

Purificación de espermatozoides porcinos mediante centrifugación en gradiente de densidad con BoviPure® previo a la fertilización *in vitro*

Morán, K.D.¹; Farcey, M.F.¹; Leavi, V.E.¹; Marengo, M.L.¹; Anconetani, M.¹; Schwindt, C.¹; Barbará, M.¹; Tortone, C.¹; Zapata, L.O.¹; Ramos, S.¹; Nicolás, A.¹; Bilbao, M.G. ¹y Boeris, M.A.¹

¹Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa. Calle 5 esquina 116, General Pico (6360) La Pampa. mgbilbao@vet.unlpam.edu.ar

RESUMEN

Los cerdos son una de las principales fuentes de carne en todo el mundo por lo que aumentar su producción de manera sostenible es un gran reto. Además, debido a su similitud con el ser humano en genoma, anatomía y fisiología, son un modelo importante para la investigación biomédica. La reproducción es uno de los aspectos clave para la sostenibilidad, por lo que es necesario desarrollar técnicas asistidas cada vez más eficientes. En este sentido, se ha demostrado que la selección de espermatozoides mediante centrifugación en gradiente de densidad utilizando la solución comercial BoviPure® se traduce en una mejora sustancial en la extracción de material genético ya que disminuyen la contaminación con células somáticas. Otro método de selección de espermatozoides basado en la quimiotaxis de los mismos ha sido testeado en su capacidad de mejorar los rendimientos de la fertilización *in vitro* (FIV). Pero en nuestro conocimiento, la selección de espermatozoides mediante centrifugación en gradiente de densidad con BoviPure® no se ha evaluado en su capacidad de mejorar los rendimientos de la FIV en porcinos. Es por ello que nuestro objetivo general es usar el método de selección de espermatozoides porcinos para optimizar la eficiencia de FIV. Nuestra hipótesis es que el uso de una solución comercial de purificación para semen permitirá recuperar espermatozoides porcinos de forma selectiva, minimizando la contaminación con células somáticas presentes en el eyaculado, y mejorando la eficiencia de la FIV. Para ello se obtendrán pools de eyaculados de tres padrillos ($n = 3$) y se les determinará la concentración con SpermCue, morfología y % vivos con eosina/nigrosina. Cada pool se separará en dos grupos: 1) Grupo control, no purificado; y 2) Grupo tratamiento, purificado con BoviPure® de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Con cada grupo se realizarán dos reacciones de FIV por ciclo. Este procedimiento se realizará durante 5 ciclos. Nuestra variable dependiente será la eficiencia de la FIV y nuestra variable independiente será el tratamiento. Los resultados se analizarán por el test de Chi², utilizando el software R. Se considerarán diferencias significativas cuando $P < 0.05$. Esperamos que estos resultados permitan mejorar la eficiencia de la FIV porcina a través de la selección de los espermatozoides y de la disminución de células somáticas presentes en las muestras de semen y, a su vez, comprobar que la solución comercial destinada a bovinos es válida para porcinos.



Palabras clave: semen, porcinos, selección espermática, fertilización *in vitro*.

Boar sperm selection using BoviPure™ density-gradient centrifugation to perform *in vitro* fertilization

ABSTRACT

Swine is one of the major sources of meat worldwide, so increasing their production in a sustainable manner is a great challenge. In addition, due to their similarity to humans in genome, anatomy and physiology, swine is quickly becoming an important model for biomedical research. Reproductive efficiency is one of the main aspects for sustainability, for that reason it is necessary to develop increasingly efficient assisted techniques. Previous researches have shown that sperm selection by density gradient centrifugation using a commercial solution allowed to improve DNA/RNA extraction from sperm. Another selection method based on chemotaxis has been tested to improve *in vitro* fertilization efficiency. In the authors's knowledge, density gradient centrifugation with BoviPure™ has not been tested for its ability to improve IVF. The main objective of this work is to select boar sperms to improve IVF. Our hypothesis is that the centrifugation density gradient of semen using a commercial solution will augment the recovery rate of sperm from ejaculates, decreasing somatic cell contamination and enhancing IVF efficiency. Therefore, ejaculate will be extracted from three boars (n = 3) and pooled. The concentration will be determined with SpermCue, morphology and % live sperms will be evaluated with eosin/nigrosin. Each pool will be separated in two groups: 1) control group: non-purified sperms; 2) Treatment group: purified sperms with BoviPure™ according to manufacturer's protocol. Two IVF reactions for each group will be carried out per cycle. These proceedings will be repeated during five cycles. The dependent variable will be IVF efficiency, and the independent variable will be the treatment. The results will be analyzed with Chi² test using R software. Statistical significance will be considered when P < 0.05. These results may allow to improve the swine IVF efficiency through the selection of sperms and the decrease of somatic cells from ejaculates and, in turn, verify that the commercial solution intended for bovines is valid for pigs.

Keywords: sperm, boar, sperm selection, *In vitro* fertilization.

