

# BÚFALOS, CONGELACIÓN DE EMBRIONES (PROTOCOLO DE SUPEROVULACIÓN DEL BUBALIS BUBALIS)

Dr. Leonardo De Luca. 2002. Burnet Laboratorios S.A.  
[www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar)

Volver a: [Transplante embrionario](#)

Como lograr los mejores resultados en el manejo de los embriones de los Búfalos de agua.

## SUPEROVULACIÓN

Como las hembras bubalinas son en su mayoría subfértiles. Debido a su alto grado de consanguinidad, las mismas presentan altos porcentajes de ovarios fibrosos e inactivos, con una foliculogénesis totalmente diferente a las razas bovinas. Por ello se aconseja seguir el siguiente protocolo:

- a) Revisar a las primeras horas de la mañana la capacidad ovárica y descartar las que presentan alto grado de fibrosis u ovarios con tamaño menores a 1 cm.
- b) A continuación Implantar un dispositivo vaginal que contiene 1g de progesterona, e inyectar 100 mg de Progesterona por vía intramuscular (5 ml de Progeron Burnet)
- c) Al día siguiente, a las 32 horas de aplicado el dispositivo vaginal, inyectar 3 ml de Estradiol Burnet por vía intramuscular.
- d) A los 4 días y medio de esta inyección, iniciar el tratamiento de superovulación con un producto de-nominado Foltropin (FSH), de la siguiente forma:
  - 1° día 4ml a las 08:00 horas y 4 ml a las 20:00 horas
  - 2° día 3ml a las 08:00 horas y 3 ml a las 20:00 horas
  - 3° día 2ml de Foltropin junto a 2 ml de Clorprostenol (150 mcg de Biggland) a las 08:00 horas, y a las 20:00 horas 2 ml de Foltropin y al mismo momento extraer el implante.
  - 4° día 1ml a las 08:00 horas y 1 ml a las 20:00 horas

Aplicar en todos los casos la vía intramuscular.

A las 60 horas de extraído el implante, inseminar con dos dosis de semen de buena calidad, repitiendo la inseminación cada 8 horas hasta un total de tres inseminaciones.

A los 5 días y medio de la última inseminación, realizar el lavaje uterino con 800ml de una solución de Dulbecco Modificado, con el 1% de suero inactivado de un novillo bubalino. (se inactiva en baño maría a 56° durante 30 minutos)

Los embriones obtenidos, generalmente no más de tres, se van a encontrar en grado de Blastocisto tardío donde se verá el blastocelo perfectamente desarrollado.

Es muy importante no tardar más de 5,5 días en realizar el lavaje uterino puesto que el desarrollo de los embriones bubalinos presenta la característica de tener una mayor rapidez en llegar a la madurez. De esta manera a los 6 días ya no se encuentran en el medio de cultivo, puesto que se salen de la zona pelúcida.

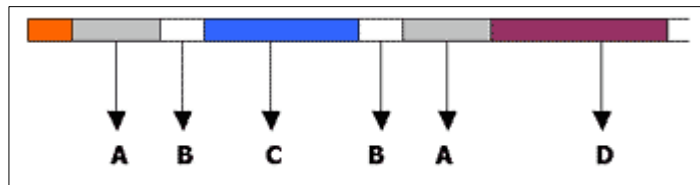
## PROTOCOLO DE CONGELACIÓN

El primer paso es lavar el embrión encontrado, con 10 pasajes de una solución de TCM 199 con el 15% de Suero Inactivado de novillo bubalino.

Se prepara una solución de congelación de la siguiente manera:

- a) TCM 199 con 15% de Suero Inactivado  
Glicerina 10%  
Sucrosa al 0,2 Molar.
- b) Luego de lavado el embrión se pasa a la solución de congelación a temperatura no superior a 28°C durante 10 minutos.
- c) Cargar la pajueta de 0,25 ml de la siguiente manera:

Primero una columna de medio de congelación (A) luego una pequeña columna de aire (B) seguido a esta la columna con el embrión ya deshidratado (C) luego otra columna de aire (B) una columna de medio de congelación (A) y terminar con una columna de medio TCM199 con el 15% de suero (D).



1. Cerrar la pajueta y pasar la misma a la congeladora a 22° C.
2. Bajar la temperatura con una rampa la cual la haga descender hasta los -7° C en 15 minutos.
3. Dejar a -7° C durante 10 minutos y luego realizar el seeding con una pajueta enfriada con nitrógeno líquido, sobre la columna A del tapón.
4. Luego la rampa de congelación debe descender 0,5° C por minuto hasta llegar a -32°C.
5. Llegado a esta temperatura, sumergir en Nitrógeno Líquido, durante por lo menos 2 horas.

DESCONGELAR SACANDO LA PAJUELA DEL NITRÓGENO Y DEJAR AL AIRE DE 1 A 2 SEGUNDOS, LUEGO SUMERGIR EN AGUA A +32° C DURANTE 10 MINUTOS; SECAR BIEN LA PAJUELA Y LUEGO IMPLANTAR EN LA RECEPTORA EN EL CUERNO EN QUE SE ENCUENTRA EL CUERPO LÚTEO, O SI NO SE LO PALPA, EN EL CUERNO DONDE EL OVARIO ES DE MAYOR TAMAÑO.

SIEMPRE UTILIZAR RECEPTORAS QUE TENGAN DE 4,5 A 5,5 DÍAS LUEGO DEL CELO VISTO O INDUCIDO.

EN EL MISMO MOMENTO SE PUEDE INYECTAR 5 ML DE MPH BURNET (50mg de Progesterona por ml, de larga duración) POR VÍA INTRAMUSCULAR, REPITIENDO ESTA, A LOS 25 DÍAS DE ESTA PRIMERA APLICACIÓN.

#### RECOMENDACIONES:

1. Teniendo en cuenta que el cuerpo lúteo de la búfala es intraovárico y de difícil palpación, sería conveniente (no imprescindible) el disponer de un ecógrafo, el cual aseguraría detectar la presencia del mismo.
2. No utilizar un electro eyaculador para la obtención del semen de los machos búfalos, ya que por su gran memoria, será imposible volver a introducirlos en la manga.
3. Utilizar masajes uretrales para la extracción del semen, aproximando a una hembra para efectuar este procedimiento. Como la eyaculación se realiza dentro del prepucio, es imprescindible su lavado previo.
4. La extracción se debe realizar solamente a última hora de la tarde, ya que el momento de mayor libido del macho.
5. Como diluyente para congelar el semen, se utilizará el TRIS BUFFER con 6% de glicerol, más 1% de fructosa, 1% de glucosa y 1% de glicocola. Agregar a esto, un 20% de yema de huevo fresco.
6. Llenar las pajuelas y colocar sobre una rampa de congelación, a una altura no inferior a los 2 cm del nivel del nitrógeno líquido, durante 9 minutos. A continuación sumergir las pajuelas en el nitrógeno.

Siguiendo cuidadosamente los procedimientos señalados se podrá asegurar una implantación embrionaria efectiva.

Volver a: [Transplante embrionario](#)