



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "تحقیقات کاربردی اکوفیزیولوژی گیاهی"

دوره دهم، شماره ۱۸، بهار و تابستان ۱۴۰۴

<http://arpe.gonbad.ac.ir>

بررسی تأثیر کاربرد اسیدآمین و شکر بر فعالیت و تکثیر کرم خاکی ایزینیا فوئیدا (*Eisenia fetida*)

عباس بیابانی^{۱*}، عبدالقادر پیروزه^۲، محمدرضا جعفرزاده^۳، رضا رضوانی^۴

^۱استاد گروه تولیدات گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس

^۲دانشجوی کارشناسی ارشد اکولوژی، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس

^۳دستیار پژوهشی، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس

^۴دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۲۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۲۹

چکیده

مقدمه: کرم‌های خاکی از مهم‌ترین اجزای فون خاک به شمار می‌روند و نقش اساسی در بهبود خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک دارند. برخی گونه‌های کرم خاکی توانایی بالایی در تجزیه بقایای آلی و تبدیل آن‌ها به ورمی‌کمپوست دارند و از این رو در مدیریت پسماندهای آلی و تولید کودهای زیستی مورد توجه قرار گرفته‌اند. موفقیت در تولید ورمی‌کمپوست و فرآورده‌های جانبی آن تا حد زیادی به رشد، بقا و توان تولیدمثلی کرم‌های خاکی وابسته است. بنابراین، شناسایی و بهینه‌سازی منابع غذایی مکمل به منظور افزایش سرعت رشد، تکثیر و تولید بیوماس کرم‌های خاکی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر غلظت‌های مختلف شکر و اسیدآمین بر رشد، تکثیر و تولید بیوماس کرم خاکی و همچنین میزان تولید ورمی‌کمپوست انجام شد.

مواد و روش‌ها: این آزمایش در سال ۱۳۹۷ در دانشگاه گنبدکاووس به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. فاکتور اول شامل غلظت شکر در چهار سطح ۵، ۱۰ و ۲۰ گرم در لیتر و فاکتور دوم شامل غلظت اسیدآمین در چهار سطح صفر، ۱، ۲ و ۳ گرم در لیتر بود. محلول‌های تیماری تهیه و به صورت هفتگی، هر بار به میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر به بسترهای پرورش کرم اضافه شدند. در طول دوره آزمایش، دما و رطوبت بسترها به طور روزانه کنترل و تنظیم گردید. پس از حدود ۱۰۰ روز و پایان فرآیند تولید ورمی‌کمپوست، کرم‌های خاکی از بستر جدا شدند و صفات مختلف شامل تعداد و وزن کرم‌های بالغ، جوان و نوزاد، تعداد و وزن کوکون‌ها، تعداد و وزن نهایی کرم‌ها و همچنین وزن ورمی‌کمپوست تولیدی اندازه‌گیری و ثبت شد.

نتایج: نتایج نشان داد که تیمارهای مختلف شکر و اسیدآمین اثر معنی‌داری بر تعداد و وزن کرم‌های بالغ، جوان و نوزاد، تعداد و وزن کوکون‌ها و همچنین تعداد و وزن نهایی کرم‌ها داشتند. با این حال، اثر شکر و اثر متقابل شکر و اسیدآمین بر وزن ورمی‌کمپوست تولیدی از نظر آماری معنی‌دار نبود. بیشترین تعداد و وزن کرم بالغ در تیمار A₄S₁ به ترتیب با میانگین ۲۲۷ عدد و ۳۸/۹۰ گرم مشاهده شد، در حالی که کمترین مقدار مربوط به تیمار شاهد (A₁S₁) با ۲ عدد کرم و ۶۰/۰ گرم بود. بیشترین تعداد و وزن کرم جوان در تیمار

*نویسنده مسئول: abs346@yahoo.com

A₂S₃ به ترتیب برابر با ۲۲۳ عدد و ۱۶/۶۲ گرم و کمترین مقدار در تیمار شاهد مشاهده شد. همچنین بیشترین تعداد کرم نوزاد و تعداد نهایی کرم‌ها در تیمار A₂S₃ به ترتیب ۹۰۳۸ و ۹۳۳۰ عدد بود. بیشترین وزن کرم نوزاد در تیمار A₃S₃ با ۲۳/۴۲ گرم و بیشترین وزن نهایی کرم‌ها در تیمار A₄S₁ با ۵۲/۱۷۶ گرم ثبت شد. تعداد و وزن کوکون‌ها نیز تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت، به طوری که بیشترین تعداد و وزن کوکون در تیمار A₄S₁ به ترتیب ۳۰۱۷ عدد و ۱۴/۲۰ گرم و کمترین مقدار در تیمار A₁S₂ مشاهده شد. بیشترین وزن ورمی کمپوست تولیدی نیز در تیمار A₂S₂ معادل ۷۸۶۵ گرم و کمترین مقدار در تیمار A₁S₃ برابر ۶۵۰۵ گرم به دست آمد. این نتایج نشان می‌دهد که افزودن منابع کربنی و نیتروژنی قابل دسترس، شرایط مطلوبی برای رشد و تولیدمثل کرم‌های خاکی فراهم کرده و موجب افزایش فعالیت زیستی آن‌ها می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی: بر اساس نتایج این پژوهش، استفاده از شکر و اسیدآمین به عنوان مکمل‌های غذایی در بستر پرورش کرم خاکی می‌تواند به طور مؤثری موجب افزایش رشد، تولید بیوماس، تعداد کوکون و تکثیر کرم‌ها شود. به طور کلی، سرعت رشد و تولیدمثل کرم‌های خاکی با کیفیت و کمیت مواد غذایی در دسترس رابطه مستقیم دارد و تیمارهای حاوی شکر و اسیدآمین نسبت به تیمار شاهد عملکرد بهتری نشان دادند. بنابراین، استفاده از این ترکیبات می‌تواند به عنوان راهکاری مناسب برای افزایش راندمان تولید ورمی کمپوست و توسعه سامانه‌های پرورش کرم خاکی مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: بازیافت پسماندهای آلی، زیست‌توده، کلیتلوم، کوکون

مقدمه

خداوند بیش از سه هزار نوع کرم خاکی آفریده است که اندازه آنها از ۰.۶ تا ۳.۳ سانتی‌متر متغیر است. کرم‌های خاکی از اجزای بسیار مهم در پایداری حاصلخیزی خاک و چرخه عناصر غذایی به شمار می‌آیند (Hashemi-Majd et al., 2003). داروین (Darwin, 1837) برای نخستین بار اثر برخی از کرم‌های خاکی را در حاصلخیزی خاک اعلام کرد. بعضی از گونه‌های کرم‌های خاکی توانایی فوق‌العاده‌ای برای تجزیه ضایعات آلی و تبدیل آنها به ورمی کمپوست دارند و همچنین باعث بهبود خصوصیات خاک می‌شوند. یکی از مهم‌ترین گونه‌های کرم خاکی که در سطح جهان برای تولید ورمی کمپوست استفاده می‌شود، کرم خاکی ایزینیا فوئیدا (*Eisenia foetida*) می‌باشد که به رنگ قهوه‌ای مایل به قرمز و کوچک‌تر از کرم‌های خاکی معمولی است (Alikhani, 2006). این کرم با تولید مثل هر هفته، با ویژگی داشتن ۷۰ درصد پروتئین در مقایسه با ۲۲ درصد پروتئین گوشت قرمز، یعنی بیش از سه برابر، و همچنین دارا بودن امگا ۳، یکی از موجودات ارزشمند از لحاظ مواد غذایی به شمار می‌آید (Abdoli and Roshani, 2007). از این کرم‌ها علاوه بر استفاده به عنوان یک ابزار بیولوژیکی در تولید ورمی کمپوست، می‌توان به عنوان مکمل غذایی در تغذیه دام، طیور، آبزیان و همچنین انسان‌ها استفاده کرد. جنبه‌های مختلف فعالیت کرم خاکی در طبیعت و فواید ناشی از پرورش توده‌ای در تولید ورمی کمپوست، حاکی از نیاز به توسعه پرورش و تکثیر کرم خاکی به میزان زیاد است که به طور کلی به این عمل پرورش کرم اطلاق می‌شود. پرورش کرم روشی علمی در عمل‌آوری کرم‌های خاکی تحت شرایط کنترل‌شده است و هدف از این کار ایجاد شرایط بهبود یافته به شکل مصنوعی می‌باشد تا کرم‌های خاکی بتوانند در کمترین زمان و فضای ممکن به چند برابر زیست‌توده خود افزایش یابند (Alikhani and Savaqebi, 2006).

مطالعات زیادی روی تولید ورمی کمپوست از ضایعات حیوانی، لجن فاضلاب، ضایعات صنعتی و کشاورزی وجود دارد، ولی قدم اول برای تبدیل ضایعات آلی به کودهای بیولوژیکی ارزشمند، شناخت فاکتورهای محیطی متداول برای رشد و تولید مثل کرم‌های خاکی است. در واقع پتانسیل کرم‌های خاکی به عنوان یک ابزار بیولوژیکی برای تولید ورمی کمپوست باید روز

به روز تقویت شود. فعالیت کرم‌های خاکی به رطوبت، دما و دیگر فاکتورهای محیطی، به خصوص کیفیت و نوع تغذیه وابسته است. تحقیقات گسترده‌ای به منظور شناخت و بهینه‌سازی فاکتورهای مؤثر در رشد و نمو کرم‌های خاکی انجام شده است و فاکتورهای زیادی وجود دارد که می‌تواند در افزایش بیومس کرم‌های خاکی و فعالیت آنها تأثیرگذار باشد (Dominguez et al., 2000). افزودن ملاس چغندر قند که حاوی قند و پروتئین می‌باشد، مورد استقبال کرم‌های نوزاد قرار گرفته و جمعیت آنها را ۲۳ درصد افزایش داد، زیرا ملاس چغندر قند به راحتی قابل متابولیسم شدن است و به سهولت مورد استفاده کرم‌های خاکی قرار می‌گیرد. بنابراین ملاس چغندر قند به عنوان یک ماده غذایی غنی از پروتئین و قند باعث افزایش رشد و نمو کرم‌های خاکی شده و همچنین بیوماس کرم‌ها را به مقدار چشمگیری افزایش داده است (Mirbolook et al., 2008; Edwards, 1988). مطالعه روی اثر انواع مختلف برگ‌ها به عنوان غذا برای کرم‌های خاکی نشان داد که برگ‌های غنی از پروتئین با میزان قند بالا به سرعت توسط کرم‌ها مصرف می‌شوند (Mangold, 1981). این مطلب اهمیت مواد قندی و پروتئینی را برای افزایش جمعیت کرم‌های خاکی نشان می‌دهد که این امر نمایانگر بهبود شرایط تغذیه و فعالیت بیشتر کرم‌های خاکی در این تیمارها است. دومین گوئز (Dominguez, 1998, 2000) گزارش نمود که متوسط وزن روزانه کرم‌ها بستگی به تعداد جمعیت و نوع ماده غذایی کرم‌ها دارد. سرعت رشد و تولید مثل کرم‌های خاکی در بستر تهیه شده از کود دامی، فیلتر کیک نیشکر و برگ درختان نیمه پوسیده بیشتر بود (Hashemi-Majid et al., 2003).

بنا به تحقیقات انجام شده، منبع غذایی نه تنها بر اندازه جمعیت کرم‌های خاکی تأثیر دارد، بلکه بر نرخ رشد و تولید مثل آنها نیز تأثیر بسزایی دارد. به طور کلی، بر اساس نتایج محققان می‌توان نتیجه گرفت که با ایجاد شرایط بهینه تغذیه‌ای برای کرم‌های خاکی، بیومس بیشتری از آنها در واحد زمان به دست می‌آید. هدف اصلی از اجرای این طرح، مطالعه و بررسی تأثیر عواملی چون اسید آمینه و شکر بر رشد و تولید مثل کرم‌های خاکی ایزینیا فوئتیدا در رطوبت و دمای ثابت و در شرایط کنترل شده است تا امکان تهیه و افزایش سریع بیوماس کرم‌های خاکی مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

به این منظور آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار در سال ۱۳۹۷ در دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس انجام شد. فاکتور اول غلظت شکر در ۴ سطح (صفر، ۵، ۱۰، ۲۰ گرم در لیتر) و فاکتور دوم غلظت اسید آمینه در ۴ سطح (صفر، ۱، ۲، ۳ گرم در لیتر) بود. ابتدا کود گاوی به مدت یک ماه بصورت نیمه پوسیده در می‌آید، سپس سبدهای پلاستیکی مخصوصی (سبدهای ۱۰ کیلویی) با ابعاد ۲۸×۴۰×۲۰ تهیه می‌شود. داخل سبدها، توری قرار داده می‌شود سبدها دارای منافذی جهت تنفس کرم خاکی می‌باشد. سپس کود آلی (نیمه پوسیده) وزن می‌شود و در داخل سبد قرار می‌گیرد در این مرحله کرم خاکی ایزینیا فوئتیدا که از کارگاه پرورش کرم مولد ورمی کمپوست واقع در حومه شهر گنبد کاووس تهیه شد. به ازای هر سبد ۲۰۰ عدد کرم خاکی بالغ دارای حلقه جنسی کلیتلوم اضافه می‌گردد. سپس محلول‌های تیماری آماده شده و هر دو هفته یک بار به میزان ۱۰۰ میلی لیتر به بسترها اضافه خواهد شد. هر روز رطوبت و دما کنترل خواهد شد و محلول‌ها به صورت آب‌پاش بر روی محیط کشت پاشیده می‌شوند. رطوبت مناسب حدود ۷۵ درصد رطوبت ظرفیت زراعی، دمای مناسب ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی گراد می‌باشد. پس از گذشت حدود ۱۰۰ روز مرحله تولید ورمی کمپوست به پایان رسیده سپس کرم‌های خاکی را از ورمی کمپوست حاصل جدا کرده و در ادامه صفات وزن توده حیاتی کرم‌های تولید شده (بیوماس)، سرعت بلوغ، میزان تولید کوکون، وزن کود تولیدی، اندازه‌گیری و تعداد کرم

خاکی (نوزاد، جوان، بالغ و کل) شمارش می‌شود. تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SAS در سطح احتمال پنج درصد استفاده گردید.

نتایج و بحث

چگونگی افزایش وزن و تولید مثل کرم‌های خاکی در بسترهای پرورشی کود گاوی تیمار شده با سطوح مختلف اسید آمینه و شکر مورد مطالعه قرار گرفت. تعداد کپسول‌ها نشان‌دهنده تمایل کرم‌های خاکی به تولید مثل بوده و جمعیت کرم‌های نوزاد نیز نشان‌دهنده مناسب بودن شرایط موجود در بستر برای تبدیل شدن این کپسول‌ها به کرم خاکی است. نتایج بررسی‌های تجزیه واریانس در جدول ۱ نشان داد که بین تیمارها و سطوح مختلف و همچنین اثر متقابل آن‌ها از نظر تعداد کرم‌های بالغ، جوان، نوزاد و تعداد کوکون، اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد وجود داشت. برای بررسی زاد و ولد کرم‌های خاکی، تعداد نوزاد، جوان، بالغ، کل کرم‌ها و تعداد کوکون شمارش و وزن شدند. مقایسه میانگین تعداد کرم‌های بالغ در تیمارهای مختلف آزمایش پس از ۱۰۰ روز در جدول ۲ نشان داده شده است. با توجه به داده‌های موجود در جدول ۲، اختلاف بین تیمارها از نظر آماری معنی‌دار بود. تعداد نهایی کرم‌های بالغ که دارای حلقه جنسی کلیتوم بودند، در ابتدای دوره در هر سید ۲۰۰ عدد بود. در انتهای دوره، بیشترین تعداد با میانگین ۲۲۷ عدد کرم بالغ در تیمار A4S1 مشاهده شد و کمترین میانگین، ۲ عدد کرم در تیمار A1S1 (شاهد) بود. این کاهش تعداد ممکن است ناشی از تنش و استرس وارد شده بر کرم‌ها در اثر انتقال به محیط و منبع غذایی جدید باشد. همچنین نامساعد بودن شرایط بستر از نظر مواد غذایی و کاهش دسترسی به منابع غذایی می‌تواند موجب فرار یا مرگ بخشی از کرم‌ها شده باشد. ادواردز (Edwards, 1988) نیز تأثیر منفی این‌گونه تنش‌ها را بر کاهش جمعیت و فعالیت کرم‌های خاکی گزارش کرد. در مقابل، افزایش تعداد کرم‌های بالغ در تیمار A4S1 بیانگر بهبود شرایط تغذیه‌ای و افزایش فعالیت کرم‌های خاکی در این تیمار است.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات مورد بررسی کرم‌های خاکی
Table 1- Analysis of Variance (MS) Results for the Evaluated Traits of Earthworms

منبع تغییر S. O. V.	درجه آزادی DF	تعداد کرم بالغ Number of Adult Worms	تعداد کرم جوان Number of Young Worms	تعداد کرم نوزاد Number of Juvenile Worms	تعداد نهایی کرم‌ها Total Number of Worms
اسید آمینه Amino Acid	3	39341.73 **	23544.56 **	57429805.90 **	60605474.50 **
شکر Sugar	3	3296.39 **	19278.43 **	13511076.40 **	12625170.40 **
اسید آمینه × شکر Amino acid × Sugar	9	25054.56 **	11491.38 **	19620792.50 **	21209285.40 **
خطا Error	48	372.07	323.13	288678.90	308573.00
ضریب تغییرات CV (%)	3	39341.73 **	23544.56 **	57429805.90 **	60605474.50 **

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد.
ns, * and ** are non-significant, significant at the five percent and one percent probability levels, respectively.

جدول ۲- نتایج مقایسه میانگین صفات مورد بررسی کرم‌های خاکی
Table 2- Mean Comparison Results of the Evaluated Traits of Earthworms

اسید آمینه Amino acid	شکر Sugar	تعداد کرم بالغ Number of Adult Worms	تعداد کرم جوان Number of Young Worms	تعداد کرم نوزاد Number of Juvenile Worms	تعداد نهایی کرم‌ها Total Number of Worms	تعداد کوکون Number of Cocoons
۱	۱	۲/۲۵ ⁿ	۱/۲۵ ^m	۴۷۶/۰۰ ⁿ	۴۷۹/۵۰ ⁿ	۲۲۴/۰۰ ^c
۱	۲	۱۰/۲۵ ^l	۱۱/۰۰ ^l	۴۶۹/۰۰ ⁿ	۴۹۰/۷۵ ⁿ	۵۴۶/۲۵ ⁿ
۱	۳	۳۷/۷۵ ^k	۷۱/۲۵ ^g	۱۵۶۰/۲۵ ^l	۱۶۶۹/۲۵ ^l	۹۳۰/۰۰ ^m
۱	۴	۵۷/۵۰ ^j	۶۱/۵۰ ^h	۵۵۳۷/۰۰ ^d	۵۶۵۶/۰۰ ^d	۱۳۰۶/۰۰ ^k
۲	۱	۹۱/۵۰ ^h	۱۳۰/۵۰ ^c	۷۹۳۲/۲۵ ^b	۸۱۵۴/۲۵ ^b	۲۰۰۸/۵۰ ^{fg}
۲	۲	۷۸/۰۰ ⁱ	۵۵/۲۵ ⁱ	۳۹۶۵/۰۰ ^f	۴۰۹۸/۲۵ ^f	۱۹۹۵/۰۰ ^g
۲	۳	۱۰۳/۵۰ ^g	۲۲۳/۵۰ ^a	۳۰۳۶/۲۵ ^h	۳۳۶۳/۲۵ ^h	۱۷۹۶/۰۰ ⁱ
۲	۴	۱۹۲/۷۵ ^c	۹۸/۷۵ ^e	۹۰۳۸/۵۰ ^a	۹۳۳۰/۰۰ ^a	۲۴۵۵/۵۰ ^b
۳	۱	۷/۵۰ ^{lm}	۲۵/۰۰ ^k	۱۹۶۰/۵۰ ^j	۱۹۹۳/۰۰ ^k	۱۰۴۳/۵۰ ^l
۳	۲	۲۰۶/۰۰ ^b	۱۱۵/۷۵ ^d	۶۱۷۷/۵۰ ^c	۶۴۹۹/۲۵ ^c	۲۰۸۰/۰۰ ^e
۳	۳	۱۷۴/۵۰ ^d	۸۹/۵۰ ^f	۴۷۹۵/۰۰ ^e	۵۰۵۹/۰۰ ^e	۱۸۷۰/۰۰ ^h
۳	۴	۱۳۲/۲۵ ^f	۳۴/۷۵ ^j	۳۷۱۴/۵۰ ^g	۳۸۸۱/۵۰ ^g	۱۵۶۵/۲۵ ^j
۴	۱	۲۲۷/۵۰ ^a	۱۶۶/۵۰ ^b	۲۹۱۰/۰۰ ^h	۳۳۰۴/۰۰ ⁱ	۳۰۱۷/۵۰ ^a
۴	۲	۱۵۴/۵۰ ^e	۶۱/۷۵ ^h	۲۴۶۵/۰۰ ⁱ	۲۶۸۱/۲۵ ^j	۲۰۵۵/۵۰ ^{ef}
۴	۳	۱۳۲/۰۰ ^f	۱۲۸/۷۵ ^c	۱۷۷۱/۲۵ ^k	۲۰۳۲/۰۰ ^k	۱۳۵۵/۰۰ ^k
۴	۴	۳/۷۵ ^{mm}	۳/۵۰ ^m	۱۳۱۶/۰۰ ^m	۱۳۲۳/۲۵ ^m	۲۱۶۵/۰۰ ^d
LSD (۰/۰۵)		۲/۲۵ ⁿ	۱/۲۵ ^m	۴۷۶/۰۰ ⁿ	۴۷۹/۵۰ ⁿ	۲۲۴/۰۰ ^c

میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح معنی‌داری پنج درصد فاقد اختلاف معنی‌داری می‌باشند.

Means with common letters according to Duncan test at a significant level of 5% have no significant difference.

بر اساس جدول ۲، مقایسه میانگین تعداد کرم‌های جوان (فاقد حلقه جنسی کلیتلوم) در تیمارهای مختلف نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود دارد. بیشترین تعداد کرم جوان در تیمار A₃S₂ با میانگین ۲۲۳ عدد و کمترین تعداد در تیمار A₁S₁ (شاهد) با میانگین ۳ عدد مشاهده شد. این اختلاف می‌تواند ناشی از تفاوت در میزان مواد غذایی موجود در بسترهای مختلف باشد. در منابع علمی به خوبی مشخص شده است که جمعیت و فعالیت کرم‌های خاکی به کیفیت بستر، دما، رطوبت و شرایط رشد آن‌ها بستگی دارد (Engel et al., 2004; Raymond et al., 1985). بنابراین، تفاوت در میزان مواد غذایی در دسترس در بسترهای مختلف می‌تواند علت اختلاف مشاهده شده در تعداد کرم‌های جوان باشد.

مقایسه میانگین تعداد کرم‌های نوزاد در تیمارهای مختلف در جدول ۲ نشان داده شده است. با توجه به جدول ۲، اختلاف بین تیمارها از نظر آماری معنی‌دار بود و بیشترین تعداد کرم نوزاد در تیمار A₂S₄ به تعداد ۹۰۳۸ عدد و کمترین تعداد در تیمار A₁S₂ به تعداد ۴۶۹ عدد گزارش شد. مقایسه تیمارها نشان داد که اعمال تیمار A₂S₄ نسبت به سایر تیمارها موجب افزایش تعداد کرم‌های نوزاد شده است. این موضوع بیانگر فراهم شدن شرایط مناسب‌تر برای رشد و تکثیر کرم‌ها در این تیمار بوده و مؤید زاد و ولد و رشد مطلوب آن‌ها است که با نتایج مندز و آلمیدا (Mendez and Almeida, 1962) مطابقت دارد. همچنین میربلوک و همکاران (Mirbolook et al., 2008) گزارش کردند که ملاس چغندر قند به دلیل دارا بودن

مقادیر زیاد نیتروژن و قند، مورد استقبال کرم‌های نوزاد قرار گرفته و جمعیت آن‌ها را ۲۳ درصد افزایش داده است که این یافته با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. طبق جدول ۲، بیشترین تعداد نهایی کرم‌ها با A_2S_4 ۹۳۳۰ عدد مربوط به تیمار A_2S_4 بود، در حالی که کمترین تعداد با A_1S_1 ۴۷۹ عدد مربوط به تیمار A_1S_1 (شاهد) و ۴۹۰ عدد مربوط به تیمار A_1S_2 گزارش شد. این اختلاف می‌تواند ناشی از تفاوت در منابع غذایی در دسترس باشد. منگولد (Mangold, 1981) در مطالعه‌ای درباره اثر انواع مختلف برگ‌ها به عنوان غذا برای کرم‌های خاکی گزارش کرد که برگ‌های غنی از پروتئین و دارای قند بالا به سرعت توسط کرم‌ها مصرف می‌شوند. این موضوع اهمیت مواد قندی را در افزایش جمعیت کرم‌های خاکی نشان می‌دهد. همچنین نتایج آزمایش تأثیر ضایعات صنعت قند، که حاوی مقادیر زیادی قند و پروتئین است، بر رشد و نمو کرم‌های خاکی نشان داد که جمعیت کرم‌های خاکی در حضور این ضایعات ۵/۷ تا ۹/۱ برابر افزایش یافت (Kapuswamy et al., 1982). کاپور و بانسال نیز نتایج مشابهی را در این زمینه گزارش کردند.

مقایسه میانگین تعداد کوکون در تیمارهای مختلف نشان داد که اختلاف بین تیمارها از نظر آماری معنی‌دار بود. بیشترین تعداد کوکون مربوط به تیمار A_4S_1 با ۳۰۱۷ عدد کوکون بود (جدول ۲). به نظر می‌رسد بخش عمده انرژی موجود در بستر توسط کرم‌های بالغ برای تولید کوکون مصرف می‌شود. همچنین کمترین تعداد کوکون مربوط به تیمار A_1S_2 با ۵۴۶ عدد بود. احتمالاً کاهش تولید مثل و تولید کوکون در این تیمار ناشی از کمبود مواد غذایی و ضعف کرم‌ها در مقایسه با سایر تیمارها بوده است. تفاوت در تعداد کوکون‌های تولید شده در تیمارهای مختلف به کیفیت بیوشیمیایی بستر رشد کرم‌ها بستگی دارد (Flack et al., 1984). هرچه شرایط محیطی و دسترسی به مواد غذایی برای کرم‌های خاکی مطلوب‌تر باشد، تمایل آن‌ها به زادآوری افزایش یافته و در نتیجه کوکون بیشتری تولید می‌کنند (Evan et al., 1984).

به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که بسترهای رشدی کرم‌های خاکی تیمار شده با شکر خالص و همچنین اثرات متقابل بیشترین سطح اسید آمینه و شکر یعنی A_4S_4 تأثیر کمتری را نسبت به بقیه تیمارها بر روی کرم‌ها داشته‌اند و بهترین تیمارها اغلب آنهایی بوده‌اند که ترکیبی از هر دو نوع محلول اسید آمینه و شکر به نسبت تقریباً برابر دارا بودند. نحوه افزایش وزن کرم خاکی در تیمارهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت. تغییرات وزنی در تیمارهای مختلف متفاوت بودند. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که بین تیمارها و اثرات متقابل آنها از نظر وزن کرم‌های بالغ، کرم جوان، نوزاد کرم، وزن نهایی کرم‌ها و وزن کوکون‌ها در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد و همچنین در وزن کمپوست تولیدی در بسترهای تیمار شده با اسید آمینه اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد وجود داشته ولی در بسترهای تیمار شده با شکر و اثرات متقابل شکر و اسید آمینه اختلافات از نظر آماری غیر معنی‌دار می‌باشد (جدول ۳). نتایج حاصل از مقایسه میانگین وزن کرم‌های بالغ در جدول ۴ نشان داد که بیشترین افزایش وزن کرم‌ها در تیمار A_4S_1 با میانگین وزنی ۹۰/۳۸۷ گرم مشاهده شد. کمترین افزایش وزن کرم‌های بالغ نیز در تیمار A_1S_1 با میانگین وزنی ۰/۶۰۰ گرم و همچنین در تیمار A_4S_4 با میانگین وزنی ۱/۰۸۲ گرم مشاهده شد. اکوینو و همکاران (Aquino et al., 1994) به این نتیجه رسیدند که افزایش وزن کرم خاکی ایزینیا فتیدا به تراکم جمعیت و نوع ماده غذایی مصرفی بستگی دارد و افزایش زیست‌توده خالص کرم‌های خاکی در واحدهای مختلف مواد غذایی متفاوت است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات مورد بررسی کرم‌های خاکی
Table 3- Analysis of Variance (MS) Results for the Evaluated Traits of Earthworms

منبع تغییر S. O. V.	درجه آزادی DF	وزن کرم بالغ Weight of Adult Worms	وزن کرم جوان Weight of Young Worms	وزن کرم نوزاد Weight of Juvenile Worms
اسید آمینه Amino Acid	3	۴۵۳۲/۲۲۸ **	۱۹۲۷/۴۴۶ **	۱۲۷۸/۳۴۹ **
شکر Sugar	3	۲۲۳/۶۳۸ **	۱۳۷۸/۱۴۵ **	۳۵۶/۴۰۰ **
اسید آمینه × شکر Amino acid × Sugar	9	۳۲۱۶/۴۳۸ **	۸۵۲/۹۹۵ **	۷۷۶/۹۲۳ **
خطا Error	48	۴۹/۸۸۴	۱۹/۷۸۱	۲۴/۶۸۸
ضریب تغییرات CV (%)	3	۲۰/۶۵۲	۲۰/۷۱۰	۲۵/۸۰۸

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد.
ns, * and ** are non-significant, significant at the five percent and one percent probability levels, respectively.

ادامه جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات مورد بررسی کرم‌های خاکی
Table 3- Analysis of Variance (MS) Results for the Evaluated Traits of Earthworms

منبع تغییر S. O. V.	درجه آزادی DF	وزن نهایی کرم‌ها Total Weight of Worms	وزن کوکون Weight of Cocoons	وزن کمپوست Weight
اسید آمینه Amino Acid	3	۱۷۳۴۱/۳۳۹ **	۱۰۶/۸۱۹ **	۱۰۷۸ **
شکر Sugar	3	۳۹۱۰/۶۸۸ **	۵۹/۱۱۴ **	۱۴۲۲ ns
اسید آمینه × شکر Amino acid × Sugar	9	۱۰۹۴۳/۷۰۴ **	۵۵/۰۵۸ **	۱۵۵۶ ns
خطا Error	48	۱۷۳/۶۳۴	۵/۵۶۰	۱۶۰۸/۰۰۰
ضریب تغییرات CV (%)	3	۱۷/۵۸۶	۱۹/۴۳۱	۵/۶۰۰

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد.
ns, * and ** are non-significant, significant at the five percent and one percent probability levels, respectively.

افزایش وزن کرم‌ها در تیمار A₄S₁ احتمالاً به دلیل وجود مواد غذایی کافی برای رشد و تکثیر آن‌ها بوده است. گارگ و همکاران (Garg et al., 2005) بیان کردند که در ابتدا بیومس کرم‌ها افزایش قابل توجهی پیدا می‌کند، اما پس از چند هفته کرم‌ها بخشی از وزن خود را از دست می‌دهند. آنان گزارش کردند که این کاهش وزن رابطه مستقیمی با میزان مواد غذایی دارد و زمانی که مواد غذایی به کمتر از حد نگهداری برسد، کرم‌ها تا حدودی وزن خود را از دست می‌دهند که این امر بسته به مقدار و ماهیت مواد موجود در بستر متفاوت است. همچنین مقایسه میانگین وزن کرم‌های جوان نشان داد که بیشترین افزایش وزن کرم‌های جوان با میانگین وزنی ۶۲/۱۶۰ گرم در تیمار A₂S₃ مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با

سایر تیمارها داشت. کمترین وزن کرم‌های جوان نیز با میانگین وزنی ۰/۳۲۲ گرم در تیمار A₁S₁ و ۰/۹۷۷ گرم در تیمار A₄S₂ مشاهده شد (جدول ۴). این کاهش وزن می‌تواند ناشی از افزایش هدایت الکتریکی (EC) در این تیمارها باشد، زیرا در پایان فرآیند تولید ورمی‌کمپوست، مقدار EC نسبت به میزان اولیه افزایش می‌یابد. کارلی و همکاران (Carley *et al.*, 1983) گزارش کردند که قرار گرفتن کرم‌های خاکی در معرض نمک کلرید سدیم موجب کاهش وزن بدن آن‌ها می‌شود.

جدول ۴- نتایج مقایسه میانگین صفات مورد بررسی کرم‌های خاکی

Table 4- Mean Comparison Results of the Evaluated Traits of Earthworms

اسید آمینه Amino acid	شکر Sugar	تعداد کرم بالغ Number of Adult Worms	تعداد کرم جوان Number of Young Worms	تعداد کرم نوزاد Number of Juvenile Worms	تعداد نهایی کرم‌ها Total Number of Worms	تعداد کوکون Number of Cocoons	وزن کمپوست Weight of Compost
۱	۱	۰/۶۰۰ ^m	۰/۳۲۲ ^m	۱/۳۹۸ ^m	۲/۳۲۰ ^m	۱۵/۰۱۰ ^c	۶۷۳۶ ^g
۱	۲	۳/۱۶۴ ^l	۲/۶۳۸ ^l	۰/۷۹۶ ^m	۶/۵۹۹ ^l	۳/۸۳۵ ^l	۶۷۳۰ ^g
۱	۳	۱۴/۷۱۶ ^k	۱۷/۰۰۱ ^h	۱۲/۱۱۳ ^j	۴۳/۸۳۰ ^j	۷/۱۶۵ ^k	۶۵۰۵ ^h
۱	۴	۱۹/۱۶۲ ^j	۱۷/۵۹۶ ^h	۱۲/۹۲۳ ^{ij}	۴۹/۶۸۲ ⁱ	۹/۴۹۰ ⁱ	۶۹۸۵ ^f
۲	۱	۳۳/۴۹۵ ^h	۳۷/۰۹۷ ^c	۲۵/۹۹۴ ^e	۹۶/۵۸۶ ^e	۱۴/۱۱۷ ^d	۷۴۸۰ ^b
۲	۲	۲۵/۳۲۰ ⁱ	۱۷/۰۶۷ ^h	۱۶/۹۰۶ ^h	۵۹/۲۹۳ ^h	۱۲/۵۹۵ ^f	۷۸۶۵ ^a
۲	۳	۳۷/۶۲۷ ^g	۶۲/۱۶۰ ^a	۲۳/۲۵۳ ^f	۱۲۳/۰۴۱ ^c	۱۳/۸۵۰ ^d	۷۹۶۲ ^a
۲	۴	۵۵/۵۹۲ ^c	۲۴/۸۰۱ ^f	۱۳/۷۸۳ ⁱ	۹۴/۱۷۷ ^e	۱۷/۴۶۰ ^b	۷۱۹۵ ^d
۳	۱	۳/۱۷۵ ^l	۶/۷۴۵ ^k	۹/۴۴۸ ^k	۱۹/۳۶۸ ^k	۸/۱۴۵ ^j	۷۴۴۷ ^b
۳	۲	۷۴/۳۱۲ ^b	۳۰/۰۹۲ ^e	۳۹/۲۰۲ ^c	۱۴۳/۶۰۷ ^b	۱۳/۲۱۰ ^e	۶۹۹۷ ^f
۳	۳	۵۳/۸۷۷ ^d	۲۲/۸۶۲ ^g	۴۲/۳۲۵ ^a	۱۱۹/۰۶۵ ^d	۱۲/۹۶۲ ^{ef}	۷۳۲۰ ^{bc}
۳	۴	۴۴/۹۳۴ ^{ef}	۹/۱۲۵ ^g	۲۰/۶۶۷ ^g	۷۴/۷۲۶ ^g	۱۰/۸۰۲ ^h	۷۰۵۷ ^{ef}
۴	۱	۹۰/۳۸۷ ^a	۴۵/۰۲۵ ^b	۴۱/۱۰۷ ^b	۱۷۶/۵۲۰ ^a	۲۰/۴۱۵ ^a	۷۱۷۰ ^{de}
۴	۲	۴۳/۹۴۰ ^f	۱۵/۴۱۸ ⁱ	۳۵/۴۳۶ ^d	۹۴/۷۹۴ ^e	۱۱/۹۷۷ ^g	۷۲۶۵ ^{cd}
۴	۳	۴۵/۸۰۰ ^e	۳۴/۶۷۲ ^d	۹/۹۰۰ ^k	۹۰/۳۷۲ ^f	۸/۸۰۲ ⁱ	۷۲۲۷ ^{cd}
۴	۴	۱/۰۸۲ ^m	۰/۹۷۷ ^m	۲/۷۷۹ ^l	۴/۸۳۹ ^l	۱۴/۳۳۲ ^d	۶۶۱۰ ^{gh}
LSD (۰/۰۵)		۱/۶۹۷	۱/۰۶۹	۱/۱۹۴	۳/۱۶۶	۰/۵۶۷	۱۳۸/۴۰۰

میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح معنی‌داری پنج درصد فاقد اختلاف معنی‌داری می‌باشند.

Means with common letters according to Duncan test at a significant level of 5% have no significant difference.

بر اساس جدول ۴، مقایسه میانگین وزن کرم‌های نوزاد نشان داد که تیمار A₃S₃ با میانگین وزنی ۴۲/۳۲۵ گرم دارای بیشترین وزن بود، در حالی که تیمار A₁S₂ با میانگین وزنی ۰/۷۹۶ گرم و تیمار A₁S₁ با میانگین وزنی ۱/۳۹۸ گرم کمترین وزن را داشتند. کرم‌های بالغ معمولاً به مرور زمان کاهش یافته و در مقابل تعداد کرم‌های نوزاد و جوان افزایش می‌یابد. دلیل این امر زادآوری کرم‌های بالغ و تولید کوکون است. از هر کوکون تعدادی نوزاد خارج می‌شود که در صورت مناسب بودن شرایط و فراهم بودن مواد غذایی در بسترهای مختلف، وزن آن‌ها افزایش می‌یابد. مقایسه تیمارها نشان داد که با افزایش میزان اسید آمینه و شکر در بسترهای رشد، تعداد و وزن کرم‌های نوزاد و به عبارتی میزان تبدیل کوکون به نوزاد افزایش می‌یابد. این موضوع احتمالاً ناشی از وجود مواد غذایی کافی در دسترس کرم‌ها و در نتیجه افزایش فعالیت و رشد آن‌ها است.

در این آزمایش، بیشترین وزن نهایی کرم‌ها در تیمار A4S1 با میانگین وزنی ۱۷۶/۵۲۱ گرم و کمترین وزن نهایی در تیمار A1S1 با میانگین وزنی ۲/۳۲۰ گرم مشاهده شد (جدول ۴). به نظر می‌رسد علت اصلی کاهش وزن نهایی در این تیمارها، مصرف سریع‌تر مواد غذایی موجود در بستر و اتمام زودهنگام منابع غذایی باشد. در نتیجه هنگام برداشت کرم‌ها بیشترین کاهش وزن مشاهده شد که با نتایج گارگ و همکاران (Garg et al., 2005) مطابقت دارد. به طور کلی، کاهش دسترسی به مواد غذایی موجب کاهش وزن کرم‌ها شده، در حالی که افزایش مواد غذایی در دسترس باعث تغذیه بهتر و افزایش وزن آن‌ها گردید. بر اساس جدول ۴، مقایسه میانگین وزن کوکون‌ها در تیمارهای مختلف نشان داد که اختلاف بین تیمارها از نظر آماری معنی‌دار بود. بیشترین وزن کوکون در تیمار A4S1 با میانگین وزنی ۲۰/۴۱۵ گرم و کمترین وزن در تیمار A1S2 با میانگین وزنی ۳/۸۳۵ گرم مشاهده شد. در تیمارهای A2S2 و A3S2 نیز به ترتیب میانگین وزنی ۱۲/۵۹۶ و ۱۲/۹۶۲ گرم ثبت شد که عملکرد تقریباً مشابهی داشتند. اختلاف بین بیشترین و کمترین وزن کوکون احتمالاً به دلیل تفاوت در میزان مواد غذایی در دسترس کرم‌ها بوده است. دسترسی بیشتر به مواد غذایی موجب رشد سریع‌تر، افزایش زادآوری و تولید تعداد بیشتری کوکون شده و در نتیجه وزن کل کوکون‌های تولیدی نیز افزایش یافته است. وزن کوکون به تعداد لاروهای موجود در هر کوکون بستگی دارد. طبق گزارش چاودهاری و بهاتاچارجی (Chaudhary and Bhattacharjee, 2002)، بخش قابل توجهی از انرژی کرم‌ها صرف تولید پيله می‌شود و در زمان توقف تولید پيله، این انرژی به بافت بدن کرم افزوده می‌شود. طبق جدول ۴، مقایسه میانگین عملکرد نهایی (کود تولید شده) نشان داد که بیشترین عملکرد در دوره ۱۰۰ روزه مربوط به تیمار A2S3 با میانگین وزنی ۷۹۶۲/۵ گرم و تیمار A2S2 با میانگین وزنی ۷۸۶۵ گرم بود که اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. کمترین عملکرد نیز در تیمار A1S3 با میانگین وزنی ۶۵۰۵ گرم مشاهده شد. بسترهای کشت تهیه شده از کود گاوی خالص در ابتدای آزمایش دارای وزن ۱۲ کیلوگرم بودند، اما در پایان فرآیند وزن کود تولید شده کمتر از مقدار اولیه بود. میتچل (Mitchell, 1997) به این نتیجه رسید که فعالیت کرم‌های خاکی موجب کاهش قابل توجه وزن کود گاوی و سایر ضایعات آلی می‌شود. همچنین آتیه و همکاران (Atiyeh et al., 2000) گزارش کردند که تجزیه سریع ترکیبات حاوی کربن و خروج سریع دی‌اکسید کربن در فرآیند ورمی‌کمپوست، موجب کاهش وزن مواد مورد استفاده در این فرآیند می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که افزودن اسید آمینه و شکر به بستر پرورش کرم خاکی *Eisenia foetida* تأثیر معنی‌داری بر رشد، تولید مثل و افزایش بیومس کرم‌ها دارد. به طور کلی، تیمارهای حاوی اسید آمینه عملکرد بهتری نسبت به سایر تیمارها داشتند و موجب افزایش تعداد و وزن کرم‌ها و همچنین تولید کوکون شدند. بیشترین تعداد کرم‌ها در تیمار A2S4 و بیشترین وزن بیومس در تیمار A4S1 مشاهده شد، در حالی که تیمار شاهد در اغلب صفات کمترین مقادیر را به خود اختصاص داد. به طور کلی، نتایج این تحقیق نشان داد که دسترسی مناسب کرم‌های خاکی به منابع غذایی غنی از ترکیبات آلی قابل جذب، مهم‌ترین عامل در افزایش رشد، تولید مثل و تولید بیومس آن‌ها است. به نظر می‌رسد استفاده از اسید آمینه به عنوان یک منبع غذایی مکمل بتواند شرایط مطلوب‌تری را برای فعالیت زیستی و تولید مثلی کرم‌های خاکی فراهم سازد. بر این اساس، استفاده از تیمارهای حاوی اسید آمینه، به ویژه در سطوح بالاتر، می‌تواند به عنوان راهکاری مناسب برای افزایش سرعت تکثیر کرم‌های خاکی و تولید بیشتر ورمی‌کمپوست در واحد زمان مورد توجه قرار گیرد.

منابع

- Abdoli M.A., Roshani M.R. 2007. Design, Construction and Implementation of Vermicompost Systems. University of Tehran Press, Tehran, Iran, 160 p. (In Persian).
- Alikhani H.M., Savaqebi Gh.R. 2006. In: Gupta P.K. (Author). Vermicompost Production for Sustainable Agriculture. Vol. 1. Jahad Daneshgahi Publication, Tehran, Iran, 267 p. (In Persian).
- Mirbolook A., Laghzian A., Haghnia G.H. 2008. Effects of aeration, soil and sugar beet molasses on growth and development of *Eisenia foetida* in vermiculture beds. *Journal of Water and Soil Science*, 22(2): 26-35. (In Persian).
- Hashemi-Majd K., Kalbasi M., Golchin A., Shariatmadari H. 2003. Identification of native *Eisenia foetida* species in northern regions of Iran and evaluation of its potential for vermicompost production. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, 7(4): 61-68. (In Persian).
- Alikhani H.A. 2006. In: Sathi T.V. (Author). Breeding Earthworms for Vermicompost Production and Sustainable Agriculture. University of Tehran Press, Tehran, Iran, 164 p. (In Persian).
- Angel L., Ceballos O., Frago C., Brown G.G. 2004. Influence of food quality, soil moisture and the earthworm *Pontoscolex corethrurus* on growth and reproduction of the tropical earthworm *Balanteodrilus pearsei*. *Pedobiologia*, 48: 1-10.
- Atiyeh R.M., Dominguez J., Subler S., Edwards C.A. 2000. Changes in biochemical properties of cow manure during processing by earthworms (*Eisenia andrei* Bouché) and effects on plant growth. *Pedobiologia*, 44: 709-724.
- Carley W.W., Caracciolo E.A., Mason R.T. 1983. Cell and coelomic fluid volume regulation in the earthworm *Lumbricus terrestris*. *Comparative Biochemistry and Physiology A*, 74: 569-575.
- Chaudhari P.S., Pal T.K., Bhattacharjee G. 2002. Capacity of various experimental diets to support biomass and reproduction of *Perionyx excavatus*. *Bioresource Technology*, 82: 147-150.
- Dominguez J., Edwards C.A. 1997. Effects of stocking rate and moisture content on the growth and maturation of *Eisenia andrei* (Oligochaeta) in pig manure. *Soil Biology and Biochemistry*, 29: 743-746.
- Dominguez J., Edwards C.A., Webster M. 2000. Vermicomposting of sewage sludge: Effects of bulking materials on the growth and reproduction of the earthworm *Eisenia andrei*. *Pedobiologia*, 44: 24-32.
- Edwards C.A. 1988. Breakdown of animal, vegetable and industrial organic wastes by earthworms. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 24: 21-31.
- Evans A.C., Guild W.J.Mc.L. 1948. Studies on the relationships between earthworms and soil fertility. V. Field populations. *Annals of Applied Biology*, 35: 485-493.
- Flack F.M., Hartenstein R. 1984. Growth of the earthworm *Eisenia fetida* on microorganisms and cellulose. *Soil Biology and Biochemistry*, 16: 491-495.
- Garg V.K., Chand S., Chhillar A., Yadav A. 2005. Growth and reproduction of *Eisenia foetida* in various animal wastes during vermicomposting. *Applied Ecology and Environmental Research*, 3(2): 51-59.
- Kuppuswamy G., Jeyabal A., Lakshmanan A.R. 1982. Effect of enriched biogas slurry and farmyard manure on growth and yield of rice. *Agricultural Digest*, 12: 101-104.
- Mangold O. 1981. Experiments in analysis of the chemical senses of earthworms. I. Methods and procedures for testing leaves of plants. *Zeitschrift für Vergleichende Physiologie*, 62: 441-512.
- Mendes E.G., Almeida A.M. 1962. The respiratory metabolism of tropical earthworms. II. The influence of oxygen tension and temperature. *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciencias e Letras da Universidade de São Paulo, Zoologia*, 24: 43-65.
- Mitchell A. 1997. Production of *Eisenia fetida* and vermicompost from feedlot cattle manure. *Soil Biology and Biochemistry*, 29: 763-766.

Raymond C., Edwards F., Neuhauser E., Malecki R. 1985. Factors affecting the vermistabilization process: Temperature, moisture content and polyculture. Water Research, 19: 1311-1317.