

イネ胚乳澱粉のアミロース含有率に関する育種学的研究

白石, 真貴夫
九州大学農学研究科農学専攻

<https://doi.org/10.11501/3065535>

出版情報 : 九州大学, 1992, 博士 (農学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :

第 6 章 総合考察

トウモロコシでは、穀粒澱粉に関する多様な変異体が見いだされており、それらは食糧としてばかりでなく、家畜飼料や加工食品工業の重要な原料として利用されている。今後、米の利用拡大のためには、穀粒の主要成分である澱粉の多様化を図ることが重要と考え、本研究では澱粉成分のアミロースの含有率を正確に評価できる測定法を開発し、その方法によって既存の品種のアミロース含有率に関する変異を把握した。加えて、イネ胚乳の主澱粉であるアミロペクチンに関しても変異が存在することを明らかにすることができた。これらの変異は、多様な育種目標に対応するための素材として重要であるばかりでなく、澱粉の生合成経路に関与する遺伝的制御機構を明らかにするうえでも有用な材料と考えられる。本章では、イネ胚乳澱粉に関する変異を拡大するうえでの問題点と今後の研究の展望について、育種学的観点と遺伝・生化学的観点から総合的に考察した。

[1] 育種学的観点から

米は澱粉を主成分とする澱粉性食品であり、その澱粉

分子の構造的変化は、米飯の食味や炊飯特性に大きく影響する。特にイネ胚乳澱粉に占めるアミロース成分の割合（アミロース含有率）は、食味と密接に関係することが指摘され、低アミロース米の食味評価は高い（倉沢 1969）。稲津（1979）は、粘りの少ない北海道産米の食味改善の方向として低アミロース品種育成の重要性を指摘した。国内では、イネの育種において、低アミロース化による良食味品種の育成を目指して、アミロース含有率を選抜指標にする事例が増えつつある（国広 1989、中川・古賀 1989）。既に北海道では、低アミロース遺伝子を導入した「彩」など良食味品種「コシヒカリ」並みの食味を有する新品種が次々と育成されている（佐々木 1991）。ところが、同じアミロース含有率を示す低アミロース米についても食味の評価は必ずしも同じではなく、単に低アミロース化するだけでは食味の向上しないことが指摘されている（佐々木 1991）。このことは、単に米飯の炊飯特性がアミロースの量だけで決定されるものではなく、他の多くの要因が関与していることを示している。従って、今後さらに米飯の良食味化を図るためには、低アミロース化以外の育種戦略を立てることが必要であ

る。

イネ胚乳澱粉は、 α -1,4結合からなる直鎖構造のアミロースと α -1,6結合を介した分岐構造からなるアミロペクチンの2成分から構成されるが、澱粉中のアミロースの含有率は高くても30%程度であり、残り70%以上はアミロペクチンで占められる。このことは、イネ胚乳澱粉の主成分がアミロペクチンであり、その分子構造や分子量の差異は、アミロース以上に米飯の食味に大きく影響すると推察される。このように、アミロペクチンの炊飯特性に果たす役割の大きさが容易に予想されるにも拘らず、アミロペクチンの遺伝変異については、ほとんど注目されてこなかった。その理由として、①常食とする粳性品種の胚乳澱粉が類似構造を共有するアミロースとアミロペクチンから構成されるために、それらの分別定量が困難なこと、②アミロースに比べ、アミロペクチンがより複雑な生合成経路をもち、アミロペクチンに関して多様な遺伝変異のあること、③アミロペクチン生合成に関する遺伝的制御機構の解明が進んでいないため、変異の探索が困難であったことなどが挙げられる。

本研究では、まず、アミロペクチン共存下でのアミロ

ース定量法, さらにはアミロペクチン中の長鎖 α -1,4 結合分枝を含むアミロース含有率 - 見かけのアミロース含有率 - 測定法を設定することによって, 変異究明の端を開いた (第 2 章). 次いで, アミロースを含まず, アミロペクチンのみから構成されるといわれる糯性品種を研究対象として取り上げ, それらの遺伝変異について検討した. その結果, 糯性品種中には見かけのアミロース含有率に幅広い変異があることを明らかにした (第 3 章). しかし, これら糯性品種の澱粉にはアミロース合成酵素の Wx タンパク質が検出されなかったことから (第 4 章, 第 5 章), アミロースは生成されていないと結論された. このことは, アミロペクチンの分枝構造に関して品種間変異が存在することを示唆している.

Juliano and Villareal (1987) は, 糯性品種から調製したアミロペクチンの分子構造を調査し, ゲル濾過の溶出パターンに品種間差異があることを報告している. また, 檜作 (1988) は, 粳性品種と糯性品種から調製したアミロペクチンの単位鎖の分布クロマトグラムを比較した結果, 粳性品種由来のアミロペクチンに, 糯性品種由来のアミロペクチンにはみられない“超長鎖”が存在

することと、この“超長鎖”の存否が糯性と粳性のアミロペクチンの大きな相違であると報告している。しかし、上記の報告では、糯性に関して 1 品種を供試したに過ぎない。本研究では、多数の糯性品種を用いて λ_{\max} (第 2 章第 2 節) を調査し、幅広い変異が認められたことから、糯性品種の中に“超長鎖”をもつ品種の存在する可能性を指摘した。また、Takeda *et al.* (1987) は、日本型 3 品種と印度型 3 品種から調製したアミロースとアミロペクチンを比較した結果、実際のアミロース含有率は、日、印品種間でほとんど差がないことを報告している。さらに、アミロース含有率が高い印度型品種のアミロペクチンの“超長鎖”成分量が、アミロース含有率の低い日本型品種のそれに比べて多いことを明らかにし、日、印品種間で認められたアミロース含有率の差異は、実際のアミロース含有率の差異ではなく、印度型品種のアミロペクチンのヨウ素呈色値が日本型品種に比べて高いことに起因すると指摘している。こうした研究結果から、今後、アミロース含有率を指標としてきたイネの成分育種において、アミロースとともにアミロペクチンの構造の差異を十分に考慮する必要があると考える。

最近、アミロペクチンの構造の差は、ゲル濾過の溶出パターンばかりでなく、分子量の違いにも起因することが示されている。檜作（1988）はサゴヤシ澱粉の高粘度と低粘度との試料の間で大きな差異があり、高粘度のものの方が分子量が大きいことを指摘している。Takeda *et al.*（1987）は、日、印の粳性品種から調製したアミロペクチンの分子量に差があることを認め、日本型品種のアミロペクチンの分子量が、印度型品種の約2倍であることを明らかにしている。また、糯性品種から調製したアミロペクチンの分子量が、粳性品種由来のアミロペクチンのそれより大きいことも報告されている（檜作1988）。米飯の粘弾性には多様な変異があり、米飯の炊飯特性と深い関係にあることが知られている（Juliano and Pascual 1980）。イネ胚乳澱粉における分子量と粘弾性との関係解明は今後の問題であるが、ここでは、アミロペクチン分子の鎖長分布と分子量の測定が、重要な課題となろう。

日、印品種間の炊飯特性の差が大きいことはよく知られているが、このような“超長鎖”成分量の差異や分子量の差異が米飯の食味や炊飯特性とどのように関係する

のか、また、どのような遺伝変異が存在し、どのような遺伝子が関与しているのか、早急に検討する必要がある。

一方、アミロースについては、これまでその量的な差ばかりが注目され、質的な差についてはほとんど注目されていない。最近、イネのアミロース鎖には、直鎖に加えて分岐も存在することが報告されている (Takeda *et al.* 1986)。アミロースの分岐数や分子量の大きさは、前述のアミロペクチンと同様、澱粉の粘性に強く影響することが考えられる。これまで、イネ澱粉から調製したアミロースの分子構造に大きな差異は認められていない (檜作 1988)。しかし、熱水に溶けないアミロースの量に品種間で差がある例が報告され (Chinnaswamy and Bhattacharya 1986)、糊化する際にアミロースの溶解性が温度によって異なる変異がある可能性も考えられる。本研究では、粳性品種から検出される Wx タンパク質の量に明らかな差がある Wx-H 型と Wx-M 型品種群の存在を明らかにした (第 4 章)。このような差異が、単にアミロースの生合成能の差異を示すのか、あるいは生合成されるアミロースに質的な差異があるのかについても、

今後検討する必要がある。

本研究では、アミロペクチンの構造変異を探る手段として、①粳性品種については、 λ_{\max} とヨウ素呈色度(620 nm)の組合わせ(第2章)、②糯性品種については、 M_r タンパク質がないことを確認したうえでの λ_{\max} の比較が有効であることを明らかにした(第4章)。これらの方法は、アミロペクチンの長鎖の有無を確認することはできるが、詳細な鎖長分布の解析や分子量は測定できない。この点、アミロペクチンの分子構造を解析する方法としては、ゲル濾過法の適用が有力とみられる。最近、ゲル濾過法に使われるゲルの支持体として多様なものが考案され、高速液体クロマトグラフ(HPLC)による微量分析も可能である(檜作 1988)。アミロペクチンやアミロースを含めた澱粉の分子構造を効率的に調査するために、HPLCを用いた簡易ゲル濾過法の実験系を確立する必要がある。

糊化特性もまた、米飯の食味や炊飯特性に影響を与える要因であり、その遺伝変異は育種素材として重要である。本研究では、アルカリ崩壊性あるいは熱糊化性といった糊化特性に関する遺伝変異が存在する可能性を示し

た（第5章）。アルカリ崩壊性の遺伝解析は、徐々に明らかになりつつあるが（工藤 1968, McKenzie and Rutger 1983）、熱糊化性の遺伝解析は、ほとんど進んでいない。このことについて、アルカリ崩壊性の検定は、単粒分析が可能であるのに対し、熱糊化性の分析は、大量の澱粉試料を必要とすることによる。この点、本研究で採用した佐藤ら（1988）のフォトペーストグラフフィーは単粒分析が可能であることから、この方法を用いて熱糊化性の遺伝解析を進める必要がある。

さらに、本研究では登熟温度の変化に対する反応に品種間で差があることを明らかにした（第5章）。イネを作付けする地域の気象条件は複雑多岐であり、このような複雑な気象条件に対して安定した品質をもつ品種を育成することにより、均質性と多収性を兼備させ、市場の要求に応じたイネの生産態勢を整える必要がある。そのためには、栽培品種の気象条件に対する反応の違いを把握し、品質が気象条件に左右されない品種を育成する必要がある。本研究ではアミロース含有率について、登熟温度の変化の影響をほとんど受けない品種の存在を明らかにした（第5章）。これらを素材にして、環境変動に

対して安定した反応を示す品種の育成の可能性を検討する必要がある。

[2] 遺伝・生化学的な観点から

植物における澱粉の生合成機構は, Leloir *et al.* (1961) の澱粉合成酵素の発見以来, 植物生理・生化学の分野で急速に解明が進められている。一方, 澱粉の遺伝的制御機構については, 一応のモデルが提案されているものの, いまだ不明な部分が多い (Shannon and Garwood 1984)。

アミロースとアミロペクチンの生合成には, 顆粒性と可溶性の存在形態を異にする 2 種の澱粉合成酵素が, 別々に関与することが報告されている (Murata and Akazawa 1966)。澱粉合成酵素は, 基質として UDP-グルコースよりも ADP-グルコースを利用し, α -1,4 結合のグルカン生合成に関与する。すなわち, アミロースの生合成には顆粒性酵素が関与し, ADP-グルコースと UDP-グルコースを基質として利用して, アミロースの非還元末端へグルコースを転移する。これに対し, アミロペクチンの生合成には可溶性酵素が主に関与し, ADP-グルコースのみを基質として利用してアミロペクチンの単位

鎖を生成する。さらに、アミロペクチンの分岐点である α -1,6結合の生成には枝つくり酵素 (branching enzyme) と枝切り酵素 (debranching enzyme) が関与する (Juliano 1985)。このようにアミロースとアミロペクチンは別々の機構で生合成されるが、それぞれの生合成過程は相互に影響し、その遺伝的制御機構を複雑にしている。

本研究では、アミロース合成酵素である Wx タンパク質の有無により、品種の糯性および粳性を明確に分けることができた。さらに、粳性品種については Wx タンパク質量の差から、さらに Wx -H 型品種群と Wx -M 型品種群の 2 群に分けられることを明らかにし、 Wx 遺伝子座で Wx 遺伝子の複対立系が分化している可能性を示唆した (第 4 章)。特に、同じ見かけのアミロース含有率を示しながら、 Wx タンパク質量に差がみられたことは興味深い。このことは、アミロース合成酵素である Wx タンパク質に質的な差があるか、あるいは Wx タンパク質のアミロース生合成能力に差があることを示している。今後、 Wx タンパク質のアミノ酸組成を含めた構造解析や酵素活性について調査する必要があるだろう。

また、アミロース含有率を変動させる要因には、*du* 遺伝子 (Okuno *et al.* 1983, Sano *et al.* 1985b, Yano *et al.* 1988) のような *wx* 遺伝子座とは独立の調節系の関与が指摘されている。イネ胚乳澱粉のアミロース含有率に関する遺伝的制御機構は、アミロース合成に関与する *wx* 遺伝子座を中心に解明されることが考えられるが、その際、*wx* 遺伝子座内の複対立系の分化と、*du* 調節遺伝子系の関与を分けて考える必要がある。

アミロペクチンの生合成は、まず α -1,4 結合をもつ単位鎖の生合成が行われなければならないが、これには2種の可溶性澱粉合成酵素が関与することが報告されており (Macdonald and Preiss 1983, 1985)、分岐構造の形成には、branching enzyme と debranching enzyme の存在が欠かせない。それぞれの酵素にはアイソザイムが存在する。トウモロコシの amylose extender 遺伝子 (*ae*) は、branching enzyme の3種あるアイソザイム (I, II a, II b) のうち II b の構造遺伝子であると推定され、この遺伝子を劣性に持つ変異体は、分岐が少なく長鎖を多く含むアミロペクチンを作る (Boyer and Preiss 1981, Hedman and Boyer 1982)。また、トウモ

ロコシの *Su1* 遺伝子は, *debranching enzyme* の 3 種あるアイソザイム (I, II, III) のうち III の構造遺伝子であると推定され, *Sugary-1* 変異体は, 高度に枝分れし, 高分子の水溶性多糖を作る (Pan and Nelson 1984).

イネでも, トウモロコシと同様に *amylose extender* 変異体 (Yano *et al.* 1985) や *sugary* 変異体のような糖質変異体の存在も明らかにされている (Yano *et al.* 1984, Matsuo *et al.* 1987). これらに加え, 本研究では, アミロペクチンの構造変異が存在する可能性を示した (第 3 章, 第 4 章). これらの変異体は, イネの種子貯蔵澱粉の生合成の遺伝的制御機構の解明に多くの情報を提供すると期待される. アミロペクチンの変異体を効率的に検出するためには, 澱粉合成酵素や *branching enzyme*, *debranching enzyme* のような分岐構造の形成に関与する酵素を単離・精製し, 本研究で行ったウエスタンブロットィング法や ELISA 法のような免疫化学的手法を利用することが期待される.

澱粉の生合成経路を解明するためには, 澱粉の胚乳中への蓄積過程について調べることが重要と思われる. 本研究では, アミロース含有率の変動に登熟温度が影響す

ることを明らかにした（第5章）。澱粉はアミロプラストへ特異的に集積される。Asaoka *et al.* (1985b) は、登熟初期においてアミロペクチンの蓄積速度がアミロースのそれより早いことを報告したことから、高温登熟でのアミロース含有率の低下は、単にアミロプラスト内でのアミロペクチンの含有率が高まることが原因とも考えられ、*du* 遺伝子のような調節遺伝子がアミロースの集積速度を低い方へ制御している可能性も考えられる。また、Wx-H 型品種群では、アミロース含有率が登熟温度の影響を受けなかったことから、Wx-H 型品種群のアミロースとアミロペクチンの集積速度を制御する機構が、Wx-M 型品種群のそれと異なるものと考えられる。

以上のように、アミロース含有率の変動に関しては、アミロースとアミロペクチンの生合成系に関与する遺伝的制御機構を分けて解明していくことが最善と考える。

摘 要

本研究では、イネ胚乳澱粉に関する遺伝子資源の多様化を目的に、アミロース含有率に関する変異を正確に評価できる測定法を開発し、その方法によって既存の品種にみられる遺伝変異を把握するとともに、免疫化学的手法によってアミロース合成に関与する wx 遺伝子の産物であるイネ胚乳中の wx タンパク質含量の変異を明らかにし、さらに、環境変動が澱粉特性に及ぼす影響について検討した。得られた結果は、以下のように要約される。

(1) アミロース含有率をヨウ素呈色法によって、より正確に測定するために、従来の 620 nm での測定法に代えて、アミロペクチンの影響が最も小さい 770 nm での吸光度を測定する方法を設定した。さらに、アミロース含有率の差異に伴う吸収スペクトルの最大吸収波長 (λ_{max}) の変化に注目し、 λ_{max} による簡易迅速なアミロース含有率測定法を設定した。本法では、微量試料、なかならずく単粒での測定が可能であり、 λ_{max} で測定したアミロース含有率と 770 nm の吸光度で測定したアミロース含有率との間の相関は極めて高い ($r = 0.98$)。本法によ

って求められるアミロース含有率は、アミロペクチン中の長鎖 α -1,4結合分枝を含むところから、これを“見かけのアミロース含有率”と定義した。

(2) また、 λ_{\max} 法と従来の620 nmでのヨウ素呈色法と併用することにより、amylose extender変異系統を効率的に検出することが可能である。

(3) 九州大学農学部遺伝子資源研究センターが保存する国内外の2,602品種について、 λ_{\max} によって見かけのアミロース含有率を調査した結果、糯性品種では0~7.8%、粳性品種で9.6~33.9%の幅広い変異があることを明らかにした。

(4) 見かけのアミロース含有率に関して地理的変異がみられ、南アジアと東南アジアおよび中国南部の品種は概して高アミロース品種が多く、中国北部や韓国、日本では逆に見かけのアミロース含有率の低い品種が増加する傾向を認めた。

(5) 日本の品種については、糯性品種では、九州と四国地域に、比較的見かけのアミロース含有率の低い品種が多く、中国地方の日本海沿岸から北陸および東北にかけて見かけのアミロース含有率の高い品種が多く認めら

れた。一方、粳性品種については、九州と四国地域に見かけのアミロース含有率の高い品種が多く、中国地方の日本海沿岸から北陸および東北にかけて見かけのアミロース含有率の低い品種が増加し、糯性品種の場合と逆の傾向が認められた。

(6) Wx 遺伝子の産物であるイネ胚乳中の Wx タンパク質をペプシン処理した澱粉から精製した。精製した Wx タンパク質に対する抗体を調製し、その抗体を用いて Wx タンパク質含量と見かけのアミロース含有率との関係を免疫化学的手法によって検討した。その結果、ウエスタンブロッティング法によって、粳性澱粉では一本のバンドとして Wx タンパク質を特異的に検出し、糯性品種ではバンドが全く検出されなかった。また、粳性品種については、検出されたバンドの濃淡に基づいて、薄く染色される Wx-M 型品種群と濃く染色される Wx-H 型品種群に分類した。

(7) さらに、ELISA 間接法による Wx タンパク質の定量法を確立し、粳性品種の Wx タンパク質含量と見かけのアミロース含有率との関係について検討した。品種全体としては、Wx タンパク質含量と見かけのアミロース

含有率との間の相関は低かった。しかし、W_x-H型品種群とW_x-M型品種群に分けて相関関係をみたところ、両者の間には、高い相関関係が認められた。このことから、W_x-H型品種群とW_x-M型品種群に分けることで、W_xタンパク質含量から真のアミロース含有率を推定し得ることを明らかにした。

(8) W_xタンパク質含量の差によって分類した上述の3品種群(糯性品種群、W_x-H型粳性品種群、W_x-M型粳性品種群)を用い、見かけのアミロース含有率とともに、W_xタンパク質の含量や炊飯特性に関与する胚乳澱粉の諸特性に及ぼす登熟温度の影響を検討した。その結果、糯性品種群とW_x-M型品種群の諸特性は、登熟温度の変化に応じて変動し易いのに対し、W_x-H型品種群の諸特性は登熟温度の影響を受け難いことを明らかにした。

以上、アミロース含有率測定法として新たに設定したλ_{max}法によって、既存の品種中に見かけのアミロース含有率に関して多様な変異があることを明らかにした。加えて、既存の品種中に、アミロペクチンに関する構造変異が存在する可能性を提言した。

謝 辞

本研究の遂行と論文の作成に当り九州大学農学部佐藤光助教授には終始懇篤なる指導を賜った。ここに、深甚の謝意を表す。また、本論文を取りまとめるに当り、校閲の労と執られた九州大学農学部小西猛朗教授ならびに箴島豊教授に厚く感謝の意を表す。

本研究の遂行に当り終始指導を戴いた九州大学名誉教授大村武博士に衷心から感謝する。

さらに、研究の実施にあたり、多大なる援助を与えられた九州大学農学部河原畑勇教授ならびに山口女子大学小川昌広助教授に心から拝謝する。

最後に、本論文を完成するにあたり、協力と支援を下された大分県農業技術センター水田利用部の各位に記して謝意を表す。

引用文献

- Asaoka, M., K. Okuno and H. Fuwa (1985a) Effect of environmental temperature at the milky stage on amylose content and fine structure of amylopectin of waxy and nonwaxy endosperm starches of rice (*Oryza sativa* L.). Agric. Biol. Chem. 49:373-379.
- Asaoka, M., K. Okuno, Y. Sugimoto and H. Fuwa (1985b) Developmental changes in the structure of endosperm starch of rice (*Oryza sativa* L.). Agric. Biol. Chem. 49:1973-1978.
- Asaoka, M., K. Okuno, Y. Sugimoto, J. Kawakami, and H. Fuwa (1984) Effect of environmental temperature during development of rice plants on some properties of endosperm starch. Stärke 36:189-193.
- Banks, W., C. T. Greenwood and D. D. Muir (1974) Studies on starches of high amylose content. Part 17. A review of current concepts. Stärke 26:289-300.
- Boyer, C. D. and J. Preiss (1981) Evidence for independent genetic control of the multiple forms of maize endosperm branching enzymes and starch synthases. Plant Physiol. 67:1141-1145.
- Chinnaswamy, R. and K. R. Bhattacharya (1986) Characteristics of gel-chromatographic fractions of starch in relation to rice and expanded rice-product qualities. Stärke 38:51-57.
- Clark, M. F. and A. N. Adams (1977) Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. J. gen. Virol. 34:475-483.
- de la Cruz, N., I. Kumar, R. P. Kaushik and G. S. Khush (1989) Effect of temperature during grain development on stability of cooking quality components in rice. Japan. J. Breed. 39:299-306.
- Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers and F. Smith (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 28:350-356.

- 江幡守衛 (1968) 米のアルカリ崩壊性に関する研究. 第2報 白米のアルカリ崩壊性の品種間差異ならびに二, 三の登熟環境条件との関係. 日作紀 37:504-509.
- Echt, C. S. and D. Schwartz (1981) Evidence for the inclusion of controlling elements within the structural gene at the waxy locus in maize. *Genetics* 99:275-284.
- Hedman, K. D. and C. D. Boyer (1982) Gene dosage at the *amylose-extender* locus of maize : Effects on the levels of starch branching enzymes. *Biochem. Genet.* 20:483-492.
- Heu, M. H., H. S. Suh, K. H. Kim, S. Z. Park and H. P. Moon (1976) The environmental variation of protein content, amylose content and alkali digestibility of rice grain. *Soeul Natl. Univ., Coll. of Agric. Bull.* 1:21-37.
- 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 pp.34-39 .
- 檜作 進 (1988) 澱粉の分子構造とその解析法. 澱粉科学 35:185-198.
- Horiuchi, H. and T. Tani (1966) Studies on the cereal starches. Part V. Rheological properties of the starch of rice imported into Japan. *Agr. Biol. Chem.* 30:457-465.
- 飯塚 清・中川原捷洋・林健一・宮崎尚時・川上潤一郎 (1977) 栽培イネにおけるフェノール着色反応および糯・粳性形質の地理的分布. 育雑27(別2):262-263.
- Ikawa, Y., D. V. Glover, Y. Sugimoto and H. Fuwa (1978) Amylose percentage and distribution of unit chain-length of maize starches having a specific genetic background. *Carbohydr. Res.* 61:211-216.
- Ikawa, Y., D. V. Glover, Y. Sugimoto and H. Fuwa (1981) Some structural characteristics of starches of maize having a specific genetic background. *Stärke* 33:9-13.
- Ikeno, S. (1914) Über die Bestäubung und die Bastardierung von Reis. *Z. Pflanzenzüchtg* 2:495-503.

- 稲津 脩 (1979) 北海道産米の品質改善に関する研究. 澱粉科学 26:191-197.
- 稲津 脩・渡辺公吉・前田 巖・伊藤恵子・長内俊一 (1974) 北海道産米の品質改善に関する研究. 第1報, 米澱粉アミロース含有率の差異. 澱粉科学 21:115-119.
- 岩田伸夫・大村武 (1971) 相互転座法によるイネの連鎖分析. I. 染色体1, 2, 3, 4に対応する連鎖群. 育雑 21:19-28.
- Juliano, B. O. (1971) A simplified assay for milled-rice amylose. Cereal Science Today 16:334-360.
- Juliano, B. O. (1982) Properties of rice starch in relation to varietal differences in processing characteristics of rice grain. J. Jap. Soc. Starch Sci. 29:305-317.
- Juliano, B. O. (1985) Polysaccharides, proteins, and lipids. /n "Rice Chemistry and Technology ." Am. Assoc. Cereals Chem. Inc., St. Paul, Minn. pp59-174.
- Juliano, B. O. and D. B. Bechtel (1985) /n "Rice Chemistry and Technology." Am. Assoc. Cereals Chem. Inc., St. Paul, Minn. Pp38.
- Juliano, B. O. and C. G. Pascual (1980) Quality characteristics of milled rice grown in different countries. /n "IRRI Research Paper Series No.48." International Rice Research Institute, Manila, Pp.25.
- Juliano, B.O. and R.M. Villareal (1987) Varietal differences in physico-chemical properties of waxy rice starch. Stärke 39:298-301.
- Juliano, B. O., C. M. Perez, A. B. Blakeney, T. Castillo, N. Kongseree, B. Laignelet, E. T. Lapis, V. V. S. Murty, C. M. Paule and B. D. Webb (1981) International cooperative testing on the amylose content of milled rice. Stärke 33:157-162.
- 貝沼圭二・小田恒郎・鈴木繁男 (1968) フォトペーストグラフィーによる澱粉粒の糊化現象の追跡. (第1報) フォトペーストグラフの試作. 澱粉工業学会誌 16:51-54.
- 木戸三夫・梁取昭三 (1968) 栽培条件が米質, 特に米粒の蛋白質含有量に及ぼす影響に関する研究. 日作紀 37:32-36.

- Kobayashi, M., N. Hiura and K. Matsuda (1985) Isolation of enzymes from polyacrylamide disk gels by a centrifugal homogenization method. *Anal. Biochem.* 145:351-353.
- 工藤政明 (1968) イネの生態群間雑種における生理生態的特性の遺伝育種学的研究. *農技研報告D* 19:1-84.
- Kumar, I. and G. S. Khush (1987) Genetic analysis of different amylose levels in rice. *Crop Sci.* 27:1167-1172.
- Kumar, I. and G. S. Khush (1988) Inheritance of amylose content in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica* 38:261-269.
- Kumar, I., G. S. Khush and B. O. Juliano (1987) Genetic analysis of waxy locus in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 73:481-488.
- 国広泰史 (1989) 稲良食味育種とアミロース. *農業技術* 44:40-44.
- 倉沢文夫 (1969) コメの味(II) - コメの味と精白米の構成成分 -. *遺伝* 23:42-47.
- Kurasawa, H., Y. Kanauti, I. Yamamoto, T. Hayakawa and I. Igaue (1969) Some physico-chemical properties of non-waxy paddy rice starch in Niigata prefecture. Part I. Relation of properties of starch to eating and cooking qualities of milled rice. *Agr. Biol. Chem.* 33:798-806.
- Laemmli, U. K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227:680-685.
- Larson, B. L., K.A. Gilles and R. Jenness (1953) Amperometric method for determining the sorption of iodine by starch. *Anal. Chem.* 25:802-804.
- Leloir, L. F. and M. A. R. de Fekete and C. E. Cardini (1961) Starch and oligosaccharide synthesis from uridine diphosphate glucose. *J. Biol. Chem.* 236:636-641.
- Little, R. R., G. B. Hilder and E. H. Dawson (1958) Differential effect of dilute alkali on 25 varieties of milled white rice. *Cereal Chem.* 35:111-126.
- Lowry, O.H., N. J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193:265-275.

- Macdonald, F. D. and J. Preiss (1983) Solubilization of the starch-granule-bound starch synthase of normal maize kernels. *Plant Physiol.* 73:175-178.
- Macdonald, F. D. and J. Preiss (1985) Partial purification and characterization of granule-bound starch synthases from normal and *waxy* maize. *Plant Physiol.* 78:849-852.
- Matsuo, T., M. Yano, H. Satoh and T. Omura (1987) Effects of sugary and shrunken mutant genes on carbohydrates in rice endosperm during ripening period. *Japan. J. Breed.* 37:17-21.
- McCready, R. M. and W. Z. Hassid (1943) The separation and quantitative estimation of amylose and amylopectin in potato starch. *J. Amer. Chem. Soc.* 65:1154-1157.
- Mckenzie, K. S. and J. N. Rutger (1983) Genetic analysis of amylose content, alkali spreading score, and grain dimensions in rice. *Crop Sci.* 23:306-313.
- Murata, T. and T. Akazawa (1966) Enzymic mechanism of starch synthesis in ripening rice grains. IV. Starch synthesis in glutinous rice grains. *Arch. Biochem. Biophys.* 114:76-87.
- Murata, T., T. Sugiyama and T. Akazawa (1964) Enzymic mechanism of starch synthesis in ripening rice grains. II. Adenosine diphosphate glucose pathway. *Arch. Biochem. Biophys.* 107:92-101.
- Murata, T., T. Sugiyama, T. Minamikawa and T. Akazawa (1966) Enzymic mechanism of starch synthesis in ripening rice grains. III. Mechanism of the sucrose-starch conversion. *Arch. Biochem. Biophys.* 113:34-44.
- Nagao, S. and M. Takahashi (1963) Trial construction of twelve linkage groups in Japanese rice. *Genetical studies on rice plant, XXVII. J. Fac. Agr., Hokkaido Univ.* 53:72-130.
- Nagato, K. and F. M. Chaudhry (1969) Ripening of Japonica and Indica type rice as influenced by temperature during ripening period. *Proc. Crop Sci. Soc. Japan* 38:657-667.

- 長戸一雄・鈴木清太・佐渡敏弘 (1975) 米粒の乾物増加過程と米質. 日作紀 44:431-437.
- 中川宣興・古賀義昭 (1989) 食味育種. 農業技術 44:88-93.
- Nakagahra, M., T. Nagamine and K. Okuno (1986) Spontaneous occurrence of low amylose genes and geographical distribution of amylose content in Asian rice. Rice Genetics Newslet. 3:46-48.
- Ogawa, M., T. Kumamaru, H. Satoh, N. Iwata, T. Omura, Z. Kasai and K. Tanaka (1987) Purification of protein body-I of rice seed and its polypeptide composition. Plant & Cell Physiol. 28:1517-1527.
- 大坪研一・中川原捷洋・岩崎哲也 (1988) 新規育成米の利用特性. 日本食品工業学会誌 35:587-594.
- Okuno, K., H. Fuwa and M. Yano (1983) A new mutant gene lowering amylose content in endosperm starch of rice, *Oryza sativa* L. Japan. J. Breed. 33:387-394.
- Omura, T. and H. Satoh (1984) Mutation of grain properties in rice. In "Biology of Rice.", Japan Sci. Soc. Press, Tokyo/Elsevier, Amsterdam pp293-303.
- Pan, D. and O. E. Nelson (1984) A debranching enzyme deficiency in endosperms of the *Sugar1-1* mutants of maize. Plant Physiol. 74:324-328.
- Robyt, J. F. and S. Bemis (1967) Use of the autoanalyzer for determining the blue value of the amylose-iodine complex and total carbohydrate by phenol-sulfuric acid. Anal. Biochem. 19:56-60.
- Sano, Y. (1984) Differential regulation of waxy gene expression in rice endosperm. Theor. Appl. Genet. 68:467-473.
- 佐野芳雄・勝又光子 (1985) イネにおける Wx 遺伝子発現の調節機構 - Wx^a と Wx^b の温度反応. 育種 35 (別1):112-113.
- Sano, Y., M. Katsumata and E. Amano (1985a) Correlations between the amounts of amylose and Wx protein in rice endosperm. SABRAO J. 17:121-127.
- Sano, Y., M. Maekawa and H. Kikuchi (1985b) Temperature effects on the Wx

protein level and amylose content in the endosperm of rice.

J. Heredity 76:221-222.

笹原健夫・高橋征徳・上林美保子 (1982) 水稻の穂の構造と機能に関する研究
第3報 登熟期間中における穂重, 穂重増加速度およびわら重減少速度.

日作紀 51:18-25.

佐々木忠雄 (1991) 北海道における水稻の良食味育種. 育雑 41(別2):540-543.

佐々木忠雄・新井利直・稲津脩 (1980) 水稻品種系統ならびに雑種集団における
アミロース含有率の変異と選抜上の知見. 北海道立農試集報 44:72-78.

Satoh, H. and T. Omura (1981) New endosperm mutations induced by chemical mutagens in rice, *Oryza sativa* L. Japan. J. Breed. 31:316-326.

佐藤光・斉藤和裕・白石真貴夫・大村武 (1988) イネ胚乳でんぷんの熱糊化特性
の品種間差異. 育雑 38(別1):336-337.

Shannon, J. C. and D.L. Garwood (1984) Genetics and physiology of starch development. In "Starch: Chemistry and Technology." Academic Press Inc. pp25-86.

鈴木裕・川原崎裕司・村山登 (1966) 登熟期の気温と遮光が米とその澱粉の性状
に及ぼす影響について. 日本農芸化学会誌 40:1-7.

平宏和・平春枝・藤井啓史 (1979) 水稻うるち玄米の脂質含量および脂肪酸組成
におよぼす栽培時期の影響. 日作紀 48:371-377.

Takeda, Y., S. Hizukuri and B. O. Juliano (1986) Purification and structure of amylose from rice starch. Carbohydr. Res. 148:299-308.

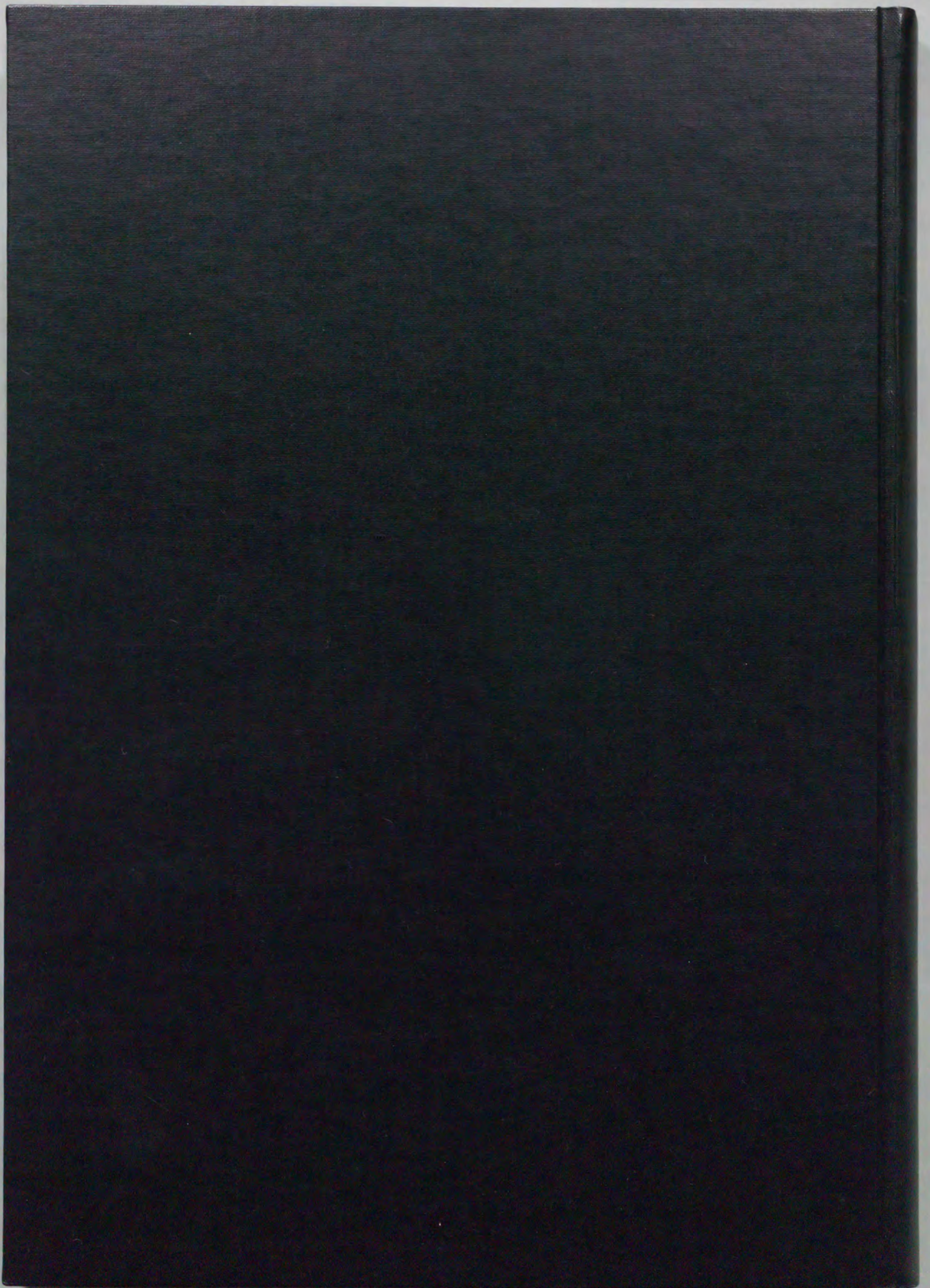
Takeda, Y., S. Hizukuri and B. O. Juliano (1987) Structures of rice amylopectins with low and high affinities for iodine. Carbohydr. Res. 168:79-88.

滝 基次 (1959) 澱粉のクロマトグラフィーに関する研究 (第3報) ペーパー
クロマトグラフィーによる澱粉のアミロースの分離定量について. 日本農芸
化学会誌 33:245-249.

Tamaki, M., M. Ebata, T. Tashiro and M. Ishikawa (1989a) Physico-ecological studies on quality formation of rice kernel. I. Effects of nitrogen top-dressed at full heading time and air temperature dur-

- ing ripening period on quality of rice kernel. Japan. Jour. Crop Sci. 58:653-658.
- Tamaki, M., M. Ebata, T. Tashiro and M. Ishikawa (1989b) Physico-ecological studies on quality formation of rice kernel. III. Effects of ripening stage and some ripening conditions on free amino acids in milled rice kernel and in the exterior of cooked rice. Japan. Jour. Crop Sci. 58:695-703.
- Tanaka, K., T. Sugimoto, M. Ogawa and Z. Kasai (1980) Isolation and characterization of two types of protein bodies in the rice endosperm. Agric. Biol. Chem. 44:1633-1639.
- Tanaka, Y. and T. Akazawa (1971) Enzymic mechanism of starch synthesis in ripening rice grains VI. Isozymes of starch synthetase. Plant & Cell Physiol. 12:493-505.
- Towbin, H., T. Staehelin and J. Gordon (1979) Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets : Procedure and some applications. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76:4350-4354.
- 植松美紀・藤田直子・平知明 (1991) *Oryza glaberrima* および *O. sativa* における *Wx* 遺伝子の量的効果と, *Wx* タンパク量とアミロース含量の関係. 育雑 41 (別 2) :72-73.
- Villareal, C. P. and B. O. Juliano (1986) Waxy gene factor and residual protein of rice starch granules. Stärke 38:118-119.
- Villareal, C.P. and B.O. Juliano (1989) Comparative levels of waxy gene product of endosperm starch granules of different rice ecotypes. Stärke 41:369-371.
- Voller, A., D. Bidwell and A. Bartlett (1979) *In* 'Enzyme-linked Immunosorbent Assay.' Dynatech Europe Borough House, Guernsey. ppl-125.
- Webb, B. D., C. N. Bollich, C. R. Adair and T. H. Johnston (1968) Characteristics of rice varieties in the U. S. Department of Agricul-

- ture collection. *Crop Sci.* 8:361-365.
- Williams, V. R., W. T. Wu, Y. Tsai and H. G. Bates (1958) Varietal differences in amylose content of rice starch. *Agr. Food Chem.* 6: 47-48.
- 柳瀬 肇・遠藤 勲・渋谷直人・大坪研一 (1982) パフドライス (膨化米) の加工と品質 (第1報) バッチ, エクストルーダー両方式による国内産米の加工条件と品質. *食総研報* 41:39-49.
- 矢野 昌裕 (1984) イネ胚乳澱粉のアミロース含量に関する突然変異の遺伝・育種学的研究. 学位論文, 九州大学 ppl-158.
- Yano, M., Y. Isono, H. Satoh and T. Omura (1984) Gene analysis of sugary and shrunken mutants of rice, *Oryza sativa* L. *Japan. J. Breed.* 34:43-49.
- Yano, M., K. Okuno, H. Satoh and T. Omura (1988) Chromosomal location of genes conditioning low amylose content of endosperm starches in rice, *Oryza sativa* L. *Theor. Appl. Genet.* 76:183-189.
- Yano, M., K. Okuno, J. Kawakami, H. Satoh and T. Omura (1985) High amylose mutants of rice, *Oryza sativa* L. *Theor. Appl. Genet.* 69:253-257.
- Yoshida, S. (1981) Ripening, *In* "Fundamentals of rice crop science" IRRI. Los Baños. Philippines. pp.58-63.



Inches 1 2 3 4 5 6 7 8
cm 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19

Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM: Kodak



Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM: Kodak

A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19



Inches 1 2 3 4 5 6 7 8
cm 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19

Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM: Kodak



Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM: Kodak

A 1 2 3 4 5 6 **M** 8 9 10 11 12 13 14 15 **B** 17 18 19

