

熱測定法による、土壌微生物活性への 土壌ストレス物質の影響の解析 塩化ナトリウムによるグルコース資化抑制効果 –

坂宮章世,近藤沙紀,三宅英雄,妹尾啓史,田中晶善

(受取日:2008年4月24日,受理日:2008年5月10日)

Calorimetric Analysis of the Effects of Soil Stress Compound on Soil-Microbial Activity - Suppressive Effects of Sodium Chloride on Glucose Assimilation -

Akiyo K. Sakamiya, Saki Kondo, Hideo Miyake, Keishi Senoo, and Akiyoshi Tanaka

(Received April 24, 2008; Accepted May 10, 2008)

Process of glucose assimilation by soil microbes and stressing effect of sodium chloride on the assimilation were quantitatively analyzed by a calorimetric method. One-tenth mmol glucose was added to 10 g of paddy, upland, and orchard soils in the absence and presence of various concentrations of sodium chloride, and the assimilation heat was recorded at 25 °C. The heat-evolution curves were successfully analyzed on the basis of the Gompertz model. The effects of sodium chloride on the assimilation were evaluated by measuring the change in Gompertz parameters. Among the parameters, the time $T_{1/2}$ at which half of the total heat evolution completed, and the time M at which the heat-evolution rate reaches to the maximum were suitable for accurate evaluation of the inhibitory effects of sodium chloride. The 50 % inhibitory concentration K_i of sodium chloride for the paddy, upland, and orchard soils were evaluated to be 3.9, 3.5, and 6.7 %, respectively, and the minimum inhibitory concentration MIC were 6.9, 6.7, and 12 %, respectively. This novel method can be a standard one for evaluating soil pollution and remediation using assimilation activity of microorganisms including nonculturable ones as a probe.

Keywords: Assimilation process; Calorimetry; Gompertz model; Soil microorganisms; Soil stress compound

1. 緒言

1gの土壌には数千種類の,100億にも達する数の微生物 が生息していると見積もられている¹⁾が,その大部分は培 養困難とされており,²⁾その実態については,いまだによく 分かっていない。

土壌に塩や重金属などのストレスが与えられると,土壌 微生物が死滅したり活性が低下したりする。これが大規模 になれば,土壌の機能や生態系に大きな影響が及ぶ。他方, 土壌微生物活性が活発になると土壌中の有機物の分解が進

© 2008 The Japan Society of Calorimetry and Thermal Analysis.

んで二酸化炭素などの温室効果ガスが大量に放出される可 能性もあるなど,土壌微生物の活性は地球環境にも大きな 影響を与える。

しかしながら培養困難微生物をも対象とし,微生物活性 を直接測定できる簡易手法がほとんどないため,土壌微生 物とその生態や機能の生きた姿を評価することは容易では ない。資化活性を指標として土壌微生物の活性を評価する 代表的な手法にBIOLOG法³⁾があり,これを用いた多くの 報告があるが,この手法は半定量的であるだけでなく,基 本的に培養法であるため,培養困難菌を対象とし得ない。 そのため,たとえば,汚染土壌を浄化する場合,「汚染」や 「浄化」による,土壌微生物機能のダメージや回復の内容に ついて標準的な評価や解析をすることには,しばしば困難 が伴った。

微生物活性や微生物の増殖過程の測定法としては,熱測 定が簡便で精度のよい方法として注目され,食品の腐敗過 程の解析などに用いられて成果を挙げている。^{4.5)}この方法 は腐敗に限らず,微生物が関与する系に一般に用いること ができ,土壌微生物による炭素化合物の資化過程の測定も 試みられている。⁶⁻¹⁰⁾

本研究では、熱測定法を土壌環境評価に応用することを 念頭に置き、土壌にグルコースを加えたときの、土壌微生 物による資化過程を熱測定によって簡便に評価できること を示すと共に、これを指標として、土壌ストレス物質とし ての塩化ナトリウムによる土壌微生物活性の抑制効果を解 析し、その結果を検討することを試みた。また、資化抑制 効果の評価方法として、旧来の方法に加え、成長曲線であ るGompertzモデルに基づく方法を新たに開発した。

2. 実験

2.1 材料

土壌試料は、三重大学農場(三重県津市)の畑,水田, 果樹園から採取した。表層から約20 cm までの土壌を採取 し、風乾させた後、2 mm のふるいにかけたもの(風乾細 土)を測定に供した。グルコース、リボース、グリシン、 塩化ナトリウムは、ナカライテスク社製を用いた。塩化ナ トリウム濃度は重量%(塩質量/乾燥土壌質量)で表した。

2.2 測定装置と解析方法

資化に伴う発熱過程の測定には、19試料を同時測定でき る等温熱量計(微生物計測システム研究所, Antares R)と 既報の等温熱量計¹¹⁻¹⁵⁾を用いた。同一条件のサンプルを, 両熱量計を用いて測定したところ,誤差の範囲で同じ結果 が得られた。

測定セルは断熱状態にはなく,発生した熱量の一部は熱 伝導定数Kで外界へ散逸する(K=0が断熱状態に対応す る)。生成熱の経時変化 f(t)は,時間tにおいて測定される シグナルg(t)(代謝サーモグラム)に基づき,次式によっ て求めた。¹⁶⁾

$$f(t) = g(t) + K \left[g(t)dt \right]$$
(1)

*K*の値は,測定条件下で測定セルごとに実測した値を用いた。(1)式から得られる *f*(*t*)の時間微分 *f*'(*t*)が発熱速度に対応する。

得られた実験結果の統計的解析には, Origin 8.0 (OriginLab社)を用いた。

2.3 測定方法

土壌微生物活性と、塩化ナトリウムによる資化抑制効果 は、グルコースを炭素源として用い、次のように測定した。 風乾細土10gを30mLガラスバイアルに量りとり、様々な 量の塩化ナトリウムを添加して、十分に均一になるように 攪拌した。これに、それぞれの土壌の最大容水量の50%の 土壌水分となるように水(約2mL)を加え、25℃で2~4 週間静置した後、グルコースなどの炭素源(炭素原子とし て0.60 mmol相当量)を添加し、直ちに等温熱量計の試料 セルに入れ、発熱過程を25℃で測定した。ガラスバイアル のキャップとして、バイオシリコ®を用いた。最大容水量 の測定には、常法¹⁷⁾を用いた。

3. 結果と考察

3.1 グルコース代謝熱サーモグラムとその解析

グルコース,リボース,およびグリシンそれぞれの0.10, 0.12,および0.30 mmolを畑土壌に加えた場合の発熱過程 の測定例(サーモグラムg(t))をFig.1(a)に,また3種類の 土壌それぞれに0.10 mmolのグルコースを加えた場合の結 果をFig.1(b)に示す。縦軸は熱電対の起電力シグナル,横 軸は炭素源を加えてからの経過時間を示す。実験に供した 土壌試料量と炭素源の量で精度よく発熱過程が測定でき, 炭素源の種類による資化速度の違いが判別できた。

塩化ナトリウムによる資化抑制の効果を調べるために、グ ルコースを炭素源として、種々の濃度の塩化ナトリウムが共 存する系での発熱過程を調べた。その結果をFig.2に示す。3 種類の土壌すべてにおいて、塩化ナトリウム濃度の増大に伴 うピーク時間の遅れとピーク高さの減少が観察された。

土壌サンプルは、土壌粒子と水の混ざった複雑な系であ り、その性質上、同一種類の土壌であっても、不均質であ ったり、個体差が生じたりする。そこで、同一土壌にグル コースを加えた場合に、どれほどの再現性が得られるかを 検討したところ、同一条件のサンプルでは、ほぼ同じ結果 が得られた。 論 文



Fig.1 Thermograms of carbon-source assimilation by soil microorganisms. (a): (1) Glucose (0.10 mmol), (2) ribose (0.12 mmol), and (3) glycine (0.30 mmol), respectively, was added to 10 g of upland soil. Observed at 25 °C. (b): Glucose (0.10 mmol) was added to (1) paddy soil (10 g), (2) upland soil (10 g), and (3) orchard soil (10 g), respectively. Observed at 25 °C. Fig.1(a)(1) and (b)(2) show identical results.

Fig.3は,それぞれの代謝サーモグラムについて,(1)式 に基づいて描いた代謝曲線(*f*(*t*)曲線)である。この曲線 は生成熱の経時変化を表す。この結果に基づき,塩化ナト リウムによる資化抑制効果の解析を行った。

3.2 塩化ナトリウムによる資化抑制効果の解析

微生物代謝抑制効果の評価法については、これまで主に、 代謝曲線の対数期における発熱速度定数 μ 、および、発熱 速度が一定値 α に達するまでの時間 t_{α} をパラメータとして 用い、これらが抑制効果を持つ物質の濃度に対してどのよ うな依存性を示すかを解析する方法が用いられてきた。^{10,20)} これらの方法は、発熱曲線の全体ではなく、主として発熱 初期のデータを用いるものであるが、本研究ではこれらに 加え、Gompertz モデル中のパラメータを用いる方法を新規 に用いた。Gompertz モデル¹⁸⁾は代表的な成長曲線のひとつ であり、代謝曲線における、誘導期、対数期、および定常 期に対応する相を含む経時変化の全体を、一つの式で表す



Fig.2 Thermograms of glucose-assimilation by soil microorganisms observed in the presence of various concentrations of sodium chloride. Soils used were (a) upland, (b) paddy, and (c) orchard, respectively. Observed at 25 °C. Sodium chloride concentration used was 0.00, 0.25, 0.50, 1.00, 2.50, 3.50, 4.00, 4.50 and 5.00 %, respectively, from left to right in the figure. The figures for [NaCl] = 0 % in Fig.2(a), (b), and (c) are identical with Fig.1(b)-2, -1, and -3, respectively.

ことができる。本実験では,Gompertzモデルは次式のよう に表される。

$$f(t) = C \exp(-\exp(-B(t-M)))$$
(2)

ここで1は時間, Cは総発熱量, Bは最大発熱速度定数, M は発熱速度が最大に達する時間である。熱測定から得られ た結果(Fig.3)から(2)式に基づき, 最小二乗法によって 各パラメータの値を評価した。得られた値をTable 1 に示 す。得られたパラメータの相対誤差は, Bでは1%, Mで



Fig.3 Heat-evolution curves of glucose assimilation by soil microorganisms observed in the presence of various concentrations of sodium chloride. These curves were obtained on the basis of Fig.2 using eq.1 in the text.

は0.2%といずれも小さく,このことから求められたパラ メータの値の精度が高いことが示された。また,同一条件 の二つのサンプルでは,ほぼ同じサーモグラムが得られ, したがってそれぞれのサーモグラムから得られた,*B*,*M*, および *T*_{1/2}はいずれもほぼ同じ値が得られた(**Table 1**)。

塩化ナトリウムの効果を解析するパラメータとしてさら に,発熱が半分終了する時間 $T_{1/2}$ を用いた。(2)式において $f(T_{1/2}) = C/2$ であるから, $T_{1/2}$ は $M \ge B$ の双方を含むパラ メータとして次式のように表される。

$$T_{1/2} = M - \frac{\ln(\ln 2)}{B}$$
(3)

Table 1	Gompertz	para	meter	s for the h	eat e	evolution
	curves of glucose assimilation by upland soil					
	observed	in	the	presence	of	various
	concentrations of sodium chloride.					

NaCl/%	B / h^{-1}	M/h	$T_{1/2}/{ m h}^*$
0	$0.113\pm 0.001^{**}$	$24.2\pm 0.1^{**}$	27.4
0	0.121 ± 0.002	24.3 ± 0.1	27.3
0.25	$0.105\ \pm\ 0.002$	22.9 ± 0.1	26.5
0.25	0.092 ± 0.001	23.9 ± 0.1	28.0
0.50	0.122 ± 0.002	$24.5\ \pm\ 0.1$	27.5
0.50	0.129 ± 0.002	24.7 ± 0.1	27.6
1.0	0.199 ± 0.002	26.6 ± 0.1	28.4
1.0	$0.183\ \pm\ 0.002$	26.6 ± 0.1	28.6
2.5	0.130 ± 0.001	37.1 ± 0.1	39.9
2.5	$0.142\ \pm\ 0.001$	36.5 ± 0.1	39.0
3.5	0.101 ± 0.001	45.1 ± 0.1	48.8
3.5	0.100 ± 0.001	44.9 ± 0.1	48.5
4.0	0.087 ± 0.001	50.9 ± 0.1	55.1
4.0	0.088 ± 0.001	50.9 ± 0.1	55.1
4.5	0.072 ± 0.001	$57.6\ \pm\ 0.1$	62.7
4.5	$0.073\ \pm\ 0.001$	56.6 ± 0.1	61.6
5.0	0.053 ± 0.001	73.3 ± 0.1	80.2
5.0	0.053 ± 0.001	74.2 ± 0.1	81.1

* Values are calculated from the values of *M* and *B* using eq.2 in the text.

** Figures after \pm are estimated standard errors evaluated from the fit.

塩化ナトリウム濃度*i*における*B*, *M*, *T*_{1/2}をそれぞれ*B*(*i*), *M*(*i*), *T*_{1/2}(*i*) とおくと,これらは,塩化ナトリウムが存在 しないときの値,*B*(0),*M*(0),および*T*_{1/2}(0),に比べて, *B*は減少し,*M*と*T*_{1/2}は増大することが期待される。そこで, *B*(*i*)/*B*(0),*M*(0)/*M*(*i*),および*T*_{1/2}(0)/*T*_{1/2}(*i*)を3種類の比代 謝活性 *sa*(*i*) を表す量として用いることができる。これら の値を塩化ナトリウム濃度*i*に対してプロットした結果が **Fig.4** (図の〇印)である。

塩化ナトリウムが静菌的に働く場合,この比代謝活性は よい近似で次式のように表される。¹⁹⁻²³⁾

$$sa(i) = \frac{1}{1 + \left(\frac{i}{K_i}\right)^{m_1}} \tag{4}$$

*K*_iは比代謝活性を50%抑制する濃度である。*m*₁は資化 抑制効果の協同性の指数であり、この値が大きいほど、*K*_i 付近において小さい*i*の増加で急激に抑制効果が増大するこ とを表す。 論 文



Fig.4 Analysis of the suppressive effect of sodium chloride on glucose assimilation by upland soil. The vertical scale shows the specific activity obtained from (a) M, (b) $T_{1/2}$, (c) B, (d) t_{α} , and (e) μ , respectively. For each figure, the solid and dotted lines show theoretical curves obtained on the basis of bacteriostatic model (eq.4) and bacteriocide model (eq.5 and 6), respectively, using the inhibitory parameter values listed in Table 2.

他方,塩化ナトリウムが殺菌的(すなわち不可逆的)に 働く場合,最小阻止濃度MICを求めることができる。この 場合,塩化ナトリウムによる比代謝活性の低下は(1-sa(i)) で表すことができる。これが塩化ナトリウム濃度iのm2乗 に比例し、

$$1 - sa(i) = ki^{m_2} \tag{5}$$

で表すことができる。 20,21 kは比例定数, m_2 は協同性の指数である。(5)式から,代謝活性が完全に失われる濃度MIC は, sa(i) = 0を代入して,

$$\mathrm{MIC} = \left(\frac{1}{k}\right)^{\frac{1}{m_2}} \tag{6}$$

で与えられる。

以上のような方法で、土壌微生物に対する塩化ナトリウムの資化抑制効果を解析した。得られた値を**Table 2**に示す。**Fig.4**の実線は、静菌的モデルに基づいて、(4)式と**Table 2**の K_i , m_1 の値を用いた理論曲線であり、また破線は、殺菌的モデルに基づいて、(5)式と**Table 2**のMIC, m_2 の値を用いた理論曲線である。いずれの理論曲線も、Bを用いた場合を除き、実験データとよく一致している。

Fig.4から明らかなように、両モデルは塩化ナトリウム濃 度が低い領域ではほとんど差がなく、高い塩化ナトリウム 濃度領域で差が顕著となるが、この高濃度領域での測定は 事実上困難であり、今回測定対象とした系がいずれのモデ ルでよりよく説明できるかの判別は困難であった。

3.3 パラメータの信頼性

今回,各種土壌について, K_i , m_1 , MIC, および m_2 という資化抑制効果を表す4種のパラメータを評価した。その評価には,M, $T_{1/2}$ など5種の比代謝活性を用いた。比代謝活性の,塩化ナトリウム濃度iへの依存性は,Bを除いてほぼ類似であった(Fig.4)。Bは,低い塩化ナトリウム濃度領域でのばらつきが大きく,理論曲線にほとんどフィットしていない*。その結果,Bを除くいずれのパラメータを用いても、 K_i などについてほぼ類似の値を得られた(Table 2)が,Bを単独で用いて評価した値は,他を用いた場合と比べて外れており,また相対誤差も大きい傾向が顕著に見られた。このことは3種の土壌いずれについても当てはまることから,少なくとも今回用いた測定条件では,Bを資化抑制効果の解析に用いるのは適切ではないと考えられる。

他方, $T_{1/2}$, M, μ , および t_{α} を用いた場合はいずれもほ ぼ類似の値を与えたが,特に果樹園土壌ではほぼ同一の結 果であった。これは,果樹園土壌では微生物の資化活性が 高く,良い精度でサーモグラムが得られたことに起因する ものと考えられる。

したがって,良い精度でサーモグラムが得られれば,解 析用パラメータとしてはBを除くいずれを用いてもよいが, 特に,発熱が半分終了する時間(総発熱量の半分に達する 時間)というT_{1/2}の概念はわかりやすく,便利に精度良く 用いることができるパラメータであると考えられる。

(脚注*)その原因としては、塩化ナトリウム濃度が低い場合は、これが微生物の微量養分として作用している可能性や、ある程度の濃度の塩化ナトリウムを生育に必要とする土壌微生物が活発化している可能性が考えられる。しかしそれらの原因がBにのみ顕著に表れる理由は、現在のところ不明である。

熱測定法による,土壌微生物活性への土壌ストレス物質の影響の解析 - 塩化ナトリウムによるグルコース資化抑制効果 -

Soil	Inhibitory	Assimilation parameters used for analysis						
	parameter	М	$T_{1/2}$	В	tα	μ		
Upland	$K_{ m i}/\%$	$3.7 \pm 0.1*$	$3.9 \pm 0.1*$	$4.8 \pm 0.4*$	$3.1 \pm 0.1*$	$3.7 \pm 0.1*$		
	m_1	$1.9\ \pm\ 0.1$	2.1 ± 0.1	6.4 ± 4.0	1.8 ± 0.1	1.7 ± 0.1		
	MIC/%	7.0 ± 0.3	6.9 ± 0.2	5.7 ± 0.7	6.6 ± 0.3	7.4 ± 0.4		
	m_2	$1.2\ \pm\ 0.1$	1.3 ± 0.1	4.4 ± 2.7	1.0 ± 0.1	1.1 ± 0.1		
Paddy	$K_{ m i}/\%$	2.8 ± 0.3	3.5 ± 0.2	4.9 ± 0.2	0.49 ± 0.1	1.9 ± 0.3		
	m_1	1.2 ± 0.2	2.3 ± 0.5	7.1 ± 2.6	0.62 ± 0.09	0.79 ± 0.12		
	MIC/%	$7.7\ \pm\ 0.8$	6.7 ± 0.5	5.7 ± 0.4	9.4 ± 1.4	9.5 ± 1.4		
	m_2	$0.75\ \pm\ 0.10$	1.1 ± 0.2	4.8 ± 1.7	$0.25\ \pm\ 0.03$	0.47 ± 0.06		
Orchard	$K_{ m i}/\%$	$6.5\ \pm\ 0.1$	6.7 ± 0.1	8.5 ± 0.4	5.4 ± 0.1	6.5 ± 0.1		
	m_1	$2.4\ \pm\ 0.1$	2.5 ± 0.1	3.5 ± 0.6	2.3 ± 0.1	2.3 ± 0.1		
	MIC/%	$12\ \pm\ 0.3$	12 ± 0.3	$12\ \pm\ 0.7$	12 ± 0.3	$12\ \pm\ 0.3$		
	m_2	$1.3\ \pm\ 0.1$	1.3 ± 0.1	2.2 ± 0.4	1.1 ± 0.1	1.2 ± 0.1		

Table 2 Inhibitory parameters of sodium chloride.

* Figures after \pm are estimated standard errors evaluated from the fit.

3.4 土壌の種類による塩化ナトリウムの資化抑制効果の違い

塩化ナトリウムの資化抑制効果のうち、各土壌の違いを T1/2を指標として比較すると、最小阻止濃度MICでは、畑 土壌では6.9%、水田土壌は6.7%であったのに対し、果樹 園土壌では12%であり、ほぼ2倍の値であった。またKiに ついて比較しても、畑土壌の3.9%、水田土壌の3.5%に対 して果樹園土壌では6.7%であり、同様に約2倍であった。 これらのことから,果樹園土壌は畑土壌,水田土壌に比べ, 塩化ナトリウムによる資化抑制の影響を受けにくいことが わかる。その原因については次のようなことが考えられる。 果樹園土壌は落葉などの植物遺体の添加量が多く、また、 耕起されないために土壌有機物の分解が少なく、畑や水田 土壌に比べて土壌有機物含量が高いと予想される。そのた め、添加した塩化ナトリウムの一部が土壌有機物に吸着さ れ、土壌溶液中の塩化ナトリウムの濃度が低くなり、スト レスが軽減されている可能性がある。また、土壌有機物含 量の高さに由来して,果樹園土壌では畑・水田土壌に比べ て土壌微生物の菌数や多様性が高く,塩ストレス耐性の高 い微生物数も高い可能性がある。

他方, m₁, m₂という, 資化抑制効果の協同性を表す指数 はいずれの土壌でも類似の値であり, 土壌の種類による顕 著な違いはみられなかった。

4. 結語

以上のように、熱測定によって、土壌微生物による炭素 源の資化過程を精度よく測定できることを示すとともに、 土壌による資化過程の違いや、土壌ストレス物質の効果の 評価法としてGompertzモデルに基づいて精度よく解析す ることを示した。本手法は,土壌汚染や浄化などの,標準 的な評価方法の一つになり得ると考えられる。

熱測定ではその性質上,各種土壌による資化過程の違い や資化抑制効果の違いの原因について,直接には言及する ことができない。この点については,土壌微生物のバイオ マス量や,土壌微生物のrRNA遺伝子をPCRで増幅させ, 変性ゲル電気泳動でその群集構造を詳細に解析するPCR-DGGE (Polymerase Chain Reaction-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis)法など,熱測定と相補的な特徴を持 つ手法と併用することにより,より詳細で具体的な知見が 得られると期待される。

文 献

- R. Rosello-Mora and R. Amann, *FEMS Microbiol. Rev.* 25, 39 (2001).
- V. Torsvik and L. Ovreas, *Curr. Opin. Microbiol.* 5, 240 (2002).
- J. L. Garland and A. L. Mills, *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 2351 (1991).
- 田中晶善,坂宮智樹,栗冠真紀子,三宅英雄,深田はるみ,妹尾啓史,栗冠和郎,高橋克忠,日本海水学会誌 60,132 (2006).
- 5) 河本由香,有本直子,深田はるみ,新田康則,高橋克忠, 川崎東彦,防菌防徽 24,321 (1996).
- T. Kawabata, H. Yamano, and K. Takahashi, *Agric. Biol. Chem.* 47, 1281 (1983).
- H. Yamano and K. Takahashi, Agric. Biol. Chem. 47, 1493 (1983).
- 古賀邦正,平岡伸一,金 英樹,萩原大輔,末廣康孝,坂 本泰子,高橋克忠,熱測定 28,54 (2001).

- K. Koga, Y. Suehiro, and S. Matsuoka, J. Biosci. Bioeng. 95, 429 (2003).
- 10) 古賀邦正, 熱測定 34, 59 (2007).
- 11) K. Takahashi, Thermochim. Acta 163, 71 (1990).
- 12) 高橋克忠, 熱測定 18, 9 (1991).
- 13) 高橋克忠, 防菌防徽 24, 313 (1996).
- 14) O. A. Antoce, V. Antoce, M. Kudo, F. Yoshizako, and K. Takahashi, *Netsu Sokutei* 24, 111 (1997).
- O. A. Antoce, N. Pomohaci, V. Antoce, H. Fukada, K. Takahashi, H. Kawasaki, N. Amano, and T. Amachi, *Biocontrol Sci.* 1, 3 (1996).
- S. Ono, K. Hiromi, and K. Takahashi, J. Biochem. 57, 799 (1965).
- 17) 東京大学院農学生命科学研究科 [編],実験応用生命科
 学,朝倉書店,38 (1995).
- 18) C. P. Winsor, Proc. Natl. Acad. Sci. 18, 1 (1932).
- M. Hashimoto and K. Takahashi, Agric. Biol. Chem. 46, 1559 (1982).
- O. A. Antoce, V. Antoce, K. Takahashi, N. Pomohaci, and I. Namolosanu, *Thermochim. Acta* 297, 33 (1997).
- A. Katarao, H. Okuno, and K. Takahashi, Agric. Biol. Chem. 52, 2279 (1988).
- 22) T. Arao, M. Asakura, Y. Suzuki, K. Tamura, A. Okamoto, H. Inubushi, and M. Miki, *Env. Sci.* 11, 303 (2004).
- 23) A. Katarao, T. Mune, and K. Takahashi, Agric. Biol. Chem. 51, 2443 (1987).

要 旨

土壌微生物による炭素源の資化過程と、土壌ストレス物 質としての塩化ナトリウムによる資化抑制効果を熱測定に よって解析した。熱測定から得られた代謝曲線の解析方法 として、Gompertz モデルに基づく方法を新規に用いた。畑、 水田,果樹園の各土壌10gに種々の濃度の塩化ナトリウム を共存させ、グルコース0.1 mmol を加えたときの代謝熱を、 等温熱量計を用いて25℃で測定した。発熱過程は Gompertz モデルによってよく近似でき,各種パラメータを 精度よく評価することができた。塩化ナトリウム濃度の増 大に伴う代謝活性の減少を解析したところ, Gompertz モデ ルのパラメータのうち, 微生物代謝熱の発熱が半分終了す る時間T1/2,および,発熱速度が最大に達する時間Mを用 いることにより精度よく解析できることがわかった。T1/2に よって畑土壌、水田土壌、および果樹園土壌における50% 阻害濃度Kiを評価すると、3.9%、3.5%、および6.7%で あり、また最小阻止濃度MICについては、6.9%、6.7%、 および12%と評価された。本手法は、培養困難微生物も測 定対象とすることが可能であり, 簡便で精度のよい方法で

あることから,土壌汚染や土壌浄化に関する,土壌微生物 活性を指標とした標準的な評価方法の一つになり得ると考 えられる。



坂宮章世 Akiyo K. Sakamiya 三重大学生物資源学研究科, Graduate School of Bioresources, Mie Univ., TEL. 059-231-9605, FAX 059-231-9684, email: 506D302@m.mie-u.ac.jp 研究テーマ:ミクロカロリメトリーの微 生物活性測定への応用 趣味:音楽, 犬と散歩



近藤沙紀 Saki Kondo 三重大学生物資源学部, Faculty of Bioresources, Mie Univ., TEL. 059-231-9605, FAX 059-231-9684, e-mail: 504531@m.mie-u.ac.jp 研究テーマ:熱測定による土壌微生物の 活性測定 趣味:ジョギング,映画



三宅英雄 Hideo Miyake

三重大学生物資源学研究科, Graduate School of Bioresources, Mie Univ., TEL. 059-231-9611, FAX 059-231-9684, email: miyake@bio.mie-u.ac.jp 研究テーマ:タンパク質の構造と機能解 析

趣味:映画鑑賞

妹尾啓史 Keishi Senoo

東京大学大学院農学生命科学研究科, Graduate School of Agriculture and Life Sciences, The Univ. of Tokyo, TEL. 03-5841-5139, FAX 03-5841-8042, email: asenoo@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp 研究テーマ:土壌の機能を支える微生物 の基礎と応用 趣味:旨いもの巡りと減量の両立



田中晶善 Akiyoshi Tanaka 三重大学生物資源学研究科, Graduate School of Bioresources, Mie Univ., TEL. 059-231-9605, FAX 059-231-9684, email: akiyoshi@bio.mie-u.ac.jp 研究テーマ:熱測定のバイオ系への応用 趣味:「懐手して宇宙見物」