

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO

Rodrigo Ferraz Ramos

**CARACTERIZAÇÃO DE UM VERMICOMPOSTO COM  
DIFERENTES TEMPOS DE BIOCONVERSÃO**

Santa Maria, RS  
2021

**Rodrigo Ferraz Ramos**

**CARACTERIZAÇÃO DE UM VERMICOMPOSTO COM  
DIFERENTES TEMPOS DE BIOCONVERSÃO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência do Solo, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Ciência do Solo.**

Orientador: Dr. Rodrigo Josemar Seminoti Jacques

Santa Maria, RS

2021

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Ramos, Rodrigo  
Caracterização de um vermicomposto com diferentes  
tempos de bioconversão / Rodrigo Ramos.- 2021.  
58 p.; 30 cm

Orientador: Rodrigo Josemar Seminoti Jacques  
Coorientador: Gustavo Brunetto  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós  
Graduação em Ciência do Solo, RS, 2021

1. Adubo orgânico 2. Eisenia andrei 3. Espectroscopia  
do infravermelho 4. População de minhocas 5.  
Reaproveitamento de resíduos I. Josemar Seminoti Jacques,  
Rodrigo II. Brunetto, Gustavo III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

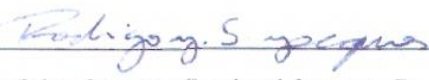
Declaro, RODRIGO RAMOS, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Rodrigo Ferraz Ramos


**CARACTERIZAÇÃO DE UM VERMICOMPOSTO COM  
DIFERENTES TEMPOS DE BIOCONVERSÃO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência do Solo, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM,RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Ciência do Solo**.

**Aprovado em 28 de maio de 2021:**

  
\_\_\_\_\_  
**Rodrigo Josemar Seminoti Jacques, Dr. (UFSM)**  
(Presidente/Orientador)

  
\_\_\_\_\_  
**Jorge Dominguez, Dr. (Universidade de Vigo, Espanha)**  
(Videoconferência)

  
\_\_\_\_\_  
**Natielo Almeida Santana, Dr. (UFSM)**  
(Videoconferência)

Santa Maria, RS  
2021

*Dedico esse trabalho a Sir Albert Howard (1873-1947) pelas suas contribuições à agricultura orgânica.*

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todos aqueles que contribuíram de algum modo em minha trajetória.

À minha mãe, Leonida Ferraz da Silva, por todo apoio e esperança. Aos meus irmãos que sempre me apoiam em todas as escolhas e caminhos.

Ao meu Orientador, Prof. Rodrigo Josemar Seminoti Jacques, por toda a paciência despendida. Ao longo dos dois últimos anos me orientou em direção aos melhores caminhos da vida acadêmica, contribuindo profundamente na minha formação acadêmica, científica e pessoal. Professor, muito obrigado.

À minha namorada Amabelli Rodrigues pelo carinho, apoio e compreensão.

Ao colega e amigo Natielo Santana pela ajuda e apoio durante todas as fases de desenvolvimento da pesquisa. Seu conhecimento e ajuda foram fundamentais para obtermos resultados inéditos, meu muito obrigado.

À professora Zaida Inês Antonioli por iluminar meu caminho com conselhos que levarei para a vida. Obrigado pela colaboração e carinho.

À Mariana Bassaco, Douglas Scheid e a Profa. Bárbara Tirloni pela ajuda nas análises químicas.

À Profa. Luciane Almeri Tabaldi e ao Prof. Gustavo Brunetto por disponibilizarem seus laboratórios para a realização de diversas análises.

À Profa. Débora Betemps e Profa. Mardiore Pinheiro pela amizade, carinho e colaboração.

Aos meus amigos Cristiano Bellé, Daiane Dalla Nora e Ricardo Rubin Balardin pela colaboração, apoio e amizade.

Agradeço aos colegas Kelvin Salbego, Nariane Andrade, Izabelle Scheffer Romagna, Eduarda Calegari e João Gabriel Munareto do Amaral por acompanharem e ajudarem diretamente em diversas etapas da pesquisa.

Aos demais colegas de laboratório de Biologia do Solo, Antônio Bassaco, Bruno Piovesan, Joice Freiberg, Lisiane Sobucki, Tiana Fredrich, Isis Caroline Siqueira Santos, Valéria Ortaça, Igor Schardong, Mariana Fereda Dossin e Isac Aires de Castro pela convivência durante o mestrado.

Agradeço ao Prof. Dr. Jorge Domínguez por aceitar participar da banca examinadora desta dissertação.

À Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), ao Centro de Ciências Rurais (CCR) e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo (PPGCS) pela oportunidade em poder cursar um curso de Pós-Graduação de excelência, referência no Brasil.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brasil (CAPES) pela bolsa.

A todos vocês, minha eterna gratidão.

*“A vida pode ser química, mas é uma circunstância especial da química. Organismos existem não graças as reações que são possíveis, mas reações que estão nos limites do possível. Se a reatividade fosse excessiva, entraríamos em combustão espontânea. Se fosse moderada demais, resfriaríamos até a morte. Proteínas possibilitam essas reações nos limites do possível e nos permitem viver na fronteira da entropia.”*

(Autor: Siddhartha Mukherjee)



## RESUMO

### CARACTERIZAÇÃO DE UM VERMICOMPOSTO COM DIFERENTES TEMPOS DE BIOCONVERSÃO

AUTOR: Rodrigo Ferraz Ramos

ORIENTADOR: Rodrigo Josemar Seminoti Jacques

A vermicompostagem é um processo ecologicamente correto de biotransformação de resíduos orgânicos em produtos úteis. O objetivo do estudo foi avaliar a relação entre o tempo de vermicompostagem e as mudanças em atributos biológicos, físicos e químicos durante a vermicompostagem de esterco bovino. Vasos contendo 4 kg de esterco bovino foram inoculados com *Eisenia andrei* numa densidade equivalente a 5.000 minhocas adultas m<sup>-2</sup>. Mudanças nos parâmetros físico-químicos e biológicos foram avaliadas aos 15, 30, 45, 60 e 120 dias de vermicompostagem e comparadas com os conteúdos encontrados no esterco de bovinos em confinamento. A fase inicial da vermicompostagem (0-45 dias) foi caracterizada pela elevada respiração basal enquanto a fase de maturação (45-120 dias) pela elevada densidade e biomassa de minhocas e concentração de nutrientes nos vermicompostos. Durante os 120 dias observou-se o decréscimo da atividade microbiana (56%), da massa do vermicomposto (35%), da matéria orgânica (10%), do carbono orgânico total (13%), do nitrogênio orgânico total (6.0%), da relação C / N (8.0%) e da relação C / P (45%). Em contrapartida, houveram incrementos no conteúdo de cinzas (53%), condutividade elétrica (23%), K (18%), P (57%), Ca (62%), Mg (54%), Cu (37%), Zn (51%), NO<sub>2</sub><sup>-</sup> + NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (39%), NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (14%), N mineral total (26%), relação C / N orgânico dissolvido (83%) e na densidade aparente (34%). A vermicompostagem também resultou em mudanças no grau de aromaticidade da matéria orgânica dissolvida. Houve grande crescimento populacional de minhocas na fase final da vermicompostagem, atingindo valores de 34.000 minhocas m<sup>-2</sup> e 87.000 cócans m<sup>-2</sup>. Nossos resultados demonstram que 30 dias de vermicompostagem são suficientes para obter um adubo orgânico de qualidade, porém são necessários 120 dias para obter resultados satisfatório na produção de minhocas.

**Palavras-chave:** Adubo orgânico, *Eisenia andrei*, espectroscopia do infravermelho, população de minhocas, reaproveitamento de resíduos.

## ABSTRACT

### CHARACTERIZATION OF A VERMICOMPOST WITH DIFFERENT BIOCONVERSION TIMES

AUTHOR: Rodrigo Ferraz Ramos

ADVISOR: Rodrigo Josemar Seminoti Jacques

Vermicomposting is an environmental-friendly process of biotransformation of organic waste into useful products. The aim of the study was to evaluate the relationship between vermicomposting time and changes in biological, physical, and chemical attributes during bovine manure vermicomposting. Pots (vermireactors) containing 4 kg of cattle manure were inoculated with *Eisenia andrei* at a population density equivalent to 5,000 adult earthworms m<sup>-2</sup>. Changes in the physical-chemical and biological parameters were evaluated at 15, 30, 45, 60 and 120 days of vermicomposting and compared with the contents found in cattle manure. The initial phase of vermicomposting (0-45 days) was characterized by high basal respiration while the maturation phase (45-120 days) was characterized by high earthworm density and biomass and concentration of nutrients in the vermicompost. During the 120 days, there was a decrease in microbial activity (56%), vermicompost mass (35%), organic matter (10%), total organic carbon (13%), total organic nitrogen (6.0%), the C / N ratio (8.0%) and the C / P ratio (45%). In contrast, there were increases in ash content (53%), electrical conductivity (23%), K (18%), P (57%), Ca (62%), Mg (54%), Cu (37%), Zn (51%), NO<sub>2</sub><sup>-</sup> + NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (39%), NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (14%), total mineral N (26%), dissolved organic C / N ratio (83%) and bulk density (34%). Vermicomposting also resulted in changes in the degree of aromaticity of the dissolved organic matter. There was a great population growth of earthworms in the final stage of vermicomposting, reaching values of 34,000 earthworms m<sup>-2</sup> and 87,000 cocoons m<sup>-2</sup>. We have demonstrated that 30 days of vermicomposting is sufficient to obtain a quality organic fertilizer, however it is necessary 120 days to obtain satisfactory results in the production of earthworms.

**Keywords:** Organic fertilizer, *Eisenia andrei*, infrared spectroscopy, earthworm population, reuse of waste.

## LISTA DE TABELAS

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1. Substratos orgânicos e espécies de minhocas utilizadas durante a vermicompostagem.....   | 18 |
| Tabela 2. Teores de nutrientes em vermicompostos obtidos a partir de diferentes resíduos orgânicos e citados na literatura. Esterco bovino (EB), esterco suíno (ES), bagaço de uva (BU) e resíduos de caule de bananeira misturados com esterco de vaca 1:1 (m/m) (CB).<br>..... | 21 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- C – Carbono
- CE – Condutividade elétrica
- Cu – Cobre
- C / N – Relação carbono / nitrogênio
- C / P – Relação carbono / fósforo
- DOC – Carbono orgânico dissolvido
- DON – Nitrogênio orgânico dissolvido
- DOM – Matéria orgânica dissolvida
- Fe – Ferro
- K – Potássio
- FT-IR – Infravermelho por transformada de Fourier
- Mg – magnésio
- MO – matéria orgânica
- N – Nitrogênio
- $\text{NH}_4^+$  – Amônio
- $\text{NO}_3^-$  – Nitrato
- $\text{NO}_2^-$  – Nitrito
- P – Fósforo
- SUVA – Absorbância ultravioleta específica
- TOC – Carbono orgânico total
- TN – Nitrogênio orgânico total
- Zn – Zinco

## SUMÁRIO

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b> .....   | 13        |
| 1.1. REVISÃO DE LITERATURA .....   | 14        |
| <b>1.1.1. Vermicompostagem</b> .....   | <b>14</b> |
| <b>1.1.2. Minhocas</b> .....   | <b>15</b> |
| <b>1.1.3. Material orgânico</b> .....  | <b>18</b> |
| <b>1.1.4. Fases da vermicompostagem</b> .....  | <b>19</b> |
| <b>1.1.5. Transformações do material orgânico</b> .....  | <b>20</b> |
| <b>1.1.6. Produtos da vermicompostagem</b> .....   | <b>22</b> |
| 1.2. HIPÓTESE .....  | 23        |
| 1.3. OBJETIVO GERAL .....  | 23        |
| <b>1.3.1 Objetivos específicos</b> .....   | <b>23</b> |
| <b>2. ARTIGO: Vermicomposting of cow manure: effect of time on earthworm biomass and chemical, physical, and biological properties of vermicompost</b> ..... | <b>24</b> |
| Abstract .....   | 24        |
| 1. Introduction .....  | 24        |
| 2. Material and methods .....  | 26        |
| 2.1. Substrate and earthworms .....  | 26        |
| 2.2. Experimental design and vermicomposting .....   | 26        |
| 2.3. Biological analyses.....  | 27        |
| 2.4. Physicochemical analysis of the vermicompost.....   | 27        |
| 2.5. Infrared and ultraviolet visible absorbance spectroscopy .....  | 28        |
| 2.6. Data analysis .....   | 28        |
| 3. Results and Discussion.....   | 28        |
| 3.1. <i>Microbial activity and earthworm population dynamic</i> .....  | 29        |
| 3.2. <i>Physico-chemical characteristics of vermicomposting and correlation analysis</i> .....   | 30        |
| 3.3. <i>Principal components analysis</i> .....  | 33        |
| 3.4. <i>SUVA<sub>254</sub> and FT-IR spectroscopy</i> .....  | 33        |
| 4. Conclusions .....   | 35        |
| Acknowledgements .....   | 36        |
| References .....   | 36        |
| Highlights.....  | 42        |
| Supplementary material.....  | 49        |
| <b>REFERÊNCIAS</b> .....   | <b>54</b> |

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A produção mundial de esterco bovino está crescendo constantemente devido ao aumento da produção pecuária para atender à demanda mundial por alimentos. O esterco bovino pode ser utilizado como um importante fertilizante orgânico na agricultura por possuir diversos nutrientes em sua composição que são essenciais para o desenvolvimento das culturas (POWERS et al., 2019; RINI et al. 2020). No entanto, o uso do esterco bovino fresco resulta em perdas de nitrogênio por volatilização e pode ser uma fonte de contaminação do ambiente por patógenos e compostos químicos, entre os quais metais pesados e antibióticos (LAZCANO et al., 2008; ALI et al., 2021).

Uma alternativa econômica e ecologicamente correta de transformar este resíduo em um adubo biológico de grande qualidade é a vermicompostagem (YUVARAJ et al., 2021; CAO et al., 2021). Este processo envolve a bioxidação, transformação e a estabilização dos resíduos orgânicos sólidos através da interação entre minhocas e microrganismos (DOMÍNGUEZ et al., 2019). Durante a fase ativa da vermicompostagem, caracterizada pela intensa atividade das minhocas, ocorre a ingestão e fragmentação do substrato orgânico, redução do volume do material e aumento na densidade populacional das minhocas (DOMÍNGUEZ et al., 2017). Nessa fase, as moléculas facilmente assimiláveis (carboidratos simples, peptídeos, proteínas, vitaminas, etc) são utilizadas preferencialmente pelas minhocas e pela comunidade microbiana, enquanto moléculas estruturalmente complexas (recalcitrantes) tendem a se acumular no substrato. Durante a fase de maturação da vermicompostagem, caracterizada pela migração das minhocas em direção ao substrato não digerido, os microrganismos desempenham papel predominante na transformação do substrato que já passou pelo intestino dos vermes (DOMÍNGUEZ et al., 2010; GOMEZ-BRANDON et al., 2020).

A qualidade final do vermicomposto depende de diversos fatores, como as características do substrato inicial, espécie de minhoca e o tempo de bioconversão dos resíduos (HUSSAIN et al., 2016; DEVI e KHWAIRAKPAM 2020; SANTANA et al., 2020). As mudanças na densidade populacional de minhocas e biomassa, composição da comunidade microbiana, dinâmica dos nutrientes e elementos tóxicos, pH, relação C/N, entre outras variáveis, podem ser considerados como indicadores da qualidade do substrato e estabilidade da matéria orgânica (YADAV e GUPTA, 2017; GOMEZ-

BRANDON et al., 2019; SANTANA et al., 2020; BALACHANDAR et al., 2021). Além disso, as características da matéria orgânica também são utilizadas como indicadoras da estabilidade e qualidade do vermicomposto (CHE et al. 2020). Os métodos espectrais, incluindo absorvância ultravioleta específica (SUVA) e infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR), podem ser usados para investigar mudanças no grau de aromaticidade da matéria orgânica (ZHU et al., 2016; BHAT et al., 2017; CHE et al. 2020).

A maioria dos estudos sobre vermicompostagem avaliam o processo por um período relativamente curto (< 45 dias) e analisam poucos indicadores da maturação do vermicomposto. Assim, a avaliação conjunta da dinâmica de populações de minhocas, mudanças químicas, físicas e biológicas e as mudanças qualitativas da matéria orgânica que ocorrem durante um longo período de vermicompostagem de esterco bovino não foi considerado na maioria dos estudos até o momento. Diante desse contexto, neste estudo buscou-se abranger o máximo de características físicas, químicas e biológicas durante diversos momentos da vermicompostagem, além de investigar as mudanças qualitativas da matéria orgânica, através de métodos espectrais inovadores.

## 1.1. REVISÃO DE LITERATURA

### 1.1.1. Vermicompostagem

A vermicompostagem pode ser definida como um processo biotecnológico onde os resíduos orgânicos são convertidos em um material rico em nutrientes através da atividade conjunta de minhocas e microrganismos (ALI et al. 2015). A vermicompostagem também pode ser definida como um processo biooxidativo mesofílico, onde espécies de minhocas detritívoras interagem sinergicamente com microrganismos, afetando fortemente os processos de decomposição, acelerando a estabilização da matéria orgânica e modificando muito de suas propriedades físicas, químicas e biológicas (DOMÍNGUEZ et al., 2018).

A vermicompostagem ocorre sobre condições controladas de temperatura e umidade, resultando em um produto final estável, denominado de vermicomposto. O vermicomposto produzido após a digestão e excreção pelas minhocas é um material semelhante a turfa, com baixa relação C / N (geralmente inferior a 20), alta capacidade de retenção de água e porosidade, além de conter diversos nutrientes em formas facilmente assimiláveis pelas plantas e com potencial de aplicação em cultivos agrícolas

(ALI et al., 2015; ANJOS et al., 2015). Durante a vermicompostagem, as minhocas possuem papel central, acelerando o processo de decomposição através da fragmentação dos resíduos e alteração da composição e da atividade da comunidade microbiana (DOMÍNGUEZ et al. 2010, GÓMEZ-BRANDÓN et al. 2011, BHAT et al., 2018). Em contrapartida, os microrganismos presentes no sistema são responsáveis pela degradação bioquímica da matéria orgânica através da produção de enzimas extracelulares (SANTANA et al., 2020; SRIVASTAVA et al., 2021).

### **1.1.2. Minhocas**

As minhocas são animais terrestres invertebrados e segmentados, possuem simetria bilateral, são hermafroditas e possuem uma estrutura glandular externa denominada de clitelo (estrutura responsável por produzir uma cápsula para os ovos) e que dá origem aos casulos (ootecas contendo ovos fertilizados) (MARTÍN e SCHIEDECK, 2015). Apesar de serem hermafroditas, geralmente a reprodução das minhocas é através de fertilização cruzada (COSÍN et al., 2011). As minhocas são consideradas engenheiras de ecossistema em muitos habitats, por fornecem uma variedade de funções e serviços vitais, como construção de estruturas biogênicas (agregados e galerias) no solo, ingestão, fragmentação e transformação de resíduos vegetais, entre outras (LAVELLE et al., 2016). A diversidade conhecida de minhocas terrestres é superior a 7 mil espécies, contudo, os pesquisadores estimam que exista mais de 30 mil (ORGIAZZI et al., 2016). Apesar de pertencerem a um mesmo filo (Annelida), as diferentes espécies de minhocas ocupam diferentes nichos ecológicos e podem ser classificadas em três categorias principais: epigeicas, endogeicas e anécicas.

As minhocas epigeicas são pequenas cavadoras e habitam o horizonte orgânico ou estão presentes na serapilheira, em contato com a superfície do solo, ou seja, o seu habitat restringe-se a região de interface entre solo-serapilheira (EISENHAUER e EISENHAUER, 2020). Os representantes desse grupo possuem uma dieta baseada na ingestão de grandes quantidades de resíduos orgânicos não decompostos. Devido à grande capacidade de ingestão e fragmentação de resíduos orgânicos, esse grupo também é conhecido como “transformadoras de serapilheira” ou “transformadores de resíduos vegetais”. As espécies epigeicas são estrategistas R, ou seja, possuem pequeno tamanho corporal, atingem rapidamente a fase adulta sexual, possuem alta taxa de reprodução e baixo investimento de recurso por descendentes (DOMÍNGUEZ, 2018). Por habitarem a



interface solo-serapilheira, esse grupo desenvolveu pigmentos para se proteger da radiação solar, assim, os representantes desse grupo geralmente são pigmentados. Entre as espécies conhecidas desse grupo estão *Eisenia fetida*, *E. andrei*, *Eudrilus eugeniae*, *Lumbricus rubellus*, *Perionyx excavatus*, etc (CHATELAIN e MATHIEU, 2017; RINI et al., 2020).

Contrariamente ao grupo anterior, as espécies de minhocas endogeicas dificilmente são encontradas na superfície do solo, uma vez que vivem em profundidades maiores no perfil. Esse grupo possui uma dieta baseada na ingestão de partículas do solo associadas à matéria orgânica. As espécies endogeicas são excelentes construtoras de galerias, construindo principalmente ramificações horizontais para a sua movimentação ao longo do perfil de solo (BARETTA et al., 2011). Como seu habitat restringe-se a camadas mais profundas, os representantes desse grupo são geralmente pouco ou não pigmentados. As espécies desse grupo são estrategistas K, ou seja, possuem uma baixa taxa de reprodução, necessitam de um longo período para atingir a fase adulta sexual e investem uma maior quantidade de recursos por descendentes. As minhocas endogeicas possuem um período de diapausa, uma parada no desenvolvimento induzida pela necessidade de ajustes fisiológicos nos indivíduos, que é obrigatória e fisiologicamente controlada (BRIONES e ALVAREZ-OTERO, 2018). Entre os representantes desse grupo encontram-se as espécies *Allolobophora caliginosa*, *Aporrectodea caliginosa*, *Octolasion cyaneum*, etc (LE COUTEULX et al. 2015; CESARZ et al., 2016; SALVIO et al., 2016).

O último grupo é representados pelas minhocas anécicas. Os indivíduos desse grupo vivem em galerias construídas na vertical, que podem chegar até 3 m de profundidade e geralmente são poros permanentes (PALM et al., 2013). As minhocas desse grupo coletam material orgânico na superfície do solo e transportam para horizontes mais profundos no solo. Quando vem à superfície, depositam seus excrementos em estruturas típicas conhecidas como *middens*, que são compostas por material orgânico triturado e digerido, mesclado com partículas de solo (EISENHAUER e EISENHAUER, 2020). O hábito de alimentação baseia-se na ingestão de resíduos vegetais e excrementos de animais. Durante o dia essas minhocas permanecem protegidas nas suas galerias, alimentando-se geralmente durante o período noturno. Esse grupo possui estratégia de reprodução intermediária entre o grupo das minhocas epigeicas e endogeicas. Entre as

espécies conhecidas desse grupo estão *Lumbricus terrestres* e *Aporrectodea longa* (McTAVISH et al., 2020).

Apesar de existir uma grande diversidade de minhocas, nem todas são adequadas para uso na vermicompostagem. Uma vez que a vermicompostagem objetiva realizar a conversão de um resíduo orgânico em um material estável e útil, e as condições do processo ocorrem em ambiente protegido e controlado, somente espécies adaptadas a essas condições apresentam sucesso de criação. Entre as características biológicas das minhocas desejadas para a vermicompostagem destaca-se: a) capacidade de crescer e se reproduzir em um ambiente rico em material orgânico e na ausência de solo, b) alta capacidade de ingestão e fragmentação desses resíduos, c) capacidade de se reproduzir em cativeiro, d) alta taxa de reprodução e e) atingir rapidamente a fase adulta sexual (ANJOS et al., 2015). As minhocas epigeicas, as transformadoras da serapilheira, são o único grupo que possuem espécies que reúnem todas essas características.

No grupo das minhocas epigeicas, as espécies *Eisenia fetida* e *E. andrei* são as mais utilizadas na vermicompostagem (DOMÍNGUEZ et al., 2018). Em geral, as espécies *E. fetida* e *E. andrei* são consideradas modelos nos estudos sobre vermicompostagem, apresentando boa adaptação a substratos orgânicos de origem vegetal (resíduos de vassoura escocesa, bagaço de uva, resíduos florais, palha de arroz, folhas e caule de bananeira) e de origem animal (estercos de gado, ovelha e elefante), além de resíduos agroindustriais como o lodo de esgoto (Tabela 1). Contudo, além dessas espécies há outras que podem ser utilizadas na vermicompostagem e que já foram testadas para diferentes resíduos orgânicos. Em alguns estudos, as espécies *Eudrilus euginae* e *Perionyx excavatus* apresentaram boa capacidade de bioconversão dos substratos orgânicos e estabilização dos vermicompostos (SUTHAR et al., 2012; DEVI e KHWAIRAKPAM, 2020; RINI et al., 2020; DEEPTHI et al. 2021).

Apesar de *E. fetida* e *E. andrei* pertencerem a espécies diferentes, o isolamento reprodutivo dessas espécies é incompleto, podendo ocorrer a hibridização, inclusive com descendentes férteis (PLYTYCZ et al. 2020). Assim, o ciclo de vida de ambas as espécies é muito semelhante. O tempo entre a fase de casulo até a maturação sexual (produção de novos casulos) é de aproximadamente 50 dias (LOURENÇO, 2014). O acasalamento resulta na produção de casulo em aproximadamente 48 horas após a fecundação, sendo que em média cada indivíduo adulto pode produzir até um casulo ao dia. A partir de cada

casulo podem eclodir de 2 a 4 indivíduos, com viabilidade da prole estimada em 80% (ANJOS et al., 2015). A longevidade máxima dos indivíduos dessas duas espécies é de aproximadamente 6 anos, incluindo a manutenção da sua capacidade reprodutiva (PENNING e WRIGLEY, 2018).

Tabela 1. Substratos orgânicos (resíduo), espécies de minhocas e tempo de vermicompostagem relatados por alguns autores.

| Substrato  | Espécie  | Tempo (dias) | Referência                  |
|--|--|--------------|-----------------------------|
| Vassoura escocesa ( <i>Cytisus scoparius</i> )     | <i>Eisenia andrei</i>                                | 91           | Domínguez et al. (2019)     |
| Bagaço de uva ( <i>Vitis vinifera</i> )            | <i>Eisenia andrei</i>                                | 42           | Gómez-Brandón et al. (2020) |
| Bagaço de uva ( <i>V. vinifera</i> )               | <i>Eisenia andrei</i>                                | 720          | Santana et al. (2020)       |
| Folha de bananeira e esterco bovino                | <i>Eisenia fetida</i>                                | 105          | Mago et al. (2021)          |
| Caule de bananeira e esterco bovino                | <i>Eisenia fetida</i>                                | 60           | Khatua et al (2018)         |
| Resíduos florais e esterco bovino                  | <i>Eisenia fetida</i>                                | 45           | Sharma et al. (2021)        |
| Lodo de esgoto e palha de arroz                    | <i>Eisenia fetida</i>                                | 60           | Lv et al. (2019)            |
| Esterco de gado e de ovelha                        | <i>Eisenia fetida</i>                                | 94 - 148     | Cestonaro et al. (2017)     |
| Resíduos de <i>Lantana camara</i> (planta daninha) | <i>Eisenia fetida</i> e <i>Eudrilus euginae</i>      | 45           | Devi e Khwairakpam (2020)   |
| Esterco de gado                                    | <i>Perionyx excavatus</i> e <i>Eudrilus eugeniae</i> | 90           | Rini et al. (2020)          |
| Esterco de gado                                    | <i>Perionyx excavatus</i>                            | 75           | Suthar et al. (2012)        |
| Esterco de gado e de <i>Elephas maximus</i>        | <i>Eudrilus eugeniae</i>                             | 90           | Deepthi et al. (2021)       |

### 1.1.3. Material orgânico

As minhocas dependem de um ambiente adequado para seu crescimento e reprodução. Assim, a qualidade e a natureza do material orgânico são condições que determinam a reprodução e o crescimento das minhocas durante o processo de vermicompostagem (BHAT et al., 2018). Diversos materiais orgânicos já foram testados

como substrato para o desenvolvimento das minhocas: esterco de animais (bovinos, suínos, aves, ovelhas, cavalos, elefantes, etc.), resíduos vegetais (bagaço de uva, folhas de bananeira, palha de trigo, palha de arroz, bagaço de cana etc.), lodo de esgoto e outros resíduos agroindustriais (ALI et al., 2015; BIABANI et al., 2018; LV et al., 2019; GOMEZ-BRANDON et al. 2020; RINI et al., 2020; DEEPHI et al., 2021; MAGO et al., 2021). Os materiais orgânicos com teores de umidade próximos a 80%, pH entre 7,7 – 8,0 e baixos teores de metais pesados são favoráveis para o processo de vermicompostagem (DOMÍNGUEZ et al., 2014; BHAT et al., 2018).

Os materiais orgânicos utilizados na vermicompostagem diferem na qualidade, e assim, influenciam diretamente na taxa de crescimento e reprodução das minhocas e na qualidade do vermicomposto. Rini et al. (2020) observaram que as minhocas *E. eugeniae* e *P. excavatus* apresentaram maiores taxa de crescimento e reprodução quando o substrato foi esterco de bovinos *Bos indicus* oriundo de animais alimentados com pastagens, em comparação com esterco de bovinos *Bos taurus* oriundo de animais alimentados com ração. Ainda, a proporção das misturas dos materiais orgânicos também pode resultar no aumento ou diminuição do número de minhocas. Cestonaro et al. (2017) reportaram que nenhuma minhoca *Eisenia fetida* sobreviveu a uma dieta 100% de cama de ovelha, contudo, a adição gradual de esterco bovino aos vermirretores permitiu a sobrevivência e a reprodução das minhocas, enquanto o aumento da proporção de esterco bovino reduziu o tempo de vermicompostagem. A redução no número ou morte das minhocas pode ser devido à natureza tóxica ou ambiente desfavorável no substrato alimentar (BHAT et al., 2018). Isso demonstra que nem todos os materiais orgânicos apresentam qualidade adequada para o desenvolvimento de minhocas em cativeiro.

#### **1.1.4. Fases da vermicompostagem**

A vermicompostagem pode ser dividida em duas fases distintas. A primeira, denominada de fase ativa, é caracterizada pela intensa atividade das minhocas no substrato, resultando na ingestão, fragmentação, degradação e homogeneização do material orgânico (DOMÍNGUEZ et al., 2017). Durante essa fase as minhocas selecionam o substrato fresco mais palatável, enquanto os microrganismos selecionam as moléculas mais facilmente assimiláveis (MAGO et al., 2020; RINI et al., 2020). A atividade mecânica das minhocas resulta no aumento da área de exposição das partículas aos microrganismos e conseqüentemente no aumento da respiração basal do vermicomposto,

uma medida que está diretamente relacionada a atividade microbiana (DOMÍNGUEZ et al., 2010).

Na segunda fase da vermicompostagem, denominada de maturação, ocorre uma redução na atividade das minhocas e microrganismos, devido a menor disponibilidade de resíduos frescos e aumento da presença de matéria orgânica recalcitrante. Nessa fase, os microrganismos desempenham papel predominante, dando continuidade à transformação dos compostos orgânicos que já passaram pelo intestino das minhocas (DOMÍNGUEZ et al., 2010; GOMEZ-BRANDON et al., 2020; SANTANA et al., 2020). Durante a fase de maturação o vermicomposto torna-se um material orgânico homogêneo, estável e com baixo risco ambiental para aplicação em solos agrícolas.

A disponibilidade de alimento fresco durante a fase ativa resulta no aumento da biomassa das minhocas, que posteriormente direcionam os recursos para a reprodução. Em contrapartida, com o esgotamento dos alimentos nos estágios finais da vermicompostagem, há diminuição da biomassa das minhocas, seguida da redução da taxa de reprodução. Rini et al. (2020) observaram que durante a fase inicial da vermicompostagem de esterco bovino (primeiros 30 dias) a biomassa média das minhocas aumentou de 250 mg para 610 mg, mas com esgotamento de resíduos frescos na fase final (30-60 dias) a biomassa decresceu para 320 mg.

#### **1.1.5. Transformações do material orgânico**

Durante a vermicompostagem ocorre diversas mudanças físicas, químicas e biológicas no substrato orgânico. O ganho de biomassa pelas minhocas, associado a perda de C-CO<sub>2</sub> pela respiração biológica, resulta na redução da massa e volume do material orgânico ao longo da vermicompostagem. Com a redução do volume do vermicomposto, ocorre aumento da densidade aparente e redução da densidade de partículas, e essas propriedades podem influenciar a condutividade térmica, porosidade, resistência ao fluxo de ar e taxa de degradação do vermicomposto (JAIN et al., 2018). Disto também resulta o aumento da concentração de nutrientes nos vermicompostos em formas assimiláveis pelas plantas. Assim, a vermicompostagem é um processo que reduz os riscos ambientais associados a dificuldade de armazenamento ou descarte de grandes volumes de resíduos orgânicos, além de possibilitar o reaproveitamento dos vermicompostos na agricultura.

Em geral, a maioria dos trabalhos destaca as mudanças químicas durante o processo de vermicompostagem (Tabela 2). Aumentos e diminuições no pH do

vermicomposto em relação ao substrato inicial podem ocorrer como resultado da atividade das minhocas e microrganismos. Durante a mineralização da matéria orgânica pode ocorrer a liberação de ácidos húmicos, fúlvicos e outros ácidos orgânicos que resultam na acidificação do ambiente. Contudo, as minhocas possuem glândulas calcíferas que são estimuladas pelo aumento da concentração de CO<sub>2</sub> no sistema circulatório, liberando, assim, partículas de carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>) no ambiente e alcalinizando o vermicomposto (VERSTEEGH et al., 2014; SHARMA e GARG 2019). O processo de mineralização também resulta na liberação de sais solúveis como amônio, nitrato e fosfato e, conseqüentemente, pode ocorrer aumentos da condutividade elétrica do vermicomposto (CHE et al., 2020).

Tabela 2. Teores de nutrientes em vermicompostos obtidos a partir de diferentes resíduos orgânicos citados na literatura. Esterco bovino (EB), esterco suíno (ES), bagaço de uva (BU) e resíduos de caule de bananeira misturados com esterco de vaca 1:1 (m/m) (CB).

| Vermicomposto   | EB <sup>1</sup> |       | ES <sup>2</sup> |       | BU <sup>3</sup> |       | CB <sup>4</sup> |       |
|---|-----------------|-------|-----------------|-------|-----------------|-------|-----------------|-------|
|   | Inicial         | Final | Inicial         | Final | Inicial         | Final | Inicial         | Final |
| pH  | 8,3             | 7,6   | 9,0             | 9,4   | 4,4             | 7,5   | 8,8             | 7,6   |
| CE (dS m <sup>-1</sup> )  | 1,25            | 0,78  | 7,4             | 7,7   | 1,3             | 7,9   | nd              | nd    |
| TOC (g kg <sup>-1</sup> )   | 399,2           | 314,0 | 270             | 254,4 | 484,2           | 457,7 | 472             | 324   |
| N total (g kg <sup>-1</sup> )   | 23,6            | 28,3  | 30,0            | 28,0  | 20,2            | 39,4  | 9,5             | 37,7  |
| Relação C / N   | 17,0            | 11,1  | 8,9             | 9,1   | 24,0            | 11,6  | 75,8            | 8,6   |
| DOC (g kg <sup>-1</sup> )   | 4,4             | 5,2   | 20,4            | 27,2  | 4,0             | 1,82  | nd              | nd    |
| DON (g kg <sup>-1</sup> )   | 2,2             | 3,7   | nd              | nd    | <0,001          | 2,6   | nd              | nd    |
| NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg kg <sup>-1</sup> )                               | 610,0           | 276,0 | nd              | nd    | <0,001          | 490   | nd              | nd    |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg kg <sup>-1</sup> ) | 19              | 917,0 | nd              | nd    | <0,001          | 420   | nd              | nd    |
| P (g kg <sup>-1</sup> )   | 0,2             | 0,1   | 4,1             | 4,9   | 4,0             | 3,7   | 3,9             | 5,2   |
| K (g kg <sup>-1</sup> )   | Nd              | nd    | 31,8            | 30,0  | 30,5            | 15,6  | 20,0            | 22,8  |
| Ca (g kg <sup>-1</sup> )  | Nd              | nd    | nd              | nd    | 3,4             | 9,9   | 12,0            | 18,4  |
| Cu (g kg <sup>-1</sup> )  | Nd              | nd    | 0,7             | 0,8   | 0,02            | 0,2   | 0,01            | 0,03  |
| Zn (g kg <sup>-1</sup> )  | Nd              | nd    | 1,9             | 2,3   | 0,01            | 0,7   | 0,03            | 0,14  |

<sup>1</sup> Lazcano et al. (2008), <sup>2</sup> Zhu et al. (2016), <sup>3</sup> Santana et al. (2020), <sup>4</sup> Khatua et al. (2018)

Como consequência da mineralização da matéria orgânica e liberação de CO<sub>2</sub> pela respiração, ocorre uma redução dos teores de carbono orgânico total. Em geral, a perda de carbono é mais rápida que a redução nos teores de nitrogênio orgânico, resultando assim em uma redução na relação C / N ao longo do processo de vermicompostagem. Contrariamente a essas variáveis, os teores de nutrientes tendem a aumentar à medida que ocorre redução da massa e volume do substrato. O aumento dos teores de nutrientes nos vermicompostos é uma característica desejada, uma vez que aumenta a qualidade do vermicomposto enquanto um corretivo orgânico com potencial de aplicação na agricultura (RINI et al., 2020). Contudo, conforme a legislação brasileira (MAPA 2020), existe algumas exigências em relação às propriedades químicas dos vermicompostos para uso agrícola, como por exemplo, possuir valores de carbono orgânico dissolvido inferiores a 4,0 g kg<sup>-1</sup>, nível de condutividade elétrica inferiores a 4,0 mS cm<sup>-1</sup>, relação C / N inferior a 20, carbono orgânico total superior a 150 g kg<sup>-1</sup>, teores de Cu, Zn e Mn inferiores a 0,6 g kg<sup>-1</sup>, 3 g kg<sup>-1</sup> e 0,6 g kg<sup>-1</sup>, respectivamente.

#### **1.1.6. Produtos da vermicompostagem**

O processo de vermicompostagem resulta no vermicomposto, um material orgânico estável, com elevada concentração de nutrientes em formas disponíveis para as plantas, além da presença de microrganismos e moléculas orgânicas benéficas que podem estimular o crescimento vegetal e a defesa da planta contra patógenos. O vermicomposto, em mistura com solo ou outros materiais, pode ser utilizado como um substrato adequado em viveiros para o crescimento de mudas. Devido ao grande interesse da sociedade em obter alimentos saudáveis e de forma sustentável, muitos centros urbanos possuem espaços coletivos ou domiciliar reservados para a vermicompostagem de resíduos domésticos e utilizam o vermicomposto como um substrato para o crescimento de hortaliças.

Além do vermicomposto, as minhocas também são um produto do processo de vermicompostagem. A biomassa dos indivíduos e o número de minhocas aumenta ao longo do tempo de vermicompostagem. Dependendo da duração deste processo, o número de minhocas ao final da vermicompostagem pode ser superior a 10 vezes o inicial. Assim, as minhocas podem ser comercializadas como matrizes para novos criadouros comerciais ou domésticos ou servir de fonte alternativa de proteína *in natura* ou na fabricação de rações para animais, especialmente aves, rãs e peixes (MUSYOKA et al.,

2019). Em alguns casos, minhocas de determinadas espécies podem ser inoculadas juntamente com vermicomposto no solo contaminado com o objetivo de acelerar o processo de remediação de poluentes orgânicos ou inorgânicos (CHACHINA et al., 2015; SANTANA et al., 2019). Por exemplo, a inoculação de minhocas em solo contaminado com cobre aumentou a absorção e translocação desse metal para a parte aérea em plantas de *Canavalia ensiformis* (SANTANA et al., 2019).

Além disso, as perspectivas são de aumento da população mundial nos próximos anos, com estimativas de 9 bilhões de pessoas para o ano de 2030. Consequentemente, ocorrerá um aumento na demanda mundial de alimentos, especialmente proteicos. Nesse cenário, a criação de minhocas para fornecer uma fonte alternativa de proteína para a alimentação humana é uma possibilidade que está sendo avaliada por diversos pesquisadores. Atualmente, alguns estudos demonstram que as minhocas podem ser utilizadas para produção de farinhas e podem ser seguras para o uso na alimentação humana, inclusive apresentando teor proteico superior a outros produtos similares (SUN e JIANG 2017; TEDESCO et al., 2019, 2020). Entretanto, nem todos os substratos orgânicos são adequados para produzir minhocas direcionadas a alimentação humana e a utilização de minhocas para esse fim dependerá da aceitação pública e sua inserção voluntária na dieta.

## 1.2. HIPÓTESE

O aumento do tempo de vermicompostagem resulta em um vermicomposto com maior grau de aromaticidade da matéria orgânica, maior concentração de nutrientes e maior população de minhocas.

## 1.3. OBJETIVO GERAL

Caracterizar as mudanças físicas, químicas e biológicas de um vermicomposto com diferentes tempos de bioconversão.

### 1.3.1 Objetivos específicos

1. Avaliar as mudanças na atividade microbiana, densidade e biomassa da população de minhocas durante um processo de vermicompostagem de 120 dias;
2. Estudar as mudanças físicas e nos teores de nutrientes do vermicomposto durante este período;



3. Determinar as alterações no grau de aromaticidade da matéria orgânica dissolvida durante 120 dias de vermicompostagem de esterco bovino.

**2. ARTIGO:** Vermicomposting of cow manure: effect of time on earthworm biomass and chemical, physical, and biological properties of vermicompost

### **Abstract**

Vermicomposting is a biological process for efficient cattle manure treatment, but the vermicomposting time determines the quality of the vermicompost. The objective of this study was to evaluate the effect of cattle manure vermicomposting time on earthworm biomass and the changes in physical, chemical, and biological in properties of the vermicompost. The cattle manure was inoculated with *Eisenia andrei* earthworms and conducted vermicomposting for 0, 15, 30, 45, 60, and 120 days. The analysis of 44 chemical, physical, and biological properties allowed the vermicomposting process to be divided into initial (<45 days) and final (45–120 days) phases. The initial phase was characterized by high microbial activity and the final by high physical–chemical transformation of the vermicompost and an increase in earthworm density. The organic matter aromaticity increased until the 45th day, subsequently decreasing. Although 30 d of vermicompost are sufficient to obtain a high-quality organic fertilizer, 120 d are necessary for producing matrices.

**Key words:** Cattle manure, *Eisenia andrei*, Nutrient, Organic matter aromaticity, Infrared spectroscopy.

### **1. Introduction**

The increasing global demand for animal protein has resulted in the intensification of confined livestock farming (Gilbert et al., 2021). Consequently, large amounts of cattle manure are produced in small areas, and appropriate environmental residue management is a problem in many countries (Udo et al. 2011). Well-treated and managed cattle manure is rich in plant nutrients (Powers et al., 2019; Rini et al., 2020). Furthermore, organic fertilization under technical criteria has other benefits, including nutrient cycling and less use of chemical fertilizers, which are expensive and made from non-renewable, polluting sources (Li et al., 2017). However, insufficient treatment of organic waste may cause nitrogen losses through volatilization, eutrophication, and

environmental contamination with pathogens, antibiotics, heavy metals, among other consequences (Lazcano et al., 2008; Ali et al., 2021).

Vermicomposting is an economical and environmentally friendly method to treat this residue (Cao et al., 2021). Ingestion and fragmentation of the organic substrate occur along with material volume reduction at the beginning of the vermicomposting process, characterized by intense earthworm activity (Domínguez et al., 2017). In this phase, earthworms and the microbial community preferably use easily assimilable molecules (simple carbohydrates, peptides, proteins, vitamins, etc.), while structurally complex (recalcitrant) molecules tend to accumulate in the substrate (Gómez-Brandón et al., 2019). Microorganisms perform a predominant role during the vermicomposting maturation phase, continuing the transformation of organic compounds digested by earthworms (Gómez-Brandón et al., 2020). As a result, the vermicompost produced has high levels of organic matter, nutrients, and plant growth-promoting substances produced by earthworm enteric bacteria, making it an excellent fertilizer (Banerjee et al., 2019).

One of the less-studied variables of vermicomposting is the degree of organic matter aromaticity owing to the need for complex spectral methods including specific ultraviolet absorbance (SUVA) and Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR) (Zhu et al., 2016; Bhat et al., 2017; Che et al. 2020). However, these spectral methods are essential for understanding transformations promoted by earthworms and microorganisms in the substrate through the different vermicomposting phases. For example, Zhu et al. (2016) observed an increase in organic matter aromaticity throughout the vermicomposting process using FT-IR analysis.

Although vermicomposting is a traditional process, few studies have analyzed chemical, physical, and biological changes, including the aromaticity of organic matter, that occur in the substrate during a long period of vermicomposting. Vermicompost is normally produced and marketed after a production period of only 40–60 days (Che et al., 2020; Rini et al., 2020), and most previous studies evaluated changes in nutrient availability occurring during a short vermicomposting process (<60 days). However, the knowledge of changes in several properties of substrate and in earthworm biomass during a longer period of vermicomposting helps determine when this process should take place to meet the interest of the producer. Ultimately, the variation in vermicomposting time

will determine the quality of the vermicompost and amount of earthworm biomass produced.

This is particularly important as there is a growing demand for earthworm biomass in manufacturing feed (e.g., fish farming and poultry activities) and matrices for urban vermicomposting. Only a few studies have evaluated the best time for vermicomposting to obtain high earthworm biomass (Tedesco et al., 2020). Therefore, the aim of the study was to evaluate the effect of cattle manure vermicomposting time on earthworm biomass and the changes in the physical, chemical, and biological properties of the vermicompost.

## **2. Material and methods**

### **2.1. Substrate and earthworms**

Vermicomposting was conducted using confined cattle manure without anti-parasitic treatment. The manure was stored in the dark for 15 days in polypropylene bags; then, 4.0 kg samples were placed into a 5 L vermireactor (20 × 20 × 28 cm) and inoculated with 20 adult *Eisenia andrei* (Bouché, 1972) individuals (equivalent to 5,000 earthworms per m<sup>2</sup>).

### **2.2. Experimental design and vermicomposting**

The experiment was a randomized design with six treatments and six repetitions. Treatments were defined by vermicomposting time: 0 (substrate), 15, 30, 45, 60, and 120 d. Thus, 36 vermireactors were maintained at 28 °C (± 2.0), and their humidity was maintained at ~75% of the field capacity by adding water, as necessary. Earthworms were inoculated onto the surface of cattle manure and covered by nonwoven fabric to prevent light exposure. Six experimental units were removed on each of the abovementioned dates to analyze earthworm density, and 500 g substrate samples were homogenized and stored at -20 °C to evaluate microbiological variables. Another 500 g sample was dried in an oven at 65 °C until a constant mass was achieved, sieved, and then used to determine the chemical and physical variables.

### 2.3. Biological analyses

The density of adults, juveniles, and cocoons was determined for each vermireactor by manual counting. Fresh biomass was determined before earthworms were killed by gradual temperature reduction and freezing. Subsequently, earthworms were dried in a forced-air oven at 68 °C until reaching constant mass to determine the dry mass of juveniles and adults and total dry mass. The reproduction rate was calculated as the relationship between the number of cocoons and adult earthworms in each vermicomposting time. The relative growth rate in each vermicomposting time was calculated as the individual biomass of adult earthworms in the initial substrate (~410 mg ind<sup>-1</sup>), given per Eq. 1:

$$\text{Growth rate} = \frac{\bar{X}_{tx} - \bar{X}_{ti}}{N_{tx}} \quad (1)$$

Where:  $\bar{X}_{tx}$  is the average biomass (mg) in x time,  $\bar{X}_{ti}$  is the average initial biomass (mg), and  $N_{tx}$  is the time (days) from the beginning of the vermicomposting process.

The vermicompost microbial activity was determined as the CO<sub>2</sub> production in 20 g of wet-mass samples incubated in hermetically sealed flasks for 6 h at 28 °C. The produced CO<sub>2</sub> was captured using 0.1 M NaOH, titrated with standardized HCl (0.02 M), after adding phenolphthalein and excess BaCl<sub>2</sub> (Anderson, 1982).

### 2.4. Physicochemical analysis of the vermicompost

The vermicompost wet mass was determined by weighing the content of each vermireactor and was dried in an oven at 65 °C until a constant mass was achieved (Embrapa, 2017). The pH (water, 1:1) and electrical conductivity (EC) (water, 1:10) of dry substrate samples were determined. The P (spectrophotometry), K (flame photometry), Ca, Mg, Cu, Zn, Fe, Ni, Cr and Pb content was determined using a Flash EA 1112 elemental analyzer (Thermo Finnigan, Milan, Italy). The NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + NO<sub>2</sub><sup>-</sup> content was determined using the micro-Kjeldahl method. The bulk density (BD) of the substrate was determined using the beaker method (Jain et al., 2018).

The Zhu et al. (2016) method was modified to determine the dissolved organic carbon (DOC) and dissolved organic nitrogen (DON) content in the vermicompost. Fresh samples were diluted with distilled water (1:10 solid/water ratio) and mixed for 16 h using a horizontal agitator (200 rpm) at 27 °C. After decanting samples for 2 h, the supernatant

was extracted and filtered through 0.45  $\mu\text{m}$  membranes to remove solid particles. The filtrate DOC and DON were determined using a total organic carbon (TOC) analyzer (Shimadzu TOC-LCPN, Japan). The C/N and C/P ratios were calculated as per Biruntha et al. (2020), and the dissolved C/N ratio was calculated as the ratio between DOC and DON contents.

### **2.5. Infrared and ultraviolet visible absorbance spectroscopy**

Ultraviolet visible absorbance (UV-VIS) spectroscopy was performed with a Shimadzu model UV-Vis 2600-PC spectrophotometer in the wavelength range of 200–800 nm. All solutions were diluted to DOC concentrations of 1 mg mL<sup>-1</sup>. The specific UV absorption was determined by normalizing the UV absorbance at 254 nm (SUVA<sub>254</sub>) to the corresponding concentration of DOC and UV cell path length. E4/E6 was the ratio of absorbance measured at 465 and 665 nm. FT-IR spectra were recorded on a Bruker VERTEX 70 spectrophotometer in the 4000–400 cm<sup>-1</sup> region (4 cm<sup>-1</sup> of resolution; 64 scans were performed on each sample). The pellets were obtained by pressing a finely ground mixture of 3 mg of vermicompost and 100 mg of dried KBr (spectroscopic grade) under reduced pressure.

### **2.6. Data analysis**

Statistical analyses were performed under the R statistical environment (R Core Team, 2019). Analysis of variance followed by the Tukey test were used to determine the significant difference at a 95% confidence level using the ExpDes.pt package (Ferreira et al., 2018). Spearman correlation coefficient ( $P < 0.01$ ) of quantitative variables was conducted, and the correlation matrix was generated using the corrplot package of R (Wei and Simko, 2017). Finally, principal component analysis (PCA) was conducted using the Stats package.

## **3. Results and Discussion**

This study provides additional evidence on the use of cattle manure in vermicomposting processes to reduce environmental impact and obtain a high-quality fertilizer and high earthworm biomass. Changes in vermicompost quality, that is 44 chemical, physical, and biological properties of the organic fertilizer, and earthworm population during 120 days of vermicompost were analyzed. Among which stand out

complex spectral methods to assess changes in the aromaticity of organic matter. Unlike most studies already performed, analyses occurred over short time intervals of up to 60 days of vermicomposting, and a final analysis was performed at 120 days. This is a longer period of vermicomposting compared with that reported by most studies (<60 days).

### 3.1. Microbial activity and earthworm population dynamic

The vermicomposting process can be divided into an initial and a final phase based on earthworm density and microbial respiration (Lazcano et al., 2008; Garcia-Sanchez et al., 2017). The initial phase persisted for 45 days and was characterized by high microbial activity (average of 23 mg C-CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>,  $P < 0.0001$ ) (Fig. 1A) and showed no significant changes in adult and juvenile earthworm populations (Fig. 1B). The final phase was from the 45th to the 120th day and was characterized by an ~45% reduction in microbial activity (average of 15 mg C-CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>,  $P < 0.0001$ ) and dry mass of vermicompost (Fig. 1A) and a steep increase in earthworm cocoon population in the vermicompost (Fig. 1C).

A previous study showed a high earthworm activity in the initial phase due to ingestion, mechanical fragmentation, and substrate degradation, increasing the particle surface area and stimulating microbial activity (Domínguez et al., 2010). The final phase of vermicomposting is characterized by reduced earthworm and microorganism activity because of the low availability of fresh residues and increases in recalcitrant organic matter (Gómez-Brandón et al., 2020; Santana et al., 2020).

Nevertheless, the results showed that the highest adult, juvenile, and earthworm cocoon populations ( $P < 0.0001$ ) occurred in the final phase. Data from Fig. 1D-E show that earthworms with high body mass increase during the first 15 d (Fig 1D, mg per adult d<sup>-1</sup>) because of intense substrate degradation. After reaching ~600 mg ind<sup>-1</sup> (Fig. 1D, the initial body mass was ~410 mg ind<sup>-1</sup>), the earthworms directed resources toward reproduction, causing an increase in cocoon production (Fig. 1C, cocoon per adult) between day 15 and 45. Hence, an increase in the number of juvenile earthworms after 45 d and adults from 60 days was observed (Fig. 1B). The earthworm population increase observed at the end of the vermicomposting process occurred because of high substrate degradation by earthworms in addition to increases in biomass (Fig. 1E-F) and reproduction during the initial phase.

Population density is a significant variable to determine the adequacy of an organic substrate as earthworm food (Tedesco et al., 2020). A steep increase in the number of adults, juveniles, and cocoons was observed between the initial population and that after 120 days. The adult population increased 3.8 times, reaching 19,000 ind m<sup>-2</sup> (Fig. 1B). The juvenile population reached 15,000 ind m<sup>-2</sup> (Fig. 1B), and the cocoon production increased to ~87,000 cocoons m<sup>-2</sup> (Fig. 1C). Lalander et al. (2015) observed maximum densities of 3,086 adults m<sup>-2</sup> and 12,344 juveniles m<sup>-2</sup> after 109 days, 83% and 18% lower than those observed in this study, respectively. In addition, it was possible to produce ~19 kg of fresh earthworm biomass (Fig. 1E), being ~14 kg of adult earthworm biomass (Fig. 1F) in 120 days of vermicomposting. Thus, our results demonstrated the adequacy of cattle manure as earthworm substrate and that vermicomposting must last at least 120 days to promote earthworm production. Garcia-Sanchez et al. (2017) also observed that the maximum density of *E. andrei* was achieved on the 120th day of vermicomposting in different organic residues.

Earthworms can be used for diverse objectives; live matrices can be sold for bio-transforming organic residues and feeding animals, such as poultry, birds, and frogs. It is also possible to transform earthworms into high-protein animal feed (Chachina et al., 2015; Bhat et al., 2018; Santana et al., 2019; Tedesco et al., 2019). Furthermore, studies have shown the potential for producing mealworms for human consumption (Sun and Jiang 2017; Tedesco et al., 2019, 2020).

### 3.2. Physico-chemical characteristics of vermicomposting and correlation analysis

After 120 days, earthworm activity changed 19 out of 27 physical-chemical variables (Table 1). Only moisture (P = 0.8492), pH (P = 0.9842), dissolved organic carbon (P = 0.2067), nitrogen (P = 0.2486), iron (P = 0.8478), nickel (P = 0.9999), chrome (P = 0.8121), and lead (P = 0.9822) content did not differ significantly during 120 days of vermicomposting. Moisture remained stable during vermicomposting, with an average of 78% (w/w). These values help explain the success of this vermicomposting process. Santana et al. (2020) affirmed that a 78% moisture content (w/w) during grape pomace vermicomposting was adequate for developing *E. andrei*. The substrate dry mass decreased by 35% (m/m) during the 120 days, while the bulk density increased by 34% (m/v). The increase in bulk density relates to the increase in organic compound decomposition and a disproportionate reduction between the substrate mass and volume

(Jain et al., 2018). The treatment of organic residues aims to decrease the substrate mass and volume because it increases nutrient concentration and commercial value and reduces cost of organic fertilizer transportation and application, among other benefits (Udo et al., 2011; Powers et al., 2019).

Biological transformations throughout the cattle vermicomposting process caused decreases in OM ( $P = 0.0002$ ) and TOC ( $P < 0.0001$ ), possibly indicating an increase in organic matter humification. In general, the loss of C through respiration tends to be faster than decreases in N, causing decreases in the vermicompost C/N relationship (Li et al., 2020), as observed in this study. The  $\text{NH}_4^+$  content expectedly increased during the initial phase (35%) and decreased in the final phase (15%) due to the precedence of ammonification over nitrification. Despite large fluctuations during the 120 days, the  $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$  content increased in the final phase. In general, epigeal earthworms significantly affect N transformations during vermicomposting due to their biomass increases, microbial activity stimulation, and modifications in the vermicompost environmental conditions (Domínguez and Gómez-Brandón, 2013).

Despite DOC and DON content remaining unmodified throughout the vermicomposting process, there was a significant increase in the dissolved C/N ratio ( $P = 0.0201$ ), indicating a decrease in N content of the vermicompost soluble fraction. Lazcano et al. (2008) suggested that the reduction in DOC and DON contents is desirable for vermicomposting because high contents may be harmful to plants because of their facilitated degradation by the soil microbiota and consequent reduction of oxygen concentration near roots. Organic fertilizers containing  $<4.0 \text{ g DOC kg}^{-1}$  are considered safe for plant growth (Gomez-Brandón et al., 2008), as obtained in this study.

The sharpest percentage increases in P, K, Mg, Cu, Zn, Fe, and Cr contents occurred during the final phase, with the sharpest increase in Ca, Ni, and Pb content in the initial phase (Table 1). The increase in nutrient availability at the end of vermicomposting compared with the initial substrate relates to organic matter degradation, nutrient mineralization, and a decrease in substrate volume (due to concentration) (Jain et al., 2018; Cao et al., 2021). Decreases in K content during the initial 45 days coincided with the sharpest increase of earthworm growth and reproduction, indicating possible immobilization of K by those organisms and the microbial community (Malafaia et al., 2015).



Table 1 shows a comparison of all the physical-chemical variables, and 63% of variables experienced their greatest change ( $\Delta\%$ ) in the final phase (45–120 days) of vermicomposting. However, there was intense earthworm and microorganism activity in the initial phase. One reason for this behavior is the longer final phase (~75 days) when compared with the initial phase (~45 days). Furthermore, data from Fig. 1 help to understand this behavior. The earthworm growth rate (mg per adult  $d^{-1}$ ) and microorganism activity were lower in the final phase; however, increases in the number and biomass of adult and juvenile earthworms indicate significant feeding activity, with consequential physical-chemical modification in the substrate until the end of vermicomposting. Finally, although microbial activity was low, it continued and contributed to the change in the substrate in this phase, indicating that the stabilization process of vermicomposting for 120 days was incomplete.

Good quality vermicompost for agricultural usage, as per Brazilian and international laws, were sufficiently obtained after 30 days (Brinton 2000, MAPA 2020). All parameters regulated in the laws (P, K, Ca, Mg, Cu, Zn, Fe, TOC, TN, and C/N ratio) were within the permissible limits (Table 1). Furthermore, the highest mineral nitrogen ( $NH_4^+ + NO_3^- + NO_2^-$ ) content was observed after 30 days (Table 1), an important nutrient for plant growth which is normally used to determine the required dose of vermicompost. Although there was an increase in heavy metal contents (Cu and Zn), they were substantially lower than the permissible limits for organic agricultural substrates of international laws (Cu = 100 mg  $kg^{-1}$  and Zn = 4.0 g  $kg^{-1}$ ) (Balachandar et al., 2021).

The strong positive correlation between microbial activity and substrate mass ( $\rho = 0.95$ ) and TOC ( $\rho = 0.77$ ) (Figure 2) indicates that higher carbon content, easily degradable during the initial vermicomposting phase, determines microbial action. Increases in earthworm population result in substrate mass reduction and degradation, causing increases in nutrient content (Rini et al., 2020; Cao et al., 2021), indicated by the significantly positive correlation between the number of adult earthworms and nutrient content (P = 0.44, K = 0.52, Ca = 0.18, Mg = 0.27, Cu = 0.42, Zn = 0.22, and EC = 0.32) (Figure 2). The significantly negative correlation between microbial respiration and the remaining biological variables resulted from the distinction among the vermicomposting phases: the initial phase characterized by high microbial activity and low earthworm density and biomass, and the final phase characterized by decreases in microbial activity

and higher earthworm density and biomass. The positive correlation between inorganic nitrogen forms ( $\rho = 0.52$ ) is caused by nitrification promoted by the microbial community with the  $\text{N-NH}_4^+$  mineralization in vermicomposts, resulting in rapid transformation into  $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$  (Lv et al., 2019).

### 3.3. Principal components analysis

PCA showed that 50.1% and 9.1% of the data remained in PC1 and PC2, respectively (Figure 3). Most of the variables that contributed to total covariance in PC1 were biological, while chemical variables played the same role in PC2 (see supplementary materials). The PCA allowed variables to be grouped according to each vermicomposting phase. The variables,  $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ , basal respiration, and mass of vermicompost, were closely related and correlated to the initial phase (smaller ellipse of Figure 3), while TOC, DON, and TN formed an intermediate group between both phases (ellipses overlap). The initial phase of vermicomposting was characterized by intense microbial activity that promoted the reduction in cattle manure volume by converting organic matter into  $\text{CO}_2$  and consequently promoted nitrogen mineralization (Santana et al., 2020). However, all other variables (EC, BD, number of adults and juveniles, biomass of adults and juveniles, number of cocoons, and P, K, Mg, Cu, and Zn content) were grouped in the final phase (larger ellipse of Figure 3). The production of high biomass of earthworms only occurs in the final stage of vermicomposting when there is also a higher concentration of nutrients because of the mineralization of more easily degradable natural compounds and consequent reduction in the volume of the substrate (ZZiwa et al., 2021).

### 3.4. $\text{SUVA}_{254}$ and FT-IR spectroscopy

$\text{SUVA}_{254}$  (specific UV absorption at 254 nm) has been used as an index for aromatic compounds in the water extractable organic matter (WEOM) (Weishaar et al., 2003).  $\text{SUVA}_{254}$  values of the DOM corroborate the division into initial and final vermicomposting stages (Table 2). These values increased until the 45th day, a period characterized by intense substrate degradation. Earthworms and microorganisms likely acted selectively towards aliphatic molecules, targeting those which are easily degradable and contain a higher nutritional value (Che et al., 2020). According to Caricasole et al. (2010), the increase in  $\text{SUVA}_{254}$  could be associated with the fast transformation of non-

aromatic compounds, which led to a relative enrichment in aromatics. Additionally, an increase of SUVA<sub>254</sub> value proposes a higher degree of aromaticity and molecular weight (He et al., 2011). After 45 days, SUVA<sub>254</sub> values decreased from 4.09 to 3.53 L/(mg m), likely due to the increase in earthworm density. The coelomic fluid, constantly expressed by earthworms, and coprolites have high gluconate proteins and glycosidic molecule contents, enriching the substrate with new aliphatic molecules with low molecular mass (Gómez-Brandón et al., 2011; Yadav et al. 2015). Although this variable was not measured, it was possible to observe higher substrate stickiness in reactors as earthworm density increased, especially after 60 days. The E4/E6 ratio is related to the degree of aromatic polycondensation and the molecular weight of the humic substances (Zhu et al. 2016). In the present study, the E4/E6 ratio was not a clear indicator of changes in organic matter (Table 2). However, Saab and Martin-Neto (2007) demonstrated that the E4/E6 ratio is more associated with condensed aromatic groups and not with the total aromaticity of the samples.

FT-IR spectroscopy ensures easy identification of chemical functional groups, where the change in the intensity of the absorption band can be used to assess vermicompost stability (Lim and Wu, 2015). FT-IR spectra obtained from different treatments show differences in the relative intensity of absorption bands (see supplementary materials). The final vermicompost showed a significant decrease in the peak intensity at 3401 cm<sup>-1</sup> (O-H stretch), indicating phenol and carbohydrate decomposition (Srivastava et al., 2020). The reduction in peak intensity at 2922–2853 cm<sup>-1</sup> (C-H stretching of aliphatic methylene groups) during the treatment suggests degradation of lipid and carbohydrates due to a decrease in aliphatic structures. A decreasing relative intensity was observed at approximately 1653 cm<sup>-1</sup> (C=O stretching of amide groups, quinonic C=O and/or C=O of H-bonded conjugated ketones) (Zhu et al., 2016). The peak intensities increased at 1606–1421 cm<sup>-1</sup> (C=C stretching of aromatic groups) because of elevated levels of aromatic groups during vermicomposting. The peak at 1046 cm<sup>-1</sup> is related to C-O stretching of polysaccharides. These results corroborate the SUVA<sub>254</sub> observations and indicate a preferential degradation of easily degradable compounds by earthworms and microorganisms, increasing the DOM aromaticity.

Earthworm population and microbial activity divide vermicompost into initial (45 days) and final (45-120 days) phases. The vermicompost produced for 30 days has

optimal moisture, pH, conductivity, and nutrient content. The largest physical-chemical transformations and major earthworm density occurred in the final phase. In the initial period of vermicomposting, the interactive effect between the earthworms and the high microbial activity promoted an increase in the degree of aromaticity of the organic matter. However, the large increase in earthworm density resulted in the formation of less aromatic organic matter. Vermicomposting time promotes changes in the functional groups of organic matter because of the degradation of phenols, carbohydrates, and lipids, resulting in the reduction of aliphatic structures and increasing the degree of aromaticity of organic matter.

#### **4. Conclusions**

Vermicomposting time has a role in modifying the chemical, physical, and biological properties of the vermicompost, including the aromaticity of organic matter. Because of the high activity of earthworms and microorganisms at the beginning of vermicomposting, in 30 days it is already possible to use this organic fertilizer in agriculture. However, the largest physical-chemical transformations of the vermicompost and the increase in the earthworm population occur from 45 to 120 days. Therefore, vermicomposting must last at least 120 days to produce *Eisenia andrei* earthworm matrices.

**E-supplementary data of this work can be found in online version of the paper.**

#### **Declaration of Competing Interest**

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

### **Acknowledgements**

The authors are grateful to the National Council of Scientific and Technological Development (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq) and Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES) (Finance Code 001) for providing scholarships and financial support for this research. We are also grateful to Eduarda Calegari for supporting the collection from reactors.

### **References**

1. Ali, M., Khanom, A., Nahar, K., Ali, Y., Azad, A.K., Rahman, M., 2021. Effect of manure application on net nitrification rates, heavy metal concentrations and nitrifying archaea/bacteria in soils. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 106, 707–713.
2. Anderson, J.P.E., 1982. Soil respiration, in: Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. (Eds.), *Methods of Soil Analysis, Chemical and Microbiological Properties*, second ed. ASA-SSSA, Madison, pp. 831–871.
3. Balachandar, R., Biruntha, M., Yuvaraj, A., Thangaraj, R., Subbaiya, R., Govarthanan, M., Kumar, P., Karmegam, N., 2021. Earthworm intervened nutrient recovery and greener production of vermicompost from *Ipomoea staphylina* - An invasive weed with emerging environmental challenges. *Chemosphere* 263, 128080.
4. Banerjee, A., Biswas, J.K., Pant, D., Sarkar, B., Chaudhuri, P., Rai, M., Meers, E., 2019. Enteric bacteria from the earthworm (*Metaphire posthuma*) promote plant growth and remediate toxic trace elements. *J. Environ. Manage.* 250, 109530.
5. Biruntha, M., Karmegam, N., Archana, J., Selvi, B.K., Paul, J.A.J., Balamuralikrishnan, B., Chang, S.W., Ravindran, B., 2020. Vermiconversion of biowastes with low-to-high C/N ratio into value added vermicompost. *Bioresour. Technol.* 297, 122398.
6. Bhat, S.A., Singh, S., Singh, J., Kumar, S., Bhawana, Vig A.P., 2018. Bioremediation and detoxification of industrial wastes by earthworms: Vermicompost as powerful crop nutrient in sustainable agriculture. *Bioresour. Technol.* 252, 172-179.
7. Bhat, S.A., Singh, J., Vig, A.P., 2017. Instrumental characterization of organic wastes for evaluation of vermicompost maturity. *Journal of Analytical Science and Technology* 8, 2.

8. Brinton, W.F., 2000. Compost quality standards & guidelines, first ed. Woods End Research Laboratory, New York.
9. Cao, Y., Tian, Y., Wu, Q., Jianshe, Li., Zhu, H., 2021. Vermicomposting of livestock manure as affected by carbon-rich additives (straw, biochar and nanocarbon): A comprehensive evaluation of earthworm performance, microbial activities, metabolic functions and vermicompost quality. *Bioresour. Technol.* 320, 124404.
10. Caricasole, P., Provenzano, M.R., Hatcher, P.G., Senesi, N., 2010. Chemical characteristics of dissolved organic matter during composting of different organic wastes assessed by <sup>13</sup>C CPMAS NMR spectroscopy. *Bioresour. Technol.* 101(21), 8232-8236.
11. Chachina, S.B., Voronkova, N.A., Baklanova, O.N., 2015. Biological remediation of the engine lubricant oil-contaminated soil with three kinds of earthworms, *Eisenia fetida*, *Eisenia andrei*, *Dendrobena veneta*, and a mixture of microorganisms. *Procedia Engineering*, 113, 113-123.
12. Che, J., Lin, W., Ye, J., Liao, H., Yu, Z., Lin, H., Zhou, S., 2020. Insights into compositional changes of dissolved organic matter during a full-scale vermicomposting of cow dung by combined spectroscopic and electrochemical techniques. *Bioresour. Technol.* 301, 121757.
13. Domínguez, J., Gómez-Brandón, M., 2013. The influence of earthworms on nutrient dynamics during the process of vermicomposting. *Waste Manag. Res.* 31(8), 859-868.
14. Domínguez J., Aira M., Gómez-Brandón M., 2010. Vermicomposting: earthworms enhance the work of microbes, in: Insam H., Franke-Whittle I., Goberna M. (Eds), *Microbes at Work*. Springer, Berlin, pp. 93-114.
15. Domínguez, J., Sanchez-Hernandez, J.C., Lores, M., 2017. Vermicomposting of winemaking by-products, in: Galanakis, C.M. (Ed.), *Handbook of grape processing by-products*. Academic Press, London, pp. 55-78.
16. Embrapa, 2017. *Soil Analysis Methods Manual*, third ed. Brazilian Agricultural Research Corporation, Brasília.
17. Ferreira, E.B., Cavalcanti, P.P., Nogueira, D.A., 2018. *ExpDes.pt: Pacote Experimental Designs (Portuguese)*. R package version 1.2.0. 2018.

18. Garcia-Sanchez M., Taušnerová, H., Hanc, A., Tlustoš, P., 2017. Stabilization of different starting materials through vermicomposting in a continuous-feeding system: changes in chemical and biological parameters. *Waste Management* 62, 33-42.
19. Gilbert W., Thomas, L.F., Coyne, L., Rushton, J., 2021. Review: Mitigating the risks posed by intensification in livestock production: the examples of antimicrobial resistance and zoonoses. *Animal: The international journal of animal biosciences* 15, 100123.
20. Gómez-Brandón, M., Aira, M., Kolbe, A.R., Andrade, N., Perez-Losada, M., Domínguez, J., 2019. Rapid bacterial community changes during vermicomposting of grape marc derived from red winemaking. *Microorganisms* 7, 473.
21. Gómez-Brandón, M., Aira, M., Lores, M., Domínguez, J., 2011. Changes in microbial community structure and function during vermicomposting of pig slurry. *Bioresour. Technol.* 102, 4171-4178.
22. Gómez-Brandón, M., Aira, M., Santana, N.A., Perez-Losada, M., Domínguez, J., 2020. Temporal dynamics of bacterial communities in an industrial-scale vermireactor fed with distilled grape marc. *Microorganisms* 8, 1-19.
23. Gómez-Brandón, M., Lazcano, C., Domínguez, G., 2008. The evaluation of stability and maturity during the composting of cattle manure. *Chemosphere* 70(3), 436-444.
24. He, X.S., Xi, B.D., Wei, Z.M., Guo, X.J., Li, M.X., An, D., Liu, H.L., 2011. Spectroscopic characterization of water extractable organic matter during composting of municipal solid waste. *Chemosphere* 82(4), 541-548.
25. Jain, M.S., Jambhulkar, R., Kalamdhad, A.S., 2018. Biochar amendment for batch composting of nitrogen rich organic waste: Effect on degradation kinetics, composting physics and nutritional properties. *Bioresour. Technol.* 253, 204-213.
26. Lalander, C.H., Komakech, A.J., Vinnerås, B., 2015. Vermicomposting as manure management strategy for urban small-holder animal farms - Kampala case study. *Waste Management* 39, 96-103.
27. Lazcano, C., Gómez-Brandón, M., Domínguez, J., 2008. Comparison of the effectiveness of composting and vermicomposting for the biological stabilization of cattle manure. *Chemosphere* 72(7), 1013-1019.

28. Li, H., Feng, W.-T., He, X.-H., Zhu, P., Gao, H.-J., Sun, N., Xu, M.-G., 2017. Chemical fertilizers could be completely replaced by manure to maintain high maize yield and soil organic carbon (SOC) when SOC reaches a threshold in the Northeast China Plain. *Journal of Integrative Agriculture* 16(4), 937-946.
29. Li, Y., Yang, X., Gao, W., Qiu, J., Li, Y., 2020. Comparative study of vermicomposting of garden waste and cow dung using *Eisenia fetida*. *Environ. Sci. & Pollut.* 27, 9646-9657.
30. Lim, S.L., Wu, T.Y., 2015. Determination of maturity in the vermicompost produced from palm oil mill effluent using spectroscopy, structural characterization and thermogravimetric analysis. *Ecol. Eng.* 84, 515-519.
31. Lv, B., Zhang, D., Chen, Q., Cui, Y., 2019. Effects of earthworms on nitrogen transformation and the correspond genes (*amoA* and *nirS*) in vermicomposting of sewage sludge and rice straw. *Bioresour. Technol.* 287, 121428.
32. Malafaia, G., Costa Estrela, D., Guimarães, A.T.B., Araújo, F.G., Leandro, W.M., Lima Rodrigues, A.S., 2015. Vermicomposting of different types of tanning sludge (liming and primary) mixed with cattle dung. *Ecol. Eng.* 85, 301–306.
33. MAPA, 2006. SDA normative instructions n. 27, seventh ed. Official Journal of the Union, Brasília.
34. MAPA, 2011. Normative instructions n. 46 (plant and animal production), first ed. Official Journal of the Union, Brasília.
35. MAPA, 2020. Normative instructions n. 61, 134 ed. Official Journal of the Union, Brasília.
36. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2019.
37. Powers, S.M., Chowdhury, R.B., MacDonald, G.K., Metson, G.S., Beusen, A.H.W., Bouwman, A.F., Hampton, S.E., Mayer, B.K., McCrackin, M.L., Vaccari, D.A., 2019. Global opportunities to increase agricultural independence through phosphorus recycling. *Earth's Future* 7(4), 370-383.
38. Rini, J., Deepthi, M.P., Kulandaivel, S., Ramasamy, T.N., Natchimuthu, K., Palanisamy, K., 2020. Nutrient recovery and vermicompost production from livestock solid wastes with epigeic earthworms. *Bioresour. Technol.* 313, 123690.



39. Santana, N.A., Ferreira, P.A.A., Tarouco, C.P., Schardong, I.S., Antonioli, Z.I., Nicoloso, F.T., Jacques, R.J.S., 2019. Earthworms and mycorrhization increase copper phytoextraction by *Canavalia ensiformis* in sandy soil. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 182, 109383.
40. Santana, N.A., Jacques, R.J.S., Antonioli, Z.I., Martínez-Cordeiro, H., Domínguez, J., 2020. Changes in the chemical and biological characteristics of grape marc vermicompost during a two-year production period. *Applied Soil Ecology* 154, 103587.
41. Sun, Z., Jiang, H., 2017. Nutritive evaluation of earthworms as human food, in: Mikkola H. (Ed.), *Future Foods*, IntechOpen, London.
42. Srivastava, V., Goel, G., Thakur, V. K., Singh, R. P., Araujo, A. S. F., Singh, P., 2020. Analysis and advanced characterization of municipal solid waste vermicompost maturity for a green environment. *J. Environ. Manage.* 255, 109914.
43. Tedesco, D.E.A., Castrica, M., Tava, A., Panseri, S., Balzaretto, C.M., 2020. From a food safety perspective: the role of earthworms as food and feed in assuring food security and in valuing food waste. *Insects* 11, 293.
44. Tedesco, D.E.A., Conti, C., Lovarelli D., Biazzini E., Bacenetti J., 2019. Bioconversion of fruit and vegetable waste into earthworms as a new protein source: The environmental impact of earthworm meal production. *Sci. Total Environ.* 683, 690-698.
45. Udo, H.M.J., Aklilu, H.A., Phong, L.T., Bosma, R.H., Budisatria, I.G.S., Patil, B.R., Samdup, T., Bebe, B.O., 2011. Impact of intensification of different types of livestock production in smallholder crop-livestock systems. *Livestock Science* 139, 22-29.
46. Wei, T., Simko, V., 2017. R package "corrplot": Visualization of a Correlation Matrix. Version 0.84.
47. Weishaar, J.L., Aiken, G.R., Bergamaschi, B.A., Fram, M.S., Fujii, R., Mopper, K., 2003. Evaluation of specific ultraviolet absorbance as an indicator of the chemical composition and reactivity of dissolved organic carbon. *Environ. Sci. Technol.* 37(20), 4702–4708.
48. Yadav, A., Suthar, S., Garg, V.K., 2015. Dynamics of microbiological parameters, enzymatic activities and worm biomass production during vermicomposting of effluent treatment plant sludge of bakery industry. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22, 14702-14709.

49. Zhu, W., Yao, W., Du, W. 2016. Heavy metal variation and characterization change of dissolved organic matter (DOM) obtained from composting or vermicomposting pig manure amended with maize straw. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23,12128–12139.
50. Zziwa, A., Jjagwe, J., Kizito, S., Kabenge, I., Komakech, A.J., Kayondo, H., 2021. Nutrient recovery from pineapple waste through controlled batch and continuous vermicomposting systems. *J. Environ. Manage.* 279, 111784.

**Highlights**

- Forty-four variables were evaluated during 120 days of vermicomposting.
- The first 45 days characterized the initial vermicomposting phase.
- The largest physical–chemical changes occurred in the final phase.
- At least 120 days are required to produce earthworm matrices.
- The dissolved organic matter aromaticity was modified by vermicomposting.

### List of Figures:

**Fig. 1.** (A) Basal respiration and dry mass of the vermicompost, (B) adult and juvenile earthworm density, (C) number of cocoons and reproduction rate, (D) adult and juvenile earthworm biomass, (E) growth rate and total earthworm biomass, and (F) adult and juvenile biomass of *Eisenia andrei* during 120 d of cattle manure vermicomposting. Dots correspond to mean values  $\pm$  standard error. The means followed by the same letter are not significantly different (Tukey's test,  $P < 0.05$ ).

**Fig. 2.** Spearman correlation between physical, chemical, and biological variables in cattle manure vermicomposted using *Eisenia andrei*. Cells with insignificant correlations ( $P < 0.01$ ) are shown in white.

**Fig. 3.** Principal components analysis among physical, chemical, and biological variables in cattle manure vermicomposted using *Eisenia andrei*. White and black squares are individual values grouped in the initial and final phases, respectively. The ellipse areas in white and black represent variables grouped in the initial and final vermicomposting phases, respectively. DOC, dissolved organic carbon; DON, dissolved organic nitrogen; TOC, total organic carbon; TN, total organic nitrogen; P, phosphorus; K, potassium; Ca, calcium; Mg, magnesium; Zn, zinc; Cu, copper; Fe, iron; BD, bulk density; MV, mass of vermicompost;  $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ , nitrite + nitrate;  $\text{NH}_4^+$ , ammonium; EC, electrical conductivity; BAE, biomass of adult earthworms; BJE, biomass of juvenile earthworms; DAE, number of adult earthworms; DJE, number of juvenile earthworms; and MCV, moisture of the vermicompost.

Table 1. Chemical and physical variables of fresh cattle manure and samples vermicomposted for 15, 30, 45, 60, and 120 d. Mean values  $\pm$  standard error are presented.

| Attribute  | Manure             | Worm-processed material (days) |                     |                    |                     |                    | $\Delta$ (%) |        | Limits <sup>1</sup> |
|--|--------------------|--------------------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|--------------|--------|---------------------|
|  |                    | 15                             | 30                  | 45                 | 60                  | 120                | 0-45         | 45-120 |                     |
| Humidity (%)   | 77.6 $\pm$ 0.4 ns  | 77.8 $\pm$ 0.4                 | 78.4 $\pm$ 0.6      | 77.3 $\pm$ 0.6     | 77.5 $\pm$ 0.9      | 77.7 $\pm$ 0.4     | - 0.4        | 0.5    | -                   |
| VM (g / vermireactor dw)   | 924 $\pm$ 0.0 a    | 878 $\pm$ 5.3 b                | 777 $\pm$ 5.6 c     | 679 $\pm$ 5.4 d    | 669 $\pm$ 7.1 d     | 490 $\pm$ 10.4 e   | -26.9        | -27.2  | -                   |
| Bulk density (g cm <sup>-3</sup> )   | 0.38 $\pm$ 0.0 c   | 0.40 $\pm$ 0.0 bc              | 0.46 $\pm$ 0.0 ab   | 0.48 $\pm$ 0.0 a   | 0.48 $\pm$ 0.0 a    | 0.51 $\pm$ 0.0 a   | + 26.4       | + 6.8  | -                   |
| pH   | 8.2 $\pm$ 0.2 ns   | 8.2 $\pm$ 0.0                  | 8.1 $\pm$ 0.0       | 8.2 $\pm$ 0.0      | 8.2 $\pm$ 0.0       | 8.3 $\pm$ 0.0      | - 0.07       | + 1.29 | > 6                 |
| EC (mS cm <sup>-1</sup> )  | 2.2 $\pm$ 0.0 c    | 2.3 $\pm$ 0.1 bc               | 2.3 $\pm$ 0.1 bc    | 2.4 $\pm$ 0.0 bc   | 2.4 $\pm$ 0.0 b     | 2.7 $\pm$ 0.1 a    | + 8.9        | + 14.9 | -                   |
| OM (%)   | 84.7 $\pm$ 0.3 a   | 81.3 $\pm$ 1.7 ab              | 79.9 $\pm$ 1.1 bc   | 80.2 $\pm$ 0.5 bc  | 78 $\pm$ 1.1 bc     | 76.6 $\pm$ 0.3 c   | - 5.3        | - 4.4  | -                   |
| TOC (g kg <sup>-1</sup> dw)  | 394.2 $\pm$ 5.7 a  | 372.7 $\pm$ 4.7 ab             | 370.5 $\pm$ 2.7 ab  | 361.2 $\pm$ 2.5 bc | 351.4 $\pm$ 10.1 bc | 341.3 $\pm$ 5.6 c  | - 8.4        | - 5.5  | >100                |
| Total N (g kg <sup>-1</sup> dw)  | 26.4 $\pm$ 0.5 bc  | 27.5 $\pm$ 0.6 ab              | 29.1 $\pm$ 0.3 a    | 28.9 $\pm$ 0.2 a   | 29.4 $\pm$ 0.4 a    | 24.8 $\pm$ 0.9 c   | + 9.2        | - 14.2 | >5                  |
| C / N ratio (total)  | 15 $\pm$ 0.4 a     | 13.6 $\pm$ 0.2 bc              | 12.7 $\pm$ 0.1 bcd  | 12.5 $\pm$ 0.1 cd  | 11.9 $\pm$ 0.2 d    | 13.8 $\pm$ 0.3 bc  | - 16.3       | + 10.5 | <20                 |
| C/P ratio  | 69.0 $\pm$ 2.3 a   | 58.7 $\pm$ 2.2 abc             | 60.6 $\pm$ 3.4 ab   | 54.4 $\pm$ 3.6 bc  | 46.2 $\pm$ 3.2 cd   | 37.8 $\pm$ 1.2 d   | -21.2        | -30.5  | -                   |
| DOC (g kg <sup>-1</sup> )  | 2.39 $\pm$ 0.2 ns  | 2.37 $\pm$ 0.1                 | 2.52 $\pm$ 0.1      | 2.30 $\pm$ 0.2     | 2.63 $\pm$ 0.2      | 2.87 $\pm$ 0.2     | - 3.8        | + 24.9 | -                   |
| DON (g kg <sup>-1</sup> )  | 0.67 $\pm$ 0.1 ns  | 0.69 $\pm$ 0.0                 | 0.54 $\pm$ 0.0      | 0.63 $\pm$ 0.1     | 0.54 $\pm$ 0.1      | 0.49 $\pm$ 0.1     | - 6.5        | - 21.8 | -                   |
| Dissolved C / N ratio  | 3.6 $\pm$ 0.2 ab   | 3.5 $\pm$ 0.2 b                | 4.8 $\pm$ 0.6 ab    | 3.8 $\pm$ 0.4 ab   | 5.6 $\pm$ 2.0 ab    | 6.6 $\pm$ 1.1 a    | + 6.1        | +75.1  | -                   |
| Total mineral N (mg kg <sup>-1</sup> dw)   | 154.7 $\pm$ 10.3 b | 293.1 $\pm$ 8.1 a              | 311.3 $\pm$ 27.4 a  | 173.6 $\pm$ 3.1 b  | 177.4 $\pm$ 5.3 b   | 194.5 $\pm$ 10.8 b | + 12.2       | + 12   | -                   |
| NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg kg <sup>-1</sup> dw)                                | 84.8 $\pm$ 2.2 c   | 173.1 $\pm$ 4.3 a              | 154.1 $\pm$ 10.2 a  | 114.1 $\pm$ 2.8 b  | 117 $\pm$ 4.5 b     | 97 $\pm$ 8.4 bc    | + 34.6       | - 15   | -                   |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> + NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg kg <sup>-1</sup> dw) | 70 $\pm$ 9.0 c     | 120 $\pm$ 3.9 ab               | 157.3 $\pm$ 20.1 a  | 59.5 $\pm$ 5.6 c   | 60.4 $\pm$ 6.0 c    | 97.5 $\pm$ 8.7 bc  | - 14.9       | + 63.9 | -                   |
| Ash content (g kg <sup>-1</sup> )  | 153.1 $\pm$ 2.4 c  | 186.6 $\pm$ 17.3 bc            | 201.2 $\pm$ 10.8 ab | 198.3 $\pm$ 4.7 ab | 220.4 $\pm$ 11.5 ab | 233.9 $\pm$ 3.4 a  | + 29.5       | + 17.9 | -                   |
| P (g kg <sup>-1</sup> dw)  | 5.8 $\pm$ 0.3 c    | 6.4 $\pm$ 0.2 bc               | 6.5 $\pm$ 0.2 bc    | 6.7 $\pm$ 0.4 bc   | 7.7 $\pm$ 0.4 ab    | 9.1 $\pm$ 0.3 a    | + 17.3       | + 34.3 | -                   |
| K (g kg <sup>-1</sup> dw)  | 19.2 $\pm$ 0.6 ab  | 19 $\pm$ 0.8 ab                | 18.9 $\pm$ 0.6 ab   | 17.8 $\pm$ 1.8 b   | 20.2 $\pm$ 0.6 ab   | 22.6 $\pm$ 0.7 a   | - 7.3        | + 26.6 | -                   |
| Ca (g kg <sup>-1</sup> dw)   | 2.1 $\pm$ 0.1 b    | 2.3 $\pm$ 0.4 bc               | 2.6 $\pm$ 0.1 bc    | 2.9 $\pm$ 0.2 ab   | 2.9 $\pm$ 0.1 ab    | 3.4 $\pm$ 0.2 a    | + 34.8       | + 17.8 | -                   |
| Mg (g kg <sup>-1</sup> dw)   | 9.2 $\pm$ 0.2 c    | 9.7 $\pm$ 0.4 c                | 10.2 $\pm$ 0.4 c    | 10.9 $\pm$ 0.9 bc  | 12.6 $\pm$ 0.5 ab   | 14.2 $\pm$ 0.4 a   | + 18.4       | + 29.8 | -                   |
| Cu (mg kg <sup>-1</sup> dw)  | 17.4 $\pm$ 0.6 b   | 18.2 $\pm$ 0.5 b               | 20.2 $\pm$ 1.5 ab   | 18.6 $\pm$ 1.6 b   | 18.9 $\pm$ 1.0 ab   | 23.9 $\pm$ 0.9 a   | + 6.9        | + 28.3 | <70                 |
| Zn (g kg <sup>-1</sup> dw)   | 0.53 $\pm$ 0.1 b   | 0.61 $\pm$ 0.1 b               | 0.62 $\pm$ 0.0 b    | 0.63 $\pm$ 0.0 b   | 0.66 $\pm$ 0.0 ab   | 0.80 $\pm$ 0.1 a   | +17.8        | + 27.2 | <200                |
| Fe (g kg <sup>-1</sup> dw)   | 1.7 $\pm$ 0.3 ns   | 1.6 $\pm$ 0.2                  | 1.8 $\pm$ 0.2       | 1.5 $\pm$ 0.1      | 1.6 $\pm$ 0.0       | 1.7 $\pm$ 0.1      | - 7.6        | + 7.7  | -                   |
| Ni (mg kg <sup>-1</sup> dw)  | 0.57 $\pm$ 0.4 ns  | 0.58 $\pm$ 1.3                 | 0.53 $\pm$ 0.6      | 0.71 $\pm$ 2.0     | 0.36 $\pm$ 1.5      | 0.74 $\pm$ 0.4     | + 24.6       | + 4.7  | <175                |
| Cr (mg kg <sup>-1</sup> dw)  | 4.6 $\pm$ 4.5 ns   | 4.1 $\pm$ 1.0                  | 8.9 $\pm$ 5.3       | 4.4 $\pm$ 2.9      | 3.7 $\pm$ 1.5       | 9.9 $\pm$ 6.4      | - 4.6        | +125.2 | <70                 |
| Pb (mg kg <sup>-1</sup> dw)  | 1.2 $\pm$ 0.9 ns   | 1.0 $\pm$ 1.5                  | 1.4 $\pm$ 0.3       | 1.7 $\pm$ 0.5      | 1.9 $\pm$ 0.3       | 2.0 $\pm$ 0.2      | + 46.3       | + 15.0 | <150                |

The means followed with the same letter are not significantly different (Tukey's test,  $p < 0.05$ ). <sup>1</sup>MAPA, 2006, 2011, 2020. (–) Attribute not mentioned in the regulations.

Table 2. SUVA<sub>254</sub> and E4/E6 values of DOC from vermicomposting.

| Attribute                      | Manure       | Worm-processed material (days) |             |             |              |              |
|--------------------------------|--------------|--------------------------------|-------------|-------------|--------------|--------------|
|                                |              | 15                             | 30          | 45          | 60           | 120          |
| SUVA <sub>254</sub> (L/(mg m)) | 3.3 ± 0.3 ab | 3.1 ± 0.1 b                    | 2.7 ± 0.2 b | 4.1 ± 0.4 a | 3.1 ± 0.2 ab | 3.5 ± 0.2 ab |
| E4/E6                          | 4.8 ± 0.0 c  | 4.9 ± 0.0 b                    | 4.7 ± 0.0 d | 5.0 ± 0.0 a | 4.7 ± 0.0 d  | 5.0 ± 0.0 a  |

Figure 1.

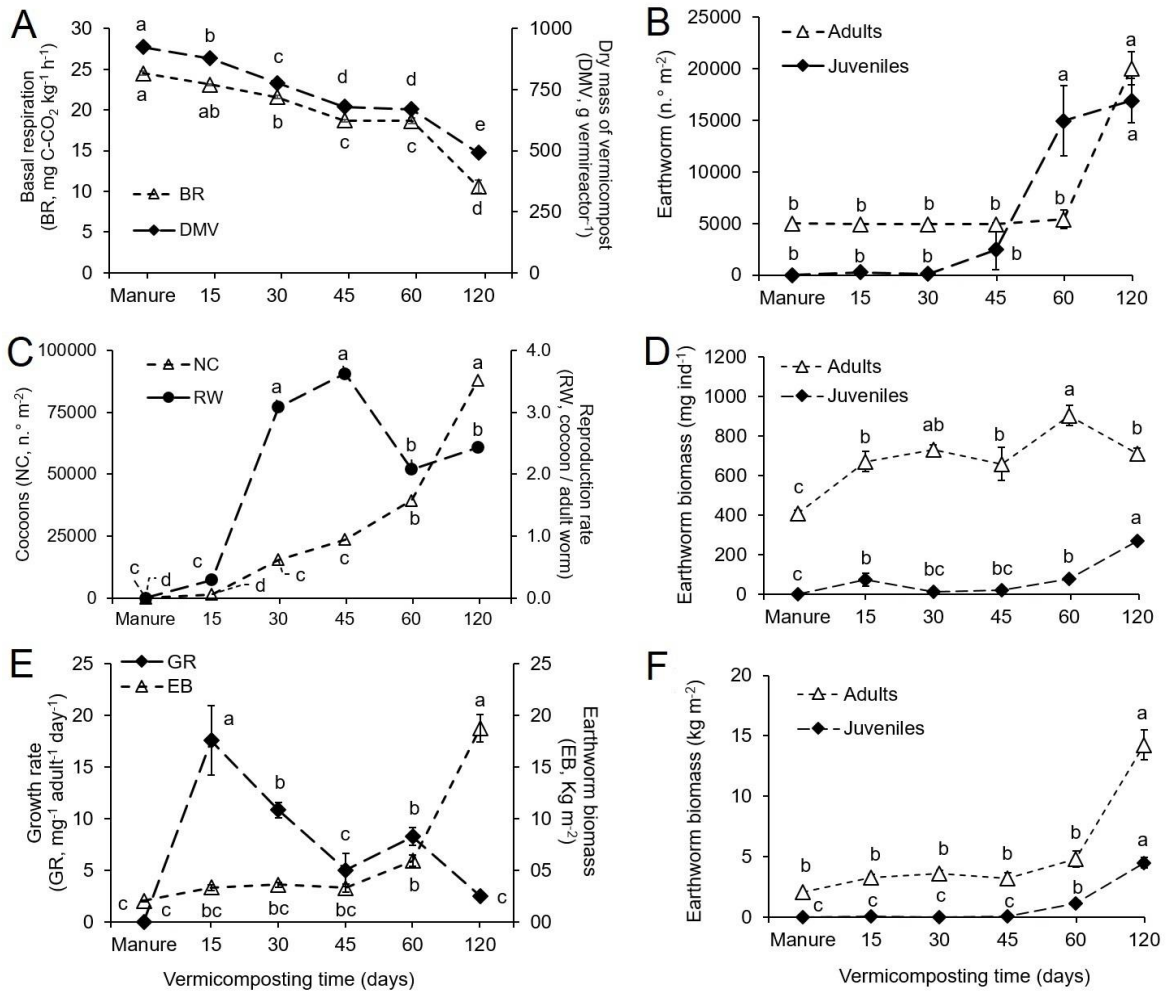


Figure 2.

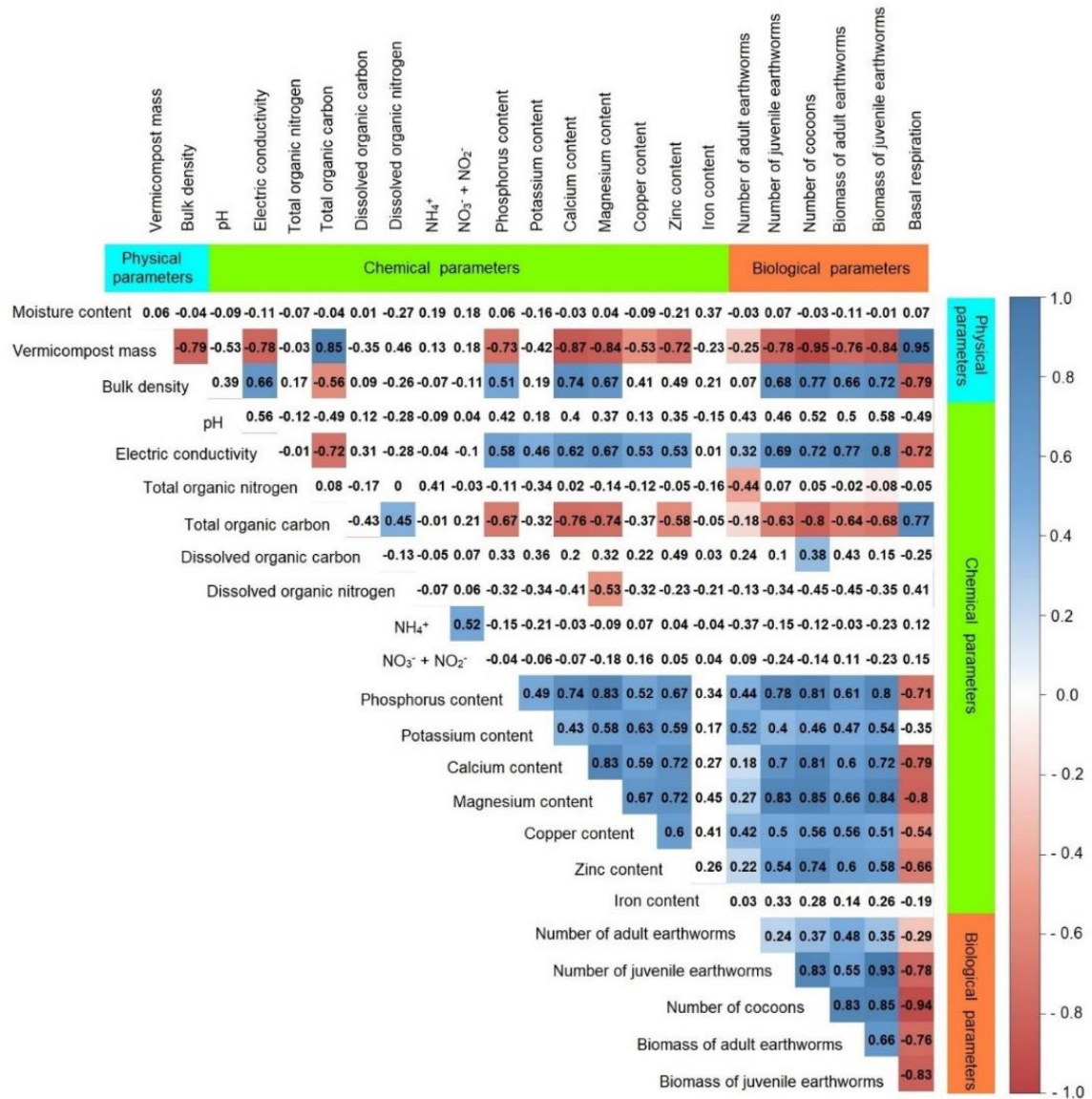
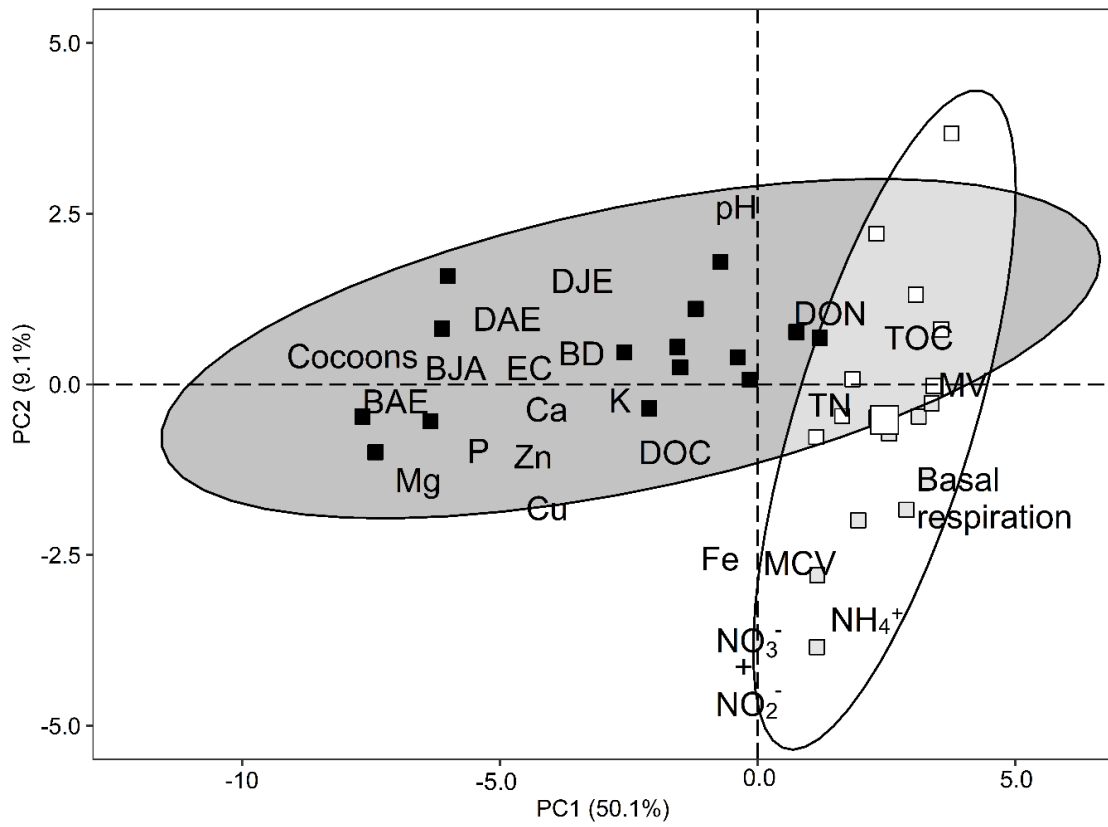




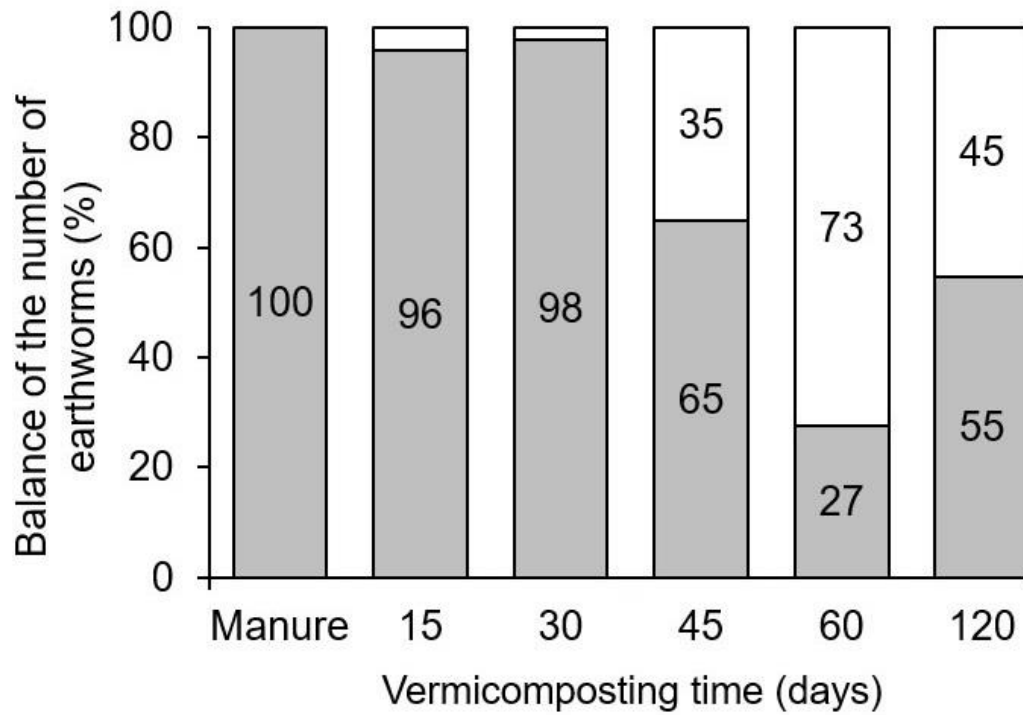
Figure 3.



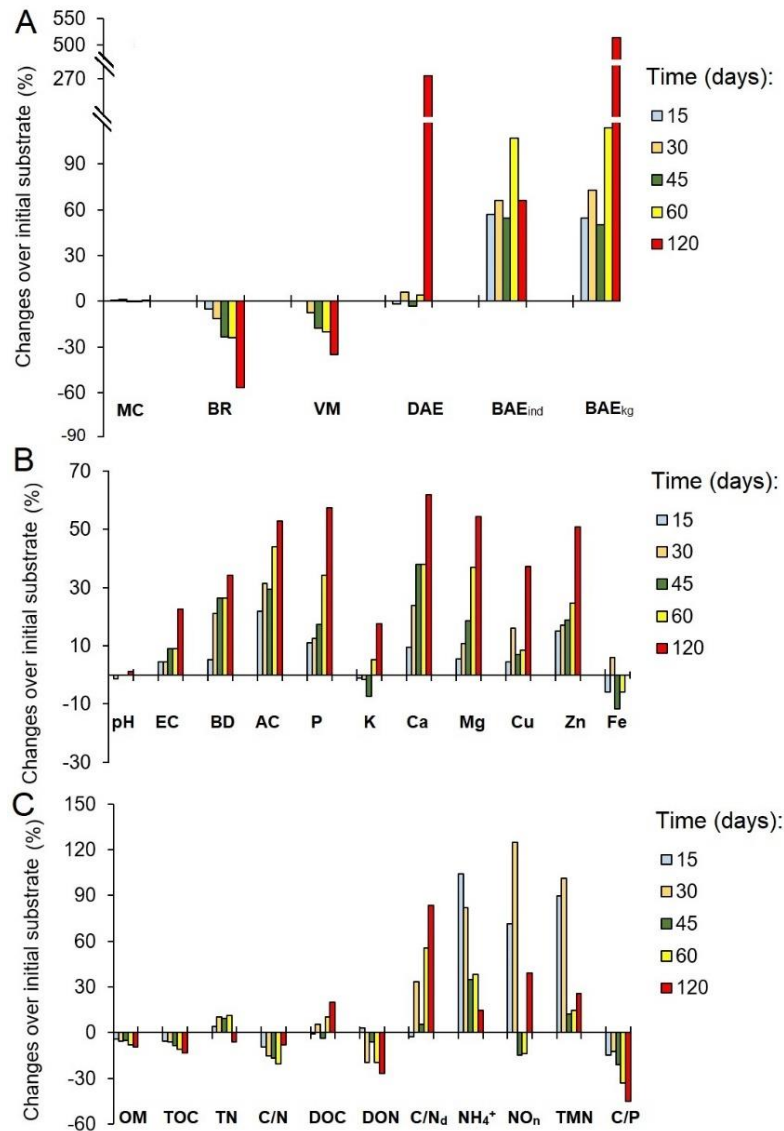
### Supplementary material

**Table S1.** Total coliform count and *Escherichia coli* count by the most probable number method (MPN) using the Colilert-18 kit (IDEXX, Brazil).

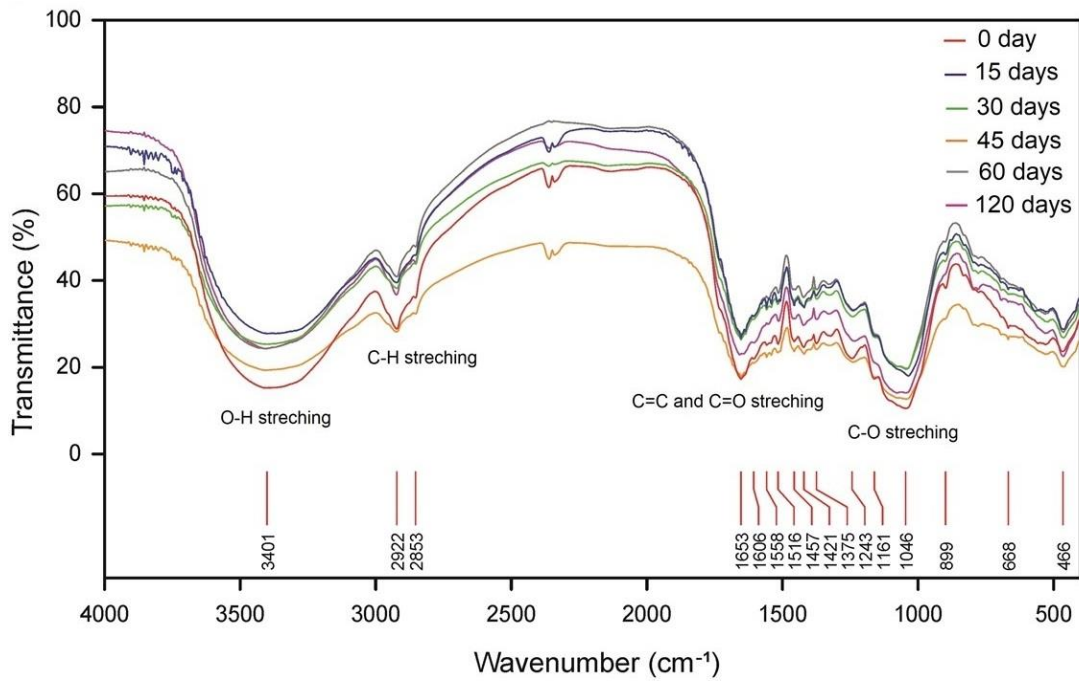
| Treatment | Total coliforms (MPN) | <i>Escherichia coli</i> (MPN) |
|-----------|-----------------------|-------------------------------|
| Manure    | $11.6 \times 10^4$    | $2.0 \times 10^4$             |
| 15 days   | $16.9 \times 10^4$    | $0.9 \times 10^4$             |
| 30 days   | $7.3 \times 10^4$     | $2.0 \times 10^4$             |
| 45 days   | $2.1 \times 10^4$     | $1.0 \times 10^4$             |
| 60 days   | $1.6 \times 10^4$     | $1.0 \times 10^4$             |
| 120 days  | $1.0 \times 10^4$     | $< 1.0 \times 10^4$           |



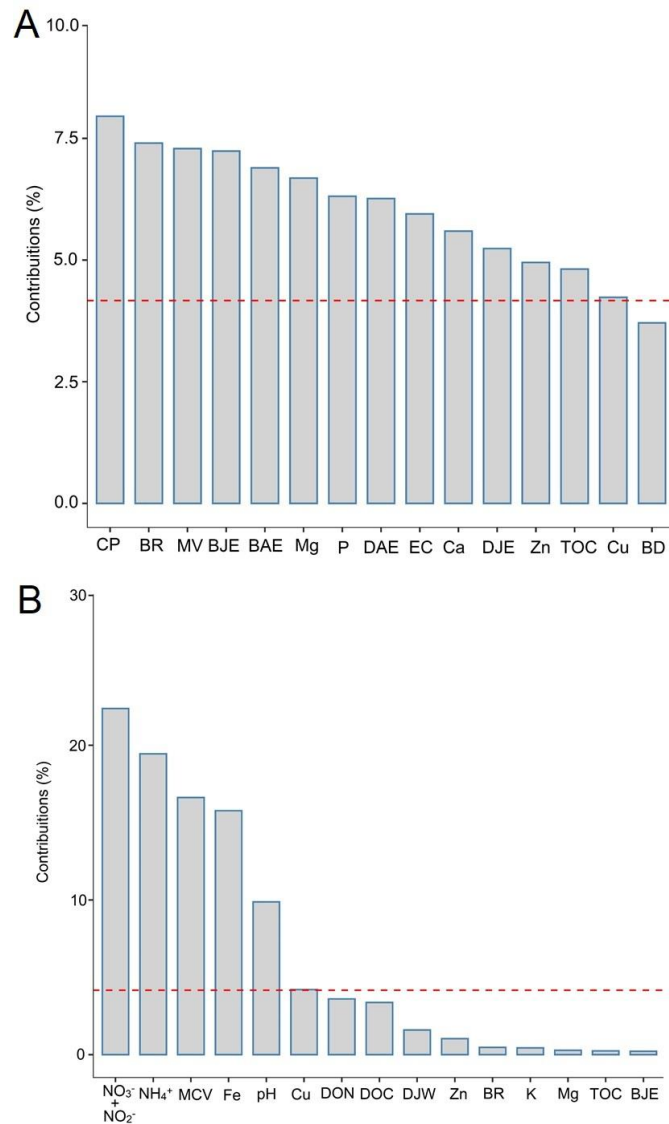
**Figure S1.** Balance between adult and juvenile individuals in the vermireactors during 120 d of cattle manure vermicomposting by using *Eisenia andrei*. Gray and white bars represent adult and juvenile earthworms, respectively.



**Figure S2.** Percentage variation in physical, chemical, and biological characteristics of the vermicompost during 120 d of vermicomposting using *Eisenia andrei* compared to cattle manure (substrate). (A): MCV, moisture of the vermicompost; BR, basal respiration; VM, vermicompost mass; DAE, density of earthworms; BAE<sub>ind</sub>, individual biomass of adult earthworms; and BAE<sub>kg</sub>, total biomass of earthworms. (B): pH; EC, electrical conductivity; BD, bulk density; AC, ash content; P, phosphorus; K, potassium; Ca, calcium; Mg, magnesium; Cu, copper; Zn, zinc; and Fe, iron. (C): OM, organic matter; TOC, total organic carbon; TN, total organic nitrogen; C/N, C/N ratio; DOC, dissolved organic carbon; DON, dissolved organic nitrogen; C/N<sub>d</sub>, dissolved organic C/N ratio; NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, ammonium; NO<sub>n</sub>, nitrite (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) + nitrate (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>); TMN, total mineral nitrogen; and C/P, C/P ratio.



**Figure S3.** (A) Assignment of typical infrared bands in FT-IR spectra of manure and vermicompost. (B) Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR) obtained from cattle manure and the vermicompost produced using *Eisenia andrei* in different vermicomposting times.



**Figure S4.** Contribution of physical, chemical, and biological variables in the cattle manure vermicomposted using *Eisenia andrei* for the (A) first and (B) second principal components. Dashed lines on the charts (A and B) indicate the mean expected contribution of the variables. DOC, dissolved organic carbon; DON, dissolved organic nitrogen; TOC, total organic carbon; P, phosphorus; K, potassium; Ca, calcium; Mg, magnesium; Zn, zinc; Cu, copper; Fe, iron; BD, bulk density; MV, mass of vermicompost; NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, nitrite + nitrate; NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, ammonium; EC, electrical conductivity; BAE, biomass of adult earthworms; BJE, biomass of juvenile earthworms; DAE, number of adult earthworms; DJE, number of juvenile earthworms; and MCV, moisture of the vermicompost.

## REFERÊNCIAS

- ALI, U.; SAJID, N.; KHALID, A.; RIAZ, L.; RABBANI M.M.; SYED, J.H.; MALIK, R.N. A Review on vermicomposting of organic wastes. **Environmental Progress & Sustainable Energy**, v. 34, p. 1050-1062, 2015.
- ANJOS, J.L.; AQUINO, A.M.; SCHIEDECK, G. Minhocultura e vermicompostagem: interface com sistemas de produção, meio ambiente e agricultura de base familiar. Brasília, DF: Embrapa, 2015. 231 p.
- BARRETA D., SANTOS, J.C.P., SEGAT, J.C., GEREMIA, E.V., FILHO, L.C.I.O., ALVES, V. Fauna edáfica e qualidade do solo. **Tópicos em Ciência do Solo**, v. 7, p. 119-170, 2011.
- BHAT S.A.; SINGH, J.; VIG, A.P. Earthworms as organic waste managers and biofertilizer producers. **Waste and Biomass Valorization**, v. 8, p. 1073-1086, 2018.
- BIABANI, A.; CARPENTER-BOGGS, L.; GHOLIZADEH, A.; VAFAIE-TABAR, M.; OSMAN OMARA, M. Reproduction efficiency of *Eisenia foetida* and substrate changes during vermicomposting of organic materials. **Compost Science & Utilization**, v. 26, n. 3, p. 209-215, 2018.
- BRIONES, M.J.I.; ALVAREZ-OTERO, R. Body wall thickness as a potential functional trait for assigning earthworm species to ecological categories. **Pedobiologia**, v. 67, p. 26-34, 2018.
- CESARZ, S.; CRAVEN, D.; DIETRICH, C.; Eisenhauer, N. Effects of soil and leaf litter quality on the biomass of two endogeic earthworm species. **European Journal of Soil Biology**, v. 77, p. 9-16, 2016.
- CESTONARO, T.; MENDONÇA COSTA, M.S.S.; MENDONÇA COSTA, L.A.; PEREIRA, D.C.; ROZATTI, M.A.T.; MARTINS, M.F.L. Addition of cattle manure to sheep bedding allows vermicomposting process and improves vermicompost quality. **Waste Management**, v. 61, p. 165-170, 2017.
- CHATELAIN, M.; MATHIEU, J. How good are epigeic earthworms at dispersing? An investigation to compare epigeic to endogeic and anecic groups. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 111, p. 115-123, 2017.
- DEEPTHI, M.; KATHIRESWARI, P.; RINI, J.; SAMINATHAN, K.; KARMEGAM, N. Vermitransformation of monogastric *Elephas maximus* and ruminant *Bos taurus* excrements

into vermicompost using *Eudrilus eugeniae*. **Bioresource Technology**, v. 320, p. 124302, 2021.

DEVI, C.; KHWAIRAKPAM, M. Bioconversion of *Lantana camara* by vermicomposting with two different earthworm species in monoculture. **Bioresource Technology**, v. 296, e: 122308, 2020.

DOMÍNGUEZ, J. Earthworms and vermicomposting. In: RAY, S. **Earthworms: The ecological engineers of soil**. IntechOpen, 2018.

DOMÍNGUEZ J.; AIRA M.; GÓMEZ-BRANDÓN M. Vermicomposting: earthworms enhance the work of microbes. In: Insam H.; Franke-Whittle I; Goberna M. (eds). **Microbes at Work**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2010.

DOMÍNGUEZ, J.; AIRA, M.; KOLBE, A.R.; GÓMEZ-BRANDÓN, M.; PÉREZ-LOSADA, M. Changes in the composition and function of bacterial communities during vermicomposting may explain beneficial properties of vermicompost. **Scientific Reports**, v. 9, e: 9657, 2019.

EISENHAUER, N., EISENHAUER, E. The “intestines of the soil”: the taxonomic and functional diversity of earthworms—a review for young ecologists. **EcoEvoRxiv Preprints**, 2020.

GÓMEZ-BRANDÓN, M.; AIRA, M.; SANTANA, N.; PÉREZ-LOSADA, M.; DOMÍNGUEZ, J. Temporal dynamics of bacterial communities in a pilot-scale vermireactor fed with distilled grape marc. **Microorganisms**, v. 8, n. 5, p. 642, 2020.

HUSSAIN, N.; SINGH, A.; SAHA, S.; KUMAR, P.; BHATTACHARYYA, P.; BHATTACHARYYA, S.S. Excellent N-fixing and P-solubilizing traits in earthworm gut-isolated bacteria: a vermicompost based assessment with vegetable market waste and rice straw feed mixtures. **Bioresource Technology**, v. 222, p. 65-174, 2016.

JAIN, M.S., JAMBHULKAR, R., KALAMDHAD, A.S. Biochar amendment for batch composting of nitrogen rich organic waste: Effect on degradation kinetics, composting physics and nutritional properties. **Bioresource Technology**, v. 253, p. 204-213, 2018.

KHATUA, C.; SENGUPTA, S.; BALLA, V.K.; KUNDU, B.; CHAKRABORTI, A.; TRIPATHI, S. Dynamics of organic matter decomposition during vermicomposting of banana stem waste using *Eisenia fetida*. **Waste Management**, v. 79, p. 287-295, 2018.



LAVELLE P. et al. Ecosystem engineers in a self-organized soil: a review of concepts and future research questions. **Soil Science**, v. 181, n. 3/4, 2016.

LE COUTEULX, A.; WOLF, C.; HALLAIRE, V.; PÉRÈS, G. Burrowing and casting activities of three endogeic earthworm species affected by organic matter location. **Pedobiologia**, v. 58, n. 2/3, p. 97-103, 2015.

LOURENÇO, N.M.G. **Manual de vermicompostagem**: a vermicultura para a agricultura orgânica. Publindústria Edições Técnica, 2014, 230 p.

LV B.; ZHANG, D.; CHEN, Q.; CUI, Y. Effects of earthworms on nitrogen transformation and the correspond genes (*amoA* and *nirS*) in vermicomposting of sewage sludge and rice straw. **Bioresource Technology**, v. 287, e.121428, 2019.

MAGO, M., YADAV, A., GUPTA, R., GARG, V.K. Management of banana crop waste biomass using vermicomposting technology. **Bioresource Technology**, v. 326, e. 124742, 2021.

McTAVISH, M.J.; GORGOLEWSKI, A.; MURPHY, S.D., BASILIKO, N. Anecic earthworms (*Lumbricus terrestris*) facilitate the burial of surface-applied wood ash. **Biology and Fertility of Soils**, v. 56, p. 195-203, 2020.

PALM, J.; VAN SCHAIK, N.L.M.B.; SCHRÖDER, B. Modelling distribution patterns of anecic, epigeic and endogeic earthworms at catchment-scale in agro-ecosystems. **Pedobiologia**, v. 56, p. 23-31, 2013.

ORGIAZZI, A. et al. **Global Soil Biodiversity Atlas**. European Commission, Publications Office of the European Union, Luxembourg. 2016, 176 p.

PENNING, K.A.; WRIGLEY, D.M. Aged *Eisenia fetida* earthworms exhibit decreased reproductive success. **Invertebrate Reproduction & Development**, v. 62, n. 2, p. 2018.

PLYTYCZ, B.; BIGAJ, J.; RYSIEWSKA, A.; OSIKOWSKI, A.; HOFMAN, S.; PODOLAK, A.; GRZMIL, P. Impairment of reproductive capabilities in three subsequent generations of asymmetric hybrids between *Eisenia andrei* and *E. fetida* from French, Hungarian and Polish laboratory colonies. **Plos One**, v. 15, n. 7, e0235789, 2020.

RINI, J.; DEEPTHI, M.P.; KULANDAIVEL, S.; RAMASAMY, T.N.; NATCHIMUTHU, K.; PALANISAMY, K. Nutrient recovery and vermicompost production from livestock solid wastes with epigeic earthworms. **Bioresource Technology**, v. 313, e: 123690, 2020.

SALVIO C.; MENONE, M.L.; RAFAEL, S.; ITURBURU, F.G.; MANETTI, P.L. Survival, reproduction, avoidance behavior and oxidative stress biomarkers in the earthworm *Octolasion cyaneum* exposed to glyphosate. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 96, p. 314-319, 2016.

SANTANA, N.A.; JACQUES, R.J.S.; ANTONIOLLI, Z.I.; CORDEIRO, H.M.; DOMINGUEZ, J. Changes in the chemical and biological characteristics of grape marc vermicompost during a two-year production period. **Applied Soil Ecology**, v. 154, p. 1-9, 2020.

SANTANA, N.A.; FERREIRA, P.A.A.; TAROUCO, C.P.; SCHARDONG, I.S.; ANTONIOLLI, Z.I.; NICOLOSO, F.T.; JACQUES, R.J.S. Earthworms and mycorrhization increase copper phytoextraction by *Canavalia ensiformis* in sandy soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 182, e:109383, 2019.

SHARMA K., GARG V.K. Recycling of lignocellulosic waste as vermicompost using earthworm *Eisenia fetida*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, p. 14024-14035, 2019.

SHARMA, D.; PANDEY, A.K.; YADAV, K.D.; KUMAR, S. Response surface methodology and artificial neural network modelling for enhancing maturity parameters during vermicomposting of floral waste. **Bioresource Technology**, v. 324, e: 124672, 2021.

SRIVASTAVA, V.; SQUARTINI, A.; MASI, A.; SARKAR, A.; SINGH, R.P. Metabarcoding analysis of the bacterial succession during vermicomposting of municipal solid waste employing the earthworm *Eisenia fetida*. **Science of The Total Environment**, v. 766, e: 144389, 2021.

SUTHAR, S. Earthworm production in cattle dung vermicomposting system under different stocking density loads, **Environmental Science and Pollution Research**, v. 19, n. 3, p. 748-755, 2012.

YADAV, J., GUPTA, R.K. Dynamics of nutrient profile during vermicomposting. **Ecology, Environment and Conservation**, v. 23, n. 1, p. 516-521, 2017.