

## ANTIMICROBIANOS NATURALES COMO SUSTITUTOS DE LOS ANTIBIÓTICOS EN LAS DOSIS DE SEMEN PORCINO: ESTUDIO PRELIMINAR DE LA FUNCIONALIDAD ESPERMÁTICA

Lacalle<sup>1,2</sup>, E., Fernández-Alegre<sup>2</sup>, E., De Prado<sup>1</sup>, M., Martín<sup>3</sup>, B., Martínez-Pastor<sup>1,3</sup>, F. y Soriano-Úbeda<sup>1,4\*</sup>, C.

<sup>1</sup>INDEGSAL, Universidad de León, <sup>2</sup>Bianor Biotech SL, <sup>3</sup>Dept. de Biología Molecular (Biología Celular),

<sup>4</sup>Dept. de Medicina, Cirugía y Anatomía Veterinaria (Medicina y Cirugía Animal),

Universidad de León; León, España

\*c.soriano.ubeda@unileon.es

### INTRODUCCIÓN

La estrategia *Green Deal* de la Unión Europea y al establecimiento del principio *Do No Significant Harm* (DNSH) marca que las actividades económicas contribuyan a la protección del ecosistema y no socaven el medio ambiente. Esta estrategia reconoce la sobreutilización de antibióticos en producción animal, incluyendo los diluyentes de semen, en los que se agregan antibióticos que para evitar el crecimiento bacteriano durante el almacenamiento. Tanto las hembras inseminadas como el medio ambiente quedan así expuestos a los antibióticos, contribuyendo potencialmente al desarrollo de resistencias y urgiendo a encontrar sustitutivos eficientes y sostenibles. Este trabajo estudió el efecto de ciertos extractos naturales, con demostradas propiedades antimicrobianas y antioxidantes, sobre la funcionalidad espermática del verraco. El objetivo último de esta línea de trabajo, dentro del proyecto H2020 (<https://neogiant.eu>) es el reemplazo de los antibióticos por estos extractos, obtenidos por medios sostenibles y respetuosos con el medio ambiente.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Los extractos E, L y P (de composición propietaria) fueron obtenidos por LIDSA (Universidad de Santiago de Compostela) a partir del orujo de uva (Rama *et al.*, 2022). Se utilizaron muestras de semen ( $n = 3$ ) de verracos de fertilidad probada (AIM, León) que se resuspendieron en Beltsville Thawing Solution (BTS) con 0,625 % o 2 % de los extractos. Se realizó un ensayo en paralelo solo con los vehículos de E, L y P, y como control se utilizó BTS sin suplementar. Las muestras se incubaron a 17 °C durante 7 días y se analizaron a los 0 (15 min), 3 y 7 días de incubación. Se analizó la motilidad mediante CASA (ISAS, Proiser) y, mediante citometría de flujo se evaluó la viabilidad (3  $\mu\text{M}$  ioduro de propidio), apoptosis (100 nM YO-PRO-1), desorden lipídico de membrana (2  $\mu\text{M}$  merocianina 540), producción de especies reactivas de oxígeno (5  $\mu\text{M}$  CM-H<sub>2</sub>DCFDA), actividad mitocondrial (100 nM MitoTracker) y superóxido mitocondrial (1  $\mu\text{M}$  MitoSOX). Se determinó el efecto de cada tratamiento respecto al control (con modelos lineales de efectos mixtos) en cada tipo de ensayo (vehículos o extractos) y tiempo (día de conservación).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El extracto L tuvo un efecto claramente tóxico (vehículo y extracto), con caídas significativas de la motilidad (prácticamente 0 con 2 % en día 0 y con 0,625 % en día 3) y parámetros fisiológicos, con incremento de radicales libres. Los vehículos E y P se comportaron de manera similar al control en casi todos los tiempos y concentraciones (con algún efecto negativo de P al 2 %). Los extractos E y P en día 0 tuvieron algunos efectos de pequeña magnitud a 0,625 %, pero deprimieron la motilidad a 2 %, como L. En los días 3 y 7 mostraron efectos negativos significativos con ambas concentraciones.

### CONCLUSIÓN

Los espermatozoides de cerdo son especialmente sensibles a la composición y condiciones de dilución. El vehículo L estaría desaconsejado por un posible efecto tóxico sobre los espermatozoides, mientras que el E podría ser apropiado para la producción de los extractos. En cuanto a los extractos, la concentración de polifenoles podría ser demasiado elevada, afectando a la fisiología espermática durante el almacenamiento. Sería necesario realizar un estudio sistemático a concentraciones menores y tal vez ajustar la concentración de los extractos.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Rodríguez-Rama, J.L., Mallo, N., Biddau, M., Fernandes, F., de Miguel, T., Sheiner, L., Choupina, A. & Lores, M. 2022. *Environ Sci Pollut Res Int* 35: 627-632.

**Agradecimientos:** Programa Horizonte 2020 de la Unión Europea proyecto 101036768. FGULEM (Universidad de León)/FUESCYL (Junta de Castilla y León). AIM Ibérica y Topigs Norsvin España.