

1-1-2008

Aplicación de la aspiración folicular - Fertilización in-vitro en bovinos y factores que pueden afectar su eficiencia

Jaime Enrique Caicedo

Follow this and additional works at: https://ciencia.lasalle.edu.co/esp_biotecnologia_reproduccion

Citación recomendada

Caicedo, J. E. (2008). Aplicación de la aspiración folicular - Fertilización in-vitro en bovinos y factores que pueden afectar su eficiencia. Retrieved from https://ciencia.lasalle.edu.co/esp_biotecnologia_reproduccion/1

This is brought to you for free and open access by the Facultad de Ciencias Agropecuarias at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Especialización en Biotecnología de la Reproducción by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

**APLICACIONES DE LA ASPIRACION FOLICULAR - FERTILIZACION IN-VITRO
EN BOVINOS Y FACTORES QUE PUEDEN AFECTAR SU EFICIENCIA**

JAIME ENRIQUE CAICEDO

**Trabajo monográfico presentado como requisito para optar el título de
Especialista en Biotecnología de la Reproducción**

**UNIVERSIDAD LA SALLE.
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
POSTGRADOS EN CIENCIAS VETERINARIAS
ESPECIALIZACIÓN BIOTECNOLOGIA DE LA REPRODUCCION
BOGOTA D.C
2008**

**APLICACIONES DE LA ASPIRACION FOLICULAR - FERTILIZACION IN-VITRO
EN BOVINOS Y FACTORES QUE PUEDEN AFECTAR SU EFICIENCIA**

JAIME ENRIQUE CAICEDO

Tutor:

Dr. André Dayán - Vitrogen

**UNIVERSIDAD LA SALLE.
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
POSTGRADOS EN CIENCIAS VETERINARIAS
ESPECIALIZACIÓN BIOTECNOLOGIA DE LA REPRODUCCION
BOGOTA D.C
2008**

APLICACIONES DE LA ASPIRACION FOLICULAR - FERTILIZACION IN-VITRO EN BOVINOS Y FACTORES QUE PUEDEN AFECTAR SU EFICIENCIA

1. INTRODUCCIÓN

Debido a la necesidad actual de aumentar la productividad pecuaria, se han desarrollado varias biotecnologías, sobre todo en la especie bovina. Inicialmente, la inseminación artificial (IA) ha tenido un papel importante en la propagación de material genético del macho y, posteriormente, técnicas como el control del ciclo estral, la superovulación (SOV) y la transferencia de embriones (TE), proporcionan un incremento en la posibilidad de multiplicar el material genético proveniente de la hembra. Estas técnicas, siendo difundidas en varios países, contribuirán de manera decisiva a mejorar la calidad y cantidad del producto final, ya sea carne o leche. En un segundo momento, el ultrasonido, se sumo a las técnicas existentes como recurso importante para el control de la actividad ovárica. Recientemente, la producción de embriones in vitro (FIV), con oocitos de animales sacrificados, constituyo el nuevo marco en la investigación de la reproducción bovina. Por último, la posibilidad de obtener oocitos de animales vivos, por aspiración folicular guiada por ultrasonido (OPU), permitió el uso intensivo del material genético de las hembras superiores, y ofrecer crías de hembras de alto valor genético procedentes de animales con problemas reproductivos adquiridos, novillas pre púberes, vacas gestantes y vacas seniles. Esto sin contar la gran presión de selección que es posible realizar, con el aumento de la velocidad de propagación de animales de alto valor genético y el uso de las novillas para OPU-FIV.

Por lo tanto, este documento tiene por objeto una mejor comprensión de algunas

aplicaciones y factores que afectan las tasas de recuperación en este sistema de producción.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Fisiología ovárica

En el tercio medio de gestación, el ovario del feto bovino ya está lleno de oogonias y estas están contenidas en folículos primordiales (pre antrales, con una sola capa de células de la granulosa). En el último trimestre de la gestación se producen las primeras etapas de crecimiento folicular (ERICKSON, 1966; MARION et al., 1968). Al nacer hay alrededor de 0,5 millones de folículos en los ovarios bovinos, y estos, gradualmente salen de su estado de letargo y comienzan a desarrollarse los folículos antrales. Una vez que comienza el desarrollo puede ocurrir la ovulación, o la atresia. Prácticamente la totalidad de los folículos ováricos de las hembras sufren atresia. Esto puede demostrarse si se ha calculado que un animal ciclando normalmente un período de 15 años va a ovular menos de 300 oocitos (ovulando cada 21 días o 17,4 veces al año, en 15 años la ovulación = 260) de entre los 0,5 millones existentes en el momento del nacimiento (ERICKSON, 1966). Esto, sin tener en cuenta que los animales llegan a gastar la mitad de su vida gestando. Por tanto, es evidente, que menos del 0,1% de los folículos llegan a ovular.

Aparentemente, son necesarios 60 días para que un folículo primordial alcance el tamaño ovulatorio (LUSSIER et al., 1987). En este período, siguiendo un patrón de ondas foliculares (WILTBANK et al., 1996), hay diversas etapas de crecimiento y atresia con la maduración folicular o posterior degeneración oocitaria.

2.2. Aplicaciones de la técnica de aspiración folicular

2.2.1. Producción de un mayor número de embriones

Ya que por monta natural o inseminación artificial (IA), puede obtenerse un único producto por vaca por año, se desarrollaron nuevas biotecnologías para acelerar el proceso de mejoramiento genético. Por lo tanto, con el advenimiento de la superovulación y la posterior transferencia de embriones (SOV-TE), fue posible la producción media de 25 embriones por año, con un total de alrededor de 100 embriones en la vida reproductiva de una vaca (SAUMANDE et al. 1984). WATANABE et al. (1998a) obtuvieron una producción entre 0,6 y 3,5 embriones por cada período de sesiones de la OPU, con un promedio de 1,5 embriones por semana. KRUIP et al. (1994), estudiando la eficacia de la punción folicular guiada por ultrasonido transvaginal (OPU) en las vacas lecheras y de carne, obtuvieron un promedio de 8,0 oocitos por sesión de OPU, con un 16% de embriones transferidos después de la maduración, fertilización y cultivo in vitro (MIV; FIV; CIV). NIBART et al. (1995) obtuvieron una tasa de gestación de 40 a 50% para la transferencia de embriones obtenidos por aspiración folicular seguida por la fertilización in vitro (OPU-FIV). Basándose en el número promedio de oocitos colectados por sesión, fue posible la transferencia de 2 embriones / semana / vaca, resultando, en promedio, 1 preñez / semana. DAYAN et al. (2000a) relataron que en 937 OPU, en 321 animales, obtuvieron en promedio 4,2 embriones por vaca, por sesión de OPU. Con tasa media de gestación de 35,4%, obtuvieron 1,48 gestaciones por cada procedimiento. Dado que el procedimiento puede repetirse semanalmente (FERRAZ et al., 2000), es evidente que la velocidad de propagación de la descendencia de los donantes es muy rápida.

2.2.2. Menor intervalo entre generaciones

El intervalo entre generaciones es uno de los elementos clave en cualquier planteamiento sobre mejoramiento genético animal (BETTERIDGE et al., 1989). El desarrollo de folículos antrales en terneras de 2 semanas de edad, el

conocimiento de las ondas foliculares y la capacidad de superestimular el desarrollo folicular en esta categoría de animales, ofrece la posibilidad de utilizar animales pre púberes para la recuperación de oocitos (ADAMS et al. 1994). Estos oocitos tienen la misma competencia para la producción de embriones in vitro (PIV), en comparación con los obtenidos a partir de animales adultos (ARMSTRONG et al., 1994), pero el número de oocitos recuperados en terneras tiende a ser inferior al 20% (NIBART et al., 1995). BROGLIATTI & ADAMS (1996), utilizando la aspiración folicular guiada por ultrasonido, han logrado exitosamente la recuperación de oocitos en terneras de 6 semanas de edad. De este modo, la brecha entre las generaciones es obviamente disminuida, lo que permite una pronta evaluación del potencial genético de estos animales. KATSKA et al. (1984) obtuvieron resultados similares entre las novillas (18-24 meses) y vacas (9 a 17 años).

Para ilustrar la ganancia genética, podemos apreciar que el método de MOET proporciona una ganancia genética en la eficiencia de crecimiento (growth-efficiency) en ganado de carne entre el 1,4 al 2,6%. La utilización de la aspiración en novillas pre púberes puede aumentar este índice hasta 22% (BROGLIATTI & ADAMS, 1996).

2.2.3. Mejor aprovechamiento de los animales

Como se ha mencionado en el punto anterior, las donantes de oocitos se pueden utilizar precozmente, por lo tanto, el comienzo de su vida reproductiva es muy temprano. Del mismo modo, los estudios con vacas seniles (BROGLIATTI & ADAMS, 1996) y vacas preñadas hasta el tercer mes de gestación (KRUIP et al., 1994; NIBART et al., 1995), permiten la producción de embriones, por aspiración folicular guiada por ultrasonido (OPU-FIV). KATSKA et al. (1984) observaron que cuanto mayor es la edad del animal menor es la actividad ovárica, presentando un menor número de folículos que se pueden aspirar. Por lo tanto, las vacas pueden producir descendencia, casi desde su nacimiento hasta su senilidad. SAUVÉ (1998) describe el uso del proceso de OPU-FIV en terneras a partir de ocho

meses, así como en vacas hasta el sexto mes de gestación. DAYAN et al (1997) también obtuvo gestaciones de terneras entre 12 y 14 meses de edad, pero con índices inferiores a las vacas adultas. THONON et al. (1993) & GUYADER-JOLY et al. (2000) observaron que los ovarios de vacas ciclando, y con cuerpo lúteo, presentaron mejores resultados que las vacas gestantes, independientemente del parámetro medido.

2.2.4. Productos obtenidos de vacas que no responden a superovulación

Una vez que la OPU-FIV no requiere tratamiento hormonal para su éxito, se pueden aprovechar de una manera mucho más eficiente animales que no responden a la superovulación, ya sea por anomalías adquiridas (falta de respuesta a la hormonas) o porque son refractarios a superovulación. Por lo tanto, las vacas que tienen un gran potencial genético pueden ser donadoras de oocitos, no importa su respuesta hormonal (KRUIP et al., 1994). SAUVÉ (1998) observa que las vacas con baja respuesta a la SOV responden completamente diferente de los demás, pero no describe ese cambio.

2.2.5. Productos obtenidos de animales con problemas reproductivos

Muchos son los casos de alteración de la fertilidad por problemas adquiridos. Son frecuentes los casos de quistes, adherencias de ovario y útero, metritis crónicas, infecciones tubéricas y otras patologías (LOONEY et al., 1994). La OPU-FIV permite la producción de progenie de los animales con este tipo de enfermedades (KRUIP et al., 1994), ya que no necesita el resto del aparato reproductivo, cuando los folículos ováricos tienen el tamaño suficiente para la aspiración.

Animales con diferentes grados de salpingitis y animales con dificultad para gestar fueron utilizados por PEIXER et al. (1998), en un programa de OPU, obteniendo 32 embriones y 12 gestaciones, pero los animales con graves salpingitis asociadas con adherencias no produjeron ninguna preñez. IGUMA et al. (2000) sugieren que los oocitos morfológicamente normales pueden producir embriones,

incluso en las vacas con quistes crónicos. SENEDA et al. (2000) informaron de la producción de embriones de una vaca con obstrucción uterina.

2.2.6. Utilización de animales muertos

Son frecuentes los casos de ganaderos que desean obtener más crías de una vaca accidentada, enferma o muerta. La remoción de los ovarios de estos animales puede dar lugar a la recuperación de oocitos viables y la posterior producción de prole. Por lo tanto, un animal recién muerto o *ante-mortem* puede producir descendencia. KITTS & JOHNSON (1992) hacen hincapié en que la temperatura es muy importante, ya que los oocitos son extremadamente sensibles al choque térmico. Los autores observaron que la exposición de oocitos a una temperatura de 25 ° C durante 10 minutos puede causar severos cambios en su citoesqueleto inducir la formación de *asters* corticales y otros trastornos ooplásmicos.

2.3. Factores que interfieren con la producción

La aspiración folicular es una técnica muy reciente, el nacimiento del primer ternero producido por fertilización in vitro se produjo en 1981 (TRAMO et al., 1982) y el primer ternero nacido por OPU - FIV ocurrió en 1988 (PIETERSE et al., 1988). Por lo tanto, la OPU-FIV presenta los resultados ampliamente variables en el número de folículos aspirados, el número de oocitos recuperados, la producción de blastocistos y la tasa de gestación. A continuación, serán expuestas algunas causas de las variaciones en los resultados obtenidos por los diferentes autores.

2.3.1. Donadoras

La variabilidad entre las donantes de oocitos es muy grande, y los animales responden de manera diferente a la aspiración folicular (NIBART et al., 1995). Entre tanto, el número de oocitos recuperados del mismo animal no varían entre

las colecciones. KRUIP et al. (1994), señaló que hay un constante reclutamiento de nuevos folículos cuando los presentes son aspirados, pero encontró una variación individual en la velocidad de reclutamiento. WATANABE et al. (1998a) demostraron que diferentes donadoras presentan resultados variables tanto en la producción y la calidad de los oocitos, como en el clivaje y en el desarrollo embrionario hasta el estado de blastocisto. DAYAN et al. (2000a) demostraron una gran variación en la producción de oocitos y embriones, en 20 vacas. En cada animal, puede haber variaciones en la producción de oocitos totales, viables y en la producción de blastocistos. Factores tales como la presencia de cuerpo lúteo pueden interferir en el resultado, como demostró DAYAN et al. (1999), donde las vacas sin cuerpo lúteo mostraron un mayor número de oocitos en 184 procedimientos.

2.3.2. Raza

El número medio de oocitos recolectados es poco diferente entre las donadoras de tipo leche o de tipo carne. Entre tanto, LOONEY et al. (1994) encontraron resultados ligeramente superiores en las vacas de carne. DE ARMAS et al. (1994) observaron que las vacas holstein produjeron en promedio 6,8 oocitos por OPU mientras que vacas cebú produjeron 5,1. También observaron que la producción de embriones fue superior en vacas holstein (27,5% y 22,4% respectivamente). Los animales cruzados entre las dos razas presentaron 5,8 oocitos por OPU y el 54,1% de producción de embriones. DOMINGUEZ (1995) encontró que las vacas de origen europeo presentan mayor cantidad de folículos grandes (≥ 10 mm) y que cuanto más grande es el folículo, es peor la calidad de los oocitos obtenidos. DAYAN et al. (2000b), por otro lado, trabajando con 3.563 oocitos viables de diferentes razas, originados de 372 procedimientos de OPU, obtuvieron resultados similares entre las razas estudiadas, como el número medio de oocitos viables, blastocistos y la tasa de gestación para las razas taurinas (9,1; 2,8 y 34% respectivamente) y las razas cebú (9,7; 2,8 y 32% respectivamente).

2.3.3. Toros

El uso de semen congelado de diferentes toros demostró el importante papel en el resultado final del proceso de OPU-FIV. Por lo tanto, la fertilidad de los toros es variable, tanto en campo, como en la producción de embriones in vitro (WATANABE et al., 1995). En 1992, MARQUANT-LE GUIENNE et al., También observaron una alta correlación entre la producción de blastocistos y la fertilidad de diferentes toros.

KRUIP et al. (1994) reportó que una vaca de 12 años apareada con 8 toros diferentes, obtuvo embriones con solo 4 de estos, con producción de embriones entre el 9 y el 19%. WATANABE et al. (1998b) obtuvieron variaciones entre 38 y 91% en la división y entre el 16 y el 50% en la producción de embriones, con 12 reproductores de la raza Nelore. DAYAN et al. (2000a) encontraron que, además de la variación del toro, hay también un efecto resultante de la interacción entre el toro y la vaca, aun cuando un mismo toro presentó variaciones en la producción de embriones y gestaciones, cuando fue usado con vacas distintas. SAUVÉ (1998) sugiere la aplicación de una prueba para evaluar cada uno de los diferentes lotes de semen de los toros utilizados, ya que los resultados mostraron grandes diferencias entre los animales y entre los lotes.

2.3.4. Frecuencia de aspiración

La tasa de recuperación de oocitos inmaduros aumenta si la colecta se repite en el mismo animal por un período de varios meses (KRUIP et al., 1994). La aspiración repetida 2 veces por semana, frente a una vez por semana, produce un aumento considerable del número de folículos visibles (16,2 y 7,0, respectivamente) y los oocitos recuperados (12,2 y 5,2, respectivamente) (REICHEMBACH et al., 1994). GIBBONS et al. (1994) también alcanzaron un mayor número de embriones transferibles con aspiraciones realizadas 2 veces por semana. FERRAZ et al.

(2000) relató que el primer procedimiento de OPU da mejores resultados, igualándose apenas a intervalos superiores a 60 días, sin embargo, la OPU semanal o quincenal mantiene un promedio de entre 7 y 9 oocitos de buena calidad, por procedimiento.

HASLER et al. (1995) demostraron que el número de oocitos producidos se redujo considerablemente después de 50 sesiones de aspiración en el mismo animal.

2.3.5. Equipos utilizados para OPU

NIBART et al. (1995) presentaron una revisión demostrando que sea cual sea el sistema de visualización y la punción folicular utilizados, los resultados en términos de oocitos colectados son similares.

HILL et al. (1995), realizaron aspiración folicular sin la ayuda de ultrasonido, utilizando únicamente la palpación rectal y obtuvieron promedio de 6,2 oocitos recolectados por donadora.

BROGLIATTI & ADAMS (1996) destacaron la importancia de aspectos como el grosor de la aguja, el filo de corte del bisel, forma del bisel y presión del vacío, que pueden alterar la eficiencia de recuperación. El aumento de la presión de aspiración en humanos demostró una mayor tasa de recuperación, pero una disminución en la calidad de los oocitos, así como aumentaron el número de oocitos sin *cumulus oophorus*. Conviene citar que la presencia de células en el *cumulus* son importantes para aumentar la tasa de desarrollo de oocitos fecundados y madurados in vitro (KONISHI et al., 1996).

BOLS et al. 1995, obtuvieron una mayor tasa de recuperación por folículo aspirado utilizando agujas desechables, siendo que las más gruesas proporcionan una mayor recuperación. En otro estudio (BOLS et al. 1996) demostraron que la presión es muy importante en la calidad de los oocitos. Hubo un mayor número de

oocitos recuperados con el aumento de la presión de vacío, pero disminuyó el número de células presentes en el *cumullus*, independientemente del tamaño de la aguja. Aguja delgada presentan una mejor calidad de los complejos *cumullus oophorus* (COC) con las células más compactas.

2.3.6. Variaciones entre los operadores

El operador puede determinar grandes variaciones en el número de folículos aspirados, y el número de oocitos recuperados. Esta variación se produce entre los operadores, del mismo modo, entre las sesiones con el mismo operador (NIBART et al., 1995). LANSBERGEN et al. (1995) describen que hubo variaciones significativas entre los veterinarios en la tasa de recuperación. Su equipo estaba formado por 5 médicos veterinarios que operan en dos estaciones experimentales. Con los sucesivos intercambios de equipos se ha demostrado que el mayor cambio se debe a las donantes y el segundo factor más importante es el operador. AZAMBUJA et al. (1997) observaron que después de 90 días de entrenamiento, un técnico sin experiencia obtenía 91,1% de mejora en la recuperación de oocitos.

ANÁLISIS Y SÍNTESIS DE LA INFORMACIÓN

PRODUCCIÓN DE UN MAYOR NÚMERO DE EMBRIONES

AUTOR	CONCLUSIÓN
SAUMANDE et al., 1984	SOV-TE: media 25 embriones/año. 100 embriones totales.
WATANABE et al., 1998	OPU: Entre 0,6 y 3,5 embriones/sesión. Media 1,5 embriones/semana.
KRUIP et al., 1994	OPU: 8,0 oocitos/sesión. 16% de embriones transferidos, post MIV, FIV, CIV.
NIBART et al., 1995	OPU-FIV: 40 a 50% transferidos. 2 embriones/vaca/semana = 1 preñez/semana
DAYAN et al., 2000	937 OPU, 321 animales → 4,2 embriones/vaca/sesión. Media 35,4% de gestaciones = 1,48 gestaciones/procedimiento.

MENOR INTERVALO ENTRE GENERACIONES

AUTOR	CONCLUSIÓN
ADAMS et al. 1994	El desarrollo de folículos antrales en terneras de 2 semanas de edad, ofrece la posibilidad de utilizar animales pre púberes
ARMSTRONG et al. 1994	Estos oocitos misma competencia para PIV que los de adultos.
NIBART et al. 1995	# de oocitos en terneras es 20% menor.
BROGLIATTI & ADAMS. 1996	OPU en terneras de 6 semanas → brecha generacional disminuida → Rápida evaluación.
KATSKA et al. 1984	Resultados similares entre novillas (18-24 meses) y vacas (9 a 17 años).

MEJOR APROVECHAMIENTO DE LOS ANIMALES

AUTOR	CONCLUSIÓN
BROGLIATTI & ADAMS., 1996	Vacas seniles producen embriones por OPU-FIV.
KRUIP et al., 1994; NIBART et al., 1995	Vacas preñadas hasta el tercer mes producen embriones por OPU-FIV.
KATSKA et al., 1984	A > edad < actividad ovárica.
SAUVÉ., 1998	OPU-FIV en terneras de 8 meses y en vacas de hasta 6 meses de gestación.
DAYAN et al., 1997	Gestaciones de terneras entre 12 y 14 meses de edad pero con índices inferiores a las adultas.
THONON et al., 1993 & GUYADER-JOLY et al., 2000	Ovarios de vacas ciclando y con cuerpo lúteo responden mejor que los de vacas gestantes.

PRODUCTOS OBTENIDOS DE ANIMALES CON PROBLEMAS REPRODUCTIVOS

AUTOR	CONCLUSIÓN
KRUIP et al. 1994	OPU-FIV permite producción de progenie de estos animales. Independiente del tracto.
PEIXER et al. 1998	OPU en animales con salpingitis obteniendo 32 embriones y 12 gestaciones. Graves salpingitis no.
IGUMA et al. 2000	Vacas con quistes crónicos pero con oocitos morfológicamente normales producen embriones.
SENEDA et al. 2000	Obtuvieron embriones de una vaca con obstrucción uterina.

DONADORAS

AUTOR	CONCLUSIÓN
NIBART et al., 1995	Variabilidad entre donantes es muy grande, en el mismo animal no.
KRUIP et al., 1994	Constante reclutamiento de folículos nuevos cuando los presentes son aspirados, pero ≠ velocidad.
WATANABE et al., 1998	Donadoras presentaron ≠ producción, calidad, clivaje y desarrollo hasta blastocisto.
DAYAN et al., 1999	Factores como presencia de cuerpo lúteo interfieren resultados. 184 animales sin CL > # oocitos.

RAZA

AUTOR	CONCLUSIÓN
LOONEY et al., 1994	Vacas de carne ligeramente superiores.
DE ARMAS et al., 1994	Vacas holstein: media 6,8 oocitos/OPU Vacas cebú: media 5,2 oocitos/OPU Embriones: h: 27,5% y c: 22,4% Cruzados: 5,8 oocitos y 54,1% de embriones.
DOMINGUEZ., 1995	Vacas de origen europeo mayor cantidad de folículos ≥ 10 mm. → Menor calidad.
DAYAN et al., 2000	3563 oocitos viables de ≠ razas, de 372 OPU encontraron resultados similares con el número medio de oocitos viables, blastocistos y tasa de gestación para razas taurinas (9,1; 2,8 y 34%) y en razas cebú(9,7: 2,8 y 32%).

TOROS

AUTOR	CONCLUSIÓN
MARQUANT- LE GUIENNE et al., 1992; WATANABE et al., 1995	Alta correlación entre producción de blastocistos y la fertilidad de ≠ toros.
KRUIP et al., 1994	Vaca de 12 años con 8 toros, obtuvo embriones solo con 4. producción entre el 9 y el 19%.
WATANABE et al., 1998	Variaciones entre 38 y 91% en la división y entre el 16 y 50% en la producción de embriones con 12 toros Nelore.
DAYAN et al., 2000	No solo toro sino relación toro-vaca. Mismo toro pero ≠ vaca varían resultados.
SAUVÉ., 1998	Diferencias no solo entre animales, sino entre lotes.

FRECUENCIA DE ASPIRACIÓN

AUTOR	CONCLUSIÓN
KRUIP et al., 1994	Tasa de oocitos inmaduros ↑ si la colecta se realiza en un mismo animal por varios meses.
REICHEMBACH et al., 1994	2 veces por semana Vs 1 vez por semana aumenta número de folículos visibles (16,2 y 7,0) y los oocitos recuperados (12,2 y 5,2).
GIBBONS et al., 1994	Mayor N° de embriones en aspiraciones 2 veces/semana.
FERRAZ et al., 2000	Primer procedimiento de OPU da mejores resultados, solo = a los 60 días. OPU semanal o quincenal tiene un promedio de 7 a 9 oocitos de buena calidad por procedimiento.
HASLER et al., 1995	N° de oocitos ↓ considerablemente después de 50 sesiones.

EQUIPOS UTILIZADOS PARA OPU

AUTOR	CONCLUSIÓN
NIBART et al., 1995	Cualquier sistema presenta resultados similares.
HILL et al., 1995	Únicamente con palpación rectal obtuvieron 6,2 oocitos/donadora.
BROGLIATTI & ADAMS., 1996	Grosor de la aguja, filo de corte del bisel, forma del bisel y presión de vacío. En humanos a > presión < calidad. Sin células del <i>cumullus oophorus</i> .
BOLS et al., 1995	> tasa de recuperación con agujas desechables y con las más gruesas.
BOLS et al., 1996	Con el ↑ en la presión de vacío recuperaron mayor N° de oocitos pero de menor calidad, independiente del grosor de la aguja. Agujas delgadas: mejor calidad de <i>cumullus</i> .

VARIACIONES ENTRE LOS OPERADORES

AUTOR	CONCLUSIÓN
NIBART et al., 1995	Variación entre operadores y de igual manera entre sesiones con el mismo operador.
LANSBERGEN et al., 1995	5 M.V. en 2 estaciones experimentales. Describen grandes variaciones.
	Con el sucesivo intercambio de equipos se ha demostrado que el mayor cambio se debe a las donantes y el segundo factor más importante es el operador.
AZAMBUJA et al., 1997	Después de 90 días de entrenamiento un técnico sin experiencia obtenía 91,1% de mejora en la recuperación de oocitos.

BIBLIOGRAFIA

ADAMS, G.P., EVANS, A.C.O., RAWLINGS, N.C. Follicular waves and circulating gonadotrophins in 8-month-old prepubertal heifers. **J. Reprod. Fertil.** v.100 p.27-33 1994.

ARMSTRONG, D. T.; IRVINE, B. EARL, C. R. McLEAN, D. SEAMARK, R. F. Gonadotropin stimulation regimens for follicular aspiration and *in vitro* embryo production from calf oocytes. **Theriogenology.** v.42 p.1227-1236 1994.

AZAMBUJA, R.M.; WATANABE, M.R.; LÔBO, R.B. Efeito da experiência do veterinário na aspiração *in vivo* de oócitos de vacas zebuínas através da ultrassonografia. Resultados preliminares. **Arq. Fac. Vet. UFRGS,** v.26, n.1, p.70-171, 1997.

BETTERIDGE, K. J., SMITH, C. STUBBINGS R. B. XY, K. P. KING, W. A. Potencial genetic improvement of cattle by fertilization of fetal oocytes *in vitro*. **J. Reprod. Fertil.** v.38 p.87-98, 1989.

BOLS, P.E.J.; VANDENHEEDE, J.M.M.; VAN SOOM A.; KRUIF, A. Transvaginal ovum pick-up (OPU) in the cow: New disposable needle guidance system. **Theriogenology,** v.43, p.677, 1995.

BOLS, P.E.J.; VAN SOOM A.; YSEBAERT, M.T.; VANDENHEEDE, J.M.M.; KRUIF, A. Effects of aspiration cavuum and needle diameter on cumulus oocyte

complex morphology and developmental capacity of bovine oocytes. **Theriogenology**, v.45, p.1001-1014, 1996.

BROGLIATTI, G.M., ADAMS, G.P., Ultrasound guided transvaginal oocyte collection in prepubertal calves. **Theriogenology**, v.45, p.1163, 1996.

DAYAN, A.; FIRMINO, F.A.; AVELINO, K.B.; VANTINI, R. GARCIA, J.M. Aspiração folicular em novílias nelore pré púberes e produção *in vitro* de embriões (resultados preliminares). **Ciência Animal**, v.7, n.2, p.107, 1997.

DAYAN, A.; WATANABE, M.R.; LÔBO, R.B.; FRANCESCHINI, P.H. WATANABE, Y.F. A influência da condição ovariana na aspiração folicular e produção *in vitro* de embriões em raças zebuínas. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, v.27, n.1, p.226, 1999.

DAYAN, A.; WATANABE, M.R.; WATANABE, Y.F. Fatores que interferem na produção comercial de embriões FIV. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, v.28, n.1, p.181-185, 2000a.

DAYAN, A.; WATANABE, M.R.; MEIRELLES, F.V.; LÔBO, R.B.; WATANABE, Y.F. *Bos indicus* and *Bos taurus in vitro* produced embryos develop similarly in tropical conditions. **Theriogenology**, v.53, p.348, 2000b.

DE ARMAS, R.; SOLANO, R.; PUPO, C.A.; AGUILAR, A.; AGUIRRE, A. RIEGO, E.; CASTRO, F.O. Effect of the donor oocyte breed on *in vitro* fertilization results in cattle. **Theriogenology**, v.41, p.186, 1994.

DOMINGUEZ, M.M. Effect of body condition, reproductive status and breed on follicular population and oocyte quality in cows. **Theriogenology**, v.43, p.1405-1408, 1995.

ERICKSON, B. H., Development and senescence of postnatal bovine ovary. **J. Anim. Sci.** v.25, p.800, 1966.

FERRAZ, M.L.; DAYAN, A.; WATANABE, M.R.; WATANABE, Y.F. Influência da frequência de OPU-FIV em bovinos. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, v.28, n.1, p.251, 2000.

GIBBONS, J.R., BEAL, W.E., KRISHER, R.L., FABER, E.G., PEARSON, R.E., GWAZDAUSKAS, F.C., Effects of once versus twice weekly transvaginal follicular aspiration on bovine oocyte recovery and embryo development. **Theriogenology** v.42, p.405 1994.

GUYADER-JOLY, C.; DURAND, M.; MOREL, A.; PONCHON, S.; MARQUANT, L.B. GUÉRIN, B. HUMBLLOT, P. Sources of variation in blastocyst production in a commercial ovum pick-up, *in vitro* embryo production program in dairy cattle. **Theriogenology**, v.53, p.355, 2000.

HASLER, J.F.; HENDERSON, W.B.; HURTGEN, P.J.; JIN, Z.Q.; McCAULY, A.D.; MOWER, S.A.; NEELY, B.; SHUEY, L.S.; STOKES, J.E.; TRIMMER, S.A.. Production, freezing and transfer of bovine IVF embryos and subsequent calving results. **Theriogenology**, v.43 p.151-152, 1995.

HILL B. R., A simple method of transvaginal follicle aspiration. **Theriogenology**, v.41 p.235, 1995.

IGUMA, L.T.; HASHIMOTO, M.; MOHAMED NOUR, M.S.; TAKASHASHI, Y. Capacidade de desenvolvimento *in vitro* de oócitos recuperados de ovários císticos bovinos. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, v.28, n.1, p.270, 2000.

KATSKA, L.; SMORAG, Z. Number and quality of oocytes in relation to age of cattle. **Anim. Reprod. Sci.**, v.7 p.451-460, 1984.

KONISHI, M., AOYAGI, Y. TAKEDOMI, T., *ET AL.*, Presence of granulosa cells during oocyte maturation improved *in vitro* development of IVM-IVF bovine oocytes that were collected by ultrasound-guided transvaginal aspiration. **Theriogenology**, v.45 p.573, 1996.

KRUIP TH, A.M.; BONI, R.; WURTH, Y.A.; ROELOFSEN, M.W.M.; PIETERSE, M.C. Potential use of ovum pick-up for embryo production and breeding in cattle. **Theriogenology**, v.42, p.675-684, 1994.

LANSBERGEN, L.M.T.E., VAN W. LEEUW A.M., DAAS, J.H.G., RUIG, L., VAN DER STREEK, G., REINDERS, J.M.C., AARTS, M., RODEWIJK, J. Factors affecting ovum pick-up in cattle., **Theriogenology**, v.43 p.259, 1995.

LOONEY, C.R., LINDSEY, B.R., GONSETH, C.L., JOHNSON, D.L., Commercial aspects of oocyte retrieval and *in vitro* fertilization (IVF) for embryo production in problem cows., **Theriogenology** v.41 p.73, 1994.

LUSSIER, J. G.; MATTON, P.; DUFOUR, J. J. Growth rates of follicles in the ovary of the cow. **J. Reprod. Fertil.** v.81 p.301, 1987

MARION, G. B.; GIER, H. T.; CHOUDARY, J. B. Micromorphology of the bovine ovarian follicular system. **J. Anim. Sci.** v.27, p.451, 1968.

MARQUANT-LE GUIENNE, B.; HUMBLOT, P.; GUILLON, N.; GERARD, O.; THIBIER, M. *In vitro* fertilization as a tool to evaluate fertility in the bovine. In: International Congress on Animal Reproduction, XII, 1992, Hague, **Proceedings**, v.2, p.662-664.

NIBART, M.; SILVA PEIXER, M.; THUARD, J.M.; DURANT, M.; GUYADER-JOLY, C.; PONCHON, S.; MARQUANT-LE GUIENNE, B.; HUMBLOT, P. Embryo production by OPU and IVF in dairy cattle. In: Réunion A.E.T.E., XI, Hannover, **Proceedings**, p.216., 1995.

PEIXER, M.A.S.; CÂMARA, J.U.; NASCIMENTO, N.V.; PAIVA, M.A.N.; RUMPF, R. Produção de animais a partir de ovócitos recuperados por ultra-sonografia de vacas com diferentes níveis de fertilidade. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, v.26, n.1, p.344-345, 1998.

PIETERSE M.C, KAPPEN, K.A., KRUIP, A. M.TAVERNE, M.A.M.. Aspiration of bovine oocytes during transvaginal ultrasound scanning ovaries. **Theriogenology**, v.30, p.751-756, 1988.

REICHENBACH, H. D., WIEBKE, N.H., MÖDL, J., ZHU,J.,BREM,G., Laparoscopy through the vaginal fornix of cows for the repeated aspiration of follicular oocytes. **J. Rep. Fertil.**, v.101, p.547, 1994.

SAUMANDE, J. PROCUREUR, R., CHUPIN, D. Effect of injection time and anti-PMSG antiserum on ovulation rate and quality of embryos in superovulated cow. **Theriogenology** v.21 p.727, 1984.

SAUVÉ, R. Ultrasound guided follicular aspiration and *in vitro* fertilization. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, v.26, n.1, p.141-155, 1998.

SENEDA, M.M; ESPER, C.R.; GARCIA, J.M.; PUELKER, R.Z.; OLIVEIRA J.A. Obtenção de embriões bovinos em um caso de obstrução uterina. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, v.28, n.1, p.331, 2000.

THONON, F.; ECTORS, F.J.; DELVAL, A.; FONTES, R.S.; TOUATI, K.; BECKERS, J.F. *In vitro* maturation, fertilization and development rates of bovine oocytes connected with the reproductive status of the donor. **Theriogenology** v.39 p.330, 1993.

WATANABE, Y.F.; WATANABE, M.R.; PERIPATO, A.C.; GALERANI, M.A.V.; VILA, R.A.; LÔBO, R.B. A fecundação *in vitro* como critério de seleção para fertilidade em tourinhos da raça Nelore. **Rev. Bras. Gen.**, v.18, p.236. 1995.

WATANABE, Y.F.; WATANABE, M.R.; DAYAN, A.; VILA, R.A.; LÔBO, R.B. Competência de oócitos, oriundos de diferentes fêmeas bovinas, na produção *in vitro* de blastocistos. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, v.26, n.1, p.384-385, 1998a.

WATANABE, Y.F.; WATANABE, M.R.; VILA, R.A.; GALERANI, M.A.V.; LÔBO, R.B. Seleção de touros para a produção *in vitro* de embriões. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, v.26, n.1, p.388-389, 1998b.

WILTBANK, M. C.; PURSLEY, J. R.; FRICKE, P. M.; VASCONCELOS, J.; GUENTHER, J. N.; GIBBONS, J. R., GINTHER, O. J., Development of AI and ET programs that do not require detection of estrus using recent information on follicular growth. **Proceedings of the XV annual convention AETA**, p.62, 1996.