

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2022

課題番号：18H02190

研究課題名（和文）高速形質評価・環境計測によるダイズ安定多収化に貢献する群落生産形質遺伝子座の探索

研究課題名（英文）Exploration of Genetic Loci Contributing to Soybean Yield Stability and Enhanced Productivity through High-throughput Phenotyping and Environmental Monitoring

研究代表者

熊谷 悦史（Kumagai, Etsushi）

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・農業環境研究部門・主任研究員

研究者番号：80583442

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 12,500,000円

研究成果の概要（和文）：この研究では、日本のダイズ収量停滞と品種改良の問題に対処するため、効率的な形質評価法と遺伝子情報の活用を目指した。日本と米国のダイズ品種を比較し、日本品種の収量と個葉光合成能力の低さを明らかにした。さらに、地上部重、葉面積指数や個葉光合成能力などを対象にした非破壊で高速な形質評価法を開発しました。この評価法を用いると、個葉光合成能力は関連する既知の遺伝子領域にマッピングされ、形質評価法の有用性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この研究成果は、日本のダイズ品種改良において極めて重要な意義を持つ。従来の形質評価には時間と労力がかかり、破壊的な手法が必要であった。しかし、この研究では効率的な形質評価法を開発した。さらに、遺伝子情報の活用により、日本品種の収量性向上や光合成能力の向上に寄与することが期待できた。これにより、農業生産性の向上や食糧自給率の向上に繋がる。また、研究成果は科学界においても注目され、分光反射リモートセンシングと機械学習による形質評価手法の新規開発など、重要な知見が得られた。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to use high-throughput phenotyping methods and genetic information to address the problems associated with low soybean yield and breeding in Japan. Japanese and U.S. soybean cultivars were compared, and low yield and leaf photosynthetic capacity of Japanese cultivars were identified. Furthermore, we developed high-throughput phenotyping methods that non-destructively and rapidly capture aboveground biomass, leaf area index, and leaf photosynthetic capacity. Using these methods, the leaf photosynthetic capacity was mapped to relevant known gene regions, indicating the usefulness of this method.

研究分野：作物学

キーワード：分光反射率 リモートセンシング 機械学習 ダイズ

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

米国では最近、ダイズの収量が着実に増加している。この成果には、品種の収量向上のための品種改良が貢献している。一方、日本のダイズの収量は停滞している。過去の日本国内の育種活動によって、品種の収量性や関連する形質がどれだけ改良されたのかは、まだ十分に検討されていない状況であった。近年、次世代シーケンサーの登場により、ダイズ品種の遺伝子情報は急速に増加している。しかし、ダイズの多収性に関連する形質評価には時間と労力がかかるため、課題となっている。また、形質評価は破壊的な手法を必要とする場合がある。現状では、形質情報が非常に不足しており、日本に適した多収性品種の育成には至っていない。

このような状況を改善するためには、日本のダイズ品種の収量性と関連する形質の改良について、より詳細な検討が必要であった。また、近年急速に発展しているリモートセンシング技術を活用し、従来の形質評価の方法を改良し、より効率的で非破壊的な手法を開発する必要があった。さらに、形質情報と遺伝子情報を対応付けし、多収性に関連する遺伝子を特定することが重要であった。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は以下の3つである。

(1) 日本産および米国産の新旧ダイズ品種の収量や個葉光合成能力などの基本形質を明らかにする。

(2) 個葉スケールでの分光反射リモートセンシングを利用した非破壊・高速な個葉光合成能力(最大炭酸固定速度、 $V_{cmax}$ と最大電子伝達速度、 $J_{max}$ )の評価法を開発し、遺伝解析材料に適用し、個葉光合成能力に関わる遺伝子領域を探索する。

(3) 群落スケールでの分光反射リモートセンシングなどを利用した非破壊・高速な形質評価法を構築し、それらを収量性が異なる日米品種の交配後代に適用し、高い乾物生産に関わる遺伝子領域を探索する。

### 3. 研究の方法

(1) 東北農業研究センターで複数年にわたり、日本および米国産の新旧品種を栽培し、収量、収量構成要素、乾物生産速度、個葉光合成速度、葉室素含量などを比較した。

(2) 米国イリノイ大学との共同研究により、複数のシーズンにわたって栽培されたダイズの多様な集団から個葉の $V_{cmax}$ や $J_{max}$ を測定し、500-2400nmのハイパースペクトル反射率も収集した。複数の回帰学習器を用いて、ハイパースペクトル反射率から $V_{cmax}$ と $J_{max}$ を推定する多変量回帰モデルを構築し、精度検証を行った。また、東北農業研究センターで複数のシーズンにわたり、日米品種の交配後代を栽培し、一部の系統の個葉の $V_{cmax}$ や $J_{max}$ を測定し、500-851nmのハイパースペクトル反射率も収集した。同様に、複数の回帰学習器を利用して、ハイパースペクトル反射率から $V_{cmax}$ と $J_{max}$ を推定する多変量回帰モデルを構築し、日米品種の交配後代の全系統に適用し、遺伝解析を実施した。

(3) 東北農業研究センターで複数のシーズンにわたり、日本および米国産の複数品種を栽培し、地上部重、葉面積指数および植被率の時系列データを取得した。また、群落スケールでの501-801nmのハイパースペクトル反射率も収集した。複数の学習器を利用して、301の波長帯の反射率を説明変数とし、地上部重量、葉面積指数および植被率を目的変数とする多変量回帰モデルを構築し、推定精度を検証した。

### 4. 研究成果

(1) 米国品種と比較して、日本品種は子実数が少なく、百粒重は大きいのが、収量は低いことが明らかになった(図1)。日本品種では育成年が進むと子実数は減少し、一方で百粒重は増加していたが、収量は増えなかった。米国品種では育成年に伴い収量と子実数が増加し、百粒重は減少していた。また、米国品種では育成年に伴って総節数や一節莢数が増加し、一莢粒数は減少していた。日本品種ではこれらの要素の変化は見られなかった。両品種間で子実数と百粒重は負の相関があった。日本品種では収量への子実数と百粒重の相対的な貢献度(標準偏回帰係数)が同程度であり、百粒重の増加と子実数の減少の間に強いトレードオフの関係が存在した。米国品種では、収量への標準偏回帰係数は子実数よりも百粒重の方が高く、新品種の高収量化には子実数の増加が大きく寄与していた(文献)。

開花期においては、光合成速度や葉面積当たりの窒素含量には両品種間で差がなかった。しかし、子実肥大始期においては、米国品種と比較して、日本品種の光合成速度は低く、窒素含量は高いことがわかった。日本品種では育成年に伴う光合成速度の直線的な増加は見られなかったが、米国品種では直線的な増加が観察された。この増加は窒素含量の増加と関連していた。両品種間で光合成速度と窒素含量の関係には明確な違いがあった。米国品種群では光合成速度と窒素含量は直線的な関係があったが、日本品種群では凸型の二次曲線の関係があり、窒素含量が高い範囲では光合成速度が減少した(文献)。以上のように、米国品種群では過去の育種によって収量性や個葉光合成能力が遺伝的に改善されている一方、日本品種群ではそれらの遺伝的改

良が停滞していることが示唆された。

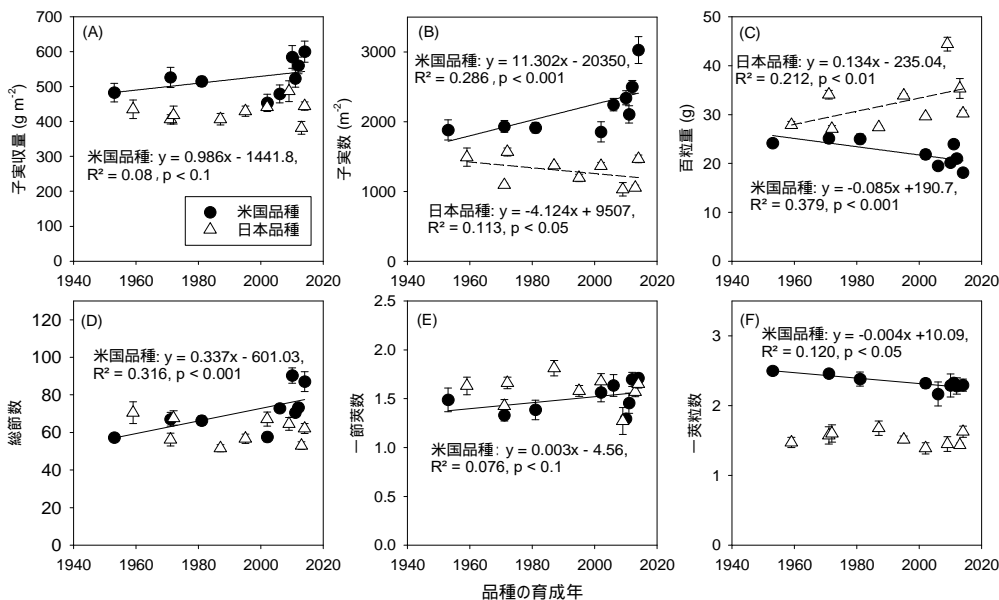


図 1. 米国産 9 品種と日本産 9 品種における育成年と子実収量 (A)、子実数 (B)、百粒重 (C)、総節数 (D)、一節莢数 (E) および一莢粒数 (F) との関係、各プロットは品種の平均値 ± 標準誤差 (n=5)。回帰分析は米国品種と日本品種で別々に実施 (n=45)。実線と点線はそれぞれ米国品種と日本品種の回帰直線。R<sup>2</sup> は決定係数。文献 の図を改変。

(2) イリノイ大学で収集したデータセットから、部分最小二乗回帰、リッジ回帰、サポートベクターマシン回帰、およびラッソ回帰のアルゴリズムを用いて、500-2400nm のハイパースペクトル反射率から V<sub>max</sub> および J<sub>max</sub> を推定するための多変量回帰モデルが作成された。検証段階では、V<sub>max</sub> (J<sub>max</sub>) の実測値と推定値との間の決定係数は 0.56 (0.48) 以上であり、相対誤差は 10.6 (9.4) %以下であった (図 2 は V<sub>max</sub> の結果を示す、文献 )。これらのモデルはダイズ Nested Association Mapping 集団に適用され、その有用性が検証された。遺伝解析により、V<sub>max</sub> は 19 番染色体の領域にマッピングされ、この領域には CO<sub>2</sub> を固定する酵素である Rubisco の複数の小型サブユニットをコードする遺伝子が含まれていることが示された。また、J<sub>max</sub> は第 10 染色体の領域にマッピングされ、この領域にはリブローズ 1,5-ビスリン酸の再生とスクロース生合成経路に重要な酵素をコードするフルクトース 1,6-ビスホスファターゼ遺伝子が含まれていることが明らかになった (文献 )。

東北農業研究センターで収集したデータセットからは、501-851nm のハイパースペクトル反射率を用いて V<sub>max</sub> および J<sub>max</sub> を推定するための多変量回帰モデルが構築された。検証段階では、V<sub>max</sub> (J<sub>max</sub>) の決定係数は 0.65 (0.49) 以上であり、相対誤差は 7.5 (8.0) %以下であった。これらのモデルは日米品種の交配後代集団に適用され、V<sub>max</sub> および J<sub>max</sub> の遺伝的変異を理解できた (文献 )。しかし、日米品種の交配後代集団を用いた解析では、V<sub>max</sub> や J<sub>max</sub> に関連する遺伝子領域の特定には至らず、今後の研究課題として残された。

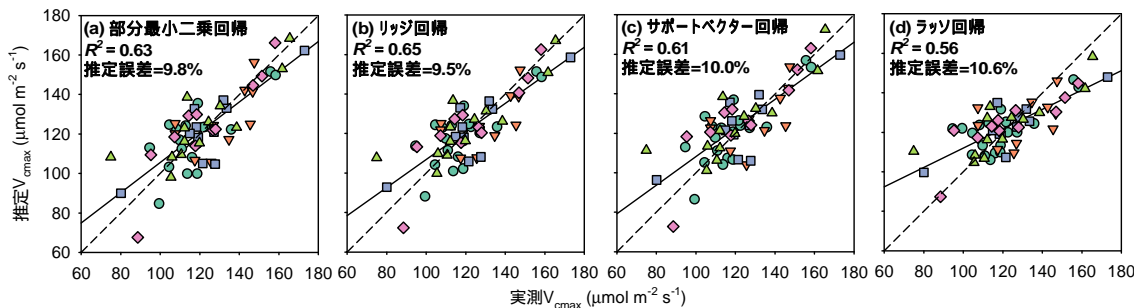


図 2. ハイパースペクトル反射率を説明変数にした多変量回帰モデルによる V<sub>max</sub> の推定値と実測値との関係、R<sup>2</sup> は決定係数。推定誤差は、二乗平均平方根誤差 (RMSE) を実測値の平均値で除して、100 を乗じた値 (%)。図中の実線は回帰直線、点線は y=x を示す。各生育温度条件の約半数のデータをあわせて、モデル構築に使用 (n=67)。モデル構築に使用していない残りのデータ (未知データ) を使い、モデルの推定精度を検証 (n=64)。文献 の図を改変。

(3) 東北農業研究センターで収集された地上部重、葉面積指数、および 501-801nm の反射率の時系列データセットを使用して、反射率から地上部重および葉面積指数を推定するための多変

量回帰モデルが構築され、検証された。検証の結果、実測値と推定値の間の決定係数は 0.79 以上であり、相対誤差は 29%以下となった。これらの手法は、日米品種の交配後代集団に適用され、乾物生産速度や葉面積進展速度の遺伝的変異を把握するために利用された。今後、これらの形質情報の変異と遺伝子領域の変異の対応付けを行い、乾物生産や葉面積進展に関わる遺伝子領域の特定を目指す。

さらに、全調査日の地上部重、植被率および日々の日射量を使用して、日射・乾物変換効率 (RUE) を算出し、その期間に取得した太陽光誘導クロロフィル蛍光 (SIF) や光化学反射指数 (PRI) との回帰分析を実施した。その結果、RUE と PRI の間には有意な関係が見られたが、RUE と SIF の間の関係は低かった。SIF から RUE の遺伝的変異を推定することは困難であると考えられた (文献 )。

#### <引用文献>

Kumagai, E., Yabiku, T., Hasegawa, T., 2022. A strong negative trade-off between seed number and 100-seed weight stalls genetic yield gains in northern Japanese soybean cultivars in comparison with Midwestern US cultivars. *Field Crops Research* 283.

Kumagai, E., Hasegawa, T., 2023. Lower photosynthetic rate and photosynthetic nitrogen use efficiency in northern Japanese soybean cultivars than Midwestern U.S. cultivars. *Crop Science* 63, 266-277.

Kumagai, E., Burroughs, C.H., Pederson, T.L., Montes, C.M., Peng, B., Kimm, H., Guan, K., Ainsworth, E.A., Bernacchi, C.J., 2022. Predicting biochemical acclimation of leaf photosynthesis in soybean under in-field canopy warming using hyperspectral reflectance. *Plant, Cell & Environment* 45, 80-94.

Montes, C.M., Fox, C., Sanz-Saez, A., Serbin, S.P., Kumagai, E., Krause, M.D., Xavier, A., Specht, J.E., Beavis, W.D., Bernacchi, C.J., Diers, B.W., Ainsworth, E.A., 2022. High-Throughput Characterization, Correlation, and Mapping of Leaf Photosynthetic and Functional Traits in the Soybean (*Glycine Max*) Nested Association Mapping Population. *Genetics* 221, iyac065

熊谷悦史, 木村建介, 屋比久貴之, 小木曾映里, 平田香里, 山田哲也, 長谷川利拓, 2021. 可視・近赤外領域のハイパースペクトル反射計測と回帰学習器を用いたダイズ個葉光合成の生化学モデルパラメータのハイスループットフェノタイピング、第 251 回日本作物学会講演要旨集 p29

熊谷悦史, 屋比久貴之, 長谷川利拓, 2022, イネとダイズで観察される群落生産形質と太陽光誘導クロロフィル蛍光 SIF および光化学反射指標 PRI との関係、第 253 回日本作物学会講演要旨集 p67

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Montes Christopher M, Fox Carolyn, Sanz-S?ez ?lvaro, Serbin Shawn P, Kumagai Etsushi, Krause Matheus D, Xavier Alencar, Specht James E, Beavis William D, Bernacchi Carl J, Diers Brian W, Ainsworth Elizabeth A	4. 巻 221
2. 論文標題 High-throughput characterization, correlation, and mapping of leaf photosynthetic and functional traits in the soybean (<i>Glycine max</i>) nested association mapping population	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Genetics	6. 最初と最後の頁 iyac065
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/genetics/iyac065	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kumagai Etsushi, Hasegawa Toshihiro	4. 巻 63
2. 論文標題 Lower photosynthetic rate and photosynthetic nitrogen use efficiency in northern Japanese soybean cultivars than Midwestern U.S. cultivars	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Crop Science	6. 最初と最後の頁 266 ~ 277
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/csc2.20835	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kumagai Etsushi, Yabiku Takayuki, Hasegawa Toshihiro	4. 巻 283
2. 論文標題 A strong negative trade-off between seed number and 100-seed weight stalls genetic yield gains in northern Japanese soybean cultivars in comparison with Midwestern US cultivars	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Field Crops Research	6. 最初と最後の頁 108539 ~ 108539
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.fcr.2022.108539	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kumagai Etsushi, Burroughs Charles H., Pederson Taylor L., Montes Christopher M., Peng Bin, Kimm Hyungsuk, Guan Kaiyu, Ainsworth Elizabeth A., Bernacchi Carl J.	4. 巻 45
2. 論文標題 Predicting biochemical acclimation of leaf photosynthesis in soybean under in field canopy warming using hyperspectral reflectance	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant, Cell & Environment	6. 最初と最後の頁 80 ~ 94
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pce.14204	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 熊谷悦史、木村建介、屋比久貴之、小木曾映里、平田香里、山田哲也、長谷川利拡
2. 発表標題 可視・近赤外領域のハイパースペクトル反射計測と回帰学習器を用いた ダイズ個葉光合成の生化学モデルパラメータのハイスループットフェノタイピング
3. 学会等名 日本作物学会第251回講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 熊谷悦史、屋比久貴之、木村建介、小木曾映里、平田香里、山田哲也、長谷川利拡
2. 発表標題 ハイパースペクトル反射計測によるダイズ地上部形質の高速評価手法の検討
3. 学会等名 日本農業気象学会2020年全国大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Etsushi Kumagai, Toshihiro Hasegawa
2. 発表標題 Assessing proximal sensing capabilities for high throughput estimation of genotypic variation in photosynthesis of soybean
3. 学会等名 2018 AGU annual meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 熊谷悦史、屋比久貴之、長谷川利拡
2. 発表標題 イネとダイズで観察される群落生産形質と太陽光誘導クロロフィル蛍光SIFおよび光化学反射指標PRIとの関係
3. 学会等名 日本作物学会第253回講演会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	小木曾 映里 (Ogiso-Tanaka Eri)  (00646929)	独立行政法人国立科学博物館・分子生物多様性研究資料センター・特定非常勤研究員  (82617)	
研究分担者	長谷川 利拡 (Hasegawa Toshihiro)  (10228455)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・農業環境研究部門・グループ長  (82111)	
研究分担者	屋比久 貴之 (Yabiku Takayuki)  (20824270)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・東北農業研究センター・研究員  (82111)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
米国	イリノイ大学		