



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, 聰史 ; 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

岡田聰史¹⁾・Arturo Garcia²⁾・合田 喬¹⁾・前田道弘¹⁾・片岡知守³⁾・末廣美紀¹⁾・山崎将紀¹⁾

¹⁾ 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

²⁾ 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

³⁾ 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 Okada¹⁾, Arturo Garcia²⁾, Takashi Goda¹⁾, Michihiro Maeda¹⁾, Tomomori Kataoka³⁾, Miki Suehiro¹⁾ and Masanori Yamasaki¹⁾

¹⁾ Food Resources Education and Research Center; Graduate School of Agricultural Science, Kobe University, Kasai, Hyogo 675-2103, Japan

²⁾ United States Department of Agriculture-Agricultural Research Service, Columbia, MO 65202 USA

³⁾ 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、次世代シークエ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), 七夕らは「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

編集委員：林 武司

2013 年 11 月 28 日受領 2014 年 3 月 10 日受理

Correspondence: yamasakim@tiger.kobe-u.ac.jp

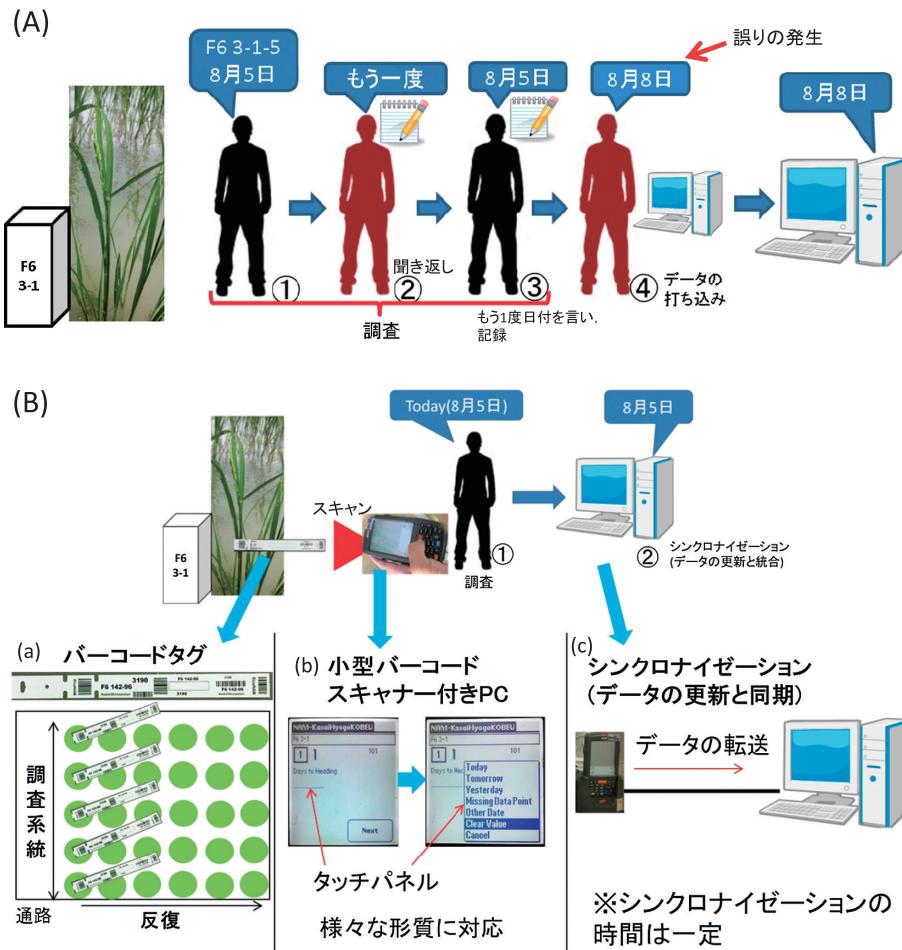


図 1. (A) 紙と鉛筆を用いたイネ出穂調査の概要 (二人一組の場合：黒色の人が調査して情報を提供し、赤色の人が記録する。調査が大規模になった時に、この方式が多い)。紙と鉛筆で調査を行った場合、紙への書き取りとデータの入力に多大な時間がかかり、過誤の可能性が存在する。材料が大規模化した場合、時間の短縮と誤りの軽減が課題となる。(B) FieldBook を用いたイネ出穂調査の概要。FieldBook による調査は主にバーコードタグの取り付け (a)、単独での調査 (b)、データの転送と同期 (c) により行われる。紙と鉛筆による調査と比べると、調査とデータの入力に必要とする時間の短縮と誤りの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

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 1B(1)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てあるもの) 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) ¹⁾	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 ²⁾	—
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

¹⁾ 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。

²⁾ 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り、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	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
過誤	調査時の過誤（個体） 1
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つたことに加えて、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

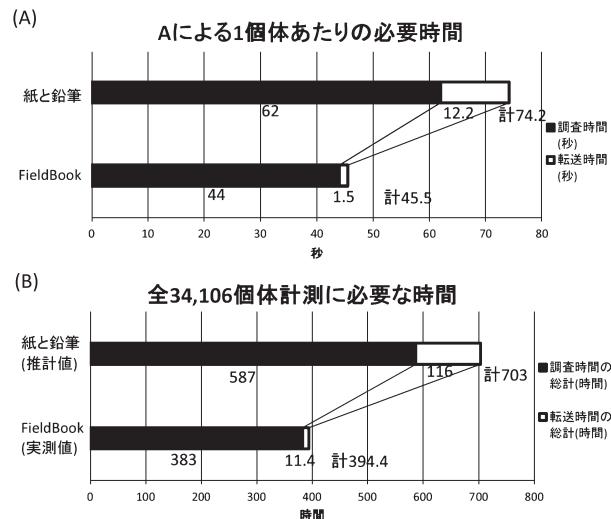


図2. 紙と鉛筆とFieldBookの出穂調査時間および転送時間の比較。(A) 調査者Aのデータを用いて算出した1個体あたりの必要な時間の比較。(B) 全34,106個体を計測する場合に必要な時間の比較。紙と鉛筆のデータは(A)のデータから計算した推計値である。

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、

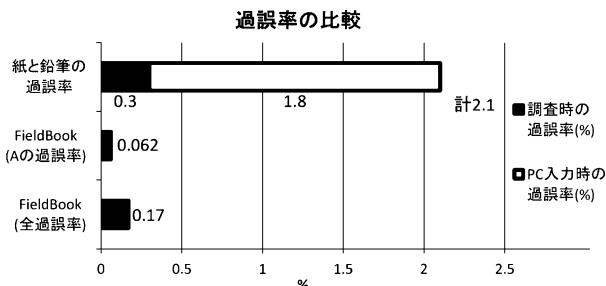


図3. 紙と鉛筆とFieldBookの過誤率の比較. FieldBookの過誤率は調査者Aのみのデータと全体データを示した.

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い、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いての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・江花薰子・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.