

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7報 亜硝酸・メチルアミン・塩酸の相互作用が
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

VII. Effects of applying nitrite and/or methyl amines with varying amount of acid on nitrous acid volatilization

KYOZO NAGAI and MASATSUGU KUBOTA

1. 緒 言

著者らは、茨城県谷田部町の、栽培歴数年を経過したビニールハウス内の火山灰性畑土壌における、窒素揮散特に亜硝酸揮散の問題を、ここ数年来研究してきた。今までに得られた知見の大要を記すと、[ハウス栽培後、一、二年たつと、土壌の硝化作用はきわめて迅速化してくる。しかし溶脱のみられないハウス土壌に対する、普通露地畑と同様な窒素施肥は、窒素過施をもたらす結果となり、やがて表層土壌中に硝酸塩（普通は硝酸カルシウム）がしだいに集積してくる（800~1000 ppm N 以上/風乾土）。このような段階で、一般に農作業として行なわれている、ビニールマルチ施用などに起因する、土壌通気の不良化が要因と考えられるが、2種の硝化菌のうち、硝酸菌のほうが、多かれ少なかれなんらかの障害を受けようになり、亜硝酸の硝酸酸化反応が順調に行なわれなくなる¹⁾²⁾。したがって、亜硝酸が土壌中に蓄積してくるはずであるが、一般の酸性土壌では、この不安定弱酸は大気中に散失してしまい、その多量の揮散がみられるようになる。この場合、土壌中で亜硝酸より分解した酸化窒素が、二酸化窒素に酸化されて揮散する過程も考えられるが、著者らの研究では、少なくとも茨城県火山灰土壌にあっては、このような分解は起こらないで、亜硝酸そのものが揮散するという結果が得られている³⁾。

さらにまた、亜硝酸そのものの揮散だけでなく、活性な亜硝酸は、他の共存土壌有機物と反応して、亜酸化窒素または窒素ガスの相当量を生成して、同様に揮散することについても、確認はしていないが、その現象の存在

することの、まずまちがいないことを報告した³⁾。

硝酸菌不活性化の原因としては、たとえば尿素施用に由来する土壌のアルカリ性化による、活性鉄の不可給態化および“アンモニア毒”のほか、酸性土壌に多量のアンモニウムイオンの存在することによっても、ひきおこされること、したがってハウス土壌に対しては、尿素施用の望ましくないこと、アンモニウム塩の多施についても留意することなど第4報²⁾に述べた。

また土壌のアルカリ性化によるためではなく、酸性土壌にあっても、鉄の不可給態化（硝酸菌の吸収困難）のため、亜硝酸揮散の多量のみられる土壌に、活性なキレート鉄を相当量付加することによって、その揮散は消失し、順調な硝化作用が回復した例も報告した⁴⁾。

酸性土壌に関したことを述べると、酸性の程度が硝化作用にどのような影響を及ぼすかについて、前報⁵⁾で二、三実験を試みたが、その増大は一般に亜硝酸の揮散量の増加をまねいた。

さて最も肝心なことは、普通の土壌条件においてみられる、硝酸菌不活性化の原因の解明である。このため、第5報⁴⁾で土壌中の蓄積塩類の、高濃度障害による硝酸菌の機能阻害発現の有無に関する検討実験を試みた。すなわち等規定濃度の、硝酸塩・塩化物溶液を、硝酸低含量、低亜硝酸揮散の4土壌に添加して、1か月間畑地水分状態から徐々に乾燥することによって、いわゆる濃度障害を起こすようにした。この処理土壌を風乾してから、硝化試験を行なったが、全土壌ともに、塩化物処理のものは、無添加のものと同じように、硝化作用も、亜硝酸揮散量にも、あまりたいした変化は現われなかった。しかし、硝酸塩処理のものは、供試土壌の半分の2土壌に、

多量の亜硝酸揮散がみられるに至った。残りの2土壤には、塩化物処理と同様に、硝化作用の内容に大きな変化は認められなかった。

これにより、普通条件下にあるハウス土壤の亜硝酸揮散現象は、集積塩類の溶存による、いわゆる濃度障害に起因するものではないことが明らかにされた。すなわち、該揮散現象は他にその真因があり、これを追及しなければならぬ。

ここで次の事柄を想起してみる必要がある。亜硝酸揮散のみられる土壤は、ビニールマルチの設置してある6月以前の季節に多いこと¹⁾、黒ボク土壤に多いこと²⁾、硝酸高含量状態で、畑水分のままビニール袋に密封処理した後起こりやすいことなどである。

これらを要するに、土壤中の硝酸が高含量になると、共存有機物のために、還元状態下にその一部が還元され、ある程度の亜硝酸が土壤中に生成するようになる。この不安定で弱いといえ、活性な酸によって、抵抗力の少ないほうの硝酸菌が体表面に、なんらかの異質化反応を受け、養分吸収が困難となる、したがってこの揮散反応をみるに至るのではないかと推定されてくる。

さらに、硝酸の還元ばかりでなく、施用含タン白質有機質肥料の還元分解物として、低級アミン類の、土壤中に生成する可能性も考慮することができよう。そこで、この種の化合物と亜硝酸の共存する場合の、硝酸菌に対する阻害作用発現の程度についても、検討してみた。

以下これらを検討した実験経過について報告する。

2. 実験方法

緒言で述べたように、低硝酸含量、多量亜硝酸不揮散土壤について、硝酸塩を給与して“還元的インキュベーション”を施した後、硝化試験を行なったところ、亜硝酸の多量の揮散が、供試土壤の半数にみられた。これは前処理の incubation によって、多少なりとも亜硝酸が硝酸より生成し、これによって菌の不活性化が起こった結果によるものではないかと推測されたので、まず亜硝酸のごく少量をこの種土壤に添加し、これと反応させてから常法のように硝化試験を行ない、その効果を検討した。

次に亜硝酸付加効果の認められなかった2種の土壤において、亜硝酸とジメチルアミンの同時添加処理効果の有無を同様にしらべた。

最後にこれらの実験結果にかんがみ、亜硝酸・メチルアミン・塩酸の3者の単独または相互作用効果について、常法による、比較的長期の硝化実験を行なって、ひととおり検討してみた。

実験 1 亜硝酸塩添加処理の亜硝酸揮散に及ぼす効果

a. 供試土壤

第5報⁴⁾の硝酸塩・塩化物添加処理効果試験で供試した、現地より採取後すぐに風乾して保存中の、110, 202, 204 および 111 各土壤の4種で、いずれも風乾物中に100~550 ppmのNO₃-N含有の、多量亜硝酸不揮散土壤である。このうち111, 202両土壤はNO₃-N 1000 ppm添加の結果、亜硝酸揮散の増量化に成功したが、110, 204土壤の2点は、その揮散量に変化はみられなかった。

b. 実験操作

試薬一級亜硝酸カリウムの、希薄0.5%水酸化ナトリウム溶液(1 ml 中 2.5 mg Nを含む)より、マイクロピペットで0.01 ml または 0.045 ml を、常用の浅皿(径55 mm, 高さ8 mm)に採り、水1 ml たらすを加えてまぜ合わせる。各風乾土壤(<1 mm) 1.000 g を手早く、これに加え同形の浅皿を重ね合わせて、ふたとし、境目をビニール絶縁テープで巻き付け、密封してから土壤を一樣に底に広げる。これを30°C定温器内に、3日間静置してから、ふたを取り去り、そのまま一夜風乾する。亜硝酸を加えないで、水だけで処理したのもの、上記のとおり処理した。

次に常法³⁾のように、いずれも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の3者混合液1 ml (420 μg N, 約370 μg P₂O₅, 約350 μg K₂Oを含む)をこの処理風乾土壤を入れた浅皿に滴下する。浅皿は次にセミマイクロ用コンウエイユニットの内室に置き、外室には、1%炭酸カリウム7 ml を入れる。東洋汙紙No.4をユニットの口径に合わせて、円形に切り取り、さらに内室の口径に合わせて、中央部を円形に切り取り、幅約2 cmの輪を残す。

この輪状汙紙を、1%炭酸カリウムに浸漬してから、乾かしてユニットのすり合わせの上に、外室をおおうように載せる。この上に、ユニットの口径大の、厚さ約2 mmの円板ガラスの中心部に径1 mmの穴をあけたものを置いて、汙紙を押えてふたとする。汙紙をはさむ目的は、ふたをユニットに密着させないで、室内の通気をほかり、兼ねて浅皿の土壤より揮散してくる亜硝酸を、これに吸収させるため、1%炭酸カリウム浸漬のものでも十分その機能を果たすことは、あらかじめ確かめた。ガラスふたの穴は土壤水分補給に必要で、ここに注射器針をそう入して、土壤に水を給与する。ふたは絶縁テープをはり付けておく。またガラスふたの上に、小さなアルミニウム板を置いて、インキュベーション中に、ふ

たの内側に、水分が凝縮しないようにもした。

こうして 30°C 定温器内にユニットを静置して、25 日間硝化試験を行なった。たいいて毎日、土壌水分の蒸発状態を見て、土壌表面に過剰水分が存在しない程度の、十分の水を補給した。

incubation 後に浅さを内室から取り去り、輪状濾紙を漏斗にとり、100 ml メスフラスコを受器として、0.5% 水酸化ナトリウムで、希アルカリ液をいれた外室とともによく洗って、100 ml に fill up する。この一定量を取り、塩酸でアルカリを中和してから、比色法で $\text{NO}_2\text{-N}$ を定量し³⁾、同一処理の土壌をいれないユニットの $\text{NO}_2\text{-N}$ 吸収量を差し引いて、亜硝酸揮散量とした。土壌中の $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ は、 $\text{pH}(\text{H}_2\text{O})$ を測定してから、土壌を N 塩化カリウムで 50 ml メスフラスコに洗い入れた後、よく振ってから、上澄み液について改良した微量拡散分析法⁶⁾によって定量した。

実験 2 硝酸添加処理効果のない土壌に対する亜硝酸・ジメチルアミン同時添加効果の検討

実験 1 の 4 供試土壌のうちで、硝酸効果のなかった 110, 204 両土壌について行なった。なおこの両土壌は実験 1 においても、亜硝酸揮散に変化はみられなかった。

既述したように、硝酸塩・亜硝酸塩単独では効果がみられなかった土壌に対しては、このほかに別の有毒な物質が土壌で生成し、塩との協同作業による菌体の阻害により、この現象をもたらすかも知れない。これに関して検討してみた。

ハウス土壌にあっては、さきに述べたように、窒素に富む有機質肥料の施用も多いので、一応ジメチルアミンの存在を想定した。それで次のような実験によって、ジメチルアミンと亜硝酸の共存効果の程度をしらべてみた。

実験操作

110, 204 両土壌について、それぞれ次の 3 種の処理を実験 1 に準じて行なった。

(1) 水添加

上記の浅皿に水 3 ml、土壌 3 g を入れ、実験 1 と同様に密封して、30°C に 2 日間静置してから、ふたをとって風乾した。

(2) 亜硝酸添加

希亜硝酸カリウム溶液 0.06 ml (風乾土壌 1 g 当たり 50 $\mu\text{g N}$)、水 3 ml、土壌 3 g を 1% 塩酸 0.5 ml 添加の有無の両場合について、(1) 同様に処理した。

(3) ジメチルアミン・亜硝酸同時添加

浅皿に、上記希亜硝酸カリウム溶液 0.06 ml、1% 塩酸 0.5 ml、下記の希薄ジメチルアミン水溶液 3 ml を、この順にとり、まぜ合わせてから、手早く土壌 3 g をこれに加え (1) 同様に土壌を振り動かして広げる。後の操作は上記と同じである。

ジメチルアミン水溶液は試薬一級ジメチルアミン 40% 水溶液より、1 ml 中 48 $\mu\text{g N}$ を含む希薄溶液を調製した。この窒素量は、セミマイクロコンウエイユニットの外室に、上記 5 ml を採取し、これに 30% 水酸化ナトリウム 4 ml を添加して、内室の 2% ホウ酸を受液としてこれに吸収させる。外室からアンモニアの揮散のみられなくなるまで 30°C に 1~2 夜放置して、 $N/200$ 硫酸標準液で滴定し滴定値をアミン態窒素量とした。

各風乾土壌は粉碎してよくまぜ合わせてから、それぞれ 1 g を実験 1 と同じように、浅皿に $N+K+P$ 液 1 ml (約 40 $\mu\text{g NH}_4\text{-N}$) とともに採取し、コンウエイユニット使用の incubation を 30°C で 54 日間行なった。ついで揮散の $\text{NO}_2\text{-N}$ 、土壌の $\text{pH}(\text{H}_2\text{O})$ 、土壌中の $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ を上記と同様にして求めた。

実験 3 亜硝酸・メチルアミン・希塩酸の相互作用が亜硝酸揮散に及ぼす効果

実験 2 の結果から、110, 204 両供試土壌のうち、110 土壌には、亜硝酸とジメチルアミンの共存の場合にのみ、相当量の揮散が発生することが判明した。204 土壌では、共存処理によって硝化作用は、まったく停止してしまった。

これにより両種の土壌の硝化作用は、その活性の点で大きな相違があると認められるに至ったので、両土壌に対して、3 者の有害物質を組み合わせた相互作用の効果を比較するため、本実験を試みた。

実験操作

浅皿に 1% 塩酸を 0.01 ml、0.1 ml、0.25 ml、0.5 ml および 1.0 ml 別々に採取する。これらに実験 1 の希亜硝酸カリウム液 0.06 ml を滴下したものと、しないものを用意する。さらにこれらにそれぞれ上記のジメチルアミン水溶液、下記調製のモノメチルアミン、トリメチルアミン水溶液、または水をいずれも 4 ml 添加 (亜硝酸、アミンはいずれも風乾土壌に対し、約 50 ppm N 給与) し、まぜ合わせてから手早く、110, 204 両土壌を別々に 3 g 加える。ふたをして密封後に、土壌を皿内に広げ、30°C に 2 日間静置する。静置後ふたを取り去り、上澄み液も少し取り除いてから、そのままにして土壌を風乾した。以後の操作処理は実験 2 の incubation と同じ。ただ 30°C の incubation 期間は 45 日間とした。

モノメチルアミン水溶液

試葉一級モノメチルアミン30%水溶液を希釈して、1 ml 中 40 µg N の希薄水溶液を調製した。

トリメチルアミン水溶液

試葉一級トリメチルアミン30%水溶液を希釈して、1 ml 中 35 µg N の希薄水溶液とする。

なお両アミンともに、この希釈水溶液中の定量は、前記ジメチルアミンと同様に行ない、滴定値はすべてアミン態Nによるものとした。

3. 実験結果と考察

実験1の結果を第1表に示した。なお亜硝酸を添加した土壌を風乾後に incubation する間に、初めの添加亜硝酸が揮散することも考えられるので、その検討を行なったのが、第2表である。実験方法は前記の浅皿に、土壌1gと亜硝酸カリウムを50µg N、水1mlを採取し、密封処理後2日に、ふたをとって風乾した。ついでこの風乾土壌入りの浅皿に水1mlを加えただけで、incubation 操作に準じ、ユニットの内室に浅皿を置く。30°Cに静置したが10日間で土壌は乾燥した。この間に輪状濾紙に吸収された揮散 NO₂-N 量を第2表に示したが、いずれもこゝろ跡であり、実験1の incubation 中に、こうして揮散した量は微量にすぎないことが確かめられた。

供試4土壌のうち、111土壌は、25ppm Nの亜硝酸の給与で、著量の亜硝酸が揮散したことがみられる。他の3土壌には、やや多目の115ppm Nが付与されたのに、202土壌で相当量が揮散したが、110、204両土壌はアンモニア酸化は抑えられたが、亜硝酸揮散量には、ほとんど変化が現われていない。

この結果は第5報における、塩化物・硝酸塩添加効果

第2表 供試土壌における添加亜硝酸の揮散量 (ppm/風乾土)

土 壌	土壌 pH(H ₂ O)	添加 NO ₂ -N	揮散 NO ₂ -N
111	6.2	50	3
110	6.6	//	6
202	6.1	//	1
204	6.3	//	4

の結果と一致する。硝酸効果の試験では、204土壌以外の亜硝酸菌の活動には、その効果がほとんど現われないことが示されているにもかかわらず、202土壌の亜硝酸揮散量は本実験のそれよりも、はるかに多量であることより考えて、亜硝酸添加効果が強すぎたかも知れない。

いずれにせよ、第1表の成績は、先の硝酸塩処理効果なるものは、その実、亜硝酸の効果であったと解釈してよい根拠を与えたものと考察される。

次に実験の結果は第3表に示した。

上述したように、多くのハウス土壌では、土壌中に硝酸より還元生成される、ごくわずかの亜硝酸によって、硝酸菌がなにがしかの障害を受けており、亜硝酸散失現象を見るに至るものとしてよい。第1表は供試土壌の半数に、この揮散量変化は起こらなかったことを示すが、亜硝酸添加量や、添加後の incubation 期間も検討すべき対象で、これらは一応実験3で考察することにする。

実験2では、亜硝酸生成条件下における、アミンの存在を想定して、代表的にジメチルアミンを選び、これと亜硝酸との共存効果の程度を、模索的にしらべてみた。

ジメチルアミンは海産の魚類の加工食品中に、ものによっては相当量見出だされており、亜硝酸と容易に反応生成するといわれる、ジメチルニトロソアミンは強力な

第1表 亜硝酸塩添加処理の亜硝酸揮散に及ぼす効果 (ppm/風乾土)

土 壌	添加 NO ₂ -N	揮散 NO ₂ -N	土壌中の NH ₄ -N		土壌中の NO ₃ -N		土壌の pH(H ₂ O)	
			inc. 前	inc. 後	inc. 前	inc. 後	inc. 前	inc. 後
111	25	125	480	300	240	240	—	6.1
	0	15	//	0	//	700	5.6	5.2
110	115	10	480	330	530	750	—	6.9
	0	15	//	0	//	970	6.2	5.8
202	115	60	480	210	550	660	—	5.4
	0	10	500	0	//	1,115	5.7	4.7
204	115	5	500	490	160	260	—	6.7
	0	5	//	0	//	730	5.5	5.5

第3表 ジメチルアミン、亜硝酸、塩酸添加処理の亜硝酸揮散効果 (ppm/風乾土)

土 壤	添 加 量			揮 散 NO ₂ -N	土壌中の NH ₄ -N		土壌中の NO ₃ -N		土 壤 pH(H ₂ O)	
	アミン-N	NO ₂ -N	1% 塩酸 (ml)		inc. 前	inc. 後	inc. 前	inc. 後	inc. 前	inc. 後
110	0	0	0	10	480	0	470	1,010	6.2	5.9
				10	〃	0	〃	〃	〃	〃
	0	150	0	20	〃	0	〃	960	6.6	6.1
				25	〃	0	〃	980	〃	5.7
	150	150	0.5	80	490	0	〃	940	6.15	5.5
				60	〃	0	〃	〃	〃	〃
204	0	0	0	40	480	0	90	590	5.5	5.45
				35	〃	0	〃	560	〃	5.3
	0	150	0	65	〃	0	105	560	6.4	5.35
				30	〃	360	〃	150	6.0	5.7
	150	150	0.5	0	510	560	〃	105	—	5.75
				10	〃	540	〃	110	—	5.65

注) 添加量はいずれも風乾土壌 3g 当たり

肝臓毒性物質、発ガン性物質として、最近注目を浴びてきている⁷⁾。著者らは土壌中にこのようなメチルアミン類が常在成分として、また一時的にも含有されるものかどうかは知らない。ごく最近 A. Ayanaba らが、二、三の窒素化合物処理土壌中のジメチルアミンやジメチルニトロソアミンの生成の有無について報告している⁸⁾。

第3表をみると、204土壌にあっては、ジメチルアミン・亜硝酸の同時添加の場合にかぎって、incubation後にNH₄-Nの減少も、NO₂-Nの増加もともにみられず、硝化作用は全然営まれなかったことがわかる。共存区以外のものは、両供試土壌ともに、NH₄-Nは消失しており、54日間の長期にあっては、204土壌の亜硝酸菌も一応その酸化機能を果たし得たものと思われる。両土壌の亜硝酸揮散量をみると、110土壌においては、アミンと亜硝酸の共存の場合にのみ、施用NH₄-Nの15~20%という、他の場合にみられない多量のNO₂-Nを揮散しており、ジメチルアミン、亜硝酸共存の効果が、顕著であったことを明らかに示している。亜硝酸単独区、水処理区となると、揮散は著しく減少し、後者は前者の半量となる。204土壌にあっては、110土壌の場合とは逆に、亜硝酸区で相当多量の、水処理区でも、前の60%程度の揮散を示し、共存区でこ跡となる。

さて110、204両土壌の硝化菌の活性の比較であるが、前出の実験1の亜硝酸添加後の場合にも、第5報の塩化

物・硝酸塩添加処理後のインキュベーションの場合⁴⁾でも明らかであるように、両土壌の硝化作用に大きな相違が認められる。110土壌では、incubation後のNH₄-Nの消滅、NO₃-Nの生産ともに顕著で、硝化菌は非常に優勢であると考えられるのに対して、204土壌にあっては、それらの消失生成ともに僅少で、その活性は劣弱とみななければならぬ。

したがって第3表の成績は、次のように解釈することができよう。強力な有毒物質、亜硝酸とジメチルアミンの協同攻勢に対しては、塩酸多量添加の助力もあって、204土壌の劣勢な硝酸菌・亜硝酸菌はともに撃滅され、全くその活力を消失して硝化作用は停止した。これに反し、110土壌では、より優勢な亜硝酸菌は、その攻撃を退けることができたが、硝酸菌は相当な損傷をこうむり、その活性が衰弱するに至った。

204土壌において、亜硝酸区と水処理区で、ともに相当量の、亜硝酸揮散のみられたのは、この程度の弱い悪条件でも、劣勢な硝酸菌は、それ相応の打撃を受けたため、長期間のincubationという条件も加重して、第1表の成績とは異なる、このような結果が生じたものと考えられる。

ここで特記すべきことは、優勢な硝化作用を分担する硝酸菌に対する阻害反応が、亜硝酸単独よりも、亜硝酸とジメチルアミン共存の場合に、著しく大きいという、

第4表 亜硝酸・各メチルアミン・塩酸量の相互作用の亜硝酸揮散に及ぼす影響
 ——揮散亜硝酸量の比較 (ppm N/風乾土)——

土 壤	1% 塩酸添加量 (ml) 前処理添加物	0.01	0.1	0.25	0.5	1.0
		110	水	15	20	15
	ジメチルアミン	10	10	25	25	40
	トリメチルアミン	—	25	20	25	40
	モノメチルアミン	20	—	—	20	—
	ジメチルアミン, 亜硝酸	40	20	20	60	75
	トリメチルアミン, 亜硝酸	—	25	25	30	60
	モノメチルアミン, 亜硝酸	35	—	—	30	—
	亜硝酸	35	30	40	30	50
204	水	35	30	45	—	—
	ジメチルアミン	30	35	70	—	—
	トリメチルアミン	—	40	60	—	—
	モノメチルアミン	35	—	—	—	—
	ジメチルアミン, 亜硝酸	95	50	55	—	—
	トリメチルアミン, 亜硝酸	85	45	70	—	—
	モノメチルアミン, 亜硝酸	85	—	—	—	—
	亜硝酸	105	70	70	—	—

- 注) 1. メチルアミン, 亜硝酸カリウム添加量はともに 150 μgN/風乾土 3g
 2. 1% 塩酸添加量は風乾土 3g 当たり
 以下の表においても同じ

第5表 1% 塩酸添加量 0.01 ml のときの亜硝酸・メチルアミン相互作用の
 亜硝酸揮散に及ぼす効果 (ppm/風乾土)

土 壤 別	処 理 別	揮散 NO ₂ -N	土壌中の NH ₄ -N		土壌中の NO ₃ -N		土壌の pH(H ₂ O)	
			inc. 前	inc. 後	inc. 前	inc. 後	inc. 前	inc. 後
110	水	15	450	10	460	860	5.8*	5.55
	ジメチルアミン	10	480	30	500	920	5.9	5.6
	トリメチルアミン	—	—	—	—	—	—	—
	モノメチルアミン	20	480	30	510	960	5.9	5.6
	ジメチルアミン, 亜硝酸	40	500	30	500	900	6.0	5.75
	トリメチルアミン, 亜硝酸	—	—	—	—	—	—	—
	モノメチルアミン, 亜硝酸	35	510	30	500	970	6.0	5.6
	亜硝酸	35	480	30	500	900	5.9	5.6
204	水	35	500	70	120	480	5.45**	5.1
	ジメチルアミン	30	530	70	100	480	5.55	5.0
	トリメチルアミン	—	—	—	—	—	—	—
	モノメチルアミン	35	500	100	120	460	5.5	5.1
	ジメチルアミン, 亜硝酸	95	500	200	120	340	5.6	5.5
	トリメチルアミン, 亜硝酸	85	500	70	120	420	5.55	5.25
	モノメチルアミン, 亜硝酸	85	530	70	120	500	5.55	5.25
	亜硝酸	105	460	70	110	410	5.55	5.3

* HCl 添加直後は 6.0

** 塩酸添加直後は 5.7

第6表 1% 塩酸添加量 0.1 ml のときの亜硝酸・メチルアミン相互作用の
亜硝酸揮散に及ぼす効果 (ppm/風乾土)

土 壤 別	処 理 別	揮散 NO ₂ -N	土 壌 中 の NH ₄ -N		土 壌 中 の NO ₃ -N		土 壌 の pH(H ₂ O)	
			inc. 前	inc. 後	inc. 前	inc. 後	inc. 前	inc. 後
110	水	20	440	40	500	870	6.35*	5.5
	ジメチルアミン	10	410	0	480	840	6.4	5.5
	トリメチルアミン	25	460	50	490	900	6.35	5.9
	モノメチルアミン	—	—	—	—	—	—	—
	ジメチルアミン, 亜硝酸	20	450	40	500	910	6.4	5.9
	トリメチルアミン, 亜硝酸	25	480	20	500	930	6.35	5.9
	モノメチルアミン, 亜硝酸	—	—	—	—	—	—	—
	亜硝酸	30	440	20	490	890	6.45	5.5
204	水	30	400	20	110	460	6.25**	5.7
	ジメチルアミン	35	460	100	120	460	6.3	5.8
	トリメチルアミン	40	480	170	100	370	6.25	5.8
	モノメチルアミン	—	—	—	—	—	—	—
	ジメチルアミン, 亜硝酸	50	480	40	120	510	6.2	5.7
	トリメチルアミン, 亜硝酸	45	460	0	110	520	6.3	5.8
	モノメチルアミン, 亜硝酸	—	—	—	—	—	—	—
	亜硝酸	70	430	240	100	200	6.2	5.8

* 塩酸添加直後は 5.75

** 塩酸添加直後は 5.5

第7表 1% 塩酸添加量 0.25 ml のときの亜硝酸・メチルアミン相互作用の
亜硝酸揮散に及ぼす効果 (ppm/風乾土)

土 壤 別	処 理 別	揮散 NO ₂ -N	土 壌 中 の NH ₄ -N		土 壌 中 の NO ₃ -N		土 壌 の pH(H ₂ O)	
			inc. 前	inc. 後	inc. 前	inc. 後	inc. 前	inc. 後
110	水	15	460	50	460	840	6.3*	6.0
	ジメチルアミン	25	460	50	510	960	6.4	5.95
	トリメチルアミン	20	450	0	500	890	6.4	6.0
	モノメチルアミン	—	—	—	—	—	—	—
	ジメチルアミン, 亜硝酸	20	480	0	500	930	6.4	5.9
	トリメチルアミン, 亜硝酸	25	480	0	510	950	6.4	6.0
	モノメチルアミン, 亜硝酸	—	—	—	—	—	—	—
	亜硝酸	40	450	0	500	930	6.4	6.0
204	水	45	480	40	100	500	6.1**	5.7
	ジメチルアミン	70	480	70	120	480	6.15	5.7
	トリメチルアミン	60	500	100	120	450	6.0	5.7
	モノメチルアミン	—	—	—	—	—	—	—
	ジメチルアミン, 亜硝酸	55	460	70	130	470	6.15	5.6
	トリメチルアミン, 亜硝酸	70	500	40	110	490	6.15	5.7
	モノメチルアミン, 亜硝酸	—	—	—	—	—	—	—
	亜硝酸	70	450	190	120	390	6.1	5.7

* 塩酸添加直後は 5.5

** 塩酸添加直後は 5.1

第8表 1% 塩酸添加量 0.5 ml のときの亜硝酸・メチルアミン相互作用の
亜硝酸揮散に及ぼす効果 (ppm/風乾土)

土 壤	処 理 別	揮散 NO ₂ -N	土壌中の NH ₄ -N		土壌中の NO ₃ -N		土壌の pH(H ₂ O)	
			inc. 前	inc. 後	inc. 前	inc. 後	inc. 前	inc. 後
110	水	20	510	20	520	970	5.65*	5.15
	ジメチルアミン	25	530	20	520	1,010	5.6	5.0
	トリメチルアミン	25	500	40	500	940	5.65	5.05
	モノメチルアミン	20	550	20	520	980	5.8	5.2
	ジメチルアミン, 亜硝酸	60	530	40	500	950	5.65	5.0
	トリメチルアミン, 亜硝酸	30	500	40	500	930	5.7	5.15
	モノメチルアミン, 亜硝酸	30	500	40	500	940	5.7	5.05
	亜硝酸	30	510	20	490	920	5.6	5.1

* 塩酸添加直後は 4.95

第9表 1% 塩酸添加量 1 ml のときの亜硝酸・メチルアミン相互作用の
亜硝酸揮散に及ぼす効果 (ppm/風乾土)

土 壤	処 理 別	揮散 NO ₂ -N	土壌中の NH ₄ -N		土壌中の NO ₃ -N		土壌の pH(H ₂ O)	
			inc. 前	inc. 後	inc. 前	inc. 後	inc. 前	inc. 後
110	水	30	460	20	490	860	6.0	5.1
	ジメチルアミン	40	480	0	500	910	6.0	5.1
	トリメチルアミン	40	480	20	490	880	5.9	5.05
	モノメチルアミン	—	—	—	—	—	—	—
	ジメチルアミン, 亜硝酸	75	450	—	500	860	6.0	5.1
	トリメチルアミン, 亜硝酸	60	480	20	490	850	6.0	5.05
	モノメチルアミン, 亜硝酸	—	—	—	—	—	—	—
	亜硝酸	50	430	20	500	880	6.05	5.1

非常に興味深い結果の得られたことであろう。

最後の実験3の結果は、第4～9表に示した。

実験1に関連して、添加亜硝酸のインキュベーション中の揮散の程度について検討した成績が、第2表に示してあることは既に述べた。この点をさらにくわしく追究して、添加亜硝酸の、2日間の密封につづく風乾後に土壌中にいかに存在しているかを知るため、次の方法をとった。常用の浅皿に、亜硝酸カリウム液 0.025 ml (60 μg N)、1% 塩酸 0.02 ml、水 1 ml を採り、110、204 両土壌それぞれ 1g をこれに加え、実験3の前処理と同じように密封2日間後に、風乾する。この風乾土壌を、特級水酸化カルシウム 1g とともに、50 ml メスフラスコに水で洗い入れる。よく振ってから、上澄み液中の亜硝酸を比色法でしらべたが、両土壌とも、1g 中に 1 μg N 程度のこみ跡しか存在しなかった。

第4表は各処理区の亜硝酸揮散量をまとめて、塩酸添加効果を一覧表にして示したものである。この表の亜硝

酸揮散量は、添加亜硝酸とほとんどまったく無関係であることは上記実験より明らかである。

塩酸添加量と亜硝酸揮散度の関係を、第4表でみると、110土壌においては、添加量をしだいに増して、酸性化を進めるほど、各処理区いずれも、揮散量は漸次強まっていく。これに対して、204土壌では、亜硝酸カリウムの給与の有無によって、亜硝酸揮散の傾向は、互に反対の方向を示す。すなわち亜硝酸の与えられない場合は、酸性化とともに、揮散は増加に向かい、亜硝酸を加えた場合には、酸性化の進むとともに、その揮散は減少に進むように思われる。酸の最少のとき、揮散 NO₂-N は施用 NH₄-N の 25% の最高を示す。

これは既に述べたように、204土壌の硝化菌は、110土壌のものよりも、活力が弱いこと、亜硝酸の毒作用が、塩酸の増量に伴い、しだいに強化していくことにより説明されよう。

次に亜硝酸のジメチルアミンとの共存効果についての

考察であるが、実験 2 においては、その効果は強酸性下の 110 土壌に、顕著にみられたことは、前に述べた。本実験においても、110 土壌においては、塩酸添加量にかかわらず、亜硝酸、ジメチルアミン同時給与の場合のほうが、亜硝酸単独給与の場合よりも、一般に揮散亜硝酸量は多い傾向がみられる。これは特に、塩酸添加量の多い、0.5 ml, 1 ml の場合に著しく表われており、施用 NH₄-N の 15~18% に達する。これは実験 2 の結果を再確認したことになる。亜硝酸とトリメチルアミンの共存効果については、ジメチルアミンとの場合ほど明らかでなく、今後の検討が必要のようである。

204 土壌に関しては、塩酸添加量の増加とともに、亜硝酸を加えた場合は、亜硝酸の揮散は減少化に進むことは上述した。亜硝酸とメチルアミン類との共存効果は、110 土壌の場合とは異なり、認められない。亜硝酸単独の場合のほうが、揮散効果は大きいようにみえる。これは屢説したように、両者共存による阻害作用が、204 土壌に対しては、強烈すぎるためであろう。もっとも第 5 表のジメチルアミンと亜硝酸の共存の場合に、インキュベーション後に NH₄-N 量が、多く残存しているのは、ほかの場合と比べて、理由がわからない。

さて実験 2, 3 の亜硝酸・ジメチルアミン同時添加区において、毒性の強い、ジメチルニトロソアミンが生成され、これにより硝酸菌の障害が大きかったのかいなかの問題が残っている。これについての検討は後報に譲るが、110 土壌において、酸性を強くするほど、硝酸菌の障害が大きいとみられる点よりすれば、該物質の生成の可能性は、十分ありうるように考えられる。

4. 要 約

1. 茨城県谷田部町の、ハウス栽培歴数年を経過した、火山灰性畑ハウス表土 (< 1 mm) のうち、第 5 報⁴⁾記載の硝酸低含量 (100~550 ppm N/風乾土) で、硝化作用に伴う亜硝酸揮散の少ない、4 点の試料について次の実験を行なった。

第 5 報の硝酸添加効果の理由解明のため、少量の亜硝酸カリウム (25~110 ppm N/風乾土) を各土壌に加えて、湿潤状態で 30°C に 2 日間密封して土壌に反応させた。ついでこれを風乾後に、常法のように、コンウェイユニットを利用した incubation を、30°C, 25 日間行ない、硝化作用の成績をしらべた。

その結果、硝酸処理と同じような結果が得られ、4 土壌のうち 2 土壌が、多量の亜硝酸を散逸したが、残りの 2 土壌には、亜硝酸菌も障害を受けたこともあり、揮散量に変化はなかった。

2. ジメチルアミンと亜硝酸の少量 (いずれも 50 ppm N/風乾土) を同時に、上記の方法で、1. の実験において亜硝酸処理効果のなかった 2 土壌に少量の塩酸とともに加え、反応させてから、同様に硝化実験を試み、30°C, 54 日間の incubation をした。

その結果、活性の弱い硝化菌をもつ土壌 (204 土壌) では、硝化作用は全く衰滅したが、強い土壌 (110 土壌) では、同時添加の効果が、顕著に現われ、施用 NH₄-N (約 400 ppm/風乾土) の 20% 程度の多量の NO₂-N の揮散がみられるに至った。

3. 2. の実験結果を分析するため、有害なる条件——酸の増加・メチルアミンと亜硝酸の存在——の組み合わせ効果を知るために、下記の各処理を施した両土壌の硝化試験を行なった。

1% 塩酸添加量を 0.01 ml, 0.1 ml, 0.25 ml, 0.5 ml および 1 ml (いずれも風乾土 3g 当たり) の 5 段階 (活性の弱い土壌に対しては、少ない方の 3 段階) に分ける。各段階において、モノ、ジ、トリの各メチルアミンの、亜硝酸と共存の有無の場合、メチルアミンは加えず亜硝酸だけ加えた場合 (添加アミン、亜硝酸はいずれの場合も 50 ppm N/風乾土)、および両者ともに加えず、塩酸だけの場合、の各場合について、2. と同様な方法で両土壌を処理してから、風乾土壌を同じく 30°C, 45 日間 incubation した。

得られた結果は次のようであった。硝化菌の活性の弱い土壌 (204 土壌) では、添加塩酸の最少のとき、亜硝酸単独処理のものが最高の、またアミンと亜硝酸の共存処理のものが、これよりわずかに少ない、亜硝酸揮散量を示した (施用 NH₄-N の 20~25% NO₂-N)。アミン単独処理のものは、塩酸添加量の増加とともに、揮散量は漸増した。硝化菌の活性の強い土壌 (110 土壌) では、塩酸の増加とともに、亜硝酸揮散量は増加したが、亜硝酸・ジメチルアミン同時添加のものが、多くの場合に常に最高を示した。その最高揮散量は、窒素として塩酸最多量のときで施用 NH₄-N の約 18% であった。

以上の実験結果から、高硝酸含量のハウス土壌の亜硝酸揮散現象は、土壌中に生成した少量の亜硝酸が、酸性条件下において、硝酸菌に障害を及ぼす結果によることが多いと思われること、またジメチルアミンがさらに存在するような場合には、亜硝酸とともに強力な阻害物質となり、硝酸生成反応をはなはだしく、妨害することが確かめられた。

最後に本実験中に、わが土壌肥科学研究室の浅見輝男助教授より、有益な文献のご教示をいただいたことを付記し、ここに厚く謝意を表する。

文 献

- 1) 永井恭三・久保田正亜・小松鋭太郎：土壤肥料，**39**，370 (1968)
- 2) 永井恭三・久保田正亜・小松鋭太郎：同上，**40**，74 (1969)
- 3) 永井恭三・久保田正亜・小松鋭太郎：同上，**39**，199 (1968)
- 4) 永井恭三・久保田正亜：同上，**43**，31 (1972)
- 5) 永井恭三・久保田正亜：茨大農學術報告 **No. 19**，p. 29 (1971)
- 6) 永井恭三・久保田正亜：土壤肥料，**43**，60 (1972)
- 7) 慶田雅洋・津郷友吉：食衛誌，**10**，59 (1969)
- 8) Ayanaba, A., W. Verstraete, and M. Alexander: Soil Sci. Soc. Am. Proc., **37**，565 (1973)

Summary

1. Four volcanic ash upland field surface soils of low nitrate content (100~550 ppm N, < 1 mm) which were taken in the vinyl covered houses of some years elapsed after built at Yatabe-machi, Ibaraki Prefecture, and volatilize a less amount of nitrous acid during incubation under field moisture condition with 400 ppm $\text{NH}_4\text{-N}$ supplied, were treated as follows. One g of air dried soil was treated with one ml of KNO_2 solution (25~115 ppm N) in air-tight condition for two days.

Air dried soils subjected to the treatment were incubated for 25 days at 30°C in a semimicro Conway type diffusion unit with supply of 400 ppm $\text{NH}_4\text{-N}$.

Damage of the treatment was little in two soils. But large amounts of $\text{NO}_2\text{-N}$ volatilized was observed in other two soils.

2. Dilute solutions of both dimethyl amine and KNO_2 were added to the two air dried soils (each 50 ppm N) received little damage by the above treatment with a small amount of HCl solution. Soil, being treated as mentioned above and air dried, was incubated for 54 days at 30°C as before.

Damage of the treatment with two reagents to nitrification was remarkable in both soils. The reaction was entirely stopped in one soil containing weak nitrifying bacteria and considerable amount of nitrous acid (ca. 20 per cent of $\text{NH}_4\text{-N}$ added) was volatilized in the other soil as a result of injury upon nitrobacter.

3. From the results of above two experiments, combined effects of the following three harmful matters—acid, methyl amines and nitrous acid—upon nitrification were examined with the two soils after treatment of 3 g of air dried soil with the following mixed solutions in the same way as mentioned above.

Four ml of mono-, di-, and tri-methyl amine solution were added with or without KNO_2 solution addition. KNO_2 solution without amine or only water was also given to each HCl solution (each 150 μg N was applied to 3 g soil).

One g of air dried soil suffered the treatment was incubated as mentioned above for 45 days at 30°C.

In soil containing weak nitrifiers, highest amounts of nitrous acid was volatilized (20~25 per cent of $\text{NH}_4\text{-N}$ added) in case of only KNO_2 supply and the second highest quantity in case of KNO_2 and dimethyl amine coexistence with least amount of HCl solution.

With increasing amount of HCl solution, the quantity volatilized became decreased.

In soil containing the strong bacteria, the amount of $\text{NO}_2\text{-N}$ volatilized was increased with increment of acid added and the amount was always largest where KNO_2 and dimethyl amine existed. The highest amount of $\text{NO}_2\text{-N}$ disappeared was observed to be about 18 per cent of $\text{NH}_4\text{-N}$ given in case of the largest amount of HCl supply.

From the results above, it is reasonably concluded that the phenomena of volatilizing much nitrous acid from the vinyl house soil containing remarkable quantity of nitrates are attributable to the damage to nitrobacter of nitrous acid decomposed from nitric acid under reduced [conditions and when dimethyl amine formed under the same conditions exists with nitrous acid, there might occur remarkable loss of the acid as a result of severe injury given on nitrobacter.