

# 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– (2021 年度報告)

唐原一郎(富山大・理), 山浦遼平(富山大・院・理工), 小出みなみ(富山大・院・理工), 田中 蓮(富山大・理), 蒲池浩之(富山大・理), 山内大輔(兵科大・院・理学), 峰雪芳宣(兵科大・院・理学), 玉置大介(富山大・理), 星野真人(JASRI), 上杉健太郎(JASRI), 中井勇介(農研機構・九冲研), 中野明正(千葉大), 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), 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), 日渡祐二(宮城大・食産), 半場祐子(京工繊大・応用生物), 久米 篤(九大・院・農学), 藤田知道(北大・院・理)

## Life cycle of plants in space

– Optimization of plant cultivation conditions through evaluation of 3-dimensional morphology of the root system architecture– (report of fiscal year 2021)

Ichirou Karahara<sup>1</sup>, Ryohei Yamaura<sup>2</sup>, Minami Koide<sup>2</sup>, Ren Tanaka<sup>1</sup>, Hiroyuki Kamachi<sup>1</sup>, Daisuke Yamauchi<sup>3</sup>, Yoshinobu Mineyuki<sup>3</sup>, Daisuke Tamaoki<sup>1</sup>, Makoto Hoshino<sup>4</sup>, Kentaro Uesugi<sup>4</sup>, Yusuke Nakai<sup>5</sup>, Akimasa Nakano<sup>6</sup>, Takumi Nishiuchi<sup>7</sup>, Yasumasa Takao<sup>8</sup>, Futoshi Taura<sup>9</sup>, Toru Shimazu<sup>10</sup>, Haruo Kasahara<sup>11</sup>, Motoshi Kamata<sup>12</sup>, Tomomi Suzuki<sup>13</sup>, Yusuke Onoda<sup>14</sup>, Yuji Hiwatashi<sup>15</sup>, Yuko T. Hanba<sup>16</sup>, Atsushi Kume<sup>17</sup>, Tomomichi Fujita<sup>18</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>Graduate School of Science, University of Hyogo, <sup>4</sup>Japan Synchrotron Radiation Research Institute, <sup>5</sup>NARO, Kyushu Okinawa Agricultural Research Center, <sup>6</sup>Chiba University, <sup>7</sup>Kanazawa University, <sup>8</sup>Experimental Station for Medicinal Plant Research, University of Toyama, <sup>9</sup>Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Toyama, <sup>10</sup>Japan Space Forum, <sup>11</sup>Japan Manned Space Systems Corporation, <sup>12</sup>Advanced Engineering Services, <sup>13</sup>Japan Aerospace Exploration Agency, <sup>14</sup>Kyoto University, <sup>15</sup>Miyagi University, <sup>16</sup>Kyoto Institute of Technology, <sup>17</sup>Kyushu University, <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 because such effects on each process of life cycle of plants is still largely unknown. In the present fiscal year 2021, 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 grown under 1 G on earth in the mixture of moon regolith simulant and poly lactic acid and rhizoid system of *Physcomitrium patens*. Automatic segmentation using machine learning was tested for the rhizoid system.

**Key words;** Plant, *Arabidopsis thaliana*, Life cycle, *Physcomitrium patens*, Root system, X-ray micro-CT

### 1. はじめに

宇宙における植物栽培は、長期の有人宇宙開発を支える生物再生生命維持システムの一部として必須である。しかし、地球の重力下で進化した植物を地球と異なる重力下で栽培することになる。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。

重力が植物に及ぼしている影響を明らかにすることに加え、地球の重力環境に慣れた植物を全く異なる重力環境に置くことで、植物から未知の機能を引き出し機能強化につなげることを目指し、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適宜連携しながら「宇宙における植物の生活環」チームの活動を継続している。月面基地を含む低重力環境下を念頭において、植物栽培を最適化していくことが当面の目標である。

植物体の The hidden half と呼ばれる根系は、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。植物の生活環を構成する栄養成長・生殖成長には、根の張りが大きく関わるため、植物体地上部の収量に影響する土壌中の環境ストレス応答の仕組みの解明は重要な課題である<sup>1)</sup>。重力は個根の重力屈性に影響を与えるに止まらず根圏の養水分分布に影響を及ぼす。月面農業ではそれらを考慮しながら、培地にレゴリスを活用することが課題となる。そこで筆者らは、JAXA 宇宙科学研究所宇宙環境利用専門委員会 2021 年度フロントローディング研究費による助成を受け、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、下記の研究に取り組んだ。加えて、生活環の観点での課題のうち地上部への重力影響については、3 G の過重力環境がシロイヌナズナのシュートの形態および種子形成に与える影響についても調査したが<sup>2)</sup>、本報告ではフロントローディング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

### (1) ヒメツリガネゴケ仮根系の X 線マイクロ CT による可視化の試み

昨年度からの研究で、SPring-8 での屈折コントラスト X 線  $\mu$ CT 撮影を行ったシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) の根系で手動による 3D モデル作成までは手法確立したが、根系画像の自動セグメンテーションが課題となっていた<sup>3)</sup>。他方で、最初の陸上植物であるコケ植物仮根系の重力応答の解明は、陸上植物地下部の重力応答の進化の鍵となる。私たちはヒメツリガネゴケ (*Physcomitrium* (*Physcomitrella*) *patens* (Hedw.) Bruch & Schimp. subsp. *patens*) を用いた宇宙実験 Space Moss を実施し<sup>4)</sup>、仮根系の試料を得ている。ヒメツリガネゴケは植物体がコンパクトなため、画像セグメンテーション自動化・モデル化から三次元形態解析ワークフロー確立のためのモデルケースとなる。そこで、ヒメツリガネゴケ仮根系を寒天ごとパラフィンに包埋し、昨年度より SPring-8 の BL20B2 ビームラインでの屈折コントラスト X 線  $\mu$ CT 撮影を行い、仮根と推測される線状構造は 3 通りの形態をとっていることを確認していた。本年度はこれらが仮根か否かを検証するため、CT 像に対応する部分のパラフィン切片の光学顕微鏡観察および LRWhite 樹脂包埋切片の電子顕微鏡観察を行い、線状構造が仮根であることを確認した。他方で、これらの構造は数が極めて多いため、自動でのセグメンテーションを試行した。構造を抽出するため、ImageJ の輪郭抽出 (Canny 法) と機械学習プラグイン Trainable

Weka Segmentation (TWS)を用いた。線状構造を手動でラベルした正解画像と自動セグメンテーションによる予測画像を比較し予測精度を評価した。予測精度の指標として正解率、F1 スコア及び Intersection over Union (IoU) を求め、指標間で比較した結果、TWS の予測精度は Canny 法と比べ高い傾向が見られた。そこで TWS での予測結果から表面モデルを描画し、また細線化した<sup>5)</sup>。これらモデルからの形態データの定量法の検討が今後の課題である。

### (2) 10 G の過重力環境が薬用作物エビスグサの根系形態に与える影響

宇宙基地での薬用作物栽培を念頭におき、生薬ケツメイシの基原植物であるマメ科のエビスグサ (*Senna obtusifolia* (L.) H. S. Irwin et Barneby) に対する、過重力環境が与える影響を、寒天培地での栽培により調べた。その結果、10 G 下で 30 日間生育させたエビスグサにおいて、シュート系では草丈の有意な減少という抗重力応答が見られた一方で、根系では総側根長の有意な減少が見られた<sup>6)</sup>。

### (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

昨年度に引き続き、模擬月レゴリス (清水建設, FJS-1g) または対照区として破碎赤玉土を用い、栄養塩類と、ダイズやイチゴ等の作物では有効であることが示されているポリ乳酸を土壌改良材として加え、 $\mu$ CT 撮影のためプラスチックチューブ内の小規模スケールで 8 日間栽培した。 $\mu$ CT 撮影を行ったところ、模擬月レゴリスでは根の成長が抑制されたものの、ポリ乳酸を混合した模擬月レゴリス中で根系を可視化することはできた。しかし本実験の小規模スケールでのシロイヌナズナ栽培において、土に対してポリ乳酸を体積比で 1 または 2 加えた場合では、模擬月レゴリス中での根の成長抑制をポリ乳酸が回復させるという効果は見られていない。予備的であるが、模擬月レゴリス中での根の成長抑制の原因を探るため、両者の土を水に懸濁し pH と EC 値 (電気伝導度) を調べた。その結果 pH については有意差は見られなかったが、EC 値は赤玉土に比べて模擬月レゴリスで低下していた。模擬月レゴリス水溶液に含まれる電解質が少ないことが、模擬月レゴリス栽培条件下で根の成長が抑制された原因に寄与している可能性が考えられる。

## 4. 謝辞

JAXA 宇宙科学研究所宇宙環境利用専門委員会 2021 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, 2021B1316 で行った。

#### 参考文献

- 1) Karahara, I., Horie, T. Functions and structure of roots and their contributions to salinity tolerance in plants. *Breed Sci*, **71**, 89-108 (2021).
- 2) 喜納南生, 玉置大介, 唐原一郎; 3 G の過重力環境がシロイヌナズナのシュートの形態および種子形成に与える影響, 日本宇宙生物科学会第 35 回大会, 金沢市 (2021).
- 3) Kurogane, T., Tamaoki, D., Yano, S., Tanigaki, F., Shimazu, T., Kasahara, H., Yamauchi, D., Uesugi, K., Hoshino, M., Kamisaka, S., Mineyuki, Y., Karahara, I. Visualization of Arabidopsis root system architecture in 3D by refraction-contrast X-ray micro-computed tomography. *Microscopy*, **70**, 536–544 (2021).
- 4) Kume, A., Kamachi, H., Onoda, Y., Hanba, Y.T., Hiwatashi, Y., Karahara, I., Fujita, T. How plants grow under gravity conditions besides 1 g: perspectives from hypergravity and space experiments that employ bryophytes as a model organism. *Plant Mol Biol* **107**, 279–291 (2021).
- 5) 山浦遼平, 玉置大介, 蒲池浩之, 山内大輔, 峰雪芳宣, 星野真人, 上杉健太郎, 嶋津徹, 笠原春夫, 鎌田源司, 鈴木智美, 久米篤, 半場祐子, 藤田知道, 唐原一郎; ヒメツリガネゴケ仮根系の X 線マイクロ CT による可視化の試み, 日本宇宙生物科学会第 35 回大会, 金沢市 (2021).
- 6) 小出みなみ, 玉置大介, 蒲池浩之, 高尾泰昌, 田浦太志, 唐原一郎; 10 G の過重力環境が薬用植物エビスグサの形態及び力学的性質に与える影響, 日本宇宙生物科学会第 35 回大会, 金沢市 (2021).