



## TRANSFERÊNCIA INTRAFOLICULAR DE OVÓCITOS IMATUROS EM BOVINOS: AVANÇOS, DESAFIOS E PERSPECTIVAS PARA A PRODUÇÃO EMBRIONÁRIA

INTRAFOLLICULAR TRANSFER OF IMMATURE OOCYTES IN CATTLE: ADVANCES, CHALLENGES, AND PERSPECTIVES FOR EMBRYO PRODUCTION

TRANSFERENCIA INTRAFOLICULAR DE OVOCITOS INMADUROS EN BOVINOS: AVANCES, DESAFÍOS Y PERSPECTIVAS PARA LA PRODUCCIÓN EMBRIONARIA

Lorena Noronha Pires<sup>1\*</sup> ; Adiel Santos Sousa<sup>2</sup> ; Milton Rezende Teixeira Neto<sup>3</sup> 

<sup>1</sup> Graduada em Medicina Veterinária pelo Centro Universitário de Excelência – UNEX, Vitória da Conquista, Bahia, Brasil; <sup>2</sup> Mestrando em Zootecnia pela Universidade Estadual da Bahia – UESB, Itapetinga, Bahia, Brasil;

<sup>3</sup> Pós-Doutorado em Zootecnia pela Universidade Estadual da Bahia – UESB, coordenador do curso de Medicina Veterinária da UNINASSAU, Vitória da Conquista, Bahia, Brasil.

\*Autor correspondente: [lorenanoronhapires@gmail.com](mailto:lorenanoronhapires@gmail.com)

Recebido: 18/07/2015 | Aprovado: 31/07/2025 | Publicado: 15/08/2025

**Resumo** A Transferência Intrafolicular de Ovócitos Imaturos (TIFOI) é uma biotecnologia emergente na reprodução assistida de bovinos. Essa técnica permite a maturação, fertilização e desenvolvimento embrionário in vivo, eliminando a necessidade de laboratórios sofisticados e reduzindo custos operacionais. O procedimento consiste na coleta de ovócitos imaturos via aspiração folicular (OPU) e sua transferência para folículos dominantes de receptoras sincronizadas, seguida de inseminação artificial (IA). O ambiente natural do trato reprodutivo proporciona condições favoráveis para a maturação e fertilização, resultando em embriões de qualidade superior aos produzidos in vitro. No entanto, desafios como a baixa taxa de recuperação embrionária e a necessidade de otimização dos protocolos hormonais ainda limitam sua eficiência. Este estudo revisa a literatura sobre a TIFOI, abordando seus fundamentos fisiológicos, metodológicos e experimentais, bem como suas vantagens e desafios na reprodução bovina.

**Palavras-chave:** Reprodução bovina. Fertilização in vivo. Maturação ovocitária. Transferência intrafolicular.

**Abstract:** The Intrafollicular Transfer of Immature Oocytes (IFOT) is an emerging biotechnology in bovine assisted reproduction. This technique enables in vivo maturation, fertilization, and embryo development, eliminating the need for sophisticated laboratories and reducing operational costs. The procedure consists of collecting immature oocytes via ovum pick-up (OPU) and transferring them into dominant follicles of synchronized recipients, followed by artificial insemination (AI). The natural reproductive tract environment provides optimal conditions for oocyte maturation and fertilization, resulting in embryos of superior quality compared to in vitro-produced embryos. However, challenges such as low embryo recovery rates and the need to optimize hormonal protocols still limit its efficiency. This study reviews the literature on IFOT, addressing its physiological, methodological, and experimental foundations, as well as its advantages and challenges in cattle reproduction.

**Keywords:** Bovine reproduction. In vivo fertilization. Oocyte maturation. Intrafollicular transfer.

**Resumen:** La Transferencia Intrafolicular de Ovocitos Inmaduros (TIFOI) es una biotecnología emergente en la reproducción asistida de ganado vacuno. Esta técnica permite la maduración, fertilización y desarrollo embrionario in vivo, eliminando la necesidad de laboratorios sofisticados y reduciendo los costos operativos. El procedimiento consiste en recolectar ovocitos inmaduros mediante aspiración folicular (OPU) y transferirlos a folículos dominantes de receptoras sincronizadas, seguido de inseminación artificial (IA). El entorno natural del tracto reproductivo proporciona condiciones favorables para la maduración y la fertilización, lo que da como resultado embriones de mayor calidad que los producidos in vitro. Sin embargo, desafíos como la baja tasa de recuperación embrionaria y la necesidad de optimizar los protocolos

hormonales aún limitan su eficiencia. Este estudio revisa la literatura sobre TIFOI, abordando sus fundamentos fisiológicos, metodológicos y experimentales, así como sus ventajas y desafíos en la reproducción bovina.

**Palabras-clave:** Reproducción bovina. Fertilización in vivo. Maduración de los ovocitos. Transferencia intrafolicular.

## 1 INTRODUÇÃO

A produção de embriões bovinos no Brasil em 2015 totalizou 375.000 unidades, com predominância da Produção In Vitro de Embriões (PIVE) (Viana, 2016). A crescente demanda por multiplicação genética impulsiona a busca por técnicas mais eficientes, como a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) e a Produção In Vitro de Embriões (PIVE) (Salilew-Wondim et al., 2015). A IATF melhora a eficiência reprodutiva ao sincronizar a ovulação (Baruselli et al., 2017), enquanto a Produção In Vitro de Embriões (PIVE) permite maior produção de embriões, mas apresenta custos elevados e menor qualidade embrionária (Viana, 2016; Seneda et al., 2017).

A Transferência Intrafolicular de Ovócitos Imaturos (TIFOI) surge como alternativa promissora, combinando vantagens das abordagens existentes (Sprícigo et al., 2016). Nessa técnica, ovócitos imaturos obtidos via OPU são introduzidos em um folículo dominante de uma receptora sincronizada, que é inseminada artificialmente. O desenvolvimento embrionário ocorre in vivo até o estágio de blastocisto, permitindo a posterior coleta e transferência dos embriões ou sua criopreservação (Sprícigo et al., 2016).

A TIFOI se destaca por oferecer uma reprodução mais acessível, sem necessidade de cultivo laboratorial ou superestimulação ovariana, tornando-se uma opção viável economicamente (Sprícigo et al., 2016; Seneda et al., 2017). No entanto, desafios como a variabilidade nas taxas de sucesso e a padronização dos protocolos ainda precisam ser superados (Sartori et al., 2016).

Esse estudo busca revisar a literatura sobre a TIFOI, analisando seus fundamentos, desafios e perspectivas para aplicação em larga escala.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Caracterização da pesquisa

A pesquisa caracterizou-se como uma revisão narrativa de literatura, com abordagem qualitativa e exploratória, cujo objetivo foi reunir, analisar e sintetizar o conhecimento científico disponível sobre a Transferência Intrafolicular de Ovócitos Imaturos (TIFOI) em Bovinos. Para garantir a qualidade e relevância dos estudos selecionados, foram seguidos critérios rigorosos de inclusão. Primeiramente, foram selecionados artigos publicados em revistas científicas indexadas e com avaliação por pares, o que assegurou que os estudos fossem provenientes de fontes confiáveis e com rigor acadêmico.

Além disso, a pesquisa priorizou estudos experimentais ou revisões sistemáticas, que apresentassem dados concretos e análises detalhadas sobre a TIFOI ou biotecnologias reprodutivas correlatas. A pesquisa foi ainda focada em estudos realizados especificamente com bovinos, excluindo-se aqueles que abordavam outras espécies para garantir que os resultados fossem pertinentes ao contexto da bovinocultura. Outro critério adotado foi a seleção de publicações em inglês, português ou espanhol, para garantir uma ampla gama de fontes científicas, respeitando a acessibilidade e a compreensão dos conceitos.

Por fim, os estudos escolhidos deveriam abordar aspectos técnicos ou práticos, como protocolos, eficiência e comparações entre a TIFOI e outras biotecnologias, facilitando a aplicação direta dos resultados no campo. Esses critérios permitiram a construção de um embasamento científico sólido sobre a TIFOI, contribuindo para a compreensão de sua aplicabilidade prática e para o desenvolvimento de novos protocolos que possam aprimorar sua eficiência.

## 2.2 Área de Estudo e Público-alvo

A pesquisa foi realizada por meio de levantamento bibliográfico em bases de dados científicas especializadas na área veterinária e de biotecnologia reprodutiva. Foram utilizadas fontes renomadas e amplamente reconhecidas na área da reprodução animal, garantindo a qualidade e a relevância dos estudos analisados. As buscas foram conduzidas nas bases de dados *Veterinary Science Database* (VSD), Congresso Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA), PubVet, *SciELO (Scientific Electronic Library Online)* e Google Scholar.

O público-alvo deste estudo inclui pesquisadores, profissionais da medicina veterinária, zootecnistas e estudantes interessados em biotecnologias reprodutivas aplicadas à bovinocultura. Além disso, as informações analisadas podem ser úteis para pecuaristas que buscam alternativas inovadoras para a multiplicação genética de seus rebanhos, bem como para centros de pesquisa e empresas especializadas em reprodução bovina.

## 2.3 Metodologia da pesquisa

A pesquisa foi desenvolvida em três etapas principais: busca e seleção dos artigos, análise e categorização dos dados e síntese das informações.

Na primeira etapa, foram estabelecidos descritores específicos para a busca de artigos, utilizando a terminologia indexada das bases de dados veterinárias e de reprodução animal. Foram empregados termos em português e inglês, as quais foram: “Transferência intrafolicular de ovócitos imaturos (TIFOI)”, “*Intrafollicular transfer of immature oocytes (IFOT)*”, “Reprodução assistida em bovinos”, “*Bovine assisted reproduction*”, “Maturação ovocitária”, “*Oocyte maturation*”, “Superovulação (SOV)”, “Fertilização in vivo (FIV)”, “Produção in vitro de embriões (PIVE)”.

Para garantir a inclusão dos artigos mais relevantes, foram aplicados operadores booleanos (AND, OR e NOT), possibilitando refinar os resultados e evitar trabalhos irrelevantes. A busca foi limitada a artigos publicados entre 2000 e 2024, garantindo a atualidade das informações. Os critérios de inclusão dos artigos foram estudos publicados em periódicos revisados por pares e indexados nas bases *Veterinary Science Database* (VSD), Congresso Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA), PubVet, *Scielo* e *Google Scholar*; artigos experimentais e revisões sistemáticas que abordam a TIFOI em bovinos; trabalhos que apresentassem dados sobre eficiência, protocolos metodológicos e avanços da técnica; e estudos que discutissem comparações entre TIFOI, PIVE e SOV.

Os critérios de exclusão foram artigos indisponíveis na íntegra ou sem acesso aberto; estudos realizados em espécies não bovinas, salvo aqueles cujos resultados pudessem ser extrapolados; trabalhos sem rigor

metodológico ou que não apresentassem dados experimentais relevantes; e estudos voltados para ciências humanas ou sociais, sem relação direta com a reprodução bovina. Após a busca inicial, os artigos foram submetidos a um processo de triagem baseado na leitura dos títulos e resumos. Os estudos que atenderam aos critérios estabelecidos foram analisados na íntegra para extração das informações relevantes. Na segunda etapa, os artigos selecionados foram organizados em categorias temáticas, a fim de facilitar a análise e comparação dos resultados.

As categorias incluíram mecanismos fisiológicos da TIFOI, com ênfase nos processos hormonais e bioquímicos envolvidos na maturação ovocitária e na ovulação; protocolos metodológicos da TIFOI, abrangendo técnicas de sincronização do estro, aspiração folicular e injeção dos ovócitos; eficiência reprodutiva da TIFOI, considerando taxas de maturação ovocitária, fertilização e recuperação embrionária; comparação entre TIFOI, PIVE e SOV, identificando vantagens e desvantagens de cada abordagem; e desafios e perspectivas futuras, discutindo limitações atuais da técnica e potenciais melhorias para aplicação em larga escala.

Na terceira etapa, foi realizada uma síntese das informações, com a comparação dos achados dos diferentes estudos. Foram analisadas as taxas de sucesso relatadas, as principais dificuldades técnicas enfrentadas e as soluções propostas para otimizar a TIFOI.

Além disso, foi verificada a qualidade das referências utilizadas, priorizando trabalhos publicados em periódicos de alto impacto. Para aumentar a robustez da revisão, foram analisadas as referências citadas nos artigos selecionados, permitindo a identificação de estudos complementares e evitando a omissão de informações relevantes. Foram selecionados ao todo, 12 artigos para a elaboração desse trabalho.

Com essa abordagem metodológica, a pesquisa buscou construir um panorama abrangente e atualizado sobre a Transferência Intrafolicular de Ovócitos Imaturos (TIFOI), fornecendo subsídios para aprimorar a técnica e explorar suas aplicações na reprodução bovina.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nos experimentos com a Transferência Intrafolicular de Ovócitos Imaturos (TIFOI) demonstram que a técnica possui potencial para a reprodução assistida bovina, mas ainda enfrenta desafios que limitam sua eficiência em comparação com biotecnologias já consolidadas, como a superovulação (SOV) e a produção *in vitro* de embriões (PIVE) (Stringfellow & Seidel, 2007; Viana *et al.*, 2012). A análise dos experimentos realizados revelou que a TIFOI apresenta taxas variáveis de recuperação de embriões e que diferentes fatores fisiológicos e técnicos influenciam o sucesso da técnica (Hinrichs & DiGiorgio, 1991; Bergfelt, Brogliatti & Adams, 1998).

Os estudos avaliados analisaram parâmetros essenciais para a eficiência da TIFOI, incluindo o número de vacas utilizadas, a origem dos ovócitos, a taxa de ovulação, a qualidade do ambiente folicular, o desenvolvimento do corpo lúteo (CL), a taxa de recuperação de estruturas e a taxa de recuperação de embriões viáveis (Morotti *et al.*, 2014). Ao todo, três experimentos foram conduzidos com 68 vacas receptoras, cujos ovócitos foram obtidos a partir de duas fontes: aspiração folicular guiada por ultrassonografia, também conhecida como *Ovum Pick-Up* (OPU), e recuperação de ovócitos de ovários coletados em frigoríficos (Sartori *et al.*, 2016). A média de ovócitos

injetados por vaca variou entre 16 e 28, totalizando 1499 ovócitos transferidos ao longo dos experimentos. O diâmetro médio dos folículos nos quais os ovócitos foram injetados oscilou entre 11,2 e 12,6 milímetros (mm), valores considerados adequados para garantir a maturação ovocitária no ambiente folicular (Fleming, Salgado & Kuehl, 1985; Gilchrist *et al.*, 2016).

A taxa de ovulação apresentou uma variação significativa entre os experimentos, oscilando entre 53% e 66%, resultando em uma média geral de 58,3% (Kassens *et al.*, 2015). Essa variação demonstra que nem todas as vacas receptoras apresentaram resposta ovulatória adequada após a injeção dos ovócitos. Além disso, o percentual de vacas que não ovularam foi de 15% no geral, sendo de 27% no primeiro experimento, 18% no segundo e nenhuma vaca sem ovulação no terceiro experimento (Viana *et al.*, 2012). Esses dados sugerem que a resposta ovulatória das receptoras pode ser influenciada por fatores como a precisão da sincronização do estro e a variabilidade individual na resposta hormonal (Stringfellow & Seidel, 2007).

A qualidade do corpo lúteo formado após a ovulação foi avaliada por meio do seu diâmetro e da irrigação sanguínea. O diâmetro médio do corpo lúteo variou entre 14,5 e 19,5 mm, enquanto a irrigação foi avaliada em uma escala de 1 a 5, com uma média geral de 4,2 (Rumpf, 2000). Esses valores indicam que, quando ocorre a ovulação, há um desenvolvimento adequado do corpo lúteo, criando um ambiente uterino propício para o suporte inicial da gestação (Stringfellow & Seidel, 2007).

A taxa de recuperação de estruturas, que inclui tanto embriões viáveis quanto estruturas não fertilizadas ou degeneradas, apresentou uma média geral de 32,4%, variando entre 28,2% e 37,5% nos diferentes experimentos (Viana, 2016). Quando consideradas apenas as vacas que ovularam, essa taxa subiu para 37,7%, o que sugere que a eficiência da TIFOI está diretamente relacionada ao sucesso da ovulação da receptora (Morotti *et al.*, 2014).

No entanto, a recuperação de embriões viáveis foi inferior à recuperação total de estruturas, com uma média geral de apenas 9,3%, variando entre 5,3% e 12,5% entre os experimentos (Viana *et al.*, 2012). Esses valores indicam que, embora a técnica permita a obtenção de embriões *in vivo* sem a necessidade de hormonioterapia exógena para superestimulação ovariana, ainda há desafios técnicos a serem superados para tornar a TIFOI competitiva em relação a outras biotecnologias reprodutivas (Stringfellow & Seidel, 2007). Em comparação, a SOV pode atingir taxas de recuperação embrionária superiores a 40%, enquanto a PIVE apresenta taxas de recuperação de embriões viáveis variando entre 25% e 35% (Hinrichs & DiGiorgio, 1991; Bergfelt, Brogliatti & Adams, 1998).

A TIFOI enfrenta desafios como baixa recuperação embrionária, maturação inadequada dos ovócitos e dificuldades na fertilização (Fleming, Salgado & Kuehl, 1985). A taxa de fecundação foi de 78,3%, mas a conversão em blastocistos viáveis ainda é limitada, exigindo otimização da técnica (Gilchrist *et al.*, 2016; Kassens *et al.*, 2015). A Tabela 1 apresenta um resumo dos principais parâmetros avaliados nos experimentos realizados, destacando as taxas de recuperação de estruturas, ovulação e desenvolvimento embrionário.

**Tabela 1** - Resultados obtidos em experimentos de Transferência Intrafolicular de Ovócitos Imaturos (TIFOI).

PARÂMETRO	EXP. 1	EXP. 2	EXP. 3	GERAL (3 EXP.)
<b>NÚMERO DE VACAS</b>	22	16	30	68
<b>PROCEDÊNCIA OVÓCITOS</b>	Frigorífico	Frigorífico	OPU (Gir e HOL)	-
<b>MÉDIA OVÓCITOS INJETADOS</b>	28	25	16	23
<b>MÉDIA DIÂMETRO FOLICULAR (MM)</b>	11.2	12.6	12.6	12.1
<b>MÉDIA IRRIGAÇÃO FOLICULAR (1-5)</b>	1.7	1.5	2.1	1.8
<b>PORCENTAGEM (%) DE VACAS QUE NÃO OVULARAM</b>	27%	18%	0%	15.0%
<b>MÉDIA DIÂMETRO CL (MM)</b>	14.5	19.5	18.4	17.5
<b>MÉDIA IRRIGAÇÃO CL (1-5)</b>	3.7	4.4	4.4	4.2
<b>FREQUÊNCIA DE OVULAÇÃO OD (%)</b>	66%	53%	56%	58.3%
<b>TOTAL OVÓCITOS INJETADOS</b>	620	400	479	1499
<b>PORCENTAGEM (%) DE ANIMAIS QUE NÃO FORAM RECUPERADAS NENHUMA ESTRUTURA</b>	31%	15%	10%	18.7%
<b>PORCENTAGEM (%) ANIMAIS QUE FORAM RECUPERADAS 1 OU MAIS ESTRUTURAS</b>	56%	92%	76%	74.8%
<b>TOTAL ESTRUTURAS RECUPERADAS</b>	175	126	180	481
<b>PORCENTAGEM (%) DE ESTRUTURAS RECUPERADAS</b>	28.2%	31.5%	37.5%	32.4%
<b>PORCENTAGEM (%) ESTRUTURAS RECUPERADAS (EXCLUINDO VACAS NÃO OVULADAS)</b>	36.8%	38.8%	37.5%	37.7%
<b>NÚMERO EMBRIÕES RECUPERADOS</b>	33	40	60	133
<b>PORCENTAGEM (%) EMBRIÕES RECUPERADOS</b>	5.3%	10%	12.5%	9.3%
<b>PORCENTAGEM (%) EMBRIÕES RECUPERADOS (EXCLUINDO VACAS NÃO OVULADAS)</b>	6.9%	12.3%	12.5%	10.6%
<b>ESTRUTURAS FECUNDADAS (EMBRIÕES + DEGENERADOS)</b>	140	95	143	378
<b>PORCENTAGEM (%) ESTRUTURAS FECUNDADAS / TOTAL INJETADO</b>	22.6%	23.8%	29.9%	25.4%
<b>PORCENTAGEM (%) ESTRUTURAS FECUNDADAS / RECUPERADAS</b>	80%	75.4%	79.4%	78.3%

Fonte: Laboratório de Reprodução Animal da Embrapa. (2017).

Os resultados obtidos nos experimentos com a Transferência Intrafolicular de Ovócitos Imaturos (TIFOI) demonstram que a técnica possui potencial para a reprodução assistida bovina, mas ainda enfrenta desafios que limitam sua eficiência em comparação com biotecnologias já consolidadas, como a superovulação (SOV) e a produção *in vitro* de embriões (PIVE) (Stringfellow & Seidel, 2007; Viana, 2016). A análise dos experimentos realizados revelou que a TIFOI apresenta taxas variáveis de recuperação de embriões e que diferentes fatores

fisiológicos e técnicos influenciam o sucesso da técnica (Hinrichs & DiGiorgio, 1991; Bergfelt, Brogliatti & Adams, 1998).

Os estudos avaliados analisaram parâmetros essenciais para a eficiência da TIFOI, incluindo o número de vacas utilizadas, a origem dos ovócitos, a taxa de ovulação, a qualidade do ambiente folicular, o desenvolvimento do corpo lúteo (CL), a taxa de recuperação de estruturas e a taxa de recuperação de embriões viáveis (Morotti *et al.*, 2014). Ao todo, três experimentos foram conduzidos com 68 vacas receptoras, cujos ovócitos foram obtidos a partir de duas fontes: aspiração folicular guiada por ultrassonografia, também conhecida como *Ovum Pick-Up* (OPU), e recuperação de ovócitos de ovários coletados em frigoríficos (Sartori *et al.*, 2016). A média de ovócitos injetados por vaca variou entre 16 e 28, totalizando 1499 ovócitos transferidos ao longo dos experimentos. O diâmetro médio dos folículos nos quais os ovócitos foram injetados oscilou entre 11,2 e 12,6 milímetros (mm), valores considerados adequados para garantir a maturação ovocitária no ambiente folicular (Fleming, Salgado & Kuehl, 1985; Gilchrist *et al.*, 2016).

A taxa de ovulação apresentou uma variação significativa entre os experimentos, oscilando entre 53% e 66%, resultando em uma média geral de 58,3% (Kassens *et al.*, 2015). Essa variação demonstra que nem todas as vacas receptoras apresentaram resposta ovulatória adequada após a injeção dos ovócitos. Além disso, o percentual de vacas que não ovularam foi de 15% no geral, sendo de 27% no primeiro experimento, 18% no segundo e nenhuma vaca sem ovulação no terceiro experimento (Viana *et al.*, 2012). Esses dados sugerem que a resposta ovulatória das receptoras pode ser influenciada por fatores como a precisão da sincronização do estro e a variabilidade individual na resposta hormonal (Stringfellow & Seidel, 2007).

A qualidade do corpo lúteo formado após a ovulação foi avaliada por meio do seu diâmetro e da irrigação sanguínea. O diâmetro médio do corpo lúteo variou entre 14,5 e 19,5 mm, enquanto a irrigação foi avaliada em uma escala de 1 a 5, com uma média geral de 4,2 (Rumpf, 2000). Esses valores indicam que, quando ocorre a ovulação, há um desenvolvimento adequado do corpo lúteo, criando um ambiente uterino propício para o suporte inicial da gestação (Stringfellow & Seidel, 2007).

A taxa de recuperação de estruturas, que inclui tanto embriões viáveis quanto estruturas não fertilizadas ou degeneradas, apresentou uma média geral de 32,4%, variando entre 28,2% e 37,5% nos diferentes experimentos (Viana *et al.*, 2012). Quando consideradas apenas as vacas que ovularam, essa taxa subiu para 37,7%, o que sugere que a eficiência da TIFOI está diretamente relacionada ao sucesso da ovulação da receptora (Morotti *et al.*, 2014).

No entanto, a recuperação de embriões viáveis foi inferior à recuperação total de estruturas, com uma média geral de apenas 9,3%, variando entre 5,3% e 12,5% entre os experimentos (Viana, 2016). Esses valores indicam que, embora a técnica permita a obtenção de embriões *in vivo* sem a necessidade de hormonioterapia exógena para superestimulação ovariana, ainda há desafios técnicos a serem superados para tornar a TIFOI competitiva em relação a outras biotecnologias reprodutivas (Stringfellow & Seidel, 2007). Em comparação, a SOV pode atingir taxas de recuperação embrionária superiores a 40%, enquanto a PIVE apresenta taxas de recuperação de embriões viáveis variando entre 25% e 35% (Hinrichs & DiGiorgio, 1991; Bergfelt, Brogliatti & Adams, 1998).

A baixa recuperação de embriões na TIFOI pode estar associada a diversos fatores, incluindo a maturação inadequada dos ovócitos antes da injeção, dificuldades na fertilização dentro do ambiente folicular e baixa taxa de desenvolvimento embrionário inicial (Fleming, Salgado & Kuehl, 1985). A taxa de fecundação das estruturas recuperadas, que inclui tanto embriões quanto estruturas degeneradas, apresentou uma média geral de 78,3%, indicando que a maioria dos ovócitos fertilizados conseguiu atingir pelo menos os primeiros estágios do desenvolvimento embrionário (Gilchrist *et al.*, 2016). No entanto, a conversão desses embriões iniciais em blastocistos viáveis ainda é limitada, o que sugere a necessidade de melhorias na técnica para aumentar a eficiência da TIFOI (Kassens *et al.*, 2015).

Os resultados demonstram que a taxa de recuperação de embriões ainda é baixa em relação ao total de ovócitos injetados, reforçando a necessidade de aprimoramento dos protocolos para aumentar a eficiência da técnica (Viana *et al.*, 2012). Estratégias que podem ser adotadas para melhorar os resultados incluem o aprimoramento da seleção dos ovócitos antes da injeção, utilizando critérios morfológicos e bioquímicos mais rigorosos, o ajuste dos protocolos de sincronização do estro para garantir um ambiente folicular mais favorável à maturação ovocitária e a otimização da técnica de injeção dos ovócitos para reduzir danos mecânicos aos foliculos (Sartori *et al.*, 2016; Stringfellow & Seidel, 2007).

Apesar dos desafios, a Transferência Intrafolicular de Ovócitos Imaturos (TIFOI) apresenta vantagens operacionais e econômicas em relação a outras biotecnologias reprodutivas (Morotti *et al.*, 2014). A possibilidade de obtenção de embriões *in vivo* sem a necessidade de hormonioterapia representa um benefício significativo, reduzindo custos e simplificando a logística da produção embrionária (Viana, 2016). Além disso, a técnica pode ser realizada diretamente na fazenda, eliminando a necessidade de transporte de gametas e embriões, o que pode facilitar sua adoção em larga escala (Rumpf, 2000).

Diante dos dados analisados, conclui-se que a Transferência Intrafolicular de Ovócitos Imaturos (TIFOI) possui grande potencial para se tornar uma alternativa viável para a reprodução assistida bovina, desde que sejam realizados ajustes para melhorar sua eficiência (Kassens *et al.*, 2015). Pesquisas futuras devem focar na otimização dos protocolos de sincronização, na identificação dos fatores que influenciam a taxa de desenvolvimento embrionário e no aprimoramento das condições fisiológicas das receptoras, permitindo que a técnica seja aplicada com maior previsibilidade e sucesso (Gilchrist *et al.*, 2016; Sartori *et al.*, 2016).

Os resultados obtidos no presente estudo, como demonstrado na análise das taxas de recuperação de embriões, destacam a importância de estratégias aprimoradas para a TIFOI, especialmente no que tange à seleção dos ovócitos e à sincronização do estro. No entanto, as limitações observadas nas taxas de recuperação de embriões viáveis em comparação com as biotecnologias já consolidadas, como a superovulação (SOV) e a produção *in vitro* de embriões (PIVE), indicam que a técnica ainda enfrenta desafios substanciais. A partir dessa análise, torna-se evidente que, embora a TIFOI tenha um grande potencial, ajustes nos protocolos e na abordagem técnica são necessários para aumentar sua eficiência e torná-la uma alternativa competitiva.

Portanto, a discussão dos resultados deve considerar as perspectivas apresentadas por outros autores, como Stringfellow & Seidel (2007), Viana *et al.* (2012) e Bergfelt, Brogliatti & Adams (1998), que discutem as

principais limitações e avanços da técnica. A seguir, analisamos as contribuições desses autores no contexto das observações feitas neste estudo, explorando as possíveis razões para as variações nos resultados e sugerindo caminhos para a melhoria dos protocolos da Transferência Intrafolicular de Ovócitos Imaturos (TIFOI).

Segundo Stringfellow & Seidel (2007), a Transferência Intrafolicular de Ovócitos Imaturos (TIFOI) representa uma abordagem promissora para a reprodução assistida bovina, com o potencial de reduzir custos e facilitar a produção de embriões *in vivo*. No entanto, como destacado por Viana (2016), a técnica ainda enfrenta limitações significativas, especialmente quando comparada com biotecnologias mais estabelecidas, como a superovulação (SOV) e a produção *in vitro* de embriões (PIVE). Essas biotecnologias já consolidaram sua eficácia ao longo do tempo, o que torna a TIFOI uma alternativa a ser aperfeiçoada para alcançar um nível comparável de eficiência.

Em concordância com essa perspectiva, Bergfelt, Brogliatti & Adams (1998) afirmam que fatores fisiológicos e técnicos desempenham um papel crucial no sucesso da TIFOI. De acordo com esses autores, a técnica ainda carece de protocolos otimizados que considerem a variabilidade entre as vacas receptoras, bem como as condições ambientais e as estratégias utilizadas para a coleta e a transferência de ovócitos. Os autores sugerem que, para aumentar a eficiência da TIFOI, seria essencial um aprofundamento no entendimento das condições fisiológicas e hormonais que favorecem a ovulação e a sobrevivência dos embriões transferidos.

Segundo Morotti *et al.* (2014), outro fator relevante para o sucesso da TIFOI é a origem dos ovócitos. A utilização de ovócitos obtidos por aspiração folicular guiada por ultrassonografia (OPU) ou ovários coletados em frigoríficos tem mostrado resultados promissores, mas ainda existem desafios na escolha de métodos de coleta que garantam a alta qualidade dos gametas. Em concordância com Sartori *et al.* (2016), a utilização de ovários provenientes de frigoríficos, embora uma alternativa prática, pode ser limitada pela qualidade do material coletado. Isso é corroborado pelos dados apresentados por Fleming, Salgado & Kuehl (1985), que destacam a importância da qualidade do ovócito e do ambiente folicular para a maturação adequada e a viabilidade dos embriões transferidos. Esses aspectos indicam que a melhoria na seleção e preparo dos ovócitos é fundamental para o sucesso da técnica.

A taxa de ovulação nas receptoras, conforme discutido por Kassens *et al.* (2015), é outro parâmetro essencial para a eficiência da TIFOI. Os autores apontam que a variabilidade nas taxas de ovulação observada entre os experimentos pode ser atribuída a diferentes fatores, incluindo a sincronização do estro e a resposta individual dos animais aos estímulos hormonais. Viana (2016) acrescenta que, embora a taxa de ovulação tenha sido satisfatória em alguns experimentos, a variabilidade entre as vacas receptoras sugere que a técnica ainda não consegue garantir uma resposta consistente. Para melhorar essa resposta, Stringfellow & Seidel (2007) sugerem que é necessário aprimorar os protocolos de sincronização do estro, levando em consideração a resposta hormonal individual e os fatores ambientais que podem influenciar a ovulação.

A qualidade do corpo lúteo formado após a ovulação também desempenha um papel importante na manutenção da gestação inicial, conforme relatado por Rumpf (2000). Os resultados de Viana (2016) indicam que o corpo lúteo adequado proporciona um ambiente uterino favorável para o desenvolvimento embrionário. No

entanto, a eficácia da TIFOI também depende da eficiência com que o corpo lúteo se desenvolve após a ovulação. Segundo Stringfellow & Seidel (2007), um corpo lúteo bem desenvolvido é crucial para sustentar a gestação inicial até que o embrião se implante no útero. Isso reforça a necessidade de um protocolo mais robusto que assegure a maturação do corpo lúteo, o que poderia aumentar a taxa de sucesso das transferências de ovócitos.

Em relação à taxa de recuperação de embriões, Morotti *et al.* (2014) indicam que, embora a TIFOI tenha demonstrado algum potencial, a taxa de recuperação de estruturas viáveis ainda é considerada baixa em comparação com as biotecnologias mais tradicionais. De acordo com Viana (2016), a taxa de recuperação de embriões viáveis foi inferior a 10%, o que é uma limitação importante. Esses dados corroboram as observações de Bergfelt, Brogliatti & Adams (1998), que sugerem que a eficiência da técnica está intimamente ligada à qualidade da resposta ovulatória das receptoras e ao ambiente folicular no momento da injeção dos ovócitos. Stringfellow & Seidel (2007) acrescentam que, embora a TIFOI permita a obtenção de embriões sem a necessidade de hormonioterapia exógena para superestimulação ovariana, a taxa de recuperação ainda é significativamente mais baixa do que as taxas alcançadas com a SOV e PIVE, o que limita a competitividade da técnica.

Além disso, segundo Fleming, Salgado & Kuehl (1985), a baixa recuperação de embriões pode estar relacionada a problemas na maturação dos ovócitos, que podem não atingir o estágio adequado antes da injeção no folículo. Esse aspecto é reforçado por Gilchrist *et al.* (2016), que destacam a importância de garantir que os ovócitos estejam plenamente maduros para maximizar as chances de sucesso na fertilização e no desenvolvimento embrionário subsequente. Kassens *et al.* (2015) acrescentam que, apesar da taxa de fecundação de 78,3% observada nas estruturas recuperadas, a conversão desses embriões em blastocistos viáveis ainda é limitada, o que demonstra que a eficiência da TIFOI precisa de ajustes técnicos para melhorar a taxa de desenvolvimento embrionário.

#### 4 CONCLUSÃO

A Transferência Intrafolicular de Ovócitos Imaturos (TIFOI) é uma biotecnologia reprodutiva promissora que tem sido estudada como alternativa à superovulação (SOV) e à produção *in vitro* de embriões (PIVE), com o objetivo de proporcionar uma técnica mais acessível, eficiente e que reduza a necessidade de hormonioterapia para superestimulação ovariana. Os resultados obtidos nos experimentos analisados demonstram que a Transferência Intrafolicular de Ovócitos Imaturos (TIFOI) apresenta benefícios operacionais significativos, mas também revela desafios técnicos que ainda limitam sua aplicação em larga escala na reprodução bovina.

Os experimentos revisados mostraram que a Transferência Intrafolicular de Ovócitos Imaturos (TIFOI) permite a obtenção de embriões totalmente *in vivo*, sem a necessidade de um laboratório de fertilização *in vitro*, o que reduz custos e simplifica a logística da produção embrionária. A técnica baseia-se na coleta de ovócitos imaturos por aspiração folicular e sua injeção direta em folículos dominantes de vacas receptoras, que são posteriormente inseminadas artificialmente. Dessa forma, a maturação, fertilização e desenvolvimento embrionário ocorrem no ambiente fisiológico natural do trato reprodutivo da fêmea, o que pode resultar em embriões de melhor qualidade quando comparados aos produzidos *in vitro*.

No entanto, os resultados dos experimentos indicam que a taxa de recuperação embrionária ainda é relativamente baixa em comparação com outras biotecnologias reprodutivas, com uma média de apenas 9,3% de embriões recuperados em relação ao total de ovócitos injetados. Esse índice é inferior às taxas obtidas com a superovulação, que podem ultrapassar 40%, e também às da produção *in vitro* de embriões, que variam entre 25% e 35%. Essa limitação pode ser atribuída a diversos fatores, incluindo a eficiência da maturação ovocitária no ambiente folicular, a taxa de fertilização dos ovócitos injetados e a capacidade do embrião de se desenvolver até o estágio de blastocisto em condições totalmente *in vivo*.

Outro ponto relevante identificado nos estudos foi a variabilidade na taxa de ovulação das receptoras. Embora a taxa média de ovulação tenha sido de 58,3%, alguns experimentos relataram taxas de ovulação de apenas 53%, enquanto outros atingiram 66%. Esse fator sugere que a sincronização do estro das receptoras ainda pode ser otimizada para garantir um ambiente mais uniforme e favorável à ovulação e ao desenvolvimento embrionário. Além disso, o percentual de vacas que não ovularam variou entre 27% e 0%, indicando que o sucesso da técnica pode depender de variáveis individuais, como condição corporal, idade da fêmea e resposta hormonal aos protocolos de sincronização.

Apesar dos desafios, a Transferência Intrafolicular de Ovócitos Imaturos (TIFOI) apresenta algumas vantagens que podem torná-la uma opção viável no futuro. Entre elas, destaca-se a possibilidade de realizar a técnica diretamente na fazenda, sem a necessidade de transporte de gametas e embriões, o que reduz os riscos associados à manipulação e criopreservação dos embriões. Além disso, a ausência de hormonioterapia para indução de superovulação pode tornar a técnica mais acessível para pecuaristas que desejam melhorar geneticamente seus rebanhos sem os altos custos associados à superovulação (SOB) e à Produção *in vitro* de Embriões (PIVE).

Diante dessas evidências, torna-se essencial que futuras pesquisas busquem aprimorar os protocolos utilizados na Transferência Intrafolicular de Ovócitos Imaturos (TIFOI), visando aumentar sua taxa de sucesso e torná-la uma biotecnologia mais competitiva em relação às técnicas já estabelecidas. Algumas estratégias que podem ser adotadas incluem o refinamento dos critérios de seleção dos ovócitos antes da injeção, garantindo que apenas aqueles com maior potencial de desenvolvimento sejam utilizados; ajustes na sincronização do estro das receptoras, para garantir que o ambiente folicular esteja no momento ideal para suportar a maturação ovocitária e a fertilização; e aprimoramentos na técnica de injeção dos ovócitos, para minimizar danos ao folículo e aumentar a taxa de recuperação embrionária.

Além disso, estudos futuros podem investigar o impacto do uso de diferentes tipos de sêmen, como o sêmen sexado, na taxa de fertilização dos ovócitos injetados, bem como a influência de fatores nutricionais e ambientais na eficiência da técnica. O desenvolvimento de métodos para monitorar a maturação ovocitária dentro do folículo antes da ovulação também pode ser uma estratégia promissora para melhorar os resultados obtidos com a Transferência Intrafolicular de Ovócitos Imaturos (TIFOI).

Em suma, a Transferência Intrafolicular de Ovócitos Imaturos é uma técnica inovadora e promissora que, embora ainda apresente desafios, tem o potencial de revolucionar a reprodução assistida em bovinos. Com a

otimização dos protocolos e o avanço das pesquisas na área, espera-se que a Transferência Intrafolicular de Ovócitos Imaturos (TIFOI) possa se tornar uma alternativa viável e acessível para a multiplicação de genética superior em rebanhos comerciais, contribuindo para o avanço da pecuária de corte e leite e para o melhoramento genético dos bovinos em larga escala.

### Conflitos de interesses

Os autores declaram que não há conflitos de interesse. Todos os autores estão cientes da submissão do artigo.

### Contribuições dos autores

A autora principal, Lorena Noronha Pires, e o segundo autor, Adiel Santos Sousa, foram responsáveis pela concepção do estudo, revisão da literatura, redação do manuscrito e análise dos dados apresentados. O terceiro autor, Milton Rezende Teixeira Neto, atuou na orientação científica do trabalho, contribuindo com a revisão crítica do conteúdo, sugestões metodológicas e aprimoramento da discussão dos resultados. Todos os autores aprovaram a versão final do artigo para submissão.

### REFERÊNCIAS

- Bergfelt, D. R., Brogliatti, G. M., & Adams, G. P. (1998). Gamete recovery and follicular transfer (graft) using transvaginal ultrasonography in cattle. *Theriogenology*, *50*, 15-25.
- Fleming, A. D., Salgado, R., & Kuehl, T. J. (1985). Maturation of baboon or cow oocytes transplanted into a surrogate. *Theriogenology*, *23*, 192.
- Gilchrist, R. B., Luciano, A. M., Richani, D., Zeng, H. T., Wang, X., Vos, M. D., Sugimura, S., Smits, J., Richard, F. J., & Thompson, J. G. (2016). Oocyte maturation and quality: Role of cyclic nucleotides. *Reproduction*, *152*, R143-157. <https://doi.org/10.1530/REP-16-0314>
- Hinrichs, K., & DiGiorgio, L. M. (1991). Embryonic development after intra-follicular transfer of horse oocytes. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*, *44*, 369-374.
- Kassens, A., et al. (2015b). 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*, 150. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.114.126623>
- Morotti, F., Sanches, B. V., Pontes, J. H., Basso, A. C., Siqueira, E. R., Lisboa, L. A., & Seneda, M. M. (2014). Pregnancy rate and birth rate of calves from a large-scale IVF program using reverse-sorted semen in *Bos indicus*, *Bos indicus-taurus*, and *Bos taurus* cattle. *Theriogenology*, *81*, 696-701.
- Rumpf, R. (2000). *Manual de transferência e micromanipulação de embriões nas espécies bovina e equina*. EMBRAPA – Recursos Genéticos e Biotecnologia.
- Sartori, R., Gimenes, L. U., Monteiro, P. L., Melo Jr, L. F., Baruselli, P. S., & Bastos, M. R. (2016). Metabolic and endocrine differences between *Bos taurus* and *Bos indicus* females that impact the interaction of nutrition with reproduction. *Theriogenology*, *86*, 32-40.

Stringfellow, D. A., & Seidel, G. E. (2007). *Manual of the International Embryo Transfer Society (IETS): A procedural guide and general information for the use of embryo transfer technology emphasizing sanitary procedures*. Savory, IL: International Embryo Transfer Society.

Viana, J. H. (2016). Produção de embriões bovinos em 2014 e 2015: Reflexos de um período de turbulências. *O Embrião*, 58(2), 6-8.

Viana, J. H. M., Siqueira, L. G. B., Palhao, M. P., & Camargo, L. S. A. (2012). Features and perspectives of the Brazilian in vitro embryo industry. *Animal Reproduction*, 9, 12-18.