

国際宇宙ステーション (ISS) で生育したヒメツリガネゴケ茎葉体の光合成・成長特性

半場祐子 (京都工繊大), 安田柚里 (京都工繊大), 中澤誠 (京都工繊大), 蒲池浩之 (富山大), 小野田雄介 (京都大), 唐原一郎 (富山大), 久米篤 (九州大), 笠原春夫 (JAMSS), 鎌田源司 (AES), 嶋津徹 (JSF), 鈴木智美 (JAXA), 矢野幸子 (JAXA), 藤田知道 (北大)

Photosynthesis and Growth Traits of the Moss *Physcomitrium patens* Gametophores Grown in the International Space Station

Yuko T. Hanba^{*1}, Yuri Yasuda¹, Makoto Nakazawa¹, Hiroyuki Kamachi², Yusuke Onoda³, Ichirou Karahara², Atsushi Kume⁴, Haruo Kasahara⁵, Motoshi Kamada⁶, Toru Shimazu⁷, Tomomi Suzuki⁸, Sachiko Yano⁸, Tomomichi Fujita⁹

^{*1}Kyoto Institute of Technology, ^{*2}Faculty of Science, University of Toyama, 3190 Gofuku, Toyama 930-8555, ³Kyoto University, ⁴Kyushu University, ⁵Japan Manned Space Systems Corporation, ⁶Advanced Engineering Services, ⁷Japan Space Forum, ⁸Japan Aerospace Exploration Agency, ⁹Hokkaido University

E-Mail: hanba@kit.ac.jp

Abstract: Plants have developed diverse morphological and physiological adaptation strategies to improve photosynthetic performance in the 1 g environment along plant evolutionary history, from bryophytes to angiosperms, because photosynthesis is the primary function for plant growth and survival. Photosynthesis of bryophytes, which are one of the earliest land plants, may have different mechanisms in response to gravity compared to angiosperms. However, there has yet to be any direct relationship demonstrated between gravity and photosynthesis in bryophytes. We performed space experiments to investigate the photosynthesis and growth response to microgravity in the moss, *Physcomitrium (Physcomitrella) patens*. The gametophores of *P. patens* were grown for 25 days under the three experimental conditions such as 1) microgravity in the International Space Station (ISS×μg), 2) an artificial 1 g in ISS (ISS×1g), and 3) 1 g on the ground (Ground×1g). Area-based photosynthesis of the *P. patens* was the lowest at ISS×μg, followed by ISS×1g and then ground×1g that was the highest. Chloroplast sizes in the leaves of *P. patens* were similarly the smallest at ISS×μg and the largest at ground×1g. On the other hand, numbers of gametophores were similar among the three experimental conditions. The decrease in chloroplast sizes under microgravity may involve a reduction of CO₂ diffusion into plants, and thus, decrease photosynthesis in *P. patens*. The unchanged gametophore numbers under microgravity may be due to the fact that low CO₂ diffusion into plants may not limit plant growth because of the very high CO₂ concentrations of 3000 μmol mol⁻¹ in the three experimental conditions.

Key words; Anatomy, Bryophyte, Cell Wall, Chloroplast, CO₂ diffusion, Gas Exchange, Microgravity

1. はじめに

コケ植物は、現生している陸上植物の中で最基部で分岐した系統の植物である。コケ植物は水中から上陸する際に、光や気温、水分状態だけでなく重力影響の激変を経験し、それに適応することによって生き残ってきた。光合成機能は、植物の生存や成長を決定づける最も重要な因子であることから、コケ植物の光合成機能は重力変化に対しても何らかの適応をしたことが考えられる。しかし、重力がコケ植物の光合成機能や成長にどのような影響を与えているのか

については、知見が極めて少ないのが現状である¹⁾²⁾。

われわれのグループは、微小重力に対するコケ植物の光合成応答を明らかにするため、ゲノムが解読されており相同組み換えが容易で、遺伝子解析が行いやすいモデル植物であるヒメツリガネゴケ

(*Physcomitrium (Physcomitrella) patens* Bruch & Schimp subsp. patens) を対象に選んだ。「宇宙におけるコケ植物の環境応答と宇宙利用 (Space Moss)」のプロジェクトとして、2019年7月と12月に2回、ヒメツリガネゴケの宇宙栽培実験を行った。解析の途中経過を報告する。

2. 宇宙実験の概要

国際宇宙ステーション (ISS) 日本実験棟「きぼう」に設置されている細胞培養装置 (CBEF)³⁾ を用いて、PEU 容器に入れた寒天培地上で照射射下・25 日間、ヒメツリガネゴケ茎葉体を培養した。ISS では微小重力条件 (ISS× μ g) と1×g 条件 (ISS×1g) での培養を行った。それに加えて、地上の1×g 条件で宇宙実験と同じタイムスケジュールで培養を行った (Ground×1g)。

光合成速度は ISS 上では測定することができないため、軌道上で培養した茎葉体を4°Cで保存して地上で回収し、実験室で測定を行った (図1)。

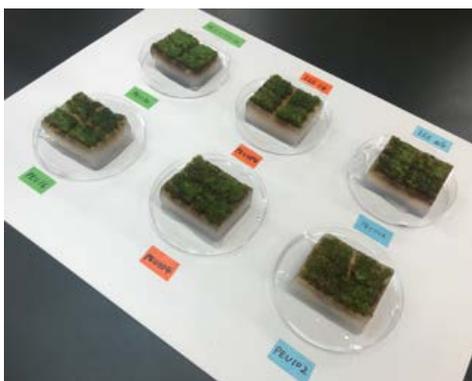


図1 回収されたヒメツリガネゴケ。1つの容器あたり、約300個体の茎葉体が生育している

3. 茎葉体の光合成速度

茎葉体1本あたりの光合成速度は極めて低く測定が困難であるため、容器で生育した茎葉体全体の集団 (キャノピー) を対象として、CO₂濃度を変化させて光合成速度の測定を行った。われわれが行った過重力実験では光合成速度の増加がみられたことから¹⁾²⁾、宇宙実験の微小重力によって光合成速度は減少することが予想された。キャノピーの面積あたり光合成速度は、ISS× μ g < ISS×1g < Ground×1g の順であり、ISS× μ g が最も低かった (図2)。これらの実験条件の間の差は、統計的に有意であった (Paired t-test)。CO₂濃度 400 μ mol mol⁻¹ で測定した場合、ISS× μ g ではISS×1g よりも12%、面積あたり光合成速度が低下していた。茎葉体あたりの光合成速度を算出したところ、ISS× μ g はISS×1g よりも光合成速度がやや低くなる傾向にあった ($P=0.07$, ANOVA)。

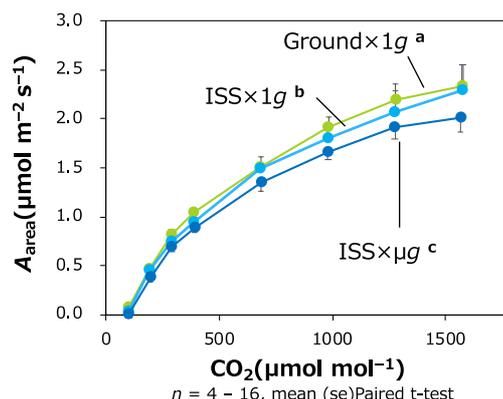


図2 ヒメツリガネゴケの茎葉体の集団 (キャノピー) における面積あたりの光合成速度

これらは我々の予想と一致していた。一方、キャノピーの乾燥重量あたり光合成速度については、ISS× μ g とISS×1g との間には有意な差は認められなかった。

4. 茎葉体の葉の葉緑体サイズ

茎葉体の生葉の光学顕微鏡写真を撮影し、画像解析ソフト ImageJ を用いて葉緑体面積 (写真上の面積) の計測を行った。過重力実験では茎葉体サイズの増加がみられたことから¹⁾²⁾、宇宙実験の微小重力によって葉緑体面積は減少することが予想された。葉緑体面積はISS× μ g < ISS×1g < Ground×1g の順であり、ISS× μ g が最も小さかった (図3)。この結果は我々の予想と一致していた。ISS× μ g はISS×1g よりも20%、葉緑体の面積が小さく、特に長軸方向の長さの減少が顕著であった (45%の減少)。すなわち、微小重力によって葉緑体はより球形に近い形に変化したことになる。

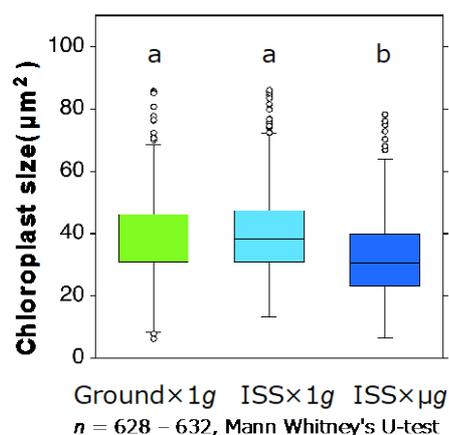


図3 ヒメツリガネゴケの葉における葉緑体面積のボックスプロット。ボックス中の横線は中央値、ボックスの上端と下端は第3四分位数と第1四分位数、バーの上端から下端までは第1四分位数 $\pm 1.5 \times$ (第3四分位数 - 第1四分位数)、白丸は外れ値を示す。

5. 茎葉体数と葉面積の変化

過重力実験では茎葉体数の増加がみられたことから¹⁾²⁾、宇宙実験の微小重力によって茎葉体数は減少することが予想された。しかし予想に反して、ISS×μgとISS×1gとの間に茎葉体数の差はなく、微小重力によって茎葉体数は変化しない、すなわち微小重力は茎葉体の増殖には影響がほとんどないことが明らかになった(図4)。

また、茎葉体の葉面積を測定したところ、ISS×μgはISS×1gと比較すると葉面積が縮小していることが示された(図5)。葉面積の変化は過重力実験では得られていなかったことから、この結果も我々の予想とは反していた。

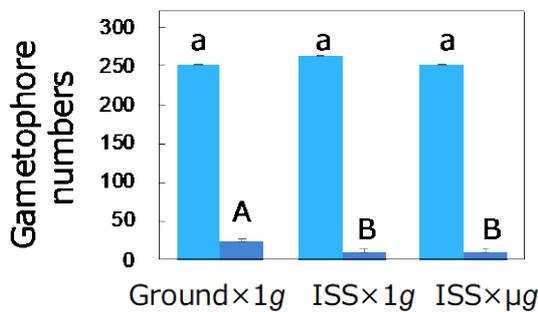


図4 ヒメツリガネゴケのPEU容器内の茎葉体数。薄色のバーは寒天培地上に出ていた茎葉体数、濃色のバーは寒天培地内にあった茎葉体数。

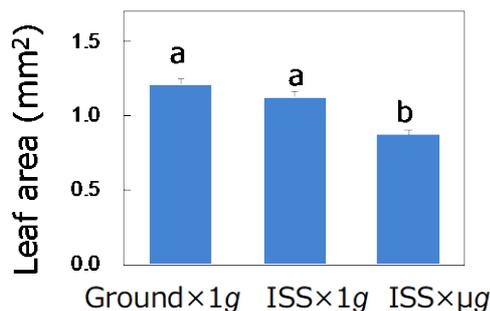


図5 ヒメツリガネゴケの茎葉体の葉面積。

6. 考察と今後の展望

微小重力による葉緑体サイズの減少と光合成速度の減少はわれわれの予想と一致しており、ヒメツリガネゴケにおける光合成の重力応答には、葉緑体サイズの変化が鍵となっている可能性が高いことが確認できた。

一方、ヒメツリガネゴケの成長を表す葉面積や茎葉体数については、過重力実験から予想されたもの

とは異なる結果が得られた。成長に関して過重力実験と微小重力実験の結果に齟齬があるのは、生育時のCO₂濃度が大きく異なることが影響している可能性がある。過重力実験では培養時のCO₂濃度はおよそ400 μmol mol⁻¹である一方、宇宙実験のCO₂濃度は3000 μmol mol⁻¹を超えており、光合成に関しては完全にCO₂飽和した状態にある。微小重力によって茎葉体数の減少が見られなかったのは、葉緑体面積の減少によるCO₂拡散の抑制が多量のCO₂によって相殺されたからかもしれない。

今後は光合成速度に影響を与える複数の因子(葉緑体表面積、葉面積、葉数、茎葉体数)の影響を定量的に解析し、重力応答を決定づける要因を解明する予定である。また、細胞壁の厚さは重力応答を示し³⁾⁴⁾、植物の成長や光合成速度にも大きな影響を与えることから、今後は電子顕微鏡を用いて細胞壁の厚さの計測も行なう予定である。微小重力が葉緑体に及ぼす影響をさらに詳細に解明するため、電子顕微鏡を用いた葉緑体の微細構造観察も計画している。

参考文献

- 1) 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).
- 2) Takemura, K., Watanabe, R., Kameishi, R., Sakaguchi, R., Kamachi, H., Kume, A., Fujita, T., Karahara, I. Hanba, Y.T. Hypergravity of 10 G changes plant growth, anatomy, chloroplast sizes and photosynthesis of the moss *Physcomitrella patens*. *International Journal of Microgravity Science and Applications* 29: 467-473 (2017)
- 3) Yano, S., Kasahara, H., Masuda, D., Tanigaki, F., Shimazu, T., Suzuki, H., Karahara, I., Soga, K., Hoson, T., Tayama, I., Tsuchiya, Y. and Kamisaka, S. Improvements in and actual performance of the Plant Experiment Unit onboard Kibo, the Japanese experiment module on the international space station, *Advances in Space Research*, 51: 780-788 (2013).
- 3) Hoson, T. and Soga, K. New aspects of gravity responses in plant cells, *International Review of Cytology*, 229:209-244 (2003).
- 4) Soga, K. Resistance of plants to gravitational force, *Journal of Plant Research*, 126:589-596 (2013).