

凍結環境で霜柱状コロニーを形成する南極産担子菌酵母の特性

Physiological characteristics of Antarctic basidiomycetous yeast formed frost column-like colonies on frozen condition

伊藤正伸^{1,2}, 藤生誠一^{2,3}, 松山英俊¹, 星野 保^{2,3}

¹東海大学, ²産業技術総合研究所, ³北海道大学理学院

Masanobu ITO^{1,2}, Seiichi FUJII^{2,3}, Hidetoshi MATSUYAMA¹, Tamotsu HOSHINO^{2,3}

¹Tokai University, ²National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST),
³Graduate School of Science, Hokkaido University,

Snow-free terrestrial ecosystem composing mosses was found in coastal oasis in Antarctica. This ecosystem kept that fungi and other living organisms adapted to the frozen environment. Fujiu (2010) isolated a basidiomycetous yeast, *Leucosporidium antarcticum* that formed frost column-like colonies on frozen potato dextrose agar (PDA) plates from Soya coast, Lützu-Holum Bay, East Antarctica.

Many living organisms accumulate in low molecular weight compounds such as glycerol and trehalose in intracellular and extracellular portions to prevent the intracellular frozen. In this study, we elucidated in effects these cell protective substances on the physiological significance of frost column-like colonies in *L. antarcticum*.

Glycerol stock solution was prepared from cultivated in potato dextrose broth (PDB) of isolate S4B at 10°C and added in same amount of 50% (V/V) glycerol solution, and this solution was used as a fungal inoculum. *L. antarcticum* was inoculated into PDA and PDB before media were frozen at -80°C for 1 day. Frozen media were transferred and incubated at -1°C kept a frozen state. Cell growth with glycerol coexistence was observed on frozen media, however frost column-like colonies were not formed in this condition. On the other hand, cells were widely spread on culture media plates. Therefore, we estimated that *L. antarcticum* cells with glycerol migrated and grew to unfrozen components containing concentrated nutrients and liquid water into frozen media. Similar cell growth patterns were observed from other Antarctic fungi isolated from frozen media. These results suggested that *L. antarcticum* with low molecular weight protective substances showed normal fungal colonies of other Antarctic fungi on frozen media.

南極大陸沿岸には、夏季、融雪によって現れる露岩域にコケ類を中心とした陸上生態系が存在する。この生態系には、凍結環境に適応する菌類が存在すると予想し、藤生 (2010) は、宗谷海岸露岩地域にて採集した試料を培地に接種・凍結後、-1°Cにて凍結状態を維持したまま培養を行い、凍結培地上で特徴的な白色の霜柱状の凍結状態を保持したコロニーを形成する菌株を分離した。分離菌株を形態観察、分子生物学手法により担子菌酵母 *Leucosporidium antarcticum* と同定し、基準菌株においても同様なコロニー形成を確認した。

一方、多くの生物では細胞凍結を防止するため、グリセロールやトレハロースなどの低分子化合物を細胞内外に蓄積することが知られている。本研究では、微生物の凍結保存の際に広く利用されているグリセロール存在下において *L. antarcticum* の凍結培養を行い、グリセロールの霜柱状コロニー形成への影響を検討し、*L. antarcticum* に霜柱状コロニーの生理的意義を明らかにすることを目的とした。

分離菌株 S4B をポテトデキストロース液体培地 (PDB)、10°Cにて培養し、これに 50% (V/V) のグリセロール水溶液を等量添加し、作成したグリセロールストックを接種源として用いた。これをポテトデキストロース平板寒天 (PDA) および PDB に接種・凍結後、-1°Cにおいて凍結状態を維持したまま培養を行った。グリセロール存在下では、凍結培養によって細胞増殖は確認されたが、明確な霜柱状コロニーの形成は認められなかった。一方、本菌が培地上に広く分散して存在することを確認した。これは、*L. antarcticum* 細胞がグリセロールと共に凍結培地上の未凍結成分中に移動し、この状態で未凍結水および培地成分を吸収し、成長するためと考えた。尚、同様の増殖形態は、凍結培養にて分離された *L. antarcticum* を除く全ての南極産菌株にて確認している。上記の結果より、*L. antarcticum* は低分子不凍成分の存在下では、凍結状態において他の菌類と同様の性質を示すことを明らかとなった。