

SUCEPTIBILIDAD DE *Eisenia fetida* (ANNELIDA, OLIGOCHAETA: LUMBRICIDAE) EXPUESTA A CEBOS CON METALDEHÍDO Y CARBARYL

Carla Salvio ^{1*}, Natalia Liliana Clemente ¹, Alicia Noemí López ^{1,2}, Pablo Luis Manetti ¹

¹ Facultad de Ciencias Agrarias Universidad Nacional de Mar del Plata. Argentina

² Estación Experimental Asociada Balcarce, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Argentina

RESUMEN

Eisenia fetida (Annelida, Oligochaeta: Lumbricidae) es un bioindicador de la contaminación del suelo y susceptible a la acción de xenobióticos como la de los fitosanitarios. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto letal y subletal de tres cebos granulados en base a Metaldehído y/o Carbaryl sobre *E. fetida*. Se realizaron tres bioensayos bajo un diseño completamente aleatorizado con 4 repeticiones y en condiciones controladas (20±2°C y 14L:100). La unidad experimental fue un recipiente de plástico de 11,5 cm de diámetro y 11 cm de altura, provisto de una tapa perforada, donde se colocaron 750 g de suelo mezclado con las dosis de cada cebo y 10 individuos adultos clitelados de 200 a 400 mg. Los tratamientos fueron: 0, 40, 80, 120, 160 y 200 g de Metaldehído ha⁻¹ (4% de ingrediente activo (i.a.)); 0, 80, 160, 240, 320 y 400 g de Carbaryl ha⁻¹ (8% de i.a.) y 0, 40+80, 80+160, 120+240, 160+320 y 200+400 g Metaldehído+ Carbaryl ha⁻¹ (4%+8% de i.a.). En los tres bioensayos se obtuvo el 100% de sobrevivencia de los individuos. Con respecto a la biomasa de *E. fetida* no se detectaron cambios con la aplicación de los cebos a los 7, 14, 21 y 28 días después de la aplicación (DDA) ($p > 0,05$). Por otro lado, no hubo diferencias en el número de cocones y de juveniles a los 56 DDA con todos los cebos ($p > 0,05$). Se concluye que los cebos en base a Metaldehído y/o Carbaryl no causaron efectos adversos sobre la sobrevivencia, la biomasa y los parámetros reproductivos de *E. fetida*.

Palabras clave: lombrices, bioensayo ecotoxicológico, molusquicida, crustácida

SUSCEPTIBILITY OF *Eisenia fetida* (ANNELIDA, OLIGOCHAETA: LUMBRICIDAE) EXPOSED TO BAITS WITH METALDEHYDE AND CARBARYL

ABSTRACT

Eisenia fetida (Annelida, Oligochaeta: Lumbricidae) is a bioindicator of soil contamination and susceptible to the action of xenobiotics such as phytosanitary. The objective of this study was to determine the lethal and sublethal effect of three granulated baits based on Metaldehyde and / or Carbaryl on *E. fetida*. Three bioassays were carried out under a completely randomized design with 4 repetitions and under controlled conditions (20 ± 2°C and 14L: 100). The experimental unit was a plastic container 11.5 cm in diameter and 11 cm in height, provided with a perforated lid, where 750 g of soil mixed with the doses of each bait and 10 clitellated adult individuals from 200 to 400 mg were placed. The treatments were: 0, 40, 80, 120, 160 and 200 g of Metaldehyde ha⁻¹ (4% active ingredient (a.i.)); 0, 80, 160, 240, 320 and 400 g of Carbaryl ha⁻¹ (8% of a.i.) and 0, 40 + 80, 80 + 160, 120 + 240, 160 + 320 and 200 + 400 g Metaldehyde + Carbaryl ha⁻¹ (4% + 8% of a.i.). In the three bioassays, 100% survival of the individuals was obtained. Regarding the biomass of *E. fetida*, no changes were detected with the application of the baits at 7, 14, 21 and 28 days after application (DAA) ($p > 0.05$). On the other hand, there were no differences in the number of cocoons and juveniles at 56 DAA with all baits ($p > 0.05$). It is concluded that the baits based on Metaldehyde and / or Carbaryl did not cause adverse effects on survival, biomass and reproductive parameters of *E. fetida*.

Keywords: earthworms, ecotoxicological bioassay, molluscicide, crusticide

* Autor de contacto:
salvio.carla@inta.gob.ar

Recibido:
05-05-22

Recibido con revisiones:
30-09-22

Aceptado:
04-10-22

INTRODUCCIÓN

Las lombrices son organismos comunes en una amplia gama de suelos y entre los animales invertebrados son muy abundantes, representando un 92% de la biomasa del suelo (Yasmin y D'Souza, 2007). Son considerados "ingenieros del ecosistema" debido a que realizan galerías generando bioporos que contribuyen en aumentar la infiltración del agua y la aireación del suelo mejorando su drenaje y evitando su compactación (Edwards, 2004; Jongmans et al., 2003). Además, contribuyen en el mantenimiento de la estructura y fertilidad del suelo, participan en la descomposición de la materia orgánica y en el ciclado de los nutrientes, estimulando el crecimiento de las plantas y favoreciendo la heterogeneidad del hábitat (Bloiun et al., 2013). De esta manera, estos organismos participan en los servicios ecosistémicos del suelo (Fiera et al., 2020; Lavelle et al., 2006).

Eisenia fetida (Savigny, 1826) es la especie más utilizada en los bioensayos de toxicidad porque posee un ciclo de vida corto, fecundidad elevada y sensibilidad a los químicos y facilidad de cría en condiciones de laboratorio (Lowe y Butt, 2007). Es una especie típica compostera característica de suelos arenosos y de ambientes peridomésticos donde se acumula materia orgánica (Momo y Falco, 2010). Desde el punto de vista ecológico es una especie epigea que vive sobre la superficie del suelo bajo la hojarasca asociadas a los cúmulos de materia orgánica y actúa favoreciendo su mineralización debido a que tritura y fragmenta los restos orgánicos frescos. Es considerada como un indicador de alto valor de contaminación orgánica (Momo y Falco, 2010). Por lo tanto, esta especie es utilizada para monitorear la contaminación del ecosistema del suelo y evaluar el riesgo medioambiental tanto en la investigación científica como en las agencias reguladoras ambientales (Gong y Perkins, 2016).

En la actualidad, el uso creciente de fitosanitarios puede traer efectos deletéreos sobre los organismos no blanco y a largo plazo, conducir al desarrollo de daños irreversibles tanto en la estructura como en la función del suelo (Reinecke y Reinecke, 2007). Ahora bien, de acuerdo al tipo de ingrediente activo (i.a.), la dosis y la forma de aplicación, los fitosanitarios pueden afectar directa o indirectamente a los oligoquetos terrestres. Es decir, a través del contacto dermal cuando los tóxicos atraviesan el tegumento alcanzando el líquido celómico y se transportan por el cuerpo, o por ingestión cuando se alimentan de material orgánico como inorgánico contaminados (Rafael et al., 2015; Salvio et al., 2015a, Salvio et al., 2015b; Sanchez-Hernandez, 2006).

En los sistemas de cultivos bajo siembra directa (SD) se encuentran organismos antagonistas que ocasionan daños durante la implantación de los cultivos como *Armadillidium vulgare* (Crustacea: Isopoda), *Deroceras reticulatum*, *D. laeve* y *Milax gagates* (Mollusca: Pulmonata) (Carricart et al., 2018; Clemente et al., 2008; 2010; Faberi et al., 2014; Garavano et al., 2013). En los últimos años se han detectado con mayor frecuencia lotes con mayor densidad activa de estos organismos y además, donde se encuentran presentes en forma conjunta (Manetti et al., 2013). En muchas situaciones, la densidad poblacional de estos organismos supera los niveles de daño económico y es necesario implementar prácticas de manejo que incluyen el control mediante el uso de productos fitosanitarios (Bechi et al., 2015; Clemente et al., 2019). La estrategia de manejo más utilizada es el control químico (Manetti et al., 2009; Salvio et al., 2008; Salvio et al., 2014). Su acción se basa en el uso de cebos tóxicos, que son formulados con un atrayente alimentario (como por ejemplo, subproductos de molienda de granos), biomoléculas de proteína, dextrosa o caseína, que actúan como estimulantes de la alimentación, y un i.a. (Bailey, 2002). En Argentina, el Metaldehído es el único i.a. registrado para el control de los moluscos (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria [SENASA], 2021). Los molusquicidas de mayor uso comercial contienen 4 o 5% de Metaldehído e ingresan a los organismos con el alimento o por contacto con el tegumento (Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes [CASAFE], 2021). Es un i.a. de alta especificidad sobre los moluscos y no posee efecto fitotóxico sobre los cultivos (Bieri, 2003). Para el caso de los isópodos (*Armadillidium vulgare*) en nuestro país, se dispone de cebos comerciales con Acetamiprid, Fipronil y Carbaryl como i.a. ejerciendo su acción sobre la plaga por contacto e ingestión (CASAFE, 2021). Los cebos comerciales formulados en base a Carbaryl contienen 8% de i.a. y es un insecticida neurotóxico que actúa sobre el sistema nervioso central inhibiendo la acción de la acetilcolinesterasa (AChE), enzima que regula la actividad biológica del neurotransmisor acetilcolina (ACh) (Corbett et al., 1984). Por último, existe otro cebo de uso comercial de acción combinada, formulado con los dos ingredientes activos en el mismo cebo, 4% de Metaldehído y 8% de Carbaryl, que permite el control conjunto de babosas y bichos bolita (SENASA, 2021).

En nuestro país se han alcanzado niveles de control adecuados con los molusquicidas y los crustacidas con dosis entre 3 y 6 kg ha⁻¹ de los cebos tanto para las babosas (Garavano et al., 2013; Salvio et al., 2008)

como para los bichos bolita (Salvio et al., 2014; Villarino et al., 2012). Sin embargo, varios estudios encuentran que los cebos pueden afectar de manera letal o subletal a los artrópodos benéficos edáficos (Salvio et al., 2011, 2013). Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto letal y subletal de los cebos en base a Metaldehído y/o Carbaryl sobre *E. fetida*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los individuos de *E. fetida* para cada uno de los bioensayos se obtuvieron mediante una cría realizada en una cámara de cría a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ y 14L: 100 en la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) en el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Balcarce, Argentina ($37^\circ 45'S$; $58^\circ 18'O$, 120 m s.n.m.). Para ello se colocaron individuos adultos (con clitelo) en recipientes de plástico de 30 x 40 cm y 25 cm de altura con tierra húmeda y se alimentaron con restos orgánicos vegetales (cáscaras de frutas, yerba mate y borra de café). Para cada uno de los bioensayos, se seleccionaron individuos adultos clitelados con un rango de peso de 200-400 mg.

Se realizaron tres bioensayos (I, II y III) bajo un diseño completamente aleatorizado con cuatro repeticiones y en condiciones controladas a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ y con un fotoperiodo de 14L: 100. La unidad experimental (UE) consistió en un recipiente de plástico de 11,5 cm de diámetro y 11 cm de altura provisto de una tapa perforada en el cual se colocaron 750 g de suelo mezclado con las dosis del cebo y 10 individuos adultos (clitelados) (Organisation for Economic Co-operation and Development [OECD], 1984, 2004). Se utilizaron los siguientes principios activos formulados como cebos granulados comerciales: Metaldehído 4%, Carbaryl 8% y Metaldehído 4% + Carbaryl 8%. Se seleccionaron los tratamientos teniendo como base la dosis de aplicación recomendada (DR) de cada formulado, dos dosis más baja y dos más altas. Los tratamientos fueron para cada bioensayo 5 dosis crecientes de cada formulado y un testigo (sin aplicación de cebo) (Tabla 1).

Tabla 1. Cebo formulado, tratamientos y dosis de i. a. en g ha^{-1} y en g kg^{-1} de suelo.

Table 1. Formulated bait, treatments and dose of a.i. in g ha^{-1} and in g kg^{-1} of soil.

Cebo formulado	Tratamientos	Dosis de i. a. g ha^{-1}	Dosis de i. a. g kg^{-1}
Metaldehído	T1M	40	0,000067
	T2M	80	0,00013
	T3M	120	0,0002
	T4M	160	0,00027
	T5M	200	0,00033
Carbaryl	T1C	80	0,00013
	T2C	160	0,00027
	T3C	240	0,0004
	T4C	320	0,00053
	T5C	400	0,00067
Metaldehído+Carbaryl	T1M+C	40+80	0,000067+0,00013
	T2M+C	80+160	0,00013+0,00027
	T3M+C	120+240	0,0002+0,0004
	T4M+C	160+320	0,00027+0,00053
	T5M+C	200+400	0,00033+0,00067

Para lograr la incorporación de cada uno de los cebos granulados se procedió a moler los *pellets* con un molinillo y se prepararon mezclas para cada dosis. La mezcla sólida consistió en combinar 1 g de cada uno de los cebos y 99 g de una sustancia inerte (cebo sin ningún i.a.), de modo tal que se obtuvieron 100 g de la mezcla y a partir de ella se extrajeron las diferentes dosis. Para la aplicación de cada uno de los cebos se extendió una capa fina y uniforme de suelo de 5 cm de altura, aproximadamente, sobre un paño de nylon de 50 cm por 50 cm de lado. Luego, para lograr una incorporación homogénea del producto al suelo, se realizaron 20 movimientos de las partes laterales del paño hacia el centro. El suelo utilizado para los bioensayos proviene de una pastura de más de 35 años sin aplicación de fitosanitarios. Las propiedades físicas y químicas del suelo fueron: 5,1% de materia orgánica; 20,9% de arcilla; 34,9% de limo; 44,2% de arena; pH = 7,7; conductividad $0,6 \text{ mmhos cm}^{-1}$ y $29,3 \text{ meq } 100 \text{ g}^{-1}$ de capacidad de intercambio catiónica (C.I.C.).

A los 7, 14, 21 y 28 días después de la aplicación (DDA), se midieron las siguientes variables: el número de individuos vivos (sobrevivencia) y la biomasa en peso húmedo (mg ind⁻¹). Además, se contaron el número de cocones y de juveniles a los 56 DDA. En cada observación se controló la humedad del suelo (cuyo valor fue de 40 a 50%) y cuando fue necesario se pulverizó el sustrato con agua destilada.

Las variables se analizaron mediante análisis de la varianza (ANOVA), previa validación del supuesto de homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Levene ($\alpha = 0,05$). Cuando se detectaron diferencias entre las medias se realizó la prueba de mínimas diferencias significativas (MDS) ($\alpha = 0,05$). Los análisis se realizaron con el programa R 3.4.3 (R Development Core Team, 2017).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el bioensayo con Metaldehído se obtuvo el 100% de sobrevivencia de *E. fetida*. La biomasa de *E. fetida* no varió en ninguno de los tratamientos a los 7 DDA ($p = 0,217$), 14 DDA ($p = 0,648$), 21 DDA ($p = 0,309$) y 28 DDA ($p = 0,458$) (Figura 1a). Como se puede observar en la Figura 1a la biomasa de los organismos estuvo comprendida entre 297 ± 28 mg y 375 ± 18 mg con el cebo cuyo i.a. es Metaldehído.

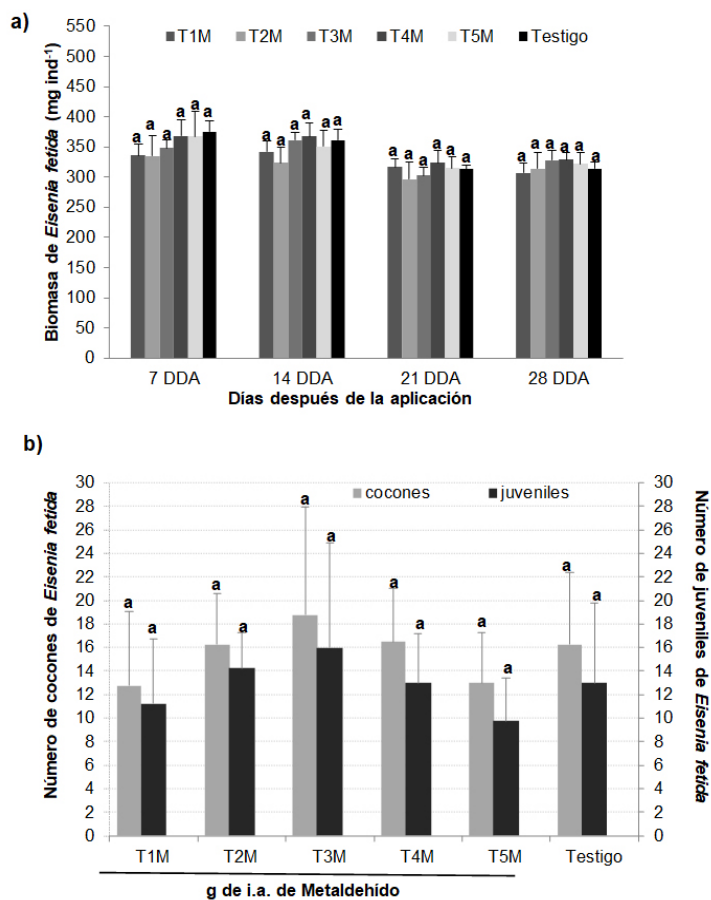


Figura 1. a) Biomasa de *E. fetida* (mg ind⁻¹) (media \pm desvío estándar) en los diferentes tratamientos con Metaldehído (g de i.a. ha⁻¹) a los 7, 14, 21 y 28 días después de la aplicación (DDA). b) Número de cocones y juveniles de *E. fetida* (media \pm desvío estándar) en los diferentes tratamientos con Metaldehído (g de i.a. ha⁻¹) a los 56 días después de la aplicación. Barras con las letras iguales en cada fecha de observación indican diferencias no significativas entre los promedios de los tratamientos (MDS, $\alpha = 0,05$).

Figure 1. a) Biomass of *E. fetida* (mg ind⁻¹) (mean \pm standard deviation) in the different treatments with Metaldehyde (g of a.i. ha⁻¹) at 7, 14, 21 and 28 days after application (DAA). b) Number of cocoons and juveniles of *E. fetida* (mean \pm standard deviation) in the different treatments with Metaldehyde (g of a.i. ha⁻¹) at 56 days after application. Bars with the same letters on each observation date indicate non-significant differences between the means treatments (MDS, $\alpha = 0.05$).

El número de cocones y de juveniles a los 56 DDA no presentaron diferencias entre los tratamientos, $p = 0,722$ y $p = 0,715$, respectivamente (Figura 1b). Con la dosis mayor, 200 g de i.a., se obtuvo el número menor de cocones y juveniles, 13 y 10, respectivamente. En tanto, el número mayor se logró con 120 g de i.a., hallándose 19 cocones y 16 juveniles (Figura 1b).

En este estudio la aplicación del molusquicida no produjo efectos adversos sobre las lombrices y en coincidencia con otros autores, Metaldehído como cebo no ocasiona mortalidad ni cambios en el peso sobre *E. fetida* tanto a la dosis habitual de aplicación como a dosis superiores (Jovana et al., 2014). En coincidencia con este estudio, Bieri (2003) e Iglesias et al., (2003) reportan que para *Lumbricus terrestris* y *Allolobophora chlorotica*, el Metaldehído aplicado en forma de *pellets* a las dosis utilizadas en el campo no alteró el comportamiento de ambas especies. Asimismo, Langan y Shaw (2006) informan que Metaldehído con una dosis 35 veces mayor que la recomendada no afecta la supervivencia, el peso ni el comportamiento en *L. terrestris*. Del mismo modo, Edwards et al. (2009) no observan cambios en la ganancia de peso sobre *L. terrestris* con la dosis recomendada como a una dosis cinco veces mayor de Metaldehído. Además, Salvio et al. (2011) en condiciones naturales comprobaron que 4 kg ha⁻¹ del molusquicida no causa efecto sobre la densidad de las lombrices a los 45 y 75 DDA. Asimismo, Gavin et al. (2012) observaron que la aplicación de dosis recomendadas de Metaldehído no ocasiona efecto letal como tampoco un comportamiento diferente sobre la densidad de *L. terrestris*.

En el bioensayo con Carbaryl, todos los tratamientos mostraron el 100% de sobrevivencia de los individuos de *E. fetida*. La biomasa de *E. fetida* no difirió con ninguno de los tratamientos a los 7 DDA ($p= 0,147$), 14 DDA ($p= 0,363$), 21 DDA ($p= 0,719$) y 28 DDA ($p= 0,655$) (Figura 2a). La biomasa de los organismos durante las fechas evaluadas variaron entre 346±31 mg y 473±31 mg con el cebo cuyo i.a. es Carbaryl (Figura 2a).

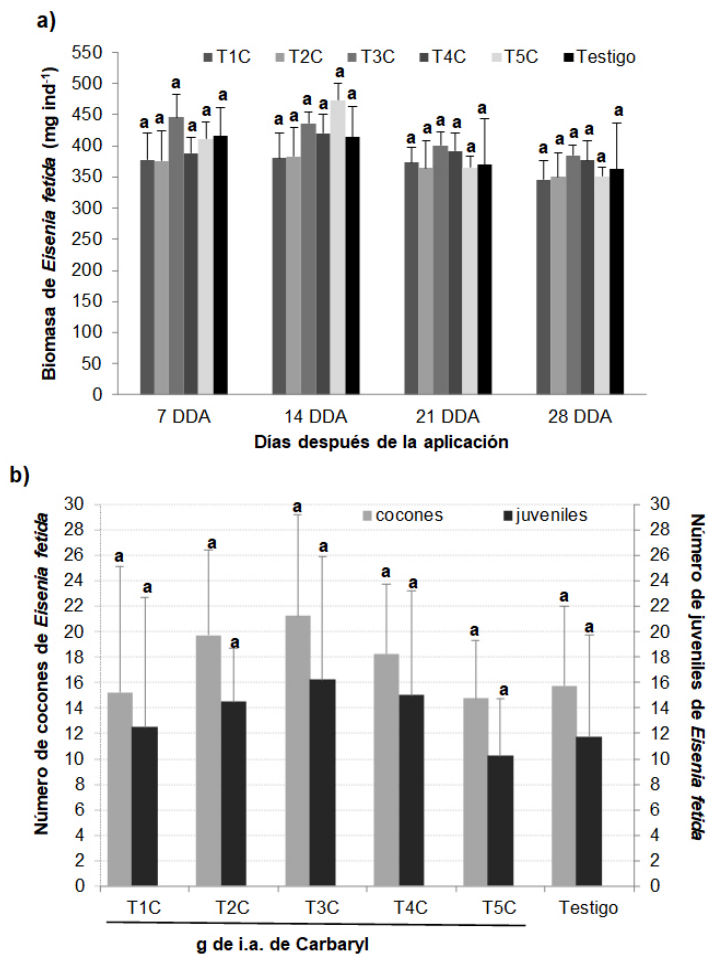


Figura 2. a) Biomasa de *E. fetida* (mg ind⁻¹) (media ± desvío estándar) en los diferentes tratamientos con Carbaryl (g de i.a. ha⁻¹) a los 7, 14, 21 y 28 días después de la aplicación (DDA). b) Número de cocones y juveniles de *E. fetida* (media ± desvío estándar) en los diferentes tratamientos con Carbaryl (g de i.a. ha⁻¹) a los 56 días después de la aplicación. Barras con las letras iguales en cada fecha de observación indican diferencias no significativas entre promedios de los tratamientos (MDS, $\alpha= 0,05$).

Figure 2. a) Biomass of *E. fetida* (mg ind⁻¹) (mean ± standard deviation) in the different treatments with Carbaryl (g of i.a. ha⁻¹) at 7, 14, 21 and 28 days after application (DAA). b) Number of cocoons and juveniles of *E. fetida* (mean ± standard deviation) in the different treatments with Carbaryl (g of i.a. ha⁻¹) at 56 days after application. Bars with the same letters on each observation date indicate non-significant differences between the means treatments (MDS, $\alpha= 0.05$).

En relación al crustacida cuyo i.a. es Carbaryl, no se obtuvieron diferencias en el número de cocones y juveniles a los 56 DDA, $p= 0,819$ y $p= 0,889$, respectivamente (Figura 2b). El número menor de cocones como de juveniles se obtuvo con 400 g de i.a., hallándose 15 y 10 respectivamente. En cambio, con 240 de g i.a. se registraron los mayores valores para ambos parámetros reproductivos, 21 cocones y 16 juveniles (Figura 2b).

La información disponible de los efectos que producen los cebos cuyo i.a. es Carbaryl sobre los oligoquetos terrestres es escasa. Sin embargo, en condiciones a campo con los cebos crustacidas Salvio et al. (2011) informan que la aplicación de 4 kg del cebo con Carbaryl ha^{-1} no afecta la densidad de las lombrices a los 45 y 75 DDA. En coincidencia con el presente estudio, donde con el mismo cebo en base a Carbaryl y con la misma dosis (T4C), no se detectaron mortalidad ni cambios en la biomasa en *E. fetida*.

En cambio, cuando se utilizan formulaciones del i.a. Carbaryl como insecticida produce efectos adversos sobre los oligoquetos terrestres. Lima et al. (2015) informaron un efecto negativo en la supervivencia de *E. fetida* con dosis superiores a los 80 mg kg^{-1} después de los 7 DDA, es decir, con una dosis 119 veces mayor con respecto a la dosis mayor utilizada en el presente estudio (T5C). Asimismo, Saxena et al. (2014) obtuvieron sobre *E. fetida* una dosis letal cincuenta (DL_{50}) correspondiente a 28,86 mg kg^{-1} de Carbaryl a los 14 DDA y observaron que el insecticida produce sobre la especie síntomas como: convulsión, reducción del tamaño y efectos neurotóxicos. También, Gambi et al. (2007) mostraron que 48,3 mg de Carbaryl kg^{-1} de suelo conducen a un nivel máximo de inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (ChE) en *E. andrei*. Por esta razón, Carbaryl se considera un químico extremadamente tóxico para las lombrices. Ahora bien, considerando los valores de Carbaryl indicados anteriormente son muy superiores a los utilizados en el presente trabajo, sumado a que el i.a. es formulado como cebo, dichos efectos adversos no se detectaron sobre *E. fetida*. Esto es debido a que la dosis de i.a. es menor cuando se aplica el cebo granulado y por lo tanto, la cantidad de insecticida que queda biodisponible en la matriz del suelo es baja. De esta manera, Carbaryl en forma de cebo no afectó la sobrevivencia como la biomasa de *E. fetida*.

Por otro lado, Das Gupta et al. (2011) documentan que Carbaryl tiene una toxicidad más alta sobre *E. fetida* con respecto a Clorpirifos y Cipermetrina. Resultados similares se hallaron sobre *Perionyx excavatus* (Das Gupta et al., 2010). Asimismo, con dosis de Carbaryl comprendidas entre 0,75 a 3,03 mg kg^{-1} de suelo se obtiene una reducción en la biomasa como en la cantidad de cocones y de juveniles sobre *P. excavatus* (Das Gupta et al., 2012). Además, Lima et al. (2011) reportaron que la supervivencia de las lombrices se reduce con la exposición de Carbaryl a partir de 40 mg de i.a. kg^{-1} , a pesar de no encontrar cambios en la biomasa. Por otra parte, cuando las lombrices son expuestas a 50 mg de Carbaryl kg^{-1} no se produce mortalidad pero se reduce en más del 50% el número de cocones (Neuhauser y Callahan, 1990). En consecuencia, los cambios mencionados en la reproducción podrían causar en un periodo largo de tiempo una disminución de las poblaciones de dicha especie. En este estudio cuando Carbaryl fue formulado como cebo no se observaron a las dosis aplicadas efectos en la biomasa ni en la supervivencia de las lombrices. De igual manera, no causaron cambios en el número de cocones y de juveniles. Hay que considerar que las dosis de aplicación de Carbaryl formulado como cebo son menores y lo que queda biodisponible en el suelo es bajo con respecto al uso de formulaciones como el insecticida. Asimismo, el i.a. aplicado como insecticida puede tomar contacto directo con el suelo, mientras que, cuando el i.a. formulado como cebo debe ser degradado primero para estar disponible en el mismo. Por lo tanto, la cantidad de i.a. disponible en el suelo seguramente va a ser menor con el cebo con respecto a la aplicación directa del insecticida. En consecuencia, los efectos adversos que puede ocasionar el insecticida Carbaryl va a ser mayor con respecto al cebo granulado.

En el bioensayo con Metaldehído + Carbaryl se obtuvo el 100% de sobrevivencia de *E. fetida*. La biomasa de los individuos de la especie no registró cambios en los tratamientos estudiados a los 7 DDA ($p= 0,661$), 14 DDA ($p= 0,229$), 21 DDA ($p= 0,128$) y 28 DDA ($p= 0,119$) (Figura 3a). Se observó que la biomasa de *E. fetida* durante el bioensayo varió entre 269 ± 13 mg y 314 ± 7 mg con el cebo dual.

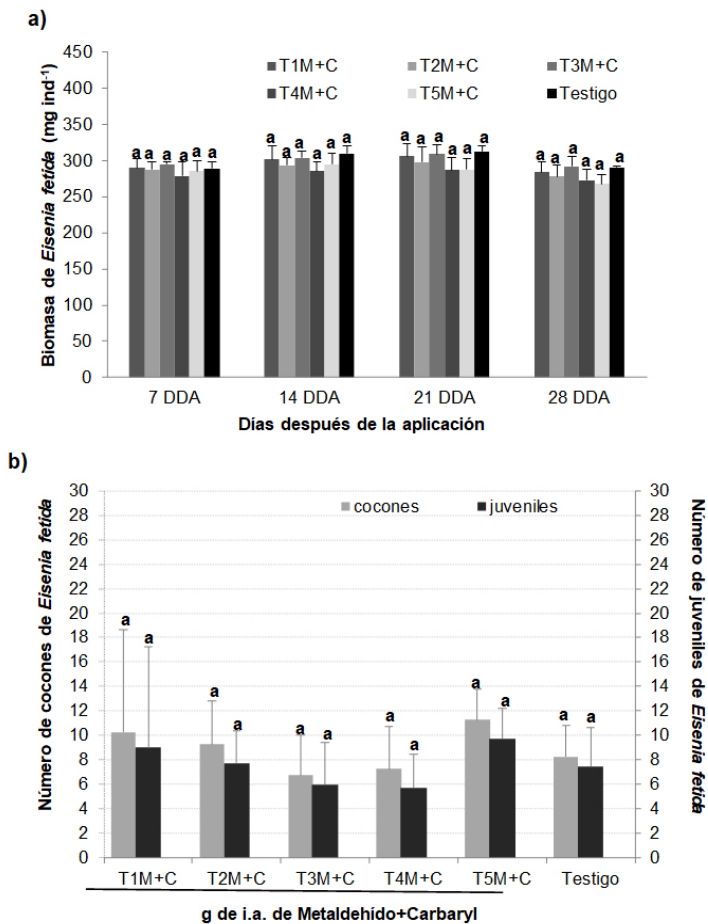


Figura 3.a) Biomasa de *E. fetida* (mg ind⁻¹) (media \pm desvío estándar) en los diferentes tratamientos con Metaldehído + Carbaryl (g de i.a. ha⁻¹) a los 7, 14, 21 y 28 días después de la aplicación (DDA). **b)** Número de cocones y juveniles de *E. fetida* (media \pm desvío estándar) en los diferentes tratamientos con Metaldehído + Carbaryl (g de i.a. ha⁻¹) a los 56 días después de la aplicación. Barras con las letras iguales en cada fecha de observación indican diferencias no significativas entre los promedios de los tratamientos (MDS, $\alpha=0,05$).

Figure 3. a) Biomass of *E. fetida* (mg) (mean \pm standard deviation) in the different treatments with Metaldehyde + Carbaryl (g of a.i. ha⁻¹) at 7, 14, 21 and 28 days after application (DAA). **b)** Number of cocoons and juveniles of *E. fetida* (mean \pm standard deviation) in the different treatments with Metaldehyde + Carbaryl (g of a.i. ha⁻¹) at 56 days after application. Bars with the same letters on each observation date indicate non-significant differences between the means treatments (MDS, $\alpha=0.05$).

Por otro lado, no se detectaron diferencias en el número de cocones y de juveniles entre las dosis de Metaldehído + Carbaryl a los 56 DDA, $p=0,718$ y $p=0,745$, respectivamente (Figura 3b). Para ambas variables el número menor se obtuvo con 120+240 g de Metaldehído + Carbaryl, 7 cocones y 6 juveniles, respectivamente. Mientras que, el número mayor 11 cocones y 10 juveniles se logró con 200+400 g Metaldehído + Carbaryl (Figura 3b).

Si bien se han estudiado por separado el efecto de Metaldehído y Carbaryl sobre los oligoquetos terrestres es escasa información del efecto de ambos i.a. sobre los mismos. Sin embargo, en condiciones a campo con el cebo Metaldehído + Carbaryl, Salvio et al. (2011) informan que la aplicación de 4 kg ha⁻¹ no afecta la densidad de las lombrices a los 45 y 75 DDA. Resultados similares se observaron con la aplicación de 2, 4 y 6 kg ha⁻¹ a los 7, 10, 23 y 37 DDA (Salvio et al., 2013).

En la actualidad se ha estudiado el efecto del cebo Metaldehído + Carbaryl sobre otros organismos benéficos, como son los colémbolos y los carábidos. En condiciones a campo, la aplicación del cebo no causa cambios en la densidad de los colémbolos (Salvio et al., 2013). En cambio, en condiciones controladas el cebo ocasiona mortalidad y reducción en el número de crías sobre *Folsomia candida* (Colembolla: Isotomi-

dae) con dosis comprendidas entre 160+320 y 200+400 g de Metaldehído + Carbaryl por ha⁻¹ (Salvio et al., 2018a), es decir el doble y el triple de la dosis recomendada del cebo. Considerando al carábido *Scarites anthracinus* expuesto a Metaldehído + Carbaryl aplicado sobre la superficie afecta su supervivencia tanto en condiciones naturales como controladas. Cabe destacar que el cebo resulta muy tóxico para esta especie debido a que su dosis letal cincuenta es de 1,54 kg del cebo en base a Metaldehído + Carbaryl ha⁻¹, la mitad de la dosis de aplicación recomendada (Salvio et al., 2018b). Por lo tanto, hay que considerar cuando es necesario utilizar los cebos que poseen Carbaryl en su formulación, es decir de una manera racional, atenuando los problemas ecológicos del agroecosistema como pueden ser efectos adversos sobre los organismos no blanco.

CONCLUSIONES

La aplicación de los cebos en base a Metaldehído y/o Carbaryl a las dosis estudiadas no causó efectos sobre la sobrevivencia, la biomasa y los parámetros reproductivos de *E. fetida*. Sin embargo, se debería realizar nuevos bioensayos con las diferentes dosis de los cebos granulados considerando una especie representativa del agroecosistema. Si bien no se observaron efectos adversos sobre *E. fetida*, se debería ajustar adecuadamente la dosis y momento de aplicación de estos fitosanitarios en función a la densidad de las plagas a controlar. De esta manera, se aseguraría la conservación y el equilibrio biológico de los organismos edáficos que viven en el sistema suelo.

REFERENCIAS

- Al-Maliki, S., Al-Taey, D.K.A. y Al-Mammori, H.Z. (2021). Earthworms and ecoconsequences: considerations to soil biological indicators and plant function: a review. *Acta Ecol. Sin.* 41: 512–523.
- Bailey, S. (2002). Molluscicidal baits for control of terrestrial gastropods. In G.M. Barker (Ed.). *Molluscs as crop pests* (pp. 33-54). Hamilton, New Zealand: CABI Publishing.
- Becchi, J.E., Faberi, A.J., López, A.N., Clemente, N.L., Manetti, P.L. y Salvio, C. (2015). Nivel de daño económico de *Armadillidium vulgare* (Crustacea: Isopoda) en el cultivo de soja (*Glycine max*). *XV Jornadas Fitosanitarias Argentinas*. (p. 275). ISSN 2451- 8069.
- Bieri, M. (2003). The environmental profile of metaldehyde. In BCPC Symposium Proceedings (pp. 255–262), British Crop Protection Council.
- Blouin, M., Hodson, M.E., Delgado, E.A., Baker, G., Brussaard, L., Butt, K.R., Dai, J., Dendooven, L., Peres, G., Tondoh, J.E., Cluzeau, D. y Brun, J.J. (2013). A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services. *Eur. J. Soil Sci.* 64: 161-182.
- Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes. (2021). Guía de productos fitosanitarios para la República Argentina. Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes. Versión Digital de la Guía de Productos Fitosanitarios - CASAFE - https://guiaonline.casafe.org/index.php/ms_session_manager.
- Carricart, L., Clemente, N.L., Manetti, P.L., Salvio, C. y Faberi, A.J. (2018). Coeficiente de equivalencia de daño de *Milax gagates* (Pulmonata: Stylommatophora) y *Armadillidium vulgare* (Crustacea: Isopoda) en soja. *XVI Jornadas Fitosanitarias Argentinas. Revista Agronómica del Noroeste Argentino* 38(1):153. ISSN 0080-2069.
- Clemente, N.L., López, A.N., Monterubbianesi, M.G., Cazzaniga, N.J. y Manetti, P.L. (2008). Biological studies and phenology of slug *Dero-ceras reticulatum* (Müller, 1774) (Pulmonata: Stylommatophora). *Invertebr. Reprod. Dev.* 52: 23–30.
- Clemente, N.L., Faberi, A.J., Salvio, C. y López, A.N. (2010). Biology and individual growth of *Milax gagates* (Draparnaud, 1801) (Pulmonata: Stylommatophora). *Invertebr. Reprod. Dev.* 54(3): 163-168.
- Clemente, N.L., Faberi, A.J., Salvio, C. y Manetti, P.L. (2019). Coeficientes de equivalencia de daño de diferentes tamaños corporales de *Milax gagates* (Pulmonata: Stylommatophora) y *Armadillidium vulgare* (Crustacea: Isopoda). *XIV Biólogos en Red, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UNMdP* (p.110). ISSN: 1853-9998.
- Corbett, J.R., Wright, K. y Baillie, A.C. (1984). *The biochemical mode of action of pesticides*. Academic Press. London. England. 382 p.
- Das Gupta, R., Chakravorty, P.P. y Kaviraj, A. (2010). Studies on relative toxicities of six insecticides on epigeic earthworm, *Perionyx excavatus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 85:83-86.
- Das Gupta, R., Chakravorty, P.P. y Kaviraj, A. (2011). Susceptibility of epigeic earthworm *Eisenia fetida* to agricultural application of six insecticides. *Chemosphere* 84 (5): 724-726.
- Das Gupta, R., Chakravorty, P.P. y Kaviraj, A. (2012). Effects of carbaryl, chlorpyrifos and endosulfan on growth, reproduction and respiration of tropical epigeic earthworm, *Perionyx excavatus* (Perrier). *J. Environ. Sci. Heal. B* 47 (2): 99-103.
- Edwards, C.A. (2004). *Earthworm Ecology*, 2° ed. CRC Press, Boca Raton, London. 441 pp.
- Edwards, C.A., Arancon, N.Q., Vasko-Bennett, M., Little, B. y Askar, A. (2009). The relative toxicity of metaldehyde and iron phosphate-based molluscicides to earthworms. *Crop Prot.* 28 (4): 289–294.

- Faberi, A.J., Clemente, N.L., Manetti, P.L. y López, A.N. (2014). Nivel de daño económico de *Armadillidium vulgare* (Latreille, 1804) (Crustacea: Isopoda) en el cultivo de girasol. *RIA* 40 (2): 182-188.
- Fiera, C., Ulrich, W., Popescu, D., Buchholz, J., Querner, P., Bunea, C., Strauss, P., Bauer, T., Kratschmer, S., Winter, S. y Zaller, J.G. (2020). Tillage intensity and herbicide application influence surface-active springtail (Collembola) communities in Romanian vineyards. *Agric. Ecosyst. Environ.* 300: 107006.
- Garavano, M.E., Manetti, P.L., Clemente, N.L., Faberi, A.J., Salvio, C. y López, A.N. (2013). Cebos moluscicidas y moluscicidas líquidos para el control de *Deroceras reticulatum* (Pulmonata: Stylomatophora), plaga en el cultivo de colza. *RIA* 39 (1): 60-66.
- Gambi, N., Pasteris, A. y Fabbri, E. (2007). Acetylcholinesterase activity in the earth-worm *Eisenia andrei* at different conditions of carbaryl exposure. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* 145: 678-685.
- Gavin, W.E., Mueller-Warrant, G.W., Griffith, S.M. y Banowetz, G.M. (2012). Removal of molluscicidal bait pellets by earthworms and its impact on control of the gray field slug (*Deroceras reticulatum* Mueller) in western Oregon grass seed fields. *Crop Prot.* 42: 94-101.
- Gong, P. y Perkins, E.J. (2016). Earthworm toxicogenomics: a renewed genome-wide quest for novel biomarkers and mechanistic insights. *Appl. Soil Ecol.* 104: 12-24.
- Jongmans, A.G., Pulleman, M.M., Balabane, M., van Oort, F. y Marinissen, J.C.Y. (2003). Soil structure and characteristics of organic matter in two orchards differing in earthworm activity. *Appl. Soil Ecol.* 24:219-232.
- Jovana, M., Milutinovi, T. y Mirjana, S. (2014). Effects of three pesticides on the earthworm *Eisenia fetida* (Savigny 1826) under laboratory conditions: Assessment of mortality, biomass and growth inhibition. *Eur. J. Soil Biol.* 62: 127-131.
- Iglesias, J., Castillejo, J. y Castro, R. (2003). The effects of repeated applications of the molluscicide metaldehyde and the biocontrol nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* on molluscs, earthworms, nematodes, acarids and collembolans: a two-year study in north-west Spain. *Pest Manag. Sci.* 59 (11): 1217-1224.
- Langan, A.M. y Shaw, E.M. (2006). Responses of the earthworm *Lumbricus terrestris* (L.) to iron phosphate and metaldehyde slug pellet formulations. *Appl. Soil Ecol.* 34: 184-189.
- Lavelle, P., Decaëns, T., Aubert, M., Barot, S., Blouin, M., Bureau, F., Margarie, P., Mora, P. y Rossi, J. (2006). Soil invertebrates and ecosystem services. *Eur. J. Soil Biol.* 42: 3-15.
- Lima, M.P.R., Soares, A.M.V.M. y Loureiro, S. (2011). Combined effects of soil moisture and carbaryl to earthworms and plants: Simulation of flood and drought scenarios. *Environ. Pollut.* 159: 1844-1851.
- Lima, M.P.R., Cardoso, D.N., Soares, A.M.V.M. y Loureiro, S. (2015). Carbaryl toxicity prediction to soil organisms under high and low temperature regimes. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 114: 263-272.
- Lowe, C.N. y Butt, K.R. (2007). Earthworm culture, maintenance and species selection in chronic ecotoxicological studies: A critical review. *Eur. J. Soil Biol.* 43: 281-288.
- Manetti, P.L., Faberi, A.J., Clemente, N.L. y López, A.N. (2013). Macrofauna activity-density in contrasting tillage systems in Buenos Aires province, Argentina. *Agronomy Journal* 105 (6): 1780-1786.
- Manetti, P.L., Faberi, A.J., Andrade, J., Biocca, M., Camezzana, J., De Marco, G., Viani, G. y Voullioz, J.P. (2009). Control de *Armadillidium vulgare* (Crustacea: Isopoda) con cebos tóxicos en el cultivo de girasol. *XIII Jornadas Fitosanitarias Argentinas*. (3 p.).
- Momo, F.R. y Falco, L.B. (2010). Las lombrices de tierra. En F.R. Momo y L.B. Falco (Eds.) *Biología y ecología de la fauna del suelo* (pp. 141-160). Ediciones Imago Mundi.
- Neuhausser, E.F. y Callahan, C.A. (1990). Growth and reproduction of the earthworm *Eisenia fetida* exposed to sublethal concentrations of organic chemicals. *Soil Biol. Biochem.* 22 (2): 175-179.
- Organisation for Economic Co-operation and Development (1984). Earthworm, Acute Toxicity Tests, Test Guidelines N°207. *OECD Test in Soil Guidelines for testing chemicals*, Paris. (9 p.).
- Organisation for Economic Co-operation and Development (2004). Earthworm Reproduction Test (*Eisenia fetida*/ *Eisenia andrei*), Test Guidelines N°222. *OECD Test in Soil Guidelines for testing chemicals*, Paris. (18 p.).
- R Development Core Team. (2017). R: A language and environment for statistical computing. *R foundation for statistical computing*, Vienna, Austria. Version R 3.4.3.
- Rafael, S.E., Salvio, C., Manetti, P.L., Clemente, N.L. y López, A.N. (2015). Susceptibilidad de *Octolasion cyaneum* (Annelida: Oligochaeta, Lumbricidae) expuesta a clorpirifos. *Ci. Suelo* 33(2): 173-181.
- Reinecke, S. y Reinecke, A. (2007). Biomarker response and biomass change of earthworms exposed to chlorpyrifos in microcosms. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 66: 92-101.
- Salvio, C., Faberi, A.J., López, A.N., Manetti, P.L. y Clemente, N.L. (2008). The efficacy of three metaldehyde pellets marketed in Argentina, on the control of *Deroceras reticulatum* (Müller) (Pulmonata: Stylommatophora). *Span. J. Agric. Res.* 6 (1): 70-77.
- Salvio, C., López, A.N., Manetti, P.L. y Clemente, N.L. (2011). Effects of granulated baits on meso and macrofauna in soybean soil system. *J. Environ. Biol.* 32 (6): 793-799.

- Salvio, C., Manetti, P.L., Clemente, N.L. y López, A.N. (2013). Acción de los cebos granulados sobre los invertebrados edáficos. *Ci. Suelo* 31 (2): 165-174.
- Salvio, C., Manetti, P.L., Clemente, N.L. y López, A.N. (2014). Efectos de Carbaryl y Metaldehído sobre *Armadillidium vulgare* (Crustacea: Isopoda) y *Milax gagates* (Mollusca: Pulmonata) en soja bajo siembra directa. *Agrociencia Uruguay* 18 (2): 82-89.
- Salvio, C., Menone, M., Rafael, S., Iturburu, G. y Manetti, P.L. (2015a). Survival, reproduction, avoidance behavior and oxidative stress biomarkers in the earthworm *Octolasion cyaneum* exposed to glyphosate. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* DOI 10.1007/s00128-015-1700-8.
- Salvio, C., Manetti, P.L., Clemente, N.L., Menone, M. y López, A.N. (2015b). Toxicidad subletal de clorpirifos sobre *Octolasion cyaneum* (Annelida: Oligochaeta, Lumbricidae). *Agriscientia* 32 (2): 131-138.
- Salvio, C., Manetti, P.L., Clemente, N.L. y López, A.N. (2018a). Incidencia de los cebos a base de metaldehído y carbaril en la supervivencia y la reproducción de *Folsomia candida*. *Agriscientia* 35: 43-50.
- Salvio, C., Manetti, P.L., Clemente, N.L. y López, A.N. (2018b). Toxicidad de los cebos en base a metaldehído y/o carbaryl sobre *Scarites anthracinus* (Coleoptera: Carabidae). *Ci. Suelo* 36 (1): 55-61.
- Sanchez-Hernandez, J.C. (2006). Earthworm Biomarkers in Ecological Risk Assessment. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 188: 85-126.
- Saxena, P.N., Gupta, S.K. y Murthy, R.C. (2014) Comparative toxicity of carbaryl, carbofuran, cypermethrin and fenvalerate in *Metaphire posthuma* and *Eisenia fetida* -A possible mechanism. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 100: 218-225.
- Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. (2021). Listado actualizado a agosto de 2021. [en línea] <(https://www.argentina.gov.ar/senasa/programas-sanitarios/productosveterinarios-fitosanitarios-y-fertilizantes/registro-nacional-de-terapeutica-vegetal) consulta: agosto de 2021].
- Villarino, S.V., Manetti, P.L., López, A.N., Clemente, N.L. y Faberi, A.J. (2012). Formulaciones con combinación de ingredientes activos para el control de *Armadillidium vulgare* (Crustacea: Isopoda), plaga en el cultivo de colza. *RIA* 30 (1): 91-96.
- Yasmin, S. y D'Souza, D. (2007). Effect of pesticides on the reproductive output of *Eisenia fetida*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 79(5): 529-532.