

ビニールハウス土壌における硝化作用に 伴う窒素の揮散について

第6報 各種土壌環境条件の変化の亜硝酸揮散に及ぼす影響について

永井恭三・久保田正亜

On the Volatilization of Nitrogen during Nitrification in Soils under Vinyl Covered Culture

VI. Effects of changing some soil conditions on nitrous acid volatilization

KYOZO NAGAI and MASATSUGU KUBOTA

1. 緒 言

著者らは今までに、茨城県谷田部町地方の火山灰性畑耕地に設けられたビニールハウス内の土壌の硝化作用の特異性およびその究明について、若干の研究を行ってきた¹⁻⁶⁾。すなわちビニールハウス設立後、数年を経ないうちに、一般の露地畑土壌に比べてハウス内土壌には、多量の硝酸塩の蓄積がみられ、これとともにその硝化作用は著しく活発化してくる。さらに著量の硝酸が集積してきて、濃度障害のきざしも見られるようになると、亜硝酸菌の活動はかえって活発化するとみられるのに対して、硝酸菌の作用は不活発となり、そのため土壌中に亜硝酸の集積をもたらすことになり、普通の酸性土壌では大気中に亜硝酸を揮散する傾向を強める。

硝酸生成反応の不活発化の要因については、今までの研究により、次の3つが考えられる^{3,5)}。その1つは尿素施用などに由来する土壌反応のアルカリ性化による土壌中の鉄イオンの不可給態化の場合⁴⁾(この場合は尿素から生成するアンモニアによる、いわゆる“アンモニア毒”の発生も考慮する必要があるかも知れない⁶⁾)。その2つは土壌中の鉄イオンは活性を失わなくても、なんらかの原因により硝酸菌自身の該イオンの吸収が困難になる場合^{4,5)}、その3つは Alexander は NH_4^+ は無害であると述べているが、酸性土壌の場合でもアンモニア肥料多施の際、 NH_4^+ 吸収過多のためか、硝化菌の生理的障害によると思われる硝酸生成の不活発化の場合である⁴⁾。

したがってこの亜硝酸揮散現象は、高硝酸含量のハウス土壌に必ずみられるというものではなく、上記の条件に欠ける場合、高硝酸含量土壌でも、たいして亜硝酸を揮散しないものが多い。

上記の硝酸生成作用を妨害する三要因のうちで、一般普通に認められる土壌条件、すなわち活性な鉄イオンも NH_4^+ も普通量存在するとみられる場合のそれについては関心が持たれる。このような場合の亜硝酸多量揮散条件の検討については、前報⁵⁾ で報告したが、要するに硝酸菌自身の側における、鉄イオン吸収を阻害する機構の究明の問題である。これについては共存多量硝酸の土壌有機物とのなんらかの反応の結果によるものではないかという結論に達している。

本報においては、この根本問題の解明は続報に譲り、表題に掲げたように、一般に亜硝酸揮散現象に圧倒的な影響を持つというほどではないにせよ、多かれ少なかれ、今までの研究過程においてこれと関係があるとみられる諸土壌条件を検討した。すなわち土壌反応、土壌水分、共存炭酸ガスの多少の問題などについて、これらの変化が亜硝酸揮散現象に、広くは硝化作用にまたは硝酸生成作用に、どの程度影響を持っているかについて検討した結果を報告する。

これらの条件は一般に亜硝酸揮散現象にとって、それほど重大な影響をもつものとはいえないにせよ、これと深い関係を持ちうる場合もあることを知れば、硝酸菌不活性化機作の解析に重要な手がかりも得られる可能性もあろう。

2. 実験方法

数種の土壤環境条件を変えた場合の硝化作用の成績を、本研究において常用している、コンウェイユニットインキュベーション方法²⁻⁵⁾によってしらべた。

本研究における供試土壤は全部次のように調製した。現地において採取し、ポリ袋内に密封してほぼ畑状態に近い状態に、2か月ないし4か月室内に放置したものを袋より取り出して室内に風乾する。または採取後ただちに、室内に数日間広げて風乾する。いずれの場合も風乾後1mm以下にし別調製しこれを試薬瓶にいれ、ゴム栓または共栓で密封した（一部は小ポリ袋内にも入れて密封した）。

したがってこれら供試土壤を密栓し保存することにより、土壤中の硝化菌がどの程度の影響をうけるものであるかは、一応検討の要があろう。そこでまず今までの報告で亜硝酸揮散の多くみられた数種の土壤について、長期間の保存がどのような変化をもたらしたかを次のようにして検討した。ついでだいたい同一方法で、土壤水分、酸度、共存炭酸ガスの多少の影響を順次しらべた。

2-1. 亜硝酸多量揮散土壤の風乾密封保存の影響

a. 供試土壤

イ. 生土で2か月密封したもの——第2報²⁾報告の亜硝酸揮散の多い209, 217両土壤で、第5報⁵⁾において、この両者に鉄錯塩を添加したインキュベーション実験について報告した。

ロ. 秋に採取しすぐ風乾し“還元処理”したもの——第3報に報告したが、昭和40年9月（その3土壤）または昭和41年10月（113, 217両土壤）に現地にて採取直後、風乾したものをあらかじめ $\text{NH}_4\text{-N}$ （その3土壤はさらに炭酸カルシウム）を施して畑状態でインキュベーション後、引きつづきポリ袋内にいれて密封し、1か月間 30°C に放置する。これを袋より出して風乾し、さらに小ポリ袋内に密封保存中の113, 217およびその3土壤の3土壤である。

ハ. 春に採取し、処理はロ.に同じもの——昭和42年5月現地より採取し後の処理はロ.に全く同じの108, 110, 114各土壤。

b. 硝化実験

第5報⁵⁾と同様に行なった。上記各土壤を1g、常用の浅ざら（径55mm、高さ8mm）に採り、 $\text{N}+\text{K}+\text{P}$ 液（一級硫酸アンモニウム、リン酸第一カリウム、同じ

く第二カリウム3者の混合溶液）1ml（ $420\mu\text{g N}$, $370\mu\text{g P}_2\text{O}_5$, $350\mu\text{g K}_2\text{O}$ を含む）を加えてから、土壤を均一に広げて浅ざらをコンウェイユニットの内室にいれ、外室に1% K_2CO_3 8mlをいれた。通気と吸収を兼ねた炭酸カリウム処理の乾燥汚紙をユニットの口径大に切り、幅15mmの輪状にしてユニットの周囲に載せる。薄いガラス円板のふたを軽くこの上に置いた。円板中央部の小穴はユニット内室の土壤に給水するために必要であるがふだんは絶縁テープの小片を張り付けておく。ユニットは 30°C の定温器に20日間置いておいた。毎日適量の水を補給する。インキュベーション終了後に汚紙は0.5% NaOH で100mlメスフラスコにユニットの外室のアルカリとともによく洗いこみ、土壤はpH測定後 NKCl で50mlメスフラスコに洗われる。こうして揮散した $\text{NO}_2\text{-N}$ 、土壤中の $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ をそれぞれ比色法、微量拡散分析法で求めた。

2-2. インキュベーション中の土壤水分多少の影響

湿田土壤の畑状態におけるインキュベーション実験報告⁷⁾で述べたように、硝化菌は環境に順応しうる能力を持つように理解されるので、塩類の集積したハウス土壤の硝化菌は、塩類高濃度に強い抵抗性があるものと推定される。

ここではこれについての詳細な検討は省略し、今までの検討試料のうちで、ほとんど硝化作用に障害の認められない土壤から、硝酸生成作用の円滑に進まず多量の亜硝酸揮散のみられるに至った土壤など数点を選び供試した。

これら土壤について、それぞれ土壤水分を極端に多くした、いわば通気の良い水田状態におけるインキュベーション実験と、上記2-1と同様なコンウェイユニットを用いる畑状態のインキュベーション実験を同時に行ない両者にどのような硝化作用の相違がみられるかをしらべた。

a. 供試土壤

イ. 生土で4か月密封したもの——第4報⁴⁾の第2表に記載してあるが、採取後畑状態のまま、室内に4か月間ポリ袋内に密封してあった風乾状態に近くなったものを、袋より取り出して風乾調製した保存土壤で、112土壤は風乾物中の $\text{NO}_3\text{-N}$ は900ppm、220土壤は同じく1300ppmと高含量である。

ロ. 採取直後風乾したもの——第3報³⁾の第1表記載の昭和41年10月採取の202, 217両土壤と昭和42年5月採取の110土壤で風乾物中それぞれ530, 560, 995ppm

NO₃-N を含む。

ハ．採取直後風乾したものを“還元処理”したもの——上記 2-1. a. 供試土壌. ハ. の 108 土壌。

b. インキュベーション実験

上記の 6 土壌について昭和45年 5 月下旬のように実験を行なった。

イ．水分の多い場合（酸化的タン水条件下）——径 9.5 cm のペトリーざらに、上記の N+K+P 溶液 0.1 ml (180 μg NH₄-N. 約 150 μg P₂O₅. 140 μg K₂O) と水 5 ml をいれていったんかくはんする。各供試土壌 500 mg をこれに添加し、よく混ぜ合わす。シャーレのふたの周囲より一まわり大きい幅約 3 cm の輪状に切り取った濾紙を、うすい炭酸カリウム溶液に浸漬後、乾燥しこれをふたの内側の側面と上面に、ほぼ輪の中央帯を折り曲げて密着させる。こうして内側に濾紙を付けたふたを身にかぶせて、30°C に 20 日間インキュベーションした。炭酸カリウム処理の濾紙をこうして用いたのは、コンウェイユニットインキュベーション実験と同じく土壌より揮散する亜硝酸をこれに吸収させるためである。

インキュベーション中は毎日 1～2 回シャーレを静かに振り動かして土壌懸濁液の通気をはかってから、秤量し減量した水分はふたの中心の小穴に注射器針を通して補給する。小穴はいつもは絶縁テープでふさいでおく。20 日後に、土壌をとって pH を測定してから、シャーレの全土壌を N KCl で 50 ml メスフラスコに洗い入れ、輪状濾紙は 0.5% NaOH で 100 ml メスフラスコによく洗いこみよく振ってから、それぞれ NH₄-N, NO₃-N, NO₂-N を上記と同様にして定量する。

ロ．畑状態（水分潤沢）の場合——上記 2-1. b. と同様に行なったが、供試土壌は 500 mg. 添加 N 量は 180 μg. 水は 0.5 ml とした。その他は全く同じ。

2-3. インキュベーション開始時の土壌 pH 低下の影響

今までの研究においては亜硝酸揮散の要因として、土壌の硝酸含量の多少を問題にして考えてきており、土壌反応を変えた場合の亜硝酸揮散の変化については、ほとんど触れなかった。

橋田は高知県のハウス土壌における NO₂-N 揮散は、比較的長期間のインキュベーションの後期になって、土壌 pH が 5 以下に低下した場合、硝酸菌の活性が劣化することにより生起されると推定しており⁸⁾、この揮散現象の主因は pH の低下にあると考えている。著者らは今までの報告で pH 5 以下にならない比較的高い場合でも、しかも短期間のインキュベーションにおいて、著量

の亜硝酸揮散のみられることは、しばしば述べてきたことである。要するに茨城県ハウス土壌には高知県土壌とは異なった別の硝酸菌阻害因子（亜硝酸揮散機構）が存在すると考えられることは既に述べたとおりである。

しかしながら硝化作用に及ぼす pH 低下の影響を、茨城県土壌について検討することも必要と考え、一応下記のような実験を試みた。

a. 供試土壌

いずれも生土状態に 4 か月ポリ袋内に密封してから、風乾した保存中の 4 点で、このうち 220 土壌は上記 2-2 a. で供試した。103 土壌は第 4 報¹⁾の第 2 表で供試した。残りの 110, 135 両土壌は今まで報告したことはない。この両土壌中の NO₃-N は風乾物当たりそれぞれ 1350, 230 ppm である。以上 4 土壌は 1 点のほか、硝酸含量は高いが、いずれも亜硝酸揮散の少ない土壌である。

b. インキュベーション方法

まず各供試土壌 1 g を採取して、pH(H₂O) 4.5 とするに必要な N/10 H₂SO₄ の滴下数を求めた。次に必要量の N/10 H₂SO₄ ml, 上記 N+K+P 液 0.25 ml (420 μg N 約 370 μg P₂O₅. 350 μg K₂O) および水を加えて液量を 1 ml としてこれを上記浅ざらにとってから、土壌 1 g を添加する。均一に広げてから以後の操作は 2-1. b と同様であるが、インキュベーション期間は昭和45年 4 月末より 6 月半ばの 55 日間とした。

2-4. インキュベーション中の共存炭酸ガスの多少の影響

2-4-1. 亜硝酸吸収剤として 0.5% NaOH と 1% K₂CO₃ 使用による相違

第 2～第 4 報までのコンウェイユニットインキュベーション法においては、供試湿潤土壌の乾燥を防ぐためと土壌からの発散亜硝酸を吸収するために、ユニットの外室に 0.5% NaOH 8 ml を添加した。硝化菌の特性である遊離炭酸ガス利用の点については、一応考慮したが希薄なアルカリの添加であるから、これによる CO₂ の吸収はさほど影響はないものとしてこれを用いてきた。

しかし、この炭酸ガス吸収は、少ないとしても、なんらかの影響が硝化菌に現われる可能性は認めなければならないので、第 5 報よりは、これに関する考慮は要しない 1% K₂CO₃ 8 ml を用いることにした。ここでは土壌採取後すぐ風乾調整して瓶中に保存してある、多くの土壌について苛性ソーダの存在するときと、炭酸カリウムの存在する場合の硝化作用の相違をしらべた。

a. 供試土壌

第 3 報³⁾の第 1 表掲載の昭和41年10月および42年 5 月

採取土壌の7点ずつ、計14点の試料について検討した。

b. インキュベーション法

上記 2-1. b. と同様であるが、インキュベーションは大部分、昭和43年9月に17日間行なった。なお外室に0.5% NaOH 8ml を入れたものは、風乾調製直後の15日間の実験結果である(第3報⁹⁾の第4, 6表参照)。

2-4-2. 亜硝酸吸収剤として $NKHCO_3$ を用いる場合

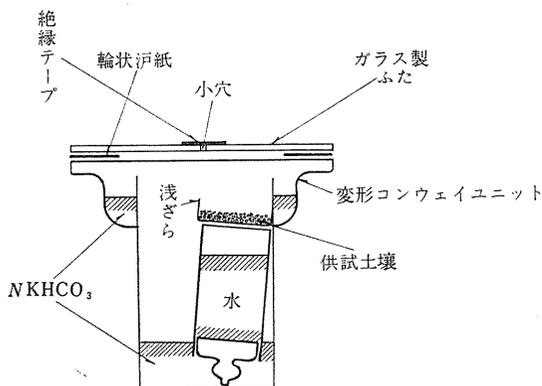
NaOH を用いる場合は土壌環境が CO_2 に多かれ少なかれ欠乏することが考えられるが、これと反対に $KHCO_3$ 溶液を用いるときは、この塩の分解によって生成する CO_2 の豊富な環境を期待することができる。ここでは下記のようにインキュベーション実験を行なった。

a. 供試土壌

上記 2-4-1. a の供試土壌 14 点のほかに昭和41年10月採取のもの1点を追加し、計15点について供試した。

b. インキュベーション方法

第1図に示すように、変形コンウェイユニット⁹⁾の内室に、秤量管(径3cm, 高さ7.5cm)の中に、水を8分目入れ、ふたをよくはめてから、ふたを下にして逆さにいれる。この逆さになった秤量管の底に浅ざら(径3cm, 高さ1.2cm)を載せる。浅ざらにはあらかじめ、上記 N+K+P 液 0.25 ml (435 μg NH_4-N , 370 μg P_2O_5 , 350 μg K_2O) と水 0.75 ml をいれ、各風乾土壌 1g をこれに添加し土壌は一様に広げておく、亜硝酸吸収液として、内・外室に $NKHCO_3$ 5 ml ずつをいれる。通気を兼ねて亜硝酸吸収剤として炭酸カリウム処理の輪状濾紙や、中心部に小穴のあるうすいガラス製円板をふたとして用いることは、2-1. b. と同様である。インキュベーションは昭和43年12月に行ない、期間は15日間であった。この期間中、隔日にふたの小穴に注射器針を入れ、内室に $NKHCO_3$ 5 ml を注加した。外室には数日ごとに適量を補給した。浅ざらの土壌水分の補給も同様



に行なった。

インキュベーション後、内室と外室の $KHCO_3$ 溶液、輪状濾紙はともに 100 ml メスフラスコ中に 0.5% NaOH でよく水洗して洗いいれた。メスフラスコ中より一定量を取り NO_2-N を 2-1. b. と同様に比色法で定量し、揮散 NO_2-N とした。また土壌中の NH_4-N , NO_3-N , $pH(H_2O)$ の測定量は 2-1. b. と同様である。

3. 実験結果と考察

3-1. 亜硝酸多揮散土壌の風乾密封保存の影響

それぞれ前処理来歴を異にする3群の供試土壌について得られた実験結果を第1表に示した。

あらかじめ2か月間生土状態に密封しておかれた209, 217 両土壌について、さきに第5報⁹⁾で鉄錯イオン添加の効果を検討したことは上述したが、表にそのときの実験結果を再び記載した。風乾保存開始時のインキュベーションでは、硝酸含量の多いほうの209土壌が多量の亜硝酸を揮散した。しかし数年後の本実験では、初めの65%程度の亜硝酸を揮散しているにすぎず、保存処理による、共存多量硝酸の影響のためか、明らかに亜硝酸菌の活性も衰えたことがうかがわれ、揮散量の激減をみたものと思われる。これに反して217土壌では、数年間の保存による障害は全くみられず、亜硝酸菌の活性に変化はなかった。ただ保存によって硝酸菌の活動はさらに阻害されたとみなすのが適当のようで、実験結果は初めの60%増の亜硝酸揮散を示した。

“還元処理”した6土壌についてみると、217土壌には密封保存の影響は全く現われておらず、初めのインキュベーション結果を再現したことは興味深い。これとは反対に初めに著量の揮散を示した110, 113 両土壌を始めとし、114土壌のいずれもが高硝酸含量のためか、硝酸菌はもちろん、亜硝酸菌の活性も保存中に全く消失し、硝化作用はほとんど認められなかった。ただ108土壌だけは、硝酸含量は相当高いにもかかわらず、亜硝酸菌に障害は全くみられず、硝酸菌の不活性化だけが增加していることは、217土壌の場合と軌を一にしている。供試土壌中の最高硝酸含量(3000 ppm)の園試その3土壌にあっては、長期にわたる保存によっても、硝化菌がなお多少の活性を保持しているとみられることは驚くべきである。

3-2. インキュベーション中の土壌水分多少の影響

じゅうぶんな水を給与した畑状態の場合と、通気によ

第1表 亜硝酸多量揮散土壌の風乾密封保存後のインキュベーション実験成績 (ppm/風乾土)
(括弧内数値は保存開始時のインキュベーション成績)*

土 壤 種 類	風 乾 状 態 の 保 存 期 間	揮 散 NO ₂ -N	土 壤 中 の NH ₄ -N		土 壤 中 の NO ₃ -N		土 壤 の pH(H ₂ O)		
			inc. 前	inc. 後	inc. 前	inc. 後	inc. 前	inc. 後	
昭和41年4月採取し、 2か月生土で密封したもの	209	自昭和41年7月 至昭和45年1月	(265) 175	(450) 460	(0) 110	(1320) 1320	(1430) 1420	(—) 5.4	(—) 5.3
	217	同 上	(125) 195	(560) 460	(30) 35	(840) 840	(1230) 1050	(—) 6.0	(—) 5.8
昭和41年10月(または 昭和42年1月)採取し “還元処理” を行なったもの	113	自昭和42年11月 至昭和46年9月	(145) 0	(420) 480	(190) 480	(2050) 2050	(2170) 2025	(—) 5.65	(—) 5.65
	217	同 上	(270) 265	(420) 430	(50) 0	(900) 900	(1085) 920	(—) 5.9	(6.1) 5.55
	園 試 その3	自昭和42年5月 至昭和46年9月	(95) 40	(535) 550	(—) 380	(3050) 3050	(—) 3100	(—) 5.55	(—) 5.35
昭和42年5月採取し “還元処理” を行なったもの	108	自昭和43年2月 至昭和45年5月	(45) 205	(420) 420	(35) 0	(—) 1180	(1480) 1230	(—) 6.05	(—) 5.7
	110	自昭和43年2月 至昭和46年9月	(250) 0	(420) 580	(75) 585	(—) 1400	(1330) 1360	(—) 5.45	(—) 4.9
	114	同 上	(80) 0	(420) 500	(220) 510	(—) 1780	(1700) 1820	(—) 5.15	(—) 4.9

* インキュベーション期間は15日、ユニット外室には1% K₂CO₃でなく0.5% NaOH 8ml 添加

いタン水状態の場合のインキュベーション実験結果を第2表に示した。

インキュベーション後の土壌 pH はタン水の場合のほうが、畑状態よりも一般に低く、硝酸生成はいずれの土壌においても活発であることは、揮散亜硝酸量を比較してみても明らかである。NH₄-N は畑状態のほうが一般に残存量は少ないが、水田状態では窒素無機化が多いとみなされるので、亜硝酸生成量の厳密な比較はむづかしいが、まず表の成績よりみて、両者間の差異はたいしたものではないとみられる。したがって硝酸菌に障害があるため、多量の亜硝酸揮散の発生するに至った 112, 108 両土壌において、タン水状態として高浸透圧効果を減殺する措置をとれば、112 土壌では硝酸菌の活性が回復し、全く普通の硝酸生成作用を営み、揮散亜硝酸の激減をきたしたと解せられる。108 土壌にあっても、酸の揮散量は著減し、生成硝酸量も畑状態と比べて、はるかに多いが、112 土壌と比較してみると、消失 NH₄-N のすべてが、NO₃-N に変化したとはいえず、亜硝酸以外の形態で多量の窒素の揮散した疑いが濃い。この点については、さらに検討を必要としよう。

その他の供試土壌にあっても、タン水状態で揮散亜硝酸の減少したことはまちがいがなく、多量の水存在下における浸透圧の減退が、硝酸菌に有効に働いたとみるべきであろう。ハウス土壌にあっても浸透圧低下の効果は認められる。

3-3. インキュベーション時における土壌 pH 低下の影響

土壌 pH を約 4.5 にして、55日間インキュベーションした結果を第3表に示した。pH を低くしたため、長期間の硝化作用の結果をみたのであるが、20日間程度のものの成績を知ることも必要であろう。

第3表をみると、硫酸を添加しないときは、揮散量の少なかった4土壌のうち、3土壌までが、その添加により、亜硝酸菌の活性も相当に阻害されて、NH₄-N 残留量も多く、100 ppm 以上の多量の亜硝酸揮散を示すに至ったことがわかる。これにより pH 4.5 という酸濃度では亜硝酸菌・硝酸菌両方の活性をそこなうことは、茨城県火山灰土壌にあっても、高知県土壌の場合と全く同一であって、土壌酸度が硝化作用に大きな影響のあることは、

第2表 酸化了的タン水と畑状態におけるインキュベーション成績 (ppm/風乾土)

水 分 態	土 壤 種 類		揮 散 NO ₂ -N	土 壤 中 の NH ₄ -N		土 壤 中 の NO ₃ -N		inc. 後の土壌 pH (H ₂ O)	
				inc. 前	inc. 後	inc. 前	inc. 後		
酸 化 的 タ ン 水 状 態	4 か月生土 で密封後風 乾	112	28	420	0	900	1390	5.8	
		220	3	420	350	1300	1460	5.1	
	採 取 直 後 風 乾	202	11	420	350	530	600	5.7	
		217	10	420	0	560	930	6.2	
		110	11	420	470	990	1130	5.6	
	還元処理後 風乾	108	15	420	0	1180	1400	6.0	
	畑 状 態	4 か月生土 で密封後風 乾	112	178	420	0	900	1160	6.05
			220	34	420	320	1300	1440	5.15
採 取 直 後 風 乾		202	40	420	0	530	880	5.0	
		217	24	420	0	560	930	6.0	
		110	19	420	300	990	1140	5.75	
還元処理後 風乾		108	205	420	0	1180	1230	5.7	

第3表 土壌 pH 低下後のインキュベーション成績 (ppm/風乾土)

(括弧内数値は調製直後の pH を下げないときの実験結果)*

土 壤 種 類	N/10 H ₂ SO ₄ 添 加 量 (ml/ 風 乾 土 1g)	揮 散 NO ₂ -N	土 壤 中 の NH ₄ -N		土 壤 中 の NO ₃ -N		土 壌 の pH (H ₂ O)	
			inc. 前	inc. 後	inc. 前	inc. 後	inc. 前	inc. 後
220	0.35	145 (35)	400 (420)	110 (15)	1310 (1310)	1420 (1720)	4.4	4.6 (4.95)
103	0.35	100 (10)	450 (450)	130 (55)	1350 (1350)	1680 (1760)	4.4	4.65 (6.4)**
110	0.2	55 (40)	420 (420)	130 (30)	1350 (1350)	1680 (1760)	4.4	4.55 (6.25)**
135	0.15	110 (5)	420 (420)	150 (120)	230 (230)	380 (530)	4.3	4.5 (4.8)

* インキュベーション期間は 15日. ユニット外室には 0.5% NaOH 8ml 添加

** Ca CO₃ 添加

特異性のみられる茨城県ハウス土壌においても、例外でないことが確かめられた。

3-4. インキュベーション中炭酸ガスの多少の影響

実験結果は第4, 5表に示した。第4表は昭和41年秋、第5表は昭和42年春採取の各土壌についての成績である。さきにも述べたが、第4, 5表をみて、春採取の114

土壌以外の全供試土壌のいずれにおいても、NaOH 使用の CO₂ の多少不足するとみられる場合のインキュベーションにおいて、かえって硝化作用は順調に営まれ、亜硝酸揮散はごく少量である。CO₂ の不足は多かれ少なかれ、硝化菌に害作用をもたらすのではないかと推察したが、結果はまさに正反対であった。CO₂ 濃度が大気中よりも不足きみと思われる場合のほうが、大気中と等濃度、またはこれを上回る場合よりも、かえって硝酸菌の

第4表 昭和41年10月採取土壌の KHCO_3 、 K_2CO_3 および NaOH 溶液存在下のインキュベーション成績 (ppm/風乾土)

土 壤 種 類	外室に添加したアルカリ溶液	揮 散 $\text{NO}_3\text{-N}$	土 壤 中 の $\text{NH}_4\text{-N}$		土 壤 中 の $\text{NO}_3\text{-N}$		inc. 後の土壌の pH (H_2O)
			inc. 前	inc. 後	inc. 前	inc. 後	
108	KHCO_3	4	440	435	190	200	5.1
	K_2CO_3	9	430	355	190	280	5.0
	NaOH	4	465	250	190	400	5.05
110	KHCO_3	4	440	120	580	830	5.5
	K_2CO_3	5	420	80	580	890	5.6
	NaOH	4	460	0	580	1030	5.75
113	KHCO_3	14	440	200	1680	1850	5.55
	K_2CO_3	19	420	40	1680	2050	5.65
	NaOH	4	460	0	1680	2160	5.65
114	KHCO_3	7	450	475	410	400	—
	K_2CO_3	—	—	—	—	—	—
	NaOH	8	465	285	410	410	5.65
115	KHCO_3	4	450	335	705	790	6.05
	K_2CO_3	3	420	240	705	850	6.05
	NaOH	9	465	0	705	1150	6.2
202	KHCO_3	95	460	275	530	670	—
	K_2CO_3^*	34	500	280	530	720	5.3
	NaOH	12	460	290	530	680	4.6
204	KHCO_3	4	440	315	140	295	—
	K_2CO_3^*	3	460	320	140	320	5.5
	NaOH	6	450	0	140	560	5.45
217	KHCO_3	155	460	40	560	770	6.4
	K_2CO_3	24	420	0	560	950	6.05
	NaOH	6	490	0	560	980	6.15

* 昭和46年5月における20日間のインキュベーション

活性化をきたし、亜硝酸揮散の減少をもたらすことは、たとえわずかにせよ O_2 濃度の増加が、硝酸菌の活動を盛んにしたためかも知れない。または CO_2 の不足が硝酸菌に対し刺激となったためかも知れない。これについてはさらに厳密な検討を必要としよう。

常時 CO_2 存在下のインキュベーションとして、 N KHCO_3 を第1図のような装置を用いて、隔日に加えたが、どの程度 CO_2 が発生するか、だいたいの見当をつけるために、次のような実験を行なった。

保存中の試薬一級炭酸水素カリウムより、 N KHCO_3 を調製した。この 5 ml を第1図の胴長ユニットの内室に採り、外室に $0.15\text{ N NaOH } 3\text{ ml}$ をいれ、ふたをパネで絞めつけ、 30°C 定温器内に1日、3日半放置した。

盲験のため別の胴長ユニットの内室に何も加えず、外室だけに $0.15\text{ N NaOH } 3\text{ ml}$ をいれて同様に放置した。

放置後、外室のアルカリ液をまずフェノールフタレイン指示薬を用いて滴定し、終点に達したら、さらにメチルオレンジ指示薬で滴定を続け、アルカリに吸収された CO_2 を算出した。この結果を第6表に示した。

第6表より KHCO_3 添加1日後に、 5 ml 程度の CO_2 が発生していることがわかった。隔日に添加するので、胴長ユニット内の、秤量管の容積を差し引いた残りの容量は約 160 ml であることよりみて、インキュベーション後、数日でユニット内は、相当な CO_2 濃度を占めることが推察され、 O_2 濃度激減のおそれも考えられる。

第4表の秋採取土壌については、 K_2CO_3 の使用では

第5表 昭和42年5月採取土壤の KHCO_3 , K_2CO_3 および NaOH 溶液存在下の
インキュベーション成績 (ppm/風乾土)

土 壤 種 類	外室に添加したアルカリ溶液	揮 散 $\text{NO}_2\text{-N}$	土 壤 中 の $\text{NH}_4\text{-N}$		土 壤 中 の $\text{NO}_3\text{-N}$		inc. 後の土 壤 pH (H_2O)
			inc. 前	inc. 後	inc. 前	inc. 後	
108	KHCO_3	0	440	80	775	1140	5.95
	K_2CO_3	4	420	20	775	1185	6.2
	NaOH	0	520	42	775	1265	—
110	KHCO_3	71	440	395	995	1025	5.65
	K_2CO_3	132	420	160	995	1140	5.2
	NaOH	0	510	0	995	1495	—
113	KHCO_3	69	440	20	700	1020	5.4
	K_2CO_3	121	420	20	700	990	5.2
	NaOH	21	515	0	700	1190	5.0
114	KHCO_3	18	500	500	1320	1350	5.6
	K_2CO_3	14	450	475	1320	1350	5.2
	NaOH	82	575	60	1320	1755	—
115	KHCO_3	11	440	120	1695	1970	6.35
	K_2CO_3	11	420	20	1695	2090	6.2
	NaOH	0	510	—	1695	—	—
202	KHCO_3	26	430	180	975	1260	5.1
	K_2CO_3	36	430	40	975	1350	5.05
	NaOH	0	515	—	975	—	—
204	KHCO_3	14	450	155	560	910	5.25
	K_2CO_3	29	450	40	560	1005	5.45
	NaOH	0	505	60	560	1015	—

NaOH の場合よりも、亜硝酸揮散の増加の傾向がうかがわれることは前述したが、 KHCO_3 使用で、202, 217 両土壤に顕著な量の亜硝酸揮散がみられ、硝酸菌の活動が阻止されたことがわかる。第5表の春採取土壤の成績をみると、第3報⁹⁾にも報告したが、 NaOH の存在で114 土壤が相当量の亜硝酸揮散を示したほかは、見るべき揮散は起こらない。 K_2CO_3 を使用したもののうちで、114 土壤が保存中に不活性になったとみられることは、さきに述べたことで、これはともかくとして、110, 113 両土壤に著量の亜硝酸揮散が発生した。 KHCO_3 使用の場合も、この2土壤に相当量の揮散がみられたが、不思議なことにその量は、 K_2CO_3 使用の場合の約半分にすぎない。

揮散亜硝酸量に関して、 KHCO_3 と K_2CO_3 の場合の第4, 5表の全く反対な成績は、何に起因するのかよくわからないが、次のような推測も可能であろう。秋採取土壤の場合、ビニールマルチも6月に取りはずされ(第

3報)、通気良好の環境に馴養していたものが、 KHCO_3 の使用により多量の CO_2 発生のため、その通気阻害を亜硝酸菌・硝酸菌ともこうむるが、その被害の度は後者により多く現われる。またマルチの下で通気のじゅうぶんでない状態に馴養された春採取土壤(第5表)については、3種のアルカリ溶液のなかで、 K_2CO_3 使用の場合に残存 $\text{NH}_4\text{-N}$ 量が最少となっているものが多いことからみて、通気の好転した条件下で、亜硝酸菌の活性だけ

第6表 30°C において N KHCO_3 5 ml より発生した CO_2 量

期 間	1 日 後	3.5 日 後
発生量		
重 量 (mg)	8.3	11.8
30°C における 容 積 (ml)	5	6.5

が増進し、より多くの亜硝酸の生成が行なわれた結果ではなからうか。

以上要するに、NaOH 存在下の初期に CO₂ の不足をきたすおそれのある場合のインキュベーションにおいては、全供試土壌15点のうち、1点だけに相当量の亜硝酸揮散がみられただけで、他の14点においては、その量はきわめて少なかった。これに対し、K₂CO₃、KHCO₃ 使用の大気中の CO₂ と等濃度、またはこれより多い場合にあっては、15点のうち上記の土壌とは別の2土壌が多量の亜硝酸を揮散した。著者らはコンウェイユニットインキュベーション法での揮散亜硝酸のほそく剤として 0.5% NaOH と 1% K₂CO₃ との比較実験を行なったのであるが、その結果、上記のように第4報⁴⁾までは、NaOH を使用してきたが、これによつては亜硝酸揮散の少なかった土壌でも、K₂CO₃ 溶液を用いれば、揮散の多くなるかも知れない可能性も生じてきた。この一例は上述の多量の水存在下の比較実験結果第2表に掲げた112土壌である。第4報⁴⁾で示すように、NaOH 使用のインキュベーションでは、ごくわずかの揮散しか示さなかったのに対し、K₂CO₃ 使用の第2表の成績は多量の亜硝酸を揮散している。

4. 要 約

ビニールハウス設置以来3、4年を経過した、茨城県谷田部町在の火山灰畑土の風乾状態で室内に密封保存した（昭和41年7月～昭和42年6月）ものを、数年後に取り出して、次の各事項を検討するため既報⁵⁾のように、一般に約 400 ppm NH₄-N を添加し、30°C、20日間のインキュベーションを行なった。ついで pH(H₂O)、揮散 NO₂-N、土壌中の NH₄-N、NO₃-N を求めた。

1. NH₄-N 供与の畑状態のインキュベーションで、多量の亜硝酸を揮散したハウス土壌を、数年間風乾状態で密封保存することにより、硝化菌はどのような影響を受けたか。

実験操作——数種の亜硝酸多揮散の保存土壌について、既報⁵⁾のコンウェイユニット使用のインキュベーション実験（ユニットの外室には 1% K₂CO₃ 8 ml 添加）を行なって、保存開始時のその成績と比較した。

2. 風乾保存土壌について、土壌水分を極端に多くした、いわば通気良好な水田状態の硝化作用は畑状態のものと、どう違うか。

実験操作——多くの各種土壌について、常法のコンウェイユニットの代わりに、ベトリーざら（径 9.5 cm）に 0.5 g の風乾土壌と水 5 ml。および常法のように NH₄-N を加え、ふたと身のすきまに、少量の炭酸カリウムを吸

わせた輪状の沓紙をはさんで、揮散亜硝酸をこれに吸収させるようにした。インキュベーション中は毎日 1～2 回さらごと振り動かして、通気をはかり、またふたの小穴より水を補給した。

3. 硫酸を添加して土壌の pH を下げた場合（pH 4.5）の畑状態のインキュベーションと、硫酸無添加の同様なインキュベーションとの比較。

4. コンウェイユニットインキュベーション法では、土壌の乾燥防止を兼ねて外室にアルカリ溶液をいれるが、採取直後風乾した保存土壌について K₂CO₃、KHCO₃ 溶液を用いた場合、すなわち土壌の共存炭酸ガス量の大気中と等濃度またはこれより高濃度の場合と、保存開始時の同一土壌にうすい NaOH 溶液を用いた、炭酸ガスの不足ぎみとみられる場合の硝化作用の比較。

実験操作——0.5% NaOH、1% K₂CO₃ 使用の場合は、既報⁵⁾のコンウェイユニットを常法のように使用した。KHCO₃ 使用の場合は、胴長コンウェイユニット⁹⁾（第1図）の内室に、隔日に N KHCO₃ 5 ml を注加し、外室にも N KHCO₃ を入れた。ほかの操作定量法は常法どおりであるが、全 KHCO₃ 溶液中の NO₂-N を揮散亜硝酸として、比色法で求めた。

得られた結果はそれぞれ次のとおりであった。

1. 硝酸菌に障害の認められ、亜硝酸を多量に揮散する土壌は、風乾保存処理によって影響を受け、保存開始時期よりも、揮散量の激減したものや、反対に増加したもの、または全く変化のみられなかったもの、さらにまた亜硝酸菌・硝酸菌ともに全く不活発となり硝化作用の消滅したものなどが認められた（第1表）。

2. ハウス土壌を酸化的タン水状態としたときは、硝酸菌に対する障害作用は緩和されるようで、畑状態インキュベーションで多量の亜硝酸を揮散した土壌も、タン水状態では、きわめて少量の揮散しか示さず、畑状態に比べて土壌中の生成硝酸量は激増した。その他の土壌においても一般にタン水状態では揮散亜硝酸量は、ごくわずかであった（第2表）。

3. 長期間の55日間のインキュベーションであったので、常法の20日間のものとは比べられないが、全供試土壌に顕著な亜硝酸揮散が認められ、硝酸菌はもちろん、亜硝酸菌も相当に活性が失われたことを知った（第3表）。

4. ユニットの外室に NaOH を用いた、CO₂ の不足ぎみとみられるインキュベーションで、かえって硝化作用は円滑に進んだ。相当量の亜硝酸揮散がみられたのは、全供試土壌 15 点のうち、1点だけであった。

秋採取土壌では CO₂ 濃度の増大した KHCO₃ 使用の

場合に、8供試土壌のうち2点に著量の亜硝酸揮散をみたが、 K_2CO_3 使用の場合はいずれも少量であった(第4表)。

春採取土壌では、これに反して、 $KHCO_3$ 使用の場合にも、供試土壌7点のうち、2点で相当量の揮散をみたが、 K_2CO_3 使用の場合には、その2土壌の亜硝酸揮散量は約倍増した。そのほかの土壌では、 K_2CO_3 の場合も、 $KHCO_3$ の場合と同様に揮散量は少なかった(第5表)。

文 献

- 1) 永井恭三: 土壤肥料, 38, 339 (1967)
- 2) 永井恭三・久保田正重・小松鋭太郎: 同上, 39, 199 (1968)
- 3) 永井恭三・久保田正重・小松鋭太郎: 同上, 39, 370 (1968)
- 4) 永井恭三・久保田正重・小松鋭太郎: 同上, 40, 74 (1969)
- 5) 永井恭三・久保田正重: 土壤肥料, 投稿中
- 6) Alexander, M.: Introduction to Soil Microbiology, p. 286 (1961) John Wiley & Sons, Inc.
- 7) 永井恭三・久保田正重: 土壤肥料, 41, 453 (1970)
- 8) 日本土壤肥料学会編 土壤肥料の研究, p. 77 (昭和45) 養賢堂
- 9) 永井恭三: 茨大農学術報告 No. 18, p. 9 (1970)

Summary

Air dried volcanic ash upland field surface soils (<1 mm), taken in the vinyl covered houses of some years elapsed after built at Yatabe-machi, Ibaraki Prefecture, in 1966~1967 have been preserved in airtight bottles at room temperature for several years.

One gm. of these soils was incubated at 30°C for 20 days at upland field moisture with sufficient water and 0.4 mg of NH_4-N added usually in semimicro Conway type diffusion unit as already mentioned in previous reports for the purpose of investigating the following four problems. After incubation, NO_2-N volatilized from soil, NH_4-N and NO_3-N formed in soil were determined.

1. Effect of keeping those soils for years in airtight conditions that lost remarkable amounts of nitrous acid during incubation at the beginning of the preservation period on the nitrification process in the incubation after the storage.

2. Comparison of the incubation under excess of water in well aerated with the usual under upland field moisture condition as mentioned above.

For this purpose, Petri dish (dia. 9.5 cm) was used with 5 ml of water, 0.4 mg of NH_4-N added to 0.5 g of soil. Nitrite nitrogen that might volatilize from soil during incubation could be caught by ringed, dry filter paper treated beforehand with K_2CO_3 solution and inserted between dish and its cover in order to ventilate the dish interior. During the period the vessel was gently shaken twice a day by hand and water evaporated from soil was supplied as in Conway unit.

3. Comparison of nitrification process under upland field moisture condition at low soil reaction (pH 4.5) reduced by H_2SO_4 addition with one without H_2SO_4 added.

4. Effect of CO_2 concentration in the atmosphere on HNO_2 volatilization.

In the incubation method using Conway unit, 0.5% NaOH or 1% K_2CO_3 solution is placed in outer compartment of the unit. Further the below mentioned incubation method was employed; 5 ml of $N KHCO_3$ solution was placed in the inner compartment of the tall Conway type unit devised by the authors and added every other day. Thus the effect of CO_2 concentration is to be studied.

The results obtained were as follows.

1. Owing to the preservation treatment, remarkable change in the amount of nitrous acid volatilized from the soils was observed; it was decreased in one soil and in-

creased in other two soils. Some soils which had volatilized much the acid at first were recognized to have lost activities of both nitrifying bacteria during the storage (nitrification phenomena were no longer to be seen). A certain soil, however, did not change the degree of the volatility at all.

2. Soils that volatilized large amounts of HNO_2 under upland field moisture condition lost little the acid at the existence of excess of water in good aeration because nitrification process was realized to have gone on comparatively smoothly in the circumstances. In other soils, incubation under excessive water in well aerated made the volatilized acid much less as a result of favorable nitrification process.

3. Nitrification under low soil reaction at upland field moisture was never advantageous; much of $\text{NO}_2\text{-N}$ was lost from all the reduced soils during the process owing to the considerable damage of nitrobacter.

4. When NaOH solution was employed, the volatilized nitrite nitrogen during the incubation was found to be negligible in 14 soils out of 15 samples. Under the existence of K_2CO_3 or KHCO_3 solution, two soil samples lost remarkable amounts of $\text{NO}_2\text{-N}$. KHCO_3 solution was considered to impair the activity of both nitrifying bacteria by the occurrence of CO_2 .