

野菜育種における表現型計測の今後の展望

吉岡洋輔

(独) 農業・食品産業技術総合研究機構 野菜茶業研究所
野菜育種・ゲノム研究領域 果菜育種研究グループ



〔目次〕

- はじめに
- 野菜育種の対象形質
- 育種・関連研究における表現型計測の問題点
- それらの問題点を克服するために
- 研究事例①: 画像に含まれる色や形の情報を利用する
- 研究事例②: キュウリのおいしさ(食感)を計る
- 研究事例③: 人間の目には見えない情報を利用する
- 今後の展望①: 高度な環境制御技術・環境計測技術を活用
- 今後の展望②: 育種家の意志決定支援ツール・評価支援ツールの開発
- 今後の展望③: 難評価形質の簡易評価法・定量的評価法の開発
- まとめ

•はじめに

① 野菜

- 農業産出額上位20品目の内、8つが野菜
- 上位50品目中、耕種が42品目
- その内、24品目が野菜であり、その産出額の総額は、1兆8573億円

• 平成22年度農業産出額上位20品目

順位	品目	産出額(億円)	順位	品目	産出額(億円)
1	米	15,722	11	きゅうり	1,427
2	生乳	6,775	12	りんご	1,320
3	豚	5,352	13	ばいれしょ	1,222
4	肉用牛	5,077	14	キャベツ	1,121
5	鶏卵	4,424	15	ぶどう	1,040
6	ブロイラー	2,878	16	だいこん	1,027
7	トマト	2,195	17	ほうれんそう	1,008
8	ねぎ	1,562	18	たまねぎ	960
9	みかん	1,540	19	乳牛	954
10	いちご	1,501	20	かんしょ	878

出展: 平成22年農業産出額(都道府県別) (農林水産省 大臣官房統計部)



- はじめに

② 野菜の育種

- 多種多様な種が対象
(農業産出額上位50品目に含まれる24種の野菜は、12科17属の種)
- 育種の担い手: 大小様々な民間種苗会社、独法研・公設試験場、篤農家
- 国外には、モンサント社(アメリカ)、シンジェンタ社(スイス)、リマグレン(フランス)、バイエル(ドイツ)などの大資本が存在
- 育種や関連研究は国際的な協力・競争の時代に
- 育種や関連研究のさらなる高度化



- 野菜育種の対象形質

① 野菜育種の主要な対象形質

- 収量 例) 総収量、秀品率
- 収穫物の品質 例) 大きさ、形、色、食味・食感、栄養・機能性
- 省力性(栽培管理の単純化) 例) 放任栽培適性
- 生理・生態的特性 例) 日長・温度反応性、抽台日、開花日
- 耐病虫性 例) 真菌、細菌、ウイルス、センチュウ、昆虫
- 環境ストレス耐性 例) 耐暑性、耐寒性、耐湿性

• 育種・関連研究における表現型計測の問題点

① 多種多様な栽培環境

- 栽培地域の違い 例) 日長、気温、降雨・降雪量
- 作型 例) 作季、露地・施設、短期・長期栽培
- 栽培管理 例) 施肥量、灌水量、温湿度管理、仕立て方

> 様々な栽培環境で表現型を評価する必要がある

② 多大な労力や大規模な圃場・施設が必要とされる野菜の栽培

- 多数の個体を供試するためには非常に大きな圃場・施設が必要
- 収穫までの栽培管理(整枝、誘引、摘心、摘葉、摘果)
- 長期にわたって頻繁に行う収穫作業(主に果菜類)

> 個体・系統の評価に多大なコストがかかる

• 育種・関連研究における表現型計測の問題点

③ 評価の難しい収穫物の品質

- 外観 例) 形、色、いぼ・とげの有無
- おいしさ 例) 食味(甘味、酸味、苦味など)、食感
- 栄養・機能性 例) ビタミン、ミネラル、抗酸化能

• 果菜類における品種登録出願時に必要な特性評価項目数

作物	全ての特性評価項目数	収穫物に関わる評価項目数(割合)	備考
キュウリ	64	31(48%)	
メロン	81	49(60%)	幼果:11、果実:38
トマト	69	27(39%)	
ナス	43	26(60%)	
(参考) イネ	86	12(14%)	玄米:9、胚乳:2、精米:1
(参考) ダイズ	57	25(43%)	莢:9、子実:16

- 市場が求める収穫物の品質が非常に高い
- 収量よりも品質が重要な野菜もある

•それらの問題点を克服するために

- ① 環境制御・環境センサ技術の積極的な利用
- ② 表現型計測を補助する技術の開発
- ③ 表現型計測を自動で行う技術の開発
- ④ 難評価形質を測定する技術の開発
- ⑤ 育種家の意志決定を支援するデータベース開発

•それらの問題点を克服するために

- ① 環境制御・環境センサ技術の積極的な利用
- ② 表現型計測を補助する技術の開発
- ③ 表現型計測を自動で行う技術の開発
- ④ 難評価形質を測定する技術の開発

⑤ 育

野菜についての研究事例の紹介

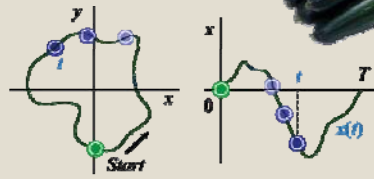
- ① 画像に含まれる色や形の情報を利用する
- ② キュウリのおいしさ(食感)を計る
- ③ 人間の目には見えない情報を利用する

• 研究事例1:画像に含まれる色や形に関する情報を利用する

① キュウリの形を計る(楕円フーリエ法)



1. 輪郭のトレース(画像→輪郭情報→周期関数)
対象物を二次元平面(XY平面)に投影し、輪郭のなす閉曲線上の任意の点を測定開始Sとして定め、閉曲線上を一定の速度で周回する点Pを考える。このとき、点Pの時刻tにおけるx,y座標をそれぞれx(t), y(t)と表すと、点Pは閉曲線上を1周するごとに計測開始点Sに戻ってくるため、x(t)とy(t)は周回時間Tを周期とする周期関数となる。



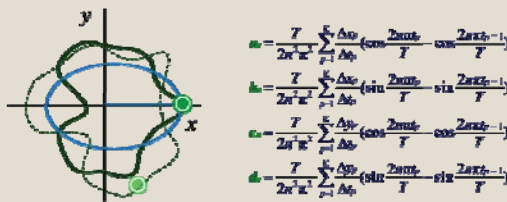
2. 標準化された楕円フーリエ係数を求める
周期関数x(t)とy(t)について、フーリエ級数展開により、適当な項までのフーリエ係数を求め、周期関数、つまり輪郭の特徴量として用いる。ただし、このようにして求められた係数の値は、閉曲線の位置、回転、大きさ、計測開始点の違いによって変わるため、複数のサンプルを比較する際は、これらの違いに対して標準化された係数を求める。

$$x_p = A_0 + \sum_{n=1}^m (a_n \cos \frac{2\pi n t_p}{T} + b_n \sin \frac{2\pi n t_p}{T})$$

$$y_p = C_0 + \sum_{n=1}^m (c_n \cos \frac{2\pi n t_p}{T} + d_n \sin \frac{2\pi n t_p}{T})$$

3. 主成分分析

分散共分散行列に基づく主成分分析により係数情報を集約し、得られた主成分得点を輪郭の特徴量として用いる。各主成分の輪郭に対する効果(意味)を理解するために、特定の主成分の値が、±2倍の標準偏差、それ以外の主成分が平均値(0)となる場合のフーリエ係数から逆フーリエ変換によって輪郭を再構築し、当該主成分の効果を視覚化する。



野菜育種における表現型計測の今後の展望



• 研究事例1:画像に含まれる色や形に関する情報を利用する

① キュウリの形を計る(楕円フーリエ法)

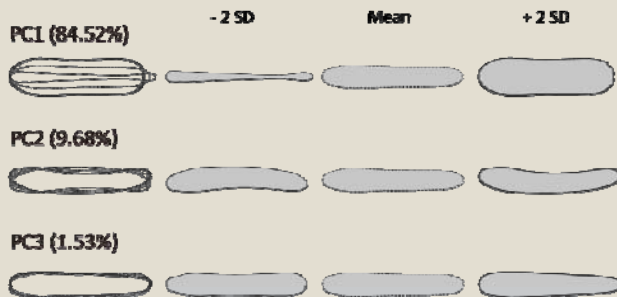


Fig.1 Effect of each principal component (PC) on fruit shape of cucumber: Aspect ratio of fruit (PC1), curvature (PC2), and swelling of stem-end and blossom end of fruits (PC3). Dashed line, thick solid line, and thin solid line stand for mean, mean +2 SD, and mean -2SD.

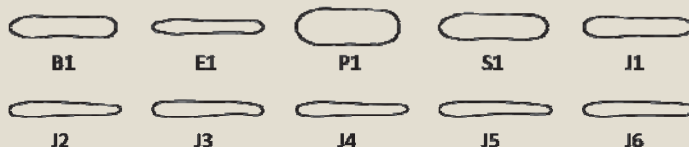


Fig.2 Mean fruit shapes of the 10 cultivars of five major cucumber types (B1: belt alpha, E1: european greenhouse, P1: Pickling, S1: Slicer, J1-J3: Japanese old cultivars, and J4-J6: Japanese current F1 hybrid cultivars).

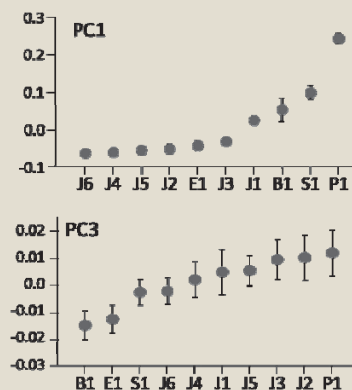


Fig.3 Variations of the first and third principal component (PC) among the 10 cultivars of five major cucumber types (B1: belt alpha, E1: european greenhouse, P1: Pickling, S1: Slicer, J1-J3: Japanese old cultivars, and J4-J6: Japanese current F1 hybrid cultivars). Vertical bars indicate standard deviations.

野菜育種における表現型計測の今後の展望



• 研究事例1:画像に含まれる色や形に関する情報を利用する

② キュウリ・メロンの果肉色を計る

- Color Signature (CS)とEarth Mover's Distance (EMD)



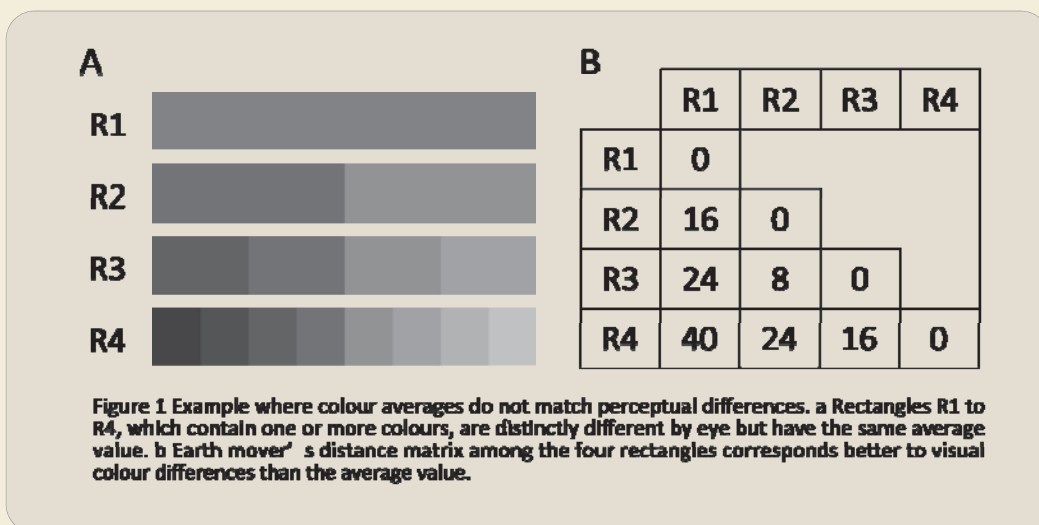
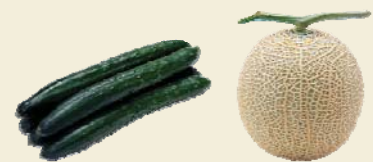
野菜育種における表現型計測の今後の展望



• 研究事例1:画像に含まれる色や形に関する情報を利用する

② キュウリ・メロンの果肉色を計る

- なぜ、この方法を用いるのか？



野菜育種における表現型計測の今後の展望



- 研究事例1:画像に含まれる色や形に関する情報を利用する

② キュウリ・メロンの果肉色を計る

- Color Signature (CS) と Earth Mover's Distance (EMD)

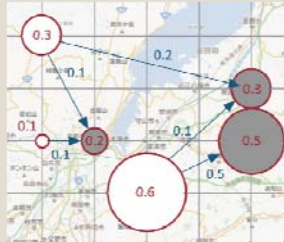


Earth Mover's Distance (Rubner et al. 1997)

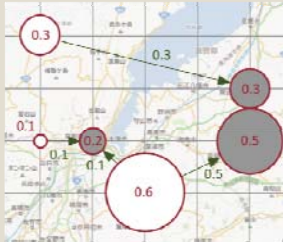
EMD は線形計画問題の1つであるヒッチコック型の輸送問題の解に基づいて計算する。



• 輸送方法1 (コスト:2.569)



• 輸送方法2 (コスト:2.549)



複数の供給地と需要地があり、供給地と需要地間の輸送コスト(距離)が与えられた時に、需要地の需要を満たすように供給地から需要地に輸送する最小輸送コストが EMD による距離となる。

左の例では、コストの低い輸送方法2を採用する。

- :供給地(円の大きさ=供給量)
- :需要地(円の大きさ=需要量)
- :輸送距離(輸送コスト)

- 研究事例1:画像に含まれる色や形に関する情報を利用する

② キュウリ・メロンの果肉色を計る

- Color Signature (CS) と Earth Mover's Distance (EMD)

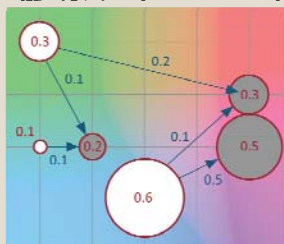


Earth Mover's Distance (Rubner et al. 1997)

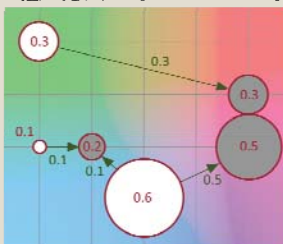
EMD は線形計画問題の1つであるヒッチコック型の輸送問題の解に基づいて計算する。



• 輸送方法1 (コスト:2.569)



• 輸送方法2 (コスト:2.549)

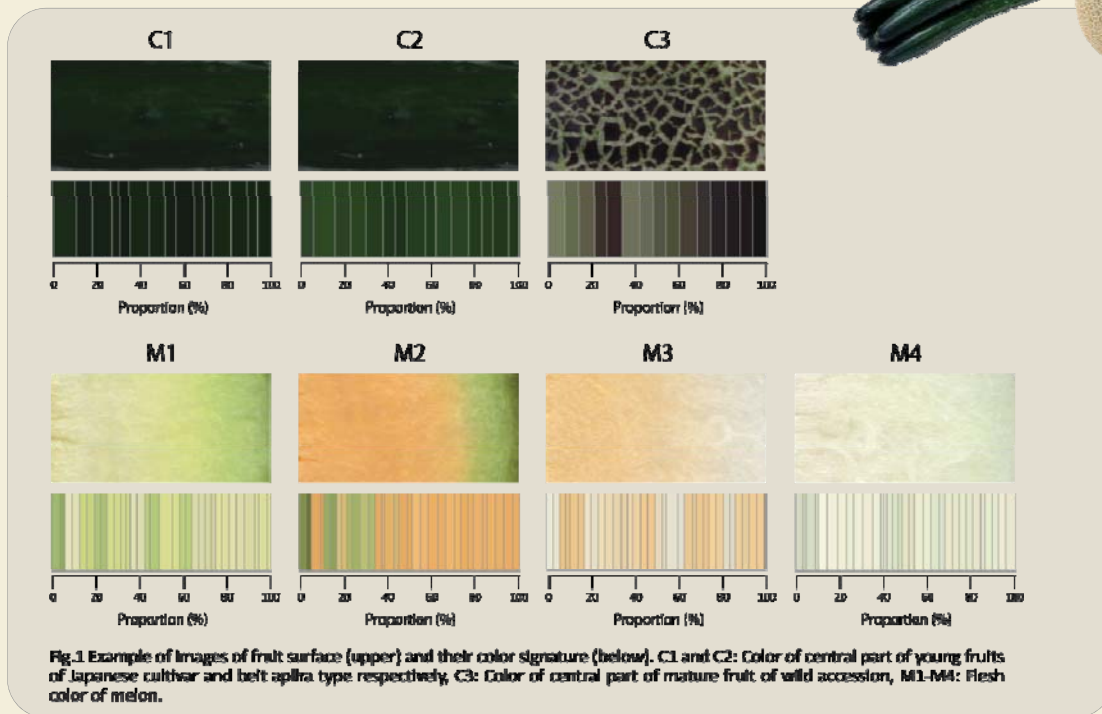


一方の Color signature を供給地の集合とそれぞれの供給量、もう一方の Color signature を需要地の集合とそれぞれの需要量と見立て、供給地と需要地間の輸送コストが与えられた時に、需要地の需要を満たすように供給地から需要地に輸送する最小輸送コストが EMD による Color signature 間の距離となる。

- :供給地(円の大きさ=供給量)
- :需要地(円の大きさ=需要量)
- :輸送距離(輸送コスト)

• 研究事例1:画像に含まれる色や形に関する情報を利用する

② キュウリ・メロンの果肉色を計る



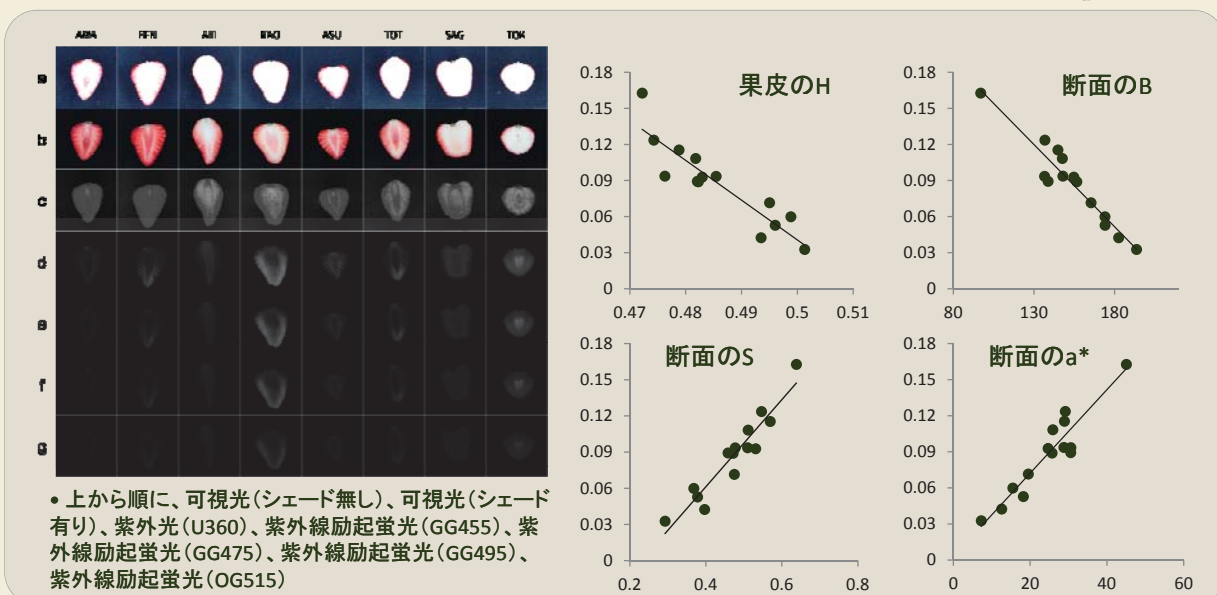
野菜育種における表現型計測の今後の展望



• 研究事例1:画像に含まれる色や形に関する情報を利用する

③ イチゴの果肉色からアントシアニン含量を推定する

• 画像特徴量から色素成分含量の推定が可能



野菜育種における表現型計測の今後の展望



• 研究事例2: キュウリのおいしさ(食感)を計る

① キュウリのおいしさ ≡ 食感

• プランジャ貫入試験により得られる応力曲線の解析



Several analytical methods of the force-deformation curve (puncture test data) were applied to evaluate fruit texture, such as firmness and crispness. The details are as follows.

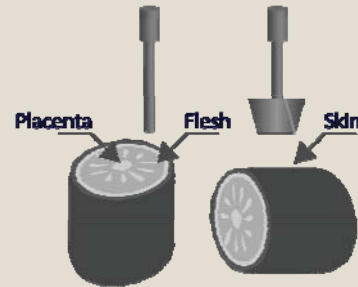
1. Puncture tests

A transverse slice (30 mm thick) was obtained from the mid-region of each fruit. Puncture tests were performed using Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd.).

2. Analyses of puncture test data

The following parameters were calculated:

- (1) Placenta and flesh firmness: Average force of the middle 2/3 of the force-deformation curve
- (2) Skin firmness: First peak force
- (3) Flesh crispness: The total of the absolute value of the second derivatives of the force, fractal dimension, and Fourier power spectrum for the middle 2/3 of the force-deformation curve



	Flesh	Placenta	Skin
Puncher type	3.0 mm dia. cylinder		Wedge (50°)
Puncture point	3 points	1 point	3 points
Puncture speed	2.5 mm/sec.		
Puncture depth	6.0 mm		5.0 mm
Data acquisition rate	500 pts. (point per second)		

• 研究事例2: キュウリのおいしさ(食感)を計る

② 「シャキシャキ(パリパリ)」感を計る

• 応力曲線の「滑らかさ」の程度を数値化

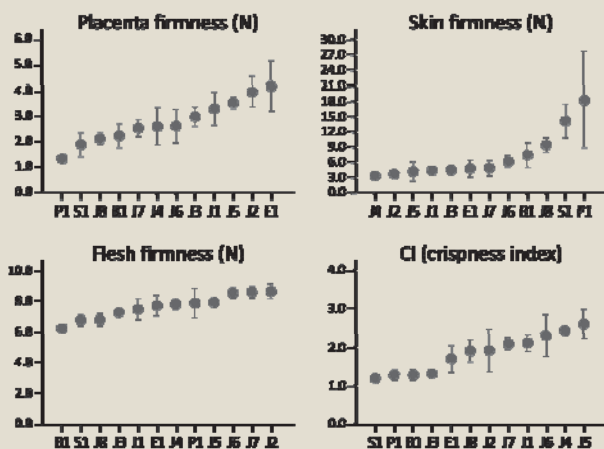
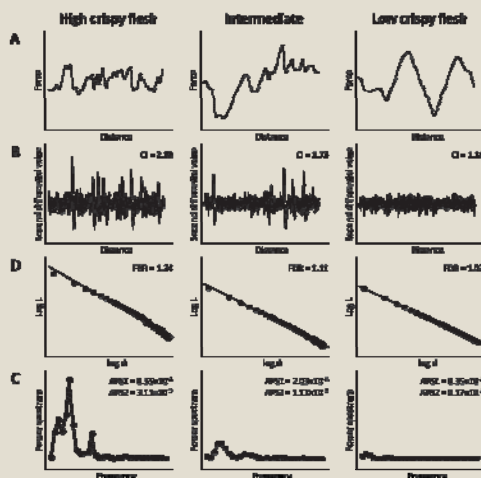


Fig. Examples of (A) force-deformation curves and the corresponding (B) crispness indices (CIs), (C) apparent fractal dimensions based on the Richardson plot method (FDR), and (D) power spectra (APS1 and APS2, averages within the second and third segments, respectively).

Fig.1 Variations of the placenta, skin and flesh firmness (N), and CI (crispness index) among the 12 cultivars of five major cucumber types (R1: belt alpha, E1: european greenhouse, P1: Pickling, S1: Slicer, J1-J3, J7: Japanese old cultivars, and J4-J6, J8: Japanese current F1 hybrid cultivars). Vertical bars indicate standard deviations.

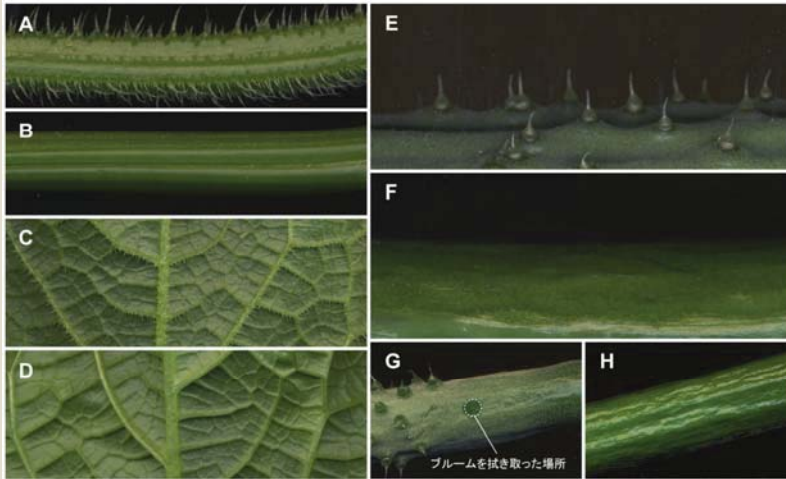
• 研究事例2: キュウリのおいしさ(食感)を計る

③ 実際の育種での利用

• 器機分析による果実の物性値で選抜



• 完全ブルームレスで、毛じ・いぼ・とげの無い「スムーズキュウリ」育種



- A. 普通のキュウリの茎
- B. 突然変異系統の茎
- C. 普通のキュウリの葉
- D. 突然変異系統の葉
- E. 普通のキュウリの果実表面
- F. 突然変異系統の果実表面
- G. ブルームが形成される果実(普通のキュウリ)
- H. ブルームが形成されない果実(突然変異系統)

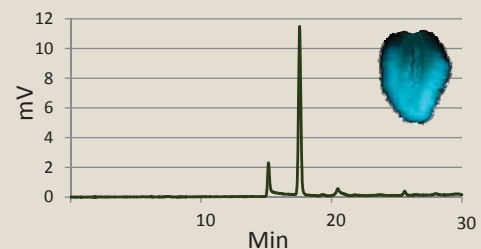
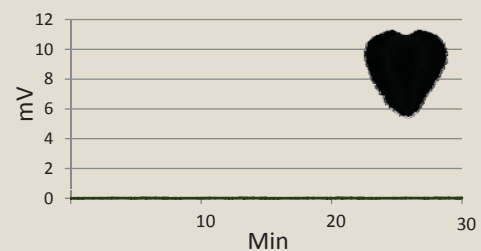
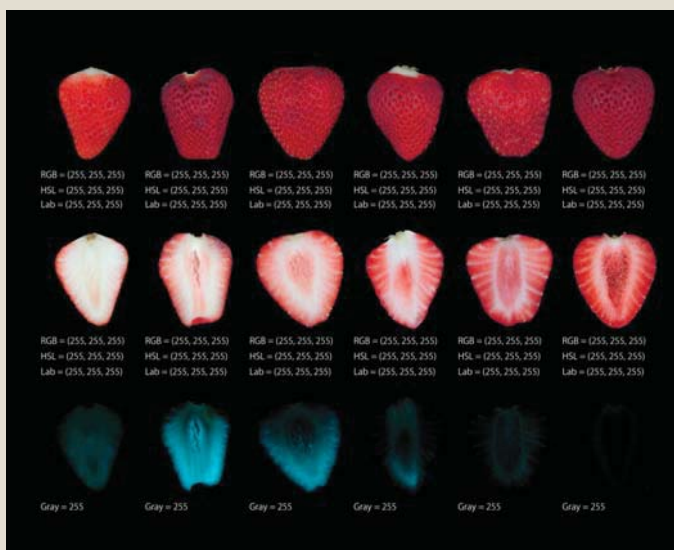
野菜育種における表現型計測の今後の展望



• 研究事例3: 人間の目には見えない情報を利用する

① 紫外光下でみるイチゴの果実

• 紫外線励起蛍光撮影画像の変異



• HPLC分析の結果

野菜育種における表現型計測の今後の展望

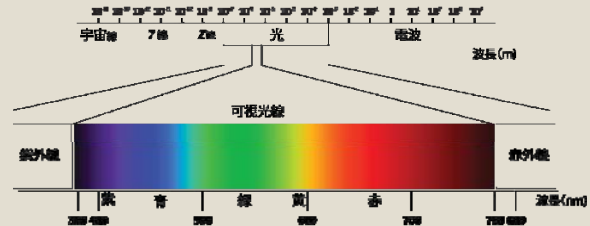
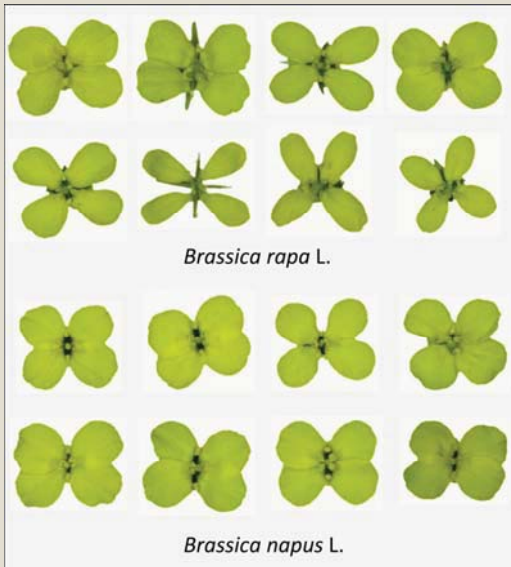


• 研究事例3:人間の目には見えない情報を利用する

② アブラナの花の紫外線模様



• 人の目には、



野菜育種における表現型計測の今後の展望

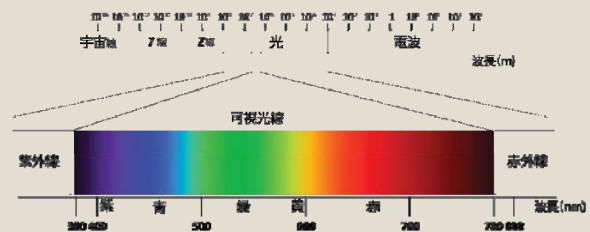
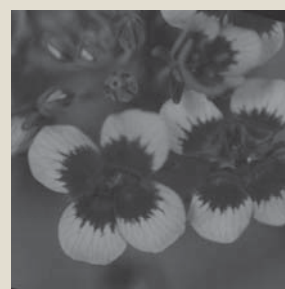


• 研究事例3:人間の目には見えない情報を利用する

② アブラナの花の紫外線模様



• 蜂などの昆虫の目には、



野菜育種における表現型計測の今後の展望

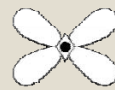


- 研究事例3:人間の目には見えない情報を利用する

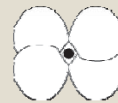
② アブラナの花の紫外線模様

- 形・模様の解析 → CGIによる人工花の作製 → 蜂の識別能力の検証

- Training phase



:砂糖水



:忌避物質(キニーネ)

- 今後の展望1:高度な環境制御技術・環境計測技術を活用する

① 環境制御・環境センサ技術の積極的な利用

- 高度環境制御装置を備えた施設
- 各種環境センサを利用した局所環境データの蓄積
- 環境情報を利用した表現型(収量・品質)予測・修正モデルの構築

(例) 植物工場を利用した果菜類育種

- 温度や湿度などのきめ細かな設定・管理
- CO₂施用や細霧冷房装置
- 病原菌・病害虫の進入の徹底した防除
- 局所環境データの取得



① 育種家の意志決定を支援するツール

- 系統データベース
例) 遺伝子型、表現型、画像などの情報を統合
- 情報収集・共有システム
例) ICTシステムを導入したユビキタス育種圃場、バーコードシステム管理システム

② 表現型計測を補助する技術

- データ入力インターフェース
例) タブレット端末(スマートフォン、タブレット型コンピュータ)

③ 表現型計測を自動で行う技術の開発

- 画像診断システム
例) 光学機器(デジタルカメラ、デジタルスキャナ、スマートフォン)
フィールドモニタリングシステム

(例) タブレット端末を利用した表現型計測補助ツール

- ハードウェア: スマートフォン、タブレット型コンピュータ
- ソフトウェア: iPhone/iPadアプリ(Objective-C)、Androidアプリ(Java)

Phase 1: 非常に単純な機能の活用

- 音声入力を利用した個体・系統メモ
- 個体・系統ごとの画像収集機能

Phase 2: 意識的な入力作業が必要な特性評価

- デジタル特性表(生態的特性や草型形質等の記録に)

Phase 3: テキスト化された音声データの活用による特性評価

- デジタル特性表(生態的特性や草型形質等の記録に)

• 今後の展望2: 育種家の意志決定支援ツール・評価支援ツールの開発

(例) タブレット端末を利用した収穫物のデジタル特性表

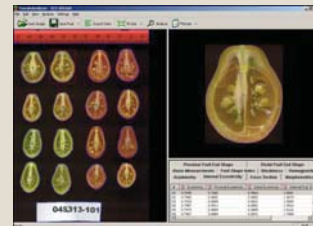
- ハードウェア: タブレット型コンピュータ、光学機器
- ソフトウェア: iPhone/iPadアプリ (Objective-C)、Androidアプリ (Java)、画像解析プログラム

Phase 1: 比較的単純な機能の活用

- タッチパネルを利用した入力
- カテゴリ評価の評価基準のビジュアル化
- 果実の単純な形質の自動計測 (長さなど)

Phase 2: より高度な計測アルゴリズムを活用

- 複雑な形質についての自動計測 (評価者は結果を確認・修正をするだけ)



Tomato analyzer 3.0 (Brewer et al. 2006)

• 今後の展望2: 育種家の意志決定支援ツール・評価支援ツールの開発

(例) CBIR (Content-based image retrieval) システムを活用した特性評価

- ハードウェア: コンピュータ、光学機器
- ソフトウェア: データベース、画像解析プログラム、距離計算アルゴリズム

Phase 1: 均一な光環境の下で撮影された画像の利用

- 収穫した果実の特性評価
- 切離葉検定等の耐病性評価

Phase 2: 圃場で撮影した画像の利用

- 植物体や果実の特性評価
- 耐病性の圃場検定



VPhenoDBS (Shyu et al. 2007)

- 今後の展望3: 難評価形質の簡易評価法・定量的評価法の開発

① 難評価形質の簡易評価法・客観的評価法の開発

- 「育種家の目」の客観化・定量化
例) 収穫物の外観、草勢
- 「おいしさ」や栄養・機能性の高精度な簡易評価法
例) 食感評価、呈味成分、抗酸化、各種病気の予防
- 最先端の光学機器の利用
例) 特殊撮影装置(紫外線、近赤外線、熱画像)



- まとめ

- ① 表現型計測の高度化 ⇔ 育種・関連研究の高度化
- ② 新しいハードウェア・ソフトウェアの活用
- ③ 育種・栽培・品質・工学など様々な分野の知見・技術を融合
- ④ 産官学の共同研究の推進が不可欠

