



Palabras clave: *Eisenia fetida*, cromo, bioacumulación

Key words: *Eisenia fetida*, chromium, bioaccumulation

Efecto del cromo en *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) (Oligochaeta: Lumbricidae): toxicidad y bioacumulación

Alba Rut Rodríguez(*), Mercedes Marchese
(**), y Nora Ojea(*)

(*) Facultad de Humanidades y Ciencias. UNL
Ciudad Universitaria. (3000) Santa Fe.
(**) Instituto Nacional de Limnología (INALI-
CONICET-UNL). José Maciá 1933. (3016)
Santo Tomé (Santa Fe)
e-mail: albarod@infovia.com.ar
mrmarchese@arnet.com.ar

RESUMEN

Eisenia fetida (Savigny, 1826) (Oligochaeta; Lumbricidae) al presentar una alta tasa de ingestión-egestión constituye una alternativa de recuperación de suelos y/o reducción de sus niveles de contaminación. El objetivo es conocer la capacidad de *E. fetida* en la bioacumulación de cromo presente en compost. Se realizaron tests de toxicidad aguda (LC_{50} 96h) y crónica (de 28 y 56 días) en compost tratado con distintas concentraciones de cromo. Los puntos finales analizados fueron supervivencia, crecimiento y reproducción. La determinación de cromo en tejido de lombrices se realizó por incineración vía seca y espectrofotómetro de aire-acetileno (según Cicco, 1998). El LC_{50} 96h obtenido fue de $638 \mu\text{gCr.g}^{-1}\text{dw}$ compost. Se encontraron diferencias significativas ($F=5,71$ $p=0,005$) en el crecimiento de juveniles (28 días) y con adultos (56 días) hubo pérdida de biomasa en todos los tratamientos incluso los controles, no registrándose diferencias significativas ($F=4,97$ $p=0,09$). Se obtuvieron ootecas en todos los ensayos con menor eclosión de juveniles a la máxima concentración ($450 \mu\text{gCr.g}^{-1}\text{dw}$ compost). La acumulación de cromo en *E. fetida* fue de 0,82 a 6,77 ppm, proporcional a las concentraciones de exposición, calculándose los valores $BAF_{56\text{días}}$ correspondientes.

ABSTRACT

Effect of Chromium on Eisenia fetida (Savigny, 1826) (Oligochaeta: Lumbricidae): Toxicity and Bioaccumulation.

The earthworm *Eisenia fetida* (Oligochaeta. Lumbricidae) is an alternative useful tool in biorremediation of contaminated effluents or soils because the high rate of ingestion-egestion. The objective of this work is to know the *E. fetida* capability for bioaccumulation of chromium using contaminated compost. The acute toxicity test was carried out, and the LC_{50} 96h obtained was $638 \mu\text{gCr.g}^{-1}\text{dw}$ compost. Two geometric concentrations series were established for the chronic toxicity tests: one for adult clitellate earthworm (56 days-bioassay) and the other using 15 days age juveniles (28 days growth-bioassay). Survival, growth, reproduction and accumulation of chromium in earthworm tissue were analysed. The tissue samples were performed by dry-incineration way; chromium was determined by flame atomic absorption spectrophotometry using an air-acetylene flame (according to Cicco, 1998). The survival was 100% in both chronic toxicity tests (adult and juveniles). Significant difference in growth among controls and the other treatments ($F=5,71$ $p=0,005$) were obtained in the chronic toxicity test (28 days). The weight of earthworms decreased in all treatments (including the controls) during the test (56 days). There was productions of cocoons in the treatments but their viability was lowest in the maximum chromium concentrations ($450 \mu\text{gCr.g}^{-1}\text{dw}$ compost). The uptake of chromium in earthworm tissue were determinates at day 56 in all the treatments. The values found were proportional to the respective concentrations and the highest was $6.77 \mu\text{gCr.g}^{-1}\text{dw}$ earthworm tissue. The $BAF_{56\text{days}}$ values were calculated.



INTRODUCCION

La contaminación de los suelos con metales es uno de los problemas que más preocupa al hombre y es una consecuencia directa del impacto sobre el ambiente que ejercen aquellas industrias que utilizan compuestos químicos metálicos altamente tóxicos; entre ellas se encuentran las fábricas de pinturas, pigmentos, vidrio y cemento o las que realizan tratamientos de galvanoplastia, curtido de cueros y pieles, etc. Afectan al ecosistema con los efluentes, residuos sólidos y/o lodos resultantes que contaminan los sitios donde se descargan llegando a alterar la calidad del agua subterránea y el suelo circundante, con el consecuente perjuicio para la biota y la salud humana.

Como resultado de la acción antrópica, el contenido de metales pesados en el ambiente ha aumentado considerablemente con respecto a los niveles promedio aceptados para cada región (Duffus, 1983). Así el cromo es uno de los metales pesados que se presenta en la naturaleza con distintos valores de concentración y estados de oxidación (desde Cr^{2+} a Cr^{6+}) siendo el Cr^{3+} y el Cr^{6+} los de mayor impacto biológico para todos los seres vivos incluso el hombre (Nakayasu et al., 1999).

En el ambiente edáfico la relación toxicidad-disponibilidad del metal está estrechamente relacionada con la composición del suelo (textura y porcentaje de materia orgánica), sus propiedades físico-químicas (temperatura, pH y salinidad, potencial redox, capacidad de intercambio iónico) y las características morfofisiológicas de los organismos que viven en él. La exposición al metal, depende, entonces no sólo de la concentración total sino también de la relación que se establece entre las fases -sólida y líquida- del suelo y la biota, teniendo en cuenta, los conceptos de especiación y biodisponibilidad (Plette et al., 1999).

Nederlof et al., 1995 han demostrado que la absorción del ión metal es el resultado de la interacción entre: la materia orgánica, la inorgánica (arcilla) y el organismo presentes en el suelo. En tal sentido, la bioacumulación es el incremento de la concentración del metal en el individuo -respecto a la del medio que lo rodea- no sólo a través de la superficie corporal en contacto con la solución del suelo (bioconcentración) sino también la que ocurre por la ingestión de alimento, de agua o de partículas, mecanismos dependientes de su naturaleza y comportamiento

(Egeler y Röembke, 1999).

Con respecto a la vía de incorporación por ingestión de alimento, adquiere importancia el concepto de biomagnificación definido como la tendencia de un químico a acumularse en concentraciones cada vez más elevadas en función del nivel trófico que ocupa el animal en la cadena alimentaria (Egeler y Röembke, op. cit.).

Los oligoquetos terrestres son responsables, en gran medida, del mantenimiento de la estructura y fertilidad del suelo, porque facilitan los procesos de drenaje y aireación, intervienen en la degradación e incorporación de la materia orgánica y viven en estrecha relación con el mantillo, raíces de las plantas, otros invertebrados y microorganismos, desempeñando así una función importante en el reciclado de nutrientes, ya que acumulan una gran cantidad de compuestos orgánicos e inorgánicos. Por otra parte, constituyen una fuente de alimento para un amplio espectro de organismos: mamíferos, aves, reptiles, anfibios, insectos, centípedos, etc. (Lee, 1985). De este modo, los tests de toxicidad en suelo y de bioacumulación con lombrices, constituyen una herramienta muy útil e importante para la toma de decisiones respecto de la necesidad de recuperar los ambientes terrestres contaminados.

Por otra parte, las lombrices han sido estudiadas en función de su capacidad de acelerar la descomposición de la materia orgánica (Tian et al., 1995 y 1997) por lo que el interés en su utilización para el procesamiento de residuos se ha ido incrementando en los últimos años. En un intento por corregir la grave situación ambiental se presenta a la lombriz *E. fetida* como una alternativa de recuperación y/o reducción de los niveles de contaminación de los suelos. Los resultados obtenidos en el tratamiento de residuos urbanos y animales (Edwards et al., 1998); agrícolas (Amoji et al., 1998); de cervecías (Butt, 1993); de las industrias de papel (Elvira et al., 1997), como así también lodos cloacales (Benítez et al., 1999); demuestran que este organismo ejerce una amplia y eficaz acción descontaminante puesto que es una especie epigénesca adaptada a vivir en sustratos poluidos. Es una especie que tiene una alta tasa de ingestión-defecación y, como resultado de esta acción digestiva, origina por una parte, humus de lombriz o lombricompost con distintos niveles de contaminación, dependiente de la naturaleza tóxica del residuo, y por otra, incorpora en sus tejidos parte de lo ingerido (bioacumulación).

Por lo expuesto, surge el propósito de conocer su respuesta a la toxicidad y su capacidad de



acumulación de cromo, cuyos efectos tóxicos sobre los sistemas biológicos y, en particular en el hombre, son conocidos (USPHS, 1997).

Establecer si es un eficaz bioacumulador de cromo fue la hipótesis planteada y para contrastarla se formularon los siguientes objetivos:

Realizar bioensayos de toxicidad aguda y crónica en compost contaminado con cromo y determinar su bioacumulación en *E. fetida*.

MATERIAL Y METODOS

Reparación del material

Se llevaron a cabo tests de toxicidad aguda en adultos, crónica en adultos y juveniles, y de bioacumulación en adultos utilizando ejemplares de *E. fetida* y compost proveniente de los residuos vegetales de cosecha de algodón.

El compost orgánico y los ejemplares adultos de *E. fetida* se obtuvieron de la planta de compostaje WORMS'RE US Santa Fe SRL Ruta 19 km 3,7 Santo Tomé. El compost fue secado durante 48h a 70°C y distribuido por pesos iguales en cajas plásticas transparentes con tapas de 15 x 10 x 5,5 cm. Se mantuvo a pH óptimo (6,8-7,2), controlado semanalmente y a humedad constante (60-70%) pulverizando con agua destilada cuando fuera necesario. Se prepararon soluciones con agua destilada y bicromato de potasio a las concentraciones predeterminadas del tóxico, para cada test y con el tenor de humedad preestablecido. El mismo volumen de agua destilada se colocó en las cajas control (T_0).

Se mantuvo la temperatura en valores $20 \pm 2^\circ\text{C}$ y luz constante (24h) durante el transcurso de la experiencia (150W = 800 lux). Los ejemplares fueron mantenidos durante 7 días en el laboratorio bajo estas condiciones en el compost orgánico a ser utilizado en la experiencia, para la aclimatación de las lombrices y evitar efectos estresantes. El peso promedio de los individuos adultos osciló entre 0,4 - 0,5 g, registrado con balanza BOECO (0,001 g de precisión). Los ejemplares juveniles fueron obtenidos en laboratorio a partir de ootecas seleccionadas provenientes de los adultos mantenidos en las mismas condiciones descriptas anteriormente.

Los análisis de compost y humus se llevaron a cabo utilizando las técnicas propuestas por la Dirección General de Extensión e Investigaciones

Agropecuarias, 1981 y la AOAC, 1995 y extracción con EDTA. Los análisis de tejido de lombriz fueron realizados según Cicco, 1998, preparándose la muestra por incineración (vía seca) y determinación de cromo con un espectrofotómetro de llama (aire-acetileno).

Tests de toxicidad aguda, crónica y bioacumulación en adultos

El test de toxicidad aguda se realizó con el fin de determinar la concentración a utilizar para la evaluación posterior de los efectos subletales. La lombriz *E. fetida* fue expuesta a 4 series geométricas de cromo expresadas como microgramos de cromo por gramo de peso seco de compost = $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{d}$ w compost: 0 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (T_0); 600 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (T_1); 1200 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (T_2); 2400 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (T_3); 4800 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (T_4) durante 96 h. Se prepararon 4 réplicas por tratamiento de 150 g de compost al 60% de humedad. Transcurridas 24 h para lograr una integración homogénea entre el sustrato y la solución, fueron colocados 10 ejemplares adultos clitelados y pesados de *E. fetida* en cada caja cubierta con papel film con 10-12 perforaciones pequeñas para permitir la ventilación y evitar la excesiva pérdida de humedad. Los datos obtenidos fueron tratados por análisis PROBIT obteniéndose el valor LC_{50} a 24, 48, 72 y 96 h. La mortalidad fue determinada por la pérdida de respuesta a un estímulo mecánico (roce suave de la superficie corporal con un pincel de cerda fina).

Los tests de toxicidad crónica y bioacumulación en adultos se realizaron simultáneamente utilizando los mismos ejemplares, expuestos a las siguientes concentraciones de cromo: 0 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (T_0); 56 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (T_1); 112,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (T_2); 225 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (T_3); 450 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (T_4) por un período de 56 días para obtener información sobre la acumulación del tóxico asociado al sustrato y conocer sus efectos biológicos. La mayor concentración subletal fue determinada a partir del valor LC_{50} 96h obtenido previamente. Se prepararon 4 réplicas por cada tratamiento conteniendo cada una 350g de compost al 60% de humedad y 10 ejemplares adultos clitelados. Se registraron datos semanales de supervivencia (ejemplares vivos fueron devueltos a la caja correspondiente), biomasa en peso húmedo (se pesaron los sobrevivientes en forma conjunta por réplica), producción de capullos u ootecas y número de crías eclosionadas por capullo o viabilidad.

Los datos registrados fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA) y test múltiple de Tukey, para establecer diferencias significativas entre los



distintos tratamientos.

Para la fase de exposición y determinación del factor de bioacumulación (BAF) en cada uno de los tratamientos T_1 , T_2 , T_3 y T_4 , los organismos permanecieron en el compost contaminado con cromo durante 56 días y luego se colocaron los 40 ejemplares de T_1 , T_2 y T_3 y sólo 28 de T_4 en cajas nuevas que contenían papel de filtro humedecido con agua destilada, por un período de ayuno de 48h para su purgado. De cada tratamiento se extrajeron al azar 3 individuos por réplica y se congelaron. En total se analizaron 12 ejemplares por ensayo para determinar la cantidad de cromo incorporado y obtener el factor de bioacumulación ($BAF_{sofía}$). Éste se calculó como el cociente entre la concentración de Cr en los tejidos de la lombriz (C_{animal}) y la del metal en el sustrato ($C_{compost}$) asumiendo un equilibrio entre los procesos de incorporación y eliminación a los 56 días (American Society for Testing and Materials, 1998).

$$BAF = \frac{C_{animal}}{C_{compost}}$$

donde $C_{animal} = \mu\text{g metal.g}^{-1}$ lombriz (peso seco) y $C_{compost} = \mu\text{g metal.g}^{-1}$ compost (peso seco) entonces $BAF = \text{g compost.g}^{-1}$ lombriz
Para la fase de eliminación (10 días), los 12 individuos restantes del T_1 y que fueron separados a

las 8 semanas iniciales, se colocaron en cuatro cajas que contenían compost no contaminado, y se mantuvieron en las mismas condiciones que la fase de exposición. Luego, se transfirieron a cajas conteniendo papel de filtro humedecido con agua destilada por 48 horas (etapa de ayuno y purgado intestinal) y se congelaron. Posteriormente se realizaron los análisis de tejido para determinar el contenido de cromo remanente o nivel residual que se registró como punto final. Por otra parte, transcurridos los 56 días se extrajo por cada tratamiento, una muestra representativa de humus de lombriz para determinar el contenido de cromo presente.

Test de toxicidad crónica en juveniles

Los ejemplares de *E. fetida* fueron criados en laboratorio, a partir de ootecas incubadas en compost orgánico no contaminado con un contenido del 60% de humedad y a una temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Se seleccionaron ejemplares de aproximadamente 10-12 días de edad y de peso relativamente homogéneo, que fueron sometidos a: $0 \mu\text{g.g}^{-1}(T_0)$; $45 \mu\text{g.g}^{-1}(T_1)$; $67 \mu\text{g.g}^{-1}(T_2)$; $100 \mu\text{g.g}^{-1}(T_3)$; $150 \mu\text{g.g}^{-1}(T_4)$ durante 28 días de exposición con el objeto de analizar la influencia del tóxico en el crecimiento de *E. fetida*. Se prepararon 4 réplicas por cada tratamiento conteniendo cada una

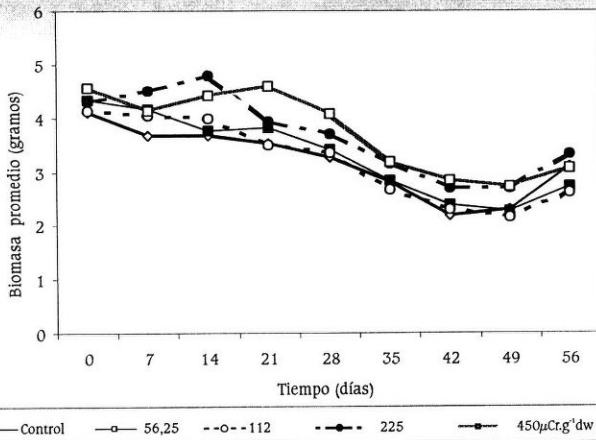


Figura 1

Biomasa promedio (en peso húmedo) de adultos de *Eisenia fetida* durante el test de toxicidad crónica (56 días).



60g de compost al 60% de humedad y 10 ejemplares juveniles.

Semanalmente los individuos de cada réplica se pesaron conjuntamente y devueltos a la caja. Los datos registrados fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA).

RESULTADOS

En el test de toxicidad aguda a las 96 h sólo en los tratamientos control (T_0) y los de más baja concentración T_1 y T_2 se registraron individuos vivos que no presentaron lesiones externas y respondieron en forma efectiva a los estímulos mecánicos. En los de más alta concentración T_3 y T_4 , los individuos manifestaron tendencia a huir evitando cavar galerías en el compost, y a 24 y 48h, se registró mortalidad del 100%. Algunos ejemplares presentaban el cuerpo fragmentado mientras que otros mostraban amplias lesiones. A las 96 h se obtuvo el 100% de supervivencia en los controles y los LC_{50} obtenidos fueron a 24 h: $1282 \mu\text{gCr.g}^{-1}\text{dw}$, a 48 h: $898 \mu\text{gCr.g}^{-1}\text{dw}$, a 72 h: $689 \mu\text{gCr.g}^{-1}\text{dw}$ y a 96 h: $638 \mu\text{gCr.g}^{-1}\text{dw}$. El contenido de materia orgánica del compost utilizado en las experiencias fue del 56,5%.

En el test de toxicidad crónica en adultos y de bioacumulación, la supervivencia fue del 100% y hubo una disminución de peso próxima al 30%, poco

significativa, en todos los tratamientos ($F= 4,97$; $p= 0,09$). Sin embargo, durante la experiencia se observó al día 14, un incremento de biomasa en algunos de los ensayos, siendo significativo entre T_1 y T_3 ($F= 3,30$; $p= 0,03$). En los días subsiguientes, todos declinaron su peso; a los 49 días aumentó, siendo significativo entre el control y la mayor concentración ($F= 3,91$; $p= 0,02$), pero ningún tratamiento llegó a recuperar el peso inicial al término de la experiencia (Fig. 1).

La producción de capullos u ootecas fue baja siendo mayor en las concentraciones más altas (0,56 a 1,25 capullos/semana/réplica). No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos excepto para T_1 y T_3 , a los 28 días ($F= 3,53$; $p= 0,03$). No se registró eclosión de ootecas en T_1 y T_2 mientras que en T_3 se obtuvo mayor número de juveniles que en T_4 . El valor más alto de crías eclosionadas (83,3%) se obtuvo en el control T_0 en relación con la producción de ootecas (Fig. 2).

En el test a 28 días con los juveniles sólo hubo crecimiento en el control, mientras que en los contaminados, el peso inicial no fue superado al término del ensayo. Durante la primer semana, se observó una pérdida de peso en todos los ensayos ($F= 3,64$; $p= 0,02$). Al día 14, todos comenzaron a recuperar peso, pero al final de la experiencia se encontraron diferencias altamente significativas entre el control y los demás tratamientos ($F= 5,71$; $p= 0,005$). El grupo control creció un 19,62% en tanto que el resto de los grupos, pertenecientes a las

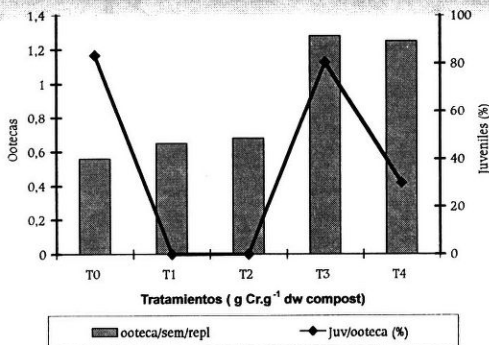


Figura 2

Reproducción de *Eisenia fetida* en test de toxicidad crónica a 56 días. T_0 (control), T_1 (56,25), T_2 (112), T_3 (225) y T_4 (450 $\mu\text{gCr.g}^{-1}\text{dw}$ compost).



distintas concentraciones de cromo, no registró crecimiento y la pérdida de peso osciló en un valor promedio del 11,85% en relación a los pesos iniciales (Fig. 3).

Con respecto al test de bioacumulación a 56 días se obtuvieron valores en tejidos directamente proporcionales a la concentración de cromo que fueron expuestos en los distintos tratamientos (Cuadro 1). Al término de los 10 días de eliminación, el valor residual registrado fue de 4,98 ppm y representa el 26% del nivel de Cr que acumuló *E. fetida* en 56 días de exposición a la mayor concentración (450 $\mu\text{gCr.g}^{-1}$ compost peso seco). Los valores de cromo en humus obtenidos al final de la experiencia fueron: T₁: 61,2 $\mu\text{gCr.g}^{-1}$; T₂: 109,1 $\mu\text{gCr.g}^{-1}$; T₃: 235,1 $\mu\text{gCr.g}^{-1}$; T₄: 443,5 $\mu\text{gCr.g}^{-1}$. Estos valores están en relación con los resultados en tejido de lombriz y las concentraciones iniciales (Cuadro 1). Las diferencias numéricas encontradas caen dentro del rango de error contemplado en la metodología de medición.

Los valores de BAF obtenidos (Cuadro 1) muestran estrecha relación entre ellos, lo que indica, que la lombriz incorpora el cromo en forma proporcional a la concentración a que fue expuesta y su incapacidad para regular la carga corporal por lo que a valores

crecientes de Cr en el sustrato, corresponde un aumento en su concentración en los tejidos.

DISCUSIÓN

El elevado índice de mortalidad registrado durante las primeras horas en el test agudo, sugiere que a esas concentraciones, el principal efecto tóxico del metal fue ejercido a través de la pared corporal de las lombrices, más que por la ingesta de alimento contaminado como lo sugieren Spurgeon et al., 1994. En el test crónico, los resultados de supervivencia son coincidentes con los obtenidos por Gréle y Descamps, (1998) en estudios de *E. fetida* con Cu, Zn, Pb y Cd al igual que van Gestel et al., 1992 y Belfroid et al., 1994 en sus estudios con *E. andrei* expuesta a cromo y clorobenceno, respectivamente, quienes también obtuvieron el 100% de sobrevivientes al final del test. Con respecto a la disminución del peso, en otros estudios se encontró la misma tendencia: así, Phillips y Bolger, 1998 en experiencias con la misma especie y aluminio registraron una disminución de peso de alrededor del 38% al término del bioensayo; 3 al 45% de pérdida de biomasa en ensayos con *E. fetida* y Cd durante 14 días llevados a cabo por van Gestel y van Dis, 1988. Peijnenburg et al., 1999 registraron

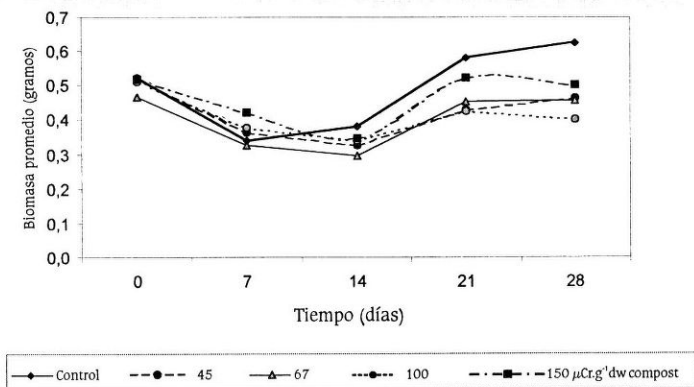


Figura 3

Crecimiento de juveniles de *Eisenia fetida* (en biomasa) durante el bioensayo de toxicidad crónico (28 días).



Cuadro 1

Concentración de cromo en humus y en tejido de *Eisenia fetida* y factores de bioacumulación (BAF) al término del test a 56 días.

| Tratamiento | $\mu\text{gCr.g}^{-1}\text{dw humus}$ | $\mu\text{gCr.g}^{-1}\text{dw tej. lombriz}$ | BAF |
|----------------|---------------------------------------|--|-------|
| T ₁ | 61,2 | 0,82 | 0,013 |
| T ₂ | 109,1 | 1,12 | 0,010 |
| T ₃ | 235,1 | 2,87 | 0,012 |
| T ₄ | 443,5 | 6,77 | 0,015 |

pérdida de biomasa de alrededor del 40% con *Enchytraeus crypticus* a 35 días, mientras que Janssen *et al.*, 1997 obtuvieron una reducción del 35 al 50%. Estos resultados pueden atribuirse a la acción estresante que ejerce el medio contaminado sobre la ingesta de las lombrices. Esta tendencia se ve confirmada con los resultados obtenidos en el ensayo con juveniles a 28 días en el cual hay una marcada diferencia de peso entre los individuos sometidos a la acción del contaminante y los del control. Se puede inferir que el cromo afecta el crecimiento de *E. fetida* en el rango de concentraciones utilizadas.

La producción de ootecas fue baja (de 0,56 a 1,25 capullos/semana/réplica) y sólo se registraron diferencias significativas entre los tratamientos a los 28 días. La relación obtenida -nº de capullos/semana/réplica- concuerda con los resultados obtenidos por Spurgeon *et al.*, *op cit.* quienes trabajaron con *E. fetida* y 4 metales pesados (Cd, Cu, Pb y Zn). Phillips y Bolger, 1998 obtuvieron similar resultado (0,57 a 1,63 capullos/semana/réplica) con *E. fetida* y concentraciones elevadas de Al. Con respecto al número de juveniles emergidos por ooteca o viabilidad, no hubo diferencias entre los ensayos; no obstante, el mayor porcentaje de crías emergidas se encontró en el control y el menor en las concentraciones más altas. No se han podido explicar las razones por las cuales no hubo eclosión en los tratamientos intermedios y sí en los de mayor

concentración. No obstante, por el bajo porcentaje de juveniles emergidos con respecto al número de capullos depositados en el tratamiento de máxima concentración, se infiere, que su viabilidad se ve afectada en concentraciones cercanas a 450 $\mu\text{gCr.g}^{-1}\text{dw compost}$. Resultados similares fueron registrados por van Gestel, *et al.*, *op cit.* en *Eisenia andrei* con nitrato de cromo. Por lo tanto, de acuerdo a los resultados obtenidos podemos inferir que el cromo afectó más la embriogénesis que la gametogénesis. Estudios de campo realizados en suelos artificialmente contaminados, sugieren que en lombrices, las funciones de crecimiento y reproducción se ven alteradas por la presencia de metales pesados (Reinecke y Reinecke, 1996).

Por otra parte, puede afirmarse que *E. fetida* bajo las condiciones establecidas en este trabajo acumula cromo en forma efectiva, sin regular su incorporación. Grelle y Descamps, 1998 encontraron igual comportamiento en esta especie para Cd y Pb. Por otra parte, comprobaron, al igual que Ireland y Richards, 1981 que el metal se concentra principalmente en las células cloragógenas.

El nivel de cromo acumulado por las lombrices en suelos podría ser mayor que el registrado en este trabajo donde se utilizó compost, debido a que en aquéllos hay una mayor biodisponibilidad en función del menor contenido de materia orgánica sumado a otros factores, tales como bajo porcentaje de arcilla, pH, salinidad y temperatura.



Por lo tanto, la biodisponibilidad de los metales pesados está en relación a su concentración en el agua intersticial y, la absorción del ión metal es el resultado de la interacción entre los complejos de enlaces orgánicos (ácidos húmicos, fúlvicos y sus precursores), inorgánicos (arcillas) y el organismo (Nederlof y Van Riemsdijk, 1995). Este proceso dinámico varía tanto con las características físico-químicas del suelo como por su composición.

CONCLUSIONES

El cromo es un metal tóxico para *Eisenia fetida*, afectando su crecimiento y la viabilidad de los capullos en la exposición prolongada; que acumula cromo en forma efectiva pero no regula su incorporación, dado que la concentración en tejidos se incrementa en función del aumento del metal en el medio.

Por otra parte, teniendo en cuenta los valores BAF obtenidos, podemos aceptar la hipótesis planteada, es decir que *E. fetida* constituye un eficaz bioacumulador del cromo presente en los ambientes contaminados y es un medio efectivo para evaluar suelos.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Catalina Cuadrado de Mischis, a la Lic. María Inés Maitre y al Ing. Juan Carlos Tivano por el valioso material bibliográfico aportado; al Ing. Elvino Kingley quien proveyó desinteresadamente los ejemplares de *E. fetida* y compost utilizados en el laboratorio.

REFERENCIAS

- Amoji, S.D.; U.M. Shagoti & V.A. Biradar. 1998. Selective preferences for agricultural organic wastes under multiple choice by epigenic earthworms. *J. Environ. Biol.* 19 (4): 375-380.
- American Society for Testing and Materials (ASTM). 1998. Standard Guide for Conducting Laboratory Soil Toxicity on Bioaccumulation Tests with the lumbricid earthworms *Eisenia fetida*. *Design E 1076* 97: 1062-1079.
- Association of Official Analytical Chemists, (AOAC). 1995. Official method 965.09 Nutrients (minor) in fertilizers. *Official Methods of Analysis*. Arlington. Virginia. USA. 16th Edition 1 (XI). 235 pp.
- Belfroid, A.C.; M. Sikkenk; W. Seinen; K. van Gestel & J. Hermens. 1994. The toxicokinetic behavior of chlorobenzenes in earthworm (*Eisenia andrei*) experiments in soil. *Environ. Toxicol. Chem.* 13: 93-99.
- Benitez, E.; R. Nogales; C. Elvira; G. Masciandaro & B. Ceccanti. 1999. Enzyme activities as indicators of the stabilization of sewage sludges composting with *Eisenia fetida*. *Bioresour. Technol.* 67(3):297-303.
- Butt, K. R. 1993. Utilization of solid paper mill sludge and spent brewery yeast as a feed for soil-dwelling earthworms. *Bioresour. Technol.* 44: 105-107.
- Cicco, C. 1998. Procedimiento Operativo Normalizado PON N° 007. *Serv. Nac. San. An.* 2p.
- Dirección General de Extensión e Investigaciones Agropecuarias. 1981. Toma de Muestras y Determinaciones Analíticas en Suelos y Agua. Departamento de Apoyo Analítico. *Minist. Agricult. y Ganad.* Prov. Santa Fe. 151p.
- Duffus, J. 1983. Toxicología Ambiental. *Ed. Omega.* 173 p.
- Edwards, C.A.; J. Dominguez & E.F. Neuhauser. 1998. Growth and reproduction of *Perionyx excavatus* (Perr) (Megascolecidae) as factors in organic wastes management. *Biol. Fertil. Soils.* 27:155-161.
- Egeler, P. & J. Röembke. 1999. Workshop Bioaccumulation: Sediment Test using Benthic Oligochaetes according to OECD Format. *ECT Oekotoxicologie GmbH*, p 50. Hochheim/Main, Alemania. 125 pp.
- Elvira, C.; J. Dominguez; L. Sanpedro & S. Mato. 1997. Vermicomposting of wastewater sludge from paper-pulp industry with nitrogen rich materials. *Soil Biol. Biochem.* 29 (3/4):759-762.
- Grelle, C. & M. Descamps. 1998. Heavy metals accumulation by *Eisenia fetida* and its effects on Glutathione-S-Transferase activity. *Pedobiologia* 42: 289-297.
- Ireland, M.P. & K.S. Richards. 1981. Metal content after exposure to cadmium of two species of earthworms of known differing calcium



- metabolic activity. *Environ. Pollut.* 26: 69-78.
- Janssen, R.P.T.; W.J.G.M. Peijnenburg, L. Posthuma & M.A.G.T. van den Hoop. 1997. Equilibrium partitioning of heavy metals in dutch field soils. I. Relationship between metal partition coefficients and soil characteristics. *Environ. Toxicol. Chem.* 16 (12): 2470-2478.
- Lee, K. E. 1985. Earthworms: their ecology and relationships with soils and land use. *Academic Press, Orlando, FL, USA.* 411 pp.
- Nakayasu, K.; M. Fukushima; K. Sasaki, S. Tanaka & H. Nakamura. 1999. Comparative studies of the reduction behavior of Chromium VI by humic substances and their precursors. *Environ. Toxicol. Chem.* 18 (6): 1085-1090.
- Nederlof, M. M. & W. H. Van Riemsdijk. 1995. Effect of natural organic matter and pH on the bioavailability of metal ions in soils. *Environ. Impact Soil Comp. Interact.* 17: 73-84
- Peijnenburg, W.; L. Posthuma; P. C. Zweers; R. Baerselman; A. C. de Groot; R. M. Van Veen & T. Jager. 1999. Prediction of metal bioavailability in dutch field soils for the Oligochaete *Enchytraeus crypticus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 43: 170-186.
- Phillips, D.R. & T. Bolger. 1998. Sublethal toxic effect of aluminium on the earthworm *Eisenia fetida*. *Pedobiologia* 42: 125-130.
- Plette, A. C. C.; M. M. Nederlof; E.J.M. Temminghoff & W. H. Van Riemsdijk. 1999. Bioavailability of heavy metals in terrestrial and aquatic systems: a quantitative approach. *Environ. Toxicol. Chem.* 18 (9): 1882-1890.
- Reinecke, A.J. & S.A. Reinecke. 1996. The influence of heavy metals on the growth and reproduction of the compost worm *Eisenia fetida* (Oligochaeta). *Pedobiologia* 40: 439-448.
- Spurgeon, D. J.; S. P. Hopkin & 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.
- Tian, G.; L. Brussaard & B. T. Kang. 1995. Breakdown of plant residues with contrasting chemical compositions under humid tropical conditions: effects of earthworms and millipedes. *Soil Biol. Biochem.* 27(3): 277-280.
- Tian, G.; B.T. Kang & L. Brussaard. 1997. Effect of mulch quality on earthworm activity and nutrient supply in the humid tropics. *Soil Biol. Biochem.* 29 (3/4): 369-373.
- U. S. P. H. S. 1997. Toxicological Profile for Chromium. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. En: Greenpeace Argentina (Ed.) 8º Informe Prog. Nac. Vertido Cero: 9pp.
- Van Gestel, C.A.M. & W.A. van Dis. 1988. The influence of soil characteristics on the toxicity of four chemicals to the earthworm *Eisenia fetida andrei* (Oligochaeta). *Biol. Fert. Oils.* 6: 262-265.
- Van Gestel, C.A.M.; E.M. Dirven-van Breemen; R. Baerselman; H.J.B. Emans; J.A.M. Janssen; R. Postuma & P.J.M. van Vliet. 1992. Comparison of sublethal and lethal criteria for nine different chemicals in standardized toxicity tests using the earthworm *Eisenia andrei*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 23: 206-220.

Recibido/Received: 07 mayo 2001
Aceptado/Accepted: 12 febrero 2002