



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Efecto de los estresantes acústicos sobre la
calidad espermática en guppies
(*Poecilia reticulata*)

Tesis que para obtener el título de

LICENCIADA EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

Tanya Karen López Flores

DIRECTORA: Dra. Palestina Guevara Fiore

CODIRECTORA: Dra. Rosalina María De Lourdes Reyes Luna

Puebla, Pue.

Abril 2024



Agradecimientos

Agradezco infinitamente a la doctora Palestina por su apoyo, motivación, paciencia y amistad durante la realización de este proyecto, le agradezco mucho por enseñarme tanto y aceptarme como su tesista.

A la Doctora Rosalina por su calidez y apoyo, gracias por permitirme aprender de un área tan linda como lo es la Biología de la reproducción.

Al Doctor Felipe Pacheco y Alejandro Ríos Chelén por su colaboración y apoyo para enriquecer la presente investigación.

A los miembros del laboratorio de Ecología Evolutiva con quienes disfruté trabajar y aprender de ellos, especialmente a mi compañera, colaboradora y amiga, Ximena Zavala con quien realicé en conjunto este proyecto, te agradezco muchísimo tu apoyo y tu amistad.

A los miembros del Laboratorio de Biología de la Reproducción por recibirme como uno de los suyos y brindarme su amistad.

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a la bióloga Zaira Zambrano, por su perspicaz capacidad para guiarme no solo en los momentos de triunfo, sino también en los momentos de adversidad.

A mis hermanas Nenis, Manesa y Achalín por cuidarme y apapacharme, sobre todo cuando mi salud y mi ánimo decayeron.

Mis padres quienes me apoyaron en todo aun cuando no se sentían convencidos con mis decisiones.

Mis amigas Diana, Analy, Rubí por escucharme siempre, darme consejos, acompañarme y apapacharme en este proceso.

Estoy muy agradecida con todos ustedes por apoyarme en la elaboración de este trabajo, espero puedan seguir apoyándome en futuros proyectos, muchas gracias.



Contenido

Resumen	3
Abstract.....	4
Introducción	5
Reproducción en poecílicos	6
Antecedentes.....	9
Efectos de los estresores sobre la calidad espermática	9
Efectos de los contaminantes sobre la calidad espermática	10
Ruido y sus implicaciones	11
Justificación	15
Hipótesis.....	16
Objetivos.....	16
Materiales y métodos	17
Población de estudio	17
Diseño experimental.....	17
Extracción de la muestra	20
Parámetros calidad espermática	21
Análisis estadístico	25
Resultados.....	26
Número de paquetes espermáticos	26
Movilidad.....	27
Viabilidad.....	27
Concentración espermática	28
Ensayo cometa.....	29
Discusión	30
Conclusiones	33
Referencias bibliográficas	34
Anexo 1.....	46
Anexo 2.....	47
Anexo 3.....	48

Resumen

El crecimiento de la mancha urbana causa alteraciones en el medio natural debido a la introducción de factores extraños como son los contaminantes. Dentro de los menos estudiados se encuentra el ruido de origen antropogénico, que está cada vez más presente en los ecosistemas, incluyendo los acuáticos. Este contaminante actúa como estresor, causando alteraciones a nivel conductual y fisiológico, como puede ser el caso de alteraciones en la reproducción y en específico, la calidad espermática.

El presente trabajo tiene como objetivo investigar cómo la exposición intermitente a ruido blanco afecta la calidad espermática en guppies. Para esto, se asignaron aleatoriamente peces guppy machos a un grupo control o experimental. Ambos tratamientos duraron 4 días consecutivos. El tratamiento consistió en aplicar una pista de ruido blanco intermitente por medio de una bocina como estímulo estresor; en el caso del control, la bocina se mantuvo encendida pero no reproducía la pista de sonido. En ambos grupos, el ruido se monitoreó antes y después del tratamiento mediante el uso de un hidrófono y un acelerómetro.

Para evaluar la calidad espermática de los peces, se tomó una muestra de esperma antes de comenzar el tratamiento y al final de este. Se analizaron los parámetros de número de paquetes espermáticos, movilidad, viabilidad, concentración espermática y fragmentación de ADN.

Se demostró que, en condiciones experimentales, la exposición de los guppies a un factor acústico estresante como lo es el ruido blanco intermitente, no tiene efectos significativos sobre los parámetros de la calidad espermática de número de paquetes espermáticos, movilidad, viabilidad, concentración de células y fragmentación de ADN.

Abstract

The growth of urban sprawl causes alterations in the natural environment due to the introduction of foreign factors such as pollutants. Among the less studied is anthropogenic noise, which is increasingly present in ecosystems, including aquatic ones. This pollutant acts as a stressor, causing behavioral and physiological alterations, such as disruptions in reproduction, for example in sperm quality.

The present study aims to investigate how exposure to intermittent white noise for four days affects sperm quality in guppies. For this purpose, two groups of male guppies were formed, a control group and an experimental group, which were individually maintained and manipulated under the same isolation conditions for 3 days prior to the start of the treatment. The experimental treatment consisted of isolating the fish and applying an intermittent white noise track through a speaker as a stressor stimulus; in the case of the control treatment, the speaker remained on, but did not play the soundtrack. The noise track was monitored before and after the treatment using a hydrophone and an accelerometer.

To evaluate the sperm quality of the fish, a sperm sample was taken before the treatment began and at the end of it, and the parameters of number of sperm bundles, mobility, viability, sperm concentration, and DNA fragmentation were analyzed.

It was demonstrated that, under experimental conditions, the exposure of guppies to a stressful acoustic factor such as intermittent white noise does not have significant effects on sperm quality parameters such as number of sperm bundles, mobility, viability, cell concentration, and DNA fragmentation.

Introducción

La selección sexual está definida como la evolución resultante de la competencia por la pareja de apareamiento o sus gametos (Parker, 1970). En la teoría de la selección sexual, los rasgos reproductivos que influyen en la capacidad de competir por parejas y/o fertilizaciones son costosos de producir y, por lo tanto, están vinculados con los recursos disponibles que el individuo destina a cualidades que mejoran su aptitud (Evans et al., 2023; Tomkins et al., 2004).

Los rasgos reproductivos pueden ser impulsados por variaciones ecológicas que benefician a algunas cohortes de la población más que a otros; un ejemplo de estas variaciones es la depredación que puede favorecer la competencia entre machos, limitar la elección de parejas por parte de las hembras o modificar las tácticas de apareamiento (Devigili et al., 2019; McBride et al., 2015)

De igual manera, el ambiente juega un papel importante sobre la adecuación de los individuos (McBride et al., 2015; Tomkins & Hazel, 2007), ya que los organismos sometidos a condiciones estresantes generalmente tienen una cantidad de recursos limitada que es asignada a la supervivencia en vez de a actividades no esenciales como es el caso de la reproducción (Fuzzen et al., 2011; Morbiato, Cattelan, & Pilastro, 2023; Wingfield et al., 1998; Wootton & Smith, 2014). En especies donde las hembras se aparean con más de un macho durante el mismo evento reproductivo (poliándricas), se presenta la competencia espermática, donde el esperma de dos o más machos compite para fertilizar el mismo conjunto de óvulos (Parker, 1970). Por ende, el éxito reproductivo de un macho está influenciado no sólo por el número de parejas con las que se aparea, sino también por la proporción de huevos que fertiliza (Parker, 1970). Aquellos espermatozoides que fisiológicamente superan a los provenientes de otras eyaculaciones en la competencia por la fertilización confieren una ventaja selectiva al macho que los produjo (Morbiato, Cattelan, & Pilastro, 2023).

Bobbe y Labbé (2010) definen la calidad espermática como la capacidad que tienen los espermatozoides para fertilizar un óvulo de manera exitosa. En este proceso, la calidad espermática se revela crucial, ya que no solo se refiere a la capacidad de fertilización, sino también a la contribución positiva para el desarrollo del embrión, siempre y cuando el óvulo cumpla con los parámetros necesarios de calidad.

Algunos parámetros utilizados para evaluar la calidad espermática son los siguientes: motilidad, viabilidad celular, integridad del ADN nuclear, además de estos, otros autores destacan la importancia de parámetros como la concentración espermática, morfología y velocidad de los espermatozoides (Bobe & Labbé, 2010; Hajirezaee et al., 2010; López-Hernández et al., 2018).

Se ha demostrado que diversos factores pueden alterar la calidad espermática de los peces, dentro de estos se encuentran perturbaciones en el ambiente como la temperatura, el fotoperiodo, la salinidad (Bobe & Labbé, 2010), así como diversos tipos de contaminantes (Quintero Marmol, 2022).

La urbanización ha aumentado mundialmente a un ritmo muy acelerado, lo que ha causado cambios cada vez más cuantiosos y complejos en la ecología del planeta y en los parámetros del hábitat que van desde el clima hasta la introducción de contaminantes (Ellis et al., 2006). Dentro de los contaminantes menos estudiados se encuentran la luz y el ruido de origen antropogénico, que son causantes de estrés en los animales (Kaiser et al., 2011, 2015).

El ruido antropogénico está cada vez más presente en los ecosistemas, afectando negativamente tanto a organismos terrestres como marinos. Este tipo de ruido altera las interacciones entre especies y las redes de comunicación (Obomsawin et al., 2021). Además, funciona como un factor de estrés crónico, con repercusiones significativas en la fisiología y el desarrollo de los organismos (Faria et al., 2022).

El presente estudio evaluó cómo la exposición continua a ruido blanco intermitente afectó la calidad espermática de peces guppy (*Poecillia reticulata*). Los parámetros de calidad espermática evaluados fueron: el número de paquetes espermáticos, movilidad, viabilidad y concentración espermática, así como los daños o fragmentación en ADN.

Reproducción en poecílicos

El ciclo reproductivo de los peces al alcanzar la madurez sexual se divide en dos fases principales: la primera se constituye de la proliferación, el crecimiento y la diferenciación de los gametos (ovogénesis y espermatogénesis); mientras que la

segunda fase consiste en la maduración y la preparación para su liberación (espermiación u ovulación) (López-Hernández et al., 2018).

Los peces poseen dos tipos de fertilización: la fertilización externa, que ocurre en especies ovíparas mediante la liberación simultánea de los gametos al medio externo (agua salada o dulce), donde se lleva a cabo la fecundación (Billard & Cosson, 2019); y la fertilización interna, que ocurre dentro del órgano reproductor femenino (Engel et al., 2020; Ito et al., 2021). La fertilización interna se observa en relativamente limitadas especies. La mayoría se encuentra dentro del grupo de los poecílidos, a la cual pertenecen los peces guppy, *Poecilia reticulata* (Billard & Cosson, 2019); en esta, los espermatozoides son depositados en el receptáculo espermático de la hembra mediante un órgano accesorio denominado gonopodio, lo que garantiza la fecundación cuando los óvulos están maduros (López-Hernández et al., 2018).

En los peces de la familia poeciliidae, la forma del gonopodio varía según el estado de los espermatozoides en el momento de la transferencia (Billard & Cosson, 2019). Cuando el semen cuando está agrupado en paquetes espermáticos los espermatozoides se mantienen cohesionados y se transfieren mediante un gonopodio que presenta un canal para orientar los paquetes hacia la papila genital de la hembra (Billard & Cosson, 2019), como en el caso de los guppies (Fig.1).

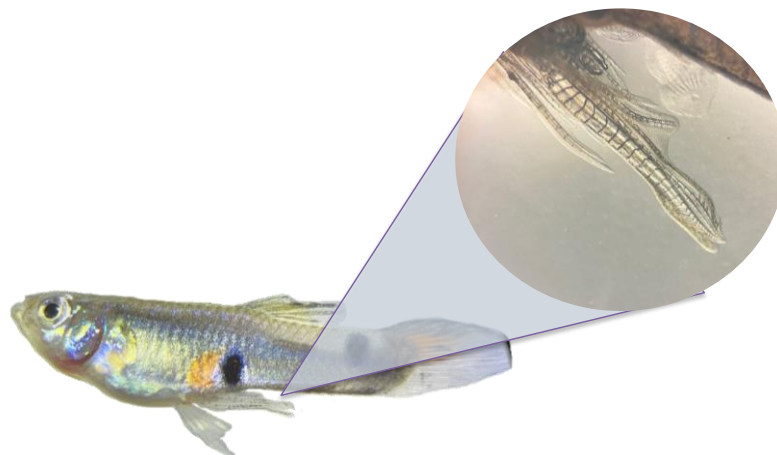


Figura 1. Foto de gonopodio en *Poecilia reticulata*, visto en microscopio estereoscópico NIKON a un aumento de 10x. Fotografía tomada por López-Flores, T. K.

Los paquetes son denominados espermatóforos si se encuentran envueltos con una membrana o espermatozeugmatos si no presentan esta membrana (Figura 2) (Billard & Cosson, 2019).



Figura 2. Espermatozeugmatos de pez guppy, 10x en estereoscopio NIKON. Fotografía tomada por López-Flores, T. K.

Los guppies poseen testículos organizados en túbulos dentro de los cuales se encuentran las espermatogonias agrupadas en conjuntos denominados cistos (Figura 3) (Billard & Escaffre, 1969). Los cistos están rodeados por células de Sertoli que se degeneran al final de la espermatogénesis liberando glucoproteínas que mantienen cohesionado a los espermatozoides, formando así a los espermatozeugmatos. Cada uno de estos paquetes puede llegar a contener aproximadamente 32,000 espermatozoides (Billard, 1986; Billard & Escaffre, 1969).

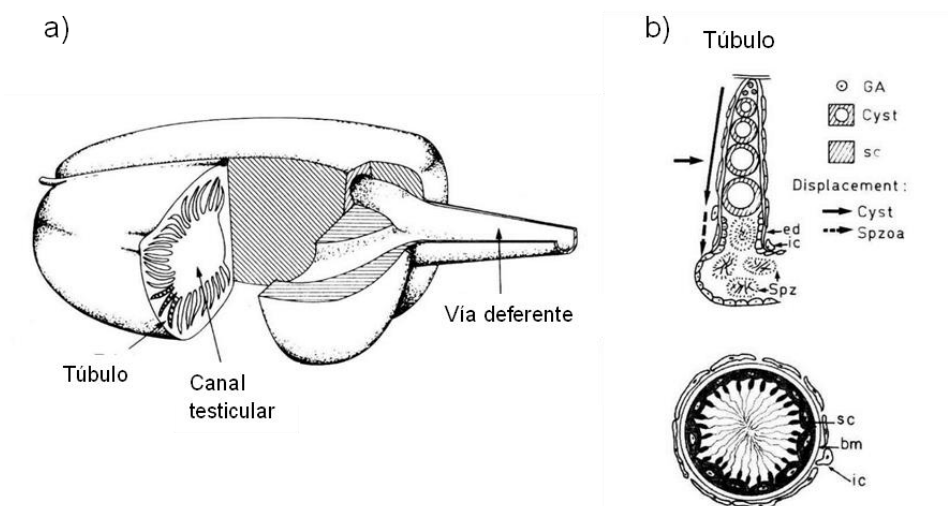


Figura 3. a) Esquema de testículos de guppy , b) Organización de túbulos en testículos de guppy, se muestra además el recorrido de los cistos para desarrollarse en paquetes espermáticos (Imagen modificada de Billard, 1986)

En los poecilidos, la cópula es muy frecuente, llegando a ser de hasta un acto sexual por minuto en algunas especies (Magurran & Seghers, 1994), por lo tanto, la producción de espermatozoides debe ser muy alta y, en el caso del guppy, por día llega a ser de 36 paquetes espermáticos que, en conjunto, pueden llegar a contener hasta 750,000 espermatozoides (Billard & Cosson, 2019).

En el caso de las hembras, una vez que han alcanzado la madurez sexual son capaces de seguir produciendo ovocitos a partir de ovogonias mitóticas a lo largo de sus vidas (Mcbride et al., 2015; Wallace & Selman, 1990).

Antecedentes

Efectos de los estresores sobre la calidad espermática

Los rasgos reproductivos precópula (ornamentación) y poscópula (calidad espermática) determinan el éxito reproductivo de un macho. Estos rasgos pueden variar dentro de la misma especie, no solo en relación con las diferencias entre fenotipos masculinos, sino también como consecuencia de la fluctuación en las condiciones ambientales (Gage et al., 1997).

La exposición a estresores forma parte del día a día de los organismos, ya que diversos factores pueden generar perturbaciones en su entorno con efectos directos o indirectos sobre el organismo (Martin et al., 2011). Estos estresores pueden tener un origen diverso, como alteraciones en el entorno por fenómenos geofísicos naturales, parasitismo, o eventos de origen antrópico, como lo es la introducción de contaminantes (Fuzzen et al., 2011).

Las condiciones estresantes activan un estado de emergencia capaz de alterar el ciclo de historia de vida, modificando el comportamiento y la fisiología de los organismos con la finalidad de buscar la supervivencia (Wingfield et al., 1998). Ante situaciones estresantes, el cuerpo recurre a la liberación de glucocorticoesteroides mediante las glándulas suprarrenales, como la corticosterona (aves y reptiles) o cortisol (peces y mamíferos), con la finalidad de activar un estado de alerta que mejora la supervivencia del individuo (Martin et al., 2011).

El estrés tiene efectos diversos sobre los organismos, que pueden llegar a causar diversos padecimientos como problemas cardíacos, auditivos, nerviosos, hormonales o alteraciones morfológicas (Jalali et al., 2012; Martin et al., 2010, 2011; Wingfield et al., 1998). Además, afecta las funciones inmunes provocando susceptibilidad a enfermedades, muerte neuronal y supresión del crecimiento y metamorfosis (Wingfield et al., 1998).

La exposición crónica a las hormonas del estrés promueve la degradación de proteínas mediante la gluconeogénesis, suprime los procesos reproductivos y comportamientos asociados a este (Wingfield et al., 1998). Como se ha demostrado en ratas sometidas a ejercicio excesivo para generar estrés crónico, provocando una disminución de la calidad espermática (Mingoti et al., 2003).

Las situaciones estresantes que limitan los recursos necesarios para la supervivencia causarán estrés en el organismo que limitará la reproducción. Un claro ejemplo es la limitación del alimento (Macartney et al., 2019). Estudios donde se mantuvo a peces guppy con una alimentación restringida, demostraron que el estrés provocado por esta dieta disminuyó el patrón de apareamiento y el éxito de fertilización de las hembras (Morbiato, Cattelan, & Pilastro, 2023). En machos expuestos a alimentación restringida, se ha observado una disminución en el número de espermatozoides, intentos de cópula, así como el área de la coloración naranja en el cuerpo (Cattelan et al., 2020).

Efectos de los contaminantes sobre la calidad espermática

En las últimas décadas, ha aumentado drásticamente la liberación de contaminantes al medio terrestre, cuerpos de agua dulce y océanos que, en conjunto con el cambio climático y la acidificación de los mares, tienen efectos tóxicos sobre los organismos (Gallo & Tosti, 2019). Algunos de estos efectos van dirigidos sobre el sistema endócrino y reproductivo de los peces (Denslow & Sepúlveda, 2007), y, en el caso de los machos, sobre la calidad espermática (Xia & Niu, 2017).

Se ha estudiado la influencia de diversos tipos de contaminantes químicos sobre la calidad espermática de peces (Quintero Marmol, 2022), dentro de estos se encuentran, metales pesados (Gárriz & Miranda, 2020; Kerekes et al., 2020), y compuestos químicos como pesticidas (Rurangwa et al., 2002), herbicidas

(Harayashiki et al., 2013), compuestos perfluorados (Xia & Niu, 2017), y disruptores endócrinos como los contaminantes estrogénicos (Hatef et al., 2013) y el bisfenol A (Silveira et al., 2019).

Además de los contaminantes de origen químico, existen contaminantes físicos, como los campos magnéticos generados por líneas eléctricas submarinas que tienen la capacidad de generar alteraciones a nivel celular (Oliva et al., 2023). La luz y el ruido de origen antropogénico son de los contaminantes físicos más frecuentes en la actualidad (Kaiser et al., 2011, 2015). Estos contaminantes alteran ciclos naturales (Bassi et al., 2022; Green et al., 2020) y causan estrés en los organismos (Chandralekha et al., 2007).

En la última década, se ha investigado los efectos del ruido sobre la salud de los seres humanos y organismos silvestres con la finalidad de establecer estatutos para su regulación en algunos países (United States of America's Government, 2013).

Ruido y sus implicaciones

La Agencia de Protección de Ambiental de los Estados Unidos (EPA, 2023) señala que el ruido se encuentra dentro de la categoría de contaminantes, definiéndolo como un sonido no deseado o perturbador que interfiere con las actividades cotidianas con efectos sobre la salud de los individuos.

El sonido por sí mismo es una parte importante de los ecosistemas. El paisaje sonoro es el conjunto de sonidos presentes en el entorno en un momento dado, estos sonidos se dividen en tres tipos: biofonía (sonidos de organismos no humanos), geofonía (sonidos geofísicos) y antropofonía (sonidos generados por humanos) (Krause, 2016). Se plantea que los paisajes sonoros proporcionan nichos acústicos donde las especies vocalizadoras pueden comunicarse (Krause, 1987, 1993).

En un entorno donde las antropofonías predominan, se produce un fenómeno conocido como enmascaramiento, que ocurre cuando la detección de un sonido se ve afectada por la presencia de otro (Neenan et al., 2016). A medida que la intensidad del ruido aumenta, una señal se torna menos discernible del fondo, hasta que finalmente deja de ser distinguible por completo (Kaiser & Hammers, 2009). Este fenómeno interfiere en las redes de comunicación de los organismos que dependen

del sonido dentro del nicho acústico afectando la reproducción y el comportamiento, y, por lo tanto, también la supervivencia de los animales (Krause, 1987, 1993).

El enmascaramiento se ha registrado tanto en ecosistemas terrestres como marinos. En aves, el ruido enmascara señales acústicas emitidas para comunicarse, interfiriendo en redes básicas como la comunicación entre adultos con las crías para la alimentación (Obomsawin et al., 2021). Por otra parte, en anfibios como los machos de la especie *Dendropsophus triangulum*, se incrementan las tasas de llamados en presencia de sonidos de origen antropogénico, lo que, a su vez, incrementa la energía invertida en los llamados para atraer hembras (Kaiser & Hammers, 2009).

Se ha registrado que existe un efecto de la contaminación acústica en el medio marino con repercusiones sobre comportamiento y la fisiología de los organismos (Popper et al., 2003; Popper & Hawkins, 2016). Los mamíferos marinos y peces también se ven afectados por el enmascaramiento, dificultando la detección de presas y depredadores, así como la navegación, reproducción y comunicación entre conoespecíficos (de Jong et al., 2020; Finneran, 2015; Neenan et al., 2016; Popper et al., 2003; Sebastianutto et al., 2016).

Algunos de los efectos fisiológicos registrados en peces son la pérdida de la audición temporal o permanente debido a daños producidos en las células auditivas, (Popper et al., 2003; Smith et al., 2004), alteraciones en el desarrollo (Faria et al., 2022; Nawrot et al., 1981; Ristovska et al., 2014), y un incremento de las hormonas asociadas con el estrés (Smith et al., 2004) que a su vez podría verse relacionado con otras afecciones fisiológicas como en los procesos reproductivos.

La reproducción, al ser un proceso sensible a factores internos y externos, como lo es el estrés, puede verse comprometida con este tipo de estímulos perturbadores. Investigaciones han evidenciado que el estrés inducido por el ruido tiene efectos notables en la reproducción (de Jong et al., 2020) y, en particular, sobre la calidad espermática (Tabla 1).

Referencia	Organismo	Tratamiento	Rasgo medido	Resultado
Choe et al. (2020)	Humanos (<i>Homo sapiens</i>)	-	Morfología Concentración	Reducción en la concentración
Jurewicz et al. (2014)	Humanos (<i>Homo sapiens</i>)	-	Movilidad, daño en ADN	Aumento en daño a ADN y disminución de movilidad
Chamkori et al. (2016)	Humanos (<i>Homo sapiens</i>)	Exposición a 107 dB y 119 dB	Concentración espermática, morfología, y movilidad	Reducción en la movilidad y concentración espermática, sin efectos en morfología
Kaiser et al. (2015)	Rana arbórea (<i>Litoria caerulea</i>)	Exposición a 70 dB, 7 kHz	Concentración espermática y viabilidad	Reducción en ambos parámetros
Tanyeri & Yüce, (2019)	Rata (<i>Rattus norvegicus</i>)	Exposición a ruido bajo (60dB), medio (80 dB) y alto (100 dB)	Morfología, movilidad y concentración espermática	Aumento en el número de células con morfología anormal, sin efecto sobre movilidad ni concentración
Jalali et al. (2012)	Rata (<i>Rattus norvegicus</i>)	Exposición ruido de 90-120 dB con frecuencia de 300-350 Hz	Movilidad y concentración espermática	Reducción en ambos parámetros
Ghanbari et al. (2013)	Rata (<i>Rattus norvegicus</i>)	Ruido de 100 dB en combinación con ondas de microondas	Concentración espermática, viabilidad, movilidad, morfología	Disminución de la viabilidad y movilidad, sin efectos en concentración ni morfología
(Khavanin et al., 2018)	Rata (<i>Rattus norvegicus</i>)	Ruido 100 dB en conjunto con extracto de <i>C. verum hydroalcolholicum</i>	Viabilidad, concentración espermática y morfología	Disminución en la concentración y aumento en la morfología anormal
Pramanik & Biswas (2012)	Rata (<i>Rattus norvegicus</i>)	Exposición a ruido de 80 a 90 dB	Concentración espermática, y morfología	Disminución en concentración y aumento en el número de células anormales
Chandralekha & Jeganath (2007)	Rata (<i>Rattus norvegicus</i>)	Ruido de 120 dB	Concentración espermática, viabilidad, motilidad	Disminución en la concentración, viabilidad y motilidad espermáticas
Vosoughi et. al (2012)	Ratón (<i>Mus musculus</i>)	Expuesto a ruido 700-5700 Hz, en conjunto con formaldehido	Concentración espermática, movilidad, viabilidad	Disminución en los tres parámetros.

Tabla 1. Investigaciones sobre el efecto del ruido sobre calidad espermática en diferentes organismos. Tabla elaborada por López-Flores, T. K.

En ratas macho (*Rattus norvegicus*) se ha demostrado que el estrés por ruido tiene la capacidad de reducir los niveles de testosterona, con efectos en el tejido testicular (Farzadinia et al., 2016; Jalali et al., 2012), reduciendo el porcentaje de viabilidad de los espermatozoides (Chandralekha & Jeganath, 2007), así como la concentración y aumentando el porcentaje de células anormales (Khavanin et al., 2018).

Así mismo, una exposición a 8000 Hz en ratas se vio relacionada con la presencia de alteraciones en la morfología espermática (Tanyeri & Yüce, 2019). En exposiciones prolongadas a ruido blanco (50 días) con una frecuencia de 350 Hz, se encontró una disminución en la concentración de células, así como una disminución en la movilidad espermática (Jalali et al., 2012).

El ruido en combinación con otro tipo de factores, como la radiación liberada por teléfonos celulares, puede causar efectos aún más significativos en la disminución de la calidad espermática, asociándolo con el estrés oxidativo provocado por el estrés fisiológico (Ghanbari et al., 2013). En ratones (*Mus musculus*), la exposición a ruido en conjunto con gases de formaldehído se vio relacionada con una disminución en la concentración, viabilidad y movilidad espermática.

También se han realizado estudios sobre la calidad espermática de anfibios sometidos a ruido de tráfico, resultando en una reducción de los parámetros de concentración espermática y viabilidad, así como un aumento de corticosterona, en el plasma sanguíneo (Kaiser et al., 2015).

Existen estudios de cohorte realizados en humanos (Chamkori et al., 2016; Choe et al., 2020; Jurewicz et al., 2014), donde se registraron disminuciones en la concentración y movilidad espermática en pacientes cuyo trabajo implica una exposición continua a ruido o viven en zonas donde el ruido antropogénico es abundante.

Justificación

En la actualidad los contaminantes están afectando a los organismos de diversas formas, uno de los más comunes, pero poco estudiados es el ruido, que está presente en todos los ambientes, pero en mayor nivel en zonas antropizadas. El caso de los individuos acuáticos no es la excepción, debido al aumento de vías de transporte marino y de la mancha urbana cerca de zonas costeras (Sebastianutto et al., 2016). En otros organismos, principalmente mamíferos, se han realizado estudios donde se prueba que el estrés generado por contaminantes acústicos repercute a nivel de las gónadas, llevando a una disminución en la calidad de los gametos, en machos específicamente en el esperma. En organismos acuáticos los estudios de este tipo son escasos, por ello es importante determinar si el ruido tiene efectos sobre la reproducción en los organismos acuáticos.

El pez guppy resulta ser un modelo ideal para este tipo de investigaciones, ya que es un pez presente en numerosos cuerpos de agua continentales alrededor del mundo, por su capacidad para prosperar en diferentes comunidades ecológicas y condiciones ambientales (Magurran, 2005). El guppy ha sido utilizado antes en numerosos experimentos de ecología evolutiva (Houde, 1997) donde se evalúa la calidad espermática de este en relación con diversos factores que podrían alterarla (Cattelan et al., 2020; Gasparini et al., 2010, 2013; Morbiato, Cattelan, & Pilastro, 2023; Morbiato, Cattelan, Pilastro, et al., 2023; Pauletto et al., 2020).

Gracias a su forma de reproducción interna y a la anatomía y fisiología del pez, resulta sencillo acceder al esperma (agrupado en paquetes espermáticos) de este organismo para realizar las pruebas necesarias en la determinación de la calidad espermática utilizando microscopía básica.

Hipótesis

Pregunta general

¿La exposición intermitente a ruido blanco afecta la calidad espermática en peces guppy?

Hipótesis

El estrés provocado por la exposición intermitente a ruido blanco tendrá un efecto sobre la fisiología de los peces guppy, y este se verá reflejado en la calidad espermática al determinar los parámetros: Número de paquetes espermáticos, movilidad, viabilidad, número de células e integridad del ADN.

Predicción

Los machos expuestos por determinado tiempo a ruido blanco tendrán menor calidad espermática en comparación con los mismos individuos antes de la exposición al tratamiento y al grupo de machos control que no fueron expuestos a ruido, y que fueron mantenidos en condiciones de aislamiento durante el mismo tiempo.

Objetivos

Objetivo general

Analizar los efectos de la exposición intermitente a ruido blanco sobre la calidad espermática en guppies.

Objetivos particulares

Comparar entre machos del tratamiento experimental que fueron sometidos a ruido blanco y machos del tratamiento control que no fueron sometidos a ruido:

- La producción de paquetes espermáticos.
- La movilidad de los espermatozoides.
- La viabilidad de los espermatozoides.
- El número de espermatozoides por eyaculado.
- La integridad del ADN en los espermatozoides.

Materiales y métodos

Población de estudio

Los organismos fueron colectados en un cuerpo de agua perteneciente a la población de La Magdalena Tepeojuma en el estado de Puebla ($18^{\circ} 42' 24.9''$ N y $98^{\circ} 26' 20.9''$ W). Se trasladaron al Laboratorio de Ecología Evolutiva de la BUAP en febrero del 2023, donde fueron distribuidos y alojados aleatoriamente en tanques de 120 L en condiciones controladas: fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, temperatura 23 - 26°C, alimentados cada 12 horas con hojuelas Tetramin® Tropical Flakes de la marca Tetra. Al finalizar el experimento, los peces se reintegraron a estas condiciones en un tanque especial para no ser utilizados en experimentos futuros del laboratorio.

Diseño experimental

El experimento tuvo como finalidad analizar la calidad espermática (cantidad de paquetes espermáticos, movilidad, viabilidad, concentración espermática y fragmentación del ADN) de dos grupos de peces: control (20 n) y machos sometidos a ruido blanco (24 n) (Figura. 4).

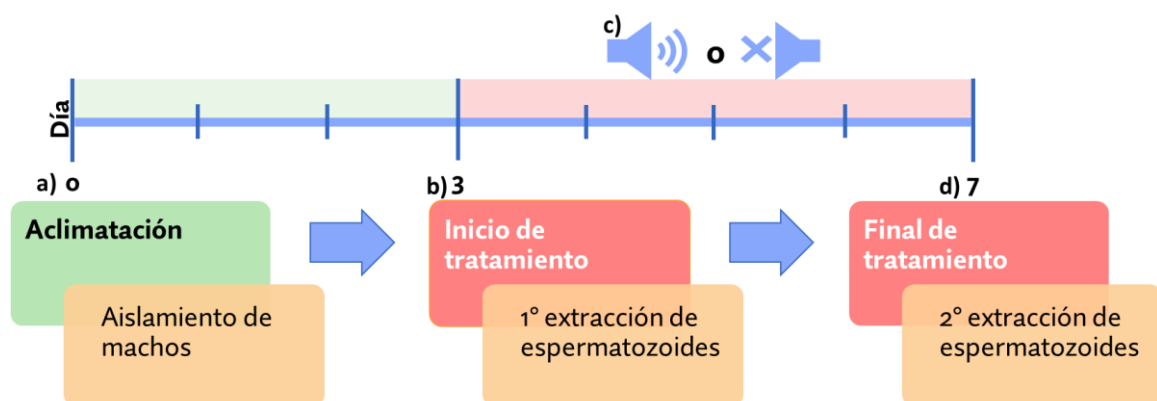


Figura 4. Diagrama de diseño experimental. En el inicio del tratamiento en el día 0 (a) elegimos machos al azar de diferentes tanques, estos fueron aislados individualmente en contenedores de acrílico, los cuales se encontraban dentro de uno de los tanques principales, el aislamiento se realizó durante 3 días con la finalidad de que los peces se acostumbraran a las condiciones del tanque y esto no influenciara sobre los parámetros analizados posteriormente. En el día 3 (b) se extrajo una muestra de esperma de los machos y se analizaron los parámetros de calidad espermática, en este día también se ingresó a los peces al tratamiento asignado al azar, los cuales fueron ruido o sin ruido (c) del día 3 al día 7. Al final de tratamiento (d) se realizó la segunda extracción de esperma de los guppies y se analizaron los parámetros de calidad espermática.

En ambos grupos, los machos fueron aislado individualmente dentro un contenedor de acrílico con capacidad de un litro; siendo identificado con un ID asignado al inicio del experimento. La tapa de cada contenedor presentaba aberturas rectangulares pequeñas para permitir el intercambio de agua. El contenedor fue sumergido dentro de un tanque circular de una capacidad de 60 litros con 40 litros de agua. Cuatro de estos contenedores con peces fueron utilizados por prueba, dispuestos de forma que la distancia entre ellos fuera la misma (Figura 5). Al centro del tanque se colocó una bocina de la marca JBL (modelo Clip 3), la cual fue anclada de tal manera que se mantuviera flotando y la distancia entre la bocina y cada contenedor fuera la misma.



Figura 5. Disposición de contenedores en tanque. El tanque redondo principal tenía un diámetro de 60 cm, por lo que la distancia entre la bocina y los contenedores fue de 15 cm aproximadamente. El tanque redondo contuvo 40 L de agua, la cual se mantenía a una altura de 20 cm, cubriendo completamente los contenedores de acrílico para permitir el libre paso del agua a través de las ranuras en las tapas.

Alrededor de los contenedores se encontraban hembras nadando libres en una proporción de dos por macho con la finalidad de crear un estímulo visual y olfativo para promover la espermatogénesis (Bozynski & Liley, 2003). Cada contenedor estaba cubierto en las caras de los costados con una mica negra, de tal forma que los machos pudieran ver a las hembras nadando por enfrente o atrás pero no a los machos contiguos. Mediante la bocina se reprodujo una pista de ruido blanco intermitente durante 12 horas por 4 días (de 7am a 7 pm). Los machos del grupo control se mantuvieron en condiciones similares a los del grupo experimental, además, fueron manipulados y aislados de la misma forma, pero sin la aplicación de ruido. Ambos tanques circulares estuvieron en condiciones idénticas tanto en temperatura (24° C) como en iluminación (12h luz/12 h oscuridad).

El experimento se llevó a cabo entre junio y agosto de 2023, e involucró a siete grupos de ocho peces cada uno (Los peces que no liberaron esperma fueron descartados). Debido a la capacidad limitada de los tanques, cada grupo se subdividió en dos subgrupos de cuatro peces. Se realizaron dos pruebas por grupo: una antes del tratamiento (p1) y otra después (p2). Esta subdivisión y el diseño del estudio facilitaron tiempos de aclimatación adecuados, necesarios tanto para recargar la reserva de esperma como para homogeneizar la historia reproductiva reciente de los machos, según Bozynski & Liley (2003). Cada subgrupo comenzó su aclimatación con un día de diferencia, aunque el período de aclimatación y el tratamiento fueron idénticos para ambos. Después de tres días de aclimatación y justo antes de iniciar el tratamiento, se extrajo una muestra de esperma de cada individuo (P1). Una segunda muestra fue recolectada al finalizar el tratamiento (P2), permitiendo la comparación posterior de los parámetros de calidad espermática.

La pista de ruido blanco se diseñó en el programa Audacity (v. 3.4), de tal forma que emitiera varias frecuencias a la vez entre los 100-1000 Hz. Para monitorear que el sonido se mantuviera en las frecuencias adecuadas, se usaron un hidrófono (Aquarian Audio & Scientific, AS-1; con sensibilidad de -208 dBV re $1 \mu\text{Pa}$, respuesta a frecuencias de 1 Hz-100 kHz) y un acelerómetro (Brüel & Kjær, 4533-B-001; sensibilidad 1 mV/ms^{-2} , respuesta a frecuencias de 0.2-12800 Hz) (Figura 6).

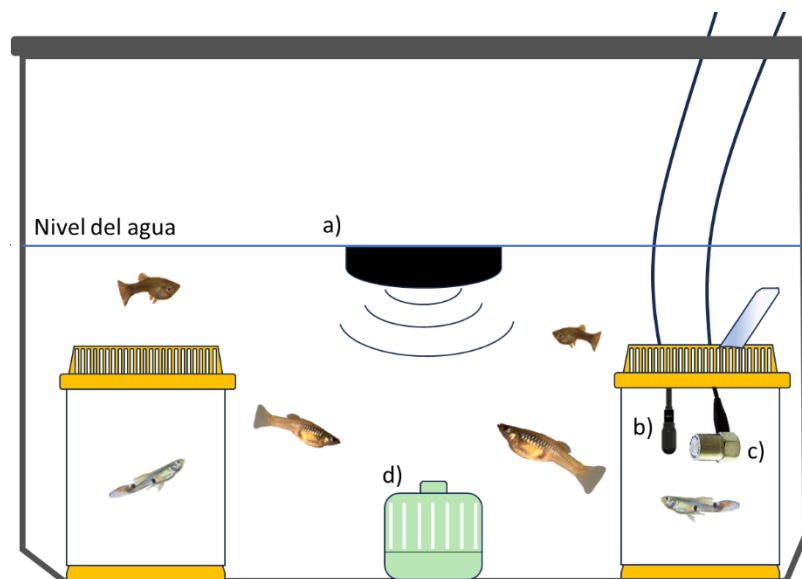


Figura 6. Esquema de tanques y medición del sonido. a) La bocina se mantuvo flotando en el centro del tanque reproducción la pista de sonido, o en silencio según el tratamiento. Las mediciones de sonido, registradas con el hidrófono (b) y el movimiento de partículas, registrado con el acelerómetro

(c), se realizaron dentro de los contenedores de los machos para monitorear el estímulo al que eran expuestos. En el centro del tanque se colocó un filtro de piso (d) para mantener el agua oxigenada.

El hidrófono se utilizó para grabar el sonido en una grabadora (Zoom H4n-PRO) y posteriormente analizarlo en el programa Raven Pro (v. 1.6) mediante el análisis y comparación del espectrograma de los tratamientos (Anexo 1). Las lecturas se realizaron al inicio del tratamiento en el día 3 y al final de este en el día 7.

El tratamiento tuvo una duración de 4 días; esta duración estuvo condicionada por el horario de apertura de las instalaciones de la facultad. Por este motivo, se organizó la administración del tratamiento en dos grupos distintos: el primer grupo recibió el tratamiento de lunes a viernes, mientras que el segundo grupo fue tratado de martes a sábado. Esta organización aseguró que todos los peces recibieran un periodo de tratamiento continuo de cuatro días, adaptándose a las restricciones operativas existentes, y dando tiempo suficiente para recargar la reserva de esperma gracias al estímulo visual y olfativo de las hembras según lo descrito por Bozynski & Liley (2003).

Extracción de la muestra

La extracción de los paquetes espermáticos de guppy se realizó por presión abdominal según los métodos establecidos por Gasparini et al., (2010). Para esto, los peces fueron anestesiados con una solución de aceite de clavo (1.320 g/mL) diluida con alcohol al 90% en una proporción 1:10, la cual fue posteriormente diluida con agua para obtener una concentración final de aceite de 75 mg/L (Cunha et al., 2015).

Una vez anestesiados, los peces se colocaron sobre una caja Petri con 500 μ L de solución salina (NaCl 0.9%) (Billard, 1978). Con un aumento de 4x bajo un microscopio estereoscópico, se realizó un masaje en el abdomen, posteriormente se estimuló al pez mediante el balanceo del gonopodio e inmediatamente se aplicó una gentil presión en dirección cefalocaudal cerca del gonopodio para expulsar los paquetes espermáticos (Figura 7), los cuales fueron recuperados con una micropipeta y colocados en 300 μ L de solución salina en un tubo eppendorf.

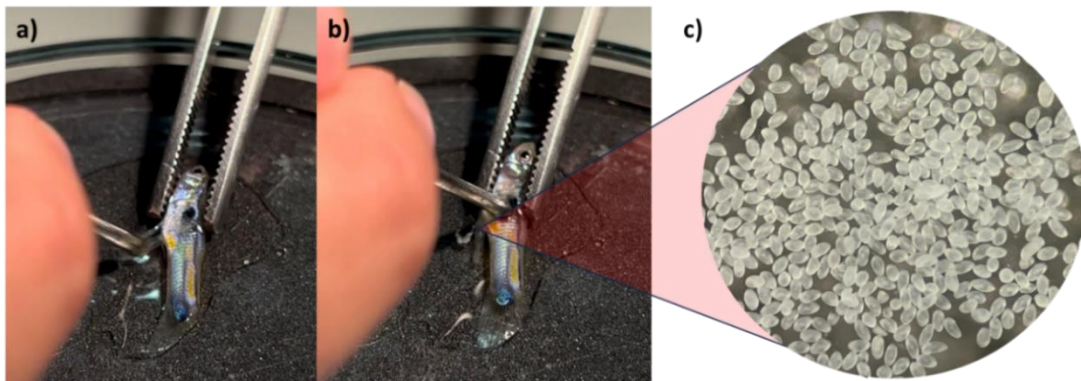


Figura 7. Procedimiento para la extracción de esperma en guppies. a) balanceo del gonopodio para estimular la eyaculación, b) aplicación del masaje abdominal y expulsión de paquetes espermáticos, c) paquetes espermáticos vistos a 10x. Fotografía tomada por López-Flores, T. K.

Para romper los paquetes espermáticos y liberar los espermatozoides en la solución fue necesario realizar un refluo lento con la micropipeta de 5 a 10 veces para evitar dañar a las células.

Al finalizar el masaje abdominal, el pez fue retirado gentilmente de la caja Petri y se depositó de regreso en su tanque individual.

Parámetros calidad espermática

Los parámetros de calidad espermática fueron analizados mediante microscopía óptica bajo las metodologías descritas a continuación.

Conteo de paquetes espermáticos

Los paquetes espermáticos fueron contados bajo un microscopio estereoscópico en la caja Petri justo después de la extracción, al emplear un contador manual y un fondo oscuro para generar un mejor contraste de los paquetes.

Movilidad

Para obtener la movilidad, se depositó una alícuota de 10 μ L de espermatozoides previamente liberados de los paquetes mediante refluo; sobre un portaobjetos para su posterior observación en un microscopio óptico. Una vez enfocado el campo en 40x, se procedió a contar células móviles e inmóviles hasta obtener un total de 200 células. A partir de este total se obtuvo el porcentaje de células móviles e inmóviles.

Viabilidad

La viabilidad se observó mezclando una alícuota de 20 μL de espermatozoides con 2 μL del colorante eosina-nigrosina, realizando un leve reflujo con la micropipeta para homogenizar la muestra. Posteriormente, se depositó una alícuota de 10 μL sobre un portaobjetos para su posterior observación en un microscopio óptico. Una vez enfocado el campo en 40x, se procedió a contar el número de células no teñidas (inviabiles) y teñidas (viables) (Figura 8) hasta obtener un total de 200 células. A partir de este total se obtuvo el porcentaje de células viables e inviabiles.

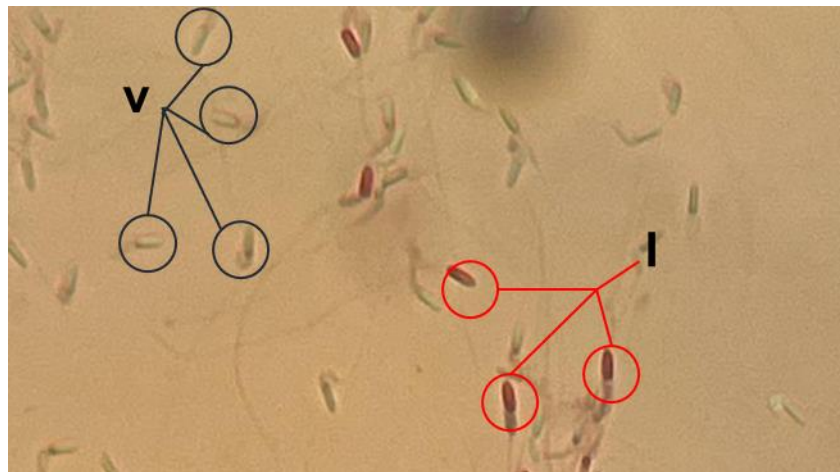


Figura 8. Espermatozoides teñidos con eosina-nigrosina. Los espermatozoides viables (V) no presentan coloración, mientras que los espermatozoides inviabiles (I) se tiñen en color rosa. Fotografía tomada por López-Flores, T. K.

Concentración

La determinación de la concentración de células se realizó utilizando un hemocitómetro en el cual se depositó una alícuota de 10 μL de espermatozoides sin realizar diluciones. Posteriormente, se enfocó la cuadrícula central (25 cuadros, cada uno con divisiones de 4 x 4) y se procedió a contar las células dentro del primer cuadro (esquina superior izquierda) para luego determinar el número de cuadros a contar de los 25, según señala el manual de la OMS (Tabla 2) (WHO, 2021):

Células en primer cuadro	Cuadros por contar
< 10	25
10 – 40	10
> 40	5

Tabla 2. Tabla para determinar el número de cuadros a contar en el hemocitómetro según el número de células, modificada del manual de la OMS para la evaluación y procesamiento de semen humano (WHO, 2021).

Para calcular el número de células contenidas en un mililitro se realizó la siguiente fórmula:

$$\text{No. De células por mL} = N \times FD \times 10000$$

Donde

N = Número de células contadas

FD = 25 / número de cuadros contados en la cuadrícula central

Para calcular el número de células totales obtenidas por eyaculado:

$$\text{No. de células} = N^{\circ} \text{ de células por mL} \times v$$

Donde

v = Volumen de muestra recuperada

Tomando en cuenta que el volumen de muestra recuperada se midió en μL .

Ensayo cometa

El ensayo cometa, es un método simple, rápido, visual y sensible para detectar daño primario en el ADN a nivel de la célula individual causado por diferentes agentes químicos y físicos (Pu et al., 2015; Rodríguez-Rey et al., 2016). Para la realización de este proyecto, se prepararon las soluciones descritas en el Anexo 1 y se hizo uso del siguiente protocolo:

Para realizar la primera capa de agarosa, se utilizaron portaobjetos nuevos que fueron previamente hervidos con agua destilada durante una hora para garantizar que se encontraran libres de grasa y otras impurezas. Posteriormente, se les colocó 100 μ L de agarosa caliente al 0.4% y se distribuyó de manera uniforme sobre el portaobjetos con ayuda del borde de una pipeta de vidrio.

Los portaobjetos con agarosa fueron colocados en una charola y posteriormente se ingresaron a un horno precalentado para dejarlos secar a 80° C durante 15 minutos.

Para realizar la segunda capa se mezcló una alícuota de 100 μ L de espermatozoides en solución salina con 100 μ L de agarosa caliente al 1%. Una vez homogenizada, se colocaron 150 μ L sobre uno de los portaobjetos realizados en el paso anterior e inmediatamente se le colocó un cubreobjetos de 20 x 40 mm sobre la mezcla. Posteriormente, se metieron a refrigeración (4°C), donde se mantuvieron por 10 minutos.

Una vez solidificada la segunda capa de agarosa, se retiró el cubreobjetos de la preparación con ayuda de unas pinzas con punta fina. Debido a que esta capa contiene las células, es sumamente importante verificar su integridad.

La placa se colocó en una caja Petri, donde cuidadosamente se le adicionó buffer de lisis (2,5 M NaCl, EDTA 100 mM, Tris 10 mM, DMSO al 10 %, Tritón al 1 %, pH 10) cubriendo por completo el gel y dejándolo reposar durante 30 minutos.

Al finalizar el tiempo de lisis, los portaobjetos se neutralizaron mediante tres lavados con solución Tris-HCl (0,4 M pH 7,5). Inmediatamente después de lavar las muestras, los portaobjetos se colocaron en una cámara de electroforesis con solución TAE (300 mM NaOH, 1 mM EDTA, pH > 13), donde se le aplicaron 50 V durante 10 minutos.

Al término de la electroforesis, los portaobjetos nuevamente se colocaron en cajas Petri limpias, donde se les agregaron de 4 a 5 gotas de solución de anaranjado de acridina, dejándolos reposar por 3 minutos y posteriormente se lavaron con solución TAE limpia a 4°C para eliminar el exceso de colorante.

Finalmente, las preparaciones se almacenaron en un recipiente de vidrio con gasas humedecidas de manera que cumpla con la función de cámara húmeda.

Observación en microscopio de fluorescencia

Las muestras se observaron en microscopio de fluorescencia de la marca Velab enfocando primero en campo claro y posteriormente se encendió la lámpara de mercurio y se aplicó un filtro de 450-480 nm con la finalidad de excitar el fluorocromo e iluminar las células en color verde.

Para cuantificar el porcentaje de cometas por muestra, se contaron un total de 200 células, y a partir de este se obtuvo el porcentaje de células normales y células con fragmentación de ADN que presentaban cometas.

Análisis estadístico

Se obtuvieron muestras de espermatozoides antes y después de aplicar el tratamiento a los machos. Los datos se organizaron en una tabla de Excel 360. Se calcularon las diferencias entre los parámetros registrados de cada individuo en la Prueba 2 (p_2) y los resultados obtenidos en la Prueba 1 (p_1). Posteriormente, se utilizó el programa R (v 4.3.1) (R Core Team, 2023), para aplicar un modelo de regresión lineal generalizada (GLM) a cada parámetro para evaluar los efectos del ruido sobre la calidad espermática en los diferentes tratamientos (Guevara-Fiore et al., 2010). Para garantizar la validez de los análisis, se ajustó la distribución de los datos utilizando un método de ajuste de distribución gaussiana para todas las variables de la calidad espermática (variable de respuesta) en función del tratamiento (variable explicativa). La elección de esta distribución fue verificada mediante una prueba de normalidad de Shapiro-Wilk y una inspección visual a través de un histograma (Zar, 1996).

Para fortalecer los resultados, se calcularon los intervalos de confianza del 95% (IC) para las diferencias individuales de cada parámetro (Nakagawa & Cuthill, 2007).

Resultados

Número de paquetes espermáticos

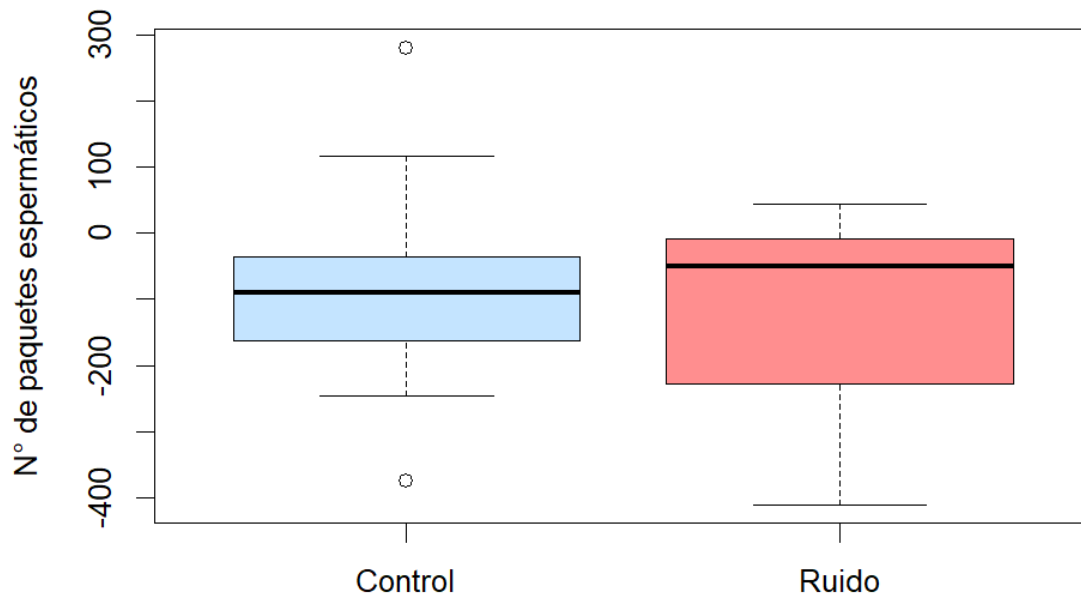


Figura 9. Boxplot de diferencias de la p2 menos la p1 del parámetro de número de paquetes espermáticos. No se observan diferencias significativas entre los peces expuestos a ruido (n=24) y los peces control (n=20).

Se determinó que no existen diferencias significativas entre el número de paquetes extraídos de los machos control y los expuestos al tratamiento (GLM, $t=-0.618$, $P = 0.53970$).

Movilidad

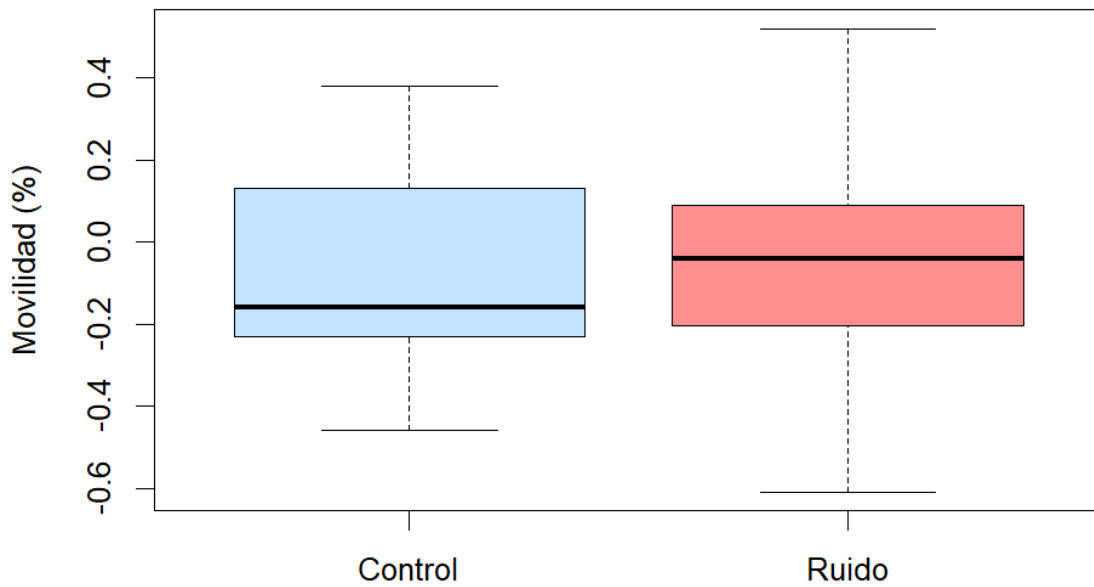


Figura 10. Boxplot de diferencias de la p2 menos la p1 del porcentaje de movilidad de los espermatozoides. No se observan diferencias significativas entre los peces expuestos a ruido (n=24) y los peces control (n=20).

En relación con la movilidad de los espermatozoides, los análisis no revelaron diferencias significativas entre las muestras de los individuos expuestos a ambos tratamientos (GLM, $t = 0397$, $P = 0.693$).

Viabilidad

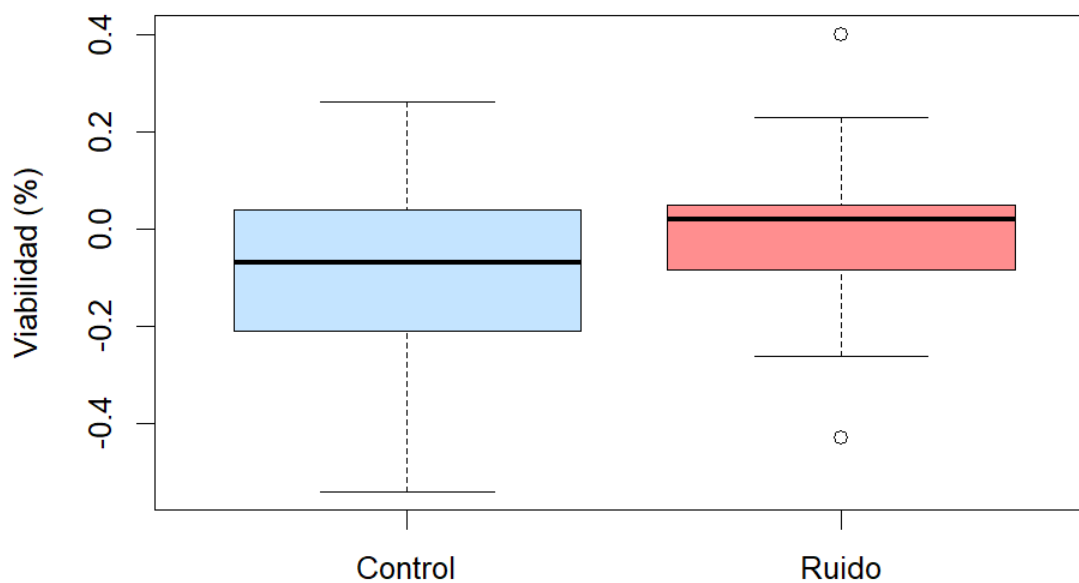


Figura 11. Boxplot de diferencias de la p2 y p1 del porcentaje de viabilidad espermática. No se observan diferencias significativas entre los peces expuestos a ruido (n=24) y los peces control (n=20).

En relación con la viabilidad de los espermatozoides, el modelo lineal generalizado (GLM) no reveló diferencias significativas entre las células obtenidas de los peces expuestos a ruido y los peces control ($t = 1.173$, $P = 0.2474$).

Concentración espermática

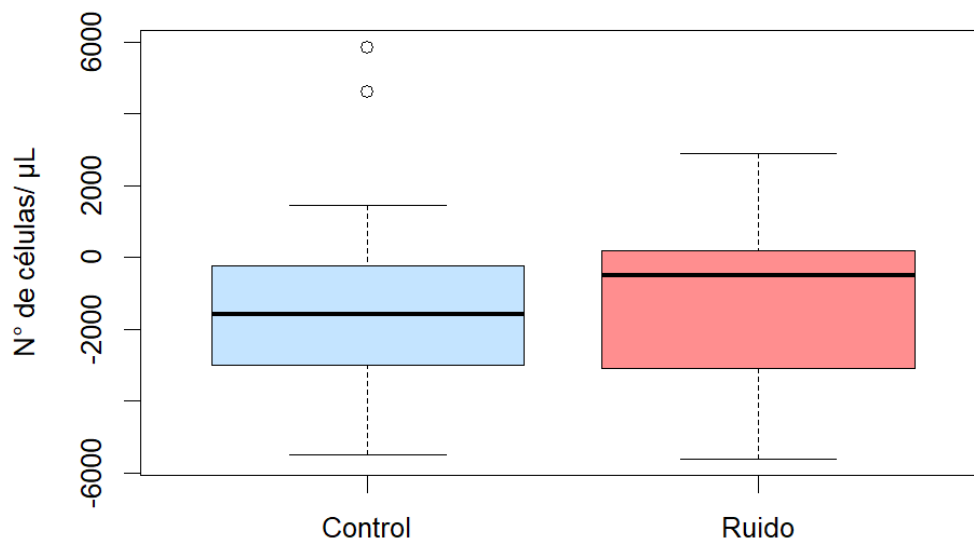


Figura 12. Boxplot de diferencias de la p2 menos la p1 del parámetro de la concentración espermática, no se observan diferencias significativas entre los peces expuestos a ruido ($n=24$) y los peces control ($n=20$).

Mediante el análisis estadístico se determinó que no hay diferencias significativas en la concentración de células por eyaculado entre los machos expuestos a diferentes tratamientos (GLM, $t = 0.001$, $P = 0.9995$).

Parámetro	Estimado	Límite inferior	Límite superior	P-valor
Número de paquetes	-25.27	-105.3585	54.82435	0.53970
Movilidad	0.03101	-0.1221249	0.18415392	0.693
Vitalidad	0.06677	-0.04478504	0.178325417	0.2474
Concentración espermática	0.5166	-1493.052	1494.0849	0.9995

Tabla 3. Resumen de resultados mostrando los intervalos de confianza de los parámetros de calidad espermática contrastando los tratamientos ruido-control con un intervalo de confianza del 95%.

Ensayo cometa

En el ensayo cometa para la determinación de la fragmentación de ADN se analizaron fotografías de 5 campos diferentes de cada muestra. Sin embargo, al no presentarse cometas en ninguno de los dos grupos, no se realizaron pruebas estadísticas.

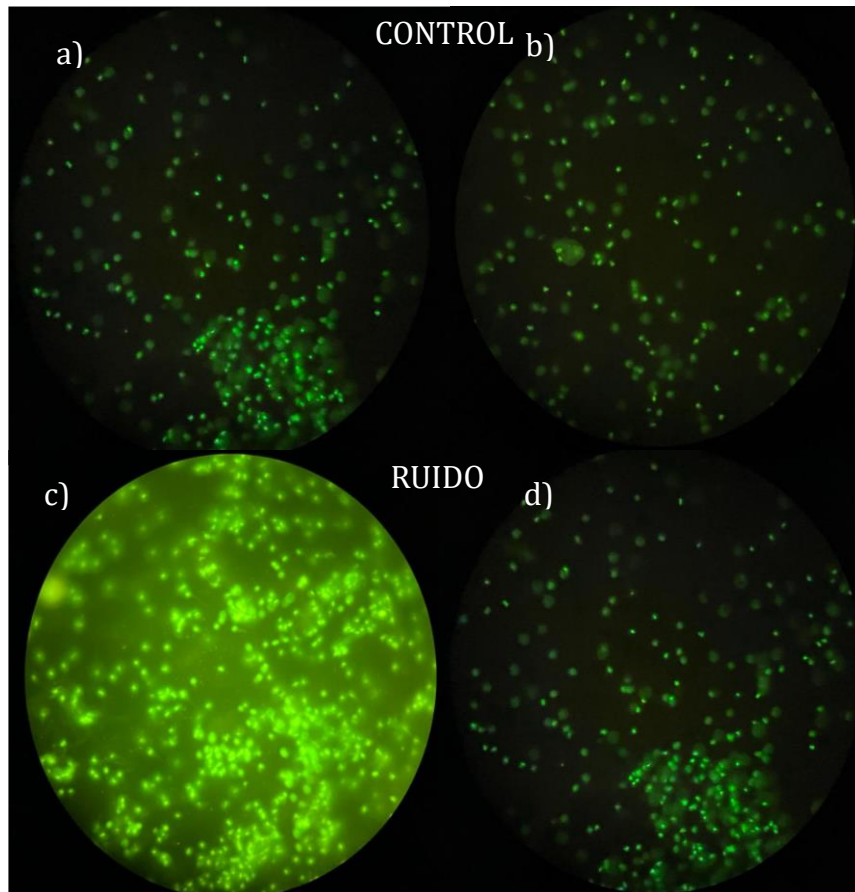


Figura 13. Ensayo cometa. Las muestras observadas en el grupo control antes del tratamiento (a) y después de este (b) no muestran células en cometa. En las células observadas del tratamiento con ruido antes (c) y después de este (d) tampoco se observan células en cometa. Fotografías tomadas por López-Flores, T. K.

Discusión

El aumento del ruido en diferentes ecosistemas ha sido un tema de preocupación creciente en las últimas décadas (Kaiser & Hammers, 2009) y los ambientes acuáticos no son la excepción (Cox et al., 2018; Frisk, 2012). Este fenómeno tiene efectos diversos sobre el comportamiento y la fisiología de los organismos, incluidos los peces (Popper et al., 2003).

Sin embargo, los estudios de los efectos del ruido sobre la reproducción a un nivel fisiológico en los organismos acuáticos son limitados. Por lo que, en el presente estudio, investigamos los efectos del ruido sobre la calidad espermática de los peces guppy expuestos a ruido blanco intermitente a la par que se analizaron los efectos de este mismo tratamiento sobre el cortejo de estos peces (Zavala-Rodríguez, 2024).

El tratamiento de ruido (4 días) podría parecer corto al compararse con estudios realizados sobre la calidad espermática en otros organismos como ratas (*Rattus norvegicus*) (30 - 60 días) (Khavanin et al., 2018; Pramanik & Biswas, 2012; Tanyeri & Yüce, 2019), ratones (*Mus musculus*) (10 días) (Vosoughi et al., 2012) y ranas arbóreas (*Litoria caerulea*) (7 días) (Kaiser et al., 2015). Sin embargo, se ha demostrado que mediante un proceso denominado "Sperm priming" los guppies tienen la capacidad de aumentar la cantidad de esperma disponible para la cópula acelerando las últimas etapas de maduración de los espermatozoides (Bozynski & Liley, 2003). Este proceso ha sido aplicado en investigaciones relacionada con la calidad espermática de los guppies con un tiempo que va de 3 (Gasparini et al., 2009) a 7 días (Bozynski & Liley, 2003), siempre y cuando exista un estímulo visual y olfativo el cual se da por la presencia de hembras. Se plantea que mientras se presenten estos estímulos, es posible presentar ajustes en las características del esperma como respuesta a factores externos (Gasparini et al., 2009; Magris et al., 2020).

Contrario a nuestras expectativas, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos de ruido y control en cuanto a los parámetros de calidad espermática, incluyendo el número de paquetes espermáticos, movilidad, vitalidad, número de células y fragmentación de ADN. Estos resultados contrastan con los obtenidos por otros estudios donde se investigó el efecto del ruido sobre la calidad espermática (Ghanbari et al., 2013; Jalali et al., 2012; Kaiser & Hammers, 2009;

Khavanin et al., 2018; Vosoughi et al., 2011); sin embargo, cabe destacar que ninguno de estos se llevó a cabo sobre organismos acuáticos, específicamente en peces, lo que sugiere la necesidad de explorar las posibles causas de estos resultados.

En el presente estudio, se decidió utilizar ruido intermitente en distintas longitudes, similar a los presentados en la naturaleza, pues se ha reportado que el ruido de bajas frecuencias tiende a afectar a los peces (Sebastianutto et al., 2016), mientras que la exposición constante a tonos puros puede dañar las células auditivas y provocar pérdidas en la audición (Popper et al., 2003). Sin embargo, al no existir audiogramas específicos de guppies se eligió la frecuencia de la pista de sonido con base en literatura de otra especie de pez perteneciente a la familia de los poecílidos (*Poecilia mexicana*, 100 – 1500 Hz) (Schulz-Mirbach et al., 2010).

Aunque en nuestro objetivo no era investigar los mecanismos fisiológicos y moleculares subyacentes al estrés producido, investigaciones previas han destacado la estrecha relación entre el ruido y efectos adversos en el tejido de las gónadas y la calidad de los gametos (Leatherland et al., 2010; Rivier & Rivest, 1991). En cuanto al estrés ocasionado por la exposición a ruido, existen estudios que muestran una relación entre el estrés, medido con el aumento de glucocorticoides en la sangre, y la calidad espermática (Chamkori et al., 2016; Ghanbari et al., 2013; Kaiser et al., 2015). En peces se sabe que el estrés produce un aumento en la liberación de cortisol (Leatherland et al., 2010; Wootton & Smith, 2014), lo que disminuye el crecimiento y la maduración gonadal (Fuzzen et al., 2011; Leatherland et al., 2010).

La ausencia de resultados significativos en nuestro estudio podría explicarse por la posibilidad de que, aunque los peces pudieron haber experimentado estrés, no manifestaron efectos fisiológicos observables. Smith et al. (2004) han demostrado que el ruido está relacionado con el aumento de cortisol en plasma de peces dorados (*Carassius auratus*), pero no siempre produce efectos visibles de estrés fisiológico a corto plazo, cabe destacar que a diferencia del pez guppy, los peces dorados son conocidos por su sensibilidad auditiva (Fay & Popper, 1974). Otro ejemplo de este mismo resultado es el reportado por Obomsawin et al. (2021) donde si bien se encontró un aumento en el cortisol en plumas de polluelos de golondrina expuestos a ruido blanco (*Tachycineta bicolor*), no encontraron efectos fisiológicos relacionados al estrés.

Las situaciones estresantes provocan un incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Lushchak, 2016). El aumento en la producción de ROS está implicado en cambios en la calidad espermática de los peces, incluyendo la fragmentación del ADN, y disminución en la motilidad y viabilidad espermática, así como alteraciones en la morfología celular (Cabrita et al., 2011; Tanyeri & Yüce, 2019). Sin embargo, en los peces guppies, el ruido blanco, al menos en las condiciones otorgadas en el presente experimento, parece no generar estrés suficiente para causar alteraciones en la calidad espermática.

Una posible explicación para los resultados obtenidos podría relacionarse con la capacidad de los peces para adaptarse a estímulos estresantes. Estudios previos han sugerido una relación de adecuación entre los niveles de corticosterona y la interacción con humanos y contaminantes (Schoech et al., 2009). Además, la exposición a ruidos que pueden dañar a los peces no sólo ocurre en ambientes afectados por actividades humanas sino también en acuarios e instalaciones de acuicultura donde las bombas de aeración y burbujas producen ruido significativo de manera continua y de baja frecuencia (Bart et al., 2001; Smith et al., 2004). Por lo que, a pesar de que los peces provienen de condiciones naturales, existe la posibilidad de que se hayan adecuado al ruido blanco producido por las bombas de oxigenación, debido a su exposición continua durante su estancia en el laboratorio.

Aunque no se observaron efectos sobre la calidad espermática, la investigación paralela sobre los efectos en el comportamiento sexual de los mismos individuos reveló un aumento significativo en el esfuerzo reproductivo, y la frecuencia de cópulas forzadas (Zavala-Rodríguez, 2024). Si bien este no es un efecto negativo, demuestra que la exposición a ruido blanco tiene un efecto sobre el comportamiento sexual de los guppies.

En resumen, nuestros resultados, aunque inesperados, proporcionan una contribución a la literatura sobre los efectos del ruido en la reproducción de los organismos acuáticos, específicamente en la calidad espermática de los peces. Sin embargo, se necesitan estudios adicionales para comprender completamente los mecanismos subyacentes y las implicaciones prácticas de estos hallazgos, integrando pruebas bioquímicas para saber la implicación de las hormonas y dar un mayor sustento a los resultados obtenidos.

Conclusiones

Se demostró en condiciones de laboratorio que la exposición de los guppies *Poecilia reticulata* a un factor acústico estresante, el ruido blanco intermitente, afecta los parámetros de la calidad espermática de la siguiente manera:

- Los guppies machos tienden a disminuir el número de paquetes espermáticos en presencia de ruido blanco, sin embargo, esta disminución no es estadísticamente significativa.
- La exposición a ruido blanco no tiene efectos sobre la movilidad de los espermatozoides de guppy.
- La exposición a ruido blanco no tiene efectos sobre la viabilidad de los espermatozoides.
- La exposición intermitente a ruido blanco tiende a disminuir la cantidad de espermatozoides por eyaculado, sin embargo, esta disminución no es estadísticamente significativa.
- La exposición intermitente a ruido blanco no tiene efectos sobre la integridad del ADN en los espermatozoides.
- La calidad espermática de los individuos antes y después de la exposición a ruido no presenta diferencias significativas.
- La calidad espermática entre los individuos expuestos a ruido y los individuos del grupo control no presenta diferencias significativas.

Por lo que concluimos que el ruido no tuvo efectos en los parámetros de calidad espermática analizados en este tipo de pez expuesto al tratamiento durante 4 días.

Referencias bibliográficas

- Bart, A. N., Clark, J., Young, J., & Zohar, Y. (2001). Underwater ambient noise measurements in aquaculture systems: a survey. *Aquacultural Engineering*, 25(2), 99–110. [https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(01\)00074-7](https://doi.org/10.1016/S0144-8609(01)00074-7)
- Bassi, A., Love, O. P., Cooke, S. J., Warriner, T. R., Harris, C. M., & Madliger, C. L. (2022). Effects of artificial light at night on fishes: A synthesis with future research priorities. *Fish and Fisheries*, 23(3), 631–647. <https://doi.org/10.1111/faf.12638>
- Billard, R. (1978). Changes in structure and fertilizing ability of marine and freshwater fish spermatozoa diluted in media of various salinities. *Aquaculture*, 14(1978), 187–198.
- Billard, R. (1986). Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species.
- Billard, R., & Cosson, M.-P. (2019). The energetics of fish sperm motility. In Gagnon Claude (Ed.), *Controls of Sperm Motility Biological and Clinical Aspects* (pp. 154–170). <https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=cTf3DwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA1&dq=Controls+of+sperm+motility:+biological+and+clinical+aspects&ots=ertrnKgB2dJ&sig=wnAKY8-JCMQj9O9DXzgKZWqNGbw#v=onepage&q&f=false>
- Billard, R., & Escaffre, A.-M. (1969). La spermatogénèse de *Poecilia reticulata*. I - Estimation du nombre de générations goniales et rendement de la spermatogénèse. *Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique*, 9, 251–271. <https://doi.org/10.1051/rnd:19690208>
- Bobe, J., & Labbé, C. (2010). Egg and sperm quality in fish. *General and Comparative Endocrinology*, 165(3), 535–548. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.02.011>
- Bozynski, C. C., & Liley, N. R. (2003). The effect of female presence on spermiation, and of male sexual activity on “ready” sperm in the male guppy. *Animal Behaviour*, 65(1), 53–58. <https://doi.org/10.1006/anbe.2002.2024>
- Cabrita, E., Ma, S., Diogo, P., Martínez-Páramo, S., Sarasquete, C., & Dinis, M. T. (2011). The influence of certain aminoacids and vitamins on post-thaw fish sperm motility, viability and DNA fragmentation. *Animal Reproduction Science*, 125(1–4), 189–195. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2011.03.003>

- Cattelan, S., Evans, J. P., Garcia-Gonzalez, F., Morbiato, E., & Pilastro, A. (2020). Dietary stress increases the total opportunity for sexual selection and modifies selection on condition-dependent traits. In *Ecology Letters* (Vol. 23, Issue 3, pp. 447–456). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/ele.13443>
- Chamkori, A., Shariati, M., Moshtaghi, D., & Farzadinia, P. (2016). Effect of Noise Pollution on the Hormonal and Semen Analysis Parameters in Industrial Workers of Bushehr, Iran. *Crescent Journal of Medical and Biological Sciences*, 3, 45–50.
- Chandralekha, G., & Jeganath, C. (2007). Noise exposure effect on testicular histology, morfology and on male steroidogenic hormone.
- Chandralekha, G., Jeganathan, R., & Charan, J. (2007). Influence of stress on sperm analysis steroidogenic hormone, a confocal study. *The Malaysian Journal of Medical Sciences*, 14.
- Choe, S. A., Kim, S., Im, C., Kim, S. Y., Kim, Y. S., Yoon, T. K., & Kim, D. K. (2020). Nighttime environmental noise and semen quality: A single fertility center cohort study. *PLoS ONE*, 15(11 November), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240689>
- Cox, K., Brennan, L. P., Gerwing, T. G., Dudas, S. E., & Juanes, F. (2018). Sound the alarm: A meta-analysis on the effect of aquatic noise on fish behavior and physiology. *Global Change Biology*, 24(7), 3105–3116. <https://doi.org/10.1111/gcb.14106>
- Cunha, L., Geraldo, A., Silva, V., Cardoso, M., Tamajusuku, A., & Hoshiba, M. (2015). Clove oil as anesthetic for guppy. *Boletim Do Instituto de Pesca*, 41, 729–735. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2015v41nep729>
- de Jong, K., Forland, T. N., Amorim, M. C. P., Rieucan, G., Slabbekoorn, H., & Sivle, L. D. (2020). Predicting the effects of anthropogenic noise on fish reproduction. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 30(2), 245–268. <https://doi.org/10.1007/s11160-020-09598-9>
- Denslow, N., & Sepúlveda, M. (2007). Ecotoxicological effects of endocrine disrupting compounds on fish reproduction. In P. J. Babin, J. Cerdá, & E. Lubzens (Eds.), *The Fish Oocyte: From Basic Studies to Biotechnological Applications* (pp. 255–322).

- Devigili, A., Evans, J. P., & Fitzpatrick, J. L. (2019). Predation shapes sperm performance surfaces in guppies. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 286(1905). <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.0869>
- Ellis, E. C., Wang, H., Xiao, H. S., Peng, K., Liu, X. P., Li, S. C., Ouyang, H., Cheng, X., & Yang, L. Z. (2006). Measuring long-term ecological changes in densely populated landscapes using current and historical high resolution imagery. *Remote Sensing of Environment*, 100(4), 457–473. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.rse.2005.11.002>
- Engel, K. M., Dzyuba, V., Ninhaus-silveira, A., Veríssimo-silveira, R., Dannenberger, D., Schiller, J., Steinbach, C., & Dzyuba, B. (2020). Sperm lipid composition in early diverged fish species: Internal vs. external mode of fertilization. *Biomolecules*, 10(2). <https://doi.org/10.3390/biom10020172>
- EPA. (2023, March 1). Clean Air Act Title IV - Noise Pollution. <https://www.epa.gov/clean-air-act-overview/clean-air-act-title-iv-noise-pollution>
- Evans, J. P., Turnbull, E. J., & Lymbery, R. A. (2023). Testing for age-dependent effects of dietary restriction on the strength of condition dependence in ejaculate traits in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Royal Society Open Science*, 10(8), 230805. <https://doi.org/10.1098/rsos.230805>
- Faria, A., Fonseca, P. J., Vieira, M., Alves, L. M. F., Lemos, M. F. L., Novais, S. C., Matos, A. B., Vieira, D., & Amorim, M. C. P. (2022). Boat noise impacts early life stages in the Lusitanian toadfish: A field experiment. *Science of The Total Environment*, 811, 151367. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151367>
- Farzadinia, P., Bigdeli, M., Akbarzadeh, S., Mohammadi, M., Daneshi, A., & Bargahi, A. (2016). Effect of noise pollution on testicular tissue and hormonal assessment in rat. *Andrologia*, 48(9), 869–873. <https://doi.org/10.1111/and.12524>
- Fay, R. R., & Popper, A. N. (1974). Acoustic Stimulation of the Ear of the Goldfish (*Carassius Auratus*). *Journal of Experimental Biology*, 61(1), 243–260. <https://doi.org/10.1242/jeb.61.1.243>
- Finneran, J. J. (2015). Noise-induced hearing loss in marine mammals: A review of temporary threshold shift studies from 1996 to 2015. *The Journal of the*

- Acoustical Society of America, 138(3), 1702–1726.
<https://doi.org/10.1121/1.4927418>
- Frisk, G. V. (2012). Noiseconomics: The relationship between ambient noise levels in the sea and global economic trends. *Scientific Reports*, 2(1), 437.
<https://doi.org/10.1038/srep00437>
- Fuzzen, M. L. M., Bernier, N. J., & Van Der Kraak, G. (2011). Differential effects of 17 β -estradiol and 11-ketotestosterone on the endocrine stress response in zebrafish (*Danio rerio*). *General and Comparative Endocrinology*, 170(2), 365–373. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2010.10.014>
- Gage, M. J. G., Stockley, P., & Parker, G. A. (1997). Effects of alternative male mating strategies on characteristics of sperm production in the Atlantic salmon (*Salmo salar*): theoretical and empirical investigations. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 350(1334), 391–399. <https://doi.org/10.1098/rstb.1995.0173>
- Gallo, A., & Tosti, E. (2019). Effects of ecosystem stress on reproduction and development. *Molecular Reproduction and Development*, 86(10), 1269–1272. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/mrd.23169>
- Gárriz, Á., & Miranda, L. A. (2020). Effects of metals on sperm quality, fertilization and hatching rates, and embryo and larval survival of pejerrey fish (*Odontesthes bonariensis*). *Ecotoxicology*, 29(7), 1072–1082. <https://doi.org/10.1007/s10646-020-02245-w>
- Gasparini, C., Devigili, A., Dosselli, R., & Pilastro, A. (2013). Pattern of inbreeding depression, condition dependence, and additive genetic variance in Trinidadian guppy ejaculate traits. *Ecology and Evolution*, 3(15), 4940–4953. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ece3.870>
- Gasparini, C., Marino, I. A. M., Boschetto, C., & Pilastro, A. (2010). Effect of male age on sperm traits and sperm competition success in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Journal of Evolutionary Biology*, 23(1), 124–135. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2009.01889.x>
- Gasparini, C., Peretti, A. V., & Pilastro, A. (2009). Female presence influences sperm velocity in the guppy. *Biology Letters*, 5(6), 792–794. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2009.0413>

- Ghanbari, M., Mortazavi, S. B., Khavanin, A., & Khazaei, M. (2013). Simultaneous Effects of Exposure to Microwaves and Noise on Male Rats' Sperm Parameters and Total Antioxidant Capacity. *Health Scope*, 1(4).
<https://doi.org/10.5812/jhs.8230>
- Green, A., Barak, S., Shine, L., Kahane, A., & Dagan, Y. (2020). Exposure by males to light emitted from media devices at night is linked with decline of sperm quality and correlated with sleep quality measures. *Chronobiology International*, 37(3), 414–424. <https://doi.org/10.1080/07420528.2020.1727918>
- Guevara-Fiore, P., Stapley, J., Krause, J., Ramnarine, I. W., & Watt, P. J. (2010). Male mate-searching strategies and female cues: how do male guppies find receptive females? *Animal Behaviour*, 79(6), 1191–1197.
<https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2010.02.027>
- Hajirezaee, S., Amiri, M., & Mirvaghefi, A. (2010). Fish milt quality and major factors influencing the milt quality parameters: A review. *African Journal of Biotechnology*, 9(54), 9148–9154. <http://www.academicjournals.org/AJB>
- Harayashiki, C. A. Y., Junior, A. S. V., Machado, A. A. de S., Cabrera, L. da C., Primel, E. G., Bianchini, A., & Corcini, C. D. (2013). Toxic effects of the herbicide Roundup in the guppy *Poecilia vivipara* acclimated to fresh water. *Aquatic Toxicology*, 142–143, 176–184.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.08.006>
- Hatef, A., Alavi, S. M. H., Golshan, M., & Linhart, O. (2013). Toxicity of environmental contaminants to fish spermatozoa function in vitro-A review. In *Aquatic Toxicology* (Vols. 140–141, pp. 134–144).
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.05.016>
- Houde, A. E. (1997). The Guppy as a Model System. In *Sex, Color, and Mate Choice in Guppies* (Vol. 71, pp. 3–28). Princeton University Press.
<https://doi.org/10.2307/j.ctvs32rtk.4>
- Ito, T., Kinoshita, I., Tahara, D., Goto, A., Tojima, S., Sideleva, V. G., Kupchinsky, A. B., & Awata, S. (2021). Fertilization modes drive the evolution of sperm traits in Baikal sculpins. *Journal of Zoology*, 314(1), 20–30.
<https://doi.org/10.1111/jzo.12867>

- Jalali, M., Saki, G., Sarkaki, A., Karami, K., & Nasri, S. (2012). Effect of noise stress on count, progressive and non-progressive sperm motility, body and genital organ weights of adult male rats. *Journal of Human Reproductive Sciences*, 5(1), 48–51. <https://doi.org/10.4103/0974-1208.97801>
- Jurewicz, J., Radwan, M., Sobala, W., Radwan, P., Bochenek, M., & Hanke, W. (2014). Effects of occupational exposure - Is there a link between exposure based on an occupational questionnaire and semen quality. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 60(4), 227–233. <https://doi.org/10.3109/19396368.2014.907837>
- Kaiser, K., Devito, J., Jones, C. G., Marentes, A., Perez, R., Umeh, L., Weickum, R. M., McGovern, K. E., Wilson, E. H., & Saltzman, W. (2015). Effects of anthropogenic noise on endocrine and reproductive function in White's treefrog, *Litoria caerulea*. *Conservation Physiology*, 3(1), 1–8. <https://doi.org/10.1093/conphys/cou061>
- Kaiser, K., & Hammers, J. (2009). The effect of anthropogenic noise on male advertisement call rate in the neotropical treefrog, *Dendropsophus triangulum*. *Behaviour*, 146(8), 1053–1069. <https://doi.org/https://doi.org/10.1163/156853909X404457>
- Kaiser, K., Scofield, D. G., Alloush, M., Jones, R. M., Marczak, S., Martineau, K., Oliva, M. A., & Narins, P. M. (2011). When sounds collide: the effect of anthropogenic noise on a breeding assemblage of frogs in Belize, Central America. *Behaviour*, 148(2), 215–232. <http://www.jstor.org/stable/25799807>
- Kerekes, F., Kollár, T., Gazsi, G., Kása, E., Urbányi, B., Csenki-Bakos, Z., & Horváth, Á. (2020). Investigation of Fertilizing Capacity of Zebrafish (*Danio rerio*) Sperm Exposed to Heavy Metals. *Dose-Response*, 18(2). <https://doi.org/10.1177/1559325820919597>
- Khavanin, A., Mazaheri, Z., Khajehnasiri, F., & Nadri, F. (2018). The Effect of Noise Stress on Adult Male Rat Sperm Parameters and the Protective Effect of Hydroalcoholic *Cinnamomum verum* Extract: An Experimental Study. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, In Press(In Press). <https://doi.org/10.5812/ircmj.69779>

- Krause, B. (1987, December). Bio-Acoustics: Habitat Ambience in Ecological Balance. *Whole Earth Review*, 14–15.
- Krause, B. (1993). The niche hypothesis.
<https://www.researchgate.net/publication/295609070>
- Krause, B. (2016). *Wild soundscapes: discovering the voice of the natural world*. Yale University Press.
- Leatherland, J. F., Li, M., & Barkataki, S. (2010). Stressors, glucocorticoids and ovarian function in teleosts. *Journal of Fish Biology*, 76(1), 86–111.
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2009.02514.x>
- López-Hernández, J. C., Osorio-Pérez, A., Jiménez-Félix, S. A., Páramo-Delgadillo, S., Márquez-Couturier, G., Yasui, G. S., & Arias-Rodríguez, L. (2018). Artículo de Revisión: La calidad espermática en peces y los métodos de evaluación. *Rev. Mar. Cost. ESSN 1659-407X*, 10(1), 67–96.
<https://doi.org/10.15359/revmar.10-1.5>
- Lushchak, V. I. (2016). Contaminant-induced oxidative stress in fish: a mechanistic approach. *Fish Physiology and Biochemistry*, 42(2), 711–747.
<https://doi.org/10.1007/s10695-015-0171-5>
- Macartney, E. L., Crean, A. J., Nakagawa, S., & Bonduriansky, R. (2019). Effects of nutrient limitation on sperm and seminal fluid: a systematic review and meta-analysis. *Biological Reviews*, 94(5), 1722–1739.
<https://doi.org/10.1111/brv.12524>
- Magris, M., Zanata, I., Rizzi, S., Cattelan, S., & Pilastro, A. (2020). Trade-offs of strategic sperm adjustments and their consequences under phenotype–environment mismatches in guppies. *Animal Behaviour*, 166, 171–181.
<https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2020.06.016>
- Magurran, A. E. (2005). *Evolutionary Ecology: the Trinidadian guppy* (1st ed.). OXFORD.
- Magurran, A. E., & Seghers, B. H. (1994). Sexual Conflict as a Consequence of Ecology: Evidence from Guppy, *Poecilia reticulata*, Populations in Trinidad. *Proceedings: Biological Sciences*, 255(1342), 31–36.
<http://www.jstor.org/stable/49835>

- Martin, L. B., Andreassi, E., Watson, W., & Coon, C. (2011). Stress and Animal Health: Physiological Mechanisms and Ecological Consequences. *Nature Education Knowledge*, 3(6)-11.
- Martin, L. B., Hopkins, W. A., Mydlarz, L. D., & Rohr, J. R. (2010). The effects of anthropogenic global changes on immune functions and disease resistance. In *Annals of the New York Academy of Sciences* (Vol. 1195, pp. 129–148). Blackwell Publishing Inc. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05454.x>
- Mcbride, R. S., Somarakis, S., Fitzhugh, G. R., Albert, A., Yaragina, N. A., Wuenschel, M. J., Alonso-Fernández, A., & Basilone, G. (2015). Energy acquisition and allocation to egg production in relation to fish reproductive strategies. *Fish and Fisheries*, 16(1), 23–57. <https://doi.org/10.1111/faf.12043>
- Mingoti, G. Z., Pereira, R. N., & Monteiro, C. M. R. (2003). Fertility of male adult rats submitted to forced swimming stress. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 36(5), 677–682. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2003000500016>
- Morbiato, E., Cattelan, S., & Pilastro, A. (2023). Population-level food availability affects postcopulatory sexual selection dynamics in the guppy. *Functional Ecology*, 37(10), 2748–2759. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1365-2435.14412>
- Morbiato, E., Cattelan, S., Pilastro, A., & Grapputo, A. (2023). Sperm production is negatively associated with muscle and sperm telomere length in a species subjected to strong sperm competition. *Molecular Ecology*, 32(21), 5812–5822. <https://doi.org/10.1111/mec.17158>
- Nakagawa, S., & Cuthill, I. C. (2007). Effect size, confidence interval and statistical significance: a practical guide for biologists. *Biological Reviews*, 82(4), 591–605. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2007.00027.x>
- Nawrot, P. S., Cook, R. O., & Hamm, C. W. (1981). Embryotoxicity of broadband high-frequency noise in the CD-1 mouse. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 8(1–2), 151–157. <https://doi.org/10.1080/15287398109530059>
- Neenan, S. T. V., Piper, R., White, P. R., Kemp, P., Leighton, T. G., & Shaw, P. J. (2016). Does masking matter? Shipping noise and fish vocalizations. In

- Advances in Experimental Medicine and Biology (Vol. 875, pp. 747–753). Springer New York LLC. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2981-8_91
- Obomsawin, A. P., Mastromonaco, G. F., & Leonard, M. L. (2021). Chronic noise exposure has context-dependent effects on stress physiology in nestling Tree Swallows (*Tachycineta bicolor*). *General and Comparative Endocrinology*, 311(March), 113834. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2021.113834>
- Oliva, M., De Marchi, L., Cuccaro, A., Fumagalli, G., Freitas, R., Fontana, N., Raugi, M., Barmada, S., & Pretti, C. (2023). Introducing energy into marine environments: A lab-scale static magnetic field submarine cable simulation and its effects on sperm and larval development on a reef forming serpulid. *Environmental Pollution*, 328. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121625>
- Parker, G. A. (1970). Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects.
- Pauletto, M., Cattelan, S., Pilastro, A., Babbucci, M., Bargelloni, L., & Gasparini, C. (2020). Molecular insights into post-mating immune response in a fish with internal fertilization. *Journal of Evolutionary Biology*, 33(6), 751–761. <https://doi.org/10.1111/JEB.13614>
- Popper, A. N., Fewtrell, J., Smith, M. E., & McCauley, R. D. (2003). Anthropogenic Sound: Effects on the Behavior and Physiology of Fishes. *Marine Technology Society Journal*, 37(4), 35–40. <https://doi.org/10.4031/002533203787537050>
- Popper, A. N., & Hawkins, A. (Eds.). (2016). *The Effects of Noise on Aquatic Life II* (Vol. 875). Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2981-8>
- Pramanik, P., & Biswas, S. (2012). Traffic Noise: A Silent Killer of Male Gamete of Albino Rats. *Al Ameen Journal of Medical Science*, 5, 82–89.
- Pu, X., Wang, Z., & Klaunig, J. E. (2015). Alkaline Comet Assay for Assessing DNA Damage in Individual Cells. *Current Protocols in Toxicology*, 65(1), 3.12.1-3.12.11. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/0471140856.tx0312s65>
- Quintero Marmol, S. (2022). Impacto de los contaminantes en la calidad espermática de los peces: revisión sistemática y meta-análisis [Tesis de Maestría]. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

- R Core Team. (2023). A Language and Environment for Statistical Computing (4.3.1). R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
- Ristovska, G., Laszlo, H., & Hansell, A. (2014). Reproductive Outcomes Associated with Noise Exposure: A Systematic Review of the Literature. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(8), 7931–7952. <https://doi.org/10.3390/ijerph110807931>
- Rivier, C., & Rivest, S. (1991). Effect of Stress on the Activity of the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis: Peripheral and Central Mechanisms¹. *Biology of Reproduction*, 45(4), 523–532. <https://doi.org/10.1095/biolreprod45.4.523>
- Rodríguez-Rey, A., Noris-García, E., & Fundora Torres, M. T. (2016). Revista cubana de investigaciones biomédicas. In *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas* (Vol. 35, Issue 2). Editorial Ciencias Médicas. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002016000200007&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Rurangwa, E., Biegniewska, A., Slominska, E., Skorkowski, E. F., & Ollevier, F. (2002). Effect of tributyltin on adenylate content and enzyme activities of teleost sperm: a biochemical approach to study the mechanisms of toxicant reduced spermatozoa motility. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 131(3), 335–344. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(02\)00019-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1532-0456(02)00019-4)
- Schulz-Mirbach, T., Ladich, F., Riesch, R., & Plath, M. (2010). Otolith morphology and hearing abilities in cave- and surface-dwelling ecotypes of the Atlantic molly, *Poecilia mexicana* (Teleostei: Poeciliidae). *Hearing Research*, 267(1–2), 137–148. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2010.04.001>
- Sebastianutto, L., Stocker, M., & Picciulin, M. (2016). Communicating the Issue of Underwater Noise Pollution: The Deaf as a Fish Project. In A. N. Popper & A. Hawkins (Eds.), *The Effects of Noise on Aquatic Life II* (pp. 993–999). Springer New York.
- Silveira, C. R., Varela Junior, A. S., Corcini, C. D., Soares, S. L., Anciuti, A. N., Kütter, M. T., & Martínez, P. E. (2019). Effects of Bisphenol A on redox balance in red blood and sperm cells and spermatid quality in zebrafish *Danio rerio*. *Ecotoxicology*, 28(8), 913–922. <https://doi.org/10.1007/s10646-019-02091-5>

- Smith, M. E., Kane, A. S., & Popper, A. N. (2004). Noise-induced stress response and hearing loss in goldfish (*Carassius auratus*). *Journal of Experimental Biology*, 207(3), 427–435. <https://doi.org/10.1242/jeb.00755>
- Tanyeri, O. S., & Yüce, A. (2019). Ratlarda Farklı Şiddetlerdeki Gürültünün Oksidatif Stres Parametreleri ve Sperm Kalitesi Üzerine Etkisi. 33(1), 15–18.
- Tomkins, J. L., & Hazel, W. (2007). The status of the conditional evolutionarily stable strategy. *Trends in Ecology and Evolution*, 22(10), 522–528. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2007.09.002>
- Tomkins, J. L., Radwan, J., Kotiaho, J. S., & Tregenza, T. (2004). Genic capture and resolving the lek paradox. *Trends in Ecology & Evolution*, 19(6), 323–328. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tree.2004.03.029>
- United States of America's Government. (2013). Noise abatement. *The Public Health and Welfare - Air Pollution Prevention and Control*, Art. 2585. <https://www.govinfo.gov/content/pkg/USCODE-2013-title42/html/USCODE-2013-title42-chap85-subchapIV-sec7641.htm>
- Vosoughi, S., Khavanin, A., Salehnia, M., Mahabadi, H. A., Shahverdi, A., & Esmaeili, V. (2011). Adverse Effects of Formaldehyde Vapor on Mouse Sperm Parameters and Testicular Tissue. <http://compdent.uthscsa.edu/dig/it->
- Vosoughi, S., Khavanin, A., Salehnia, M., Mahabadi, H. A., & Soleimanian, A. (2012). Effects of Simultaneous Exposure to Formaldehyde Vapor and Noise on Mouse Testicular Tissue and Sperm Parameters. *Health Scope*, 1(3), 110–117. <https://doi.org/10.17795/jhealthscope-7973>
- Wallace, R. A., & Selman, K. (1990). Ultrastructural Aspects of Oogenesis and Oocyte Growth in Fish and Amphibians. In *JOURNAL OF ELECTRON MICROSCOPY TECHNIQUE* (Vol. 16).
- WHO. (2021). WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen (6°).
- Wingfield, J. C., Maney, D. L., Breuner, C. W., Jacobs, J. D., Lynn, S., Ramenofsky, M., & Richardson, R. D. (1998). Ecological Bases of Hormone—Behavior Interactions: The “Emergency Life History Stage”¹. *American Zoologist*, 38(1), 191–206. <https://doi.org/10.1093/icb/38.1.191>

- Wootton, R. J., & Smith, C. (2014). Environmental control of reproduction. In *Reproductive Biology of Teleost Fishes* (pp. 127–157).
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9781118891360.ch6>
- Xia, J., & Niu, C. (2017). Acute toxicity effects of perfluorooctane sulfonate on sperm vitality, kinematics and fertilization success in zebrafish. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 35(4), 723–728. <https://doi.org/10.1007/s00343-017-6086-5>
- Zar, J. (1996). *Biostatistical analysis* (Prentice Hall, Ed.).
- Zavala-Rodríguez, X. (2024). Effects of acoustic pollution on the sexual behaviour of male guppies (*Poecilia reticulata*) [Tesis de licenciatura]. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Anexo 1

Gráficas de sonido

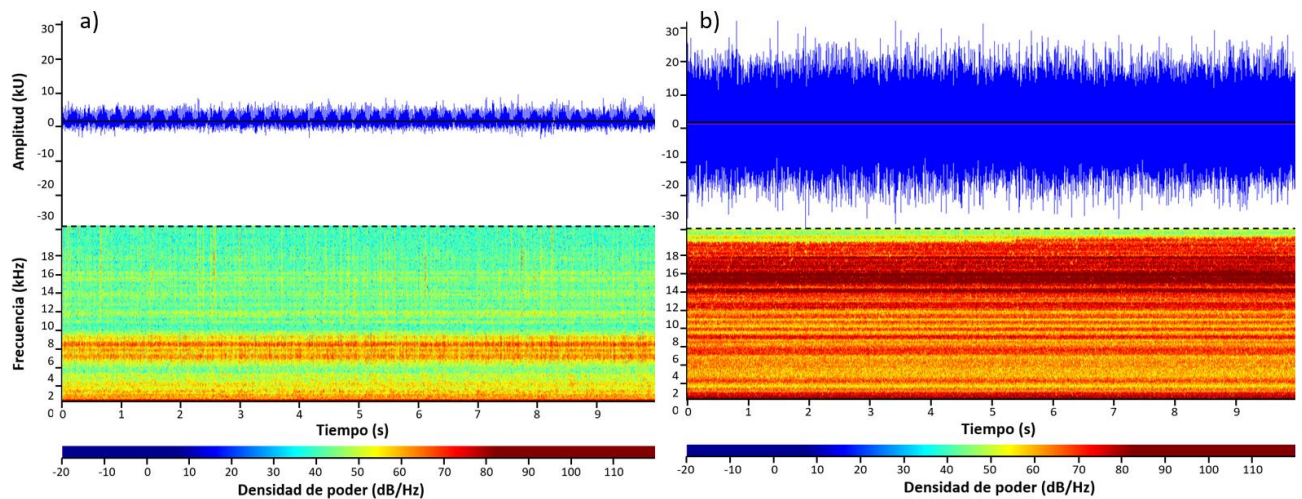


Figura 14. Espectrograma control (a) vs ruido (b), se observa una mayor amplitud, así como una mayor frecuencia en la gráfica correspondiente a ruido. Gráfica modificada de Zavala-Rodríguez (2024).

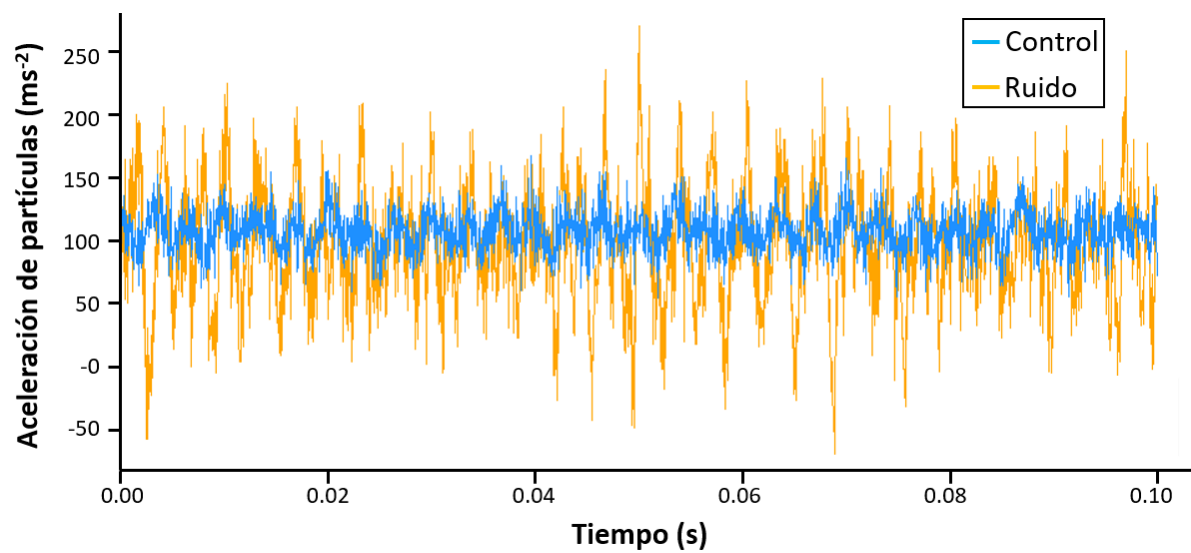


Figura 15. Comparación entre la aceleración de partículas en los tanques control vs tanques donde se aplicó ruido. Gráfica modificada de Zavala-Rodríguez (2024)

Anexo 2

Soluciones ensayo cometa

Agarosa

0.4%	0.1 g
1%	100

Buffer de lisis 1 L pH 10

NaCl	2.5 M	146.1 g
EDTA	100 mM	38.02 g
Tris HCL	10 mM	1576
DMSO	10%	100 mL
DTT	10 mM	1542 mg
Tritón	1%	19 mL

Tris 0.4 M 1L pH 7.5

Tris HCL	0.4 M	75.04
----------	-------	-------

Solución TAE 10X 1L

Tris	40 Mm	48.4 g
Ácido acético	200 mM	11.42 mL
Na ₂ EDTA2H ₂ O	2 mM	7.44 g
dH ₂ O		1 L

Nota: A partir de la solución TAE 10 X, realizó una disolución 1:10 con la finalidad de obtener TAE 1X (60 mL de TAE 10X aforados con 540 mL de agua destilada).

Colorante 10 mL

Anaranjado de acridina	1 mg/mL
------------------------	---------

Nota: Partiendo de esta solución, se realizó una dilución 1:50 de agua destilada para obtener un volumen de 5 mL (0.1 mL de solución de trabajo de anaranjado de acridina en 4.90 mL de agua destilada).

Anexo 3

Constancias de participación en congresos y divulgación. Café científico de la semana de la Biología 2024, BUAP



BUAP

La Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

A través del Círculo Infantil
otorga el presente

RECONOCIMIENTO

A: **Tanya Karen López Flores**

Por su participación en el evento: **"Semana de la Ciencia en el CI 2023"**
impartiendo el **"Taller de Peces Vivíparos"**
en el que participaron entusiastas todos los alumnos y alumnas de las
secciones lactante, maternal y preescolar.

"Pensar bien, para vivir mejor"
H. Puebla de Z., a 15 de febrero de 2023

Mra. Margarita Trujillo Landa
Directora



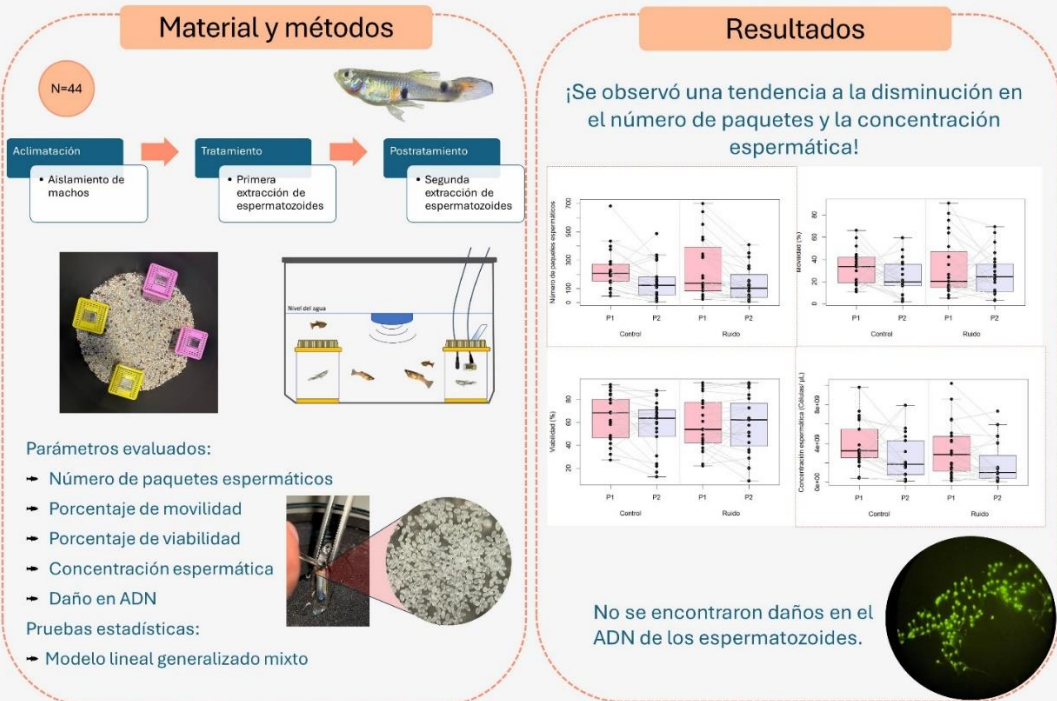
¿El ruido afecta la calidad espermática?

Efecto de los estresantes acústicos sobre la calidad espermática en guppies (*Poecilia reticulata*)

Tanya Karen López Flores, Rosalina María de Lourdes Reyes Luna, Palestina Guevara Fiore
Laboratorio de Ecología Evolutiva, Facultad de Ciencias Biológicas

El constante crecimiento de la urbanización trae consigo la introducción de contaminantes, dentro de los menos estudiados se encuentra el ruido, que genera estrés en animales con posibles efectos en la reproducción.

¿La exposición intermitente a ruido blanco afecta la calidad espermática en peces guppy?



Conclusión: Si bien los resultados no fueron significativos, este experimento proporciona datos importantes sobre como el ruido puede afectar la calidad espermática en guppies que pueden ser explorados en futuras investigaciones.





Agradecimientos especiales a Ximena Zavala, Zaira Zambrano y Anely Meléndez, así como a los integrantes del Laboratorio Ecología Evolutiva y el Laboratorio de Biología de la Reproducción de la BUAP.





BUAP



Facultad de Ciencias Biológicas
BUAP

La Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

A través de la Facultad de Ciencias Biológicas
otorga la presente

CONSTANCIA

A: Tanya Karen López Flores

Por su participación en el **Café Científico** presentando el Proyecto:
**"¿El ruido afecta la calidad espermática?: Efecto de los estresantes acústicos sobre la
 calidad espermática en guppies (Poecilia reticulata)"**
 en el Marco de la Celebración de la Semana de la Biología 2024 el día 25 de enero del 2024,
 de 15:30 a 16:30 hrs, de manera presencial.

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

"Pensar bien, para vivir mejor"

H. Puebla de Z., a 25 de enero del 2024

Simposio "Ecología y conducta en ambientes antropizados"



SicP

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y POSGRADO

CENTRO TLAXCALA DE BIOLOGÍA DE LA CONDUCTA.



OTORGA LA PRESENTE

CONSTANCIA A:

Tanya Karen López Flores

POR SU ASISTENCIA

AL 4to. SIMPOSIO "ECOLOGÍA Y CONDUCTA EN AMBIENTES ANTROPIZADOS"

ORGANIZADO POR EL CUERPO ACADÉMICO DE
 "ECOLOGÍA Y CONDUCTA ANIMAL EN AMBIENTES NATURALES Y ANTROPIZADOS"

"POR LA CULTURA A LA JUSTICIA SOCIAL"
 TLAXCALA, TLAX., a 03 DE MAYO DE 2023

Ma. de L. Artega C.

Dra. María de Lourdes Artega Castañeda
 Coordinadora General del
 Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta

Maria Luisa Rodriguez

Dra. María Luisa Rodríguez Martínez
 Líder del Cuerpo Académico

CTBC/23-1/143MLRM

International course: Biological Bases of Behavior

¿Cómo afecta la contaminación acústica al comportamiento sexual y a la calidad espermática de los guppies machos (*Poecilia reticulata*)?

Tanya Karen López Flores¹, Ximena Zavala Rodríguez¹, Alejandro Ríos Chelén²,
Rosalina Reyes Luna³, Felipe Pacheco Vázquez⁴, Palestina Guevara-Fiore¹

¹ Laboratorio de Ecología Evolutiva, Facultad de Ciencias Biológicas, BUAP; ² Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, UATX;
³ Facultad de Ciencias Biológicas, BUAP; ⁴ Instituto de Física, BUAP

El ruido antropogénico es uno de los contaminantes menos estudiados que actúa como estresor para los organismos, causando alteraciones a nivel conductual y fisiológico.

TRATAMIENTOS (n=20 c/u):

1) CONTROL 1500-4000 Hz Frecuencias fuera del umbral de audición del guppy

2) RUIDO 100-500 Hz Ruido blanco de baja frecuencia audible para el guppy

RASGOS A EVALUAR:
Se medirán antes y después del tratamiento (30 días)

Comportamiento sexual:

- 1) Latencia 1er comportamiento
- 2) Cortejo
- 3) Intentos de cópula forzada
- 4) Balanceo de gonopodio
- 5) Mordidas

Calidad espermática:

- 1) Movilidad
- 2) Vitalidad
- 3) Concentración
- 4) Fragmentación de ADN

Predecimos que los machos que serán sometidos al tratamiento de ruido mostrarán una **disminución** tanto en el esfuerzo de apareamiento como en la selectividad de pareja, así como una **disminución** en los parámetros de calidad espermática.

XXVII
INTERNATIONAL COURSE
Biological Bases of Behavior

SE OTORGA LA PRESENTE CONSTANCIA A:

Tanya Karen López Flores

Por su asistencia al curso del 7 al 9 de diciembre del 2022,
en la ENES Morelia, UNAM (duración 30 horas)

DR. JORGE CONTRERAS GARDUÑO
Organizador

DR. LUIS FELIPE MENDOZA CUENCA
Organizador

Imagen:
Anatomy Ambystoma Mexicanum
Alexander V. Humboldt / Zoologie

27 AÑOS



