

App. 8.1 Exp. values for Fig. 8.2

$m=0, h/D=0.4, r_0/h=0.1, h=2.0 \text{ cm}, D=5.0 \text{ cm}, r_0=0.2 \text{ cm}$

r	r/h	R_1'	b/l	R_1''	R	$q/2k\Delta h$
1.0	0.5	0.6138 2.1630	1.99/14.30 1.40/15.45	0.0854 0.1960	0.2018 0.4903	0.4234 0.3997
2.0	1.0	1.1020 0.2419 2.2260 0.0918 2.1680 0.0918 0.7050	1.90/22.70 2.40/ 2.45 2.00/23.89 1.98/ 2.60 1.40/15.45 1.98/ 2.60 3.00/23.05	0.0922 0.2369 0.1864 0.0699 0.1964 0.0699 0.0918	0.2443 0.6281 0.5296 0.2081 0.5881 0.2160 0.2855	0.3776 0.3772 0.3520 0.3359 0.3340 0.3237 0.3215
5.0	2.5	1.0940 0.3119	1.90/23.68 1.90/ 3.48	0.0878 0.1703	0.3351 0.6658	0.2620 0.2557
7.0	3.5	2.2270	2.00/23.89	0.1864	0.5296	0.3520

App. 8.2 Exp. values for Fig. 8.3

$r/h=0.5, h/D=0.4, L/D=3.4, r_0/h=0.1, r_0/r=0.2$
 $r=1.0 \text{ cm}, h=2.0 \text{ cm}, D=5.0 \text{ cm}, L=17.0 \text{ cm}, r_0=0.2 \text{ cm}$

m	R_1'	b/l	R_1''	R	$q/2k\Delta h$	$q^*/2k\Delta h$
0	0.6138	1.99/14.30	0.08544	0.2018	0.4234	0.4130
0.5	0.6140	"	0.08547	0.2145	0.3986	0.3888
1.0	0.6148	"	0.08558	0.2323	0.3684	0.3593
2.0	0.6167	"	0.08584	0.2724	0.3151	0.3073

Note: $q^*/2k\Delta h$ is seepage factor corrected by coefficient of correction 0.975.

$r/h=1.0, h/D=0.4, L/D=3.7, r_0/h=r_0/r=0.1$
 $r=2.0 \text{ cm}, h=2.0 \text{ cm}, D=5.0 \text{ cm}, L=18.5 \text{ cm}, r_0=0.2 \text{ cm}$

m	R_1'	b/l	R_1''	R	$q/2k\Delta h$	$q^*/2k\Delta h$
0	2.168	1.40/15.40	0.1964	0.5881	0.3340	0.3480
0.5	2.172	"	0.1968	0.6136	0.3207	0.3342
1.0	2.173	"	0.1969	0.6491	0.3033	0.3160
2.0	2.175	"	0.1971	0.7412	0.2659	0.2771

Note: $q^*/2k\Delta h$ is seepage factor corrected by coefficient of correction 1.042.

$r/h=2.5, h/D=0.4, L/D=4.0, r_0/h=0.1, r_0/r=0.04$
 $r=5.0 \text{ cm}, h=2.0 \text{ cm}, D=5.0 \text{ cm}, L=20.0 \text{ cm}, r_0=0.2 \text{ cm}$

m	R_1'	b/l	R_1''	R	$q/2k\Delta h$	$q^*/2k\Delta h$
0	1.094	1.90/23.68	0.08781	0.3351	0.2620	0.2610
0.5	1.086	"	0.08716	0.3441	0.2533	0.2523
1.0	1.083	"	0.08686	0.3603	0.2411	0.2402
2.0	1.076	"	0.08634	0.3917	0.2204	0.2196

Note: $q^*/2k\Delta h$ is seepage factor corrected by coefficient of correction 0.996

$r/h=3.5$ $h/D=0.4$, $L/D=4.4$, $r_0/h=0.1$, $r_0/r=0.022$
 $r=7.0$ cm, $h=2.0$ cm, $D=5.0$ cm, $L=22.0$ cm, $r_0=0.2$ cm

m	R_1'	b/l	R_1''	R	$q/2k\Delta h=q^*/2k\Delta h$
	$k\Omega$		$k\Omega$	$k\Omega$	
0	2.224	2.00/23.89	0.1862	0.8130	0.2290
0.5	2.222	"	0.1860	0.8323	0.2235
1.0	2.221	"	0.1859	0.8580	0.9291
2.0	2.224	"	0.1862	0.9291	0.2004

Note: coefficient of correction=1.0

App. 8.3 Exp. values for Fig. 8.4

$m=0$, $r/h=1.0$, $r_0/h=r_0/r=0.1$, $L/D=2.0\sim 10.0$ $r=2.0$ cm, $h=2.0$ cm, $r_0=0.2$ cm, $L=22.0$ cm

D	h/D	$1-(h/D)$	R_1'	b/l	R_1''	R	$q/2k\Delta h$	$q^*/2k\Delta h$
cm			$k\Omega$		$k\Omega$	$k\Omega$		
10.8	0.185	0.815	0.7017	3.00/23.05	0.09136	0.2397	0.3811	0.4124
6.8	0.294	0.706	0.7043	"	0.09170	0.2627	0.3491	0.3777
5.0	0.400	0.600	0.7050	"	0.09179	0.2855	0.3215	0.3479
3.3	0.606	0.394	0.7132	"	0.09285	0.3657	0.2539	0.2747
2.5	0.800	0.200	0.7098	"	0.09242	0.5830	0.1585	0.1715
2.2	0.909	0.091	0.7075	"	0.09212	1.1490	0.0802	0.0867

Note: $q^*/2k\Delta h$ is seepage factor corrected by coefficient of correction 1.082.

App. 8.4 Exp. values for Fig. 8.5

$m=0$, $h/D=0.4$, $r/h=1.0$ $D=5.0$ cm, $h=2.0$ cm, $r=2.0$ cm, $L=14.0$ cm

r_0	r_0/h	R_1'	b/l	R_1''	R	$q/2k\Delta h$	$a^*/2k\Delta h$
cm		$k\Omega$		$k\Omega$	$k\Omega$		
1.0	0.50	0.09154	1.98/2.60	0.06971	0.1253	0.5563	0.5763
0.7	0.35	0.09193	"	0.07000	0.1438	0.4867	0.5042
0.5	0.25	0.09180	"	0.06991	0.1617	0.4325	0.4481
0.3	0.15	0.09193	"	0.07000	0.1902	0.3680	0.3812
0.2	0.10	0.09180	"	0.06691	0.2081	0.3359	0.3480

Note: $q^*/2k\Delta h$ is seepage factor corrected by coefficient of correction 1.036.

App. 8.5 Exp. values for Fig. 8.6

$m=0$, $h/D=0.4$, $r/h=1.0$, $r_0/h=r_0/r=0.1$ $D=5.0$ cm, $h=2.0$ cm, $r=2.0$ cm, $r_0=0.2$ cm

L	L/D	$L/(D-h)$	R_1'	b/l	R_1''	R	$q/2k\Delta h$	$q^*/2k\Delta h$	$q-(q^*_L/q)$
cm			$k\Omega$		$k\Omega$	$k\Omega$			
14.0	2.8	4.67	0.09180	1.98/2.60	0.06991	0.2159	0.3237	0.3473	0.0020
10.0	2.0	3.33	0.09172	"	0.06984	0.2179	0.3205	0.3439	0.0118
7.5	1.5	2.50	0.09180	"	0.06991	0.2237	0.3126	0.3354	0.0362
5.0	1.0	1.67	0.09185	"	0.06994	0.2404	0.2910	0.3122	0.1029
4.0	0.8	1.33	0.09190	"	0.06998	0.2646	0.2645	0.2838	0.1845
3.0	0.6	1.00	0.09204	"	0.07009	0.3518	0.1992	0.2137	0.3859
2.5	0.5	0.83	0.09247	"	0.07042	0.5239	0.1344	0.1442	0.5856

Note: $q^*/2k\Delta h$ is seepage factor corrected by coefficient of correction 1.073.

$$q - \left(\frac{q^*_L}{q} \right) = q_{L=\infty} - \left(\frac{q^*_{L=i}}{q_{L=\infty}} \right)$$

土壌の硝化作用抑制剤の検索とその利用に関する研究

西 原 典 則

The Search for Chemical Agents that efficiently inhibit Nitrification in Soil and the Studies on its Utilization to Agricultural Practice

Tsunenori NISHIHARA
(Laboratory of Fertilizers)

目	次
第 I 章 緒 言	107
第 II 章 硝化作用抑制剤の検索	109
第 1 節 各種薬品および農業薬剤の硝化作用抑制効果	
第 2 節 硝化作用抑制剤の濃度と抑制効果	
第 3 節 硝化作用抑制剤の種類と効果持続時間	
第 4 節 考 察	
第 III 章 硝化作用抑制剤の種類と添加窒素の形態変化	122
第 1 節 尿素の無機化に及ぼす硝化作用抑制剤の影響	
第 2 節 アンモニアの硝化に及ぼす硝化作用抑制剤の影響	
第 3 節 亜硝酸の硝酸化に及ぼす硝化作用抑制剤の影響	
第 4 節 考 察	
第 IV 章 土壌条件と硝化作用抑制剤添加効果 ...	125
第 1 節 土壌水分と硝化作用抑制剤添加効果	
第 2 節 土壌反応と硝化作用抑制剤添加効果	
第 3 節 硝化菌数と硝化作用抑制剤添加効果	
第 4 節 土壌の種類と硝化作用抑制剤添加効果	
第 5 節 考 察	
第 V 章 湛水土壌における脱窒防止に対する硝化作用抑制剤の添加効果	134
第 1 節 硝化作用抑制剤の種類と土壌有機態窒素の無機化	
第 2 節 硝化作用抑制剤の種類と添加窒素の損失	
第 3 節 硝化作用抑制剤添加尿素肥料の水稻に対する肥効	
第 4 節 考 察	
第 VI 章 総合考察および結論	143
第 VII 章 要 約	147
引用文献	

第 I 章 緒 言

わが国では古くから米を主食としているため水田が多く、また人口に比して耕地面積が小さいために農業は著しく集約化して来た。さらに近年農業薬剤の利用、農業技術の進歩などに伴い肥料の単位面積当り施用量は漸次増加の傾向にある。とくに尿素肥料は第二次世界大戦後わが国において大量生産されるようになってから水田への利用が急激に増加した。しかしながら尿素は土壌中において硝化作用を受け易く⁵⁵⁾¹²³⁾、とくにわが国の西南地帯のごとく水稻の基肥施用時期の気温が温暖なところでは、施肥後灌水までの日数が長くなるにしたがい尿素的肥効が著しく劣る¹¹⁴⁾。それは尿素的硝化作用により生じた硝酸が脱窒または流亡するためであると言われている。将来水稻の省力栽培に伴う直播栽培が行われるようになれば、施用窒素の硝化による脱窒流亡の懼れはさらに大きくなるであろう。このような場合に植生の生育を阻害せず、また土壌の理化学性を悪化せしめないで硝化作用を抑制する方法が発見されれば、添加窒素の肥効増進に寄与しうるものと思われる。

土壌中における硝化作用は生物学的過程であり、したがってその速度は土壌水分、土壌反応、土性、塩類の種類および濃度、硝化菌数、温度などの諸条件によつて支配される。それ故に硝化作用を抑制するためには、これらの内的小および外的土壌要因を硝化菌の activity を低下せしめる（例えば土壌水分または pH を低下せしめる）方向に変えなければならない。しかしながらこのような方法は植生

に対しても悪影響を及ぼす恐れがあり、また実際的な手段として多くの困難性を持つている場合が少なくない。

硝化作用を抑制する手段の一つとして化学薬品の利用が考えられる。諸種の化合物の硝化作用に及ぼす影響については QUASTEL¹¹⁹⁾¹²⁰⁾¹²¹⁾ および LEES ら^{85)~91)} によつて研究され、低濃度で硝化作用抑制効果の大きい数種類の化合物が見出されている。彼等はそれを硝化作用の生化学的研究の一手段として利用して多くの知見を得た。

著者は硝化作用抑制剤の農業への利用を考え、数十種の化学薬品および農業薬剤について検索を行い、その結果数種の薬品および薬剤に強い硝化抑制作用のあることを知つた。よつてこれらの硝化作用抑制剤のうち数種のものについてその有効濃度、効力の持続性、および土壌条件の相違による抑制効果の変化の状態を検べた。ついで湛水土壌における脱窒防止に対する硝化作用抑制剤の添加効果を室内実験および水稻栽培試験により検討した。また一方、尿素より硝酸への変化の各過程に対する硝化作用抑制剤の影響を知るため、土壌に添加した尿素、アンモニアおよび亜硝酸の形態変化に及ぼす硝化作用抑制剤の影響について検討を加えた。

つぎに硝化作用に対する化学薬品の影響に関して行われた既往の研究について概観してみたい。硝化作用が土壌の部分殺菌により停止することは古くから知られていたが¹⁸⁸⁾、1890年に WINOGRADSKY により、この作用を行うものは亜硝酸菌 (*Nitrosomonas*) および硝酸菌 (*Nitrobacter*) であり、前者はアンモニアを亜硝酸に、後者は亜硝酸を硝酸に変化せしめることが明らかにされた¹⁸³⁾。硝化菌は元来 *autotrophy* であつて、炭水化物の添加は却つてその生育を阻害すると言われている⁷⁵⁾¹¹⁹⁾。MEYERHOF は硝化作用を抑制する各種の物質について研究を行い、アンモニア、脂肪族アミン、芳香族アミンおよびアルカロイドの抑制作用を認め、リポイド可溶性と抑制作用との間に関連のあることを明らかにした。彼はそのほか有機酸および重金属イオンによつても硝化作用が抑制されることを認めた。その後長い間亜硝酸菌や硝酸菌の生理に関する広範な研究は行われなかつた。これは硝化菌の生育が緩慢であること、および純粋培養菌を得ることが困難であることに起因するものと思われる⁴⁶⁾。LEES ら^{86)88)~91)} は土壌中における硝化作用の生化学的研究を行うに当り、還流培養法を用いて多数の有機物および無機物の硝化作用に及ぼす影響を検討した。その後硝化菌の分離培養が行われるようになつてその酵素化学的研究が始まり、各種の酵素阻害剤の硝化作用に及ぼす影響が解析的に検討されるようになった⁴⁾⁵⁾⁶⁾³⁴⁾⁵⁷⁾⁸⁶⁾⁸⁹⁾⁹⁰⁾⁹¹⁾。

近年農業薬剤の急速な発達に伴い、土壌に加えられる農業薬剤の種類および量も著しく増加して来た。これらの農業薬剤は目的とする病害虫に対しては勿論、土壌中の他の微生物に対しても影響を及ぼすことが知られ⁵¹⁾⁸⁵⁾¹⁵⁹⁾、また硝化菌に対する作用についても検討が加えられている。農業薬剤の硝化菌に対する影響については必ずしも一致した結果が出ているわけではないが、概して燻蒸による土壌殺菌は硝化作用に対して抑制作用を示し¹⁴⁾¹⁶⁷⁾、殺虫剤および殺草剤は通常の施用量では硝化作用に影響を及ぼさない場合が多い⁵³⁾⁷⁷⁾¹⁰²⁾¹¹²⁾¹⁶⁸⁾。しかしながらこれらの研究はいずれもそれを農業薬剤として使用する場合における硝化菌に対する影響について検討を加えたものであつて、硝化作用抑制剤として用いる目的で行われたものではない。

硝化作用に関する生化学的研究は近年漸く旺んになりつつあるとは言え、その作用機作に関する知見はまだ十分ではない。したがつてまた各種の硝化作用抑制物質の硝化菌に対する作用機構についても未知の点が極めて多い。

この研究は九州大学農学部において行つたもので、研究の機会を与えていただき、終始懇篤な御指導を賜つた原田登五郎教授に深甚の謝意を表するとともに、種々懇切な御教示をいただいた青峰重範

教授に衷心より感謝の意を捧げる次第である。なお本研究の遂行にあたり多大の援助と協力を受けた甲斐秀昭氏ならびに教室員各位、薬品および農業薬剤の供与を賜った大内新興化学工業株式会社、鹿児島化学工業株式会社、日本農薬株式会社、日産化学工業株式会社、ならびに三共株式会社に対して深謝の意を表したい。

第 II 章 硝化作用抑制剤の検索

硝化作用を抑制する物質の検索に当つて、先ずはじめに既往の研究により知られた硝化作用抑制物質、硝化作用に影響を及ぼすと考えられる物質、および数種の農業薬剤類について硝化作用抑制効果を比較検討した。つぎにそれらの中より、硝化作用抑制効果の顕著なものについて、添加濃度と硝化作用抑制効果との関係および硝化作用抑制効果の持続性について検討を加えた。

第 1 節 各種薬品および農業薬剤の硝化作用抑制効果

数種の化学薬品および農業薬剤についてつぎのごとき方法により硝化作用抑制効果を測定した。

実験方法

炭酸石灰を用いて pH を 6.5 または 7.0 に調整した九州大学附属農場水田表土（第三紀層沖積土壌）—以下福岡土壌とする—の湿潤細土の乾土 20g 相当量を 50 ml 容三角フラスコに秤取した。これに N として 5 または 10 mg 相当量の硫酸アンモニアまたは尿素、および乾土当り 100 ppm の供試薬品（農業薬剤はその有効成分量）を加え、さらに磷酸一カリおよび磷酸二カリを P_2O_5 および K_2O としてそれぞれ 5 mg になるように添加した。ついで土壌水分を最大容水量の 55 または 65 % に調整したのち綿栓を施して 30°C の恒温室に 2 週間静置し、その間ときどき水分を補給した。incubation を終つた土壌は 1 規定塩化カリ溶液 ($pH: 7.0$) 200 ml とともに 1 時間振盪し、その濾液についてアンモニア態および硝酸態窒素を CONWAY の微量拡散分析法により¹⁸⁾⁸⁰⁾、亜硝酸態窒素を GRIESS 氏試薬を用いた比色法¹⁷⁾により定量した。なお供試土壌の理化学的性質は第 1 表の通りである。

Table 1. Some chemical and physical natures of the soil used.

Texture	Maximum Water capacity %	pH^*		Total** carbon %	Total nitrogen %	C.E.C.*** m.e.	Exchange-**** able base m.e.
		H ₂ O	KCl				
Loam	70.4	5.95	5.50	3.79	0.231	16.6	14.7

Remarks: * pH value was determined by means of a glass electrode.

** Turin's method¹²⁾

*** Schollenberger's method¹⁸⁷⁾

**** This was determined after Brag and Wilhite's method with the extract obtained by Schollenberger's method¹¹⁸⁾.

実験結果

実験の結果は第 2 表～第 7 表に示した。これらの表に示した硝化率は添加した窒素量に対する生成した亜硝酸および硝酸態窒素の合計量の割合である。また硝化率の指数は無処理区の硝化率を基準とした各区の硝化率の相対値をもつて示したものである。ただし第 2 表の実験は N として 10 mg 相当量の硫酸アンモニアを加え、 pH を 6.5、水分を最大容水量の 55 % として行つたものであり、第 3 表の実験は N として 10 mg 相当量の尿素を加え、 pH を 6.5、水分を最大容水量の 55 % として行つたものである。第 4 表～7 表の実験はいずれも N として 5 mg 相当量の尿素を添加し、 pH を 7.0、水分を最大容水量の 65 % として行つたものである。したがつて各表の無処理区の硝化率は必ずしも

Table 2. Inhibitory effect of chemicals and pesticides on nitrification in soil. (1)

Chemicals and pesticides added	Inorganic nitrogen mg/100 g dry soil				Nitrifi- cation rate %	Index	Kinds of pesticide
	NH ₄ -N	NO ₂ -N	NO ₃ -N	Sum			
Malathion (o, o-Dimethyl-S-(1, 2-dicarb- ethoxyethyl)-dithiophosphate)	35.6	Trace	9.8	45.4	20	61	Insecticide
Diazinon(o, o-Diethyl-o-(2-isopropyl-4- methyl-6-pyrimidyl)-thiophosphate)	39.1	Trace	6.0	45.1	12	36	"
BHC (Benzene hexa chloride)	39.5	Trace	7.0	46.5	14	42	"
DDT (p, p'-Dichlorodiphenyl trichloro- ethane)	34.5	Trace	9.7	44.2	19	58	"
Aldrin (1, 2, 3, 4, 10, 10-Hexachloro-1, 4, 4a, 5, 8, 8a-hexahydro-1, 4, 5, 8-di- methanonaphthalene)	30.0	Trace	14.4	44.4	29	88	"
CMU (p-Chlorophenyl dimethylurea)	34.8	Trace	10.4	45.2	21	63	Herbicide
Simazin (2-Chloro-4, 6-bisethylamino triazine)	30.4	Trace	14.9	45.3	30	90	"
2, 4-D (Sodium-2, 4-dichlorophenoxy acetate)	38.5	Trace	7.3	45.8	15	45	"
PCP (Sodium pentachlorophenolate)	40.3	Trace	5.6	45.9	11	33	"
Sodium chlorate	41.8	0.4	1.7	43.9	3	9	"
Agrimycin (Streptomycin+Oxytetracycline)	33.2	0.1	14.4	47.7	29	88	Fungicide
Blastmycin	30.1	Trace	14.9	45.0	30	91	"
Thiourea	41.9	Trace	6.7	48.6	13	39	
1, 2, 4-Trichlorobenzene	36.2	Trace	9.2	45.4	18	54	
Guanidine carbonate	33.7	Trace	12.3	46.0	25	76	
Urethan	32.1	0.2	14.1	46.4	29	88	
Methionine	33.1	Trace	12.5	45.6	25	76	
Dicyanodiamide	45.3	Trace	1.2	46.5	2	6	
Sodium azide	47.9	Trace	0	45.9	0	0	
None	29.1	Trace	16.3	45.4	33	100	

Remarks: Nitrogen added; Ammonium sulfate, 50 mg of nitrogen per 100 g dry soil.
Chemicals and pesticides (the available component) added; 100 ppm on dry soil.
Soil moisture; 55 % of maximum water capacity.
Soil reaction; pH 6.5 (KCl)
Temperature of incubation; 30°C
Incubation period; 2 weeks

同一ではなかつた。第2表の無処理区の硝化率は低かつたが、塩素酸ソーダ、ジシアンチアマイドおよびアジ化ソーダ区の硝化率は無処理区に比して著しく低かつた。ダイアジノン、BHC、2,4-D、PCP およびチオ尿素区の硝化率は無処理区の50%以下であつた。なお塩素酸ソーダ、アグリマイシンおよびウレタン区では土壤中に亜硝酸の集積がみられた。

第3表の無処理区の硝化率は第2表のその2倍以上であつた。ベーパームおよびダイセンは著しく硝化作用を抑制し、ウスプルンの添加は土壤中に多量の亜硝酸を集積せしめた。なおノックメートも明らかに硝化作用を抑制した。

第4~7表の無処理区の硝化率は前二者の場合よりさらに高かつた。第4表に示すごとくモノヨード醋酸は著しく硝化作用を抑制し、PMF、リオゲンおよびマネブ区の硝化率は無処理区の50%以下であつた。またジノクメート、キャプタン、トリクロール醋酸およびシアン化カリも明らかに硝化作用を抑制した。PMF、水銀粉剤およびリオゲンは土壤中に亜硝酸を集積せしめ、とくに水銀粉剤区

Table 3. Inhibitory effect of chemicals and pesticides on nitrification in soil. (2)

Pesticides added	Inorganic nitrogen mg/100 g dry soil				Nitrifi- cation rate %	Index	Kinds of pesticide
	NH ₄ -N	NO ₂ -N	NO ₃ -N	Sum			
Lindane	9.8	Trace	35.5	45.3	71	97	<i>r</i> -BHC
Sevin (n-Methyl-1-naphthyl carbamate)	11.5	Trace	34.7	46.2	69	95	Insecticide
Uspulun (Methoxy ethyl mercuric chloride)	18.5	16.1	7.5	42.6	47	64	Fungicide
Karathane (Dinitro-capryl-phenyl crotonate)	14.9	Trace	29.3	44.2	59	81	"
Vapam (Sodium methyl dithiocarbamate)	44.5	Trace	0.5	45.0	1	1	"
Dithane (Zinc ethylene bis-dithiocarbamate)	39.0	Trace	4.5	43.5	9	12	"
Nockmate (Ferric dimethyl dithiocarbamate)	23.7	Trace	20.8	44.5	42	58	"
None	8.8	Trace	36.7	45.5	73	100	"

Remarks : Nitrogen added ; Urea, 50 mg of nitrogen per 100 g dry soil.
Soil moisture ; 55 % of maximum water capacity.
Soil reaction ; pH 6.5

Table 4. Inhibitory effect of chemicals and pesticides on nitrification in soil. (3)

Chemicals and pesticides added	Inorganic nitrogen mg/100 g dry soil				Nitrifi- cation rate %	Index	Kinds of pesticide
	NH ₄ -N	NO ₂ -N	NO ₃ -N	Sum			
Dipterex (o, o-Dimethyl-1-hydroxy-2, 2, 2-trichloroethyl phosphonate)	0.3	Trace	21.4	21.7	86	99	Insecticide
PMF*(Phenyl mercuric dinaphthyl methane disulphonate)	19.4	3.0	4.8	27.2	31	36	Fungicide
Powder of organic mercury compound (Phenylmercuric acetate)	0	23.0	0.3	23.3	93	107	"
Riogen (Phenylmercuric acetate)	15.0	2.5	4.8	22.3	29	33	"
Zincmate (Zinc dimethyl dithiocarbamate)	7.8	Trace	14.5	22.3	58	67	"
Maneb (Manganese ethylene bis-dithio-carbamate)	15.6	Trace	6.8	22.4	27	31	"
Captan (n-Trichloromethyl thiotetrahydro-phthalimide)	6.8	Trace	14.8	21.6	60	69	"
Brassicol (Pentachloro nitrobenzene)	0.1	Trace	22.0	22.1	88	101	"
Hydroxylamine hydrochloride	0	Trace	22.3	22.3	89	102	"
Hydrazine sulfate	2.2	Trace	19.8	22.0	79	91	"
Trichloroacetic acid	5.8	Trace	15.6	21.4	62	71	"
Iodoacetic acid	18.7	Trace	2.7	21.4	11	13	"
Potassium cyanide	9.9	Trace	12.2	22.1	49	56	"
Sodium fluoride	2.2	Trace	20.7	22.9	83	95	"
None	0	Trace	21.7	21.7	87	100	"

Remarks : * PMF contained ammonium nitrogen corresponding to 69.7 % of available component.
Nitrogen added ; Urea, 25 mg of nitrogen per 100 g dry soil.
Soil moisture ; 65 % of maximum water capacity.
Soil reaction ; pH 7.0

では添加した尿素のほとんど全部が亜硝酸に変化したが、硝酸への変化は全く抑制された。

第5表および第6表の成績は主として各種の酵素作用阻害剤および金属キレート剤について行った実験結果であるが、この実験に用いた薬品の硝化作用抑制効果はいずれも著しくなかつた。昇汞, Salicylaldoxime および PCMB は土壤中に亜硝酸を集積せしめ、とくに昇汞区は添加した窒素の約

Table 5. Inhibitory effect of chemicals and pesticides on nitrification in soil. (4)

Chemicals added	Inorganic nitrogen, mg/100 g dry soil				Nitrification rate %	Index
	NH ₄ -N	NO ₂ -N	NO ₃ -N	Sum		
8-Hydroxyquinoline	0	Trace	22.9	22.9	92	99
Ferron	0.1	Trace	23.4	23.5	94	101
Cupferron	6.8	0.1	18.7	25.6	75	81
Dithizon	0	Trace	23.5	23.5	94	101
sym-Diphenyl carbazide	0	Trace	23.8	23.8	95	103
EDTA-2Na	0	Trace	23.0	23.0	92	99
Aluminon	0	Trace	23.5	23.5	94	101
o-Phenanthroline	0	Trace	23.7	23.7	95	102
α , α' -Dipyridyl	0	Trace	23.3	23.3	93	100
Salicylaloxime	0.2	0.7	23.2	24.1	96	103
Histidine	0	Trace	23.8	23.8	95	103
β -Naphthoquinoline	0	Trace	24.1	24.1	96	104
None	0	Trace	23.2	23.2	93	100

Remarks: Nitrogen added; Urea, 25 mg of nitrogen per 100 g dry soil.
Soil moisture; 65 % of maximum water capacity.
Soil reaction; pH 7.0

Table 6. Inhibitory effect of chemicals and pesticides on nitrification in soil. (5)

Chemicals added	Inorganic nitrogen, mg/100 g dry soil				Nitrification rate %	Index
	NH ₄ -N	NO ₂ -N	NO ₃ -N	Sum		
Oxalic acid	0	Trace	21.5	21.5	86	100
Pyrophosphoric acid	0	Trace	21.6	21.6	86	100
Arsenious acid	0	Trace	21.4	21.4	86	100
Silver sulfate	0	Trace	21.9	21.9	88	102
Mercuric chloride	6.0	12.5	1.5	20.0	56	65
Malic acid	0	Trace	21.6	21.6	86	100
2, 4-Dinitrophenol	0	Trace	24.5	24.5	98	114
Methylene blue	0	Trace	22.4	22.4	90	105
Carbon disulfide	2.5	Trace	18.6	21.1	74	84
PCMB (p-Chloromercuribenzoate)	6.1	0.5	15.9	22.5	66	77
None	0	Trace	21.5	21.5	86	100

Remarks: Nitrogen added; Urea, 25 mg of nitrogen per 100 g dry soil.
Soil moisture; 65 % of maximum water capacity.
Soil reaction; pH 7.0

50 % が亜硝酸態であつた。

第7表は各種のチオカーバメート化合物およびその類似物について行つた実験の結果である。この表から明らかなごとく 2-Mercaptoimidazoline は著しい硝化作用抑制効果を示したが、その他のものの抑制効果は著しくなかつた。なお農業薬剤として使用されている Zinc dimethyl dithiocarbamate, Ferric dimethyl dithiocarbamate および Tetramethyl thiuram disulfide はいずれも硝化作用を抑制した。

硝化作用抑制効果について検討した以上の薬品および農業薬剤の中には窒素を含むものがあるので、硝化作用抑制効果の認められる含窒素化合物について incubation による土壌中での分解の有無

Table 7. Inhibitory effect of chemicals and pesticides on nitrification in soil. (6)

Chemicals added	Inorganic nitrogen mg/100 g dry soil				Nitrifi- cation rate %	Index
	NH ₄ -N	NO ₂ -N	NO ₃ -N	Sum		
o-Phenylene thiourea	0.8	Trace	21.1	21.9	84	97
Zinc phenylene thiourea	0.5	Trace	21.1	21.6	84	97
Mercaptobenzothiazole	0.9	Trace	20.4	21.3	81	93
Diethyl thiocarbamyl-2-benzothiazolyl sulfide	0.2	Trace	21.5	21.7	86	99
Cyclohexyl benzothiazyl sulfenamide	0.6	Trace	21.4	22.0	86	98
Dibenzothiazyl disulfide	0.2	Trace	21.4	21.6	86	98
Sodium dimethyl dithiocarbamate	8.3	2.7	11.1	22.1	55	63
Zinc dimethyl dithiocarbamate	4.7	0.5	14.0	19.2	58	66
Ferric dimethyl dithiocarbamate	6.9	0.4	14.9	22.2	61	70
Tetramethyl thiuram monosulfide	2.7	0.4	18.5	21.6	76	87
Tetramethyl thiuram disulfide	5.2	0.1	15.6	20.9	63	72
Sodium diethyl dithiocarbamate	3.4	Trace	17.7	21.1	71	81
Zinc diethyl dithiocarbamate	0.4	Trace	21.0	21.4	86	98
Tetraethyl thiuram disulfide	1.4	Trace	19.3	20.7	77	89
Sodium dibutyl dithiocarbamate	8.8	7.5	5.8	22.1	53	61
Zinc dibutyl dithiocarbamate	0.2	Trace	16.4	16.6	66	75
2-Mercaptoimidazoline	17.4	Trace	6.0	23.4	24	28
Zinc pentamethylene dithiocarbamate	1.7	Trace	19.8	21.5	79	91
Piperidine pentamethylene dithiocarbamate	2.5	Trace	19.3	21.8	77	89
Pipecolin pipecolyl dithiocarbamate	6.5	0.2	14.8	21.5	60	69
Diphenyl thiourea	1.3	Trace	21.1	22.4	84	97
Diorthotolyl thiourea	0.8	Trace	20.2	21.0	81	93
Sodium ethylphenyl dithiocarbamate	3.1	2.1	16.9	22.1	76	87
Zinc ethylphenyl dithiocarbamate	0.2	Trace	21.8	22.0	87	100
Sodium isopropyl xanthate	1.9	0.4	18.8	21.1	77	88
Zinc dibutyl xanthate	1.6	Trace	20.4	22.0	82	94
None	0.1	Trace	21.8	21.9	87	100

Remarks: Nitrogen added; Urea, 25 mg of nitrogen per 100 g dry soil.
Soil moisture; 65 % of maximum water capacity.
Soil reaction; pH 7.0

を検べた。第8表および第9表の成績は土壤に窒素を加えず供試薬品を添加し、その他の条件は第4表の場合と同一にして行つた実験の結果である。この表から明らかなごとくチオ尿素、炭酸グアニジン、ウレタンおよびシアン化カリ区は添加した化合物に含まれる窒素の約半分に相当する量が無処理区の無機態窒素量より多かつた。

第2節 硝化作用抑制剤の濃度と抑制効果

第1節における実験はいずれも供試薬品の濃度を乾土に対し 100 ppm として行つたものであるが、硝化作用抑制効果の大きいものについてさらに低濃度における抑制効果を検討した。

実験方法

pH を 7.0 に調整した福岡土壤の乾土 20 g 相当量の湿潤細土に N として 5 mg 相当量の尿素、および乾土当りそれぞれ 100, 75, 50, 25, 10 ppm の硝化作用抑制剤を加え、さらに磷酸一カリお

Table 8. Decomposition of chemicals and pesticides in soil. (1)

Chemicals and pesticides added	Nitrogen content %	Inorganic nitrogen*, mg/100 g dry soil			Index
		NH ₄ -N	NO ₃ -N	Sum	
Diazinon	9.2	1.0	25.3	25.4	100
CMU	14.1	0	25.2	25.2	99
Simazin	34.7	0	25.5	25.5	100
Captan	4.7	0.1	25.5	25.6	101
Karathane	7.7	0.1	25.6	25.7	101
Thiourea	36.8	0.1	27.0	27.1	107
Guanidine carbonate	29.7	0.3	26.7	27.0	106
Urethan	15.7	0	26.2	26.2	103
Methionine	9.4	0.2	25.4	25.6	101
Dicyanodiamide	66.6	0.1	25.3	25.4	100
Potassium cyanide	21.5	0.2	26.5	26.7	105
Sodium azide	64.6	2.7	23.4	26.1	103
None	—	0	25.4	25.4	100

Remarks: * Nitrite was not detected in any of the plots.
 Chemicals and pesticides added; 100 ppm on dry soil.
 Soil moisture; 65% of maximum water capacity.
 Soil reaction; pH 7.0
 Temperature of incubation; 30°C
 Incubation period; 2 weeks

Table 9. Decomposition of chemicals and pesticides in soil. (2)

Chemicals and pesticides added	Nitrogen content %	Inorganic nitrogen*, mg/100 g dry soil			Index
		NH ₄ -N	NO ₃ -N	Sum	
Sodium dimethyl dithiocarbamate	9.8	0	5.16	5.16	99
Zinc dimethyl dithiocarbamate	9.2	0	5.32	5.32	103
Ferric dimethyl dithiocarbamate	10.1	0	5.18	5.18	100
Tetramethyl thiuram monosulfide	13.9	0	5.47	5.47	105
Tetramethyl thiuram disulfide	11.7	0	5.34	5.34	103
Sodium dimethyl dithiocarbamate	8.2	0	5.24	5.24	101
Tetraethyl thiuram disulfide	9.5	0	5.39	5.39	104
Sodium dibutyl dithiocarbamate	6.2	0	5.00	5.00	96
Zinc dibutyl dithiocarbamate	5.9	0	5.19	5.19	100
2-Mercaptoimidazoline	27.5	0	5.19	5.19	100
Piperidine pentamethylene dithiocarbamate	11.5	0	5.11	5.11	98
Pipecolin pipercolyl dithiocarbamate	5.4	0	5.12	5.12	99
Sodium ethylphenyl dithiocarbamate	6.4	0	5.34	5.34	103
Vapam	8.5	0.65	4.73	5.38	104
Dithane	10.2	0.14	5.14	5.28	102
Maneb	10.6	0	5.18	5.18	100
None	—	0	5.19	5.19	100

Remarks: * Nitrite was not detected in any of the plots.
 Chemicals and pesticides added; 100 ppm on dry soil.
 Soil moisture; 65% of maximum water capacity.
 Soil reaction; pH 7.0
 Temperature of incubation; 30°C
 Incubation period; 2 weeks

よび燐酸二カリを用いて P_2O_5 , K_2O をそれぞれ 5 mg 添加した。つぎに土壌水分を最大容水量の 65% に調整したのち、 30°C に2週間 incubation を行つた。

実験結果

第1図は硝化作用抑制剤添加濃度と硝酸および亜硝酸生成量との関係を、第2図は添加濃度と亜硝酸生成量との関係を示したものである。第1図から明らかになごとくベープムおよびジシアンジアマイドは 25 ppm 以上において著しく硝化作用を抑制した。ベープム区は 50 ppm 、アジ化ソーダ区は 75 ppm 以上において硝化作用は完全に抑制されたが、ジシアンジアマイド区は 25 ppm 以上においては硝化作用抑制効果はほとんど変化しなかつた。ダイセンは 25 ppm 、モノヨード醋酸は 50 ppm までほとんど硝化作用を抑制しないが、それより高濃度においては濃度を増すにしたがい抑制効果はほぼ直線的に増大した。チオ尿素は 75 ppm 以下では硝化作用抑制効果がほとんどなく、2,4-D は

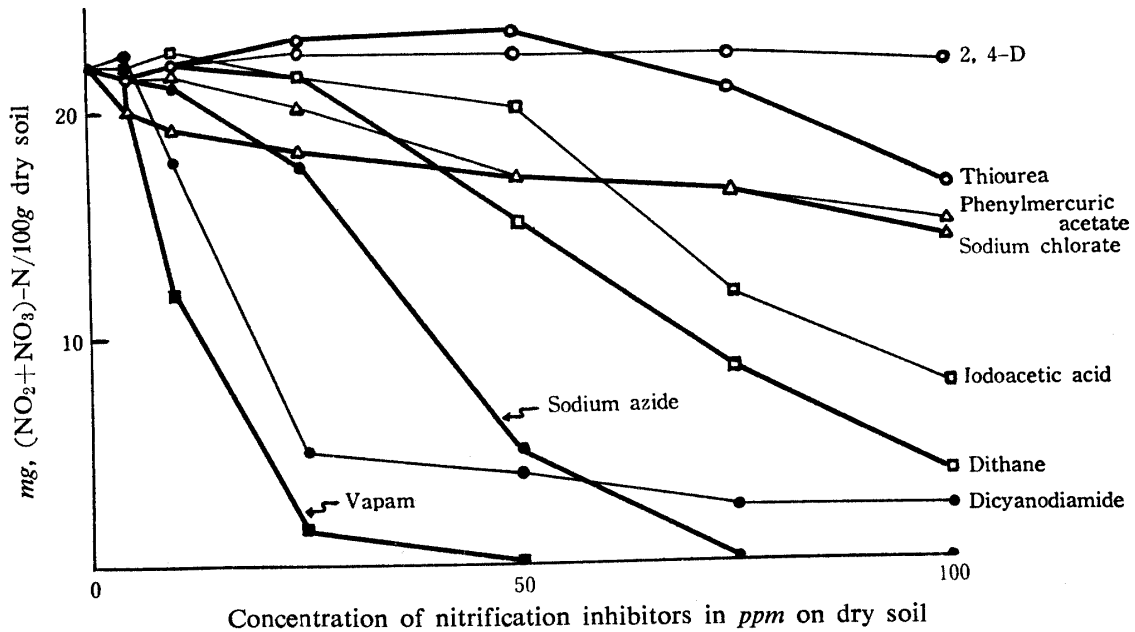


Fig. 1. Relation between the concentration of inhibitors and the nitrification in soil.

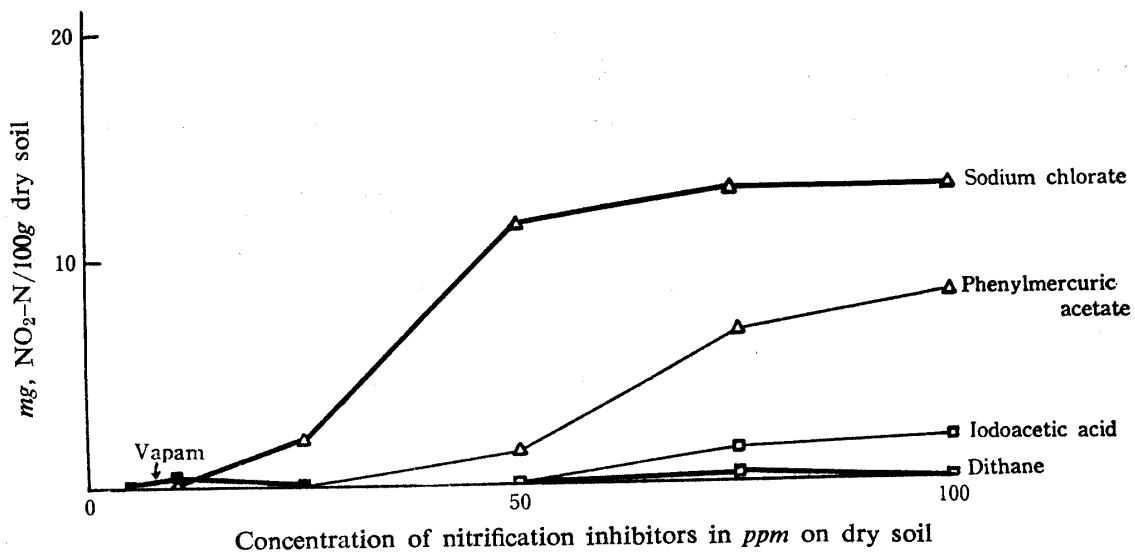


Fig. 2. Relation between the concentration of inhibitors and the accumulation of nitrite in soil.

本実験の濃度範囲では抑制効果が全く認められなかった。

亜硝酸の生成についてみると、第2図に示すごとく塩素酸ソーダ区は 25 ppm、醋酸フェニール水銀区は 50 ppm、モノヨード醋酸区は 75 ppm 以上において亜硝酸が集積し、添加濃度の増加にしたがいその量も大となつた。とくに塩素酸ソーダ区において 75 ppm 以上では硝化した窒素の大部分は亜硝酸態であつた。またベーパムは 10 ppm 区、ダイセンは 75 ppm 区において少量の亜硝酸が集積したが、それ以上の濃度においては亜硝酸の集積は認められなかった。

第3節 硝化作用抑制剤の種類と効果持続時間

硝化作用抑制剤を土壤に添加すれば一時的に硝化作用が抑制されるが、その効果は硝化作用抑制剤の土壤中における分解、揮散、流亡などにより漸次減少し、やがて硝化作用は回復するものと思われる。硝化作用抑制剤の効力の持続性は抑制剤の利用の面からも重要な問題であると考えられるので、その点について検討を加えた。

実験方法

乾土 20 g 相当量の福岡土壤の湿潤細土 (pH: 7.0) に N として 5 mg 相当量の尿素、および乾土当り 100 ppm の硝化作用抑制剤を添加した。ただしアジ化ソーダは 50 ppm、デシアンチアמידおよびベーパムは 25 ppm 区を併設した。これに磷酸一カリおよび磷酸二カリを用いて P₂O₅、K₂O をそれぞれ 5 mg 添加し、土壤水分を最大容水量の 60% に調整したのち 30°C に incubation を行つた。incubation 開始後それぞれ 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 14, 20, 30, 40 および 50 日目に土壤中のアンモニア、亜硝酸および硝酸態窒素を定量した。

実験結果

硝酸および亜硝酸の生成量を経時的に示せば第3図の通りである。すなわち尿素からの硝化は無処理区では lag 期間がなく、incubation 10日目にはほぼ完了した。塩素酸ソーダ区は lag 期間がなかったが、その他の区はいずれも lag 期間が認められた。すなわち PCP 区は 3日、醋酸フェニール水銀区は 4日、昇汞、モノヨード醋酸、デシアンチアמיד、ベーパム (25 ppm) およびチオ尿素区は 5日、ダイセンおよびマネブ区は 7日、アジ化ソーダ (50 ppm) およびベーパム (100 ppm) 区は 14日、アジ化ソーダ (100 ppm) 区は 30日の lag 期間があつた。いずれも lag 期間後に硝化作用は急速に進み、昇汞および塩素酸ソーダ区は 14日、醋酸フェニール水銀、アジ化ソーダ (50 ppm)、PCP、モノヨード醋酸およびチオ尿素区は 20日、ベーパム (25 ppm) 区は 30日、マネブ、ダイセンおよびベーパム (100 ppm) 区は 40日、アジ化ソーダ (100 ppm) 区は 50日目に添加窒素の硝化作用がほぼ完了した。デシアンチアמיד区は lag 期間後の硝化速度が他の区に比してやや遅く、incubation 40日目に添加窒素の硝化が完了した。

塩素酸ソーダ、昇汞および醋酸フェニール水銀区は硝化作用の初期に土壤中に多量の亜硝酸を集積したが、incubation 30日目にはいずれも土壤中に亜硝酸は認められなかった。なおこれらの区では添加窒素の回収率が他の区に比して劣つた。無処理、アジ化ソーダ、モノヨード醋酸、PCP、ベーパム (100 ppm)、マネブおよびダイセン区では硝化作用の初期に少量の亜硝酸が一時的に集積したが、デシアンチアמיד、ベーパム (25 ppm) およびチオ尿素区では亜硝酸の集積は見られなかった。

第4節 考 察

土壤中における硝化作用は主として *Nitrosomonas* および *Nitrobacter* によつて行われるが¹⁸³⁾、これらの autotrophy のほかにアンモニアを酸化する heterotrophy があり³¹⁾³⁸⁾³⁹⁾⁴⁰⁾⁷⁰⁾¹³⁹⁾¹⁵⁰⁾、また光化学的な硝化作用のあることも報告されている³²⁾。土壤に添加した化合物は土壤微生物によつて分解

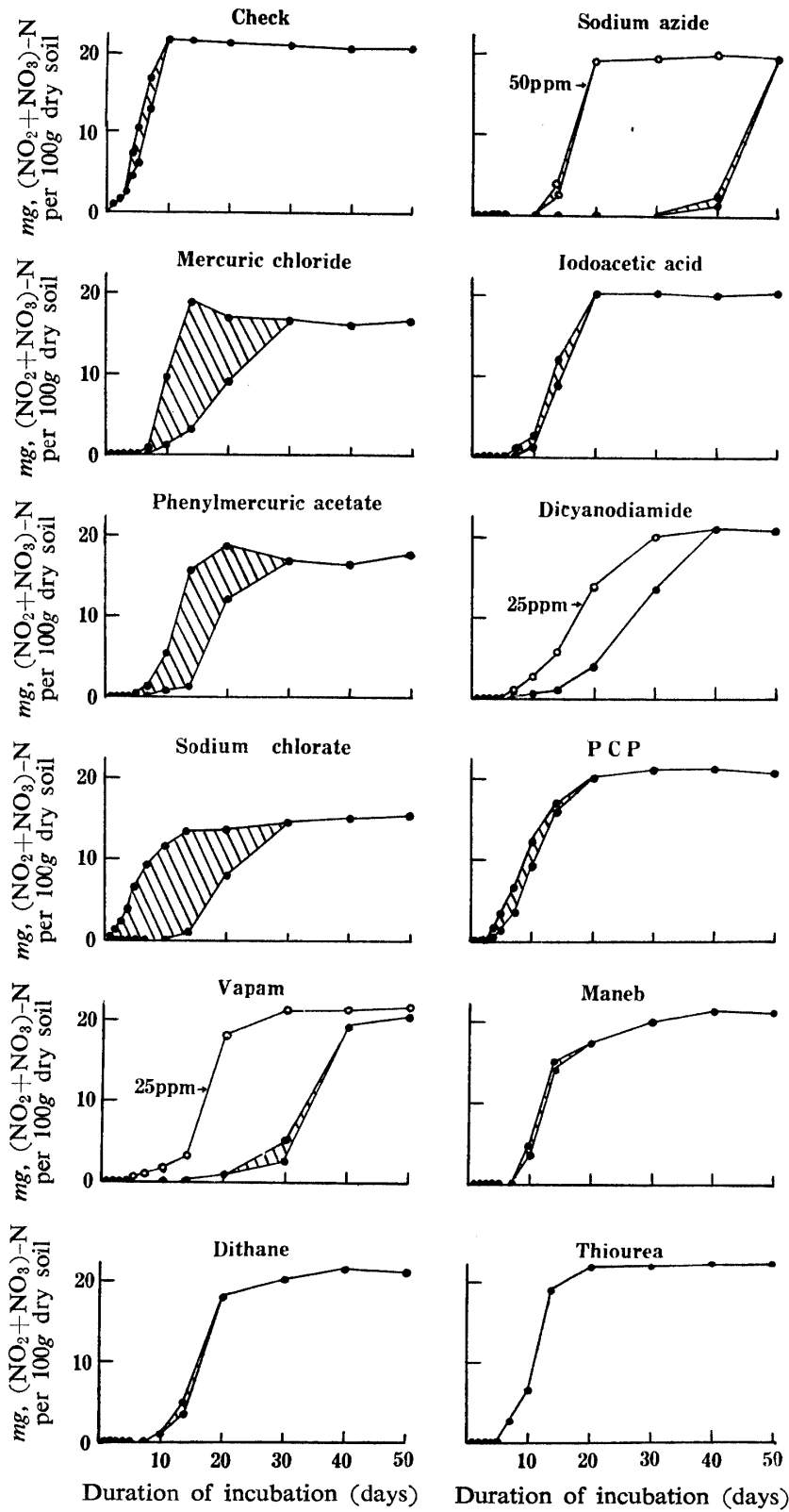


Fig. 3. Course of nitrification in soils added with urea and nitrification inhibitors.

Remarks: Urea added; 25 mg of nitrogen per 100 g dry soil.

Nitrification inhibitors added; 100 ppm on dry soil (besides, dicyanodiamide, vapam; 25 ppm, sodium azide; 50 ppm).

The area of oblique line shows the amounts of nitrite accumulated.

を受けたり⁶⁷⁾⁶⁸⁾¹¹⁹⁾, 土壌成分と反応したり¹⁶⁶⁾, 揮散¹³⁾または流亡¹⁶⁴⁾¹⁶⁵⁾などによつて漸次消失してゆくものと考えられる. したがつて硝化作用抑制剤を農業への利用の面より研究する場合には土壌を用いて検討することが必要であつて, 純粹培養菌について得られた成果はそれを補足する意味で意義のあるものと思われる.

クロロフォルムによつて土壌中におけるアンモニアの硝酸への酸化が阻止されることは古く SCHLOESSING ら¹³⁸⁾によつて認められたが, その後 MEYERHOF の硝化菌の生理に関する広範な研究⁹⁷⁾により各種の有機物, 有機酸塩, アルカロイド, アミン, カーバミン酸エステル, アンモニア, 金属イオンなどに硝化抑制作用のあることが明らかにされた. その後 QUASTEL ら, LEES らおよびその他の人々によつて塩素酸ソーダ⁶¹⁾⁷³⁾⁸⁷⁾⁸⁸⁾, ウレタン⁷⁴⁾⁸³⁾¹¹⁹⁾¹²⁰⁾, グアニジン⁷²⁾⁸⁶⁾¹¹⁹⁾, チオ尿素⁷⁴⁾¹¹⁹⁾, アリルチオ尿素³⁵⁾⁵⁷⁾⁸⁶⁾⁹⁸⁾¹¹⁹⁾¹⁴⁹⁾, グリシン¹¹⁹⁾, メチオニン²²⁾⁹⁸⁾¹¹⁹⁾, アジ化ソーダ¹¹⁹⁾¹²¹⁾, シアン化物⁴⁾³⁵⁾⁸³⁾¹¹⁹⁾¹²¹⁾, キンヒドロン⁸⁸⁾, スルファニルアמיד¹¹⁹⁾, パラアミノサリチル酸¹²¹⁾, 亜硫酸塩¹¹⁹⁾, 2, 4 デニトロフェノール⁴⁾³⁵⁾, ヒドラジン³⁵⁾⁵⁷⁾, モノヨード醋酸⁴⁾, PCMB⁴⁾, トリクロール醋酸¹¹⁵⁾¹⁴⁹⁾などの硝化抑制作用が認められた. とくに塩素酸ソーダ⁸⁷⁾, クロロマイセチン¹¹⁹⁾¹²¹⁾, ニトロ尿素¹¹⁹⁾, ニトロメタン¹¹⁹⁾などには亜硝酸の硝酸への酸化を抑制する作用のあることが報告されている. またアンモニア自身にも硝化抑制作用があり, その作用力は添加濃度⁵⁵⁾¹⁵⁸⁾¹⁷⁴⁾ および水素イオン濃度⁶⁾¹⁷⁾³⁵⁾⁹⁷⁾によつて左右されるとも言われている. ヒスチジンもまた硝化抑制作用を有することが認められているが⁸⁶⁾, MILLBANK の実験ではヒスチジンは土壌中の heterotrophy により同化されて硝化作用抑制効果が見られなかつた⁹⁸⁾. またウレタンについてもこれを利用し得る硝化菌 (*Streptomyces nitrificans*) の存在が報告されている⁶⁴⁾. 第1節の実験はいずれも土壌中の薬品濃度を一定にし, 一定期間の incubation により示される硝化作用抑制効果を比較したものである. この場合の抑制効果は土壌中における硝化菌に対する薬品の毒性, および incubation 期間における土壌中での薬品の変化の程度などによつて支配されるものと思われる. 本実験に用いた土壌は第3図の無処理区に見られるごとく硝化作用は比較的旺盛であると思われる. 第2表の実験は窒素源として硫酸アンモニアを用い, 第3表の実験は尿素を用いたものであるが, 両者の無処理区の硝化率を比較すると, 前者は後者に比して著しく低い. これは添加窒素化合物の相違によるものと思われる⁵⁵⁾¹²⁸⁾. 第2表より第7表までの一連の実験結果についてみると, BHC, ダイアジノン, 2, 4-D, PCP, 塩素酸ソーダ, デシアンチアמיד, チオ尿素, アジ化ソーダ, ベーパム, ダイセン, PMF, リオゲン, モノヨード醋酸および 2-Mercaptoimidazoline の抑制効果は顕著であつた. 既往の研究により硝化作用抑制効果の認められたグアニジン, ウレタン, メチオニン, トリクロール醋酸および PCMB は本実験ではその効果は著しくなかつた. またヒドロキシルアミン, ヒドラジン, 弗化ソーダ, オキシキノリン, EDTA, ヒスチジン, 蔞酸, ピロリン酸, 亜硫酸, 硫酸銀, リンゴ酸, 2, 4 デニトロフェノールおよびメチレン青は抑制作用を示さなかつた. LEES⁸⁶⁾は亜硝酸菌のアンモニア酸化について研究し, ヒスチジン, グアニジンおよびチオ尿素の添加によるアンモニア酸化阻害度は窒素源として加えた硫酸アンモニアの濃度を増加せしめてもほぼ一定であることから, これらのキレート剤がアンモニアの酸化に関係する種の金属酵素と結合してその酵素作用を阻害するものと推論した. 本実験においてアジ化ソーダおよびチオ尿素は強い抑制作用を示し, シアン化カリも明らかに硝化作用を抑制したが, グアニジンの抑制効果は少なく, ヒスチジンは硝化作用を全く抑制しなかつた. このように本実験と既往の実験との結果が異なるのは実験条件の相違によるものと考えられる. たとえば LEES の成績は短時間の実験によつて得られたものであつて, その間における硝化菌の増殖や添加物質の分解は極めて僅少であると思われる. しかるに本実験においては供試物質を土壌に添加し 2 週間の incubation を行つたので,

その間に添加物質の分解が起つて硝化作用抑制効果が低下し、硝化菌の増殖が行われる可能性も考えられる。このことは第8表に示した硝化作用抑制剤の土壤中における分解についての実験結果からも推定される。すなわちチオ尿素、炭酸グアニジン、ウレタンおよびシアン化カリ区は2週間の **incubation** により土壤中の無機態窒素量が無処理区より多くなっているが、これは添加物質の一部が分解したものと考えられる。デシアンジアמידが土壤中における硝化作用を抑制することは古くから知られていたが³⁰⁾⁶⁹⁾¹⁶⁹⁾、本実験においても第2表に示すごとくその作用は顕著であつた。

つぎに農業薬剤の硝化作用抑制効果についてであるが、土壤中における硝化作用に対する農業薬剤の影響については古くから土壤殺菌の場合に関心をもたれた¹⁴⁾¹³⁸⁾¹⁵⁷⁾¹⁶⁷⁾。その後多数の農業薬剤が見出されるに及んで、それらの硝化菌に対する影響についても数多くの研究が行われて来た。先ず殺虫剤についてみると、ENO³⁶⁾は240ポンド/エーカーの DDT, 40ポンドのリンデン, 120ポンドのクロールデン, 30ポンドのアルドリンが微砂質土壤において硝酸の生成を阻害しないことを認め、FLETCHER ら⁴²⁾は害虫防除に適当な濃度のアルドリンは硝化作用に影響しないとした。JOES⁷⁹⁾は約200ポンド/エーカーのアルドリンで硝化菌が影響を受けると報告している。SÁNCHEZ¹³⁷⁾は BHC がかなり高濃度において硝化作用を抑制することを認め、WILSON¹³²⁾は 100 ppm で抑制作用が見られたと述べている。また GRAY⁵¹⁾は BHC が heterotrophy に作用して硝酸生成を妨害することを明らかにした。BROWN²¹⁾が数種の農業薬剤の硝化作用に及ぼす影響について試験を行った結果によれば、いずれも土壤に対して 0.5% 以上の濃度で硝化作用を抑制したが、その毒性はアルドリンが最も強く、DDT が最も弱く、リンデンはその中間であつた。このように殺虫剤はそれを殺虫剤として使用する程度の濃度においては硝化作用にほとんど影響を与えないようである⁷⁸⁾¹⁴⁰⁾¹⁵⁵⁾。本実験の結果によればダイアジノン, BHC, DDT およびマラソンは硝化作用抑制効果があつたが、アルドリン, リンデン, セビンおよびディプテレックスには抑制作用が認められなかつた。BHC に硝化作用抑制効果が認められ、リンデンに効果が見られなかつた原因としては、両者の実験条件の相違と、BHC 中に含まれる異性体の影響が考えられる。

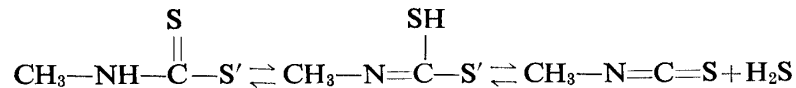
つぎに殺草剤の硝化作用抑制効果についてみると、石沢ら⁶⁸⁾は PCP が 2000 ppm で硝化作用を抑制することを認め、木下ら⁸²⁾は PCP 尿素が硝化作用を顕著に抑制することを報告した。2,4-D について SMITH ら¹⁵⁴⁾は 100 ppm で硝化菌に対して影響を及ぼすとし、SLEPECKY ら¹⁵²⁾は 500 ppm においてアンモニアから硝酸への変化が完全に抑制されることを認め、また潮田ら¹⁷⁵⁾は 2,4-D その他の有機塩素剤に硝化作用を抑制するもののあることを報告した。しかしながらこれらの殺草剤は殺草剤として通常使用される程度の添加量では土壤の硝化作用を抑制しないと言われている⁵³⁾⁷⁷⁾¹⁰²⁾¹¹²⁾¹⁶³⁾。CMU に硝化抑制作用のあることは QUASTEL ら¹²⁰⁾および OTTEN ら¹¹⁵⁾によつて認められている。なお塩素酸ソーダおよびトリクロール醋酸については前述した。本実験において殺草剤の硝化作用に及ぼす影響についてみると、第2表から明らかなごとくシマジンの抑制効果はほとんど見られなかつたが、CMU, 2,4-D, PCP および塩素酸ソーダの効果は明らかに認められた。殺草剤として一般に使用される量は CMU は 10アール当り 1.1~4.5 kg, 2,4-D は 30~50 g, PCP は 1.5~3.0 kg である⁸¹⁾。殺草剤の多量の使用は雑草ばかりでなく栽培植物に対しても影響を与えるので、これらを硝化作用抑制剤として農業へ利用するにはかなりの困難性が考えられる。

殺菌剤であるデチオカーバメート系薬剤はかなり低濃度 (50 ppm または 2×10^{-3} mol) で硝化作用を抑制することが知られている⁷⁴⁾¹⁶¹⁾¹⁸²⁾。また二硫化炭素¹⁴⁾、水銀剤⁹⁷⁾* などにも硝化作用抑制効果が認められている。本実験の成績について各種の殺菌剤の硝化作用抑制効果を比較すればつぎのよ

* 長谷川奎治：私信

うである、すなわちペーパム、ダイセン、マネブ、デンクメート、ノックメートなどのヂチオカーバメート系薬剤および PMF, リオゲン, ウスブルン, 昇汞などの水銀剤では硝化抑制作用が明らかに認められ、またキャプタンおよびカラセンも硝化作用を抑制したが、水銀粉剤、ブラシコール、アグリマイシンおよびブラストマイシンには抑制作用は見られなかつた。水銀粉剤ではとくに亜硝酸の集積量が大きであつたが、同様の傾向は他の水銀剤においても認められた。水銀イオンが土壤中に亜硝酸を集積せしめることは坂井¹²⁹⁾も指摘している。

ヂチオカーバメート系殺菌剤に硝化抑制作用が認められたので、さらにその誘導体および類似物質について検討を加えた。第7表はその成績であるが、これらの化合物の中で硝化作用抑制効果の最も高かつたものは 2-Mercaptoimidazoline である。このほかヂチオカーバメート系殺菌剤のうちで強い硝化抑制作用を示したペーパム、ダイセンおよびマネブはいずれもその分子内に —NH—C—S— の構造をもっている。BARRATT ら¹⁵⁾はアルキルジアミン系殺菌剤は水の存在で分解し、硫化水素を生じて殺菌力を現わすと説明している。ペーパムはつぎのような互変異性変化により硫化水素を生ずるものと考えられる¹⁸⁶⁾。



ここに生じた methyl isothiocyanate も殺菌力がある¹³⁾。荒木らはペーパムと菌体の接触により二硫化炭素の発生を認め¹³⁾、JAQUES らはフェーパム (Ferric dimethyl dithiocarbamate) の土壌への添加により二硫化炭素が生成して硝化作用を抑え、二硫化炭素の消失とともに硝化菌数が増加し硝化が進むことを明らかにした⁷⁴⁾。本実験の結果から硝化菌に対するヂチオカーバメートの作用機作を論ずることは出来ないが、概してアルキルジアミン系化合物がジアルキルアミン系化合物より硝化作用抑制効果が大きであつた。つぎに溶解度と硝化作用抑制効果との関係についてみると、前述の

$\text{—NH—}\overset{\text{S}}{\parallel}\text{C—S—}$ の構造を有する化合物の中で水溶性であるペーパムおよび 2-Mercaptoimidazoline の抑制効果は、難溶性であるダイセンおよびマネブに比して大きであつた。さらに不溶性である o-Phenylene thiourea および Zinc Phenylene thiourea は抑制作用を示さなかつた。ジアルキルアミン系化合物においても水溶性であるソーダ塩はそれに対応する難溶性の金属塩に比して硝化作用抑制効果が大きであつた。ジアルキルアミン系化合物において、アルキル基が大となるにしたがい親リポイド性は増大するが、他方反応性は減少する¹⁸⁶⁾。MEYERHOF⁹⁷⁾はリポイド親和性の大なるアミンが硝化菌に対する毒性の強いことを指摘したが、この点について本実験の結果を検討すると、ソーダ塩においても亜鉛塩においても硝化作用抑制効果は $\text{CH}_3 > \text{C}_4\text{H}_9 > \text{C}_2\text{H}_5$ となつている。ソーダ塩はいずれも水溶性であるので、その抑制効果の差異はアルキル基の相違に基くものと考えられる。

第8表および第9表は各種の含窒素化合物の土壌中における分解の有無を示したものである。これらの薬品添加による土壌中の無機態窒素のわずかな増減が、添加薬品の分解によるのか、土壌有機態窒素の無機化または土壌無機態窒素の有機化に対する影響の結果によるのかは明らかでない。

つぎに硝化作用抑制剤の添加濃度と抑制効果との関係について考察したい。一般に微生物に対する薬品の毒性は、その濃度を高めるにしたがい増大する。POOLE ら¹¹⁸⁾は *Bact. lactis aerogenes* の生育に対する数種の毒物添加の影響について検討し、毒物の作用型式を4種類に大別した。しかし本実験のごとく微生物相の複雑な土壌を用いた場合には、添加した硝化作用抑制剤の硝化作用に及ぼす影響の様相も単一ではないと思われる。第1図に見られるごとく、土壌に添加した尿素の硝化量は硝化作用抑制剤の添加濃度の増加に伴い減少するが、その減少の割合は抑制剤の種類によつて異つた。す

なわち硝化作用抑制効果は、抑制剤の添加濃度が 25 ppm の場合はベーパム>デシアンチアマイド>アジ化ソーダ>塩素酸ソーダ>醋酸フェニール水銀>ダイセン=モノヨード醋酸>2,4-D=チオ尿素であり、100 ppm の場合はベーパム=アジ化ソーダ>デシアンチアマイド>ダイセン>モノヨード醋酸>塩素酸ソーダ=醋酸フェニール水銀>チオ尿素 >2,4-D であつた。2,4-D 以外のこれらの薬品はそれぞれ程度の差はあるがいずれも POOLE らの作用型式の 2 型に属する。すなわちその抑制作用の主体は細胞分裂に対する影響であつて、ある濃度以下で抑制作用を示さないのは薬品の一部が微生物に同化されるか、または土壌と反応して毒性が中和されることによるものと思われる。

デシアンチアマイドは 25 ppm 以上において著しい硝化抑制作用を示したが、硝化作用を完全に抑制することはなかつた。このことはデシアンチアマイドが高濃度において硝化菌の増殖を阻止してその酵素作用を抑制しないか、または土壌の硝化作用の主体を占める autotrophy の硝化菌に強い毒性を示し、他の硝化菌に作用を及ぼさないかのいずれかであろうと思われる。

醋酸フェニール水銀および塩素酸ソーダは亜硝酸菌に対する毒性が低く、添加濃度の増加に伴う硝化量の減少の割合は小さい。長谷川*は醋酸フェニール水銀の硝化作用抑制効果について実験を行い、 2×10^{-5} ppm で約 50% の抑制率のあることを認めたが、本実験では 25 ppm においても硝化作用をほとんど抑制しなかつた。第 2 図に示すごとく塩素酸ソーダおよび醋酸フェニール水銀は添加濃度の増加に伴い亜硝酸の集積量を著しく増大せしめた。したがつてこれらの薬品添加区の硝酸生成量は添加濃度の増加に伴い減少した。ベーパム区は 10 ppm, ダイセン区は 75 ppm において少量の亜硝酸の集積を認めたが、このようにある濃度において亜硝酸の集積が起るのは、これらの薬剤の添加により土壌中の硝酸菌と亜硝酸菌の activity の平衡が乱されたためであると思われる。なお第 2 節の実験における 2,4-D, チオ尿素および塩素酸ソーダの硝化作用抑制効果は第 1 節の実験結果 (第 2 表) に比して著しく小さかつた。これは第 1 節の実験条件が硝化作用を行うのに十分好適でなかつた (第 2 表の無処理区の硝化率は 33% であつた) ために、わずかな抑制作用が大きな抑制効果として現われた結果であると考えられる。

つぎに硝化作用抑制剤の土壌中における効力持続時間についてであるが、一般に土壌に添加した硝化作用抑制剤は分解、土壌との反応、揮散、流亡、微生物による同化などによつて次第にその効力を失い、やがて硝化作用が復活するものと考えられる。第 3 図から明らかなごとく無処理区は lag 期間がなく硝化作用が進み、incubation 10 日目には添加窒素の硝化がほぼ完了した。しかるにアジ化ソーダ、昇汞、モノヨード醋酸、醋酸フェニール水銀、PCP、ベーパム、マネブ、ダイセンおよびチオ尿素区は incubation の初期に硝化作用が抑えられ、その後急速に硝化作用が回復した。とくにアジ化ソーダ (100 ppm) およびベーパム (100 ppm) 区は長い lag 期間を示した。これに反し塩素酸ソーダ区は lag 期間がなく、incubation 初期に亜硝酸のみを生成した。醋酸フェニール水銀および昇汞区も lag 期間後に一時的に多量の亜硝酸を集積した。いずれもその後硝化が進むにしたがい亜硝酸は消失したが、このことはこれらの薬品が硝酸菌に対してとくに強い毒性を発揮することを示しているものと思われる。また無処理、アジ化ソーダ、モノヨード醋酸、PCP、ベーパム (100 ppm)、ダイセンおよびマネブ区では硝化作用の回復の過程において一時的に亜硝酸の集積が認められた。しかるにデシアンチアマイド、ベーパム (25 ppm) およびチオ尿素区ではこのような現象はみられなかつた。なおデシアンチアマイド区は lag 期間後の硝化作用の回復が緩徐であつた。これらのことからデシアンチアマイドの硝化作用に対する抑制機構は他の硝化作用抑制剤と趣を異にしているものと考えられる。

* 私信

塩素酸ソーダ、昇汞、醋酸フェニール水銀のごとく多量の亜硝酸を集積する区では添加窒素の 60～70%が無機態窒素として回収された。このように添加窒素の回収率の低い原因の一部は蓄積した亜硝酸の脱窒によるものと思われる²⁵⁾²⁹⁾³⁹⁾⁵⁶⁾¹⁵³⁾¹⁷³⁾¹⁸¹⁾。したがってこれらの薬剤を硝化作用抑制剤として利用するに当っては、植生への影響および添加窒素の経済の面から考慮する必要がある。

第 III 章 硝化作用抑制剤の種類と添加窒素の形態変化

第 II 章において、多数の薬品および農業薬剤の硝化作用抑制効果を検討し、数種のものに著しい抑制効果のあることを認めた。ついでこれらの強力な硝化作用抑制剤の中から数種のものを選んで、添加濃度と抑制効果との関係および抑制作用の持続性について検討を行った。その結果抑制剤の種類により亜硝酸菌と硝酸菌に対する作用力に差異のあることを知った。よつて本章においては土壤に添加した尿素の硝酸への変化過程に及ぼす硝化作用抑制剤の影響につき、さらに詳細な検討を加えた。

第 1 節 尿素の無機化に及ぼす硝化作用抑制剤の影響

尿素の無機化に及ぼす硝化作用抑制剤の影響をみるため、つぎの実験を行った。

実験方法

pH を 7.0 に調整した福岡土壤の乾土 20 g 相当量の湿潤細土に、N として 5 mg 相当量の尿素および乾土当り 100 ppm の硝化作用抑制剤を加えた。なおアジ化ソーダは 50 ppm、ベーパムおよびヂシアンジアマイドは 25 ppm 区を併設した。これに燐酸一カリおよび燐酸二カリを用いて P₂O₅、K₂O をそれぞれ 5 mg 添加し、水分を最大容水量の 60% に調整したのち、30°C の恒温室に静置し、それぞれ 1, 2, 3, 4, 5, 7 および 10 日目に土壤中の尿素態窒素をウレアーゼ法¹⁰⁷⁾により定量した。

実験結果

得られた結果は第 4 図の通りである。すなわち無処理区の尿素の無機化は incubation 2 日目にほとんど完了し、5 日目には土壤中の尿素は消失した。しかるに醋酸フェニール水銀、昇汞、ダイセンおよびベーパム (100 ppm) は尿素の無機化を著しく抑制した。すなわち無処理区の 2 日目とほぼ同じ無機化量を示すのに醋酸フェニール水銀区は 7 日、ベーパム (100 ppm) 区は 5 日、ダイセンおよび昇汞区は 4 日を要した。モノヨード醋酸も尿素の無機化をわずかに抑制したが、ベーパム (25 ppm) およびアジ化ソーダの抑制作用はほとんどなく、塩素酸ソーダおよびヂシアンジアマイドは全く抑制しなかつた。

第 2 節 アンモニアの硝化に及ぼす硝化作用抑制剤の影響

アンモニアの硝化に及ぼす硝化作用抑制剤の影響をみるため、つぎの実験を行った。

実験方法

pH を 7.0 に調整した福岡土壤の乾土 20 g 相当量の湿潤細土に、N として 5 mg 相当量の硫酸アンモニアおよび乾土当り 100 ppm の硝化作用抑制剤を加えた。これに P₂O₅、K₂O としてそれぞれ 5 mg 相当量を燐酸一カリおよび燐酸二カリを用いて添加した。水分を最大容水量の 60% に調整したのち 30°C に 2 週間 incubation を行った。

実験結果

硝化作用抑制剤の添加濃度および incubation 後の土壤中の各種無機態窒素量は第 10 表の通りである。この表から明らかのごとく昇汞、醋酸フェニール水銀および塩素酸ソーダ区では土壤中に亜硝酸の集積が見られたが、他の区においては亜硝酸は検出されなかつた。なお塩素酸ソーダ区は添加窒素の回収率が他の区に比して低かつた。

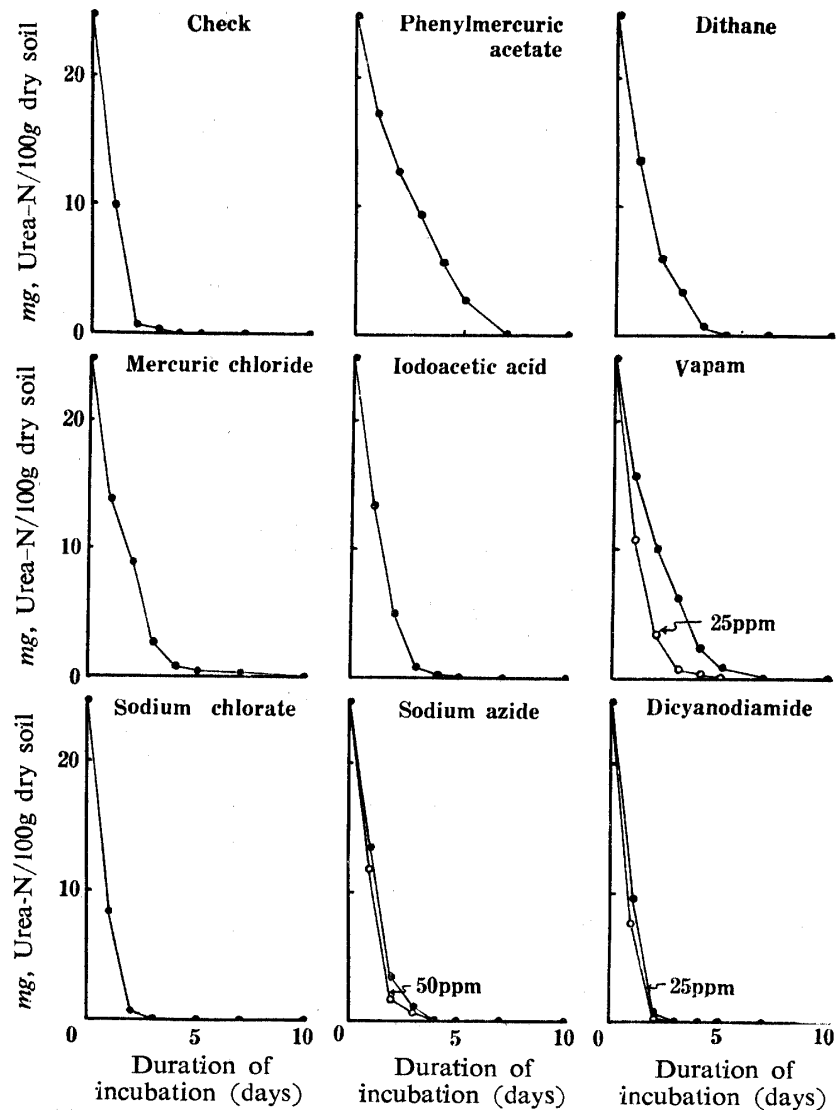


Fig. 4. Course of the ammonification of urea in soils added with nitrification inhibitors.

Remark: Nitrification inhibitors added; 100 ppm on dry soil (besides, dicyanodiamide, vapam: 25 ppm, sodium azide: 50 ppm).

第3節 亜硝酸の硝化に及ぼす硝化作用抑制剤の影響

亜硝酸より硝酸への変化に対する硝化作用抑制剤の影響について検討するため、つぎの実験を行った。

実験方法

第2節の実験における硫酸アンモニアの代わりに亜硝酸ソーダを加え、前記と同様の incubation を行った。

実験結果

得られた結果は第11表の通りである。すなわちアジ化ソーダおよびジシアンジアמיד区では土壤に添加した亜硝酸は消失し、その大部分が硝酸に変化した。しかるに昇汞、醋酸フェニール水銀、塩素酸ソーダおよびモノヨード醋酸区は添加した亜硝酸の大部分が残存し、ベーパムおよびダイセン区では土壤中の無機態窒素の約半分が亜硝酸態であった。亜硝酸ソーダを窒素源として土壤に添加した場合の窒素の回収率は 70~80% であった。

Table 10. Influence of nitrification inhibitors on nitrification of ammonia in soil.

Chemicals and pesticides added	Concentration (ppm on dry soil)	Inorganic nitrogen, mg/100 g dry soil			
		NH ₄ -N	NO ₂ -N	NO ₃ -N	Sum
Mercuric chloride	100	10.5	5.0	4.5	200
Phenylmercuric acetate	100	15.0	3.1	2.0	20.1
Sodium chlorate	75	10.6	4.0	0	14.6
Sodium azide	50	20.4	Trace	0	20.4
Vapam	10	8.5	Trace	11.4	19.9
Dithane	75	14.0	Trace	6.1	20.1
Iodoacetic acid	75	14.0	Trace	5.9	19.9
Dicyanodiamide	40	16.6	Trace	3.0	19.6
None	—	0	Trace	21.5	21.5

Remarks: Nitrogen added; Ammonium sulfate, 25 mg of nitrogen per 100 g dry soil.
 Soil moisture; 60 % of maximum water capacity.
 Soil reaction; pH 7.0
 Temperature of incubation; 30°C
 Incubation period; 2 weeks

Table 11. Influence of nitrification inhibitors on oxidation of nitrite in soil.

Chemicals and pesticides added	Concentration (ppm on dry soil)	Inorganic nitrogen, mg/100 g dry soil			
		NH ₄ -N	NO ₂ -N	NO ₃ -N	Sum
Mercuric chloride	100	2.5	14.5	2.5	19.5
Phenylmercuric acetate	100	2.4	14.0	3.0	19.4
Sodium chlorate	75	1.6	14.5	2.0	18.1
Sodium azide	50	1.4	Trace	16.6	18.0
Vapam	10	2.0	8.5	7.4	17.9
Dithane	75	2.1	9.0	7.5	18.6
Iodoacetic acid	75	2.5	15.5	1.5	19.5
Dicyanodiamide	40	1.4	Trace	17.5	18.5
None	—	0	Trace	18.0	18.0

Remarks: Nitrogen added; Sodium nitrite, 25 mg of nitrogen per 100 g dry soil.
 Soil moisture; 60 % of maximum water capacity.
 Soil reaction; pH 7.0
 Temperature of incubation; 30°C
 Incubation period; 2 weeks

第4節 考 察

土壤中における尿素の加水分解は多くの土壤微生物により行われるが、その反応の一部は土壤膠質物に吸着されているウレアーゼによると言われている²⁶⁾²⁷⁾²⁸⁾。土壤中における尿素のアンモニア化は施肥来歴¹³⁵⁾、温度¹⁹⁾⁴¹⁾⁸⁴⁾¹²³⁾、土性⁸⁴⁾などによつて異なるが、その速度は比較的速やかである。ウレアーゼは一分子内に 31 個の遊離 SH 基を含んでおり、その活性は重金属および酸化剤によつて阻害される³⁾。土壤中のウレアーゼ活性は水銀化合物によつて阻害され²⁷⁾⁶⁶⁾¹⁰¹⁾、また多量の農業薬剤により影響を受けることが知られている⁶⁷⁾。またデシアンジアמידはシアナミドのアンモニア化を抑制しないと言われている³⁰⁾。第4図は尿素の無機化に対する硝化作用抑制剤の影響について示したものであるが、この図から明らかになごとく、醋酸フェニール水銀および昇汞のごとき水銀化合物は尿素の分

解を抑制し、またダイセンおよびベーパム (100 ppm) も同様の影響を及ぼした。しかるにヂシアンヂアミドおよび塩素酸ソーダは尿素のアンモニア化に影響せず、ベーパム (25 ppm)、アジ化ソーダおよびモノヨード醋酸の抑制作用は弱かつた。いずれにしても本実験の条件下では尿素の無機化は速やかであり、いずれも incubation 2日目には添加尿素の大部分が無機化し、抑制作用の最も強い醋酸フェニール水銀区においても incubation 7日目には土壌中に尿素の存在を認めなかつた。

アンモニアの硝化過程はこれをアンモニアより亜硝酸、および亜硝酸より硝酸への変化に二分される。前者は主として亜硝酸菌 (*Nitrosomonas*) の作用であり、後者は硝酸菌 (*Nitrobacter*) の作用である¹⁸³⁾ 近年純粋培養した硝化菌に関する生化学的研究^{34)35)57)~62)85)86)89)90)91)110)121)157)}が行われ、硝化作用の機構の解明が試みられている。このような場合に硝化作用抑制剤は有力な研究手段として利用される⁴⁾²²⁾³⁵⁾⁸³⁾⁹⁸⁾¹¹⁰⁾¹²⁰⁾。LEES¹⁰⁹⁾は広範な研究の結果から *Nitrosomonas* によるアンモニア酸化にあずかる酵素は銅酵素であろうと推論し、ALEEM ら⁴⁾は *Nitrobacter agilis* の硝化作用に対する諸種の阻害物質の影響の仕方から、亜硝酸より硝酸への反応系には金属 (恐らく鉄であろう) が必要であることを指摘した。また MEIKLEJOHN⁹⁶⁾は *Nitrobacter* の亜硝酸酸化に鉄が必要であることを明らかにした。このようにアンモニアより亜硝酸への変化と亜硝酸より硝酸への変化にはそれぞれ異つた酸化酵素が関与しているものと思われる。大村* はアンモニアおよび亜硝酸の酸化に及ぼす各種物質の阻害作用について検討したが、その結果によればアジ化物は亜硝酸酸化よりアンモニア酸化を強く阻害し、モノヨード醋酸および PCMB は両者を同程度に阻害した。第10表および第11表は硝化作用抑制剤がアンモニアより硝酸への変化のどの過程に作用するかを知るために行つた実験の結果である。二つの表から明らかなごとく、ヂシアンヂアミドおよびアジ化ソーダは主としてアンモニアより亜硝酸への酸化過程を抑制し、昇汞、醋酸フェニール水銀および塩素酸ソーダは主として亜硝酸より硝酸への酸化過程を抑制した。ベーパム、ダイセンおよびモノヨード醋酸は両過程に対して抑制作用を示した。

第IV章 土壌条件と硝化作用抑制剤添加効果

土壌中における硝化作用抑制剤の硝化菌に対する抑制作用の強さは硝化菌の activity と硝化作用抑制剤の有効濃度によつて支配される。硝化菌の activity は土壌の理化学的性質、菌数、環境要因などによつて異り、また硝化作用抑制剤の有効濃度はその添加量、土壌による吸着、土壌との反応、分解速度などの相違によつて異なる筈である。したがつて硝化作用抑制剤の作用は土壌の種類によつて異なるのは勿論、同一の土壌においても土壌水分、土壌反応、硝化菌数などの相違によつて異なるものと思われる。よつて本章においてはそれらの点について検討を加えた。

第1節 土壌水分と硝化作用抑制剤添加効果

土壌水分と硝化作用抑制剤の効果との関係を知るため、つぎの実験を行つた。

実験方法

pH を 6.5 に調整した福岡土壌の乾土 20 g 相当量の湿潤細土に、N として 5 mg 相当量の尿素および適当量の硝化作用抑制剤を加え、さらに P₂O₅、K₂O としてそれぞれ 5 mg 相当量を磷酸一カリおよび磷酸二カリを用いて添加した。ついで水分をそれぞれ最大容水量 (84.5%) の 45、60 および 75% に調整したのち、30°C に 2 週間 incubation を行つた。実験に用いた硝化作用抑制剤の種類および添加濃度は第12表の通りである。

実験結果

* 大村浩久：未発表

Table 12. Relation between soil moistures and effect of inhibitors on nitrification in soil.

Chemicals and pesticides added	Concentration (ppm on dry soil)	Moisture* of soil %	Inorganic nitrogen, mg/100 g dry soil				Nitrification rate %
			NH ₄ -N	NO ₂ -N	NO ₃ -N	Sum	
Sodium azide	50	45	20.9	Trace	0	20.9	0
		60	20.7	Trace	0	20.7	0
		75	20.1	Trace	0	20.1	0
Dicyanodiamide	40	45	13.6	Trace	7.8	21.4	31
		60	11.7	Trace	9.4	21.1	38
		75	10.4	Trace	10.6	21.0	41
Vapam	20	45	16.6	Trace	3.9	20.5	16
		60	16.1	Trace	4.7	20.8	19
		75	15.6	Trace	5.0	20.6	20
Iodoacetic acid	75	45	20.0	Trace	0	20.0	0
		60	18.3	0.7	1.3	20.3	8
		75	16.6	0.6	2.8	19.4	14
Sodium chlorate	75	45	14.7	0.5	3.7	18.9	9
		60	13.4	0.7	4.7	18.8	22
		75	12.5	0.2	6.3	19.0	26
Phenylmercuric acetate	100	45	12.0	1.4	6.4	19.8	31
		60	8.6	1.2	11.1	20.9	49
		75	6.3	Trace	15.0	21.3	60
None	—	45	0	Trace	22.4	22.4	90
		60	0.2	Trace	21.3	21.5	85
		75	0	Trace	22.1	22.1	88

Remarks: * Moisture of soil was shown as percentage of the maximum water capacity.
 Nitrogen added; Urea, 25 mg of nitrogen per 100 g dry soil.
 Soil reaction; pH 6.5
 Temperature of incubation; 30°C
 Incubation period; 2 weeks

incubation 後の土壤中の各種無機態窒素量は第 12 表に示した。この表から明らかごとく、無処理区の硝化率は土壤水分の多少に拘わらずほぼ同じであつたが、硝化作用抑制剤の抑制効果は土壤水分の低い場合ほど大であつた。アジ化ソーダ区はいずれの土壤水分においても硝化が起らなかつた。ヂアンチアמידおよびベーパム区は土壤水分の相違による硝化率の変異が小さかつたが、モノヨード醋酸、塩素酸ソーダおよび醋酸フェニール水銀区は土壤水分の低下に伴い抑制効果が著しく増大した。

第 2 節 土壤反応と硝化作用抑制剤添加効果

土壤反応と硝化作用抑制剤の効果との関係を検討するため、つぎの実験を行つた。

実験方法

福岡土壤の湿潤細土を苛性カリを用いて pH (KCl) をそれぞれ 5.2, 6.5, 7.8 に調整した。各土壤の乾土 20 g 相当量に N として 5 mg 相当量の尿素および適当量の硝化作用抑制剤を加えた。さらに P₂O₅, K₂O としてそれぞれ 5 mg 相当量を磷酸一カリおよび磷酸二カリを用いて添加した。つぎに水分を最大容水量の 60% に調整したのち 30°C に 2 週間の incubation を行い硝化量を測定した。なお実験に用いた硝化作用抑制剤の種類および添加濃度は第 13 表に示した通りである。

実験結果

得られた結果は第 13 表の通りである。すなわち無処理区においては土壤の pH が高い場合に硝化

Table 13. Relation between soil reactions and effect of inhibitors on nitrification in soil.

Chemicals and pesticides added	Concentration (ppm on dry soil)	Soil reaction pH (KCl)	Inorganic nitrogen, mg/100 g dry soil				Nitrification rate %
			NH ₄ -N	NO ₂ -N	NO ₃ -N	Sum	
Sodium azide	50	5.2	20.2	Trace	1.7	21.9	7
		6.5	20.8	Trace	0.5	21.3	2
		7.8	7.2	5.2	5.0	17.4	41
Dicyanodiamide	40	5.2	13.4	Trace	9.4	22.8	38
		6.5	14.0	Trace	7.2	21.2	29
		7.8	6.4	Trace	12.7	19.1	51
Vapam	20	5.2	18.3	Trace	4.7	23.0	19
		6.5	14.5	0.2	5.9	20.6	24
		7.8	3.6	10.7	4.2	18.5	60
Iodoacetic acid	75	5.2	21.8	Trace	0	21.8	0
		6.5	18.0	0.5	2.0	20.5	10
		7.8	5.6	Trace	13.8	19.4	45
Sodium chlorate	75	5.2	17.3	Trace	4.6	21.9	18
		6.5	15.1	0.2	5.0	20.3	21
		7.8	4.4	2.5	9.2	16.1	47
Phenylmercuric acetate	100	5.2	19.0	Trace	2.6	21.6	10
		6.5	11.9	0.2	8.9	21.0	36
		7.8	1.6	8.6	6.9	17.1	62
None	—	5.2	0.7	Trace	21.7	22.4	87
		6.5	0.6	Trace	21.6	22.2	86
		7.8	0	Trace	18.8	18.8	75

Remarks: Nitrogen added; Urea, 25 mg of nitrogen per 100 g dry soil.
 Soil moisture; 60 % of maximum water capacity.
 Reaction of the original soil; pH 5.70(H₂O), 4.90(KCl).
 Temperature of incubation; 30°C
 Incubation period; 2 weeks

率は小さいが、それと同時に添加窒素の回収率も低下した。土壤中のアンモニアは pH 5.2 および 6.5 においてはわずかに残存していたが、pH 7.8 では消失した。

硝化作用抑制剤添加区の硝化率はいずれも高 pH の場合に大となつたが、pH の低下に伴う硝化作用抑制効果の増加の割合は pH 6.5 から 5.2 までより、7.8 から 6.5 までの間において大であつた。土壤反応が pH 7.8 から 5.2 まで低下することによる硝化作用抑制効果の増加の割合はアジ化ソーダ、モノヨード醋酸および醋酸フェニール水銀区において大であり、ジシアンジアמיד区において小であつた。pH 7.8 においてアジ化ソーダ、ペーパーム、塩素酸ソーダおよび醋酸フェニール水銀区は亜硝酸を集積し、また高 pH においてはいずれの区も添加窒素の回収率が低下した。incubation 終了後の土壤反応は第 14 表の通りである。すなわち 2 週間の incubation により土壤反応は低 pH の場合は高くなり、高 pH の場合は低くなる傾向が見られた。

第 3 節 硝化菌数と硝化作用抑制剤添加効果

硝化菌数の多少は土壤の硝化作用の強さに影響を及ぼすか⁴⁵⁾¹⁸³⁾、土壤中における硝化菌数の差異が硝化作用抑制剤の効果に如何なる影響を及ぼすかを知るため、つぎの実験を行つた。

実験方法

供試土壤は圃場より採取した状態の土壤(以下原土壤とする)と、予め乾土 100 g 当り 30 mg N 相当量の尿素を加え、30°C に 3 週間 incubation を行つて硝化菌を増殖せしめた土壤(以下菌数富化土

Table 14. Soil reaction before and after incubation.

Chemicals and pesticides added	<i>pH</i> of soil at beginning of incubation	<i>pH</i> * of soil after 2 week incubation	
		With urea	Without urea
Sodium azide	5.2	5.9	5.6
	6.5	6.6	6.6
	7.8	7.2	7.6
Dicyanodiamide	5.2	5.6	5.6
	6.5	6.5	6.4
	7.8	7.3	7.4
Vapam	5.2	5.8	5.5
	6.5	6.5	6.5
	7.8	6.9	7.1
Iodoacetic acid	5.2	6.0	5.6
	6.5	6.6	6.2
	7.8	7.0	7.2
Sodium chlorate	5.2	5.8	5.5
	6.5	6.2	6.2
	7.8	7.0	7.4
Phenylmercuric acetate	5.2	5.8	5.5
	6.5	6.2	6.2
	7.8	6.7	7.2
None	5.2	5.3	5.9
	6.5	5.8	6.5
	7.8	6.7	7.2

Remark: * Wet soil corresponding to 20 g dry soil was added with 200 ml of 1 N KCl, and shaken for one hour. The *pH* value was measured with a glass electrode.

壤とする)の二種類とした。菌数富化土壌は incubation により生成した硝酸を除くため濾過洗滌を行つたのち供試した。供試土壌は福岡土壌および長崎県諫早市の干拓地水田表土(以下諫早土壌とする)であり、いずれも実験の直前に土壌中の硝化菌数を稀釈頻度法¹⁷⁰⁾により測定した。原土壌および菌数富化土壌を *pH* 6.5 に調整したのち、その乾土 20 g 相当量に N として 5 mg 相当量の尿素および適量の硝化作用抑制剤を加えた。これに P₂O₅, K₂O としてそれぞれ 5 mg を磷酸一カリおよび磷酸二カリを用いて添加し、さらに水分を最大容水量の 60% に調整したのち、30°C に 2 週間 incubation を行つた。実験開始時の原土壌および菌数富化土壌中の硝化菌数、硝化作用抑制剤の種類およびその添加濃度は第 15 表および第 16 表に示した通りである。

実験結果

incubation により生成した各種無機態窒素量は第 15 表および第 16 表の通りである。これらの表から明らかなごとく、無処理区では菌数の多少に拘わらず添加尿素のほとんどが硝化された。硝化作用抑制剤の添加によりいずれも硝化率が低下したが、低下の割合は菌数の少ない場合が多い場合に比して大であつた。

先ず第 15 表の福岡土壌についてみると、原土壌においてベーパム (20 ppm), モノヨード醋酸, 塩素酸ソーダおよび醋酸フェニール水銀区では亜硝酸の集積が認められたが、菌数富化土壌においてはモノヨード醋酸区以外はいずれも亜硝酸は検出されなかつた。硝化菌数の多少による硝化作用抑制剤の効果の差異は抑制剤の添加濃度の低い場合に大であつた。ただしデシアンチアマイドの抑制効果は菌数の多少に無関係であつた。

Table 15. Relation between nitrifying population in soil and effect of inhibitors on nitrification. (Fukuoka-soil)

Chemicals and pesticides added	Concentration (ppm on dry soil)	Nitrifying population	Inorganic nitrogen, mg/100 g dry soil				Nitrification rate %
			NH ₄ -N	NO ₂ -N	NO ₃ -N	Sum	
Sodium azide	50	Many	21.5	Trace	0.8	22.3	3
		Small	20.2	Trace	0	20.2	0
Dicyanodiamide	40	Many	14.5	Trace	8.4	22.9	34
		Small	13.0	Trace	9.0	22.0	36
Vapam	60	Many	20.4	Trace	1.6	22.0	6
		Small	20.3	Trace	1.1	21.4	4
Vapam	20	Many	6.6	Trace	16.9	23.5	68
		Small	14.6	0.1	6.5	21.2	26
Iodoacetic acid	75	Many	20.1	0.1	1.2	21.4	5
		Small	19.8	0.1	0.6	20.5	3
Sodium chlorate	100	Many	13.4	Trace	6.9	20.3	28
		Small	14.2	0.6	5.4	20.2	24
Sodium chlorate	75	Many	11.5	Trace	9.6	21.1	38
		Small	14.0	0.8	4.8	19.6	22
Phenylmercuric acetate	150	Many	8.2	Trace	13.5	21.7	54
		Small	11.6	2.0	6.9	20.5	36
Phenylmercuric acetate	100	Many	4.5	Trace	18.6	23.1	74
		Small	9.8	1.6	10.0	21.4	46
None	—	Many	0	Trace	24.3	24.3	97
		Small	0	Trace	22.0	22.0	88

Remarks: Nitrogen added; Urea, 25 mg of nitrogen per 100 g dry soil.

Soil moisture; 60 % of maximum water capacity.

Soil reaction; pH 6.5

Temperature of incubation; 30°C

Incubation period; 2 weeks

Nitrifying population; Many; Number of ammonium-oxidizing organisms: $7.9 \times 10^8/g$ dry soil, Number of nitrite-oxidizing organisms: $6.7 \times 10^8/g$ dry soil.

Small; Number of ammonium-oxidizing organisms: $3.1 \times 10^8/g$ dry soil, Number of nitrite-oxidizing organisms: $1.7 \times 10^8/g$ dry soil.

つぎに第 16 表の諫早土壤についてみると、アジ化ソーダは菌数の多少に拘わらず完全に硝化を抑制したが、ベーパムはほとんど抑制作用を示さなかつた。塩素酸ソーダおよびジシアンジアמידは原土壤において硝化作用を著しく抑制したが、菌数富化土壤においてはほとんど効果が見られなかつた。

第 4 節 土壤の種類と硝化作用抑制剤添加効果

第 1 節より第 3 節の実験結果から土壤水分、土壤反応および硝化菌数の相違により硝化作用抑制剤の効果に差異のあることが明らかになつた。つぎにこれらの土壤条件を一定にした場合に、土壤の種類(硝化菌の種類を含めて)により硝化作用抑制剤の効果に差異があるか否かを検するために、全国各地の土壤についてつぎの実験を行つた。

実験方法

供試土壤は予めそれぞれ pH (KCl) を 6.5 にするに必要な量の炭酸石灰および乾土 100 g 当り N

Table 16. Relation between nitrifying population in soil and effect of inhibitors on nitrification. (Isahaya-soil)

Chemicals and pesticides added	Concentration (ppm on dry soil)	Nitrifying population	Inorganic nitrogen, mg/100 g dry soil				Nitrification rate %
			NH ₄ -N	NO ₂ -N	NO ₃ -N	Sum	
Sodium azide	50	Many	22.3	Trace	0	22.3	0
		Small	22.4	Trace	0	22.4	0
Dicyanodiamide	40	Many	0.1	Trace	23.1	23.2	92
		Small	16.4	Trace	7.6	24.0	30
vapam	60	Many	0	Trace	23.1	23.1	92
		Small	7.7	Trace	15.1	22.8	60
Vapam	20	Many	0	Trace	24.0	24.0	96
		Small	0.4	Trace	23.5	23.9	94
Iodoacetic acid	75	Many	11.6	Trace	10.9	22.5	44
		Small	14.5	Trace	7.9	22.4	32
Sodium chlorate	100	Many	3.5	Trace	17.9	21.4	72
		Small	15.7	0.8	6.4	22.9	29
Sodium chlorate	75	Many	0.1	Trace	21.8	21.9	87
		Small	16.0	1.7	3.6	21.3	21
Phenymercuric acetate	150	Many	12.8	Trace	8.8	21.6	35
		Small	20.1	Trace	2.6	22.7	10
Phenylmercuric acetate	100	Many	12.1	Trace	11.1	23.2	44
		Small	21.1	Trace	1.3	22.4	5
None	—	Many	0	Trace	24.3	24.3	97
		Small	0	Trace	23.4	23.4	94

Remarks: Nitrogen added; Urea, 25 mg of nitrogen per 100 g dry soil.

Soil moisture; 60% of maximum water capacity.

Soil reaction; pH 6.5

Temperature of incubation; 30°C

Incubation period; 2 weeks

Nitrifying population; Many; Number of ammonium-oxidizing organisms: $77 \times 10^3/g$ dry soil,

Number of nitrite-oxidizing organisms: $77 \times 10^3/g$ dry soil.

Small; Number of ammonium-oxidizing organisms: $3.3 \times 10^3/g$ dry soil,

Number of nitrite-oxidizing organisms: $3.3 \times 10^3/g$ dry soil.

として 30 mg 相当量の尿素を添加し、水分を最大容水量の 60% に調整したのち、30°C に 3 週間 incubation を行つた。かくして硝化菌を富化した土壤は、生成した硝酸を除去するため洗滌濾過した。この硝化菌富化土壤の乾土 20 g 相当量に N として 5 mg 相当量の尿素および適量の硝化作用抑制剤を加えた。これに P₂O₅, K₂O としてそれぞれ 5 mg 相当量を磷酸一カリおよび磷酸二カリを用いて添加し、水分を最大容水量の 60% に保つて、30°C に 2 週間 incubation を行つた。なお供試土壤の種類および性質は第 17 表に示した通りである。

実験結果

硝化作用抑制剤の種類とその添加濃度、菌数富化処理後の各土壤の硝化菌数および incubation 後の硝化率を示せば第 18 表の通りである。先ず無処理区の硝化率についてみると、高田、福山 (畑)、大曲および善通寺 (畑) 土壤以外はいずれも著しく高い硝化率を示した。なお福山 (畑) 土壤では亜硝酸の集積が認められた。無処理区の硝化率と土壤中の硝化菌数との間に一定の関係は見られなかつた。つぎに各硝化作用抑制剤の抑制効果についてみると、アジ化ソーダは琴似 (畑) 土壤を除くい

Table 17. Some properties of soils.

Location	Kinds of field	Texture	pH		Maximum water capacity %	Number of organisms 10 ³ /g dry soil		Geology
			KCl	H ₂ O		Ammonium-oxidizing	Nitrite-oxidizing	
Memuro	Upland	SL	5.3	5.9	112.5	12	5.7	Volcanic ash soil
Kotoni	Upland	SCL	4.3	5.3	85.0	12	5.1	Alluvial soil
	Lowland	SCL	4.8	5.6	128.1	30	6.8	Alluvial soil
Omagari	Lowland	LiC	4.3	5.2	116.8	0.03	0.03	Alluvial soil
Kuriyagawa	Upland	L	5.4	6.0	155.6	1.5	0.3	Humus volcanic ash soil
	Lowland	L	5.4	6.1	151.0	25	12	Humus volcanic ash soil
Takada	Lowland	LiC	4.3	5.4	62.1	0.02	0.02	Alluvial soil
Konosu	Upland	CL	4.8	5.9	57.3	6.3	4.2	Alluvial soil
	Lowland	CL	4.9	5.7	108.4	26	4.5	Alluvial soil
Ishinden	Upland	CL	6.2	6.8	57.5	6.3	4.1	Alluvial soil
	Lowland	SiCL	4.2	4.8	79.6	0.05	0.05	Alluvial soil
Fukuyama	Upland	SL	4.6	5.6	35.6	0.83	0.83	Coluvial soil
	Lowland	CL	4.6	5.4	72.9	2.9	2.9	Alluvial soil
Zentsuji	Upland	L	4.7	5.4	43.2	0.37	0.37	Alluvial soil
	Lowland	L	5.3	6.1	54.2	0.38	0.38	Alluvial soil
Yamaguchi	Upland	SL	5.6	6.4	55.0	6.1	2.7	Alluvial soil
	Lowland	SL	4.7	5.6	71.5	12	4.7	Alluvial soil
Futsukaichi	Lowland	SL	5.1	6.0	50.5	37	37	Alluvial soil
Isahaya	Lowland	LiC	4.6	5.6	97.6	3.3	3.3	Alluvial soil
Yufuin	Lowland	CL	4.9	5.3	112.9	7.6	5.1	Humus volcanic ash soil
Fukuoka	Lowland	SiL	5.4	6.2	84.5	3.1	1.7	Alluvial soil
Kagoshima	Upland	SiL	6.4	7.0	109.9	29	9.4	Humus volcanic ash soil
	Lowland	SL	4.8	5.7	95.4	4.8	4.8	Alluvial

Remark: Soils were taken mainly from fields of Regional or Prefectural Agric. Exp. Stations.

れの土壌においても著しい硝化抑制作用を示し、厨川（水田）、福山（畑）および鹿児島（畑）土壌では少量の亜硝酸の集積が認められた。

ジシアンチアマイドは芽室、厨川、福山（畑）、諫早および由布院土壌において抑制作用が弱かったが、その他の土壌では高い抑制効果を示した。

ベーパムの硝化抑制作用は琴似（水田）、大曲、厨川（畑）、高田、一身田（水田）、福山（畑）、および福岡土壌で著しく強かった。なお福山（畑）土壌では亜硝酸の集積が認められた。

モノヨード醋酸は芽室、厨川、由布院および鹿児島（畑）土壌では抑制効果がなく、琴似（畑）および諫早土壌ではやや効果が劣ったが、その他の土壌では著しい抑制効果を示した。なお福山（畑）、二日市および福岡土壌では亜硝酸の集積が認められた。

塩素酸ソーダは厨川（水田）、諫早および山口（水田）土壌以外の土壌で強い抑制作用を示した。芽室、琴似（水田）、福山（畑）、善通寺（水田）、山口（畑）、二日市、由布院および鹿児島（畑）土壌において亜硝酸の集積が認められた。なお芽室、琴似（畑）、一身田（水田）、由布院および鹿児島（畑）土壌では添加窒素の回収率が他の土壌に比して低かった。

醋酸フェニール水銀の抑制効果は鹿児島、福山（畑）および福岡以外の土壌では大であった。なお厨川土壌では亜硝酸の集積が認められたが、この土壌の添加窒素の回収率は他の土壌の場合に比して低かった。

第5節 考 察

土壌水分の硝化作用に及ぼす影響について ROBINSON¹²²⁾ は Kenya 土壌を用いて試験し、土壌水分

Table 18. Effect of inhibitors on nitrification in soils from various regions.

Location	Kinds of field	Nitrification rate, %							Number of organisms 10 ³ /g dry soil	
		Sodium azide (50)*	Dicyano-diamide (40)*	Vapam (60)*	Iodoacetic acid (75)*	Sodium chlorate (100)*	Phenyl-mercuric acetate (150)*	Check	Ammonium oxidizing	Nitrite oxidizing
Memuro	Upland	3	79	88	94	21	29	96	48	23
Kotoni	Upland	65	42	72	57	12	19	93	44	48
	Lowland	7	8	4	11	16	28	95	71	29
Omagari	Lowland	1	1	2	9	8	3	71	46	46
Kuriyagawa	Upland	4	91	18	95	6	29	94	37	37
	Lowland	3	75	46	94	79	19	97	140	83
Takada	Lowland	0	0	0	23	16	1	36	43	43
Konosu	Upland	2	8	39	0	12	20	94	12	5.4
	Lowland	0	17	79	8	29	10	93	47	7.8
Ishinden	Upland	0	5	63	0	25	38	94	41	15
	Lowland	0	1	20	6	2	3	95	59	3.0
Fukuyama	Upland	4	22	25	7	2	26	27	37	26
	Lowland	6	27	7	8	27	8	89	210<	190
Zentsuji	Upland	0	1	29	0	26	14	75	100	62
	Lowland	0	0	43	4	14	32	96	62	40
Yamaguchi	Upland	1	35	67	26	23	33	96	110	110
	Lowland	0	8	47	3	57	2	99	65	42
Futsukaichi	Lowland	0	13	53	6	10	37	94	210	49
Isahaya	Lowland	0	92	92	44	72	35	97	77	77
Yufuin	Lowland	0	95	81	90	15	8	95	280	280
Fukuoka	Lowland	3	34	6	5	28	54	97	7.9	6.7
Kagoshima	Upland	3	36	92	93	17	56	94	110	110
	Lowland	1	23	45	12	15	74	97	44	44

Remarks: * Concentration in ppm on dry soil.

Nitrogen added; Urea, 25 mg of nitrogen per 100 g dry soil.

Soil moisture; 60 % of maximum water capacity.

Soil reaction; pH 6.5

Temperature of incubation; 30°C

Incubation period; 2 weeks

が永久萎凋点の 5/6 以下になると硝化作用が停止することを明らかにした。WAHHAB ら¹⁷⁸⁾は砂壤土および砂土において、最大容水量からその 4 分の 1 までの水分の範囲では、土壤水分が増加するほど硝化作用が増進することを認めた。坂井ら¹³⁴⁾が数種の土壤を用いて試験した結果では、いずれの土壤も容水量の 80 % で硝化が最高になつた。原田ら⁵⁵⁾は最大容水量の 65~75 % の場合に硝化作用は旺盛であるが、45 % では著しく低下することを報告した。また GASSER⁴⁸⁾は圃場において乾燥した場合には、与えた硫酸アンモニアの硝化作用は著しく遅れることを認めた。このようにある土壤水分の範囲内では、土壤水分の多いことは硝化菌の活動に好適であると思われる。また硝化作用抑制剤の土壤水中における濃度は土壤水分の増加に伴い減少するので、その結果土壤水分の増加により硝化作用抑制剤の効果は低下するものと考えられる。またガス化によつて殺菌効果を顕わすような物質は土壤水分の増加によりガス化率が低下し毒性を減ずる場合がある¹³⁾。第 12 表の成績によれば、無処理区において最大容水量の 45~75 % の範囲ではいずれも 2 週間の incubation により添加した窒素のほとんどが硝化された。しかしこれは、この水分の範囲内において硝化速度が同じであるということを示すものではない。硝化作用抑制剤を添加した場合には土壤水分の低いほど抑制効果が大きであつた。これは土壤水分の低下による硝化菌の activity の減少と土壤水中の薬剤濃度の増加によるものと思わ

れる。土壌水分の相違による硝化作用抑制効果の差は抑制剤の種類によつて異なるが、それは硝化菌の **activity**、抑制剤の作用力、土壌中における塩類の影響などが相関連した結果であると考えられる。

硝化菌の生育に好適な水素イオン濃度は亜硝酸菌と硝酸菌とでやや異なるが、いずれも微アルカリ性を好むと言われている⁵⁾⁹²⁾⁹⁷⁾¹²⁹⁾¹⁸⁴⁾。硝化作用は一般に酸性土壌において低く⁹⁾⁴⁴⁾⁴⁷⁾⁵⁵⁾⁹³⁾¹⁰³⁾¹²³⁾¹⁵⁶⁾、**pH 4** 以下では完全に阻害されることがある¹⁰⁴⁾。また土壌反応を中性より微アルカリ性にすると亜硝酸の蓄積が見られることが報告されているが⁶⁾⁹⁸⁾¹²⁴⁾¹²⁹⁾¹⁵⁶⁾¹⁵⁹⁾¹⁷⁴⁾、これは亜硝酸菌と硝酸菌の **activity** に不均衡を生じた結果であると考えられる¹⁰³⁾¹²⁹⁾。第2節の実験は土壌の **pH** を 5.2, 6.5 および 7.8 の3段階にして行つたものであるが、この土壌反応の開きは **incubation** 後には狭くなつた。これは土壌自身の有する **pH** 緩衝能と、**incubation** 期間中に生じたアンモニアおよび硝酸の影響によるものと思われる。無処理区において **pH 7.8** では **incubation** 後の土壌中にアンモニアの存在を認めなかつたが、又一方添加窒素の回収率も低かつた。これは高 **pH** におけるアンモニアの損失⁹⁾、亜硝酸の一時的集積に伴う脱窒作用の増加²⁵⁾²⁹⁾¹³²⁾¹⁷³⁾ などに起因するものと思われる。硝化作用抑制剤を添加した場合はいずれも高 **pH** において抑制効果が低下しているが、その原因の一つは高 **pH** における硝化菌の **activity** の増大であろう。高 **pH** においてアジ化ソーダ、ベーパム、塩素酸ソーダおよび醋酸フェニール水銀は亜硝酸を集積せしめたが、これはこれらの薬品が高 **pH** において亜硝酸菌と硝酸菌の **activity** の不均衡を惹起せしめた結果であると思われる。とくに塩素酸ソーダおよび醋酸フェニール水銀区の亜硝酸集積量は大きであつたが、これはこれらの薬品が硝酸菌に対してとくに強い毒性を示した結果であると考えられる。アジ化ソーダについては第III章において、その硝化抑制作用の主因がアンモニアより亜硝酸への酸化過程にあることを指摘した。しかるに高 **pH** においては土壌中に亜硝酸を集積し、また硝化作用抑制効果は著しく低下するので、高 **pH** におけるその作用機作は低 **pH** の場合と異なるものと思われる。モノヨード醋酸は高 **pH** において硝化作用抑制効果が著しく低下したが、これは高 **pH** における硝化菌の **activity** の増加、およびモノヨード醋酸の不活性化によるものと考えられる。

土壌の硝化作用は土壌中の硝化菌数が増加するにしたがい旺盛になる⁴⁵⁾¹⁸¹⁾¹⁸³⁾。したがつて硝化作用抑制剤の効果は硝化菌数の多い場合より少ない場合に高くなるものと考えられる。このことは第15表および第16表の成績から明らかであつて、硝化作用抑制剤添加区はデシアンチアマイド区（福岡土壌）を除いていずれも硝化菌数の少ない場合に硝化作用抑制効果が大きであつた。硝化菌数富化処理によつて福岡土壌では亜硝酸菌数は原土壌の2倍余となり、硝酸菌数は約4倍に増加した。そのため原土壌において亜硝酸の集積する塩素酸ソーダおよび醋酸フェニール水銀区は、菌数富化土壌では亜硝酸の集積が認められなかつた。デシアンチアマイドは亜硝酸菌に対して特異的に作用するが、この程度の亜硝酸菌数の増加では抑制効果に影響がないものと思われる。諫早土壌においては菌数富化処理により亜硝酸菌数および硝酸菌数はともに原土壌の20倍以上に増加し、福岡土壌の約10倍になつたが、このような土壌においてデシアンチアマイドおよび塩素酸ソーダは硝化作用を抑制しなかつた。LEESら⁸⁷⁾は塩素酸カリの硝化作用抑制効果が菌数飽和土壌において消失することから、この化合物は硝酸菌に対して静菌的 (**Bacteriostatic**) に働くと推定した。本実験の結果によれば、デシアンチアマイドの作用は亜硝酸菌に対して静菌的に働くものと思われる。

土壌の硝化速度は土壌水分、土壌反応、硝化菌数などにより異なるが、その他土性¹¹⁶⁾¹²⁷⁾¹⁷⁷⁾、土壌構造⁵²⁾、腐植⁶⁵⁾¹³⁰⁾¹³²⁾、粘土⁵⁰⁾⁶⁵⁾、緩衝能力²⁰⁾²⁵⁾、地質²⁾、土壌型²⁾¹⁵¹⁾、施肥来歴¹¹⁶⁾¹³⁰⁾、耕地の種類⁹⁵⁾ などによつても異なる。また2,4-Dおよびベーパムの土壌中における行動に関する試験の結果によれば、土壌に加えた薬剤の効力は土壌による吸着、固定、移動¹⁶⁴⁾¹⁶⁵⁾¹⁶⁶⁾、分解および揮散¹³⁾の難易によつて

異なるようである。硝化菌に対する硝化作用抑制剤の効果は硝化菌と土壌、および硝化作用抑制剤と土壌との関係によつて支配され、したがつて土壌の種類による硝化作用抑制剤の効果は抑制剤の種類により変動するものと考えられる。これらの関係を解明する手掛りを得るため、全国各地の畑および水田土壌について硝化作用抑制剤の効果と比較検討した。供試土壌の硝化菌数は第 17 表に示したごとく土壌の種類によつて著しく異つた。よつて土壌の硝化作用を十分強力にするため、実験に用いる前に予め菌数富化処理を行つた。それにより土壌中の亜硝酸菌数は第 18 表に示すごとく乾土 1g 当り 8×10^3 以上となり、硝酸菌数も著しく増加した。第 17 表および第 18 表から明らかなごとく、原土壌の硝化菌数の少ない土壌は菌数富化処理後の硝化作用も他の土壌より劣つた。これらの土壌では菌数富化処理後の土壌中の硝化菌数は他の土壌に比して少なくないので、硝化作用の劣る原因の一部は硝化菌の activity にあると思われる。その他の多くの土壌においては硝化菌数の多少に拘らず、2 週間の incubation により、添加した尿素のほとんどが硝化された。

土壌の種類と硝化作用抑制剤の効果との関係についてみると、琴似（水田）、大曲、高田、鴻巣（畑）、一身田（水田）、福山（水田）および善通寺土壌では、実験に用いた硝化作用抑制剤のいずれも著しい抑制効果を示した。その他の土壌では硝化作用抑制剤の種類により効果の少ないものがあつたが、供試した硝化作用抑制剤の全てが抑制作用を示さない土壌はなかつた。

各硝化作用抑制剤について土壌の種類による抑制効果を比較すればつぎのようである。すなわちアジ化ソーダは琴似（畑）土壌以外のいずれの土壌においても強い抑制作用を示した。その他の硝化作用抑制剤は土壌の種類により効果の少ないものがあつたが、多くの土壌で強い抑制作用を示した。硝化作用抑制剤の効果の大小と地域差または畑と水田の相違との間には一定の関係が見られなかつた。ただしモノヨード醋酸は芽室、厨川、由布院、鹿兒島（畑）などの腐植質火山灰土壌において抑制効果がなく、その他の土壌では強い抑制作用を示した。

以上のごとく土壌の種類により硝化作用抑制剤の効果に著しい差異のあることは抑制剤の農業への利用に當つて注意を要する点であつて、その原因の究明は今後の研究に俟たなければならない。

第 V 章 湛水土壌における脱窒防止に対する 硝化作用抑制剤の添加効果

硝化作用抑制剤の土壌への添加は、硝化菌ばかりでなく、他の土壌微生物や植生に対しても影響を及ぼす場合があるものと考えられる。硝化作用抑制剤の農業への利用は主として水田における窒素の流亡および脱窒防止を目的としたものである。よつて本章においては土壌有機態窒素の無機化および添加窒素の脱窒に及ぼす硝化作用抑制剤の影響について検討し、また硝化作用抑制剤添加尿素肥料の脱窒防止効果を水稻栽培試験により確かめようとするものである。

第 1 節 硝化作用抑制剤の種類と土壌有機態窒素の無機化

土壌有機態窒素の無機化に及ぼす硝化作用抑制剤の影響を畑および湛水状態において検討した。

実験方法

まず畑状態の場合は、pH を 6.5 に調整した福岡土壌の乾土 20 g 相当量の湿潤細土に硝化作用抑制剤を乾土当り 100 ppm になるように添加した。なおアジ化ソーダは 50 ppm、デシアンチアマイドおよびベーパムは 25 ppm 区を併設した。ついで土壌水分を最大含水量の 60% に調整したのち、30°C の恒温室に静置し、経時的に土壌中の各種無機態窒素を定量した。

つぎに湛水状態の場合は筑後水田表土（沖積層、埴土）の風乾土を用い、その乾土 20 g 相当量を直径 2 cm、長さ 13 cm のガラス管壘に秤取した。これに供試薬品を乾土当り 100 ppm になるように添

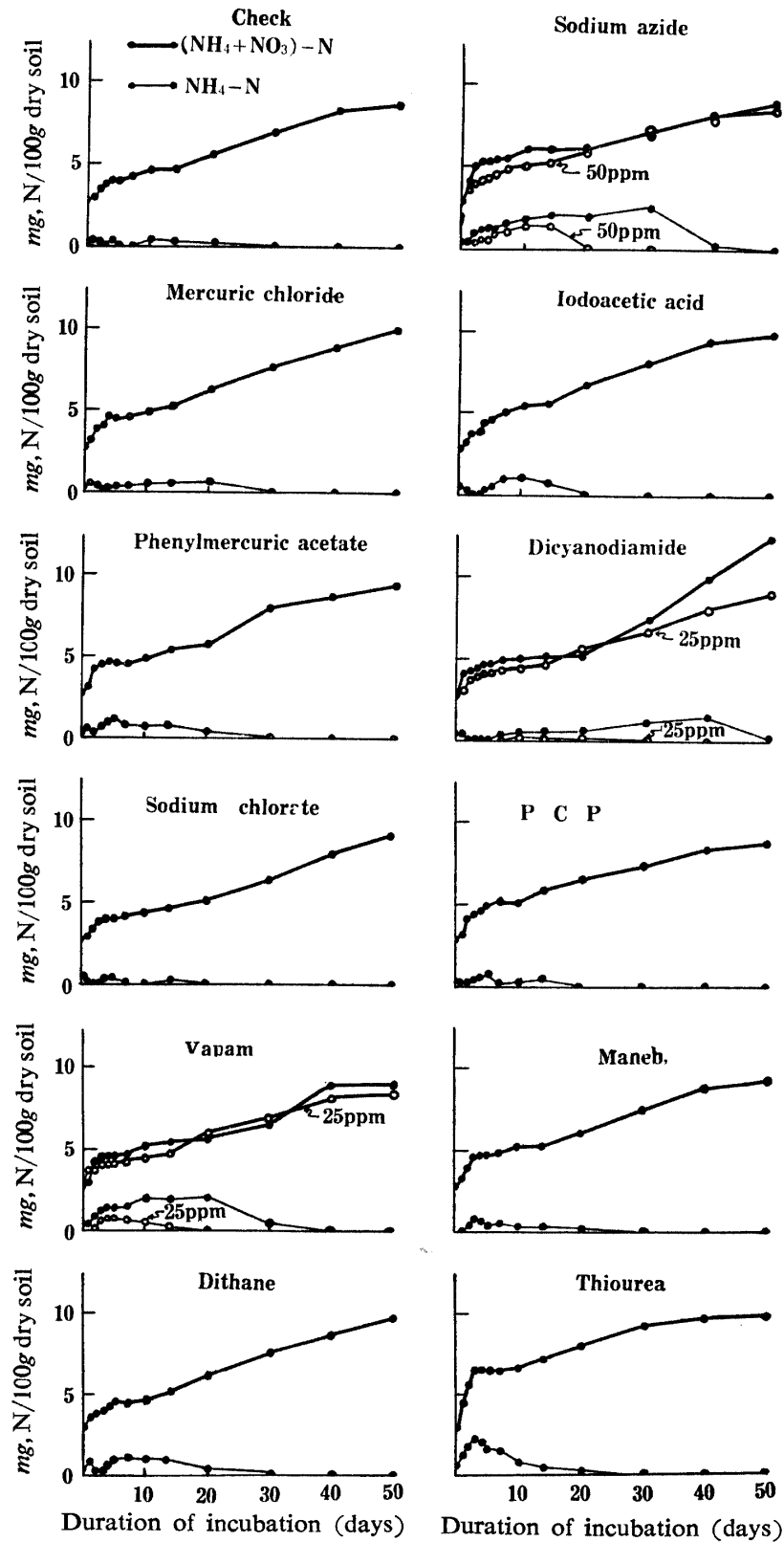


Fig. 5. Course of the accumulation of inorganic nitrogen in soils added with nitrification inhibitors.

Remark: Nitrification inhibitors added; 100 ppm on dry soil (besides, dicyanodiamide, vapam: 25 ppm, sodium azide: 50 ppm).

加し、さらに水 25 ml を加えて密栓し、30°C に 4 週間 incubation を行つた。incubation を終つた土壤に全液量が 200 ml, 塩化カリの濃度が 1 規定になるように適当量の塩化カリ溶液を加え、1 時間振盪したのち液中のアンモニア態窒素を定量した。

実 験 結 果

畑状態における土壤中の無機態窒素およびアンモニア態窒素の生成量を図示すれば第 5 図の通りである。この図から明らかなごとく、土壤中における無機態窒素の集積量は incubation 日数とともに増加したが、硝化作用抑制剤を添加した場合は、塩素酸ソーダ区を除いていずれも incubation 初期のアンモニア集積量が無処理区より大であつた。incubation 30 日目において無処理区にはアンモニア態窒素が存在しなかつたが、アジ化ソーダ (100 ppm), デシアンチアマイドおよびベーパーム (100 ppm) 区にはアンモニア態窒素が存在した。incubation 30 日目における土壤の無機態窒素量についてみると、塩素酸ソーダ区は無処理区より少なかつたが、昇汞、醋酸フェニール水銀、アジ化ソーダ (50 ppm), モノヨード醋酸, デシアンチアマイド (100 ppm), ダイセン, マネブおよびチオ尿素区は無処理区より多かつた。incubation 50 日目にはデシアンチアマイド (100 ppm) 区に少量のアンモニアの存在が認められた以外は、土壤中の無機態窒素は全て硝酸態であつた。incubation 50 日目の土壤の無機態窒素量を無処理区に比較すると、デシアンチアマイド (100 ppm) 区は著しく多く、昇汞、醋酸フェニール水銀、モノヨード醋酸, ダイセン, マネブおよびチオ尿素区も多かつたが、その他の区は無処理区と大差がなかつた。

湛水状態における土壤のアンモニア集積に及ぼす各種薬剤の影響について示せば第 19 表の通りである。すなわちアジ化ソーダ区は無処理区に比してアンモニア集積量が少なかつたが、ウスプルン, リオゲン, チオ尿素, シアン化カリ, トリクロール醋酸, モノヨード醋酸, デシアンチアマイド, ベーパームおよびダイセン区のアンモニア集積量は無処理区より多く、ダイアジノン, 2, 4-D, PCP, 塩素酸ソーダおよびマネブ区は無処理区とほぼ同じであつた。このうちとくにデシアンチアマイドおよびシアン化カリの添加は土壤中に多量のアンモニアを集積せしめた。

Table 19. Ammonium nitrogen produced under the flooded condition in soil added with some chemicals or pesticides.

Chemicals and pesticides added	Ammonium nitrogen, mg/100g dry soil	Index	Chemicals and pesticides added	Ammonium nitrogen, mg/100g dry soil	Index
Diazinon	10.5	99	Potassium cyanide	12.9	122
2, 4-D	10.6	100	Dicyanodiamide	16.0	151
PCP	10.6	100	Trichloroacetic acid	11.3	107
Sodium chlorate	10.6	100	Iodoacetic acid	11.4	108
Uspulun	12.4	117	Vapam	12.2	115
Riogen	11.7	110	Dithane	11.2	106
Thiourea	11.9	112	Maneb	10.8	102
Sodium azide	9.5	90	None	10.6	100

Remarks: Soil used; Air dried soil from well drained paddy field at Chikugo (Alluvial, clayey soil).
Chemicals and pesticides added; 100 ppm on dry soil.
Temperature of incubation; 30°C
Incubation period; 4 weeks

第 2 節 硝化作用抑制剤の種類と添加窒素の損失

土壤に添加した窒素の脱窒に及ぼす硝化作用抑制剤の影響を知るため、つぎの実験を行つた。

実験方法

福岡土壤の乾土 20 g 相当量の湿潤細土をそれぞれ直径 3 cm および 2 cm のガラス管壘に秤取し、これに N として 2 mg 相当量の尿素および乾土当り 100 ppm の硝化作用抑制剤を添加した。さらに 25 ml の水を加えて内容物を混和したのち、小孔を穿つたポリエチレン薄膜で蔽い、30°C に 4 週間 incubation を行つた。土層の厚さは大口径管が 3.5 cm, 小口径管が 7.0 cm であり、水層の厚さは前者が 2.0 cm, 後者が 4.5 cm であつた。incubation を終つた土壤には、全液量が 200 ml, 塩化カリの濃度が 1 規定になるように適当量の塩化カリ溶液を加え、1 時間振盪したのち液中の各種無機態窒素を定量した。

実験結果

得られた結果は第 20 表の通りである。すなわち、無処理区において厚層 (7.0 cm) の場合は添加窒

Table 20. Influence of inhibitors on denitrification in soil.

Chemicals and pesticides added	Depth of soil layer cm	Inorganic nitrogen, mg/100 g dry soil			
		NH ₄ -N	NO ₂ -N	NO ₃ -N	Sum
Sodium azide	7.0	9.0	0	0.1	9.1
	3.5	9.0	0	0	9.0
	Difference	0	0	0.1	0.1
Dicyanodiamide	7.0	6.8	0.5	0.3	7.6
	3.5	7.9	0.3	0.1	8.3
	Difference	-1.1	0.2	0.2	-0.7
Vapam	7.0	8.9	0	0.2	9.1
	3.5	8.7	0	0.2	8.9
	Difference	0.2	0	0	0.2
Iodoacetic acid	7.0	5.7	0	1.1	6.8
	3.5	4.1	0	1.0	5.1
	Difference	1.6	0	0.1	1.7
Sodium chlorate	7.0	4.9	0	1.7	6.6
	3.5	3.0	0	1.5	4.5
	Difference	1.9	0	0.2	2.1
Phenylmercuric acetate	7.0	8.8	0	0.1	8.9
	3.5	8.8	0	0	8.8
	Difference	0	0	0.1	0.1
Dithane	7.0	8.8	0	0.2	9.0
	3.5	8.9	0	0	8.9
	Difference	-0.1	0	0.2	0.1
Maneb	7.0	9.2	0	0	9.2
	3.5	8.9	0	0	8.9
	Difference	0.3	0	0	0.3
Thiourea	7.0	8.8	0	0	8.8
	3.5	8.3	0	0	8.3
	Difference	0.5	0	0	0.5
None	7.0	4.3	0	1.1	5.4
	3.5	4.1	0	0.3	4.4
	Difference	0.2	0	0.8	1.0

Remarks: Nitrogen added; Urea, 10 mg of nitrogen per 100 g dry soil.
 Nitrification inhibitors added; 100 ppm on dry soil.
 Temperature of incubation; 30°C
 Incubation period; 4 weeks

素の約 50%，薄層 (3.5 cm) の場合は約 40% が土壌中に残存した。硝化作用抑制剤を添加した場合は厚層，薄層のいずれも土壌中の無機態窒素残存量は増加した。醋酸フェニール水銀，アジ化ソーダ，ベーパム，ダイセン，チオ尿素およびマネブ区の無機態窒素残存量は添加窒素量の約 90% (チオ尿素薄層区は約 80%) であつたが，塩素酸ソーダ，ヂシアンジアמידおよびモノヨード醋酸区はそれより少なかつた。塩素酸ソーダ，モノヨード醋酸および無処理区ではかなりの量の硝酸が生成し，またヂシアンジアמיד区は亜硝酸が検出された。土層の厚さと無機態窒素残存量との関係についてみると，ヂシアンジアמיד区を除いていずれも厚層の場合が薄層の場合より無機態窒素残存量が多かつた。土層の厚薄による無機態窒素残存量の差は，残存量の多い醋酸フェニール水銀，アジ化ソーダ，ベーパム，ダイセン，チオ尿素およびマネブ区が残存量の少ない塩素酸ソーダ，モノヨード醋酸および無処理区より小さかつた。

第 3 節 硝化作用抑制剤添加尿素肥料の水稻に対する肥効

硝化作用抑制剤の農業への利用の一例として，尿素肥料とともに土壌に添加した硝化作用抑制剤の硝化作用抑制効果および水稻に対する肥効増進効果を検討するためポット試験を行つた。

試験方法

福岡土壌の湿潤土 2.0 kg (乾土 1.5 kg) を秤取し，炭酸石灰を加えて pH (KCl) を 6.5 に調整した。これに N として 300 mg 相当量の尿素および適当量の硝化作用抑制剤を同時に加え，土壌水分を最大容水量 (80.2%) の 60% に調整したのち，ポリエチレン製袋に入れ，6月18日より28日まで 10日間室内に静置した。この期間の室温は 25~32°C であり，土壌水分の減少はほとんどなかつた。硝化作用抑制剤の添加濃度は予め室内実験により，水稻挿秧後 10日以内に枯死しなかつた最大濃度である。供試薬品の種類および添加濃度はつぎの通りである。アジ化ソーダ；30 ppm，ヂシアンジアמיד；50 ppm，ベーパム；25 ppm，ダイセン；100 ppm，醋酸フェニール水銀；100 ppm，塩化フェニール水銀；100 ppm。なお対照として尿素を加えず，硝化作用抑制剤の添加濃度その他の条件を上記と同じくした区を設けた。incubation を終つた土壌は，予め 1.5 kg の福岡土壌 (湿潤土) を入れた 1/5000 アールワグネルポットに移し，1,500 ml の水を加えて一夜放置した。翌日ポットの下部排水口より 500 ml の水を排出せしめ，上部に同量の水を注加した。このようにして 1日 1回 500 ml ずつ 4日間にわたつて合計 2,000 ml の滲透水を採り，その中の各種無機態窒素を定量した。

排水処理を終つた土壌に P₂O₅，K₂O としてそれぞれ 750 mg を燐酸一カリおよび燐酸二カリを用いて添加したのち，水稻西海 61 号を 7月2日に挿秧 (ポット当り 1株，2本植え) した。生育期間中に数回生育調査を行い，10月28日に収穫して収量および収穫物中の全窒素量を測定した¹⁶²⁾。

試験結果

a. 施肥後 10日目灌水による窒素の流亡に及ぼす硝化作用抑制剤添加効果

滲透水中の各種無機態窒素量は第 21 表に示した通りである。すなわち滲透水中の無機態窒素は主として硝酸態であるが，尿素を添加した場合は硝化作用抑制剤の添加によりいずれも無処理区に比して無機態窒素の流出量が少なく，とくにヂシアンジアמיד，ベーパムおよびダイセン区は添加窒素の流出が著しく抑制された。醋酸フェニール水銀および塩化フェニール水銀区では比較的多量の亜硝酸の流出が見られた。尿素無添加区についてみると，ダイセン区以外の硝化作用抑制剤添加区はいずれも滲透水中の無機態窒素量が無処理区より大であつた。

b. 水稻の生育，収量および窒素吸収量に及ぼす硝化作用抑制剤添加効果

水稻の生育期間中における草丈および茎数の推移は第 6 図に示した通りである。先ず尿素添加区についてみると，ヂシアンジアמידおよびダイセン区は無処理区に比して草丈の伸長がやや劣つた

Table 21. Influence of inhibitors on the loss of nitrogen applied to soil through percolation with water.

Chemicals and pesticides added	Concentration (ppm on dry soil)	Urea	Inorganic nitrogen in percolated water, mg in 2,000 ml				Difference between the addition and the nonaddition of urea	
			NH ₄ -N	NO ₂ -N	NO ₃ -N	Sum	mg	Index
Sodium azide	30	Added	2.7	0.3	110.9	113.9	84.0	45
		None	0.4	Trace	29.5	29.9		
Dicyanodiamide	50	Added	6.5	Trace	44.7	51.2	20.5	11
		None	0.1	Trace	30.6	30.7		
Vapam	25	Added	6.0	Trace	44.6	50.6	23.8	13
		None	0.3	Trace	26.5	26.8		
Dithane	100	Added	6.7	0.2	27.7	34.6	11.1	6
		None	0.6	Trace	22.9	23.5		
Phenylmercuric acetate	100	Added	2.3	2.3	159.6	164.2	132.9	71
		None	0.4	Trace	30.9	31.3		
Phenylmercuric chloride	100	Added	3.4	2.0	139.8	145.2	111.6	59
		None	0.4	Trace	33.2	33.6		
None	—	Added	0.5	0.1	213.4	214.0	187.6	100
		None	0.2	Trace	26.2	26.4		

Remarks: Pot; 1/5000 a

Weight of soil used; 2.0 Kg (1.5 Kg dry soil)

Nitrogen applied; Urea, 300 mg of nitrogen per pot.

Replication; 3

Table 22. Yield and absorbed nitrogen.

Chemicals and pesticides added	Concentration (ppm of dry soil)	Urea	Grain* g/pot	Immature ear* g/pot	Relative yield of grain	Weight* of 1000 grains g	Straw** g/pot	Amounts of absorbed nitrogen mg/pot	Rate of absorbed nitrogen %
Sodium azide	30	Added	19.5	0.3	137	24.3	17.8	358	35
		None	14.2	0.2	100	24.9	12.2	254	
Dicyanodiamide	50	Added	25.8	0.3	182	24.6	24.4	474	63
		None	15.9	0.2	112	24.2	13.8	285	
Vapam	25	Added	25.8	0.2	182	25.9	23.3	415	50
		None	14.6	0.1	103	25.0	12.4	265	
Dithane	100	Added	27.8	0.2	196	25.0	24.1	471	63
		None	15.9	0.1	112	24.6	13.8	281	
Phenylmercuric acetate	100	Added	19.1	0.1	135	25.7	17.7	323	6
		None	17.8	0.2	125	24.6	14.8	306	
Phenylmercuric chloride	100	Added	22.7	0.2	160	25.2	19.4	369	18
		None	19.0	0.2	134	24.9	15.2	314	
None	—	Added	14.2	0.1	100	25.1	12.8	244	1
		None	13.1	0.2	92	26.6	11.7	240	

Remarks: * Weights of these were calculated on the basis of moisture of 13 per cent.

** Dry matter

が、その他の硝化作用抑制剤添加区はいずれも無処理区と大差なかつた。茎数は硝化作用抑制剤添加区が無処理区より大であつたが、その差は最高分蘗期においてとくに著しかつた。無処理区に比して茎数のとくに多いのは、ヂシアンチアמידおよびダイセン区であつた。つぎに尿素無添加区についてみると、草丈は硝化作用抑制剤添加区が無処理区よりやや低い傾向を示したが、茎数は硝化作用抑制剤添加区が無処理区より大であつた。

水稻の収量および窒素吸収量は第22表に示す通りである。精粒重についてみると、尿素添加の場合は硝化作用抑制剤の添加によりいずれもその量が増加したが、ヂシアンチアמיד、ベーパム、ダイセンおよび塩化フェニール水銀区においてとくに顕著であつた。尿素無添加区においても硝化作用抑制剤の添加により精粒重が増加し、醋酸フェニール水銀および塩化フェニール水銀区ではその増加量がとくに大であつた。なお藁重および窒素吸収量についても精粒重の場合と同じ傾向を示した。各硝化作用抑制剤添加区および無処理区について、尿素添加区と尿素無添加区の窒素吸収量の差の添加窒素量に対する割合を窒素吸収率として算出すると、硝化作用抑制剤添加区はいずれも無処理区に比して高い窒素吸収率を示した。とくにヂシアンチアמיד、ベーパムおよびダイセン区の窒素吸収率は他の区に比して著しく高かつた。

第4節 考 察

土壤有機態窒素の無機化は多くの種類の微生物によつて行われる過程であり、無機態窒素の有機化も微生物の作用によるものである。したがつて二つの異つた時期における土壤中の無機態窒素量の差を無機態窒素生成量とすれば、それは二つの逆の過程の差引である¹⁶⁾。土壤の部分殺菌処理はこの二つの過程に同時に影響するものと考えられる。

一般に土壤の部分殺菌処理は土壤中のアンモニア濃度を高め、ついで生じたアンモニアは硝酸に変化すると言われている⁹⁴⁾¹²⁵⁾¹²⁶⁾。RUSSELら¹²⁵⁾¹²⁶⁾はその原因を、(1) 処理土壤におけるアンモニア生成量の増大、または、(2) アンモニアを消費する硝化菌以外の菌の殺菌処理による除去にあるとした。農業薬剤の土壤微生物に対する影響については深い関心もたれ、多数の研究がなさ

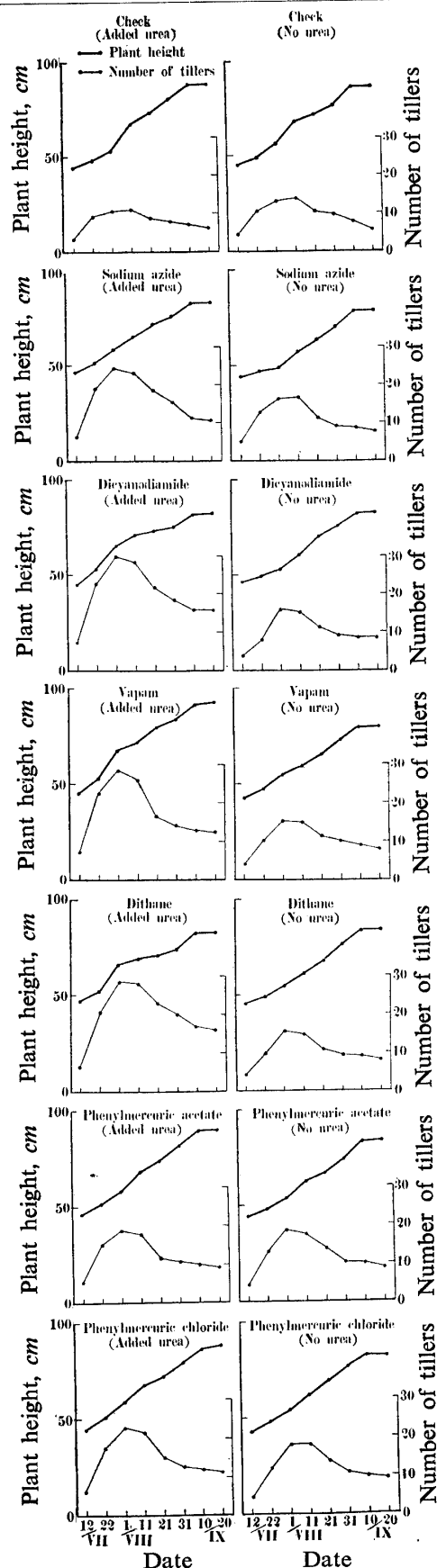


Fig. 6. Growth of rice plants.

れた¹⁵⁹⁾。土壌中におけるアンモニア化成は農業薬剤の通常の施用量以下では影響を受けないが²¹⁾⁸⁹⁾⁷⁸⁾⁷⁹⁾¹¹²⁾¹⁵⁴⁾¹⁸⁵⁾、高濃度の場合には影響を受けることがある⁶⁷⁾⁷⁶⁾¹³⁷⁾。農業薬剤の土壌への添加は土壌中の微生物間の数的平衡を変え⁶⁸⁾⁷⁶⁾¹³⁶⁾、その結果土壌中の無機態窒素量が増加¹¹⁾⁷⁹⁾¹²⁵⁾¹⁶⁰⁾または減少する⁶³⁾⁷⁶⁾。農業薬剤を硝化作用抑制剤として用いる場合には通常の施用量よりかなり多量に用いなければならないので、土壌有機態窒素の無機化に対する影響を無視することは出来ない。第5図は畑状態における土壌有機態窒素の無機化に及ぼす硝化作用抑制剤の影響について示したものである。この図に見られるごとく、硝化作用抑制剤の土壌への添加は **incubation** 初期における土壌中のアンモニア集積量を増加せしめた。これは硝化作用抑制剤により死滅した硝化菌および他の土壌微生物の分解によるものと思われる。ただし塩素酸ソーダおよびヂシアンジアמיד区のアンモニア集積量は無処理区と差がなかった。チオ尿素区は **incubation** 3日目までに土壌中の無機態窒素量が急速に増加したが、その一部はチオ尿素自身の分解によるものと思われる。COWIE³⁰⁾はヂシアンジアמידの硝化は施用後数カ月間認められなかったと報告している。本実験の結果によれば、ヂシアンジアמיד (100 ppm) 区において **incubation** 20日以後に土壌中のアンモニアが増加し、40日目に最高となり、50日目には減少した。また土壌中の無機態窒素量も **incubation** 20日以後に急速に増加し、50日目には無処理区より約 40% 多くなった。これはヂシアンジアמידの一部が分解したことによるものと思われる¹⁰⁶⁾¹⁰⁾。

incubation 30日目の土壌中の無機態窒素量についてみると、塩素酸ソーダ区以外の硝化作用抑制剤添加区はいずれも無処理区と同じかまたはそれより多かつた。すなわちこれらの硝化作用抑制剤の多くは土壌中の無機態窒素生成量を減少せしめないものと思われる。

つぎに湛水状態における土壌有機態窒素の無機化に及ぼす硝化作用抑制剤の影響について考察したい。水田土壌の有機態窒素の無機化の機構について原田⁵⁴⁾は詳細な研究を行い、土壌有機態窒素が土壌微生物によつて分解を受けやすくなるような土壌処理(乾土, 土壌反応変換, 地温上昇, 腐植解膠処理)はその無機化を促進せしめることを明らかにした。水田土壌に対する硝化作用抑制剤の添加が土壌微生物および土壌に如何なる影響を及ぼすかを知ることは、硝化作用抑制剤の水田への利用に当つて重要なことである。第19表は硝化作用抑制剤を水田土壌の風乾土に加え、湛水状態で4週間 **incubation** を行うことにより生成したアンモニア態窒素量を示したものである。この表から明らかのごとく、硝化作用抑制剤添加区の土壌のアンモニア集積量はアジ化ソーダ区をのぞいていずれも無処理区と同じかまたはそれより多かつた。ヂシアンジアמידおよびチオ尿素区のアンモニア集積量が多い原因の一つは、湛水期間中におけるこれらの薬品の分解¹⁰⁶⁾¹⁴³⁾によるものと思われる。ウスプルンおよびリオゲン区のアンモニア集積量は無処理区より多かつたが、醋酸フェニール水銀, 硝酸フェニール水銀, 塩化フェニール水銀, 昇汞などの水銀化合物について行つた **incubation** 試験の結果も同様であつた。湛水状態の土壌においては脱窒¹⁴³⁾および無機態窒素の有機化¹⁴⁶⁾が起るので、この実験結果はそれらに対する硝化作用抑制剤の影響も含まれているものと思われる。

湛水状態の土壌に添加した窒素の形態変化について塩入および青峰^{141)~145)}は詳細な研究を行い、窒素は土壌の表層部において硝酸態となり、その場合に有機物があれば脱窒を起すこと、および土層の厚薄により脱窒量に差のあることを明らかにした。また塩入および原田¹⁴⁷⁾は湛水状態において土壌に磷酸アンモニアを添加した場合は、土層上部の酸化層において硝化作用が進行するために脱窒が起り、還元層のアンモニアが拡散によつて酸化層に移行し、そのため添加窒素の大部分が脱窒することを認めた。ABICANDANIら¹⁾の実験によれば、硫酸アンモニアまたは硝酸アンモニアを湛水土壌に与えた場合に窒素の損失が急速に起り、4~5日後には痕跡程度の硝酸が残つた。同様の傾向は青木によつ

ても認められた¹⁰⁾。CADYら²⁸⁾は土壌中における嫌氣的硝酸還元は水分の増加とともに進み、加えた硝酸の83~95%に及ぶ脱窒が起つたと報告している。第20表は湛水状態の土壌に添加した尿素の脱窒に対する硝化作用抑制剤の影響をみるために、土層の深さを変えて **incubation** を行つた実験の結果である。この表から明らかなごとく、いずれの場合も硝化作用抑制剤添加区の無機態窒素残存量は無処理区より多かつた。ヂシアンヂアマイド区に亜硝酸の集積が見られたが、アンモニアの硝化に対するヂシアンヂアマイドの特異的な抑制作用(第III章参照)から考えて、この亜硝酸はアンモニアの酸化過程において生じたものではなく硝酸の還元によつて生じたものと考えられる。土壌中の無機態窒素残存量の少ない無処理、モノヨード醋酸および塩素酸ソーダ区では土層の厚薄による無機態窒素残存量の差が他の区に比して大であつた。これらの区ではアンモニアより亜硝酸への酸化過程の抑制作用がとくに弱く、したがつて亜硝酸の還元による脱窒が起つたものと思われる。

硝化作用抑制剤の農業への利用に当つて考慮すべきことは、その有効濃度と植生に対する影響との関係である。土壌の部分殺菌処理が土壌中のアンモニアおよび硝酸の生成を増加せしめ、作物の収量を高めることは RUSSEL¹²⁵⁾により認められた。VAIGT¹⁷⁶⁾の報告によれば各種農業薬剤は針葉樹苗の体内養分含量や生長に対して影響を及ぼした。ENOら³⁷⁾は荳科植物に対する塩素系殺虫剤の影響について検討し、微生物より植物の方が少ない量の薬剤で影響を受けることを認めた。SÁNCHEZ¹³⁷⁾によれば、BHCの多量の施用は土壌のアンモニア化成にはほとんど影響がないが、硝酸生成および荳科植物の発芽、生長、根瘤形成などを著しく阻害した。また PERSIN¹¹⁷⁾は播種前の BHCの施用により土壌の害虫を防除し、水溶性腐植、石灰および燐酸含量を高めて作物の収量を増し、その性質が改善されることを認めた。そのほか土壌の石油処理⁶³⁾およびクロールピクリン¹⁶⁰⁾、DD¹⁶⁰⁾、CAT¹⁶⁰⁾、ペーパム¹¹⁾¹⁶⁰⁾、ネマヒューム¹¹⁾などの土壌殺菌殺虫剤の土壌への添加が作物の生育、収量を増加せしめることが知られている。滝川ら¹⁶³⁾は PCP入り複合肥料を水田に全層施肥すると土壌中のアンモニア発生量を増加したが、水稻の初期生育を抑制したと報告している。アジ化ソーダは第1章において明らかにしたごとく強力な硝化作用抑制剤であるが、また一方呼吸阻害剤でもあつて、植物の養分吸収を阻害することが知られている⁹⁹⁾¹⁰⁰⁾。ヂシアンヂアマイドも強力な硝化抑制作用を示すが、作物に対しては従来言われているほど有害ではないようである¹⁰⁵⁾¹⁷¹⁾。ヂシアンヂアマイドは畑状態において分解が遅いが¹⁰⁶⁾、水田状態では比較的速やかに分解し¹⁴⁶⁾、水稻に対して特異の肥効を呈すると言われている¹⁰⁶⁾。第3節の試験における硝化作用抑制剤の添加濃度は、諫早土壌に添加した抑制剤が水稻苗の活着を阻害しない最高濃度である。しかしながらこの濃度は土壌の種類、温度、土壌反応、透水性、薬剤の添加方法、添加後の時間、苗の素質などによつて異なるものと思われる。

第21表の成績は土壌に硝化作用抑制剤を添加して **incubation** を行つたのち湛水した場合における滲透水中の各種無機態窒素量を示したものである。この試験においては、ポットの下部から滲透水を1日1回500mlずつ採り、土壌中に空気の流入するのを避けるため上部に同量の水を加えたので、4日間の排水2,000ml中には生成した硝酸の全部が含まれる訳ではない。しかしながら各ポットは同一条件の下で採水したので、滲透水中の無機態窒素量の多少によつて各処理区間の硝化作用抑制効果を比較することは可能であると考えられる。この表から明らかなごとく、硝化作用抑制剤の添加により土壌中における尿素の硝化は抑制され、窒素の流亡が防止された。その効果はヂシアンヂアマイド、ペーパムおよびダイセン区においてとくに大であつた。第6図および第22表から明らかなごとく、尿素添加の場合に硝化作用抑制剤添加区は無処理区に比して水稻の生育、とくに茎数が多く、収量および窒素吸収量も大であつた。

塩入¹⁴¹⁾は水稻に対する智利硝石の肥効をポット試験により検討したが、その結果によれば、水田土

壤に添加した場合はほとんど水稻に吸収されなかつた。本試験においては水稻を挿秧する直前に滲透水の排出により土壌中の硝酸態窒素の大部分が除去された。したがつて水稻に吸収された窒素の大部分は土壌中に残存していたアンモニア態窒素、および水稻栽培期間に有機態窒素の無機化によつて生じた無機態窒素であると考えられる。尿素無添加の場合においても、硝化作用抑制剤の添加により水稻の収量および窒素吸収量は増加した。醋酸フェニール水銀および塩化フェニール水銀区はこの傾向がとくに大であつたが、これは水銀剤の添加による土壌有機態窒素の無機化促進、およびその結果生じた無機態窒素の脱窒の抑制によるものと思われる。なおデシアンジアマイド区の薬剤添加量はポット当り 50 mg の窒素に相当する。デシアンジアマイドは水田状態において比較的速やかに分解してアンモニアになるので¹⁰³⁾、その一部は水稻に吸収されたものと思われる。しかしながら硝化作用抑制剤そのものの影響を消去して算出した窒素吸収率についても、硝化作用抑制剤添加区は無処理区より大であつた。

第 VI 章 総合考察および結論

第 II 章第 1 節の諸実験は各種の化学薬品および農業薬剤の硝化作用抑制効果を比較するために行つたものである。実験は福岡土壌を用い、供試薬品の添加濃度（農業薬剤は有効成分濃度）を乾土当り 100 ppm, incubation 温度を 30°C, incubation 期間を 2 週間として行つた。ただし添加窒素の形態および量、土壌水分および土壌反応の異なるものが二、三あり、したがつて無処理区の硝化率は実験条件の相違によつてかなり異なる場合があつた。とくに硫酸アンモニアを窒素源とした場合の硝化率は他の場合に比して低かつた。いま各実験における無処理区の硝化率を 100 として供試薬品の硝化率の指数を算出し、指数の大小によつて供試薬品を分類すればつぎのようである。

50 以下; ダイアジノン, BHC, 2, 4-D, PCP, 塩素酸ソーダ, デシアンジアマイド, アジ化ソーダ, ペーパム, ダイセン, PMF, リオゲン, マネブ, モノヨード醋酸, 2-Mercaptoimidazoline.

51~70; マラソン, DDT, CMU, 1, 2, 4-トリクロールベンゾール, ウスプルン, ノックメート (Ferric dimethyl dithiocarbamate), デンクメート (Zinc dimethyl dithiocarbamate), キャプタン, シアン化カリ, 昇汞, Sodium dimethyl dithiocarbamate, Sodium dibutyl dithiocarbamate, Pipecolin pipecolyl dithiocarbamate.

71~90; アルドリン, シマジン, アグリマイシン, 炭酸グアニジン, ウレタン, メチオニン, カラセン, トリクロール醋酸, クッペロン, 二硫化炭素, PCMB, Tetramethyl thiuram monosulfide, Tetramethyl thiuram disulfide, Sodium diethyl dithiocarbamate, Tetraethyl thiuram disulfide, Zinc dibutyl dithiocarbamate, Piperidine pentamethylene dithiocarbamate, Sodium ethylphenyl dithiocarbamate, Sodium isopropyl xanthate.

91 以上; ブラストマイシン, リンデン, セビン, ディブテレックス, 水銀粉剤, ブラシコール, ヒドロキシルアミン, ヒドラジン, 弗化ソーダ, 8-オキシキノリン, フェロン, チチゾン, デフェニールカルバジド, EDTA-2Na, アルミノン, o-フェナンスロリン, α, α' -ジピリデル, サリチルアルドキシム, ヒスチデン, β -ナフトキノリン, 蔞酸, ピロリン酸, 亜硫酸, 硫酸銀, リンゴ酸, 2, 4-ジニトロフェノール, メチレン青, o-Phenylene thiourea, Zinc phenylene thiourea, Mercaptobenzothiazole, Diethyl thiocarbamyl-2-benzothiazolyl sulfide, Cyclohexyl benzothiazyl sulfenamide, Dibenzothiazyl disulfide, Zinc diethyl dithiocarbamate, Zinc pentamethylene dithiocarbamate, Diphenyl thiourea, Diorthotolyl thiourea, Zinc ethylphenyl dithiocarbamate, Zinc butyl xanthate.

なお 2, 4-D は第 II 章第 2 節の実験においては硝化作用抑制効果が認められなかつた。

以上のごとく化学薬品または農業薬剤の中には硝化作用に対して強い抑制作用を有するものがあることが明らかになつたが、硝化作用抑制効果の著しいものの特性について概観すればつぎのようである。

- (1) 金属キレート剤である。
- (2) 鉄または銅を含む酵素系、または SH 基をもつ酵素を阻害する。
- (3) 水に溶ける。

農業薬剤はその薬剤本来の目的に使用する程度の施用量では土壤の硝化作用を抑制することは少ないと言われている。したがつて農業薬剤を硝化作用抑制剤として使用するには通常用いられるよりかなり多量が必要であると思われる。そのような場合にはこれらの薬剤の植生に対する影響⁷⁾²⁴⁾⁴⁹⁾⁷¹⁾や、土壤中における蓄積の影響などについて考慮が払われなければならない。

硝化作用抑制剤の効果は硝化菌の activity (菌数を含めて)、抑制剤の作用力、土壤の理化学性などの相互関係によつて支配されるものと思われる。一定の土壤において硝化菌の activity を低下せしめるような条件では、その条件下で抑制剤の作用力に変化がなければ、硝化作用抑制剤の効果は高まるものと考えられる。第 II 章第 1 節の諸実験のうち、第 2 表における無処理区の硝化率は他の実験の場合に比して著しく低かつた。したがつて第 2 表に示した薬品および薬剤の硝化作用抑制効果は、他の実験の場合より大きく現われたものと思われる。このことは第 II 章第 2 節の実験 (第 1 図) のごとく無処理区の硝化率の高い場合に、2, 4-D、チオ尿素および塩素酸ソーダの硝化作用抑制効果が第 2 表の実験結果に比して劣ること、および第 IV 章の実験結果に示されたごとく、硝化菌の生育に不適當な条件において硝化作用抑制剤の効果の大であることから推察される。

第 1 図から明らかなごとく、硝化作用抑制剤の効果はその添加濃度を増すにしたがい大となるが、添加濃度の増加に伴う抑制効果の増大の割合は硝化作用抑制剤の種類によつて異なる。いま硝化作用抑制剤の添加濃度を 0 より 100 ppm まで増加した場合の硝化作用抑制効果の増大の様相を類別すればつぎのようである。すなわち

(1) 硝化作用に影響を及ぼす最低濃度、および添加濃度の増加に伴う抑制効果増大の割合は硝化作用抑制剤の種類により異なるが、いずれもある濃度以上において抑制効果は添加濃度の増加に伴いほぼ直線的に増大する。ベーパム、アジ化ソーダ、ダイセン、モノヨード醋酸、チオ尿素。

(2) ある濃度範囲においては硝化作用抑制剤の添加濃度を増すにしたがい硝化作用抑制効果がほぼ直線的に増大するが、添加濃度をさらに増加しても硝化抑制作用は増大しない。ジシアンジアマイド。

(3) 広い濃度範囲で硝化作用抑制効果は低いが、添加濃度を増すにしたがい亜硝酸の集積量を増す。塩素酸ソーダ、醋酸フェニール水銀。

なお第 1 図および第 2 図から塩素酸ソーダおよび醋酸フェニール水銀の添加濃度の増加に伴う硝化生成量の低下の割合についてみると、その様相は (1) の類型に属する。

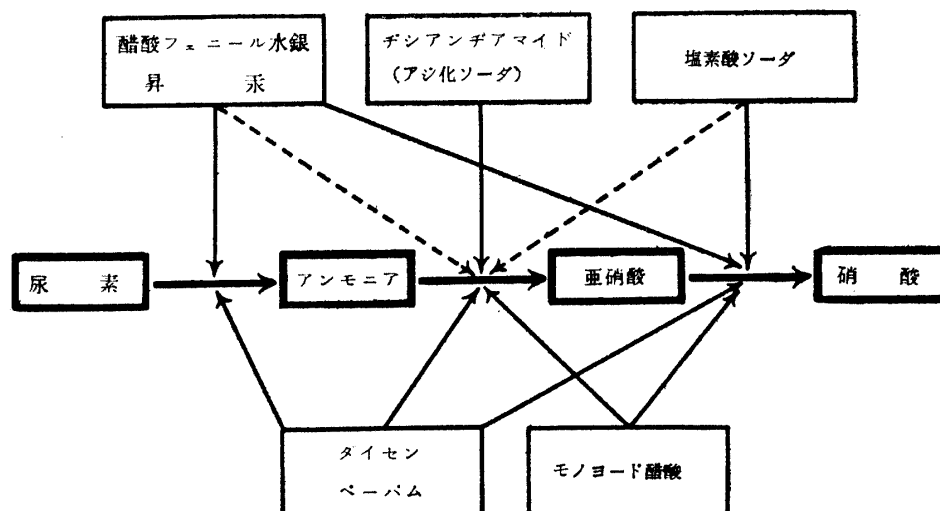
第 3 図から明らかなごとく、硝化作用抑制剤の多くは抑制剤添加後の硝化作用回復の過程において土壤中に一時的に亜硝酸を集積せしめた。その理由についてはつぎのごとく考えられる。すなわち硝化作用抑制剤の土壤への添加は硝化菌の activity を著しく減少せしめ、その結果硝化作用を抑制する。土壤中にアンモニアが存在すれば、先ずはじめに亜硝酸菌が急激に増加して土壤中に亜硝酸を集積し、その後に硝酸菌の増殖が起つて亜硝酸が消失する。このように亜硝酸菌の activity に対して硝酸菌の activity が低い場合に亜硝酸の集積が見られるものと思われる。とくに塩素酸ソーダおよび水銀化合

物においては、その添加濃度の増加に伴い土壤中の亜硝酸集積量を著しく増加し(第2図)、また添加後の硝化作用回復の過程およびアンモニアの硝化の場合に特異的に亜硝酸を集積せしめた(第3図および第10表)。これは上述の理由のほかに、これらの薬品の硝酸菌に対する毒性が亜硝酸菌に対する毒性より著しく強いことによるものと思われる。土壤中における亜硝酸の集積は植物にとって有害であり、かつ脱窒および流亡を起しやすいので、硝化作用抑制剤としては好ましくない。塩素酸ソーダおよび水銀化合物のこのような特性は農業への利用に当つて考慮しなければならない点である。

硝化作用抑制剤の農業への利用に当つては、添加した窒素の形態変化に対する影響についても考慮しなければならない。第III章第1節においては尿素の無機化に対する硝化作用抑制剤の影響について検討した。土壤中における尿素のアンモニアへの変化は土壤微生物の産出するウレアーゼの作用による酵素反応であり、したがつてウレアーゼ活性を阻害するような物質の添加は尿素の無機化を抑制するものと考えられる。第III章第1節の実験において尿素の無機化を強く抑制した醋酸フェニール水銀および昇汞は、その水銀イオンによりウレアーゼ活性を阻害したものと思われる³⁾²⁷⁾⁶⁶⁾¹⁰¹⁾。尿素のアンモニア化を抑制するような硝化作用抑制剤の農業への利用に当つては、とくに尿素の流亡を防ぐための考慮が払われなければならない。なお塩素酸ソーダおよびチシアンチアמידはウレアーゼ活性を阻害しなかつた。

第III章第2節および第3節においては、亜硝酸菌および硝酸菌の作用、すなわちアンモニアより亜硝酸、および亜硝酸より硝酸への変化に対する硝化作用抑制剤の影響について検討した。第10表および第11表の成績から明らかのごとく、チシアンチアמידはアンモニアから亜硝酸への酸化過程を抑制し、亜硝酸の酸化に対しては影響を及ぼさなかつた。すなわちチシアンチアמידの毒性は亜硝酸菌に対して特異的であつて、硝酸菌に対しては著しく弱いものと思われる。このことはチシアンチアמיד添加土壤において、硝化作用回復の過程に亜硝酸の集積を認めないこと(第3図)、および亜硝酸の集積しやすい高pH土壤においてもチシアンチアמיד添加区では土壤中に亜硝酸を検出し得ないこと(第13表)からも推定される。チシアンチアמידの酵素阻害に関しては知られていないが、その硝化作用に対する特異的な抑制作用は硝化作用の生化学的研究に利用されうるものと考えられる。

以上のごとく硝化作用抑制剤はそれぞれ尿素より硝酸への変化の各過程に対する作用力を異にすることが明らかになつた。いま尿素より硝酸への変化過程における各硝化作用抑制剤の作用部位を模式的に示せばつぎの通りである。



このうちアジ化ソーダは土壤反応が中性および酸性の場合には、アンモニアより亜硝酸への酸化過程を抑制し、亜硝酸の酸化には影響を及ぼさなかつた。(第10表および第11表)。しかるに土壤反応がアルカリ性 (pH 7.8) の場合にはアジ化ソーダの添加により土壤中に多量の亜硝酸が集積した(第13表)。このように土壤反応の相違により硝化作用に対するアジ化ソーダの抑制機能の異なる原因については明らかでない。

つぎに土壤条件と硝化作用抑制剤の効果との関係について考察したい。第IV章第1~3節の実験結果から明らかなごとく、硝化菌の生育に不適当な条件——土壤水分の不足、土壤反応の低下、硝化菌数の減少——においては概して硝化作用抑制剤の効果が大きであつた。勿論土壤水分の差異は土壤水中における硝化作用抑制剤の濃度に影響し、土壤反応の違いは土壤中における硝化作用抑制剤の活性に影響すると思われるので、上述の実験結果はそれらの影響も加味されているものと考えられる。第16表から明らかなごとく、チシアンジアמידおよび塩素酸ソーダは硝化菌数の少ない場合には硝化作用抑制効果が大きであるが、菌数の多い場合にはその効果は著しく小さくなつた。硝化菌数の多少による塩素酸ソーダの抑制効果の著しい差異は塩素酸塩の硝酸菌に対する静菌的作用⁸⁷⁾によるものと考えられる。チシアンジアמידは前述のごとく亜硝酸菌に対して特異的に作用するので、硝化菌数の多少による硝化作用抑制効果の差異の大きい原因は、チシアンジアמידの亜硝酸菌に対する静菌的作用によるものと考えられる。このことはチシアンジアמידの添加濃度を増加した場合に、ある濃度以上において硝化作用抑制効果がほぼ一定に保たれること(第1図)からも推定される。

第IV章第4節の実験結果から明らかなごとく、硝化菌の生育に影響を及ぼす外的要因——土壤水分、土壤反応、温度、incubation 期間——を一定にし、硝化菌数を富化せしめた場合において、土壤の種類による硝化作用抑制剤の効果にはかなりの変異が見られた。しかしながら実験に用いた6種類の硝化作用抑制剤の全部が抑制作用を示さない土壤はなかつた。したがつて硝化作用抑制剤の利用に当つては、土壤の種類に応じて抑制効果の大きなものを選択する必要があるものと考えられる。

硝化作用抑制剤の農業への利用に当つて考慮すべき点は、その硝化作用抑制効果は勿論、土壤中における窒素成分の天然供給力に及ぼす影響、土壤に添加した窒素の脱窒に及ぼす影響、植生に対する影響などであろう。第V章の諸実験はこれらの点を検討するために行つたものである。第5図から明らかなごとく、畑状態における硝化作用抑制剤の添加は土壤中に一時的にアンモニアを集積せしめた。また硝化作用抑制剤添加区は無処理区に比して incubation 初期における土壤中の無機態窒素量が大きであつた。RUSSEL ら¹²⁵⁾¹²⁶⁾は土壤の部分殺菌処理により土壤中のアンモニア濃度の高まることを認めたが、硝化作用抑制剤の添加による土壤中のアンモニア生成量の増大は土壤の部分殺菌に起因するものと思われる。ただしチオ尿素およびチシアンジアמידのごとき含窒素化合物の添加による土壤中のアンモニアおよび無機態窒素の増加量には添加物の分解によつて生じたアンモニアが含まれているものと考えられる。

湛水状態において硝化作用抑制剤を添加した場合の incubation による土壤のアンモニア集積量についてみると、第19表に示したごとくアジ化ソーダ区以外はいずれも無処理区に比して少なくなかつた。また土壤に尿素を添加して硝化作用抑制剤の脱窒に及ぼす影響について検討した結果(第26表)によれば、硝化作用抑制剤は添加窒素の脱窒を明らかに抑制した。前者の実験はゴム栓で密閉したガラス管塚を用いて行つたもので、脱窒量は後者の実験に比しかなり少ないものと思われる。これらの実験結果より、硝化作用抑制剤の多くは土壤中における有機態窒素の無機化を抑制せず、また添加窒素の脱窒を防止する作用を有するものと考えられる。

つぎに水稻の活着に影響を及ぼさない程度の濃度で硝化作用抑制剤を土壤に添加した場合に、添加

窒素の硝化作用，土壌有機態窒素の無機化および脱窒，水稻の生育および収量などに如何なる影響があるかをポット試験により検討した．第 21 表の成績から明らかなごとく，硝化作用抑制剤の添加により添加窒素の硝化作用が抑制され，滲透流亡する窒素（主として硝酸態）が減少した．また第 6 図および第 22 表に示したごとく，硝化作用抑制剤の添加は水稻の生育量とくに茎数を増加せしめ，収量および窒素吸収量を増大せしめた．なお尿素無添加の場合においても硝化作用抑制剤添加区は無処理区に比して水稻の生育，収量および窒素吸収量が大であった．とくに水銀化合物の土壌への添加による無窒素区の水稲の収量および窒素吸収量の増加は顕著であった．これは第 V 章第 1 節および第 2 節において述べたごとく水銀化合物添加による土壌有機態窒素の無機化促進，および無機態窒素の脱窒の抑制によるものと思われる．

このように硝化作用抑制剤は水稻の基肥として与える窒素質肥料の肥効を増進せしめた．しかしながら硝化作用抑制剤の効果の順位は土壌の種類によつてかなり変動する．したがつて硝化作用抑制剤の農業への利用に当つては，土壌の種類に応じて硝化作用抑制効果の大きなものを選択することが必要である．

第 VII 章 要 約

水稻の基肥として水田に施用する窒素質肥料の肥効を高めるために，添加窒素の硝酸化成を抑制することは有効な方法であると思われる．よつて著者は土壌の硝化作用抑制の一手段として硝化作用抑制剤の利用を考え，多数の化学薬品および農業薬剤について，壟培養法により検索を行つた．その結果，数種のものに著しい抑制効果のあることを知つた．つぎにこれらの硝化作用抑制剤のうち数種のものについて，その添加濃度と抑制効果との関係，および抑制剤の効力の持続性を検討した．さらに土壌中における尿素的硝化過程に対する硝化作用抑制剤の作用を解析的に検討し，各硝化作用抑制剤の特異性を明らかにしようとした．

硝化作用抑制剤の効果は土壌の内的および外的要因によつて異なると考えられるので，土壌水分，土壌反応，硝化菌数および土壌の種類を変えて硝化作用抑制剤の効果と比較検討した．つぎに硝化作用抑制剤を水田に利用するに当つての基礎資料をうるため，土壌有機態窒素の無機化，および湛水状態の土壌に添加した窒素の脱窒に及ぼす硝化作用抑制剤の影響について検討を加えた．さらに硝化作用抑制剤添加尿素肥料の硝化作用抑制効果および水稻に対する肥効をみるため，ポットによる栽培試験を行つた．得られた結果の概要について示せばつぎのようである．

1. 硝化作用抑制剤の検索

数十種類の化学薬品および農業薬剤について，その添加濃度（農業薬剤は有効成分濃度）を乾土当り 100 ppm，尿素または硫酸アンモニアの添加量を 100 g 乾土当り N として 25 または 50 mg，土壌反応を pH (KCl) 6.5 または 7.0，土壌水分を最大容水量の 55 または 65 % とし，30°C に 2 週間 incubation を行つた．incubation 終了後に各区の硝化率を無処理区と比較したが，無処理区の 50 % 以下の硝化率を示したものはつぎの 14 種であった．

ダイアジノン，BHC，2, 4-D，PCP，塩素酸ソーダ，ヂシアンヂアマイド，アジ化ソーダ，ペーパーム，ダイセン，PMF，リオゲン，マネブ，モノヨード醋酸，2-Mercaptoimidazoline. (BHC と同一成分のリンデンは抑制効果がなかつた．また 2, 4-D は他の実験により硝化抑制作用の弱いことが判つた．) 硝化抑制作用を示した薬品の特性を概括的に示せばつぎのようである．(1) 金属キレート剤である．(2) 鉄または銅を含む酵素系，または酵素の SH 基を阻害する．(3) 水溶性である．

硝化作用抑制剤の添加濃度と硝化抑制効果についてみると，添加濃度の増加に伴う硝化作用抑制効

果の増大の割合は硝化作用抑制剤の種類によつて異つた。これを類別すればつぎのようである。

(1) 薬品の種類によつて硝化作用に影響を及ぼす最低濃度は異なるが、いずれもある濃度以上では添加濃度の増加に伴い硝化作用抑制効果はほぼ直線的に増大する。ベーパム、アジ化ソーダ、ダイセン、モノヨード醋酸、チオ尿素。

(2) ある濃度範囲においては添加濃度の増加に伴い硝化作用抑制効果はほぼ直線的に増加するが、それ以上の添加濃度においては硝化作用抑制効果は増大しない。ヂシアンジアמיד。

(3) 広い濃度範囲において硝化作用抑制効果は低いが、添加濃度を高めるにしたがい土壤中に亜硝酸の生成量が増加する。硝酸生成に対する抑制効果は(1)と同じである。塩素酸ソーダ、醋酸フェニール水銀。

これらの結果から、薬剤の種類により硝化作用抑制の機作に差異のあることを推定した。

硝化作用抑制剤の効力の持続性を薬剤添加後の硝化作用の lag 期間の長さで示せば薬品の添加濃度 100 ppm の場合はつぎのようである。アジ化ソーダ ≧ ベーパム ≧ マネブ > 昇汞, モノヨード醋酸, ゼシアンジアמיד, ダイセン, チオ尿素 > 醋酸フェニール水銀 > PCP > 塩素酸ソーダ。なお昇汞, 醋酸フェニール水銀および塩素酸ソーダ区は硝化作用の回復の過程において一時的に多量の亜硝酸が集積し、またこれらの区では添加窒素の回収率が他区に比して劣つた。

2. 硝化作用抑制剤の種類と添加窒素の形態変化

尿素より硝酸への変化の各過程に作用する硝化作用抑制剤はつぎのようであつた。

(1) 尿素よりアンモニアへの変化を抑制するもの；昇汞, 醋酸フェニール水銀, ダイセン, ベーパム

(2) アンモニアより亜硝酸への変化をとくに抑制するもの；ヂシアンジアמיד, アジ化ソーダ (高 pH においてはこの作用はない)。

(3) 亜硝酸より硝酸への変化をとくに抑制するもの；塩素酸ソーダ, 醋酸フェニール水銀, 昇汞。

(4) アンモニアより亜硝酸, および亜硝酸より硝酸への変化を抑制するもの；ベーパム, ダイセン, モノヨード醋酸。

3. 土壌条件と硝化作用抑制剤添加効果

土壌条件のうち土壌水分, 土壌反応, 硝化菌数および土壌の種類の間による硝化抑制剤の効果の違いを検討した。

土壌水分は最大容水量の 45, 60 および 75 % の 3 段階について検討したが、硝化作用抑制剤の効果はいずれも土壌水分の少ない場合に大であつた。

土壌反応は pH 5.2, 6.5, および 7.8 の 3 段階を設けて実験を行つたが、概して低 pH の場合に硝化作用抑制剤の効果が大きであつた。とくに pH 7.8 の場合は pH 6.5 の場合に比して硝化作用抑制剤の効果が著しく低下した。なお高 pH においては添加窒素の回収率が低下した。

硝化菌数と硝化作用抑制剤の効果に関する実験は、菌数の差の小さい福岡土壌と菌数の差の大きい諫早土壌の 2 種類を用いて行つた。いずれも硝化菌数の少ない場合が多い場合より抑制効果が大きであつた。菌数の多少による硝化作用抑制剤の効果の差異は福岡土壌より諫早土壌において著しかつた。

以上の結果より硝化作用抑制剤の効果は硝化菌の activity の低い状態、または低くなる条件の下で大きいことを推論した。

つぎに全国各地の畑および水田土壌について硝化菌数を富化し、pH を 6.5、水分を最大容水量の 60 % にして硝化作用抑制剤の効果と比較した。その結果によればアジ化ソーダは多くの土壌で強い抑制作用を示したが、他の硝化作用抑制剤は土壌の種類によつて抑制効果の順位が変動した。したが

つて硝化作用抑制剤の利用に当つては、土壌の種類に応じて抑制作用の強いものを選択すべきことを述べた。

4. 湛水土壌における脱窒防止に対する硝化作用抑制剤の添加効果

土壌有機態窒素の無機化および添加窒素の脱窒に及ぼす硝化作用抑制剤の影響について検討し、さらにポット試験により、施肥後湛水までの期間の硝化作用、および水稻の生育、収量、窒素吸収量などに及ぼす硝化作用抑制剤の影響について検討を加えた。

硝化作用抑制剤を土壌に添加して畑状態に保つと、土壌中に一時的にアンモニアが集積し、やがて消失するが、土壌中におけるアンモニアの残存期間は硝化作用抑制効果の大きいものほど長かつた。土壌中の無機態窒素の生成量は概して硝化作用抑制剤の添加により増加した。湛水状態における土壌中のアンモニア集積量は、アジ化ソーダ区以外はいずれも無処理区より多いかまたは同程度であつた。

土壌に尿素を添加して湛水状態にした場合の土壌中の無機態窒素量の減少は硝化作用抑制剤の添加により軽減された。とくにアジ化ソーダ、ベーパム、醋酸フェニール水銀、ダイセンおよびマネブの効果は顕著であつた。

土壌に硝化作用抑制剤添加尿素肥料を加え、畑状態に10日間保つた後に湛水した場合の滲透水中の無機態窒素（主として硝酸態窒素）量はいずれも無処理区に比して少なく、とくにヂシアンチアマイド、ベーパムおよびダイセン区では著しく少なかつた。滲透水を採取し終つた土壌に水稻を栽培したが、その結果によれば硝化作用抑制剤添加区は無処理区に比して水稻の茎数、収量および窒素吸収量が多く、とくにヂシアンチアマイド、ベーパムおよびダイセンの効果は顕著であつた。なお無窒素区においても硝化作用抑制剤添加区は無処理区に比して水稻の収量および窒素吸収量が大であつた。

以上の結果から硝化作用抑制剤の中には土壌の有機態窒素の無機化量を低下せしめず、添加窒素の硝化および湛水状態における脱窒を防止するものがあることが明らかになつた。また水稻の生育を害さない程度の添加濃度で硝化作用を抑制し、水稻に対する窒素肥料の肥効を高めうることを証明し、農業への利用の可能性を示唆した。

引 用 文 献

- 1) ABICANDANI, C. T. and PATNAIK, S.: J. Indian Soc. Soil Sci., **6**, 87 (1958)
- 2) ACHARYA, C. N. and JAIN, S. P.: J. Indian Soc. Soil Sci., **2**, 43 (1954)
- 3) 赤堀四郎：酵素研究法 II, 朝倉書店, 227 pp (1956)
- 4) ALEEM, M. I. H. and ALEXANDER, M.: J. Bacteriol., **76**, 510 (1958)
- 5) ALEEM, M. I. H.: Appl. Microbiol. **8**, 80 (1960)
- 6) ALEEM, M. I. H., ENGEL, M. S. and ALEXANDER, M.: Bact. Proc. **57**, 9(1957)
- 7) ALEEN, N., WALKER, R. L. and FIFF, L. C., et al.: U. S. D. A. tech. Bull., **1090**, 9 (1954)
- 8) ALLISON, F. E.: Advances in Agron., VII. 235 (1955)
- 9) ANDERSON, O. E. and PURVIS, E. R.: Soil Sci., **80**, 313 (1955)
- 10) 青木茂一：土肥誌, **13**, 357 (1939)
- 11) 青木 朗, 安久勝三, 森田修二：日本土肥学会講演要旨, **7**, 43 (1961)
- 12) 青峰重範, 船引真吾：土壤実験法, 養賢堂, 68 pp (1957)
- 13) 荒木隆男, 豊田 栄, 鈴木直治：土と微生物, **2**, 4 (1961)
- 14) ARDRICH, D. G. and MARTIN, J. P.: Soil Sci., **73**, 149 (1952)
- 15) BARRATT, R. W. and HORSFALL, J. G.: Phytopath., **37**, 2 (1947)

- 16) BLACK, C. A. : Soil-plant relationship (原田登五郎訳), 朝倉書店, 201 pp (1960)
- 17) BÖMEKE, H. : Arch. Mikrobiol., **14**, 63 (1950)
- 18) BREMNER, J. M. and Shaw, K. : J. Agr. Sci., **46**, 320 (1955)
- 19) BROADBENT, F. E., HILL, G. N. and TYLER, K. B. : Soil Sci. Soc. Amer. Proc., **22**, 303 (1958)
- 20) BROADBENT, F. E., TYLER, K. B. and HILL, G. N. : Proc. 33rd ann. Meet. nat. Comm. Fertil. Appl., **50**, 77 (1957)
- 21) BROWN, A. L. : Soil Sci. Soc. Amer. Proc., **18**, 417 (1954)
- 22) BROWN, W. T., QUASTEL, J. H. and SCHOLEFIELD, P. G. : Appl. Microbiol., **2**, 235 (1954)
- 23) CADY, F. B. and BARTHOLOMEW, W. V. : Soil Sci. Soc. Amer. Proc., **24**, 477 (1960)
- 24) CHISHOLM, D., et al. : Canad. J. Agr. Sci., **35**, 433 (1955)
- 25) CLARK, F. E., BEARD, W. E. and SMITH, D. H. : Soil Sci. Soc. Amer. Proc., **24**, 50 (1960)
- 26) CONRAD, J. P. : Soil Sci., **49**, 253 (1940)
- 27) CONRAD, J. P. : *ibid.*, **50**, 119 (1940)
- 28) CONRAD, J. P. : Soil Sci. Soc. Amer. Proc., **8**, 171 (1944)
- 29) CORBET, A. S. and WOOLDRIDGE, W. R. : Biochem. J., **34**, 1036 (1940)
- 30) COWIE, G. A. : J. Agr. Sci., **9**, 113 (1919)
- 31) CUTLER, D. W. and MUKERJI, B. K. : Proc. Royal Soc. London, **108B**, 384 (1931)
- 32) DHAR, N. R. and RAO, G. G. : J. Indian Chem. Soc., **9**, 81 (1933)
- 33) DUDA, J. : Acta microbiol. Polon., **7**, 237 (1958)
- 34) ENGEL, M. S. and ALEXANDER, M. : J. Bact., **78**, 796 (1959)
- 35) ENGEL, M. S. and ALEXANDER, M. : Soil Sci. Soc. Amer. Proc., **24**, 48 (1960)
- 36) ENO, C. F. : Fla Agr. Expt. Sta. Rep., **142**, (1957)
- 37) ENO, C. F. and EVERETT, P. H. : Soil Sci. Soc. Amer. Proc., **22**, 235 (1958)
- 38) EYLAR, O. R. and SCHMIDT, E. L. : Bacteriol. Proc. Soc. Amer. Bacteriologists, **20** (1954)
- 39) EYLAR, O. R. and SCHMIDT, E. L. : J. Gen. Microbiol., **20**, 473 (1959)
- 40) FISHER, T., FISHER, E. and APPLEMAN, M. D. : J. Gen. Microbiol., **14**, 238 (1956)
- 41) FISHER, W. B. and PARKS, W. L. : Soil Sci. Soc. Amer. Proc., **22**, 247 (1958)
- 42) FLETCHER, D. W. and BOLLEN, W. B. : Appl. Microbiol., **2**, 349 (1954)
- 43) FOSTER, A. C. : U. S. D. A. Circ., **862** (1951)
- 44) FREDERICK, L. R. : Soil Sci. Soc. Amer. Proc., **20**, 496 (1956)
- 45) FREDERICK, L. R. : Soil Sci., **83**, 481 (1957)
- 46) FRY, B. A. : The nitrogen metabolism of microorganisms, Methuen and Co. London, 33 pp (1955)
- 47) GARBOSKY, A. J. and GIAMBIAGI, N. : Rev. Agron. La Plata., **34**, 103 (1958)
- 48) GASSER, J. K. R. : Rep. Rothamst. Expt. Sta., **1957**, 58 (1958)
- 49) GERRETSEN, F. C. and Hoop, H. DE. : Canad. J. Microbiol., **3**, 359 (1957)
- 50) GOLDBERG, S. S. and GAINEY, P. L. : Soil Sci., **80**, 43 (1955)
- 51) GROV, P. H. H. : Appl. Microbiol., **2**, 37 (1954)
- 52) HAGIN, J. : Bull. Res. Coun. Israel, **5B**, 98 (1955)
- 53) HALL, H. G., HULCHER, E. H. and CHAPPELL, W. E. : Weeds, **5**, 331 (1957)
- 54) 原田登五郎 : 農技研報告, **B9**, 123 (1959)
- 55) 原田登五郎, 甲斐秀昭, 西原典則, 赤松和夫 : 日本土肥学会講演要旨, **6**, 61 (1960)
- 56) HARMSSEN, G. W. and VAN SCHREVEN, D. A. : Advances in Agron., **VII**, 357 (1955)
- 57) HOFMAN, T. and LEES, H. : Biochem. J., **54**, 579 (1953)
- 58) IMSHENETSKII, A. A., et al. : Mikrobiologiya, **25**, 12 (1956)

- 59) IMSHENETSKII, A. A. and RUBAN, E. L.: *Mikrobiologiya*, **23**, 271 (1954)
- 60) IMSHENETSKII, A. A. and RUBAN, E. L.: *Dokl. Akad. Nauk.*, **45**, 175 (1954)
- 61) IMSHEMETSKII, A. A. and RUBAN, E. L.: *Mikrobiologiya*, **25**, 272 (1956)
- 62) IMSHENETSKII, A. A. and RUBAN, E. L.: *Fol. Biol.*, **3**, 141 (1957)
- 63) 稲川次郎, 藤田正雄: *土肥誌*, **2**, 54 (1928)
- 64) ISENBERG, H. D., SCHATZ, A. and ANGRIST, A. A., et al.: *J. Bact.*, **68**, 5 (1954)
- 65) 石沢修一, 松口竜彦: *日本土肥学会講演要旨*, **7**, 27 (1961)
- 66) 石沢修一, 田辺市郎: *日本土肥学会講演要旨*, **7**, 27 (1961)
- 67) ISHIZAWA, S., TANABE, I. and MATSUGUCHI, T.: *Soil and Plant Food*, **4**, 156 (1961)
- 68) ISHIZAWA S., TOYODA, H. and MATSUGUCHI, T.: *ibid.*, **6**, 145 (1961)
- 69) 岩田武司: *土肥誌*, **4**, 9 (1930)
- 70) IYENGAR, M. R. S. and HORA, T. S.: *Naturwissenschaften*, **46**, 211 (1959)
- 71) JACOB, K. D.: *J. Agr. Food Chem.*, **2**, 970 (1954)
- 72) JACOB, K. D., ALLISON, F. E. and BRAHAM, J. M.: *J. Agr. Rev.*, **28**, 37 (1924)
- 73) JANSSON, S. L. and TORSTENSSON, G.: *K. Skogs. Lantbr. Akad. Tidskr.*, **96**, 365 (1956)
- 74) JAQUES, R. P., ROBINSON, J. B. and CHASE, F. E.: *Canad. J. Soil Sci.*, **39**, 235 (1959)
- 75) JENSEN, H. L.: *Nature*, **165**, 974 (1950)
- 76) JOHNSON, E. J. and CALMER, A. R.: *Appl. Microbiol.*, **3**, 123 (1955)
- 77) JONES, H. E.: *J. Amer. Chem. Soc. Agron.*, **40**, 522 (1948)
- 78) JONES, L. W.: *Soil Sci.*, **73**, 237 (1952)
- 79) JONES, L. W.: *Utah. Agr. Expt. Sta. Bull.*, **390**, 17 (1956)
- 80) 甲斐秀昭: *日本土肥学会講演要旨*, **7**, 120 (1961)
- 81) 上遠 章: *農業綜典*, 朝倉書店, 280 pp (1957)
- 82) 木下 彰, 小浜節雄: *日本土肥学会講演要旨*, **7**, 26 (1961)
- 83) 小西千賀三: *農業技術*, **12**, 174 (1957)
- 84) 久納佑孚: *朝鮮農試彙報*, **10**, 220 (1938)
- 85) LEES, H.: *Nature*, **158**, 97 (1946)
- 86) LEES, H.: *Biochem. J.*, **52**, 134 (1952)
- 87) LEES, H. and QUASTEL, J. H.: *Nature*, **155**, 276 (1945)
- 88) LEES, H. and QUASTEL, J. H.: *Biochem. J.*, **40**, 803 (1946)
- 89) LEES, H. and QUASTEL, J. H.: *ibid.*, **40**, 815 (1946)
- 90) LEES, H. and QUASTEL, J. H.: *ibid.*, **40**, 824 (1946)
- 91) LEES, H. and SIMPSON, J. R.: *ibid.*, **65**, 297 (1946)
- 92) LEWIS, R. F. and PRAMER, D.: *Bact. Proc.*, **1959**, 24 (1959)
- 93) MACIAK, F.: *Roczn. Nauk. rol.*, **17**, 443 (1955)
- 94) MALOWANY, S. N. and NEWTON, J. D.: *Canad. J. Research*, **C 25**, 87 (1947)
- 95) 松本通夫, 矢藤梅夫: *日本土肥学会講演要旨*, **7**, 77 (1961)
- 96) MEIKLEJOHN, J.: *J. Gen. Microbiol.*, **8**, 58 ((1953)
- 97) MEYERHOF, O.: *Pflug. Arch. Ges. Physiol.*, **164**, 353; **165**, 229; **166**, 240 (1916)
- 98) MILLBANK, J. W.: *Plant and Soil*, **11**, 293 (1959)
- 99) 三井進午, 熊沢喜久雄: *土肥誌*, **26**, 241 (1955)
- 100) 三井進午, 熊沢喜久雄, 石原達夫: *同誌*, **24**, 45 (1953)
- 101) 三井進午, 浪岡口左雄, 向井 登: *同誌*, **31**, 477 (1960)
- 102) 森田修二, 青木 朗: *西京大学報*, **2**, 1 (1952)

- 103) MORRILL, L. G.: Diss. Abstr., **20**, 3005 (1959)
- 104) MUNK, H.: Landw. Forsch., **11**, 150 (1958)
- 105) 村田久次: 土肥誌, **7**, 183 (1933)
- 106) 村田久次: 農学研究, **14**, 191 (1930)
- 107) 村田久次: 農化, **6**, 268 (1930)
- 108) 村田久次: 同誌, **6**, 284 (1930)
- 109) 村田久次: 鹿児島高農學術報告, **10**, 115 (1932)
- 110) NICHOLAS, D. J. D. and JONES, O. T. G.: Nature, **185**, 512 (1960)
- 111) NILSSON, P. E.: Kgl. Lantbrucks. Hogskol. Ann., **18**, 60 (1951)
- 112) 野田昌也, 小野善助: 土肥誌, **21**, 60 (1951)
- 113) 農業改良局: 土肥資料, **19**, 61 (1953)
- 114) 農林省振興局研究部: 最近に於ける尿素に関する圃場試験成績の概要 (1957)
- 115) OTTEN, R. J., DAWSON, J. E. and SCHREIBER, M. M.: Proc. Northeast Weed Control Conf., **120** (1957)
- 116) PATHAK, A. N.: Allahabad Fmr., **27**, 81 (1953)
- 117) PERSIN, S. A.: Dokl. Akad. Nauk., (No. 4) **29** (1954)
- 118) POOLE, E. A. and HINSHELWOOD, C. N.: J. Chem. Soc., **1940**, 1565 (1940)
- 119) QUASTEL, J. H. and SCHOLEFIELD, P. G.: Bact. Rev., **15**, 1 (1951)
- 120) QUASTEL, J. H. and SCHOLEFIELD, P. G.: Appl. Microbiol., **1**, 282 (1953)
- 121) QUASTEL, J. H., SCHOLEFIELD, P. G. and STEVENSON, J. W.: Biochem. J., **51**, 278 (1952)
- 122) ROBINSON, J. B. D.: J. Agr. Sci., **49**, 100 (1957)
- 123) ROSS, D. J.: N. Z. J. Agr. Res., **1**, 968 (1958)
- 124) RUSSELL, E. J.: Soil conditions and Plant growth, 8th ed. Longmans, Green and Co. London, 288 pp (1952)
- 125) RUSSELL, E. J. and HUTCHINSON, H. B.: J. Agr. Sci., **3**, 111 (1909)
- 126) RUSSELL, E. J. and HUTCHINSON, H. B.: *ibid.*, **5**, 152 (1913)
- 127) SABEY, B. R., FREDERICK, L. R. and BARTHOLOMEW, V.: Bact. Proc., **58**, 9 (1958)
- 128) 斎藤文次: 九州農試彙報, **2**, 47 (1953)
- 129) 坂井 弘: 北海道農試彙報, **71**, 21 (1956)
- 130) 坂井 弘: 土肥誌, **30**, 149 (1959)
- 131) 坂井 弘: 同誌, **31**, 149 (1960)
- 132) 坂井 弘: 同誌, **31**, 207 (1960)
- 133) 坂井 弘: 同誌, **31**, 253 (1960)
- 134) 坂井 弘, 吉田富男, 船山達郎, 吉田加代子: 北海道農試彙報, **74**, 42 (1959)
- 135) 坂上 朗, 橋本重久: 土肥誌, **23**, 29 (1952)
- 136) SALDARRIAGA, VÉLEZ, A.: Acta Agron. Polimira, **4**, 45 (1954)
- 137) SÁNCHEZ, O.: *ibid*, **4**, 219 (1954)
- 138) SCHLOESSING, Th. and MÜNTZ, A.: C. R., **84**, 301 (1877)
- 139) SCHMIDT, E. L.: Science, **119**, 187 (1954)
- 140) SHAW, W. M. and ROBINSON, B.: Soil Sci., **90**, 320 (1960)
- 141) 塩入松三郎: 土肥誌, **16**, 104 (1942)
- 142) 塩入松三郎, 青峰重範: 同誌, **11**, 389 (1937)
- 143) 塩入松三郎, 青峰重範: 同誌, **12**, 406 (1938)
- 144) 塩入松三郎, 青峰重範: 同誌, **13**, 284 (1939)
- 145) 塩入松三郎, 青峰重範: 同誌, **14**, 369 (1940)

- 146) 塩入松三郎, 原田登五郎: 同誌, **15**, 334 (1946)
- 147) 塩入松三郎, 原田登五郎: 同誌, **17**, 362 (1943)
- 148) 塩入松三郎, 三井進午: 同誌, **9**, 261 (1935)
- 149) SIMPSON, J. R.: *J. Soil Sci.*, **11**, 45 (1960)
- 150) SINGH, T. H. and IYENGAR, M. R. S.: *Arch. Mikrobiol.*, **35**, 252 (1960)
- 151) SLAVNINA, T. P.: *Trudy tom. Univ.*, **140**, 38 (1957)
- 152) SLEPECKY, R. A. and BECK, J. V.: *Bact. Proc.*, **1950**, 17 (1950)
- 153) SMITH, D. H. and CHORK, F. E.: *Soil Sci.*, **90**, 86 (1966)
- 154) SMITH, N. R., DOWSON, V. T. and WENZEL, M. E.: *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, **10**, 197 (1946)
- 155) SMITH, N. R. and WENZEL, M. E.: *ibid.*, **12**, 227 (1948)
- 156) SOULIDES, D. A. and CLARK, F. E.: *ibid.*, **22**, 308 (1958)
- 157) STARK, F. L., SMITH, T. B. and HOWARD, F. L.: *Soil Sci.*, **48**, 433 (1939)
- 158) STOJANOVIC, B. J. and ALEXANDER, M.: *ibid.*, **86**, 208 (1958)
- 159) 鈴木達彦: 土肥誌, **32**, 163 (1961)
- 160) 鈴木達彦, 野原 誠: 日本土肥学会講演要旨, **6**, 58 (1960)
- 161) 鈴木達彦, 野原 誠: 日本土肥学会講演要旨, **7**, 85 (1961)
- 162) 高橋治助: 作物試験法, 農業技術協会, 279 pp (1957)
- 163) 滝川圭吾, 上森晃, 瀬川篤忠, 山崎欣多: 日本土肥学会講演要旨, **7**, 57 (1961)
- 164) 滝島康夫, 林 武: 農業及園芸, **28**, 999 (1953)
- 165) 滝島康夫, 林 武: 同誌, **28**, 1113 (1953)
- 166) 滝島康夫, 林 武: 土肥誌, **25**, 49 (1954)
- 167) TAM, R. K. and CLARK, H. E.: *Soil Sci.*, **56**, 245 (1943)
- 168) TEATER, R. W., MORTENSEN, J. L. and PRATT, P. F.: *J. Agr. Food Chem.*, **6**, 214 (1958)
- 169) 手島周太郎: 土肥誌, **9**, 31 (1935)
- 170) 東大農学部農化教室: 実験農芸化学, 朝倉書店, 283 pp (1952)
- 171) 徳永美治, 生沢 恵: 土肥誌, **25**, 111 (1954)
- 172) TREADWELL, F. P. and HALL, W. T.: *Analytical chemistry*, 9th ed. John Wiley and Sons, New York, 306 pp (1951)
- 173) TYLER, K. B. and BROADBENT, F. E.: *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, **24**, 279 (1960)
- 174) TYLER, K. B., BROADBENT, F. E. and HILL, G. N.: *Soil Sci.*, **87**, 123 (1959)
- 175) 潮田常三, 五島 浩, 松田典子, 齋藤淳子: 日本土肥学会講演要旨, **6**, 4 (1960)
- 176) VAIGT, G. K.: *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, **19**, 237 (1955)
- 177) WAHHAB, A. and ALAM, Q.: *Pakistan J. Sci. Res.*, **9**, 41 (1957)
- 178) WAHHAB, A., KHAN, M. and ISHAGR, M.: *J. Agr. Sci.*, **55**, 47 (1960)
- 179) WAKSMAN, S. A.: *Soil Microbiology*, John Wiley and Sons, New York, 170 pp (1957)
- 180) WHEELER, B. E. J. and YEMM, E. W.: *Plant and Soil*, **10**, 49 (1958)
- 181) WIJLER, J. and DELWICHE, C. C.: *Plant and Soil*, **5**, 155 (1954)
- 182) WILSON, H. A.: *W. Va. Agr. Expt. Sta. Bull.*, **366 T**, 14 (1954)
- 183) WINOGRADSKY, S.: *Ann. Inst. Pasteur*, **4**, 213, 257, 760 (1890)
- 184) WINOGRADSKY, S. and WINOGRADSKY, H.: *ibid.*, **50**, 350 (1933)
- 185) WORSHAM, A. D. and GIDDENS, J.: *Weeds*, **5**, 316 (1957)
- 186) 山本 亮: 新農薬研究法, 南江堂, 115 pp (1958)
- 187) 吉田 稔: 岩手大農学部報告, **1**, 29 (1953)

Résumé

It is well known that ammonia added to soil is oxidized into nitrate by the nitrifying organisms under aerobic conditions, on the one hand, the nitrate and nitrite in soil are microbiologically reduced under anaerobic conditions sometimes accompanying with denitrification process. SHIOIRI and his collaborators found that ammonia added to the flooded soil was converted into nitrate in the oxidized layer, and then nitrate was leached down readily and denitrified in the reduced layer. Moreover, they confirmed by pot and field experiments that nitrate applied to paddy soil had been little available to the rice plants. Further, it is common knowledge that nitrate ion is not susceptible to soil adsorption, so that it is removed with percolating water or by diffusion. Thus, in Japan, particularly in its southern region where the temperature at about the time of transplanting rice plants is high enough to be ready to cause the nitrification in soil, it is economically valuable to inhibit the nitrification of ammonia applied to paddy field as basic dressing for rice plants.

The studies presented here are to search for the chemical agents that efficiently inhibit nitrification in soil from among a number of chemicals and pesticides, to elucidate the mechanism of their inhibitions, and to ascertain the possibility of the utilization of some of them to agricultural practice.

(1) The inhibitory of chemicals and pesticides on nitrification in soil.

(a) Methods of experiment.

The soil used in this experiment was taken from the furrow slice of well-drained paddy field at Fukuoka, and some natures of it are shown in Table 1.

The search for nitrification inhibitors was conducted in the following way. That wet Fukuoka-soil corresponding to 20 g dry soil, whose soil reaction had been previously adjusted to pH 6.5 or 7.0 with CaCO_3 , was weighed into 50 ml Erlenmeyer flasks, and added with 5 or 10 mg of nitrogen as ammonium sulfate or urea, 1 mg of P_2O_5 and K_2O respectively by using KH_2PO_4 and K_2HPO_4 , and chemicals or pesticides corresponding to 100 ppm on dry soil (in the case of pesticides addition amount was on the basis of the available component). All the samples were moistened to 55 or 65 per cent of maximum water capacity, bunged with a wad of cotton and incubated at 30°C for 2 weeks. After incubation each soil sample was added with 200 ml of 1N KCl (pH 7.0), shaken for an hour and then filtered. Ammonia and nitrate in the filtrates were determined by means of CONWAY microdiffusion analysis, and nitrite was determined by the colorimetric method using the GRIESS reagents.

(b) Results.

As shown in Table 2 to 7, the rate of nitrification of the check in each Table was not the same, especially the lowest in the case of Table 2 (nitrogen added: as ammonium sulfate, 50 mg of nitrogen per 100 g dry soil, soil moisture: 55 per cent of maximum water capacity, soil reaction: pH 6.5). The chemical agents that efficiently inhibit nitrification in soil are as follows: diazinon, dithane, BHC, PCP, sodium chlorate, dicyanodiamide, sodium azide, vapam, PMF, riogen, maneb, iodoacetic acid, 2-mercaptoimidazoline.

It seems that each of the chemical agents which inhibited nitrification efficiently in this experiment has one or more of the following characteristics:

- (i) It is chelating agent to metals.
- (ii) It attacks the enzyme system containing iron or copper, or SH radical in enzyme.
- (iii) It is soluble in water.

(2) The relation between concentration of nitrification inhibitor and its inhibitory effect.

(a) Methods of experiment.

Wet Fukuoka-soil (pH 7.0) corresponding to 20 g dry soil was taken into 50 ml flasks,

added with 5 mg of nitrogen as urea, 1 mg of P_2O_5 and K_2O respectively, and various amounts of each inhibitor. All the samples were adjusted to be 60 per cent of maximum water capacity, and then incubated at 30°C for 2 weeks. The methods of determining ammonia, nitrite, and nitrate in soils after incubation were the same as (1).

(b) Results.

When each inhibitor has more than a certain concentration, the higher the concentration of inhibitors in soil, the stronger the inhibitory effect becomes, and it seems that at least three different types exist in its relation as shown in Fig. 1 and 2.

(i) As for inhibition of nitrification, the inhibitory effect increases lineally with concentration of inhibitors in soil: sodium azide, vapam, dithane, iodoacetic acid, thiourea.

(ii) Within the limits of certain concentration, the nitrification activity decreases lineally in a little ability with the increase of concentration of inhibitor in soil, and no more decreases with concentration above it: dicyanodiamide.

(iii) The inhibitory effect is not strong in wide ranges of concentration, while the nitrite oxidation decreases with the increase of concentration of inhibitor in soil. Accordingly the nitrite in soil increases with the addition of inhibitor: phenylmercuric acetate, sodium chlorate.

(3) The persistence of the effect of nitrification inhibitors in soil.

(a) Methods of experiment.

Wet Fukuoka-soil (pH 7.0) corresponding to 20 g dry soil was taken into 50 ml flasks, added with 5 mg of nitrogen as urea, 1 mg of P_2O_5 and K_2O respectively, and designated amounts of nitrification inhibitors. All the samples of moistening to 60 per cent of maximum water capacity were allowed to stand at 30°C. At predetermined intervals ammonia, nitrite, and nitrate in soils were determined by the same as (1).

(b) Results.

Fig. 3 shows the courses of nitrification in soil added with the inhibitors and urea. In the check, the nitrification occurred immediately after the incubation, whereas in the soils added with the inhibitors except sodium chlorate the nitrification delayed evidently. The decreasing order of the effect of inhibitors on the lag period preceding the appearance of nitrate or nitrite in soil was as follows: sodium azide > vapam > maneb > mercuric chloride, iodoacetic acid, dicyanodiamide, dithane, thiourea > phenylmercuric acetate > PCP > sodium chlorate.

Further, in the case of mercuric chloride, phenylmercuric acetate, and sodium chlorate considerable amounts of nitrite were temporarily accumulated in soil.

(4) The effect of nitrification inhibitors on the processes of conversion from urea to nitrate in soil.

(a) Methods of experiment.

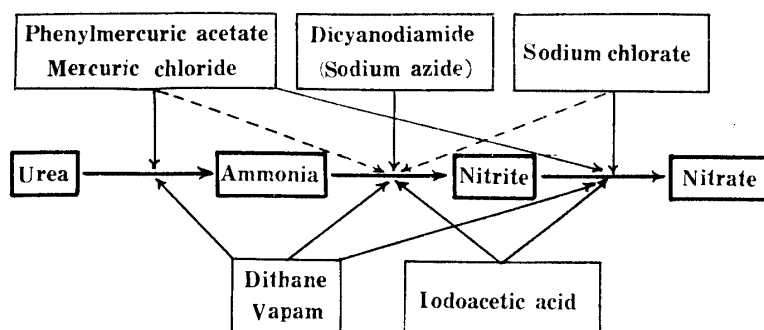
Three experiments were conducted to examine the effect of inhibitors on the ammonification of urea, the nitrification of ammonia, and the oxidation of nitrite. In the case of the ammonification of urea, wet Fukuoka-soil (pH 7.0) corresponding to 20 g dry soil was taken into 50 ml flasks, added with 5 mg of nitrogen as urea, 1 mg of P_2O_5 and K_2O respectively, and designated amounts of the inhibitors. All the samples were moistened to 60 per cent of maximum water capacity, and then incubated at 30°C for 10 days. At different intervals urea in soils was determined by the method using urease.

In the case of nitrification of ammonia and the oxidation of nitrite, soils were incubated in the following ways. Wet Fukuoka-soil corresponding to 20 g dry soil was taken into 50 ml flasks, added with 5 mg of nitrogen as ammonium sulfate or sodium nitrite, designated amounts of the inhibitors, and 1 mg of P_2O_5 and K_2O respectively, followed by moistening to 60 per cent of maximum water capacity and incubating at 30°C for 2 weeks. After incubation, ammonia, nitrite, and nitrate in soils were determined by the same as (1).

(b) Results.

As is shown in Fig. 4, mercuric chloride, phenylmercuric acetate, dithane, and vapam strongly inhibited the ammonification of urea in soil, whereas sodium chlorate and dicyanodiamide did not. The effects of several inhibitors upon the processes of nitrification of ammonia and oxidation of nitrite are shown in Table 10 and 11. From these Tables, it may be concluded that mercuric chloride, phenylmercuric acetate, and sodium chlorate particularly inhibit the process of conversion from nitrite to nitrate, while sodium azide and dicyanodiamide strongly inhibit not the nitrite oxidation but the ammonium oxidation. In the high pH of soil (Refer to Table 13), however, sodium azide made nitrite accumulate, therefore, it may be that the inhibiting mechanism of it to nitrification is essentially different in the lower and the higher pH of soil.

The effect of the inhibitors upon the processes of conversion from urea to nitrate may be condensed in the following scheme :



(5) The relation between soil conditions and effect of inhibitors on nitrification in soil.

(a) Methods of experiment.

The experiment was made under the conditions different in soil moisture, soil reaction, population of nitrifying organisms in soil, and kinds of soil.

(1) Soil moisture.

Wet Fukuoka-soil (pH 6.5) corresponding to 20 g dry soil was taken into 50 ml flasks, added with 5 mg of nitrogen as urea, 1 mg of P_2O_5 and K_2O respectively, and designated amounts of the inhibitors. The soil samples were moistened to 45, 60, and 75 per cent of maximum water capacity respectively, and then incubated at $30^\circ C$ for 2 weeks. The methods determining ammonia, nitrite, and nitrate in soils after incubation are the same as (1).

(ii) Soil reaction.

Wet Fukuoka-soil samples were adjusted to pH 5.2, 6.5, and 7.8 respectively with potassium hydroxide. These soils corresponding to 20 g dry soil were taken into 50 ml flasks, and incubated by the same procedure as mentioned above except that soil moisture were adjusted to be 60 per cent of maximum water capacity.

(iii) Population of nitrifying organisms in soil.

Fukuoka-soil and Isahaya-soil (alluvial, clayey) were used in this experiment. These two soils were adjusted respectively to pH 7.0 with $CaCO_3$, added with 30 mg of nitrogen as urea per 100 g dry soil, and incubated at $30^\circ C$ for 3 weeks, and then filtered in order to remove nitrate which had been produced during the incubation. By this treatment, the nitrifying organisms in these soils were propagated (Refer to Table 15 and 16).

These enriched and the original soils corresponding to 20 g dry soil were taken respectively into 50 ml flasks, added with 5 mg of nitrogen, 1 mg of P_2O_5 and K_2O respectively, and designated amounts of inhibitors, and then moistened to 60 per cent of maximum water capacity, followed by incubating at $30^\circ C$ for 2 weeks.

(iv) Kinds of soil.

The soils used in this experiment were taken from various regions in Japan as shown in Table 17. All the soils previously were enriched with the nitrifier population by the procedure of incubation as was mentioned above except that the soil reaction was adjusted to pH 6.5 with CaCO_3 . These enriched soils corresponding to 20 g dry soil were taken into 50 ml flasks, added with 5 mg of nitrogen, 1 mg of P_2O_5 and K_2O respectively, and designated amounts of the inhibitors, and then moistened to 60 per cent of maximum water capacity and incubated at 30°C for 2 weeks.

(b) Results.

The result of experiment (i) is shown in Table 12. Each inhibitor was more effective at lower soil moisture, especially sodium azide perfectly inhibited the nitrification in each soil moisture, while the nitrification rates of the check were equally highest in every soil moisture.

The stronger effect of all the inhibitors on nitrification were at the lower pH than the higher pH, as shown in Table 13. Sodium azide, vapam, sodium chlorate, and phenylmercuric acetate had a tendency to make nitrite accumulate in soil at the higher pH.

The relations between nitrifying population in soil and the effect of inhibitors on nitrification are shown in Table 15 and 16. In each soil, ammonia was not noticed in the check soils after 2 week incubation irrespective of the nitrifying population, whereas, any of the inhibitors was more effective in soils which had the smaller population of nitrifiers.

These facts indicate that the effect of inhibitors on nitrification are enhanced under such soil conditions that the activity of nitrifiers is made to decrease.

The effect of inhibitors on the nitrification in various soils which were adjusted to a given moisture and reaction, and enriched with the nitrifying population, as shown in Table 18, varied irregularly with the kinds of soil except that the inhibitory effect of iodoacetic acid was lower in every humus volcanic ash soil, though there was no soil in which nitrification inhibitors were not effective, particularly sodium azide strongly inhibited the nitrification in every soil. In order to inhibit the nitrification in soil by using the chemical agents, therefore, one would need to select the most efficient inhibitor according to the kinds of soil.

(6) The influence of nitrification inhibitors on the mineralization of native organic nitrogen in paddy soil.

(a) Methods of experiment.

This experiment was conducted under the upland and flooded conditions in the following ways. In the case of upland condition, wet Fukuoka-soil (pH 7.0) corresponding to 20 g dry soil was taken into 50 ml flasks, and added with 1 mg of P_2O_5 and K_2O respectively, and designated amounts of inhibitors, and then moistened to 60 per cent of maximum water capacity, followed by incubating at 30°C . At prearranged intervals, ammonia and nitrate in soils were determined by the same method as (1).

The procedure of incubation under the flooded condition was as follows. Air dried Chikugo-soil (alluvial, clayey) corresponding to 20 g dry soil was taken into 50 ml incubation tubes, added with 1 mg of P_2O_5 and K_2O respectively, inhibitors corresponding to 100 ppm on dry soil and 25 ml water, followed by mixing thoroughly. All the samples were incubated at 30°C for 4 weeks bunging air tight.

(b) Results.

Under upland condition, the course of accumulation of inorganic nitrogen in soil is shown in Fig. 5. In the early stage of incubation, the inhibitors except sodium chlorate and dicyanodiamide slightly accelerated the accumulation of ammonia in soil, and at the end of incubation, the amounts of inorganic nitrogen as a result of the mineralization of native organic nitrogen in soil were not decreased by the addition of inhibitors except sodium chlorate.

Under flooded condition, the accumulation of ammonia in soil after 4 week incubation, as

shown in Table 19, was not suppressed by the addition of inhibitors except sodium azide.

(7) The influence of the nitrification inhibitors on the denitrification of nitrogen added to flooded soil.

(a) Methods of experiment.

Wet Fukuoka-soil corresponding to 20 g dry soil was taken into two sizes of incubation tube, 2 cm and 3 cm in diameter respectively, and added with 2 mg of nitrogen as urea, inhibitors corresponding to 100 ppm on dry soil, and 25 ml water, and then mixed thoroughly. After incubated at 30°C for 4 weeks covering with the thin polyethylene membran which had a few pinholes, ammonia, nitrite, and nitrate in the incubation tubes were determined by the same as (1).

(b) Results.

The denitrification of nitrogen added to soil, as shown in Table 20, was greatly suppressed by the addition of each inhibitor, particularly sodium azide, vapam, phenylmercuric acetate, dithane, and maneb. With regard to the amounts of inorganic nitrogen left in soils after incubation, the difference between two sizes of incubation tube (two depths of soil layer) were less significant in the addition of these inhibitors than in the check.

(8) The nitrification of urea mixed with nitrification inhibitors and its availability to paddy rice plants.

(a) Methods of experiment.

This experiment was carried out with two steps. In the first step, wet Fukuoka-soil corresponding to 1.5 kg dry soil was taken into polyethylene bags, added with enough amounts of CaCO_3 to make soil reaction pH 7.0, 300 mg of nitrogen as urea, and designated amounts of the inhibitors, and then moistened to 60 per cent of maximum water capacity, followed by standing at room temperature for ten days, June 18 to 28. After incubation each soil sample was packed into 1/5,000 a Wagner's pots in which 1.5 kg of wet Fukuoka-soil had been placed previously, covered with 1,500 ml water, and allowed to stand overnight, and then 500 ml water were percolated, followed by covering with 500 ml water and standing overnight. The percolation with water was conducted four times, and ammonia, nitrite, and nitrate in the water percolated from each pot were determined by the same as (1).

In next step, to each pot which had been percolated previously with 2,000 ml water, 750 mg of P_2O_5 and K_2O respectively by using KH_2PO_4 and K_2HPO_4 were added, and then paddy rice plants were transplanted on July 2. The rice plants were harvested on October 28, followed by measuring the yields and the absorbed nitrogen.

(b) Results.

The amounts of nitrogen leached out by percolation with water, as shown in Table 21, were decreased markedly by the addition of the inhibitors, particularly dicyanodiamide, dithane, and vapam. The growth of rice plants, especially the number of tillers, the yields of grain and straw, and the amounts of nitrogen absorbed by crops, as are shown in Fig. 6 and Table 22, were larger in the addition of the inhibitors than in the checks in both cases of addition and non addition of urea. These results indicate that some of the inhibitors strongly control the nitrification in soil by the addition within the limits of which are harmless to rice plants, and as a result, they prevent nitrogen applied to paddy soil from losing through percolation and denitrification.