

糯米澱粉の理化学特性に基づいた餅硬化性推定法の開発と 栽培環境が餅硬化性に及ぼす影響

小玉 郁子

キーワード 糯米、澱粉構造、尿素澱粉溶解法、餅硬化性、登熟温度

目次

抄録	39	3-2. 異なる品種, 年次における尿素澱粉溶解法の適用と硬化性との関係	55
1. 緒言	40	3-3. 育成試験における初期世代選抜法に関する尿素澱粉溶解法の適用	58
2. 白米粒を用いた尿素澱粉溶解法による餅硬化性の少量評価法	41	4. 登熟期における温度条件と澱粉構造との関係	59
2-1. 尿素澱粉溶解法の測定条件の検討	42	4-1. 植物体および胚乳種子の形質	60
2-2. 尿素澱粉溶解法を用いた白米粒澱粉の吸光度	43	4-2. 温度条件の異なる環境で登熟させた糯品種の澱粉解析	62
2-3. 尿素澱粉溶解法を用いた品種の溶解速度	47	5. 総括	73
2-4. 餅硬化性が異なる品種における結晶構造回析	50	6. 謝辞	75
2-5. 餅硬化性と溶解速度, 結晶構造における相互関係	52	引用文献	75
3. 尿素澱粉溶解法を用いた餅硬化性の少量評価法における検証	53	Abstract	79
3-1. 餅生地における少量評価法の検討	54		

抄録

現在、本県の奨励品種である、たつこもち、きぬのはだは、県内糯品種の作付の9割以上を占めており、主に切り餅として利用されている。この2品種は、多収で栽培しやすいが、実需者からは加工適性の評価が低い現状にあり、つき餅成型後の冷蔵時間が短く、カットの作業性が優れる硬化性が高い品種が要望されている。そのため、硬化性が高く実需者の評価が高い品種である、こがねもち以上の品種を目標として、育種選抜法の開発と利用における研究を進めた。本研究は、第一に、育種として多数の品種や育成系統、個体を評価する必要があるため簡易に少量で客観的に数値化可能な方法をみいだすこと。第二に、硬化性は澱粉の糊化や老化性と関連づけられることから、評価法は澱粉特性に着目した手法であること。第三に、育種素材や品種を用いて複数年の評価を行いその検証を行うこと。さらに新たな選抜方法を組み込んだ育種方法を提案することを最終目標とした。これらの育種の実用化研究のため、東北地方で栽培されている主な水稻糯品種について、澱粉特性に関与するとされる溶解

性、アミロペクチン構造、結晶構造について初めて明らかにし、相互の関係を考察した。さらに、澱粉の糊化特性と強く関係づけられている登熟温度とアミロペクチン構造について、人工気象器における温度制御下の試験を行い、品種の違いによる鎖長分布と糊化特性を明らかにし、その要因である澱粉生合成関連酵素に関する考察を行った。本研究の概要は以下のとおりである。

1. 餅硬化性の一指標としての尿素溶解法について基礎的実験を行い、白米20粒を用いて、尿素溶解法を適用し吸光度測定により数値化を試みた。温度、時間を変えたパラメーターから餅硬化性は、澱粉の溶解速度、澱粉ヨウ素複合体の吸光度、澱粉の相対結晶化と密接な関係があることを明らかにした。

2. 尿素溶解法について、2008年～2010年の3年間において栽培品種を用いて検証を行った。その結果、餅硬化性と新たな指標とした吸光度との間には、負の有意な相関があった。定法であるRVAの糊化特性と同等の精度であることから、尿素溶解法は精度が高い簡易少量評価法として育種利用できると考えられた。こがねもちを交配親とする組合せを材料とし、初期世代

の吸光度を評価した結果、F 3 と F 4 世代間には世代間相関があり、硬化性が高い系統が得られたことから、育種選抜法への実用可能性が大きく考えられた。

3. 餅硬化性は、登熟期の気温と関連があるとされることから、硬化性ランクが異なる 9 品種を用いて、常温下および高温下におけるアミロペクチン構造と糊化特性を調べた。その結果、品種のアミロペクチン構造は登熟期の温度に関わりなく数種にグルーピング化できる可能性が示唆され、遺伝的要因に支配されると推測された。一方、高温下では、アミロペクチン鎖長パターンから、ほぼ全ての品種が澱粉生合成関連酵素 BE II b の活性が低下していると推測された。また、常温下および高温下においても糊化温度の変動巾が小さい品種をみいだした。

1. 緒言

秋田県は土壌、気象に恵まれた有数の米産地であり、全国の水稲収穫量 292,000 トンのうち、3%を占めている。種類別規格の作付では粳米が 80,000 ha、糯米が 1,500ha である。粳米の作付が多い中において、糯米の作付割合は少ないものの、全国第 7 位の生産量を占めている。近年、稲作を巡る状況はめまぐるしく激変している。平成 5 年の冷害時における東北地方の米の供給不足により外国からの米の市場を開放以来、国外との競争のみならず国内における産地間競争は特に激化している現状にある。本県においても、粳米を柱とし、糯米は地場産業あるいは地域の活性化を担うものとして、生産されている。糯米は古くから伝統行事に使われることが多く地域特有の加工品として使われている。本県においても、糯米は食文化として根付いている背景がある。しかし一方で、法人化や集落営農等稲作の規模の拡大を進める経営体では、加工業者との契約栽培がほとんどであり、糯米は玄米として出荷され、県外で精米、加工され流通されている。そのため、糯米は粳米と異なり、加工後流通するため加工適性が特に重要視される(柳瀬ら 1981, 1982a, 1982b)。本県における糯米品種の作付は、たつこもち、きぬのはだ(加藤ら 1995)が 90%以上と多く、2 品種で本県の糯米のほとんどを占めている。しかし反面、契約栽培により大規模に生産している場合は、熟期や栽培特性の点で本県に適さないが、餅の加工特性が優れる、こがねもち(五十嵐ら 1959)やわたぼうし等の品種が作付されている場合が多い。その理由として、たつこもちときぬのはだは、米の増産時代に多収で耐肥性が強い品種を目標に育成された品種であることがあげられる。秋田県奨励品種における糯米品種の変遷に、その必要とされた品種と時代背景をみることができる。本県におけるこれまでの糯米品種の改廃の主な理由

は、稈長、耐倒伏性、多収性、耐病性、品質の向上に関するものであり、こがねもち、ヒメノモチ(斎藤ら 1974)、ヒデコモチ(斎藤ら 1985)の変遷に傾向をみることができる。こがねもちは、餅質は良いが熟期が遅く安定的に栽培できないことから廃止されヒメノモチに交替した。ヒメノモチは出穂期がこがねもちより早く品質は良好であるが、耐倒伏性が弱いことから、ヒデコモチに交替した。ヒデコモチは短稈で稈質が強いが、耐冷性が弱かった。オトメモチは熟期が早生であること、耐倒伏性が強いことが評価され、たつこもちときぬのはだが奨励品種となるまで長期にわたり作付されていた。このように、これまで秋田県の糯米品種では安定多収が第一に重要視され、加工適性を重視した品種開発は行われてこなかった。以上の背景から、本県における糯米育種は内部品質における選抜法が確立されていない状況下であって、現在、高い収量性および栽培特性を有し、加工適性が優れる双方の形質を有する糯米品種が求められている。

糯米における研究は、実需の評価が高いこがねもちに関する研究が多い。食品加工の面からの材料の評価(江川ら 1990、柳瀬ら 1981, 1982a, 1982b, 1984)では、こがねもちに関する餅の硬化性、性状、糊化特性を調べ、尿素溶液による澱粉溶出画分と餅硬化性との関連性を報告している。また、栽培方法の観点では、餅の性状や硬化性は、登熟温度と品種間の間に交互作用があるものの、登熟温度による影響が大きいことが示唆されている(松江ら 2002、杉浦ら 2005)。一方で、品種の遺伝的要因とする餅硬化性については、こがねもちに由来する品種の餅硬化性の評価がなされ、同一条件下で栽培された水稲糯 36 品種について餅硬化性のランクづけがなされている(石崎ら 1995)。さらに、施肥量と品種の餅硬化性との関係では、施肥量は品種の硬化性の差異を超えないとして餅硬化性は品種の遺伝的要因としている(石崎ら 2007)。以上のように、餅硬化性に関する食品の評価、品種、栽培の観点からの報告は多数ある。一方、品種開発における餅硬化性の検定法には、冷蔵した餅生地のみ具合の比較(江川ら 1990)、テンシプレスによる貫入抵抗(石崎 1994)、果実硬度計による餅硬度の測定(岡本ら 1998)による物理的な評価方法が従来から報告されている。また、水稲の食味評価(佐藤ら 2003, 2007)に用いられているラピッド・ビスコ・アナライザー(RVA)により、餅硬化性と糊化特性の関係が明らかにされ、白米粉の糊化開始温度や糊化ピーク温度が餅硬化性の指標として有効であることが報告されており(岡本ら 1998、小林ら 2000)、育成系統を用いた RVA の各特性値と餅硬化性との関係が明らかにされている(佐藤 2005, 2007)。しかし、これらの餅硬化性の検定法は多くの材料を必要とし、また RVA による評価法は白米の粉碎等、材料の調整に時間を費やすため、多

数の個体を扱う初期世代の一次スクリーニングや簡易に母本の評価を試みる方法としては手順が多い。近年、澱粉生合成関連酵素変異体に関するアミロペクチンの構造解析と物性に関する研究が大きく進み、餅硬化性が異なる品種間では、アミロペクチン鎖長分布パターンが大きく異なることが明らかにされ（Igarashi ら 2008、Okamoto ら 2002、Suzuki ら 2006）、澱粉のアミロペクチン構造との関連性が示唆されており、糯米の澱粉構造は餅の物性に深く関与することが明らかになってきている。水稻糯品種の開発においても尿素崩壊法を利用した餅硬化性の推定の可能性（佐藤ら 2005）や澱粉構造を指標とする育種法の可能性が示唆されている（Igarashi ら 2008）。

本研究は、第一に、育種として多数の品種や育成系統、個体を評価する必要があるため簡易に少量で客観的に数値化可能な方法をみいだすこと、第二に、餅硬化性は澱粉の糊化や老化性と関連づけられることから、評価法は澱粉特性に着目した手法であること、第三に、育種素材や品種を用いて複数年の評価を行いその検証を行うこと、さらに新たな選抜方法を組み込んだ育種方法を提案することを最終目標とした。これらの育種の実用化研究のため、東北地方で栽培されている主な水稻糯品種について、澱粉特性に関与するとされる溶解性、アミロペクチン構造、結晶構造について初めて明らかにし、相互の関係を考察した。さらに、澱粉の糊化特性と強く関係づけられている登熟期における温度条件とアミロペクチン鎖長について、人工気象器における温度制御下の試験を行い、品種の違いによる鎖長分布を明らかにし、その要因となる澱粉生合成関連酵素に関する考察を行った。

始めに 2 章では、糯米品種の硬化性の新たな評価指標として可能性を有する尿素溶解法について基礎的な実験を行い、白米 20 粒を用いて尿素溶解法を適用し吸光度を測定することにより定量化を試みた。また、餅硬化性と澱粉の相対結晶化度との関係について明らかにした。

3 章では、新たな餅硬化性評価法として尿素溶解法を用いて、2008 年～2010 年の 3 年間において栽培品種を用い検証を行い、定法である RVA との精度の比較をし、簡易少量評価法としての育種利用の可能性を検討した。

4 章では、餅硬化性や澱粉の糊化特性は、登熟期における温度条件と関連があるとされることから、人工気象器の温度制御下において異なる登熟温度を設定し、品種におけるアミロペクチン構造、および高温条件下におけるアミロペクチン構造と糊化特性について品種の温度反応性を検討し考察を行った。

2. 白米粒を用いた尿素澱粉溶解法による餅硬化性の少量評価法

本章では、水稻糯品種における餅硬化性を少量で評価する方法として尿素溶液による澱粉の溶解法を検討した。尿素はタンパク質や DNA の変性剤として用いられることが多く、その作用はそれらの水素結合が切れ、元の形を維持できなくさせるとされる。澱粉に対する作用も同様であり、澱粉の二重らせんを形成するための水素結合が尿素により阻害される。すなわち尿素を構成する NH₂ の部分が澱粉の N、O、H 等の水素結合に関与する原子と置換するためと考えられている。澱粉の糊化には熱糊化、アルカリ糊化、尿素溶液による方法があるが、尿素による方法は熱糊化やアルカリ糊化と同様にヨウ素反応の呈色程度により、澱粉の糊化の現象を簡易に判別することが可能であり、澱粉溶出液の吸収波長を測定することにより大まかな澱粉の構造を推測できる利点がある。また、アルカリ糊化と同様に酵素反応を阻害しないことから、溶出澱粉のアミロペクチン構造を解析できる利点がある。尿素溶解法は胚乳澱粉突然変異体の一次スクリーニング法として利用されており（西 1997、佐藤 1994）、同様に澱粉生合成関連酵素変異体と野生型間における糊化特性の差異を明らかにする方法として活用されている（Nishi ら 2001）。糯品種における尿素溶解性と餅硬化性に関する最初の報告は、インディカ種に由来する澱粉生合成関連酵素 SS II a が活性型の陸稲糯品種、関東糯 172 号における知見である。SS II a に支配される澱粉は尿素に溶解しにくく、澱粉の構造は他の陸稲品種との間に明らかな差異があることが報告されている（岡本ら 1998、Okamoto ら 2002、2009、Nakamura ら 2002）。一方、水稻糯品種における尿素溶解法と硬化性に関する育種学的研究では、佐藤ら（2005）は、尿素溶液中の白米のヨウ素呈色程度と RVA 法による糊化ピーク温度との間に順位相関があることをみだし、江川ら（1990）が示した 4.5 M 尿素溶液溶出画分の量と餅硬化性との関連性の結果を支持している。さらに円谷（2011）は、尿素溶液で溶出する澱粉量とヨウ素呈色の濃さとの間に相関を認めるとともに、溶出澱粉量の程度は澱粉の質的な違いにあると推測している。以上のように、水稻糯品種の尿素溶解に関する報告は非常に少ないものの、これらの知見から餅の硬化性の差異は澱粉の構造や質的な差異に起因し、尿素溶液を用いて澱粉を溶出させることにより、餅をつくることなく、餅硬化性を評価し育種利用できる可能性が高いと推測される。そこで、本章では、餅硬化性が異なる品種を用いて尿素に対する澱粉溶解速度および澱粉の結晶領域量との関係を調べ、尿素溶解法による餅硬化性評価法の開発を目的とした。

2-1. 尿素澱粉溶解法の測定条件の検討

水稲糯品種の尿素溶液に対する糊化の最適濃度を知らるために、硬化性が高いこがねもちおよび硬化性が低いヒメノモチの2品種を供試し、これらの白米粉を用いて、膨潤体積、糊化が開始する濃度、ヨウ素呈色反応試験を行い、尿素溶液の濃度条件を検討した。

1. 供試材料

2008年に秋田県農林水産技術センター農業試験場圃場（秋田市雄和源八沢）で同一条件下で栽培した、こがねもち、ヒメノモチの2品種を供試した。こがねもちは硬化性が極めて高く、ヒメノモチは硬化性が低い特性を有する。秋田県における出穂期は、ヒメノモチは中生に、こがねもちは極晩生の熟期に属する。移植は5月17日に行い、1株4本植え、1区7㎡で栽培した。刈り取り時期は、籾の黄化程度が90%に達した成熟期に品種毎に行った。1.85mmの篩に通した精玄米を90%前後にとう精し白米とした。白米粉は、白米を試験用粉砕器（ブラベンダー社製、クォルドマットジュニア型）で粉砕し350メッシュ以下のサンプルを実験に用いた。

2. 試験方法

1) 尿素溶液中の澱粉の膨潤体積

ファルコンチューブに白米粉200mgを加え、10ml尿素溶液を入れ、20℃12時間、150rpmで回転振とうし、その後、4,000rpmで20分間遠心し4時間静置した。尿素溶液の濃度は、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9(M/L)の10区とした。上澄の尿素溶液層をA、沈殿と糊化層をBとし、膨潤体積は以下のよう

に求めた。

$$\text{膨潤体積 B (ml)} = 10 \text{ (ml)} - \text{A (ml)}$$

2) 尿素溶液中の澱粉の糊化

1.5ml エッペンチューブに白米粉20mgを入れ、尿素溶液1mlを加え、20℃、12時間、150rpm (TOMY社製、マイクロミキサー)で回転振とうし、10,000rpmで15分間遠心分離した後、1時間静置し、沈殿の色と溶液の様子を観察し、沈殿がゲル状となり無色になった時点を糊化点とした。尿素溶液の濃度は1)と同様に0~9(M/L)の10濃度区とした。

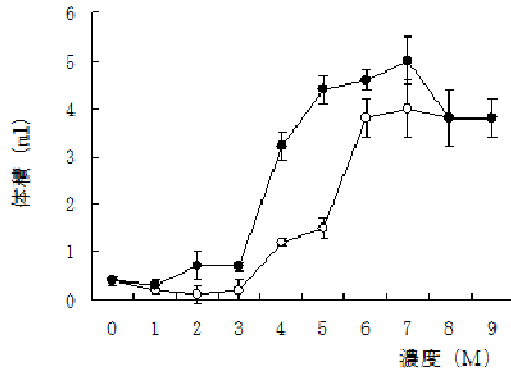
3) 尿素溶液中の透過率

2)の上澄を一定量とり2~100倍に希釈し1mlとし、0.2% KI / 0.02% I₂を100μl加え、ヨウ素

呈色をさせた後、530nmにおける吸光度を分光光度計 (BECKMAN社製、DU 7500)を用いて測定した。透過率は西(1997)の方法に準じ、吸光度の逆数として算出した。

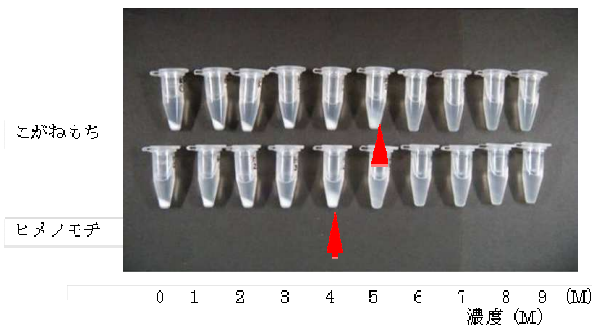
3. 結果

硬化性が大きく異なる2品種の白米粉を用いて、尿素溶液における糊化点を明らかにするために、尿素溶液の濃度を換え溶液中の膨潤体積および糊化の程度について調べた。第2-1図に白米粉の尿素濃度の違いによる膨潤体積を示した。こがねもちでは0Mから3Mまではほぼ変化はなく、4Mの尿素溶液でうっすらと沈殿と懸濁層、上澄に分かれ4Mから5Mの尿素溶液でやや増加し、5Mから6Mの尿素溶液間で著しく増加した。6M以上の尿素溶液では体積の増加はほぼみられなかった。一方、ヒメノモチでは、こがねもちより低い尿素溶液濃度から変化が表れた。1Mの尿素溶液では変化は認められなかったが、2Mから3Mの尿素溶液でわずかに増加が認められ、4Mでは完全に沈殿と懸濁層、上澄に分かれた。同時に体積は4Mから5Mの尿素溶液で著しく増加した。さらに6Mから7Mの尿素溶液濃度でさらに増加し8M以降の尿素溶液濃度ではやや減少した。糊化は2品種ともに4Mの尿素溶液濃度で開始し、糊化の進行の様子はヒメノモチの方が速かったが、糊化点の違いは判然としなかった。澱粉粒は水素結合を破壊しない限度内において可逆的に水分子を吸、脱着して膨潤すなわち水和、収縮するが、水素結合を破壊する条件では不可逆的に溶解し、糊化するとされている(檜作1977)。そこで、水和の影響をなくし澱粉分子に可逆的に取り込んでくる水分子を取り除くために、サンプルを白米粉20mgと少量にして遠心分離した。第2-2図に、こがねもち、ヒメノモチにおける尿素濃度の違いによる白米粉の糊化の様子を示した。こがねもちでは、0Mから4Mの尿素溶液では水和は認められず白色の沈殿物となり、5M以上の尿素溶液で透明なゲル状の沈殿物が認められた。これに対しヒメノモチでは、0Mから3Mの尿素溶液では水和は認められず白色の沈殿物で、4M以上の尿素溶液で透明なゲル状の沈殿物が認められた。これらの観察による現象が糊化に起因するかどうかを確認するため、尿素溶液中の透過率を調べたところ、こがねもちは5M尿素溶液濃度で透過率が急激に上昇し、これに対しヒメノモチはこがねもちより低濃度である4Mから透過率が上昇した(第2-3図)。これらの結果から、こがねもちは5Mの濃度で糊化が起き、ヒメノモチはこがねもちより低い濃度である4Mの尿素溶液濃度で糊化が起きることが明らかになった。

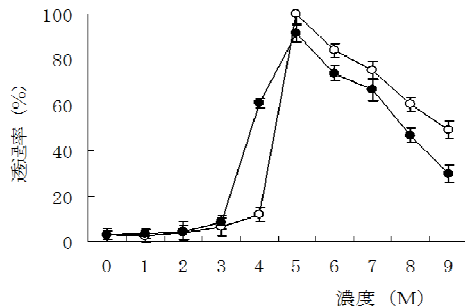


第2-1図. 尿素溶液濃度の違いによる膨潤体積の差異.

○:こがねもち ●:ヒメノモチ
バーは標準偏差を示す, n=8



第2-2図. 尿素溶液濃度の違いによる糊化点の差異



第2-3図. 尿素溶液濃度の違いによる溶液中の透過率

○:こがねもち ●:ヒメノモチ
バーは標準偏差を示す, n=8

4. 考察

同一栽培条件下の材料で硬化性が大きく異なる、こがねもちとヒメノモチを用いて、澱粉の糊化点の差異を明らかにするために、異なる尿素溶液濃度を用いて澱粉の膨潤程度、糊化の観察、尿素溶液中の透過率を検討した。こがねもちの糊化点は 5 M の尿素溶液濃度で起き、ヒメノモチの糊化点は 4 M で起きた。硬化性の低いヒメノモチが硬化性が高いこがねもちより低い尿素溶液濃度で糊化した結果から、こがねもちとヒメノモチの糊化点の差異は 4 M から 5 M の尿素溶液濃

度で判別できる可能性があると推測された。澱粉は糊化すると、溶液は無色透明となり、透過率は高くなる。各尿素溶液中の透過率は、糊化の開始と一致した。江川ら (1990) は、産地および硬化性が異なる、こがねもち、陸稲糯米、ヒヨクモチ、カムイモチの 4 品種を用いて、澱粉分子間の水素結合の強度を変える目的で尿素溶液濃度を変えた分画を行い、4.5 M 尿素溶液溶出画分の多い品種ほど糊化開始温度が低下し餅の硬化性は低くなる関係を示している。さらに、6 M 尿素溶液中の不溶性画分が餅生地硬度と相関があること明らかにしている。本試験では、こがねもち以外は江川らとは異なる品種を用いているものの、2 品種における糊化点の差異は、尿素溶液の 4 M から 5 M 濃度間で判別することができ、本結果は江川 (1990) らの報告を支持する結果となった。

2-2. 尿素澱粉溶解法を用いた白米粒澱粉の吸光度

2-1. では硬化性が異なる品種の白米粉を用いて、尿素溶液濃度の検討を行い、4 M から 5 M の濃度において品種間における糊化の差異をみいだした。品種育成では多数の検体を迅速に評価する必要があるため、選抜した多くの個体や系統を全て白米粉に調整する方法では多くの時間と労力を要する。そこで本節では、育種材料を簡易に評価する方法を前提とし、白米粒を用いた尿素溶解法について検討をした。白米粒の尿素溶解法では、佐藤ら (2005) は、こがねもち、ヒメノモチ、育成系統を用いてヨウ素呈色の発色程度を目視によるランクづけと糊化ピーク温度との間には弱い順位相関があることを示している。しかし、個体選抜などの初期世代や母本の評価においては、多数の検体を扱う必要があるため、硬化性が著しく異なる品種間では呈色程度のランクづけは容易であるが、呈色程度が中間的な検体や多数の検体を比較する場合には、客観的な評価ができない欠点あげられる。一方、小林ら (2000) は吸光度による餅硬化性の推定の試みをしている。そこで、本節では、2-1. で供試した品種の白米粒を用い、温度条件を変え白米粒から尿素によって溶出される澱粉とヨウ素呈色による澱粉ヨウ素複合体の最大吸収波長と吸光度を明らかにし、これらを利用した尿素溶解法の定量化の可能性を検討した。

1. 供試材料

こがねもち、ヒメノモチの 2 品種を材料とした。栽培は 2008 年に秋田県農林水産技術センター農業試験場の圃場 (秋田市雄和源八沢) で行い、全ての品種を

同一条件下で栽培した。栽植様式は条間 30 cm、株間 15 cm、1 株 4 本植え、1 区 4 m² で行った。移植は 5 月 11 日に行った。刈り取り時期は、籾の黄化程度が 90% に達した成熟期に品種毎に行った。1.85 mm 篩に通した精玄米を 90 ± 0.5 % にとう精し白米とした。

2. 試験方法

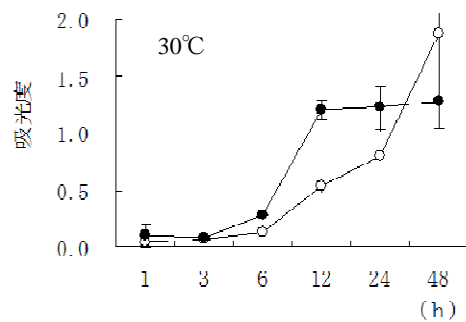
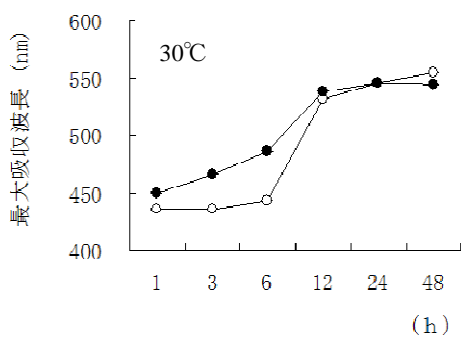
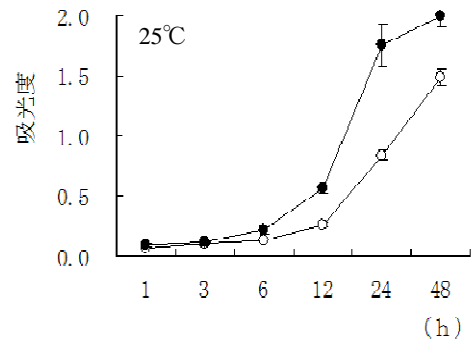
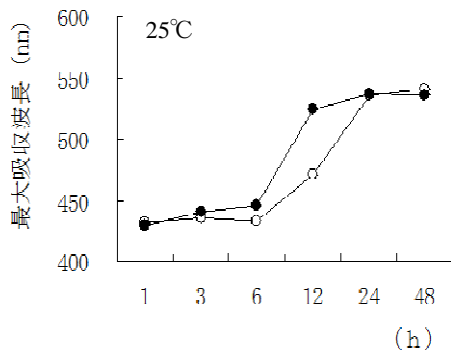
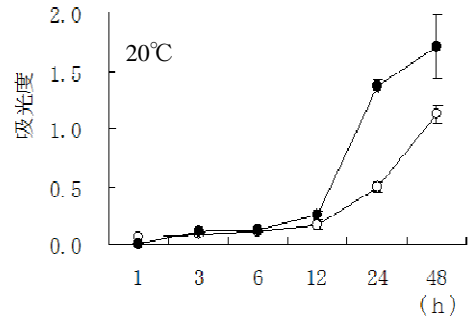
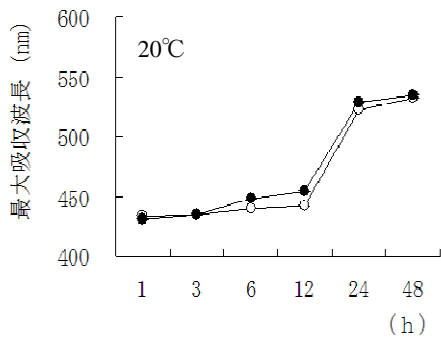
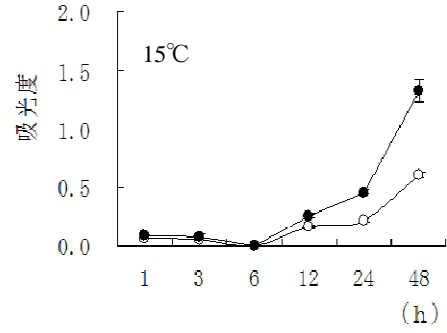
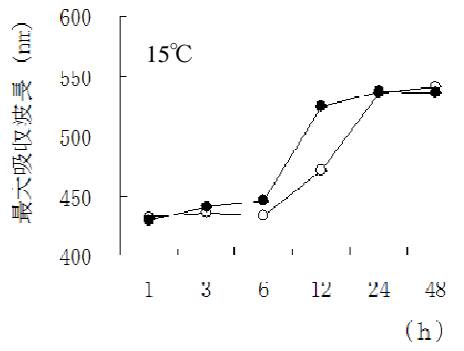
尿素溶解法による白米粒澱粉のヨウ素呈色試験白米粒 20 粒を 9 cm プラスチックシャーレに置床し、4、5 M 尿素溶液 (pH6.0) を 20 ml 加えた。その後、温度と時間について以下の条件でインキュベートした。温度：15、20、25、30 (°C)、時間：1、3、6、12、24、48 (h) とした。一定時間後に 2 % KI / 0.2 % I₂ を 500 μl 入れ軽く卓上で 2~3 回静かにシャーレを回し溶出液をヨウ素と混和し呈色させた。呈色液を蒸留水で 10 倍に希釈し、10、000 rpm で 5 分間、遠心分離した。上澄を一部とり、それぞれの最大吸収波長と 530 nm における吸光度 (BECKMAN 社製、DU 7500) を測定した。試験は 3 反復で行い、平均値で示した。

3. 結果

2-1. の結果を基に、尿素溶液濃度を 4.5 M として、15 °C から 30 °C までの各温度区における、こがねもちとヒメノモチの白米粒から溶出される澱粉ヨウ素複合体の最大吸収波長の推移を測定した (第 2-4 図)。こがねもち、ヒメノモチは、温度と時間の推移にともない、最大吸収波長は高くなり、全ての温度区において時間が長いほど最大吸収波長は長波長側にシフトした。また、吸収波長のピークはほとんどの温度区において、ヒメノモチがこがねもちより長波長側にあった。最長処理時間である 48 時間における最大吸収波長は、こがねもち、ヒメノモチでそれぞれ 15 °C では、528 nm、527 nm、20 °C では 532 nm、535 nm、25 °C では 541 nm、535 nm、30 °C では 554 nm、544 nm と、20 °C まではヒメノモチがこがねもちよりやや長波長側にピークがあり、25 °C 以上の温度区では、こがねもちがヒメノモチより長波長側にピークが認められた。

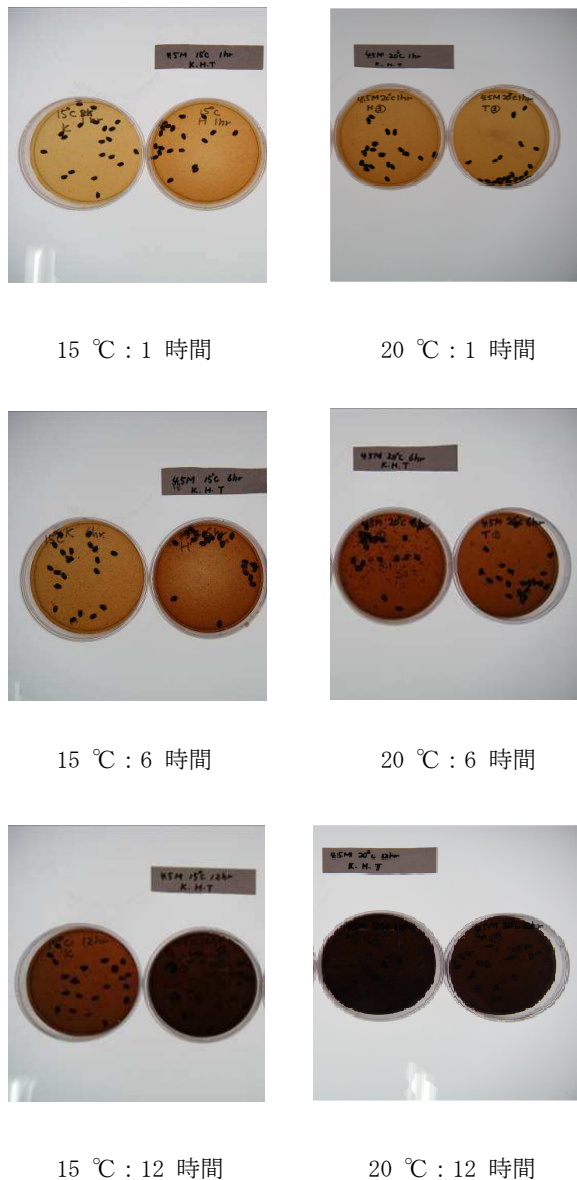
同一サンプルを用いて 530 nm における吸光度を測定し、各品種の澱粉ヨウ素複合体の反応性を調べた。こがねもち、ヒメノモチともに温度と時間に反応し、温度が高くなるほど、短い時間で吸光度は高くなった。また、15 °C、20 °C、25 °C では、ヒメノモチは一定時間経過後にはこがねもちより吸光度が高く明らかな品種間差が認められた。30 °C では、ヒメノモチの吸

光度は 12 時間までは高く推移したが 24 時間、48 時間では変化はみられなかった。これに対し、こがねもちは、24 時間までは吸光度はヒメノモチより低く推移したが、48 時間ではヒメノモチより明らかに高くなった (第 2-5 図)。観察でもヨウ素呈色程度が濃くなる傾向は高くなる傾向が認められた。また、呈色程度の観察において発色程度が区別ができなかった検体においても、吸光度を測定した場合には、吸光度の数値に差異が認められた (第 2-6 図)。



第 2-4 図 異なる温度条件下における澱粉コウ素複合体の 590 nm における最大吸収波長。○：こがねもち ●：ヒメノモチ

第 2-5 図 異なる温度条件下における澱粉コウ素複合体の 590 nm における吸光度。○：こがねもち ●：ヒメノモチ パーは標準偏差を示す。



第 2-6 図 15 °C および 20 °C における尿素溶解によるヨウ素呈色の時間経過の様子。 図中の左はこがねもち、右はヒメノモチを示す。

4. 考察

こがねもち、ヒメノモチの白米 20 粒を用いて、4.5 M 尿素溶液における澱粉ヨウ素複合体の最大吸収波長を測定した。糯米澱粉はアミロペクチンのみで構成されており、定法では 530 nm における吸収波長が用いられている。尿素溶解法を用いて温度と時間を変え、それぞれの品種における最大吸収波長を測定した結果、温度や時間によって、最大吸収波長は異なっていた。また、同一条件下においてもこがねもちとヒメノ

モチでは波長が数 nm の差異が認められ、高温区である 30 °C、6 時間の条件では最大で 53 nm の差異があった。これらの現象は、同一条件下において、溶出澱粉の質的な違いが吸収波長のピークの違いとなった可能性がある。また、各温度区における最大吸収波長の推移をみると、時間は異なるものの一定時間の後に長波長側にシフトし、さらに最長時間である 48 時間ではこがねもち、ヒメノモチともにほぼ同じ波長域にあった。実験では、同じ粒数を供試しているが品種により 1 粒の大きさに違いがあることが澱粉の溶解に影響することが考えられた。その影響を検証するために各実験毎に粒重、および楕円体の体積を計算し統計処理したところ、品種間の粒の大きさの違いと波長の間には統計的に有意な差がなかったことから、波長の差異は、品種による澱粉構造の質的な違いに起因し、尿素溶液に溶出しやすいものから溶け出したためと推測される。尿素溶解や変性に関する基礎的知見は少ないが、尿素はタンパク質や DNA の変性剤として用いられ、変性はそれらの水素結合が切れることによる現象であるとされている。澱粉においても同様の作用をしているとされ、アミロペクチンの二重らせんを形成する水素結合に関与する分子と尿素を構成する原子が置換するために、水素結合を阻害すると考えられている。このような尿素の作用から考察すると、吸収波長が長波長側を示すことは α -1, 4 直鎖のより長い鎖を含む分枝が不規則に変性し解離し溶出し、逆に短波長側を示すことは短い澱粉の鎖の分枝が不規則に変性し解離し溶出した現象であることが考えられる。円谷 (2011) は尿素溶液中の澱粉のアミロペクチンの鎖長分布を解析し、澱粉溶出溶液のみでは鎖長のピークが認められず、枝切り酵素処理を行うことにより鎖長のピークが認められたとしている。これらのことから、尿素溶解反応の差異は溶出するアミロペクチンの鎖長の分枝の質的な違いを反映すると推測され、品種間の澱粉の溶出量を比較する場合には、それぞれの最大吸収波長における吸光度で比較するよりも一定波長で比較の方が適していると考えられた。これらの結果から、以降の試験では定法である 530 nm の波長を用いて実験することとした。

同一サンプルを用いて、530 nm における吸光度を測定したところ。こがねもち、ヒメノモチともに、温度が高いほどまた時間が長くなるほど吸光度は高くなった。佐藤ら (2005) は、白米を用いて 20 °C 24 時間の条件下で尿素溶解試験を行い、ヨウ素の呈色程度の評価に基準品種を設け、こがねもちを呈色程度が薄い基準品種に、ヒメノモチを呈色程度が濃い基準品種とし、数種の系統について溶解性のランクづけを行っている。本結果においてもこがねもちとヒメノモチでは、呈色程度に明らかな差異が認められ、こがねもちとヒメノモチは尿素による澱粉溶出の反応性が異なること

がみいだされた。また、同一条件下では常にこがねもちの呈色程度はヒメノモチの呈色程度より薄く、また吸光度も低いことから尿素溶解法を用いた吸光度の測定においてはこれらの品種を基準品種として用いることが適当であると考えられ、佐藤ら（2005）が設定した基準品種と一致する結果となった。一方、呈色程度が同程度と判別したものでも吸光度では違いが認められたことから、尿素溶解法による澱粉ヨウ素複合体を用いた吸光度の測定は客観的に数値化できる方法であることがみいだされた。ただし吸光度が1.0を大きく超える場合には値の信頼性が小さくなるため、澱粉溶出液の希釈倍率を大きくすることが必要であると考えられた。また、これらの溶解反応性や澱粉ヨウ素複合体の吸光度が餅硬化性や澱粉の構造や結晶性との相互の関係を明らかにする必要があると考えられた。尿素溶解反応における解析と餅の硬化性との関係は 2-3、2-4、2-5. で議論する。

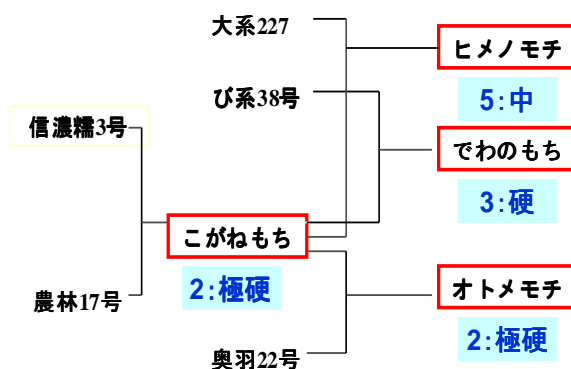
2-3. 尿素澱粉溶解法を用いた品種の溶解速度

2-2. において、餅硬化性が異なるこがねもちとヒメノモチの2品種を用いて、白米粒の尿素澱粉溶解反応による澱粉ヨウ素複合体の吸光度に差異が認められ、吸光度を用いて硬化性を評価する可能性がみいだされた。また、澱粉ヨウ素複合体の吸光度は、時間と温度の違いにより異なることが認められた。このことから、硬化性が異なる品種間では、尿素澱粉溶解反応における澱粉の溶解速度が異なることが推測される。そこで本節では、硬化性が高いこがねもちと硬化性が低いヒメノモチを基準品種とし、さらにその中間の硬化性を有する近縁の品種を用いて、尿素溶解法における白米粒の溶解速度について検討した。

1. 供試材料

こがねもち、オトメモチ、ヒメノモチ、でわのもちの硬化性が異なる近縁の4品種を材料とした。第2-7図に品種の系譜および石崎ら（1995、1996）が評価した新潟県農業試験場産米の餅の硬化性ランクの抜粋を示した。オトメモチ、ヒメノモチ、でわのもちがこがねもちを交配親とする品種である。硬化性ランクは、極硬から極軟までの7ランクに分類され、数字が小さいほど硬化性が高いことを示している。新潟県における硬化性では、こがねもちとオトメモチは極硬で同じ硬化性ランクに属し、でわのもちは硬に、ヒメノモチは中に属する。これらの品種の秋田県における出穂期は、オトメモチは早生に、ヒメノモチは中生に、でわ

のモチは晩生に、こがねモチは極晩生の熟期に属する。試験は2009年に秋田県農林水産技術センター農業試験場圃場（秋田市雄和源八沢）で行い、全ての品種を同一条件下で栽培した。栽植様式は条間30cm、株間15cm、1株4本植え、1区4㎡で行った。移植は5月11日に行った。刈り取り時期は、籾の黄化程度が90%に達した成熟期に品種毎に行った。1.85mmの篩に通した精玄米を90%±0.5%にとう精し白米とした。



第2-7図 供試品種の系譜と餅硬化性ランク

品種名の下に数字は硬化性ランクを示す（石崎ら 1996）。

極硬～極軟（1～7）までの7ランク。数字が小さいほど硬化性が高く硬いことを示す。

2. 試験方法

1) 餅生地調製と硬化性の測定

320gの白米に適量な水道水を入れ、室温で6時間浸漬した。脱水後、家庭用小型餅つき器（東芝社製、PFC-20FK）で餅を練り上げた。餅つき器の温度プログラムは、25分間蒸らし、13分間こねる設定を用いた。餅つき後、長さ20cm、厚さ1、5cm、幅5、5cmに成形後、15℃24時間で冷蔵貯蔵した。測定はレオナー圧縮試験器（Yamaden社製、RE-33005）を用いて50%変形時の圧縮荷重[N]を餅硬化性とした。プランジャーは（直径8mm、テフロン製）で10mm/秒の条件で行った。測定は、10点行い平均値で示した。

2) RVAによる糊化特性の測定

白米粉は2-1-1.と同様に調製後、粉碎し材料とした。糊化特性の測定には、ラピッド・ビスコ・アナライザー（Newport Scientific Pty.、Ltd.、Australia社製、RVA-3）を用いた。白米粉3.5g±0.01g（水分換算14%）に餅米のαアミラーゼ活性を抑えるために、取り扱いが危険な硫酸銅は使わず、高橋ら（1997）

の方法に準じて、白米粉に 0.01 M の EDTA・2Na を 25 ml 加え、付属のパドルで 10 回静かに上下し混和した。温度プログラムは豊島ら (1997) の方法に従い、以下の条件で行った。50 °C で 1 分保持後、50 °C から 93 °C まで 4 分間で昇温、93 °C で 7 分保持し、93 °C から 50 °C まで 4 分間で降温、50 °C で 3 分保持し、計 19 分間を 1 行程とした。測定は、糊化開始温度 (PT)、最高粘度 (PV)、最低粘度 (MV)、最終粘度 (FV)、ブレイクダウン (BD)、コンシステンシー (CS) を求めた。また、ブレイクダウンとコンシステンシーは以下のように求めた。ブレイクダウン (BD) = (PV - MV)。コンシステンシー (CS) = (FV - MV)。ビスコシティのパラメーターは、RVU で示した。測定は 1 品種につき 5 回反復し、平均値で示した。

3) 白米粒を用いた尿素溶解法

白米粒は尿素溶液反応の吸水時間のタイムラグをなくすため、1.5 時間吸水させた。その後、白米粒 20 粒を 9 cm プラスチックシャーレに置床し、4.5 M 尿素溶液 (pH 6.0) を 20 ml 加え、温度と時間を変え、以下の条件でインキュベートした。温度：15、20、25、30 (°C)、時間：2、10、16、24 (h) とした。一定時間後に 2 % KI / 0.2 % I₂ を 500 μl 入れ、2 ~ 3 回静かに卓上でシャーレを回し溶出液をヨウ素と混和し呈色させた。呈色液を蒸留水で 10 倍に希釈し、10、000 rpm で 5 分間、遠心分離した。その後、上澄をとり、澱粉ヨウ素複合体の 530 nm における吸光度を測定した。試験は 2 反復で行い、平均値で示した。

4) 検量線の作成と溶出澱粉量の算出

尿素溶液により溶出した白米の澱粉量を推定するため検量線を作成した。検量線作成用の澱粉は、糯系統 (EM21：九州大学農学研究科、佐藤光教授が開発) である冷アルカリ法により精製したアミロペクチンを用いた。エッペンドルフチューブにアミロペクチンを 0、1、2、3、5、8、10、20 mg を入れ、4.5 M 尿素溶液 (pH6.0) を 1 ml 加え 20 °C、24 時間で攪拌振とうした。その後、8、000 rpm で 15 分間遠心分離を行い、上澄をとり 2 % KI / 0.2 % I₂ を 100 μl 加え、波長 530 nm における吸光度を測定し検量線を作成した。検量線から希釈液中のアミロペクチン量を計算し、さらに採取した上澄液量を乗して溶出澱粉量を算出した。

4. 結果

第 2-1 表に 4 品種の糊化特性と餅硬化性を示した。品種間の糊化開始温度は 70.4 °C から 71.2 °C とそ

の差は 0.8 °C と小さかった。糊化開始温度は、こがねもちが最も低く、オトメモチ、ヒメノモチ、でわのもちの順に高かった。こがねもちとヒメノモチの間では有意な差 ($p < 0.05$) が認められたが、オトメモチとでわのもちでは有意な差はなかった。最高粘度は、こがねもち、オトメモチが他の 2 品種より有意に高く、次いででわのもちが高く、ヒメノモチが有意に低かった。最低粘度は、ヒメノモチが最も低く、その他の 3 品種には有意な差が認められなかった。最終粘度はオトメモチが最も高く有意な差が認められ、こがねもちとでわのもちの間には差がなく、ヒメノモチが最も低かった。ブレイクダウンは最高粘度と同様の順位を示し、こがねもち、オトメモチが他の 2 品種より高く、ヒメノモチ、でわのもちがそれぞれ有意に低かった。コンシステンシーはオトメモチが他の 3 品種より高く、有意な差が認められた。餅硬化性では、こがねもち他 3 品種より有意に高く、次いでオトメモチ、でわのもち、ヒメノモチの順で、4 品種の硬化性には有意な品種間差が認められた。

第 2-2 表に、4 品種における糊化特性の各パラメーター値と餅硬化性との相互関係を示した。餅硬化性は最高粘度、ブレイクダウンと高い相関が認められた ($P < 0.01$) が、糊化開始温度との間には関係は認められなかった。

第2-1表 水稲糯米4品種における糊化特性と餅硬化性.

品種	糊化特性					餅硬化性 (N)	
	PT (°C)	PV (RVU)	MV (RVU)	FV (RVU)	BD (RVU)		CS (RVU)
こがねもち	70.4±0.20 ^a	608±3.62 ^c	242±2.69 ^b	342±1.10 ^b	365±2.78 ^c	99±2.19 ^a	19.9±0.58 ^d
オトメモチ	71.0±0.32 ^c	618±11.46 ^c	247±3.70 ^b	360±6.56 ^c	370±7.98 ^c	113±3.34 ^b	18.5±0.89 ^e
でわのもち	71.2±0.33 ^c	589±2.73 ^b	244±2.28 ^b	345±0.53 ^b	345±2.64 ^b	101±2.11 ^a	14.7±0.58 ^b
ヒメノモチ	70.7±0.04 ^b	542±2.32 ^a	215±2.20 ^a	315±1.43 ^a	327±3.20 ^a	100±2.94 ^a	10.1±0.53 ^a

PT; 糊化開始温度, PV; 最高粘度, MV; 最低粘度.
FV; 最終粘度, BD; ブレークダウン, CS; コンシステンシー.
同一カラム間の同一英文字間では有意差がないことを示す (P<0.05).
糊化粘度特性値は5反復の平均値, 餅硬化性は10点測定の前平均値を示す.

第2-2表 水稲糯米4品種における糊化特性値と餅硬化性との相互関係.

特性	PT	PV	MV	FV	BD	CS
HN	-0.21	0.96**	0.85	0.81	0.97**	0.35
PT		0.08	0.32	0.39	-0.09	0.45
PV			0.95*	0.95*	0.97**	0.54
MV				0.96**	0.85	0.45
FV					0.88	0.45
BD						0.56

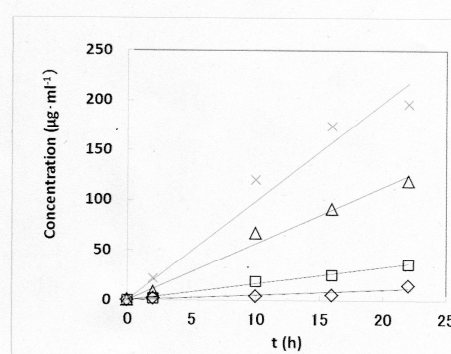
PT; 糊化開始温度, PV; 最高粘度, MV; 最低粘度.
FV; 最終粘度, BD; ブレークダウン, CS; コンシステンシー.
HN; 餅硬化性.
*, ** はそれぞれ5%水準, 1%水準で有意であることを示す.

次に尿素による澱粉溶解反応における溶出澱粉量の反応速度について解析を行った。近縁の硬化性が異なる4品種を用いた本試験においても、澱粉ヨウ素複合体の吸光度は、時間が長くなるほど、温度が高くなるほど、高くなる傾向が認められ、2-2.と同様の結果が得られた(図は示さず)。これらのことから、溶出澱粉量は温度と時間に依存し増加すると考えられた。そこで、澱粉の溶出反応を次式(1)として表わし解析を行った。

$$dC / dt = R \quad (1)$$

ここで、C [$\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$] は溶出澱粉量、t [h] は時間、R [$\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$] は溶解速度とした。

第2-8図に、(1)式から算出した、こがねもちの溶出澱粉量の経時変化を示した。15、20、25、30°Cの各温度区に対する溶出澱粉量の回帰直線の決定係数は、それぞれ0.85、0.99、0.99、0.97と高いことが認められた。



第2-8図 澱粉溶出速度線図(こがねもち).

Concentration [$\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$]; 溶出澱粉量, t [h]; 時間.

◇: 15°C, □: 20°C, △: 25°C, ×: 30°C.

(1)式から求めた各品種の溶解速度を比較した。第2-3表に4品種の溶解速度を示した。溶解速度と時間との間には全ての品種において高い相関が認められた、これらの相関係数は全ての品種において $r = 0.83$ 以上であった。

第2-3表 水稲糯米4品種における温度と溶解速度.

品種	溶解速度 [$\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]			
	こがねもち	オトメモチ	でわのもち	ヒメノモチ
温度 [°C]				
15	0.53	0.53	0.41	0.68
20	1.65	1.36	1.86	3.24
25	5.66	5.80	6.79	7.47
30	9.88	7.34	7.06	10.50

4. 考察

RVAの糊化特性は餅硬化性と関係があることが報告されている。本試験では、こがねもちの餅硬化性は最も高く他の品種との間には有意差が認められた。しかし、RVAの糊化特性のうち、餅硬化性との相関が高いとされる糊化開始温度(松江ら2002、中場2003、佐

藤 2005) については、4 品種の温度差が 0.8℃と小さく、こがねもちの糊化開始温度は最も低く、餅硬化性との順位とは異なっていた。良質糯品種のこがねもちの RVA の糊化特性に関する報告は多数あるが、その多くの報告は、こがねもちの糊化開始温度は供試品種の中では高い値として報告されている(石崎ら 1995、Sasaki ら 2009、佐藤ら 2005、佐藤 2007、杉浦 2005、Suzuki ら 2006、横尾 1993)。本試験において糊化開始温度がこれらの報告と一致しなかった要因として、 α アミラーゼ活性の阻害剤である硫酸銅は使わず粘性を確保するために、活性阻害剤に EDTA・2 NA 用いた点についても考えてみた。その結果、最高粘度、最低粘度、最終粘度の RVU 値は、粳米における各 RVA 値と同程度の数値であり α アミラーゼ活性の抑制に問題があったため、こがねもちで熱糊化開始温度が最も高くなかった要因があると思われた。一方、佐藤ら(2005)は、硬化性と糊化開始温度との相関を示した上で、糊化開始温度は出穂後 20 日間の日平均気温と相関が高いことを報告しているが、登熟期間の気温と品種の糊化特性の相互作用によることも考えられた。また、本試験ではこれまでの報告にはない品種が含まれていること、既知の報告と栽培地が異なること、供試品種数が少ないこと等が糊化開始温度に明確な差異があらわれなかった原因と考えられた。ただし本実験における α アミラーゼ活性の抑制の効果については、判然としなかった。

餅硬化性では、こがねもち他は他の 3 品種より有意に高く、次いでオトメモチ、でわのもち、ヒメノモチの順で、4 品種の硬化性には有意な品種間差が認められた。石崎(1996)は本試験で供試した 4 品種を含む 78 品種について、簡易測定法であるハードネス(石崎 1994)を指標とする硬化性ランクを報告している。本試験で得られた結果は、石崎の硬化性ランクと一致していた。こがねもちの硬化性を品種間で比較した報告例は多く、水稻糯米品種の中でも硬化性が高い(江川ら 1990、Igarashi 2008、Sasaki 2009、杉浦ら 2005)とされている。本結果はこれまでの報告と一致するとともに、石崎ら(1996)の報告における餅硬化性ランクと一致し矛盾しなかった。尿素溶解法における吸光度から澱粉溶出量を算出し、ゼロ次式に従い、溶解速度を求めたところ、品種間の溶解速度には違いがみられ、こがねもちやオトメモチでは溶解速度が小さく、ヒメノモチでは大きい傾向がみられた。これらの溶解速度の差異は、澱粉の結晶構造やアミロペクチン構造などに関与するものと考えられ、尿素溶液で遊離しやすい分子構造のものから溶出してきたことが推測された。

2-4. 餅硬化性が異なる品種における結晶構造回折

アミロペクチン分子内におけるクラスターの大きさや数、配置等、構造の詳細は不明の点が多いが、アミロペクチンは隣り合った直鎖同士が二重らせんを形成しており、これが澱粉の結晶性を作り出し不溶性の原因となっている。澱粉の分子構造については、アミロペクチンには結晶性であるクリスタルメラと非結晶性のアモルフォスメラがあり、これらが同心円上に繰り返し構造を有するとされている。澱粉生合成は、同心円の内側の還元末端側から外側の非還元末端側に進むと考えられている。結晶領域では、隣り合った α -1、4 直鎖が二重らせんを形成しているのに対し、非結晶領域では澱粉生合成関連枝作り酵素 BE によって触媒される α -1、6 グルコシド結合である分岐点が多い。また、澱粉の糊化は、隣り合った二重らせんが熱エネルギーによりほぐれ水分子が入り込むことで生じると考えられている。これに対し、老化は生澱粉と同じ程度までには完全な二重らせんには戻らないが、部分的に二重らせんに相当する構造を再形成する現象と考えられている。イネの野生型の澱粉の結晶は、通常 A 型結晶パターンを示す(Fujita ら、2003)。一方、イネ澱粉生合成関連酵素 SSIIIa 欠損変異体では、糊化開始温度、糊化ピーク温度が低く野生型と比較し粘性が極めて低く、その結晶性は低下することが報告されている(Fujita ら 2007)。さらに BE II b 欠損変異体では糊化開始温度、糊化ピーク温度が高く、その結晶は野生型とは異なる B 型結晶パターンを示す(Tanaka ら 2004)ことが報告されている等、アミロペクチンの構造や物性の変化は結晶に関与すると考えられる。これらの報告から、餅硬化性の違いや白米を用いた尿素による澱粉溶解速度の違いは、アミロペクチンの構造のみならず結晶性の違いに影響すると推定される。そこで、本節では 2-3. で用いた硬化性が異なる 4 品種を用いて澱粉の相対結晶化度について検討した。

1. 供試材料

前節と同じ 4 品種である、こがねもち、オトメモチ、ヒメノモチ、でわのもちを供試した。

2. 試験方法

1) X線結晶回折

1.85 mm の篩を通した玄米整粒を 90 % にとう精した後粉砕し、74 μ m の篩を通した白米粉を材料とした。

濱西ら (2000) の方法に準じ、白米粉に内部標準物質としてフッ化カルシウムを 5 % (w / w) 添加し、その後、相対湿度 95 % 以上の密閉容器中で 24 時間調湿し、X 線結晶回折装置 (理学電気製、ultraX18B2、以下 XRD) の試料とした。測定条件は、X 線源: Cu - K α 、X 発生条件: 50 kv、27 mA、走査角 (2 θ / θ): 10 - 35 $^{\circ}$ 、発散スリット (DS): 1 $^{\circ}$ 、散乱スリット (SS): 1 $^{\circ}$ 、受光スリット (RS): 0、15 mm、ゴニオメーター走査速度: 2 $^{\circ}$ / min とした (理学電機株式会社分析センター編 1985)。測定した XRD データは、スムージング処理し、解析ソフト Sonneveld - Visser 法 (Sonnevelt E. J 1975) を用いてピーク幅 0.10、強度閾値 0.001 としてバックグラウンドを差し引き、K α 2 / K α 1 = 0.5 として K α 2 を除去した。澱粉の相対結晶化度 (RSC) は、以下の計算式により算出した。

$$\text{相対結晶化度} = (\text{総積分値} - \text{バックグラウンド積分値}) / \text{CaF}_2$$

積分値測定は 3 回行い、平均値とした。

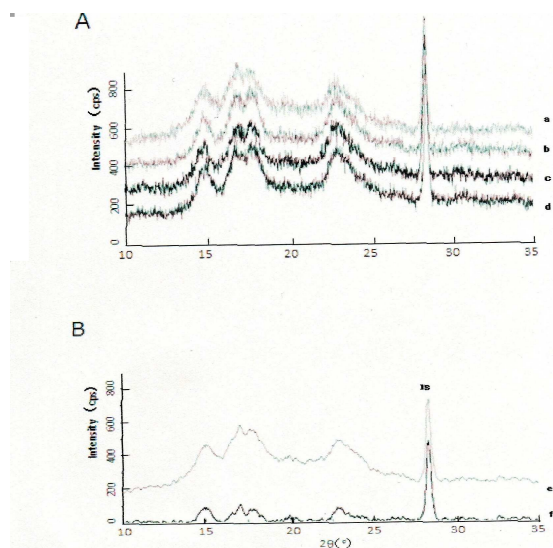
3. 結果

第 2-9A 図に、品種における澱粉の X 線結晶回折図を示した。X 線結晶回折図では、28.2 $^{\circ}$ (2 θ) に内部標準物質のピークが表れた。そこで、スムージング処理しバックグラウンドを差し引いた後、全結晶性領域の面積の積分値に対する内部標準物質の面積の積分値の割合を算出し相対結晶化度を算出した (第 2-9 B 図)。第 2-4 表に X 線結晶回折図を解析した結果を示した。X 線結晶回折図から算出した相対結晶化度には品種間に明らかな違いが認められた。相対結晶化度は、こがねもちが最も大きく、次いで、でわのもち、オトメモチの順で大きく、ヒメノモチが最も小さい値を示し、こがねもちに比較して、他の 3 品種は 81 ~ 88 % と少ない割合を示した。

4. 考察

水稻糯品種について澱粉の X 線結晶構造回折の報告はないが、全ての品種が粳米と同様に A 型結晶を示した。Igarashi ら (2008) が報告したように、北海道産米は本州産あきたこまちにみられる A 型結晶ではなく Ca 型結晶と極めて異なる結晶構造を有する特殊な例においても、これまで X 線結晶構造回折図のピークの形のみで推論され解釈されてきた。これに対し本試験では定量化を試み、同じ A 型結晶である 4 品種について結晶領域を積分値で算出し相対結晶化度を求める方法を用いた。その結果、硬化性が高いこがねもちの相対結晶化度は大きく、硬化性が低いヒメノモチの相

対結晶化度は小さかった。全ての植物における結晶領域の周期は 9 nm (Jenkins ら 1993) と一定であり、結晶領域はアミロペクチンの直鎖同志が二重らせんを形成し、このクラスターが多く結合するタンデムクラスター構造を形成するとされる (Hizukuri 1986、Nakamura 2002)。餅の硬化は澱粉が糊化し結晶領域を形成する二重らせんがほどけ、再度二重らせんを構成するとされる老化現象と関連があり、硬化性が高いこがねもちは、他の品種に比べて二重らせんを形成する鎖が多いことは既に報告されている。本結果は餅硬化性とアミロペクチンの結晶性領域の関係について示唆した初めての報告であり、これらの報告を支持するものであり、アミロペクチンの分子構造が硬化性に強く関与することが推測された。ただし、今回供試した品種は 4 品種と少ないため、今後さらに硬化性の異なる多くの品種を用いた検証が必要である。



第 2-9 図 XRD 回折図。

A: a, こがねもち b, オトメモチ c, でわのもち d, ヒメノモチ

B: e, 平滑化, f, バックグラウンド処理, IS, 内部標準物質 (CaF₂), (こがねもちの例)。

第 2-4 表 4 品種の相対結晶化度

品種	相対結晶化度 (-)
こがねもち	745
オトメモチ	658
でわのもち	670
ヒメノモチ	602

3 回測定し平均値を示した。

2-5. 餅硬化性と溶解速度、結晶構造における相互関係

尿素溶解法と餅の硬化性におけるこれまでの報告は、澱粉ヨウ素複合体を呈色程度により目視で評価したランクと RVA による糊化ピーク温度との関係にとどまっている (佐藤 2005)。そこで、尿素による溶出澱粉とヨウ素複合体の呈色度を吸光度で定量化する方法を確立するために、2-1. では、白米粉を用いて澱粉の尿素溶液に対する糊化とヨウ素呈色反応について明らかにし、尿素濃度の条件を明らかにした。2-2. では、前節で求めた尿素溶液の濃度を用いて、白米粒を用いて温度と時間に対する吸光度の尿素溶解反応における変化について明らかにした。2-3. では、硬化性が異なる 4 品種を用いて、RVA による糊化特性、餅硬化性、尿素溶解反応における溶解速度の解析を行い、品種間の差異をみいだした。2-4. では、溶解速度の違いが澱粉の結晶に起因すると考え、X 線結晶回折により澱粉の相対結晶化度を定量化し、品種間の差異をみいだした。そこで、本節では前節までにとりあげた、尿素溶解反応における溶解速度、澱粉の相対結晶化度と餅硬化性および餅硬化性ランク (石崎ら 1994) との関係明らかにする。

1. 供試材料

2-3. と同様の材料を用いた。

2. 試験方法

2-3.、2-4. で導いた結果を用いて、相関関係を明らかにした。パラメーターは、2-3. において精製澱粉量の検量線から算出した尿素溶解反応の溶解速度、餅硬化性と相関が高かった RVA による糊化特性値のブレ

ークダウン、餅硬化性、および 2-4. で X 線結晶構造回折図から算出した澱粉の相対結晶化度を用いた。

3. 結果

第 2-5 表に 4 品種を用いた各温度区における溶解速度とブレイクダウン、餅硬化性、および澱粉の相対結晶化度との相互関係を示した。15 °C および 30 °C における溶解速度は、いずれのパラメーターとも関係は認められなかった。一方、20 °C および 25 °C における溶解速度とブレイクダウンの間にはそれぞれ有意な負の相関が認められ、25 °C における溶解速度と餅硬化性との間には、最も高い有意な負の相関が認められた。また、20 °C および 25 °C における溶解速度と相対結晶化度との間には有意ではないものの高い負の相関が認められた。

第 2-10 図に、4 品種の 25 °C における溶解速度と餅硬化性ランク (石崎ら 1996) との関係を示した。溶解速度と餅硬化性ランクの間には、スピアマンの順位相関検定において、相関が認められた (図 A: $r=0.88$, $P < 0.05$)。また、相対結晶化度と餅硬化性の間にも強い相関が認められた (図 B: $r=0.92$, $P < 0.05$)。

4. 考察

これまで餅硬化性は RVA による糊化特性やアミロペクチンの鎖長分布割合で論じられてきた (江川ら 1990、Igarashi ら 2008、石崎ら 1995、岡本ら 1998、松江ら 2002、Okamoto 2002、Sasaki ら 2009 佐藤ら 2005、2007、杉浦ら 2005、Suzuki ら 2006、横尾ら 1993)。しかし、これらは一つのパラメーターを用いた解析がほとんどである。本試験では、餅硬化性を澱粉の尿素溶解による溶解速度、RVA の糊化特性、澱粉の相対結晶化度の数種の間関係すると推測されるパラメーターを用いて、餅硬化性を推定する手法を検討した。その結果、尿素溶解反応の 20 °C、25 °C における溶解速度は餅硬化性との間に特に高い相関がみいだされた。さらに、餅硬化性と澱粉の相対結晶化度との間には高い相関が認められた。澱粉のアミロペクチンは結晶性であるクリスタルラメラと非結晶性のアモルフォスラメラで構成されている。このうち、結晶領域では、隣り合った $\alpha-1$ 、4 直鎖が強固な二重らせんを形成している。本結果では、餅の硬化性が高いこがねもちでは、相対結晶化度が大きく、餅の硬化性が低いヒメノモチでは相対結晶化度が小さい結果が得られ、餅硬化性と相対結晶化度との間には強い相関がみいだされた。また、一般に澱粉の熱糊化は、隣り合った二重らせんが熱エネルギーによりほぐれ水分子が入り込むこ

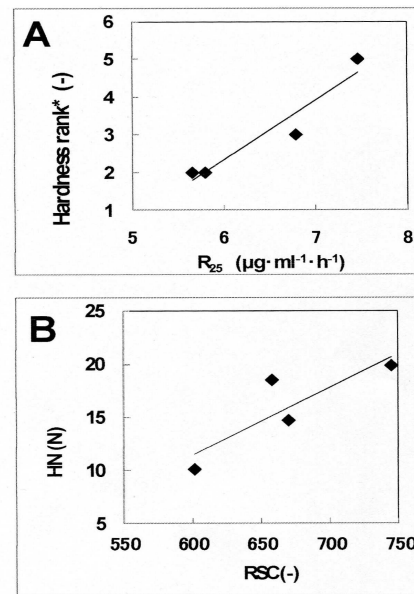
とで生じると考えられている。これに対し尿素による澱粉の糊化の作用は異なるものの、溶解速度の違いは澱粉の構造に関与することが考えられる。本試験では、溶解速度と餅の硬化性ランクとの間に関係が認められたことから、こがねもちにみられるように、結晶領域が大きいアミロペクチン構造を有する糯品種では尿素溶解法による溶解速度が小さく、溶出澱粉量が少ないことが推論され、さらに餅硬化性の違いはアミロペクチンの構造である結晶性領域の大きさの違いに影響すると推定された。以上のことから、澱粉の尿素溶解速度や相対結晶化度は、餅の硬化性を推論するための一つのパラメーターとして有効であると考えられた。また、溶解速度を利用し餅硬化性を推定する場合には、相関が高かった 20 °C と 25 °C の 2 温度のいずれかの条件を採用することが有効と考えられる。このうち、25 °C の条件では、餅硬化性と溶解速度、ブレイクダウン、相対結晶化度と、調査した全てのパラメーターとの相関があったことから、尿素溶解法による澱粉澱粉ヨウ素複合体のヨウ素呈色反応における吸光度から餅硬化性を推定する条件としては、25 °C がより最適な条件であると考えられた。

第 2-5 表 溶解速度, RVA 法によるブレイクダウン, 餅硬化性及び

澱粉の相対結晶化度との相関.			
相関係数			
溶解速度	ブレイクダウン	餅硬化性	相対結晶化度
R ₁₅	-0.44	-0.50	-0.52
R ₂₀	-0.93*	-0.92*	-0.70
R ₂₅	-0.97**	-0.97**	-0.77
R ₃₀	-0.42	-0.32	-0.06

*, **はそれぞれ 5 %, 1 % で有意であることを示す.

R は尿素溶液による澱粉の溶解速度. 数字は溶解の温度条件を示す.



第 2-10 図 溶解速度と餅硬化性ランク(A), 相対結晶化度と餅硬化性の関係(B).

R₂₅ ; 25 °C における反応速度, Hardness rank ; 餅硬化性ランク (石崎 1994). HN ; 餅硬化性, RSC ; 相対結晶化度.

3. 尿素澱粉溶解法を用いた餅硬化性の少量評価法における検証

2 章では、餅の硬化性を少量・簡易に評価する方法を検討するために、尿素溶解法を用いて澱粉ヨウ素複合体の吸光度により既知の定性的方法を定量化した。さらに品種の違いにより澱粉溶解の反応性に差異が認められたことから、時間、温度等の多数のパラメーターを用いて、その溶解反応について解析をおこなった。その結果、尿素溶解法の溶解速度と餅硬化性、さらに結晶構造解析を行い、溶解速度は澱粉の結晶構造に関与することを推測した。このように多数のパラメーターを用いて餅硬化性を推論することが可能と考えられ、特に、温度では 25 °C における溶解速度が餅硬化性と最も高い相関があることをみいだした。

育種においては、交配親となる母本の評価や交配後の初期世代では多数の検体を評価する必要がある。特に、餅硬化性は初期世代における選抜が有効とされることから、少量で簡易に評価し育種の効率化を図り、目的形質を確実に選抜する必要がある。そこで、本章では、2 章でみいだした、25 °C の温度条件を用いて、尿素溶解法を用いた澱粉ヨウ素複合体の吸光度測定が餅硬化性の推定法に適用可能であるかどうかを検証を行った。本章では、東北、北陸地方で栽培可能な主要糯品種を供試し、餅硬化性と吸光度との関係を明らかにするとともに、餅硬化性の大きな変動要因とされる登熟温度との関係も併せて検討を行った。さらに、こ

がねもちの交配組合せを用いて、初期世代における尿素溶解法による吸光度の評価を行い、後代系統の世代間相関を明らかにし、育種選抜法への適用性についても検討した。また、餅硬化性の少量評価法について検討を行った。

3-1. 餅生地における少量評価法の検討

餅硬化性は、製造工程においてはカッティングされる前の冷蔵時間に影響するため特に重要とされる形質である。硬化性は、通常冷蔵後の餅生地を一定時間つり下げ法によりその曲がり具合で評価されている（有坂 1994、江川ら 1990、山下 1996）。その他の方法では、テンシプレッサーによる貫入抵抗値（江川ら 1990）、テクスチュロメーターや果実硬度計による硬化度（江川ら 1990、岡本ら 1998）等による物理的な評価法等がある。しかし、これらの方法では 1 kg 以上の白米が必要とされ、測定前の冷蔵時間には 20 時間程度の長い時間を要する。水稻の育種においては、初期世代で簡便に多数の選抜個体を評価する必要がある。一方、硬化性のより簡便な方法としては、米粉を材料とするビスコグラフによる方法があり、糊化上昇温度は餅の硬化性と高い相関があるため硬化性の評価に有効であることが報告されている（柳瀬ら 1982）。この方法では、白米粉 50 g の量を用い 100 分間で測定が可能である。さらに近年ではビスコグラフより少ない 3.5 g 程度の材料で測定時間が 20 分間と短い RVA の糊化特性による評価法が用いられ、詳細な解析と育種利用がされている（岡本ら 1998、佐藤ら 2005、佐藤 2007）。またその他の方法では、米粉を水で練り茹でてもち生地を調整しテンシプレッサーで測定したハードネス値が糊化上昇温度と相関があることを利用した評価法も用いられている。この方法は、20 g と材料は少量でモチ生地に類似した形態となるものの、特別な道具を用いかつ工程が多い（石崎 1994）。しかし、これらは材料が十分に養成できる後期世代で系統を評価するため、目的形質を逃がしてしまう可能性がある。初期世代で簡易な少量選抜法で 1 次スクリーニングし、少ない材料で餅硬化性を評価しその適合性を検証することが可能であれば、従来より早期に餅の硬化性が高い系統を確実に選抜ができる。そこで、本節では、尿素溶解法を検証するための初期の個体選抜でも利用可能な 10 g 程度の白米を用いた餅生地の少量評価法を検討した。

1. 供試材料

2009 年に秋田県農林水産技術センター農業試験場圃場（秋田市雄和源八沢）で同一条件下で栽培した、

こがねもち、ヒメノモチ、たつこもちの 3 品種を供試した。1 区 4 m²で行い、播種は移植は 5 月 17 日に行った。刈り取り時期は、籾の黄化程度が 90 % に達した成熟期に品種毎に行った。粗玄米を 1.85 mm の篩に通し精玄米にし、とう精歩留り 90 ± 1 % にした白米を材料とした。

2. 試験方法

少量白米における餅生地の冷蔵時間の検討

白米 10 g を直径 5 cm、高さ 10 cm のステンレス製の網容器に入れ、20 °C の水で浸し、20 °C 24 時間インキュベーター内で吸水させた。30 分間水切りした後、蒸し器で 20 分間煮沸した。その後 10 °C の水を 10 ml 入れ差し水をし、さらに 10 分間煮沸し蒸し米とした。餅生地は、蒸し米を直径 10 cm、深さ 4 cm の乳鉢に入れ、乳棒を用いて、3 分間押しつぶし、その後 2 分間練り作業を行い均一な餅生地を作成した。得られた餅生地を直径 3 cm、深さ 10 mm のプラスチックセルに入れ充填し、表面をラップフィルムで覆い 4 °C で冷蔵した。餅硬化性は果実硬度計（藤原製作所社製 KM-5 型）により餅生地上の任意の 5 カ所に 10 mm 径のプランジャーを挿入し、餅の硬化度を測定した。試験は 5 回反復で、冷蔵時間を 18、20、24、48 時間の 4 条件とし、測定値の平均値、偏差、分散で餅生地の冷蔵時間の最適条件を検討した。

3. 結果

こがねもち、ヒメノモチ、たつこもちについて、冷蔵時間を 18、20、24、48 時間として温度 4 °C で餅生地の硬化性を測定した。餅生地の硬化度は、24 時間まではこがねもちが高く、ヒメノモチが低い傾向があった。冷蔵時間が長くなるにつれ硬化度は大きくなり、品種の差は 24 時間で最も大きく、48 時間では品種間差は認められなかった。品種につき 5 回反復し、平均値、標準偏差、変動係数を算出して測定値のばらつきを検討した（第 3-1 表）。品種の差が最も大きい 24 時間の硬化度の平均値はこがねもち、ヒメノモチ、たつこもちがそれぞれ 1.60、1.04、1.20 kg / cm² で、標準偏差は 0.05 ~ 0.07、変動係数は 3.5 ~ 6.8 と小さかった。平均値を 90 % の確率で推定する時に必要なサンプル数は、少量評価法においては 1 品種あたり標本数は計算上、5 回とするのが適当だった。しかし実際の測定において、偏差が少ない場合には試験の必要性に応じて 3 回で可能と考えられた。

第3-1表 白米10gを用いた少量餅硬化性評価の冷蔵時間

冷蔵時間	18時間			20時間			24時間			48時間		
	平均値	偏差	分散	平均値	偏差	分散	平均値	偏差	分散	平均値	偏差	分散
品種	kg・cm ⁻³			%			kg・cm ⁻³			%		
こがねもち	0.40	0.04	8.7	0.80	0.06	8.5	1.60	0.06	3.5	2.30	0.06	2.6
ヒメノモチ	0.30	0.05	16.67	0.73	1.04	4.9	1.04	0.05	4.9	2.26	0.05	2.2
たつこもち	0.30	0.05	16.67	0.75	0.09	12.2	1.20	0.08	6.8	3.20	0.05	2.8

平均値は餅の硬化度を示す。

4. 考察

白米10gを用いた餅の少量硬化性評価法の冷蔵時間を検討した。冷蔵に要する時間は24時間であった。吸水24時間、水切り時間30分間、蒸し時間30分間、餅つき時間5分間、冷蔵時間24時間により硬化性の評価が可能となった。本試験に用いた白米量を従来法の餅の硬化性評価法に要する白米量と比較すると、餅つき法より1/100、ビスコグラフを用いた方法より1/5、ハードネスによる方法より1/2と材料は大幅に少ない量である。また、1回に処理可能なサンプル数は蒸米では蒸し器の大きさで異なるが、本試験では1回に8検体の蒸米ができた。しかし餅つき工程が手作業であり蒸米の老化が進む前に餅つき工程を行う必要があるため、1人で全工程を行う場合は最大で4検体が適当であり、餅つき工程を2人で行う場合には1回に8検体の餅つきが可能であると考えられる。この方法では1日に3サイクルができ、2人で行う場合には24サンプルの処理が可能である。育種の初期世代や母本養成では株数が少なく得られる材料の量が少なく、餅を作り硬化性を評価することが困難であったが、本法を用いることにより材料が少ない場合でも直接餅をつくり硬化性を評価することが可能になると考えられた。

3-2. 異なる品種、年次における尿素澱粉溶解法の適用と餅硬化性との関係

2章で、硬化性が異なる糯品種間では尿素溶解法による澱粉の溶解は温度依存性に差異があり、温度25℃における溶解速度が餅硬化性と高い相関があることをみいだした。溶解速度を求めて餅硬化性を推定する方法としては極めて精度が高いが、その一方で時間を変えて調べることは餅硬化性を調べる以上に時間がかかり、多数の検体を扱うことは困難である。そこでこれまでの結果を基に、澱粉ヨウ素複合体の吸光度を用いて、一定の温度、時間の条件を用いて餅硬化性を推定する評価法を確立するために、育種素材を用いて

検証することとした。温度は、2-5. (第2-5表)で検討したように餅硬化性と最も相関が高い溶解速度の条件である25℃を用いた。また、時間は、2-2. (第2-5図)で検証した、25℃の温度条件下で、こがねもちとヒメノモチ間で最も差異が認められた24時間とした。この条件を用いて東北、北陸地方の主要な栽培品種を用いて、尿素溶解法による吸光度と餅硬化性との関係を検証した。また、佐藤ら(2005)の尿素崩壊法による呈色程度による方法、および育種現場で用いられているRVAによる糊化特性との精度の比較を行った。

1. 供試材料

試験は、2008年、2009年、2010年に秋田県農林水産技術センター農業試験場圃場(秋田市雄和)において、同一条件下で栽培した品種を用いた。たつこもち、ヒメノモチ、きぬのはだ、こがねもちは3年間供試した。でわのもち、オトメモチは2009年、2010年の2年間供試した。サカキモチ、わたぼうしは2010年のみ供試し、3年間で8品種供試した。1区4㎡で行い、移植は3年間ともに5月17日に行った。刈り取り時期は、初めの黄化程度が90%に達した成熟期に品種毎に行った。粗玄米を1.85mmの篩に通し精玄米にし、とう精歩留り90±1%にした白米を材料とした。

2. 試験方法

1) 餅硬化性

2-1. 2. 1)の方法および3の結果に基づき、白米10gを用い、餅つき後24時間冷蔵後に硬化度を測定した。試験は1品種につき3反復で行い、平均値で示した。

2) 白米粒を用いた尿素溶解法による澱粉ヨウ素複合体の吸光度

白米粒20粒を9cmプラスチックシャーレに置床し、4.5M尿素溶液(pH6.0)を20ml加え、25℃、24時間、インキュベーター(アイラ社製、FLI-301NH)で静置した。その後、2%KI/0.2%I₂を500μl入れ2~3回静かに卓上でシャーレを回し溶出液をヨウ素と混和し呈色させた。呈色液を蒸留水で10倍に希釈し、10,000rpmで5分間、遠心分離した。上澄を一部とり、530nmにおける吸光度(BECKMAN社製、DU7500)を測定した。試験は3反復で行い、平均値を算出した。

3) 目視による白米の尿素崩壊性

2) と同様の実験シャーレ内の検体を用いた。佐藤ら (2005) の方法を参考に、客観的に崩壊性を数値化するために、インキュベーション後、ヨウ素呈色前の白米の崩壊性を調査した。ただし、崩壊性は佐藤らの崩壊性の目安とは異なり、白米の崩壊の程度に関わらず崩壊した粒を数えた。崩壊性は、全粒数に対する崩壊した粒の割合とした。

4) RVA による糊化特性の測定

1-3. 2、2) と同様に行った。測定項目は、糊化開始温度、糊化ピーク温度とした。測定は 5 反復行い、平均値を算出した。

5) 登熟気温の算定

胚乳澱粉のアミロペクチンは開花後 5 日目以降から直線的に増加し、開花後 20 日目頃に最大量に達する (Asaoka ら 1985) ことから、登熟気温は出穂後 20 日間の日平均気温とした。平均気温は、秋田管区気象台のアメダス観測地大正寺 (秋田市雄和) のデータを利用した。

3. 結果

第 3-2 表に、品種の出穂期、登熟気温、餅硬化性を示した。秋田県における品種の早晚性は、たつこもち、オトメモチ、サカキモチは早生に、わたぼうし、ヒメノモチ、きぬのはだは中生に、こがねもち、でわのモチは極晩生に属した。試験を行った 3 年間の気温の傾向は、2008 年はやや低温年、2009 年は平温年、2010 年は高温年であった。各年次における登熟気温の差は 2008 年では、2.4 °C、2009 年では 1.9 °C だった。2008 年、2009 年の 2 年間は晩生品種ほど登熟気温が低くなる通常年の一般的な傾向を示した。これに対し 2010 年では、早生品種から晩生品種までの登熟気温の差は最大で 0.4 °C と差異はほとんどなかった。各年次の餅硬化性は、2008 年は 1.05~1.68 kg・cm⁻²、2009 年は 0.99~1.59 kg・cm⁻²、2010 年は 1.47~2.40 kg・cm⁻² であった。また硬化性の差は、2008 年では、0.63 kg・cm⁻²、2009 年では 0.60 kg・cm⁻²、2010 年では 0.93 kg・cm⁻² であった。年次において供試品種が異なるが、複数年の結果では、餅硬化性はこがねもちが高く、ヒメノモチが低く、たつこもちはその中間を示し、きぬのはだは高温年ではこがねもちより硬化性が高かった。また、同一品種内の餅硬化性は高温年であった 2010 年では 2008 年、2009 年より高くなる傾

向が認められた。

第 3-2 表 2008, 2009, 2010 年における各品種の出穂期, 登熟気温, 餅硬化性.

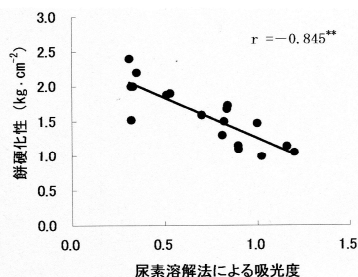
品種	出穂期 (月・日)			登熟気温 (°C)			餅硬化性 (kg・cm ⁻²)		
	2008 年	2009 年	2010 年	2008 年	2009 年	2010 年	2008 年	2009 年	2010 年
たつこもち	8.01	8.01	7.25	23.3 ^b	23.5 ^b	25.7 ^a	1.14 ^b	1.15 ^b	1.90 ^c
ヒメノモチ	8.08	8.04	7.29	22.3 ^b	23.3 ^{ab}	25.9 ^a	1.05 ^a	0.99 ^a	1.73 ^b
きぬのはだ	8.13	8.10	8.02	21.1 ^{ab}	22.3 ^a	26.0 ^a	1.52 ^c	1.30 ^c	2.40 ^c
こがねもち	8.15	8.13	8.06	20.9 ^a	21.6 ^a	25.7 ^a	1.68 ^c	1.59 ^d	2.21 ^d
でわのモチ	8.12	8.08		21.6 ^a	25.6 ^a		1.40 ^c	2.00 ^d	
オトメモチ	8.03	7.28		23.5 ^b	25.9 ^a		1.50 ^d	2.00 ^d	
サカキモチ		7.25			26.0 ^a			1.90 ^c	
わたぼうし		7.30			25.8 ^a			1.47 ^a	

登熟温度は出穂後 20 日間の日平均気温。餅硬化性は、果実硬度計により測定した餅生地上の任意の平均硬度で示した。同一カラムの同一英文字間には有意差がないことを示す。

3 年間における尿素溶解法による吸光度と餅硬化性との関係を第 3-1 図に示した。澱粉ヨウ素複合体の吸光度は、2008 年は 0.70~1.20、2009 年は 0.70~1.02、2010 年は 0.31~1.00 の範囲にあり、2010 年の吸光度は 2008 年、2009 年に比べて低い傾向があった。吸光度と餅硬化性の間には、高い有意な負の相関がみいだされた ($r = -0.845$, $P < 0.01$)。第 3-3 表に、餅硬化性と澱粉ヨウ素複合体の吸光度、米粒の崩壊性、RVA による糊化開始温度、糊化ピーク温度とのそれぞれの関係を示した。餅硬化性と糊化開始温度、糊化ピーク温度との間にはそれぞれ正の相関が認められた ($r = 0.851$, $P < 0.01$, $r = 0.853$, $P < 0.01$)。さらに、吸光度と糊化開始温度、糊化ピーク温度の間にはそれぞれ有意な負の相関がみいだされた。一方、目視による白米の崩壊性は、2008 年、2009 年では品種の違いがみられたが、高温年の 2010 年ではほとんどの品種が崩壊しなかった。崩壊性と吸光度との間には弱い正の相関がみられたが ($r = 0.491$, $P < 0.05$)、崩壊性と餅硬化性、糊化開始温度、糊化ピーク温度の間には関係は認められなかった。

第 3-4 表に登熟温度と澱粉ヨウ素複合体の吸光度、RVA による糊化開始温度、糊化ピーク温度との関係を示した。登熟温度と吸光度の間には関係は認められ

なかった（第3-2図）。一方、登熟温度と糊化開始温度、糊化ピーク温度との間にはそれぞれ正の有意な相関が認められ、松江ら（2002）、佐藤ら（2005、2007）の報告と一致した。



第3-1図 澱粉ヨウ素複合体の吸光度と餅硬化性。
3年間 8品種供試. n=18.

第3-3表 餅硬化性と澱粉ヨウ素複合体の吸光度、崩壊性、糊化特性との関係

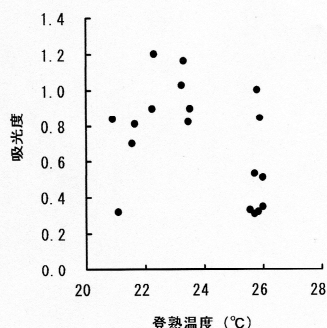
	餅硬化性	吸光度	崩壊性	糊化開始温度
吸光度	-0.845**			
崩壊性	-0.378	0.491*		
糊化開始温度	0.851**	-0.645**	-0.220	
糊化ピーク温度	0.853**	-0.709**	0.044	0.975**

3年間, 8品種供試. n=18.
*, ** はそれぞれ5%水準, 1%水準で有意であることを示す。

第3-4表 登熟温度と澱粉ヨウ素複合体の吸光度、糊化開始温度、糊化ピーク温度。

	吸光度	糊化開始温度	糊化ピーク温度
登熟温度	-0.40	0.72**	0.78**

3年間, 8品種供試. n=18.
*, ** はそれぞれ5%水準, 1%水準で有意であることを示す。



第3-2図 登熟温度と澱粉ヨウ素複合体の吸光度との関係。
3年間 8品種供試. n=18.

4. 考察

同一条件下で栽培した東北、北陸地方の主要 8 品種を供試し、白米の尿素溶解法を用いた吸光度と餅硬化性との関係を 3 年間検証した。尿素溶解法の温度条件は、2 章において餅硬化性と相関が最も高かった溶解速度から求めた 25 °C、24 時間を用いた。栽培を行った 3 年間の気温のうち、2010 年は本県における高温年であった。餅硬化性は登熟気温と正の相関があり、品種間差よりも登熟温度の影響を大きく受けることが示唆されている（石崎ら 1995、斉藤 1987、松江ら 2002）。本試験においても、餅硬化性は高温年である 2010 年ではほとんどの品種で他の試験年より餅の硬化性が高くなる傾向がみられた。また、尿素溶液に浸した白米の崩壊程度は、2008 年、2009 年は品種による違いがあったが、高温年の 2010 年はほとんどが崩壊せず、目視によるヨウ素呈色程度はこがねもちと同程度に薄い品種が多く目視による品種の判別は困難だった。反対に登熟気温が著しく低い低温年の場合には、米粒が崩壊しやすくヨウ素呈色は全ての品種が同じように濃くなることが推測され、この場合も品種間差の評価が困難になり、育種の選抜効果は低くなると考えられる。一方、尿素溶解法を用いた吸光度による評価は餅硬化性と相関が認められ、高温年である 2010 年においても数値化が可能であり、定量化による有効性が検証できた。また、現在、餅硬化性の評価の定法である RVA と餅硬化性との相関係数を比較した結果、尿素溶解法による吸光度は、RVA の糊化開始温度、糊化ピーク温度と同等の高い精度を示すことがみいだされた。また、白米を用いた尿素溶解法は、試験に関わる時間が少なく RVA に比較し材料の前調製が不要であることや、試験をセットした後はインキュベーションし、その後吸光度を測定するだけでよいから、RVA のように 20 分毎に検体をセットする等の拘束される時間が少ない利点がある。また、登熟気温との関係では、RVA による糊化開始温度、糊化ピーク温度は登熟気温と相関があることが報告されている（佐藤ら 2005、松井ら 2002）。一方、本試験で検証した吸光度と登熟気温との間には関係はみいだせなかった。この要因として、RVA の熱糊化と尿素の澱粉溶解との作用の違いが考えられる。RVA の熱糊化は、白米粉の吸水性や膨潤性が関与し、品種の澱粉構造とはほとんど関係がないと考えられる。一方、尿素溶解法の作用機作はあまり明らかではないが、アミロペクチンの二重らせんを形成する水素結合を主に阻害するとされ遊離しやすい分子から不規則に解離し始めると推測され、測定された吸光度は遊離しやすい一部の溶出澱粉のみを検出していると考えられ、RVA のように白米粉全体の糊化特性を反映していないためと推論される。糯米品種の硬化性が高い品種においては、澱粉のアミロペクチンの短

鎖が少ないことが既に報告されている。このことから尿素溶解法はより澱粉の構造を簡易に推定する方法とも推測される。この解明のためには、尿素溶解による溶出液の解析やその反応性を調べる必要があると思われる。一方、育種の見地から選抜を考慮すると、RVAでは糊化温度、ピーク温度が登熟気温と相関があるため、高温年および登熟期間の気温が高い時期に出穂する早生種を選抜する場合には、餅硬化性を過大に評価する可能性がある。それに対して、吸光度による評価は登熟気温と関係がみられなかったことから、登熟気温に左右されずに選抜目標とする熟期の品種や系統の硬化性を評価できる可能性があると考えられた。登熟期における温度と澱粉構造、糊化特性については、4章で議論する。

3-3. 育成試験における初期世代選抜法に関する 尿素澱粉溶解法の適用

前節の結果から、尿素溶解法による澱粉ヨウ素複合体の吸光度（以下、吸光度法）を用いて餅硬化性を評価できることを検証した。そこで、本節では育種素材を用いて、初期世代の個体を評価し、次世代の系統の世代間相関を明らかにし、育種の選抜法の利用可能性について検証した。

1. 供試材料

2007年に、硬化性が高くかつ玄米白度も高い系統の育成を育種目標として、硬化性が高いこがねもちを母に、玄米白度が高い秋系糯604を父として、交配した。交配後、温室において雑種集団で採種した。2008年にF3世代において、圃場で800個体の中から出穂期で選抜した29個体を材料とした。このうち、玄米白度が高い20個体について吸光度を測定した。吸光度の比較品種には同一条件下で栽培したこがねもち、秋系糯604、ヒメノモチを用いた。2010年にこれらを系統とし、F4世代の20系統について、吸光度および餅硬化性を測定した。

2. 試験方法

1) 白米を用いた吸光度法

F3世代20個体を舂すり後、玄米を1.85 mmの篩を通し、小型精米器（ケット社製、パーレスト）で90 ± 0.1%にとう精し白米にし材料とした。F4世代とした20系統は、2-1と同様に白米にした。吸光度法は、3-2、2 2)と同様の方法で行った。測定は3反復行

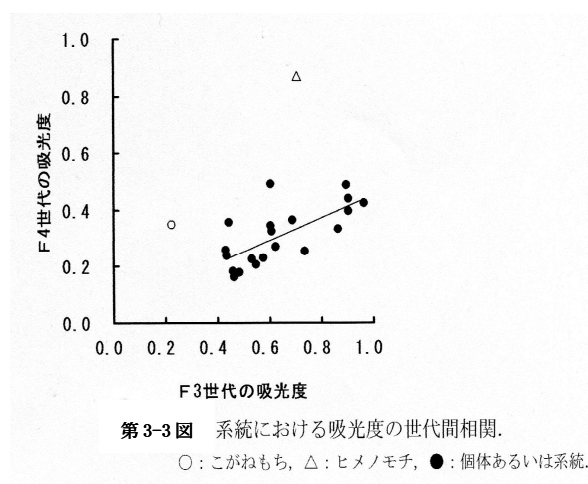
い、平均値で示した。

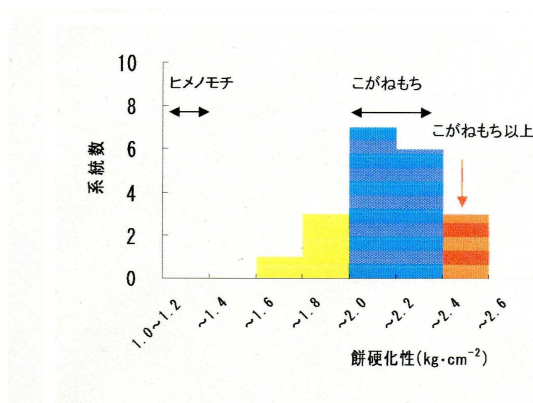
2) 餅硬化性の測定

3-1、2、1)の方法に準じて行い、白米10gを用い、餅つきした後、24時間冷蔵後に硬化度を測定した。試験は1品種につき3反復で行い、平均値で示した。

3. 結果

こがねもちを交配親とする育成材料を用いて、出穂期で選抜したF3世代29個体のうち、玄米白度が高い20個体および比較品種の吸光度を測定した。比較品種の吸光度は、こがねもちが0.22、秋系糯604が0.91、ヒメノモチが0.70であった。F3世代20個体の吸光度は0.36~1.30の範囲にあり、F3世代の吸光度は広く分布した。F3世代20個体を全て選抜し、F4世代で20系統とした。F4世代20系統の吸光度は0.35~0.49の範囲にあり、こがねもち、ヒメノモチの吸光度はそれぞれ0.35、0.87であった。第3-3図に、F3世代における吸光度とF4世代における吸光度との関係を示した。両者には正の相関が認められ、世代間相関があることがみいだされた($r = 0.696$ $p < 0.01$)。また、F4世代において餅の硬化性を評価した結果、こがねもちと同等である系統が13系統得られ、こがねもちより高い系統が3系統得られた。これらの系統はF4世代で評価した系統のうち80%の割合であった(第3-4図)。また、得られた系統の出穂期は早生から晩生までであった。





第3-4図 F4世代における餅硬化性の分布。
 ←→ は比較品種の餅硬化性の範囲を示す。

4. 考察

こがねもちを親とする育種材料である F3 世代および F4 世代について吸光度法を用いて評価した結果、両者の間には世代間相関が認められた。また F4 系統では餅硬化性がこがねもちと同等かそれ以上の系統が得られた。育種では目的形質の遺伝がどの程度の世代で有効であるか、形質の広義の遺伝率を算出する(新版植物育種学 1992)。初期世代において高い遺伝率を示す栽培形質としては、F4 系統では出穂率が 100%、稈長が 89%、籾数が 68% と報告されている(新版植物育種学 1992)。餅硬化性の広義の遺伝率についてはこれまで報告はない。本試験における吸光度法による広義の遺伝率は、F3 個体で 57%、F4 系統では 66% であった。小林ら(2000)は、餅硬化性の選抜は雑種集団の最初の個体選抜が有効であることを考察している。また、石崎ら(1995、1996)は、こがねもち、あるいはこがねもちを血縁とする品種を母本に用いることにより、硬化性が高い系統が育成可能であることを推測している。本結果は、F3 世代である個体選抜時における吸光度法による評価が有効であり、こがねもちを交配親とする交配組み合わせにより餅硬化性が高い系統が得られたことから、小林ら(2000)や石崎ら(1995、1996)を支持する結果であった。吸光度法は、初期世代における広義の遺伝率が比較的高いことから固定度が高まる後期世代においては、栽培特性とともに餅硬化性を確実に選抜していくことができる選抜法である可能性が示された。今後、得られた F4 系統について、後代の吸光度と餅硬化性を調べ、選抜効果と遺伝性を確認する必要がある。さらに、異なる交配組み合わせによる検証が必要と考えられた。

4. 登熟期における温度条件と澱粉構造との関係

餅硬化性や餅質は、品種や産地により大きく相違する。これらの相違は、精米粉のアミログラム特性値の糊化温度に関係づけられることが、柳瀬ら(1984)により明らかにされている。佐藤ら(2005)は精米粉を材料にし、RVA による糊化温度などのパラメーターと硬化性、登熟温度、農業形質の関係を報告している。これらの糊化温度の相違は、澱粉すなわちアミロペクチンの分子構造に起因すると推測している。澱粉の特性は、遺伝的要因と温度に代表される環境要因の二つがあげられる。遺伝的要因には、アミロペクチン生合成系で作用する主に澱粉生合成関連酵素に関する遺伝子(中村 2006)の欠損や発現量の差異にある(Fujita 2003、Kubo 2005、Nakamura 2002、Nishi 2001、Satoh 2003)温度要因には、出穂後の登熟気温が澱粉構造に大きく影響することが報告されており、これによりアミロペクチン合成に関わる遺伝子の発現や澱粉生合成関連酵素の活性バランスが変化し、鎖長分布が影響を受けることが示唆されている(Jiang ら 2003、Umemoto ら 1999)。品種や産地、登熟気温により餅の硬化性に違いが表れることは、すなわち餅質が不安定になることを意味する。安定的な品質を有する糯米を生産し実需者に供給することは、生産現場においては重要である(柳瀬ら 1981、1982a、1982b)。これまで、本県主力品種における登熟期の温度による糯品種の澱粉構造、餅硬化性、糊化特性の変動に関する詳細な報告はない。そこで本章では、東北・北陸地方の主要栽培品種を用いて、人工気象器を用いた同一環境下、すなわち餅硬化性に対する環境要因を排除した条件で栽培した際の澱粉の性質を明確にすると同時に、高温区、常温区との2種類の登熟温度条件における澱粉構造と糊化特性の違いを明らかにした。

4-1. 植物体および胚乳種子の形質

1. 供試材料

試験は 2009 年に行った。供試品種は、陸稲糯品種である関東糯 172 号(岡本 2007)、水稻糯品種は、餅の硬化性および早晩性が異なるこがねもち、オトメモチ、わたぼうし、でわのもち、たつこもち、ヒメノモチ、きぬのはだ、風の子もちの 9 品種を用いた(第 4-1 表)。なお、関東糯 172 号は超硬化性に関する澱粉生合成酵素 SS II a が活性型(Nakamura 2002)であり餅硬化性が水稻糯品種より極めて高く、硬化性に関する遺伝解析が既になされている(平塚 2008)。一方、水稻糯品種は澱粉生合成酵素 SS II a が不活性型である。ま

た、登熟期の異なる温度条件下における胚乳種子の形質を比較するため、高温耐性の基準品種を同時に供試した。糯品種では、高温耐性に関する報告がないため基準品種には、九州・北陸地方において高温耐性の評価が定まっている粳品種の基準品種 3 品種、すなわち高温耐性が高いコシヒカリ、高温耐性が中のみちまこ、高温耐性が弱のトドロキワセの 3 品種を用いた。

第 4-1 表 供試品種の餅硬化性ランク

餅硬化性 ^a ランク	品種	澱粉合成酵素
(超硬)	関東糯172号	SS II ^a 活性型
極硬	こがねもち・オトメモチ	SS II ^a 不活性型
硬	でわのもち・わたぼうし	〃
やや硬	たつこもち	〃
中	ヒメノモチ	〃
やや軟	きぬのはだ	〃
軟	風の子もち	〃

^a石崎ら(1996) , ただし()はその他の文献による。

2. 試験方法

1) 植物体の養成

種子の消毒は 4 月 25 日に行った。種子 100 粒をヘルシード水和剤（ホクコー）で希釈倍率 20 倍で 10 分間処理した。30℃ のインキュベーターで 24 時間風乾後、10℃ で 6 日間浸種した後、30℃ で 1 日間で催芽した。催芽した種子を 5 月 3 日、育苗箱に播種しハウス内で育苗した。育苗土は黒ボク土と水田土を 2 : 1 に混和した土を用いた。移植は 5 月 24 日に行い、3.2 ~ 3.5 葉期の中苗を 1 株 1 本植えとし 1 / 5000 a ポットあたり 3 本移植し網室で養成した。ポット用土は黒ボク土と水田土を 4 : 1 に混和した土を 3.8 kg 用い、肥料は化成肥料でポットあたり硫安を N : 0.5 g、過リン酸石灰を P : 0.5 g、塩化カリを K : 0.5 g とした。高次の過剰分けつを抑制するため、7 葉期に水面から 60 cm の長さの畦畔シートをポットに入れ展開葉の葉鞘が完全に水につかるように 10 葉期まで深水処理を行い、10 葉期以降は通常の水管理を行った。また主稈、分けつを区別するため葉鞘に色つきリングを入れた。

2) 人工気象器内における出穂期の主稈穎花のマーキング

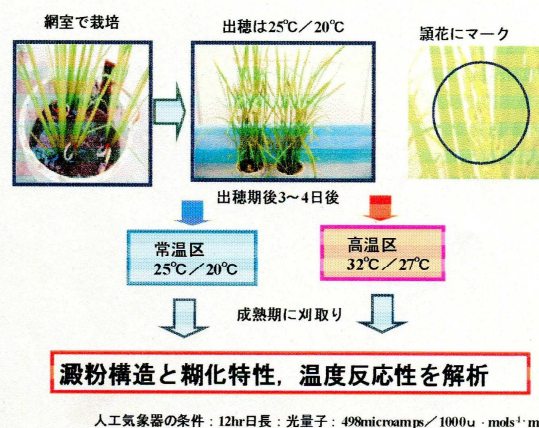
第 4-1 図に材料の養成および温度処理方法を示した。出穂直前の植物体のポットを品種毎に人工気象器に移動し、出穂は不稔の影響を防ぐため 25℃ / 20℃（昼温 / 夜温）、日長 12 時間、照度は穂の高さの位置で光量子 498 microamps per 1000 maicromols⁻¹m⁻² の条件下で出穂させた。また出穂期とした同一日に開花した主稈の穎花全てにマジックでマーキングをした。出穂後 2~3 日の穂揃期に、品種毎に温度処理を行った。

3) 登熟期の温度処理

穂揃い期に品種毎に、常温区 25℃ / 20℃（昼温 / 夜温）および高温区 32℃ / 27℃（昼温 / 夜温）の条件下で成熟期まで処理した。日長、照度は 2) と同一条件で行った。サンプリングは、穂の黄化程度が 90 % 程度に達した成熟期に行った。

4) 形質調査

主稈の穂、分けつから発生した穂、地上部の 3 部位に分け調査した。個体毎に、稔実、1 粒重、穂重、茎葉乾物重を調査した。稔実および 1 粒重は各品種の平均的な 1 個体の主稈の穂を代表として用い調査した。稔実率は主稈の全粒数に対する稔実粒の割合で算出した。玄米形質は、成熟期に刈り取り籾水分 20 % 前後のりよく化が始まる前に籾殻をむき、乳白、腹白、背白、基白等の被害粒を目視で数えた。



第 4-1 図 材料養成と温度処理方法。

3. 結果

第 4-2 表に、常温区、高温区における個体の茎葉重と穂重を示した。高温区の茎葉重では常温区に対して 73 % から 95 % と減少した。品種別では、でわのもち

が最も減少の割合が大きく、次いでオトメモチ、関東糯 172 号、きぬのはだ、わたぼうし、たつこもち、こがねもちで、風の子もちの順で、最も影響が小さい品種はヒメノモチであった。高温区の穂重では常温区に対して 70 % から 90 % と減少した。品種別では、きぬのはだが最も減少の割合が大きく、次いで関東糯 172 号、たつこもち、風の子もち、オトメモチ、でわのもち、こがねもち、わたぼうしであり、最も温度による穂重の影響が小さい品種は、茎葉重でも影響が小さいヒメノモチであった。

第 4-2 表 常温区、高温区における茎葉重と穂重。

品種名	1 個体あたりの茎葉重 (g/個体)			1 茎あたりの穂重 (g/茎)		
	常温区	高温区	%	常温区	高温区	%
関東糯 172 号	14.3 ± 3.3	12.3 ± 0.8	n.s. (86)	2.81 ± 0.27	1.97 ± 0.10 *	(70)
こがねもち	14.7 ± 1.3	13.6 ± 2.4	n.s. (92)	0.28 ± 0.02	0.24 ± 0.02 n.s.	(85)
でわのもち	16.5 ± 4.9	12.2 ± 1.9	n.s. (73)	0.40 ± 0.10	0.32 ± 0.07 n.s.	(80)
きぬのはだ	11.4 ± 0.6	10.1 ± 3.6	n.s. (88)	0.30 ± 0.03	0.19 ± 0.04 *	(63)
ヒメノモチ	13.1 ± 2.2	12.5 ± 0.2	n.s. (95)	0.32 ± 0.05	0.29 ± 0.04 n.s.	(90)
たつこもち	10.7 ± 0.7	9.6 ± 0.8	n.s. (89)	0.30 ± 0.02	0.21 ± 0.02 **	(70)
風の子もち	13.3 ± 2.9	12.6 ± 3.4	n.s. (94)	0.20 ± 0.03	0.15 ± 0.01 *	(75)
わたぼうし	15.6 ± 2.7	13.8 ± 1.3	n.s. (88)	0.34 ± 0.04	0.29 ± 0.03 n.s.	(85)
オトメモチ	12.9 ± 0.6	11.0 ± 3.8	n.s. (85)	0.30 ± 0.03	0.23 ± 0.05 n.s.	(77)
コシヒカリ	17.2 ± 4.0	13.5 ± 3.9	n.s. (78)	1.84 ± 0.05	1.27 ± 0.05 *	(69)
あきたこまち	15.3 ± 0.8	12.6 ± 1.7	n.s. (82)	1.44 ± 0.10	1.40 ± 0.10 n.s.	(97)
トドロキワセ	18.8 ± 1.4	17.8 ± 0.3	n.s. (94)	1.55 ± 0.10	1.50 ± 0.11 *	(97)

**、*は常温区と高温区において1%および5%で有意差があることを示す。

(%) は常温区を100とした時の高温区の割合を示す。

第 4-3 表に、各区における稈実率と胚乳の被害粒率およびその代表的な被害粒の形質を示した。常温区、高温区ともに稈実粒数はほとんど変わらなかった。稈実粒数に対する被害粒の割合は、常温区では最も高い関東糯 172 号で 13 % で、それ以外の品種は 8 % 以下と低かった。これに対し高温区では大きく品種間差が認められた。被害粒率が最も大きい品種は、関東糯 172 号で調査した粒の 100 % が被害粒であった。次いで、わたぼうし、きぬのはだが同じ割合であり、ヒメノモチ、こがねもち、オトメモチ、風の子もちの順であり、最も被害粒の割合が低い品種はでわのもちで 13 % でほとんど影響がなかった。また、被害粒の形質は品種による違いが認められた。発生した被害粒の形質を大別すると、乳白、背白、基白、腹白であった。このうち、乳白が多く発生した品種は関東糯 172 号のみで、背白が多く発生した品種はこがねもち、でわのもち、たつこもちであり、腹白が多く発生した品種はわたぼうしであった。また、腹白と基白が同時に発生した品種は、ヒメノモチ、風の子もち、オトメモチであった。第 4-4 表に胚乳種子の重量を表に示した。常温区に対して高温区ではヒメノモチを除いて小さくなった。このうち、最も常温区に対して高温区において粒重の割合が最も小さくなった品種はきぬのはだで、次いで

関東糯 172 号、風の子もち、たつこもち、こがねもち、オトメモチ、でわのもちの順であった。

第 4-3 表 常温区、高温区における稈実粒数と被害粒数。

品種名	主稈穂着生粒の稈実粒数と被害粒数					
	常温区			高温区		
	稈実粒数	被害粒数	被害粒率 (%)	稈実粒数	被害粒数	被害粒率 (%) 主な被害粒
関東糯 172 号	70	9	13	73	73	100 乳白
こがねもち	84	0	0	83	52	62 背白
でわのもち	107	3	3	104	13	13 背白
きぬのはだ	80	0	0	74	55	74 背白
ヒメノモチ	81	0	0	70	47	67 腹白・基白
たつこもち	71	6	8	86	20	36 背白
風の子もち	75	2	3	68	36	53 腹白・基白
わたぼうし	75	1	1	70	52	74 腹白
オトメモチ	82	2	2	90	53	59 腹白・基白
コシヒカリ	82	0	0	90	53	59 背白
あきたこまち	94	1	1	89	77	86 背白
トドロキワセ	79	9	11	59	57	97 基白

%は主稈穂着生粒における全稈実粒数に対する被害粒の割合を示す。

第 4-4 表 常温区と高温区における種子の重量。

品種名	重量 (g/粒)		(A) に対する (B) の割合
	常温区 (A)	高温区 (B)	
関東糯 172 号	27.5 ± 2.2	22.6 ± 2.4 **	(82)
こがねもち	21.9 ± 2.6	20.2 ± 2.6 **	(92)
でわのもち	17.8 ± 1.7	17.3 ± 1.5 n.s.	(97)
きぬのはだ	20.9 ± 1.8	16.6 ± 1.6 **	(79)
ヒメノモチ	21.2 ± 1.6	21.7 ± 1.9 n.s.	(102)
たつこもち	23.3 ± 1.4	21.1 ± 2.3 **	(91)
風の子もち	21.0 ± 1.8	17.8 ± 1.2 **	(85)
オトメモチ	20.3 ± 1.7	19.4 ± 3.5 *	(96)
コシヒカリ	19.5 ± 1.3	18.4 ± 1.9 **	(94)
あきたこまち	20.7 ± 2.2	19.3 ± 2.2 **	(93)
トドロキワセ	21.5 ± 1.6	20.7 ± 1.5 **	(96)

**、*は常温区と高温区において1%および5%で有意差があることを示す。

4-2. 温度条件の異なる環境で登熟させた糯品種の澱粉解析

イネのアミロペクチンの鎖長分布と糊化温度、澱粉特性には密接な関係があることが澱粉生成関連酵素の変異体や広くイネ遺伝資源を調べた基礎研究から、次第に明らかになってきている (Fujita ら 2003、2007、Hizukuri 1986、Nakamura ら 2005、Tanaka ら 2004)。また、イネ以外においてもサツマイモとオオムギを材料にして、サツマイモの DP 6~10 とオオムギの DP 7~11 の鎖長は糊化温度と負の相関があり、さらに短い鎖はアミロペクチンの二重らせん構造の安定性を減少させ、短鎖が糊化温度を下げる原因であると推測されている。五十嵐ら (2007) は、水稻品種におけるアミロペクチン鎖長のうち (A+B1) 鎖 / (B2+B3) 鎖が大きいほど粘度上昇温度が低いことを報告している。Okamoto ら (2002) は、糯品種においては、活性型の SS II a を保有する陸稲糯品種の関東糯 172 号および水稻糯品種で餅硬化性が高いとされるこがねもちでは、餅硬化性が低い品種と比較すると特に短鎖の

割合が少ない特徴があるとし、アミロペクチンの鎖長分布が異なることを報告している。また Suzuki ら (2006) は、ジャポニカタイプの糯米におけるアミロペクチンの高重合度画分である DP 37 \geq の割合と粘度上昇温度、最低粘度、最終粘度、セットバックの間に正の相関があることを報告している。

一方、餅の硬化性は登熟気温の影響により変動し硬くなることが報告されている(松江 2002)。餅硬化性が年次により変動することは、実需者にとっては均一な品質を安定供給できない不安定要素となる。また、本県においても 2010 年は過去最高の高温登熟年であり糯米の品質低下が問題となった。このように糯米品種における登熟気温の影響と品質の安定化は重要な課題(近藤他 2005)である。粳品種においては九州、北陸地方では近年の出穂後の登熟期間の高温により、乳白、背白、基白、腹白等(小牧 2000)が発生することによる品質低下が問題となっている。このような状況から、栽培研究ではその回避技術(日本作物学会北陸支部編 2007、森田ら 2002、森田 2004、松村 2005、寺島ら 2001、友正ら 2009)、育種研究においては、高温耐性における検定法の開発とその品種開発(石崎 2006)が急がれている。また背白米、腹白米等における米粒形質の発生メカニズム(千葉ら 2009、三ツ井ら 2005、2006、田畑 2005、田畑ら 2006、若松ら 2007、2009、Yamakawa ら 2007、2010)や QTL 解析(小林ら 2008、蛭谷 2008)に関する知見が蓄積しつつあり、粳米品種では高温登熟下における品質低下に関与する遺伝子解析や栽培の技術対応が進んでいる。

Umamoto ら (1999) は、粳米品種を用いた澱粉構造と登熟温度を明らかにするために、人工気象下で登熟期における温度条件を高温区、常温区、低温区を設定した実験を行い、アミロペクチンの鎖長分布のパターンから、高温区ではアミロペクチンの鎖長の短鎖割合が減少することをみだし、その要因は澱粉合成関連酵素 BE II b 活性の低下と推論している。また Nakamura ら (2010) は詳細な温度反応系実験を行い、BE II b の作用機作について考察し短鎖の減少は DP 6~DP 7 の短鎖の結合に関与すると推論している。さらに、Ohdan ら (2011) は *in vitro* における実験系から BE II b 活性は温度による活性域があり、35 °C 以上の高温下では活性が大幅に低下することを報告している。このように、イネの高温登熟下における澱粉構造とその酵素活性については、基礎研究に負う点が多いが、水稻糯品種においては登熟期の温度条件と澱粉構造に関する知見は極めて少ない。しかし、糯品種における澱粉構造や糊化特性および硬化性に関する温度反応性が将来的に解明されることにより、気象変動下においても品質の安定した糯米の生産が可能になると考えられる。そこで、本節では温度条件の異なる環境で登熟させた主要糯品種の澱粉解析、すなわちアミロペクチン鎖長分

布と硬化性の指標である糊化特性およびこれらの相互関係を明らかにした。

1. 供試材料

松葉 (1991) の穂上位置の分類に従い、サンプリングした主稈の胚乳種子を枝梗および穂上位置毎にマルチプルウェルに入れ分析材料を選択した。弱勢穎花が少ないとされる、1~5 の枝梗のうち、同一開花日の胚乳で平均的な粒重の種子を以下の実験に供試した。実験は 1 品種につき異なる 3 粒を用いた。

2. 試験方法

1) 胚乳サンプルの調製と鎖長分布解析

イネ完熟種子 1 粒の籾と胚を取り除き胚乳だけとし、葉包紙に包んで、ペンチでつぶし、1.5 ml エッペンドルフチューブに移してプラスチックペッスルでさらに細かくすり潰した。その全量をふたつきガラス管に入れ、100 %メタノール 5 ml を加えて、時々攪拌しながら、10 分間煮沸した。放冷後、3、000 rpm、20 °C 5 分で遠心分離を行い、上清を除去した。沈殿に 90 %メタノール 5 ml を加えて、攪拌し、もう一度遠心分離を行い、上清を除去した、この操作を再度繰り返した。上清除去後、沈殿を 2 分間煮沸し、メタノールを蒸発させた。蓋つき試験管に、蒸留水 285 μ l を加えて、軽く攪拌し、次に 5 N 水酸化ナトリウム 15 μ l を加え、よく攪拌し、5 分間煮沸した。放冷後、100 %酢酸 9.6 μ l、600 mM Na-acetate buffer (pH 4.4) 100 μ l、2 % NaN₃ 15 μ l、蒸留水 1089.6 μ l を加え、攪拌し、イソアミラーゼ (林原社製、Pseudomonas amyloclavata 由来) を 2 μ l 加えて、攪拌しながら 37 °C、7 時間以上インキュベートし、さらにイソアミラーゼ 2 μ l を追加し、攪拌しながら、37 °C、約 8 時間以上インキュベートした。その後、20 分間煮沸し、イソアミラーゼを失活させ、放冷後、1.5 ml チューブに移し変え、15、000 rpm、20 °C、2 分間遠心分離した。上清を別チューブに取り、その内の 1 ml を脱イオンカラム (Bio-rad 社製、AG 500-X8 (D)) に通し、脱イオンを行なった。このサンプルを Modified Park Johnson 法により、還元末端を定量し、各サンプル 10 nmol 相当の乾物ポリグルカンに APTS 溶液 2 μ l を加え、よく攪拌し、55 °C、90 分間反応させた。反応後、蒸留水 46 μ l を加え、これをキャピラリー電気泳動 (BECKMAN COULTER 社製、P / ACE MDQ carbohydrate system) を用い、同機種のアプリケーションによりアミロペクチン鎖長分布のデータ解析(梅本 2009)を行なった。鎖長分布は 3 種子から 1 回測定した。

2) アミロペクチン鎖長分布の解析方法

1) で求めた品種個々の鎖長分布のデータを用いて常温区、高温区および高温条件下におけるその差分を算出し比較した。

3) DSC を用いた熱糊化特性の解析

1.5 ml エッペンドルフチューブに、サンプリングした玄米粒 5 粒をバルクにして用いた。玄米から胚を除去した胚乳を乳鉢ですりつぶした米粉を 105 °C の通風乾燥機で 2 時間乾燥させた。調製したサンプル 3 mg に蒸留水 9 μ l を加えて混合し、昇温速度 3 °C / min で 5 °C から 100 °C までの温度変化させたときの示差走査熱量装置（セイコーインスツルメンス社製、DSC6100）を用いて測定した。その後、同機種のアプリケーションソフトを用いて常温区、高温区における糊化開始温度、糊化ピーク温度、糊化終了温度を算出した。また、これまで糊化開始温度との関係が示されている A 鎖である $\Sigma DP6 \leq 12$ 、B1 鎖である $DP13 \leq 24$ 、A 鎖 / B1 鎖（Nakamura ら 2005）、および単位鎖のモル比である B2+B3 鎖である $\Sigma DP37 \leq 60$ および (A / B1) 鎖 / (B2+B3) 鎖（Igarashi ら 2008）と糊化特性との関係について、2) で得られた鎖長分布を用いて算出した。

3. 結果

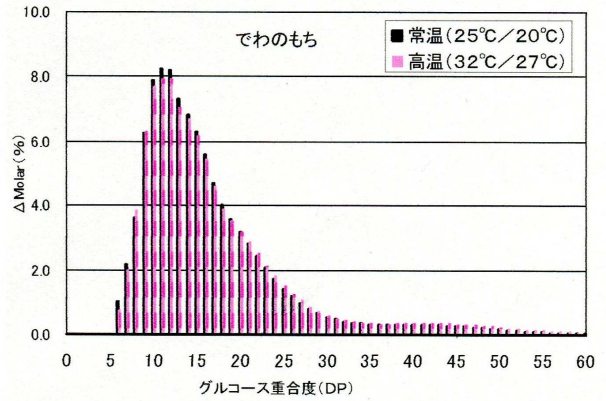
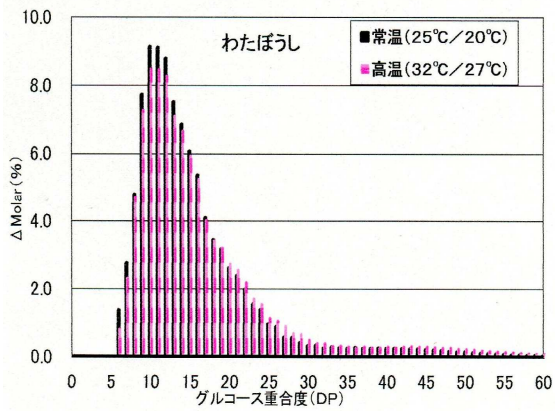
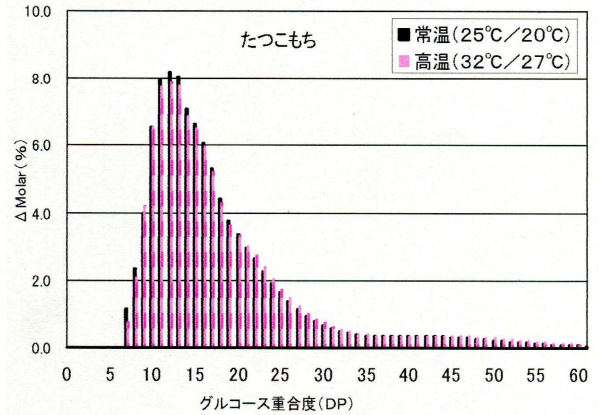
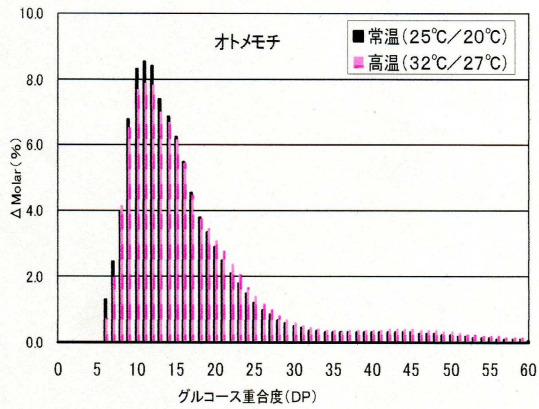
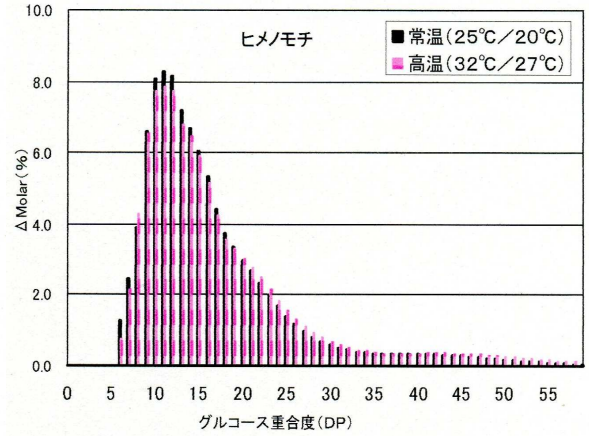
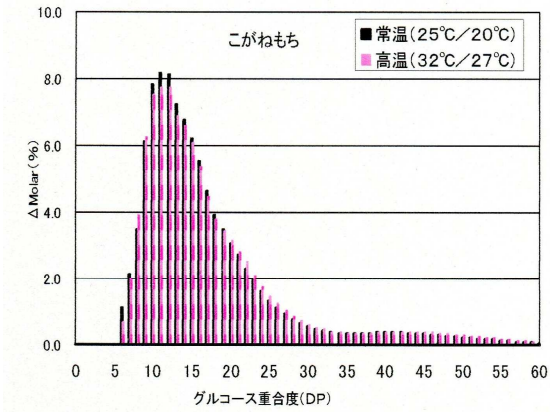
1) アミロペクチン鎖長分布の品種間差

第 4-2 図に各品種の常温区と高温区における鎖長分布パターンを示した。水稻糯品種の中で硬化性が高いとされる、こがねもちと他の品種との鎖長分布パターンを比較するため、供試品種の鎖長分布からこがねもちの鎖長分布を差し引き、その差分パターンを求めた（第 4-3a 図）。また、第 4-3b 図に既知の代表的な澱粉生合成関連酵素活性低下変異体と野生型の鎖長分布及びその差分パターンを示した（Nakamura ら 2002）。その結果、各差分のパターンと、前述の澱粉生合成関連酵素活性低下変異体と野生型の差分パターンとを比較するといくつか共通するパターンがみいだされた。関東糯 172 号は、こがねもちと比べて $DP \leq 10$ の短鎖が極めて少なく、 $11 \leq DP \leq 32$ が増加したパターンを示した。このパターンは野生型から SS II a の活性低下変異体を引いた差分パターン（Nakamura 2002）と逆のパターンと類似し（第 4-3a 図）、本試験では A 型とした。オトメモチ、わたぼうしは、こがねもちと比べて

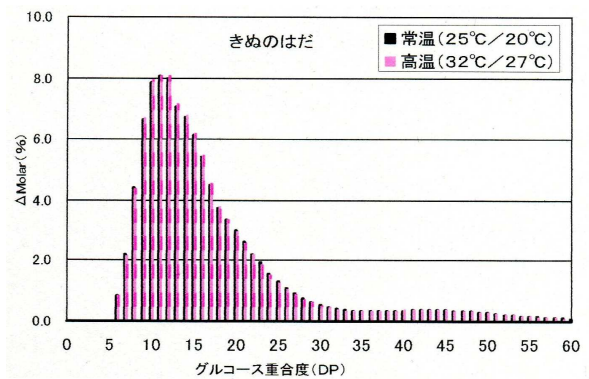
$DP \leq 14$ の短鎖が多く、 $15 \leq DP \leq 50$ が増加していた。このパターンは BE II b の活性低下変異体から野生型を引いた差分パターン（Nakamura ら 2002、Nishi ら 2001）と逆パターンと類似したパターンを示し（第 4-3a 図）、本試験では B 型とした。また、風の子もち、ヒメノモチ、たつこもちは、こがねもちと比べて $DP \leq 10$ の短鎖、 $21 \leq DP \leq 35$ の中鎖が多く、 $11 \leq DP \leq 20$ および $DP36 \geq$ の中長鎖が減少していた。このパターンは BE I 活性低下変異体のパターン（Satoh ら 2003）と類似したパターンを示し（第 4-3a 図）、本試験では C 型とした。一方、でわのモチはこがねもちと比べて $8 \leq DP \leq 29$ がわずかに多く、 $DP33 \geq$ がわずかに少なく、こがねもちと類似したパターンを示し（第 4-3a 図）、本試験ではこれを D 型とした。一方、きぬのはだはこがねもちと比べて、 $6 \leq DP \leq 9$ の短鎖、 $DP43 \geq$ の長鎖が多く、 $11 \leq DP \leq 27$ 、 $33 \leq DP \leq 40$ がわずかに少ないパターンを示し、上記のいずれのパターンとも異なることから、本試験ではこれを E 型とした。

第 4-5 表に常温区における鎖長分布データからアミロペクチンの A 鎖、B1 鎖、B2+B3 鎖に分けたそれぞれの割合を示した。活性型 SS II a を有し餅硬化性が超硬である関東糯 172 号は、水稻糯品種と比べて A 鎖 / B1 鎖の短鎖が極めて少なかったが、(A+B1) 鎖、(A+B1) 鎖 / (B2+B3) 鎖はやや少ない程度で水稻糯品種と大きな差はなかった。水稻糯品種のうちでは、餅硬化性が極硬とされるこがねもちは、A 鎖 / B1 鎖が最も少なく、(A+B1) 鎖や (A+B1) 鎖 / (B2+B3) 鎖も少ない傾向があった。しかし、こがねもちと同様に餅硬化性が極硬とされるオトメモチは A 鎖 / B1 鎖、(A+B1) 鎖、また (A+B1) 鎖 / (B2+B3) 鎖も多く、こがねもちと異なる傾向を示した。餅硬化性が硬とされるでわのモチは、A 鎖 / B1 鎖がこがねもちと並んで最も少なかったが、(A+B1) 鎖 / (B2+B3) 鎖はこがねもちより明らかに多かった。また、でわのモチと餅硬化性が同じく硬とされるわたぼうしは A 鎖 / B1 鎖および (A+B1) 鎖 / (B2+B3) 鎖が水稻糯品種のうちで最も多くこがねもちやでわのモチとは全く異なる傾向を示した。また、本県の奨励品種で餅硬化性がやや軟とされるきぬのはだおよびやや硬とされるたつこもちは、A 鎖 / B1 鎖および (A+B1) 鎖は両品種ともにこがねもちより多く、(A+B1) 鎖 / (B2+B3) 鎖は関東糯 172 号やこがねもちとほぼ同程度であった。一方、北海道の品種で餅硬化性が軟とされる風の子モチは、A 鎖 / B1 鎖、(A+B1) 鎖および (A+B1) 鎖 / (B2+B3) 鎖は供試品種のうち中間程度であった。以上のように、常温区では、それぞれの品種の鎖長パターンはこがねもちとの差分のパターンから A~E 型までの 5 つのグループに分類できた。しかし、A 鎖、B1 鎖、B2+B3 鎖の割合の特徴が品種により異なり、石崎ら（1994）の硬化性ランクの分類と鎖長との関係に

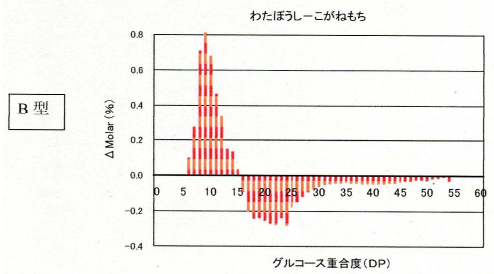
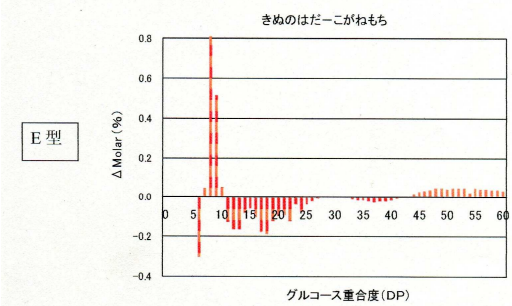
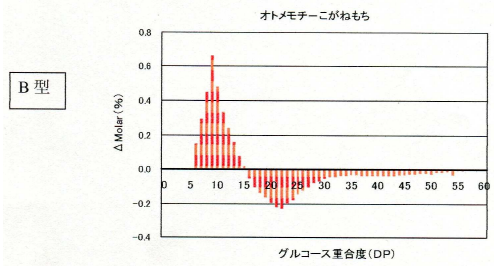
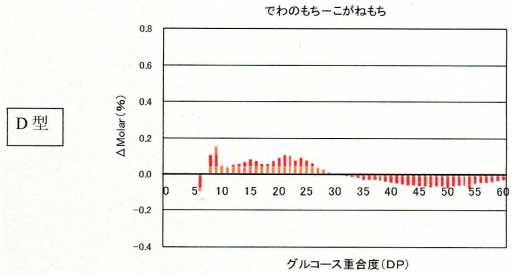
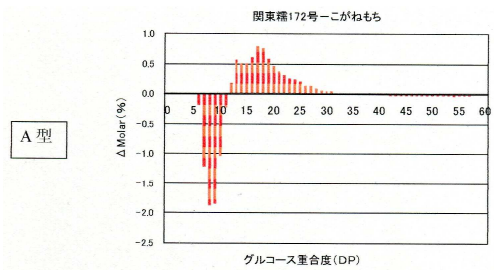
おいては、関東糯 172 号のように飛び抜けて A 鎖 / B1 鎖が少ないことが超硬化性になることは明確であるが、他品種間においては、明確な関係は得られなかった。



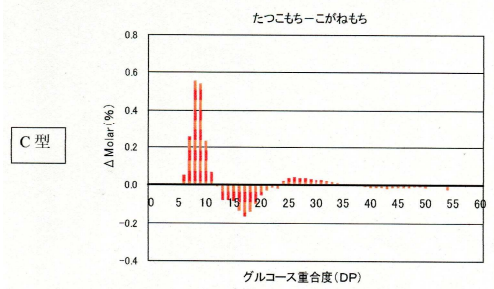
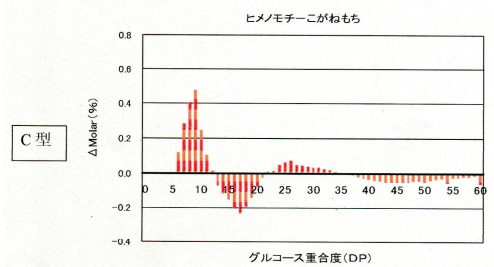
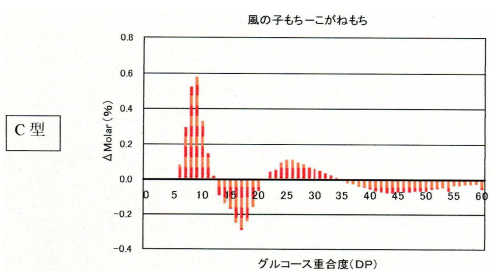
64

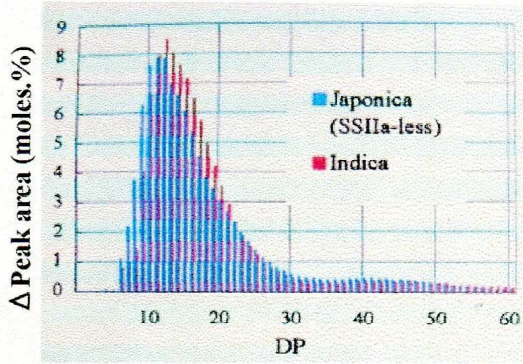


第4-2図 糯品種における常温区と高温区の鎖長分布。

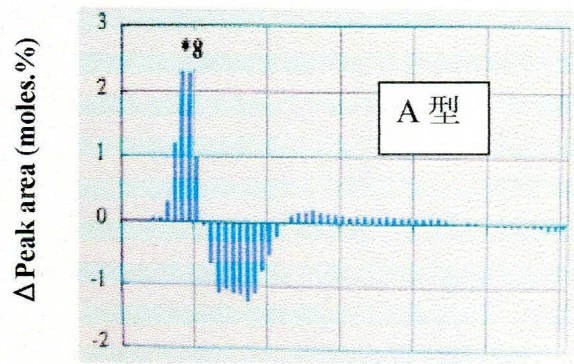


第4-3a図 こがねもちとの各品種との鎖長分布の差分.

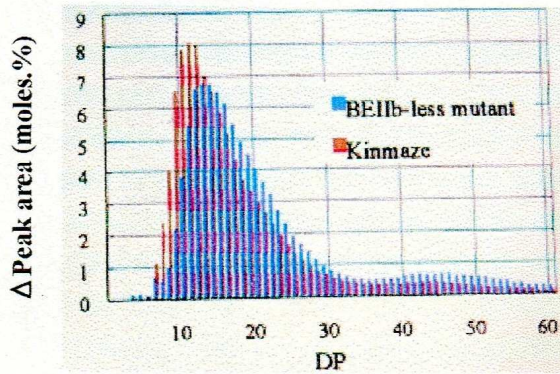




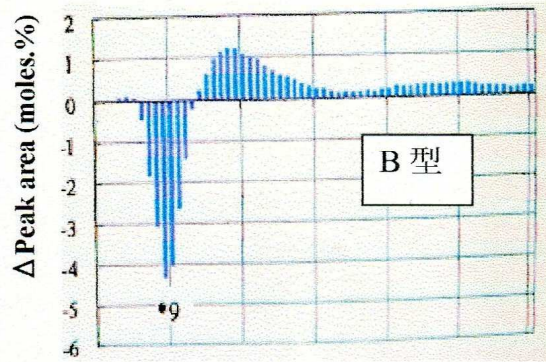
SS II a less mutant と Indica の鎖長分布



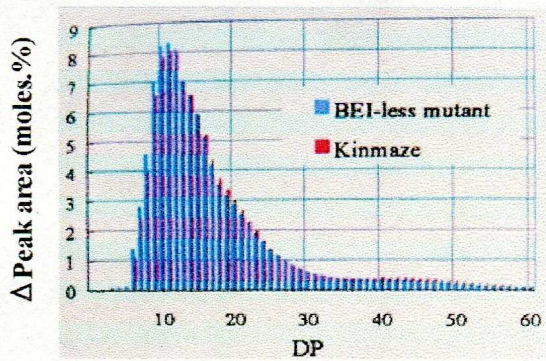
Indica - SS II a less mutant の差分パターン



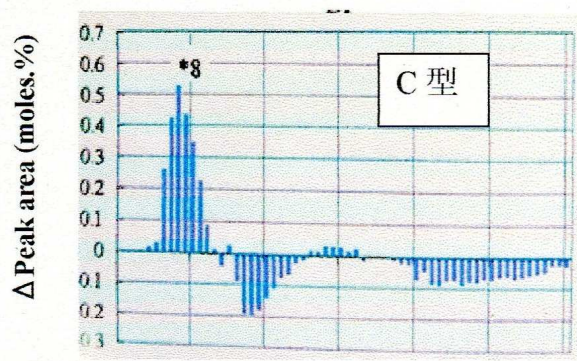
BE II b less mutant と Kinmaze の鎖長分布



BE II b less mutant - Kinmaze の差分パターン



BE I less mutant と Kinmaze の鎖長分布



BE I less mutant - Kinmaze の差分パターン

第 4-3b 図 代表的澱粉生合成酵素活性低下変異体の鎖長分布と野生型との差分パターン(Nakamura 2002).

第 4-5 表 常温区における鎖長分布における割合

品種	鎖長分布における割合			
	A鎖/B1鎖	(A+B1)鎖	(B2+B3)鎖	(A+B1)鎖/ (B2+B3)鎖
関東糯172号	0.55	86.3	13.7	6.3
こがねもち	0.75	86.5	13.5	6.4
でわのもち	0.75	87.8	12.2	7.2
きぬのはだ	0.79	86.1	13.9	6.2
ヒメノモチ	0.80	87.0	12.9	6.7
たつこもち	0.80	87.3	13.6	6.4
風の子もち	0.81	87.3	12.7	6.9
オトメモチ	0.82	87.9	12.1	7.3
わたぼうし	0.85	88.1	11.9	7.4

A鎖： $\Sigma DP6 \leq 12$, B1鎖： $\Sigma DP13 \leq 24$, (B2+B3)鎖： $\Sigma DP37 \leq 60$

試験は 3 回反復の平均値を示した。きぬのはだは反復なし。

第 4-6 表 常温区における糊化特性

品種	To (°C)	Tp (°C)	Tc (°C)
関東糯172号	67	76	80
こがねもち	61	68	74
でわのもち	62	69	74
きぬのはだ	57	66	73
ヒメノモチ	56	64	72
たつこもち	54	65	72
風の子もち	55	64	72
オトメモチ	58	65	72
わたぼうし	-	-	-

To: 糊化開始温度, Tp: 糊化ピーク温度

Tc: 糊化終了温度。

数値は 3 回測定 of 平均値を示す。- はデータなし。

2) DSC による熱糊化特性の品種間差

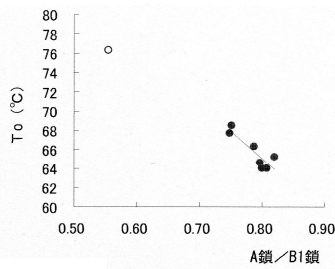
第 4-6 表に常温区における糊化特性を示した。供試した品種の糊化開始温度は 55 °C~67 °C、糊化ピーク温度は 64 °C~76 °C、糊化終了温度は 72 °C~80 °C の温度範囲にあった。餅硬化性と相関が高いとされる糊化ピーク温度は、超硬とされる関東糯 172 号が 76 °C と最も高く、水稻糯品種との糊化ピーク温度の差は 7 °C~12 °C と大きな差異が認められた。一方、水稻糯品種間の糊化ピーク温度の差は 5 °C の範囲内であった。糊化ピーク温度が最も高い品種は、餅硬化性が硬とされるでわのもちで 69 °C と高く、次いで餅硬化性が極硬とされるこがねもちで 68 °C と同程度であった。また、餅硬化性が軟とされる風の子もちは 64 °C であり、餅硬化性が中とされるヒメノモチと同じ糊化ピーク温度で供試品種のうちで最も低かった。その他の品種は餅硬化性のランクに関わりなく、こがねもちの糊化ピーク温度より 3 °C~4 °C 程低かった。第 4-7 表に、第 4-5 表で示した常温区におけるアミロペクチンの鎖長の割合と糊化開始温度、糊化ピーク温度、糊化最終温度との関係を示した。A 鎖および A 鎖 / B1 鎖と糊化温度は負の相関が認められた。特に、これらの鎖長の割合と糊化ピーク温度との間には極めて高い負の関係が認められた。一方、(A+B1) 鎖 / (B2+B3) 鎖と糊化特性との間には関係はみいだせなかった (第 4-4 図、- 5 図)。

第 4-7 表 常温区における鎖長割合と糊化特性との関係

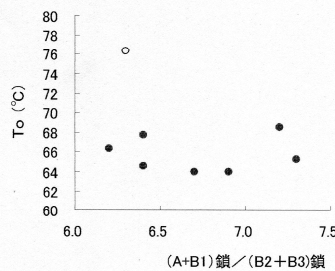
	A鎖	B1鎖	A鎖/B1鎖	(A+B1)鎖/ (B2+B3)鎖
To	-0.85**	0.89**	-0.88**	-0.11
Tp	-0.96**	0.97**	-0.97**	-0.31
Tc	-0.97**	0.97**	-0.98**	-0.32

A鎖： $\Sigma DP6 \leq 12$, B1鎖： $\Sigma DP13 \leq 24$, (B2+B3)鎖： $\Sigma DP37 \leq 60$ 。

To: 糊化開始温度, Tp: 糊化ピーク温度, Tc: 糊化終了温度。



第4-4図 常温区におけるA鎖/B1鎖と糊化ピーク温度。
●；水稲糯品種 ○；関東糯172号



第4-5図 常温区における(A+B1)鎖/(B2+B3)鎖と糊化ピーク温度。
●；水稲糯品種 ○；関東糯172号

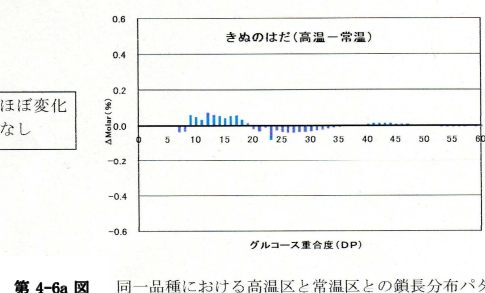
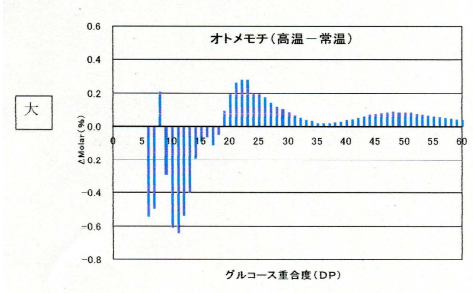
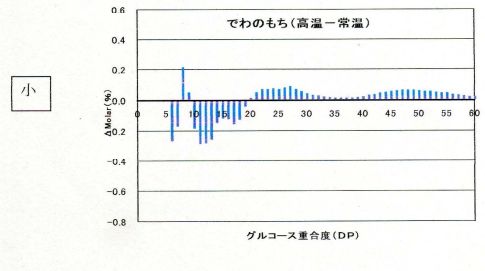
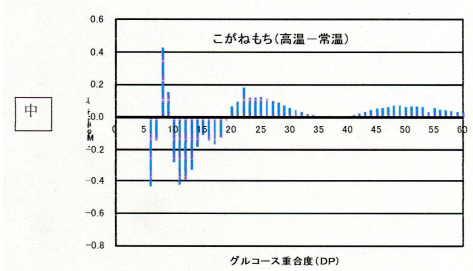
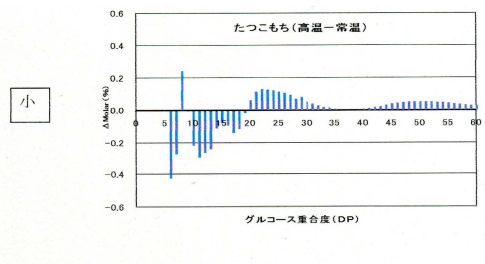
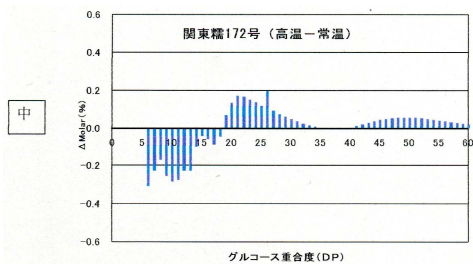
3) アミロペクチン鎖長分布の温度環境による影響

第4-6a図に、同一品種の鎖長分布を用いて高温区から常温区の鎖長分布割合を差し引いた差分のパターンを示した。きぬのはだ以外全ての品種が類似の差分パターンを示した。すなわち $6 \leq DP \leq 19$ 近傍までの短鎖が減少し、 $20 \leq DP \leq 37$ 近傍までは増加し、さらに $DP30 \geq$ が微増する傾向を示した。また、これらのパターンの増減の大きさは品種による違いがみられ、オトメモチでは増減の幅が最も大きく、関東糯172号、こがねもち、わたぼうし、風の子もち、ヒメノモチでは中程度であり、たつこもち、でわのもちでは小さく、きぬのはだではほとんど差分に変化は認められなかった。このように、品種の差分の割合には大小があるもののきぬのはだ以外の全ての品種で同じようなパターンを示したことから、これらの要因は高温の影響によると考えられ澱粉生合成に関する単一の要因か、数少ない要因が関与すると推測された。さらにこれらの差分パターンは鎖長の切り返し点および差分のパターンから、第4-6b図に示した澱粉生合成関連澱粉枝作り酵素BE II bの活性低下変異体から野生型の差分パターンに類似していた。

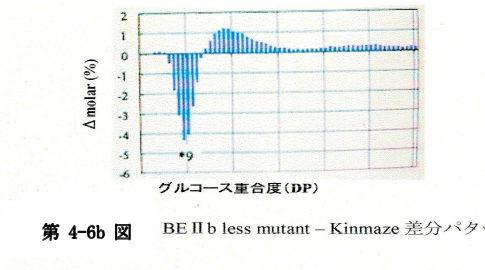
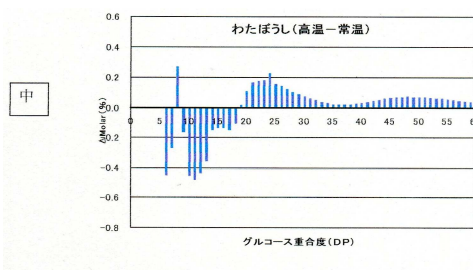
第4-8表に高温区における鎖長分布データからアミロペクチンのA鎖、B1鎖、(B2+B3)鎖に分けたそれぞれの割合を示した。前述の第4-5表の常温区における割合と比較すると、高温区では、きぬのはだを除く

全ての品種でA鎖/B1鎖が常温区より減少していた。

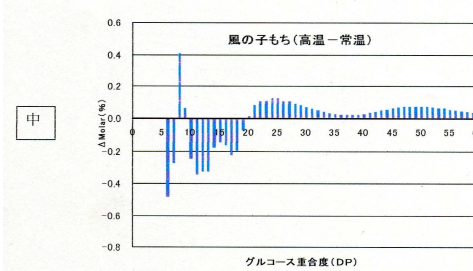
(A+B1)鎖は全ての品種において高温区で常温区より減少していた。(B2+B3)鎖は、きぬのはだを除く全ての品種において高温区が常温区より減少していた。また、(A+B1)鎖/(B2+B3)鎖もきぬのはだを除く全ての品種において減少していた。高温によるアミロペクチン鎖長分布の影響は、きぬのはだを除く全ての品種において同じ傾向を示した。高温区における個々の品種をみると、SS II a 活性型で餅硬化性が超硬である関東糯172号は、水稲糯品種と比べてA鎖/B1鎖の短鎖が極めて少なかったが、(A+B1)鎖、(A+B1)鎖/(B2+B3)鎖はやや少ないものの他の品種と大きな差はなかった。餅硬化性が極硬とされるこがねもち、水稲糯品種のうちでA鎖/B1鎖が最も少なく、(A+B1)鎖および(A+B1)鎖/(B2+B3)鎖が関東糯172号と同程度に少なかった。また、こがねもちと同様に餅硬化性が極硬とされるオトメモチはA鎖/B1鎖や(A+B1)鎖が水稲糯品種のうちでは多く、さらに(A+B1)鎖/(B2+B3)鎖も多くこがねもちと異なる傾向を示した。餅硬化性が硬とされるでわのもちは、A鎖/B1鎖がこがねもちと並んで最も少なかったが、(A+B1)鎖/(B2+B3)鎖はこがねもちより明らかに多かった。同様に餅硬化性が硬とされるわたぼうしはA鎖/B1鎖および(A+B1)鎖/(B2+B3)鎖が水稲糯品種のうちで最も多くこがねもちやでわのもちとは全く異なる傾向を示した。また、餅硬化性がやや軟とされるきぬのはだとやや硬とされるたつこもちでは、A鎖/B1鎖および(A+B1)鎖は両品種ともにこがねもちより多いが、(A+B1)鎖/(B2+B3)鎖ではきぬのはだが供試品種のうち最も多く、たつこもちではこがねもちと同程度であった。一方、餅硬化性が軟とされる風の子もちは、A鎖/B1鎖、(A+B1)鎖および(A+B1)鎖/(B2+B3)鎖が供試品種のうちでは多かった。以上のように、高温区においても常温区と同様に、それぞれの品種においてA鎖、B鎖、B2+B3鎖の割合の特徴が異なっていた。石崎ら(1994)の硬化性ランクの分類と鎖長との関係では、常温区と同様に関東糯172号では、A鎖/B1鎖および(A+B1)鎖/(B2+B3)鎖が少なく、明らかに硬化性との関連性がみいだせた。一方、水稲糯品種においては、硬化性が極硬とされるこがねもち、硬とされるでわのもちではA鎖/B1鎖が常温区と同様に少ない傾向があったが、その他の品種ではA鎖/B1鎖と硬化性との関連性は明らかではなかった。また、(A+B1)鎖/(B2+B3)鎖と硬化性との関連性は常温区と同様に認められなかった。



第4-6a 図 同一品種における高温区と常温区との鎖長分布パターンとの差分。



第4-6b 図 BE II b less mutant - Kinmaze 差分パターン。



第4-8 表 高温区における鎖長分布における割合

品種	鎖長分布における割合			
	A鎖/B1鎖	(A+B1) 鎖	(B2+B3) 鎖	(A+B1) 鎖 / (B2+B3) 鎖
関東糯172号	0.52	84.8	15.2	5.6
こがねもち	0.73	84.9	15.1	5.6
でわのもち	0.73	86.2	13.8	6.2
きぬのはだ	0.79	86.4	13.6	6.3
ヒメノモチ	0.78	84.8	15.1	5.6
たつこもち	0.77	84.8	14.9	5.7
風の子もち	0.80	85.2	14.8	5.8
オトメモチ	0.75	85.4	14.6	5.8
わたぼうし	0.81	86.0	14.0	6.1

A鎖: $\Sigma DP6 \leq 12$, B1鎖: $\Sigma DP13 \leq 24$, (B2+B3) 鎖: $\Sigma DP37 \leq 60$

2) DSC を用いた熱糊化特性の温度環境による影響

第 4-9 表に高温区における糊化特性を示した。供試した品種の糊化開始温度は 55℃～77℃、糊化ピーク温度は 64℃～82℃、糊化終了温度は 72℃～85℃ の温度であった。餅硬化性が超硬とされる関東糯 172 号は、糊化開始温度、糊化ピーク温度、糊化終了温度の全てが供試した品種のうち最も高かった。硬化性と相関が高いとされる糊化ピーク温度は、超硬とされる関東糯 172 号が 82℃ と最も高く、水稻糯品種との糊化ピーク温度の差は 8℃～16℃ と大きかった。また、水稻糯品種間の糊化ピーク温度の差も 10℃ と大きく品種間差異が認められた。水稻糯品種のうちでは、餅硬化性が極硬とされるこがねもちが 74℃ と高く、同じく餅硬化性が極硬とされるオトメモチは 64℃ とこがねもちの間には 10℃ の差があり、供試した品種のうちで最も低かった。また餅硬化性が軟とされる風の子もちは 66℃ とオトメモチの次に低かった。その他品種の糊化ピーク温度は餅硬化性のランクに関わりなく 72℃～73℃ の間であり、こがねもちの糊化ピーク温度より 1℃～2℃ 程低い程度であった。餅硬化性ランクとの関係では、硬化性が極めて高い関東糯 172 号、極硬とされるこがねもちで糊化ピーク温度が高く、軟とされる風の子もちで糊化ピーク温度が低い関係が認められたが、その他の品種では餅硬化性と糊化ピーク温度との間には特に関係はみられなかった。高温区と常温区の糊化温度を比較すると（第 4-6 表）、高温区ではオトメモチを除く全ての品種が糊化開始温度では 0℃～10℃、糊化ピーク温度では 2℃～7℃、糊化終了温度では 0℃～7℃ と常温区より明らかに高くなる傾向が認められた。ただし、オトメモチだけは、他の品種と異なり常温区より糊化開始温度で 2℃、糊化ピーク温度で 1℃ 低く、糊化終了温度は常温区と同じであった。

第 4-10 表に高温区におけるアミロペクチンの鎖長の割合と第 4-9 表で示した糊化開始温度、糊化ピーク温度、糊化最終温度との関係を示した。A 鎖と糊化開始温度、糊化ピーク温度との間には負の相関が認められた。B1 鎖と糊化開始温度、糊化ピーク温度、糊化終了温度の全ての温度との間には正の相関が認められた。また、A 鎖 / B1 鎖と糊化開始温度、糊化ピーク温度との間にも負の相関が認められた。一方、(A+B1) 鎖 / (B2+B3) 鎖と糊化特性との間には、常温区と同様に両者の間には関係はみいだせなかった（第 4-5 図、- 8 図）。常温区における鎖長割合と糊化特性との関係（第 4-7 表）と高温区における鎖長割合と糊化特性の関係（第 4-10 表）を比べると A 鎖、B1 鎖、および A 鎖 / B1 鎖とそれぞれの糊化温度との間には常温区および高温区ともに負の相関が認められたが、高温区の相関は常温区より低かった（第 4-4 図、-7 図）。

第 4-9 表 高温区における糊化特性

品種	To (°C)	Tp (°C)	Tc (°C)
関東糯172号	77	82	85
こがねもち	68	74	80
でわのもち	66	72	79
きぬのはだ	66	73	80
ヒメノモチ	62	72	79
たつこもち	64	72	78
風の子もち	55	66	74
オトメモチ	56	64	72
わたぼうし	-	-	-

To: 糊化開始温度, Tp: 糊化ピーク温度

Tc: 糊化終了温度.

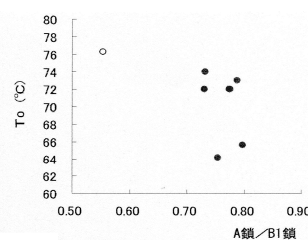
数値は 3 回測定の平均値を示す.

第 4-10 表 高温区における鎖長割合と糊化特性の関係

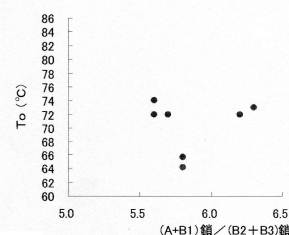
	A鎖	B1鎖	A鎖/B1鎖	(A+B1)鎖/ (B2+B3)鎖
To	-0.78*	0.81*	-0.80*	-0.09
Tp	-0.76*	0.77*	-0.77*	-0.17
Tc	-0.69	0.71*	-0.70	-0.09

A鎖: $\Sigma DP6 \leq 12$, B1鎖: $\Sigma DP13 \leq 24$, (B2+B3)鎖: $\Sigma DP37 \leq 60$

To: 糊化開始温度, Tp: 糊化ピーク温度, Tc: 糊化終了温度.



第 4-7 図 高温区における A 鎖 / B1 鎖と糊化ピーク温度。
●: 水稻糯品種 ○: 関東糯 172 号

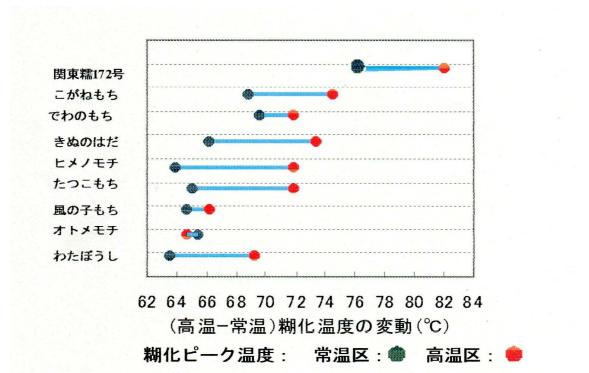


第 4-8 図 高温区における (A+B1) 鎖 / (B2+B3) 鎖と糊化ピーク温度。
●: 水稻糯品種

5) 常温区および高温区における糊化ピーク温度の変動性

第 4-9 図に常温区と高温区における糊化ピーク温度とその変動巾を示した。オトメモチ以外の品種の糊化ピーク温度は、常温区より高温区で明らかに高い傾向を示した。硬化性が超硬とされる関東糯 172 号の糊化

ピーク温度は常温区、高温区ともに水稻糯品種より極めて高く、関東糯 172 号の常温区の糊化ピーク温度は、水稻糯品種の高温区のうちで最も高い糊化ピーク温度を示したこがねもちよりも 2 °C 高かった。同一品種における糊化ピーク温度の変動性を明らかにするために、高温区から常温区の糊化ピーク温度を差し引きその変動巾を算出した。9 品種における変動巾は、-1 °C ~ 8 °C で平均すると 5.7 ± 1.5 °C であった。このうち、最も変動巾が大きい品種はヒメノモチで 8 °C、次いできぬのはだ、たつこもちで 7 °C と大きく、関東糯 172 号、こがねもちで 6 °C の変動巾であった。一方、変動巾が比較的小さい品種は、でわのもちおよび風の子もちでそれぞれ 3 °C、および 2 °C の変動巾であった。また、最も変動巾が小さい品種はオトメモチで -1 °C であった。これら 3 品種は高温の影響が極めて小さいと考えられた。また、オトメモチについては変動巾が極めて小さく他の品種と異なる糊化特性を示したことから今後再確認が必要と考えられた。



第 4-9 図 常温区および高温区における糊化ピーク温度の変動。

4. 考察

水稻糯品種間における鎖長分布を比較するため、こがねもちの鎖長パターンを基準として、各品種の鎖長分布からこがねもちの鎖長分布を差し引いた差分を解析した結果、数種の共通したグループとなる類似するパターンがみいだされた。第 4-4a 図に示したように、関東糯 172 号は A 型に、オトメモチ、わたぼうしは B 型に、風の子もち、ヒメノモチ、たつこもちは C 型に、でわのもち、こがねもちはグループ D 型に分類できた。このことから、B 型に属する品種はこがねもちと比べて BE II b 活性が高い可能性があり、C 型に属する品種はこがねもちと比べて BE I 活性が低い可能性がある。また D 型に属するでわのもちはこがねもちと類似する鎖長分布パターンであることから、澱粉構造が類似すると考えられた。一方、きぬのはだは、以上のいずれにも含まれないと考えられた。これらの常温区におけ

る鎖長分布と高温区における鎖長分布は、A 鎖 / B1 鎖および (A+B1) 鎖の割合は高温区において少なくなり、(B2+B3) 鎖の長鎖が増加することにより (A+B1) 鎖 / (B2+B3) 鎖の割合が少なくなる傾向が認められるものの、高温区における品種のアミロペクチン鎖長分布パターンは常温区と同じ分類に属しこれらは A 型 ~ D 型のパターンと同じパターンを示した。このことは、品種個々のアミロペクチン鎖長は、品種個々の遺伝的要因に支配されると推測された。水稻糯品種の鎖長分布パターンは、硬化性が特に高いこがねもちや、硬化性が特に低い風の子もちについては既に報告されている (Igarashi ら 2008, Sasaki ら 2009)。しかし、本試験のように東北、北陸、北海道で育成された硬化性が異なる栽培品種を用いて、人工気象器を用いた同一条件下で養成した実験材料を解析した例はこれまでなく、これまで圃場栽培による登熟気温との関係のみで解釈されてきた硬化性や澱粉特性は、地域性および登熟気温のみだけでなく品種個々の遺伝的要因が関与することがみいだされた。さらにこれらの差分パターンから今回供試した品種について澱粉生成関連酵素遺伝子の発現に関するいくつかの推測ができた。一方、澱粉構造に関する登熟気温の影響を明らかにするため、同一品種における高温区の鎖長分布から常温区の鎖長分布を差し引いた差分パターンは、差分パターンの巾の大きさには多少異なるが、きぬのはだ以外は全て同じ差分パターンを示した。すなわち差分の増減する切り返し点と差分パターンから推測して、澱粉生成関連枝作り酵素 BE II b の活性低下パターンに類似していた。先に述べた常温区および高温区のそれぞれの差分パターンでは、品種の鎖長分布は遺伝的要因に支配されることを考察したが、同一品種における澱粉構造の高温の影響は、全ての品種で同じ要因、すなわち BE II b 活性低下の原因により生じたものと推測された。BE II b の活性は、温度反応域が 35 °C の高温では低下することが報告されている (Nakamura ら 2010, Ohdan ら 2011)。本試験における高温区は 27 °C / 32 °C と平均気温は 30.5 °C で in vitro における実験系と対応させると BE II b の活性が低下し始める温度帯であった。これらのことから、高温条件下で稲を栽培した場合では植物体においても同様の生理的影響があったことが推測され、その結果、鎖長分布の差分で認められたように、BE II b 活性が低下している可能性があるとして推測された。また、4-1. で行った形質調査の結果では、高温条件下で得られた玄米の粒重が低下していたことや乳白、背白、腹白などが発生していたことも BE II b の活性が低下した時の現象と一致する点がかみいだせる (Sawada ら 2009)。しかし、鎖長分布において BE II b の活性がこがねもちより高いと推測した B 型に属するオトメモチやわたぼうしでは、高温による鎖長の差分は、オトメモチで大きく、わたぼうし

でも中であり、分類した鎖長パターンと温度温度による差分の大きさは一致しなかった。しかし、品種間における糊化ピーク温度の変動巾は、オトメモチが最も変動巾が小さかったことから、より詳細にアミロペクチンの鎖長割合や澱粉を解析し、鎖長の温度反応性や品種の糊化温度の変動性を今後検討する必要があると考えられる。また、高温下におけるアミロペクチンの鎖長の動態とBEⅡbとの関連性については、今後、胚乳澱粉の酵素活性を調べさらに考察する必要があると同時に低温下におけるアミロペクチン鎖長とBEⅡbの活性との関係を調べる必要もあると思われる。

アミロペクチン鎖長分布の割合と糊化特性との関係では、常温区におけるA鎖/B1鎖および(A+B1)鎖の割合と糊化開始温度、糊化ピーク温度、糊化終了温度との間には相関が認められたが、(A+B1)鎖/(B2+B3)鎖との間には関係はみいだせなかった。これは糊化温度がアミロペクチンの1クラスター内の $DP \leq 24$ の鎖長と隣り合った鎖の間の二重らせんの長さに依存し、クラスターあたりの鎖の数にはほとんど依存しないことを示している。しかし、供試品種の中にはでわのもちのようにA鎖/B1鎖の割合が少ないが(A+B1)鎖/(B2+B3)鎖の割合が多く、糊化開始温度や糊化ピーク温度が高い品種もあった。また、同様の傾向が高温区においても認められ、(A+B1)鎖/(B2+B3)鎖の割合が少ない品種は糊化温度が低いとするIgarashiら(2008)の結果とは一致しなかった。その理由として、本実験では人工気象器内の同一条件下で栽培した材料を用いて圃場栽培における出穂期の登熟温度の影響を排除していること、また、供試した水稻糯品種は石崎ら(1994)の硬化性ランクに基づいた9品種を用いているが、鎖長分布や糊化特性の差異が小さく遺伝的には比較的狭い変異であることが考えられる。これに対し、Igarashiら(2008)は北海道産の餅米が軟らかく、その要因を解明するため、産地が異なる宮城県産のこがねもち等、本州産の硬化性が高い代表的な品種のみを解析材料としている点が本試験とは異なっていることがあげられる。これら品種の栽培上の登熟温度については明記されていないものの、北海道産はくちょうもち、風の子もちは、宮城県産こがねもちより低温で登熟したと推定され、はくちょうもちや風の子もちでは本州産の硬化性が高い品種と比較して、1クラスターあたりの鎖の数が多いことが糊化温度を低くする要因であるとしている。以上のことから、環境要因を排除し同一条件下で登熟させた場合には、1クラスターあたりの鎖の数は、必ずしも餅硬化性の指標とされる糊化特性との関連性は弱いと考えられた。

高温区における、A鎖/B1鎖は、糊化開始温度及び糊化ピーク温度との間には弱い負の相関が認められた。これらの相関は常温区の関係より弱いものの、高温条件下においても短鎖の割合が減少すると糊化温度

が高くなることを示し、A鎖/B1鎖は常温区と同様に既知の報告通り、糊化特性に影響を与えていると考えられる。一方、(A+B1)鎖/(B2+B3)鎖と糊化温度との間には、常温区と同様に関係はみいだせなかった。このことは、北海道産の風の子もちの糊化温度が低く餅が軟らかいことは、品種間で比較すると(A+B1)鎖/(B2+B3)鎖が多いことも起因するが、大きな要因は登熟温度による影響が大きいことを示す。また、常温区、高温区糊化ピーク温度と硬化性ランクは常温区より高温区で一致する品種が多かったが、3品種は一致しなかった。この理由として、糊化ピーク温度が登熟期の気温により左右されていることや石崎らの硬化性ランクづけは新潟県で圃場栽培した材料を用いた結果であり本試験では、餅硬化性を測定せず、指標である糊化特性を用いたこと等も要因として考えられた。一方、餅米で問題とされる硬化性の安定性を明らかにするために品種における糊化ピーク温度の変動性を調べた結果、本試験の条件では、でわのもち、風の子もち、オトメモチで変動巾が小さく、その他の品種は $6^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$ の範囲でほぼ一定に上昇することが明らかになった。変動巾が小さい3品種については登熟気温の影響が遺伝的に小さいことや、タンパク質、吸水性等の違いが推測された。でわのもちは常温区、高温区ともに糊化ピーク温度が高く登熟気温による変動が小さいことから、硬化性が高いことが求められかつ品質が安定した切り餅用の育種母本に活用できると考えられる。また、風の子もちは、糊化ピーク温度が低くかつ登熟気温による変動が小さいことから、品質が安定した軟らかい餅菓子等の利用に適する母本に活用できると考えられた。

5. 総括

本県の糯米奨励品種である、たつこもちときぬのはだは、県内の作付面積の9割以上を占めており、主に切り餅として利用されている。この2品種は、多収で栽培しやすいが、餅加工特性として重要視される硬化性が劣っているため硬化性の高い品種が要望されている。そこで、硬化性が高く実需者の評価が高い品種であるこがねもち以上の品種を育成するために、初期世代において利用可能な新たな餅硬化性の選抜方法を現在の育種に組み込む育種法の開発を最終目標として本研究に着手した。本研究では、①実際の育種選抜の現場では多数の品種や育成系統、個体を評価する必要があるため簡易かつ少量の試料によって硬化性を推定するための新たな方法をみいだすこと、②現地栽培されている糯米を試料として複数年の評価を行いその実用性検証を行うこと、③登熟温度が澱粉構造や理化学特

性に及ぼす影響について調べることを目的とした。

1. 白米粒を用いた尿素澱粉溶解法による餅硬化性の少量評価法

糯米の尿素に対する溶解速度および糯澱粉の結晶領域量と餅硬化性との関係を調べ、餅硬化性推定のための新たな方法の開発を目的とした。25℃における尿素に対する溶解速度と餅硬化性との間には高い正の相関 ($r = -0.97$, $P < 0.01$) があり、澱粉の相対結晶化度と餅硬化性との間にも正の相関 ($r = 0.92$, $P < 0.01$) がみいだされた。さらに、溶解速度と石崎ら (1994) の餅硬化性ランクとの間にも Spearman の順位相関検定による高い正の相関 ($r = 0.88$, $P < 0.05$) が認められた。以上の結果から、餅硬化性と澱粉の尿素溶解性との間には定量的な関係があると結論した。溶解速度をパラメーターとした餅硬化性の推定法は少量の試料によって比較的簡易な測定が行えるため餅硬化性を推定する手法の一つとして有効であることが明らかになった。さらに、相対結晶化度の大きい品種では尿素溶解法による溶解速度が小さく、溶出澱粉量が少ないことが推測され、糯品種の餅硬化性の違いは、澱粉の結晶性の違いにも影響されることが示唆された。

2. 尿素澱粉溶解法を用いた餅硬化性の少量評価法における検証

餅硬化性と適合度が高い尿素澱粉溶解法 (以下吸光度法) の条件を用いて、硬化性が異なる品種を複数年栽培し、餅硬化性の推定実用性の検証、および従来法である RVA との適合性の検討を行った。さらに、交配材料を用いて、初期世代における選抜の有効性を調べた。3年間に供試した8品種、18サンプルの吸光度と餅硬化性との間には、高い有意な負の相関が認められた ($r = -0.85$, $P < 0.01$)。RVAによる糊化ピーク温度と餅硬化性との間には既知の報告通り、高い正の相関が確認され ($r = 0.85$, $P < 0.01$)、吸光度法はRVAと同等の精度で餅硬化性を評価できると判断された。2007年に交配した材料を用いて、2009年のF3世代について吸光度法を用いて20個体を評価した。これらを20系統としたF4世代の吸光度と、F3世代の吸光度との間には有意な関係がみいだされ、世代間相関が認められた ($r = 0.70$, $P < 0.01$)。また、F4世代における吸光度の広義の遺伝率は、66%であった。これらの系統のうち、80%がこがねもちと同等以上の硬化性を有し、こがねもち以上の硬化性をもつ系統が3系統得られた。以上のことから、吸光度法は初期世代選抜に有効であり、少量の材料で、簡易にRVAと同等の精度で餅硬化性を評価できることが明らかになっ

た。

3. 登熟期における温度条件と澱粉構造との関係

登熟期間の温度が澱粉構造と糊化に与える影響を明らかにするために、人工気象器における常温区 (25℃ / 20℃) および高温区 (32℃ / 27℃) で栽培試験を行い、糯品種間による差異と温度反応特性の違いを調べた。こがねもちを基準とし他の品種のアミロペクチンの差分パターンを解析した結果、常温区では既存の澱粉生合成関連酵素の原因遺伝子の鎖長パターンから推測して大きく5つのパターンに分類することが可能であった。高温区においても同様のパターンに分類できたことから、これらの品種によるアミロペクチン構造の違いは、環境要因ではなく遺伝的要因に支配されるものと推測された。同一品種間において、高温区から常温区を引いたアミロペクチンの差分パターンでは、品種による変動の大小の差はあるものの、いずれも同様のパターン、すなわち澱粉生合成関連枝作り酵素 BE II b の活性低下パターンと類似していた。このことより、高温で栽培することにより BE II b の活性が低下した可能性が考えられた。ただし、きぬのはだはこれらと異なるパターンを示した。登熟温度の違いによる糊化ピーク温度は既報通り、高温区の糊化温度が常温区の糊化温度よりも高かった。一方、でわのもち、風の子もち、オトメモチでは、高温区と常温区との糊化温度の差が小さく、これらは鎖長分布パターンとは関係なく温度条件によって糊化温度が変化しないか、あるいは全く異なる変化を示している特徴をもつ可能性が推測された。

4. 今後の育種選抜法への利用

本研究では、餅硬化性と尿素溶解速度、澱粉の相対結晶化度が高い相関があることを明らかにし、白米を材料とする餅硬化性の新たな少量評価法を開発した。また登熟期における温度条件が澱粉構造と糊化特性に及ぼす影響を明らかにし、澱粉特性の側面から品種の特徴づけを明らかにした。今後、本研究で開発した吸光度法を用いて従来の育種規模に合わせ硬化性の順位の高いものから選抜でき、F3世代以降では従来の育種法と吸光度法を組み合わせることで育種を進めることが可能である。初期世代において、従来の育種法より少量で数十倍の個体を選抜しても解析することが可能であり、分析時間の短縮、要する人員も少なくできる。目的形質を初期世代で確実に選抜し、栽培特性を含む優れた遺伝子を多様に確保する育種システムの構築が可能であると考えられる。餅硬化性における澱粉構造に関して、品種は温度反応に関わらず遺伝的なアミロペクチンの鎖長分布を有することが明らかになった。た

だし澱粉構造の鎖長パターンは、高温登熟条件下では単一あるいはいくつかの要因により同じ差分パターンを示すことが明らかになった。登熟期における温度条件と澱粉構造および糊化特性の変動性には、解明できなかった課題が残されたが、本研究で供試した品種の澱粉構造とその温度反応性や糊化変動性、糊化特性は、今後の育種の母本活用資料として利用できると考えられ、基礎データを積み上げることにより将来的には糯米澱粉の多様な利活用ができると考えられる。最後に、本研究で積み上げた結果から、第5-1図に澱粉特性に着目した糯米育種のフローを示しまとめとする。



第5-1図 澱粉特性に着目した糯米育種のフロー。

6. 謝辞

本論文をまとめるにあたり、終始ご指導とご校閲、ご鞭撻をいただきました。秋田県立大学生物資源科学部応用生物科学科秋山美展教授に深甚なる感謝の意を表します。

また、同大学中村保典理事、同応用生物科学科陳介余教授、同生物生産科学科藤田直子准教授にも終始、ご指導とご校閲、ご鞭撻を戴いた。同生物環境科学科ユーセフィアン、ショハブ准教授からは英文要旨のご校閲を賜った。

同大学の応用生物科学科ならびに生物生産科学科の院生、学部生の方々とモチゼミにおいて有益な議論を交わすことができた。同大学前研究補助職員内海雅佳子氏には実験室において暖かい励ましの言葉を戴いた。

また本研究の遂行にあたり、秋田県総合食品研究センター高橋徹主任研究員からは餅の物性に関して貴重な意見を戴いた。東北大学農学研究科松波麻耶博士からは作物の生理・生態に関するご助言を戴いた。

前秋田県農林水産技術センター農業試験場渡会信紀場長、現農業試験場湯川智行場長、同眞崎聡前主席研

究員、同浅利幸男主席研究員、同佐藤雄幸作物部長からは研究の遂行にあたり特段のご配慮とご鞭撻を賜った。

本研究は、秋田県農林水産技術センター農業試験場の職員のご協力を得て行われた。同試験場作物部川本朋彦主任研究員、加藤和直研究員、佐藤健介研究員、企画管理部関口一樹技能技師、同下田紀幸技能技師からは絶大なご協力を戴いた。さらに、作物部研究補助職員、佐藤かおり氏、黒坂里香氏、佐藤潤之介氏には研究の遂行にあたり多大なご協力を戴いた。

以上の方々に心から感謝を申し上げる。

引用文献

- 赤間芳洋・有坂将美 (1992) もち米, 櫛渕欣也監修, 日本の稲育種 スーパーライスへの挑戦. 農業技術協会 東京 p202-208.
- Asaoka, M., Okuno, K., Sugimoto, T., Fuwa, H. (1985) Developmental changes in the structure of endosperm starch of rice (*Oryza sativa* L). *Agric. Biol. Chem.* 49: 1973-1978.
- 有坂将美 (1994) 米菓製造における澱粉の性質評価に関する研究. 新潟研食品研究所研究報告. 特別号 22-34.
- 千葉雅大・松村修・寺尾富夫・渡邊肇 (2009) 穂の蒸散が穂温と米粒外観品質に及ぼす影響. 北陸作物学会報 44: 14-18.
- 中場勝・櫻田博・宮野斉・佐野智義・本間猛俊・佐藤久実・結城和博・水戸部昌樹 (2003) 水稻糯品種の糊化特性と餅硬化特性. 日作東北支部報 46: 51-52.
- 江川和徳・吉井祥一 (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.
- Fujita, N., Kubo, A., Suh D-S, Wong K-S, Jane J.L, Ozawa, K., Takaiwa, F., Inaba, Y., Nakamura, Y. (2003) Antisense Inhibition of Isoamylase Alters the Structure of Amylopectin and Physicochemical Properties of Starch in Rice Endosperm. *Plant. Cell. Physiol.* 44: 607-618.
- Fujita, N., Yoshida, M., Kondo, T., Saito, K., Utsumi, Y., Tokunaga, T., Nishi, A., Satoh, H., Park, JH., Jane, JL., Miyao, A., Yasunori, H. Nakamura, Y. (2007) Characterization of SS III a-Deficient Mutants of Rice: The Function of SS III a and Pleiotropic Effects by SS III a Deficiency in the Rice Endosperm. *Plant Physiology.* 144: 2009-2023.

- F. Zobel., S. N. Young., L. A. Rocca. (1988) Starch Gelatinization : An X-ray Diffraction Study. *Cereal Chem.* 65 : 443-446.
- 蛭谷武志・山本良孝・矢野昌裕・舟根政治 (2008) 染色体断片置換系統群を利用したイネの玄米外観品質に関与する QTL の検出. *育種学研究* 10 : 91-99.
- 濱西知子・八田珠郎・F. S. Jong・貝沼圭二・高橋節子 (2000) 生育段階の異なるサゴ澱粉の相対結晶化度と構造および糊化特性. *J Appl. Glycosci* 47 : 335-341.
- 檜作進 (1977) 澱粉粒の水和, 膨潤および糊化. 澱粉科学ハンドブック (中村道徳, 鈴木繁男編) 朝倉書店 p34-39.
- Hizukuri, S. (1986) Polymodal distribution of the chain lengths of amylopectins, and its significance. *Carbohydr Res.* 147 : 342-347.
- Hizukuri, S. (1995) Starch, analytical aspects. In AE Eliasson, ed, *Carbohydrates in Food.* Marcel Dekker, Lund, Sweden. p347-429.
- 平塚真遊・梅本貴之・岡本和之・勝田真澄 (2008) アミロペクチン鎖長分布に特徴をもつ陸稲のデンプン合成酵素 IIa の特性解析. *日作紀* 77 : 222-223.
- Igarashi, T., Kinoshita, M., Kanda, H., Nakamori, T., Kusume, T. (2008) Evaluation of Hardness of Waxy Rice Cake Based on the Amylopectin Chain-length Distribution. *J. Appl. Glycosci.* 55 : 13-19.
- 五十嵐俊成・神田英毅・木下雅文 (2008) 登熟温度が米のアミロペクチン単位鎖長分布と超長鎖 (LC) 含量に及ぼす影響. *J. Appl. Glycosci.* 55 : 191-197.
- 五十嵐松太郎・国武正彦・白倉治一 (1959) 水稻糯品種「こがねもち」. *新潟県農研報.* 9 : 19-27.
- 石崎和彦 (1994) もち品種の加工特性に関する研究. 第 1 報 もち硬化性の簡易推定法. *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.
- 石崎和彦・中村恭子・東聡志・小林和幸・阿部聖一・星豊一 (1996) もち品種の加工特性に関する研究. 第 3 報 こがねもちに由来するもち品種のもち硬化性. *北陸作物学会報* 31 : 16-17.
- 石崎和彦 (2006) 水稻の高温登熟性に関する検定方法の評価と基準品種の選定. *日作紀* 75(4) : 502-506.
- 石崎和彦・金田智・松井崇晃 (2007) 水稻糯品種における穂肥窒素の移植期及び品種の違いが餅の硬化性に与える影響. *日作紀* 76 : 301-305.
- Jenkins, P.J., Cameron, R.E., Donald, A.M. (1993) A universal feature in the structure of starch granules from different botanical sources. *Starch.* 45 : 417-420.
- Jiang, H., Dian, W., Wu, P. (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.
- 加藤武光・畠山俊彦・眞崎聡・斎藤正一・福田兼四郎・小野充・島田孝之助・田口光雄・山本寅雄 (1995) 水稻新品種「きぬのはだ」「たつこもち」の育成. *秋田農試研報* 34 : 23-48.
- 小林麻子・矢野雅裕・富田桂・林猛・水林辰実・田野井真 (2008) イネの高温登熟耐性に関する QTL 解析. *育種学研究* 10 (別 2) : 153.
- 小林和幸・松井崇晃・平尾賢一・重山博信・阿部聖一 (2000) もち品種の加工特性に関する研究. 第 5 報 餅硬化性の推定に関する 2, 3 の知見. *北陸作物学会報* 35 : 13-15.
- 小牧有三・太田久稔・福井清美・上原泰樹 (2000) 高温登熟条件の違いによる水稻品種の玄米品質の差異. *北陸作物学会報* 35 : 10-12.
- 近藤彦彦 他 (2005) イネの高温登熟研究 今後の方向. *農業技術* 60 : 462-470.
- Kubo, A., Yuguchi, Y., Takemasa, M., Suzuki, S., Satoh, H., Kitamura, S. (2008) The use of micro-beam X-ray diffraction for the characterization of starch crystal structure in rice mutant kernels of waxy, amylose extender, and surary 1. *Journal of Cereal Science.* 48 : 92-97.
- 松江勇次・内村要介・佐藤大和 (2002) アミログラム特性の糊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糯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.
- 松葉捷也 (1991) イネ穂の着粒構造の分析およびその形成機構論. *中国農研報* 9 : 11-58.
- 松村修 (2005) 高温登熟による米の品質被害-その背景と対策. *農業技術* 60 : 1-10.
- 三ツ井敏明・福山利範 (2005) デンプン代謝からみた白未熟粒発生メカニズム(研究の現状). *農業技術* 60 : 11-16.
- 三ツ井敏明・福山利範・大山卓じ (2006) イネ高温登熟障害の発生メカニズム. *地球温暖化地域学* 2:1-4.
- 森田敏・白土宏之・高梨純一・藤田耕之輔 (2002) 高温が水稻の登熟に及ぼす影響 -高夜温と高昼温の影響の違いの解析. *日作紀* 71 : 102-109.
- 森田敏・白土宏之・高梨純一・藤田耕之輔 (2004) 高温が水稻の登熟に及ぼす影響. *日作紀* 73 : 77-83.
- Nakamura, Y. (2002) Towards a Better Understanding of the Metabolic System for Amylopectin

- Biosynthesis in Plants : Rice Endosperm as a Model Tissue. *Plant Cell Physiol.* 43 : 718-725.
- Nakamura, Y., Sakurai, A., Inaba, Y., Kimura, K., Iwasawa, N., Nagamine, T. (2002) The fine Structure of Amylopectin in Endosperm from Asian Cultivated Rice can be largely Classified into two Classes. *Starch/Stärke.* 54 : 117-131.
- Nakamura, Y. (2004) The Structure of Starch can be manipulated by changing the expression levels of starch branching enzyme IIb in rice endosperm. *Plant Biotech. Journal.* 2 : 507-516.
- Nakamura, Y., Francisco PB Jr, Hosaka, Y., Sato, A., Sawada, T., Kubo, A., Fujita, N. (2005) Essential amino acid of starch synthase IIa differentiate amylopectin structure and starch quality between *japonica* and *indica* rice varieties. *Plant Mol Biol.* 58 : 213-227.
- 中村保典 (2006) デンプンメタボリックエンジニアリング. 化学と生物 44(3) : 155-162.
- Nakamura, Y., Utsumi, Y., Sawada, T., Aihara, S., Utsumi, T., Yoshida, M., Kitamura, S. (2010) . Characterization of the Reactions of Starch Branching Enzymes from Rice Endosperm. *Plant Cell Physiol.* 58 : 213-227.
- 理学電機株式会社分析センター編 (1985) X 線回析の手引き. 理学電機 東京 p56-65.
- 西愛子 (1997) イネ種子胚乳デンプンの尿素糊化特性. 九州大学遺伝子開発管理講座 修士学位論文.
- Nishi, A., Nakamura, Y., Tanaka, N., Satoh, H. (2001) Biochemical and Genetic Analysis of the Effects of Amylose-Extender Mutation in Rice Endosperm. *Plant Physiology.* 127 : 459-472.
- 日本作物学会北陸支部・北陸育種談話会編 (2007) 白末熟粒発生と粒重低下-高温の範囲と遭遇時期との関係- 高温障害に強いイネ. 北陸育種談話会編 p37-41.
- Ohdan, T., Sawada, T., Nakamura, Y. (2011) Effect of Temperature on Starch Branching Enzyme Properties of Rice. *J. Appl. Glycosci.* 58 : 19-26.
- 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「関東糯 172 号」. 日作紀 67 : 492-497.
- Okamoto, K., Kobayashi, K., Hirasawa, K., Yuguchi, Y., Takemasa, M., Suzuki, S., Satoh, H., Kitamura, S. (2002) Structural Differences in Amylopectin Affect Waxy Rice Processing. *Plant Prod. Sci.* 5(1) : 45-50.
- 岡本和之 (2007) 陸稲系統「関東糯 172 号」の高速餅硬化性に関する研究. 茨城農総生工研研報 10 : 1-43.
- Okamoto, K., Hirasawa, H., Umamoto, T. (2009) Screening and Characterization of cultivar with M-type amylopectin in Japanese upland rice. *Breeding Science.* 59 : 179-186.
- 斉藤昭三 (1987) 米の加工-新潟県における米研究を中心として-農林水産省農業究センター編. 稲と米生産から食卓まで. 農林水産技術協会 東京 p108-112.
- 斎藤正一・畠山俊彦・京谷薫・石山六郎・島田孝之助・大森友太郎・眞崎聡・嶋貫和夫・山口邦夫・福田兼四郎 (1985) 水稲新奨励品種「アキユタカ」「あさあけ」「ヒデコモチ」について. 秋田農試研報 27 : 71-145.
- 斎藤正一・山口邦夫・須藤孝久・佐々木正太郎・島田孝之助・嶋貫和夫 (1974) 水稲新奨励品種「ヒメノモチ」について. 秋田農試研報 20 : 1-22.
- 佐藤光 (1994) イネ胚乳澱粉変異体の作成とその解析. *Nippon Nogeikagaku kaishi* 11 : 1557-1580.
- 佐藤弘一・斉藤真一・平俊雄 (2003) 味度メーターおよびラピッド・ビスコ・アナライザーを利用した水稲良食味系統選抜. 日作紀 72 : 390-394.
- 佐藤弘一・斉藤真一・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関する選抜方法. 日作紀 74 : 310-315.
- 佐藤弘一 (2007) 福島県における水稲品種の用途別品質に関する研究. 東京農工大学院連合研究科博士学位論文.
- Sasaki, T., Kohyama, K., Suzuki, Y., Okamoto, K., T. R. Noel., S. G. Ring. (2009) Physicochemical characteristics of waxy rice starch influencing the in vitro digestibility of a starch gel. *Food Chemistry.* 116 : 137-142.
- Satoh, H., Nishi, A., Yamashita, K., Takemoto, Y., Tanaka, Y., Hosaka, Y., Sakurai, A., Fujita, N., Nakamura, Y. (2003) Starch-Branching Enzyme I-Deficient Mutation Specifically Affects the Structure and Properties of Starch in Endosperm. *Plant Physiol.* 133 : 1111-1121.
- Sawada, T., Francisco. PB. Jr., Aihara, S., Utsumi, Y., Yoshida, M., Oyama, Y., Tsuzuki, M., Satoh, H., Nakamura, Y. (2009) Chlorella starch branching enzyme II (BE II) can complement the function of BE IIb in rice endosperm. *Plant Cell Physiol.* 50 : 1062-1074.
- Sonneveld. E. J., Visser. J. W. (1975) Automatic collection of powder data from photographs. *J. Appl. Cryst.* 8 : 1-7.
- 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.
- Suzuki, K., Nakamura, S., Satoh, H., Ohtsubo, K. (2006) Relationship between Chain-length Distributions of Waxy Rice Amylopectins and Physical Properties of Rice Grains . *J. Appl. Glycosci.* 53 : 227-232.
- 新版植物育種学 (1992) 文永堂出版株式会社 p71-75.
- 高橋正樹・小田中浩哉・扇良明・中野央子・神山芳典 (1997) エチレンジアミン四酢酸ニカリウム塩を用いた水稻糯品種のアミログラム測定について. 日作東北支部報 40 : 27-28.
- Tanaka, N., Fujita, N., Nishi, A., Satoh, H., Hosaka, Y., Ugaki, M., Kawasaki, S., Nakamura, Y. (2004) The Structure of Starch can be manipulated by changing the expression levels of starch branching enzyme II b in rice endosperm. *Plant Biotech. Journal.* 2 : 507-516.
- 田畑美奈子 (2005) 背白米および基白米発生に関する遺伝要因解析. 農業技術 65 : 453-470.
- 田畑美奈子・飯田幸彦・大澤良 (2006) 水稻の登熟期の高温条件下における背白米および背白米発生率の遺伝解析. 育種学研究 7 : 9-15.
- 寺島一男・梅本貴之・荻原均 (2001) 東北地域における 1999 年の夏季高温とコメの品質低下. 北陸作物学会報 36 : 106-109.
- 円谷アンナ (2011) 利用特性の異なるモチ米品種のデンプン解析. 秋田県立大学生物生産科学科修士学位論文.
- 友正達美・山下正 (2009) 水稻高温障害対策における用水管理の課題と対策の方向. 農工研技報 209 : 131-138.
- 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・アナライザーによる米粉粘度特性の微量迅速測定方法による共同試験. 日本食品科学工学会誌 44 : 579-584.
- Umamoto, T., Nakamura, Y., Sato, H., Terashima, K. (1999) Differences in Amylopectin Structure Between Two Rice Varieties in Relation to the Effects of Temperature During Grain-Filling. *Starch/Starke.* 51 : 58-62.
- 梅本貴之 (2009) アミロペクチン鎖長分布に基づくデンプン特性解析法. 日作紀 78 : 107-111.
- 若松謙一・佐々木修・上菌一郎・田中明男 (2007) 暖地水稻の登熟期間の高温が玄米品質に及ぼす影響. 日作紀 76 : 71-78.
- 若松謙一・佐々木修・田中明男 (2009) : 暖地水稻における高温登熟条件下の日射量および湿度が玄米品質に及ぼす影響. 日作紀 78 : 476-482.
- 柳瀬肇・遠藤勲・竹生新治郎 (1981) もち米の品質, 加工適性に関する研究 (第 1 報) もち米の性状, 搗精品質ならびに二, 三の貯蔵性. 食総研報 38 : 1-9.
- 柳瀬肇・遠藤勲・竹生新治郎 (1982a) もち米の品質, 加工適性に関する研究 (第 2 報) 国内産もち米の貯蔵と加工適性. 食総研報 39 : 1-14.
- 柳瀬肇・遠藤勲・竹生新治郎 (1982b) もち米の品質, 加工適性に関する研究 (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.
- 柳瀬肇・遠藤勲・竹生新治郎 (1984) もち米の品質, 加工適性に関する研究 (第 6 報) もち生地の湯溶けならびに膨化伸展性の銘柄間差異. 食総研報 45 : 1-8.
- Yamakawa, H., Hirose, T., Kuroda, M., Yamaguchi, T. (2007) Comprehensive Expression Profiling of Rice Grain Filling-related Genes under High Temperature using DNA Microarray . *Plant Physiology.* 144 : 258-227.
- Yamakawa, H., Hakata, M. (2010) Atras of Grain Filling-Related Metabolism under High Temperature: Joint Analysis of Metabolome and Transcriptome Demonstrated Inhibition of Starch Accumulation and Induction of Amino Acid Accumulation. *Plant Cell Physiol.* 51 : 795-809.
- 山下浩 (1996) もち. イネ育種マニュアル. 農業研究センター資料 30 : 70-73.
- 横尾浩明・狄聖南・李慶林 (1993) アミログラムによる水稻糯品種の分類と近赤外分析機, オートアナライザーによる簡易推定法. 佐賀農セ研報 28 : 47-56.

Abstract

Establishment of an estimation method for the rice cake hardness by urea dissolution of *waxy* rice, and influence of the growth temperature during the seed development on the rice cake hardness

Ikuko KODAMA

1. The urea dissolution method is routinely used to screen rice starch mutants. I have arranged this method to screen rice varieties for their hardness of glutinous rice cake. Although a previous report described the qualitative determination of rice cake hardness with this method, my approach is characterized by using the absorbance of iodo-starch reaction to quantify the rice cake hardness. To carry out this method, I examined 20 dehusked grains of four rice cultivars differing in their hardness, and found that rice cake hardness was directly correlated with the urea dissolution rate. Furthermore, I found that cultivars producing hard rice cakes showed a direct correlation with their starch crystallinity.

2. Using the urea dissolution absorbance method, I subsequently determined the hardness of eight rice varieties over a three year (2008-2010) period. Rice cake hardness showed a negative correlation with absorbance at 530 nm, but a positive correlation with Rapid Visco Analysis (RVA) characteristics. I also confirmed the positive correlation in F3 and F4 breeding lines of 'koganemochi', which produces the hardest rice cake. These findings confirm that the urea dissolution method is a simple, small-scale and highly accurate procedure for selecting hard rice lines at early breeding generations.

3. It is well known that the temperature during ripening is a major factor affecting the hardness of rice cake, and is related to the structure of amylopectin. I, therefore, compared the chain length distributions of amylopectin in several glutinous rice cultivars at 25 °C/20 °C to those at 32 °C /27 °C day/night temperatures using the chain length pattern of 'koganemochi' as standard. I determined that each rice starch mutant has its own defining amylopectin chain length pattern, and that based on these I could classify rice cultivars into specific groups. Furthermore, all the rice varieties analyzed showed a chain length pattern similar to the low-activity starch synthase BEIIb pattern. Therefore, different rice varieties show specific chain length patterns at high temperatures.

(Bull. Akita Agric. Exp. Stn. ××, - ,20××)