

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– (2022 年度報告)

唐原一郎(富山大・理), 山浦遼平(富山大・院・理工), 若林孝尚(富山大・理), 平井泰蔵(富山大・理), 矢野敦也(富山大・理), 小出みなみ(富山大・院・理工), 玉置大介(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), 曾我康一(大阪公立大), 藤井伸治(東北大), 若林和幸(大阪公立大), 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(JSF), 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 2022)

Ichirou Karahara¹, Ryohei Yamaura², Takahisa Wakabayashi¹, Taizo Hirai¹, Atsuya Yano¹, Minami Koide², Daisuke Tamaoki¹, Hiroyuki Kamachi¹, Daisuke Yamauchi³, Yoshinobu Mineyuki³, Kouichi Soga⁴, Nobuharu Fujii⁵, Kazuyuki Wakabayashi⁴, Makoto Hoshino⁶, Kentaro Uesugi⁶, Yusuke Nakai⁷, Akimasa Nakano⁸, Takumi Nishiuchi⁹, Yasumasa Takao¹⁰, Futoshi Taura¹¹, Toru Shimazu¹², Haruo Kasahara¹³, Motoshi Kamata¹⁴, Tomomi Suzuki¹⁵, Yusuke Onoda¹⁶, Yuji Hiwatashi¹⁷, Yuko T. Hanba¹⁸, Atsushi Kume¹⁹, Tomomichi Fujita²⁰

¹Faculty of Science, University of Toyama, Gofuku, Toyama, 930-8555 Japan ²Graduate School of Science and Engineering, University of Toyama, ³Graduate School of Science, University of Hyogo, ⁴Osaka Metropolitan University, ⁵Tohoku University, ⁶Japan Synchrotron Radiation Research Institute, ⁷NARO, Kyushu Okinawa Agricultural Research Center, ⁸Chiba University, ⁹Kanazawa University, ¹⁰Experimental Station for Medicinal Plant Research, University of Toyama, ¹¹Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Toyama, ¹²Japan Space Forum, ¹³Japan Manned Space Systems Corporation, ¹⁴Advanced Engineering Services, ¹⁵Japan Aerospace Exploration Agency, ¹⁶Kyoto University, ¹⁷Miyagi University, ¹⁸Kyoto Institute of Technology, ¹⁹Kyushu University, ²⁰Hokkaido 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. Here we report our results of the Front loading researches funded by JAXA ISAS Expert Committee for Space Environment Utilization Science in the present fiscal year 2022. We have tested pre- and post-image processing in addition to machine learning to improve automatic segmentation of rhizoids of *Physcomitrium patens* observed by X-ray micro-CT. We also tested to grow sweet basil plants using the moon regolith simulant. We have successfully improved cultivation conditions using the moon regolith simulant to grow plants of *Arabidopsis* for a longer term until they bear flowers.

Key words; *Arabidopsis thaliana*, Life cycle, *Ocimum × africanum*, *Physcomitrium patens*, Plant, Root system, *Senna obtusifolia*, 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不可欠であるが、地球の重力環境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。当面の目標は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である。

植物体の根系は、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。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。植物体地上部の収量確保のためには、土壤中の環境ストレス応答の仕組みの解明が重要な課題である。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 2022 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。生活環の課題としては 3 G の過重力環境がシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) 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、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

2021 年度の研究で、X 線 μ CT 撮影を行ったシロイヌナズナの根系で手動による 3D モデル作成までは手法を確立したが¹⁾、根系画像のセグメンテーションの自動化を模索するにはデータサイズが課題となっていた。そこでコンパクトな仮根系を持つコケ植物に着目し、ヒメツリガネゴケ

(*Physcomitrium patens* (Hedw.) Bruch & Schimp. subsp. *patens*) を用いた宇宙実験 Space Moss²⁾ で得た仮根系試料を用いて、根系解析に通用する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を行うことを目指した³⁾。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、X 線 μ CT 撮影で得た 3D データでは、仮根は膨大な数であり、パラフィン包埋による人工産物のため 3 通りの形態をとっていた。これらを包括的に自動でセグメンテーションするには、ImageJ の機械学習プラグイン Trainable WEKA Segmentation (TWS) が有効であった^{4,5,6)}。そこで、仮根のセグメンテーション精度を上げるための事前・事後処理を模索した。上下にわけて撮影し、結合したデータを通じて、背景輝度値を基準化

し、3D Median filter と Unsharp Mask で事前処理を行い、次に機械学習と再学習を、結合した上下データを通じて繰り返すことで予測結果を得た。事後処理にも改良を加えた結果、ボリュームモデルを概観すると、先端付近では検出された仮根が増加し、データ接続部での不連続性⁷⁾が解消されていた。この段階で機械学習の精度評価を行ったところ、陽性を重視する F1 値と IoU は向上していた。

次に定量解析のためオブジェクト絞り込みの事後処理を検討した。密になり接触する仮根が残ると仮根角度定量の誤差の要因になるため、Vesselness Score で絞るが絞り込み前に、空白スライスを挿入し、絞り込み後にスライスを消去することで、仮根をできるだけ残す工夫をした。ボリュームモデルを概観すると、絞り込み後でもより多くの仮根を保持していた。仮根の先端側から基部側にむけての、スライスあたりのオブジェクト数(仮根数)をプロットすると、上下データの接続部での極めて多いノイズによる不自然なピークは、今回の工夫により大きく低下した。

(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、LC-MS/MS によりシュート系および根系のメタボローム解析を行ったところ、二次代謝産物の有意な増減が見られた。植物体全体でみると減少した成分の方が多く、フラボノイドに着目すると、シュート系・根系いずれにおいても増加したものより減少したものの方が多かった。微小重力環境下では、有用な成分がより増加する可能性が考えられる^{8,9)}。

(3) 模擬月レゴリス栽培がスイートバジル子葉の成長と精油生産に与える影響

まだ予備的であるが作物であるスイートバジル (*Ocimum × africanum* Lour.) の模擬月レゴリス (FJS-1g, 清水建設) での栽培を寒天栽培と比較した。模擬月レゴリス栽培の 6 日齢芽生えでは、寒天栽培と比較し子葉の面積が小さく生重量は低くなり、子葉の成長は阻害されていた。他方で、精油成分としてのメチルオイゲノール、1,8-シネオールの含量については、子葉の成長が阻害されたためそれぞれの成分の総含量は模擬月レゴリス栽培で減少したものの、それぞれの成分の生重量あた

りの含量には大きな変化は見られていない。解析試料数を増やしての検証が引き続き必要である。

(4) 模擬月レゴリスを用いたシロイヌナズナ栽培

昨年度は X 線 μ CT での可視化のために小さなブラバイアル容器 (ϕ 10 mm) を用いて栽培したため結果が安定しない問題があった。本年度は容器をコニカルチューブ (ϕ 25 mm) にスケールアップし、土壌改良材ポリ乳酸の効果の再現性を確認した。まずこの実験系での栽培条件を検討し、給水は底面より行うこと、表面はラップ等で覆うのではなく通気性を確保することが良いことがわかった。対照区としての赤玉土またはレゴリスに、土の量に対する体積比で 1 または 2 のポリ乳酸を混ぜた。この方法でひとまず 18 日間栽培することが出来たので、総根長を比較した結果、レゴリス中での根の成長は赤玉土より悪く、ポリ乳酸による根の成長の改善効果はいずれの土においても見られなかった。他方、この栽培条件では 18 日間でも根はまだ成長を続けていたので、容器を 100 mL ポリエチレン広口瓶 (ϕ 48 mm) にスケールアップし、より長期栽培することを試みた。その結果 47 日間栽培でき、抽茎・開花に成功した。同時に同じ条件で、試しに表面を耕起したものと、VA 菌根菌を混ぜたものも調べたところ、無処理のものとは比べて特に成長が促進される様子は見られなかったが、抽茎・開花に成功した。無処理のものでは種子がわずかに 1 つであるが収穫された。今後も再現性を確認しつつ引き続き栽培条件の最適化を進める。

3. 謝辞

JAXA 宇宙科学研究所宇宙環境利用専門委員会 2022 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, 2022B1143 で行った。

JAXA の「きぼう」利用フィジビリティスタディの支援を受け「宇宙におけるコケ植物の環境応答と宇宙利用(スペース・モス)」として実施した。

参考文献

- 1) 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).
- 2) 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).

- 3) 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.; Three-dimensional morphological analysis of arabidopsis root systems grown in space by x-ray micro-computed tomography, The 8th International Symposium on Root Structure and Function, High Tatras, Slovakia (2022).
- 4) Karahara, I., Yamaura, R., Tamaoki, D., Kamachi, H., Yamauchi, D., Mineyuki, Y., Hoshino, M., Uesugi, K., Shimazu, T., Kasahara, H., Kamada, M., Suzuki, T., Hanba, Y., Kume, A., Fujita, T., Three-dimensional visualization of the rhizoid system architecture of *Physcomitrium patens* grown in space by X-ray micro-CT performed at SPring-8. The 44th Scientific Assembly of the Committee on Space Research (COSPAR), Athens, Greece (2022).
- 5) Yamaura, R., Tamaoki, D., Kamachi, H., Yamauchi, D., Mineyuki, Y., Uesugi, K., Hoshino, M., Suzuki, T., Shimazu, T., Kasahara, H., Kamada, M., Hanba, Y.T., Kume, A., Fujita, T., Karahara, I. Three-dimensionally visualized rhizoid system of moss, *Physcomitrium patens*, by refraction-contrast X-ray micro-computed tomography. *Microscopy*, **71**, 364–373 (2022).
- 6) 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, SPring-8 シンポジウム 2022 SPring-8 がつむぐ学術と社会のシンポジウム, 兵庫県佐用郡佐用町 SPring-8 (2022).
- 7) Karahara, I., Yamaura, R., Tamaoki, D., Kamachi, H., Yamauchi, D., Mineyuki, Y., Hoshino, M., Uesugi, K., Shimazu, T., Kasahara, H., Kamada, M., Suzuki, T., Hanba, Y., Kume, A., Fujita, T., Visualization of 3D architecture of the rhizoid system of *Physcomitrium patens* grown in space by X-ray micro-CT. The 13th Asian Microgravity Symposium (2022)
- 8) Koide, M., Tamaoki, D., Kamachi, H., Takao, Y., Taura, F., Nishiuchi, T., Karahara, I.; Effects of 10 G hypergravity on the morphology and metabolites of leguminous medicinal plant *Senna obtusifolia* (L.) H.S.Irwin et Barneby, The 44th Scientific Assembly of the Committee on Space Research (COSPAR), Athens, Greece (2022).
- 9) 小出みなみ, 玉置大介, 蒲池浩之, 曾我康一, 高尾泰昌, 田浦太志, 西内巧, 唐原一郎; 10 G の過重力環境がマメ科薬用植物エビスグサの機械的性質およびメタボロームに与える影響, 日本宇宙生物学会第 36 回大会, 名古屋 (2022).