

## Diversity of cold-adapted ciliates from glacier snow and cryoconite in Arctic region

Jun Uetake<sup>1,2</sup>, Kazuhide Satow<sup>3</sup>, Ryo Kaneko<sup>4</sup>, Hideaki Motoyama<sup>2</sup>, Yoshiyuki Fujii<sup>2</sup>, Matt Nolan<sup>5</sup>, Shuhei Takahashi<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Transdisciplinary Research Integration Center

<sup>2</sup> National Institute of Polar Research

<sup>3</sup> Nagaoka National College of Technology

<sup>4</sup> Tokyo University

<sup>5</sup> University of Alaska Fairbanks

<sup>6</sup> Kitami Institute of Technology

Glacier environments are known habitats for cold-adapted and psychrophilic microorganisms. Most extreme condition on glacier is snow in high altitude accumulation area (glacier snow) which ice core can be excavated. Even in accumulation area, previous studies show that inhabitation of some microorganisms (algae, fungi, yeast, bacteria). On the other hands, low altitude ablation area is hot spot of psychrophilic microorganisms, because of adequate supply of melt water and nutrients. Dark-colored organic material called cryoconite keep the habitat consisting of many species of microorganisms. Therefore, community of microorganisms in glacier snow is completely different from that of cryoconite. To compare the microbial diversity between glacier snow and cryoconite, we would understand biological processes forming cryoconite from less diverse glacier snow and can find the key species on glacial environment. In order to compare the difference of microbial diversity, we had analyzed molecular diversity of microorganisms in surface snow pit in McCall Glacier, Brooks Range, Alaska and cryoconite in Russel Glacier, Greenland.

In McCall Glacier, We found small ciliates and bacteria are highly concentrated to snow layers from 1.50-1.55 m depth. This layers do not correspond to the peaks of wind-blown pollen and mineral particles and also to small particles (1-1.43  $\mu$ m) as same size as typical coccoid bacteria. Therefore, these microorganisms were not blown by wind, but also inhabitants in this layer. Strong correlation between small ciliates and bacteria show these ciliates prey on bacteria. Small ciliates are belong to family: *Oxytrichidae* and order: *Haptorida* by single cell PCR and 18S rRNA clone analysis. As the ciliate *Haptorida* is group have toxicysts and prey on eukaryote include other ciliate, this species would be a top predator in snow. In cryoconite from Greenland, We had found many variety of eucaryote including fresh water ameba, tardigrade, green algae, yeast, cercozoa and 4 groups of ciliates. 2 of four groups of ciliates are common to clone from Dry Valley, Antarctica and glacier snow in this study.

氷河消耗域において、微生物活動によりクリオコナイトと呼ばれる黒色の粒状構造を形成され、これらがアルベドを低下させる作用がある。このため近年急速に進んでいる氷床の融解、後退などと関連して注目されている。氷河上でのクリオコナイトの形成には、生物的また物理的な作用が考えられるが、これまでクリオコナイト形成に至るまでの、生物的な変遷のプロセスは明らかになっていなかった。そこで本研究では微生物生態系の初期と考えられる氷河の涵養域から採取されたサンプルと消耗域のクリオコナイトにおける微生物の多様性を比較し、クリオコナイト形成に至るまでの key species を明らかにする。

2004年5月20日に2.22mのピットを掘り、約5cmインターバルで試料を採取した。採取した試料は冷凍で日本に輸送し、国立極地研究所のクリーンルーム内にて融解、各分析用に分注した。冷凍サンプルを融解し、スーポア100(0.1 $\mu$ m)に約10mlの試料をろ過した。ろ過後のフィルターは、PCRチューブに入れ全ゲノム増幅試薬：REPLI-g midiキット(QIAGEN)を使用しチューブ内でアルカリ抽出およびMultiple Displacement Amplificationを行った。増幅産物をテンプレートに18S rRNA全長を増幅させ、クローニングした。

積雪中からは、バクテリア、小型の真核生物、および10種類の花粉が観察された。バクテリアは粒径が同程度の風送鉱物粒子(1-1.43 $\mu$ m)のピークと一致しない事から、風送および融解水により流下してきたのではなく現地で増殖していた可能性が考えられる。バクテリアが増殖した積雪層は融解の影響を受けてざらめ雪化している事から、増殖にある程度の融解が必須であった事が考えられるが、イオンやDOCなどとの関連はみられなかった。小型の真核生物の高濃度層は、バクテリアと非常に良く一致していた。18S rRNAのクローン解析の結果、オキシトリカ科(*Oxytrichidae*)とシオカメウズムシ目(*Haptorida*)に属する繊毛虫のクローンが多数検出された。また小型真核生物細胞を顕微鏡下で1細胞に単離、全ゲノム増幅、18S rRNAシーケンスした結果もオキシトリカ科(*Oxytrichidae*)に近縁であったことから、小型真核生物はこれらを含む小型の繊毛虫である事が示された。このことから、小型繊毛虫は積雪中でバクテリアを補食し、増殖している可能性が示唆された。