



# 表現形質評価管理システム「FieldBook」によるイネ 出穂期計測の効率化

岡田, 聡史 ; Garcia, Arturo ; 合田, 喬 ; 前田, 道弘 ; 片岡, 知守 ; 末  
廣, 美紀 ; 山崎, 将紀

---

(Citation)

育種学研究, 16(2):32-36

(Issue Date)

2014

(Resource Type)

journal article

(Version)

Version of Record

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/90002870>



## ノ ー ト

## 表現形質評価管理システム「FieldBook」によるイネ出穂期計測の効率化

岡田聡史<sup>1)</sup>・Arturo Garcia<sup>2)</sup>・合田 喬<sup>1)</sup>・前田道弘<sup>1)</sup>・片岡知守<sup>3)</sup>・末廣美紀<sup>1)</sup>・山崎将紀<sup>1)</sup><sup>1)</sup> 神戸大学大学院農学研究科附属食資源教育研究センター, 兵庫県加西市, 〒675-2103<sup>2)</sup> アメリカ農務省農業研究部門, アメリカ合衆国ミズーリ州コロンビア市, 65202<sup>3)</sup> 農研機構・九州沖縄農業研究センター, 福岡県筑後市, 〒833-0041

## Highly efficient phenotyping of rice heading date in the system “FieldBook”

Satoshi Okada<sup>1)</sup>, Arturo Garcia<sup>2)</sup>, Takashi Goda<sup>1)</sup>, Michihiro Maeda<sup>1)</sup>, Tomomori Kataoka<sup>3)</sup>, Miki Suehiro<sup>1)</sup> and Masanori Yamasaki<sup>1)</sup><sup>1)</sup> Food Resources Education and Research Center, Graduate School of Agricultural Science, Kobe University, Kasai, Hyogo 675-2103, Japan<sup>2)</sup> United States Department of Agriculture-Agricultural Research Service, Columbia, MO 65202 USA<sup>3)</sup> National Agriculture and Food Research Organization, Kyushu Okinawa Agricultural Research Center, Chikugo, Fukuoka 833-0041, Japan

## キーワード

表現形質の計測と管理, バーコード, FieldBook, イネ出穂期

## 緒 言

現在に至るまで, 様々な作物において農業上有用な形質を含む表現型を制御している遺伝子が同定されてきた (Mauricio 2001, Zhu *et al.* 2008). QTL 解析やアソシエーション解析のような遺伝学的解析のためには, 遺伝子型と表現型のデータがそれぞれ必要となる. 遺伝子型は様々な DNA マーカー技術に加え, 次世代シーケンサーの登場およびその改良によって大量の遺伝子型を高速で安価に取得できるようになった (Metzker 2010, Elshire *et al.* 2011).

一方, 表現型測定においても自動化や機械化の試みがなされており, 圃場における表現形質調査法の開発も進行している (White *et al.* 2012, Cobb *et al.* 2013). しかし, イネ等の作物における圃場での表現形質調査では, 未だに「紙と鉛筆」を使用して系統や個体を識別しながら測定し, 形質値を記録した後は手作業で PC の表計算ファイルに入力してデータを保存する一連の作業を行っている場合が多い (図 1A). また, イネ育種の現場では, 一人あたり約 4,000 系統を分担し, 複数の形質調査が行われている (九州沖縄農業研究センターの例). このように, 大規模な材料で多くの表現形質を扱う研究や実際の育種では, 調査に要する時間や労力が多大で, 単純な人

為的過誤を含むデータの正確性に問題が生じることは容易に推測できる. さらに, 「紙」の使用は水田特有の泥や水に対して脆弱であるだけでなく, 書き間違いなどを修正する際に消しゴムで消すと, 破れたり, 汚れたりすることも頻繁である. また, イネの表現形質は多岐にわたり, 形質によっては調査できる時間や時期に制限があるため, 制限時間内に測定できる個体数は限られてくる. 総合するとイネの遺伝学的解析に必要なデータの内, 表現形質データ量が頭打ちになっている. 遺伝学的解析を加速させるためには, 効率化の進んだ DNA 多型の決定に比べて, 多大な時間と労力を要する形質評価の速度と精度を上げ, そのデータを効率よく管理するための技術革新が必要である.

以上のような現在のイネ表現形質調査に関する問題を改善するために, 表現形質評価・管理システムとして山崎と Garcia は「FieldBook」(2012), セタらは「iYacho」(2012), 岩手生物工学研究センターと FCR&Bio 株式会社は「バーコードシステムを利用した形質評価システム」(宇津志ら 2012) をそれぞれ開発した. 今回, イネに特有な水田環境において FieldBook の有用性を検証するために, 大規模実験集団のイネ出穂期を測定し, 従来の紙と鉛筆を用いた調査と時間や正確性を具体的に比較した.

## FieldBook の概要と表現形質調査

FieldBook は, トウモロコシの遺伝解析 (Buckler *et al.* 2009) に用いられた 1 次元バーコードシステムを利用し

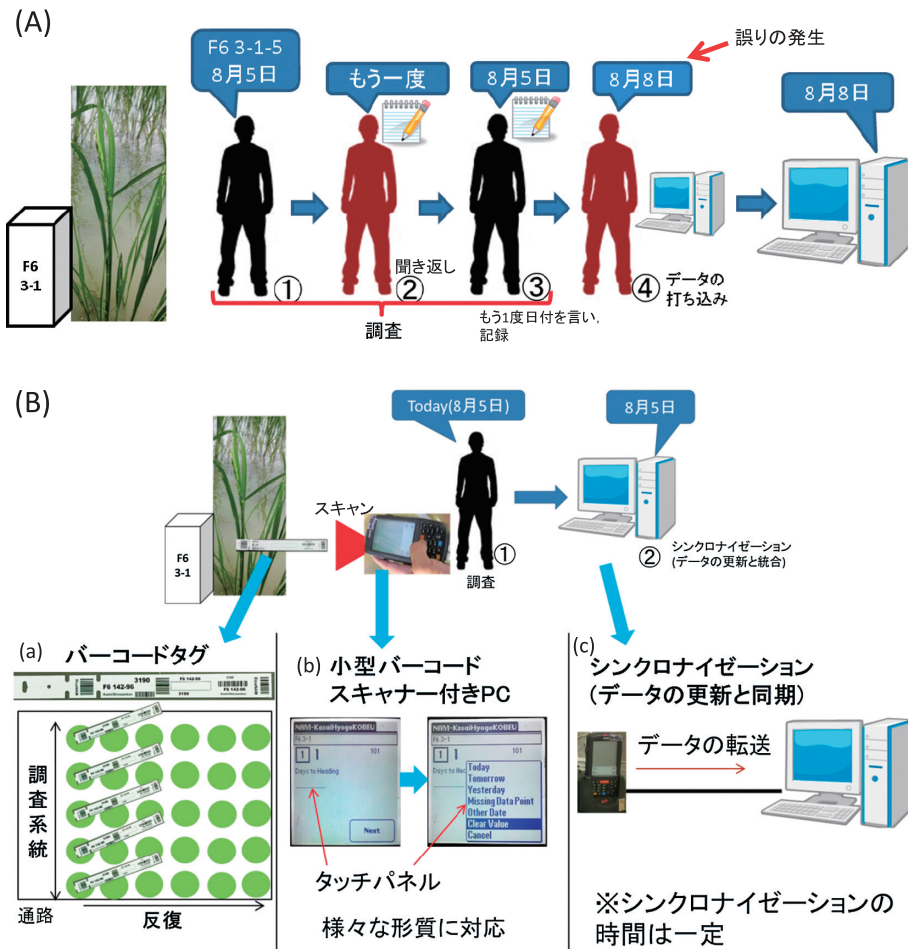


図 1. (A) 紙と鉛筆を用いたイネ出穂調査の概要（二人一組の場合：黒色の人が調査して情報を提供し、赤色の人が記録する。調査が大規模になった時に、この方式が多い）。紙と鉛筆で調査を行った場合、紙への書き取りとデータの入力に多大な時間がかかり、過誤の可能性が存在する。材料が大規模化した場合、時間の短縮と誤りの軽減が課題となる。(B) FieldBookを用いたイネ出穂調査の概要。FieldBookによる調査は主にバーコードタグの取り付け (a)、単独での調査 (b)、データの転送と同期 (c) により行われる。紙と鉛筆による調査と比べると、調査とデータの入力に必要とする時間の短縮と誤りの減少が可能である。

た形質調査システムを基に、イネの形質調査にも対応させた高効率な表現形質調査・管理システムに改良されている（山崎・Garcia 2012）。

図 1B に FieldBook を用いたイネの表現形質調査の概要を示した。FieldBook システムでは、紙と鉛筆に相当するものが「バーコードスキャナー付き小型 PC（以下バーコード PC、図 1B①参照）」である。バーコード PC の画面はタッチパネルになっており、簡単に操作できる。また、防水機能もあり、イネ栽培に特有な「水田」という環境に耐えられる。実際に調査を行う場合、個体または系統にあらかじめ「バーコード付きタグ（以下タグ、図 1B (a)）」をつけておく必要がある。調査の際にはタグのバーコードをバーコード PC で読み取り、バーコード PC の画面を該当する個体または系統の形質値入力画面（図 1B (b)）に切り替える。また、入力画面の「Next」を押すと、既に形質値が入力されている個体または系統を無視して、未入力のものを探索することができる。次に、測定形質が出穂期の場合、図 1B (b) 左図の形質値

入力欄に触れると、図 1B (b) 右図のような選択項目の一覧が表示される。この中から特定の項目を選ぶが、主に使用される出穂期に関する項目 Today, Tomorrow, Yesterday の 3 つについては自動的に日付が入力されるので、日付の混乱は起こらない。FieldBook は多くの形質にも対応しており、稈長などの表現形質では、バーコード付き測定器（ものさし等の目盛毎にバーコードが取り付けられているもの）のバーコードを読み取ることで形質値を入力できる。以上のように形質値を記録した後、データ保存用 PC（以下ホスト PC）にバーコード PC を接続してデータを転送し、ホスト PC 内でデータを更新する（シンクロナイゼーション、図 1B (c)）。バーコード PC が複数の場合、それぞれのバーコード PC から転送されたデータがホスト PC 内で統合される。統合後にホスト PC からそれぞれのバーコード PC へデータを転送し、すべてのバーコード PC に最新のデータが共有される。このシンクロナイゼーションに要する時間は圃場で更新したデータの量によらず毎回一定である。また、既にホスト

表 1. FieldBook による出穂調査を行った 6 名のデータ

計測者 (計測日数) <sup>1)</sup>	A	B	C	D (1 日)	E (6 日)	F (3 日)	合計	平均
登録された個体数 (個体)	14,445	15,910	3,718	15	501	172	34,761 <sup>2)</sup>	—
調査時間 (分)	10,580	8,190	2,915	70	840	390	22,985	—
1 個体あたりの調査時間 (秒)	44	31	47	280	101	136	—	40
過誤 (個体)	9	25	9	0	14	1	58	—
過誤率 (%)	0.062	0.157	0.309	0	2.794	0.581	—	0.167

<sup>1)</sup> A, B, C の 3 名 (熟練者) が主に調査を行い, D, E, F の 3 名 (非熟練者) は表中の日数のみ調査に参加した。

<sup>2)</sup> 過誤が検出されたものに対してはシンクロナイゼーションの際に複数回登録されたため, 合計個体数は実際の個体数よりも多くなっていた。

PC に登録されているデータをバーコード PC 内で誤って変更した場合, バーコード PC からホスト PC へのデータ転送後, 「Conflict」として変更が検出され, 修正ができる。

以上のような調査過程となるので, FieldBook での出穂調査は紙と鉛筆を使用した場合に必要なステップを省略できるため, 大幅な時間の短縮と正確性の向上が期待できる (図 1A, 1B)。なお, FieldBook を導入するにあたっては前述したバーコード PC, タグ, ホスト PC の他にバーコードを作成するソフトならびに Microsoft Access が必要である。加えて, FieldBook は日本語への対応が現在十分ではないため, ホスト PC, Access 共に英語版が必須である。ホスト PC の OS は WindowsXP もしくは Windows7 が適している。さらに, バーコード PC は Janam Technologies LLC 社製の Janam XP20W-1NMLYC00 で Palm OS が搭載されている。これらをすべて揃えるならば, 約 30 万円の費用が必要である。

## 材 料

FieldBook を使用した調査では, イネ 504 品種・4,297 系統, 計 34,106 個体を測定対象とし, 2012 年 4 月 23～27 日に播種, 6 月 2～4 日に圃場に移植した。紙と鉛筆を用いた調査では, イネ 56 系統, 計 336 個体を対象とし, 2012 年 6 月 26 日に播種, 7 月 18 日に圃場に移植した。以上の材料は神戸大学大学院農学研究科附属食資源教育研究センター (兵庫県加西市) ですべて育成した。

## 方 法

### 1. 対象形質

本研究ではイネ出穂期を測定形質とした。出穂期は栽培適地の決定や収量をはじめ, 多くの形質に影響を及ぼす (Hori *et al.* 2012) 育種上重要な形質である。本来, 出穂期は「全個体や系統の 50%が出穂を始めた日」(農業生物資源研究所 2012) と定義されるが, 複数人で調査する場合, 調査を行った人によって出穂期判定に差が生じる恐れがあるため, 「出穂はじめ」を対象とし, 個体ごとに測定した。

### 2. 調査人数

FieldBook を用いた出穂調査では, 主に A, B, C の 3 名が行い (全体の 98%を調査), 他に D が 1 日, E が 6 日間, F が 3 日間, 合計 6 名で調査した。また, FieldBook での調査の際 6 名が個別に調査を行ったので, 紙と鉛筆を用いた調査でも A が単独で調査を行った。

### 3. 計測項目

FieldBook を用いた調査では, 1 日の測定個体数と, 出穂調査開始から終了までの時間 (圃場への出入時刻から算出) を計測し, 過誤があった場合についてはその数も記録した。これらの項目は上記の 6 名についてそれぞれ記録した。

紙と鉛筆を用いた調査では, 1 日の測定個体数, 出穂調査開始から終了までの時間 (圃場への出入時刻から算出), 過誤数, PC への形質値入力時間, 入力された値の正誤を確認する時間 (2 回確認) を計測した。また, 形質値の入力漏れや入力の誤りがあった場合にはこれらの数も記録した。

## 結果および考察

### 1. FieldBook を用いたイネ出穂調査

FieldBook では, 調査の前にタグを取り付けておく必要がある, この作業に要した時間は約 16 時間であった。FieldBook を用いた調査での各人と合計のデータを表 1 に示した。調査全体での平均速度は 40 秒/個体であり, 全体の過誤率は 0.167%であった。調査日の内, 8 月 1 日が調査時間, 測定個体数共に最も多く, A, B, C の 3 名がこの日に調査し, 測定個体数は 1,918 個体, 調査時間はのべ 12 時間 30 分であった。また, A が最も多く計測した日は 8 月 2 日で, 測定個体数は 826 個体, 調査時間は 6 時間 45 分であった。シンクロナイゼーションの時間は毎回一定であり, 全測定個体数が 34,106 個体の場合, バーコード PC→ホスト PC で 1 回 3 分, ホスト PC→バーコード PC で 1 回 30 秒であった。本研究では最大 4 台のバーコード PC を使用したので, 1 日のシンクロナイゼーションに要した時間は最大 14 分であり, また, 調査日すべての合計時間は 11.4 時間であった (表 2)。



表 2. シンクロナイゼーションの時間

シンクロナイゼーション	1 回
バーコード PC→ホスト PC	3 分
ホスト PC→バーコード PC	30 秒
総計	11.4 時間

表 3. 紙と鉛筆を用いた出穂調査者 A のデータ

A		
計測個体数	個体数 (個体)	336
および時間	時間 (分)	351
	1 個体あたりの調査時間 (秒)	62
	入力時間 (秒)	3,571
パソコンへの	チェック (秒)	540
入力時間	合計 (秒)	4,111
	1 個体あたりの入力時間 (秒)	12.2
	調査時の過誤 (個体)	1
過誤	パソコンへの入力時の過誤 (個体)	6
	総過誤 (個体)	7
	総過誤率 (%)	2.1

## 2. 紙と鉛筆を用いたイネ出穂調査

紙と鉛筆を用いた調査では、最多の測定個体数は 8 月 29 日の 25 個体、最長調査時間は 8 月 25 日の 13 分であった。

紙と鉛筆を用いた調査でのデータを表 3 に示した。調査全体での平均速度は 62 秒/個体となった。また、紙と鉛筆を用いた調査では、パソコンへの入力時間と入力したデータの確認時間を合計して入力速度を算出した結果、12.2 秒/個体であった。加えて、紙と鉛筆での調査の過誤の割合は 2.1%であった。

## 3. イネ出穂調査における FieldBook と紙と鉛筆による比較と検証

今回、計 6 名で FieldBook による出穂調査を行ったが、主に調査を行ったのは A、B、C の 3 名であり、D、E、F の 3 名による調査期間は前者の 3 名よりも少ない。前者を FieldBook の熟練者、後者を非熟練者として分けると、FieldBook による 1 個体あたりの調査時間は紙と鉛筆の時間と比較して熟練者では大幅に減少していたが、非熟練者では FieldBook の方が多くの時間を要していた。また、FieldBook による E の過誤率は紙と鉛筆での過誤率よりも高くなっていた (表 1, 表 3)。これらの理由として (1) 非熟練者は調査に参加した日数が短かったこと、(2) FieldBook を用いた調査に慣れるまでに至らなかったことに加えて、特に E と F はイネの形質調査自体が初めてであったこと、(3) 非熟練者の調査期間が出穂の最盛期から外れており、調査対象個体までの移動時間が長かったことも影響していると考えられる。

以上の事柄を踏まえると、熟練者と非熟練者の差は両者間に存在する形質評価や機器使用の経験による差が大

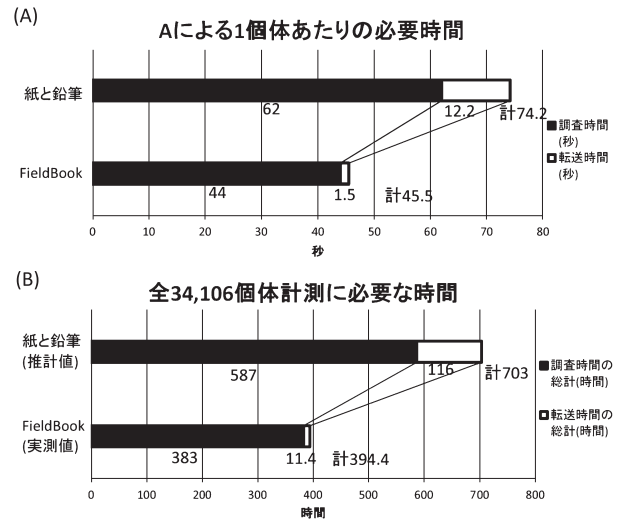


図 2. 紙と鉛筆と FieldBook の出穂調査時間および転送時間の比較. (A) 調査者 A のデータを用いて算出した 1 個体あたりの必要な時間の比較. (B) 全 34,106 個体を計測する場合に必要な時間の比較. 紙と鉛筆のデータは (A) のデータから計算した推計値である。

きいことが示唆される。そのため FieldBook のデータは熟練者のものを用いて比較を行うことが妥当であると考えられるので、以降では、熟練者の代表値として A の結果を用いて比較・検証を行った。

### 1) 出穂調査からデータ入力 (転送) に必要な時間の比較と検証

FieldBook は紙と鉛筆での調査と比較して、調査時間は約 30%減少 (18 秒減)、転送時間は約 8 倍 (10.7 秒減) 速くなり、合計約 40%削減 (28.7 秒減) できた (図 2A)。全 34,106 個体による推計では、調査時間は 35%減少 (204 時間減)、転送時間は約 10 倍 (104.6 時間減) 速くなり、合計では 44%削減 (308.6 時間減) できると考えられた (図 2B)。特に、形質値データの転送時間の減少が顕著であった。FieldBook ではタグを取り付ける時間が必要であるが、今回その時間は約 16 時間であり、この時間を含めても全体としては紙と鉛筆での調査より大幅な時間の短縮が明確となった。また、FieldBook を用いて A 単独で 1 日に調査した最多個体数は 826 個体で、調査時間は 6 時間 45 分、転送時間は 3 分であった。この日の調査を紙と鉛筆を用いる場合、調査時間は 14 時間 20 分、データ入力は 2 時間 40 分と予測されるので、1 日で一連の作業を終えることが困難であると考えられる。さらに、紙と鉛筆では調査用紙は A4 用紙 1 枚で今回済んだが、全 34,106 個体の場合、A4 用紙で 100 枚を超えることが分かっている。この膨大な調査用紙から出穂調査の対象個体を探す時間は含まれていないので、実際にはこれ以上に時間が必要であると予測される。

また、本研究では紙と鉛筆での調査は一人で行ったが、図 1 (A) のように二人で行った場合では、今回のデータよりも調査速度は速くなることが推測される。しかし、

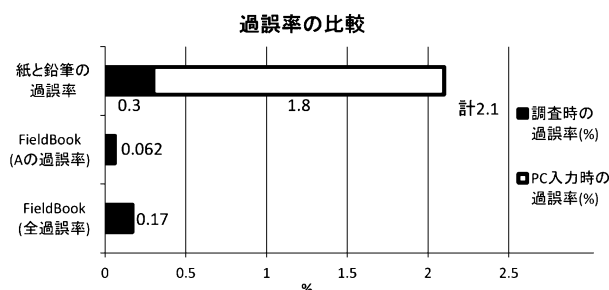


図3. 紙と鉛筆と FieldBook の過誤率の比較. FieldBook の過誤率は調査者 A のみのデータと全体データを示した.

FieldBook の場合二人個別の調査になるので、その速度は2倍になる。そのため、紙と鉛筆での調査を二人一組で行ったとしても FieldBook の方が高効率であると考えられる。

以上より FieldBook での調査は紙と鉛筆に比べ、材料の規模が大きくなるにつれ、省力化が顕著となった。調査および入力（転送）時間の大幅な短縮を導くことが実証でき、さらに、1日に行うことができる調査量の限界値も格段に上昇させることができた。

## 2) 過誤率の比較と検証

FieldBook を用いた出穂調査では、A のみの過誤率は0.062%、全体の過誤率は0.167%であったのに対し、紙と鉛筆を用いた調査の過誤率は約2.1%であった（図3）。FieldBook での A 個人の過誤率は紙と鉛筆の過誤率と比較して約1/35、全体の過誤率でも約1/10といった大幅な低下を達成できた。さらに、紙と鉛筆での調査の過誤は調査後に行うデータ入力時に発生していることが多く、2.1%の内、1.8%がデータ入力時の過誤率にあたる（図3）。一方、FieldBook では、データはバーコード PC をホスト PC に接続して行うシンクロナイゼーションの過程で自動的に行われるため、過誤が発生する可能性は極めて低いと考えられる。加えて、紙と鉛筆での調査用紙上で、データ記載済の個体が多数のために、データ未記録である個体の調査を失念する可能性が十分考えられる。反対に、FieldBook では未記録個体へのデータ入力を促す「Next」機能（図1B（b）参照）があるため、データの取り忘れるはほとんど起こらない。

以上のように、FieldBook システムによって出穂調査中の過誤とデータ入力時の過誤を大幅に抑えることができたといえる。

## おわりに

現在、世界人口は70億人を越え、2040年には90億人に達すると予測されている（<http://www.unpopulation.org>）。この人口増加のために食料の増産は必須事項である。そのため、育種の加速化が求められるが、現在の育

種システムは新品種育成までには長い年月が必要になっている。近年、新しい育種法として作物におけるゲノミックセレクション（genomic selection: GS）が提唱されている（Jannink *et al.* 2010）。GSはゲノムワイドマーカーの遺伝子型から、選抜形質の育種価を予測し、目的の形質を持つ個体を早期に選抜する方法である。この方法によって育種年限の短縮が可能となるが、GSを行う際には、予測モデルの作成に数多くの正確な表現型データが必要となるため、正確かつ効率的な表現型測定法の開発が必要である。今回の調査に用いた FieldBook は測定速度、データ入力時間、過誤率のすべての項目で従来の紙と鉛筆を用いた調査よりも優れており、非常に効率的な出穂調査を行えることが実証されたため、現在行われている育種や遺伝学的研究、さらにはGSに大きく貢献できることが期待できる。今後、多様な表現形質をより効率的に調査するために、さらに FieldBook を改良していく予定である。

## 謝辞

本研究の一部は農林水産省新農業展開ゲノムプロジェクト（NVR-0002）の支援を受けて実施された。

## 引用文献

- Buckler, E.S., J.B. Holland, P.J. Bradbury, C.B. Acharya, P.J. Brown, C. Browne, E. Ersoz, S. Flint-Garcia, A. Garcia, J.C. Glaubitz *et al.* (2009) *Science* 325: 714–718.
- Cobb, J.N., G. DeClerck, A. Greenberg, R. Clark and S. McCouch (2013) *Theor. Appl. Genet.* 126: 867–887.
- Elshire, R.J., J.C. Glaubitz, Q. Sun, J.A. Poland, K. Kawamoto, E.S. Buckler and S.E. Mitchell (2011) *PLoS One* 6: e19379.
- Hori, K., T. Kataoka, K. Miura, M. Yamaguchi, N. Saka, T. Nakahara, Y. Sunohara, K. Ebana and M. Yano (2012) *Breed. Sci.* 62: 223–234.
- Jannink, J.-L., A.J. Lorenz and H. Iwata (2010) *Brief. Funct. Genomics* 9: 166–177.
- Mauricio, R. (2001) *Nat. Rev. Genet.* 2: 370–381.
- Metzker, M.L. (2010) *Nat. Rev. Genet.* 11: 31–46.
- 農業生物資源研究所 植物特性評価マニュアル (2012) <http://www.nias.affrc.go.jp>
- 七夕高也・柴谷多恵子・堀 清純・江花薫子・矢野昌裕 (2012) *育種学研究* 14(別 1): 171.
- 宇津志博恵・高木宏樹・阿部 陽・吉田健太郎・寺内良平 (2012) *育種学研究* 14(別 1): 16.
- White, J.W., P. Andrade-Sanchez, M.A. Gore, K.F. Bronson, T.A. Coffelt, M.M. Conley, K.A. Feldmann, A.N. French, J.T. Heun, D.J. Hunsaker *et al.* (2012) *Field Crops Res.* 133: 101–112.
- 山崎将紀・A. Garcia (2012) *作物研究* 57: 55–59.
- Zhu, C., M. Gore, S.E. Buckler and J. Yu (2008) *Plant Genome* 1: 5–20.