

# モデル植物であるヒメツリガネゴケの過重力応答とそのメカニズム ～長期過重力栽培実験の結果から～

阪口 直哉（京都工繊大・バイオベースマテリアル）、亀石 隆司（京都工繊大・応用生物）、竹村 香里（京都工繊大・応用生物）、渡辺 璃那（京都工繊大・応用生物）、久米 篤（九大・院・農学）、唐原 一郎（富山大・院・理工）、藤田 知道（北大・院・理）、蒲池 浩之（富山大・院・理工）、半場 祐子（京都工繊大・応用生物）

Response to hypergravity of model plant, *Physcomitrella patens*, and that of mechanism  
～ from results of long-term hypergravity experiments ～

Naoya Sakaguchi<sup>1)</sup>, Kaori Takemura<sup>1)</sup>, Ryuji Kameishi<sup>1)</sup>, Rina Watanabe<sup>1)</sup>, Atsushi Kume<sup>2)</sup>, Ichirou Karahara<sup>3)</sup>, Tomomichi Fujita<sup>4)</sup>, Hiroyuki Kamachi<sup>3)</sup>, Yuko T. Hanba<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Kyoto Institute of Technology, Sakyo-ku, Kyoto 606-8585

<sup>2)</sup>Kyushu University <sup>3)</sup>University of Toyama <sup>4)</sup>Hokkaido University

E-Mail: m5661007@edu.kit.ac.jp

Abstract: Gravity is one of the most important environmental signals in regulating plant growth and development. Microgravity conditions in space are thought to be useful to clarify the role of gravity in regulating plant growth. However, the opportunity for experiments in space, which provides microgravity conditions, is limited. On the other hand, long-term hypergravity conditions, a gravity of more than  $1 \times g$ , can be produced easily on earth by centrifugation. We focused on the effects of gravity on mosses, and used the model plant, *Physcomitrella patens* because they have compact plant size and easy-to-grow, with high adaptation to severe environments such as in Antarctica with high UV levels. We investigated photosynthetic and developmental responses of *P. patens* to 8 weeks of hypergravity ( $6 \times g$ ,  $10 \times g$ ). Plant density and plant dry mass were significantly increased under hypergravity ( $6 \times g$ ,  $10 \times g$ ) compared to those under  $1 \times g$ . Cell wall thickness of *P. patens* was not affected by hypergravity ( $10 \times g$ ), which contrasts with that obtained for flowering plants. On the other hand, numbers and sizes of chloroplasts of the leaves of *P. patens* were significantly increased under hypergravity ( $6 \times g$ ,  $10 \times g$ ). Photosynthesis rate and internal CO<sub>2</sub> conductance of *P. patens* were enhanced under hypergravity ( $6 \times g$ ,  $10 \times g$ ). These results are new findings for the plant response to gravity, providing valuable information for plant adaptation to gravity in the land plant history, and for the construction of plant growth system in space.

*Key words*; hypergravity, moss, photosynthesis, CO<sub>2</sub> conductance, chloroplast, space experiment

## 1. はじめに

人類が宇宙ステーションや月・火星のような地球外天体に長期滞在する際には、食料生産や物質リサイクル、空気や水の浄化といった閉鎖生態系生命維持システムが必要となる。植物はこういった役割を担うだけでなく、人間が排出した二酸化炭素を光合成によって消費し、同時に人間が呼吸に利用する酸素を供給する。したがって、宇宙空間に長期滞在する際には、食料生産機能とガス処理機能を持つ植物栽培システムの構築が重要課題であると考えられている<sup>1)</sup>。コケ植物はパイオニア植物であり、地上のあらゆる極限環境に最もよく適応した植物である。加えて、小型であるため省スペースで容易にかつ大量に栽培でき、宇宙ステーションという限られたスペースで栽培する上で被子植物に比べて有利であると

考えられている<sup>2)</sup>。さらに、コケ植物を用いて重力の影響を評価することは、植物の進化の過程で陸上進出に必要であった適応過程を理解する上でも重要である。また、宇宙栽培実験にコケ植物を加えることは系統間比較をする上でも大きなメリットがあると考えられる<sup>3)</sup>。

これまでに、被子植物についてはさまざまな重力応答が報告されている。植物体を支持する重要な構造である細胞壁の変化はその代表的なものである。微小重力環境下では、2次細胞壁のリグニン形成に関与する酵素活性の低下とリグニン含量の低下が報告されている<sup>4)</sup>。また過重力条件下( $300 \times g$ )では、シロイヌナズナの花茎のリグニンの沈着が促進され、後生木部の2次細胞壁が厚くなることが確認されている<sup>5)</sup>。しかしながら、コケ植物における重力応答につ

いてはほとんど明らかになっていない。

本研究グループは低速回転型の遠心装置と光源を組み合わせた過重力栽培装置 MK3 を開発し、長期にわたって重力を変化させて植物を栽培することを可能にした。本研究グループの先行研究においては、 $10\times g$  条件下でヒメツリガネゴケを栽培すると、成長量の増加、光合成速度の増加、葉緑体の肥大化等、これまで高等植物では得られていなかった新規な知見を得ている<sup>6,7)</sup>。

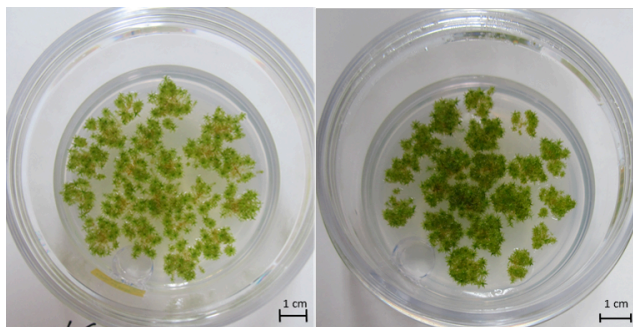
本研究では過重力条件としてさらに $6\times g$ を加えることにより、先行研究で得られた結果を裏打ちし、陸上植物の成長や光合成の重力応答メカニズムを解明することを目的とした。

## 2. 実験材料と方法

富山大学に設置された過重力栽培装置 MK3(松倉)を用いて、ヒメツリガネゴケを過重力条件下で 8 週間栽培した。この時の重力は  $6\times g$  とし、室内温度は  $24^{\circ}\text{C}$ 、光源は白色 LED、光強度は  $100\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  であった。直径 7.5cm のプラントボックス(バイオメディカルサイエンス)6 つに、1 プラントボックス当たりヒメツリガネゴケ茎葉体 20 個体を寒天 0.8%の BCD 培地<sup>8)</sup>で栽培した。栽培終了後のヒメツリガネゴケを京都工芸繊維大学に移し、植物体の長さや質量、密度を測定した。また、一部の個体については固定、樹脂包埋を行い、切片を作製して細胞や葉緑体のサイズを測定した。さらに、研究室内に構築された光合成装置を用いて光合成速度と  $\text{CO}_2$  コンダクタンスを測定した。

## 3. 過重力条件下におけるヒメツリガネゴケの成長応答

$6\times g$  条件下で栽培したヒメツリガネゴケは 1 個体当たりではシュートの成長が抑制された(t 検定、 $P<0.001$ )。しかしながら、1 プラントボックス当たりでは個体密度が大幅に増加しており(t 検定、 $P<0.001$ )、シュートの乾燥重量が増加した(t 検定、 $P<0.001$ )。結果として、 $6\times g$  条件下ではヒメツリガネゴケの成長は促進されたと考えられる。



1×g

6×g

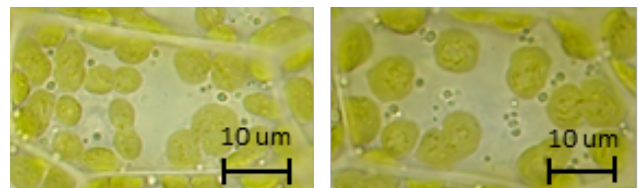
Fig. 18 週間栽培後のヒメツリガネゴケの様子

## 4. 過重力条件下におけるヒメツリガネゴケの光合成速度

成長促進がどのような理由で生じるのかを確かめるために、 $6\times g$  条件下で栽培したヒメツリガネゴケの光合成速度を測定した。結果として、 $6\times g$  条件下では面積当たりの光合成速度が増加しており(t 検定、 $P<0.05$ )、乾燥重量当たりの光合成速度も増加傾向であった(t 検定、 $P=0.0535$ )。さらに、炭素安定同位体法を用いて  $\text{CO}_2$  コンダクタンスを測定すると、 $6\times g$  条件下では乾燥重量当たり及び面積当たりの  $\text{CO}_2$  コンダクタンスが増加していた(t 検定、 $P<0.05$ )。

## 5. 過重力条件下におけるヒメツリガネゴケの葉緑体のサイズ

$6\times g$  条件下では葉緑体の厚さは統計的な有意差がなかったものの、幅は有意に増大しており(t 検定、 $P<0.01$ )、肥大化する傾向があった。先行研究において、 $10\times g$  条件下では葉の葉緑体の厚さ、幅はともに有意に増加していた(t 検定、 $P<0.001$ )。したがって、過重力条件下ではヒメツリガネゴケの葉の葉緑体は重力に依存して肥大化する可能性が示唆された。



1×g

6×g

Fig. 2 葉緑体のサイズ

## 6. ヒメツリガネゴケの過重力応答とそのメカニズム

過重力条件で栽培したヒメツリガネゴケは成長量が著しく増加した。コケ植物の中でも、ヒメツリガネゴケが属する蘚類ではオーキシシンやサイトカイニンが原糸体から茎葉体への分化に関与する<sup>9)</sup>という報告があり、また、シロイヌナズナでは過重力刺激( $300\times g$ )により花茎内のオーキシシン量が増加した<sup>10)</sup>という報告もある。したがって、過重力刺激により、何らかの植物ホルモンの生合成量やそれに関わる遺伝子の発現量が変化している可能性が考えられた。

成長量の増加には光合成機能の向上も寄与していると考えられる。これまで行われてきた植物の重力応答に関する研究では光合成機能はほとんど着目されていなかった。本研究グループの過重力実験では光合成機能を担うオルガネラである葉緑体の詳細な観察を行い、過重力条件下では葉緑体のサイズが肥大化するという知見を得た。オーキシシンやサイトカイニンが葉緑体の分化や発達を制御している<sup>11)</sup>という報告があることから、葉緑体の肥大化にも何らか

の植物ホルモンが関与している可能性がある。

先行研究において、 $10\times g$  条件下で栽培したヒメツリガネゴケでは、植物体内の  $\text{CO}_2$  コンダクタンスが増加し、光合成速度が増加した。また、細胞壁の厚さに変化はみられなかったことから、細胞壁による二酸化炭素拡散の制限には過重力による影響はなかったと考えられる<sup>7)</sup>。一方、過重力条件下において葉緑体のサイズが増加したことは、植物体内部において二酸化炭素拡散が生じやすくなることを意味する。すなわち、過重力条件下では葉緑体の形態や数に生じた変化が主な要因となって、 $\text{CO}_2$  コンダクタンスと光合成速度が増加したのではないかと考えられる。過重力条件下において光合成速度が増加したことは、ヒメツリガネゴケの成長促進に影響を与えた可能性がある。現在、 $6\times g$  条件下においても細胞壁の厚さに変化がなかったか透過型電子顕微鏡により詳細な観察を進めている。

## 7. まとめ

先行研究においては、 $10\times g$  条件下で成長量の増加、光合成速度の増加、葉緑体の肥大化がみられた。本研究では  $6\times g$  条件下でもほぼ同様の結果が得られ、ヒメツリガネゴケの過重力に対する応答を裏打ちすることができた。今回得られた知見を基に、植物の成長や光合成の重力応答メカニズムを解明するためには、地上での過重力実験に加え、国際宇宙ステーションでの微小重力実験を行うことや重力に対する遺伝子発現の変化を解析することが不可欠であり、今後の課題である。

## 参考文献

- 1) Wolff, S. A., Coelho, L. H., Karoliussen, I., and Jost, A. K. Effects of the extraterrestrial environment on plants: recommendations for future space experiments for the MELiSSA higher plant compartment. *Life*, 189–204. (2014). doi:10.3390/life4020189
- 2) 藤田知道, 蒲池浩之, 唐原一郎, 久米篤, 坂田洋一, 高林厚史, 田中歩, 長嶋寿江, 西山智明, 橋本博文, 長谷部光泰, 半場祐子, 日渡祐二, 松田修, 本村泰三, 矢野幸子. 宇宙環境利用シンポジウム第29回: 平成26年度(2014) 21-22 <https://repository.exst.jaxa.jp/dspace/handle/a-is/549482>
- 3) 久米篤, 蒲池浩之, 半場祐子, 竹村香里, 唐原一郎, 長嶋寿江, 矢野幸子, 藤田知道. 宇宙環境利用シンポジウム 第29回: 平成26年度(2014) 19-20 <https://repository.exst.jaxa.jp/dspace/handle/a-is/549484>
- 4) Cowles, J. R., Scheld, H. W., Lemay, R., & Peterson, C. Growth and lignification in seedlings exposed to eight days of microgravity. *Annals of Botany*, 54, 33–48. (1984).
- 5) Karahara, I., Tamaoki, D., Nishiuchi, T., Schreiber, L., and Kamisaka, S. Effects of altered gravity conditions on lignin and secondary wall formation in herbaceous dicots and woody plants. *Biological Sciences in Space*, 23, 177–182. (2009).
- 6) Takemura, K., Kamachi, H., Kume, A., Fujita, T., Karahara, I., Hanba, T. Y. A hypergravity environment increases chloroplast size, photosynthesis, and plant growth in the moss *Physcomitrella patens*. *Journal of Plant Research*, 130, 181–192. (2017). doi:10.1007/s10265-016-0879-z
- 7) 半場 祐子, 竹村 香里, 阪口 直哉, 渡辺 璃那, 久米 篤, 唐原 一郎, 藤田 知道, 蒲池 浩之, 宇宙環境シンポジウム第30回: 平成27年度 1-3. (2015). <https://repository.exst.jaxa.jp/dspace/bitstream/a-is/561717>
- 8) 青木 撰之, 杉田 護. (2008). ヒメツリガネゴケ. 光合成研究法, 67, 31–33. 北海道大学低温科学研究所
- 9) Bhatla, S. C., Haschke, H. P., Hartmann, E. (2003) Distribution of activated calmodulin in the chloronema tip cells of the moss *Funaria hygrometrica* *Journal of Plant Physiology*, 160:469-474 doi:10.1078/0176-1617-00901
- 10) 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 influence stem of *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Plant Research*, 119, 79-84. (2006). doi:10.1007/s10265-005-0243-1
- 11) Kobayashi, K., Baba, S., Obayashi, T., Sato, M., Toyooka, K., Keranen, M., Aro, E. M., Fukaki, H., Ohta, H., Sugimoto, K. and Masuda, T. Regulation of root greening by light and auxin/cytokinin signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 24, 1081-1095. (2012).