

31. Salud Animal

Estudio de la influencia de la suplementación con aceite de oliva virgen en la dieta, sobre la congelabilidad de semen porcino

¹Comapgnoni, Maricel; ¹Bainotti, Corina; ¹Tittarelli, Claudia; ¹Williams, Sara.

mcompagnoni@fcv.unlp.edu.ar;

¹Facultad de Ciencias Veterinarias

Universidad Nacional de La Plata

Resumen

La congelación de semen es una biotecnología poco utilizada en la especie porcina debido a los malos parámetros seminales al descongelado, que comprometen su fertilidad. La baja resistencia a la criopreservación se debe a la alta proporción de ácidos grasos poliinsaturados de la membrana celular que lo hacen sensible al daño oxidativo. El Aceite de Oliva Virgen (AOV) variedad Arauco contiene compuestos antioxidantes (Ax), como tocoferoles, carotenoides y compuestos fenólicos. El objetivo fue determinar si la suplementación con AOV en la dieta ejerce influencia en la criopreservación espermática. De un total de tres individuos se confeccionó un grupo tratado (n=2) y uno control (n=1). El experimento consistió en suplementar a la ración de balanceado con un 5% v/p de AOV variedad Arauco por 40 días. Al finalizar el tratamiento se realizaron extracciones de semen semanalmente durante un mes, y con las muestras se confeccionaron dosis seminales para su congelación utilizando o no un Ax en el medio de congelación. Las muestras se evaluaron antes y después de la criopreservación. Para comprobar el efecto del AOV en la criopreservación, se compararon los resultados de los espermogramas al descongelado. Se observó un efecto beneficioso con la suplementación con AOV en la motilidad al descongelado y una disminución de las morfoanomalías comparado con la no suplementación. Cuando en el diluyente de congelación se agregó un Ax, la mejora mostró diferencias significativas

Palabras clave: Aceite, oliva, semen, porcino, congelación.

Introducción

La respuesta de los espermatozoides a la criopreservación y la fertilidad del semen congelado-descongelado varían entre las especies. Esto es debido a la fisiología, la estructura de membrana y la bioquímica espermática (Waterhouse et al., 2006). La congelación de semen es una biotecnología poco utilizada en la especie porcina, debido a los malos parámetros seminales al descongelado, que comprometen su fertilidad. Tal efecto es debido en gran parte a la alta sensibilidad de los espermatozoides porcinos al shock térmico y peroxidación de sus membranas plasmáticas, las cuales contienen altos niveles de fosfolípidos insaturados y bajos niveles de colesterol (Casas and Flores., 2013). El proceso de refrigeración y congelación-descongelación inducen cambios en la membrana de los espermatozoides provocando su desestabilización, por afectar la homeostasis del calcio, la integridad acrosomal y desordenar los lípidos de membrana (Leahy and Gadella., 2011; Vadnains and Althouse., 2011). Por otra parte, la congelación y descongelación promueven la generación de especies reactivas de oxígeno (EROS) por parte de los espermatozoides, que inducen la peroxidación lipídica y proteica, produciendo daños en el ADN, alterando el citoesqueleto, inhibiendo la fusión esperma-óvulo y afectando al axonema

espermático que se asocia con la pérdida de la motilidad (Peña et al., 2003; Breininger et al., 2005).

El Aceite de Oliva Virgen (AOV) variedad Arauco contiene compuestos antioxidantes, como tocoferoles, carotenoides y compuestos fenólicos (CF), estos últimos merecen ser tenidos en cuenta debido a que otros aceites no los contienen. Entre los CF presentes en el aceite de oliva, tienen especial interés aquellos que poseen un grupo orto-difenólico, principalmente la oleuropeína y el hidroxitiroso, que son grandes inhibidores de la oxidación. Estos actúan como secuestradores de radicales libres, y han mostrado poseer una actividad antioxidante igual o superior a la de otros antioxidantes conocidos como la vitamina E, vitamina C y el hidroxitolueno butilado (Bauco, 2014).

Objetivos

El objetivo principal de este estudio fue determinar si la suplementación con AOV en la dieta ejerce influencia en la criopreservación espermática, evaluando a la descongelación los parámetros seminales de dosis congeladas con o sin un antioxidante natural adicionado al diluyente de congelación

Materiales y Métodos

Se utilizaron padrillos de genética definida, alojados en un sistema de

producción confinado y alimentados con balanceado. De un total de tres individuos se confeccionaron dos grupos, tratado (n=2) y control (n=1), los mismos fueron distribuidos al azar antes de iniciar con el experimento. El mismo consistió en suplementar la ración de balanceado de los machos del grupo tratado, con un 5% v/p de AOV variedad Arauco por 40 días. Al finalizar el tratamiento se realizaron extracciones de semen semanalmente durante un mes.

Luego de cada extracción, el eyaculado obtenido era procesado en el laboratorio de la granja para la preparación de dosis inseminantes de 3000 millones cada una, utilizando un diluyente comercial. Luego de dicho proceso, el semen diluido inicia el descenso de la temperatura, la primera parte de esta curva se llevó a cabo en la granja, hasta estabilizarse a 15°C, temperatura a la cual se enviaban al Laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Cs. Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata para continuar con el proceso. Una vez en el laboratorio, se comprobaron los parámetros mínimos de aceptación, para luego confeccionar dosis seminales para su congelación. Dicho proceso se realizó utilizando la técnica de Westendorf modificada; adicionando o no un antioxidante natural como la luteína en una concentración de 0,15 mg/ml, en el medio de congelación. De esta forma se

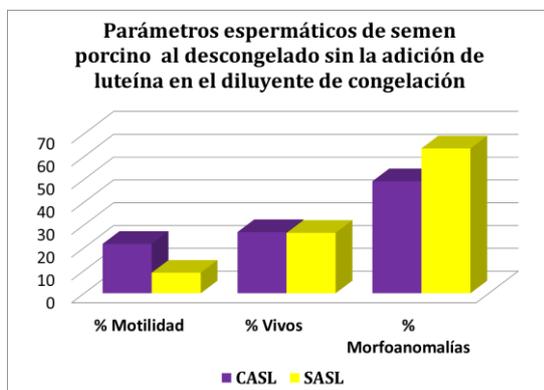
confeccionaron cuatro tratamientos, aquellas muestras provenientes de los machos alimentados con AOV que fueron congeladas adicionando o no luteína en el diluyente de congelación (CACL y CASL respectivamente); y aquellas provenientes del macho control que también fueron congeladas adicionando o no el antioxidante natural (SACL y SASL respectivamente). Al finalizar el empaquetado del semen en pajuelas de 0,5 ml, las muestras se congelaron y conservaron en nitrógeno líquido hasta su descongelación. Finalmente, para evaluar el efecto de los tratamientos establecidos se procedió a la descongelación de las pajuelas, de esta forma se compararon los resultados de los espermogramas al descongelado.

Los datos se analizaron con la prueba de análisis de Varianza, utilizando como variable respuesta los parámetros evaluados. Para el procesamiento de datos se utilizó el Infostat. Adicionalmente, se realizó una prueba a posteriori de Turkey para determinar en que parámetros había diferencias entre los grupos.

Resultados y Discusión

Luego de comparar los resultados de los espermogramas realizados al descongelado, se observó un efecto beneficioso de la suplementación con AOV en la motilidad al descongelado, que

fue del 21,25% para el grupo tratado y del 9% para el control. Cuando se contabilizaron las morfoanomalías, aunque en ambos grupos fueron elevadas, también se observaron diferencias entre los grupos, siendo 49,66% para el grupo tratado y 63,5% para el control. Aunque las diferencias encontradas fueran evidentes, las mismas no representaron una diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$)

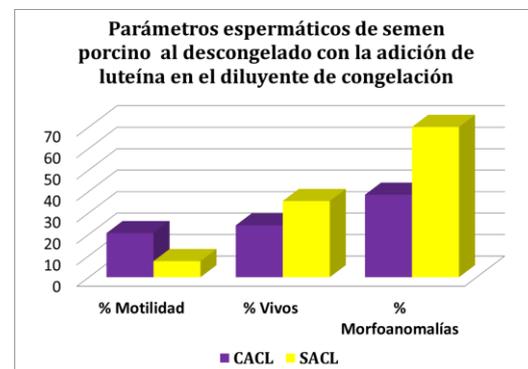


- **CASL**: grupo con aceite y sin luteína
- **SASL**: grupo sin aceite y sin luteína.

Estos resultados concuerdan en parte con los obtenidos por Bauco (2014) en conejos, quien utilizando AOV en la dieta logró disminuir significativamente las morfoanomalías en el grupo tratado, utilizando semen fresco y observando diferencias entre grupos, aunque no realizó pruebas de criopreservación.

Cuando analizamos los resultados obtenidos de las muestras con y sin antioxidante incorporado en el diluyente de congelación, podemos ver que el efecto del AOV sobre los parámetros seminales al descongelado se acentuó,

encontrándose entre ambos grupos diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$), las que se observaron en la motilidad individual (20,53% para el grupo tratado y 7,5% para el control), y en el porcentaje de morfoanomalías, las cuales fueron menores en el grupo tratado (36,5%) respecto al control sin tratamiento (70%).



- **CACL**: grupo con aceite y con luteína
- **SACL**: grupo sin aceite y con luteína.

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Jinghua Hu et al. (2014), quienes utilizando alginato en el diluyente de congelación como agente antioxidante, lograron mejores parámetros seminales al descongelado.. Asimismo, Malo et al. (2011), utilizando *Rosmarinus officinalis*, obtuvieron resultados similares post-congelación.

Conclusiones

Luego de analizar los resultados podemos concluir que la suplementación con AOV variedad Arauco en la dieta de machos porcinos, otorga a los espermatozoides una mejor resistencia al proceso de criopreservación. Esto último

posiblemente se deba, no solo a la contribución de la fracción oleosa del AOV, conformada mayoritariamente por ácidos grasos monoinsaturados, sino que también a los componentes antioxidantes presentes en el aceite que neutralizan las EROS que se generan durante el proceso de congelación.

Por otro lado, también podemos concluir que la incorporación de un antioxidante natural al diluyente de congelación, contribuye a reducir el daño celular, impactando directamente sobre la calidad seminal al descongelado.

Bibliografía

Waterhouse, K.E., Hofmo, P.O., Tverdal, A., Miller Jr, R.R. (2006). Within and between breed differences in freezing tolerance and plasma membrane fatty acid composition of boar sperm. *Reproduction*. Volumen (131), 887–894.

Casas, I. and Flores, E. (2013). Gene banking: the freezing strategy. In: Bonet S, Casas I, Holt WV, Yeste M (eds), *Boar Reproduction*. Springer, Berlin, 551–588.

Leahy, T. and Gadella, B.M. (2011). Capacitation and capacitation-like sperm surface changes induced by handling boar semen. *Reprod Domest Anim*. Volumen (46), Suppl 2, 7–13.

Vadnais, M.L. and Althouse, G.C. (2011). Characterization of capacitation, cryoinjury, and the role of seminal plasma in porcine sperm. *Theriogenology*. Volumen (76), 1508–1516.

Peña, F.J., Johannisson, A., Wallgren, M., Rodriguez, M.H. (2003). Antioxidant supplementation in vitro improves boar sperm motility and mitochondrial membrane potential after cryopreservation of different fractions of the ejaculate. *Anim Reprod Sci*. Volumen (78), 85–98.

Breining, E., Beorlegui, N., O'Flaherty, C., Beconi, M. (2005). Alpha-tocopherol improves biochemical and dynamic parameters in cryopreserved boar semen *Theriogenology*. Volumen (63), 2126–2135.

Bauco, M. A. (2014). Efecto de la suplementación con aceite de oliva virgen extra variedad arauco en la calidad espermática de conejos bajo condiciones de estrés térmico (Tesis de Grado). Facultad de Ciencias Veterinarias y Ambientales, Universidad Juan Agustín Maza, Mendoza, Argentina.

Jinghua, H., Guoxia, G., Qingwang, L., Xiuzhu, S., Hualin, C., Yawei, L. (2014). Effects of alginate on frozen-thawed boar spermatozoa quality, lipid peroxidation and antioxidant enzymes activities. *Anim Reprod Sci*. Volumen (147), 112–118.

Malo, C., Gil, L., Cano, R., Martínez, F., Galé, I. (2011). Antioxidant effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) on boar epididymal spermatozoa during cryopreservation. *Theriogenology*. Volumen (75), 1735–1741.

Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M.,

Robledo C.W. InfoStat versión 2018.
Grupo InfoStat, FCA, Universidad
Nacional de Córdoba, Argentina. URL
<http://www.infostat.com.ar>

Agradecimientos (Opcional)

Agradecemos a la MV Silvia van den Bosch y al Ing Gerónimo Iglesias de la Universidad Nacional de Cuyo, quienes facilitaron el AOV para ser utilizado en el experimento.

Financiamiento

Proyecto Programa I+D+i UNCuyo:
“Aceite de oliva y salud. Estudio científico
y promoción desde el laboratorio al
consumidor”.