

## INFLUENCIA DEL USO DE ANTIOXIDANTES ENZIMÁTICOS Y NO ENZIMÁTICOS EN LA REFRIGERACIÓN DE SEMEN DE PERDIZ ROJA (*A. RUFA*)

Toledano-Díaz<sup>1</sup>, A., Bernal<sup>2</sup>, B., Castaño<sup>1</sup>, C., Torres<sup>2</sup>, O., Velázquez<sup>1</sup>, R., Santiago-Moreno<sup>1</sup>, J., Esteso<sup>1</sup>, M.C. y Gil<sup>2</sup>, M.G.

<sup>1</sup>Dpto. Rep. Animal, INIA, 28040 Madrid; <sup>2</sup>Dpto. Mejora Genética Animal, INIA, 28040 Madrid; toledano@inia.es

### INTRODUCCIÓN

Uno de los factores que determinará el éxito de la inseminación artificial, como herramienta para difundir comportamientos que favorezcan la actividad cinética y la conservación de la perdiz roja, es la preservación del semen por refrigeración o congelación. Durante los procesos de almacenamiento espermático se produce un incremento de los radicales libres como las especies reactivas de oxígeno (ROS). El uso de aditivos con actividad antioxidante previene este estrés oxidativo (O'Flaherty *et al.*, 1997), pero en elevadas concentraciones pueden ser tóxicos o interferir en la capacidad fecundante de los espermatozoides (Aitken *et al.*, 1995). El objetivo del presente trabajo era evaluar los efectos en la calidad espermática de dos antioxidantes enzimáticos y dos no enzimáticos utilizados como aditivos en el diluyente de refrigeración de semen de perdiz.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Durante 8 semanas y en época reproductiva (mayo-junio), se recogió semen mediante la técnica de masaje dorso-ventral a 40 perdices, una vez por semana. Cada muestra seminal se diluyó 1:1 (v:v) con el diluyente de refrigeración Lake-Ravie84 suplementado con un antioxidante. Se seleccionaron dos antioxidantes no enzimáticos (Vitamina C y Butilhidroxitolueno (BHT)) y dos enzimáticos (Catalasa y Superóxido Dismutasa (SOD)) que se añadieron a 4 concentraciones diferentes: Catalasa y SOD a 0UI/ml, 100 UI/mL, 200 UI/mL y 300 UI/mL; Vitamina C y BHT a 0,0mM, 0,2 mM, 0,4 mM y 0,8 mM. Para cada concentración de cada antioxidante se recogieron 10 muestras seminales. Se valoró la calidad seminal en fresco y tras 6 horas de refrigeración a 5°C. Los parámetros de calidad evaluados fueron: viabilidad (IP/SYBR14; Bernal *et al.*, 2020) y motilidad (SCA. Santiago-Moreno *et al.*, 2015). Para el análisis estadístico (ANOVA Factorial,  $p < 0,05$ ) se utilizó el programa STATISTICA®.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No hubo una influencia de la interacción del tiempo de refrigeración, tipo de antioxidante y concentración sobre ninguna de las variables espermáticas. Sí se apreciaron ciertos efectos de algunos antioxidantes en función de su concentración. Así, se observó que la vitamina C disminuyó la viabilidad espermática y varias variables de motilidad seminal a cualquier concentración respecto al control. La adición de BHT no mostró diferencias significativas con ninguna de las concentraciones respecto al control. En el caso de los antioxidantes enzimáticos, la adición de 200UI/ml de catalasa mejoró la velocidad rectilínea ( $40.4 \pm 4.6 \mu/s$ ) y la ratio de progresión lineal ( $52.8 \pm 3.1\%$ ) respecto al control ( $29.9 \pm 4.6 \mu/s$ ;  $45.4 \pm 3.0\%$ ). Igualmente, al añadir SOD a una concentración de 100UI/ml se apreció un incremento significativo de la motilidad no progresiva respecto al grupo control ( $19.3 \pm 1.7\%$  vs  $24.5 \pm 1.2\%$  para 0UI/ml y 100UI/ml respectivamente) y una tendencia en la mejora de la motilidad progresiva total ( $p = 0.07$ ;  $33.2 \pm 3\%$  vs  $42.7 \pm 3.3\%$ ).

### CONCLUSIÓN

La adición de antioxidantes no enzimáticos (Vitamina C y BHT) en el diluyente de refrigeración no parece mejorar los parámetros de calidad espermática al menos durante las 6 primeras horas de refrigeración. Por el contrario, el uso de antioxidantes enzimáticos (Catalasa y SOD) sí presenta efectos positivos. Esta tendencia en la mejora de la calidad de movimiento hace necesario seguir investigando incluyendo pruebas de fertilidad y mayores tiempos de incubación.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aitken *et al.*, J. Cell. Sci. 1995, 108: 2017-2025
- O'Flaherty *et al.*, Andrologia 1997, 29: 269-275
- Santiago-Moreno *et al.*, 2015 Poult. Sci. 94:1645-1649
- Bernal *et al.*, 2020 Poult. Sci. 99: 7133-7141

**Agradecimientos:** Esta investigación fue financiada por el proyecto: RTA2017-00034-00-00.