

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「大規模画像データに基づくゲノムと環境
の相互作用を考慮した成長予測モデルの構築」

研究終了報告書

研究期間 2016年 10月～2022年 3月

研究代表者：明石 良
(宮崎大学、理事・副学長)

§ 1 研究実施の概要

(1) 実施概要

当チームでは、新たに開発する解析手法で経時的な画像データから植物の成長変化を抽出し、全ゲノム配列データと比較することで、遺伝子型(G)値、表現型(P)値および環境要因(E)値間のすべての相互作用に基づくモデルを構築し、形質値を予測する一連のシステム開発を行うことを目的とし、「画像データ取得のための技術開発」、「栽培試験による大規模データの取得」、「成長予測モデルの構築」の3つの観点から研究を進めてきた。

植物の表現型を評価するためのシステム開発は磯部グループが中心となって行ってきた。植物体の画像データ取得方法について検討を重ね、三次元画像の作成において問題となっている画像データ間のマッチングや三次元点群データの位置合わせに関する技術開発を行い、これらの問題を克服した三次元計測システムを開発した。フェノタイピングの自動化を進めるため、栽培ポットを搬送するシステム(ポット自動搬送装置、ポット載せ下ろし機構)を開発した。多検体に対応した堅牢性の高いフェノタイピングシステムに改良するため、産業用カメラを採用した撮影システムに改良した。また、環境値をポット単位で取得するための環境センサを開発した。小型ドローンの自動飛行システムは High Lander 社(イスラエル)の飛行制御技術を利用して整備し、大量の取得画像から効率的に目的画像を選択するための仕組みを構築した。さらにフェノタイピングで得られる多様なデータをリアルタイムに DB に送るため、プライベート LTE に接続できる通信モジュールを開発するとともに、個体や系統の数値的な形質データを格納するデータベース/データフレームを構築した。一方、植物体のフェノタイプを大規模に収集するための拠点は明石グループが開発、運用してきた。温度調節が可能な硬質フィルム温室に、栽培ポット架台、撮影スタジオ、ポット受け渡し装置等を整備し、多検体の植物体画像を取得することが可能なフェノタイピングシステムが完成した。また圃場での撮影システムについては、磯部グループ、明石グループが中心となり、簡易的な画像撮影装置や形質値計測システムを開発した。群落構造からの特徴量の抽出については野下グループが技術開発を進め、Persistent homology 解析を活用して、個体や群落構造の記述子を取得できることが分かった。

これらの技術を用いながら、植物体の頑健性の解明に向けて、主要なマメ科作物であるダイズと、マメ科のモデル植物であるミヤコグサに焦点を当て研究を進めた。多様な環境下におけるダイズの生育パターンや収量等の形質評価を行うため、宮崎大(明石グループ)、東北大(佐藤グループ)、かずさDNA研究所(磯部グループ)圃場において、2018年度から2021年度の計4年間(予備検討も含めると計5年間)に渡り栽培を行った。画像データに加え、開花所要日数、主茎長、分枝数や種子重等の実測値も取得した。なお、宮崎大(明石グループ)、かずさDNA研究所(磯部グループ)では、2018年度から2020年度に温室においても栽培試験を実施した。ダイズの遺伝子型情報は、他のCRESTチームと連携し、日本と世界のダイズ計198系統のゲノム情報を解読し、ミヤコグサについては、野生系統のリシーケンスによる多型情報を収集した。

これらの圃場栽培試験やゲノム解析から得られた大規模データを用いて、中谷グループでは、成長予測モデルを構築した。環境情報や遺伝情報(一塩基変異)を用いて特定の個体の形質値(開花始日など)を予測する数理モデルを構築し、生成した予測式で使われている要因を検証することによって、植物の成長に関するメカニズムを探ることが可能となった。さらに、遺伝的要因と環境要因を変化させた際に量的形質の時間的推移がどのような影響を受けるかを評価するシミュレータを開発した。ダイズコアコレクションの多様な環境下における成長パターンを解析することで、環境変動に影響されない頑健性の高い系統が見出された。磯部グループでは、数理モデルにより推定された形質値をもとに Phytomer を積み上げて、植物体をCGで表現する技術を開発した。

植物フェノタイピングシステム技術の開発を加速させることを目的として、日本植物フェノタイピングネットワーク(JPPN)を新たに立ち上げた。また、フェノタイピング関連のシステムの継続的な開発、販売やコンサルタント事業を推進するために Kazusa Lab も立ち上げた。

以上より、大規模画像データの取得のための技術開発から、実データの取得、そしてダイズの成長予測モデル構築を達成し、植物頑健性の解明と応用に向けた基盤技術を確立した。

(2) 顕著な成果

<優れた基礎研究としての成果>

1. 植物の 3D モデル構築

概要:植物の 3D モデル構築では色が均一かつ葉や茎など似た構造の器官が繰り返し出現したり、オクルージョンが生じてしまうことから、点群のマッチング時にミスマッチングが生じたり、一部の点群が欠けるなどの問題が生じていた。本開発では、写真撮影時のカメラ位置やマーカーの工夫、並びに画像処理時のマッチングやマスク処理に独自の処理を行うことで、植物では従来にない高い精度で 3D モデルを構築することに成功した(Tanabata et al. 2018、Kochi et al. 2018)。3D モデルの構築法は独自性の高い手法であり、特許を取得した(特許第 68987776 号)。

2. G×E を考慮したダイズ個体の成長予測モデルの作成

概要:異なる栽培地で得られた実測値を元に、環境値変化に伴う個体の成長の変化を予測するダイズの成長予測モデルを作成した。本モデルは G×E を考慮して作成されており、任意の遺伝要因と環境要因下の開花日、初期成長率 (r)、および最大草高 (K) を予測することができる。これにより、例えば、栽培期間全体の気温を上下させた場合の成長をシミュレートし、気温が変動したにもかかわらず成長に影響を与えない系統を予測することが可能となった。

3. ダイズの頑健性にかかわるゲノム領域の検出

概要:異なる播種期や栽培地で得られた表現型情報を比較することにより、環境要因による表現型への影響の系統間差の解析を行なった。各環境条件での表現型の変動係数(CV)と相加主効果相乗交互作用モデル(AMMI)の stability value (ASV)を入力値とした GWAS 解析を行なった結果、主茎長さ、分枝数、総節数の表現型の安定性に関与する新規の遺伝子座を同定することができ、分枝数の CV と総節数の ASV のように複数の表現型で共通する遺伝子座が検出された。これらの遺伝子座は、ダイズの頑健性にかかわるゲノム領域と考えることができる。

<科学技術イノベーションに大きく寄与する成果>

1. 小型ドローンを用いた温室の植物群落画像の解析

概要:ドローン内部のモーターの動きと ArUco タグを利用することで高精度に小型ドローンの温室内飛行を自動制御するシステムを開発した。また、小型ドローンで撮影した多数の画像に対し、画像を取得した際の温室内のカメラ位置情報から各画像内の被撮像物体の情報を付与して DB に格納し、オルソ画像や点群を作成する DB・プログラムを開発した。ドローンの飛行については撮影ドローンを2つに分けて異なる役割を持たせて室内を撮影する手法を提案し、特許申請を行った(特願 2020-062187)。農業従事者への普及を実現するための協議を企業と実施中である。

2. 植物を取り巻く局所環境を評価する環境センサの開発

概要:個体レベルでより詳細な G×E 解析を行うことを目的として、個体ごとに環境センサーを取り付け、気温、湿度、照度、土壌水分量および土壌温度を測定するセンサーモジュールと多数のモジュールを制御するシステムならびに、各センサーから得られるデータをリアルタイムにモニターできる DB を開発した。開発したシステムにより温室内での環境値のばらつきを検出することができた。局所的に異なる環境値を開発した予測モデルに入力することで、より高精度な個体の成長予測を実現できる。

3. 植物フェノタイピング拠点の整備とコミュニティの形成

概要:上述した計測技術の他、植物栽培ポットを栽培エリアから測定エリアへ自動搬送するシ

ステムなど、開発した装置一式を宮崎大学の大型温室に整備した。今後は植物フェノタイピング拠点として、機器のデモンストレーションや依頼に応じた委託計測を実施する。また、開発した技術のカスタマイズや普及を行う組織として、かずさ DNA 研究所で「Kazusa Lab」を立ち上げた。さらに、日本植物フェノタイピングネットワーク(JPPN)の立ち上げや講習会の開催を行うなどして、植物フェノタイピングのコミュニティの醸成に貢献した。

<代表的な論文>

1. Manggabarani AM, Hashiguchi T, Hashiguchi M, Hayashi A, Kikuchi M, Mustamin Y, Bamba M, Kodama K, Tanabata T, Isobe S, Tanaka H, Akashi R, Nakaya A, Sato S, “Modeling growth trait across environments through multi-locus genome-wide association studies based on multi sowing time phenotyping”, Submitted

概要: 遺伝的な多様性をカバーするダイズコアシステムを対象として、緯度の異なる複数地点において複数の播種期で圃場栽培を行うことで収集した詳細な表現型情報を用いることにより、線形重回帰モデルをベースにした開花日と、初期成長率 (r) と最大草高 (K) から生育パターンを予測できるモデル式を構築した。新規圃場を含む次の年度の圃場栽培データを用いて構築したモデル式を検証した結果、このモデル式の汎用性が確認された。

2. Tanabata T, Hayashi A, Kochi N, Isobe S, “Development of a semi-automatic 3D modeling system for phenotyping morphological traits in plants”, IECON 2018 - 44th Annual Conference of the IEEE Industrial Electronics Society, Washington, DC, 2018, pp. 5439-5444.

概要: 植物の形状計測は従来、人の感覚的な評価による形状分類やノギスや定規による計測が多く実施されてきており、大量データの取得が困難かつ測定誤差が大きい等の問題があった。我々はこれらの課題に対し、植物の発芽から成長まで、数 cm から約 1.5m までの大きさを対象とした大量の植物個体の 3 次元点群データを自動で計測するシステムを開発した。このシステムは、植物個体を撮影ステージに置き、ボタンひとつで対象個体の画像撮影から 3 次元点群データ取得までの自動実行を可能とした。

3. Kajiya-Kanegae H, Nagasaki H, Kaga A, Hirano K, Ogiso-Tanaka E, Matsuoka M, Ishimori M, Ishimoto M, Hashiguchi M, Tanaka H, Akashi R, Isobe S, Iwata H, “Whole-genome sequence diversity and association analysis of 198 soybean accessions in mini-core collections.”, DNA Research, vol. 28, No. 1, dsaa032, 2021

概要: ダイズのコア・コレクション 198 系統のリシーケンスをイルミナ HiSeq で実施し、約 1,000 万の SNP と 280 万の Indel を同定した。さらに、10 系統について PacBio Sequel を用いたリシーケンスを実施し、合計 2,033 の構造バリエーションを同定した。これらのデータを用いてダイズコアコレクションを 3 つのサブグループ (Primitive, World, Japan) に分けた。解析の結果、日本におけるダイズの育種は他国とあまり材料を共有することなく、独自に行われて栽培大豆の歴史は、世界から比較的孤立したものであった可能性が示された。GWAS 解析では、開花時期を制御する遺伝子上に既知および新規の原因となる変異が同定された。また、種皮の色に関連する遺伝子についても、Illumina と PacBio のリードを用いたアラインメントにより、新規の原因変異候補が見つかった。

§ 2 研究実施体制

(1) 研究チームの体制について

① 「明石」グループ

研究代表者: 明石 良 (宮崎大学 理事・副学長)

研究項目

- ・温室フェノタイピングシステムの構築と運用
- ・温室栽培ダイズの全周囲画像の取得と主要形質の直接計測
- ・圃場栽培ダイズの画像取得と主要形質の直接計測
- ・画像解析プログラムによるダイズ・ミヤコグサからの形質値抽出

② 「磯部」グループ

主たる共同研究者: 磯部 祥子 (かずさ DNA 研究所先端研究開発部 研究室長)

研究項目

- ・温室内撮影システムの開発
- ・圃場計測システムの開発
- ・環境センサの開発
- ・3D モデリングと画像解析技術の開発
- ・次世代計測技術の開発の開発
- ・Phenotyping センターの設置
- ・PE 値の抽出
- ・形質データベースシステムの開発

③ 「中谷」グループ

主たる共同研究者: 中谷 明弘 (東京大学大学院新領域創成科学研究科 特任教授)

研究項目

- ・数理モデル作成手法の開発
- ・機械学習によるパラメータ最適化手法の開発
- ・数理モデルによる形質値推定手法の開発
- ・複雑な形質の再構成手法の開発

④ 「佐藤」グループ

主たる共同研究者: 佐藤 修正 (東北大学大学院生命科学研究科 教授)

研究項目

- ・圃場におけるダイズのコアシステムの年次比較可能な表現型情報の収集
- ・収集した圃場におけるミヤコグサの画像データからの形質値の抽出とストレス付加の影響の評価

⑤ 「野下」グループ

主たる共同研究者: 野下 浩司 (九州大学大学院理学研究院 助教)

研究項目

- ・植物個体・群落特徴量の推定

(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

1. 課題間連携促進費を活用し、CREST 岩田チーム(東京大学)ならびにさきがけ課題(大阪大学・大倉史生)と共同し温室内小型ドローンの飛行システムと取得したデータ解析法について開発を進めた。
2. ドローンを用いた警備システムを開発している High Lander 社(イスラエル)の技術を用いて小型ドローンの自動飛行システムを開発した。High Lander 社は無人の基地局を設置し、基地局をベースに複数機体の飛行制御とバッテリー充電を自動かつ高精度に行うシステムを開発している。小型ドローンを用いた撮影システムは、温室内の植物計測に限らず、狭い空間での自動観測・計測分野に応用できる画期的なシステムになると期待される。現在、本装置を農家に導入する事業をドローン活用モデル地域において実施することで、国内の民間企業とも協議を行っている。
3. 国際強化支援を受けて、香港中文大学とダイズの G×E 解析に関する研究協議を行った。香港中文大学を中心に米国や欧州の研究機関も含めた国際的な枠組みでの G×E 解析を実施することで、関係者と協議を継続している。
4. 国際強化支援を受けて、ニュージーランド・AgResearch と LiDar と ToF カメラを併用した圃場個体の3次元計測に関する技術開発を共同で実施している。コロナ感染拡大のため、残念ながら開発した計測器を互いの国に持ち込んでの解析が実施できていないが、計測器から得られたデータを交換することで協議を継続している。