

## CRECIMIENTO Y REPRODUCCIÓN DE LA LOMBRIZ ROJA CALIFORNIANA (*EISENIA ANDREI*) EN SUSTRATOS CON CADMIO

ALDO M. POLO HERNÁNDEZ<sup>1</sup>, LEIDA DEL VALLE MARCANO<sup>2</sup>, MARIANA GRANADILLO<sup>1</sup>, ELENA CECILIA MARCANO<sup>1</sup>, CARMEN ADRIANA CORTESÍA<sup>1</sup> Y JUANNY HERNÁNDEZ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Postgrado Biología Aplicada, Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre.

<sup>2</sup> Escuela de Ciencias, Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre. Correo electrónico: apolo\_31@yahoo.com

**Resumen.** Las lombrices de tierra son capaces de acumular metales pesados en sus cuerpos a partir del suelo, afectando su sobrevivencia, crecimiento y fecundidad. En este estudio se evaluaron los efectos de dos concentraciones de Cd (2,6 y 10,4 mg kg<sup>-1</sup> de sustrato) sobre el crecimiento y la reproducción de la lombriz de tierra, *Eisenia andrei*. Se realizó un bioensayo con tres tratamientos y cuatro réplicas en envases plásticos (2 L) contentivos de 300 g de sustrato mezclado con la solución del metal para los tratamientos experimentales, y con agua destilada para el tratamiento control. En cada tratamiento, se inocularon aleatoriamente ocho lombrices adultas de peso similar en cada recipiente plástico. El experimento duró 42 días y cada 7 días se cambió el medio de cultivo para reemplazar el metal y los micronutrientes. Por cada tratamiento experimental, semanalmente se tomaron muestras de las lombrices y se hicieron registros de la biomasa (peso fresco) y los parámetros reproductivos. Se observó un incremento significativo en la biomasa de ambos grupos, control y expuestos a Cd. La exposición a Cd solamente tuvo efecto sobre el porcentaje de eclosión de los capullos, el cual fue ligeramente más bajo en el grupo expuesto a la más baja concentración de Cd. Los resultados muestran que las dosis de Cd no ejercieron efectos adversos sobre el crecimiento y la reproducción de *Eisenia andrei*. Estos resultados pueden ser explicados por la existencia de respuestas bioquímicas compensatorias que le confieren mecanismos protectivos contra la toxicidad del Cd. *Recibido: 29 Marzo 2011, aceptado: 31 Mayo 2011.*

**Palabras clave.** Biomasa, *Eisenia*, metales pesados, capullos.

### GROWTH AND REPRODUCTION OF THE CALIFORNIAN RED WORM (*EISENIA ANDREI*) IN SUBSTRATES WITH CADMIUM

**Abstract.** Earthworms are able to accumulate heavy metals in their bodies from the soil, affecting its survival, growth and fecundity. In this study, the effects on growth and reproduction of two Cd-concentrations (2.6 and 10.4 mg kg<sup>-1</sup> substrate) were assessed in the earthworm *Eisenia andrei*. A bioassay with three treatments and four replicates was carried out in plastic vessels (2 L) containing 300g of substrate mixed with metal solution for experimental treatments, and distilled water for the control treatment. In each treatment, eight adult earthworms of similar weight were inoculated randomly into each plastic container. The experiment continued for 42 days and the culture media were changed every 7 days to replenish the metal and micronutrients. For each experimental group, the earthworms were sampled weekly and biomass (fresh weight) and reproductive parameters were recorded. A significant increase in the biomass was observed in both control and Cd-exposure groups. Cadmium exposure only had effect on the percentage of cocoon eclosion which was slightly lower in the group exposed to lowest Cd concentration. The results showed that cadmium doses used in this study did not exert adverse effects on the growth and reproduction of *Eisenia andrei*. These results may be explained by the compensating biochemical responses in this specie that to confer a protective mechanism against the Cd toxicity. *Received: 29 March 2011, accepted: 31 May 2011.*

**Key words.** Biomass, *Eisenia*, heavy metal, cocoons.

### INTRODUCCIÓN

La importancia de los organismos macrodescomponedores presentes en el medio edáfico radica en su capacidad para transformar la materia orgánica, reciclar nutrientes y favorecer la formación de suelo. Dentro de estos organismos destacan las lombrices de tierra (Annelida: Oligochaeta) por su abundancia y distribución, aunque su función puede ser afectada por la presencia en el suelo de elementos químicos potencialmente tóxicos, tales como los metales pesados que continuamente, por diversas vías, ingresan al medio terrestre (Spurgeon *et al.* 1994; Kumar *et al.* 2007). Entre los metales pesados, que se pueden encontrar en el medio terrestre, el Cd es uno de los más contaminantes y peligrosos, debido a su movilidad y a que puede penetrar fácilmente a las plantas a través de su sistema radicular acumulándose en los tejidos vegetales. De esta forma, ingresa a la cadena trófica, pudiendo llegar

incluso, a ser ingerido por el hombre (Atiyeh *et al.* 2000). Diversos estudios han demostrado la capacidad de algunas especies de lombrices de tierra para bioacumular metales pesados provenientes del suelo (Roszczewska *et al.* 2003; Shahmansouri *et al.* 2005; Lapinski y Roszczewska 2008), manteniendo su capacidad reproductiva a pesar de la presencia de estos elementos (Matusevičiūtė y Eitminavičiūtė 2005; Ávila *et al.* 2007).

Actualmente, la lombricultura se presenta como una alternativa ecológica y económicamente sustentable que no permite reciclar desechos sólidos de diversas fuentes, desde residuos de cocina hasta lodos residuales de grandes ciudades (Shahmansouri *et al.* 2005; Ghyasvand *et al.* 2008). Siendo, por tanto, una actividad agropecuaria alternativa que requiere del conocimiento de la biología de los anélidos y de la implementación de técnicas adecuadas para la crianza, alimentación y reproducción de estos organismos (Toccalino *et al.* 2004), lo cual garantiza la obtención de un abono de gran calidad que pueda ser empleado en la fertilización de cultivos agrícolas de interés económico.

En esta investigación se planteó como objetivo evaluar el efecto de dos concentraciones subletales de Cd sobre el crecimiento y la reproducción de la lombriz de tierra *Eisenia andrei* con la finalidad de conocer la capacidad de estos organismos para mantener su dinámica poblacional en condiciones adversas, ya que estos parámetros biológicos pueden proveer información adicional sobre los efectos deletéreos de la contaminación química a la biota y al medio ambiente, dada la importancia de estos organismos como bioindicadores (Maboeta *et al.* 2008).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### DISEÑO EXPERIMENTAL

El bioensayo se llevó a cabo bajo condiciones de laboratorio en la escuela de Ciencias del Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente, Venezuela; utilizando un diseño de bloques completamente al azar con tres tratamientos y cuatro réplicas. Las condiciones de temperatura y humedad del laboratorio oscilaron entre  $20\pm 2^{\circ}\text{C}$  y  $70\pm 10\%$ , respectivamente.

### MATERIAL BIOLÓGICO

El pie de cría de lombrices se obtuvo del centro de formación del Instituto Nacional de Capacitación y Educación Socialista (INCES) ubicado en Tunapuy, municipio Libertador (Estado Sucre, Venezuela). Como sustrato de

cría se utilizó estiércol de caballo. Posterior a su recolección, este estiércol fue sometido durante 15 días a un proceso de acondicionamiento en piso de cemento, aplicándole riego y volteo interdiario con la finalidad de estabilizar el pH (7,4) y la temperatura (28 °C), a valores aptos para la supervivencia de las lombrices, que fueron comprobados con la prueba 50L (Toccalino *et al.*, 2004).

#### BIOENSAYO DE EXPOSICIÓN AL CADMIO

Para la exposición de las lombrices al Cd se utilizaron recipientes plásticos (15 cm de profundidad por 11 cm de diámetro) contentivos de 300 g del sustrato mezclado con la solución del metal ( $\text{CdCl}_2$ , Sigma Co). Como tratamientos se usaron concentraciones subletales nominales de Cd de 2,6 y 10,4  $\text{mg kg}^{-1}$  de sustrato, las cuales representan el 2 y 7 %, respectivamente, de la concentración letal media ( $\text{CL}_{50} = 147,6 \text{ mg kg}^{-1}$ ; IC: 118,5-196,8) estimada previamente por Marcano (2006), y en el testigo se utilizó agua. Por cada tratamiento se colocaron un total de 32 lombrices, previamente pesadas, las cuales fueron distribuidas en 4 recipientes de 8 lombrices cada uno.

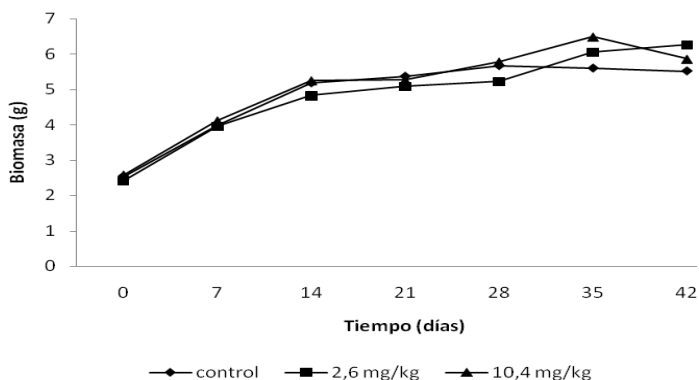
Durante el transcurso del bioensayo (42 días), los recipientes permanecieron sellados con tapas, a las cuales se les hicieron unos pequeños orificios que permitieran el intercambio de gases y mantuvieran la humedad del sustrato. Con la finalidad de garantizar el suministro apropiado de nutrientes y mantener constantes las concentraciones de Cd en el sustrato, semanalmente se realizaron recambios del sustrato a todos los tratamientos. Para ello, las lombrices fueron removidas del sustrato y se pesaron en una balanza digital para determinar la biomasa total, luego en el sustrato se hicieron los registros del número de ootecas/individuo. Del total de ootecas obtenidas la primera semana en cada tratamiento, se seleccionaron 14 para estimar el tiempo de incubación, porcentaje de eclosión y número de individuos/ooteca. Éstas fueron colocadas individualmente en pequeños recipientes con 500 mg de sustrato y diariamente fueron observadas hasta el final del bioensayo. Las ootecas que no eclosionaron en ese período de tiempo (36 días) se consideraron como inviábiles.

#### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se analizaron con el paquete estadístico Statgraphics Plus versión 5.1, con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ . Teniendo en cuenta la naturaleza no paramétrica de los datos, luego de comprobar los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, se aplicó un análisis de Kruskal-Wallis para determinar si existían diferencias estadísticamente significativas entre las medias de las variables estudiadas.

## RESULTADOS

Se registraron valores elevados de supervivencias durante la fase de experimentación que oscilaron entre un 100% para el tratamiento control y 97% para los tratamientos con Cd. Por otra parte, la biomasa total inicial en lombrices controles fue de 2,54 g (0,32 g/individuo), observándose luego un aumento continuo hasta 5,52 g (0,69 g/individuo) al final del ensayo, siendo el comportamiento de esta variable similar en los grupos tratados con Cd (Fig. 1).

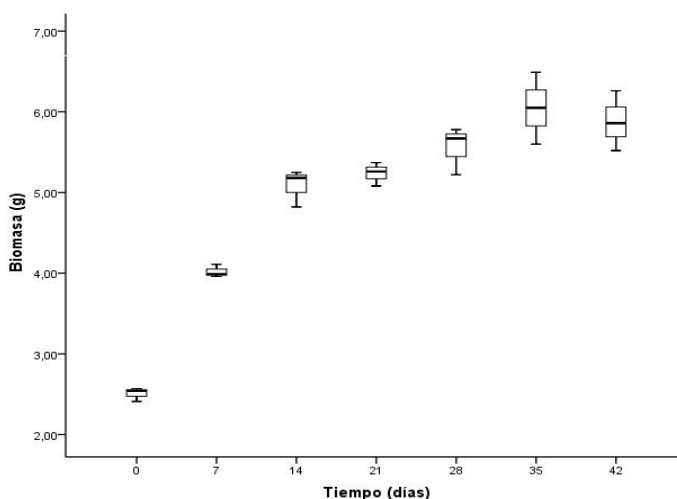


**Figura 1.** Variación de la biomasa de *Eisenia andrei* expuesta a dos concentraciones de Cd por 42 días.

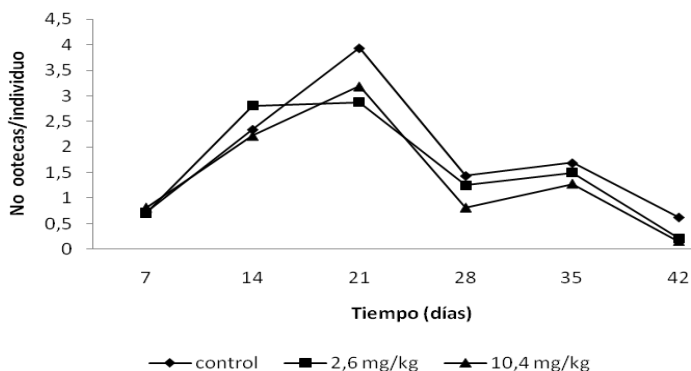
El análisis estadístico (Kruskal-Wallis) reveló que no existen diferencias significativas para la biomasa de las lombrices del tratamiento control con respecto a las dos concentraciones de exposición para ninguna de las semanas (KW=2,1 y  $P>0,05$ ). Sin embargo, al comparar la biomasa inicial con la biomasa final en cada uno de los tratamientos si existe diferencia estadística significativa, evidenciando un incremento importante en la biomasa total de la especie, el cual no fue afectado por la exposición al metal (Fig. 2).

La figura 3 muestra el promedio de ootecas/individuo/semana durante los 42 días del estudio. Se obtuvieron ootecas a partir de la primera semana y la aparición de éstas continuó durante todo el ensayo, observándose en la tercera semana (21 días) el valor más elevado para los tres tratamientos (3,3 ootecas/individuo/semana). Durante todo el ensayo, el tratamiento control exhibió el promedio más alto en producción de ootecas por individuo ( $1,8 \pm 1,3$ ) en comparación con las dos dosis de exposición a Cd;  $1,6 \pm 1,1$  para la dosis baja y  $1,4 \pm 1,1$  para la dosis alta. El análisis estadístico reveló que las concentraciones de exposición a Cd utilizadas en este estudio no influyeron en

el promedio de ootecas con respecto al control (KW=0,17;  $P>0,05$ ) aunque la tendencia es a disminuir con relación al incremento de la concentración de Cd, sin embargo el tiempo afecta significativamente esta variable (KW=37,1;  $P>0,05$ ), siendo el promedio de posturas para el día 42 el más bajo de todos en los tres tratamientos.



**Figura 2.** Gráfico de cajas y bigotes para la biomasa de *Eisenia andrei*, expuesta a Cd por 42 días. (KW = 58,0217 y  $p < 0,05$ , nivel de confianza de 95%).



**Figura 3.** Número de ootecas depositadas por *Eisenia andrei* mantenidas en sustratos con Cd.

Los resultados del porcentaje y tiempo de eclosión así como del número de individuos por ootecas se muestran en la Tabla 1. El tiempo promedio de eclosión de las ootecas de lombrices controles fue de 15,5 días, resultado que se mantuvo sin variaciones significativas en los grupos expuestos a Cd. En el tratamiento control se obtuvo un 100% de eclosión de las ootecas; mientras que en el tratamiento con la dosis más baja del metal ( $2,6 \text{ mg kg}^{-1}$ ) se observó un ligero descenso hasta 86%.

**Tabla 1.** Porcentaje de eclosión, tiempo de eclosión y número de individuos por ootecas en lombrices de tierra expuestas a Cd. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

| Tratamiento               | Porcentaje de eclosión | Tiempo de eclosión (días) | Nº de individuos por ooteca |
|---------------------------|------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| Control                   | 100 <sup>a</sup>       | $15,5 \pm 1,7^a$          | $1,6 \pm 0,9^a$             |
| $2,6 \text{ mg kg}^{-1}$  | 86 <sup>b</sup>        | $15,6 \pm 1,7^a$          | $1 \pm 0,6^a$               |
| $10,4 \text{ mg kg}^{-1}$ | 100 <sup>a</sup>       | $15,4 \pm 1,8^a$          | $1,8 \pm 0,8^a$             |

## DISCUSIÓN

Los valores de pH, temperatura y humedad del estiércol equino usado como sustrato fueron óptimos para mantener las elevadas supervivencias (97–100%) de las lombrices durante todo el bioensayo. Estos valores se encuentran en el rango de lo permisible según lo señalado por otros autores (Toccalino *et al.* 2004; Ghyasvand *et al.* 2008). Los resultados de este estudio evidenciaron un aumento en la biomasa de *Eisenia andrei* al final del bioensayo (42 días), lo cual indica un incremento en el crecimiento de la especie, posiblemente asociado con una apropiada disponibilidad de nutrientes (principalmente materia orgánica) y ocurrencia de factores físico-químicos favorables en el sustrato que propiciaron el aumento de esta variable.

Aun cuando se conoce que factores abióticos (T, pH, materia orgánica) y bióticos (presencia de bacterias y otros microorganismos) influyen sobre la biodisponibilidad de metales en el suelo y, en consecuencia sobre la bioacumulación y toxicidad de éstos para las lombrices de tierra y otros organismos terrestres (Drexler *et al.* 2003). Al parecer, tales factores no son determinantes en la bioacumulación de Cd en *Eisenia andrei*, tal como se demostró en un estudio previo realizado por Marcano (2006), quien encontró concentraciones de Cd, cinco veces mayores en lombrices expuestas por 21 días a  $2,4$  y  $10,6 \text{ mg kg}^{-1}$  de sustrato.

A pesar de que el Cd es un metal no esencial, potencialmente tóxico para muchos organismos (Pourahmad y O'Brien, 2002), las concentraciones usadas en este estudio (2,6 y 10,4 mg kg<sup>-1</sup> sustrato) no afectaron el crecimiento de *Eisenia andrei*. Es probable que siendo concentraciones subletales, la especie pueda controlar la toxicidad del metal y evitar efectos perjudiciales sobre el crecimiento, activando mecanismos bioquímicos que le permitan incorporar el metal en sus tejidos en una forma no tóxica y/o depurarlo eficientemente. En este sentido, se conoce que las lombrices de tierra exhiben una elevada tolerancia al Cd debido a la presencia, a nivel celular de una variedad de moléculas ricas en grupos tioles (-SH) que le permiten formar complejos estables con el metal, acumulándolo como gránulos en el tejido cloragógeno; un repliegue del intestino a nivel de la región post-clitelar para finalmente, excretarlo (Stürzenbaum *et al.* 2001; Stürzenbaum *et al.* 2004).

Los resultados de este estudio son similares a los reportados por Lapinski y Rosciszewska (2008) quienes reportaron aumento en el número de individuos jóvenes en *Eisenia fetida* expuestas a Cd y Hg; sin embargo Matusevičiūtė y Eitminavičiūtė (2005) cuando estudiaron la supervivencia, reproducción y adaptación de lombrices a diferentes concentraciones de Cd encontraron una disminución en el número de individuos y la biomasa de *Eisenia fetida*, aunque este descenso no fue estadísticamente significativo, siendo las concentraciones de Cd empleadas por estos investigadores cinco veces mayores a las utilizadas en el presente estudio. Phillips y Bolger (1998) consideran que el mantenimiento o incremento en la biomasa de *Eisenia* puede ser una respuesta de defensa ante un factor de riesgo como un contaminante químico. Kumar *et al* (2007) comprobaron que las lombrices de tierra poseen una alta capacidad para bioacumular en sus tejidos corporales concentraciones considerables de algunos metales sin afectar su dinámica poblacional a gran escala.

Con respecto a los parámetros reproductivos, el número promedio de ootecas/semana obtenidas de *Eisenia andrei* controles (1,8) coincide con lo encontrado por Harstenstein (1981), quien utilizando estiércol equino reportó un promedio de 1,46 ootecas/lombriz/semana. La exposición al Cd no afectó el comportamiento de esta variable (Tabla 1). Efectos del Cd y otros metales pesados sobre la condición reproductiva de varias especies de lombrices han sido ampliamente estudiados, revelándose diferencias interespecíficas en el patrón de respuestas. Dentro de este contexto, Lapinski y Rosciszewska (2008) en lombrices expuestas a bajas concentraciones (1,41µg/g) de Cd mostraron un incremento en la producción de ootecas con respecto a organismos controles. Sin embargo, Fischer y Koszorus (1992) y Scott-Fordsmand *et al.* (2000) en suelos contaminados con arsénico y cobre, respectivamente encontraron una

reducción de 30% en la postura de ootecas de *Eisenia foetida* en relación al grupo control.

Hernández *et al.* (2005), utilizando subproductos de la industrialización de la palma aceitera mezclados con estiércol bovino reportaron porcentajes de eclosión en el rango de 89-98%, estos valores son inferiores a los obtenidos en el presente estudio para los organismos controles y los expuestos a la dosis alta (100%), por lo tanto las dosis de Cd empleadas en este estudio no ejercieron efecto deletéreo en la función reproductiva de la especie en estudio. Aun cuando, se registró un ligero descenso en el porcentaje de eclosión (86%) en el grupo expuesto a la dosis más baja de Cd, éste sigue siendo elevado al compararla con los obtenidos en otros estudios, (Graff 1974; Tsukamoto y Watanabe 1977) que reportan porcentajes de eclosión inferiores al 50%. León *et al.* (1992) reportan datos similares (80-100%) a los presentados en este estudio, utilizando como sustrato de cría, compost y excretas animales.

En *Eisenia andrei*, el número promedio de individuos por ooteca es inferior al reportado por otros autores (Lofs-Holmin 1985; Leon *et al.* 1992) quienes encontraron un promedio de 2 a 4 lombrices por ooteca con un rango de 1 a 7 individuos para especies del género *Eisenia* cultivadas en sustratos óptimos para el desarrollo de estos organismos. Para los tratamientos seleccionados en este estudio el rango varió de 1 a 4 individuos eclosionados por ooteca, siendo estos resultados similares a los obtenidos por Matusevičiūtė y Eitminavičiūtė, (2005) quienes observaron un descenso en el promedio de individuos por ootecas en lombrices expuestas a Cd con un rango de 2,7 a 3,3 lombrices por ooteca. En contraste, en el presente estudio, el análisis estadístico no reveló diferencias entre las medias de los grupos controles y los tratados con el metal, evidenciando la carencia de efectos de las dosis de Cd empleadas sobre esta variable.

Los resultados de los parámetros reproductivos evaluados en *Eisenia andrei* evidencian que las dosis de Cd empleadas en este estudio no fueron suficientes para inducir alteraciones perjudiciales en la fisiología reproductiva de la especie durante el tiempo que duró el bioensayo. Adicionalmente, es probable que tales dosis subletales solo promuevan cambios asociados con el desarrollo de estrategias bioquímicas adaptativas necesarios y efectivas para compensar las posibles perturbaciones, asociadas a la contaminación del sustrato con Cd para no perder su frecuencia reproductiva. Dentro de este contexto, se conoce que los efectos de contaminantes químicos pueden manifestarse y varían a distintos niveles de organización, incluyendo desde el nivel molecular hasta el individuo como un todo (Handy *et al.* 2003).

## CONCLUSIONES

El estiércol equino constituye un buen sustrato para el mantenimiento de un cultivo de la lombriz de tierra *Eisenia andrei* debido a los altos índices reproductivos y de supervivencia observados en este estudio. A concentraciones subletales moderadas, el Cd no afectó de manera significativa el crecimiento y la reproducción de esta especie. Este hecho aunado a que las lombrices de tierra pueden bioacumular metales pesados en sus tejidos corporales, se convierten en un posible método alternativo económico y eficiente para la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados.

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo de Investigación de la Universidad de la Universidad de Oriente (Proyecto CI-2-010101-127/06).

A Orlando Peñalver del Instituto Nacional de Capacitación y Educación Socialista (INCES) por facilitarnos el pie de cría de lombrices empleado en este y otros estudios.

## LITERATURA CITADA

- ATIYEH R.M., C.A. EDWARDS, S. SUBLER, Y J.D. METZGER. 2000. Earthworm processed organic wastes as components of horticultural potting media for growing marigold and vegetable seedlings. *Compost Sci. Util.* 8: 215–223.
- AVILA G., H. GAETE, M. MORALES Y A. NEAMAN. 2007. Reproducción de *Eisenia foetida* en suelos agrícolas de áreas mineras contaminadas por cobre y arsénico. *Pesq. Agropec. Bras.* 42(3): 435-441.
- DREXLER J., N. FISHER, G. HENNINGSEN, R. LANNON, J. MCGEER, K. SAPPINGTON Y M. BERINGER. 2003. Issue paper on the bioavailability and bioaccumulation of metals. U.S. Environmental Protection Agency (EPA), Risk Assessment Forum. Lexington, 114 pp.
- FISCHER E. Y L. KOSZORUS. 1992. Sublethal effects, accumulation capacities and elimination rates of As, Hg and Se in the manure worm *Eisenia fetida* (Oligochaeta:Lumbricidae). *Pedobiol.* 36:172-178.
- GHYASVAND S., H.A. ALIKHANI, M.M. ARDALAN, G.R. SARVAGHEBI Y S. HATAMI. 2008. Effect of Pre-thermocomposting on decrease of cadmium and lead pollution in vermicomposting of Municipal solid waste by *Eisenia fetida*. *American-Eurasian J. Agric. Environ. Sci.* 4(5): 537-540.

- GRAFT O. 1974. Gewinnung von biomasse aus abfallstoffen durch kultur des kompostregenwurms *Eisenia foetida* (Savigny, 1826) landb forsch-volkenrode. 24:137-142.
- HANDY R., T. GALLOWAY Y M. DEPLEDGE. 2003. A proposal for the use of biomarkers for the assessment of chronic pollution and in regulatory toxicology. *Ecotoxicol.* 12, 331-343.
- HARSTENSTIN R. 1981. production of earthworms as a potencially economical source of protein. *Biotech. Bioeng.* 23(8): 1797-1811.
- HERNÁNDEZ J., C. CONTRERAS, R. PALMA, A. FARIA Y S. PIETROSEMOLI. 2005. Efecto de los restos de la industrialización de la palma aceitera sobre las etapas de crecimiento y reproducción de la lombriz roja (*Eisenia andrei*). *Rev. Fac. de Agron. LUZ.* 23(3): 304-311.
- KUMAR S., B. VISHAL, J. BHATTACHARYYA Y T. CHAKRABARTI. 2007. Effect of heavy metals on earthworm activities during vermicomposting of municipal solid waste. *Water Environ. Research.* 80(2):154-161.
- LAPINSKI S. Y M. ROSCISZEWSKA. 2008. The impact of cadmium and mercury contamination on reproduction and body mass of earthworms. *Plant Soil.* 54(2): 61-65.
- LEÓN S., G. VILLALOBOS, J. FRAILE Y N. GONZÁLEZ. 1992. Cultivo de lombrices (*Eisenia foetida*) utilizando compost y excretas animales. *Agron. Costarricense.* 16(1):23-28.
- LOFS-HOLMIN A. 1985. Vermiculture. Uppsala, Swedisch University of Agriculture Science, Departament of Ecol. and Environ. Research. Report No. 20. 69 p.
- MABOETA M.S., L. VAN RENSBURG Y P.J. JANSEN VAN RENSBURG. 2008. Earthworm (*Eisenia fetida*) bioassay to asses the posible effects of platinum tailings disposal facilities on the environment along a gradient. *Applied Ecol. and Environ. Research.* 6(2):13-19.
- MARCANO E. 2006. Efectos del cadmio sobre niveles de glutatión reducido ( GSH) y actividades de enzimas antioxidantes en relacion con la peroxidación de lípidos en la lombriz de tierra *Eisenia foetida* (Annelida: Oligochaeta). Trabajo de grado, Dpto de Biología, Universidad de Oriente, 41 pp.
- MATUSEVIČIŪTĖ A. Y I. EITMINAVIČIŪTĖ. 2005. Effects of different cadmium concentrations on survival, reproduction and adaptation of *Eisenia fetida californica*. *Acta Zool Lituanica.* 15(4): 361-369.
- PHILLIPS D.R. Y T. BOLGER. 1998. Sublethal effects of aluminium on the earthworm *Eisenia fetida*. *Pedobiol.* 42:125-130.
- POURAHMAD J. Y P. O'BRIEN. 2002. A comparison of cytotoxic mechanisms for Cu<sup>2+</sup> y Cd<sup>2+</sup>. *Toxicol.* 143: 173-263.

- ROSCISZEWSKA M., S. LAPINSHI, F. BOROWIEC, W. POPEK Y E. DRAG. 2003. Relationship between the content of some heavy metals in substrate and their accumulation in the bodies of *Dendrobaena actaedra* (Sav.). Chem. Agric. 4: 557-562.
- SCOTT-FORDSMAND J.J., J.M. WEEKS Y S.P. HOPKIN. 2000. Importance of contamination history for understanding toxicity of copper to earthworm *Eisenia foetida* (Oligochaeta:Lumbricidae), using neutral-red retention assay. Environ Toxicol and Chem. 19:1774-1780.
- SHAHMANSOURI M.R., H. POURMOGHADAS, A.R. PARVARESH Y H. ALIDADI. 2005. Heavy metals ioaccumulation by Iranian and Australian earthworms (*Eisenia fetida*) in the sewage sludge vermicomposting. Iranian J. Env. Health Sci. Eng. 2(1): 28-32.
- SPURGEON D.J., S.P. HOPKIN Y D.T. JONES. 1994. Effects of cadmium, copper, lead and zinc on growth, reproduction and survival of the earthworm *Eisenia fetida* (Savigny):assessing the environmental impact of point-source metal contamination in terrestrial ecosystems. Environ. Pollut. 84: 123-130.
- STÜRZENBAUM S., C. WINTERS, M. GALAY, J. MORGAN Y P. KILLE. 2001. Metal ion trafficking in earthworm. Identification of cadmium specific metallothionein. J. Biol. Chem., 276 (36): 34013-34018.
- STÜRZENBAUM S., V. GEORGE, J. MORGAN Y P. KILLE. 2004. Cadmium detoxification in earthworm: from genes to cells. Environ. Sc. Technol. 38: 6283-6289.
- TSUKANOTO J. Y H. WATANABE. 1977. Influence of temperature on hatching and growth of *Eisenia foetida* (Oligochaeta: Lumbricidae). Pedobiol. 17:338-342.
- TOCCALINO P.A., M.C. AGÜERO, C.A. SEREBRINSKY Y J.P. ROUX. 2004. Comportamiento reproductivo de lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*) según estación del año y tipo de alimentación. Rev. Vet. 15(2): 65-69.