

# Effects on the survival a cladoceran exposed to endocrine disruptors

## Efectos de la sobrevivencia de un cladóceros expuesto a disruptores endocrinos

Manuel Aaron Gayosso Morales<sup>1</sup>, Brenda Karen González-Pérez<sup>\*1</sup>, Dania Monserrath Arias<sup>1</sup>, and Wendy Arcos Leonar<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad Tecnológica de la Zona Metropolitana del Valle de México (UTVAM), Área Tecnología Ambiental, Miguel Hidalgo y Costilla No. 5, Fraccionamiento Los Héroes, Tizayuca, Hidalgo, México.  
{aagayosso,brenda.glz.perez}@gmail.com, {18113ta,18116ta}@utvam.edu.mx

### Abstract

Triclosan and dibutyl phthalate are emerging contaminants commonly used by the human population, commonly found as active ingredients in many conventional products such as polymers or disinfectant agents. Triclosan and dibutyl phthalate, have been detected in natural water bodies. Compounds like these usually enter the aquatic systems in different ways, due to inappropriate discharges or their mishandling. Zooplankton organisms, such as rotifers and cladocerans, usually inhabit natural aquatic systems. *Moina macrocopa* is a cladoceran species widely distributed in water bodies in Mexico, and has also been used previously in ecotoxicological tests to determine the effects of pollutants. The following work aimed to determine the effect of triclosan and dibutyl phthalate on the survival of *M. macrocopa*. The concentrations used in the experiments were 15, 30 and 60  $\mu\text{g L}^{-1}$  for triclosan and 100, 200 and 400  $\mu\text{g L}^{-1}$  for dibutyl phthalate, respectively. The results show a decreasing trend of the population with the increase of triclosan and dibutyl phthalate in the medium. The effect of triclosan on *Moina macrocopa* was greater compared to dibutyl phthalate. Ecotoxicological assays are necessary to determine the effects of pollutants on zooplankton species, whose ecological relevance is of utmost importance in water bodies.

**Keywords**— Triclosan, dibutyl phthalate, survivorship

### Resumen

El triclosán y ftalato de dibutilo son contaminantes emergentes de uso común como ingredientes activos en productos convencionales como polímeros o agentes desinfectantes. El triclosán y ftalato de dibutilo, han sido detectados en ambientes acuáticos naturales. Estos compuestos suelen entrar de diversas formas en los sistemas acuáticos, por descargas inapropiadas o mal manejo. Organismos del zooplankton, como rotíferos y cladóceros, suelen habitar los sistemas acuáticos de manera natural. *Moina macrocopa* es una especie de cladóceros ampliamente distribuida en cuerpos de agua de México, además de ser utilizada en ensayos ecotoxicológicos para determinar efectos del contaminante. El objetivo del trabajo fue determinar el efecto de triclosán y ftalato de dibutilo sobre la sobrevivencia de *M. macrocopa*. Las concentraciones utilizadas fueron 15, 30 y 60  $\mu\text{g L}^{-1}$  para triclosán y 100, 200 y 400  $\mu\text{g L}^{-1}$  para ftalato de dibutilo. Los resultados mostraron una tendencia de disminución de la población con el incremento de triclosán y ftalato de dibutilo en el medio. El efecto de triclosán sobre *Moina macrocopa* fue mayor en comparación a ftalato de dibutilo. Estudios ecotoxicológicos son necesarios para determinar los efectos de los contaminantes sobre especies de zooplancton, cuya relevancia ecológica es de suma importancia en los cuerpos de agua.

**Palabras clave**— Triclosan, Ftalato de dibutilo, supervivencia

\* Autor de correspondencia

## I. Introducción

La presencia de contaminantes emergentes en ambientes acuáticos cada vez resulta de mayor preocupación no solo para la comunidad científica sino en general. Los contaminantes emergentes se dividen en: fármacos, productos de limpieza, retardantes de llamas, pesticidas, disruptores endocrinos y más.

Los disruptores endocrinos son considerados como agentes exógenos que tienen un efecto sobre la homeostasis de los organismos [1]. Los disruptores endocrinos pueden actuar de dos formas: durante el desarrollo embrionario (cuando pueden alterar la determinación del sexo y/o influenciar el desarrollo cerebral) y cuando tienen un efecto activador durante todo el ciclo de vida (que interactúan con las señales activadoras celulares y llegan a estimular el crecimiento o activación de órganos) [2].

Existe evidencia que los disruptores endocrinos son capaces de acumularse en la cadena alimentaria y debido a su estructura química, tienen una tendencia a bioacumularse en tejidos, principalmente en aquellos adiposos [2, 3].

El triclosán (5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxi)fenol) es un fenol halogenado utilizado ampliamente en Norte América, Europa y Asia como un antimicrobiano para combatir bacterias de la cavidad oral (adulta) y piel [4]. Hasta el 2002, cerca de 1500 toneladas de triclosán fueron utilizadas por año alrededor del mundo [5].

Actualmente es usado ampliamente por la población en forma de jabones antibacteriales (0.1–0.3%), desodorantes, cremas corporales, pasta dental y plásticos [6, 7]. Se sabe que los antisépticos son agentes químicos que disminuyen o detienen el crecimiento de bacterias en superficies externas del cuerpo y de este modo previenen infecciones [8].

A diferencia de otros productos de cuidado personal, este compuesto no es consumido por la población por lo que no llega a ser metabolizado por el cuerpo [9]. Sin embargo, algunos estudios demuestran que el triclosán a través de la red trófica puede ser fotolizado u ocurrir metilación y de esta manera, dar lugar a un éter más bioacumulativo (2, 8-dichlorodibenzo-p-dioxin) en cuerpos de agua naturales [10]. Este xenobiótico se encuentra entre los 10 contaminantes orgánicos más frecuentemente detectados en ambientes acuáticos [11].

El ftalato de dibutilo es un compuesto orgánico que se usa comúnmente como plastificante debido a su baja toxicidad y su amplio rango de líquidos. Es uno de los seis ésteres de ácido ftálico que se encuentran en la Lista de Contaminantes Prioritarios, además está integrado en contaminantes regulados por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos [12]. Aunque se usa ampliamente como plastificante, es un contaminante ambiental ubicuo que representa un riesgo para la población

humana.

Los disruptores endocrinos que provienen de diferentes fuentes, en muchos casos están siendo descargados directamente a diferentes reservorios sin un tratamiento previo. Algunos de estos han sido encontrados en concentraciones que van de  $ng L^{-1}$  a  $\mu g L^{-1}$  en efluentes y pueden llegar a tener un efecto negativo en organismos no objetivo [13, 14].

A pesar de su baja concentración en el medio, su descarga continua hacia ambientes acuáticos puede resultar en efectos indeseables en organismos acuáticos [15]. Aún después del tratamiento previo, en estas plantas de tratamiento de aguas residuales (PTARs) algunos contaminantes emergentes no logran ser eliminados en su totalidad [16].

Los organismos del plancton, específicamente los rotíferos, son más sensibles a ciertos desinfectantes que otros organismos invertebrados [17]. Además, son considerados excelentes indicadores en pruebas de toxicidad. Por lo que es fundamental estudiar el efecto del triclosán y ftalato de dibutilo sobre estos organismos debido a un contacto inevitable.

Especies de cladóceros han sido ampliamente utilizados en ensayos ecotoxicológicos para evaluar los efectos de contaminantes emergentes en el agua. Ciertas especies de la familia Daphniidae o Moinidae han sido usados con anterioridad y son considerados buenos modelos ecotoxicológicos, además de encontrarse en cuerpos de agua de México.

Por lo que el objetivo del siguiente estudio fue determinar los efectos crónicos del triclosán y ftalato de dibutilo como presuntos disruptores endocrinos, sobre la esperanza de vida del cladóceros *Moina macrocopa*.

## II. Materiales y métodos

Se realizaron experimentos estándares de tabla de vida demográfica utilizando tres concentraciones subletales de triclosán y de ftalato de dibutilo por separado, además del grupo testigo (sin la presencia del tóxico) para *Moina macrocopa*. La especie fue recolectada y aislada en condiciones de laboratorio del Lago de Zumpango.

La microalga, *Scenedesmus acutus* (cultivada en el laboratorio de Biología Molecular, UTVAM) fue utilizada para alimentar a los cladóceros en frascos de prueba a una densidad de  $1 \times 10^6$  cels  $mL^{-1}$  por día. Los experimentos de las pruebas de toxicidad fueron realizados en dos partes por separado, utilizando una única generación (F0).

El primer experimento fue iniciado con F0 para el cual el diseño experimental consistió en 20 frascos transparentes con una capacidad de 100 mL, cada uno con 50 mL del medio a probar. Cada tratamiento tuvo cuatro réplicas. Pipetas Pasteur fueron utilizadas para contar

individualmente e introducir 10 neonatos de la especie de cladóceros en los frascos de prueba que contenían 50 mL de medio EPA con la microalga y la concentración de triclosán y ftalato de dibutilo en el medio.

De cada uno de los frascos de prueba el número de neonatos producidos y las muertes de los adultos (cuando estaban presentes), fueron contabilizados y descartados cada 24 horas. Los individuos sobrevivientes de cada cohorte fueron transferidos diariamente a un frasco limpio que contenía la concentración correspondiente de triclosán o ftalato de dibutilo, además de *S. acutus* en el medio.

Los experimentos para *Moina macrocopa* fueron descontinuados cuando el último individuo de cada cohorte murió. Los datos fueron utilizados para derivar las gráficas de sobrevivencia.

### III. Resultados

De acuerdo a los resultados obtenidos, se observa claramente que existen efectos adversos sobre la sobrevivencia del cladóceros, *Moina macrocopa*. De manera general, conforme existe un incremento en las concentraciones en el medio, tanto de triclosán como del ftalato de dibutilo, existe una disminución en la sobrevivencia de la población.

En el caso específicamente del *M. macrocopa* al ser expuesto a triclosán, se observó una disminución considerable en la población en niveles más elevados (Figura 1). Por otra parte, cuando la población del cladóceros es expuesta a las concentraciones más elevadas de triclosán, es notable como se observa una disminución brusca en la tendencia de la supervivencia en el día 3 en la concentración de  $60 \mu\text{g L}^{-1}$ , en comparación con el tratamiento en donde no existe ningún contaminante en el medio.

En el caso, en donde el cladóceros fue expuesto a diferentes niveles de ftalato de dibutilo (Figura 2), existe una tendencia similar, sin embargo, la población cae de manera progresiva. En la concentración más baja ( $100 \mu\text{g L}^{-1}$ ), a partir del día siete, la población muestra una disminución importante en la sobrevivencia (menor a  $0.4 \text{ ind. mL}^{-1}$ ), en donde se puede observar que el organismo resultó más afectado en comparación con las demás concentraciones.

Por otra parte, se puede observar un decremento notable de *M. macrocopa*, a partir de la segunda semana de ser expuesto al contaminante emergente, en comparación con el tratamiento de testigo.

Independientemente de las concentraciones a las que fueron expuestas las poblaciones de cladóceros se observó un decremento significativo en los tratamientos en donde contenían los disruptores endocrinos seleccionados para el estudio. Sin embargo, se observa una disminución muy específica cuando la especie, *Moina macrocopa* es

expuesta a las concentraciones más elevadas de triclosán y ftalato de dibutilo.

Por otra parte, las concentraciones utilizadas en este estudio fueron basadas en pruebas ecotoxicológicas agudas previas para poder determinar las concentraciones crónicas que son niveles ambientalmente relevantes, es decir que son concentraciones que se logran detectar en ambientes acuáticos de México.

En ambos casos con base en los resultados de exposición, se observó una disminución de la población en la primera semana de vida de los microorganismos.

### IV. Discusión

El triclosán es un compuesto ampliamente utilizado en productos de cuidado personal como un ingrediente activo en Europa, América del Norte y Asia [1]. Al ser un producto ampliamente demandado por la población, su frecuente detección en ambientes naturales se ha incrementado.

Estudios como el de Díaz-Torres [18], han reportado concentraciones ambientalmente significativas en cuerpos de agua de México, lo cual ha generado preocupación no solo en la población sino también en la comunidad científica. Por otra parte, estudios previos han demostrado el impacto negativo de la exposición de triclosán en organismos acuáticos como peces y especies de zooplankton, como rotíferos y cladóceros [9, 1, 19].

Esto ha demostrado el efecto negativo de triclosán en la sobrevivencia, reproducción e incluso en aspectos de comportamiento de los organismos acuáticos. En este estudio, los datos obtenidos muestran, como es el caso de otros autores, un efecto adverso sobre la sobrevivencia de *Moina macrocopa* al ser expuesto a concentraciones ambientalmente relevantes de triclosán en el medio.

*M. macrocopa* es un organismo del zooplankton que ha sido utilizado para realizar bioensayos de ecotoxicología con otro tipo de contaminantes, debido a que es una especie que es abundante en cuerpos de agua de México, por lo que es considerada una especie representativa.

Por tal razón, este tipo de estudios son de gran relevancia para determinar los posibles efectos que tiene estos contaminantes emergentes sobre especies acuáticas representativas, presentes en sistemas acuáticos.

Por otra parte, los ésteres de ftalato, como el ftalato de dibutilo, han sido utilizados ampliamente como plastificantes para polímeros, a pesar de su acción como disruptores endocrinos químicos e incluso con el conocimiento sobre su grave impacto en la salud humana [20].

El ftalato de dibutilo ha sido de los plastificantes para polímeros más frecuentemente reportado, y ha sido detectado en una variedad de fuentes de agua y sedimentos [21]. Algunos estudios han reportado su presencia en

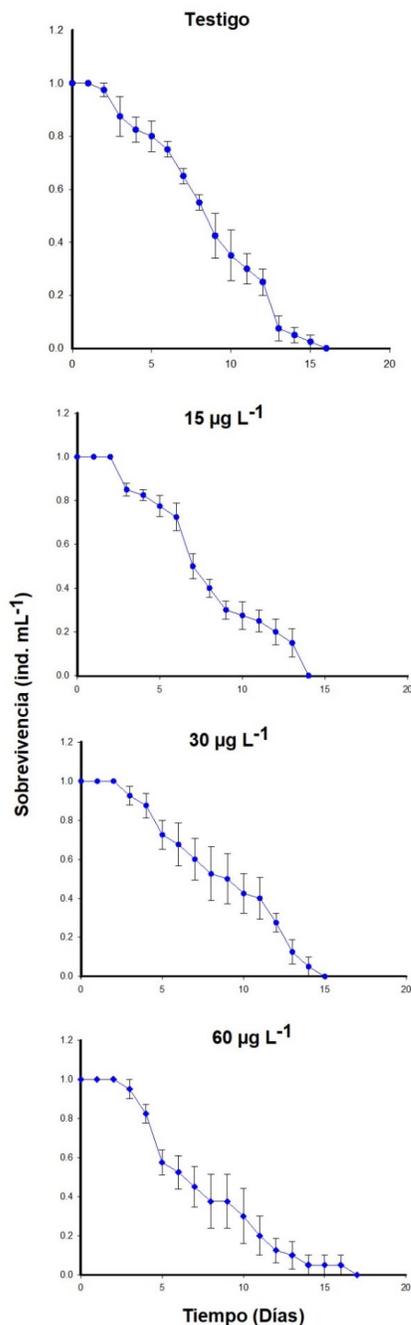


Figura 1: Sobrevivencia de *Moina macrocopa* al ser expuesto a concentraciones subletales de triclosán en el medio

cuerpos de agua de hasta 3.6 mg L<sup>-1</sup> [22], por lo que las concentraciones utilizadas en el presente trabajo con *M. macrocopa* son sumamente relevantes debido a las bajas magnitudes usadas (µg L<sup>-1</sup>).

Los datos obtenidos en este estudio, mostraron un efecto adverso en la sobrevivencia del cladóceros, en la concentración más elevada de ftalato de dibutilo, este mismo efecto se puede observar por autores como Shen et al.

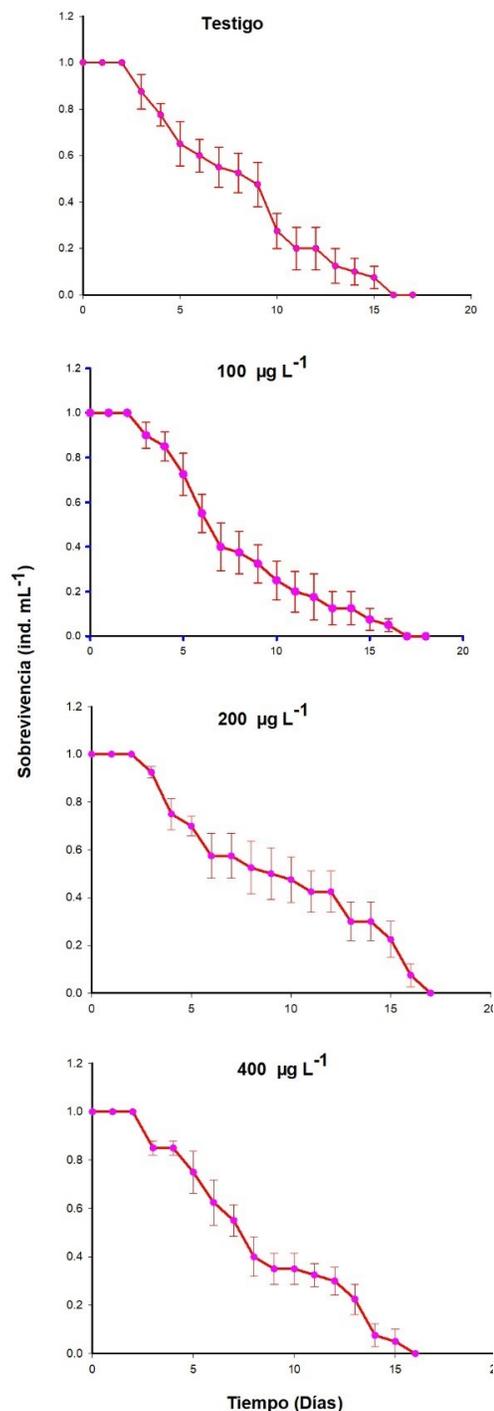


Figura 2: Sobrevivencia de *Moina macrocopa* al ser expuesto a concentraciones subletales de ftalato de dibutilo en el medio

[20], en donde expuso de manera aguda a otro cladóceros (*Daphnia magna*) a concentraciones elevadas (mg L<sup>-1</sup>) del plastificante.

Por lo que, al ser un ingrediente activo altamente usado en la industria de la fabricación de polímeros convencionales, es importante no solo monitorear la presencia de ftalato de dibutilo en ambientes acuáticos, sino también realizar ensayos ecotoxicológicos en donde se puede determinar posibles efectos en otras especies, que desafortunadamente están siendo expuestas al contaminante de manera continua.

Es preciso que al realizar este tipo de estudios ecotoxicológicos, se tomen en cuenta la mayor cantidad de parámetros poblacionales debido que de esta manera se generarán datos más precisos sobre la exposición de contaminantes emergentes sobre organismos no objetivo.

## V. Conclusiones

De acuerdo con los datos obtenidos, se puede concluir que existe un efecto adverso gracias a la presencia de los contaminantes emergentes, triclosán y ftalato de dibutilo sobre la sobrevivencia de *Moina macrocopa*. El cladóceros, al ser un organismo cosmopolita en diferentes cuerpos de agua a nivel nacional, se puede inferir el impacto negativo que puede llegar a tener sobre las poblaciones en ambientes naturales.

Se sugiere tomar en cuenta más parámetros poblacionales al exponer a este tipo de microorganismos a la presencia de estos contaminantes emergentes para conocer ampliamente su efecto. En el futuro cercano es de suma importancia que las autoridades correspondientes consideren la presencia y descarga de contaminantes emergentes como triclosán y ftalato de dibutilo en aguas nacionales derivado de su frecuente detección en aguas, así como su alta demanda en el mercado.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a los técnicos (Ing. Brandon Daniel García Pérez e Ing. Carlos Alberto Hernández Duarte) del laboratorio de Tecnología Ambiental de la Universidad Tecnológica de la Zona Metropolitana del Valle de México. BKGPA agradece el apoyo de PRODEP Nuevo PTC.

## Referencias

- [1] Brenda Karen González-Pérez et al. «Multigenerational effects of triclosan on the demography of *Plationus patulus* and *Brachionus havanaensis* (ROTIFERA)». En: *Ecotoxicology and Environmental Safety* 147 (2018), págs. 275-282.
- [2] Louis J Guillette Jr et al. «Organization versus activation: the role of endocrine-disrupting contaminants (EDCs) during embryonic development in wildlife». En: *Environmental health perspectives* 103.suppl 7 (1995), págs. 157-164.
- [3] René P Schwarzenbach et al. «Global water pollution and human health». En: *Annual review of environment and resources* 35.1 (2010), págs. 109-136.
- [4] AD Russell. «Whither triclosan?». En: *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 53.5 (2004), págs. 693-695.
- [5] Heinz Singer et al. «Triclosan: occurrence and fate of a widely used biocide in the aquatic environment: field measurements in wastewater treatment plants, surface waters, and lake sediments». En: *Environmental science & technology* 36.23 (2002), págs. 4998-5004.
- [6] Drew C McAvoy et al. «Measurement of triclosan in wastewater treatment systems». En: *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* 21.7 (2002), págs. 1323-1329.
- [7] Darius Sabaliunas et al. «Environmental fate of triclosan in the River Aire Basin, UK». En: *Water research* 37.13 (2003), págs. 3145-3154.
- [8] Santiago Esplugas et al. «Ozonation and advanced oxidation technologies to remove endocrine disrupting chemicals (EDCs) and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in water effluents». En: *Journal of hazardous materials* 149.3 (2007), págs. 631-642.
- [9] David R Orvos et al. «Aquatic toxicity of triclosan». En: *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* 21.7 (2002), págs. 1338-1349.
- [10] Douglas E Latch et al. «Photochemical conversion of triclosan to 2, 8-dichlorodibenzo-p-dioxin in aqueous solution». En: *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 158.1 (2003), págs. 63-66.
- [11] John M Brausch y Gary M Rand. «A review of personal care products in the aquatic environment: environmental concentrations and toxicity». En: *Chemosphere* 82.11 (2011), págs. 1518-1532.
- [12] US EPA. *Acerca de los contaminantes peligrosos del aire del aqs - calidad del aire fronterizo | CICA | US EPA*. URL: [https://www3.epa.gov/ttnecat1/cica/help/haqshaps\\_s.html](https://www3.epa.gov/ttnecat1/cica/help/haqshaps_s.html).
- [13] Christian G Daughton y Thomas A Ternes. «Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change?» En: *Environmental health perspectives* 107.suppl 6 (1999), págs. 907-938.

- [14] Patrick K Jjemba. «Excretion and ecotoxicity of pharmaceutical and personal care products in the environment». En: *Ecotoxicology and environmental safety* 63.1 (2006), págs. 113-130.
- [15] Virginia L Cunningham, Stephen P Binks y Michael J Olson. «Human health risk assessment from the presence of human pharmaceuticals in the aquatic environment». En: *Regulatory toxicology and pharmacology* 53.1 (2009), págs. 39-45.
- [16] Araceli Peña-Álvarez y Alejandra Castillo-Alanís. «Identificación y cuantificación de contaminantes emergentes en aguas residuales por microextracción en fase sólida-cromatografía de gases-espectrometría de masas (MEFS-CG-EM)». En: *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* 18.1 (2015), págs. 29-42.
- [17] Lilan Zhang, Junfeng Niu y Yujuan Wang. «Full life-cycle toxicity assessment on triclosan using rotifer *Brachionus calyciflorus*». En: *Ecotoxicology and Environmental Safety* 127 (2016), págs. 30-35.
- [18] E Díaz-Torres et al. «Endocrine disruptors in the Xochimilco wetland, Mexico City». En: *Water, Air, & Soil Pollution* 224.6 (2013), págs. 1-11.
- [19] Diana A Martinez Gomez, Sarah Baca y Elizabeth J Walsh. «Lethal and sublethal effects of selected PPCPs on the freshwater rotifer, *Platyonus patulus*». En: *Environmental toxicology and chemistry* 34.4 (2015), págs. 913-922.
- [20] Chenchen Shen et al. «Acute toxicity and responses of antioxidant systems to dibutyl phthalate in neonate and adult *Daphnia magna*». En: *PeerJ* 7 (2019), e6584.
- [21] GL Huang, HW Sun y ZH Song. «Interactions between dibutyl phthalate and aquatic organisms». En: *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 63.6 (1999), págs. 759-765.
- [22] Feng Zeng et al. «Seasonal distribution of phthalate esters in surface water of the urban lakes in the subtropical city, Guangzhou, China». En: *Journal of Hazardous Materials* 169.1-3 (2009), págs. 719-725.