

第1章 緒論

第1節 米の消費形態の多様化と実需者が求める品質

近年、食生活の変化に伴い、米の消費や流通場面における良食味米の指向が高まり、銘柄や産地の食味格差が販売と消費に大きな影響を及ぼしている。家庭内における米の消費量が年々低下している一方、業務用米や加工炊飯の需要は伸びている。このため、求められる米の性質は多様化している。外食産業や米飯加工業の成長は著しく、年間250～300万 tの米が使用されていると推定される。米の消費形態は、内食（家庭内炊飯・食事）、外食（家庭外での消費）、中食（テイクアウト）に区分される。このように、市場原理が導入された米市場では消費形態に合わせた販売戦略が重要である。

特に寒冷地の北海道で生産される北海道米は、業務用米としてのニーズが高く、値段の割には食味の良いたことが評価されている（五十嵐, 2004a）。したがって、北海道米を有利に販売するためには、消費量が増加している業務用米に対応することが重要である。従来、外食産業等へ供給される業務用米は、家庭用精米に比べ低品質で価格や需給の調整機能を果たしていた。しかし、現在これらは主食用の約半分を占め、その需要は低価格商品、差別化商品、加工米飯など多様である。今後も、社会経済の変化、食の外部化とサービス化の進展にともない、業務用米の消費量は増加することが予想されている（大内と佐伯, 1995）。

北海道米は、業務用、加工原材料用としての需要が約60%を占め、特に大量ロットに基づく特定需要との結びつきを強めながらその需要に支えられている。需要拡大にはこれら大口実需をターゲットとした業務用や加工原材料用途向けの安定的な米生産と併せて、多数の小口需要のニーズ把握とそれらに対応した品種毎の供給体制強化を図ることが重要となる。

これまで北海道米が業務用米として活用されてきた背景には、北海道米の主力品種である「きらら397」は、「銘柄の消費者の認知度」が高く、「価格の割には良食味」という値頃感もあり、低価格で大量確保できる銘柄であるため業務用米として一定の評価がなされていることがあげられる。しかし、今後この分野ではSBS (Simultaneous Buying and Selling Tender System = 売り買い同時入札) 米との競合が予想され（大内と佐伯, 1995）、競争力を付けるためには業務用米のニーズに対応した米の生産と流通を図ることが重要である。

業務用米に求められる品質は、一般的な食味計の食味値では73.6～81.0、アミロース含量18.6～19.9%、タ

ンパク質含量6.8～7.4%、白米白度39.5～42.3%、整粒歩合93.9～100%、水分14.0～15.1%である。特に、中食などの実需者からは炊飯後冷めても硬くなりにくい性質の米（老化しにくい米）が求められている（五十嵐, 2004a）。

北海道米は、卸企業において値頃感と食味が評価されているが、年次により品質が不安定であることが指摘されている。一方、外食、中食企業では低価格は支持されているものの、銘柄の認知度が低く、食味の改善が求められている（五十嵐, 2004a）。

これらのことから、業務用米のニーズに対応した米の生産と流通を図るためには、高品質米生産技術の実践と米集出荷施設（ライスターミナル）の利用、さらに、品質を保持するための貯蔵技術を組合せ、北海道米の安定供給を図ることが重要である。

すなわち、生産者は栽培地帯にあった適正品種を栽培し基本技術の励行に努めること、農協と流通業者は広域ライスターミナルの有効活用と仕分の徹底、出荷時の品質管理、流通体制と貯蔵改善による品質劣化の防止対策を講ずることが必要である。

一方、北海道は水稲作付け地域が広く、気象条件や土壌条件が多様であるため、年次や栽培地域による品質変動が大きいたことが指摘されている。したがって、北海道米のさらなる食味水準の向上と質の安定化を図るため、米の食味に及ぼす理化学成分であるアミロース含量とタンパク質含量の変動要因を明らかにし、これらを低位平準化させる肥培管理技術の確立とさらなる良食味米の育種が必要である。

第2節 良食味育種における選抜評価の現状

1. 粳米品種

北海道における粳米の食味改善に関する研究は1970年代から開始された。特に、澱粉の構成成分量やその生成過程などについて検討された。その結果、炊飯米の食味は米の胚乳成分のアミロースやタンパク質含量などが大きく関与しており、北海道米は府県米に比べて両方の含量が高いことが明らかとなり、北海道米の良食味化を図るために、アミロースとタンパク質の両含量を低下させることが提唱された（稲津ら, 1974; 稲津ら, 1976; 稲津, 1988）。1978年（昭和53年）から北海道立中央農業試験場では全国に先駆け、アミロース含量の測定を簡易迅速に行うため、オートアナライザーを導入しアミロース分析法の確立試験が開始され、翌年から育種選抜におけるアミロース含量の測定に活用

された。さらに、1980年(昭和55年)から北海道立中央、上川、道南、北見の4農業試験場による良食味品種育成のためのプロジェクト試験「優良米の早期開発試験」(北海道立中央農業試験場, 1988)を開始した。この試験では、食味関連特性の理化学的検定法の適用、鹿児島市における二期作と沖縄県石垣市での冬期作による世代促進や薬培養による育種年限の短縮、育種規模の拡大を図り、優良米の早期開発を目指した。

この事業を支えた基盤技術は、品種の食味を理化学的特性として客観的に推定し得る機器分析手法があげられる。現在、利用されている分析機器はアミロースオートアナライザー、タンパク質測定用インフラライザー、アミログラフ、ラビッド・ビスコ・アナライザー(RVA)、テクスチュロメーター、味度計などである。

オートアナライザーによるアミロース含量の測定は、必要な試料が100 mgで極少量であるため個体単位での分析も可能であるが、個体選抜レベルの遺伝率は低く選抜効果は小さいため、主に系統選抜試験以降の選抜に適用している。ただし、雑種集団のアミロース含量の変異が特に大きな組み合わせや、*du*遺伝子による半もち性個体を検出する場合は個体選抜単位の測定による選抜でも有効である。分析は1時間に20点できる。しかし、試料の精米、粉碎、正確に試料を100 mg秤量するなど前処理が必要であり作業労力が大きい。

一方、タンパク質含量は近赤外分光光度計により行われており、1回の測定に米粉7 mLと少量なうえ、操作は熟練を必要とせずきわめて簡易であり、測定時間も1点1分以内である。ただし、タンパク質含量は環境条件に大きく影響され、選抜効果が小さいため個体選抜への適用はなされていない。また、タンパク質含量とアミロース含量の間には負の遺伝相関が認められ、低タンパクの方へ選抜してもアミロース含量が高くなる傾向があることから、双方の含量を考慮して選抜する必要がある。

熱糊化性は食味と関係が深く、アミログラフおよびRVA(p.vii)で測定される。アミログラフは測定時間が約1時間で40 gの試料を要するのに対して、RVAは最終粘度まで測定するのに約20分で済み、試料は3 g程度であるので、生産力検定予備試験段階までの熱糊化性についてはRVAを用いて行われている。その他、テクスチュロメーターや味度計が導入され、系統選抜以降の育種材料について測定し、選抜および検定に利用されている。

これらの分析手法を活用した選抜により北海道米の食味水準は確実に向上し、これまでに「きらら397」

(佐々木ら, 1990), 「ほしのゆめ」(新橋ら, 2003), 「ななつぼし」(吉村ら, 2002), 「ふっくりんこ」(田中ら, 2008)など良食味品種を開発してきた。また、低アミロース遺伝子を導入した「彩」(菊地と国広, 1991; 丹野ら, 1997), 「あやひめ」が育成されてきた。近年育成された、低アミロース米「おぼろづき」は北海道米のトップブランドとして認知され、北海道米の道内食率(北海道米消費量/北海道内米総消費量×100)向上に大きく貢献した。さらに、2008年に優良品種候補となった「ゆめぴりか」は「おぼろづき」よりも収量性が優れ、普及が見込まれている。このように、北海道米の食味は品種改良による低アミロース化により大きく向上した。しかし、アミロース含量は、登熟温度で変動することが知られており、地域間、年次間の差が大きい。また、一般粳品種に比べて、これら低アミロース品種は登熟温度の変化に伴うアミロース含量の変動が大きいことが指摘されている(稲津, 1988)。このため、今後北海道が良食味米産地として評価を得るためには、食味特性が安定した品種を育成することが重要である。したがって、アミロース含量の低位平準化や登熟温度の変化に伴うアミロース含量の変動が少ない品種の育成が望まれている。

2. 糯米品種

わが国における糯米生産量は309,700 t(2006年度)で、この内の40,000 tが北海道で生産されている。北海道における糯米品種の作付面積は8,220 haであり、その約7割を「はくちょうもち」が占めている。同品種に代表される北海道の糯米は、餅生地硬化が起こりにくく、加工直後の柔らかさと粘りが長時間維持される特徴がある。このため、その6割が赤飯やおこわなどの主食用として利用されている。しかし、主食用の需要は最近横ばいで推移している。また、北海道糯米の販売実績の伸びは滞り、米価も下落している。一方、つき餅など加工用糯米には成型加工時に短時間で硬化する特性が求められる。このことから、硬化性の高い品種が実需者から評価されており、中でも、府県産の「こがねもち」は高値で取引されている。

このような状況から、北海道では餅加工に適した餅生地硬化性の高い品種の速やかな育成が求められている。品種の早期育成には、育種の初期段階において個体レベルの加工特性に関する検定が不可欠である。しかし、餅生地の硬化性を評価するためには実際に餅生地を調製しなければならず育種の選抜において大変手間のかかる作業である。

現在、北海道において硬化性の高い糯品種の育成を進めるため3つのアプローチがなされている。1つは、「こがねもち」に代表されるように府県産の硬化性の

高い品種から硬化性を導入する方法である。この方法は従来から行われているが硬化性の飛躍的な向上は認められていない。これは、硬化速度が品種間差よりも登熟温度などの環境変異に依存しやすく、府県産で硬化性が高いとされる品種であっても北海道のように低温登熟条件下におかれるとその硬化性が発揮されず、交配しても遺伝的には硬化性の向上は期待できないと考えられている。2つ目は、粳品種を交配し硬化性を向上させる方法である。「北海糯290号」は「はくちょうもち」と「ほしのゆめ」を交配して硬化性の向上に成功した系統であり、「しろくまもち」は「北海糯290号」に「大地の星」を交配して育成された品種である。3つ目は、インディカタイプのアミロペクチン構造を導入するという手法である。茨城県農業総合センターで育成された「関東糯172号」はアフリカ糯品種「IRAT109」を父本（花粉親）として育成され、きわめて高い硬化性を示すことが報告されている（岡本と根本, 1998）。

第3節 北海道米の品質向上における澱粉科学の意義

米の食味は、米粒の80%が澱粉で構成されていることから、食味に及ぼす澱粉の影響は無視できない。粳米の澱粉は、およそ20%のアミロースと80%のアミロペクチンから構成されている。アミロースはグルコースが α -1,4-結合で結合した基本的に直鎖の多糖であるが、少ないながらも分岐をもつ分子と直鎖の分子の混合物である。米のアミロースは平均重合度が約1000程度、1分子あたり平均1~3本の分岐をもち、分岐分子の割合（モル%）は25~50%である（檜作, 2003）。アミロペクチンは α -1,4-結合で結合したグルコース鎖に別の糖鎖が α -1,6-結合で結合した分岐構造である（p.viii）。

アミロペクチンは単位鎖が房状（クラスター構造）に集まり、この房と房をつなぐ別の単位鎖によりいくつも繋がって大きな構造をしている。アミロペクチンは3タイプのアミロペクチン鎖を持っている（p.viii）。A鎖は最も外側の鎖で鎖の中に分岐結合を持たない鎖である。B鎖は1つの鎖あたり1つ以上の鎖が分岐結合している鎖である。B鎖は1つのクラスターにとどまるB1鎖、2つのクラスターに及んでいるB2鎖、3つのクラスターに及ぶB3鎖などがある。C鎖は還元末端を持っている鎖であり、アミロペクチン1分子あたり1つのC鎖を持っている（Hizukuri, 1986）。

近年、澱粉と米の食味特性に関する研究は澱粉の分子構造解析手法（Hizukuri, 1985; Koizumiら, 1991; Hanashiroら, 2002）の発達により、澱粉の分子構造と食

味特性（朝岡ら, 1994; 高橋ら, 1998）、熱糊化性（Fitzgeraldら, 2003; Nodaら, 2003）、登熟温度（Inouchiら, 2000）との関係についての解析が行われている。これまでに、アミロース含量が低く、アミロペクチンのB2+B3画分の全炭水化物に占める割合が多く、平均単位鎖長の小さい品種ほど、軟らかく、粘りのあるご飯となること（高橋ら, 1998）が明らかにされている。一方、ヨウ素親和力の高いアミロペクチンはアミロペクチンの側鎖にアミロース様の長い鎖（アミロペクチンLC）を有していることが知られており（Takedaら, 1987）、アミロペクチンLCが多い品種ほど米飯は硬く、付着性と粘着力が弱くなり、RVAにおけるブレイクダウンと負の相関関係が認められ、澱粉粒の崩壊性にアミロペクチンLCが関与していることが指摘されている（水上と竹田, 2000）。さらに、Inouchiら（2005）はRVAのセットバック（最終粘度-最低粘度）とアミロペクチンLC含量の間には高い正の相関関係があることが明らかにされている。

北海道米は炊飯直後の食味は良いが、冷めた後に固くなりやすく老化しやすいとの指摘がある。このため、老化しにくい米の育種が必要である。炊飯後の米飯は糊化直後から老化が始まり、時間が経つに伴い老化による物理的性質の変化が著しく、硬さの増加や粘りの減少など物理的性質の変化として現れ、食味は低下する。このような物理的性質の変化に対する澱粉の分子構造の影響が大きいことは容易に想像される。

澱粉の糊化と老化は、アミロース含量とアミロペクチン単位鎖長分布が関連している。澱粉の老化度の測定は、一般的には澱粉分解酵素を使ったBAP法（貝沼ら, 1981）で測定されるが、試料を脱水乾燥後粉末化させる必要があること、手法が煩雑であること、再現性を得るには熟練を要するなどの問題点があり、総じて面倒である。井川ら（2002）は冷蔵24時間後までの初期老化について、白濁程度の評価、X線回折、示差走査熱量測定（DSC測定）、BAP法による糊化度測定の3つの測定法で評価し、いずれの測定法間においても高い相関関係があることを示した。ただし、白濁程度は正確さに問題があること、X線回折はデータの定量化と使用する装置から簡便とは言えないため、冷蔵期間の早期から試料の差を検出でき、直接測定が可能である点から米飯の初期老化の評価にはDSC測定が適するとしている。DSCによる老化度の測定の場合にも脱水乾燥後粉末化させた試料が必要となる。これらに対し、佐原ら（1999）は伝導型微少熱量計を用いて炊飯米の熱測定を試みた結果、老化に起因すると考えられる吸熱ピークを観察している。伝導型微少熱量計による熱測定に

においては、実験操作が簡便であり、炊きあげた米飯に何ら手を加えることなくそのままの状態、等温条件下における熱収支の経時変化を直接測定して、老化に関わるエンタルピー変化(老化熱)を取り出すことが可能であるため、老化の程度およびその経時変化の直接測定が期待されている。

北海道米は府県米の良食味米に比べてアミロース含量が高いが、この要因はアミロース含量が登熟温度により大きく影響するためであり、日本型品種が保有する硬性遺伝子、 Wx^b において著しい(Sano, 1987)。これらのことから、寒冷地における低アミロース化には国内外の低アミロース系統品種や Wx^b とは異なるアミロース突然変異遺伝子の利用が提唱されている(菊地, 1988; 菊地と国広, 1991)。今後、北海道における良食味米育種を推進させるためには、 Wx 座の温度依存性に関与する遺伝的制御機構の究明と登熟温度が澱粉の分子構造に及ぼす影響とそれに伴う熱糊化特性の変異を明らかにすることが重要である。

第4節 本研究の目的と概要

本研究は、北海道米の良食味米育種における成分育種の高度化を図るため、北海道米の澱粉の分子構造に着目し、その変動要因を明らかにするとともに、澱粉の分子構造から見た北海道米の改善すべき点を明らかにすることを目的とした。また、育種現場で品種選抜を行うにあたり、澱粉の分子構造に基づいた選抜指標の策定と新規食味評価法の開発を試みた。

第2章では北海道の基幹品種である「きらら397」を供試して、アミロース含量と登熟温度の関係を明らかにするとともに、アミロース含量に及ぼす年次、移植時期、苗の種類、出穂日の影響を検討した。さらに、作物形態学的に穂相の観点から枝梗着生位置別(p.vi)に一次枝梗と二次枝梗のアミロース含量の変動について調査し、アミロース含量の変動要因を解析した。第3章では北海道における良食味米の品種育成の進展に貢献するため、北海道の主要品種を一般に良食味米として認識されている秋田県産の「あきたこまち」と澱粉の分子構造と性質を調べ比較することにより、米の食味に関する新たな知見を得た。第4章では供試米澱粉に存在が認められたアミロペクチンLC含量の登熟温度による変動性と品種間差を明らかにするため、近年育成された北海道米品種を供試し、人工気象室を使用して異なる登熟温度で栽培し、登熟温度の変動が米澱粉の鎖長分布およびアミロペクチンLC含量に及ぼす影響について検討した。第5章では、従来のオートアナライザーにヨウ素吸収曲線を自動測定できるマルチチャンネル検出器を備えた新たなオートアナライザーを開発

し、この装置を用いて、アミロースの分子量が最大吸収波長に及ぼす影響、登熟温度がヨウ素吸収曲線および熱糊化性に及ぼす影響を検討し、簡易な老化性指標の推定法を検討した。第6章ではアミロペクチン単位鎖長分布を活用した餅硬化性の推定方法の検討を行うとともに、糯米育種に活用することを目的にした少量の糯米試料による餅硬化性評価手法を試みた。第7章では北海道産糯米の主力品種である「はくちょうもち」を用い、年次と産地間の変動要因と考えられる栽培環境要因のうち、特に登熟温度と窒素施肥量に着目し、これらがアミロペクチンの鎖長分布に及ぼす影響を調べ、アミロペクチンの分子構造と熱糊化性の関係を検討した。第8章では7章までに得られた全体の結果から、北海道米澱粉の分子構造に及ぼす登熟温度の影響と新食味評価法の育種における利用について総合的に考察した。

第2章 登熟温度および枝梗着生位置とアミロース含量の関係

第1節 緒言

登熟温度とアミロース含量の間には有意な負の相関が報告されている(新井ら, 1980; 山内ら, 1982; 西村, 1985; 稲津, 1988; 菊地, 1988). 稲津(1988)は栽培条件がアミロース含量に及ぼす影響について検討し, 北海道米の低アミロース米生産には出穂期を早めて高温登熟させることが必要であると指摘している. また, 稲津(1988)は, 成苗, 中苗紙筒苗, 中苗マット苗, 稚苗マット苗を供試し, 苗の種類による出穂期の差はアミログラム特性の序列と連動しており, 登熟温度は食味特性に大きな影響を与えることを報告している.

一方, アミロース含量に及ぼす登熟温度以外の変動要因として, 千粒重, 一穂内における穂上着生位置の違いについて報告されている(Matsueら, 1994). 松江と尾形(1999a)は, 枝梗着生位置別のアミロース含量と栽培管理条件の関係を明らかにし, 一穂内における米粒のアミロース含量を最適値に制御し, できるだけ枝梗着生位置の違いによる変動を小さくする栽培法の確立が必要であることを提案した. これらのことは, 登熟温度が低く登熟期間が短い北海道において, 効率良く低アミロース米を生産するために重要と考えられる.

本章では, 寒冷地北海道の基幹品種である「きらら397」を供試した. 登熟温度とアミロース含量の関係を検討するとともに, 年次, 移植時期, 苗の種類, 出穂日がアミロース含量に及ぼす影響を明らかにした. さらに, 作物形態学的に枝梗着生位置を分別し, 一次枝梗と二次枝梗におけるアミロース含量の差異について調査し, アミロース含量の変動要因を解析した.

第2節 実験材料および方法

第1項 供試品種の栽培条件および登熟温度処理条件

登熟温度は, 栽培地域, 移植時期, 苗の種類により相違するため, これらの栽培条件の違いとアミロース含量の関係を検討した.

試験は初期生育の良好な上川農試(旭川市永山; 1992, 1993年, 比布町; 1994年)と初期生育不良の中央農試(岩見沢市上幌向; 1991, 1993, 1994年)で行った. 供試品種は「きらら397」を用いた. 総処理区数は30区であり, その内訳はTable II-1に示した. 育苗方法は中苗箱マット苗(以下, 中苗), 成苗ポット苗(以下, 成苗)で, 育苗日数は各々35日, 40日, 播種量は各々催芽粉で箱当たり200 mL, ポット当たり3粒とした. 移植時期は早期移植(5月第4半旬), 標準移植(5月第5半旬), 晩期移植(5月第6半旬以降)とし, 晩期移植は中央農試のみで実施した. 栽植密度および株当たり植付け本数は25株/m²(畦間30 cm×株間13.3 cm), 中苗は1株4本植え, 成苗は1株3本植えとした. 各試験区は2反復で行った. 窒素施肥量は8 g/m²とした. 登熟温度は出穂後40日間の日平均気温の積算値で示し, 以下, 登熟温度と記した. アミロース測定用試料は各処理区の玄米を採取し, 分析に用いた.

移植苗の葉齢とアミロース含量の関係を検討するため, 1991~1992年には上川農試において「きらら397」を供試し, 窒素施肥量8 g/m²で, 標準期(5月第5半旬)に移植した. 苗の種類と育苗日数および株当たり植付け本数を以下のように組み合わせた. すなわち, 1991年に育苗日数を中苗:29, 36, 43日, 成苗:29, 36, 42, 48日, 播種量を中苗:催芽粉で1箱当たり200 mL, 成苗:ポット当たり2, 3, 4, 6粒とした. 栽植密度は中苗:25, 45株/m², 成苗:25株/m², 株当たり植付け本数を中苗:2, 4, 6, 8本, 成苗:2, 3, 4, 6本とした. 1992年には育苗日数を中苗:30, 35, 45日, 成苗:35, 42, 49日, 播種量を中苗:1箱当たり催芽粉200 mL, 成苗:ポット当たり2, 3, 4, 6粒とした. 栽植密度は中苗:25, 50株/m², 成苗:25株/m², 株当たり植付け本数は中苗:4, 6, 8本, 成苗:2, 3, 4, 6本とした. 総処理区数は1991年38区, 1992年22区であり, 1反復で行った.

登熟期間温度とアミロース含量の関係については, 1993年に「きらら397」をワグネルポット(1/5000 a)で1株4本, 2株植えで栽培した. 主程出穂始めから人工気象室(コイトロンS型)で登熟期間の温度処理を行った. 温度条件は高温区29/22°C[昼(9時~17時)/夜(17時~9時)], 中温区25/18°C, 低温区21/14°Cの3段階とし, 各処理2ポットで栽培した. なお, 光条件は自然光で行った. 各処理とも穂毎に出穂日と開花日を調査し, 開花後10, 20, 30, 40日目の穂を採取した. 各採取日の穂から玄米を1粒毎にピンセット等で取り出し, アルカリ浸漬法で玄米から澱粉を抽出し, アミロース分析用の試料とした.

第2項 アミロース含量の分析方法

アミロース含量の分析は稲津(1988)の方法に従い, オートアナライザー(ブランルーベ社製II型)を用い, 澱粉または米粉を0.4 Mの水酸化ナトリウム溶液でアルカリ糊化させ, α -1,4-グルカンとヨウ素の複合体を620

nmの単一波長の吸光度により測定した。検量線にはアミロース含量20.1%の米粉を基準とした。アミロース含量の分析は2反復で行った。

出穂日別の登熟温度（出穂後40日間の日平均気温の積算値）とアミロース含量の関係については、1試験区当たり中庸な5株について穂毎に出穂日を記入した札を付け、収穫後、出穂日別に穂を分け、それぞれのアミロース含量を穂毎に分析した。

第3項 枝梗の着生位置の分別および品質調査法

1995年には上川農試圃場で「きらら397」を供試し、中庸な20株から全穂を採取した。区分は穂長15 cm以上、13~15 cm, 11~13 cm, 9~11 cm, 7~9 cm, 7 cm以下とし、一次枝梗の数が最も多かった穂長15 cm以上の穂(67本)を供試して、枝梗着生位置別(1~9)に一次枝梗粒と二次枝梗粒に分別し、枝梗の着生位置別(合計17試料)のアミロース含量を分析した。なお、枝梗着生位置は穂の先端の枝梗から1とした(p.vi)。次に枝梗の着生位置別の未熟粒歩合および乳白粒と腹白粒歩合とアミロース含量の関係を調査した。なお、乳白粒と腹白粒歩合は粒厚1.85 mm以上の玄米について少しでも白濁部が認められた粉状質粒も含めた割合とした。

第4項 統計処理方法

統計処理はJMP 5.1.2 (SAS Institute Inc.) を用い、年

次、移植時期、苗の種類を説明変数として、数量化理論1類で解析した。なお、検定には最小2乗平均を用いた。最小2乗平均は、指定のモデルで他の効果を中立的な値に固定したときの、カテゴリカルな効果の各水準における予測値である。中立的な値とは、間隔尺度の説明変数なら標本平均(重みが使われているときは加重平均)、名義尺度の効果なら各水準で計算された係数の平均である。最小2乗平均は、効果に対して検定を行うときに有用な統計量であり、調査データで集団間の母平均比較を行うときより、実験状況で「効果」の比較を行うときに利用される。

第3節 実験結果

第1項 年次、移植時期、苗の種類がアミロース含量に及ぼす影響

アミロース含量を年次、移植時期、苗の種類の各要因別に最小2乗平均で示した(Table II-1)。また、その分散分析表をTable II-2に示した。

上川農試の結果では、アミロース含量の変動は年次、移植時期、苗の種類によりその98%を説明できたが、年次のみ有意(F値226.11, $p < 0.0001$)であった。中央農試の結果では、アミロース含量の差異は年次、移植時期、苗の種類によりその88%が説明できたが、年次の効果が有意に大きく(F値60.87, $p < 0.0001$)、次いで苗の種類でも有意(F値5.01, $p = 0.04$)な差が認められ

Table II-1. Relation of planting year, planting time, kind of seedling and temperature during grain filling to amylose content.

| Location | Factor | Level | Amylose content (%) | Temperature during grain filling (°C) |
|------------------|------------------|----------|---------------------|---------------------------------------|
| Kamikawa n=12 | Year | 1992 | 20.7 b | 762 c |
| | | 1993 | 21.4 c | 772 b |
| | | 1994 | 18.8 a | 907 a |
| | Planting time | Earlier | 20.4 a | 814 a |
| | | Standard | 20.2 a | 813 a |
| | Kind of seedling | Mature | 20.3 a | 815 a |
| Middle | | 20.3 a | 811 b | |
| Chûou n=18 | Year | 1991 | 20.0 b | 827 b |
| | | 1993 | 21.7 c | 714 c |
| | | 1994 | 19.1 a | 940 a |
| | Planting time | Earlier | 20.0 a | 838 a |
| | | Standard | 20.3 a | 827 ab |
| | | Later | 20.4 a | 817 b |
| | Kind of seedling | Mature | 20.0 a | 841 a |
| Middle | | 20.5 b | 813 b | |

Data are least square means.

Different letters are significantly different at 5% level by Student's t.

Table II-2. Effect of planting year, planting time, kind of seedling on amylose content (ANOVA).

| Location | Factor | DF | SS | F value | P Value (Prob>F) | Adjusted R square |
|------------------|------------------|----|-------|---------|------------------|-------------------|
| Kamikawa n=12 | Year | 2 | 14.11 | 226.11 | <.0001 | 0.98 |
| | Planting time | 1 | 0.16 | 5.24 | 0.06 | |
| | Kind of seedling | 1 | 0.01 | 0.43 | 0.53 | |
| Chôuou n=18 | Year | 2 | 20.51 | 60.87 | <.0001 | 0.88 |
| | Planting time | 2 | 0.78 | 2.32 | 0.14 | |
| | Kind of seedling | 1 | 0.85 | 5.01 | 0.04 | |

た。また、試験年次別の登熟温度とアミロース含量の関係をFig. II-1に示した。

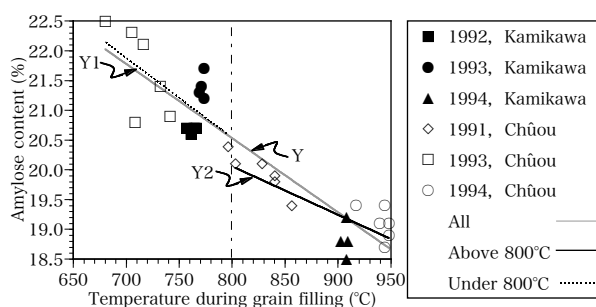


Fig. II-1. Relationship of temperature during grain filling to amylose content.

$Y = -0.0125X + 30.5$, $r = -0.926^{***}$, $n = 30$, all plots.

$Y1 = -0.0134X + 31.3$, $r = -0.664^{**}$, $n = 15$, under 800°C .

$Y2 = -0.0081X + 26.6$, $r = -0.784^{***}$, $n = 15$, above 800°C .

***, **, Significant at 0.1%, 1%, respectively.

アミロース含量の変動は18.5~22.5%であった。年次と試験地をこみにした場合、アミロース含量と登熟温度には0.1%水準で有意な負の相関 ($r = -0.926^{***}$, $n = 30$) があり、登熟温度 (X) に対するアミロース含量 (Y) の回帰式は $Y = -0.0125X + 30.5$ で、登熟温度が 100°C 高まるとアミロース含量は1.25%低下すると推定された。これを試験地別にみると、上川農試におけるアミロース含量は1993年が最も高い21.4%、1994年が最も低い18.8%で、各々の年次の登熟温度は 772°C 、 907°C であった (Table II-1)。年次間のアミロース含量の差は2.6%で、登熟温度の差が 135°C であった。アミロース含量は登熟温度が 100°C 高まると1.93%低下すると推定され、全試験区回帰式から推定されるアミロース含量の低下量よりも大きかった。中央農試におけるアミロース含量は1993年が最も高い21.7%、1994年が最も低い19.1%で、それぞれ年次の登熟温度は 714°C 、 940°C であった (Table II-1)。年次間のアミロース含量の差は2.6%で、登熟温度の差は 226°C であり、ここでは、登熟温度が 100°C 高まるとアミロース含量は1.15%低下すると推定され、Fig. II-1の回帰式から推定されるアミロース含量の低下量よりも小さかった。このように試験地によりアミロース含量の低下程度は異なった。そこで、登熟

温度 800°C (全試験区の中央値) で区分して検討した。 800°C 未満では $Y1 = -0.0134X + 31.3$ ($r = -0.664^{**}$, $n = 15$) の相関が、 800°C 以上では $Y2 = -0.0081X + 26.6$ ($r = -0.784^{***}$, $n = 15$) の相関が認められた。すなわち、低い温度域では回帰直線 (Y1) の傾きは大きく、高い温度域では同直線 (Y2) の傾きは小さく、アミロース含量の低下は緩慢であった。

第2項 移植苗の葉齢、出穂日、登熟期間とアミロース含量の関係

移植苗の葉齢は出穂期の早晩に影響することが知られており、第1項において中央農試では苗の種類によりアミロース含量に差が認められたことから、移植苗の葉齢がアミロース含量に及ぼす影響を検討した。まず移植苗の葉齢 (2.6~5.1葉) とアミロース含量の関係を Fig. II-2に示した。移植苗の葉齢とアミロース含量にはいずれの年次とも負の相関 (1991年: $r = -0.634^{***}$, $n = 26$, 1992年: $r = -0.446^{*}$, $n = 22$) があり、アミロース含量は移植苗の葉齢が進んでいるほど低下した。

北海道の水稲機械移植栽培基準における中苗の葉齢は概ね3.1~3.5程度である。そこで、中苗と成苗におけるアミロース含量の差異について、苗の葉齢を3.5葉以上と未満の2群に分割し、アミロース含量の平均値の差を検討した。その結果、葉齢3.5葉未満のアミロース含量の平均値は19.6%、登熟温度は 760°C であった。これに対し葉齢3.5葉以上のアミロース含量の平均値は19.1%、登熟温度は 801°C であった。また苗の葉齢が3.5葉未満と以上の場合のアミロース含量には1%水準で有意な差が認められた。

出穂日別の登熟温度とアミロース含量の分布を Fig. II-3に示した。全出穂期間の登熟温度は $619 \sim 804^{\circ}\text{C}$ に分布し、出穂期間の登熟温度の平均は $739.8 \pm 47.6^{\circ}\text{C}$ で、出穂日が遅いほど登熟温度は低く、8月5日以降の登熟温度は低下しアミロース含量が上昇する傾向であった (Fig. II-3 C, A)。各出穂日に出現した穂のアミロース含量は $18.3 \sim 22.4\%$ に分布し、全期間の平均は $19.9 \pm 1.04\%$ であった (Fig. II-3 A)。出穂日別のアミロ-

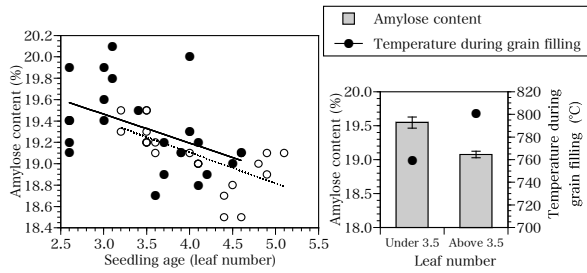


Fig. II-2. Relationship of seedling age (leaf number) to amylose content (Kamikawa, 1991,1992).
 ○; 1991; $r = -0.634^{***}$, $n = 26$, ●; 1992; $r = -0.446^*$, $n = 22$.
 ***, *; Significant at 0.1%, 5%, respectively.

ス含量の標準偏差は0.38~1.34%であり、中央値は1.01%で、出穂日内においてアミロース含量は約1%の変動があった。調査したすべての穂のアミロース含量は15.2~22.8%に分布し、平均値は19.6±1.22%であった (Fig. II-3 B).

次に、登熟期間の温度がアミロース含量に及ぼす影響を検討した (Fig. II-4)。アミロース含量は高温区では開花後20日目、開花後の登熟期間の積算気温 (開花後積算温度) が500°Cでほぼ一定となったが、低温区は開花後30日目、開花後積算温度600°Cで一定となった。また、高温区は中温区に比べ全期間でアミロース含量は低く推移した。一方、低温区のアミロース含量は中温区よりやや高く推移した。

第3項 枝梗着生位置がアミロース含量に及ぼす影響

枝梗着生位置とアミロース含量の関係をFig. II-5に示した。枝梗着生位置別のアミロース含量は、一次枝梗粒が21.4~22.4%に分布し平均21.9±0.35%、二次枝梗粒が21.0~22.0%に分布し平均21.4±0.3%であった。いずれの枝梗着生位置においても一次枝梗粒のアミロース含量は二次枝梗粒に比べて高く、それぞれ枝梗着生位8

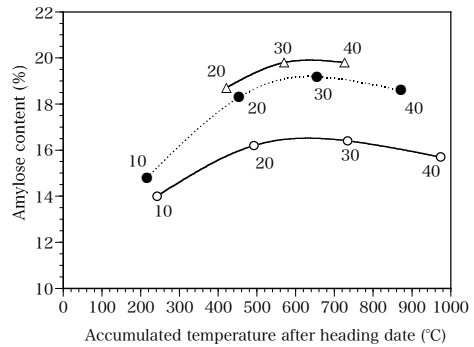


Fig. II-4. Relationship of accumulated temperature after heading date and amylose content (Kamikawa, 1993).
 Numbers indicate days after heading date.
 ○; High: 29/22°C (day/night), ●; Middle: 25/18°C, △; Low: 21/14°C.

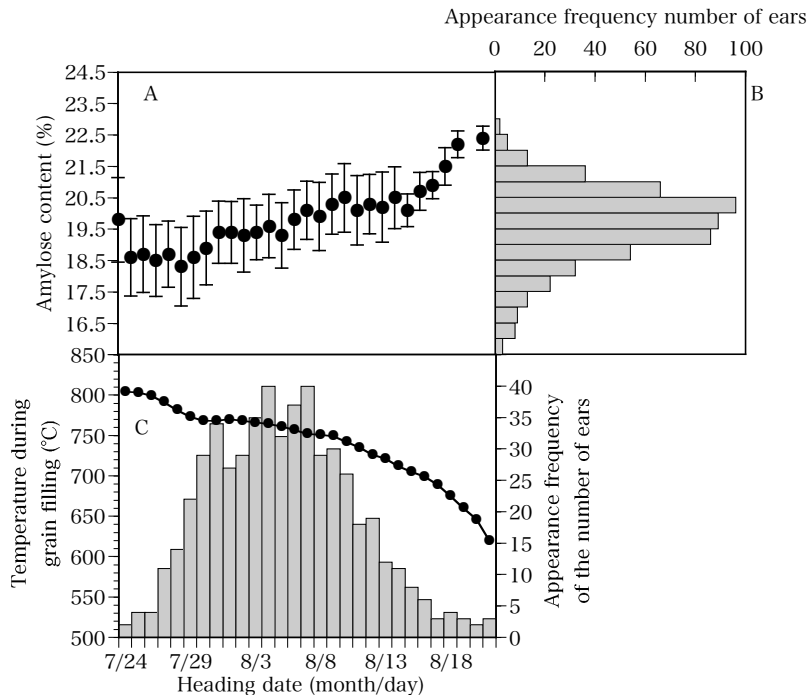


Fig. II-3. Relationship of temperature during grain filling and amylose content to heading date (Kamikawa, 1992).

A : Relationship of heading date to amylose content. Error bar means standard deviation of amylose content on the same heading date. B : Appearance-frequency number of ears and amylose content. C: Appearance frequency of the number of ears on each heading date.●: Temperature during grain filling.

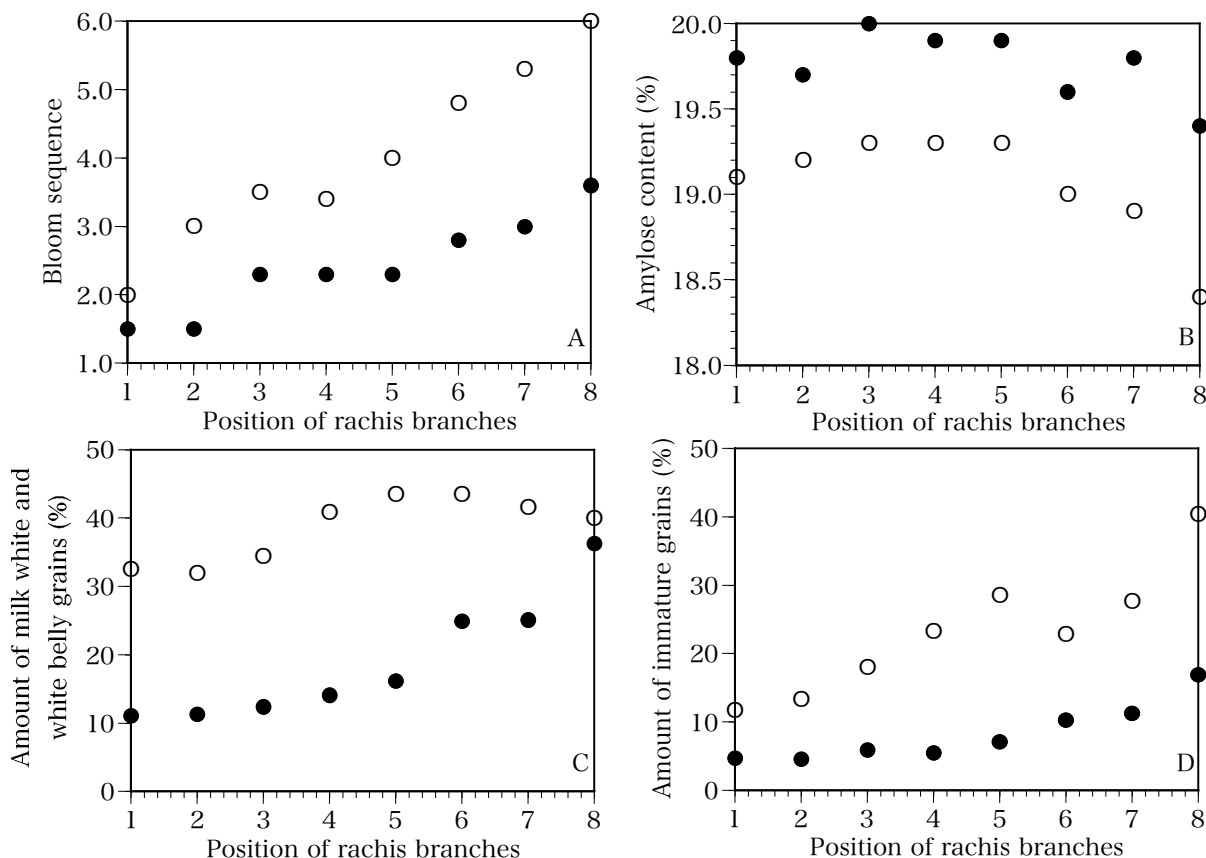
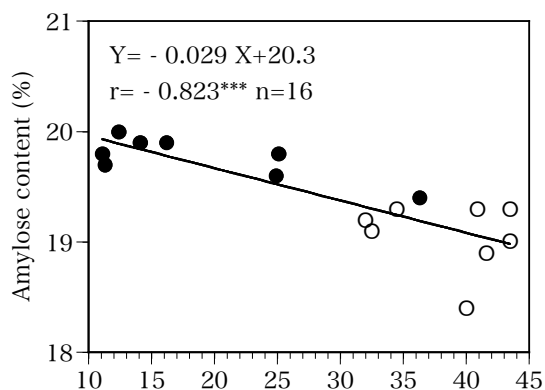


Fig. II-6. Relationship of grain quality to its position of rachis branches (Kamikawa, 1995).
 ●: Primary rachis branches, ○: Secondary rachis branches (see Page iv).

置間で最大1%, 平均で0.5%の差があった。一次枝梗粒と二次枝梗粒のアミロース含量は、上位枝梗粒で高く下位枝梗粒で低かった。

次に、アミロース含量に及ぼす枝梗着生位置の影響、開花順序および玄米品質の影響を検討した。枝梗着生位置別の開花順序は松島と真中 (1956) の開花順序に従っていた (Fig. II-6 A)。枝梗着生位置別のアミロース含量は、下位枝梗粒ほど低く二次枝梗粒でその傾向が大きかった (Fig. II-6 B)。また、乳白粒と腹白粒の歩合は、下位枝梗着生粒ほど多く、同じ枝梗着生位置では一次枝梗粒よりも二次枝梗粒で高かった (Fig. II-6 C)。さらに、未熟粒歩合も同様の傾向であった (Fig. II-6 D)。枝梗着生位置別のアミロース含量は、乳白粒と腹白粒歩合と負の相関が認められ、乳白粒と腹白粒歩合が高いほど低く、特に二次枝梗粒で低かった (Fig. II-7)。



Amount of milk white and white belly grains (%)

Fig. II-7. Relationship of milk white and white belly grains (%) to amylose content (Kamikawa, 1995).

***; Significant at 0.1%. ●: Primary rachis branches, ○: Secondary rachis branches.

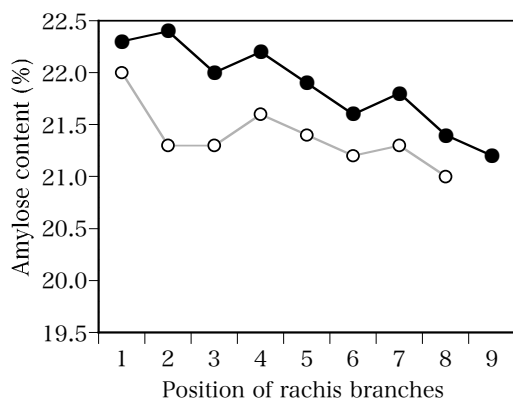


Fig. II-5. Relationship between location of grains and amylose content.

The values were obtained from ears of above 15 cm.

●: Primary rachis branches, ○: Secondary rachis branches (see page vi).

第4節 考察

第1項 年次、移植時期、苗の種類がアミロース含量に及ぼす影響

年次、移植時期、苗の種類がアミロース含量に及ぼす影響を初期生育の良好な上川農試と初期生育不良の中央農試で検討した。いずれの試験地においても年次の影響が最も大きい。移植時期、苗の種類による影響も認められた (Table II-2)。年次間差が生じた要因は登熟温度の影響と考えられた。稲津 (1988) は、北海道米のアミロース含量が府県米に比べて高い要因として、北海道の登熟温度が低いことが大きく影響していることを指摘し、登熟温度の異なる年次および生産地のアミロース含量は登熟温度と有意な負の相関があることを明らかにしている。本試験でも同様の結果であった。一方、本試験年次の範囲では登熟温度が100°C高まるとアミロース含量は1.25%低下した。この値は、稲津 (1988) の報告に比べてやや高かった。しかしながら、本試験で登熟温度800°C以上と未満に区分して、登熟温度とアミロース含量の関係を検討した結果、アミロース含量の低下程度に差が認められ、温度反応性が異なった (Fig. II-1)。すなわち、登熟温度800°C以上に限って検討した場合、登熟温度が100°C高まるとアミロース含量は0.8%低下し、稲津の報告と同程度になった。本試験は登熟温度が750°C以下のきわめて低い年次を含んでおり、低い登熟温度ではアミロース含量の温度反応性が大きくなり、回帰係数の絶対値が高まった。このことが全体として稲津の報告の数値よりも高くなった原因と考えられる。

第2項 移植苗の葉齢、出穂期、登熟期間とアミロース含量の関係

一般的に移植苗の葉齢と出穂期には密接な関係が認められており、大里ら (1998) は出穂期とアミロース含量に正の相関を認めている。これは、出穂期が遅いほど登熟温度が低くなることから、アミロース含量が高くなり、逆に、出穂期が早くなるほど登熟温度が高いため、アミロース含量が低くなったものと考えられる。すなわち、移植苗の葉齢は寒冷地北海道における産米のアミロース含量の変動要因として重要と考えられる。そこで、移植苗の葉齢とアミロース含量の関係を検討したところ、葉齢3.5葉以上と未満ではアミロース含量に有意な差を認めた (Fig. II-2)。また、出穂日とアミロース含量の関係から、アミロース含量を20%以下に低位安定化させるためには8月5日までに、出穂させることが必要と考えられる (Fig. II-3)。したがって、成苗化により出穂を促進することの重要性が指摘できる。これらのことから、アミロース含量を低くするためには出穂促進技術として成苗移植 (移植苗の葉齢3.6~4.0枚以上) が望ましいと考えられた (Fig. II-2)。

次に、登熟期間の温度がアミロース含量に及ぼす影響を検討した。アミロース含量は開花後5日目から増加し、19~23日目ではほぼ一定となることが明らかにされている (Asaokaら, 1985)。本試験でも、この報告と類似した推移を示し、アミロース含量は高温区では開花後20日後にほぼ一定となった (Fig. II-4)。また、開花後10日目から温度による差が認められた。稲津 (1988) は登熟後半よりも前半の温度がアミロース含量を支配的に制御することを明らかにし、この理由として米粒中の澱粉合成が登熟後半よりも前半に多いことを挙げている。

このように、アミロース含量は高温などの登熟期間温度に左右されるため (農林水産省, 2006)、登熟期間温度がアミロースとアミロペクチンも含めた澱粉の分子構造に及ぼす影響を解析することは重要と考えられる。そのため、アミロース含量の差異を詳細に検討するためには、澱粉の生合成に及ぼす登熟期間温度の影響も考慮する必要がある。

粳米澱粉はアミロースとアミロペクチンからなり、アミロースの生合成には澱粉粒結合型澱粉合成酵素 (Granule Bound Starch Synthase:GBSS) が関与している (Denyerら, 2001; Hanashiroら, 2008)。Jiangら (2003) は可溶性澱粉合成酵素Iの活性および発現量は登熟期間温度22/28 °C (夜温/昼温) よりも29/35 °Cで高いが、対照的に、胚乳中の枝付け酵素1、枝付け酵素3 およびGBSSの活性および発現量は22/28 °C よりも29/35 °Cで低いこと

を明らかにしている。これらの結果は高温では澱粉の枝付け酵素の活性が低下することによりアミロペクチンの分岐頻度が減少し、胚乳のアミロペクチンの長鎖画分が増加することを示唆した。一方、Larkinら (1999) はイネのアミロース含量が18%以上の品種にはGBSSのリーダ-イントロン5'スプライスサイトにAGGTATAの配列があり、アミロース含量の低い品種にはAGTTATAの配列があつて、この単一塩基多型がGBSSの前mRNAプロセッシングの効率を減じており、このG-T多型が穀粒発育中の温度感受性の差に関係していることを明らかにし、AGTTATA配列を有する品種では、18°Cにおいて25°Cや32°Cより、成熟GBSS転写物の蓄積が増加することを示した。このように、登熟期間中の温度は澱粉合成酵素を制御し、澱粉の構造を変化させ、物性や食味に影響を及ぼすことが容易に想像でき、本章で認められたアミロース含量の温度反応性の差異にも、これら澱粉合成酵素の作用が関係したことが推察される。

第3項 枝梗着生位置がアミロース含量に及ぼす影響

出穂日とアミロース含量の関係から、同じ出穂日であってもアミロース含量は穂毎に差が認められた (Fig. II-3)。この差が生じた要因は、穂内における枝梗着生位置によりアミロース含量は異なるためと考えられた (Fig. II-5)。穂内における枝梗着生位置により玄米品質が異なることは一般に認められている (木戸と梁取, 1968; 田代と江幡, 1974)。これは穂内における枝梗着生位置別に開花順序が異なること、さらに枝梗着生位置により登熟に差が生じるためである。開花順序は上位枝梗の穎花が先に開花し、下位枝梗の穎花ほど開花が遅れる傾向にある。また、二次枝梗の穎花は一次枝梗の穎花よりも開花が遅れる傾向にあり、一次枝梗の穎花と二次枝梗の穎花との開花日の差は、下位枝梗ほど大きくなる傾向が知られている (松島と真中, 1956)。すなわち、玄米品質は1粒に含まれる澱粉含量と密接な関係があり、澱粉の充填状況や澱粉粒の物理構造的な特徴が大きく影響していると考えられる。精白米の白色不透明部では、アミロプラストの異常な増殖様式と二次的な増殖の出現、および澱粉粒の分解が生じていることが明らかにされている (萩野ら, 2000)。松江と尾形 (1999b) は稈長+穂長の大きさにより食味および理化学的特性に差異を認めており、これらの差は米粒の充実度を示す玄米千粒重の差異によるものと結論づけている。このため、枝梗着生位置によって米粒への澱粉合成基質の移行に難易があり、同じ登熟温度であっても二次枝梗粒や下位枝梗粒では澱粉合成基質の転流量が少ないため澱粉の充填状況に差が生じると考えられ

る。このことは、本章で二次枝梗粒や下位枝梗粒の弱勢穎花で外観品質が劣り、また、枝梗着生位置別の乳白粒と腹白粒歩合が、下位枝梗粒で高く、二次枝梗粒は一次枝梗粒に比べ高かったことから指摘できる (Fig. II-6)。一方、弱勢穎花ではアミロース合成に関与する結合型澱粉合成酵素の活性が他の酵素に比べ特に低いことが明らかになっている (Umemotoら, 1994)。したがって、二次枝梗粒や下位枝梗粒の弱勢穎花は澱粉の充実が劣るため、澱粉の成分であるアミロースの含量が少ないか、アミロースの重合度が小さく、比較的鎖長の短いアミロースでヨウ素親和力が弱い場合、オートアナライザーによるアミロース含量の測定値では少なく見積もられた可能性が考えられる (Fig. II-7)。一般的に食味はアミロース含量が少ない方が良いとされるため、アミロース含量の少ない二次枝梗粒が良食味に思われるが、これは澱粉の充填不足に起因する現象と考えられる。実際には、一次枝梗粒のアミログラム特性値は、二次枝梗粒に比べて最高粘度は高く、ブレイクダウンは大きく、糊化開始温度が低いことから、一次枝梗粒は二次枝梗粒に比べて食味が優れることが示されている (Matsueら, 1995)。したがって、これら登熟不良による低アミロース化は良食味に対しほとんど寄与しないものと推察される。

これらのことから、アミロース含量の変動要因は登熟温度が主要因であること、籾の着生位置により異なることが明らかとなった。北海道のように登熟気温が低い地域では、食味品質の向上と斉一化を図るためには弱勢穎花である二次枝梗粒の着生を少なくすることが重要と考えられる。したがって、登熟を斉一化させるため少肥密植栽培が有利と考えられる。また、品種育成においては、一次枝梗比率の高い穂相を有する品種の開発が重要と考えられる。

第3章 北海道米澱粉の分子構造と性質

第1節 緒言

第2章においてアミロース含量の変動要因を解析し、登熟温度と密接な関係を明らかにするとともに、穂内での到着生位置による差異も明らかにした。今後、北海道米を多様な販路へ拡大させるためにはさらなる食味の向上が必要であり、アミロース含量のみならず米澱粉の物理化学的特性と分子構造の側面からも育種を進め選抜することが重要と考えられる。

オートアナライザーを活用したアミロース含量の測定方法は、Williamsら (1958)の方法をRobytと Bemis (1967), Juliano (1971) が改良し、稲津 (1982) が稲育種における選手法として確立し、米粉を分析試料とするため簡便である。しかし、 α -1,4-グルカンとヨウ素の複合体を 620 nm の単一波長の吸光度により測定するため、アミロースに加えアミロペクチンLCと形成された複合体も含まれた測定値である。したがって、本法で推定されるのは見かけのアミロース含量 (Takedaら, 1987) である。実際に、ヨウ素親和力の高いインディカ米のアミロペクチンにはアミロース様の長い単位鎖 (アミロペクチンLC) を持つことが知られて、これがアミロースとして測定される (Takedaら, 1987)。

一方、アミロース含量の範囲が狭い米 (15.1~17.9%) についてラピッド・ビスコ・アナライザー (RVA) によるブレイクダウンとアミロペクチン単位鎖長分布の関係を調べた結果、アミロペクチン長鎖画分 (B2+B3) とは負の相関関係が、アミロペクチン短鎖画分 (A+B1) とは正の相関関係が認められ、アミロペクチンの分子構造が熱糊化特性と密接に関係することが明らかにされている (Han and Hamaker, 2001)。さらに、真のアミロース含量は米飯のテクスチャーに対して小さな影響しか及ぼさず、アミロペクチンの分子構造と関係があると示唆されている (Reddyら, 1993)。このように、アミロース含量は1980年代までは米の食味を決定する最も重要な要因の一つとして追求されてきたが、最近の研究ではアミロペクチンもまたアミロースに並ぶ重要な要因として位置づけられている (Reddyら, 1993)。したがって、今後の良食味米品種の選抜には、従来のアミロース含量の測定だけでは不十分であり、アミロペクチンも含めた澱粉分子構造の解析がより重要と考えられる。

一般に、米飯の食味は、硬さや粘りなどの物理的特性が大きく影響している (竹生, 1971)。この物理的特性は米粒中のアミロース含量とタンパク質含量が密接に

関係しており、アミロースが多いほど粘りは低下し、タンパク質が多いほど硬さが増加し、食味が低下する。

北海道米は炊飯直後の食味は良いが、冷めた後硬くなりやすく老化しやすいとの指摘があり、老化しにくい米の育成が求められている。澱粉は糊化直後から老化が始まり、時間が経つに伴い老化による物理的性質の変化が著しくなる。老化の進行は炊飯後の米飯も同様な時間経過をたどり、硬さの増加や粘りの減少など物理的性質の変化として現れ、食味は低下する。

このような物理的性質の変化に対する澱粉の分子構造の影響が大きいことは容易に想像されるが、登熟期間の気温が低くアミロースの蓄積とこれに伴う食味の低下が生じやすい北海道米における米澱粉の分子構造と性質については明らかではない。

本章では、北海道における良食味米の品種育成の進展に貢献するため、北海道米の主力品種である「きらら397」「ほしのゆめ」および日本で初めて育成された低アミロース突然変異形質 *dull* である半もち性の品種「彩」と秋田県産の「あきたこまち」の澱粉の分子構造と性質を調べた。なお、本研究に供試した「ほしのゆめ」は極良食味品種「あきたこまち」と早生と耐冷性系統「道北48号」のF1を母とし、中生と良食味品種の「きらら397」を父として、人工交配を行った雑種後代から育成されたものである。

第2節 実験材料および方法

第1項 供試品種

本研究に用いた品種は「きらら397」, 「ほしのゆめ」および「彩」である。現在、北海道の水稲基幹品種は「きらら397」および「ほしのゆめ」であり、2004年の作付面積率はそれぞれ44.0%および34.9%である。

「彩」は低アミロース突然変異形質 *dull* をもつ半もち性の品種であるが栽培面積はごく少ない。試料はいずれも1997年産で、北海道3品種は北海道立上川農業試験場の中苗標準栽培によるもので施肥量 (kg/10 a) はN: 9, P₂O₅ : 9, K₂O : 9であり、比較品種として市販品の秋田県産「あきたこまち」を用いた。

第2項 試料の調製方法

試料は、摩擦式精米機 (サタケ試験用精米機) で搗精歩合90%に精米し、澱粉はアルカリ浸漬法 (Takedaら, 1988) で調製した。脱脂澱粉はジメチルスルホキシドにより溶解後エタノールで沈殿させ調製した (Takedaら, 1986)。アミロースとアミロペクチンの分別は窒素気

流下でSchochのブタノール法 (Lanskyら, 1949) の改良法 (Takedaら, 1986) で行った。アミロース画分の純度の検定はゲル濾過クロマトグラフィー (Toyopearl HW-75F, 東ソー(株)) (Takedaら, 1984) で行った。

第3項 物理化学的特性の測定

澱粉のX線回折は理学電気製 (Model RAD-RB) デイフラクトメーターを用いて測定した。測定条件は、X線源:Cu-K α (カウンターモノクロメーター), X線発生条件:40kV, 100mA, 発散および散乱防止スリット : 1°, 受光スリット : 0.15 mm, ゴニオメーター走査速度 : 1° /minとした。熱糊化性の測定は, Newport Scientific Pty. Ltd (オーストラリア) 製のラピッド・ビスコ・アナライザー (RVA) で行った。澱粉10% (W/W) の懸濁液25 gをアルミ缶に入れ, 40°Cから昇温速度3°C/minで92.5°Cまで加熱し, 15分間保持後, 冷却速度3°C/minで40°Cまで冷却した。

第4項 澱粉の化学的特性分析

ヨウ素親和力はヨウ素電流滴定法 (Larsonら, 1953) の改良法 (Takedaら, 1987) で行った。青価と最大吸収波長および β -アミラーゼ分解限度はSuzukiら (1981) とTakedaら (1983) の方法で行った。全糖の定量はフェノール硫酸法 (Duboisら, 1956), 還元糖の定量はSomogyi-Nelson法 (Nelson, 1944; Somogyi, 1952) で行った。アミロースの数平均重合度 (DP_n) は, 改良Park-Johnson法 (Hizukuriら, 1981) で還元力を定量し還元末端基量と全糖の比から算出した。また, 蛍光標識ゲル濾過HPLC法 (Hanashiro と Takeda, 1998) でも測定した。アミロース (Hizukuriら, 1981) およびアミロペクチン (Hizukuri と Osaki, 1978) の平均鎖長 (CL) は, 迅速Smith分解法で非還元末端基を定量する方法と, アミロペクチンについてはイソアミラーゼで分解後還元末端を定量する方法 (Suzukiら, 1981) で行った。平均鎖数は DP_n/CLにより求めた。

第5項 アミロースおよびアミロペクチン単位鎖長分布の測定

アミロースの数 (モル) 分布および重量分布は HanashiroとTakedaの方法 (1998) で行った。アミロペクチンの鎖長分布は, 高性能陰イオンクロマトグラフィー (HPAEC-PAD) (Hanashiroら, 1996) とHanashiroら (2002) の蛍光標識ゲル濾過HPLC法に準じた。すなわち, アミロペクチン試料4 mgを蒸留水1.6 mLに懸濁させ100°Cで糊化し, 1 M酢酸バッファー (pH 3.5) 16 μ Lを加え, pH 3.5に0.1M酢酸で調整した後, イソアミラーゼ (林原生物化学研究所) 0.67 μ L (0.03 U/試料mg) を加

え, 45°Cで15時間反応させた。次に, 100°Cで10分間加熱し酵素を失活させ, 水中で冷却し, 遠心濃縮機 (TOMY CC-105, トミー工業株式会社) で乾燥試料とした。この試料に90%ジメチルスホキシド 111 μ Lを加え, 加熱溶解した。これに蒸留水89 μ Lと2-アミノピリジン (1gの2-アミノピリジン (和光純薬) を12MのHCl 760 μ Lで溶解したもの) 200 μ Lを加えよく混合し, 60°C暗所で1時間インキュベートした。その後, シアノ水素化ホウ素ナトリウム溶液 (使用前にシアノ水素化ホウ素ナトリウム529 mgを蒸留水1 mLで溶解したもの) を200 μ L加え24時間インキュベートし, これをHPLC用試料とした。次にこの試料をメンブランフィルター (Millipore製ポアサイズ0.20 μ m) で濾過し, 濾液20 μ LをHPLCに注入し分析した。使用装置は日本分光HPLCポンプPU-2080にShodex OHpak SB-803 HQ (8 \times 30 mm) とShodex OHpak SB-802.5 HQ (8 \times 30 mm) 2本を連結し, 蛍光検出器 (FP-2020, 日本分光, 励起波長315 nm, 測定波長400 nm) で数 (モル) 分布を示差屈折計 (RI-2031, 日本分光) で重量分布を測定した。溶媒は50 mM NaClを含む50%ジメチルスホキシドを用い流速0.2 mL/minで溶出させた。なお, カラム温度は50°Cで行った。DP (degree of polymerization) は蛍光検出器と示差屈折計の検出強度の比から合成アミロース (AS-10, (株) 中埜酢店) を標準として求めた。分析は3反復で行った。

第3節 実験結果

第1項 澱粉の熱糊化特性の解析

RVA糊化曲線および熱糊化特性値をそれぞれFig. III-1, Table III-1に示した。

糊化開始温度は, 「彩」が66°Cで最も低く, 他の品種は69~70°Cで同程度であった。最高粘度 (単位RVU) は, 「あきたこまち」が最も高い323, 次いで「彩」297, 「ほしのゆめ」261で, 「きらら397」は最も低い255であった。最低粘度は, 「あきたこまち」が最も高い186, 次いで「ほしのゆめ」155, 「彩」146で, 「きらら397」は最も低い128であった。最高粘度と最低粘度の差であるブレイクダウンは, 「彩」が最も大きい151, 次いで「あきたこまち」137, 「きらら397」127であり, 「ほしのゆめ」は最も小さい106であった。「ほしのゆめ」と「きらら397」の最終粘度は最高粘度よりも高く, 最終粘度と最低粘度の差である冷却時の粘度増加 (セットバック) は, 「ほしのゆめ」が最も大きい200で, 次いで「きらら397」187, 「彩」133であり, 「あきたこまち」は最も小さい120であった。「ほ

Table III-1. Pasting properties of rice starches (10%) measured by RVA.

| Cultivar | Pasting temperature (°C) | Max. viscosity (RVU) | Min. viscosity | | Breakdown | | Setback | |
|--------------|--------------------------|----------------------|----------------|------------------|-----------|------------------|---------|------------------|
| | | | (RVU) | (%) ^a | (RVU) | (%) ^a | (RVU) | (%) ^a |
| Hoshinoyume | 69 | 261 | 155 | 59.4 | 106 | 40.6 | 200 | 76.6 |
| Kirara397 | 69 | 255 | 128 | 50.2 | 127 | 49.8 | 187 | 73.3 |
| Aya | 66 | 297 | 146 | 49.2 | 151 | 50.8 | 133 | 44.8 |
| Akitakomachi | 70 | 323 | 186 | 57.6 | 137 | 42.4 | 120 | 37.2 |

^a Percentage against max. viscosity.

Table III-2. Iodine affinity of defatted and non-defatted starches.

| Cultivar | Iodine affinity (g/100 g) | | A-B | (A-B)/A |
|--------------|---------------------------|------------------|------|---------|
| | Defatted (A) | Non-defatted (B) | | |
| Hoshinoyume | 3.80 | 2.03 | 1.78 | 0.47 |
| Kirara397 | 3.87 | 2.10 | 1.77 | 0.46 |
| Aya | 3.27 | 1.42 | 1.85 | 0.57 |
| Akitakomachi | 3.32 | 1.51 | 1.81 | 0.54 |

Table III-3. Iodine affinity and amylose content of rice starches.

| Cultivar | Iodine affinity, IA (g/100 g) | | Amylose content (%) | |
|--------------|-------------------------------|-------------|---------------------|-----------------------|
| | Amylose | Amylopectin | Actual ^a | Apparent ^b |
| Hoshinoyume | 19.2 | 0.5 | 17.7 | 19.0 |
| Kirara 397 | 19.3 | 0.5 | 18.0 | 19.3 |
| Aya | 19.7 | 0.3 | 15.5 | 16.4 |
| Akitakomachi | 20.1 | 0.2 | 15.6 | 16.6 |

^a Calculated by (IA defatted starch-IA amylopectin) / (IA amylose-IA amylopectin)×100.

^b Calculated by (IA defatted starch / 20)×100.

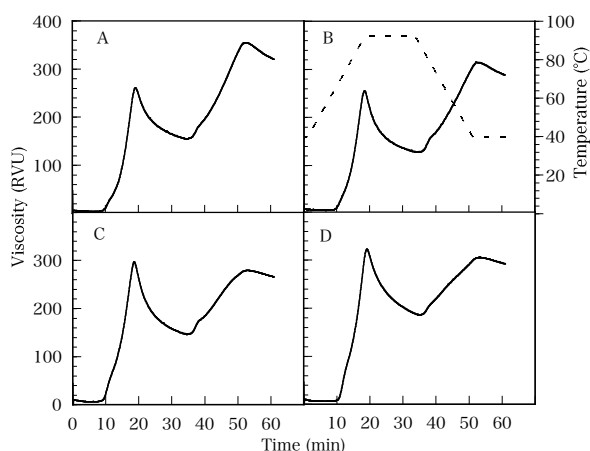


Fig. III-1. RVA Viscograms of rice starches.
A, Hoshinoyume; B, Kirara397; C, Aya; D, Akitakomachi.

しのゆめ」と「きらら397」は「あきたこまち」に比べて冷却時の粘度増加が高かったが、「彩」は「あきたこまち」と同程度に低かった。これらのことから、熱糊化特性は品種間で差が認められ、「ほしのゆめ」と「きらら397」は「あきたこまち」に比べて最高粘度が低く、冷却時の粘度増加が高いことが明らかとなった。

第2項 ヨウ素親和力とアミロース含量

米澱粉の脱脂前後のヨウ素親和力をTable III-2に示した。「彩」は脱脂前後のヨウ素親和力の差が最も大きかった。アミロースのヨウ素親和力は、「ほしのゆめ」と「きらら397」は各々19.2、19.3であった。アミロペクチンのヨウ素親和力は、「ほしのゆめ」と「きらら397」は各々0.5で「あきたこまち」の0.2に比べて

2.5倍の値を示した (Table III-3).

脱脂澱粉およびアミロースとアミロペクチンのヨウ素親和力からアミロース含量を算出した. アミロースとアミロペクチンのヨウ素親和力から求めた真のアミロース含量 (Table III-3) は, 「ほしのゆめ」 17.7%, 「きらら397」 18.0%, 「彩」 15.5%, 「あきたこまち」 15.6%であった. また, アミロペクチンのヨウ素親和力を無視して求めたアミロース含量は, 「ほしのゆめ」と「きらら397」が約19%, 「彩」と「あきたこまち」は約16.5%であった. いずれの品種ともアミロース含量が真のアミロース含量よりも高く, 「ほしのゆめ」と「きらら397」は「彩」と「あきたこまち」よりもアミロース含量が高かった.

第3項 アミロースの性質と分子構造

アミロースの諸性質をTable III-4に示した. 青価と最大吸収波長の品種間差は小さかった.

数平均重合度 (DPn) は, 比色法と蛍光標識HPLC法 (Table III-5) でほぼ一致し, 「彩」 (DPn ~1000) が大きく, 「きらら397」と「ほしのゆめ」 (DPn ~900) は, 「あきたこまち」と同じであった. これらの値は Takedaら (1986) が報告したジャポニカ種の値に比べて, ヨウ素親和力, 青価, 最大吸収波長, DPnともに

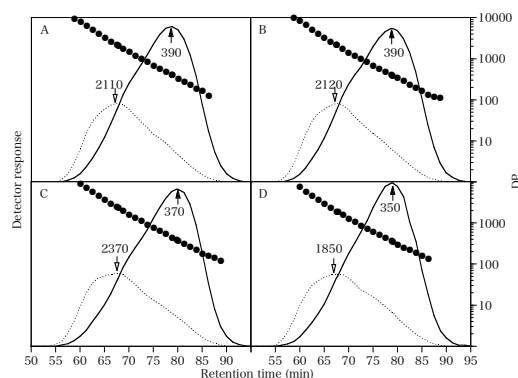


Fig. III-2. Molar- and weight-based distributions of amylose from rice starches. A, Hoshinoyume; B, Kirara397; C, Aya; D, Akitakomachi; solid line, fluorescence response (molar); dotted line, RI (weight); ●, DP; number with an arrowhead, DP at the elution position.

やや小さい傾向であった. 平均鎖長 (CL) は「きらら397」 (CL 290) が最も短く, 「彩」 (CL 410) が最も長かった. 「きらら397」の平均鎖数 (NC) は他の品種と比較してわずかに多かった. β -アミラーゼ分解限度は, 「ほしのゆめ」と「きらら397」は約83%で「彩」と「あきたこまち」の約86%に比べて小さかった.

アミロースの分子量分布をFig.III-2に示した. アミロースの分子量分布は, いずれの品種とも重量分布, 数 (モル) 分布ともに類似しているが, 北海道品種のピークDPは「あきたこまち」に比べて小さかった. ま

Table III-4. Properties of rice amyloses.

| Property | Cultivar | | | |
|--|-------------|------------|------------|--------------|
| | Hoshinoyume | Kirara 397 | Aya | Akitakomachi |
| Blue value | 1.32 | 1.31 | 1.35 | 1.31 |
| λ_{max} (nm) | 640 | 641 | 642 | 640 |
| DPn ^a | 840 | 910 | 960 | 920 |
| Average chain length (CL) | 350 | 290 | 410 | 380 |
| Average number of chains (NC) | 2 | 3 | 2 | 2 |
| β -Amylolysis limit (β -AL) (%) | 82 | 83 | 85 | 86 |
| DPn determined by Labeling method | 950 | 940 | 1040 | 900 |
| Apparent dp distribution ^b | 3050 - 230 | 2970 - 230 | 3320 - 250 | 2890 - 220 |

^aNumber-average degree of polymerization

^bThe dp values of the elution positions at which 10 and 90% of amylose in mol were eluted.

Table III-5. Properties of rice amylopectins.

| Cultivar | Blue value | λ_{max} (nm) | DPn | CL | | β -AL (%) |
|--------------|------------|----------------------|------|--------------------|--------------------|-----------------|
| | | | | Iso-A ^a | Smith ^b | |
| Hoshinoyume | 0.07 | 527 | 8000 | 19 | 19 | 60 |
| Kirara 397 | 0.06 | 528 | 8100 | 19 | 19 | 60 |
| Aya | 0.05 | 525 | 7600 | 19 | 19 | 58 |
| Akitakomachi | 0.05 | 524 | 9400 | 20 | 21 | 57 |

^a and ^b, determined by isoamylolysis and the rapid Smith degradation methods, respectively.

た、低アミロース品種「彩」のピークDPは、重量分布2370、数(モル)分布370で最も大きかった。「ほしのゆめ」のピークDPは、「あきたこまち」と「きらら397」の間を示した。分子の分布は、いずれの品種もDP 3000~230で (Table III-4), DP1000以下のアミロース分子の割合が70%程度を占めていた。DP1000以下の分布は、北海道品種ではDP200~300が最も多く13.8%, これに対して「あきたこまち」はDP100~200が最も多く14.4%, DP200~300は14.2%で北海道品種よりもわずかに多く分布していた。

第4項 アミロペクチンの性質と分子構造

アミロペクチンの性質をTable III-5に示した。「ほしのゆめ」と「きらら397」の青価は各々0.07, 0.06で「あきたこまち」に比べてわずかに高かった。また、「ほしのゆめ」と「きらら397」の最大吸収波長も各々527, 528 nmと「あきたこまち」に比べてわずかに高かった。

DPnは、7600~9400で、「あきたこまち」(DPn 9400)が最も大きく、次いで「きらら397」(DPn 8100), 「ほしのゆめ」(DPn 8000)であり、「彩」(DPn 7600)が最も小さかった。平均鎖長(CL)は、イソアミラーゼ分解法, Smith分解法とも一致した値が得られた。北海道品種の平均鎖長はいずれも19で、「あきたこまち」よりも1~2残基短かった。 β -アミラーゼ分解限度は、「ほしのゆめ」と「きらら397」が各々60%, 「彩」58%で、「あきたこまち」は最も低い57%であった。これらの値はTakedaら(1987)が報告したジャポニカ種の値と類似している。

アミロペクチンの単位鎖長分布をFig. III-3に示した。アミロペクチンはいずれの品種ともアミロペクチンA+B1画分, B2+B3画分と超長鎖(LC)の3つのピークが認められた。重量分布の各ピークのDPは各々15~16, 19~20 (ショルダー), 39~41で品種間差は認められなかった。重量分布から求めた各鎖長画分の割合を求めた結果 (Table III-6), A鎖画分は、「きらら397」が

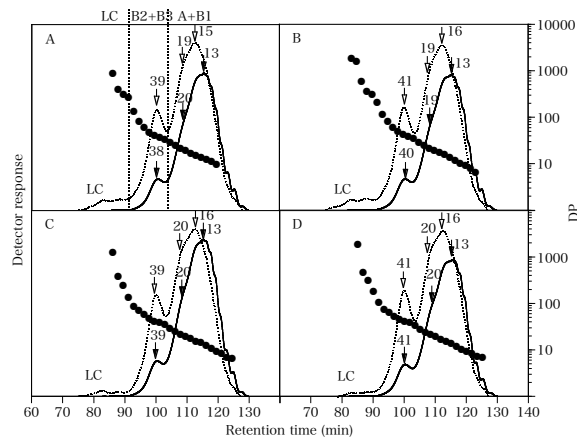


Fig. III-3. Molar- and weight-based distributions of amylopectin unit-chains from rice cultivars. A, Hoshinoyume; B, Kirara397; C, Aya; D, Akitakomachi; solid line, fluorescence response; dotted line, RI; ●, DP; number with an arrowhead, DP at the elution position.

最も少ない35.0%, 次いで「彩」36.6%, 「あきたこまち」36.9%, 「ほしのゆめ」が最も多い37.1%であった。

B1鎖画分は、「ほしのゆめ」が最も少ない36.7%, 次いで「きらら397」37.6%, 「あきたこまち」38.6%, 「彩」が最も多い39.5%であった。B2+B3鎖画分は、「彩」が最も少ない22.2%, 次いで「ほしのゆめ」22.5%, 「きらら397」と「あきたこまち」が最も多い

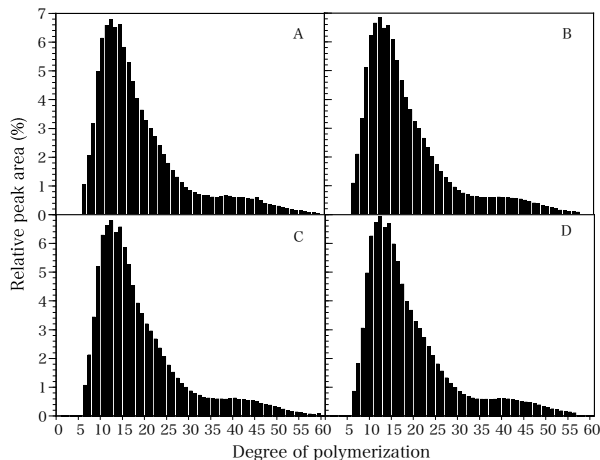


Fig. III-4. Chain-length distributions of debranched amylopectins from rice starches determined by HPAEC-PAD. A, Hoshinoyume; B, Kirara397; C, Aya; D, Akitakomachi.

Table III-6. Carbohydrate amounts of the fractions of isoamylase-debranched amylopectins.

| Cultivar | Carbohydrate amount (%) | | | |
|--------------|-------------------------|------|-------|-----|
| | A | B1 | B2+B3 | LC |
| Hoshinoyume | 37.1 | 36.7 | 22.5 | 3.7 |
| Kirara397 | 35.0 | 37.6 | 23.4 | 3.9 |
| Aya | 36.6 | 39.5 | 22.2 | 1.7 |
| Akitakomachi | 36.9 | 38.6 | 23.4 | 1.1 |

Table III-7. Molar distributions of unit chains of amylopectins.

| Cultivar | Amount in mole (%) | | Ratio |
|--------------|--------------------|-------|----------------|
| | A+B1 | B2+B3 | (A+B1)/(B2+B3) |
| Hoshinoyume | 91.3 | 8.6 | 10.6 |
| Kirara397 | 91.3 | 8.5 | 10.7 |
| Aya | 91.7 | 8.2 | 11.2 |
| Akitakomachi | 91.0 | 8.9 | 10.2 |

23.4%であった。アミロペクチンLCに相当する炭水化物量は、「あきたこまち」が最も少ない1.1%、次いで「彩」1.7%でともに1%台であったが、「ほしのゆめ」3.7%、「きらら397」3.9%、「あきたこまち」の3.5倍以上であった。他方、数(モル)分布から求めたアミロペクチンA+B1画分(短鎖)とB2+B3画分(長鎖)の割合、および1つのクラスター当たりの鎖数に相当する短鎖と長鎖の比(A+B1)/(B2+B3) (Takeda と Hanashiro, 2003) について検討した (Table III-7)。アミロペクチン短鎖はいずれの品種も91%以上を占め、「あきたこまち」に比べて北海道米はやや多く、「彩」は最も多い91.7%であった。アミロペクチン長鎖は「あきたこまち」8.9%で最も多く、「彩」は最も少ない8.2%であった。(A+B1)/(B2+B3) は「あきたこまち」10.2で最も小さく、「彩」は11.2で最も大きく、「ほしのゆめ」と「きらら397」はそれぞれ10.6, 10.7で「あきたこまち」と「彩」の間であった。高性能陰イオンクロマトグラフィー (HPAEC-PAD) により得られたアミロペクチン単位鎖長分布を示した (Fig. III-4)。DP55までの範囲ではいずれの品種ともきわめて類似した鎖長分布を示した。「あきたこまち」を基準に、各品種との鎖長分布の差を求めた結果 (Fig. III-5)、「あきたこまち」に比べて「ほしのゆめ」、「きらら397」、「彩」はDP9以下の短鎖が多く、DP10~30が少ない傾向にあり、DP30~55までの差は明瞭ではなかった。Hanashiroら (1996) の分類により、fa (DP6-12), fb1 (DP13-24), fb2 (DP25-36), fb3 (DP>37), に分画し各画分の相対面積を比較した結果 (データ省略)、北海道米は各々31%, 49%, 11%, 8%で品種間差は認められなかった。

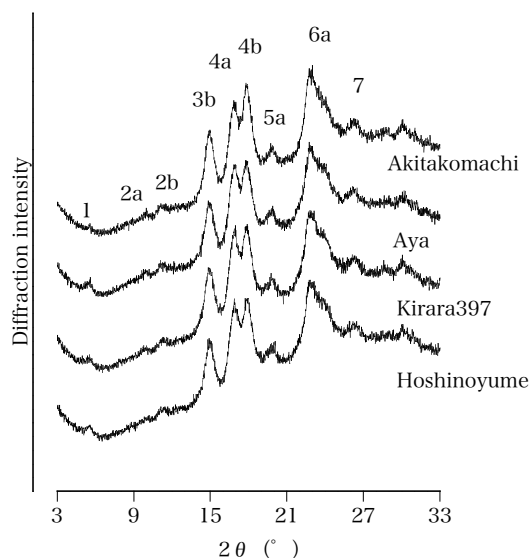


Fig. III-6. X-Ray diffraction patterns of rice starches.

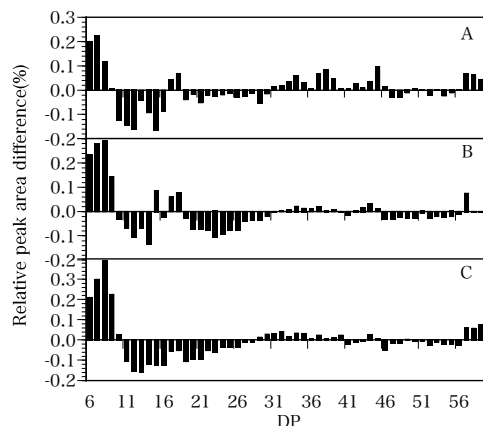


Fig. III-5. Comparison of the chain-length profile of amylopectins from rice starches.

A, (Hoshinoyume - Akitakomachi); B, (Kirara397 - Akitakomachi); C, (Aya - Akitakomachi).

第5項 X線回折による澱粉の結晶構造の解析

供試澱粉のX線回折図をFig. III-6に示した。X線回折図形は、秋田県産「あきたこまち」がA型であるのに対して、北海道産の3品種はともに第1環が認められ、第4a環と第4b環がほぼ同じ強度である点、第6a環に差が認められることからCa型 (A型に近いC型) と判断した。

第4節 考察

北海道の主要品種である「きらら397」, 「ほしのゆめ」および低アミロース突然変異形質*dull*を有する「彩」と秋田県産の「あきたこまち」を供試し, 澱粉の分子構造の比較を行った. 北海道米3品種の澱粉の結晶型はCa型, 「あきたこまち」はA型を示した. 一般に米澱粉はトウモロコシ澱粉に代表されるA型を示すが, 本実験に供試した北海道米の米澱粉がCa型を示した要因として登熟期間の低温が考えられる. すなわち, 栽培した1997年の登熟期間は異常な低温寡照で, 出穂後15日間の平均気温が18°Cで, 平年に比べて2°C低く, 日照時間は平年の24%程度であった. Hizukuri (1961) は発芽ダイズを用いた実験で, 13.5°Cで発芽生育してできた澱粉はB型, 30°CでA型, 22.5°CではA型とB型がほぼ等量混合したC型を示すこと, また, アミロデキストリンの濃度と結晶化温度の関係からも温度と濃度が高いほどA型を示しやすいことを報告している. このことから, 供試した1997年北海道産品種では登熟期間の低温寡照により澱粉のCa型結晶構造を生じたものと推察される.

真のアミロース含量は, 「ほしのゆめ」, 「きらら397」が18%で「彩」, 「あきたこまち」より約2%高かった. 北海道米は府県米に比べてアミロース含量が高く, この要因として登熟温度の低いことが挙げられている (稲津, 1988). 「ほしのゆめ」, 「きらら397」は「あきたこまち」より約2%高かったが, 「彩」は「あきたこまち」並であり, 低アミロース突然変異形質*dull*をもつ半もち性の品種は登熟期間の温度が低い北海道においてアミロースを低下させるため有効と考えられる.

RVAによる澱粉の熱糊化特性は「ほしのゆめ」, 「きらら397」で最高粘度が低く, ブレイクダウンが小さく, 冷却時の粘度増加が高いが, 「彩」, 「あきたこまち」は最高粘度が高く, 冷却時の粘度増加は低かった. 米粉のアミログラム特性は, 澱粉の糊化特性を反映するものであり, 食味を推定するためにきわめて重要である (Kurasawaら, 1967). 北海道米における米粉のアミログラムの特徴は, 最高粘度が低い, 糊化開始温度が高い, セットバック (最終粘度-最低粘度) が高いことが特徴として挙げられる (瀬戸と岡部, 1963). 一般にアミロース含量が低いほどアミログラムの最高粘度が高いが, 低アミロース突然変異形質*dull*を有する系統の最高粘度は正常粳米に比べて低いことが見出されている (菊地, 1988). この要因は, 米粉中に内在する

α -アミラーゼ活性の差異の他に, アミラーゼ作用を受ける澱粉の構造にもその原因があると推定されている (菊地, 1988). したがって, これらの熱糊化特性は澱粉の分子構造が関与しているものと考えられた.

アミロースのヨウ素親和力は「ほしのゆめ」, 「きらら397」が約19で「彩」, 「あきたこまち」よりわずかに小さかった. 「ほしのゆめ」と「きらら397」の脱脂前後におけるヨウ素親和力の差は, 「彩」と「あきたこまち」よりも低いことから, 「ほしのゆめ」と「きらら397」は脂質とアミロースの複合体が少ないことを示しており, 冷却時の粘度増加に影響を及ぼしているものと考えられた. 数平均重合度 (DPn) は「ほしのゆめ」と「きらら397」が「あきたこまち」とほぼ同じ (~900) で, 「彩」 (~1000) がやや大きかった. 平均鎖数は2~3であった. 数 (モル) 分布は北海道3品種とも「あきたこまち」より広がった. これらのことから, 北海道品種のアミロースの構造は「あきたこまち」と比べて大きな差は認められず, 北海道品種の老化しやすい性質はアミロースの構造よりもアミロース含量が高いことに加え, 次に述べるようにアミロペクチンの分子構造上の違いによるものと推察された.

アミロペクチンのヨウ素親和力は「ほしのゆめ」, 「きらら397」が0.5であり, 「彩」, 「あきたこまち」よりも2.5倍ほど高く, DPnは「あきたこまち」(9400)が大きく, 「彩」(7600)が小さかった. 平均鎖長は北海道3品種が19で「あきたこまち」より1~2残基短く, β -アミラーゼ分解限度は「あきたこまち」よりわずかに高かった. 「きらら397」は「あきたこまち」に比べて平均鎖長が短く, 分岐が多いことが認められ, このことが β -アミラーゼ分解限度がやや低かった要因として挙げられる. これらのことから, 「ほしのゆめ」と「きらら397」のアミロペクチン分子にはLC (Takedaら, 1987) の量が多いと推察された. 実際にゲル濾過HPLC法でアミロペクチン単位鎖長分布を調べた結果, 北海道米の「ほしのゆめ」と「きらら397」はヨウ素親和力から示唆されたアミロペクチンLCが存在することが明らかとなった. アミロペクチンLC含量は, 「ほしのゆめ」と「きらら397」は「あきたこまち」に比べて約3.5倍であった. また, これらのアミロペクチンLC含量は, 水上と竹田 (2000) が報告したホシユタカの3.7%と同程度の値であった. Inouchiら (2005) はRVAのセットバックとLC含量の間には高い正の相関関係があることを明らかにしていることから, 「ほしのゆめ」と「きらら397」が「あきたこまち」に比べてRVAの冷却時の粘度増加が高かった要因としてアミロペクチンLC

の影響が考えられる。さらに、北海道米のアミロペクチンクラスターを構成する鎖の数が「あきたこまち」に比べて多いことの要因として、品種間差の他に「ほしのゆめ」と「きらら397」はほぼ同じ出穂期であるが「彩」は北海道米の中でも出穂期が遅く登熟温度が低いことから、登熟温度も影響していると考えられた。

以上のことから、「彩」のアミロース含量は「あきたこまち」と同じ程度であり、他の北海道品種に比べ冷却時の粘度増加も改善されている。しかし、「あきたこまち」よりも冷却時の粘度増加は高く、この要因としてはアミロースの分子量分布やアミロペクチン単位鎖長分布の影響を受けていることが示唆された。

北海道米はこれまでにアミロース含量で選抜し、同一含量であっても物性や食味特性が異なる事例が散見されてきた。本章の結果から、北海道米にはアミロペクチンLCが存在することが明らかとなった。すなわち、見かけ上同一アミロース含量であっても物性や食味特性が異なる要因の一つとしてアミロペクチンLCの影響が考えられた。したがって、さらなる食味向上を目指した高度な選抜を行うためには、アミロペクチンLCの量を考慮するなど、アミロペクチンの分子構造に着目した選抜手法の確立が必要である。また、登熟期間の温度はアミロース含量と同様に澱粉の分子構造に深く関わっており、登熟期間の温度条件が北海道米の澱粉の分子構造に及ぼす影響を解析することは、今後の北海道米の食味向上にとってきわめて重要と考えられる。

第4章 登熟温度が米のアミロペクチン単位鎖長分布とLC含量に及ぼす影響

第1節 緒言

第3章では北海道米澱粉の分子構造と性質を調べ、北海道米にもアミロペクチンLCが含まれていることを明らかにし、上記の要因の一つとしてアミロース含量に含まれるアミロペクチンLCの影響を指摘した。

北海道米の良食味米育種で実施しているオートアナライザーによるアミロース含量の分析は、アミロース含量が既知の試料を基準品として、ヨウ素呈色法で発色した試料溶液を波長620nmの吸光度からアミロース含量（ここでは見かけのアミロース含量である。以下同じ、p.ix参照）を測定している。このため、良食味の選抜ではアミロース含量に含まれるアミロペクチンLC (Takedaら, 1987) 含量の影響については検討されていない。北海道立農業試験場では、アミロース含量やタンパク質含量など米に含まれる成分分析と食味官能試験による選抜を行ってきたが、これまでの選抜過程において、アミロース含量が同程度であっても、食味や物理的特性が異なるものが散見され、その要因は明らかにされていない。

水上と竹田 (2000) は、アミロペクチンLC含量が多いほど米飯は硬く、付着性と粘着力が弱く、RVAによる澱粉のブレイクダウンと負の相関を認め、澱粉粒の崩壊性にLCの関与を指摘した。さらに、Inouchiら (2005) はRVAのセットバックとアミロペクチンLC含量の間には正の有意な相関を認めている。また、Horibataら (2004) は近年日本で育成された米について胚乳澱粉のアミロペクチンのFr. A含量 (重合度6~12の割合) とアミロペクチンLC含量との散布図を作成し、米の胚乳澱粉を構造および物性面から系統的に分類する方法を提案している。

北海道米は登熟温度が低くアミロース含量が高い (第2章)。このアミロース含量にはアミロペクチンLC含量も含まれており、アミロペクチンLCは上述の通り炊飯米の物理的特性と関係があることから、北海道米の物理的特性には登熟温度が低くアミロース含量が高いことに加えて、アミロース含量に含まれるアミロペクチンLCの影響があると考えられる。一方、アミロペクチンLCはアミロース合成酵素との関連が指摘されている (Fulton, 2002; Aokiら, 2006; Hanashiroら, 2008)。アミロースの合成は澱粉のもちと粳性を支配する「もち (wx) 座」の遺伝子産物である澱粉結合型澱粉合成酵素 (Wxタンパク質) によりなされ、wx座の遺伝子産物であ

るWxタンパク質とアミロース含量の間には強い相関が認められる (Sano, 1987)。Wxタンパク質量とアミロース含量は登熟期間における低温の強さに応じて増加することが認められている (HiranoとSano, 1998)。Inouchiら (2005) は澱粉中のWxタンパク質量とアミロペクチンLC含量との間に正の有意な相関を認めた。さらにアジアおよび他の国々における栽培種の胚乳澱粉中には、アミロペクチンLC含量が0.0~13.4%の範囲で連続的に分布していることを明らかにした。これらのことから、アミロペクチンLC含量の増減は品種の遺伝的な背景と澱粉合成時の環境が影響すると推定される。澱粉合成の環境としては登熟温度が大きな要因の一つとなるが、これまでに、アミロペクチンLC含量に及ぼす登熟温度の影響に関する報告はない。

そこで本章では、アミロペクチンLC含量に及ぼす登熟温度の影響とその品種間差を明らかにするため、近年育成された北海道米品種を供試し、人工気象室を使用して登熟期間を異なる温度条件で栽培し、Hanashiroら (2002) の蛍光標識ゲル濾過HPLC法を用いて検討した。

第2節 実験材料および方法

第1項 実験材料

2004年産の粳品種として、「きらら397」、「ほしのゆめ」、「ななつぼし」、低アミロース突然変異系統 *dull*種 (以下、低アミロース品種) として、「おぼろづき」、「彩」、「あやひめ」、府県産の低アミロース種「ミルキークイーン」および育成系統4系統を供試した。栽培法はワグネルポット (159×190 mm, 表面積200 cm²) に3本植え3株で移植し、各2反復で栽培した。出穂期までビニールハウス内で栽培し、出穂後にワグネルポットを上川農試人工気象室に移動し、登熟期間温度 [°C, 昼 (午前9時~午後5時) / 夜 (午後5時~午前9時)] 34/28 (HH), 30/24 (H), 26/20 (M), 22/16 (L) で栽培した。ただし、「きらら397」のみ登熟期間温度29/25 (H), 25/21 (M), 21/17 (L) で栽培した。収穫後、得られた玄米をパーレスト (Kett) で搗精歩合90%まで搗精し、アルカリ浸漬法 (Takedaら, 1988) で米澱粉を調製した。アミロペクチンの分別はSchochのブタノール法 (Lanskyら, 1949) の改良法 (Takedaら, 1986) で行った。

第2項 アミロペクチン単位鎖長分布の分析

イソアミラーゼで枝切りした米澱粉の単位鎖長分布

はHanashiroら (2002) の蛍光標識ゲル濾過HPLC法に準じた。すなわち、アルカリ浸漬法で調製した米澱粉4 mgを蒸留水1.6 mLに懸濁させ100°Cで糊化し、1 M酢酸バッファー (pH 3.5) 16μLを加え、pH 3.5に0.1M酢酸で調整した後、イソアミラーゼ (林原生物化学研究所) 0.67μL (0.03 U/試料mg) を加え、45°Cで15時間反応させた。次に、100°Cで10分間加熱し酵素を失活させ、水中で冷却し、遠心濃縮機 (TOMY CC-105, トミー工業株式会社) で乾燥試料とした。この試料を第3章第2節第5項と同様に分析した。分析は3反復で行った。

第3節 実験結果

第1項 登熟温度が澱粉の単位鎖長分布に及ぼす影響

北海道米の主力品種「きらら397」を供試して、登熟温度が澱粉の単位鎖長分布に及ぼす影響を検討した。Fig. IV-1にはイソアミラーゼで枝切りした米澱粉の鎖長分布を登熟期間温度別に示した。米澱粉の鎖長分布にはアミロース含量に相当する画分 (アミロース+アミロペクチンLC), アミロペクチン長鎖画分 (B2+B3), アミロペクチン短鎖画分 (A+B1) の3つのピークが存在した。

Table IV-1に重量分布における各画分の割合を示した。A+B1画分は、低温64.0%, 中温67.3%, 高温67.4%と高温ほど多い傾向であった。B2+B3画分は、低温17.8%, 中温18.3%, 高温20.3%と高温ほど多かった。一方、アミロースとアミロペクチンLCの画分は、低温18.2%, 中温14.4%, 高温12.3%と高温ほど少なかった。また、重量分布における各画分のピーク重合度をFig. IV-1に示した。アミロース+アミロペクチンLC画分は、低温1560, 中温1350, 高温1180, B2+B3画分は、低温39, 中温42, 高温44, A+B1画分は、低温16, 中温16, 高温16であった。すなわち、登熟期間温度が高いほどアミロースとアミロペクチンLCの画分の重合度は小さく、B2+B3画分では逆にやや大きく、A+B1画分では変わらなかった (Fig. IV-1)。Table IV-2に数 (モル) 分布における各画分の割合を示した。A+B1画分は約90%を占め、A+B1画分は登熟期間温度が高いほど少なく、B2+B3画分は登熟期間温度が高いほど多かった。アミロース+アミロペクチンLC画分は、高温ほど少なかった (Table IV-2)。

第2項 登熟期間温度がアミロペクチンの単位鎖長分布とLC含量に及ぼす影響

Fig. IV-2に「きらら397」の澱粉およびアミロペクチ

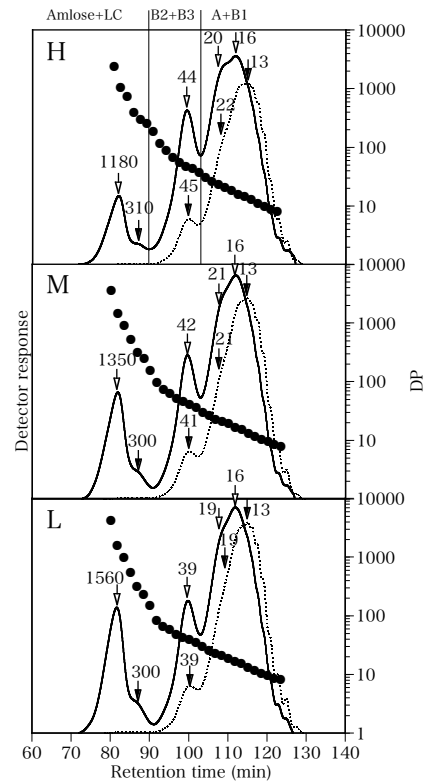


Fig. IV-1. Chain-length distributions of isoamylase-debranched rice (Kirara397) starch produced under different grain-filling temperatures. Grain-filling temperature (°C) of day/night; H, 29/25; M, 25/21; L, 21/17. Solid line, RI (weight); dotted line, fluorescence response (molar); ●, DP; number with an arrowhead, DP at the elution position.

ンの単位鎖長分布の重量分布を示した。また、澱粉の鎖長分布からアミロペクチンの鎖長分布を引いて求めたアミロースの鎖長分布を示した。アミロペクチン単位鎖長分布には、アミロース画分が溶出する滞留時間70~90分の中の80~90分に、いずれの登熟期間温度においてもアミロペクチンLCのピークが認められた (Fig. IV-2)。Table IV-1に各画分の重量分布の割合を示した。アミロペクチンのA+B1画分は登熟期間温度が高いほど

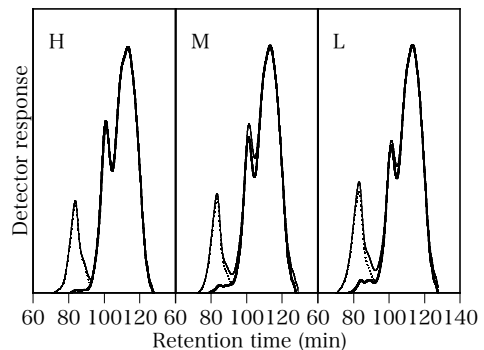


Fig. IV-2. Chain-length distributions (weight basis) of isoamylase-debranched amylopectin and starch of Kirara 397 cultivar. Grain-filling temperature (°C) of day/night; H, 29/25; M, 25/21; L, 21/17. Solid line, amylopectin; thin line, starch; dotted line, amylose.

Table IV-1. Weight distributions of unit chains of starch and amylopectin of Kirara 397 cultivar.

| Sample | Grain filling temp. (°C) Day/Night | A+B1 (%) | B2+B3 (%) | Amylose + amylopectin LC (%) | Amylopectin LC (%) | $\frac{(A+B1)}{(B2+B3)}$ |
|-------------|---------------------------------------|-----------|-----------|------------------------------|--------------------|--------------------------|
| Starch | 21/17 | 64.0±0.5* | 17.8±0.4 | 18.2±0.6 | | 3.6±0.1 |
| | 25/21 | 67.3±2.3 | 18.3±2.3 | 14.4±0.5 | | 3.7±0.6 |
| | 29/25 | 67.4±1.3 | 20.3±0.1 | 12.3±1.3 | | 3.3±0.1 |
| Amylopectin | 21/17 | 75.8±1.3 | 21.7±0.4 | | 2.58±0.89 | 3.5±0.1 |
| | 25/21 | 75.2±0.8 | 23.5±0.6 | | 1.30±0.62 | 3.2±0.1 |
| | 29/25 | 74.4±0.6 | 25.1±0.4 | | 0.48±0.27 | 3.0±0.1 |

*Mean ± SD, SD = Standard deviation (n=3).

Table IV-2. Molar distributions of unit chains of starch and amylopectin of Kirara 397 cultivar.

| Sample | Grain filling temp. (°C) Day/Night | A+B1 (%) | B2+B3 (%) | Amylose + amylopectin LC (%) | Amylopectin LC (%) | $\frac{(A+B1)}{(B2+B3)}$ |
|-------------|---------------------------------------|-----------|-----------|------------------------------|--------------------|--------------------------|
| Starch | 21/17 | 90.5±0.3* | 9.1±0.2 | 0.4±0.1 | | 10.0±0.2 |
| | 25/21 | 90.0±0.2 | 9.7±0.2 | 0.3±0.1 | | 9.3±0.2 |
| | 29/25 | 89.2±0.2 | 10.5±0.1 | 0.2±0.1 | | 8.5±0.1 |
| Amylopectin | 21/17 | 91.7±0.2 | 8.2±0.2 | | 0.11±0.02 | 11.2±0.2 |
| | 25/21 | 91.4±0.1 | 8.6±0.3 | | 0.03±0.01 | 10.7±0.2 |
| | 29/25 | 90.7±0.2 | 9.3±0.4 | | 0.02±0.01 | 9.8±0.3 |

*Mean ± SD, SD = Standard deviation (n=3).

少なく、B2+B3画分は登熟期間温度が高いほど多く、アミロペクチンLC含量は低温2.58%、中温1.30%、高温0.48%で登熟期間温度が高いほど少なかった。Table IV-2に各画分の数(モル)分布の割合を示した。アミロペクチンのA+B1画分は90%以上を占め、登熟期間温度が高いほど少なかった。また、アミロペクチンA+B1画分とB2+B3画分のモル比(A+B1)/(B2+B3)は登熟期間温度が高いほど小さかった。

これらのことから、アミロペクチンの鎖長分布は登熟期間温度により変動し、アミロペクチンLC含は登熟期間の温度が高いほど少なくなると考えられた。一方、アミロース含量からアミロペクチンLC含量を差し引いた真のアミロース含量は、重量分布では登熟期間温度が高いほど少なかったが、数(モル)分布では重量分布に比べて明瞭な傾向は認められなかった。なお、アミロペクチンLCの重量%をモル%で割った値は鎖長を反映する数値と考えられる。本研究で得られた数(モル)分布のアミロペクチンLC含量は検出感度の限界に

近い値であるが、低温区のアミロペクチンLCの数平均重合度を、A+B1画分の重量%をモル%で割った値がピーク鎖長16に対応するとして試算してみると、アミロペクチンLCの数平均重合度は約460であった。これらの値は、Hanashiroら(2005)が報告した330-490に近い値を示した。

第3項 アミロペクチンLC含量の登熟期間温度に対する品種反応

北海道では食味向上を図るため、低アミロース突然変異形質dullを有する低アミロース品種の育成を進めている。しかし、アミロース含量の登熟期間温度による変動幅は保有する低アミロース性遺伝子で異なることが示されている(館山ら, 2005)。このため、良食味米の安定生産には登熟期間温度に影響されにくい品種が求められる。そこで、北海道で育成されたアミロース含量の異なる品種と府県産の「ミルキークイーン」を供試し、登熟期間温度がアミロース含量およびアミロペクチンの鎖長分布に及ぼす影響を検討した。Table IV-3には供試品種の登熟期間温度別のアミロース含量を示

した。

アミロース含量はいずれの品種とも登熟期間温度が高いほど低下したが、その変動幅が品種間で異なっていた。全登熟期間温度の平均アミロース含量は、「ほしのゆめ」が最も高い16.1%、「あやひめ」が最も低い4.6%であった。また、変動係数はそれぞれ16%、81%と大きな差が認められた。次に、鎖長分布をアミロペクチンA+B1画分、アミロペクチンB2+B3画分、アミロース画分(アミロース+アミロペクチンLC)、およびアミロペクチンLC画分に分画し、登熟期間温度による各画分の変動値を供試品種毎に平均値と標準偏差で示した(Fig. IV-3)。なお、それぞれのエラーバーは標準偏差を示し、その値が大きいほど品種間差が大きい。A+B1画分は低温区(L)を除き高温ほど低下し、B2+B3画

分は高温ほど増加した。アミロース+アミロペクチンLC画分は高温ほど低下した。アミロペクチンLC画分は見かけのアミロース含量と同様に高温ほど低下した。B2+B3画分はA+B1画分やアミロース+アミロペクチンLC画分に比べて品種間の差が小さかった。また、アミロペクチンLC画分はアミロース+アミロペクチンLC画分に比べて品種間差が小さく、品種よりも登熟期間温度の影響が大きいことが示された(Fig. IV-3)。

第4項 アミロース含量およびアミロペクチンLC含量に対する登熟期間温度と品種の寄与度

アミロース含量とアミロペクチンLC含量が登熟期間温度と品種のどちらの影響を強く受けるのかを明らかにするため、登熟期間温度と品種を説明変数として重

Table IV-3. Amylose content (weight %) of rice starch differing in grain filling temperature

| Cultivar | Amylose content (%) | | | | Mean | SD | CV (%) |
|--------------|---------------------------|------|------|------|------|-----|--------|
| | Grain filling temperature | | | | | | |
| | L | M | H | HH | | | |
| Hoshinoyume | 19.7 | 16.0 | 15.2 | 13.6 | 16.1 | 2.6 | 16 |
| Nanatsuboshi | 16.6 | 14.2 | 12.3 | 10.1 | 13.3 | 2.8 | 21 |
| Line D | 14.5 | 11.5 | 10.0 | 9.0 | 11.3 | 2.4 | 21 |
| Milky Queen | 11.2 | 8.1 | 6.8 | 6.3 | 8.1 | 2.2 | 27 |
| Line A | 9.8 | 7.5 | 6.1 | 5.1 | 7.1 | 2.0 | 29 |
| Line B | 14.9 | 9.7 | 5.5 | 4.4 | 8.6 | 4.8 | 55 |
| Oboroduki | 13.8 | 8.8 | 4.7 | 3.7 | 7.8 | 4.6 | 59 |
| Line C | 15.9 | 8.8 | 5.5 | 4.4 | 8.7 | 5.2 | 60 |
| Aya | 10.3 | 5.3 | 2.7 | 1.7 | 5.0 | 3.8 | 77 |
| Ayahime | 9.8 | 4.6 | 2.4 | 1.5 | 4.6 | 3.7 | 81 |

L=22/16, M=26/20, H=30/24, HH=34/28°C.

SD = standard deviation.

CV = coefficient of variance. Calculated by $SD/mean \times 100$.

Table IV-4. ANOVA of temperature during grain-filling and cultivars on amylose and amylopectin LC contents.

| Content | Source | DF | Sum of squares | F Ratio | Prob>F | Rsquares | N |
|-----------------|---------------------|----|----------------|---------|--------|----------|----|
| Amylose | Cultivar | 9 | 282.1 | 31.4 | <.0001 | 0.95 | 39 |
| | Filling temperature | 3 | 242.2 | 80.9 | <.0001 | | |
| Amylopectin LC | Cultivar | 9 | 18.8 | 2.5 | 0.03 | 0.77 | 38 |
| | Filling temperature | 3 | 54.3 | 21.6 | <.0001 | | |
| Actual amylose* | Cultivar | 9 | 287.9 | 14.2 | <.0001 | 0.86 | 38 |
| | Filling temperature | 3 | 63.6 | 9.4 | 0.0002 | | |

ANOVA, Analysis of variance.* Calculated from (amylose content-amylopectin LC content).

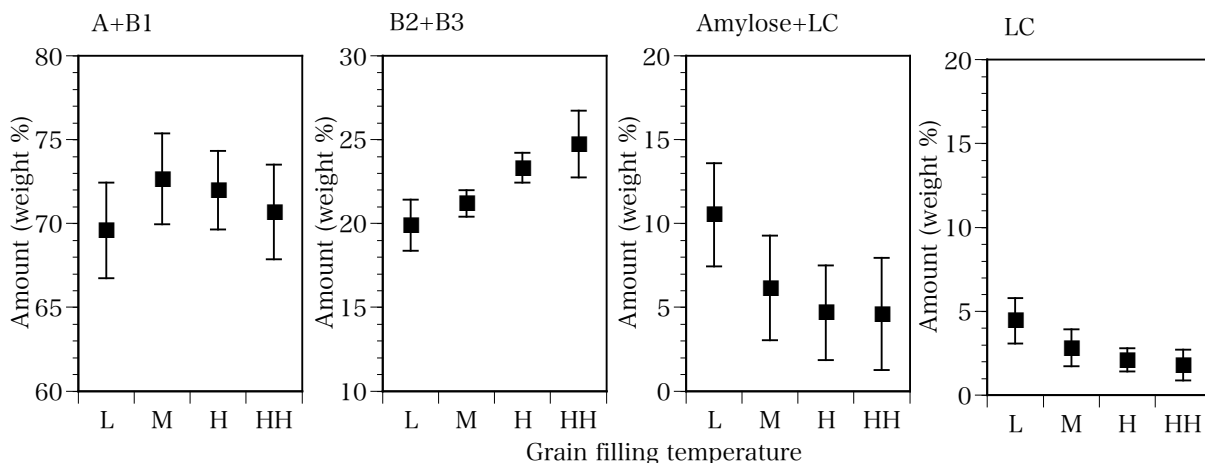


Fig. IV-3. Amount of each fraction of debranched starches and amylopectins from 10 rice cultivars produced by different grain-filling temperatures.

Grain-filling temperature (°C) of day/night; L, 22/16; M, 26/20; H, 30/24; HH = 34/28; error bar, standard deviation.

回帰分析により解析した (Table IV-4).

アミロース含量に及ぼす登熟期間温度と品種の寄与率は0.95であり、品種のF値を1とした相対比較では、登熟期間温度の影響は品種の2.6倍であった。また、アミロペクチンLC含量に及ぼす登熟期間温度と品種の寄与率は0.77で、登熟期間温度の影響は品種の8.6倍であった。これらのことから、アミロース含量とアミロペクチンLC含量は品種よりも登熟期間温度の影響が大きいことが明らかとなった (Table IV-4)。一方、アミロース含量からアミロペクチンLC含量を引いた真のアミロース含量は、登熟期間温度よりも品種の影響が大きかった (Table IV-4)。そこで、各試験区 (L, M, H, HH) の平均登熟期間温度19, 23, 27, 31°Cを19~23°C, 23~27°C, 27~31°Cの3つの区間に分け、それらの区間におけるアミロペクチンLC含量の1°C当たりの変動量を求めた (Fig. IV-4)。その結果、19~23°Cの範囲では1°C当たり0.542%, 23~27°Cでは0.152%, 27~31°Cでは0.037%で、低温ほど1°C当たりのアミロペクチンLC含量の変動が大きかった。したがって、北海道のように低温条件で登熟する地域ではアミロペクチンLC含量が変動しやすいと考えられた。

次に、供試品種と系統のアミロース含量とアミロペクチンLC含量および真のアミロース含量を登熟期間温度別に示した (Fig. IV-5)。系統Aを除き、アミロペクチンLC含量はいずれの品種とも登熟期間温度が高いほど低かった。同一登熟期間温度におけるアミロペクチンLC含量の品種間差は小さく、いずれの品種もほぼ同等であった。一方、アミロース含量および真のアミ

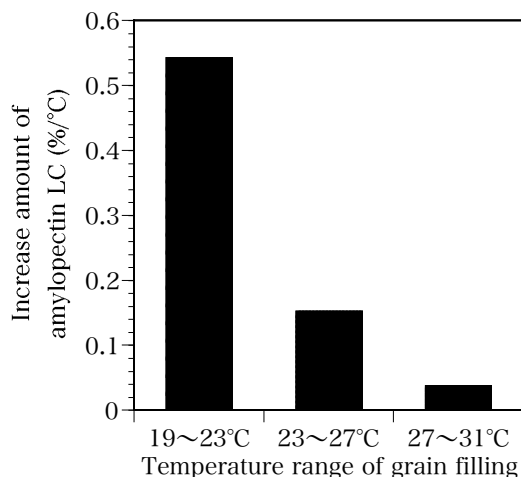


Fig. IV-4. Relationship between the temperature range of grain-filling and the increase amount of amylopectin LC.

The temperature is the average of day and night.

ロース含量は、粳品種に比べて低アミロース品種で少なく、系統Aを除いて登熟期間温度が高いほど低かった。また、粳品種と低アミロース品種に分類し、アミロース含量とアミロペクチンLC含量の関係を検討した (Fig. IV-6)。相関係数は、粳品種 $r = 0.959$ ($p < 0.001$ $n = 8$)、低アミロース品種 $r = 0.935$ ($p < 0.0001$ $n = 14$) であり、いずれも有意な正の相関が認められた。アミロペクチンLC含量の範囲は粳品種と低アミロース品種で差は認められないが、アミロース含量は粳品種に比べて低アミロース品種で少なかった。このため、低アミロース品種は粳品種に比べてアミロース含量に占めるアミロペクチンLC含量の割合が高いことが推察された。

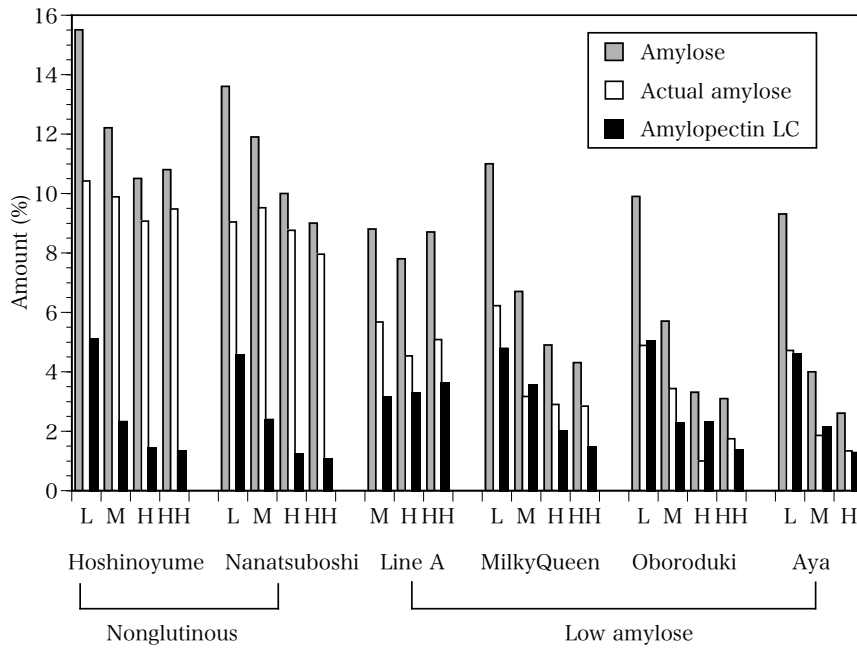


Fig. IV-5. Relation between the temperature during grain-filling and the amount of amylose or amylopectin LC.

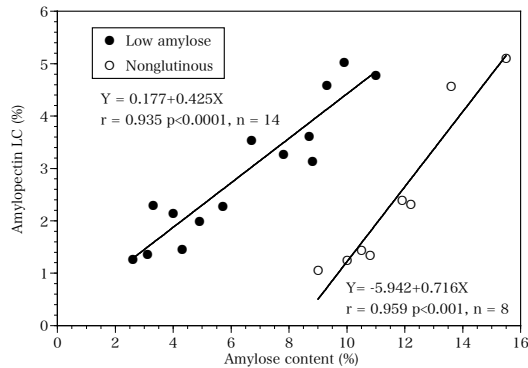


Fig. IV-6. Relationship between the amount of apparent amylose and amylopectin LC.

第4節 考察

アミロペクチン単位鎖長分布とLC含量に及ぼす登熟期間温度の影響をHanashiroら (2002) の蛍光標識ゲル濾過HPLC法で調べた。北海道米の主要品種である「きらら397」のアミロペクチンLC含量は、低温 (21/17°C) 2.58%, 中温 (25/21°C) 1.30%, 高温 (29/25°C) 0.48%で登熟期間温度が低いほど多かった。このことから、アミロペクチンLCもアミロースと同様に登熟期間温度が低いほど増加することが明らかとなった。また、アミロペクチン単位鎖のA+B1画分とB2+B3画分の重量比およびモル比 (A+B1)/(B2+B3) は登熟期間温度が低いほど大きかった。これらの結果は、近年育成された北海道米5品種と4系統およびミルククイーンを供試した実験結果からも確認された。ここでの登熟期間温度は

22/16, 26/20, 30/24, 34/28°C(昼/夜)で行った。アミロペクチンLC含量の平均登熟期間温度1°C当たりの変動量は、19~23°Cの範囲で0.542%, 23~27°Cで0.152%, 27~31°Cで0.037%であり、低温ほど大きかった。このことから、北海道のように登熟期間温度が低い地域ではアミロペクチンLC含量が増加しやすいと考えられる。

一方、低アミロース品種は粳品種に比べてアミロース含量に占めるアミロペクチンLC含量の割合が高かった。これは、品種によりアミロペクチンLCの生合成に差異があることを示唆している。また、アミロース含量とアミロペクチンLC含量は品種よりも登熟期間温度の影響が大きいことが明らかとなった。

アミロペクチンLCの生合成にはWxタンパク質が関与していると考えられており (Inouchi, 2005; Aokiら, 2006; Hanashiroら, 2008), Wxタンパク質の温度反応性およびアミロペクチンLC生合成に及ぼす影響を解析することにより、上記の特性を有する品種が育成される可能性が大きいと判断される。米の澱粉顆粒結合型アミロース合成酵素 (Wx) 遺伝子はインディカ品種に分布するWx^a対立遺伝子とジャポニカ品種に分布するWx^b対立遺伝子が知られているが、伊藤ら (2006) はインディカ型Wx^a対立遺伝子中に、アミロペクチンLCを付加する対立遺伝子Wx^a-LCが存在し、2か所のアミノ酸配列が点突然変異を起こしていることを明らかにしている。また、Aokiら (2006) は、粳米をアミロペクチンに含まれ

る重合度300以上の長鎖の含量で、多い (12%以上)、中程度 (4~8%)、少ない (3%以下) の3系統群に分類し、アミロペクチンLCの多い系統と少ない系統との交配後代についてQTL解析を行った結果、アミロペクチンLCの合成はアミロースを合成するWxa遺伝子によって制御されることを明らかにした。さらに、Hanshiroら (2008) は、Wxa遺伝子をもち品種に導入し、胚乳澱粉にアミロースとアミロペクチンLCが合成されることを確認し、アミロペクチンLCの生合成にGBSSIが関与していることを明らかにした。

アミロペクチンの分子構造と食味との関連性についてはさらに検討が必要であるが、アミロペクチン短鎖画分が多い米は加熱時の吸水特性が良く、糊化特性も向上し、柔らかく粘りのある物性を示し、さらに炊飯後の水分も保持されやすく、米飯のつやが向上するため食味評価が向上すると考えられる。アミロペクチンLC含量は米飯物性に影響を及ぼすことが知られており、登熟期間温度が低い北海道米はアミロース含量と同様にアミロペクチンLC含量も低温により増加しやすく、これが食味の低下を招く要因と考えられる。したがって、アミロペクチンLC含量が低く、異なる登熟期間温度条件でも澱粉の構造が安定している品種の育成が必要と考えられる。

以上のことから、今後の良食味米の選抜においては、従来のアミロース含量による選抜に加えてアミロペクチンの分子構造に着目した選抜が重要と考えられる。これまでアミロース変異系統を利用した良食味品種の育成が行われてきたが、今後の良食味米の選抜には、アミロペクチンLCを含まない系統やアミロース含量が低く登熟期間温度で鎖長分布が変動しにくい系統の選抜が必要であり、アミロペクチンLCを付与するGBSSIの品種間差異やその発現制御メカニズムの解析が重要と考えられる。なお、本章の結果から、アミロペクチンの分子構造は登熟期間温度によって変動することが明らかであり、系統の選抜や品種間差の評価には温度制御条件下での実施が必要と考えられる。

第5章 米澱粉のヨウ素吸収曲線による新食味評価法

第1節 緒言

第3章および第4章から、今後の良食味米の選抜には、アミロース含量だけでなくアミロペクチンの分子構造に着目した選抜の重要性を指摘した。特に、アミロペクチンLCを含まない品種や真のアミロース含量が低く登熟温度で鎖長分布が変動しにくい米の選抜が必要と考えられた。しかし、育種現場で実際に米澱粉の構造を調べて選抜することは困難であり、これに変わる簡便な選抜指標の策定が必要である。

オートアナライザーによるアミロース含量の測定は、Williamsら(1958)の方法をRobytと Bemis(1967)、Juliano(1971)が改良し、稲津(1982)が水稻良食味品種の育種における簡易迅速な分析方法として確立し、現在では一般に広く活用されている。この方法では、ヨウ素呈色反応を利用し米粉に含まれる胚乳澱粉のアミロースとヨウ素の複合体量を単一波長(620 nm)の吸光値により測定している。

しかし、この方法で測定されるアミロース含量は見かけのアミロース含量であることに注意する必要がある。Banksら(1974)、Julianoら(1981)は、ヨウ素呈色法によるアミロース含量の測定ではアミロペクチンによるヨウ素呈色の影響を受けることを指摘している。そのため、白石(1994)は測定波長をアミロペクチンの影響を受けない770 nmに設定することが望ましいと提唱している。しかし、770 nmの吸光度は低いので試料濃度を高める必要があり、実際にはアミロペクチンの吸収を除去することには限界があるとしている。

これまでに、ヨウ素呈色法を用いた簡易なアミロース含量の分析については多くの報告があり、山下ら(1994)は2波長測定法によりアミロースおよびアミロペクチンの定量を試み、米のアミロースとアミロペクチン含量が正確に分別定量できることを示した。しかし、米の品種が異なる場合、品種固有の等吸収点波長(試料の濃度を変えても吸光度が等しい波長)を測定に用いる必要があることを指摘している。深堀ら(1996)は、米のアミロースとアミロペクチンの等吸収点波長は、品種だけでなく生産年度によっても異なることを明らかにした。また、アミロースの分子量が小さいほど最大吸収波長、等吸収点波長ともに低くなることから、分子量によって呈色度が異なるアミロース含量を正確に測定することは、2波長測定法でも不可能であるとしている。一方、井ノ内ら(1996)はヨウ素吸収曲線の最大吸収波長と酵素-クロマト法によるアミロース含量より求めた回帰式によりアミロース含量を簡易に測

定できることを提唱している。これらの方法は、水稻育種における選抜に有効と考えられるが、水稻育種において効率的に活用するためには、ヨウ素吸収曲線の分析を自動化する必要がある。

一方、府県米よりもアミロース含量が高い北海道米のアミログラムの特徴は、最高粘度が低い、糊化開始温度が高い、セットバック(最終粘度-最低粘度)が高いことがあげられる(瀬戸と岡部, 1963)。RVAの熱糊化曲線は澱粉の糊化と糊の粘度を示し、加熱時の糊化性と冷却時の糊の物性が測定できる。一般に良食味米ほど最高粘度、ブレイクダウンが大きく、セットバックは小さい。大坪ら(2004)は、RVAの糊化特性値から米の物性および老化性を評価する装置を開発し、RVAの最高粘度、最低粘度、最終粘度から老化性指標(Retrogradation index, RI)の推定式を作成した。RVAの糊化特性値を得るためには、約3gの試料と20分程度の分析時間を要するが、より簡便に老化性指標(RI)を推定するため、オートアナライザーを活用してヨウ素吸収曲線の特性値から老化性指標(RI)およびセットバックを推定できれば、育種における利便性は高いと考えられる。

そこで、本章では、従来のオートアナライザーにヨウ素吸収曲線を自動測定できるマルチチャンネル検出器を備えた新たなオートアナライザーを開発した(五十嵐と上野, 2004c)。この装置を用いて、得られたマルチスペクトルを多変量データと見なして解析(ケモメトリックス手法)し、アミロースの分子量が最大吸収波長に及ぼす影響、登熟温度がヨウ素吸収曲線および熱糊化性に及ぼす影響を検討し、育種現場に活用できる簡易な老化性指標(RI)の推定法を検討した。

第2節 実験材料および方法

第1項 アミロース含量およびヨウ素吸収曲線の測定法

分析試料の調製は、玄米10gをパーレスト(Kett社製)で精白後、ブラベンダーテストミル(Brabender Quadrumat Jr. Mill)で製粉し、試料は50メッシュの篩に通し、分析まで4°Cで冷蔵保管した。アミロース含量およびヨウ素吸収曲線の測定は、米粉100 mgをエタノール1 mLと3%水酸化ナトリウム5 mLで浸漬し膨潤させ、この試料をオートアナライザー(ブランルーベ社製II型)に310 nm~1100 nm(有効波長400 nm~900 nm, 測定間隔3 nm)まで同時に測定できるMonolithic Miniature

Spectrometer (Zeiss社製) を接続した装置にかけ、1時間に20点のヨウ素吸収曲線を測定した。アミロース含量は、稲津 (1988) の方法に従い620 nmで比色定量した。また、ヨウ素吸収曲線はFig. V-1に示したように、600 nm付近をピークとする曲線であることから便宜的に600 nmで区分し、ピーク面積 ($\Sigma 400 \sim 900$ nm), 最大吸収波長 (λ_{max}), 400 nm~600 nmの吸光度の積算値 (Fr.I) と600 nm~900 nmの吸光度の積算値 (Fr.II) の比率 (ピーク面積比, Fr.I/II) を求めた。なお、澱粉の調製はアルカリ浸漬法で行った。

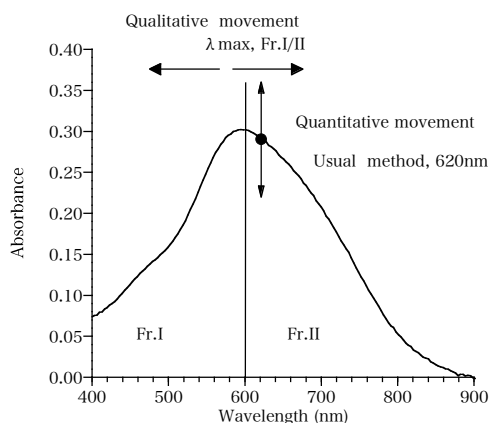


Fig. V-1. The conceptual drawing of iodine absorption curve of starch.

第2項 アミロースの分子量が最大吸収波長に及ぼす影響

合成直鎖状アミロースASシリーズ (株式会社中塾酢店), AS-30, 70, 110, 320, 1000を供試し、アミロースの分子量が最大吸収波長に及ぼす影響を調べた。供試した合成アミロースの数平均重合度は各々140, 430, 520, 2300, 4400である。また、重合度から推定される分子量は各々22680, 69660, 84240, 372600, 712800である。

第3項 アミロース濃度がヨウ素吸収曲線に及ぼす影響

供試品種は、1998年北海道立上川農業試験場 (北海道比布町) で収穫した「きらら397」, 「ほしのゆ

め」, 「彩」と市販の「あきたこまち」を用いた。アミロースとアミロペクチンの分別はSchochのブタノール法の改良法 (Takedaら, 1986) で行った。アミロースとアミロペクチンの合計濃度が0.2 mg/mLとなるように0.04 mg間隔で6段階に混合し、アミロースとアミロペクチンの濃度比が最大吸収波長に及ぼす影響を検討した。

第4項 多波長測定によるアミロース含量の推定精度

上記のアミロースとアミロペクチンの混合試料を用いて、多波長測定によるアミロース含量の推定精度を検討した。アミロース濃度は0.20, 0.16, 0.12, 0.08, 0.04, 0 mg/mLの6段階とし、0.20 mg/mLを100とした相対%で示した。従来の単一波長620 nmの吸光度、ヨウ素吸収曲線から求めた400 nmから900 nmの吸光度の積算値、522 nmと778 nmの吸光度の差 (山下ら, 1994) とアミロース濃度との相関分析と、ステップワイズ法で選択した595, 713, 716 nmの3波長を説明変数とした重回帰分析でアミロース濃度を評価し、それぞれの推定精度をRMSE (2乗平均平方根誤差) で比較した。

第5項 登熟期間温度がヨウ素吸収曲線および熱糊化性に及ぼす影響

登熟温度がヨウ素吸収曲線および熱糊化性に及ぼす影響を以下の試料を用いて検討した。供試品種は1998年北海道立上川農業試験場人工気象室で栽培した低アミロース変異 (*dull*) 系統 (以下 *dull* 品種と記す) 「彩」, 「上育433号」, 「空育164号」, 「渡育239号」, 「はなぶさ」, 粳品種「きらら397」, 「ほしのゆめ」である。登熟期間温度は、高温 (29/25°C (昼/夜)), 中温 (25/21°C), 低温 (21/17°C) の3段階で栽培した。

第6項 熱糊化性の測定と簡易な老化性指標の推定

RVA熱糊化特性値 (最高粘度, 最低粘度, 最終粘度, セットバック, ブレイクダウン) は豊島ら (1997) の方法に準じて測定した。熱糊化特性値とヨウ素吸収曲線特性値の相関分析を行い、ヨウ素吸収曲線による簡易な

Table V-1. Influence of molecular weight of amyloses on λ_{max} .

| | Molecular weight | DPn* | λ_{max} (nm) |
|---------|------------------|------|-------------------------|
| AS-30 | 22680 | 140 | 580 |
| AS-70 | 69660 | 430 | 597 |
| AS-110 | 84240 | 520 | 598 |
| AS-320 | 372600 | 2300 | 598 |
| AS-1000 | 712800 | 4400 | 597 |

*:Number-average degree of polymerization.

老化性指標の推定を試みた。

統計処理はJMP 5.1.2 (SAS Institute Inc.) を用いて行った。

第3節 実験結果

第1項 最大吸収波長に及ぼすアミロース分子量およびアミロペクチン濃度の影響

ヨウ素呈色反応の色調はα-1,4-グルカンの鎖長と関係があり、鎖長が長いほど青く呈色する (Swanson, 1948)。そこで、アミロースの分子量が最大吸収波長に及ぼす影響を検討した。最大吸収波長は、アミロースの分子量が最も小さいAS-30で最も短い580 nmで、分子量が約70,000 (AS-70) 以上ではいずれの分子量でも597~598 nmであった (Table V-1)。

次に、アミロースとアミロペクチンの混合比率が最大吸収波長に及ぼす品種間差の影響を「きらら397」, 「ほしのゆめ」, 「彩」, 「あきたこまち」を供試して検討した。この結果、最大吸収波長はいずれの品種でも579~594 nmの範囲でアミロース濃度と正の相関が認められた (Fig. V-2)。

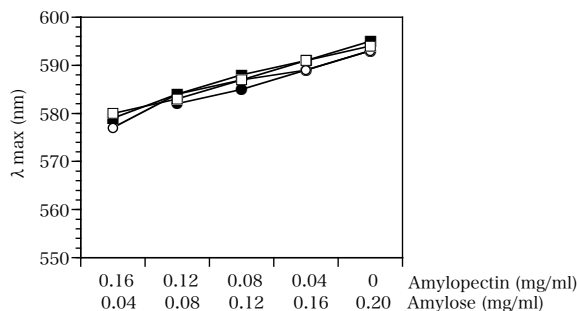


Fig. V-2. Influence of the concentration ratio of amylose and amylopectin on λ max.

●: Kirara397, ■: Aya, ○: Hoshinoyume and □: Akitakomachi.

第2項 多波長測定によるアミロース含量の測定精度の向上

アミロースとアミロペクチンを混合した4品種の試料を用いて、アミロース濃度を従来の単一波長620 nmの吸光度、ヨウ素吸収曲線から求めた400 nmから900 nmの吸光度の積算値、522 nmと778 nmの吸光度の差 (山下ら, 1994) とアミロース濃度との相関分析と、595, 713, 716 nmの3波長を説明変数とした重回帰分析でアミロース濃度を評価し、それぞれの推定精度をRMSE (2乗平均平方根誤差) で比較した (Fig. V-3)。この結果、いずれの方法も実用レベルの精度であったが、単

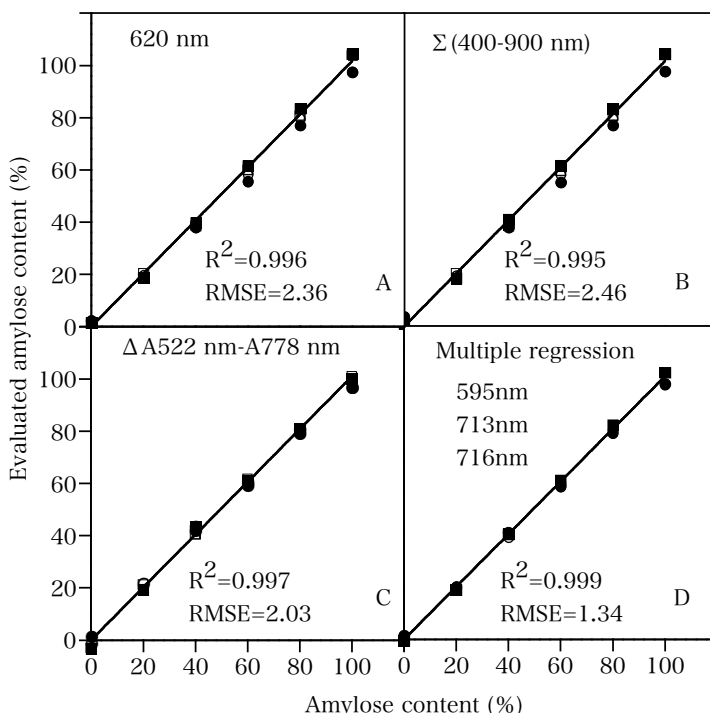


Fig. V-3. Evaluation of amylose content by multi spectrum measurement.

As for introductory remark the same as Fig. V-2. The amylose density made 6 phases of 0.20, 0.16, 0.12, 0.08, 0.04 and 0 mg/mL the relativity that designates 0.20 mg/mL as 100 %.

A; The absorbency of single wavelength 620 nm. B; Integrated value of the absorbency of 400 - 900 nm C; The difference of the absorbency of 522 nm and 778 nm. D; Multiple regression, which designates the absorbency in 3-wave length of 595, 713 and 716 nm as explanatory variable expression.

Table V-2. Influence of the temperature during grain filling on amylose content, iodine absorption curve characteristic value and RVA pasting properties.

| Cultivars | Temperature during grain filling ¹⁾ | Amylose ²⁾ | | Peak area | | | λ_{max} (nm) | Max. viscosity (RVU) | Min. viscosity (RVU) | Last. viscosity (RVU) | Setback (RVU) | Break down (RVU) | |
|-------------|--|-----------------------|------------|-------------------------------------|--------------------|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|---------------|------------------|---------|
| | | Rice flower (%) | Starch (%) | $\Sigma 400 \sim 900$ ³⁾ | Fr.I ⁴⁾ | Fr.II ⁵⁾ | | | | | | | Fr.I/II |
| Aya | High | 5.2 | 5.9 | 10.25 | 6.83 | 3.42 | 1.99 | 575.1 | 286 | 91 | 136 | 45 | 195 |
| | Middle | 10.5 | 12.0 | 17.66 | 10.12 | 7.54 | 1.34 | 589.3 | 269 | 91 | 136 | 45 | 178 |
| | Low | 18.0 | 20.6 | 28.03 | 14.82 | 13.22 | 1.12 | 591.0 | 216 | 97 | 157 | 60 | 119 |
| Jouiku 433 | High | 4.3 | 4.9 | 9.14 | 6.36 | 2.77 | 2.29 | 563.9 | 327 | 94 | 140 | 46 | 233 |
| | Middle | 7.6 | 9.5 | 14.37 | 8.80 | 5.58 | 1.58 | 581.2 | 275 | 89 | 133 | 44 | 186 |
| | Low | 14.4 | 17.7 | 24.18 | 13.16 | 11.02 | 1.19 | 588.6 | 251 | 95 | 139 | 44 | 156 |
| Kuiku 164 | High | 5.1 | 6.3 | 10.61 | 7.06 | 3.55 | 1.99 | 572.2 | 302 | 93 | 138 | 45 | 209 |
| | Middle | 9.7 | 10.4 | 16.23 | 9.54 | 6.69 | 1.43 | 585.7 | 279 | 94 | 138 | 44 | 185 |
| | Low | 15.9 | 19.8 | 26.18 | 13.97 | 12.21 | 1.14 | 589.4 | 224 | 87 | 136 | 49 | 137 |
| Toiku 239 | High | 4.6 | 5.8 | 10.21 | 7.05 | 3.16 | 2.23 | 568.4 | 306 | 96 | 136 | 40 | 210 |
| | Middle | 9.2 | 11.2 | 16.45 | 9.67 | 6.78 | 1.43 | 584.1 | 289 | 94 | 139 | 45 | 195 |
| | Low | 15.8 | 20.3 | 26.70 | 14.43 | 12.27 | 1.18 | 586.8 | 238 | 93 | 146 | 53 | 145 |
| Hanabusa | High | 4.9 | 5.6 | 10.04 | 6.83 | 3.21 | 2.13 | 568.4 | 312 | 93 | 140 | 47 | 219 |
| | Middle | 8.5 | 10.5 | 15.81 | 9.58 | 6.23 | 1.54 | 579.6 | 274 | 92 | 138 | 46 | 182 |
| | Low | 14.2 | 17.6 | 23.78 | 13.10 | 10.68 | 1.23 | 585.6 | 238 | 93 | 143 | 50 | 145 |
| Kirara 397 | High | 14.7 | 16.4 | 27.00 | 14.46 | 12.54 | 1.15 | 589.8 | 261 | 104 | 166 | 62 | 157 |
| | Middle | 18.2 | 21.3 | 28.24 | 14.73 | 13.52 | 1.09 | 592.5 | 240 | 98 | 163 | 65 | 142 |
| | Low | 21.7 | 25.8 | 33.52 | 17.14 | 16.38 | 1.05 | 593.3 | 193 | 101 | 178 | 77 | 92 |
| Hoshinoyume | High | 15.3 | 17.3 | 23.83 | 12.87 | 10.97 | 1.17 | 588.6 | 276 | 105 | 176 | 71 | 171 |
| | Middle | 18.8 | 21.7 | 28.94 | 15.06 | 13.88 | 1.08 | 593.0 | 236 | 101 | 170 | 69 | 135 |
| | Low | 21.4 | 24.9 | 32.75 | 16.93 | 15.82 | 1.07 | 592.4 | 201 | 102 | 181 | 79 | 99 |

1) High temperature = 29°C/22°C (day/night), middle temperature = 25°C/18°C and low temperature = 21°C/14°C.

2) The amylose content was determined by an auto-analyzer at the absorbance of 620 nm.

3) Integrated value of the absorbency of 400 - 900 nm, 4) Integrated value of the absorbency of 400 - 600 nm, 5) Integrated value of the absorbency of 600 - 900 nm.

Table V-3. Coefficient of correlation with set back and iodine absorption curve characteristic value (n=21).

| | Amylose | Σ400~900 | Peak area | | | λmax | Setback |
|----------|---------|----------|-----------|--------|---------|-------|---------|
| | | | Fr.I | Fr.II | Fr.I/II | | |
| Amylose | | *** | *** | *** | *** | *** | *** |
| Σ400-900 | 0.994 | | *** | *** | *** | *** | *** |
| Fr.I | 0.991 | 1.000 | | *** | *** | *** | *** |
| Fr.II | 0.996 | 1.000 | 0.999 | | *** | *** | *** |
| Fr.I/II | -0.915 | -0.922 | -0.922 | -0.921 | | *** | ** |
| λmax | 0.902 | 0.901 | 0.897 | 0.903 | -0.983 | | ** |
| Setback | 0.832 | 0.809 | 0.801 | 0.816 | -0.638 | 0.642 | |

***, ** Significant at 0.1 % and 1 %, respectively.

一波長620 nmの吸光度と400 nmから900 nmの吸光度の積算値では、品種により若干の誤差がありRMSEがやや大きかった。一方、522 nmと778 nmの吸光度の差ではRMSEが小さく、さらに、重回帰式では最もRMSEが小さかった。このことから、522 nmと778 nmの吸光度の差や重回帰式を用いた方法は、従来の単一波長620 nmで測定する方法に比べて高い精度で測定できた。

第3項 登熟期間温度がアミロース含量、ヨウ素吸収曲線特性値およびRVA熱糊化特性に及ぼす影響

登熟期間温度がアミロース含量、ヨウ素吸収曲線特性値およびRVA熱糊化特性に及ぼす影響を検討した (Table V-2)。米粉および澱粉のアミロース含量は、いずれの品種とも登熟温度が高いほど低かった。米粉のまま測定したアミロース含量と米粉から抽出した澱粉で測定したアミロース含量を比較すると、米粉よりも澱粉で測定したアミロース含量の方が高かった。すなわち、アミロース含量は測定する試料の性状により異なった。また、米粉と澱粉のアミロース含量の差はアミロース含量が高いほど大きかった (Table V-2)。ヨウ素吸収曲線のピーク面積 (Σ400~900)、Fr.I (400 nm~600 nmの吸光度の積算値) およびFr.II (600 nm~900 nmの吸光度の積算値) は登熟期間温度が高いほど小さかった。一方、ピーク面積比Fr.I/IIは登熟期間温度が高いほど大きく、最大吸収波長 (λmax) は登熟期間温度が高いほど短かった。また、粳品種の「きらら397」に比べてdull品種 (彩, 上育433号, 空育164号, 渡育239号, はなぶさ) は登熟期間温度によるヨウ素吸収曲線の変動が大きかった。最大吸収波長の品種と系統間の差は低温区では小さかったが、高温区ではその差が明瞭となり、上育433号<渡育239号=はなぶさ<空育164号<彩の順に最大吸収波長が長かった (Fig. V-4)。このことから、これらdull品種は粳品種に比べてλmaxの温度反応

性が大きいことが明らかとなった。

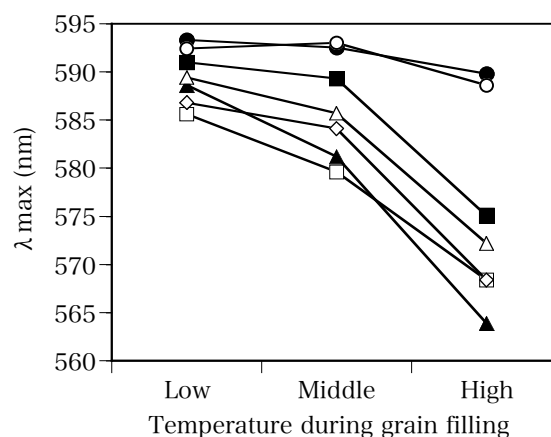


Fig. V-4. Influence of the temperature during grain filling on λmax.

●: Kirara397, ○: Hoshinoyume, ■: Aya, □: Hanabusa, ▲: Jouiku433, △: Kuiku164 and ◇: Toiku239.

RVA熱糊化特性値は、いずれの品種と系統も登熟期間温度が高いと最高粘度、ブレイクダウンが大きくなったが、最低粘度および最終粘度に明瞭な差は認められなかった。一方、dull品種のセットバックは粳品種に比べて小さく、登熟期間温度による差も小さかった。

第4項 老化性指標 (RI) の簡便推定法の検討

Table V-2に示した登熟期間温度の異なる試料を用いて、ヨウ素吸収曲線の特性値とセットバックの相関を検討した。ヨウ素吸収曲線から得られたアミロース含量、ピーク面積、ピーク面積比Fr.I/II、最大吸収波長とセットバックの相関関係をTable V-3に示した。

セットバックはアミロース含量 (r = 0.832)、Σ400~900 (r = 0.809)、Fr.I (r = 0.801)、Fr.II (r = 0.816) と1%水準の高い正の相関が、最大吸収波長 (r = 0.642)と5%水準の正の相関が認められた。一方、ピーク面積比Fr.I/II

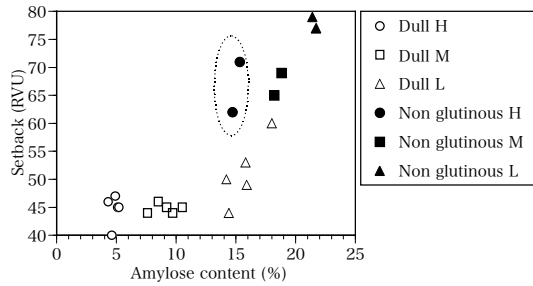


Fig. V-5. Relation between apparent amylose content and setback.
Dull: Aya, Jouiku433, Kuiku164, Toiku239 and Hanabusa. Non glutinous rice: Kirara397 and Hoshinoyume.
H: 29/25°C, M: 25/21°C and L: 21/17°C. Dotted circle is non glutinous rice of the high temperature district.

($r = 0.638$) とは5%水準で負の相関が認められた。アミロース含量とセットバックの関係を図Fig. V-5に示した。

セットバックはアミロース含量が15%以上の範囲では、点線で示した粳高温区の試料を除き、直線的に増加したのに対して、15%未満ではほぼ一定であった。ただし、点線で囲んだ粳高温区の試料では、アミロース含量がdull品種の低温区と同程度であってもセットバックに差が認められ、アミロース含量だけでセットバックを評価できるとは言えなかった。次に、ピーク面積比Fr.I/IIとセットバックの関係をFig. V-6に示した。

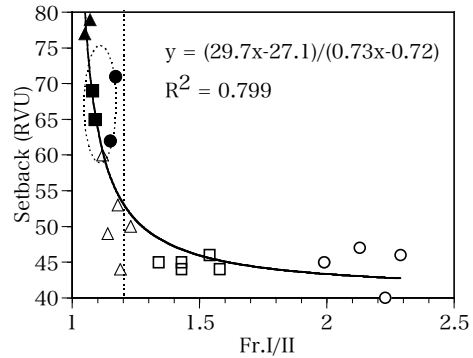


Fig. V-6. Relationship of Fr.I/II to setback.
As for introductory remark in figure the same as Fig. V-5. The plots of surrounded by dotted line are non glutinous rice high temperature district.

する指標としてピーク面積比Fr.I/IIを採用した。また、ピーク面積比Fr.I/II (X) とセットバック (Y) には $Y = (aX + b)/(cX + d)$ の関係が良く適合し、 $Y = (29.7X - 27.1)/(0.73X - 0.72)$ ($R^2 = 0.799$) の回帰式を得た (Fig. V-6)。また、セットバックと大坪ら (2004) の老化性指標 (RI) との間には高い正の相関 ($r = 0.973^{***}$, $n = 21$) があることを認めた (Fig. V-7)。さらに、ピーク面積比Fr.I/IIと老化性指標 (RI) の関係から、 $Y = (221.5X - 180)/(126.0X - 120.4)$ ($R^2 = 0.905$) の回帰式を得た (Fig. V-7)。

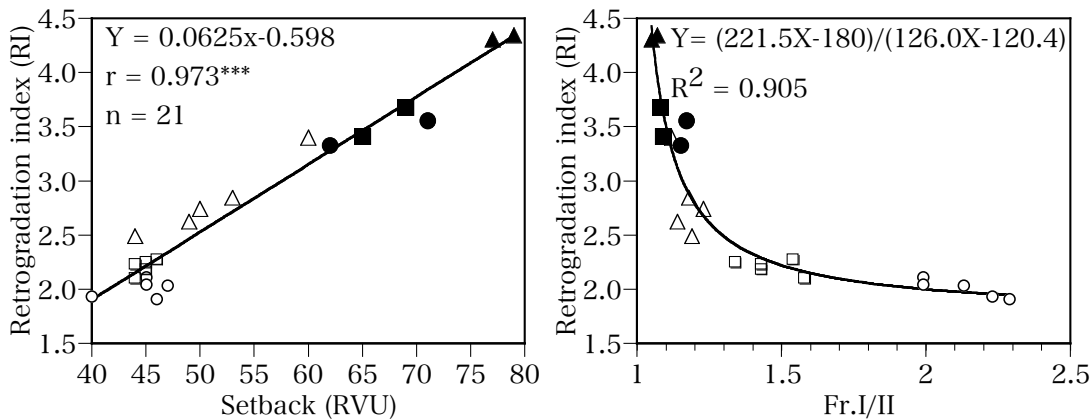


Fig. V-7. Relationship of setback to Fr.I/II against the retrogradation index (RI).

As for introductory remark in figure the same as Fig. V-5.

The retrogradation index (RI) = $(-0.105 - 0.0081 \times \text{maximum viscosity}) - (0.0025 \times \text{minimum viscosity}) + (0.035 \times \text{final viscosity})$ (Ootsubo et al., 2004).

セットバックはピーク面積比Fr.I/IIが1.25以下では直線的に増加し、1.25以上ではほぼ一定に推移した。また、Fig. V-5において点線で示した粳高温区の試料もほぼこの回帰線上に近似していた。また、アミロース含量では品種間差が不明瞭であったdull品種の高温区について、ピーク面積比Fr.I/IIでは品種間差が明瞭であり、微細な違いを評価できることが示唆された。したがって、ヨウ素吸収曲線の特性値からセットバックを推定

第4節 考察

本研究では、従来のアミロース分析用オートアナライザーに307 nm~1140 nmまで3 nm間隔の256波長を瞬時に測定できるMonolithic Miniature Spectrometer (ドイツZEISS社製) を接続し、1時間に20点のヨウ素吸収曲線を自動測定できる装置と分析項目の出力プログラム

を開発した。この装置は、従来の620nm単一波長の検出器と置き換えるだけで利用できる。

アミロースの分子量が最大吸収波長に及ぼす影響を検討した結果、分子量が70000以上では波長はほぼ一定で約598 nmであった。吉尾 (1997) の報告によれば、国内産米のアミロースの数平均重合度は630~1421 (分子量102060~230202) である。したがって、米を分析する場合アミロースの分子量が最大吸収波長に及ぼす影響は少ないと考えられる。なお、アミロペクチンLCの影響については未検討であるがアミロペクチンLCが多い程、最大吸収波長の値は大きくなると推察される。Chinnaswamy と Bhattacharya (1986) は、最大吸収波長はアミロースとアミロペクチンの混合比率と相関があり、アミロペクチンの濃度が高いほど最大吸収波長は短いことを明らかにしている。本報告においても、同じ傾向が認められた。すなわち、アミロペクチン分子はアミロースに比べて α -1,4-グルカンの直鎖状分子が短く、最大吸収波長が短いため、アミロペクチンの濃度が高いほど最大吸収波長が短く、また、同時にアミロース濃度が低くなるため、アミロースとヨウ素の結合量が少なくなり長波長側へシフトする力が弱くなったためと推察される。このため、最大吸収波長を測定することにより、アミロース含量とアミロペクチン含量の推定が可能と考えられる。また、アミロース含量の検量線を従来の単一波長 (620 nm)、400~900 nmの吸光度の積算値、522 nmと778 nmの吸光度の差、および595, 713, 716 nmの3波長で作成した重回帰式について比較検討した。いずれの検量線も実用レベルの精度であったが、単一波長よりも2波長の吸光度の差や重回帰式を用いた方法は高い精度で測定できた。ヨウ素呈色法による単一波長を用いた方法でも十分実用的な精度であるが、井ノ内ら (1996) はヨウ素吸収曲線の青価 (680 nmの吸光度) と酵素-クロマト法によるアミロース含量の関係から、amylose extender (ae) 遺伝子を有する試料では、回帰直線から大きく外れることを報告し、ヨウ素吸収曲線の最大吸収波長と酵素-クロマト法によるアミロース含量より求めた回帰式によりアミロース含量を簡易に測定できることを提唱している。したがって、新たな加工適性を備えた素材の探索などにおいてヨウ素吸収曲線を解析する場合、多波長解析が可能な本装置は有効と考えられる。

次に、簡便な老化性指標 (RI) を得るため、ピーク面積比Fr.I/IIとセットバック (最終粘度-最低粘度) の関係を検討した。セットバックはピーク面積比Fr.I/IIが1.25未満では急激に増加するが、1.25以上ではほぼ一定であった。また、ピーク面積比Fr.I/IIとセットバックの関

係から、 $Y = (29.7X - 27.1) / (0.73X - 0.72)$ ($R^2 = 0.799$) の回帰式を得た。これにより、ピーク面積比Fr.I/IIを測定するだけで、セットバックの推定が可能となった。また、セットバックと大坪ら (2004) の老化性指標 (RI) との間には高い正の相関 ($r = 0.973^{***}$, $n = 21$) があることを認めた (Fig. V-7)。さらに、ピーク面積比Fr.I/IIと老化性指標 (RI) の関係から、 $Y = (221.5X - 180) / (126.0X - 120.4)$ ($R^2 = 0.905$) の回帰式を得た (Fig. V-7)。したがって、老化性指標 (RI) の推定法としてピーク面積比Fr.I/IIが有効と判断した。なお、本試験ではジャポニカ品種のみで評価したので、インディカ品種の適応については今後の課題である。

以上のことから、本方法は従来のオートアナライザーによるアミロース含量の分析方法と全く同じ操作でヨウ素吸収曲線を自動測定できる初めての方法であり、アミロース含量、井ノ内ら (1996) の最大吸収波長、山下ら (1994) の二波長測定法に加え、ヨウ素吸収曲線のピーク面積、ピーク面積比Fr.I/II、最大吸収波長の測定をすべて同時に行うことによって、多次元解析が可能となった。今後、テクスチャーなど物理的特性値や食味総合値の予測などに応用できる可能性があり、良食味米育種における効率的な選抜に利用できる。

一方、ヨウ素親和力の高いアミロペクチンにはアミロペクチンLCがあり (Takedaら, 1987)、アミロペクチンLCが多い品種ほど米飯は硬く、付着性と粘着力が弱いことが知られている。また、アミロペクチンLC含量とRVAにおけるブレイクダウンの間には負の相関が認められ、澱粉粒の崩壊性にアミロペクチンLCが関与している (水上と竹田, 2000)。さらに、Inouchiら (2005) はRVAのセットバックとアミロペクチンLC含量の間には正の有意な相関を認めている。これらのことから、従来、ヨウ素呈色法でアミロース含量が高く食味が劣ると推定された品種には、アミロペクチンLCの影響を受けている可能性がある。これまで北海道米はアミロース含量を指標として選抜を進めてきたが、同一アミロース含量であっても物性や食味特性が異なる事例が散見されてきた。すでに、第3章に示したように北海道米にもアミロペクチンLCが存在することから、同一アミロース含量であっても物性や食味特性が異なる要因の一つとしてアミロース含量に含まれるアミロペクチンLCの影響をが考えられる。また、国外においても最近の米品質の研究はアミロースからアミロペクチンへの転換が図られており、炊飯米のテクスチャーはアミロペクチンの分子構造と関係があると考えられている

(Reddyら, 1993), HanとHamaker (2001) はRVAのブレイクダウンとアミロペクチン長鎖画分の間には負の相関関係が, アミロペクチン短鎖画分とは正の相関関係があることを明らかにしている. したがって, さらなる食味向上を目指した高度な育種選抜を行うためには, アミロペクチンLCの量を考慮するなど, アミロペクチンの分子構造に着目した選抜手法の確立が重要である. そのため, 今後, 簡易・迅速なアミロペクチンLC含量の測定法の開発が必要である.

第6章 アミロペクチン単位鎖長分布による餅硬化性の評価

第1節 緒言

餅は日本の伝統的食品であり、お祝い事や伝統行事には欠かせないものである。近年、家庭内で餅を搗いて食べる習慣は減少している一方、スーパーマーケット、コンビニエンスストアなどでは年中、餅、赤飯、おこわなどの製品が販売されている。すなわち、糯米は一般家庭よりも米飯加工企業の利用が多くなっている。このため、糯米は食品工業製品の原料として、製品に適合した加工適正が求められている(平山, 2001)。糯米を利用した製品は餅、おかき、もち粉、おこわ、みりん等が挙げられ、これらの用途別に原料に求められる特性が異なる(平田, 1997)。

わが国における糯米生産量は309,700t(2007年度)で、この内の40,000 tが北海道で生産されている。北海道における糯米品種の作付面積は8,220 haである。その約7割を「はくちょうもち」が占めている。同品種に代表される北海道の糯米は、餅生地硬化が起りにくく、加工直後の柔らかさと粘りが長時間維持される特徴がある。このため、その6割が赤飯やおこわなどの主食用として利用されている。しかし、主食用の需要は最近横ばいで推移しており、北海道糯米の販売実績の伸びは滞り、米価は下落している。

一方、加工用途向けの糯米には、硬化速度が速いものが求められる。餅生地の硬化速度は糊化開始温度と高い相関関係があることが知られており(斉藤, 1987; 柳瀬ら, 1982; 深井と松澤, 1998)、餅生地の硬化速度は餅の製造コストに関わるとともに、製品の食感や加工形態を左右する重要な特性である(斉藤, 1987; 柳瀬ら, 1982)。したがって、実需者から硬化性の高い品種が評価されており、中でも、府県産の「こがねもち」は高値で取引されている。

このような状況から、北海道では餅加工に適した餅生地の硬化性が高い品種の速やかな育成が求められている。品種の早期育成には、育種の初期段階において個体レベルの加工特性に関する検定が不可欠である。しかし、従来の硬化性選抜法は餅生地を直接供試するため、その調製に時間と手間がかかり、育種の初期段階から多くの系統を検定し選抜することは困難であった。餅硬化性は品種固有の安定した遺伝形質であり、餅硬化性の選抜は雑種集団の最初の個体選抜時がきわめて有効である。したがって、餅生地を作ることなく、食味や硬化性が推定できるようになれば、糯米品種育成の効率は著しく向上すると考えられている(小林

ら, 1999)。

石崎(1994)は餅生地の少量簡易検定法を確立し、餅硬化性の品種間差(石崎ら, 1995)を明らかにしている。最近では硬化性に関与している熱糊化特性値から育種素材の硬化性を推定する試みがなされている。すなわち、餅硬化性はRVAで測定した糊化開始温度(柳原, 2002; 佐藤ら, 2005; 岡本と根本, 1998; 杉浦ら, 2005)、ピーク温度(柳原, 2002; 佐藤ら, 2005; 杉浦ら, 2005)、最低粘度(柳原, 2002; 佐藤ら, 2005)、最終粘度(柳原, 2002; 佐藤ら, 2005)およびセットバック(佐藤ら, 2005)と正の相関関係にあり、ブレイクダウンと負の相関関係(佐藤ら, 2005)にあることから、糊化開始温度およびピーク温度は餅硬化性の選抜指標となるとしている(杉浦ら, 2005)。他方、辻ら(1995)は、より少ない試料で簡便に評価できるように、オートアナライザー法を利用したヨウ素呈色度から、餅生地の硬化性の評価が可能であるとしている。

このように餅生地の硬化性は澱粉の物理化学的特性と密接な関係が認められており、糯米の主成分であるアミロペクチンの分子構造が関係していることは容易に想像できる。これまでに、糯米のアミロペクチンの分子構造と物理化学的特性の関係について多くの報告がある(Suzukiら, 2006; 江川と吉井, 1990; 佐藤と笈田, 1997)が、アミロペクチンの分子構造から餅硬化性を推定し、糯米の用途を判別する指標は明らかにされていない。アミロペクチンの分子構造から餅硬化性を評価できれば、糯米育種において餅生地を調製することなく選抜が可能となる。また、鎖長分布から物理的特性および餅硬化性の改善方向が検討できる。さらに、澱粉合成酵素の発現を制御する遺伝子の導入など交配目標が明確となり育種の効率化に寄与できると考えられる。

そこで本章では、アミロペクチン単位鎖長分布を活用した餅硬化性の推定方法の検討を行うとともに、糯米育種に活用することを目的にした少量の糯米試料による餅硬化性評価手法の確立を試みた。

第2節 実験材料および方法

第1項 供試品種

2003年の北海道産「はくちょうもち」、「風の子もち」、育成系統AC糯02082(AG82)、上育糯451号(JG451)、北海糯290号(HG290)、宮城県産「こがねもち」(一般的に宮城県産「こがねもち」を「みやこがね

もち」と呼ぶが同一品種)、「ヒメノモチ」、青森県産「アネコモチ」、「ユキミモチ」および佐賀県産「ヒヨクモチ」の計10品種を供試した。

第2項 餅生地ダレ具合の測定法

餅生地ダレ具合の測定は餅生地の自重によるたわみ角度から求める方法(江川と吉井, 1990; 有坂ら, 1988)に従った。供試品種は「こがねもち」「ヒヨクモチ」「はくちょうもち」を用いて餅生地を調製した。実験用の餅の調製は糯米1kgを洗米し、15時間浸漬した後、ざるにあげ30分間水を切り、電気餅つき機(東芝AFC-166)で蒸し時間24分、餅つき時間15分で行った。次に、餅生地の調製は搗きあがった餅を取り出し餅型(長さ50cm, 厚さ1.5cm, 幅5cm)に入れ、ビニール袋で包み、5°Cの冷室に貯蔵した。これを24時間後に、餅生地中央部をつらし、ダレ具合を比較した。

第3項 アミロペクチン単位鎖長分布の分析法

アミロペクチンの単位鎖長分布の分析は第3章第2節第5項と同様に行った。1試料 3反復で行った。また、各DPにおける相対面積は、滞留時間とDPに指数関数($Y = b \times \exp(-a \times X)$)を適合($R^2 = 0.998$)し、滞留時間から推定したDP毎に算出した。

第4項 餅生地の調製

餅生地の調製方法は、100 mL容採土管(内径5 cm×高さ5.1 cm)に日本理化学機器製ナイロンネット(38-GC)を取付け作成した小型蒸籠に生米8gを品種別に16~24時間吸水させ、30分間の水切り後、深型ホットプレート(象印製電気式深型グリル鍋: EP-JY45)で、ステンレスリング(直径26.5 cm×高さ4 cm)の上に直径27 cmのステンレス金網を置き、その上に小型蒸籠を並べ30分蒸した。なお、蒸煮は水量1.5 Lとし、蒸煮開始前に目盛210°Cで充分沸騰させ、蒸煮中は140°Cで弱い沸騰条件を維持して行った。差し水量は蒸煮開始20分後に冷水を4 mL加えた。蒸煮後の試料は、試験用小型餅つき機(応用栄養学食品研究所製ミニウサギ)で8分間餅搗きを行った。次に、搗きあがった餅はセロハン紙を敷いた高さ7 mmのシャーレに餅を入れ、その上にセロハン紙を被せ、餅生地の厚さを均一にするため重石を乗せた状態で5°Cの冷室で保存した。

第5項 硬化性の測定法

調製した餅生地は一定時間(2, 24, 48時間)冷蔵後、測定面のセロハンをはがし、テクスチャアナライザー(SMS社製TA-XT2i)で硬化性(単位g)を測定した。測定はφ2 mmのプランジャーを用い、2×2cm四方

に調製した生地の真ん中を測定スピード2 mm/secで3 mm貫入させた。この際の貫入抵抗を硬化性(重さ単位g)とした。なお、2時間後の硬化性は高さ7 mmのシャーレで成型したままの形で測定した。硬化速度は、餅つき後の経過時間(X)と餅生地硬度(Y)に指数関数 $Y = b \times \exp(a \times X)$ をあてはめ、その回帰係数aとした。bは品種固有の餅つき直後の硬さを示す。

第6項 RVAによる熱糊化性の測定法

玄米を小型精米機パーレスト(kett)で90%に搗精し、これをブラベンダー社テストミルで微粉砕し50meshのふるいを通させ得られた白米粉をRVA(RVA-3D, Newport Scientific Pty. Ltd., Australia)に供試した。また、澱粉は90%搗精後の白米からアルカリ浸漬法で調製した。RVA測定条件:試料量4 g(乾物), 0.04%硫酸銅水溶液25 mL添加し、初期温度30°C, 昇温速度6.5°C/min, 95°C3分保持で測定した。

第7項 糯玄米1粒によるアミロペクチン単位鎖長分布の分析

糯玄米1粒を半分切断し、それぞれの断片を試験管に入れジメチルスルホキシドを1 mL加え、ウオーターバス中にて97°Cで3時間加熱し、ガラス棒で玄米を押しつぶし、種皮と胚乳を分離し種皮を取り除いた。次に、これを遠心分離(2500 rpm×10 min)後、上澄みを回収しエタノールを3 mL加え水中で冷却し、沈殿したアミロペクチンを遠心分離(2500 rpm×10 min)により回収し試料とした。アミロペクチンの単位鎖長分布の分析は第3項と同様に行った。

第3節 実験結果

第1項 餅生地の硬化性とアミロペクチン単位鎖長分布

餅生地の自重によるたわみ角度から調べた餅生地の硬化性は、「はくちょうもち」が最も低く、「ヒヨクモチ」は中程度、「こがねもち」は最も高かった(Fig. VI-1左)。次に、これら3品種の澱粉をイソアミラーゼで枝切りしたアミロペクチン単位鎖長分布を調べた。いずれの品種ともアミロペクチン短鎖と長鎖からなる2つの明確なピークが認められた(Fig. VI-1右)。各々のピーク重合度は、数(モル)分布でDP13とDP40~41、重量分布でDP16とDP41~42、DP21にショルダーを有する類似した分布を示した。また、Fig. VI-1に示したようにアミロペクチンA+B1画分とB2+B3画分に相当する画分に分画し、数(モル)分布の各画分の割合とアミロペクチン短鎖と長鎖のモル比(A+B1)/(B2+B3)の品種間差を調べた(Table VI-1)。アミロペクチンA+B1画

分の割合は5%水準で有意な品種間差が認められ, Fig. VI-1の写真に示した硬化性の高い品種(こがねもち)は少なく, 硬化性の低い品種(はくちょうもち)は多かった. B2+B3画分の割合も5%水準で有意な品種間差が認められ, 硬化性の高い品種ほど多く, 硬化性の低い品種ほど少なかった. また, アミロペクチン短鎖と長鎖のモル比(A+B1)/(B2+B3)も5%水準で有意な品種間差が認められ, 硬化性の高い品種ほど小さかった. アミロペクチン短鎖と長鎖のモル比(A+B1)/(B2+B3)はアミロペクチンの1つのクラスターを構成する鎖の数に相当する(TakedaとHanashiro, 2003)ことから, 硬化性の高い品種はアミロペクチンの1つのクラスターを構成する鎖の数が少ないことが明らかとなった.

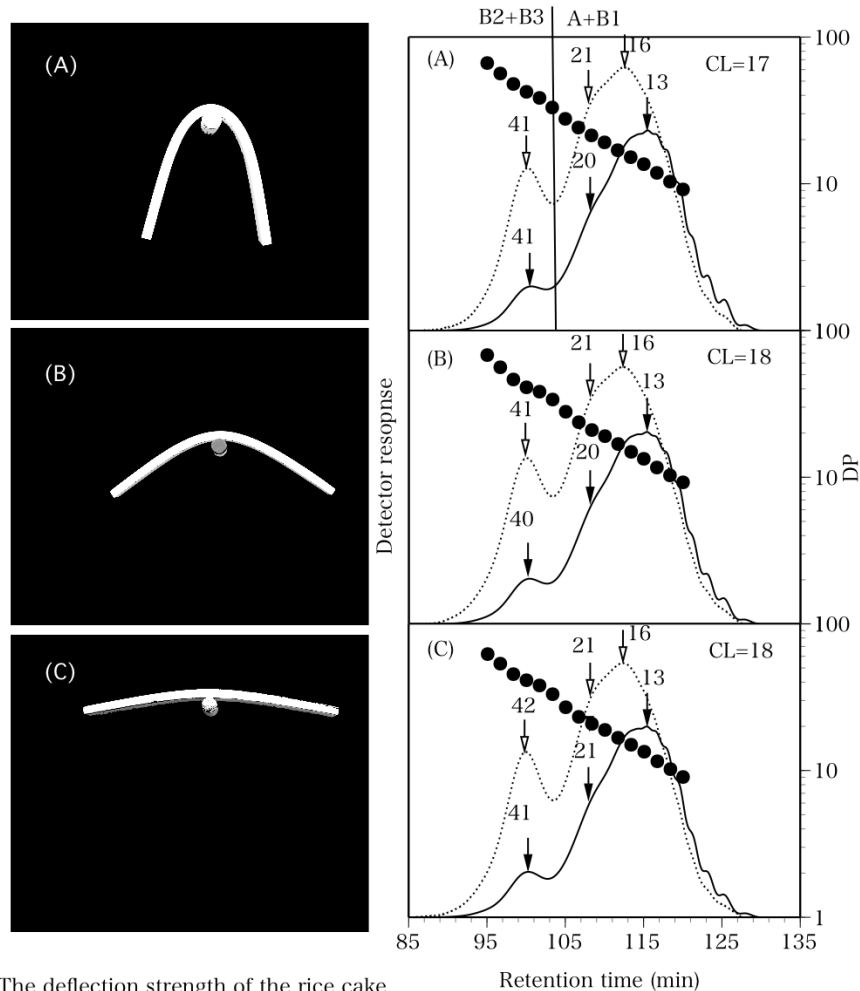
これらのことから, アミロペクチンの分子構造には5%水準で品種間差が認められ, アミロペクチンのクラ

スターのわずかな構造の違いが, 餅生地 の物性に大きく影響していることが示唆された.

なお, Table VI-1と同様に, 重量分布についてTable VI-2に示したが, 重量分布のアミロペクチンA+B1画分の割合は, 75.0~78.1%に分布し数(モル)分布に比べて標準偏差が大きく, 品種間差は判然としなかった. 同様に, B2+B3画分の割合およびアミロペクチン短鎖と長鎖の重量比(A+B1)/(B2+B3)についても数(モル)分布に比べて品種間差は判然としなかった.

第2項 硬化性が異なる品種のアミロペクチン単位鎖長分布

硬化性の高い「こがねもち」と硬化性が低い「はくちょうもち」のアミロペクチン単位鎖長分布を比較



The deflection strength of the rice cake material

Fig. VI-1. Deflection strength of the rice cake material and the unit-chain distribution of amylopectin.

(A), Hakuchoumochi; (B), Hiyokumochi; (C), Koganemochi. Symbols: solid line, molar basis; dash, weight basis; ●, DP; figures with arrow, DP; CL, average chain length of amylopectin.

し、アミロペクチンの分子構造の差異を明らかにしようとした。一般にアミロペクチン単位鎖長分布の比較には高性能陰イオンクロマトグラフィー (HPAEC-PAD) が用いられているが、ここでは、機器価格が安価な手法である蛍光標識ゲル濾過HPLC法により得られた数 (モル) 分布から、上述の方法により算出した各DPにおけるモルベースの相対面積で比較することを試みた。蛍光標識ゲル濾過HPLC法では、還元性末端基あたりの感度が同じであるので定量的に評価でき、重量分布と数 (モル) 分布を同時に測定できるメリットがある。各DP (6~60) における数 (モル) 分布のエリア面積を積算

し、モルベースの鎖長分布を求め、硬化性の異なる「こがねもち」と「はくちょうもち」のアミロペクチン単位鎖長分布の差を調べた (Fig. VI-2)。その結果、「はくちょうもち」は「こがねもち」に比較して、DP10以下の短鎖とDP23~34の割合が多く、DP11~22とDP35以上が少ないことが認められた。

第3項 アミロペクチン単位鎖長分布と硬化速度およびRVAの糊化開始温度との関係

餅生地硬化性を調べるには分析に供する少量の餅生地を調製する必要があるが、最近では、餅つき機の

Table VI-1. Molar distributions of unit chains of amylopectins.

| Cultivar | n | Amount in molar (%) | | Ratio |
|---------------|---|------------------------|-----------------------|--------------------------|
| | | (A+B1) | (B2+B3) | $\frac{(A+B1)}{(B2+B3)}$ |
| | | Mean±SD | Mean±SD | Mean±SD |
| Koganemochi | 3 | 91.0±0.1 ^d | 9.0±0.1 ^a | 10.1±0.0 ^d |
| Himenomochi | 3 | 91.3±0.2 ^{cd} | 8.7±0.2 ^{ab} | 10.5±0.2 ^{cd} |
| AG82 | 3 | 91.4±0.3 ^{cd} | 8.6±0.3 ^{ab} | 10.6±0.3 ^{cd} |
| Hiyokumochi | 3 | 91.4±0.0 ^c | 8.6±0.0 ^{ab} | 10.6±0.0 ^{cd} |
| HG290 | 3 | 91.5±0.3 ^c | 8.5±0.3 ^b | 10.7±0.3 ^c |
| Anekomochi | 3 | 91.5±0.0 ^c | 8.5±0.0 ^b | 10.8±0.0 ^c |
| JG451 | 3 | 91.6±0.1 ^c | 8.4±0.1 ^b | 10.8±0.1 ^c |
| Yukimimochi | 3 | 91.7±0.2 ^{bc} | 8.3±0.2 ^{bc} | 11.0±0.2 ^{bc} |
| Kazenokomochi | 3 | 92.0±0.2 ^{ab} | 8.0±0.2 ^{cd} | 11.5±0.2 ^{ab} |
| Hakuchomochi | 3 | 92.1±0.1 ^a | 7.9±0.1 ^d | 11.7±0.1 ^a |

Letters a, b, c, d show significant difference in the level of the property ($p < 0.05$) by Tukey Kramer HSD.

SD is standard deviation.

Table VI-2. Weight distributions of unit chains of amylopectins.

| Cultivar | n | Amount in weight (%) | | Ratio |
|---------------|---|------------------------|------------------------|--------------------------|
| | | (A+B1) | (B2+B3) | $\frac{(A+B1)}{(B2+B3)}$ |
| | | Mean±SD | Mean±SD | Mean±SD |
| Koganemochi | 3 | 75.8±0.4 ^{ab} | 24.2±0.4 ^{ab} | 3.1±0.1 ^{ab} |
| Himenomochi | 3 | 76.3±0.7 ^{ab} | 23.7±0.7 ^{ab} | 3.2±0.1 ^{ab} |
| AG82 | 3 | 77.5±1.6 ^{ab} | 22.5±1.6 ^{ab} | 3.5±0.3 ^{ab} |
| Hiyokumochi | 3 | 76.6±0.1 ^{ab} | 23.4±0.1 ^{ab} | 3.3±0.0 ^{ab} |
| HG290 | 3 | 76.8±0.5 ^{ab} | 23.2±0.5 ^{ab} | 3.3±0.1 ^{ab} |
| Anekomochi | 3 | 77.2±0.6 ^{ab} | 22.8±0.6 ^{ab} | 3.4±0.1 ^{ab} |
| JG451 | 3 | 78.0±1.2 ^a | 22.0±1.2 ^b | 3.6±0.3 ^a |
| Yukimimochi | 3 | 75.0±1.5 ^b | 25.0±1.5 ^a | 3.0±0.3 ^b |
| Kazenokomochi | 3 | 77.1±1.1 ^{ab} | 22.9±1.1 ^{ab} | 3.4±0.2 ^{ab} |
| Hakuchomochi | 3 | 78.1±0.8 ^a | 21.9±0.8 ^b | 3.6±0.2 ^a |

Letters a, b, c, d show significant difference in the level of the property ($p < 0.05$) by Tukey Kramer HSD.

SD is standard deviation.

改良が進み少量での餅つきが可能となった。応用栄養学食品研究所と北海道立中央農試が共同開発した試験用小型餅つき機ミニウサギは生米8gで餅生地を調製できる。これを用いて餅つき後の経過時間と餅生地硬度の推移を「こがねもち」、「ヒメノモチ」、「風の子もち」、「はくちょうもち」の4品種のみについて調べた (Fig. VI-3)。

2時間後の硬度は44~52.9 gで「こがねもち」が最も低かった。24時間後では114.7~163.8 gで「こがねもち」が最も高く、「はくちょうもち」が最も低かった。48時間後の硬度は415.7~539 gで、24時間後と同様に「こがねもち」が最も高く、「はくちょうもち」が最も低かった。今後さらに検討を要するが、餅つき後の経過時間と餅生地硬度の関係には $Y=b \times \exp(a \times X)$ の指数関数が適合した (Fig. VI-3)。得られた指数関数の回帰係数 a を餅生地の硬化速度とした。硬化速度は品種間差が認められ、「こがねもち」、「ヒメノモチ」、「風の子もち」、「はくちょうもち」の順に硬化速度が大きく、餅生地の自重によるたわみ角度から見た硬化性と良く一致した。

次に、アミロペクチンの短鎖と長鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ と硬化速度およびRVAの糊化ピーク温度との関係を調べた (Fig. VI-4)。アミロペクチンの短鎖と長鎖

のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ と硬化速度および糊化ピーク温度には負の相関関係が認められ、 $(A+B1)/(B2+B3)$ が大きいと糊化ピーク温度が低く硬化速度が遅いことが明らかになった。

第4項 糯玄米1粒によるアミロペクチン単位鎖長分布の分析の解析

糯玄米の1粒重は品種により異なるが、概ね20~25 mg程度であり、1粒でアミロペクチンの鎖長分布の測定が可能と考えられる。そこで、アミロペクチン短鎖と長鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ を1粒で測定する方法を検討した。糯玄米 (はくちょうもち) から、実験材料と方法に示した通りアミロペクチンを調製し蛍光標識ゲル濾過HPLCで分析した結果、良好な結果が得られた (Fig. VI-5)。また、アミロペクチンの短鎖と長鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ は11.9でTable VI-1に示した「はくちょうもち」の値と良く一致し、硬化性の低い糯米であると判断できた。

第5項 アミロペクチン単位鎖長分布による餅硬化性の評価

Fig. VI-6にはアミロペクチン短鎖と長鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ を曲がり法による硬化性の高い品種の順に示した。アミロペクチン短鎖と長鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ と餅生地の硬化性には負の相関関係が認められた。すなわち、餅生地の硬化性が高い品種のアミロペクチンの短鎖と長鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ は小さく、餅生地の硬化性が低い品種のアミロペクチンは短鎖と長鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ が大きいことが示された。また、この関係から低い硬化性が適する主

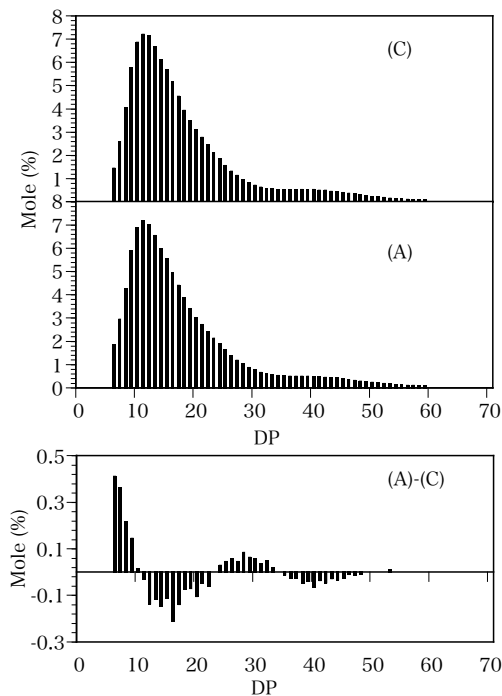


Fig. VI-2. Molar distribution of unit chains of amylopectins and their differential histogram. (A); Hakuchoumochi, (C); Koganemochi. The amount of each unit chain was determined from the chromatogram obtained by the labeling/HPSEC.

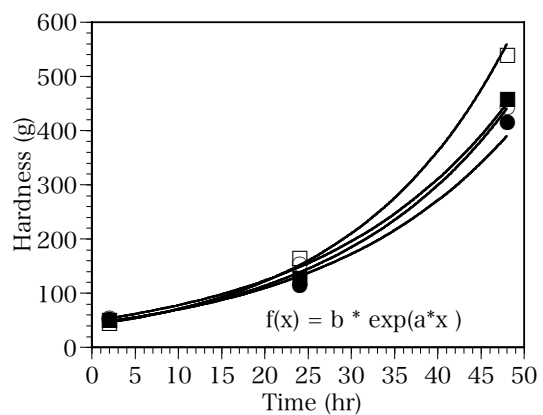


Fig. VI-3. Progress of hardness of the rice cake after preparation. Symbols: □, Koganemochi; ■, Himenomochi; ○, Kazenokomochi; ●, Hakuchoumochi. $f(x)$, hardness; a , hardening velocity (regression coefficient); x , time; b , regression constant.

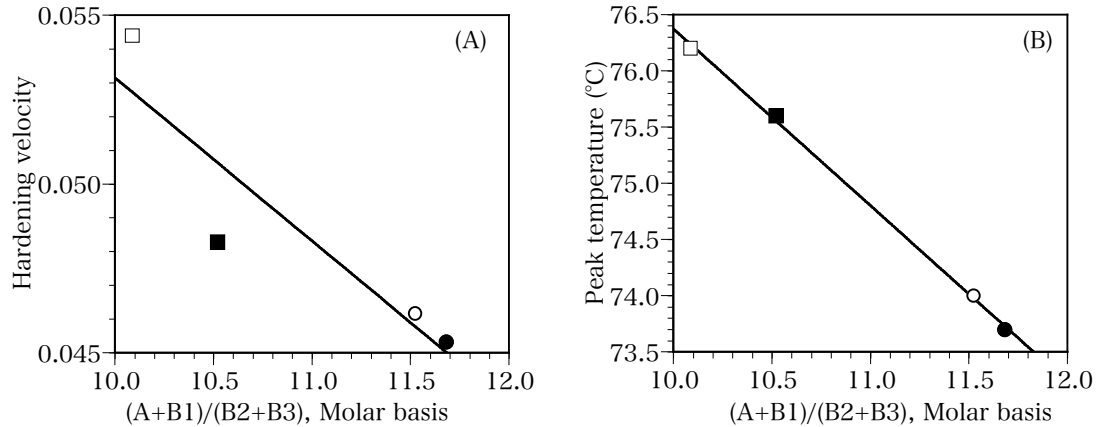


Fig. VI-4. Relationship between the hardening velocity (A) or the peak temperature of starch (B) and $(A+B1)/(B2+B3)$ of amylopectin.

The hardening velocity of the rice cake was determined from the equation in Fig. VI-3 and the peak temperature of starch was determined by RVA. Symbols, see Fig. VI-3.

食用はアミロペクチン短鎖と長鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ が11.5以上、高い硬化性が求められる加工用は11以下が望ましいと判断された。

第4節 考察

数(モル)分布のアミロペクチンA+B1画分の割合は5%水準で有意な品種間差が認められ、硬化性の高い品種は少なく、硬化性の低い品種は多かった。逆に、B2+B3画分の割合は、硬化性の高い品種ほど多く、硬化性の低い品種ほど少なかった。このため、アミロペクチン短鎖と長鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ は、硬化性の高い品種ほど小さかった。このモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ はアミロペクチンの1つのクラスターを構成する鎖の数に相当する(Takeda と Hanashiro, 2003)ことから、硬化性の高い品種はアミロペクチンの1つのクラスターを構成する鎖の数が少ないと考えられた。すなわ

ち、アミロペクチンの分子構造には5%水準で品種間差が認められ、アミロペクチンのクラスターのわずかな構造の違いが、餅生地物の性に大きく影響していることが示唆された。

重量分布のアミロペクチンA+B1画分の割合は、75.0~78.1%に分布し数(モル)分布に比べて標準偏差が大きく、品種間差は判然としなかった。同様に、B2+B3画分の割合およびアミロペクチン短鎖と長鎖の重量比 $(A+B1)/(B2+B3)$ についても数(モル)分布に比べて品種間差は判然としなかった。この理由としては、蛍光検出器は非常に安定したデータが得られ再現性が高いが、示差屈折計では室温変化などのドリフトの影響により不安定となる場合があり、反復データの標準偏差が大きかったことが影響していると考えられた。したがって、澱粉の構造と物性の関係を検討する場合、蛍光標識ゲル濾過HPLC法は示差屈折計のみのゲル濾過HPLC法よりも構造解析に優れている。

硬化性の異なる「こがねもち」と「はくちょうもち」のアミロペクチン単位鎖長分布の差を調べた結果、「はくちょうもち」は「こがねもち」に比較して、DP10以下の短鎖とDP23~34の割合が多く、DP11~22とDP35以上が少ないことが認められた。

これらの結果から、硬化性の低い「はくちょうもち」はアミロペクチンのB2+B3画分が少なくA+B1画分が多いことから、アミロペクチンクラスター当たりの鎖数が多く、澱粉ゲルの保水力が高く、柔らかい餅生地になると考えられた。「はくちょうもち」は、アミロペクチン短鎖が多く長鎖が少なく、老化に対して抵抗性がある構造を有する(Chenら, 2003)ことが報告されており、本研究結果を支持する。また、「はくちょうもち」と「こがねもち」のアミロペクチン単位鎖長

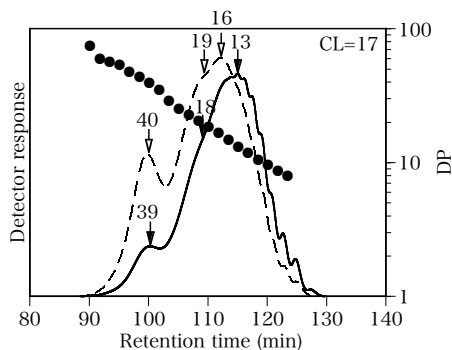


Fig. VI-5. Molar and weight distributions of unit chains of amylopectin obtained by using only one grain of unpolished rice (Hakuchoumochi).

Symbols: solid line, molar basis; dash, weight basis; ●, DP.

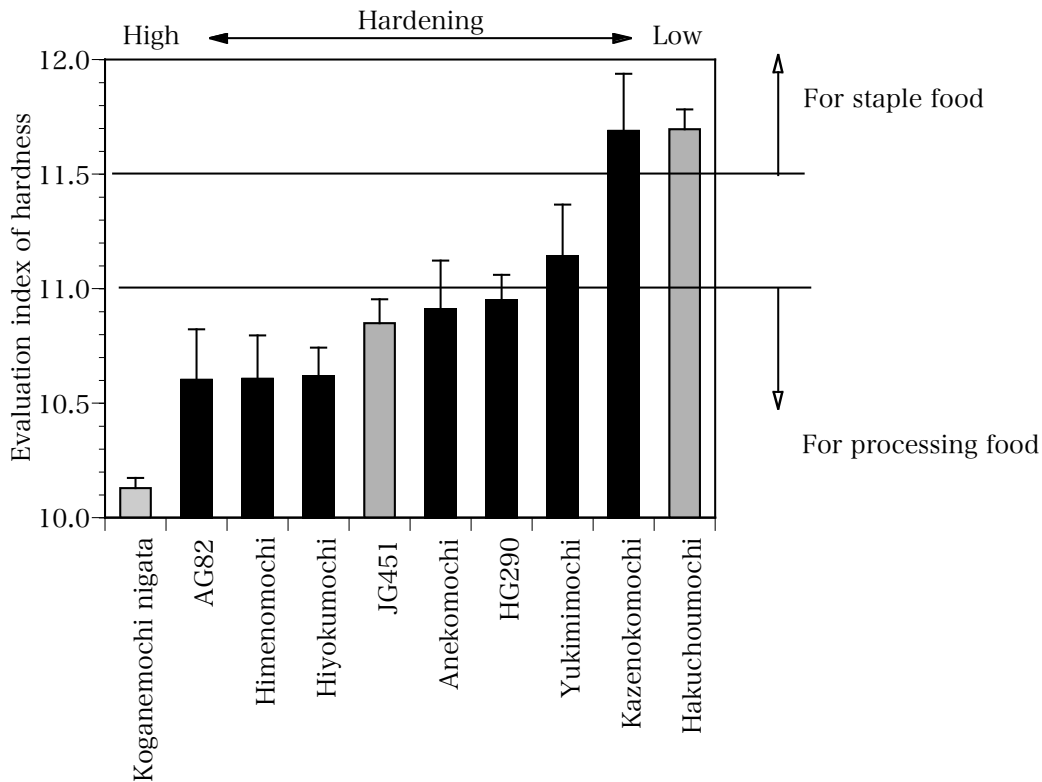


Fig. VI-6. Evaluation index of the rice cake hardness of various rice varieties. Evaluation index was from $(A+B1)/(B2+B3)$ of amylopectin in molar basis.

分布の差異は、Satoら (2003) が明らかにしたSBEI (澱粉枝付け酵素) 欠損系統と野生種の鎖長分布の差ときわめて類似しており、「はくちょうもち」は「こがねもち」に比べてSBEIの活性が低いことが、アミロペクチン短鎖割合の増加をもたらしている可能性が示唆された。また、Tanakaら (2004) はイネBEIIb (澱粉枝付け酵素) 変異体にイネBEIIbのゲノミックDNAを導入して得た形質転換体を調査し、BEIIbの発現レベルに応じてアミロペクチン分子構造が連続的に変化し澱粉物性も顕著に変化するという結果を得ている。

さらに、Nakamuraら (2005) はSSIIa発現レベルに応じてアミロペクチン単位鎖長分布が変化し、示差走査熱量計 (DSC) の糊化開始温度 T_0 はアミロペクチン構造 $(DP \leq 10)/(DP \leq 24)$ と負の相関関係があることを明らかにしている。餅硬化性と糊化開始温度は、登熟温度と密接に関係しており、登熟温度が高いほど高まることが知られている (斉藤, 1987; 松江ら, 2002)。一般に、餅硬化性に関係する糊化開始温度は、品種間の差よりも登熟温度の影響を強く受けることから、生産条件の中でアミロペクチン単位鎖長分布の最も大きな変動要因は登熟温度であると推察されている (石崎, 1994)。したがって、「はくちょうもち」と「こがねもち」の硬化

性の差異は、品種間差によるものと生育環境による登熟温度の影響が加わったものと考えられる。これらのことから、育種目標となる特性を有する品種と育成系統のアミロペクチン単位鎖長分布の差を明らかにし、不足している鎖長の合成に関与する遺伝子を特定し、その温度反応性を解明できれば、その遺伝子の発現を制御することにより育種目標の達成が可能となると考えられる。

今後さらに検討を要するが、餅つき後の経過時間と餅生地硬度の関係には $Y = b \cdot \exp(a \cdot X)$ の指数関数が適合した (Fig. VI-3)。得られた指数関数の回帰係数 a を餅生地の硬化速度とした。硬化速度は品種間差が認められ、「こがねもち」、「ヒメノモチ」、「風の子もち」、「はくちょうもち」の順に硬化速度が大きく、餅生地の自重によるたわみ角度から見た硬化性と良く一致した。アミロペクチンの短鎖と長鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ と硬化速度には負の相関関係が認められ、 $(A+B1)/(B2+B3)$ が大きいと硬化速度が遅いことが明らかになった。これは長鎖が多いほど硬化性が早いとする江川ら (1990) の結果と一致する。餅硬化性は、RVAの糊化開始温度、ピーク温度、最低粘度、最終粘度およびセットバックと正の相関関係にあり、ブレイクダウンと負の相関関係にある (佐藤ら, 2005)。これらの特性値はアミ

ロペクチンの分子構造と密接な関係が認められている (Suzukiら, 2006). したがって, アミロペクチンの分子構造から餅生地硬化性を評価できると考えられる.

糯米の育種選抜において餅生地硬化性を初期選抜段階で知ることが効率的な育種を行う上できわめて重要である. しかし, 生地の硬化性評価にはかなりの量の試料が必要であるため初期選抜指標としては利用できない. 辻ら (1995) は少ない試料で簡便に評価できるように, オートアナライザー法を利用しヨウ素呈色度からアミログラム特性値と冷蔵餅生地硬度の推定を検討し, 糯米のNaCl添加によるヨウ素呈色度で硬化性の評価が可能であるとしている. また, 糯米品種育成における選抜指標として糊化開始温度は重要な選抜指標となっている (岡本と根本, 1998).

本章において, アミロペクチン短鎖と長鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ と餅生地の曲がり法による硬化性には負の相関関係が認められた. この関係から低い硬化性が適する主食用はアミロペクチン短鎖と長鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ が11.5以上, 高い硬化性が求められる加工用は11以下が望ましいと判断された. 北海道で最近育成された上育糯451号 (JG451) は, 「アネコモチ」並にアミロペクチン短鎖と長鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ が小さく, 「はくちょうもち」よりも格段に硬化性が高いことがアミロペクチンの分子構造からも明らかであった. したがって, 硬化速度およびRVAの糊化開始温度と高い相関関係が認められたアミロペクチンの短鎖と長鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ は餅生地の硬化性を評価する指標として活用できる.

そこで, アミロペクチンの分子構造解析を稲育種における初期選抜過程において実施することを想定して, 糯米玄米1粒によるアミロペクチン構造解析の手順を検討した. 糯玄米の1粒重は品種により異なるが, 概ね20~25mg程度であり, 1粒でアミロペクチンの鎖長分布の測定が可能である. 本章では, アミロペクチン短鎖と長鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ を1粒で測定する方法を検討し, 良好な結果が得られた (Fig. VI-5). したがって, 糯玄米の1粒による測定は可能である.

以上のことから, 糯米のアミロペクチン単位鎖長分布には有意な品種間差が認められ, アミロペクチン短鎖と長鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ は, 測定誤差も小さく再現性も高いため糯米の餅硬化性の評価指標として有効であることが明らかになった.

第7章 登熟期間温度と窒素施肥量が糯米のアミロペクチン 単位鎖長分布に及ぼす影響

第1節 緒言

これからの北海道における糯米産地の販売戦略には、地域の特性を活かした大口ロットで均質な糯米を安定的に供給することが重要である。「北海道産もち米の実需実態とその理化学的特性」を調査した結果、玄米白度および精米白度等の外観品質の向上が実需者(糯米を扱う卸企業および外食ならびに加工企業)から強く要望されている(平山, 2001)。糯米の品質評価指標として、北海道農政部(2000)が報告した「北海道産もち米の今後の展開方向」の中で、タンパク質含量8%, 精米白度50, RVAのピーク温度78°Cが提示されている。現在、これらの糯米品質を得るための栽培管理指針(五十嵐ら, 2004b)が策定され、それに基づき生産されている。しかし、品質の変動要因に占める登熟温度の影響が大きく、低温条件でも安定した品質の糯米の生産が求められている。

糯米の理化学的特性は生産年度、産地、品種等により異なり、特に、登熟温度の影響を受けることが知られている(宮森と若林, 1999)。餅硬化性と澱粉の糊化開始温度は、登熟温度と密接に関係しており、登熟温度が高いほど高まることが知られている(齊藤, 1987; 松江ら, 2002)。一般に、餅硬化性と糊化開始温度は、品種間差以上に登熟温度の影響を強く受け、登熟温度によるアミロペクチン鎖長分布の違いが関与していることが推察されている(松江ら, 2002)。

第6章において、餅硬化性はアミロペクチンの短鎖と長鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ と密接な関係が認められ、このモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ は、測定誤差も小さく再現性も高いため糯米の餅硬化性の評価指標として有効であることがわかった。

そこで、本章では、北海道産糯米の主力品種である「はくちょうもち」を用い、年次と産地間の変動要因と考えられる栽培環境要因のうち、特に澱粉の合成に関与する登熟温度とタンパク質含量に関与する窒素施肥量に着目し、これらがアミロペクチンの短鎖と長鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ に及ぼす影響を調べた。また、アミロペクチンの分子構造と熱糊化性の関係を検討した。

第2節 実験材料および方法

第1項 実験材料

品種は「はくちょうもち」を供試した。40日間育苗

した成苗ポット苗をワグネルポット(159×190 mm, 表面積200 cm²)に3本植え3株で2002年5月20日に移植し栽培した。窒素施肥量は8(少肥), 12(標肥), 16(多肥) g/m²とし、出穂期(7月25日頃)までビニールハウス内で栽培した。出穂期(全穂の5割が出穂した日)後、ワグネルポットを人工気象室に移動し、低, 中, 高温の3種類の登熟期間温度(昼(午前9時~午後5時)/夜(午後5時~午前9時) = 29/25, 25/21, 21/17°C)で栽培した。なお、照明条件は自然光のみで行った。収穫後、得られた玄米をパーレスト(Kett)で搗精歩合90%まで搗精し、ブラベンダー社テストミルで微粉碎し50 meshのふるいを通させ、白米粉を調製した。また、90%搗精後の白米からアルカリ浸漬法(Takedaら, 1988)で澱粉を調製した。

第2項 アミロペクチン単位鎖長分布の分析

アミロペクチン単位鎖長分布の分析は第3章第2節第5項と同様に行った。

第3項 RVAによる熱糊化性の測定

RVA(Newport Scientific社 RVA-3D)の測定条件は柳原の方法(柳原, 2002)に従い、米粉試料量4g(乾物)、0.04%硫酸銅水溶液を試料濃度1%になるように添加し、昇温速度6.5°C/minで測定した。

第4項 近赤外分光法によるタンパク質含量の測定

白米粉を稲津と新井(1983)の方法に従い近赤外分析装置(BRAN+LUEBBE 360)により測定した。

第3節 実験結果

第1項 アミロペクチン単位鎖長分布に及ぼす登熟期間温度と窒素施肥量の影響

異なる登熟期間温度および窒素施肥量で栽培した糯米のアミロペクチン単位鎖長の分布をFig. VII-1に示した。いずれもアミロペクチンのA+B1画分とB2+B3画分に相当する明確な2つのピークが認められた。各ピークの重合度は、重量分布では短鎖15~16, 長鎖38~41であった。数(モル)分布では短鎖13, 長鎖38~42であった。また、平均鎖長は17~18であった。これらのことから、いずれも類似した分布を示し、各ピーク重合度および平均鎖長は登熟期間温度と窒素施肥量により明確な差は認められなかった。

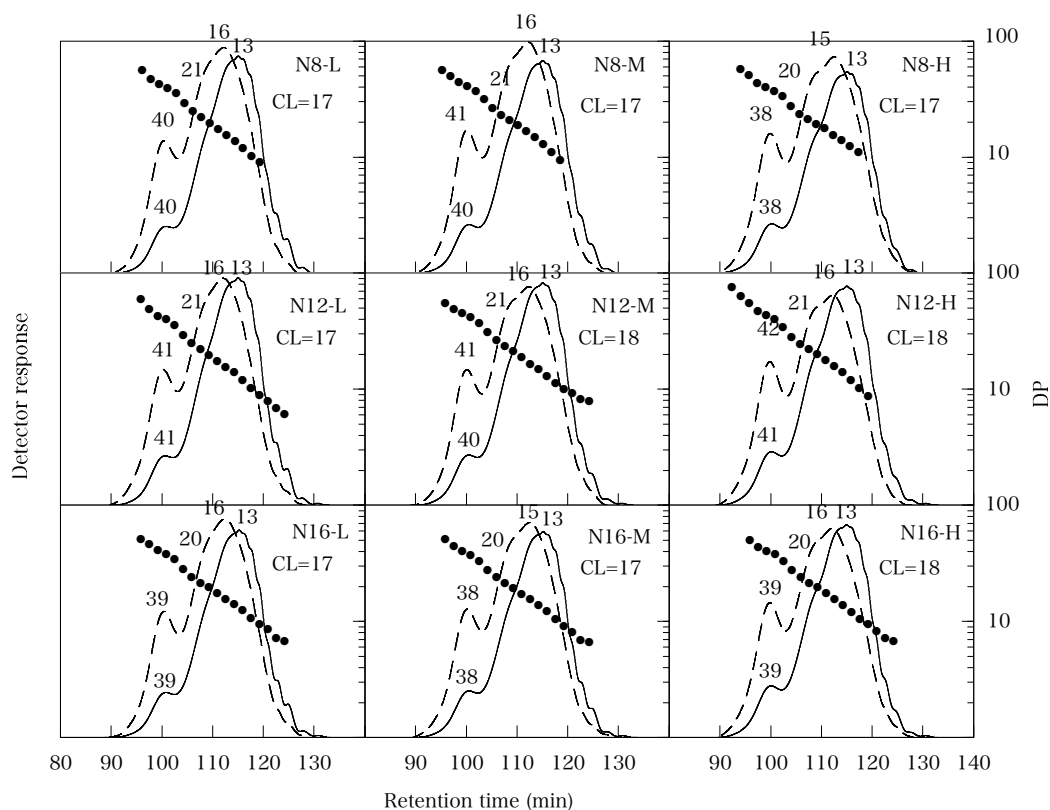


Fig. VII-1. Molar and weight distributions of unit chains of amylopectins.

Symbols: solid line, molar basis; dash, weight basis; ●, DP.

Grain filling temperature L, 21/17; M, 25/21; H, 29/25°C (day/night);

Nitrogen fertilizer application N8, 8; N12, 12; N16, 16g/m²

Table VII-1. Molar distributions of unit chains of amylopectins of Hakuohomochi cultivar.

| Nitrogen application (kg/10 a) | Grain filling temp.(°C) ¹⁾ Day/Night | Amount in mole (%) | | | | | | Ratio | | |
|-----------------------------------|--|--------------------|---|------------------|-------|---|------------------|----------------|---|------------------|
| | | A+B1 | | | B2+B3 | | | (A+B1)/(B2+B3) | | |
| | | Mean | ± | SD ²⁾ | Mean | ± | SD ²⁾ | Mean | ± | SD ²⁾ |
| 8 | 21/17 | 93.2 | ± | 0.1 | 6.8 | ± | 0.1 | 13.8 | ± | 0.2 |
| | 25/21 | 92.8 | ± | 0.3 | 7.2 | ± | 0.3 | 12.8 | ± | 0.6 |
| | 29/25 | 92.0 | ± | 0.2 | 8.0 | ± | 0.2 | 11.4 | ± | 0.3 |
| 12 | 21/17 | 92.8 | ± | 0.2 | 7.2 | ± | 0.2 | 12.8 | ± | 0.4 |
| | 25/21 | 92.6 | ± | 0.2 | 7.4 | ± | 0.2 | 12.5 | ± | 0.3 |
| | 29/25 | 91.9 | ± | 0.2 | 8.1 | ± | 0.2 | 11.4 | ± | 0.3 |
| 16 | 21/17 | 92.9 | ± | 0.2 | 7.1 | ± | 0.2 | 13.1 | ± | 0.4 |
| | 25/21 | 92.6 | ± | 0.1 | 7.4 | ± | 0.1 | 12.5 | ± | 0.1 |
| | 29/25 | 91.9 | ± | 0.1 | 8.1 | ± | 0.1 | 11.4 | ± | 0.1 |
| Nitrogen application (N) | | * | | | * | | | * | | |
| Grain filling temperature (GT) | | *** | | | *** | | | *** | | |
| N*GT | | ns | | | ns | | | ns | | |

¹⁾ Glutinous rice was grown in three phytotrons during the grain filling stage.

²⁾ Standard deviation (n=3).

*, **, and *** Stand for significant at the 0.05, 0.01 and 0.001 probability levels, respectively.

Ns; not significant at the 0.05 level.

次に、アミロペクチン短鎖と長鎖の比 (A+B1)/(B2+B3) に及ぼす登熟期間温度と窒素施肥量の影響を検討した。アミロペクチン短鎖と長鎖の比 (A+B1)/(B2+B3) は1つのクラスターあたりの鎖数に相当する (TakedaとHanashiro, 2003)。

まず、数 (モル) 分布についてTable VII-1に示した。アミロペクチン短鎖の割合は91.9%~93.2%で、いずれも90%以上を占めた。また、アミロペクチン短鎖の割合は、窒素施肥量によりほとんど変化しないが、同一窒素施肥量間では登熟期間温度が高いほど小さかった。他方、アミロペクチン長鎖の割合はアミロペクチン短鎖とは逆に登熟期間温度が高いほど多かった。アミロペクチンの短鎖と長鎖のモル比 (A+B1)/(B2+B3) は11.4~13.8であった。アミロペクチン短鎖と長鎖のモル比は、窒素施肥量によりほとんど変化しないが、同一窒素施肥量間では登熟期間温度が高いほど小さかった。

同様に、重量分布についてTable VII-2に示した。重量分布のアミロペクチン短鎖の割合は数 (モル) 分布に比べて傾向が一定していないが、低温と高温を比較すれば高温ほどアミロペクチン短鎖の割合は低い傾向が認められた。窒素施肥量の影響は数 (モル) 分布と同様に認められなかった。重量分布のアミロペクチン長鎖の割合は、少肥区を除き、登熟期間温度が高いほど多い傾向であった。また、アミロペクチン短鎖と長鎖の

重量比は3.0~3.9で、数 (モル) 分布と同様に登熟期間温度が高いほど小さかった。

次に、アミロペクチン単位鎖のモル比 (A+B1)/(B2+B3) に及ぼす窒素施肥量と登熟期間温度の関係について数量化I類で解析した結果をTable VII-3に示した。

アミロペクチン単位鎖のモル比 (A+B1)/(B2+B3) の変動は登熟期間温度と窒素施肥量で86.5%説明できた。また、登熟期間温度と窒素施肥量の影響度を比較すると、モデル全体のF値35.2に対して登熟期間温度では66.0、窒素施肥量では4.4で、窒素施肥量の影響は小さく登熟期間温度の影響がきわめて大きいことが明らかであり、登熟期間温度のみで81.1%説明できた。アミロペクチン単位鎖のモル比 (A+B1)/(B2+B3) は全試験区の平均値12.4に対して低温では+0.83、中温では+0.20、高温では-1.02増減することが推定された。また、この推定モデルにより登熟期間温度が1°C高まるとアミロペクチン単位鎖のモル比 (A+B1)/(B2+B3) は約0.23少くなると試算された。

第2項 澱粉のRVA熱糊化特性

RVAによる熱糊化特性 (単位RVU) をTable VII-4に示した。熱糊化特性値のいずれも窒素施肥量間に有意な差は認められなかった。一方、登熟期間温度が高いほど最低粘度が高く、ブレイクダウンが小さく、糊化開始温度およびピーク温度が高かった。

Table VII-2. Weight distributions of unit chains of amylopectins of Hakuchomochi cultivar.

| Nitrogen application (g/m ²) | Grain filling temp. ¹⁾ Day/night | Amount in weight (%) | | | | | | Ratio | | |
|---|--|----------------------|---|------------------|-------|---|------------------|----------------|---|------------------|
| | | A+B1 | | | B2+B3 | | | (A+B1)/(B2+B3) | | |
| | | Mean | ± | SD ²⁾ | Mean | ± | SD ²⁾ | Mean | ± | SD ²⁾ |
| 8 | 21/17 | 78.4 | ± | 1.6 | 21.6 | ± | 1.6 | 3.6 | ± | 0.3 |
| | 25/21 | 80.9 | ± | 2.5 | 19.1 | ± | 2.5 | 4.0 | ± | 0.5 |
| | 29/25 | 76.6 | ± | 1.0 | 23.4 | ± | 1.0 | 3.3 | ± | 0.2 |
| 12 | 21/17 | 78.5 | ± | 0.6 | 21.5 | ± | 0.6 | 3.7 | ± | 0.1 |
| | 25/21 | 77.6 | ± | 1.9 | 22.4 | ± | 1.9 | 3.5 | ± | 0.4 |
| | 29/25 | 74.7 | ± | 1.4 | 25.3 | ± | 1.4 | 3.0 | ± | 0.2 |
| 16 | 21/17 | 79.4 | ± | 0.7 | 20.6 | ± | 0.7 | 3.9 | ± | 0.2 |
| | 25/21 | 79.0 | ± | 1.0 | 21.0 | ± | 1.0 | 3.8 | ± | 0.2 |
| | 29/25 | 76.9 | ± | 0.4 | 23.1 | ± | 0.4 | 3.3 | ± | 0.1 |
| Nitrogen application (N) | | * | | | * | | | * | | |
| Grain filling temperature (GT) | | *** | | | *** | | | *** | | |
| N*GT | | ns | | | ns | | | ns | | |

1) Glutinous rice was grown in three phytotrons during the grain filling stage.

2) Standard deviation (n=3).

*, **, and ***, Stand for significant at the 0.05, 0.01 and 0.001 probability levels, respectively.

Ns; not significant at the 0.05 level.

Table VII-3. Two-way analysis of variance and interactions of temperature during grain filling and nitrogen fertilizer amount on ratio of the A+B1 chains and the B2+B3 chains of amylopectins.

| Source | SS | DF | MS | F Ratio | Prob>F |
|--------------------------------|-------|----|------|---------|--------|
| Whole model | 17 | 4 | 4.25 | 35.2 | <.0001 |
| Nitrogen application (N) | 1.05 | 2 | 0.53 | 4.4 | 0.025 |
| Grain filling temperature (GT) | 15.94 | 2 | 7.97 | 66 | <.0001 |
| Error1 | 2.66 | 22 | 0.12 | | |
| Interaction (N*GT) | 0.69 | 4 | 0.17 | 1.6 | 0.226 |
| Error2 | 1.97 | 18 | 0.11 | | |

| RSquare | Intercept | Grain filling temperature | Estimate* | Nitrogen application | Estimate* |
|---------|-----------|---------------------------|-----------|----------------------|-----------|
| 0.865 | 12.4 | 17/21°C | 0.83 | 8 | 0.28 |
| | | 21/25°C | 0.2 | 12 | -0.18 |
| | | 25/29°C | -1.02 | 16 | -0.1 |

*Multivariate statistical analysis, the Quantification Type I method.

Table VII-4. RVA Pasting properties of glutinous rice flour (16%).

| Nitrogen application (g/m ²) | Grain filling temp ¹⁾ Day/night | Max. viscosity (RVU) | | | Min. viscosity (RVU) | | | Break-down (RVU) | | | Pasting temperature (°C) | | | Peak temperature (°C) | | |
|--|--|----------------------|---|------------------|----------------------|---|------------------|------------------|---|------------------|--------------------------|---|------------------|-----------------------|---|------------------|
| | | Mean | ± | SD ²⁾ | Mean | ± | SD ²⁾ | Mean | ± | SD ²⁾ | Mean | ± | SD ²⁾ | Mean | ± | SD ²⁾ |
| 8 | 21/17 | 385 | ± | 13 | 104 | ± | 5 | 281 | ± | 16 | 60 | ± | 0.3 | 68 | ± | 0.0 |
| | 25/21 | 387 | ± | 3 | 118 | ± | 4 | 269 | ± | 7 | 62 | ± | 0.5 | 70 | ± | 0.3 |
| | 29/25 | 406 | ± | 5 | 139 | ± | 6 | 266 | ± | 4 | 64 | ± | 0.3 | 73 | ± | 0.5 |
| 12 | 21/17 | 397 | ± | 5 | 108 | ± | 3 | 290 | ± | 5 | 59 | ± | 0.5 | 68 | ± | 0.7 |
| | 25/21 | 370 | ± | 4 | 112 | ± | 1 | 258 | ± | 4 | 62 | ± | 0.3 | 70 | ± | 0.3 |
| | 29/25 | 401 | ± | 4 | 140 | ± | 4 | 261 | ± | 1 | 64 | ± | 0.8 | 73 | ± | 0.3 |
| 16 | 21/17 | 401 | ± | 3 | 110 | ± | 1 | 291 | ± | 2 | 59 | ± | 0.6 | 68 | ± | 0.5 |
| | 25/21 | 375 | ± | 10 | 118 | ± | 2 | 257 | ± | 12 | 62 | ± | 0.3 | 70 | ± | 0.6 |
| | 29/25 | 400 | ± | 1 | 143 | ± | 1 | 257 | ± | 2 | 64 | ± | 0.3 | 74 | ± | 0.4 |
| Nitrogen application (N) | | ns | | | * | | | ns | | | ns | | | ns | | |
| Grain filling Temperature (GT) | | *** | | | *** | | | *** | | | *** | | | *** | | |
| N*GT | | ** | | | ns | | | ns | | | ns | | | ns | | |

¹⁾ Glutinous rice was grown in three phytotrons during the grain filling stage.

²⁾ Standard Deviation (n=3).

*, **, and *** Stand for significant at the 0.05, 0.01 and 0.001 probability levels, respectively.

ns; not significant at the 0.05 level.

次に、RVA熱糊化特性値およびタンパク質含量とアミロペクチンの短鎖と長鎖のモル比 (A+B1)/(B2+B3) について相関関係をTable VII-5に示した。

アミロペクチン単位鎖のモル比 (A+B1)/(B2+B3) が大きいほど最低粘度、糊化開始温度、ピーク温度は低下し、アミロペクチン単位鎖のモル比 (A+B1)/(B2+B3) と

最低粘度 ($r=-0.952$, $p<0.001$), 糊化開始温度 ($r=-0.867$, $p<0.001$), ピーク温度 ($r=-0.944$, $p<0.001$) とは有意な高い負の相関関係が認められた。しかし、重量比では認められなかった。

Fig. VII-2に登熟期間温度と窒素施肥量がピーク温度とアミロペクチン単位鎖のモル比 (A+B1)/(B2+B3) に及ぼす影響を示した。ピーク温度は登熟期間温度が高い

Table VII-5. Correlations between (A+B1)/(B2+B3) and RVA pasting properties (n=9).

| | (A+B1)/(B2+B3) | | Max. viscosity | Min. viscosity | Break-down | Pasting temperature | Peak temperature |
|---------------------|----------------------|-----------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|
| | Weight | Mole | | | | | |
| Max. viscosity | -0.357 ^{ns} | -0.443 ^{ns} | | | | | |
| Min. viscosity | -0.638 ^{ns} | -0.952 ^{***} | 0.531 ^{ns} | | | | |
| Break-down | 0.380 ^{ns} | 0.651 ^{**} | 0.327 ^{ns} | -0.627 ^{ns} | | | |
| Pasting temperature | -0.562 ^{ns} | -0.867 ^{***} | 0.157 ^{ns} | 0.903 ^{***} | -0.866 ^{***} | | |
| Peak temperature | -0.643 ^{ns} | -0.944 ^{***} | 0.375 ^{ns} | 0.979 ^{***} | -0.747 ^{**} | 0.958 ^{***} | |
| Protein content | -0.206 ^{ns} | 0.007 ^{ns} | 0.056 ^{ns} | 0.127 ^{ns} | -0.103 ^{ns} | 0.291 ^{ns} | 0.202 ^{ns} |

*, **, and *** Stand for significant at the 0.05, 0.01 and 0.001 probability levels, respectively.
ns; not significant at the 0.05 level.

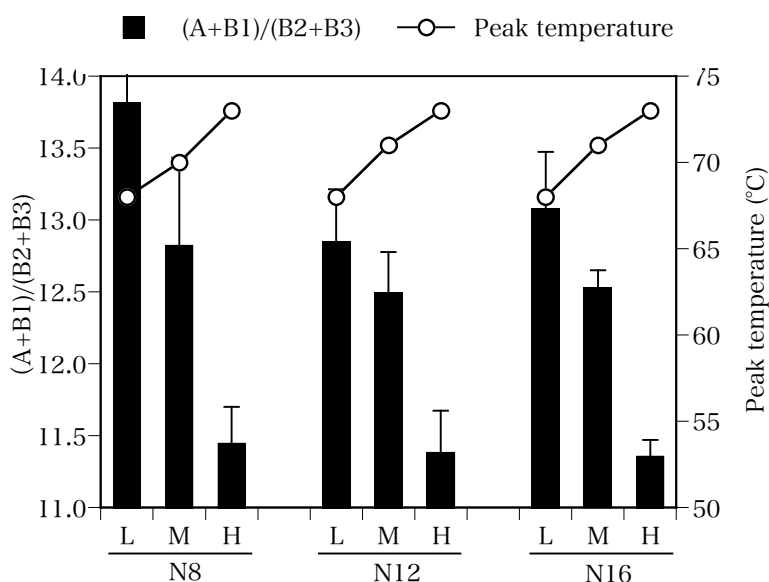


Fig. VII-2. Influence of grain filling temperature and the amount of nitrogen fertilizer on amylopectin chain-length distribution of glutinous rice. Grain filling temperature L, 21/17; M, 25/21; H, 29/25°C (day/night); Nitrogen fertilizer application N8, 8; N12, 12; N16, 16 g/m².

ほど、アミロペクチン単位鎖のモル比 (A+B1)/(B2+B3) が小さく、これに連動して高くなったが、窒素施肥量間で大きな差は見られなかった。なお、タンパク質含量はいずれの項目とも有意な相関関係は認められなかった。

第4節 考察

餅生地硬化性とアミロペクチンに関する報告としては、江川と吉井 (1990) が濃度の異なる尿素溶出画分の澱粉の性質と老化性について検討し、鎖長の長い画分

が老化性に関与し、これが餅の硬化性に影響していることを指摘した。佐藤と笈田 (1997) は糯米澱粉の鎖長が餅の硬化性に及ぼす影響を検討し、アミロペクチンB鎖の平均分子量が大きいくほど糊化開始温度が高く、餅の硬さが硬いことから、アミロペクチンの分子構造が餅の硬化性に影響することを明らかにしているが、詳細なアミロペクチン単位鎖長分布は示されていない。また、本研究で供試した「はくちょうもち」はアミロペクチン短鎖が多く長鎖が少ない構造であることから、老化に対して抵抗性がある構造であることが報告

されている (Chenら, 2003).

いずれにしても、生産年次により硬化性が異なる要因としてアミロペクチンの分子構造が関与していると推定されるが、糯米のアミロペクチン単位鎖長分布の変動要因を栽培環境から解析した報告はない。

本章では、アミロペクチン単位鎖長分布の変動要因を登熟期間温度と窒素施肥量について検討した。その結果、アミロペクチン単位鎖長分布の変動は登熟期間温度と窒素施肥量で86%説明でき、窒素施肥量の影響は小さく登熟期間温度の影響がきわめて大きいことを明らかにした。また、アミロペクチン単位鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ と最低粘度、糊化開始温度、ピーク温度には高い負の相関関係があることを明らかにした。すなわち、登熟期間温度が高いほどアミロペクチン単位鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ が大きく、最低粘度が高く、ブレイクダウンが小さく、糊化開始温度およびピーク温度が高くなることを明らかにした。このことから、糯米の物性にはアミロペクチンの分子構造が強く影響していると考えられた。

以上のことから、生産年次により硬化性が異なる要因として登熟期間温度の違いに伴うアミロペクチンの分子構造の差異が主要因であることが明らかとなった。

一方、登熟温度 (登熟期積算温度) と餅生地硬化性の関係について、府県米の報告 (深井と松澤, 1998; 有坂, 1995) において登熟温度と餅生地硬度に相関関係は認められないとする報告もあるが、これらの報告では登熟温度 (出穂後40日間の日平均気温の積算値) が800°C以上と高い範囲であり、北海道のように800°Cを下回る条件は含まれていない。本章の結果から、登熟期間温度が低温であるほどアミロペクチン単位鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ の値は大きく糊化開始温度が低かった。したがって、北海道糯米を使用した餅生地が柔らかい特徴は、北海道は登熟期間温度が低いため、低温で登熟した糯米澱粉はアミロペクチンの短鎖が多く、澱粉ゲルの保水力が高いため、柔らかい餅生地になると考えられた。また、生産年次による品質の変動要因として登熟期間温度に伴うアミロペクチンの分子構造が変化することが主因であると結論づけられ登熟期間温度に比べてタンパク質含量の影響は小さいと考えられた。一方、もち突然変異系統の餅加工特性における系統間差は登熟期間温度によってもたらされる変動よりも大きく (小林ら, 2003; Kobayashiら, 2007), 第6章に示したようにアミロペクチン単位鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ で選抜することで新しい餅加工食品の開発に対応できる多様な餅加工特性を有する糯米品種の育成が期待される。

第8章 総合考察

米の需要構造は、1999年4月からの米輸入関税化に伴い、大きく変化している。また、米の価格は、米の消費量の低下と米市場の構造的な過剰基調により大部分の銘柄で低下した。このような情勢の中、2002年12月に決定された米政策大綱により、米産地では「売れる米作り」が求められている。一方、消費と流通場面では良質と良食味米の指向が強まっている。このため、銘柄や産地による食味格差が販売と消費に大きな影響を及ぼしている。

2007年度の北海道における水稲作付け面積は116,000 haである。北海道米の収穫量は全国870,500 tの6.9%を占める603,200tである。その内訳は、粳米が563,200 t、糯米が40,000 tである。北海道の主要粳米品種は「きらら397」「ななつぼし」「ほしのゆめ」であり、それぞれ38.0、25.6、23.2%を占めている。また、糯米品種の約7割は「はくちょうもち」である。このように、北海道は粳米では新潟に次ぐ2位、糯米は全国1位の生産量を誇る重要な米産地である。

日本穀物検定協会による北海道の主要粳米品種の食味ランキングはいずれもA評価である。Aとは複数産地コシヒカリのブレンド米を基準米とし、これよりも良好であることを示している。しかし、特Aの評価は未だに得られていない。

米価格が低迷している中、魚沼産コシヒカリに代表される高級ブランド米の産地を北海道に形成させることが北海道稲作関係者の悲願である。

一方、北海道の糯米は、餅生地硬化が起こりやすく、加工直後の柔らかさと粘りが長時間維持される特徴があるため、その6割が赤飯やおこわなどの主食用として利用されている。しかし、主食用の需要は最近横ばいで推移しており、米価も下落している。このような状況から、餅加工に適した餅生地硬化性が高い品種の速やかな育成が求められている。

したがって、今後「売れる米づくり」を推進するためには、さらなる良食味米の育種と高品質良食味米の栽培技術の確立と実践が重要である。

米の食味には様々な要因が関与する(竹生,1971)が、寒冷地北海道においてはアミロース含量とタンパク質含量が重要と考えられ、良食味米育種では主にアミロース含量とタンパク質含量を選抜指標としてきた(稲津,1988)。しかし、アミロペクチンについては重要性が示唆されていたものの育種現場におけるルーチン分析では解析が困難であったため、アミロペクチンに着目した選抜は行われていない。アミロペクチンはイネ胚

乳澱粉の約80%以上を占める主成分であり、その分子構造の差異はアミロース以上に米飯の物理性に大きく影響すると考えられる。したがって、さらなる良食味米を育成する上で胚乳澱粉の分子構造を解析することが必要である。

また、北海道の水稲作付け地域は広く産地により気象条件が異なる。特に登熟温度は玄米品質やアミロース含量の地域間差に強く影響している。今後実需者にニーズに応える産地形成を図るためには、年次変動や産地間変動の少ない一定の品質で供給することが重要であり、登熟温度で品質が変動しにくい特性を有する品種を育成することが必要である。

これらのことから、登熟温度が胚乳澱粉の分子構造に及ぼす影響を解析することは成分育種手法の高度化を図る上できわめて大きい意義があると考えられる。

そこで、本研究では北海道における良食味米の成分育種手法の高度化を図るため、アミロース含量の栽培環境による変動要因、北海道米澱粉の分子構造の特徴、登熟期間温度によるアミロペクチン単位鎖長分布の変動性とアミロペクチンLC含量、アミロペクチンの分子構造と餅生地の硬化性について解析し、今後の北海道米の育種目標を明らかにすることを目的とした。

本章では北海道米の澱粉分子構造に及ぼす登熟温度の反応性ならびに新食味評価法とその育種における利用について考察する。

第1節 登熟温度および枝梗着生位置とアミロース含量の関係

第2章では北海道の基幹品種である「きらら397」を供試して、アミロース含量に及ぼす登熟温度の関係を検討するとともに、年次、移植時期、苗の種類、出穂日の影響、さらに、作物形態学的に籾の着生位置に着目し、枝梗着生位置別のアミロース含量の変動について調査し、アミロース含量の変動要因を解析した。

稲津(1988)は、北海道米のアミロース含量が府県米に比べて高い要因として、登熟温度(出穂後40日間の日平均気温の積算値)が低いことが大きく影響していることを指摘し、登熟温度の異なる年次および生産地のアミロース含量は登熟温度と有意な負の相関があることを明らかにした。本研究でも同様の結果であったが、本研究年次の範囲では登熟温度が100°C高まるとアミロース含量は1.25%低下した。この値は、稲津(1988)の報告に比べてやや高かった。本研究では登熟温度が750°C以下のきわめて低い年次を含んでおり、低い登熟

温度ではアミロース含量の温度反応性が大きくなり、回帰係数の絶対値が高くなった。このことが稲津の報告の数値よりも高くなった原因と考察した。

アミロース含量の温度反応性の差異には澱粉合成における合成酵素の活性および発現量が大きく影響していると考えられる。本研究ではアミロース含量の温度反応性に差異が認められたことから、これら澱粉合成酵素の作用が関係していると推察した。

寒冷地北海道においてアミロース含量を20%以下に低位安定化させるためには、登熟温度が800°C以上を確保できる日までに出穂させることが必要と考えられた。一般に移植時の葉数が多いほど出穂を促進でき、温度が高い時期に登熟させることが可能である。したがって、アミロース含量を低くするためには出穂促進技術として成苗移植（移植苗の葉齢3.6~4.0枚以上）が望ましいと考えられた。

一方、齊一な条件で登熟することが品質安定化を図る上で重要と考えられる。枝梗着生位置における玄米品質とアミロース含量を詳細に分析した結果、二次枝梗粒や下位枝梗粒の弱勢穎花では外観品質が劣り、また、乳白粒と腹白粒の歩合は下位枝梗粒で高く、二次枝梗粒は一次枝梗粒に比べ高かった。すなわち、アミロース含量は枝梗着生位置によって異なることが明らかとなった。これは枝梗着生位置によって米粒への澱粉合成基質の移行に難易があり、二次枝梗粒や下位枝梗粒では澱粉合成基質の転流量が少ないため澱粉の充填程度に差が生じるためと考えられた。

これらのことから、北海道のように登熟温度の低い地域において、弱勢穎花である二次枝梗粒の着生を少なくすることは登熟を齊一化させ、食味と品質の向上および安定化に寄与すると考えられる。したがって、登熟を齊一化させるための施肥方法や栽植密度として二次枝梗粒の着生が少なくなる少肥や密植栽培が有利と考えられる。また、品種育成においては、一次枝梗比率の高い穂相を有する品種の開発が北海道米の食味向上および品質向上に有効と考えられる。

第2節 北海道米の澱粉の分子構造と性質

第3章では北海道の主要品種である「きらら397」、 「ほしのゆめ」と低アミロース突然変異形質*dull*を有する「彩」と秋田県産の「あきたこまち」を供試し、澱粉の分子構造の比較を行った。北海道米3品種の澱粉の結晶型はCa型（A型に近いC型）を示した。一般に米澱粉はトウモロコシ澱粉に代表されるA型を示すが、供試した北海道米の米澱粉がCa型を示した要因として登熟期間の低温気象が考えられる。すなわち、栽培した1997年の登熟期間は異常な低温寡照で、出穂後15日間の平均気温が18°Cで、平年に比べて2°C低く、日照時間

は平年の24%程度であった。Hizukuri (1961) は発芽ダイズを用いた実験で、温度とアミロデキストリンの濃度が高いほどA型を示しやすいことを報告している。このことから、供試した北海道米では登熟期間の低温寡照により澱粉のCa形結晶構造を生じたものと推察される。すなわち、登熟温度が澱粉の分子構造に影響を与えていることが示唆された。

北海道米のアミロースの構造は「あきたこまち」と比べて大きな差は認められず、北海道米の老化しやすい性質はアミロースの構造よりもアミロース含量が高いことに加え、アミロペクチンの分子構造上の違いによるものと考えられる。アミロペクチンのヨウ素親和力は「ほしのゆめ」、「きらら397」が0.5で、「彩」、「あきたこまち」より2.5倍高く、「ほしのゆめ」と「きらら397」のアミロペクチン分子にはアミロペクチンLC (Takedaら, 1987) の量が多いことが示唆された。アミロペクチン単位鎖長分布を調べた結果、北海道米の「ほしのゆめ」と「きらら397」は、アミロペクチンのヨウ素親和力から示唆されたアミロペクチンLCが存在することが明らかとなった。アミロペクチンLC含量は、「ほしのゆめ」と「きらら397」は「あきたこまち」に比べて約3.5倍であった。これらのアミロペクチンLC含量は、水上と竹田 (2000) が報告したホシユタカの3.7%と同程度の値であった。Inouchiら (2005) はRVAのセットバックとLC含量の間には高い正の相関関係があることを明らかにしている。これらのことから、「ほしのゆめ」と「きらら397」が「あきたこまち」に比べてRVAのセットバックが高かった要因としてアミロペクチンLCの影響が考えられた。さらに、北海道米のアミロペクチンのクラスターを構成する鎖の数が「あきたこまち」に比べて多いことの要因として、品種間差の他に登熟温度も影響していると考えられた。Jiangら (2003) は登熟期間の温度が高いほど、胚乳中の枝付け酵素1、枝付け酵素3 およびGBSSの活性および発現量は低いことを明らかにしている。これらの結果は高温で澱粉の枝付け酵素の活性が低下することによりアミロペクチンのクラスター当たりの鎖数が減少し、胚乳のアミロペクチンの長鎖画分が増加することを示唆した。

以上のことから、北海道米はこれまでにアミロース含量で選抜し、同一アミロース含量であっても物性や食味特性が異なる事例が散見されてきたが、この要因の一つとしてアミロース含量に含まれるアミロペクチンLCの影響が考えられた。したがって、さらなる食味向上を目指した高度な選抜を行うためには、アミロペクチンLCの量を考慮するなど、アミロペクチンの分子

構造に着目した選抜手法の確立が重要と考えられる。また、これら澱粉分子構造の差異の要因として、品種間差の他に登熟温度の影響が考えられる。

第3節 登熟温度が米のアミロペクチン単位鎖長分布とLC含量に及ぼす影響

第4章ではアミロペクチン単位鎖長分布とLC含量に及ぼす登熟温度の影響を調べた。北海道米の主要品種である「きらら397」のアミロペクチンLC含量は、低温(21/17°C) 2.58%、中温(25/21°C) 1.30%、高温(29/25°C) 0.48%で登熟期間温度が低いほど多かった。このことから、アミロペクチンLCもアミロースと同様に登熟期間温度が低いほど増加することが明らかとなった。また、アミロペクチンのA+B1画分とB2+B3画分の重量比およびモル比(A+B1)/(B2+B3)は登熟期間温度が低いほど大きかった。これらの結果は、近年育成された北海道米5品種と4系統およびミルキークイーンを供試して確認された。登熟期間温度は22/16, 26/20, 30/24, 34/28°C(昼/夜)で行った。アミロペクチンLC含量の平均登熟期間温度1°C当たりの変動量は、19~23°Cの範囲では0.542%、23~27°Cでは0.152%、27~31°Cでは0.037%で、低温ほど大きかった。また、アミロース含量とアミロペクチンLC含量は品種よりも登熟期間温度の影響が大きかった。

これらことから、北海道のように登熟温度が低い地域ではアミロペクチンLC含量が増加しやすいと考えられる。一方、低アミロース品種は粳品種に比べてアミロース含量に占めるアミロペクチンLC含量の割合が高かった。これは、品種によりアミロペクチンLCの生合成酵素の発現や制御機能に差異があることを示唆した。

以上のことから、アミロペクチンLC含量は米飯物性に影響を及ぼすことが知られており、登熟温度が低い北海道米はアミロース含量と同様にアミロペクチンLC含量も低温により増加しやすく、これが食味の低下を招く要因と考えられる。したがって、アミロペクチンLC含量が低く、異なる登熟温度条件でも澱粉の構造が安定している品種の育成が必要と考えられる。また、今後の良食味米の選抜には、アミロペクチンLCを含まない系統やアミロース含量が低く登熟温度で鎖長分布が変動しにくい系統の選抜が必要であり、アミロペクチンLCを付与するGBSSIの品種間差異やその発現制御メカニズムの解析が重要と考えられる。したがって、これまでアミロース変異系統を利用した良食味品種の育成が行われてきたが、アミロペクチンの分子構造にも品種間差が示唆され、糊化特性や食味に影響を与え

ていることから、アミロペクチンの分子構造に着目した選抜が重要と考えられる。ただし、アミロペクチンの分子構造も登熟温度によっても変動することが明らかであり、品種間差の評価には温度制御条件下での比較が必要と考えられる。

しかし、育種の選抜過程においてアミロペクチンLC含量を評価することは困難であり、鎖長分布の測定より簡便で迅速な方法が求められる。水上と竹田(2000)は、アミロペクチンLC含量が多いほど米飯は硬く、付着性と粘着力が弱く、RVAによるブレイクダウンと負の相関を認め、澱粉粒の崩壊性にLCの関与を指摘した。さらに、Inouchiら(2005)はRVAのセットバックとアミロペクチンLC含量の間には正の有意な相関を認めている。また、Horibataら(2004)は近年日本で育成された米について胚乳澱粉のアミロペクチンのFr. A含量(重合度6~12の割合)とアミロペクチンLC含量との散布図を作成し、米の胚乳澱粉を構造および物性面から系統的に分類する方法を提案している。これらのことから、アミロペクチンLC含量は澱粉の老化性に関与しており、育種選抜における利便性を考えるとRVAのセットバックを調べるのが有効と考えられる。

大坪ら(2004)は、RVAの糊化特性値から米の物性および老化性を評価する装置を開発し、RVAの最高粘度、最低粘度、最終粘度から老化性指標(RI)の推定式を作成した。しかし、RVAの糊化特性値を得るためには、約3gの試料と20分程度の分析時間を要する。そこで、より簡便に老化性指標を推定するため、オートアナライザーを活用してヨウ素吸収曲線の特性値から老化性指標およびセットバックを推定できれば、育種における利便性は高いと考えられる。

第4節 米澱粉のヨウ素吸収曲線による新食味評価法

第5章では、従来のオートアナライザーにヨウ素吸収曲線を自動測定できるマルチチャンネル検出器を備えた新たなオートアナライザーを開発し、この装置を用いて、アミロースの分子量が最大吸収波長に及ぼす影響、登熟温度がヨウ素吸収曲線および熱糊化性に及ぼす影響を検討し、簡易な老化性指標の推定法を確立した。

育種現場で利用されているアミロース分析用オートアナライザーに307 nm~1140 nmまで256波長を瞬時に測定できるMonoIithic Miniature Spectrometer(ドイツZEISS社製)を接続し、1時間に20点のヨウ素吸収曲線の自動測定と分析項目の出力プログラムを開発した。

ChinnaswamyとBhattacharya(1986)は、最大吸収波長はアミロースとアミロペクチンの混合比率と相関があ

り、アミロペクチンの濃度が高いほど最大吸収波長は短いことを明らかにしている。すなわち、アミロペクチン分子はアミロースに比べて α -1,4-グルカンの直鎖状分子が短く、最大吸収波長が短いため、アミロペクチンの濃度が高いほど最大吸収波長が短く、また、同時にアミロース濃度が低くなるため、アミロースとヨウ素の結合量が少なくなり長波長側へシフトする力が弱くなったためと推察される。このため、最大吸収波長を測定することにより、アミロース含量とアミロペクチン含量の推定が可能と考えられる。したがって、新たな加工適性を備えた素材の探索などにおいてヨウ素吸収曲線を解析する場合、多波長解析が可能な本装置は有効と考えられる。なお、最大吸収波長に及ぼすアミロース分子量の影響を検討した結果、分子量が70000以上では波長はほぼ一定で約598nmであった。吉尾(1997)の報告によれば、国内産米のアミロースの数平均重合度は630~1421(分子量102060~230202)であり、米を分析する場合、アミロースの分子量が最大吸収波長に及ぼす影響は少ないと考えられる。

セットバックはピーク面積比Fr.I/IIが1.25未満では急激に増加するが、1.25以上ではほぼ一定であった。また、ピーク面積比Fr.I/II (X) とセットバック (Y) の関係から、 $Y = (29.7X - 27.1) / (0.73X - 0.72)$ ($R^2 = 0.799$) の回帰式を得た。これにより、ピーク面積比Fr.I/IIを測定するだけで、セットバックの推定が可能となった。また、セットバックと大坪ら(2004)の老化性指標(RI)との間には高い正の相関($r = 0.937^{***}$, $n = 21$)があることを認めた。さらに、ピーク面積比Fr.I/II (X) と老化性指標(RI) (Y) の関係から、 $Y = (221.5X - 180) / (126.0X - 120.4)$ ($R^2 = 0.905$) の回帰式を得た。したがって、老化性指標(RI)の推定法としてピーク面積比Fr.I/IIが有効と判断した。なお、ジャポニカ品種のみで評価したので、インディカ品種への適用については今後の課題である。

以上のことから、従来のオートアナライザーによるアミロース含量の分析方法と全く同じ操作でヨウ素吸収曲線の自動測定が可能となった。この方法によって、アミロース含量、井ノ内ら(1996)の最大吸収波長、山下ら(1994)の二波長測定法に加え、ヨウ素吸収曲線のピーク面積、ピーク面積比Fr.I/II、最大吸収波長の測定をすべて同時に行うことができ、多次元解析が可能となった。また、ヨウ素吸収曲線の特性値から老化性指標(RI)およびセットバックが推定できることから、育種における利便性は高いと考えられる。今後、テクチャーなど物理的特性値や食味総合値の予測などに応用できる可能性があり、良食味米育種選抜における効率的な利用が期待される。

第5節 アミロペクチン単位鎖長分布による餅硬化性の評価

第6章ではアミロペクチン単位鎖長分布から餅硬化性を推定する方法の検討を行い、糯米育種に活用することを目的にした少量の糯米試料による餅硬化性の評価手法の確立を試みた。

従来の硬化性選抜法は餅生地を直接供試するため、その調製に時間と手間がかかり、育種の初期段階から多くの系統を検定し選抜することは困難であった。したがって、餅生地を作ることなく、食味や硬化性が推定できるようになれば、糯米品種育成の効率は著しく向上すると考えられている(小林ら, 1999)。一方、糯米のアミロペクチンの分子構造と物理化学的特性の関係について多くの報告がある(Suzukiら, 2006; 江川と吉井, 1990; 佐藤と笈田, 1997)が、アミロペクチンの分子構造から餅硬化性を推定し、糯米の用途を判別する指標は明らかにされていない。

そこで、アミロペクチンの分子構造から餅硬化性を評価できれば、糯米育種において餅生地を調製することなく選抜が可能となるだけでなく、その鎖長分布から物理的特性および餅硬化性の改善方向が検討でき、交配目標が明確になり育種の効率化に寄与できると考えられる。

第6章において、餅生地の硬化性が高い品種のアミロペクチンの短鎖と長鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ は小さく、餅生地の硬化性が低い品種ではその比が大きいことが明らかとなった。すなわち、アミロペクチン単位鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ と硬化性には負の相関関係が認められ、糯米の用途を判別する指標として、主食用(大福など)はアミロペクチン単位鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ が11.5以上、加工用(板餅など)は11以下が適していると判断した。このことから、硬化性の低い糯品種(はくちょうもち)のアミロペクチンはアミロペクチンクラスター当たりの鎖数が多く、澱粉ゲルの保水力が高いため、柔らかい餅生地になると考えられた。

以上のことから、アミロペクチン短鎖と長鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ は、有意な品種間差が認められ、測定誤差も小さく再現性も高いため、糯米の餅硬化性の評価指標として有効と考えられる。

第7章では北海道産糯米の主力品種である「はくちょうもち」を用い、年次と産地間の変動要因と考えられる栽培環境要因のうち、特に登熟期間温度と窒素施肥量に着目し、これらがアミロペクチンの鎖長分布に及ぼす影響を調べ、アミロペクチンの分子構造と熟糊化性の関係を検討した。

餅硬化性と糊化開始温度は、登熟温度と密接に関係しており、登熟温度が高いほど高いことが知られている(斉藤, 1987; 松江ら, 2002)。一般に、餅硬化性に関係する糊化開始温度は、品種間の差よりも登熟温度の影響を強く受けることから、生産条件の中でアミロペクチン単位鎖長分布の最も大きな変動要因は登熟温度であると推察されている(石崎, 1994)。

アミロペクチンの分子構造の変動要因を登熟期間温度と窒素施肥量について検討した結果、アミロペクチンの分子構造の変動は、登熟期間温度と窒素施肥量で86%説明でき、窒素施肥量の影響は小さく登熟期間温度の影響がきわめて大きいことを明らかにした。また、登熟期間温度が高いほどアミロペクチン単位鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ が大きく、最低粘度が高く、ブレイクダウンが小さく、糊化開始温度およびピーク温度が高くなることを明らかにした。このことから、糯米の物理化学的特性にはアミロペクチンの分子構造が強く影響しており、その変動要因には登熟温度が関与していることを明らかにした。

以上のことから、北海道糯米の物性を改善するためにはアミロペクチンの分子構造に着目した選抜育種による品種改良が必要と考えられる。生産年次による硬化性の変動要因として、登熟温度に伴うアミロペクチンの分子構造の差異が主要因であることが明らかとなり、餅生地硬化性の評価指標値としてアミロペクチン単位鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ が有効と考えられた。

また、アミロペクチンの分子構造解析を稲育種における初期選抜過程において実施することを想定して、糯米玄米1粒によるアミロペクチン構造解析を検討し、玄米1粒で餅生地硬化性を評価できることを示した。これは、育種現場における餅生地の評価方法として有意義と考えられる。なお、示差屈折計ではドリフトの影響により不安定となる場合があり、蛍光検出器では非常に安定したデータが得られ再現性が高く、蛍光標識ゲル濾過HPLC法は示差屈折計のみのゲル濾過HPLC法よりも構造解析に優れていることを明らかにした。

本研究は、登熟温度による胚乳澱粉の分子構造の変化、特にアミロペクチン単位鎖長分布に着目し、北海道米の澱粉分子構造に及ぼす登熟温度反応性について明らかにした。また、今後の北海道米の育種目標および選抜指標を示し、新食味評価法として、粳米についてはオートアナライザーを用いたヨウ素吸収曲線の解析による老化性指標 (RI) およびセットバックの推定法、糯米についてはアミロペクチン単位鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ による餅生地硬化性の評価法を確立した。今後、これらの方法により成分育種の高度化が図

られ、実需者ニーズに対応した良食味米が育成され「売れる米作り」に寄与できる。

第9章 要約

本研究は、北海道米の良食味米育種における成分育種の高度化を図るため、北海道米の澱粉の分子構造に着目し、その変動要因を解析し、澱粉の分子構造から見た北海道米の改善すべき点を明らかにした。また、育種現場で品種選抜を行うにあたり、澱粉の分子構造に基づいた選抜指標の策定と新規食味評価法を開発した。

1. 登熟温度および枝梗着生位置とアミロース含量の関係

「きらら397」におけるアミロース含量の変動要因について、登熟温度（出穂後40日間の日平均気温積算値）、年次、移植時期、苗の種類、出穂日および枝梗着生位置について検討した。

1) アミロース含量と登熟温度の間には有意な負の相関があり、登熟温度が800°C以下の登熟温度域では回帰式の回帰係数が大きく、低温ほどアミロースの変動量が大きいことが明らかとなった。また、アミロース含量は移植時の苗の葉数と有意な負の相関が認められた。

2) アミロース含量は同一出穂日であっても標準偏差で0.38~1.34%の変動が認められた。

3) 枝梗着生位置別のアミロース含量は、一次と二次枝梗粒とも上位で高く下位で低かった。

4) 一次枝梗粒のアミロース含量は二次枝梗粒より高く、この理由として二次枝梗粒の澱粉の生合成および充填が一次枝梗粒より劣るためと考えられた。

5) 一方、乳白と腹白歩合は、下位の枝梗粒や二次枝梗粒で高く、乳白と腹白歩合とアミロース含量の間には有意な負の相関が認められた。

以上のことから、二次枝梗粒を少なくすることが品質向上のために重要であり、品種育成においては、一次枝梗比率の高い穂相を有する品種の開発が北海道米の食味向上および品質向上にとって必要であることが判明した。

2. 北海道米澱粉の分子構造と性質

澱粉の分子構造と糊化特性を北海道産米「ほしのゆめ」、「きらら397」、「彩」を秋田県産米「あきたこまち」と比較して解析した。

1) 北海道米3品種の澱粉の結晶型はCa型、「あきたこまち」はA型を示した。

2) 真のアミロース含量は、「ほしのゆめ」、「きらら397」が18%で「彩」、「あきたこまち」より約2%高かった。

3) RVAによる熱糊化特性は「ほしのゆめ」、「きらら397」で最高粘度が低く、ブレイクダウンが小さく、冷却時の粘度増加が高いが、「彩」、「あきたこまち」は最高粘度が高く、冷却時の粘度増加は低かった。

4) アミロースのヨウ素親和力は「ほしのゆめ」、「きらら397」が約19で「彩」、「あきたこまち」よりわずかに小さく、数平均重合度 (DPn) は「ほしのゆめ」と「きらら397」が「あきたこまち」とほぼ同じ (~900) で、「彩」(~1000) がやや大きかった。平均鎖数は2~3であった。数 (モル) 分布は北海道3品種とも「あきたこまち」より広がった。

5) アミロペクチンのヨウ素親和力は「ほしのゆめ」、「きらら397」が0.5で、「彩」、「あきたこまち」より2.5倍高く、DPnは「あきたこまち」(9400) が最も大きく、「彩」(7600) が最も小さかった。平均鎖長は北海道3品種が19で「あきたこまち」より1~2残基短く、β-アミラーゼ分解限度は「あきたこまち」よりわずかに高かった。

6) アミロペクチンLC含量は、「ほしのゆめ」と「きらら397」は「あきたこまち」に比べて約3.5倍多かった。

以上のことから、「彩」はアミロース含量が「あきたこまち」と同程度で、他の北海道品種に比べ冷却時の粘度増加も改善されているが「あきたこまち」よりも高く、熱糊化特性の差異の要因としてアミロース分子分布やアミロペクチン単位鎖長分布の影響が考えられた。したがって、今後の良食味育種では低アミロース含量の選抜に加えて澱粉の分子構造に着目し、特にアミロペクチンLCの少ない品種選抜が必要と思われる。

3. 登熟期間温度が米のアミロペクチン単位鎖長分布とLC含量に及ぼす影響

アミロペクチン単位鎖長分布とLC含量に及ぼす登熟期間温度の影響をHanashiroらの蛍光標識ゲル濾過HPLC法で調べた。

1) 北海道米の主要品種である「きらら397」のアミロペクチンLC含量は、低温 (21/17°C) 2.58%、中温 (25/21°C) 1.30%、高温 (29/25°C) 0.48%で登熟期間温度が低いほど多かった。

2) アミロペクチンのA+B1画分とB2+B3画分の重量比およびモル比 (A+B1)/(B2+B3) は登熟期間温度が低いほ

ど大きかった。これらの結果は、近年育成された北海道米5品種と4系統およびミルキークイーンを供試して確認された。なお、登熟期間温度は22/16, 26/20, 30/24, 34/28°C(昼/夜)で行った。アミロペクチンLC含量の平均登熟期間温度1°C当たりの変動量は、19~23°Cの範囲では0.542%, 23~27°Cでは0.152%, 27~31°Cでは0.037%で、低温ほど大きかった。

3) アミロース含量は登熟温度と負の相関があることが知られているが、アミロペクチンLC含量も同様に低温で増加することが明らかとなった。低アミロース品種は粳品種に比べてアミロース含量に占めるアミロペクチンLC含量の割合が高かった。アミロース含量とアミロペクチンLC含量は品種よりも登熟期間温度の影響が大きかった。

以上のことから、今後の良食味米の選抜において、モル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ が小さく、アミロペクチンLC含量が低く、異なる登熟期間の温度条件でも澱粉の構造が安定している品種の育成が指摘される。これはアミロペクチンLCの生合成に関与する酵素や遺伝子の作用を解析することによって達成できることを示唆する。

4. 米澱粉のヨウ素吸収曲線による新食味評価法

ヨウ素吸収曲線(波長400 nm ~ 900 nm)を自動測定できるマルチチャンネル検出器を備えたオートアナライザーを開発した。この装置を用いて、アミロースの分子量が最大吸収波長(λ_{max})に及ぼす影響、登熟期間温度が米粉のヨウ素吸収曲線および熱糊化性に及ぼす影響と簡易な老化性指標(セットバック)の評価法を検討した。

1) λ_{max} はアミロースの分子量が約70000以上で、約598 nmであった。 λ_{max} とアミロース濃度との間には正の相関が認められた。 λ_{max} は登熟期間温度が高いほど短く、粳品種に比べて低アミロース変異(*dull*)系統では登熟期間温度による変動が大きいことを認めた。

2) ヨウ素吸収曲線を Fr.I (400~600 nm) と Fr.II (600~900 nm) とに分割し、それぞれのピーク面積の比 (Fr.I/II) を求めた。Fr.I/II (X) とセットバック (Y) には $Y = (29.7X - 27.1)/(0.73X - 0.72)$ の関係が良く適合 ($R^2 = 0.799$) し、Fr.I/IIで簡易に米粉の老化性が評価できることを明らかにした。

5. アミロペクチン単位鎖長分布による餅硬化性の評価

糯米育種を効率的に実施するために、アミロペクチン単位鎖長分布による餅硬化性の評価手法を検討し

た。アミロペクチン単位鎖長分布は、硬化性の異なる品種と系統を用い、蛍光標識ゲル濾過HPLC法により分析し、硬化性とアミロペクチン単位鎖長分布との関係を明らかにした。

1) 糯米澱粉のアミロペクチンには品種間差が認められ、主食用の柔らかい餅生地を有する品種(はくちょうもち等)はアミロペクチンの短鎖の割合が多く、加工用の硬化性の高い品種(こがねもち等)は長鎖が多い構造であった。

2) アミロペクチン単位鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ と硬化性の間には負の相関関係が認められた。アミロペクチン単位鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ の標準偏差は重量比に比べて小さく、品種間差が明瞭であった。

3) 糯米の用途を判別する指標として、主食用はアミロペクチン単位鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ が11.5以上、加工用は11以下が適していた。

これらのことから、アミロペクチン単位鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ 、すなわちクラスターを構成する鎖の数は糯米の育種における餅生地硬化性の有効な評価指標となった。

6. 登熟期間温度と窒素施肥量が糯米のアミロペクチン単位鎖長分布に及ぼす影響

北海道産糯米の餅生地は府県産糯米と比べ柔らかく、主食用(おこわ、大福、おはぎ等)として利用されている。しかし、年次と産地間により物性の変動が大きいため、その安定性が求められている。そこで、年次と産地間の変動要因と考えられる登熟期間温度と窒素施肥量の栽培条件がアミロペクチンの鎖長分布に及ぼす影響について検討した。

1) アミロペクチン単位鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ は、11.1~13.9の値を示し、全平均12.4に対して低温+0.828, 中温+0.195, 高温-1.02であった。

2) 分散分析の結果、モル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ の変動は登熟期間温度と窒素施肥量で86%説明でき、窒素施肥量の影響は小さく登熟期間温度の影響がきわめて大きかった。

3) また、登熟期間温度が高いほどアミロペクチン単位鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ が大きく、最低粘度が高く、ブレイクダウンが小さく、糊化開始温度およびピーク温度が高かった。

4) アミロペクチン単位鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ と最低粘度(-0.952), 糊化開始温度(-0.867), ピーク温度(-0.944)とは危険率1%水準で高い負の相関関係が認められた。

これらことから、糯米の物性にはアミロペクチンの

分子構造が強く影響していると考えられた。特に北海道糯米では、登熟期間温度が低温であるほど1つのクラスターを構成する短鎖の数が多く糊化開始温度が低かったことから、低温で登熟した糯米澱粉はアミロペクチンに短鎖が多く、澱粉ゲルの保水力が高いため糊化開始温度が低く、柔らかい餅生地になるとことを明らかにした。

7. 結論

本研究は、登熟温度や登熟期間温度による胚乳澱粉の分子構造の変化、特にアミロペクチン単位鎖長分布に着目し、北海道米の澱粉分子構造に及ぼす登熟温度反応性について明らかにした。また、今後の北海道米の育種目標および選抜指標を示し、新食味評価法として、粳米についてはオートアナライザーを用いたヨウ素吸収曲線の解析による老化性指標 (RI) およびセットバックの推定法、糯米についてはアミロペクチン単位鎖のモル比 $(A+B1)/(B2+B3)$ による餅生地の硬化性の評価法を確立した。今後、これらの方法により成分育種の高度化が図られ、実需者ニーズに対応した良食味米が育成され「売れる米作り」に寄与できる。

Effect of Temperature during Grain Filling on Molecular Structure of Rice Starch from Hokkaido Cultivars, and New Eating Quality Evaluation Method of Rice

Toshinari Igarashi

Summary

The aim of this study is to investigate the effect of temperature during grain filling on molecular structure of rice starch from Hokkaido cultivars, and to develop new methods for eating quality evaluation of rice. The following subjects were examined to achieve the aim: 1) the influence of temperature during grain filling and of the location of grains within rice panicle on the amylose content in a major Hokkaido cultivar, Kirara397; 2) the molecular structures and some properties of rice starch from Hokkaido cultivars, Hoshinoyume, Kirara397 and Aya, and a comparison with those from an Akita cultivar with good eating quality, Akitakomachi; 3) the influence of the grain-filling temperature on the super-long chain (LC) amount of amylopectin and on the unit-chain distribution of amylopectin determined by the fluorescent labeling/HPSEC method; 4) the influence of the molecular weight of amylose on the maximum absorption wavelength (λ_{max}), and of the temperature during grain filling on iodine absorption spectrum of starch and starch pasting properties; 5) the unit-chain distribution of amylopectin from japonica waxy rice cultivars having different hardness of rice cake, and the relation of the chain-length distribution to the hardness; 6) the effects of grain-filling temperature and nitrogen-fertilizer amount on unit-chain distribution of amylopectin from glutinous rice, and the production of glutinous rice with stable quality to meet market demand in Hokkaido.

1. The influence of temperature during grain-filling and the location of grains within rice panicle on the amylose content

The factors of the variable amylose content of Kirara397 harvested in a cool distinct Hokkaido were analyzed: grain-filling temperature, planting year, planting types of seedling, heading date, and the location of grains on panicles. A significantly negative correlation was found between the temperature and amylose content. The result indicated that temperature influenced the amylose content, largely especially when the accumulated temperature during grain filling was below 800°C. Also, a significantly negative correlation was observed between the seedling ages and amylose content. The standard deviation within the amylose content of grains from panicles of the same heading date ranged from 0.38 to 1.34%. The amylose content varied by location of grains, and was higher in the upper position than that in the lower position. In addition, the amylose content of grains on the primary rachis branches was higher than that on the secondary ones. The possible reason is that the starch accumulation in grains on the primary rachis branches was superior to that on the secondary ones. On the other hand, the amount of milk white and white belly grains on the secondary rachis branches and in the lower position was high. Also, the amount those grains negatively correlated with the amylose content. These results indicate that in order to improve the quality of rice in Hokkaido, reducing the number of grains on secondary rachis branches is essential. Also, breeding cultivars with higher ratio of primary rachis branches is necessary.

2. Molecular structures and some properties of rice starches from Hokkaido cultivars

The molecular structures and some properties of rice starches from Hokkaido cultivars, Hoshinoyume, Kirara397 and Aya, were examined and compared with Akitakomachi. The Hokkaido cultivars showed a Ca type of X-ray diffraction pattern whereas Akitakomachi showed an A type. The actual amylose content of Hoshinoyume and Kirara397 were 18% and higher than those (16%) of Aya and Akitakomachi. Pasting properties determined with RVA showed that Hoshinoyume and Kirara397 had smaller maximum viscosity than Aya and Akitakomachi, and smaller breakdown and higher setback than Akitakomachi. Iodine affinity of amylose from Hoshinoyume and Kirara397 was approximately 19 smaller than those (20) of the others. The average number of degree of polymerization (DPn) showed that Hoshinoyume and Kirara397 (~900) were almost the same as Akitakomachi and were smaller than Aya (~1000). The average number of chains of amylose was 2-3. The molar-based distribution of the Hokkaido cultivars was wider than for Akitakomachi. Iodine affinity of amylopectin from Hoshinoyume and Kirara397 was 2.5 times higher than for Aya and Akitakomachi. The DPn of Akitakomachi (9400) was largest whereas that of Aya (7600) was smallest. The amylopectin from the Hokkaido cultivars had the average chain length with residues 1-2 shorter and β -amylolysis limit slightly higher than that of Akitakomachi. The amount of amylopectin super-long chain from Hoshinoyume and Kirara397 was 2.3-3.5 times higher than for Aya and Akitakomachi. These results suggest that cooked rice of Hokkaido cultivars, except for Aya, has inferior eating qualities due to a higher content of amylose and amylopectine LC compared with Akitakomachi. Thus, as well as the amylose content, the molecular structure of amylopectin, especially its super-long chain, should be paid much attention in rice breeding for better eating quality.

3. Grain-filling temperature of rice influences the amount of super-long chain of amylopectin and its unit-

chain distribution

The influence of grain-filling temperature on the super-long chain (LC) amount and unit-chain distribution of amylopectin was examined by the fluorescent labeling/HPSEC method. The grain-filling temperature (°C, day/night) of L21/17, M25/21 and H29/25 using Kirara397 gave the LC amount of 2.58%, 1.30% and 0.48%, respectively, indicating that the lower temperature increased the LC amount. The lower temperature showed higher molar and weight ratios of short to long unit-chains, (A+B1)/(B2+B3). These findings were confirmed by the experiment using five cultivars and four lines of rice recently bred in Hokkaido together with Milky-Queen cultivated at a slightly different grain-filling temperature of L22/16, M26/20, H30/24 and HH34/28. The increase of LC amount per 1°C was calculated to be 0.542%/°C, 0.152%/°C, and 0.037%/°C in the temperature range (average temperature of day and night) of 19–23°C, 23–27°C and 27–31°C, respectively, indicating that the low temperature increased the LC amount. It was also found that the LC amount was higher for low-amylose cultivars than for non-glutinous cultivars, and that the grain-filling temperature less varied the LC amount of the non-glutinous cultivars. Therefore, for the future rice breeding for cooked rice with good texture, rice cultivars which have a low LC amount and also a rigid amylopectin structure even under different grain-filling temperature should be developed. This might be achieved by the gene analysis of enzyme(s) involved in the biosynthesis of amylopectin.

4. Analysis of iodine absorption curve of starch by chemometrics to evaluate the eating quality of rice

The amylose content of milled rice is usually determined colorimetrically by the iodine test. An automatic analyzer was developed to obtain the iodine absorption spectrum ranging from 400 to 900 nm. Using the device, the influence of the molecular weight of amylose on the maximum absorption wavelength (λ_{max}) was examined. Also, the influence of the temperature in the grain filling period on the iodine absorption spectrum of starch and on the starch pasting properties was examined. The λ_{max} of the amylose was 598 nm with molecular weight of approximately 70,000 and higher. A positive correlation was observed between the absorbance at λ_{max} and the amylose content. The λ_{max} showed a shorter wavelength in the rice grown at a high temperature during grain filling. The shift of λ_{max} by temperature during grain filling was larger in the low-amylose varieties (*dull*) and breeding lines than in the non-glutinous varieties. The difference between the minimum and final viscosities in RVA (Y) was shown by an equation, $Y = (29.7X - 27.1)/(0.73X - 0.72)$, where X is the ratio of absorbance at 400–600 nm (Fr.I) to that at 600–900 nm (Fr.II). Thus, the λ_{max} and the Fr.I/Fr.II ratio can be used as efficient eating-quality selection indexes in rice breeding.

5. Evaluation of hardness of waxy rice cake based on the amylopectin chain-length distribution

Waxy rice is used for staple and processed foods. For its effective breeding, an evaluation/selection index has been required. In this study, the unit-chain distribution of amylopectin from japonica waxy rice cultivars with different hardness of rice cake were analyzed by the fluorescent labeling/HPSEC method; the relation of the unit-chain distribution to the hardness was then examined. The difference in the amylopectin structure was found among the cultivars. Waxy rice producing soft cake, such as Hakuchoumochi, has shorter unit-chains (A+B1), and fewer long unit-chains (B2+B3), than that producing hard cake, such as Koganemochi. The molar ratio of (A+B1)/(B2+B3), which is considered to be the number of chains comprising a cluster of amylopectin, was 10.1–11.7; the ratio varied by the cultivars tested. The molar ratio determined by fluorescent response of size exclusion HPLC was much more reliable than the weight ratio obtained by RI response because of the stable base line during HPLC. A negative correlation was found between the molar ratio and the hardening of rice cake. Waxy rice having a molar ratio of 11 or below appeared to be suitable for processing use, and 11.5 or higher for principal food use. Thus, the molar ratio (A+B1)/(B2+B3) of amylopectin unit-chains can be one of the useful evaluation/selection indexes for the breeding of waxy rice.

6. Effect of temperature during grain filling and nitrogen fertilizer amount on the unit-chain distribution of glutinous rice amylopectin

The effect of temperature during grain filling (day/night, high 29/25, medium 25/21, low 21/17 °C) and nitrogen fertilizer amount (8, 10, 12 gN/m²) on the unit-chain distribution of glutinous rice amylopectin was examined to produce glutinous rice with stable quality to meet market demand. The molar ratio (A+B1)/(B2+B3) of amylopectin unit-chains ranged from 11.4 to 13.8 under such condition. Multivariate statistical analysis, the Quantification Type I method, was adopted for the estimation of the effects of temperature during grain filling and nitrogen fertilizer amount on the molar ratio (A+B1)/(B2+B3) of amylopectin unit-chains. The variation in the molar ratio was explained in 86% by the temperature and nitrogen fertilizer amount. F value was 35.2 for the whole model, 66.0 for the temperature, and 4.4 for nitrogen fertilizer. The difference of the molar ratio against the average value of 12.4 was determined to be +0.83, +0.20 and -1.02 for the low, medium and high temperatures, respectively. These findings implied that the temperature during grain filling influenced more greatly than nitrogen fertilizer on the molar ratio and that the molar ratio decreased per degree rise in temperature. In other words, the amount of the A and B1 chains composing of single cluster increased at the low temperature. The high temperature was also found to increase the minimum viscosity and the pasting and peak temperatures of starch. Therefore, the high temperature of the ripening stage is the necessary condition to produce glutinous rice corresponding to the market needs.

謝 辞

本論文をとりまとめるにあたり、主査をしていただいた北海道大学大学院農学研究院・松井博和教授には、有意義な御指摘、御助言を賜り、かつ温かい御指導を頂きました。心より感謝申し上げます。また、御多忙にもかかわらず、副査を引き受けてくださった、北海道大学大学院農学研究院・大崎満教授、横田篤教授、竹田靖史鹿児島大学名誉教授・放送大学鹿児島学習センター所長に厚くお礼を申し上げます。

本研究を遂行するに当たり、1998年1月から3月まで研修を受け入れてくださった竹田靖史鹿児島大学名誉教授・放送大学鹿児島学習センター所長には終始懇切なる御指導、御鞭撻を賜りました。また、投稿論文をまとめる際にも、有意義な御指摘、御助言、御協力を賜りました。鹿児島大学農学部花城勲准教授には澱粉の分子構造の解析について懇切丁寧に指導していただきました。

本研究は北海道米の食味研究の先駆者である稲津脩博士のご指導により開始しました。稲津先生には研修先として鹿児島大学の研究室を御紹介いただき、終始御指導ご鞭撻を賜り、北海道稲作研究の基礎を親身に教育してくださいました。ビーエルテック株式会社政木一央氏におかれましては、オートアナライザーの開発にあたりご協力を賜りました。元北海道立上川農業試験場水稲科木下雅文氏（現在北海道立中央農業試験場生産研究部水田転作科）、丹野久博士（現在北海道立中央農業試験場作物開発部副部長）には、実験材料を恵与いただきました。

北海道米麦改良協会研修生神田英毅氏には、本研究において圃場作業ならびに実験に多大な御協力をいただきました。元北海道立中央農業試験場農産品質科中森朋子氏には餅生地硬化性の評価にご協力頂きました。北海道立上川農業試験場研究部栽培環境科柳原哲司氏、楠目俊三氏、佐々木亮氏ならびに臨時農業技能職員の皆様には、試験および調査の実施に当たりご協力いただくとともに、論議を通じて有益な情報を与えていただきました。元北海道立上川農業試験場水稲栽培科長・山崎信弘氏（現北海道米麦改良協会技監）、谷川晃一氏、相川宗巖氏（現北海道立中央農業試験場遺伝資源部長）、北海道立中央農業試験場生産研究部副部長田中英彦氏、北海道立中央農業試験場技術普及部古原洋博士、北海道立中央農業試験場生産研究部水田転作科後藤英次博士には水稲栽培技術をご指導いただくとともに、各種の場内試験にご協力をいただきました。北海道立上川農業試験場管理科ならびに総務科の皆様には、試験を遂行するにあり圃場管理等にご協力を賜りました。全道の水稲関係農業改良普及センターおよび農協の各位には、水稲栽培試験にご協力いただきました。

以上の各位に深く感謝いたします。

引用文献

- Aoki, N., T. Umemoto, S. Yoshida, T. Ishii, O. Kamijima, U. Matsukura, N. Inouchi (2006): Genetic analysis of long chain synthesis in rice amylopectin. *Euphytica*, 151, 225–234.
- Asaoka, M., K. Okuno, T. Sugimoto and H. Fuwa (1985): Developmental changes in the structure of endosperm starch of rice (*Oryza sativa* L.). *Agric. Biol. Chem.*, 49, 1973–1978.
- Banks, W., C.T. Greenwood and D.D. Muir (1974): Studies on starches of high amylose content. *Starch*, 26, 289–300.
- Chen, J., M. Watanabe, M. Hisamatsu and T. Nakamori (2003): Relationship between physical properties and amylopectin structure of waxy rice starch. *J. Appl. Glycosci.*, 50, 133–137.
- Chinnaswamy, R. and R.K. Bhattacharya (1986): Characteristics of gel chromatographic fractions of starch in relation to rice and expanded rice product qualities. *Starch/Stärke*, 38, 51–57.
- Denyer, K., P. Johnson, S. Zeeman and A.M. Smith (2001): The control of amylose synthesis. *J. Plant Physiol.*, 158, 479–487.
- Dubois, M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers and F. Smith (1956): Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 28, 350–356.
- Fitzgerald M.A., M. Martin, R.M. Ward, W.D. Park and H.J. Shead (2003): Viscosity of rice flour: A rheological and biological study. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 2295–2299.
- Fulton, D.C., A. Edwards, E. Pilling, H.L. Robinson, B. Fahy, R. Seale, L. Kato, A.M. Donald, P. Geigenberger, C. Martin and A.M. Smith (2002): Role of granule-bound starch synthase in determination of amylopectin structure and starch granule morphology in potato. *J. Biol. Chem.*, 277, 10834–10841.
- Han, X. and B.R. Hamaker (2001): Amylopectin fine structure and rice starch paste breakdown. *J. Cereal Sci.*, 34, 279–284.
- Hanashiro, I., J. Abe and S. Hizukuri (1996): A periodic distribution of the chain length of amylopectin as revealed by high-performance anion-exchange chromatography. *Carbohydr. Res.*, 283, 151–159.
- Hanashiro, I. and Y. Takeda (1998): Examination of number-average degree of polymerization and molar-based distribution of amylose by fluorescent labeling with 2-aminopyridine. *Carbohydr. Res.*, 306, 421–426.
- Hanashiro, I., M. Tagawa, S. Shibahara, K. Iwata and Y. Takeda (2002): Examination of molar-based distribution of A, B and C chains of amylopectin by fluorescent labeling with 2-aminopyridine. *Carbohydr. Res.*, 337, 1208–1212.
- Hanashiro, I., J. Matsugasako, T. Egashira and Y. Takeda (2005): Structural characterization of long unit-chains of amylopectin. *J. Appl. Glycosci.*, 52, 233–237.
- Hanashiro, I., K. Itoh, Y. Kuratomi, M. Yamazaki, T. Igarashi, J. Matsugasako and Y. Takeda (2008): Granule-bound starch synthase I is responsible for biosynthesis of extra-long unit chains of amylopectin in rice. *Plant Cell Physiol.*, 49, 925–933.
- Hirano, H. and Y. Sano (1998): Enhancement of Wx gene expression and the accumulation of amylose in response to cool temperatures during seed development in rice. *Plant Cell Physiol.*, 39, 807–812.
- Hizukuri, S., M. Fujii, Z. Nikuni (1961): Effect of temperature during germination on the crystalline type of starch in soybean seedlings. *Nature*, 192, 239.
- Hizukuri, S. and S. Osaki (1978): A rapid Smith-degradation for the determination of non-reducing, terminal residues of (1→4)- α -D-glucans. *Carbohydr. Res.*, 63, 261–264.
- Hizukuri, S., Y. Takeda, M. Yasuda and A. Suzuki (1981): Multi-branched nature of amylose and the action of debranching enzymes. *Carbohydr. Res.*, 94, 205–213.
- Hizukuri, S. (1985): Relationship between the distribution of the chain length of amylopectin and the crystalline structure of starch granules. *Carbohydr. Res.*, 141, 295–306.
- Hizukuri, S. (1986): Polymodal distribution of the chain lengths of amylopectins, and its significance. *Carbohydr. Res.*, 147, 342–347.
- Horibata, T., M. Nakamoto, H. Fuwa and N. Inouchi (2004): Structural and physicochemical characteristics of endosperm starches of rice cultivars recently bred in Japan. *J. Appl. Glycosci.*, 51, 303–313.
- Inouchi, N., H. Ando, M. Asaoka (2000): The effect of environmental temperature on distribution of unit chains of rice amylopectin. *Starch*, 52, 8–12.
- Inouchi, N., H. Hibi, T. Li, T. Horibata, H. Fuwa and T. Itani (2005): Structure and properties of endosperm starches from cultivated rice of Asia and other countries. *J. Appl. Glycosci.*, 52, 239–246.
- Jiang, H., W. Dian and P. Wu (2003): Effect of high temperature on fine structure of amylopectin in rice endosperm by reducing the activity of the starch branching enzyme. *Phytochemistry*, 63, 53–59.
- Juliano, B.O. (1971): A simplified assay for milled-rice amylose. *Cereal Sci. Today*, 16, 334–338.
- Juliano, B.O., C.M. Perez, A.B. Blakeney, T. Castillo, N. Kongserree, B. Laignelet, E. T. Lapis, V. V. S. Murty, C. M. Paule and B. D. Webb (1981): International cooperative testing on the amylose content of milled rice. *Starch/Stärke*, 33, 157–162.
- Kobayashi, K., M. Nishimura (2007): Glutinous rice mutants with unique processing properties for glutinous rice breeding. *Breeding Science*, 57, 175–180.
- Koizumi, K., M. Fukuda and S. Hizukuri (1991): Estimation of the distributions of chain length of amylopectins by high-performance liquid chromatography with pulsed amperometric detection. *J. Chromatogr.*, 585, 233–268.
- Kurasawa, H., Y. Kanauchi, I. Yamamoto, T. Hayakawa and I. Igaue (1967): Some physicochemical properties of non-waxy paddy rice starch in Niigata prefecture, Part 1. Relation of properties of starch to eating and cooking qualities of milled rice. *Agric. Biol. Chem.*, 33, 798–806.
- Lansky, S., M. Kooi and T.J. Schoch (1949): Properties of the fractions and linear subfractions from various starches. *J. Am. Chem. Soc.*, 71, 4066–4075.

- Larkin, P.D. and W.D. Park (1999): Transcript accumulation and utilization of alternate and non-consensus splice sites in rice granule-bound starch synthase are temperature-sensitive and controlled by a single-nucleotide polymorphism. *Plant Molecular Biology*, 40, 719–727.
- Larson, B.L., K.A. Gilles and R. Jenness (1953): Amperometric method for determining the sorption of iodine by starch. *Anal. Chem.*, 25, 802–804.
- Matsue, Y., K. Odahara and M. Hiramatsu (1994): Differences in protein content, amylose content and palatability in relation to location of grains within rice panicle. *Jpn. J. Crop Sci.*, 63, 271–277.
- Matsue, Y., K. Odahara and M. Hiramatsu (1995): Differences in amylose content, amylographic characteristics and storage proteins of grains on primary and secondary rachis branches in rice. *Jpn. J. Crop Sci.*, 64, 601–606.
- Nakamura, Y., P.B. Jr. Francisco, Y. Hosaka, A. Sato, T. Sawada, A. Kubo and N. Fujita (2005): Essential amino acids of starch synthase IIa differentiate amylopectin structure and starch quality between japonica and indica rice varieties. *Plant Mol. Biol.*, 58, 213–227.
- Nelson, N. (1944): A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *J. Biol. Chem.*, 153, 375–380.
- Noda, T., Y. Nishiba, T. Sato and I. Suda (2003): Properties of starches from several low-amylose rice cultivars. *Cereal Chem.*, 80, 193–197.
- Reddy, K.R., S.Z. Ali and K.R. Bhattacharya (1993): The fine structure of rice-starch amylopectin and its relation to the texture of cooked rice. *Carbohydr. Polym.*, 22, 267–275.
- Robyt, J.F., and S. Bemis (1967): Use of the autoanalyzer for determining the blue value of the amylose-iodine complex and total carbohydrate by phenol-sulfuric acid. *Anal. Biochem.*, 19, 56–60.
- Sano, Y. (1987): Gene regulation at the waxy locus in rice. *Gamma-Field Symp.*, 24, 63–79.
- Satoh, H., A. Nishi, K. Yamashita, Y. Takemoto, Y. Tanaka, Y. Hosaka, A. Sakurai, N. Fujita and Y. Nakamura (2003): Starch-branching enzyme I-deficient mutation specifically affects the structure and properties of starch in rice endosperm. *Plant Physiol.*, 133, 1111–1121.
- Somogyi, M. (1952): Notes on sugar determination. *J. Biol. Chem.*, 195, 19–23.
- Suzuki, A., S. Hizukuri and Y. Takeda (1981): Physicochemical studies of kuzu starch. *Cereal Chem.*, 58, 286–290.
- Suzuki, K., S. Nakamura, H. Satoh and K. Ohtsubo (2006): Relationship between chain-length distributions of waxy rice amylopectins and physical properties of rice grains. *J. Appl. Glycosci.*, 53, 227–232.
- Swanson, M.A. (1948): Studies on the structure of polysaccharides IV. Relation of the iodine color to the structure. *J. Biol. Chem.*, 172, 825–837.
- Takeda, C., Y. Takeda and S. Hizukuri (1983): Physicochemical properties of lily starch. *Cereal Chem.*, 60, 212–216.
- Takeda, Y., K. Shirasaka and S. Hizukuri (1984): Examination of the purity and structure of amylose by gel-permeation chromatography. *Carbohydr. Res.*, 132, 83–92.
- Takeda, Y., S. Hizukuri and B.O. Juliano (1986): Purification and structure of amylose from rice starch. *Carbohydr. Res.*, 148, 299–308.
- Takeda, Y., S. Hizukuri and B.O. Juliano (1987): Structures of rice amylopectins with low and high affinities for iodine. *Carbohydr. Res.*, 168, 79–89.
- Takeda, Y., A. Suzuki and S. Hizukuri (1988): Influence of steeping conditions for kernels on some properties of corn starch. *Starch*, 40, 131–135.
- Takeda, Y. and I. Hanashiro (2003): Examination of the structure of amylose and amylopectin by fluorescent labeling of reducing terminal. *J. Appl. Glycosci.*, 50, 163–166.
- Tanaka, N., N. Fujita, A. Nishi, H. Satoh, Y. Hosaka, M. Ugaki, S. Kawasaki and Y. Nakamura (2004): The structure of starch can be manipulated by changing the expression levels of starch branching enzyme IIb in rice endosperm. *Plant Biotechnol. J.*, 2, 507–516.
- Umemoto, T., Y. Nakamura and N. Ishikura (1994): Effect of grain location on the panicle on activities involved in starch synthesis in rice endosperm. *Phytochemistry*, 36, 843–847.
- Williams, V.R., W.T. Wu, H.Y. Tsai and H.G. Bates (1958): Varietal differences in amylose content of rice starch. *J. Agric. Food Chem.*, 6, 47–48.
- 朝岡正子, 高橋慶一, 中平健, 井ノ内直良, 不破英次 (1994): 新形質米胚乳澱粉の構造特性-1990,91年産うるち米について-. *応用糖質科学*, 41, 17–23.
- 新井利直, 佐々木忠雄, 稲津脩, 菊地治己 (1980): 水稻における低アミロース品種の探索 第1報 道内品種および北陸,古川両農試の最近の系統について. *北海道談話会報*, 20, 23.
- 有坂将美, 中村雅彦, 吉井洋一, 谷地田武男 (1988): 破砕糯米の性状及び米菓加工性, *新潟食品研報告*, 23, 15–19.
- 有坂将美 (1995): 米の科学, 竹生新治郎監修, 石谷孝祐, 大坪研一編, 朝倉書店, 東京, p146.
- 五十嵐俊成 (2004a): 業務用米の実需者ニーズと産地対応-北海道産米を中心に-. *フードシステム研究*, 11, 16–27.
- 五十嵐俊成, 後藤英次, 中森朋子 (2004b): 主食用もち米の栽培管理指針の策定. *土肥誌*, 75, 109–114.
- 五十嵐俊成, 上野真吾 (2004c): ヨウ素吸収マルチスペクトル測定による澱粉の物理的特性及び食味の推定方法. 特願2004-168795.
- 井川佳子, 菊池智恵美, 兼平咲江, 村川由起子, 井尻哲 (2002): 米飯における初期老化の評価方法. *応用糖質科学*, 49, 29–33.
- 石崎和彦 (1994): もち品種の加工特性に関する研究 第1報 もち硬化性の簡易検定法. *北陸作物学会報*, 29, 26–28.
- 石崎和彦, 中村恭子, 小林和幸, 東聡志, 阿部聖一, 星豊一

- (1995): もち品種の加工特性に関する研究 第2報もち硬化性の品種間差. 北陸作物学会報, 30, 7-8.
- 伊藤紀美子 (2004): アミロライスの開発. 飯島記念食品科学振興財団年報, 2004, 211-215.
- 稲津脩, 渡辺公吉, 前田巖, 長内俊一 (1974): 北海道米の品質改善に関する研究 (第1報), 米澱粉アミロース含有率の差異. 澱粉科学, 21, 115-119.
- 稲津脩, 渡辺公吉, 前田巖 (1976): 北海道米の品質改善に関する研究 (第2報), 米澱粉アミロース含有率の差異. 澱粉科学, 23, 175-178.
- 稲津脩 (1982): 北海道における水稲, 小麦の良質品種早期開発-プロジェクト研究合同セミナー集録-. 北海道立農業試験場資料, 15, 49-64.
- 稲津脩, 新井利直 (1983): 育種・栽培法における近赤外分光法の利用と今後の課題, 食品工業, 10, 36-39.
- 稲津脩 (1988): 北海道米の食味向上による品質改善に関する研究. 北海道立農業試験場報告, 66, 1-89.
- 井ノ内直良, 池内南美, 高美正, 朝岡正子, 不破英次 (1996): 米のアミロース含量簡易測定法の検討. 応用糖質科学, 43, 1-5.
- 江川和徳, 吉井洋一 (1990): 産地, 品種を異にした糯米による餅の硬化性. 新潟県食品研究所研究報告, 25, 29-33.
- 大内力, 佐伯尚美 (1995): 新食糧法と激変する米流通. 家の光協会, p94-148.
- 大里久美, 浜地勇次, 川村富輝, 今林惣一郎 (1998): 水稲における出穂期の影響を補正したアミロース含有率を指標とした良食味品種の選抜. 日作紀, 67, 36-40.
- 大坪研一, 岡留博司, 井上茂 (2004): 穀類の食品物性値を表示する糊化特性測定装置. 特願2004-028497.
- 岡本和之, 根本博 (1998): ラピッド・ビスコ・アナライザーによる陸稲糯品種の餅硬化性の評価と高度の餅硬化性を持つ陸稲糯品種「関東糯172号」. 日作紀, 67, 492-497.
- 貝沼圭二, 松永暁子, 板川正秀, 小林昭一 (1981): β -アミラーゼ-プルラナーゼ (BAP) 系を用いた澱粉の糊化度・老化度の新測定法. 28, 235-240.
- 菊地治己 (1988): イネの胚乳成分に関する育種学的研究. 北海道立農業試験場報告, 68, 1-68.
- 菊地治己, 国広泰史 (1991): 水稲新品種「彩」. 農業技術, 46, 472.
- 木戸三夫, 梁取昭二 (1968): 腹白, 基白, 心白状乳白, 乳白米の穂上における着粒位置と不透明部のかたちに関する研究. 日作紀, 37, 534-538.
- 小林和幸, 石崎和彦, 阿部聖一, 東聡志, 樋口恭子, 重山博信, 松井崇晃, 平尾賢一, 星豊一 (1999): 餅硬化性の簡易測定法による初期選抜の効率化と餅硬化性極良系統「新潟糯61号」の育成. 新潟県農業総合研究所研究報告, 1, 9-15.
- 小林和幸, 合田梢, 河合由起子, 松井崇晃, 重山博信, 石崎和彦, 西村実, 山元皓二 (2003): イネ糯誘発突然変異系統のもち加工特性. 育種学研究, 5, 45-51.
- 斉藤昭三 (1987): 米の加工. 「稲と米」, 農林水産省農業研究センター編, 社団法人農林水産技術情報協会, 東京. p108-112.
- 佐々木多喜雄, 佐々木一男, 柳川忠男, 沼尾吉則, 相川宗巖 (1990): 水稲新品種「きらら397」の育成について. 北海道立農試集報, 60, 1-18.
- 佐藤有一, 笈田豊彦 (1997): もち米でん粉の鎖長が餅の硬化性に及ぼす影響. 食品の試験と研究, 32, 70-72.
- 佐藤弘一, 斎藤真一, 吉田智彦 (2005): 水稲糯品種の餅硬化性, 糊化特性および尿素崩壊性による選抜方法. 日作紀, 74, 310-315.
- 佐原秀子, 貝沼やす子, 原田茂治 (1999): 炊飯米の老化熱測定を試み. 静岡県立大学短期大学部研究紀要, 13, 1-4.
- 白石真貴夫 (1994): イネ胚乳澱粉のアミロース含有率に関する育種学的研究. 大分県農業技術センター研究報告. 24, 91-134.
- 新橋登, 前田博, 國廣泰史, 丹野久, 田縁勝洋, 木内均, 平山裕治, 菅原圭一, 菊地治己, 佐々木一男, 吉田昌幸 (2003): 水稲新品種「ほしのゆめ」の育成, 北海道立農試集報, 84, 1-12.
- 杉浦和彦, 坂紀邦, 工藤悟 (2005): 水稲糯品種における育種選抜のための餅硬化性及び切り餅食味の簡易評価法. 日作紀, 74, 30-35.
- 瀬戸良一, 岡部勇 (1963): 北海道産米の品質に関する研究, 第1報 北海道産米の理化学的性状について. 北海道立農試集報, 11, 59-67.
- 高橋節子, 杉浦智子, 内藤文子, 渋谷直人, 貝沼圭二 (1998): 米の食味と米澱粉の構造. 応用糖質科学, 45, 99-106.
- 田代亨, 江幡守衛 (1974): 腹白米に関する研究 第2報 穂上位置と腹白米の発現. 日作紀, 43, 105-110.
- 館山元春, 坂井真, 須藤充 (2005): イネ低アミロース系統の登熟気温による胚乳アミロース含有率変動の系統間差異. 育種学研究, 7, 1-7.
- 田中一生, 尾崎洋人, 越智弘明, 品田裕二, 沼尾吉則, 宗形

- 信也, 萩原誠司, 前田 博, 佐々木忠雄, 本間 昭, 吉村徹, 太田早苗, 鴻坂扶美子 (2008): 水稻新品種「ふっくりんこ」の育成, 北海道立農試集報, 92, 1-13.
- 丹野久, 國廣泰史, 江部康成, 菊地治己, 新橋登, 菅原圭一 (1997): 水稻新品種「彩」の育成について. 北海道立農試集報, 72, 37-53.
- 竹生新治郎 (1971): コメの味, 食の科学, 1, 79-86.
- 辻聡宏, 横尾浩明, 御厨初子, 三好利臣 (1995): もちごめ米品種の品質特性の評価 もちごめ品種の品質特性の評価法 (第1報). 佐賀県農業試験研究センター研究報告, 29, 31-37.
- 豊島英親, 岡留博司, 大坪研一, 須藤充, 堀末登, 稲津脩, 成塚彰久, 相崎万裕美, 大川俊彦, 井ノ内直良, 不破英次 (1997): ラピッド・ビスコ・アナライザによる米粉粘度特性の微量迅速測定法に関する共同研究. 日食工誌, 44, 579-584.
- 西村実 (1985): 北海道の最近の品種および系統の食味特性の評価-低温年及び高温年産米における理化学的特性と官能試験結果の対応-. 北海道農試研報, 144, 77-89.
- 農林水産省 (2006): 水稻の高温障害の克服に向けて (高温障害対策レポート). p1-257.
- 萩野知美, 松田智明, 新田洋司 (2000): 精白米の白色不透明部におけるアミロプラストの異常. 日作東北支部報, 43, 67-68.
- 檜作進 (2003): 「澱粉の分子構造」. 不破英次, 小巻利章, 檜作進, 貝沼圭二編「澱粉科学の事典」, 朝倉書店, p13-14.
- 平田孝一 (1997): モチ米利用の米飯産業の近況と炊飯技術. ジャパンフードサイエンス, 36, 34-40.
- 平山祐治 (2001): 北海道もち米の実需実態と理化学特性. 北農, 68, 355-360.
- 深井洋一, 松澤恒友 (1998): 糯米の理化学的性質と加工適性. 糯米の加工適性に関する研究 (第1報). 調理科学, 31, 262-268.
- 深堀奈保子, 山下純隆, 馬場紀子 (1996): 2波長測定法の等吸収点波長に及ぼす米の品種及びアミロース分子量の影響. 福岡農総試研報, 15, 15-20.
- 北海道立中央農業試験場 (1988): 優良米の開発試験プロジェクトチーム第1期 (昭和55~61年度)の試験研究成果. 北海道立農業試験場資料, 19, p101-106.
- 北海道農政部 (2000): 北海道もち米の今後の展開方向. p1-10.
- 松江勇次, 尾形武文 (1999a): 栽培条件が穂上位置別の米粒のアミロース含有率に与える影響. 日作紀, 68, 495-500.
- 松江勇次, 尾形武文 (1999b): 北部九州産米の食味に関する研究-稈長+穂長の大きさ別の穂に着生した米の食味および理化学的特性-. 日作紀, 68, 206-210.
- 松江勇次, 内村要介, 佐藤大和 (2002): アミログラム特性の硬化開始温度による水稻もち品種の餅硬化速度の評価方法と餅硬化速度からみた糊化開始温度と登熟温度. 日作紀, 71, 57-61.
- 松島省三, 真中多喜夫 (1956): 水稻幼穂の発育過程とその診断. 農業技術協会, 東京. p1-57.
- 水上浩之, 竹田靖史 (2000): 新形質米米飯の咀嚼特性と澱粉の分子構造との関係. J. Appl. Glycosci., 47, 61-65.
- 宮森清勝, 若林素子 (1999): もち米の米菓加工適正に関する研究 第1報 各種もち米の理化学的特性について. 東京都立食品技術センター研究報告, 8, 1-8.
- 柳原哲司 (2002): 北海道米の食味向上と用途別品質の高度化に関する研究. 北海道立農業試験場研究, 101, 1-93.
- 柳瀬肇, 遠藤勳, 竹生新治郎 (1982): もち米の品質, 加工適正に関する研究 第4報国内産もち米と輸入もち米の品質指標ならびに品質評価. 食総研報, 40, 8-16.
- 山内富士雄, 大内邦夫, 浜村邦夫 (1982): 北海道産米の化学的成分組成に関する研究 第3報 精白米におけるたんぱく質含量とアミロース含量の関係. 北海道農試研報, 134, 139-145.
- 山下純隆, 馬場紀子, 森山弘信 (1994): 2波長測定法による米のアミロース及びアミロペクチンの定量. 福岡農総試研報, A-13, 13-16.
- 吉尾信子 (1997): 国内産米澱粉の分子構造に関する研究. 三重大学学位論文 (国立国会図書館, 博士論文目録 97-K-493).
- 吉村徹, 丹野久, 菅原圭一, 宗形信也, 田縁勝博, 相川宗嚴, 菊地治己, 佐藤毅, 前田博, 本間昭, 田中一生, 佐々木忠雄, 太田早苗, 鴻坂扶美子 (2002): 水稻新品種「ななつぼし」の育成, 北海道立農試集報, 83, 1-10.