

Criopreservación espermática ante la pérdida de la biodiversidad

Jesús D. **Bustamante-González**
Alejandro **Ávalos-Rodríguez**

México es considerado un país megadiverso; alberga entre 10 y 12 % de todas las especies registradas en el mundo, en su mayoría endémicas, lo cual lo ubica como el cuarto país con mayor biodiversidad. No obstante, la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO, 2022) ha reportado que la pérdida de hábitats, la introducción de especies invasoras, la sobreexplotación de los recursos, la contaminación y el cambio climático han impactado de manera adversa en la biodiversidad de nuestro país. Por ello, es de suma importancia perfeccionar, adaptar e implementar técnicas de reproducción asistida para la conservación y reproducción de diversas especies.

REPRODUCCIÓN ASISTIDA

Diversos autores han estudiado cómo implementar y eficientizar las técnicas de reproducción asistida (TRA), incluyendo evaluaciones hormonales, inseminación artificial, fertilización *in vitro*, transferencia de embriones y criopreservación de embriones y gametos de múltiples especies de vertebrados de entre las cuales los mamíferos han sido las más estudiadas; no obstante, se estima que la biología reproductiva de estas especies solo se ha estudiado a fondo en ~ 0.05 % (Le *et al.*, 2021).

Aunado a lo anterior, las TRA también pueden ser aplicables a cualquier especie: aves, anfibios, reptiles y peces, sobre todo en aquellas que presentan problemas reproductivos asociados a las bajas densidades poblacionales en los hábitats o a la presencia de barreras geográficas que impiden el intercambio de material genético o, en su caso, en aquellas especies que se encuentran en riesgo de acuerdo con la NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT, 2019).

CRIOPRESERVACIÓN DE GAMETOS

La criobiología es la ciencia cuyo propósito es conservar la vida a bajas temperaturas, lo cual disminuye al mínimo el metabolismo celular. La posibilidad de suspender la actividad celular durante un tiempo indefinido y lograr una posterior activación ha sido usada eficazmente en la conservación y reproducción de múltiples especies (Bustamante *et al.*, 2019) (Tabla 1), lo cual ha permitido la creación de bancos de germoplasma para el resguardo de espermatozoides y ovocitos de diferentes especies.

El éxito de la criopreservación se logró en el siglo XX con la introducción de agentes crioprotectores intra o extracelulares como el glicerol, y subsecuentemente se mejoró con el descubrimiento del dime-tilsulfóxido (DMSO) aunado a la generalización del uso del nitrógeno líquido (-196 °C) en sustitución de la nieve carbónica (-79 °C) a partir de la década de 1950. A raíz de estos descubrimientos muchas células y tejidos empezaron a ser congelados.

¿CÓMO SE LLEVA A CABO

LA CRIOPRESERVACIÓN ESPERMÁTICA?

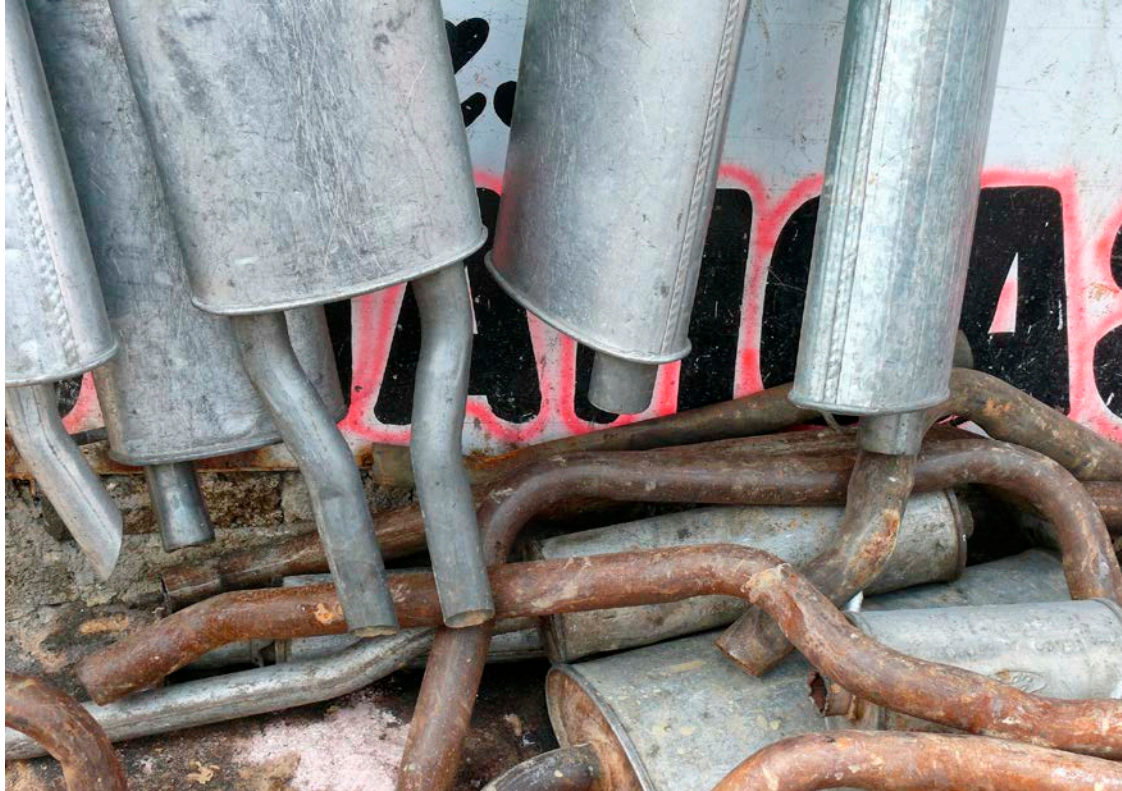
La criopreservación del semen implica mezclarlo en diluyentes y agentes crioprotectores permeables (bajo peso molecular) o no permeables (alto peso molecular) con propiedades osmóticas y nutricionales que, en conjunto, proporcionan un medio adecuado que reduce el daño durante la congelación y posterior al descongelamiento (Hezavehei *et al.*, 2018). Actualmente, la criopreservación espermática

Clase	Especie	Nombre común
Mamíferos	<i>Lynx canadensis</i>	Lince de Canadá
	<i>Panthera onca</i>	Jaguar
	<i>Canis lupus signatus</i>	Lobo ibérico
Aves	<i>Gallus gallus gallus</i>	Gallo
	<i>Spheniscus demersus</i>	Pingüino de EL Cabo
	<i>Pygoscelis papua</i>	Pingüino de pico rojo
	<i>Parabuteo unicinctus</i>	Águila de Harris
Anfibios	<i>Anaxyrus fowleri</i>	Sapo de Fowler
	<i>Anaxyrus houstonensis</i>	Sapo de Houston
	<i>Peltophryne lemur</i>	Sapo concho
	<i>Lithobates chiricahuensis</i>	Rana leopardo Chiricahua
	<i>Ambystoma mexicanum</i>	Ajolote de Xochimilco
Reptiles	<i>Bothrops jararacussu</i>	Yararacusú
	<i>Bothrops atrox</i>	Mapaná
	<i>Bothrops moojeni</i>	Caiyaca
	<i>Crotalus durissus</i>	Cascabel tropical
	<i>Crocodylus porosus</i>	Cocodrilo marino
Peces	<i>Cyprinus carpio</i>	Carpa
	<i>Chirostoma jordani</i>	Charal
	<i>Danio rerio</i>	Pez cebra

Tabla 1. Estudios recientes sobre criopreservación espermática en mamíferos, aves, anfibios, reptiles y peces.

es utilizada como una TRA cuyo objetivo ha sido sincronizar la disponibilidad de gametos (espermatozoides y óvulos), reducir el número de machos (sementales), facilitar el transporte, conservar la variabilidad genética *ante mortem* o *post mortem*, además de ser aplicable a la protección de especies amenazadas o en peligro de extinción (Hezavehei *et al.*, 2018).

Para proponer un protocolo de criopreservación de espermatozoides se deben de estandarizar y evaluar diversos parámetros, con la finalidad de obtener porcentajes elevados de viabilidad (porcentaje de espermatozoides vivos) y movilidad espermática (porcentaje de espermatozoides móviles) posdescongelación; por esta razón, es importante considerar la composición del diluyente, tipo y concentración de



© Enrique Soto. Serie "Mofles", 2007.

agentes crioprotectores, la unidad de envasado (criopaja) y las velocidades de congelación y descongelación, todo esto con el fin de crear un protocolo exitoso para la especie de interés (Bernáth *et al.*, 2016).

¿LOS ESPERMATOZOIDES SON CAPACES DE FECUNDAR POSTERIOR A LA DESCONGELACIÓN?

La respuesta a esta interrogante es sí, siempre y cuando la viabilidad y la movilidad espermática posdescongelación sean las apropiadas, ya que la criopreservación induce una disminución significativa en el porcentaje de espermatozoides móviles posdescongelación; sin embargo, este decremento no limita su aplicación y eficiencia para realizar la fecundación. Una vez verificada la viabilidad y la movilidad espermática, se puede evaluar la capacidad fecundante de los espermatozoides mediante una TRA denominada fecundación *in vitro*, la cual consiste en poner en contacto directo los espermatozoides y los ovocitos para que se lleve a cabo la singamia y subsecuentemente el desarrollo de un embrión. Algunas especies donde se ha implementado de manera exitosa la fecundación *in vitro* con espermatozoides criopreservados son el lince de Canadá (*Lynx canadensis*) (González *et al.*, 2023), el león (*Panthera leo*) (Zahmel *et al.*, 2021), el gallo salvaje rojo

(*Gallus gallus murghi*) (Rakha *et al.*, 2020), la rana arlequín (*Spumarius complex*) (Naranjo *et al.*, 2022), el salmón del Atlántico (*Salmo salar*) (Erraud *et al.*, 2022) y el pez blanco (*Chirostoma estor*) (Motta *et al.*, 2021).

PERSPECTIVAS

La criopreservación de espermatozoides es una técnica eficiente ante la pérdida de la biodiversidad, ya que permite el resguardo por tiempo indefinido de material genético viable, lo cual facilita realizar o implementar técnicas de reproducción asistida cuando se requiera. La criopreservación se ha efectuado de manera exitosa en múltiples especies de mamíferos, aves, anfibios, reptiles y peces, por lo que puede ser utilizada para conservar espermatozoides de diversas especies, ya sea de importancia biológica o económica.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó gracias a la beca postdoctoral otorgada por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) a JDBG (566816).



REFERENCIAS

Bernáth G, Žarski D, Kása E, Staszny Á, Várkonyi L, Kollár T, Hegyi Á, Bokor Z, Urbányi B and Horváth A (2016). Improvement of common carp (*Cyprinus carpio*) sperm cryopreservation using a programmable freezer. *General and Comparative Endocrinology* 78–88.

Bustamante GJD, Rodríguez GM, Cortés GA, Arenas RE, Figueroa LG y Ávalos RA (2019). Fisiología y criopreservación del espermatozoide en teleósteos. *Revista AquaTIC* 1-17.

CONABIO (Comisión Nacional para el conocimiento y Uso de la Biodiversidad) (2022). Recuperado de <https://www.biodiversidad.gob.mx/biodiversidad/porque.html>.

Erraud A, Cornet V, Baekelandt S, Neus Y, Antipine S, Lambert J, Mandiki SNM and Kestemont P (2022). Optimal sperm–egg ratios for successful fertilization using fresh and cryopreserved sperm in wild anadromous Atlantic salmon (*Salmo salar* L. 1758). *Aquaculture* 1-6.

González R, Miller A, Vansandt LM and Swanson WF (2023). Characterization of basal seminal traits and semen cryopreservation in Canada Lynx (*Lynx canadensis*). *Theriogenology Wild* 1-12.

Hezavehei M, Sharafi M, Kouchesfahani HM, Henkel R, Agarwal A, Esmaeili V and Shahverdi A (2018). Sperm cryopreservation: A review on current molecular cryobiology and advanced approaches. *Reproductive BioMedicine Online* 327-339.

Le GS, Ferraz M, Venzac B and Comizzoli P (2021). Understanding and assisting reproduction in wildlife species using microfluidics. *Trends in Biotechnology* 584-597.

Motta CN, Junqueira MG, Simas FI, López GJ, Martínez CCC, Martínez PCA and Solis MLD (2021). Sperm characterization and

cryopreservation of the endangered freshwater fish *Chirostoma es-tor* (Atheriniformes). *Cryobiology* 81-86.

Naranjo RE, Naydenova E, Proaño BC, Vizuite K, Debut A, Torres, AM and Coloma LA (2022). Development of assisted reproductive technologies for the conservation of *Atelopus* sp. (*spumarius complex*). *Cryobiology* 20-31.

Rakha BA, Ansari MS, Akhter S, Akhter A, Blesbois E, Santiago MJ (2020). Effect of dimethylformamide on sperm quality and fertilizing ability of Indian red jungle fowl (*Gallus gallus murghi*). *Theriogenology* 55-61.

SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales) (2019). Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2019, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Diario Oficial De La Federación. Recuperado de: https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5578808&fecha=14/11/2019.

Zahmel J, Jansch S, Jewgenow K, Sandgreen DM, Skalborg SK and Colombo M (2021). Maturation and fertilization of African lion (*Panthera leo*) oocytes after vitrification. *Cryobiology* 146-151.

Jesús D. Bustamante-González

**Planta Experimental de Producción Acuícola
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa
CDMX**

jesusbustamantegonzalez@gmail.com

Alejandro Ávalos-Rodríguez

**Laboratorio de Bioquímica de la Reproducción
Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco
CDMX**