

## I. はじめに

独立行政法人国立環境研究所微生物系統保存施設 (NIES コレクション) では、現在、シアノバクテリア、真核微細藻類、原生動物、および絶滅が危惧される淡水産大型藻類を含む 2500 株以上の株を系統保存している。保存株の多くは、分離・開発した研究者から直接寄託された株で、一部、他の保存施設に保存されていたものが機関間の交換や研究者を経て寄託された株も含まれている。これらの保存株のうち公開されている 2148 株を本リストに掲載した (Table 1)。これらは、分譲にあたっての同意事項に従い、研究、開発、教育のために分譲されている。

また、NIES コレクションは、環境問題解明やその他の基礎、応用研究にとって重要な培養株の寄託、およびシアノバクテリアのタイプ株や、真核藻類のタイプ標本としての凍結保存試料の寄託を受けつけている。

### 株の維持

保存株の四分の三に相当する約 2000 株は、培養温度 5 ~ 25°C (好熱性の株の場合は 37 または 45°C)、光量子密度 4 ~ 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  の 12 時間明暗周期といった最適培養条件あるいはそれに近い培養条件で、10 日 ~ 6 ヶ月の間隔で継代培養されている。これらの保存条件は株ごとに異なり、株リストのそれぞれの株データ中に示されている。また、NIES コレクションでは、継代培養株を失わないよう毎週 1 度、保存株の生育状態の確認を行っている。さらに、無菌検査培地を用いた無菌株の無菌検査を年 1 回行っている。

残りの約 600 株 (シアノバクテリアの多くや、緑藻や紅藻の一部の株) については、気相の液体窒素中で凍結保存のみで維持している。

### 学名と系統

学名は基本的には寄託者によってつけられた名前がそのまま使われているが、一方で、一部の株については、DNA 塩基配列 (主として 18S rRNA 遺伝子) の解析による再同定を行っている。誤同定等が判明した場合や、改訂などによって学名が変更された場合には、それぞれの株の保存株データに “Formerly identified as:” として前名を示し、種名を修正した。NIES コレクションによる DNA 解析で誤同定が判明した場合は、遺伝子情報とともに “Identified by:” の欄に “Re-identified at NIES by DNA sequencing” と示し、種名が正しいことが確認された場合は “Confirmed at NIES by DNA sequencing” と示した。今後も引き続き再同定を行っていく予定である。

シアノバクテリアのマイクロキスティス属については、日本で発生するアオコに 5 つの形態種 [*M. aeruginosa* (Kützing) Kützing, *M. ichthyoblabe* Kützing, *M. novacekii* (Komárek) Compère, *M. viridis* (A. Braun) Lemmermann emend.

Kondrateva, *M. wesenbergii* (Komárek) Komárek in Kondrateva] が報告されている。これらの 5 形態種の形態的可塑性と DNA/DNA 雑種形成の結果から、Otsuka *et al.* (2001) はこれらの 5 形態種を 1 つの細菌種に統合することを提案している。この改訂はまだ正式に認められていないが (Oren 2004)、NIES コレクションでは、この提案を受け入れ、これまで 5 つの形態種に分類されていたマイクロキスティスの種名を *M. aeruginosa* に統合した。それまで使用していた種名はシノニム、あるいは前名としてそれぞれの保存株データ中に示し、学名として仮に “*Microcystis aeruginosa* (Kützing) Lemmermann” を用いた。

### 歴史と株の特徴

NIES コレクションは 1983 年に、環境問題を指向したコレクションとして設立された。設立当時、日本では、湖沼の富栄養化や水質汚濁、環境汚染による人の健康被害は今よりもさらに深刻な問題となっていた。設立当時の公開株数は 250 株程度であり (Watanabe & Kasai 1985)、その後株数は増加し、現在は本リストに示すように 2000 株を越えた。これらの株は、赤潮やアオコの原因種や、有毒種として、また、独立栄養、従属栄養、さらに混合栄養生物といった食物網の主要な構成員として、環境研究にきわめて重要な株である。また、抗酸化物質やバイオ燃料といった有用物質を生産し、人の健康や地球温暖化防止に貢献する藻類も含まれている。NIES コレクションを特徴付けているのは、現在でも、設立当時から収集されている赤潮形成藻 *Chattonella antiqua* や *Heterosigma akashiwo*、アオコ形成藻 *Microcystis aeruginosa* であるが、近年、水界生態系での重要性が認識されたピコプランクトンや従属栄養性の原生動物の培養株も、その後多数追加されている。

1990 年代半ばになると、NIES コレクションでは絶滅危惧藻類の域外保全を開始した。環境省は「日本における絶滅の危機に瀕した野生生物のリスト (レッドリスト)」を 2007 年に改訂し、絶滅、野生絶滅、絶滅危惧 I 類、絶滅危惧 II 類を含めて 116 種の藻類を絶滅危惧藻類に選定した (環境省 2007)。これらの絶滅危惧藻類の多くはシャジクモ類と紅藻 (多くは淡水産) である。日本におけるこれらの藻類は、富栄養化、生息地破壊、ソウギョの導入といった人為的な環境の改変によって減少を続けてきた (Watanabe *et al.* 2005)。現在、NIES コレクションでは約 300 株のシャジクモ類と淡水産紅藻を保存している。この絶滅危惧藻類の保存の一部は、2002 年から環境省・環境試料タイムカプセル化事業の支援を受けて実施している。

2002 年に、NIES コレクションは文部科学省のナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP) における藻類リソースの中核機関に選定された。2002 ~ 2006 年の第 1 期には、日

本中の代表的な富栄養湖沼から採集された 200 株以上のミクロキスティスやアナベナ株、および進化系統的に重要な微細藻類や原生動物の培養株が、国立科学博物館と筑波大学からそれぞれ寄託された。さらに、東京大学分子細胞生物学研究所 IAM コレクションで保存されていた 300 株余りのシアノバクテリアおよび真核微細藻類が 2006 年度末までに NIES コレクションに移管された。これら NBRP の活動によって、最終的に、環境問題や進化上の重要種ばかりでなく、これまでにゲノム解析、分子生物学、遺伝学、生理学など多くの研究分野で利用されてきた *Cyanidioschyzon merolae* (10D 株)、*Chlamydomonas reinhardtii* (C-9 株)、*Chlorella vulgaris* (Tamiya strain)、*Thermosynechococcus elongatus* (BP-1 株) といった培養株が NIES コレクションに収集された。NBRP 第 2 期 (2007 ~ 2011 年) では保存株データのさらなる収集や保存株の品質管理体制の整備を目指している。

2007 年には、真核藻類のタイプ標本としての凍結保存試料の寄託受付を開始した。研究者が凍結保存試料を作成するのは困難な場合が多いことから、NIES コレクションでは凍結保存試料の作成を支援するシステムを検討している。しかし、現在の技術では凍結保存が困難な種類が多いこと、また、基本的業務である培養株の維持に多大な手間と時間がかかることから、要望に応えられない場合もあるので、現在タイプ標本の寄託を検討されている方は、必ず、記載論文を投稿する 1 年前までには NIES コレクションに相談していただくようお願いしたい。

また、NIES コレクションは、2008 年 7 月にホームページを刷新し、オンラインによる分譲依頼の受付を開始した。この新システムによって NIES 株がより利用しやすくなることをスタッフ一同願っている。

NIES コレクションでは、設立当初から「国立環境研究所微生物系統保存株評価委員会」が、寄託条件に従った寄託株の受け入れ評価や保存株の評価を行っている。現在、委員会は 9 人の所内研究者からなる委員と 6 人の外部有識者 (顧問) で構成されている (IX 章参照)。また、ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP) 開始後は、特に実験材料としての藻類株の収集について、NBRP 藻類運営委員会 (IX 章参照) に諮問している。

## 謝辞

日頃の保存業務および本リスト作成にあたり以下の方々にご協力いただいた。心から感謝する。

中山剛氏 (微細藻類および原生動物の分類および分類体系)、渡邊信 (まこと) 氏・渡邊真之氏・大塚重人氏 (シアノバクテリアの分類)、野崎久義氏 (命名規約、群体性緑藻の培養・シャジクモ類の分類)、坂山英俊氏 (シャジクモ類の分類・培養)、熊野茂氏 (淡水産紅藻の分類)、渡辺信 (しん) 氏 (緑藻の分類)、堀口健雄氏 (渦鞭毛藻の分類)、横山亜紀子氏 (単細胞紅藻の分類)、真山茂樹氏 (珪藻の分類・培養)、吉松定昭氏 (渦鞭毛藻の培養)、池内昌彦氏 (好熱性シアノバクテリアの培養)、大村嘉人氏 (地衣類共生藻の分類・培養)、マリーエレン・ノエル氏 (円石藻の培養に関する助言と援助)、ジョン G. デイ氏・皆川純氏・西井一郎氏 (凍結保存法に関する助言)、彼谷邦光氏・佐野友春氏・田辺雄彦氏 (シアノバクテリア株の貴重な情報)、本間隆満氏 (シアノバクテリア *Pseudanabaena* の同定)、仲田崇志氏 (緑藻類の分類、命名規約)、ナショナルバイオリソースプロジェクト藻類運営委員会 (藻類リソース収集に関する重要な助言)。

## 引用文献

- 環境省 2007. <http://www.env.go.jp/press/press.php?serial=8648>
- Oren, A. 2004. A proposal for further integration of the cyanobacteria under the Bacteriological Code. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 54: 1895-1902.
- Otsuka, S., Suda, S., Shibata, S., Oyaizu, H., Matsumoto, S. & Watanabe, M. M. 2001. A proposal for the unification of five species of the cyanobacterial genus *Microcystis* Kützing ex Lemmermann 1907 under the rules of the Bacteriological Code. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51: 873-879.
- Watanabe, M. M. & Kasai, F. 1985. NIES-Collection List of Strains Microalgae. pp. 116
- Watanabe, M. M., Nozaki, H., Kasai, H., Sano, S., Kato, N., Omori, Y., & Nohara, S. 2005. Threatened states of the Charales in the lakes of Japan. In: Kasai, F., Kaya, K. & Watanabe, M. M. (eds.) *Algal Culture Collections and the Environment*. pp. 217-236. Tokai University Press, Hadano.

## I. INTRODUCTION

The Microbial Culture Collection at the National Institute for Environmental Studies (NIES-Collection) currently holds more than 2500 strains, which include cyanobacteria, eukaryotic microalgae, protozoa, and endangered macroalgae. Most of the NIES strains have been directly deposited by their isolators, whereas some strains have been deposited from other culture collections by exchange between collections and via researchers. Herein are listed 2148 of these strains (Table 1), they are available for education, research, and development in accordance with the “Agreement for distribution” on p. 235. The NIES-Collection accepts the deposition of strains that are environmentally important, as well as those for basic and applied studies. The collection also accepts the deposition of type strains of cyanobacteria and type specimens of eukaryotic microalgae as frozen samples.

### MAINTENANCE OF STRAINS

About 3/4 of the NIES strains (about 2000 strains) are maintained by subculturing under optimal and/or sub-optimal conditions mostly ranging from 5°C to 25°C (37°C or 45°C for thermophilic strains) and 4 to 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  photon flux density in a 12-h-light:12-h-dark photo-regime. The strains are serially transferred at 10-day to 6-month intervals. These maintenance conditions differ with the algal strain and are indicated in individual strain data (pp. 11-199). To prevent loss of the strains during maintenance by subculturing, we conduct weekly growth checks. Once a year, we also check axenic strains for the absence of bacteria by using several bacterial check media.

The remaining strains—about 600 strains including most of the cyanobacterial strains and some of the green and red algal strains—are cryopreserved only, in the vapor phase of liquid nitrogen.

### SCIENTIFIC NAMES AND PHYLOGENY

The scientific names of the NIES strains are primarily given by the depositors. However, we have used DNA sequencing (mostly of the 18S rRNA gene) to re-evaluate those NIES strains for which DNA sequence data have not yet been reported. As a result, we have changed the scientific names of the misidentified strains, although we have left their former names as “Formerly identified as.” We have also added “Re-identified at NIES by DNA sequencing” in “Identified by” and if the original scientific names of these strains were appropriate, we have simply

indicated “Confirmed at NIES by DNA sequencing”, with gene names and accession numbers in “Gene data.” We are still re-evaluating the remainder.

For the cyanobacterial genus *Microcystis*, five morpho-species [*M. aeruginosa* (Kützing) Kützing, *M. ichthyoblabe* Kützing, *M. novacekii* (Komárek) Compère, *M. viridis* (A. Braun) Lemmermann emend. Kondrateva, and *M. wesenbergii* (Komárek) Komárek in Kondrateva] have been reported as water blooms in Japan. Recently, Otsuka *et al.* (2001) published a proposal that these five species should be unified into one bacterial species, *M. aeruginosa*, because of their morphological plasticity and similarity in terms of DNA/DNA hybridization. Although this emendation has not been validated yet (Oren 2004), we have accepted this proposal and have changed the species names of the strains formerly identified as the above-mentioned five morphospecies to *M. aeruginosa*. However, we are leaving the former names as “Formerly identified as:” in the individual strain data, and in this list we use “*Microcystis aeruginosa* (Kützing) Lemmermann” temporarily.

### HISTORY AND CHARACTERISTICS OF STRAINS

The NIES-Collection was founded as an “environmental study-oriented” culture collection in 1983, when environmental problems such as eutrophication of lakes and rivers, air and water pollution, and human health problems caused by environmental pollution were much more severe than nowadays in Japan. The NIES-Collection started with ca. 250 strains (Watanabe & Kasai 1985), and the number of strains has since increased to more than 2000, as listed herein.

These strains are critically important in environmental studies, both as organisms that cause outbreaks such as red tides and water blooms—and sometimes produce toxins—and as autotrophic, heterotrophic, and mixotrophic components of the food web. In addition, some of the strains could contribute to human health and protection from global warming both directly and indirectly, by producing beneficial substances such as antioxidants and biofuels.

Recently, the NIES-Collection has added many picoplanktonic and heterotrophic strains, the importance of which in the aquatic ecosystem has recently been recognized, although red-tide-forming algae, such as *Chattonella antiqua* and *Heterosigma akashiwo* and water-bloom-forming cyanobacteria such as *Microcystis*

*aeruginosa* still characterize the NIES-Collection.

In the mid-1990s, the NIES-Collection started *ex situ* conservation of endangered algae in Japan. In the list of endangered Japanese wildlife (the red list) compiled by the Ministry of Environment (2007), 116 taxa (species and varieties) of algae are listed as extinct, extinct in the wild and endangered species in Japan. Most of them are Charales and red algae (mostly freshwater taxa). Local populations of these algae have decreased in Japan owing to anthropogenic stresses such as eutrophication, habitat loss, and the introduction of grass carp (Watanabe *et al.* 2005). At present, the NIES-Collection holds ca. 300 strains of these endangered algae, including Charales and freshwater red algae. The collection of endangered species is partly supported by the Time Capsule Project conducted by the Ministry of Environment of Japan from 2002.

In 2002 the NIES-Collection was selected as the core collection for algae in the National BioResource Project (NBRP) conducted by the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan. In the first phase of the NBRP (FY 2002–2006), more than 200 strains of *Microcystis* and *Anabaena*, collected from representative eutrophic lakes all over Japan were deposited by the National Science Museum, together with phylogenetically diverse strains of microalgae and protozoa deposited by the University of Tsukuba. In addition, more than 300 strains of cyanobacteria and eukaryotic microalgae maintained at the IAM Collection (University of Tokyo) had been transferred to the NIES-Collection up until the end of FY 2006, when the IAM Collection was closed. Finally, both environmentally and evolutionarily important species, as well as experimental materials that have been well-studied in genomic, genetic, molecular, and physiological terms — such as *Cyanidioschyzon merolae* (10D), *Chlamydomonas reinhardtii* (C-9), *Chlorella vulgaris* (Tamiya strain), and *Thermosynechococcus elongatus* (BP-1)—have been gathered into the core NIES-Collection. The second phase of the NBRP will continue until the end of FY 2011; during this phase we aim to accumulate strain data and institute quality control of the strains.

In 2007, the NIES-Collection started to accept the deposition of type specimens of eukaryotic microalgae as frozen materials. We are considering a supporting system to make frozen samples, since the preparation of frozen samples is usually impractical for individual researchers. However, we may not accept requests from researchers, because most of eukaryotic algae are difficult to make frozen samples by using ordinary cryopreservation techniques with high viability after thawing. In addition, we

have limited time to spend on such services. Therefore, we request researchers who are thinking about the deposition of type materials to contact us at least one year before submission of manuscripts.

In July 2008, the NIES-Collection renewed its website and started an online ordering service. We hope that the new system will enhance the availability of the NIES strains.

From the start of the collection, the Committee for Evaluating Microbial Culture Strains has evaluated the NIES strains upon deposition on the basis of conditions described below on p. 233. At present, the committee includes nine researchers at NIES and six supervisors outside NIES. In addition, since 2002 the NIES-Collection has been supervised by the Steering Committee of the NBRP Algae (see section IX).

#### ACKNOWLEDGMENTS

We thank Dr. Takeshi Nakayama (University of Tsukuba) for critical comments and helpful advices on the taxonomy and systematics of microalgae and protozoa; Prof. Makoto M. Watanabe (University of Tsukuba), Dr. Masayuki Watanabe (National Science Museum), and Dr. Shigeto Otsuka (University of Tokyo) for comments and advices on the taxonomy of cyanobacteria; Dr. Hisayoshi Nozaki (University of Tokyo) and Dr. Hidetoshi Sakayama (University of Tokyo) for the taxonomy of the Charales; Dr. Shigeru Kumano for the taxonomy of freshwater red algae; Prof. Shin Watanabe (Toyama University) for comments on the taxonomy of green coccid algae; Prof. Takeo Horiguchi (Hokkaido University) for advices on the taxonomy of dinoflagellates, Dr. Akiko Yokoyama (Yamagata University) for the taxonomy of unicellular red algae; Prof. Shigeki Mayama (Tokyo Gakugei University) for advices on the taxonomy and culture of diatoms; Dr. H. Nozaki and Dr. Sadaaki Yoshimatsu (Akashiwo Research Institute of Kagawa Prefecture) and Prof. Masahiko Ikeuchi (University of Tokyo) for their kind advices on the culture of volvocean algae, dinoflagellates and thermophilic cyanobacteria, respectively; Dr. Yoshihito Ohmura (National Science Museum) for the taxonomy and culture of lichen algae; Dr. Mary-Hélène Noël for valuable advices and generous help, especially for coccolithophorid and dinoflagellate cultures; Dr. John G. Day (CCAP, SAMS UK), Prof. Jun Minagawa (Hokkaido University) and Dr. Ichiro Nishii (RIKEN) for advices on cryopreservation; Prof. Kunimitsu Kaya (University of Tsukuba), Dr. Tomoharu Sano (NIES) and Dr. Yuuhiko Tanabe (University of Tsukuba) for valuable information on cyanobacterial strains; Dr. Takamitsu Honma (Ibaraki Kasumigaura Environmental Science Center)

for identification of *Pseudanabaena* strains; Dr. Takeshi Nakada (Keio University) for kind advice on the taxonomy of volvocean algae; and the member of the steering committee of National BioResources Project (Algae) for critical advices on the collection of algal resources.

## REFERENCES

- Ministry of Environment 2007. <http://www.env.go.jp/press/press.php?serial=8648>
- Oren, A. 2004. A proposal for further integration of the cyanobacteria under the Bacteriological Code. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 54: 1895-1902.
- Otsuka, S., Suda, S., Shibata, S., Oyaizu, H., Matsumoto, S. & Watanabe, M. M. 2001. A proposal for the unification of five species of the cyanobacterial genus *Microcystis* Kützing ex Lemmermann 1907 under the rules of the Bacteriological Code. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51: 873-879.
- Watanabe, M. M. & Kasai, F. 1985. NIES-Collection List of Strains Microalgae. pp. 116
- Watanabe, M. M., Nozaki, H., Kasai, H., Sano, S., Kato, N., Omori, Y., & Nohara, S. 2005. Threatened states of the Charales in the lakes of Japan. In: Kasai, F., Kaya, K. & Watanabe, M. M. (eds.) *Algal Culture Collections and the Environment*. pp. 217-236. Tokai University Press, Hadano.

Table 1. Numbers of genera, species, and strains available from the NIES-Collection.

Upper Rank (Superkingdom /Kingdom)	Phylum	Class	Numbers of				
			Genera	Species	Strains		
Bacteria	Cyanophyta (Cyanobacteria)	Cyanophyceae	38	91	630		
Plantae	Glaucophyta	Glaucophyceae	2	3	7		
		Rhodophyta	Compsopogonophyceae	2	2	4	
		Cyanidiophyceae	2	2	5		
		Florideophyceae	3	8	254		
		Porphyridiophyceae	1	2	12		
		Rhodellophyceae	1	1	3		
		Stylonematophyceae	1	1	3		
	Chlorophyta	Chlorophyceae	67	190	437		
		Pedinophyceae	2	2	3		
		Prasinophyceae	9	21	55		
		Trebouxiophyceae	21	34	112		
		Ulvophyceae	6	9	12		
		Charophyceae	26	77	212		
	Streptophyta	Mesostigmatophyceae	1	1	5		
		Euglenozoa	Euglenophyceae	4	8	14	
Excavata	Metamonada	Kinetoplastea	1	1	1		
		Trepomonadea	2	2	2		
	Metamonada <i>incertae sedis</i>	3	3	3			
Rhizaria	Percolozoa	Percolomonadea	1	1	1		
	Cercozoa	Chlorarachniophyceae	1	1	2		
Alveolata	Foraminifera	Imbricatea	2	2	3		
		Foraminifera	1	1	1		
	Ciliophora	Oligohymenophorea	1	1	1		
	Dinophyta	Dinophyceae	24	43	97		
Stramenopila	Heterokontophyta	Oxyrrhea	1	1	1		
		Aurearenophyceae	1	1	3		
		Bacillariophyceae	22	29	51		
		Chrysomerophyceae	1	1	1		
		Chrysophyceae	11	14	18		
		Dictyochophyceae	5	5	8		
		Eustigmatophyceae	2	3	4		
		Pelagophyceae	2	2	5		
		Phaeophyceae	1	1	1		
		Pinguiphyceae	1	1	2		
		Raphidophyceae	7	12	50		
		Schizocladiphyceae	1	1	1		
		Xanthophyceae	4	5	6		
		Heterokontophyta <i>incertae sedis</i>	1	1	1		
		Cryptista	Stramenopila <i>incertae sedis</i>	Bicoecia	2	2	2
				Bigyromonadea	1	1	1
	Placididea			2	2	3	
Cryptophyta	Cryptophyceae			3	20	45	
Goniomonadea	1			3	4		
Haptophyta	Kathablepharida	Kathablepharidea	2	2	3		
		Haptophyta	Pavlovophyceae	1	2	8	
Opisthokonta	Choanozoa	Prymnesiophyceae	15	20	50		
		Choanoflagellata	1	1	1		
<b>TOTAL</b>			<b>310</b>	<b>637</b>	<b>2148</b>		