

RECOLECCION Y EVALUACION DE OOCITOS DE OVARIOS DE BOVINOS MESTIZOS SACRIFICADOS

Recollection and evaluation of oocytes from **sacrificed** bovine crossbred ovaries

Rumualdo González, *, **

Eleazar Soto, **

Antonio Landaeta *

Juan Carlos Velarde **

Aitor De Ondiz **

Nelson Delgado **

Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad del Zulia.

Maracaibo. Estado Zulia, Venezuela

** Venezolana de Inseminación Artificial
y Transplante de Embriones, C.A.
Maracaibo. Estado Zulia, Venezuela

RESUMEN

De 100 ovarios no seleccionados provenientes de 50 vacas y novillas mestizas (**Cebú x Razas Lecheras**) no gestantes. recién sacrificadas, en un matadero industrial local. fueron obtenidos 385 (29.7%) oocitos inmaduros mediante aspiración directa de 1.320 folículos **vesiculares** de 2-5 mm de diámetro. De acuerdo a las características microscópicas de la cobertura de células del cumulus ooforus los **oocitos** fueron clasificados en 3 categorías tomando en cuenta los criterios establecidos por Shioya y col.^[6] en: 156 (40.5%) oocitos clase A (con cúmulos **celular** denso y compacto); 186 (48.3%) oocitos clase B (parcialmente desnudos. con un estrato delgado de células o un pequeño remanente de células del cumulus) y 42 (10.9%) oocitos clase C (desnudos o desprovistos del **cúmulus** ooforus). Considerando los oocitos clase A y B como de calidad cultivable. esto representó una sumatoria de 342 (88.32%) oocitos A y B respecto a 42 (10.9%) oocitos C respectivamente ($P < 0.05$). La aplicación del **método** de aspiración para la obtención de oocitos inmaduros de ovarios de **bovinos** mestizos demostró una eficiencia de **sólo** 29.7% de oocitos recolectados en base al número de folículos vesiculares presentes. De ellos 88.3% fueron considerados de calidad cultivable para su posterior maduración y fertilización in-vitro.

Palabras claves: Ganado mestizo. oocitos, recolección, calidad.

ABSTRACT

One hundred ovaries were obtained from 50 nonpregnant crossbred (**Zebu x Dairy Breeds**) cows **killed** at a local abattoir. From this sample, 385 (29.7%) immature oocytes were obtained through direct aspiration of 1.320 follicles of 2-5 mm of diameter. According to the microscopic

features of the **coverage** from the oophorus cumulus cell, the oocytes were **classified** in 3 categories taking into account the criteria established by Shioya et al.^[6] as follows: 156 (40.5%) oocytes class A (**with** dense and compact cumulus); 186 (48.3%) oocytes class B (**partially** naked with a thin layer of cumulus **cells**) and 42 (10.9%) oocytes class C (**totally** naked without cumulus oophorus). Considering A and B oocytes of **good quality** for culture. they represented a total of 342 (88.32%) while 42 (10.9%) were considered oocytes C ($P < 0.05$). The aspiration method for the recovery of immature oocytes from bovine **crossbred ovaries** showed an efficiency of 29.7% collected oocytes related to the number of present follicles. From the total recovered oocytes 88.3% were considered satisfactory for in vitro maturation and fertilization.

Key words: Bovine crossbred. oocytes, collection. quality.

INTRODUCCION

Folículos en diferentes estados de desarrollo están presentes en los ovarios cíclicos de los **bovinos**^[9]. Un grupo de estos **folículos** se caracterizan por su configuración vesicular (**folículos** vesiculares o **antrales**) cuyos tamaños sobre la superficie de los ovarios visiblemente **varían** de 1 a 20 mm de diámetro. **Habiéndose** estimado un potencial de mas de 50 folículos antrales por cada **ovario** en la **vaca**^[6].

Comúnmente **folículos** vesiculares de 2-5 mm de diámetro son utilizados para la obtención de oocitos primarios destinados a los programas de maduración, fecundación y cultivo in vitro de **óvulos**^[5]. Dichos oocitos pueden ser colectados de animales **vivos**^[2,7] o mas frecuentemente de ovarios de animales recién **sacrificados** en matadero. Esta ultima fuente de oocitos **resulta** más **importante** por su bajo costo y abundante **disponibilidad**^[3].

Ha sido demostrado que la cantidad y calidad de los oocitos recolectados varía según el estado del ciclo ovárico como de la técnica de recolección empleada^[4,10]. El efecto de otros factores tales como: la raza, la estación del año, la lactación, la edad, etc., no han sido reportados.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el potencial de rendimiento y calidad de oocitos recolectados por medio del método de aspiración directa de folículos vesiculares de ovarios de vacas y novillas mestizas lecheras recién sacrificadas en nuestro medio tropical.

MATERIALES Y METODOS

Durante el mes de enero del presente año de 1992, un total de 100 ovarios no seleccionados fueron obtenidos de 50 vacas y novillas mestizas (Cebú x Razas Lecheras) no gestantes sacrificadas en el matadero industrial FRICAPECA de la ciudad de Machiques del Estado Zulia.

Los ovarios fueron transportados en solución salina fisiológica (8.5 g/l) a una temperatura de 30-35 grados centígrados hasta los laboratorios de la Agropecuaria San Bernardo, propiedad de VIATECA, a 25 km del matadero FRICAPECA. Alrededor de 2-3 horas después de la recolección, los ovarios fueron lavados con la misma solución salina y secados con una servilleta de papel estéril. Los oocitos fueron obtenidos por aspiración directa de folículos vesiculares de 2-5 mm de diámetro presente sobre la superficie de los ovarios^[1]. Para la aspiración se empleó una jeringa desechable de 10 ml conteniendo 1 ml de solución salina y aguja 18 G. Volúmenes de 5 ml de líquido folicular fueron depositados en tubos de ensayo de 10 ml. Después de un reposo de 10 minutos se aspiró cuidadosamente con una pipeta pasteur el sedimento de cada tubo el cual fue posteriormente depositado en placas de Petri desechables de 35 x 10

mm. Para la búsqueda de los oocitos se empleó un microscopio estereoscópico (40X). Los oocitos fueron lavados 3 veces en solución salina seguido de su clasificación morfológica en 3 categorías de acuerdo a criterios establecidos por Shioya y col.^[6]: oocitos A (con cúmulus denso y compacto), oocitos B (parcialmente desnudos, con un estrato delgado de células o un pequeño remanente de células del cúmulus) y oocitos C (desnudos o desprovistos del cúmulus ooforus).

RESULTADOS Y DISCUSION

De 100 ovarios obtenidos producto de 4 muestreos diferentes, fueron aspirados un total de 1.320 folículos vesiculares de 2-5 mm de diámetro, de los cuales fueron recolectados un número de 385 (29.7%) oocitos; para un promedio de 13.2 folículos vesiculares y 3.8 oocitos por ovario individual, respectivamente, (ver TABLA). Nuestro promedio de 13.2 folículos aspirados por ovario se aproxima a los valores de 18.7 recientemente reportados por Lonergan y col.^[4]. Un rendimiento de 3.8 oocitos por cada ovario no seleccionado coincidió con la cifra de 3.3 previamente reportada por Kanagawa^[1]. Igualmente, nuestra tasa de recolección de oocitos respecto al número de folículos aspirados de 29.7% resultó similar a la tasa de 30.0% obtenida por el autor antes mencionado. Las razones de este bajo rendimiento de recolección de oocitos no son conocidas. Ha sido demostrado que algunos folículos histológicamente estudiados presentan signos de degeneración^[1]. Esta observación estaría, por lo tanto, afectando los resultados logrados en este estudio. Investigaciones recientes han reportado rendimientos mayores de recolección de oocitos cuando los ovarios fueron previamente seleccionados^[4]. En relación a la calidad de los oocitos, 156 (40.5%); 186 (48.3%) y 42

TABLA
TASA DE RECOLECCION Y CALIDAD DE OOCITOS OBTENIDOS
DE OVARIOS DE BOVINOS MESTIZOS SACRIFICADOS

Ensayo Nº	Ovarios Nº	Folículos Aspirados	Oocitos Recolectados			
			Total Recolectados	A	B	C
1	25	342	106	37	58	11
2	25	317	115	41	56	18
3	25	302	60	41	14	5
4	25	359	104	37	58	8
Total	100	1.320	385 (29.7%)	156 (40.5%)	186 (48.3%)	42 (10.9%)

(10.9%) fueron considerados oocitos de clase A, B y C, respectivamente. Si tomamos en cuenta los oocitos de clase A y B como de calidad cultivable para su maduración in-vitro, se obtuvo un rendimiento de 342 (88.3%) de oocitos potencialmente cultivables respecto a 42 (10.9%) de oocitos clase C no aptos. En nuestro estudio, la tasa de oocitos de 88.3% de calidad satisfactoria fue ligeramente superior a las reportadas recientemente en los estudios de Shioya y col.^[8] y de Lonergan y col.^[4] de solamente 64.8% y 73.1%, respectivamente.

Aun cuando nuestra tasa de rendimiento de oocitos recolectados fue relativamente baja, ésta coincidió con estudios previos utilizando la misma tecnología de recolección en animales y latitudes diferentes^[1]. Los valores reportados en este ensayo representan los primeros datos de rendimientos de oocitos por ovario de bovinos mestizos en nuestro medio. Nuevos métodos de extracción de oocitos están siendo desarrollados con el objeto de aumentar la tasa de recuperación y calidad de los mismos.

RECONOCIMIENTO

Los autores desean expresar su agradecimiento al CONDES (Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico) de la Universidad del Zulia por el aporte económico, al Frigorífico Industrial FRICAPECA al permitirnos el acceso para la toma de muestras de ovarios en animales sacrificados y finalmente a la Agropecuaria San Bernardo, propiedad de VIATECA, al facilitarnos las instalaciones de sus laboratorios para el desarrollo de esta investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] Kanagawa, H. Recovery of infertilized ova from slaughtered cattle. *Jap. J. Vet. Res.* 27: 72-76. 1979.
- [2] Lambert, R. D., Bernard, C., Rioux, J. E., Beland, R., D'Amours, D. and Montrevil, A. Endoscopy in cattle by the paralumbar route: Technique for ovarian examination and follicular aspiration. *Theriogenology*. 20: 149-161. 1983.
- [3] Leibried, M. L., Critser, E. S., Parrish, J. J. and First, N. L. In vitro maturation and fertilization of bovine oocytes. *Theriogenology*. 31 (1): 61-78. 1989.
- [4] Lonergan, F., Vergos, E., Kinis, A., Sharif, H., Gallagher, M. and Gordon, I. The effect of recovery method on the type of bovine oocyte obtained for in vitro maturation. *Theriogenology*. 35 (1): 231. 1991.
- [5] Lu, K. H., Gordon, I., Gallagher, M., McGoverh, H. Prenancy established in cattle by transfer of embryos derived from in vitro fertilization of oocytes matured in vitro. *Vet. Rec.* Sept. 12. 1987.
- [6] McDonald Veterinary endocrinology and reproduction. Edit. Lea & Febiger, Philadelphia, pags. 250-258. 1977.
- [7] Pieterse, M. C., Kappen, K. A., Krvip, Th. A. M. and Taverne, M. A. M. Aspiration of bovine oocytes during transvaginal ultrasound scanning of the ovaries. *Theriogenology*. 30:4. 1988.
- [8] Shioya, Y., Kuwayama, M., Fukushima, M., Iwasaki, S. and Hanada, A. In vitro fertilization and cleavage capability of bovine follicular oocytes classified by cumulus cells and matured in vitro. *Theriogenology*. 30: 3. 1988.
- [9] Staigmiller, R. B. and Emgland, B. C. Folliculogenesis in the bovine. *Theriogenology*. 17: 1. 1982.
- [10] Vergos, E., Kinis, A., Lonergan, P., Sharif, H., Gallagher, M. and Gordon, I. Effect of recovery method on the yield of embryos after in vitro maturation and fertilization of the bovine follicular oocyte. *J. Reprod. Fert. Abst.* 6: 68. 1990.