



**ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ**

Σχολή Χημικών Μηχανικών και  
Μηχανικών Περιβάλλοντος

## **ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗ ΣΕ ΠΕΡΙΟΔΟΥΣ ΥΨΗΛΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΑΜΜΩΝΙΑΚΟΥ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΟΣ**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ  
ΚΟΓΙΑΣ ΙΩΑΝΝΗΣ**

ΧΑΝΙΑ, ΑΠΡΙΛΙΟΣ, 2023

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας εργασίας, εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για μη κερδοσκοπικό σκοπό, εκπαιδευτικού ή ερευνητικού χαρακτήρα, με την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης. Ερωτήματα που αφορούν τη χρήση της εργασίας για άλλη χρήση θα πρέπει να απευθύνονται προς το συγγραφέα.

Οι απόψεις και τα συμπεράσματα που περιέχονται σε αυτό το έγγραφο εκφράζουν τον συγγραφέα και δεν πρέπει να ερμηνευθεί ότι αντιπροσωπεύουν τις επίσημες θέσεις του Πολυτεχνείου Κρήτης.



**ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ**

Σχολή Χημικών Μηχανικών και  
Μηχανικών Περιβάλλοντος

## **ΝΙΤΡΟΠΟΙΗΣΗ ΣΕ ΠΕΡΙΟΔΟΥΣ ΥΨΗΛΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΑΜΜΩΝΙΑΚΟΥ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΟΣ**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ  
ΚΟΓΙΑΣ ΙΩΑΝΝΗΣ**

### **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:**

Αναπληρωτής Καθηγητής Παρανυχιανάκης Νικόλαος (ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ)

Καθηγητής Νικολαΐδης Νικόλαος

Καθηγητής Καρατζάς Γεώργιος

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα διπλωματική διατριβή, με τίτλο «Νιτροποίηση σε περιόδους υψηλής θερμοκρασίας παρουσία αμμωνιακού υποστρώματος», διεκπεραιώθηκε στο εργαστήριο Γεωργικής Μηχανικής του τμήματος της Σχολής Χημικών Μηχανικών και Μηχανικών Περιβάλλοντος, του Πολυτεχνείου Κρήτης, κατά το έτος 2021. Αντικείμενο μελέτης αποτελεί η επίδραση, στα γεωργικά εδάφη της Κρήτης, της έκθεσης, χρονικής διάρκειας μεγαλύτερης της μιας εβδομάδας, της θερμοκρασίας με προσθήκη αζωτούχου υποστρώματος στο κύκλο του αζώτου και συγκεκριμένα κατά το στάδιο της νιτροποίησης.

Με την υπερθέρμανση του πλανήτη, η εμφάνιση υψηλών θερμοκρασιών, ιδιαίτερα κατά τους θερινούς μήνες, γίνεται όλο και πιο συχνή, όπως φάνηκε από το καλοκαίρι του 2021, κατά το οποίο υπήρξαν περίοδοι καύσωνα, διάρκειας δύο εβδομάδων. Η κατανόηση της δράσης των μικροοργανισμών, οι οποίοι οξειδώνουν την αμμωνία σε νιτρικά ανιόντα, σε υψηλές θερμοκρασιακές τιμές είναι απαραίτητη για τη βελτιστοποίηση της γεωργικής παραγωγής, ώστε να αποφεύγεται η περίσσεια χρήση αμμωνιακών υποστρωμάτων, τα οποία μπορούν να οδηγήσουν σε επιβλαβή αποτελέσματα, τόσο για το περιβάλλον όσο και για τον ανθρώπινο οργανισμό. Αποτελεί σημαντική γνώση η χρόνια επίδραση υψηλών θερμοκρασιών στο κύκλο του αζώτου, ειδικά στη διεργασία της νιτροποίησης, και ποια είναι η ιδανική χρονική στιγμή της προσθήκης των αζωτούχων υποστρωμάτων, για τη βέλτιστη γονιμότητα των εδαφών.

Κατά τη διεκπεραίωση της διατριβής εκθέσαμε εδαφικούς μικρόκοσμους σε διάφορες θερμοκρασίες, με θερμοκρασιακό εύρος από τους 30 °C μέχρι τους 50 °C, προσομοιώνοντας συνθήκες καύσωνα σε εργαστηριακό επίπεδο, εντός φούρνων. Αναλυτικά μελετήσαμε τις μεταβολές των συγκεντρώσεων των νιτρικών ανιόντων και των αμμωνιακών κατιόντων σε θερμοκρασίας 30, 35, 40, 45 και 50 °C, για το χρονικό διάστημα, κλίμακας από μία έως δύο εβδομάδες. Ο προσδιορισμός των νιτρικών ανιόντων έγινε με τη μέθοδο του Καδμίου, ενώ των αμμωνιακών κατιόντων με τη μέθοδο Nessler.

Τα αποτελέσματα, τα οποία προέκυψαν, από τη συγκεκριμένη μελέτη, για τα υποεξέταση γεωργικά εδάφη, έδειξαν πως σε θερμοκρασίες μικρότερες των 40 °C επιτυγχάνονται μεγαλύτερες συγκεντρώσεις νιτρικών ανιόντων. Επίσης έδειξαν πως στους 50 °C δεν καταστέλλεται η διεργασία της νιτροποίησης, όμως τότε παράγονται περισσότερα αμμωνιακά κατιόντα, συγκριτικά με τις υπόλοιπες θερμοκρασίες. Τέλος η ιδανική χρονική στιγμή προσθήκης αμμωνιακού υποστρώματος, κατά τη γεωργική καλλιέργεια των εδαφών αυτών, σε καιρικές συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας, διάρκειας δύο εβδομάδων, είναι με το πέρας της πρώτης εβδομάδας.

## **ABSTRACT**

The present diploma thesis, entitled «Nitrification in high temperatures periods in presence of ammonia substrate», was processed in the Agricultural Engineering laboratory of the Department of Chemical and Environmental Engineering of the University of Crete, during the year 2021. The object of the study is the effect, of the exposure of the temperature, in duration more than one week, with addition of nitrogen substrate on the agricultural soils of Crete, to the nitrogen cycle, specifically during the nitrification stage.

Due to the overheating of the planet, the occurrence of high temperatures is increasing, especially during the summer months, as happened the summer of 2021, when there were periods of heat lasting two weeks. The comprehension of the microorganisms' action, which oxidize ammonia to nitrate anions, at high temperature values, is necessary to optimize agricultural production, in order to avoid the excess use of ammonia substrates, which can lead to harmful effects, either for the environment or for the human organism as well. It is important to know the seasonal effect, of high temperatures and the ideal time of addition of nitrogen substrates, on the nitrogen cycle, especially in the nitrification stage for optimal soil fertility.

During the performance of this thesis, we exposed microcosms of soil at different temperatures. The temperature range was between 30 °C and 50 °C, simulating heat conditions at a laboratory level, inside ovens. Analytically, we studied the changes of the nitrate anions and ammonia cations concentrations at temperatures of 30, 35, 40, 45 and 50 °C, for time periods, on a scale of one to two weeks. Nitrate anions were determined by the Cadmium method, while ammonia cations were determined by the Nessler method.

The results, which emerged on the specific study, for the examined agricultural soils, showed greater concentrations of nitrate anion at temperatures lower than 40 °C. Also, they showed that the nitrification process is not suppressed at 50 °C, but then more ammonia cations were produced, compared to the other temperatures. Finally, during the agricultural cultivation of these soils, in weather conditions of high temperatures, lasting two weeks, the ideal time to add ammonia substrates is at the end of the first week.

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Με τη παρούσα διπλωματική διατριβή ολοκληρώνεται ένας κύκλος σπουδών στο Πολυτεχνείο Κρήτης.

Αρχικά θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον Κύριο Παρανυχιανάκη Νικόλαο, για την ανάθεση της εργασίας, την καθοδήγηση στο εργαστήριο, την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και για τις γνώσεις που μου μετέδωσε.

Στη συνέχεια θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής για τη συμβολή τους και για το χρόνο τους.

Ακόμα ένα μεγάλο ευχαριστώ σε κάθε συνάδελφο/ισσα που συνεργαστήκαμε στο εργαστήριο.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου, οι οποίοι με στήριξαν καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	4
ABSTRACT.....	5
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	6
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	8
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 – ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ.....	9
1.1 Αζωτο.....	10
1.2 Βιογεωχημικός Κύκλος Αζώτου.....	10
1.2.1 Αζωτοδέσμευση.....	11
1.2.2 Ανοργανοποίηση (Mineralization).....	12
1.2.3 Ακίνητοποίηση (Immobilization).....	12
1.2.4 Νιτροποίηση (Nitrification).....	13
1.2.5 Απονιτροποίηση (Definitrification).....	15
1.2.6 Εξαέρωση (Volatilization).....	16
1.2.7 Έκπλυση $\text{NO}_3^-$ – (Evaluation $\text{NO}_3^-$ ).....	16
1.3 Οξειδωτές $\text{NH}_3$ .....	17
1.4 Αναστολείς Νιτροποίησης / Παρεμποδιστές.....	18
1.5 Νιτρορύπανση.....	18
1.6 Αντικείμενο Μελέτης.....	19
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 – ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ.....	20
2.1 Περιγραφή Πειράματος.....	21
2.2 Προσδιορισμός $\text{NO}_3^-$ .....	22
2.3 Προσδιορισμός $\text{NH}_4^+$ .....	23
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 – ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ.....	24
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 - ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	44
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 - ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	48
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 – ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	54

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Γράφημα 3. 1: Ποσότητα $N-NO_3^-$ (mg) συναρτήσει των θερμοκρασιών 35 °C και 45 °C.	25
Γράφημα 3. 2: Ποσότητα $N-NH_4^+$ (mg) συναρτήσει των θερμοκρασιών 35 °C και 45 °C	26
Γράφημα 3. 3: Ρυθμός νιτροποίησης συναρτήσει χρόνου για τις θερμοκρασίες των 35 °C και 45 °C.....	27
Γράφημα 3. 4: Μεταβολή ποσότητας $N-NO_3^-$ , σε θερμοκρασίες 40 °C και 45 °C.....	28
Γράφημα 3. 5: Μεταβολή ποσότητας $N-NH_4^+$ , σε θερμοκρασίες 40 °C και 45 °C .....	29
Γράφημα 3. 6: Ρυθμός νιτροποίησης συναρτήσει χρόνου σε θερμοκρασίες 40 °C και 45 °C .....	30
Γράφημα 3. 7: Ποσότητα $N-NO_3^-$ , σε θερμοκρασία 30 °C, συναρτήσει του χρόνου και της παρουσίας αμμωνιακού υποστρώματος.....	31
Γράφημα 3. 8: Ποσότητα $N - NO_3^-$ , σε θερμοκρασία 35 °C, συναρτήσει του χρόνου και της παρουσίας αμμωνιακού υποστρώματος .....	32
Γράφημα 3. 9: Ποσότητα $N - NO_3^-$ , σε θερμοκρασία 40 °C, συναρτήσει του χρόνου και της παρουσίας αμμωνιακού υποστρώματος.....	33
Γράφημα 3. 10: Ποσότητα $N - NO_3^-$ , σε θερμοκρασία 45 °C, συναρτήσει του χρόνου και της παρουσίας αμμωνιακού υποστρώματος.....	34
Γράφημα 3. 11: Ποσότητα $N - NH_4^+$ , σε θερμοκρασία 30 °C, συναρτήσει του χρόνου και της παρουσίας αμμωνιακού υποστρώματος.....	35
Γράφημα 3. 12: Ποσότητα $N - NH_4^+$ , σε θερμοκρασία 35 °C, συναρτήσει του χρόνου και της παρουσίας αμμωνιακού υποστρώματος.....	36
Γράφημα 3. 13: Ποσότητα $N - NH_4^+$ , σε θερμοκρασία 40 °C, συναρτήσει του χρόνου και της παρουσίας αμμωνιακού υποστρώματος.....	37
Γράφημα 3. 14: Ποσότητα $N - NH_4^+$ , σε θερμοκρασία 40 °C, συναρτήσει του χρόνου και της παρουσίας αμμωνιακού υποστρώματος.....	38
Γράφημα 3. 15: Ρυθμός νιτροποίησης συναρτήσει χρόνου για 30 °C. ....	39
Γράφημα 3. 16: Ρυθμός νιτροποίησης συναρτήσει χρόνου για 35 °C.....	39
Γράφημα 3. 17: Ρυθμός νιτροποίησης συναρτήσει χρόνου για 40 °C.....	40
Γράφημα 3. 18: Ρυθμός νιτροποίησης συναρτήσει χρόνου για 45 °C.....	40
Γράφημα 3. 19: Ποσότητα $N - NO_3^-$ , σε θερμοκρασία 50 °C.....	41
Γράφημα 3. 20: Ποσότητα $N - NH_4^+$ , σε θερμοκρασία 50 °C .....	42
Γράφημα 3. 21: Ρυθμός νιτροποίησης συναρτήσει χρόνου για τους 50 °C.....	43



## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 – ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ**

## 1.1 Αζωτο

Στο περιοδικό πίνακα, με γνώμονα τον ατομικό αριθμό, ο οποίος αποτελεί κριτήριο αρίθμησης, στη δεύτερη σειρά και στη δέκατη πέμπτη ομάδα, ή αλλιώς στη πέμπτη κύρια ομάδα, συναντάμε το άζωτο (N). Ένα συνηθισμένο στοιχείο, συγκεκριμένα το πέμπτο πιο διαδεδομένο συστατικό του σύμπαντος, ενώ στο γαλαξία μας και στο ηλιακό μας σύστημα κατέχει την έβδομη θέση ανάμεσα στα πιο άφθονα χημικά στοιχεία. Το όνομά του δόθηκε από το Γάλλο χημικό Lavoisier, προέρχεται ετυμολογικά από το στερητικό α- και τη λέξη ζωή, γιατί κατά τις πρώτες έρευνες, γύρω από το N, παρατηρήθηκε πως σε ατμόσφαιρα αζώτου δεν υποστηριζόταν η καύση και τα πειραματόζωα πεθαίναν. Το χημικό σύμβολο του είναι το γράμμα N, το οποίο αποτελεί το πρώτο γράμμα της αγγλικής του ονομασίας, *Nitrogen*. Ο ατομικός του αριθμός είναι 7, η σχετική ατομική του μάζα ( $A_r$ ) είναι 14,0067 και το μόριο του συντελείται από δύο άτομα αζώτου N. Στο πλανήτη μας καταλαμβάνει το 77% του ατμοσφαιρικού αέρα, χαρακτηρίζεται ως το πιο άφθονο ελεύθερο χημικό στοιχείο της Γης και είναι διαφανές, άοσμο, άχρωμο και άγευστο. Εκτός από τη διατομική ελεύθερη μορφή του, γνωστή και ως διάζωτο, συναντάται ακόμα με τη μορφή οξειδίων ( $\text{NO}_x$ ), αμμωνίας ( $\text{NH}_3$ ), νιτρικού οξέος ( $\text{HNO}_3$ ), νιτρικών ( $\text{NO}_3^-$ ) και αμμωνιακών αλάτων ( $\text{NH}_4^+$ ), στην ατμόσφαιρα, στο νερό της βροχής και των θαλασσών, στο έδαφος και στα περιττώματα των ζώων.

Πολλά συστατικά των ζωντανών κυττάρων περιέχουν N, όπως οι πρωτεΐνες, τα νουκλεϊκά οξέα, οι πουρίνες, οι πυριμιδίνες, οι πορφυρίνες, τα αλκαλοειδή και οι βιταμίνες. Το ανθρώπινο σώμα περιλαμβάνει περίπου 7% κατά μάζα N, το οποίο κατατάσσεται ως το τέταρτο στη σειρά εν αφθονία χημικό στοιχείο στο σώμα μας, μετά το οξυγόνο (O), τον άνθρακα (C) και το υδρογόνο (H). Αποτελεί βασικό παράγοντα της ανάπτυξης των νουκλεϊκών οξέων, τα οποία με τη σειρά τους είναι δομικές μονάδες του DNA και του RNA. Για αυτό μπορούμε τελικά να το χαρακτηρίσουμε ως απαραίτητο στοιχείο για τη ζωή.

## 1.2 Βιογεωχημικός Κύκλος Αζώτου

Η εν αφθονία ποσότητα του N, ελεύθερη στην ατμόσφαιρα, ακολουθεί τον κύκλο του N. Ένα βιογεωχημικό κύκλο, κατά τον οποίο μεταφέρεται στην βιόσφαιρα και στη συνέχεια επιστρέφει στην ατμόσφαιρα. Συγκεκριμένα απομακρύνεται από την ατμόσφαιρα, μέσω της αζωτοδέσμευσης, και επιστρέφει σε αυτήν με την απονιτροποίηση και την εξαέρωση. Η μορφή του ελεύθερου N ( $\text{N}_2$ ), στην ατμόσφαιρα, είναι αδρανής και δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί, αυτούσια, από τους περισσότερους έμβιους οργανισμούς. Για τη χρήση του απαιτείται η ένωση του με άλλα χημικά στοιχεία, όπως  $\text{O}_2$  και  $\text{H}_2$ .

Ο βιογεωχημικός κύκλος του N περιλαμβάνει τις παρακάτω διεργασίες:

- Αζωτοδέσμευση
- Ανοργανοποίηση
- Ακινητοποίηση
- Νιτροποίηση
- Απονιτροποίηση
- Εξαέρωση

### 1.2.1 Αζωτοδέσμευση

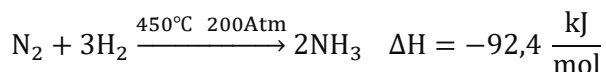
Το N, στη συγκεκριμένη μορφή του, δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί από τα διάφορα φυτά και τους ποικίλους οργανισμούς, άμεσα, για τη σύνθεση πρωτεϊνών, νουκλεϊκών οξέων και διαφόρων βιολογικών ενώσεων. Πρέπει να μετατραπεί σε άλλες χημικές μορφές, ώστε να καθίσταται διαθέσιμο στα φυτά και τους οργανισμούς. Η διαδικασία της μετατροπής αυτής ονομάζεται αζωτοδέσμευση. Η αζωτοδέσμευση μπορεί να είναι μη βιολογική με τη βοήθεια των ηλεκτρικών εκκενώσεων ή της μεθόδου Haber-Bosch και βιολογική με τη βοήθεια μικροοργανισμών.

#### I. Μη βιολογική αζωτοδέσμευση

Κατά τη διάρκεια μιας καταιγίδας με τη βοήθεια των ηλεκτρικών εκκενώσεων, που δημιουργούνται, σχηματίζονται  $\text{NO}_x$ , τα οποία ενυδατώνονται με τους υδρατμούς και καταλήγουν στο έδαφος με τη μορφή  $\text{NO}_3^-$  και νιτρωδών ( $\text{NO}_2^-$ ).



Η μέθοδος Haber-Bosch χρησιμοποιείται εκτεταμένα στη βιομηχανική παραγωγή αζωτούχων λιπασμάτων. Κατά τη μέθοδο αυτή το N αντιδρά με το  $\text{H}_2$  σε συνθήκες υψηλής πίεσης και θερμοκρασίας, με καταλύτη το σίδηρο (Fe).



#### II. Βιολογική αζωτοδέσμευση

Η βιολογική αζωτοδέσμευση πραγματοποιείται από συμβιωτικούς και μη συμβιωτικούς μικροοργανισμούς.

##### *i. Συμβιωτικοί μικροοργανισμοί*

Οι συμβιωτικοί μικροοργανισμοί για να μπορέσουν να μετατρέψουν το N σε μια άλλη χημική μορφή, διαθέσιμη στα έμβια όντα, απαιτούν την «μόλυνση» κάποιου φυτού, ώστε να δημιουργηθούν φυμάτια. Τα φυμάτια είναι μεγάλα φυτικά κύτταρα μαζί με βακτήρια, μέσα στα οποία γίνεται η αζωτοδέσμευση. Τα βακτήρια συνθέτουν  $\text{NH}_3$ , η οποία ενώνεται με τον C των φυτικών κυττάρων, ο οποίος παράγεται μέσω της φωτοσύνθεσης. Διάφορα είδη θάμνων, δέντρων (*Rosaceae*, *Myricaceae*, *Bettulaceae* κ.α.) και ψυχανθή (τριφύλλι, μπιζέλι κ.α.) σχηματίζουν φυμάτια στις ρίζες των φυτών. Ενώ σε άλλα είδη φυτών (*Myrsinaceae*, *Rubiaceae* *Psychotria*, *Adrisia* κ.α.) τα φυμάτια σχηματίζονται στο φύλλωμα των φυτών. Συμβιωτικούς οργανισμούς αποτελούν ορισμένα είδη βακτηρίων του γένους *Rhizobium*, τα οποία μολύνουν τα ψυχανθή. Άλλοι συμβιωτικοί οργανισμοί είναι οι *Bacillus foliicola*, *Mycobacterium rubiacearum*, *Klebsiella rubiacearum* κ.α..

##### *ii. Μη συμβιωτική αζωτοδέσμευση*

Η μη συμβιωτική αζωτοδέσμευση γίνεται με μικροοργανισμούς, οι οποίοι διαβιούν ελεύθερα στο έδαφος και έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν ατμοσφαιρικό N. Τέτοιοι μικροοργανισμοί είναι τα κυανοβακτήρια, τα αναερόβια βακτήρια *Clostridium*, τα αερόβια βακτήρια *Azotobacter* κ.α..

### 1.2.2 Ανοργανοποίηση (Mineralization)

Στη βιόσφαιρα εκτός από το N, το οποίο βρίσκεται ελεύθερο στον αέρα, το συναντάμε και στο έδαφος. Διάφορες οργανικές ενώσεις περιέχουν N, όπως η ουρία, ο χούμος, οι πρωτεΐνες και τα αμινοξέα. Ανοργανοποίηση είναι η διαδικασία, κατά την οποία το N απελευθερώνεται από τις οργανικές ενώσεις, σε ανόργανες ενώσεις, δηλαδή απελευθερώνεται  $\text{NH}_4^+$  και  $\text{NH}_3$ . Αποτελεί μια βιολογική διεργασία, η οποία πραγματοποιείται από ετερότροφους μικροοργανισμούς, που βρίσκονται στο έδαφος, κυρίως βακτήρια, μύκητες και ακτινομύκητες.

Η ανοργανοποίηση περιλαμβάνει δύο στάδια, μέχρι το N να αποτελεί διαθέσιμο υλικό για τα φυτά. Τα στάδια είναι τα εξής:

- Αμινοποίηση
- Αμμωνιοποίηση

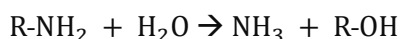
#### I. Αμινοποίηση (Aminization)

Ετεροτροφικά βακτήρια και μύκητες αποσυνθέτουν τις πρωτεΐνες απελευθερώνοντας αμίνες και αμινοξέα, με τα πρώτα να κυριαρχούν στα ουδέτερα και αλκαλικά εδάφη, ενώ τα δεύτερα στα όξινα.

Πρωτεΐνη  $\rightarrow$  R-NH<sub>2</sub> + Ενέργεια + Λοιπά Προϊόντα

#### II. Αμμωνιοποίηση (Ammonification)

Ετερότροφοι μικροοργανισμοί αποσυνθέτουν τις αμίνες και τα αμινοξέα, τα οποία παρήχθησαν κατά το στάδιο της αμινοποίησης, απελευθερώνοντας αμμωνιακές ενώσεις,  $\text{NH}_4^+$  και  $\text{NH}_3$ . Τα  $\text{NH}_4^+$  είτε θα οξειδωθούν σε  $\text{NO}_3^-$  είτε θα εξαερωθούν στην ατμόσφαιρα, με τη μορφή  $\text{NH}_3$ .



### 1.2.3 Ακίνητοποίηση (Immobilization)

Η ακίνητοποίηση είναι μία βιοχημική διεργασία, κατά την οποία ανόργανες μορφές N ενσωματώνονται σε οργανικά συστατικά της ετεροτροφικής βιομάζας. Θεωρείται ως μία ανεπιθύμητη διεργασία, γιατί δεσμεύει το N σε οργανικές ενώσεις, κάτι το οποίο δεν ευνοεί τη πρόσληψη του από τα φυτά. Παρόλα αυτά παίζει ένα σημαντικό ρόλο στο κύκλο του N, γιατί περιορίζει τη διαφυγή του προς την ατμόσφαιρα και τους υδάτινους αποδέκτες.

Η ανοργανοποίηση και η ακίνητοποίηση αποτελούν δύο αντίρροπες διαδικασίες. Η μεταξύ τους ισορροπία βρίσκεται στη διαθεσιμότητα του C και του N. Συγκεκριμένα για το λόγο C/N ισχύει:

- C/N < 20, λαμβάνει χώρα η ανοργανοποίηση, δηλαδή απελευθερώνεται N από οργανικές ενώσεις

- C/N=20-25, δεν παρατηρείται ούτε ακινητοποίηση ούτε ανοργανοποίηση
- C/N>25, τότε λαμβάνει χώρα η ακινητοποίηση, το N ενσωματώνεται σε οργανικές ενώσεις.

#### 1.2.4 Νιτροποίηση (Nitrification)

Η νιτροποίηση είναι το επόμενο στάδιο στο κύκλο του N. Στάδιο υψίστης σημασίας για τη θρέψη των φυτών και τη γονιμότητα του εδάφους. Αποτελεί μία βιολογική διεργασία οξείδωσης, κατά την οποία η  $\text{NH}_3$  και το  $\text{NH}_4^+$  μετατρέπονται αρχικά σε  $\text{NO}_2^-$  και μετέπειτα  $\text{NO}_3^-$ . Η συγκεκριμένη διεργασία γίνεται με τη δράση αυτότροφων και ετερότροφων αερόβιων μικροοργανισμών του εδάφους. Το σύνολο των  $\text{NH}_4^+$  και των  $\text{NO}_3^-$  αποτελεί τη συνολική ποσότητα του ανόργανου N στα εδάφη, με υπεροχή των  $\text{NO}_3^-$ , εκτός αν επικρατούν συνθήκες που παρεμποδίζουν την νιτροποίηση.

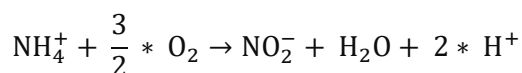
##### I. Ετερότροφοι μικροοργανισμοί

Ετερότροφοι μικροοργανισμοί, όπως ακτινομύκητες, βακτήρια, μικροφύκη και μύκητες, συμβάλλουν στη νιτροποίηση, είτε οξειδώνοντας την  $\text{NH}_3$  από ανόργανα μόρια, είτε μετατρέποντας το N από οργανικά μόρια. Στην αρχή γίνεται η μετατροπή της  $\text{NH}_3$  και η μετατροπή του οργανικού N σε υδροξυλαμίνη ( $\text{NH}_2\text{OH}$ ). Στη συνέχεια η  $\text{NH}_2\text{OH}$  οξειδώνεται σε  $\text{NO}_2^-$ , με την επίδραση του ενζύμου οξειδοαναγωγάσης της  $\text{NH}_2\text{OH}$  (HAO). Η συμβολή των ετερότροφων μικροοργανισμών στη διαδικασία της νιτροποίησης είναι μικρή. Ωστόσο σε ορισμένα όξινα εδάφη, τα  $\text{NO}_3^-$  προέρχονται από τη μετατροπή του ανόργανου N, από ετερότροφους μικροοργανισμούς.

##### II. Αυτότροφοι μικροοργανισμοί

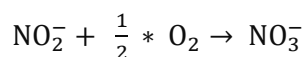
Αυτότροφοι προκαρυωτικοί μικροοργανισμοί συμβάλλουν στη διεργασία της νιτροποίησης, ολοκληρώνοντας την σε δύο στάδια. Στο πρώτο οξειδώνουν τα  $\text{NH}_4^+$  σε  $\text{NO}_2^-$ .

Οξείδωση  $\text{NH}_4^+$  σε  $\text{NO}_2^-$ :



Η διαδικασία αυτή γίνεται από αμμωνιο-οξειδωτικά βακτήρια (AOB) και αρχαία (AOA). Συγκεκριμένα, βακτήρια βήτα- και γάμμα- πρωτεοβακτήρια των γένων *Nitrosoomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira* κ.α. και αρχαία του γένους *Thaumarchaeota* και ένα του γένους *Thermoproteota*, το *Nitrosopumilus Maritimus*, οξειδώνουν τα  $\text{NH}_4^+$  παράγοντας  $\text{NO}_2^-$ . Βασικό ρόλο σε αυτό παίζει ένα ένζυμο, το οποίο βρίσκεται στη κυτταροπλασματική μεμβράνη των αυτότροφων μικροοργανισμών, ονόματι μονο-οξυγενάση της  $\text{NH}_3$  (AMO). Καταλύει την αντίδραση των  $\text{NH}_4^+$  σε  $\text{NH}_2\text{OH}$  και στη συνέχεια το ένζυμο HAO καταλύει την οξείδωση της  $\text{NH}_2\text{OH}$  σε  $\text{NO}_2^-$ .

Οξείδωση  $\text{NO}_2^-$  σε  $\text{NO}_3^-$ :



Στο δεύτερο στάδιο της νιτροποίησης βασικό ρόλο διαδραματίζουν τα βακτήρια οξειδωσης  $\text{NO}_2^-$  (NOB). Τα συγκεκριμένα βακτήρια μετατρέπουν τα  $\text{NO}_2^-$  σε  $\text{NO}_3^-$ , τα οποία αποτελούν βασική πηγή N για ποικίλους οργανισμούς. Τα βακτήρια αυτά ανήκουν στα γένη *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospira*, *Nitrospina* κ.α.. Καταλυτικό ρόλο στην οξείδωση των  $\text{NO}_2^-$  παίζει το ένζυμο νιτρώδη οξειδοαναγωγή (NXR), ένα άφθονο ένζυμο, στα συγκεκριμένα βακτήρια, το οποίο σχηματίζει πυκνές δομές στην επιφάνεια της μεμβράνης και περιέχει πολλαπλές ομάδες.

Παρόλα αυτά υπάρχουν ορισμένα βακτήρια του γένους *Nitrospira*, τα οποία διεκπεραιώνουν και τα δύο στάδια της νιτροποίησης, οξειδώνοντας πλήρως τα  $\text{NH}_4^+$  σε  $\text{NO}_3^-$ . Τα βακτήρια αυτά ονομάζονται πλήρεις οξειδωτές αμμωνίας (COMAMMOX) (Daims et al., 2015 ; Van Kessel et al., 2015). Διαχωρίζονται σε δύο κλάσεις clade A και clade B, λόγω διαφορετικών φυσιολογικών χαρακτηριστικών (Daims et al., 2015). Βρίσκονται σε αφθονία σε ποικίλους φυσικούς οικοτόπους, όπως τα γεωργικά εδάφη, δασικά εδάφη και το νερό, αλλά και σε μηχανικά περιβάλλοντα, όπως τα συστήματα πόσιμου νερού και τα συστήματα επεξεργασίας λυμάτων.

### **Παράγοντες που επηρεάζουν το ρυθμό νιτροποίησης**

Ο πληθυσμός των αμμωνιο-οξειδωτών παίζει το πρωταρχικό ρόλο στη νιτροποίηση. Οι πολυπληθέστεροι νιτροποιητές, σε καθολικό επίπεδο, είναι αυτοί που ανήκουν στα Αρχαία (Yao et al., 2013). Ωστόσο η δράση τους δεν είναι ανάλογη του πληθυσμού τους. Παράγοντες που επηρεάζουν τη νιτροποίηση είναι οι εξής:

**Αμμωνιακό υπόστρωμα:** Το υπόστρωμα  $\text{NH}_3$  έχει ιδιαίτερη σημασία στη διεργασία της νιτροποίησης. Αυτό εξηγείται γιατί μόνο με την παρουσία  $\text{NH}_3$  ξεκινάει η νιτροποίηση, δηλαδή η οξείδωση της  $\text{NH}_3$  σε  $\text{NO}_3^-$ . Οι οξειδωτές  $\text{NH}_3$  δραστηροποιούνται ανάλογα με τη συγκέντρωση του υποστρώματος. Σε χαμηλή συγκέντρωση  $\text{NH}_4^+$  δραστηριοποιούνται οι AOA και COMAMMOX, ενώ σε υψηλή οι AOB (Verhamme et al., 2011 ; Di et al., 2009, 2010).

**Οξυγόνο:** Οι νιτροποιητές είναι αερόβιοι μικροοργανισμοί. Τα παραγόμενά τους ένζυμο AMO, η μονο-οξυγενάση της  $\text{NH}_3$ , ενεργοποιείται παρουσία  $\text{O}_2$ . Για το λόγο αυτό η διαθεσιμότητα  $\text{O}_2$  είναι ανάλογη με το ρυθμό της νιτροποίησης, με ελάχιστο όριο τα 3 mg/l, ώστε να εξασφαλίζεται νιτροποίηση σε χαμηλούς ρυθμούς.

**Υγρασία :** Το ποσοστό υγρασίας των εδαφών παίζει σημαντικό ρόλο για τη νιτροποίηση. Οι μικροβιακοί νιτροποιητές, ως έμβια όντα χρειάζονται νερό για να επιβιώσουν. Παρόλα αυτά τα υψηλά ποσοστά νερού στο έδαφος «φράζουν» τους εδαφικούς πόρους, με αποτέλεσμα να μην γίνεται ο σωστός αερισμός των εδαφών, κάτι το οποίο μειώνει το ρυθμό της νιτροποίησης και μπορεί να οδηγήσει σε ανοξικές συνθήκες με εκκίνηση της διαδικασίας της απονιτροποίησης.

**Θερμοκρασία:** Καθοριστικός παράγοντας της νιτροποίησης αποτελεί η θερμοκρασία, γιατί επηρεάζει άμεσα ή έμμεσα τις μικροβιακές μεταβολικές δραστηριότητες, των μικροοργανισμών, οι οποίοι πρωταγωνιστούν στην διεργασία αυτήν (Karhu et al., 2014 ; Hu et al., 2016). Σαν γενικό κανόνα μπορούμε να πούμε πως με την αύξηση της θερμοκρασίας αυξάνεται και ο μικροβιακός ρυθμός νιτροποίησης. Το επιθυμητό εύρος θερμοκρασίας είναι από 25 °C μέχρι 50 °C, με τις χαμηλότερες θερμοκρασίες αυτού του εύρους (25°-35°C) να ανήκουν στα AOB και τις υψηλότερες (35°C-50°C) στα AOA. Σε

χαμηλότερες τιμές εκτός ορίων, του προαναφερόμενου εύρους τιμών, παρατηρείται νιτροποίηση σε χαμηλά επίπεδα, με τερματισμό της διαδικασίας στους 4 °C και θανάτωση των μικροοργανισμών στους 0 °C. Η αύξηση της θερμοκρασίας επηρεάζει τη νιτροποίηση, άμεσα, λόγω της μεταβολής των μικροβιακών δραστηριοτήτων. Σε μεγαλύτερες τιμές από τους 50 °C η νιτροποίηση δεν πραγματοποιείται, σύμφωνα με παλιότερες έρευνες. Αυτό οφείλεται στο ότι σε υψηλές θερμοκρασίες η ενεργότητα των παραγόμενων πρωτεϊνών καταστέλλεται και στο ότι επέρχεται θάνατος των νιτροποιητών σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες. Εξαιρεση αποτελεί ο νιτροποιητής *Nitrosocaldus yellowstonensis*, ο οποίος ανήκει στα Αρχαία, με βέλτιστη νιτροποιητική θερμοκρασία τους 74 °C (De La Torre et al., 2008). Με την αύξηση της θερμοκρασίας μειώνεται η εδαφική υγρασία, αυξάνοντας έτσι τη διαθεσιμότητα του O<sub>2</sub> (Bai et al., 2013 ; Brandford et al., 2008).

pH: Το pH συμβάλλει στη διαδικασία της νιτροποίησης, με ευνοϊκότερες συνθήκες αυτές με τιμές από 5,5 έως 8, με βέλτιστες περίπου 6,5 με 7. Τα AOA δραστηριοποιούνται εντονότερα σε όξινα περιβάλλοντα, σε αντίθεση με τα AOB (Yu et al., 2018 ; Zhang et al., 2012, 2018 ; Li et al., 2018). Πρόσφατες έρευνες όμως έδειξαν πως ένας νιτροποιητής των AOB, το *Nitrosacidococcus*, δραστηριοποιείται σε όξινες συνθήκες με pH 2,5. Τα NH<sub>4</sub><sup>+</sup> αποτελούν βάση, για αυτό κιόλας παρατηρείται μια αντιστοιχία στο υπόστρωμα και το pH όσον αφορά τη δράση των μικροβιακών οξειδωτών.

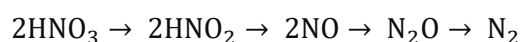
Βιοποικιλότητα ριζόσφαιρας: Η ποικιλία τόσο της χλωρίδας όσο και της πανίδας στη ζώνη της ριζόσφαιρας επηρεάζει σημαντικά τη νιτροποίηση. Η παρουσία ετερότροφων μικροοργανισμών, οι οποίοι οξειδώνουν την NH<sub>3</sub>, συμβάλλει κατά πολύ στην αύξηση της συγκέντρωσης των NO<sub>3</sub><sup>-</sup> στα εδάφη. Νεκρά φυτικά υπολείμματα λειτουργούν σαν λίπασμα, εμπλουτίζοντας με διάφορα θρεπτικά συστατικά τα εδάφη. Εκκρίσεις από τις ρίζες φυτών αναστέλλουν τη βακτηριακή δράση, όπως θα δούμε εκτενέστερα σε παρακάτω κεφάλαιο. Πρωτόζωα και νηματώδη, τα οποία βρίσκονται στα εδάφη επηρεάζουν τη κατανομή της μικροβιακής κοινότητας των οξειδωτών (Griffiths, 1989), και με τη δράση τους καθορίζουν τη διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών, στα οποία συγκαταλέγεται και το N.

Οργανική ύλη: Η διεργασία της νιτροποίησης είναι στενά συνδεδεμένη με το βιογεωχημικό κύκλο του C (Gruber and Galloway, 2008) . Η αυξημένη ποσότητα C οδηγεί στην ακινητοποίηση, με αποτέλεσμα να μην έχουμε νιτροποίηση.

#### 1.2.5 Απονιτροποίηση (Denitrification)

Η απονιτροποίηση είναι μια διεργασία, κατά την οποία τα NO<sub>3</sub><sup>-</sup> και NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, τα οποία παρήχθησαν λόγω της νιτροποίησης, ανάγονται σε N και υποξείδιο του αζώτου (N<sub>2</sub>O), τα οποία απελευθερώνονται στην ατμόσφαιρα (Yang et al., 2017). Η συγκεκριμένη διεργασία λαμβάνει χώρα σε ανοξικές συνθήκες, οι οποίες συνήθως δημιουργούνται μετά από έντονες βροχοπτώσεις, κατά τις οποίες τα εδάφη έχουν κορεστεί από νερό και το ατμοσφαιρικό O<sub>2</sub> δεν είναι εύκολα διαθέσιμο. Διάφοροι αναερόβιοι μικροοργανισμοί, οι οποίοι υπάρχουν στα εδάφη, συμβάλλουν στην απονιτροποίηση, όπως ετερότροφα βακτήρια (*Pseudomonas*, *Paracoccus denitrificans*) και αυτότροφα βακτήρια (*Thiobacillus denitrificans*).

Ακολουθία αντιδράσεων απονιτροποίησης:

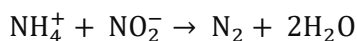


Η διεργασία της απονιτροποίησης έχει κυρίως επιβλαβή αποτελέσματα, διότι παράγονται αέρια, όπως το  $N_2O$ , ένα βασικό αέριο του φαινομένου του θερμοκηπίου, και το μονοξείδιο του αζώτου ( $NO$ ) αέριο το οποίο διασπά το ατμοσφαιρικό όζον ( $O_3$ ). Ακόμα επιφέρει απώλεια  $NO_3^-$ , από τα εδάφη, κάτι που δεν συμφέρει στη γεωργική παραγωγή, κατά την οποία χρησιμοποιούνται αζωτούχα λιπάσματα. Όμως η απονιτροποίηση στην επεξεργασία λυμάτων συνεισφέρει στην απομάκρυνση των  $NO_3^-$  από τα ύδατα, πριν την επαναχρησιμοποίησή τους ή τη διοχέτευσή τους στο περιβάλλον.

#### Αναερόβια Οξειδωση Αμμωνίας (ANAerobic AMMonium OXidation-ANAMMOX)

Στα τέλη του προηγούμενου αιώνα ανακαλύφθηκαν διάφοροι προκαρυωτικοί αναερόβιοι μικροοργανισμοί, συγκεκριμένα βακτήρια, τα οποία κάτω από ανοξικές συνθήκες έχουν την ικανότητα να οξειδώνουν την  $NH_3$  και τα  $NO_2^-$  απευθείας σε  $N$ . Η διαδικασία αυτή χαρακτηρίστηκε ως αναερόβια οξειδωση της αμμωνίας (anaerobic ammonium oxidation – ANAMMOX). Τα συγκεκριμένα βακτήρια ανήκουν στο γένος *Planctomycetota* και βρίσκονται σε υδάτινα οικοσυστήματα, όπως οι ωκεανοί, οι λίμνες γλυκού νερού και οι εκβολές των ποταμών.

Χημική αντίδραση αναερόβιας οξειδωσης  $NH_3$ :



#### 1.2.6 Εξαέρωση (Volatilization)

Η εξαέρωση της  $NH_3$  είναι ένας φυσικός τρόπος απώλειας του  $N$ . Η διεργασία αυτή αυξάνει τη συγκέντρωση της  $NH_3$  στην ατμόσφαιρα, η οποία αντιδρά με τα ατμοσφαιρικά οξείδια του θείου ( $SO_x$ ). Έτσι παράγεται θειική αμμωνία ( $(NH_4)_2SO_4$ ), η οποία ευθύνεται για την όξινη βροχή και την οξίνιση των εδαφών κατά την απόθεση της στο έδαφος μέσω των βροχοπτώσεων.

#### 1.2.7 Έκπλυση $NO_3^-$ (Evaluation $NO_3^-$ )

Το  $NO_3^-$ , όταν εκπλένεται μέσω των υπογείων υδάτων, είναι υπεύθυνο για την ρύπανση και των ευτροφισμό των υδάτινων περιβαλλόντων (Sutton et al., 2011). Στην περίπτωση που η ποσότητα του νερού στο έδαφος είναι υψηλή, η περίσσεια ποσότητα από τη διαδικασία της εξατμισοδιαπνοής, είτε αποθηκεύεται στους εδαφικούς πόρους είτε διηθείται στα κατώτερα στρώματα του εδάφους. Κατά τη διήθηση αυτή του νερού παρασύρονται και μετακινούνται ιόντα και μόρια, ευδιάλυτα στο νερό, αλλά και κolloειδή σωματίδια, που κατανέμονται στο έδαφος, σε κατώτερα στρώματα της εδαφικής κατατομής. Τα ελεύθερα μόρια  $NO_3^-$ , που βρίσκονται στο έδαφος, προσροφούνται από τη στερεή φάση και μετακινούνται στα κατώτερα στρώματα εδάφους, στη συνέχεια στον υπόγειο υδροφόρο ορίζοντα και καταλήγουν στην επιφανειακή απορροή λιμνών, ποταμών και θαλασσών. Όλη αυτή η διαδικασία απομάκρυνσης των  $NO_3^-$ , από τα εδάφη, ονομάζεται έκπλυση  $NO_3^-$ . Η υψηλή συγκέντρωση  $NO_3^-$  στις λίμνες προκαλεί το φαινόμενο του ευτροφισμού.



### 1.3 Οξειδωτές NH<sub>3</sub>

Περί τα τέλη του 19<sup>ου</sup> αιώνα ο Louis Pasteur (1862) επεσήμανε πως η οξείδωση της NH<sub>3</sub> σε NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (νιτροποίηση) αποτελεί μία βιολογική διεργασία. Αργότερα ο Robert Warington (1879) παρατήρησε πως πραγματοποιείται σε δύο στάδια, υπόθεση η οποία επιβεβαιώθηκε από τον John Munro (1886) και τον Winogradsky (1890). Η βιολογική αυτή διεργασία γινόταν από διάφορα γένη βακτηρίων, από τα οποία κάποια οξείδωναν την NH<sub>3</sub> σε NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (πρώτο στάδιο), ονόματι αμμωνιο-οξειδωτικά βακτήρια (*ammonia oxidizing bacteria-AOB*), ενώ κάποια άλλα οξείδωναν τα NO<sub>2</sub><sup>-</sup> σε NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (δεύτερο στάδιο), τα λεγόμενα βακτήρια οξείδωσης νιτρωδών αλάτων (*nitrite oxidizing bacteria-NOB*). Για πολλά χρόνια θεωρούσαμε μόνο αυτά τα βακτήρια ότι πρωταγωνιστούν στη νιτροποίηση, ώσπου στις αρχές του 21<sup>ου</sup> αιώνα ανακαλύφθηκε ένας μικροοργανισμός, ονόματι *Nitrosopumilus Maritimus*, του γένους *Thermoproteota* (αλλιώς *Crenarchaea*) των μονοκύτταρων οργανισμών Αρχαία (*Archaea*), ο οποίος οξείδώνει τα NH<sub>4</sub><sup>+</sup> σε NO<sub>2</sub><sup>-</sup>. Στη συνέχεια διερευνήθηκαν περαιτέρω και άλλοι μικροοργανισμοί των Αρχαίων, συμπεραίνοντας ότι το γένος *Nitrososphaerota*, γνωστό και ως *Thaumarchaeota*, περιλαμβάνει πολλούς μικροοργανισμούς, οι οποίοι συμμετέχουν στο πρώτο στάδιο της οξείδωσης των NH<sub>4</sub><sup>+</sup> σε NO<sub>2</sub><sup>-</sup>. Οι μικροοργανισμοί αυτοί ονομάστηκαν αμμωνιο-οξειδωτικά αρχαία (*ammonia oxidizing archaea-AOA*). Το 2015 όμως παρατηρήθηκε πως ορισμένοι μικροοργανισμοί του βακτηριακού γένους *Nitrospira*, και αργότερα με επιπλέον έρευνες και άλλα γένη βακτηρίων, συμμετέχουν και στα δύο στάδια της νιτροποίησης (Daims et al., 2015 ; van Kessel et al., 2015), ανατρέποντας τα μέχρι τότε δεδομένα, όσον αφορά τον κύκλο του N. Τα συγκεκριμένα βακτήρια ονομάστηκαν πλήρεις οξειδωτές αμμωνίας (*Complete AMMONia Oxidation-COMAMMOX*).

Για το προσδιορισμό της ποσοτικοποίησης των μικροοργανισμών στο έδαφος υπολογίζεται η ποσότητα των γονιδίων *amoA* για κάθε μικροβιακή κοινότητα, AOA, AOB και COMAMMOX, αντίστοιχα. Τα γονίδια *amoA* είναι μια αλληλουχία του DNA, που συνθέτουν τα πεπτίδια του ενζύμου της μονο-οξυγενάσης της NH<sub>3</sub>. Λόγω της συνύπαρξης των οξειδωτών στα οικοσυστήματα, για την ορθή έρευνα της φύσεως τους, πρέπει να απομονωθούν και να μελετηθούν ξεχωριστά. Για αυτό το λόγο χρησιμοποιούνται διάφοροι αναστολείς, με το *αλειφατικό αλκύνιο 1-οκτίνιο* να είναι ο αποτελεσματικότερος για την αναστολή των AOB, χωρίς να επηρεάζει τη δραστηριότητα των AOA. Ενώ για την αναστολή των AOA χρησιμοποιείται *σιμβαστατίνη*, μία στατίνη η οποία παρεμβαίνει στη βιοσύνθεση της κυτταρικής μεμβράνης των αρχαίων, χωρίς να αναστέλλει τη δράση των βακτηρίων.

Τα AOB και AOA συνυπάρχουν στα περισσότερα εδάφη (Xia et al., 2011). Συνηθέστερα είναι τα AOA, σε σύγκριση με τα AOB (Yao et al., 2013). Ωστόσο η μικροβιακή αφθονία δεν συνεπάγεται απαραίτητα με τη μικροβιακή δραστηριότητα. Οι οξειδωτές NH<sub>3</sub> αρχαίων και βακτηρίων έχουν διαφορετικές οικολογικές θέσεις και περιβαλλοντικές προσαρμογές, με γνώμονα πάντα διάφορους παράγοντες, οι οποίοι επηρεάζουν το κύκλο του N. Τα AOA κατέχουν κυρίαρχο ρόλο σε όξινα εδάφη, ενώ τα AOB σε αλκαλικά και ουδέτερα εδάφη. Αυτό οφείλεται στην ικανότητα των AOA να επιβιώνουν και να δραστηριοποιούνται σε συνθήκες χαμηλής συγκέντρωσης NH<sub>3</sub>, εν αντιθέσει των AOB, τα οποία παίζουν βασικό ρόλο στη διαδικασία της νιτροποίησης σε συστήματα με υψηλές συγκεντρώσεις. Όμως ένα βακτήριο τύπου *Nitrospira* πρωταγωνιστεί στη νιτροποίηση στα όξινα δασικά εδάφη και ορυζώνες (Zhang et al., 2019), αυτό μπορεί και να οφείλεται στους μικροοργανισμούς COMAMMOX *Nitrospira*, οι οποίοι παίζουν σημαντικό ρόλο σε συστήματα με χαμηλές NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Γενικά τα AOB επικρατούν σε παράκτιες περιοχές, λύματα, λιβάδια και εκβολές ποταμών,

που είναι πλούσια σε ποσότητα  $\text{NH}_4^+$  (Di et al., 2009). Αντιθέτως τα AOA επικρατούν σε ωκεάνια ύδατα, λίμνες γλυκού νερού, ορυζώνες και ιζήματα ποταμών, που αποτελούν περιβάλλον χαμηλής συγκέντρωσης  $\text{NH}_4^+$ . Παρατηρήθηκε όμως πως οι αυτότροφοι μικροοργανισμοί του γένους *Candidatus Nitrosocosmicus*, των αρχαίων, έχουν την ικανότητα να διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στη διαδικασία της νιτροποίησης, ακόμα και σε περιβάλλον με υψηλή περιεκτικότητα  $\text{NH}_3$  (Liangting Liu et al., 2021), σε τιμές περίπου μεγαλύτερες από 100mM  $\text{NH}_4^+$ . Η δραστηριότητα των COMAMMOX περιορίζεται σε συνθήκες υψηλής περιεκτικότητας  $\text{NH}_3$ . Τα AOA θεωρούνται ότι προέρχονται από θερμόφιλους προγόνους (Brochier-Armanet et al., 2012), γιατί παρουσιάζουν αυξημένη δραστηριότητα, με βέλτιστες τιμές θερμοκρασίας, περίπου 12 °C, παραπάνω από τις αντίστοιχες των AOB (Taylor et al., 2017). Αξιοσημείωτο αποτελεί το γεγονός της αφθονίας της κοινότητας των AOA στα εδάφη, η οποία δραστηριοποιείται σε υψηλές θερμοκρασίες, εν όψει της κλιματικής αλλαγής και της υπερθέρμανσης του πλανήτη (Hu et al., 2016), προκαλώντας ερωτήματα για την εξέλιξη και τη προσαρμογή των συγκεκριμένων οξειδωτών στις περιβαλλοντικές αλλαγές. Όσον αφορά το βάθος του εδάφους και την δραστηριότητα όλων των αυτότροφων μικροοργανισμών, που συμμετέχουν στη νιτροποίηση, παρουσιάζουν αντιστρόφως ανάλογες τιμές (Ouyang et al., 2017). Οι COMAMMOX προσαρμόζονται καλύτερα σε συνθήκες περιορισμένου C, συγκριτικά με τα AOB (Lawson and Lucker, 2018).

#### 1.4 Αναστολείς Νιτροποίησης / Παρεμποδιστές

Οι απώλειες των  $\text{NO}_3^-$ , οι οποίες επιτυγχάνονται μέσω διαφόρων διεργασιών και αναφέρθηκαν προηγουμένως, δημιουργούν περιβαλλοντικά προβλήματα, όπως ο ευτροφισμός υδάτινων οικοσυστημάτων, η παραγωγή NO, ένα καταλυτικό αέριο του ανασυνδυασμού του  $\text{O}_3$  σε  $\text{O}_2$ , και η παραγωγή  $\text{N}_2\text{O}$ , βασικό αέριο στο φαινόμενο του θερμοκηπίου. Για την αποφυγή των απωλειών είναι απαραίτητη η χρήση παρεμποδιστών της νιτροποίησης, ουσίες γνωστές ως αναστολείς νιτροποίησης (nitrification inhibition-NI). Η χρήση των συγκεκριμένων παρεμποδιστών αποσκοπεί στο περιορισμό της διεργασίας της νιτροποίησης. Οι αναστολείς νιτροποίησης παρεμβαίνουν στο κύκλο του N παρεμποδίζοντας τους μικροοργανισμούς, οι οποίοι συμμετέχουν στην οξείδωση των  $\text{NH}_4^+$ , με αποτέλεσμα να μειώνουν το ρυθμό δράσης τους.

Οι παρεμποδιστές χωρίζονται στους συνθετικούς αναστολείς νιτροποίησης (Synthetic Nitrification Inhibitors-SNI) και στους βιολογικούς αναστολείς νιτροποίησης (Biological Nitrification Inhibitors-BNI).

Τέλος επειδή η νιτροποίηση προκαλεί προβλήματα όπως η απώλεια αζωτούχων λιπασμάτων (Lassaletta et al., 2014), με τη πάροδο των χρόνων αναπτύχθηκαν διάφορα είδη λιπασμάτων, τα οποία αποτελούνται από περικαλυμμένους κόκκους θρεπτικών στοιχείων, απαραίτητων για τα εδάφη, τα οποία εξασφαλίζουν συνεχόμενη τροφοδοσία θρεπτικών στοιχείων, αποφεύγοντας τη συσσώρευση χημικών ουσιών, όπως τα  $\text{NO}_3^-$ , και κατά επέκταση τις απώλειες και τα επιβλαβή αποτελέσματα.

#### 1.5 Νιτρορύπανση

Το N, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, αποτελεί ένα απαραίτητο στοιχείο για τους έμβιους οργανισμούς του πλανήτη μας. Αποτελεί δομικό στοιχείο πολλών πρωτεϊνών, αμινών αλλά

και νουκλεϊκών οξέων. Για το λόγο αυτό ήταν απαραίτητη η διερεύνηση και αποσαφήνιση του κύκλου του. Διεξήχθησαν πολλές μελέτες, σχετικά με το κύκλο του N, στα εδαφικά και υδάτινα οικοσυστήματα, καταλήγοντας σε ένα ικανοποιητικό σημείο κατανόησης του. Αυτό είχε ως συνέπεια την παρέμβαση του ανθρώπου στο κύκλο αυτό, με απώτερο σκοπό την βελτιστοποίηση της γεωργικής παραγωγής.

Δημιουργήθηκαν λιπάσματα, πλούσια σε θρεπτικά υλικά και  $\text{NH}_3$ , ώστε να προσομοιάζουν τις ευνοϊκότερες συνθήκες για τη διαδικασία της νιτροποίησης και να τροφοδοτούν με άφθονη  $\text{NH}_3$  τα εδάφη, δηλαδή την κύρια ουσία έναρξης της διεργασίας της νιτροποίησης.

Το N πέρα από τις θετικές επιδράσεις του, προξενεί αρκετές βλαβερές επιπτώσεις. Η περίσσεια N, η παραγωγή  $\text{NO}_x$ , κατά το κύκλο του, και οι απώλειες  $\text{NO}_3^-$  επιφέρουν προβλήματα τόσο στο περιβάλλον όσο και στον άνθρωπο.

### 1.6 Αντικείμενο Μελέτης

Αντικείμενο μελέτης της συγκεκριμένης διπλωματικής διατριβής είναι η διαδικασία νιτροποίησης σε συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας συναρτήσει του  $\text{NH}_3$  υποστρώματος σε εδάφη. Σε εργαστηριακό επίπεδο μελετήθηκε η επίδραση της θερμοκρασίας στο στάδιο της νιτροποίησης, εκθέτοντας εδάφη σε υψηλές θερμοκρασίες. Ακόμα μελετήθηκε ο χρόνος έκθεσης των εδαφών σε διάφορες θερμοκρασίες. Τέλος μελετήθηκε ο ρόλος του  $\text{NH}_3$  υποστρώματος κατά τη νιτροποίηση σε υψηλές θερμοκρασίες.

Η νιτροποίηση, αποτελεί βασικό στάδιο στο κύκλο του N. Η κατανόηση της διεργασίας αυτής αποσκοπεί στην βελτιστοποίηση της γεωργικής παραγωγής, ανάλογα με τις κλιματολογικές και περιβαλλοντικές συνθήκες. Γνωρίζοντας την επίδραση διαφόρων θερμοκρασιών στη νιτροποίηση και στη δράση των μικροοργανισμών, οι οποίοι λαμβάνουν χώρα, επιτυγχάνεται καλύτερη διαχείριση των εδαφών. Έτσι αποφεύγουμε τις απώλειες  $\text{NO}_3^-$  και την περίσσεια  $\text{NH}_3$ , μέσω λιπασμάτων, και κατά επέκταση τις επιβλαβείς συνέπειες της νιτρορύπανσης για το περιβάλλον και τον άνθρωπο.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 – ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ**

## 2.1 Περιγραφή Πειράματος

Για την επίτευξη των προαναφερθέντων στόχων χρησιμοποιήθηκαν εδάφη που υπόκεινται σε εντατική καλλιέργεια. Από τα εδάφη αφαιρέθηκαν μικρές πέτρες και υπολείμματα οργανικής προέλευσης και κοσκινίστηκαν σε κόσκινο των 2 mm. Για την απομάκρυνση της περίσσειας των  $\text{NO}_3\text{-N}$  τα εδάφη δέχτηκαν έκπλυση με περίσσεια νερού και αφέθηκαν να στραγγίσουν και να ξηρανθούν ώστε να μπορούν να πραγματοποιηθούν οι μεταχειρίσεις. Σε επόμενο βήμα, τα εδάφη μοιράσθηκαν σε φάλκον των 50 ml στα οποία τοποθετήθηκαν 12 gr εδάφους. Στα εδάφη επίσης προστέθηκαν νερό βρύσης για την έκλυση, των ήδη υπαρχόντων  $\text{NO}_3^-$ . Την επόμενη μέρα κατανεμήθηκε το κοσκινισμένο χώμα σε φάλκον, τα οποία αποτέλεσαν τους υπό μελέτη μικρόκοσμους, κατά τη πειραματική μας διαδικασία.

Για την επίτευξη των παραπάνω στόχων πραγματοποιήθηκαν τέσσερα ξεχωριστά πειράματα, τα οποία περιγράφονται παρακάτω.

### I. Πρώτο πείραμα

Οι μικρόκοσμοι εμπλουτίστηκαν με  $100 \mu\text{g NH}_4^+ - \text{N} / \text{g}$  εδάφους και εκτεθήκαν σε θερμοκρασίες των  $20^\circ\text{C}$  (θερμοκρασία περιβάλλοντος), των  $35^\circ\text{C}$  και των  $45^\circ\text{C}$ . Συγκεκριμένα τοποθετήθηκαν δώδεκα φάλκον σε κάθε θάλαμο επώασης και δώδεκα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Μετά από δύο ημέρες εμπλουτίστηκαν με  $100 \mu\text{g NH}_4^+ - \text{N} / \text{g}$  εδάφους και τοποθετήθηκαν ακόμα εννέα μικρόκοσμοι σε κάθε θερμοκρασία. Από το πέρας δέκα ημερών, από την πρώτη τοποθέτηση οι μικρόκοσμοι εδάφους απομακρύνθηκαν από τον θάλαμο επώασης. Συνολικά έγιναν τέσσερις και τρεις μετρήσεις στα δείγματα μας, ανάλογα με το χρόνο έκθεσης τους στις αντίστοιχες θερμοκρασίες. Ο προσδιορισμός των  $\text{NO}_3\text{-N}$  πραγματοποιούνταν ανά τρεις ή τέσσερις μέρες.

### II. Δεύτερο πείραμα

Σαράντα οχτώ μικρόκοσμοι εδάφους προετοιμάσθηκαν και τοποθετηθήκαν σε θάλαμο επώασης στους  $40^\circ\text{C}$  και  $45^\circ\text{C}$ . Τρεις μέρες αργότερα τα δείγματα εμπλουτίστηκαν με  $100 \mu\text{g NH}_4^+ - \text{N} / \text{g}$  εδάφους, και οι μισοί μικρόκοσμοι διατηρήθηκαν εκτός του θαλάμου επώασης. Έτσι τα μισά δείγματα εκτεθήκαν τρεις μέρες μόνο στις θερμοκρασίες αυτές, ενώ τα υπόλοιπα εκτεθήκαν σε διάρκεια δεκατριών ημερών. Η διαφοροποίηση αυτή σε σχέση με το προηγούμενο πείραμα εφαρμόστηκε ώστε να είναι εφικτή η ανίχνευση υπολειμματικών επιδράσεων στη δραστηριότητα των μικροοργανισμών σε μικρής διάρκειας έκθεση σε υψηλές θερμοκρασίες εδάφους, συνθήκες δηλαδή που μπορεί να επικρατήσουν μετά από μικρής διάρκειας καύσωνες. Το σύνολο των μετρήσεων που πραγματοποιήθηκαν, για το προσδιορισμό των  $\text{NO}_3^-$  και  $\text{NH}_4^+$  ήταν τέσσερις μετρήσεις, για κάθε θερμοκρασία συμπεριλαμβανομένων των μικρόκοσμων εδάφους που αναπτύσσονταν υπό κανονικές συνθήκες θερμοκρασίες.

### III. Τρίτο πείραμα

Στο συγκεκριμένο πείραμα διερευνήθηκε η επίδραση της θερμοκρασίας στην διεργασία της νιτροποίησης, για χρονική διάρκεια μιας εβδομάδας, παρουσία ή απουσία  $\text{NH}_3$  υποστρώματος. Η παρουσία και ειδικότερα η συγκέντρωση  $\text{NH}_4^+$  μπορεί να έχει ως συνέπεια

την ανάπτυξη τοξικοτήτων στους νιτροποιητές και πιθανότατα η ένταση της τοξικότητας είναι συνάρτηση της θερμοκρασίας. Επίσης, αυξημένες θερμοκρασίες είναι γνωστό ότι επιταχύνουν την αποδόμηση οργανικού υλικού ελευθερώνοντας  $NH_4^+$ . Επομένως το πείραμα αυτό σχεδιάστηκε ώστε να δώσει απαντήσεις στα παραπάνω ερωτήματα. Το υπόστρωμα περιλάμβανε  $100 \mu g NH_4^+ - N / g$  εδάφους. Οι εξεταζόμενες θερμοκρασίες ήταν  $30^\circ C$ ,  $35^\circ C$ ,  $40^\circ C$  και  $45^\circ C$ . Σε κάθε θερμοκρασία ξεχωριστά εκτεθήκαν δέκα μικρόκοσμοι, από τους οποίους οι έξι είχαν εμπλουτιστεί με  $NH_3$ , ενώ οι υπόλοιποι τέσσερις όχι. Τα δείγματα παρουσία  $NH_3$  χαρακτηρίστηκαν ως εμπλουτισμένα και τα υπόλοιπα ως δείγματα αναφοράς. Σε κάθε μέτρηση για το προσδιορισμό των  $NO_3^-$  και  $NH_4^+$ , χρησιμοποιήθηκαν τρία και δύο δείγματα αντίστοιχα.

#### IV. Τέταρτο πείραμα

Στο τελευταίο πείραμα προσδιορίστηκε η συγκέντρωση των  $NO_3^-$  και  $NH_4^+$  σε θερμοκρασία  $50^\circ C$ . Στην θερμοκρασία αυτή έχει δείχθει ότι παρεμποδίζεται ολοσχερώς η δράση βακτηριακών οξειδωτών της  $NH_3$ . Συγκεκριμένα τοποθετηθήκαν είκοσι εννέα φάλκον με χώμα σε θάλαμο επώασης των  $50^\circ C$ . Εμπλουτίστηκαν, με  $100 \mu g NH_4^+ - N / g$  εδάφους, είκοσι ένα δείγματα, τα δώδεκα δείγματα τρεις μέρες μετά την εισαγωγή τους θάλαμο επώασης, χαρακτηρίστηκαν ως εμπλουτισμένα(I), ενώ τα άλλα εννέα δείγματα έξι μέρες μετά, χαρακτηρίστηκαν ως εμπλουτισμένα (II). Τα εναπομείναντα οχτώ φάλκον, δεν εμπλουτίστηκαν, αποτελώντας τα δείγματα αναφοράς. Οι μικρόκοσμοι εκτεθήκαν σε αυτή τη θερμοκρασία για διάστημα δέκα έξι ημερών. Έγιναν συνολικά τέσσερις μετρήσεις, των  $NO_3^-$  και  $NH_4^+$ , και των τριών διαφορετικών περιπτώσεων, εκτός από τη πρώτη μέτρηση, κατά την οποία δεν είχαν ακόμα εμπλουτιστεί τα εμπλουτισμένα (II),ο εμπλουτισμός των οποίων έγινε την έκτη ημέρα.

Ο εμπλουτισμός του υποστρώματος σε κάθε πείραμα έγινε με τη προσθήκη διαλύματος  $0,5 ml (NH_4)_2SO_4$ . Για να συντηρηθεί η υγρασία στο χώμα, καθόλη τη διάρκεια των πειραμάτων, οι απώλειες υγρασίας αναπληρώθηκαν με την προσθήκη νερού. Στην περίπτωση των δοχείων που χρησιμοποιήθηκαν ως control, αντί διαλύματος εφαρμόσθηκαν  $0,5 ml$  νερού.

Η παρασκευή του διαλύματος,  $(NH_4)_2SO_4$ , έγινε με γνώμονα την ποσότητα εμπλουτισμού, αλλά και τη ποσότητα των διαλυμάτων, στα οποία θα το βάζαμε, για κάθε πείραμα.

### **2.2 Προσδιορισμός $NO_3^-$**

Ο προσδιορισμός των  $NO_3^-$  έγινε με τη Μέθοδο Καδμίου (Cd).

Από τους μικρόκοσμους των  $12 gr$ , ζυγίστηκαν και αφαιρέθηκαν σε καινούργιο φάλκον τα  $5 gr$ . Στο καινούργιο φάλκον προστέθηκαν  $40 ml$  απιονισμένου νερού. Αναδεύτηκαν χειροκίνητα, ανά δέκα λεπτά, σε χρονικό περιθώριο της μισής ώρας, ώστε να επιτευχθεί η εκχύλιση των  $NO_3^-$ . Στη συνέχεια διαχωρίστηκε το υγρό διάλυμα και το χώμα, με φυγοκέντρωση. Από το υπερκείμενο υγρό πάρθηκαν  $1,5 ml$  και τα αναμείχθηκαν με  $3,5 ml$  απιονισμένου νερού. Στο νέο διάλυμα προστέθηκε σκόνη Cd για  $5 ml$  διαλύματος και αναδεύθηκε καλά για να διαλυθεί η σκόνη. Έπειτα μετρήθηκε φασματοφωτομετρικά η ένταση της ακτινοβολίας, που διέρχεται από το διάλυμα, σε μήκος κύματος  $425 nm$ . Τέλος υπολογίστηκε η συγκέντρωση των  $NO_3^-$  μέσω της καμπύλης αναφοράς με κλίση  $42,2$ .

### 2.3 Προσδιορισμός $NH_4^+$

Ο προσδιορισμός των  $NH_4^+$  έγινε με τη Μέθοδο Nessler.

Από τους μικρόκοσμους των 12 gr, ζυγίστηκαν και αφαιρέθηκαν σε καινούργιο φάλλον τα 5 gr. Στο καινούργιο φάλλον προστέθηκαν 40 ml διαλύματος KCl, συγκέντρωσης 1M. Αναδεύθηκαν χειροκίνητα, ανά δέκα λεπτά, σε χρονικό περιθώριο της μισής ώρας, ώστε να επιτευχθεί η εκχύλιση των  $NH_4^+$ . Στη συνέχεια τοποθετήθηκαν 2 ml διαλύματος σε cubes, τα οποία φυγοκεντρίθηκαν, έτσι ώστε να καθιζάνουν τα υπολείμματα χρώματος, του διαλύματος. Μετά τη φυγοκέντρωση αραιώθηκε 0,15 ml του υπερκείμενου υγρού, με 1,35 ml απιονισμένου νερού, ως προς παραγωγή διαλύματος 1,5 ml. Στο διάλυμα αυτό, προστέθηκε 15  $\mu$ L *Mineral Stabiliser*, ώστε να κατακρημνισθούν τα άλατα, 15 $\mu$ L *Poliviny/ Alcohol Dispersing*, για τη σταθεροποίηση του χρώματος, και 45  $\mu$ L αντιδραστηρίου Nessler, το οποίο προσδίδει το χρώμα στο διάλυμα. Έπειτα μετρήθηκε φασματοφωτομετρικά η απορρόφηση της ακτινοβολίας, από το διάλυμα, σε μήκος κύματος 425 nm. Τέλος υπολογίστηκε η συγκέντρωση των  $NH_4^+$  μέσω της καμπύλης αναφοράς με κλίση 4,43.

### 2.4 Στατιστική επεξεργασία δεδομένων

Με τη χρήση του φασματοφωτομετρικού εργαστηριακού οργάνου μετρήθηκε η απορρόφηση της ακτινοβολίας από τα τελικά διαλύματα. Γνωρίζοντας την απορρόφηση, με τη βοήθεια καμπύλων αναφοράς, υπολογίστηκε η τελική συγκέντρωση των  $NO_3^-$  ανιόντων και των  $NH_4^+$  κατιόντων στα διαλύματα με 5 ml και 1,5 ml αντίστοιχα. Με αναγωγή υπολογίστηκε η αρχική συγκέντρωση των  $NO_3^-$  ανιόντων και των  $NH_4^+$  κατιόντων στα διαλύματα με 40 ml, τα οποία περιείχαν 5 gr εδάφους. Τέλος προσδιορίστηκε η ποσότητα N- $NO_3^-$  / kg εδάφους και η ποσότητα N- $NH_4^+$  / kg εδάφους ανάγοντας την αρχική υπολογισμένη συγκέντρωση των 5 gr εδάφους σε 1000 gr εδάφους.

Ο ρυθμός νιτροποίησης για κάθε θερμοκρασία υπολογίστηκε ως ο λόγος της διαφοράς των συγκεντρώσεων, του εξεταζόμενου χρονικού διαστήματος, ως προς το αντίστοιχο χρονικό διάστημα.

Οι μετρήσεις και οι υπολογισμοί τους παρουσιάζονται σε πίνακες, ξεχωριστά για κάθε πείραμα, στο παράρτημα, στο τέλος της συγκεκριμένης διατριβής.

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 – ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ**

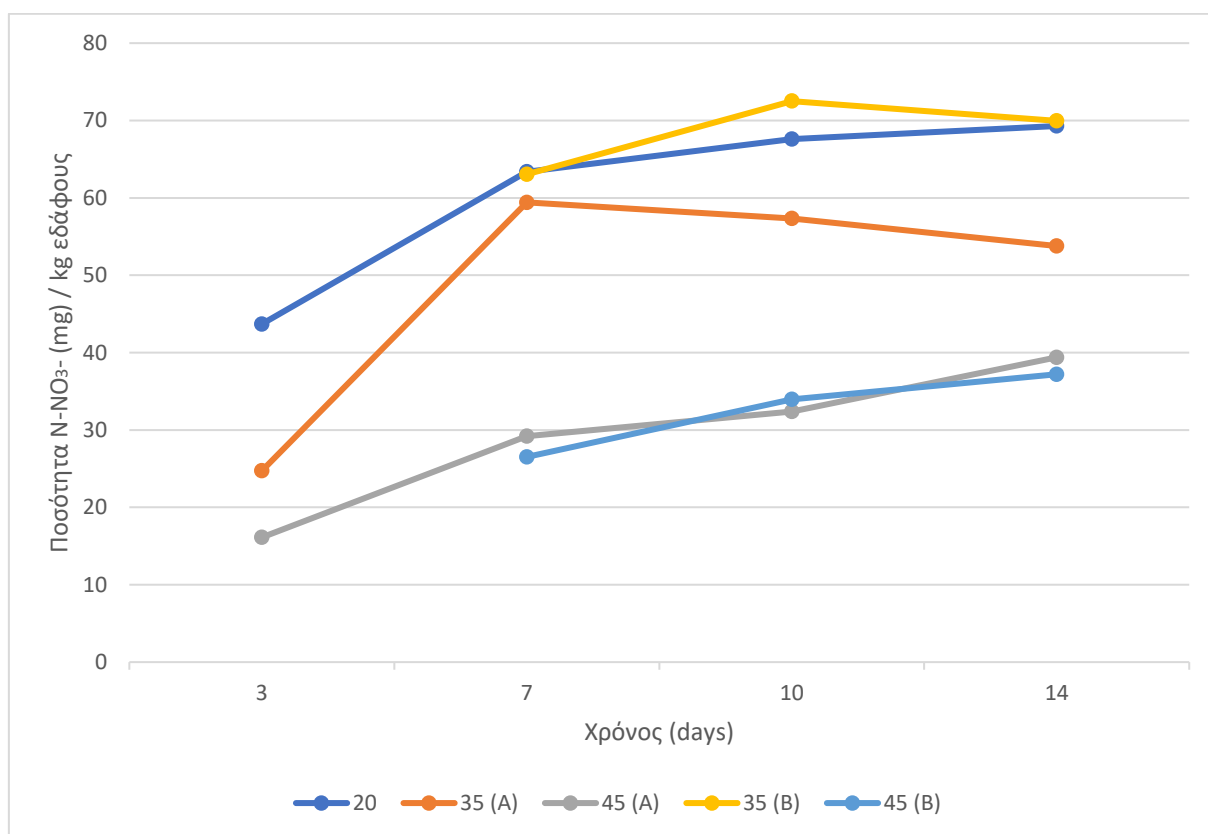


## I. Πρώτο πείραμα

Στο συγκεκριμένο πείραμα υπήρχαν μικρόκοσμοι που ήταν εκτεθειμένοι για δέκα ημέρες στους 35 °C και 45 °C, ενώ άλλοι για οχτώ ημέρες. Για αυτό διαφοροποιήθηκαν σε δυο ομάδες, την A και B, αντίστοιχα.

### i. Προσδιορισμός συγκέντρωσης $\text{NO}_3^-$ στο έδαφος

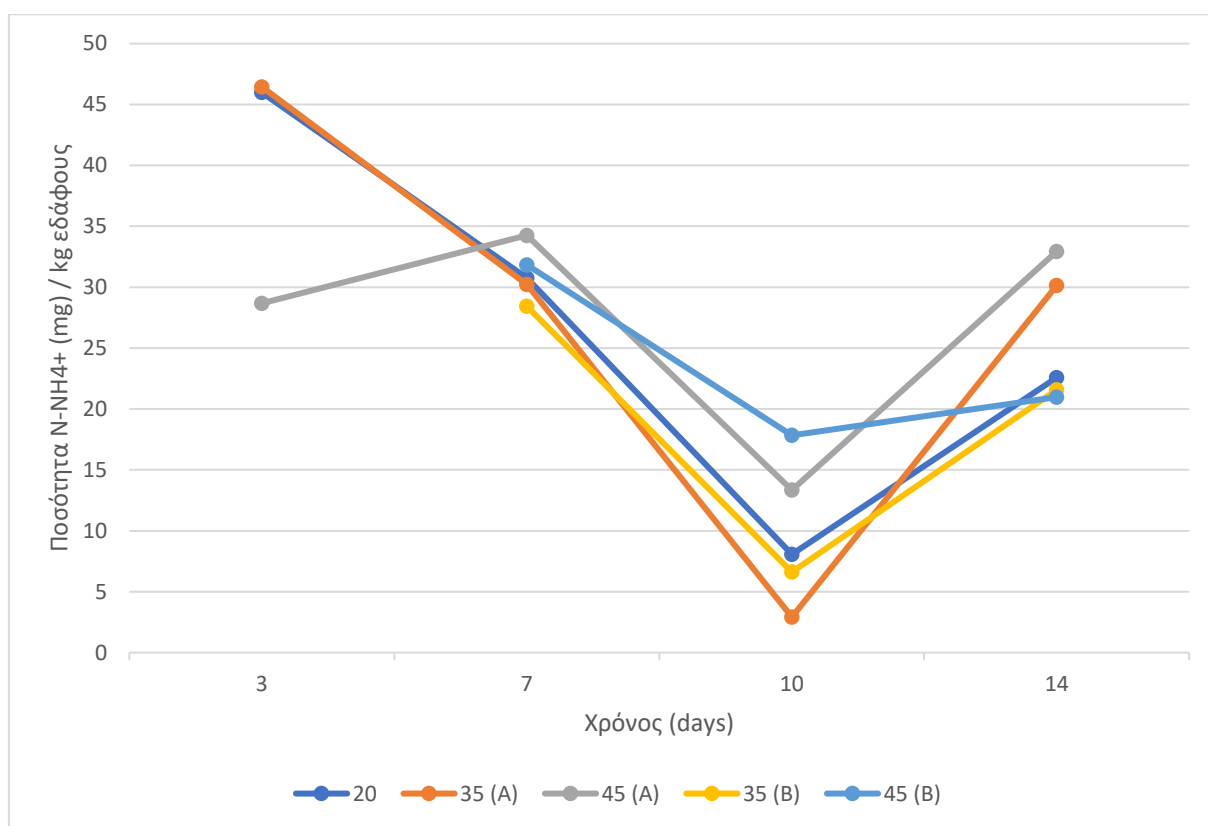
Κατά το προσδιορισμό των  $\text{NO}_3^-$  παρατηρήθηκε πως η συγκέντρωση αυξήθηκε σε όλες τις θερμοκρασίες με το πέρας των ημερών. Ειδικότερα η αύξηση της συγκέντρωσης των δειγμάτων, τα οποία εκτεθήκαν για περισσότερο χρονικό διάστημα, ήταν μεγαλύτερη την πρώτη εβδομάδα έκθεσης τους, όπως φαίνεται στο γράφημα 3.1 από την κλίση της καμπύλης για κάθε θερμοκρασία αντίστοιχα. Η μεγαλύτερη αύξηση νιτροποίησης παρατηρήθηκε στα δείγματα της ομάδας A, στους 35 °C, κατά τις δυο πρώτες μετρήσεις. Στις δυο ομάδες, A και B, των μικρόκοσμων των εδαφών, οι οποίοι εκτεθήκαν σε θερμοκρασία 35 °C, ενώ υπήρξε στην αρχή μια αύξηση της συγκέντρωσης των  $\text{NO}_3^-$ , στις τελευταίες μετρήσεις παρατηρήθηκε μείωση. Αντίθετα στους υπόλοιπους μικρόκοσμους, των θερμοκρασιών 20 °C και 45 °C, και των δυο ομάδων, παρατηρήθηκε μια συνεχής αύξηση των  $\text{NO}_3^-$ , καθόλη τη διάρκεια του πειράματος.



Γράφημα 3. 1: Ποσότητα  $\text{N-NO}_3^-$  (mg) συναρτήσει της θερμοκρασίας. Οι δείκτες A και B αφορούν το διαφορετικό χρόνο έκθεσης των δειγμάτων στην αντίστοιχη θερμοκρασία.

## ii. Προσδιορισμός συγκέντρωσης $\text{NH}_4^+$ στο έδαφος

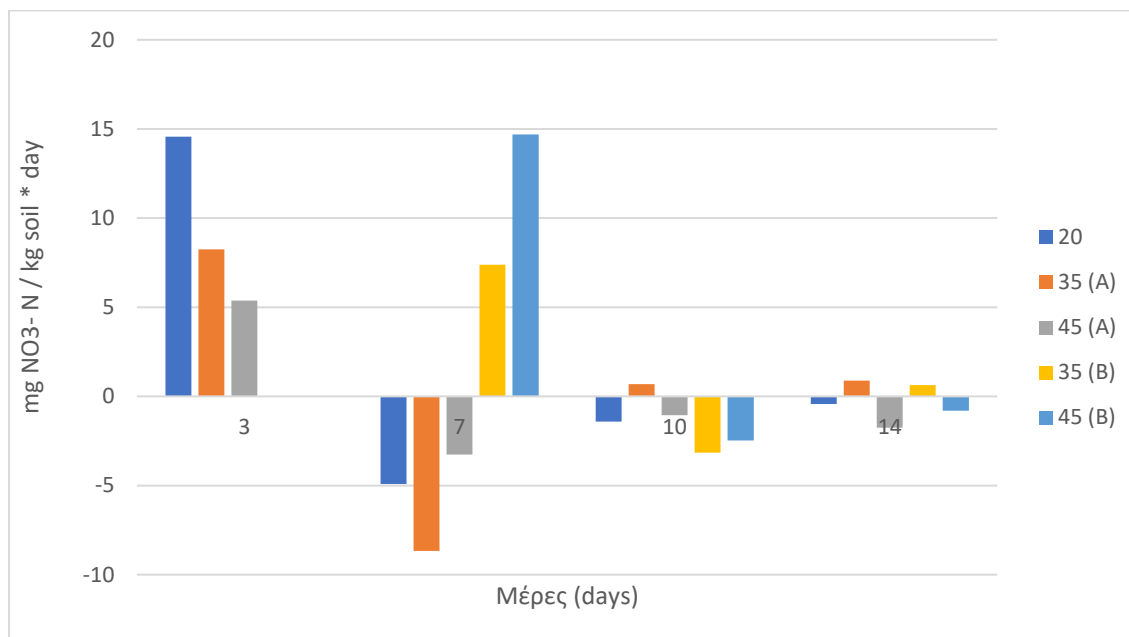
Κατά τον προσδιορισμό των  $\text{NH}_4^+$  παρατηρήθηκε μια αύξηση της συγκέντρωσης τους, στην ομάδα A στους 45 °C, την πρώτη εβδομάδα της έκθεσης τους, ενώ στις δυο άλλες περιπτώσεις, των διαφορετικών θερμοκρασιών, για τις ίδιες ημέρες έκθεσης, υπήρξε μείωση, κάπου στο 30%. Μετά το πέρας της δεύτερης μέτρησης, μέχρι την τρίτη μέτρηση, η οποία συνάπτει με την ημέρα εξόδου όλων των δειγμάτων από τους θαλάμους επώασης, παρατηρήθηκε δραστική μείωση του ρυθμού της παραγωγής  $\text{NH}_4^+$ . Με την έξοδο των δειγμάτων από τους θαλάμους, παρατηρήθηκε αύξηση των  $\text{NH}_4^+$  σε όλες τις θερμοκρασίες, με τη μικρότερη αύξηση να παρατηρείται στα δείγματα που εκτεθήκαν σε θερμοκρασία δωματίου, 20 °C, και τη μεγαλύτερη αύξηση στα δείγματα των θερμοκρασιών 35 °C και 45 °C, της ομάδας A, ενώ στις δυο άλλες περιπτώσεις υπήρξε αύξηση, όχι όμως της ίδιας κλίμακας.



Γράφημα 3. 2: Ποσότητα  $\text{N-NH}_4^+$  (mg) συναρτήσει της θερμοκρασίας. Οι δείκτες A και B αφορούν το διαφορετικό χρόνο έκθεσης των δειγμάτων στην αντίστοιχη θερμοκρασία.

### iii. Ρυθμός Νιτροποίησης

Όπως φαίνεται στο Γράφημα 3.3 ο ρυθμός νιτροποίησης παρουσιάζει μια ομοιομορφία για όλες τις θερμοκρασίες όπου παρατηρείται μείωση του ρυθμού, εκτός από την περίπτωση των 35 °C και των δύο ομάδων δειγμάτων, όπου μετά την πρώτη μέτρηση μειώνεται, αλλά στη συνέχεια με το πέρασ εφτά ημερών αρχίζει να αυξάνεται. Ο μεγαλύτερος ρυθμός νιτροποίησης παρατηρήθηκε για τα δείγματα, τα οποία εκτεθήκαν στους 45 °C, της ομάδας Β.



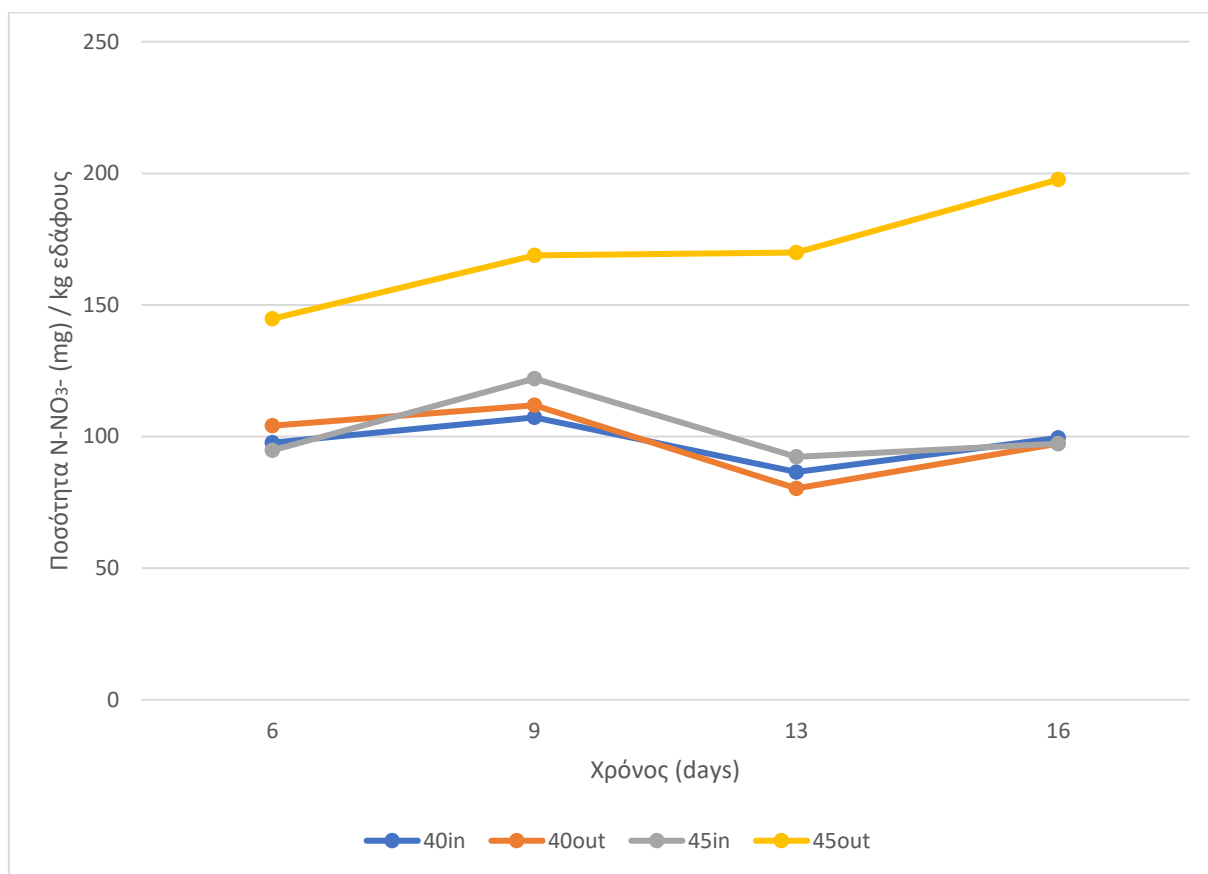
Γράφημα 3. 3: Ρυθμός νιτροποίησης συναρτήσει χρόνου για διαφορετικές θερμοκρασίες. Οι δείκτες A και B αφορούν το διαφορετικό χρόνο έκθεσης των δειγμάτων στην αντίστοιχη θερμοκρασία.

## II. Δεύτερο πείραμα

Στο συγκεκριμένο πείραμα μελετήσαμε ειδικότερα τη συμπεριφορά των μικροοργανισμών, ως προς τη παραγωγή  $\text{NO}_3^-$  και  $\text{NH}_4^+$ , ανάλογα με το χρόνο έκθεσης τους σε θερμοκρασίες 40 °C και 45 °C. Τα μισά δείγματα εκτεθήκαν σε αυτές τις θερμοκρασίες, μέσα σε θαλάμους επώασης σε χρονική διάρκεια δεκατριών ημερών, ενώ τα υπόλοιπα σε χρονική διάρκεια τριών ημερών. Οι δείκτες in και out χαρακτηρίζουν τα δείγματα μας, αντίστοιχα με το χρόνο έκθεσης τους.

### Ι. Προσδιορισμός συγκέντρωσης $\text{NO}_3^-$ στο έδαφος

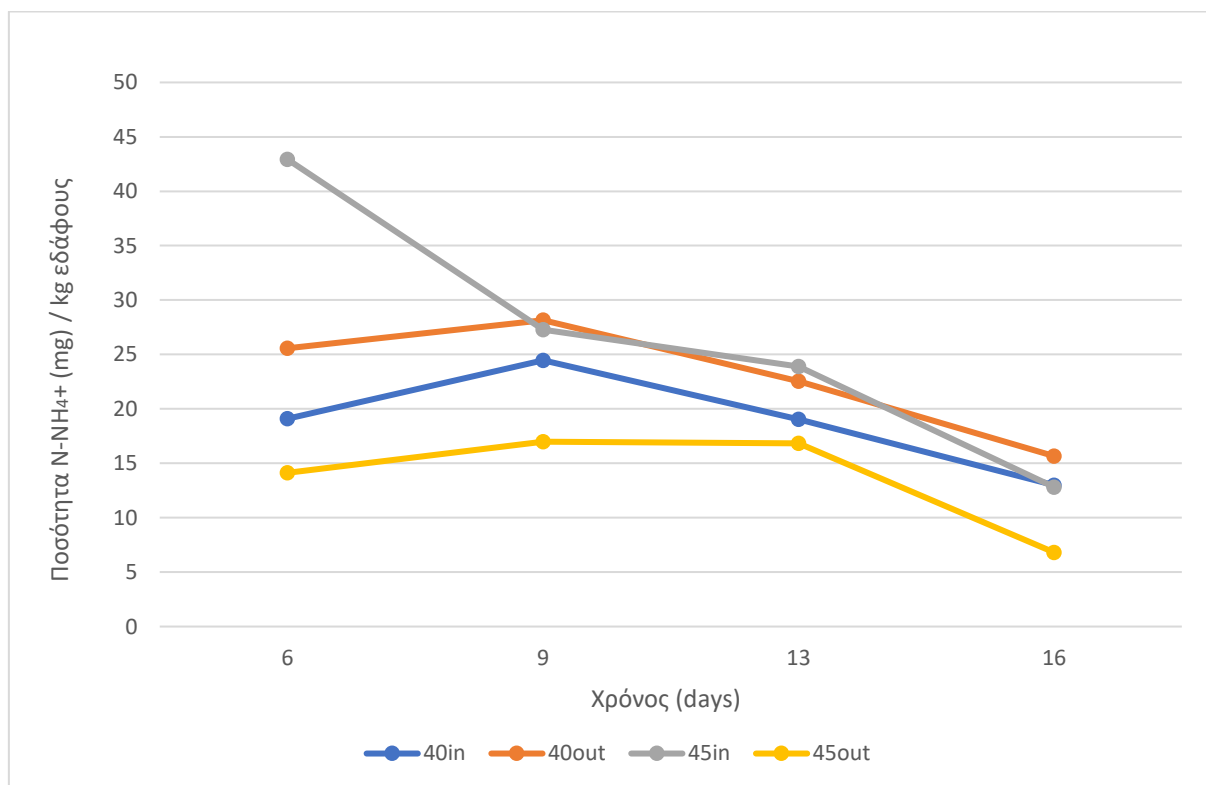
Σε βάθος εννέα ημερών παρατηρήθηκε αύξηση των  $\text{NO}_3^-$ , για όλους τους μικρόκοσμους εδάφους. Από τη ένατη ημέρα μέχρι τη δέκατη τρίτη, μεταξύ δεύτερης και τρίτης μέτρησης δηλαδή, σημειώθηκε μείωση της συγκέντρωσης των  $\text{NO}_3^-$ , σε όλες τις περιπτώσεις, εκτός από εκείνα τα δείγματα, τα οποία εκτεθήκαν για τρεις μέρες, μόνο, στους 45 °C, για τα οποία μάλιστα παρατηρήθηκε μια μικρή αύξηση, μικρότερη του 1%. Μετά τις δυο εβδομάδες, αφού τα δείγματα απομακρύνθηκαν από τον θάλαμο επώασης, παρατηρήθηκε αύξηση των συγκεντρώσεων και στις τέσσερις υπό μελέτη περιπτώσεις. Τέλος η μεγαλύτερη παραγωγή  $\text{NO}_3^-$ , σύμφωνα με τις μετρήσεις μας, και όπως φαίνεται και στο παρακάτω διάγραμμα, σημειώθηκε για την περίπτωση των μικρόκοσμων εδάφους, οι οποίοι εκτεθήκαν για τρεις ημέρες σε θερμοκρασία 45 °C.



Γράφημα 3. 4: Μεταβολή ποσότητας  $\text{N-NO}_3^-$ , σε θερμοκρασίες 40 °C και 45 °C, για χρόνο έκθεσης 13 ημερών, δείκτης in, και 3 ημερών, δείκτης out.

## ii. Προσδιορισμός συγκέντρωσης $\text{NH}_4^+$ στο έδαφος

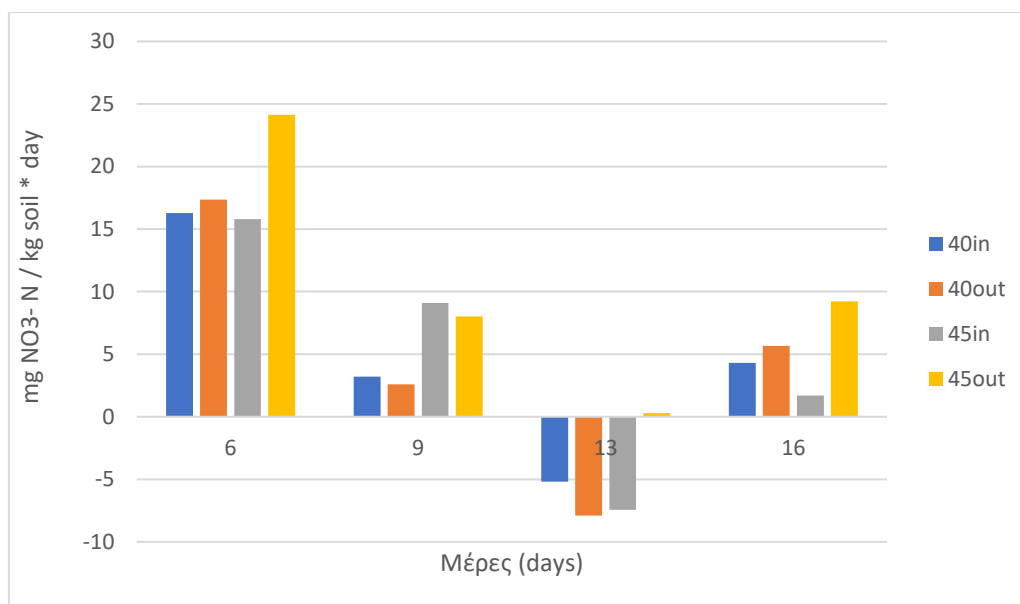
Σύμφωνα με τις μετρήσεις, κατά τη διεκπεραίωση του συγκεκριμένου πειράματος, προέκυψε ότι η συγκέντρωση των  $\text{NH}_4^+$ , μειώθηκε και στις τέσσερις περιπτώσεις. Ειδικότερα τα δείγματα, τα οποία εκτεθήκαν στους 40 °C, ασχέτως το χρόνο έκθεσης τους, είχαν παρόμοιο μοτίβο μείωσης της συγκέντρωσης. Αντιθέτως τα δείγματα των 45 °C, τα οποία ήταν σε θάλαμο για χρονικό περιθώριο δεκατριών ημερών, παρουσίασαν τη μεγαλύτερη μείωση των  $\text{NH}_4^+$ , ειδικά κατά τη διάρκεια των έξι πρώτων ημερών. Τέλος για τους μικρόκοσμους, οι οποίοι εκτεθήκαν για τρεις ημέρες μόνο, σε θερμοκρασία 45 °C, παρατηρήθηκε μια ελάχιστη αύξηση των  $\text{NH}_4^+$  τις πρώτες δέκα μέρες και στη συνέχεια μείωση της συγκέντρωσης τους, μάλιστα με μεγαλύτερο ρυθμό συγκριτικά με την αύξηση τους, προ ημερών.



Γράφημα 3. 5: Μεταβολή ποσότητας  $\text{N-NH}_4^+$ , σε θερμοκρασίες 40 °C και 45 °C, για χρόνο έκθεσης 13 ημερών, δείκτης in, και 3 ημερών, δείκτης out.

### iii. Ρυθμός Νιτροποίησης

Στο συγκεκριμένο πείραμα με βάση την επεξεργασία των αποτελεσμάτων μας, φαίνεται πως ο ρυθμός της νιτροποίησης μειώνεται μετά την πρώτη μας μέτρηση. Αυτή η συμπεριφορά του ρυθμού παρατηρείται για όλες τις περιπτώσεις, είτε διαφορετικών θερμοκρασιών είτε διαφορετικού χρόνου έκθεσης. Μετά όμως της τρίτης μέτρησης μας, δηλαδή με το πέρας δεκατριών ημερών φαίνεται πως ο ρυθμός νιτροποίησης αυξάνεται. Ο μεγαλύτερος ρυθμός νιτροποίησης, από τις τέσσερις διαφορετικές περιπτώσεις, παρουσιάζεται για τα δείγματα των 45 °C, με μικρή έκθεση στο θάλαμο επώασης, για κάθε μέτρηση, εκτός της δεύτερης.



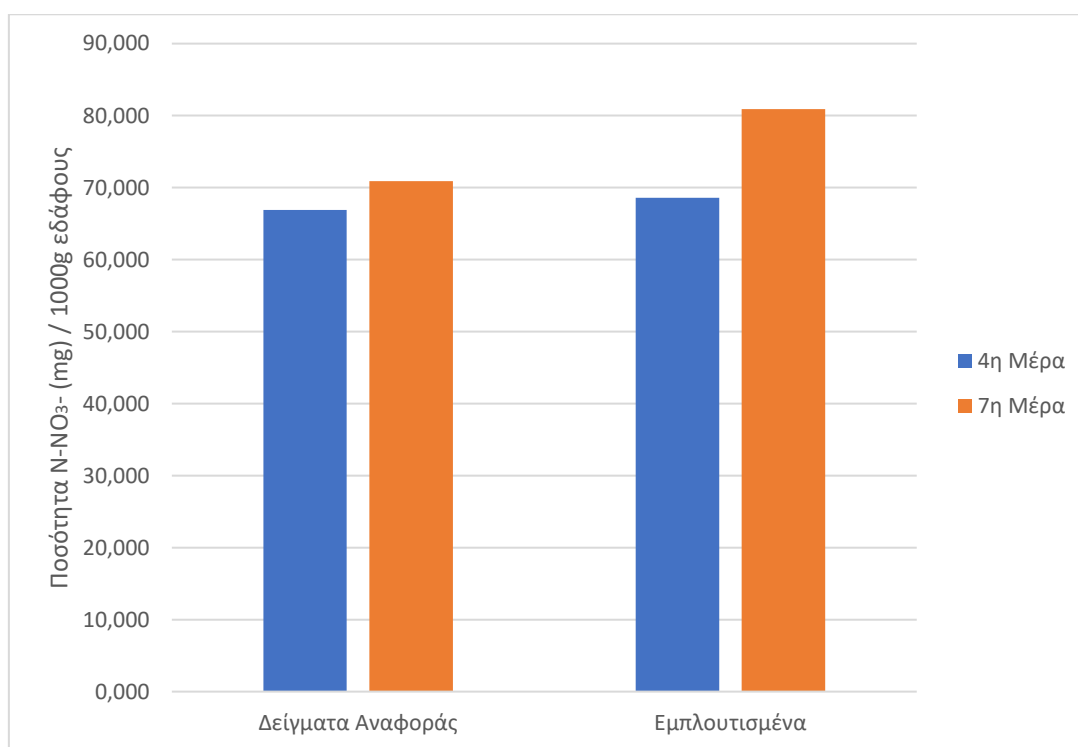
Γράφημα 3. 6: Ρυθμός νιτροποίησης συναρτήσει χρόνου σε θερμοκρασίες 40 °C και 45 °C, για χρόνο έκθεσης 13 ημερών, δείκτης in, και 3 ημερών, δείκτης out.

### III. Τρίτο πείραμα

Στο συγκεκριμένο πείραμα μελετήθηκε ο ρόλος του παράγοντα της θερμοκρασίας συγκριτικά με την παρουσία  $\text{NH}_3$  υποστρώματος, εντός των εδαφών μας. Για το υπόστρωμα έγινε εμπλουτισμός των δειγμάτων με  $100 \mu\text{g } \text{NH}_4^+ - \text{N} / \text{g}$  εδάφους, τα οποία ιόντα παράχθηκαν από τη παρασκευή του διαλύματος,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Με τους όρους δείγματα αναφοράς και εμπλουτισμένα χαρακτηρίσαμε τα δείγματα μας ως προς την απουσία και τη παρουσία υποστρώματος  $\text{NH}_4^+$ , αντίστοιχα.

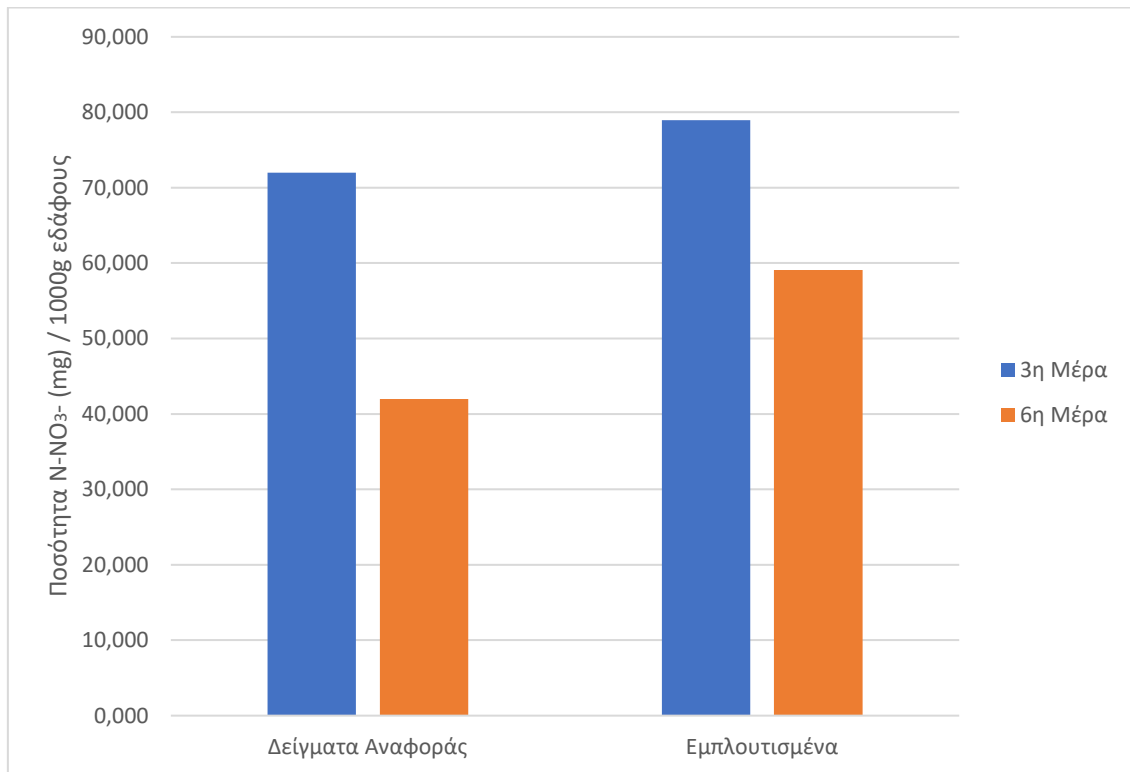
#### ι. Προσδιορισμός συγκέντρωσης $\text{NO}_3^-$ στο έδαφος

Στη περίπτωση της έκθεσης των μικρόκοσμων στους  $30^\circ\text{C}$  παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης των  $\text{NO}_3^-$ , στη χρονική διάρκεια μιας εβδομάδας, και στις δυο περιπτώσεις ανάλογα με το υπόστρωμα. Η μεγαλύτερη αύξηση σημειώθηκε, με παρουσία  $\text{NH}_3$  υποστρώματος.



Γράφημα 3. 7: Ποσότητα  $\text{N-NO}_3^-$ , σε θερμοκρασία  $30^\circ\text{C}$ , συναρτήσει του χρόνου και της παρουσίας αμμωνιακού υποστρώματος.

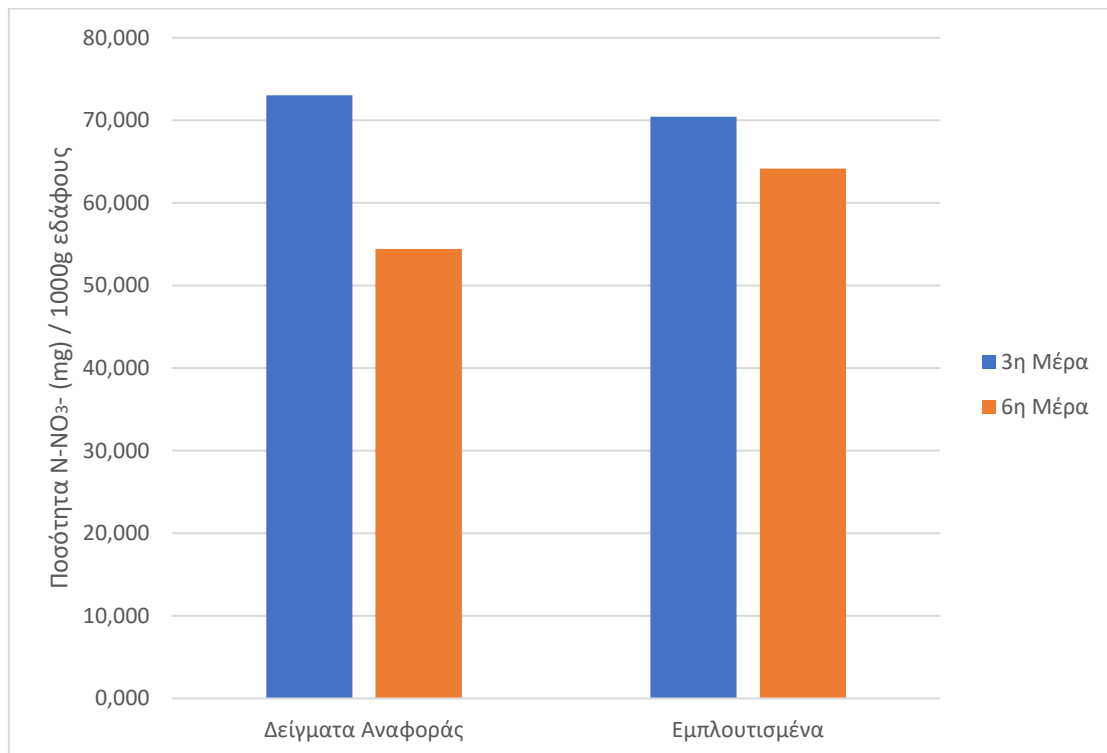
Στους εδαφικούς μικρόκοσμους, στο περιθώριο έκθεσης μιας εβδομάδας σε θερμοκρασία 35 °C, σημειώθηκε πτώση των  $\text{NO}_3^-$  συγκεντρώσεων και στις δυο περιπτώσεις, με τη μεγαλύτερη πτώση να εμφανίζεται στους μικρόκοσμους, οι οποίοι δεν είχαν εμπλουτιστεί με  $\text{NH}_4^+$ .



**Γράφημα 3. 8:** Ποσότητα  $\text{N} - \text{NO}_3^-$ , σε θερμοκρασία 35 °C, συναρτήσει του χρόνου και της παρουσίας αμμωνιακού υποστρώματος.

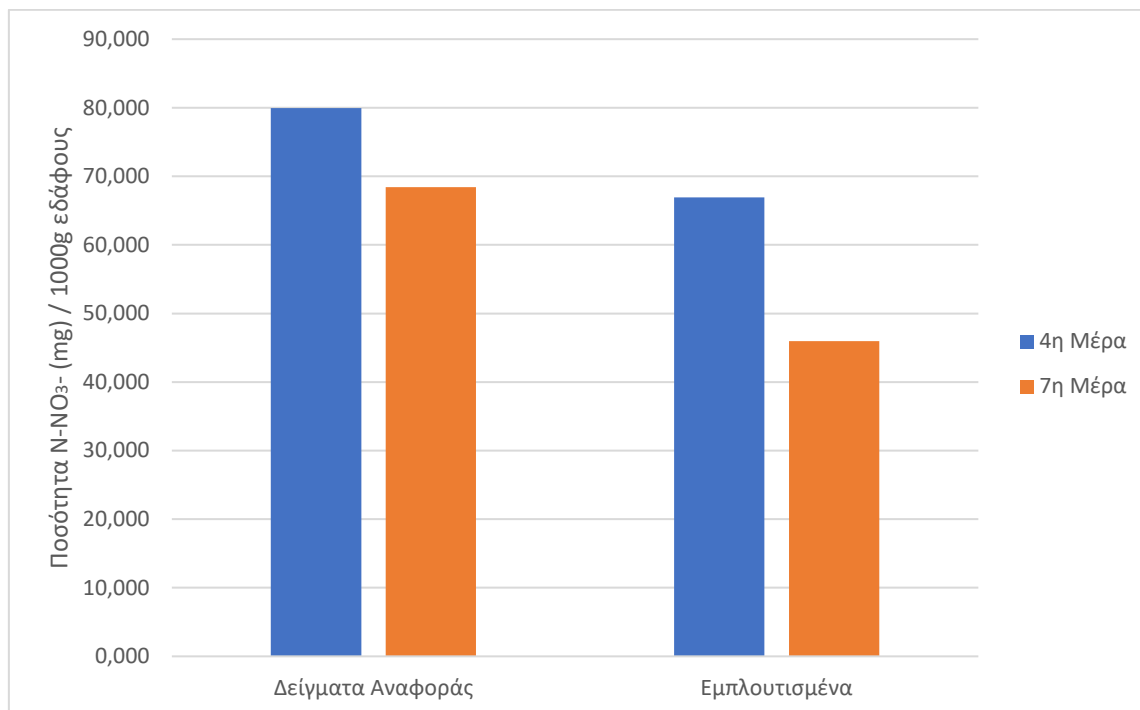


Σε θερμοκρασία 40 °C παρατηρήθηκε παρόμοια συμπεριφορά όπως στη θερμοκρασία 35 °C. Διαφορά αποτελεί το γεγονός πως οι τιμές των συγκεντρώσεων, που προέκυψαν κατά την ανάλυση των μετρήσεων μας, είναι μεγαλύτερες στη περίπτωση των 40 °C, είτε για τα δείγματα αναφοράς είτε για τα εμπλουτισμένα δείγματα, σε σύγκριση με αυτές των 30 °C.



**Γράφημα 3. 9:** Ποσότητα  $N-NO_3^-$ , σε θερμοκρασία 40 °C, συναρτήσει του χρόνου και της παρουσίας αμμωνιακού υποστρώματος.

Οι μικρόκοσμοι, οι οποίοι εκτεθήκαν στους 45 °C, παρουσίασαν μείωση της συγκέντρωσης των  $NO_3^-$  κατά τη δεύτερη μέτρηση και στις δυο περιπτώσεις του υποστρώματος. Η μεγαλύτερη μείωση παρατηρήθηκε στη περίπτωση ύπαρξης του  $NH_3$  υποστρώματος.

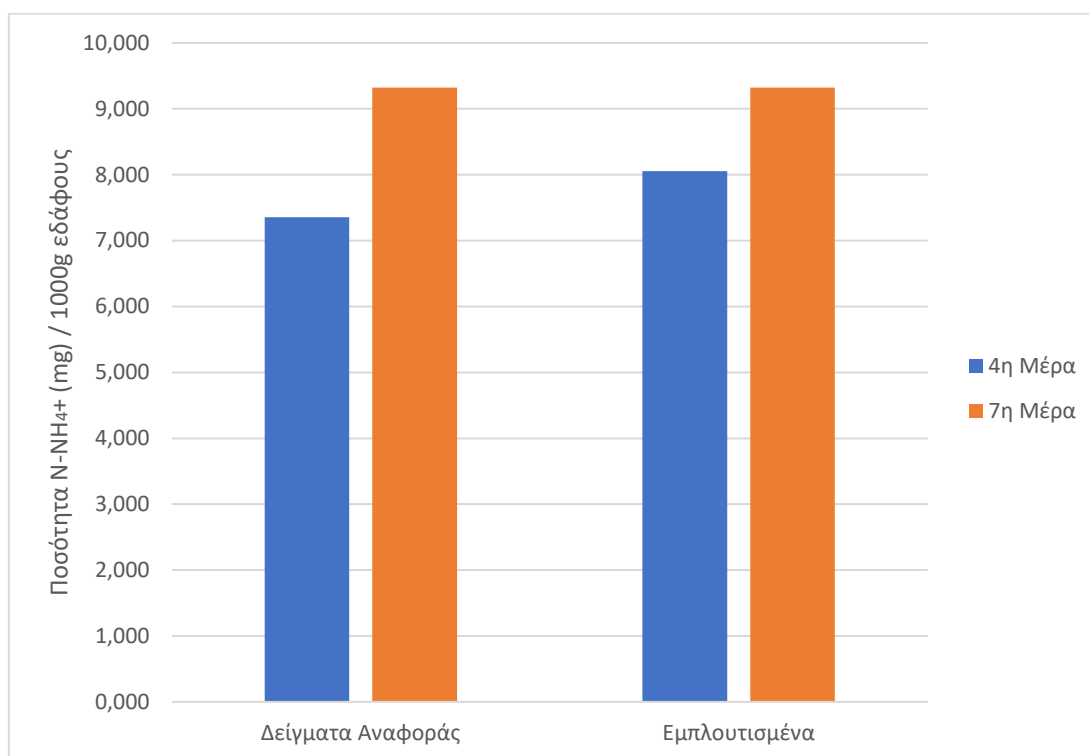


**Γράφημα 3. 10:** Ποσότητα  $N - NO_3^-$ , σε θερμοκρασία 45 °C, συναρτήσει του χρόνου και της παρουσίας αμμωνιακού υποστρώματος.

Από τα αποτελέσματα κατά τη μελέτη της επίδρασης των θερμοκρασιών 30 °C, 35 °C, 40 °C και 45 °C, σε έκθεση των δειγμάτων χρονικής διάρκειας μιας εβδομάδας, παρατηρήθηκε πως η μεγαλύτερη συγκέντρωση κατά τις πρώτες μετρήσεις, για τα control δείγματα, ήταν αυτή για τη θερμοκρασία των 45 °C, ενώ για τα εμπλουτισμένα με  $NH_4^+$  δείγματα ήταν αυτή των 35 °C. Αντίστοιχα κατά τη δεύτερη μέτρηση ήταν η συγκέντρωση των 30 °C και στις δύο περιπτώσεις, όσον αφορά το υπόστρωμα. Ενώ οι μικρότερες συγκεντρώσεις σε κάθε μέτρηση ξεχωριστά ήταν, στην πρώτη μέτρηση η τιμή των 30 °C, για τα δείγματα αναφοράς, και η τιμή των 45 °C, για τα εμπλουτισμένα δείγματα. Αντίστοιχα στη δεύτερη μέτρηση οι μικρότερες συγκεντρώσεις παρατηρήθηκαν στους 35 °C, για τα δείγματα αναφοράς, και στους 45 °C, για τα εμπλουτισμένα δείγματα. Συνολικά για όλες τις μετρήσεις σε όλες τις περιπτώσεις, ανάλογα με τη θερμοκρασία και τη παρουσία ή όχι υποστρώματος, η μεγαλύτερη συγκέντρωση  $NO_3^-$  σημειώθηκε στους 30 °C, με παρουσία  $NH_4^+$ , με χρόνο έκθεσης επτά ημερών, ενώ η μικρότερη στους 35 °C με παρουσία  $NH_4^+$  και χρόνο έκθεσης έξι ημερών. Τέλος στις διακυμάνσεις των συγκεντρώσεων μεταξύ της πρώτης και της δεύτερης μέτρησης παρατηρήθηκε η ευρύτερη αύξηση στους 30 °C, και τις δυο περιπτώσεις υποστρώματος, με μεγαλύτερη, εκ των δυο αυτών, στη περίπτωση παρουσίας  $NH_3$  υποστρώματος. Από την άλλη η μείωση που παρατηρήθηκε στη τιμή των συγκεντρώσεων, στη περίπτωση των δειγμάτων αναφοράς ήταν στους 35 °C, ενώ με παρουσία υποστρώματος ήταν στους 45 °C. Μεταξύ των δυο αυτών μειώσεων, τη σημαντικότερη μείωση αποτέλεσε αυτή των 35 °C.

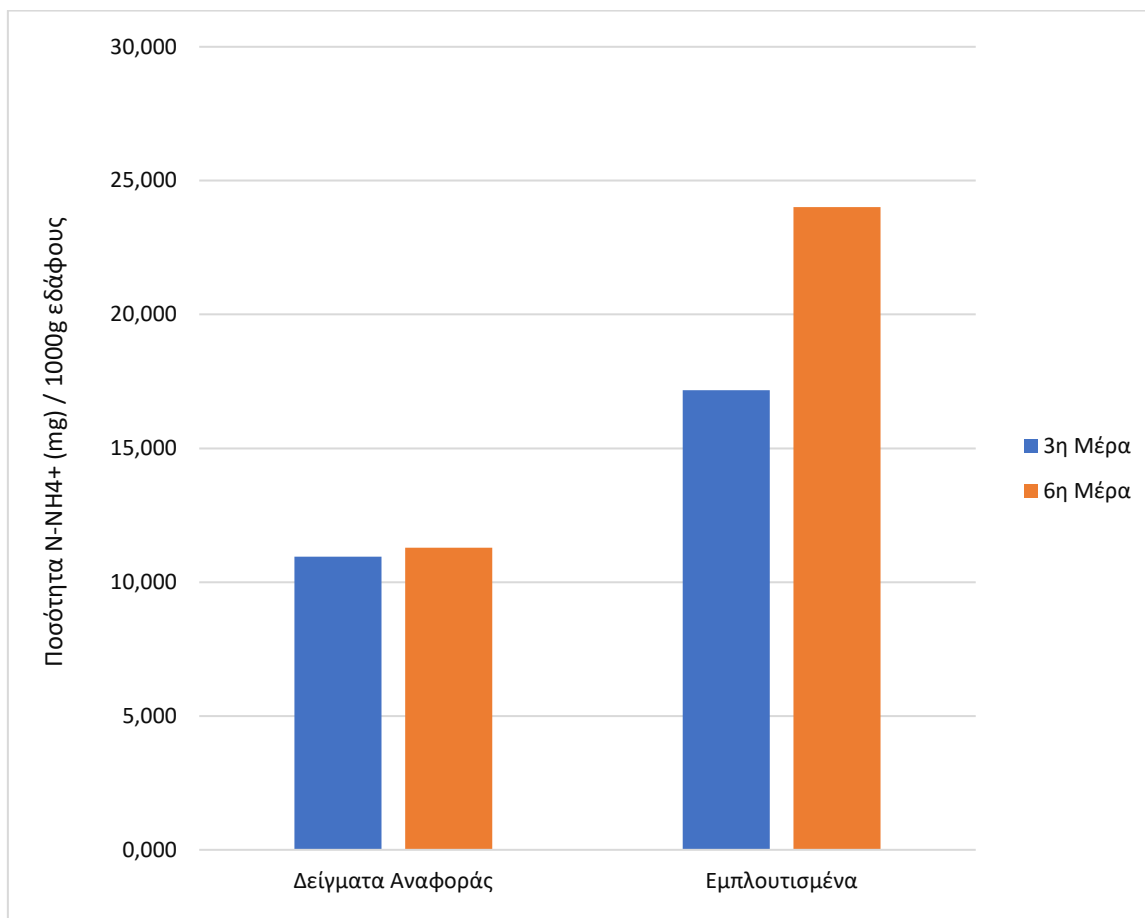
## ii. Προσδιορισμός συγκέντρωσης $NH_4^+$ στο έδαφος

Κατά τη περίπτωση της θερμοκρασίας 30 °C παρατηρήθηκε πως η συγκέντρωση των  $NH_4^+$  αυξήθηκε με το πέρας των ημερών, είτε παρουσία υποστρώματος είτε απουσίας του. Με τελική συγκέντρωση ίδια και στις δυο περιπτώσεις υποστρώματος, αλλά μικρότερη αύξηση της, για τη περίπτωση παρούσας  $NH_3$  υποστρώματος, λαμβάνοντας υπόψιν την τιμή της συγκέντρωσης της πρώτης μέτρησης.



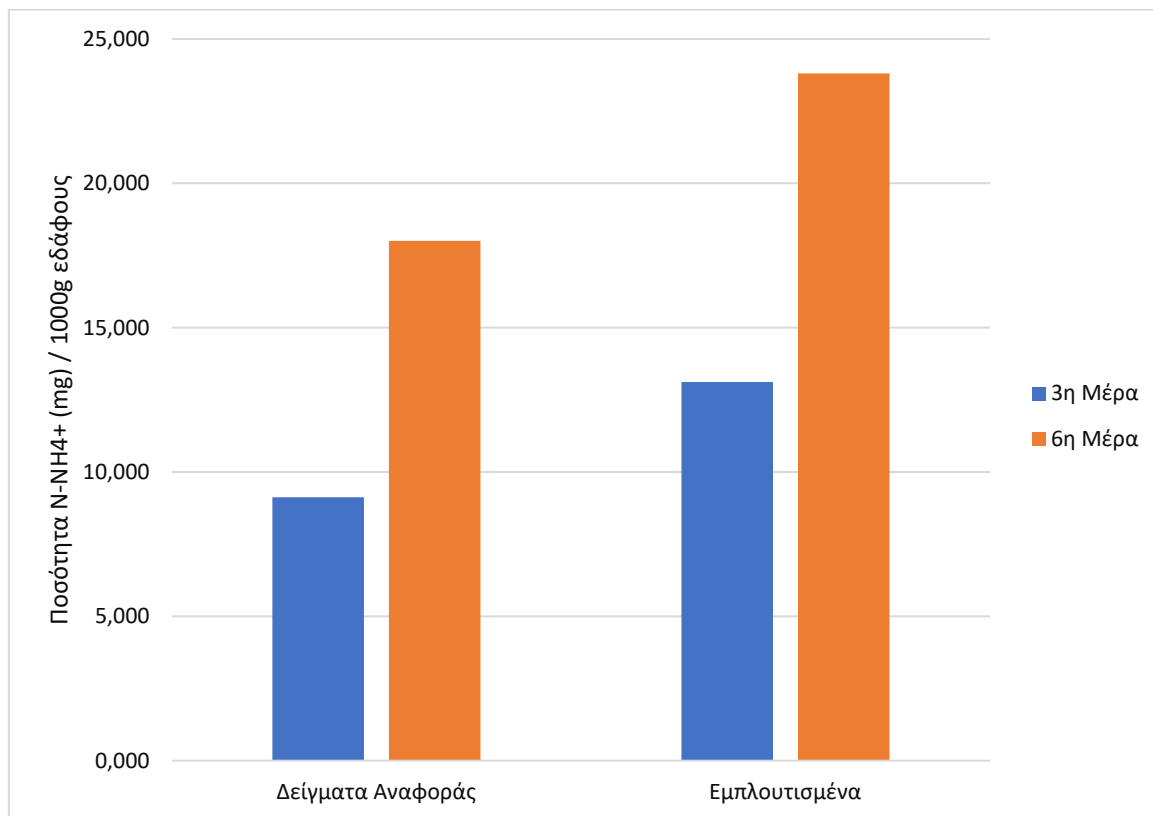
Γράφημα 3. 11: Ποσότητα  $N - NH_4^+$ , σε θερμοκρασία 30 °C, συναρτήσει του χρόνου και της παρουσίας αμμωνιακού υποστρώματος.

Κατά το προσδιορισμό των  $NH_4^+$  συγκεντρώσεων, στην περίπτωση των 35 °C, σημειώθηκε αύξηση των τιμών σε όλες τις περιπτώσεις. Αξιοσημείωτο όμως αποτελεί το αποτέλεσμα στην περίπτωση των δειγμάτων αναφοράς, αναμεσά στη σύγκριση των τιμών της συγκέντρωσης, των δυο μετρήσεων, γιατί ενώ υπάρχει μια αύξηση, είναι μηδαμινή.



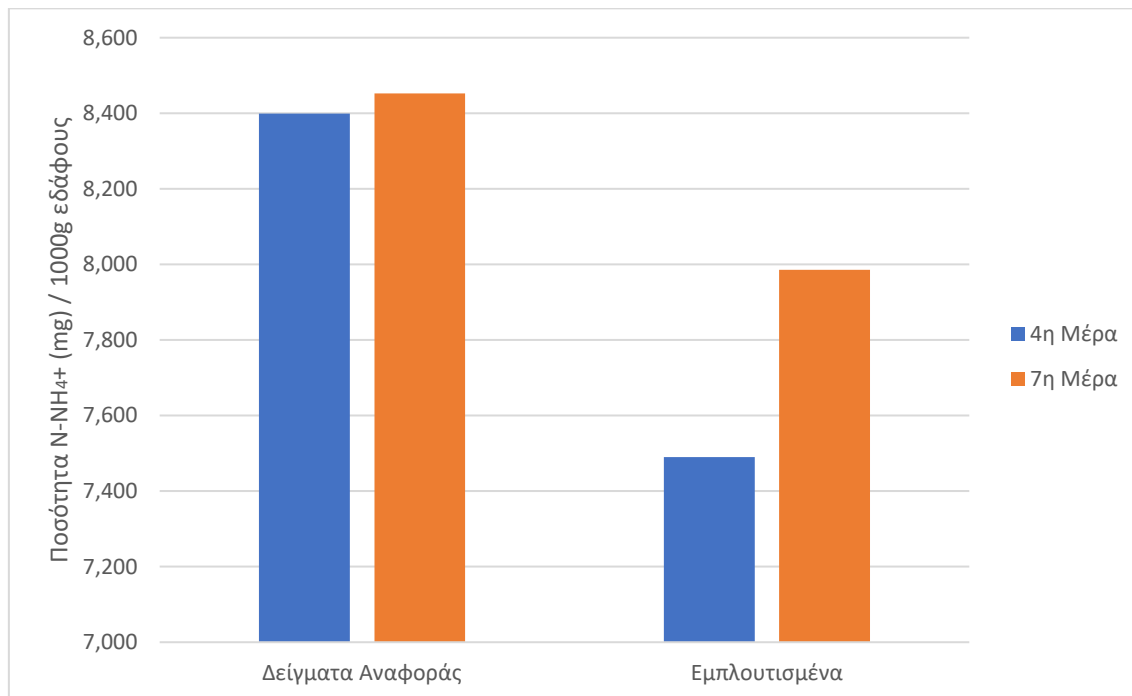
Γράφημα 3. 12: Ποσότητα  $N - NH_4^+$ , σε θερμοκρασία 35 °C, συναρτήσει του χρόνου και της παρουσίας αμμωνιακού υποστρώματος.

Οι μετρήσεις των συγκεντρώσεων, των  $NH_4^+$ , για τη περίπτωση της θερμοκρασίας στους 40 °C, έδειξαν αύξηση των τιμών για τη χρονική διάρκεια της έκθεσης, έξι ημερών. Μεγαλύτερες τιμές, αλλά και μεγαλύτερη μεταβολή τους, σημειώθηκε στη περίπτωση των εμπλουτισμένων δειγμάτων.



Γράφημα 3. 13: Ποσότητα  $N - NH_4^+$ , σε θερμοκρασία 40 °C, συναρτήσει του χρόνου και της παρουσίας αμμωνιακού υποστρώματος.

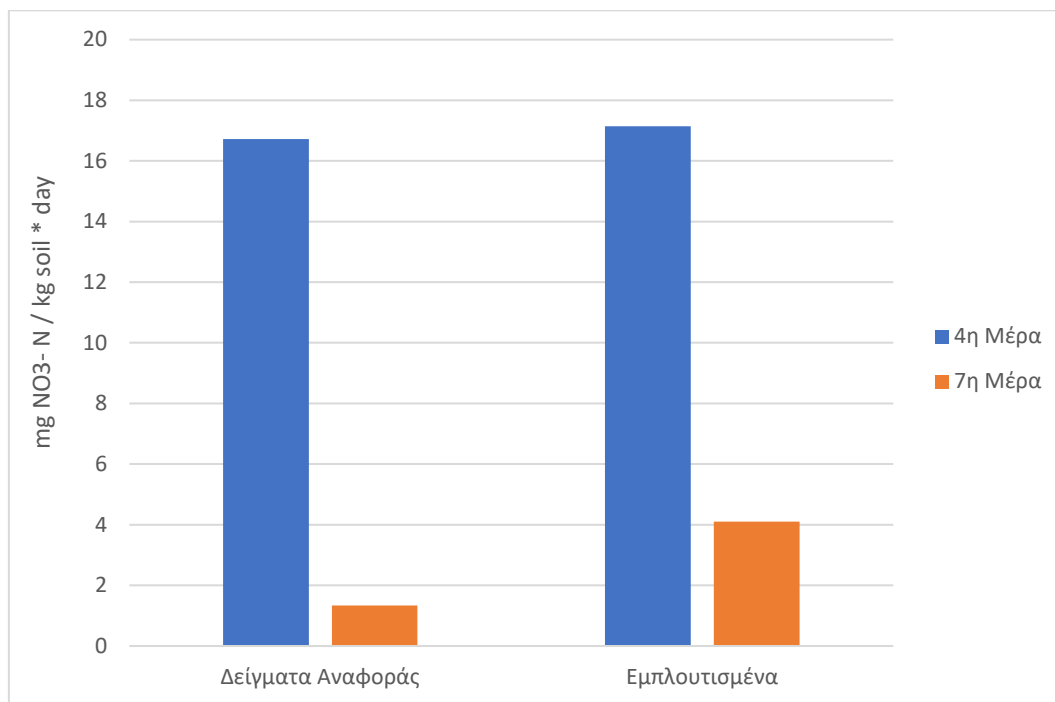
Για τη περίπτωση της θερμοκρασίας στους 45 °C, παρατηρήθηκε ανοδική μεταβολή των τιμών των  $NH_4^+$  και στις δυο περιπτώσεις υποστρώματος. Όμως η μεταβολή, απουσία του υποστρώματος είναι σχετικά μικρή σε σύγκριση με αυτή παρουσίας  $NH_3$  υποστρώματος. Παρόλα αυτά η τιμή των συγκεντρώσεων, αντίστοιχα, είναι μεγαλύτερη και στις δυο μετρήσεις.



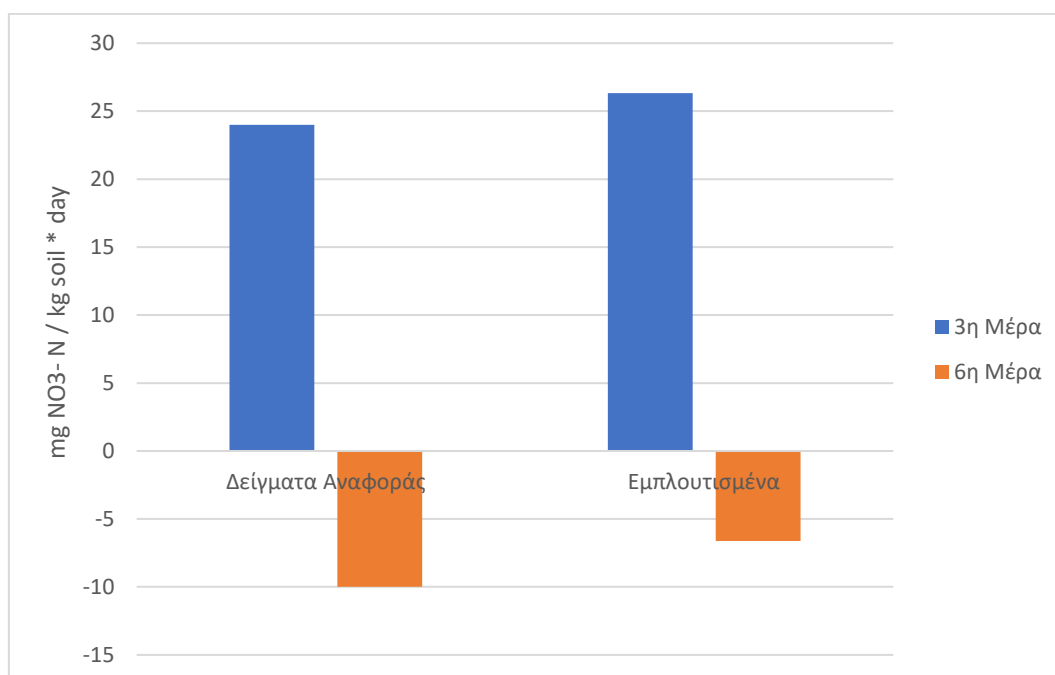
**Γράφημα 3. 14:** Ποσότητα N –  $NH_4^+$ , σε θερμοκρασία 45 °C, συναρτήσει του χρόνου και της παρουσίας αμμωνιακού υποστρώματος.

Συνοπτικά από το προσδιορισμό της συγκέντρωσης των  $NH_4^+$ , για τις θερμοκρασίες των 30 °C, των 35 °C, των 40 °C και των 45 °C, παρατηρήθηκε αύξηση κατά τις μετρήσεις μας σε όλες τις περιπτώσεις, σχετικά είτε της θερμοκρασίας είτε του εμπλουτισμένου υποστρώματος. Ειδικότερα οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις κατά τις πρώτες μετρήσεις σημειώθηκαν στην περίπτωση των 35 °C, ανεξάρτητα από το υπόστρωμα. Ενώ οι μικρότερες τιμές σημειώθηκαν στους 30 °C, για τα δείγματα αναφοράς, και στους 45 °C, για τα εμπλουτισμένα δείγματα. Στη περίπτωση των δεύτερων μετρήσεων οι μεγαλύτερες τιμές παρατηρήθηκαν στους 40 °C, χωρίς εμπλουτισμό, και στους 35 °C, με εμπλουτισμό υποστρώματος. Ενώ οι μικρότερες τιμές συγκεντρώσεων και στις δύο περιπτώσεις εμπλουτισμού, παρατηρήθηκαν στους 45 °C. Συγκρίνοντας τις  $NH_4^+$  συγκεντρώσεις των δύο μετρήσεων, ανεξάρτητα από το υπόστρωμα και τη θερμοκρασία έκθεσης, η μέγιστη τιμή βρέθηκε στους 35 °C, παρουσία  $NH_3$  υποστρώματος και με χρόνο έκθεσης έξι ημερών. Η μικρότερη τιμή συγκεντρώσεως σημειώθηκε στους 30 °C, χωρίς εμπλουτισμό υποστρώματος με έκθεση χρονικής διάρκειας τριών ημερών. Όσον αφορά τη μεταβολή των συγκεντρώσεων μεταξύ των δύο μετρήσεων, παρατηρήθηκε αύξηση σε όλες τις περιπτώσεις. Μεγαλύτερη μεταβολή της συγκέντρωσης σημειώθηκε στους 40 °C και για τις δύο περιπτώσεις υποστρώματος, με μέγιστη αυτή με τον εμπλουτισμό. Αντιθέτως μικρότερη μεταβολή παρουσιάστηκε στους 45 °C, και στις δύο περιπτώσεις ξανά, με την ελάχιστη την περίπτωση χωρίς  $NH_4^+$  εμπλουτισμό.

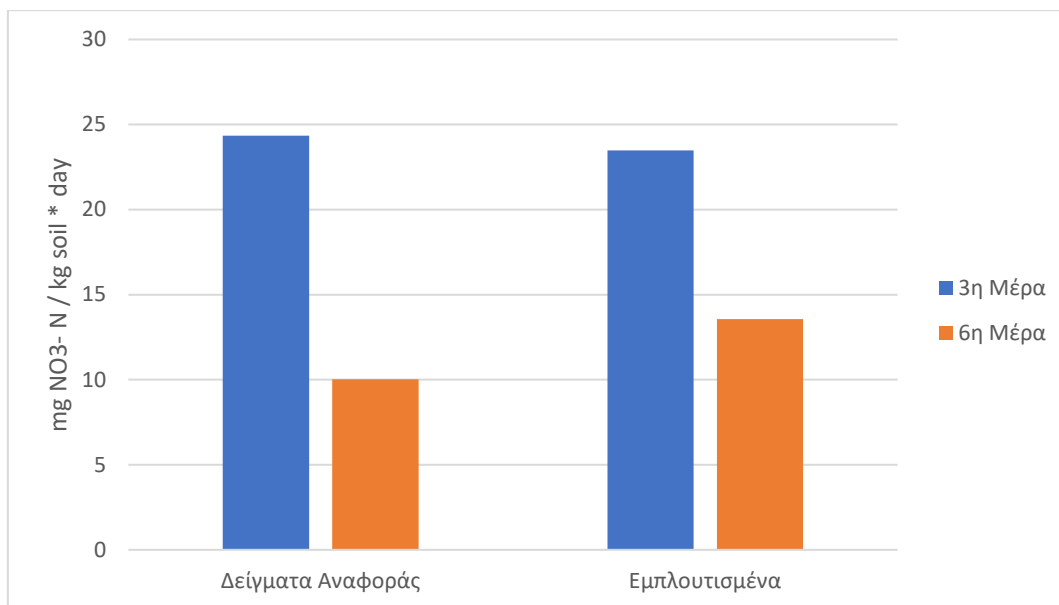
### iii. Ρυθμός Νιτροποίησης



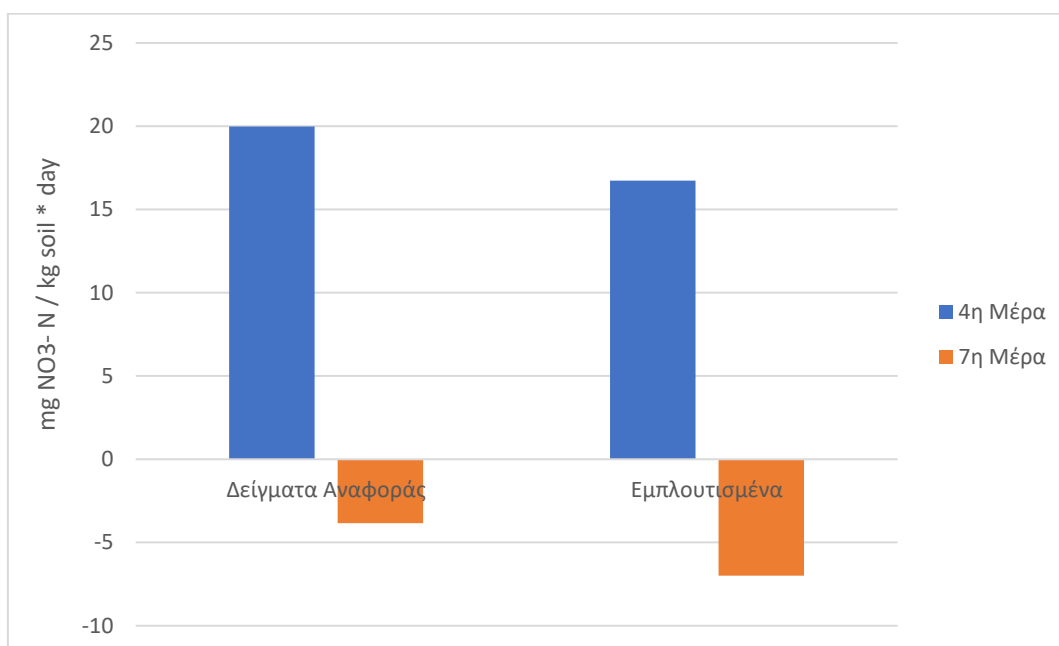
Γράφημα 3. 15: Ρυθμός νιτροποίησης συναρτήσει χρόνου για 30 °C.



Γράφημα 3. 16: Ρυθμός νιτροποίησης συναρτήσει χρόνου για 35 °C.



**Γράφημα 3. 17:** Ρυθμός νιτροποίησης συναρτήσει χρόνου για 40 °C.



**Γράφημα 3. 18:** Ρυθμός νιτροποίησης συναρτήσει χρόνου για 45 °C.

Ο ρυθμός νιτροποίησης σε όλες τις περιπτώσεις παρουσιάζει μείωση. Για τις θερμοκρασίες των 30, 35 και 40 °C παρατηρείται μεγαλύτερος ρυθμός για τα enriched δείγματα εν αντιθέσει με τα δείγματα των 45 °C. Ο μεγαλύτερος ρυθμός σημειώνεται στους 35 °C, την 3<sup>η</sup> ημέρα για τα εμπλουτισμένα δείγματα. Τέλος ο μικρότερος ρυθμός νιτροποίησης σημειώθηκε στους 35 °C για τα μη εμπλουτισμένα δείγματα.

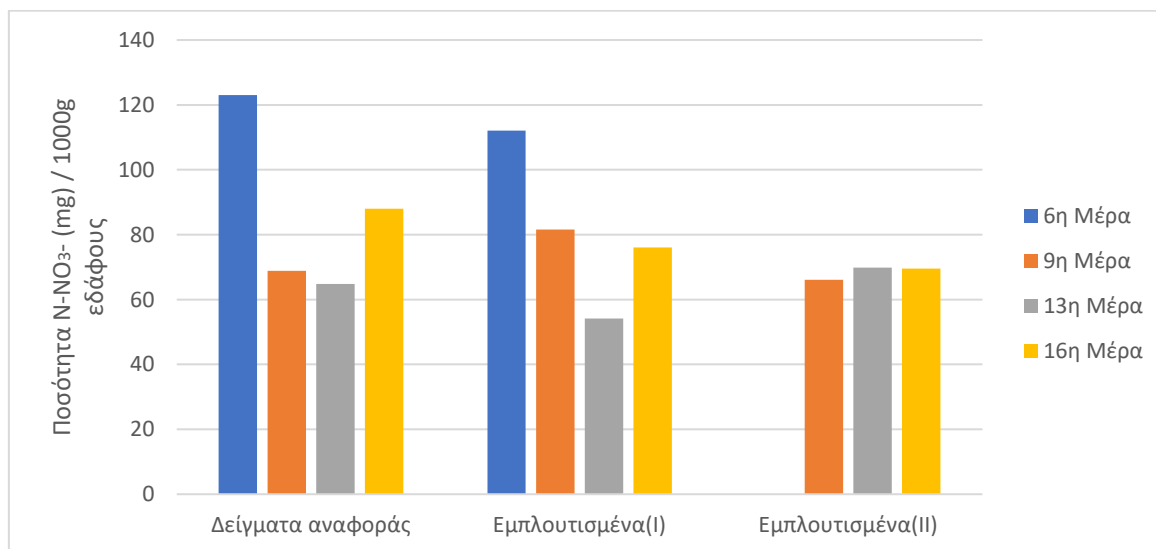


#### IV. Τέταρτο πείραμα

Κατά τη συγκεκριμένη πειραματική διαδικασία μελετήθηκε η επίδραση της θερμοκρασίας των 50 °C στους εδαφικούς μας μικρόκοσμους. Ορισμένα δείγματα εμπλουτίστηκαν με  $NH_4^+$ , χαρακτηρίστηκαν ως εμπλουτισμένα, ενώ κάποια άλλα δεν εμπλουτίστηκαν, χαρακτηρίστηκαν ως δείγματα αναφοράς. Οι δείκτες I και II, επισημαίνουν τη διαφορά ημέρων εμπλουτισμού των εμπλουτισμένων δειγμάτων. Συγκεκριμένα όλα τα δείγματα εκτεθήκαν στους 50 °C για δέκα έξι ημέρες, όμως ο εμπλουτισμός έγινε την τρίτη ημέρα, δείκτης I, σε ορισμένα δείγματα και την έκτη ημέρα, δείκτης II, στα υπόλοιπα.

##### i. Προσδιορισμός συγκέντρωσης $NO_3^-$ στο έδαφος

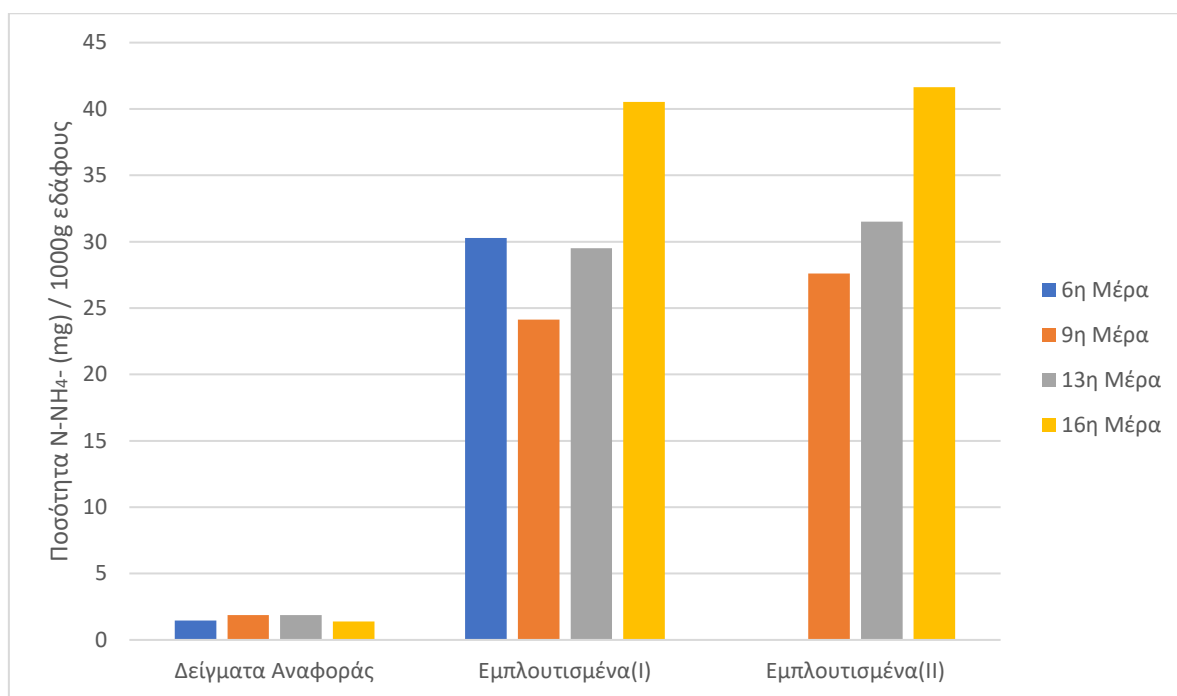
Με το πέρας της συγκεκριμένης πειραματικής διαδικασίας, υπολογίζοντας τις συγκεντρώσεις των  $NO_3^-$ , των μικρόκοσμων, παρατηρήθηκε μείωση των  $NO_3^-$ , για τα δείγματα αναφοράς και εμπλουτισμένα (I) δείγματα τις δέκα τρεις μέρες έκθεσης. Κατά τη τελευταία μέτρηση όμως σημειώθηκε αύξηση της συγκέντρωσης, των προαναφερόμενων δειγμάτων. Η μεγαλύτερη μείωση της συγκέντρωσης παρατηρήθηκε στους μη εμπλουτισμένους μικρόκοσμους, όπως φαίνεται στο παρακάτω γράφημα. Ενώ για τα εμπλουτισμένα (II) δείγματα παρατηρήθηκε άνοδος, ελάχιστη μεν, της συγκέντρωσης των  $NO_3^-$ , με το πέρας των ημέρων. Με βάση τις μετρήσεις μας είναι φανερό πως οι συγκεντρώσεις των δειγμάτων αναφοράς είναι μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες των άλλων δυο περιπτώσεων. Τέλος παρατηρήθηκε μια σχετική ομοιομορφία κατά τη μείωση και στην μετέπειτα αύξηση των  $NO_3^-$ , συναρτήσει των ημέρων, στη περίπτωση των εμπλουτισμένων (I) δειγμάτων.



Γράφημα 3. 19: Ποσότητα  $N - NO_3^-$ , σε θερμοκρασία 50 °C, συναρτήσει του χρόνου έκθεσης και της παρουσίας αμμωνιακού υποστρώματος. Οι δείκτες I και II αφορούν τη διαφορετική χρονική στιγμή εμπλουτισμού των δειγμάτων στην αντίστοιχη θερμοκρασία. Η παρουσία αμμωνιακού υποστρώματος χαρακτηρίζεται ως εμπλουτισμένα ενώ η απουσία ως δείγματα αναφοράς.

## ii. Προσδιορισμός συγκέντρωσης $\text{NH}_4^+$ στο έδαφος

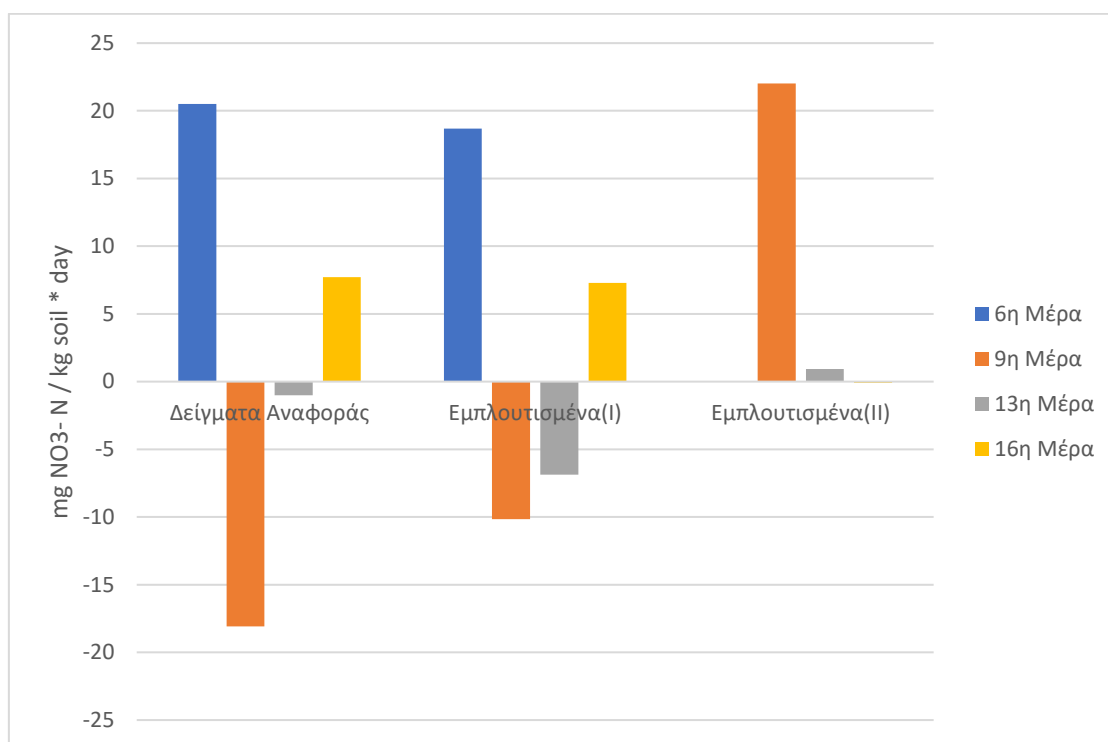
Προσδιορίζοντας τις  $\text{NH}_4^+$  συγκεντρώσεις παρατηρήθηκε πως μετά την έκτη μέρα οι τιμές τους παρουσίασαν μια αυξανόμενη πορεία, όσον αφορά τα δείγματα παρουσίας υποστρώματος. Όπως ήταν αναμενόμενο οι μικρότερες τιμές  $\text{NH}_4^+$  σημειώθηκαν για τα δείγματα αναφοράς, τα οποία δεν εμπλουτίστηκαν με  $\text{NH}_4^+$ , με εμφανή διαφορά από τα εμπλουτισμένα, για τα οποία παρατηρήθηκε μια σχετική ομοιομορφία των συγκεντρώσεων τους στις αντίστοιχες μετρήσεις.



Γράφημα 3. 20: Συγκέντρωση  $\text{N} - \text{NH}_4^+$ , σε θερμοκρασία  $50^\circ\text{C}$ , συναρτήσει του χρόνου έκθεσης και της παρουσίας αμμωνιακού υποστρώματος. Οι δείκτες I και II αφορούν τη διαφορετική χρονική στιγμή εμπλουτισμού των δειγμάτων στην αντίστοιχη θερμοκρασία. Η παρουσία αμμωνιακού υποστρώματος χαρακτηρίζεται ως εμπλουτισμένα ενώ η απουσία ως δείγματα αναφοράς.

### iii. Ρυθμός Νιτροποίησης

Στο συγκεκριμένο πείραμα βάση των αποτελεσμάτων μας, όπως γίνεται φανερό και από το Γράφημα 3.21, ο ρυθμός νιτροποίησης μειώνεται τις πρώτες δεκατρείς ημέρες και μετά αυξάνεται, για τις περιπτώσεις των δειγμάτων αναφοράς και των εμπλουτισμένων (I) δειγμάτων. Με τη μεγαλύτερη μείωση να σημειώνεται από τη δεύτερη στη τρίτη μέτρηση μας.



Γράφημα 3. 21: Ρυθμός νιτροποίησης συναρτήσει χρόνου για τους 50 °C. Οι δείκτες I και II αφορούν τη διαφορετική χρονική στιγμή εμπλουτισμού των δειγμάτων στην αντίστοιχη θερμοκρασία. Η παρουσία αμμωνιακού υποστρώματος χαρακτηρίζεται ως εμπλουτισμένα ενώ η απουσία ως δείγματα αναφοράς.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 - ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

Σύμφωνα με τη συγκεκριμένη έρευνα, όπως άλλωστε έχουν δείξει και προγενέστερες, η θερμοκρασία, η οποία επικρατεί στη ατμόσφαιρα, και κατά επέκταση στο χώμα, επηρεάζει τον κύκλο του N. Αυτό συμβαίνει γιατί η θερμοκρασία αφενός επηρεάζει άμεσα τη δραστηριότητα των μικροβιακών οξειδωτών  $\text{NH}_3$ , οι οποίοι υπάρχουν και δραστηριοποιούνται στο έδαφος και πρωταγωνιστούν στη διεργασία της νιτροποίησης. Και αφετέρου γιατί διαφοροποιεί το ποσοστό της σχετικής υγρασίας, οντάς αντιστρόφως ανάλογοι όροι, αυξάνεται η θερμοκρασία μειώνεται η υγρασία, και κατά επέκταση τον αερισμό του εδάφους, εφόσον οι εδαφικοί πόροι δεν γεμίζουν με νερό. Δηλαδή δύο ακόμα βασικούς παράγοντες για τον κύκλο του N.

Κατά τις πρώτες έρευνες που διεξάχθηκαν για τη μελέτη του βιογεωχημικού κύκλου του N, οι ερευνητές δεν γνώριζαν για την ύπαρξη και τη συμβολή των AOA και των COMMAMOX νιτροποιητών, παρά μόνο για τους AOB. Έτσι τα αποτελέσματα των πειραμάτων τους αποδείκνυαν πως σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 30 °C, η νιτροποίηση δεν λάμβανε χώρα. Με ενδεδειγμένη μελέτη ήρθαν στο φως νέα στοιχεία γύρω από την επίδραση της θερμοκρασίας στον κύκλο του N και συγκεκριμένα κατά το στάδιο της νιτροποίησης. Σήμερα γνωρίζουμε πως η νιτροποίηση επιτυγχάνεται αποδοτικά και μέχρι τους 50 °C, και πως υπάρχουν ορισμένοι μικροοργανισμοί του γένους των Αρχαίων, οι οποίοι οξειδώνουν την  $\text{NH}_3$  σε ακόμα μεγαλύτερες θερμοκρασίες. Παρόλα αυτά δεν μας είναι ακόμα πλήρως ξεκάθαρη η δράση των μικροβιακών νιτροποιητών σε χρονικές περιόδους πολλών ημερών υπό συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας. Λόγω της υπερθέρμανσης του πλανήτη μας και της κλιματικής αλλαγής οι υψηλές θερμοκρασίες κατά τη θερινή περίοδο, και όχι μόνο, θα εμφανίζονται με μεγαλύτερη συχνότητα και χρονική διάρκεια. Για αυτό πρέπει να εξετάσουμε λεπτομερώς τη διεργασία της νιτροποίησης, η οποία αποτελεί το πιο βασικό στάδιο στο κύκλο του N, σε περιόδους καύσωνα. Κατά αυτό τον τρόπο θα καταφέρουμε να «σκιαγραφίσουμε» τη δραστηριότητα των οξειδωτών  $\text{NH}_3$ . Γνωρίζοντας τα σημεία μέγιστης και ελάχιστης δράσης τους, θα μπορέσουμε να βελτιστοποιήσουμε τη γεωργική παραγωγή. Συνέπεια αυτής της γνώσης αποτελεί η ορθή εφαρμογή αζωτούχων λιπασμάτων, κατά τη χρονική στιγμή εφαρμογής τους αλλά και κατά τη χρησιμοποιούμενη ποσότητα τους. Θα περιορίσουμε έτσι τις απώλειες των  $\text{NO}_3^-$ , οι οποίες σχετίζονται με βλαβερές επιπτώσεις στο περιβάλλον και στον άνθρωπο, και συνεισφέρουν στη παραγωγή αζωτούχων ενώσεων, οι οποίες θεωρούνται υπεύθυνες για το φαινόμενο του θερμοκηπίου, για την όξινη βροχή και για την τρύπα του όζοντος.

Στη παρούσα διατριβή μελετήσαμε την επίδραση των θερμοκρασιακών τιμών, 30, 35, 40, 45 και 50 °C, στη παραγωγή  $\text{NO}_3^-$  και  $\text{NH}_4^+$ , κατά το κύκλο του N. Προσομοιώσαμε συνθήκες καύσωνα, διαφορετικής χρονικής διάρκειας, σε κάθε πείραμα, σε εδαφικούς μικρόκοσμους. Οι συνθήκες αυτές δημιουργήθηκαν μέσα στο εργαστήριο σε θαλάμους επώασης, στους οποίους οι εδαφικοί μικρόκοσμοι εκθέτονταν σε υψηλές θερμοκρασίες.

Από τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης διατριβής παρατηρήσαμε πως στα εξεταζόμενα εδάφη, η βέλτιστη θερμοκρασία για τη παραγωγή  $\text{NO}_3^-$ , με χρήση αζωτούχου λιπάσματος είναι στους 30 °C, όπως φαίνεται στο δεύτερο πείραμα, σε έκθεση της συγκεκριμένης θερμοκρασίας για χρονική διάρκεια μιας εβδομάδας. Το ίδιο φαίνεται και από τα

αποτελέσματα του πρώτου μας πειράματος, γιατί οι υψηλότερες  $NO_3^-$  συγκεντρώσεις σημειώνονται στους 35 °C. Μπορούμε να θεωρήσουμε πως οι ιδανικές θερμοκρασίες, για εδάφη αυτού του τύπου, είναι μικρότερες των 40 °C, εύρος δηλαδή που δραστηριοποιούνται κυρίως οι βακτηριακοί οξειδωτές, παρόλο που στα γεωργικά εδάφη της Κρήτης συνηθέστερο πληθυσμό αποτελούν τα Αρχαία. Όπως δείχνουν όμως τα ευρήματα του τέταρτου πειράματος στη θερμοκρασία των 50 °C συνεχίζεται η διαδικασία της νιτροποίησης, μειώνοντας το ρυθμό της στο βάθος δυο εβδομάδων, αλλά μετά αυξάνοντας τον. Όσον αφορά τις θερμοκρασίες 40 °C και 45 °C, η νιτροποίηση επιτυγχάνεται, με καλύτερα αποτελέσματα στους 40 °C για χρονικό διάστημα μιας εβδομάδας, ενώ με το πέρας της εβδομάδας η παραγωγή των  $NO_3^-$  ευνοείται στους 45 °C. Αυτό φαίνεται στο δεύτερο μας πείραμα, στο οποίο κιάλας γίνεται αντιληπτό πως στις συγκεκριμένες θερμοκρασίες είναι ευνοϊκότερος ο μικρός χρόνος έκθεσης.

Για τη παραγωγή των  $NH_4^+$  παρατηρούμε, με το τρίτο πείραμα, πως οι 35 °C αποτελούν τη βέλτιστη θερμοκρασία στο χρονικό πλαίσιο μιας εβδομάδας. Όμως στο τέταρτο πείραμα είναι φανερό πως μεγαλύτερες  $NH_4^+$  συγκεντρώσεις επιτυγχάνονται στους 50 °C, για τα συγκεκριμένα εδάφη. Για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, όπως φαίνεται από τα διάγραμμα του δευτέρου πειράματος, η συγκέντρωση των  $NH_4^+$  μειώνεται συνεχώς σε μεγαλύτερες των 40 °C, με εξαίρεση τους 50 °C όπου αυξάνεται. Όσον αφορά τη διαφορά χρόνου έκθεσης για τις θερμοκρασίες των 40 °C και 45 °C, οι λίγες μέρες ευνοούν τη παραγωγή  $NH_4^+$  στους 45 °C, εν αντιθέσει με τους 40 °C.

Από τα αποτελέσματα και τις αναλύσεις τους, όλων των πειραμάτων μας, παρατηρείται πως ο ρυθμός νιτροποίησης, δηλαδή της παραγωγής των  $NO_3^-$ , μειώνεται σε βάθος μίας εβδομάδας. Με το πέρας των πρώτων επτά ημερών έκθεσης σε 35 °C, σύμφωνα με το πρώτο πείραμα και για τις δύο ομάδες δειγμάτων, ο ρυθμός νιτροποίησης αρχίζει να αυξάνεται. Το ίδιο φαίνεται στο δεύτερο πείραμα και από τα δείγματα, τα οποία εκτεθήκαν μόνο για τρεις μέρες στους 45 °C, όπου ενώ ο ρυθμός νιτροποίησης τους μειώνεται, μετά από επτά ημέρες αρχίζει να παρουσιάζει αύξηση. Ενώ για τα υπόλοιπα δείγματα στο συγκεκριμένο πείραμα, ο ρυθμός εμφανίζει μείωση για δέκα συνεχόμενες ημέρες πριν αρχίσει να αυξάνεται. Η ίδια συμπεριφορά του ρυθμού παρατηρείται και στο τέταρτο πείραμα, για όλα τα δείγματα, δηλαδή αύξηση του ρυθμού νιτροποίησης μετά από δέκα συνεχόμενες ημέρες μείωσης του. Στο τρίτο πείραμα η χρονική διάρκεια έκθεσης των μικρόκοσμων στις εκάστοτε θερμοκρασίες ήταν λιγότερη των επτά ημερών. Έτσι δεν μπορούμε να συμπεράνουμε αν η συμπεριφορά του ρυθμού νιτροποίησης συμφωνεί με τα υπόλοιπα πειράματα, αλλά παρατηρούμε πως μειώνεται καθόλη τη διάρκεια του πειράματος.

Από τα γραφήματα της τρίτης πειραματικής διαδικασίας, που ακολουθήσαμε, φαίνεται πως με τη προσθήκη  $NH_3$  στα εδάφη μας, αυξάνεται τόσο η παραγωγή των  $NO_3^-$  όσο και των  $NH_4^+$ , σε όλες τις θερμοκρασίες, εκτός αυτή των 45 °C. Σύμφωνα με το δεύτερο μας πείραμα είναι προτιμότερο η προσθήκη λιπάσματος μετά το πέρας μικρού χρονικού διαστήματος καύσωνα, με θερμοκρασίες, 40 °C και 45 °C. Τέλος σε περίπτωση που το θερμόμετρο δείξει

την τιμή των 50 °C για πολλές ημέρες, πάνω από εβδομάδα συγκεκριμένα, καταλληλότερο θα ήταν η προσθήκη  $\text{NH}_3$  λιπάσματος μετά από έξι ημέρες.

Συμπεραίνουμε τελικά πως στα συγκεκριμένα γεωργικά εδάφη η νιτροποίηση λαμβάνει χώρα σε χρονικές περιόδους με μεγάλες θερμοκρασίες, αν και μειώνεται ο ρυθμός της. Με προσθήκη αζωτούχων υποστρωμάτων την κατάλληλη χρονική στιγμή όμως, αυξάνουμε το ρυθμό της. Φυσικά απαιτείται επιπλέον διεξοδική ερευνά πάνω στο συγκεκριμένο κομμάτι, ώστε να γνωρίζουμε πότε και πως μπορούμε να παρέχουμε την βέλτιστη διαθεσιμότητα N, στα φυτά, ανάλογα με τις εποχιακές τους απαιτήσεις, με αποτέλεσμα την επιθυμητή γονιμότητα του εδάφους, είτε αυτόνομα, είτε με το ελάχιστο ικανοποιητικό δυναμικό αζωτούχου υποστρώματος, αποφεύγοντας τις απώλειες των  $\text{NO}_3^-$  και ότι δεινά μπορούν να επιφέρουν.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 - ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**



1. Anne E. Taylor, Andrew T. Giguere, Conor M. Zobebelein, David D Myrold & Peter J Bottomley (2017), Modeling of soil nitrification responses to temperature reveals thermodynamic differences between ammonia-oxidizing activity of archaea and bacteria. *The ISME Journal* 11, 896-908 (2017)
2. B. S. Griffiths (1989), Enhanced nitrification in the presence of bacteriophagous protozoa. *Soil Biology and Biochemistry*, Volume 21, Issue 8, 1989 Pages 1045-1051
3. Céline Brochier-Armanet, Simonetta Gribaldo, Patrick Forterre (2012), Spotlight on the Thaumarchaeota. *The ISME Journal* 6, 227-230 (2012)
4. Christopher E. Lawson, Sebastian Lüscher (2018), Complete ammonia oxidation: an important control on nitrification in engineered ecosystems? *Current Opinion in Biotechnology*, Volume 50, April 2018, Pages 158-165
5. Dandan Wang, Kai Sheng, Wandong Zhao, Lantao Li, Qian Zhang, Yilun Wang (2021), Dominance of archaeal ammonia-oxidizers in soil nitrification across different soil types and fertilities in North China plain. *European Journal of Soil Biology*, Volume 106, September-October 2021, 103354
6. Daniel T. Verhamme, James I. Prosser, Graeme W. Nicol (2011), Ammonia concentration determines differential growth of ammonia oxidizing archaea and bacteria in soil microcosms. *The ISME Journal* 5, 1067-1071 (2011)
7. Edith Bai, Shanlong Li, Wenhua Xu, Wei Li, Weiwei Dai, Ping Jiang (2013), A meta-analysis of experimental warming effects on terrestrial nitrogen pools and dynamics. *New Phytologist*, Volume 199, Issue, April 2013, Pages 441-451
8. Enrico Tatti, Aoife M. Duffy, Anastasiia Kostyrsia, Fabien Cholet, Umer Z. Ijaz, Cindy J. Smith (2021), Potential nitrification activity reflects ammonia oxidizing bacteria but not archaea activity across a soil-sediment gradient. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, Volume 264, 5 January 2022, 107666
9. Ernest D. Osburn, J.E. Barrett (2020), Abundance and functional importance of complete ammonia-oxidizing bacteria (comammox) versus canonical nitrifiers in temperate forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, Volume 145, June 2020, 107801
10. Haifeng Xiao, Bryan Griffiths, Xiaoyun Chen, Manqiang Liu, Jiaguo Jiao, Feng Hu, Huixin Li (2010), Influence of bacterial-feeding nematodes on nitrification and the ammonia oxidizing bacteria (AOB) community composition. *Applied Soil Ecology*, Volume 45, Issue 3, July 2010, Pages 131-137
11. Haiyang Liu, Hangwei Hu, Xing Huang, Tida Ge, Yongfu Li, Zhenke Zhu, Xingmei Liu, Wenfeng Tan, Zhongjun Jia, Hongjie Di, Jianming Xu, Yong Li (2021), Canonical ammonia oxidizers, rather than comammox *Nitrospira*, dominated autotrophic nitrification during the mineralization of organic substances in two paddy soils. *Soil Biology and Biochemistry*, Volume 156, May 2021, 108192
12. Hang-Wei Hu, Catriona A. Macdonald, Pankaj Trivedi, Ian C. Anderson, Yong Zheng, Bronwyn Holmes, Levente Bodrossy, Jun-Tao Wang, Ji-Zheng He, Brajesh K. Singh (2015), Effects of Climate warming and elevated CO<sub>2</sub> on autotrophic nitrification and nitrifiers in dryland ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry*, Volume 92, January 2016, Pages 1-15
13. Holger Daims, Elena V. Lebedeva, Petra Pjevac, Ping Han, Craig Herbold, Mads Albertsen, Nico Jehmlich, Marton Palatinszky, Julia Vierheilig, Alexandr Bulaev, Rasmus H. Kirkegaard, Martin von Bergen, Thomas Rattei, Bernd Bendinger, Per

- H. Nielsen & Michael Wagner (2015), Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria. *Nature* 528, 504-509 (2015)
14. Hong J. Di, Keith C. Cameron, Ju-Pei Shen, Chris S. Winefield, Maureen O'Callaghan, Saman Bowatte, Ji;Zheng He (2010), Ammonia-oxidizing bacteria and archaea grow under contrasting soil nitrogen conditions. *FEMS Microbiology Ecology*, Volume 72, Issue 3, June 2010, Pages 386-394
  15. Hong J. Di, Keith C. Cameron, Ju-Pei Shen, Chris S. Winefield, Maureen O'Callaghan, Saman Bowatte, Ji;Zheng He (2009), Nitrification driven by bacteria and not archaea in nitrogen-rich grassland soils. *Nature Geoscience* 2, 621-624 (2009)
  16. Huaiying Yao, Colin D. Campbell, Stephen J. Chapman, Thomas E. Freitag, Graeme W. Nicol, Brajesh K. Singh (2013), Multi-factorial drivers of ammonia oxidizer communities: evidence from a national soil survey. *Environmental Microbiology*, Volume 15, Issue 9, pages 2545-2556
  17. Jianjie Hu, Yuxiang Zhao, Xiangwu Yao, Jiaqi Wang, Ping Zheng, Chuanwu Xi, Baolan Hu (2021), Dominance of comammox *Nitrospira* in soil nitrification. *Science of The Total Environment*, Volume 780, 1 August 2021, 146558
  18. Jinbo Zhang, Zucong Cai, C. Müller (2018), Terrestrial N cycling associated with climate and plant-specific N preferences: a review. *European Journal of Soil Science*, Volume 69, Issue 3, 2018, Pages 488-501
  19. John H. M. Munro (1886), LIX-The formation and destruction of nitrates and nitrites in artificial solutions and in river well waters. *Journal of the Chemical Society, Transactions*, Volume 49, 1886
  20. José R. De La Torre, Christopher B. Walker, Anitra E. Ingalls, Martin Könneke, David A. Stahl (2008), Cultivation of a thermophilic ammonia oxidizing archaeon synthesizing. *Environmental Microbiology*, Volume 10, Issue 3, January 2008, Pages 810-818
  21. Joshua P. Schimel, Henning Pedersen, Kristie A. Dunking, Mary K. Firestone (1999), The relative importance of autotrophic and heterotrophic nitrification in a conifer forest soil as measured by <sup>15</sup>N tracer and pool dilution techniques. *Biochemistry*, Volume 44 No.2, February 1999, Pages 135-150
  22. Jun Zhao, Marcus O. Bello, Yiyu Meng, James I. Prosser, Cécile Gubry-Rangin (2019), Selective inhibition of ammonia oxidising archaea by simvastatin stimulates growth of ammonia oxidising bacteria. *Soil Biology and Biochemistry*, Volume 141, February 2020, 107673
  23. Kristiina Karhu, Marc D. Auffret, Jennifer A. J. Dungait, David W. Hopkins, James I. Prosser, Brajesh K. Singh, Jens-Arne Subke, Philip A. Wookey, Göran I. Ågren, Maria-Teresa Sebastià, Fabrice Gouriveau, Göran Bergkvist, Patrick Meir, Andrew T. Nottingham, Norma Salinas, Iain P. Hartley (2014). *Nature* 513, 81-84 (2014)
  24. Liangting Liu, Mengfan Liu, Yiming Kiang, Weitie Lin, Jinafei Luo (2021), Production and Excretion of Polyamines to Tolerate High Ammonia, a Case Study on Soil Ammonia-Oxidizing Archaeon "*Candidatus Nitrosocosmicus argestis*". *Environmental Microbiology*, 16 February 2021
  25. Li-Mei Zhang, Hang-Wei Hu, Ju-Pei Shen, Ji-Zheng He (2012), Ammonia-oxidizing archaea have more important role than ammonia-oxidizing bacteria in ammonia oxidation of strongly acidic soils. *The ISME Journal* 6, 1032-1045 (2012)
  26. Linh T.T. Nguyen, Katie Broughton, Yui Osanai, Ian C. Anderson, Micahel P. Bange, David T. Tissue, Brajesh K. Singh (2019), Effects of elevated temperature and

- elevated CO<sub>2</sub> on soil nitrification and ammonia-oxidizing microbial communities in field grown crop. *Science of The Total Environment*, Volume 675, 20 July 2019, Pages 81-89
27. Luis Lassaletta, Gilles Billen, Bruna Grizzetti, Juliette Anglade, Josette Garnier (2014), 50 years trends in nitrogen use efficiency of world cropping systems: the relationship between yield and nitrogen input to cropland. *Environmental Research Letters*, Volume 9, Number 10, 27 October 2014
  28. Maartje A. H. J. van Kessel, Daan R. Speth, Mads Albertsen, Per H. Nielsen, Huub J. M. Op den Camp, Boran Kartal, Mike S. M. Jetten, Sebastian Lüscher (2015), Complete nitrification by a single microorganism. *Nature* 528, 555-559 (2015)
  29. Manman Chen, Hong Pan, Mingjie Sun, Wei He, Meng Wei, Yanhong Lou, Hui Wang, Quangan Yang, Haojie Feng, Yuping Zhuge (2021), Nitrospira cluster 3-lineage of AOB and nirK of Rhizobiales respectively dominated N<sub>2</sub>O emissions from nitrification and denitrification in organic and chemical N fertilizer treated soils. *Ecological Indicators*, Volume 127, August 2021, 107722
  30. Marcus O. Bello, Axel Aigle, Yiyu Meng, James I. Prosser, Cécile Gubry-Rangin (2021), Preferential temperature and ammonia concentration for in-situ growth of Candidatus Nitrosocosmicus ammonia oxidizing archaea. *Soil Biology and Biochemistry*, Volume 162, November 2021, 108405
  31. Mark A. Bradford, Christian A. Davies, Serita D. Frey, Thomas R. Maddox, Jerry M. Melillo, Jacqueline E. Mohan, James F. Reynolds, Kathleen K. Treseder, Matthew D. Wallenstein (2008), Thermal adaptation of soil microbial respiration to elevated temperature. *Ecology Letters*, Volume 11, Issue 12, pages 1316-1327
  32. Mark A. Sutton, Clare M. Howard, Jan Willem Erisman, Gilles Billen, Albert Bleeker, Pering Grennfelt, Hans van Grennfelt, Bruna Grinsven (2011), *The European nitrogen assessment*, Cambridge University Press
  33. Mengjie Yu, Jun Meng, Lu Yu, Weiqin Su, Muhammad Afzal, Yong Li, Philip C. Brookes, Marc Redmile-Gordon, Yu Luo, Jianming Xu (2018), Changes in nitrogen related functional genes along soil pH, C and nutrient gradients in the rhizosphere. *Science of The Total Environment*, Volumes 650, Part 1, February 2019, Pages 626-632
  - Myrto Tsiknia, Nikolaos V. Paranychianakis, Emmanouil A. Varouchakis, Nikolaos P. Nikolaidis (2015), Environmental drivers of the distribution of nitrogen functional genes at a watershed scale. *FEMS Microbiology Ecology*, Volume 91, Issue 6, June 2015
  34. Myrto Tsiknia, Nikolaos V. Paranychianakis, Emmanouil A. Varouchakis, Daniel Moraetis, Nikolaos P. Nikolaidis (2014), Environmental drivers of soils microbial community distribution at the Koiliaris Critical Zone Observatory. *FEMS Microbiology Ecology*, Volume 90, Issue 1, October 2014, Pages 139-152
  35. Nicolas Gruber, James N. Galloway (2008), An Earth-system perspective of the global nitrogen cycle. *Nature* 451, 293-296 (2008)
  36. Pertti J. Martikainen (2022), Heterotrophic nitrification- An eternal mystery in the nitrogen cycle. *Soil Biology and Biochemistry*, Volume 168, May 2022, 108611
  37. Qian Zhang, Yong Li, Yan He, Haiyang Liu, Marc G. Dumont, Philip C. Brookes, Jianming Xu (2019), Nitrospira cluster 3- like bacterial ammonia oxidizers and Nitrospira- like nitrite oxidizers dominate nitrification activity in acidic terrace paddy soils. *Soil Biology and Biochemistry*, Volume 131, April 2019, Pages 229-237
  38. Robert Warington (1879), XLIX-On nitrification (Part II). *Journal of the Chemical Society, Transactions*, Volume 35, 1879

39. Sergei Winogradsky (1890), Recherches sur les organismes de la nitrification. Annales de l'Institut Pasteur, 4 (1890), Pages 213-231
40. Ting Lan, Nan Xie, Cheng Chen, Xiaoqian He, Ouping Deng, Wei Zhou, Guangdong Chen, Jing Ling, Shu Yuan, Rong Huang, Zhaonan Tian, Christopher W.N. Anderson (2022), Effects of biological nitrification inhibitor in regulating NH<sub>3</sub> volatilization and fertilizer nitrogen recovery efficiency in soils under rice cropping. Science of The Total Environment, Volume 838, Part 1, 10 September 2022, 155857
41. Tobias Rütting, Phillip Schleusner, Linda Hink, James I. Prosser (2021), The contribution of ammonia-oxidizing archaea and bacteria to gross nitrification under different substrate availability. Soil Biology and Biochemistry, Volume 160, September 2021, 108353
42. Vasileios A. Tzanakakis, Anne E. Taylor, Peter J. Bottomley (2020), Impact of freeze-thaw on the contributions of AOA and AOB to N-flush induced nitrification in meadow soils. Soil Biology and Biochemistry, Volume 150, November 2020, 108015
43. Weiwei Xia, Caixia Zhang, Xiaowei Zeng, Youzhi Feng, Jiahua Weng, Xiangui Lin, Jianguo Zhu, Zhengqin Xiong, Jian Xu, Zucong Cai, Zhongjun Jia (2011), Autotrophic growth of nitrifying community in an agricultural soil. The ISME Journal 5, 1226-1236 (2011)
44. Wnde H. Yang, Rebecca A. Ryals, Daniela F. Cusack, Whendee L. Silver (2017), Cross-biome assessment of gross soil nitrogen cycling in California ecosystems. Soil Biology and Biochemistry, Volume 107, April 2017, Pages 144-155
45. Xin Wang, Junhong Bai, Tian Xie, Wei Wang, Guangliang Zhang, Shuo Yin, Dawei Wang (2021), Effects of biological nitrification inhibitors on nitrogen use efficiency and greenhouse gas emissions in agricultural soils: A review. Ecotoxicology and Environmental Safety, Volume 220, 1 September 2021, 112338
46. Yang Ouyang, Jeanette M. Norton, John M. Stark (2017), Ammonium availability and temperature control contributions of ammonia oxidizing bacteria and archaea to nitrification in an agricultural soil. Soil Biology and Biochemistry, Volume 113, October 2017, Pages 161-172
47. Yang Ouyang, Jeanette M. Norton, John M. Stark (2017), Ammonium availability and temperature control contributions of ammonia oxidizing bacteria and archaea to nitrification in an agricultural soil. Soil Biology and Biochemistry, Volume 113, October 2017, Pages 161-172
48. Yaying Li, Stephen J. Chapman, Graeme W. Nicol, Huaiying Yao (2018), Nitrification and nitrifiers in acidic soils. Soil Biology and Biochemistry, Volume 116, January 2018, Pages 290-301
49. Yongxin Lin, Hang-Wei Hu, Guiping Ye, Jianbo Fan, Weixin Ding, Zi-Yang He, Yong Zheng, Ji-Zheng He (2021), Ammonia-oxidizing bacteria play an important role in nitrification of acidic soils: A meta-analysis. Geoderma, Volume 202, 15 December 2021, 115395
50. Zhihui Wang, Yanqiang Cao, Xia Zhu-Barker, Graeme W. Nicol, Alan L. Wright, Zhongjun Jia, Xianjun Jiang (2019), Comammox Nitrospira clade B contributes to nitrification in soil. Soil Biology and Biochemistry, Volume 135, August 2019, Pages 392-395
51. Βαγιάκης Ιωάννης (2013), Διερεύνηση της Σχέσης Καθαρού και Ολικού ρυθμού Νιτροποίησης σε Εδάφη με Μεγάλη Περιεκτικότητα Αργίλου. Μεταπτυχιακή Διατριβή, Πολυτεχνείο Κρήτης, Τμήμα Μηχανικών Περιβάλλοντος, Εργαστήριο Γεωργικής Μηχανικής

52. Ιωάννης Σπυρόπουλος (2021), Νιτροποίηση σε εδάφη θερμοκηπίων. Διπλωματική εργασία, Πολυτεχνείο Κρήτης, Τμήμα Χημικών Μηχανικών και Μηχανικών Περιβάλλοντος
53. Μαρίνα Ρασούλη (2012), Επίδραση Συσσώρευσης Αλάτων στον Βιογεωχημικό Κύκλο του Αζώτου. Μεταπτυχιακή Διατριβή, Πολυτεχνείο Κρήτης, Τμήμα Μηχανικών Περιβάλλοντος

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 – ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ**

Πίνακες που προέκυψαν κατά την στατιστική επεξεργασία δεδομένων.

Θερμοκρασία (°C)	Απορρόφηση (mg/L)	Συγκέντρωση (μg/mL)	Συγκέντρωση αρχ. (μg/mL)	N-NO <sub>3</sub> (μg) / 5g εδάφους	N-NO <sub>3</sub> (mg) / kg εδάφους
1 <sup>η</sup> Μέτρηση					
20	0,037	1,578	4,924	196,958	39,392
	0,054	2,258	7,053	282,112	56,422
	0,034	1,414	4,408	176,330	35,266
35	0,019	0,793	2,465	98,581	19,716
	0,032	1,329	4,144	165,752	33,150
	0,020	0,857	2,663	106,515	21,303
45	0,015	0,646	2,002	80,069	16,014
	0,013	0,544	1,684	67,376	13,475
	0,018	0,760	2,359	94,350	18,870
2 <sup>η</sup> Μέτρηση					
20	0,055	2,317	7,238	289,516	57,903
	0,062	2,595	8,111	324,424	64,885
	0,064	2,692	8,415	336,589	67,318
35(A)	0,040	1,684	5,255	210,180	42,036
	0,065	2,730	8,534	341,349	68,270
	0,064	2,718	8,494	339,763	67,953
45 (A)	0,020	0,861	2,676	107,044	21,409
	0,031	1,325	4,131	165,223	33,045
	0,032	1,329	4,144	165,752	33,150
35(B)	0,053	2,232	6,973	278,938	55,788
	0,063	2,650	8,283	331,300	66,260
	0,064	2,684	8,388	335,531	67,106
45(B)	0,030	1,283	3,998	159,934	31,987
	0,020	0,852	2,650	105,986	21,197
	0,025	1,059	3,298	131,902	26,380
3 <sup>η</sup> Μέτρηση					
20	0,065	2,726	8,521	340,820	68,164
	0,064	2,688	8,402	336,060	67,212
	0,064	2,697	8,428	337,118	67,424

35(A)	0,071	2,975	9,301	372,026	74,405
	0,071	2,996	9,367	374,670	74,934
	0,022	0,912	2,835	113,391	22,678
45(A)	0,031	1,312	4,091	163,637	32,727
	0,033	1,397	4,355	174,215	34,843
	0,028	1,186	3,694	147,769	29,554
35(B)	0,073	3,072	9,605	384,191	76,838
	0,068	2,865	8,957	358,274	71,655
	0,065	2,760	8,626	345,052	69,010
45(B)	0,033	1,409	4,395	175,801	35,160
	0,031	1,312	4,091	163,637	32,727
	0,032	1,363	4,250	169,984	33,997
4 <sup>η</sup> Μέτρηση					
20	0,073	3,068	9,592	383,662	76,732
	0,057	2,422	7,568	302,739	60,548
	0,067	2,823	8,825	352,985	70,597
35(A)	0,025	1,059	3,298	131,902	26,380
	0,064	2,697	8,428	337,118	67,424
	0,064	2,701	8,441	337,647	67,529
45(A)	0,039	1,637	5,109	204,362	40,872
	0,046	1,954	6,101	244,030	48,806
	0,027	1,144	3,562	142,480	28,496
35(B)	0,079	3,330	10,411	416,454	83,291
	0,054	2,287	7,145	285,814	57,163
	0,066	2,777	8,679	347,167	69,433
45(B)	0,033	1,393	4,342	173,686	34,737
	0,037	1,578	4,924	196,958	39,392
	0,036	1,502	4,686	187,437	37,487

Πίνακας μετρήσεων και υπολογισμών πρώτου πειράματος για ποσότητα N υπό τη μορφή  $NO_3^-$ .



Θερμοκρασία (°C)	Απορρόφηση (mg/L)	Συγκέντρωση (μg/mL)	Συγκέντρωση αρχ. (μg/mL)	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (μg) / 5g εδάφους	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg) / kg εδάφους
1 <sup>η</sup> Μέτρηση					
20	0,1340	0,5936	5,9362	237,4480	47,4896
	0,1263	0,5595	5,5951	223,8036	44,7607
	0,1290	0,5715	5,7147	228,5880	45,7176
35	0,1377	0,6100	6,1001	244,0044	48,8009
	0,1825	0,8085	8,0848	323,3900	64,6780
	0,0730	0,3234	3,2339	129,3560	25,8712
45	0,1512	0,6698	6,6982	267,9264	53,5853
	0,0374	0,1657	1,6568	66,2728	13,2546
	0,0541	0,2397	2,3966	95,8652	19,1730
2 <sup>η</sup> Μέτρηση					
20	0,0984	0,4359	4,3591	174,3648	34,8730
	0,0961	0,4257	4,2572	170,2892	34,0578
	0,0659	0,2919	2,9194	116,7748	23,3550
35(A)	0,1267	0,5613	5,6128	224,5124	44,9025
	0,0466	0,2064	2,0644	82,5752	16,5150
	0,0825	0,3655	3,6548	146,1900	29,2380
45 (A)	0,1206	0,5343	5,3426	213,7032	42,7406
	0,0762	0,3376	3,3757	135,0264	27,0053
	0,0932	0,4129	4,1288	165,1504	33,0301
35(B)	0,0778	0,3447	3,4465	137,8616	27,5723
	0,0624	0,2764	2,7643	110,5728	22,1146
	0,1005	0,4452	4,4522	178,0860	35,6172
45(B)	0,1013	0,4488	4,4876	179,5036	35,9007
	0,0799	0,3540	3,5396	141,5828	28,3166
	0,0883	0,3912	3,9117	156,4676	31,2935
3 <sup>η</sup> Μέτρηση					
20	0,0253	0,1121	1,1208	44,8316	8,9663
	0,0260	0,1152	1,1518	46,0720	9,2144
	0,0170	0,0753	0,7531	30,1240	6,0248
35(A)	0,0067	0,0297	0,2968	11,8724	2,3745
	0,0070	0,0310	0,3101	12,4040	2,4808
	0,0110	0,0487	0,4873	19,4920	3,8984
45(A)	0,0400	0,1772	1,7720	70,8800	14,1760
	0,0350	0,1551	1,5505	62,0200	12,4040
	0,0380	0,1683	1,6834	67,3360	13,4672

35(B)	0,0280	0,1240	1,2404	49,6160	9,9232
	0,0060	0,0266	0,2658	10,6320	2,1264
	0,0220	0,0975	0,9746	38,9840	7,7968
45(B)	0,0630	0,2791	2,7909	111,6360	22,3272
	0,0340	0,1506	1,5062	60,2480	12,0496
	0,0540	0,2392	2,3922	95,6880	19,1376
4 <sup>η</sup> Μέτρηση					
20	0,0673	0,2981	2,9814	119,2556	23,8511
	0,0655	0,2902	2,9017	116,0660	23,2132
	0,0584	0,2587	2,5871	103,4848	20,6970
35(A)	0,0606	0,2685	2,6846	107,3832	21,4768
	0,1282	0,5679	5,6793	227,1704	45,4341
	0,0664	0,2942	2,9415	117,6608	23,5322
45(A)	0,0934	0,4138	4,1376	165,5048	33,1010
	0,0944	0,4182	4,1819	167,2768	33,4554
	0,0910	0,4031	4,0313	161,2520	32,2504
35(B)	0,0664	0,2942	2,9415	117,6608	23,5322
	0,0688	0,3048	3,0478	121,9136	24,3827
	0,0475	0,2104	2,1043	84,1700	16,8340
45(B)	0,0843	0,3734	3,7345	149,3796	29,8759
	0,0929	0,4115	4,1155	164,6188	32,9238
	0,0004	0,0018	0,0177	0,7088	0,1418

Πίνακας μετρήσεων και υπολογισμών πρώτου πειράματος για ποσότητα N υπό τη μορφή  $NH_4^+$ .

Θερμοκρασία (°C)	Ρυθμός Νιτροποίησης ( $N-NO_3^-$ (mg) / kg εδάφους * day
1 <sup>η</sup> Μέτρηση	
20	14,564
35	8,241
45	5,373
2 <sup>η</sup> Μέτρηση	
20	-4,919
35(A)	-8,674
45 (A)	-3,270
35(B)	7,390
45(B)	14,696
3 <sup>η</sup> Μέτρηση	
20	-1,410
35(A)	0,693
45(A)	-1,058
35(B)	-3,150
45(B)	-2,480
4 <sup>η</sup> Μέτρηση	
20	-0,423
35(A)	0,890
45(A)	-1,754
35(B)	0,635
45(B)	-0,811

Πίνακας ρυθμού νιτροποίησης πρώτου πειράματος.

Θερμοκρασία (°C)	Απορρόφηση (mg/L)	Συγκέντρωση (μg/mL)	Συγκέντρωση αρχ. (μg/mL)	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (μg) / 5g εδάφους	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg) / kg εδάφους
1 <sup>η</sup> Μέτρηση					
40in	0,0864	3,6461	11,4031	456,1220	91,2244
	0,0912	3,8486	12,0377	481,5095	96,3019
	0,0999	4,2158	13,1881	527,5244	105,5049
40out	0,0979	4,1314	12,9237	516,9463	103,3893
	0,1018	4,2960	13,4393	537,5737	107,5147
	0,0961	4,0554	12,6856	507,4260	101,4852
45in	0,0789	3,3296	10,4114	416,4540	83,2908
	0,0956	4,0343	12,6195	504,7814	100,9563
	0,0947	3,9963	12,5005	500,0213	100,0043
45out	0,1357	5,7265	17,9218	716,8730	143,3746
	0,1405	5,9291	18,5565	742,2605	148,4521
	0,1348	5,6886	17,8028	712,1129	142,4226
2 <sup>η</sup> Μέτρηση					
40in	0,0972	4,1018	12,8311	513,2439	102,6488
	0,0802	3,3844	10,5832	423,3298	84,6660
	0,1273	5,3721	16,8111	672,4449	134,4890
40out	0,1046	4,4141	13,8096	552,3830	110,4766
	0,1055	4,4521	13,9286	557,1432	111,4286
	0,1077	4,5449	14,2195	568,7791	113,7558
45in	0,1011	4,2664	13,3468	533,8713	106,7743
	0,1216	5,1315	16,0574	642,2972	128,4594
	0,1238	5,2244	16,3483	653,9331	130,7866
45out	0,1653	6,9757	21,8357	873,4294	174,6859
	0,1243	5,2455	16,4144	656,5777	131,3155
	0,1897	8,0053	25,0621	1002,4826	200,4965
3 <sup>η</sup> Μέτρηση					
40in	0,0905	3,8191	11,9452	477,8072	95,5614
	0,0720	3,0384	9,4990	379,9595	75,9919
	0,0834	3,5195	11,0064	440,2548	88,0510
40out	0,0808	3,4098	10,6626	426,5033	85,3007
	0,0634	2,6755	8,3618	334,4735	66,8947
	0,0840	3,5448	11,0857	443,4283	88,6857
45in	0,0961	4,0554	12,6856	507,4260	101,4852
	0,0926	3,9077	12,2229	488,9142	97,7828
	0,0735	3,1017	9,6973	387,8931	77,5786

45out	0,1414	5,9871	18,8755	747,0207	149,4041
	0,1720	7,2584	22,7217	908,8661	181,7732
	0,1691	7,1360	22,3382	893,5278	178,7056
4 <sup>η</sup> Μέτρηση					
40in	0,0968	4,0850	12,7782	511,1283	102,2257
	0,0911	3,8444	12,0245	480,9806	96,1961
	0,0947	3,9963	12,5005	500,0213	100,0043
40out	0,0911	3,8444	12,0245	480,9806	96,1961
	0,0953	4,0217	12,5799	503,1947	100,6389
	0,0900	3,7980	11,8791	475,1627	95,0325
45in	0,0999	4,2158	13,1881	527,5244	105,5049
	0,0866	3,6545	11,4295	457,1798	91,4360
	0,0901	3,8022	11,8923	475,6916	95,1383
45out	0,1897	8,0053	25,0621	1002,4826	200,4965
	0,1696	7,1571	22,4043	896,1724	179,2345
	0,2016	8,5075	26,6356	1065,4225	213,0845

Πίνακας μετρήσεων και υπολογισμών δεύτερου πειράματος για ποσότητα N υπό τη μορφή  $NO_3^-$ .

Θερμοκρασία (°C)	Απορρόφηση (mg/L)	Συγκέντρωση (μg/mL)	Συγκέντρωση αρχ. (μg/mL)	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (μg) / 5g εδάφους	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg) / kg εδάφους
1 <sup>η</sup> Μέτρηση					
40in	0,0612	0,271116	2,71116	108,4464	21,6893
	0,0191	0,084613	0,84613	33,8452	6,7690
	0,0814	0,360602	3,60602	144,2408	28,8482
40out	0,0508	0,225044	2,25044	90,0176	18,0035
	0,0803	0,355729	3,55729	142,2916	28,4583
	0,0854	0,378322	3,78322	151,3288	30,2658
45in	0,1036	0,458948	4,58948	183,5792	36,7158
	0,155	0,68665	6,8665	274,6600	54,9320
	0,1048	0,464264	4,64264	185,7056	37,1411
45out	0,0752	0,333136	3,33136	133,2544	26,6509
	0,0064	0,028352	0,28352	11,3408	2,2682
	0,0379	0,167897	1,67897	67,1588	13,4318
2 <sup>η</sup> Μέτρηση					
40in	0,0856	0,379208	3,79208	151,6832	30,3366
	0,0473	0,209539	2,09539	83,8156	16,7631
	0,0742	0,328706	3,28706	131,4824	26,2965
40out	0,0847	0,375221	3,75221	150,0884	30,0177
	0,0819	0,362817	3,62817	145,1268	29,0254
	0,0717	0,317631	3,17631	127,0524	25,4105
45in	0,0631	0,279533	2,79533	111,8132	22,3626
	0,0923	0,408889	4,08889	163,5556	32,7111
	0,0755	0,334465	3,34465	133,7860	26,7572
45out	0,0508	0,225044	2,25044	90,0176	18,0035
	0,0757	0,335351	3,35351	134,1404	26,8281
	0,0173	0,076639	0,76639	30,6556	6,1311
3 <sup>η</sup> Μέτρηση					
40in	0,0473	0,209539	2,09539	83,8156	16,7631
	0,0326	0,144418	1,44418	57,7672	11,5534
	0,0813	0,360159	3,60159	144,0636	28,8127
40out	0,0612	0,271116	2,71116	108,4464	21,6893
	0,0663	0,293709	2,93709	117,4836	23,4967
	0,0634	0,280862	2,80862	112,3448	22,4690
45in	0,1038	0,459834	4,59834	183,9336	36,7867
	0,0266	0,117838	1,17838	47,1352	9,4270
	0,0719	0,318517	3,18517	127,4068	25,4814

45out	0,0447	0,198021	1,98021	79,2084	15,8417
	0,0457	0,202451	2,02451	80,9804	16,1961
	0,0522	0,231246	2,31246	92,4984	18,4997
4 <sup>η</sup> Μέτρηση					
40in	0,0537	0,237891	2,37891	95,1564	19,0313
	0,0409	0,181187	1,81187	72,4748	14,4950
	0,0154	0,068222	0,68222	27,2888	5,4578
40out	0,0384	0,170112	1,70112	68,0448	13,6090
	0,0441	0,195363	1,95363	78,1452	15,6290
	0,0501	0,221943	2,21943	88,7772	17,7554
45in	0,027	0,11961	1,1961	47,8440	9,5688
	0,0392	0,173656	1,73656	69,4624	13,8925
	0,0423	0,187389	1,87389	74,9556	14,9911
45out	0,0132	0,058476	0,58476	23,3904	4,6781
	0,0193	0,085499	0,85499	34,1996	6,8399
	0,0252	0,111636	1,11636	44,6544	8,9309

Πίνακας μετρήσεων και υπολογισμών δευτέρου πειράματος για ποσότητα N υπό τη μορφή  $NH_4^+$ .

Θερμοκρασία (°C)	Ρυθμός Νιτροποίησης ( $N-NO_3^-$ (mg) / kg εδάφους * day
1 <sup>η</sup> Μέτρηση	
40in	16,27951
40out	17,35495
45in	15,79174
45out	24,12496
2 <sup>η</sup> Μέτρηση	
40in	3,196947
40out	2,585766
45in	9,085441
45out	8,027628
3 <sup>η</sup> Μέτρηση	
40in	-5,18329
40out	-7,89834
45in	-7,43114
45out	0,28084
4 <sup>η</sup> Μέτρηση	
40in	4,313528
40out	5,665178
45in	1,692501
45out	9,214729

Πίνακας ρυθμού νιτροποίησης δεύτερου πειράματος.



Θερμοκρασία (°C)	Δείγματα	Απορρόφηση (mg/L)	Συγκέντρωση (μg/mL)	Συγκέντρωση αρχ. (μg/mL)	N-NO <sub>3</sub> (μg) / 5g εδάφους	N-NO <sub>3</sub> (mg) / kg εδάφους
1η Μέτρηση						
30	Δείγματα Αναφοράς	0.056	2.367	7.397	295,863	59,173
		0.071	2.984	9.327	373,084	74,617
	Εμπλουτισμένα	0.047	1.967	6.140	245,617	49,123
		0.070	2.933	9.168	366,737	73,347
		0.079	3.330	10.411	416,454	83,291
		35	Δείγματα Αναφοράς	0.066	2.789	8.719
0.070	2.967			9.274	370,968	74,194
Εμπλουτισμένα	0.073		3.068	9.592	383,662	76,732
	0.071		2.984	9.327	373,084	74,617
	0.081		3.418	10.689	427,561	85,512
	40		Δείγματα Αναφοράς	0.074	3.119	9.750
0.065		2.722		8.507	340,291	68,058
Εμπλουτισμένα		0.070	2.967	9.274	370,968	74,194
		0.067	2.815	8.798	351,927	70,385
		0.063	2.671	8.349	333,945	66,789
		45	Δείγματα Αναφοράς	0.077	3.249	10.160
0.075	3.144			9.830	393,182	78,636
Εμπλουτισμένα	0.067		2.811	8.785	351,399	70,280
	0.061		2.578	8.058	322,309	64,462
	0.063		2.642	8.256	330,242	66,048
	2η Μέτρηση					
30	Δείγματα Αναφοράς	0.068	2.857	8.930	357,216	71,443
		0.067	2.815	8.798	351,927	70,385
	Εμπλουτισμένα	0.081	3.401	10.636	425,445	85,089
		0.074	3.114	9.737	389,480	77,896
		0.076	3.186	9.962	398,471	79,694
		35	Δείγματα Αναφοράς	0.045	1.886	5.889
0.035	1.477			4.607	184,264	36,853
Εμπλουτισμένα	0.043		1.827	5.704	228,163	45,633
	0.061		2.557	7.992	319,664	63,933
	0.064		2.705	8.454	338,176	67,635
	40		Δείγματα Αναφοράς	0.054	2.258	7.053
0.050		2.097		6.550	262,013	52,403
Εμπλουτισμένα		0.049	2.047	6.392	255,666	51,133
		0.064	2.709	8.468	338,705	67,741
		0.070	2.946	9.208	368,324	73,665
		45	Δείγματα Αναφοράς	0.068	2.886	9.023
0.061	2.587			8.084	323,366	64,673
Εμπλουτισμένα	0.041		1.743	5.440	217,585	43,517
	0.042		1.760	5.493	219,701	43,940
	0.048		2.017	6.299	251,964	50,393

Πίνακας μετρήσεων και υπολογισμών τρίτου πειράματος για ποσότητα N υπό τη μορφή NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

Θερμοκρασία (°C)	Δείγματα	Απορρόφηση (mg/L)	Συγκέντρωση (μg/mL)	Συγκέντρωση αρχ. (μg/mL)	N-NO <sub>3</sub> (μg) / 5g εδάφους	N-NO <sub>3</sub> (mg) / kg εδάφους
1η Μέτρηση						
30	Δείγματα Αναφοράς	0.021	0.091	0.908	36,326	7,265
		0.021	0.093	0.930	37,212	7,442
	Εμπλουτισμένα	0.027	0.119	1.192	47,667	9,533
		0.020	0.090	0.904	36,149	7,230
		0.021	0.093	0.926	37,035	7,407
35	Δείγματα Αναφοράς	0.030	0.133	1.333	53,337	10,667
		0.032	0.140	1.404	56,172	11,234
	Εμπλουτισμένα	0.047	0.208	2.082	83,284	16,657
		0.049	0.218	2.175	87,005	17,401
		0.049	0.218	2.180	87,182	17,436
40	Δείγματα Αναφοράς	0.028	0.123	1.227	49,084	9,817
		0.024	0.105	1.054	42,174	8,435
	Εμπλουτισμένα	0.045	0.198	1.985	79,386	15,877
		0.046	0.205	2.047	81,866	16,373
		0.020	0.089	0.886	35,440	7,088
45	Δείγματα Αναφοράς	0.030	0.131	1.307	52,274	10,455
		0.018	0.079	0.793	31,719	6,344
	Εμπλουτισμένα	0.026	0.116	1.161	46,426	9,285
		0.023	0.100	1.001	40,047	8,009
		0.015	0.065	0.647	25,871	5,174
2η Μέτρηση						
30	Δείγματα Αναφοράς	0.030	0.133	1.333	53,337	10,667
		0.023	0.100	0.997	39,870	7,974
	Εμπλουτισμένα	0.022	0.096	0.961	38,452	7,690
		0.029	0.129	1.294	51,742	10,348
		0.028	0.124	1.240	49,616	9,923
35	Δείγματα Αναφοράς	0.015	0.066	0.660	26,403	5,281
		0.049	0.216	2.162	86,474	17,295
	Εμπλουτισμένα	0.067	0.297	2.973	118,901	23,780
		0.069	0.307	3.074	122,977	24,595
		0.067	0.296	2.959	118,370	23,674
40	Δείγματα Αναφοράς	0.049	0.219	2.188	87,537	17,507
		0.052	0.231	2.312	92,498	18,500
	Εμπλουτισμένα	0.072	0.317	3.167	126,698	25,340
		0.067	0.297	2.968	118,724	23,745
		0.063	0.279	2.791	111,636	22,327
45	Δείγματα Αναφοράς	0.024	0.105	1.045	41,819	8,364
		0.024	0.107	1.068	42,705	8,541
	Εμπλουτισμένα	0.025	0.110	1.103	44,123	8,825
		0.022	0.098	0.983	39,338	7,868
		0.021	0.091	0.908	36,326	7,265

Πίνακας μετρήσεων και υπολογισμών δευτέρου πειράματος για ποσότητα N υπό τη μορφή  $NH_4^+$ .

Θερμοκρασία (°C)	Δείγματα	Ρυθμός Νιτροποίησης (N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg) / kg εδάφους * day
1η Μέτρηση		
30	Δείγματα Αναφοράς	16,7237
	Εμπλουτισμένα	17,1468
35	Δείγματα Αναφοράς	23,9907
	Εμπλουτισμένα	26,3179
40	Δείγματα Αναφοράς	24,3433
	Εμπλουτισμένα	23,4853
45	Δείγματα Αναφοράς	19,9897
	Εμπλουτισμένα	16,7325
2η Μέτρηση		
30	Δείγματα Αναφοράς	1,3399
	Εμπλουτισμένα	4,1020
35	Δείγματα Αναφοράς	-9,9963
	Εμπλουτισμένα	-6,6290
40	Δείγματα Αναφοράς	10,0231
	Εμπλουτισμένα	13,5648
45	Δείγματα Αναφοράς	-3,8434
	Εμπλουτισμένα	-6,9933

Πίνακας ρυθμού νιτροποίησης τρίτου πειράματος.

Δείγματα	Απορρόφηση (mg/L)	Συγκέντρωση ( $\mu\text{g/mL}$ )	Συγκέντρωση αρχ. ( $\mu\text{g/mL}$ )	N- $\text{NO}_3^-$ ( $\mu\text{g}$ ) / 5g εδάφους	N- $\text{NO}_3^-$ (mg) / kg εδάφους
1 <sup>η</sup> Μέτρηση					
Δείγματα Αναφοράς	0.111	4.701	15.670	626.811	125.362
	0.107	4.528	15.094	603.741	120.748
Εμπλουτισμένα(I)	0.098	4.140	13.799	551.976	110.395
	0.114	4.823	16.078	643.128	128.626
	0.086	3.646	12.154	486.144	97.229
2 <sup>η</sup> Μέτρηση					
Δείγματα Αναφοράς	0.049	2.051	6.836	273.456	54.691
	0.074	3.110	10.367	414.685	82.937
Εμπλουτισμένα(I)	0.067	2.823	9.411	376.424	75.285
	0.082	3.469	11.563	462.512	92.502
	0.069	2.891	9.636	385.427	77.085
Εμπλουτισμένα(II)	0.083	3.511	11.703	468.139	93.628
	0.044	1.836	6.119	244.760	48.952
	0.049	2.085	6.949	277.957	55.591
3 <sup>η</sup> Μέτρηση					
Δείγματα Αναφοράς	0.054	2.279	7.596	303.840	60.768
	0.061	2.583	8.609	344.352	68.870
Εμπλουτισμένα(I)	0.045	1.916	6.386	255.451	51.090
	0.046	1.924	6.414	256.576	51.315
	0.053	2.249	7.498	299.901	59.980
Εμπλουτισμένα(II)	0.068	2.857	9.523	380.925	76.185
	0.067	2.832	9.439	377.549	75.510
	0.051	2.165	7.216	288.648	57.730
4 <sup>η</sup> Μέτρηση					
Δείγματα Αναφοράς	0.070	2.962	9.875	394.992	78.998
	0.086	3.638	12.125	485.019	97.004
Εμπλουτισμένα(I)	0.068	2.878	9.593	383.739	76.748
	0.071	3.013	10.044	401.744	80.349
	0.063	2.663	8.876	355.043	71.009
Εμπλουτισμένα(II)	0.060	2.528	8.426	337.037	67.407
	0.074	3.106	10.353	414.123	82.825
	0.052	2.190	7.301	292.024	58.405

Πίνακας μετρήσεων και υπολογισμών τέταρτου πειράματος για ποσότητα N υπό τη μορφή  $\text{NO}_3^-$ .

Δείγματα	Απορρόφηση (mg/L)	Συγκέντρωση (μg/mL)	Συγκέντρωση αρχ. (μg/mL)	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (μg) / 5g εδάφους	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg) / kg εδάφους
1 <sup>η</sup> Μέτρηση					
Δείγματα Αναφοράς	0.0018	0.0078	0.0784	3.1364	0.6273
	0.0065	0.0288	0.2880	11.5180	2.3036
Εμπλουτισμένα(I)	0.0882	0.3907	3.9073	156.2904	31.2581
	0.0818	0.3624	3.6237	144.9496	28.9899
	0.0863	0.3823	3.8231	152.9236	30.5847
2 <sup>η</sup> Μέτρηση					
Δείγματα Αναφοράς	0.0059	0.0261	0.2614	10.4548	2.0910
	0.0046	0.0204	0.2038	8.1512	1.6302
Εμπλουτισμένα(I)	0.0710	0.3145	3.1453	125.8120	25.1624
	0.0694	0.3074	3.0744	122.9768	24.5954
	0.0639	0.2831	2.8308	113.2308	22.6462
Εμπλουτισμένα(II)	0.0757	0.3354	3.3535	134.1404	26.8281
	0.0760	0.3367	3.3668	134.6720	26.9344
	0.0819	0.3628	3.6282	145.1268	29.0254
3 <sup>η</sup> Μέτρηση					
Δείγματα Αναφοράς	0.0058	0.0257	0.2569	10.2776	2.0555
	0.0048	0.0213	0.2126	8.5056	1.7011
Εμπλουτισμένα(I)	0.0815	0.3610	3.6105	144.4180	28.8836
	0.0844	0.3739	3.7389	149.5568	29.9114
	0.0840	0.3721	3.7212	148.8480	29.7696
Εμπλουτισμένα(II)	0.0907	0.4018	4.0180	160.7204	32.1441
	0.0960	0.4253	4.2528	170.1120	34.0224
	0.0801	0.3548	3.5484	141.9372	28.3874
4 <sup>η</sup> Μέτρηση					
Δείγματα Αναφοράς	0.0050	0.0222	0.2215	8.8600	1.7720
	0.0028	0.0124	0.1240	4.9616	0.9923
Εμπλουτισμένα(I)	0.1163	0.5152	5.1521	206.0836	41.2167
	0.1130	0.5006	5.0059	200.2360	40.0472
	0.1137	0.5037	5.0369	201.4764	40.2953
Εμπλουτισμένα(II)	0.1216	0.5387	5.3869	215.4752	43.0950
	0.1187	0.5258	5.2584	210.3364	42.0673
	0.1122	0.4970	4.9705	198.8184	39.7637

Πίνακας μετρήσεων και υπολογισμών δευτέρου πειράματος για ποσότητα N υπό τη μορφή NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

Δείγματα	Ρυθμός Νιτροποίησης ( $N-NO_3^-$ (mg) / kg εδάφους * day
1η Μέτρηση	
Δείγματα Αναφοράς	20,5092
Εμπλουτισμένα (I)	18,6805
2η Μέτρηση	
Δείγματα Αναφοράς	-18,0803
Εμπλουτισμένα (I)	-10,153
Εμπλουτισμένα (II)	22,019
3η Μέτρηση	
Δείγματα Αναφοράς	-0,9987
Εμπλουτισμένα (I)	-6,8739
Εμπλουτισμένα (II)	0,9377
4η Μέτρηση	
Δείγματα Αναφοράς	7,7272
Εμπλουτισμένα (I)	7,3021
Εμπλουτισμένα (II)	-0,0875

Πίνακας ρυθμού νιτροποίησης τέταρτου πειράματος.