

ARTÍCULOS

Criopreservación espermática: herramienta clave para la reproducción asistida y conservación de especies

Sperm cryopreservation: a key tool for assisted reproduction and species conservation

Nayeli Berenice Aguirre-Valenzuela

ORCID: 0009-0002-0697-8061, nayeliaguirre66@gmail.com

Maestría en Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco (UAM-X)

Leticia González Núñez

ORCID: 0000-0001-7702-1465, lgonzalez@izt.uam.mx

Laboratorio de Endocrinología Molecular Comparada, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAM-I)

Araceli Cortés García

ORCID: 0000-0001-9411-3003, acortes@correo.xoc.uam.mx

Laboratorio de Reproducción Genética y Sanidad Acuícola, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco (UAM-X)

Jesús Dámaso Bustamante González

ORCID: 0000-0003-2912-5352, jesusbustamantegonzalez@gmail.com

Investigador posdoctoral, Departamento de Hidrobiología, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAM-I)

Recepción: 10/06/25. Aceptación: 04/11/25. Publicación: 24/06/26

RESUMEN

La criopreservación se perfila como una biotecnología que permite el resguardo de material genético viable por tiempo indefinido (meses o años). Esto se logra mediante la congelación a muy bajas temperaturas (-196 °C), lo cual provoca una disminución en el metabolismo celular hasta una etapa de inactividad, una vez que la muestra se descongela puede ser utilizada para llevar a cabo la fecundación *in vitro* o asistida. Por tal motivo, esta biotecnología es considerada una herramienta clave para la reproducción y la conservación de especies de interés comercial o biológico. En este artículo se revisa la criopreservación espermática como herramienta clave en la biología de la reproducción, así como sus avances en la ciencia, sus desafíos y sus limitaciones.

PALABRAS CLAVE

conservación, espermatozoides, reproducción, fecundación *in vitro*, fecundación asistida

ABSTRACT

Cryopreservation is emerging as a biotechnology that enables the preservation of viable genetic material for an indefinite period (months or years). This is achieved by freezing at extremely low temperatures (-196 °C), which causes a reduction in cellular metabolism to a stage of inactivity. Once the sample is thawed, it can be used to carry out *in vitro* or assisted fertilization. For this reason, it is considered a key tool for the reproduction and conservation of species of commercial or biological interest. This article reviews sperm cryopreservation as a key tool in reproductive biology, advances and challenges in science, as well as its limitations.

KEYWORDS

conservation, sperm, reproduction, *in vitro* fertilization, assisted reproduction

Introducción

La biodiversidad, definida como la variedad de seres vivos e interacciones entre ellos y su entorno, es esencial para mantener el equilibrio ecológico. Se estima que existen alrededor de 8.7 millones de especies en el planeta. Sin embargo, a la fecha sólo se han identificado entre 1.5 y dos millones. México es considerado uno de los diecisiete países megadiversos del mundo, pues alberga aproximadamente doscientas mil especies diferentes, equivalentes a entre 10% y 12% de la biodiversidad mundial (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, 2022).

No obstante, la biodiversidad enfrenta amenazas graves y aceleradas, asociadas a diversos problemas antropocéntricos, como el crecimiento demográfico desmedido, la falta de planificación adecuada en el uso del suelo, la explotación excesiva de los recursos naturales, aunado a la pérdida o fragmentación de hábitats, la contaminación y la quema desmedida de combustibles fósiles que contribuye al cambio climático (Keck et al., 2025).

Frente a estos desafíos se han desarrollado diversas estrategias innovadoras de reproducción asistida (RA) cuyo objetivo principal es conservar y preservar la biodiversidad. Una de las más prometedoras es la criopreservación de gametos, técnica que permite conservar material genético a temperaturas muy bajas (-196 °C), que ralentizan la actividad biológica y aseguran la viabilidad para su uso posterior.

Innovaciones en la reproducción asistida: avances en la ciencia y sus implicaciones

En paralelo a los esfuerzos por preservar la biodiversidad, la ciencia ha logrado importantes avances en el campo de la RA, herramienta clave para la conservación de especies de importancia biológica y comercial. Entre ellos destaca la sincronización del celo, superovulación, sexado de espermatozoides (clasificación de espermatozoides vivos portadores de cromosomas X e Y), inseminación artificial (IA), fertilización *in vitro* (FIV), producción de embriones *in vitro*, transferencia de embriones y criopreservación de gametos. Estas innovaciones no sólo han optimizado la reproducción y conservación de especies; también han permitido modificar características genéticas (Bustamante-González y Ávalos-Rodríguez, 2023; Megha y Chaitanya, 2021) que podrían abrir nuevas posibilidades ante la pérdida de la biodiversidad, resistencia a enfermedades y adaptaciones ambientales.

Criopreservación: la vida en frío

El frío tiene un poder paradójico: preservar o destruir. En el campo de la biología, el frío es utilizado para conservar la vida. En este contexto, la criobiología resulta ser una rama especializada de la biología que se enfoca en la conservación a largo plazo (meses o años) de células y tejidos, a temperaturas muy bajas (-196 °C). Este proceso permite ralentizar el metabolismo, las reacciones bioquímicas, el envejecimiento y la degeneración celular (Malabika y Mohammad, 2014).

Criopreservación espermática

La criopreservación espermática consiste en una serie de pasos: 1) diluir el semen en una solución denominada *diluyente*; 2) hacer uso de un crioprotector permeable o no permeable; 3) estandarizar un periodo de equilibrio, es decir, el tiempo que requieren los espermatozoides para ajustar las concentraciones de solutos (intra y extracelulares) y para la difusión de los crioprotectores a través de la membrana plasmática para sustituir el agua intracelular; 4) sistema de empaque; 5) enfriamiento en vapor de nitrógeno (las pajillas o viales con el semen se colocan en promedio a 5 cm de altura del nitrógeno líquido) con la finalidad de proveer una fase de enfriamiento controlada para evitar el daño celular ocasionado por la formación de cristales de hielo; 6) congelación; 7) descongelación, y 8) evaluación de las muestras.

Diluyentes

Los diluyentes son soluciones isotónicas diseñadas específicamente para simular el entorno natural de los espermatozoides dentro del testículo o del conducto eferente. Sin embargo, cuando se agrega el crioprotector el diluyente se vuelve hipertónico. Su función principal es preservar la viabilidad de los espermatozoides durante el proceso de congelación (Medina-Robles et al., 2020; Sieme et al., 2016). Por esta razón es necesario ajustar la osmolaridad (concentración de partículas disueltas en un solvente) y el pH, acorde al plasma seminal de la especie objetivo.

Crioprotectores

Los crioprotectores son compuestos altamente hidrosolubles y de baja citotoxicidad que desempeñan funciones fundamentales en la criopreservación. La principal es difundir agua a través de la bicapa fosfolipídica e inducir su salida del espacio intracelular, lo que contribuye a reducir la temperatura de nucleación del hielo. Este proceso impide que los cristales de hielo se formen dentro de la célula, lo que protege las estructuras internas y minimiza el daño causado por la congelación. Los crioprotectores ayudan a equilibrar el gradiente osmótico intra y extracelular, lo que facilita la deshidratación celular de manera controlada y evita la cristalización (Bustamante-González et al., 2024).

Los crioprotectores se clasifican en dos grupos: permeables y no permeables, según su capacidad para difundir la membrana plasmática, y su uso depende del tipo de célula o tejido que se desea conservar.

Los crioprotectores permeables son compuestos de bajo peso molecular que tienen la capacidad de difundir a través de la membrana plasmática. Su principal función es prevenir el daño causado por la formación de cristales de hielo dentro de las células durante la congelación, pero también mantienen el equilibrio osmótico entre el interior y el exterior de la célula y reducen la temperatura de nucleación. Dentro de los crioprotectores permeables se

encuentra el dimetilsulfóxido, metanol, etanol, etilenglicol, glicerol y 1,2-propanodiol (Bustamante-González et al., 2024); en animales domésticos es más común el uso de glicerol.

Los crioprotectores no permeables, también llamados extracelulares, son sustancias de alto peso molecular que no difunden la membrana plasmática pero ejercen una acción crioprotectora externa que ayuda a controlar la rehidratación intracelular durante la descongelación y previenen el daño osmótico. Dentro de los crioprotectores no permeables más utilizados se encuentran la glucosa, fructosa, lactosa, sacarosa y trehalosa (Allai et al., 2018).

Sistema de empaque

El tipo de empaque es determinante en la congelación, descongelación y almacenamiento de las muestras. Las pajillas son de uso común para la criopreservación seminal, dada su relación superficie/volumen, lo cual favorece la congelación y descongelación de las muestras (Medina-Robles et al., 2020). Las pajillas se comercializan en distintos volúmenes (0.25, 0.5 o 1.2-5.0 mL), los cuales son elaborados con plásticos que soportan y hace eficientes los cambios de temperatura durante la congelación.

Tasa de congelación y descongelación

La etapa de congelación es considerada un punto crítico de control, ya que es donde la célula sufre daños irreversibles por la formación de cristales de hielo (intracelulares y extracelulares), choque térmico, estrés osmótico y estrés oxidativo, que en conjunto afectan la membrana plasmática, las mitocondrias y la estructura de la cromatina (Figueroa Villalobos et al., 2025; Gironi et al., 2020). La congelación de las muestras se puede llevar a cabo mediante hielo seco, suspensión en vapores de nitrógeno líquido, vitrificación o enfriamiento controlado (congelador programable) (Medina-Robles et al., 2020).

Ulteriormente, la descongelación hace referencia a la velocidad a la que una muestra es descongelada. En este caso se recomienda estandarizar la temperatura, ya que una tasa de descongelación lenta hace que los cristales de hielo se recristalicen, fusionen, crezcan y dañen la célula. Por otra parte, cuando la tasa de descongelación es rápida no hay tiempo suficiente para la recristalización, es decir, el hielo simplemente se derrite. La temperatura y el tiempo de descongelación suelen variar de acuerdo con la especie, pero el promedio oscila entre 35 y 40 °C.

Desafíos en la reproducción

La criopreservación espermática es una herramienta clave en la biología de la reproducción. Sin embargo, uno de sus retos es la elaboración de protocolos específicos de acuerdo con cada especie, que aseguren altos porcentajes de espermatozoides móviles capaces de llevar a cabo la fecundación. Por esta razón, se requiere de un mayor volumen de semen criopreservado,

desafío que pone de manifiesto la necesidad de contar con protocolos exitosos que garanticen la viabilidad y movilidad de los espermatozoides para llevar a cabo alguna técnica de reproducción asistida (TRA), como la IA o la FIV (Bustamante-González y Ávalos-Rodríguez, 2023; Bustamante-González et al., 2024).

No obstante, aunque la criopreservación ha demostrado ser una TRA valiosa para la conservación de la biodiversidad y la biología de la reproducción, no está exenta de desafíos técnicos y limitaciones. Uno de los problemas principales radica en los daños que la célula manifiesta durante la congelación y descongelación, ya que la membrana plasmática y los orgánulos celulares son estructuras extremadamente delicadas cuya integridad y funcionalidad pueden verse comprometidas por los cambios de temperatura (Nynca et al. 2017).

El problema se debe a la formación de cristales de hielo intra y extra celular, los cuales pueden perforar la membrana plasmática, dañar su estructura y funcionalidad, aunado al estrés osmótico, térmico y oxidativo, que en conjunto afectan la viabilidad celular (Bustamante-González et al., 2024; Figueroa Villalobos et al., 2025). No obstante, otro desafío es la capacitación prematura o criocapacitación, que reduce la viabilidad fértil de los espermatozoides descongelados (Bañas et al., 2023; Benko et al., 2022), lo cual plantea la necesidad de desarrollar protocolos más seguros y eficientes que minimicen los daños durante este proceso.

Algunos casos de éxito

A continuación se describen algunos casos de éxito donde se ha conseguido criopreservar espermatozoides de manera satisfactoria.

En México se logró la criopreservación espermática de especies endémicas con alto valor biológico y cultural, como el ajolote (*Ambystoma mexicanum*), anfibio catalogado en peligro de extinción (Rivera-Pacheco et al., 2021), o bien, de algunos peces endémicos pertenecientes al género *Chirostoma* (Bustamante-González et al., 2024).

En España se consiguió la criopreservación espermática del halcón peregrino (*Falco peregrinus*), lo que ha sido propuesto como modelo biológico idóneo para el desarrollo de protocolos de criopreservación aplicables a otras aves rapaces (Cardoso et al., 2020). Asimismo, se logró la criopreservación del lobo ibérico (*Canis lupus signatus*), endémico de la península ibérica, cuyos resultados podrían contribuir a la conservación de subespecies (Cerdeira et al., 2021). Recientemente se consiguió la del pingüino del Cabo (*Spheniscus demersus*) y la del pingüino de pico rojo (*Pygoscelis papua*) (Marti-Colombas et al., 2022).

En Brasil se realizó la criopreservación espermática de diversas víboras, como la mapaná (*Bothrops atrox*), caiyaca (*B. moojeni*) y cascabel tropical (*Crotalus durissus*) (Blank et al., 2022). En Estados Unidos se obtuvo de manera satisfactoria la criopreservación espermática del hurón de patas negras (*Mustela nigripes*), especie en peligro de extinción en América del Norte (Howard et al., 2015).

Por lo anterior, la criopreservación se perfila como una biotecnología clave, con un futuro prometedor en los campos de la conservación de la biodiversidad y en la biología de la reproducción.

Futuro de la biodiversidad y la ciencia reproductiva

El desafío de proteger la biodiversidad requiere de un enfoque integral que combine la conservación de los ecosistemas con el uso responsable de las tecnologías emergentes. En este contexto, la RA puede ser una herramienta fundamental, pero sólo si se utiliza de manera ética y sostenible. Si bien la ciencia ofrece soluciones innovadoras, la preservación de la biodiversidad sigue siendo la prioridad, y a medida que continuamos enfrentando retos medioambientales globales, es crucial que la humanidad encuentre un equilibrio entre el desarrollo tecnológico y la conservación de la vida en el planeta (Malabika y Mohammad, 2014).

Conclusión

La criopreservación se ha consolidado como una herramienta fundamental en la protección y el uso sostenible de los recursos biológicos, desempeñando un papel invaluable en la biología moderna. Su eficacia en la conservación y reproducción de especies en peligro de extinción la posiciona como una estrategia clave para preservar la biodiversidad, principalmente en aquellas especies que presentan barreras geográficas que dificultan la reproducción natural, o bien, potenciar la mejora genética de organismos con alto valor comercial. No obstante, a pesar de los avances significativos en la comprensión de los mecanismos implicados en este proceso, la mejora continua de los protocolos de criopreservación sigue siendo esencial para asegurar una conservación eficiente y segura del material biológico.

Con el desarrollo de nuevas tecnologías y metodologías se espera que esta técnica tenga un impacto profundo no sólo en la preservación de gametos, sino también en la de otros tipos de células y tejidos, al ampliar sus aplicaciones tanto en el ámbito de la biología como en la medicina regenerativa. Esta evolución proyecta la criopreservación como una biotecnología revolucionaria para el resguardo de la diversidad genética y el avance de soluciones innovadoras frente a los desafíos ambientales y productivos actuales.

Agradecimientos

Este trabajo se realizó gracias al apoyo otorgado por la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) a Nayeli Berenice Aguirre-Valenzuela (CVU: 1306961), Jesús Dámaso Bustamante González (CVU: 566816) y Araceli Cortés García (CVU: 46485).

Referencias

- Allai, L., Benmoula, A., Maia, M. S., Nasser, B. y El Amiri, B. (2018). Supplementation of ram semen extender to improve seminal quality and fertility rate. *Animal Reproduction Science*, 192, 6-17. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.03.019>
- Bañas, Š., Benko, F., Ďuračka, M., Lukáč, N. y Tvrdá, E. (2023). Epicatechin prevents cryocapacitation of bovine spermatozoa through antioxidant activity and stabilization of transmembrane ion channels. *International Journal of Molecular Science*, 24(3), 2510. <https://doi.org/10.3390/ijms24032510>
- Benko, F., Fialková, V., Žiarovská, J., Ďuračka, M., Lukáč, N. y Tvrdá, E. (2022). In vitro versus cryo-induced capacitation of bovine spermatozoa, part 2: changes in the expression patterns of selected transmembrane channels and protein kinase A. *International Journal of Molecular Science*, 23: 14646. <https://doi.org/10.3390/ijms232314646>
- Blank, M. H., Novaes, G. A., Losano, J. D. A., Sant'Anna, S. S., Vieira, S. E. M., Grego, K. F. y Pereira, R. J. G. (2022). Insights on sperm assays and cryopreservation in six Neotropical pit vipers. *Cryobiology*, 106, 55-65. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2022.04.003>
- Bustamante-González, J. D. y Ávalos-Rodríguez, A. (2023). Criopreservación espermática ante la pérdida de la biodiversidad. *Elementos*, 32(132), 91-94. <https://elementos.buap.mx/post.php?id=826>
- Bustamante-González, J. D., Gutiérrez-Díaz, D. L., Baca-Alejo, J. S., Figueroa-Lucero, G., Arenas-Ríos, E., Hernández-Rubio, M. C. y Ávalos-Rodríguez, A. (2024). Fertilizing capacity of cryopreserved sperm of *Chirostoma jordani* (Woolman, 1894). *Fisheries and Aquatic Sciences*, 27(5), 306-313. <https://doi.org/10.47853/FAS.2024.e30>
- Cardoso, B., Sánchez-Ajofrín, I., Castaño, C., García-Álvarez, O., Estes, M. C., Maroto-Morales, A., Iniesta-Cuerda, M., Garde, J. J., Santiago-Moreno, J. y Soler, A. J. (2020). Optimization of sperm cryopreservation protocol for peregrine falcon (*Falco peregrinus*). *Animals*, 10(4), 691. <https://doi.org/10.3390/ani10040691>
- Cerdeira, J., Castaño, C., Pérez, J. F., Marcos-Beltrán, J. L., Guerra, R., López-Fernández, M., Torija, E., Rodríguez, A., Martínez-Navado, E., Toledano-Díaz, M. J., Sánchez-Calabuig, M. J. y Santiago-Moreno, J. (2021). Vitrification of Iberian wolf (*Canis lupus signatus*) sperm: a possible alternative to conventional cryopreservation. *Animal Reproduction Science*, 235, 106887. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106887>
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (2022). ¿Cuántas especies hay? *Biodiversidad Mexicana*. CONABIO, sp. https://www.biodiversidad.gob.mx/especies/cuantasesp?utm_source
- Figueroa Villalobos, E., Wilson, R., Amorim Pereira, W., Merino, O., Pérez-Atehortúa, M., Niedmann, P., Ávila, S., Alvarado, C., Risopatrón, J., Oliveira, R. P. S., Farías, J. G., Valdebenito Isler, I., Villasante, A. y Romero, J. (2025). Cryopreservation of yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*)

- sperm: effects on metabolic enzymes and sperm quality. *Aquaculture*, 596(parte 2), 741865. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2024.741865>
- Gironi, B., Kahveci, Z., McGill, B., Lechner, B. D., Pagliara, S., Metz, J., Morresi, A., Palombo, F., Sassi, P. y Petrov, P. G. (2020). Effect of DMSO on the mechanical and structural properties of model and biological membranes. *Biophysical Journal*, 119(2), 274-286. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2020.05.037>
- Howard, J. G., Lynch, C., Santymire, R. M., Marinari, P. E. y Wildt, D. E. (2015). Recovery of gene diversity using long-term cryopreserved spermatozoa and artificial insemination in the endangered black-footed ferret. *Animal Conservation*, 19(2), 102-111. <https://doi.org/10.1111/acv.12229>
- Keck, F., Peller, T., Alther, R., Barouillet, C., Blackman, R., Capo, E., Chonova, T., Couton, M., Fehlinger, L., Kirschner, D., Knüsel, M., Muneret, L., Oester, R., Tapolczai, K., Zhang, H. y Altermatt, F. (2025). The global human impact on biodiversity. *Nature*, 641(8062), 395-400. <https://doi.org/10.1038/s41586-025-08752-2>
- Malabika, R. P. y Mohammad, S. A. (2014). The role of biotechnology in the conservation of biodiversity. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Science*, 2(4), 352-363. https://www.researchgate.net/publication/265126076_The_Role_of_Biotechnology_in_the_Conservation_of_Biodiversity
- Marti-Colombas, M., Sánchez-Calabuig, M. J., Castaño, C., Toledano-Díaz, A., Martínez-Nevado, E., López-Goya, A. y Santiago-Moreno, J. (2022). Optimization of semen cryopreservation in black-footed (*Spheniscus demersus*) and gentoo (*Pygoscelis papua*) penguins using dimethylacetamide and dimethylsulfoxide. *Animal Reproduction Science*, 237, 106933. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2022.106933>
- Medina-Robles, V. M., Duarte-Trujillo, A. S. y Cruz-Casallas, P. E. (2020). Criopreservación seminal en peces de agua dulce: aspectos biotecnológicos, celulares y bioquímicos. *Orinoquia*, 24(2), 51-78. <https://doi.org/10.22579/20112629.630>
- Megha, B. A. y Chaitanya, H. P. (2021). Cryopreservation of gametes in wildlife: a mini review. *JOJ Wildl Biodivers*, 3(3), 555619. <https://juniperpublishers.com/jojwb/JOJWB.MS.ID.555619.php>
- Nynca, J., Judycka, S., Liszewska, E., Dobosz, S. y Ciereszko, A. (2017). Standardization of spermatozoa concentration for cryopreservation of rainbow trout semen using a glucose-methanol extender. *Aquaculture*, 477, 23-27. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.04.036>
- Rivera-Pacheco, J., Herrera-Barragán, J., León-Galván, M., Ocampo-Cervantes, J., Pérez-Rivero, J. J. y Gual-Sill, F. (2021). Criopreservación espermática de *Ambystoma mexicanum* (Shaw & Nodder, 1798). *Abanico Veterinario*, 11, 1-14. <https://doi.org/10.21929/abavet2021.12>
- Sieme, H., Oldenhofa, H. y Wolkersb, W. F. (2016). Mode of action of cryoprotectants for sperm preservation. *Animal Reproduction Science*, 169, 2-5. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.02.004>