



El uso del áloe vera y la glucosa como elementos protectores para la conservación del semen porcino

The use of aloe vera and glucose as protective elements for the conservation of boar semen

O uso de aloe vera e glicose como elementos protetores para a conservação do sêmen suíno

Mario Andrés Carreño Arteaga ^I
macarreno@espam.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0003-3050-3752>

Juan José Zambrano ^{II}
juan.zambrano@utm.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0003-2635-781X>

Nancy Paola Carreño Arteaga ^I
pao_ec84@hotmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-2082-3819>

Correspondencia: macarreno@espam.edu.ec

Ciencias Técnicas y Aplicadas
Artículo de Investigación

* **Recibido:** 23 de septiembre de 2022 * **Aceptado:** 12 de octubre de 2022 * **Publicado:** 29 de noviembre de 2022

- I. Magíster en Medicina Veterinaria mención en salud y reproducción de especies productivas, Docente Tiempo Completo en la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí ESPAM, Manabí, Ecuador.
- II. Magíster en Producción Animal, Docente investigador en la Escuela de Medicina Veterinaria en la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Técnica de Manabí, Manabí, Ecuador.
- III. Magíster en Auditoría Integral, Docente de la Facultad de Ciencias Administrativas y Económicas de la Universidad Técnica de Manabí, Manabí, Ecuador.

Resumen

La presente investigación tuvo como fin la aplicación de varios tratamientos para la evaluación de la supervivencia de los espermatozoides y el objeto de estudio en las diferentes temperaturas sometidos a procesos de adaptación previo a la conservación, utilizando el aloe vera y combinación con glucosa en distintas concentraciones. Por consiguiente, el objetivo fue evaluar el impacto que provoca la aplicación de aloe vera y glucosa en la conservación del semen porcino. En tal sentido, se empleó un diseño de investigación experimental, de tipo documental y de campo para comprender la importancia que tiene tanto aloe vera y glucosa como protectores para conservación espermática del semen porcino. Entre los principales resultados destacan que el proceso de congelación tuvo una supervivencia no apta para la fecundación. En conclusión, el Aloe vera en un 20% no produjo diferencia significativa en los parámetros de motilidad, viabilidad y anormalidad en comparación con el diluyente comercial en el caso de las observaciones en fresco y refrigerado.

Palabras Clave: Verraco; concentración; espermatozoides; inseminación.

Abstract

The purpose of this investigation was the application of several treatments for the evaluation of the survival of spermatozoa and the object of study at different temperatures, undergoing adaptation processes prior to conservation, using aloe vera and combination with glucose in different concentrations. . Therefore, the objective was to evaluate the impact caused by the application of aloe vera and glucose in the conservation of boar semen. In this sense, an experimental, documentary and field research design was used to understand the importance of both aloe vera and glucose as protectors for sperm conservation of porcine semen. Among the main results, it stands out that the freezing process had a survival that did not record for fertilization. In conclusion, Aloe vera did not produce a significant difference in 20% of the motility, viability and abnormality parameters compared to the commercial diluent in the case of fresh and refrigerated observations.

Keywords: Boar; concentration; sperm; insemination.

Resumo

O objetivo desta investigação foi a aplicação de vários tratamentos para a avaliação da sobrevivência dos espermatozoides e objeto de estudo em diferentes temperaturas, passando por processos de adaptação anteriores à conservação, usando aloe vera e combinação com glicose em diferentes concentrações. Portanto, o objetivo foi avaliar o impacto causado pela aplicação de aloe vera e glicose na conservação do sêmen suíno. Nesse sentido, um projeto de pesquisa experimental, documental e de campo foi usado para entender a importância do aloe vera e da glicose como protetores para a conservação espermática do sêmen suíno. Dentre os principais resultados, destaca-se que o processo de congelamento teve uma sobrevivência que não registrou para fecundação. Em conclusão, o Aloe vera não produziu diferença significativa em 20% dos parâmetros de motilidade, viabilidade e anormalidade em comparação com o diluente comercial no caso de observações frescas e refrigeradas.

Palavras-chave: Javali; concentração; esperma; inseminação.

Introducción

La inseminación artificial porcina tiene una gran aceptación de los productores a nivel nacional e internacional por su eficiencia o el alto rendimiento, es una técnica ampliamente extendida en el sector porcino teniendo mejoras en las metodologías que se pueden utilizar para obtener rendimientos mucho mejores en los resultados de fertilidad que se necesita para el rendimiento en la producción (García et al, 2010). En las explotaciones porcinas el primer problema que se enfrenta es la selección de los verracos que serán los donantes de semen, los cuales deben ser escogidos sobre la base de factores genéticos, sanitarios y reproductivos (Razas porcinas 2018).

Los diluyentes tradicionales del semen porcino aseguran una supervivencia de su capacidad fecundante y porcentaje de movilidad espermática en fresco y refrigeración hasta siete días, una alternativa para preservar el semen en los actuales tiempos es la crioconservación que para esta especie en específico resulta difícil esta aplicación por su baja supervivencia post-congelado.

La criopreservación de semen es una biotecnología importante para el mantenimiento y la diversidad genética de muchas especies animales. A pesar de los avances alcanzados se evidencia la necesidad de nuevos estudios vislumbrando el uso de otras sustancias que pueden ofrecer mayor protección a la célula espermática (Souza et al., 2014).

La técnica de criopreservación permite conservar los espermatozoides por tiempo indefinido sin que pierdan su capacidad fecundante, ofrece algunas posibilidades inalcanzables para las otras

técnicas más tradicionales de conservación, como es la refrigeración. Entre las ventajas a considerar de la criopreservación sobre la refrigeración, como procedimiento para conservar semen de porcino, podemos realizar la importación/exportación de dosis seminales

Si bien la congelación de semen no es una técnica nueva, recientes investigaciones han logrado avances en la congelación de semen. El interés por mejorar dicha tecnología se debe al riesgo de desabastecimiento que supondría una eventual epidemia, y sería vital importar y exportar semen de verracos de alta calidad genética (Echegaray 2001).

El procesamiento y preservación de semen permite el mejoramiento genético a largo plazo, por lo cual el semen congelado siempre tendrá una labor que cumplir en la especie porcina, en la producción de pureza de bisabuelas y abuelas para reposición en las granjas de selección, uso que se le ha venido dando tradicionalmente y que podrá ser realizada exclusivamente con semen congelado a futuro.

El estrés que el proceso de congelación causa a la estructura de la célula está relacionado con la circulación del agua a través de la membrana y la deshidratación, así como la posibilidad de que se forme hielo intracelular si el enfriamiento es rápido (González, 2010).

Se han realizado diferentes intentos para contrarrestar los efectos detrimentales generados por los protocolos de criopreservación, entre los cuales destacan la búsqueda de marcadores de congelabilidad, la selección y preparación de espermatozoides y la suplementación de los medios de congelación y descongelación con plasma seminal, antioxidantes y otros aditivos (Yeste, 2015).

En la Provincia de Manabí se viene dando mejoras constantes en la industria porcina, sin embargo, la aplicación de biotecnologías no es de uso frecuente dado al desconocimiento o a la inseguridad que se ha generado en los porcinocultores, siendo esta la principal herramienta del avance genético de las piaras y de la mejora de los índices reproductivos, así como el crecimiento de los planteles porcinos como industria.

1. DESARROLLO

1.1. Historia en la inseminación artificial porcina

La inseminación artificial porcina (IA) esta se inició en los primeros años del siglo veinte, por (Ivanow, 1907 y 1922). Posteriormente, se desarrolló su uso en la década de los treinta en las granjas estatales rusas (Rodin y Lipatov, 1935; Milovanow, 1938) y en los años siguientes se fue extendiendo a otros países (en USA Mckenzie, 1931; en Japón, Ito et al., 1948). La técnica fue reintroducida en el sector porcino en el Reino Unido gracias a los trabajos desarrollados por Chris

Polge (1970), ya que esta es una ventaja que aporta a esta tecnología, el aprovechamiento del potencial genético de los mejores verracos en un amplio número de cerdas reproductoras, facilitando la mejora genética.

1.2. Raza de cerdos Pietrain

1.2.1. Prototipo racial

Podemos encontrar los estándares aceptados para la raza Pietrain en los siguientes puntos:

- **Cabeza:** relativamente ligera, corta, recta cóncava y carrillo poco desarrollado.
- **Orejas:** pequeñas dirigidas horizontalmente hacia delante y con la punta ligeramente encorvada hacia arriba.
- **Cuello:** corto, con cargado armónico en sus uniones con cabeza y tronco y escasa papada.
- **Espaldas:** Prominentes, muy musculadas y adheridas al tronco.
- **Dorso:** Bastante largo, ligeramente abombado, ancho con una ligera depresión longitudinal delimitada por dos grandes masas musculares.
- **Lomo:** Muy musculoso ancho y grueso.
- **Tórax:** Ancho, cilíndrico y de profundidad media, musculado con costillas fuertemente arqueadas.
- **Abdomen:** Poco desarrollado y bien sostenido, con línea inferior paralela al dorso, y un mínimo de doce mamas normales colocadas regularmente.
- **Nalgas y muslos:** Muy anchos, llenos y redondeados descendiendo hasta el corvejón.
- **Cola:** Inserción baja.
- **Pelaje:** blanco sucio, esparcido con manchas irregulares. Provisto de pelos duros y cortos, y frecuentemente con un reflejo rojizo característico alrededor de las manchas negras.
(Razas porcinas 2018)

1.2.2. Características generales y aptitudes de la raza Pietrain

Raza seleccionada, sobre todo por la calidad de su canal, junto con Hampshire y Landrace. Donde esta raza es la que peores parámetros de crecimiento (velocidad de crecimiento baja), índices de conversión (necesidad de elevado nivel de alimentación para incrementar el peso vivo) y reproducción (número de lechones por cerda y año) da, sin embargo, posee el mayor porcentaje de piezas nobles y posee mucha grasa intramuscular. También es la raza que presenta en mayores ocasiones PSE (carnes pálidas, blandas y exudativas)

La conformación excepcional del cerdo de raza Pietrain lo convierte en el más indicado para cruces, cuyos productos ofrecen una canal muy mejorada, independientemente del tipo de madre.

1.2.3. Aparato Genital del Cerdo

Se van a recordar esquemáticamente los órganos que componen el aparato genital del verraco, su regulación neuroendocrina y la producción espermática, ya que la práctica habitual de la extracción de semen e IA a nivel de granja hace necesaria una buena familiarización con estos aspectos en esta especie.

El sistema reproductor masculino está constituido de:

- a) Glándulas sexuales: testículos.
- b) Conductos secretorios: conducto eferente, deferente y epidídimo.
- c) Glándulas sexuales accesorias: vesícula seminal, próstata, glándulas bulbouretrales o de Cowper, glándulas uretrales o de Little.
- d) Órgano copulador: pene
- e) Prepucio
- f) Uretra (Saéz. et., al., 2004).

1.2.3.1. Estructura interna

Los conductos eferentes tienen un epitelio cilíndrico simple con células ciliadas y células con microvellosidades. Este último tipo contiene además gránulos de secreción. La capa muscular de fibra lisa es delgada. Tanto los cilios como las fibras musculares facilitan la progresión de los espermatozoides hacia el conducto epididimario. Este se caracteriza por poseer un epitelio de tipo pseudo estratificado, con vellosidades y una capa muscular fina. El conducto deferente mantiene la morfología epitelial del conducto epididimario, pero su capa muscular es mucho más gruesa y está formada por tres láminas de fibras: una interna (longitudinal) otra media (circular) y una lámina externa donde las fibras musculares vuelven a adoptar una disposición longitudinal. Rodeando a la capa muscular existe una adventicia de tejido conectivo denso. La estructura de la ampolla es la misma que la del resto del conducto deferente.

1.2.3.2. Formación espermática

La espermatogénesis es un proceso largo y dirigido en el que las células madres diploides, ubicadas dentro de los túbulos seminíferos (espermatogonias), se dividen por mitosis para mantener su número y que, de forma cíclica, generan progenie que sufren progresivas divisiones meióticas hasta

diferenciarse en espermáticas haploides, que se liberan como espermatozoides (producción del semen de cerdos). La espermatogénesis, en el verraco, lleva alrededor de 35-40 días, y la maduración y transporte desde el testículo al epidídimo, alrededor de 16 días. La totalidad del proceso lleva alrededor de 50-55 días.

Metodología

En el desarrollo de la presente investigación se empleó un diseño experimental, en razón de que se procedió a estudiar la vitalidad en diferentes temperaturas del semen porcino y la supervivencia de este a la congelación.

El tipo de investigación empleado fue de campo en razón de que se realizaron visitas en el lugar donde ocurren los hechos o fenómenos objeto de estudio, además, de realizar una revisión documental la cual es definida por Bernal (2010) como: “un análisis de la información escrita sobre un determinado tema, con el propósito de establecer relaciones, diferencias, etapas, posturas o estado actual del conocimiento respecto al tema objeto de estudio” (p.111).

La población estuvo conformada por las fincas ubicadas en el sitio El Tillo de la Parroquia Calderón del Cantón Portoviejo en la finca del mismo nombre, la cual se encuentra ubicada en las siguientes coordenadas latitud 1°1 '11.23" S longitud 80°21'52.70" O, y a una altitud de 44 Msnm. Para el presente trabajo se utilizó un cerdo de raza Pietrain al cual se le extrajo dos muestras de semen para el estudio.

Con respecto a la muestra se utilizó un verraco de raza Pietrain con una edad de 2 años, una altura de 1,04 m y un peso de 195 Kg, como fuente de las células germinales (semen), al cual se le realizó un examen físico y evaluación de su capacidad reproductiva observando las condiciones de este.

Respecto al método de recolección manual utilizado fue a través de la técnica de doble mano enguantada descrita por Córdova Izquierdo (2015). Se recolectó dos eyaculados para obtener volumen y concentración espermática adecuada, la misma que fue homogenizada y dividida en 24 dosis las cuales contenían 20×10^3 espermatozoides por dosis.

El proceso de colecta fue realizado a las 6 am en el área destinada para el efecto, la cual previamente fue sanitizada. Dentro de los materiales utilizados se encontraba un maniquí de colecta, un vaso colector, una funda con filtro de marca y guantes de látex. Minutos antes de realizar la colecta se realizó la limpieza del prepucio con desinfectante y se estimuló para la subida al maniquí. Se colectó las dos últimas porciones del eyaculado en un vaso colector armado con la funda de filtro,

con intervalo de 10 minutos entre eyaculación, para posteriormente ser llevado al laboratorio ubicado dentro de la granja para su procesamiento

Dentro del laboratorio se procedió a retirar el filtro separando las porciones seminales, se calculó la concentración utilizando el espermiométrico karras de marca minitube.

La morfología espermática se observó con un microscopio dentro del laboratorio observando la morfología, movilidad y motilidad.

La vitalidad se evaluó colocando una gota de semen con una gota de nigrosina, la cual permite teñir a los espermatozoides muertos y facilitar su conteo y la observación de la normalidad en los espermatozoides vivos.

La movilidad masal se realizó mediante la colocación de 0.5 ml de la muestra sobre un portaobjeto a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ y observada en el microscopio, evaluándolas según los siguientes grados:

0 = No hay motilidad alguna.

1 = Hay algunos espermatozoides que se mueven, pero la imagen es de quietud.

2 = Hay espermatozoides móviles. La imagen es de un lento flujo. No hay ondas.

3 = Hay formación de ondas, pero sin conformación nítida.

4 = Las ondas se forman y desaparecen claramente.

5 = La velocidad de formación y desaparición de las ondas es tan rápida que el observador no puede caracterizarlas.

La movilidad individual se realizó con la colocación de dos gotas de semen para determinar sus movimientos de forma progresiva sobre cubreobjetos templado a 37°C cubiertas con portaobjetos evaluando la muestra en forma porcentual 50, 70, 80% de los siguientes parámetros:

A. Movimiento

1. Rectilíneo progresivo
2. Circular y en el lugar
3. Falta de motilidad

B. Intensidad del movimiento

1. + baja
2. ++ mediana
3. +++ alta

Para la movilidad se definió las olas seminales en masa de 0 al 100% y de igual manera para la movilidad individual, evaluada el semen se procedió a la dilución con el diluyente Vitasem en relación 1:1 para el testigo, para el experimental se añadió el 20% de aloe vera a la dilución.

Se usó semen para la congelación con una motilidad rectilínea progresiva no inferior a 70%.

Preparación de los diluyentes para los tratamientos

Para este proceso se utilizaron diferentes plantas de sábila y se tomaron 20 hojas para la extracción de aloe vera a utilizar en la investigación, está se consideró en estado de maduras mayor a 3 años, las hojas de sábila utilizadas fueron recolectadas en mismo día de recolección del semen. Las hojas fueron previamente lavadas y desinfectadas con abundante agua y alcohol a 72° GL, posterior a ello fue removida la corteza exterior para obtener la pulpa (gel) la cual se filtró con 3 capas de gasas estériles previa homogenización por medio de la ayuda de una licuadora doméstica, obteniendo la cantidad suficiente para añadir el 17% y 20%, del volumen de la dilución en los tratamientos.

Testigo

Estuvo integrado por un diluyente comercial (VITASEM) que contenía los siguientes elementos: Glucosa, bicarbonato sódico, estabilizadores de membrana y excipientes.

Tratamiento 1 Aloe 17% + glucosa 3%

Para el tratamiento aloe vera más la glucosa aplicada en nuestro estudio de investigación se utilizó entre el 17% y 3% respectivamente en la dilución madre o de origen, realizada con el diluyente comercial VITASEM (De la casa Comercial Magapor) con un volumen de 100 cm³ y con un sobre de 40 gr., donde posteriormente se procedió a realizar diferentes muestras con la misma metodología indicada anteriormente para la dosificación de las pajuelas.

Tratamiento 2 Aloe 20%

Se utilizó el 20% de Aloe Vera más diluyente comercial utilizado en el tratamiento testigo como tratamiento de los cuales se estableció la relación 1: 1 para solución madre, se calculó la concentración espermática con un espermiodensímetro KARRAS de marca minutube según la metodología indicada por la empresa fabricante, para la dilución del semen entre el número de pajuela.

Métodos de conservación evaluados

Se evaluaron tres ambientes de conservación del espermatozoide, fresco, refrigerado y congelado. Las observaciones se realizaron para el semen fresco desde las 0 horas a las 12 horas en rango de

dos horas cada observación, donde se realizó veinte y cuatro repeticiones, así mismo se realizó la observación de semen refrigerado a los días 1, 3, 5, 7 y 9 y del congelado a los días 1, 3 y 10 dentro del laboratorio para la investigación.

Proceso de Congelado

La congelación del semen se la realizó mediante la adaptación de varios rangos de temperaturas, comenzando con dos horas a 35°C, transcurrido ese tiempo se llevó las muestras a 4°C por cuatro horas para la adaptación al frío por refrigeración, transcurrido el tiempo determinado se sacaron las muestras de este equipo realizando el escarchado del semen a -80°C por treinta minutos en el cuello del termo de nitrógeno de veinte kilos el cual se encontraba recargado a su máxima capacidad, pasado este tiempo se sumergieron las muestras en el nitrógeno líquido con una temperatura de -196°C para su almacenamiento.

Proceso de descongelado

Para la descongelación las pajuelas se sometieron a Baño María en seco a 37° C previamente calentado por 10 minutos, se procedió al secado de la botella y posterior obtención de la muestra para la observación de los espermatozoides.

Tabla 1 Distribución de muestra

	Testigo	T1	T2
Fresco	3	3	3
Refrigerado	3	3	3
Congelado	0	3	3

Se evaluaron tres tratamientos a continuación detallados:

- Testigo (diluyente comercial VitaseM)
- T1.- Aloe vera al 17% más Glucosa al 3% + diluyente comercial VitaseM
- T2.- Aloe vera al 20% + diluyente comercial VitaseM

Resultados

Los resultados obtenidos se dividen en la descripción morfológica del semen porcino y la supervivencia de este a los diferentes métodos de conservación, utilizando protectores naturales.

Concentración espermática

Media de las eyaculaciones del verraco para la concentración espermática

Tabla 2 Media de concentración espermática

Variable	Media	Desv.Est.
Concentración	249 x 10 ⁶	5.66

El volumen de los eyaculados fue similar entre ellos 100 ml teniendo en la primera colecta una concentración de 253 x 10⁶ y de 245 x 10⁶ en la segunda colecta dando como promedio 249 x 10⁶

Calidad Seminal

La evaluación seminal de los eyaculados se homogenizó para su evaluación obteniendo solución con la calidad ideal para su procesamiento.

Tabla 3 Medias de normalidad espermática

	Normalidad	Concentración	Movilidad
Semen	85%	249 x 10 ⁶	95%

Los parámetros de la calidad seminal estuvieron dentro del rango aceptable para asegurar la eficacia reproductiva de las pajuelas.

Evaluación en fresco

Los valores de movilidad de los espermatozoides por diferentes rangos en los tratamientos se evaluaron por horas con intervalo de dos horas desde las cero hasta las doce horas.

Tabla 4 Supervivencia de semen en fresco

Hora	Testigo		Aloe 17		Aloe 20		Valor p
	Media	SD	Media	SD	Media	SD	
0	95	2	95	2	95	2	NS
2	95	2	80	5	90	1.2	0.00305**
4	95.6	1.2	60	5	90	0	NS
6	90	0.6	25	13	90	0	NS
8	90	0.6	10	2.5	90	0	NS
10	90	0	0.3	0.6	90	0	NS
12	85	5	0	0	85.3	2.5	NS

T1: Aloe Vera 17% + Glucosa 3% t2: Aloe Vera 20%

Con respecto a los datos obtenidos en la experimentación se puede observar que el grupo testigo y los dos tratamientos tuvieron a las cero horas el mismo valor de porcentaje, cuando se midió a las dos hora el experimental T1 tuvo un descenso del 15% con respecto al testigo y este un 5% al T2, al cabo de las seis horas el testigo descendió al mismo porcentaje que es del 90%, a las diez horas

ambas muestras descienden al 85 %, como se muestra en la tabla y donde el semen no tuvo diferencia de supervivencia entre el grupo testigo y el grupo experimental T2, además se observaron las mismas ondas espermáticas y la misma movilidad de los espermatozoides, el grupo T1 no sobrevivió a las diez horas teniendo un descenso de motilidad desde las dos horas debido a la aportación excesiva de energía lo que provoco degaste de los movimientos de la cola del espermatozoide.

Evaluación refrigerada

La refrigeración permitió el descenso de la actividad espermática inhibiendo su movimiento asegurando su uso prolongado de manera efectiva

Tabla 5 Supervivencia de semen en refrigeración

Día	Testigo		Aloe 17		Aloe 20		Valor p
	Media	SD	Media	SD	Media	SD	
1	87	1	0,33	0,6	88,3	1,5	0,2746
3	85,3	0,6	0	0	85,3	0,6	NS
5	85	0	0	0	80	5	NS
7	70	5	0	0	65	0	NS
9	54,7	2,5	0	0	50,3	2,5	0,12026

T1: Aloe Vera 17% + Glucosa 3% T2: Aloe Vera 20%

Con respecto al resultado de la evaluación en refrigeración se puede observar que el grupo testigo y el T2 no presentan diferencias entre los días 1 y 3 respectivamente, teniendo un descenso de un 5% al quinto día el T2 con respecto al grupo testigo, entre los días 7 y 9 descendieron un 5% en relación el grupo testigo con el T2, el T1 presento mortalidad desde el primer día de observación.

Evaluación congelada

La falta del crioprotector en el grupo testigo limito el uso de este en la congelación.

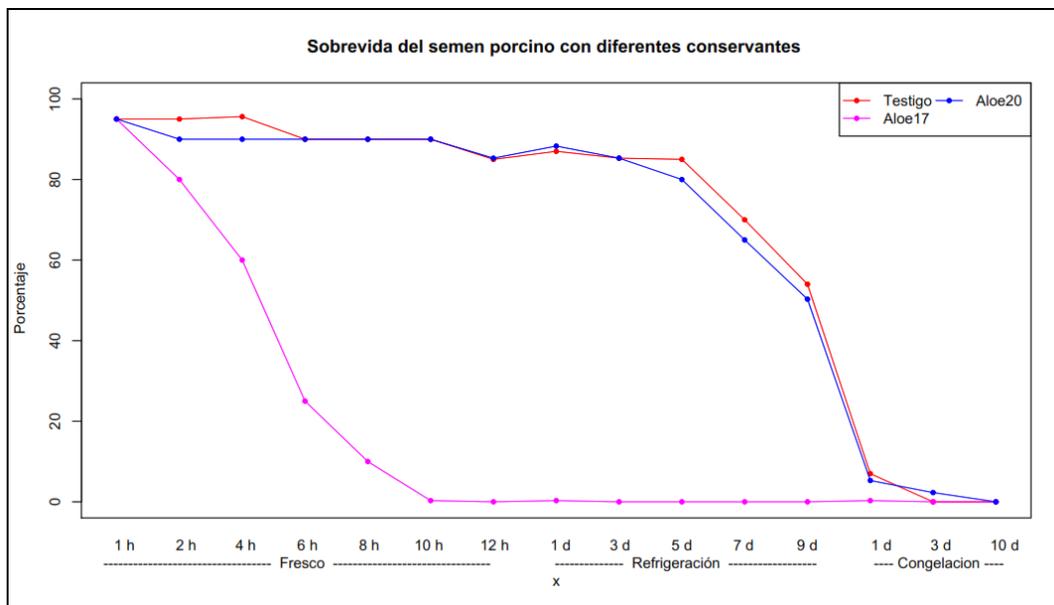
Tabla 6 Supervivencia de semen en Congelación

Día	Aloe 17		Aloe 20		Valor p
	Media	SD	Media	SD	
1	0,33	0,6	5,33	1,5	0,006074
3	0	0	2,3	0,6	0,0198
10	0	0	0	0	NS

T1: Aloe Vera 17% + Glucosa 3% T2: Aloe Vera 20%

El grupo experimental aloe 20% dio una motilidad del 5% en las primeras veinticuatro horas de congelación, demostrando una baja de la motilidad espermática por mayor tiempo de congelación.

Gráfico 1 Sobrevida del semen porcino en diferentes ambientes



Discusión

Los resultados obtenidos en este trabajo indican la acción del diluyente en la congelación y como afecta la función espermática durante el proceso de criopreservación. Se observaron 3 grupos en diferentes condiciones, el T1 incluyó el componente diluyente a base de glucosa más aloe vera donde dichos resultados indican que la fuente de azúcar (crioprotector no penetrante) podría afectar la supervivencia de los espermatozoides, posiblemente debido al efecto protector frente al choque por frío. Mientras que el otro grupo T2 con una fuente de glicerol como aloe vera se pudo observar que hubo supervivencia del espermatozoide hasta el tercer día de congelado.

Los crioprotectores juegan un papel importante en la protección de las membranas durante el proceso de congelación y descongelación. Aunque no se han reportado datos sobre el uso de este aditivo en la especie porcina, se han podido obtener resultados positivos en la motilidad al criopreservar semen en otras especies: En el ovino generó una motilidad entre 60% al agregar aloe vera en un 40% de concentración (Gutiérrez et al., 2006), en el Caprino 47% de motilidad usando aloe vera en un 20% del diluyente de congelación (Duenhas et al., 2015). A diferencia de la motilidad obtenida del 2% post congelación que obtuvo el T2 al tercer día, este resultado se debe

a la poca capacidad que tiene esta especie en la crioconservación en sus células espermáticas, otro motivo de la muerte celular es la pérdida normal de la morfología por la deshidratación perdiendo líquido celular.

Gómez et al., 2012, indican que la utilización de azúcares como glucosa, galactosa o fructosa con un control crioconservado en el extensor de lactosa, estos extensores de congelación suplementados para cada monosacáridos presentaron un efecto crioprotector más pequeño que el extensor de control suplementado con lactosa ($P < 0.05$), donde los tres monosacáridos que se estudió la glucosa proporcionaron la mejor calidad de espermatozoides después de la congelación y descongelación.

En la evaluación del extracto de Aloe vera como crioprotector para el enfriamiento y la congelación del semen (Souza et al., 2016), estableció; que se logró una conservación adecuada del semen y valores cercanos al 40% de espermatozoides móviles con viabilidad y respuesta osmótica que oscilaron entre el 20% y el 40%, y se encontró una morfología normal del 80% después de 36 horas de almacenamiento, en el uso de un extensor a base de Aloe vera para enfriar y congelar el semen de pecarí.

Conclusiones

El uso de aloe vera como protector de las células espermáticas para la crio conservación tiene un efecto limitado y una poca efectividad para esta especie, la movilidad post congelado disminuyó drásticamente desde las veinticuatro horas hasta los 10 días del estudio, obteniendo el primer día el 5% de movilidad no apta para la fecundación.

La diferencia de la actividad celular en fresco y en refrigeración con los diferentes tratamientos denota efectos iguales entre el testigo y el semen usando aloe vera no obstante el efecto fue negativo en la combinación del aloe vera más glucosa.

La combinación de glucosa con aloe vera usados como crioprotector dio un efecto de energización a las células debilitándolas rápidamente obteniendo una deshidratación celular y posterior muerte, el efecto a la crioconservación fue negativo, aunque es usado en otras especies la anatomía y fisiología específica de los gametos de los cerdos hizo que actuaran diferente a lo esperado.

En conclusión, la adición del extracto del Aloe vera puro (*Aloe barbadensis miller*) en un 20% del volumen total de agua necesario para la preparación de un medio a base de diluyente comercial usado para congelar semen porcino, no produjo diferencia significativa en los parámetros de motilidad, viabilidad y anormalidad

Referencias

1. Arraztoa,C.C., Miragaya,M.H., Chaves,M.G., Trasorras,V.L., Gambarotta,M.C., Péndola,C.H., Neild,D.M. (2017). Porcine sperm vitrification I:cryoloops method. *Andrologia*, 49(7). doi: 10.1111/and.12706. Epub 2016 Sep 29.
2. Campbell, Neil A.; Reece, Jane B. (2007). *Biología*. Ed. Médica Panamericana. ISBN 9788479039981. Consultado el 23 de enero de 2018.
3. Carvajal, G., Cuello, C., Vazquez, JM., Martínez, EA., Roca J. (2004). Effects of centrifugation before freezing on boar sperm cryopreservation. *J Androl* , 25(3): 389–396.
4. Crabo, B. y Einarsson, S. (1971). Fertility of deep frozen boar spermatozoa. *Acta Vet. Scand*, 12:125-127.
5. Colenbrander, B and Kemp. (1990). Factors influencing semen quality in pigs. *J. Reprod.Fert* 40; 105-115
6. Figueiredo, T., Fernandes, E., Corcini,C. (2013). Cryopreservation of boar semen: progress and perspectives. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 8(2), 132-140
7. Fuller BJ.(2004) Cryoprotectants: the essential antifreezes to protect life in the frozen state. *Cryo Letters*, 25(6),375–388.
8. Gale,I., Gil, L., Malo, C., González, N., Martínez, F. (2015). Effect of *Camellia sinensis* supplementation and increasing holding time on quality of cryopreserved boar semen. *Andrologia*. 47(5),505-12
9. García, P., López C., Pérez, B., Hernández, R., Ibáñez, J. y Gosálvez J. (2010) Mejora de la calidad seminal en inseminación artificial. *Gestión Veterinaria Porcina*, S.L. 2Universidad Autónoma de Madrid. Disponible en: EUMEDIA www.eumedia.es.
10. Hacker RR., Du,Z., and Darcy,CJ.(1994). Influence of penning type and feeding level o sexual behavior and feet and leg soundness in boars. *J. Anim. Sci*,72, 2531-253.
11. Hammitt, DG., and Martin,PA. (1989). Ferility of frozen-thawed porcine semen following controlled-taree freezing in straws. *Theriogenology*,32, 359-368
12. Johnson, LA., Weitze,KF., Fiser,P., Maxwell,WMC.(2000). Storage of boar semen. *Animal Reproduction Science*, 62, 143–172

13. Kim, KH., Lee, JG., Kim, DG., Kim, MK., Park, JH. y Shin, YG. (1998). The development of a new method to detect the adulteration of commercial Aloe gel powders. *Archives of Pharmacal Research*, 21, 514-520.
14. Sanchez, M. (2013). Producción Animal e Higiene Veterinaria, www.uco.es/zootecniaygestion/img/pictorex/14_17_26_tema_42.pdf.
15. Medrano, A. (1998). The importance of individual variation in boar semen cryopreservation. Ph.D. Thesis, University of London, London, UK.
16. O'Connell M., McClure, N., Lewis, SEM. (2002). The effects of cryopreservation on sperm morphology, motility and mitochondrial function. *Hum Reprod*, 17, 704–709.
17. Polge, C., Salomon, S. y Wilmut, I. (1970). Fertilizing capacity of frozen boar semen following surgical insemination. *Vet. Rec*, 87,424-428
18. Pursel, V. y Johnson, L. (1975). Freezing of boar spermatozoa: fertilizing capacity with concentrated semen and a new thawing procedure. *J Anim Sci.*, 40(1):99-102
19. Reynolds, T. (2004). *Aloes: The Genus Aloe. Medicinal and aromatic plants-industrial profiles* Editorial CPR Press LLC, Boca Raton, Florida.
20. Rodriguez, H., & Wallgren, M. (2011). Advances in boar semen cryopreservation. *Veterinary Medicine International*, 1–5.
21. Sáez, R.A.; Cama, J.M.; Gómez, J.R. (2004). *EL CERDO*. Editorial Félix Varela. ISBN 959-258-711 -6.
22. Hayes, SM. (1999). Lichen Planus: Report of Successful Treatment with Aloe vera,” *General Dentistry*, 47(3), 268-272.
23. Shen T., Jiang ZL., Liu H., Li QW. (2015). Effect of Salvia miltiorrhiza polysaccharides on boar spermatozoa during freezing-thawing. *Anim Reprod Sci*, 159,25-30
24. Torres ,M., Monteiroa,M.,Passarellia,M., Papab,F., Dell’Aqua Jrb ,J., Alvarengab, M., Martinsa,S.,Andradea,A. (2019) The ideal holding time for boar semen is 24 hours at 17°C prior to shot-cryopreservation 2 protocols. *Cryobiology*, 86,58-64
25. Waberski,D., Henning,H., Petrunkina,AM. (2011). Assessment of storage effects in liquid preserved boar semen. *Reprod Dom Anim*, 46 (Suppl 2), 45–48
26. Yeste, M. (2015). Recent advances in boar sperm cryopreservation: State of the art and current perspectives. *Reproduction in Domestic Animals*, 50, 71–79.

© 2022 por los autores. Este artículo es de acceso abierto y distribuido según los términos y condiciones de la licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0) (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>).