

Die gleichzeitige Schnellbestimmung der β -Amylase und des Proteingehaltes von Gerste und die Heritabilität dieser Merkmale in einem Versuch mit 16 Braugerstensorten

E. SCHWARZBACH und H. HODOVÁ

Institut für Mutationszüchtung in Stupice bei Prag

A Rapid Method for the Simultaneous Determination of β -Amylase and Protein Content of Barley and the Heritability of these Traits in an Experiment with 16 Varieties of Malting Barley

Summary. 1. A rapid method for simultaneous determination of β -amylase and protein content in malting barley was developed. 500 mg of flour are shaken up with a cysteine containing activation solution and the suspension is mixed directly with the enzyme substrate. The aldoses in the supernatant are titrated iodometrically, and the proteins dissolved in alkaline solution are Kjeldahl digested and nesslerized in the same test tube.

2. Samples of the 16 varieties used for the official Czechoslovakian State trials, grown at 4 different localities were analyzed and the results compared with the official ones.

3. By an analysis of variance the following standard errors, including analytical and trial errors, were estimated: For the official nitrogen content and β -amylase determination 3.2% and 9.7% respectively, compared with 6.5% each by rapid method determination of β -amylase and nitrogen, in terms of the measured value. The standard analytical error of the rapid determination of nitrogen and β -amylase content was 2.4% and 3.1% respectively.

4. Both analytical methods showed the locality differences to have the greatest effect on the variability of both traits; and affected each to the same extent. No varietal differences in nitrogen content could be demonstrated but considerable genetic variability of β -amylase content was found by both analytical methods.

5. In the 64 barley samples tested the heritability of β -amylase was estimated as 0.37. The sum of the locality and variety variance was taken as the population variance. Within localities the genetic variance was 41.6 and 51.5% of the total variance of β -amylase values obtained by means of the official and rapid method, respectively.

6. The rapid method supplies at least as much useful information as the official method, and can be used for the purpose of selection.

Einleitung

Der β -Amylase- und Proteingehalt sind wichtige Qualitätskomponenten der Braugerste. Die Möglichkeit der züchterischen Bearbeitung dieser Merkmale wird grundsätzlich vom Arbeitsaufwand, der mit ihrer Bestimmung verbunden ist, begrenzt. Es wurden mehrfach Schnellverfahren zur Bestimmung je eines dieser Merkmale beschrieben (vgl. z. B. LAU, 1961; die älteren Methoden der Amylasebestimmung faßt WILDNER, 1959, zusammen; eine Übersicht der Schnellmethoden zur Proteinbestimmung bis 1964 geben PRUGAR u. BÖHMOVÁ, 1965). Wir versuchten, die Bestimmung weiter zu rationalisieren und eine Methode zur Bestimmung beider Merkmale in einem Arbeitsgang aus einer Einwaage zu entwickeln. Die Aussagekraft der entwickelten Schnellmethode wurde anschließend an den 16 Sorten der amtlichen Prüfung 1964 von je 4 klimatisch verschiedenen Orten in der ČSSR untersucht und die Ergebnisse mit den amtlichen, vom Institut für Brauwesen durchgeführten (SVĚDIROHOVÁ und TRUNEČKOVÁ, 1965)¹ Gersten- und Malzanalysen verglichen. Aus den Analysendaten

wurde anschließend die Heritabilität beider Merkmale berechnet, um die Anwendbarkeit des Bestimmungsverfahrens in der Züchtung zu zeigen.

Material und Methoden

Bekanntlich bestehen enge Korrelationen zwischen dem β -Amylasegehalt von Gerste und Malz (vgl. ANDERSON et al., 1941). Auch sind die einzelnen β -Amylase-Isozyme von Gerste und Malz immunchemisch und elektrophoretisch identisch (FRYDENBERG und NIELSEN, 1965). Da außerdem die Kleinalmahlung eine beachtliche Fehlerquelle bilden kann, wurden die Analysen auf ungekeimte Gerste beschränkt. Wir gingen vom Verfahren nach SANDGREN u. KLANG (1950) aus (Aktivierung der gebundenen Amylase durch Cystein, Herstellung eines Enzymextraktes und Messung der enzymatisch aus einer Stärkelösung freigesetzten Maltosemenge). Unser Grundgedanke bestand darin, die aktivierte Schrotsuspension direkt mit dem Enzymsubstrat ohne Herstellung eines Enzymextraktes zu vereinigen und die enzymatische Reaktion nach einer bestimmten Zeit durch Alkalisierung so zu unterbrechen, daß gleichzeitig die Gerstenproteine in Lösung gehen. Nach Absetzen enthält die überstehende Lösung nebeneinander Maltose und Proteine in Mengen, die dem β -Amylase- und Proteingehalt der Gerste ent-

¹ Frau Dr. M. SVĚDIROHOVÁ aus der Arbeitsstelle Brünn des Institutes für Brauwesen in Prag sei an dieser Stelle für die Bereitstellung der 64 Gerstenproben und der amtlichen Analysenwerte sowie für das Interesse, das sie der Arbeit entgegenbrachte, herzlich gedankt.

sprechen. Durch geeignete Wahl der Reaktionsbedingungen gelang es, die Reaktion in den linearen Bereich der amylolytischen Kurve zu bringen und die etwas unterschiedlichen pH-Optima der Aktivierung und der Amylyse einzuhalten. Für die Aktivierung der gebundenen Amylase stellten wir ein Optimum in der Nähe von pH 6,5 fest. Für die Amylyse konnte das bekannte Optimum von pH 5,5 bestätigt werden. Um die Pufferung im neutralen Bereich zu verbessern und um zur Aktivierung und Amylyse das gleiche Puffersystem verwenden zu können, erweiterten wir das Citrat-Phosphat-System um Borsäure, die außerdem in günstiger Weise zur Verlangsamung der enzymatischen Reaktion beiträgt. Um die notwendige genaue Temperierung der Lösungen und die damit verbundenen Fehlerquellen zu umgehen, paßten wir sämtliche Operationen des Bestimmungsverfahrens der Zimmertemperatur von 22 °C, die sich mit Hilfe eines Quecksilberkontaktthermometers mit elektronischem Relais sehr gut konstant halten läßt, an. Wir erreichten eine Konstanz der Raumtemperatur von $\pm 0,1$ °C (mit elektrischer Heizquelle und Ventilator).

Zur Bestimmung der Maltose wurde das erstmals von ROMIJN (1897) beschriebene und von KOLTHOFF (1923) eingehend untersuchte jodometrische Verfahren anderen vorgezogen, da es nur aus 2 Pipettierungen und einer Titrierung besteht und die Reaktion nach WILLSTÄTTER u. Mitarb. (1923) stöchiometrisch bei Zimmertemperatur verläuft. Die Reaktionsbedingungen wurden so gewählt, daß die Alkalität der untersuchten Lösung einen weiteren, sonst erforderlichen, Alkalizusatz überflüssig machte.

Die Proteine versuchten wir zunächst photometrisch durch Trübungsbildung mit Sulphosalicylsäure nach FEINSTEIN u. HART (1959) zu bestimmen. Die Reaktionsbedingungen wurden in einer früheren Arbeit analysiert (SCHWARZBACH und ŠIRŮČEK, 1965). Die Bestimmung nach vorangegangener Amylase-Aktivierung ergab jedoch stets beträchtlich niedrigere Werte als erwartet, vermutlich infolge gleichzeitiger Proteolyse während der Aktivierung. Deshalb benutzten wir schließlich die etwas abgewandelte, von OESTING et al. (1949) für die Bieranalyse vorgeschlagene, in Prüfgläsern durchgeführte Kjeldahlmethode mit direkter Nesslerisierung. Das Nessler-Reagens wurde nach MINARI u. ZILVERSMIT (1963) mit 0,1% KCN stabilisiert. Da das zur Aktivierung erforderliche Cystein eine Stickstoffverbindung ist, ersetzen wir das Cystein zu 80% durch das N-freie und wesentlich billigere Kaliummetabisulphit ohne Beeinträchtigung der Amylase-Aktivität (alleinige Reduzierung der Cysteinkonzentration oder vollständige Ersetzung des Cysteins durch Bisulphit verminderte die Amylaseaktivität).

Die kombinierte Bestimmung läßt sich wie folgt zusammenfassen:

1. 0,500 g Gerstenschrot werden in einem gut schließenden Plastikfläschchen mit 25 ml Aktivierungslösung ca. 2 Stunden geschüttelt.

2. In das Fläschchen werden rasch 50 ml Stärkelösung eingefüllt und sofort sorgfältig mit der Suspension vermischt.

3. Nach genau 4 Minuten (Stoppuhr!) wird die Reaktion durch 25 ml 0,5 n NaOH unterbrochen und die Suspension ca. 10 Min. geschüttelt.

4. Nach mindestens 30 Min. Abstehen werden 5,0 ml des Überstandes in einem enghalsigen Erlenmeyerkolben mit 10 ml 0,05 n Jodlösung vermischt, nach 10 Min. wird mit 1 ml n H₂SO₄ angesäuert und mit 0,05 n Na₂S₂O₃ titriert. Die Differenz zum Blindversuch (zuerst NaOH, dann Stärkelösung) ist dem β -Amylasegehalt proportional.

5. 0,50 ml der Ausgangslösung aus 4. und 1,0 ml Mineralisierungsflüssigkeit werden in ein feuerfestes Prüfglas (wir benutzten Simax-Glas) eingebracht und auf einer gut ausregulierten elektrischen Verbrennungsanlage (kann aus einer keramischen Kocherplatte hergestellt werden) mineralisiert, was ca. 30 Min. dauert.

6. Nach Abkühlung werden nacheinander 10 ml H₂O und 2,5 ml Nesslerreagens nachgefüllt und die Lösung durchgemischt. Nach 10 Min. wird die Extinktion gegen eine in derselben Weise, aber ohne Schroteinwaage hergestellte Kontrollösung bei ca. 450 nm gemessen. Die Extinktion ist dem N-Gehalt proportional.

Der Jodverbrauch im Blindversuch (4.) wird bei auswuchsfreier Gerste praktisch nur von der Qualität der benutzten Stärkelösung beeinflusst. Es genügt daher, 3mal am Tage den Blindversuch durchzuführen und den Mittelwert als Blindwert für alle Proben der Tagesserie zu verwenden.

Die benötigten Lösungen:

1. Pufferlösung. 0,2 M H₃BO₃, 0,2 M Na₂HPO₄ und 0,2 M Citronensäure werden im Verhältnis 2:1:1 vermischt. Die Lösung ist haltbar.

2. Aktivierungslösung. In ca. 200 ml H₂O werden nacheinander 25 ml Pufferlösung, 100 mg Cysteinhydrochlorid und 500 mg Kaliummetabisulphit gelöst. Die Lösung wird mit NaOH auf pH 6,5 gebracht und mit dest. Wasser auf 1000 ml aufgefüllt. Die Lösung bereitet man jeden Tag frisch und läßt sie im Arbeitsraum über Nacht temperieren.

3. Stärkelösung. 40 g in kaltem Wasser suspendierte lösliche Stärke werden in ca. 1000 ml siedendem Wasser gelöst. Nach Abkühlung werden 50 ml Puffer zugegeben und das pH wird mit NaOH auf 5,5 gebracht. Mit dest. Wasser auf 2000 ml auffüllen. Die Lösung bereitet man jeden Tag frisch und läßt sie im Arbeitsraum über Nacht temperieren.

4. Mineralisierungsflüssigkeit. 30 ml konz. H₂SO₄ (ca. 96%) werden unter Kühlung vorsichtig in 60 ml konz. H₂O₂ (ca. 33%) gegossen. Die Lösung wird in einem nicht hermetisch schließenden Gefäß bei

Raumtemperatur aufbewahrt und muß täglich erneuert werden.

5. Nessler-Reagens. Die fertige käufliche Lösung wird mit 0,1% KCN stabilisiert.

Bei zweckmäßiger Arbeitsorganisation, Verwendung von automatischen Pipetten und einer Schnellwaage sind 3 Arbeitskräfte imstande, täglich bequem 150 Gerstenproben zu analysieren. Die zeitraubendsten Operationen bilden das Mahlen und Einwiegen.

Nach obiger Vorschrift wurden Samenproben der 16 Sommergersten der amtlichen Prüfung 1964 von je 4 klimatisch verschiedenen Anbauorten, insgesamt 64 Proben, analysiert und die Ergebnisse mit den amtlichen Analysenergebnissen verglichen. Die Proben wurden vom Institut für Brauwesen in Prag, Arbeitsstelle Brünn, wo auch die amtlichen Analysen durchgeführt wurden, bezogen. Aus jeder der 64 Gerstenproben entnahmen wir 2 Stichproben von 10 g. Die so erhaltenen 128 Proben numerierten wir nach Zufallstabellen und analysierten sie anonym. Die Proben wurden mit einer SWMI-Schlagmühle 30 Sek. geschrotet, zur Analyse wurden jeweils 500 mg eingewogen. Die pH-Messungen führten wir mit hochohmigen Glaselektroden durch. Die Auswertung der Nessler-Reaktion erfolgte mit einem Pulfrich-Photometer mit elektrischer Nullanzeige und dem Blaufilter S 47. Zur Raumtemperierung diente ein elektrischer Heizkörper 1000 W mit Ventilator, geregelt durch ein Quecksilberkontaktthermometer mit elektrischem Relais.

Die Ergebnisse, die als Mittelwerte von Doppelbestimmungen vorlagen, wurden mit Hilfe der Varianzanalyse ausgewertet. Der Varianzanalyse wurde das Fixwertmodell zugrundegelegt, da weder die Sorten, noch die Anbauorte zufällige Stichproben aus großen Grundgesamtheiten bildeten und da uns die Variabilität der konkreten untersuchten Sorten und Lokalitäten interessierte. Die Verwendung des Fixwertmodells zur Schätzung von Varianzkomponenten ist an anderer Stelle ausführlich beschrieben (SCHWARZBACH 1968).

Versuchsergebnisse und Diskussion

Die Analysenergebnisse aus dem Institut für Brauwesen lagen als relativer N-Gehalt der Trockensubstanz und als Windisch-Kolbach-Einheiten, unsere als Lösungsvolumina und Extinktionswerte vor. Um die Ergebnisse beider Arbeitsstellen und beide Merkmale auf eine vergleichbare Basis zu bringen, drückten wir alle Werte als Prozente des Mittelwertes des betreffenden Versuches aus und stellten sie zu der in Tab. 1 wiedergegebenen Urliste zusammen. Dadurch wurden außerdem die Ergebnisse in normierte Form gebracht, und die Quadratwurzeln der geschätzten Varianzkomponenten geben so direkt die standardisierte mittlere Abweichung resp. den Variationskoeffizienten wieder.

Die Berechnungsgrundlage für die Varianzanalyse bildeten die Summen der Abweichungsquadrate, die

Tabelle 1. Der Stickstoff- und β -Amylasegehalt von 16 Sommergersten aus 4 Versuchsorten in relativer Darstellung nach den Ergebnissen der amtlichen Bestimmung und der Schnellmethode

Merkmal:	β -Amylasegehalt																						
	Stickstoffgehalt						Nechanice						Podivin		N. Zámky		Chrllice		Podivin		N. Zámky		
	Nechanice		Chrllice		Podivin		N. Zámky		Nechanice		Chrllice		Podivin		N. Zámky		Chrllice		Podivin		N. Zámky		
Lokalität:	amtl.	Schn.	amtl.	Schn.	amtl.	Schn.	amtl.	Schn.	amtl.	Schn.	amtl.	Schn.	amtl.	Schn.	amtl.	Schn.	amtl.	Schn.	amtl.	Schn.	amtl.	Schn.	
Verfahren:																							
Plena	85,7	81,6	119,1	116,7	93,4	97,0	90,0	90,3	106,0	96,4	112,3	116,7	100,0	99,7	74,2	91,2							
Slov. dun. trh	90,0	82,4	112,2	114,0	97,7	100,6	96,0	87,5	108,0	100,8	86,1	108,2	78,6	105,6	80,7	80,9							
K 104	95,9	106,5	119,9	120,3	95,9	91,5	97,7	93,1	96,9	82,7	73,8	101,9	83,5	87,1	71,4	75,0							
Moravský 60	93,4	93,8	117,4	114,8	97,7	92,3	91,7	94,6	128,7	108,6	122,8	127,8	109,7	108,9	91,1	86,4							
Výnosný	89,9	86,0	120,8	115,9	102,0	99,8	96,8	96,6	105,5	99,3	115,0	141,1	103,0	120,8	107,3	95,6							
D 1	89,9	83,2	115,6	113,2	99,4	93,9	90,8	80,5	91,6	73,1	97,9	94,2	101,0	91,6	75,2	64,6							
Merkur	88,3	78,9	116,5	117,9	97,7	106,5	95,1	106,5	92,1	90,8	75,8	111,2	91,0	102,3	80,0	83,8							
Firib. Union	93,4	87,2	118,2	124,2	102,0	110,8	95,1	91,5	106,5	99,3	108,0	118,5	103,0	97,9	98,3	102,3							
Valtický	102,0	87,2	115,6	109,2	88,3	96,2	95,1	103,3	110,0	92,4	119,2	128,9	78,9	99,3	90,4	85,6							
Ekonom	95,9	95,4	120,8	113,6	94,2	99,8	93,4	97,8	108,9	104,9	95,7	100,8	96,9	96,4	102,8	87,1							
HV	95,1	92,3	120,8	113,6	92,5	101,4	93,4	84,4	121,1	99,3	115,5	130,3	87,3	93,8	81,4	84,6							
Branisovický C	92,5	98,6	119,8	109,2	98,5	95,4	93,4	92,7	131,7	87,5	119,0	118,5	93,4	100,8	85,2	85,7							
K 153	84,8	86,4	118,2	130,1	95,0	106,9	93,4	93,5	131,7	99,3	124,9	125,2	111,5	102,3	94,5	92,7							
Dobrovický 8	87,4	86,4	118,2	125,4	95,1	91,9	92,5	105,3	105,5	100,4	98,3	119,6	104,8	99,7	91,1	100,4							
Diamant	90,8	85,6	110,5	120,3	98,5	100,6	91,7	93,5	109,2	91,9	111,8	116,3	80,0	87,5	86,2	85,7							
Slovenský 802	95,1	89,1	119,1	133,3	102,0	97,8	101,4	96,2	108,2	92,3	123,9	130,7	103,3	102,6	102,4	92,3							
Mittelwert	91,9	88,8	117,1	118,1	96,9	98,9	94,2	94,2	110,2	95,0	106,2	118,1	95,4	99,8	88,3	87,1							

zusammen mit den Erwartungswerten, wie sie dem Fixwertmodell entsprechen (SCHWARZBACH 1968), in Tab. 2 festgehalten sind. Die weitere Aufteilung der Quadratsummen in Varianzkomponenten ist nur möglich, wenn bekannt ist, ob Interaktionen Sorte \times Lokalität vorliegen, was üblicherweise durch den

der Varianzkomponenten ermitteln. Aus der Zusammenstellung ist zunächst zu entnehmen, daß beide untersuchten Merkmale in etwa gleichem Ausmaß umweltabhängig sind und daß die Umweltbedingungen von allen Variabilitätsursachen den größten Einfluß auf beide Merkmale ausüben. Im Gegen-

Tabelle 2. Summen der Abweichungsquadrate

Summe der Abweichungsquadrate	N-Gehalt		β -Amylase		Erwartungswert
	amtl.	Schnellm.	amtl.	Schnellm.	
Gesamt	7.138,95	10.474,28	14.833,99	14.129,25	$nk \sigma_{\text{Gesamt}}^2 - \sigma_F^2$
Sorten	232,94	597,88	5.753,20	3.790,70	$nk \sigma_S^2 + (n-1) \sigma_F^2$
Lokalitäten	6.439,70	8.037,12	4.808,08	8.329,76	$nk \sigma_L^2 + (k-1) \sigma_F^2$
Rest	466,31	1.839,28	4.272,71	2.008,79	$nk \sigma_{S \times L}^2 + (k-1)(n-1) \sigma_F^2$

Sorten = 1...i...n, Lokalitäten = 1...j...k

Tabelle 3. Prüfung der Interaktionen Sorte \times Lokalität

Mittleres Quadrat	N-Gehalt			β -Amylase		
	amtl.	Schnellm.	Summe	amtl.	Schnellm.	Summe
Restvariabilität	10,36	40,87	51,23	94,95	44,64	139,59
Methodendifferenzen			45,41			204,65
Quotient			$F = 1,13$ (nicht signifikant)			$F = 0,68$ (nicht signifikant)

Tabelle 4. Schätzwerte der Varianzkomponenten

Varianzkomponente	Symbol	N-Gehalt		β -Amylase	
		amtlich	Schnellm.	amtlich	Schnellm.
Varianz der Sorten	σ_S^2	n. sign.	n. sign.	67,64	48,77
Varianz der Lokalitäten	σ_L^2	100,13	123,66	70,68	128,06
Varianz der Interaktionen	$\sigma_{S \times L}^2$	n. sign.	n. sign.	n. sign.	n. sign.
Varianz des Gesamtfehlers	σ_F^2	11,57	40,63	94,95	44,64
Gesamtvarianz	σ_{Gesamt}^2	111,70	164,29	233,27	221,47

Vergleich der Fehlervarianz mit der Restvarianz getestet wird. Da jedoch die Fehlervarianz unbekannt war (Angaben über Wiederholungen innerhalb der Lokalitäten fehlten), konnte dieser Test nicht benutzt werden. Die Summe der Fehlervarianz der Schnellmethode und der amtlichen Methode schätzten wir deshalb durch das mittlere Quadrat der Differenzen zwischen Schnellmethode und amtlicher Bestimmung. Dieses mittlere Quadrat wurde mit der Summe der mittleren Quadrate der Restvariabilität beider Methoden verglichen (s. Tab. 3). Beim Vorliegen von Interaktionen müßte die Summe beider mittleren Quadrate der Restvariabilität signifikant größer sein als das mittlere Quadrat der Methodendifferenzen. Da dies nicht der Fall war, konnte keine Anwesenheit von Interaktionen Sorte \times Lokalität angenommen werden. Das mittlere Quadrat der Restvariabilität wurde daher als reine Fehlervarianz betrachtet, entsprechend den Erwartungswerten in Tab. 2.

Aus den Angaben in der Tab. 2 und den ermittelten Fehlervarianzen lassen sich auf algebraischem Wege die in Tab. 4 zusammengestellten Schätzwerte

satz zur Abwesenheit erfaßbarer Sortenunterschiede im Stickstoffgehalt überrascht die hohe genetische Varianz (= Sortenvarianz) des β -Amylasegehaltes. Die Umweltbedingungen in den 4 untersuchten Lokalitäten waren z. T. extrem entgegengesetzt, die Variationsbreite der Lokalitätenmittel betrug bei beiden Merkmalen ca. 30% des Gehaltes. Trotzdem besaßen die untersuchten Sorten in den 4 Lokalitäten eine Heritabilität des β -Amylasegehaltes von 36,9%, wenn die Ergebnisse beider Bestimmungsmethoden zusammengelegt wurden und die Varianz der Population als Summe der Sortenvarianz und der Lokalitätenvarianz aufgefaßt wurde. Innerhalb der Lokalitäten betrug die genetische Varianz sogar 41,6 und 51,5% der Varianz der Meßwerte der amtlichen Methode resp. der Schnellmethode. Deshalb ist die Schnellmethode und in etwas geringerem Maße auch die amtliche Methode zur Selektion β -amylasestarker Braugersten gut geeignet. Außerdem zeigen die Ergebnisse, daß auch bei den im Eiweißgehalt ausgeglichenen modernen Zuchtsorten eine züchterisch nutzbare Variabilität des β -Amylasegehaltes vorhan-

den ist. Dies ist zu erwarten, da in der Vergangenheit kaum auf hohen Amylasegehalt selektiert wurde.

Die Ergebnisse bestätigen auch die bereits von ANDERSON et al. (1941) festgestellte Tatsache, daß zwischen dem N-Gehalt und der β -Amylase keine oder nur geringe genetische Korrelation besteht. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten auch RUTGER et al. (1966), die bei einer Kreuzung extrem entgegengesetzter Gersten überraschend hohe Heritabilität des β -Amylasegehaltes im Gegensatz zu der des Proteingehaltes fanden.

Die Aussagekraft der verglichenen Bestimmungsverfahren kommt auch in der Fehlervarianz und dem mittleren Fehler zum Ausdruck. Eine Zusammenstellung der mittleren Fehler enthält die Tabelle 5. Aus ihr ist zu entnehmen, daß der rein analytische Fehler, der aus den Differenzen innerhalb der Doppelbestimmungen gewonnen wurde, im Verhältnis zum Gesamtfehler gering ist. Eine weitere Erhöhung der Präzision des Bestimmungsverfahrens hätte daher kaum Sinn ohne Verminderung anderer Fehlerursachen, wie Feldversuchsfehler u. a. Da beide Merkmale in ungefähr gleichem Ausmaß von Umweltbedingungen beeinflusst werden, ist es günstig, daß mit der Schnellmethode beide Merkmale mit gleicher Genauigkeit, ca. 6,5%, erfaßt werden. Bei der amtlichen Methode unterscheiden sich hingegen die Bestimmungen des Stickstoff- und des β -Amylasegehaltes beträchtlich, der mittlere Fehler beträgt bei der N-Bestimmung 3,2%, bei der Amylasebestimmung 9,7%. Daß die amtliche β -Amylasebestimmung mit so großem Fehler behaftet ist, ist wahrscheinlich auf die Kleinmälzung zurückzuführen, die eine zusätzliche Fehlerquelle bildet.

Beim Vergleich der amtlichen Methode mit der Schnellmethode ist zu berücksichtigen, daß beide Methoden nicht immer gleichlaufende Informationen vermitteln müssen. So erfaßt die Schnellmethode nur den alkalisch löslichen Stickstoff, der ca. 93% des Gesamtstickstoffes ausmacht (SCHWARZBACH und ŠIRŮBEK, 1965). Es sind Gerstenformen denkbar, die einen größeren Anteil unlöslichen Stickstoffs besitzen und so geringeren N-Gehalt vortäuschen. In der Braugerstenzüchtung wäre dies jedoch kein Nachteil, da die brautechnisch interessierenden Stickstoffformen lösliche Proteine sind (vgl. SANDEGREN und KLANG 1950). Ebenso ist denkbar, daß im Verlauf der Kleinmälzung verschiedene Sorten ihren β -Amylasegehalt in unterschiedlicher Weise ändern.

Tabelle 5. Mittlerer Fehler der Bestimmungsverfahren in Prozenten des Ergebnisses

	N-Gehalt		β -Amylase	
	amtlich	Schnellm.	amtlich	Schnellm.
Mittlerer Fehler Gesamt	3,29%	6,38%	9,74%	6,68%
Rein analytischer Fehler	unbekannt	2,36%	unbekannt	3,11%

Tabelle 6. Rangordnung der Sorten im β -Amylasegehalt

Sorte	Mittelwert		Rangzahl	
	amtlich	Schnellm.	amtlich	Schnellm.
Plena	98,12	101,00	16	9
Slov. dun. trh	88,35	98,87	14	10
K 104	81,04	86,70	16	15
Moravský 60	113,07	107,95	2	2
Výnosný	107,70	114,22	4	1
D 1	91,43	80,88	13	16
Merkur	84,72	97,02	15	13
Firlb. Union	103,95	104,50	6	5
Valtický	99,63	101,55	10	8
Ekonom	101,07	97,30	8	12
HV	101,30	102,00	7	7
Branisovický C	107,32	98,13	5	11
K 153	115,63	104,88	1	4
Dobrovický 8	99,93	105,25	9	3
Diamant	96,80	95,35	12	14
Slovenský 802	109,45	104,48	3	6
Grenzdif. $p = 0,05$	20,88	13,36		

Diese zusätzliche Variabilitätsursache scheint jedoch im Vergleich mit dem Fehler der Kleinmälzung gering zu sein, wie aus den gut übereinstimmenden Rangordnungen der Sorten (Tabelle 6) hervorgeht. Die Übereinstimmung der Rangordnungen ist sogar besser, als aus den berechneten Grenzdifferenzen zu erwarten wäre.

Zusammenfassung

1. Für Selektionszwecke wurde eine Schnellmethode zur gleichzeitigen Bestimmung des β -Amylase- und des Stickstoffgehaltes von Braugerste entwickelt. 500 mg Gerstenschrot werden mit einer cysteinhaltigen Aktivierungslösung geschüttelt und die Suspension wird direkt mit dem Enzymsubstrat vermischt. Es folgen jodometrische Aldosentitrierung im Überstand und Kjeldahlbestimmung der alkalisch gelösten Proteine mit direkter Nesslerisierung im Mineralisierungsprüfglas.

2. Mit dieser Methode wurden Proben der 16 Sommergersten der tschechoslowakischen amtlichen Prüfung 1964 von je 4 klimatisch verschiedenen Anbauorten analysiert und die Ergebnisse mit den amtlichen Gersten- und Malzanalysen verglichen.

3. Die Schätzungen der mittleren Fehler, die sowohl analytische Fehler als auch Feldversuchsfehler umfaßten, mit der Varianzanalyse ergaben für die amtliche N-Bestimmung 3,2%, die Schnellbestimmung der β -Amylase und des N-Gehaltes je 6,5%, und die amtliche β -Amylasebestimmung im Malz ca.

9,7% des Ergebnisses. Der analytische Fehler von Doppelbestimmungen mit der Schnellmethode betrug beim N-Gehalt 2,4%, beim β -Amylasegehalt 3,1% des Ergebnisses.

4. Im untersuchten Sortiment konnte sowohl mit der amtlichen Methode, als auch mit der Schnellmethode festgestellt werden, daß die Unterschiedlichkeit der Lokalitäten von allen Variabilitätsursachen den größten Einfluß auf beide Merkmale hatte, und zwar in gleichem Ausmaß. Es konnten keine Sortenunterschiede im N-Gehalt festgestellt werden. Mit beiden Methoden konnte hingegen eine beträchtliche genetische Variabilität des β -Amylasegehaltes festgestellt werden.

5. In der Population der untersuchten 64 Gerstenproben konnte bei Zusammenlegung der amtlichen Bestimmung mit der Schnellmethode eine Heritabilität des β -Amylasegehaltes von 0,37 geschätzt werden. Dabei wurde die Summe der Sortenvarianz und der Lokalitätenvarianz als Varianz der Population aufgefaßt. Innerhalb der Lokalitäten hatten die Sortenunterschiede einen Anteil von 41,6 resp. 51,5% an der Gesamtvariabilität der Meßwerte, die mit der amtlichen Methode resp. der Schnellmethode ermittelt wurden.

6. Die Schnellmethode vermittelt zumindest ebensoviel züchterisch wertvolle Information wie die amtlichen Methoden und ist für Selektionszwecke brauchbar.

Literatur

1. ANDERSON, J. A., H. R. SALLANS and W. O. S. MEREDITH: Varietal differences in barleys and malt. *Canad. J. Research* **19 C**, 278–291 (1941). — 2. FEINSTEIN, L. and J. R. HART: A simple method for determining the protein content of wheat and flour samples. *Cereal*

Chem. **36**, 191–193 (1959). — 3. FRYDENBERG, O. and C. NIELSEN: Amylase isozymes in germinating barley. *Hereditas* **54**, 123–139 (1965). — 4. KOLTHOFF, J. M.: Die jodometrische Aldosenbestimmung. *Z. Unters. Nahrungs- u. Genußmittel* **45**, 131–147 (1923). — 5. LAU, D.: Eine Schnellmethode zur Bestimmung der Amylase-Aktivität im Malz- und Gerstenextrakt für die Züchtung. *Brauwiss.* **14**, 183–187 (1961). — 6. MINARI, O., and D. B. ZILVERSMIT: Use of KCN for stabilisation of color in direct nesslerisation of Kjeldahl digests. *Analyt. Biochem.* **6**, 320–327 (1963). — 7. OESTING, R. B., C. BASSO and A. DAWES: Adaptation of a micro-Kjeldahl method to beer, wort and similar homogenous materials. *Proc. A. M. Amer. Soc. Brew. Chem.*, 70–73 (1949). — 8. ROMJN, G.: Über eine jodometrische Zuckerbestimmung. *Z. analyt. Chemie* **36**, 349–356 (1897). — 9. PRUGAR, J. und J. BÖHMOVÁ: Schnellmethoden der Bestimmung des N-Gehaltes in pflanzlichem Material. I. (tschech. mit dtsh. Zush.). *Rostl. výroba* **11**, 307–316 (1965). — 10. RUTGER, J. N., C. W. SCHALLER, A. D. DICKSON, and J. C. WILLIAMS: Variation and covariation in agronomic and malting quality characters in barley. *Crop Sci.* **6**, 231–234 (1966). — 11. SANDEGREN, E.: Evaluation of malting barley by chemical analysis. *Rev. Int. Brass. et Malt.* **50**, 128–129 (1949). — 12. SANDEGREN, E. and N. KLANG: On barley amylase and proteinase. *J. Inst. Brew.* **56**, 313–318 (1950). — 13. SCHWARZBACH, E. und J. ŠIRŮČEK: Photometrische Eiweißbestimmung in Gerste durch Trübungsbildung mit Sulphosalicylsäure (tschech. mit dtsh. Zush.). *Rostl. výroba* **11**, 331–336 (1965). — 14. SCHWARZBACH, E.: Die Schätzung der Varianzkomponenten beim Fixwertemodell der Varianzanalyse. *Theor. and Appl. Genetics*, **38**, 301–303 (1968). — 15. SVĚDROHOVÁ, M. und M. TRUNEČKOVÁ: Die Bewertung von Braugerstensorten und -neuzüchtungen nach brautechnischen Eigenschaften (tschechisch). *Institut für Brauwesen Prag, Zweigstelle Brünn, Abschlußbericht 1965*. — 16. WILDNER, H.: Methoden zur Messung der enzymatischen Amylolyse. Nürnberg: H. Carl-Verlag 1959. — 17. WILLSTÄTTER, R., E. WALDSCHMIDT-LEITZ und A. R. F. HESSE: Über Pankreas-Amylase. Dritte Abhandlung über Pankreasenzyme. *Z. physiol. Chemie* **126**, 143–168 (1923).

Dr. E. SCHWARZBACH
Institut für Pflanzenbau u. Pflanzenzüchtung
805 Freising-Weißenstephan
BRD

H. HODOVÁ
Hlavní spec. šlecht. stan. pro mutační šlechtění
Stupice, okr. Praha-východ
ČSSR