

RESUMEN FINAL DE TESIS

"Mejoramiento cualitativo de espermatozoides ovinos criopreservados a partir de la utilización de moléculas diferenciales del plasma seminal obtenidas por dos métodos de colecta seminal: electroeyaculador y vagina artificial"

-Vet. (Mag. en Producción Animal) Alba Verónica Ledesma

Jurado Evaluador (OCA 127/18)

DMV, Ph.D. Jorge Alvaro Gil Laureiro (EEMAC - Paysandú / Facultad de Veterinaria - UDeLaR / Uruguay)

DMV, Ph.D. Ana Josefa Soler Vals (Universidad de Castilla-La Mancha/España)

MV, Dr. Humberto Cisale (Facultad de Agronomía, UBA)

Directora de Tesis: Lic. Cs. Biol. , Dra. Andreina Cesari

Co-Director: Med. Vet, Dr. Federico Andrés Hozbor

La aplicación de la inseminación artificial (IA) en cualquier especie requiere del mantenimiento del semen en condiciones no fisiológicas. En ovinos, la IA con semen refrigerado se encuentra más difundida que con semen congelado debido a los bajos porcentajes de preñez obtenidos con este último. Estos resultados se deben a la complejidad del cérvix de la oveja, que dificulta el paso del instrumental de IA y deposición del semen en la luz uterina, y a la mayor sensibilidad espermática a la criopreservación. Esta sensibilidad se relaciona al estado de criocapacitación, debido a una redistribución lipo-protéica de la membrana plasmática durante la congelación. En estudios previos del grupo se observó que la calidad espermática se ve afectada por el método de colecta, por lo que se hipotetizó que podría deberse al contenido de plasma seminal (PS) de los eyaculados y que esto, a su vez, influiría en la sensibilidad espermática a la criopreservación. Se compararon eyaculados obtenidos con vagina artificial (VA) y electroeyaculador (EE) en estado fresco y luego de la criopreservación y los componentes proteicos del PS. Se observó que, los eyaculados frescos obtenidos con EE presentaron mayor calidad, proporción de PS y contenido de proteínas. Ha sido demostrado que las proteínas del PS previenen/reverten algunos de los daños ocasionados por la congelación y mantienen a los espermatozoides en un estado no capacitado. Este efecto se debería a una fracción del PS compuesta por proteínas que interactúan con la superficie espermática (PPSiE). Estas proteínas pertenecen a una familia de proteínas compuestas por un doble dominio de fibronectina tipo II (FN-II). Luego de analizar el efecto del agregado de las PPSiE a espermatozoides criopreservados se observó que su adición revirtió la criocapacitación, sin diferencias entre métodos y estaciones de colecta. Con el objetivo de establecer como las subpoblaciones espermáticas podrían influir en el efecto de determinados tratamientos se llevó adelante su caracterización en semen criopreservado y se comparó su distribución en eyaculados de carneros de alta y baja fertilidad. Fueron distinguidas cuatro subpoblaciones en el semen descongelado, distribuidas diferencialmente según la fertilidad del reproductor. Al evaluar el efecto de las PPSiE se observó interacción entre el tratamiento y la estación de colecta y diferencias según el método de colecta, opuestamente a lo observado al analizar a la población en conjunto sin distinguir entre poblaciones. Destacando los inconvenientes que ocasiona ignorar la variabilidad de las muestras. Los resultados obtenidos demostraron que las proteínas del PS son capaces de revertir los daños ocasionados por la criopreservación, pero debido a que su concentración como la capacidad para proteger a los espermatozoides es muy variable, se planteó la expresión de un péptido recombinante compuesto por cuatro dominios de FN-II, que podría llevar adelante la actividad crioprotectora. Se logró expresar en *E. coli* una proteína compuesta por cuatro dominios de FN-II que se unió preferentemente a la región acrosomal y pieza media de los espermatozoides, siendo capaz de revertir las señales moleculares de criocapacitación y de aumentar el porcentaje de fecundación *in vitro*. Los resultados obtenidos podrían ser de utilidad en el desarrollo de estrategias biotecnológicas para mejorar la calidad y capacidad fecundante del semen ovino criopreservado.