

20.	水田土壌中の窒素供給に関与する <i>Bacillus</i> 属細菌によるプロテアーゼ生産						
要約 蛋白分解は蛋白質分解過程、ペプチド分解過程より構成される。水田土壌のペプチド分解 (z-Phe-Leu加水分解酵素) は <i>Bacillus</i> 属細菌の増殖と、蛋白分解 (カゼイン加水分解酵素) は同菌の孢子形成と関係が深い。							
九州農業試験場 生産環境部 土壌微生物研究室						連絡先	096-242-1150
部会名	農業生態	専門	土壌	対象	稲類	分類	研究

[背景・ねらい]

土壌中の有機態窒素の有効利用法を確立するためには、土壌の有機態窒素の大部分を占める蛋白質の無機化過程の制御機構を解明することが必要である。これまでに、水田土壌中での本過程の律速酵素である土壌プロテアーゼの主要な供給源が *Bacillus* 属細菌であることを明らかにした。本研究では水田土壌中でのプロテアーゼ生産機構を解明する。

[成果の内容・特徴]

- ① 水稻生育期間の筑後の水田圃場（堆肥連用区、化学肥料区、無肥料区）では *Bacillus* 属細菌の栄養細胞は中干し後に最低となり、孢子数は堆肥連用区を除きこの時期に最高に達する（図1）。
- ② 土壌懸濁液で測定した全土壌z-Phe-Leu加水分解活性は5%水準でプロテアーゼ生産性細菌数と（表1）、全土壌カゼイン加水分解活性は10%水準で *Bacillus* 属細菌の孢子数との間に有意な相関が認められる（表2）。
- ③ 培養試験では、同圃場から単離したカゼイン加水分解活性が高い *Bacillus subtilis* (ON-023) の殺菌土壌への接種により全土壌カゼイン加水分解活性が増加した。0.1Mりん酸緩衝液(pH7.0)で抽出される可溶性土壌z-Phe-Leu加水分解活性と栄養細胞数、可溶性土壌カゼイン加水分解活性と孢子数との間には5%水準で有意な相関が認められる（表3）。
- ④ これらの結果から、水田土壌のz-Phe-Leu加水分解酵素は *Bacillus* 属細菌の増殖と、カゼイン加水分解酵素は同菌の孢子形成と関係が深いことが示唆された。

[成果の活用面・留意点]

有機態窒素の無機化では蛋白質を基質とするカゼイン加水分解酵素と、これにより生じたペプチドを基質とするz-Phe-Leu加水分解酵素が共同作用していると考えられている。

- ① 水田土壌中の有機態窒素代謝機構解明のための基礎試料となる。
- ② 実際の圃場での制御機構を解明するためには、プロテアーゼ生産性 *Bacillus* 属細菌の選択的な検出法が必要である。

[具体的データ]

表1. プロテアーゼ生産菌数と土壤
プロテアーゼの関係(水田土壤)

	②	③	④	⑤
①一般細菌	*	ns	ns	ns
②プロテアーゼ生産菌	**	ns	ns	
③z-Phe-Leu分解活性			ns	ns
④カゼイン分解活性				*
⑤土壤水分				

*10%, **5% 水準で有意

ns, 有意差なし

表2. *Bacillus*属細菌数と土壤
プロテアーゼの関係(水田土壤)

	②	③	④	⑤
①栄養細胞数	ns	ns	ns	ns
②孢子数		ns	*	ns
③z-Phe-Leu分解活性			ns	ns
④カゼイン分解活性				ns
⑤土壤水分				

*10% 水準で有意

● 栄養細胞、堆肥 ○ 孢子、堆肥
■ 栄養細胞、化肥 □ 孢子、化肥
▲ 栄養細胞、無肥 △ 孢子、無肥

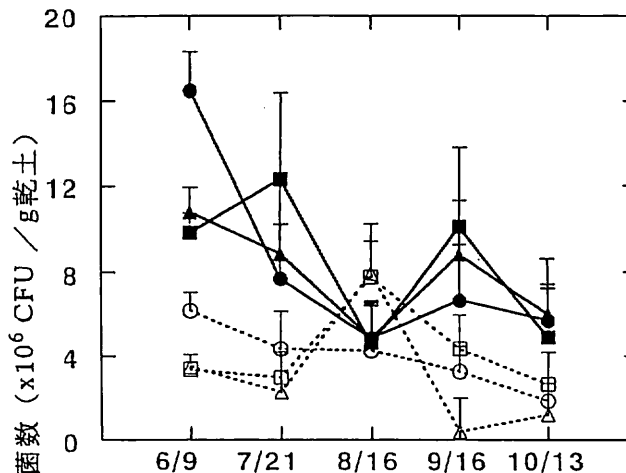


図1. *Bacillus*属細菌の季節変動

表3. *Bacillus*属細菌数と土壤
プロテアーゼの関係(接種試験)

	①	②	③
①栄養細胞数	ns	**	ns
②孢子数		ns	**
③可溶性 z-Phe-Leu分解活性			ns
④可溶性カゼイン分解活性			

*10%, **5% 水準で有意

[その他]

研究課題名: バイオマス窒素の代謝関連微生物活性の動態

予算区分: 一般別枠(物質循環)

研究期間: 平成5年(平成4~10年)

研究担当者: 渡邊 克二, 浅川 晋, 早野 恒一(現農環研), 浅沼 修一

発表論文等: ①水田土壤のプロテアーゼと活性と*Bacillus*属細菌の動態との関係: 第9回日本微生物生態学会講演要旨p.89(1993)

②Evaluation of extracellular protease activities of soil bacteria; Soil Biol. Biochem. 26 479-482(1994)

③Seasonal variation of soil protease activities and their relation to proteolytic bacteria and *Bacillus* spp; Soil Biol. Biochem. (in press)