

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「環境変動に対する植物の頑健性の解明
と応用に向けた基盤技術の創出」
研究課題「植物環境応答のモデル化に基づく
発展型ゲノミックセレクションシステムの開発」

研究終了報告書

研究期間 2016年 10月～2022年 3月

研究代表者: 岩田 洋佳
(東京大学大学院農学生命科学研究科、
准教授)

§ 1 研究実施の概要

(1) 実施概要

本プロジェクトでは、ダイズの乾燥耐性向上を目標に、ダイズ植物体の干ばつ応答をゲノムと環境データから予測するモデルの開発と、それに基づく育種システムの構築を目指して研究を実施した。目標形質は、収穫時バイオマスであるが、マルチオミクスデータを中間形質、あるいは、2次形質として利用して、収穫時バイオマスを精度良く予測するためのモデル化手法の開発を行う。また、耐性系統を親としてもつ組換え近交系(RIL)を用いて、モデルに基づくシミュレーション結果をもとに選抜と交配を行い、その後代の栽培試験を行って、モデルに基づく選抜・交配の有効性を評価する。

本課題を実施するためにまず必要であったのは、植物体に安定して干ばつストレスを課すことのできる栽培技術である。鳥取大学の乾燥地研究センターの砂質土壌のほ場において、防水マルチと点滴灌漑を用いた栽培試験システムを確立することでそれが可能となった。同システムは、2020年度の記録的雨量のもとでも、安定して干ばつ条件を維持できた。また、筑波大学では、日長・気温を制御したポット栽培で、灌水量を定量的に計測・制限するシステムを確立した。これらシステムで栽培試験を行い、マルチオミクスデータの収集を行った。

環境応答のモデル化のためには、目標形質である収穫時バイオマスの他に、目標形質とゲノム・環境を橋渡しする中間形質(2次形質ともよばれる)を計測する必要があった。そこで複数のオミクス技術を用いて中間形質を計測するために以下の技術開発を行った。(1) 屋外ほ場で植物の生長や状態を高効率・高精度に計測するために、各種リモートセンシング技術の開発を行った。ドローンを用いたリモートセンシングでは、植物体の生長を正確に計測するための統計モデルや、深層学習により非破壊でバイオマスを計測する手法を構築した。また、ドローン搭載可能な4眼マルチスペクトルカメラを開発した。また、自動走行カートを用いて、近接リモートセンシングによって詳細な計測を行うシステムも確立した。(2) 根系形態の画像や中性子を利用した計測技術を確立し、前者を用いて多サンプルのデータを収集した。(3) 蛍光 X線分析装置を用いて成熟葉の元素濃度を安価に大量に計測できるイオノーム解析システムを確立した。(4) 屋外栽培された個体の葉内代謝産物を安定して計測するためのメタボローム解析システムを確立した。(5) 屋外栽培された個体の根圏のメタゲノム・メタメタボローム解析によって微生物叢および滲出代謝物を計測するシステムを確立した。これら計測技術を用いて、2016年度から2021年度まで、継続的に遺伝資源約200系統の栽培試験を行い、次に述べるモデル化のため、あるいは、データマイニングのためのマルチオミクス・ビッグデータを収集した。

環境応答のモデル化、および、その遺伝機構の解明のために、以下のようなモデル化技術の開発と遺伝解析を行った。(1) リモートセンシングを用いて計測された生長パターンについて、統計モデルあるいは機械学習モデルにより、各種モデル化手法を開発した。生長と老化のパターンを統計的にモデル化する手法、現在の生長データから将来の生長を予測する手法、環境データをもとに日々の生長を予測する手法等が開発された。(2) マルチオミクスデータを融合するための手法として、多重マルチカーネル学習法、ゲノムワイドアソシエーション解析に基づく統合解析、予測中間形質に基づく予測報を開発した。これら手法をもとに、マルチオミクスデータに基づく表現型の予測、マルチオミクス間の関連解析、ゲノムと環境データに基づく表現型予測の高精度化が可能となった。(3) イオノーム情報に基づきダイズの生育を予測するモデルを各種確立した。収穫時イオノームによる他形質の予測だけでなく、時系列解析による将来の生育予測、水分ストレスに応答するイオノームの変化のモデル等が開発された。(4) 干ばつ条件下で地上部バイオマスを大きくする根の形態特徴を明らかにし、GWASにより関連遺伝子座を検出した。(5) 乾燥ストレスに応答するメタボロームについて GWASを行い、関連遺伝子座の検出と機能解析を行った。ストレス応答におけるイソフラボノイド生合成遺伝子の役割を知るために生合成の関連遺伝子のクローニングと機能解析を行った。(5) 干ばつ条件下でバイオマスを増加させるエンドファイトを発見し、その効果と機能解明のための栽培試験と解析を行った。

最後に確立された計測技術、モデル化技術を用いて、干ばつ条件下で収穫時バイオマスを増加させることを目的とした選抜・交配実験を行い、育種システムとしてのポテンシャルを明らか

にした。まず、生育期間全体で干ばつを課した屋外試験、および、開花期から干ばつを課した屋内試験をもとに乾燥耐性が高いと判断された系統と標準系統を交配し、組換え近交系(RIL)を得た。この近交系を屋外・屋内で栽培試験を行い、計測されたバイオマス関連形質を支配する潜在的な変数を推定して、それをゲノムとイオノームから予測するモデルを構築した。同モデルをもとにしたシミュレーションをもとに RIL およびその交配組合せを選抜し、実際に交配を行った。最終年度の 2021 年度に、交配後代の栽培試験を屋外で行い、選抜効果の評価のための試験を行った。一部個体を 9 月に破壊調査した結果、主茎長・分枝数・生重において選抜の効果が明瞭に現れていた。また、12 月の収量調査では、カメムシの虫害の影響はあったが、影響の少ない区では交配後代における収量増が確認された。今後、フェノーム・ゲノム・イオノーム・メタボロームデータも含めて解析し、今後、選抜効果を多面的に評価し、論文としてまとめる予定である。

(2) 顕著な成果

<優れた基礎研究としての成果>

1. 干ばつ条件下での生長のゲノム・環境に基づくモデル化

概要:干ばつ条件に応答して生長するサイズについて、その生長パターンをゲノムや環境のデータから予測するモデルを構築する手法を複数開発した。生長と老化を考慮したモデルは、ベイズの枠組みで組み立てられ、近似ベイズ計算のもとで、初期生育のデータから後期の生育を精度よく予測することが可能となった。また、ゲノムと環境データをもとに、日々の生長を予測するモデルを構築し、成長段階による干ばつへの応答パターンの違いを明らかにすることもできた。これらモデル化手法はサイズ特異的に開発されていないため、様々な作物の生長の環境応答のモデル化に汎用可能である。

2. イオノームを用いた植物表現型の予測

概要:イオノームとは生育環境に適応して調整された栄養吸収にともなう植物生長の履歴である。本研究では、イオノーム情報をもとにした機械学習によって、サイズの生長に関わる形質(開花期、バイオマス)の予測に利用できることを見出し、サイズ生長の時系列予測にも適用できることを示した。さらに、ゲノム情報に加えてイオノーム情報をもとにバイオマスを予測するモデルを構築して、ゲノム情報のみのモデルよりも高い精度で表現型の予測を実現した。イオノームは、土壌水分などの環境条件の違いを代替するような情報をもつことが示唆された。

3. 超多重カーネルモデリング

概要:マルチオミクスデータを用いた予測モデル構築では、異種データ間の複雑な交互作用をモデル化する必要がある。本研究では、各種データをカーネルで、カーネルのアダマール積で交互作用を表し、これらカーネルの結合重みを GPU で最適化する手法を構築した。最大 8,000 カーネルを含むモデル化が可能となり、染色体を領域分割した解析や、多重交互作用を取り入れたモデル化が可能となった。例えば、ゲノム、イオノーム、マイクロバイオームなどから高精度にバイオマスを予測するモデルを構築できた。

<科学技術イノベーションに大きく寄与する成果>

1. マルチオミクス予測モデルに基づく高バイオマス遺伝子型の選抜と評価

概要:干ばつ耐性系統と標準系統の後代を鳥取大学・乾燥地研究センターの屋外砂質土壌ほ場、筑波大学の屋内制御環境にて干ばつ試験を行って得られたデータをもとに、ゲノム・イオノームから干ばつ条件下のバイオマスを予測するモデルを構築した。同モデルとシミュレーション解析をもとに、有望系統の組合せを選抜し、選抜された組合せから得られた後代の栽培試験を行った結果、干ばつ条件下でもバイオマスが大きくなることを確認でき、マルチオミクス予測モデルに基づく選抜の有効性が示された。

2. ドローンリモートセンシングを用いた植物生長の計測法・予測法の開発

概要:ドローンリモートセンシングと統計モデルや機械学習モデルを組み合わせることで、植物の生長を効率的に計測する方法を開発した。具体的には、統計モデルや機械学習モデルを用いて垂直方向の誤差を補正する手法、群落の色と3次元構造の情報をもとに、深層学習を用いてバイオマスを推定する方法、群落のマルチスペクトル情報をもとに、統計モデルを用いて将来のバイオマスを予測する方法などを開発した。これらは、育種の効率化だけでなく、作物の栽培管理の効率化にも利用できると期待される。

3. 自動走行カート・4眼マルチスペクトルカメラを用いたリモートセンシングシステムの開発

概要:自動走行可能なカートを作成した。同カートに多様なセンサを搭載することにより、近接で詳細なデータをハイスループットで収集できる。また、フィルタ可換の4眼マルチスペクトルカメラを開発した。4眼あることにより様々な波長帯を計測できる。同マルチスペクトルカメラを光量子センサと組合せてドローンに搭載することにより、屋外のほ場でも安定してマルチスペクトル解析を行うことが可能となった。マルチスペクトルデータを用いることで、栄養成長早期にその後の生育を予測できることも明らかにした。

<代表的な論文>

1. Kanegae et al. (2021) Whole-genome sequence diversity and association analysis of 198 soybean accessions in mini-core collections (DNA Research 28, dsaa032)

概要:日本と世界の198種類のダイズの全ゲノム情報を解読し、公開した。同研究では、世界で収集されている様々な特徴をもつダイズの中から198種類を選び、それらのゲノム配列を比較することにより、種子の色の違いや開花に関わる遺伝子などの違いを明らかにした。これらの情報を活用し、多くの形質について遺伝情報と紐づけすることができれば、育種の効率化が進むと期待されている。

2. Toda et al. (2021) Genomic prediction modeling of soybean biomass using UAV-based remote sensing and longitudinal model parameters. (The Plant Genome 14: 20157)

概要:リモートセンシングで計測される植物生長の高次元データについて、その生長パターンを少数のパラメータで表現し、パラメータについてのゲノムに基づく予測(ゲノミック予測)によって、ダイズのバイオマスの予測精度を向上させられるかを検討した。ダイズ198品種の生長をリモートセンシングで計測したデータをもとに、同手法を適用した結果、少数のパラメータで生長パターンの遺伝的変異を捉えられることが分かった。また、生長パラメータの情報も用いることで、ゲノミック予測による収穫時のバイオマスの予測が可能となった。

3. Hamazaki and Iwata (2022) Bayesian optimization of multivariate genomic prediction models based on secondary traits for improved accuracy gains and phenotyping costs (Theoretical and Applied Genetics 135: 35-50)

概要:マルチオミクスデータ等を2次形質として用いることで、目的形質のゲノミック選抜の精度を向上できる可能性がある。このとき、様々な2次形質を計測できれば目的形質の選抜精度が向上するが、2次形質の計測のコストも同時に検討する必要がある。本研究では、ベイズ最適化の枠組みにより、与えられたコストのもとでゲノミック選抜の精度を最大にする2次形質を選択するための新しいアプローチを提案した。

§2 研究実施体制

(1) 研究チームの体制について

① 東京大学グループ

研究代表者: 岩田 洋佳 (東京大学農学生命科学研究科 准教授)

研究項目

- ・ フィールドで生育する作物のリモートセンシング技術の開発
- ・ イオノーム解析とその環境応答・遺伝機構の解明
- ・ ストレス環境下で生育するダイズのゲノム-環境-表現型の統合的モデル化
- ・ ストレス環境下で生育するダイズのエンドファイトに対する応答評価

② 名古屋大学グループ

主たる共同研究者: 中園 幹生 (名古屋大学大学院生命農学研究科 教授)

研究項目

- ・ 水分ストレスに応答する植物根系の生理・形態形質の評価とモデル化

③ 筑波大学グループ

主たる共同研究者: 津田 麻衣 (筑波大学生命環境系 助教)

研究項目

- ・ 制御環境下におけるダイズ遺伝資源の水分ストレス応答に関する遺伝変異の把握および水分ストレス耐性ダイズのゲノムデザインの実現と評価

④ 理研グループ

主たる共同研究者: 平井 優美 (理化学研究所環境資源科学研究センター チームリーダー)

研究項目

- ・ 乾燥ストレス関連のメタボローム評価とそのゲノムワイド DNA 多型との関連解析
- ・ 根圏細菌叢のメタゲノム・メタメタボローム解析

⑤ 農研機構チーム

研究代表者: 加賀 秋人 (農業・食品産業技術総合研究機構次世代作物開発研究センター ユニット長)

研究項目:

- ・ 水分ストレス耐性ダイズのゲノムデザインの実現と評価

⑥ 鳥取大学グループ

主たる共同研究者: 辻本 壽 (鳥取大学乾燥地研究センター 教授)

研究項目

- ・ 砂丘土壌圃場における干ばつ試験システムを用いた栽培試験実施
- ・ 植物組織片の $\delta^{13}\text{C}$ 同位体比解析による乾燥ストレス状態の評価

(2) 国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について <国内研究者との共同研究> (同じ研究領域内での共同研究)

清水チームとの共同研究

研究領域をともにする清水チームとの課題間連携促進費に基づく研究として、自動走行カートを用いた植物計測と、深層学習を用いた解析を行っている。具体的には、自動走行カートを用いたリモートセンシングでコムギの穂を検出し、出穂日や開花日を自動的に計測する手法の開発を行った。そこでは、本チームで開発された自動走行カートの開発・利用から得られ

たノウハウが活用された。以上を通して、本チームで開発された自動走行カートによるリモートセンシングの手法・技術の一般化を目指している。

明石チームとの共同研究

様々な栽培環境でも複数の小型ドローンを温室内で自動飛行させるためのドローン運用データの収集と、収集したデータを 4D パノラマデータ群として管理するシステムの構築をするためのデータ格納する DB の構築と 4D モデル作成プログラムのパイプライン化を担当した。東大田無農場の温室で実際にトマトを栽培し、合計 61 回の飛行を行った。そして、この膨大なドローンデータを対象としたとき、4D パノラマデータ群として管理するための三次元点群構築、点群上の関心領域の指定、2 次元画像上の対応領域の抜き出すコアアルゴリズムを開発し、パイプライン化した。

宇賀チームとの共同研究

これまでに鳥取砂丘圃場を用いたダイズ根系の画像解析を行なってきたが、本プロジェクトで開発した根系解析プラットフォームは、破壊的手法であることから、根系の空間的なデータ、時系列でのデータを失っている。そこで、これまでの本プロジェクトで得られた知見やノウハウを生かしながら、宇賀 CREST が開発・改良を進めている単子葉植物向け根系非破壊可視化技術を双子葉植物で利用できるように、ダイズの計測プラットフォームの開発を共同で行なっている。

中川チームとの共同研究

中川チームで開発されたイネの発育予測モデルを、ダイズに応用する研究を共同で勧めている。ダイズに応用する場合には、ダイズの植物体内の窒素含量がモデルパラメータとして必要となるが、これまでの栽培試験では窒素含量を計測してこなかった。そこで、リモートセンシングのマルチスペクトルデータから窒素含量を推定するモデルを構築し、同モデルを過去の栽培試験で収集されたマルチスペクトルデータに適用することで、栽培試験時には計測されなかった窒素含量を推定する。また、得られた窒素含量をモデルパラメータの一つとしてダイズの発育予測モデルを適用し、ダイズの発育を予測し、観察データと比較することで予測精度の評価を行う。

<海外研究者との共同研究>

Diego Jarquin 博士 (University of Nebraska-Lincoln、米国)

Gota Morota 博士 (Virginia Polytechnic Institute and State University、米国)

2018 年度「国際共同研究の実施に係る海外研究者の招へい及び国内研究者の海外派遣」で招聘した Diego Jarquin 博士とともに、作物環境応答の新たなモデル化手法を開発した。具体的には、日長情報をゲノミック予測モデルと組み合わせることで、植物のもつ複雑な環境応答をモデル化する手法の開発に成功した。同内容は、Scientific Report に論文として掲載された。また、同プログラムで招聘した Gota Morota 博士、および、Diego Jarquin 博士とともに、ハイスループトフェノタイピングとその統計モデリングについて Springer 社から出版予定の本の一章を執筆した。同内容は arXiv(<https://arxiv.org/abs/1904.12341>)からプレプリントが公開されている。

Christophe Pradal 博士 (CIRAD、フランス)

2019 年度「国際共同研究の実施に係る海外研究者の招へい及び国内研究者の海外派遣」で招聘した Christophe Pradal 博士とは、名古屋大学の中園チームを含め、植物 3 次元形態のモデル化と、モデルに基づく形態パラメータの推定についての共同研究を進めている。また、フィールドで簡易的に撮影した根系を表現するために必要な最低限のパラメータを抽出し、根系形態のモデリングを試みており、これまでに共同で Breeding Science に総説を執筆している。

Maud Delattre 博士 (INRAE、フランス)

2019 年度「国際共同研究の実施に係る海外研究者の招へい及び国内研究者の海外派遣」によって 2020 年 3 月に来日予定であった Maud Delattre 博士は、コロナ禍のために実際には来日できなかった。しかし、オンラインでミーティングを行いながら共同研究を進め、現在、非線形混合モデルを用いたダイズの生長パターンのモデル化を行っている。

Frederic Baret (INRAE、フランス)

2019 年度当時、博士課程 2 年であった戸田悠介氏について、フランス INRA の Frederic Baret 博士のもとでインターンシップ研究を行わせた。その結果、作物成長モデルとゲノミック予測モデルを融合した新たなモデル化手法を開発することができた。同手法については、現在、投稿準備中(10 月中旬に投稿の予定)である。

<産業界との連携・協働>

株式会社 前川総合研究所との協働

筑波大学における制御環境下での栽培試験で選抜された強乾燥耐性ダイズ系統から単離されたエンドファイトは、鳥取大学・乾燥地研(ALRC)での栽培試験により宿主植物に対して乾燥耐性を付与する能力があるという結果が得られた。そこで、エンドファイトを用いた生物資材の開発・販売に実績のある前川総合研究所とともに、同エンドファイトの乾燥条件における潜在能力についての評価を行った。具体的には、グロースチャンバーを用いた栽培試験による再現性の確認を行っている。また、前川総合研究所には、JST 未来社会創造事業プロジェクト「作物と微生物叢を同時改良するホロゲノム選抜法の開発」(2020 年度～2022 年度)でも協力して研究を進めている。

株式会社 Xacti との協働

株式会社 Xacti には、4 眼マルチスペクトルカメラの試作を委託した。これにより、比較的安価にマルチスペクトル解析を行うことが可能となった。また、ドローンリモートセンシングで問題となる入射光の変動については、入射光スペクトルセンサと GPS センサを同時にドローンに搭載することで、撮影時点における入射光の変動を記録し、それをもとに画像の補正を行えるようにした。現在では、株式会社 Xacti から販売もしており、公的機関や民間企業で進められているいくつかのプロジェクトでも利用されている。

なお、Xacti とは、その後、NEDO「エネルギー・環境新技術先導研究プログラム」に共同申請し、研究開発課題「ドローン等による革新的リモートセンシング技術の開発および高度情報活用技術の研究開発」にけるプロジェクト「異なるスケールで収集したデータの階層的構造を考慮したモデル化手法の構築」が採択され、現在、研究を実施している。同プロジェクトには、衛星リモートセンシングとそのデータ解析において日本のトップ企業である株式会社パスコも参加している。本研究で開発された 4 眼マルチスペクトルカメラを発展させたカメラも用いて、衛星・ドローン・地上のリモートセンシングを融合させて、生産ほ場の管理、生態系のモニタリングを行うシステムの開発を行っている。

LabRomance Inc.との協働

LabRomance Inc.には、自動走行カートシステムの試作を委託した。同カートシステムは、畝に沿って自動走行しながら連続的に画像撮影を行うことができる。ドローンリモートセンシングでは、プロペラから生じる風の影響もあり近接撮影が難しいが、自動走行カートでは近接して画像撮影ができる。また、ロボットアームを装着することにより、様々な角度からの画像撮影も可能になった。ロボットアームは、局所的な農薬散布などの作業をさせることも可能なため、生産現場への応用も可能である。現在、同カートシステムに土壌水分センサを搭載し、自動走行カートにより多点での環境データを収集できないかを検討している。こうした拡張が実現すれば、研究者だけでなく、生産者も含めた幅広い需要が見込める。なお、同自動走行カートシステムについては、現在、LabRomance Inc.が受注生産できる状況にある。

株式会社 Quantomics の設立

データ駆動型農業・育種に関するコンサルティング、解析サービスの提供を事業的に行うことを目的として、株式会社 Quantomics を設立した(2019年10月24日に登記。28日に受理)。同社は、本プロジェクト、および、JST/CREST プロジェクト「フィールドセンシング時系列データを主体とした農業ビッグデータの構築と新知見の発見」(研究代表者 平藤雅之)から得られた学術的成果について、実用化するために設立された。これにより、ゲノミック選抜、発展型ゲノミック選抜について、民間企業などでの実用を可能としていく。また、こうした選抜システムに、本プロジェクトで開発しているフェノタイピングシステムなども併せることにより、より先端的な育種システムを民間企業に提供していく。なお、民間企業では、デジタル技術を用いた計測やデータ解析システムを導入することにより、どのようなメリットがあるのか、また、どのようにそれらを利用したらよいのか、という点について基礎的な知識が不足している場合もある。そこで、こうした企業に対しては、データ科学や統計学、統計遺伝学についての教育、および、それらを農業や育種に活用するための展望について説明する業務も開始した。これにより、民間企業におけるデジタル技術を用いた計測やデータ解析システムの導入障壁をできるだけ小さくし、データ駆動型の農業や育種を早期に実現できるようにしていきたいと考えている。