

## 宇宙における植物の生活環

–根系の三次元形態の評価を通じた低重力植物栽培条件の最適化を目指して–

唐原一郎(富山大・理), 山浦遼平(富山大・院・理工), 黒金智文(富山大・院・理工), 山内大輔(兵科大・院・生命理学), 峰雪芳宣(兵科大・院・生命理学), 蒲池浩之(富山大・理), 橋本博文(ISAS/JAXA), 星野真人(JASRI), 上杉健太郎(JASRI), 中井勇介(農研機構・九沖研), 中野明正(千葉大), 谷畑昂士郎(富山大・院・理工), 玉置大介(富山大・理), 西内 巧(金沢大・学際科学実験センター), 高尾泰昌(富山大・薬用植物園), 田浦太志(富山大・薬), 矢野幸子(JAXA), 谷垣文章(JAXA), 嶋津 徹(JAXA), 笠原春夫(有人宇宙システム), 鎌田源司(AES), 鈴木智美(JAXA), 小野田雄介(京大・農), 久米 篤(九大・院・農学), 半場祐子(京工織大・応用生物), 藤田知道(北大・院・理), 神阪盛一郎(富山大・理)

### Life cycle of plants in space

– Optimization of plant cultivation conditions under low gravity through evaluation of 3-dimensional morphology of the root system architecture–

Ichirou Karahara<sup>1</sup>, Ryohei Yamaura<sup>2</sup>, Tomofumi Kurogane<sup>2</sup>, Daisuke Yamauchi<sup>3</sup>, Yoshinobu Mineyuki<sup>3</sup>, Hiroyuki Kamachi<sup>1</sup>, Hirofumi Hashimoto<sup>4,8</sup>, Makoto Hoshino<sup>5</sup>, Kentaro Uesugi<sup>5</sup>, Yusuke Nakai<sup>6</sup>, Akimasa Nakano<sup>7</sup>, Koshiro Tanihata<sup>2</sup>, Daisuke Tamaoki<sup>1</sup>, Takumi Nishiuchi<sup>8</sup>, Yasumasa Takao<sup>9</sup>, Futoshi Taura<sup>10</sup>, Sachiko Yano<sup>11</sup>, Fumiaki Tanigaki<sup>11</sup>, Toru Shimazu<sup>12</sup>, Haruo Kasahara<sup>13</sup>, Motoshi Kamata<sup>14</sup>, Tomomi Suzuki<sup>11</sup>, Yusuke Onoda<sup>11,15</sup>, Atsushi Kume<sup>16</sup>, Yuko T. Hanba<sup>17</sup>, Tomomichi Fujita<sup>18</sup>, Seiichiro Kamisaka<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Science, University of Toyama, Gofuku, Toyama, 930-8555 Japan <sup>2</sup>Graduate School of Science and Engineering, University of Toyama, <sup>3</sup>University of Hyogo, <sup>4</sup>Institute of Space and Astronautical Science, <sup>5</sup>Japan Synchrotron Radiation Research Institute, <sup>6</sup>Kyushu Okinawa Agricultural Research Center, NARO, <sup>7</sup>Chiba University, <sup>8</sup>Kanazawa University, <sup>9</sup>Experimental Station for Medicinal Plant Research, University of Toyama, <sup>10</sup>Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Toyama, <sup>11</sup>Japan Aerospace Exploration Agency, <sup>12</sup>Japan Space Forum, <sup>13</sup>Japan Manned Space Systems Corporation, <sup>14</sup>Advanced Engineering Services, <sup>15</sup>Kyoto University, <sup>16</sup>Kyushu University, <sup>17</sup>Kyoto Institute of Technology, <sup>18</sup>Hokkaido University

E-Mail: karahara@sci.u-toyama.ac.jp

Abstract: Plant cultivation is essential to secure a stable food supply in a long-term manned space exploration as a component of bio-regenerative life support system. It is necessary to clarify effects of different gravity conditions on the life cycle of plants that have evolved on the earth, because effects of different gravity conditions on every process of life cycle of plants are still largely unknown. In the present fiscal year we have performed X-ray micro-CT at the BL20B2 beamline of SPring-8 to visualize three-dimensional morphology of root systems of Arabidopsis plants and rhizoid system of *Physcomitrium patens*, which were grown in the international Space Station Kibo module. Morphological analysis of the Arabidopsis root system was performed using manually-made 3D wireframe models. Automatic segmentation was tested using Canny edge detector of ImageJ for the rhizoid system.

*Key words*; Arabidopsis thaliana, Hypergravity, Life cycle, Physcomitrium patens, Plant, Reproductive growth, Root system, X-ray microCT

#### 1. はじめに

植物栽培は、人類の宇宙進出を支える生物再生生命維持システムの一部として欠かせない。しかしそのための植物栽培は、地球と異なる重力下で行うことになる。重力は植物の生活環を通じて常時影響を及ぼす

が、植物の生理・形態に重力が与える影響について明らかになっていることは、まだ一部に過ぎない。

また、植物の生理・形態が地球の重力にどのように適応してきたかを明らかにすることは、陸上植物の進化を探るのみならず、植物から未知の機能を引き出す、あるいは機能強化につながると考え<sup>1)</sup>、筆者らは宇宙環

境利用専門委員会コミュニティーにおいて「宇宙における植物の生活環」の活動を継続している。月面基地を含む低重力環境下において、植物栽培を最適化していくことが当面の目標となる。

昨年度は、継続して行ってきた、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) の生殖成長に与える影響、X線  $\mu$ CT による根系形態解析の手法確立、および宇宙での薬用植物栽培を念頭においた、過重力環境がマメ科薬用植物に与える影響について報告し、これらは本年度も研究を継続している。特に薬用植物については、昨年度のバイオマスレベルでの調査に続き、二次代謝成分(メタボローム)に与える影響の調査を行っている。しかし本報告では、特に、JAXA 宇宙科学研究所宇宙環境利用専門委員会 2020 年度フロントローディング研究費による助成を受けた研究として、根系の三次元形態の評価を通じた低重力植物栽培条件の最適化を目指す研究に絞って報告する。

## 2. 根系の三次元形態の評価を通じた低重力植物栽培条件の最適化を目指した研究

植物の根系は地上部を支持・固着し養水分を吸収することで植物体地上部成長の基盤となる。そして重力は植物の根系形態に影響を与える最も強い要因である。筆者らは、月や火星における低重力環境における植物栽培条件の最適化を根系形態の観点から行うことを目指し、本年度は次の研究を行った。

### (1) X線 $\mu$ CT を用いたシロイヌナズナ宇宙実験 (Space Seed) の根系の手動作成モデルによる三次元形態解析

筆者らは微小重力環境が根系形成に与える影響を明らかにするため、国際宇宙ステーションにおいて栽培されたシロイヌナズナの根系の形態解析を進めている。これまでにロックウール中で生長させ乾燥させたシロイヌナズナの根を、大型放射光施設 SPring-8 の BL20B2 ビームラインにおいて高解像度で根を屈折コントラスト X線 CT 撮影し、詳細な根系の三次元モデルを作成する手法を検討してきた。本手法を用いて根系試料を実効画素サイズ  $2.76 \mu\text{m}$  の像が得られるハッチ 1 で撮影して根系を再構成した。根とロックウールを判別し手動で根系をトレースして 3 次元モデルを作成した。微小重力区 ( $\mu\text{G}$ )、宇宙 1G 対照区、地上 1G 区の根系モデルから主根長および総側根長、総側根数、主根および側根の曲がり具合、根の伸長方向を定量した。 $\mu\text{G}$  区と宇宙 1G 区との間で比較した結果、 $\mu\text{G}$  区では主根長に増加傾向がみられた一方、総側根長では減少傾向がみられた。

曲がり具合の指標では概ね  $\mu\text{G}$  区で減少傾向が見られた。重力方向に対する伸長角度は、主根では有意な変化が見られなかったが、側根では  $\mu\text{G}$  区で有意に増加した<sup>3,4)5)</sup>。今後は、引き続き各種パラメータの解析、自動セグメンテーション適用による精密解析が課題である。

### (2) ヒメツリガネゴケ宇宙実験 (Space Moss) 試料の仮根系の可視化および、それを用いたシロイヌナズナ根系自動画像セグメンテーションの試み

#### ・ Space Moss 試料の仮根系の可視化

Space Moss 宇宙実験で、宇宙 1G 区と  $\mu\text{G}$  区で育てたヒメツリガネゴケ (*Physcomitrium* (*Physcomitrella*) *patens* (Hedw.) Bruch & Schimp. subsp. *Patens*) の仮根試料を得た。系統上基部に位置する陸上植物であり維管束植物のシュート形態と似た茎葉体をもつモデルコケ植物であるヒメツリガネゴケと<sup>6)</sup>、被子植物のモデル植物であるシロイヌナズナとの間で植物体地下部の重力応答を比較することは、陸上植物の地下部重力応答の普遍性と進化を明らかにするために意義深い。加えて、コンパクトなヒメツリガネゴケの仮根系は  $\mu\text{CT}$  データの自動画像セグメンテーションによる根系三次元形態解析手法確立のためのよいモデル系でもある。そこでこの試料をパラフィンに包埋し、SPring-8 での屈折コントラスト  $\mu\text{CT}$  撮影に取り組み、仮根系の立体再構成を試みた。

仮根は線状構造をとっているため、連続する CT スライス上で、スライスを越えてつながる線状構造を追跡すると、線状構造は 3 通りの形態をとり、いずれも仮根と考えられた。数が膨大であるためひとまずソフトウェア ImageJ の輪郭抽出

(Canny edge detector) による自動セグメンテーションを試行した。細線化し、ソフトウェア Imod を用いて表面モデルを描画したところ不自然な構造のつながりがみられた。線状構造が仮根であることの検証と、より精度の高いセグメンテーション法の模索が今後の課題である。

#### ・ シロイヌナズナ根系自動画像セグメンテーション

上述の方法をロックウール培地中で生育させたシロイヌナズナの根に適用した。各レイヤーで二値化し、ロックウールによるノイズを除去するためソフトウェア Slice<sup>7)</sup> を用いて大きな構造を抽出し、ImageJ を用いて途切れた構造を連結し概ね 1 画素まで細線化した。更に、Imod を用いて contour 化し重心を連結した。この際に生じる不自然な連結や、ラベルの際に根に近接したロックウールを誤認識した箇所を除去が課題である。

### (3) 模擬月レゴリスを用いたシロイヌナズナ栽培と根系の可視化

模擬月レゴリスは保水性が極端に低く、その改善にポリ乳酸が有効であることが報告されている<sup>8)</sup>。そこで予備的であるが、模擬月レゴリス（清水建設, FJS-1g）または破碎赤玉土を用い、栄養塩類と土壌改良材としてポリ乳酸を加え、8日生育させたシロイヌナズナの根系の、 $\mu$ CT撮影を行った。FJS-1gでは根系の成長が著しく阻害されたため、FJS-1g中で根系を観察することはできなかった。しかし赤玉土中での根の $\mu$ CT像を得ることはできており、根がFJS-1g中で成長すれば $\mu$ CTで可視化することは十分期待できる。FJS-1gでの栽培条件の改良が今後の課題であり引き続き検討する。

### 5. 謝辞

JAXA 宇宙科学研究所宇宙環境利用専門委員会 2020年度フロントローディング研究費による助成を受けたものである。X線CT観察はJASRI利用課題2020A1264で行った。

### 参考文献

- 1) Karahara, I., Suto, T., Yamaguchi, T., Yashiro, U., Tamaoki, D., Okamoto, E., Yano, S., Tanigaki, F., Shimazu, T., Kasahara, H., Kasahara, H., Yamada, M., Hoson, T., Soga, K., Kamisaka, S.. Vegetative and reproductive growth of Arabidopsis under microgravity conditions in space. *J Plant Res*, **133**, 571–585 (2020).
- 2) Yashiro, U., Karahara, I., Yano, S., Tamaoki, D., Tanigaki, F., Shimazu, T., Masuda, D., Kasahara, H., Kamisaka, S.. Life cycle of arabidopsis in the international space station - Growth direction of the inflorescence stems in the presence of light under microgravity. *bioRxiv*, 2020.2009.2030.320051 (2020).
- 3) 山浦遼平, 黒金智文, 玉置大介, 矢野幸子, 谷垣文章, 嶋津徹, 笠原春夫, 山内大輔, 上杉健太郎, 星野真人, 神阪盛一郎, 峰雪芳宣, 唐原一郎; X線マイクロCTを用いたSpace Seed宇宙実験におけるシロイヌナズナ根系の形態解析, 日本植物学会第84回大会, 名古屋 (2020).
- 4) 山浦遼平, 黒金智文, 玉置大介, 矢野幸子, 谷垣文章, 嶋津徹, 笠原春夫, 山内大輔, 上杉健太郎, 星野真人, 神阪盛一郎, 峰雪芳宣, 唐原一郎; X線 $\mu$ CTを用いたSpace Seed宇宙実験におけるシロイヌナズナ根系の三次元形態解析, 日本顕微鏡学会第63回シンポジウム, 北海道 (2020).
- 5) Karahara, I., Yamaura, R., Kurogane, T., Tamaoki, D., Yano, S., Tanigaki, F., Shimazu, T., Kasahara, H., Yamauchi, D., Uesugi, K., Hoshino, M., Mineyuki, Y., Kamisaka, S.; Analysis of Arabidopsis root system developed in space by X-ray Micro-CT at SPring-8, 43rd Scientific Assembly of the Committee on Space Research, Sydney, Australia, (2021)
- 6) 藤田知道, 久米篤, 蒲池浩之, 小野田雄介, 半場祐子, 日渡祐二, 唐原一郎; 1gとは異なる重力環境で植物はどのように育つのだろうか -コケ植物を用いた宇宙実験(スペース・モス)から期待できること-, *植物科学最前線 (BSJ-Review)*, 11:60-74 (2020).
- 7) Nakano, T., Tsuchiyama, A., Uesugi, K., Uesugi, M., Shinohara, K. "Slice" -Softwares for basic 3-D analysis-, <http://www-bl20.spring8.or.jp/slice/>, Japan Synchrotron Radiation Research Institute (2006).
- 8) 中井勇介, 遠藤良輔, 小島昌治, 中野明正, 豊田剛己; 持続的な物質循環システム. 月面農場ワーキンググループ検討報告書第1版. 月面農場ワーキンググループ pp. 65-76 (2019).