

UN COLOIDE DE BAJA DENSIDAD PARA LA PREPARACIÓN DE DOSIS SEMINALES EN PORCINO MEJORA EL ESTADO DE LA CROMATINA

Lacalle¹, E., Montanari^{1,4}, E., Fernández-Alegre³, E., Quintela¹, I., Morrell⁵, J. y Martínez-Pastor^{1,2}, F. ¹INDEGSAL y ²Dept. Biología Molecular (Biología Celular), Universidad de León, León, España; ³Bianor Biotech, León, España; ⁴Universidad de Bolonia, Bolonia, Italia; ⁵Universidad de Ciencias Agrícolas de Suecia; elacf@unileon.es

INTRODUCCIÓN

La industria porcina está sometida a gran presión para incrementar su eficiencia manteniendo los costes bajos. La inseminación artificial (IA) es una técnica clave para la producción porcina, y un punto crítico en el que se pueden alcanzar mejoras sustanciales. La centrifugación en una sola capa (SLC) con un coloide de baja densidad elimina las bacterias, evitando el uso de antibióticos (Morrell *et al.*, 2019), e incluso mejorando la conservación seminal. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto en la cromatina espermática de la conservación refrigerada tras SLC con coloide de baja densidad y tras inducir contaminación bacteriana.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se prepararon dosis seminales de 8 verracos (BTS sin antibióticos) en el centro de sementales Topigs-Norsvin de León (España). Se dividieron en: control (CTL0), control con inoculación de bacterias (CTL) y spiking más SLC (300xg, 20 min) con coloide Porcicol al 20% (P20) o 30% (P30). Todos los tratamientos se evaluaron ese día (D0) y después de 3 (D3) y 7 (D7) días de conservación a 17 °C, mediante citometría de flujo: SCSA (fragmentación de ADN, %DFI, e inmadurez de la cromatina, %HDS); nivel de puentes disulfuro entre protaminas (monobromobimano, mBBR); y retención de histonas (cromomicina A3, CMA3). Los efectos de SLC y el día se evaluaron usando modelos lineales de efectos mixtos (R; resultados como media±desv.est.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

SLC redujo la carga bacteriana (Martínez-Pastor *et al.*, 2021). Detectamos una interacción tratamiento×tiempo para %DFI. No hubo efecto en D0, pero en D3 ambos SLC redujeron %DFI (0,5%±0,4) respecto a CTL (2,3%±1,8; P<0,01), y CTL0 en D7 (0,7%±0,3; CTL0: 1,6%±0,6, P<0,001; CTL: 1,1%±0,2, P<0,01). El %HDS se redujo significativamente en SLC (3,2%±0,7, 4,8%±0,8 en controles, P<0,01), así como en D3 de conservación (3,6%±0,6, P<0,001 con D0 4,3%±0,6 y P<0,05 con D7 4,1%±0,5). La SLC podría seleccionar una población con cromatina más condensada, y a su vez la compactación de la cromatina durante el almacenamiento podría variar por la actividad peroxidasa (Hutchison *et al.*, 2017). El análisis de los puentes disulfuro confirmó una variación durante la incubación, pero en este caso hacia un incremento en D7 (40,3%±4,2, P<0,001 con D0 24,4%±5,6 y D3 24,1%±2,3), y la proporción de células con alto CMA3 fue también significativamente menor en D7 (5,9%±2,0, D0 7,6%±1,8, P<0,01) sugiriendo la acción de distintos mecanismos, posiblemente asociados a cambios en el balance redox, como sugieren otros autores (O'Flaherty *et al.*, 2012). Estas dos técnicas no detectaron que SLC modificase el patrón de la estructura de la cromatina espermática.

CONCLUSIÓN

La SLC con coloide baja densidad (20% y 30%) fue eficaz eliminando las bacterias de la muestra. Una consecuencia de ello podría ser la reducción del daño en el ADN durante el almacenamiento. Aunque el coloide de baja densidad no está diseñado para seleccionar espermatozoides, el efecto respecto a CTL0 en D7 y la falta de interacción en los efectos para mBBR y CMA3 sugieren que un efecto colateral positivo podría ser la eliminación de los espermatozoides más sensibles.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Hutchison, J.M. Biophys. J. 113: 1925-1933. • O'Flaherty, C.M. 2012. J. Androl. 33: 629-636. • Morrell, J.M. Theriogenology. 126: 272-278. • Martínez-Pastor, F. Theriogenology. 165: 28-36.

Agradecimientos: Topigs-Norsvin España, AIM (León), G. Rivas y M. Pérez. Financiado por RTI2018-095183-B-I00 (MCI/AEI/FEDER, EU) y LE023P2 (Junta de Castilla y León, Consejería de Educación/FEDER, EU).