

## 異なる重力環境がシロイヌナズナの芽生えの成長に与える影響

唐原一郎 (富山大・院・理工), 新谷 悠 (富山大・理), 玉置大介 (兵庫県大・院・生命理学), 神阪盛一郎 (富山大・院・理工)

Effects of altered gravity conditions on the growth of *Arabidopsis* seedlings

Ichirou Karahara<sup>1</sup>, Haruka Shintan<sup>2</sup>, Daisuke Tamaoki<sup>3</sup>, Seiichiro Kamisaka<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Graduate School of Science and Engineering, University of Toyama, 3190 Gofuku, Toyama, 930-8555 Japan

<sup>2</sup> Department of Biology, Faculty of Science, University of Toyama, 3190 Gofuku, Toyama, 930-8555 Japan

<sup>3</sup> Graduate School of Science and Engineering, University of Hyogo, 2167 Shosha, Himeji, Hyogo 671-2280 Japan

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

An experimental system was developed to analyze effects of altered gravity conditions on the growth of seedlings avoiding artifactual deformation of organs which occurs due to bending moment during growth in the air under altered gravity treatments such as simulated microgravity and hypergravity. *Arabidopsis* seeds were sown in Gelrite containing Murashige-Skoog medium, vernalized, and treated with simulated microgravity using a three-dimensional clinostat or hypergravity at 300 G using a centrifuge for two to four days in the dark. The effects of these altered-gravity conditions on the growth of hypocotyls and roots were analyzed by obtaining two-dimensional projected images.

**Key words;** Simulated microgravity, Hypergravity, Growth, Gravitropism, *Arabidopsis*

## 1, 序論

植物は、地球上の様々な物理的な環境要因の影響を受けながら成長し、進化してきた。なかでも、重力は地球上すべての生物に対して常に影響を与えてきた重要な環境要因である。すなわち重力加速度の方向・大きさは安定したものであり、植物は重力に抗しながらもこれを利用して形態形成を行っているともいえる。すなわち根は重力ベクトルと同じ方向に成長することで、効率良く水分や栄養素の獲得を行い、また胚軸や茎は地中の暗黒条件下において、まず重力と反対の方向に成長することで、地上に出て効率よく光の獲得を行なっている。これまでに、重力が植物の形態形成に与える影響については、植物に対して重力のかかる方向を変化させることで重力屈性反応が、またクリノスタット等を用いて疑似微小重力環境を作出することにより自発的形態形成が明らかとなってきた(上田と宮本 2003)。他方、地球上で重力加速度を変化させる実験系として、遠心機を用いて重力加速度の大きさを変化させることで抗重力反応が明らかになってきた(保尊ら 2003, Tamaoki et al. 2009)。

しかし、植物の茎を空気中で成長させた状態でクリノスタット上で生育させたり、遠心機を用いて過重力処理した場合、曲げモーメントの影響を受けて茎が折れ曲がりやたわみが生じる可能性がある。そうすると茎は二次的な傷害ストレスに曝され、重力

環境の変化に対する一次的な反応を正確に解析することが困難になると考えられる。また、器官が変形すると、器官に対する重力の方向は変形前と異なる。そこで筆者らは、クリノスタット処理や過重力処理を行う場合でも植物体の器官が曲げモーメントにより変形することを防ぐため、植物体全体を完全に支持体としての培地中で生育させながらこれらの処理を行う実験系を考案した。この実験系を用いて、植物体にかかる重力の方向と大きさを変化させ長期間生育させた場合の、胚軸、根を含めた初期芽生えの形態形成を解析した。

## 2, 材料と方法

## 植物材料

実験にはシロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. ecotype Columbia)種子を用いた。過重力処理区とその対照区用には 15 ml の容量の、また疑似微小重力処理区とその対照区用には 50 ml の容量のポリプロピレン遠沈管(AGC Techno Glass Co. Ltd., Chiba, Japan)に、0.3 % (w/v) Gelrite (Wako Pure Chemical, Osaka, Japan)を含む Murashige-Skoog 培地を注いで冷却しながら急速に固化させた。培地の表面に種子の向きをそろえて播種し、その上から同じ組成の培地を注いで冷却しながら急速に固化させた。播種後、発芽を誘導するために 3 日間の 4°C 処理および 6 時間の白色光処理を行ない、実験に用いた。

### 過重力および擬似微小重力処理

発芽誘導処理した直後から、試料に対し暗所において遠心機を用いた 300 G の過重力処理、もしくは 3-D clinostat を用いた擬似微小重力処理を、26.5°C で 48-96 時間連続的に行った。芽生えの形態を表すため、芽生えの任意の位置を三次元直交座標(右手系)で表した。まず根とシュートの境界すなわち茎根遷移部の中央部を原点とし、原点を通り遠沈管の長軸に沿う軸を z 軸(蓋側が正)とした。過重力処理区の場合は、原点を通り重力方向に沿う軸を y 軸(反重力方向を正)とした。擬似微小重力処理区の場合は、yz 平面を clinostat の試料台に平行な面とした。1 G 対照区の場合は、北西の方角側を y 軸の正とした。芽生えの外部形態については、容器のまま実体顕微鏡 (SZH10, Olympus, Tokyo, Japan) 下におき、CCD カメラ (DSFi1, Nikon, Tokyo, Japan) を用いて、y 軸の正側からと x 軸の負側からの直交する 2 方向から写真撮影し、xz 平面および yz 平面への二次元投影画像を取得した。これを元にして、根端・シュート頂の位置を三次元座標で表した。またこれらの処理後の胚軸長および根長も測定した。

## 3, 結果

### (1) 器官の成長の大きさに対する異なる重力環境の影響

まず 72 時間齢の芽生えにおける、胚軸および根の長さに対する過重力または擬似微小重力処理の影響を調べた。擬似微小重力処理の場合は、胚軸と根のいずれの長さについても 1 G 対照区と比べて有意な差は見られなかった。過重力処理の場合は、胚軸の長さは 1 G 対照区と比べ 300 G 処理区で有意に低下したが、根の長さについては両処理区間に有意な差は見られなかった。さらに時間経過に伴う芽生えの成長に対する過重力または擬似微小重力処理の影響を調べた。いずれの処理区においても、また胚軸・根いずれの器官も、調べた時間内では継続的に成長を続けた。過重力処理区における胚軸の成長の場合のみ、72 時間目以降 1 G 対照区と比べて有意に低下した。それ以外はいずれの器官の成長についても、1 G 対照区と過重力または擬似微小重力処理区間に有意差は見られなかった。

### (2) 器官の成長の方向に対する異なる重力環境の影響

72 時間齢の芽生えの成長方向に対する過重力または擬似微小重力処理の影響を調べた。まず胚軸および根の成長点(シュート頂および根端)の位置(xy

座標)の分布を調べた。成長点のばらつき具合を定量的に比較するため、シュート頂または根端の位置と z 軸との間の距離( $(x^2+y^2)$ の平方根 : r)を算出し、検定を行った。

### 胚軸の場合

擬似微小重力処理の場合は、1 G 対照区と比べてシュート頂の位置の分布は大きくばらついていた。また z 軸とシュート頂との間の距離も、擬似微小重力処理区の場合は 1 G 対照区と比べて有意に大きくなっていた。

他方、過重力処理の場合、シュート頂の位置のばらつきは過重力処理区と 1 G 対照区を比べてもほとんど変わらなかった。また z 軸とシュート頂との間の距離(r)についても、過重力処理区と 1 G 対照区間に有意差は見られなかった。ただ過重力処理区においては、胚軸の成長の大きさが有意に低下したのに伴い、r の増加が抑制されて有意差が見られなくなったという可能性は残される。実際に、シュート頂と原点の間の距離を算出し比較したところ、過重力処理区においては 1 G 対照区と比べて有意に低下していた。そこでシュート頂および原点を通る直線と z 軸のなす角を算出し比較したところ、過重力処理区と 1 G 対照区間に有意差は見られなかった。

### 根の場合

擬似微小重力処理の場合は、1 G 対照区と比べて根端の位置の分布は大きくばらついていた。また z 軸と根端との間の距離も、擬似微小重力処理区の場合 1 G 対照区と比べて有意に大きくなっていた。根端の位置は、擬似微小重力処理区ほどではないものの、過重力処理区においても、1 G 対照区と比べると若干ばらつきは大きかった。また、z 軸とシュート頂との間の距離も、1 G 対照区と比べると過重力処理区においては有意に大きかった。

## 4, 考察

シロイヌナズナの胚軸と根では、成長に対する重力の大きさの影響の度合いが異なった。根長が過重力の影響を受けなかったという結果は以前の報告と一致している(Karahara et al. 2008)。その理由として、成長の方向に対して、器官にかかる重力の方向が両器官で異なっているためという可能性が考えられる。シロイヌナズナの成長の大きさに対する擬似微小重力の影響についてはこれまでに調べられており、花茎の成長は阻害されることが報告されている(Miyamoto et al. 1999)。この結果は今回の胚軸の結果とは異なるが、花茎と胚軸で反応性が違う可能性は

ある。また地上対照区と比べて宇宙微小重力環境下においては胚軸の成長が促進されることが報告されており(Soga et al. 2002), 胚軸の成長の大きさに対して, 宇宙微小重力と擬似微小重力の影響は若干異なることが示唆された。

成長点の位置すなわち成長方向については, 擬似微小重力環境下では根・胚軸ともに大きくばらついた。それは自発的形態形成が表れたためと考えられる。シロイヌナズナの胚軸の成長方向は, 宇宙微小重力および擬似微小重力環境下でも, イネの幼葉鞘のような方向性を持ったものではなくランダムになることは報告されており(Hoson et al. 1999), そのことは本研究でも確認された。

一方, 過重力環境下において, 根の成長方向はばらつき, 重力屈性が乱れる可能性が示唆された。これまでに重力屈性に対する過重力の影響は調べられており, 10 G では重力屈性の度合いは1 G と同程度になり, 12 G では重力屈性は見られなくなった(Fitzelle and Kiss 2001)。本研究においても, 300 G の過重力下において根の成長方向はばらついたが, 擬似微小重力環境下におけるほど成長方向がばらつくわけではなかった。従って, 重力屈性反応は300 G 環境下でも完全に消えたわけではなく, 正確さは低下するものの重力屈性のメカニズムはまだはたらいっていると考えられる。胚軸の成長方向は過重力環境下においてもばらつかなかった。このことから, 胚軸と根では重力の大きさに対する重力屈性反応の感受性が異なっている可能性が考えられる。

本研究で確立された実験系により, 地球の重力と異なる重力条件下における根とシュートの反応を, 同じ条件下で同時に調べて比較することが可能となった。そして, 擬似微小重力および過重力環境における, 根とシュートの反応の違いを見出すことができた。今後, その違いを反映する重力感受や反応のしくみを調べるため, 細胞レベルで解析をすすめる必要がある。

## 5, 謝辞

本研究は, 科研費(21570064, 21657011), (独)宇宙航空研究開発機構および(財)日本宇宙フォーラムの助成を受けたものである。

## 6, 参考文献

- (1) Fitzelle, K.J. and Kiss, J.Z. Restoration of gravitropic sensitivity in starch-deficient mutants of Arabidopsis by hypergravity. *J Exp Bot*, **52**, 265-275 (2001).
- (2) Hoson, T., Soga, K., Mori, R., Saiki, M.,

Wakabayashi, K., et al. Morphogenesis of rice and Arabidopsis seedlings in space. *J Plant Res*, **112**, 477-486 (1999).

- (3) Karahara, I., Ando, N., Tamaoki, D. and Kamisaka, S. (2008) Effects of long-term hypergravity on growth of Arabidopsis seedlings. In *Proceedings of 37th COSPAR Scientific Assembly* p. 1446, Montréal.
- (4) Miyamoto, K., Yamamoto, R., Fujii, S., Soga, K., Hoson, T., Shimazu, T., Masuda, Y., Kamisaka, S. and Ueda, J. Growth and development in Arabidopsis thaliana through an entire life cycle under simulated microgravity conditions on a clinostat. *J Plant Res*, **112**, 413-418 (1999).
- (5) Soga, K., Wakabayashi, K., Kamisaka, S. and Hoson, T. Stimulation of elongation growth and xyloglucan breakdown in Arabidopsis hypocotyls under microgravity conditions in space. *Planta*, **215**, 1040-1046 (2002).
- (6) Tamaoki, D., Karahara, I., Nishiuchi, T., De Oliveira, S., Schreiber, L., Wakasugi, T., Yamada, K., Yamaguchi, K. and Kamisaka, S. Transcriptome profiling in Arabidopsis inflorescence stems grown under hypergravity in terms of cell walls and plant hormones. *Advances in Space Research*(2009).
- (7) 上田純一, 宮本健助. 高等植物の重力応答反応とその分子的基础: 特に黄化エンドウ芽生えの自発的形態形成とオーキシン極性移動について. *宇宙生物科学*, **17**, 116-125 (2003).
- (8) 保尊隆享, 若林和幸, 曾我康一. 植物のもう1つの重力反応: 抗重力-抗重力多糖の機能. *宇宙生物科学*, **17**, 135-143 (2003).