

10 G で生育したヒメツリガネゴケ茎葉体の機械的性質

新濱梨奈 (富山大・学)、森 耀久 (富山大・院)、小野田雄介 (京大)、長嶋寿江 (東北大)、久米 篤(九大)、唐原一郎 (富山大)、半場祐子 (京都工繊大)、藤田知道 (北大)、蒲池浩之 (富山大)

Mechanical Properties of the *Physcomitrella patens* Gametophores Grown at 10 G

Rina Shinhama, Akihisa Mori, Yusuke Onoda, Hisae Nagashima, Atsushi Kume, Ichirou Karahara, Yuko T. Hanba, Tomomichi Fujita, Hiroyuki Kamachi*

*University of Toyama, 3190 Gofuku, Toyama 930-8555
E-Mail: kamachi@sci.u-toyama.ac.jp

Abstract: Terrestrial plants can adapt to the gravity conditions other than earth's gravity, 1 G, by regulating the stability and stiffness of their bodies. Such the gravity response is called gravity resistance. In the most primitive terrestrial plants, bryophytes, however, the gravity resistance still remains unknown. In this study, we examined the effects of hypergravity on the mechanical properties of the stem of the moss *Physcomitrella patens* gametophores, using a three-point bending test. The results showed that elastic modulus and flexural rigidity of the stem did not change significantly by the 10-G treatment. On the other hand, buckling safety factor of the stem significantly increased by the 10-G treatment, because of shorter length, wider diameter and lighter mass in the 10-G treated gametophores. These results suggest that the gravity resistance of the *P. patens* gametophores is mainly regulated by changing morphological properties of the stem, but not the cell wall rigidity.

Key words: Bending test, Hypergravity, Mechanical properties, *Physcomitrella patens*

1. はじめに

陸上植物は、重力に抗してその体を支えるために、茎の形状や材質を調節しながら成長している。このような重力応答は、抗重力反応¹⁾とよばれ、背の高い植物ほど、太く頑強な茎や幹を有しているのはそのためである。茎の形状や材質は、実際に重力の大きさに依存して変化することも、過重力実験や微小重力(宇宙)実験を通して確かめられている。例えば、微小重力環境下で植物を育てると、細長く徒長した茎が形成されるのに対し、過重力環境下では、太く短い茎が形成される。

茎の機械的強度を考える上で、細胞壁はもっとも重要な構造物である。細胞壁は単なる静的な構造物ではなく、重力環境に応じてその成分や性質を変化させ、その機械的強度が重力によりコントロールされている。例えば、細胞壁の主成分であるセルロース含量、マトリックス多糖類の分子サイズや架橋の度合い、あるいはリグニン化による二次壁形成等、細胞壁の様々な特性が重力環境に応じて変化することが知られている^{1),2)}。このような、重力による細胞壁物性の変化は、茎の形状変化と共に重要な抗重力反応の一つである。抗重力反応のしくみを理解することは、植物がかつて水中から陸上へと進出した適応過程を理解するのに役立つと同時に、異なった重力環境下での植物の成長を予測する上でも重要である。

我々は、抗重力反応の普遍性や多様性についての理解を深めるため、原始的な陸上植物であるコケ植物のヒメツリガネゴケを用いて、その過重力栽培実験系の確立と栽培実験を繰り返し行ってきた³⁾⁴⁾。ヒメツリガネゴケは、原糸体を培地に張り巡らし、そこから維管束植物のシュートに似た茎葉体を分化させながら成長していく。ヒメツリガネゴケを10 G程度の過重力下で1~2ヵ月間生育させると、抗重力反応として、茎葉体の茎が太く短くなることが分かった⁴⁾⁵⁾。この結果は、コケ植物においても、維管束植物の茎で見られるような形状変化による抗重力反応が起こっていることを示している。

一方、細胞壁の物性が過重力環境下でどのように変化しているのかについては、まだ調べられていない。そこで本研究では、ヒメツリガネゴケにおける細胞壁の物性が過重力によってどのように変化するかを明らかにするため、10 G 処理した茎葉体の機械的特性を3点曲げ試験法を用いて調べた。

2. 茎葉体の機械的特性における過重力処理の効果

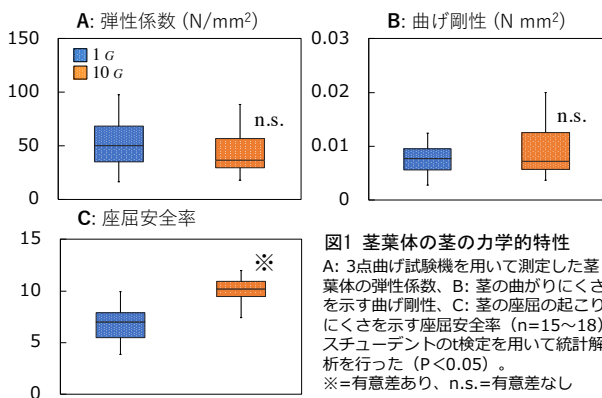
1 G および 10 G で2ヵ月間生育した茎葉体を調製し、カミソリの刃で茎葉体の葉を丁寧に切り取った後、茎のサイズ及び生重量を測定した(表 1)。10 G 環境下で生育した茎葉体の茎は、有意に短く太くなり、生重量が減少していた。これらの傾向は、Takemura ら^{4),5)}の結果とよく一致していた。一方、

3点曲げ試験機 (SHIMADZU, ET-Test EZ-LX) を用いて、その弾性係数 (ヤング率) を求めた結果は、1 G と 10 G で生育したのものにおいて、それぞれ 54.1 ± 5.64 、 43.9 ± 5.57 (N/mm²) となり、有意な差は見られなかった (図 1A)。弾性係数は、部材の変形のしにくさを表す指標となるが、ヒメツリガネゴケ茎葉体の茎では、有意差はないものの、むしろ 10 G で生育した方が値が小さくなる傾向にあり、維管束植物で報告されているような、過重力環境下で細胞壁がより頑強になるという抗重力反応は見られなかった。また、弾性係数と断面二次モーメントの積として得られる曲げ剛性についても、1 G と 10 G で生育した茎葉体において、それぞれ 0.00758 ± 0.000656 、 0.00926 ± 0.00136 (N mm²) となり、有意な差は見られなかった (図 1B)。曲げ剛性は、茎の曲がりにくさを表す指標で、その断面形状が加味されたものである。円柱状の茎の場合、その径に大きく依存するため、径の大きい 10 G の茎葉体において値が若干大きくなる傾向が見られたが、10 G での弾性係数が小さめであったため、その影響は相殺されたものと思われる。

表 1 10 G 環境下で生育させた茎葉体の形態的特性

	1 G	10 G	P-value
茎の長さ (mm)	6.5 ± 0.33	4.2 ± 0.13	+++
茎の直径 (mm)	0.23 ± 0.0032	0.25 ± 0.0046	+++
生重量 (mg)	0.56 ± 0.056	0.39 ± 0.038	+

8週間過重力環境下 (10 G) で生育させた茎葉体の茎の長さ、茎の直径、および茎の生重量を求めた (n=15~18)。値は平均値 ± SE。スチューデントの t 検定を用いて統計解析を行った。+ = (P < 0.05), +++ = (P < 0.01)



一方、茎の座屈に対する安全性を表す指標である座屈安全率は、10 G で生育した茎葉体で顕著に高い値を示した (図 1C)。座屈安全率は、太く、短く、軽い方がより大きな値を取るため、10 G で生育した茎葉体において大きな値を示したのは、いずれの形質も 10 G において座屈安全率を増加させる方向に変化したためである。なお、座屈安全率の計算式は、Watari ら⁶⁾のものを用いている。

3. 茎葉体の横断面上における細胞壁の分布

3点曲げ試験による機械的性質の測定は、一般には、均質な物性をもった部材を対象にしている。しかしながら、本研究の測定対象である植物の茎は、多様なサイズの細胞から成っているだけでなく、その分布も不均質である。したがって、弾性係数が同じであったとしても、必ずしも部材 (細胞壁) の物性が同じであるとは限らない。特に、茎の横断面上に細胞壁がどのように分布しているかは、その弾性係数にも影響を与え得るものと思われる。例えば、円柱状の茎を考えると、その中心付近の細胞壁は弾性係数にはほとんど関与せず、表皮付近の細胞壁が大きく影響する。そこで、1 G と 10 G で生育した茎葉体の横断切片を作製し、その顕微鏡写真の画像解析から、横断面上における細胞壁の割合を 1 G と 10 G のもので比較した。方法としては、まず顕微鏡画像を ImageJ 画像解析ソフトで二値化し、細胞壁を黒の像として抽出した。次に、茎の中心から任意の方向に直線 (n=40) を引き、その直線に交わる細胞壁の部分の面積を数値化した。さらに、その中心から表皮に至る直線を 8 等分し、それぞれのセクションに含まれる細胞壁の割合を算出した (図 2)。

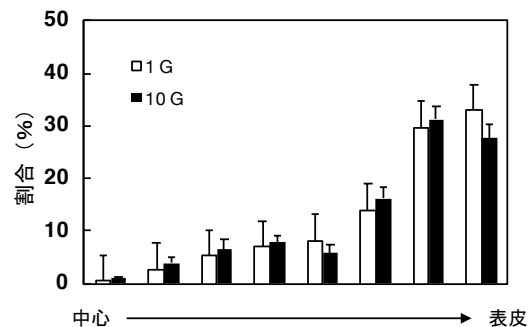


図 2 茎葉体横断面上の細胞壁の分布の様子

1 G で生育したものでは、中心から 1/4 の直線上に存在していた細胞壁の割合は平均 3.2% で、表皮から 1/4 では 62.6% であった。このように、茎の表皮付近での細胞壁の割合が増加しているのは、茎の構造力学上、理にかなっている。一方、10 G で生育したのものにおいても、ほぼ同程度に細胞壁が分布していた。この結果は、横断面上における細胞壁の分布の様子は、重力によって変化しないことを示唆している。

5. まとめと今後の展望

10 G で生育したヒメツリガネゴケ茎葉体の機械的性質を 3点曲げ試験法により解析したところ、ヒメツリガネゴケは、これまで報告されている維管束植物の場合と異なり、茎の細胞壁の物性が過重力により影響を受けないことが示唆された。コケ植物は小さな植物体であり、リグニンを合成する能力もない

ことを考えると、大きな維管束植物のように細胞壁の強度をより上げるよう調節する必要はなく、今回観察されたように、茎の形状変化(形態形成)のみで十分に対応できるのかもしれない。この仮説をさらに検証するためには、国際宇宙ステーションにおける地球軌道上での宇宙栽培実験を行い、ヒメツリガネゴケの細胞壁の機械的強度が μG レベルでどの様に変化するのかを明らかにする必要がある。

参考文献

- 1) Hoson, T. and Wakabayashi, K. Role of the plant cell wall in gravity resistance, *Phytochemistry*, 112:84-90 (2015)
- 2) Tamaoki, D., Karahara, I., Schreiber, L., Wakasugi, T., Yamada, K. and Kamisaka, S. Effects of hypergravity conditions on elongation growth and lignin formation in the inflorescence stem of *Arabidopsis thaliana*, *Journal of Plant Research*, 119:79-84 (2006)
- 3) Mori, A., Kamachi, H., Karahara, I., Kume, A., Hanba, Y.T., Takemura, K. and Fujita, T. Comparisons of the effects of vibration of two centrifugal systems on the growth and morphological parameters of the moss *Physcomitrella patens*, *Biological Sciences in Space*, 31:9-13 (2017)
- 4) Takemura, K., Kamachi, H., Kume, A., Fujita, T., Karahara, I. and Hanba, Y. T. A hypergravity environment increases chloroplast size, photosynthesis, and plant growth in the moss *Physcomitrella patens*, *Journal of Plant Research*, 130:181-192 (2017)
- 5) Takemura, K., Watanabe, R., Kameishi, R., Sakaguchi, N., Kamachi, H., Kume, A., Karahara, I., Hanba, Y.T. and Fujita, T. Hypergravity of 10g changes plant growth, anatomy, chloroplast size, and photosynthesis in the moss *Physcomitrella patens*, *Microgravity Science and Technology*, 29:467-473 (2017)
- 6) Watari, R., Nagashima, H. and Hirose, T. Stem extension and mechanical stability of *Xanthium canadense* grown in an open or in a dense stand, *Annals of Botany*, 114:179-190 (2014)