

原麦全 β -アミラーゼ活性による高ジアスターゼ力系統 選抜方法の開発

関和孝博・渡邊修孝¹⁾・小田俊介²⁾・加藤常夫・長嶺敬

摘要： 原麦で麦芽ジアスターゼ力の高い系統の選抜を可能にするために原麦中の β -アミラーゼ活性と麦芽ジアスターゼ力との関係を調査した。さらに、実際に高ジアスターゼ力系統選抜の可能性を検討した。

ミカモゴールデン/Harringtonの交配から作出したDH(半数体倍加)系統では、原麦中の β -アミラーゼを還元剤処理して測定した全 β -アミラーゼ活性と、麦芽のジアスターゼ力との間で β -アミラーゼの遺伝子型にかかわらず高い相関があることが確認された。酵素抽出液の組成を改良し、原麦全 β -アミラーゼ活性分析の自動化を行った。原麦全 β -アミラーゼ活性と麦芽ジアスターゼ力との間で供試した4組合せのうち2組合せで高い相関が得られた。相関の見られない組合せも存在し、原麦全 β -アミラーゼ活性で選抜が可能な組合せが限定されることが示唆された。極高 β -アミラーゼ活性を持つ系統を交配親に持つ系統群のF₄およびF₅における原麦全 β -アミラーゼ活性の世代間相関は高く、原麦全 β -アミラーゼ活性が高い系統は麦芽ジアスターゼ力も高いことが確認された。

以上のことから、原麦を還元剤処理することで簡易に全 β -アミラーゼ活性を測定することが可能になった。その結果、原麦全 β -アミラーゼ活性に関する遺伝資源の探索および全 β -アミラーゼ活性の極高もしくは極低の系統を交配親に持つ系統の選抜が種子段階で可能になった。

キ-ワ-ド： ジアスターゼ力, ビール大麦, β -アミラーゼ, 選抜法

A method for selecting malting barley with high diastatic power by assaying total grain *beta*-amylase activity

Takahiro SEKIWA, Nobutaka WATANABE, SHUNSUKE Oda, TSUNEO Kato, TAKASHI Nagamine

Summary: To facilitate the seed-level selection of barley lines with high diastatic power, the relationships between the activity of *beta*-amylase in barley grains and the diastatic power in malt were studied. In addition, the possibility of selecting barley lines with high malt diastatic activities on the basis of grain *beta*-amylase activity was examined. In this study, the total *beta*-amylase activity was measured after treating the grain *beta*-amylase with a reducing agent. We also improved the composition of the extraction buffer and automated the measurement of total *beta*-amylase activity in grains. In the doubled haploid lines obtained from the cross "Mikamo Golden" × "Harrington", a strong positive correlation between the total *beta*-amylase activity of grains and the malt diastatic power was observed, irrespective of the genotypes of the *beta*-amylase gene (*Bmy1*). Strong positive correlations were also observed in two of the four cross combinations tested. The absence of correlation in some combinations suggested that selection by total grain *beta*-amylase activity may not be possible for all combinations. There was a strong correlation of total grain *beta*-amylase activity between F₄ plants and their derived F₅ lines that had individual parents with high total grain *beta*-amylase activity. It was confirmed that the lines with high total grain *beta*-amylase activity have high malt diastatic power. From these results, it was shown that total *beta*-amylase activity could be easily determined in grains by applying the reducing agent treatment. This method makes possible seed-level screening of genetic resources with respect to grain *beta*-amylase activity, and seed-level selection of lines that have extremely high or extremely low total *beta*-amylase activities.

Key words: diastatic power, malting barley, *beta*-amylase, selection method

緒言

醸造用二条大麦（以下ビール大麦とする）は品質向上が常に実需者から求められており¹⁾、栃木県麦作の維持発展のためにも高品質品種の育成が必要である。特に、麦芽のジアスターゼ力（澱粉分解酵素活性の総称、以下DPとする）は醸造工程中の糖類生成のために重要である。糖化工程では穀粒中の澱粉が麦芽中の酵素によって酵母が利用できる形に分解される。糖化終了時に麦汁中にヨードで呈色する高級デキストリンのような澱粉が存在するとビールで混濁を起こす可能性があると言われて²⁾ためDPの高い品種が望まれている。澱粉分解酵素の一つである α -アミラーゼは原麦中に活性型と不活性型の形で存在している。発芽により不活性型の α -アミラーゼは活性化され、同時に β -アミラーゼ等のアミラーゼ類が生合成される。これらの酵素活性の総和が麦芽DPであり²⁾、活性の多くは α -アミラーゼによるものである。そのため、高DP系統を選抜するためには麦芽を製造して麦芽DPを分析する必要がある。しかし、麦芽製造には多くの時間と労力を要するため、収穫から次の播種までに麦芽DPを評価することが事実上できない。そこで、 α -アミラーゼが原麦中に含まれていることに着目し、原麦のまま麦芽DPの評価を可能にするため、原麦 α -アミラーゼ活性と麦芽DPとの関連を解析した。また、選抜効率の向上を目的として極高 α -アミラーゼ活性を持つ四R系1363等を母本とした系統群を用いて初期世代における原麦 α -アミラーゼ活性による選抜の可能性を検討したので報告する。

なお、本試験の一部は「麦類の高品質・早生化のための新品種育成及び品質制御技術に関する緊急研究」および「麦類の新品種育成及び品質制御技術の開発」プロジェクトとして実施した。

試験方法

1. 分析材料

分析材料は栃木県農業試験場栃木分場内圃場（細粒灰色低地土）で標準的な施肥で栽培された試料を用いた。

原麦 α -アミラーゼ活性と麦芽DPの関係を探るため、ミカモゴールド/Harringtonの交配で作出した平成11年産の95のDH（半数体倍加）系統とその両親を材料とした。DH系統はミカモゴールド/Harringtonの交配で得たF₁を母本として福岡県総合農業試験場二条大麦育種指定試験地において野生大麦 *Hordeum bulbosum* L.を利用した半数体育種法³⁾（bulbosum法）で作出されたもの

である。

原麦全 α -アミラーゼ活性による選抜効率を調査するため、平成14年産のF₄系統および平成15年産のF₅系統を使用した。使用した系統の組合せ、世代および系統数を第1表に示した。

4組合せ（葉交3779,3780,3783,3784）については原麦全 α -アミラーゼ活性による麦芽DPの予測の可能性を検討した。F₅で選抜した68系統を製麦し麦芽品質を分析および原麦全 α -アミラーゼ活性を測定した。

原麦全 α -アミラーゼ活性による初期世代での選抜を検討するため3組合せ（葉交3587,3588,3769）のF₄系統のうち原麦全 α -アミラーゼ活性の極めて高い系統（700WK以上）および同数の低活性系統をF₅系統として播種した。全系統を収穫して原麦全 α -アミラーゼ活性を測定した。遺伝率（狭義の遺伝率）はF₄選抜系統の全 α -アミラーゼ活性の上位と下位に選抜した個体（系統）の平均値（ \bar{M}_1 , \bar{M}_2 ）、F₅系統の平均値（ \bar{M}'_1 , \bar{M}'_2 ）を用いて、 $(\bar{M}'_1 - \bar{M}'_2) / (\bar{M}_1 - \bar{M}_2)$ で推定した。F₅系統のうちF₄選抜個体で原麦全 α -アミラーゼ活性の高い系統については整粒歩合等の農業特性に問題がない系統、低い系統については農業特性が優れた系統をF₆種子とし製麦を行い麦芽品質を分析した。

世代の進め方は以下のとおり。はじめに各組合せのF₃集団から300~400穂を選抜した。次に選抜した穂を脱穀し、F₄集団として各組合せ2200~8000粒を20cm間隔で点播した。早生、縞萎縮病抵抗性等の農業特性の優れた個体を圃場で選抜しF₄選抜系統とした。分析に用いる組合せについては、株抜きで収穫した。さらに、F₅系統は5cm二条千鳥点播畝長1.5mで播種し、圃場および収穫物で選抜を行い製麦材料およびF₆種子とした。

2. 分析方法

1) 製麦, 麦芽分析法

麦芽製造および麦芽品質分析は「品種改良のためのビール麦品質検定法 第3版」⁴⁾により行った。分析材料の粉碎は全てフォス社製CYCROTEC1093（1.0mmスクリーン）で行った。原麦および麦芽粗蛋白質含量はブラン・ルーベ社のInfraalyzer500もしくはフォス社のInfratec1241 Grain Analyzerを使用して測定した。全窒素含量は粗蛋白質含量を6.25で除して求めた。

ミカモゴールド/HarringtonのDH系統はタイテック社製製麦機を使用して60g製麦を行った。それ以外の系統はフェニックス社製製麦機を使用して50g製麦を行いその麦芽品質を分析した。製麦は反復せず、分析は60g製麦については2反復行い、50g製麦については反復は行

わなかった。

2) ジアスターゼ力分析法

ジアスターゼの抽出は、原麦または麦芽粉碎粉1.00 gを50mlねじ蓋付き三角フラスコに精秤して25mlのイオン交換水を添加溶解し、40 時間静置して行った。流水で冷却後、東洋濾紙社のNo.2ろ紙でろ過して得られたろ液をブラン・ルーベ社のオートアナライザーAA- で分析した。DP測定値(WK)は欧州ビール醸造協会(European Brewery Convention (EBC)) 標準麦芽の公証値から算出した。

3) -アミラーゼ遺伝子座の遺伝子型の同定法

-アミラーゼ遺伝子座(*Bmy1*)の遺伝子型は原麦を用いて等電点電気泳動/活性染色法^{5,6)}により同定した。電気泳動用ゲルの組成は7.5%アクリルアミド、0.2%メチレンビスアクリルアミド、2.0%ファルマリン(pH5.0~8.0)、0.00075%リボフラビン、0.04%TEMED、0.05%CaCl₂、0.05%ペルオキシ二硫酸アンモニウムとした(T 7.5%, C 2.7%)。原麦粉20mgを1%グリシン、143 mM 2-メルカプトエタノールを含む抽出液1mlで1時間室温で振とう遠心後、上清を電気泳動用ゲル上に置いたろ紙に滴下して泳動を行った。電極液は陽極に1%(v/v)リン酸、0.2mM リン酸カルシウム、陰極は2%(v/v)TEMEDを使用した。泳動は4 で行い予備通電を300Vで45分間行い、試料をアプライ後300Vで45分間、400Vで200分間、500Vで45分間行った。泳動後ゲルを37 度2%溶性澱粉液に1時間浸漬後、0.08%ヨードヨウ化カリ液に2分間浸漬後水洗して染色した。

4) -アミラーゼ活性の測定法およびオートアナライザーを用いた測定の自動化

原麦活性型 -アミラーゼと全 -アミラーゼ(活性型+不活性型)の酵素活性をメガザイム社のキットにより測定した。キットはBetamyl法⁷⁾を原理としており、p-ニトロフェニールマルトペンタオース(PNPG5)を基質として活性を測定した。還元剤の0.1Mシステインを抽出液に添加しないで抽出する場合は活性型 -アミラーゼ活性を、添加して抽出することで全 -アミラーゼ活性を測定した。

原麦全 -アミラーゼ活性は、メガザイム社製のキットを使用して手分析で測定するとランニングコストがかかる上、作業が複雑なため1日に測定可能な点数も限られる。そこで、原麦中に -アミラーゼのみ含まれていることに着目し、原麦を還元剤のジチオスレイトール(DTT)で処理することで原麦中の -アミラーゼを活性化させ従来DPの測定に使用しているオートアナライザーで求めた澱粉分解酵素活性を -アミラーゼ活性と

することで測定の自動化を試みた。

抽出液のDTT濃度を以下のようにして設定した。原麦粉0.4gを2mM EDTAおよびDTTを0、1、2、5、10mM、また比較として0.1Mシステインを含む0.2M酢酸ナトリウム緩衝液10mlに溶解し40 1時間振とうした。冷却後No.2ろ紙でろ過したろ液を利用した。80 μl蒸留水に5 mM PNPG5 100 μlを添加し、37 度で約5分間ブレインキュベート後、0.2M酢酸ナトリウム緩衝液で200倍に希釈したろ液を20 μl添加し15分間反応後、0.1M炭酸ナトリウムを800 μl添加し反応を停止させ405nmの吸光度の上昇から -アミラーゼ活性を算出した。

ジアスターゼをイオン交換水で抽出していたのに対して原麦全 -アミラーゼの抽出は2mM EDTA、2.5mM DTTを溶解した0.2M酢酸ナトリウム緩衝液(pH6.0)を使用して抽出、ろ過した。還元剤が抽出液に含まれているので抽出液のブランク値を差し引いて測定値とした。DPの活性単位(WK)は、EBC標準麦芽を水で抽出したものをオートアナライザーで測定し、公証値から算出した。

-アミラーゼ活性測定はオートアナライザーを利用した分析では反復をとらず、それ以外は2反復行った。

5) -アミラーゼ活性の測定法

-アミラーゼはジアスターゼ抽出液を70 30分恒温水槽で熱処理し -アミラーゼを失活させ、オートアナライザーで測定して得られた値を -アミラーゼ活性とした。 -アミラーゼ活性単位(DU)はEBC標準麦芽の公証値から算出した。

試験結果

1. 原麦 -アミラーゼ活性と麦芽DPの関係

原麦活性型 -アミラーゼ活性は、原麦を還元剤を用いずに抽出し、抽出物に含まれる -アミラーゼ活性を基質であるPNPG5を用いて測定した。また、原麦DPは原麦の水抽出物に含まれる澱粉分解酵素活性を測定した。原麦中に存在する澱粉分解酵素は -アミラーゼであると言われていることから、原麦活性型 -アミラーゼ活性と原麦DPは同じものを測定していると考えられ、その相関は高かった。ミカモゴールドン/HarringtonのDH系統では活性単位(units/g)から(WK)への換算式は $y = 0.35x + 2.93$ で表すことができた(第1図)。

-アミラーゼ遺伝子型はミカモゴールドンが*Bmy1*-Sd2, Harringtonが*Bmy1*-Sd1 と同定され、DH系統は両タイプが50対45となり、ほぼ1:1に分離された(第2図)。全95系統の原麦活性型 -アミラーゼ活性と麦芽DPとは有意な相関が認められた($r = 0.50^{**}$)。また、各々の

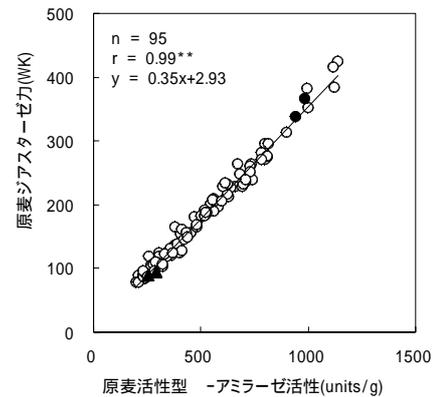
遺伝子型ごとに原麦活性型 -アミラーゼ活性と麦芽DPとの間により高い相関が認められた ($r = 0.69^{**}$, 0.88^{**})。原麦活性型 -アミラーゼ活性はBmy1-Sd2 型の系統の方がBmy1-Sd1 型よりも有意に高かった (第3図)。つまり、単に原麦活性型 -アミラーゼ活性を測定し活性の高い系統を選抜すると原麦活性型 -アミラーゼ活性は低いが麦芽DPの高い系統を廃棄してしまう可能性がある。両親の遺伝子型が同じ場合は原麦中に含まれる原麦活性型 -アミラーゼ活性の分析を行えば選抜が可能である。しかし、ミカモゴールドン/Harringtonのように交配親の遺伝子型が異なる場合は単に原麦活性型 -アミラーゼ活性が高い系統を選抜すると原麦活性型 -アミラーゼ活性は低いが麦芽DPの高い系統を廃棄してしまう可能性がある。つまり、遺伝子型ごとに等電点電気泳動/活性染色法により調査する全ての系統の遺伝子型を特定した上で、原麦の活性型 -アミラーゼ活性を評価しなければならない。しかし、それでは労力が多くなるため効率的な選抜方法ではない。そこで、還元剤を用いて不活性型 -アミラーゼを活性型に変換して原麦全 -アミラーゼ活性として測定したところ、各遺伝子

型に関係なく麦芽DPに対して原麦全 -アミラーゼ活性は高い相関 ($r = 0.85^{**}$) がありその関係式は、 $y = 0.24x + 109$ となった (第4図)。95のDH系統のうち45系統のBmy1-Sd1遺伝子型の原麦全 -アミラーゼ活性に対する原麦活性型 -アミラーゼ活性の割合は平均28.3%、50系統のBmy1-Sd2の割合は平均57.3%とBmy1-Sd2の方が原麦活性型 -アミラーゼ活性の割合が有意に高いことが確認された。以上のことから、還元剤を用いて原麦中の -アミラーゼを全て活性化させることで麦芽DPの高い系統の選抜が可能と考えられた。ただし、原麦全 -アミラーゼ活性は麦芽 -アミラーゼとは無関係だが、麦芽全窒素とは正、麦芽エキスとは負の相関があり育種上不利な関係が認められた (第2表)。即ち原麦全 -アミラーゼ活性で選抜する際は全窒素で除した値を考慮すべきであると考えられた。なお、麦芽 -アミラーゼ活性は麦芽エキス、コールパツ八数、麦汁 -グルカンとの関連が高かった。

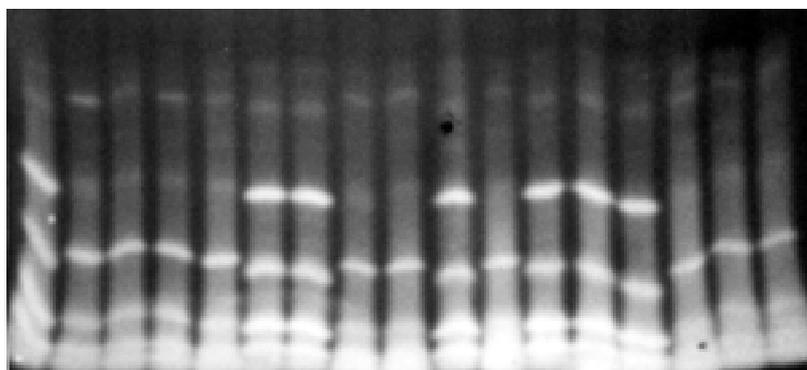
第1表 検討に用いた交配組合せおよび系統数

葉交 番号	交配組合せ	F4	F5	F6
		-アミラーゼ 分析点数	-アミラーゼ 分析点数	製麦点数
3779	栃系274/大系HL11	-	17	17
3780	栃系274/大系HL16	-	20	20
3783	栃系274/AC Metcalfe	-	16	16
3784	関東二条32号/AC Metcalfe	-	15	15
3587	関東二条32号/3/<大系HG32/2/<大系HC15/四R系1363>(F1)>(F4)	122	20	12
3588	九州二条12号/3/<大系HG32/2/<大系HC15/四R系1363>(F1)>(F4)	89	28	14
3769	栃系274/大系HL29	101	16	6

比較品種として分析した親系統は含まない。
 大系HL11(大系HH60/関東二条25号)
 大系HL16(大系HH60/関東二条25号)
 大系HL29(関東二条25号/2/<大系HC15/四R系1363>(F1))



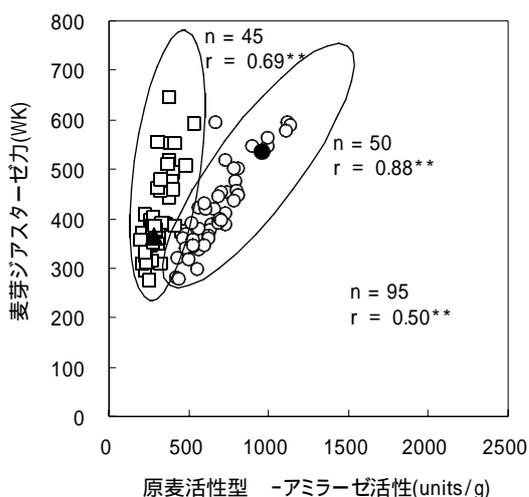
第1図 原麦活性型 -アミラーゼ活性と原麦ジアスターゼ力の関係



M H ← DH →

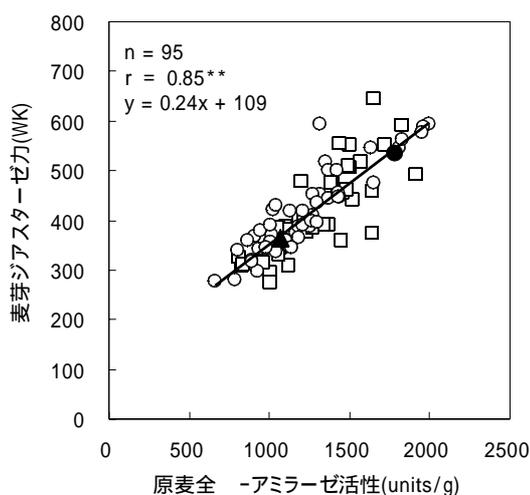
第2図 原麦 -アミラーゼの等電点電気泳動/活性染色パターン

M:ミカモゴールドン(Bmy1-Sd2), H:Harrington(Bmy1-Sd1)
 DH:ミカモゴールドン/Harrington DH系統



第3図 -アミラーゼ遺伝子型による原麦活性型
-アミラーゼ活性と麦芽ジアスターゼ力の関係

Bmy1-Sd1, *Bmy1*-Sd2, Harrington(*Bmy1*-Sd1),
ミカモゴールドデン(*Bmy1*-Sd2)



第4図 原麦全 -アミラーゼ活性と麦芽
ジアスターゼ力の関係

Bmy1-Sd1, *Bmy1*-Sd2, Harrington(*Bmy1*-Sd1),
ミカモゴールドデン(*Bmy1*-Sd2)

第2表 ミカモゴールドデン/Harrington DH系統の -アミラーゼ活性と麦芽品質との相関関係 (n = 95)

	麦芽 - アミラーゼ	麦芽 全窒素	麦芽 珪素	可溶性 窒素	コーン パツル数	麦芽DP (WK)	麦芽DP (WK/TN)	麦汁 - グルカン	麦汁 粘度
原麦全 -アミラーゼ	0.04	0.84 **	-0.44 **	0.45 **	-0.38 **	0.85 **	0.44 **	0.16	0.22
麦芽 -アミラーゼ		0.06	0.50 **	0.71 **	0.70 **	0.10	0.08	-0.44 **	-0.28 *

** : 0.1%水準で有意. * : 1%水準で有意.

2. 原麦全 -アミラーゼ活性のオートアナライザーを用いた測定の自動化と選抜効果

オートアナライザーを利用して -アミラーゼ活性の測定を自動化するために抽出液のDTT濃度を検討した(第5図)。抽出液のDTT濃度が1mMだとBetamyl法で用いられる0.1Mシステインと同様に不活性型 -アミラーゼがほぼ活性化できることがわかった。抽出を確実にを行うためには、抽出液のDTT濃度は2.5mMが適当と判断された。

F₄4組合せ68系統について原麦全 -アミラーゼ活性に関しては無選抜で麦芽分析を行い、原麦全 -アミラーゼで麦芽DPが予測可能かを調査した。葉交3779, 3780の2組合せでは原麦全 -アミラーゼ活性と麦芽DPで相関が認められた。しかし、AC Metcalfeを母本とした2組合せでは相関は認められず、原麦全 -アミラーゼ活性による選抜が可能な組合せが限定されることがわかった(第6図)。

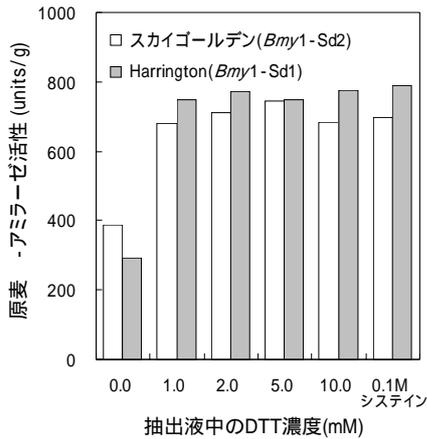
四R系1363を母本とした3組合せのF₄選抜系統122, 89,

101個体の原麦全 -アミラーゼ活性を調査した。ただし、多点数あるため原麦粗蛋白含量、原麦水分含有率は測定せず、湿重量あたりの原麦全 -アミラーゼ活性で選抜した。その結果、700WK以上の個体は各組合せでそれぞれ10, 16, 8個体、計34個体あった(第7図)。葉交3769の親系統である大系HL-29の原麦全 -アミラーゼ活性は1089WKあり親系統の -アミラーゼ活性が高いことが確認された。

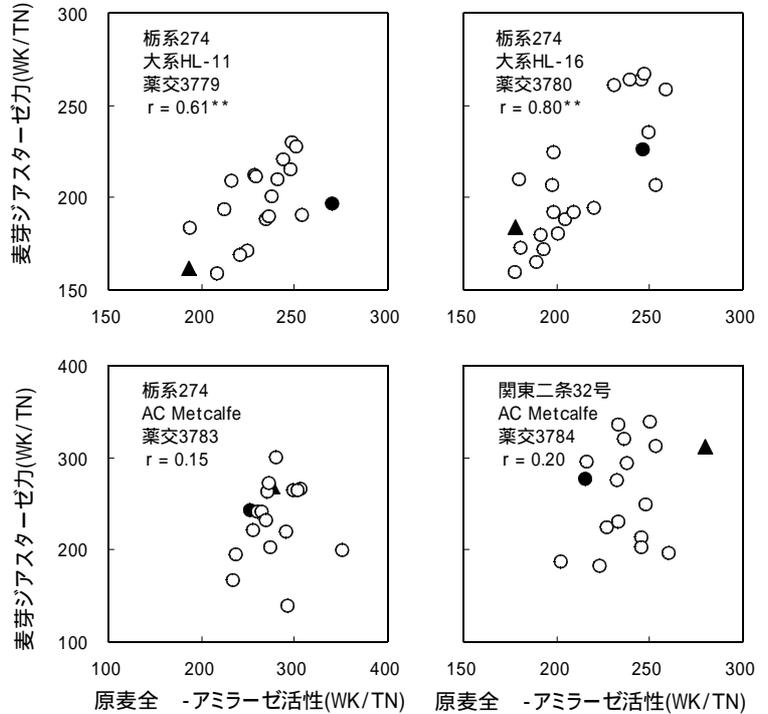
原麦全 -アミラーゼ活性の高い個体数と同数の個体を活性の低い順から選択しF₅として全68系統栽培を行った。F₄とF₅の原麦全 -アミラーゼ活性の世代間相関は各組合せで高く(r = 0.79~0.95**) (第8図)、各組合せにおける原麦全 -アミラーゼ活性は比較的高い遺伝率を示すことが確認された(第3表)。このことから原麦全 -アミラーゼ活性が極めて高い系統を交配親に持つ組合せの場合、一株植えのF₄の原麦全 -アミラーゼ活性からF₅の原麦全 -アミラーゼ活性を予測できることが明らかになった。また、これらの組合せでは原麦全

-アミラーゼ活性の高いものは麦芽DPが既存品種と比べて極めて高いことが確認された(第9図)。さらに、原麦全 -アミラーゼ活性が同じでも麦芽DPの値が大き

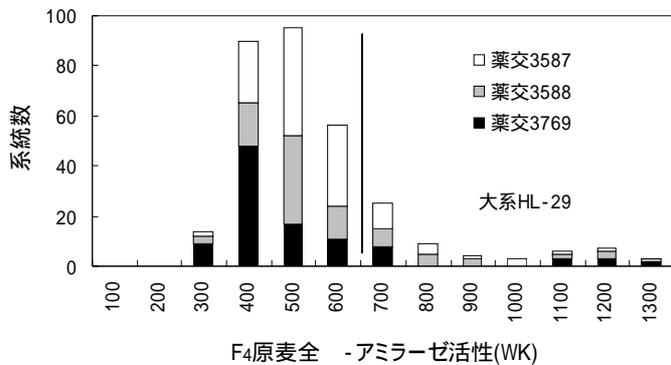
く異なる組合せも見られ、麦芽DPは原麦全 -アミラーゼ活性以外の要素の影響を受けていることが示唆された。



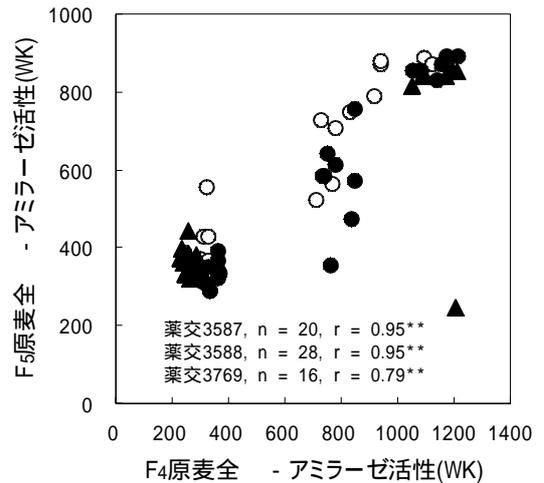
第5図 酵素抽出液のジチオスレイトール濃度の違いによる原麦 -アミラーゼ活性



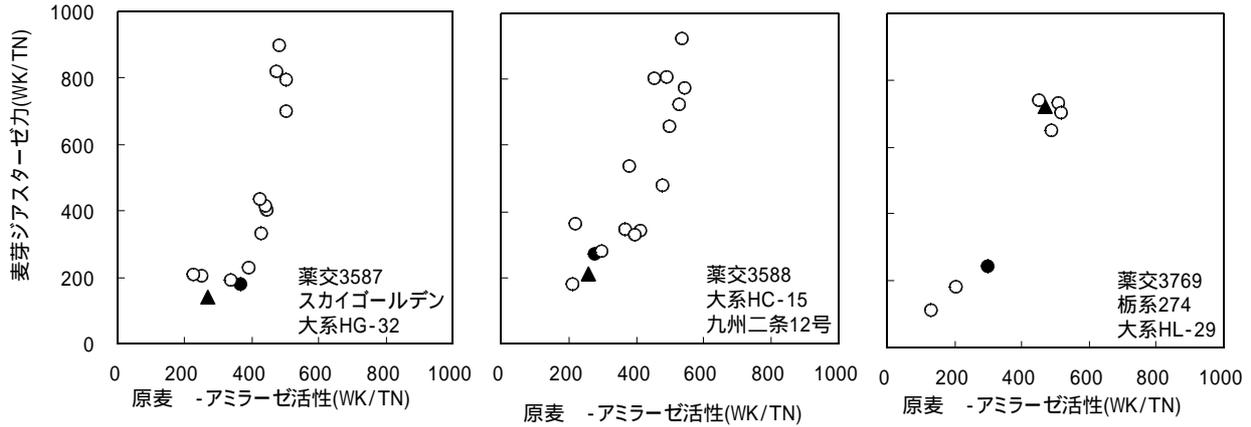
第6図 F₆系統における原麦全 -アミラーゼ活性と麦芽ジアスターゼカの関係



第7図 F₄系統の原麦全 -アミラーゼ活性の頻度分布



第8図 F₄およびF₅系統の原麦全 -アミラーゼ活性の世代間相関



第9図 原麦全 -アミラーゼ活性および麦芽ジアスターゼ力

第3表 原麦全 -アミラーゼ活性の遺伝率

薬交 番号	世代	原麦 -アミラーゼ活性(WK)				t ²	遺伝	
		\bar{M}_1^{-1}	\bar{M}_2^{-1}	\bar{M}'_1^{-1}	\bar{M}'_2^{-1}		獲得量	遺伝率 ³
3587	F ₄ -F ₅	886	310	754	385	**	369	0.64
3588	F ₄ -F ₅	919	329	681	331	**	350	0.59
3769	F ₄ -F ₅	1146	251	773	373	**	399	0.45

¹ \bar{M}_1, \bar{M}_2 : 各々上位の選抜個体およびこれらの後代系統群の原麦全 -アミラーゼ活性の平均値.

² \bar{M}'_1, \bar{M}'_2 : 各々下位の選抜個体およびこれらの後代系統群の原麦全 -アミラーゼ活性の平均値.

³ \bar{M}'_1, \bar{M}'_2 ついては検定を行った結果, 1%水準で有意差があることを示す.

³ 遺伝率は $(\bar{M}'_1 - \bar{M}'_2) / (\bar{M}_1 - \bar{M}_2)$ で求めた.

考察

1. 原麦活性型 -アミラーゼ活性と麦芽DPの関係

本試験は、原麦から麦芽DPを選抜する方法を検討した。加島ら(1999)⁸⁾は水抽出原麦DPと麦芽DPとの相関が高く、選抜指標として利用できると報告しているが、今回用いたミカモゴールデン/HarringtonのDH系統では遺伝子型ごとに原麦活性型 -アミラーゼ活性と麦芽DPが相関を持つため、原麦活性型 -アミラーゼ活性の高い系統を選抜すると原麦活性型 -アミラーゼ活性は低いが麦芽DPの高い系統を廃棄してしまう恐れがあるので選抜に利用できなかった。これは、前述の報告では恐らく同じ遺伝子型同士が交配に用いられたためと考えられる。

2. ミカモゴールデン/HarringtonのDH系統における

原麦全 -アミラーゼ活性と麦芽DPの関係

原麦中の不活性型の -アミラーゼは、蛋白質分解酵素やチオール基を持つ還元試薬によって活性化される⁹⁾。また、栽培品種間では原麦全 -アミラーゼ活性と麦芽DPは高い相関がある¹⁰⁾ことが既に知られており、ミカモゴールデン/HarringtonのDH系統でも相関が高いことが確認された。ミカモゴールデン/HarringtonのDH系統

の原麦全 -アミラーゼ活性 (units/g) と麦芽DP (WK) の関係式に (units/g) から (WK) への換算式を代入することで原麦全 -アミラーゼ活性 (WK) と麦芽DP (WK) の関係式を $y = 0.69x + 107$ と表すことができる。麦芽DPは麦芽を水で抽出して測定するので麦芽中の活性型 -アミラーゼ活性と -アミラーゼ以外の澱粉分解酵素活性の総和である。この式の y 切片は発芽中に生合成される -アミラーゼ以外の澱粉分解酵素活性、傾きは原麦全 -アミラーゼ活性のうち麦芽中に存在する活性型 -アミラーゼ活性の割合 (麦芽活性型 -アミラーゼ活性 ÷ 原麦全 -アミラーゼ活性) と考えられる。

ミカモゴールデン/HarringtonのDH系統の中には原麦全 -アミラーゼ活性が同じでも麦芽DPが異なるのものが見られた。この原因として以下の理由が考えられる。原麦全 -アミラーゼ活性に対する麦芽中で存在する活性型 -アミラーゼ活性の割合が高い、もしくは -アミラーゼ以外の澱粉分解酵素活性が高い場合に麦芽DPは推定された値より大きくなる可能性がある。また、逆に原麦全 -アミラーゼ活性に対する麦芽活性型 -アミラ

ーゼ活性の割合が低い、もしくは -アミラーゼ以外の酵素活性が低い場合は推定された麦芽DPの値より小さくなる可能性がある。原麦全 -アミラーゼ活性に対する麦芽活性型 -アミラーゼ活性の割合の違いは系統の特性もしくは製麦中の発芽不良や焙燥における熱失活による影響も受けると考えられる。

3. オートアナライザーを利用した原麦全 -アミラーゼ活性による麦芽DP選抜

原麦全 -アミラーゼ活性と麦芽DPは高い相関があることから、原麦全 -アミラーゼ活性を麦芽DPの選抜に活用できないか検討した。その結果、供試した4組合せのうち2組合せの交配については高い相関が認められたが、交配親をAC Metcalfeとする2交配については相関が認められなかった。相関が見られなかった原因がAC Metcalfeが交配親であったためなのかは不明であるが、ミカモゴールドン/HarringtonのDH系統で原麦全 -アミラーゼ活性が同じでも麦芽DPが異なる系統が見られたようにこれらの組合せで原麦全 -アミラーゼ活性よりも麦芽DPに關与する何らかの要素が大きく働いたのではないだろうか。また、オートアナライザーを使用した原麦全 -アミラーゼ活性測定は還元剤処理をした原麦中に含まれる澱粉分解酵素力を測定している。そのため、-アミラーゼの基質を利用するメガザイム社のキットとは異なり、試料が収穫前の降雨で穂発芽した場合、外見は発芽していなくても -アミラーゼ以外の澱粉分解酵素が発現していた場合などは -アミラーゼ活性として測定してしまう可能性がある。したがって、分析目的によっては -アミラーゼ活性などの測定もあわせて行う必要もあるだろう。

4. 極高 -アミラーゼ活性系統の選抜とその意義

四R系1363を母本とした系統群についてF₂の原麦からF₅の原麦全 -アミラーゼ活性を予測することができ、原麦全 -アミラーゼ活性の高いものは麦芽DPが高かった。この結果はDPが農業特性や醸造品質の中で広義の遺伝力が高い特性である¹¹⁾ことと一致していた。四国農業試験場(現、近畿中国四国農業研究センター)で育成された裸麦四R系1363はHyprolyを母本としており、従来のビール大麦に比べて -アミラーゼ活性が極めて高い系統であり、1994年4月に栃木分場で人工交配が行われた。四R系1363は農業特性として開花、裸性、小粒、低収で原麦粗蛋白質含量が高く、ビール大麦としては不利な特性があるが、その親品種であるHyprolyは第7染色体長腕に座上する高リジン遺伝子 $lys1$ はホルデインを減少させ、 -アミラーゼや泡保ち性を良くする蛋白質として働くプロテインZを増加させると言われている¹²⁾。そ

のため、本選抜法によりビール麦として有効な形質を取り入れることができれば醸造品質の飛躍的な向上が期待できる。

今回使用した四R系1363を母本とした系統は、原麦全 -アミラーゼ活性が高く、既存品種に比べて極めて麦芽DPが高い。しかし、醸造品質に対する極高 -アミラーゼ特性の影響についてはまだ十分な知見がない。ただし、酵母の利用できる糖はマルトリオース程度の大きさの糖しか発酵に利用できないこと¹³⁾、 -アミラーゼの耐熱性には品種間差があり、熱安定性を指標として最終発酵度の間接選抜が可能¹⁴⁾であることから -アミラーゼ活性を高くすることにより、ビール醸造における発酵性の向上が期待できる。また、酵素力が強い麦芽ができれば従来利用できなかった副原料を用いることができ、今までにはなかった風味のビールの醸造が可能になるかもしれない。

-アミラーゼは -アミラーゼと比べて耐熱性が低く、糖化中に熱失活してしまうため -アミラーゼの耐熱性に関する研究は現在も行われている。 -アミラーゼの耐熱性が高い品種の麦汁は酵母の利用できる低分子量の糖が多く含まれ、最終発酵度が高い¹⁵⁾との報告があるので、 -アミラーゼの「量」ではなく「質」についても今後検討する必要がある。

5. 育種への応用と留意点

今回の報告で原麦全 -アミラーゼ活性で麦芽DPを選抜できる組合せが限定されることが示唆されたが、どの組合せで相関が低くなるか判別することは困難である。ただし、四R系1363を母本とした系統群で原麦全 -アミラーゼ活性の高い系統はミカモゴールドン/HarringtonのDH系統から求めた原麦全 -アミラーゼ活性(WK)と麦芽DP(WK)の関係式から予想される値より麦芽DPが高かった。これは原麦全 -アミラーゼ以外の澱粉分解酵素が発現しているためと考えられるが、原麦全 -アミラーゼ活性の極めて高い系統を選抜することで麦芽DPの極めて高い系統を選抜することができた。このことから、本法は原麦全 -アミラーゼ活性の差が小さい品種同士の交配から得られた系統の選抜に用いるよりも、原麦全 -アミラーゼ活性の極めて高く醸造品質の優れた系統、もしくは何らかの耐病性に関する遺伝子は有するが原麦全 -アミラーゼ活性が極低の系統を母本とする交配によって選抜対象となる系統の原麦全 -アミラーゼ活性が大きく異なることが予想される場合に有効な選抜法であると言える。今回供試した組合せにはなかったが、既存の品種同士の交配から得られた系統についても極めて低い麦芽DP系統が出現することがあるので、そ

のようなビール麦として使用できないような系統を淘汰することに活用できるだろう。今後は実用的な組合せで狭い範囲に分布する麦芽DPを原麦で選抜することが可能な分析法を開発していく必要がある。

本法で麦芽DPが極めて高い系統の選抜が可能になったが、ビール大麦として実需者から求められているのは麦芽DPだけではない。主なものとして麦芽エキスが高く、麦汁 -グルカンが低い、粗蛋白含量が10.0~11.0%の適正範囲かつ蛋白の溶けが適正で溶けすぎない等、全ての醸造品質の項目でバランスがとれたものがビール原料として望まれている。そのため、極高DP系統の育成にはビールをはじめとして発泡酒等のビール以外の用途も含めた特性が生かせる利用法を実需者と共に考えていかなければならない。

謝辞

最後にミカモゴールド/HarringtonのDH系統を作出していただいた福岡県総合農業試験場二条大麦育種指定試験地の皆様、および品質分析において多大なる協力をいただいた星野洋子主任技術員に心から感謝の意を表します。

引用文献

1. 谷口義則 (2002) ビール用二条大麦における品質育種の成果と今後の方向 農業技術57(8):337-342
2. ビール酒造組合 国際技術委員会編 (2002) ビールの基本技術:1-46
3. 古庄雅彦 (1993) ビール大麦における半数体育種に関する研究 福岡農総試特別報告 第7号:31-43
4. 栃木分場 (1998) 「品種改良のためのビール麦品質検定法 (第3版)」
5. Evans, D. E., MacLeod, L. C., Eglinton, J. K., Gibson, C. E., Zhang, X., Wallace, W., Skerritt J., H. and Lance, R. C. M. (1997) Measurement of *beta*-amylase in malting barley (*Hordeum vulgare* L.). I. Development of a quantitative ELISA for *beta*-amylase, J. Cereal Sci., 26, 229-239
6. Evans, D. E., Wallace, W., Lance, R. C. M. and MacLeod, L. C. (1997) Measurement of *beta*-amylase in malting barley (*Hordeum vulgare* L.). II. The effect of germination and kilning, J. Cereal Sci., 26, 241-250
7. McCleary, B. V. and Codd, R. (1989) Measurement of *beta*-amylase in cereal flours and commercial enzyme preparations, J. Cereal Sci., 9, 17-33
8. 加島典子ら (1999) ビール大麦の原麦ジアスターゼ力と他形質との関係 栃木農試研報48:47-52.
9. Allison, M. J. and Swanston, J. S. (1974) Relationships between *beta*-amylase polymorphisms in developing, mature and germinating grains of barley, J. Inst. Brew., 80, 285-291
10. Gibosn, T. S. and Solah, V. (1995) Diastatic power in malted barley: contributions of malt parameters to its development and the potential of barley grain *beta*-amylase to predict malt diastatic power, J. Inst. Brew., 101, 277-280
11. 吉川亮ら (1995) 各種栽培条件下におけるビール大麦ジアスターゼ力の遺伝的安定性 福岡総農試研報14:26-29
12. 農林水産技術会議編 麦 高品質化にむけた技術開発 農林水産研究文献改題 No.23:524-533
13. 稲橋正明ら (1992) 各種醸造用酵母のマルトオリゴ糖に対する発酵特性 日本醸造協会誌 第87巻 第4号:312-314
14. 木原誠ら (1998) 大麦 -アミラーゼに関する育種の研究. 1. -アミラーゼ熱安定性の品種間差異と熱安定性を指標とした麦芽品質の間接選抜. 育種学雑誌 (別1):153
15. Evans, E., Wegen, B. and Eglinton, J. (2003) The impact of the thermostability of *alpha*-amylase, *beta*-amylase, and limit dextrinase on potential wort fermentability, J. Am. Soc. Brew. Chem., 61(4):210-218

