

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K06010

研究課題名（和文）米の炊き増えに関わる澱粉特性と胚乳細胞構造に関する研究

研究課題名（英文）Properties of starch and structure of endosperm cells in relation to cooked kernel elongation of rice

研究代表者

梅本 貴之（Umemoto, Takayuki）

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・食品研究部門・グループ長

研究者番号：90370551

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：米品質の重要な評価指標の一つである炊き増え性の品種間差について、稲コアコレクションや準同質遺伝子系統を用いて解析を行った。その結果、アミロース含有率が炊き増え性に関連していることが明確になった。アミロース含有率が10%程度において粒長の炊き増えが最大となることが示された。また、玄米縦断面の胚乳細胞の配列パターンと炊き増え性との関連についても情報が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

米の食味に関する研究は、これまで主にアミロース含有率やアミロペクチン鎖長分布、タンパク質含有率や貯蔵タンパク質の組成等、成分に着目して行われてきた。炊き増えは炊飯米の物理性の変化を通して食味、食感に大きな影響を及ぼすと考えられる。本研究において知見を得た炊き増え性とアミロース含有率の関係や、炊飯米の形態的特徴、胚乳細胞の配列の特徴との対応に関する知見は、米の食味研究の新たな展開や、ニーズに合った炊き増え性を備えた品種開発につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Using rice core collections and near-isogenic lines, we analysed differences in the elongation ratio of cooked kernel, which is one of the important indicators of rice quality. As a result, it became clear that the amylose content is related to the cooked kernel elongation. It was shown that the increase in cooked kernel length was maximized when the amylose content was about 10%. Information was also obtained on the relationship between the arrangement pattern of endosperm cells in the longitudinal section of brown rice and the tendency to elongation of cooked kernel.

研究分野：食品科学

キーワード：米 炊き増え 澱粉 アミロース アミロペクチン 胚乳細胞

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

炊飯による米粒の膨張は「炊き増え」とよばれ、米の品質評価指標の一つである。海外では粒の縦方向への伸びが好まれる傾向にあり、香りと炊き増え性を合わせ持つ米は国際市場において高級米として扱われる。一方、国内では炊き増えが良いと、同じ量の米からより多くの炊飯米を得られるため、レストランやコンビニエンスストアのおにぎり、弁当など外食・中食産業に用いられる「業務用米」において特に重視されている。

炊き増えに関するこれまでの研究において、アミロース含有率との関連性について解析が行われている。それらの中には、低アミロースから中アミロースの品種が粒長方向の炊き増えに優れるとする報告がある一方で、アミロースを含まない糯品種が優れたとする報告、アミロース含有率との関連が示されなかったとする報告もあり明確な関連性は明らかとなっていない。また、炊き増えが生じる原因として澱粉の糊化に伴う膨潤性が原動力となっているのか、あるいは細胞壁の伸展や断裂のし易さなどが大きく関与しているのかについても不明確である。

これまで炊飯米の食味に関する研究は、主にアミロース含有率やアミロペクチン鎖長分布、タンパク質含有率や貯蔵タンパク質の組成等、成分に着目して行われてきた。炊き増えは炊飯米の物理性の変化を通して食感に大きな影響を及ぼすと考えられ、炊き増えが生じる機作の解明は米の高品質化を進める上でも重要である。

### 2. 研究の目的

本研究では、炊き増えの原因の一つとして考えられる米澱粉の糊化に伴う膨潤性と、胚乳細胞壁の伸展や断裂に着目する。そのためアミロース含有率などの澱粉特性が異なり、他の特性が似た品種(変異系統、準同質遺伝子系統、染色体断片置換系統)や、遺伝的なバリエーションを保持し澱粉特性のみならず胚乳の細胞形態にも多様性を持つことが想定される品種群(コアコレクション)を用い、炊き増えに及ぼす米澱粉と胚乳細胞の特徴について解析する。このことにより、炊飯過程において澱粉の膨潤と胚乳細胞の配列、細胞壁の特性がいかに関連して炊き増えが生じているか、理解を進めることを目的とする。また、本研究により炊き増えの品種間差が生じるメカニズムの一端を解明することによって、将来的に炊き増えの優れた品種の育成に応用することを目指す。

### 3. 研究の方法

#### (1)材料

日本在来イネコアコレクション、アジア稲ミニコアコレクション(共に NARO ジーンバンク分譲)「日本晴」および「コシヒカリ」とそれらの遺伝的背景を持つ糯性変異系統「wx 日本晴」、高アミロース系統「日本晴 NIL(Wx-a)」、糯性変異系統「wx コシヒカリ」、低アミロース品種「ミルキークイーン」等を用いた。いずれの材料も農研機構の水田圃場で 2018 年から 2020 年に栽培、収穫されたものを供試した。

#### (2)澱粉特性の解析

アミロース含有率は、ヨウ素呈色法に基づき米粉当たりの見かけのアミロース含有率として測定し、水分含量 14%に補正を行った。アミロペクチン鎖長分布の解析は、糊化澱粉をイソアミラーゼにより枝切りした後、蛍光標識キャピラリー電気泳動法(FACE 法)を用いて行った。澱粉の膨潤性は、界面活性剤(SDS)により除タンパクを行った精製澱粉 100mg に蒸留水 6mL を加えて加熱糊化し、生じた糊化澱粉の重量(g)を指標値とした。

#### (3)炊き増えの測定

炊き増え評価のための炊飯は、精米 1g をボール状の茶こしに入れて吸水後、沸騰水中に 10 分間浸けて行った。炊き増え率は、炊飯前後の米粒の粒長、粒幅を穀粒判定機(ケット科学 RN-700)で測定し、炊飯による変化率で示した。

#### (4)炊飯米の形態および水分動態の観察

炊飯米の水分分布および T2 緩和時間の分布は、磁気共鳴画像法(MRI, Bruker AVANCE NEO 400WB)を用いて非破壊的に測定した。

#### (5)胚乳細胞の顕微鏡観察

炊飯前の胚乳細胞の形態観察は、樹脂に包埋した玄米を、胚を縦断する方向に削り、縦断面をカルコフロールホワイトで染色後に蛍光顕微鏡(キーエンス BZ-X800)を用いて観察した。

#### (6)炊飯米の内部形態の透過型電子顕微鏡観察

胚乳細胞壁を含む炊飯米の内部形態の観察は、2%四酸化オスミウムで固定した炊飯米の超薄切片を作成し、透過型電子顕微鏡(TEM, JEOL JEM 1400Plus)によって観察した。

### 4. 研究成果

#### (1)アミロース含有率、アミロペクチン鎖長と炊き増えの関連

日本在来イネコアコレクション(供試系統数 50)のアミロース含有率は 0.1%から 27.7%に分布し、このうちアミロース含有率 15%から 20%の中アミロースの系統が 22 系統と最も多かった。

一方、アジア在来稻ミニコアコレクション(供試系統数55)のアミロース含有率は0.3%から31.8%に分布し、アミロース含有率25%以上の高アミロース系統が37系統と約2/3を占めた。

それぞれのコアコレクションについて、粒長の炊き増え率と粒幅の炊き増え率の関連を解析した結果、いずれのコアコレクションについても相関は認められなかった。アミロース含有率と炊き増え率の関連を解析したところ、粒長の炊き増え率との間に興味深い傾向が認められた。すなわち、両コアコレクション共にアミロース含有率が25%を越える高アミロース系統においては炊き増え率が1.3から1.5と低いのに対し、アミロース含有率が低くなるにつれ炊き増え率は高くなる傾向が認められ、アミロース含有率が10%台の系統において炊き増え率が1.6から1.8と高い品種が多かった(図1)。ただし、それ以上のアミロース含有率が低くなっても炊き増え率は増加せず、糯系統の炊き増え率は1.6~1.7程度であった。

コアコレクションを用いた上記解析により、アミロース含有率と粒長の炊き増え率との間に認められた傾向が真にアミロース含有率の違いに起因するかを明らかにするため、「日本晴」もしくは「コシヒカリ」遺伝的背景でアミロース含有率が異なる系統を用いてさらに解析を行った。その結果、アミロース含有率が28%から10%にかけては含有率が低いほど粒長の炊き増え率が高かったが、糯系統においてそれ以上の炊き増え率の増加は認められず若干低下する傾向にあった。これらの結果からアミロース含有率と粒長の炊き増えの関連においては、アミロース含有率10%程度において炊き増え率が高く、25%を越す高アミロース性は炊き増えを下げる要因となり得ることが示唆された。

アミロペクチン鎖長分布と炊き増え性の関連では、「日本晴」とその準同質遺伝子系統でアミロペクチン短鎖比率が高い「日本晴NIL(Aik)」、 「ササニシキ」とae変異によりアミロペクチン短鎖比率が低く澱粉が極めて糊化しにくい変異系統「研系2064」の炊き増え性を解析した。その結果、「日本晴NIL(Aik)」は粒長、粒幅の増加率が、それぞれ1.63、1.40であり、「日本晴」の1.68、1.39と同等であり明確な差は認められなかった。一方、「研系2064」は2ヶ年のサンプルにおいて「ササニシキ」との評価が逆転する結果となりさらなる検証を要する。

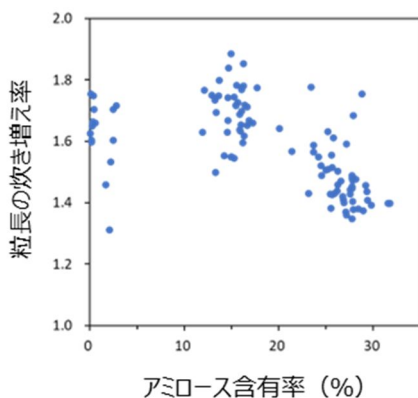


図1 日本在来稻およびアジア稻ミニコアコレクションのアミロース含有率と粒長の炊き増え率の関連

## (2) 澱粉の膨潤度と炊き増えとの関連

炊き増えが生じる要因として、炊飯時の糊化に伴う澱粉の膨潤程度が関わることが考えられた。そこで、「日本晴」および「コシヒカリ」遺伝的背景でアミロース含有率が異なる系統の米澱粉を用い、澱粉膨潤度と炊き増えの関連を調査した。その結果、澱粉膨潤度3.5までは、粒長の炊き増え率との比例関係が認められたが、それ以上澱粉膨潤度が高くなっても炊き増え率は増加しなかった(図2)。従って炊飯によって生じる糊化澱粉の膨潤は、炊き増えを生じる要因となりうるが、糯性系統に見られる高い膨潤性は炊き増えに貢献しないことが明らかとなった。

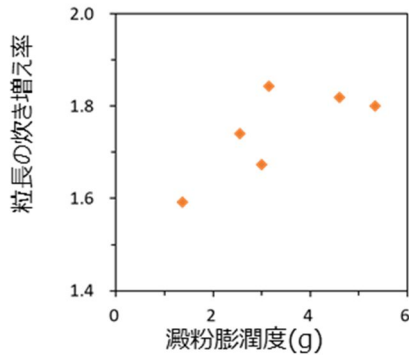


図2 アミロース含有率が異なる系統を用いた澱粉膨潤度と炊き増え率の関連

### (3)炊飯米中の水の動態と炊き増えとの関連

糊化に伴う澱粉の膨潤性と炊き増え性の関連をさらに解析するため、炊飯米中の水の動態と内部形態の変化の面から検討するため MRI を用いて非破壊的観察を実施した。材料としては上記試験でも用いた「日本晴」および「コシヒカリ」遺伝的背景でアミロース含有率が異なる系統を供した。

まず、プロトン密度の解析において「コシヒカリ」より「ミルキークイーン」、さらに「wx コシヒカリ」とアミロース含有率がより低い米飯においてプロトン密度の高い部分が多いことが観察され、アミロース含有率が低いほど水分子の取り込みが多いと判断された。また、炊飯米の内部形態については、いずれの系統においても内部にはしご状の複数の空隙が観察された。この空隙の縦幅は「ミルキークイーン」において最も広く、「コシヒカリ」は空隙の縦幅が若干狭く、「wx コシヒカリ」においては空隙が部分的に糊化澱粉で埋まっているような様相が観察された（図 3）。日本晴系統においてもほぼ同様の結果となり、アミロース含有率が低いほどプロトン密度が高く、空隙の縦幅に関してはアミロース含有率が最も高い「日本晴 NIL(Wx-a)」において狭く、「wx 日本晴」では空隙がほぼ埋まっていた。

一方で水分子の運動性の指標となる T2 緩和時間の比較においては、コシヒカリ系統、日本晴系統共にアミロース含有率が低いほど T2 緩和時間の長い部位が多く、炊飯米に含まれる水の運動性が高いと判断された。

以上、炊飯米中の水の動態の観察から、高アミロース性の米澱粉は炊飯による膨潤度が低く、炊き増えを抑える作用を持つと考えられた。逆に糯性の米澱粉においては炊飯による膨潤度が大きいものの、糊化澱粉は非常に柔らかく炊き増えによって生じた空隙を充填する形となり、糯性澱粉の高い膨潤性はさらなる炊き増え率の増加につながっていないことが示唆された。

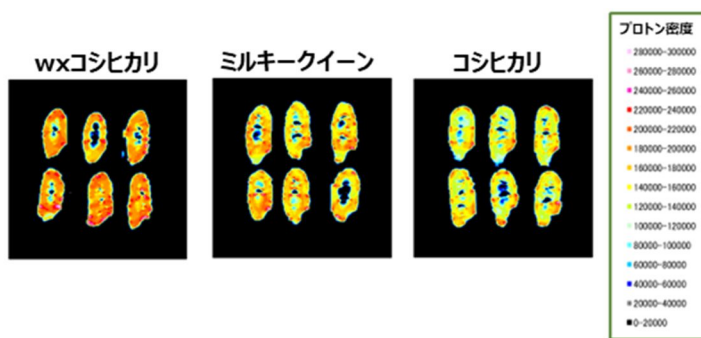


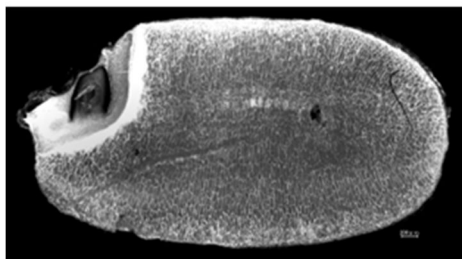
図3 アミロース含有率が異なる系統の炊飯米のMRI観察によるプロトン密度画像

### (4)炊き増え性が異なる系統の胚乳細胞の形態的特徴

炊き増え性と胚乳細胞の大きさや配列との関連を調べるために、日本在来稲コアコレクションおよびアジア稲ミニコアコレクション等から粒長の炊き増え率が高い系統、低い系統、合計 12 系統を選び、玄米の胚を縦断する縦断面を染色後に蛍光顕微鏡で観察した。その結果、炊き増え率の高い系統では、比較的小さな胚乳細胞が粒を横断する方向に規則正しく配列する傾向にあったのに対し、炊き増え率が低い系統においては胚乳中間層の細胞が大きく且つ比較的不規則に並んでいる様相が確認された（図 4）。このことは、胚乳細胞の大きさや配列の規則性が炊き増え率の高低に関与する可能性を示唆したものである。ただし、今回、選定した炊き増え率が低

い品種はいずれもアミロース含有率が25%以上の高アミロース系統であったため、胚乳細胞の配列の傾向と炊き増え性の関連については、同様のアミロース含有率の系統で炊き増え率の違いが比較的大きい品種を用いて観察するなど、アミロース含有率を考慮したさらなる解析を要する。

愛知旭（炊き増え率: 1.85）



赤米（炊き増え率: 1.41）

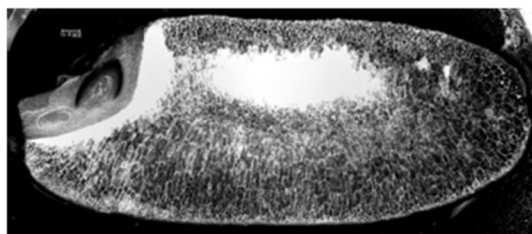


図4 粒長の炊き増え率が異なる系統の玄米縦断面の蛍光顕微鏡観察像

#### (5)透過型電子顕微鏡（TEM）による炊飯米の内部形態の観察

炊飯米の超薄切片のTEM観察においては、炊飯米の背側中央部の外層を観察した。材料としては日本在来稲コアコレクションの内、アミロース含有率が14.7%から15.3%の間と比較的近似している一方、粒長の炊き増え率が1.89、1.84と高い2系統、1.55、1.55と低い2系統を用いて比較を行った。結果としては、炊き増え率の高低に関わらずいずれの系統においても、炊き増えにより生じたとみられる細胞壁の断裂が複数箇所観察された。このことから少なくとも胚乳細胞壁は炊飯によって断裂が生じ、そのことが炊き増えと連動していると推定された。一方で、細胞壁の断裂の頻度や細胞壁の厚さ、伸展性の定量的な解析は困難であり、これらの形態的特徴と炊き増え性の関連解析は行えなかった。

今後の研究の方向性としては、蛍光顕微鏡観察等による胚乳細胞の配列や大きさの解析を多くの系統を用いて実施し、炊き増え性との関連をより明確にすることがあげられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 梅本貴之・関山恭代・中山博子・木村映一
2. 発表標題 米のアミロース含有率と炊き増えとの関連
3. 学会等名 日本作物学会 第253回講演会要旨集
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	木村 映一  (Kimura Eiichi)  (40391461)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・食品研究部門・上級研究員    (82111)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------