

【話 題】

ドイツ・フランスにおける表現型形質評価技術に関する育種事情調査

高島 有哉^{*1}・木村 恵¹

はじめに

近年、遺伝子解析技術がますます発展し、その解析時間の高速化や解析コストの低下には目を見張るものがある。一方、遺伝子型（ジェノタイプ）データから表現型（フェノタイプ）を高い精度で予測することを可能にするために、対をなすフェノタイプの測定・解析技術に関しても、技術の精緻化や改良が精力的に進められているところであり、世界の先進的な機関においては解析の高速化や自動化が実現されている。

今回筆者らは、2017年9月25日から27日にわたり、ドイツのユーリッヒ総合研究機構（Forschungszentrum Jülich; 以下、FZJ）、およびフランス国立農学研究所（Institut National de la Recherche Agronomique ; 以下、INRA）オルレアンを訪問し、FZJではシロイヌナズナ等のモデル植物における自動高速形質評価技術について、そしてINRA オルレアンでは材質形質の評価技術についての視察を行ったので、本稿ではその概要を紹介する。

ユーリッヒ総合研究機構（FZJ）の視察

バイオ・地球科学研究所植物科学領域（IBG-2）について

2017年9月25日にFZJのバイオ・地球科学研究所（Institute of Bio- and Geoscience）植物科学領域（以下、IBG-2）を訪れた。FZJは、ドイツ西部ノルトライン＝ヴェストファーレン州ユーリッヒの町の中心から6 kmほど離れた緑豊かな郊外に位置している。FZJの前身は、1956年に創設されたユーリッヒ原子力研究機構（Kernforschungsanlage Jülich GmbH）であり、2006年まで研究用原子炉を稼働させていた。現在、原子炉は閉鎖されているが、核燃料などは敷地内に保管されているため、正門でのパスポート提示や敷地内での写真撮影禁止など厳重なセキュリティー管理が行われていた。

FZJには健康、情報、環境及びエネルギーの4研究分野があり、それらは神経科学・医学研究所、エネルギー・気候研究所、核物理学研究所など、計8つの研究所から構成されている。また、FZJはスーパーコンピュータを擁しており、脳科学におけるシミュレーションや医薬開発のためのタンパク質構造計算、あるいは気候研究における大規模シミュレーション等の様々な大規模計算に活用されている。

今回、私達はこれらの研究所の1つであるバイオ・地球科学研究所に所属するIBG-2において進めている研究の一端を伺った。

Shoot Dynamics 研究グループでの研究紹介

IBG-2はシロイヌナズナ等のモデル植物や作物を主な研究対象と位置づけ、生物学、バイオインフォマティクス、ロボット工学等の分野が統合された形で技術開発・研究を推進している。IBG-2は6分野の研究グループから構成されているが、その1つであるShoot Dynamics 研究グループのDr. Onno Muller氏から話を伺った。Shoot Dynamics 研究グループは、主に草本植物における茎葉の形や光合成活性を中心とした地上部の形質評価を、クロロフィル蛍光法やハイパースペクトル技術を応用して行っている。現在は特に、手持ちの装置を用いて温室で取得した形質と、クレーン、UAV、飛行機等を用いて圃場で取得した形質のギャップを埋める為の技術開発に、重点を置いて取り組んでいた（Rascher et al. 2015）。現在、林木育種においても、クロロフィル蛍光法による光合成活性の測定や、反射スペクトルを用いた活性指標等の形質評価技術が様々な機関で取り入れられつつあるが、依然フィールドでの適用を試みている段階である。今後は、林木においても、これらの技術の実用化や高速化を進めるために、温室・苗畑等で評価した苗木の形質と検定林等の山林で評価した成木の形質との間のギャップを埋めるための取り組みが必

* E-mail: ytakashima@ffpri.affrc.go.jp

¹たかしまゆうや、きむらめぐみ 森林研究整備機構森林総合研究所林木育種センター

要であると感じた。

ユーリッヒ植物フェノタイピングセンター(JPPC)の見学

Dr. Onno Muller 氏の研究室で研究紹介を受けた後、ユーリッヒ植物フェノタイピングセンター (JPPC) の施設を見学した。JPPC は、IBG-2 に所属する 6 分野の研究グループの 1 つであり、International Plant Phenotyping Network の中核機関として機能している。

JPPC では、根・茎・葉・種子における様々な生理・形態的形質を自動かつ高速に評価するための技術やシステムを研究・開発し、実際に開発したシステムを利用した形質評価に関する研究を行っている (Scharf et al. 2017, Nakhforoosh et al. 2016, Zhao et al. 2017)。今回は、GROWSCREEN Chamber (発芽・初期成長形質自動測定装置)、GROWSCREEN Rhizo (根系形質自動測定装置)、および SCREEN House (茎葉形質自動測定装置) について紹介する。

GROWSCREEN Chamber は、人工環境制御チャンバーおよび形質測定ステーションで構成されており、全自動で形態的および生理的な形質が取得可能となっていた。まず、 $5 \times 8 = 40$ 個のセルに分かれた縦 300 mm × 横 400 mm ほどの大きさのプレートに、1 セルにつき 1 個ずつ種子を播種し、温度、湿度、日長、光質、光強度および CO₂ 濃度が幅広く設定できる人工環境制御チャンバー内において、発芽および生育させる。様々な環境条件で育成した苗を、プレートごと形質測定ステーションに移動させ、カラー画像およびクロロフィル蛍光を取得することにより、発芽率および茎葉の形態学的パラメータ、二次元構造、生理活性等を測定する。人工環境制御チャンバーは、一度に 4,000 個体を育成可能な容量で設計されており、それらを、一日に複数回測定可能なハイスループット性を実現していた。

上記の、GROWSCREEN Chamber は、発芽から苗高 10 cm 程度までの芽生えにおける形質評価を対象に設計されているが、茎長が 100 cm 位までの植物に対応した形質自動測定装置が、GROWSCREEN Rhizo および SCREEN House と呼ばれているシステムである。これらは温室内に設置されていた。

GROWSCREEN Rhizo は、根系の二次元構造と、地上部の投影面積を自動で評価可能なシステムであり、主に水分や養分等の土壌環境に対する応答の評価に利用されていた。植物は約 40° に傾斜した 70 × 90 × 5 cm のアクリルボックスに植栽され育成される。アクリルボックスは、黒色のアクリル板で作製されているが、傾斜した下側の 1 面のみが透明のアクリル板で作製されて

おり、簡便な根系の評価が可能になっていた。育成中は、ボックスへの光の侵入を遮断するために、透明な面は不透明な板に密着するようにスタンド部に固定されている。形質測定の際は、スキャナーや RGB カメラの設置された専用の測定ステーションへアクリルボックスが移動し、根系のスキャンや地上部の撮影が行われる。これらも全て自動化されていた。

SCREEN House は、ポットに植栽された植物の茎葉の構造や機能を評価するためのシステムであり、GROWSCREEN Rhizo と同様、水分や養分等に対する応答性の評価やスクリーニングに用いられていた。SCREEN House は、ポットの移動のためのロボットアームと、測定用ステーションから構成されており、最大 600 ポットの育成および測定が自動で行えるシステムとなっていた。測定用ステーションは、重量計、灌水装置、および RGB カメラ 3 台が設置されており、灌水のコントロールと形質測定を同時に行っていた。さらに測定用ステーションでは、ポットに植栽された植物を 360° 回転させながら 3 台のカメラにより画像取得することで、地上部の 3 次元構造や形態のデータを取得していた。

今回見学したこれらの草本植物を対象とした大規模なフェノタイピングシステムに関して、個々の評価手法やテクニックは既に林木においても試行されているものが多いと感じた。今後、林木の分野において、樹木の生物学的な特性に配慮しつつ、個々の評価技術をいかに統合・省力化し、パッケージ化していくのが重要であると感じた。

フランス国立農学研究所 (INRA) の訪問

INRA オルレアンについて

9 月 27 日に、林木育種における形質評価技術、特に材質形質の評価技術の事情調査を目的として、INRA オルレアンを視察した。INRA は、1946 年に、林業だけでなく農業、食料、環境等の研究を行う研究機関として設立され、フランス全国に 21 の支部がある。これらの中、フランスにおける林木育種における研究および事業は、オルレアン、ボルドー、アビニヨンの 3 か所で行われており、オルレアンが林木育種全体の統括を行っている。

材質形質に関するフェノタイピング手法

材質における形質評価としては、従来の曲げ試験や容積密度測定も行われているが、高速化・自動化を進めている分野は、高周波プローブと高解像度カメラを

統合したシステムによる年輪密度解析および近赤外線分光法による化学成分や腐朽性の評価であった。

年輪密度解析用システムは、LIGNOSTATION™の商品名で、ドイツ企業であるRINNTECH®が開発・販売を行っている。高密度高周波プローブによる木材表面のスキャンにより、密度を推定するシステムであり(Schinker et al. 2003)、パソコン制御による測定自動化が可能となっている。ただし、従来の軟X線写真解析と比較すると、解像度や精度は劣るのが現状のようで、使用の際は、これらの点に留意する必要があるということであった。近赤外線分光法に関しては、測定前のサンプル調製段階の自動化が進められていた。これは、破碎用の金属製チューブに木片と金属ボールと共に入れ機械にセットすれば、全自動で破碎・秤量・分取を行うロボットシステムであり、特注で作製し利用していた。これらのシステムは、材質に関するQTL解析やGWASを行う際に必要となる多量のサンプルを処理する為などに使用されていた。

おわりに

今回、フランスおよびドイツにおいて、作物や林木のフェノタイピングに関わる技術・設備を中心に育種事情調査を行った。ドイツのIBG-2では、植物全般の先進的なフェノタイピング技術を精力的に研究しており、International Plant Phenotyping Network と呼ばれる国際ネットワークの中核機関として機能していた。このネットワークには、2018年現在、日本の大学や研究機関は参加しておらず、この分野においても日本の研究分野におけるグローバル化への対応の遅れを感じた。また、ジェノタイピング速度が年々高速化する中で、フランスでは今回視察した材質形質測定の自動化等の対応を進めていた。日本の林木育種においても、フェノタイピングのハイスループット化に向けて、早期の解析系の確立と自動化設備の導入の取り組みを進めることが望ましいと感じた。

謝辞

IBG-2 Shoot Dynamics 研究グループ Dzhaner Emin 氏、INRA オルレアン Jean-Charles Bastien 氏、同 Philippe Rozenberg 氏、同 Vincent Segura 氏には、施設・設備の案内や研究説明をして頂きました。この場を借りて、厚く御礼申し上げます。

引用文献

- Nakhforoosh A, Bodewein T, Fioranii F, Bondner G (2016) Identification of water use strategies at early growth stages in Durum wheat from shoot phenotyping and physiological measurements. *Frontiers in Plant Science* 7: 1155
- Rascher U, Alonso L, Burkart A, Cilia C, Cogliati S, Colombo R, Damm A, Drusch M, Guanter L, Hanus J, Hyvärinen T, Julitta T, Jussila J, Kataja K, Kokkalis P, Kraft S, Kraska T, Matveeva M, Moreno J, Muller O, Panigada C, Piki M, Pinto F, Prey L, Pude R, Rossini M, Schickling A, Schurr U, Schüttemeyer D, Verrelst J, Zemek F (2015) Sun-induced fluorescence - a new probe of photosynthesis: First maps from the imaging spectrometer HyPlant. *Global Change Biology* 21: 4673–4684
- Scharr H, Briese C, Embgenbroich P, Fischbach A, Fiorani F, Müller-Lonow M (2017) Fast high resolution volume carving for 3d plant shoot reconstruction. *Frontiers in Plant Science* 8: 1680
- Schinker MG, Hansen N, Spiecker H (2003) High-frequency densitometry - A new method for the rapid evaluation of wood density variations. *IAWA Journal* 24: 231–239
- Zhao J, Bodner G, Rewald B, Leitner D, Nagel KA, Nakhforoosh A (2017) Root architecture simulation improves the inference from seedling root phenotyping towards mature root systems. *Journal of Experimental Botany* 68: 965–982