

EFFECTOS SUBLETALES DE LA LAMBDA-CIALOTRINA SOBRE *Eisenia fetida* (ANNELIDA, OLIGOCHAETA, LUMBRICIDAE)

TAMARA RICARDO¹; MARIA INÉS MAITRE^{1,2} & ALBA RUT RODRÍGUEZ^{1,2}

¹ Química Ambiental, FHUC, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina

² Grupo Medio Ambiente, INTEC (Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química); Universidad Nacional del Litoral, CONICET, Santa Fe, Argentina

Correo electrónico: mimaitre@santafe-conicet.gov.ar

Recibido: 09-10-09

Aceptado: 28-05-10

RESUMEN

El uso intensivo de agroquímicos provoca efectos dañinos sobre la fauna no blanco. Dentro de la misma, los oligoquetos contribuyen a mantener la estructura y fertilidad del suelo. La lambda-cialotrina es uno de los insecticidas piretroides más utilizados en la Argentina, pero son escasos los datos existentes acerca de su toxicidad sobre oligoquetos. Los objetivos de este trabajo fueron evaluar mediante bioensayos de toxicidad crónica los efectos de lambda-cialotrina (producto comercial al 5%) en *Eisenia fetida* sobre los parámetros de comportamiento, sobrevivencia, biomasa, reproducción y bioacumulación, así como la persistencia en suelo OECD de dicho tóxico. Los resultados muestran un comportamiento de huida intenso a partir de la concentración más baja, con un EC_{50} de $1,36 \text{ mg kg}^{-1}$ (95% C.L. 0,24 - 2,80). No se observaron efectos en sobrevivencia y alimentación. La reproducción fue afectada significativamente ($F= 11,94$, $P<0,05$). La producción y fertilidad de ootecas disminuyó a la vez que se prolongó el tiempo de incubación de las mismas respecto al control. El BAF osciló entre 0,005 y 0,08 en las distintas concentraciones y el tiempo de degradación total del tóxico en suelo fue de 86 días.

Palabras clave. Plaguicidas, edafofauna, toxicidad, bioensayos, insecticidas.

SUBLETHAL EFFECTS OF LAMBDA-CYHALOTHRIN ON *Eisenia fetida* (ANNELIDA, OLIGOCHAETA, LUMBRICIDAE)

ABSTRACT

The intensive use of agrochemicals has deleterious effects on non-target organisms. Among these organisms, earthworms are important because of their role in keeping the soil structure and fertility. Lambda-cyhalothrin is one of the most widely used pyrethroid insecticide in Argentina, but there are not enough studies of the effects of this pesticide on earthworms. The goals of this work were to perform chronic toxicity bioassays to determine the effects of commercial lambda-cyhalothrin (at 5%) on *Eisenia fetida*. The parameters of behaviour, survival, biomass, reproduction, bioaccumulation and the degradation time of lambda-cyhalothrin in an OECD standard soil were also estimated. Results showed a hard avoidance behaviour in the lowest lambda-cyhalothrin concentration with an EC_{50} of 1.36 mg kg^{-1} (95% C.L. 0.24-2.80). *Eisenia fetida* chronic test survival and feeding were not affected by lambda-cyhalothrin but negative effects on reproduction were significant ($P<0.05$). Cocoon production and fertility were reduced and incubation time was incremented. The BAF were between 0.005 and 0.08 in the test concentrations and the soil degradation of lambda-cyhalothrin was complete after 86 days.

Key words. Pesticides, soil fauna, toxicity, bioassays, insecticides.

INTRODUCCIÓN

La llegada de la «Revolución Verde» produjo un incremento mundial en el uso de plaguicidas para sostener cultivos intensivos. La actividad agrícola continua tiende a desmejorar la calidad del suelo y la aplicación repetida de plaguicidas puede traer efectos deletéreos para el ecosistema y la salud humana (Muthukaruppan *et al.*, 2005; Förster *et al.*, 2006; Casabé *et al.*, 2007).

Las lombrices de tierra (Annelida:Oligochaeta) se hallan entre los invertebrados más abundantes del suelo, representando un 92% de la biomasa de los mismos

(Belfroid, 1994; Yasmin & D'Souza, 2007). Las lombrices afectan directamente la persistencia de los plaguicidas en el suelo ya que pueden metabolizarlos en su intestino generando otros compuestos tóxicos; arrastrarlos hacia capas más profundas donde no pueden ser extraídos o bien absorberlos en sus tejidos, con la posibilidad de transferirlos a través de la red trófica (Muthukaruppan *et al.*, 2005; Yasmin & D'Souza, 2007).

El Cinturón Hortícola Santafesino tiene una superficie de 1.103 ha, siendo fumigado con lambda-cialotrina aproximadamente un 11% del total. Se aplica en el con-

trol de chinches e isocas en cultivos de acelga, espinaca, remolacha, achicoria, perejil, repollo, coliflor, brócoli, lechuga, chaucha, zapallito y pimiento, plagas de plantas y animales domésticos y en salud pública para el control de insectos vectores de enfermedades (NPTN, 2001; Ministerio de Salud de la Nación, 2007; García *et al.*, 2008; Arregui & Puricelli, 2008).

Para las lombrices se considera que dosis de lambda-cialotrina superiores a los 1.000 mg en suelo provocan una letalidad del 50% de la población (European Commission, 2001). Sin embargo, aún a bajas concentraciones, los piretroides resultan tóxicos para isópodos, milípedos y otros artrópodos no blanco (Wanner *et al.*, 2004; Jänsch *et al.*, 2005; Förster *et al.*, 2006; Frampton & van der Brink, 2006; Devotto *et al.*, 2007).

Los objetivos planteados en este trabajo fueron determinar efectos subletales del insecticida lambda-cialotrina comercial sobre *Eisenia fetida* (Oligochaeta: Lumbricidae), cuantificar la bioacumulación y determinar el tiempo de degradación de lambda-cialotrina en el suelo estudiado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lambda-Cialotrina

Para la realización de los bioensayos se utilizó lambda-cialotrina comercial Cilambda Ciagro[®] formulada al 5%. Para la determinación cromatográfica del insecticida en suelo y organismos se utilizó lambda-cialotrina al 98% mezcla de isómeros, Chem Service[®].

Condiciones analíticas

El análisis cromatográfico gaseoso se realizó en el Laboratorio de Cromatografía Gaseosa del INTEC a cargo de personal especializado. Se utilizó un equipo VARIAN 3400 con detector de captura electrónica y columna Megabore DB-5 (30 m x 0,53 mm I. D.). Las condiciones operativas fueron: inyector 240 °C, detector 320 °C y columna 220 °C. Las muestras sembradas se analizaron por triplicado con el fin de validar el método de trabajo determinando porcentaje de recuperación y límites de detección según Miller & Miller (1993).

Validación de los test

El diseño experimental está validado según la norma ISO 11268-1, 2: 1993 (E) y siguiendo el protocolo OECD, 1984.

Organismos de prueba

Los ejemplares adultos de *Eisenia fetida* fueron adquiridos en el Lumbriario «El Alemán» (Sa Pereyra, Santa Fe, Argentina) y colocados en cajones plásticos con suelo natural para su crianza donde se los alimentó semanalmente con restos orgáni-

cos vegetales (cáscaras de frutas, restos de verduras, yerba mate, borra de café).

Para los bioensayos se seleccionaron individuos adultos con clitelo bien desarrollado y peso de $2,72 \pm 0,15$ g (OECD, 1984; García, 2004). Se colocaron en grupos dentro de cajas plásticas con tapas perforadas y papel de filtro húmedo en el interior para que vacíen el intestino durante 48 horas.

Test de Huída

Las lombrices *E. fetida* se expusieron a una serie de cinco concentraciones de lambda-cialotrina calculadas en base al peso seco del suelo: 1,25; 7,5; 16,25; 32,5 y 65 mg kg⁻¹ d.w. Para cada concentración se utilizaron tres réplicas.

Debido a su baja solubilidad en agua (European Commission, 2001; FAO, 2003), la lambda-cialotrina se disolvió en hexano y una vez sembradas con el tóxico, las réplicas se colocaron ocho horas bajo campana hasta evaporar el solvente. Luego se agregó agua destilada para lograr un contenido de humedad del 25%.

Las cajas se dividieron en dos compartimentos por un separador removible, marcando exteriormente la posición del mismo (Loureiro *et al.*, 2005). En cada compartimento se colocaron 200 gramos de suelo OECD, uno de ellos sembrado con la concentración de tóxico correspondiente y el otro como control. Luego el separador fue removido y se colocaron diez ejemplares clitelados en la línea de división entre tratamiento y control. Los recipientes se cubrieron con tapas plásticas perforadas para permitir la ventilación y evitar la pérdida excesiva de humedad y se mantuvieron con fotoperíodo 16:8 h luz/oscuridad (intensidad 400-800 lux) y temperatura ambiente 20 ± 2 °C durante 48 horas (OECD, 1984).

Transcurridas las mismas se volvió a colocar el separador plástico en la posición marcada, se separaron las dos fracciones del suelo cuidadosamente y se contaron los individuos presentes en cada una. En caso de que se encontraran individuos muertos se considera que huyeron del tóxico, en tanto que para aquellos que fueran cortados por el separador, sólo se contabiliza la porción cefálica ubicada en la caja (García, 2004; Loureiro *et al.*, 2005; García *et al.*, 2008).

Para interpretar los resultados del test de huída se tuvo en cuenta la definición de «Función de Hábitat». Según ésta si se encuentra el 50% de los organismos en el suelo tratado se considera que no existe preferencia por determinado suelo. Cuando el porcentaje hallado en el suelo tratado es del 20% o menor, se considera que el suelo tiene un efecto sobre el comportamiento de los individuos y por lo tanto es tóxico o de baja calidad (Hund-Rinke *et al.*, 2003, citado en Hund-Rinke *et al.*, 2005).

La proporción de individuos que responden (huyen) se calcula según la ecuación (1):

$$A = \frac{N - 2 * T}{N} \quad (1)$$

donde *N* es el número de individuos por réplica; *T* es el número de individuos en el suelo tratado; *A* es la respuesta neta (valores de *A* negativos indican que no hay huída).

Bioensayo de toxicidad crónica

Las lombrices *E. fetida* se expusieron a una serie geométrica de cuatro concentraciones de lambda-cialotrina 1, 2, 4 y 8 mg kg⁻¹ d.w. y un control durante 56 días, dosis superiores a las recomendadas para la agricultura (Förster, 2006). Se prepararon cuatro réplicas por tratamiento.

Las réplicas (500 g de suelo OECD) se sembraron con el tóxico y se colocaron a evaporar el solvente bajo campana durante 24 horas. Se llevó al 50% de humedad colocando el volumen correspondiente de agua destilada, dejándolas reposar durante otras 24 horas. Finalmente, se colocaron en cada réplica diez ejemplares clitelados y pesados y cubrieron con tapa plástica perforada. Pasadas otras 24 horas se suministró 1,5 g de alimento (estiércol de vaca libre de orina secado al sol y finamente molido) por caja y se humedeció con 5 mL de agua destilada. A posteriori, la frecuencia de alimentación fue semanal (0,5 g caja⁻¹).

El fotoperíodo fue de 16:8 h luz /oscuridad (intensidad 400-800 lux) y la temperatura 20 ± 2 °C. Se evaluaron semanalmente cambios en la biomasa (peso vivo húmedo) por unidad experimental (grupos de 10 lombrices), producción de ootecas y número de juveniles eclosionados.

Las ootecas registradas se colocaron en cajas plásticas con tapas perforadas conteniendo 100 g de suelo OECD a la misma concentración de lambda-cialotrina correspondiente a cada tratamiento. Se realizó el mismo procedimiento para los juveniles eclosionados durante el bioensayo. El recuento de juveniles se extendió durante 9 semanas debido a que la eclosión de los mismos se produce entre los 14 y 21 días de depositada la ooteca (Toccalino *et al.*, 2004).

Los individuos sobrevivientes se sometieron a 48 horas de ayuno para el vaciado intestinal. Luego se colocaron en bolsas herméticas rotuladas según el tratamiento y congelaron para finalmente ser derivados al laboratorio de Cromatografía Gaseosa para cuantificación del plaguicida acumulado.

El factor de bioacumulación se determinó utilizando la ecuación (2):

$$BAF = \frac{C_b}{C_s} \quad (2)$$

donde C_b es la concentración del tóxico en la biota (mg kg⁻¹) y C_s es la concentración de tóxico en el suelo (mg kg⁻¹).

Degradación de Lambda-Cialotrina en Suelo OECD

Se tomaron muestras de suelos correspondientes a tres concentraciones 2, 4 y 8 mg kg⁻¹ d.w. al inicio del ensayo, a los 56 días (finalización del crónico) y a los 86 días para su análisis cromatográfico. Las muestras de 10 gramos secadas a temperatura ambiente, se extrajeron dos veces con solvente adecuado, con posterior clean-up, concentración y cromatografía.

Análisis estadístico

Para Test de Huída se utilizó test de ANOVA y test Probit; para el Bioensayo Crónico, ANOVA y Test de Comparación Múltiple de Dunnett ($P \leq 0,05$). Se utilizaron los programas SPSS 11.5 y Origin Pro 8 para calcular los distintos estadísticos. Para la realización de las gráficas correspondientes se utilizó Origin Pro 8.

RESULTADOS

Validación de los test

La metodología de trabajo se validó según la normativa ISO 11268-1:1993 (E), utilizando cloroacetamida como contaminante de referencia y la especie estándar *E. fetida*. El valor obtenido LC₅₀ 41 ppm está contemplado en el rango propuesto por dicha normativa (Rodríguez *et al.*, 2004).

Test de Huída

No se registró mortalidad en los individuos de los tratamientos T₁, T₂, T₃ y T₄ correspondientes a las concentraciones de 1,25; 7,5; 16,25 y 32,5 mg kg⁻¹ d.w. En T₅ (65 mg kg⁻¹) la mortalidad se mantuvo por debajo del 10%. Se observó una respuesta de huída estadísticamente significativa ($F=21,35$, $P<0,05$) a bajas concentraciones (la Fig. 1 indica únicamente el porcentaje de huída calculado según la ecuación 1). El EC₅₀ fue de 1,36 mg kg⁻¹ y sus límites de confianza 0,24-2,80 mg kg⁻¹ para las concentraciones de lambda-cialotrina testeadas.

Bioensayo de Toxicidad Crónica

La supervivencia fue del 100% en el control y los tratamientos T₂, T₃ y T₄. La mortalidad se mantuvo por debajo del 10% en T₁ (1 mg kg⁻¹). No se observaron diferencias estadísticamente significativas ($F=2,37$, $P>0,05$) en el peso de los individuos del grupo control y los tratamientos. El mayor aumento de peso (49,68%) correspondió al grupo control. En los tratamientos el aumento osciló entre el 34 y 40% (Tabla 1).

Todos los individuos del grupo control presentaron clitelos bien desarrollados al final del estudio, mientras que en los tratamientos (1, 2, 4 y 8 mg kg⁻¹ d.w.) se registró pérdida del clitelo en algunos individuos. A partir de la primera semana se observó pérdida del clitelo en los individuos expuestos al tóxico, tendencia que comenzó a disminuir a partir de la séptima semana (Fig. 2). Los individuos del control permanecieron clitelados durante todo el desarrollo del bioensayo.

La producción de ootecas fue significativamente menor en todas las concentraciones testeadas ($F=11,95$, $P<0,05$) respecto al control, aunque entre ellas no hubo diferencias significativas. Tanto en el control como en T₁ (1 mg kg⁻¹ d.w.) las ootecas eclosionaron luego de 21 días, en T₂ y T₃ (2 y 4 mg kg⁻¹ d.w.) demoraron 28 días y en T₄ (8 mg kg⁻¹ d.w.) el tiempo de incubación fue de 35 días. La producción de juveniles en el grupo control fue mayor que en los tratamientos (Fig. 3).

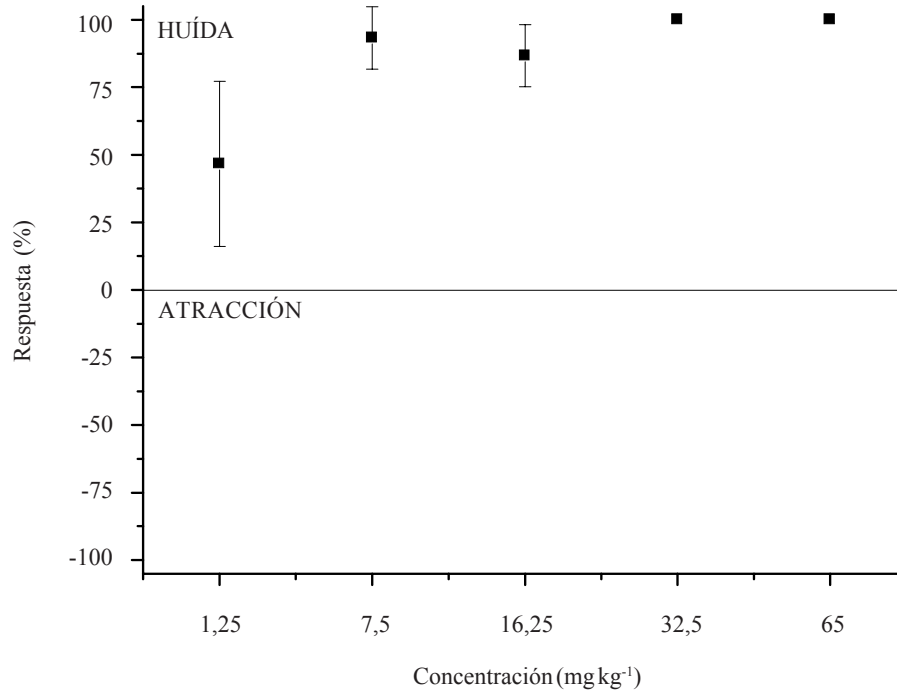


Figura 1. Respuesta de huída de *E. fetida* a concentraciones de lambda-cialotrtrina en suelo OECD (respuesta neta media y barras de error estándar).

Figure 1. Avoidance response of *E. fetida* exposed to lambda-cyhalothrin concentrations in OECD soil (median net response and standard deviation bars).

Tabla 1. Toxicidad crónica de la lambda-cialotrtrina sobre *E. fetida* en suelo OECD. Resumen de los resultados para reproducción, supervivencia y biomasa.

Table 1. Chronic toxicity of lambda-cyhalothrin on *E. fetida* using OECD soil. Summary of the results for reproduction, survival and biomass.

Concentración (mg kg ⁻¹)	Juveniles	% de juv.	Juv./Oot.	Mort. adultos (%)	Biom. día 0	Biom. día 56
0	150	100	0,91	0	2,74	4,10
1	7	4,67	0,24	2,5	2,78	3,90
2	13	8,67	0,39	0	2,77	3,80
4	11	7,33	0,28	0	2,68	3,71
8	8	5,33	0,33	0	2,65	3,56

A partir de los datos, el valor LOEC para reproducción es de 1 mg kg⁻¹ y al ser ésta la menor concentración utilizada en este trabajo no se pudo determinar el valor NOEC. La Tabla 1 resume los resultados del Bioensayo de Toxicidad Crónica.

La Figura 4 muestra la estimación puntual de acumulación al final del bioensayo. Se observó una correlación

positiva entre cantidad de tóxico acumulado en los tejidos de lombriz respecto de las concentraciones ensayadas, la cual se puede expresar gráficamente por medio de una función lineal. Los factores de bioacumulación (BAF) calculados a partir de los datos anteriores fueron 0,0076; 0,0056 y 0,0845 para las concentraciones 2, 4 y 8 mg kg⁻¹ d.w., respectivamente.

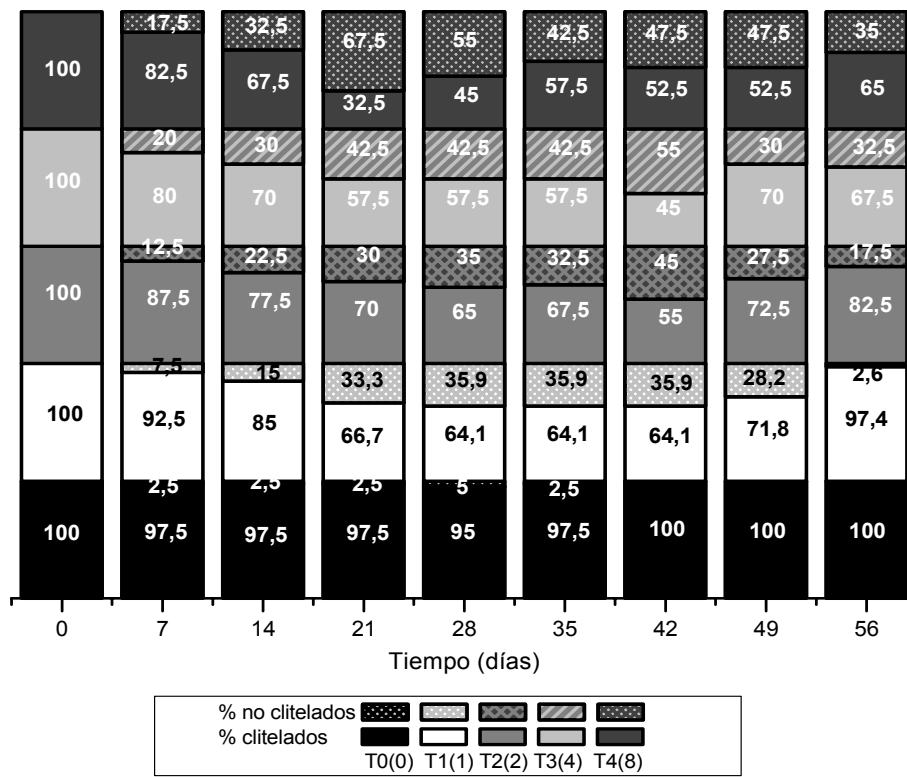


Figura 2. Porcentaje de individuos de *E. fetida* clitelados y no clitelados durante el bioensayo crónico. Entre paréntesis se expresan las concentraciones de lambda-cialotrina en mg kg^{-1} .

Figure 2. Percentage of clitellate and non-clitellates individuals of *E. fetida* during the chronic bioassay. The concentrations of lambda-cyhalothrin in mg kg^{-1} are in brackets.

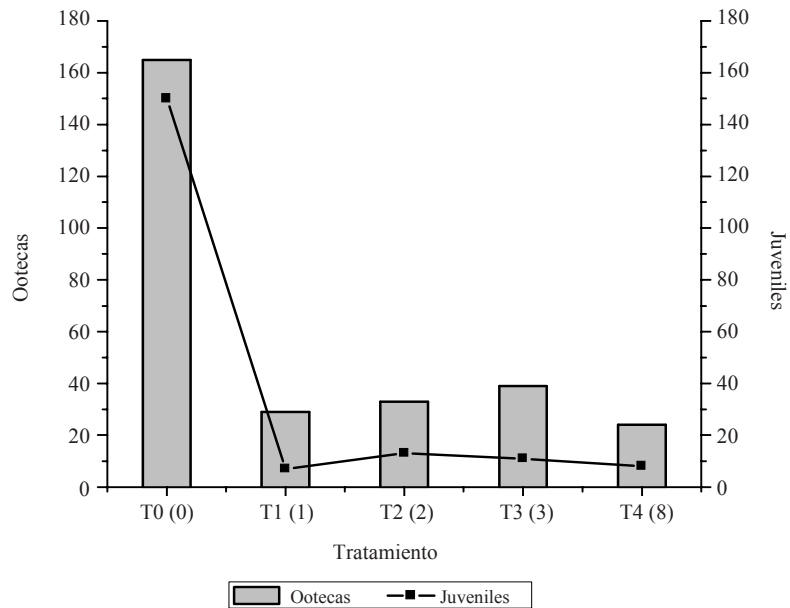


Figura 3. Producción de ootecas y juveniles. Entre paréntesis se expresan las concentraciones de lambda-cialotrina en mg kg^{-1} .

Figure 3. Production of cocoons and juveniles. The concentrations of lambda-cyhalothrin as mg kg^{-1} are in brackets.

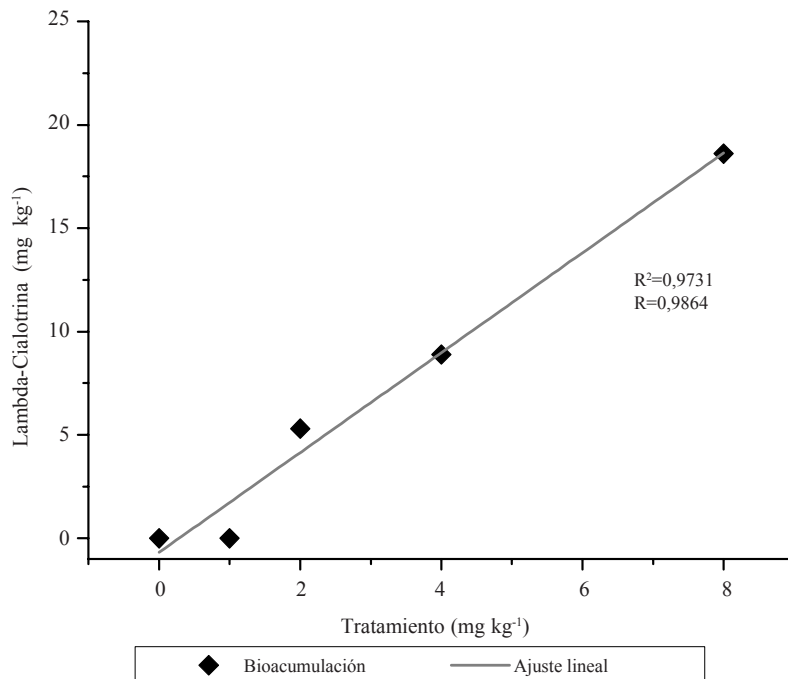


Figura 4. Bioacumulación de lambda-cialotrina en *E. fetida* al final de la experiencia (ajuste lineal de los puntos experimentales).

Figure 4. Bioaccumulation of lambda-cyhalothrin in *E. fetida* at the end of the bioassay (linear fit of experimental points).

Degradación de Lambda-Cialotrina en suelo

Se analizaron residuos de lambda-cialotrina a los 0, 56 (inicio y fin del ensayo crónico) y 86 días en muestras de suelos sembradas a las concentraciones 2, 4 y 8 mg kg⁻¹d.w. A los 86 días la degradación de lambda-cialotrina fue del 99% (Tabla 2).

DISCUSIÓN

De acuerdo con Schaefer (2003), la migración de lombrices lleva a una degradación de la calidad del suelo. Además la pérdida de oligoquetos en un área determinada puede afectar el número y la distribución de sus predadores vertebrados.

Según Schaefer (2003), García (2004) y Loureiro *et al.* (2005), los Test de Huída proporcionan más información en cuanto a la dinámica poblacional en comparación con los bioensayos agudos tradicionales ya que la gran cantidad de quimiorreceptores presentes en los segmentos corporales de los oligoquetos, junto con sus hábitos locomotores les confieren una gran sensibilidad a los tóxicos.

Los datos experimentales muestran que de las cinco concentraciones testeadas sólo la concentración 1,25 mg kg⁻¹ se halla por debajo del umbral. En las restantes concentraciones (7,5; 16,25; 32,5 y 65 mg kg⁻¹) sólo un 20% o menos de los individuos permanecen en el suelo contaminado, indicando que el mismo es poco favorable para la vida de las lombrices de tierra.

Tabla 2. Degradación en suelo de la lambda-cialotrina. Entre paréntesis se indica el porcentaje.

Table 2. Soil degradation of lambda-cyhalothrin. The percentages are indicated in brackets.

Tratamiento mg kg ⁻¹	Conc. día 0 mg kg ⁻¹	Conc. día 56 mg kg ⁻¹	Conc. día 86 mg kg ⁻¹
T ₂	2 (100%)	0,7 (35%)	0,062 (0,31%)
T ₃	4 (100%)	1,6 (40%)	0,007 (0,19%)
T ₄	8 (100%)	2,2 (27,5%)	0,016 (0,20%)

El EC_{50} obtenido fue de $1,36 \text{ mg kg}^{-1}$ ($P < 0,05$), lo que significa que dicho tóxico es detectado fácilmente por los órganos sensoriales de las lombrices aún a concentraciones muy bajas, coincidiendo con lo hallado en bibliografía (García, 2004; García *et al.*, 2008).

Los oligoquetos son capaces de sobrevivir la exposición crónica a un plaguicida reduciendo la energía necesaria para otros procesos vitales como la alimentación (Stromborg, 1986, citado en Espinoza-Navarro & Bustos-Obregón, 2004), provocando disminución en la biomasa (Bauer & Römbke, 1997; Muthukaruppan *et al.*, 2005; Ávila *et al.*, 2007; Yasmin & D'Souza, 2007). En nuestra experiencia no se hallaron diferencias significativas de biomasa entre control y tratamientos, por lo que se deduce que la lambda-cialotrina no afecta la ingestión/asimilación.

La fecundidad de las lombrices es sensible a los plaguicidas, provocando a largo plazo una declinación en las poblaciones (Yasmin & D'Souza, 2007). En los tratamientos expuestos a lambda-cialotrina se observó pérdida del clítel y producción reducida de ootecas, además a partir de los 2 mg kg^{-1} se produjo un incremento en el tiempo de incubación y una disminución en la cantidad de juveniles eclosionados. Se corrobora así el efecto tóxico de la lambda cialotrina sobre la fecundidad de estos oligoquetos. Con respecto al número de juveniles, cuando la cantidad de los mismos en el suelo tratado es inferior al 50% de los producidos en el control, la función de hábitat del suelo es negativa para los mismos (Hund-Rinke *et al.*, 2005), lo cual se pudo observar en la experiencia realizada.

En investigaciones realizadas con *Aporrectodea caliginosa nocturna* (Schreck *et al.*, 2008) no pudo determinarse bioacumulación de lambda-cialotrina a concentraciones utilizadas en campo ($0,011$ y $0,021 \text{ mg kg}^{-1}$). Sin embargo en este trabajo se logró detectar dicho tóxico en los tejidos de *E. fetida* aunque a bajos valores a las concentraciones 2, 4 y 8 mg kg^{-1} .

Degradación de Lambda-Cialotrina en suelo

La lambda-cialotrina tiene una persistencia en suelo de 4 a 12 semanas, con un valor de vida media promedio de 30 días para la mayoría de los suelos (European Commission, 2001). El presente estudio coincide con el tiempo de degradación estipulado de 86 días con un 99,7% de degradación del compuesto.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. CA Strumn, quien proveyó los organismos de ensayo; a la Ing. F Marino y a la Lic. P de la Sierra por las determinaciones

cromatográficas; al Dr. P Bolcatto por el asesoramiento estadístico e interpretación de los datos.

REFERENCIAS

- Arregui, MC & C Puricelli. 2008. «Mecanismo de acción de plaguicidas». Dow Agrosiences. *Acquatint (ed.)*: 208 pp.
- Ávila, G; H Gaete; M Morales & A Neaman. 2007. Reproducción de *Eisenia foetida* en suelos agrícolas de áreas mineras contaminadas por cobre y arsénico. *Pesq. agropec. bras, Brasília*, 42(3): 435-441.
- Bauer, C & J Römbke. 1997. Factors Influencing the Toxicity of Two Pesticides on Three Lumbricid Species in Laboratory Tests. *Soil Biol. Biochem.* 29(3,4): 705-708.
- Belfroid, AC. 1994. Toxicokinetics of hydrophobic chemicals in earthworms. Validation of the equilibrium partitioning theory. Ph.D. Thesis. Utrecht University, The Netherlands.
- Casabé, N; L Piola; J Fuchs; ML Oneto; L Pamparato; S Basack; R Giménez; R Massaro; JC. Papa & E Kesten. 2007. Ecotoxicological Assessment of the Effects of Glyphosate and Chlorpyrifos in an Argentine Soya Field. *J. Soil Sci.* (7 4): 232-239.
- Devotto, L; R Carrillo; E Cisternas & M Gerding. 2007. Effects of lambda-cyhalothrin and *Beauveria bassiana* spores on abundance of Chilean soil surface predators, especially spiders and carabid beetles. *Pedobiologia* 51: 65-73.
- European Commission. Directorate-General Health & Consumer Protection. 2001. Review report for the active substance lambda-cyhalothrin.
- FAO Specifications and Evaluations for Agricultural Pesticides (2003). LAMBDA-CYHALOTHRIN.
- Framptom, GK & PJ van der Brink. 2007. Collembola and macroarthropod community responses to carbamate, organophosphate and synthetic pyrethroid insecticides: Direct and indirect effects. *Environ. Pollut.* 147: 14-25.
- Förster, B; M García; O Francimari & J Römbke. 2006. Effects of carbendazim and lambda-cyhalothrin on soil invertebrates and leaf litter decomposition in semi-field and field tests under tropical conditions (Amazônia, Brazil). *EJSOBI*. 42(1): 171-179.
- García, M. 2004. Effects of pesticides on soil fauna: Development of ecotoxicological test methods for tropical regions. Ecology and Development Series N° 19, Zentrum für Entwicklungsforschung, Universität Bonn: 281 pp.
- García, M; J Römbke; M Torres de Brito & A Scheffczyk. 2008. Effects of three pesticides on the avoidance behavior of earthworms in laboratory tests performed under temperate and tropical conditions. *Environ. Pollut.* 153(2): 450-456.
- Hund-Rinke, K; R Achazi; J Römbke & D Warnecke. 2003. Avoidance Test with *Eisenia fetida* as Indicator for the Habitat Function of Soils: Results of a Laboratory Comparison Test. Citado en Hund-Rinke, K; M Lindemann; M Simon. 2005. Experiences with Novel Approaches in Earthworm Testing Alternatives. *J Soils & Sediments* 5(4): 233-239.

- ISO: International Organization for Standardization. 1993. Soil quality. Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*). Geneve, Switzerland.
- Jänsch, S; M García & J Römbke. 2005. Acute and chronic isopod testing using tropical *Porcellionides pruinosus* and three model pesticides. *European J. Soil Biol.* 41: 143-152.
- Loureiro, S; AMV Soares & AJA Nogueira. 2005. Terrestrial avoidance behaviour tests as screening tool to assess soil contamination. *Environmental Pollution* 138: 121-131.
- Miller, JC & JN Miller. 1993. Estadística para Química Analítica. 2ª Ed. Addison Wesley Iberoamericana, Argentina. 211 pp.
- Ministerio de Salud de la Nación; Asociación Argentina Médicos por el Medio Ambiente, Organización Panamericana de la Salud; Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable. 2007. «La problemática de los Agroquímicos y sus Envases, su Incidencia en la Salud de los Trabajadores, la Población Expuesta y el Ambiente». 255 pp.
- Muthukaruppan, G; S Janardhanan & GS Vijayalakshmi. 2005. Sublethal Toxicity of the Herbicide Butachlor on the Earthworm *Perionyx sansibaricus* and its Histological Changes. *JSS* 5(2): 82-86
- NPTN: National Pesticide Telecommunications Network. 2001. Lambda-cyhalothrin General Fact Sheet. Disponible en <http://npic.orst.edu/>.
- OECD: Organisation for Economic Cooperation and Development. 1984. OECD Guideline for Testing of Chemicals No. 207. Earthworm Acute Toxicity Test. Paris.
- Rodríguez, AR; AL Lenardón; MI Maitre; S Enrique; P de la Sierra & F Marino. 2004. Efectos letales del endosulfán en oligoquetos terrestres en condiciones experimentales de laboratorio. Resúmenes XIX Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo.
- Schaefer, M. 2003. Behavioural Endpoints in Earthworm Ecotoxicology. Evaluation of Different Test Systems in Soil Toxicity assesment. *J Soils & Sediments* 3(2): 79-84.
- Schreck, E; F Geret; L Gontier & M Treilhou. 2008. Neurotoxic effect and metabolic responses induced by a mixture of six pesticides on the earthworm *Aporrectodea caliginosa* nocturna. *Chemosphere* 71: 1832-1839.
- Stromborg, K. 1986. Reproductive toxicity of monocrotophos tobobwhite quail. *Poultry Sci.* 65. Citado en Espinoza-Navarro, O; E Bustos-Obregón. 2004. Sublethal doses of malathion alter male reproductive parameters of *Eisenia foetida*. *Int. J. Morphol.* 22(4): 297-302.
- Toccalino, PA; MC Agüero; CA Serebrinsky & JP Roux. 2004. Comportamiento reproductivo de lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*) según estación del año y tipo de alimentación. *Rev. Vet* 15(2).
- Wanner, M; C Wiesener; L Otto, WER Xylander. 2004. Short-term effects of a nun moth suppression programme (*Lymantria monacha*), (Lepidoptera: Lymantriidae) on epigeic non-target arthropods. *Journal of Pest Science* 78(1): 7-11.
- Yasmin, S & DD'Souza. 2007. Effect of Pesticides on the Reproductive Output of *Eisenia. fetida*. *Bull Environ Contam Toxicol* 79: 529-532.