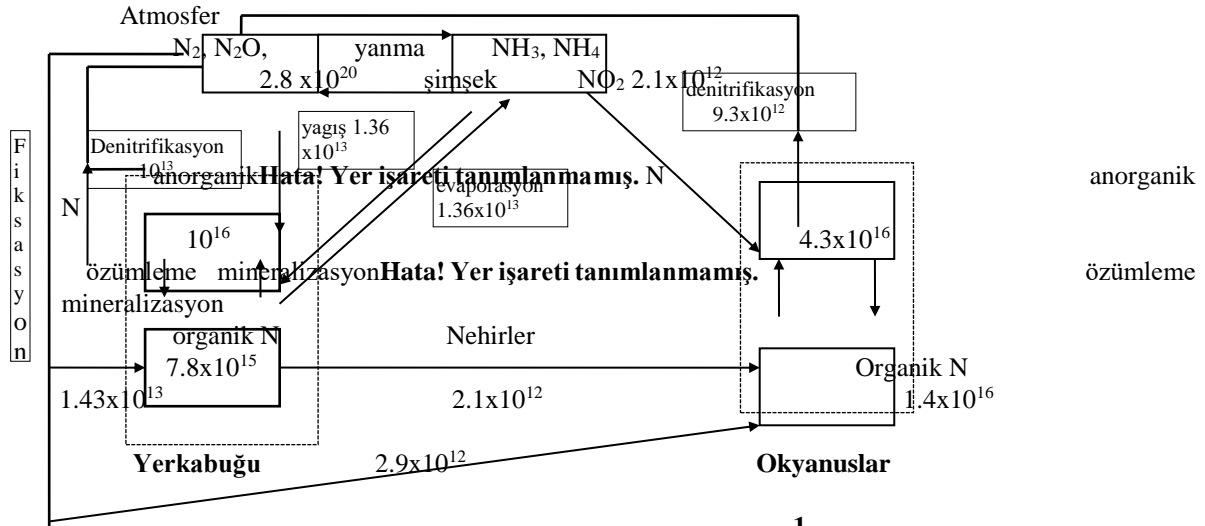


AZOT DÖNGÜSÜ

Tüm canlıların yapı taşı olan aminoasitler ve proteinler ile nükleik asitler, hormonlar ve vitaminlerin yapısına giren azot canlı yaşamı için temel elementlerdendir. Doğadaki temel azot kaynağı atmosfer olup N_2 ve N_2O formunda 2.8×10^{20} mol azot kapsar. Azot gazının (dinitrojen gazı) atmosfer gazları itibariyle hacmen % 78.8 'ini azot gazı oluşturmaktadır. Azot ayrıca kayaların bileşiminde bulunduğu litosferde, suda çözülmüş durumda hidrosferde ve canlı bünyesinde bulunduğu biyosferde de bulunmaktadır. Yer kabuğunda bulunan azotun 10^{16} molu inorganik, 7.8×10^{15} molu ise organik azot formları halindedir. Çoğunluğunu okyanus sularının oluşturduğu akvatik ekosistemlerde ise 4.3×10^{16} mol inorganik, 1.4×10^{16} mol organik azot bulunmaktadır. Azotun genel döngüsü Şekil 11.1'de verilmiştir.



Şekil 11.1. Azot döngüsü. Rezervuar üniteleri mol -N, akışlar ise mol y^{-1} olarak belirtilmiştir

Doğada azot bir seri oksidasyon basamaklarında bulunur. Bunlar -3 değerlik ile NH_3 , 0 değerlik ile N_2 , +1 değerlik ile N_2O , +3 değerlik ile NO_2^- ve +5 değerlik ile NO_3^- 'tir.

Bitkiler ve mikroorganizmaların çoğu atmosferde bulunan $N=N$ gazından besin maddesi olarak yararlanamazlar. Ancak bazı özelleşmiş mikroorganizma grupları serbest azot gazını redükte ederek amonyak formuna çevirirler. Bu olay biyolojik azot fiksasyonu olarak tanımlanmaktadır. Bitkiler ise nitrat ve amonyum iyonları halindeki azotu kullanabilirler. Toprakta bulunan yayayışlı azot formları yer kabuğunda bulunan azotun çok küçük bir kısmını oluşturmaktadır. Birincil tüketiciler (herbivor) ve ikincil tüketiciler (karnivor ve predatörler) ise ancak aminoasit formundaki organik azottan yararlanabilirler.

Azot döngüsü nispeten az sayıda olay içermektedir. Bunlar mineralizasyon, azot fiksasyonu, asimilasyon ve denitrifikasyondur. Mineralizasyon olayı esas olarak aminoasit formundaki organik azotun amonyak formuna dönüşümüdür.

işareti tanımlanmamış., nitrit**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** ve nitrat**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** şekillerine dönüşümünü tanımlamaktadır.

Azot, fosfor ve potasyum ile birlikte topraktan en fazla kaldırılan bitki besin elementi olup, bunlar içinde mikrobiyal transformasyona en duyarlı olan element azottur. Azotun toprak verimliliğinde ve bitkisel üretimdeki önemli görevi nedeniyle, topraktaki azot noksanlığı, hem ürün kalitesini hem de alınan ürün miktarını olumsuz etkiler.

Azot, hem gaz halinde, hem de yıkanma ile kaybolan bitki besin elementlerinden biridir. Atmosferdeki azot gazının yukarıda tanımlanan çeşitli yollar ile toprağa katılması, bitki ve hayvan dokusuna girmesi, daha sonra bu dokuların ayrışması ile mineralize olması ve bu sırada kayıplara uğraması azot döngüsü içinde gerçekleşmektedir.

Azotun doğadaki döngüsü oldukça dinamik olup atmosfer, hidrosfer, toprak ve canlı dokusu gibi çevre bileşenleri arasında hızlı bir etkileşim bulunmaktadır. Kompleks N'lu bileşiklerin, ayrışma ve transformasyonlar sonucunda basit inorganik azot formlarına dönüşmesine **mineralizasyonHata! Yer işareti tanımlanmamış.**, bunun tersine olarak mineral azot formlarının canlı organizma dokularına alınarak karmaşık bileşikler içinde organik olarak tutulması olayına **asimilasyonHata! Yer işareti tanımlanmamış.** veya **N-immobilizasyonuHata! Yer işareti tanımlanmamış.** adı verilmektedir.

Azot mineralizasyonunun hızı, ayrışmaya uğrayan organik bileşiklerin C/N**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** oranlarına bağlıdır. Şayet bu oran 25/1'den büyükse, mikroorganizmalar azot açığını kapatmak için toprak azotundan yararlanır ve bu nedenle bitkiler ile rekabete girerler. N-mineralizasyonu ve amonifikasyonu gerçekleştiren mikroorganizmalar toprağın nem düzeyindeki değişimlerden, diğer bir deyimle kuruma ve ıslanmadan etkilenirler.

11.1. Azot Mineralizasyonu

Organik azotlu bileşiklerin mikroorganizmalar tarafından ayrıştırılarak mineral formlarına dönüştürülmesi olayına **azot mineralizasyonuHata! Yer işareti tanımlanmamış.** adı verilmektedir. Bunun sonucunda iki ana ürün ortaya çıkmaktadır. Bunlar amonyum**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** ve nitrat**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** iyonlarıdır. Organik bileşiklerden amonyum iyonlarının türemesi olayı **amonifikasyonHata! Yer işareti tanımlanmamış.** olarak tanımlanır. Toprakta özel bakteri**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** grupları tarafından amonyum iyonlarının kademeli olarak nitrit**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** ve nitrat iyonlarına yükseltgenmesi olayı ise **nitrikasyonHata! Yer işareti tanımlanmamış.**'dur. Toprakta amonifikasyon olayı karmaşık heterotrofik organizmaların karıştığı genel bir olay olmasına karşın, nitrikasyon**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** toprakta ototrof**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** nitelikli organizmalar tarafından yürütülmektedir.

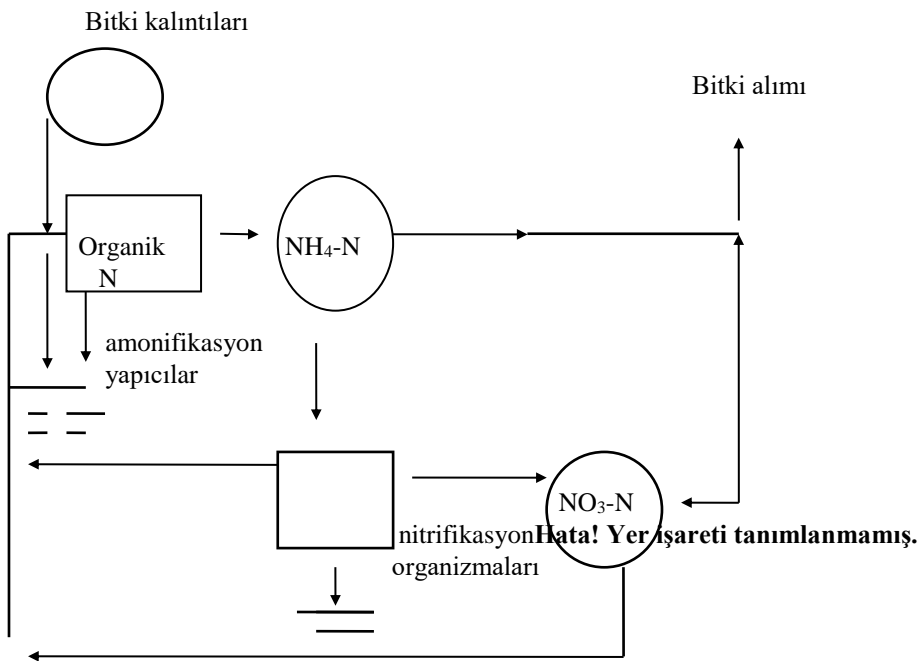
Azot mineralizasyonu topraktaki azot döngüsünün çok önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Organik azotun toprak mikroorganizmaları tarafından mineralizasyonu Şekil 11.2'de şematize edilmiştir.

Azotun çok büyük kısmı toprağın yüzey horizonlarında organik bileşikler halinde bulunmaktadır. Toprak organik fraksiyonundaki azotlu bileşiklerin kimyasal bileşimi tam olarak anlaşılmış değildir. Toprak organik madde ekstraktları veya hidroliz**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** çözeltilerinde esas olarak amino asitler ile birleşik durumda bulunduğu anlaşılmaktadır. Nükleik asitlerden türemiş pürin**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** ve pirimidin**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** bazları ile az miktarda serbest amino asit, glikozamin ve galaktozamin gibi amino şekerler ve humus**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** yapısına bağlı amino asitler, organik azot fraksiyonlarının esasını oluşturmaktadır.

Toprak organik fraksiyonunda bulunan azotlu bileşikler, doğada uzun zaman dirençli olabilmektedir. Topraktaki bu azot rezervuarının her yıl küçük bir kısmı mineralizasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** ile serbest hale geçmektedir. Bu yavaş mineralizasyon konusunda bazı hipotezler geliştirilmiştir. Bunlardan biri, organik fraksiyondaki azotlu bileşiklerin fenol veya poli fenoller ile kompleks veya polimerler oluşturması görüşünü taşımaktadır. Bu tür bileşiklerin mikrobiyal ayrışmaya daha az duyarlı olduğu bilinmektedir. İkinci bir hipotez ise azotlu organik substratların kil minerallerinin kristal dokusu tarafından tutulması ile ilgilidir. Ekstraselüler proteolitik enzimlerin (**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** ayrışmasını sağlayan hücre dışı enzimler) killer tarafından adsorblandığı ve aktiviteleri azaldığı için mineralizasyonun yavaşladığı belirtilmektedir.

Toprakta bulunan inorganik azot (N_i) miktarındaki net değişim şu eşitlikle tanımlanabilir:

$$N_i = \text{Mineralize olan organik -N-} (N_a + N_b + N_y + N_d)$$



Şekil 11.2. Organik azotun toprak mikroorganizmaları tarafından mineralizasyonu. Ardışık basamaklar, amonifikasyon ve nitrifikasyon ürünlerini, kare semboller heterotrofik diğerleri ise kemootorofik nitrifikasyon bakterilerini tanımlamaktadır

Bu eşitlikte, N_a mikroflora tarafından özümlenen, N_b bitkiler tarafından alınan, N_y yıkanma ile kaybolan ve N_d ise denitrifikasyon yolu ile gaz halinde kaybolan azot fraksiyonlarını tanımlamaktadır. Organik azotun amonyum ve nitrata çevrilen oranı **mineralizasyon oranı** şeklinde tanımlanmaktadır. Bu oranın hızı, azotça zengin bitki kalıntıları bulunan çevrelerde günde 1 ile 20 ppm N düzeyindedir.

Organik azot ile organik karbon mineralizasyonu birbiri ile ilişkilidir. İşlenmeyen topraklarda iki elementin mineralizasyonu paralellik gösterir. Bu gibi ortamlarda C-mineralizasyonu sonucu oluşan karbondioksit-C ile oluşan inorganik-N arasında yaklaşık 7-15/1 gibi bir oran gözlenmektedir. Bu nedenle toprağa katılan organik kalıntılardaki C/N oranları mineralizasyon hızı ve olayları üzerinde etkili olmaktadır. Tarımsal deneyler, % 1.8

düzeyinde azot içeren organik maddenin toprağa katılması durumunda toprakta net bir mineral azot girdisi veya kaybı olmadığını, organik maddelerin % 1.2'den daha az azot içermesi durumunda ise topraktaki inorganik -N rezervinin hızla azaldığını göstermektedir.

Karbon kapsamı yaklaşık % 40 olan doğal materyalde bu N düzeyleri, 20/1 ile 30/1 düzeylerindeki C/N **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** oranları ile ilgilidir. Şayet organik maddenin C/N oranı 30/1'den daha geniş ise net immobilizasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**, 20/1'den daha dar ise net mineralizasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** gerçekleşmektedir. Kritik C/N oranı 20/1 olan kavram, kuzey yarıküredeki ılıman işlenir topraklar için ortaya konmuştur. Bu gibi topraklar C/N oranı yalnızca 20/1 'den az olan organik kalıntıların mineralizasyonu ve gelişme döneminin başlangıcında bitkiye yararlı azot formlarının ortaya çıktığı ortamlar olarak tanımlanmalıdır. Bu yaklaşım diğer her türlü ortam için kritik bir oran olarak değerlendirilmemelidir. Örneğin, orman ekosistemlerinde yaprak döküntülerinin C/N oranları kritik orandan (20/1) çok daha geniştir, buna karşılık verimli bir orman sisteminde her yıl tonlarca organik madde mineralize olabilmektedir. Bu nedenle yalnızca C/N oranı değil, bunun yanında toprağa katılan organik kalıntıların kimyasal tabiatının da önemli olduğu vurgulanmaktadır. Ligninleşmiş maddelerin ayrışmak için gereksindiği azot miktarı bir çok sukulent **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** dokudan daha azdır. Odun dokusunu ayrıştıran mantarların, kendi misellerinin otolizi ile açığa çıkan azotu biriktirebilme ve bu azotu ayrıştırma sırasında kullanabildiği anlaşılmıştır. Bu nedenle ligninleşmiş dokuların düşük C/N oranlarına karşın ayrışmanın gerçekleşmesi mümkün olmaktadır.

11.2. Topraktaki Organik Azot Formları

Topraktaki organik azotun yalnızca bir kısmının protein **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** olduğu bilinmektedir. Ancak bu fraksiyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**, olası canlı hücre proteinini kapsamakta ve bitki gelişmesi için bir kaynak oluşturması bakımından çok önemli bulunmaktadır. Proteinler ve amino şekerlerin ayrışmasından serbest kalan amonyum **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** iyonlarının bir kısmı kinonlar ve polifenoller ile birleşmekte ve oluşan bu ürünlerin mikrobiyal ayrışmaya karşı çok dirençli olduğu bilinmektedir. Bu tür reaksiyonlar topraklara gübre olarak amonyum bileşikleri uygulandığında da ortaya çıkmakta ve çoğunluk amonyum fiksasyonu olarak tanımlanmaktadır. Ayrışma olayları sırasında açığa çıkan amino asitler de kinonlar ile birleşebilir, böylece nispeten dirençli hümitik asit polimerleri oluşur. Topraktaki toplam azotun % 50' sine yakın kısmının kimyasal tabiatı çok iyi anlaşılmamış olmakla birlikte, % 20 ile 40 düzeyinde amino asitlere ve % 5-10 düzeyinde de amino şekerlere bağlı olduğu bilinmektedir. Toprak organik maddesinin çok küçük bir kısmı herhangi bir zamanda gerçekleşen mineralizasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**-immobilizasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** döngüsüne katılmaktadır. Topraklara giren organik madde kütlesi kısmen ayrışmakta, daha ileri düzeyde mikrobiyal etkiye karşı dirençli kısımlar humusu oluşturmak üzere karmaşık reaksiyonlara girmektedir.

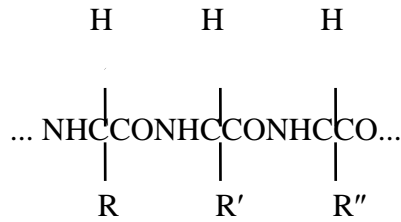
11.3. Amonifikasyon

Daha önce tanımlandığı gibi, toprağa katılan organik azotlu formlar, proteinlerdeki amino-N nükleik asitlerdeki heterosiklik-N bileşikleri olup; azotu bağlı bulunduğu bu formlardan açığa çıkaran topraktaki heterotrof **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** mikroorganizmalardır. Bu bakteriler içinde, gram negatif **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** ve pozitif kısa çubuk bakterileri, *Arthrobacter spp.*, gram pozitif kokkoid çubuklar, koklar, spor **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** oluşturmayan uzun çubuk bakteriler, *Bacillus spp.* gözlenmektedir. Bu ayrışma sürecinde gerçekleşen ilk olay protein **Hata! Yer işareti**

tanımlanmamış. çözünmesi (proteolisis**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**) olup sonuçta amino-N formları açığa çıkmaktadır. Bu nedenle olay aynı zamanda aminizasyon olarak da tanımlanmaktadır. Amino-N çok değişik bakteri**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** grupları tarafından amonyağa indirgenir. Amonyanın açığa çıkmasına neden olan bu olay **amonifikasyonHata! Yer işareti tanımlanmamış.** olarak tanımlanır. Mikroorganizmalar bu işlevi salgıladıkları hücre dışı proteolitik enzimler ile gerçekleştirirler. Amonifikasyon olayı oksidatif süreçlerin yer aldığı bir çevrimdir. Oksijensiz koşullarda ise çürüme ve kokuşmadan kaynaklanan indirgen ürünler ortaya çıkar. Amonifikasyon sürecinin havalı koşullarda ortaya çıkardığı son ürünler CO₂, NH₂, H₂O ve SO₂ olup anaerob kokuşma koşullarında kötü kokulu merkaptanlar, H₂S, CO₂, RNH₂ ve RCOOH gibi tam mineralize olmamış ürünler belirir.

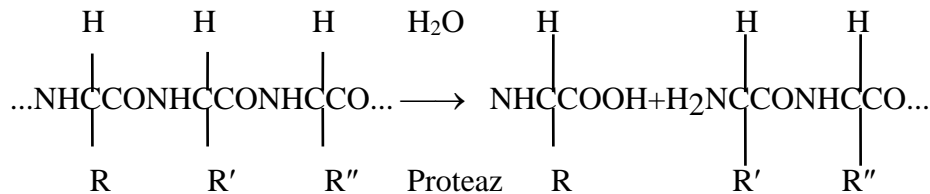
Değişik topraklarda yapılan popülasyon**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** çalışmaları, her bir Gram toprakta yaklaşık 10⁵ ile 10⁷ adet amonifikasyon yapan mikroorganizma varlığını göstermektedir. Bu organizmalar içinde bakterilerden *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Serratia Micrococcus*, mantarlardan *Alternaria*, *Aspergillus*, *MucorHata! Yer işareti tanımlanmamış.*, *Penicillium* ve *Rhizopus* sayılabilir. Mantarlar hücre sentezinde bakterilerden daha fazla azot özümlediğinden daha az amonyak**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** çıkarırlar.

Protein molekülü uzun aminoasit**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** zincirlerinden oluşmuştur. Genel yapı ünitesi H₂NCHRCOOH şeklinde olup, R tek bir hidrojen atomu, bir metil grubu, kısa bir C-zinciri veya halka yapılu grup olabilir. Protein molekülünde 20 farklı amino asit bulunur ve birbirlerine peptid bağları (CO-NH) ile bağlanırlar.



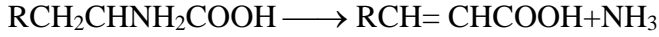
Proteinlerdeki peptid bağlarına etki ederek hidroliz**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** oluşturan enzimler **proteazlar** olarak tanımlanmaktadır. Bu grupta iki farklı işlev gören enzim**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** yer alır. Birincisi aminoasit**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** zincirinin son kısmını etkileyen **eksopeptidazHata! Yer işareti tanımlanmamış.** ile, zincirin belirli mesafedeki bir kısmını etkileyen **endopeptidaz'dırHata! Yer işareti tanımlanmamış.**

Protein ve peptidlerin ayrışması, serbest aminoasitler ve serbest karboksil gruplarının serbest bırakılması şeklinde gerçekleşir.

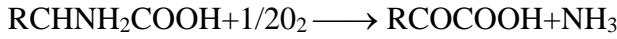


Proteazlar tarafından serbest bırakılan aminoasitler sayısız heterotrof**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** mikroorganizma için C ve N kaynağı görevini yapar. Amino asitlerin ayrışması sırasında amin grubunun amonyağa çevrilmesi ve açığa çıkarılması reaksiyonları **deaminasyonHata! Yer işareti tanımlanmamış.** ve karboksilin açığa çıkarılması ise **dekarboksilasyonHata! Yer işareti tanımlanmamış.** reaksiyonları ile gerçekleşir.

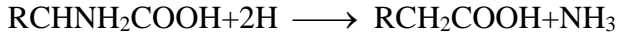
1. Aminoasitten amonyağın çıkarılması (deaminasyon)



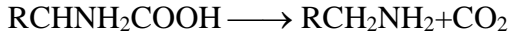
2. Oksidatif deaminasyon



3. Redüktif deaminasyon



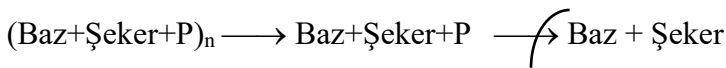
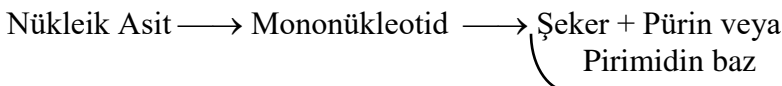
4. Dekarboksilasyon



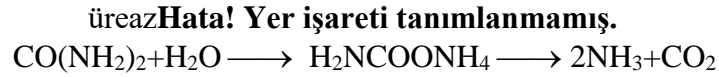
Proteinlerden türeyen aminoasitler değişik oranlarda mineralize olurlar. Bazı aminoasitler dirençli iken, diğer bir kısmı ayrışma için oldukça duyarlıdır. Deaminasyondan sonra, karbonlu kalıntılar aerob veya anaerobik ayrışma süreçleri ile CO_2 ve çeşitli organik ürünler vermek üzere ayrıştırılır.

Diğer önemli bir azotlu substrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** grubu nükleik asitlerdir. Bu bileşikler bitki ve hayvan dokuları ile mikrobiyal protoplazmada bulunurlar. Bitki ve hayvan dokuları ve mikrobiyal hücreler iki çeşit nükleik asit içerir. Birincisi RNA **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** olarak tanımlanan ribonükleik asit, ikincisi de DNA **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** olarak tanımlanan deoksiribonükleik asittir. Yapı olarak polinükleotid olan bu bileşikler, mononükleotid olarak bilinen strüktürel ünitelerin oluşturduğu polimerlerdir. Mononükleotidler ise bir pürin **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** veya pirimidin **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** bazı, bir şeker ve bir fosfattan oluşur. RNA'daki şeker riboz, DNA'daki ise deoksiribozdur. Adenin ve guanin pürinler olup, her ikisi de RNA ve DNA molekülünde bulunur. Pirimidinlerden sitozin her iki molekülde bulunurken, urasil **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** RNA ve timin **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** de DNA yapısında yer alır. Nükleik asitler, pürin veya pirimidinler ile, bunların türevleri saf halde toprağa katıldıklarında hızla ayrışmaktadır. Bu bileşikler toprakta killer tarafından adsorbe olabildiklerinden mikrobiyal ayrışmaya karşı korunabilirler.

Nükleik asitlerin ayrışmasında, uzun moleküller küçük parçalara, bunlar da sonra tek sel ünitelere bölünürler. Bu işlevi yürüten iki enzim **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** ribonükleaz ve deoksiribonükleaz'dır. Hücre dışı ribonükleaz enzimi *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium* gibi bakteriler ile *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor* **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**, *Penicillium* **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** ve *Rhizopus* türü mantarlar tarafından salgılanır. Ekstraselüler deoksiribonükleaz'ı salgılayan tipik organizmalar ise *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Clostridium* ve *Pseudomonas* bakterileri ile *Cladosporium* ve *Fusarium* türü mantarlardır.



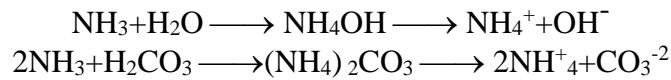
Ayrışmanın devamı sonunda şekerler, CO_2 'e veya oksijenin varlığına bağlı olarak organik asitlere, azotlu bazlar ise çeşitli ara ürün kademeleri ile üreye kadar ayrışır. Üre bilindiği gibi topraklara gübre olarak da uygulanmaktadır. Ayrıca yüksek hayvanların salgısı olarak toprağa girmektedir. Toprakta çok hızlı hidroliz **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** olur ve son ürün karbondioksit ile amonyaktır. Ürenin hidrolizinden sorumlu olan üreaz **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** enzimi, üreyi önce amonyum **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** karbonata ve daha sonra son ürünlere çevirir.



Üre hidrolizi artan sıcaklığa bağlı olarak hızlanmaktadır. Bunun yanında donma noktalarına yakın düşük sıcaklıklarda bile üre ayrışmasının olabildiği gözlenmiştir. Ortam nemi, oksijen düzeyi ve pH reaksiyon oranını kontrol eden faktörlerdir. Birçok mikroorganizma ürezHata! Yer işareti tanımlanmamış. enzimi salgılayabilmektedir. En bilinen organizma türleri *Bacillus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Corynebacterium*, *Clostridium* ve çok çeşitli filamentli mantarHata! Yer işareti tanımlanmamış. ve aktinomisetlerdir. Ürez aktivitesinin üreolitik organizma gelişmesine bağlı bir artış gösterdiği ve bu organizmaların 4.0 ile 5.5 pH gibi asit koşullarda gelişemediği bilinmektedir. Asit çevrelerde üre ayrışması bu nedenle spesifik olmayan floraHata! Yer işareti tanımlanmamış. ile ilgilidir (Şekil.11.3).

Şekil 11.3. Ürez aktivitesi ve üreolitik organizmaların gelişmesi üzerine glikoz ilavesinin etkileri

Amonifikasyon sonucu oluşan amonyakHata! Yer işareti tanımlanmamış. toprak çözeltisinde çözünerek form değiştirir. Atmosfer ve toprak solunumundan türeyen CO₂' in toprak suyunda çözünmesinden meydana gelen karbonik asit de amonyumHata! Yer işareti tanımlanmamış. iyonlarının oluşumunda etken olmaktadır.



Ancak azot mineralizasyonunda amonifikasyon sonucu oluşan amonyağın tümü toprak sisteminde tutulamaz. Özellikle ortam pH koşullarına da bağlı olarak topraktan NH₃ gazı halinde atmosfere geçer. Bu olay toprakta ortaya çıkan azot kayıplarından yalnızca biridir.

11.4. Nitrifikasyon

Mineralizasyon sürecinin ilk son ürünü olan amonyum **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** iyonlarının, topraktaki özel mikroorganizma grupları tarafından kademeli olarak yükseltgenerek nitrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** iyonlarına çevrilmesi nitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** süreci olarak tanımlanır. İlk kez **Winogradsky** isimli araştırmacı tarafından tanımlanan bu olay molekül oksijene gereksinim duyan bir reaksiyondur.

Biyolojik nitrifikasyondan başka, fotokimyasal **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** (ışık enerjisi etkisi ile) oluşan nitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** süreçleri varsa da, toprakta oluşan biyolojik süreçlerin yanında önemsiz sayılabilir. Biyolojik nitrifikasyon işlemini zorunlu ototrof **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** bakteri **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** grupları yürütmektedir (Şekil 11.4).

Şekil 11.4. *Nitrosomonas europaea*'nın elektron mikroskopunda görünüşü
(Alexander, 1977)

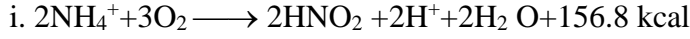
Amonyumun nitrit **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** iyonlarına çevriminden sorumlu toprak bakterileri şunlardır:

- i. Elipsoid veya kısa çubuk bakterileri: *Nitrosomonas*
- ii. Küresel hücreli bakteriler: *Nitrosococcus*
- iii. Spiral şekilli hücreler: *Nitrospira*
- iv. Pleomorfik bakteriler: *Nitrosolobus*

Oluşan nitrit **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** iyonları mikroorganizma ve bitki gelişimi için toksik **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** maddelerdir. Ancak ortam koşullarında derhal nitrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** iyonlarına yükseltgenirler. Bu çevrimden sorumlu olan bakteriler:

- i. Kısa çubuk bakteriler: *Nitrobacter*

Nitrifikasyon süreci amonifikasyon ile kıyaslandığında çok daha özelleşmiş bir nitelik gösterir. Bu süreçte işlev gören bakteriler yalnızca obligat organizmalar olmakla kalmaz, aynı zamanda çevre koşullarına karşı oldukça yüksek duyarlılık gösterirler. Nitrifikasyon organizmaları organik-C'u kullanamadıkları gibi, azot içermeyen diğer organik substratların oksidasyonundan enerji de sağlayamazlar, bu amaçla mutlaka azot içeren inorganik substratlar (NH_4^+ , NO_2^-) kullanmak zorundadırlar. Özet olarak nitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** bakterileri karbon kaynağı olarak CO_2 'i, enerji kaynağı olarak da inorganik azotlu bileşiklerin biyolojik oksidasyonunu kullanırlar. Yukarıda tanımlanan bakterilerin gerçekleştirdiği yükseltgenme reaksiyonları (nitrifikasyon) aşağıda verilmiştir.



Yüksek miktarda amonyak **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** içeren organik gübreler, *Nitrobacter*'lerin aktivitelerini olumsuz etkileyebilir ve bir süre için ortamda bitkilere zararlı nitrit **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** iyonları birikebilir. Nitrifikasyon bakterileri ayrıca bitki köklerinden salgılanan bazı maddelere karşı oldukça duyarlıdır. Bu durum mikroorganizma sayı ve aktivitesince zengin olan bitki kök bölgesi (rizosfer **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**)'nin bu olumlu etkisine karşın, kök gelişiminin yoğun olduğu çayır topraklarında, nitrifikasyonun neden zayıf olduğunu açıklamaktadır.

11.4.1. Nitrifikasyonu etkileyen çevresel ve kültürel faktörler

Nitrifikasyon bakterileri kuvvetli aerob olduklarından, reaksiyonlar mutlak oksijence zengin koşullarda gerçekleşmektedir. Bu nedenle su altında kalan veya drenaj sorunları bulunan topraklarda nitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** sınırlanmaktadır.

Ortam pH'sı diğer etkili bir çevre faktörü olup hafif asit, nötr veya hafif alkali koşullar nitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** için uygundur. pH'nın 6'nın altına düşmesi, nitrifikasyonu çok zayıflatır. Topraklarda kireçleme özellikle asit koşullarda nitrifikasyon sürecini çok olumlu etkilemektedir.

Nitrifikasyonun optimum sıcaklığı 24-29 °C arasındadır. Donma noktasına kadar olan düşük sıcaklıklarda zayıf bir nitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** saptanmasına rağmen 5 °C' nin altında nitrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** oluşumu hızla azalmaktadır. Ortam nemine de bağlı olmak üzere, yüksek sıcaklıklarda aktivite tekrar azalır, bunun için saptanan eşik değer 35 °C civarındadır.

Genel toprak mikroorganizma aktivitesinde olduğu gibi, tarla kapasitesinin % 80'i düzeyinde nem miktarı nitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** için optimumdur. Solma noktası veya doyumluk koşullarına yaklaşıldığında nitrifikasyon yavaşlar. Toprağın nem düzeyi azaldıkça, oluşan nitrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** miktarında azalma olmakla birlikte, bu koşullardaki nitrat üretimi saturasyon koşullarındakinden fazla olmaktadır.

Topraklarda karbonatların ve diğer tampon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** maddelerin varlığı nitrifikasyonu olumlu etkilemektedir. Yetiştirilen bitki türünün de bu süreci etkilediği, kök salgılarının süreci yavaşlattığı bilinmektedir.

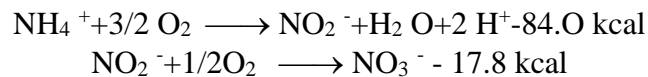
Toprağa ilave edilen bitki kalıntılarının C/N **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** oranları, süreci etkilemekte ve C/N oranı dar organik maddelerin ilavesi nitrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** oluşumunu hızlandırmaktadır. İlkbaharda uygun toprak işleme redoks **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** koşullarını olumlu etkilediğinden nitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** hızlanmaktadır. Topraktaki kuruma ıslanma olaylarının da nitrat oluşumunu artırdığı ve bu artışın daimi benzer nem koşulları içeren topraklardaki nitrifikasyondan fazla olduğu gözlenmektedir.

Yağış rejimi fazla olan bölgelerde, topraktaki nitratın yıkanması ve taban suyuna karışması fazla olmaktadır. Benzer şekilde nadasa bırakılmış alanlarda, yağışlı mevsimlerde, nitratlar drenaj suları ile topraktan kaybolmaktadır. Bu şekilde oluşan azot kayıpları, toprak azot bilançosundaki önemli negatif olaylardandır. Şayet topraklara uygulanan azotlu gübre dozları ve veriliş zamanları iyi ayarlanmıyorsa, nitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** kayıpları artacağından sulara nitrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** birikmesi ile çevre sorunlarının ortaya çıkması olasıdır. Bu nedenle tarım sistemlerinde nitrifikasyonun kontrol altına alınması ve nitrifikasyon hızının azaltılması amacı ile topraklara nitrifikasyon inhibitörleri uygulaması dikkati çekmektedir. Bu amaçla tarımda piridin, primidin, tiazol **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** ve azid **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** türevleri ile bazı amidlerin kullanıldığı bilinmektedir. Bu maddelerin içinde en çok uygulama alanı bulan bileşik N-serve ticari adı ile tanınan 2 klor -6- (triklormetil **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**) piridin (nitrapirin **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**)'dir. Şekil 11.5'de nitrifikasyonunun farklı N-serve düzeylerindeki inhibasyon eğrileri görülmektedir.

Şekil 11.5. Farklı N-Serve düzeylerinde nitrifikasyonun kontrole göre değişimi

11.4.2. Nitrifikasyonun biyokimyası

Nitrifikasyonu gerçekleştiren mikroorganizmalar, enerjilerini aşağıda tanımlanan eşitliklerdeki amonyum **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** ve nitrit **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** iyonlarının oksidasyonları ile sağlarlar.



İlk oksidasyonda azotlu bileşiklerden 6, ikinci reaksiyonda da 2 elektron transfer edilir. Bu reaksiyonda serbest kalan enerji bazı kaynaklara göre değişmekte ise de 57 ile 84 kcal düzeyindedir. *Nitrosomonas* grupları özümledikleri her bir mol C için 35 -70 mol amonyumu oksitlerler. *Nitrobacter* grupları ise 70 ile 100 nitrit **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** molekülünü oksitleyebilirler. Amonyumun nitrite oksidasyonu hidroksilamin (NH₂ OH)

basamağından geçer. Bu esnada çok küçük bir enerji değişimi söz konusudur. Amonyumun hidroksilamine oksidasyonu olayı tiyoüre ve diğer sülfidril (-SH) grupları içeren bazı tiyo- ve ditiyo karbamatlar tarafından engellenir. Hidroksilaminin nitrite oksidasyonu, sitokromlar ve sitokromoksidaz enzim **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** sistemi yolu ile olmaktadır. Bu şekilde nitrohidroksilamin oluşur. *Nitrosomonas* hücrelerinin bulunduğu bir süspansiyona amonyum **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** iyonları ilave edildiğinde, nitrit salgılanmadan önce amonyumun belirli bir süre ortadan kaybolduğu gözlenmiştir. Günler ile ifade edilen bu zamanda bakteri **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** hücresi içinde amonyumun nitrite oksidasyonunun bütün basamakları yer alır. Hücresiz ekstraktlar ile yapılan enzimatik çalışmalarda hidroksilaminin oksidasyonu yürümekte, fakat amonyumun oksidasyonu olmamaktadır. Nitritin nitrata oksidasyonu ise muhtemelen hidrate olmuş nitrit iyonlarının ($\text{NO}_2^- \cdot \text{H}_2\text{O}$) sitokrom-c sistemine elektron transferi ile gerçekleşen bir dehidrogenasyon reaksiyonudur. Çalışmalar *Nitrobacter*'in, klorat anyonu ile gelişmesinin engellenmesine karşın, oksidasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** olayının engellenmediğini ve gelişim engellenmesinin ortamda yeterli düzeyde nitrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** iyonları varlığında azaldığını göstermiştir.

Nitrifikasyon oranı, tarla topraklarında çeşitli toksik **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** maddeler tarafından azaltılabilmektedir. Amonyumun kendisi her iki grup bakteri **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** için de toksiktir. Ancak *Nitrobacter*, *Nitrosomonas* grubundan daha duyarlıdır. Bundan dolayı toprakta yüksek düzeyde üre veya anhidrit amonyak **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** oluştuğunda toprakta nitritler birikmeye başlar. Özellikle nötral veya alkalın topraklarda, soğuk iklim koşulları ile düşük katyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** değişim kapasitesi koşullarında bu durum gözlenir.

Amonyumun nitrata çevrimi bir oksidasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** olayı olduğundan, çevrimin oranı bakterilerin oksijen sağlama koşullarına bağlıdır. Aşağıda verilen araştırma sonuçlarına göre, toprak havasındaki kısmi oksijen basıncı azaldıkça, nitrifikasyona uğrayan azot yüzdesi de azalmaktadır:

Havadaki % O ₂	20	11	4.5	2.1	1.0	0.4
Nitratlaşan % N	46	43	38	28	21	2

11.4.3. Tarla topraklarında amonyum **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** tuzlarının nitrifikasyonu

Genel olarak bütün tarla toprakları çok asit, çok soğuk veya çok fazla ıslak olmadıkça amonyumu nitrata oksitleyen bakterileri içerir. Nitrit iyonlarının nitrata oksidasyonu amonyumun oksidasyonundan daha hızlıdır. Bundan dolayı nitrit **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** genellikle çok düşük konsantrasyonlarda bulunur. Topraklarda nitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** bakterilerinin sayıları çok düşüktür. O denli az sayıda olmaları, sayım tekniklerinde önemli yanılsamalara neden olabilmektedir. Çoğunluk amonyum **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** oksitleyicilerin sayısı, nitrit oksitleyicilerden çok daha fazladır. Bu sayısal özellik yanında nitrit oksitleyiciler amonyum oksitleyenlerden kurumaya karşı daha duyarlıdırlar, özellikle yarı-kurak bölge topraklarında toprak kuruması nitrifikasyon yapan bakterileri öldürmektedir. Böylece iklime bağlı olarak topraklarda bazen nitrit birikimi olabilmektedir.

11.4.4. İnorganik azotun topraktan kaybı

İnorganik azot bileşikleri olan amonyum **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** ve nitratlar, çeşitli yollar ile topraktan uzaklaşırlar. Bu olaylar şunlardır:

- i. Bitkiler tarafından alım,
- ii. Mikroorganizmalar tarafından özümleme (immobilizasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**),
- iii. Uçucu bileşikler şekline çevrilme ve atmosfere karışma,
- iv. Sızma suları ile topraktan yıkanma.

Toprak biyolojisi bakımından iki ve üçüncü maddeler önemli olmakla birlikte, azotun genel çevrimi bakımından en önemli mikrobiyolojik etki, mineral azotlu bileşiklerin uçucu formlara çevrilmesi şeklindeki kayıptır. Amonyum, amonyak **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** şeklinde atmosfere kaçabilir, ancak bu yalnızca alkali koşullarda meydana gelir. Azotun gaz bileşikler halinde kaybının en önemli kaynağı ise denitrifikasyondur.

11.5. Denitrifikasyon

Toprak azotunun gaz bileşikler şeklinde kaybolmasına etken olan en önemli olay denitrifikasyondur. Bunun sonucunda nitrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** ve amonyum **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** iyonları nitroz oksit **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** (N_2O) ve serbest azot gazı (N_2) şekline çevrilir. Bu olay çok asit olmayan koşullarda, genellikle 5 pH'nın üzerinde ve zayıf havalanma koşullarında ortaya çıkmaktadır. Toprakta aktif mikrobiyal populasyonun varlığı, kolay ayrışabilir organik maddenin varlığı, sıcak ve ıslak periyotlar, denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** için uygun koşullar sağlamaktadır.

Denitrifikasyon çok aktif bir olaydır. Laboratuvar koşullarında 300 ppm NO_3-N içeren toprak örneğinin 28 ile 96 saat içinde denitrifikasyonla bu azotu kaybettiği belirlenmiştir.

Denitrifikasyonda görev yapan bakteriler fakültatif **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** anaerob olup, serbest oksijen yokluğunda nitrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**, nitrit **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** veya azotun oksitlerini hidrojen akseptörü (alıcı) olarak kullanmaktadırlar. Denitrifikasyon yapan mikroorganizmalar, nitratlardan üç şekilde yararlanırlar:

- i. N kaynağı olarak,
- ii. Nitratı oksijen kaynağı şeklinde kullanarak,
- iii. Nitrat özümlemesinde.

Denitrifikasyon yapan organizmalar başlıca üç grupta toplanır:

- i. Heterotrof bakteriler
 - a. *Pseudomonas denitrificans*
 - b. *Bacillus nitroxus*
- ii. Ototrof **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** bakteriler
 - a. *Thiobacillus denitrificans*,
 - b. *Micrococcus denitrificans*
- iii. Fakültatif anaerob bakteriler
 - a. *Achromobacter*

Bu bakteriler, organik madde ayrışmasında, protein **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** ayrışması (proteoliz) ve amonifikasyonda aktif olan organizmalardır. Koşullar anaerobik solunum için uygun olmadığında, nitrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** redüksiyonuna başlarlar. Aşırı su düzeyi veya olumsuz fiziksel koşulların yarattığı anaerobik ortamın yanı sıra,

kuvvetli bir toprak solunumunun oluşturduğu yüksek CO₂ basıncı da denitrifikasyona neden olabilir. Bu durumda toprak atmosferinde oksijenin kısmi basıncı azalır ve mikroorganizmalar gerekli elektron transferlerinde kullanacakları oksijeni nitrat ve nitritler yolu ile sağlarlar. Bu "nitrat solunumun 'da nitrat ve nitritHata! Yer işareti tanımlanmamış. iyonları, hidrojen akseptörü olarak O₂" nin görevini üstlenirler. Bu olayı nitrat asimilasyonundan ayırmak gerekir. Çünkü bu son olayda nitrat, hücredeki azotlu bileşiklerin oluşturulmasında kullanılır.

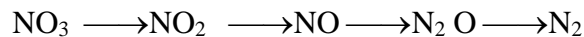
Denitrifikasyon mekanizması, ortamda uygun hidrojen verici (donörHata! Yer işareti tanımlanmamış.) lerin varlığına da bağlıdır. Bu şekilde çalışan bazı heterotrofHata! Yer işareti tanımlanmamış. denitrifikantlar, kolay ayrılan organik maddeleri kullanırlar. Denitrifikasyon organizmaları ayrıca azot kaynağı olarak amonyumHata! Yer işareti tanımlanmamış. tuzlarını ve aminoasitleri gereksinebilirler. Bu olaya çoğunlukla yukarıda tanımlandığı gibi *Pseudomonas* ve *Arthrobacter* türleri katılır. Bu bakterilerin optimum aktiviteleri hafif alkali pH'lardadır. Kuvvetli asit koşullarda denitrifikasyonHata! Yer işareti tanımlanmamış. herhangi bir rol oynamaz. Denitrifikasyon yolu ile topraklardan oluşan kayıp önemli düzeydedir. Azot izotopları ile yapılan denemelere göre, çayır vejetasyonu altındaki kumlu topraklarda % 11-25, killi topraklarda % 16-31, organik moorHata! Yer işareti tanımlanmamış. topraklarda % 19-41 düzeyinde gaz halinde azot kaybı olmaktadır. Su etkisi altında bırakılan çeltik alanlarında ilave edilen azotlu gübrelerin etkileri nedeniyle bu kayıpların % 60'a kadar yükseldiği belirtilmektedir. Topraklardaki denitrifikasyon kapasitesinin limitini bakteriler tayin etmektedir. Toprağın mantarHata! Yer işareti tanımlanmamış. ve aktinomisetHata! Yer işareti tanımlanmamış. florası denitrifikasyona bağlı N₂ üretimine katılmazlar. Denitrifikasyon yapan bakteriyel türlerin aktivitelerini toprak pH'sı etkilemektedir (Çizelge 11.1).

Çizelge 11.1 . Bakteriyel denitrifikasyonHata! Yer işareti tanımlanmamış. üzerine pH'ın etkisi

Bakteri türleri	pH					
	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0
	ml N ₂ saat ⁻¹ g ⁻¹ hücre					
<i>Paracoccus denitrificans</i>	0	64	105	168	214	116
<i>Pseudomonas denitrificans</i>	0	15	196	138	92	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	12	218	246	251	13
<i>Bacillus licheniformis</i>	4	4	108	125	102	60

Kimi özel koşullar altındaki azotun da denitrifikasyona uğrayarak gaz şeklinde kaybolduğu saptanmıştır. Özellikle bunun su ile kapalı toprakların oksijen yönünden varsıl olan yüzeye yakın kesiminde oluştuğu görülmüştür. Nitrata dönüşen amonyumHata! Yer işareti tanımlanmamış. derine, anaerobik koşulların olduğu kesime taşınmakta ve orada nitratHata! Yer işareti tanımlanmamış. indirgenerek denitrifikasyona uğramaktadır. O nedenle Abichandani ve Patnaik (1958) denitrifikasyonu önlemek için verilen amonyumlu gübrelerin olanaklar elverdiğince derine verilmesini önermişlerdir.

Denitrifikasyon prosesi kısaca aşağıdaki sıraya göre verilen redüksiyon kademelerinde gerçekleşir:



Kuşkusuz gaz halinde en fazla azot kaybı bakteriyel denitrifikasyonHata! Yer işareti tanımlanmamış. ile olmaktadır. Genellikle topraktan gaz halinde azotun atmosfere kaçışı, besin elementi kaybı olarak düşünülür ve arzu edilmez. Denitrifikasyon esnasında önemli miktarda azot kaybı olur. Azot izotopları ile yapılan araştırmalarda çayır vejetasyonu altındaki

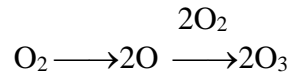
kumlu topraklarda % 11-25, killi topraklarda % 16-31, moortopraklarda % 19-40 civarında azot kaybı tesbit edilmiştir. Devamlı su etkisinde olan pirinç topraklarında ilave azotlu gübrelerin etkileri nedeniyle bu kayıplar % 60'a kadar yükselmektedir.

Rolston (1977), denitrifikasyonla ortaya çıkarılan N₂O oranının serbest bırakılan N₂'nin sadece % 5'i kadar olduğunu saptamıştır. Voldendort (1968)'a göre bir çayırda bile uygulanan azotun % 10-40'ı denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** yoluyla kaybolabilmektedir. Denitrifikasyonla kayıplar işlenen topraklarda ortaya çıkmaktadır (Terman ve Brown, 1968). Düşük kısmi oksijen basıncıyla karakterize edilen çeltik toprakları gerçekte denitrifikasyona yatkındırlar (Ponnam Peruma, 1965). Bu nedenden dolayı bu topraklara N, nitrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** formunda değil NH₄-N şeklinde verilmelidir. Düşük pH koşulları (pH 4,5) altında da denitrifikasyon ve nitrifikasyonla olan kayıplar (daha önce anlatılmış olan), nitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** inhibitörleri uygulanmak suretiyle azaltılabilir. (Touchtov ve ark, 1978).

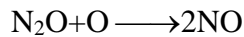
Azotun bitki için önemi daha önce anlatıldığı gibi çok büyüktür. Toprakta azotun uzaklaşması demek, bitki gelişimi ve ürün miktarının olumsuz etkilenmesi demektir. Her yıl bitki besini olarak toprağa azot verilmektedir. 1988 yılı verilerince o yıl ülkemizde 1.081.605 ton azot içeren azotlu gübreler toprağa verilmiştir. Yukarıda ifade edildiği üzere toprağa verilen azotun % 10 ile % 40'lara kadar varan kısmı denitrifikasyonla topraktan uçup gitmektedir. Gübre fiyatları düşünülecek olursa, uygun koşullar bulunduğu denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** olayı, ülke ekonomisine ve ziraatla uğraşan kesime büyük zararlar verebilir.

Son yıllarda azot oksitlerin atmosferde kirlilik oluşturması konusu büyük ilgi çekmektedir. Toprakta ve doğal sularda denitrifikasyonla oluşan azot oksitlerin atmosfere ve sonra stratosfere geçtiği, stratosferde ise ozon tabakasına zarar verdiği hipotezi ortaya atılmıştır. NO ve NO₂ gazları atmosfere denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** olayından başka, insanların faaliyeti sonucu, örneğin: kömür, petrol, doğal gazlar ve endüstride kullanılan diğer yakıtların yanmaları sonucuda katılmaktadır. Ancak araştırmacılar mikrobiyal oluşumlu azot oksitlerin daha fazla yer aldığını söylemektedirler. Bilindiği gibi ozon tabakası canlılara zararlı etkileri olan 300 nm dalga boyundaki zararlı ultraviyole ışınlarını süzücü bir filtre etkisine sahiptir. Ozon tabakasının yokluğunda cilt kanserinin artışı ve bitki gelişmesinde azalmalar, bozulmalar olabilmektedir.

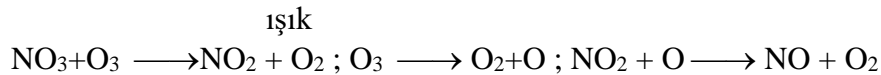
Ozon fotokimyasal **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** reaksiyonlar sonucu oluşmaktadır.



Denitrifikasyon olayı, konuya burada dahil olmaktadır. Çünkü N₂O stratosferde NO'ya okside **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** olmaktadır.



Bu gazlar radyasyonun zararlı etkisini önleyen ozonun parçalanmasında katalitik bir etkiye sahiptirler.



Böylelikle radyasyonun zararlı etkisini önleyen barierde zayıflamalar olmaktadır. Aynı zamanda zararsız toprak bakterileri indirekt yoldan ozon sirkülasyonunu etkilemektedirler. Tarımsal tedbir olarak kullanılan nitratlı gübreler de bu olayı teşvik etmekte ve O₃ parçalanması artmaktadır.

Buna karşılık bazı araştırmacılar da bunun tersini savunarak, tarım alanlarında giderek artan azotlu gübrelemenin, denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** yoluyla

atmosferde N₂O oranını artırdığı ve ozon tabakasını tahrip ettiği şekilde bir kamuoyu oluşturmuşlardır. Oysa azotlu gübrelerin hızla artan kullanımına rağmen atmosferdeki N₂O miktarında bir artış gözlenmemiştir (Mengel ve Kirkby, 1987).

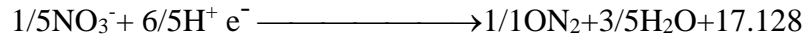
Denitrifikasyonun yukarıda anlatılan olumsuz yanlarının yanısıra bir de olumlu tarafı vardır. Nitrat insanlar ve hayvanlar için zararlı bir bileşiktir. Topraktaki nitrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**, yıkanma ile alt katlara inerek yeraltı suyuna karışmaktadır. Buradan da insanların ve hayvanların kullandıkları suya karışarak kirlenmeye sebep olmaktadır. İşte denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** yıkanma ile alt katlara inerek ve yeraltı sularına karışarak NO₃ (nitrat) miktarını azaltmaktadır. Bunun sonucu olarak da denitrifikasyon suların NO₃⁻ 'la kirlenmesini önleyici bir olay olarak görülür.

Hatta nitratla kirlenmiş sular denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** yoluyla temizlenmeye çalışılmaktadır. Bu konuda çok fazla araştırma yapılmıştır. Denitrifikasyon olayı toprakta olduğu gibi sularda da olabilmektedir. Değişik yöntemlerle de, denitrifikasyon yapan mikroorganizmalar kirliliğe konarak, ortamdaki azot kirlenmeleri önlenmektedir.

11.5.1. Sulardaki azot gideriminde denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

Yeryüzü üzerinde, mikroorganizmalarca yürütülen denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**, insanlar tarafından araştırılıp incelendikten sonra, bu olaydan yararlanma yollarını arayıp bulmuşlardır. Yukarıda da bahsedildiği gibi sulardaki, azotlu bileşikler özellikle nitrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** bileşikler önemli ölçüde çevre kirliliği yapmakta ve insan sağlığını bile tehdit edip, olumsuz yönde etkilemektedir. Araştırmacılar nitratın toprakta olduğu gibi gaz halinde ortamdaki uzaklaştırılabilineceği düşüncesiyle yeryüzünde devam eden denitrifikasyon olayını çevre temizliği için kirliliğe konarak, ortamdaki azot kirlenmeleri önlenmektedir.

Biyolojik denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**, moleküler oksijenin bulunmadığı koşullarda, nitratı elektron alıcısı olarak kullanabilen mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilir. Anoksik tetrotrofik çoğalmanın, aerobik heterotrofik çoğalmadan tek farkı, enerji reaksiyonunda elektron alıcısı olarak nitratın kullanılmasıdır. Oksijen yerine nitratın indirgenmesi yarı reaksiyonu şöyledir;



kcal/e⁻

eşdeğeri yazılır. Denklemden de görüleceği gibi nitrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** indirgenmesi sırasında giderilen nitrat kadar da proton harcanmaktadır. Buna göre indirgenen 1g NO₃⁻-N için 50/14=3,57 g CaCO₃ eşdeğeri alkalinite üretilir.

Termodinamik verilerin gösterdiği üzere, anoksik solunumun aerobik solunuma göre daha az enerji üretmesi, denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** sistemlerinde kesinlikle oksijensiz koşulların gerektiğini belirtir. Çözünmüş O₂ konsantrasyonu 1.0 mg l⁻¹ 'ye ulaştığında denitrifikasyon durur (Eckenfelder, 1989).

Gram bakterisi **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** başına enerji için günde transfer edilen elektron olarak tanımlanan maksimum elektron transfer hızları, çok çeşitli heterotrofik ve ototrofik bakteriler için 25°C'de 1-2 elektron-mol g⁻¹ gün olarak verilmiştir (Mc Carty, 1972).

11.5.1.1. Nitrat azotu gideriminde denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** süreci

Denitrifikasyon, elektron vericisi olarak organik maddenin, elektron alıcısı olarak nitrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** azotunun, karbon kaynağı olarak da gene organik

maddenin kullanıldığı bir olaydır. Oksijensiz ortamda heterotrof **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

organizmalar tarafından gerçekleştirilen bu olay anoksik solunum olarak da adlandırılır. Amaç nitrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** azotunun $\text{NO}_3^- \longrightarrow \text{NO}_2^- \longrightarrow \text{NO} \longrightarrow \text{N}_2\text{O} \longrightarrow \text{N}_2$ zinciri ile önce nitrite, sonra azot gazına indirgenmesidir. Bu indirgenmeyi gerçekleştiren heterotrof **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** organizmalar fakültatif **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** olup, aerob solunumda izlenen metabolik yolu aynen takip etmektedir. Aerobik karbon gideriminden farklı olarak burada elektron vericisi organik madde yerine elektron alıcısı nitratin giderilmesi hedeflenmektedir. Hedeflenen miktarda nitrat azotunun giderilebilmesi için stokiometrik olarak hesaplanabilen organik maddeye gereksinim duyulmaktadır. Bu elektron vericisi kaynağı organik madde, denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** kademesine dışardan ilave ile, atık sulardaki mevcut organik maddenin kullanımı ile, veya biyokütlenin içsel solunumu ile sağlanabilmektedir.

Özellikle evsel atık sularda nitrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** azotu bulunmadığından, denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** prosesi öncesi mutlaka nitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** kademesini gerektirir.

Atık suyun kendisinden enerji kaynağı olarak faydalanabilmek için, önce denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** yapan sistemler tercih edilmekte, nitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** kademesinde oluşan nitrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** azotu bu kademeye geri devrettirilmektedir.

Denitrifikasyon hızları, çevresel koşulların yanı sıra organik maddenin türünden de etkilenir. Substratın kolay ayrışabilir olması hızı önemli derecede artırır. Değişik organik madde kullanımının denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** hızına etkisi Çizelge 11.2'de verilmiştir.

Çizelge 11.2. Denitrifikasyon hızları (g N kg^{-1} VSS-gün)

Metanol	Evsel atıksu	Biyokütle	Kaynak
240	72	9.6	Arceivala (1981)
	26-50		Ermel (Krauth, 1986)
	55-73		Ermel (Krauth, 1986)
	27-175		Krauth (1986)

Burada en yüksek hız metanol, en düşük hız biyokütlenin içsel solunumu ile elde edilmiştir.

Organizmalar kaynak ne olursa olsun önce kolay ayrışan maddeleri parçalamakta, daha sonra yavaş ayrışan substratı oksitlemektedir. Ortamda ayrışabilen madde kalmadığı zaman da içsel solunum fazına geçmektedirler. Herbir substrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** türü farklı bir denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** hızları ile yükseltgenmektedir. Van Haandel (1981)'in evsel atık su ile yaptığı çalışmanın sonuçları Çizelge 11.3'de verilmiştir.

Çizelge 11.3. Evsel atıksudaki denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** hızları (Van Haandel 1981)

Hız Sabitleri	Hız g N kg^{-1} VSS -gün	Karbon Kaynağı
K1	820	Kolay ayrışabilen substrat Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
K2	103	Partiküler substrat Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
K3	76	Biyokütle

11.5.2. Denitrifikasyonda ilk gözlemler

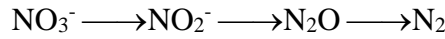
19. yüzyılın sonunda ve 20. yüzyılın başlarında çeşitli araştırmacılar, denitrifikasyon olayı ile ilgilenmişler, toprağa çiftlik gübresi veya nitrat ilavesiyle ve toprakta nitratı redükte eden mikroorganizmaların etkisinin bulunduğunu belirtmiştir. Daha sonraki tarımsal araştırmalarda denitrifikasyon olayı açıklanmamış ve 1950'li yıllara kadar bu konuya değinilmemiştir.

11.5.2.1. Tarım topraklarında denitrifikasyon mikroorganizmalarının yerleri

Son yıllarda su baskını altındaki topraklarda, denitrifikasyon *Bacillus* türleri, *Arthrobacter simplex* ve *Micrococcus* türleri ile standart plak sayım yöntemleriyle belirlenmişlerdir. Başka bölgelerde çalışan araştırmacılar asit peat toprakların hem yüzeyinden hem de derinden oluşturabilen pek çok denitrifikasyon mikroorganizmaları izole etmişlerdir. Bunlar içinde *Bacillus*, *Micrococcus* ve *Pseudomonas* türleri, MPN (EOS=En Olası Sayı yöntemi) ile yapılan belirlemelerde, toprak yüzeyinin hemen yakınlarında çok sayıda denitrifikasyon yapan organizmalar saptanmıştır. Senegal'de çeltik tarlalarında yapılan çalışmalarda bitki köklerini kaplayan ince topraklarda yüzey toprağından çok daha fazla bu çeşit organizma saptanmıştır.

11.5.3. Toprakta denitrifikasyon ürünleri ve bunun ardışıklığı

Çeşitli çalışmalarda toprakta nitrat redüksiyonunun ilk ürünü olarak nitritin oluştuğu ve bunun uzun süre ortamda kalmadığı belirlenmiştir. Bu reaksiyonun oluşturduğu ilk gaz bileşik ise nitrik asittir. 1960'lı yıllarda azot 15 etiketli nitratla yapılan denemeler daha gerçekçi gözlemlerin yapılmasına neden olmuş ve ürünlerinin aşağıdaki sırayla ortaya çıktığı belirlenmiştir.



Anaerob olarak inhibe edilen toprakların pek çok tipinde atmosfere nitroz oksit ve dinitrojenin geçtiği gözlenmiştir. Çeltik tarlalarındaki denitrifikasyon sonucu oluşan azot bileşikleri Şekil 11.6' da görülmektedir.

**Şekil.11.6. Nitrojen formda mg g⁻¹ kuru toprağa 100 mg NO₃-N u ve anaerobik inkübasyon Hata! Yer işareti tanımlanmamış. 30°C'de, hümit koşullar uygulanıyor. Şekilde; (+) NO₃⁻;
(.) NO₂, (x) NO; (O), N₂O; (□), N₂ sembolleriyle gösteriliyor.**

Bu şekilde 14 farklı çeltik toprağında nitratın kimyasal redüksiyonu ile oluşan azot bileşiklerinin miktarı verilmektedir. Çeşitli farklı topraklarda yapılan bu tip çalışmalar denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** yapan organizmaların sadece çeltik alanlarında değil, pek çok değişik topraklarda bulunduğunu göstermektedir. Örneğin Ap horizonu toprağında yapılan çalışmada 6-8 °C, 10-15 °C veya 30 °C gibi farklı inkübasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** sıcaklıkları uygulandığında düşük sıcaklıklarda (6-8°C) oluşan nitrik oksitin büyük bir kısmının toprakta tutulabildiği gözlenmiştir.

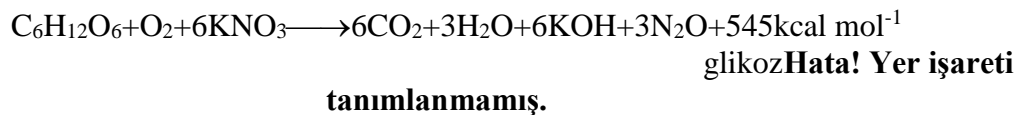
11.5.3.1. Denitrifikasyonunun meydana geliş kademeleri

Denitrifikasyon sırasında nitrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**, nitrite ve daha sonra da azot oksitler aracılığı ile moleküler azota indirgenir. Bu süreç bir solunumu anımsatmaktadır. Enerji kazanılmasında H-alıcı olarak O₂ nin yerine ve NO₃⁻ ve NO₂⁻ kullanıldığından bu olaya **nitrat solunumu Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** da denir. Bir çok fakültatif **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** bakteri **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** türleri anaerobik koşullar altında nitrat solunumunu gerçekleştirebilir. Yani nitratları ve nitritleri bir hidrojen veya elektron alıcısı olarak kullanabilirler. Ancak bu dönüşüm belirli bir zamanı gerektirmektedir. Bunun nedeni nitrat solunumunu gerçekleştirebilecek enzimlerin ancak oksijenin yok olması durumunda ortaya çıkmasıdır. Buna karşın nitrat solunumundan normal oksijen solunumuna dönüş ani olarak gerçekleşebilir.

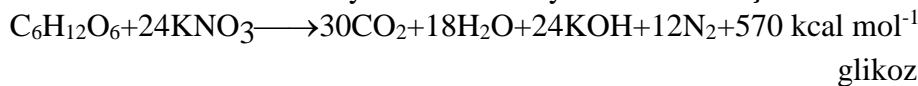
1. Aerob Solunum



2. Nitrat Solunumu



Tam olmayan denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**



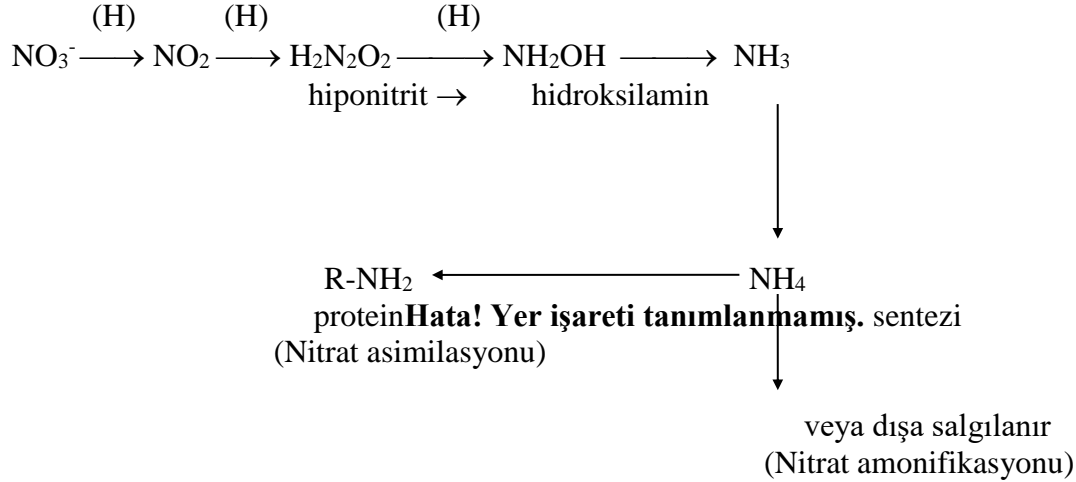
Tam denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

Enerji kazancı: Denitrifikasyon aerob solunum
N₂O < N₂

Nitrat redüksiyon olayında her zaman gaz çıkmaz, iki şekilde denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** olur:

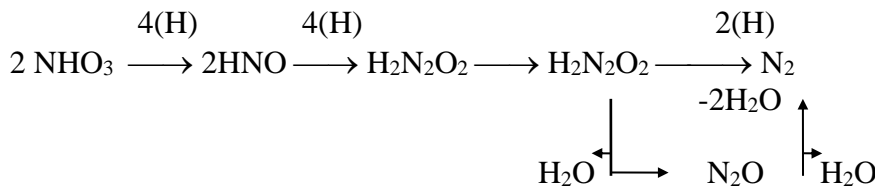
1. Gazsız denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** veya nitrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** amonifikasyonu.
2. Gerçek denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** (gaz çıkışı olan).

1. Nitrat Amonifikasyon (gaz denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**)



Bu olay pekçok organotrof **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** (Kemoorganotrof) tipler (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Achromobacter* türleri) tarafından yürütülür. Organik madde H-dönator olarak görev yapar.

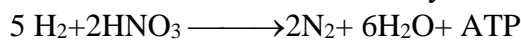
2. Gerçek Denitrifikasyon= gaz çıkışı (N_2 , N_2O)



Toprak ve su bakterilerinin % 10-15'i potansiyel olarak denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** yapabilirler. Yani toprakta O_2 bulamazlarsa, NO_3^- 'in oksijeni kullanılır.

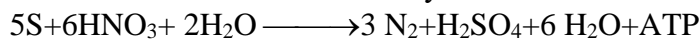
Litotrof (chemolitotrof) denitrifikantlar H-donator olarak organik bileşikleri kullanırlar. (S , S^- , S_2O_3^- , H_2 gibi). Ayrıca şekerler, asetik **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** asit **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**, etanol, aseton ve metanol gibi organik maddeler de denitrifikasyonda elektron verici olarak davranabilmektedir. Aşağıda bu olaylardan 3 tanesi formüle edilmiştir.

a. H elektron verici olarak kullanılıyor.



Paracoccus denitrifikans

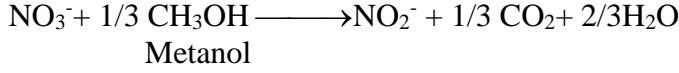
b. S elektron verici olarak kullanılıyor:



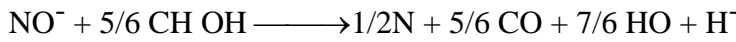
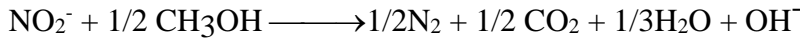
Thiobacillus denitrificans (pH kuvvetle düşer)

c. Metanol kullanıldığında denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** aşağıdaki gibi iki aşamada gerçekleşir:

Birinci Aşama



İkinci Aşama



Böylece bir mol nitratın tamamen moleküler azota indirgenebilmesi için 5/6 mol metanol gerekli olmaktadır.

Nitrat solunumunda da organik substratlar, aynı oksijen solunumunda olduğu gibi CO₂ ve H₂O gibi son ürünlere oksitlenirler. (Yukarıdaki denklemde gözlendiği gibi). Moleküler oksijenin hidrojen alıcısı durumunda olmasına kıyasla, nitrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** solunumunda gerekli oksijen miktarı % 10 kadar daha düşüktür.

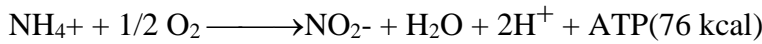
Denitrifikasyon sırasında nitratı nitrite dönüştüren bakteri **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** türlerinin, nitriti moleküler azota dönüştüren türlerden çok daha fazla sayıda olduğu görülmüştür.

Denitrifikasyon, aslında nitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** olayının devamı olarak da düşünülebilir. Bu noktadan hareketle nitrifikasyon ve denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** proseslerini kısaca tekrar yazarak, birbirinin devamı olduğunu görelim.

1. Nitrifikasyon

a. Nitritasyon: amonyum **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** nitrite dönüşüyor.

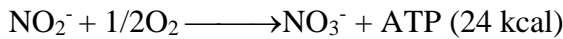
Oksidazlar



nitrit **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** açığa çıkıyor.

b. Nitratasyon: Nitrit, nitrata dönüşüyor.

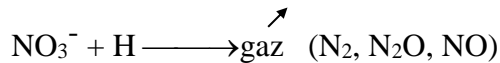
Oksidazlar



nitrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** açığa çıkıyor.

2. Denitrifikasyon

Nitrifikasyondan açığa çıkan NO₃⁻ (başka yerden gelen NO₃⁻'de olabilir) azot oksitlere veya elementel azota dönüşür.



Denitrifikasyon sonucu oluşan N₂O ve N₂'in durumu:

1. Çeşitli mikroorganizmaların N_2O/N_2 oranları farklıdır.
2. O_2 yüksekse çoğunlukla N_2O oluşur.
3. NO_3^- konsantrasyonu yüksekse genellikle N_2O , düşükse öncelikle N_2 oluşur.
4. Organik madde fazla ise N_2 oluşur.

11.5.4. Denitrifikasyona etki eden fizikokimyasal faktörler

Denitrifikasyonu etkileyen fizikokimyasal etkilerin başlıcaları nem kapsamı, oksijen yarayışlılığı, toprak pH'sı ve toprak redoks **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** potansiyelidir.

11.5.4.1. Nem kapsamı

Düşük nem kapsamlarında pH 7.2'de yonca bitkisiyle inkübe edilen toprakta sırayla nitrik oksit, nitroz oksit **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** ve dinitrojenin biriktiği saptanmıştır. Su kapsamı arttığında bütün oksitlerin konsantrasyonları dört haftalık denemenin içinde gözden kaybolduğu ve ürün olarak dinitrojenin kaldığı belirlenmiştir. Başka bir denemede saturasyon düzeyinin % 60 veya daha altında nitrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** azotunun kayba uğramadığı fakat saturasyon düzeyinin % 80 ve % 100 olduğunda toprakta önce nitroz oksitlerin sonra da dinitrojenin serbest bırakıldığı saptanmıştır.

Bir kumlu tınlı toprakta su kapsamı arttıkça nitroz oksitlerin dinitrojene çeviriminin daha hızlı olduğu görülmüştür.

Bazı Avusturalya topraklarında ve bazı Hollanda Polder (denizden kazanılan) topraklarında su kapsamı arttıkça benzer bulgulara rastlanmıştır.

Alkali ve asidik tınlı topraklarda su kapsamı artışına bağlı olarak azot kayıplarının hızlandığı saptanmıştır.

Araştırmaya alınan alüvyal, kırmızı kahverengi, solanetz B horizonu, killi topraklar, tropik **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** topraklar veya tuzlu bataklık topraklarla, sedimentlerde veya drenajı zayıf topraklarda azot kaybı hızının doğrudan su kapsamıyla ilgili olduğu bulunmuştur. Su kapsamının denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** üzerine etkisi Şekil 11.7'de gösterilmiştir.

Şekilde Miami kumlu tını toprak örneklerinde maksimum su tutma kapasitesinin % 51 ve % 94 olduğu farklı düzeylerde, daha nemli topraklardan 500 dakika sonra denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** etkisini göstermeye başlamıştır. 800 dakika sonra nitroz oksitin serbest kalma hızı iki kat artış göstermiştir.

Şekil 11.7 Gravimetrik nem kapsamı % 18 maksimum su tutma kapasitesinin % 51 (şekilde ■ olarak gösterilmiş) olduğu ve gravimetrik nem düzeyinin % 3, maksimum su tutma kapasitesinin % 94

olduğu (şekilde ● olarak gösterilmiş) Miami kumlu tını örnekleri arasında su kapsamının denitrifikasyona etkisi gözlenmektedir

11.5.4.2. Toprak EhHata! Yer işareti tanımlanmamış.'si (Redoks Potansiyeli)

Oksijenin denitrifikasyonu etkilediği açık bir şekilde bilinmektedir. Bazı araştırmacılar aerob denitrifikasyonun olabileceğini de ifade etmektedirler. Nötral peatHata! Yer işareti tanımlanmamış. düzeylerinde, aerob veya düşük oksijen tansiyonu koşullarında azot tapraktan kaybolmaya başlamaktadır. Su tutma kapasitesinin yakınındaki veya su baskını altındaki topraklarda oksijen kapsamı sürekli azalmaktadır. Islak topraklarda oksijen yararlılığı (alınabilirliği)nın yoksunluğunun ölçülmesinde elektropotansiyel (EhHata! Yer işareti tanımlanmamış.) ölçümleri yardımcı olabilir. Örneğin bir siltli tınlı toprakta nitratHata! Yer işareti tanımlanmamış. azotu kapsamı 200 mV'un üzerindeki ölçüm değerlerinde sürekli artarken, Eh'nin 100 mV değerine düşmesiyle azot kapsamı da kademeli olarak azalmaktadır. Handford kumlu tını ve Moreno siltli kil tınında nemlendirilmiş toprak kolonlarında yapılan elektropotansiyel ölçümlerinde Eh değerleri 156 mV'a kadar düştüğünde heterotrofHata! Yer işareti tanımlanmamış. veya ototrofHata! Yer işareti tanımlanmamış. denitrifikasyonHata! Yer işareti tanımlanmamış. artmaktadır.

EhHata! Yer işareti tanımlanmamış. değeri bütün topraklarda doğrudan derinliğe bağlı olarak değişmez. İyi drenajlı sahil ovası topraklarda Eh değerleri 3 m derinlikte bile 500-700 mV düzeylerinde ölçülmektedir. Tersine olarak drenajı zayıf olan topraklarda 1 m'den daha az derinlikte Eh değerleri kuvvetle azalmakta, buna bağlı olarakta nitratHata! Yer işareti tanımlanmamış. konsantrasyonu da azalmaktadır. Yaklaşık olarak 1 m derinlikte Eh değeri 400 mV'un altına düşmekte ve denitrifikasyonHata! Yer işareti tanımlanmamış. başlamaktadır. Eh değeri 200-300 mV değerine eriştiğinde (drenajı zayıf topraklarda 1 ile 2 m arasında) nitrat azotu tamamen kaybolmaktadır.

11.5.4.3. Toprak pH'sı

Topraklarda biyolojik denitrifikasyonHata! Yer işareti tanımlanmamış. üzerine pH'nın etkisini belirlemek oldukça zordur. Çünkü sterilize edilmiş asit topraklarda bile nitritHata! Yer işareti tanımlanmamış. gaz bileşiklere ayrılmaktadır. Örneğin nitratHata! Yer işareti tanımlanmamış. uygulanmış Norfolk kumlu tınında, 4,5 veya daha az pH değerlerinde biyolojik olaylarla, ilgisi olmayan şekilde nitrik oksit serbest kaldığı görülmüştür. Oluşan nitrik oksit miktarı uygulanan nitrat miktarıyla uygun bulunmuştur. 2-3 gün sonra ise muhtemelen bakteriyel aktivitenin etkisiyle dinitrojenHata! Yer işareti tanımlanmamış. serbest kalmaya başlamıştır. Sistem 7.5 pH'ya ayarlanıp inkübe edildiğinde hemen oluşan nitrik oksit gözlenmemiş veya 24 saat içinde küçük miktarlarda oluşmuştur. Siltli bir toprak tipinde derhal başlamakta ve muhtelif günlerde devam etmektedir. Burada başlangıç ürünü nitroz oksitHata! Yer işareti tanımlanmamış. iken, pH 7 ve 8.3 düzeylerinde ana ürün dinitrojen olmaktadır.

Azot 15 etiketli nitratHata! Yer işareti tanımlanmamış. azotu ilavesiyle yapılan bir denemede dinitrojenin oluşumu 4-6 pH değerleri arasında olmaktadır. pH değerleri 6 ve 8'e ayarlanıp EhHata! Yer işareti tanımlanmamış. değerleri de herbiri için 0 ile 200 mV olduğunda denitrifikasyonHata! Yer işareti tanımlanmamış. daha hızlı olmakta ve hemen hemen tamama yakın olmaktadır. Nitrit ve nitroz oksitler asit koşullarda daha önemli ürünler olarak görülmektedir.

pH değeri 6'nın altına düştüğünde, mikroorganizma aktivitesi de buna bağlı olarak düşer. Denitrifikasyon için optimum pH 6-8,5 arasındaki değerlerdir. Bazı hallerde pH 10'a kadar denitrifikasyonHata! Yer işareti tanımlanmamış. devam eder. Bazı denitrifikasyon yapan mikroorganizma cinslerinin, değişik pH değerlerinde denitrifikasyon sonucu gaz halinde çıkardıkları N₂ miktarı Çizelge 11.1'de verilmiştir.

11.5.4.4. Sıcaklık

Denitrifikasyon denemelerinin çoğu tarla koşullarında bahar veya yazın, laboratuvar koşullarında 20-30 °C derecelerde yapılmaktadır. Diğer biyolojik aktivitelere benzer şekilde toprakta denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** hızının sıcaklığa doğrudan bağlı olarak değişeceği beklenir. Killi ve kumlu topraklarda yapılan denemelerde denitrifikasyon aktivitesi 2 ile 5 °C'de en küçük düzeye inmekte 25 °C'ye doğru ise hızla artmaktadır. 60 °C 'ye doğru çıkıldıkça bu artış hafifce devam etmekte, sonra ani bir şekilde durmaktadır.

İsveçte çok ağır killi topraklarda artış hızının 28 ile 65 °C sıcaklık sınırları içinde devamlı olduğu, 75°C'de çok hafif bir dinitrojen **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** oluşumu gözlemlendiği, 85 °C'de ise aktivitenin olmadığı gözlenmiştir. (Çizelge 11.4).

Bir Huron toprağında Ap horizonunun topraklarında yapılan denemede 5°C'de aktivite saptanmamıştır. 6 ila 8°C'lerde nitrit **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** oksit dominant **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** gaz iken, 10 °C'de nitroz oksit **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**, 15-30 °C'lerde ise dinitrojen **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** hakim duruma geçer. Bu da denitrifikasyonda oluşan bileşik türünün değişen sıcaklığa bağlı olduğunu göstermektedir.

Çizelge.11.4. Sıcaklık değişimi ile N₂O ve N₂ olarak açığa çıkan denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış. ürünlerinin değişik inkübasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** zamanlarındaki miktarları**

Sıcaklık (°C)	İnkübasyon zamanı (gün)	mg N (açığa çıkan)			Sıcaklık (°C)	İnkübasyon zamanı (gün)	mg N (açığa çıkan)		
		NO	N	NO+ N			NO	N	NO +N
+3	1	-	-	-	+45	1	2.17	0.35	2.52
	2	-	-	-		2	4.10	1.91	6.01
	4	0.02	-	0.02		4	1.83	6.19	8.02
	6	0.05	-	0.05		6	0.35	8.30	8.65
	8	0.07	-	0.07		8	-	8.77	8.77
+12-13	1				+55	1	2.09	2.77	4.86
	2	0.14	-	0.14		2	1.21	5.82	7.03
	4	0.39	-	0.39		4	0.03	8.41	8.44
	6	0.72	0.10	0.82		6	-	8.51	8.51
+20-22	1	0.38	-	0.38	+65	1	0.73	6.33	7.06
	2	1.82	-	1.82		2	0.08	8.62	8.70
	4	4.39	0.19	4.58		4	-	8.60	8.60
	6	5.90	1.02	6.92		6	-	-	-
	8	4.63	3.47	8.10					
+28	1	0.52	-	0.52	+75	1	5.51	0.58	6.09
	2	2.78	0.16	2.94		2	3.02	5.61	8.63
	4	4.77	0.78	2.55		4	-	8.58	8.58
	6	4.86	2.49	7.35					
	8	3.32	5.21	8.53					
+37	1	1.07	0.15	1.22	+85	1	-	-	-
	2	3.14	1.09	4.23		2	-	-	-
	4	3.67	3.41	7.08		4	-	-	-

6	1.25	7.02	8.27				
8	0.28	8.59	8.87				

11.5.5. Karbon ve enerji kaynaklarının denitrifikasyona etkisi

Hetotrofik aktivite: Ortama polimerik olmayan ve toksik **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** olmayan, hızlı kullanılabilir organik maddeler sağlandığında (Örneğin: glikoz **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**) denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** oranı (hızlı), karmaşık bitki ve hayvan dokusunun ilavesine oranla çok daha hızlı olmaktadır. En etkili karbon azot oranı (şayet bunlar nitrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** ve glikoz olarak sağlanıyorsa) 3-4'ün 1'e oranı gibidir. Şayet glikoz yerine saman gibi inorganik madde ilave ediliyorsa oran 30'a l'dir. Bitki köklerinin oksijen tüketmesi nedeniyle denitrifikasyonu uyardığı belirtilmektedir.

Organik maddece fakir tarla ve çayır topraklarının ana denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** ürünü nitroz oksitlerdir. Toprağa sağlanan substrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** düzeyi denitrifikasyon üzerine etkilidir. Bu durum Şekil 11.8' de verilmiştir.

Şekil 11.8. 2 değişik (200-1500 mg) substrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış. düzeyinde denitrifikasyonun durumu. Deney koşulları 200 g Yolo toprağı, nem % 29, pH 7.2, her toprağa verilen nitrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** miktarı 13.6 me/g kuru toprak. Şekildeki .___ total azot miktarını, .___ N₂ miktarını, ___ N₂O miktarını gösteriyor**

Birinci şekilde substrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** az miktardadır. Bunda substratın azlığıyla denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** da az olmuştur. İkincide substrat miktarının artmasıyla denitrifikasyon da artmıştır. Yalnız birincisinde N₂O biraz artmış sonra sabite yakın bir değerde kalmış çok az miktarda, 5 günden sonra azalma başlamıştır. İkinci şekilde ise çok hızlı olarak N₂O 4,5'lara kadar çıkmış ve yine hızlı biçimde 2'nin altına hatta 1'in atlındaki değerlere düşmüştür.

Buradan anlaşılıyor ki substrat **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** miktarı arttıkça denitrifikasyon **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.** artar. N₂O gazı ise substrat artışı ile ilk önce aniden yükselir, sonra (5 günden sonra) aniden düşer.

11.5.6. Denitrifikasyonun mikrobiyolojisi

Denitrifikasyon olayı mikrobiyal bir olaydır. Mikroorganizmaların faaliyeti ile gerçekleşir. Bu olay içerisinde mantarlar ve aktinomisetler pek görülmezler. Bu olay bir çok bakteri tarafından gerçekleştirilir. Çok sayıdaki bu bakteriler aerob ve anaerobik toprak koşullarında görev yaparlar. Çizelge 11.5’de denitrifikasyon yapan bakteri cinsleri ve bazı özellikleri verilmiştir.

Çizelge 11.5. Denitrifikasyon yapan türleri içeren bakteri cinsleri

<i>Achromobacter</i>	Gram (-) Çubuk	<i>Moraxella</i>	Gram (-)
<i>Acinetobacter</i>	Gram (-) Çubuk	<i>Neisseria</i>	Gram (-)
<i>Agobacterium</i>	Gram (-) Çubuk	<i>Paracoccus</i>	Gram (-)
<i>Alcaligenes</i>	Gram (-) Çubuk	<i>Propionibacterium</i>	Gram (+) Çubuk
<i>Arthrobacter</i>	Gram (-)	<i>Pseudomonas</i>	Gram (-) Çubuk
<i>Azospirillum</i>	Gram (-) Virgül	<i>Rhizobium</i> Hata! Yer işareti tanımlanmamış.	Gram (-) Çubuk
<i>Bacillus</i>	Gram (+) Çubuk	<i>Rhodospseudomonas</i>	Gram (-) Çubuk
<i>Chromobacterium</i>	Gram (-) Çubuk	<i>Spirillum</i>	Gram (-) Sipiral
<i>Corynebacterium</i>	Gram (+) Çubuk	<i>Thermatrix</i>	Gram (-) İplik
<i>Cytophaga</i>	Gram (-) Çubuk	<i>Thiobacillas</i>	Gram (-) Çubuk
<i>Flavobacterium</i>	Gram (-) Çubuk	<i>Thiomicrospira</i>	Gram (-) Spiral
<i>Hypomicrobium</i>	Gram (-)	<i>Vibrio</i>	Gram (-) şerit
<i>Kingella</i>	Gram (-)		

Denitrifikasyon yapan mikroorganizma cinsleri ve bunların türleri

1. *Acinobacter*

2. *Agobacterium*

Agobacterium tumefaciens

3. *Achromobacter*

4. *Alcaligenes*

Alcaligenes faecalis

Alcaligenes utrophus

5. *Bacillus*

13. *Paracoccus*

Paracoccus denitrificans

Paracoccus halodenitrificans

14. *Proptonibacterium*

Proptonibacterium acidi-propionici

15. *Pseudomonas*

Pseudomonas pseudoflova

Pseudomonas fluorescens

Bacillus licheniformis
Bacillus laterosporus
Bacillus azotoformans
Bacillus stearothermophilus
6.*Chromobacterium*
Chromobacterium violaceum
Chromobacterium lividum

7.*Corynebacterium*

Corynebacterium nephridii

8.*Cytophaga*

Cytophaga johnsonae
Cytophaga denitrificans
9.*Flavobacterium*
10.*Hyphomicrobium*
Hyphomicrobium vulgare
11.*Moraxella*(*Kingella*)
Moraxella kingae
Kingella denitrificans
12.*Neisseria*
Neisseria sicca
Neisseria subflava
Neisseria flavescens
Neisseria mucosa

Pseudomonas aeruginosa
Pseudomonas denitrificans
Pseudomonas stutzeri
Pseudomonas perfectomarinus
Pseudomonas sacharophilia
16.*Rhizobium*Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
*Rhizobium*Hata! Yer işareti tanımlanmam
leguminosarum
*Rhizobium*Hata! Yer işareti tanımlanmam
japonicum
*Rhizobium*Hata! Yer işareti tanımlanmam
trifolia
*Rhizobium*Hata! Yer işareti tanımlanmam
phaseoli
17.*Rhodopseudomonas*
Rhodopseudomonas spheroides
Rhodopseudomonas palustris
Rhodopseudomonas capsulate
18.*Spirillum* (*Aquaspirillum*ve*Azospirillum*)
Spirillum itersonii(*Aquaspirillum intersonii*)
Spirillum lipoferum
19.*Thermothrix*
Thermothrix thioparus
20. *Thiobacillus*
Thiobacillus denitrificans
21.*Vibrio*
Vibrio sputorum.
Vibrio succinogenes