

醸造用二条オオムギの硬質粒に関する研究

早乙女和彦・星川清親¹⁾・伊藤 浩²⁾・宮川三郎

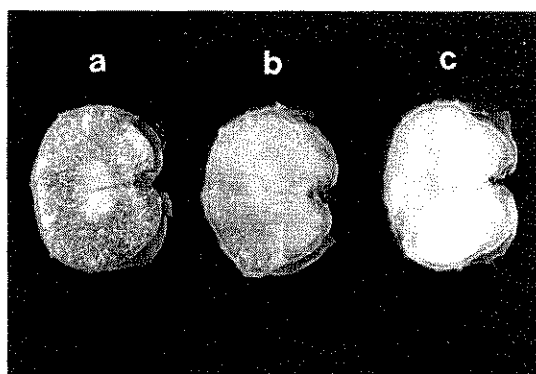
I 緒言

栃木県は、栽培面積、生産量ともに我国第1位の二条オオムギ生産県であり、1990年産では、17,500haの作付、生産量60,000 tに達している。これらの約83%は、醸造用として契約栽培されるいわゆるビール麦であり、残る17%は、加工食品用としての大粒大麦（非醸造用）である。

この両者の流通価格は、醸造用が非醸造用に比べ高いため、はじめから大粒大麦として作付けされるものは殆どない。しかしながら、大粒大麦が上記のような生産比率を占めるのは、食糧庁の等級検査に洩れたものが、いわゆるビール落ちとなり、大粒大麦に振り替えられるからである。

本県における大粒大麦は、上記のようにビール麦生産の副産物という性格を持っているが、1988年の大粒大麦検査規格一部改訂で、硬質粒を被害粒とする条項が付加されたのを機に、本県産大粒大麦の多くに硬質粒が認められ、二条オオムギの硬質粒が急速に問題化した（因に、ひとたび被害粒となった生産物は、1等ビール麦の約15%の価格となる）。硬質粒とは、胚乳内部が稗米のようなガラス状のものを言い（第1図）、大粒大麦の加工適性上、搗精歩留りや白度に悪影響を及ぼす劣質な形質とされるものである。ビール麦検査規格には、この硬質粒に関する条項はなく、またその知見も殆どないので現状である。

筆者らは、上記のようにビール麦栽培の経済



第1図 ミサトゴールドの穀粒横断面

注. a ; 硬質 b ; 中間質 c ; 粉質

性を損なう硬質粒の発生機構解明が急務であると同時に、ビール醸造に供される生産物中にもその存在が推測されることから、麦芽品質に及ぼす影響を確認する必要があると考えた。ここでは、先ず第II章で、醸造用二条オオムギにおける硬質粒の発生を栽培環境要因、遺伝的要因から検討し、同時に麦芽品質への影響を調査した。次に第III章で、硬質粒の登熟過程を走査型電子顕微鏡により形態学的に明らかにした。また第IV章では、正常粒の中に、硬質粒が穂発芽現象によって粉質に変化したものがあることを形態学的、生化学的に検証した。更に第V章で、硬質粒の粉質化の過程を実験室レベルで再現し、その機構について検討したので報告する。

なお、本研究は、平成2年度栃木県長期研修事業の一環として行われたものである。記して関係者各位に謝意を表する。

1) 東北大学農学部、2) 現栃木農試育種部

Ⅱ 硬質粒の発生要因

1. 栽培環境要因の検討

目的

本県の主要品種であるミサトゴールドン、ミカモゴールドンについて、基肥窒素量、カリ追肥量、播種量の多少が、硬質粒の発生に影響を及ぼすかどうかを検討する。またその際、硬質粒の多少が、麦芽品質に影響を及ぼすかどうかを調査する。

材料と方法

第1表の処理を1区3㎡2反復の分割区法で行った。播種期は1988年11月4日である。生育

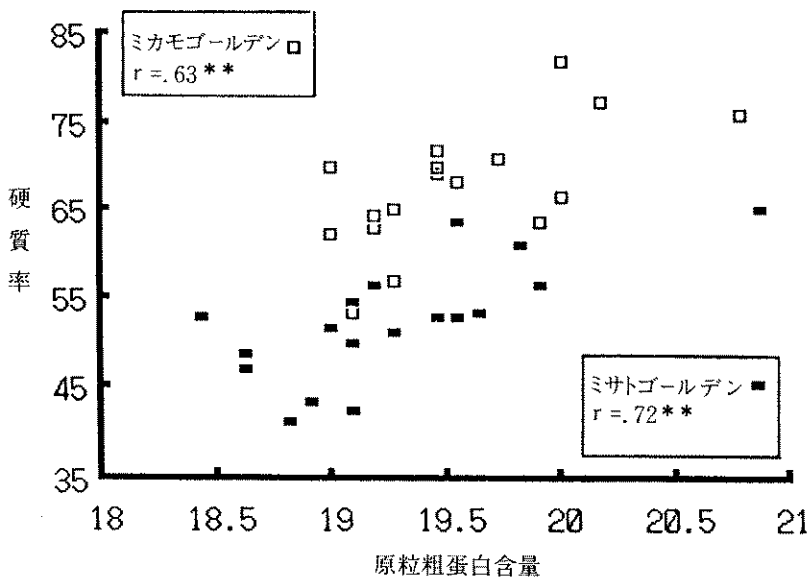
期調査の後、成熟期を迎えた試験区は、直ちに収穫し、ファイロンハウスで十分に乾燥した。その後、脱穀、収穫物調査、更に麦芽品質検定を行った。なお、麦芽品質検定は、ビール麦醸造用品質改善指定試験地に依頼し、所定の方法により行った。硬質粒の調査については、1区当り10粒を剃刀とハンマーで横断面方向に切断し、その断面積に占めるガラス状部分の割合の平均値を硬質率とした。

また、データの解析において、割合のデータについては全て逆正弦変換（変換値= $\text{Arcsin} \sqrt{\text{proportion in degree}}$ ）を行った。

第1表 環境要因による硬質率の変動を調査するための処理の表

処 理	水 準			備 考
	1	2	3	
基肥窒素量	0.7	0.9	1.1	kg/a
カリ追肥量	0	0.4		kg/a 3月中旬
播 種 量	0.5	0.7	0.9	kg/a
品 種	ミサトゴールドン	ミカモゴールドン		

注. 基肥リン酸、カリ成分は各々1.05, 0.82kg/a



第2図 ミサトゴールドン、ミカモゴールドンの原粒粗蛋白含量と硬質率との関係

注. 数値は逆正弦変換値

醸造用二条オオムギの硬質粒に関する研究

結 果

① 硬質率は分散分析の結果、基肥窒素量、カリ追肥量、品種で有意差が認められた(第2表)。基肥窒素量は多いほど、カリ追肥量はある方が、品種ではミカモゴールドンが、それぞれ硬質率が高かった。交互作用には、有意なものではなかった。② 農業諸形質、麦芽品質および硬質率との間の相関を、品種毎に分けて第3表、第4表に示した。両品種とも似た傾向を示し、硬質率と有意な相関が認められたものは、成熟期(正の相関)(第3表)、原粒粗蛋白含量(正)、麦芽エキス(負)、麦芽全窒素(正)、可溶性窒素(正)、ジアスターゼ力(正)(第4表)であった。ミカモゴールドンについては、

発芽勢との相関も認められた(第4表)。それらの内、両品種とも強い相関を認めた原粒粗蛋白含量との相関図を第2図に示した。

第2表 硬質率の分散分析表

要 因	自由度	平方和	分 散	分散比
反 復	1	15.4	15.4	.31
基肥窒素量	2	1480.8	740.4	15.32**
カリ追肥量	1	199.7	199.7	4.13*
播 種 量	2	148.4	74.2	1.53ns
品 種	1	4466.7	4466.7	92.47**
誤 差	35	1690.5	48.3	

注. * ; 5%, ** ; 1%有意水準

第3表 ミサトゴールドンおよびミカモゴールドンの硬質率と農業諸形質との相関係数

形 質	成熟期	穂 数	子実重	リットル重	千粒重	整粒歩合	硬質率
成熟期		.32	.38*	-.43**	-.18	-.45**	.34*
穂 数	.25		.67**	-.43**	-.55**	-.67**	.07
子 実 重	.45**	.23		-.32	-.18	-.47	.33
リットル重	-.53**	-.35*	-.08		.46**	.54**	-.08
千 粒 重	-.01	-.40*	.10	.57**		.65**	.16
整 粒 歩 合	-.36*	-.54**	.03	.68**	.66**		.03
硬 質 率	.53**	.20	.31	-.29	.12	-.26	

- 注1. 右上;ミサトゴールドン, 左下;ミカモゴールドン
 2. サンプル数はそれぞれ36点
 3. * ; 5%, ** ; 1%有意水準

第4表 ミサトゴールドンおよびミカモゴールドンの硬質率と麦芽品質との相関係数

形 質	発芽勢	原粒粗蛋白	麦 芽 エキス	麦 芽 全窒素	可溶性 窒 素	ジアス ターゼ力	麦芽 評点	硬質率
発 芽 勢		.19	-.20	.35	.45	.50*	.30	.14
原粒粗蛋白含量	.36		-.78**	.85**	.78**	.78**	-.49*	.72*
麦芽エキス	-.50*	-.68**		-.88**	-.73**	-.79**	.58**	-.53*
麦芽全窒素	.47*	.89**	-.77**		.86**	.85**	-.52*	.64*
可溶性窒素	.44	.93**	-.75**	.82**		.84**	-.18	.49*
ジアスターゼ力	.55*	.57*	-.71**	.54*	.55*		-.40	.50*
麦芽評点	-.11	-.38	.15	-.61**	-.20	.12		-.43
硬 質 率	.59**	.63**	-.50*	.67**	.63**	.69**	-.19	

- 注1. 右上;ミサトゴールドン, 左下;ミカモゴールドン
 2. サンプル数はそれぞれ18点
 3. * ; 5%, ** ; 1%有意水準

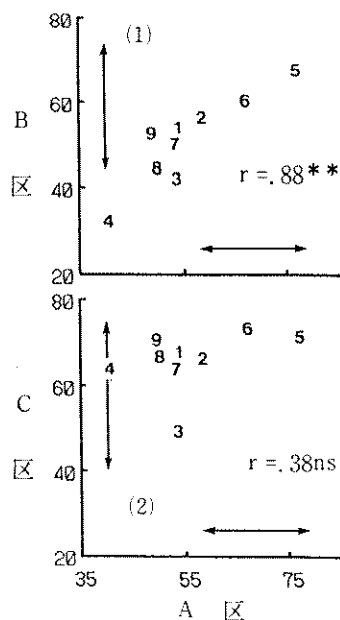
2. 遺伝的要因の検討

目的

前節で、醸造用二条オオムギの硬質率は、原粒粗蛋白含量、麦芽エキス、麦芽全窒素、ジアスターゼ力などと相関が認められたことを述べたが、本節では、多数の品種・系統を用い、それらの関係が、遺伝的背景を異にする集団内でも成立するかどうかを調査し、硬質粒発生の本質的な原因を検討する。

材料と方法

材料は第5表に示す育種途上の25系統（うち2組の兄弟系統を含む）ならびに4標準品種の合計29品種・系統を用いた。表中の供試区の各栽培条件は、第6表に示した。これらは生育期調査の後、成熟期を迎えたものから直ちに収穫し、ファイロンハウスで十分に乾燥した。その後、脱穀、収穫物調査、さらに麦芽品質検定を行った。なお、麦芽品質検定、並びに硬質率の



第3図 A—B区間(1), A—C区間(2)の硬質率の関係

- 注1. 数字は同一品種を表す。
- 2. 矢印の長さは5% L. S. D.を表す。
- 3. 数値は逆正弦変換値

第5表 遺伝的要因による硬質率の変動を調査するために用いた品種系統；育種途上の25系統ならびに4標準品種を用いた。

材料 番号	品種名 系統名	供試区	材料 番号	品種名 系統名	供試区	材料 番号	品種名 系統名	供試区
1	栃系200	A, B, C	10	栃系207	B	20	きぬ系10	A
2	栃系203	〃	11	栃系208	〃	21	きぬ系13	〃
3	栃系204	〃	12	栃系209	〃	22	きぬ系14	〃
4	栃系205	〃	13	栃系210	〃	23	きぬ系15	〃
5	栃系206	〃	14	栃系211	〃	24	きぬ系16	〃
6	あまぎ二条	〃	15	吉系22	A	25	新田系29	〃
7	はるな二条	〃	16	吉系24	〃	26	新田系30	〃
8	ミサトゴールド	〃	17	吉系25	〃	27	新田系31	〃
9	ミカモゴールド	〃	18	吉系26	〃	28	新田系32	〃
			19	吉系27	〃	29	新田系33	〃

注. 供試区：A；水稲跡区，B；大豆跡標準窒素区，C；大豆跡多窒素区

第6表 遺伝的要因による硬質率の変動を調査した試験区の耕種概要

区名	前作	肥料施用量			播種法	播種量	面積 m ²	反復	備考
		N	P	K					
A	水稲	0.9	2.0	1.8	条播	0.7kg/a	6	2	水稲跡標準窒素区
B	大豆	0.3	0.7	0.6	点播	67粒/m ²	6	2	大豆跡標準窒素区
C	〃	0.5	0.7	0.6	〃	〃	3	2	B群の多窒素区

注. 播種期 1988年10月29日，N P Kは成分量kg/a

醸造用二条オオムギの硬質粒に関する研究

調査については、前節と同様である。

また、データの解析において、割合のデータは全て逆正弦変換値を用いた。

結果

① A, B, Cの3区に共通な9品種・系統は、A-B区間で硬質率に有意な相関があり、品種間差も認められたが(第3図-1)、多窒素栽培を行ったC区では、全ての品種・系統でこれが一様に増加し、品種間差は認められなくなった(第3図-2)。② 前節で認められた成熟期、麦芽エキス、麦芽全窒素、ジアスターゼ力との相関は総じて弱まっており、中には全く認められないものもあった(第7表)。③

硬質率と原粒粗蛋白含量との相関は、C区では認められなかったものの、A, B各区および大豆跡区(B+C群)、全体(A+B+C群)の各グループで認められた(第7表、第4図)。

3. 考察

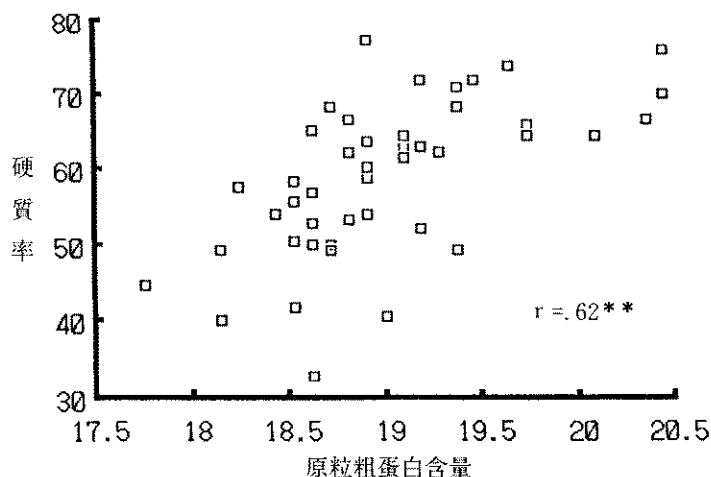
第1節、第2節を通じて、硬質率と農業諸形質および種々の麦芽品質項目との関係を調査した結果、硬質率と原粒粗蛋白含量との正の相関関係は、同一品種内のみならず、遺伝的背景を異にする集団についても共通の現象であることが明らかとなった。

原粒粗蛋白含量は、ビール麦の品質を左右する重要な形質で、醸造の現場で最も重要視され

第7表 水稻跡区(A)、大豆跡標準窒素区(B)、大豆跡多窒素区(C)、大豆跡区(B+C)、全体(A+B+C)の各グループについての硬質率と諸形質との相関係数

群別	農 業 形 質					麦 芽 品 質					評点
	n	成熟期	子実重	千粒重	整粒歩合	n	原粒粗蛋白	麦芽エキス	麦芽全窒素	ジアスターゼ力	
A	48	.09	.11	-.13	-.13	24	.57**	-.32	.24	-.20	-.31
B	28	.07	-.10	.08	.02	14	.66*	-.31	.09	.34	.23
C	18	.03	-.21	-.35	-.34	9	.29	-.25	.40	.32	-.27
B+C	46	.09	.02	-.18	-.31*	23	.69**	-.34	.41	.50*	-.07
A+B+C	94	.07	.07	-.16	-.22*	47	.62**	-.33*	.34*	.21	-.17

注. * ; 5%, ** ; 1%有意水準



第4図 29品種系統の原粒粗蛋白含量と硬質率との関係

注1. 一品種当たり1~3栽培条件を含み、総試料数は47
2. 数値は逆正弦変換値

る麦芽エキスと負の相関が高い。またその一方で、ジアスターゼ力とは正の相関を持つため、高すぎても、逆に低すぎても好ましくない結果となる⁹⁾。本章第1節の結果では、上記の関係を反映し、硬質率もまた麦芽エキス、ジアスターゼ力と、それぞれ負、および正の相関を持つことが示された。しかしながら、第2節では、多くの品種・系統について調査した結果、それら重要品質項目との相関は解消され、原粒粗蛋白含量との相関だけが残った。この一連の結果は、硬質率を決定付ける第一義的な要因が穀粒内のタンパク質にあることを明確に示すと同時に、遺伝的背景を異にする種々の品種・系統を問題にすると、硬質率の多少は、麦芽エキス、ジアスターゼ力などの絶対値を、間接的に推測する指標とはなり得ないことを示している。

ビール栽培の現場では、先に述べたような理由から実需者の要望を受けて、原粒粗蛋白含量を9.5~11.5%の範囲内に制御するよう指導されている。本章第2節第4図から得られる回帰直線は、

$$y = -141.9 + 10.5x$$

(但し、 y は硬質率、 x は原粒粗蛋白含量のそれぞれ逆正弦変換値)

となり、回帰分析の結果、1%水準で有意な直線であった。そこで、この直線から、現在の指導基準である上記の原粒粗蛋白含量時の硬質率を求めると、54.6~85.2%となり、かなり高い値となる。本県では、その土壌特性から原粒粗蛋白含量が上昇し易く^{17,18)}、常に、低いレベルに抑えることが制御の主眼であるので、硬質率を低下させるという方向性は一致するものの、大粒大麦の検査規格に適合する生産物と、ビール大麦の適正な蛋白含量との間には、一定のずれが存在する事を認識せざるを得ない。

本章第2節では、29品種・系統を用いたが、

同一の栽培条件下でも、硬質率に品種間差が認められた。これは、今まで述べてきたようなことから、個々の品種・系統の窒素転流機構の差異によると言い替えることが出来る。ビール麦育種では、原粒粗蛋白含量の安定適正化を目的に、早くから品種改良が進められており、有望系統が育成されつつある¹⁵⁾。今後は、これらの実用化により、硬質率についても、低位安定化が図られるものと考えられる。

III 硬質粒の形態観察

1. 硬質粒と粉質粒の差異

目的

硬質粒および粉質粒の走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察により、硬質粒胚乳内部の形態学的構造を明らかにする。

材料と方法

品種はミサトゴールデンを用い、典型的な硬質粒に、ガラス温室内で雨よけ多窒素栽培を施した硬質率94%もの、また典型的な粉質粒に、大豆跡の畑で栽培した硬質率32%のものを材料とした。十分に風乾した試料をナイフとハンマーで人為的变化を与えないよう注意しながら横断面で割断した。スタブ(試料台)に両面テープで固定した試料にイオンスパッタコーティングを施し、SEMにより観察した。

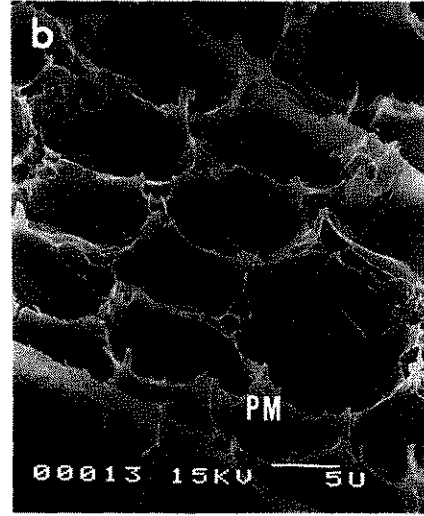
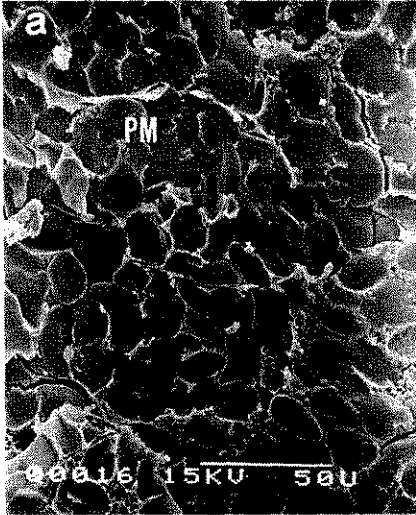
結果

第5図に硬質粒、第6図に粉質粒のそれぞれ典型的な胚乳細胞内部の様子を示す。直径20 μ 前後の大型の澱粉粒(大粒子)のまわりを直径1~5 μ 程度の小型の澱粉粒(小粒子)が取り囲んでいる様子が見える。しかし硬質粒では、こうした澱粉粒の間隙を更に漆喰状の物質(protein Matrix, プロテインマトリックス)が埋め尽くし、澱粉小粒子がはっきりと確認できない(第5図a)。一方、粉質粒では、プロテインマトリックスが全く存在しないわけではなく、全体に少なく、図のように小粒子がはっき

醸造用二条オオムギの硬質粒に関する研究

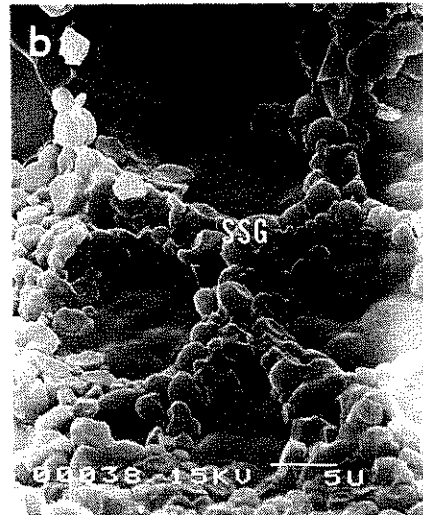
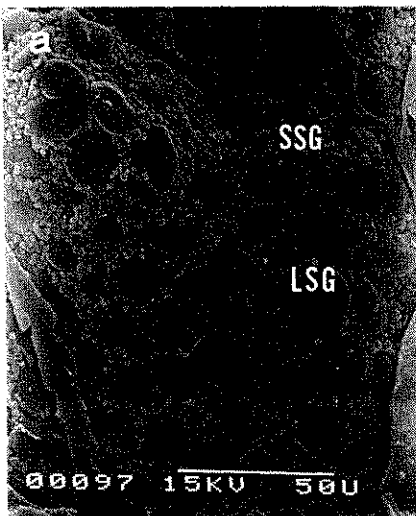
りと確認できる細胞が多かった (第6図 a)。
プロテインマトリックスの存在形態は、澱粉粒子が欠落した部分を観察すると更に明確になり、
硬質粒では、実に細かい間隙までプロテインマ

トリックスが埋め尽くしている状態がみられる
(第5図 b)。これに対して、粉質粒では、大
粒子間の間隙を埋める小粒子が現われている
(第6図 b)。



第5図 硬質粒の胚乳細胞内の様子：

a ; 細胞全体, b ; 澱粉大粒子が欠落した部分, PM ; プロテインマトリックス
注. 図中実線の単位は μm



第6図 粉質粒の胚乳細胞内の様子：

a ; 細胞全体, b ; 澱粉大粒子が欠落した部分, LSG ; 澱粉大粒子, SSG ; 澱粉小粒子
注. 図中実線の単位は μm

2. 登熟過程における経時的变化

目的

登熟の中後期における、プロテインマトリックスの蓄積の過程を形態学的に明らかにする。

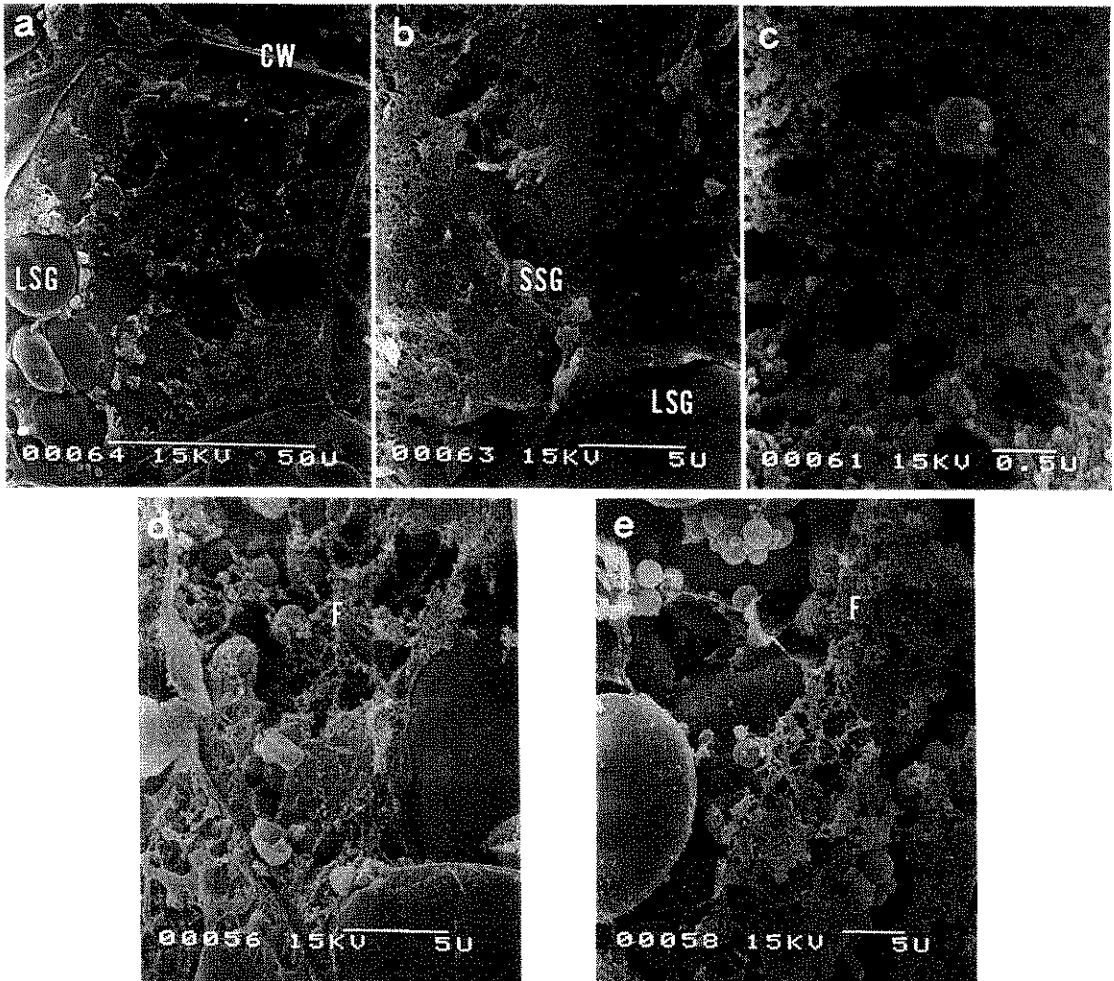
材料と方法

材料は、前節と同じガラス温室で栽培したミサトゴールデンを用いた。これは最終的な硬質率が94%に達したものである。開花後、未熟粒の水分が65, 54, 40, 26, 16% (完熟) 時にサ

ンプリングし、グルタルアルデヒド、オスミウム酸の二重固定を行い、水分をエタノールに置換した後、横断面で凍結切断し、臨界点乾燥したものを観察用の試料とした。試料は前項と同様にイオンスパッタコーティングを施し、SEMで観察した。

結果

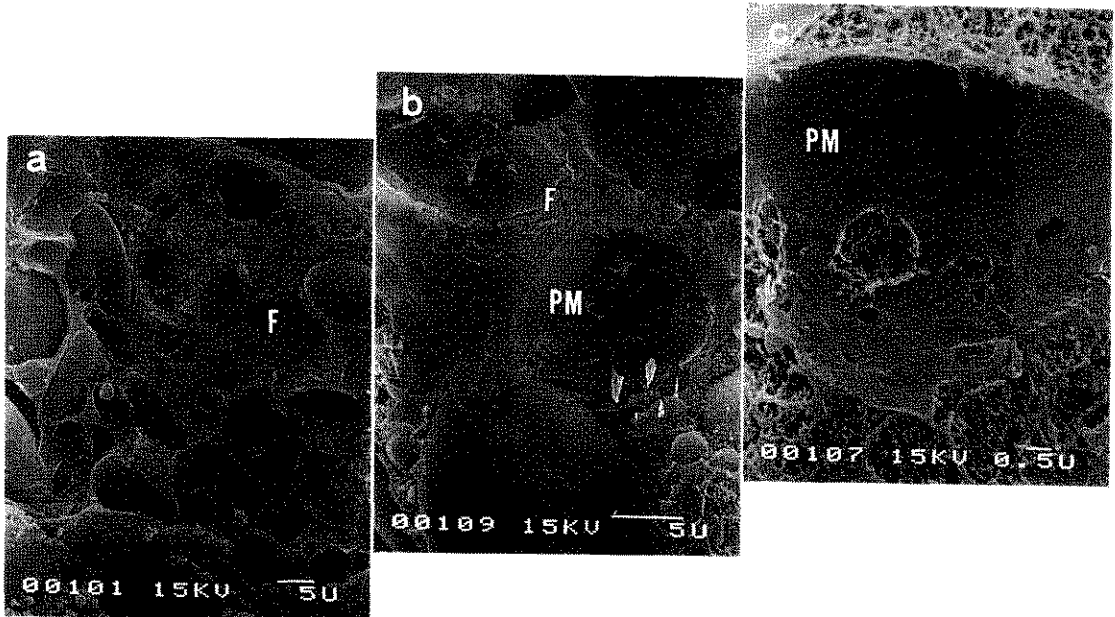
水分65, 54, 40, 26, 16% (完熟) 時の胚乳細胞の様子を第7~11図に示す。



第7図 硬質粒の登熟過程：水分65%時

a ; 細胞壁 (CW) に囲まれた一つの細胞の様子である。既に澱粉大粒子と澱粉小粒子が確認できるが、不定形の物質が大きなスペースを占めている。 b ; 不定形の物質の拡大：網目状の構造をしており、澱粉小粒子を取り込んでいる。 c ; 網目構造の拡大：網目構造は小顆粒の集合体である。 d, e ; 不定形物質の辺縁部では、この物質が繊維状物質 (F) から網目状に発達する様子がみられる。

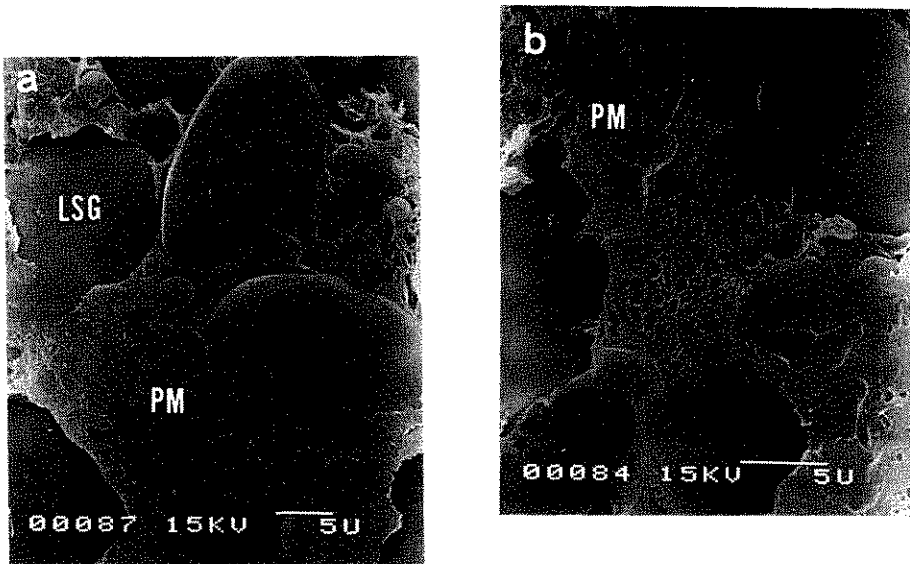
注. 図中実線の単位は μm



第8図 硬質粒の登熟過程：水分55%時

a ; 網目状物質 (F) は更に発達し、構造が緻密になり、マトリックス (鋳型) の様相を呈して来る。 b, c ; 澱粉粒に密着していた部分の網目構造は、その網目が完全に塞がりマトリックス (PM) となっている。

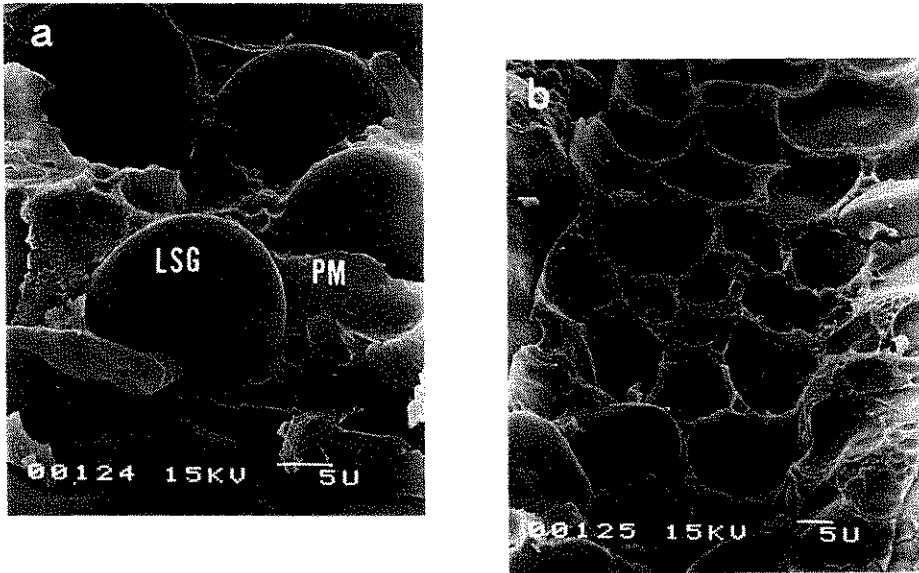
注. 図中実線の単位は μm



第9図 硬質粒の登熟過程：水分40%時

a ; 澱粉大粒子 (LSG) が直径15~30 μm まで肥大する一方、マトリックス構造 (PM) もより発達している。 b ; マトリックスの一部に網目構造が残っている。

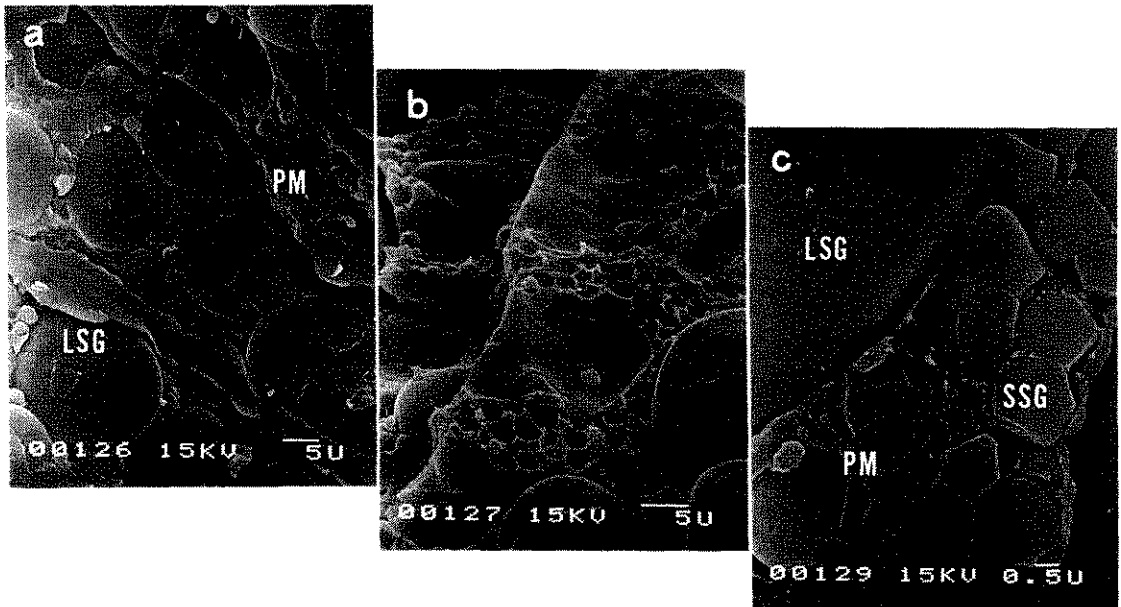
注. 図中実線の単位は μm



第10図 硬質粒の登熟過程：水分26%時

a, b；一部に網目構造の名残があるが、漆喰状のマトリックス（PM）が澱粉粒間を埋め尽くしている。

注．図中実線の単位は μm



第11図 硬質粒の登熟過程：水分16%時

a, b, c；網目構造の痕跡はみられず、澱粉大小粒子の間隙を、マトリックス物質が埋め尽くしている。LSG＝澱粉大粒子，SSG＝澱粉小粒子

注．図中実線の単位は μm

3. 考 察

第1節では、硬質粒と粉質粒との形態学的な差異を明らかにしようとした。硬質粒が第1図のようなガラス状を呈するのは、第5図に示したように、澱粉粒の間隙を埋め尽くすプロテインマトリックスに原因があると考えられた。それは、このような状態では、胚乳構成物間に殆ど間隙が存在しないため、光の屈折が抑制され、結果として光の透過が起こるものと考えられるからである。一方、粉質粒では、澱粉粒間の空隙で光の屈折が強まり、乱反射を起こすため明るい白色を呈するものと考えられる。また、粉質粒について、プロテインマトリックスが全く存在しないわけではなく、細胞によっては、硬質粒と同程度にみられるということは、硬質粒とは、光が透過する程度にまでプロテインマトリックスが蓄積した状態のことであり、これが存在していても蓄積の程度が少なければ、肉眼では粉質とみなされていたものと考えられる。

第2節では、最終的な硬質率が94%となった材料について、その登熟過程～後期における経時変化を調査した。その結果、プロテインマトリックスは細胞質内で澱粉粒の周囲に存在していた繊維状の物質が次第に成長し、網目状となり、更にその成長に従ってマトリックス構造を形成していくように観察された。また、登熟中期の観察から、繊維状物質は極小さな顆粒から成っていることも観察された。この顆粒からなる物体はリボゾーム小胞体(rER)ではないかと考えられる。リボゾームは細胞内でのタンパク質合成の場であり、上記のような成長は、タンパク質の合成過程を意味するものと考えられた。

Ⅳ 粉質粒の二つの相

第Ⅱ章では、硬質率と原粒粗蛋白含量との間には強い正の相関が存在することを述べたが、ここでは、その関係が認められなかった黒磯分

場の材料を中心に粉質粒についての検討を行う。

1. 黒磯分場系統適応性試験の実態調査

目 的

黒北地帯に多いという硬質粒の実態を調査する。

材料と方法

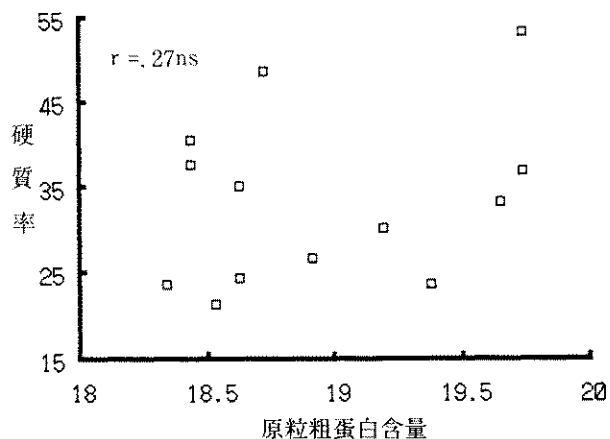
下記の材料を1988年度黒磯分場系統適応性試験として、栽植した。これらを1989年6月12日に全ての系統が成熟期を迎えるのを待って収穫した。その後、収穫物調査、麦芽品質検定を行うと共に、硬質率を調査した。硬質率の調査方法は第Ⅱ章に準ずる。

材料品種・系統名：

栃系200, 栃系203, 栃系204, 栃系205, 栃系206, 栃系208, 栃系209, 栃系210, 栃系211, 関東二条24号, 関東二条25号, あまぎ二条, ミサトゴールデン, ミカモゴールデン

結 果

全般に硬質率が低く、農業諸形質および麦芽品質との相関を調査したところ、有意な相関が認められる形質ないし項目は、全くなかった。第12図に原粒粗蛋白含量と硬質率との関係を示した。



第12図 黒磯分場産試料の原粒粗蛋白含量と硬質率との関係

注. 数値は逆正弦変換値

2. 黒磯分場系統適応性試験についての
生化学的および形態学的な穂発芽の検証

目的

黒磯分場産の外観的には穂発芽が認められない低硬質率材料について、穂発芽様の現象が起きていたかどうかを検証する。

材料と方法

(1) 原粒ジアスターゼ力の測定：材料は黒磯のものに加え、第II章で扱った栃木分場産のものを含めた。方法は、麦芽ジアスターゼ力の測定法¹⁾に準じ、原粒および麦芽について行った。なお、測定に当たってはビール麦醸造用品質改善指定試験地が担当した。

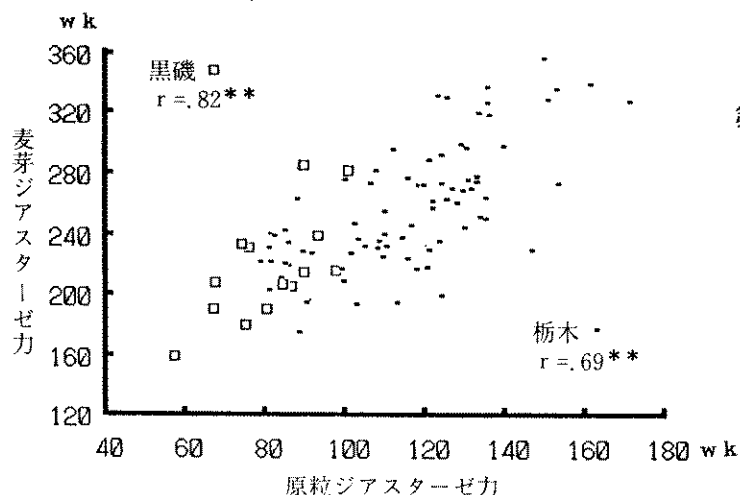
(2) 胚乳のSEMによる観察：黒磯産のミサトゴールデンについて、SEMを用いて胚乳内

の形態観察を行った。方法は第III章第1節に準ずる。

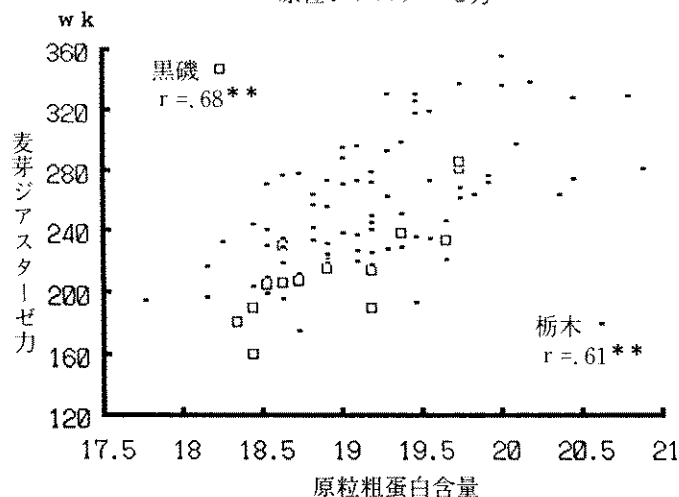
結果

(1) 原粒ジアスターゼ力

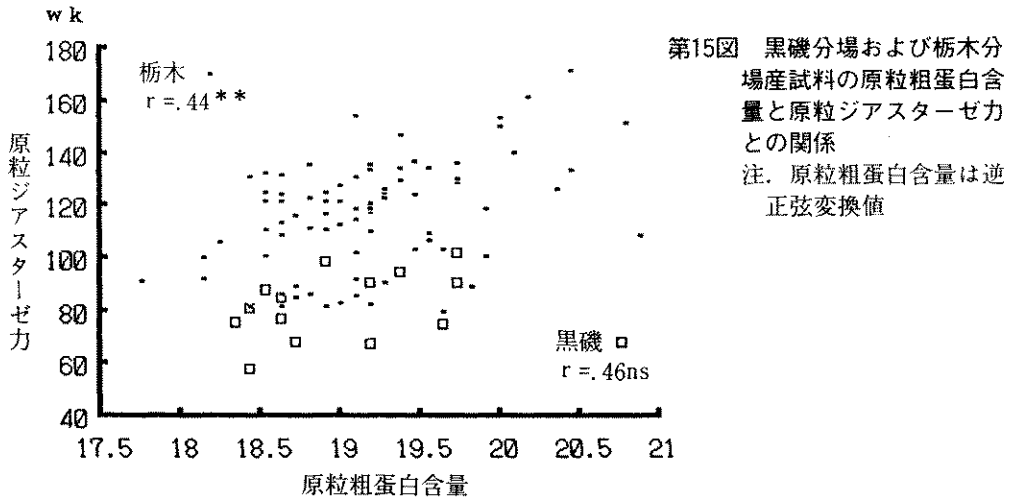
原粒ジアスターゼ力、麦芽ジアスターゼ力、原粒粗蛋白含量の3者間の関係を第13～15図に示す。原粒のジアスターゼ力と麦芽のそれは極めて相関が高かったが、黒磯分場産のものは全体に低い酵素力レベルにあった(第13図)。原粒粗蛋白含量と麦芽ジアスターゼ力も高い相関が認められた(第14図)。原粒粗蛋白含量と原粒のジアスターゼ力との間では、栃木分場産の材料には相関が認められたのに対して、黒磯分場産の材料には認められなかった(第15図)。



第13図 黒磯分場および栃木分場産試料の原粒ジアスターゼ力と麦芽ジアスターゼ力との関係

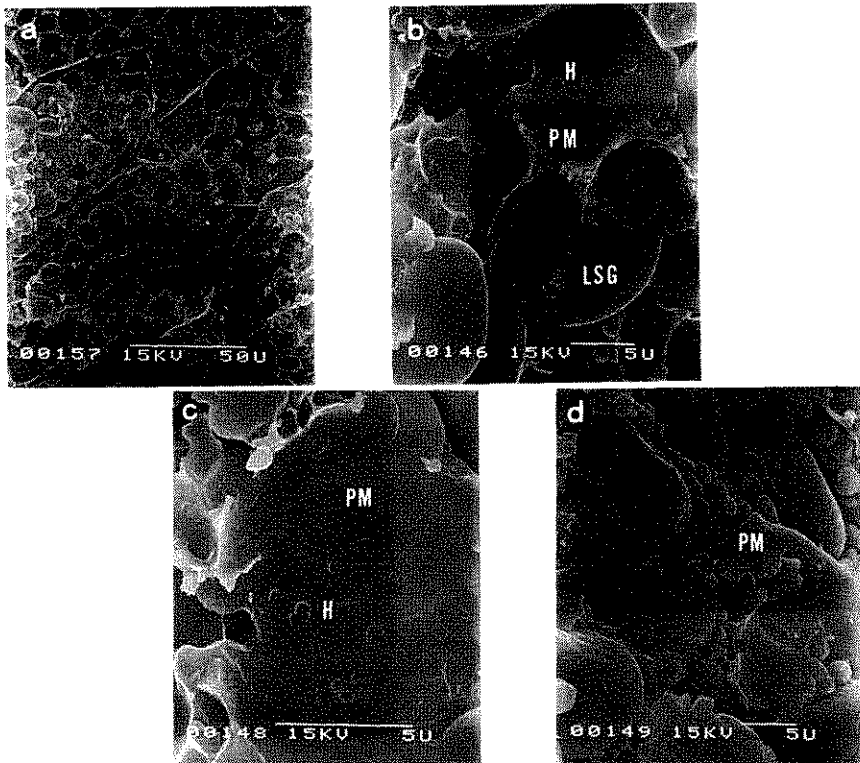


第14図 黒磯分場および栃木分場産試料の原粒粗蛋白含量と麦芽ジアスターゼ力との関係
注. 原粒粗蛋白含量は逆正弦変換値



(2) 穀粒内の形態観察

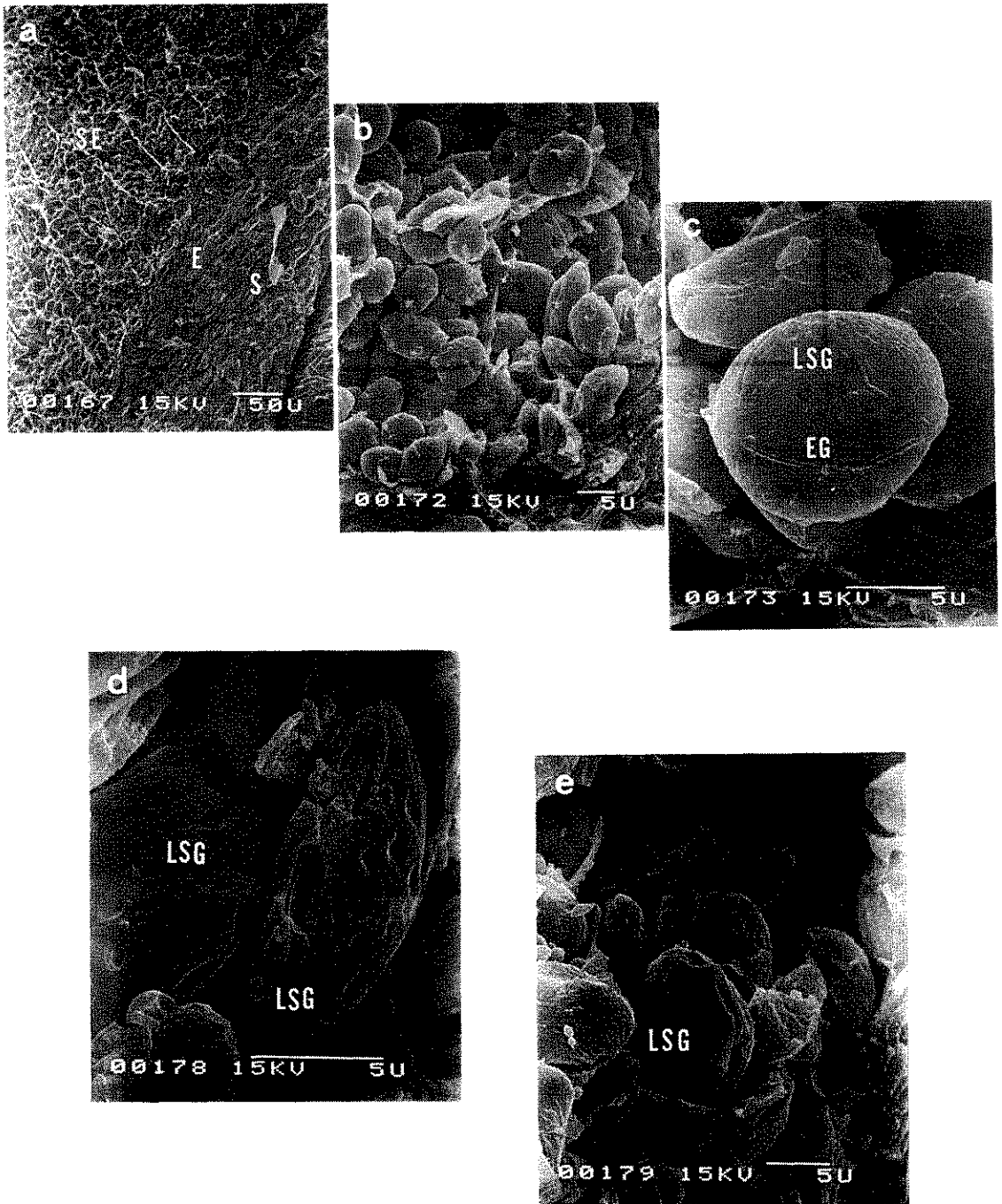
黒磯分場産の試料のSEM観察結果を第16～18図に示す。



第16図 胚乳内深部の細胞の様子

a ; プロテインマトリックスがほとんどみられない細胞が多く、典型的な粉質粒の状態である。大小の澱粉粒は変化なく存在している。 b, c ; プロテインマトリックス (PM) に消化作用を受けたとみられる孔 (H) が見える。 d ; マトリックス構造に消化作用を受けたとみられる痕跡がある。

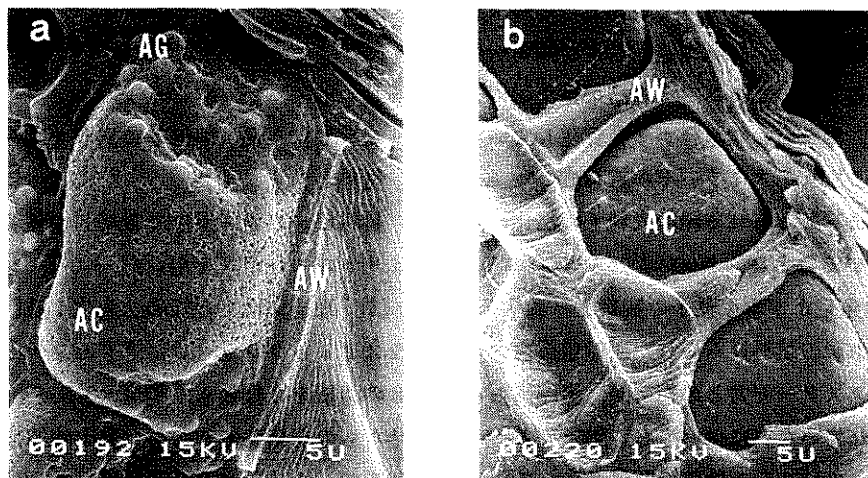
注. 図中実線の単位は μm



第17図 胚に隣接した胚乳細胞の様子

a ; 胚盤 (S), 胚盤上皮細胞 (E) に隣接して胚乳 (SE) があり, 澱粉粒が詰まっている. b ; 小粒子がほとんど見えない. c ; 澱粉大粒子 (LSG) の表面にしわが生じ, 赤道面の溝 (EG) が明瞭に確認できる. d, e ; 澱粉大粒子の赤道面の溝を中心に, α -アミラーゼによるとみられる消化作用の痕跡が認められる.

注. 図中実線の単位は μ m



第18図 糊粉層細胞の様子

a ; 細胞膜に多数の孔が開いており、細胞質の分解が始まっている。これはガラス温室内で栽培したもの (b ; ミサトゴールド水分16%) には、見られなかったものである。糊粉層細胞壁=AW, 糊粉層細胞=AC, 糊粉粒=AG

注. 図中実線の単位はμm

3. 考察

元来、硬質粒が多いとされている県北地帯に属する黒磯分場産の試料で、硬質率が低かった。更に、第II章で述べたような、硬質率と原粒粗蛋白含量との関係が認められなかった。これは、栃木分場産の試料と比較すると、黒磯分場産が同程度の原粒粗蛋白含量を有しているにも拘らず、硬質率が全般に低いためであるとみられた。

ビール麦から麦芽を製造した際に、胚乳部分が白化することは経験的に知られている。この黒磯分場産の試料も、外観では穂発芽粒の存在は認められなかったが、元はより高い硬質率であったものが、降雨による穂発芽的な変化を受けて、白化したのではないかと推察された。

そこで、先ず当時の気象データを調べると(第8表)、登熟の後期に降雨があったのは、栃木、黒磯とも共通していたが、その降雨が黒磯では二日間に渡る五月雨のような雨であった。これに対し、栃木では雷雨によるものであり、しかも半日の後には晴天に変わっているため、降雨による水分の上昇は量的に少なく、且つ、継続的なものではなかったと推測される。また、

栃木産の試料は、品種・系統毎に成熟期を迎えたものから直ちに収穫したのに対し、黒磯では、全てが成熟するのを待って収穫したという経緯もあった。

以上のような事から、黒磯産の試料は製麦の

第8表 栃木および黒磯における1989年ビール麦収穫時期の天候

月日	天気 (宇都宮)	降水量mm		成熟期	
		栃木	黒磯	栃木	黒磯
5/21	●○⊙		2		
22	●○●	4.2			
23	●○●		11		
24	⊙				
25	●○●	40.8	1		
26	●○●	27.1	47		
27	⊙				
28	⊙●○●		1		
29	⊙○●●	8.7	3		
30	⊙●●●	5.5			
31	⊙				
6/1	○				
2	○⊙				
3	⊙				
4	⊙				
5	○⊙				
6	○⊙●				
7	○⊙				
8	⊙				
9	●	12.0	9		
10	●		2		
11	○				
12	⊙				

注. ○ ; 快晴, ⊙ ; 晴, ● ; 曇, ● ; 雨, ● ; 雷雨, ● ; 雹, ● ; 霧

際のような発芽現象によって変化したとの予想の下に、酵素活性、胚乳細胞内および糊粉層の状態を調査したのである。その結果は上記の通りであり、糊粉層の細胞膜が多孔質化していること、および α -アミラーゼの新合成 (de novo 合成) によるとみられる澱粉大粒子の消化が開始されていることは、POMERANZ¹⁾ や MACGREGOR, MATSUO⁷⁾ の発芽オオムギ種子の観察と一致する。また、栃木産の試料にみられた原粒粗蛋白含量と原粒ジアスターゼ力との相関が、黒磯産のものでは崩れていた点についても、黒磯産試料が、穂発芽現象の極初期の段階で収穫され、その現象を途中で停止したとする論拠として差し支えないであろう。原粒のジアスターゼ力が、予想に反して栃木産のものより低かったのは、一度活性化して、その一部が使われていたことに加え、収穫後の乾燥および分析までの時間の経過により不可逆的に失活したためではないかと考えられる。

この結果は、ビール麦の粉質粒には、原粒粗蛋白含量が低いことによるもの他に、外観的に捉えられない程度の穂発芽によって硬質粒が変化したものの第二の相が存在することを示している。

V 硬質粒の浸漬処理による変化

目的

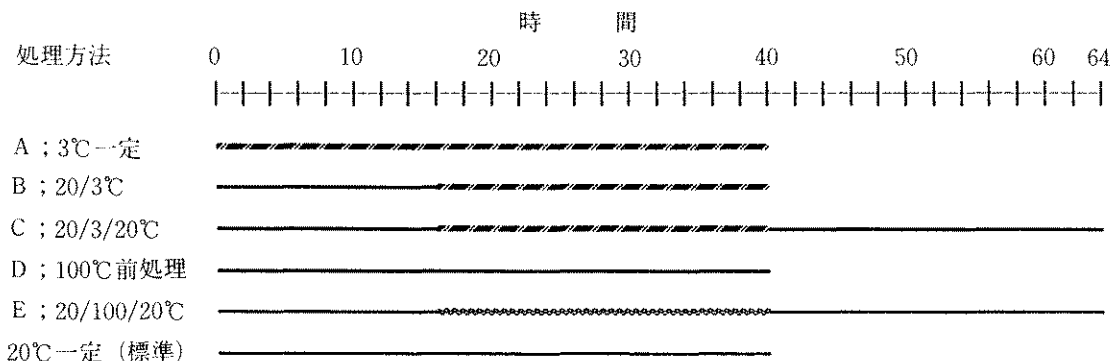
発芽に伴う硬質率低下の過程を明らかにする。

材料と方法

材料は、ガラス温室で栽培した硬質率94%のミサトゴールデンを用いた。

(1) 硬質率低下の経時的变化：直径9cmのプラスチックシャーレにアドバンテック社製No 2の濾紙を2枚敷き、脱塩水3.5mlを染み込ませたものを発芽床とした。置床時間は0~50時間まで、2時間おきに26処理区を設けた。温度は20℃一定である。処理を完了した材料は、40℃の通風乾燥機で48時間乾燥し、硬質率、中間質率、発芽率、水分含有率を調査した。これまで中間質は硬質に含めていたが、より詳細に検討するため、あえて硬質と区別した。区制は1区10粒 2反復で、硬質率の調査方法は、第II章に準ずる。

(2) 温度が硬質率の低下に及ぼす影響：第19図のような温度処理区を設け、(1)と同様の発芽床で浸漬した。その後、40℃で48時間乾燥し、硬質率の低下の程度を標準区と比較した。区制および調査方法は(1)に準ずる。



第19図 硬質率低下に及ぼす温度の影響を調査するための各温度処理条件

注1：100℃前処理は24時間

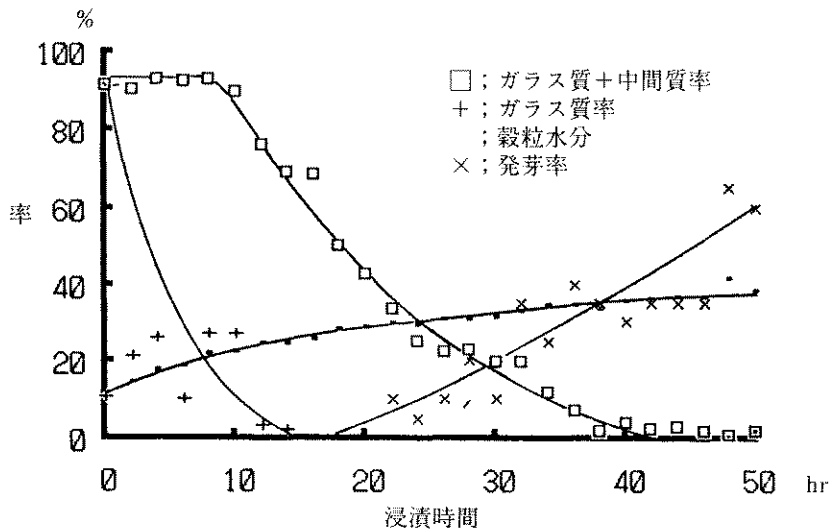
2：——；20℃，———；3℃，~~~~~；100℃

醸造用二条オオムギの硬質粒に関する研究

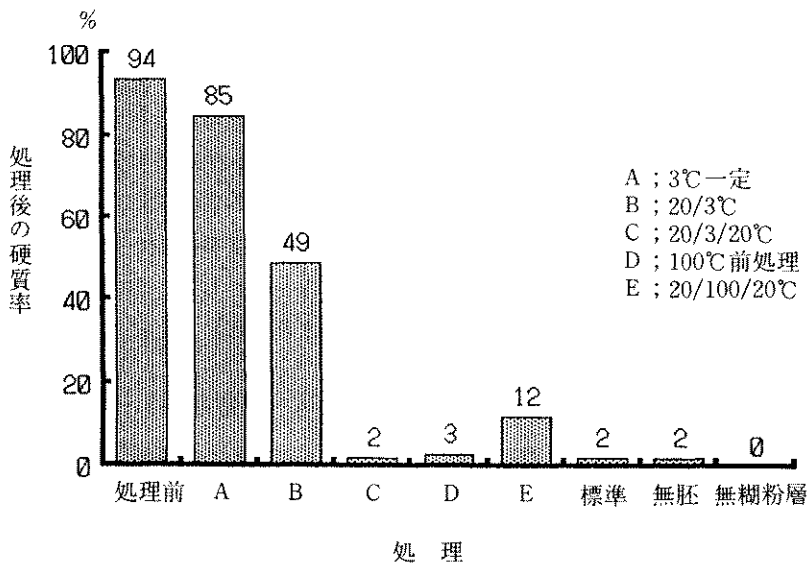
(3) 胚および糊粉層の影響：胚の部分を除いたもの（無胚半切種子），および穀粒の周辺部を除いた胚乳の中心部だけにしたもの（無胚無糊粉層種子）を試料とした。(1)と同様の発芽床の上で20℃40時間経過させた後，40℃48時間乾燥し，硬質率を標準区と比較した。区制および調査方法は(1)に準ずる。

結果

(1) 第20図に結果を示す。浸漬2時間後には，既に急速な硬質率の低下が起こり，14時間後には完全なガラス状の部分の消滅した。硬質率+中間質率（粉質ではない部分）は，浸漬10時間後から低下し始め，その後ほぼ直線的に低下が進み，40時間後には，完全な粉質粒に変化した。



第20図 硬質粒浸漬処理の経時変化



第21図 浸漬処理による硬質率低下への温度，胚切除，および糊粉層除去処理の影響

発芽（発根）は、浸漬20時間後から始まり、50時間後には約6割が発芽した。水分含有率の変化は、始めの8時間は速く、後は緩やかに増加し、50時間後には約40%に達した。

(2) 硬質率の低下は、3℃（A区）で強く抑制され、20/3℃（B区）でも抑制された。しかし、B区の処理の後、再び20℃で経過させたC区では、標準区と同様に完全な粉質化が起こった。100℃高温の影響は、浸漬の途中で処理したE区では、粉質化がやや抑制されたものの、浸漬前に処理したD区では、全く抑制されず、標準区と同等に粉質化した（第21図）。また、100℃処理をした二つの区では、発根は全く認められなかった。

(3) 無胚種子、無胚無糊粉層種子ともに、標準区と同等の硬質率の低下が認められた（第21図）。

考 察

硬質は僅かな時間の浸漬処理によって、急速に中間質へと変化した。中間質から粉質への変化は、浸漬10時間後から直線的に進み、40時間後には、完全に粉質化した。外観的な発芽（発根現象）は、浸漬20時間後頃から始まるので、いわゆる穂発芽粒が認められるようになるまでの間に、約50%の硬質部分が完全な粉質に変化したことになる。また、この間の水分の上昇は、全般に緩やかなものであり、硬質率および中間質率の低下が、穀粒内水分による物理的な作用とは言い難いことを示している。むしろこれらの現象は、発芽の際の一般的な物質の変化がそうであるように、酵素による生化学的な変化であると考えられた。

以上を踏まえ、処理温度による影響をみると、3℃という生化学反応の活性を著しく抑制する温度では、明らかに粉質化も抑制された。また、これを20℃に戻すと粉質化が継続することは、この抑制が可逆的であったことを示している。一方、100℃というタンパク質の変性を引き起

こす高温の処理では、処理の途中で一度高温を経過させたものは、粉質化がやや抑制された。これは、一度活性化した酵素が高温により不可逆的に失活したものと考えられるが、その程度は小さいもので、高温に対してかなりの安定性を持つことが示唆された。また、浸漬前に種子を100℃で24時間処理したものは、全く発芽活性が失われたにも拘らず、標準区と同様に粉質化した。これは、この現象に関与する物質が高温の影響を殆ど受けない状態で存在しているか、あるいは、 α -アミラーゼのような胚からの命令伝達ではなく、別の系によって新合成されるかのどちらかであると考えられた。しかしながら、(3)で、胚および糊粉層細胞を除去して同様に浸漬処理を行った結果、無胚種子および無糊粉層種子のどちらでも、標準区と同等かそれ以上の完全な粉質化が起こった。これは、胚乳細胞内にこの現象に関与する物質が存在することを示している。また、完熟後の胚乳細胞は、細胞としての生体活性を失っている¹⁶⁾ことから、この物質が、浸漬処理後の新合成によるものではなく、登熟過程において合成蓄積された酵素が、浸漬処理によって活性化したものであると考えられる。

以上をまとめると、硬質の粉質化現象は、①発芽の極初期の段階で急速に進む ②酵素による生化学的反応である可能性が高い ③この酵素は熱に対する安定性が高く、④登熟過程に胚乳細胞内に蓄積されたものが、浸漬処理によって活性化したもの、等の推論が導かれるが、今後、より厳密な方法による検証を要する。

VI 総合考察

オオムギ穀粒の走査型電子顕微鏡（SEM）による観察は、桐淵・中村ら⁶⁾、POMERANZ¹⁾によって先鞭がつけられ、当時、既にプロテインマトリックスあるいはセメント状物質として、澱粉粒の間隙を埋める物質の記述がみられる。

更にPOMERANZ¹²⁾は、蛋白含量の高いオオムギと低いものとの比較から、どちらにもプロテインマトリックスは存在するが、高蛋白の方が量的にこれが多いと報じている。また、最近では硬質粒が問題化してからの報告で、富永¹⁹⁾が硬質粒と粉質粒との比較から、プロテインマトリックスの存在は硬質粒に多く、粉質粒では少ないか殆ど見られないと報告している。本研究においては、硬質率と原粒粗蛋白含量との正の相関関係、ならびに硬質粒と粉質粒のSEM観察によるプロテインマトリックスの量的な差異から、上記の報告を包括的に裏付ける結果となった。即ち、硬質率の高いものほど、原粒粗蛋白含量が高く、胚乳細胞内のプロテインマトリックスも多いというものである。

このように、ビール麦の硬質粒発生に関わる穀粒内のタンパク質の役割と存在形態は、ほぼ確定したと言えるが、これら一連の現象は、コムギでは、20世紀初～中期にかけて頻発したパン用硬質小麦の被害粒Yellow Berry (黄色粒)問題の解析から、既に酷似した報告がなされている^{3, 13, 14)}。即ち、このYellow Berryは、土壤中の可給態窒素の欠乏により、原粒粗蛋白含量が低下し、パン用としては不適な軟質の生産物となってしまうというもので、硬質小麦本来の粒色である琥珀色が、内部の粉質化に伴い黄色味を帯びるところから名付けられた。従来、コムギの硬質、軟質の分類は、遺伝的要因によって決定するとされているが、この問題によって、そこに栽培環境要因も大きく関与していることが示されたのである。なお、コムギの胚乳細胞内におけるタンパク質の貯蔵形態については、オオムギと同様にマトリックス状であり、ライムギと共に、イネ科穀類の中では稀な存在であることが報告されている²⁾。以上のことは、オオムギおよびコムギの胚乳におけるタンパク質貯蔵の類似性を示すと同時に、種子という生命体としてみたときの硬質粒やYellow Berryは、

けて外的な要因によって障害を受けたものではなく、体内栄養条件に対応した同化物質転流機構の適応の姿であると言えるであろう。

本研究における観察では、プロテインマトリックスの発達の過程はリボゾーム小胞体とみられる部位の肥大、膨張に由来し、登熟が進むにつれて澱粉粒の間隙を埋めていくものとみられた。OPARKA, HARRIS¹⁰⁾は、イネの蛋白粒 (protein body) の由来について同様の報告をしているが、登熟末期の観察は行っていない。トウモロコシでの蛋白粒の由来についても同様に小胞体末端部の肥大によるとの報告がある⁵⁾。一方BECHTELら²⁾は、コムギにおいて、蛋白粒の発生はゴルジ体由来の小胞で起こるとし、それらが液胞内に取り込まれ互いに融合し肥大したものが、澱粉粒の生長に伴いその間隙に押しやられ、マトリックス構造をとるとした。このように、イネ科穀粒内タンパク質の合成の場については、小胞体によるとするものと、ゴルジ体によるとするものがあり見解が分かれる。また、成熟時の胚乳内タンパク質蓄積形態は、上述のように、オオムギ、コムギはマトリックス構造をとる点で共通する。しかし、本研究の結果は、先のBECHTELらの報告と相容れないものがある。本研究では、SEMを用いてきたが、今後、透過型電子顕微鏡によるより詳細な観察を行う必要がある。

黒磯分場産試料の硬質率が原粒粗蛋白含量と相関を持たないのは、立毛中に発芽の極初期段階を経過し、粉質化が起こったためと考えられた。粉質粒にこのように二つの相があることは、富永¹⁹⁾の立毛中に擬似降雨処理を施した実験によって既に指摘されていたが、特別な処理を全くしていない生産現場の材料から、これが確かめられたのは初めてである。オオムギの種子休眠は、A₁型に属し、成熟期の前後に発芽可能な温度域が低温に収斂するが、真休眠域を持たない。そして、この収斂した際の発芽可能温度

は5～10℃の低温であるとされる⁴⁾。黒磯での成熟期の降雨は、二日間にわたっていた。この降雨初日から四日間の平均気温は13.7, 16.4, 10.7, 9.4℃であった。また、最低気温は、11.1, 10.4, 7.5, 6.9であり、たとえ発芽可能温度域が狭くなっていたとしても、発芽は可能であったと推察される。また、麦芽分析の結果からは、これらの材料はジアスターゼ力が低下しているなど品質面にも影響が及んでいることが示唆された。このように、大麦が収穫前の降雨によって変性を受けていることは、これまで穂発芽のような視覚に捉え易い現象を除いてあまり問題にされてこなかったが、この事実は、ビール麦の品質面から極めて重要な問題をはらんでいる。今後、種子休眠性の程度を遺伝的に制御するなどの育種的な対応を検討するべきである。

発芽による粉質化は、麦芽を製造した際にその内部が白化するという経験上の知識からも推測されたが、本研究では、シャーレ内での発芽実験によって、その経時的变化を調査した。その結果、20℃では40時間で硬質率94%の穀粒がほぼ完全に粉質化することが明らかとなった。この40時間は、成熟期前後の降雨による変性を考えたとき、十分に短い時間であると言わざるを得ない。但し、今回の実験は、種子休眠が完全に明けた材料を用いているので、このデータが、そのまま成熟期のものには適用できない。今後は、立毛状態での粉質化と種子の休眠との関係を十分に検討する必要がある。また、粉質化に関与する種子内の組織を限定することを目的に、無胚半切種子、および無胚無糊粉層種子をシャーレ内で不要浸漬した結果、両者とも粉質化が起こった。このことは、粉質化が何らかの酵素によるものであるとすれば、胚からの合成指令を介する α -アミラーゼのような新合成酵素ではなく、登熟過程で既に合成蓄積されていた酵素であることが示唆される。プロテインマトリックスの分解という観点から、プロテア

ーゼの一種がまず考えられるが、MACLEODら⁸⁾によれば、プロテアーゼもまた、 α -アミラーゼ、 β -グルカナーゼと同様に発芽の過程で新合成される酵素であるという。発芽時の粉質化現象が酵素によるものであるかどうかも含め、今後更なる検討が必要である。

Ⅶ 摘 要

栃木県における大粒大麦は、ビール麦を生産する際の副産物とも言えるものだが、この被害粒として、硬質粒が急速に問題化しており、ビール麦生産の現場から早急な対応の要請がある。そこで先ず、硬質粒発生要因、ならびに麦芽品質への影響を検討した。次に、硬質粒の構造、および形成過程をSEMを用いて観察した。更に、正常とされる粉質粒について穂発芽現象との関連を検討した。

硬質率（硬質の程度）と農業諸形質および麦芽品質との関係を調査した結果、硬質率と原粒粗蛋白含量との間に正の相関が認められた（第2図）。これは、同一品種内のみならず、遺伝的背景を越えた現象として認められた（第4図）。

同一品種内では、硬質率は麦芽エキス、ジアスターゼ力と、それぞれ負、正の相関が認められたが（第4表）。多くの品種についてみた場合、それらの相関関係は、遺伝的変異によって打ち消された（第7表）。

硬質粒の構造をSEMで観察すると、プロテインマトリックスと呼ばれる漆喰状の物質が澱粉粒の間隙を埋め尽くしている状態が観察された。これは粉質粒には少ないものであった（第5図、第6図）。プロテインマトリックスの形成過程は、登熟の中期に繊維状のものから発達し、網状となり、登熟後期には、澱粉粒を鋳型のように取り囲むプロテインマトリックスに成長していく様子が観察された。またその際に、リボゾーム小胞体が関与している様子が窺えた（第7～11図）。

硬質率と原粒粗蛋白含量との相関が認められない黒磯産の材料は、硬質率が一様に低かったが、原粒ジアスターゼ力が低く、原粒粗蛋白含量と相関が認められないこと(第15図)。澱粉粒の消化(第17図)、糊粉層の変化(第18図)など、外観的には穂発芽が認められないにも拘らず、胚乳内では極初期の発芽現象が起きていたものと考えられた。従って、これまで粉質と見られていたものに二つの相、即ち原粒粗蛋白含量が低いものと、発芽現象によって粉質化したものが存在することが生産現場のレベルで明らかとなった。

硬質粒が、発芽の初期に粉質粒に変化する過程を調査した結果、発根が認められる以前に、かなりの硬質率低下が起こっていた(第20図)。またこの現象は、他の発芽現象同様、生化学的なものであり、胚および糊粉層細胞はこれに関与せず、胚乳内の物質の作用であることが示唆された(第21図)。

本研究を行うにあたり、終始懇切なる御指導を賜った東北大学農学部の高橋清助教授、後藤雄佐助手ならびに中村貞二助手に深甚なる感謝の意を表します。また、電子顕微鏡の使用に当たっては、同佐藤鶴治技官に終始御指導頂きました。記して感謝の意を表します。

更に、多くの御助言、御指導をいただいた栃木農試栃木分場の各位に、心から感謝の意を表します。

VIII 引用文献

1. ビール麦醸造用品質改善指定試験地
1989. 品質改良のためのビール麦品質分析法2.
2. BECHTEL, D. B., GAINS, R. L. and POMERANZ, Y. 1982. *Cereal Chem.* 59:336-343.
3. HENSON, J. F. and WAINES, J. G. 1983. *Crop Sci.* 23:20-22.

4. 北条良夫・星川清親 1976. 作物その生態と機能.
5. KHOO, U. and WOLF, M. J. 1970. *Amer. J. Bot.* 57:1042-1050.
6. 桐淵滋雄・中村道徳 1973. 澱粉科学 20:201-205.
7. MACGREGOR, A. W. and MATSUO, R. R. 1982. *Cereal Chem.* 59:210-216.
8. MACLEOD, A. M., DUFFUS, J. H. and JOHNSTON, C. S. 1964. *J. Inst. Brew.* 70:521-528.
9. 増田澄夫・川口数美 1968. ビールムギ.
10. OPARKA, K. J. and HARRIS, N. 1982. *Planta* 154:184-188.
11. POMERANZ, Y. 1972. *Cereal Chem.* 49:5-19.
12. POMERANZ, Y. 1974. *Cereal Chem.* 51:545-552.
13. ROBINSON, F. E., CUDNEY, D. W. and LEHMAN, W. F. 1979. *Agron. J.* 71:304-308.
14. SALLANS, B. J. and SIMMONS, P. M. 1954. *Canadian J. Agri. Sci.* 34:393-405.
15. 佐々木昭博ら 1991. 栃木農試研報 38
16. 佐藤 夷ら 1984. 作物の生態生理.
17. 立花隆一・田谷省三 1986. 作物学会関東支部会報 第1号:57-58.
18. 谷内賢三・田谷省三 1987. 作物学会関東支部会報 第2号:49-50.
19. 富永英子 1988. 東北大学大学院修士論文.

Studies on Vitreous Grains in Two-rowed Barley

Kazuhiko SOHTOME, Kiyochika HOSHIKAWA, Hiroshi ITO and Saburo MIYAGAWA

Summary

The planted area of two-rowed barley in Tochigi prefecture is the biggest in Japan. Since 1988, the standard of product inspection of two-rowed barley has been changed that vitreous grains should be regarded as damaged ones. This has rapidly become a serious problem for farmers.

The authors aimed to make clear the factors on the occurrence of vitreous grains in barley, and the influence of vitreous grains for malting quality.

The vitreousness index (=the average of vitreous areas per transverse section of 10 grains) was positively correlated to grain nitrogen concentration. This highly significant correlation was noticed not only in a genotype but also across many genotypes. Within a genotype, the vitreousness index was correlated negatively to malt extract and positively to amylase activity, but these correlations were not observed when all genotypes were put together.

Vitreous grains were morphologically observed by means of scanning electron microscopy (SEM). Vitreous grains had much more protein matrix in which starch granules of varying sizes were embedded than in starchy grains. The matrix was initiated by fibriform structure in the starchy endosperm at 65% moisture content.

By morphological and biochemical methods, it became obvious that the apparently sound grains (starchy) were divided into two categories. One is the low nitrogen content grains, and the other is the grains which had sprouted before harvest. We demonstrated the occurrence of the second category of starchy grains in petri dishes by steeping the vitreous grains. It took only 40 hr for the grains with high vitreousness index to change into starchy ones. In addition, this change also occurred in the grains from which the embryo or embryo and aleurone layer were cut away.

{ Bull. Tochigi Agr. Exp.
Stn. No. 38 : 37 ~ 58 (1991) }