2.5-4 μm . 背側条線密度は 18-25 本 /10 μm . 腹側条線密度は LM では不明瞭, SEM では 19-26 本 /10 μm .

【同定の根拠】

LM 観察および SEM 観察の結果から, 原記載と比べて殻長が大きく条線密度がわずかに疎である傾向がみられたが, 腹側条線が一個の胞紋で構成されること, およびその他の殻微細構造の特徴 (次項に記す) が原記載とすべて一致したため本種と同定した.

【観察結果】

細胞の殻面観は半披針形 (Pl. 4, Figs 1-4), 帯面観は披針形. 両殻端は丸みを帯びる.

殻長 16.0-22.0 μm , 殻幅 3.5-4.0 μm . 背側の殻縁は弧状に湾曲した凸形, 腹側の殻縁は直線状. 殻套は背側で広く, 腹側で狭い. 殻面と殻套の境界は不明瞭. 軸域は背側で狭く, 腹側にはほとんど存在しない. 軸域内面の腹側において修飾肋は不明瞭.

縦溝は殻の長軸方向に直線状にのびる. 殻外面では, 縦溝は中心域付近でわずかに腹側へ偏向し (Pl. 5, Fig. 2, 二重矢印), 外中心裂溝は2つの縦溝末端が正対して終わる (同図, 矢印). 極裂は緩やかな鉤状に曲がり, 背側に向けて終わる (Pl. 5, Fig. 3, 矢印). 殻内面では, 縦溝の内中心裂溝付近が肥厚し, 2つの縦溝枝はともに背側に向けて終わる (Pl. 6, Fig. 2, 矢印). 縦溝極末端は蝸牛舌状になる (Pl. 6, Fig. 3, 矢印). 両極末端のさらに外側に, 3個の胞紋が一行に並ぶ (Pl. 5, Fig. 3, 二重矢印).

条線は単列の胞紋で構成される. 背側条線は, 中心域付近ではほぼ平行またはわずかに放射状に配列, 殻端付近では収斂する. 背側条線は殻面から殻套まで連続し, 密度は 17.0-19.5 本 /10 μm . 殻長の4分の1地点および4分の3地点にはボアグの欠落が存在する (Pl. 5, Fig. 1, 矢印). 腹側条線は, 1本の条線が単一の胞紋で構成され, 密度は 17.5-19.0 本 /10 μm . 間条線の肋は発達せず, 薄い. 胞紋の外部開口はスリット状, 大きさはほぼ均一. 条線 10 μm あたりの胞紋の個数は 65-70 個 /10 μm .

半殻帯の幅は, 被殻腹側では一定 (Pl. 7, Fig. 1), 背側では被殻の中央付近で広がる (Pl. 8, Fig. 1). 半殻帯を構成する帯片はすべて無紋であり, 次の4タイプからなる. 1枚目の接殻帯片は, 被殻の片端で開放する (Pl. 7, Figs 2, 3, VC および Pl. 8, Figs 2, 3, VC). 2枚目の第2帯片は短いセグメント状で, 接殻帯片の開放部に収まる (Pl. 7, Fig. 3, B2 および Pl. 8, Fig. 2, B2). 3枚目の第3帯片は幅が狭く, 接殻帯片の開放部と同じ端で開放する (Pl. 8, Figs 2, 3, B3). 4枚目の第4帯片は幅が非常に狭く, セグメントに隣接する短い帯片である (Pl. 8, Fig. 2, B4). 第3および第4帯片は個体により観察されない場合がある.

【分類学的所見】

殻と帯片が組み合わさった状態で本種の被殻を SEM 観察し、第 2 帯片、第 3 帯片および第 4 帯片の存在を見出したのは本研究が初である。

本研究および Chen et al. (2019) による本種の観察結果から、本種と近縁種の形態を比較する。本種 *Seminavis exigua* および *S. macilenta* (W. Gregory) Danielidis & D.G. Mann (in Danielidis & Mann 2002) は、殻面の外形が半披針形、背側条線が殻面全体ではほぼ平行またはわずかに放射状、腹側条線が一個の胞紋で構成されることから、これら 2 種は互いに近縁であると考えられる。しかし、*S. exigua* の条線密度 (原記載は背側で 18–25 本 /10 μm 、腹側で 19–26 本 /10 μm 、本研究は背側で 17.0–19.5 本 /10 μm 、腹側で 17.5–19.0 本 /10 μm) は *S. macilenta* の条線密度 (背側で 11.8–14.2 本 /10 μm 、腹側で 11.8–14.8 本 /10 μm) と比べて密であり、*S. exigua* は修飾肋が不明瞭であるのに対し *S. macilenta* は修飾肋が明瞭に発達することから、両種は明確に区別される。

【本邦での出現報告】

本研究では、2 地点より 4 サンプルを採集した。採集地は北海道天売島と神奈川県野島公園。採集時の生育地の塩分は 15–34 であり、汽水–海水生。過去に出現報告はなく、本邦新産種である。

【国外での出現報告】

タイ産地である中国 福建省崇武鎮の砂浜からの報告のみが存在する。

1-2. *Seminavis robusta* Danielidis & D.G. Mann (2002), European Journal of Phycology
37: 440, Figs 39-53.

【原記載情報】

Type Locality : ギリシャ・メソロンギ潟

Holotype : ADH 250/1, England Finder Reference R42/1

Danielidis & Mann (2002) により新種として記載された。種形容語はラテン語 *robustus* が格変化したものであり、「強健な」という意味をもつ。殻長 34-68 μm , 殻幅 6.5-9.5 μm . 背側条線密度は 17-20.7 本 /10 μm , 腹側条線密度は 16-19.3 本 /10 μm .

【同定の根拠】

LM 観察および SEM 観察の結果から、殻長、殻幅、条線密度、腹側条線の配列、および殻微細構造の特徴 (次項に記す) が原記載とすべて一致したため、本種と同定した。

【観察結果】

細胞は単体で生育し、稀に分裂中の 2 細胞が連結した状態で観察される。細胞の殻面観は半披針形 (Pl. 9, Figs 2-5), 帯面観は披針形。両殻端は丸みを帯びる。細胞の腹側および背側の帯面に沿って 2 つの葉緑体が存在する (Pl. 9, Fig. 1 および Pl. 10, Fig. 1). 腹側帯面に接する葉緑体は棒状で、両隣の殻面に沿って 2 つずつ、計 4 つの突起が出る (Pl. 10, Fig. 2, 矢印). 背側帯面に接する葉緑体は板状 (Pl. 10, Fig. 3).

殻長 31.2-62.0 μm , 殻幅 6.4-9.0 μm . 背側の殻縁は弧状に湾曲した凸形、腹側の殻縁は直線状。腹側殻縁はしばしばわずかに凸形に湾曲し、これは殻長が大きな細胞でより顕著である (Pl. 9, Fig. 2, 矢印). 殻套は背側で広く、腹側で狭い。殻面と殻套の境界は不明瞭。軸域の幅は腹側に比べて背側で広く、軸域外面は肥厚する (Pl. 11, Fig. 1, 矢印). 軸域内面

の腹側には、長軸方向にのびる修飾肋が存在する (Pl. 12, Fig. 3, 二重矢印). 修飾肋は殻の中央付近で途切れる.

縦溝は殻の長軸方向に直線状にのびる. 殻外面では、縦溝は中心域付近で腹側へ偏向し (Pl. 11, Fig. 2, 二重矢印), 外中心裂溝は2つの縦溝末端が腹側に向けて終わる (同図, 矢印). 極裂は鉤状に曲がり, 背側に向けて終わる (Pl. 11, Fig. 3, 矢印). 殻内面では、縦溝の内中心裂溝付近で細長い節を形成し, 2つの縦溝枝が互いに繋がる (Pl. 12, Fig. 2, 矢印). 縦溝極末端は腹側に曲がり, 蝸牛舌状になる (Pl. 12, Fig. 3, 矢印). 両極末端のさらに外側に, 4-5 個の胞紋が一行に並ぶ (Pl. 11, Fig. 3, 二重矢印).

条線は単列の胞紋で構成される. 背側条線は殻面全体でほぼ放射状に配列, 殻面から殻套まで連続し, 密度は 16.0-21.0 本 /10 μm . ボアグの欠落は見られない. 腹側条線は殻中央付近で放射状に配列, 殻端付近ではほぼ平行で, 密度は 18.5-20.0 本 /10 μm . 間条線の肋は肥厚し, これにより各条線は内面で小室を形成する. 胞紋の外部開口はスリット状, 大きさはほぼ均一. 条線 10 μm あたりの胞紋の個数は 48-51 個 /10 μm .

半殻帯の幅は, 被殻腹側では一定 (Pl. 13, Fig. 1), 背側では被殻の中央付近で広がる (Pl. 14, Fig. 1). 半殻帯を構成する帯片はすべて無紋であり, 次の4タイプからなる. 1枚目の接殻帯片は, 被殻の片端で開放する (Pl. 3, Figs 1, 2, 青色; Pl. 13, Figs 2, 3, VC および Pl. 14, Figs 2, 3, VC). 帯片内接部の縁には, 滑らかな鋸歯状突起をもち, それは肋と一致する (Pl. 15, Fig. 1-5). 2枚目の帯片は短いセグメント状で, 接殻帯片の開放部に収まる (Pl. 3, Figs 1, 2, 赤色; Pl. 13, Fig. 3, B2 および Pl. 14, Fig. 2, B2). 3枚目の第3帯片は幅が非常に狭く, 接殻帯片の開放部と同じ端で開放する (Pl. 3, Figs 1, 2, 黄色; Pl. 13, Figs 2, 3, B3 および Pl. 14, Figs 2, 3, B3). 4枚目の第4帯片は幅が非常に狭く, セグメントに隣接する短い帯片である (Pl. 3, Figs 1, 2, 緑色; Pl. 13, Fig. 3, B4 および Pl. 14, Fig. 2, B4). 第3および第4帯片は個体により観察されない場合がある.

【分類学的所見】

殻と帯片が組み合わさった状態で本種の被殻を SEM 観察し、第 3 帯片および第 4 帯片の存在を見出したのは本研究が初である。また、本種の接殻帯片の帯片内接部にある鋸歯状突起、および修飾肋の形態について記載したのは本研究が初である。Danielidis & Mann (2002) で報告されたボアグの欠落は、本研究では観察されなかった。

本研究および Danielidis & Mann (2002) による本種の観察結果から、本種と近縁種の形態を比較する。本種 *Seminavis robusta*, *S. latior* (A.W.F. Schmidt) Danielidis & D.G. Mann (in Danielidis & Mann 2003) および *S. aegyptiaca* Saber, El-Belely, El-Refaey, El-Gamal, S. Blanco & Cantonati (in Saber et al. 2020) は、殻面の外形が半披針形、背側条線が殻面全体ではほぼ放射状、腹側条線が中心域付近で放射状、殻端付近ではほぼ平行であることから、これら 3 種は互いに近縁であると考えられる。しかし、*S. robusta* の殻幅 (原記載は 6.5–9.5 μm , 本研究は 6.4–9.0 μm) は *S. latior* の殻幅 (10–13 μm) と比べて短く、*S. robusta* の条線密度 (原記載は背側で 17–20.7 本 /10 μm , 腹側で 16–19.3 本 /10 μm , 本研究は背側で 16.0–21.0 本 /10 μm , 腹側で 18.5–20.0 本 /10 μm) は *S. latior* の条線密度 (背側で 12.8–14.8 本 /10 μm , 腹側で 12.8–15.3 本 /10 μm) と比べて密であることから、*S. robusta* と *S. latior* は明瞭に区別され、*S. robusta* の条線 10 μm あたりの胞紋の個数 (原記載は 46–50 個 /10 μm , 本研究は 48–51 個 /10 μm) は *S. aegyptiaca* の当該数値 (55–60 個 /10 μm) と比べて疎であることから、*S. robusta* と *S. aegyptiaca* は明瞭に区別される。

【本邦での出現報告】

本研究では、10 地点より 30 サンプルを採集した。採集地は茨城県、東京都、千葉県、神奈川県、高知県の沿岸および河口域。生育地の塩分は 7–35 であり、汽水–海水生。

これまでに、東京都 東京海洋大学品川キャンパス繋船場の紅藻ホソアヤギス *Caloglossa ogassawaraensis* 上 (金子卒論 2015)、東京都 大井鯨洲橋付近の護岸の藍藻

Lyngbya aestuarii f. *aeruginosa* 上 (横畠卒論 2017) からの出現が報告されている。

中井 (1997) により沖縄県塩川の海岸付近の水溜まりから *Amphora strigosa* (現在の *Seminavis strigosa*) として報告された3枚のLM画像のうち Fig. 8 および Fig. 9 について、殻長、殻幅および条線密度の数値が *S. robusta* の原記載の範囲内であり、腹側条線が中心域付近で放射状であることから、当該2個体は *S. robusta* であると考えられる。

鈴木・南雲 (2003) により神奈川県葉山産の紅藻ピリヒバ *Corallina pilulifera* 上から *S. gracilenta* として報告されたLM画像について、上記と同様の形態の特徴をもつことから、当該個体は *S. robusta* であると考えられる。

田中 (2011) により北海道厚岸漁港外および落石漁港外の褐藻ヒバマタ *Fucus distichus* 上から *A. ventricosa* (現在の *S. ventricosa*) として報告されたLM画像について、上記と同様の形態の特徴をもつことから、当該個体は *S. robusta* であると考えられる。

太田 (2019 修論) により神奈川県天神島の紅藻ケイギス *Ceramium tenerrimum*, 紅藻ピリヒバ *Corallina pilulifera*, 褐藻フクリンアミジ *Rugulopteryx okamurae*, 紅藻フシツナギ *Lomentaria catenata* 上から *Seminavis* sp. として報告されたLM画像について、上記と同様の形態の特徴をもつことから、当該個体は *S. robusta* であると考えられる。

【国外での出現報告】

タイプ産地であるギリシャ・メソロンギ滯の他に、Wachnicka & Gaiser (2007) によるアメリカ合衆国・ビスケーン湾およびフロリダ湾沿岸付近のマングローブ気根上からの報告、Park et al. (2018) によるミクロネシア連邦・チューク諸島モエン島の緑藻サボテンゲサ属の一種 *Halimeda* sp. および褐藻ウミウチワ属の一種 *Padina* sp. 上からの報告がある。

Wachnicka & Gaiser (2007) は、生育塩分は25-35、水深は1.5 m 未満であるとした。本研究により、本種はさらに低塩分の環境にも生育することが明らかになった。水深について、本研究で採集を行った水深はすべて1.5 m 未満であり、先行研究と一致した。

1-3. *Seminavis strigosa* (Hustedt) Danielidis & Economou-Amilli in Danielidis & Mann (2003), Diatom Research **18**(1): 30, Figs 23-32.

【原記載情報】

Type Locality: エジプト・シナイ半島

Lectotype: Slide 290/66 (Hustedt Collection, Sinai, Wadi Islet) Zeiss finder refs 279.6, 520.3-6 (Simonsen 1987, p. 352, pl. 537, figs 12-15)

Hustedt (1949) により *Amphora strigosa* Hustedt として新種記載された後, Danielidis & Economou-Amili (In: Danielidis & Mann 2003) によって *Seminavis* へと組合せられた. 種形容語はラテン語 *strigosus* が格変化した形であり, 「体が引き締まっている, 痩せている」という意味をもつ. Hustedt (1949) によると, 殻長 22-26 μm , 殻幅 4 μm , 条線密度は 17 本 /10 μm . Danielidis & Mann (2003) では, 殻長 21-38 μm , 殻幅 3.5-6.2 μm , 背側条線密度は 17.5-24.5 本 /10 μm , 腹側条線密度は 16-23 本 /10 μm .

【同定の根拠】

LM 観察および SEM 観察の結果, 殻長, 殻幅, 条線密度, 腹側条線の配列, および殻微細構造の特徴 (次項に記す) が Hustedt (1949) および Danielidis & Mann (2003) と一致したため, 本種と同定した.

【観察結果】

細胞は単体で生育する. 細胞の殻面観は半披針形 (Pl. 16, Figs 2-4), 帯面観は披針形. 両殻端は丸みを帯びる. 細胞の腹側および背側の帯面に接する 2 つの葉緑体が存在する (Pl. 16, Fig. 1). 腹側帯面に接する葉緑体は棒状, 背側帯面に接する葉緑体は板状.

殻長 24.0-28.0 μm , 殻幅 5.5-6.5 μm . 背側の殻縁は弧状に湾曲した凸形, 腹側の殻縁は

直線状。殻套は背側で広く、腹側で狭い。殻面と殻套の境界は不明瞭。軸域の幅は腹側に比べて背側で広く、軸域外面は肥厚する (Pl. 17, Fig. 1, 矢印)。軸域内面の腹側には、長軸方向にのびる修飾肋が存在する (Pl. 18, Figs 2, 3, 二重矢印)。修飾肋は、中心域付近で発達の間合いが弱まる (Pl. 18, Fig. 2, 二重矢印)。

縦溝は殻の長軸方向に直線状にのびる。殻外面では、縦溝は中心域付近で腹側へ偏向し (Pl. 17, Fig. 2, 二重矢印)、外中心裂溝は2つの縦溝末端が正対して終わる (同図, 矢印)。極裂は鉤状に曲がり、背側に向けて終わる (Pl. 17, Fig. 3, 矢印)。殻内面では、縦溝の内中心裂溝付近が肥厚し、2つの縦溝枝が互いに繋がる (Pl. 18, Fig. 2, 矢印)。縦溝極末端は腹側へ曲がり、蝸牛舌状になる (Pl. 18, Fig. 3, 矢印)。両極末端のさらに外側に、4-5個の胞紋が一行に並ぶ (Pl. 17, Fig. 3, 二重矢印)。

条線は単列の胞紋で構成される。背側条線は中心域付近では放射状、殻端付近ではほぼ平行に配列。殻面から殻套まで連続し、密度は 17.0-19.5 本 /10 μm 。殻長の4分の1地点および4分の3地点にはボアグの欠落が存在する (Pl. 18, Fig. 1, 矢印)。腹側条線は平行、殻端付近でわずかに収斂。長さは殻端付近と比べて中心域付近で短く、密度は 16.0-17.5 本 /10 μm 。間条線の肋は肥厚し、これにより各条線は内面で小室を形成する。胞紋の外部開口はスリット状、大きさはほぼ均一。条線 10 μm あたりの胞紋の個数は 65-75 個 /10 μm 。

半殻帯の幅は、被殻腹側では一定 (Pl. 19, Fig. 1)、背側では被殻の中央付近で広がる (Pl. 20, Fig. 1)。半殻帯を構成する帯片はすべて無紋であり、次の3タイプが観察された。1枚目の接殻帯片は、被殻の片端で開放する (Pl. 19, Figs 2, 3, VC, および Pl. 20, Figs 2, 3, VC)。2枚目の帯片は短いセグメント状で、接殻帯片の開放部に収まる (Pl. 19, Fig. 3, B2, および Pl. 20, Fig. 2, B2)。3枚目の第3帯片は幅が非常に狭く、接殻帯片の開放部と同じ端で開放する (Pl. 20, Fig. 3, B3)。本種の第4帯片は、本研究では観察されなかった。

【分類学的所見】

殻と帯片が組み合わさった状態で本種の被殻を SEM 観察し、第 3 帯片の存在を見出したのは本研究が初である。

本研究および Danielidis & Mann (2003) による本種の観察結果から、本種と近縁種の形態を比較する。本種 *Seminavis strigosa*, *S. ventricosa* (W. Gregory) M. Garcia-Baptista (in Danielidis & Mann 2002) および *Seminavis* sp. 2 は、殻面の外形が半披針形、背側条線が中心域付近で放射状、殻端付近ではほぼ平行、腹側条線が殻端付近と比べて中心域付近で短く、中心域付近で 2 つの縦溝枝が腹側に向けて曲がった後外中心裂溝で正対し、内中心裂溝で 2 つの縦溝枝が互いに繋がることから、これら 3 種は互いに近縁であると考えられる。しかし、*S. strigosa* の条線密度 (原記載は 17 本 /10 μm , 組合せ時の記載は背側で 17.5–24.5 本 /10 μm , 腹側で 16–23 本 /10 μm , 本研究は背側で 17.0–19.5 本 /10 μm , 腹側で 16.0–17.5 本 /10 μm) は *S. ventricosa* の条線密度 (背側で 10–12.8 本 /10 μm , 腹側で 10–12.1 本 /10 μm) および *Seminavis* sp. 2 の条線密度 (背側で 14.0–15.5 本 /10 μm , 腹側で 13.0–16.0 本 /10 μm) と比べて密であることから、両種は明瞭に区別される。

【本邦での出現報告】

本研究では、2 地点より 2 サンプルを採集した。採集地は千葉県、滋賀県の河口域および湖畔。サンプル中の珪藻殻のうち、本種の出現頻度は 1%未満できわめて稀産。生育地の塩分は 4–10 であり、淡水–汽水生。

これまでに、和歌山県熊野川河口域 (後藤 1986)、沖縄県伊野波の湧泉 (中井 1987)、沖縄県塩川の海岸付近の水溜まり (中井 1997)、滋賀県琵琶湖北湖への流入河川である姉川・天野川・犬上川・日野川 (渡辺 2005) から、本種の旧名である *Amphora strigosa* として報告されているが、各論文の LM 画像をもとに、これらはすべて *Seminavis strigosa* であることを確認した。後藤 (1986) では、本種は河川の汽水域近くの淡水域から汽水域に

かけて大量に増殖していたとされ、中井 (1987) では、本種は汽水域に多く出現するが淡水域にも出現するとされた。また、渡辺 (2005) による琵琶湖北湖への複数の流入河川からの報告では本種の相対頻度はいずれも小さく (4%以下)、有機汚濁に関しては広適応性種、pH に関しては中性種であるとされた。

根来・後藤 (1983) により京都府由良川中流-下流の移行域から *A. angusta* として報告された LM 画像について、殻長、殻幅および条線密度の数値が *S. strigosa* の原記載の範囲内であり、腹側条線が中心域付近で短くなることから、当該個体は *S. strigosa* であると考えられる。

【国外での出現報告】

タイプ産地であるエジプト・シナイ半島の他に、Wachnicka & Gaiser (2007) によるアメリカ合衆国・ビスケーン湾およびフロリダ湾沿岸付近のマングローブ気根上からの報告がある。

Wachnicka & Gaiser (2007) は、生育塩分は 15-20、水深は 0.5 m 未満であるとした。本研究により、本種はさらに低塩分の環境にも生育することが確認された。水深について、本研究で採集を行った水深はすべて 1.5 m 未満であり、先行研究と一致した。

1-4. *Seminavis* sp. 1

【観察結果】

細胞は単体で生育し，稀に分裂中の 2 細胞が連結した状態で観察される．細胞の殻面観は半披針形 (Pl. 21, Figs 1-4)，帯面観は披針形．両殻端は丸みを帯びる．細胞の腹側および背側の帯面に接する 2 つの葉緑体が存在する (Pl. 21, Fig. 1)．腹側帯面に接する葉緑体は棒状で，両隣の殻面に沿って 2 つずつ，計 4 つの突起が出る．背側帯面に接する葉緑体は板状．

殻長 27.0-71.2 μm ，殻幅 6.5-8.5 μm ．背側の殻縁は弧状に湾曲した凸形，腹側の殻縁は直線状．殻套は背側で広く，腹側で狭い．殻面と殻套の境界は不明瞭．軸域の幅は腹側に比べて背側で広く，軸域外面は肥厚する (Pl. 22, Fig. 1, 矢印)．軸域内面の腹側には，長軸方向にのびる修飾肋が存在する (Pl. 23, Fig. 3, 二重矢印)．修飾肋は殻の中央付近で途切れる．

縦溝は殻の長軸方向に直線状にのびる．殻外面では，外中心裂溝の 2 つの縦溝末端が互いに反対方向を向く (Pl. 22, Fig. 2, 矢印)．極裂は鉤状に曲がり，背側に向けて終わる (Pl. 22, Fig. 3, 矢印)．殻内面では，縦溝の内中心裂溝付近で細長い節を形成し，2 つの縦溝枝がともにわずかに腹側に向けて終わる (Pl. 23, Fig. 2, 矢印)．縦溝極末端は腹側へ曲がり，蝸牛舌状になる (Pl. 23, Fig. 3, 矢印)．両極末端のさらに外側に，4-5 個の胞紋が一行に並び (Pl. 22, Fig. 3, 二重矢印)．

条線は単列の胞紋で構成される．背側条線は殻面全体でわずかに放射状に配列，殻面から殻套まで連続し，密度は 26.0-28.0 本 /10 μm ．ボアグの欠落は見られない．腹側条線は殻の全長にわたりほぼ平行，中心域付近でわずかに放射状に配列．長さは殻の全長にわたり一定で，密度は 26.0-28.0 本 /10 μm ．間条線の肋は肥厚し，これにより各条線は内面で小室を形成する．胞紋の外部開口はスリット状，大きさはほぼ均一．条線 10 μm あたりの

胞紋の個数は 55–65 個 /10 μm .

半殻帯の幅は、被殻腹側では一定 (Pl. 24, Fig. 1), 背側では被殻の中央付近で広がる (Pl. 25, Fig. 1). 半殻帯を構成する帯片はすべて無紋であり, 次の 3 タイプからなる. 1 枚目の接殻帯片は, 被殻の片端で開放する (Pl. 24, Figs 2, 3, VC および Pl. 25, Figs 2, 3, VC). 2 枚目の帯片は短いセグメント状で, 接殻帯片の開放部に収まる (Pl. 24, Fig. 2, B2 および Pl. 25, Fig. 3, B2). 3 枚目の第 3 帯片は幅が非常に狭く, 接殻帯片の開放部と同じ端で開放する (Pl. 24, Fig. 3, B3, および Pl. 25, Figs 2, 3, B3). 4 枚目の第 4 帯片は幅が非常に狭く, セグメントに隣接する短い帯片である (Pl. 24, Fig. 2, B4). 第 3 および第 4 帯片は, 個体により観察されない場合がある.

本種は, 培養時に増大胞子を形成した. 増大胞子はインキュナブラおよびペリゾニウムからなる珪酸質外皮に包まれる円筒形 (Pl. 26, Fig. 1 および Pl. 27, Fig. 2). インキュナブラは小さな円形鱗片が融合してできた薄層であり, 増大胞子の両端を帽子状に包む (Pl. 27, Figs 3, 5). ペリゾニウムを構成する多数の横帯は, それぞれの片端を下にして重なり合うように配置される. 横帯の表面にはしわがあり (Pl. 27, Fig. 1), 第 1 横帯と第 2 横帯の形態的差異は不明瞭 (Pl. 27, Fig. 4). 本研究で観察した増大胞子は, 殻長 71.2 μm の 1 つの初生殻を内包していた.

【分類学的所見】

SEM を用いて本種の形態を観察したのは, 本研究が初である. また, SEM を用いて *Seminavis* の増大胞子を観察したのは, 本研究が初である.

本種 *Seminavis* sp. 1 および *S. basilica* Danielidis (in Danielidis & Mann 2003) は, 殻面の外形が半披針形, 背側条線が殻面全体でわずかに放射状, 腹側条線が殻の全長にわたりほぼ平行, 中心域付近でわずかに放射状, 外中心裂溝で 2 つの縦溝枝が互いに反対方向を向き, 内中心裂溝で 2 つの縦溝枝がともにわずかに腹側に向けて終わることから, これら 2

種は互いに近縁であると考えられる。しかし、*Seminavis* sp. 1 の条線密度 (背側で 26.0–28.0 本 /10 μm , 腹側で 26.0–28.0 本 /10 μm) は *S. basilica* の条線密度 (背側で 19.5–24 本 /10 μm , 腹側で 20–23 本 /10 μm) と比べて密である。また、*Seminavis* sp. 1 は初生殻 (Pl. 27, Fig. 2) の殻長より、殻長のおよその最大値が 71 μm であると考えられるのに対し、*S. basilica* の殻長は 48–122 μm とされ、*Seminavis* sp. 1 の殻長の最大値は *S. basilica* を大きく下回る。以上の理由より、*Seminavis* sp. 1 は未記載種であると考えられる。

【本邦での出現報告】

本研究では、7 地点より 8 サンプルを採集した。採集地は茨城県、神奈川県、静岡県の沿岸および河口域。生育地の塩分は 7–37 であり、汽水–海水生。

笠原 (2019 卒論) により東京都小笠原諸島父島北初寝海岸で採集された褐藻ジガミグサ *Styopodium zonale* 上から *Seminavis basilica* として報告された個体群について、殻長および条線密度の数値が本研究 *Seminavis* sp. 1 の観察結果と一致することから、当該個体群は *Seminavis* sp. 1 であると考えられる。

【国外での出現報告】

アメリカ合衆国・フロリダ湾スプリガー堤防で採集された海草上から *Seminavis basilica* として報告された個体群は条線密度 22–28 本 /10 μm であり (Wachnicka & Gaiser 2007), *S. basilica* と本研究 *Seminavis* sp. 1 の両方の範囲を含む値を示した。すなわち、当該個体群には *S. basilica* と *Seminavis* sp. 1 の両種が混在していた可能性が考えられる。

ミクロネシア連邦・チューク諸島モエン島の緑藻サボテングサ属の一種 *Halimeda* sp. および褐藻ウミウチワ属の一種 *Padina* sp. 上から *Seminavis* cf. *basilica* として報告された個体群について (Park et al. 2018), 殻長および条線密度の数値が本研究 *Seminavis* sp. 1 の観察結果と一致することから、当該個体群は *Seminavis* sp. 1 であると考えられる。

1-5. *Seminavis* sp. 2

【観察結果】

細胞は単体で生育し，稀に分裂中の 2 細胞が連結した状態で観察される．細胞の殻面観は半披針形 (Pl. 28, Figs 3-6)，帯面観は披針形．両殻端は丸みを帯びる．細胞の腹側および背側の帯面に接する 2 つの葉緑体が存在する (Pl. 28, Fig. 1)．腹側帯面に接する葉緑体は棒状で，両隣の殻面に沿って 2 つずつ，計 4 つの突起が出る．背側帯面に接する葉緑体は板状．

殻長 37.0-56.0 μm ，殻幅 6.0-7.5 μm ．背側の殻縁は弧状に湾曲した凸形，腹側の殻縁は直線状．殻套は背側で広く，腹側で狭い．殻面と殻套の境界は不明瞭．軸域の幅は腹側に比べて背側で広く，軸域外面は肥厚する (Pl. 29, Fig. 2, 三重矢印)．軸域内面の腹側には，長軸方向にのびる修飾肋が存在する (Pl. 30, Figs 2, 3, 二重矢印)．修飾肋は，中心域付近で発達の度合いが弱まる．

縦溝は殻の長軸方向に直線状にのびる．殻外面では，縦溝は中心域付近で腹側へ偏向し (Pl. 29, Fig. 2, 二重矢印)，外中心裂溝は 2 つの縦溝末端が正対またはわずかに腹側に向けて終わる (同図，矢印)．極裂は鉤状に曲がり，背側に向けて終わる (Pl. 29, Fig. 3, 矢印)．殻内面では，縦溝の内中心裂溝付近が肥厚し，2 つの縦溝枝が互いに繋がる (Pl. 30, Fig. 2, 矢印)．縦溝極末端は腹側へ曲がり，蝸牛舌状になる (Pl. 30, Fig. 3, 矢印)．両極末端のさらに外側に，4-5 個の胞紋が一行に並ぶ (Pl. 29, Fig. 3, 二重矢印)．

条線は単列の胞紋で構成される．背側条線は，中心域付近では放射状，殻端付近ではほぼ平行に配列．殻面から殻套まで連続し，密度は 14.0-15.5 本 /10 μm ．ボアグの欠落は見られない．腹側条線は，殻の全長にわたり平行．長さは殻端付近と比べて中心域付近で短く，中心域付近では数本の条線を欠くことがある．密度は 13.0-16.0 本 /10 μm ．間条線の肋は肥厚し，これにより各条線は内面で小室を形成する．胞紋の外部開口はスリット状，

大きさはほぼ均一．条線 10 μm あたりの胞紋の個数は 50–55 個 /10 μm .

半殻帯の幅は，被殻腹側では一定 (Pl. 31, Fig. 1), 背側では被殻の中央付近で広がる (Pl. 32, Fig. 1). 半殻帯を構成する帯片はすべて無紋であり，次の 4 タイプからなる．1 枚目の接殻帯片は，被殻の片端で開放する (Pl. 31, Figs 2, 3, VC および Pl. 32, Figs 2, 3, VC). 2 枚目の帯片は短いセグメント状で，接殻帯片の開放部に収まる (Pl. 31, Fig. 2, B2 および Pl. 32, Fig. 3, B2). 3 枚目の第 3 帯片は幅が非常に狭く，接殻帯片の開放部と同じ端で開放する (Pl. 31, Figs 2, 3, B3 および Pl. 32, Figs 2, 3, B3). 4 枚目の第 4 帯片は幅が非常に狭く，セグメントに隣接する短い帯片である (Pl. 31, Fig. 2, B4 および Pl. 32, Fig. 3, B4). 第 3 帯片および第 4 帯片は個体により観察されない場合がある．

【分類学的所見】

SEM を用いて本種の形態を観察したのは，本研究が初である．

本種 *Seminavis* sp. 2, *S. strigosa* (in Danielidis & Mann 2003) および *S. ventricosa* (in Danielidis & Mann 2002) は，殻面の外形が半披針形，背側条線が中心域付近で放射状，殻端付近でほぼ平行，腹側条線が殻端付近と比べて中心域付近で短く，中心域付近で 2 つの縦溝枝が腹側に向けて曲がった後外中心裂溝で正対し，内中心裂溝で 2 つの縦溝枝が互いに繋がることから，これら 3 種は互いに近縁であると考えられる．しかし，*Seminavis* sp. 2 の条線密度 (背側で 14.0–15.5 本 /10 μm ，腹側で 13.0–16.0 本 /10 μm) は *S. strigosa* の条線密度 (背側で 17.5–24.5 本 /10 μm ，腹側で 16–23 本 /10 μm) と比べて疎で，*S. ventricosa* の条線密度 (背側で 10–12.8 本 /10 μm ，腹側で 10–12.1 本 /10 μm) と比べて密である．また，*Seminavis* sp. 2 は中心域付近の背側条線を欠くことはないが，*S. ventricosa* は「通常，中心域付近の背側条線を欠く」とされる．以上の理由より，*Seminavis* sp. 2 は未記載種であると考えられる．

【本邦での出現報告】

本研究では、3 地点より 11 サンプルを採集した。採集地は千葉県、東京都、神奈川県
の沿岸および河口域。生育地の塩分は 15–23 であり、汽水生。

大塚・辻 (1999) により島根県中海本庄水域で採集された褐藻ウミトラノオ *Sargassum thunbergii*, 紅藻オゴノリ *Gracilaria vermiculophylla*, 海草コアマモ *Zostera japonica* 上から *Amphora strigosa* として報告された個体群について、殻長 20–57 μm , 殻幅 4–7 μm , 条線密度 14–18 本 /10 μm と, *Seminavis strigosa* および本研究 *Seminavis* sp. 2 の両方の範囲を含む値を示した。すなわち、当該個体群には *S. strigosa* と *Seminavis* sp. 2 の両種が混在していた可能性が考えられる。

真山ら (2018) により千葉県盤州干潟から *S. macilenta* として報告された LM 画像について、殻長、殻幅および条線密度の数値が本研究 *Seminavis* sp. 2 の観察結果と一致することから、当該個体は *Seminavis* sp. 2 であると考えられる。

【国外での出現報告】

国外では過去に出現報告は存在しない。

2. 分子系統解析

単離培養を行った Strain 1-3 (Pl. 33, Figs 2-4) は、殻面の外形が半披針形、背側条線が殻面全体でわずかに放射状、腹側条線が殻の全長にわたり平行、中心域付近でわずかに放射状、条線密度が 26.0-27.0 本 /10 μm である。以上の形態的特徴からこれらの培養株はすべて *Seminavis* sp. 1 であると同定し、3 つの培養株すべてについて分子系統解析を行った。

作成した近隣結合系統樹を Pl. 34, Fig. 1 に示す。本属のうち *rbcL* 遺伝子の配列が判明している *Seminavis* sp. 1, *S. robusta*, *Seminavis* cf. *robusta*, *S. latior*, *S. obtusiuscula* はすべて単系統群を形成し、これら 4 種の *Seminavis* の単系統性が支持された。*Seminavis* sp. 1 の Strain 1-3 は単系統群を形成したことから、同一の種である可能性が高い。*Seminavis* sp. 1 のクレードは、*S. robusta*, *Seminavis* cf. *robusta*, *S. latior*, *S. obtusiuscula* を含むクレードの姉妹群であった。Strain 1-3 のうち、茨城県産の Strain 1, 2 はひとつのクレードを形成し、静岡県産の Strain 3 はその姉妹群にあたる。また、*S. robusta*, *Seminavis* cf. *robusta*, *S. latior* は同一の単系統群に属することから、これらは本属の中でも近縁であると考えられる。

系統樹では、*Pseudogomphonema* は *Seminavis* の姉妹群であり、2 属はともに単系統群を形成した。さらに、*Navicula sensu stricto* は単系統でなく、*N. radiosa*, *N. capitatoradiata*, *N. lanceolata*, *N. tripunctata* の 4 種を含むクレードと、*N. ramosissima*, *N. cf. duerrenbergiana* の 2 種を含むクレードに分かれた。このうち、*N. ramosissima*, *N. cf. duerrenbergiana* の 2 種を含むクレードが、*Seminavis* および *Pseudogomphonema* を含むクレードとより近縁であるという結果が示された。

VI. 考 察

1. 属ランクの分類形質

Mann (*in* Round et al. 1990) によると, *Seminavis* は以下のように定義される.

1. 細胞は単体で生育. 背腹性があり, 殻帯に沿うように 2 つの葉緑体が存在する. 腹側葉緑体よりも背側葉緑体の方が大きい.
2. 殻面の外形は半披針形. 背側殻縁は一様に湾曲, 腹側殻縁は直線形またはわずかに湾曲. 背側の殻套は広く, 腹側では殻套を欠く. 軸域は腹側よりも背側で広い.
3. 条線は単列の胞紋からなり, 殻内面では肥厚した肋の間に開口. 胞紋は長軸方向に細長いスリット状に開口する.
4. 縦溝の外中心裂溝はわずかに拡張して腹側に向けて終わるか, 腹側から翼状の構造がのびる. 極裂は鉤状に曲がり, 背側に向けて終わる. 縦溝は, 殻中央部と殻端を除き, 殻内面では山形の肥厚領域の頂点で直線状に開口. 内中心裂溝は拡張しない.
5. 殻帯は腹側よりも背側で広く, 無紋の 3 枚の帯片からなる. 殻に接する 1 枚目は 3 枚の中で最も幅が広く, 片端開放型. 2 枚目は 1 枚目の帯片の欠損部を占めるセグメント型. 3 枚目は幅が非常に狭い.

以上の定義をもとに, 本研究による 3 種 2 未記載種の観察結果および先行研究による

Seminavis aegyptiaca, *S. arranensis* Danielidis & D.G. Mann (*in* Danielidis & Mann 2002), *S. atlantica* M. Garcia (*in* Garcia 2007), *S. barbarae* Witkowski, Lange-Bertalot & Metzeltin (*in* Witkowski et al. 2000), *S. basilica*, *S. cymbelloides* (Grunow) D.G. Mann (*in* Round et al. 1990), *S. cyrtorapha* Wachnicka & E.E. Gaiser (*in* Wachnicka & Gaiser 2007), *S. delicatula* Wachnicka & E.E. Gaiser (*in* Wachnicka & Gaiser 2007), *S. eulensteinii* (Grunow) Danielidis, K. Ford & Kennett (*in* Danielidis et al. 2006), *S. exigua*, *S. gracilenta* (Grunow ex A.W.F. Schmidt) D.G. Mann (*in* Round et al. 1990), *S. heidenii* D.G. Mann (*in* Danielidis & Mann 2003), *S.*

insignis Álvarez-Blanco & S. Blanco (*in* Álvarez-Blanco & Blanco 2014), *S. latior*, *S. macilenta*, *S. norae* (Metzeltin, Lange-Bertalot & García-Rodríguez) Talgatti & Torgan (*in* Talgatti et al. 2014), *S. obtusiuscula* (Grunow) Danieleidis & D.G. Mann (*in* Danielidis & Mann 2003), *S. ostenfeldii* (Hustedt) Clavero & Hernández-Mariné (*in* Clavero i Oms 2009), *S. robusta*, *S. strigosa*, *S. ventricosa*, *S. witkowskii* Wachnicka & Gaiser (*in* Wachnicka & Gaiser 2007) の計 22 種の観察結果から、本属の属ランクの分類形質を再検討した。

葉緑体の形態について、Mann (*in* Round et al. 1990) は「腹側葉緑体よりも背側葉緑体の方が大きい」と定義した。本研究および先行研究で葉緑体が観察されたすべての種は腹側葉緑体が棒状、背側葉緑体が板状であったことから、それぞれの葉緑体の形状を本属の定義に加えるべきである。

Mann (*in* Round et al. 1990) による定義には修飾肋についての記載はないが、本研究および先行研究で SEM 観察が行われた種のうち、*S. exigua* を除くすべての種は、軸域内面の一次側に発達した修飾肋をもつ。修飾肋が明瞭でない *S. exigua* は殻の一次側の領域が極めて狭く、隣接する構造と修飾肋が融合している可能性が考えられる。修飾肋に関する属の定義として、「通常、軸域内面の一次側に発達した修飾肋をもつ」を加えるべきである。

縦溝の外中心裂溝について、Mann (*in* Round et al. 1990) は「外中心裂溝はわずかに拡張して腹側に向けて終わるか、翼状の構造が腹側からのびる」と定義した。しかし、本研究および先行研究によると外中心裂溝の終わる向きは種によって異なり、*S. basilica* Danielidis や *Seminavis* sp. 1 のように、外中心裂溝で 2 本の縦溝枝が反対方向を向く場合もある。さらに、腹側からのびる翼状の構造はこれまで記載されたいずれの種にも観察されない。よって、外中心裂溝の終わる向きおよび翼状の構造についての記述は、本属の定義から除外すべきである。

殻内面の縦溝極末端について、本研究および先行研究で観察されたすべての種は殻内面の縦溝極末端が蝸牛舌状であったことから、当該形質を本属の定義に加えるべきである。

帯片の構成について、Mann (*in* Round et al. 1990) では「3 枚の帯片からなる」とされた。本研究では殻と帯片が組み合わさった被殻の状態での観察を初めて行った結果、第 4 帯片を初めて観察し、第 3 および第 4 帯片の有無は個体ごとに異なることが明らかになった。接殻帯片およびセグメントはすべての個体で確認できたことから、当該形質に関する属の定義は「帯片は 4 タイプからなり、第 3 および第 4 帯片は個体によって存在しない場合がある」とすべきである。

以上を踏まえて、Mann (*in* Round et al. 1990) による定義をもとに、本研究では本属の形態を以下のように再定義する（下線部は修正項目）。

1. 細胞は単体で生育。背腹性があり、殻帯に沿うように 2 つの葉緑体が存在する。腹側葉緑体は棒状。背側葉緑体は板状で、腹側葉緑体よりも大きい。
2. 殻面の外形は半披針形。背側殻縁は一様に湾曲、腹側殻縁は直線形またはわずかに湾曲。背側の殻套は広く、腹側の殻套は狭い。軸域は腹側よりも背側で広い。通常、軸域内面の一次側に発達した修飾肋をもつ。
3. 条線は単列の胞紋からなる。胞紋は長軸方向に細長く、殻外面では細いスリット状に開口、殻内面では篩板で閉塞される。
4. 縦溝の外中心裂溝はわずかに拡張。極裂は鉤状に曲がり、背側に向けて終わる。縦溝は、殻中央部と殻端を除き、殻内面では山形の肥厚領域の頂点で直線状に開口。内中心裂溝は拡張しない。殻内面の縦溝極末端は蝸牛舌状。
5. 殻帯の幅は腹側で一定、背側では被殻中央付近で広がる。帯片は 4 タイプからなる。
1 枚目の接殻帯片は被殻の片端で開放し、背側中央部で幅が広がる。2 枚目は接殻帯片の開放部を占めるセグメント型。3 枚目の第 3 帯片は幅が狭く、接殻帯片と同じ端で開放する。4 枚目の第 4 帯片は幅が狭く、セグメントに隣接する短い帯片。第 3 および第 4 帯片は、個体によって存在しない場合がある。

2. 種ランクの分類形質

本研究による 3 種 2 未記載種について近縁種との形態比較を行った結果、主に「① 条線密度」「② 腹側条線の配列」「③ 外中心裂溝」「④ 内中心裂溝」の 4 点が重要な種ランクの分類形質であった。本研究で採集されなかった種についてもこれらの点が分類形質になることが多く、この他に殻面の外形や修飾肋などの特徴的な形質がある場合、それらが種ランクの分類形質になる場合もある。

殻面の外形、殻長、殻幅、条線密度、条線の配列は LM で観察できることから、本属の帰属種は LM での同定が可能なものが多い。これらの形態による同定が難しい場合は、さらに SEM により外中心裂溝、内中心裂溝、修飾肋を観察することで同定が可能である。

3. *Pseudogomphonema* および *Navicula sensu stricto* との類縁関係

Bruder & Medlin (2008) による *rbcL* 遺伝子の解析では、*Seminavis cf. robusta* はニセクサビケイソウ属 *Pseudogomphonema* および狭義のフナガタケイソウ属 *Navicula sensu stricto* と近縁であるとされた。*Pseudogomphonema* はクサビケイソウ属 *Gomphonema* とされていた種が Medlin & Round (1986) によって形態的に区別され新設された属で、現在までに 6 種が記載されている (Guiry in Guiry & Guiry 2021)。*Navicula* は約 1000 種が記載されている巨大な分類群で (Cox 2015)、このうちタイプ種である *Navicula tripunctata* を含む数種からなる群が *Navicula s. s.* とされる (Bruder & Medlin 2008)。*Seminavis*、*Pseudogomphonema* および *Navicula s. s.* は同じフナガタケイソウ科に属し (Cox 2015)、Bruder & Medlin (2008) はこの 3 属がいくつかの形態学的特徴を共有することを指摘している。この 3 属について形態を比較した結果を、以下に記載する。

前述した *Seminavis* の属ランクの分類形質を、*Pseudogomphonema* のうち SEM 観察が行われた *P. arcticum*, *P. groenlandicum*, *P. kamtschaticum*, *P. septentrionale* の形態 (Medlin & Round 1986) および Bruder & Medlin (2008) で *Navicula s. s.* とされた種のうち *N.*

capitatoradiata, *N. cari*, *N. radiosa*, *N. ramosissima*, *N. tripunctata* の形態 (Cox 1979, 1999, Basson & Sims 1998, Bruder & Medlin 2008) と比較したところ, 3 属のすべての種で「① 葉緑体が帯面に沿って 2 つ存在する」「② 胞紋の外部開口がスリット状」「③ 帯片が無紋」「④ 殻外面の極裂が二次側に向け鉤状」「⑤ 殻内面の縦溝極末端が蝸牛舌状」の 5 つの形質が一致した. このうち, 「① 葉緑体が帯面に沿って 2 つ存在する」「② 帯片が無紋」「③ 胞紋の外部開口がスリット状」の 3 点は, Cox (2015) によるフナガタケイソウ科の定義と一致する. これらに加え, *Seminavis*, *Pseudogomphonema* および *Navicula* s. s. は「④ 殻外面の極裂が二次側に向け鉤状」「⑤ 殻内面の縦溝極末端が蝸牛舌状」の 2 点が一致することから, これら 3 属はフナガタケイソウ科 10 属の中でもより近縁な属であると考えられる.

また, *Seminavis* の属ランクの分類形質のうち「⑥ 殻面の外形が半披針形」「⑦ 殻帯の幅が被殻背側の中央付近で広がる」「⑧ 一次側葉緑体が棒状, 二次側葉緑体が板状」の 3 点は *Pseudogomphonema* および *Navicula* s. s. と一致しない. すなわち, *Seminavis* はこれら 3 点の形質により近縁属と区別される. Bruder & Medlin (2008) は, *Seminavis* は「⑥ 殻面の外形が半披針形」という形質によってのみ近縁属と区別されると述べている. 本研究により, *Seminavis* と近縁属との相違点として「⑦ 殻帯の幅が被殻背側の中央付近で広がる」「⑧ 一次側葉緑体が棒状, 二次側葉緑体が板状」の 2 点が新たに明らかになった.

以上より, *Seminavis* は「① 葉緑体が帯面に沿って 2 つ存在する」「② 帯片が無紋」「③ 胞紋の外部開口がスリット状」「④ 殻外面の極裂が二次側に向け鉤状」「⑤ 殻内面の縦溝極末端が蝸牛舌状」の形質が一致する *Pseudogomphonema* および *Navicula* s. s. と共通の祖先をもち, これら 3 属の共通祖先から進化した *Seminavis* は独自に「⑥ 殻面の外形が半披針形」「⑦ 殻帯の幅が被殻背側の中央付近で広がる」「⑧ 一次側葉緑体が棒状, 二次側葉緑体が板状」の形質を獲得したと考えられる.

本研究で作成した系統樹 (Pl. 34, Fig. 1) によると, *Seminavis*, *Pseudogomphonema* および

Navicula s. s. の共通祖先から最初に枝分かれたのは *N. capitatoradiata*, *N. lanceolata*, *N. radiosa*, *N. tripunctata* の 4 種を含むクレード, 次に枝分かれたのは *Navicula* cf. *duerrenbergiana*, *N. ramosissima* の 2 種を含むクレード, 最後に枝分かれたのが *Seminavis* のクレードおよび *Pseudogomphonema* のクレードであった. 3 属のうち最も早い段階で枝分かれたのが *Navicula* s. s. の 2 つのクレードであることから, 3 属の共通祖先に近い形質をもつ可能性が 3 属の中で最も高いのは, *Navicula* s. s. であると考えられる.

Seminavis の多くの種がもつ修飾肋は, *Pseudogomphonema* および *Navicula* s. s. の軸域内面一次側でも確認されている (Medlin & Round 1986, Cox 1999). 本研究の観察結果および Medlin & Round (1986) の SEM 画像によると, *Seminavis* および *Pseudogomphonema* の修飾肋は中心域付近で発達の度合いが弱まる.

Cox (1979, 1999) の SEM 画像によると, *Navicula* s. s. には中心域付近で修飾肋の発達の度合いが弱まる種と, 中心域付近で修飾肋が大きく膨らむように肥厚する種が存在する. *Navicula* s. s. のうち, 本研究で作成した系統樹 (Pl. 34, Fig. 1) において, *Navicula* s. s. の中でも *Seminavis* および *Pseudogomphonema* とより近縁であった *N. ramosissima* は, *Seminavis* および *Pseudogomphonema* と同様に修飾肋の発達の度合いが中心域付近で弱まる (Basson & Sims 1998). これに対し, *Seminavis* および *Pseudogomphonema* と系統樹内の位置が比較的離れていた *N. tripunctata* および *N. radiosa* は, 中心域付近で修飾肋が大きく膨らむように肥厚する (Cox 1999).

修飾肋は必ず殻の一次側, つまり殻形成が開始する側に存在することから, 修飾肋は殻形成初期に形成される重要な基本構造のひとつであると考えられる. すなわち, 修飾肋の発達の度合いは *Seminavis*, *Pseudogomphonema* および *Navicula* s. s. の系統を反映する形質であり, 中心域付近で修飾肋の発達の度合いが弱まる *Seminavis* および *Pseudogomphonema* は, *Navicula* s. s. のうち同じく中心域付近で修飾肋の発達の度合いが弱まる種と近縁な祖先をもつと推察される.

4. 本邦産 *Seminavis* の種と分布

本研究および先行研究により，本邦には *S. basilica*, *S. exigua*, *S. robusta*, *S. strigosa*, *Seminavis* sp. 1, *Seminavis* sp. 2 の 4 種 2 未同定種が生育することが確認された．

S. basilica は金子 (2015 卒論) によって東京湾芝浦運河の汽水域で採集された．*S. exigua* は本研究によって北海道天売島および神奈川県野島公園の汽水-海水域で採集された日本新産種．*S. robusta* は北海道厚岸漁港外，本州南部各地の沿岸，高知県仁淀川の河口域，沖縄県塩川の汽水-海水域で採集されており，本邦沿岸に生育する種のうち最も広域に分布すると考えられる．*S. strigosa* は本州南部各地の河川，沖縄県伊野波の湧泉など主に陸水域での報告が多い淡水-汽水産種．*Seminavis* sp. 1 は茨城県，神奈川県，静岡県，東京都小笠原諸島父島の沿岸および河口域で採集された汽水-海産種．*Seminavis* sp. 2 は千葉県，東京都，神奈川県，島根県の沿岸および河口域から報告されている汽水-海産種．

本属の本邦産種は汽水を中心とする様々な塩分環境に生育し，その分布は北海道から沖縄まで広域にわたる．本属の本邦産種は，各種が幅広い範囲の水温・塩分に耐性をもつことにより，塩分の変動が激しい沿岸および河口域を含む広域に分布を広げることができたと考えられる．

VI. 結 論

本研究は、*Seminavis* の属および種ランクの分類形質を明らかにすることを目的として、本邦産種の生細胞および被殻の形態を観察し、*Seminavis* sp. 1 の分子系統解析を行った。本研究により、Mann (*in* Round et al. 1990) による本属の形態の定義が修正され、また、本邦産 3 種 2 未記載種の種ランクの分類形質および分布が新たに明らかになった。さらに、Bruder & Medlin (2008) により遺伝的に近縁であるとされた *Seminavis*, *Pseudogomphonema* および *Navicula* s. s. について、本研究では形態比較および分子系統解析の両方の結果から、3 属の類縁関係を推定した。今後、より多くの属の形態観察および分子系統解析を進めることで、属間の系統関係の詳細な推定が可能になる。これらの情報は、珪藻類の科ランク以上の分類体系を整理するための重要な指針になると考えられる。

VII. 謝 辞

本論文の執筆にあたり，懇切なご指導をいただきました本学大学院海洋科学技術研究科海洋資源環境学専攻藻類学研究室の鈴木秀和先生，神谷充伸先生に厚く御礼申し上げます．本論文の副査を務めてくださる無脊椎動物学研究室の土屋光太郎先生，ご指導とともに走査電子顕微鏡の使用にご協力くださった日本歯科大学新潟生命歯学部生物学教室の長田敬五先生に心より感謝申し上げます．そして，採集にご同行いただいた友人各位，多大なご支援をいただいた本学藻類学研究室の諸先輩方ならびに院生学生諸氏に深く感謝いたします．

VIII. 参考文献

- Adl, S.M., Bass, D., Lane, C.E., Lukeš, J., Schoch, C.L., Smirnov, A., Agatha, S., Berney, C., Brown, M.W., Burki, F., et al. 2019. Revisions to the classification, nomenclature, and diversity of eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology* **66**(1): 4–119.
- Álvarez-Blanco, I., & Blanco, S. 2014. Benthic diatoms from Mediterranean coasts. *Acta Botanica Hungarica*. **56**: 3–4.
- Basson, P.W., & Sims, P.A. 1998. A tube-dwelling diatom and its co-habitant from South Africa. *Diatom Research*. **13**(2): 395–401.
- Bondoc, K.G.V., Lembke, C., Vyverman, W., & Pohnert, G. 2016. Searching for a mate: pheromone-directed movement of the benthic diatom *Seminavis robusta*. *Microbial ecology* **72**(2): 287–294.
- Bruder, K., & Medlin, L.K. 2008. Morphological and molecular investigations of naviculoid diatoms. III. *Hippodonta* and *Navicula* s. s. *Diatom Research* **23**(2): 331–347.
- Chen, C., Zhuo, S., Wang, Z., Gao, Y., Zhang, J., Sun, L., Liang, J., Li, X., Zhang, J., & Li, L. 2019. *Seminavis exigua* sp. nov. (Bacillariophyceae), a new small diatom from southern Fujian Province, China. *Diatom Research*, **34**(2), 85–93.
- Chepurnov, V.A., Mann, D.G., Vyverman, W., Sabbe, K., & Danielidis, D.B. 2002. Sexual reproduction, mating system, and protoplast dynamics of *Seminavis* (Bacillariophyceae). *Journal of Phycology* **38**(5): 1004–1019.
- Chiappino, M.L., & Volcani, B. E. 1977. Studies on the biochemistry and fine structure of silicia shell formation in diatoms VII. Sequential cell wall development in the pennate *Navicula pelliculosa*. *Protoplasma* **93**(2–3): 205–221.

- Cirri, E., Vyverman, W., & Pohnert, G. 2018. Biofilm interactions—bacteria modulate sexual reproduction success of the diatom *Seminavis robusta*. FEMS microbiology ecology **94**(11): fiy161.
- Clavero i Oms, E. 2009. Diatomees d'ambients hipersalins costaners: taxonomia, distribució i empremtes en el registre sedimentari. Institut d'Estudis Catalans. 432pp.
- Cox, E.J. 1979. Taxonomic studies on the diatom genus *Navicula* Bory: the typification of the genus. Bacillaria **2**: 137–193.
- Cox, E.J. 1999. Studies on the diatom genus *Navicula* Bory. VIII. Variation in valve morphology in relation to the generic diagnosis based on *Navicula tripunctata* (O.F. Müller) Bory. Diatom Research **14**(2): 207–237.
- Cox, E.J. 2015. Coscinodiscophyceae, Mediophyceae, Fragilariophyceae, Bacillariophyceae (Diatoms). Syllabus of Plant Families. Adolf Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien. Part 2/1. Photoautotrophic eukaryotic Algae: Glaucocystophyta, Cryptophyta, Dinophyta / Dinzoa, Haptophyta, Heterokontophyta / Ochrophyta, Chlorarachniophyta / Cercozoa, Euglenophyta / Euglenozoa, Chlorophyta, Streptophyta 64 – 103. Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.
- Cox, E.J., & Reid, G. 2004. Generic relationships within the Naviculineae: a preliminary cladistic analysis. In Proceedings of the 17th International Diatom Symposium 49–62. Biopress Ltd.
- Danielidis, D. B., Ford, K., & Kennett, D. 2006. Transfer of *Amphora eulensteinii* Grunow to the genus *Seminavis* D.G. Mann. Diatom Research **21**(1): 71–80.
- Danielidis, D.B. & Mann, D.G. 2002. The systematics of *Seminavis* (Bacillariophyta): the lost identities of *Amphora angusta*, *A. ventricosa* and *A. macilenta*. European Journal of Phycology **37**: 429–448.

- Danielidis, D.B., & Mann, D.G. 2003. New species and new combinations in the genus *Seminavis* (Bacillariophyta). *Diatom Research* **18**(1): 21–39.
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* **39**: 783–791.
- Fourtanier, E., & Kociolek, J.P. 1999. Catalogue of the diatom genera. *Diatom Research*, **14**(1): 1–190.
- Garcia, M. 2007. *Seminavis atlantica* Garcia, a new psammic diatom (Bacillariophyceae) from southern Brazilian sandy beaches. *Brazilian Journal of Biology* **67**(4): 765–769.
- Garcia-Baptista, M. 1993. Psammic algae from Praia Azul, Brazil. *Bibliotheca Phycologica* **94**: 1-167.
- Gillard, J., Devos, V., Huysman, M.J., De Veylder, L., D'hondt, S., Martens, C., Vanormelingen, P., Vannerum, K., Sabbe, K., Chepurnov, V.A., Inzé, D., Vuylsteke, M., & Vyverman, W. 2008. Physiological and transcriptomic evidence for a close coupling between chloroplast ontogeny and cell cycle progression in the pennate diatom *Seminavis robusta*. *Plant Physiology*, **148**(3), 1394–1411.
- Gillard, J., Frenkel, J., Devos, V., Sabbe, K., Paul, C., Rempt, M., Inzé, D., Pohnert, G., Vuylsteke, M., & Vyverman, W. 2013. Metabolomics enables the structure elucidation of a diatom sex pheromone. *Angewandte Chemie International Edition* **52**(3): 854–857.
- 後藤敏一. 1986. 熊野川河口の珪藻群集. *Diatom*. **2**: 103–115.
- Gregory, W. 1857. On new forms of marine Diatomaceae found in the Firth of Clyde and in Loch Fine, illustrated by numerous figures drawn by R.K. Greville, LL.D., F.R.S.E. *Transactions of the Royal Society of Edinburgh*, **21**: 473–542, pls. 9–14.
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 2021. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <https://www.algaebase.org>; searched on 24 January 2021.
- Hal, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium*. **41**: 95–98.

- Hustedt, F. 1949. Diatomeen von der Sinai-Halbinsel und aus dem Libanon-Gebiet. *Hydrobiologia* **2**: 24–55.
- 石井織葉, 出井雅彦, & 鈴木秀和. 2012. *Caloneis linearis* (クサリケイソウ綱) の有性生殖と増大胞子の微細構造. *植物研究雑誌*. **87**(2): 96–107.
- 金子詩歩. 2015. 東京湾芝浦運河岸壁の付着珪藻相. 東京海洋大学平成 25 年度卒業論文.
- Bruder, K. & Medlin, L.K. 2008. Morphological and molecular investigations of naviculoid diatoms. III. *Hippodonta* and *Navicula* s. s. *Diatom Research* **23**(2): 331–347.
- 笠原孝則. 2019. 小笠原諸島父島の海産付着珪藻相. 東京海洋大学平成 30 年度卒業論文.
- 河地正伸. 2015. 海産微細藻類の採集から培養株確立と標本作成 (植物分類学研究マニュアル 17). *分類* **15**(1): 67–74.
- 小林弘, 出井雅彦, 真山茂樹, 南雲保, & 長田敬五. 2006. 小林弘珪藻図鑑 第 1 巻. 531 pp. 内田老鶴圃. 東京.
- Krammer, K. 2003. *Cymbopleura*, *Delicata*, *Navicymbula*, *Gomphocymbellopsis*, *Afrocybella*. *Diatoms of Europe, Diatoms of the European Inland waters and comparable habitats*. (Lange-Bertalot, H. Eds) **4**: 1–529. A.R.G. Gantner Verlag K.G. Rugell.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* **35**:1547–1549.
- Mann, D.G., & Vanormelingen, P. 2013. An inordinate fondness? The number, distributions, and origins of diatom species. *Journal of eukaryotic microbiology* **60**(4): 414–420.
- 真山茂樹, 田口芳彦, & 野村洸真. 2018. 多摩川河口域の干潟における珪藻の種多様性と群集ダイナミクスの解明. 研究助成・学術研究 vol. 47, No. 335. 公益財団法人とうきゅう環境財団. 東京.

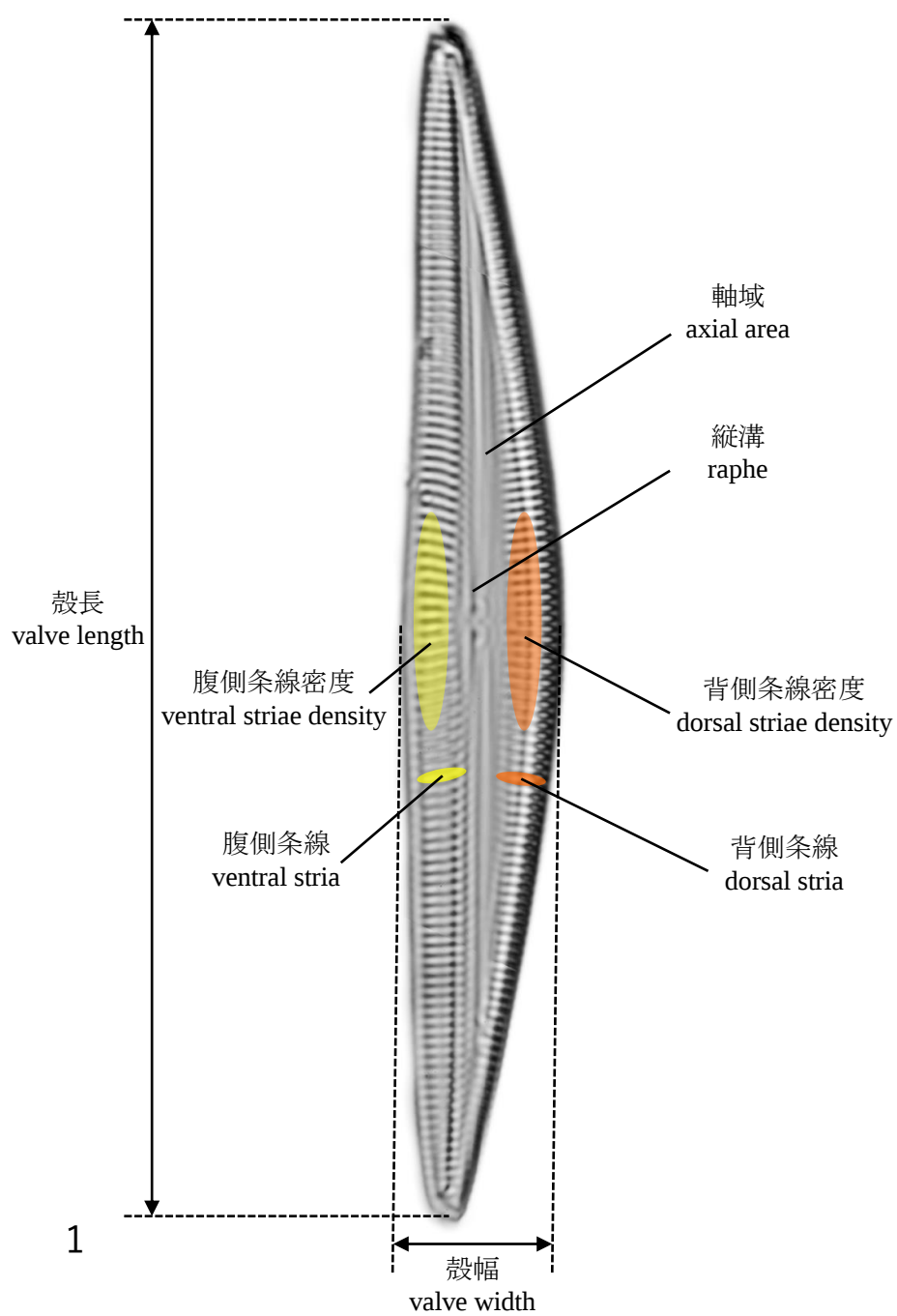
- Medlin, L.K., & Round, F.E. 1986. Taxonomic studies of marine gomphonemoid diatoms. *Diatom Research*. **1**(2): 205–225.
- 南雲保. 1995. 簡単で安全な珪藻被殻の洗浄法. *Diatom* **10**: 88.
- 中井末松. 1987. 沖縄の湧泉の珪藻. *Diatom*. **3**: 117–131.
- 中井末松. 1997. 沖縄の塩川の珪藻. *Diatom*. **13**: 265–269.
- 根来健一郎, & 後藤敏一. 1983. 由良川の珪藻植生. 近畿大学農学部紀要. **16**: 67–118.
- Nei, M., & Kumar, S. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York.
- 太田梨紗子. 2019. 神奈川県三浦半島天神島臨海自然教育園における海産付着珪藻の形態分類学的研究. 東京海洋大学平成 30 年度修士学位論文.
- 大塚泰介, 中村優介, 向井康夫, & 岩渕成紀. 2013. 東北地方太平洋沖地震による津波と地盤沈下で海水化した水田の珪藻. *Diatom* **29**: 42–47.
- 大塚泰介, & 辻彰洋. 1999. 中海本庄水域の植物表生珪藻 (1): 宿主植物による種組成の違い. *Laguna 汽水域研究* **6**: 129–143.
- 長田敬五, & 南雲保. 2001. 珪藻研究入門. 日本歯科大学紀要 一般教育系 **30**: 131–142.
- Park, J.S., Lobban, C.S., & Lee, K.W. 2018. Diatoms associated with seaweeds from Moen Island in Chuuk Lagoon, Micronesia. *Phytotaxa* **351**(2): 101–140.
- Provasoli, L. 1966. Media and prospects for the cultivation of marine algae. *Cultures and Collections of Algae. Proceedings of US–Japan Conference, held at Hakone, September 1968*. Japan Society of Plant Physiology. 63–75.
- Rioual, P., Lu, Y., Chu, G., Zhu, B., & Yang, X. 2014. Morphometric variation of *Seminavis pusilla* (Bacillariophyceae) and its relationship to salinity in inter-dune lakes of the Badain Jaran Desert, Inner Mongolia, China. *Phycological research* **62**(4): 282–293.

- Round, F.E., Crawford, R.M. & Mann, D.G. 1990. The Diatoms Biology and Morphology of the Genera. i-ix, 1-747.
- Saber, A.A., El-Belely, E.F., El-Refaey, A.A., El-Gamal, A.D., Blanco, S., & Cantonati, M. 2020. *Seminavis aegyptiaca* sp. nov., a new amphoroid diatom species from estuary epilithon of the River-Nile Damietta Branch, Egypt. *Fottea* **20**(1): 49-57.
- Saitou, N., & Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* **4**: 406-425.
- 笹野風. 2019. 神奈川県江の島沿岸域の海藻付着珪藻相. 東京海洋大学平成30年度卒業論文.
- Simonsen, R. 1987. Atlas and catalogue of the diatom types of Friedrich Hustedt. 525 pp. J. Cramer. Berlin.
- Stearn, W.T. 1992. Botanical latin fourth edition. 546 pp. David & Charles Book. Newton Abbott. London.
- 鈴木秀和, & 南雲保. 2003. 神奈川県葉山産の紅藻ピリヒバに着生する珪藻類. 日本歯科大学紀要 一般教育系 **32**: 109-118.
- 鈴木秀和, & 南雲保. 2013. 珪藻類の分類体系 総説 現生珪藻の属ランクのチェックリスト. 日本プランクトン学会報 **60**(2): 60-79.
- Talgatti, D., Bertolli, L.M., & Torgan, L.C. 2014. *Seminavis recta* comb. nov. et stat. nov.: morphology and distribution in salt marshes from southern Brazil. *Fottea* **14**(2): 141-148.
- Talgatti, D.M., Da Silva, W.J., Bertolli, L.M., & Torgan, L.C. 2017. *Seminavis norae* comb. nov. is the correct name for *Seminavis recta*. *Phytotaxa* **291**(4): 299-300.
- 田中正明. 2011. ヒバマタ *Fucus evanescens* C. Agardh に付着する珪藻類について. 四日市大学環境情報論集 **14**(2): 29-38.
- 千原光雄. 1997. 藻類多様性の生物学. 368pp. 内田老鶴圃. 東京.

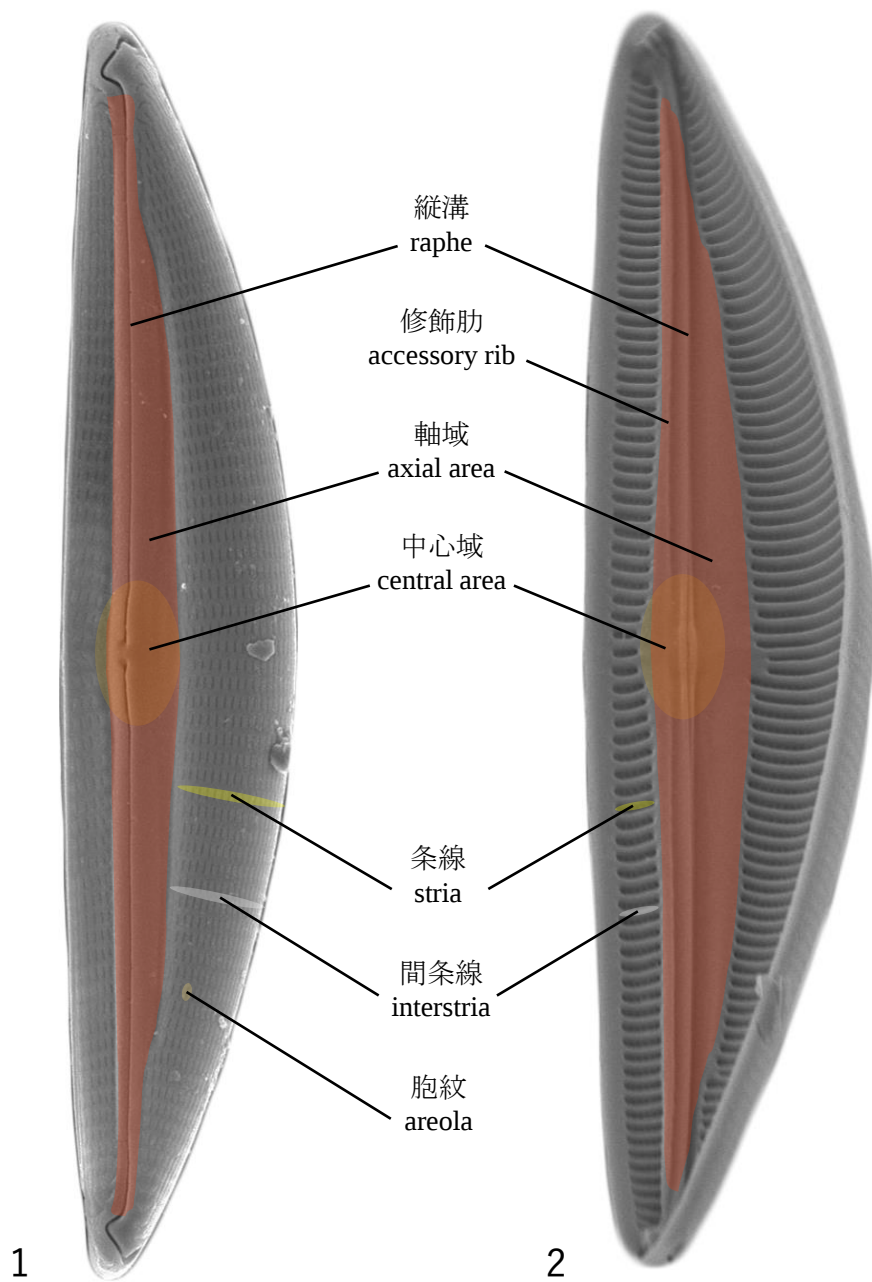
- Wachnicka, A.H., & Gaiser, E.E. 2007. Characterization of *Amphora* and *Seminavis* from south Florida, USA. *Diatom Research*, **22**(2): 387–455.
- 渡辺仁治編. 2005. 淡水珪藻生態図鑑 群集解析に基づく汚濁指数 DAIPo, pH 耐性能. 784 pp. 内田老鶴圃. 東京.
- Werner, D. 1977. Introduction with a note on taxonomy. *In*: Werner (ed.) *The biology of diatoms*. 498 pp. University of California press.
- Witkowski, A., Lange – Bertalot, H. & Metzeltin, D. 2000. Diatom flora of marine coasts I. *Iconographia Diatomologica* 7: 1–925.
- 横畠彩子. 2017. 東京湾京浜運河産藍藻 *Lyngbya* 上の付着珪藻相. 東京海洋大学平成 28 年度卒業論文.

Table. 1. Locality data of samples.

Sample No.	Locality	Substrate	Taxon	Salinity	Date	Collector	Private No.	Remarks
MTUF-43701	神奈川県・藤沢市・江の島西岸	シオグサ属の一種 <i>Cladophora</i> sp.	<i>Seminavis robusta</i>	26	2018/4/29	佐野風	NS0026	
MTUF-43702	神奈川県・藤沢市・江の島南岸	インダンツウ <i>Caulacanthus usulatus</i>	<i>S. robusta</i>	28	2018/4/30	佐野風	NS0037	
MTUF-43703	神奈川県・藤沢市・江の島南岸	シオグサ属の一種 <i>Cladophora</i> sp.	<i>Seminavis</i> sp. 1		2018/4/30	佐野風	NS0038	
MTUF-43704	神奈川県・藤沢市・江の島南岸	ハリイギス <i>Ceramium paniculatum</i>	<i>Seminavis</i> sp. 1	37	2018/4/30	佐野風	NS0040	
MTUF-43705	神奈川県・藤沢市・江の島南岸	カイノリ <i>Chondracanthus intermedius</i>	<i>S. robusta</i>		2018/5/19	佐野風	NS0049	
MTUF-43706	神奈川県・藤沢市・江の島南岸	インダンツウ <i>Caulacanthus usulatus</i>	<i>S. robusta</i>		2018/5/19	佐野風	NS0050	
MTUF-43707	神奈川県・藤沢市・江の島東岸	ミル <i>Codium fragile</i>	<i>S. robusta</i>	35	2018/7/29	佐野風	NS0056	
MTUF-43708	神奈川県・横須賀市・天神島	シオグサ属の一種 <i>Cladophora</i> sp.	<i>S. robusta</i>		2019/4/21	佐野風	NS0112	
MTUF-43709	神奈川県・横須賀市・天神島	ヒリヒビ <i>Corallina pilulifera</i>	<i>S. robusta</i>		2019/4/21	佐野風	NS0119	
MTUF-43710	神奈川県・横須賀市・天神島	砂	<i>S. robusta</i>		2019/4/21	佐野風	NS0120	
MTUF-43711	神奈川県・横須賀市・天神島	シオグサ属の一種 <i>Cladophora</i> sp.	<i>S. robusta</i>		2019/4/21	佐野風	NS0123	
MTUF-43712	高知県・高知市・春野町西畑・仁淀川河口域	砂	<i>S. robusta</i>	26	2019/5/10	鈴木秀和	NS0127	
MTUF-43713	滋賀県・高島市・マキノ町海津・琵琶湖畔	砂	<i>S. strigosa</i>	4	2019/5/16	小山知洋	NS0129	
MTUF-43714	神奈川県・横浜市・野島公園	シオグサ属の一種 <i>Cladophora</i> sp.	<i>S. exigua, Seminavis</i> sp. 2	15	2019/5/22	佐野風	NS0130	
MTUF-43715	神奈川県・横浜市・野島公園	シオグサ属の一種 <i>Cladophora</i> sp.	<i>S. robusta</i>	15	2019/5/22	佐野風	NS0135	
MTUF-43716	神奈川県・横浜市・野島公園	シオグサ属の一種 <i>Cladophora</i> sp.	<i>S. exigua, Seminavis</i> sp. 2	17	2019/5/22	佐野風	NS0136	
MTUF-43717	千葉県・木更津市・盛州干潟	シオグサ属の一種 <i>Cladophora</i> sp.	<i>S. robusta, Seminavis</i> sp. 2	22	2019/6/3	佐野風	NS0137	
MTUF-43718	神奈川県・横浜市・野島公園	シオグサ属の一種 <i>Cladophora</i> sp.	<i>S. robusta, Seminavis</i> sp. 2	15	2019/6/6	佐野風	NS0139	
MTUF-43719	神奈川県・横浜市・野島公園	シオグサ属の一種 <i>Cladophora</i> sp.	<i>S. robusta</i>	33	2019/6/7	佐野風	NS0140	
MTUF-43720	千葉県・館山市・坂田・東京海洋大学館山ステーション	シオグサ属の一種 <i>Cladophora</i> sp.	<i>S. robusta</i>	31	2019/6/17	佐野風	NS0141	
MTUF-43721	千葉県・館山市・坂田・東京海洋大学館山ステーション	シオグサ属の一種 <i>Cladophora</i> sp.	<i>S. robusta, Seminavis</i> sp. 1	7	2019/6/17	佐野風	NS0142	
MTUF-43722	千葉県・館山市・坂田・東京海洋大学館山ステーション	シオグサ属の一種 <i>Cladophora</i> sp.	<i>S. robusta</i>		2019/6/17	佐野風	NS0146	
MTUF-43723	神奈川県・横浜市・野島公園	砂	<i>S. robusta, Seminavis</i> sp. 2		2019/6/20	佐野風	NS0147	
MTUF-43724	神奈川県・横浜市・野島公園	砂	<i>S. exigua, S. robusta, Seminavis</i> sp. 2	18	2019/6/20	佐野風	NS0153	
MTUF-43725	北海道・天売島・オロロン荘前	砂	<i>S. exigua</i>	34	2019/7/11	吉岡夢生	NS0154	
MTUF-43727	東京都・港区・京浜運河・東京海洋大学繋船場	砂	<i>S. robusta</i>	12	2019/7/19	佐野風	NS0160	
MTUF-43728	神奈川県・横浜市・野島公園	砂	<i>S. robusta</i>	25	2019/9/14	牟田神東陽奈	NS0161	
MTUF-43729	千葉県・鴨川市・賀茂川河口域	砂	<i>S. strigosa</i>	7	2019/9/30	佐野風	NS0162	
MTUF-43730	神奈川県・横浜市・野島公園	砂	<i>S. robusta, Seminavis</i> sp. 1	17	2019/10/28	牟田神東陽奈	NS0163	
MTUF-43731	神奈川県・横浜市・野島公園	砂	<i>S. robusta</i>		2019/11/29	牟田神東陽奈	NS0164	
MTUF-43732	神奈川県・横浜市・野島公園	砂	<i>S. robusta</i>		2019/12/9	牟田神東陽奈	NS0165	
MTUF-43733	千葉県・館山市・坂田・東京海洋大学館山ステーション	砂	<i>Seminavis</i> sp. 2	16	2019/12/19	佐野風	NS0166	側溝にて採集
MTUF-43734	神奈川県・横浜市・野島公園	砂	<i>S. robusta</i>	30	2020/1/29	鈴木秀和	NS0169	
MTUF-43735	東京都・港区・京浜運河・東京海洋大学繋船場	砂	<i>S. robusta, Seminavis</i> sp. 2	15	2020/5/26	佐野風	NS0200	
MTUF-43736	東京都・港区・京浜運河・東京海洋大学繋船場	砂	<i>S. robusta, Seminavis</i> sp. 2	15	2020/5/26	佐野風	NS0201	
MTUF-43737	茨城県・東茨城郡・大洗町	ベニヒバモ <i>Psilotallia dentata</i>	<i>Seminavis</i> sp. 1		2020/6/8	菅原一輝	NS0202	
MTUF-43738	茨城県・ひたちなか市・平磯	エビアヤマモ <i>Phyllospadix japonicus</i>	<i>Seminavis</i> sp. 1		2020/7/20	福岡将之	NS0203	
MTUF-43739	静岡県・賀茂郡・南伊豆町・逢の浜	オオハイミル <i>Codium dimorphum</i>	<i>Seminavis</i> sp. 1		2020/8/20	福岡将之	NS0204	
MTUF-43740	東京都・港区・京浜運河・東京海洋大学繋船場	砂	<i>S. robusta, Seminavis</i> sp. 2	23	2020/8/31	佐野風	NS0205	
MTUF-43741	東京都・港区・京浜運河・東京海洋大学繋船場	砂	<i>S. robusta, Seminavis</i> sp. 2	23	2020/8/31	佐野風	NS0206	
MTUF-43742	神奈川県・小田原市・江の瀬	海水	<i>S. robusta, Seminavis</i> sp. 1		2020/11/15	鈴木秀和	NS0207	



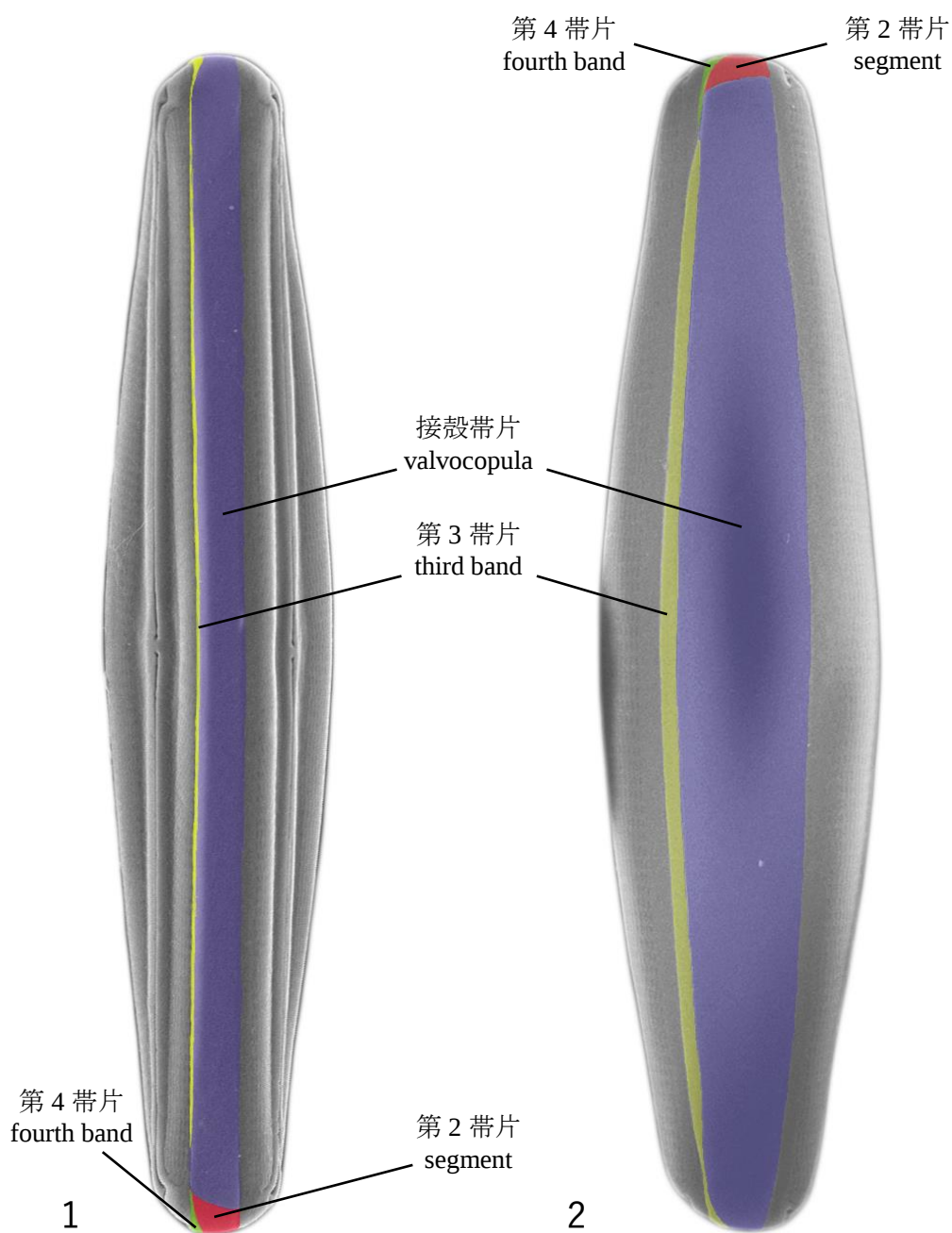
Pl. 1. Descriptive morphology terms of *Seminavis*. LM.
Fig. 1. Valve view of *S. robusta*.



Pl. 2. Descriptive morphology terms of *Seminavis*. Valve views. SEM.

Fig. 1. External view of *S. robusta*.

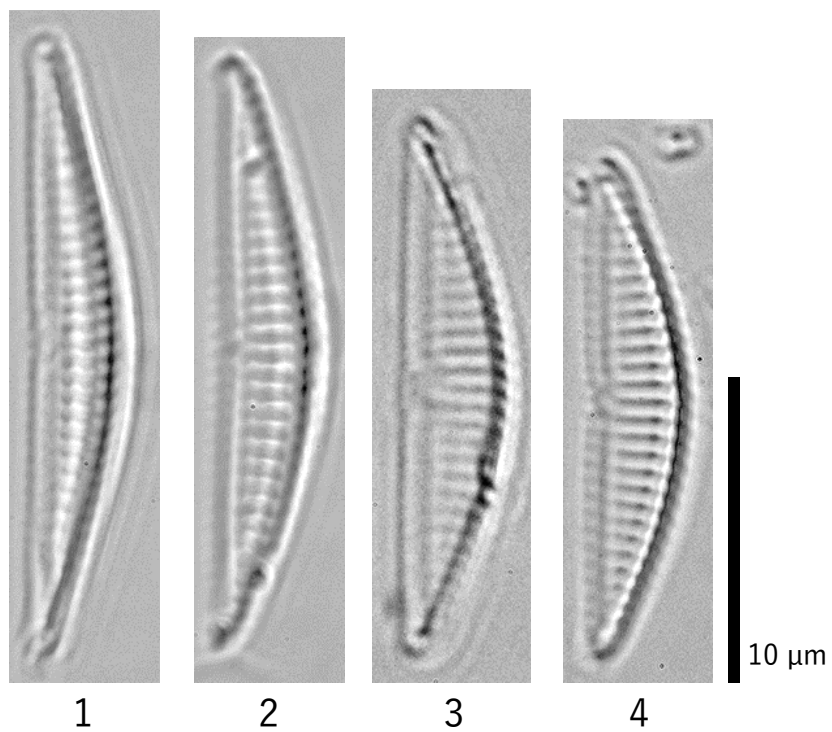
Fig. 2. Internal view of *S. robusta*.



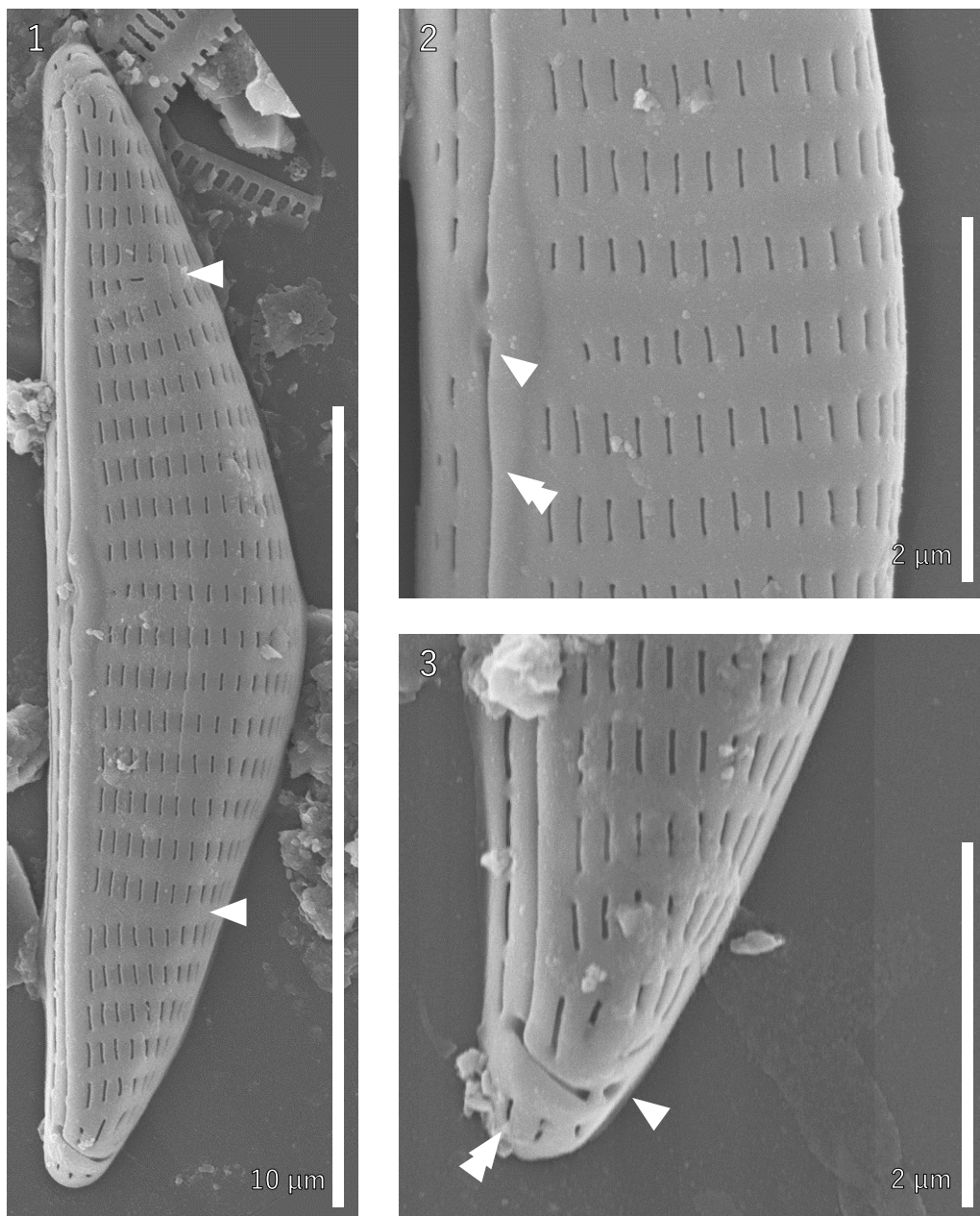
Pl. 3. Descriptive morphology terms of *Seminavis*. Girdle views. SEM.

Fig. 1. Ventral side. Frustule of *S. robusta*.

Fig. 2. Dorsal side. Frustule of *S. robusta*.

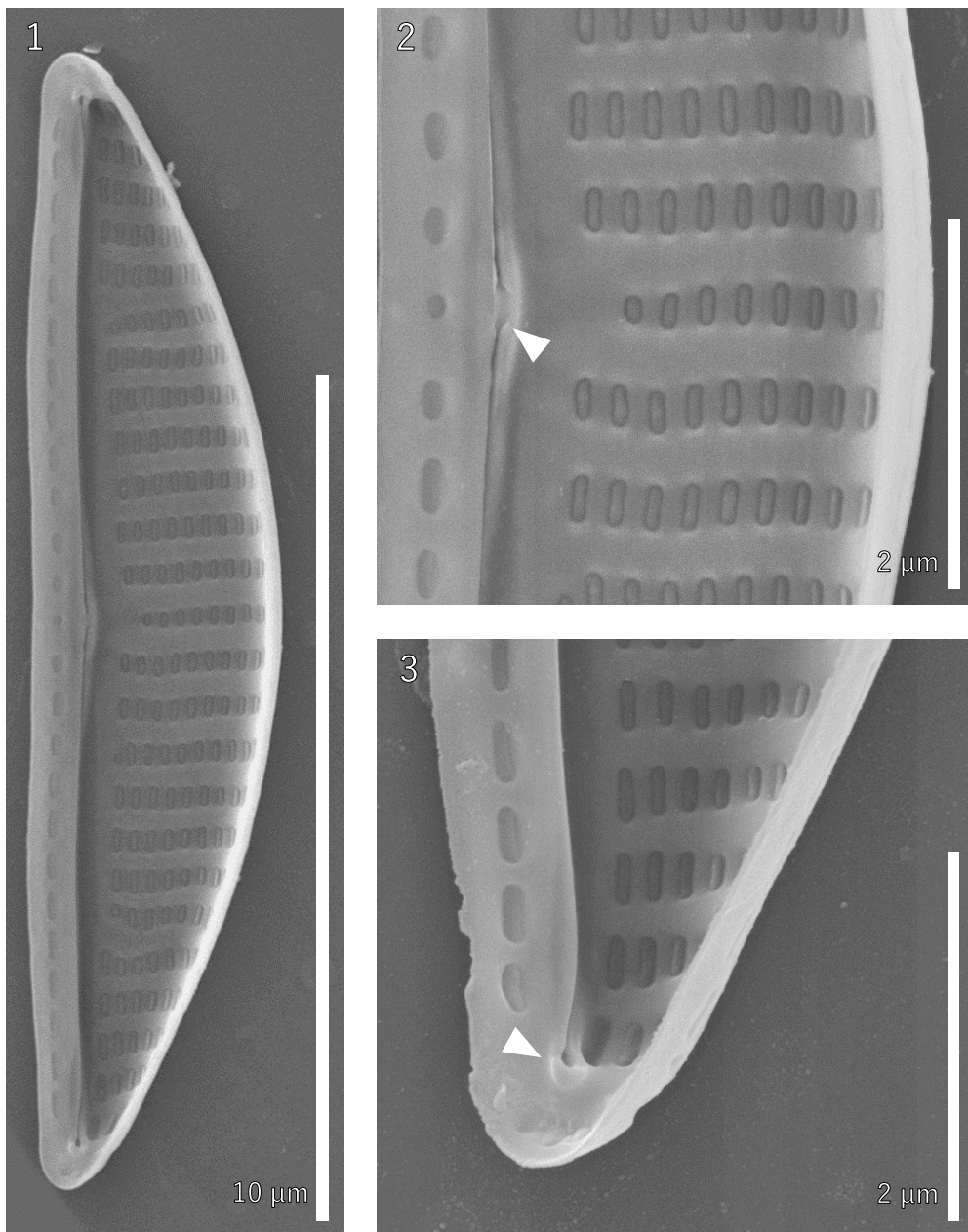


Pl. 4. *Seminavis exigua*. Valves. LM.
Figs 1-4. Valve views of washed valves.



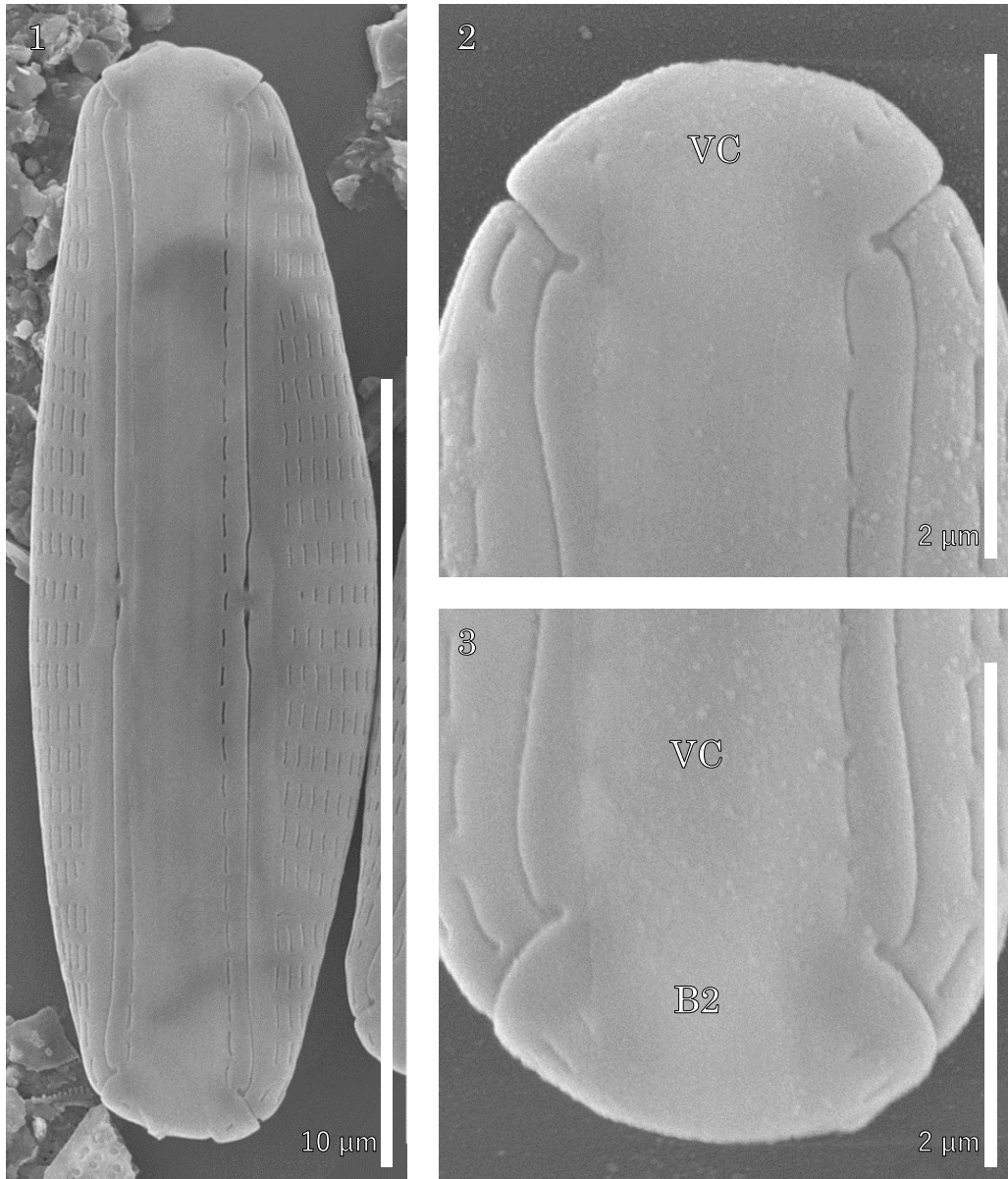
Pl. 5. *Seminavis exigua*. External views of a valve. SEM.

Fig. 1. External view of a whole valve. Two Voigt faults (arrowheads). Fig. 2. External central view. Raphe branches are deflected ventrally near the central area (double arrowhead) and meet face-to-face at the external central fissure (arrowhead). Fig. 3. External polar view. Raphe branches are hooked dorsally at the apices (arrowhead). Three areolae at the apices (double arrowhead).



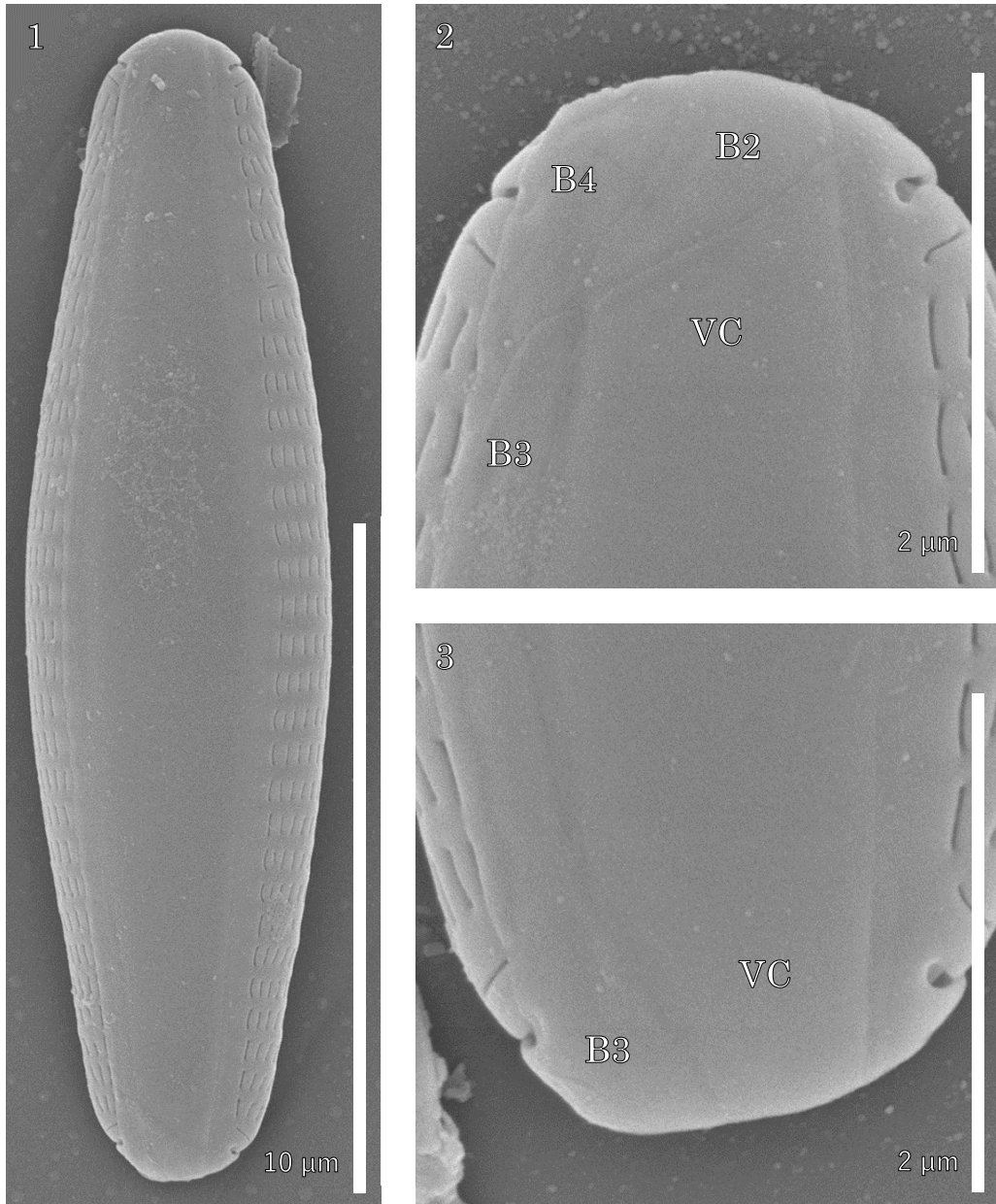
Pl. 6. *Seminavis exigua*. Internal views of a valve. SEM.

Fig. 1. Internal view of a whole valve. Fig. 2. Internal central view. Raphe branches bend dorsally at the internal central fissure (arrowhead). Fig. 3. Internal polar view. Accessory rib is not confidently detected in this case. The raphe ends apically in an ovate helictoglossa (arrowhead).

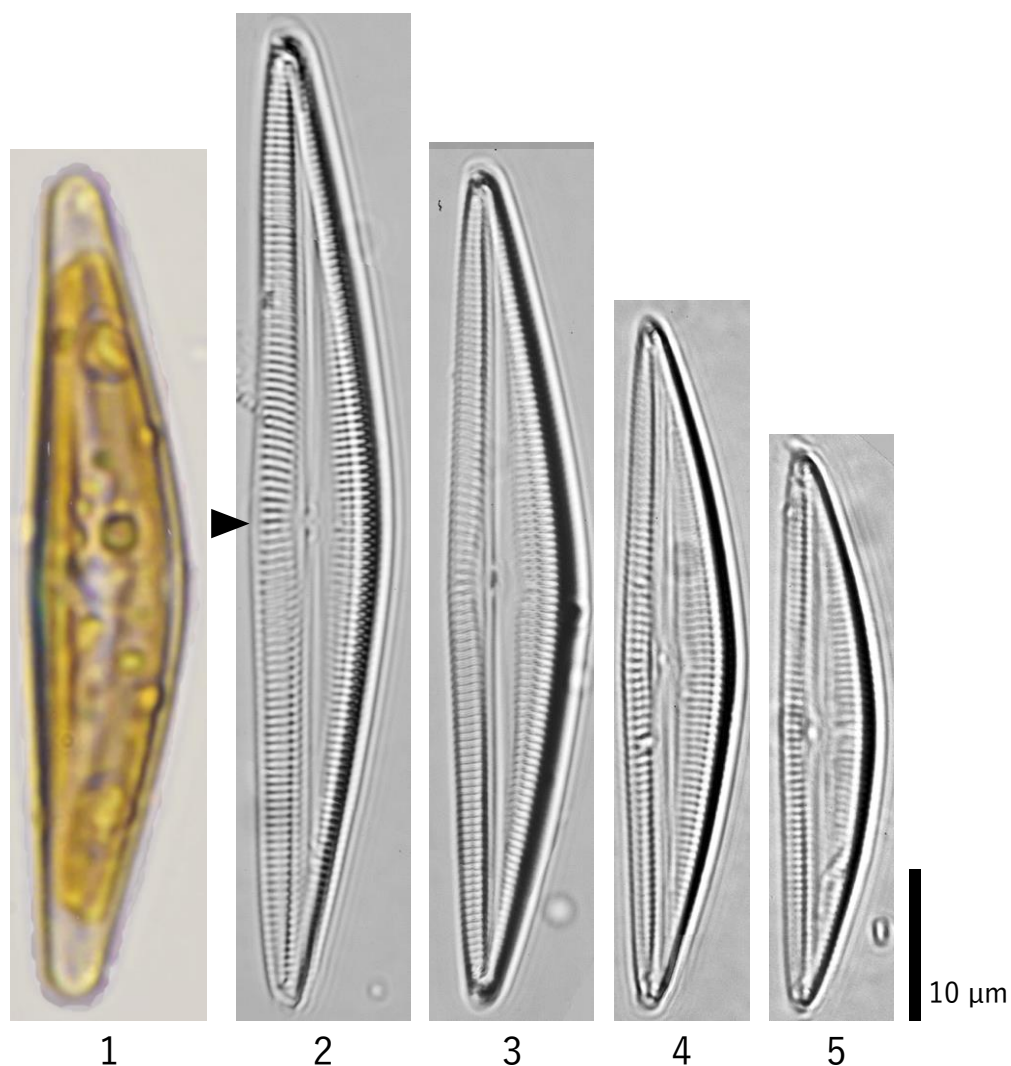


Pl. 7. *Seminavis exigua*. Girdle views of a frustule. Ventral side. SEM.

Fig. 1. Girdle view of a whole frustule. Fig. 2. A terminal view of frustule, showing a valvocopula (VC). Fig. 3. The other terminal view of frustule, showing a valvocopula (VC) and a segment (B2).

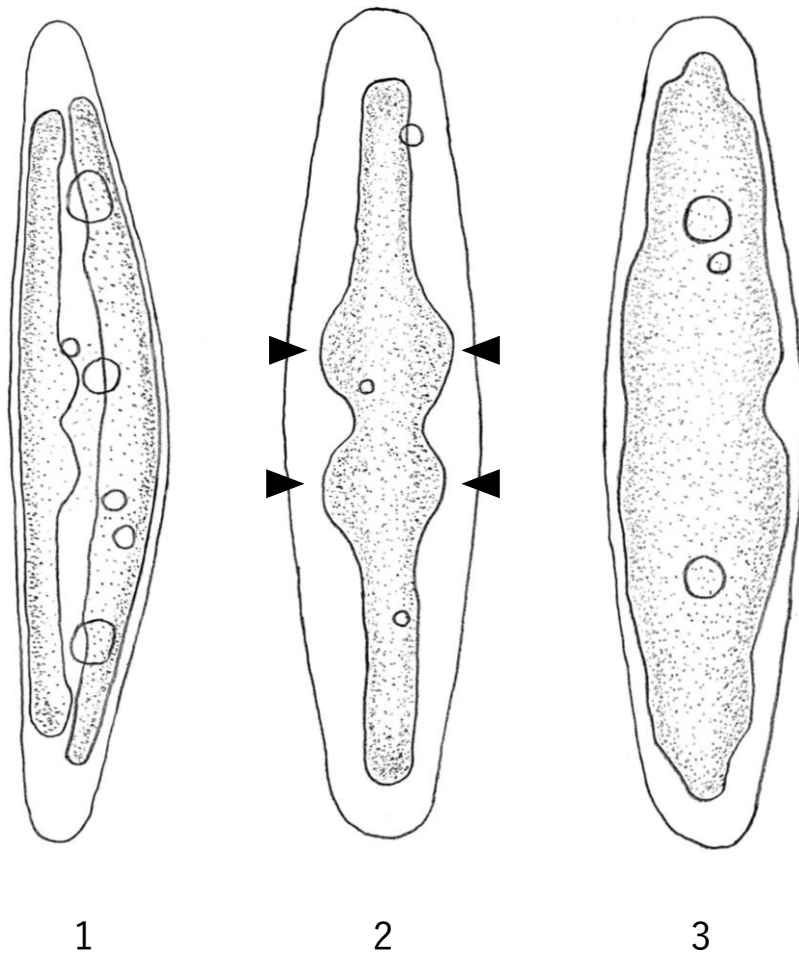


Pl. 8. *Seminavis exigua*. Girdle views of a frustule. Dorsal side. SEM.
 Fig. 1. Girdle view of a whole frustule. Fig. 2. A terminal view of frustule, showing a valvocopula (VC), a segment (B2), a third band (B4) and a fourth band (B4). Fig. 3. The other terminal view of frustule, showing a valvocopula (VC) and a third band (B3).

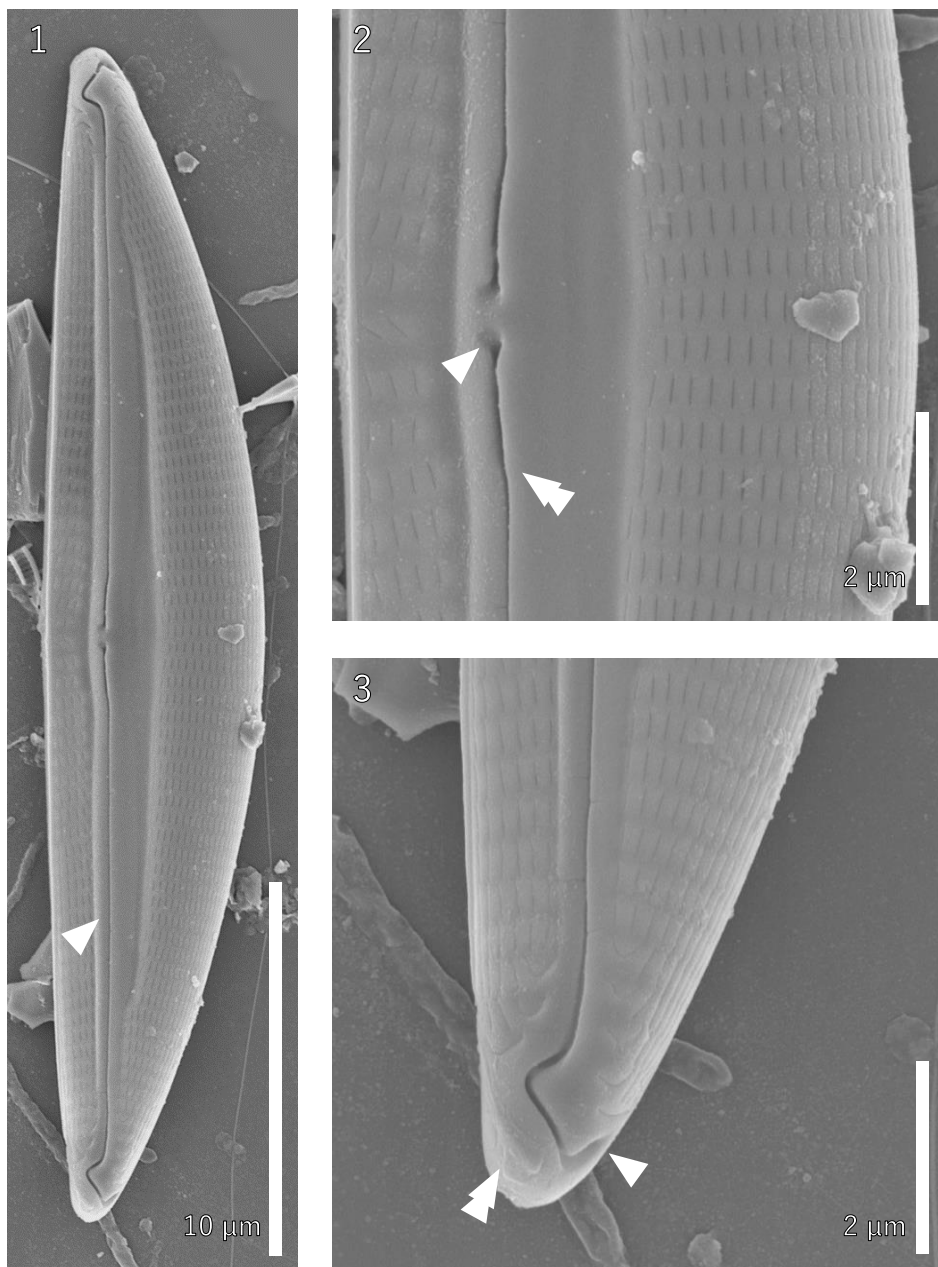


Pl. 9. *Seminavis robusta*. Living cell and valves. LM.

Fig. 1. Valve view of living cell. Figs 2-5. Valve views of washed valves. The ventral striae distinctly radiate, and the ventral side of the valve sometimes exhibits a slight swelling in the middle (arrowhead).

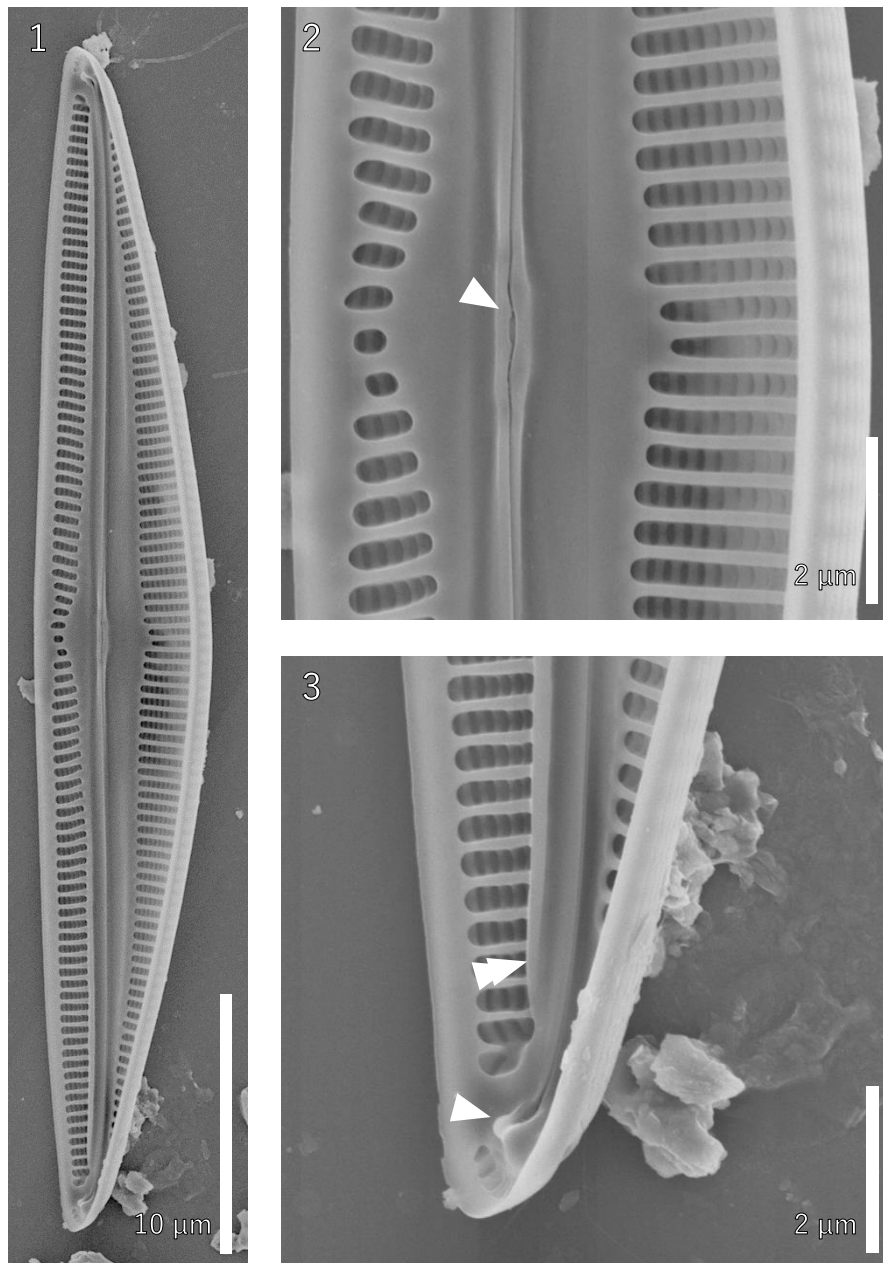


Pl. 10. *Seminavis robusta*. Drawings of living cells. LM.
Fig. 1. Valve view of living cell. Fig. 2. Girdle view of a ventral chloroplast with four lobes (arrowheads). Fig. 3. Girdle view of a dorsal chloroplast.



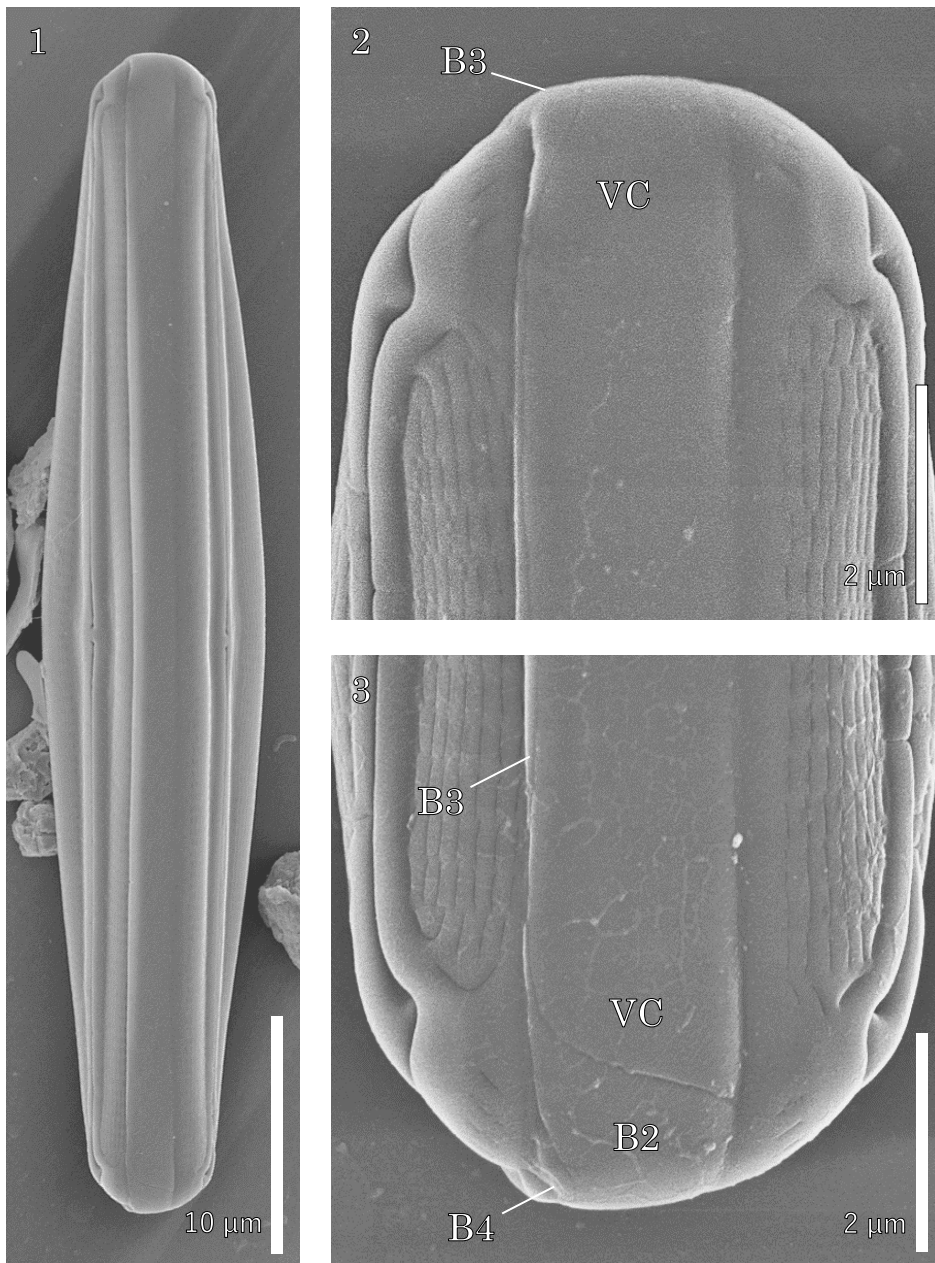
Pl. 11. *Seminavis robusta*. External views of a valve. SEM.

Fig. 1. External view of a whole valve. The axial area is thickened (arrowhead). Fig. 2. External central view. Raphe branches are deflected ventrally near the central area (double arrowhead) and bend ventrally again at the external central fissure (arrowhead). Fig. 3. External polar view. Raphe branches are hooked dorsally at the apices (arrowhead). Four or five areolae at the apices (double arrowhead).

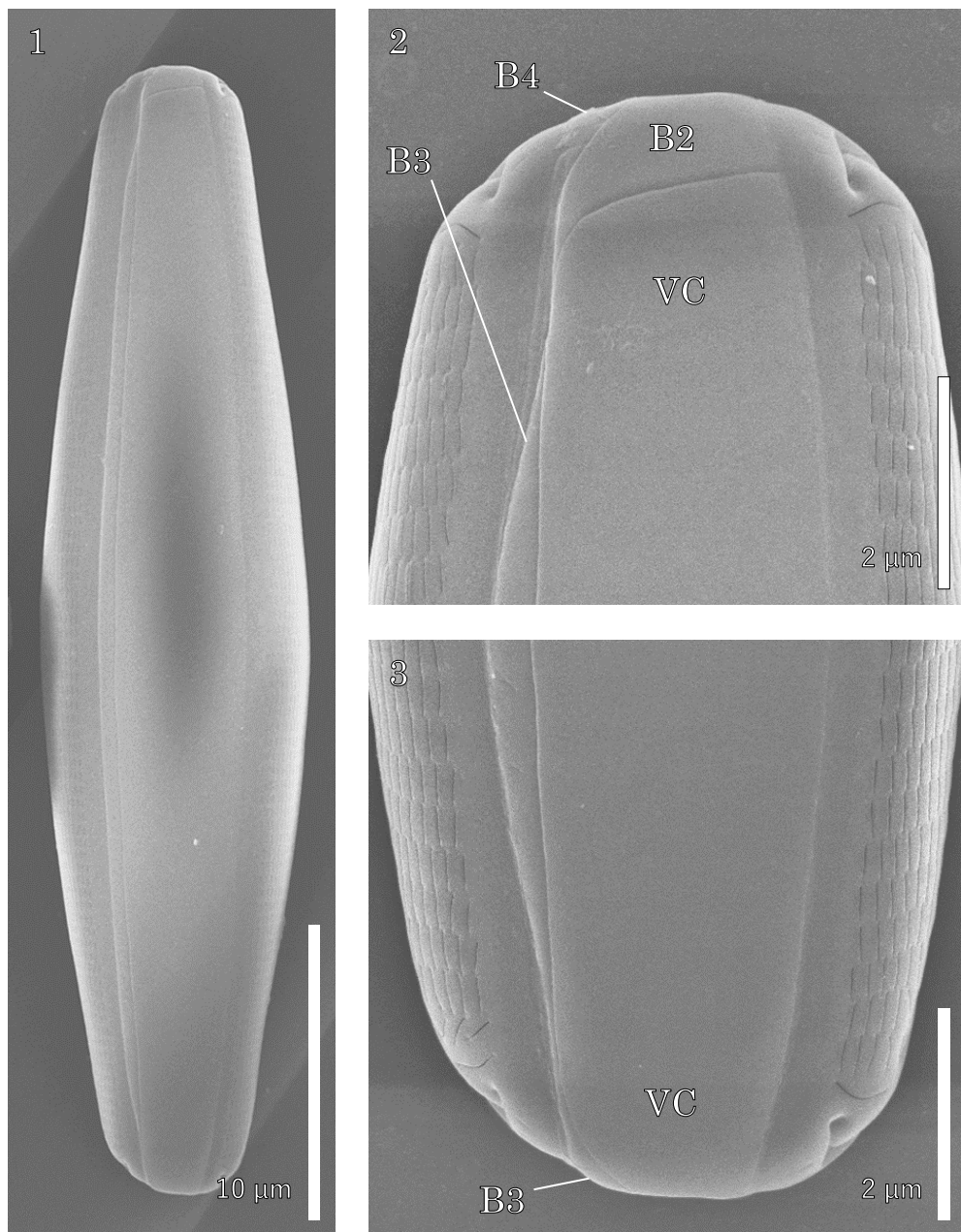


Pl. 12. *Seminavis robusta*. Internal views of a valve. SEM.

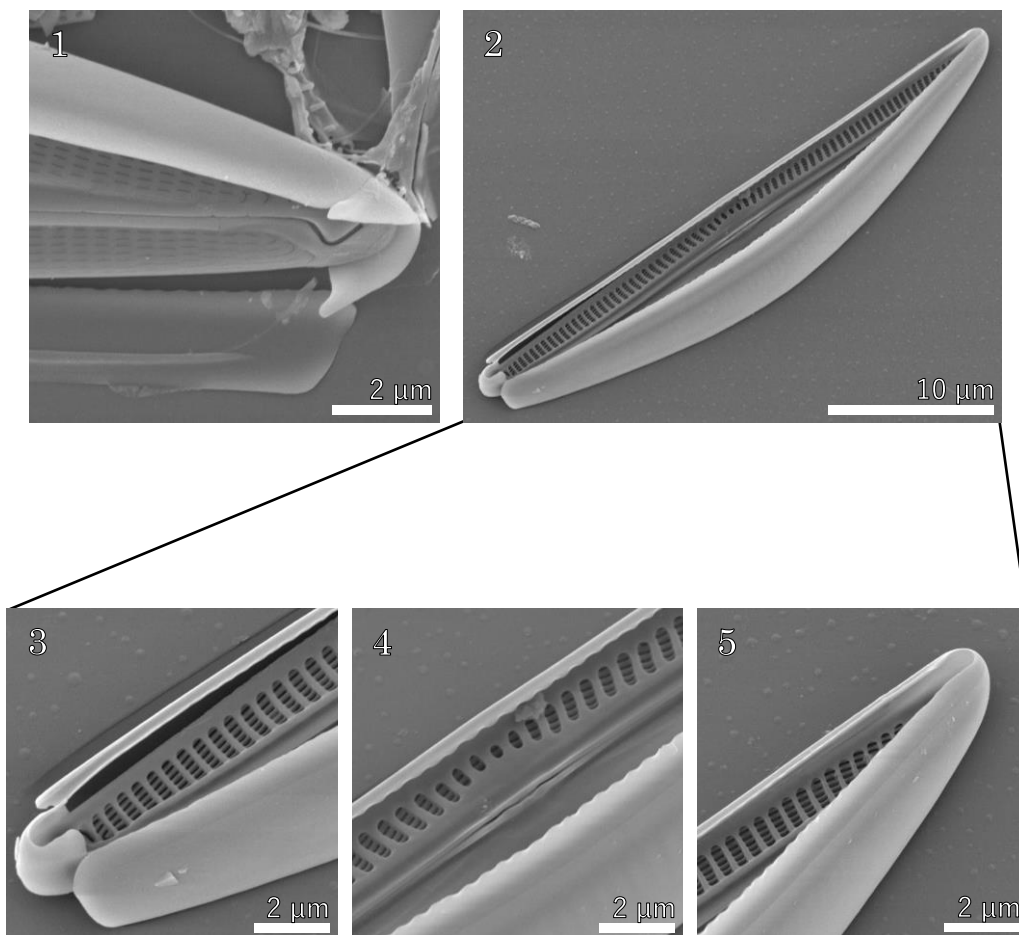
Fig. 1. Internal view of a whole valve. Fig. 2. Internal central view. Two raphe branches are connected into one at the internal central fissure (arrowhead). Fig. 3. Internal polar view. Accessory rib (double arrowhead). The raphe ends apically in an ovate, ventrally bent helictoglossa (arrowhead).



Pl. 13. *Seminavis robusta*. Girdle views of a frustule. Ventral side. SEM.
 Fig. 1. Girdle view of a whole frustule. Fig. 2. A terminal view of frustule, showing a valvocopula (VC) and a third band (B3). Fig. 3. The other terminal view of frustule, showing a valvocopula (VC), a segment (B2), a third band (B3) and a fourth band (B4).



Pl. 14. *Seminavis robusta*. Girdle views of a frustule. Dorsal side. SEM.
 Fig. 1. Girdle view of a whole frustule. Fig. 2. A terminal view of frustule, showing a valvocopula (VC), a segment (B2), a third band (B3) and a fourth band (B4). Fig. 3. The other terminal view of frustule, showing a valvocopula (VC) and a third band (B3).



Pl. 15. *Seminavis robusta*. Girdle bands. SEM.

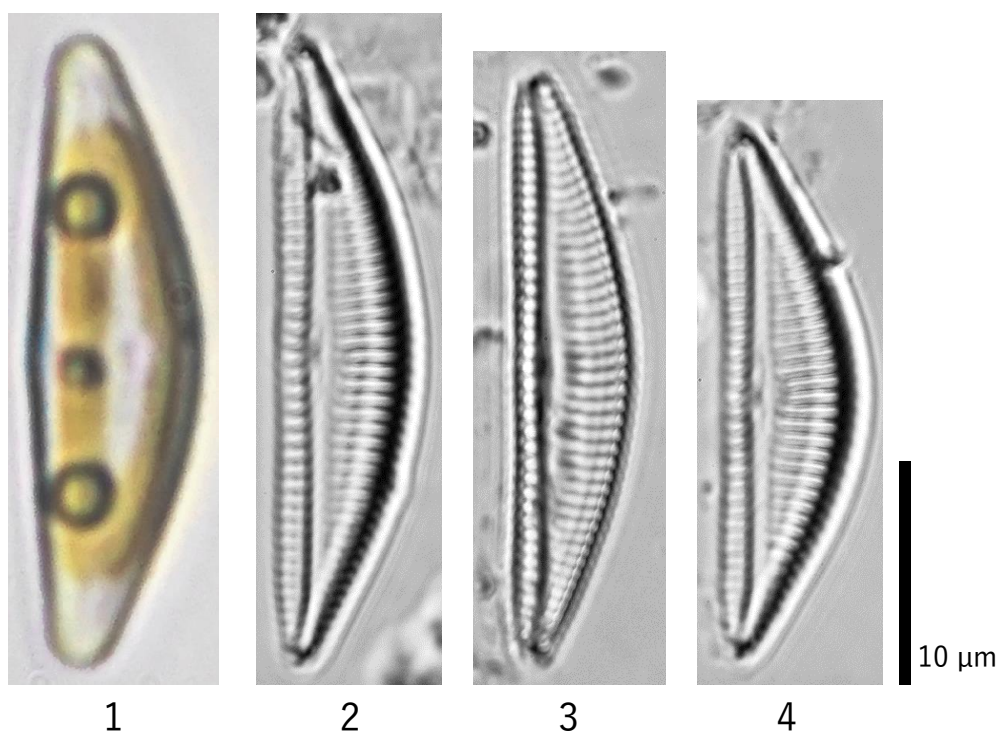
Fig. 1. Fine structure of the girdle, showing a valvocopula and a segment.

Fig. 2. Whole view of a valvocopula, a segment and a daughter cell. Fig. 3.

A terminal view of the same valvocopula and a segment as fig. 2. Fig. 4.

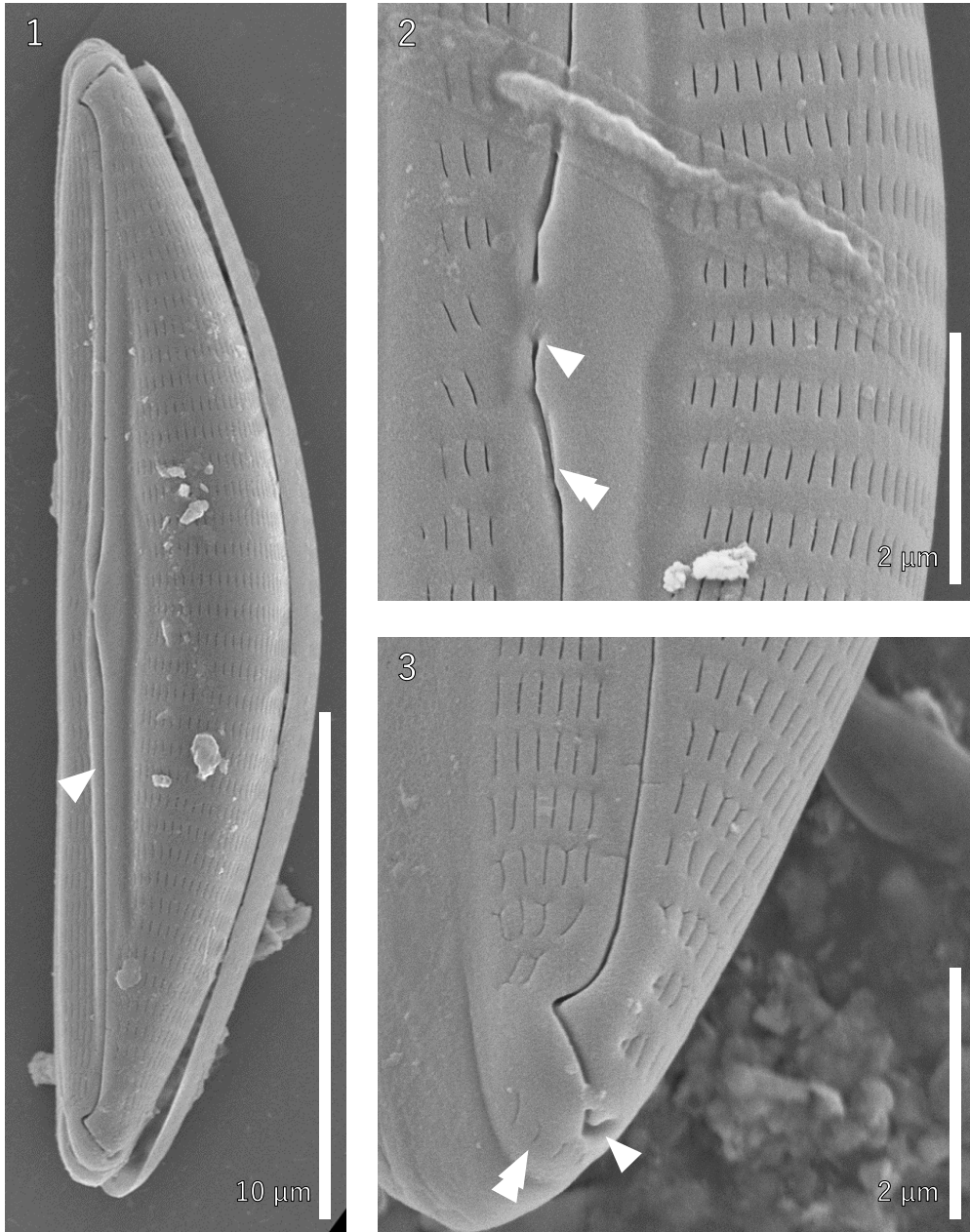
Central view of the same valvocopula as fig. 2. Fig. 5. The other terminal

view of the same valvocopula as fig. 2.



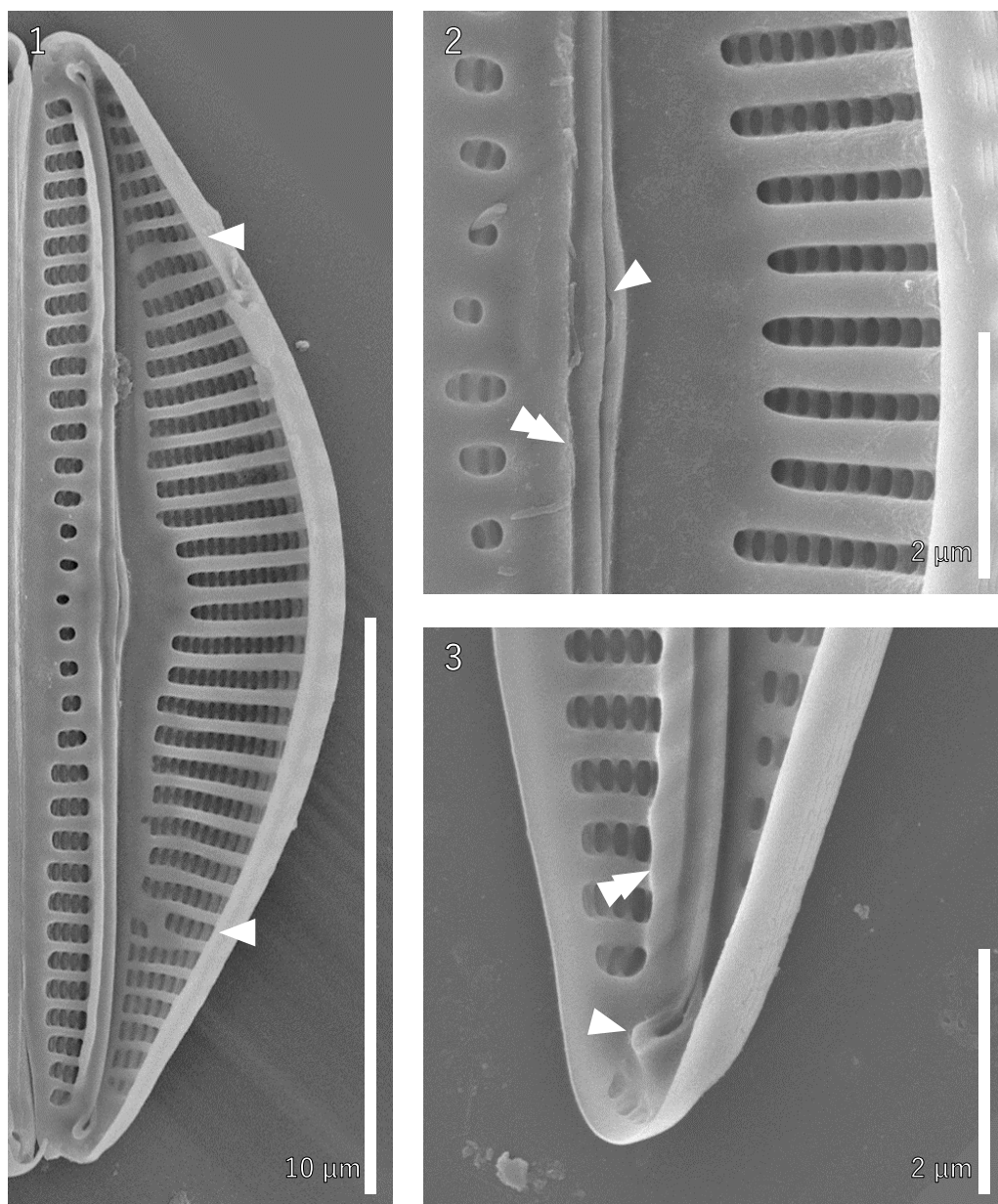
Pl. 16. *Seminavis strigosa*. Living cell and valves. LM.

Fig. 1. Valve view of living cell. Figs 2-4. Valve views of washed valves.



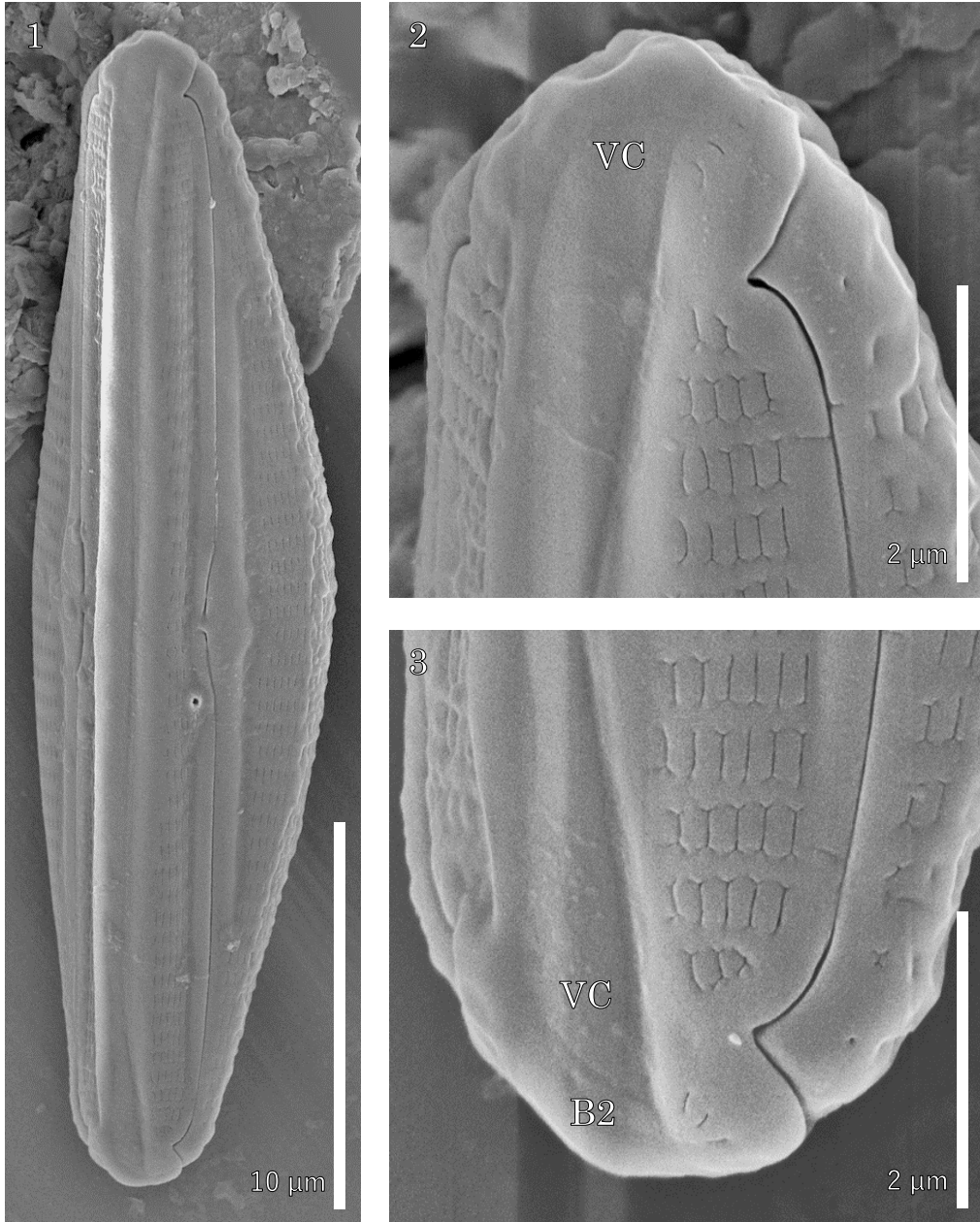
Pl. 17. *Seminavis strigosa*. External views of a valve. SEM.

Fig. 1. External view of a whole valve. The axial area is thickened (arrowhead). Fig. 2. External central view. Raphe branches are deflected ventrally near the central area (double arrowhead) and meet face-to-face at the external central fissure (arrowhead). Fig. 3. External polar view. Raphe branches are hooked dorsally at the apices (arrowhead). Four or five areolae at the apices (double arrowhead).

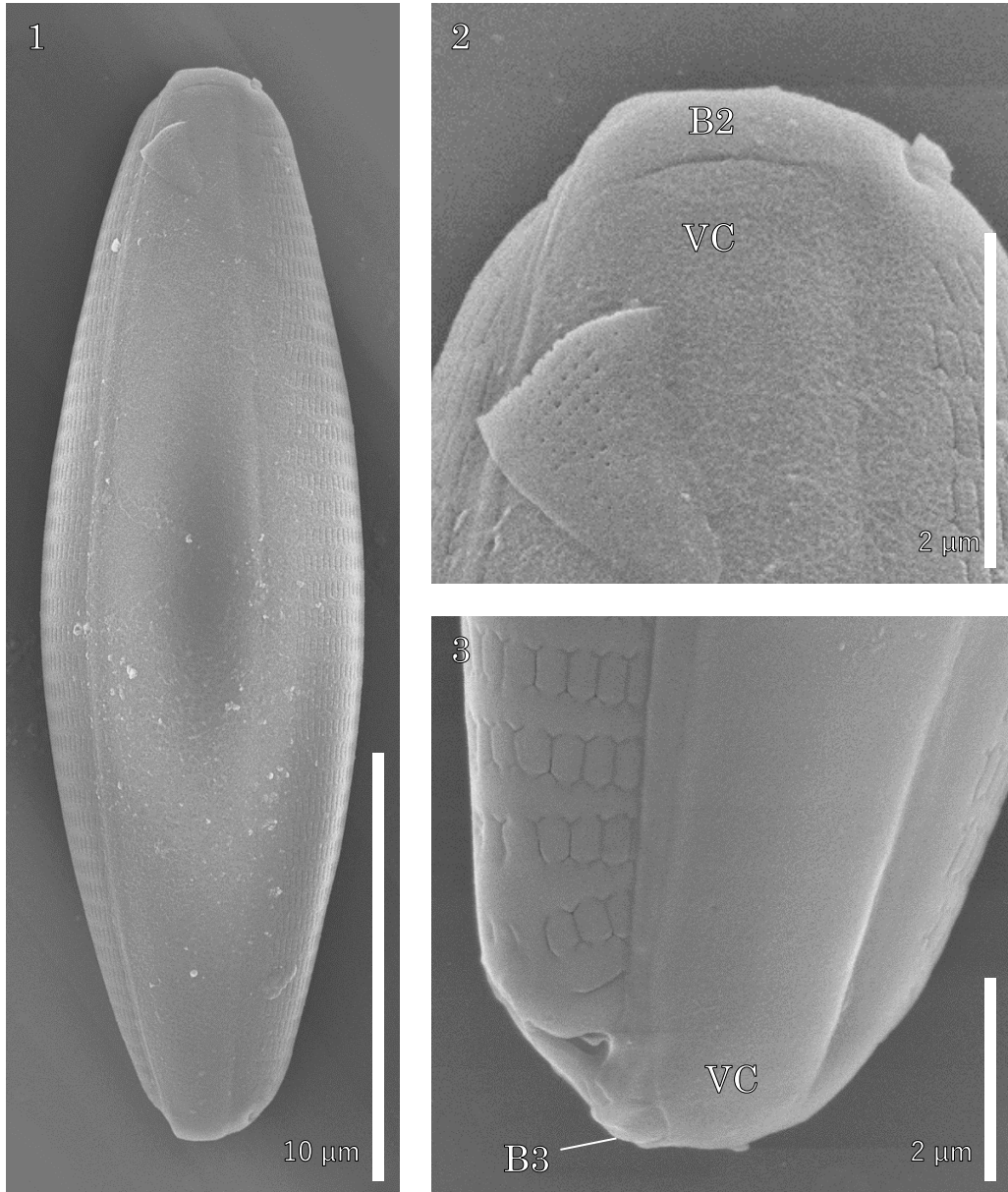


Pl. 18. *Seminavis strigosa*. Internal views of a valve. SEM.

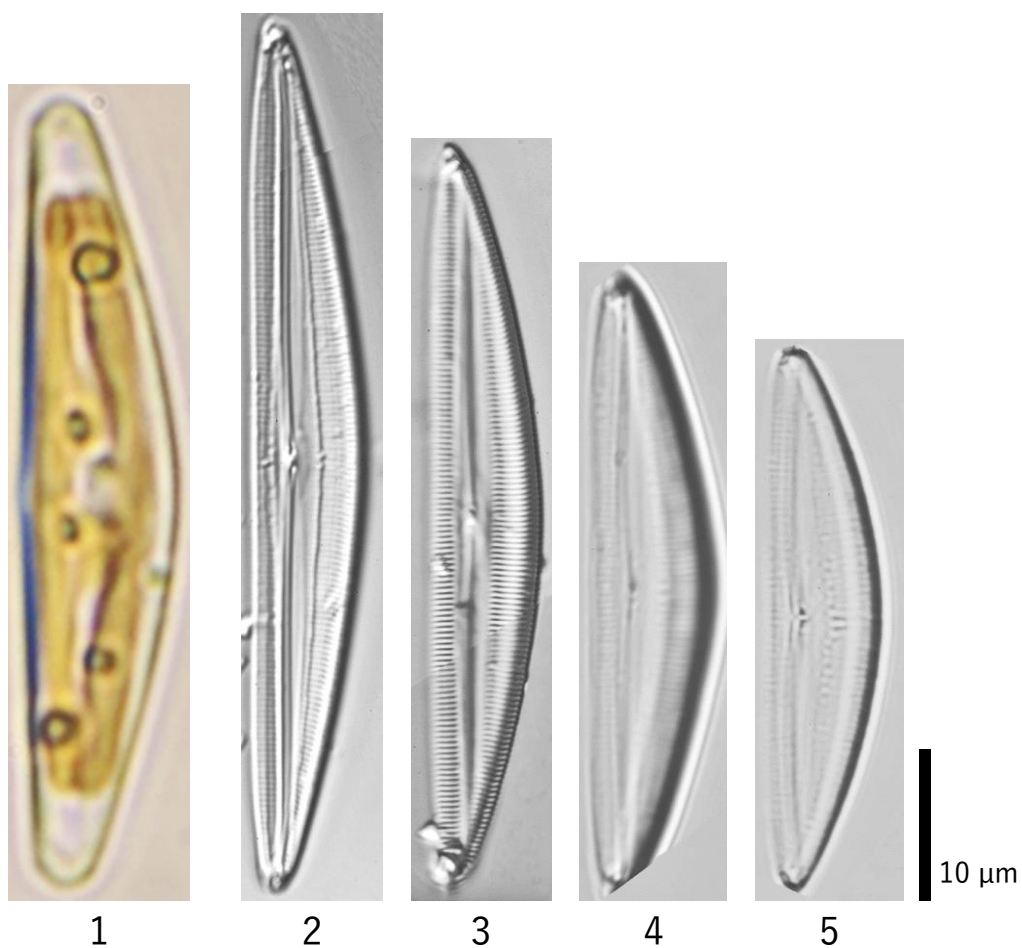
Fig. 1. Internal view of a whole valve. Two Voigt faults (arrowheads). Fig. 2. Internal central view. Weakly silicified accessory rib runs across the central area (double arrowhead). Two raphe branches are connected into one at the internal central fissure (arrowhead). Fig. 3. Internal polar view. Accessory rib (double arrowhead). The raphe ends apically in an ovate, ventrally bent helictoglossa (arrowhead).



Pl. 19. *Seminavis strigosa*. Girdle views of a frustule. Ventral side. SEM.
 Fig. 1. Girdle view of a whole frustule. Fig. 2. A terminal view of frustule,
 showing a valvocopula (VC). Fig. 3. The other terminal view of frustule,
 showing a valvocopula (VC) and a segment (B2).

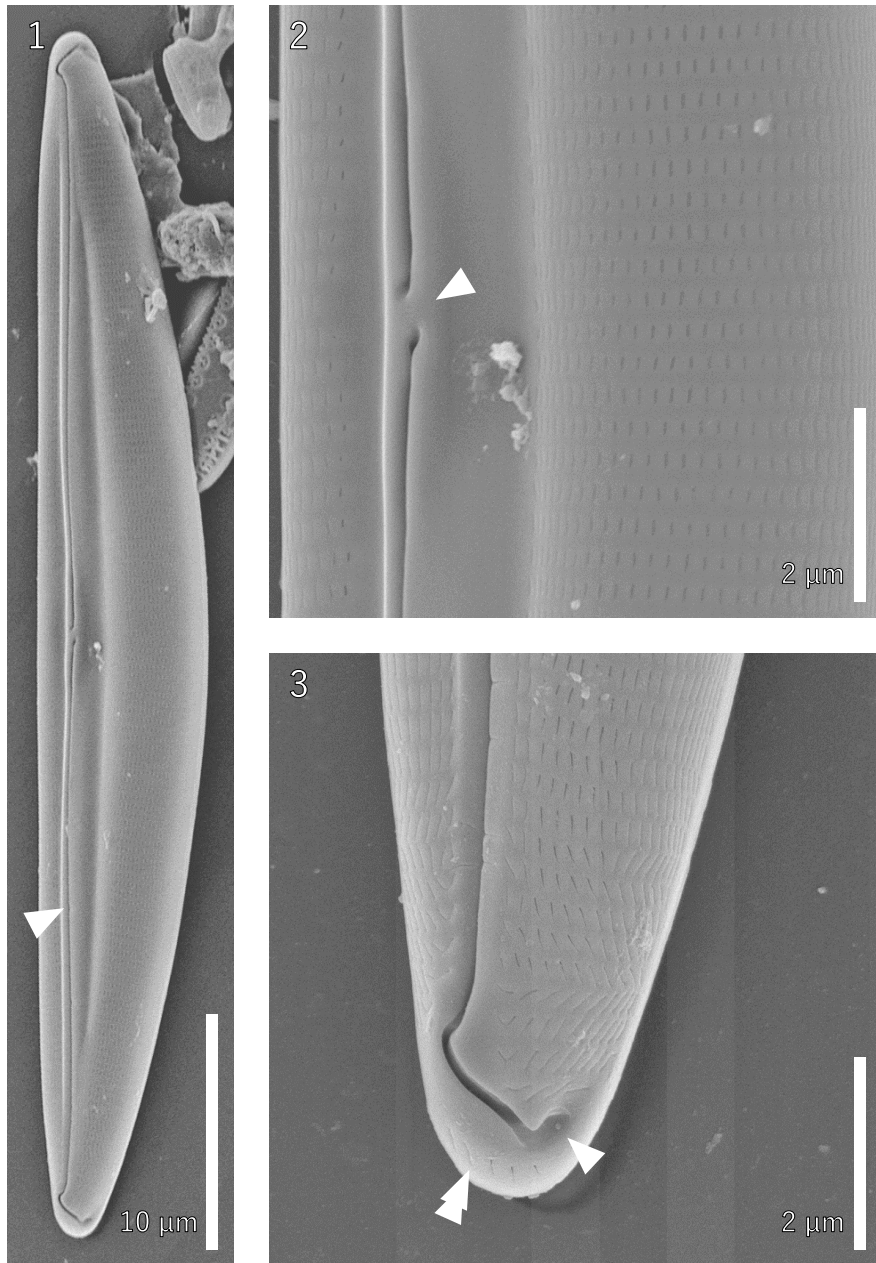


Pl. 20. *Seminavis strigosa*. Girdle views of a frustule. Dorsal side. SEM.
 Fig. 1. Girdle view of a whole frustule. Fig. 2. A terminal view of frustule, showing a valvocopula (VC) and a segment (B2). Fig. 3. The other terminal view of frustule, showing a valvocopula (VC) and a third band (B3).



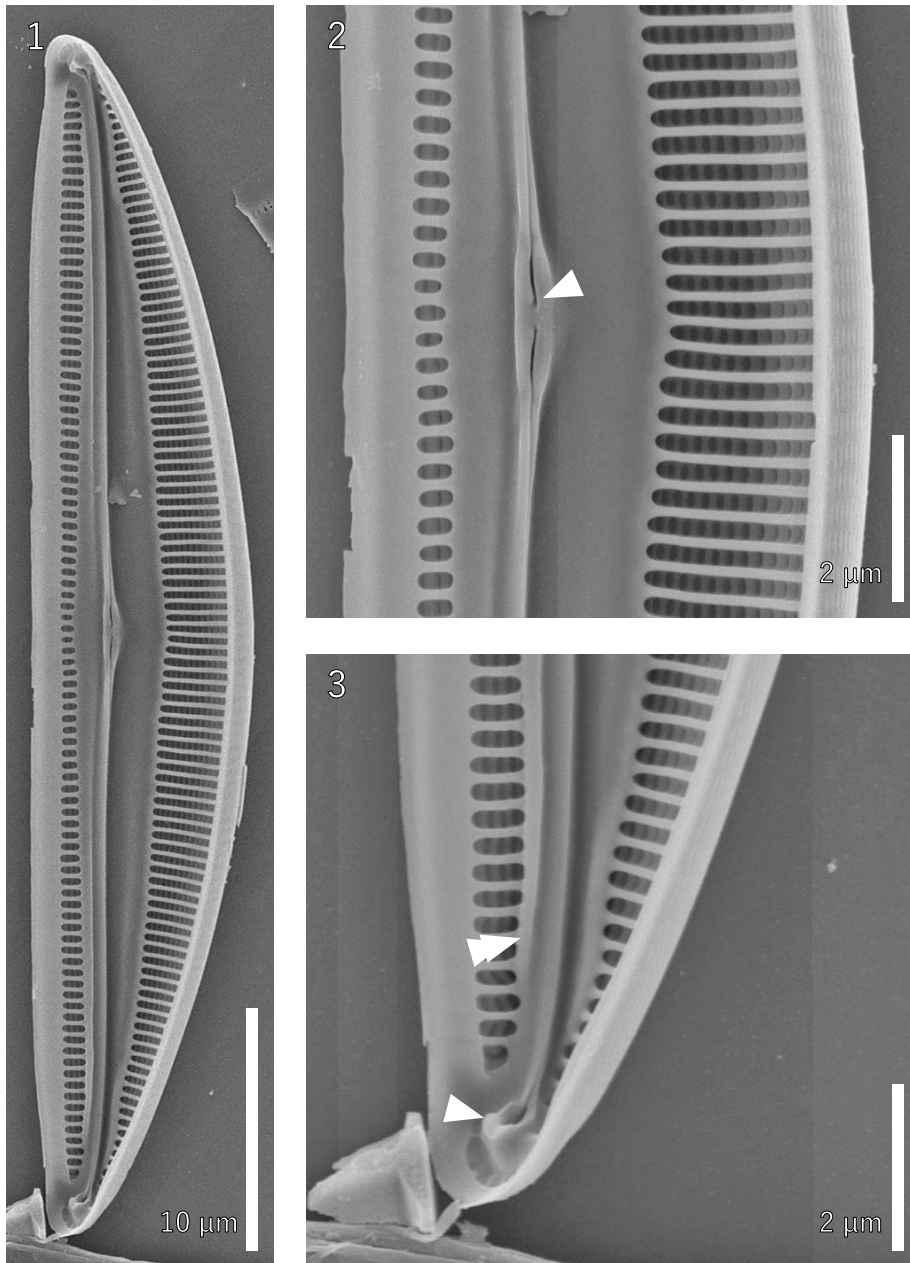
Pl. 21. *Seminavis* sp. 1. Valves. LM.

Fig. 1. Valve view of living cell. Figs 2-5. Valve views of washed valves.



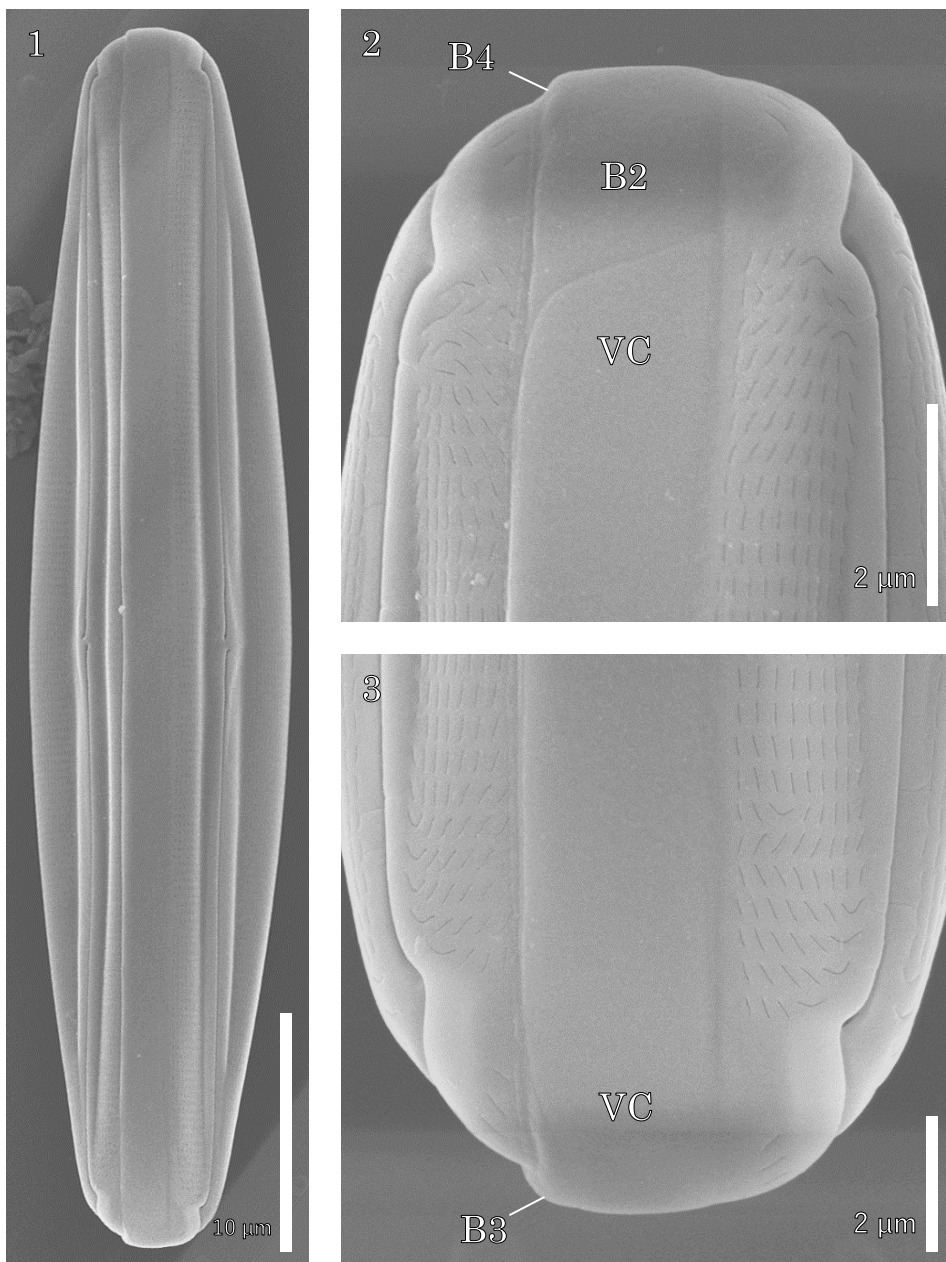
Pl. 22. *Seminavis* sp. 1. External views of a valve. SEM.

Fig. 1. External view of a whole valve. The axial area is thickened (arrowhead). Fig. 2. External central view. Two raphe branches turn in opposite directions at the external central fissure (arrowhead). Fig. 3. External polar view. Raphe branches are hooked dorsally at the apices (arrowhead). Four or five areolae at the apices (double arrowhead).

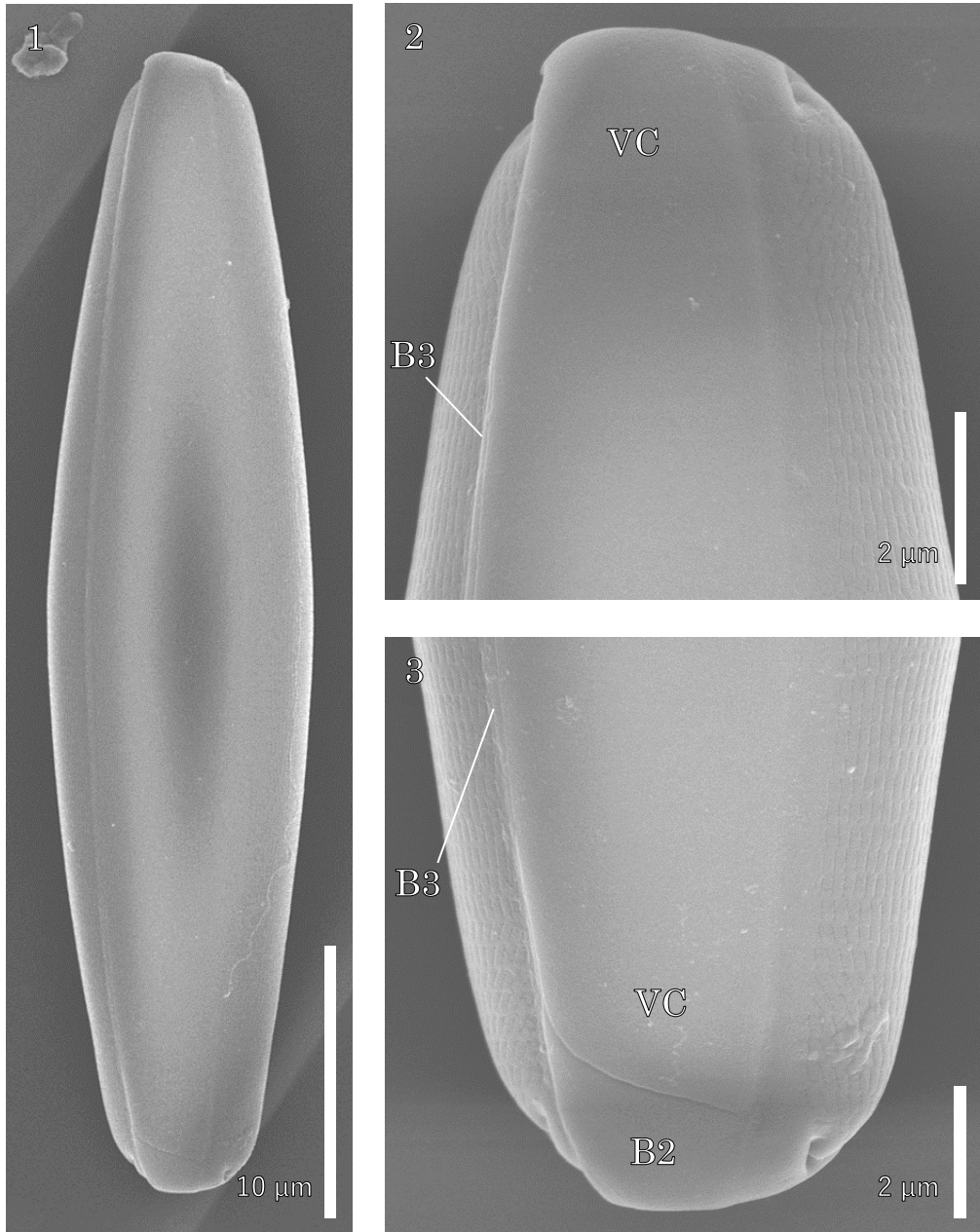


Pl. 23. *Seminavis* sp. 1. Internal views of a valve. SEM.

Fig. 1. Internal view of a whole valve. Fig. 2. Internal central view. Raphe branches bend ventrally at the internal central fissure (arrowhead). Fig. 3. Internal polar view. Accessory rib (double arrowhead). The raphe ends apically in an ovate, ventrally bent helictoglossa (arrowhead).



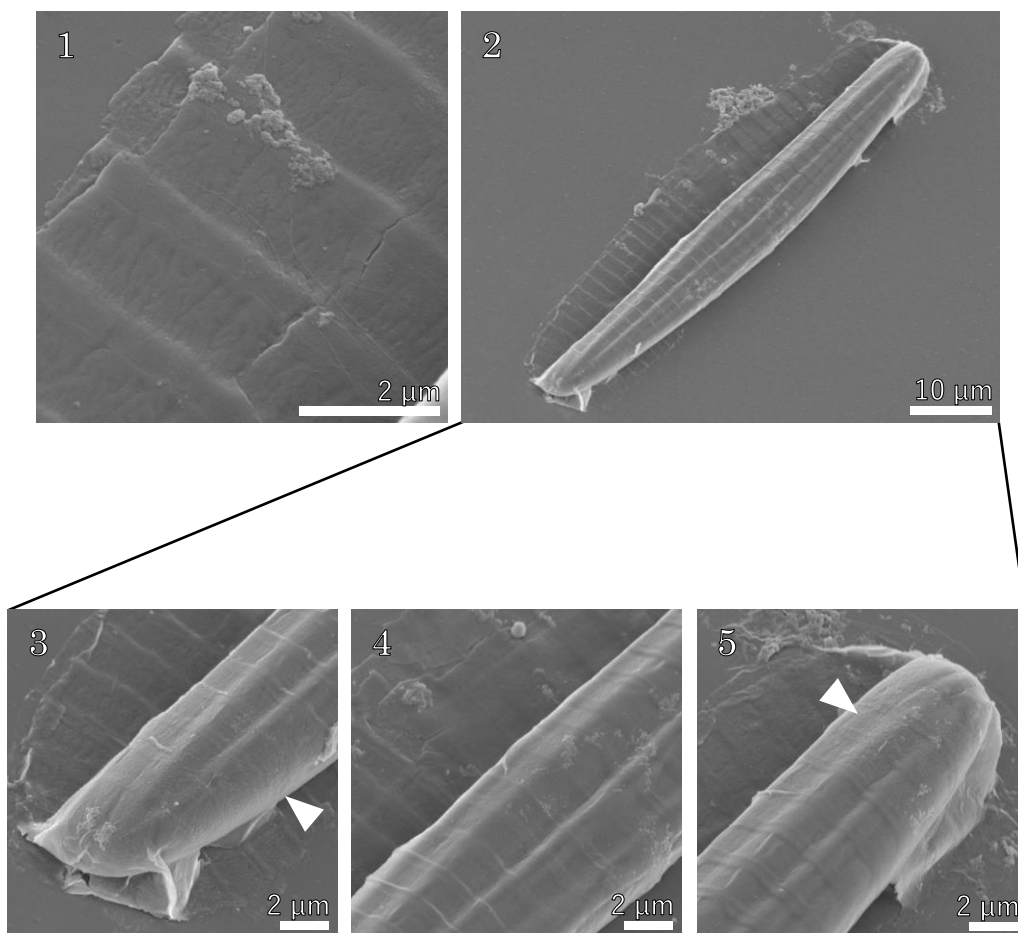
Pl. 24. *Seminavis* sp. 1. Girdle views of a frustule. Ventral side. SEM.
 Fig. 1. Girdle view of a whole frustule. Fig. 2. A terminal view of frustule, showing a valvocopula (VC), a segment (B2) and a fourth band (B4). Fig. 3. The other terminal view of frustule, showing a valvocopula (VC) and a third band (B3).



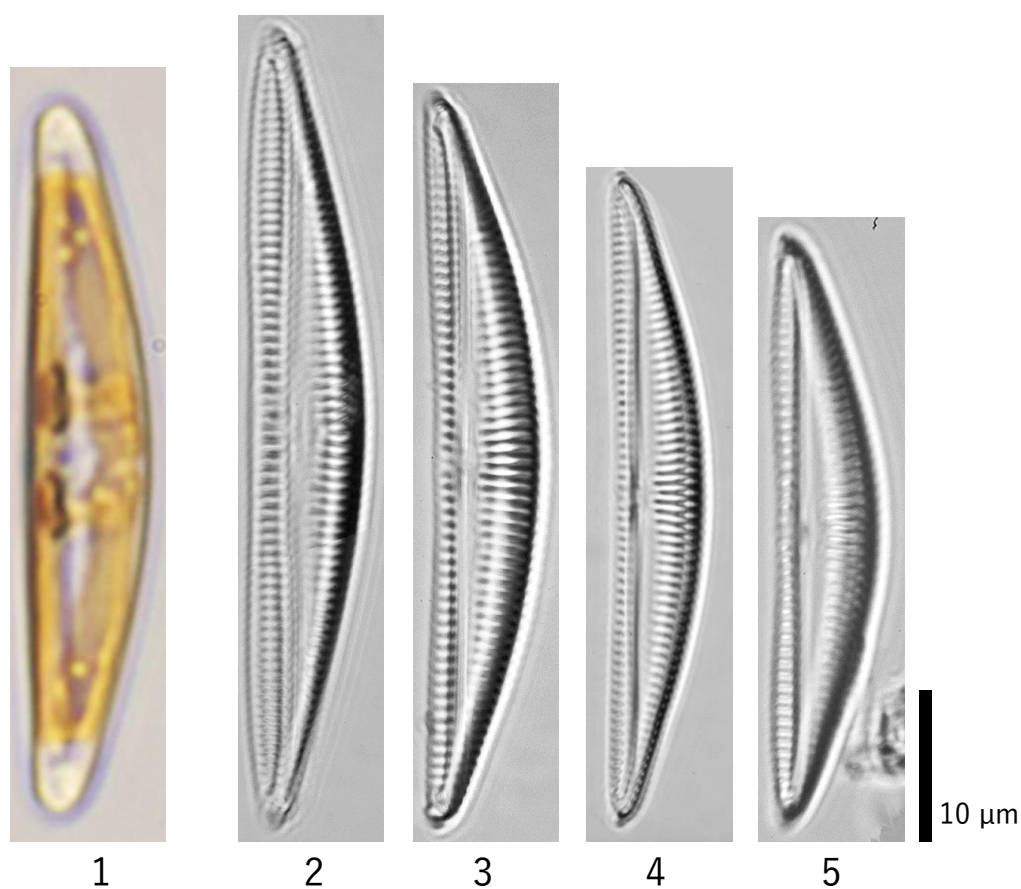
Pl. 25. *Seminavis* sp. 1. Girdle views of a frustule. Dorsal side. SEM.
 Fig. 1. Girdle view of a whole frustule. Fig. 2. A terminal view of frustule, showing a valvocopula (VC) and a third band (B3). Fig. 3. The other terminal view of frustule, showing a valvocopula (VC), a segment (B2) and a third band (B3).



Pl. 26. *Seminavis* sp. 1. Auxospores. LM.
Fig. 1. Whole image of auxospores.

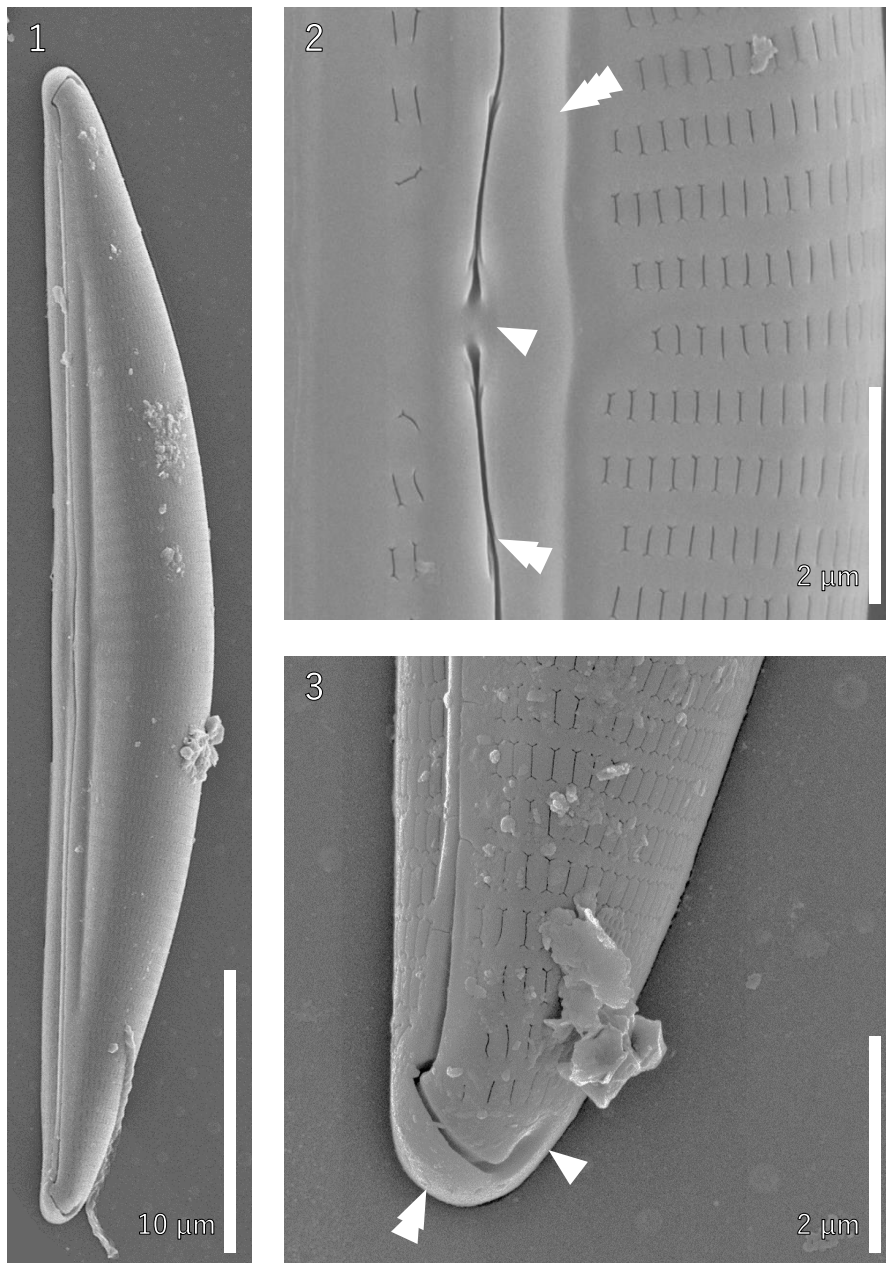


Pl. 27. *Seminavis* sp. 1. External wall of immature auxospore. SEM.
 Fig. 1. Broken secondary transverse band. Fig. 2. Whole Image of immature auxospore, including one initial valve. Fig. 3. A terminal view of the same auxospore as fig. 2. Incunabular cap is composed of scale-like components bearing radiate patterns (arrowhead). Fig. 4. Central view of the same auxospore as fig. 2. Fig. 5. The other terminal view of the same auxospore as fig. 2, and incunabular cap (arrowhead).



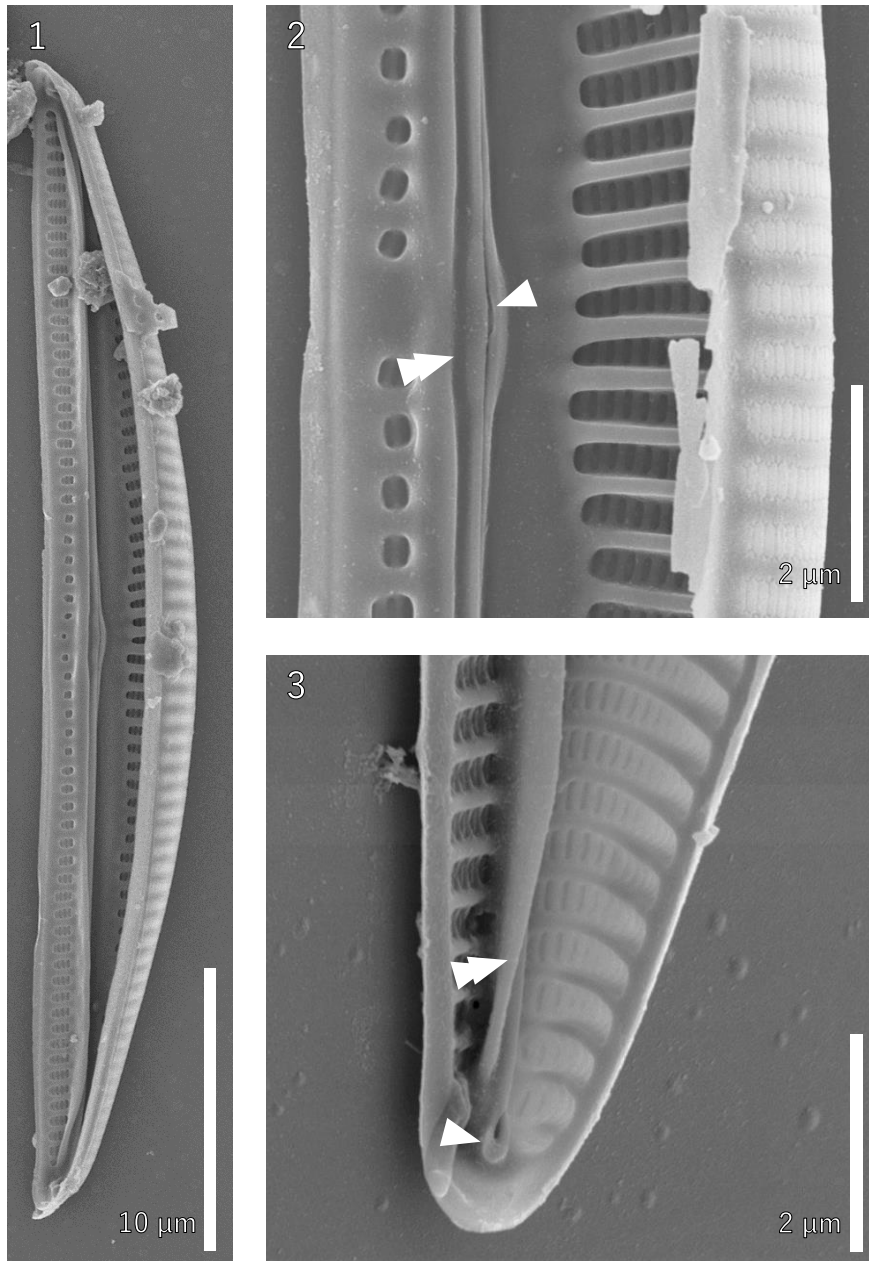
Pl. 28. *Seminavis* sp. 2. Living cell and valves. LM.

Fig. 1. Valve view of living cell. Figs 2-5. Valve views of washed valves.



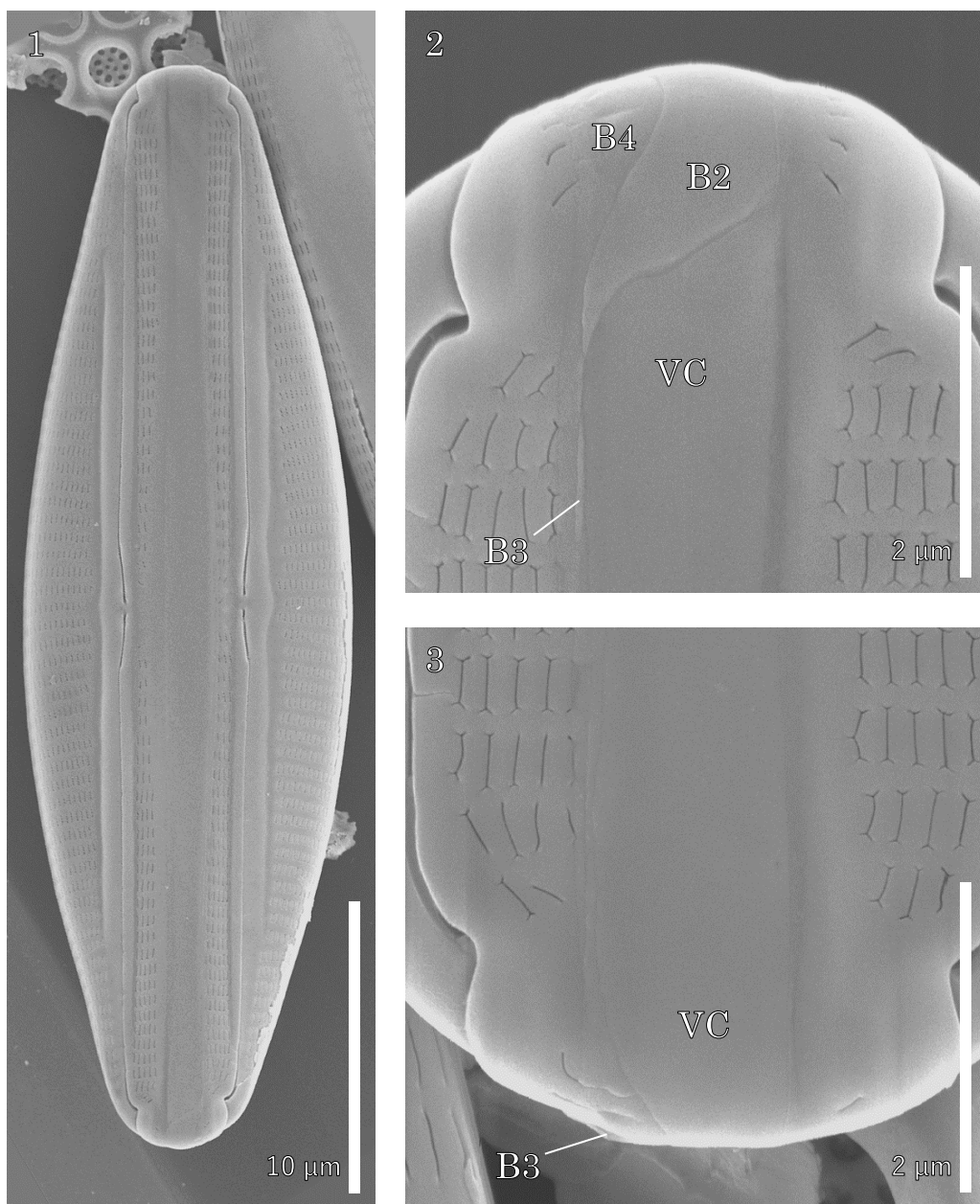
Pl. 29. *Seminavis* sp. 2. External views of a valve. SEM.

Fig. 1. External view of a whole valve. Fig. 2. External central view. The axial area is thickened (triple arrowhead). Raphe branches are deflected ventrally near the central area (double arrowhead) and meet face-to-face at the external central fissure (arrowhead). Fig. 3. External polar view. Raphe branches are hooked dorsally at the apices (arrowhead). Four or five areolae at the apices (double arrowhead).

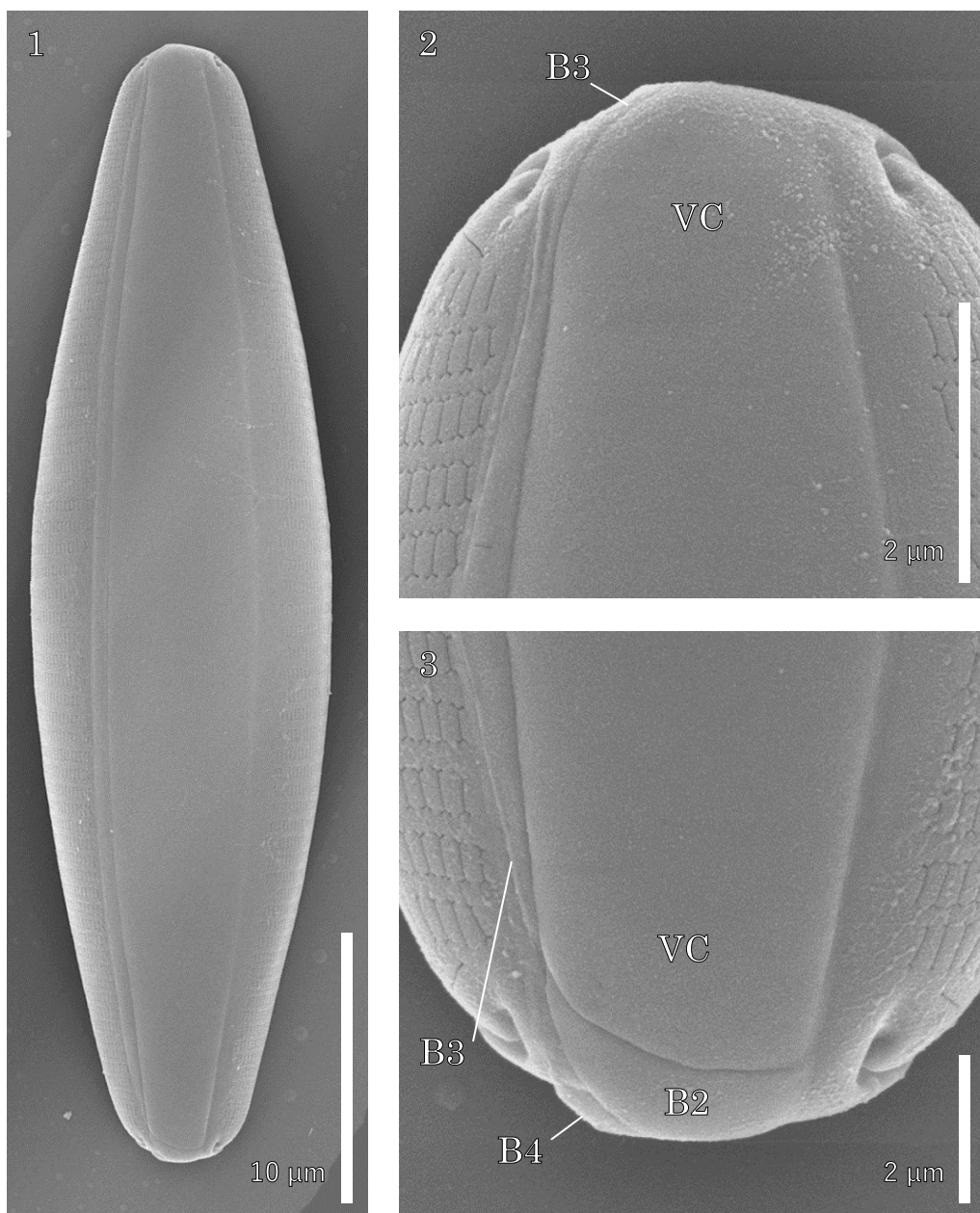


Pl. 30. *Seminavis* sp. 2. Internal views of a valve. SEM.

Fig. 1. Internal view of a whole valve. Fig. 2. Internal central view. Weakly silicified accessory rib runs across the central area (double arrowhead). Two raphe branches are connected into one at the internal central fissure (arrowhead). Fig. 3. Internal polar view. Accessory rib (double arrowhead). The raphe ends apically in an ovate, ventrally bent helictoglossa (arrowhead).

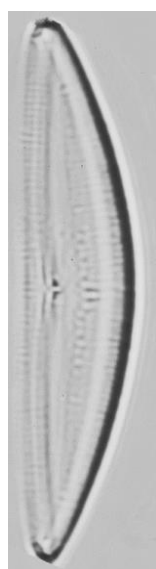
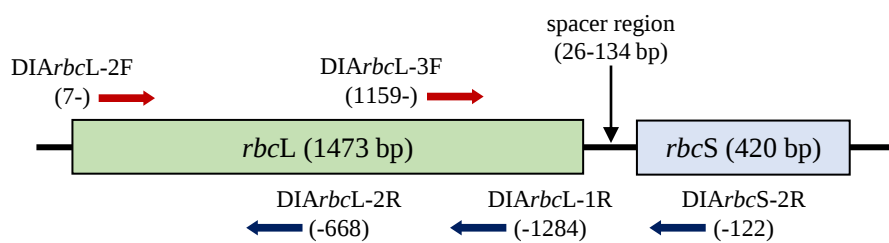


Pl. 31. *Seminavis* sp. 2. Girdle views of a frustule. Ventral side. SEM.
 Fig. 1. Girdle view of a whole frustule. Fig. 2. A terminal view of frustule, showing a valvocopula (VC), a segment (B2), a third band (B3) and a fourth band (B4). Fig. 3. The other terminal view of frustule, showing a valvocopula (VC) and a third band (B3).

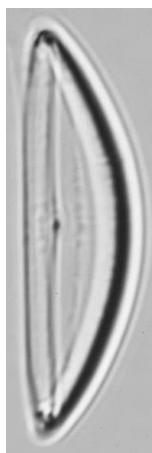


Pl. 32. *Seminavis* sp. 2. Girdle views of a frustule. Dorsal side. SEM.
 Fig. 1. Girdle view of a whole frustule. Fig. 2. A terminal view of frustule, showing a valvocopula (VC) and a third band (B3). Fig. 3. The other terminal view of frustule, showing a valvocopula (VC), a segment (B2), a third band (B3) and a fourth band (B4).

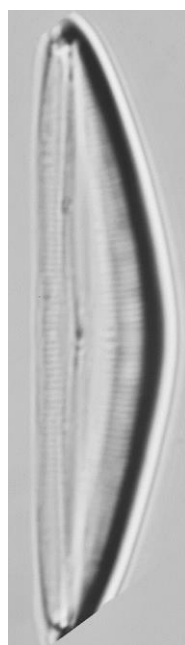
1



2



3

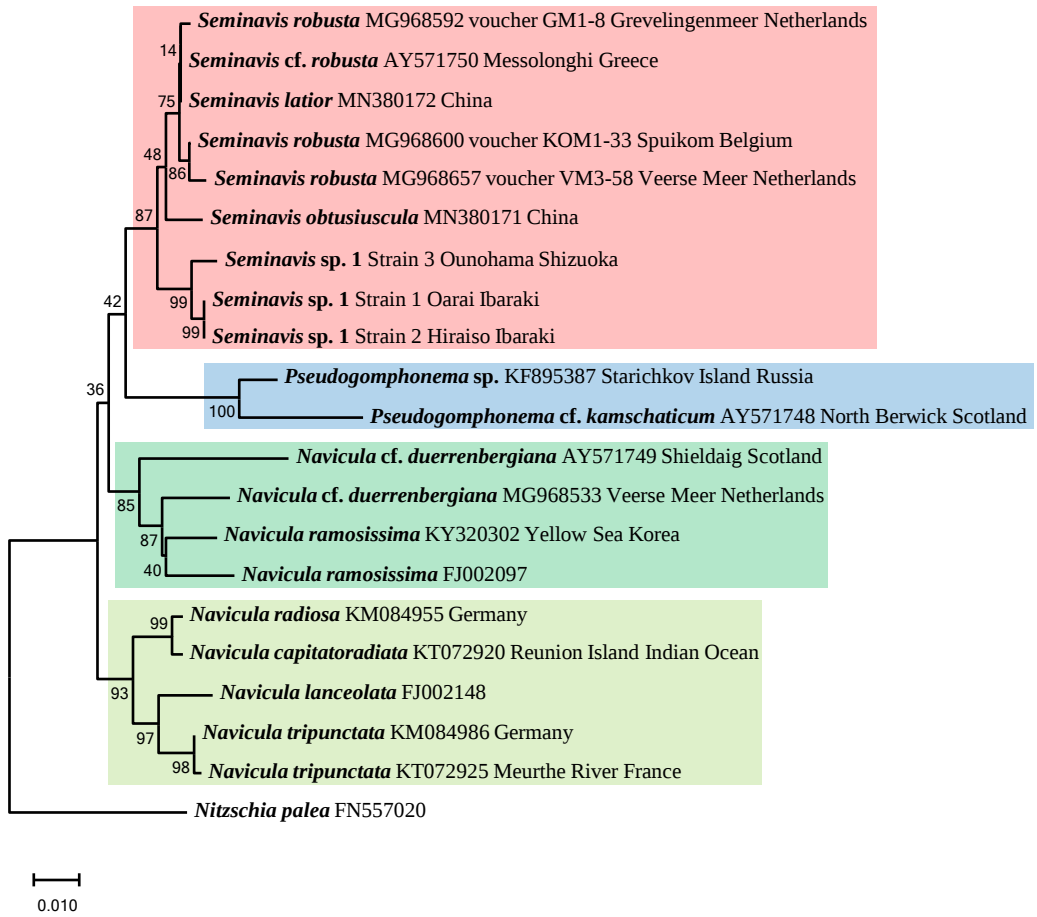


4



Pl. 33. Materials of molecular phylogenetic analysis.

Fig. 1. Primer map. Fig. 2. Valve view of clone 1. LM. Fig. 3. Valve view of clone 2. LM. Fig. 4. Valve view of clone 3. LM.



Pl. 34. Phylogenetic tree.

Fig. 1. Phylogeny using *rbcL* sequences. Bootstrap values are obtained from 1000 replications based on the neighbor-joining method.