

炊飯米のツヤと白さの客観的評価手法の開発と QTL の検出

秋田和則¹⁾・石川春香・平山正賢・岡本和之²⁾・岡野克紀

(茨城県農業総合センター生物工学研究所)

要約

炊飯米の外観は、単に見た目の良否だけでなく粘りや食味の総合評価にも関連しており、炊飯米の外観に着目することは、良食味米を選抜、育成する上で有益であると考えられる。そこで、炊飯米のツヤと白さについて、既知の画像解析による評価法をオートクレーブによる少量炊飯と組み合わせ、少量・多数のサンプルに適用可能となるよう撮影条件を検討した。さらに、画像解析値と食味官能評価等との関係の検討、ツヤおよび白さに関する画像解析値の QTL の検出を行った。

撮影条件を検討した結果、炊飯する精米は 15g、シャッター速度は 1/15 秒とし、ツヤに関する画像解析値のばらつきが大きいことから、1 個のカップあたり画像を 20 枚連続撮影し値を平均することとした。オートクレーブで炊飯した米飯のツヤは積算輝度値、Harris 特徴点、Eigen 特徴点で、白さは b*値で評価できると考えられた。

画像解析値のうちツヤと最も相関関係が高い積算輝度値の QTL は、第 2 染色体上の CAPS マーカー NIAS_Os_ac02000855 および NIAS_Os_aa02003577 近傍で 3 年間検出され、‘コシヒカリ’型のアリルがツヤを高める効果があり、DNA マーカーとして活用できる可能性があると考えられた。また、第 6 染色体上の SSR マーカー HvSSR6-19 近傍で‘コシヒカリ’型のアリルが b*値を減少させ、炊飯米の白さを高める QTL が検出され、同じ領域で‘コシヒカリ’型のアリルが玄米品質を高める QTL も検出された。

食味官能評価のツヤと白さは、どちらも総合評価と正の相関関係を示し、ツヤと白さを高めることは総合評価を高める上で重要であると考えられた。また、玄米品質が高いものほど炊飯米の白さが優れる傾向が認められた。

キーワード：水稲、炊飯米、ツヤ、白さ、画像解析、DNA マーカー、QTL

1. はじめに

近年、水稲品種がブランド米として評価されるためには、味や食感だけでなく、炊飯米の外観も優れることが求められる。水稲の品種育成において炊飯米の外観は、ツヤの良否、白さ、胚芽の残存程度、砕米・煮崩れの有無等により食味官能評価で評価される(福井・小林、1996)。このように、炊飯米の外観は様々な要素を含むが、この中でも「ツヤ」と「白さ」については個別に評価がされる場合がある。近年育成された水稲品種の中では、「つや姫」(結城ら、2010)、「雪若丸」(中場ら、2016)、「いちほまれ」(小林ら、2018)、「ゆめぴりか」(尾崎ら、2018)等の極良食味品種でツヤおよび白さの官能評価が行われている。

松永ら(1975)は、東北・北陸地方の品種を用いて、炊飯米のツヤと粘りの間に有意な相関関係があり、ツヤの判定により間接的に食味の優れる米を選抜できることを明らかにした。中場ら(1987)および川上・長澤(1992)は、ツヤが優れる系統ほど、硬さと粘りのバランスを示すテクスチャー特性値が高いことを明らかにした。崔・星(1998)および東ら(1994)は炊飯米のツヤと食味総合評価値との間に、重宗ら(2007)は炊飯米の外観と食味総合評価値の間に有意な相関関係があることを明らかにした。このように炊飯米の外観は、単に見た目の良否だけでなく粘りや食味の総合評価にも関連しており、炊飯米の外観に着目することは、良食味米を選抜、育成する上で有益であると考えられる。

炊飯米のツヤについては、広義の遺伝力は 0.521 であることが明らかにされた(藤巻・櫛淵、1975)。田中ら(2006)は、‘コシヒカリ’と‘アキヒカリ’の倍加半数体系系統群を用いて、炊飯米の外観とツヤの QTL を検出した。また、炊飯米の白さについては、明瞭な品種間差があることが確認され(Goto et al., 2014; 小木ら、2014)、

1) 現 茨城県農林水産部産地振興課

2) 現 茨城県農業総合センター農業大学校

QTL 解析も行われている (Shinada et al., 2015 ; 小林ら, 2015 ; 田中ら, 2018)。これらのことから、炊飯米のツヤと白さは遺伝的に改良可能な形質だと考えられる。

炊飯米の外観は人の目による官能評価で評価されるが、安定した評価には熟練を要し、パネラーの人数確保が必要となることから、多数のサンプルを評価することは容易ではない。この課題に対して、機器分析による客観的な評価手法の導入が有効であると考えられる。これまでに、炊飯米のツヤについては、柳原 (2000) が CCD カメラと画像解析処理装置を用いた画像解析による評価方法を報告した。一方で筆者らは、工業用の光沢計を用いたツヤの評価方法を検討したが、原理上、不可能であるとの結論に達した (秋田ら, 2020)。白さについては、Goto et al. (2014) は分光測色計を、小木ら (2014) はスキャナを用いた評価方法を報告した。さらに、ツヤと白さの両方を評価する方法として、町田ら (2017) は家庭用炊飯器で調理した炊飯米を、ドライヤーで湯気を飛ばしながらデジタルカメラで撮影し、パソコンで画像解析を行う方法を報告した。町田らの開発した画像解析ソフトウェアは無料で公開されており、デジタルカメラとパソコンがあれば実施可能である。

水稻育種においては少量・多数のサンプルの評価するために、数十 g の精米をビーカーに入れ、オートクレーブでまとめて炊飯する方法が知られている (須藤, 1996)。そこで本研究では、オートクレーブで炊飯した米飯に町田ら (2017) の画像解析法を組み合わせ、少量・多数のサンプルに適用できるように測定条件を検討した。さらに、画像解析により得られた解析値が、食味官能評価値や玄米品質等とどのような関係にあるのかを検討するとともに、ツヤと白さの QTL の検出を行った。

2. 材料および方法

2. 1 炊飯および画像解析の方法

後述する撮影条件の検討を経て、評価方法を次の通り設定した。

ステンレス製プリンカップ (71×55×30mm) に精米 15g をとり、洗米 (指で 10 回攪拌し排水する作業を 3 回) 後、加水率が 1.4 倍となるよう水道水を加えて、アルミホイルを被せた。1 時間浸漬した後、80°C に温めておいたオートクレーブ (HA-300MIV、(株)平山製作所) の上段にサンプルを並べた滅菌かごを入れ、105°C 20 分間圧力開放状態で加熱した。加熱後、30 分間蒸らしてからオートクレーブを開け、20°C のインキュベーターにおいて 30 分間放冷し、測定に供試した。なお、1 サンプルにつき 4 個 (4 反復) 炊飯した。

撮影にはデジタル一眼レフカメラ (Nikon D3500、(株)ニコン)、標準レンズ (AF-PNIKKOR 18-55mm f/3.5-5.6G VR、(株)ニコン)、およびコピースタンド (CS-A4、(株)LPL) を使用した (図 1)。光源にはマクロリングライト (VLR-490S、(株)LPL) を使用した。本製品は電池式であるが、電池の消耗に伴い明るさが低下したため、ダミー電池によりコンセントに接続し、明るさ調節は最大で撮影 30 分前には電源を入れ暖機して使用した。撮影条件は、カメラの高さ : 9.5cm、焦点距離 : 55mm、ホワイトバランス : オート、ISO 感度 : 100、シャッター速度 : 1/15 秒、絞り : f32 とし、暗室においてマクロリングライトをつけた状態で、プリンカップをレンズの直下に置き、1 個のカップにつき 20 枚連続撮影し、JPEG 形式の 2,416 万画素の画像を取得した。

画像解析には町田ら (2017) の開発した解析ソフト「Boiled Rice Image Analysis」を使用した (図 2、<https://www.kazusa.or.jp/kazusalab/>よりダウンロード可能)。ツヤについては、ツヤの部分をもととして検出し、その数を計測する Harris 特徴点および Eigen 特徴点と、明るさを示す L*値が一定以上の部分の面積を合計した積算輝度値を得た。白さ (色み) については、解析範囲内の L*値、a*値、b*値の平均値を取得した。上記撮影条件では、a*値は負の値を示し緑みの程度を、b*値は正の値を示し黄みの程度を



図 1 炊飯米の撮影

表した。画像上の解析範囲は幅 3,400×高さ 3,000 画素（計 1,020 万画素）とした（図 2）。

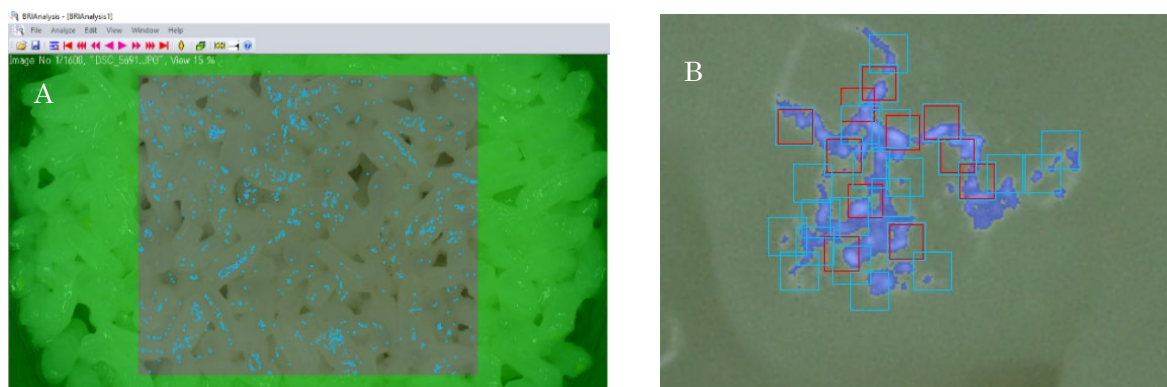


図 2 画像解析の様子

A：ソフトウェア画面で、中央四角部分が解析範囲

B：解析画面の拡大図で、小さな四角が特徴点、塗りつぶし部分は輝度値の積算部分

2. 2 画像解析による炊飯米のツヤと白さの評価方法の改良

2. 2. 1 供試材料

供試材料は、茨城県農業総合センター農業研究所内ほ場（茨城県水戸市）において栽培した玄米を使用した。撮影条件の検討には、2019 年産の炊飯米のツヤと白さが優れる‘コシヒカリ’と、どちらも劣る‘アキヒカリ’を用いた。

画像解析値と官能評価のツヤと白さとの相関関係の解析には、2021 年産の炊飯米のツヤと白さの程度が異なる 12 品種系統（‘ササミノリ’、‘ササニシキ’、‘トヨニシキ’、‘イナバワセ’、‘チヨニシキ’、‘生研 150 号’、‘コシヒカリ’、‘北陸 193 号’ほか）を用いた。

画像解析値と玄米品質等との関係の検討には、生産力検定試験区の収穫物を利用し、‘コシヒカリ’を基準として食味試験を行った品種系統を用いた。品種系統数は、2019 年が 45、2020 年が 35、2021 年が 97、3 か年で合計 177 であった。

収穫した玄米は 2019 年、2020 年はテスター精米機（MC-90A、東洋ライス株式会社）により歩留まり 90%で、2021 年はタテ形試験用精米機（VP-32T、株式会社山本製作所）により白度（+20）を目標にとり精した。精米は、砕米を 1.7mm のふるいで除去した後、目視で着色粒を取り除いた上で測定に供試した。

2. 2. 2 撮影条件の検討

撮影枚数、炊飯点数、シャッター速度、炊飯する精米量の検討を行った。検討の対象とした項目以外の撮影条件については、2. 1 の通りとした。

画像ごとの値のばらつきを把握するため、‘コシヒカリ’を 1 個炊飯し、500 枚連続撮影し画像解析を行った。画像 1 枚ごとの場合と、連続する 5、10、20 枚の画像の解析値を 1 枚ずつずらして移動平均した場合の値のばらつきを解析した。

炊飯したサンプルごとの値のばらつきを把握するため、‘コシヒカリ’を 36 個炊飯し、1 個あたり画像を 20 枚撮影して画像解析値を平均した。サンプル 1 個ごとの場合と、連続する 2、3、4 個のサンプルの解析値を移動平均して 1 つのデータとした場合の値のばらつきを解析した。

‘コシヒカリ’と‘アキヒカリ’を用い、シャッター速度（1/6～1/25 秒）および炊飯する精米量（10～20g）が画像解析値および品種間差に及ぼす影響を検討した。

2. 2. 3 画像解析値と官能評価の相関関係の検討

ツヤと白さの程度が異なる 12 品種系統をオートクレーブで炊飯し、画像解析とツヤと白さの官能評価を行った。官能評価は撮影の直後に行い、熟練したパネラー 1 名が‘コシヒカリ’を基準として -3（かなり劣る）～ +3（かなり優れる）の 7 段階で評価した。画像解析値と官能評価値の関係を相関係数と単回帰分析により解析

した。

2. 2. 4 食味官能評価によるツヤ、白さの評価値と諸形質との関係の検討

2019年から2021年の生産力検定試験供試系統を家庭用炊飯器（2019年および2020年：SR-HB103、パナソニック(株)、2021年：NP-GJ05-XT、象印マホービン(株)）で炊飯し、食味官能評価試験を行った。食味官能評価試験は、農業研究所および生物工学研究所の職員11～18名（平均14名）をパネラーとし、ツヤ、白さ、硬さ、粘り、味、総合の6項目について、「コシヒカリ」を基準の0点とし、かなり劣る・やわらかい・弱いを-3点、かなり優れる・硬い・強いを+3点とする7段階で評価した。また、玄米または精米を食味計（RCTA11A、(株)サタケ）、味度メーター（MA-90、東洋ライス(株)）、穀粒判別機（RGQI20A、(株)サタケ）、白度値（C600、(株)ケツト科学研究所）で評価するとともに、目視により玄米品質を1（上上）～9（下下）の9段階で評価した。また、食味官能評価に用いたのと同じの精米をオートクレーブで炊飯し、画像解析を行った。

これらのデータを用い、食味官能評価によるツヤと白さの評価値と、画像解析値などの項目との関係を解析するため、相関係数を求めた。

2. 3 ツヤと白さのQTLの検出

2. 3. 1 供試材料

「コシヒカリ」と「アキヒカリ」の交雑F₁の葎培養に由来する倍加半数体系統群（DHLs、Takeuchi et al., 2001）を、2018年から2021年に農業研究所内ほ場において栽培した。移植日は2018年が5月30日、2019年が5月23日、2020年が5月21日、2021年が6月2日であった。解析に供試した系統数は、全212系統のうち、2018年は十分な収穫物が得られた152系統、2019年および2020年は出穂期が両親に近い139系統、2021年は保有する全201系統を供試した（11系統は分譲種子が発芽しなかったため供試せず）。玄米100gをテスター精米機（MC-90A、東洋ライス(株)）により歩留まり90%でとう精し、碎米を1.7mmのふるいで除去した後、目視で黒や茶色の着色粒を取り除いた上で画像解析に供試した。また、2021年のみ目視により玄米品質を1（上上）～9（下下）の9段階で評価した。

2. 3. 2 多型解析

DHLsは、Takeuchi et al. (2001)による171種のDNAマーカーの遺伝子型データ（<https://rgp.dna.affrc.go.jp/E/publicdata/genotypedataDHLs/Introduction.html>）が公開されている。ただし用いられているマーカーの情報が古いため、ゲノムワイドな436種のSSRマーカー（Singh et al., 2010）で両親を解析し、多型を示したマーカーを用いてDHLsの多型解析を行った。なお、泳動には3%アガロースゲルを用いた。さらに第2染色体については、積算輝度値のQTLの位置をより詳細に特定するため、Q-TARO（<http://qtaro.abr.affrc.go.jp>、Yonemaru et al., 2010）により両親間のSNPsを抽出し、CAPSマーカーを設計して解析に用いた（表1）。

表1 第2染色体上に設計したCAPSマーカー

CAPSマーカー ^{a)}	物理位置 ^{b)}	プライマー(5'-3')	制限酵素
NIAS_Os_ab02000638	27,884,918	F TTGTGATCTCACCCAGTTGC R TTTGGCTATGGTTCACACG	AluI
NIAS_Os_aa02003577	32,133,621	F TAGCATCATATCGCATGGAG R TGGGCAATGGTAGAGTTGG	MspI
NIAS_Os_ac02000855	32,298,824	F TTGCACAGATGGCTCTTACG R AACCTCCGGTGACACTTCAG	HaeIII
NIAS_Os_aa02003532	30,815,956	F CCAATCAAAGCTCCATGTTTC R GGGAGGGTTGCATTCAGA	Hpy188III

a)マーカー名は、Q-TARO(Yonemaru et al., 2010)上でのSNPsの名称である。

b)物理位置はIRGSP 1.0 (Sakai et al., 2013)による。

2. 3. 3 QTL解析

遺伝解析には統計解析ソフトR (R Core Team, 2020)を用い、連鎖地図の作成はonemapパッケージ (Margarido

et al., 2007) を、QTL 解析は qtl パッケージ (Broman et al., 2003) を用いて行った。QTL 解析は区間マッピング法により 2cM 探索し、1,000 回の並べ替え検定によってゲノムワイドの 5%有意水準に対応する閾値を各形質に対して求め、LOD 値がこの閾値を越えた場合に QTL が検出されたと判定した。

3 結果

3. 1 画像解析による炊飯米のツヤと白さの評価方法の改良

3. 1. 1 撮影条件

(a) 撮影枚数

‘コシヒカリ’を1個炊飯し、連続撮影して画像解析を行い、画像ごとの値のばらつきを調べた。その結果、変動係数は Harris 特徴点で 17%、Eigen 特徴点で 11%とやや大きく、積算輝度値、L*値、a*値、b*値の変動係数は 1~3%と小さかった (表 2)。そこで、Harris 特徴点および Eigen 特徴点の変動係数を小さくするために、連続する 5、10、20 枚の画像の解析値を平均して 1 つのデータとしたところ、平均する画像の枚数が多いほど変動係数は小さくなり、20 枚平均の場合、Harris 特徴点の変動係数が 8%、Eigen 特徴点の変動係数が 4%となった (表 3)。

表2 画像間の画像解析値のばらつき

	Harris特徴点	Eigen特徴点	積算輝度値	L*値	a*値	b*値
最小値	92	606	48,100	69.9	-9.5	10.0
最大値	254	1,292	55,838	73.8	-9.2	10.4
平均値	165	1,037	52,229	71.7	-9.3	10.1
変動係数	17%	11%	3%	1%	1%	1%

a) ‘コシヒカリ’を1個炊飯し、500枚連続撮影して解析した (n=500)。

表3 連続する画像の解析値を平均した場合のばらつき

	Harris特徴点				Eigen特徴点			
	1枚 ^{b)}	5枚平均	10枚平均	20枚平均	1枚	5枚平均	10枚平均	20枚平均
n	500	496	491	481	500	496	491	481
最小値	92	117	124	124	606	763	797	896
最大値	254	213	208	197	1,292	1,210	1,173	1,124
平均値	165	165	165	165	1,037	1,038	1,039	1,039
変動係数	17%	10%	9%	8%	11%	7%	6%	4%

a) ‘コシヒカリ’を1個炊飯し、500枚連続で撮影した画像から解析値を得た。

b) 「1枚」は画像1枚ごと、「5枚平均」「10枚平均」「20枚平均」は連続する画像の解析値を移動平均し、解析した。

(b) 炊飯点数

‘コシヒカリ’を36個炊飯し解析した結果、変動係数は Harris 特徴点が 25%と最も大きく、次いで積算輝度値が 18%、Eigen 特徴点も 12%とやや大きかった (表 4)。一方、L*値、a*値、b*値の変動係数は 1~2%と小さかった。そこで、2~4 個のカップの解析値を平均して 1 つのデータとしたところ、4 個平均で Harris 特徴点、Eigen 特徴点、積算輝度値の変動係数は 11%、5%、9%と、平均しない場合に比べて小さくなった (表 5)。

表4 炊飯したサンプルごとの画像解析値のばらつき

	Harris特徴点	Eigen特徴点	積算輝度値	L*値	a*値	b*値
最小値	34	473	18,074	67.7	-9.9	11.7
最大値	124	861	44,769	70.5	-9.5	12.9
平均値	91	666	30,206	69.0	-9.8	12.2
変動係数	25%	12%	18%	1%	1%	2%

a) ‘コシヒカリ’を36個炊飯し(n=36)、1個につき20枚画像を撮影して画像解析値を平均した上で解析を行った。

表5 反復を設定した場合の画像解析値のばらつき

反復 ^{b)}	Harris特徴点				Eigen特徴点				積算輝度値			
	なし	2	3	4	なし	2	3	4	なし	2	3	4
n	36	35	34	33	36	35	34	33	36	35	34	33
最小値	34	61	64	70	473	569	574	601	18,074	20,524	21,647	22,341
最大値	124	117	109	106	861	786	765	747	44,769	39,632	35,691	36,565
平均値	91	91	91	91	666	666	667	668	30,206	30,238	30,261	30,317
変動係数	25%	14%	11%	11%	12%	7%	6%	5%	18%	12%	11%	9%

a) ‘コシヒカリ’を36個炊飯し、1個につき20枚画像を撮影し画像解析値を平均した。

b) 連続する2~4個のカップの画像解析値を移動平均し、1つのデータとした。

(c) 炊飯する精米量

ツヤと白さが優れる‘コシヒカリ’と、いずれも劣る‘アキヒカリ’を用いて、炊飯する精米量が画像解析値に及ぼす影響を検討した。その結果、精米量に対して a*値は反比例し、b*値は比例する傾向が認められた (図3)。Harris 特徴点、Eigen 特徴点、積算輝度値、L*値は、精米量によって変化は見られるものの明瞭な増減の傾向はなかった。

品種間差に着目すると、Harris 特徴点、Eigen 特徴点、積算輝度値は、精米量が増えるほど品種間差がやや大きくなる傾向が認められ、10g および 15~20g ではすべての項目で品種間に有意差が認められた。b*値は、精米量によらず品種間差はほぼ一定で、10g および 15~20g では品種間に有意差が認められた。a*値は、15g でのみ品種間に有意差が認められた。L*値は、精米量によらず、品種間に有意差が認められなかった。

なお、精米 20g では炊飯米表面のコントラストが乏しいためカメラの焦点が合いにくく、撮影の効率が悪かった。また、精米が 10g より少ないとプリンカップの底面が一部露出し、解析ができなかった。

(d) シャッター速度

‘コシヒカリ’と‘アキヒカリ’を用いて、シャッター速度が画像解析値に及ぼす影響を検討した。その結果、Harris 特徴点、Eigen 特徴点、L*値および a*値は、シャッター速度が速くなるほど値が減少する傾向が、反対に積算輝度値と b*値は値が増加する傾向が認められた (図4)。

品種間差に着目すると、Harris 特徴点と Eigen 特徴点はシャッター速度が速くなるほど差が小さくなる傾向が認められ、1/6~1/10 秒ではどちらも品種間に有意差があり、1/20~1/25 秒では Eigen 特徴点のみ有意差が認められた。一方、積算輝度値はシャッター速度が速くなるほど差が大きくなる傾向が認められ、1/8~1/25 秒で品種間に有意差が認められた。L*値、a*値、b*値の品種間差は、シャッター速度によらずあまり変化しなかった。L*値はすべてのシャッター速度で有意差が認められなかった。a*値は、1/6、1/8、1/13、1/15 秒で、b*値はすべてのシャッター速度で有意差が認められた。

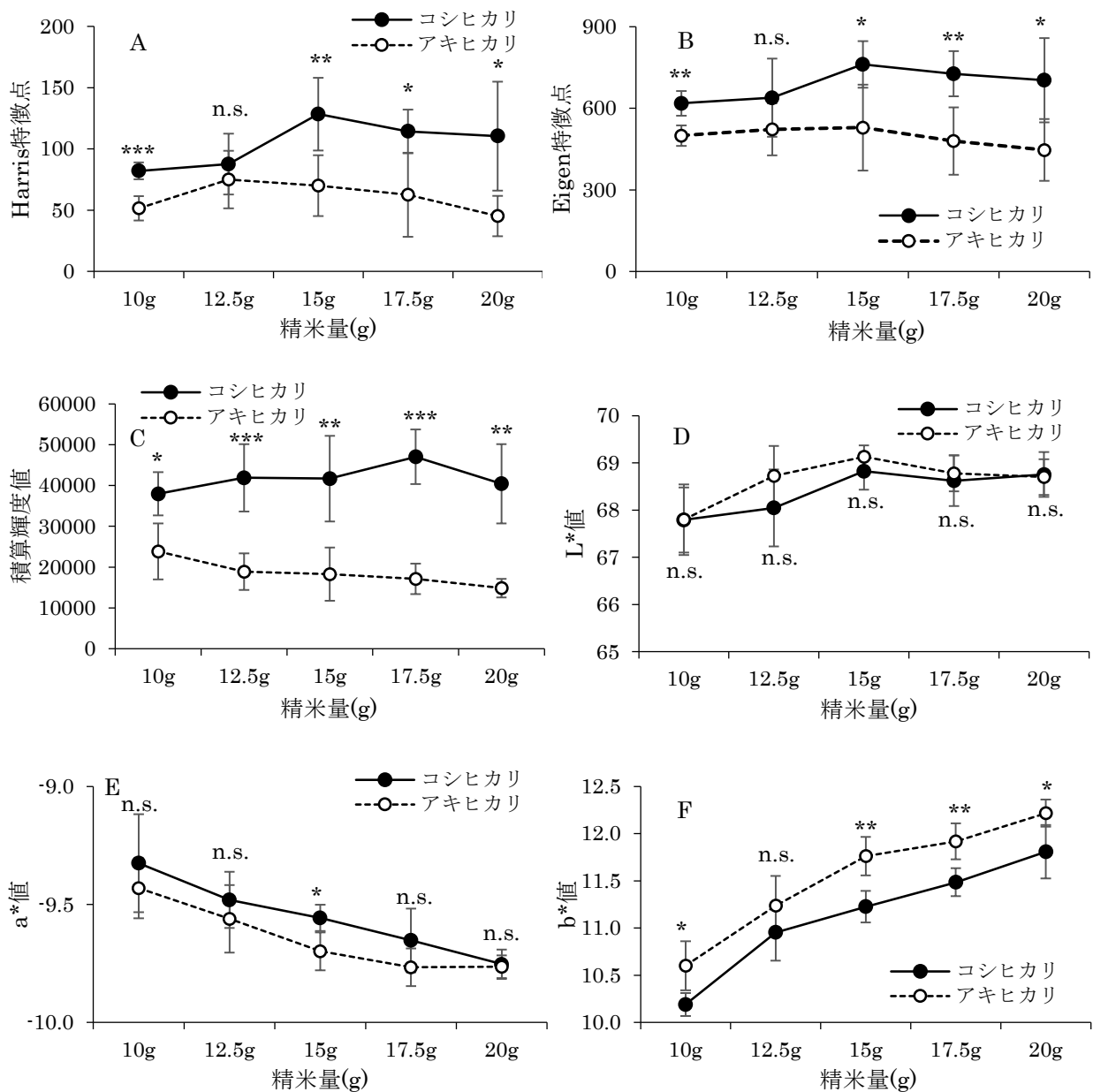


図3 精米量が画像解析値に及ぼす影響

A : Harris 特徴点、B : Eigen 特徴点、C : 積算輝度値、D : L*値、E : a*値、F : b*値。

エラーバーは標準偏差 (n=6) 。*はt検定において5%水準で、**は1%水準で、***は0.1%水準で、
 ‘コシヒカリ’ と ‘アキヒカリ’ の間に有意差があることを、n.s.は有意差がないことを示す。

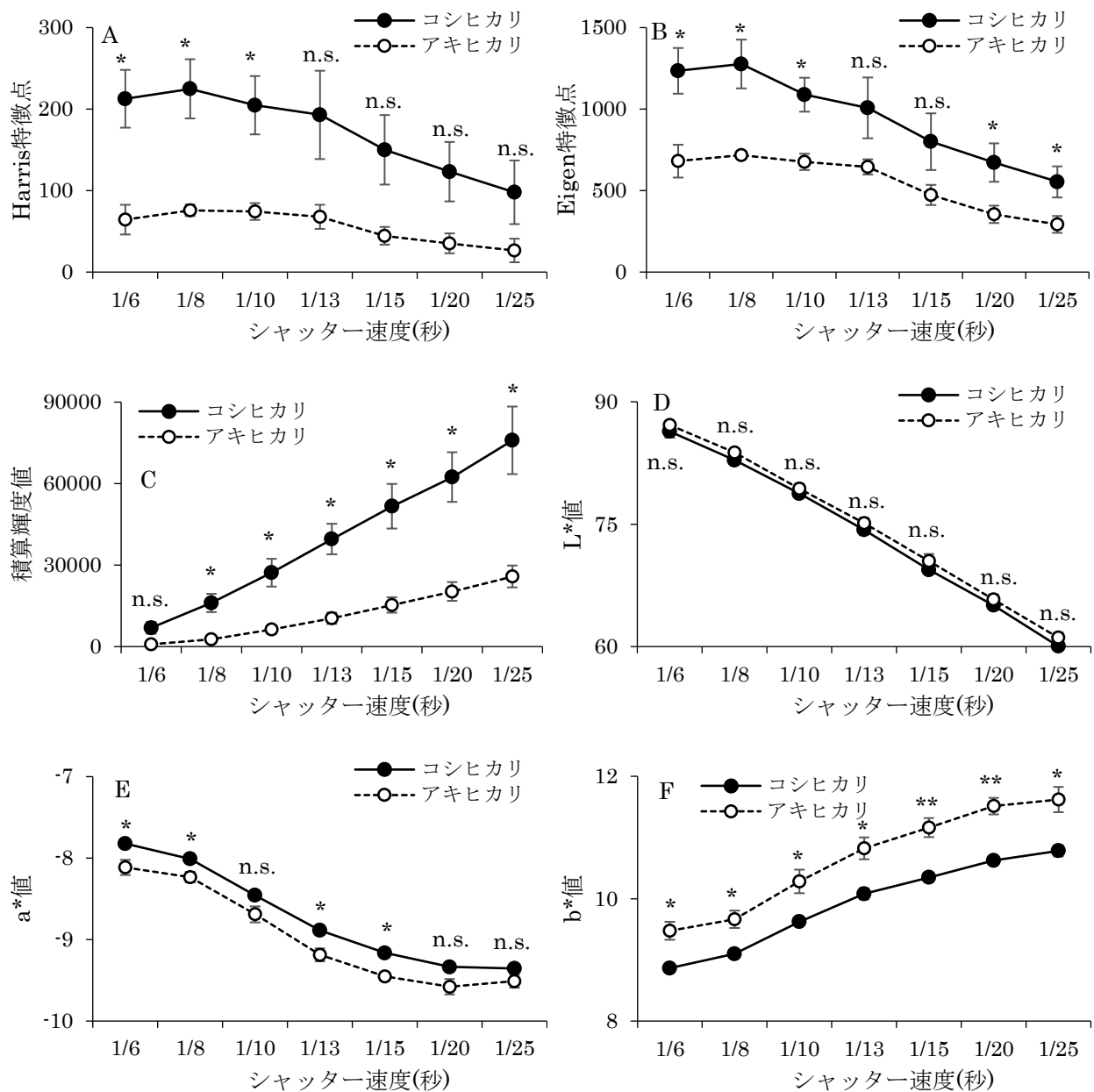


図4 シャッター速度が画像解析値に及ぼす影響

A : Harris 特徴点、B : Eigen 特徴点、C : 積算輝度値、D : L*値、E : a*値、F : b*値。

エラーバーは標準偏差 (n=3) 。*はt検定において5%水準で、**は1%水準で、

‘コシヒカリ’ と ‘アキヒカリ’ の間に有意差があることを、n.s.は有意差がないことを示す。

3. 1. 2 オートクレーブで炊飯した米飯の画像解析値と官能評価の関係

炊飯米のツヤと白さの程度が異なる12品種系統をオートクレーブで炊飯し、画像解析と、ツヤと白さの官能評価を行い、両者の相関係数を求めた。その結果、ツヤは積算輝度値およびHarris特徴点と有意な正の相関関係があり、Eigen特徴点も有意ではないものの (p=0.06) 正の相関関係を示す傾向が認められた (表6、図5)。白さはb*値と有意な負の相関関係が認められた。

表6 オートクレーブで炊飯した米飯の画像解析値と官能評価のツヤおよび白さとの相関係数

		画像解析値					
		Harris特徴点	Eigen特徴点	積算輝度値	L*値	a*値	b*値
官能	ツヤ	0.73 *	0.55 n.s.	0.91 *	0.14 n.s.	0.14 n.s.	-0.40 n.s.
評価	白さ	0.37 n.s.	0.43 n.s.	0.45 n.s.	0.20 n.s.	0.44 n.s.	-0.90 *

a) n=12、*は相関係数が5%水準で有意であることを、n.s.は有意でないことを示す。

b) 画像解析は4反復で、官能評価は2反復で実施した。

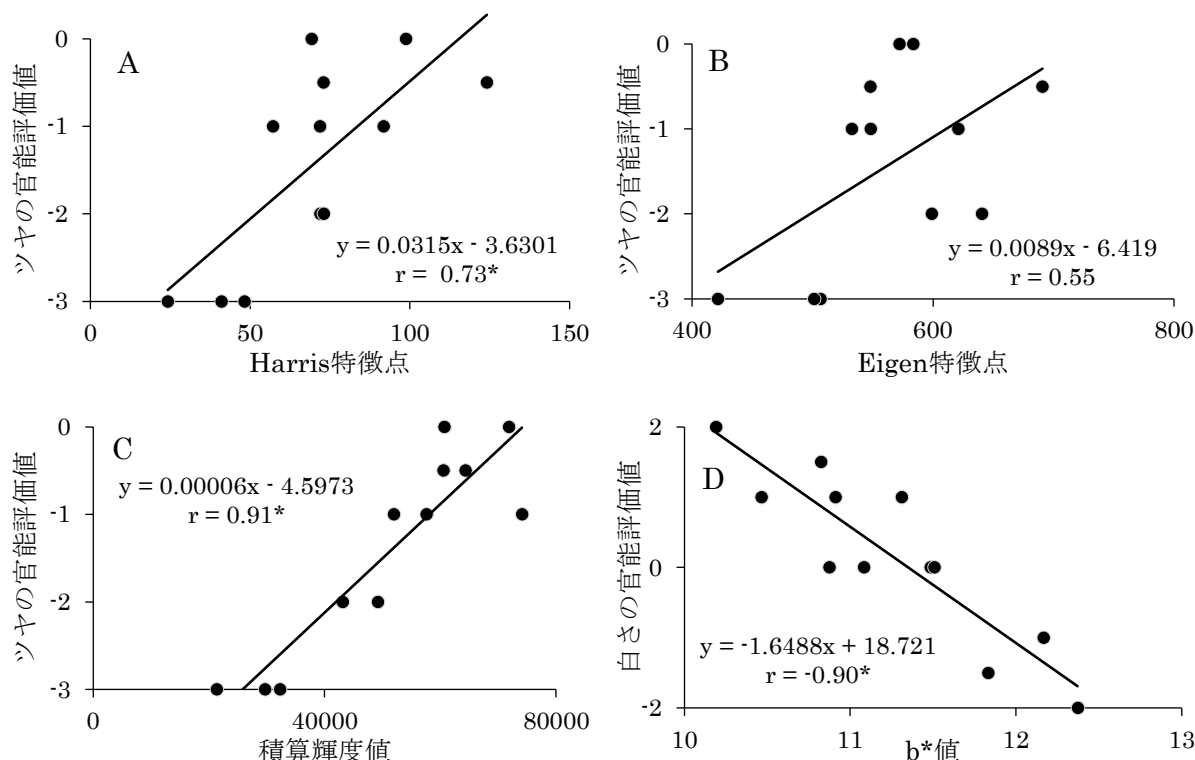


図5 オートクレーブで炊飯した米飯の画像解析値と官能評価のツヤおよび白さとの関係（抜粋）

A：ツヤと Harris 特徴点、B：ツヤと Eigen 特徴点、C：ツヤと積算輝度値、D：白さと b*値。

n=12、*は相関係数が5%水準で有意であることを示す。

画像解析は4反復で、官能評価は2反復で実施した。

3. 1. 3 食味官能評価によるツヤ、白さの評価値と諸形質との関係

食味官能評価におけるツヤと白さの評価値が、画像解析値やその他の形質とどのような関係にあるのかを明らかにするため、相関係数を求めた。

ツヤの食味官能評価値については、画像解析値の中で最も相関関係が高いのは積算輝度値であり、3か年を通じて有意な正の相関関係が認められた（表7）。また、Harris 特徴点、Eigen 特徴点との間には有意な正の相関関係が、b*値との間には有意な負の相関関係が認められた。L*値は相関係数が小さく、a*値は年によって傾向が異なった。食味官能評価の項目では、2019年と2021年にツヤと総合評価の間に有意な正の相関関係が認められた。ツヤと食味計および品質との間には、3か年を通じて一定の傾向は見られなかった。

白さの食味官能評価値については、画像解析値の中で最も相関関係が高いのは b*値であり、3か年を通じて有意な負の相関関係が認められた。Harris 特徴点、Eigen 特徴点、積算輝度値、L*値との間の相関係数は小さく、a*は年によって傾向が異なった。食味官能評価の項目の中では、3か年を通じて白さと総合評価との間に有意な正の相関関係が認められた。また、3か年中2か年で白さと味の間には有意な正の相関関係が認められた。一方、偏相関係数を求めると、白さと味の間には相関関係はなく、白さと総合評価、味と総合評価の間に有意な正の相関関係が認められた（図6）。3か年を通じて、白さと食味計の間に一定の傾向は見られなかったが、品質のうち整

粒歩合とは正の、玄米品質（値が小さいほど品質が優れる）とは負の有意な相関関係が認められ、整粒歩合が高く、玄米品質が優れるほど炊飯米の白さも優れる傾向があることが示された（図 7）。玄米白度および精米白度とは、一定の傾向が見られなかった。

単年度の結果ではあるが、味度値とツヤおよび白さの間には、有意な正の相関関係が認められた（図 8）。特に、ツヤと味度値の相関係数は、2021 年に調査したすべての項目の中で最も高く、白さについても、整粒歩合に次いで相関係数が高かった。

表7 食味官能評価におけるツヤおよび白さと諸形質との相関係数

		食味官能評価						凡例
		ツヤ			白さ			
		2019	2020	2021	2019	2020	2021	
画像解析	Harris特徴点	0.43 *	0.45 *	0.37 *	0.07 n.s.	0.06 n.s.	-0.09 n.s.	1.0
	Eigen特徴点	0.41 *	0.40 *	0.38 *	0.02 n.s.	-0.03 n.s.	-0.10 n.s.	0.8
	積算輝度値	0.49 *	0.61 *	0.41 *	0.05 n.s.	0.05 n.s.	-0.13 n.s.	0.6
	L*値	-0.01 n.s.	-0.18 n.s.	0.05 n.s.	0.22 n.s.	0.21 n.s.	0.07 n.s.	0.4
	a*値	0.01 n.s.	0.37 n.s.	0.36 *	-0.01 n.s.	0.35 n.s.	0.38 *	0.2
	b*値	-0.42 *	-0.48 *	-0.32 *	-0.54 *	-0.49 *	-0.41 *	0.0
食味官能評価	ツヤ	—	—	—	0.69 *	0.30 n.s.	0.08 n.s.	-0.2
	白さ	0.69 *	0.30 n.s.	0.08 n.s.	—	—	—	-0.4
	味	0.48 *	0.24 n.s.	0.05 n.s.	0.61 *	0.34 n.s.	0.24 *	-0.6
	粘り	0.39 *	0.04 n.s.	0.21 *	0.36 *	-0.23 n.s.	0.07 n.s.	-0.8
	硬さ	-0.14 n.s.	0.00 n.s.	-0.11 n.s.	0.05 n.s.	0.18 n.s.	-0.24 *	-1.0
	総合評価	0.67 *	0.19 n.s.	0.23 *	0.79 *	0.49 *	0.36 *	
食味計 ^{c)}	食味値	0.60 *	-0.04 n.s.	0.07 n.s.	0.56 *	0.11 n.s.	0.03 n.s.	
	タンパク含量	-0.51 *	0.07 n.s.	-0.02 n.s.	-0.50 *	-0.11 n.s.	-0.02 n.s.	
	アミロース含量	-0.60 *	0.11 n.s.	-0.06 n.s.	-0.55 n.s.	0.01 n.s.	-0.04 n.s.	
	脂肪酸	-0.43 *	0.05 n.s.	0.30 *	-0.47 *	-0.13 n.s.	-0.11 n.s.	
味度メーター	味度値	—	—	0.36 *	—	—	0.29 *	
品質	整粒歩合	0.52 *	-0.10 n.s.	0.04 n.s.	0.63 *	0.40 *	0.31 *	
	玄米品質	-0.46 *	0.19 n.s.	-0.09 n.s.	-0.60 *	-0.48 *	-0.22 *	
	玄米千粒重	-0.08 n.s.	0.37 n.s.	0.26 n.s.	0.03 n.s.	0.07 n.s.	-0.17 n.s.	
	玄米白度	-0.46 *	0.07 n.s.	-0.21 *	-0.38 *	-0.12 n.s.	-0.04 n.s.	
	精米白度	0.01 n.s.	0.32 n.s.	-0.16 n.s.	0.06 n.s.	0.38 n.s.	-0.03 n.s.	

a) 生産力検定試験に供試した品種系統のうち、「コシヒカリ」を基準として食味試験を行った中・晩生の品種系統の調査結果を基に作成した。品種系統数(n)は、2019年が45、2020年が35、2021年が97、3か年で計177である。

b) *は相関係数が5%水準で有意であることを、n.s.は有意でないことを示す。

c) 食味計には玄米を供試した。

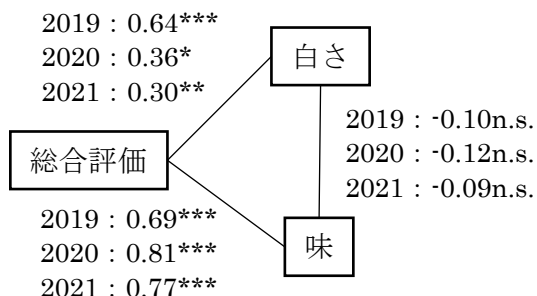


図6 食味官能評価の白さ、味および総合評価の間の偏相関係数

n=45 (2019年)、35(2020年)、97 (2021年)。
***は 0.1%、**は 1%、*は 5%水準で偏相関係数が有意であることを示す。

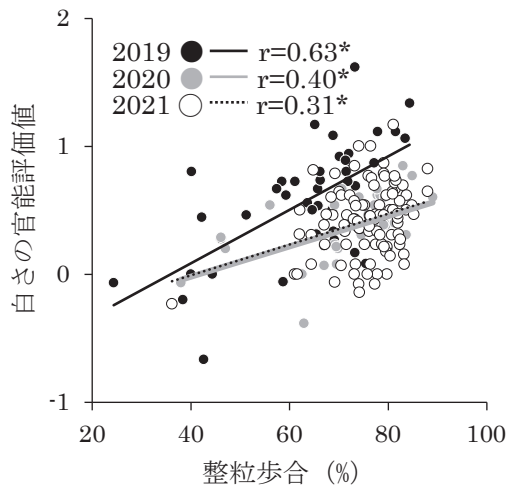


図7 食味官能評価の白さと整粒歩合の関係
n=45 (2019)、35 (2020)、97 (2021)、
*は相関係数 r が 5%水準で有意であることを示す。

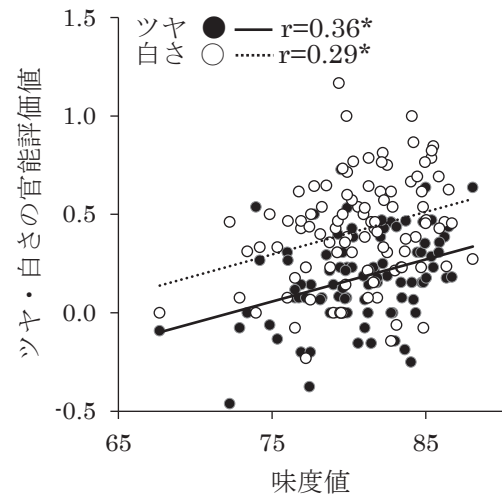


図8 食味官能評価のツヤおよび白さと味度値
の関係
n=97 (2021)、*は相関係数 r が 5%水準
で有意であることを示す。

3. 2 ツヤと白さの QTL の検出

(a) DHLs の形質変異

‘アキヒカリ’／‘コシヒカリ’の DHLs における各形質の頻度分布を図9に示した。画像解析値については、一部外れたデータがあるものの、大部分は連続分布となった。また、分布の幅は産年により異なった。両親に着目すると、ツヤに関連する Harris 特徴点、Eigen 特徴点、積算輝度値は、産年に関わらず‘コシヒカリ’の方が‘アキヒカリ’より大きかった。白さに関連する b^* 値は、4 か年を通じて‘コシヒカリ’の方が‘アキヒカリ’より小さかった。

出穂期については、熟期の近い系統を選んで供試した 2019 年および 2020 年は分布の幅が狭くなった。また、2018 年および 2021 年については、早生の‘アキヒカリ’に近い時期に大きなピークが、中生の‘コシヒカリ’より遅い時期に小さなピークがあった。

玄米品質については 2021 年のみ調査し、玄米品質の優れる‘コシヒカリ’並みの系統は極めて少なかった。一方で、白未熟粒や白死米などの粉質粒を多く含み、玄米品質が突出して劣る系統が 18 系統あった。

(b) 連鎖地図

既知の 171 座の多型情報に、新たに SSR マーカー 42 座、CAPS マーカー 4 座の多型情報を加えて連鎖地図を作成した(図 10)。新たに加えたマーカーのうち、36 座は既知のマーカーの間に位置し、既知のマーカーで多型が見られない染色体領域に位置するものは 10 座と少なかった。このことから、本研究で得られた連鎖地図の染色体に対するカバー率は、もとの連鎖地図と同程度の 60%程度 (Takeuchi et al., 2001) と推定された。

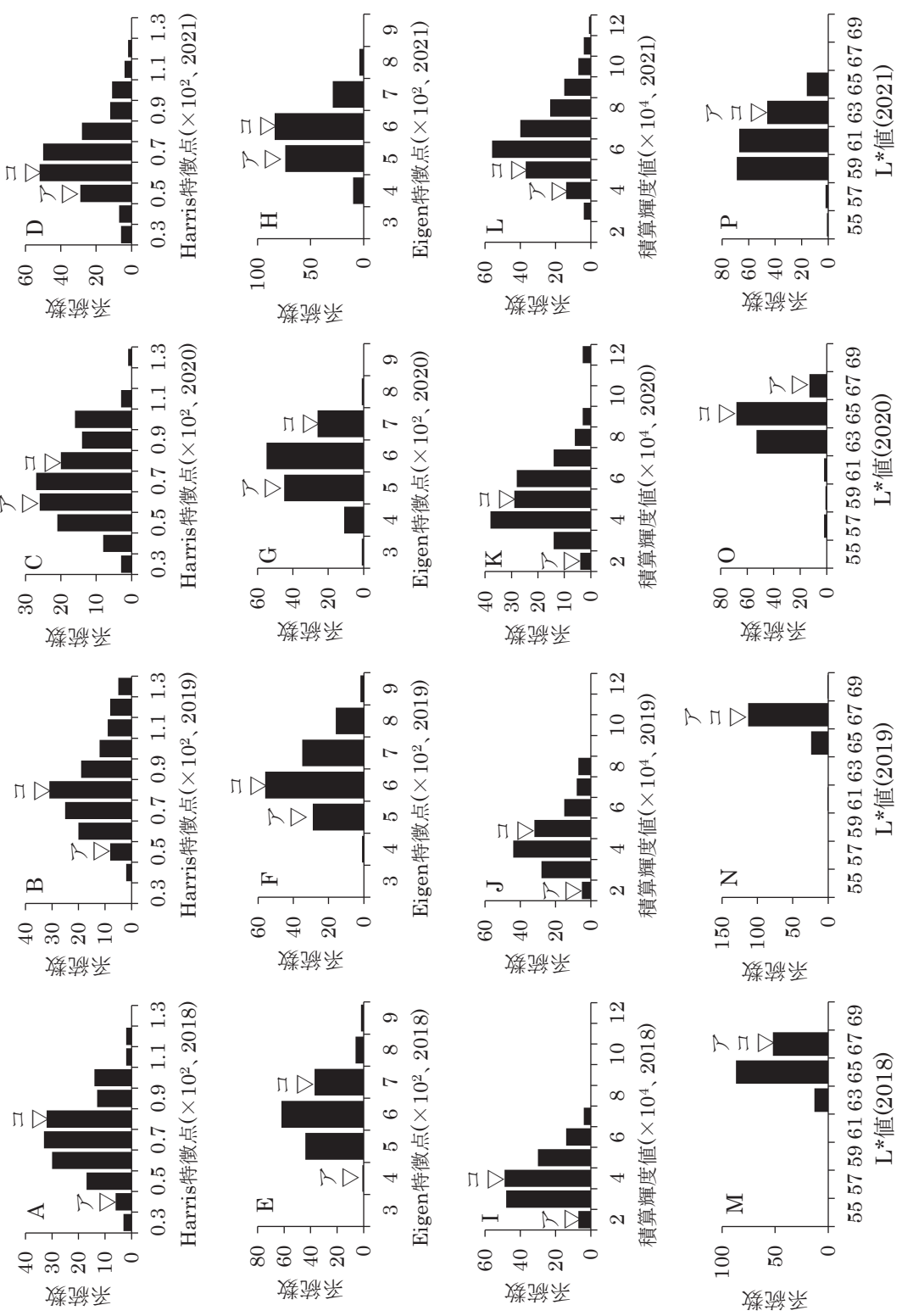


図9-1 ‘アキヒカリ’ / ‘コシヒカリ’ の倍加半数体系系統群の表現型の頻度分布

A～D : Harris 特徴点 (2018～2021 年、以下同じ)、E～H : Eigen 特徴点、I～L : 積算輝度値、M～P : L*値。

「ア」は ‘アキヒカリ’ を、「コ」は ‘コシヒカリ’ を示す。

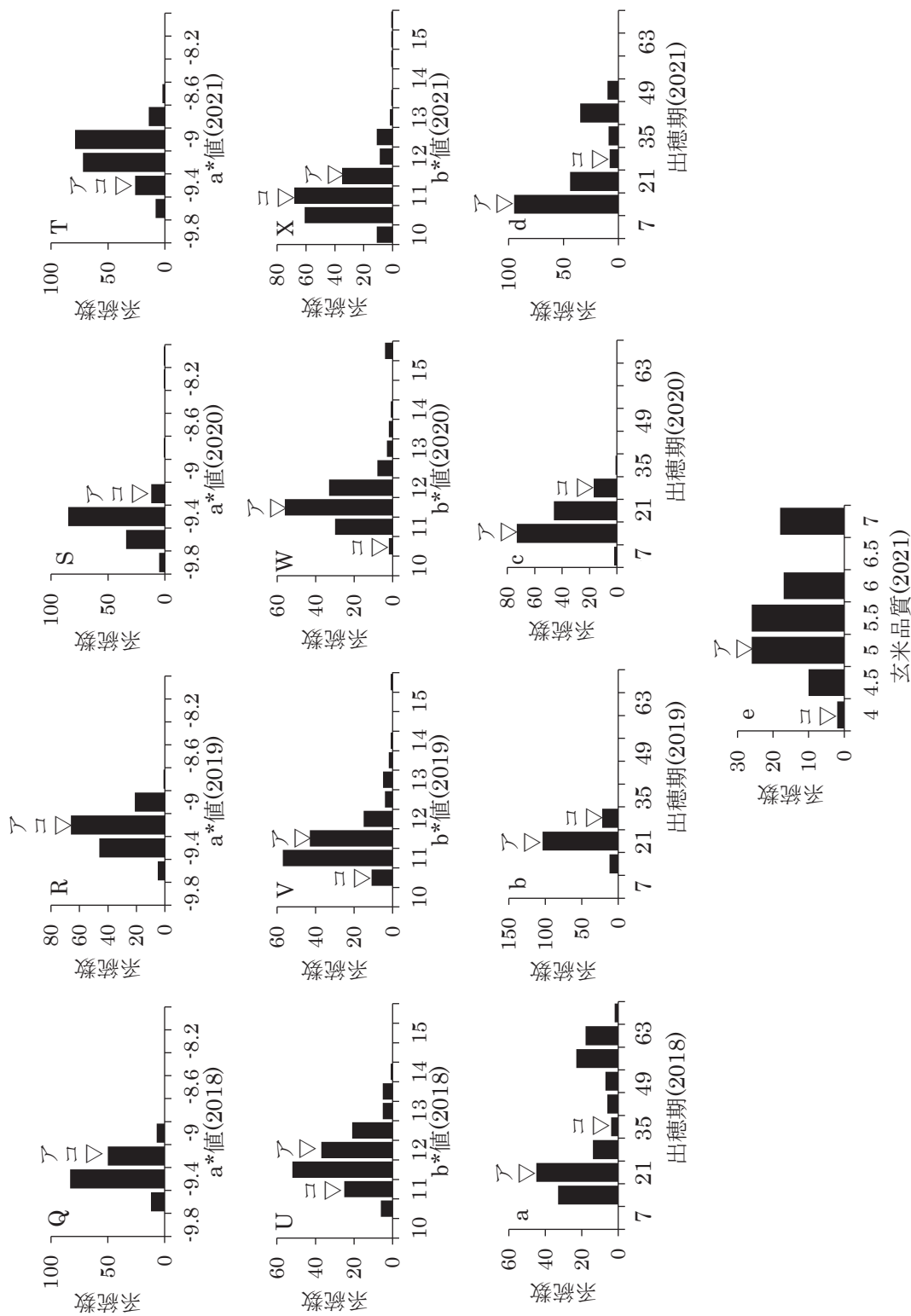


図9-2 ‘アキヒカリ’ / ‘コシヒカリ’ の倍加半数体系系統群の表現型の頻度分布
 Q~T : a*値 (2018~2021年、以下同じ)、U~X : b*値、a~d : 出穂期、e : 玄米品質 (2021年)。

「ア」は ‘アキヒカリ’ を、「コ」は ‘コシヒカリ’ を示す。

出穂期は、7月1日を1日目とした場合の日数を示す。玄米品質は2021年のみ調査し、値が小さいほど品質が良いことを示す。

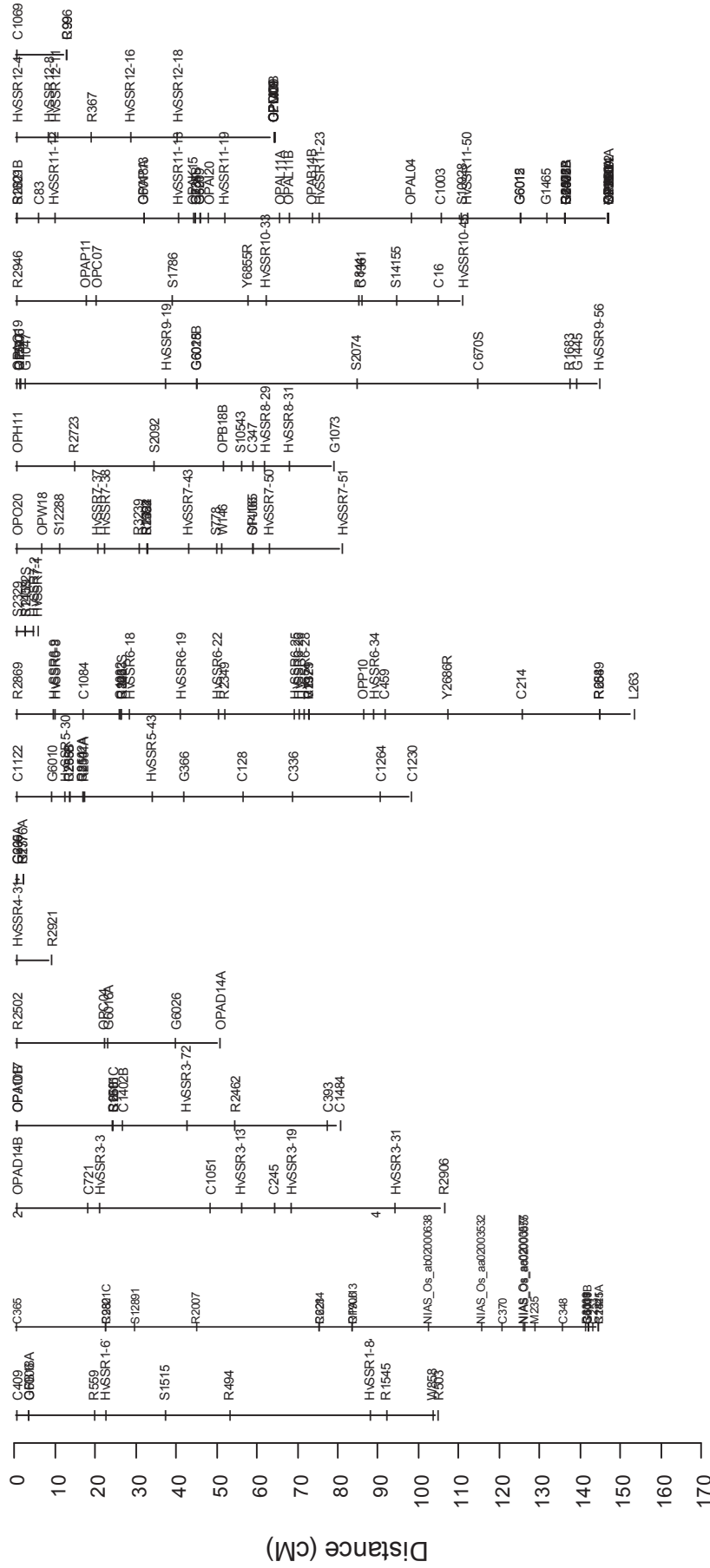


図10 ‘アキヒカリ’ / ‘コシヒカリ’ の連鎖地図

*は当該染色体上の2番目の連鎖群、**は3番目の連鎖群であることを示す。
DNA マーカーの密度が低いいため、1つの染色体に複数の連鎖群が座した。

(c) ツヤに関する画像解析値の QTL

ツヤに関しては 17 個の画像解析値の QTL が検出された (表 8)。検出された QTL は、すべて ‘コシヒカリ’ 型のアリルが画像解析値を増加させ、ツヤを高める効果があったが、寄与率は 5% から 17% 程度とあまり大きくなかった。第 2 染色体では、4 か年を通じて Harris 特徴点、Eigen 特徴点、積算輝度値の QTL が 96~127cM の領域で検出された (図 11)。このうちツヤと最も相関関係が高い積算輝度値の QTL は、NIAS_Os_ac02000855 および NIAS_Os_aa02003577 近傍で 3 年間検出された。第 6 染色体の HvSSR6-26 近傍では 2021 年に Harris 特徴点と Eigen 特徴点の QTL が検出された。第 7 染色体の HvSSR7-50 近傍では 2021 年に積算輝度値の QTL が検出された。第 10 染色体の HvSSR10-45 近傍では 2018 年に Eigen 特徴点と積算輝度値の QTL が検出された。

(d) 白さ (色み) に関する画像解析値の QTL

白さに関しては 7 個の QTL が検出されたが、複数年に渡り検出された QTL はなく、寄与率も 4% から 13.5% と小さかった (表 8)。これら 7 個の QTL のうち 5 個は 2018 年のサンプルで検出されており、2019 年に検出されたものはなかった。炊飯米の白さと相関関係を示す b^* 値の QTL は、2018 年に第 3 染色体の C668 近傍、第 7 染色体の HvSSR7-37 近傍、第 9 染色体の HvSSR9-56 近傍で、2021 年に第 6 染色体の HvSSR6-19 近傍で検出され、いずれも ‘コシヒカリ’ 型のアリルが b^* 値を減少させる効果があった (図 11)。L* 値の QTL は、2018 年に第 3 染色体の C393 近傍で検出された。a* 値の QTL は、2018 年に第 2 染色体の NIAS_Os_aa02003532 近傍、2020 年に第 8 染色体の OPH18H 近傍で検出された。

(e) 玄米品質および出穂期の QTL

玄米品質については 2021 年のみ調査し、第 6 染色体の HvSSR6-19 近傍で QTL が検出され、‘コシヒカリ’ 型のアリルが玄米品質を高める効果があった (表 8、図 11)。他の QTL との関係を見ると、同じ染色体領域では 2021 年に b^* 値の QTL が検出され、‘コシヒカリ’ 型のアリルが b^* 値を減少させ、白さを高める効果があった。

出穂期については、第 6 染色体の V19 近傍で、作用力の大きな QTL が 4 か年にわたり検出され、‘コシヒカリ’ 型のアリルが晩生化に作用する効果があった。第 3 染色体の C393 近傍では、2018 年と 2021 年に QTL が検出され、‘コシヒカリ’ 型のアリルが早生化に作用する効果があった。他の QTL との関係を見ると、第 6 染色体の V19 近傍では 2021 年に Harris 特徴点および Eigen 特徴点の QTL が検出された。

表8 ‘アキヒカリ’ / ‘コシヒカリ’ のDHLsで検出されたQTL

項目	画像解析	連鎖群 ^{a)}	近傍マーカー	年	位置 (cM)	LOD値	寄与率 ^{b)} (%)	相加効果 ^{c)}	閾値 ^{d)}	
ツヤ	Harris特徴点	2	NIAS_Os_aa02003532	2018	116.0	3.58	10.2	11	2.80	
			NIAS_Os_ab02000638	2019	108.0	5.92	17.3	20	2.89	
			NIAS_Os_ab02000638	2020	100.0	5.71	17.1	17	2.75	
			NIAS_Os_aa02003532	2021	115.7	8.94	16.2	14	2.77	
			6	HvSSR6-26	2021	69.7	3.22	4.9	8	2.77
	Eigen特徴点	2	NIAS_Os_aa02003532	2018	116.0	3.18	9.1	53	2.68	
			NIAS_Os_ab02000638	2019	108.0	4.38	13.3	77	2.76	
			NIAS_Os_ab02000638	2020	96.0	4.32	13.0	68	2.86	
			NIAS_Os_aa02003532	2021	115.7	5.93	10.5	52	2.77	
			6	HvSSR6-26	2021	69.7	4.38	7.4	43	2.77
			10	HvSSR10-45	2018	110.0	3.39	9.7	54	2.68
	積算輝度値	2	NIAS_Os_ac02000855	2018	127.0	5.41	14.6	8,231	2.81	
			NIAS_Os_aa02003577	2019	124.0	5.18	14.9	11,283	2.83	
			NIAS_Os_ac02000855	2020	127.0	1.68	5.3	18,556	1.32	
NIAS_Os_aa02003532			2021	114.0	8.88	16.3	14,361	2.72		
7*			HvSSR7-50	2021	66.0	4.12	6.8	9,698	2.72	
10			HvSSR10-45	2018	110.0	3.78	10.4	6,918	2.81	
白さ (色み)	L*値	3*	C393	2018	74.0	3.52	9.9	0.60	2.79	
	a*値	2	NIAS_Os_aa02003532	2018	116.0	3.44	9.8	0.08	2.61	
			8	OPH18H	2020	44.0	2.13	6.1	-0.12	2.13
	b*値	3*	C668	2018	20.0	3.06	5.5	-0.40	2.65	
			7*	HvSSR7-37	2018	16.0	2.83	5.5	-0.33	2.65
			9	HvSSR9-56	2018	142.0	3.26	4.4	-0.29	2.65
			6	HvSSR6-19	2021	36.0	6.10	13.5	-0.68	2.77
玄米品質		6	HvSSR6-19	2021	36.0	6.10	13.5	-0.68	2.77	
出穂期	3*	C393	2018	70.0	11.90	25.7	-21	2.77		
		C393	2021	72.0	9.73	20.9	-12	2.83		
	6	V19	2018	76.0	19.10	36.2	24	2.77		
		V19	2019	78.0	16.70	33.2	5	2.62		
		V19	2020	78.0	20.10	39.0	7	2.81		
		V19	2021	76.0	29.61	47.0	17	2.83		

a) 連鎖群の番号は染色体番号と同一である。「*」は、当該染色体上の「2番目の」連鎖群を意味する。

b) 全分散に対して各QTLが説明する分散の割合。

c) ‘アキヒカリ’型アレルに対する‘コシヒカリ’型アレルの効果。

d) 有意水準5%。

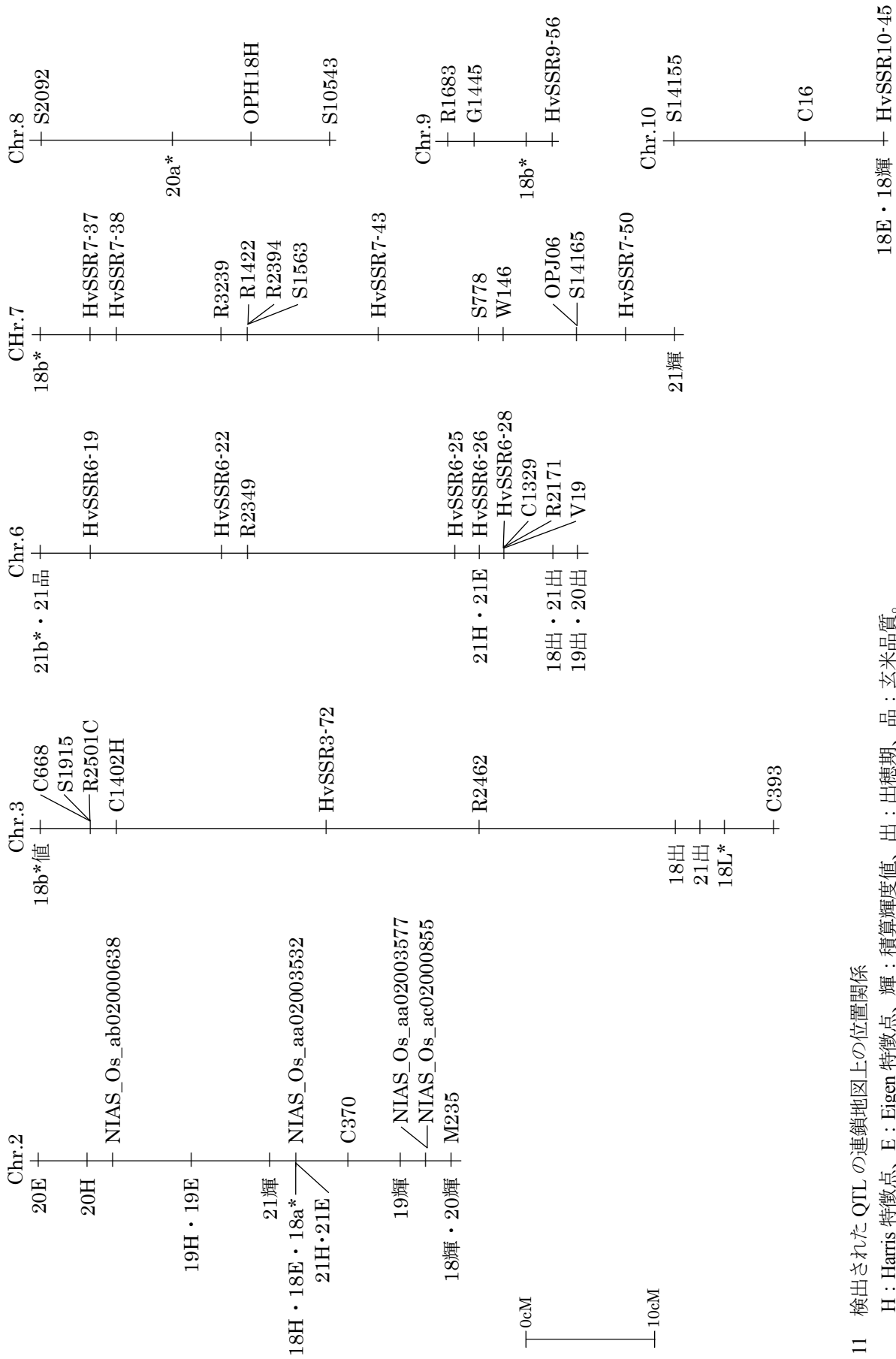


図 11 検出された QTL の連鎖地図上の位置関係

H : Harris 特徴点、E : Eigen 特徴点、輝 : 積算輝度値、出 : 出穂期、品 : 玄米品質。

19~21 は 2019~2021 年を示す。QTL が検出された連鎖地図の部分抜粋した。

4 考察

4.1 画像解析によるツヤと白さの評価方法

(a) 撮影条件

本研究では撮影条件として、炊飯する精米量とシャッター速度の影響を検討した。

炊飯する精米量は画像解析値に影響し、Harris 特徴点、Eigen 特徴点、積算輝度値では精米量が増えるほど品種間差が拡大する傾向が認められた (図 3)。一方、精米量が多いと炊飯米表面のコントラストが乏しいためカメラの焦点が合いにくく、作業効率が劣った。水稻育種の初期世代では得られる収穫物が少ないことから、使用する精米は少ないことが望ましい。これらのことから、本研究では精米量を中間の 15g に設定した。

シャッター速度も画像解析値に影響し、品種間差の大きさに着目すると、速くなるほど Harris 特徴点と Eigen 特徴点は品種間差が小さくなる傾向が、反対に積算輝度値は品種間差が大きくなる傾向が認められた (図 4)。このように、画像解析の項目間で逆の傾向があったことから、本研究では Harris 特徴点、Eigen 特徴点、積算輝度値のすべての項目で品種間差がある程度の大きくなるよう、シャッター速度を中間の 1/15 秒とした。一方、品種間の有意差に着目すると、有意差が検出できた項目が最も多かったのは 1/8 秒で、L*値を除くすべての画像解析値の品種間差が有意となった。このことから、1/8 秒もシャッター速度として有望であると考えられた。

(b) 画像解析値のばらつき

本研究では 1 個のサンプルを連続撮影することで画像ごとのばらつきを、複数個のサンプルを解析することで炊飯したサンプルごとのばらつきを明らかにしようとした。その結果、ばらつきの指標である変動係数は、画像ごとの場合は Harris 特徴点、Eigen 特徴点で大きく、炊飯したサンプルごとの場合は Harris 特徴点、Eigen 特徴点、積算輝度値で大きかった。変動係数は標準偏差÷平均値で求められ、平均値の大小を無視して、集団の平均値まわりのデータのばらつきを、相対的に比較することができる (畠山、1995)。対象とする評価手法の変動係数が大きい場合には、信頼できる結果を得るために反復を多めにとるなどの対応が必要になる。値のばらつきを小さくできれば、撮影枚数や炊飯点数、精米量を減らし、調査の省力化・効率化につなげることが可能である。

画像ごとのばらつきについては、連続撮影した複数枚の画像の解析値を平均することで変動係数はやや小さくなった (表 3)。したがって、撮影枚数が多いほどデータの変動係数は小さくなるが、撮影と画像解析に要する時間は長くなる。本研究では 1 個のカップにつき画像 20 枚を連続撮影することとしたが、これは使用したカメラで連続撮影を行う際、18 枚目頃からシャッターの間隔がゆっくりになり、20 枚ちょうどでシャッターボタンから指を離すことが容易だったためである。

炊飯したサンプルごとのばらつきについては、複数サンプルの解析値を平均すると変動係数はやや小さくなった (表 5)。本研究で用いた機材の場合、1 日に 4 回の炊飯が可能であり、1 回のとう精で 4 個分の精米が得られることから、作業効率を考慮して、1 サンプルあたり 4 個炊飯することとした。

画像ごとのばらつきの要因としては、連続撮影した画像の明るさにむらがあることから、シャッター速度の微妙なブレ、マクロリングライトの高速点滅に伴うフリッカー現象の影響が考えられた。また、画像を JPEG 形式で保存したため、圧縮に伴うノイズの影響も考えられた。炊飯したサンプルごとのばらつきの要因としては、炊飯米表面の凹凸の程度の違いや、炊き方のむらなどが影響していると考えられた。炊飯器で調理し、本研究とは別機種のカメラを使用した町田ら (2017) と変動係数を比較すると、Harris 特徴点および Eigen 特徴点の変動係数は、町田らよりも本研究の方が小さいか同等で、b*値については本研究の方がかなり小さかった (表 9)。このように、異なる機材を用いても Harris 特徴点と Eigen 特徴点のばらつきが大きいことから、このばらつきは本手法の測定原理上、不可避のものと考えられた。

表9 画像解析値の変動係数の比較

比較元	品種	n	Harris特徴点			Eigen特徴点			b*値		
			平均値	SD	CV	平均値	SD	CV	平均値	SD	CV
本研究	コシヒカリ	36	91	23	25%	666	80	12%	12.2	0.2	2%
町田ら(2017)	コシヒカリ	9	798	249	31%	3,442	675	20%	0.08	0.15	188%
	日本晴	5	495	230	46%	2,465	347	14%	0.49	0.25	51%

a) 変動係数CV=標準偏差SD÷平均値

b) 本研究と町田らとは、炊飯米の表面積や解析範囲の設定、撮影時の露出等が異なるため、画像解析値が大きく異なる。

(c) オートクレープで炊飯した米飯の画像解析値と官能評価の関係

オートクレープで炊飯した米飯のツヤは、ツヤの官能評価値と正の相関関係を持つ積算輝度値、Harris 特徴点および Eigen 特徴点で評価が可能で、白さは官能評価値と負の相関関係を持つ b*値で評価が可能であると考えられた (表 6、図 5)。町田ら (2017) も、ツヤは Harris 特徴点および Eigen 特徴点で、白さは b*値で評価が可能であるとしており、本研究の結果と一致した。また、柳原 (2000) は、ある閾値以上の輝度値をもつ部分の累積画素数によりツヤを評価できるとしており、本研究の積算輝度値がツヤと相関関係を示すという結果と一致した。

炊飯器で調理した米飯の食味官能評価におけるツヤおよび白さと、オートクレープで炊飯した米飯の画像解析値との相関を検討したところ、ツヤについては積算輝度値、Harris 特徴点、Eigen 特徴点、b*値と、白さについては b*値と有意な相関関係が認められた (表 7)。このことから、オートクレープで炊飯した米飯の画像解析値から、炊飯器で調理した米飯のツヤと白さの傾向を推定できると考えられた。ただし、相関係数はあまり高くないことから、正確な推定は困難であることに留意が必要である。

本研究では、食味官能評価のツヤと、画像解析値で黄みを示す b*値との間に有意な相関関係が認められた。町田ら (2017) は官能評価でツヤと白さが正の相関関係を示すことを確認しており、その理由として、炊飯米のツヤと白さが共通の遺伝子により制御され連動している可能性や、ツヤと白さは遺伝的には無関係であるが、ヒトの視覚では白いものほどツヤがあるように見える可能性を指摘している。本研究でもそういったことが関与している可能性が考えられた。

4. 2 食味官能評価によるツヤ、白さの評価値と諸形質との関係

炊飯器で調理した米飯の食味官能評価におけるツヤおよび白さの値と、玄米品質など諸形質との関係を検討した。

食味官能評価の中では、ツヤ、白さともに総合評価と正の相関関係を示したことから、炊飯米のツヤと白さを高めることは、総合評価の向上につながると考えられた (表 7)。一方、白さと味の間に正の相関関係が認められたが、偏相関係数から、白さと味の相関は疑似相関であり、実際には相関はなく、無関係であると考えられた。

玄米品質や食味値との関係については、ツヤは一定の傾向は見られなかったが、白さは玄米品質が高いものほど炊飯米の白さも優れる傾向が認められた (図 7)。水稻の品種育成においては玄米品質による選抜が頻繁に行われるが、これには炊飯米の白さも向上させる効果が期待できると考えられた。

味度値とツヤおよび白さは、単年度の結果ではあるがそれぞれ正の相関関係を示し、特にツヤと味度値の相関係数は、2021 年に調査したすべての項目の中で最も大きかった (表 7、図 8)。味度値は、炊飯米表面の保水膜の厚さを測定しているとされ、ツヤとの関係が指摘されている (長沢ら、1994)。また、整粒歩合が高くなるほど味度値が高くなるとの報告 (水多ら、1996 ; 小林ら、1999) もある。このことから、水稻の育種において、味度値や玄米品質を指標とした選抜により、炊飯米のツヤや白さを高める可能性が考えられた。

4. 3 ツヤと白さの QTL の検出

(a) 連鎖地図

本研究で用いた ‘アキヒカリ’ / ‘コシヒカリ’ の DHLs は、Takeuchi et al. (2001) により既に連鎖地図が作成され、多型情報も公開されている。しかし、これらの連鎖地図に用いられているのは RFLP マーカーおよび

RAPD マーカーが大半であり、マーカーの情報が古い。そこで本研究では、ゲノムワイドな SSR マーカーセットを用い、連鎖地図の再作成を試みた。しかし、SSR マーカー436 種のうち多型が得られたのは 42 種であり、その所在も偏りがあったことから、連鎖地図を一新することはできず、既知の多型情報に新規に取得した SSR マーカーの多型情報を加えて連鎖地図を作成した (図 10)。SSR マーカーの多型が少なかったのは、‘コシヒカリ’ と ‘アキヒカリ’ がどちらも日本稲で、遺伝的に比較的近縁であるためだと考えられた。SSR マーカーでは多型が少なかったことから、ツヤに関する画像解析値の QTL が多く検出された第 2 染色体では、SNPs による CAPS マーカーを作成して連鎖地図に組み込んだ。

(b) ツヤに関する画像解析値の QTL

ツヤと最も相関関係が高い積算輝度値の QTL は、第 2 染色体の CAPS マーカー NIAS_Os_aa02003577 および NIAS_Os_ac02000855 近傍で 3 年間検出され、‘コシヒカリ’ 型のアリルが積算輝度値を高める効果があり、これらの CAPS マーカーはツヤの DNA マーカーとして活用できる可能性があると考えられた (表 8、図 11)。田中ら (2006) は本研究と同じ DHLs を用いて、同じ染色体領域でツヤの官能評価値の QTL を検出しており、‘コシヒカリ’ 型のアリルがツヤを高める効果があったと報告している。このことから、本研究と田中らの検出した QTL は同一の可能性もある。さらに、田中らは同じ領域で、‘コシヒカリ’ 型のアリルが炊飯米の粘りを高める QTL を検出しており、ツヤと粘りの QTL が関係する可能性を指摘している。したがって、NIAS_Os_aa02003577 および NIAS_Os_ac02000855 を用いた選抜を行った場合、ツヤと粘りの両方を高める効果が期待できると考えられた。

第 6 染色体の HvSSR6-26 近傍では、2021 年に Harris 特徴点と Eigen 特徴点の QTL が検出された。田中ら (2006) は、同じ染色体領域で ‘コシヒカリ’ 型のアリルが炊飯米外観と粘りを高める QTL を検出した。大槻ら (1997) は ‘アキヒカリ’ と ‘密陽 23 号’ の交雑後代において、同じ染色体領域にツヤ、粘りおよび滑らかさの QTL を検出した。これらのことから、本研究において検出した QTL は、これらの QTL と同一の可能性もある。一方、同じ第 6 染色体の V19 近傍では ‘コシヒカリ’ 型のアリルが晩生化に作用する QTL が 4 年間検出された。田中らは、出穂が遅くなるとアミロース含量の増加を生じ、米の粘りが減少する (Asaoka et al., 1989) のに対し、第 6 染色体の QTL は、‘コシヒカリ’ 型のアリルが出穂を遅らせ、粘りを高めるものであったことから、出穂と、粘りおよび炊飯米外観の QTL は異なる遺伝子座であると推定した。このことから、本研究でも、第 6 染色体の Harris 特徴点および Eigen 特徴点と、出穂期の QTL は異なる遺伝子座であると考えられた。

第 10 染色体の HvSSR10-45 近傍では、2018 年に Eigen 特徴点と積算輝度値の QTL が検出された。田中ら (2006) も、そのやや近くの S14155 近傍でツヤの QTL を検出しており、本領域にツヤに関する遺伝子が存在する可能性が考えられた。第 7 染色体では、2021 年に積算輝度値の QTL が検出されたが、田中らは第 7 染色体では QTL を検出していないことから、新規の QTL であると考えられた。

(c) 白さ (色み) に関する画像解析値の QTL

2021 年に、第 6 染色体の HvSSR6-19 近傍では ‘コシヒカリ’ 型のアリルが b^* 値を減少させ、炊飯米の白さを高める効果を持つ QTL と、‘コシヒカリ’ 型のアリルが玄米品質を高める QTL が検出された (表 8、図 11)。本研究において、玄米品質が優れるほど食味官能評価の白さも優れる傾向が示されたことから、本 QTL は玄米品質を高め、それにより炊飯米の白さも高める効果が期待できると考えられた。

2018 年に、第 3 染色体の C668 近傍、第 7 染色体の HvSSR7-37 近傍、第 9 染色体の HvSSR9-56 近傍で、‘コシヒカリ’ 型のアリルが b^* 値を減少させ、炊飯米の白さを高める QTL が検出され、また第 3 染色体では L^* の QTL が、第 2 染色体では a^* 値の QTL が検出された。このように 2018 年には白さに関する QTL が 5 個検出されたのに対し、2019 年から 2021 年には 0~1 個の QTL しか検出されなかった。この QTL の検出年次の偏りの原因として考えられるのは、通常、サンプルは収穫から 1 年以内に炊飯米外観の調査を行ったのに対し、2018 年のサンプルのみ収穫後の約 1 年半後に炊飯米外観の調査を行ったことである。古米化が進むと米飯の黄み (b^* 値) の度合いが強くなることが報告されている (貝沼, 1979) ことから、2018 年に検出された b^* 値の QTL は、‘コシヒカリ’ 型のアリルが古米化を抑制し、炊飯米の色味の変化を抑える働きを持つ可能性が考えられた。

‘コシヒカリ’ と ‘アキヒカリ’ の炊飯米の白さには、目視でも明確な差異があり、DHLs においても、 L^* 値、 a^* 値、 b^* 値には系統間差があった。それにも関わらず、白さに関する QTL はツヤに関する QTL に比べ検出数が

少なかった。この理由として、今回作成した連鎖地図の染色体全体に対するカバー率は約 60%であり (Takeuchi et al., 2001)、白さに関する QTL が連鎖地図の外に存在する可能性が考えられた。

4. 4 画像解析によるツヤと白さの評価方法

本研究では、オートクレーブによる少量炊飯と、町田ら (2017) の画像解析とを組み合わせ、ツヤと白さを評価するための条件設定を行った。本手法により取得した画像解析値は官能評価と有意な相関関係があり、DHLs の解析により QTL を検出することができた。この一部は、先行研究における官能評価での炊飯米のツヤや外観の QTL と同一であると考えられた。これらのことから、本手法による炊飯米のツヤと白さの評価は可能であると考えられた。

本手法は専用の測定機器を必要とせず、ツヤと白さの両方を客観的に評価できる。本研究で使用した機材の場合、1 回の炊飯あたり 42 個のカップ、1 日あたり 168 個のカップの測定が可能である (図 12)。1 サンプルを 4 反復、すなわち 4 個のカップで炊飯し測定するとすれば、1 日に 42 サンプルを評価できることになり、これは炊飯器を使った通常の食味官能評価に比べて非常に効率的である。水稻育種における系統選抜や、QTL 解析のように大量の材料を扱う場面では、本手法は重要なツールになると考えられた。

水稻の育種において炊飯米のツヤは、良食味米を間接的に評価する手法として重視されてきた。本手法で炊飯米のツヤと白さを評価する場合、1 個のカップにつき精米 15g、4 反復であれば精米 60g が必要となり、本県的水稻育種においてこの量の精米が得られるのは F₅ 世代の単独系統以降である。一方、オートクレーブでの炊飯による米飯のツヤの官能評価では、少ないものでは精米 4g で評価をしている事例 (山口ら、1997) もある。本研究で炊飯に用いたプリンカップは、できるだけ多くの米粒が写真に入るよう底面積のやや大きいものを使用した。50mL のトルビーカーなど底面積のより小さい容器を使用すれば、必要な精米量を減らせる可能性がある。

本手法の問題点として、ツヤに関する画像解析値のばらつきがやや大きいことが挙げられる。本研究では、良食味品種である‘コシヒカリ’と、食味が不良なことで知られる‘アキヒカリ’のツヤの品種間差は検出することができたが、どの程度の差までを安定して検出できるのかは検討が必要である。

時刻	1回目	2回目	3回目	4回目
8:00				
9:00	洗米・浸漬			
	予熱			
10:00	加熱	洗米・浸漬		
	放冷	加熱		
11:00	照明			
	撮影			
12:00	片付け	放冷		
		撮影		
13:00		片付け		
			洗米・浸漬	
14:00			予熱	
			加熱	洗米・浸漬
15:00				
			放冷	加熱
16:00			照明	
			撮影	
17:00			片付け	放冷
				撮影
				片付け

図 12 オートクレーブによる少量炊飯の撮影スケジュールの例
1 回あたり 42 個のカップ、1 日あたり 42 サンプル × 4 反復 (個) の測定が可能。必要人員は 2 名。

謝辞

‘アキヒカリ’ / ‘コシヒカリ’ の倍加半数体系系統群は、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構次世代作物研究開発センター (現作物研究部門) より分譲いただいた。

本研究の実施にあたり、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構作物研究部門オーダーメイド育種基盤グループの田中淳一博士には、DNA の分析技術をご指導いただいた。福井県農業試験場品種開発研究部には、本研究のもととなった画像解析技術についてご教授いただいた。山形県農業総合研究センター水田農業研究所水稻部、地方独立行政法人北海道立総合研究機構農業研究本部上川農業試験場研究部水稻グループおよび中

中央農業試験場加工利用部農産品質グループには、視察研修を受け入れていただき、炊飯米のツヤと白さの評価手法についてご教授いただいた。そして、茨城県農業総合センター農業研究所の現業職員および会計年度任用職員の皆さんには、本研究の遂行にあたり多大なる協力をいただいた。最後に、茨城県農業総合センター生物工学研究所普通作育種研究室の江幡加代子氏、後藤三枝子氏、鈴木裕紀氏、赤上幸広氏には、炊飯米の画像解析およびDNAの分析にあたり多大なる協力をいただいた。ここに記して厚く御礼申し上げる。

付記

本研究は、文部科学省特別電源所在県科学技術振興事業補助金の助成を受けて実施した。本研究の一部は、日本育種学会第139回、141回講演会において発表した。

引用文献

- 秋田和則・深沢芳隆・岡本和之（2020）光沢計による炊飯米の光沢測定を試み．育種学研究 22（別1）：153（講要）．
- Asaoka, M, K Okuno, K Hara, M Oba and H Fuwa (1989) Effects of environmental temperature at the early developmental stage of seeds on the characteristics of endosperm starches of rice (*Oryza sativa* L.), Journal of the Japanese Society of Starch Science 36:1-8.
- 東 聡志・佐々木行雄・石崎和彦・近藤 敬・星 豊一（1994）新潟県における水稻品種の品質・食味の向上 第7報 効率的食味選抜のための各種測定法の比較．北陸作物学会報 29：35-36.
- Broman KW, H Wu, S Sen, GA Churchill (2003) R/qtl: QTL mapping in experimental crosses, Bioinformatics 19:889-890.
- 中場 勝・後藤清三・谷藤雄二・佐藤晨一・桜田 博・菊地栄一（1987）水稻の良食味系統の選抜効率化．日本作物学会東北支部会報 30：42-43.
- 中場 勝・結城和博・佐野智義・後藤 元・渡部幸一郎・森谷真紀子・佐藤久実・水戸部昌樹・齋藤信弥・阿部洋平・齋藤 寛・本間猛俊・齋藤久美・鈴木隆由輝・渡部貴美子（2016）水稻新品種「山形112号」の育成．山形県農業研究報告 8：11-43.
- 藤巻 宏・櫛淵欽也（1975）炊飯米の光沢による食味選抜の可能性．農業及び園芸 50：253-257.
- 福井清美・小林 陽（1996）食味官能検査．イネ育種マニュアル（山本隆一・堀末 登・池田良一共編）．養賢堂、東京、pp.74-76.
- Goto H, N Asanome, K Suzuki, T Sano, H Saito, Y Abe, M Chuba and T Nishio (2014) Objective evaluation of whiteness of cooked rice and rice cakes using a portable spectrophotometer, Breeding Science 63:489-494.
- 畠山英夫（1995）分布の取り扱いと変動係数について．獣医情報科学雑誌 1995：1-7.
- International Rice Genome Sequencing Project (IRGSP) (2005) The map-based sequence of the rice genome, Nature 436:793-800.
- 崔 仁録・星 豊一（1998）新潟県における水稻品種の品質・食味の向上：第1報炊飯光沢による食味の簡易検定法の検討．北陸作物学会報 23：25-27.
- 貝沼やす子（1979）古米の搗精歩合が炊飯に及ぼす影響について．家政学雑誌 30：672-678.
- 川上 修・長澤裕滋（1992）食味関連成分および物理的食味測定値と米食味の関係．北陸作物学会報 27：8-9.
- 小林麻子・町田芳恵・片岡知守・田村克徳・富田 桂（2015）炊飯米の白さに関する遺伝的要因の解析．育種学研究 17（別2）：74（講要）．
- 小林麻子・富田 桂・林 猛・田野井 真・町田芳恵・中岡史裕・酒井 究・渡辺和夫・両角悠作・清水豊弘（2018）良食味水稻新品種「いちほまれ」の育成．育種学研究 20：138-143.
- 小林 渡・舘山元春・三上泰正（1999）良食味系統選抜における味度メーターの利用（1）．東北農業研究 52：31-32.
- Margarido G R A, A P Souza and A A F Garcia (2007) OneMap: software for genetic mapping in outcrossing species, Hereditas 144:78-79.
- 松永和久・佐々木武彦・鈴木啓司（1975）水稻品種の品質食味改善に関する育種的研究 II 米の食味簡易検定法—炊飯米の光沢と粘りの関係について．日本作物学会東北支部会報 17：18-19.
- 町田芳恵・林 篤司・相良直哉・七夕高也・富田 桂・田野井 真・小林麻子（2017）画像解析による炊飯米の

- 外観の評価. 育種学研究 19 : 103-108.
- 水多昭雄・佐野幸一・及川 勉・高橋浩明 (1996) 味度メーターによる食味評価について. 日本作物学会東北支部会報 39 : 63-64.
- 長沢裕滋・川上 修・大源正明 (1994) 食味関連成分および物理的食味測定値と米食味の関係 : 第 4 報味度値による選抜および F1 の味度値. 北陸作物学会報 29 : 32-34.
- 小木芳恵・七夕高也・富田 桂・小林麻子 (2014) スキャナと画像解析ソフトを用いた炊飯米の白さの測定法. 育種学研究 16 : 115-120.
- 大槻 寛・清水 恒・上原泰樹・八木忠之・小川紀男・芦川育夫・清水博之・田村克徳・太田久稔・黒田昌治・福田善通 (1997) イネの食味に関する QTL 解析. 育種学雑誌 47 (別 2) : 174 (講要).
- 尾崎洋人・佐藤 毅・沼尾吉則・吉村 徹・木下雅文・品田博史・粕谷雅志・木内 均・前川利彦・平山裕治・佐々木忠雄・相川宗巖・菊地治己・丹野 久・田中一生・新橋 登 (2018) 水稻新品種「ゆめびりか」の育成. 北海道立総合研究機構農業試験場集報 102 : 1-13.
- R Core Team (2020) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/> (2022 年 7 月 1 日アクセス) .
- Sakai H, S S Lee, T Tanaka, H Numa, J Kim, Y Kawahara, H Wakimoto, C Yang, M Iwamoto, T Abe, Y Yamada, A Muto, H Inokuchi, T Ikemura, T Matsumoto, T Sasaki and T Itoh (2013) Rice Annotation Project Database (RAP-DB): An integrative and interactive database for rice genomics, *Plant & Cell Physiology* 54:e6.
- 重宗明子・笹原英樹・後藤明俊・三浦清之・吉田智彦 (2007) 水稻品種育成地における食味官能試験の精度の検討. 日本作物学会紀事 76 : 306-310.
- Shinada H, T Yamamoto, E Yamamoto, K Hori, Y Hirayama, T Maekawa, H Kiuchi, H Sato and T Sato (2015) Quantitative trait loci for whiteness of cooked rice detected in improved rice cultivars in Hokkaido, *Breeding Science* 65:201-207.
- Singh H, R K Deshmukh, A Singh, A K Singh, K Gaikwad, T R Sharma, T Mohapatra and N K Singh (2010) Highly variable SSR markers suitable for rice genotyping using agarose gels, *Molecular Breeding* 25:359-364.
- 須藤 充 (1996) 炊飯光沢検定. イネ育種マニュアル (山本隆一・堀末 登・池田良一共編). 養賢堂、東京、pp. 76-78.
- Takeuchi Y, H Hayasaka, B Chiba, I Tanaka, T Shimano, M Yamagishi, K Nagano, T Sasaki and M Yano (2001) Mapping quantitative trait loci controlling cool-temperature tolerance at booting stage in temperate japonica rice, *Breeding Science* 51:191-197.
- 田中 勲・小林麻子・富田 桂・竹内善信・山岸真澄・矢野昌裕・佐々木卓治・堀内久満 (2006) イネ日本型品種における食味の粘りおよび外観に關与する量的形質遺伝子座の検出. 育種学研究 8 : 39-47.
- 田中淳一・鈴木啓太郎・堀清 純 (2018) 染色体断片置換系統群を用いた「タカナリ」と「コシヒカリ」の食味の違いに關与するゲノム領域の推定. 育種学研究 20 (別 1) : 71 (講要).
- 柳原哲司 (2000) 画像解析による炊飯米の外観評価. 日本食品科学工学会誌 47 : 516-522.
- 山口誠之・小綿寿志・春原嘉弘・東 正昭 (1997) イネの良食味、いもち病抵抗性系統の選抜. 東北農業試験場研究報告 92 : 35-42.
- Yonemaru J, T Yamamoto, S Fukuoka, Y Uga, K Hori and M Yano (2010) Q-TARO: QTL Annotation Rice Online Database, *Rice* 3:194-203.
- 結城和博・佐藤久実・中場 勝・櫻田 博・佐野智義・本間猛俊・渡部幸一郎・水戸部昌樹・宮野 齊・中場理恵子・横尾信彦・森谷真紀子・後藤 元・齋藤信弥・齋藤久美 (2010) 水稻新品種「つや姫」(山形 97 号) の育成. 山形県農業研究報告 2 : 19-40.

Evaluation of Glossiness and Whiteness of Cooked Rice by Image Analysis and Detection of Quantitative Trait Loci

**Kazunori AKITA¹, Haruka ISHIKAWA, Masakata HIRAYAMA,
Kazuyuki OKAMOTO and Katsunori OKANO**

Summary

In this study, we carried out to develop an image analysis method to evaluate the glossiness and whiteness of cooked rice with an autoclave and detect quantitative trait loci (QTLs) for these appearance traits with this method.

The number of feature points and integrated luminance value of the images were significantly correlated to the values of glossiness of cooked rice evaluated by sensory tests. Also, b* values of the images were significantly correlated to the values of whiteness. Evaluated whiteness values of cooked rice by sensory tests were correlated to the quality of appearance.

Detection of QTLs for glossiness and whiteness was performed using doubled haploid lines derived from crosses between two japonica rice cultivars, 'Koshihikari' and 'Akihikari'. Glossiness and whiteness were estimated based on the value obtained by image analysis. Putative QTLs for glossiness based on image analysis were detected on chromosome 2, 6, 7 and 10. 'Koshihikari' alleles increased the value of glossiness at these QTLs. Putative QTLs for b* value correlated with whiteness based on image analysis were detected on chromosome 3, 6, 7 and 9. 'Koshihikari' alleles increased the value of whiteness at these QTLs.

Keywords: *Oryza sativa* L., cooked rice, glossiness, whiteness, image analysis, QTL

¹ Address: Plant Biotechnology Institute, Ibaraki Agricultural Center, 3165-1 Ago, Kasama, Ibaraki 319-0292, Japan