

## 平成30年度終了 豆類振興事業助成金(試験研究)の成果概要

1 課題名 近赤外分光法による菜豆品質項目の非破壊一括評価法開発

2 研究実施者

研究代表者 (地独) 北海道立総合研究機構農業研究本部  
中央農業試験場加工利用部農産品質グループ  
主査 富沢ゆい子

分担 (地独) 北海道立総合研究機構農業研究本部  
十勝農業試験場研究部小豆菜豆グループ



3 実施期間 平成28年度～30年度(3年間)

4 試験研究の成果概要

(1) 試験研究の目的

赤系いんげんまめの品質項目(煮熟粒色等)の測定には、試料(子実)を浸漬処理もしくは煮熟する必要があるため試料が損失する。育種効率の向上のためには初中期世代からの育種選抜が必要であるが、その世代では試料量が少なく、品質項目の評価が困難である。非破壊かつ少量サンプルで複数の品質項目の一括評価が可能な手法として近赤外分光法があり、測定後の試料を次世代の栽培用に供試できる。そこで本課題では育種選抜に活用可能な近赤外分光法を活用し、複数の品質項目を非破壊一括評価できる手法を開発する。

(2) 実施計画、手法

1) 供試試料の選定および増殖

赤系いんげんまめの育成系統および遺伝資源から、検量モデル(以降、文中では推定式と記載)の作成および評価に用いる試料を選定し、試験圃場で増殖を行う。

2) スペクトルの解析と検量モデルの作成

携帯型の小型近赤外分光器(クボタフルーツセレクターKB-100)を用いて、子実原粒30g程度の少量サンプルの反射光スペクトルから赤系いんげんまめの煮熟粒色、原粒水分等の品質を評価する推定式を開発する。

3) 検量モデルの精度評価

作成した推定式を未知サンプルに適用し、精度評価・改良を行う。

(3) 成果の概要

1) 供試試料の選定および増殖

道総研十勝農試において、2016～2018年にかけて育成系統および遺伝資源から選定した試料525点の増殖を行い、推定式の検討用試料として供試した。この他に過年度(2014～2015年)の試料から、検討用試料を264点選定し、同様に供試した。

2) スペクトルの解析と検量モデルの作成

4ヶ年(2014～2017年)の試料について、携帯型近赤外分光器(クボタフルーツセレク

ターK-BA100R)を用いて原粒の近赤外スペクトル(波長域500~1010nm)を測定し、菜豆の品質評価項目の実測値を測定した。近赤外スペクトルは各種前処理(吸光度、二次微分平滑化点数7~25point)を行い、PLS回帰分析により推定式を作成した。各品質評価項目の推定式は、4ヶ年の試料のうち、3ヶ年分の試料を用いて作成および評価を行い、残り1ヶ年分の試料を用いて異なる年次の試料による推定式の再評価を行った。この検討は、年次を入れ替えた4パターンで行い、その結果から、推定精度が最も高くなるスペクトル前処理法を選定した。

その結果、スペクトルの前処理方法としては、煮熟粒色L\*値およびb\*値は二次微分25point、煮熟粒色a\*値は吸光度、原粒水分は二次微分7pointが最適と判断された(データ省略)。

### 3) 検量モデルの精度評価

前段で選定したスペクトル前処理方法により、4ヶ年分(2014~2017年)の試料を用いて、各品質評価項目の推定式を作成・評価した。また、2018年の十勝農試産試料を、過年度試料と同様に測定し、その測定結果を用いて推定式の再評価(精度評価)を行った。結果を表1に示す。

推定式評価時(推定式作成と同一年次の試料)の推定精度は、各品質評価項目のEIで15.0~28.4と、概ね良好であった。また、主要品種(大正金時、かちどき、きたロツソ、Montcalm023)の推定値を確認したところ、実測値と概ね同様の序列を示していた(図1、3、5、7、9)。

次に、推定式再評価時(推定式作成と異なる年次の試料)の推定精度について以下に述べる。なお、種皮色が白色の交配親を持つ一部の系統は、各品質評価項目において推定値が外れる場合があったため、本評価法の適用外と判断された(図2、4、6、8、10のWAF17系プロット)。

煮熟粒色L\*値では、SEPが1.83、EIは18.9で、実用性が高いと判断された。

煮熟粒色a\*値では、SEPが1.50、EIは31.1で、実用性が中程度と判断された。

煮熟粒色b\*値では、SEPが1.29、EIは49.6で、実用性が乏しいと判断された。そこで、育種の主体であるb\*値13以下の試料の推定精度の向上を図るため、推定式を別に作成したが、SEPは1.20、EIは45.9と推定精度は悪かった。

原粒水分は、SEPが0.57、EIが59.1と推定精度は悪かった。

以上の結果から、実用化の見込みがある推定式は、煮熟粒色L\*と煮熟粒色a\*値と判断された。

表 1 各種品質項目の推定式の推定精度

	煮熟粒色 L*値	煮熟粒色 a*値	煮熟粒色 b*値	煮熟粒色b*値 13以下	原粒水分
スペクトル 前処理方法	二次微分 25point	吸光度	二次微分 25point	二次微分 25point	二次微分 7point
推定式の因子数	14	7	15	15	5
推定式 作成	r 0.945	r 0.732	r 0.921	r 0.872	r 0.954
	SEC 2.15	SEC 1.32	SEC 1.46	SEC 1.10	SEC 0.35
推定式 評価	r 0.929	r 0.740	r 0.909	r 0.806	r 0.954
	SEP 2.40	SEP 1.29	SEP 1.60	SEP 1.32	SEP 0.35
	EI 18.2	EI 19.9	EI 12.8	EI 28.4	EI 15.0
推定式 再評価	r 0.959	r 0.713	r 0.669	r 0.649	r 0.201
	SEP 1.83	SEP 1.50	SEP 1.29	SEP 1.20	SEP 0.57
	EI 18.9	EI 31.1	EI 49.6	EI 45.9	EI 59.1
推定式作成用試料点数	462	462	462	441	416
推定式評価用試料点数	229	229	229	217	205
推定式評価用試料点数	98	98	98	98	98

注)r: 重相関係数 SEC: 推定式の推定誤差 SEP: 評価用試料による予測標準誤差

EI: 精度評価指標(水野ら1988)「EI=2SEP×100/(実測値分布幅)」実測値分布幅は79.6(最小値20.4~最大値100)

EIによる実用性判断基準: EI<25(実用性が高い)、25≤EI<37.5(実用性が中程度)、37.5≤EI<50(実用性が乏しい)

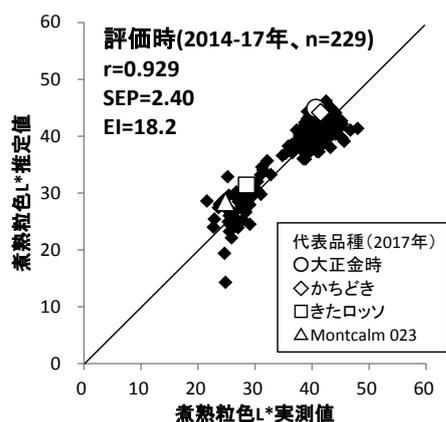


図 1 煮熟粒色 L\*の実測値と推定値の関係 (評価時、二次微分 25point)

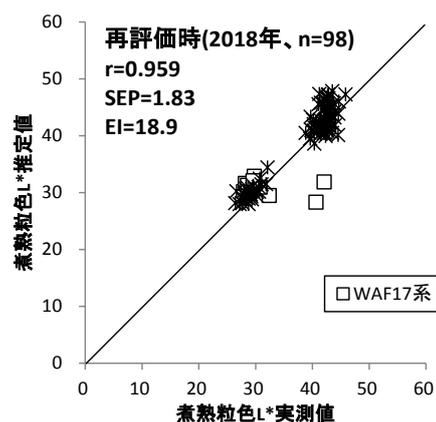


図 2 煮熟粒色 L\*の実測値と推定値の関係 (再評価時、二次微分 25point)

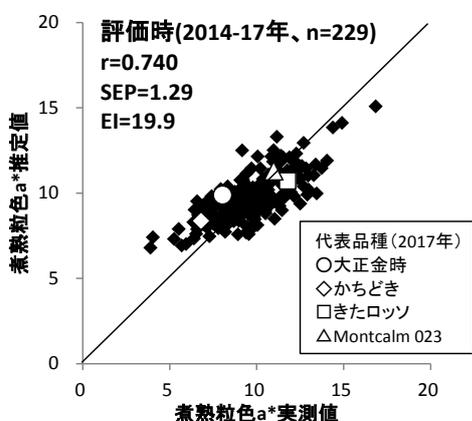


図 3 煮熟粒色 a\*の実測値と推定値の関係 (評価時、吸光度)

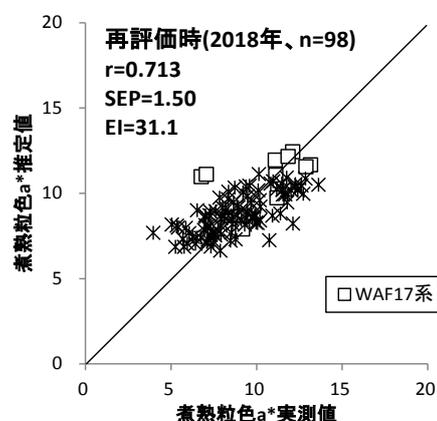


図 4 煮熟粒色 a\*の実測値と推定値の関係 (再評価時、吸光度)

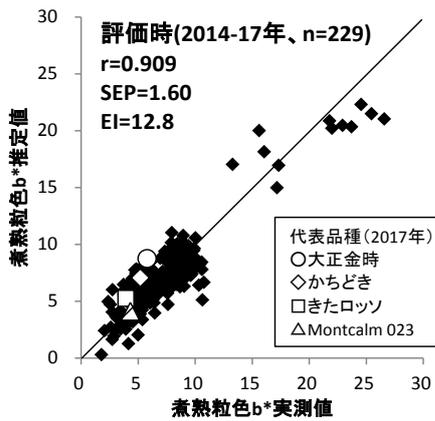


図5 煮熟粒色 b\* の実測値と推定値の関係 (評価時、二次微分 25point)

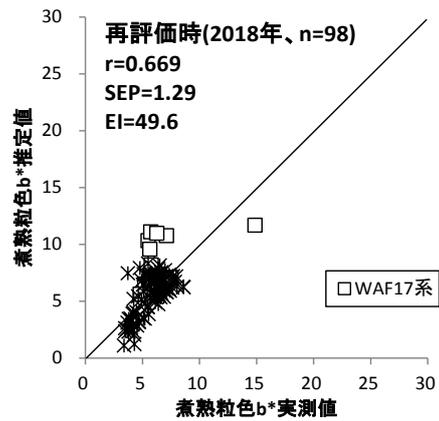


図6 煮熟粒色 b\* の実測値と推定値の関係 (再評価時、二次微分 25point)

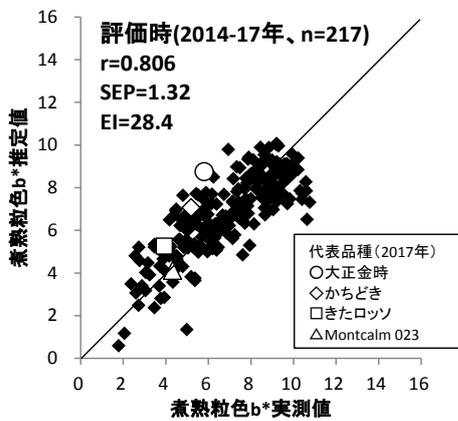


図7 煮熟粒色 b\* (推定値 13 以下) の実測値と推定値の関係 (評価時、二次微分 25point)

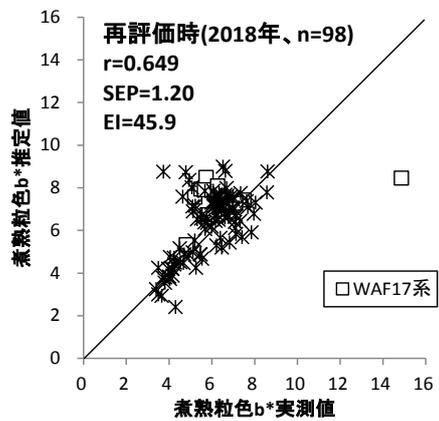


図8 煮熟粒色 b\* (推定値 13 以下) の実測値と推定値の関係 (再評価時、二次微分 25point)

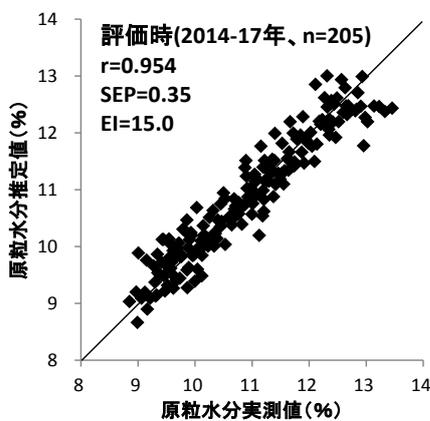


図9 原粒水分の実測値と推定値の関係 (評価時、二次微分 7point)

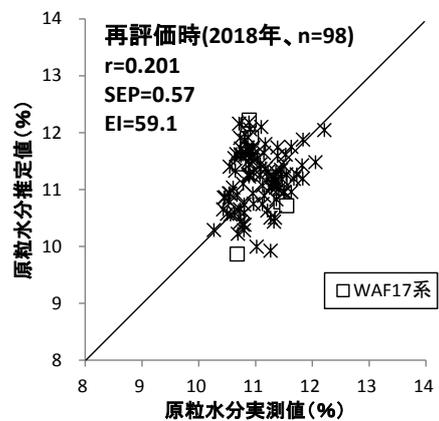


図10 原粒水分の実測値と推定値の関係 (再評価時、二次微分 7point)

本手法は、赤いんげんまめの育種選抜における活用が期待されることから、実際の育種選抜において本手法を適用した場合の、選抜効果の検証を行った。

2017年産のF<sub>4</sub>世代（F<sub>5</sub>種子）において、本手法（以降、近赤外法と記載）を用いて望ましい煮熟粒色を有する系統を選抜したと仮定した（図11）。なお、煮熟粒色の目標値は推定精度を鑑み余裕を持って設定し、金時類では「L\*値は42以上、a\*値は10以下」、洋風料理向け赤いんげんまめでは「L\*値は32以下、a\*値は10以上」に設定した。同系統（F<sub>5</sub>世代）を2018年に栽培し、得られたF<sub>6</sub>種子の煮熟粒色を調査した。その結果、F<sub>5</sub>種子において選抜を実施しなかったと仮定した場合、次世代（2018年産）のF<sub>6</sub>種子において煮熟粒色が目標内の系統は、金時類および洋風料理向け赤いんげんまめでほぼ同数の約55%であった。一方、F<sub>5</sub>種子において近赤外法で目標外の煮熟粒色の系統を除いたとした場合、残った系統から得られたF<sub>6</sub>種子において目標とする煮熟粒色を有する系統の割合は金時類で約65%、洋風料理向け赤いんげんまめで約71%となり、無選抜の場合より望ましい煮熟粒色を示す系統の割合が10~18%程度増加したことから、選抜の効率化が想定された（図12）。

実際に品種育成場面で本選抜法を活用することを考えると、「選抜を行わない場合と比較して、次世代で選抜効果が見られる」かつ「従来の簡易評価法と比較して、選抜効果が同等以上」であることが求められる。しかし、選抜効率の向上は10~18%程度にとどまり、また、以前に開発された吸水粒法（原料を吸水させたものから煮熟粒色を推定する手法）と比較すると、選抜精度は同等からやや劣った。

このことから、本手法は試料を非破壊で分析できる点は優れるが、現状では選抜効率が低く、育種選抜に導入し活用することは難しいと判断された。

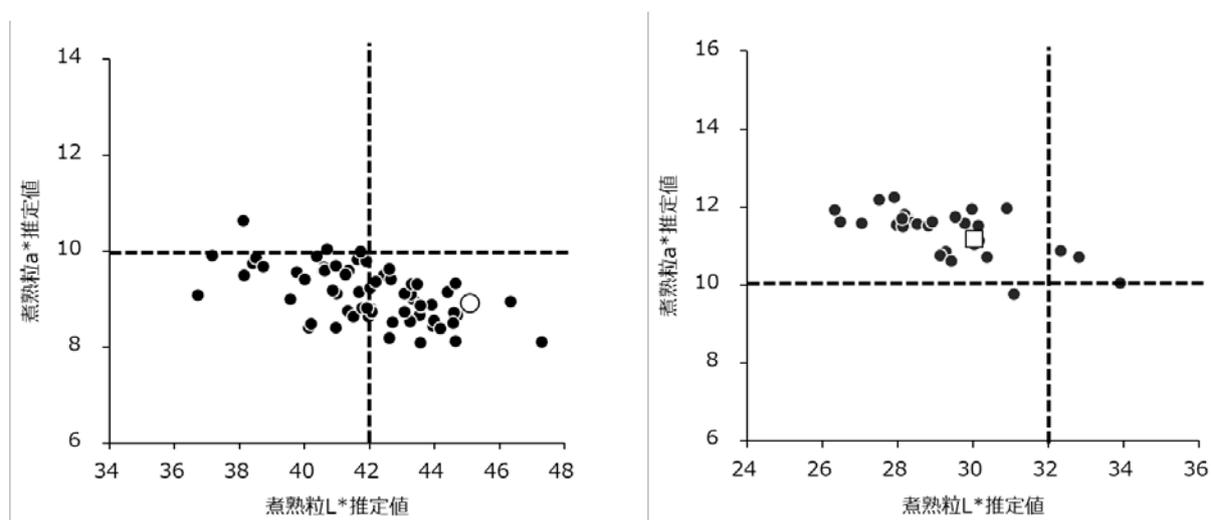


図11 推定値による選抜のイメージ（F<sub>5</sub>種子）

左：金時類（○：大正金時）、右：洋風料理向け赤いんげんまめ（□：きたロツソ）

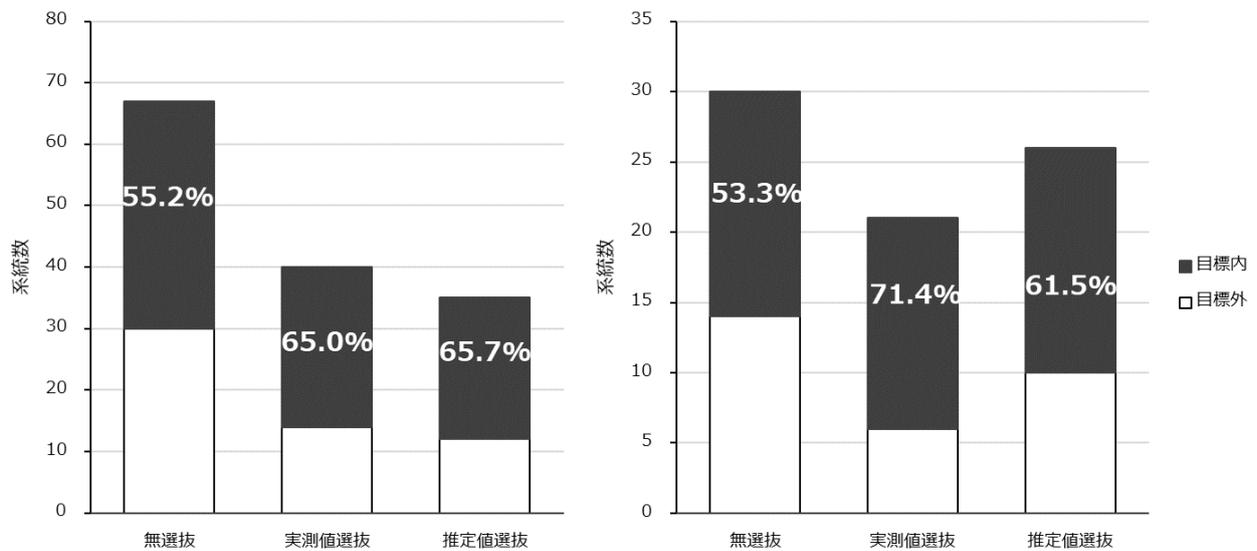


図 12 推定値および実測値による選抜効率の検討

左：金時類、右：洋風料理向け赤いんげんまめ

注) 無選抜：F<sub>5</sub>種子において選抜を実施しない、実測値選抜：F<sub>5</sub>種子において吸水粒法で選抜、推定値選抜：F<sub>5</sub>種子において近赤外法で選抜（図 11 参照）した場合。数字は F<sub>6</sub>種子における煮熟粒色が目標範囲内の系統の割合を示す。

(4) 今後の課題

現状の育種選抜手法において活用するためには、更なる推定精度の向上が必要である。

(5) 成果の波及効果

赤系いんげんまめの育種選抜における品質評価項目である煮熟粒色（L\*値、a\*値）を、近赤外分光法を活用することで、非破壊かつ少量サンプルで評価できる可能性が示された。本評価法は、現状の育種選抜で活用するには推定精度が不十分であったが、今後、育種選抜の効率化を進める中で、本成果で得られた知見の活用が期待される。

(6) 論文、特許等

特になし。