



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE BIOLOGÍA

EFFECTO DEL ÁCIDO PERFLUOROOCTANÓICO EN LA
CALIDAD ESPERMÁTICA Y COMPORTAMIENTO DE
Poecilia reticulata

Tesis que para obtener el título de
LICENCIADO EN BIÓLOGIA

PRESENTA:

Edwin Jesús Paleta Jiménez

DIRECTORA: Rosalina Reyes Luna.

CODIRECTORA: Palestina Guevara Fiore

Marzo 2025



Contenido

Introducción.....	1
Antecedentes.....	4
Justificación	15
Hipótesis	16
Objetivos	16
Material y métodos	17
Resultados	27
Discusión.	42
Conclusión.....	49
Referencias	50
Divulgación de resultados.....	72

Dedicatoria

Quiero empezar dedicando este trabajo a mi familia, especialmente mis tías, mi tío, mi abuela, mi prima y mi madre por siempre estar allí y apoyarme para poder integrarme a una disciplina que he ido amando y descubriendo con los años y que es un camino para poder ser partícipe de la generación de conocimiento, misma búsqueda que he mantenido desde niño. Así también quisiera incluir a mi padre en la dedicatoria por su comprensión y cercanía.

Aprovecho este espacio para dedicar unas palabras a la memoria de Juan Israel Sánchez quien no pudo ver concluido este trabajo, allá donde estés, te mando un abrazo y te agradezco por también creer en mí.

Agradecimientos

A todas esas personas que han estado durante el viaje y quienes ya no están, quiero agradecer a mis amistades cercanas como Alan, Viridiana, Fernando, Lisset, Naomi, Luis Ñaño, mis amigos de la preparatoria como Lorelai, Pablo, Teresa, Pedro, Jonás, Emmanuel, Amairani, entre otros.

Mando agradecimientos a todo el equipo de los laboratorios que me acogieron, por parte del laboratorio de Biología de la reproducción, me gustaría agradecer especialmente a la Dra. Rosalina Reyes Luna por su férrea determinación a formar alumnos, a Zaira cuya labor hizo posible muchos de los experimentos aquí descritos, a mis compañeras Analy, Alma, Evelin, Estrella, Lupita, y demás. Mando también un saludo a las Profesoras/Investigadoras Biol. Judith Méndez Pacio, Dra. Lourdes Guerrero Ontiveros y M.C. Montserrat Vázquez Balbuena.

Al equipo del laboratorio de ecología evolutiva le agradezco por el espacio para alojar mis experimentos, así como el consejo y apoyo de la Dra. Palestina Guevara Fiore, una mentora excelente en lo referente a Guppies. Quiero agradecer al equipo, Tanya, Ximena, Eduardo, Deyanira, Alba, Tadeo, Amy, Angel, y al resto del numeroso equipo de entusiastas del lab.

También quiero agradecer a amigos que, aunque no conviva mucho con ellos siguen guardando un lugar especial, como Hazel Alejandra, Melissa, Ailin, Yarey, Andrea Coba, Jain, José María, Alberto, Jaky entre muchos otros.

Además, quiero agradecer a mi novia Marijose por haberme apoyado en aquellos momentos de flaqueza.

Resumen

El ácido perfluorooctanóico o PFOA es un compuesto químico sintético parte de la familia de los compuestos perfluorados, un grupo de sustancias con aplicaciones variadas en la industria de alimentos, pinturas, aleaciones y electrónicos. Se conoce que el PFOA, así como otros compuestos perfluorados, causa efectos negativos sobre la salud humana y animal que se relacionan con la disrupción endocrina, el daño genético, el aumento del estrés oxidativo y efectos neurotóxicos. Se utilizó la calidad espermática y el comportamiento sexual como criterios de evaluación toxicológicos para determinar los daños causados por la posible disrupción endocrina provocada por la exposición a PFOA en machos adultos de *Poecilia reticulata* tras 14 días de exposición. Se obtuvo un descenso significativo de las variables de calidad espermática en el grupo de peces expuestos al contaminante tras 2 semanas, así como daño a la estructura del ADN. Los resultados de las pruebas de comportamiento evidenciaron un descenso en los intentos de cópula y cortejo de los machos, posiblemente debido a la antiandrogenicidad del PFOA. Estos hallazgos refuerzan la preocupación sobre los efectos adversos del PFOA en organismos acuáticos, destacando su potencial como disruptor endocrino con implicaciones relevantes para la reproducción y la conservación de los peces.

Introducción

La contaminación ambiental es una problemática actual ampliamente estudiada, debido a que en el siglo XX aumentó notablemente la generación de contaminantes, en un momento en el que no se contaba con las regulaciones adecuadas ni con el conocimiento suficiente sobre los efectos en el medio ambiente y la salud humana de dichos compuestos (M. Houde et al., 2006; ONU, 2011). Esta problemática ha suscitado esfuerzos de agencias regulatorias para vigilar y limitar su presencia en el ambiente, los contaminantes vigilados se encuentran en la lista de contaminantes orgánicos persistentes (COPs) establecida por la convención de Estocolmo en 2001 (Stockholm convention on persistent organic pollutants, [SCPOPs], 2001). Entre los contaminantes emergentes vigilados, se encuentran los compuestos perfluorados o CPFs, que fueron incluidos en 2010 en el caso de PFOS y 2019 en el caso del PFOA (UNEP, 2022).

Desde el punto de vista evolutivo, el daño más grave que puede tener un organismo es no poder reproducirse, lo cual puede ocurrir porque el organismo muere o porque su fecundidad se ve afectada (Joensen et al., 2009; McNair et al., 2014; Gabrielsen & Tanrikut, 2016; Di Nisio & Foresta, 2019; Tarapore & Ouyang, 2021). Entre los químicos capaces de alterar la salud reproductiva y por consecuencia la fecundidad, destacan los compuestos perfluorados, los bisfenoles, metales pesados, fármacos y plaguicidas. Estos han sido identificados como gametotóxicos, disruptores endocrinos o causantes de estrés oxidativo en los tejidos reproductivos (Schug et al., 2011; Söfker & Tyler, 2012; Bertram et al., 2015; Carnevali et al., 2018), afectando directamente a la capacidad reproductiva de los seres vivos al modificar o dañar la estructura del ADN de los gametos, impedir la acción y síntesis de las hormonas sexuales y dañando la membrana y organelos celulares por medio de la liberación de radicales libres (Cooke et al., 2003; Cocuzza et al., 2007; Goetz & Luch, 2008; Mann et al., 2020). Algunos contaminantes tienden a acumularse y eliminarse más lentamente en los machos de algunas especies debido a diferencias metabólicas y de excreción, la mayoría de COPs evidencian esta tendencia en estudios epidemiológicos, característica compartida por el PFOA. (Vanden Heuvel et al., 1992b; Kothari et al., 2010; Joensen et al., 2013; Tarapore & Ouyang, 2021).

Entre estos contaminantes se encuentran los compuestos perfluorados (CPFs), que son una familia de más de 4,000 moléculas caracterizadas por una cadena de carbonos lineal completamente fluorada e hidrofóbica, unida a uno o más grupos hidrofílicos (Kissa, 1994; Kissa, 2001; Paul et al., 2009; Lindstrom et al., 2011; Ateia et al., 2019). Por su estabilidad térmica, su capacidad de resistir la corrosión, la biodegradación y el deterioro ambiental, continúan siendo utilizados en la fabricación de extinguidores, materiales aislantes, aditivos para envases de grado alimenticio, pinturas, electrónica y, previamente, como componente principal para la fabricación de antiadherentes para sartenes como el teflón (Kissa, 1994; Kissa, 2001; Lindstrom et al., 2011; Sara, 2023).

Los efectos de los CPFs se conocen debido a numerosos estudios en humanos (Johnson et al., 2014; K. Li et al., 2017; Richter et al., 2018). También existen investigaciones en otros organismos, en las cuales las especies evaluadas son de uso común en el laboratorio, como conejos, ratas, ratones (Xing Han et al., 2005), organismos acuáticos como pulgas de agua, paramecios, peces pequeños de río (Ji et al., 2008), y aquellas especies de importancia comercial, como el cerdo, la res (Tittlemier et al., 2007; Vestergren et al., 2013), peces de ornamento y de consumo (Berger et al., 2009).

La contaminación atmosférica es una de las más estudiadas por la comunidad científica por su importancia médica (Deng et al., 2016; Di Nisio & Foresta, 2019; Huang et al., 2020; Lafuente et al., 2016; Radwan et al., 2016). Los efectos de los contaminantes se estudian menos en ambientes acuáticos pese a que estos representan uno de los principales destinos de la contaminación de la atmósfera y de los desechos industriales y domésticos (Morales-Caselles et al., 2021). Debido a esta falta de información, es necesario utilizar modelos acuáticos ya establecidos para el estudio de la toxicología, como lo podrían ser los peces de la familia Poeciliidae (Bayley et al., 1999; B. Georgescu & C. Georgescu, 2012).

En los peces de la familia Poeciliidae, los machos invierten una alta energía en la producción de gametos, ya que presentan una fuerte competencia espermática (Luyten & Liley, 1991; Boschetto et al., 2011; Cosson, 2019). Recientemente, se ha estudiado el efecto de varios contaminantes sobre la calidad espermática de peces de esta familia, como los guppies (*Poecilia reticulata*). Estos últimos son un modelo utilizado en la ecotoxicología para medir cambios en el comportamiento, así como alteraciones fisiológicas (Bayley et al., 1999; B. Georgescu & C. Georgescu, 2012; McNair et al., 2014; Bertram et al., 2024). Sin embargo, a pesar de la amplia presencia de los CPFs en la naturaleza, poco se conoce de los efectos que puedan tener en la reproducción de peces, sobre todo en la producción y calidad de los gametos.

Poecilia reticulata son pequeños peces vivíparos nativos de las islas de Trinidad y Tobago, de fertilización interna y con dimorfismo sexual (Liley, 1966; A. Houde, 1997). Sus dinámicas de cortejo y reproducción han sido ampliamente estudiadas y son un modelo para estudiar características de historia de vida (Magurran et al., 1995). Existe una relación entre la calidad espermática y los comportamientos reproductivos, ya que los machos comunican la calidad de su eyaculado a través de la extensión e intensidad de sus patrones de coloración (A. Houde, 1997; Matthews et al., 1997), realizando el cortejo o despliegue sigmoideo, mismo que es una característica mediante el cual las hembras realizan su elección de pareja (A. Houde, 1987). Para asegurar su reproducción, los guppies tienen dos tácticas reproductivas pudiendo por una parte realizar despliegues de cortejo cuando adoptan una postura en forma de C para resaltar visualmente sus patrones de coloración frente a las hembras; la segunda consiste en forzar las cópulas en hembras a través de intentos de introducir el gonopodio en las hembras sin previo cortejo (Liley, 1966; Luyten & Liley, 1985; A. Houde, 1997). Dichos comportamientos, así como la producción, mantenimiento y maduración de gametos, son regulados por la testosterona (Tyagi et al., 2017; Husak et al., 2021; Ide, 2023)

Antecedentes

El PFOA y su biotoxicidad

Los compuestos perfluorados como el PFOA son sustancias químicas con una cadena de hidrocarburos con átomos de flúor que forman el enlace carbono-flúor (Kissa, 1994; Kissa, 2001). Este es uno de los enlaces más resistentes conocidos, que le dota a la molécula del PFOA de su característica resistencia a múltiples tipos de degradación, lo que les vuelve resistentes a los métodos convencionales de tratamiento de agua (Appleman et al., 2014; Rahman et al., 2014). Debido a estas características han sido utilizados para la fabricación de diversos tipos de productos (Kissa, 2001; Dinglasan et al., 2004; Prevedouros et al., 2006; Richter et al., 2018).

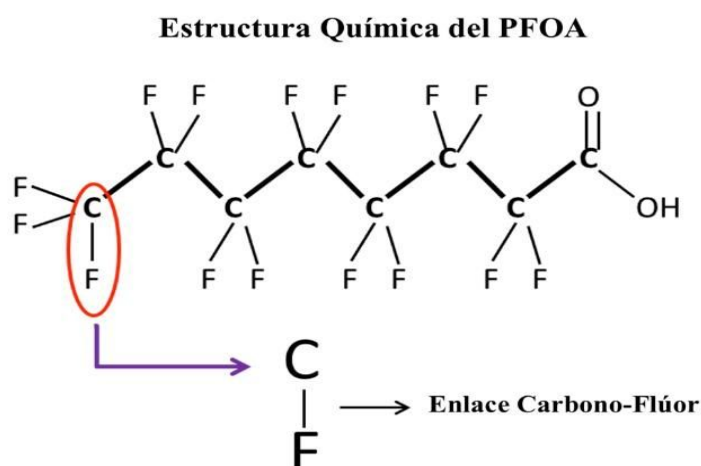


Figura 1 Estructura química del PFOA. Ilustración de Rodríguez-Jorquera & Toor, 2015

El PFOA fue fabricado por primera vez en 1947 por la empresa 3M. Inicialmente, fue conocido como C8 en la correspondencia interna de la compañía debido a la cantidad de átomos de carbono que posee la molécula (Sara, 2023). En 1951, se formalizó un contrato de adquisición de dicho químico con DuPont, una empresa dedicada a las pinturas, lo que permitió la comercialización de productos comercializados bajo el nombre de marca Teflón™, la cual se vendía como una línea de sartenes y utensilios de cocina antiadherentes (DiGiannantonio, 2022).

A pesar de sus aplicaciones, desde la década de 1960 se identificaron sus efectos tóxicos, incluyendo alteraciones hepáticas, disrupción endocrina y daño genético (Hawthorne, 2003b; Bilott, 2019; DiGiannantonio, 2022). Estudios en humanos y modelos animales han demostrado su capacidad para bioacumularse, afectando la función hormonal y reproductiva (Foresta et al., 2018; Tarapore & Ouyang, 2021; Wang et al., 2021). Por ello, ha sido regulado a nivel internacional y prohibido en varios países, aunque sigue presente en el ambiente debido a su alta persistencia (U.S. EPA, 2000; Union europea., 2006).

Por su naturaleza anfipática, alta solubilidad en el agua, y su resistencia a la degradación, así como la volatilidad de sus subproductos, los hace propensos a diseminarse mediante la emisión de vapores a la atmósfera (Prevedouros et al., 2006; Sinclair & Kannan, 2006; Rahman et al., 2014). Se acumulan directamente en cuerpos de agua y por filtración, contaminan el suelo y los mantos acuíferos subterráneos (Munoz et al., 2017; Park et al., 2023). Por ello, los ambientes acuáticos son especialmente propensos a recibir una alta cantidad de contaminación de CPFs. Aunado a esto, dadas sus características, estos químicos tienden a bioacumularse en los seres vivos que están en contacto o consumen agua contaminada, dando paso a la biomagnificación a través de los procesos de las cadenas tróficas (Conder et al., 2008; Health Canada, 2018; Lewis et al., 2022). En los años 80, DuPont realizó los primeros análisis de calidad de agua para medir la cantidad de PFOA en los ríos y lagos cercanos a sus instalaciones en Virginia Occidental (Hawthorne, 2003a, 2003b; Bartell et al., 2010; Blake, 2015). El primer análisis se llevó a cabo en el río Ohio, del cual dependían las comunidades rurales del condado; ahí se encontró una concentración que superaba de cinco a ocho veces la cantidad de 1 ppm fijada por la compañía como la dosis umbral segura hipotética (Hawthorne, 2003a; U.S. EPA, 2025). La misma situación se repitió en los análisis posteriores realizados en 1988 (Bilott, 2019; DiGiannantonio, 2022).

Su ubicuidad en la naturaleza puede comprenderse con el siguiente dato: se han detectado distintas cantidades de CPFs en la sangre de la mayoría de la población mundial, con una presencia de hasta 98% - 99% en humanos (Hawthorne, 2003;

Kannan et al., 2004; Olsen et al., 2008; Fromme et al., 2017; Göckener et al., 2020), así como en animales domésticos, de granja y silvestres (Guruge et al., 2008; Vestergren et al., 2013; Blake, 2015). En el caso de los peces, también se reporta la presencia de estos químicos, especialmente en especies destinadas al consumo humano (Tittlemier et al., 2007; Berger et al., 2009; Augustsson et al., 2021).

El PFOA, dentro del organismo, se disemina por medio de la albúmina contenida en el suero sanguíneo (Vanden Heuvel, Kuslikis, et al., 1992a; Xing Han et al., 2003, 2005), afectando así a aquellos órganos y sistemas con mayor irrigación sanguínea, así como a los que reciben un mayor flujo hormonal (Shi et al., 2012; Pérez et al., 2013; Iwabuchi et al., 2017). En los seres humanos, entre los principales órganos afectados destaca el hígado, donde se ha hallado en mayor concentración (Ylinen & Auriola, 1990). También se ha estudiado su presencia y efectos en testículos, bazo, pulmones, riñones, cerebro, piel, músculo, huesos, intestinos y estómago (Vanden Heuvel, Kuslikis, et al., 1992a; Kudo et al., 2007).

Los efectos de la exposición a PFOA se conocen en humanos y modelos animales (M. Houde et al., 2006; Lau et al., 2007; Fenton et al., 2021). Las alteraciones a la salud en humanos incluyen la aparición de cáncer, daño hepático, defectos congénitos y disminución en la calidad de los gametos (K. Li et al., 2017; Luz et al., 2019; Fenton et al., 2021). En otros organismos, los efectos son similares, además, en ciertas especies como *Rana pipiens*, *Ursus maritimus* *Oryzias melastigma* y *Danio rerio* se han encontrado cambios de comportamiento (Foguth et al., 2020; Gaballah et al., 2020).

En peces, se han estudiado especies destinadas al consumo humano, silvestres y de ornamento (Falandysz et al., 2006; Yamada et al., 2014); en estos organismos, el PFOA tiende a acumularse principalmente en el hígado, así como en la sangre, los riñones y las gónadas (Shi et al., 2012). Su efecto en la salud reproductiva de peces ha sido estudiado en especies como *Danio rerio*, *Oryzias latipes* y *Poecilia reticulata*, organismos que han presentado estrogenización, defectos de nacimiento, disminución de la calidad de los gametos y cambios de comportamiento (W. Zhang et al., 2016; J. Lee et al., 2017; Gasparini et al., 2024).

El PFOA tiene efectos similares sobre los mismos órganos en modelos animales y humanos (Johnson et al., 2014; K. Li et al., 2017; Luz et al., 2019; Foguth et al., 2020), aunque existen diferencias en la cantidad que se acumula y se elimina entre sexos (Ylinen & Auriola, 1990; Kudo et al., 2001; Olsen et al., 2007). En las hembras, la eliminación del PFOA es más rápida y su acumulación es menor, lo que se atribuye a la baja concentración de testosterona (Xing Han et al., 2003). Los valores de concentración encontrados en estos estudios se han utilizado para determinar los límites de PFOA y generar políticas al respecto (Health Canada, 2018; Cordner et al., 2019; Luz et al., 2019). Por lo tanto, toda la información disponible es valiosa, especialmente al determinar las restricciones en su uso, ya que recomendaciones como las de la EPA o la OMS se basan las dosis de CPFs capaces de causar efectos negativos en el desarrollo de un organismo (Cordner et al., 2019). Dado que las instituciones gubernamentales se basan en organizaciones ambientales como la OMS o la EPA, es necesario que exista información disponible sobre las especies animales relevantes en cada nación por sus características ecológicas. Sin embargo, en Latinoamérica, la información es limitada debido al escaso interés en el estudio de compuestos contaminantes (Arrieta, 2017).

Efectos del PFOA sobre la salud reproductiva

Estudios en humanos reportan que la exposición a PFOA y PFOS se relaciona con una disminución de los parámetros de calidad espermática, así como una reducción en la longitud del pene, el volumen testicular y la distancia anogenital (Di Nisio et al., 2019; Di Nisio & Foresta, 2019). Un estudio realizado en adultos en China confirma que la movilidad progresiva de los espermatozoides disminuye tras la exposición (Pan et al., 2019). Además, dicho estudio reporta un aumento en el porcentaje de la fragmentación del ADN de estas células (Pan et al., 2019).

Actualmente, se sabe que el PFOA tiene una relación con el desarrollo de diversos tipos de cáncer, incluido el cáncer de testículo (H. Wan et al., 2011; H. Zhang et al., 2014; Tarapore & Ouyang, 2021). Este tipo de cáncer se acompaña de alteraciones histológicas y moleculares en las gónadas (Møller & Skakkebaek, 1999; Walsh et al., 2009; Hanson et al., 2016), así como de hiperplasia de células de Leydig en ratas

(Biegel et al., 1995; Z. Li et al., 2021). Datos epidemiológicos recientes indican un aumento en los casos de infertilidad masculina y cáncer testicular (Le Cornet et al., 2014; Gabrielsen & Tanrikut, 2016; Drevinskaite et al., 2019). Estas alteraciones en la salud ocurren con dosis menores a las concentraciones promedio de PFOA encontradas en la sangre de la población general, que oscilan entre 0.27 y 14.0 ng/mL (Yeung et al., 2013; Göckener et al., 2020).

Efectos del POFA sobre la salud reproductiva en peces

Los efectos del PFOA y otros CPFs sobre organismos acuáticos se investigan menos, aunque estos son muy sensibles debido al contacto directo con el medio contaminado (B. Georgescu & C. Georgescu, 2012). Los machos de algunas especies de peces han demostrado ser valiosos en el estudio de los efectos del PFOA en la salud reproductiva. Por ejemplo, en *Danio rerio*, el PFOA afecta procesos mediados por la testosterona, el desarrollo y la fecundidad (Hagenaars et al., 2013; W. Zhang et al., 2016; Gaballah et al., 2020; Mylroie et al., 2021). Hagenaars et al. (2013) reportó una disminución de las reservas de glicógeno en el hígado, producto de alteraciones en la permeabilidad de las membranas mitocondriales, causando un cambio metabólico y aumentando los niveles de estrés oxidativo y apoptosis. Sin embargo, no se halló evidencia de toxicidad reproductiva por efecto de la exposición a PFOA, por lo que *Danio rerio* podría no ser un buen modelo para estudiar calidad espermática con este contaminante. W. Zhang et al. (2016) evaluó el efecto del perfluorononato (PFNA), que tuvo un efecto sobre los genes reguladores de la síntesis de hormonas sexuales en peces zebra, alterando los niveles de testosterona, estradiol, estrógenos y vitelogenina, lo cual repercute en los procesos reproductivos. Mylroie et al. (2021) estudió el efecto de la presencia del corion frente a la exposición a sulfonato de perfluorooctano (PFOS), con el fin de determinar si la eliminación del corion influye en el desarrollo de embriones de pez cebra. Se reportó que, en ambos casos, los efectos del PFOS son similares, aunque se manifiestan antes en los embriones sin corion. El PFOS es capaz de provocar malformaciones en la vejiga natatoria y la columna vertebral en los peces expuestos.

Otros modelos de peces evaluados fueron *Oryzias latipes* y *Xiphophorus helleri*. J. Lee et al. (2017) y Kang et al. (2019) investigaron los efectos del PFOA sobre el metabolismo y la toxicidad reproductiva. Lee et al. (2017) confirmó que el PFOA es capaz de aumentar las tasas de gluconeogénesis al reducir la presencia de precursores como alanina, glutamina, treonina y lactato. Resultados que coinciden con lo encontrado por Hagenaars et al. (2013) en cuanto a la pérdida de reservas de glicógeno. Además, el mismo autor reportó una disminución en la fecundidad y supervivencia en la generación F1 y F2 de sus grupos experimentales. Tarapore & Ouyang (2021) encontraron diferencia en la tasa de eliminación del PFOA, influenciada por las hormonas sexuales. En machos de otras especies y en varones humanos, es más lenta debido a la presencia de testosterona. Lee et al. (2017) confirmó esta diferencia mediante la medición de concentraciones de osmolitos, lo que evidencia de que el PFOA tiene métodos de acción dependientes del sexo. Por otro lado, Kang et al. (2019) evaluó los efectos de PFOA y PFOS sobre la fecundidad, la transcripción de genes de la vitelogenina y las características sexuales secundarias en *Oryzias latipes*. Los resultados se mantuvieron coherentes con los demás estudios mencionados: reducción de la tasa de transcripción, alteraciones metabólicas reflejadas en la cantidad de vitelogenina, exceptuando la diferencia en los mecanismos de acción de PFOS y PFOA.

El PFOA causa efectos estrogénicos, mientras que el PFOS exhibe efectos anti estrogénicos. J. Han & Fang (2010) realizaron un estudio evaluando el potencial del pez cola de espada (*Xiphophorus helleri*) como modelo para evaluar los efectos del PFOS en etapas juveniles y adultas, así como la diferencia de sensibilidad que existe entre sexos. Una vez más, el PFOS demostró afectar la expresión de vitelogenina en todos los grupos, al igual que en otros estudios. Los machos adultos mostraron un aumento en el índice leptosomático, mientras que las hembras juveniles y adultas experimentaron un aumento en el índice somato gonadal, además de encontrarse tasas distintas de supervivencia en los grupos juveniles.

Según la dosis y las diferencias entre modelos de estudio, los efectos pueden variar dentro de la misma especie, dependiendo el momento de su ciclo de vida y la dosis

del CPF evaluado. Aunque la mayoría de estos compuestos pueden causar disrupción endocrina, en el caso específico del PFOA se sabe que altera la función de la testosterona (White et al., 2011). La testosterona es una hormona fundamental en los procesos reproductivos, como la producción de gametos y la generación del impulso sexual (Tyagi et al., 2017; Ide, 2023). Por lo tanto, si hay una disminución de esta hormona debido a la exposición al PFOA, es esperable observar cambios fenotípicos en las características de la calidad espermática, así como efectos en los comportamientos de cortejo de la especie *Poecilia reticulata*.

El guppy como modelo de ecotoxicidad

La especie *Poecilia reticulata* ha sido empleada como modelo experimental animal en diversos estudios de toxicología con enfoques metodológicos diferentes, en los cuales se ha evaluado la repercusión de distintos contaminantes sobre la salud de estos peces (Tabla 1). Se han realizado investigaciones enfocándose en sistemas u órganos específicos, haciendo uso tanto de concentraciones agudas como subagudas (Bayley et al., 1999; Kissling et al., 2006; B. Georgescu & C. Georgescu, 2012). Entiéndase por “dosis aguda” como aquella dosis capaz de generar cambios que resulten incompatibles con la vida de un organismo, mientras que las dosis subagudas son aquellas que solamente causan repercusiones en el organismo, sin llegar a poner en peligro la vida (ECHA, 2022).

Al evaluar los efectos de la exposición de peces guppy a dosis subletales de contaminantes causantes de disrupción endocrina, se ha empleado criterios de evaluación toxicológicos y, recientemente, de comportamiento (Bertram et al., 2015, 2024). La toxicidad reproductiva de compuestos como lindano, carbofurano y 2,2'-ditiobis-piridina ha sido demostrada debido a que son considerados como disruptores endocrinos. El Lindano es capaz de disminuir la concentración de la pteridina, molécula responsable de la coloración roja en guppies de la cepa *red blond*, y que se relaciona con la concentración de testosterona (A. Houde, 1997; Matthews et al., 1997; Țălu et al., 2012). El carbofurano demostró causar defectos de nacimiento, disminución de la fecundidad, número de nacimientos vivos, así como una reducción de la supervivencia de las crías (Yenchum et al., 2011). El 2,2'-

ditiobis-piridina disminuyo los niveles de testosterona, la producción de espermátóforos, la movilidad espermática, además de alterar los comportamientos reproductivos de los machos, reduciendo la frecuencia de cortejo (X. Li et al., 2019). Los efectos sobre la salud de los organismos permanecen similares al ser estos químicos disruptores endocrinos, compuestos capaces de afectar la función correcta de las hormonas reproductivas, tanto de forma directa actuando como agonistas o antagonistas, como de forma indirecta afectando la acción de las enzimas involucradas en la biosíntesis o en la acción biológica (C. Georgescu & B. Georgescu, 2004; B. Georgescu & C. Georgescu, 2005).

En ensayos toxicológicos (Başer et al., 2003; Viran et al., 2003; Sarikaya et al., 2007; Heo & Shin, 2009; Hedayati et al., 2012 de Carvalho et al., 2023) *Poecilia reticulata* ha demostrado ser un modelo adecuado para determinar la LC₅₀ (Concentración Letal Media) de permetrina, deltametrina, fenitrothion, triclofon, diazinón y espuma AFFF (Başer et al., 2003; Viran et al., 2003; Sarikaya et al., 2007; Heo & Shin, 2009; Hedayati et al., 2012; de Carvalho et al., 2023).

Las espumas AFFF son el material con el que se rellenan los extintores de incendios, las cuales son fabricadas utilizando PFOA y PFOS como tensioactivos, señalados como responsables de la muerte masiva de peces durante el incendio en Porto do santos, Brasil, en abril de 2015, los cuales también son considerados como contaminantes causantes de disrupción endocrina (Brandimarte, 2015; de Carvalho et al., 2023).

La toxicidad reproductiva del PFOA ya ha sido probada por Gasparini et al. (2024), quienes mostraron que la exposición a PFOA y su sucesor, GenX, son causantes de alteraciones en la transcripción de genes relacionados con la espermatogénesis, la respuesta inmune y la diferenciación sexual. Además, se observó una reducción de la velocidad espermática en ambos tratamientos con CPFs. Dicho parámetro se relaciona directamente en la capacidad para la competencia espermática de los peces guppy (Boschetto et al., 2011). La producción espermática, por su parte, no se vio afectada, aunque los efectos moleculares podrían indicar que esto puede suceder, no se observó este fenómeno a nivel fenotípico (Gasparini et al., 2024; Yu,

2024). Por otro lado, los comportamientos del guppy y su elección de táctica de cortejo o cópula no se vieron afectados por la exposición a PFOA, pero sí por GenX, prefiriendo estos el uso de estrategias de cortejo (Gasparini et al., 2024; Yu, 2024).

El comportamiento del guppy también se ha usado como criterio de evaluación toxicológico recientemente. En los últimos años se han desarrollado protocolos para utilizar el comportamiento como una herramienta confiable para la evaluación de los efectos de los contaminantes en esta y otras especies (Bertram et al., 2024). Los cambios en el comportamiento pueden ser inducidos por disruptores endocrinos antiestrogénicos (Tian et al., 2015; Tomkins et al., 2017; Bertram et al. 2018) o por disruptores endocrinos anti androgénicos (Bayley et al., 1999; Baatrup, 2009; Shenoy, 2012). Por ejemplo, la tributilina impide el funcionamiento correcto de los estrógenos al aumentar la concentración de testosterona total de los organismos, produciendo así una androgenización al suprimir la expresión de aromatasas responsables de convertir la testosterona en estrógenos; esto causa una disminución de los comportamientos de postureo, cortejo y el seguimiento a las hembras, desarrollando éstas gonopodios, una característica sexual de los machos (Tian et al., 2015). Efectos similares ocurren en el comportamiento al exponer a guppies a 17beta-trenbolona, produciendo un aumento de la agresividad de los machos contra sus competidores, además de un aumento en los comportamientos de cópula forzada dirigidos hacia las hembras. Esto tiene repercusiones potenciales en las dinámicas poblacionales y en el éxito reproductivo de los machos (Tomkins et al., 2017; Bertram et al., 2018), debido a que la cópula forzada sólo transfiere un tercio de la cantidad normal promedio de eyaculado que con una cópula precedida por un despliegue sigmoideo (Pilastro & Bisazza, 1999).

Compuestos que impiden la acción normal de la testosterona como el octilfenol, la atrazina, el vinclozolin, la flutamida y el p, p-DDE reducen el número y la intensidad del despliegue de cortejo (Bayley et al., 1999; Baatrup, 2009; Shenoy, 2012). El octilfenol y la atrazina produjeron una reducción de la agresividad contra otros machos competidores; en el caso del octilfenol, incluso indujo comportamientos

territoriales en los machos y causó que estos realizaran despliegues de cortejo unos contra otros (Bayley et al., 1999). La atrazina también redujo el número de cópulas forzadas, disminuyendo también intensidad de la coloración y el tamaño de los genitales en aquellos machos expuestos desde el estado embrionario, por lo que dichos machos son menos atractivos para las hembras receptivas (Bayley et al., 1999; Shenoy, 2012).

En este estudio, nos hemos centrado en los efectos del PFOA sobre la calidad espermática de *Poecilia reticulata*, debido a la falta de evidencia de sobre cómo periodos cortos de exposición pueden causar efectos subletales sobre especies de agua dulce sobre su salud reproductiva (B. Georgescu & C. Georgescu, 2012), se usó una concentración ecológicamente relevante de 3ppm, una concentración más alta que otros estudios que usaron 1 ppb, en este estudio me base en la cantidad de CPFs totales que pueden llegar a 15 mg/L (Gasparini et al., 2024). Los guppies son fáciles de manejar en el laboratorio y ya han sido utilizados en otros ensayos toxicológicos (Tabla 1), lo que hace sencillo comparar químicos de una familia como los disruptores endocrinos. Además, estos cambios alteran la aptitud reproductiva de los peces al interferir en la comunicación visual de sus señales (Matthews et al., 1997).

Tabla 1. El guppy (*Poecilia reticulata*) como modelo en ensayos toxicológicos con distintos contaminantes, incluyendo PFOA.

GRUPO	CONTAMINANTE EVALUADO	CRITERIO(S) DE EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA	REFERENCIA
CPFS	PFOA	Transcripción de genes en testículos, calidad espermática, comportamiento reproductivo.	Gasparini et al., 2024
CPFS	GenX	Transcripción de genes en testículos, calidad espermática,	Gasparini et al., 2024

		comportamiento reproductivo.	
PESTICIDAS	Lindano	Coloración, talla corporal, concentración de Pteridina	Țălu et al., 2012
PESTICIDAS	Carbofurano	Mortalidad de las crías, fecundidad, alteraciones morfológicas.	Yenchum et al., 2011
PESTICIDA	Deltametrina	LC50. (Dosis letal 50%)	Viran et al., 2003
PESTICIDA	Fenitroton	LC50, Comportamiento.	Sarikaya et al., 2007
SUBPRODUCTO	2,2'-diotibis-piridina	Niveles de hormonas, producción y calidad espermática, desarrollo fetal.	X. Li et al., 2019
PESTICIDA	Permetrina	LC50, comportamiento.	Başer et al., 2003
PESTICIDA	Triclorfon	Lesiones en las branquias y riñones.	Heo & Shin, 2009
PESTICIDA	Diazinon	LC50	Hedayati et al., 2012
ESPUMA ANTI-INCENDIOS	Espuma AFFF	LC50, peroxidación de lípidos, daño al ADN	de Carvalho et al., 2023
ORGANOTINA	Tributirina	Expresión de la aromatasa, niveles de hormonas, comportamiento, características sexuales primarias y secundarias.	Tian et al., 2015
ESTEROIDE ANDROGÉNICO	17Beta-trenbolona	Comportamiento reproductivo, morfología.	Tomkins et al., 2017
ENDO-ESTRÓGENO	4-tert-octilfenol	Comportamiento reproductivo	Bayley et al., 1999
HERBICIDA	Atrazina	Coloración, Comportamiento, agresión, tamaño de estructuras copulatorias.	Shenoy, 2012

FUNGICIDA	Vinclozolin	Comportamiento de cortejo	Baatrup, 2009
ANTIANDROGENO	Flutamida	Comportamiento de cortejo	Baatrup, 2009
SUBPRODUCTO	P,p-DDE	Comportamiento de cortejo	Baatrup, 2009

Justificación

El ácido perfluorooctanóico (PFOA) es un contaminante ambiental persistente con efectos negativos en la salud reproductiva y endocrina de múltiples organismos, incluidos los peces. Sin embargo, los estudios sobre su impacto en especies acuáticas de agua dulce son limitados, lo que impide una comprensión completa de su toxicidad en estos ecosistemas.

La información disponible sobre al PFOA se basa principalmente en estudios realizados en seres humanos y mamíferos terrestres (Gasparini et al., 2024). Dadas las diferencias en metabolismo y fisiología entre especies, no todos los modelos animales responden de la misma manera a la exposición al PFOA. Es fundamental seleccionar organismos ecológicamente relevantes que permitan evaluar con mayor precisión los efectos reproductivos y comportamentales de este compuesto en ambientes acuáticos.

El guppy (*Poecilia reticulata*) es un modelo ampliamente utilizado en ecotoxicología debido a su sensibilidad a contaminantes, su facilidad de mantenimiento en laboratorio y su rápido ciclo de vida, lo que permite evaluar efectos tanto en la calidad espermática como en el comportamiento reproductivo. Además, el guppy presenta una fuerte competencia espermática y su éxito reproductivo depende en gran medida de la calidad del esperma y de la expresión de comportamientos de cortejo, ambos potencialmente afectados por la exposición a disruptores endocrinos como el PFOA.

Hipótesis

La exposición a una concentración fija de 3mg/L de ácido perfluorooctanóico (PFOA) reducirá los parámetros de calidad espermática, causará daño al ADN y alterará el comportamiento sexual en machos adultos de *Poecilia reticulata*.

Objetivos

Objetivo general

- Evaluar el efecto de la exposición, durante 14 días, a 3mg/L de ácido perfluorooctanóico (PFOA) sobre la calidad espermática y comportamiento sexual de machos adultos de *Poecilia reticulata*

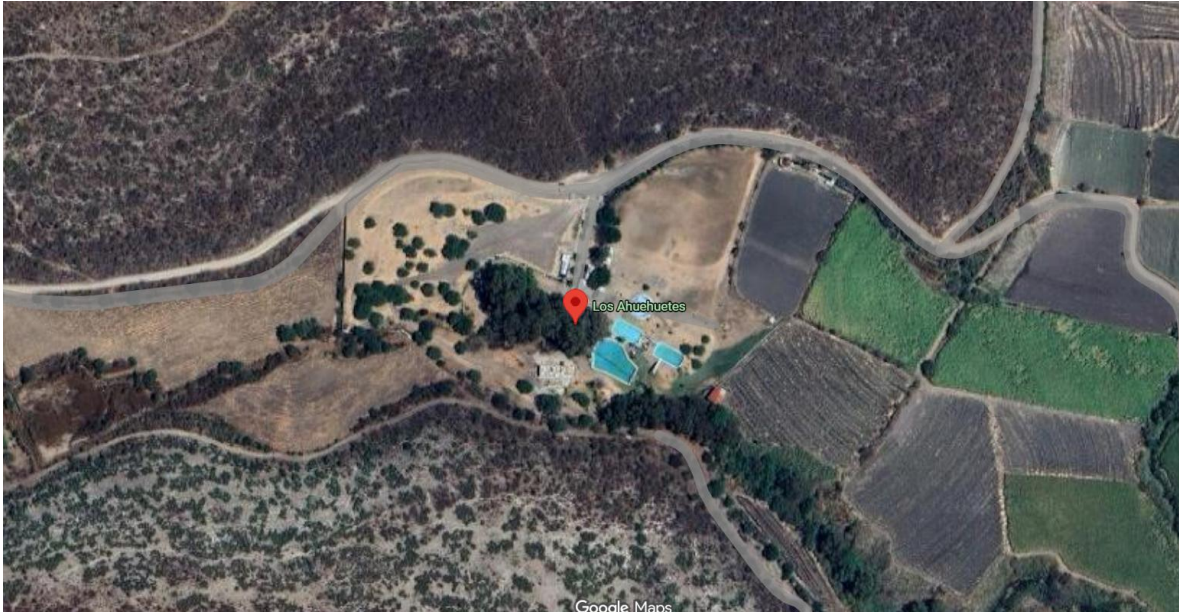
Objetivos particulares

- Determinar el efecto del ácido perfluorooctanóico (PFOA) sobre los parámetros de calidad espermática: la movilidad, la vitalidad, el conteo de paquetes y el conteo de espermatozoides. en machos adultos de *Poecilia reticulata* después de 14 días de exposición al PFOA.
- Analizar la fragmentación del ADN espermático en los machos de *Poecilia reticulata* después de 14 días de exposición al PFOA.
- Comparar la intensidad de los comportamientos reproductivos (Latencia, tiempo cerca de la hembra, cortejos, intentos de cópula forzada, balanceos de gonopodio) entre machos adultos de *Poecilia reticulata* expuestos al PFOA. En todos los casos se contrasta con un grupo control no expuesto al contaminante.

Material y métodos

Organismos utilizados:

Se recolectaron ejemplares de *P. reticulata* de la laguna de Tepeojuma, Puebla (18°41'34.0"N 98°23'22.7"W), sitio conocido como “Los Ahuehuetes”.



Los peces fueron transportados por medio de hieleras y bolsas ventiladas constantemente al Laboratorio de Ecología Evolutiva de la Facultad de Ciencias Biológicas de la BUAP, donde se mantuvieron en tanques con los aditamentos necesarios y con agua previamente acondicionada, en densidades de 250 individuos en tanques de distintos tamaños con 120L de agua, distribuidos en grupos con ambos sexos en una relación 1:1 hembras a machos. Fueron alimentados dos veces al día con hojuelas Tetramin. Los peces fueron aclimatados a las condiciones de laboratorio durante dos meses antes de comenzar el experimento.

De esta población, se seleccionaron al azar 60 machos y 60 hembras sexualmente maduros para los grupos experimentales, los cuales fueron agrupados en 2 tanques con 30 individuos de cada sexo, separados por una barrera de plástico con orificios con el fin de evitar la cópula. Los machos y las hembras fueron aislados para garantizar una cantidad adecuada de células por eyaculado sin interrumpir el estímulo visual y químico necesario para que los machos mantengan la

espermatogénesis, ya que esta disminuye en ausencia de hembras (Kadow, 1954; Endler, 1987; Luyten & Liley, 1991; A. Houde, 1997; Guevara-Fiore et al., 2010).

Los dos tanques experimentales fueron iguales y tenían condiciones estándar de temperatura, pH, y salinidad, no contenían carbón activado, ya que la literatura reporta que es posible eliminar los CPFs del agua utilizando carbón activado (Appleman et al., 2014; Rahman et al., 2014; Arvaniti & Stasinakis, 2015).

Tratamientos

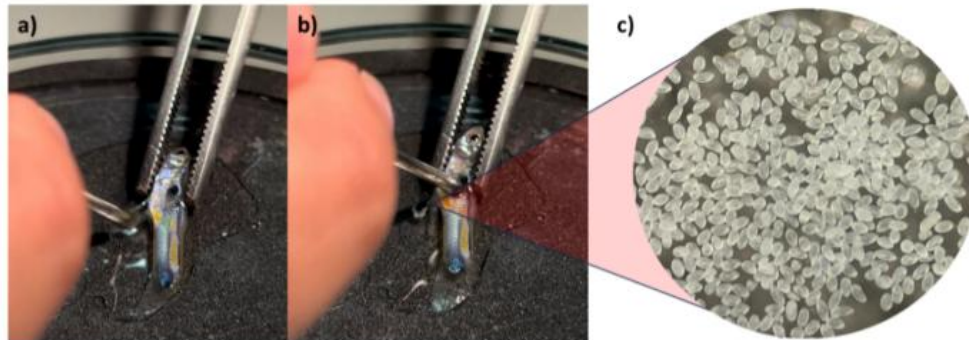
Para cumplir con los objetivos de la investigación, se probaron dos tratamientos: Por un lado, se consideró un grupo control el cual consistió en colocar únicamente agua al tanque, por otro lado, el tratamiento con PFOA consistió en colocar 3 mg/L de PFOA (Perfluorooctanoic Acid 95%, Sigma Aldrich Massachusetts, EU), lo que equivale a 270 mg en total en el tanque experimental, que contenía 90 litros de agua. El periodo de exposición fue de 14 días.

Extracción de muestras de espermatozoides

Se extrajeron dos muestras de espermatozoides por cada macho: una antes y otra después del tratamiento. Los 30 machos experimentales se aclimataron durante 2 semanas en los tanques antes de realizar la primera extracción, periodo durante el cual fueron mantenidos en abstinencia.

Los machos de ambos tratamientos fueron sedados con una dilución de 1:10 de aceite de clavo y alcohol, diluyendo 25 μ L en 40 mL de agua del tanque y dejándolos reposar en un vaso de precipitado hasta el punto donde comenzaron a nadar de lado, indicativo de que la anestesia ya estaba surtiendo efecto. Una vez sedados, se colocaron en una placa Petri e identificaron por medio de un código y un número vinculados a una fotografía de cuerpo completo de cada individuo tomada bajo un microscopio estereoscópico (SMZ745, Nikon, Tokio, Japón), para evitar confundir la identidad de los organismos y repetir extracciones. Se les extrajo una muestra de espermatozoides mediante estimulación (Fig. 2) y los espermátóforos liberados se resuspendieron en aproximadamente 200 μ L de solución Salina Amortiguada con Fosfato de Dulbecco (DPBS), InVitroCare, Maryland, E.U., obteniendo volúmenes

de entre 250 – 350 μL dependiendo del individuo y la cantidad del eyaculado, dando un total aproximado de 450 – 550 μL de volumen total por cada extracción.



*Figura 2. Procedimiento para extraer espermatozoides de *P. reticulata*, a) Estimulación del gonopodio b) Masaje abdominal c) Paquetes espermáticos enfocados en 10 x. Foto tomada por Flores López, T.K. (2024)*

Parámetros de calidad espermática.

a) Movilidad

El eyaculado de los poecílidos es diferente al de los mamíferos en los peces como los guppies, los espermatozoides son expulsados en paquetes rodeados con una membrana llamados espermatóforos (Uribe et al., 2010).

Las variables de vitalidad y movilidad se analizaron inmediatamente después de la toma, ya que se requerían los espermatozoides lo más frescos posible. La literatura reporta que a tan sólo 24hrs de resuspender los espermatóforos obtenidos existe una disminución en la movilidad de los espermatozoides (Sun et al., 2010). Estas variables se midieron con base en protocolos modificados de la sexta edición del “WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of human semen” (World Health Organization, 2021) y el procedimiento establecido por Evans et al. (2003), observando diferentes campos visuales con espermatozoides en un microscopio óptico (40x), y contando los espermatozoides móviles hasta superar la cantidad de 200 células.

Para contar los espermatozoides de *P. reticulata* es necesario fracturar ligeramente la membrana del espermatóforo, pues no es posible identificar a las células

individuales si se encuentran agrupadas. En el microscopio, los espermatozoides de guppy se organizan con las colas hacia el centro de la membrana y las cabezas hacia el exterior (Uribe et al., 2010). Tomando en cuenta lo anterior, la movilidad se consideró sólo como: “móvil” o “inmóvil”, ya que, al estar agrupados en una matriz dentro de la membrana del espermatóforo, al agitar la cola frenéticamente, se desprenden de la matriz repentinamente a velocidad muy alta, lo que impide una determinación estándar de los tipos de movilidad espermática sin el uso de software.

b) Vitalidad

La vitalidad se determinó realizando una dilución de 1:10, se mezclaron 5 uL de Spernavit con 45 uL de eyaculado de *P. reticulata* en un tubo Eppendorf (1.5 mL), y posteriormente se tomaron 10 uL de dicha dilución en un portaobjetos con su respectivo cubreobjetos. Se siguió la misma metodología de conteo para obtener más de 200 células. Se consideraron como células muertas a los espermatozoides teñidos y como vivos a aquellos que mantenían la transparencia. Este cambio es indicativo de la integridad de la membrana, que, al estar comprometida, permite el paso libre del colorante y tiñe a la célula de un color rosa o purpura, señal de la ruptura de la membrana celular (WHO, 2021).

c) Conteo de paquetes espermáticos.

Durante la extracción, se contaron los paquetes espermáticos antes de trasladarlos a los tubos Eppendorf para detectar si el PFOA tiene un efecto en la producción de paquetes espermáticos.

d) Concentración

La concentración espermática fue determinada al tomar 10 uL de eyaculado y colocar el mismo volumen en ambas cuadrículas de la cámara de Neubauer. La muestra se dejó sedimentar un par de minutos antes de comenzar con el conteo. A diferencia del protocolo en humanos (World Health Organization, 2021), se realizó sin diluir la muestra, pues en las primeras pruebas de conteo se observó que los espermatozoides estaban muy diluidos y a una baja concentración.

Se contaron ambas cuadrículas y, dependiendo del número de espermatozoides en el primer cuadrante de la cuadrícula central, se estableció el número de cuadros de la cuadrícula total por contar, se reportaron realizando los cálculos pertinentes (World Health Organization, 2021).

e) Ensayo cometa

El ensayo cometa es la última parte del análisis de calidad espermática y se emplea para determinar el grado de fragmentación que presenta el ADN. Aunque esta prueba no se considera parte de los parámetros de calidad espermática convencionales, se ha reportado que el PFOA es genotóxico (Yao & Zhong, 2005; Kawamoto, 2010), por lo que el ensayo cometa permitiría evaluar si el compuesto es capaz de causar daño al ADN en las células espermáticas del pez guppy. Se realizó la variante ácida, la cual permite observar el daño en ambas hebras de ADN (Rodríguez-Rey et al., 2016). El ensayo consta de 3 fases: lisis celular, la electroforesis y la tinción.

La primera fase de lisis celular comenzó con la realización de una capa de gel, diluyendo 100 uL de eyaculado de *P. reticulata* tomado del fondo del tubo Eppendorf en 100 uL de agarosa al 0.5%. Ambos fueron mezclados en otro tubo Eppendorf, tomados con una micropipeta y vertidos en un portaobjetos que previamente contenía una capa de agarosa deshidratada y distribuida uniformemente al 1%. Una vez colocada la muestra, se añadió un cubreobjetos alargado, y cada portaobjetos se colocó sobre una bolsa de gel congelada para solidificar la agarosa. Una vez solidificada los portaobjetos se transfirieron a cajas Petri, donde se acomodaron 2 en cada caja y se cubrieron con una solución de buffer de Lisis, dejándolos reposar por 30 minutos en el refrigerador, cubiertas adecuadamente para evitar la contaminación.

Una vez transcurridos los 30 minutos, se sacaron del refrigerador para retirarles el cubreobjetos y se enjuagaron con una solución de Tris-HCL 3 veces teniendo cuidado de no aplicar demasiada fuerza con el fin de no desprender el gel. La cámara de electroforesis se conectó adecuadamente y se llenó hasta cubrir los electrodos con una solución de TAE. Para la segunda fase de electroforesis, se

utilizaron pequeñas tiras recortadas de papel filtro, dobladas en “Z”, con el fin de crear un puente que permita pasar la corriente eléctrica de los electrodos de la cámara hacia las muestras de espermatozoides incluidas en el gel de agarosa, proceso que induce el movimiento del ADN fragmentado. Al colocar las placas en la cámara de electroforesis, deben estar paralelas y sin tocarse, procurar que el papel filtro humedecido con TAE toque la solución sin dañar el gel y sin caer directamente por encima de la muestra.

Se corrieron las electroforesis en grupos de 4 portaobjetos con muestra, a una corriente de 50V por 10 minutos (Minis -150, Major Science, Taoyuan city, Taiwán). Al terminar cada ronda, los geles se retiraron cuidadosamente de la cámara y se colocaron de nuevo en las cajas Petri para realizar la última fase de tinción.

La tinción se realizó vertiendo con cuidado gotas de anaranjado de acridina en cada muestra hasta cubrir cada placa. Se dejaron reposar durante un minuto y luego se enjuagaron con TAE para retirar el exceso de colorante. Tras finalizar la tinción, a cada placa se le colocó un cubreobjetos y se continuó con su observación.

Debido al uso de fluorocromos, el ensayo cometa debe ser observado bajo un microscopio de fluorescencia para determinar el grado de fragmentación en los espermatozoides del grupo experimental. Las observaciones se realizaron después de los análisis de calidad espermática, ya que las placas del ensayo cometa pueden conservarse hasta por 2 meses con una refrigeración adecuada (Rodríguez-Rey et al., 2016).

Las preparaciones fueron observadas en un cuarto oscuro, haciendo uso del microscopio de fluorescencia (VE-146YT, Velab, Nuevo León, México), y se mantuvieron en refrigeración mientras no eran observadas. En el microscopio, se realizó un barrido por cada preparación, buscando aquellos campos visuales donde se pudiera observar con mayor claridad las condiciones de las células y su ADN. A cada uno de los campos visuales observados se les fotografió con el fin de determinar el porcentaje de las células que presentaban fragmentación del ADN indicada por la presencia de cometas (desplazamiento de las células). Se tomaron

entre 2 a 4 fotos de cada repetición del ensayo dando un total aproximado de 360 fotos.

Debido al estado comprometido de las células, la determinación del porcentaje de fragmentación tradicional no fue posible, por lo que se realizó un análisis visual, en el cual se observó la presencia de “nubes de descondensación”, como referencia al posible efecto del PFOA sobre las proteínas que empaquetan al ADN.

En condiciones normales el ensayo cometa se analiza midiendo una cola y cabeza definidas formadas por el material genético desplazado (Rodríguez-Rey et al., 2016).

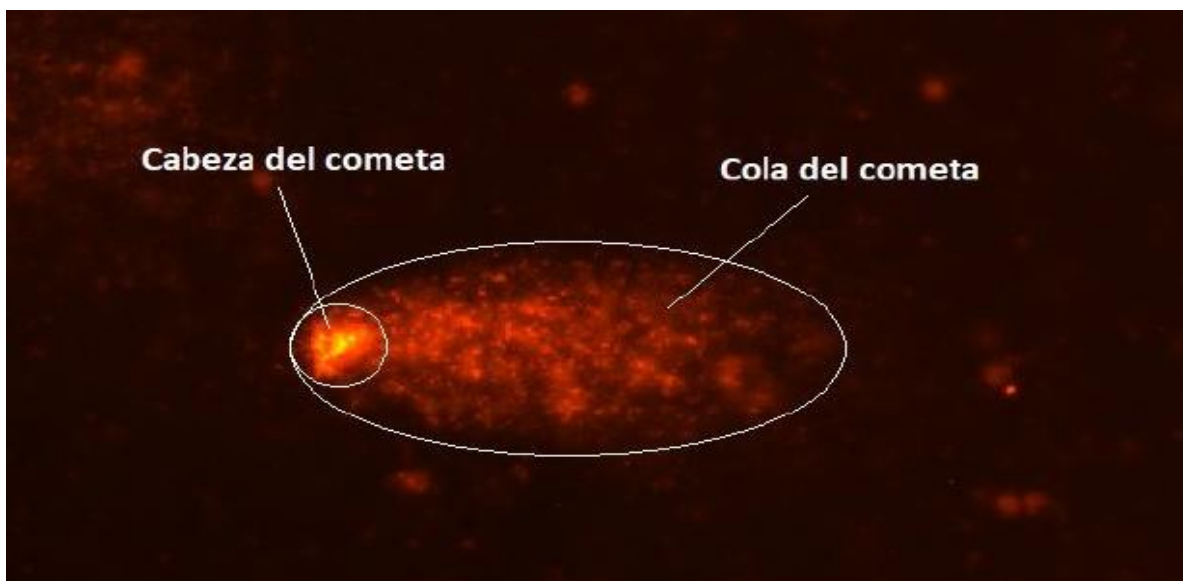


Figura 3. Cabeza y cola del ensayo cometa (Humano). Tomado de Luna-Gonzalez et al., 2018

Sin embargo, algunas condiciones en las células pueden causar patrones irregulares, dichas condiciones puede ser el PH del ensayo, la presencia de alguna enzima como aditamento, la temperatura, la extensión del daño al ADN, entre otros.

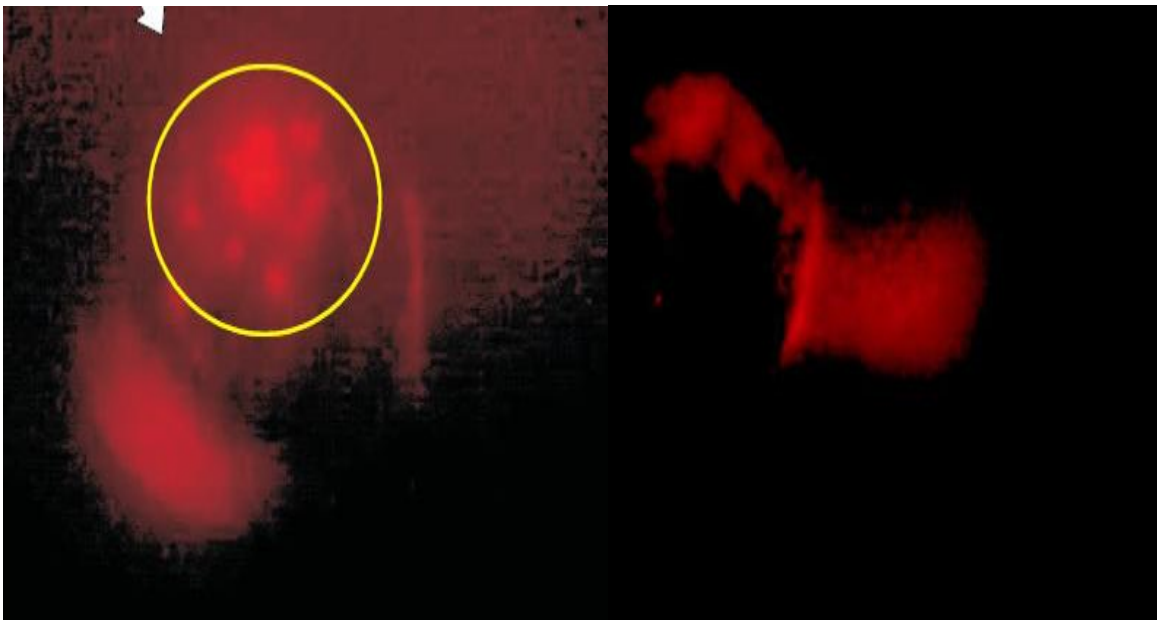


Figura 4. La diferencia que produce la ausencia (izquierda) o presencia (izquierda) de proteinasa K, una enzima para aislar ácidos nucleicos en ensayo cometa con ovocitos de bovino. Tomado de Urrego et al., 2005.

En el caso de este estudio, un escenario como el descrito anteriormente es posible considerando la naturaleza anfipática del PFOA, capaz de cambiar las cargas de las moléculas con las que interacciona, la concentración (3mg/L) y que el contaminante no solo induce estrés oxidativo, tiene otros mecanismos para dañar la estructura del ADN (Kawamoto, 2010; Xuejingping Han et al., 2022).

Pruebas de comportamiento sexual

Las pruebas de comportamiento sexual junto con las pruebas de calidad espermática permitieron realizar una evaluación integral de la salud de los machos. El comportamiento sexual de cada macho focal fue evaluado una vez, posterior al periodo de exposición. El tanque experimental se instaló con agua de los acuarios principales y se acondicionó con grava. Para no interferir en los comportamientos, se instaló una cortina frente al tanque con un agujero que permitía la observación de los peces.

Las pruebas se realizaron entre las 9:00 am y 12:00 pm, analizando 10 individuos en total por día. Las pruebas consistieron en observar durante 20 minutos a un

macho con dos hembras que diferían en tamaño, dicha diferencia para determinar si el PFOA altera la preferencia por hembras grandes de parte de los machos. El primer comportamiento registrado fue el “periodo de latencia”, es decir, el momento que el macho tardó en realizar un cortejo o un intento de cópula forzada. El registro de los comportamientos se realizó en el software BORIS (Friard & Gamba, 2016), cuya herramienta de análisis de presupuesto permite cuantificar la frecuencia y duración de los comportamientos, incluyendo su proporción, dirigidos a cada hembra, grande o chica. Se registraron los siguientes comportamientos (A. Houde, 1997):

- (1) tiempo cerca de la hembra, cuando el macho se encuentra a menos de un cuerpo de distancia de la hembra cortejada;
- (2) frecuencia y duración de cortejo o despliegue sigmoideo, comportamiento en el que macho adopta una postura curvada en forma de “C” mientras mueve el gonopodio y nada verticalmente frente a la hembra con el motivo de mostrar sus colores (A. Houde, 1997);
- (3) frecuencia de intentos de cópula forzada, que consiste en el intento de inserción repentina del gonopodio en el gonoporo de la hembra sin previo cortejo;
- (4) frecuencia de balanceo del gonopodio, que consiste en el movimiento del gonopodio, en el que el macho mueve hacia los lados su órgano sexual con el fin de tenerlo listo para otro intento.

Táctica reproductiva

La táctica reproductiva se comparó con el fin de identificar si existe alguna diferencia entre las preferencias de los peces machos por la estrategia de cópula o de cortejo, además de verificar si la exposición al PFOA puede alterar la frecuencia de los comportamientos de alguna de las dos tácticas registradas.

Se cuantificó calculando la proporción de cortejos respecto al total de comportamientos sexuales observados con la formula:

$$\text{Proporcion de cortejos} = \frac{\text{Número de cortejos}}{(\text{Número de cortejos} + \text{número de intentos de cópula forzada.})}$$

Análisis estadístico

Se empleó un modelo lineal generalizado mixto (GLMM) para analizar cada una de las variables de calidad espermática (movilidad, vitalidad, número de paquetes y concentración). Se incluyeron como efectos fijos el tratamiento (T de toxico para los machos expuestos y C para designar el grupo control), así como la ronda de extracciones (antes o después de la exposición). Además, se consideró la identidad (1|D) de los machos como un efecto aleatorio para controlar la variabilidad individual.

Los resultados de las pruebas de comportamiento (Latencia, tiempo cerca de la hembra, despliegue sigmoideo, intentos de cópulas forzadas y balanceo del gonopodio) y la táctica reproductiva (proporción de cortejo) se analizaron utilizando modelos generalizados lineales (GLM) por el tamaño reducido de n (n=10) para estas pruebas.

Para analizar el tiempo de la latencia, se utilizó la pertenencia al grupo expuesto o control como factor fijo, y el tiempo de latencia en segundos como variable de respuesta.

Para analizar los comportamientos, se tomaron el tamaño de las hembras y la exposición a PFOA como efectos fijos. El esfuerzo reproductivo fue analizado utilizando la proporción de un comportamiento u otro como variable de respuesta y la pertenencia al grupo expuesto (T) o al grupo control (C) como efecto fijo.

Ética, desmontaje y limpieza

Todos los procedimientos experimentales se realizaron de acuerdo con las directrices éticas de la Association for the Study of Animal Behaviour (ASAB Ethical Committee/ABS Animal Care Committee, 2023) para el uso de animales en investigación, asegurando que los peces fueron manipulados cuidadosamente para minimizar el estrés y evitar cualquier sufrimiento innecesario durante todo el experimento.

Tras terminar los experimentos, se limpiaron los tanques con sumo cuidado, utilizando carbón activado durante todo el proceso, el cual se ha demostrado como

un material eficaz capaz de limpiar hasta el 95% de CPFs de cadena larga (Ross et al., 2018). Los machos fueron sacrificados mediante un protocolo de eutanasia aprobado, garantizando una muerte rápida y libre de sufrimiento utilizando aceite de clavo, que se vertió en los tanques y se dejó actuar 10 minutos hasta que los organismos comenzaron a flotar con el vientre hacia arriba. Los cadáveres fueron retirados con una red y congelados en el refrigerador de reactivos y muestras del laboratorio para el protocolo de cremación.

El agua se mantuvo un par de días en el tanque con carbón activado para permitir el intercambio de iones con el cristal, el cual se ha demostrado absorbe una cantidad ínfima de PFOA (Myroie et al., 2021). Posteriormente, el agua fue sifonada en contenedores vacíos de agua destilada y se entregó al Almacén de la Facultad de Ciencias Biológicas de la BUAP para que fuera eliminada de acuerdo con la normativa para el manejo de residuos peligrosos.

Resultados

Los resultados de la exposición de los machos de *Poecilia reticulata* al ácido perfluorooctanóico (PFOA) por 14 días sobre la calidad espermática son los siguientes:

a) Movilidad

Tras exponer a los machos de *P. reticulata* a 3 mg/L de PFOA durante 14 días, se observó 25% de movilidad en el grupo expuesto frente a 60% aproximadamente en el grupo control y el grupo experimental previo al tratamiento. El tratamiento causó una disminución significativa de la movilidad de los espermatozoides en el grupo experimental (T-2) al comparar las medias del grupo experimental antes de la exposición (T-1) y con las medias del grupo control (C-1 y C-2) ($Z = -7.37$, $P = 0.000000000167$). Por lo tanto, se concluye que la exposición a PFOA tiene un efecto negativo significativo sobre la movilidad espermática (Figura 5).

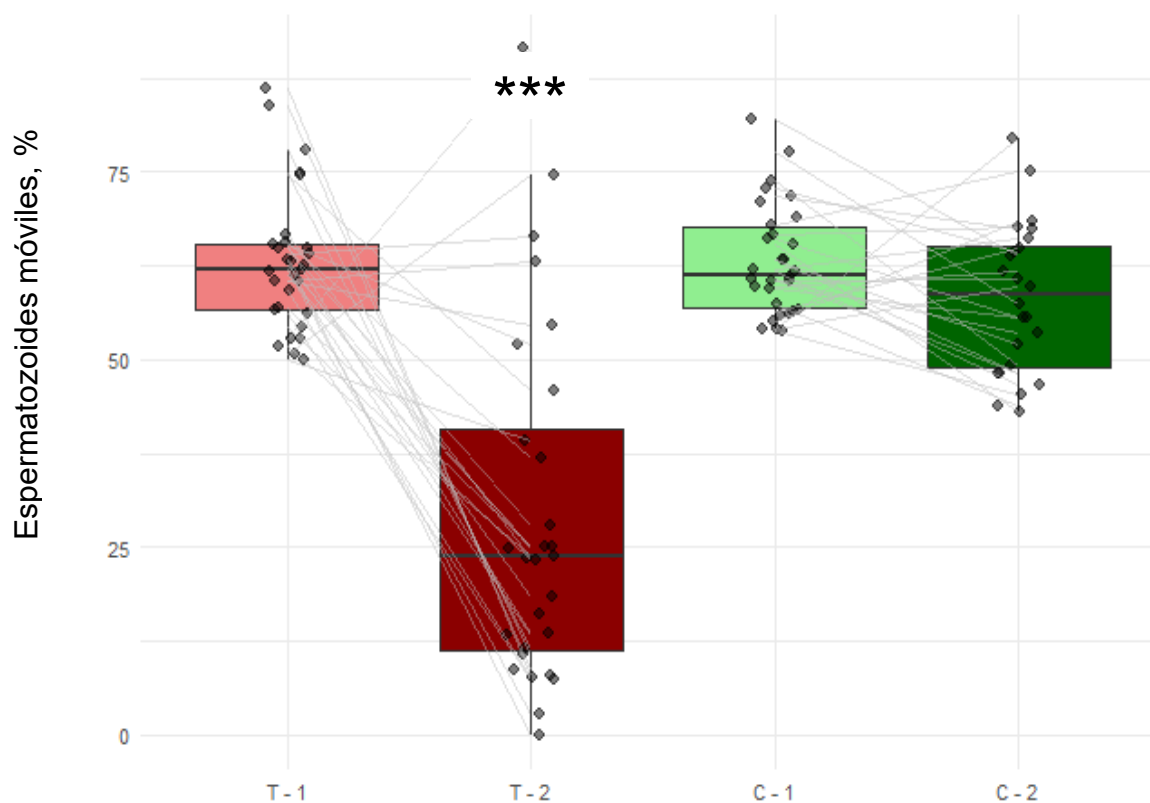


Figura 5. Movilidad espermática. En rojo se encuentran los grupos experimentales expuestos a PFOA (T), antes (1) y después (2) de la exposición. Se puede notar una diferencia importante entre las medias del grupo control (C-1 y C-2) y el grupo expuesto (T-2) así como una diferencia con el grupo experimental previo a la exposición al PFOA (T-1).

b) Vitalidad espermática

Tras exponer a los machos de *P. reticulata* a 3 mg/L de PFOA durante 14 días, se observó una vitalidad de 35% aproximadamente frente al 77% aproximadamente de los grupos control y experimental previa a la exposición y de 60% del grupo control tras el tratamiento, disminuyendo significativamente en el grupo experimental expuesto (T-2), en comparación con el mismo grupo previo a la exposición (T-1) y con el grupo control (C-1 y C-2) (GLMM, $Z = -3.847$, $P = 0.000119$) (Figura 6).

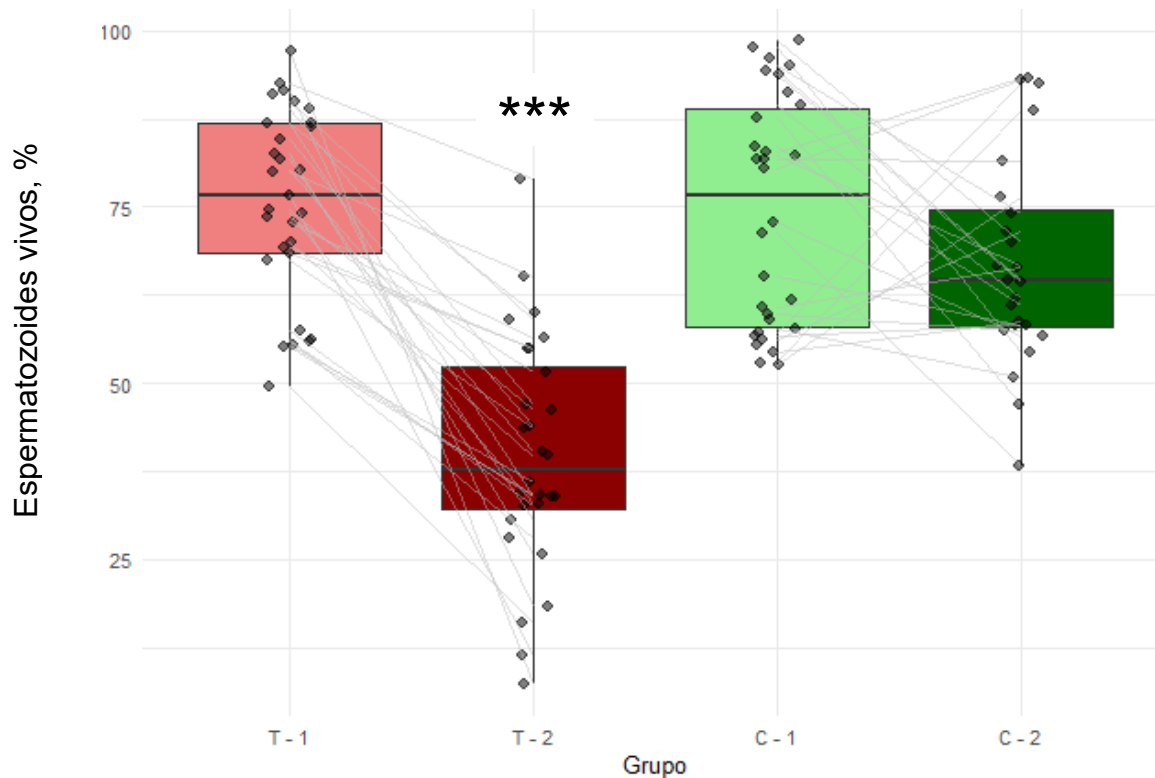


Figura 6. Boxplot del análisis de vitalidad espermática del grupo control y experimental, se puede observar como la media del grupo experimental disminuyó tras la exposición al PFOA (T-2) a comparación del mismo grupo (T-1) previo a la exposición y al grupo control (C-1 y C-2).

c) Número de paquetes espermáticos.

Tras exponer a los machos adultos de *P. reticulata* a 3 mg/L de PFOA durante 14 días, se observaron conteos en promedio arriba de 50 en los grupos control (C-1 y C-2) y el grupo experimental antes de la exposición (T-2) a diferencia de un promedio aproximado de 38 en el grupo experimental tras la exposición. Se puede afirmar que la exposición a PFOA (T-2) disminuyó la cantidad de paquetes espermáticos obtenidos (GLMM, $Z = -2.379$, $P = 0.0174$) (Figura 7).

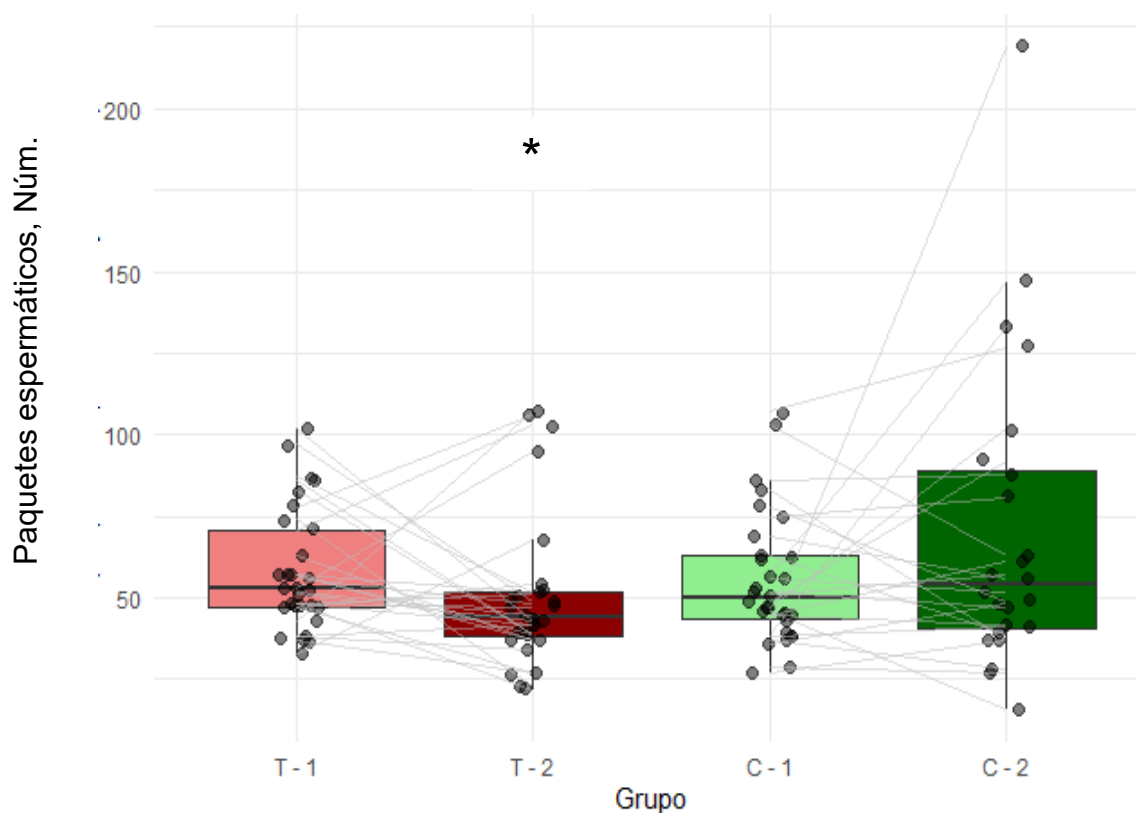


Figura 7. Conteo de paquetes espermáticos extraídos por individuo. Se puede notar como en el grupo experimental expuesto al PFOA (T-2) disminuyó el valor del promedio del número de paquetes, a comparación del grupo control posterior a las 2 semanas del experimento (C-2).

d) Concentración de espermatozoides

Tras exponer a los machos adultos de *P. reticulata* a 3 mg/L de PFOA durante 14 días se observó un inusual aumento en los valores de la media del grupo expuesto tras el periodo de exposición (T-2) aunque dicho aumento no fue estadísticamente significativo (GLMM, $Z = -0.110$, $P > 0.912$) respecto a los grupos control (C-1 y C-2) y el grupo expuesto previo al tratamiento (T-1) (Figura 8). Es posible que el aumento de la concentración de espermatozoides se deba a la abstinencia durante el tratamiento o bien, un proceso de retroalimentación fomentada por la exposición al PFOA que causaría una hipotética producción de hormona LH y FSH, aumentando la concentración ligeramente en el grupo expuesto.

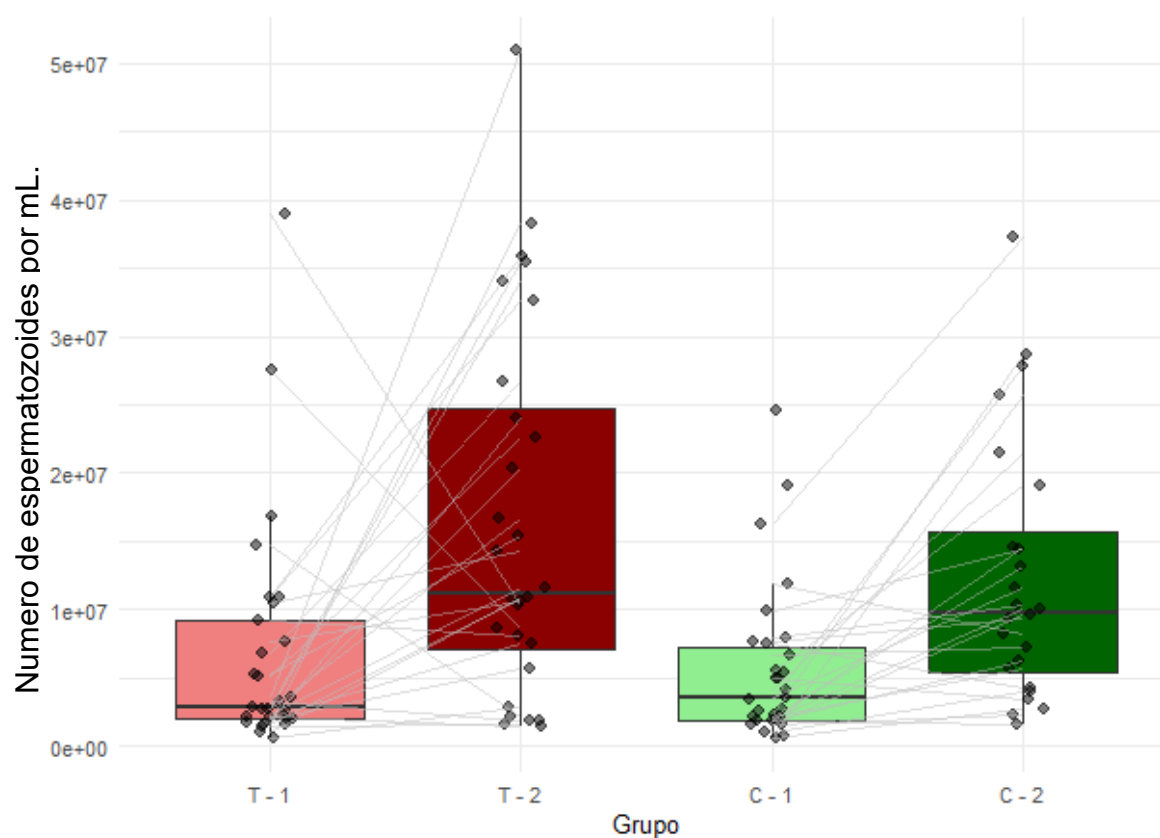


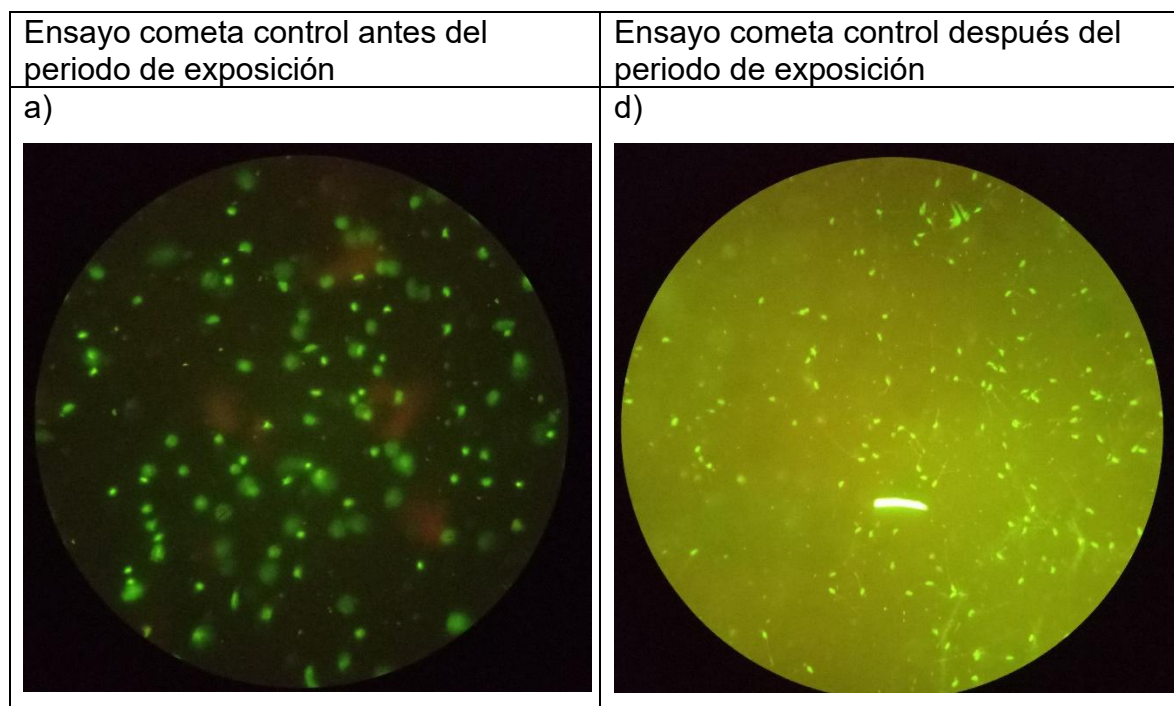
Figura 8. Concentración espermática. Se observa un aumento en las medias de los grupos experimentales y control posteriores al periodo de 2 semanas del ensayo (T2, C2) con respecto a los dos grupos antes del tratamiento (T1 y C1). Este incremento puede deberse al efecto de la abstinencia que produce el almacenamiento de los espermatozoides.

Tabla 2. Resumen de los resultados del análisis de las variables de calidad espermática por medio de GLMMs en R.

VARIABLE	ESTIMADO	ERROR	Z	P
MOVILIDAD	-0.97222	0.13186	-7.37	0.000000000000167
VITALIDAD	-1.0770	0.280 ₇₀	-3.847	0.000119
NO. PAQUETES	-0.3427	0.1440	-2.379	0.0174
CONCENTRACIÓN	-0.04160	0.37768	-0.110	0.912

e) Ensayo cometa

Los resultados del ensayo cometa mostraron daño en el ADN de las células espermáticas de *P. reticulata*. Estos valores están en correspondencia con los resultados de vitalidad determinada en este trabajo, debido a que estos análisis se relacionan, pues ambos son útiles para verificar la integridad de las estructuras celulares.



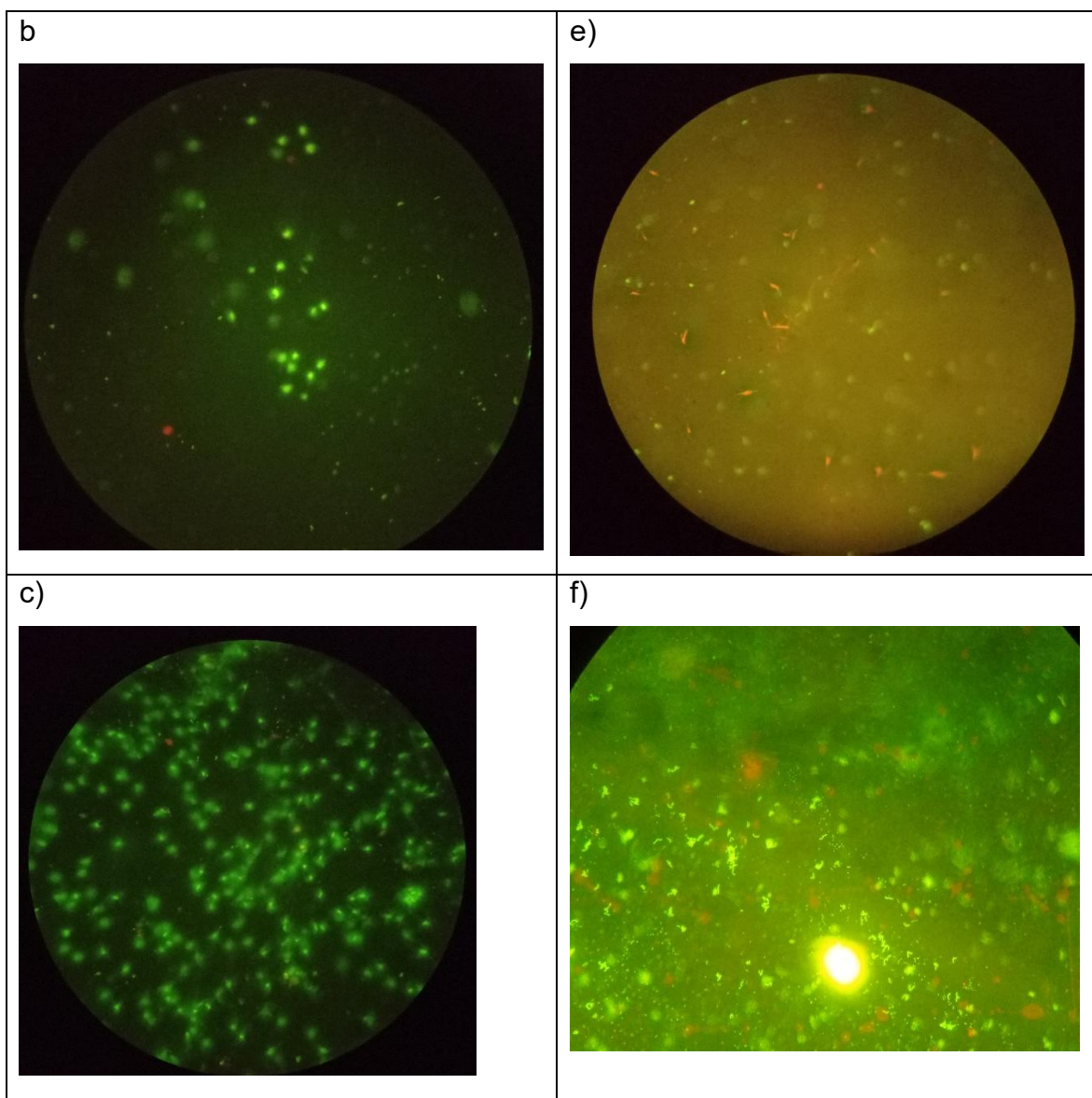
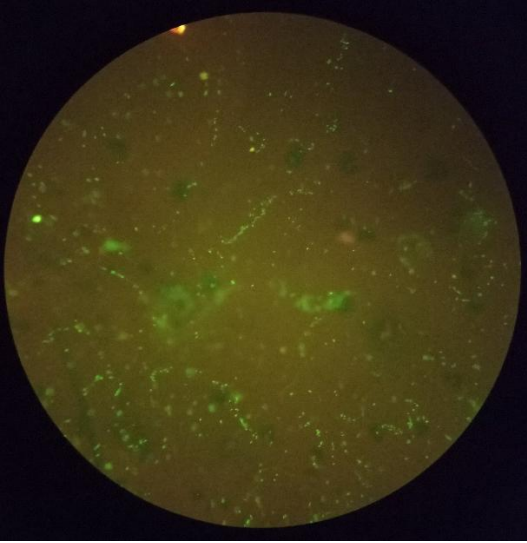
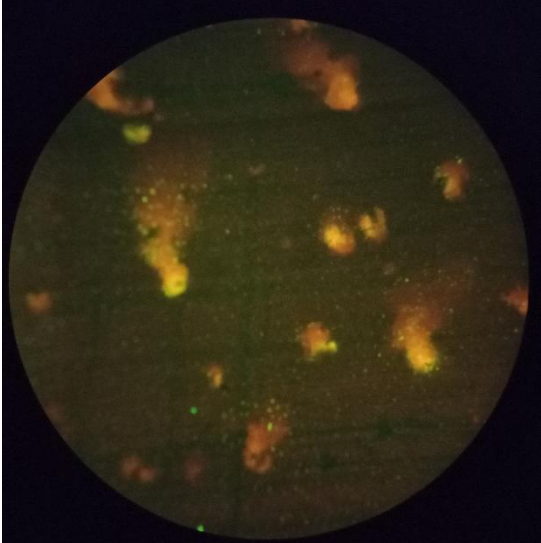


Tabla 3. Algunas fotografías de los espermatozoides sometidos al ensayo cometa del grupo control. a), b) y c). Las fotografías fueron tomadas a los espermatozoides obtenidos en los 14 días previos al experimento de exposición al PFOA. d), e) y f) son fotografías tomadas a la prueba cometa posteriores a los días de la exposición.

Las imágenes de los espermatozoides del ensayo cometa en el grupo control muestran cómo las células mantienen la integridad del ADN, y esta se pierde en el grupo experimental después del tratamiento con PFOA (T-2). Este daño en los espermatozoides del grupo T-2 no es producto de las condiciones de mantenimiento de los peces ni de los compuestos utilizados para la lisis.

En el grupo control a pesar de observarse una turbidez se pueden apreciar las células integras como pequeñas esferas brillantes, fragmentos de ADN que no migraron ante la ausencia de fragmentación (Tabla 3). En el grupo tratamiento en cambio, se pueden observar resultados irregulares (Tabla 4), esto puede ser producto de varios fenómenos provocados por el PFOA, entre ellos la modificación de las cargas de sus moléculas blanco, así como la acumulación de moléculas de PFOA en la membrana de los espermatozoides (Šabović et al., 2020; Xuejingping Han et al., 2022)

Las imágenes se observan borrosas debido al grosor del gel, al aumento utilizado en el microscopio de fluorescencia (40x) y al ruido visual producido por el colorante, esto disminuye la nitidez de las fotografías y dificulta apreciar las células.

Ensayo cometa del grupo experimental antes del periodo de exposición	Ensayo cometa del grupo experimental después del periodo de exposición
a) 	d) 
b)	e)

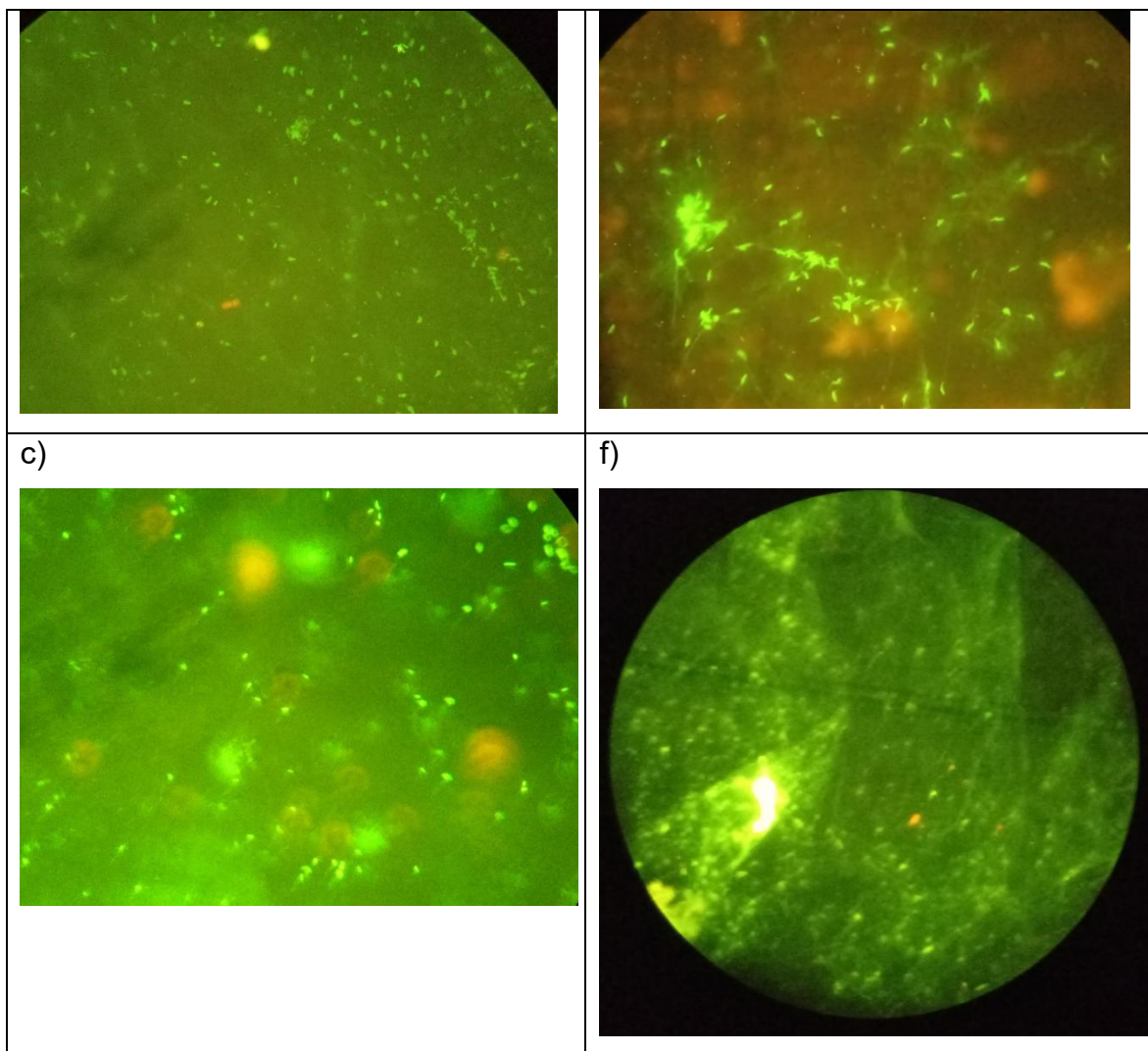


Tabla 3. Algunas fotografías de los ensayos cometas del grupo experimental. a) b) y c) Son fotografías tomadas a ensayos cometa previos a la exposición de 14 días, d) e) y f) son fotografías tomadas a los ensayos posteriores al tratamiento. En la imagen d) puede observarse lo que aparentan ser espermatóforos con las membranas rotas, e) Espermatozoides con ADN fragmentado y descondensado, formando un halo alrededor de las células, f) Espermatozoides con ADN fragmentado y descondensado, se observa daño en la morfología celular y hebras de ADN que enturbian el campo visual.

Las imágenes de fluorescencia de las preparaciones de los espermatozoides del grupo experimental después del tratamiento no permiten determinar el porcentaje de células con daño en el ADN debido a la turbidez de las muestras. En condiciones normales, esto se realiza midiendo la cola y la extensión del material genético desplazado durante la electroforesis (cometa). Tomando en consideración las

características fisicoquímicas del PFOA, el daño no se expresa en la forma clásica de cometa si no como la desintegración de la estructura nucleosomal del ADN, dejando al núcleo descondensado y fragmentado, como se puede observar en las fotografías d, e y f de la Tabla 3.

Pruebas de comportamiento

Latencia.

Tras los 14 días de exposición de los machos adultos a 3mg/L de PFOA, no se encontraron diferencias significativas respecto al inicio de los comportamientos sexuales, los machos del grupo control y el grupo tratamiento inician a cortejar a la hembra en tiempos similares (GLM, $T = -1.672$, $P = 0.112$., Figura 9).

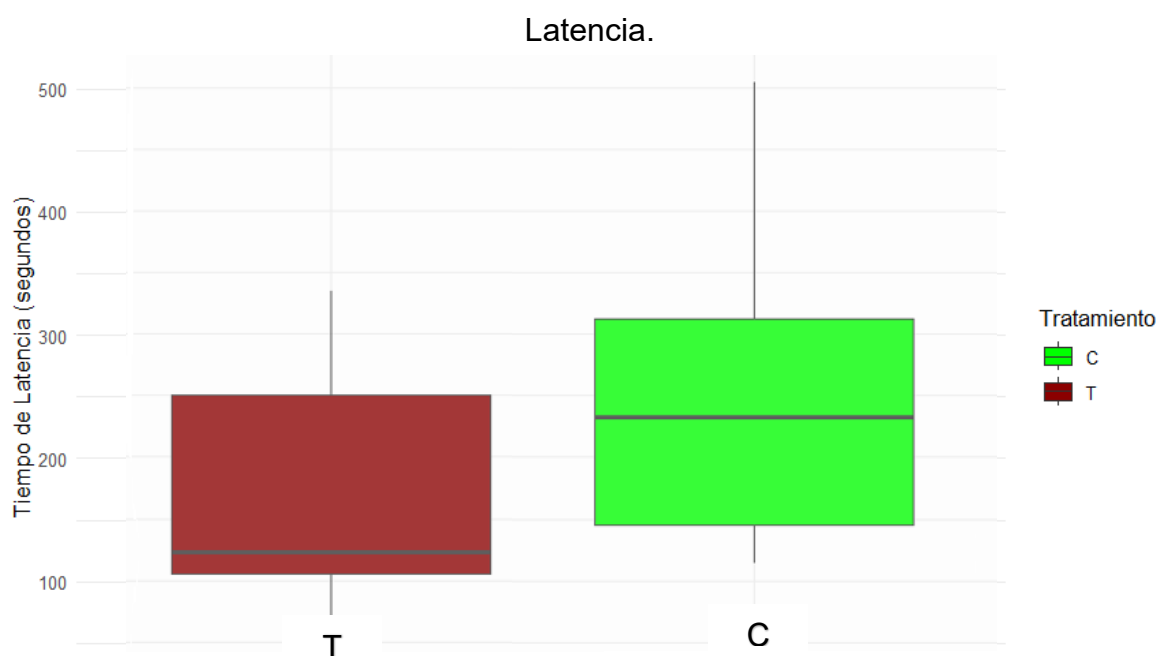


Figura 9. Periodo de latencia en el grupo control (C) y con tratamiento (T). Pese a que se observa una diferencia entre las medias de los grupos, no existe una diferencia significativa en el análisis estadístico.

Tiempo cerca de la hembra

Tras los 14 días de exposición de los machos adultos a 3mg/L de PFOA se observó una preferencia normal sobre las hembras grandes (GLM, $T = 2.701$, $P = 0.0105$) sin que el tratamiento altere el tiempo o las preferencias de los machos, por tanto el PFOA no modifica las preferencias de los machos sobre hembras grandes ni su interés en sus despliegues de comportamientos en ambos tratamientos (Figura 10).

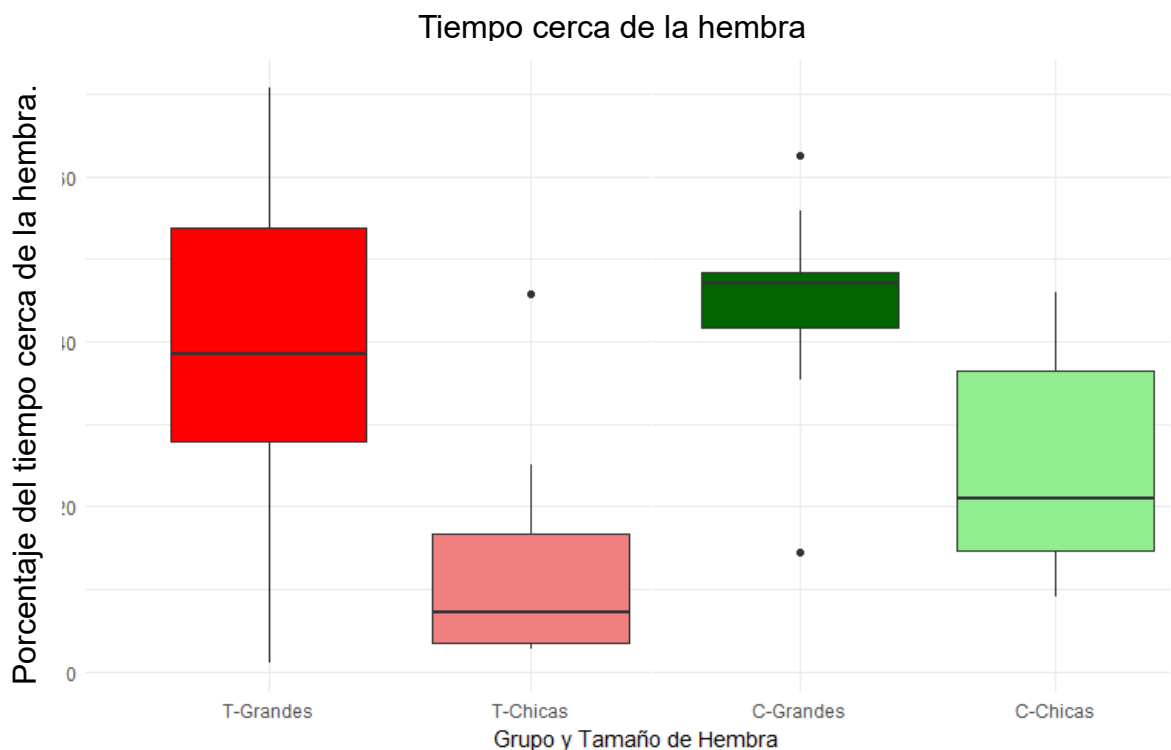


Figura 10. Tiempo cerca de la hembra. Los machos expuestos (T) siguen mostrando una preferencia sobre las hembras grandes al igual que los machos del grupo control (C), aunque están menos tiempo cerca de las hembras chicas.

Frecuencia de cortejos: despliegue sigmoideo

La exposición a PFOA podría modificar la preferencia de los machos sobre un tamaño u otro de las hembras al realizar los comportamientos de cortejo, pues los machos del grupo tratamiento aparentan no tener una preferencia sobre las hembras grandes esto se observa como una diferencia no significativa entre las preferencias por tamaño. (GLM, $T = -0.963$, $P = 0.34270$., Figura 11).

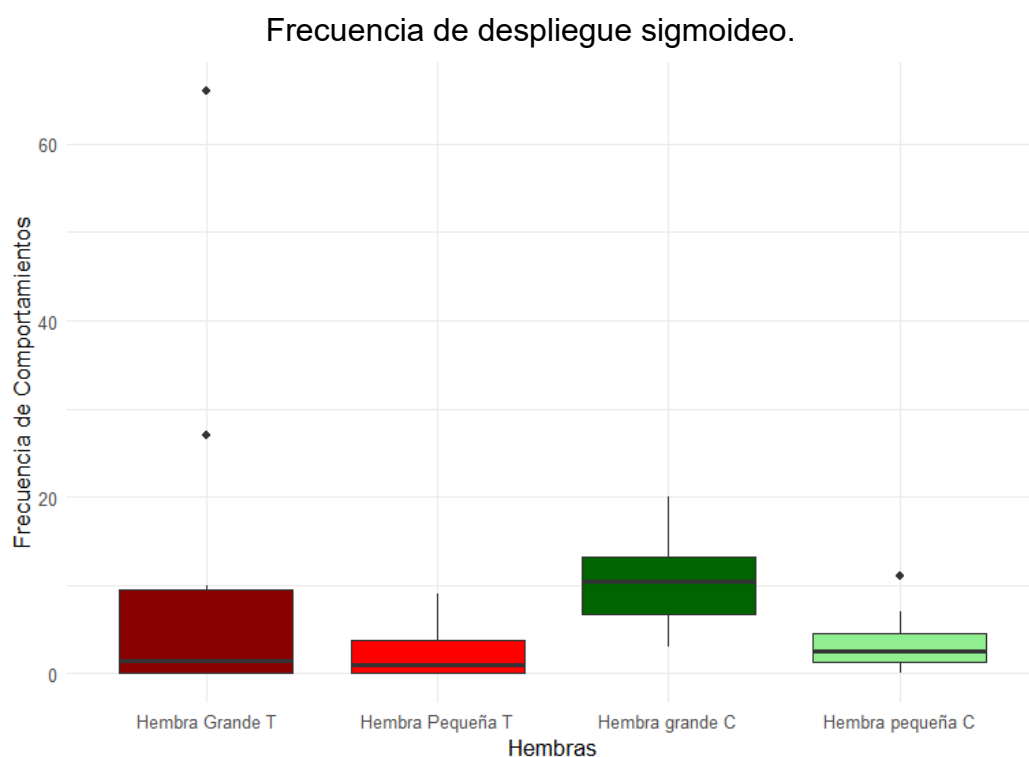


Figura 11. Frecuencia de cortejos. Se puede observar que la frecuencia total del cortejo disminuyó en el grupo expuesto, aunque no es significativa se observa una diferencia en las medidas, los machos del grupo tratamiento pareciera que no tienen una preferencia marcada por el tamaño de la hembra, a diferencia de los machos del grupo control, donde la diferencia entre ambas columnas es más notoria.

Intentos de cópulas forzadas.

La determinación de la variable de cópulas forzadas se ve influenciada por el tamaño de la hembra como en los resultados previos (GLM, $t = 2.585$, $P = 0.013933$), además de que la exposición a PFOA tiene una influencia significativa sobre la preferencia del macho a la hora de realizar las cópulas forzadas (GLM, $t = 2.066$, $P = 0.046063$). La exposición a PFOA tuvo un efecto sobre la preferencia del macho, priorizando los intentos de cópula forzados con la hembra grande y reduciendo el número de intentos cópula dirigidos hacia la hembra chica, además de que se observa una reducción total del número de intentos de cópulas realizados (Figura 12).

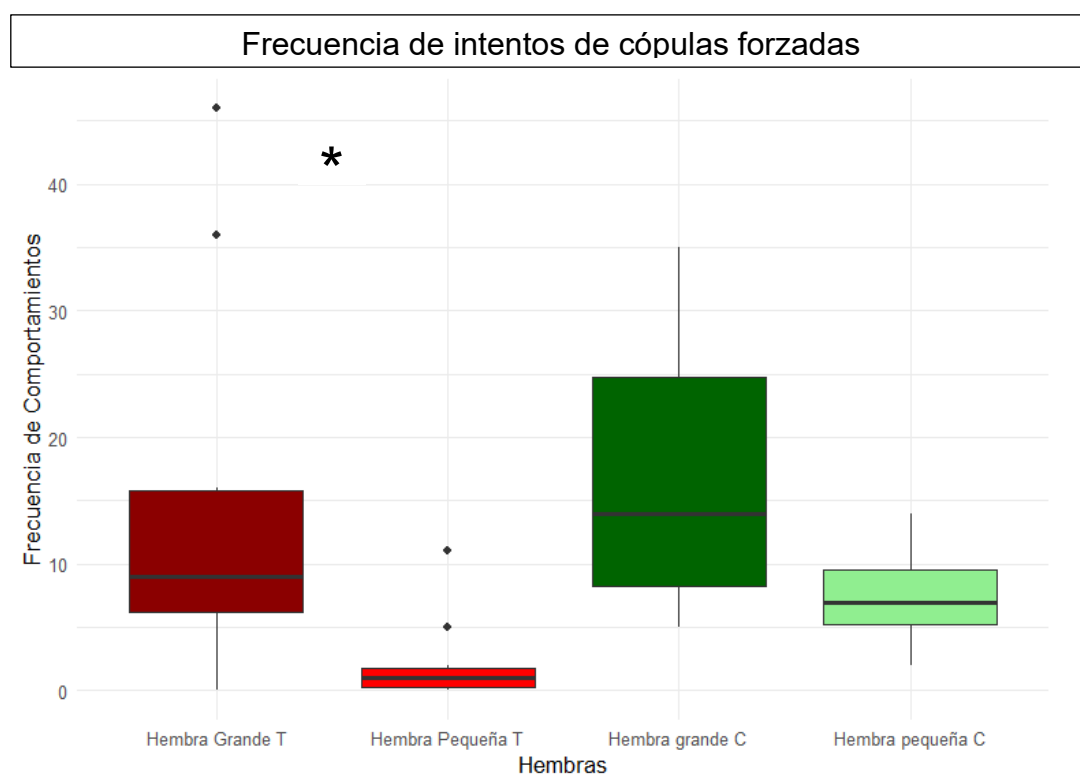


Figura 12. Frecuencia de los intentos de cópulas forzadas. Se puede observar una disminución del número de intentos de cópulas totales en el grupo expuesto a PFOA (T), así como una fuerte preferencia en ambos grupos por las hembras grandes. En el grupo expuesto, se observó drásticamente la frecuencia de intentos de cópula dirigidos a las hembras pequeñas a diferencia del grupo control (C).

Balanceo del gonopodio.

Los machos de ambos tratamientos realizaron más balanceos de gonopodio cerca de las hembras grandes en comparación con las hembras chicas ($t = 2.482$, $P = 0.0178$). La exposición a PFOA no tuvo efecto sobre la cantidad de balanceos realizados (GLM, $T = 0.788$, $P = 0.4361$, Figura 13).

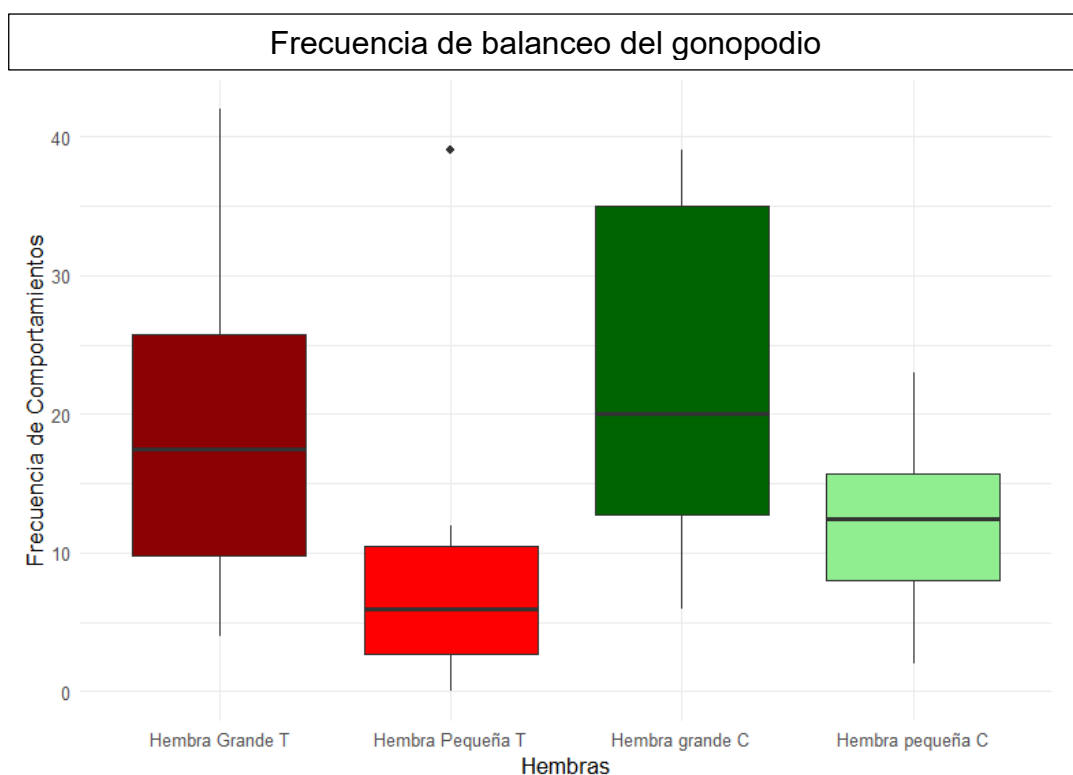


Figura 13. Frecuencia del balanceo del gonopodio. Los machos del grupo expuesto a PFOA (T) mostraron una frecuencia de balanceo de gonopodio similar al grupo control (C).

Tabla 2.2 Resumen de los resultados del análisis de los resultados de las pruebas de comportamiento por medio de GLMs en R.

VARIABLE	ESTIMADO	ERROR	T	P
LATENCIA	-81.70	48.86	-1.672	0.112
TIEMPO CERCA	0.07946	0.1018	0.784	0.4383
DESPLIEGUE SIGMOIDEO	-0.2367	0.2457	-0.963	0.34270
CÓPULAS FORZADAS	0.33615	0.1629	2.066	0.046063
BALANCEO	0.11953	0.1518	0.788	0.4361

Táctica reproductiva.

Táctica de apareamiento utilizada: proporción de cortejo

La frecuencia de cortejo no mostró verse afectada de forma significativa por la exposición a PFOA, los machos tratados y los machos control cortejaron con la misma frecuencia (GLM, $Z = 0.12$ $P = 0.904$, Figura 2.13).

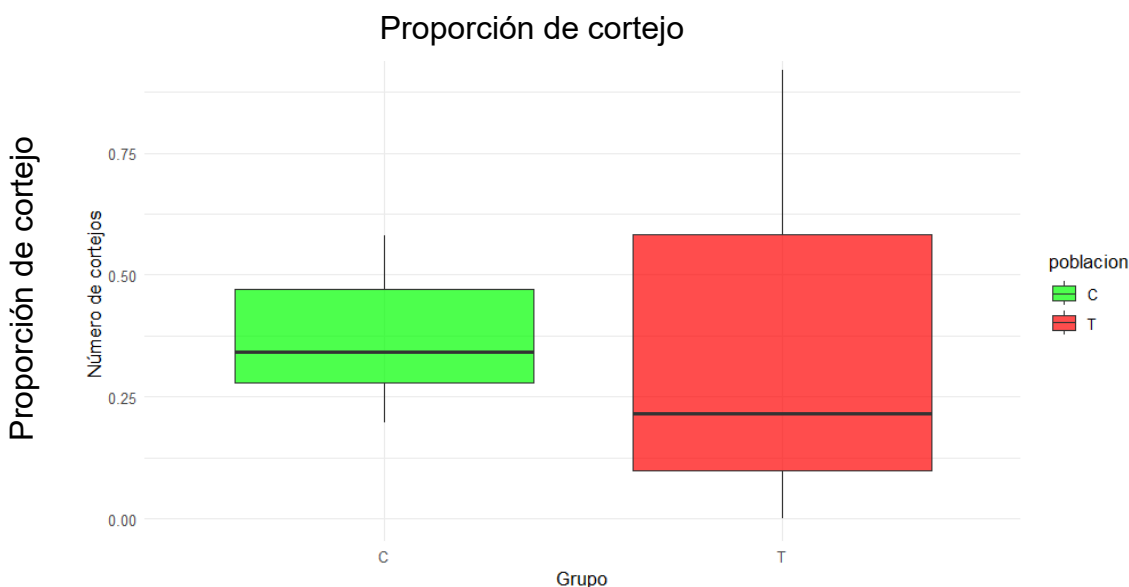


Figura 2.13. Proporción de cortejos con respecto al total de cortejos y cópulas forzadas registrados de los machos del grupo control (C; verde) y del grupo expuesto a PFOA (T; rojo). En la gráfica se puede observar que los machos expuestos al PFOA realizan dicho comportamiento con menor frecuencia, aunque no existe una diferencia significativa entre ambos.

Tabla 2.3 Resumen de los resultados del análisis de los resultados de las frecuencias de esfuerzo reproductivo por medio de GLMs en R.

VARIABLE	ESTIMADO	ERROR	T	P
I. CÓPULA FORZADA	-0.33314	0.09990	-3.335	0.000854
CORTEJO	0.01449	0.12039	0.12	0.904

Discusión.

Los resultados obtenidos en este estudio aportan evidencia sobre los efectos del PFOA en la calidad espermática y el comportamiento sexual de *Poecilia reticulata*, permitiendo evaluar el impacto de este contaminante como posible disruptor endocrino en organismos acuáticos. La magnitud del daño en las células espermáticas de los machos guppies encontrado en esta investigación es coherente con estudios previos realizados en otros modelos animales y humanos (Raymer et al., 2011; Crawford et al., 2017; Wang et al., 2021). Esto refuerza la hipótesis planteada para la dosis establecida, pues el PFOA disminuyó los parámetros de calidad espermática, incluyendo un potencial daño a la estructura del ADN, además de verse reducida la frecuencia de los comportamientos en los peces del grupo tratamiento.

En el caso de los peces guppy, la calidad espermática está estrechamente relacionada con su potencial reproductivo, ya que el número, la velocidad y calidad de los espermatozoides han sido demostrados como factores determinantes que influyen en su capacidad para procrear (Boschetto et al., 2011).

La disminución de la movilidad y la vitalidad espermática observada en el grupo expuesto tras el periodo de exposición sugiere que el PFOA puede causar efectos adversos en los organismos. Probablemente, este daño sea multinivel y multisistémico en los individuos expuestos. A nivel celular, los resultados de calidad espermática sugieren cambios en la polaridad de las membranas, lo que se reflejaría en una movilidad disminuida (Šabović et al., 2020). La movilidad espermática depende del funcionamiento de una compleja maquinaria celular conocida como axonema, una estructura que otorga movimiento al flagelo y permite al espermatozoide trasladarse hacia el óvulo para fecundarlo (Cosson, 2012, 2019). Los procesos moleculares necesarios para generar este movimiento están mediados por las mitocondrias presentes en la pieza media de los espermatozoides (Cosson, 2012, 2019).

Diversos estudios han señalado a las mitocondrias como organelos blanco del PFOA en modelos animales (Panaretakis et al., 2001; Kawamoto, 2010; Hagenaaars

et al., 2013). Las mitocondrias actúan como reservorios de especies reactivas de oxígeno (ROS), que, en concentraciones mínimas, son esenciales para los procesos de fecundación, reconocimiento y maduración de los espermatozoides (Agarwal & Saleh, 2002; Agarwal & Allamaneni, 2004). Se ha reportado que el PFOA puede causar la ruptura de la membrana mitocondrial, liberando ROS y generando estrés oxidativo en las células espermáticas. Es probable que el PFOA dañe las estructuras necesarias para la movilidad celular, lo que pudiera explicar los resultados observados y es consistente con estudios en otros modelos animales y de peces (Gabrielsen & Tanrikut, 2016; Šabović et al., 2020; Gasparini et al., 2024).

La vitalidad, por su parte, es una variable que refleja la integridad de la membrana espermática y, en este estudio, debido a la naturaleza del contaminante analizado, se relaciona directamente con los resultados obtenidos en los ensayos cometa. En la línea con lo planteado anteriormente, el PFOA puede inducir cambios en la polaridad de la membrana, así como favorecer la aparición de poros debido a su afinidad por los ácidos grasos (Jones et al., 2003). Este fenómeno no sólo afecta a la membrana plasmática, sino también las membranas de organelos celulares, como las mitocondrias y el núcleo celular (Panaretakis et al., 2001; Oseguera-López et al., 2020).

Las variables relacionadas con la concentración espermática (número de paquetes y concentración espermáticos) mostraron resultados opuestos. Mientras que la producción de paquetes disminuyó, la concentración de espermatozoides aumentó. Esto tiene sentido si consideramos que ambas variables están reguladas por mecanismos diferentes. La maduración y mantenimiento de los espermatozoides están reguladas por las células de Sertoli, mientras que el inicio de la espermatogénesis y la producción de testosterona son mediados por las células de Leydig (Uribe et al., 2010; Cosson, 2019).

La exposición al PFOA y otros CPFs en otros modelos animales ha demostrado causar inflamación en las células de Sertoli (Qiu et al., 2013; Gao et al., 2017; Wan et al., 2020) las cuales mantienen una interacción constante con el eje hipotalámico-hipofisiario-gonadal (HPG). Este eje regula las funciones gonadales y responde a

los cambios en el organismo. La inflamación inducida por el PFOA en las células de Sertoli representa una señal para el eje HPG de que existe una alteración en el organismo. En respuesta, el eje aumenta la concentración de la hormona foliculoestimulante (FSH), cuya relación dosis-dependiente con el contaminante ha sido demostrada en estudios en humanos (López-Espinosa et al., 2016; Harlow et al., 2021). Esto podría explicar por qué, a pesar de que la producción de paquetes disminuye, estos contienen un mayor número de espermatozoides.

Este fenómeno sugiere un mecanismo de retroalimentación positiva en el que, a mayor concentración de PFOA en el organismo, el eje HPG incrementa la concentración de FSH. Paralelamente, las células de Leydig ven afectada su capacidad para producir testosterona, un blanco directo de los CPFs (Biegel et al., 1995; Zhao et al., 2014; Z. Li et al., 2021). Este contaminante altera la estructura de la testosterona, disminuye su acción y silencia su expresión, lo que resulta en una relación negativa entre la concentración de PFOA y los niveles de testosterona (Joensen et al., 2013; Zhao et al., 2014). En los guppies, esta compensación del eje HPG podría estar orientada a incrementar la producción de espermatozoides, aunque no logre mantener la cantidad adecuada de testosterona para preservar su calidad.

Como ocurre con otros factores que inducen daño en las células espermáticas, el estrés oxidativo derivado del aumento de la concentración intracelular de especies reactivas de oxígeno (ROS) se identifica con frecuencia como el principal responsable de dicho daño (Cooke et al., 2003; Yao & Zhong, 2005; Cocuzza et al., 2007). Esto se debe a la naturaleza hiper oxidativa de las ROS, compuestos capaces de causar fragmentación del ADN. Yao & Zhong (2005) demostraron que la exposición al PFOA incrementa concentración de ROS intracelular. Sin embargo, se ha determinado que este no es el único mecanismo que explica los resultados observados. Kawamoto (2010) evaluó el daño causado por el PFOA en el ADN de *Paramecium caudatum* mediante ensayos cometa, confirmando su carácter genotóxico.

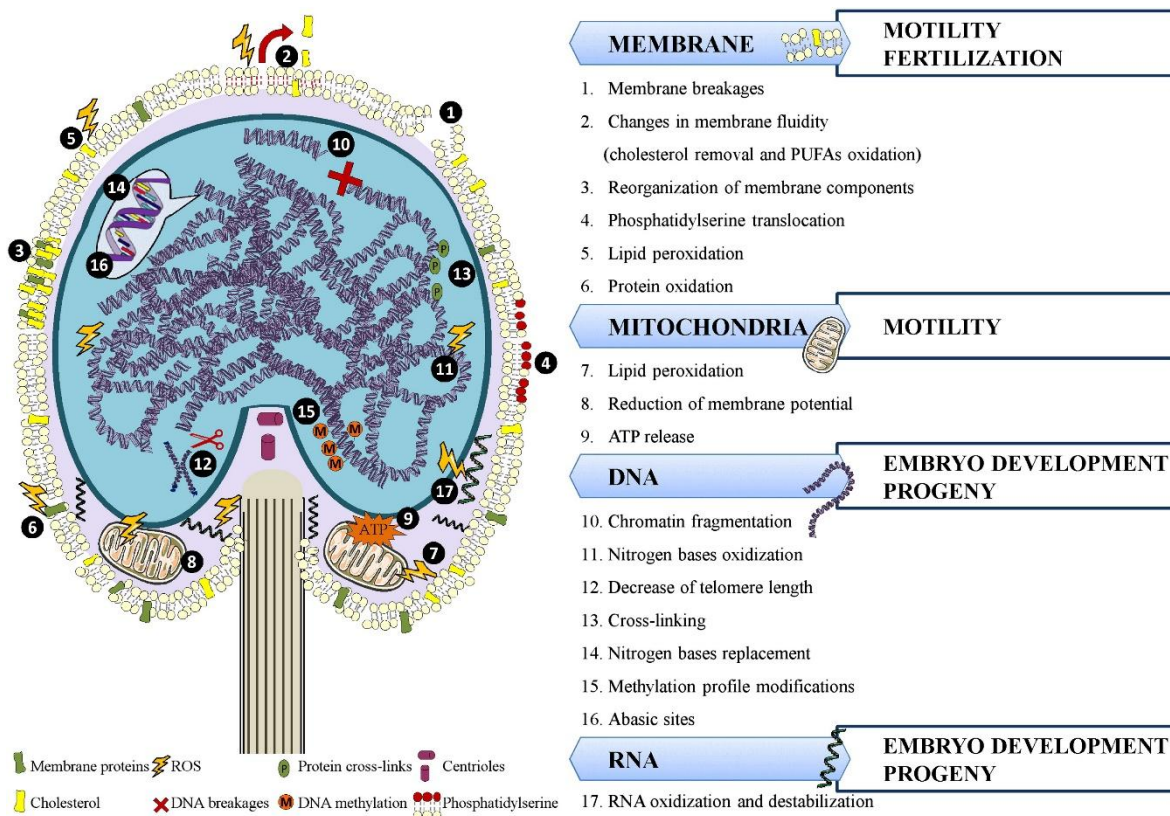


Figura 3.1 Esquema de los diferentes tipos de daño identificados como criterios para evaluar el daño oxidativo producto del aumento de la concentración de especies reactivas de oxígeno en los espermatozoides de peces. Tomado de Cabrita et al. 2014

Para discernir si los cometas observados eran resultado del estrés oxidativo o de la acción directa del PFOA, Kawamoto (2010) empleó glutatión (GSH) como inhibidor de la liberación de ROS. El GSH evita la liberación de ROS desde las mitocondrias al aumentar su concentración intracelular, reduciendo así el daño oxidativo (Kawamoto, 2010). Aunque bajo estas condiciones se observó una disminución en el porcentaje de fragmentación del ADN, incluso en los grupos controles positivos, el daño no desapareció por completo (Kawamoto, 2010). Esto sugiere que el PFOA es capaz de dañar el ADN directamente, sin necesidad de inducir daño por medio de otros mecanismos de estrés celular.

Los resultados del ensayo cometa, que sugieren fragmentación del ADN espermático tras la exposición al PFOA, coinciden con hallazgos previos en líneas

celulares HEPG2 y MCF7, así como en espermatozoides de ratas (Yao & Zhong, 2005; Liu & Irudayaraj, 2020; Xuejingping Han et al., 2022) y cerdo (Oseguera-López et al., 2020), además de *Paramecium caudatum* (Kawamoto, 2010). Estos estudios han demostrado que el PFOA altera la estructura del ADN al dañar la heterocromatina H3K9me3, afectando su compactación y generando inestabilidad en la cromatina.

Como molécula anfipática, el PFOA también altera las cargas eléctricas de sus moléculas blanco (Kissa, 1994). Esto podría explicar por qué los ensayos cometa obtenidos no presentan un desplazamiento adecuado. La modificación de las histonas afecta la transmisión de la carga eléctrica a través de la estructura, lo que impide un desplazamiento normal (Ribas-Maynou et al., 2014), además de que la lisis celular podría liberar moléculas de PFOA asociadas a la membrana (Šabović et al., 2020). Sin embargo, se observó ruido visual denominado como “nubes de descondensación”, que podrían corresponder a fragmentos diminutos de ADN químicamente modificados que no se desplazaron debido a daños previos a la lisis celular en la primera etapa del ensayo cometa (Ribas-Maynou et al., 2014).

Otro efecto adverso es la capacidad del PFOA para alterar la expresión genética (Du et al., 2013; Liu & Irudayaraj, 2020; Xuejingping Han et al., 2022; Gasparini et al., 2024). Este compuesto con propiedades anti androgénicas ha mostrado disminuir la expresión de genes relacionados con la diferenciación sexual, la respuesta inmune y la producción de gametos (National Toxicology Program (NTP), 2016; Gasparini et al., 2024). Lo anterior ocurre mediante la desmetilación del ADN, un mecanismo que también explica los procesos de estrogenización que sufren los modelos animales expuestos al contaminante, pues se ve comprometida la expresión de genes relacionados a las hormonas sexuales como la aromatasa (White et al., 2011; Chen et al., 2016). Este fenómeno ha sido descrito como criterio de evaluación toxicológica en guppies (B. Georgescu & C. Georgescu, 2012).

Las pruebas de comportamiento complementaron el análisis de calidad espermática al permitir evaluar cómo la exposición a PFOA puede alterar los comportamientos del pez guppy debido a su potencial como antiandrógeno y neurotóxico (Slotkin

et al., 2008; Kawamoto, 2010; White et al., 2011; Du et al., 2013). Los efectos sobre el comportamiento sexual del guppy han sido propuestos como bioindicadores para evaluar la influencia de químicos disruptores endocrinos, debido a la sensibilidad que presentan los machos frente a antagonistas de la testosterona (Bayley et al., 1999; B. Georgescu & C. Georgescu, 2012).

Los comportamientos de cortejo del pez guppy, ampliamente estudiados, están relacionados con las variables de calidad espermática, las cuales se comunican a las hembras a través de sus ornamentos (Kodric-Brown, 1985; Houde, 1997; Matthews et al., 1997). Las hembras muestran una preferencia por machos grandes con coloraciones extendidas e intensas en lugar de machos pequeños con coloraciones desvanecidas (Ohlyan, 2012). Si la testosterona disminuye por ejemplo producto de la exposición a disruptores endocrinos, los machos pueden reducir el número de comportamientos que realizan (Bertram et al., 2015). Si los parámetros de calidad espermática varían y esto no se refleja en un cambio de coloración, los machos no están comunicando su aptitud por medio de señales adecuadamente, lo que puede explicar la reducción de los comportamientos (Shenoy & Crowley, 2011; McNair et al., 2014;)

Se sabe que la exposición a contaminantes antiandrógenos altera la expresión de la aromatasa en el cerebro (Volkova et al., 2012; Tian et al., 2015), un fenómeno que el PFOA es capaz de inducir al aumentar la expresión de esta enzima. La aromatasa ha sido propuesta como un biomarcador de disrupción endocrina (Hallgren & Olsén, 2010; Kang et al., 2016). Al incrementarse la actividad de la aromatasa, aumenta la síntesis de estrógenos (EE2) lo que se refleja en altos niveles de 17B-estradiol, la principal hormona sexual femenina (Hallgren & Olsén, 2010; Miranda et al., 2020). Este aumento hormonal se ha asociado con una disminución en los comportamientos de despliegue sigmoideo y con el desvanecimiento de la coloración naranja en los machos de pez guppy (Bayley et al., 1999)

Considerando los resultados obtenidos, sería pertinente incluir en futuras investigaciones toxicológicas con PFOA y otros CPF el análisis de la extensión de

las manchas en el pez guppy. Esto permitiría evaluar el rol de dichos contaminantes en la comunicación de las variables de calidad espermática. Incluso, si no se observa un cambio evidente en la coloración, estas variables disminuyen con la exposición, lo que implicaría que los machos no estarían comunicando su aptitud como pareja de manera adecuada (Shenoy, 2012; McNair et al., 2014).

Estas alteraciones pueden llevar a poblaciones de peces guppies a una reducción, ya que fomentan la aparición de comportamientos altamente selectivos en las hembras. Estas últimas discriminarían contra machos que, debido a la exposición a un antiandrógeno como el PFOA, presentarían señales más débiles para comunicar su aptitud reproductiva (Shenoy & Crowley, 2011; Vergara et al., 2012).

El uso de modelos para investigar los efectos de los CPFs sobre la salud es una práctica común en toxicología que ha permitido establecer legislaciones adecuadas para limitar presencia de estos compuestos en el medio ambiente y reducir los riesgos asociados a su contaminación. Durante el caso DuPont, la búsqueda de información respecto a los efectos del PFOA en la salud humana fue crucial (Bilott, 2019). Aunque los resultados obtenidos en modelos animales no siempre son extrapolables entre especies, contar con organismos cuyos procesos metabólicos y genéticos sean bien conocidos permite evaluar los riesgos de forma más eficiente que los estudios con modelos humanos. Los ciclos de vida más cortos, y las condiciones controladas de estos modelos facilitan la obtención de datos confiables, adecuados para las autoridades ambientales, y establecen una relación clara entre la exposición a contaminantes y los efectos negativos sobre la salud.

EL PFOA es un compuesto químico en proceso de retirada del mercado. A pesar de los esfuerzos de la Unión europea, la EPA y los gobiernos, su manejo aun enfrenta retos políticos y legales, agravados por la falta de interés de algunas empresas en invertir en alternativas más seguras. Esto se suma a la limitada investigación sobre este tema en regiones como Latinoamérica, donde los estudios son escasos. Además, otras moléculas de la familia de los compuestos perfluorados como los CPFs de última generación han demostrado tener efectos negativos sobre la salud,

aunque no siempre similares a PFOA o el PFOS. Estas nuevas moléculas, con estructuras químicas similares, pero cadenas más cortas, suelen ser aún más tóxicas y se utilizan como reemplazos en aplicaciones industriales donde se consideran indispensables.

La relevancia del pez guppy como modelo de evaluación toxicológica radica en su capacidad para generar protocolos que aporten información valiosa y evidencia científica. Esto es fundamental para impulsar regulaciones más estrictas y penalizaciones adecuadas por el uso irresponsable de los CPFs. Los esfuerzos por mitigar el daño y prohibir por completo estos compuestos en procesos industriales siguen siendo un objetivo prioritario, aunque las acciones definitivas que aseguren que no lleguen al consumidor aún están en desarrollo por parte de las autoridades.

Conclusión

Los compuestos perfluorados de cadena larga como el PFOA, se encuentran en el proceso de ser retirados del mercado debido a sus efectos nocivos en la salud y el medio ambiente. Sin embargo, a pesar de los esfuerzos de regulación por parte de autoridades internacionales, en países sin normativas ambientales específicas, como México, estos compuestos aún pueden estar presentes en productos de consumo. Esta situación socava los intentos globales de reducir su presencia en los ecosistemas y mitigar sus efectos adversos.

Los resultados de este trabajo confirman que la exposición al PFOA afecta significativamente los parámetros de calidad espermática en *Poecilia reticulata* causa alteraciones en la estructura del ADN. Esto refuerza la evidencia sobre la toxicidad del PFOA en organismos acuáticos y el riesgo que representa para los ecosistemas que habitan.

Asimismo, las variaciones sutiles en el comportamiento sugieren que el PFOA podría comprometer las dinámicas reproductivas de poblaciones silvestres de peces y otros organismos, afectando su viabilidad a largo plazo.

Este estudio aporta evidencia sobre el impacto del PFOA en la calidad espermática y el comportamiento reproductivo de los peces guppy, lo que refuerza la necesidad

de continuar con la investigación respecto de los efectos de estos contaminantes sobre los ecosistemas locales. Destaca la importancia de generar datos ecológicamente relevantes que respalden futuras iniciativas de regulación en el país.

Los contaminantes emergentes siguen siendo una amenaza ecológica en constante evolución, es crucial mantener una vigilancia activa sobre su presencia y efectos en el medio ambiente. La actualización periódica de información científica y su integración en políticas públicas permitirá avanzar hacia una regulación eficiente de estos compuestos en México, alineándose con estándares internacionales y contribuyendo a la protección de la biodiversidad y la salud humana.

Referencias

- Agarwal, A., & Allamaneni, S. S. R. (2004). Role of free radicals in female reproductive diseases and assisted reproduction. *Reproductive Biomedicine Online*, 9(3), 338–347. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)62151-7](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)62151-7)
- Agarwal, A., & Saleh, R. A. (2002). Role of oxidants in male infertility: rationale, significance, and treatment. *The Urologic Clinics of North America*, 29(4), 817–827. [https://doi.org/10.1016/S0094-0143\(02\)00081-2](https://doi.org/10.1016/S0094-0143(02)00081-2)
- Appleman, T. D., Higgins, C. P., Quiñones, O., Vanderford, B. J., Kolstad, C., Zeigler-Holady, J. C., & Dickenson, E. R. V. (2014). Treatment of poly- and perfluoroalkyl substances in U.S. full-scale water treatment systems. *Water Research*, 51, 246–255. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2013.10.067>
- Arrieta, R. (2017). “Propuesta de regulación de perfluoroalquilos de alto riesgo en México: El caso del PFOS.”
- Arvaniti, O. S., & Stasinakis, A. S. (2015). Review on the occurrence, fate and removal of perfluorinated compounds during wastewater treatment. *Science of The Total Environment*, 524–525, 81–92. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2015.04.023>
- ASAB Ethical Committee/ABS Animal Care Committee. (2023). Guidelines for the ethical treatment of nonhuman animals in behavioural research and teaching. *Animal Behaviour*, 195, I–XI. <https://doi.org/10.1016/J.ANBEHAV.2022.09.006>

- Ateia, M., Maroli, A., Tharayil, N., & Karanfil, T. (2019). The overlooked short- and ultrashort-chain poly- and perfluorinated substances: A review. *Chemosphere*, 220, 866–882. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2018.12.186>
- Augustsson, A., Lennqvist, T., Osbeck, C. M. G., Tibblin, P., Glynn, A., Nguyen, M. A., Westberg, E., & Vestergren, R. (2021). Consumption of freshwater fish: A variable but significant risk factor for PFOS exposure. *Environmental Research*, 192. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110284>
- Baattrup, E. (2009). Measuring Complex Behavior Patterns in Fish—Effects of Endocrine Disruptors on the Guppy Reproductive Behavior. *Human and Ecological Risk Assessment*, 15(1), 53–62. <https://doi.org/10.1080/10807030802615097>
- Bartell, S. M., Calafat, A. M., Lyu, C., Kato, K., Ryan, P. B., & Steenland, K. (2010). Rate of decline in serum PFOA concentrations after granular activated carbon filtration at two public water systems in Ohio and West Virginia. *Environmental Health Perspectives*, 118(2), 222–228. <https://doi.org/10.1289/EHP.0901252/ASSET/35DE6605-C822-4ED8-BB8D-E31AB2B544FA/ASSETS/GRAPHIC/EHP-118-222F2.JPG>
- Başer, S., Erkoç, F., Selvi, M., & Koçak, O. (2003). Investigation of acute toxicity of permethrin on guppies *Poecilia reticulata*. *Chemosphere*, 51(6), 469–474. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00033-X](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00033-X)
- Bayley, M., Nielsen, J. R., & Baattrup, E. (1999). Guppy Sexual Behavior as an Effect Biomarker of Estrogen Mimics. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 43(1), 68–73. <https://doi.org/10.1006/EESA.1999.1766>
- Berger, U., Glynn, A., Holmström, K. E., Berglund, M., Ankarberg, E. H., & Törnkvist, A. (2009). Fish consumption as a source of human exposure to perfluorinated alkyl substances in Sweden - analysis of edible fish from Lake Vättern and the Baltic Sea. *Chemosphere*, 76(6), 799–804. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2009.04.044>
- Bertram, M. G., Ågerstrand, M., Thoré, E. S. J., Allen, J., Balshine, S., Brand, J. A., Brooks, B. W., Dang, Z., Duquesne, S., Ford, A. T., Hoffmann, F., Hollert, H., Jacob, S., Kloas, W., Klüver, N., Lazorchak, J., Ledesma, M., Maack, G., Macartney, E. L., ... Brodin, T. (2024). EthoCRED: a framework to guide reporting and evaluation of the relevance and reliability of behavioural ecotoxicity studies. *Biological Reviews*, (1), 0–000. <https://doi.org/10.1111/BRV.13154>
- Bertram, M. G., Saaristo, M., Baumgartner, J. B., Johnstone, C. P., Allinson, M., Allinson, G., & Wong, B. B. M. (2015). Sex in troubled waters:

- Widespread agricultural contaminant disrupts reproductive behaviour in fish. *Hormones and Behavior*, 70, 85–91.
<https://doi.org/10.1016/J.YHBEH.2015.03.002>
- Bertram, M. G., Saaristo, M., Ecker, T. E., Baumgartner, J. B., & Wong, B. B. M. (2018). An androgenic endocrine disruptor alters male mating behavior in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Behavioral Ecology*, 29(6), 1255–1263.
<https://doi.org/10.1093/BEHECO/ARY121>
- Biegel, L. B., Liu, R. C. M., Hurtt, M. E., & Cook, J. C. (1995). Effects of Ammonium Perfluorooctanoate on Leydig-Cell Function: In Vitro, in Vivo, and ex Vivo Studies. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 134(1), 18–25. <https://doi.org/10.1006/TAAP.1995.1164>
- Bilott, R. (2019). *Exposure*. Atria Books.
<https://bookshop.org/p/books/exposure-poisoned-water-corporate-greed-and-one-lawyer-s-twenty-year-battle-against-dupont-robert-bilott/120745?ean=9781501172816&next=t&affiliate=18570>
- Blake, Mariah. (2015, August 31). *USA: DuPont Teflon plant poisoned nearby farms, water supplies & caused birth defects - firm has settled related lawsuits*. Business & Human Rights Resource Centre.
<https://www.business-humanrights.org/es/%C3%BAltimas-noticias/usa-dupont-teflon-plant-poisoned-nearby-farms-water-supplies-caused-birth-defects-firm-has-settled-related-lawsuits/>
- Boschetto, C., Gasparini, C., & Pilastro, A. (2011). Sperm number and velocity affect sperm competition success in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 65(4), 813–821.
<https://doi.org/10.1007/S00265-010-1085-Y>
- Brandimarte, W. (2015, April 4). Incendio de tanques de combustible en puerto brasileño de Santos se propaga | Reuters. *Reuters*.
<https://www.reuters.com/article/world/americas/incendio-de-tanques-de-combustible-en-puerto-brasileo-de-santos-se-propaga-idUSKBN0MV0JO/>
- Cabrita, E., Martínez-Páramo, S., Gavaia, P. J., Riesco, M. F., Valcarce, D. G., Sarasquete, C., Herráez, M. P., & Robles, V. (2014). Factors enhancing fish sperm quality and emerging tools for sperm analysis. *Aquaculture*, 432, 389–401. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2014.04.034>
- Carnevali, O., Santangeli, S., Forner-Piquer, I., Basili, D., & Maradonna, F. (2018). Endocrine-disrupting chemicals in aquatic environment: what are the risks for fish gametes? *Fish Physiology and Biochemistry*, 44(6), 1561–1576. <https://doi.org/10.1007/S10695-018-0507-Z>

- Chen, J., Wang, X., Ge, X., Wang, D., Wang, T., Zhang, L., Tanguay, R. L., Simonich, M., Huang, C., & Dong, Q. (2016). Chronic perfluorooctanesulphonic acid (PFOS) exposure produces estrogenic effects in zebrafish. *Environmental Pollution*, 218, 702–708. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.07.064>
- Cocuzza, M., Sikka, S. C., Athayde, K. S., & Agarwal, A. (2007). Clinical relevance of oxidative stress and sperm chromatin damage in male infertility: an evidence based analysis. *International Braz j Urol*, 33(5), 603–621. <https://doi.org/10.1590/S1677-55382007000500002>
- Conder, J. M., Hoke, R. A., De Wolf, W., Russell, M. H., & Buck, R. C. (2008). Are PFCAs bioaccumulative? A critical review and comparison with regulatory criteria and persistent lipophilic compounds. *Environmental Science and Technology*, 42(4), 995–1003. https://doi.org/10.1021/ES070895G/SUPPL_FILE/ES070895G-FILE001.PDF
- Cooke, M. S., Evans, M. D., Dizdaroglu, M., & Lunec, J. (2003). Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 17(10), 1195–1214. <https://doi.org/10.1096/FJ.02-0752REV>
- Cordner, A., De La Rosa, V. Y., Schaider, L. A., Rudel, R. A., Richter, L., & Brown, P. (2019). Guideline levels for PFOA and PFOS in drinking water: the role of scientific uncertainty, risk assessment decisions, and social factors. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, 29(2), 157–171. <https://doi.org/10.1038/s41370-018-0099-9>
- Cosson, J. (2012). (PDF) *Fish spermatozoa motility, physical and bioenergetic interactions with their surrounding media*. https://www.researchgate.net/publication/234045741_Fish_spermatozoa_motility_physical_and_bioenergetic_interactions_with_their_surrounding_media
- Cosson, J. (2019). Fish Sperm Physiology: Structure, Factors Regulating Motility, and Motility Evaluation. In *Biological Research in Aquatic Science*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85139>
- Crawford, N. M., Fenton, S. E., Strynar, M., Hines, E. P., Pritchard, D. A., & Steiner, A. Z. (2017). Effects of perfluorinated chemicals on thyroid function, markers of ovarian reserve, and natural fertility. *Reproductive Toxicology*, 69, 53–59. <https://doi.org/10.1016/J.REPROTOX.2017.01.006>
- de Carvalho, M. U., Moreira, L. B., & Abessa, D. M. de S. (2023). Are fire suppressants “nontoxic”? Acute toxicity, DNA damage and lipid

- peroxidation in fish (*Poecilia reticulata*) exposed to low concentrations. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 9, 100238. <https://doi.org/10.1016/J.HAZADV.2023.100238>
- Deng, Z., Chen, F., Zhang, M., Lan, L., Qiao, Z., Cui, Y., An, J., Wang, N., Fan, Z., Zhao, X., & Li, X. (2016). Association between air pollution and sperm quality: A systematic review and meta-analysis. *Environmental Pollution*, 208, 663–669. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.10.044>
- Di Nisio, A., & Foresta, C. (2019). Water and soil pollution as determinant of water and food quality/contamination and its impact on male fertility Rosario Pivonello. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/S12958-018-0449-4>
- Di Nisio, A., Sabovic, I., Valente, U., Tescari, S., Rocca, M. S., Guidolin, D., Dall'Acqua, S., Acquasaliente, L., Pozzi, N., Plebani, M., Garolla, A., & Foresta, C. (2019). Endocrine Disruption of Androgenic Activity by Perfluoroalkyl Substances: Clinical and Experimental Evidence. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 104(4), 1259–1271. <https://doi.org/10.1210/JC.2018-01855>
- DiGiannantonio, M. (2022). A Legal History of PFAS. *Water Finance & Management*. <https://waterfm.com/a-legal-history-of-pfas/>
- Dinglasan, M. J. A., Ye, Y., Edwards, E. A., & Mabury, S. A. (2004). Fluorotelomer alcohol biodegradation yields poly- and perfluorinated acids. *Environmental Science & Technology*, 38(10), 2857–2864. <https://doi.org/10.1021/ES0350177>
- Directive 2006/122/EC of the European Parliament and of the Council of 12 December 2006 Amending for the 30th Time Council Directive 76/769/EEC on the Approximation of the Laws, Regulations and Administrative Provisions of the Member States Relating to Restrictions on the Marketing and Use of Certain Dangerous Substances and Preparations (Perfluorooctane Sulfonates)., Pub. L. L 372/32, Official Journal of the European Union (2006).
- Drevinskaite, M., Patasius, A., Kincius, M., Jievaltas, M., & Smailyte, G. (2019). A Population-Based Analysis of Incidence, Mortality, and Survival in Testicular Cancer Patients in Lithuania. *Medicina* 2019, Vol. 55, Page 552, 55(9), 552. <https://doi.org/10.3390/MEDICINA55090552>
- Du, G., Huang, H., Hu, J., Qin, Y., Wu, D., Song, L., Xia, Y., & Wang, X. (2013). Endocrine-related effects of perfluorooctanoic acid (PFOA) in zebrafish, H295R steroidogenesis and receptor reporter gene assays. *Chemosphere*, 91(8), 1099–1106. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2013.01.012>

- ECHA. (2022). *Advice on dose-level selection for the conduct of sub-acute and sub-chronic assays under REACH Background*.
- Endler, J. A. (1987). Predation, light intensity and courtship behaviour in *Poecilia reticulata* (Pisces: Poeciliidae). *Animal Behaviour*, 35(5), 1376–1385. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(87\)80010-6](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(87)80010-6)
- Evans, J. P., Zane, L., Francescato, S., & Pilastro, A. (2003). Directional postcopulatory sexual selection revealed by artificial insemination. *Nature* 2003 421:6921, 421(6921), 360–363. <https://doi.org/10.1038/nature01367>
- Falandysz, J., Taniyasu, S., Gulkowska, A., Yamashita, N., & Schulte-Oehlmann, U. (2006). Is fish a major source of fluorinated surfactants and repellents in humans living on the Baltic Coast? *Environmental Science & Technology*, 40(3), 748–751. <https://doi.org/10.1021/ES051799N>
- Fenton, S. E., Ducatman, A., Boobis, A., DeWitt, J. C., Lau, C., Ng, C., Smith, J. S., & Roberts, S. M. (2021). Per- and Polyfluoroalkyl Substance Toxicity and Human Health Review: Current State of Knowledge and Strategies for Informing Future Research. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 40(3), 606–630. <https://doi.org/10.1002/ETC.4890>
- Foguth, R., Sepúlveda, M. S., & Cannon, J. (2020). Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) Neurotoxicity in Sentinel and Non-Traditional Laboratory Model Systems: Potential Utility in Predicting Adverse Outcomes in Human Health. *Toxics* 2020, Vol. 8, Page 42, 8(2), 42. <https://doi.org/10.3390/TOXICS8020042>
- Foresta, C., Tescari, S., & Di Nisio, A. (2018). Impact of perfluorochemicals on human health and reproduction: a male's perspective. *Journal of Endocrinological Investigation*, 41(6), 639–645. <https://doi.org/10.1007/S40618-017-0790-Z/METRICS>
- Friard, O., & Gamba, M. (2016). BORIS: a free, versatile open-source event-logging software for video/audio coding and live observations. *Methods in Ecology and Evolution*, 7(11), 1325–1330. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12584>
- Fromme, H., Wöckner, M., Roscher, E., & Völkel, W. (2017). ADONA and perfluoroalkylated substances in plasma samples of German blood donors living in South Germany. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 220(2), 455–460. <https://doi.org/10.1016/J.IJHEH.2016.12.014>
- Gaballah, S., Swank, A., Sobus, J. R., Howey, X. M., Schmid, J., Catron, T., McCord, J., Hines, E., Strynar, M., & Tal, T. (2020). Evaluation of developmental toxicity, developmental neurotoxicity, and tissue dose in

- zebrafish exposed to genX and other PFAS. *Environmental Health Perspectives*, 128(4).
https://doi.org/10.1289/EHP5843/SUPPL_FILE/EHP5843.S002.CODEANDDATA.ACCO.ZIP
- Gabrielsen, J. S., & Tanrikut, C. (2016). Chronic exposures and male fertility: the impacts of environment, diet, and drug use on spermatogenesis. *Andrology*, 4(4), 648–661. <https://doi.org/10.1111/ANDR.12198>
- Gao, Y., Chen, H., Xiao, X., Lui, W. Y., Lee, W. M., Mruk, D. D., & Cheng, C. Y. (2017). Perfluorooctanesulfonate (PFOS)-induced Sertoli cell injury through a disruption of F-actin and microtubule organization is mediated by Akt1/2. *Scientific Reports* 2017 7:1, 7(1), 1–14.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-01016-8>
- Gasparini, C., Iori, S., Pietropoli, E., Bonato, M., Giantin, M., Barbarossa, A., Bardhi, A., Pilastro, A., Dacasto, M., & Pauletto, M. (2024). Sub-acute exposure of male guppies (*Poecilia reticulata*) to environmentally relevant concentrations of PFOA and GenX induces significant changes in the testis transcriptome and reproductive traits. *Environment International*, 187. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2024.108703>
- Georgescu, B., & Georgescu, C. E. (2012). *Poecilia reticulata* as a valuable biological indicator of endocrine disruption. *Poeciliid Research*, 2(1).
<http://www.pr.bioflux.com.ro/>
- Georgescu, Bogdan., & Georgescu, Carmen. (2005). Pesticides with endocrine disrupting activities: description and screening strategies. *Bulletin of the University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca – Animal Science and Biotechnology*.
- Georgescu, Carmen., & Georgescu, B. (2004). Diet contamination with xenoestrogens from pesticides; interferences with the activity of intracellular hormones in human. *Bulletin of the University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj- Napoca, Animal Husbandry, Biotechnology and Veterinary Medicine*.
- Göckener, B., Weber, T., Rüdel, H., Bücking, M., & Kolossa-Gehring, M. (2020). Human biomonitoring of per- and polyfluoroalkyl substances in German blood plasma samples from 1982 to 2019. *Environment International*, 145, 106123.
<https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2020.106123>
- Goetz, M. E., & Luch, A. (2008). Reactive species: A cell damaging route assisting to chemical carcinogens. *Cancer Letters*, 266(1), 73–83.
<https://doi.org/10.1016/J.CANLET.2008.02.035>

- Guevara-Fiore, P., Stapley, J., & Watt, P. J. (2010). Mating effort and female receptivity: How do male guppies decide when to invest in sex? *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 64(10), 1665–1672. <https://doi.org/10.1007/S00265-010-0980-6/METRICS>
- Guruge, K. S., Manage, P. M., Yamanaka, N., Miyazaki, S., Taniyasu, S., & Yamashita, N. (2008). Species-specific concentrations of perfluoroalkyl contaminants in farm and pet animals in Japan. *Chemosphere*, 73(1 Suppl). <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2006.12.105>
- Hagenaars, A., Vergauwen, L., Benoot, D., Laukens, K., & Knapen, D. (2013). Mechanistic toxicity study of perfluorooctanoic acid in zebrafish suggests mitochondrial dysfunction to play a key role in PFOA toxicity. *Chemosphere*, 91(6), 844–856. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2013.01.056>
- Hallgren, S., & Olsén, K. H. (2010). Effects on guppy brain aromatase activity following short-term steroid and 4-nonylphenol exposures. *Environmental Toxicology*, 25(3), 261–271. <https://doi.org/10.1002/TOX.20494>
- Han, J., & Fang, Z. (2010). Estrogenic effects, reproductive impairment and developmental toxicity in ovoviparous swordtail fish (*Xiphophorus helleri*) exposed to perfluorooctane sulfonate (PFOS). *Aquatic Toxicology*, 99(2), 281–290. <https://doi.org/10.1016/J.AQUATOX.2010.05.010>
- Han, X., Alam, M. N., Cao, M., Wang, X., Cen, M., Tian, M., Lu, Y., & Huang, Q. (2022). Low Levels of Perfluorooctanoic Acid Exposure Activates Steroid Hormone Biosynthesis through Repressing Histone Methylation in Rats. *Environmental Science and Technology*, 56(9), 5664–5672. https://doi.org/10.1021/ACS.EST.1C08885/SUPPL_FILE/ES1C08885_SI_001.PDF
- Han, X., Kemper, R. A., & Jepson, G. W. (2005). Subcellular distribution and protein binding of perfluorooctanoic acid in rat liver and kidney. *Drug and Chemical Toxicology*, 28(2), 197–209. <https://doi.org/10.1081/DCT-52547>
- Han, X., Snow, T. A., Kemper, R. A., & Jepson, G. W. (2003). Binding of perfluorooctanoic acid to rat and human plasma proteins. *Chemical Research in Toxicology*, 16(6), 775–781. <https://doi.org/10.1021/TX034005W>
- Hanson, H. A., Anderson, R. E., Aston, K. I., Carrell, D. T., Smith, K. R., & Hotelling, J. M. (2016). Subfertility increases risk of testicular cancer: evidence from population-based semen samples. *Fertility and Sterility*, 105(2), 322-328.e1. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.10.027>

- Harlow, S. D., Hood, M. M., Ding, N., Mukherjee, B., Calafat, A. M., Randolph, J. F., Gold, E. B., & Park, S. K. (2021). Per- and Polyfluoroalkyl Substances and Hormone Levels During the Menopausal Transition. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 106(11), e4427–e4437. <https://doi.org/10.1210/CLINEM/DGAB476>
- Hawthorne, M. D. (2003a). DuPont chemical showing up in blood of children, adult. EPA wants to regulate the compound found in many household items. *The Columbus Dispatch*.
- Hawthorne, M. D. (2003b). Internal Warnings. Industry memos show DuPont knew for decades that a chemical used to make Teflon is polluting workers and neighbors. *The Columbus Dispatch*.
- Health Canada. (2018). *Guidelines for Canadian Drinking Water Quality*. EDITIONS UNIVERSITAIRES E.
- HEDAYATI, A., TARKHANI, R., & SHADI, A. (2012). Toxicity response of *Poecilia reticulata* Peters 1859 (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) to some agricultural pesticides. *Nusantara Bioscience*, 4(1). <https://doi.org/10.13057/NUSBIOSCI/N040102>
- Heo, G.-J., & Shin, G.-W. (2009). *Acute and subacute toxicity of trichlorfon in guppies (Poecilia reticulata)*. <https://www.researchgate.net/publication/264075223>
- Houde, A. E. (1987). MATE CHOICE BASED UPON NATURALLY OCCURRING COLOR-PATTERN VARIATION IN A GUPPY POPULATION. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 41(1), 1–10. <https://doi.org/10.1111/J.1558-5646.1987.TB05766.X>
- Houde, A. E. (1997). *Sex, Color, and Mate Choice in Guppies*. Princeton University Press. <https://doi.org/10.2307/J.CTVS32RTK>
- Houde, M., Martin, J. W., Letcher, R. J., Solomon, K. R., & Muir, D. C. G. (2006). Biological monitoring of polyfluoroalkyl substances: A review. *Environmental Science and Technology*, 40(11), 3463–3473. https://doi.org/10.1021/ES052580B/SUPPL_FILE/ES052580BSI20060303_021408.PDF
- Huang, G., Zhang, Q., Wu, H., Wang, Q., Chen, Y., Guo, P., & Zhao, Q. (2020). Sperm quality and ambient air pollution exposure: A retrospective, cohort study in a Southern province of China. *Environmental Research*, 188, 109756. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109756>
- Husak, J. F., Fuxjager, M. J., Johnson, M. A., Vitousek, M. N., Donald, J. W., Francis, C. D., Goymann, W., Hau, M., Kircher, B. K., Knapp, R., Martin, L. B., Miller, E. T., Schoenle, L. A., & Williams, T. D. (2021). Life history

- and environment predict variation in testosterone across vertebrates. *Evolution*, 75(5), 1003–1010. <https://doi.org/10.1111/evo.14216>
- Ide, H. (2023). The impact of testosterone in men's health. *Endocrine Journal*, 70(7), 655–662. <https://doi.org/10.1507/ENDOCRJ.EJ22-0604>
- Iwabuchi, K., Senzaki, N., Mazawa, D., Sato, I., Hara, M., Ueda, F., Liu, W., & Tsuda, S. (2017). Tissue toxicokinetics of perfluoro compounds with single and chronic low doses in male rats. *The Journal of Toxicological Sciences*, 42(3), 301–317. <https://doi.org/10.2131/JTS.42.301>
- Ji, K., Kim, Y., Oh, S., Ahn, B., Jo, H., & Choi, K. (2008). TOXICITY OF PERFLUOROOCTANE SULFONIC ACID AND PERFLUOROOCTANOIC ACID ON FRESHWATER MACROINVERTEBRATES (DAPHNIA MAGNA AND MOINA MACROCOPA) AND FISH (ORYZIAS LATIPES). In *Environmental Toxicology and Chemistry* (Vol. 27, Number 10).
- Joensen, U. N., Bossi, R., Leffers, H., Jensen, A. A., Skakkebaek, N. E., & Jørgensen, N. (2009). Do Perfluoroalkyl compounds impair human semen quality? *Environmental Health Perspectives*, 117(6), 923–927. <https://doi.org/10.1289/EHP.0800517/ASSET/5E9985E1-05C7-420A-98B5-9A2CEFD07D5A/ASSETS/GRAPHIC/EHP-117-923F2.JPG>
- Joensen, U. N., Veyrand, B., Antignac, J. P., Blomberg Jensen, M., Petersen, J. H., Marchand, P., Skakkebaek, N. E., Andersson, A. M., Le Bizec, B., & Jørgensen, N. (2013). PFOS (perfluorooctanesulfonate) in serum is negatively associated with testosterone levels, but not with semen quality, in healthy men. *Human Reproduction*, 28(3), 599–608. <https://doi.org/10.1093/HUMREP/DES425>
- Johnson, P. I., Sutton, P., Atchley, D. S., Koustas, E., Lam, J., Sen, S., Robinson, K. A., Axelrad, D. A., & Woodruff, T. J. (2014). The Navigation guide—evidence-based medicine meets environmental health: Systematic review of human evidence for PFOA effects on fetal growth. In *Environmental Health Perspectives* (Vol. 122, Number 10, pp. 1028–1039). Public Health Services, US Dept of Health and Human Services. <https://doi.org/10.1289/ehp.1307893>
- Jones, P. D., Hu, W., De Coen, W., Newsted, J. L., & Giesy, J. P. (2003). Binding of perfluorinated fatty acids to serum proteins. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22(11), 2639–2649. <https://doi.org/10.1897/02-553>
- Kadow P.C. (1954). *An analysis of sexual behavior and reproductive physiology in the guppy, Lebistes reticulatus (Peters) /*. https://www.researchgate.net/publication/34983702_An_analysis_of_sexu

al_behavior_and_reproductive_psychology_in_the_guppy_Lebistes_reticulatus_Peters

- Kang, J. S., Ahn, T. G., & Park, J. W. (2019). Perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluooctane sulfonate (PFOS) induce different modes of action in reproduction to Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Journal of Hazardous Materials*, 368, 97–103. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2019.01.034>
- Kang, J. S., Choi, J. S., & Park, J. W. (2016). Transcriptional changes in steroidogenesis by perfluoroalkyl acids (PFOA and PFOS) regulate the synthesis of sex hormones in H295R cells. *Chemosphere*, 155, 436–443. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2016.04.070>
- Kannan, K., Corsolini, S., Falandysz, J., Fillmann, G., Kumar, K. S., Loganathan, B. G., Mohd, M. A., Olivero, J., Van Wouwe, N., Yang, J. H., & Aldous, K. M. (2004). Perfluorooctanesulfonate and related fluorochemicals in human blood from several countries. *Environmental Science & Technology*, 38(17), 4489–4495. <https://doi.org/10.1021/ES0493446>
- Kawamoto, K. (2010). *Perfluorooctanoic acid (PFOA) but not perfluorooctane sulfonate (PFOS) showed DNA damage in comet assay on Paramecium caudatum*. <https://doi.org/10.2131/jts.35.835>
- Kissa, E. (1994). *Fluorinated surfactants : synthesis, properties, applications*.
- Kissa E. (2001). *Fluorinated Surfactants and Repellents*. <https://www.amazon.com/Fluorinated-Surfactants-Properties-Applications-Surfactant/dp/0824790111>
- Kissling, G. E., Bernheim, N. J., Hawkins, W. E., Wolfe, M. J., Jokinen, M. P., Smith, C. S., Herbert, R. A., & Boorman, G. A. (2006). The utility of the guppy (*Poecilia reticulata*) and medaka (*Oryzias latipes*) in evaluation of chemicals for carcinogenicity. *Toxicological Sciences : An Official Journal of the Society of Toxicology*, 92(1), 143–156. <https://doi.org/10.1093/TOXSCI/KFJ181>
- Kodric-Brown, A. (1985). Female preference and sexual selection for male coloration in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 17(3), 199–205. <https://doi.org/10.1007/BF00300137>
- Kothari, S., Thompson, A., Agarwal, A., & Plessis, S. S. du. (2010). Free radicals: Their beneficial and detrimental effects on sperm function. *IJEB Vol.48(05) [May 2010]*, 48, 425–435. <http://nopr.niscpr.res.in/handle/123456789/8475>
- Kudo, N., Sakai, A., Mitsumoto, A., Hibino, Y., Tsuda, T., & Kawashima, Y. (2007). Tissue distribution and hepatic subcellular distribution of

- perfluorooctanoic acid at low dose are different from those at high dose in rats. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 30(8), 1535–1540.
<https://doi.org/10.1248/BPB.30.1535>
- Kudo, N., Suzuki, E., Katakura, M., Ohmori, K., Noshiro, R., & Kawashima, Y. (2001). Comparison of the elimination between perfluorinated fatty acids with different carbon chain length in rats. *Chemico-Biological Interactions*, 134(2), 203–216. [https://doi.org/10.1016/S0009-2797\(01\)00155-7](https://doi.org/10.1016/S0009-2797(01)00155-7)
- Lafuente, R., García-Blàquez, N., Jacquemin, B., & Checa, M. A. (2016). Outdoor air pollution and sperm quality. *Fertility and Sterility*, 106(4), 880–896. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.08.022>
- Lau, C., Anitole, K., Hodes, C., Lai, D., Pfahles-Hutchens, A., & Seed, J. (2007). Perfluoroalkyl Acids: A Review of Monitoring and Toxicological Findings. *Toxicological Sciences*, 99(2), 366–394.
<https://doi.org/10.1093/TOXSCI/KFM128>
- Le Cornet, C., Lortet-Tieulent, J., Forman, D., Béranger, R., Flechon, A., Fervers, B., Schüz, J., & Bray, F. (2014). Testicular cancer incidence to rise by 25% by 2025 in Europe? Model-based predictions in 40 countries using population-based registry data. *European Journal of Cancer*, 50(4), 831–839. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2013.11.035>
- Lee, J. W., Lee, J. W., Kim, K., Shin, Y. J., Kim, J., Kim, S., Kim, H., Kim, P., & Park, K. (2017). PFOA-induced metabolism disturbance and multi-generational reproductive toxicity in *Oryzias latipes*. *Journal of Hazardous Materials*, 340, 231–240. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2017.06.058>
- Lewis, A. J., Yun, X., Spooner, D. E., Kurz, M. J., McKenzie, E. R., & Sales, C. M. (2022). Exposure pathways and bioaccumulation of per- and polyfluoroalkyl substances in freshwater aquatic ecosystems: Key considerations. *Science of The Total Environment*, 822, 153561.
<https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2022.153561>
- Li, K., Gao, P., Xiang, P., Zhang, X., Cui, X., & Ma, L. Q. (2017). Molecular mechanisms of PFOA-induced toxicity in animals and humans: Implications for health risks. *Environment International*, 99, 43–54.
<https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2016.11.014>
- Li, X., Wang, J., Yu, M., Zhang, X., Wang, W., Tian, H., & Ru, S. (2019). 2,2'-Dithiobis-pyridine induced reproductive toxicity in male guppy (*Poecilia reticulata*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 169, 778–785.
<https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2018.11.076>
- Li, Z., Li, C., Wen, Z., Yan, H., Zou, C., Li, Y., Tian, L., Lei, Z., Li, H., Wang, Y., Zhong, Y., & Ge, R. shan. (2021). Perfluoroheptanoic acid induces Leydig

- cell hyperplasia but inhibits spermatogenesis in rats after pubertal exposure. *Toxicology*, 448, 152633.
<https://doi.org/10.1016/J.TOX.2020.152633>
- Liley N.R. (1966, January). *Ethological isolating mechanisms in four sympatric species of poeciliid fishes : Liley, N.R : Free Download, Borrow, and Streaming : Internet Archive*.
<https://archive.org/details/ethologicalisola0000lile>
- Lindstrom, A. B., Strynar, M. J., & Libelo, E. L. (2011). Polyfluorinated compounds: Past, present, and future. *Environmental Science and Technology*, 45(19), 7954–7961.
https://doi.org/10.1021/ES2011622/ASSET/IMAGES/LARGE/ES-2011-011622_0002.JPEG
- Liu, W., & Irudayaraj, J. (2020). Perfluorooctanoic acid (PFOA) exposure inhibits DNA methyltransferase activities and alters constitutive heterochromatin organization. *Food and Chemical Toxicology*, 141, 111358. <https://doi.org/10.1016/J.FCT.2020.111358>
- Lopez-Espinosa, M. J., Mondal, D., Armstrong, B. G., Eskenazi, B., & Fletcher, T. (2016). Perfluoroalkyl Substances, Sex Hormones, and Insulin-like Growth Factor-1 at 6-9 Years of Age: A Cross-Sectional Analysis within the C8 Health Project. *Environmental Health Perspectives*, 124(8), 1269–1275. <https://doi.org/10.1289/EHP.1509869>
- Luna-Gonzalez, J., Martin-Gonzalez, A., Brito-Loeza, C., Espinosa-Romero, A., & Pacheco-Pantoja, E. (2018). *Introducción a Técnicas de Segmentación de Células del Ensayo Cometa*. 22(3).
- Luyten, P. H., & Liley, N. R. (1985). Geographic Variation in the Sexual Behaviour of the Guppy, *Poecilia Reticulata* (Peters). *Behaviour*, 95(1–2), 164–179. <https://doi.org/10.1163/156853985X00109>
- Luyten, P. H., & Liley, N. R. (1991). Sexual selection and competitive mating success of males guppies (*Poecilia reticulata*) from four Trinidad populations. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 28(5), 329–336. <https://doi.org/10.1007/BF00164382>
- Luz, A. L., Anderson, J. K., Goodrum, P., & Durda, J. (2019). Perfluorohexanoic acid toxicity, part I: Development of a chronic human health toxicity value for use in risk assessment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 103, 41–55.
<https://doi.org/10.1016/J.YRTPH.2019.01.019>
- Magurran, A. E., Seghers, B. H., Shaw, P. W., & Carvalho, G. R. (1995). The Behavioral Diversity and Evolution of Guppy, *Poecilia reticulata*,

- Populations in Trinidad. *Advances in the Study of Behavior*, 24(C), 155–202. [https://doi.org/10.1016/S0065-3454\(08\)60394-0](https://doi.org/10.1016/S0065-3454(08)60394-0)
- Mann, U., Shiff, B., & Patel, P. (2020). Reasons for worldwide decline in male fertility. *Current Opinion in Urology*, 30(3), 296–301. <https://doi.org/10.1097/MOU.0000000000000745>
- Matthews, I. M., Evans, J. P., & Magurran, A. E. (1997). Male display rate reveals ejaculate characteristics in the Trinidadian guppy *Poecilia reticulata*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 264(1382), 695–700. <https://doi.org/10.1098/rspb.1997.0099>
- McNair, A., Nakagawa, S., & Grimm, V. (2014). The Evolutionary Consequences of Disrupted Male Mating Signals: An Agent-Based Modelling Exploration of Endocrine Disrupting Chemicals in the Guppy. *PLOS ONE*, 9(7), e103100. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0103100>
- Miranda, A. F., Trestrail, C., Lekamge, S., & Nugegoda, D. (2020). Effects of perfluorooctanoic acid (PFOA) on the thyroid status, vitellogenin, and oxidant–antioxidant balance in the Murray River rainbowfish. *Ecotoxicology*, 29(2), 163–174. <https://doi.org/10.1007/s10646-020-02161-z>
- Møller, H., & Skakkebæk, N. E. (1999). Risk of testicular cancer in subfertile men: case-control study. *BMJ*, 318(7183), 559–562. <https://doi.org/10.1136/BMJ.318.7183.559>
- Morales-Caselles, C., Viejo, J., Martí, E., González-Fernández, D., Pragnell-Raasch, H., González-Gordillo, J. I., Montero, E., Arroyo, G. M., Hanke, G., Salvo, V. S., Basurko, O. C., Mallos, N., Lebreton, L., Echevarría, F., van Emmerik, T., Duarte, C. M., Gálvez, J. A., van Sebille, E., Galgani, F., ... Cózar, A. (2021). An inshore–offshore sorting system revealed from global classification of ocean litter. *Nature Sustainability* 2021 4:6, 4(6), 484–493. <https://doi.org/10.1038/s41893-021-00720-8>
- Munoz, G., Labadie, P., Botta, F., Lestremau, F., Lopez, B., Geneste, E., Pardon, P., Dévier, M. H., & Budzinski, H. (2017). Occurrence survey and spatial distribution of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl surfactants in groundwater, surface water, and sediments from tropical environments. *Science of The Total Environment*, 607–608, 243–252. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2017.06.146>
- Mylroie, J. E., Wilbanks, M. S., Kimble, A. N., To, K. T., Cox, C. S., McLeod, S. J., Gust, K. A., Moore, D. W., Perkins, E. J., & Garcia-Reyero, N. (2021). Perfluorooctanesulfonic Acid–Induced Toxicity on Zebrafish Embryos in

- the Presence or Absence of the Chorion. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 40(3), 780–791. <https://doi.org/10.1002/etc.4899>
- National Toxicology Program (NTP). (2016). *National Toxicology Program Monograph on Immunotoxicity Associated with Exposures to Pfoa and Pfos*.
[https://ntp.niehs.nih.gov/sites/default/files/ntp/ohat/pfoa_pfos/pfoa_pfosmonograph_508.Pdf](https://ntp.niehs.nih.gov/sites/default/files/ntp/ohat/pfoa_pfos/pfoa_pfosmonograph_508.pdf).
- Ohlyan, Sunita. (2012). *COURTSHIP BEHAVIOUR AND MATE CHOICE IN GUPPIES: TACTICS AND STRATEGIES*.
<https://www.researchgate.net/publication/279713030>
- Olsen, G. W., Burris, J. M., Ehresman, D. J., Froelich, J. W., Seacat, A. M., Butenhoff, J. L., & Zobel, L. R. (2007). Half-life of serum elimination of perfluorooctanesulfonate, perfluorohexanesulfonate, and perfluorooctanoate in retired fluorochemical production workers. *Environmental Health Perspectives*, 115(9), 1298–1305.
<https://doi.org/10.1289/EHP.10009/ASSET/19341281-FEB4-4045-8209-28901CB1EE50/ASSETS/GRAPHIC/EHP0115-001298F2.JPG>
- Olsen, G. W., Mair, D. C., Church, T. R., Ellefson, M. E., Reagen, W. K., Boyd, T. M., Herron, R. M., Medhdizadehkashi, Z., Nobiletti, J. B., Rios, J. A., Butenhoff, J. L., & Zobel, L. R. (2008). Decline in perfluorooctanesulfonate and other polyfluoroalkyl chemicals in American red cross adult blood donors, 2000-2006. *Environmental Science and Technology*, 42(13), 4989–4995.
https://doi.org/10.1021/ES800071X/SUPPL_FILE/ES800071X-FILE003.PDF
- ONU. (2011). *Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants Work programme on brominated diphenyl ethers and perfluorooctane sulfonic acid, its salts and perfluorooctane sulfonyl fluoride Note by the Secretariat*.
- Oseguera-López, I., Pérez-Cerezales, S., Ortiz-Sánchez, P. B., Mondragon-Payne, O., Sánchez-Sánchez, R., Jiménez-Morales, I., Fierro, R., & González-Márquez, H. (2020). Perfluorooctane sulfonate (Pfos) and perfluorohexane sulfonate (pfxhs) alters protein phosphorylation, increase ROS levels and DNA fragmentation during in vitro capacitation of boar spermatozoa. *Animals*, 10(10), 1–17. <https://doi.org/10.3390/ani10101934>
- Pan, Y., Cui, Q., Wang, J., Sheng, N., Jing, J., Yao, B., & Dai, J. (2019). Profiles of emerging and legacy per-/polyfluoroalkyl substances in matched serum and semen samples: New implications for human semen quality. *Environmental Health Perspectives*, 127(12).

https://doi.org/10.1289/EHP4431/SUPPL_FILE/EHP4431.S001.ACCO.PDF

- Panaretakis, T., Shabalina, I. G., Grandér, D., Shoshan, M. C., & Depierre, J. W. (2001). Reactive Oxygen Species and Mitochondria Mediate the Induction of Apoptosis in Human Hepatoma HepG2 Cells by the Rodent Peroxisome Proliferator and Hepatocarcinogen, Perfluorooctanoic Acid. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 173(1), 56–64. <https://doi.org/10.1006/TAAP.2001.9159>
- Park, S., Kim, D. H., Yoon, J. H., Kwon, J. B., Choi, H., Shin, S. K., Kim, M., & Kim, H. K. (2023). Study on Pollution Characteristics of Perfluoroalkyl Substances (PFASs) in Shallow Groundwater. *Water (Switzerland)*, 15(8). <https://doi.org/10.3390/w15081480>
- Paul, A. G., Jones, K. C., & Sweetman, A. J. (2009). A first global production, emission, and environmental inventory for perfluorooctane sulfonate. *Environmental Science and Technology*, 43(2), 386–392. https://doi.org/10.1021/ES802216N/SUPPL_FILE/ES802216N_SI_001.PDF
- Pérez, F., Nadal, M., Navarro-Ortega, A., Fàbrega, F., Domingo, J. L., Barceló, D., & Farré, M. (2013). Accumulation of perfluoroalkyl substances in human tissues. *Environment International*, 59, 354–362. <https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2013.06.004>
- Pilastro, A., & Bisazza, A. (1999). Insemination efficiency of two alternative male mating tactics in the guppy *Poecilia reticulata*. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 266(1431), 1887–1891. <https://doi.org/10.1098/RSPB.1999.0862>
- Prevedouros, K., Cousins, I. T., Buck, R. C., & Korzeniowski, S. H. (2006). Sources, fate and transport of perfluorocarboxylates. *Environmental Science and Technology*, 40(1), 32–44. https://doi.org/10.1021/ES0512475/SUPPL_FILE/ES0512475.PDF
- Qiu, L., Zhang, X., Zhang, X., Zhang, Y., Gu, J., Chen, M., Zhang, Z., Wang, X., & Wang, S. L. (2013). Sertoli Cell Is a Potential Target for Perfluorooctane Sulfonate–Induced Reproductive Dysfunction in Male Mice. *Toxicological Sciences*, 135(1), 229–240. <https://doi.org/10.1093/TOXSCI/KFT129>
- Radwan, M., Jurewicz, J., Polańska, K., Sobala, W., Radwan, P., Bochenek, M., & Hanke, W. (2016). Exposure to ambient air pollution-does it affect semen quality and the level of reproductive hormones? *Annals of Human Biology*, 43(1), 50–56. <https://doi.org/10.3109/03014460.2015.1013986>

- Rahman, M. F., Peldszus, S., & Anderson, W. B. (2014). Behaviour and fate of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in drinking water treatment: A review. *Water Research*, 50, 318–340. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2013.10.045>
- Raymer, J. H., Michael, L. C., Studabaker, W. B., Olsen, G. W., Sloan, C. S., Wilcosky, T., & Walmer, D. K. (2011). Concentrations of Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) and Perfluorooctanoate (PFOA) and Their Associations with Human Semen Quality Measurements. *Reproductive Toxicology (Elmsford, N.y.)*, 33(4), 419. <https://doi.org/10.1016/J.REPROTOX.2011.05.024>
- Ribas-Maynou, J., Gawecka, J. E., Benet, J., & Ward, W. S. (2014). Double-stranded DNA breaks hidden in the neutral Comet assay suggest a role of the sperm nuclear matrix in DNA integrity maintenance. *Molecular Human Reproduction*, 20(4), 330–340. <https://doi.org/10.1093/MOLEHR/GAT090>
- Richter, L., Cordner, A., & Brown, P. (2018). Non-stick science: Sixty years of research and (in)action on fluorinated compounds. *Https://Doi.Org/10.1177/0306312718799960*, 48(5), 691–714. <https://doi.org/10.1177/0306312718799960>
- Rodriguez-Jorquera, I. A., & Toor, G. S. (2015). Contaminantes en el Medio Ambiente Urbano: Los Perfluoroalquilos: SL418-Span/SS644, 7/2015. *EDIS*, 2015(6), 6–6. <https://doi.org/10.32473/EDIS-SS644-2015>
- Rodriguez-Rey, A., Noris-Garcia, E., & Fundora, M. (2016, July). Principios y relevancia del ensayo cometa. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 2. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002016000200007
- Ross, I., McDonough, J., Miles, J., Storch, P., Thelakkat Kochunarayanan, P., Kalve, E., Hurst, J., S. Dasgupta, S., & Burdick, J. (2018). A review of emerging technologies for remediation of PFASs. *Remediation Journal*, 28(2), 101–126. <https://doi.org/10.1002/REM.21553>
- Šabović, I., Cosci, I., De Toni, L., Ferramosca, A., Stornaiuolo, M., Di Nisio, A., Dall'Acqua, S., Garolla, A., & Foresta, C. (2020). Perfluoro-octanoic acid impairs sperm motility through the alteration of plasma membrane. *Journal of Endocrinological Investigation*, 43(5), 641–652. <https://doi.org/10.1007/S40618-019-01152-0>
- Sara, Samora. (2023). The history of PFAS: From World War II to your Teflon pan. *Manufacturing Dive*. <https://www.manufacturingdive.com/news/the-history-behind-forever-chemicals-pfas-3m-dupont-pfte-pfoa-pfos/698254/>

- Sarikaya, R., Selvi, M., Koçak, O., & Erkoç, F. (2007). Investigation of acute toxicity of fenitrothion on guppies *Poecilia reticulata*. *Journal of Applied Toxicology*, 27(4), 318–321. <https://doi.org/10.1002/JAT.1193>
- Schug, T. T., Janesick, A., Blumberg, B., & Heindel, J. J. (2011). Endocrine disrupting chemicals and disease susceptibility. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 127(3–5), 204–215. <https://doi.org/10.1016/J.JSBMB.2011.08.007>
- Shenoy, K. (2012). THE ECOLOGICAL AND EVOLUTIONARY EFFECTS OF ENDOCRINE DISRUPTING COMPOUNDS ON SEXUALLY SELECTED TRAITS IN MALE GUPPIES. *Theses and Dissertations--Biology*. https://uknowledge.uky.edu/biology_etds/26
- Shenoy, K., & Crowley, P. H. (2011). Endocrine disruption of male mating signals: ecological and evolutionary implications. *Functional Ecology*, 25(3), 433–448. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2435.2010.01787.X>
- Shi, Y., Wang, J., Pan, Y., & Cai, Y. (2012). Tissue distribution of perfluorinated compounds in farmed freshwater fish and human exposure by consumption. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(4), 717–723. <https://doi.org/10.1002/etc.1758>
- Sinclair, E., & Kannan, K. (2006). Mass loading and fate of perfluoroalkyl surfactants in wastewater treatment plants. *Environmental Science & Technology*, 40(5), 1408–1414. <https://doi.org/10.1021/ES051798V>
- Slotkin, T. A., MacKillop, E. A., Meinick, R. L., Thayer, K. A., & Seidler, F. J. (2008). Developmental neurotoxicity of perfluorinated chemicals modeled in vitro. *Environmental Health Perspectives*, 116(6), 716–722. <https://doi.org/10.1289/EHP.11253/ASSET/71E74AB0-6063-46FB-BACD-8C9A86B0D526/ASSETS/GRAPHIC/EHP0116-000716F4.JPG>
- Söffker, M., & Tyler, C. R. (2012). Endocrine disrupting chemicals and sexual behaviors in fish a critical review on effects and possible consequences. *Critical Reviews in Toxicology*, 42(8), 653–668. <https://doi.org/10.3109/10408444.2012.692114>
- Stockholm Convention. (2001, May 22). *Text of the Convention*. <https://www.pops.int/TheConvention/Overview/TextoftheConvention/Tabid/2232/Default.aspx#:~:Text=The%20text%20of%20the%20Stockholm,Force%20on%2017%20May%202004.https://www.pops.int/TheConvention/Overview/TextoftheConvention/tabid/2232/Default.aspx>
- Sun, C., Huang, C., Su, X., Zhao, X., & Dong, Q. (2010). Optimization of handling and refrigerated storage of guppy *Poecilia reticulata* sperm.

- Journal of Fish Biology*, 77(1), 54–66. <https://doi.org/10.1111/J.1095-8649.2010.02658.X>
- Țălu, Ș., Valentin Petrescu-Mag, I., Păsărin, B., & Petrescu-Mag, I. V. (2012). Investigation on acute toxicity of lindane in guppies, *Poecilia reticulata* Peters, 1859. In *International Journal of the Bioflux Society Research Article* (Vol. 2, Number 1). <http://www.pr.bioflux.com.ro/>
- Tarapore, P., & Ouyang, B. (2021). Perfluoroalkyl chemicals and male reproductive health: Do pfoa and pfos increase risk for male infertility? In *International Journal of Environmental Research and Public Health* (Vol. 18, Number 7). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijerph18073794>
- Tian, H., Wu, P., Wang, W., & Ru, S. (2015). Disruptions in aromatase expression in the brain, reproductive behavior, and secondary sexual characteristics in male guppies (*Poecilia reticulata*) induced by tributyltin. *Aquatic Toxicology*, 162, 117–125. <https://doi.org/10.1016/J.AQUATOX.2015.03.015>
- Tittlemier, S. A., Pepper, K., Seymour, C., Moisey, J., Bronson, R., Cao, X. L., & Dabeka, R. W. (2007). Dietary exposure of Canadians to perfluorinated carboxylates and perfluorooctane sulfonate via consumption of meat, fish, fast foods, and food items prepared in their packaging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(8), 3203–3210. <https://doi.org/10.1021/JF0634045>
- Tomkins, P., Saaristo, M., Bertram, M. G., Tomkins, R. B., Allinson, M., & Wong, B. B. M. (2017). The agricultural contaminant 17 β -trenbolone disrupts male-male competition in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Chemosphere*, 187, 286–293. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2017.08.125>
- Tyagi, V., Scordo, M., Yoon, R. S., Liporace, F. A., & Greene, L. W. (2017). Revisiting the role of testosterone: Are we missing something? *Reviews in Urology*, 19(1), 16. <https://doi.org/10.3909/RIU0716>
- UNEP. (2022). *Technical guidelines on the environmentally sound management of wastes consisting of, containing or contaminated with perfluorooctane sulfonic acid (PFOS), its salts and perfluorooctane sulfonyl fluoride (PFOSF) and perfluorooctanoic acid (PFOA), its salts and PFOA-related compounds*.
- Uribe, C., Grier, H., Mejia-Roa, V., Yañez-Garcia, N., Garcia-Alarcon, A., De la Rosa-Cruz, G., & Aguilar-Morales, M. (2010). Functional Structure of the Testis and Spermatogenesis of Goodeids and Poeciliids. In C. Uribe & H. Grier (Eds.), *Viviparous Fishes* (First, Vol. 2, pp. 151–172). New Life Publications.

- Urrego, R., Pareja, A., Vazquez, N., & Marquez, M. (2005, September). *El Ensayo Cometa: una técnica para evaluar genotoxicidad en el ADN de oocitos bovinos*. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-06902005000300003&script=sci_arttext
- U.S. EPA. (2000, May 16). *EPA and 3M ANNOUNCE PHASE OUT OF PFOS*. https://www.epa.gov/archive/epapages/newsroom_archive/newsreleases/33aa946e6cb11f35852568e1005246b4.html
- U.S. EPA. (2025, February 19). *Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) | US EPA*. <https://www.epa.gov/sdwa/and-polyfluoroalkyl-substances-pfas#Summary>
- Vanden Heuvel, J. P., Davis, J. W., Sommers, R., & Peterson, R. E. (1992). Renal excretion of perfluorooctanoic acid in male rats: Inhibitory effect of testosterone. *Journal of Biochemical Toxicology*, 7(1), 31–36. <https://doi.org/10.1002/JBT.2570070107>
- Vanden Heuvel, J. P., Kuslikis, B. I., & Peterson, R. E. (1992). Covalent binding of perfluorinated fatty acids to proteins in the plasma, liver and testes of rats. *Chemico-Biological Interactions*, 82(3), 317–328. [https://doi.org/10.1016/0009-2797\(92\)90003-4](https://doi.org/10.1016/0009-2797(92)90003-4)
- Vergara, P., Martinez-Padilla, J., Mougeot, F., Leckie, F., & Redpath, S. M. (2012). Environmental heterogeneity influences the reliability of secondary sexual traits as condition indicators. *Journal of Evolutionary Biology*, 25(1), 20–28. <https://doi.org/10.1111/J.1420-9101.2011.02399.X>
- Vestergren, R., Orata, F., Berger, U., & Cousins, I. T. (2013). Bioaccumulation of perfluoroalkyl acids in dairy cows in a naturally contaminated environment. *Environmental Science and Pollution Research International*, 20(11), 7959–7969. <https://doi.org/10.1007/S11356-013-1722-X>
- Viran, R., Erkoç, F. Ü., Polat, H., & Koçak, O. (2003). Investigation of acute toxicity of deltamethrin on guppies (*Poecilia reticulata*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 55(1), 82–85. [https://doi.org/10.1016/S0147-6513\(02\)00096-9](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(02)00096-9)
- Volkova, K., Reyhanian, N., Kot-Wasik, A., Olsén, H., Porsch-Hällström, I., & Hallgren, S. (2012). Brain circuit imprints of developmental 17 α -Ethinylestradiol exposure in guppies (*Poecilia reticulata*): persistent effects on anxiety but not on reproductive behaviour. *General and Comparative Endocrinology*, 178(2), 282–290. <https://doi.org/10.1016/J.YGCEN.2012.05.010>

- Walsh, T. J., Croughan, M. S., Schembri, M., Chan, J. M., & Turek, P. J. (2009). Increased Risk of Testicular Germ Cell Cancer Among Infertile Men. *Archives of Internal Medicine*, 169(4), 351–356. <https://doi.org/10.1001/ARCHINTERNMED.2008.562>
- Wan, H. T., Lai, K. P., & Wong, C. K. C. (2020). Comparative Analysis of PFOS and PFOA Toxicity on Sertoli Cells. *Environmental Science and Technology*, 54(6), 3465–3475. https://doi.org/10.1021/ACS.EST.0C00201/SUPPL_FILE/ES0C00201_SI_001.PDF
- Wan, H. T., Zhao, Y. G., Wong, M. H., Lee, K. F., Yeung, W. S. B., Giesy, J. P., & Wong, C. K. C. (2011). Testicular Signaling Is the Potential Target of Perfluorooctanesulfonate-Mediated Subfertility in Male Mice. *Biology of Reproduction*, 84(5), 1016–1023. <https://doi.org/10.1095/BIOLREPROD.110.089219>
- Wang, Z., Zhang, T., Wu, J., Wei, X., Xu, A., Wang, S., & Wang, Z. (2021). Male reproductive toxicity of perfluorooctanoate (PFOA): Rodent studies. *Chemosphere*, 270, 128608. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2020.128608>
- White, S. S., Fenton, S. E., & Hines, E. P. (2011). Endocrine disrupting properties of perfluorooctanoic acid. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 127(1–2), 16–26. <https://doi.org/10.1016/J.JSBMB.2011.03.011>
- World Health Organization. (2021). *WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen Sixth Edition*.
- Yamada, A., Bemrah, N., Veyrand, B., Pollono, C., Merlo, M., Desvignes, V., Sirot, V., Marchand, P., Berrebi, A., Cariou, R., Antignac, J. P., Le Bizec, B., & Leblanc, J. C. (2014). Dietary exposure to perfluoroalkyl acids of specific French adult sub-populations: High seafood consumers, high freshwater fish consumers and pregnant women. *Science of The Total Environment*, 491–492, 170–175. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2014.01.089>
- Yao, X., & Zhong, L. (2005). Genotoxic risk and oxidative DNA damage in HepG2 cells exposed to perfluorooctanoic acid. *Mutation Research*, 587(1–2), 38–44. <https://doi.org/10.1016/J.MRGENTOX.2005.07.010>
- Yenchum, W., Wattanasirmit, K., & Kitana, J. (2011). Reproductive Toxicity Effects of Carbofuran Exposure on Pregnant Guppy *Poecilia reticulata*. *Journal of Health Research*, 25(2), 49–54. <https://he01.tci-thaijo.org/index.php/jhealthres/article/view/80052>

- Yeung, L. W. Y., Guruge, K. S., Taniyasu, S., Yamashita, N., Angus, P. W., & Herath, C. B. (2013). Profiles of perfluoroalkyl substances in the liver and serum of patients with liver cancer and cirrhosis in Australia. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 96, 139–146. <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2013.06.006>
- Ylinen, M., & Auriola, S. (1990). Tissue Distribution and Elimination of Perfluorodecanoic Acid in the Rat after Single Intraperitoneal Administration. *Pharmacology & Toxicology*, 66(1), 45–48. <https://doi.org/10.1111/J.1600-0773.1990.TB00700.X>
- Yu, H. (2024). Reproductive toxicity and gene expression alterations in aquatic environments: Expanding the insights of the recent guppy study on PFAS exposure. *Environment International*, 190, 108923. <https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2024.108923>
- Zhang, H., Lu, Y., Luo, B., Yan, S., Guo, X., & Dai, J. (2014). Proteomic analysis of mouse testis reveals perfluorooctanoic acid-induced reproductive dysfunction via direct disturbance of testicular steroidogenic machinery. *Journal of Proteome Research*, 13(7), 3370–3385. https://doi.org/10.1021/PR500228D/SUPPL_FILE/PR500228D_SI_001.PDF
- Zhang, W., Sheng, N., Wang, M., Zhang, H., & Dai, J. (2016). Zebrafish reproductive toxicity induced by chronic perfluorononanoate exposure. *Aquatic Toxicology*, 175, 269–276. <https://doi.org/10.1016/J.AQUATOX.2016.04.005>
- Zhao, B., Li, L., Liu, J., Li, H., Zhang, C., Han, P., Zhang, Y., Yuan, X., Ge, R. S., & Chu, Y. (2014). Exposure to Perfluorooctane Sulfonate In Utero Reduces Testosterone Production in Rat Fetal Leydig Cells. *PLOS ONE*, 9(1), e78888. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0078888>

Divulgación de resultados.

En México existe poco interés en investigar y divulgar sobre los CPFs, con el objetivo de realizar dicha labor, participe en diversos eventos de comunicación de la ciencia organizados por la Facultad de Ciencias Biológicas de la BUAP, también escribí un artículo de divulgación sobre contaminantes en los empaques alimenticios para la AIBIR.



La Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

A través de la Facultad de Ciencias Biológicas
otorga la presente

CONSTANCIA

A: **C. Edwin Jesús Paleta Jiménez**

Por su destacada participación en la conferencia titulada:
“¿Qué estudia un ecólogo evolutivo?”
en el marco de la Celebración de la Semana de la Biología 2025
El 24 de enero del 2025, de manera presencial

Dr. Salvador Galicia Isasmendi
Director de la Facultad de Ciencias Biológicas

“Pensar bien, para vivir mejor”
H. Puebla de Z., a 24 de enero del 2025





Secretaría
de Educación
Gobierno de Puebla

CONCYTEP

Consejo de Ciencia y Tecnología
del Estado de Puebla



"2024, año del Libro y la Lectura".

H. Puebla de Zaragoza, a 04 de septiembre del 2024

Dirección General

Oficina de la Dirección de Investigación Científica y Tecnológica

Oficio: CCT/DICT/3.4/747/2024

Asunto: Constancia de publicación

Expediente: 9C.0.3

PRESENTE

Por este medio, extendemos nuestro más cordial saludo y aprovechamos la oportunidad para informar que la obra titulada **"BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN. Una pasión presente, desde el Cono Sur hasta Norteamérica"**, coordinada por **Estrella del Mar Castillo López** y **Ubaldo Quiróz López**, fue publicada en abril de 2024 por el Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Puebla. Dicha obra está registrada con el ISBN: **978-607-8963-42-3**.

Químicos en la producción y manejo de alimentos:
comer o reproducirse

Edwin Paleta
Palestina Guevara Fiore
Rosalina Reyes Luna