

# Crerios sobre la crianza del caracol de jardín *Cantareus Aspersus* (Müller, 1774) y de la lombriz de tierra *Eisenia Fetida* (Savigny, 1826) para su uso en ecotoxicología terrestre con metales pesados

Criteria for the breeding of the garden snail *Cantareus Aspersus* (Müller, 1774) and the earthworm *Eisenia Fetida* (Savigny, 1826) for use in ecotoxicology with heavy metals

Recibido: mayo 25 de 2023 | Revisado: junio 02 de 2023 | Aceptado: junio 17 de 2023

BETTSY MEZA CANTO<sup>1</sup>  
MILAGROS CASTILLA ROJAS<sup>2</sup>  
JOSÉ IANNAcone<sup>1,2,3</sup>

## RESUMEN

Se desarrolló la crianza del caracol de jardín *Cantareus aspersus* (Müller, 1774) y de la lombriz de tierra *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) en condiciones de laboratorio con el fin de determinar los criterios apropiados para su uso en ecotoxicología terrestre con el metal pesado Pb (plomo). Siete criterios establecidos para los dos bioindicadores, fueron detallados conforme a la experiencia de manejo en condiciones de laboratorio, los mismos, que han permitido criar de una manera adecuada al caracol de jardín (*C. aspersus*) y a la lombriz de tierra (*E. fetida*). Para ello se consideró los siguientes criterios: (1) preparación del recipiente, (2) análisis fisicoquímico del suelo, (3) temperatura, fotoperiodo y humedad relativa, (4) caracterización, (5) limpieza e higiene (criterio no evaluado en lombriz de tierra), (6) alimentación y, finalmente (7) fecundidad (criterio no evaluado en caracol de jardín). La validación de los criterios de crianza en los dos bioindicadores mediante la exposición al acetato de Pb evidenciaron diversos efectos tóxicos a 14 días de exposición. En el caso del caracol de jardín se presentaron muertes, cambio de coloración, eliminación de agua y disminución de la masa corporal. Mientras que en la lombriz de tierra se mostraron muertes, cocones y cambios morfológicos. Se sugiere seguir optimizando las condiciones de aclimatación y crianza de ambos indicadores terrestres para evaluar diversas sustancias y elementos potencialmente tóxicos al suelo.

**Palabras clave:** aclimatación, bioindicadores, caracol de jardín, criterios de crianza, lombriz de tierra, metales pesados, plomo

## ABSTRACT

The garden snail *Cantareus aspersus* (Müller, 1774) and the earthworm *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) were reared under laboratory conditions in order to determine the appropriate criteria for their use in terrestrial ecotoxicology with the heavy metal, Pb (lead). Seven criteria established for the two bioindicators were detailed according to the management experience under laboratory conditions, which have allowed the garden snail (*C. aspersus*) and earthworm (*E. fetida*) to be properly raised. For this, the following criteria were considered:

1 Laboratorio de Ingeniería Ambiental, Escuela de Ingeniería Ambiental, COEPERU - Coastal Ecosystems of Peru Research Group. Universidad Científica del Sur. Lima, Perú.

2 Escuela Universitaria de Posgrado (EUPG). Grupo de Investigación en Sostenibilidad Ambiental (GISA). Universidad Nacional Federico Villarreal, Lima-Perú.

3 Escuela de Posgrado (EPG). Grupo de Investigación "One Health". Universidad Ricardo Palma, Lima-Perú.

Autor de correspondencia:  
180000729@cientifica.edu.pe

© Los autores. Este artículo es publicado por la Revista Campus de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad de San Martín de Porres. Este artículo se distribuye en los términos de la Licencia Creative Commons Atribución No-comercial – Compartir-Igual 4.0 Internacional (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), que permite el uso no comercial, distribución y reproducción en cualquier medio siempre que la obra original sea debidamente citada. Para uso comercial contactar a: [revistacampus@usmp.pe](mailto:revistacampus@usmp.pe).

<https://doi.org/10.24265/campus.2023.v28n35.08>

(1) preparation of the container, (2) physicochemical analysis of the soil, (3) temperature, photoperiod and relative humidity, (4) characterization, (5) cleanliness and hygiene (criterion not evaluated in earthworms), (6) feeding and, finally (7) fecundity (criterion not evaluated in garden snails). The validation of the breeding criteria in the two bioindicators through exposure to Pb acetate showed various toxic effects at 14 days of exposure. In the case of the garden snail, there were deaths, color change, elimination of water and decrease in body mass. While in the earthworm deaths, cocoons and morphological changes were shown. It is suggested to continue optimizing the acclimatization and rearing conditions of both terrestrial indicators to evaluate various substances and potentially toxic elements to the soil.

**Keywords:** acclimatization, bioindicators, garden snail, breeding criteria, earthworm, heavy metals, lead

## Introducción

El empleo de los bioensayos ecotoxicológicos en el laboratorio es indispensable, debido a que es una herramienta ampliamente utilizada para evaluar la calidad ambiental (Avalos-Ruiz & Iannacone, 2020; Martínez-Haro *et al.*, 2022) que analiza la toxicidad de los elementos potencialmente tóxicos en los organismos biológicos (Pragnya *et al.*, 2021). Desde el punto de vista ecológico, para analizar los metales pesados (MP) en el suelo se utilizan bioindicadores de la macrofauna edáfica (Cabrera *et al.*, 2022), puesto que estas especies son importantes al almacenar sustancias tóxicas, de igual forma, los diversos factores bióticos y abióticos afectan la toxicidad en estos organismos terrestres (Wang *et al.*, 2022).

Los MP se presentan tanto de manera natural (Briffa *et al.*, 2020), y como producto de la actividad antrópica. Estos elementos son biodisponibles y presentan la capacidad de bioacumularse en altas concentraciones en diversos compartimientos ambientales de los ecosistemas (Pabón *et al.*, 2020). Desde una vista toxicológica, el plomo (Pb) (Pragnya *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2022)

es un MP que presenta propiedades como la resistencia, ductibilidad, maleabilidad y una simplicidad para formar aleaciones (Reyes *et al.*, 2016). Un compuesto químico con presencia de este MP (Ospina, 2020) es el acetato de plomo ( $Pb(C_2H_3O_2)_2$ ). Este es de gran significancia por ser altamente bioacumulable y persistente con el tiempo, afectando al medio ambiente a través de la contaminación de los suelos (OMS, 2018). Ante los diversos efectos tóxicos que provoca el  $Pb(C_2H_3O_2)_2$ , se ha desarrollado la validación de métodos analíticos de laboratorio, que demuestran el verdadero desempeño de este tóxico aplicado a una investigación específica (Vega, 2013).

A través del tiempo se han desarrollado investigaciones sobre la capacidad que poseen diferentes bioindicadores terrestres en bioacumular MP en condiciones de laboratorio (Gonzales *et al.*, 2014). Un bioindicador importante es el caracol de jardín *Cantareus aspersus* (Müller, 1774), el cual es una herramienta biológica eficaz para la realización de un biomonitoreo ambiental (Mleiki *et al.*, 2020; Sturba *et al.*, 2020). Este caracol presenta microproteínas y celulosa en sus excretas y en sus deslizamientos, lo

que genera una transformación física, biológica y química; y en adición permite la aireación, formación y fertilización del suelo (Gomez *et al.*, 2020). Asimismo, los caracoles de jardín son adecuados para investigar la transferencia de MP del suelo a la biota herbívora (Fleta, 2017), debido a que lo acumulan en sus tejidos blandos y son componentes de los ecosistemas terrestres, lo que contribuye a la transferencia de los contaminantes hacia los consumidores primarios y posteriormente a los depredadores terrestres (Notten *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2018). Por lo general, la distribución de los caracoles terrestres depende de las condiciones climáticas, de la altitud y del sustrato donde habitan (Maldonado-Sanchez *et al.*, 2022).

Otro bioindicador terrestre, es la lombriz de tierra *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) (Avalos-Ruiz & Iannacone, 2020; Guzmán & Nakajima, 2020; Arrázola-Vásquez & Iannacone, 2021; Elias-Estremadoyro & Iannacone, 2022), que descompone la materia orgánica, recicla nutrientes y contribuye a la formación del suelo. De la misma forma, se detalla que las lombrices de tierra son responsables del desarrollo y mantenimiento del suelo mediante las sustancias resultantes provenientes de su degradación (Dominguez *et al.*, 2009). Por ello, la consideran como el ingeniero del ecosistema, dado por la facilidad de infiltrar el agua, formar poros en el suelo y humificar este último sustrato (Canales-Gutiérrez *et al.*, 2020).

La crianza de caracoles puede ser desarrollada para estudios ecotoxicológicos, debido a que este molusco tienen la capacidad de ser sensible y también bioacumular MP (Sargsyan *et*

*al.*, 2022); además que es importante su adaptación al ambiente tanto a escala de campo como de laboratorio (Vera, 2016; Clavijo, 2018; Thompson & Cheney, 2000) y en adición, ayuda en la evaluación de riesgos ecotoxicológicos dentro del ecosistema terrestre (Andrei *et al.*, 2019), y contribuye con la biodisponibilidad de los diferentes contaminantes (Louzon *et al.*, 2020). Con respecto a las lombrices de tierra, su crianza se considera importante para diversos procesos biotecnológicos y para estudios ecotoxicológicos (Fernández-Muzio & Guggeri-

Solaro, 2019; Caján *et al.*, 2021; Elias-Estremadoyro & Iannacone, 2022). En esta especie es factible su crianza para estudios ecotoxicológicos (Bravo *et al.*, 2018; Mullisaca, 2021). Adicionalmente, este representante de la biota terrestre es uno de los más utilizados para realizar evaluaciones de la calidad del suelo por la interacción que se produce al estar en contacto con este medio y aportar macro y micro nutrientes (Giunta *et al.*, 2019). Este bioindicador detecta y acumula MP en sus tejidos blandos (Simpalo & Verajano, 2020).

Por lo expuesto anteriormente, el objetivo del presente trabajo fue proponer criterios para la crianza del caracol de jardín *C. aspersus* y de la lombriz de tierra *E. fetida* para su uso en ecotoxicología con MP.

## Métodos

### Criterios de crianza del caracol de jardín y de la lombriz de tierra

En cuanto al caracol de jardín *C. aspersus*, se recogieron 1000 g (~210

individuos) provenientes del vivero Anita, distrito de Lurín, provincia de Lima, Perú (295777,38 m E, 8646723,67 m N). De igual forma, se adquirieron 100 g (~210 individuos) de lombriz de tierra (*E. fetida*) de una familia de la zona andina que se dedica a la lombricultura del distrito de Ticrapo, provincia Castrovirreyna, región Huancavelica, Perú (453275,00 m E, 8520742,00 m N). Luego, se realizó el proceso de aclimatación de los dos bioindicadores terrestres en recipientes de plástico de forma paralelepípeda con presencia de suelo de chacra (MSF) por 15 días en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Universidad Científica del sur, Lima, Perú, donde se dieron condiciones adecuadas de fotoperiodo (14:10), temperatura (~22°C), y humedad relativa (HR) (~80 %) utilizando un termohigrómetro digital para estos dos últimos parámetros. Se analizó en la MSF los parámetros fisicoquímicos edafológicos del suelo,

como la Conductividad Eléctrica (CE) ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ), pH, Materia Orgánica (MO) (%), textura, Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) (meq/100 g) y humedad volumétrica (%) a partir de la humedad gravimétrica. Asimismo, se analizaron siete criterios de crianza de estos dos bioindicadores para su posterior empleo en ecotoxicología terrestre por MP. Los criterios de crianza para ambas especies fueron los siguientes: (1) preparación del recipiente, (2) análisis fisicoquímico del suelo, (3) temperatura, fotoperiodo y HR, (4) caracterización, (5) limpieza e higiene (solo para el caracol de jardín), (6) alimentación para el caracol fue la lechuga y pienso (pan rallado, cáscara de huevo molido y harina de trigo); mientras que a la lombriz (estiércol de cuy), y (7) fecundidad (solo para la lombriz de tierra) (Figura 1). La aclimatación y crianza se realizó durante 12 días previos para su empleo en ensayos ecotoxicológicos con MP.

**Figura 1**  
Criterios de crianza en los dos bioindicadores caracol de jardín *Cantareus aspersus* y de la lombriz de tierra *Eisenia fetida* para su empleo en ecotoxicología terrestre.



El criterio de fecundidad no se evaluó para el caracol de jardín y el criterio de limpieza e higiene no fue analizado para la lombriz de tierra.

### Validación del protocolo con el caracol de jardín y lombriz de tierra con Pb para su uso en ecotoxicología terrestre

La supervisión del bioensayo se realizó cada dos a cinco días para ambos bioindicadores. Se inició el 15 de marzo de 2022 considerado como primer día de supervisión (D1, día 0) y finalizó el 29 de marzo de 2022 con el cuarto día de supervisión (D4, día 14). Se realizó la validación de la idoneidad de la crianza de los dos bioindicadores con base a la exposición a un suelo artificial contaminado con un metal pesado, el cual se preparó a través de la mezcla de suelo de chacra y, acetato de plomo  $Pb(C_2H_3O_2)_2$ , a fin de obtener un suelo contaminado con Pb (MSC) a una concentración de  $47 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  de

Pb. Se realizaron dos réplicas para cada bioindicador, tanto para el control como el grupo de estudio. En todos los casos se emplearon recipientes de plásticos (altura 15 cm, ancho 20 cm, y largo 30 cm).

Posteriormente, durante 15 días fueron expuestos los dos grupos de estudio (muestra de lombriz de tierra con Pb = MCL y muestra de caracol de jardín con Pb = MCC) y su control (muestra de lombriz de tierra sin Pb = MBL y muestra de caracol de jardín sin Pb = MBC) (Figura 2). 36 caracoles de jardín fueron expuestos a 1 kg de suelo en cada recipiente (MCC y MBC) a fin de evaluar el número de caracoles muertos, masa promedio del caracol y cambios morfológicos. 100 g de lombriz de tierra (210 lombrices), se evaluaron en 2 kg de suelo en cada recipiente (MCL y MBL), analizando los efectos a través del número de lombrices muertas, número de cocones y cambios morfológicos.

### Figura 2

Validación de la crianza de la lombriz de tierra y caracol de jardín expuestos a suelo contaminado con Pb.



## Análisis estadístico

El análisis de datos se realizó mediante el Programa estadístico SPSS® v. 25.00, en el cual se determinaron análisis estadísticos descriptivos, a través de la evaluación de la media ( $\bar{X}$ ), mediana (Me) y moda (Mo), y el análisis estadístico inferencial, mediante la prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas, que conforme a su resultado se procedió a usar la prueba paramétrica (ANOVA de dos vías) o de ser el caso una prueba no paramétrica equivalente (Friedman), a fin de validar el protocolo con Pb en los bioindicadores para su uso en ecotoxicología terrestre. Cabe mencionar que los cambios morfológicos de las lombrices por ser datos cualitativos se aplicó la prueba Chi cuadrado. En todos los casos, se usó un nivel de significancia de 0,05.

## Aspectos éticos

Se realizó el muestreo del suelo de chacra con equipos de protección personal a fin de prevenir una posible contaminación de la muestra de suelo; y a la misma vez, estas muestras fueron conservadas en bolsas plásticas ziploc. Para las actividades dentro del laboratorio, se emplearon los equipos de bioseguridad personal conforme al protocolo del laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Universidad Científica del Sur, Lima, Perú. Las actividades fueron desarrolladas teniendo en cuenta las medidas de la coyuntura COVID-19. En cuanto a los caracoles de jardín y a las lombrices de tierra fueron utilizados únicamente para los experimentos del presente estudio, considerando el mínimo número de individuos requerido para la respectiva validación estadística.

Los residuos químicos y biológicos contaminados del experimento fueron destinados a un recipiente de residuos peligrosos, siguiendo el lineamiento de la NTP 900.058.2019 (INACAL, 2109) y el protocolo de seguridad del Plan de Gestión Integral de Residuos de la Universidad Científica del Sur, Lima, Perú.

## Resultados y Discusión

### Criterios de crianza del caracol de jardín y de la lombriz de tierra

#### Criterio 1: Preparación del recipiente

Para los caracoles de jardín, el recipiente fue de material plástico en forma paralelepípedo (altura 15 cm, ancho 20 cm, y largo 30 cm), con agujeros cada dos cm para su aireación respectiva. Ante ello, se menciona que los tipos de recipientes dependerán del espacio y del objetivo de crianza del estudio (Bello & Bello, 2007). Estos últimos autores plantean un tipo de jaula (altura 30 cm, largo 50 cm y profundidad 50 cm) para la crianza de caracoles, que consiste en siete paneles de 30 x 35 cm con una separación de 5,5 cm, teniendo en cuenta que el piso, fondo, techo y tapa son de una malla mosquitera plástica con 40 tramos. Para un sistema de crianza en condiciones cerradas se sugiere emplear recipientes tipo “colgadores plásticos verticales”, debido a que generan un microclima ideal (Mariet *et al.*, 2017), y se controla mejor la temperatura, la HR y las horas de luz (Diaz, 2007). Otro autor, para *C. aspersus* sugiere jaulas tipo “terrarios de polipropileno” que han comprobado su idoneidad durante un periodo de exposición de seis semanas en condiciones de campo (Drăghici *et*

*al.*, 2019). Finalmente, para el caracol de jardín también se han propuestos recipientes de poliestireno transparente de 24 cm x 21 cm x 8 cm (Louzon *et al.*, 2020).

En cuanto a las lombrices de tierra se mantuvieron dentro de un recipiente de plástico de forma rectangular con una tapa de tela sintética de color blanco a fin de que reciban una adecuada aireación. Otros autores como Canales-Gutiérrez

*et al.* (2020) sugieren usar tablas con espacios separadores (50 cm x 30 cm x 15 cm), con una tela sintética como sistema de aislamiento para un adecuado mantenimiento de la humedad relativa.

## Criterio 2: Análisis fisicoquímico del suelo

Se analizaron los siguientes arámetros fisicoquímicos del suelo (Tabla 1).

**Tabla 1**

*Parámetros fisicoquímicos del suelo de chacra (MSF)*

CE ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	pH	MO (%)	Textura	CIC ( $\text{meq}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ )	Humedad Volumétrica (%)
4 476	7,83	1,14	Franco arcilloso	10,85	3,81

La humedad del suelo es importante porque fortalece las propiedades fisicoquímicas del cuerpo del caracol de jardín a través de nutrientes para su conchilla, desarrollo y comportamiento (Rueda-Toledo *et al.*, 2019). Con el fin de que las lombrices se adapten de manera adecuada, debe humedecerse el suelo debido a que es un factor para su óptimo desarrollo (Luna & Mendoza, 2020). Para el caracol de jardín la humedad ideal es de un 80 % (Galindo-Hurtado & Bolaños-Colorado, 2017). En cambio, la humedad adecuada para lombrices es del 90 % (Domínguez *et al.*, 2009). Sin embargo, se ha demostrado que un suelo adecuado debe mantener su humedad cerca al 75% (Zanor *et al.*, 2018).

Los caracoles de jardín realizan una hibernación para minimizar la pérdida de agua, y por ello prosperan en microhábitats húmedos y sombreados (Troya-Escobar, 2019). Por ende, es importante su monitoreo del suelo dos veces al día (Drăghici *et al.*, 2019).

Con respecto al pH del suelo, para los caracoles fue ligeramente alcalino, lo cual es apropiado para su crianza, debido a que si es ácido perjudica principalmente a su crecimiento. Es necesario suelos de tipo calcáreos por su abundante calcio (Perelló, 2012). Se discrepa con Ospina-Montero & Moreno-Ospina (2017), quienes mencionan que el pH debe estar en el intervalo de 6,5 a 7,5. Por otro lado, es fundamental un pH adecuado del suelo donde se crían lombrices de tierra, porque permite controlar bacterias y hongos (Fuentes, 2020; Somarriba & Guzmán, 2020). Una de las condiciones básicas para su desarrollo es que el suelo tenga un pH entre 6-8, puesto que favorece una reproducción más rápida (Ishpilco & Mendoza, 2021). En cambio, Fuentes (2020), se detalla que los valores óptimos varían entre 6,8 y 7,2, debido que en ese intervalo proliferan tan rápido que disminuyen el número de lombrices nativas.

### **Criterio 3: Temperatura, fotoperiodo y humedad relativa**

La temperatura del ambiente del laboratorio estuvo mayormente entre los 25° y 27° C, mientras que en las mañanas y tardes se registró en algunas ocasiones desde 18 hasta 20°C, los cuales fueron regulados por el aire acondicionado y registrados con un termómetro ambiental. Esta temperatura se asemeja al estudio de Pérez & Cáceres (2022), quienes sostienen que mantener a los caracoles de jardín en el intervalo de temperaturas de 25°C a 29°C, trae buenos resultados. No obstante, Troya-Escobar (2019), asegura que su adaptación y mejoramiento de su calidad de vida se encuentra entre 19° C a 24° C. Además, se señala que mantenerlos a 20°C es una temperatura ideal para el caracol de jardín (Louzon *et al.*, 2020). Palafox *et al.* (2012), mencionan que las lombrices de tierra se desarrollan óptimamente a temperaturas entre 25° C a 30° C, pero con el fin de evaluar la toxicidad se redujo la temperatura de los recipientes a 22 ± 2°C. En cambio, Giunta *et al.* (2019) detallan que durante el análisis del comportamiento de *E. fétida* se mantuvo a una temperatura de 20° C a 25°C, siendo adecuada para su subsistencia.

En cuanto al fotoperiodo fue 14 h de día y 10 h de noche por la estación de verano y una HR del 85 %. Se ha evaluado a los caracoles en condiciones de laboratorio a un fotoperiodo de 18/6 y una HR del 80 % (Louzon *et al.*, 2020). Una humedad relativa mayor a 75 % genera resultados satisfactorios (Ruiz-Hernández *et al.*, 2016). Con respecto a la lombriz de tierra, se ha explicado que en una prueba de toxicidad fueron expuestas a un fotoperiodo de luz- oscuridad (h)

12/12 y a una HR del 75% con resultados satisfactorios (Somarriba & Guzmán, 2020). Ulloa *et al.* (2018) señalan que un bioensayo puede realizarse a 12 h luz y 12 h oscuridad con la diferencia que presentó una HR del 85%. Finalmente, se menciona que la HR adecuada es de 65% (Mamani, 2016).

### **Criterio 4: Caracterización de los bioindicadores**

Se seleccionaron 80 caracoles de jardín adultos con una conchilla de tonos dorados, bandas anchas de color marrón y con una medida del ancho de la conchilla en un intervalo de <2,5 cm a 4,5> cm. Sargsyan *et al.* (2022), utilizaron a los caracoles adultos de *Helix lucorum* Linnaeus, 1758 con tamaño de conchilla de 43,14 ± 0,79 mm de ancho y 41,94 ± 0,83 mm de largo. Por otro lado, Louzon *et al.* (2020) trabajaron con caracoles de jardín terrestres subadultos.

Se escogieron 100 lombrices de tierra de color rojo de una etapa adulta con clitelio y una longitud total de 5 cm a 6 cm. También se han utilizado lombrices de tierra con clitelio y una coloración rojiza (Canales-Gutiérrez *et al.*, 2020). Asimismo, las características más estudiadas de las lombrices de tierra son su tamaño (6,44 cm de largo y 2,10 de ancho), peso y diámetro del clitelio, debido que son los primeros en ser afectados ante un estrés brusco (Cano, 2018). Dentro de las características externas más resaltantes se tiene a la forma del cuerpo, al color y al número de segmentos, ello en base a su estudio sobre la evaluación de la evolución de las lombrices de tierra (Feijoo-Martínez *et al.*, 2020).

### **Criterio 5: Limpieza e higiene**

La limpieza de los caracoles de jardín y sus respectivos recipientes fue realizada de manera interdiaria. Ante ello, Fontanillas (2018) resalta la importancia de la limpieza e higiene de las instalaciones y recipientes para una adecuada crianza en el laboratorio del caracol de jardín. Por ejemplo, Louzon *et al.* (2020), sugiere que los caracoles deben ser limpiados cada dos días con el fin de eliminar las heces y renovar a la lechuga que se le da como sustrato para la alimentación. De esta manera se evita que el caracol de jardín pierda sus actividades cotidianas de forma progresiva, paralice su función reproductiva y deje de alimentarse hasta morir por inadecuadas prácticas de limpieza e higiene Fleta-Zaragozano (2018).

### **Criterio 6: Alimentación**

Los caracoles de jardín fueron alimentados con lechugas (1g por día), siendo extendidas en el fondo del recipiente y por encima de los vasos descartables que contenían suelo. Sin embargo, Louzon *et al.* (2020), emplearon 1,5 g de lechuga fresca no contaminada por día para cada caracol. Se ha utilizado a la lechuga en previas investigaciones como alimento para el caracol de jardín, con el fin de analizar la transferencia de MP dentro de una cadena alimentaria (Martínez, 2022). Por otro lado, se dio una vez a la semana pienso para caracol, debido a que es importante controlar la calidad de pienso por la afectación directa a su estado nutricional de los caracoles (Vera, 2016). Por ello, Drăghici *et al.* (2019) alimentaron a los caracoles de jardín con una mezcla de harina de trigo (10 %) y otros ingredientes. Se ha

determinado que la mejor dieta de aporte proteico para el caracol de jardín es *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp., 1842 en comparación con la lechuga (Ruiz-Hernández *et al.*, 2016).

Para la alimentación de las lombrices de tierra se utilizó estiércol de cuy. En relación a ello, otros autores han señalado que el estiércol bovino precompostado (Guanche, 2015) favorece a la reproducción rápida y al aumento del peso promedio de las lombrices (Villavicencio-García, 2021), y desechos de hortalizas y frutas proveniente de un tratamiento y selección previo, alimentándolas una vez a la semana (Luna & Mendoza, 2020; López-Correa, 2019), o en forma interdiaria con el fin que no cese el ciclo de reproducción (Cedeño, 2021).

### **Criterio 7: Fecundidad**

Se identificaron tres cocones en 100 lombrices de tierra mediante el método del conteo por observación. Ello se asemeja al protocolo que utilizó Canales-Gutiérrez *et al.* (2020), con la diferencia que su evaluación se realizó en 36 días encontrando seis cocones. Por otro lado, Limachi (2018), señala que una lombriz de tierra coloca un cocón entre 7 a 10 días. Finalmente, se ha determinado cinco cocones durante 15 días producto de 40 lombrices de tierra (Domínguez *et al.*, 2009).

### **Validación del protocolo con el caracol de jardín y lombriz de tierra con Pb para su uso en ecotoxicología terrestre**

#### **Caracol de jardín**

La exposición de 36 caracoles de jardín al Pb se presenta en la tabla 2.

**Tabla 2**

*Características de los caracoles de jardín bajo en muestras de suelo a 47 mg·kg<sup>-1</sup> de Pb y sin Pb.*

Características	MCB		MCC	
	R1	R2	R1	R2
Nro. de caracoles muertos	1	0	2	2
Nro. de caracoles con contorno rosado	2	1	4	3
Cantidad de agua eliminada en la 1° semana (mL)	15	17	59	65
Cantidad de agua eliminada en la 2° semana (mL)	15	17	59	65
Masa promedio del caracol (g)	6,14	6,22	4,86	5,82

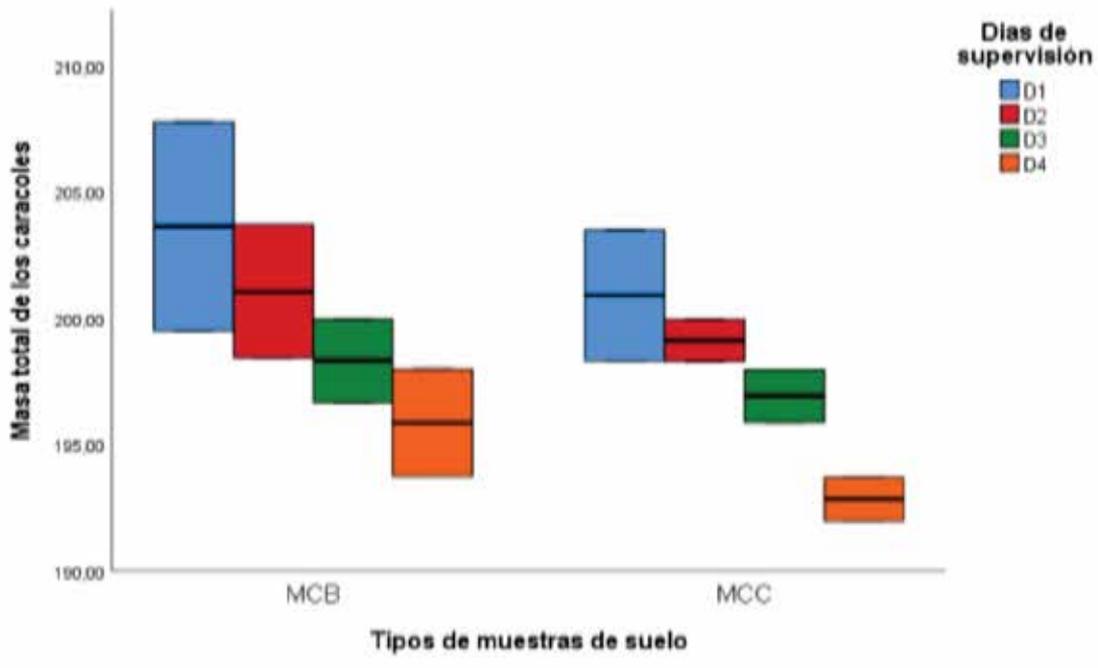
MCB: Muestra de caracol de jardín sin Pb; MCC: Muestra de caracol de jardín con Pb. R1 y R2 = réplicas del ensayo.

Los efectos del Pb en el caracol se realizaron a través del análisis descriptivo de los datos. Para la muestra de fondo o sin Pb se evaluó el número de caracoles muertos ( $\bar{X} = 0,5$ ; Me = 0,5 y Mo = 1,0) y la presencia de contorno rosado ( $\bar{X} = 1,5$ ; Me = 1,5 y Mo = 2,0). En cuanto a la muestra contaminada con Pb se consideró

el número de caracoles muertos ( $\bar{X} = 1,0$ ; Me = 1,0 y Mo = 0,0) y la presencia de contorno rosado ( $\bar{X} = 3,5$ ; Me = 3,5 y Mo = 4,0). Por otro lado, se analizaron la masa total de los caracoles de jardín y el promedio de masa del caracol con base a la aplicación de los análisis inferenciales (Figuras 3 y 4).

**Figura 3**

*Diagrama de cajas de la masa total del caracol de jardín por tipo de muestras de suelo y días de supervisión. MCB: Muestra de caracol de jardín sin Pb; MCC: Muestra de caracol de jardín con Pb. D1 (primer día de supervisión, día 2), D2 (segundo día de supervisión, día 7), D3 (tercer día de supervisión, día 9) y D4 (cuarto día de supervisión, día 14).*

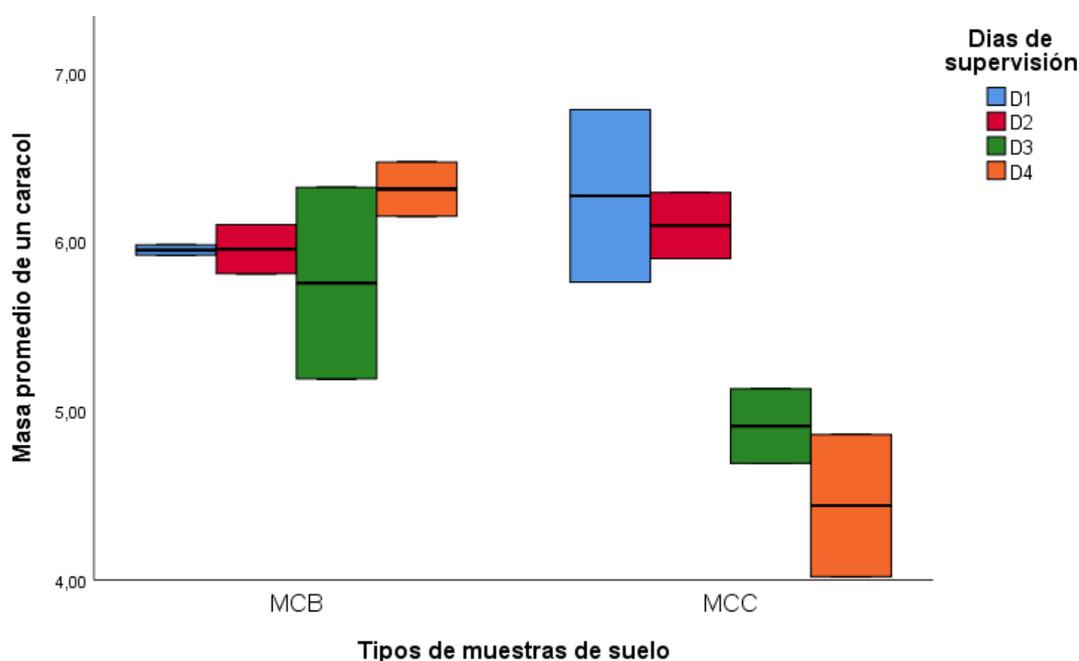


En el presente gráfico, se muestra que la exposición de los caracoles al suelo contaminado con Pb disminuye ligeramente su masa total conforme al cuarto día de supervisión (D4) (Figura 3); sin embargo, al aplicar la prueba ANOVA de dos vías resulta que la masa

total de caracoles no es influenciada significativamente por el tipo de muestra de suelo ( $F = 2,03$ ;  $p = 0,19$ ), pero si por los días de supervisión ( $F = 4,56$ ;  $p = 0,03$ ), y finalmente no por la interacción de los tipos de muestras de suelo y los días de supervisión ( $F = 0,05$ ;  $p = 0,98$ ).

#### Figura 4

Diagrama de cajas de la masa promedio del caracol de jardín por tipos de muestras de suelo y días de supervisión. MCB: Muestra de caracol de jardín sin Pb; MCC: Muestra de caracol de jardín con Pb. D1 (primer día de supervisión, día 2), D2 (segundo día de supervisión, día 7), D3 (tercer día de supervisión, día 9) y D4 (cuarto día de supervisión, día 14).



En el gráfico de la figura 4 se muestra que la masa promedio del caracol en el grupo MCB se incrementa y en el grupo MCC disminuye su masa al exponerlos al suelo contaminado con plomo, esto conforme a los días de supervisión, por ello al aplicar la prueba ANOVA de dos vías, la masa promedio del caracol es influenciada significativamente por los tipos de muestras de suelo ( $F = 4,71$ ;  $p = 0,04$ ) y no los días de supervisión ( $F = 3,08$ ;  $p = 0,09$ ) y finalmente si por la interacción de los tipos de muestras de suelo y los días de supervisión ( $F = 4,55$ ;  $p = 0,04$ ).

Los MP y los contaminantes orgánicos afectan la mortalidad de los caracoles de jardín (Dhiman, 2020). Al aumentar la concentración de Pb y el tiempo de exposición, la tasa de mortalidad del caracol de jardín se incrementa significativamente, teniendo que a  $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  la mortalidad más baja (60 %) a 24 h de exposición y la más alta mortalidad (95 %) a las 96 h de exposición (Varun, 2020). Los caracoles de jardín al ser expuestos al Pb presentan algunos cambios observables en su coloración y en su comportamiento (Dhiman, 2020).

El caracol de jardín elimina agua debido a las condiciones de estrés, debido a que no está acostumbrado a un entorno cerrado, reducido y a una alimentación a base de vegetales como la lechuga (Fleta, 2017). El caracol mantiene un equilibrio constante entre la HR ambiental y el contenido de agua en sus tejidos, por ello absorben o eliminan agua debido a su gran permeabilidad (Ruiz-Hernandez *et al.*, 2016).

En relación con la masa, en el grupo MCB aumentó su masa en 0,16 g mientras que en el grupo MCC disminuyó en 0,89 g. Este último resultado se contrasta con el estudio de Artacho & Nespolo (2009) quienes resaltan que los caracoles

juveniles en promedio tienen una masa corporal de  $4,26 \pm 0,77$  g; sin embargo, al estar expuesta al Pb disminuyen gradualmente su masa. Gomot-De Vaufléury & Pihan (2000) señalan que los caracoles de jardín juveniles ( $4,6 \pm 0,5$  g) fueron influenciados en su masa por el nivel de contaminación del Pb. Las poblaciones juveniles de *Helix* al mantenerse con dieta alta en Pb generan una concha más ligera, lo cual reduce la masa del caracol (Beeby & Richmond, 2002; Beeby *et al.*, 2002).

### Lombriz de tierra

La exposición de 210 lombrices (100 g) al Pb se presenta en la Tabla 4.

**Tabla 4**

*Características de la lombriz de tierra bajo muestras de suelo a  $47 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  de Pb y sin Pb.*

Características	MLB		MLC	
	R1	R2	R1	R2
Número de lombrices muertas de 210 lombrices	0	0	4	5
Número de cocones	7	8	6	4
Cambios morfológicos	Ninguno	Ninguno	Desplazamiento lento, cambio de color e hinchazón del clitelio	Deslizamiento lento, cambio a color amarillento e hinchazón del clitelio

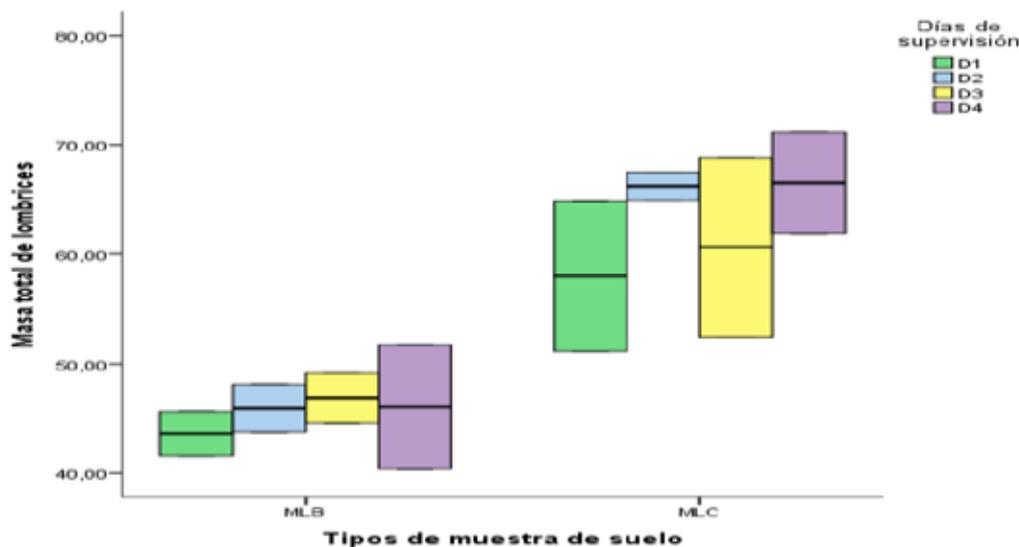
MLB: Muestra de lombriz sin Pb; MLC: Muestra de lombriz de tierra con Pb. R1 y R2 = réplicas del ensayo.

En cuanto a los efectos del Pb en el suelo en la lombriz de tierra, se analizaron mediante un análisis descriptivo. Para la muestra de fondo o sin Pb, el número de lombrices muertas ( $\bar{X} = 0,0$ ;  $Me = 0,0$  y  $Mo = 0,0$ ) y número de cocones ( $\bar{X} = 7,5$ ;  $Me = 7,5$  y  $Mo = 6,0$ ). Referente a la muestra contaminada se evaluaron el número de lombrices muertas ( $\bar{X} = 4,5$ ;  $Me = 5,0$  y  $Mo = 0,0$ ) y el número de cocones ( $\bar{X} = 7,5$ ;  $Me = 7,5$  y  $Mo = 7,0$ ) (Tabla 4). Es preciso mencionar que se

aplicó la prueba chi cuadrado para la variable cambios morfológicos ( $\chi^2 = 1,00$ ;  $p > 0,05$ ), dando como resultado que no existen indicios de una relación de dependencia en ambas variables. Finalmente, para el promedio de masa de lombrices mediante la prueba Friedman (Figura 6) ( $\chi^2 = 27,73$ ;  $p < 0,05$ ) se observaron efectos del tipo de suelo, días de supervisión e interacción de ambas, respectivamente.

### Figura 5

Diagrama de cajas de la masa total de lombrices de tierra por tipos de muestras de suelo y días de supervisión. MLB: Muestra de lombriz sin Pb; MLC: Muestra de lombriz de tierra con Pb. D1 (primer día de supervisión, día 2), D2 (segundo día de supervisión, día 7), D3 (tercer día de supervisión, día 9) y D4 (cuarto día de supervisión, día 14).

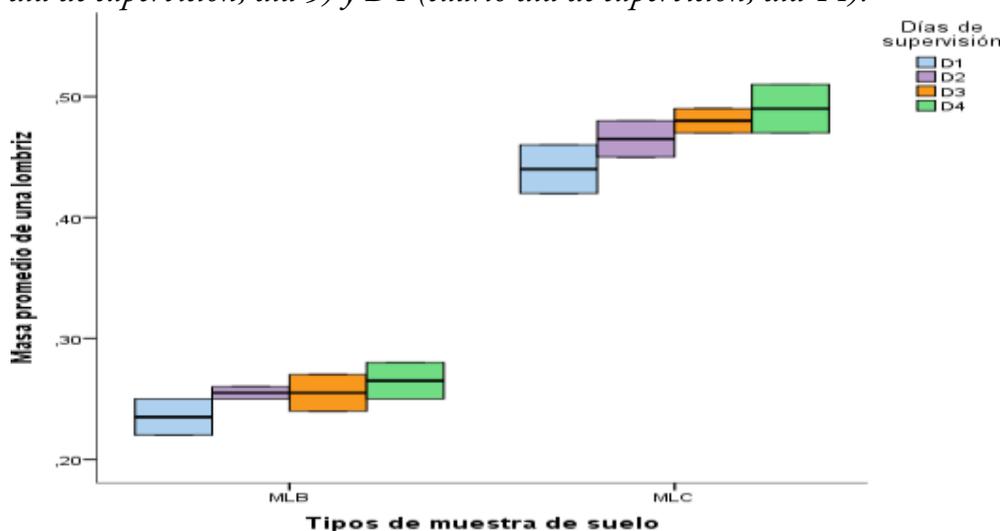


La presente gráfica (Figura 5) representa el aumento predominantemente de la masa total de lombrices en relación a los tipos de muestra de suelo y los días de supervisión. Se realizó un ANOVA de dos vías (Figura 5) para las variables masa total de lombrices. La masa total de lombrices

es influenciada significativamente por los tipos de muestras de suelo ( $F = 29,91$ ;  $p = 0,001$ ) y no los días de supervisión ( $F = 0,57$ ;  $p = 0,65$ ) y finalmente si por la interacción de los tipos de muestras de suelo y los días de supervisión ( $F = 0,29$ ;  $p = 0,83$ ).

### Figura 6

Diagrama de cajas de la masa promedio de lombriz de tierra por tipos de muestras de suelo y días de supervisión. MLB: Muestra de lombriz sin Pb; MLC: Muestra de lombriz de tierra con Pb. D1 (primer día de supervisión, día 2), D2 (segundo día de supervisión, día 7), D3 (tercer día de supervisión, día 9) y D4 (cuarto día de supervisión, día 14).



La gráfica de la Figura 6 representa el aumento en la masa promedio de una lombriz de tierra, debido a los criterios de crianza, la exposición con Pb y a las propiedades de bioacumulación que presenta el bioindicador, ello en los dos tipos de muestra de suelo (MLB y MLC) y en los días de supervisión. Finalmente, para el promedio de masa de lombrices mediante la prueba Friedman (Figura 6) ( $\chi^2 = 27,73$ ;  $p < 0,05$ ) se observaron efectos del tipo de suelo, días de supervisión e interacción de ambas, respectivamente.

Se ha mencionado que en 100 g de lombrices se presentó una mortalidad entre 2 a 4 individuos durante un periodo de tres meses (Pantoja, 2021). Una experimentación fue considerada inválida al observarse que en todas repeticiones existía una lombriz muerta o desaparecida al final del día del periodo de prueba (Ulloa *et al.*, 2018). En cuanto a los cocones, Tito (2022) detalla que la reproducción de la lombriz de tierra fue nula entre los 7 y 14 días de prueba, debido a la presencia del MP Pb. Asimismo, se menciona que en un periodo de 14 y 21 días se tuvo de 1 a 2 cocones eclosionados, respectivamente (Cedeño, 2021). Como bien lo sustenta Rostrán (2012) se registró en dos semanas de exposición al Pb, 10 lombrices con un promedio de cuatro cocones.

En referencia a los cambios morfológicos en la lombriz de tierra, la exposición a diferentes concentraciones de Pb genera modificaciones en la curvatura corporal, en el enrollamiento

violento, en la elongación del cuerpo, presencia de movimientos lentos, y finalmente hinchazón del clitelio (Grandez, 2020). Se ha evidenciado cambios externos en la lombriz de tierra, como el engrosamiento del clitelio (Ochoa, 2021).

## Conclusiones

Los siete criterios establecidos para los dos bioindicadores, han sido detallados conforme a la experiencia en condiciones de laboratorio, los mismos, que han permitido criar de una manera adecuada al caracol de jardín (*C. aspersus*) y a la lombriz de tierra (*E. fetida*). Para ello se consideró los siguientes criterios: preparación del recipiente, análisis fisicoquímico del suelo, temperatura, fotoperiodo y humedad relativa, caracterización, limpieza e higiene (criterio no evaluado en lombriz), alimentación y finalmente fecundidad (criterio no evaluado en caracol). La validación de los criterios de crianza en los dos bioindicadores mediante la exposición al Pb evidenció diversos efectos tóxicos. En el caso de los caracoles de jardín, se presentaron muertes, cambio de coloración, eliminación de agua y disminución de masa corporal. Mientras que en las lombrices de tierra se mostraron muertes, cocones y cambios morfológicos. Se sugiere seguir optimizando las condiciones de crianza de ambos indicadores para evaluar diferencias sustancias y elementos potencialmente tóxicos al suelo.

## Referencias

- Andrei, G., Dehelean, C., Pinzaru, I., Bordean, D., Borozán, A., Tsatsakis, A., Kovatsi, L., & Nica, D. (2019). Soil copper uptake by land snails: A semi-field experiment with juvenile *Cantareus aspersus* snails. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 72(3), 103243. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.103243>
- Arrázola-Vásquez, E., & Iannacone, J. (2021). Evaluación del riesgo ambiental de la mezcla de alfacipermetrina e imidacloprid sobre la lombriz de tierra (*Eisenia fetida*) (Savigny, 1826). *The Biologist (Lima)*, 19, 111-124. <https://doi.org/10.24039/rtb2021191898>
- Artacho, P., & Nespolo, R. (2009). Natural selection reduces energy metabolism in the garden snail, *Helix aspersa* (*Cornu aspersum*) *Evolution*, 63(4), 1044–1050. <https://doi.org/10.1111/J.1558-5646.2008.00603.X>
- Avalos-Ruiz, S., & Iannacone, J. (2020). Evaluación del riesgo ambiental terrestre de dos gasolinas ecológicas de 90 octanos en la lombriz de tierra *Eisenia fetida* (Savigny, 1826). *Campus*, 25, 189-208. <https://doi.org/10.24265/campus.2020.v25n30.01>
- Beeby, A., & Richmond, L. (2002). Evaluating *Helix aspersa* as a sentinel for mapping metal pollution. *Ecological Indicators*, 1(4), 261–270. [https://doi.org/10.1016/S1470-160X\(02\)00022-5](https://doi.org/10.1016/S1470-160X(02)00022-5)
- Beeby, A., Richmond, L., & Herpé, F. (2002). Lead reduces shell mass in juvenile garden snails (*Helix aspersa*). *Environmental Pollution*, 120(2), 283–288. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(02\)00151-3](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00151-3)
- Bello, Y., & Bello, A. (2007). *Plan para el desarrollo de un proceso de helicultura en Gachetá Cundinamarca, con destino a la exportación* [Trabajo de pregrado, Universidad de la Salle]. <https://ciencia.lasalle.edu.co/>
- Bravo, C., Angulo, L., González, Y., Martínez, M., Carmona, J., & Garay, O. (2018). Evaluación reproductiva de la lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*) alimentada con diferentes sustratos en el trópico bajo colombiano. *Livestock Research for Rural Development*, 30(2), 57-62. <https://doi.10.25127/laps.20192.49>
- Briffa, J., Emmanuel S., & Renald B. (2020). Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans. *Heliyon*, 6(9), 2-26. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04691>
- Caján, A., Pascual, M., & Anco, M. (2021). Efecto ecotoxicológico del cloruro de potasio sobre la lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*). *Revista del Instituto de investigación de la Facultad de Minas, Metalurgia y Ciencias Geográficas*, 24(47), 133-140. <https://doi.org/10.15381/iigeo.v24i47.20658>

- Cabrera, G., Sanchez, J., & De León, D. (2021). Macrofauna edáfica: composición, variación y utilización como bioindicador según el impacto del uso y calidad del suelo. *Acta Botánica Cubana*, 221, 1-21. <https://revistasgeotech.com/index.php/abc/article/view/404>
- Canales-Gutiérrez, A., Solís-Ramos, B., Panca-Castañeda, R., & Quispe-Cáceres, B. (2020). Crianza de *Eisenia foetida* (lombriz roja) en diferentes sustratos de desarrollo biológico. *Ecología Aplicada*, 19(2), 87-92. <http://dx.doi.org/10.21704/rea.v19i2.1559>
- Cano, B. (2018). *Incidencia del cambio climático en la sobrevivencia de la Lombriz Roja Californiana (Eisenia foetida) simulando el factor temperatura en el suelo mediante radiación infrarroja*, Lima Perú, 2018 [Tesis de pregrado, Universidad César Vallejo]. [bit.ly/3WbtzR1](http://bit.ly/3WbtzR1)
- Cedeño, K. (2021). *Comportamiento productivo, reproductivo y morfometría de la lombriz roja californiana en sistemas de vermicompostaje de residuos orgánicos*, Patricia Pilar, 2021 [Tesis de pregrado, Universidad Técnica Estatal de Quevedo]. [bit.ly/3Ihknok](http://bit.ly/3Ihknok)
- Clavijo, C. (2018). *Plan de Prevención, Manejo y Control de Caracol de Jardín (Cornu aspersum) en la Jurisdicción Car.* Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca– CAR Dirección de Recursos Naturales Grupo Biodiversidad. [bit.ly/3pTJWpm](http://bit.ly/3pTJWpm)
- Díaz, R. (2007). *Manejo controlado de la temperatura y humedad en caracoles de tierra de la especie Hélix aspersa en el municipio de Fusagasugá (Cundinamarca)* [Tesis de pregrado, Universidad La Salle]. <https://ciencia.lasalle.edu.co/zootecnia/82/>
- Dhiman, V. (2020). Assessment Preliminary toxicity assessment of chromium (Cr) and lead (Pb) on terrestrial snails (*Helix aspersa*). *Archives of Agriculture and Environmental Science*, 5(1), 67-72. <https://dx.doi.org/10.26832/24566632.2020.0501010>
- Domínguez, J., Aira, M., & Gómez-Brandón, M. (2009). El papel de las lombrices de tierra en la descomposición de la materia orgánica y el ciclo de nutrientes. *Ecosistemas*, 18(2), 20-31. [bit.ly/45cV1Se](http://bit.ly/45cV1Se)
- Drăghici, G., Dehelean, C., Pinzaru, I., Bordean, D., Borozan, A., Tsatsakis, A., Kovatsi, L., & Nica, D. (2019). Soil copper uptake by land snails: A semi-field experiment with juvenile *Cantareus aspersus* snails. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 72, 103243-103251. <https://doi.org/10.1016/J.ETAP.2019.103243>
- Elias-Estremadoyro, D., & Iannacone, J. (2022). Impacto ecotoxicológico de tres plaguicidas sobre *Eisenia foetida* (lombriz roja californiana) en el cultivo de *Allium cepa* (cebolla) en el distrito de Lurín, Lima, Perú. *La Granja*, 35, 112-123. <https://doi.org/10.17163/lgr.n35.2022.09>

- Feijoo-Martinez, A., Peña-Venegas, P., & Zuluaga, L. (2020). Especies nuevas de lombrices de tierra (Oligochaeta: Rhinodrilidae) de la Amazonia Colombiana. *Revista mexicana de biodiversidad*, 91, 913085-913098 <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2020.91.3085>
- Fernández-Muzio, S., & Guggeri-Solaro, I. (2019). *Efecto de seis adyuvantes en el crecimiento, reproducción y comportamiento de Eisenia fétida* [Tesis de grado, Universidad de la República de Uruguay]. bit.ly/3OCmU0z
- Fleta, J. (2017). El caracol como alimento y como terapia. *Boletín de La Sociedad de Pediatría de Aragón. La Rioja y Soria*, 47(3), 67–72. bit.ly/3pTKsDO
- Fleta-Zaragozano, J. (2018). Enfermedades del caracol. El caracol como vector: esquistosomiasis. *Boletín La Sociedad de Pediatría de Aragón, La Rioja y Soria*, 48(1), 5–10. bit.ly/3oaL7QG
- Fontanillas, J. (2018). *Nuevas tendencias en el manejo de caracoles para una cría rentable*. Mundi Prensa. bit.ly/430XApn
- Fuentes, J. (2020). *La crianza de la lombriz roja*. Servicio de Extensión Agraria. bit.ly/3BCTMhY
- Galindo-Hurtado, F., & Bolaños-Colorado, A. (2017). *Higienización de residuo biológico (conchas de caracoles Melanoides tuberculata y Lymnaea columella) presente en la Planta de Abastecimiento de agua Potable del corregimiento El Vínculo Municipio de Buga (Valle del Cauca)* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Abierta y a Distancia]. <https://repository.unad.edu.co/handle/10596/13546>
- Giunta, S., Velasquez, E., Zutara, M., Rolando, J., & Cruz, L. (2019). Evaluación de sustratos orgánicos para la producción de lombriz de tierra (*Eisenia andrei*). *Difusiones Revista Digital*, 17(4), 6-13.
- Gomez, S., Rodriguez, J., & Farfan, M. (2020). *Estudio de viabilidad técnica para la producción de caracol Helix Aspersa en el Municipio de Silvia (Cauca)* [Tesis de post grado, Universidad Católica de Colombia]. bit.ly/3Mz7usm
- Gomot-De Vaufleury, A., & Pihan, F. (2000). Growing snails used as sentinels to evaluate terrestrial environment contamination by trace elements. *Chemosphere*, 40(3), 275–284. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00246-5](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00246-5)
- Gonzales, C., Vallarino, A., Perez, J., & Low, A. (2014). *Bioindicadores: Guardianes de nuestro futuro ambiental*. Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC). bit.ly/3M6Xaq4
- Grandez, G. (2020). *Revisión Sistemática: Efectos de los agroquímicos en la calidad de los suelos agrícolas usando Bioindicadores, 2020* [Tesis de pregrado, Universidad César Vallejo]. bit.ly/3BzpKvh
- Guanche, A. (2015). *Las lombrices y la agricultura*. Cabildo de Tenerife.

- bit.ly/4346OjX Guzmán, B., & Nakajima, E. (2020). *Lombriz californiana Eisenia fetida (Savigny, 1826) como bioindicador de la concentración letal 50 (CL50) de diferentes plaguicidas: una revisión* [Tesis de pregrado, Universidad Santo Tomás]. bit.ly/3OfadZf
- INACAL (2019). *Resolución Directoral N° 003-2019-INACAL/DN. Norma Técnica Peruana 900.058.2019. Códigos de colores para el almacenamiento de residuos sólidos*. 18 de marzo del 2019. D.O. El Peruano.
- Ishpilco, S., & Mendoza, E. (2021). *Eficacia del lombrifiltro (lombrices rojas californianas) en la degradación de la materia orgánica de las aguas residuales domésticas de Huambocancha Alta, Cajamarca* [Tesis de pregrado, Universidad Privada Antonio Guillermo Urrel]. bit.ly/3MaSjnT
- Limachi, E. (2018). *Evaluar el efecto de tres dosis de sustratos en la alimentación de la lombriz roja Californiana (Eisenia foetida) con estiércol bovino y aserrín descompuesto en sapecho Alto Beni* [Tesis de postgrado, Universidad Mayor de San Andrés]. <https://bit.ly/430em7i>
- Lopez-Correa, D. (2019). *Efecto de la alimentación con estiércol animal en la densidad poblacional, peso y longitud de las lombrices roja californiana (Eisenia foetida) en el distrito de Huacrachuco–Huanuco* [Tesis de posgrado, Universidad Nacional Hermilio Valdizan de Huanuco]. <https://hdl.handle.net/20.500.13080/5247>
- Louzon, M., Pauget, B., Gimbert, F., Morin-Crini, N., & De Vaufléury, A. (2020). *Ex situ* environmental risk assessment of polluted soils using threshold guide values for the land snail *Cantareus aspersus*. *Science of The Total Environment*, 721(15), 1-13. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2020.137789>
- Luna, G. & Mendoza, N. (2020). Condiciones ambientales y microorganismos adecuados para la obtención de humus de calidad y su efecto en el suelo agrícola. *Revista de Investigación: Ciencia, Tecnología y Desarrollo*, 6(1), 45-33. <https://doi.org/10.17162/rictd.v6i1.1405>
- Maldonado-Sanchez, C., Venegas-Barrera, C., Horta-Vega, J., Rodriguez-Castro, J., & Corra-Sandoval, A. (2022). Distribución geográfica de la familia de caracoles terrestres Spiraxidae (Gastropoda: Pulmonata) en México. *Revista de Biología Tropical*, 70(1), 190-212. <http://dx.doi.org/10.15517/rev.biol.trop.v70i1.47626>
- Mamani, W. (2016). *Producción de humus de lombriz roja californiana (Eisenia foetida) con alimentación de estiércoles de animales en el vivero forestal de la prelatura de corocoro en Patacamaya, Provincia Aroma, La Paz* [Tesis de posgrado, Universidad Mayor de San Andrés]. bit.ly/42IHRec
- Martínez, J. (2022). *Biodisponibilidad y bioaccesibilidad de metales y metaloides en la sierra minera de Cartagena-La Unión* [Tesis de postgrado, Universidad Politécnica

- de Cartagena]. <https://doi.org/10.31428/10317/11338>
- Martinez-Haro, M., Acevedo, P., Pais-Costa, A., Neto, J., Vieira, L., Ospina-Alvarez, N., Taggart, M., Guilhermino, L., Ribeiro, R., & Marques, J. (2022). Ecotoxicological tools in support of the aims of the European Water Framework Directive: A step towards a more holistic ecosystem-based approach. *Ecological Indicators*, *145*, 109645-109654. <https://doi.org/10.1016/J.ECOLIND.2022.109645>
- Mariet, A., Pauget, B., de Vaufleury, A., Bégeot, C., Walter-Simonnet, A.V., & Gimbert, F. (2017). Using bioindicators to assess the environmental risk of past mining activities in the Vosges Mountains (France). *Ecological Indicators*, *75*, 17–26. <https://doi.org/10.1016/J.ECOLIND.2016.11.042>
- Mleiki, A., El Menif, N., & Marigómez, I. (2020). Integrative assessment of the biological responses elicited by metal pollution in the green garden snail, *Cantareus aspertus*: Laboratory and field studies. *Ecological Indicators*, *117*, 106589-106600. <https://doi.org/10.1016/J.ECOLIND.2020.106589>
- Mullisaca, S. (2021). *Evaluación de la harina de lombriz (Eisenia foetida) bajo diferentes sustratos de alimentación en el Municipio de la Paz* [Tesis de pregrado, Universidad Mayor de San Andrés]. [bit.ly/4398lpd](https://bit.ly/4398lpd)
- Notten, M., Oosthoek, A., Rozema, J., & Aerts, R. (2005). Heavy metal concentrations in a soil–plant–snail food chain along a terrestrial soil pollution gradient. *Environmental Pollution*, *138*(1), 178-190. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.01.011>
- Ochoa, L. (2021). *Evaluación teoría del uso de harina de lombriz roja californiana (Eisenia foetida) en dietas para pollos de engorde en Cundinamarca* [Tesis de pregrado, Universidad de Cundinamarca]. [bit.ly/3pRikkF](https://bit.ly/3pRikkF)
- Organización Mundial de la Salud - OMS (2018). *Plomo*. Semana Internacional para prevenir la intoxicación por plomo. <https://www.paho.org/es/temas/plomo>
- Ospina, I. (2020). *Ficha Técnica Acetato de Plomo*. Distribuidora de Químicos Industriales S.A. [bit.ly/3InfaLU](https://bit.ly/3InfaLU)
- Ospina-Montero, A., & Moreno-Ospina, M. (2007). *Factibilidad para el desarrollo de un proyecto piloto para la cría de caracol terrestre comestible* [Tesis de pregrado, Universidad de la Salle]. [bit.ly/3ME9srC](https://bit.ly/3ME9srC)
- Pabón, R., Benitez, R., Sarria-Villa, A., & Gallo, J. (2020). Contaminación del agua por metales pesados, métodos de análisis y tecnologías de remoción. *Revista Entre Ciencia e Ingeniería*, *14*(27), 9-18.
- Palafox, A., Hernández-Romero, H., López-Luna, J., & Cuevas-Díaz, M. (2012). *Métodos ecotoxicológicos para la evaluación de suelos contaminados con hidrocarburos*. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT).

- Pantoja, B. (2021). *Efecto de los microorganismos eficientes y restos vegetales en la calidad de humus de lombrices rojas californiana (Eisenia foetida Sav.) en Huacrachuco, 2018* [Tesis de postgrado, Universidad Nacional Agraria de la Selva Escuela de Posgrado]. [bit.ly/42CW9wZ](https://bit.ly/42CW9wZ)
- Pérez, L., & Cáceres, L. (2022). Efectos de la cobertura vegetal en las características biológicas, físicas y químicas de los suelos degradados por minería aurífera en la comunidad nativa San Jacinto, Tambopata - Madre de Dios 2019 [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios]. [bit.ly/41QizVw](https://bit.ly/41QizVw)
- Perelló, A. (2012). *Plan de Negocio: Cría de Caracoles en Cautiverio* [Tesis de pregrado, Universidad del Aconcagua]. [bit.ly/42IILr6](https://bit.ly/42IILr6)
- Pragnya, M., Ajay, B., Kumar, S., & Byragi Reddy, T. (2021). Bioaccumulation of heavy metals in different trophic levels of aquatic ecosystems with fish as a bioindicator in Visakhapatnam, India. *Marine Pollution Bulletin*, 165, 112162-112170. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2021.112162>
- Reyes, Y., Vergara, I., Torres, O., Díaz, M., & González, E. (2016). Contaminación por metales pesados: implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. *Ingeniería, Investigación y Desarrollo*, 16(1), 66-77. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6096110>
- Rostrán, J. (2012). *Evaluación de abonos orgánicos y lombrices de tierra en muestras del depósito municipal de basura de la ciudad de León para su biorremediación a través de bioensayo* [Tesis de postgrado, Universidad Autónoma del Estado de México]. [bit.ly/41O4Nrk](https://bit.ly/41O4Nrk)
- Rueda-Toledo, V., Rojas-Peinado, D., Alfaro-Navarrete, D. & Rodríguez-Garcés, E. (2019). *Viabilidad técnica para implementar una empresa de Cría de caracoles comestibles en Cota Cundinamarca* [Tesis de grado, Fundación Universitaria Unipanamericana]. [bit.ly/41K7El6](https://bit.ly/41K7El6)
- Ruiz-Hernandez, A., Salamandra-Diaz, M., & Hurtado-Nery, L. (2016). Evaluación de dietas suministradas al caracol *Helix aspersa müller*. *Revista Sistemas de Producción Agroecológica*, 7(2), 15-29.
- Sargsyan, A., Hovhannisyan, G., Simonyan, A., Arakelyan, M., Arzumanyan, M., & Aroutiounian, R. (2022). Application of land snail *Helix lucorum* for evaluation of genotoxicity of soil pollution. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 878, 503500-503507. <https://doi.org/10.1016/J.MRGENTOX.2022.503500>
- Simpalo, M., & Vejarano, A. (2020). *Vermicompostaje como estrategia de reducción de metales pesados en lodos residuales*. [Tesis de pregrado, Universidad César Vallejo]. [bit.ly/436BFfT](https://bit.ly/436BFfT)

- Somarriba, R., & Guzmán, F. (2020). *Guía de Lombricultura*. Dirección de Investigación, Extensión y Postgrado (DIEP). [bit.ly/3MfqkDp](https://bit.ly/3MfqkDp)
- Sturba, L., Fattorini, N., Liberatori, G., Vannuccini, M., Nannoni, G., Protano, G., Tursi, A., & Corsi, L. (2020). Multi-model inference analysis of toxicological responses and levels of heavy metals in soft tissue of land snail *Cornu aspersum* caged in proximity to an industrial setting. *Ecological Indicators*, 117, 106688-106698. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106688>
- Tito, M. (2022). *Influencia del vermicompostaje en la recuperación de lodos residuales de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Santa Clara - Lima 2022* [Tesis de pregrado, Universidad Continental]. [bit.ly/3ImQva2](https://bit.ly/3ImQva2)
- Thompson, R., & Cheney, S. (2000). *Raising Snails*. National Agricultural Library. The Alternative Farming Systems Information Center. [bit.ly/3MBGHvm](https://bit.ly/3MBGHvm)
- Troya-Escobar, C. (2019). *Implantación de un sistema automatizado en los parques de crianza y engorde de caracol en el centro de experimentos y proyectos salache (ceypsa)* [Tesis de pregrado, Universidad Técnica Cotopaxi]. [bit.ly/4584Xwy](https://bit.ly/4584Xwy)
- Ulloa, M., Bustos, V., Neaman, A., & Gaete, H. (2018). Comportamiento de evasión y reproducción de la lombriz *Eisenia foetida* en suelos agrícolas impactados por actividades mineras. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 34(1), 52-55.
- Varun, D. (2020). Preliminary toxicity assessment of chromium (Cr) and lead (Pb) on terrestrial snail (*Helix aspersa*). *Archives of Agriculture and Environmental Science*, 5(1), 67-72. <https://doi.org/10.26832/24566632.2020.0501010>
- Vega, M. (2013). *Validación de métodos de ensayo y estimación de la incertidumbre de medida conforme a la norma ISO/IEC 17025* [Tesis de doctorado, Universidad de Valladolid]. [bit.ly/3pOwGfF](https://bit.ly/3pOwGfF)
- Vera, R. (2016). *Microbiología del caracol *Helix aspersa* Muller. Aplicaciones biotecnológicas para su mejoramiento sanitario con impacto en su comercialización* [Tesis de postgrado, Universidad Autónoma de Barcelona]. [bit.ly/3Ofcpjr](https://bit.ly/3Ofcpjr)
- Villavicencio-García, L. (2021). *Evaluación de la dinámica poblacional de la lombriz roja californiana (*Eisenia foetida* Sav.) mediante dos métodos de elaboración de humus en la granja experimental "La Pradera"* [Tesis de pregrado, Universidad del Norte del Ecuador]. [bit.ly/3OfcyU1](https://bit.ly/3OfcyU1)
- Wang, X., Gong, B., He, E., Peijnenburg, W., & Qiu, H. (2022). Subcellular localization and compartment-specific toxicokinetics of cadmium, arsenic, and zinc in brandling worm *Eisenia fetida*. *Chemosphere*, 308(3), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136482>

- Wang, Y. M., Zhang, H., Xiong, Y. T., Zhu, Q., Ding, Y., Zhao, S., Zhang, X., Uchimiya, M., & Yuan, Y. (2018). Leaf aging effects on copper and cadmium transfer along the lettuce-snail food chain. *Chemosphere*, *211*, 81–88. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.07.141>
- Zanor, G., López, M., Martínez, R., Ramírez, L., Gutiérrez, S., & León, M. (2018). Mejoramiento de las propiedades físicas y químicas de un suelo agrícola mezclado con lombricompostas de dos efluentes de biodigestor. *Ingeniería Investigación y Tecnología*, *19*(4), 1–10. <https://doi.org/10.22201/ifi.25940732e2018.19n4.036>