

POTENCIALES BIOMARCADORES DE CALIDAD DEL ADN EN ESPERMATOZOIDES CRIOPRESERVADOS: IMPACTO EN LA EXPRESIÓN GÉNICA Y DESARROLLO EMBRIONARIO

E. Figueroa-Villalobos¹, I. Valdebenito, R. Wilson, A. Villasante, J. Farías, J. Risopatrón, J. Romero.

¹Núcleo de Investigación en Producción Alimentaria, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco, Temuco, Chile. efigueroa@uct.cl

La criopreservación afecta la integridad de la membrana plasmática, el potencial de la membrana mitocondrial, la integridad del ADN y aumento del estrés oxidativo, alterando la viabilidad, la motilidad, la capacidad fecundante y calidad de la descendencia en peces. Sin embargo, pocos estudios han evaluado estos parámetros en espermatozoides criopreservados de salmón del Atlántico (*Salmo salar*) y seriola (*Seriola lalandi*). El objetivo fue determinar el efecto de la criopreservación sobre la integridad del ADN espermático de *Salmo salar* y *Seriola lalandi*. El semen se congeló en Cortland® + DMSO 1,3 M + glucosa 0,3 M + BSA al 2% en una proporción de 1: 3 (semen / crioprotector) tratamiento (T) y semen de control fresco (C). Las pajuelas se criopreservaron utilizando el sistema de congelación programable Freeze Control® (Cryologic, Australia) a una velocidad entre 62,3 a 80,2°C / min en nitrógeno líquido (N₂L). La descongelación se llevó a cabo en un baño termorregulado (entre 35 a 40 °C). Una vez descongelado se evaluó mediante citometría de flujo, electroforesis unicelular en gel, lector multimodal, cuantificación de lesiones mediante qPCR (genes de interés) y calidad embrionaria temprana. La producción de anión superóxido intracelular (DHE / SYTOX), ADN fragmentado (TUNEL), ensayo cometa (electroforesis). Además, la detección de oxoguanina glicosilasa 1 y 8-hidroxidesoxiguanosina (OGG1 y 8-OHdG ELISA KIT) y cuantificación de lesiones en genes asociados al crecimiento (Igf1 y Gh), desarrollo embrionario temprano (HoxD4ai y HoxD9aii) y mitocondrial (Cytb y Col). En el semen criopreservado (T), la fragmentación del ADN fue $4,1 \pm 1.3\%$ a $6,8 \pm 2.4\%$ para salmón del Atlántico y seriola, la producción de anión superóxido promedio fue de $21 \pm 4.1\%$ para ambas especies, presentando diferencias con el grupo control (C) ($P < 0,05$), detectando un aumento de lesiones en genes asociados a actividad mitocondrial (7,4- 10,1 lesiones / 10kb) en relación al crecimiento (1,4-2,1 lesiones / 10kb) y desarrollo temprano (1,1-3,5 lesiones / 10kb). La actividad de OGG1 y 8-OHdG en muestras criopreservadas aumento entre 0,3 a $0,5 \pm 0,03\text{ng/mL}$ para ambas especies ($P < 0.05$). En cuanto a la calidad embrionaria temprana para salmón del Atlántico y seriola, se observó una disminución en la tasa de fecundación temprana (en un rango de 65 - 84%) y sobrevivencia embrionaria (en un rango de 59 - 78%) en comparación al grupo control (C) ($P < 0,05$). Estos resultados (biomarcadores) indican los efectos de la criopreservación sobre la integridad del ADN y su relación con la función espermática y calidad en la descendencia en salmón del Atlántico y seriola. La aplicación de antioxidante podrían ser una buena alternativa para proteger la integridad del ADN y función celular durante la criopreservación de espermatozoides de peces.

Agradecimientos: Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico de ANID, FONDECYT POSTDOCTORAL (N° 3180765) y FONDECYT REGULAR (N° 1211246).