

کاربرد نشانگرهای زیستی در پایش سلامت اکوسیستم خاک (با تأکید بر کرم‌های خاکی)

امیر حسین حمیدیان و مجتبی یحیی آبادی^۱

استادیار گروه محیط زیست دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، a.hamidian@ut.ac.ir

عضو هیات علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان، yahyabadi@gmail.com

دریافت: فروردین ۱۳۹۴ و پذیرش: خرداد ۱۳۹۵

چکیده

بسیاری از دانشمندان، مدیران، و مردم، همواره علاقه‌مند به پایش سلامت جمعیت‌ها و اکوسیستم‌ها هستند. این رویکرد منجر به افزایش تحقیقات مربوط به کارایی انواع نشانگرها به منظور سنجش عوامل تنش‌زای ناشی از آلاینده‌ها شده است. پایش سلامتی اکوسیستم نیازمند استفاده از مجموعه‌ای از نشانگرها می‌باشد که علاوه بر زیست شناختی بودن، باید روش مشخص داشته، جامع نگر بوده و بتواند به طور موثر در طول زمان برای ارزیابی روند و دادن هشدارهای زود هنگام، مورد استفاده قرار گیرد. در یک مدیریت موفق و مستمر اراضی، نشانه‌های زیستی، عناصر سازنده در ارزیابی کیفیت خاک محسوب می‌شوند. کرم‌های خاکی اغلب به عنوان نشانگرهای زیستی کیفیت خاک پیشنهاد می‌شوند زیرا آنها بخش مهمی از اکوسیستم خاک بوده و حضور همیشگی در خاک دارند. کرم‌های خاکی به دلیل نقش فوق‌العاده‌ای که در فرآیندهای زیستی، شیمیایی و فیزیکی خاک ایفا می‌کنند و همچنین به خاطر توزیع گسترده در انواع خاک‌ها، برای بسیاری از آزمون‌های سمیت و ارزیابی‌های محیطی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. تجمع زیستی فلزات توسط کرم‌های خاکی می‌تواند به عنوان یک شاخص محیط زیستی برای فراهمی فلزات باشد. در این مقاله، مباحث فوق و از جمله انواع نشانگرها و کاربرد آنها در مدیریت اراضی و ارزیابی‌های محیط زیستی و به ویژه استفاده از کرم‌های خاکی به عنوان یک نشانگر زیستی کارآمد در پایش کیفیت خاک، به تفصیل مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

واژه‌های کلیدی: ارزیابی اراضی، پایش زیستی، کرم‌های خاکی، نشانگر، فلزات سنگین.

^۱ - آدرس نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان

مقدمه

برنامه‌های درازمدت پایش و نشانگرهای زیستی مرتبط با آنها، نیازمند علاقه و حمایت عموم مردم و پشتیبانی سازمان‌های دولتی هستند؛ چنین حمایتی در صورتی حاصل خواهد شد که نشانگرهای زیست‌شناختی، اطلاعات ضروری در مورد سلامت اکوسیستم و مردم را ارائه دهند. هدف اصلی این مقاله ارائه‌ی اطلاعاتی در مورد برنامه‌های پایش و نشانگرهای زیست‌شناختی، خصوصیات نشانگرهای موفق و انواع نشانگرهای زیستی بوده و در ادامه به چگونگی کاربرد نشانگرهای زیست‌شناختی در تحقیقات و مدیریت اشاره خواهد شد. در نهایت نیز استفاده از کرم‌های خاکی به عنوان یک نشانگر زیستی کارآمد در پایش کیفیت خاک به تفصیل بررسی خواهد شد. تعریف کلی نشانگرهای زیست‌شناختی عبارتست از اندازه‌گیری نسبتاً ساده در مورد اکوسیستم‌های پیچیده و اجزای آن‌ها که در واقع از ابزارهای تحقیقات علمی بشمار می‌روند (استال و همکاران، ۲۰۰۰).

ویژگی‌های یک نشانگر مناسب

نشانگرهای زیست‌شناختی باید در جهتی گسترش یابند که کاربرد بلند مدت داشته باشند، در غیر این صورت برای یک دوره زمانی کوتاه، مفید نخواهد بود. این امر بویژه امروزه که تمایل به افزایش تلاش‌ها برای مدیریت و استفاده از اکوسیستم‌های پایدار، وجود دارد، از اهمیت خاصی برخوردار است (براتان و همکاران، ۲۰۰۴). بنابراین نشانگرها باید بصورت انتخابی باشند و حداکثر ارتباط زیست‌شناختی، روش‌شناختی و جامع‌نگری را دارا باشند.

اولین و مهم‌ترین صفت یک نشانگر، نشان دادن تغییر در برابر عامل تنش‌زا می‌باشد اما نشانگر نباید آنقدر حساس باشد که وقتی دلیلی برای نگرانی نیست، تغییر کند. همچنین پاسخ نشانگر نباید آنچنان حساس باشد که تغییرات زیست‌شناختی بی‌اهمیت یا تصادفی را نشان

ارزیابی سلامت اجزای اکوسیستم خاک شامل پایش‌های زیستی، فیزیکی و شیمیایی است که در آنها از شاخص‌ها و نشانگرهای خاصی استفاده می‌شود. قابلیت هدایت الکتریکی خاک (EC)، کربن آلی و اسیدیته خاک، بافت خاک و پایداری خاکدانه‌ها از شاخص‌های شیمیایی و فیزیکی هستند و فعالیت آنزیم‌های خاک، وزن توده زنده خاک و میزان تنفس خاک از جمله برخی از شاخص‌های زیستی خاک محسوب می‌شوند. از آنجایی که اساساً انسان بر اکوسیستم‌ها تأثیر می‌گذارد و خود نیز می‌تواند شدیداً از محیط‌های ناسالم خود تأثیر بپذیرد، این نقش دوگانه همیشه مد نظر بوده است. ارزیابی سلامت بوم‌شناختی^۱ برای گونه‌ها، جمعیت و اکوسیستم شامل سنجش وضعیت کنونی و پایش تغییرات در طول زمان است و این مورد، نوعی نگاه به گذشته یا آینده‌نگری خواهد بود. پایش زیستی یا بیومانیتورینگ^۲، محور ارزیابی محیط زیستی است و کلیدی برای سنجش وضعیت یا خوب کار کردن گیرنده‌های محیط زیستی در اکوسیستم‌های عمل‌گرا محسوب می‌شود. داده‌ها و اطلاعات پایش را می‌توان از بسیاری منابع شامل سیستم‌های زنده و غیر زنده و در انواع مقیاس‌های مکانی و زمانی بدست آورد. در حالت ایده‌آل، این داده‌ها جهت پاسخگویی به نیازهای یک سوال خاص و یا وضعیت ویژه، مناسب بوده و بطور معمول در مورد وضعیت یا روند شرایط، ارائه‌ی اطلاعات می‌کنند. پایش قادر است هشدار دهنده زود هنگام در تغییراتی باشد که گونه‌های فردی (مثل انسان)، جمعیت‌ها و اکوسیستم‌ها را تهدید می‌کنند. از آنجایی که امکان پایش همه گونه‌ها در یک اکوسیستم وجود ندارد، لازم است مجموعه‌ای از نشانگرها که قادر به ارزیابی و بررسی روند شرایط اکوسیستم هستند، تهیه و توسعه یابند.

^۱ Ecologic^۲ Biomonitoring

تنوع گونه‌ای در کرم‌های خاکی شده و بسیاری از خصوصیات زیست‌شناختی، شیمیایی و فیزیکی خاک را تحت تأثیر قرار داده و در نهایت پایداری خاک را کاهش می‌دهند (یحیی‌آبادی و اسدی، ۲۰۱۰).

اهداف اساسی ارزیابی کیفیت و سلامت خاک به شرح

زیر است:

- افزایش آگاهی عمومی در مورد خاک به عنوان یک منبع با ارزش

- نمایش قابلیت‌های خاک: مانند ایجاد فضای زیستگاه، منبع تنوع زیستی، تولید زیست توده، جذب آب، توزیع، ذخیره سازی و تجزیه مواد

- نظارت بر روند جهانی تغییر در اکوسیستم و به ویژه در خاک

- پایش پایداری (کشاورزی) کاربری اراضی

- بررسی نیاز به اصلاح خاک و موفقیت اجرای آن

نشانه‌های زیستی، عناصر سازنده در ارزیابی کیفیت خاک محسوب می‌شوند. کرم‌های خاکی اغلب به عنوان نشانگرهای زیستی کیفیت خاک پیشنهاد می‌شوند زیرا آنها بخش مهمی از اکوسیستم خاک بوده و حضور همیشگی در خاک دارند. همچنین جمع‌آوری کرم‌های خاکی، راحت و شناسایی آنها نسبتاً ساده است. به طور کلی حضور و اثرات کرم‌های خاکی با کیفیت خوب خاک ارتباط مستقیم دارد. با استفاده از کرم‌های خاکی می‌توان به روش‌های زیر، کیفیت خاک را بررسی کرد:

- تعیین فراوانی و ترکیب گونه‌ها در یک مکان مشخص
- بررسی رفتار کرم‌های خاکی در تماس با ماده غذایی در خاک (ترجیح / اجتناب / فعالیت)

- بررسی جذب، انتقال و تجمع مواد شیمیایی از خاک به داخل بافت کرم‌های خاکی

- بررسی وضعیت نشانگرهای بیوشیمیایی - سلولی استرس در کرم خاکی

دهد. نشانگری که زیست‌شناختی بوده اما روش کاربرد مشخصی ندارد، به سادگی قابل استفاده نیست (برگر و گوچفلد، ۲۰۰۴). یک نشانگر یا شاخص خوب، باید به آسانی برای محققین قابل اندازه‌گیری باشد، برای مدیران در مدیریت منابع، قابل استفاده باشد، برای هواداران حفظ محیط زیست در حفاظت از گونه‌ها کاربرد داشته باشد و به آسانی به ابزاری مناسب برای مجریان قوانین حفظ محیط زیست درآید. سهولت اندازه‌گیری یک نشانگر، یک ویژگی کلیدی است و برای داشتن اطمینان از اینکه استفاده از یک نشانگر آسان است، نیاز به آزمایشات گسترده مزرعه‌ای با طیف وسیع نمونه‌برداری و مشاهده حالات مختلف توسط کاربران و کارشناسان متعدد می‌باشد. جامع‌نگر بودن و عمومی بودن، ویژگی بسیار مهم برای یک نشانگر مفید است؛ از این رو جمع‌آوری داده‌های یک نشانگر زیست‌شناختی، فقط برای یک منطقه یا برای یک یا دو سال، اطلاعات قابل استنادی برای شناسایی گونه‌هایی که نیازمند حفاظت هستند؛ فراهم نخواهد ساخت.

گونه‌های پر جاذبه مثل گوزن زرد ایرانی در ایران و یا عقاب طاس در آمریکا، اغلب به عنوان نشانگر یا شاخص استفاده می‌شوند و این به دلیل توجه شدید نهادهای دولتی و مردمی نسبت به آنها می‌باشد. کاهش شدید جمعیت عقاب‌های طاس در اوایل دهه ۱۹۵۰ میلادی در آمریکا، بعنوان یک نشانگر زیستی حاصل آلودگی آفت‌کش‌های کلردار محسوب می‌شوند (فاکس، ۱۹۹۷). یکی از مهم‌ترین نشانگرهای زیست‌شناختی در عرصه خاک‌های کشاورزی، کرم‌های خاکی هستند. وجود این موجودات در خاک، کیفیت بالای زیست‌شناختی در خاک را تضمین می‌کند. نتایج تحقیقات بسیاری نشان می‌دهند که برخی از مدیریت‌های کشاورزی موجب ایجاد تنش در محیط خاک (مانند حذف بقایای گیاهی از خاک، سوزاندن بقایای محصولات در سطح خاک، مصرف برخی کودهای شیمیایی و سموم دفع آفات) می‌شوند. این عوامل تنش‌زا موجب کاهش جمعیت و

استفاده از موجودات خاک‌زی به عنوان نشانگرهای زیستی

سوال مهم در مطالعات اکوتوکسیکولوژی^۱، انتخاب گونه‌های شناساگر می‌باشد. انتخاب نوع گونه به اهمیت بوم شناختی، توکسیکولوژیک، آسانی کار در آزمایشگاه، سرعت تولید مثل و همچنین داشتن حساسیت لازم، بستگی دارد. بسیاری از محققین معتقدند که داشتن حساسیت نسبت به آلودگی‌ها، بر خورداری از اهمیت کلیدی در خدمات اکوسیستم خاک به همراه نمونه برداری آسان و امکان شناسایی، از مشخصات بارز یک شناساگر زیستی در خاک محسوب می‌شوند. کرم‌های خاکی^۲، از مهمترین اجزای ماکروفون خاک محسوب می‌شوند (کیل، ۱۹۹۸). از خصوصیات مختلفی که باعث می‌شود کرم‌های خاکی از شناساگرهای بسیار مهم آلودگی‌های خاک به شمار آیند، می‌توان به دانش بسیار زیادی که هم‌اکنون در باره‌ی رفتار و محل زندگی آنها و همچنین جایگاه آنها در پایین‌ترین سطح شبکه غذایی خاک داریم، داشتن نقش تغذیه‌ای برای جانوران خاک و قرار گرفتن در مسیر بزرگنمایی زیستی آلاینده‌ها، اشاره کرد. کرم‌های خاکی به دلیل نقش فوق‌العاده‌ای که در فرآیندهای زیستی، شیمیایی و فیزیکی خاک دارند و همچنین به خاطر توزیع گسترده‌ای که در انواع خاک‌ها دارند، برای بسیاری از آزمون‌های سمیت و ارزیابی‌های محیطی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. گونه‌هایی همچون *Lumbricus terrestris* و *Lumbricus rubellus* بطور گسترده در مطالعات بزرگنمایی زیستی^۳ فلزات در خاک، استفاده شده‌اند (آمارال و رودیگز، ۲۰۰۵).

زیست‌شناسی و بوم‌شناسی کرم‌های خاکی

کرم‌های خاکی یکی از اجزای مهم وزن زنده خاک را تشکیل می‌دهند و در فرآیند چرخه عناصر غذایی در خاک، نقش اساسی بازی می‌کنند. کرم‌های خاکی تأثیر

بسیار فراوانی در بهبود ساختمان، حاصلخیزی و باروری خاک، تخلخل و نفوذ آب، قابلیت استفاده عناصر غذایی، توزیع موجودات ریز خاک و کاهش شیوع بیماری‌های گیاهی و عملکرد مراتع دارند. بسته به شرایط محیطی، جمعیت و وزن زنده کرم‌های خاکی کمتر از ۱۰ عدد و یک گرم در مترمربع تا بیش از ۱۰۰۰ عدد و ۲۰۰ گرم در مترمربع تغییر می‌کند. شرایط محیطی مناسب برای رشد و تکثیر کرم‌ها، عمدتاً شامل رطوبت کافی، تهویه مناسب، درجه حرارت بین ۲۰ الی ۳۰ درجه سانتی‌گراد، pH حدود خنثی و مواد آلی زیاد می‌باشد. کرم‌های خاکی بقایای گیاهی را می‌خورند و هضم می‌کنند و بصورت فضولات کم محلول و حاوی عناصر غذایی قابل استفاده گیاهان دفع می‌کنند و مواد آلی را در خاک تا عمق ۳۰ سانتیمتری پخش می‌کنند. در روده کرم‌های خاکی میلیون‌ها میکروارگانیسم که قادر به تجزیه بقایای گیاهی هستند زندگی می‌کنند. این میکروارگانیسم‌ها با تجزیه مواد آلی کودهای با کیفیت عالی، حاوی K, P, N و عناصر غذایی دیگر را تولید می‌کنند که برای گیاهان قابل جذب می‌باشند. فضولات کرم‌های خاکی حاوی پنج برابر نیتروژن، یازده برابر پتاسیم، هفت برابر فسفر، نسبت به مواد اولیه است و تعداد باکتری‌ها در فضولات کرم‌ها ۱۰۰۰ برابر است.

کرم‌های خاکی همچنین کربنات کلسیم را مصرف می‌کنند و در نتیجه‌ی فعالیت درازمدت کرم‌ها، pH های اسیدی و قلیایی خاک به سمت خنثی میل می‌کند. میکروارگانیسم‌ها نقش اساسی در تغذیه و هضم مواد بوسیله کرم‌های خاکی به عهده دارند؛ برخی از میکروب‌ها برای کرم‌های خاکی ضروری هستند. در فضولات کرم‌های خاکی مقدار زیادی عوامل رشد گیاهان و ویتامین‌ها نیز یافت می‌شود که ممکن است در ترشحات روده یا ترشحات میکروارگانیسم‌های گوارش باشند. مواد موکوپروتئینی که از پوست کرم‌های خاکی به جداره کانال‌ها ترشح می‌شود باعث افزایش فعالیت میکروبی می‌شود به طوری‌که تعداد باکتری‌های نیترات‌ساز

¹ Ecotoxicology

² Oligochaeta

³ Biomagnification

لکزبان و همکاران (۱۳۸۲)، در بررسی انباشتگی فلزات سنگین در کرم خاکی آیزینیا فتیدا نشان دادند که همبستگی معنی داری بین غلظت عناصر کادمیوم، سرب و مس در بستر و بافت‌های کرم خاکی مشاهده نشد؛ با این حال تابعیت غلظت مس و سرب در بافت‌های کرم خاکی آیزینیا فتیدا وجود دارد. جنابی حق پرست و همکاران (۱۳۹۲)، اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم را بر رشد کرم خاکی بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که خاک‌های تیمار شده با کادمیوم، با افزایش غلظت عنصر در خاک، وزن کرم‌ها کاهش یافت و کادمیوم بیشترین تاثیر را بر تعداد تخم تولید شده، داشته است.

پایش زیستی

روش پایش زیستی می‌تواند روش مناسبی برای ارزیابی سمیت آلودگی‌ها باشد. موجوداتی مانند ماهی، حلزون و گیاهان، به عنوان دیده‌بان زیستی محیطشان بکار گرفته شده‌اند. اگرچه این روند، مفید واقع می‌شود اما تا حدی محدود است زیرا ممکن است فقط برای بخش مشخصی از یک موجود زنده با مواد خاص کاربرد داشته باشد. به همین دلیل یافتن موجود زنده‌ای که برای هر نوع ارزیابی بتوان از آن به عنوان ناظر زیستی استفاده کرد، اهمیت دارد. کرم‌های خاکی نقش برجسته‌ای در تشکیل خاک دارند و این کار را با مصرف بقایای آلی، خرد کردن آنها و مخلوط کردن آنها با ذرات معدنی خاک برای تشکیل خاکدانه‌های پایدار انجام می‌دهند (ادوارد، ۲۰۰۴). توانایی کرم‌ها در تجمع زیستی برای پایش و نظارت زیستی محیط، ضروری است؛ از این رو یک کرم خاکی، بهترین موجود خاک برای رسیدن به این هدف است (ژانگ و ژنگ، ۲۰۰۹). تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که کرم‌های خاکی نشانگرهای خوبی برای آلاینده‌های خاک محسوب می‌شوند زیرا نقش مهمی در وزن زنده ماکروفون خاک ایفا می‌کنند. پایش زیستی خاک را می‌توان هم در مزرعه و هم در آزمایشگاه به انجام رساند.

حدود ۴۰ درصد افزایش می‌یابد. بطورکلی می‌توان گفت در صورتی که جمعیت کرم‌های خاکی در خاک زیاد باشد؛ خاک دارای کیفیت مطلوبی است. کرم‌های خاکی در هر شبانه‌روز به اندازه وزن خود فضولات بر جای می‌گذارند.

تقسیم‌بندی کرم‌های خاکی از نظر رفتار و محل زندگی

کرم‌های خاکی از جهات مختلف طبقه‌بندی شده‌اند اما مفیدترین طبقه‌بندی براساس رفتار و محل زندگی آنها در طبیعت می‌باشد. بطورکلی طبقه‌بندی بوم‌شناسی کرم‌های خاکی براساس عادات غذایی و همچنین عمقی از خاک را که کرم خاکی در آن زندگی می‌کند؛ می‌باشد و براین اساس، کرم‌های خاکی در سه دسته طبقه‌بندی می‌شوند (ادوارد و بوهلن ۱۹۹۶). دسته اول به اپی‌جئیک^۱ مشهورند و انواعی هستند که در سطح خاک و در میان بقایای آلی زندگی کرده و از بقایای حیوانی و گیاهی تازه فاسد شده تغذیه می‌کنند. دسته دوم اندوجئیک^۲ نام دارند و انواعی هستند که در قسمت‌های عمقی خاک زندگی می‌کنند و از خاک تغذیه کرده و عناصر مواد غذایی را از مواد آلی تجزیه شده تأمین می‌کنند. دسته سوم کرم‌های آنسیک^۳ هستند و از انواع حفار محسوب می‌شوند اما در شب به منظور تغذیه از بقایای تازه فاسد شده به سطح خاک می‌آیند و در واقع از سطح تا عمق خاک رفت و آمد می‌کنند. در کشورمان، بخش زیادی از تحقیقات مربوط به کرم‌های خاکی، بر توانایی کرم‌ها در تولید ورمی‌کمپوست و اثرات این کود باارزش بر محصولات زراعی مختلف، متمرکز شده است. برخی محققین نیز تحقیقات خود را بر شناسایی و اکولوژی گونه‌های مختلف کرم در مناطق مختلف ایران متمرکز کرده‌اند (عمرانی و همکاران، ۲۰۰۵)، (لطیف و همکاران، ۲۰۰۹)، (میرمنصف و همکاران، ۲۰۱۱). تحقیقات بسیار محدودی نیز در خصوص اثرات آلودگی عناصر سنگین بر کرم‌های خاکی به انجام رسیده است.

^۱ Epigeic

^۲ Endogeic

^۳ Anecic

پایش جمعیت کرم‌های خاکی در خاک مزارع

پایش کرم‌های خاکی در مزرعه در سطوح مختلفی انجام می‌شود. در مزرعه، ارزیابی کلی توسط تخمینی از حضور کرم‌ها با شمارش تعداد آنها در یک بیل خاک و یا مشاهده سطح خاک برای دیدن فعالیت کرم‌ها مثل فضولات آنها (کاست)^۱ انجام می‌شود (هوزر و همکاران، ۱۹۹۸). در ایالت‌های آمریکا روش‌های مختلفی برای ارزیابی کیفیت خاک در مزرعه از طریق کرم‌های خاکی انجام می‌شود (جدول ۱).

در سطوح بالاتر پایش خاک، فراوانی گونه‌های مختلف کرم‌های خاکی و میزان بلوغ آنها در ساختار خاک مورد بررسی قرار می‌گیرد. در آلمان برنامه‌ی بلند مدت پایش خاک در ۸۰۰ سایت دائمی پایش خاک در حال انجام است که عمدتاً بر شرایط زیست‌شناختی و شیمیایی خاک متمرکز شده و اراضی جنگلی، کشاورزی و علفزارها را تحت پوشش قرار می‌دهد (جدول ۲). از عوامل اصلی مورد اندازه‌گیری بخش موجودات خاک، کرم‌های خاکی و کرم‌های گلدانی (آنکی‌ترئیدها) هستند. کمیسیون اروپا به منظور پایش خطر "نابودی تنوع زیستی خاک"، سه نشانگر را شامل گونه‌های کرم‌های خاکی (در صورت عدم وجود کرم‌های خاکی، آنکی‌ترئیدها)، گونه‌های پادومان و همچنین تنفس خاک را برای این منظور پیشنهاد کرده است (بیسپو و همکاران، ۲۰۰۹). ۲۰ سال پایش کرم‌های خاکی در ایالت باواریای کشور آلمان (۲۰۰۵-۱۹۸۵)، افزایش معنی‌دار تعداد کرم‌های خاکی را در یکصد زمین زراعی در پی داشت. افزایش میانگین جمعیت کرم‌های خاکی می‌تواند نشانه‌ای از بهبود مدیریت عملیات زراعی و سلامت خاک در باواریا باشد.

پایش زیستی توسط کرم‌های خاکی در آزمایشگاه

در حالی‌که نتایج حاصل از ارزیابی‌های مزرعه‌ای تحت تأثیر آب و هوا و سایر فاکتورهای غیر خاک قرار دارد؛ از مزایای تحقیقات آزمایشگاهی، می‌توان

به استفاده از شرایط قابل کنترل اشاره کرد. نتایج این آزمایشات نسبت به نتایج مزرعه‌ای قابلیت تکثیر و تعمیم بهتری داشته و در هر زمان از سال نیز قابل اجرا خواهد بود. کرم‌های خاکی در تحقیقات آزمایشگاهی بسیار زیادی مورد استفاده قرار گرفته‌اند؛ که در آنها، هم واکنش کرم‌های خاکی نسبت به شرایط محیطی بررسی می‌شوند و هم اثرات کرم‌های خاکی بر محیط اطرافشان اندازه‌گیری می‌شود.

همچنین تحقیقات آزمایشگاهی با حضور کرم‌های خاکی در ارزیابی کیفیت خاک نیز به انجام می‌رسد. اینگونه تحقیقات به علل مختلف باید در کوتاه مدت به انجام برسد؛ بنابراین واکنش‌های رفتاری کرم‌ها مورد آزمون قرار می‌گیرند. یکی از آزمون‌های کیفیت خاک با استفاده از کرم‌های خاکی، "آزمون اجتناب" است. آزمون اجتناب با کرم خاکی *Eisenia fetida* توسط یاردلی و همکاران (۱۹۹۶) پیشنهاد شد و در نهایت منجر به اخذ استاندارد ایزو ۲۰۰۸ گردید. در این روش، خاک مورد آزمون و خاک مرجع در دو طرف یک جعبه ریخته می‌شوند. سپس حرکت کرم‌ها به هر دو طرف جعبه، پایش می‌شود. خاک مرجع خاکی است که از نظر خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و زیست‌شناختی مشابه خاک آلوده باشد اما فاقد آلودگی مورد نظر است. زویتن و همکاران (۲۰۰۴) با استفاده از آزمون اجتناب، اقدام به بررسی اثر باقیمانده سموم قارچ‌کش حاوی مس بر کرم‌های خاکی گروه بوم‌شناختی اندوجنیک در خاک باغات آووکادو در استرالیا کردند. لوکاری و هایمی (۲۰۰۵)، آزمون اجتناب را برای کرم‌های گونه *Aporrectodea* که ساکن خاک‌های مزارع هستند؛ بکار گرفتند.

¹ Cast

جدول ۱- ارزیابی حضور کرم‌های خاکی در مشخصات کارت کیفیت خاک در ایالت‌های مختلف آمریکا (منبع سایت USDA)

ایالت	مشخصه مورد سنجش	مقدار
کانتیکت	تعداد کرم خاکی	هیچ / تعدادی / زیاد
جورجیا	فعالیت‌های زیستی	هیچ نشانه‌ای از فعالیت/تعدادی نشانه فعالیت / نشانه‌های زیاد فعالیت
ایلینویز	تعداد کرم در هر بیل	۱-۱۰/۲-بیش از ۱۰
میرلند	کرم‌ها و فعالیت آنها	۱- کرم در یک بیل خاک سطحی، ۱۰-۲ کرم در یک بیل، بیش از ۱۰ کرم،
مونتانا - داکوتای شمالی	موجودات خاک	حشره، کرم‌خاکی، قارچ و ریشه گیاه نادر/تعدادی حشره، کرم‌خاکی، قارچ و ریشه گیاه/موارد فوق به تعداد زیاد
اوهاйо	زندگی در خاک-کرم‌های خاکی	بدون نشانه فعالیت کرم در خاک / تعدادی کرم و کاست آنها در منافذ خاک/ تعداد زیادی کرم و کاست آنها در منافذ خاک
اورگون	فراوانی کرم‌ها در خاک	بدون کرم خاکی / تعدادی کرم خاکی / تعداد زیاد کرم‌های خاکی و فعالیت آنها

جدول ۲- خصوصیات اندازه‌گیری شده جانوران خاکزی در سایت‌های پایش خاک در کشور آلمان

خصوصیات مورد سنجش	هدف نشانگر در پایش
تعداد کل کرم‌های خاکی (تعداد در مترمربع)	فعالیت زیستی نشانگرها در خاک
بایومس کل کرم‌های خاکی (گرم در متر مربع)	تنوع زیستی نشانگرها در خاک
ساختار جامعه شامل: ترکیب گونه‌ها، تعداد گونه‌ها، غالبیت و تناوب گونه‌ها	نشانگر رشد عمودی فعالیت‌های زیستی
توزیع عمودی آنکی‌ترئیدها: کل و سطوح گونه‌ها	اهمیت بوم شناختی گونه‌ها
بیوماس و غالبیت بیوماس گونه‌های کرم خاکی	نشانگرهای زیستی کیفیت خاک (شرایط زیستی خاک و اثر فاکتورهای محیطی بر موجودات خاک)
تعداد، فعالیت و ارتباط کلی تجزیه‌کنندگان در خاک	

اثر فلزات سنگین بر کرم‌های خاکی

برای استفاده از کرم‌ها در پایش محیط، اثرات آلاینده‌های شیمیایی مختلف در کرم‌های خاکی مطالعه شده است. محققین زیادی به اثرات آلودگی‌ها بر رشد، تکثیر و فیزیولوژی کرم‌ها پرداخته‌اند و هر یک با توجه به نوع گونه‌ی کرم و نوع آلودگی، نتایج مختلفی به دست آورده‌اند. سانگ و همکاران (۲۰۰۲)، در بررسی اثرات سمی فلزات سنگین بر کرم‌های خاکی دریافتند که غلظت کشنده عناصر مس، روی، سرب و کادمیوم بر کرم‌های خاکی به ترتیب برابر ۳۰۰، ۱۳۰۰، ۱۷۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بوده است. تجمع هر دو اورانیوم طبیعی و رقیق شده در کرم‌های خاکی به منظور بررسی اثرات زیست‌شناختی، تجزیه و تحلیل شد (جیووانتی و همکاران، ۲۰۱۰). این مطالعه نشان داد که هیچ اثری از نظر مرگ و میر و یا کاهش وزن در کرم‌ها مشاهده نشد،

اما اثرات ژنتیکی و سیتوتوکسیک^۱ در غلظت بسیار کم اورانیوم طبیعی مشاهده شدند. در میان فلزات، متیل جیوه ممکن است به آسانی توسط کرم‌های خاکی جذب و انباشته شود و این نشان می‌دهد که کرم‌های خاکی یک نشانگر مناسب برای پایش متیل جیوه است (ژنگ و ژنگ، ۲۰۰۹). همچنین لی و همکاران (۲۰۰۹)، خاطر نشان کردند که تجمع زیستی فلزات توسط کرم‌های خاکی می‌تواند به عنوان یک شاخص محیط زیستی برای فراهمی فلزات باشد. ناتال و همکاران (۲۰۱۱)، تأثیر لجن آلوده به کروم، روی، مس و نیکل را بر کرم خاکی *Eisenia andrei* بررسی کردند و دریافتند که زیست‌فراهمی فلزات در کرم‌های خاکی، در محیط لجن فاضلاب با درصد ماده آلی فراوان، کاهش می‌یابد. اثر همزمان مخلوط کادمیوم و عنصر روی بر مرگ و میر

¹ Cytotoxic

- کرم‌هایی که در مناطق آلوده ساکن هستند به راحتی، جذب و دستیابی زیستی فلزات کمیاب را به اثبات می‌رسانند.

- کرم‌های خاکی در بسیاری از افق‌های یک خاک و در گستره‌ی زیادی از انواع خاک‌ها یافت می‌شوند.

- سطح اپیدرم خارجی و لوله‌ای شکل بدن کرم‌های خاکی فاقد کوتیکول یا لایه سخت می‌باشد و این باعث جذب مستقیم آلاینده‌ها از خاک می‌شود.

- کرم‌های خاکی اقدام به بلعیدن خاک یا اجزای خاصی از خاک می‌کنند؛ این کار وسیله‌ای برای جذب آلاینده‌ها از طریق رژیم غذایی را فراهم می‌کند.

- امروزه شناخت و درک زیادی از فیزیولوژی کرم‌های خاکی و متابولیسم فلزات در آنها داریم (لانو و همکاران، ۲۰۰۴).

عوامل موثر بر جذب عناصر سنگین توسط کرم‌های خاکی

در بین عوامل مهم، زنده بودن و فعال بودن کرم به عنوان یک پیش نیاز برای شاخص تجمع زیستی محسوب می‌شود. فقط کرم‌هایی در یک سایت آلوده قابل بررسی هستند که قادر به زندگی در این نوع محیط باشند. اغلب، این کرم‌ها به آلودگی محیط سازگاری یافته‌اند و از این رو نمایانگر میانگین جمعیت نیستند. در نتیجه، پایش تجمع مواد به وسیله‌ی کرم‌های خاکی در مناطق خیلی آلوده، احتمالاً دارای انحراف خواهد بود. غلظت یک ماده در کرم خاکی توسط مکانیسم‌های فیزیولوژیک مانند جذب، نیاز درونی، ترسیب و غیرمتحرک شدن داخلی مواد در کرم و همچنین دفع مواد از کرم، تنظیم می‌شود. این مکانیسم‌ها تابع سازگاری‌ها و اثر تنظیم کننده فاکتورهای محیطی مثل pH و یا غلظت یون کلسیم هستند. عوامل رفتاری نیز شامل تغذیه و انتخاب زیستگاه کرم خاکی (انواع گروه‌های بوم شناختی) می‌باشد. ارنست و همکاران (۲۰۰۸)، نشان دادند که الگوی ویژه‌ای در مقدار کادمیوم، سرب و جیوه در گروه‌های بوم شناختی

Aporrectodea caliginosa، توسط کیو و همکاران (۲۰۱۱) بررسی شد. آنها نتیجه گرفتند که اثر مخلوط عناصر روی و کادمیوم بر مرگ و میر این موجود ساکن در خاک، عمدتاً به صورت آنتاگونیست است. اثرات ترکیب فلز با سایر عوامل شیمیایی مانند آفت‌کش‌ها نیز بر کرم‌های خاکی مورد بررسی قرار گرفته‌اند. لیستر و همکاران (۲۰۱۱)، تأثیر نیکل و کلرپیریفوس (حشره‌کش ارگانوفسفات) را بر کرم‌های خاکی مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که مواد فوق به سرعت در بدن کرم تجمع کردند. تحقیقات دیگری (یحیی‌آبادی، ۱۳۹۳) نشان داد که مصرف سموم علف‌کش پاراکوات و کنه‌کش نئورون در باغ‌ها، تأثیر منفی بر تنوع زیستی کرم‌های خاکی داشته و بشدت از فراوانی و تنوع آنها می‌کاهد. بررسی و تجزیه تحلیل ویژگی‌های تولید مثل و تکثیر یک گونه‌ی کرم خاکی، روش مناسبی برای ارزیابی سنجش آلاینده‌های مختلف در محیط است. در یک آزمایش، اثر فلزات روی و کادمیوم بر خصوصیات زیستی تولید مثل و تکثیر کرم *Enchytraeus albidus* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که هر دو عنصر بر تکثیر آنکی‌ترئیدها تأثیر گذاشته است (نوایس و همکاران، ۲۰۱۱). نهمانی و همکاران پیشنهاد کردند که پارامترهای چرخه‌ی زندگی کرم *Eisenia fetida* مانند تولید تخم (کوکون) و سرعت تفریح در مواجهه با آلودگی فلزی نسبت به سایر پارامترهایی مثل تغییرات وزن یا زنده‌مانی حساس‌ترند (نهمانی و همکاران، ۲۰۰۷).

مناسب بودن کرم‌های خاکی به عنوان نشانگرهای جذب (فلزات و مواد شیمیایی)

کرم‌های خاکی به دلایل زیادی به عنوان نشانگرهای جذب برای اثبات دسترسی زیستی مواد شیمیایی در خاک، به کار گرفته می‌شوند: - این موجودات در خاک زندگی می‌کنند و می‌توانند راهنمای خوبی برای دستیابی زیستی مواد شیمیایی و فلزات در خاک محسوب شوند.

موجودات و یا پایین بودن جمعیت آنها در خاک می‌تواند نشانگر کم بودن ماده‌ی آلی خاک، دمای بالای خاک، ناچیز بودن یا زیاد بودن رطوبت خاک و همچنین آلودگی خاک به انواع آلوده‌کننده‌های آلی و معدنی باشد. با این حال ممکن است برخی خاک‌های فاقد محدودیت نیز، زیستگاه کرم‌های خاکی نباشند. بسیاری از کاربران اراضی، کشاورزان و کارشناسان می‌توانند با استفاده از کسب برخی مهارت‌های آشنایی با کرم‌های خاکی نسبت به بررسی کیفیت خاک‌ها اقدام نمایند. در باغات و مزارعی که ماده‌ی آلی سطح خاک بالاست و خاک سطحی رطوبت مناسب دارد، عدم وجود تعدادی کرم (حداقل ۳-۱) در هر بیل خاک (عمق ۲۰ سانتی متر)، می‌تواند بیانگر وجود مسئله‌ای چالش‌برانگیز در خاک باشد. در این حالت میتوان با افزودن کودهای آلی و بهره‌گیری از کرم‌های تولید کننده ورمی‌کمپوست و افزودن گونه‌های بومی به خاک، سطح کیفی خاک را افزایش داد. علاوه بر شمارش جمعیت کرم‌های خاکی در مزرعه، می‌توان با انتقال تعدادی کرم به آزمایشگاه و انجام برخی تست‌های سمیت و یا اندازه‌گیری عناصر سنگین در کرم‌ها، درک بهتری از خصوصیات کیفی خاک داشت. جان کلام اینکه، لازم است جایگاه کرم‌های خاکی به عنوان یکی از مولفه‌های مهم کیفیت خاک، همواره در هر سطح از طرح‌های ارزیابی خاک و مدیریت اراضی، حفظ شود.

مختلف کرم‌های خاکی در ارتباط با مقدار فلزات در بخش‌های مختلف سیستم خاک-گیاه وجود دارد.

نتیجه نهایی

پایش مستمر خاک‌ها از اصول مهم مدیریت اراضی محسوب می‌شود. در برنامه‌های پایش، کرم‌های خاکی به عنوان یکی از نشانگرهای زیستی کیفیت خاک پیشنهاد می‌شوند زیرا آنها بخش مهمی از اکوسیستم خاک بوده و حضور همیشگی در خاک دارند. اهمیت بوم شناختی کرم‌های خاکی و جمع‌آوری نسبتاً آسان آنها، شناسایی گونه و تجزیه و تحلیل شیمیایی این موجودات، آنها را بهترین گروه مورد مطالعه‌ی جانوران خاک ساخته است. از کرم‌های خاکی می‌توان به عنوان شاخص‌های واکنش‌گر و شاخص‌های انباشت‌گر استفاده کرد. در هر دو مورد باید به خاطر داشت که جمعیت کرم‌های خاکی نه تنها تحت تأثیر شرایط خاک بلکه متأثر از تغییرات آب و هوا و نوع مدیریت اراضی کشاورزی نیز قرار می‌گیرد. ترکیبی از ارزیابی‌های مزرعه‌ای و تست‌های کنترل شده آزمایشگاهی باعث می‌شود تا بتوان هنگام تفسیر داده‌های پایش، تأثیر عوامل آب و هوایی را از اثرات شیمیایی خاک تمیز و تشخیص داد.

رهیافت ترویجی

شواهد زیادی نشان می‌دهند که کرم‌های خاکی در بهبود کیفیت خاک نقش مهمی دارند. عدم حضور این

فهرست منابع

۱. جنابی حق پرست، ر.، گلچین، ا. و کهنه، ا. ۱۳۹۲. مطالعه اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر رشد کرم خاکی گونه آیزنیا فتیدا در یک خاک آهکی. نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)، جلد ۲۷ شماره ۱، ۳۵-۲۴.
۲. لکزبان، ا.، نصیری محلاتی، م. و حافظ دربانی، م. ۱۳۸۲. انباشتگی فلزات سنگین در کرم خاکی آیزنیا فتیدا. مجله علوم و صنایع کشاورزی. دوره ۱۷ شماره ۲.
۳. یحیی‌آبادی، م. ۱۳۹۱. کرم‌ها زباله‌هایم را می‌خورند. (ترجمه). نشر نصوص، ۱۷۵ صفحه.

۴. یحیی‌آبادی، م. ۱۳۹۳. ارزیابی تنوع زیستی کرم‌های خاکی در خاکهای آلوده به برخی سموم شیمیایی. کنگره ملی خاک و محیط زیست، دانشگاه ارومیه.

5. Amaral, F.S., and A.S. Rodrigues. 2005. Metal accumulation and apoptosis in the alimentary canal of *Lumbricus terrestris* as a metal biomarker. *Biometals*. 18 (3):199-206.
6. Alberti G, Hauk B, Kohler HR, and V. Storch. 1996. *Dekomposition*. Ecomedverlag, Landsberg, 490 pp.
7. Aspinall, R., and D.Pearson. 2000. Integrated geographical assessment of environmental contamination in water catchments: Linking landscape ecology, environmental modeling and GIS. *Journal of Environmental Management*. 59: 299-319.
8. Bengtsson, G., and S.Rundgren. 1984. Ground-living invertebrates in metal-polluted forest soils. *Ambio*. 3: 29-33.
9. Beratan, K. et al, 2004. Sustainability indicators as a communicative tool: Building bridges in Pennsylvania. *Environmental Monitoring and Assessment*. 94: 179-191.
10. Beyer W.N., and C. Stafford. 1993. Survey and evaluation of contaminants in earthworms and in soils derived from dredged material at confined disposal facilities in the Great Lakes Region. *Environmental Monitoring and Assessment*. 24:151-165.
11. Bispo A, D., Cluzeau, R., M. Creamer Dombos, Graefe U, Krogh PH, Sousa LP, Peres G, Rutgers M, Winding A, Rombke J. 2009. Indicators for monitoring soil biodiversity. *Integrated Environmental Assessment and Management*. 5:717-719.
12. Burger, J., and M.Gochfeld. 2004. Bioindicators for assessing human and ecological health. *Environmental Monitoring*. CRC Press. P 541-566.
13. Carignan, V., and M.A.Villard. 2002. Selecting indicator species to monitor ecological integrity: A review. *Environmental Monitoring and Assessment*. 78 (1): 45-61.
14. Edwards, C.A. 2004. The Importance of Earthworms as Key Representatives of the Soil Fauna. In *Earthworm Ecology*; Edwards, C.A., Ed.; CRC Press LLC: Boca Raton, FL, USA, pp. 3-11.
15. Edwards, C.A., and P.J.Bohlen. 1996. *Biology and Ecology of Earthworms*. Chapman & Hall, London, 426 pp.
16. Environmental Protection Agency (EPA). 1997. *Ecological Indicators: Evaluation criteria*. Washington, DC: Environmental Protection Agency.
17. Fore, LS. et al. 1996. Assessing invertebrate responses to human activities: Evaluating alternative approaches. *Journal of North American Benthol Society*. 15: 212-231.
18. Fox, G. 1994. Bioindicators as a measure of success for virtual elimination of persistence toxic substances.: International Joint Commision. Hull, Quebec, Canada.
19. Giovanetti, A., S.Fesenko., M.L. Cozzella., L.D. Asencio., and U.Sansone. 2010. Accumulation and biological effects in the earthworm *Eisenia fetida* exposed to natural and depleted uranium. *Journal of Environmental Radioactivity*. 101, 509-516.
20. Hirano, T., and T. Kazuyoshi. 2011. Earthworms and Soil Pollutants. *Sensors*. 11, 11157-11167.

21. Hauser S., D. Asawalam, and B.Vanlauwe. 1998. Spatial and temporal gradients of earthworm casting activity in alley cropping systems. *Agroforestry Systems*. 41:127–137.
22. Kale, R.D. 1998. Annelids, in: *Applied Soil Biology and Ecology*. Veeresh, G.K. & Rajagopal,D. pp.(90-109), Oxfordand IBH Publishing Co. Pvt. Ltd., New Dehli.
23. Lanno R., J. Wells, J. Conder, and N. Basta. 2004. The bioavailability of chemicals in soil for earthworms. *Ecotoxicol Environmental Safety*. 57:39–47.
24. Latif, R., S.Ezzatpanah., M.Malek, and H.Parsa. 2009. Earthworms of central Alborz Mountain, Iran. *Iranian Journal of Animal Biosystematics(IJAB)*. 5 (2): 1-15.
25. Lee, S.H.; E.Y.;Kim, S.Hyun, and J.G.Kim.2009. Metal availability in heavy metal-contaminated openburning and open detonation soil: Assessment using soil enzymes, earthworms, and chemicalextractions. *Journal of Hazardous Materials*. 170(1): 382-388.
26. Lister, L.J., C.Svensden, J.Wright, H.L.Hooper, and D.J.Spurgeon.2011. Modelling the joint effects of a metal and a pesticide on reproduction and toxicokinetics in Lumbricid earthworms. *Environment. International*. 37, 663-670.
27. Lucia, s. a., A.M. Cornelis, b. Van Gestel, a. Annamaria Rocco and Giulia Maisto. 2012. Soil invertebrates as bioindicators of urban soil quality. *Environmental Pollution*. 161, 57-63.
28. Lukkari T., and J. Haimi. 2005. Avoidance of Cu- and Zn-contaminated soil by three ecologicallydifferent earthworm species. *Ecotoxicol Environmental Safety*. 62:35–41.
29. Mirmonsef. H., M.Malek. and R.Latif.2011. The Earthworm fauna of Tehran Province, Iran: an Ecological Characterization. *Iranian Journal of Animal Biosystematics (IJAB)*. 7 (2): 89-97.
30. Morgan JE, and AJ. Morgan. 1999. The accumulation of metals (Cd, Cu, Pb, Zn and Ca) by two ecologically contrasting earthworm species (*Lumbricus rubellus* and *Aporrectodea caliginosa*): implications for ecotoxicological testing. *Applied Soil Ecology*. 13:9–20.
31. Nahmani, J., M.E. Hodson, and S. 2007. Black, Effects of metals on life cycle parameters of the earthworm *Eisenia fetida* exposed to field-contaminated, metal-polluted soils. *Environmental Pollution*. 49, 44-58.
32. Natal, T. G.Ojeda, J.Pratas, C.A.Van Gestel, and J.P. Sousa. 2011. Toxicity to *Eisenia andreian*d *Folsomia candida* of a metal mixture applied to soil directly or via an Organic matrix. *Ecotoxicol Environmental Safety*. 74: 1715-1720.
33. Neuhauser EF, Z.V. Cukic, M.R. Malecki, R.C. Loehr, and P.R. Durkin. 1995 Bioconcentration andbiokinetics of heavy metals in the earthworm. *Environmental Pollution*. 89:293–301.
34. Novais, S.C. S.I. Gomes, and C. Gravato. 2011. Reproduction and biochemical responses in *Enchytraeus albidus* (Oligochaeta) to zinc or cadmium exposures. *Environmental Pollution*. 159: 1836-1843.
35. Omrani, G.A., M.Zamanzadeh, A.Maleki, and Y.Ashori. 2005. Earthworm ecology in northern part of Iran: with an emphasis on compost worm *Eisenia fetida*. *Journal of applied sciences*. 5 (8): 1434-1437.
36. Qiu, H., M.G.Vijver, and W.J. Peijnenburg. 2011. Interactions of cadmium and zinc impact their toxicity to the earthworm *Aporrectodea caliginosa*. *Environment, Toxicology and Chemistry*. 30: 2084-2093.

37. Song, Y. Q., Zhou, H., Xu., L., Ren, T., Sun, and P. Gong. 2002. Acute toxicological effects of heavy metal pollution in soils on earthworms. Available at <http://ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11993124>.
38. Stahl, R.G. 2000. Ecological indicators in risk assessment: Workshop summary. *Human and Ecological Risk Assessment*. 6: 671-677.
39. Tischer S. 2008. Lumbricidae communities in soil monitoring sites differently managed and polluted with heavy metals. *Polish Journal of Ecology*. 56:635–646.
40. USDA. Available at <http://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detailfull/soils/health/assessment>.
41. Veltman, K., M.A.J. Huijbregts, M.G. Vijver, and W.J.G.M. Peijnenburg. 2007. Metal accumulation in the earthworm *Lumbricus rubellus*. Model predictions compared to field data. *Environmental Pollution*. 146: 428-436.
42. Yahyaabadi, M. and A. Asadi. 2010. Earthworm population response to tillage and residue management in central Iran. 19th World Congress of Soil Science, Brisbane, Australia.
43. Yeardley RB, JM. Lazorchak, and LC. Gast. 1996. The potential of an earthworm avoidance test for evaluation of hazardous waste sites. *Environment, Toxicology and Chemistry*. 15:1532–1537.
44. Zhang, Z.S. and D.M. Zheng. 2009. Bioaccumulation of total and methyl mercury in three earthworm species (*Drawida sp.*, *Allolobophora sp.*, and *Limnodrilus sp.*). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 83: 937-942.
45. Zwieten Van. L., J. Rust, T. Kingston, G. Merrington and S. Morris. 2004. Influence of copper fungicide residues on occurrence of earthworms in avocado orchard soils. *Science of the Total Environment*. 329:29–41.