



Abanico Veterinario. Enero-Diciembre 2023; 14:1-24. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2023.110>

Revisión de literatura. Recibido: 12/06/2023. Aceptado:28/11/2023. Publicado: 12/12/2023. Clave: e2023-110.

<https://www.youtube.com/watch?v=bhUxhxTiNDc>

Evolución de la aspiración folicular para producción *in vitro* de embriones en ruminantes

Evolution of follicular aspiration for *in vitro* embryo production in ruminants



Álvarez-Gallardo Horacio*¹ ID, Urbán-Duarte David¹ ID, Estrada-Cortés Eliab² ID, Villaseñor-González Fernando² ID, Velázquez-Roque Adriana³ ID

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro Nacional de Recursos Genéticos - INIFAP, Tepatitlán, Jalisco, México, ²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Centro Altos de Jalisco - INIFAP, Tepatitlán, Jalisco, México, ³H&A Biotecnologías en Reproducción Animal, Tepatitlán, Jalisco, México. *Autor responsable y de correspondencia: Álvarez-Gallardo Horacio. Centro Nacional de Recursos Genéticos, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Boulevard de la Biodiversidad # 400, Racho Las Cruces, CP. 47600. Tepatitlán de Morelos, Jalisco. E-mail: alvarez.horacio@inifap.gob.mx, urban.david@inifap.gob.mx, estrada.eliab@inifap.gob.mx, villaseñor.fernando@inifap.gob.mx, velazquezra0809@gmail.com

RESUMEN

Desde que, en 1982 se consiguió el nacimiento de la primera cría generada a partir de la producción *in vitro* de embriones (PIV), los avances en esta tecnología no se han detenido. La PIV ha sido tan exitosa que se ha adaptado a diversas especies, tanto productivas como de fauna silvestre. Sin lugar a duda el mayor éxito de la PIV ha sido en el ganado bovino, según los datos reportados por la Sociedad Internacional de Tecnologías Embrionarias (IETS) durante el año 2020. Este éxito se debe en gran parte a la evolución de los sistemas de cultivo *in vitro* y a la colección eficiente y poco invasiva de ovocitos a partir de donantes vivas. En las últimas 3 décadas el avance en la fisiología ovárica, en el desarrollo de la ultrasonografía, tipos de agujas, presión de aspiración y genotipos utilizados, ha permitido que la aspiración folicular ovárica sea una técnica que se puede desarrollar a nivel de campo, con resultados cada vez mejores y sin afectar el bienestar de las donantes. En esta revisión se describirá la evolución de la técnica de aspiración folicular en ruminantes con énfasis en sus variantes y las nuevas estrategias para mejorar la calidad de los ovocitos.

Palabras clave: embriones producidos *in vitro*, aspiración folicular ovárica, ruminantes.

ABSTRACT

Since the birth of the first offspring generated from *in vitro* embryo production (IVP) in 1982, advances in this technology have not stopped. PIV has been so successful that it has been adapted to various species, both productive and wild. Undoubtedly, the greatest success of PIV has been in cattle, according to data reported by the International Embryo Technology Society (IETS). This success is largely due to the evolution of *in vitro* culture systems and the efficient and minimally invasive collection of oocytes from living donors. In the last 3 decades, advances in ovarian physiology, development of ultrasonography, types of needles, aspiration pressure, used genotypes, have allowed follicular aspiration to be a technique that can be



developed at the field level, with results better each time without affecting the well-being of the donors. In this review, the evolution of the follicular aspiration technique in ruminants will be described with emphasis on its variants and new strategies to improve oocyte quality.

Keywords: *In vitro* produced embryos, ovarian follicular aspiration, ruminants.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la producción *in vitro* de embriones (PIV) y la transferencia de embriones (TE) han tenido un gran impacto en la producción animal. En el caso del ganado bovino la PIV es ampliamente aplicada y la gran mayoría de los embriones producidos a nivel mundial son generados por esta tecnología de acuerdo con los datos reportados por la Sociedad Internacional de Tecnologías Embrionarias (IETS) (Viana, 2021) (Tabla 1). Una de las razones de la amplia aplicación de la PIV en bovinos, respecto a otras especies, es el avance en otras tecnologías reproductivas como la aspiración folicular (de complejos cúmulo-ovocito a partir de folículos de 2-8 mm) la cual ha permitido la colección repetida y eficiente de ovocitos inmaduros a partir de donadoras vivas (Galli *et al.*, 2001) sin afectar el bienestar animal de las mismas (Chastant-Maillard *et al.*, 2003; Petyim *et al.*, 2007; Currin *et al.*, 2017). Es importante resaltar que existen reportes de programas con dos sesiones de ovum pick up (OPU) por donadora por semana (Petyim *et al.*, 2003), lo que permite maximizar el potencial genético de las donadoras (Pontes *et al.*, 2011).

Tabla 1. Producción *in vivo* e *in vitro* de embriones bovinos transferibles durante 2020, por región (Viana, 2021)

Región	África	Asia	Europa	Norte América	Oceanía	Sudamérica	Total
IVD	2,763	0	126,491	196,704	4,211	31,559	361,728
IVP	4,977	0	47,470	578,995	14,345	500,397	1,156,422

IVD: embriones producidos *in vivo*

IVP: embriones producidos *in vitro*

La PIV requiere de varias técnicas como la colección de ovocitos de las donadoras, la maduración *in vitro*, la fertilización *in vitro* y cultivo *in vitro* hasta la producción de embriones en la etapa de blastocisto (Galli *et al.*, 2001; Tamassia *et al.*, 2003). La colección de ovocitos se puede realizar mediante aspiración folicular guiada por ultrasonido (OPU) en especies mayores como los bovinos o por aspiración folicular vía laparoscópica (LOPU) en pequeños rumiantes (ovinos, caprinos, cérvidos y becerras) (Baldassarre, 2021). Ambas tecnologías, tienen como principal objetivo la colecta de ovocitos (principalmente inmaduros) de donadoras genéticamente superiores para que sean fertilizados *in vitro* con sementales elite y generar embriones, los cuales puedan ser transferidos en receptoras previamente sincronizadas (Merton *et al.*, 2003). Sin embargo, también pueden ser utilizadas con fines de conservación y/o rescate genético (Ruiz *et al.*, 2013; Baldassarre, 2021). Estas técnicas de aspiración folicular son poco invasivas y la recuperación repetida de ovocitos de las donantes permite hacer múltiples cruzamientos,



así como reducir el intervalo generacional en programas de mejoramiento genético, produciendo más embriones y preñeces por donadora que por la técnica de multiovulación y producción *in vivo* de embriones (DIV) (Merton *et al.*, 2003; Baldassarre *et al.*, 2007).

GENERALIDADES DE LA TÉCNICA OPU

El sistema OPU se compone de tres partes: un ultrasonido con transductor lineal (rectal) o micro convexo (5-7.5 MHz) asociado a un dispositivo para su fijación (pistola de aspiración), una bomba de aspiración y una aguja conectada al sistema de aspiración (Bols *et al.*, 1996).

Para la aspiración folicular, se requiere de transductores que incrementen la resolución y el tamaño de las imágenes para una mejor manipulación de los ovarios (Ginther, 2014). El transductor microconvexo es el más utilizado, cuenta con un campo ultrasonográfico de 150°, puede ser de 5-7.5 MHz, prefiriéndose el de 7.5 MHz, ya que tiene mejor resolución y permite localizar más fácil los folículos pequeños. El campo ultrasonográfico de 150° ayuda a facilitar la manipulación de los ovarios y a ubicar los folículos en la línea de punción, lo que permite el uso de agujas más cortas que entran directamente en el campo ecográfico, sin perder porciones utilizables de la aguja (Ginther, 2014). La aguja se adhiere y dirige al campo ecográfico a través de una guía que está conformada por un fino tubo de acero inoxidable. Dentro del tubo de acero se encuentra la manguera del sistema de aspiración, la cual se fija a la aguja y al tubo de acero a través de un tubo de silicona que, en conjunto con una pieza de conexión crean una estructura rígida que permite el movimiento de la aguja hacia adelante y hacia atrás, además de poder reemplazar fácilmente la aguja desafilada por una nueva (Palma, 2001).

El transductor y la guía de la aguja están insertados en la pistola de aspiración, la cual tiene un mango que le da la oportunidad al operador de fijar el dispositivo de OPU dentro de la vagina, presionando suavemente el mango con la mano derecha, dejando la mano izquierda libre para manipular el ovario (Palma, 2001). Las vacas utilizadas para OPU deben estar inmovilizadas y/o pueden ser sedadas en caso de ser necesario. Las heces se remueven del recto durante la palpación y se realiza anestesia epidural con lidocaína al 2 % para evitar molestia al animal y movimientos del recto durante el procedimiento. La vulva y el periné se limpian y desinfectan antes de introducir el dispositivo de OPU. El dispositivo tiene un mango mediante el cual puede ser manipulado con una mano fuera de la vaca. La cabeza del transductor se fija en posición cráneo dorsal en el fondo de la vagina, por encima del cérvix (Palma, 2001).

Aspectos técnicos

Después del desarrollo inicial de la técnica, se han realizado diversos estudios para mejorar las técnicas de aspiración folicular, las cuales actualmente se utilizan



ampliamente como herramienta reproductiva para los programas de mejoramiento genético. Entre los principales aspectos técnicos sobre los que se ha trabajado son el tipo de aguja, el tipo de bisel, la presión de vacío y el tipo de transductor (Bols *et al.*, 1996; Bols *et al.*, 1997; Palma, 2001; Van Wagtendonk-de Leeuw, 2006).

En lo referente al tipo de aguja, se ha evaluado el calibre de la aguja utilizando agujas de 18G, 19G y 21G, observándose que el diámetro con el que se tiene mayor recuperación es el de 18G. Sin embargo, esto es relativo, ya que la presión de aspiración tiene mayor influencia en la cantidad e integridad de los ovocitos recuperados (Bols *et al.*, 1996). En un inicio se usaban agujas largas, de 50 a 65 centímetros, con un diámetro externo de 1-1.5 mm y bisel corto (Bols *et al.*, 1997) (Figura 1). La mayor desventaja de las agujas largas es que se desafilan rápidamente y requieren ser afiladas, pero no alcanzan el estado inicial de filo, esto cobra importancia ya que el filo de la aguja es esencial para que la técnica sea exitosa (Bols *et al.*, 1996). Estas agujas largas son costosas y presentan un gran espacio muerto en la luz de estas, quedando los ovocitos en un ambiente desfavorable por un largo período, además se necesitan grandes cantidades de medio para limpiarlas (Palma, 2001).



Figura 1. Dispositivo para OPU con aguja larga

La simplificación de los dispositivos utilizados para OPU para el uso de agujas desechables abrió un nuevo panorama para la técnica, ya que una aguja desafilada puede ser fácilmente cambiada debido a que son de bajo precio. Diferentes diámetros y largo de agujas desechables estériles están disponibles en el mercado. El espacio muerto es mínimo, por lo que los ovocitos pueden ser recuperados bajo condiciones más favorables (Bols *et al.*, 1997). Se reduce el riesgo de contaminación entre una donadora y otra, además de que se minimiza el tiempo en que los complejos *cumulus* ovocitos (COCs) se encuentran en un ambiente desfavorable (Van Wagtendonk-de Leeuw, 2006).

Otro aspecto estudiado fue la influencia del tipo de bisel, corto o largo (Figura 2), sobre la recuperación de ovocitos. Aunque se observó una recuperación similar para ambos tipos de bisel, se encontró que la presión de aspiración afecta de manera significativa la

recuperación y la integridad de los ovocitos cuando se usan agujas con bisel corto ([Bols et al., 1997](#)). En la actualidad existen agujas comerciales para OPU, las cuales tienen una extensión que se conecta directamente con la línea de aspiración (Figura 3).

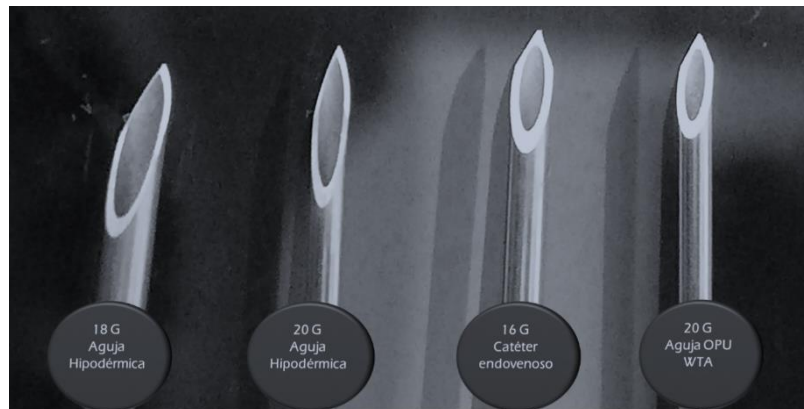


Figura 2. Bisel corto y largo de acuerdo con el tipo de aguja

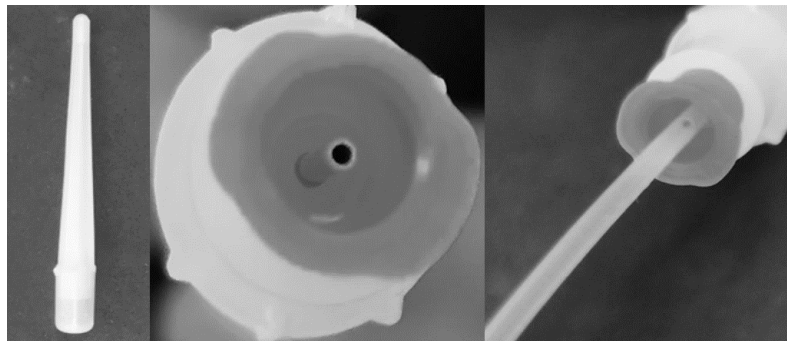


Figura 3. Aguja WTA™ con extensión para conectar la línea de aspiración

En cuanto a la presión de vacío, se ha observado que ésta varía de acuerdo con el tipo de aguja y bisel que se utilice, sin embargo, se encontró que a mayor presión hay mayor recuperación de ovocitos, pero también se incrementa el número de ovocitos desnudos ([Palma, 2001](#)). Para las agujas desechables, la presión de aspiración recomendada va de 70 a 130 mm Hg, ya que al reducir la presión de vacío se incrementa la integridad de los COCs y esto aumenta la producción de blastocistos ([Bols et al., 1996](#); [Bols et al., 1997](#)).

Desde 1984, cuando se generaron los primeros reportes de evaluación reproductiva en bovinos ([Reeves et al., 1984](#); [Pierson & Ginther., 1984](#)), la ultrasonografía transrectal se ha convertido en una herramienta básica en reproducción bovina ([Ginther et al., 2014](#)), debido a esto, en un inicio se trató de utilizar un transductor lineal rectal, esto debido a

que la gran mayoría de los profesionales en el área de reproducción en grandes especies, cuentan con un ultrasonido con transductor lineal rectal ([Van Wagtendonk-de Leeuw, 2006](#)) (Imagen 4A). Cuando se comparó el uso de un transductor lineal con un transductor microconvexo (Imagen 4B), se observó que no hubo diferencias para detectar los folículos grandes (<5 mm), sin embargo, cuando los folículos fueron pequeños (>5 mm) hubo una disminución de 12% en la visualización con el transductor lineal. En cuanto a la recuperación de ovocitos, con el transductor microconvexo se duplicó la recuperación con respecto al transductor lineal, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa ([Bols et al., 2004](#)). Esta diferencia se debe a que el área para manipular el ovario para realizar la punción es mayor con el transductor microconvexo comparado con el transductor lineal (Figura 4).

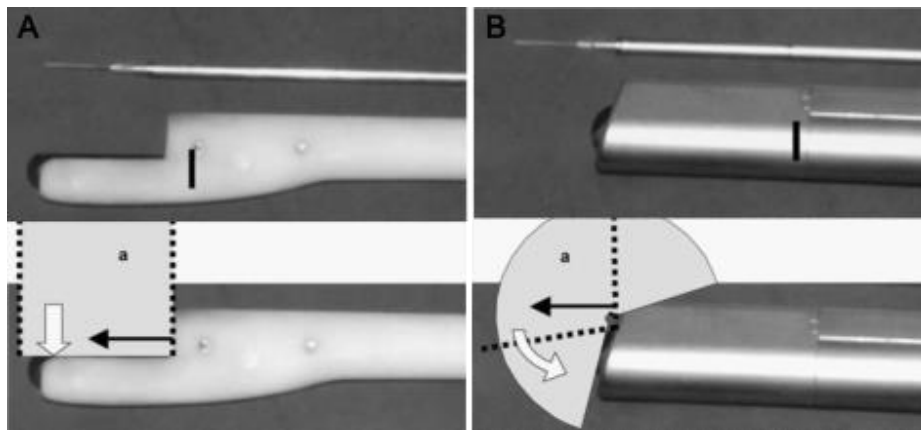


Imagen 4. Dispositivos de OPU. A) Dispositivo y área de punción con transductor lineal rectal.
B) Dispositivo y área de punción con transductor microconvexo ([Bols et al., 2004](#)).

En la actualidad la mayoría de los dispositivos utilizan un transductor microconvexo ([Xavier et al., 2023](#); [Camargo et al., 2019](#); [de Carvalho et al., 2019](#)), incluso existe un transductor microconvexo ajustado a la forma para el dispositivo de OPU (Imagen 5).



Figura 5. Transductor microconvexo en forma para el dispositivo OPU



Aspectos biológicos

Entre los aspectos biológicos relacionados a la técnica de OPU se encuentran el genotipo del animal, la estimulación ovárica, el tiempo y frecuencia de la OPU, la respuesta individual de la donadora, estado fisiológico de la donadora (vacía/gestante; lactante/no lactante), edad de la donadora (vaca, vaquilla, becerra), época del año y la experiencia del técnico para realizar la OPU (Palma, 2001; Tamassia *et al.*, 2003; Camargo *et al.*, 2005; Van Wagtendonk-de Leeuw, 2006; Takuma *et al.*, 2010; Vieira *et al.*, 2014). La estimulación hormonal es sin duda una de las mejoras más importantes con respecto a la calidad del ovocito y la producción de blastocistos *in vitro*.

Adicionalmente, el uso de hormonas para la estimulación folicular es una ventaja que tiene la OPU-PIV sobre la DIV. Se puede utilizar hormona folículo estimulante (FSH) y gonadotropina coriónica equina (eCG) para la estimulación folicular (Aller *et al.*, 2012) y aunque esta práctica se hace principalmente en ganado *Bos taurus* (Presicce *et al.*, 2011; Aller *et al.*, 2012; Chasombat *et al.*, 2013; Vieira *et al.*, 2014), también se han visto buenos resultados al aplicarla en ganado *Bos indicus* (Tabla 2). No obstante, también se han observado programas de PIV de gran escala con ganado *Bos indicus* (Nelore) en los que no se estimuló a las donadoras y se tuvo una producción eficiente de embriones (Pontes *et al.*, 2011).

Por otra parte, con el fin de hacer programas intensivos de producción de embriones, se han combinado la PIV con la DIV, donde se han obtenido buenos resultados (5.1 embriones por lavado y 3.2 embriones congelables) al iniciar la superovulación 2 días después de haber realizado la OPU utilizando donadoras Nelore (Surjus *et al.*, 2014). Por otra parte, el genotipo de las donadoras tiene mucho que ver con la población folicular. Se sabe que las donadoras *Bos indicus* superan de 2 a 4 veces las cantidades de ovocitos colectados por OPU en comparación con las donadoras *Bos taurus* (Baruselli *et al.*, 2015). Se ha observado también que las donadoras *Bos indicus* tienen más oleadas foliculares y una mayor población de folículos antrales mayores a 5 mm de diámetro en comparación con las *Bos taurus* (Silva-Santos *et al.*, 2011).



Tabla 2. Resumen del avance en la técnica de aspiración folicular en ganado bovino.

Uso de hormonas para estimular	Aguja L = larga C= corta	Presión mmHg	Transductor	No. Ovocitos ^a	Recuperación (%) ^b	Ovocitos viables (%) ^c	Embriones viables ^{*d}	Referencia
<i>Bos taurus</i>								
No	23G L	-	Vaginal	13.0	50.4	-	2.2	Pieterse <i>et al.</i> , 1991
No	20G L	40-50	Vaginal	8.0	55.1	77.61	1.0	Kruip <i>et al.</i> , 1994
FSH 24-30 mg	17G L	75-100	Convexo	8.6	69.9	-	1.3	Looney <i>et al.</i> , 1994
FSH 75 UI	17G L	70	Vaginal	9.5	-	80.0	2.7	Rocha <i>et al.</i> , 1998
No	20G C	50	Vaginal	3.9	58.5	86.0	-	Petyim <i>et al.</i> , 2003
No	19G C	-	Lineal	0.9	9.2	73.0	-	Bols <i>et al.</i> , 2004
No	19G C	-	Convexo	11.4	-	70.1	2.1	Pontes <i>et al.</i> , 2010
eCG 1600 UI	20G C	65	Vaginal	2.2	34.2	73.8	-	Aller <i>et al.</i> , 2012
FSH 200 mg	20G C	85-90	Convexo	9.9	61.1	83.9	4.4	Vieira <i>et al.</i> 2014
No	20G C	68	Convexo	17.3	81.8	71.1	3.0	Guerreiro <i>et al.</i> , 2014
No	20G C	60-70	Convexo	14.6	60.4	74.1	0.7	Sales <i>et al.</i> , 2015
No	20G C	68	Convexo	9.2	36.9	51.08	0.5	Batista <i>et al.</i> 2016
No	18G C	90	Convexo	6.3	-	71.2	5.2	Oliveira <i>et al.</i> , 2019
FSH 70 UI	18G C	70	-	26.4	64.6	96.5	7.1	Simmons <i>et al.</i> , 2023
<i>Bos indicus</i>								
FSH 75 UI	17G L	70	Vaginal	10.3	-	83.3	5.4	Rocha <i>et al.</i> , 1998
No	20G C	80	Vaginal	8.9	61.3	74.1	1.1	Viana <i>et al.</i> , 2004
No	20G C	80	Vaginal	7.0	69.3	62.1	-	Viana <i>et al.</i> , 2010
No	19G C	-	Convexo	17.1	-	70.1	3.2	Pontes <i>et al.</i> , 2010
FSH 100 mg	17G L	120	Vaginal	20.8	91.6	64.4	6.8	Chasombat <i>et al.</i> , 2013
No	20G C	68	Convexo	45.3	77.5	50.7	7.0	Guerreiro <i>et al.</i> , 2014
No	20G C	60-70	Convexo	22.8	88.8	84.9	3.8	Sales <i>et al.</i> , 2015
No	20G C	68	Convexo	29.9	63.6	60.5	9.3	Batista <i>et al.</i> , 2016
No	18G C	90	Convexo	10.0	-	78.8	10.2	Oliveira <i>et al.</i> , 2019
No	18G C	60-80	Convexo	30.1	-	85.7	10.3	García <i>et al.</i> , 2020
No	20G C	90-100	Convexo	58.6	78.3	74.2	9.7	de Silva <i>et al.</i> 2022
No	20G C	80	Convexo	24.7	88.4	78.7	9.6	Xavier <i>et al.</i> , 2023

* No. de ovocitos recuperados sobre el No. de folículos aspirados

** No. de ovocitos viables sobre el No. de ovocitos recuperados

*** No. de embriones viables por aspiración



En cuanto a las estrategias para incrementar la PIV, se ha demostrado que los ovocitos madurados *in vivo* son más competentes comparados con aquellos madurados *in vitro* (Van de Leemput *et al.*, 1999; Camargo *et al.*, 2019). En 1994 se reportó que los ovocitos bovinos aspirados de folículos dominantes antes del pico de la hormona luteinizante (LH) muestran alteraciones en su morfología nuclear y citoplasmática que, de acuerdo con los autores, son un prerrequisito para la adquisición de su competencia completa.

Esto indicaría que no solo la maduración final del ovocito es trascendental, sino que el proceso ocurre entre el pico de LH y la ovulación. Además, el periodo que precede el pico de la LH puede ser importante en el establecimiento de la competencia de desarrollo (Assey *et al.*, 1994).

En un trabajo realizado en 2014, se lograron obtener 54.9% de blastocistos con semen sexado en ganado Holstein, a partir de ovocitos madurados *in vivo* (Figura 6) y sincronización de la oleada folicular mediante ablación del folículo dominante (Matoba *et al.*, 2014). En 2019, al trabajar la PIV en ganado Black Japanese, se llegó a la conclusión de que se pueden generar embriones de mayor calidad y de manera eficiente cuando se utilizan ovocitos madurados *in vivo* colectados por OPU comparado con ovocitos inmaduros (Egashira *et al.*, 2019).

Entre las estrategias de selección de donadoras de ovocitos para la PIV, está la evaluación de los niveles plasmáticos de hormona antimülleriana (AMH). Las donadoras clasificadas como con altos niveles de AMH produjeron mayor número de embriones por OPU comparadas con las clasificadas como con bajos niveles de AMH, independientemente de si eran *Bos taurus* o *Bos indicus*. Con estos resultados se concluyó que los niveles plasmáticos de AMH son un acertado marcador endócrino para la selección de donadoras de ovocitos (Guerreiro *et al.*, 2014).

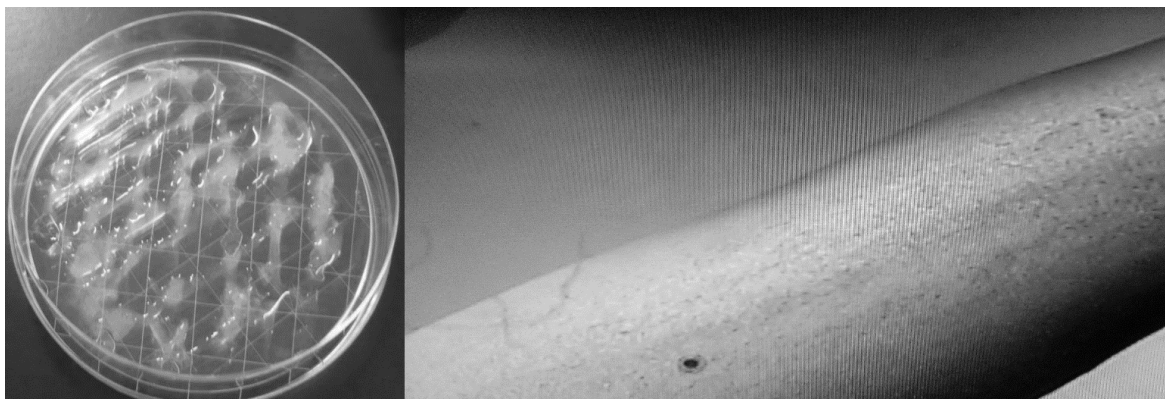


Figura 6. Búsqueda de ovocitos madurados *in vivo*



En la actualidad, la ultrasonografía Doppler Color ha tenido múltiples aplicaciones en la evaluación reproductiva del ganado bovino. Se sabe que la irrigación ovárica es muy importante para la protección y formación de los ovocitos (barrera hematofolicular), para la formación de fluido folicular y el transporte de nutrientes (Da Broi *et al.*, 2018). Recientemente se ha encontrado que la irrigación ovárica juega un papel muy importante en la PIV, se ha observado que los ovarios de donadoras de ovocitos con una irrigación entre el 50 y 70% aproximadamente, producen mayor cantidad de embriones que las donadoras con irrigación ovárica de alrededor del 30% (Figura 7). En este trabajo se observó que las donadoras con irrigación ovárica de ~70% tuvieron una producción de blastocistos del 38%, por su parte las donadoras con irrigación de ~50% produjeron 30% de blastocistos y las de irrigación de ~30% produjeron 18% de blastocistos (Villaseñor-González *et al.*, 2021).

ASPIRACIÓN FOLICULAR EN PEQUEÑOS RUMIANTES

Producción de embriones ovinos

Actualmente, la DIV, es el principal método utilizado para generar embriones en pequeños rumiantes. La colección de embriones se realiza por el método quirúrgico de laparotomía, sin embargo, esta técnica tiene varios inconvenientes, entre los que destacan las adherencias, el trauma postoperatorio, y el tiempo prolongado entre un procedimiento y otro (Jorge-Neto *et al.*, 2018), lo cual hace que solamente se pueda repetir el proceso de 4 a 5 veces en la gran mayoría de las donadoras.

Como alternativa a la colección de embriones quirúrgica, en los últimos años muchos investigadores han trabajado en el desarrollo de una técnica no quirúrgica (dilatando el cérvix), utilizando sustancias como el misoprostol, prostaglandina F2 α y estrógenos principalmente. Aunque hay resultados prometedores (penetración completa del cérvix que va de 27-78% de las donadoras, recuperación de medio de lavado de alrededor del 88 al 91%) aún falta más desarrollo de la técnica para que pueda reemplazar al lavado quirúrgico (Fonseca *et al.*, 2019; da Fonseca *et al.*, 2019).

Considerando lo anterior, la PIV en pequeños rumiantes también constituye una herramienta para el mejoramiento genético y para la conservación de gametos y embriones, mediante LOPU. Esta herramienta es altamente repetible, poco invasiva (ya que no genera adherencias) y con poco tiempo de ejecución (15 minutos aproximadamente por donadora). El periodo entre procedimientos puede ser de 14 días, lo cual es considerablemente menor comparado con los 60 días para obtener embriones mediante DIV (Jorge-Neto *et al.*, 2018). Sin embargo, se requiere de personal altamente capacitado y de un laboratorio de producción *in vitro* de embriones.

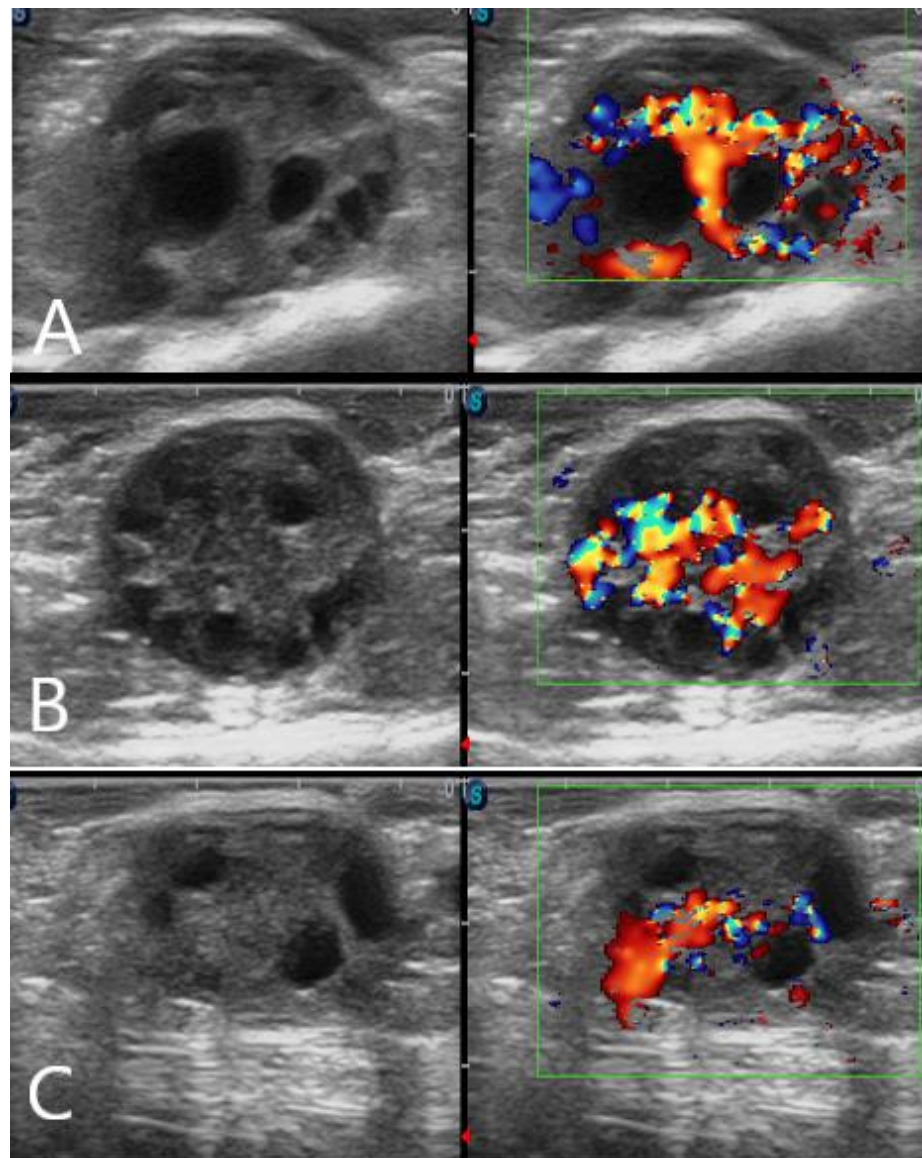


Figura 7. Evaluación del grado de irrigación ovárica por medio de ultrasonografía Doppler Color. A) Ovario con irrigación de ~70%; B) Ovario con irrigación de ~50%; C) Ovario con irrigación de ~30% (Villaseñor-González *et al.*, 2021).

De acuerdo con las estadísticas mostradas por la IETS (Tabla 3), la PIV se utiliza comercialmente en ovinos, pero en menor grado comparado con la DIV, lo cual ocurre principalmente en Norteamérica. Aunque en el caso de los caprinos, se puede observar una tendencia al alza en el uso de la PIV, según lo reportado por la IETS en 2020 (Viana, 2021).



Tabla 3. Producción *in vivo* e *in vitro* de embriones ovinos en 2020 por región (Viana, 2021)

Región	Ovinos		Caprinos	
	DIV	PIV	DIV	PIV
África	0	0	0	0
Asia	0	0	0	0
Europa	966	0	346	0
Norte América	9,204	141	10,757	2,275
Oceanía	12,427	0	1,890	0
Sudamérica	7,222	0	184	0
Total 2020	29,819	141	13,177	2,275
Total 2019	22,374	1,137	8,725	748

DIV: embriones producidos *in vivo*

PIV: embriones producidos *in vitro*

Generalidades de la LOPU

La LOPU es una técnica muy confiable y eficiente para coleccionar ovocitos de alta calidad de animales vivos, y en algunos casos animales de edad avanzada, lo que permite su uso para la PIV. Esta técnica tiene aplicación en ovinos, caprinos, bovinos, búfalos (Jorge-Neto *et al.*, 2018; Baldassarre, 2021) y cérvidos (Locatelli *et al.*, 2006; Baldassarre, 2021). La repetición de la LOPU en la misma donadora no causa secuelas con impacto en la vida reproductiva de la hembra, incluso cuando se realiza en animales prepúberes o silvestres. Otra ventaja de la LOPU es que se puede realizar en pequeños rumiantes aun cuando se encuentren fuera de temporada reproductiva, además de poder aplicarla en animales prepúberes, incluidos los bovinos y los búfalos (Jorge-Neto *et al.*, 2018; Currin *et al.*, 2021; Sousa *et al.*, 2022).

En pequeños rumiantes, la LOPU asociada con la PIV y la TE es la forma más eficiente de producir una mayor cantidad de crías a partir de hembras de genética y productividad sobresaliente. En programas de mejoramiento genético, esto permite incrementar el diferencial de selección, así como el intervalo generacional y de esa manera, acelerar la velocidad del progreso genético.

La LOPU se realiza bajo anestesia con ketamina (5 mg/kg IM) más xilazina (0.2 mg/kg IM) previo ayuno de 24 horas. Una vez anestesiada, la donadora es colocada en la camilla laparoscópica, rasurada y desinfectada en la zona abdominal inmediatamente craneal a la ubre. La donadora es colocada con la cabeza hacia abajo en un ángulo aproximado de 45-60 grados, de tal modo que los órganos digestivos se descansen sobre el diafragma y permitan ver el útero y los ovarios. Esto mediante un endoscopio de 0° (preferentemente de 5 mm de diámetro), asociado con tres trocares (un trócar para el endoscopio, otro para una pinza atraumática y otro para el mandril de aspiración, todos preferentemente de 5 mm) (Figura 8) para poder acceder a la cavidad abdominal, lo que nos permite minimizar el grado de trauma quirúrgico.

Para aumentar la visión se realiza neumoperitoneo insuflando la cavidad abdominal con CO₂. El mandril de aspiración está compuesto por tubo de acero inoxidable o acrílico de 5 mm de diámetro, unido a una aguja de 20G la cual se conecta a una manguera siliconizada que desemboca en un tubo de colección de 50 mL el que a su vez está conectado con la bomba de vacío (Figura 9). La presión de vacío se gradúa a una velocidad de 50-70 gotas por minuto. Una vez que los 3 trócares han sido debidamente insertados y se ha introducido a través de ellos el laparoscopio, la pinza de sujeción atraumática y la pipeta de aspiración, se procede con la punción folicular. Para realizar la punción folicular, el ovario se sujeta con la pinza atraumática y se gira en diferentes direcciones para ver toda la superficie del ovario y así puncionar todos los folículos de más de 2 mm de diámetro. El procedimiento se repite en ambos ovarios, y se lavan los ovarios con solución fisiológica heparinizada, para eliminar cualquier resto de sangre y que no se formen adherencias ([Baldassarre, 2021](#)).

Además, se requiere de estimulación hormonal con FSH en las donadoras, debido a que los ovarios generalmente son pequeños y con el fin de facilitar la punción ([Palma et al., 2001](#); [Baldassarre et al., 2007](#); [Baldassarre, 2021](#)). Se ha reportado que la estimulación con FSH cada 8 horas iniciando 36 horas antes de la LOPU y cambiando la última aplicación por eCG en becerras produjo embriones de forma similar a los obtenidos con donadoras adultas ([Baldassarre et al., 2018](#)). Es importante aplicar prostaglandina F2 α previo a la LOPU debido a que, si hay presencia de algún cuerpo lúteo, los sangrados son mayores debido a la alta irrigación en dicha estructura ([Vilá et al., 2007](#)).

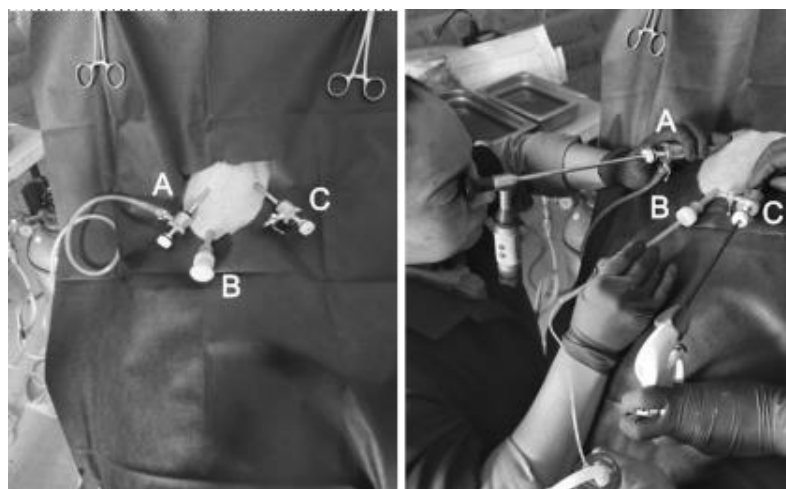


Figura 8. Posición de los trócares, endoscopio, pinza y mandril de aspiración. A) Camisa en la que se coloca el endoscopio. B) Camisa en la que se coloca el mandril de aspiración. C) Camisa en la que se coloca la pinza atraumática para sujetar el ovario.

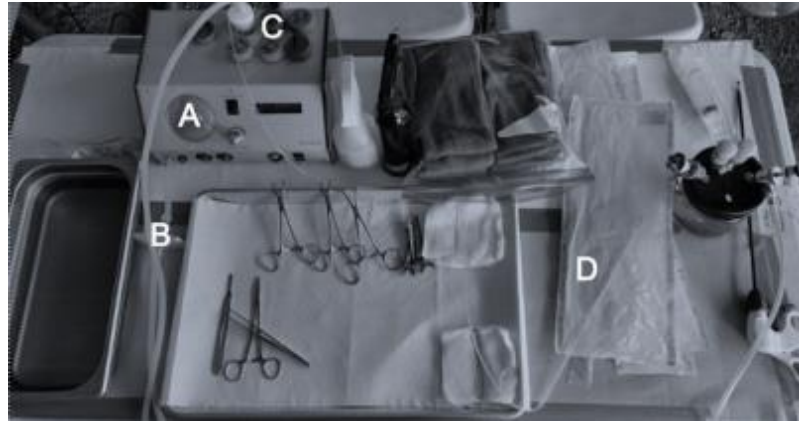


Figura 9. Sistema de aspiración. A) Bomba de aspiración. B) Manguera y filtro de vacío. C) Tubo de colecta. D) Mandril de aspiración.

TRANSFERENCIA INTRAFOLICULAR DE OVOCITOS (IFOT)

Antecedentes

Aunque la transferencia intrafolicular de ovocitos (IFOT) no es una técnica reciente, se ha reportado desde 1985 en primates, en ganado bovino ([Fleming *et al.*, 1985](#)) y en los noventa en equinos ([Hinrichs & DiGiorgio, 1991](#)). En la actualidad, está asociada a las nuevas biotecnologías. Esta técnica consiste en la transferencia de ovocitos heterólogos en el folículo preovulatorio de una hembra previamente inseminada (Figura 10). Esta técnica fue perfeccionada en la década de los 90s mediante el uso de la ultrasonografía transvaginal en la reproducción de ganado bovino, equino y en humanos ([Kassens *et al.*, 2015](#)). La aplicación de esta técnica surge en el caso del ganado bovino como una alternativa a la PIV para producir embriones que tengan mayor criotolerancia ([Kassens *et al.*, 2015](#)). Además, evitar la necesidad del equipamiento de un laboratorio para PIV ([Sprícigo *et al.*, 2016](#)). Con esta técnica, se sustituyen las incubadoras por el útero de la receptora y la obtención de los embriones se realiza mediante la técnica transcervical de lavado uterino empleada en los protocolos tradicionales de colecta de embriones producidos *in vivo*. Con la IFOT se habían logrado generar embriones en ganado bovino y equinos, pero, no fue hasta 2015 cuando se reportaron las primeras crías nacidas a partir de embriones generados por esta técnica, en la cual se usaron de ovocitos obtenidos de ovarios de rastro y madurados *in vitro* ([Kassens *et al.*, 2015](#)). En la actualidad, existen más trabajos donde se obtuvieron crías vivas por IFOT a partir de ovocitos inmaduros ([Sprícigo *et al.*, 2016](#); [Hoelker *et al.*, 2017](#)).

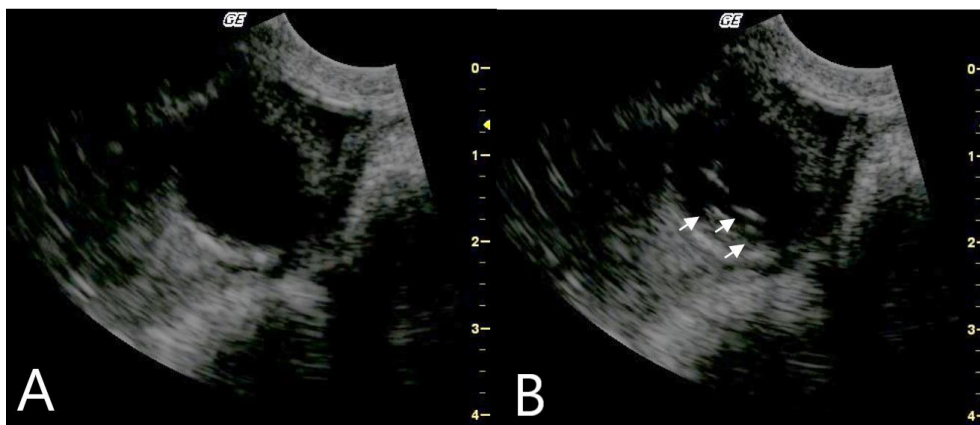


Figura 10. Confirmación de la IFOT. A) Folículo preovulatorio antes de la IFOT; B) Folículo preovulatorio después de la IFOT, las flechas indican la presencia de los COCs (Kassens *et al.*, 2015).

Esta técnica también se ha empleado para la producción *in vivo* de embriones ovinos por IFOT (Falchi *et al.*, 2022). La IFOT se complementaría con la LOPU para la colección de ovocitos de donadoras alto valor genético, los cuales serían transferidos a receptoras (animales comerciales) para la producción *in vivo* de embriones, de esta forma los efectos adversos tales como adherencias no se presentarían en las donadoras y esto alargaría su vida útil. Es importante recalcar que, aunque esta tecnología es prometedora, todavía no se alcanzan los resultados obtenidos con la PIV tradicional (Kassens *et al.*, 2015; Sprícigo *et al.*, 2016; Hoelker *et al.*, 2017; Falchi *et al.*, 2022).

CONCLUSIONES

La aspiración folicular ovárica en rumiantes se encuentra en constante mejora, lo que facilita su aplicación. Aún existen aspectos para mejorar como es aumentar la calidad de los ovocitos, aumentar la vida útil de las donadoras, incrementar la cantidad de ovocitos colectados, así como la selección de las donadoras de ovocitos. En la actualidad, se continúa la investigación en estos rubros y todo indica que en los próximos años la aspiración folicular ovárica con sus variantes se consolidarán como herramientas reproductivas eficaces como lo hicieron sus técnicas predecesoras.

LITERATURA CITADA

ALLER JF, Mucci NC, Kaiser GG, Callejas SS, Alberio RH. 2012. Effect of repeated eCG treatments and ovum pick-up on ovarian response and oocyte recovery during early pregnancy in suckling beef cows. *Animal Reproduction Science*. 133(1-2):10-15. ISSN: 1873-2232. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.06.001>



ASSEY RJ, Hyttel P, Roche JF, Boland M. 1994. Oocyte steroid and follicular steroid concentrations in superovulated versus unstimulated heifers. *Molecular Reproduction and Development*. 39(1): 8-16. ISSN:1098-2795.

<https://doi.org/10.1002/mrd.1080390103>

BALDASSARRE H, Rao KM, Neveu N, Brochu E, Begin I, Behboodi E, Hockley DK. 2007. Laparoscopic ovum pick-up followed by in vitro embryo production for the reproductive rescue of aged goats of high genetic value. *Reproduction, Fertility, and Development*. 19(5):612-6. ISSN: 1448-5990. <https://doi.org/10.1071/RD07024>

BALDASSARRE H, Currin L, Michalovic L, Bellefleur AM, Gutierrez K, Mondadori RG, Glanzner WG, Schuermann Y, Bohrer RC, Dicks N, Lopez R, Grand FX, Vigneault C, Blondin P, Gourdon J, Bordignon V. 2018. Interval of gonadotropin administration for in vitro embryo production from oocytes collected from Holstein calves between 2 and 6 months of age by repeated laparoscopy. *Theriogenology*. 116:64-70. ISSN: 1879-3231. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.05.005>

BALDASSARRE H. 2021. Laparoscopic Ovum Pick-Up Followed by In Vitro Embryo Production and Transfer in Assisted Breeding Programs for Ruminants. *Animals*. 11(1):216. ISSN: 2076-2615. <https://doi.org/10.3390/ani11010216>

BARUSELLI PS, Vieira LM, Batista EOS, Ferreira RM, Sales JNS, Gimenes LU, Torres-Junior, Martins CM, Sá Filho MF, Bo GA. 2015. Updates on embryo production strategies. *Animal Reproduction*. 12(3):375-382. ISSN 1984-3143. <https://www.animal-reproduction.org/article/5b5a6030f7783717068b4606>

BATISTA EOS, Guerreiro BM, Freitas BG, Silva JCB, Vieira LM, Ferreira RM, Rezende RZ, Basso AC, Lopes RNVR, Rennó FP, Souza AH, Baruselli PS. 2016. Plasma anti-Müllerian hormone as a predictive endocrine marker to select *Bos taurus* (Holstein) and *Bos indicus* (Nelore) calves for *in vitro* embryo production. *Domestic Animal Endocrinology*. 54:1-9. ISSN: 1879-0054.

<https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2015.08.001>

BOLS PEJ, Van Soom A, Ysebaert MT, Vandenheede JMM, de Kruif A. 1996. Effects of aspiration vacuum and needle diameter on cumulus oocyte complex morphology and developmental capacity of bovine oocytes. *Theriogenology*. 45(5):1001-1014. ISSN: 1879-3231. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(96\)00028-3](https://doi.org/10.1016/0093-691X(96)00028-3)



BOLS PEJ, Ysebaert MT, Van Soom A, de Kruif A. 1997. Effects of needle tip bevel and aspiration procedure on the morphology and developmental capacity of bovine compact cumulus oocyte complexes. *Theriogenology*. 47(6):1221-1236. ISSN: 1879-3231. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(97\)00102-7](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(97)00102-7)

BOLS PE, Leroy JL, Vanholder T, Van Soom A. 2004. A comparison of a mechanical sector and a linear array transducer for ultrasound-guided transvaginal oocyte retrieval (OPU) in the cow. *Theriogenology*. 62(5):906-14. ISSN: 1879-3231. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.12.016>

CAMARGO LS, Viana JH, Sá WF, Ferreira AM, Vale Filho VR. 2005. Developmental competence of oocytes from prepubertal *Bos indicus* crossbred cattle. *Animal Reproduction Science*. 85(1-2):53-9. ISSN: 1873-2232. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.020>

CAMARGO LSA, Munk M, Sales JN, Wohlres-Viana S, Quintão CCR, Viana JHM. 2019. Differential gene expression between *in vivo* and *in vitro* maturation: a comparative study with bovine oocytes derived from the same donor pool. *JBRA Assisted Reproduction*. 23(1):7-14. ISSN: 1518 0557. https://www.researchgate.net/publication/330267788_Differential_gene_expression_between_in_vivo_and_in_vitro_maturation_a_comparative_study_with_bovine_oocytes_derived_from_the_same_donor_pool

CHASOMBAT J, Nagai T, Parnpai R, Vongpralub T. 2013. Ovarian Follicular Dynamics, Ovarian Follicular Growth, Oocyte Yield, *In vitro* Embryo Production and Repeated Oocyte Pick Up in Thai Native Heifers Undergoing Superstimulation. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 26(4):488-500. ISSN: 1976-5517. <http://dx.doi.org/10.5713/ajas.2012.12519>

CHASTANT-MAILLARD S, Quinton H, Lauffenburger J, Cordonnier-Lefort N, Richard C, Marchal J, Mormede P, Renard JP. 2003. Consequences of transvaginal follicular puncture on well-being in cows. *Reproduction*. 125(4):555-63. ISSN: 1741-7899. <https://doi.org/10.1530/rep.0.1250555>

CURRIN L, Michalovic L, Bellefleur AM, Gutierrez K, Glanzner W, Schuermann Y, Bohrer RC, Dicks N, da Rosa PR, De Cesaro MP, Lopez R, Grand FX, Vigneault C, Blondin P, Gourdon J, Baldassarre H, Bordignon V. 2017. The effect of age and length of gonadotropin stimulation on the *in vitro* embryo development of Holstein calf oocytes. *Theriogenology*. 104:87-93. ISSN: 1879-3231. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.08.011>



CURRIN L, Baldassarre H, Bordignon V. 2021. *In Vitro* Production of Embryos from Prepubertal Holstein Cattle and Mediterranean Water Buffalo: Problems, Progress and Potential. *Animals*. 11(8):2275. ISSN: 2076-2615. <https://doi.org/10.3390/ani11082275>

DA BROI MG, Giorgi VSI, Wang F, Keefe DL, Albertini D, Navarro PA. 2018. Influence of follicular fluid and cumulus cells on oocyte quality: clinical implications. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 35(5):735-751. ISSN: 1573-7330. <https://doi.org/10.1007/s10815-018-1143-3>

DA FONSECA JF, Zambrini FN, Guimarães JD, Silva MR, Oliveira MEF, Brandão FZ, Bartlewski PM, Souza-Fabjan JMG. 2019. Combined treatment with oestradiol benzoate, d-cloprostenol and oxytocin permits cervical dilation and nonsurgical embryo recovery in ewes. *Reproduction in Domestic Animals*. 54(1):118-125. ISSN: 1439-0531. <http://dx.doi.org/10.1111/rda.13318>

de CARVALHO JGS, de Carvalho NAT, Bayeux BM, Watanabe YF, Watanabe OY, Mingoti RD, Baruselli PS. 2019. Superstimulation prior to the ovum pick-up improves the *in vitro* embryo production in nulliparous, primiparous and multiparous buffalo (*Bubalus bubalis*) donors. *Theriogenology*. 15(138):164-168. ISSN: 1879-3231. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.07.003>

EGASHIRA J, Ihara Y, Khatun H, Wada Y, Konno T, Tatemoto H, Yamanaka K. 2019. Efficient *in vitro* embryo production using *in vivo*-matured oocytes from superstimulated Japanese Black cows. *Journal of Reproduction and Development*. 65(2):183-190. ISSN:1348-4400. <https://doi.org/10.1262/jrd.2018-155>

FALCHI L, Pivato I, Ledda M, Melosu V, Scanu A, Pau S, Ledda S, Zedda MT. 2022. Intrafollicular oocyte transfer (IFOT): Potential feasibility in the ovine species. *Theriogenology*. 179:7-13. ISSN: 1879-3231. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.11.009>.

FLEMING AD, Salgado R, Kuehl TJ. 1985. Maturation of baboon or cow oocytes transplanted into a surrogate dominant follicle *in vivo*. *Theriogenology*. 23(1):193. ISSN: 1879-3231. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(85\)90099-8](https://doi.org/10.1016/0093-691X(85)90099-8)



FONSECA JF, Zambrini FN, Guimarães JD, Silva MR, Oliveira MEF, Bartlewski PM, Souza-Fabjan JMG. 2019. Cervical penetration rates and efficiency of non-surgical embryo recovery in estrous-synchronized Santa Inês ewes after administration of estradiol ester (benzoate or cypionate) in combination with d-cloprostenol and oxytocin. *Animal Reproduction Science*. 203:25-32. ISSN: 1873-2232. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.02.004>

GARCÍA SM, Morotti F, Cavalieri FLB, Lunardelli PA, de Oliveira Santos A, Membrive CMB, Castillo C, Puelker RZ, Silva JOF, Zangirolamo AF, Seneda MM. 2020. Synchronization of stage of follicle development before OPU improves embryo production in cows with large antral follicle counts. *Animal Reproduction Science*. 221:106601. ISSN: 1873-2232. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106601>

GINTHER OJ. 2014. How ultrasound technologies have expanded and revolutionized research in reproduction in large animals. *Theriogenology*. 81(1):112-25. ISSN: 1879-3231. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.09.007>

GUERREIRO BM, Batista EO, Vieira LM, Sá Filho MF, Rodrigues CA, Castro Netto A, Silveira CR, Bayeux BM, Dias EA, Monteiro FM, Accorsi M, Lopes RN, Baruselli PS. 2014. Plasma anti-mullerian hormone: an endocrine marker for in vitro embryo production from *Bos taurus* and *Bos indicus* donors. *Domestic Animal Endocrinology*. 49:96-104. Print ISSN: 0739-7240. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2014.07.002>

HINRICHS K, DiGiorgio LM. 1991. Embryonic development after intra-follicular transfer of horse oocytes. *Journal of Reproduction and Fertility*. Suppl 44:369–374. ISSN: 2251-676X. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1795280/>

HOELKER M, Kassens A, Salilew-Wondim D, Sieme H, Wrenzycki C, Tesfaye D, Neuhoff C, Schellander K, Held-Hoelker E. 2017. Birth of healthy calves after intra-follicular transfer (IFOT) of slaughterhouse derived immature bovine oocytes. *Theriogenology*. 15(97):41-49. ISSN: 1879-3231. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.04.009>

JORGE-NETO PN, Alecho RL, Schilbach PC, Baldassarre H. 2018. Laparoscopic ovum pick-up (LOPU): from animal production to conservation. *Spermova*. 8(1): 61-67. ISSN: 2308-4928. <https://doi.org/10.18548/aspe/0006.07>



KASSENS A, Held E, Salilew-Wondim D, Sieme H, Wrenzycki C, Tesfaye D, Schellander K, Hoelker M. 2015. Intrafollicular Oocyte Transfer (IFOT) of Abattoir-Derived and In Vitro-Matured Oocytes Results in Viable Blastocysts and Birth of Healthy Calves. *Biology of reproduction*. 92(6):150-1. ISSN 1529-7268.

<https://doi.org/10.1095/biolreprod.114.124883>

KRUIP TA, Boni R, Wurth YA, Roelofsen MWM, Pieterse MC. 1994. Potential use of ovum pick-up for embryo production and breeding in cattle. *Theriogenology*. 42(4):675-684. ISSN: 1879-3231. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(94\)90384-U](https://doi.org/10.1016/0093-691X(94)90384-U)

LOCATELLI Y, Vallet JC, Huyghe FP, Cognié Y, Legendre X, Mermillod P. 2006. Laparoscopic ovum pick-up and in vitro production of sika deer embryos: effect of season and culture conditions. *Theriogenology*. 66(5):1334-42. ISSN: 1879-3231. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.05.005>

LOONEY CR, Lindsey BR, Gonseth CL, Johnson DL. 1994. Commercial aspects of oocyte retrieval and *in vitro* fertilization (IVF) for embryo production in problem cows. *Theriogenology*. 41(1):67-72. ISSN: 1879-3231. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(05\)80050-0](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(05)80050-0)

MATOBA S, Yoshioka H, Matsuda H, Sugimura S, Aikawa Y, Ohtake M, Hashiyada Y, Seta T, Nakagawa K, Lonergan P, Imai K. 2014. Optimizing production of in vivo-matured oocytes from superstimulated Holstein cows for in vitro production of embryos using X-sorted sperm. *Journal of Dairy Science*. 97:743-753. ISSN: 1525-3198. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6838>

MERTON JS, de Roos APW, Mullaart E, de Ruigh L, Kaal L, Vos PLAM, Dieleman SJ. 2003. Factors affecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry. *Theriogenology*. 59:651-674. ISSN: 1879-3231. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)01246-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)01246-3)

OLIVEIRA CS, Serapiao RV, dos Reis Camargo AJ, de Freitas C, Iguma LT, Carvalho BC, Camargo LSA, Oliveira LZ, Silva Verneque R. 2019. Oocyte origin affects the *in vitro* embryo production and development of Holstein (*Bos taurus taurus*)-Gyr (*Bos taurus indicus*) reciprocal cross embryos. *Animal Reproduction Science*. 209:106165. ISSN: 1873-2232. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106165>



PALMA GA, Tortonese DJ, Sinowatz F. 2001. Developmental capacity in vitro of prepubertal oocytes. *Anatomia Histologia Embryologia*. 30(5):295-300. ISSN:1439-0264. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0264.2001.00324.x>

PALMA GA. 2001. Punción folicular (Ovum pick up, OPU) en la vaca. En Palma, GA, *Bioteconlogías de la reproducción*. Argentina. 185-224. ISBN: 987-43-3779-6. https://books.google.com.mx/books?id=zmHbayu_hfIC&hl=es&source=gbs_book_other_versions

PETYIM S, Båge R, Hallap T, Bergqvist AS, Rodríguez-Martínez H, Larsson B. 2003 Two different schemes of twice-weekly ovum pick-up in dairy heifers: effect on oocyte recovery and ovarian function. *Theriogenology*. (1):175-88. ISSN: 1879-3231. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)01363-8](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)01363-8)

PETYIM S, Båge R, Madej A, Larsson B. 2007. Ovum pick-up in dairy heifers: does it affect animal well-being? *Reproduction in Domestic Animals*. 42(6):623-32. ISSN:1439-0531. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2006.00833.x>

PIERSON RA, Ginther OJ. 1984. Ultrasonography for detection of pregnancy and study of embryonic development in heifers. *Theriogenology*. 22(2):225-33. ISSN: 1879-3231. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(84\)90435-7](https://doi.org/10.1016/0093-691X(84)90435-7)

PIETERSE MC, Vos PLAM, Kruip TA, Wurth YA, Van Beneden TH, Willemse AH, Taverne MAM. 1991. Transvaginal ultrasound guided follicular aspiration of bovine oocytes. *Theriogenology*. 35(1):19-24. ISSN: 1879-3231. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(91\)90426-E](https://doi.org/10.1016/0093-691X(91)90426-E)

PONTES JH, Melo Sterza FA, Basso AC, Ferreira CR, Sanches BV, Rubin KC, Seneda MM. 2011. Ovum pick up, *in vitro* embryo production, and pregnancy rates from a large-scale commercial program using Nelore cattle (*Bos indicus*) donors. *Theriogenology*. 75(9):1640-6. ISSN: 1879-3231. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.12.026>

PONTES JHF, Silva KCF, Basso AC, Rigo AG, Ferreira CR, Santos GMG, Sanches BV, Porcionato JPF, Vieira PHS, Faifer FS, Sterza FAM, Schenk JL, Seneda MM. 2010. Large-scale *in vitro* embryo production and pregnancy rates from *Bos taurus*, *Bos indicus*, and *indicus-taurus* dairy cows using sexed sperm. *Theriogenology*. 74(8):1349-1355. ISSN: 1879-3231. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.06.004>



PRESICCE GA, Xu J, Gong G, Moreno JF, Chaubal S, Xue F, Bella A, Senatore EM, Yang X, Tian XC, Du F. 2011. Oocyte source and hormonal stimulation for *in vitro* fertilization using sexed spermatozoa in cattle. *Veterinary Medicine International*. 2011, e145626. ISSN: 2042-0048. <https://doi.org/10.4061/2011/145626>

REEVES JJ, Rantanen NW, Hauser M. 1984. Transrectal real-time ultrasound scanning of the cow reproductive tract. *Theriogenology*. 21(3):485-94. ISSN: 1879-3231. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(84\)90410-2](https://doi.org/10.1016/0093-691X(84)90410-2)

ROCHA A, Randel RD, Broussard JR, Lim JM, Blair RM, Roussel JD, Godke RA, Hansel W. 1998. High environmental temperature and humidity decrease oocyte quality in *Bos taurus* but not in *Bos taurus* cows. *Theriogenology*. 49(3):657-665. ISSN: 1879-3231. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(98\)00016-8](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(98)00016-8)

RUIZ S, Romero-Aguirregomezcorta J, Astiz S, Peinado B, Almela L, Poto A. 2013. Application of reproductive biotechnology for the recovery of endangered breeds: birth of the first calf of Murciana-Levantina bovine breed derived by OPU, *in vitro* production and embryo vitrification. *Reproduction in Domestic Animals*. 48(6):81-84. ISSN:1439-0531. <https://doi.org/10.1111/rda.12179>

SALES JNDS, Iguma LT, Batista RITP, Quintão CCR, Gama MAS, Freitas C, Pereira MM, Camargo SA, Viana HM, Souza JV, Baruselli PS. 2015. Effects of a high-energy diet on oocyte quality and *in vitro* embryo production in *Bos indicus* and *Bos taurus* cows. *Journal of Dairy Science*. 98(5):3086-3099. ISSN: 1525-3198. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8858>

SILVA-SANTOS KC, GMG Santos, LS Siloto, MF Hertel, ER Andrade, MIB Rubin, L Sturion, FA Melo-Sterza, MM Seneda. 2011. Estimate of the population of preantral follicles in the ovaries of *Bos taurus indicus* and *Bos taurus taurus* cattle. *Theriogenology*. 76(6):1051-1057. ISSN: 1879-3231. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.05.008>

SIMMONS R, Tutt DA, Guven-Ates G, Kwong WY, Labrecque R, Randi F, Sinclair KD. 2023. Enhanced progesterone support during stimulated cycles of transvaginal follicular aspiration improves bovine *in vitro* embryo production. *Theriogenology*. 199:77-85. ISSN: 1879-3231. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2023.01.003>



SOUSA AJO, Gurgel HJ, Coelho PSA, Silva CRG, Araújo LHV, Nascimento HSD, Rodrigues IDSR, Pantoja LC, Cardoso TDS, Silva MD, Torres ACC, Teixeira PPM, Miranda MDS. 2022. Surgical Description of Laparoscopic Ovum Pick-Up in Buffalo Calves. *Animals*. 13(1):102. ISSN: 2076-2615. <https://doi.org/10.3390/ani13010102>

SPRÍCIGO JF, Sena Netto SB, Muterlle CV, Rodrigues Sde A, Leme LO, Guimarães AL, Caixeta FM, Franco MM, Pivato I, Dode MA. 2016. Intrafollicular transfer of fresh and vitrified immature bovine oocytes. *Theriogenology*. 86(8):2054-62. ISSN: 1879-3231. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.07.003>

SURJUS RS, Prata AB, Borsato M, Mattos FC, Martins da Silveira MC, Mourão GB, Pires AV, Wiltbank MC, Sartori R. 2014. *In vivo* embryo production in cows superovulated 1 or 2 days after ovum pick-up. *Reproduction, Fertility and Development*. 26(4):527-32. ISSN: 1448-5990. <https://doi.org/10.1071/RD12398>

TAKUMA T, Sakai S, Ezoe D, Ichimaru H, Jinnouchi T, Kaedei Y, Nagai T, Otoi T. 2010. Effects of season and reproductive phase on the quality, quantity and developmental competence of oocytes aspirated from Japanese black cows. *Journal Reproduction and Development*. 56(1):55-9. ISSN: 1348-4400. <https://doi.org/10.1262/jrd.09-071H>.

TAMASSIA M, Heyman Y, Lavergne Y, Richard C, Gelin V, Renard JP, Chastant-Maillard S. 2003. Evidence of oocyte donor cow effect over oocyte production and embryo development *in vitro*. *Reproduction*. 126(5):629-37. ISSN: 1741-7899. <https://doi.org/10.1530/rep.0.1260629>

VAN DE LEEMPUT EE, Vos PLAM, Zeinstra EC, Bevers MM, van der Weijden GC, Dieleman SJ. 1999. Improved *in vitro* embryo development using *in vivo* matured oocytes from heifers superovulated with a controlled preovulatory LH surge. *Theriogenology*. 52:335-349. ISSN: 1879-3231. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00133-8](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00133-8)

VAN WAGTENDONK-DE LEEUW AM. 2006. Ovum pick up and *in vitro* production in the bovine after use in several generations: a 2005 status. *Theriogenology*. 65(5):914-25. ISSN: 1879-3231. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.09.007>

VIANA JHM. 2021. 2020 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. *Embryo Technology Newsletter – IETS*. 39 (4): 24-38. https://www.iets.org/Portals/0/Documents/Public/Committees/DRC/IETS_Data_Retrieval_Report_2020.pdf



VIANA JHM, de Almeida Camargo LS, de Moraes Ferreira A, De Sa WF, de Carvalho Fernandes CA, Junior ADPM. 2004. Short intervals between ultrasonographically guided follicle aspiration improve oocyte quality but do not prevent establishment of dominant follicles in the Gir breed (*Bos indicus*) of cattle. *Animal Reproduction Science*. ISSN: 1873-2232. 84(1-2):1-12. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2003.12.002>

VIANA JHM, Palhao MP, Siqueira LGB, Fonseca JFD, Camargo LDA. 2010. Ovarian follicular dynamics, follicle deviation, and oocyte yield in Gyr breed (*Bos indicus*) cows undergoing repeated ovum pick-up. *Theriogenology*. 73(7):966-972. ISSN: 1879-3231. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.11.025>

VIEIRA LM, Rodrigues CA, Castro Netto A, Guerreiro BM, Silveira CRA, Moreira RJC, Sá Filho MF, Bó GA, Mapletoft RJ, Baruselli PS. 2014. Superstimulation prior to the ovum pick up to improve *in vitro* embryo production in lacting and non-lacting Holstein cows. *Theriogenology*. 82:318-324. ISSN: 1879-3231. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.04.013>

VILÁ VV, Pérez AML., Perozo PE, Riera NM, Rivera L. 2007. Vascularización arterial del ovario durante el ciclo estral en ovinos. *Revista Científica*. 17(4):341-348. ISSN: 0798-2259. http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0798-22592007000400005&script=sci_arttext

VILLASEÑOR-GONZÁLEZ F, Álvarez-Gallardo H, Kjelland M, Velázquez-Roque A, Romo S. 2021. Colour-doppler ultrasonography as a tool for oocyte donor selection. *Reproduction, Fertility and Development*. 33(1):169. ISSN: 1448-5990. <https://doi.org/10.1071/RDv33n2Ab122>

XAVIER MC, Martins LP, Moura RM, Morais DF, Barbosa JVL, Figueiredo RA, Peixer MAS, de Andrade RV, Viana JHM. 2023. Evaluation of the effects of the recommended oral dose of diflubenzuron on bovine sperm and oocyte quality using CASA and OPU-IVEP. *Frontiers in Veterinary Science*. 11(10):1215722. ISSN: 2297-1769. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1215722>

[Errata Erratum](#)

<https://abanicoacademico.mx/revistasabanico-version-nueva/index.php/abanico-veterinario/errata>