

小型ルミノメーターによる土壌微生物バイオマスの指標としてのATP測定

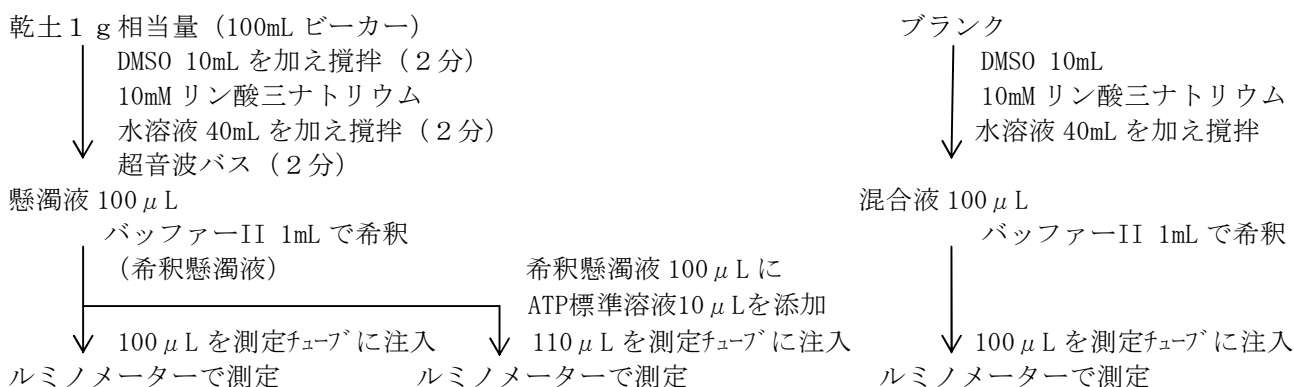
農業・園芸総合研究所

1 取り上げた理由

土壌中のATP（アデノシン三リン酸）は、土壌微生物バイオマスと正の相関があることが知られ、有機物を栄養源として増加する土壌微生物バイオマスの量的指標として用いられる。近年、携帯性に優れた小型ルミノメーターが商品化され、土壌中のATP含量を簡易に測定できる技術の有効性が確認されたことから参考資料とする。

2 参考資料

- 1) 採取した土壌試料を2mm目の篩に通し、植物残さ等を取り除く。大きめのビニール袋に篩った土壌を入れて、十分に混和する。
- 2) 図1に示すように、乾土1g相当量の湿潤土を100mLビーカーにとり、10mLのDMSO（ジメチルスルフォキシド）を加えて2分間攪拌する。40mLの10mMリン酸三ナトリウム水溶液を加えて、さらに2分間攪拌する。その後、超音波バス中で2分間超音波処理する。次に、この懸濁液100 μ Lを表1の1mLバッファーIIで希釈する。この希釈懸濁液100 μ Lを小型ルミノメーター専用の試薬入り測定チューブ（図4）に注入し、数回振り下ろしてチューブの試薬を十分に溶かす。小型ルミノメーターに測定チューブを入れ、数回測定して最大値を記録する（表2）（青山2005）。
- 3) 土壌微生物バイオマスの指標である土壌ATP含量を堆肥施用区と化学肥料区で比較した場合、堆肥施用区でATP含量が高い（図2）。特に夏期には微生物の増殖が高まり、差違が顕著に観察できる。図3に示すように、土壌消毒前後を比較した場合、土壌微生物バイオマスの減少によりATP含量は減少する。



ルミノメーターはRLU：Relative Light Unit（相対発光量）を表示する。測定値，ATP標準溶液を加えた測定値，ブランク値，土壌含水率から乾土当たりのATP含量を算出する。

図1 ATP測定の手順

3 利活用の留意点

- 1) 土壌のATP含量は土壌微生物に依存しているため、土壌の化学性に比べ、温度（季節）や水分条件による変動が大きい。特に、採取した土壌試料が測定前に乾燥しないように注意する。
- 2) 小型ルミノメーターは約10万円、小型の超音波バスは約5,000円から、専用の測定チューブは1本当たり約240円である。
- 3) 土壌微生物を種同定する場合、DNA鑑定等の技術により同定できる。

（問い合わせ先：農業・園芸総合研究所 バイオテクノロジー開発部 電話022-383-8131）

4 背景となった主要な試験研究

1) 研究課題名及び研究期間

環境にやさしい農業定着促進事業 (平成22～23年度)
簡易遺伝子鑑定等を利用した病害虫診断法の確立 (平成21～23年度)

2) 参考データ

表1 測定前に調整する試薬

試薬	調整
バッファーI	5 mM Mg-EDTA を含む 10mM グリシン水溶液を 0.1M NaOH で pH10 に調整。
バッファーII	5 mM Mg-EDTA を含む 10mM グリシン水溶液を 0.1M NaOH で pH7.5 に調整。
ATP 標準溶液	ATP-Na ₂ ・3H ₂ O 11.9mg を 10mL のバッファーI に溶解しストック液とする。このストック液を使用する直前にバッファーII で 10 ⁴ 倍し、ATP 標準溶液とする。
測定チューブ	2～8℃で保存し、使用直前に室温に戻す。

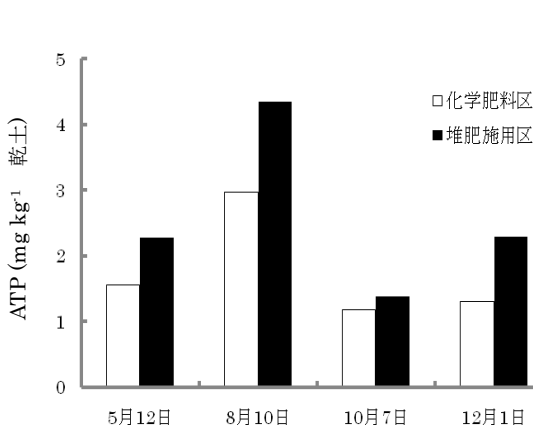


図2 水田土壌のATP含量

注) 土壌の採取場所と採取方法は表2と同じ。

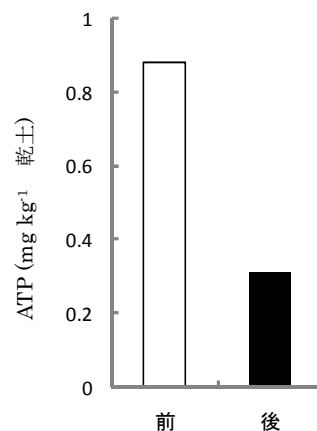


図3 蒸気土壌消毒前後のATP含量

注1) 所内の施設ほ場において、5月上旬に蒸気土壌消毒を行った。深さ20cmまでの土壌を3カ所から採取して混和した。

注2) 前培養(デシケーター内で乾燥を防止室温で1週間)後に測定した。

表2 土壌のATP含量

採取場所		採取日	ATP (mg kg ⁻¹ kg ⁻¹ 乾土)	
水田	化学肥料区	農園研岩沼分庁舎	8月10日	2.97
	堆肥施用区	農園研岩沼分庁舎近接	8月10日	4.34
畑地	デントコーン	畜産試験場	8月9日	2.60
	ダイズ	農園研	8月10日	2.24
草地	オーチャードライグラス	畜産試験場	8月9日	1.66
果樹園	リンゴ	農園研	8月10日	1.61

注) 深さ20cmまでの土壌を3カ所から採取して混和した。



図4 小型ルミノメーター (ルミテスターPD-20 (キッコーマン)) と専用の測定チューブ (長さ15cm)

- 3) 発表論文等 なし。
4) 共同研究機関 なし。