



## The Biologist (Lima)



ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

### TOXIC EFFECT OF THE ANTIPSYCHOTIC HALOPERIDOL ON *LEMNA MINOR* (GRIFF, 1851) (LILIOPSIDA, LEMNACEAE) AND *DAPHNIA MAGNA* (STRAUS, 1820) (CLADOCERA, DAPHNIIDAE)

### EFFECTO TÓXICO DEL ANTIPSICÓTICO HALOPERIDOL SOBRE *LEMNA MINOR* (GRIFF, 1851) (LILIOPSIDA, LEMNACEAE) Y *DAPHNIA MAGNA* (STRAUS, 1820) (CLADOCERA, DAPHNIIDAE)

Diego Ildefonso-Rivera<sup>1</sup>; Angela Hernando-Blotte<sup>1</sup> & José Iannacone<sup>2,3,4\*</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Biológicas y Veterinarias, Universidad Científica del Sur, Lima, Perú.

<sup>2</sup>Laboratorio de Ecología y Biodiversidad Animal. Facultad de Ciencias Naturales y Matemática. Universidad Nacional Federico Villarreal. Lima, Perú.

<sup>3</sup>Laboratorio de Parasitología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Ricardo Palma. Lima, Perú.

\*Corresponding author: [joseiannaconeoliver@gmail.com](mailto:joseiannaconeoliver@gmail.com).

Diego Ildefonso-Rivera: <https://orcid.org/0000-0002-6650-4522>

Angela Hernando-Blotte: <https://orcid.org/0000-0003-4449-5183>

José Iannacone: <https://orcid.org/0000-0003-3699-4732>

## ABSTRACT

In this bioassay, the sublethal and lethal toxicity of the antipsychotic haloperidol was determined on the species *L. minor* and *D. magna* using five doses of haloperidol for 48h (0.22 mg·L<sup>-1</sup>, 0.67 mg·L<sup>-1</sup>, 2 mg·L<sup>-1</sup>, 6 mg·L<sup>-1</sup> and 18 mg·L<sup>-1</sup>). The half maximal effective concentration (EC<sub>50</sub>) found in *L. minor* was 11.19 mg·L<sup>-1</sup>, while the no observed effect concentration (NOEC) and lowest observed effect concentration (LOEC) was 6 mg·L<sup>-1</sup> and 18 mg·L<sup>-1</sup>, respectively. In the case of *D. magna*, the EC<sub>50</sub> and mean lethal concentration (CL<sub>50</sub>) was 29.82 y 290.55 mg·L<sup>-1</sup> at 24h and 1.83 mg·L<sup>-1</sup> y 5.69 mg·L<sup>-1</sup> at 48h respectively. The NOEC at 24h and 48h was 2 mg·L<sup>-1</sup>, and the LOEC was 6 mg·L<sup>-1</sup>. *L. minor* and *D. magna* are considered bioindicators due to their sensitivity to haloperidol, so their exposure to this drug could affect and cause a risk to aquatic communities.

**Keywords:** Haloperidol – Toxicity – *Lemma minor* – *Daphnia magna*

## RESUMEN

Se determinó la toxicidad letal y subletal de antipsicótico haloperidol sobre *Lemna minor* y (Griff, 1851) (Liliopsida, Lemnaceae) y *Daphnia magna* (Straus, 1820) (Cladocera, Daphniidae). Se utilizaron cinco dosis ( $0,22 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $0,67 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $18 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ). La concentración efectiva media ( $\text{CE}_{50}$ ) en *L. minor* fue de  $11,19 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , mientras que la concentración a la cual no se observa efecto (NOEC) y concentración más baja a la cual se observa efecto (LOEC) fue de  $6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $18 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivamente. En el caso de *D. magna*, la  $\text{CE}_{50}$  y concentración letal media ( $\text{CL}_{50}$ ) fue  $29,82$  y  $290,55 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  a las 24 h y  $1,83 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $5,69 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  a las 48 h, respectivamente. El NOEC a las 24 h y 48 h fue de  $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , y el LOEC de  $6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . *L. minor* y *D. magna* son consideradas bioindicadoras, por su sensibilidad al haloperidol, por lo que su exposición a este fármaco podría afectar y ocasionar un riesgo a las comunidades acuáticas.

**Palabras clave:** Haloperidol – Toxicidad – *Lemna minor* – *Daphnia magna*

## INTRODUCCIÓN

La creciente presencia de fármacos y sus derivados en el ambiente, ha causado preocupación por su gran potencial tóxico al causar efectos negativos en la salud ambiental y pública (Aus der Beek *et al.*, 2015; Ellepola *et al.*, 2019). A pesar de esto, hay pocos estudios en ecotoxicología acuática con fármacos psicotrópicos e incluso, en menor cantidad se enfocan específicamente en la determinación de la concentración efectiva media ( $\text{CE}_{50}$ ) y la concentración letal media ( $\text{CL}_{50}$ ) (Sousa, 2016).

El haloperidol es un psicotrópico antipsicótico utilizado en el tratamiento sintomático de los desórdenes psicóticos, tics nerviosos y otras alteraciones metales (IQB, 2010). Aunque estos compuestos farmacéuticamente activos están diseñados para ejercer un efecto sobre las personas, mamíferos u otros vertebrados, afectan también a los invertebrados, bacterias y plantas (Cleuvers, 2003, 2005). Las especies bioindicadoras, son de suma importancia porque pueden utilizarse para evaluar tanto la condición como los cambios de los sistemas biológicos y su grado de impacto en ecosistemas acuáticas (CFE, 1996; Vera *et al.*, 2009; Gonzalez *et al.*, 2014).

*Daphnia magna* (Straus, 1820) “pulga de agua”, por sus características como ser translúcido, de fácil mantenimiento y sensible a su entorno, es utilizado con frecuencia como organismo modelo para realizar pruebas ecotoxicológicas (Campbell *et al.*, 2004; Agudelo *et al.*, 2018). La

concentración-respuesta ante un estresante químico de *D. magna* puede ayudar a predecir las consecuencias a exposiciones en diferentes concentraciones, estados de vida y en otras especies del ecosistema dulceacuático (Siciliano *et al.*, 2015). Similarmente, la macrófita *Lemna minor* (Linnaeus, 1758) “lenteja de agua” es utilizada en bioensayos ecotoxicológicos por su alta sensibilidad y simplicidad de uso (Roldán, 1992; Imron *et al.*, 2019; Radulović *et al.*, 2020). Además, es empleada para biorremediación de compuestos tóxicos en el agua (Ansari *et al.*, 2020; Ali *et al.*, 2020). Por ende, el objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto tóxico del antipsicótico haloperidol sobre *L. minor* y *D. magna* bajo condiciones de laboratorio.

## MATERIALES Y METODOS

### Material biológico y aclimatación

La lenteja de agua (*L. minor*) fue recolectada en los canales laterales del Refugio de Vida Silvestre Humedal Pantanos de Villa, Lima, Perú ( $12^{\circ}13'09,10''\text{S}$ ,  $76^{\circ}58'40,85''\text{O}$ ), mientras que las pulgas de agua (*D. magna*) fueron adquiridas de un acuario de la ciudad de Lima, Perú ( $12^{\circ}05'08,79''\text{S}$ ,  $76^{\circ}59'21,23''\text{O}$ ). Las lentejas de agua fueron lavadas, limpiadas con agua filtrada ( $250\mu\text{m}$ ) proveniente de su ambiente natural, y trasladadas a un balde (20L) en donde permanecieron con agua filtrada ( $18\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), aireación constante y un fotoperiodo de  $10 \text{ h}\cdot\text{día}^{-1}$  por cuatro días. En el caso de las pulgas de agua estas fueron colocadas en

botellas de 1L con agua de clorinada, aireación constante ( $20^{\circ}\text{C}\pm 2$ ) y con alimento diario a base de *Chlorella vulgaris* Beyerinck durante siete días. Las pulgas de agua de grávidas, sin presencia de efipios, fueron seleccionadas y mantenidas en inanición por 24 h para obtener neonatos (<24h de nacidos) y con estos realizar el bioensayo (Dellafreda & Iannacone, 2021; Caja-Molina & Iannacone, 2021).

### Diseño experimental y análisis de datos

***Lemna minor*:** Se utilizaron 24 envases de plástico de 120 mL (cinco concentraciones y un control con cuatro réplicas), en los que se colocaron 10 colonias (dos frondas unidas) con 100 mL de agua de clorinada, utilizando un total de 240 colonias. Las frondas seleccionadas fueron de similar tamaño y visiblemente en buen estado. El bioensayo de 168 h se realizó bajo condiciones controladas con temperatura constante de  $18\pm 1^{\circ}\text{C}$  y pH  $7,5\pm 0,5$ . Las lecturas finales de los efectos subletales se dieron al final del ensayo y fueron: ruptura de colonias, clorosis y necrosis las cuales se determinaron mediante el uso de un microscopio estereoscópico. Además, se registró la formación de nuevas frondas y el peso húmedo con una balanza analítica (Caja-Molina & Iannacone, 2021).

***Daphnia magna*:** Se utilizaron bajo las mismas condiciones que en *L. minor*, pero en este caso cada envase contuvo 10 neonatos, requiriendo un total de 240 individuos. El bioensayo de 48h se realizó bajo las mismas condiciones controladas del ensayo con *L. minor*. La lectura de los tratamientos se realizó en base a la presencia de inmovilidad y mortalidad (24 h y 48 h de exposición) en cada concentración. La inmovilidad se consideró como la falta de movimiento alguno a excepción de los latidos cardiacos. Estos latidos fueron grabados a las 48h de exposición por 30 s y duplicados con el fin de obtener la frecuencia cardiaca (ppm, palpitations por min).

La evaluación de la toxicidad se realizó utilizando un bioensayo estático con diseño de bloques completamente aleatorizado (DBCR: 6x4). Las cinco concentraciones de haloperidol evaluadas en ambas especies fueron: 0,22, 0,67, 2, 6 y  $18\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . La frecuencia cardiaca (ppm, palpitations por min), número de frondas y peso húmedo, fueron transformados con  $\log_{10}$ , y la mortalidad, inmovilidad, clorosis, necrosis y ruptura de

colonias fueron ajustadas a  $(2/\pi)\cdot[\arcsin(\sqrt{x})]$ . Los datos transformados se analizaron con el programa estadístico R<sub>studio</sub> (versión 0.99.902), a través de un análisis de varianza de una vía (ANOVA) y luego, en el caso de encontrar diferencia significativa ( $p<0,05$ ), con un análisis post-hoc de Tukey HSD para determinar esta diferencia entre el control y las concentraciones. Este programa también se utilizó para calcular los estadísticos descriptivos de los parámetros medidos. Además, se utilizó el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) para calcular la asociación lineal entre la respuesta-concentración.

Se calculó la  $CL_{50}$  y la  $CE_{50}$  para la inmovilidad a 24 h y 48h de exposición, y la  $CE_{50}$  de la ruptura de colonias, necrosis y clorosis, para *D. magna* y *L. minor*, respectivamente, utilizando el programa TRAP Versión 1.30a (2015) de la EPA (Environmental Protection Agency). Las correcciones de los porcentajes de las respuestas biológicas se realizaron a través de la fórmula de Schneider-Orelli (1947). La concentración para la que no se observa efecto (NOEC) y la mínima concentración de observación de efecto (LOEC) fueron hallados a través del análisis de Tukey, previo análisis de varianza (ANOVA).

**Aspectos éticos:** Los autores señalan que se cumplieron todos los rubros éticos Nacionales e Internacionales.

## RESULTADOS

### *Lemna minor*

La ruptura de colonias tiende a aumentar a medida que se incrementa las concentraciones (Fig. 1A), existiendo una relación lineal entre la ruptura de colonias y las concentraciones ( $R^2= 0,84$ ). El 93% de colonias presentaron ruptura a  $18\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y 45% a  $6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Hay diferencia significativa entre esta primera concentración y el control. Las demás concentraciones presentaron valores más bajos que el control.

El número de frondas nuevas promedio fue mayor en el control, seguido de las concentraciones más altas:  $6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $18\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . El menor número de frondas nuevas promedio se dio en la concentración de  $0,22\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (Fig. 1B). Sin embargo, no hubo diferencias significativas entre las concentraciones y el control. Se encontró una

buena asociación lineal entre la ruptura de colonias y número de frondas nuevas ( $R^2=0,77$ ).

Se encontraron diferencias significativas entre el peso húmedo del control y las concentraciones de 0,67 mg. Se observó una tendencia a ser mayor en concentraciones menores ( $R^2=0,57$ ) (Fig. 1C). No hubo diferencia significativa entre la concentración-necrosis y concentración-clorosis. Respecto a la ruptura de colonias, la  $CE_{50}$ , NOEC y LOEC es 11,19, 6 y 18  $mg \cdot L^{-1}$ , respectivamente. No se halló la  $CE_{50}$  de clorosis y necrosis de frondas debido a que en ninguno de los tratamientos se alcanzó una respuesta mayor al 50%.

### *Daphnia magna*

La frecuencia cardíaca de *D. magna* disminuye a medida que se incrementa las concentraciones (Fig. 1D). En las concentraciones de 0,22, a 18  $mg \cdot L^{-1}$  se obtuvo una frecuencia cardíaca de 194,875, a 124 ppm, respectivamente. Existe una fuerte relación en base al coeficiente de determinación entre la frecuencia cardíaca-concentración ( $R^2 = 0,83$ ). Hay diferencia significativa entre el control y las concentraciones de 0,67, 6 y 18  $mg \cdot L^{-1}$ .

Se encontró presencia de inmovilidad en *D. magna* desde las 24 h en todas las concentraciones evaluadas a excepción del control. La inmovilidad a 24 h de exposición tiende a presentarse en mayor cantidad al aumentar las concentraciones de haloperidol ( $R^2=0,75$ ) (Fig. 1E), sin embargo, esto no pasa a las 48 h ( $R^2 = 0,45$ ) (Fig. 1F). Hubo diferencia significativa en inmovilidad (24 h y 48 h) entre el control y las concentraciones de 6 y 18  $mg \cdot L^{-1}$ . A medida que la dosis incrementa también lo hace la mortalidad (Fig. 1G y 1H). Esta relación tuvo un coeficiente de determinación de  $R^2=0,63$  a las 24 h y de  $R^2=0,66$  a las 48h. La  $CE_{50}$  y  $CL_{50}$  a las 24 h (29,82 y 290.55  $mg \cdot L^{-1}$ ) fue mayor que a las 48 h (1,83 y 5,69  $mg \cdot L^{-1}$ ). El NOEC a las 24 h y 48 h fue de 2  $mg \cdot L^{-1}$  y el LOEC de 6  $mg \cdot L^{-1}$ .

## DISCUSIÓN

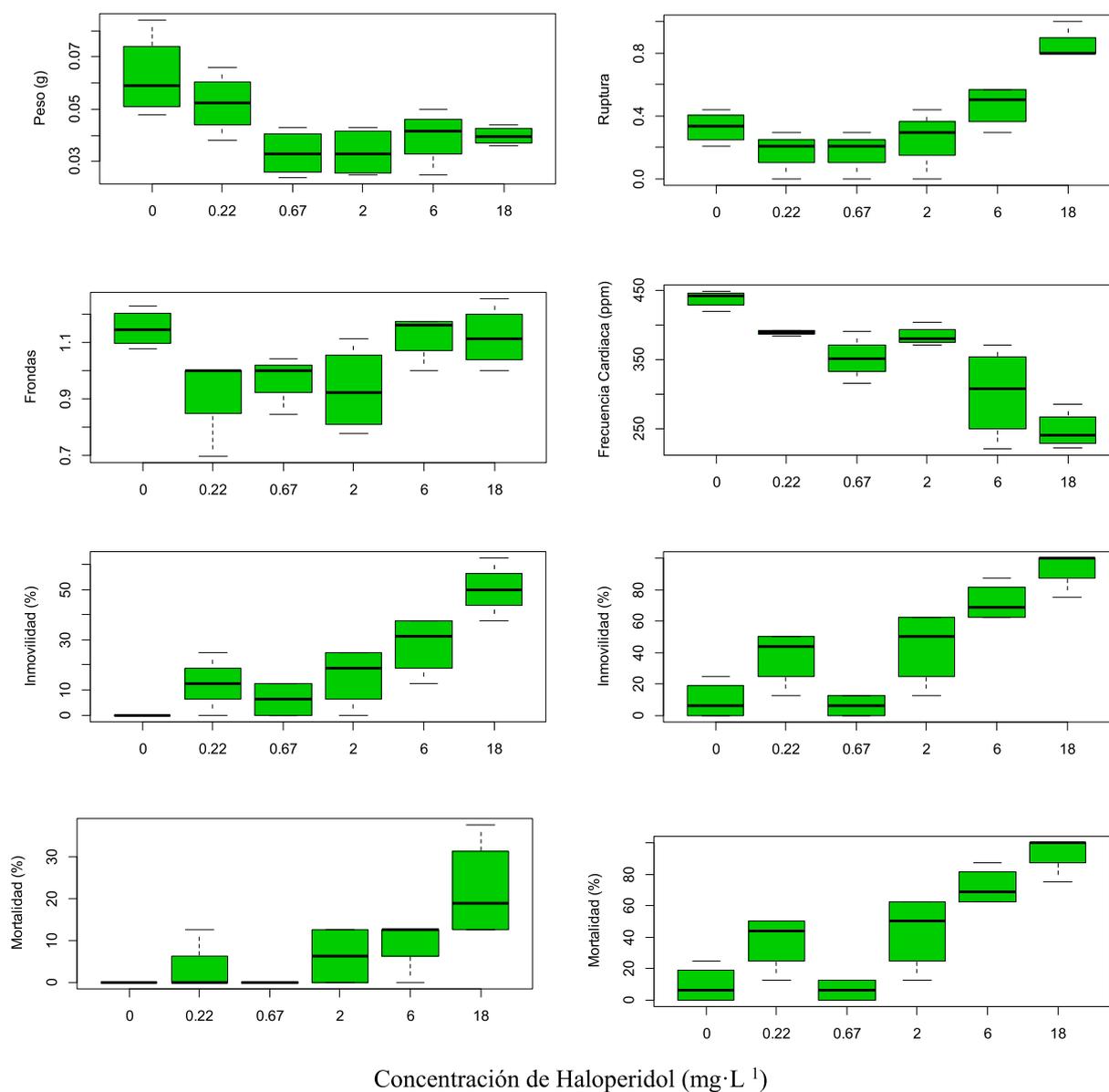
El peso húmedo de *L. minor* fue uno de los parámetros más sensibles al haloperidol, lo que coincide con el trabajo realizado por Brain *et al.*

(2003) con *Lemna gibba* L. utilizando los fármacos sulfametoxazol, lomefloxacina y clortetraciclina, en donde a medida que se incrementaba la concentración de estas tres sustancias disminuía el peso húmedo. De forma inversa, cuando se utilizó tilosina y lincomicina el peso húmedo incrementó al aumentar la concentración. Sin embargo, en cuanto a la relación entre el número de frondas nuevas - concentración, Brain *et al.* (2003) observaron un incremento de frondas nuevas al aumentar la dosis de tilosina y lincomicina y lo contrario con sulfametoxazol, lomefloxacina y clortetraciclina. Aunque tilosina y lincomina generó un incremento de frondas nuevas en *L. gibba* a medida que se incrementaba la concentración, en nuestro ensayo con haloperidol, promovió la formación de frondas nuevas y causó un incremento de su separación. El incremento de frondas nuevas con haloperidol en *L. minor* podría deberse al principio hormesis (Brain *et al.*, 2003).

La clorosis en macrófitas es causada por un insuficiente drenaje, daño a las raíces, incremento del pH en su medio acuoso o por deficiencias nutricionales de la planta, lo cual no le permite producir clorofila (Lucena, 2009; Martínez *et al.*, 2009). En este bioensayo, la presencia casi inexistente de clorosis en *L. minor* indica que no hay un daño medible ocasionado por haloperidol en el aparato fotosintético (Valenzuela, 2013). Aunque estadísticamente no hay un sustento que indique que el haloperidol causa necrosis en *L. minor* por presentarse solo en escasas hojas, su presencia únicamente en las concentraciones más altas y la disminución del peso húmedo, puede ser un indicador prematuro de un efecto fitotóxico en esta planta acuática (Lewis, 1995).

Saouter *et al.* (2019) clasifican las sustancias de acuerdo al valor de su  $CE_{50}$ . Según esto, el haloperidol sería clasificado como tóxico y dañino para organismos acuáticos si se toma en consideración la  $CE_{50}$  de *D. magna* (1,83  $mg \cdot L^{-1}$ ) y *L. minor* (11,19  $mg \cdot L^{-1}$ ), respectivamente. Si bien ambas especies acuáticas son sensibles al haloperidol, la alta mortalidad de *D. magna* indica que este microcrustáceo es más sensible a este fármaco.

Actualmente, los fármacos se utilizan con una infinidad de objetivos, por lo tanto, su naturaleza y mecanismo de acción es diverso, clasificándose



**Figura 1.** Diagrama de caja para la relación entre con las cinco concentraciones de haloperidol con: **A.** peso húmedo de *Lemna minor*. **B.** ruptura de colonias de *L. minor*. **C.** número de frondas nuevas totales promedio de *L. minor*. **D.** frecuencia cardiaca (pulsaciones por minuto, ppm) de *Daphnia magna*. **E.** inmovilidad de *D. magna* a 24 h de exposición. **F.** inmovilidad de *D. magna* a 48 h de exposición. **G.** mortalidad de *D. magna* a 24 h de exposición. **H.** mortalidad de *D. magna* a 48 h de exposición.

como antibióticos, AINES/analgésicos, fármacos cardio-vasculares, fármacos del sistema nervioso central (anestésicos, antiepilépticos, antipsicóticos y antidepresivos), entre otros (WHO, 2019). Los resultados obtenidos en distintos estudios demuestran que diversos productos farmacéuticos pueden ocasionar efectos en *L. minor* y *D. magna*, que los menores valores de  $CE_{50}$  tienden a encontrarse en aquellos fármacos que afectan al sistema nervioso, como Haloperidol. Por ejemplo, Kaza *et al.* (2007), Lilius *et al.* (1994), Damasceno (2014) y Calleja *et al.* (1994), utilizaron los fármacos del sistema nervioso, orfenadrina, amitriptilina, clorpromazina y tioridazina, obteniendo como resultado en *L. minor* una  $CE_{50}$  de 12, 1,69, 0,92 y 0,64  $mg \cdot L^{-1}$ , y en *D. magna* 8,9, 1,2, 1,8 y 4,56  $mg \cdot L^{-1}$ , respectivamente. Si se comparan los valores de dichos estudios con los obtenidos en este trabajo con Haloperidol (11,19 y 1,83  $mg \cdot L^{-1}$ ), fármaco que también actúa en el sistema nervioso central, este último resulta ser uno de los menos tóxicos para dichas especies.

Mientras que, Lilius *et al.* (1994), Kim *et al.* (2012) y FDA-CDER (1996), utilizaron los antibióticos cloranfenicol, lincomicina, isoniazida y dirithromicina y obtuvieron una  $CE_{50}$  de 543 >382,5, 85 y >48  $mg \cdot L^{-1}$  respectivamente; Así mismo, Pro *et al.* (2003) también utilizaron antibióticos, oxitetraciclina y sulfacloropiridazina, obteniendo en *L. minor* una  $CE_{50}$  de 4,92 y 2,33  $mg \cdot L^{-1}$ . En ambos estudios los valores resultan ser menores que con *D. magna*, debido a que las bacterias juegan un rol simbiótico muy importante con las plantas (Iguchi *et al.*, 2015).

Por otro lado, Cleuvers (2003) y Kaza *et al.* (2007), en sus ensayos con los fármacos cardiovasculares captopril, propranolol y metoprolol obtuvieron en *D. magna* una  $CE_{50}$  de >100, 7,5 y >100  $mg \cdot L^{-1}$ , respectivamente; mientras que, en *L. minor* una  $CE_{50}$  de 25, 21.2 y >200  $mg \cdot L^{-1}$ . Además, utilizaron los fármacos enalapril y verapamilo, para los cuales hallaron una  $CE_{50}$  de >201 y 24,3  $mg \cdot L^{-1}$ , respectivamente. Otros autores como, Lilius *et al.* (1994) utilizaron atropina sulfato, sulfato de quinidina y digoxina en *D. magna*, obteniendo una  $CE_{50}$  de 258, 60 y 24  $mg \cdot L^{-1}$ , respectivamente. Respecto a los AINES/analgésicos, Cleuvers (2003), Haap *et al.* (2008), Kim *et al.* (2012) y Kaza *et al.* (2007) utilizaron los fármacos naproxeno, Ibuprofeno, carbamazepina, diclofenaco, y

paracetamol en *D. magna*, obteniendo una  $CE_{50}$  de 174, 108, >100, 39,9, 11,85  $mg \cdot L^{-1}$  y en *L. minor* de 24,2, 22, 25,5, 7,5 y >200  $mg \cdot L^{-1}$ , respectivamente.

Al comparar las  $CE_{50}$  obtenidas en dichos estudios y en el presente trabajo, se determina que ambas especies son más sensibles y afectadas por el haloperidol que por la gran mayoría de antibióticos, AINES/analgésicos y fármacos cardio-vasculares.

El haloperidol es un antagonista del receptor de la dopamina (Hays & Rubin, 1981) que causa inhibición de la alimentación en ratas mediante el bloqueo de la percepción de hambre, así como también inhibe la alimentación de *D. magna* (Furuhagen *et al.*, 2014). Sin embargo, no hay mucha literatura disponible respecto a cómo el haloperidol afecta a *L. minor* u otras plantas acuáticas.

En un registro realizado por CPHU (2013), se obtuvo un NOEC de 0,00261  $mg \cdot L^{-1}$  en *Daphnia* sp. utilizando aripiprazole, antipsicótico de la misma familia que haloperidol. Sin embargo, en el presente bioensayo con haloperidol obtuvimos valores menos sensibles, una NOEC de 6  $mg \cdot L^{-1}$  en *L. minor* y de 1,83  $mg \cdot L^{-1}$  en *D. magna*.

El fármaco betabloqueante propranolol, el cual es similar al haloperidol, ha demostrado reducir el ritmo cardíaco de *Daphnia*. No obstante, cuando se suspende su exposición y se retorna al agua su frecuencia cardíaca se normaliza con el paso del tiempo (Jeong *et al.*, 2015). Sin embargo, se desconoce si sucede lo mismo con haloperidol. La disminución del ritmo cardíaco puede deberse a que el haloperidol bloquea el receptor dopaminico D2, el cual se encarga de activar los canales de potasio, acelerando el ritmo cardíaco (Levy, 1927). El ritmo cardíaco es un parámetro representativo de las acciones del sistema nervioso (Guyenet, 1990), por lo que cualquier variación de este en el presente bioensayo evidencia cambios en la actividad del sistema nervioso.

El antipsicótico haloperidol no solo tiene efectos en humanos (Yangua, 2018), sino también en *D. magna* y *L. minor* como se demostró en este trabajo. Ambas especies son consideradas bioindicadoras, por su sensibilidad al haloperidol, por lo que su exposición a este fármaco podría

afectar y ocasionar un riesgo a las comunidades acuáticas.

## AGRADECIMIENTOS

A Mercedes Herrera Quispe y Erick Martinetti Rocca, por su apoyo en la etapa inicial de este trabajo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agudelo, E.A.; Gaviria-Restrepo, L.F.; Barrios-Ziolo, L.F. & Cardona-Gallo, S. 2018. Técnicas para determinar toxicidad en aguas residuales industriales contaminadas con colorantes y pigmentos. DYNA, 85(207): 316-327.
- Ali, S.; Abbas, Z.; Rizwan, M.; Zaheer, I. E.; Yavaş, İ.; Ünay, A.; Abdel-Daim, M.; Bin-Jumah, M.; Hasanuzzaman, M. & Kalderis, D. 2020. Application of floating aquatic plants in phytoremediation of heavy metals Polluted water: A Review. Sustainability, 12: 1927.
- Ansari, A.A.; Naeem, M.; Gill, S.S. & AlZuaibr, F.M. 2020. Phytoremediation of contaminated waters: An eco-friendly technology based on aquatic macrophytes application. The Egyptian Journal of Aquatic Research, 46: 371-376.
- Aus der Beek, T.; Weber, F.A.; Bergmann, A.; Hickmann, S.; Ebert, I.; Hein, A. & Küster, A. 2016. Pharmaceuticals in the environment - Global occurrences and perspectives. Environmental Toxicology and Chemistry, 35: 823-835.
- Brain, R.A.; Johnson, D.J.; Richards, S.M.; Sanderson, H.; Sibley, P.K. & Solomon, K.R. 2003. Effects of 25 pharmaceutical compounds to *Lemna gibba* using a seven-day static-renewal test. Environmental Toxicology and Chemistry, 23: 371-382.
- Caja-Molina, A.V. & Iannacone, J. 2021. Evaluación del riesgo ambiental por petróleo crudo en las especies acuáticas *Lemna minor*, *Daphnia magna* y *Danio rerio*. Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 45(176):777-794.
- Calleja, M.C.; Personne, G. & Geladi P. 1994. Comparative acute toxicity of the first 50 Multicentre Evaluation of in vitro cytotoxicity chemicals to aquatic non-vertebrates. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 26: 69-79.
- Campbell, A.; Wann, K. & Matthews, S. 2004. Lactose causes heart arrhythmia in the water flea *Daphnia pulex*. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 139: 225-234.
- Cleuvers, M. 2003. Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. Toxicology Letters, 142: 185-194.
- Cleuvers, M. 2005. Initial risk assessment for three betablockers found in the aquatic environment. Chemosphere, 59: 199-205.
- Commission of the European Communities (CEE). 1996. Technical guidance document in support of commission directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances and commission regulation (EC) No 1488/94 on risk assessment for existing substances. Part II; Environmental Risk Assessment. Office for official publications of the European Communities, Luxembourg.
- Committee for Medicinal Products for Human Use (CPHU). 2013. Assesment report for the Committee for Medicinal Products for Human Use. Assessment report. Abilify Maintena. International non-proprietary name: Aripiprazole. Procedure No. EMEA/H/C/002755/0000. European Medicines Agency.
- Damasceno, L.L. 2014. Biomarcadores enzimáticos e teste ecotoxicológicos na avaliação da toxicidade de fármacos em invertebrados aquáticos (Tesis doctoral). Universidad de Sao Paulo, San Carlos.
- Dellafredad, C. & Iannacone, J. 2021. Efecto Ecotoxicológico de la Mezcla de Aroclor 1254 y Plomo en el Bioindicador *Daphnia magna*. Revista Lasallista de Investigación, 18: 144-161.
- Ellepola, N.; Ogas, T.; Turner, D.N.; Gurung, R.; Maldonado-Torres, S.; Tello-Aburto, R.; Patidar, P.; Rogelj, S.; Piyasena, M. & Rubasinghege, G. 2019. A toxicological

- study on photo-degradation products of environmental ibuprofen: Ecological and human health implications. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 188: 109892.
- United States Food and Drug Administration-Center for Drug Evaluation and Research (FDA-CDER). 1996. *Retrospective review of ecotoxicity data submitted in environmental assessments. FDA Center for Drug Evaluation and Research*. Rockville, MD, USA (Docket No. 96N-0057).
- Furuhagen, S.; Liewenborg, B.; Breitholtz, M. & Gorokhova, E. 2014. Feeding activity and xenobiotics modulate oxidative status in *Daphnia magna*: implications for ecotoxicological testing. *Environmental Science & Technology*, 48: 12886–12892.
- Gonzalez, C.A.; Vallarino, A.; Perez J.C & Low, A. 2014. *Bioindicadores: Guardianes de nuestro futuro ambiental*. El Colegio de la Frontera Sur.
- Guyenet, P. 1990. *Role of ventral medulla oblongata in blood pressure regulation*. In: Spyer, K. & Loewy, A.D., (Eds.), *Central Regulation of Autonomic Functions*, Oxford University Press, pp. 145-167.
- Haap, T.; Triebkorn, R. & Köhler, H.R. 2008. Acute effects of diclofenac and DMSO to *Daphnia magna*: Immobilization and hsp70-induction. *Chemosphere*, 73: 353–359.
- Hays, S.E. & Rubin, R.T. 1981. Differential prolactin responses to Haloperidol and TRH in normal adult men. *Psychoneuroendocrinology*, 6: 45-52.
- Iguchi, H.; Yurimoto, H. & Sakai, Y. 2015. Interactions of methylotrophs with plants and other heterotrophic bacteria. *Microorganisms*, 3: 137-151.
- Imron, M.F.; Kurniawan, S.B.; Soegianto, A. & Wahyudianto, F.E. 2019. Phytoremediation of methylene blue using duckweed (*Lemna minor*). *Heliyon*, 5: e02206.
- Instituto Químico Biológico (IQB). 2010. *Haloperidol*. Centro colaborador de La Administración Nacional de Medicamentos, alimentos y Tecnología Médica – ANMAT. Argentina.
- Jeong, T.Y.; Kim, H.Y. & Kim, D.S. 2015. Multi-generational effects of propranolol on *Daphnia magna* at different environmental concentrations. *Environmental Pollution*, 206: 188-194.
- Kaza, M.; Nalecz, G. & Sawicki, J. 2007. The toxicity of selected pharmaceuticals to the aquatic plant *Lemna minor*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 16: 524–531.
- Kim, P.; Park, Y.; Ji, K.; Seo, J.; Lee, S.; Choi, K.; Kho, Y.; Park, J. & Choi, K. 2012. Effect of chronic exposure to acetaminophen and lincomycin on Japanese medaka (*Oryzias latipes*) and freshwater cladocerans *Daphnia magna* and *Moina macrocopa*, and potential mechanisms of endocrine disruption. *Chemosphere*, 89: 10–18.
- Levy, R. 1927. Sensibilité aux actions chimiques du cœur de la Daphnie préparée, battant en milieu artificiel. *Comptes rendus des séances de la Société de biologie, Paris*, 97: 1602.
- Lewis, M. 1995. Use of fresh water plants for phytotoxicity testing – a review. *Environmental Pollution*, 87: 319-336.
- Lilius, H.; Isomaa, B. & Holmstrom, T. 1994. A comparison of the toxicity of 50 reference chemicals to freshly isolated rainbow trout hepatocytes and *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology*, 30: 47-63.
- Lucena, J.J. 2009. El empleo de complejantes y quelatos en la fertilización de micronutrientes. *Ceres*, 56: 527-535.
- Martínez, F.E.; Sarmiento, J.; Fischer, G. & Jimenes, F. 2009. Síntomas de deficiencia de macronutrientes y boro en plantas de uchuva (*Physalis peruviana L.*). *Agronomía Colombiana*, 27: 169-178.
- Pro, J.; Ortiz, J.A.; Boleas, S.; Fernández, C.; Carbonell, G. & Tarazona, J.V. 2003. Effect assessment of antimicrobial pharmaceuticals on the aquatic plant *Lemna minor*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 70: 290-295.
- Roldán, G. 1992. *Fundamentos de limnología tropical*. Editorial Universidad de Antioquia.
- Radulović, O.; Stanković, S.; Uzelac, B.; Tadić, V.; Trifunović-Momčilov, M.; Lozo, J. & Marković, M. 2020. Phenol removal capacity of the common Duckweed (*Lemna minor L.*) and six phenol-resistant bacterial strains from its rhizosphere: in vitro evaluation at high phenol concentrations.

- plants (Basel, Switzerland), *Plants*, 9: 599.
- Saouter, E.; Wolff, D.; Biganzoli, F. & Versteeg, D. 2019. Comparing options for deriving Chemical Ecotoxicity Hazard Values for the European Union Environmental Footprint, Part II. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 15: 796–807.
- Schneider-Orelli, O. 1947. *Entomologisches Praktikum – Einführung in die land-und forstwirtschaftliche Insektenkunde*. Sauerländer & Co, Aarau.
- Siciliano, A.; Gesuele, R.; Pagano, G. & Guida, M. 2015. How *Daphnia* (Cladocera) assays may be used as bioindicators of health effects?. *Journal of Biodiversity & Endangered Species*, 5: S1:005.
- Sousa, D. 2016. *Avaliação ecotoxicológica de fármacos psicotrópicos e suas possíveis interações com nanomateriais usando embriões de peixe-zebra*. Universidade de Brasília. Brasília.
- Valenzuela, J. 2013. *Calibración y estimación de la sensibilidad toxicológica de Lemna valdiviana Phil (Araceae) en la realización de bioensayos de toxicidad crónica mediante dicromato de potasio y sulfato de cobre como tóxicos de referencia*. Universidad Austral de Chile. 134 pp.
- Vera, G., Tam, J. & Pinto, E. 2009. Efectos ecotoxicológicos del petróleo crudo, diésel 2 y kerosene sobre el crecimiento poblacional de la microalga *Chaetoceros gracilis* Schutt. *Ecología Aplicada*, 8: 1-7.
- WHO. 2019. *World Health Organization Model List of Essential Medicines*. 21<sup>st</sup> list.
- Yangua, E.P. 2018. Uso de los antipsicóticos en adultos mayores. *Revista de la Asociación Española de Neuropsiquiatría*, 38: 263-282.

Received November 30, 2021.  
Accepted January 28, 2022.