

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

Uso de gonadotrofinas recombinantes na superovulação e produção *in vivo* de embriões caprinos

Shara Eliete Davi Silva
Magister Scientiae

VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025

SHARA ELIETE DAVI SILVA

Uso de gonadotrofinas recombinantes na superovulação e produção *in vivo* de embriões caprinos

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Jeferson F. da Fonseca

Coorientadores: Lucas Machado Figueira
Luiz G. Bruno Siqueira

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da
Universidade Federal de Viçosa - Campus**

T

S586u
2025
Silva, Shara Eliete Davi, 1997-
Uso de gonadotrofinas recombinantes na superovulação e
produção in vivo de embriões caprinos: / Shara Eliete Davi Silva. -
Viçosa, MG, 2025.

1 dissertação eletrônica (44 f.): il. (algumas color.).

Texto em português e inglês.

Inclui anexo.

Orientador: Jeferson Ferreira da Fonseca

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Medicina Veterinária, 2025.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.684>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Caprinos - Reprodução; 2. Superovulação; 3. Hormonoterapia;
I. Fonseca, Jeferson Ferreira da II. Universidade Federal de Viçosa..
Departamento de Medicina Veterinária. Programa de Pós-Graduação
em Medicina Veterinária III. Título

CDD 22. ed. 636.390824

Bibliotecário(a) responsável: EUZEBIO LUIZ PINTO CRB-6/3317

SHARA ELIETE DAVI SILVA

Uso de gonadotrofinas recombinantes na superovulação e produção *in vivo* de embriões caprinos

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 31 de julho de 2025.

Assentimento:

Shara Eliete Davi Silva
Autora

Jeferson Ferreira da Fonseca
Orientador

Essa dissertação foi assinada digitalmente pela autora em 21/10/2025 às 22:19:00 e pelo orientador em 28/10/2025 às 15:36:20. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **RSB4.I5JK.AMOR** e clique no botão 'Validar documento'.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pela porta aberta e por me permitir vivenciar esta experiência de forma tão intensa e íntegra. Expresso minha profunda gratidão à minha mãe, à minha irmã; ao Victor, que foi essencial e meu apoio desde a aprovação. Vocês foram os pilares de apoio incondicional em minha jornada. Aos amigos que fiz em Viçosa, companheiros inestimáveis de jornada, em especial à Thayna, pela parceria e colaboração em diversos momentos cruciais. Ao meu orientador, Jeferson Fonseca, agradeço imensamente por sua constante disposição em compartilhar seu vasto conhecimento e experiência, que foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho. Estendo meu reconhecimento a toda a equipe do setor de caprinocultura – Luana, Mariana, Lucas, Juarez, Sr. Chico e Amarildo –, bem como aos estagiários, cujo suporte diário foi essencial nos experimentos e na rotina da fazenda. O meu profundo agradecimento pelas amizades que fiz com a equipe da sede, Sr. Joel e Eliza, que me acompanham desde o estágio, vocês foram essenciais ao longo da minha jornada. À Universidade Federal de Viçosa (UFV), dedico esta homenagem pela sua excelência e por ser uma inquestionável referência na área das Ciências Agrárias. Sou grata pela oportunidade ímpar de ter convivido e aprendido com os profissionais de alto calibre que compõem seu corpo docente e técnico, cujo conhecimento e dedicação foram inspiradores. Esta experiência, proporcionada por esta instituição de ensino, foi fundamental para minha formação e para o desenvolvimento deste trabalho. Estendo meus mais sinceros agradecimentos ao Laboratório Multiusuário de Bioeficiência e Sustentabilidade (LMBS Embrapa Gado de Leite) pelo provimento de animais, instalações, e funcionários indispensáveis à realização desse estudo. A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Projetos BPD-00308-22 e APQ-448-24), pelo apoio e incentivo cruciais à pesquisa. Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

RESUMO

SILVA, Shara Eliete Davi, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2025. **Uso de gonadotrofinas recombinantes na superovulação e produção *in vivo* de embriões caprinos.** Orientador: Jeferson Ferreira da Fonseca. Coorientadores: Lucas Machado Figueira e Luiz Gustavo Bruno Siqueira.

O objetivo deste estudo foi avaliar os parâmetros relacionados à produção de embriões *in vivo* em cabras superovuladas com FSH de diferentes fontes. Foram utilizadas vinte e uma cabras mestiças da raça Alpina, distribuídas uniformemente em dois grupos. Os animais receberam dispositivos intravaginais de progesterona por seis dias, além da administração de cloprostenol e GnRH, 12 horas antes e 36 horas após a remoção do dispositivo, respectivamente. O tratamento superovulatório foi iniciado 60 h antes da remoção do dispositivo, com primeira dose de FSH (333 UI divididos fracionadas em seis doses decrescentes de 25-25-15-15-10-10%) no grupo G-pFSH (n=10) e 100 µg de FSH bovino recombinante rbFSH (rbFSH) no grupo G-rbFSH+reCG (n=11), que recebeu dose adicional de 200 UI de eCG recombinante 24 horas antes da remoção do dispositivo. As cabras foram acasaladas naturalmente por seis machos férteis a intervalos de 12 horas durante o cio. A recuperação não-cirúrgica de embriões foi realizada sete dias após o estro. Ambos os grupos apresentaram 100% de manifestação de cio. Não houve diferença ($P>0,05$) em nenhuma das respostas avaliadas de manifestação de estro, resposta ovulatória e produção de embriões. A duração média do estro foi de $32,72 \pm 4,30$ e $37,00 \pm 3,32$ respectivamente. O número médio de corpos lúteos e embriões viáveis foi de $13,45 \pm 1,58$ e $4,5 \pm 1,3$ em G-rbFSH+reCG e $15,50 \pm 2,01$ e $6,6 \pm 2,1$ em G-pFSH, respectivamente. A taxa de recuperação de embriões por via transcervical foi de 52% e 59%, respectivamente. O protocolo simplificado de superovulação de duas doses utilizando rbFSH e reCG foi tão eficiente quanto o protocolo tradicional de seis doses na produção de embriões em cabras.

Palavras-chave: cabras; superovulação; hormonioterapia

ABSTRACT

SILVA, Shara Eliete Davi, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2025. **Use of recombinant gonadotrophins in superovulation and *in vivo* embryo production in goats.** Adviser: Jeferson Ferreira da Fonseca. Co-advisers: Lucas Machado Figueira and Luiz Gustavo Bruno Siqueira.

The objective of this study was to evaluate parameters related to *in vivo* embryo production in goats superovulated with FSH from different sources. Twenty-one multiparous dairy goats were uniformly distributed into two groups. Animals received intravaginal progesterone devices for six days, in addition to cloprostenol and GnRH administration, 12 hours before and 36 hours after device removal, respectively. Superovulatory treatment was performed at 12 h interval, starting 60 h before device removal with the first dose of p-FSH (333 IU divided into six decreasing doses of 25-25-15-15-10-10%) in the G-pFSH group (n=10) and 100 µg of recombinant bovine FSH (rbFSH) in the G-rbFSH+reCG group (n=11), which received an additional dose of 200 IU of recombinant eCG 24 hours before device removal. Goats were naturally mated by six fertile males at 12-hour intervals during estrus. Non-surgical embryo recovery was performed seven days after estrus onset. Both groups showed 100% estrus. There was no difference ($P>0.05$) in any of the evaluated responses for estrus, ovulatory response, and embryo production. The average estrus duration was 32.72 ± 4.30 and 37.00 ± 3.32 hours to G-pFSH and G-rbFSH+reCG, respectively. The average number of corpora lutea and viable embryos was 13.45 ± 1.58 and 4.5 ± 1.3 in G-rbFSH+reCG, and 15.50 ± 2.01 and 6.6 ± 2.1 in G-pFSH, respectively. The transcervical embryo recovery rate was 52% and 59% to G-pFSH and G-rbFSH+reCG, respectively. The simplified two-dose superovulation protocol using rbFSH and reCG was as efficient as the traditional six-dose protocol for embryo production in goats.

Keywords: caprine; superovulation;; hormone therapy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Parâmetros foliculares ovarianos de acordo com as classes de tamanho (pequeno - < 3,0 mm, médio - 3,1 a 5,0 mm e grande > 5,0 mm) durante o tratamento superovulatório (D3, D4 e D6 relativos a D0 – inserção da P4) de cabras superovuladas com múltiplas doses hormônio foliculo estimulante de origem porcina (pFSH) ou dose única de FSH bovino recombinante (rb-FSH) e gonadotrofina coriônica equina recombinante (reCG).
.....43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros reprodutivos (% e Média \pm EPM) de cabras superovuladas com múltiplas doses hormônio folículo estimulante de origem porcina (pFSH) ou dose única de FSH bovino recombinante (rbFSH) e gonadotrofina coriônica equina recombinante (reCG).....42

Tabela 2. Percentagem de cabras de acordo com a duração do estro (h) após a remoção do dispositivo intravaginal de progesterona num protocolo de sincronização de estro de seis dias associado à administração de FSH recombinante 100 μ g, dose única (G-rbFSH+reCG); e 333 UI de pFSH em seis doses decrescentes (G-pFSH)....44

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CL	Corpo Lúteo
Cla	Corpo Lúteo acessório
eCG	Gonadotropina coriônica equina
al.	E colaboradores
FSH	Hormônio folículo-estimulante
pFSH	Hormônio folículo-estimulante de origem porcina/suína
rbFSH	Hormônio folículo-estimulante bovino recombinante
G	Gramas
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofina
h	Hora
hCG	Gonadotropina coriônica humana
i.m.	I.m.
Kg	Quilograma
LH	Hormônio luteinizante
MAP	Acetato de Medroxiprogesterona
MHz	Megahertz
mg	miligrama
mL	Mililitro
N	Número amostral
P4	Progesterona
PGF2 α	Prostaglandina F2 α
UI	Unidades Internacionais
US	Ultrassonografia
μ g	Micrograma

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO GERAL	10
2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1Ciclo estral	11
2.2 Ciclo folicular ovariano	12
2.3Dinâmica folicular ovariana.....	13
2.4Superovulação	14
2.5Métodos de colheita de embriões em caprinos	16
3.HIPÓTESE	17
4.Objetivos.....	18
4.1Objetivo geral	18
4.2Objetivos específicos.....	18
5.REFERÊNCIAS	19
6.CAPÍTULO 1	27

1. INTRODUÇÃO GERAL

A caprinocultura no Brasil tem se destacado nas últimas décadas com crescimento progressivo, impulsionado pela adoção de tecnologias voltadas à melhoria da produção e reprodução dos rebanhos. O setor leiteiro, em especial, ganhou projeção a partir da década de 1990 com a fundação da Associação Brasileira de Criadores de Caprinos (ABCC) (Fonseca; Bruschi, 2009). Entre 2019 e 2023, houve aumento do rebanho caprino, alcançando cerca de 12,8 milhões de cabeças em 2023, das quais aproximadamente 93% estão concentradas na região Nordeste, com a Bahia representando cerca de 30% do total nacional.

O comércio da caprinocultura leiteira é significativo na região Sudeste, representando 24,7% do leite produzido no país, e destes, 73,1% é destinado ao comércio. A cada quatro litros produzidos, três litros são comercializados, tendo impacto no setor econômico (IBGE, 2018). O alto potencial das cabras é observado quando analisados os dados da média anual de produção de leite em propriedades com produção acima de 3000 mil litros /ano, com a média de 722 litro/ano/cabra. (IBGE, 2018).

Apesar do crescimento, o Brasil ainda ocupa a 21ª posição no ranking mundial (ano de 2022), reforçando a necessidade de avanços tecnológicos para competitividade e eficiência (Monteiro et al., 2025). A inserção e criação de programas de melhoramento genético, como o Capragene®, têm sido fundamentais para a seleção de animais superiores, promovendo ganhos em produtividade leiteira e fornecendo suporte técnico por meio de avaliações genéticas e reprodutivas (Lôbo et al., 2017). Nos machos, o enfoque é a aplicação da inseminação artificial associada ao teste de progênie, viabilizando a multiplicação de material genético de alta qualidade. Já nas fêmeas, a técnica de múltipla ovulação e transferência de embriões (MOTE) é a principal ferramenta para esse fim (Khan et al., 2023).

A superovulação (SOV) baseia-se na manipulação da dinâmica folicular por meio da administração extra de gonadotrofinas, como o hormônio folículo-estimulante (FSH), promovendo o aumento da resposta ovulatória das fêmeas (Fonseca; Oliveira, 2020). A eficácia do tratamento depende também do início sincronizado com a emergência da onda folicular durante o protocolo de sincronização (Figueira et al., 2020; Arrais et al., 2021), ou a partir da sincronização do estro e ovulação (Menchaca et al., 2007), sendo que a regulação adequada dessa dinâmica folicular favorece a produção embrionária e o sucesso das biotecnologias aplicadas. No Brasil, duas formulações comerciais de FSH de origem suína (pFSH) são utilizadas com sucesso, sendo apresentadas em unidades internacionais (Fonseca et al., 2013) ou em miligramas (Fonseca et al., 2022). Pesquisas recentes demonstram que doses reduzidas

do pFSH, como 133 mg, também podem ser eficazes em raças nativas como Canindé e Moxotó (Fonseca et al., 2021). Ainda assim, protocolos com doses muito baixas (<80 mg) não são recomendados por apresentarem baixa taxa de embriões viáveis (Sánchez-Dávila et al., 2014).

As etapas da técnica de múltipla ovulação consistem na indução e sincronização de estros das doadoras e receptoras, estimulação ovariana seguido do acasalamento ou ainda inseminação artificial; recuperação dos embriões, transferência ou congelamento dos mesmos (Ramos; Silva, 2018; Fonseca, 2021). Em protocolo superovulatório de seis aplicações de 133 mg de pFSH, a média de embriões viáveis obtidos após coleta transcervical foi cerca de cinco por doadora; reforçando a viabilidade do método de recuperação de embriões não cirúrgico após o tratamento de superovulação (SOV) para produção *in vivo* (Fonseca et al., 2021). No entanto, apesar da relativa eficácia do pFSH, ainda há grande variabilidade de respostas nos animais e seu uso pode afetar a qualidade dos oócitos e resposta folicular (Khan et al., 2023; Ferreira et al., 2020). Além disso, o surto global de peste suína africana comprometeu a cadeia de fornecimento de pFSH, gerando impactos negativos na indústria suinícola e nos programas de reprodução que dependem desse insumo (Nguyen-Thi et al., 2021). Com isso, alternativas biotecnológicas vêm sendo exploradas, como o uso do FSH bovino recombinante (rbFSH), uma proteína produzida em cultivo celular. O uso de rbFSH, por ser administrado em dose única, reduz os custos e o manejo animal, promovendo melhor bem-estar e menores níveis de estresse durante os protocolos reprodutivos (Carvalho et al., 2014; Gutiérrez-Reinoso et al., 2022).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Ciclo estral

Os caprinos são considerados poliéstricos estacionais de dias curtos, com um período de reprodução natural e outro de anestro estacional típico (Balaro et al., 2019). Durante o período de atividade reprodutiva são observados os ciclos estrais. O ciclo estral é definido como um evento fisiológico que ocorre em fêmeas que já atingiram a maturidade sexual e não gestantes; sendo regulado pelo eixo hipotálamo-hipófise-ovário devido a modificações hormonais. Diferentes fases do ciclo são marcadas por um perfil endócrino e morfológico próprio. O ciclo estral compreende o intervalo de tempo entre dois estros consecutivos, com duração média de 21 dias em cabras. Durante o ciclo estral, várias ondas foliculares podem ser observadas. As primeiras ondas crescem sob efeito predominante da progesterona (P4) produzida pelo corpo lúteo (fase progesterônica), ao passo que na última onda, na qual folículos

crecem em ambiente de queda da P4 e aumento de estrogênio (fase estrogênica) é que são formados os folículos ovulatórios (Ginther et al., 1996; De Castro et al. 1999).

A estacionalidade exerce influência significativa no ciclo reprodutivo de cabras (Balaro et al., 2019). Os mecanismos regulatórios da estacionalidade em cabras envolvem o tempo de exposição à luz solar, raça e região de criação (Delgadillo et al., 2021). Por meio da captação solar pela retina ocular e do nervo óptico, sinais são emitidos para o hipotálamo em uma região específica (núcleo supraquiasmático), que ocorre o controle do ciclo circadiano e estacional. Este núcleo é responsável por emitir os sinais para a glândula pineal, que na ausência de luminosidade, aumenta a liberação da melatonina, sendo este o hormônio responsável por regular o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal (Pinto; Brandão, 2025). Em baixa luminosidade, a secreção de melatonina é aumentada, sendo um fator sinalizador para que aja a secreção do GnRH, que por sua vez, faz feedback positivo na liberação de LH e FSH (Clarke et al., 2009; Barrell et al., 1992).

Nas regiões equatoriais, subtropicais e tropicais a sazonalidade tem efeito menos marcante na reprodução; sendo observado animais com ciclo regular ao longo de todo o ano; logo, os fatores nutricionais exercem maior influência na reprodução nessas regiões (Carvalho-de-Paula et al., 2020).

2.2 Ciclo folicular ovariano

Os eventos que ocorrem durante o desenvolvimento folicular, desencadeiam alterações nos perfis hormonais (Medan et al., 2005). Esta fase do ciclo, proestro, compreende um período médio de 3-4 dias, na qual inicialmente ocorreu a emergência de uma onda com diversos folículos em desenvolvimento (2-3 mm) sendo recrutados sob estímulo do FSH, ao fim da maturação folicular é estabelecida a dominância na onda pré-ovulatória em que aproximadamente 2 a 3 folículos continuam seu crescimento com diâmetro de médio de 5 mm (De Castro et al., 1999). Torna-se dominante o folículo selecionado, que passa a expressar receptores de LH nas células da granulosa e produzem a inibina. O aumento da concentração de inibina promove feedback negativo na hipófise para a liberação de FSH pela adenohipófise, marcando a fase de emergência folicular, o que faz um grupo de folículos se desenvolverem e outros entrarem em atresia. A fase de dominância, é consequência da seleção dos folículos que contêm maior expressão de receptores aos hormônios gonadotróficos passando a ser dominante, e continuar o seu crescimento e secreção de estrógeno (E2). Seu tamanho até a ovulação é de

aproximadamente 4 a 8 mm; e alguns fatores são importantes para propiciar a ovulação, como baixos níveis de progesterona (P4) e alto nível de E2 (Ginther et al., 1996; Ginther et al., 2000). Esse padrão hormonal é responsável por fazer um feedback positivo no hipotálamo para haver liberação GnRH e o pico pré-ovulatório de LH, e após aproximadamente 18-24 horas ocorrer a ovulação; além de propiciar as alterações comportamentais do estro na espécie (Fatet et al., 2011). A fase lútea, tem duração média de 17 dias, período em que ocorre a formação do corpo lúteo (CL) a partir das células remanescentes do folículo ovulatório, através do processo de luteinização pelas células da granulosa e células da teca interna. O CL é uma estrutura vascular, que atua com ação endócrina na secreção de progesterona (P4), sendo este hormônio responsável por inibir efetivamente a ovulação, bloqueando o aumento do hormônio luteinizante (LH), impedindo assim a ovulação de todos os folículos. Como consequência, esses folículos entram processo atrésico, ou seja, eles não se desenvolvem e sofrem degeneração, o que garante que somente um ou dois folículos dominantes sejam selecionados e continuem seu crescimento a cada ciclo (De Castro et al., 1999). Caso não ocorra a implantação do embrião, inicia-se o processo de luteólise pela ação da prostaglandina F2 α (PGF2 α), produzida pelas células endometriais (Ginther et al., 1996).

2.3 Dinâmica folicular ovariana

As ondas foliculares ocorrem quando vários folículos têm seu crescimento em conjunto, levando à formação de um ou mais folículos, com tamanho maior ou igual 5 mm de diâmetro (De Castro et al., 1999). Este evento ocorre em fases, estro, metaestro, diestro e proestro, sendo esta última em que diversos folículos em desenvolvimento são recrutados sob estímulo do FSH, LH e fator de crescimento (fator de crescimento semelhante à insulina tipo I, IGF-I), que propiciam a segunda fase da onda folicular (Costa et al., 2014). Durante a fase subsequente, ocorre o desenvolvimento folicular, e apenas alguns folículos passam pela seleção para tornarem-se dominante. Estes folículos dominantes apresentam tamanho de 4 mm e continuam seu crescimento sob ação do LH até o período pré-ovulatório, quando atingem o tamanho maior que 6 mm de diâmetro (Rubianes e Menchaca, 2003; Uribe-Velásquez et al., 2015).

Na fase folicular, ocorre a expressão de receptores de LH nas células da granulosa, aumento da concentração dos hormônios inibina e E2 promovendo feedback negativo sobre a hipófise para a liberação de FSH pela adeno-hipófise o que faz um grupo de folículos se

desenvolverem e outros entrarem em atresia (Bao e Garverick, 1998). A ovulação na espécie é marcada como o dia 0 do ciclo, tempo em que é observada a emergência da primeira onda. As cabras normalmente apresentam de duas a quatro ondas dependendo da duração do ciclo e de fatores individuais (Ginther, 1994).

A dominância folicular é consequência da seleção dos folículos que contêm maior expressão de receptores aos hormônios gonadotróficos, passando a ser dominante e continuar o seu crescimento até a ovulação. Durante a fase lútea a secreção de P4 bloqueia a ovulação, acarretando na regressão do folículo. Entretanto, em algumas situações, pode haver a codominância, com o desenvolvimento simultâneo de mais de um folículo dominante (Driancourt, 2001; Rubianes e Menchaca, 2003; Ginther e Kot, 1994). Em estudos com cabras da raça Saanen, através da ultrassonografia ovariana, foi descrito de forma detalhada estes eventos ao longo do ciclo estral, sendo observadas na primeira e última onda folicular folículos com maior diâmetro, indicando maior dominância nessas fases; e é na última onda em que surge o folículo ovulatório e ocorre a ovulação (Ginther e Kot, 1994).

2.4 Superovulação

Considerando a dinâmica folicular ovariana, a superovulação (SOV) tem como princípio básico interferir nesse processo de forma a permitir que mais folículos completem o seu desenvolvimento até a ovulação. Essa biotécnica baseia-se na administração de FSH exógeno próximo à emergência de uma onda folicular, para que haja o maior número de folículos em desenvolvimento potencialmente responsivos, levando-os ao estágio pré-ovulatório e subsequente ovulação (Gonçalves et al., 2001). A SOV é uma ferramenta fundamental nos programas de multiplicação genética de pequenos ruminantes, especialmente em caprinos, visando aumentar o número de oócitos ovulados e, conseqüentemente, embriões produzidos. Dentre as formulações mais utilizadas, destaca-se o FSH de origem hipofisária suína (pFSH), geralmente administrado em doses decrescentes por três a quatro dias consecutivos em intervalos de 12 h (Fonseca & Oliveira, 2020).

Apesar de eficaz, o pFSH apresenta limitações como meia-vida curta, necessidade de múltiplas aplicações, risco de reações imunológicas e presença de contaminantes hormonais, como LH (Holtz, 2005; Gutiérrez-Reinoso et al., 2022). Nos protocolos de SOV, o uso deste hormônio tem mostrado resultado eficientes, obtendo altas taxas de ovulação (até cerca de 16 corpos lúteos) e número significativo de embriões viáveis e transferíveis, alcançando até 9,3 embriões transferíveis em alguns estudos (Goel e Agrawal, 2005). Na superestimulação visando

a produção *in vitro* de embriões, a sua associação com eCG em dose única ou com menos aplicações vem sendo usada; uma única injeção de 70 mg de pFSH mais 200 UI de eCG resultou em 10,8 COCs, número semelhante ao obtido com cinco doses de 120 mg de FSH (Avelar et al., 2018).

Diversos autores têm buscado simplificar os protocolos de superestimulação, mas desempenho inferior dos protocolos simplificados tem sido observado, com menor resposta ovariana com FSH + eCG comparado ao protocolo tradicional com FSH em múltiplas doses (Lehloenya et al., 2013). Também foram avaliados protocolos com FSH em dose única, dissolvido em substâncias de liberação lenta, como o ácido hialurônico ou polivinilpirrolidona (PVP), que têm mostrado bons resultados em bovinos e ovinos, mas ainda há escassez de dados conclusivos em caprinos (Kimura et al., 2007; Panyaboriban et al., 2018). Protocolos de SOV com o uso de FSH + hCG, para indução e sincronização tem demonstrado maior precisão da ovulação e maior obtenção número de embriões transferíveis quando comparado com o uso de eCG com hCG. O protocolo com FSH + hCG durante 8 dias, resultou em 11,8 ovulações, 8 embriões totais e 5,2 transferíveis, valores superiores aos obtidos com eCG + hCG (Goel & Agrawal, 2005).

Com o avanço da biotecnologia, alternativas mais modernas foram desenvolvidas, como o FSH bovino recombinante (rbFSH), ovino (roFSH), humano (Cinnal-f®), menotropinas (hMG) e bscrFSH (produzido em células CHO - Chinese Hamster Ovary) (Cabeza et al., 2024). Estudos comparativos entre diferentes fontes de FSH têm demonstrado que os efeitos desse hormônio sobre o desenvolvimento folicular variam conforme sua origem e o estágio de desenvolvimento dos folículos. Ferreira et al. (2020) avaliaram os impactos do FSH pituitário (pFSH), bovino recombinante (rbFSH) e humano recombinante (rhFSH) no desenvolvimento *in vitro* de folículos pré-antrais e antrais iniciais de cabras. Os resultados mostraram que o pFSH promoveu maior taxa de extrusão e degeneração folicular, além de reduzir o crescimento, a produção de estradiol e a retomada meiótica, especialmente nos folículos pré-antrais. Por outro lado, o rbFSH proporcionou melhor crescimento folicular, maior formação de antro e preservação da competência meiótica dos oócitos, sendo considerado o mais eficaz. O rhFSH teve efeito positivo restrito aos folículos antrais, promovendo maior maturação oocitária. No contexto da superovulação *in vivo*, os protocolos baseados em FSH recombinante de longa ação têm se destacado pela eficiência reprodutiva e pela praticidade no manejo. Cabeza (2024) avaliou o uso do FSH bovino recombinante de cadeia simples em diferentes protocolos para bovinos. Inicialmente, um protocolo com oito doses de 0,5 mg aplicadas a cada 12 horas, que

resultou em média de $22,5 \pm 2,5$ folículos maduros por animal. No entanto, não houve recuperação de embriões. Um protocolo intermediário com 7 doses de 0,3 mg, também a cada 12 horas, obteve melhor desempenho, com média de 9 embriões viáveis, superando os resultados do pFSH. Com base nesses dados, ajustes foram feitos nos esquemas hormonais, reduzindo-se o número de aplicações para 4 doses com intervalo de 24 horas. As doses testadas (0,137 mg e 0,163 mg) foram eficazes, com produção média de 9,4 a 11,2 embriões viáveis por doadora, respectivamente, evidenciando a eficiência do brscFSH em protocolos simplificados de SOV em ruminantes.

De forma semelhante, o uso do FSH ovino recombinante de longa ação (roFSH) em aplicação única demonstrou resultados promissores em bovinos. Em protocolo padronizado, o roFSH foi administrado no dia 0 (300 mg para vacas de corte, 150 mg para vacas Jersey, e 120 ou 160 mg para novilhas Holandesas), associado à aplicação de eCG (400 UI para bovinos de corte e 200 UI para leiteiros). Em novilhas Holandesas, as doses de 120 mg e 160 mg de roFSH resultaram em médias de 5,8 a 7,3 embriões viáveis por coleta, com viabilidade de até 86,6%. Em vacas Jersey lactantes tratadas com 150 mg, a média foi de 5,9 embriões transferíveis, com taxa de viabilidade de 64,2% (Sanderson; Martinez, 2020).

2.5 Métodos de colheita de embriões em caprinos

Uma das opções para acelerar processo genético dentro de um rebanho e a inserção de biotecnologias dentre elas a transferência de embrião, que além de alavancar o processo, acelera a seleção genética além de otimizar o uso de fêmeas de alto valor zootécnico. Neste contexto a aplicação das biotécnicas requer domínio não apenas de protocolos hormonais e de inseminação artificial, mas também de métodos que viabilizam a recuperação de embriões viáveis. De forma estratégica, a recuperação embrionária é realizada entre o sexto e o sétimo dia após o início do estro, período em que os embriões já se encontram no útero. A resposta superovulatória varia entre as fêmeas, o que impacta diretamente na eficiência da coleta (Oliveira et al., 2022). Diferentes técnicas podem ser empregadas para coleta de embriões, mas em caprinos três metodologias foram e ainda são utilizadas; dentre elas procedimento cirúrgico de laparotomia, a laparoscopia como o método semi-cirúrgico, e mais recentemente a técnica transcervical não cirúrgica.

Considerando os impasses do uso das técnicas cirúrgicas e semi-cirúrgicas; a busca por

técnicas menos invasivas tem consolidado a técnica de recuperação não-cirúrgica de embriões (NSER) de eleição para o procedimento. Essa técnica representa uma estratégia sustentável, atenta as diretrizes de bem-estar animal e com resultados de excelência na produção de embriões viáveis (Fonseca et al., 2022). A principal vantagem da NSER reside em seu caráter minimamente invasivo, eliminando a necessidade de intervenções cirúrgicas abdominais. Com isso, pode-se reduzir significativamente o risco de complicações associadas, permitindo a repetição das coletas ao longo de diversos ciclos reprodutivos do mesmo animal, sem comprometer sua fertilidade futura. Há ainda vantagens econômicas importantes, uma vez que dispensa o uso de equipamentos complexos e infraestrutura cirúrgica, o que contribui para sua ampla acessibilidade em diferentes contextos produtivos (Fonseca; Oliveira; Viana, 2011).

Para esse procedimento é realizada a dilatação cervical, com a administração de prostaglandina cerca de 12 a 16 horas antes da colheita. Para auxiliar na transposição cervical é feito protocolo anestésico com acepromazina, além de anestesia epidural com lidocaína. É realizada a antisepsia da região da vulva com álcool 70% prévia a inserção do espéculo vaginal tipo Collins, lubrificado com gel. É utilizada uma pinça de Allis modificada e duas pinças Pozzi para a fixação e tração da cérvix, o que permite a introdução de dilatadores e subsequente a passagem da sonda de coleta. É utilizado um circuito fechado que é acoplado a sonda para fazer a infusão e recuperação dos embriões, sendo usado um volume de líquido que varia entre 180 a 240 ml em cada corno para garantir a recuperação dos embriões, tendo uma duração média de 30 a 40 minutos, com a obtenção de taxas de recuperação de fluido superiores a 95% (Fonseca; Oliveira; Viana, 2011).

Estudo recente, conduzido por Souza-Fabjan et al. (2022), reportou a eficiência da NSER *v.s* laparotomia na recuperação embrionária em cabras Canindé com resultados semelhantes entre as técnicas (NSER $86,8\% \pm 5,6\%$ e laparotomia $92,8\% \pm 4,0\%$) e sem haver diferenças no número de embriões viáveis. Isto reforça a viabilidade do procedimento utilizando instrumentos simples, o que torna a técnica acessível; reforçando sua aplicabilidade em programas de reprodutivos.

3. HIPÓTESE

O uso do hormônio folículo-estimulante bovino recombinante (rbFSH) em dose única em protocolo simplificado associado à gonadotrofina coriônica equina recombinante (reCG) é

tão eficiente quanto protocolo tradicional utilizando múltiplas doses FSH de origem porcina (pFSH) para a produção *in vivo* de embriões caprinos.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Desenvolver um protocolo eficiente de superovulação utilizando de FSH bovino recombinante e eCG recombinante (rbFSH e reCG) para a produção *in vivo* de embriões em caprino.

4.2 Objetivos específicos

- 1) Avaliar a dinâmica folicular pré-ovulatória de cabras superovuladas com FSH de diferentes origens;
- 2) Verificar a eficiência do rbFSH associado ao reCG sobre a resposta superovulatória e a produção *in vivo* de embriões caprinos.

5. REFERÊNCIAS

ARRAIS, A.M.; MELLO, M.R.B.; VERGANI, G.B.; FIGUEIRA, L.M.; ESTEVES, S.N.; Pereira, V.S.A.; BARTLEWSKI, P.M.; OLIVEIRA, M.E.F.; SOUZA-FABJAN, J.M.G.; FONSECA, J.F. Non-surgical embryo recovery from estrus-synchronized or superovulated Morada Nova ewes: a feasible strategy for sheep embryo banking. **Biopreservation and Biobank** v.19, n.5, p.360-368, 2021. <https://doi.org/10.1089/bio.2020.0125>.

AVELAR, S.R.; MOURA, R.R.; SOUSA, F.C.; PEREIRA, A.F.; ALMEIDA, K.C.; MELO, C.H.S.; TELES-FILHO, A.C.A.; BARIL, G.; MELO, L.M.; TEIXEIRA, D.I.A.; FREITAS, V.J.F. Oocyte production and *in vitro* maturation in Canindé goats following hormonal ovarian stimulation. **Animal Reproduction Science**, v.9, p.27–32, 2012. Disponível em: <https://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/animalreproduction/issues/download/v9n1/pag27-32.pdf>. Acesso em: 01 de julho de 2025.

BALARO, M.F.A.; MELLO, S.G.V.; SANTOS, A.S.; CAVALCANTI, L.M.; ALMOSNY, N.R.P.; FONSECA, J.F.; BRANDÃO, F.Z., 2019. Reproductive seasonality in Saanen goats kept under tropical conditions. **Tropical Animal Health and Production** v.50, p.345–353, 2019. <https://doi.org/10.1007/s11250-018-1696-2>.

BAO, B.; GARVERICK, H.A. Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves: a review. **Journal of Animal Science**, v.76, n.7, p.1903–1921, 1998. <https://doi.org/10.2527/1998.7671903x>.

BARRELL, G.K.; MOENTER, S. M.; CARATY, A.; KARSCH, F, J. Seasonal changes of gonadotropin-releasing hormone secretion in the ewe. *Biology of Reproduction*, v.46, p.1130–1135, 1992. <https://doi.org/10.1095/biolreprod46.6.1130>.

CABEZA, O. I.; PARRA, N.; CERRO, R.; MANSILLA, R.; SANCHEZ, R.Z.; GUTIÉRREZ-REINOSO, M.; ESCRIBANO, E.H.; CASTILLO, R.; RODRIGUEZ-ALVAREZ, L.; TAVARES, K.; GAUDENCIO, S.; MARTINS, L.; HUGUES, F.L.; ACOSTA, J.; MORENO, E.; MONTESINO, R.; GÁRCIA-HERREROS, M.; CASANOVA, F.C.; TOLEDO, J.R.; SANCHEZ, O. Development and characterization of a novel variant of long-acting bovine follicle-stimulating hormone (brscFSH). **Theriogenology**, v.226, p. 76–86, 2024.

<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2024.05.038>.

CARVALHO, P.D.; HACKBART, K.S.; BENDER, R.W.; BAEZ, G.M.; DRESCH, A.R.; GUENTHER, J.N.; SOUZA, A.H.; FRICKE, P.M. Use of a single injection of long-acting recombinant bovine FSH to superovulate Holstein heifers: A preliminary study. **Theriogenology**, v.82, p.481–489,2014. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.05.011>.

CARVALHO DE PAULA, C. J.; SOUZAFABJAN, J. M. G.; GONÇALVES, J. D.; DIAS, J. H.; SOUZA, G. N. de; OLIVEIRA, M. E. F.; FONSECA, J. F. Effect of a 12-h increment in the short-term treatment regimen on ovarian status, estrus synchrony, and pregnancy rate in artificially inseminated dairy goats. **Animal Reproduction Science**, v. 221, e106571, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106571>.

CLARKE, J, I.; SMITH, J, T.; CARATY, A.; GOODMAN, R, L.; LEHMAN, M, N. Kisspeptin and seasonality in sheep. *Peptides*, v. 30, p. 154–163, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2008.08.022>.

COSTA, S.L.; COSTA, E.P.; PEREIRA, E.C.M.; BENJAMIN, L.A.; RODRIGUES, M.T.; MENDES, V.R.A.; SILVA, T.F. Influence of Insulin-like Growth Factor I (IGF-I) on the survival and the *in vitro* development of caprine preantral follicles. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.34, n.10, p.1037–1044, 2014. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2014001000018>.

DE CASTRO, T.; RUBIANES, E.; MENCHACA, A.; RIVERO, A. Ovarian dynamics, serum estradiol and progesterone concentrations during the interovulatory interval in goats. **Theriogenology**, v.52(3), p.399–411, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00138-7](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00138-7).

DISKIN, M. G.; MORRIS, D. G. Embryonic and early fetal losses in cattle and other ruminants. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, p. 260–267, 2008. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01171.x>

DRIANCOURT, M. A. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. **Theriogenology**, v. 55, p. 1211–1239, 2001. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(01\)00479-4](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(01)00479-4).

FERREIRA, A. C. A. et al. Pituitary porcine FSH, and recombinant bovine and human FSH differentially affect growth and relative abundances of mRNA transcripts of preantral and early developing antral follicles in goats. **Animal Reproduction Science**, v. 219, p. 106461, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106461>.

FIGUEIRA, L.M.; ALVES, N.G.; SOUZA-FABJAN, J.M.G.; OLIVEIRA, M.E.F.; LIMA, R.R.; SOUZA, G.N.; FONSECA, J.F. Preovulatory follicular dynamics, ovulatory response and embryo yield in Lacaune ewes subjected to synchronous estrus induction protocols and nonsurgical embryo recovery. **Theriogenology**, v.145, p.238–246, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.11.004>.

FONSECA, J. F. da. Transferência de embriões em caprinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 30, n. 3, p. 154–159, 2006. Acesso em 06/07/25 Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/855780/1/AACAAlgunsaspectos.pdf>
FONSECA, J.F.; OLIVEIRA, M.E.F.; VIANA, J.H.M. Uso de procedimentos não cirúrgicos para a produção, recuperação e inovulação de embriões em pequenos ruminantes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.35, n.2, p.113-117, 2011. <https://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v35n2/RB359%20Fonseca%20pag113-117.pdf>

FONSECA, J.F.; ZAMBRINI, F.N.; ALVIM, G.P.; PEIXOTO, M.G.C.D.; VERNEQUE, R.S.; VIANA, J.H.M. Embryo production and recovery in goats by non-surgical transcervical technique. **Small Ruminant Research**, v. 111, n. 1–3, p. 96–99, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.08.007>.

FONSECA, J.F.; CRUZ, R.C.; OLIVEIRA, M.E.F.; SOUZA-FABJAN, J.M.G.; VIANA, J.H.M. Biotecnologias da Reprodução em Caprinos e Ovinos. Fortaleza: **Documentos Embrapa Caprinos e Ovinos**, 2014. Acesso em 25/05/2025. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/533329/1/doc64.pdf>.

FONSECA, J.F.; VERGANI, G.B.; LIMA, M.S.D.; SILVA, K.M.; MONTEIRO, A.W.U.; RAMOS, A.F.; ALVES, B.R.C.; SOUZA-FABJAN, J.M.G.; OLIVEIRA, M.E.F.; BATISTA, R.I.T.P. Nonsurgical embryo recovery as a feasible tool for supporting embryo biobanks of

locally adapted Brazilian sheep and goats. **Biopreservation and Biobank**, v.20, n.6, p.493-501, 2022. <https://doi.org/10.1089/bio.2021.0066>.

FONSECA, J.F.; OLIVEIRA, M.E.F., Protocolos Embrapa para superovulação de cabras e ovelhas. **Documentos Embrapa** CT201. ISSN 1676-767. Acesso em: 06/07/2024 Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1128193/1/CNPC-2020-Art.55.pdf>

FONSECA, J. F.; BRUSCHI, J. H. A caprinocultura leiteira no Brasil: uma visão histórica. In: FONSECA, J. F.; BRUSCHI, J. H. (Eds.). Produção de caprinos na região da Mata Atlântica. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite; Sobral: **Embrapa Caprinos e Ovinos**, 2009. p. 15–24.

GINTHER, O. J.; KOT, K. Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. **Theriogenology**, v.42, n.6, p.987–1001, 1994. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(94\)90121-X](https://doi.org/10.1016/0093-691X(94)90121-X).

GINTHER, O.J.; WILTBANK, M.C.; FRICKE, P.M.; GIBBONS, J.R.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**, v.55, p.1187–1194, 1996. <https://doi.org/10.1095/biolreprod55.6.1187>.

GINTHER, O.J.; BERGFELT, D.R.; KULICK, L.J.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle: role of two-way functional coupling between follicle-stimulating hormone and the follicles. **Biology of Reproduction**, v.62, p.920–927, 2000. <https://doi.org/10.1095/biolreprod62.4.920>.

GOEL, A.; AGRAWAL, K. Ovulatory response and embryo yield in Jakhrana goats following treatments with ECG and FSH. **Tropical Animal Health and Production**, v. 37, p. 549–558, 2005. <https://doi.org/10.1007/s11250-005-4223-1>.

GUTIÉRREZ-REINOSO, M.A.; AGUILERA, C.J.; NAVARRETE, F.; CABEZAS, J.; CASTRO, F.O.; CABEZAS, I.; SÁNCHEZ, O.; GÁRCIA-HERREROS, M.; RODRIGUEZ-ALVAREZ, L. Effects of extra-long-acting recombinant bovine FSH (bscrFSH) on cattle superovulation. **Animals**, v. 12(2), p.153, 2022. <https://doi.org/10.3390/ani12020153>.

HOLTZ, G. Recent developments in assisted reproduction in goats. **Small Ruminant Research** v.60, n.1–2, p.95–110, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.06.032>.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Caprinos – Produção agropecuária. 2023. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/caprinos/br>. Acesso em: 06 de junho de 2025.

KHAN, S.; JAMAL, M.A.; KHAN, I.M.; ULLAH, I.; JABBAR, A.; KHAN, N.M.; LIU, Y.; 2023. Factors affecting superovulation induction in goats (*Capra hircus*): An analysis of various approaches. Factors affecting superovulation. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 10, p. 1152103, 2023. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1152103>.

KIMURA, K.; HIRAKO, M.; IWATA, H.; AOKI, M.; KAWAGUCHI, M.; SEKI, M. Successful superovulation of cattle by a single administration of FSH in aluminum hydroxide gel. **Theriogenology**, v.68, n.5, p.633–639, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.02.016>.

LEHLOENYA, K. C. Preliminary results evaluating a simplified superovulation protocol in Boer goats. **Small Ruminant Research**, v.113, p.171–174, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2013.03.017>.

LÔBO, A.M.B.O.; LÔBO, R.N.B.; FACÓ, O.; SOUZA, V.; ALVES, A.A.C.; COSTA, A.C.; ALBUQUERQUE, M.A.M. Characterization of milk production and composition of four exotic goat breeds in Brazil. **Small Ruminant Research**, v.153, p.9–16, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.05.005>.

MEDAN, M.S.; WATANABE, G.; SASAKI, K.; GROOME, N.P.; SHARAWY, S.; TAYA, K. Follicular and hormonal dynamics during the estrous cycle in goats. **Journal of Reproduction and Development**, v. 51, n. 4, p. 455–463, 2005. <https://doi.org/10.1262/jrd.17017>.

MENCHACA, A., VILARIÑO, M., CRISPO, M., PINCZAK, A., RUBIANES, E. Day 0 Protocol: Superstimulatory treatment initiated in the absence of a large follicle improves ovarian response and embryo yield in goats. **Theriogenology**, 68(8), 1111–7. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2007.07.020>.

MONTEIRO, M. G.; BRISOLA, M. V.; VIEIRA FILHO, J. E. R. Diagnóstico da cadeia produtiva de caprinos e ovinos no Brasil. **Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada – IPEA**. Texto para Discussão, n. 2660, 2021. <https://doi.org/10.38116/td2660>.

MORALES, J.U.; NIETO, C.A.R.; ÁVILA, H.R.V.; MANJARRES, E.V.A. Resumption of ovarian activity is modified by non-photoperiodic environmental cues in Criollo goats in tropical latitudes, **Small Ruminant Research**, v.137, p.9–16, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.02.016>.

NGUYEN-THI, T.; PHAM-THI-NGOC, L.; NGUYEN-NGOC, Q.; DANG-XUAN, S.; LEE, H.S.; NGUYEN-VIET, H.; PADUNGTOD, P.; NGUYEN-THU, T.; NGUYEN-THI, T.; TRAN-CONG, T.; RICH, K.M. An assessment of the economic impacts of the 2019 African swine fever outbreaks in Vietnam. **Frontiers in Veterinary Science**, v.8, 2021. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.686038>.

OLIVEIRA, M.E.F.; ARRAIS, A.M.; MELLO, M.R.B.; VERGANI, G.B.; FIGUEIRA, L.M.; ESTEVES, S.N.; PEREIRA, V.S.A.; GARCIA, A.R.; BARTLEWSKI, P.M.; FONSECA, J.F. Study of the factors affecting embryo yields and quality in superovulated Morada Nova ewes that underwent non-surgical uterine flushing. **Reproduction Domestic Animals**, v.57, p.393–401, 2022. <https://doi.org/10.1111/rda.14077>.

PANYABORIBAN, S.; SUWIMONTEERABUTR, J.; SWANGCHAN-UTHAI, T.; THARASANIT, T.; SUTHIKRAI, W.; SUADSON, S.; TECHAKUMPHU, M. A simplified superovulation protocol using split-single administration of Folltropin-V in hyaluronan: application to purebred sheep. **Veterinarni Medicina (Praha)**, v. 63, p. 321–328, 2018. <https://doi.org/10.17221/52/2016-VETMED>.

PINTO, P.H.N.; BRANDÃO, F.Z. Estacionalidade reprodutiva em pequenos ruminantes: efeitos e possibilidades de manejos. In: REUNIÃO ANUAL DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ANDROLOGIA ANIMAL, 9., 2025, Londrina: Associação Brasileira de Andrologia Animal, 2025. DOI: 10.21451/1809-3000.RBRA2025.033.

RAMOS, A. F.; SILVA, B. D. M. Hormonal protocols in small ruminants. In: BERGSTEIN-

GALAN, T. G. (Ed.). **Reproduction Biotechnology in Farm Animals**. AvidScience, 2018. p.138–154. Acesso em 06/07/2025 Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1095058/1/HormonalProtocolsinSmallRuminants.pdf>

RODRIGUES, J.N.D.; GUIMARÃES, J.D.; RANGEL, P.S.C.; OLIVEIRA, M.E.F.; BRANDÃO, F.Z.; BARTLEWSKI, P.M.; FONSECA, J.F. Luteal function in dairy goats treated with hCG via i.m. or intrauterine route at AI. **Reproduction in Domestic Animals**, v.58, n.3, p.396–404, 2023. <https://doi.org/10.1111/rda.14298>.

RUBIANES, E.; MENCHACA, A. The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats. **Animal Reproduction Science**, v.78, n.3-4, p.271-287, 2003. [https://doi.org/10.1016/s0378-4320\(03\)00095-2](https://doi.org/10.1016/s0378-4320(03)00095-2).

SÁNCHEZ-DÁVILA, F.; LEDEZMA-TORRES, R.A.; PADILLA-RIVAS, G.; BERNAL-BARRAGÁN, H. Effect of three pFSH doses on superovulation and embryo quality in goats during two breeding seasons in North-eastern Mexico. **Reproduction in Domestic Animals**, v.49, n.2, p.40–43, 2014. <https://doi.org/10.1111/rda.12350>.

SAHARREA, A.; VALENCIA, J.; BALCÁZAR, A.; MEJÍA, O.; CERBÓN, J.L.; CABALLERO, V.; ZARCO, L. Premature luteal regression in goats superovulated with ECG: effect of hCG or GnRH administration during the early luteal phase. **Theriogenology**, v. 50, n.7, p.1039–1052, 1998. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(98\)00206-4](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(98)00206-4).

SALLES, H.O.; SOARES, A.T.; ANDRIOLI, A.; MOURA-SOBRINHO, P.A.; MORAIS, J.B.; WANDERLEY, K.O. Different flunixin meglumine administrations to control the corpus luteum premature regression in superovulated goats. **Ciência Animal**, v.8, p.69–74, 1998. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/515259/1/APIDiferentesposologias.PDF>. Acesso em: 03 de maio de 2025.

SANDERSON, N.; MARTINEZ, M. A single administration of a long-acting recombinant ovine FSH (roFSH) for cattle superovulation. **Theriogenology**, v. 154, p. 66–72, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.04.037>.

SOUZA-FABJAN, J.M.G.; BATISTA, R.I.T.P.; MELO, L.M.; OLIVEIRA, M.A.L.; CHAVES, M.S.; FONSECA, J.F.; FREITAS, V.J.F. Transcervical versus laparotomy embryo recovery: which strategy is better for building an embryo bank in the Canindé goat conservation program? **Biopreservation and Biobanking**, v. 20, n. 2, 2022. <https://doi.org/10.1089/bio.2021.0041>.

URIBE-VELÁSQUEZ, L. F.; LENZ SOUZA, M. I.; NARVÁEZ-SOLARTE, W. Follicular development in Alpine goats during the mating season. **Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia**, v.10, n.1, p.38-44. 2015. Disponível em: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1900-96072015000100005. Acesso em: 05 de maio de 2025.

6. CAPÍTULO 1

Article: Use of recombinant gonadotrophins in superovulation and *in vivo* production of goat embryos

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate parameters related to *in vivo* embryo production in goats superovulated with FSH from different sources. Twenty-one multiparous dairy goats were uniformly distributed into two groups. Animals received intravaginal progesterone devices for six days, in addition to cloprostenol and GnRH administration, 12 hours before and 36 hours after device removal, respectively. Superovulatory treatment was performed at 12 h interval, starting 60 h before device removal with the first dose of p-FSH (333 IU divided into six decreasing doses of 25-25-15-15-10-10%) in the G-pFSH group (n=10) and 100 µg of recombinant bovine FSH (rbFSH) in the G-rbFSH+reCG group (n=11), which received an additional dose of 200 IU of recombinant eCG 24 hours before device removal. Goats were naturally mated by six fertile males at 12-hour intervals during estrus. Non-surgical embryo recovery was performed seven days after estrus onset. Both groups showed 100% estrus. There was no difference ($P>0.05$) in any of the evaluated responses for estrus, ovulatory response, and embryo production. The average estrus duration was 32.72 ± 4.30 and 37.00 ± 3.32 hours to G-pFSH and G-rbFSH+reCG, respectively. The average number of corpora lutea and viable embryos was 13.45 ± 1.58 and 4.5 ± 1.3 in G-rbFSH+reCG, and 15.50 ± 2.01 and 6.6 ± 2.1 in G-pFSH, respectively. The transcervical embryo recovery rate was 52% and 59% to G-pFSH and G-rbFSH+reCG, respectively. The simplified two-dose superovulation protocol using rbFSH and reCG was as efficient as the traditional six-dose protocol for embryo production in goats.

Keywords: caprine; superovulation; goats; hormone therapy.

1 INTRODUCTION

In Brazil, a major advance in goat reproduction began in 2005, with the creation of the Dairy Goat Genetic Improvement Program – CapraGene®, through the selection of males from progeny tests and the use of artificial insemination and since then, an increasing trend in milk production has been observed, driven by the introduction of genetically superior animals, with performance comparable to high-production countries, such as France, Greece and Spain This approach allows a more accurate genetic characterization of the animals through the careful selection of breeding animals. The genetic values for traits of interest are analyzed based on statistical and genetic methods (Lôbo et al., 2017).

With the integration of a validated progeny testing program with artificial insemination, the possibility of multiplication, also of females of high genetic standard, becomes possible through the technique of multiple ovulation and embryo transfer (MOET) (Khan et al., 2023). Multiple ovulation is dependent on superovulatory treatment, which is based on ovarian follicular dynamics and the administration of gonadotropins, with follicle stimulating hormone (FSH) being the most commonly used, which generates an increase in the female's ovulatory capacity (Fonseca & Oliveira; 2020). With the possibility of predicting follicular conditions, it was possible to determine that the initial moment for superovulatory treatment with FSH should be close to the occurrence of a follicular wave during progesterone/progesterone-based estrus synchronization protocols (Figueira et al. 2020; Arrais et al., 2021). Regulation of preovulatory follicular dynamics is essential for optimal embryo production, as it directly affects the follicular response to FSH and subsequent ovulation. Techniques such as superovulation (SOV) and estrus synchronization are used to achieve higher embryo viability and successful recovery rates, enabling commercial applications and genetic preservation programs for small ruminants, thus maximizing the number of embryos that can be recovered for breeding and conservation purposes (Arrais et al., 2021).

In a recent study, our research group compared two superovulation protocols (SOV) in goats, using intravaginal progesterone devices (P4) for 6 days or 9 days (Côrtés et al., 2023). Sixty hours before device removal, the SOV protocol was started with six decreasing doses of pFSH every 12 hours. The animals also received 25 µg of GnRH 24 hours after device removal. No significant differences were observed between the different times evaluated regarding the estrus response rate, interval to estrus, estrus duration and successful recovery rate. Although,

the 9-days protocol presented a higher number of corpora lutea, the group 6-days protocol had a higher embryo recovery rate and more viable embryos (7.3 vs 3.9).

The SOV protocols still face challenges, such as multiple applications, lengthy duration, and individual variation in ovarian response (Holtz, 2005). Two commercial forms of short half-life porcine FSH (pFSH) exist—one in IU, another in mg—both requiring six injections (Fonseca & Oliveira, 2020). To address issues like hormonal contaminants, short half-life, and immunogenicity, recombinant FSH variants have emerged, including bovine (rbFSH), ovine (roFSH), human (Cinnal-f®), menotropins (hMG), and bscrFSH (Cabeza et al., 2024). Cinnal-f® and hMG yielded 5.1 and 6.3 transferable embryos, respectively (Khodadadi et al., 2022). BscrFSH protocols with four 24-hour interval doses achieved 8–12 embryos per cow (Cabeza et al., 2024), showing high potential. Long half-life recombinant FSHs have been effective in cattle, improving embryo quality (Gutiérrez-Reinoso et al., 2022), and may benefit goat protocols. Gutiérrez-Reinoso et al. (2022) compared pFSH (280 mg, 8 injections) to rbFSH (170 µg, 4 injections), both with similar hormonal timing and AI schedule. The rbFSH produced more viable embryos and better quality, with fewer injections, offering a promising alternative for SOV in cattle. Single-injection of rbFSH preliminary studies showed responses comparable to traditional eight doses of pFSH in heifers, which allowed new protocols with reduced injections (Carvalho et al., 2014). It has recently been demonstrated that a single recombinant FSH administration provides SOV outcomes comparable to eight doses of pFSH in cows (Frata et al., 2025).

The use of conventional eCG in superovulation protocols allows pFSH dose reduction in sheep (Maciel et al., 2019). Its use in bovine SOV protocols has also been associated with positive effects on the superovulatory response and embryo quality (Sanderson & Martinez, 2020). Currently, most products on the market are partially purified eCG preparations derived from the blood of pregnant mares, with disadvantages and concerns regarding animal welfare. They present batch-to-batch variations due to the glycosylation profile, affecting the hormone's half-life and efficacy, in addition to the risk of contamination. In this scenario, recombinant eCG (reCG) emerges as a promising alternative, with greater production control, batch-to-batch consistency and elimination of bioethical issues. (Cattaneo et al., 2024). However, the literature is incipient regarding the use of recombinant eCG associated with superovulatory treatment with recombinant bovine FSH in superovulation of goats. We hypothesize that the two-application strategy with rbFSH associated with reCG represents a promising alternative,

allowing simplified management, less stress to animals and welfare, while maintaining embryo production compatible with traditional protocols.

This study aimed to evaluate the efficiency of embryo production by comparing a SOV protocol with a single dose of recombinant bovine follicle-stimulating hormone (rbFSH 100 µg) plus reCG 48 h later; and the conventional protocol in six applications of porcine pituitary follicle-stimulating hormone (pFSH, 333 IU), the control group initiated 60 h after device removal and the treatment group (rbFSH) initiated 60 h before device removal in a 6-day progesterone-based estrus synchronization protocol.

2 MATERIALS AND METHODS

2.1 Experimental location and conditions

The project was submitted to the Animal Experimentation Committee of Embrapa Dairy Cattle (number 2909260324). The experiment was carried out at “José Henrique Bruschi” Experimental Field of Embrapa Dairy Cattle, located in Coronel Pacheco, Minas Gerais (MG), southeastern Brazil, at the geographic coordinates of 21°33'25” S and 43°15'43” W longitude, during non-breeding season. Twenty-one (n=21) multiparous Alpine crossbreed goats underwent clinical and ultrasound evaluation, attesting to their health status and suitability for the procedures. The animals were weighed, with an average weight of 54.33 ± 3.08 and 52.70 ± 2.98 in treatment group and group control, respectively. The condition score (ECC; 1 = lean to 5 = obese) 2.78 ± 0.07 and 2.73 ± 0.08 in treatment group and group control, respectively. All animals were fed corn silage and balanced concentrate twice a day, cornmeal and soybean meal mixture, free mineral salt in the trough; and water available ad libitum.

2.2 Experimental design

The goats were randomly divided into two groups, corresponding to the treatments G-rbFSH+reCG (n=11) and G-pFSH (n=10). In both treatments, the animals (n=21) received intravaginal devices (D0 - insertion) containing 0.3 g of progesterone (P4; Eazi-Breed CIDR®; Pfizer, São Paulo, Brazil) for six days (D6 – removal), and 125 µg d-cloprostenol (Estron, TECNOPEC, São Paulo, Brazil) intramuscular (i.m.) at 12 hours before device removal. In G-rbFSH+reCG, 60 hours before removal of the P4 device, a single dose of 100 µg rbFSH (ripafolitropina alfa - Zimbria®, Ceva Santé Animale, France) was administered i.m.. In

addition, a dose of 233 IU of recombinant eCG (reCG, FOLI-REC®, Santé Animale, France) were i.m. applied 24 hours before device removal, respectively. In G-pFSH, SOV protocol consisted of 333 IU of porcine FSH diluted in 10 ml of physiological saline solution (pFSH; Pluset®, Biogénesis Bagó, Curitiba, Brazil) administered i.m. at 60 h before device removal, in six decreasing doses (25, 25, 15, 15, 10 and 10%) at twelve-hour intervals. The sixth dose was applied, followed by removal of the P4 device; and after 12 hours, natural mating began in both treatments. Estrus was observed twice a day at 12-hour intervals for three consecutive days. Six males were used in a rotation system so that each female was mated with two different males in each mating session and so that there was no repetition on the same day. Goats that were not observed in estrus during the period were given priority in the following mating period. Each male mounted four females per day. On D7 (24 hours after device removal), a single dose of 25 µg of GnRH (Gestran Plus®, Tecnopec, São Paulo, Brazil) was i.m. administered in both groups.

In order to prevent premature luteal regression (Maia et al., 2024), three doses of 75 mg of flunixin meglumine (Flumax®; JA Saúde Animal, São Paulo, SP, Brazil) were i.m. administered every 24 hours on D10, D11, D12.

2.3 Ultrasound and ovarian evaluation and non-surgical embryo recovery (NSER)

The ovarian evaluation commenced on D3 in both study groups, following CIDR (Eazi, Zoetis, Madison, NJ, USA) insertion, using a Z60 Vet® ultrasound (Mindray, Shenzhen, China) in B-mode and Doppler. Subsequent evaluations were performed on days 4 and 6. On D13, luteal assessment was conducted to select females with vascularized CL for non-surgical embryo recovery (NSER) on D14. Sixteen hours prior to embryo collection, a dose of d-cloprostenol (Estron®, União Química, São Paulo, Brazil) was administered to all animals. The NSER protocol was initiated 20 minutes before collection, with intravenous (i.v.) administration of oxytocin (50 IU, Oxytocin Forte®; UCB, SP, Brazil). Additionally, acepromazine 1% (Acepran 1%®, Vetinil/Univet, São Paulo, Brazil) was administered i.m. (i.m.) at a dose of 1 mL/100 kg; dipyrone and hyoscine (Buscofin®, Agener União-Saúde Animal, São Paulo, Brazil) were given at doses up to 5 mL i.m. and 5 mL i.v. For sacrococcygeal epidural anesthesia, 1 mL of 2% lidocaine hydrochloride without vasoconstrictor was used. A cotton swab soaked in 5 mL of lidocaine hydrochloride was inserted into the vaginal canal opening for local relaxation. The NSER technique was performed as described by Fonseca et al. (2022). For embryo evaluation, classifications from the

International Embryo Technology Society (IETS, Stringfellow and Givens, 2010) were used, with grade I, II, and III embryos considered as viable.

2.4. Endpoints and statistical analysis

The following parameters were evaluated in both treatments: estrus interval (time between removal of the hormonal device and the signs of estrus); estrus duration (period in hours that the animals remained in estrus behavior). The ovarian response evaluation was performed on D13 evaluating the following parameters: number of corpora lutea in the right ovary and left ovary; and the sum of these structures representing the total number of CL (CL Total) used as an indicator of superovulatory response; at least one regressing CL without vascularization on Doppler mode. Another parameter analyzed was the number of luteinized anovulatory follicles (LAF) and the percentage of goats with premature regression of CL (at least one regressing CL). After collection, the following were evaluated: uterine fluid recovery efficiency (%); degenerated embryos; unfertilized oocytes; the recovery rate (quantity of structure/number of corpora lutea x 100), number of viable embryos, viability rate data, number of unfertilized, number of delayed embryos. The number of embryos in each stage of development was performed following the IETS standards, classifying morulae and blastocysts (morula, compact morula, initial blastocyst, expanded blastocyst, and hatched blastocyst). For parametric data, the Shapiro-Wilk test, ANOVA with Tukey's test were used; and for nonparametric data, the Fisher's exact test and Mann-Whitney test were employed. The numbers of follicles according size classes were evaluated as repeated measures using generalized mixed model, considering Poisson distribution and log link function. The compound symmetry (CS) matrixes were applied, in a model which included group, day, goat (as a random variable), and interaction where necessary. For pairwise multiple comparisons were used the Tukey's test. All analyses were performed using Statistical Analysis System® (SAS Institute, Cary, USA) software version 9.3. The results were presented as mean \pm standard error of the means (SEM), and differences with $P < 0.05$ were considered significant.

3 RESULTS

3.1. Estrus responses

The responses estrus interval (h) and estrus duration (h) did not differ ($P > 0.05$) between treatments (Table 1). In G-rbFSH+reCG, 72.72% of the goats manifested estrus within 24 hours after device removal; 27.27% within 12 hours. In G-pFSH, 60%, 20% and 20% showed estrus

in 24, 12 and 48 hours, respectively. In G-rbFSH+reCG there was a greater amplitude of estrus duration (12 to 60 h), while the variation of G-pFSH was limited between 24 to 48 h. The most frequent estrus duration was 36 h in G-rbFSH+reCG (45.5%) and 48 h in G-pFSH (40.0%) (Table 2).

3.2 Superovulatory response

Both treatments provided a good superovulatory response. The total number of corpora lutea counted by transrectal ultrasonography on the day before embryo collection was 13.5 ± 1.6 in G-rbFSH+reCG and 15.5 ± 2.0 in G-pFSH, with no statistical difference ($P > 0.05$). The number of CL per ovary (left or right) and the number of luteinized anovulatory follicles (LAF) also did not differ ($P > 0.05$) between treatments (Table 1).

3.3 Assessment of follicular development

Follicular populations, categorized by size class, were evaluated on Days 3 (D3), 4 (D4), and 6 (D6) of the superovulation (SOV) protocol in both experimental groups. No significant differences ($P > 0.05$) were observed between treatments for any of the follicular size classes assessed. Small follicles, defined as those with a diameter ≤ 3.0 mm, are shown in Figure 1A. A gradual decrease in the number of follicles within this class was observed over the course of the evaluation period. Statistical analysis revealed a significant effect of time across both treatments ($P = 0.002$), with D6 differing significantly from D3 and D4, as indicated by the different superscript letters. Follicles measuring 3.1–5.0 mm (Figure 1B) and those >5.0 mm (Figure 1C) showed a progressive increase in number over the evaluation period. Statistically, the number of follicles differed significantly among days, with the highest counts observed on D6 compared to D3 and D4.

3.4 Embryo recovery

Fluid recovery reached 100% in both treatment groups (Table 1). There were no significant differences ($P > 0.05$) between treatments in the number of recovered structures, viable embryos, unfertilized structures, recovery rate, or viability rate. Similarly, no significant differences ($P > 0.05$) were observed in the number of delayed embryos, the distribution of

embryos across different morula and blastocyst stages. The percentage of goats that had viable embryos recovered was 81.8 % (9/11) in G-rbFSH+reCG and 70% (7/10) in G-pFSH.

4 DISCUSSION

From the best of our knowledge this is first study using recombinant bovine FSH in superovulation in goats. The present data confirm the possibility of simplifying ovarian superstimulation protocols with recombinant FSH also in goats, as already observed in other studies with cattle (Gutiérrez-Reinoso et al., 2022; Gutiérrez-Reinoso et al., 2023). The application of FSH in a single dose associated with a low dose of reCG 24 h before removal of the intravaginal device allowed to obtain a good superovulatory response in both treatments, and in association with the non-surgical method of embryo recovery and treatment for the prevention of premature regression of corpora lutea (PRCL), allowed to obtain embryo production results comparable to reported previously in dairy goats (Maia et al., 2020; Fonseca et al., 2022). According to Gutiérrez-Reinoso et al. (2022), the high purity and stability of the long-acting molecule are the factors responsible for allowing the reduction of applications and the simplification of SOV protocols with predictable results.

The duration of exposure to progesterone (P4) for estrus induction used in the protocol was 6 days, and associated with gonadotropic superstimulation 60 hours before removal of the intravaginal device, allowed the detection of estrus in all goats in the study, indicating the effectiveness of the treatments applied. The 6-day protocol is capable of inducing estrus efficiently when prior exposure to gonadotropins 24 hours before removal of the device, regardless of the gonadotropin used (Fatet et al., 2011; Balaro et al., 2017). The estrus intervals occurred within the expected range for the superovulated goats (Baril & Vallet, 1990), concentrating between 12 and 48 hours after the synchronization protocols.

According to the statistical data, the evaluation of follicular population according size classes on days D3, D4, and D6 of the SOV protocol indicated statistical differences between the days of evaluation, without differences between treatments. There was a decrease in the number of smaller follicles and growth in the classes of medium and large follicles consistent with gonadotropic support in both groups, which sustains follicular development for a longer period (Adams et al., 1992; Ginther, 2014).

Non-surgical (transcervical) embryo recovery proved to be effective and feasible (Maia et al., 2020), with a satisfactory number of recovered structures. No significant differences were observed in the occurrence of luteinized anovulatory follicles. The use of flunixin meglumine as a preventive treatment for premature regression of the corpus luteum (PRCL) proved to be

effective, corroborating previous studies in goats (Salles et al., 1998) and sheep (Maia et al., 2024). Although 76% of the does involved in the experiment produced viable embryos, only 20% of them produced only viable ones, without the occurrence of unfertilized oocytes or delayed embryos. There was an occurrence of delayed embryos in almost 30% of the goats, a percentage similar to that observed in goats with hydrometra that were treated and subsequently superovulated (Maia et al., 2020).

In general, both recombinant bovine FSH and pFSH were effective in inducing superovulation and producing viable embryos after non-surgical recovery. The two-application strategy with rbFSH associated with reCG represented a promising alternative, allowing simplified management, less stress to animals and welfare, while maintaining productivity compatible with traditional protocols. Studies in cattle (Gutiérrez-Reinoso et al., 2022; 2023) support the effectiveness of rbFSH in a smaller number of applications with results similar to pFSH, although they observed a slight reduction in response when used in only two applications. The literature reinforces that maintaining circulating pFSH levels for at least 2-3 days is essential for an ideal ovarian response in small ruminants (Menchaca et al., 2017). A general trend toward replacing animal hormone sources with synthetic analogs produced by recombinant DNA technology is steadily growing, including the need for a reliable supply of FSH for superovulation in livestock.

Frata et al. (2025) compared two SOV protocols in cows using 8 doses of pFSH and a single dose of rbFSH, evaluating the efficacy of the treatments according to the total number of structures recovered, unfertilized oocytes, degenerated embryos, and transferable embryos. The study period was long (2023-2024), with a sample size of 291 in the control group (pFSH) and 279 in the treatment group (rbFSH). Seven days after estrus identification, embryos were collected by uterine lavage. The results demonstrate the efficacy of rbFSH, equivalent to those of the protocol with pFSH; there were no statistical differences in the evaluated parameters. In both groups, the rate of transferable embryos and structures recovered was 60%. The number of unfertilized oocytes was higher in the tested group (0 (0–31)) compared to the control group (0 (0–26)). The number of degenerated embryos was higher in the control group (2 (0–18)) compared to the treatment group (1 (0–24)). The results corroborate the premise of an efficient alternative for the variables evaluated in SOV protocols, allowing for the inclusion of short protocols using recombinant FSH, in addition to reducing labor and the risk of administration errors. However, recombinant hormones likely differ in pharmacodynamics and pharmacokinetics, requiring specific doses and protocols (Viana et al., 2024). Adjustments in

type, dosages and timing of application can further optimize results with recombinant FSH in goats.

5 CONCLUSIONS

In the present study, both recombinant bovine FSH and pFSH were able to promote good superovulatory response and production of viable embryos after non-surgical embryo recovery. The two-management superstimulatory protocol has the potential to contribute to multiple ovulation and embryo transfer programs in small ruminants, and by simplifying management, it contributes to reduced stress, managements and potential benefices to animal welfare.

REFERENCES

- Adams G.P., Matteri, R.L., Kastelic, J.P., Ko, J.C.H., Ginther, O.J. 1992. Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *J Reprod Fertil*, 94:177-188. doi: 10.1530/jrf.0.0940177.
- Arrais, A.M., Mello, M.R.B., Vergani, G.B., Figueira, L.M., S.N., Pereira, V.S.A., Bartlewski, P.M., Oliveira, M.E., Souza-Fabjan, J.M, Fonseca, J.F., 2021. Non-surgical embryo recovery from estrus-synchronized or superovulated Morada Nova ewes: a feasible strategy for sheep embryo banking. *Biopreserv. Biobank*. 19(5), 360-368. <https://doi.org/10.1089/bio.2020.0125>.
- Balaro, M.F.A., Souza-Fabjan, J.M.G., Côrtes, L.R., Maia, A.L.R.S., Ungerfeld, R., Fonseca, J.F., Brandão, F.Z., 2017. Synchronization and induction of estrus in dairy goats [in portuguese] *Rev. Bras. Reproduction. Anim.* 41(1), 330–339. Accessed: 06/07/2025 Available at: [https://cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v41/n1/p330-339%20\(RB643\).pdf](https://cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v41/n1/p330-339%20(RB643).pdf)
- Baril, G., Vallet, J.C., 1990. Time of ovulations in dairy goats induced to superovulate with porcine follicle stimulating hormone during and out of the breeding season. *Theriogenology*, 34(2), 303-311. [https://doi.org/10.1016/0093-691x\(90\)90523-v](https://doi.org/10.1016/0093-691x(90)90523-v).
- Cabeza, O. I., Parra, N., Cerro, R., Mansilla, R., Sanchez, R.Z., Gutiérrez-Reinoso, M., Escribano, E.H., Castillo, R., Rodriguez-Alvarez, L., Tavares, K., Gaudencio, S., Martins, L., Hugues, F.L., Acosta, J., Moreno, E., Montesino, R., García-Herreros, M., Casanova, F.C., Toledo, J.R., Sanchez, O., 2024. Development and characterization of a novel variant of long-acting bovine follicle-stimulating hormone (brscFSH). *Theriogenology* 226, 76–86. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2024.05.038>.
- Carvalho, P.D., Hackbart, K.S., Bender, R.W., Baez, G.M., Dresch, A.R., Guenther, J.N., Souza, A.H., Fricke, P.M., 2014. Use of a single injection of long-acting recombinant bovine FSH to superovulate Holstein heifers: A preliminary study. *Theriogenology*, v. 82, p. 481–489, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.05.011>.
- Cattaneo, L., Prieto, C., Ojeda, D., Pereira, A., Frutos, J., Bó, G., 2024. The use of a recombinant equine chorionic gonadotropin (reCG) in fixed-time AI programs in beef cattle.

Theriogenology 227, 77-83. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2024.07.011>.

Côrtes, L. R., Martins, A.L., Rangel, P.S.C., Tavares, R.I., Freitas, B.W., Souza-Fabjan, J.M.G.; Fonseca, J.F.. Superovulatory parameters and embryo yield in donor goats subjected to different durations of progestogen treatment and non-surgical embryo recovery. In: 36TH Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE), 2023, Campinas. Proceedings of the 36TH Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE). Belo Horizonte: Anim. Reprod., 2023. v. 20.

Fatet, A., Pellicer-Rubio, M.T., Leboeuf, B., 2011. Reproductive cycle of goats. Anim. Reprod. Sci. 124, 211–219. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.029>.

Figueira, L.M., Alves, N.G., Souza-Fabjan, J.M.G., Oliveira, M.E.F., Lima, R.R., Souza, G.N., Fonseca, J.F., 2020. Preovulatory follicular dynamics, ovulatory response and embryo yield in Lacaune ewes subjected to synchronous estrus induction protocols and nonsurgical embryo recovery. Theriogenology 145, 238–246. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.11.004>.

Fonseca, J.F., Vergani, G.B., Lima, M.S.D., Silva, K.M., Monteiro, A.W.U., Ramos, A.F., Alves, B.R.C., Souza-Fabjan, J.M.G., Oliveira, M.E.F., Batista, R.I.T.P., 2022. Nonsurgical Embryo Recovery as a Feasible Tool for Supporting Embryo Biobanks of Locally Adapted Brazilian Sheep and Goats. Biopreserv Biobank. 20:6. <https://doi.org/10.1089/bio.2021.0066>.
Fonseca, J.F., Oliveira, M.E.F, Protocolos Embrapa para superovulação de cabras e ovelhas. Documentos Embrapa CT201. ISSN 1676-767. Available at: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1128193/1/CNPC-2020-Art.55.pdf>

Frata, M.M., Lima, W.M., Rovani, M.T., Ferreira, R., Souza, A.H., Mondadori, R.G., Gonçalves, P.B.D., Bordignon, V., Gasperin, B.G., 2025. Single-dose recombinant FSH as a viable alternative to multi-dose porcine FSH in commercial superovulation protocols in cows. Theriogenology v244, 117498. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2025.117498>.

Ginther, O.J., 2014. How ultrasound technologies have expanded and revolutionized research in reproductio.n in large animals. Theriogenology 81, 112–125.

<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.09.007>.

Gutiérrez-Reinoso, M.A., Aguilera, C.J., Navarrete, F., Cabezas, J., Castro, F.O., Cabezas, I., Sánchez, O., García-Herreros, M., Rodríguez-Alvarez, L., 2022. Effects of extra-long-acting recombinant bovine FSH (bscrFSH) on cattle superovulation. *Animals*, 12(2), p.153. <https://doi.org/10.3390/ani12020153>.

Gutiérrez-Reinoso, M.A., Arreseigor, C.J., Driedger, B., Cabezas, I., Hugues, F., Parra, N.C., Sánchez, O., Toledo, J.T., Garcia-Herreros, M. Effects of recombinant FSH (bscrFSH) and pituitary FSH (FSH-p) on embryo production in superovulated dairy heifers inseminated with unsorted and sex-sorted semen. *Anim. Reprod. Sci.* 252, 107226. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2023.107226>.

Holtz, G., 2005. Recent developments in assisted reproduction in goats. *Small Ruminant Research* 60(1–2), 95-110. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.06.032>.

Khan, S., Jamal, M.A., Khan, I.M., Ullah, I., Jabbar, A., Khan, N.M., Liu, Y., 2023. Factors affecting superovulation induction in goats (*Capra hircus*): An analysis of various approaches. *Front Vet Sci* 10:1152103. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1152103>.

Khodadadi, A., Niasari-Naslaji, A., Nikjou, D., Mohammadi, B., 2022. Superovulation of high-producing Holstein lactating dairy cows with human recombinant FSH and hMG. *Theriogenology* 191, 239–244, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.08.010>.

Lôbo, A.M.B.O., Lôbo, R.N.B., Facó, O., Souza, V., Alves, A.A.C., Costa, A.C., Albuquerque, M.A.M., 2017. Characterization of milk production and composition of four exotic goat breeds in Brazil. *Small Rumin. Res.* 153, 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.05.005>.

Maciel, G.S., Rodriguez, M.G.K., Santos, V.C.J., Uscategui, R.A.R., Nociti, R.P., Maronezi, M.C., Oliveira, C.S., Feliciano, M.A.R., Vicente, W.R.R., Fonseca, J.F., Oliveira, M.E.F., 2019. Follicular dynamics and *in vivo* embryo production in Santa Inês ewes treated with small doses of pFSH. *Anim. Reprod. Sci.* 209, 106137. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106137>.

Maia, A.L.R.S., Arrais, A.M., Prellwitz, L., Batista, R.I.T.P., Figueira, L.M., Correia, L.F.L., Fonseca, J.F., Souza-Fabjan, J.M.G., 2020. Embryo development is impaired in goats that are treated for hydrometra and subsequently subjected to superovulation. *Vet. Rec.* 187, e88.

<https://doi.org/10.1136/vr.105906>.

Maia, A.L.R., Figueira, L.M., Rocha, M.S., Pinheiro, J.B.S., Oliveira, T.A., Brandão, F.Z., Fonseca, J.F., Oliveira, M.E.F., Oliveira, C.A., Souza-Fabjan, J.M.G., 2024. Effect of flunixin meglumine on luteal function in superovulated ewes. *Anim. Reprod. Sci.*, 270:107595.

<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2024.107595>.

Menchaca, A., Neto, C., Cuadro, F., 2017. Estrous synchronization treatments in sheep: brief update. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 41, 340–344. Accessed: 06/07/25 Available at:

[https://www.cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v41/n1/p340-344%20\(%20RB647\).pdf](https://www.cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v41/n1/p340-344%20(%20RB647).pdf)

Salles, H.O., Soares, A.T., Andrioli, A., Sobrinho, P.A.M., Azevedo, H.C., 1998. Different dosages of flunixin meglumine for controlling premature regression of the corpus luteum in superovulated goats. *Cienc. Anim.* 8, 69–74. Accessed on: March 3, 2025. Available at:

<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/515259/1/apijantesposologias.pdf>.

Stringfellow, DA, Givens, MD, 2010. *Manual of the International Embryo Transfer Society (IETS)*. 4th edition. International Embryo Technology Society, Champaign, IL.

Viana, J.H.M., Moura, R.M., Martins, L.P., Figueiredo, R.A., Siqueira, L.G.B., Fernandes, C.A.C., 2024. Superovulating cattle with corifollitropin-alpha, a long-acting recombinant human FSH (rhFSH): Dose-response, half-life, effects on the ovaries, and embryo outcomes. *Theriogenology* 226, p.302-307. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2024.06.033>.

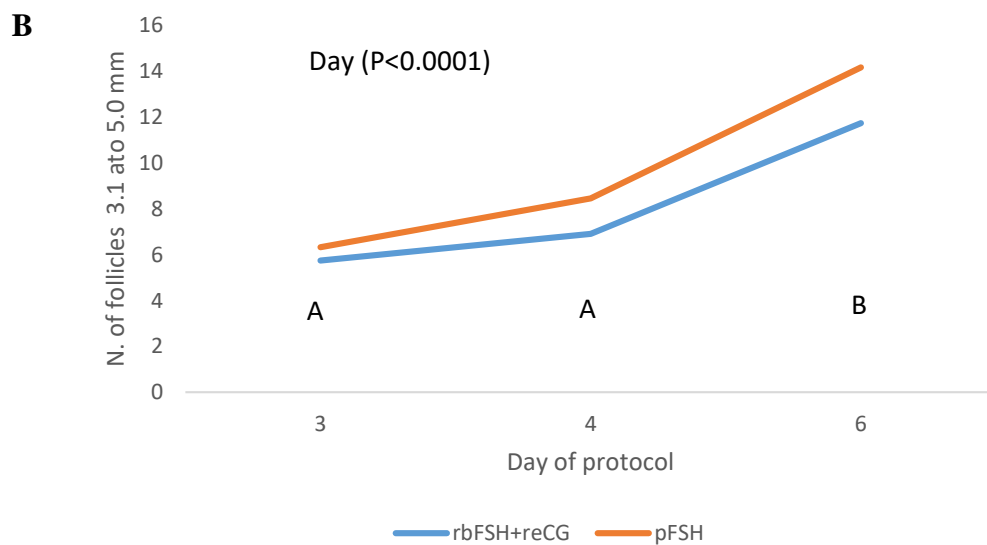
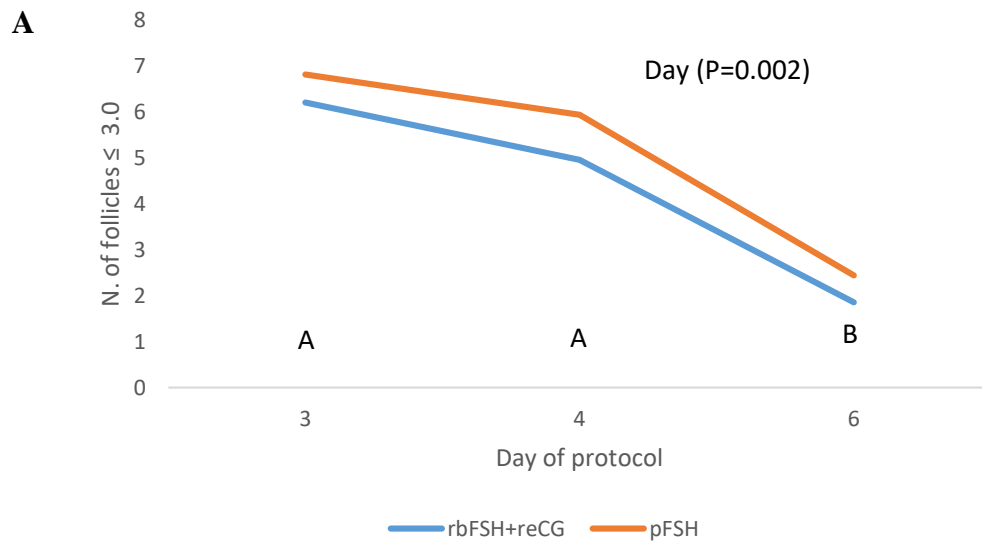
Table 1: Parameters analyzed in goats submitted to the 6-day estrus synchronization protocol with intravaginal progesterone device associated with administration of rbFSH (100 µg, single dose) in G-rbFSH+reCG; and FSH (333 IU, six decreasing doses) in G-pFSH; and non-surgical embryo recovery eight days after removal of the device (Mean ± SEM).

Variable	(G-rbFSH+reCG)		(G-pFSH)		<i>P</i> -value
Estrus interval	20.7 ± 1.7	[12.0 – 24.0]	26.4 ± 3.9	[12.0 – 48.0]	0.18
Duration of estrus	32.7 ± 4.3	[12.0 – 60.0]	37.2 ± 3.3	[24.0 – 48.0]	0.41
CL in left ovary(<i>n</i>)	6.8 ± 1.0	[1– 12]	8.3 ± 1.0	[5 – 15]	0.43
CL in right ovary (<i>n</i>)	5.9 ± 1.0	[0 – 11]	7.2 ± 1.0	[3– 12]	0.45
Total CL (<i>n</i>)	13.5 ± 1.6	[7 – 23]	15.5 ± 2.0	[8 – 27]	0.45
LAF (<i>n</i>)	2.2 ± 0.9	[0 – 8]	0.9 ± 0.4	[0.00 – 3.00]	0.2
Ewes with PRCL(%)	9.1 ± 0.0	[1/11]	0.0 ± 0.0	[0/10]	1.00
Fluid Recovery (%)	100.0 ± 0.0	[100]	100.00 ± 0.00	[100]	1.00
Recovered Structures (<i>n</i>)	8.5 ± 1.5	[0 – 17]	10.5 ± 2.7	[0 – 24]	0.77
Recovery Rate (%)	52.5 ± 7.4	[0.0 – 82.5]	58.9 ± 11.0	[0.0 – 100.0]	0.63
Viable embryos (<i>n</i>)	4.5 ± 1.3	[0– 13]	6.6 ± 2.1	[0 – 19]	0.72
Viability Rate (%)	52.6 ± 12.4	[0.0 – 100.0]	50.0 ± 12.8	[0.0 – 100.0]	0.8
Unfertilized (<i>n</i>)	4.1 ± 1.6	[0 – 17]	2.9 ± 1.7	[0 – 17]	0.55
Embryos with delayed development embryos (<i>n</i>)	0.5 ± 0.4	[0 – 4]	0.5 ± 0.3	[0.00 – 3.00]	0.96
Morula	0.5 ± 0.3	[0 ± 3]	1.2 ± 0.4	[0.00 ± 4.00]	0.18
Compact morula (<i>n</i>)	1.4 ± 0.6	[0 – 7]	1.0 ± 0.5	[0 – 5]	0.76
Total morulae (<i>n</i>)	1.9 ± 0.8	[0 – 9]	2.2 ± 0.9	[0 – 8]	0.97
Initial blastocyst (<i>n</i>)	0.2 ± 0.1	[0 – 1]	0.10 ± 0.1	[0 – 1.0]	0.64

Blastocyst (<i>n</i>)	1.4 ± 0.5	[0 – 4]	2.4 ± 1.1	[0 – 12]	0.53
Expanded blastocyst (<i>n</i>)	1.1 ± 0.5	[0.00 – 4.00]	1.7 ± 1.5	[0 – 15]	0.50
Hatched blastocyst (<i>n</i>)	0.0 ± 0.0	[0]	0.1 ± 0.1	[0.00 – 1.00]	0.34
Total blastocyst (<i>n</i>)	2.63 ± 0.9	[0 – 9]	4.0 ± 2.0	[0 – 18]	1.0

Note: * Results were expressed as mean ± standard error of the means (SEM), and differences were accepted as statistically significant when $P < 0.05$.

[] Min – Max.



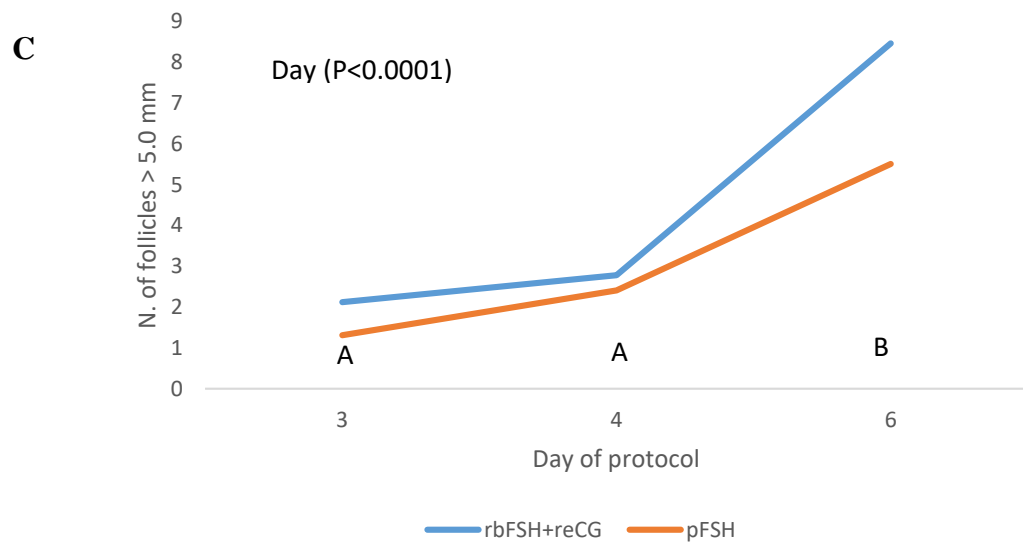


Figure 2. Endpoints of ovarian antral follicle populations according to size classes: (A) small - < 3.0 mm, (B) medium - 3.1 to 5.0 mm, and (C) large > 5.0 mm) during the superovulatory treatment period (days 3, 4 and after device insertion) in a 6-day progesterone-based protocol for estrus synchronization.

Table 2. Percentage of goats according to estrus duration (h) after removal of the intravaginal progesterone device in a 6-day estrus synchronization protocol associated with administration of rbFSH (100 µg) single dose in G-rbFSH+reCG; and G-pFSH (333 IU) in six decreasing doses.

Duration (h)	G-rbFSH+reCG		G-pFSH	
	Frequency	Percentage	Frequency	Percentage
12	2	18.2%	0	0%
24	2	18.2%	3	30%
36	5	45.5%	3	30%
48	1	9.1%	4	40%
60	1	9.09%	0	0%

Anexo 1.



Embrapa Gado de Leite

Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Estratégias para aumentar a produção e taxa de gestação em cabras doadoras e receptoras de embriões: Fase 2 (Fapemig - APQ-00448-24)", protocolada sob o CEUA nº 2909260324 (ID 000571), sob a responsabilidade de **Jeferson Ferreira da Fonseca e equipe; Shara Eliete Davi Silva; Mariana Garcia Kako Rodriguez; Luana Rangel Côrtes; Jeferson Ferreira da Fonseca; Luiz Gustavo Bruno Siqueira; Lucas Machado Figueira** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Embrapa Gado de Leite (CEUA/EGL) na reunião de 05/09/2024.

We certify that the proposal "Strategies to increase production and pregnancy rate in embryo donor and recipient goats: Phase 2 (Fapemig - APQ-00448-24)", utilizing 120 Caprines (30 males and 90 females), protocol number CEUA 2909260324 (ID 000571), under the responsibility of **Jeferson Ferreira da Fonseca and team; Shara Eliete Davi Silva; Mariana Garcia Kako Rodriguez; Luana Rangel Côrtes; Jeferson Ferreira da Fonseca; Luiz Gustavo Bruno Siqueira; Lucas Machado Figueira** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethic Committee on Animal Use of the Embrapa Gado de Leite Corporate (CEUA/EGL) in the meeting of 09/05/2024.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)Vigência da Proposta: de [09/2024](#) a [12/2026](#) Área: [Chefia-Adjunta de Pesquisa E Desenvolvimento](#)

Origem:	Campo Experimental José Henrique Bruschi		
Espécie:	Caprinos	sexo: Fêmeas	idade: 18 a 60 meses
Linhagem:	Mestiça		Peso: 35 a 60 kg
Quantidade:	90		
Origem:	Campo Experimental José Henrique Bruschi		
Espécie:	Caprinos	sexo: Machos	idade: 1 a 5 anos
Linhagem:	Mestiça		Peso: 30 a 80 kg
Quantidade:	30		

Juiz de Fora, 05 de setembro de 2024

Dr. Rui da Silva Verneque
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Embrapa Gado de Leite

Marcelo Porto Bemquerer
Vice-Coodenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Embrapa Gado de Leite