

REPRODUÇÃO DE MINHOCAS (OLIGOCHAETA) EM ESTERCO BOVINO E BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR¹

ADRIANA MARIA DE AQUINO², DEJAIR LOPES DE ALMEIDA³, LUIZ RODRIGUES FREIRE⁴
e HELVÉCIO DE-POLLI³

RESUMO - Avaliou-se a capacidade reprodutiva de minhocas adultas, usando como substrato esterco bovino e bagaço de cana-de-açúcar picado, nas seguintes proporções (p/p): 0:1, 1:3, 1:1, 3:1 e 1:0. Num segundo experimento utilizaram-se os mesmos substratos do experimento I, sendo o bagaço de cana-de-açúcar moído. As seguintes proporções (v/v) foram usadas: 1:3 e 1:1, selecionadas do primeiro experimento. Todos os tratamentos foram realizados com e sem inoculação de *Acetobacter diazotrophicus* (Gillis et al., 1989). Com exceção da proporção esterco/bagaço 0:1 todas as misturas proporcionaram condições à reprodução das minhocas. O maior número de indivíduos foi encontrado em 1:1 e 3:1 e a maior sobrevivência dos adultos ocorreu em 1:3 com bagaço picado. Nos vasos com bagaço moído não ocorreu mortalidade dentro do período investigado. Em ambos os experimentos não houve diferença significativa entre os tratamentos inoculados e não inoculados com *A. diazotrophicus* quanto à multiplicação das minhocas.

Termos para indexação: vermicompostagem, *Acetobacter diazotrophicus*, resíduo agroindustrial.

EARTHWORMS (OLIGOCHAETA) REPRODUCTION IN MANURE AND SUGAR-CANE BAGASSE

ABSTRACT - Two experiments were conducted to evaluate the reproductibility of adult earthworms. The first experiment was conducted using the following ratio (w/w) of manure: chopped bagasse, 0:1, 1:3, 1:1, 3:1 and 1:0. The second experiment was conducted in one litter pot using the following ratio (v/v) of manure: ground bagasse, 1:3 and 1:1, selected from the first experiment results. In both experiments half of the pots were inoculated with *Acetobacter diazotrophicus* (Gillis et al., 1989). Except for the 0:1 manure:bagasse ratio, all other ratios were favorable for the earthworm reproduction. The highest number of earthworms was found at 1:1 and 3:1 ratios, for chopped bagasse. The highest adult survival occurred for the mixture manure: chopped bagasse at the proportion 1:3. No death was found for the ground bagasse treatments. No difference was observed for *A. diazotrophicus* inoculation over the worms reproductivity.

Index terms: vermicomposting, *Acetobacter diazotrophicus*, earthworm, agroindustry residues.

INTRODUÇÃO

Os resíduos urbanos e agroindustriais constituem alternativa interessante para a substituição de

¹ Aceito para publicação em 12 de agosto de 1993.
Extraído da Tese de Mestrado da autora, Inst. de Agron., UFRRJ.

² Bióloga, M.Sc., Bolsista de Doutorado, UFRRJ, EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia (CNPAB), Caixa Postal 74505, CEP 23851-000. Seropédica, Itaguaí, RJ.

³ Eng. - Agr., Ph.D., EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia (CNPAB), Seropédica, Itaguaí, RJ.

⁴ Eng. - Agr., M.Sc., Prof. - Adjunto IV, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, Inst. de Agron., Antiga Rio-São Paulo, Km 47, CEP 23851-000 Seropédica.

esterços, mesmo que parcialmente, por serem baratos e abundantes, embora a maioria destes apresente baixa fertilidade natural e necessite de transformação prévia para aplicação no campo (Cerri et al., 1988). Neste caso, o estudo de práticas que favoreçam o manejo destes resíduos pode ser muito útil.

A vermicompostagem – transformação biológica da matéria orgânica, que resulta da ação combinada das minhocas e microflora que vive em seu trato digestivo, ao contrário da compostagem convencional –, foi desenvolvida na década de 40, a partir de programas de manejo de minhocas em Rothamstead, Inglaterra. A vermicompos-

tagem difere da compostagem convencional, dentre outros, por formar substâncias húmicas mais rapidamente ao sofrer passagem pelo trato digestivo das minhocas (Hartenstein & Hartenstein, 1981; Albanell et al., 1988; Almeida, 1991). A estabilização do resíduo orgânico mais resistente não é ainda clara e precisa ser estudada.

Para a vermicompostagem, maior atenção tem sido dada à minhoca *Eisenia foetida* (Michaelsen), por seu rápido crescimento (Neuhauser et al., 1980a) e prodigiosa proliferação (Hartenstein et al., 1979; Venter & Reinecke, 1988).

O bagaço de cana-de-açúcar, excedente das agroindústrias canavieiras e do comércio de caldo para bebida fresca, contém grande proporção de carboidratos resistentes à transformação biológica, e baixo teor de N, em torno de 0,3% (Cerri et al., 1988). Sendo o corpo das minhocas constituído por 65% de proteína (Abe et al. citado por Hartenstein, 1981), necessitam de grande quantidade de N em sua dieta. Portanto, a vermicompostagem com este resíduo pode limitar a atividade das minhocas. Por outro lado, o incremento de N, proveniente da inoculação de microrganismos fixadores de N₂, em resíduos orgânicos em transformação, pode favorecer tanto a atividade dos microrganismos em geral (Hill & Patriquin, 1988; 1990), quanto a dos macroorganismos envolvidos no processo.

Acetobacter diazotrophicus (Gillis et al., 1989) é uma bactéria capaz de fixar N atmosférico e é encontrada em raízes e caule de cana-de-açúcar. Em processo de decomposição não se sabe o comportamento desta bactéria, mas espera-se que utilize produtos de decomposição dos carboidratos mais resistentes como fonte de energia para a fixação de N₂, e, em consequência, promova aumento de N no sistema.

E. foetida e *Eudrilus* sp. são comumente utilizadas para transformação dos resíduos orgânicos, sendo a última mais freqüente em condições tropicais. Estudos de reprodução incluem pouca informação quanto à atividade desta espécie em materiais orgânicos com elevada concentração de celulose, hemicelulose e lignina.

A capacidade reprodutiva das minhocas pode variar com as condições ambientais e com o tipo

de resíduo orgânico disponível (Neuhauser et al., 1979; Reinecke & Viljoen 1990).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a multiplicação de minhocas em diferentes misturas de esterco bovino e bagaço de cana-de-açúcar e os possíveis efeitos da inoculação de *A. diazotrophicus*, na atividade reprodutiva das mesmas, em dois experimentos.

O experimento I, desenvolvido de fevereiro a maio de 1989, visou a seleção da(s) mistura(s), com base em peso seco, que proporcionasse(m) melhores condições de reprodução para as minhocas e representasse, ao mesmo tempo maior economia de esterco. O experimento II, desenvolvido de fevereiro a abril de 1990, visou a otimização das misturas selecionadas, avaliando-se a influência do bagaço moído na atividade reprodutiva das minhocas, pois menores partículas de alimento proporcionam maior taxa de crescimento das minhocas (Neuhauser et al., 1980b).

Neste experimento, as misturas foram feitas com base em volume visando a possível recomendação prática. As amostragens dos experimentos foram diferenciadas, pois no experimento II utilizou-se menor quantidade de substrato para acelerar o processo de decomposição.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em galpão coberto da EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia - Seropédica, Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Substratos

No experimento I, o bagaço de cana-de-açúcar foi picado em picadeira para forragens, em fragmentos de cerca de 3 a 4 cm. No experimento II, o bagaço foi seco em estufa a 65°C, moído em moinho com peneira de 40 mesh e posteriormente reidratado com água corrente, atingindo 75% de umidade.

O esterco bovino foi recolhido fresco e cerca de 20 dias após o seu recolhimento, quando a temperatura já se encontrava estabilizada, foi utilizado nos experimentos.

Delineamento experimental:

O experimento I obedeceu ao delineamento experi-

mental de blocos ao acaso em parcela subdividida, num fatorial de 2x5x2, correspondendo a: com e sem inoculação de *Acetobacter diazotrophicus* (Gillis et al., 1989), substrato esterco e bagaço nas proporções de 0:1, 1:3, 1:1, 3:1, 1:0 (p/p) e duas avaliações após diferentes períodos. As misturas foram feitas com base em peso seco para o total de 500 g e acondicionadas em vasos com capacidade de 4,5 litros, com dreno.

O experimento II foi realizado em blocos ao acaso, num fatorial de 2x2x3, correspondendo a: com e sem inoculação da bactéria fixadora de N₂, nas proporções de esterco/bagaço de 1:1 e 1:3 (v/v) e três avaliações após diferentes períodos. As misturas foram feitas com base em volume, num total de 800 ml e acondicionadas em vasos com capacidade de 1 litro, sem dreno. Ambos os experimentos foram realizados com três repetições.

Os vasos foram irrigados quando visualmente necessário e considerando-se que cerca de 75% de umidade a 30°C é o ideal para o crescimento e reprodução de *E. foetida* (Reinecke & Venter, 1987).

A avaliação da multiplicação das minhocas nos substratos foi realizada aos 60 e 120 dias após a implantação do experimento I, e aos 21, 46 e 86 dias após a implantação do experimento II, através da contagem manual das minhocas jovens e adultas e dos casulos produzidos.

Inóculo e variedade das minhocas

Cinco minhocas adultas da variedade vermelha-da-califórnia foram inoculadas, por vaso, em ambos os experimentos. Considerando-se a morfologia externa, as minhocas apresentavam características comuns à *Eisenia* sp. e *Lumbricus* sp.

Inóculo da bactéria

Foi utilizada linhagem PAL-3 de *A. diazotrophicus*, isolada de colmo e raízes de cana-de-açúcar, obtida da coleção de culturas da EMBRAPA-CNPAB.

A bactéria cresceu em meio batata (Döbereiner, 1980) suplementado com 10% de sacarose, sem malato, por três dias, em agitador horizontal. O meio de cultura contendo as bactérias foi centrifugado por 15 minutos a 5.000 rpm (912,5 g, r = 51,25 mm), após o que, substituiu-se o meio anterior pelos sais de LGI- P (Cavalcante & Döbereiner, 1988) sem fonte carbonada e nitrogenada, para que a bactéria utilizasse estas fontes do meio em que foi inoculada. Nos tratamentos com bactérias, foram adicionados 5 ml de inóculo por vaso no experimento I; para o experimento II usou-se 1 ml de inóculo por vaso, na implantação, e igual volume aos 50 dias após a sua implantação. O inóculo usado no experimen-

to II continha 2,97 x 10⁹ células/ml e 5,0 x 10⁸ células/ml respectivamente, na primeira e segunda aplicação. As células foram contadas em câmara de "Petroff Hauser".

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diante da não-significância da interação entre os substratos inoculados e não-inoculados com *Acetobacter diazotrophicus* (Gillis et al., 1989), quanto à multiplicação e sobrevivência das minhocas (Tabela 1), os dados foram agrupados para avaliar contrastes em outras variáveis.

TABELA 1. Análise de variância para minhocas adultas e jovens e para casulos do experimento I e II. (Valores transformados por raiz de x + 1)¹.

Fonte de variação	GL	Casulos	Minhocas	
			Adultas	Jovens
Experimento I				
Substrato (S)	4	*	*	*
Bactéria (B)	1	NS	NS	NS
SxB	4	NS	NS	NS
Resíduo	18			
Coleta (C)	1	*	*	*
SxC	4	NS	*	*
BxC	1	NS	NS	NS
SxBxC	4	NS	NS	NS
Resíduo	20			
CV (%)		35	19	28
Experimento II				
Substrato (S)	1	*	-	NS
Coleta (C)	2	*	-	*
SxC	2	NS	-	NS
Bactéria (B)	1	NS	-	NS
BxC	2	NS	-	NS
SxB	1	NS	-	NS
SxBxC	2	NS	-	NS
Resíduo	22			
CV (%)		25	-	28

* P < 0,05, NS - não significativo

¹ São cinco substratos esterco/bagaço (picado): 1:0, 1:3, 1:1, 3:1 e 0:1 para o experimento I e dois substratos esterco/bagaço (moído): 1:3 and 1:1 para o experimento II. No caso de bactérias os tratamentos foram inoculados e não inoculados, com *A. diazotrophicus*. GL, grau de liberdade, CV, coeficiente de variação.

Experimento I

Como pode ser observado na Tabela 2, as cinco minhocas introduzidas nos vasos contendo apenas bagaço de cana-de-açúcar picado não sobreviveram. Ao contrário, repeliram-no imediatamente, e as que persistiram, morreram em poucas horas. Esta observação está em concordância com Neuhauser et al., 1980b, que constataram, com relação à *Eisenia foetida* (Michaelsen), a impossibilidade desta de extrair nutrientes de celulose e similares, quando exclusivamente presentes.

As proporções intermediárias de esterco e bagaço 1:1 e 3:1 (Tabela 2) possibilitaram maior número médio de minhocas-jovens e maior sobrevivência das adultas, sendo que 1:1 produziu duas vezes mais minhocas-jovens que 1:3, e tendeu a produzir mais casulos que esta e as demais proporções.

A qualidade do esterco varia consideravelmente com o regime alimentar do bovino (Waksman, 1938), dificultando, algumas vezes, comparações com resultados de outros experimentos. Mas de maneira geral, o esterco bovino é considerado excelente fonte de alimento para *E. foetida*, dentre outras espécies (Reinecke & Viljoen, 1990). Já aos 60 dias, verificou-se maior

mortalidade de minhocas adultas em esterco bovino puro e menor número de minhocas-jovens (Tabela 2).

A maior sobrevivência das minhocas em substrato contendo bagaço se deve, possivelmente, como sugerido por Flack & Hartenstein (1984) para *E. foetida*, à preferência por celulose na sua dieta, uma vez que já foi constatada, inclusive, atividade celulásica no seu trato digestivo (Hartenstein, 1982; Loquet & Vincelas, 1987). Além disto, utiliza mais eficientemente os nutrientes do substrato na presença de celulose, com base na experimentação de Hartenstein (1983) e Bouwman & Reinecke (1991), o que sugere que *E. foetida* possa extrair quantidade considerável de energia a partir de celulose e remover seletivamente uma grande proporção de microrganismos do ambiente celulósico.

Deve ser levado em consideração, também, que o bagaço de cana-de-açúcar picado quando misturado ao esterco favorece a circulação de água e a aeração do ambiente, possibilitando melhor atividade das minhocas, que são extremamente dependentes destes fatores (Kaiserslautern, 1985).

A mortalidade de 100% das minhocas adultas e jovens (Tabela 2) em esterco puro, constatada aos 120 dias, pode ser mais facilmente compreendida

TABELA 2. Número de minhocas vivas (adultas e jovens) e de casulos produzidos em substratos com diferentes proporções de esterco bovino e bagaço de cana-de-açúcar picado, após diferentes períodos (média de 3 repetições) - Experimento I¹.

Relação esterco/bagaço (p/p)	Nº de minhocas/vaso						Nº de casulos/vaso		
	Adultas ²		Jovens		120 dias	Média	60 dias	120 dias	Média
	60 dias	120 dias	Média	60 dias					
0:1	0,0bA	0,0cA	0,0a	0,0dA	0,0bA	0,0d	0,0	0,0	0,0c
1:3	5,0aA	4,4aA	4,7a	60,5bA	27,2aB	43,8b	36,3	29,7	33,0c
1:1	5,0aA	3,0abB	4,0a	136,3aA	50,0aB	93,2a	70,9	69,0	70,0a
3:1	4,8aA	2,8bB	3,8a	168,5aA	2,5bB	85,5a	76,0	38,0	57,0a
1:0	4,2aA	0,0cB	2,1b	18,5cA	0,0bB	9,3c	1,5	0,0	0,8c
Média ³	3,8A	2,0B		76,8A	15,9B		36,9A	27,3B	

¹ Os valores originais apresentados representam média de substratos inoculados e não inoculados com *Acetobacter diazotrophicus*.

² Médias seguidas pela mesma letra minúscula (coluna) e maiúscula (linha) para cada fator não diferem entre si, pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

³ Médias diferem a nível de 5% de probabilidade, de acordo com o valor de F.

pelo fato de que nesta época o esterco já estava estabilizado. Isto sugere que estas minhocas requerem material orgânico que não esteja totalmente estabilizado, para extrair os nutrientes necessários à sua sobrevivência. Além disto, o material orgânico estabilizado pode não dispor quantitativa e/ou qualitativamente de determinada população microbiana necessária à sua dieta (Lee, 1985).

Dentre as misturas de esterco bovino e bagaço de cana-de-açúcar 1:3, 1:1 e 3:1, verificou-se que a mais elevada taxa de multiplicação ocorreu nas proporções de 1:1 e 3:1 com cerca de 150 minhocas, avaliada aos 60 dias (Tabela 2). Estes resultados sugerem que o esterco e o bagaço nestas proporções tenham favorecido o desenvolvimento de microrganismos, possivelmente celulolíticos, e conseqüentemente tenham tomado o bagaço uma fonte alimentar mais acessível às minhocas, proporcionando maior atividade reprodutiva.

Aos 120 dias, as duas proporções mencionadas, 1:1 e 3:1, apresentaram redução do número de minhocas-jovens de 65% e 99% respectivamente, e mortalidade de cerca de 40% das minhocas adultas (Tabela 2). Esta mortalidade pode ser explicada como uma resposta ao estresse provocado pela alta densidade populacional, como demonstraram Kaiserslautern (1985) e Neuhauser et al. (1980b), e agravada pela possível redução na oferta de alimento em termos de nutrientes e microrganismos.

A amostragem realizada aos 120 dias indica que a mistura de 1:3 de esterco e bagaço picado

proporcionou não somente a reprodução das minhocas, como indicado pelo número das jovens, mas também a sobrevivência de 87% das adultas que foram introduzidas inicialmente (Tabela 2).

Pela provável falta de alimento, a tendência ao longo do processo é diminuir ainda mais o número de minhocas, como indicado pela significante queda de 26% na produção de casulos de 60 para 120 dias, independentemente do substrato (Tabela 2).

Experimento II

A atividade reprodutiva das minhocas pode ser influenciada pelas condições ambientais e nutricionais e pela densidade populacional, além de ser variável conforme a espécie; em condições consideradas ideais, o primeiro casulo normalmente pode ser colocado cerca de dois a quatro dias após o acasalamento (Marcel, 1986; Venter & Reinecke, 1988). Neste experimento, em amostragem realizada aos 21 dias, observou-se que as minhocas haviam produzido seus casulos, o que indica que se adaptaram ao substrato e que este favoreceu o acasalamento (Tabela 3).

Dentre os períodos amostrados, a produção máxima de casulos foi aos 21 dias para a proporção de esterco e bagaço de 1:1 – resultado em concordância com os de Venter & Reinecke (1988), –, e aos 46 dias, para a proporção 1:3 (Tabela 3). Ao se avaliar a média geral, verifica-se que o substrato 1:3 produziu significativamente

TABELA 3. Número de minhocas-jovens e de casulos produzidos em substrato com esterco e bagaço de cana-de-açúcar moído (média de 3 repetições) - Experimento II¹.

Relação esterco/bagaço (v/v)	Nº de minhocas-jovens/vaso				Nº de casulos/vaso			
	21 dias	46 dias	86 dias	Média	21 dias	46 dias	86 dias	Média ³
1:3	0,0	37,4	79,8	39,1	37,5	53,0	28,3	39,6a
1:1	0,0	30,0	64,5	31,5	24,0	18,2	14,6	18,9b
Média ²	0,0c	37,7B	72,5A		30,8A	35,6A	21,4B	

¹ Cinco minhocas foram introduzidas inicialmente e permaneceram vivas até ao final da observação. Os valores originais apresentados representam média de substratos inoculados e não inoculados com *Acetobacter diazotrophicus*.

² Médias seguidas de mesma letra e para cada fator não diferem significativamente entre si, pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

³ Médias diferem a nível de 5% de probabilidade, de acordo com o valor de F.

mais casulos (aproximadamente o dobro) que 1:1 (Tabelas 1 e 3).

Como pode ser observado pela Tabela 3, a ausência de minhocas aos 21 dias indica que não houve eclosão dos casulos antes do 21º dia. O período de incubação do casulo pode variar com a temperatura e umidade, mas em média, para *E. foetida* leva cerca de 25 dias (Reinecke & Kriel, 1980; Venter & Reinecke, 1988).

A maturidade sexual, igualmente, varia com as condições do meio e com a espécie de minhoca. *E. foetida* em condições ótimas apresenta completo desenvolvimento do clitelo dentro de 40-60 dias (Venter & Reinecke, 1988). Nas condições de ambos os experimentos, as minhocas não atingiram maturidade sexual dentro do período investigado; provavelmente foram limitadas pelas condições nutricionais e pela densidade populacional.

Embora as amostragens do experimento I e as do experimento II tenham ocorrido em datas diferentes, verificou-se que as médias obtidas do número de minhocas jovens produzidas aos 60 e 120 dias indicam que no substrato 1:3, com bagaço picado (Tabela 2), a multiplicação das minhocas foi cerca de 50% mais baixa que em bagaço moído (Tabela 3). Ao contrário disto, em esterco e bagaço picado 1:1, o número de minhocas-jovens foi 30% superior à obtida na mesma mistura com bagaço moído, aos 86 dias.

O bagaço de cana-de-açúcar não é alimento prontamente disponível para as minhocas; portanto, quando se trata de maior proporção deste, como em 1:3, o seu tamanho pode ser fator limitante à atividade das minhocas. É possível que a maior superfície relativa da menor partícula, quando o bagaço é moído, possibilite uma maior atividade dos microrganismos, que tornam o bagaço um suprimento alimentar potencialmente maior para as minhocas.

Com esterco e bagaço picado 1:1, possivelmente a atividade das minhocas foi contrabalancada pela condição de aeração mais adequada ao crescimento de organismos aeróbicos. Além disso, as condições de drenagem eram diferentes, pois os vasos no experimento II não eram dotados de dreno. Ao serem comparados os substratos 1:3 e 1:1 no experimento II, verificou-se a ocorrência de mistura mais compactada na proporção 1:1.

CONCLUSÕES

1. A inoculação de *Acetobacter diazotrophicus* não influenciou significativamente a atividade reprodutiva das minhocas.

2. As minhocas não sobreviveram em bagaço de cana-de-açúcar fresco na ausência de esterco.

3. As misturas esterco e bagaço picado 1:3, 1:1 e 3:1 permitiram que a sobrevivência e a reprodução das minhocas se estendessem por período maior que em esterco puro (1:0).

4. As proporções de esterco/bagaço, picado, 1:1 e 3:1 proporcionaram maior atividade reprodutiva.

5. Nas misturas de esterco com bagaço moído, a produção de casulos foi maior em 1:3 que em 1:1, mas a quantidade de minhocas-jovens produzidas por estes foi similar.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- ALBANELL, E.; PLAIXATS, J.; CABRERO, T. Chemical changes during vermicomposting (*Eisenia foetida*) of sheep manure mixed with cotton industrial wastes. *Biology and Fertility of Soils*, Berlin, v.6, p.266-269, 1988.
- ALMEIDA, D.L. de. *Contribuição da matéria orgânica na fertilidade do solo*. Itaguaí: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1991. 188p. Tese de Doutorado.
- BOUWAMAN, H.; REINECKE, A.J. A defined medium for the study of growth and reproduction of the earthworm *Eisenia foetida* (Oligochaeta). *Biology and Fertility of Soils*, Berlin, v.10, p.285-289, 1991.
- CAVALCANTE, V.A.; DÖBEREINER, J. A new acid-tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugar cane. *Plant and Soil*, Dordrecht, v.108, p.23-31, 1988.

- CERRI, C.C.; POLO, A.; ANDREUX, F.; LOBO, M.C.; EDUARDO, B.P. Resíduos orgânicos da agroindústria canavieira: 1. Características físicas e químicas. **STAB**, Piracicaba, v.6, p.34-37, 1988.
- DÖBEREINER, J. Forage grasses and grain crops. In: BERGESEN, F.J. (Ed.). **Methods for evaluating biological nitrogen fixation**. Chichester: John Wiley, 1980. p.535-555.
- FLACK, F.M.; HARTENSTEIN, H. Growth of the earthworm *Eisenia foetida* on microorganisms and cellulose. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.16, n.5, p.491-495, 1984.
- GILLIS, M.; KERTERS, K.; HOSTE, B.; JANSSENS, D.; KROPPESTEDT, R.M.; STEPHAN, M.P.; TEIXEIRA, K.R.S.; DÖBEREINER, J.; DELEY, J. *Acetobacter diazotrophicus* sp. nov. a nitrogen fixing acetic acid bacterium associated with sugar cane. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v.39, n.3, p.361-364, 1989.
- HARTENSTEIN, R. Research needs-sludges and invertebrates: Should use of invertebrates be considered in the final step of the Wastewater treatment process? In: **SOIL absorption of wastewater**. Colorado: [s.n.], 1983. p.50-63.
- HARTENSTEIN, R. Soil macroinvertebrates, aldehyde oxidase, catalase, cellulase and peroxidase. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.14, p.387-391, 1982.
- HARTENSTEIN, R. Use of *Eisenia foetida* in organic recycling based on laboratory experiments. In: APPEELHOF, M. (Ed.). **Workshop on the role of earthworms in the stabilization of organic residues**; Proceedings. Michigan: Beech Leaf Press, 1981. v.1, p.155-166.
- HARTENSTEIN, F.; HARTENSTEIN, R. Physicochemical changes effected in activated sludge by the earthworm *Eisenia foetida*. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.10, p.377-382, 1981.
- HARTENSTEIN, R.; NEUHAUSER, E.F.; KAPLAN, D.L. Reproductive potential of the earthworm *Eisenia foetida*. **Oecologia**, Berlin, v.43, p.329-340, 1979.
- HILL, N.M.; PATRIQUIN, D.G. Evidence for the involvement of *Azospirillum brasilense* and *Helicomyces roseus* in the aerobic nitrogen fixation/cellulolytic system from sugar cane litter. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.22, p.313-319, 1990.
- HILL, N.M.; PATRIQUIN, D.G. Induction of aerobic nitrogen fixation and enhancement of the wheat straw decomposition by inoculation with a crude culture from sugarcane litter. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.20, n.5, p.613-618, 1988.
- KAISERLAUTERN, D.K. Biomass production through the propagation of thermophilic earthworms: A contribution to the utilization of organic wastes. **Animal Research and Development**, Tübingen, v.21, p.112-127, 1985.
- LEE, K.E. **Earthworms**; their ecology and relationships with soils and land use. Florida: Academic Press, 1985. 411p.
- LOQUET, M.; VINCESLAS, M. Cellulolytic and Ligninolytic Activities in the gut of *Eisenia foetida*. **Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol**, Paris, v.24, n.4, p.559, 1987.
- MARCEL, R. Recent data on some aspects of reproduction of Lumbricidae (Annelida, Oligochaeta). In: PORCHET, M.; ANDRIES, J.C.; DHAINAUT, A. (Eds.). **Advances in invertebrate reproduction**. London: Elsevier, 1986. p.221-227.
- NEUHAUSER, E.F.; HARTENSTEIN, R.; KAPLAN, D.L. Growth of the earthworm *Eisenia foetida* in relation to population density and food rationing. **Oikos**, Copenhagen, v.35, p.93-98, 1980a.
- NEUHAUSER, E.F.; KAPLAN, D.L.; HARTENSTEIN, R. Live history of earthworm *Eudrilus eugeniae*. **Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol**, Paris, v.16, p.525-534, 1979.
- NEUHAUSER, E.F.; KAPLAN, D.L.; MALECKI, M.R.; HARTENSTEIN, R. Materials supporting weight gain by the earthworm *Eisenia foetida* in waste conversion systems. **Agricultural Wastes**, Essex, v.2, p.43-46, 1980b.
- REINECKE, A.J.; KRIEL, J.R. Influence of temperature on the reproduction of earthworm *Eisenia foetida* (Oligochaeta). **South African Journal Zoology**, África do Sul, v.16, n.2, p.96-100, 1980.
- REINECKE, A.J.; VENTER, J.N. Moisture preferences, growth, and reproduction of the compost worm *Eisenia foetida* (Oligochaeta). **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.3, p.135-141, 1987.
- REINECKE, A.J.; VILJOEN, S.A. The influence of feeding patterns on growth and reproduction of

the vermicomposting earthworm *Eisenia foetida* (Oligochaeta). **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.10, p.184-187, 1990.

VENTER, J.M.; REINECKE, A.J. The life-cycle of the compost worm *Eisenia foetida* (Oligochaeta).

South African Journal of Zoology, África do Sul, v.23, p.161-163, 1988.

WAKSMAN, S.A. **Humus**; origin, chemical, composition, and importance in nature. 2. ed. Baltimore: The Willians & Wilkins, 1938. 526p.