

H. Hüsnü KAYIKÇIOĞLU
Nur OKUR
Onur BAYIZ

Toprak Solucanları ile Kompostlaştırılmış Tütün Atıklarının Vermikompost Olarak Değerinin Belirlenmesi¹

Evaluation of the Value of Tobacco Waste as Vermicompost

Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve
Bitki Besleme Bölümü, 35100, İzmir/Türkiye
Sorumlu Yazar: husnu.kayikcioglu@gmail.com

¹ Bu çalışma, E.Ü.B.A.P tarafından desteklenen 2011-ZRF-030 no'lu projeden hazırlanmıştır

Alınış (Received):11.12.2015

Kabul tarihi (Accepted): 01.02.2016

Anahtar Sözcükler:

Vermikompost, *Eisenia fetida*, tütün atığı,
at gübresi, stabilite, enzim aktivitesi

Key Words:

Vermicompost, *Eisenia fetida*, tobacco
waste, horse manure, stability, enzyme
activity

ÖZET

Organik atıkların sürdürülebilir bir şekilde tekrar doğal döngüye dahil edilmesinde en başarılı yöntemlerden birisinin kompostlaştırma olduğu bir gerçektir. Geleneksel kompostlamaya oranla belirgin üstünlükleri bulunan vermikompostlama yöntemi son yıllarda büyük bir uygulama alanı bulmuştur. Bu düşünce göz önüne alınarak tesis edilen bu inkübasyon denemesinin amacı; tarım topraklarında doğrudan kullanımı mümkün olmayan tütün atığının tek başına ve belirli oranda at gübresi ile karıştırılması suretiyle *Eisenia fetida* solucanı vasıtasıyla vermikompost elde edilme olanaklarının araştırılması ve vermikompost oluşum sürecinin biyokimyasal özelliklerdeki değişimler açısından incelenmesidir. 3 ay süre ile vermikompostlama işlemine tabi tutulan atıklarda kimyasal, mikrobiyal ve biyokimyasal parametreler 30.gün, 60.gün ve 90.gün de alınan örneklerde analiz edilmiştir. Solucanlar aracılığıyla yapılan kompostlama işleminde analiz edilen biyokimyasal parametreler açısından bir azalma meydana gelmiştir. En yüksek enzim aktiviteleri 60.gün örneklerinde saptanırken, en düşük aktivite 30.gün örneklerinde bulunmuştur. Kompost materyallerin stabilite parametrelerinden olan humifikasyon indeksi değeri, vermikompost örneklerinde 5 değerinin üzerinde saptanmıştır. Bu durum beklenildiği şekilde vermikompostlaşma süreci içerisinde stabilizasyon işleminin meydana gelmediğini göstermektedir. Besin zincirine ihtiyaç duyan organik madde ve besin maddelerinin dönüşüne olanak sağlayan kompostlaştırma işleminde; ham materyallerin özelliklerine bağlı olarak geleneksel kompostlama ya da vermikompostlama yöntemlerinin hangisinin kullanılması gerektiğine yapılan ön denemeler ile karar vermek daha doğru bir yaklaşım olacaktır.

ABSTRACT

It is the fact that composting is one of the most successful method for re-entering organic waste in the natural cycle. Vermicomposting method which has more advantages than traditional or aerobic composting, has found a large application area in recent years. The purpose of this incubation experiment was investigated to determine the possibilities of obtaining vermicompost by *Eisenia fetida* derived from tobacco waste which is not being able to directly use in agricultural soils, alone and mixing with certain proportion of horse manure and to change in biochemical properties of vermicompost formation process. Organic waste was being vermicomposted during 3 months. Samples were taken on 30th day, 60th day and 90th day in order to analyze for chemical, microbial and biochemical parameters. A decrease occurred in biochemical parameters analyzed in the vermicompost samples. The highest enzyme activity was detected in the mid-samples, and the lowest activity was found in the first samples. Humification index value of the vermicomposts was significantly greater than 5. This expected situation indicated the stabilization process did not occur in the vermicomposting process. It is a better approach pre-test will be performed to determine the composting methods which permit the return of needed organic matter and nutrients into the food chain.

GİRİŞ

Ülkemizde yıllardır bilinçsiz uygulanan kimyasal gübreler, hatalı toprak işleme, tek ürün kültürü, erozyon vb. nedenlerle, tarım topraklarında organik madde miktarı giderek azalmakta ve bitkilerin faydalandığı toprak katmanında olması gereken organik madde miktarı % 1 düzeyinin altına gerilemiş bulunmaktadır. Toprağın doğal yapısı içerisinde bulunan organik maddenin su ve kation tutma, agregatlaşmayı teşvik etme, mineralizasyona uğraması sonucu bitkilere besin maddesi sağlama, mikroorganizma faaliyetlerini artırma gibi özellikleri hatırlandığında, bu maddenin azlığı veya yokluğu toprak doğal yapısının tümüyle bozulması sonucunu getirmektedir.

Toprakların sürdürülebilir kullanımını sağlama, çevre kirliliğini azaltma ve dünyada organik tarıma olan artan talebi göz önüne alarak, azotlu ve fosforlu ticari gübrelerin kullanımını en aza indirmede organik gübre kullanımına ağırlık verilmelidir. Bilinen ve yaygın olarak kullanılması benimsenen çiftlik gübresi, temini ve kullanımı açısından maliyeti yüksek bir organik materyaldir. Bu gübreye alternatif olabilecek veya destek olabilecek çok çeşitli organik materyaller bulunmaktadır. Bunlar bir takım tarımsal, kentsel ve endüstriyel aktiviteler sonucu yüksek miktarlarda ortaya çıkmaktadır. Bu atıkların bir kısmı alıcı ortamlara (toprak, su ve hava) zarar veren ağır metaller ile değişik organik ve inorganik bileşikler içermekte iken bir kısmı da yüksek organik madde ve düşük toksik element içeriklerine sahiptirler.

Tütün işletme atıkları; ucuz, kolay elde edilebilen, değerlendirilmeyen ve yüksek miktarlarda ortaya çıkan agro-endüstriyel bir atıktır. Bu atığın tarımda kullanım olanakları kompostlama yoluyla daha önce yapılan çalışmalar ile ortaya koyulma çalışılmış ancak vermikompostlama yöntemiyle değerlendirilebilirliği araştırılmamıştır.

Geleneksel kompostlama yöntemiyle yapılan kompostlaştırmada yaklaşık % 55 oranında organik madde ile % 30 – 50 oranında azot kaybı meydana gelebilmektedir (Ketkar, 1993). Bunun yanında organik

materyallerden kompost eldesi sırasında solucanların kullanılmasının, muhtemelen diğer ayrıştırıcı popülasyon ile olan etkileşimi nedeniyle (Sampedro and Dominguez, 2008) olgun kompostun oluşum sürecini hızlandırdığı, daha homojen (Atiyeh et al., 2000), daha ince yapı ve geniş yüzey alanı içeren bir son ürün eldesi sağladığı (Shi-wei and Fu-zhen, 1991) saptanmıştır. Kompostlaşma süreçlerindeki farklılıklar nedeniyle, geçmiş yıllara oranla günümüzde, kompost ve vermikompost uygulamalarının toprak ve bitki temelinde meydana getirdiği farklı etkiler üzerine yapılan çalışmalarda artış gözlenmektedir (Ngo et al., 2011).

Tarım topraklarına vermikompost uygulamasının olumlu etkisinden bir tanesi toprakların biyolojik aktivitesinde gözlenebilir. Mikroorganizmalarca zengin bir materyal olan vermikompost uygulaması ile toprakların bitki besin elementlerin döngüsünde, bitki büyüme düzenleyicilerinin üretiminde, bitkilerin dirençlerinin artırılmasında veya hastalıklara ve nematod zararlarına karşı dayanıklılıklarının sağlanmasında önemli görevleri olan mikrobiyal popülasyonunda ve aktivitesinde artış sağlanacaktır (Arancon et al., 2006).

Bu çalışmanın amacı sırasıyla, tarım topraklarında doğrudan kullanımı tütün atığının tek başına ve belirli oranda at gübresi ile karıştırılması suretiyle *Eisenia fetida* solucanı vasıtasıyla vermikompost elde edilme olanaklarının araştırılması ve vermikompost oluşum sürecinin biyokimyasal özelliklerdeki değişimler açısından incelenmesidir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Çalışmada araştırma materyali olarak tütün atıkları (TA) ve bu atık ile %50 oranında karıştırılabilmek amacıyla at gübresi (AG) kullanılmıştır. Atıklara ait bazı özellikle Çizelge 1’de gösterilmektedir. TA İzmir ili Torbalı ilçesinde faaliyet gösteren bir sigara fabrikası işletme atığı olarak temin edilirken, AG ise İzmir Büyükşehir Belediyesi Fayton İşletmesi’nden alınmıştır.

Çizelge 1. Denemede kullanılan organik atıklara ait bazı kimyasal analiz sonuçları

Table 1. Some chemical analysis results of organic wastes used in the experiment

No	Atık	pH (1:10 su)	EC (dS m ⁻¹)	pH (1:10 su) Yıkanmış	EC (dS m ⁻¹) Yıkanmış	Org. Mad. (%)	C (%)	N (%)	C/N
1	At gübresi	8.63	43.00	7.46	1.20	30.50	17.69	1.93	9.17
2	Tütün atığı	5.67	66.00	4.63	3.03	30.00	17.40	2.60	6.69

Yataklık olarak saman içeren taze AG kullanımından önce 15 gün süre ile namlu şekilde aerobik ön

kompostlamaya tabi tutulmuştur. Bu süre içerisinde AG’nin içerebileceği hastalık, zararlı ve diğer

patojenlerin yüksek sıcaklıkta (65-70°C) eliminasyonu sağlanmıştır. Daha sonra öğütücü yardımıyla küçültülmüş ve vermicompostlama işlemine hazır hale getirilmiştir. Bitkisel bir atık olan tütün atığı ise ön deneme olarak ön kompostlama işlemine alınmış ve sıcaklığının bu süre içerisinde 25°C'yi geçmemesi üzerine vermicompostlama işlemine herhangi bir ön inkübasyon işlemine gerek duyulmadan başlanılmıştır.

Inkübasyon denemesi olarak planlanan bu çalışmada, vermicompost işlemini mikroorganizmalar ile birlikte gerçekleştirecek olan solucanlar olarak ticari bir işletmeden elde edilen *Eisenia fetida* türü solucanlar kullanılmıştır. Vermikompostlama ile ilgili olarak gerçekleştirilen bir çok çalışmada *Eisenia fetida* türü solucanlar üzerinde odaklanılmıştır (Reinecke et al., 1992; Tripathi and Bhardwaj, 2004). Dünya genelinde yaşama şansı bulan bu canlılar, bahçe atıkları ve hayvan dışkıları gibi bir çok organik atık üzerinde kolonize olabilirler (Gunadi et al., 2003).

Yöntem

Denemeye alınacak olan organik atıkların sahip olduğu yüksek tuz içerikleri, vermicompostlama işlemini gerçekleştirecek olan solucanların vücutları için zehir etkisi yapabilecek düzeyde yüksektir. Bu nedenle atıkların vermicompostlama işlemine alınmadan önce tuz içeriklerini düşürebilmek amacıyla yıkama işlemi yapılmıştır. Üçer kg AG ve TA sırasıyla toplam 60 ve 100 litre saf su ile yıkanmıştır. Solucanların yaşamasına olanak verecek tuz düzeylerine sahip AG, TA ve AG+TA (%50+%50) karışımı, saksılara konmak üzere tartılarak hazırlanmıştır. Yıkama işleminden sonra organik atıkların sahip oldukları tuz ve pH düzeyleri Çizelge 1'de verilmektedir.

Deneme de kullanılan TA ile bunun %50 + %50 oranında AG ile karışımına ait toplamda 3 organik atık 3 ayrı inkübasyon döneminde (1 ay, 2 ay ve 3 ay) saksılar içerisinde 5'er adet *Eisenia fetida* türü solucan ile birlikte 25°C'de inkübatör içerisinde vermicompostlama

işlemine tabi tutulmuştur. Kontrol grubu örnekleri ise solucanlar ilave edilmeden denemeye alınmışlardır.

Vermikompostlaştırma süresince 1. Ay, 2. Ay ve 3. Ay da alınan kompost örneklerinden solucanlar el ile toplama yoluyla hasat edilmiş ve bu örnekler 4°C'de muhafaza edilmişlerdir. Laboratuvarda hava kuru hale getirilen kompost ve vermicompost örnekleri önce 2 mm'lik elekten geçirildikten sonra bazı kimyasal analizlerde kullanılmak üzere hazır hale getirilmiştir. pH (Jackson, 1967), nem tayini (U.S. Salinity Lab. Staff, 1954), elektriksel geçirgenlik (EC) (DIN 11542, 1978), organik madde (Rauterberg und Kremkus, 1951), (Black, 1965), nikotin (TS ISO 2881, 1997), toplam azot (Bremmer, 1965), humifikasyon (Sapek and Sapek, 1999) ve humifikasyon indeksi (Gieguzyńska et al., 1998), CO₂-oluşumu (Isermeyer, 1952; Jäggy, 1976) analizleri yapılmıştır. Mikrobiyal biyokütle-C'u, Jenkinson (1976)' a göre fumige edildikten sonra çalkalanmıştır (Vance et al., 1987). Elde edilen süzükteki C, indikatör çözelti ile titre edilerek saptanmıştır (Kalembasa and Jenkinson, 1973; Vance et al., 1987). Hesaplamalarda kEC faktörü olarak 0.45 kullanılmıştır (Jenkinson and Ladd, 1981). Dehidrogenaz enzim aktivitesi (EC 1.1) (Thalman, 1968), alkalın fosfataz enzim aktivitesi (EC 3.1.3.1) (Tabatabai and Bremner, 1969; Eivazi and Tabatabai, 1977), proteaz enzim aktivitesi (EC 3.4) (Ladd and Butler, 1972) kolorimetrik olarak belirlenmiştir. Araştırmada elde edilen sonuçların değerlendirmelerinde Tarist istatistik paket programı kullanılmıştır (Açıkgöz ve ark., 2004).

ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Nikotin

Vermikompostlaştırılan organik atıkların nikotin düzeylerinde meydana gelen değişimler Çizelge 2'de gösterilmiştir.

Çizelge 2. Farklı vermicompostlaştırma aşamalarından alınan organik atıklara ait toplam alkaloid (nikotin) değerindeki değişimler
Table 2. Changes in alkaloid (nicotine) value of organic wastes taken at different vermicomposting stages

Uygulamalar	Toplam Alkaloid (mg kg ⁻¹ Nikotin)								
	30. Gün			60. Gün			90. Gün		
TA	630	a	A	520	a	AB	510	a	B
K(TA)	270	bc	A	280	b	A	210	bc	A
TA+AG	380	b	AB	410	a	A	300	b	B
K(TA+AG)	200	c	A	180	c	A	160	c	A

* Aynı harfle gösterilen ortalamalar Duncan testine göre ($\alpha=0.05$) birbirinden istatistiksel olarak farklı değildir.

** Küçük harfler uygulamalar, büyük harfler ise dönemler arasındaki karşılaştırmayı vermektedir.

Yapılan varyans analiz tablosuna göre uygulamaların, dönemlerin ve uygulamaxdönem interaksyonunun analiz edilen parametre üzerine etkisi % 1 düzeyinde önemli bulunmuştur. TA'nın tarımsal alanlarda kullanımını sınırlandıran özelliklerinin başında nikotin içeriği gelmektedir. Yapılan çalışmalarda TA kompostlanması sonucu nikotin içeriklerinin azaldığı ve hatta tamamen ayrışarak yok olduğu saptanmıştır. Brikşi et al. (2003); yüksek nikotin (2000 mg kg⁻¹ toplam katı madde) ve toplam organik karbon (TOK) içeriğine sahip tütün atıklarını aerobik koşullarda kompostlama yaptığında nikotin içeriğinin % 80 oranında, toplam katı madde miktarının ise % 50 oranında azaldığını saptamışlardır. Adediran et al. (2004) ise tütün atıklarını siğir gübresi, domuz gübresi, tavuk gübresi ve lahana atıkları ile karıştırarak nikotin içeriğini 12180 mg kg⁻¹'dan 4872 mg kg⁻¹'a, kompost haline getirerek ise 160 mg kg⁻¹'in altına düşürmüşlerdir. Kayıkçıoğlu and Okur (2011) ise 5 aylık bir sürede aerobik olarak kompostladıkları tütün atıklarındaki nikotin içeriğinin 5600 mg kg⁻¹ düzeyinden ayrışarak bertaraf olduğunu rapor etmişlerdir. Vermikompostlama işleminde ise aerobik kompostlamaya göre sıcaklığın daha düşük düzeylerde cereyan etmesi; gerek mikrobiyal degradasyonun gerekse kimyasal reaksiyonların hızını önemli ölçüde etkileyebilmektedir. Vermikompostlaşmanın sonuna doğru gidildikçe organik materyallerin nikotin içeriğinde istatistiksel olarak azalmalar görülmüştür. TA ve TA+AG uygulamalarında meydana gelen nikotin içeriği azalması sırasıyla % 20 ve % 27 düzeylerinde gerçekleşmiştir. Üç dönemin ortalama değerleri dikkate alındığında da TA uygulamasının diğer uygulamalara oranla % 5 önem düzeyinde istatistikî bir farklılık gösterdiği görülmektedir. Kontrol grupları vermikompostlara göre daha düşük nikotin içeriğine sahip olmaları, mikrobiyal degradasyonun bu uygulamalarda daha fazla olduğunu gösterebilmektedir.

Humifikasyon indeksi

Vermikompostlaştırılan organik atıkların humifikasyon indeksi düzeylerinde meydana gelen değişimler Çizelge 3'de gösterilmiştir. Yapılan varyans analiz tablosuna göre uygulamaların, dönemlerin ve uygulama x dönem interaksyonunun analiz edilen parametre üzerine etkisi % 1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Vermikompost örneklerinin 0.5M NaOH ile ekstraksiyonu sonucu ortaya çıkan ekstraktın 280, 472 ve 664 nm dalga boylarında ölçülmesiyle belirlenmiş (Sapek and Sapek, 1999) ve humifikasyon indeksi olarak değerlendirilmiştir (Gieguzyńska et al., 1998). Humifiye olmamış karbonun, NaOH ekstraktındaki humus karbonuna oranı olan humifikasyon indeksi, kompost olgunlaştıkça azalmaktadır (Saviozzi et al., 1988). Gieguzyńska et al. (1998)' e göre, humuslaşmış materyallerin humifikasyon indeksi değerleri genellikle 5 değerinden küçük olmaktadır. Aerobik kompostlamanın aksine ham materyalden tamamen humifiye olmuş bir kompost elde edilmesini amaçmayan vermikompostlama işleminde, humifikasyon indeksi değerinin de 5'in altına olmaması gereklidir. 90. günde analiz edilen örneklerde diğer dönem örneklerine göre daha yüksek humifikasyon indeksi değeri saptanmıştır. Son dönem örnekleri açısından uygulamalar arasında istatistikî açıdan bir fark görülmesi de kontrol grubunda bulunan tütün atıkları (KTA) en düşük humifikasyon indeksi değeri vermiştir. KTA uygulamasının kolay değerlendirilebilir organik maddesinin ayrışmaya daha uygun olduğu ve bu nedenle 90. gün sonunda ayrışmaya karşı dayanıklı humus benzeri kompost oluşumu görülmektedir. Üç dönemin ortalama değerleri dikkate alındığında ise TA ile K(TA) uygulamasının TA+AG ile K(TA+AG) uygulamalarına göre daha fazla humifiye olduğu ve bu nedenle humifikasyon indeksi değerinin daha düşük olduğu ve bu farklılığın %5 düzeyinde istatistikî açıdan önemli olduğu görülmektedir.

Çizelge 3. Farklı vermikompostlaştırma aşamalarından alınan organik atıklara ait humifikasyon indeksi değerindeki değişimler
Table 3. Changes in humification index value of organic wastes taken at different vermikomposting stages

Uygulamalar	Humifikasyon İndeksi					
	30. Gün		60. Gün		90. Gün	
TA	5.44	<i>c B</i>	5.93	<i>b B</i>	8.10	<i>a A</i>
K(TA)	6.26	<i>b A</i>	6.10	<i>b A</i>	6.40	<i>b A</i>
TA+AG	7.67	<i>a AB</i>	7.40	<i>a B</i>	8.36	<i>a A</i>
K(TA+AG)	7.91	<i>a A</i>	7.81	<i>a A</i>	8.10	<i>a A</i>

* Aynı harfle gösterilen ortalamalar Duncan testine göre ($\alpha = 0.05$) birbirinden istatistiksel olarak farklı değildir.

** Küçük harfler uygulamalar, büyük harfler ise dönemler arasındaki karşılaştırmayı vermektedir.

Mikrobiyal biyokütle karbonu (MBC)

Vermikompostlaştırılan organik atıkların mikrobiyal biyokütle karbonu düzeylerinde meydana gelen değişimler Çizelge 4'de gösterilmiştir. Yapılan varyans analiz tablosuna göre uygulamaların, dönemlerin ve uygulamaxdönem interaksyonunun analiz edilen parametre üzerine etkisi %1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Mikrobiyal biyomas, topraktaki C, N, S ve P gibi besin maddelerinin yarıyıllı bir deposu ve toprak organik maddesindeki dönüşümlerin bir göstergesidir (Jenkinson and Ladd, 1981). Toplam N, C ve P' un çok küçük bir miktarını temsil etmesine rağmen yapısındaki N ve diğer bitki besin maddelerinin hızlı bir şekilde mineralizasyonu nedeniyle bitkilerin beslenmesinde önemli katkısı olmaktadır. Vermikompost ve kontrol grubu örnekleri ikinci dönemde alınan örneklerinde en

yüksek MBC artışı saptanmıştır. Mikroorganizmaların mevcut atığı değerlendirmeleri sonucu kütlece artış elde etmeleri 60. Gün örneklerinde gerçekleşmiştir. Daha sonra kolay değerlendirilen bu besin kaynaklarının azalması sonucunda TA hariç diğer uygulamalarda istatistiki açıdan önemli bir düşüş gözlenmiştir. Ortalama değerler dikkate alındığında vermikompost uygulamalarının kontrol gruplarından daha yüksek MBC değeri göstermesi, mikrobiyal biyokütle-C miktarı üzerine vermikompostlamanın etkisinin olduğunu ortaya koymaktadır. Vermikompostlama aşamasında mikroorganizmaların değerlendirdiği besin kaynaklarının azalması durumunda, solucan salgı ve dışıkları da mikroorganizmalar için kolay değerlendirilebilir bir besin kaynağı oluşturmaktadır.

Çizelge 4 Farklı vermikompostlaştırma aşamalarından alınan organik atıklara ait mikrobiyal biyokütle karbonu (MBC) değerindeki değişimler
Table 4. Changes in microbial biomass carbon (MBC) value of organic wastes taken at different vermicomposting stages

Uygulamalar	Mikrobiyal Biyokütle Karbonu ($\mu\text{g C g}^{-1}$)					
	30. Gün		60. Gün		90. Gün	
TA	574.15	a B	2570.72	a A	3001.26	a A
K(TA)	374.45	a C	2915.19	a A	1730.17	b B
TA+AG	476.65	a C	2628.03	a A	1143.79	c B
K(TA+AG)	321.95	a C	2087.23	ab A	1017.17	c B

* Aynı harfle gösterilen ortalamalar Duncan testine göre ($\alpha=0.05$) birbirinden istatistiksel olarak farklı değildir.

** Küçük harfler uygulamalar, büyük harfler ise dönemler arasındaki karşılaştırmayı vermektedir.

CO₂-oluşumu

Vermikompostlaştırılan organik atıkların CO₂-oluşumu düzeylerinde meydana gelen değişimler Çizelge 5'de gösterilmiştir. Yapılan varyans analiz tablosuna göre uygulamaların, dönemlerin ve uygulamaxdönem interaksyonunun analiz edilen parametre üzerine etkisi %1 düzeyinde önemli

bulunmuştur. Topraklardaki organik C'nin heterotrofik mikroorganizmalar tarafından C ve enerji kaynağı olarak kullanılması sonucu son ürün olarak ortaya çıkan CO₂ miktarı, topraktaki organik karbonun mineralizasyonu hakkında sağlıklı ve önemli bilgiler vermektedir. Toprak solunumu aynı zamanda CO₂ oluşumu olarak da bilinmektedir.

Çizelge 5. Farklı vermikompostlaştırma aşamalarından alınan organik atıklara ait CO₂-oluşumu değerindeki değişimler
Table 5. Changes in CO₂-production value of organic wastes taken at different vermicomposting stages

Uygulamalar	CO ₂ -oluşumu ($\text{mg CO}_2 \text{g}^{-1} \text{d}^{-1}$)					
	30. Gün		60. Gün		90. Gün	
TA	16.23	a A	16.71	a A	12.23	a B
K(TA)	7.23	b B	12.84	ab A	15.78	a A
TA+AG	8.73	b AB	10.03	c A	6.50	b B
K(TA+AG)	12.19	a A	11.41	bc A	5.98	b B

* Aynı harfle gösterilen ortalamalar Duncan testine göre ($\alpha=0.05$) birbirinden istatistiksel olarak farklı değildir.

** Küçük harfler uygulamalar, büyük harfler ise dönemler arasındaki karşılaştırmayı vermektedir.

Vermikompost uygulamalarında CO₂-oluşumu değeri istatistiksel olarak önemli bir düzeyde azalma göstermiştir. TA uygulaması karışım uygulamalarına göre hem vermikompost uygulamasında hem de

kontrol uygulamasında daha yüksek CO₂-oluşumu göstermesi, bu atıkların mikroorganizmalar tarafından değerlendirilebilen daha fazla C kaynağı içerdiği düşüncesini ortaya çıkarmaktadır. Kompost oluşum

sürecinde mikroorganizmalar organik maddeyi C-kaynağı olarak kullanırlar. Mikroorganizmaların gelişim ve aktiviteleri sonucu sıcaklık, CO₂, H₂O buharı ve humus oluşur (Epstein, 1997). CO₂ üretiminde bir değişikliğin olmadığı aşama, artık kompostun stabil bir hale geldiğini gösterir. US Composting Council'e göre <1 mg g⁻¹ gün⁻¹ CO₂-C oluşum değerine sahip bir kompost stabil bir kompost olarak kabul edilmektedir (Thompson et al., 2003). Denemenin 3. ayında saptanan CO₂-oluşumu miktarları bu değerle kıyaslandığında tüm kompostların mikrobiyal açıdan stabil olmadığını bir göstergesi olsa bile, vermikompostlaşma sürecinden sonra gerçekleştirilecek dinlenme döneminde bu stabilizasyonun gerçekleşebileceği düşünülebilir. Ortalama değerler dikkate alındığında ise vermikompostlamanın tütün atığının CO₂-oluşumunu arttırdığı, TA+AG vermikompostu üzerine ise herhangi bir etkisinin olmadığı anlaşılmaktadır. Dominguez and Gomez-Brandon (2013) yaptıkları çalışmada arıtma çamuru ve ahır gübresinde ortaya çıkan CO₂-oluşumu üzerine vermikompostlamanın bir etkisinin olmadığını saptarlarken, Pramanik et al., (2009) siğir gübresi ve çim atıklarından yapılan vermikompostlama sonucu mikrobiyal solunumun arttığını belirlemişlerdir.

Alkalin fosfataz aktivitesi (ALKPA)

Vermikompostlaştırılan organik atıkların alkalin fosfataz enzim aktivitesi düzeylerinde meydana gelen değişimler Çizelge 6'da gösterilmiştir. Yapılan varyans analiz tablosuna göre uygulamaların, dönemlerin ve uygulama x dönem interaksiyonunun analiz edilen parametre üzerine etkisi % 1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Tüm kompost örneklerinde belirlenen ALKPA değerleri 3532.14 – 15924.43 µg p-NP g⁻¹ h⁻¹ arasında değişmiştir. ALKPA aktivitesi tüm uygulamalarda 60. gün örneklerinde en yüksek

düzeylerinde analiz edilirken, 90. gün örneklerinde uygulamalar arasında istatistiksel olarak bir fark kalmamıştır. Fosfataz enzimleri, organik fosfor bileşiklerini orto-fosfata hidrolize ederek bitkilerin yararlanabileceği forma dönüştürürler (Speir and Ross, 1978). Fosfatazların toprakta iki tipi bulunmaktadır: Optimum pH' sı 9 – 11 olan alkalin fosfatazlar ve 4 – 6 pH arasında optimum aktivite gösteren asit fosfatazlar (Stevenson and Cole, 1999). Sadece mikroorganizmalar tarafından oluşturulması nedeniyle alkalin fosfatazlar kompost oluşumu ile daha fazla ilişkisi olan enzimlerdir (Cayuela et al., 2008). Farklı kompost materyallerinde bu enzimin saptanan miktarları ve değişimleri de farklı olmuştur. Tiquia (2002) hayvan gübresinin kompostlanması sırasında bu enzimin miktarlarının kademeli bir şekilde arttığını ve sürecin sonunda ise stabil bir hale geldiğini saptamışlardır. Diğer yandan Ros et al. (2006); farklı domuz gübresi yığınlarında 3 haftaya kadar en yüksek değere ulaşan bu enzim miktarının daha sonra azalarak süreci tamamladığını belirtmişlerdir. Araştırma sonuçlarına benzer şekilde, Mondini et al. (2004) da; çim ve pamuk artıkları ile yürüttükleri çalışmalarında ALKPA' ın kompostlama başlangıcından 50 – 90 gün sonra önemli bir artış göstermesini takiben hafif bir şekilde düşüp stabil hale geldiğini saptamışlardır. Bu araştırmacılar, inceledikleri enzimler arasında ALKPA ve ArSA (aril sülfataz) enzimlerinin en güvenilir enzimler olduğunu ileri sürmüşlerdir. Üç dönemin ortalama değerleri dikkate alındığında da K(TA) uygulamasının diğer uygulamalara oranla %5 önem düzeyinde istatistikî bir farklılık gösterdiği görülmektedir. En yüksek alkalin fosfataz aktivitesi K(TA) kompostunda belirlenirken bunu TA ve K(TA+AG) uygulamaları izlemiştir. En düşük ALKPA ise TA+AG vermikompostunda ortaya çıkmıştır.

Çizelge 6. Farklı vermikompostlaştırma aşamalarından alınan organik atıklara ait alkalin fosfataz (ALKPA) enzim aktivitesinin değişimi
Table 6. Changes in alkaline phosphatase (ALKPA) enzyme activity of organic wastes taken at different vermikomposting stages

Uygulamalar	Alkalin Fosfataz Aktivitesi (µg p-NP g ⁻¹ h ⁻¹)					
	30. Gün		60. Gün		90. Gün	
TA	4554.12	ab B	9980.27	b A	4513.46	a B
K(TA)	3735.47	bc B	15924.43	a A	4592.81	a B
TA+AG	3532.14	c C	7748.99	c A	4651.83	a B
K(TA+AG)	5197.05	a B	7378.33	c A	5141.11	a B

* Aynı harfle gösterilen ortalamalar Duncan testine göre (α=0.05) birbirinden istatistiksel olarak farklı değildir.

** Küçük harfler uygulamalar, büyük harfler ise dönemler arasındaki karşılaştırmayı vermektedir.

Proteaz aktivitesi (PRO)

Vermikompostlaştırılan organik atıkların Proteaz aktivitesi düzeylerinde meydana gelen değişimler Çizelge 7'de gösterilmiştir. Yapılan varyans analiz tablosuna göre uygulamaların, dönemlerin ve

uygulama x dönem interaksiyonunun analiz edilen parametre üzerine etkisi %1 düzeyinde önemli bulunmuştur. TA uygulamaları, kompostlamanın 60. gününde en yüksek aktiviteye sahip olduktan sonra ilerleyen zaman ile birlikte düşüşe geçmişlerdir. Bu

karşılık AG uygulamaları ise en yüksek aktivitelerini 30. günde göstermişler ve daha sonra istatistiksel olarakda önemli düzeyde aktivitelerin azalmalar saptanmıştır. ALKPA aktivitesinde benzer şekilde tüm kompostlarda yaklaşık olarak 90. günde stabil bir aktivite gözlenmiştir. Organik maddedeki proteinin hidrolizini gerçekleştiren proteaz enzimi, bir çok bakteri ve fungus hücrelerinde bulunan bir enzimdir. Hücre dışına salgılanan bir enzim olan (eksoenzim) proteaz, toprak kolloidleri üzerine adsorbe olabilmekte veya toprak organik maddesine kovalent bağlarla bağlanabilmektedir (Schinner et al., 1995).

Çeşitli organik maddeleri kompostlaştıran Goyal et al. (2005)'nin proteaz aktivitesinin 60. güne kadar yükseldikten sonra düştüğünü tespit ettikleri araştırmanın sonuçları, bu çalışma sonuçları ile paralellik göstermektedir. Üç dönemin ortalama değerleri dikkate alındığında da at gübresi karışım uygulamalarının tütün atığı uygulamalara oranla %5 önem düzeyinde istatistikî bir farklılık gösterdiği görülmektedir. En yüksek PRO aktivitesi K(TA+AG) kompostunda belirlenirken bunu K(TA) uygulaması izlemiştir. En düşük PRO ise TA vermikompostunda ortaya çıkmıştır.

Çizelge 7. Farklı vermikompostlaştırma aşamalarından alınan organik atıklara ait proteaz (PRO) enzim aktivitesinin değişimi
Table 7. Changes in protease (PRO) enzyme activity of organic wastes taken at different vermicomposting stages

Uygulamalar	Proteaz Aktivitesi ($\mu\text{g Tyrosin g}^{-1} 2\text{h}^{-1}$)								
	30. Gün			60. Gün			90. Gün		
TA	2523.20	c	B	3703.92	b	A	3321.84	a	A
K(TA)	2432.32	c	C	5533.14	a	A	3406.57	a	B
TA+AG	4753.71	b	A	2992.53	b	B	2849.73	a	B
K(TA+AG)	8406.94	a	A	2042.63	c	B	2257.28	b	B

* Aynı harfle gösterilen ortalamalar Duncan testine göre ($\alpha=0.05$) birbirinden istatistiksel olarak farklı değildir.

** Küçük harfler uygulamalar, büyük harfler ise dönemler arasındaki karşılaştırmayı vermektedir.

Dehidrojenaz aktivitesi (DHG)

Vermikompostlaştırılan organik atıkların dehidrojenaz aktivitesi düzeylerinde meydana gelen değişimler Çizelge 8'de gösterilmiştir. Yapılan varyans analiz tablosuna göre uygulamaların, dönemlerin ve uygulamaxdönem interaksyonunun analiz edilen parametre üzerine etkisi %1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Tüm kompost örneklerinde belirlenen DHG aktivite değerleri 1827.24 – 11237.18 $\mu\text{g TPF g}^{-1}$ arasında değişmiştir. DHG aktivitesi TA kompostlarında daha yüksek değerlere sahip olurken, en düşük DHG aktivitesi TA+AG kompostunda belirlenmiştir. Tüm kompost örneklerinde 30. günden sonra DHG aktivitesinde bir artış gözlenmiştir. DHG aktivitesi, organik maddenin oksidasyonu sırasında ATP formundaki enerjiyi üreten metabolik reaksiyonları

gerçekleştiren bir grup enzim ile ilişkili bir enzimdir. Bu işlevi nedeni ile özellikle kompost oluşum sürecinde önemli bir enzimdir (Barrena et al., 2008). Tiquia (2005) domuz gübresinin, Barrena et al. (2008) ise kentsel katı atıkların kompostlanması sırasında ölçtükleri DHG aktivitesini, bu sonuçlara benzer şekilde sürecin ilk günlerinde yüksek daha sonra ise düşük düzeylerde saptamışlardır. Üç dönemin ortalama değerleri dikkate alındığında TA uygulamalarının AG ile karışımlarına oranla daha yüksek DHG aktivitesi göstermişlerdir. Kontrol grupları, vermikompost uygulamalarından daha yüksek DHG aktivitesi sağlamış olmaları, vermikompostlaştırma uygulamasının bu enzim aktivitesi üzerine herhangi bir olumlu etkisinin olmadığı şeklinde yorumlanabilir.

Çizelge 8. Farklı vermikompostlaştırma aşamalarından alınan organik atıklara ait dehidrojenaz (DHG) enzim aktivitesinin değişimi
Table 8. Changes in dehydrogenase (DHG) enzyme activity of organic wastes taken at different vermicomposting stages

Uygulamalar	Dehidrojenaz Aktivitesi ($\mu\text{g TPF g}^{-1}$)								
	30. Gün			60. Gün			90. Gün		
TA	1827.24	b	C	4888.17	b	B	7206.24	a	A
K(TA)	1359.31	b	C	11237.18	a	A	3986.40	b	B
TA+AG	2242.77	ab	A	2342.73	c	A	2882.79	bc	A
K(TA+AG)	3160.79	a	A	3660.93	b	A	2692.47	c	A

* Aynı harfle gösterilen ortalamalar Duncan testine göre ($\alpha=0.05$) birbirinden istatistiksel olarak farklı değildir.

** Küçük harfler uygulamalar, büyük harfler ise dönemler arasındaki karşılaştırmayı vermektedir.

SONUÇ

Organik atıkların sürdürülebilir bir şekilde tekrar doğal döngüye dahil edilmesinde en başarılı yöntemlerden birisinin kompostlaştırma olduğu bir gerçektir. Bu aşamada organik atıkların veya hayvan gübrelereinin aerobik kompostlamaya mı tabi tutulmaları gerektiği ya da vermikompostlama mı yapılması gerektiği yapılacak ön denemelerle ortaya koyulmalıdır. Vermikompostların geleneksel kompostlamaya göre belirgin üstünlükleri olsa bile her atık için uygun bir yol olmayabilir. Yapılan bu çalışmada Bölgemizde atık konumunda bulunan tütün atığının tek başına ve at gübresi ile karıştırılması suretiyle vermikompostlaştırılma aşaması ortaya koyulmaya çalışılmıştır. Vermikompostlaştırılma süreci içerisinde

analiz edilen mikrobiyal parametreler açısından vermikompostlaştırmanın olumlu bir etkisi görülmemiştir. Bunun yanında 3 aylık süre sonunda solucan sayısında herhangi bir artış olmaması ve hatta karışım kompostlarında tüm solucanların ölmesi nedeniyle de her iki organik materyalden vermikompost oluşturulması için daha uygun karışım oranlarının saptanması gerektiği; ayrıca sadece aerobik kompostlamanın bu organik atıklarından stabil bir kompost eldesi için yeterli olduğu söylenebilir. Bununla beraber bundan sonraki çalışmalarda; bu organik materyallerin solucanların çoğalmasını sağlayabilecek başka organik atıklarla karıştırılması durumunda sürecin nasıl işleyeceği ve elde edilen materyalin toprak verimliliği üzerine etkileri araştırılabilir.

KAYNAKLAR

- Açıkğöz, N., İlker, E. ve Gökçöl, A., 2004. TARIST- Biyolojik Araştırmaların Bilgisayarda Değerlendirmeleri. ISBN: 973-483-607-8. EÜ Tohum Teknolojisi Uygulama ve Araştırma Merkezi, Yayın No:2. Bornova-İzmir.
- Adediran, J.A., Mkeni, P.N.S., Mafu, N.C. ve Muyima, N.Y.O., 2004. Changes in chemical properties and temperature during the composting of tobacco waste with other organic materials and effects of resulting compost on lettuce (*Lactuca sativa* L.) and spinach (*Spinacea oleracea* L.). Biological Agriculture and Horticulture. 22: 101 – 119.
- Arancon, N.Q., Edwards, C.A. and Bierman, P., 2006, Influences of vermikomposts on field strawberries: Part 2. Effects on soil microbiological and chemical properties. Bioresource Technology, 97: 831 – 840.
- Atiyeh, R.M., Dominguez, J., Subler, S. and Edwards, C.A., 2000, Changes in biochemical properties of cow manure during processing by earthworms (*Eisenia andrei* Bouche) and the effects on seedling growth. Pedobiologia, 44: 709 – 724.
- Barrena, R., Vázquez, F. and Sánchez, A., 2008. Dehydrogenase activity as a method for monitoring the composting process. Bioresource Technology. 99 (4): 905 – 908.
- Black, C.A. 1965. Methods of Soil Analysis. Part I. Amer. Soc. of Agro., inc., Publisher Madison, Wisconsin, USA.
- Bremner, J.M., 1965. "Total Nitrojen", in C.A. Black (Ed.) Methods of Soil Analysis, Part 2, American Society of Agronomy Inc., Madison, Wisconsin-USA. pp. 1149 – 1178.
- Briksı, F., Horgas, N., Vuković, M. and Gomzi, Z., 2003. Aerobic composting of tobacco industry solid waste—simulation of the process. Clean Technologies and Environmental Policy. 5 (3-4): 295 – 301.
- Cayuela, M.L., Mondini, C., Sánchez-Monedero, M.A. and Roig, A., 2008. Chemical properties and hydrolytic enzyme activities for the characterisation of two-phase olive mill wastes composting. Bioresource Technology. 99: 4255 – 4262.
- DIN 11542, 1978. Torf für Gartenbau und Landwirtschaft.
- Domínguez, J., Aira, M. and Gómez-Brandón, M., , 2010, Vermikomposting: earthworms enhance the work of microbes. pp. 93 – 114. Microbes at Work: From Wastes to Resources, Insam, H., Franke-Whittle, I. and Goberna, M., (Eds.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 329 p.
- Dominguez, J. and Gomez-Brandon, M., 2013. The influence of earthworms on nutrient dynamics during the process of vermikomposting. Waste Management & Research. 31(8): 859-868.
- Eivazi, F. and Tabatabai, M.A., 1977. Phosphatases in soils. Soil Biology and Biochemistry. 9: 167 – 172.
- Epstein, E., 1997. The Science of Composting. Thecnomic Publishing Company, Inc. Lancaster, Basel.
- Gieguzyńska, E., Kocmit, A, Golezbiewska, D., 1998. Studies on humic acids in eroded soils of Western Pomerania. In: Zaujec, A., Bielek, P., Gonet, S.S. (Eds.), Humic Substances in Ecosystems. Slovak Agricultural University, Nitra, pp. 35–41.
- Gómez-Brandón, M., Lores, M. and Domínguez, J., 2013, Changes in chemical and microbiological properties of rabbit manure in a continuous-feeding vermikomposting system. Bioresource Technology, 128: 310 – 316.
- Goyal, S., Dhull, S.K. and Kapoor, K.K., 2005. Chemical and biological changes during composting of different organic wastes and assessment of compost maturity. Bioresource Technology. 96: 1584 – 1591.
- Isermeyer, H., 1952. Eine Einfache Methode zur Bestimmung der Karbonate im Boden, Z. Pflanzenern. Düng., Bodenkd.
- Jackson, M.L., 1967. Soil Chemical Analysis, Prentice Hall of India Private Limited, New Delhi.
- Jäggi, W., 1976. Die Bestimmung der CO₂-Biudling als Maß der bonbodenbiologischen Aktivität. Schwiez Landwirtschaft Forchung. 15: 371 – 380.
- Jenkinson, D.S. and Ladd, J.N., 1981. Microbial biomass in soil: Measurement and turnover. In Soil Biochemistry, Vol. 5. E.A. Paul and J.N. Ladd (eds.). Marcel Dekker, New York, pp. 415 – 471.
- Jenkinson, D.S., 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. IV. The decomposition of fumigated organisms in soil. Soil Biology and Biochemistry 8: 203 – 208.
- Kalembasa, S.J. and Jenkinson, D.S., 1973. A comparative study of titrimetric and gravimetric methods for the determination of organic carbon in soil. Journal of the Science of Food and Agriculture. 24: 1085 – 1090.
- Kayıkçıoğlu, H.H. and Okur, N., 2011. Evolution of enzyme activities during composting of tobacco waste. Waste Management & Research, 29(11): 1124–1133.

- Ketkar, C.M., 1993, Use of biogas slurry in agriculture. Biogas Slurry Utilization. Consortium on Rural Technology, New Delhi, pp. 24–26.
- Ladd, J.N. and Butler, J.H.A., 1972. Short-term assay of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil Biology and Biochemistry*, 4: 19 – 39.
- Mondini, C., Fornasier, F. and Sinicco, T., 2004. Enzymatic activity as a parameter for the characterization of the composting process. *Soil Biology & Biochemistry* 36: 1587 – 1594.
- Ngo, P.-T., Rumpel, C., Dignac, M.-F., Billou, D., Tran Duc, T. and Jouquet, P., 2011, Transformation of buffalo manure by composting or vermicomposting to rehabilitate degraded tropical soils. *Ecological Engineering*, 37: 269 – 276.
- Pramanik, P., Ghosh, G.K. and Banik, P., 2009. Effect of microbial inoculation during vermicomposting of different organic substrates on microbial status and quantification and documentation of acid phosphatase. *Waste Management*. 29(2):574-578.
- Pramanik, P., Ghosh, G.K., Ghosal, P.K. and Banik, P., 2007, Changes in organic – C, N, P and K and enzyme activities in vermicompost of biodegradable organic wastes under liming and microbial inoculants. *Bioresource Technology*, 98: 2485 – 2494.
- Rauterberg, E. und Kremkus, F., 1951. Bestimmung von Gesamt Humus und Alkalischen Humusstoffen in Boden. *Z. für Pflanzenernaehrung, Düngung und Bodenkunde*, Verlag Chemie, GmbH, Weinheim.
- Ros, M., Pascual, J.A., Garcia, C., Hernandez, M.T. and Insam, H., 2006. Hydrolase activity, microbial biomass and community structure in a long-term compost amended field experiment. *Soil Biology and Biochemistry*. 38: 3443 – 3452.
- Sampedro, L. and Domínguez, J., 2008, Stable isotope natural abundances (¹³C and ¹⁵N) of the earthworm *Eisenia fetida* and other soil fauna living in two different vermicomposting environments. *Applied Soil Ecology*, 38: 91 – 99.
- Sapek, B., Sapek, A., 1999. Determination of optical properties in weakly humified samples. In: Dziadowiec, H., Gonet, S.S. (Eds.), R. Zbytniewski, B. Buszewski / *Bioresource Technology* 96 (2005) 471–478 477 The Study of Soil Organic Matter—the Methodical Guide. Warszawa, Poland (in polish).
- Saviozzi, A., Levi-Minzi, R. and Riffaldi, R., 1988. Maturity evaluation of organic wastes, *Biocycle*. 29 (3): 54 – 56.
- Schinner, F., Ohlinger, R., Kandeler, E. and Margesin, R., 1995. *Methods in Soil Biology*. Berlin: Springer- Verlag, p. 189 – 191.
- Shi-wei, Z. and Fu-zhen, H., 1991, The nitrogen uptake efficiency from ¹⁵N labeled chemical fertilizer in the presence of earthworm manure (cast). *Advances in Management and Conservation of Soil Fauna*, Vereresh, G.K., Rajagopal, D. and Viraktamath, C.A., (Eds.). Oxford and IBH Publishing, New Delhi, India, pp. 539 – 542.
- Speir, T.W. and Ross, D.J., 1978. Soil phosphatase and sulphatase. In: Burns, R.G. (Ed.), *Soil Enzymes*. Academic Press, New York. pp. 197 – 250.
- Stevenson, F.J. and Cole, M.A., 1999. *Cycles of Soil*. John Wiley & Sons, Inc. ISBN: 0-471-32071-4. pp. 318.
- Tabatabai, M.A. and Bremner, J.M., 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology & Biochemistry*, 1: 301–307.
- Thalman, A., 1968. Zur Methodik der Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität im Boden mittels Trinitrophenyltetrazoliumchlorid (TTC). *Landwirtschaftliche Forschung Z & 249 – 258*.
- Thompson, W., Legee, P., Millner, P. and Watson, M.E., 2003. Test methods for the examination of composts and composting. The US Composting Council, US Government Printing Office. <http://tmecc.org/tmecc/index.html>.
- Tiquia, S.M., 2002. Evolution of enzyme activities during manure composting. *Journal of Applied Microbiology*. 92: 764 – 775.
- Tiquia, S.M., 2005. Microbiological parameters as indicators of compost maturity. *Journal of Applied Microbiology*. 99: 816 – 828.
- Tripathi, G. and Bhardwaj, P., 2004. Comparative studies on biomass production, life cycles and composting efficiency of *Eisenia fetida* (Savigny) and *Lampito mauritii* (Kinberg). *Bioresource Technology*, 92:275-283.
- TS ISO, 1997. Tütün ve Tütün Mamülleri-Alkoloit Tayini-Spektrometrik Metot. TS No: 2881.
- U.S. Salinity Laboratory Staff., 1954. *Diagnosis and Improvement of Saline and Alkali Soils*. Agri. Handbook No: 60, USDA.
- Vance, E.D., Brookes, P.C. and Jenkinson, D.S. 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*. 19: 703 – 707.