Ciência Animal Brasileira
Brazilian Animal Science

DOI: 10.1590/1809-6891v27e-83388P

e-ISSN 1809-6891
Zootecnia | Artigo científico

Avaliação prévia da dinâmica folicular ovariana como indicador para iniciar protocolo de superovulação em cabras Toggenburg acíclicas

[Previous evaluation of ovarian follicular dynamics as an indicator to initiate superovulation protocol in acyclic Toggenburg goats]

Joedson Dantas Gonçalves[1], Ana Lucia Rosa e Silva Maia[2], Luciana Vieira Esteves[3], Márcio Roberto Silva[3], Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan[2], Maria Emilia Franco Oliveira[1,4], Felipe Zandonadi Brandão[2], Jeferson Ferreira Fonseca*[4]

1 Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, São Paulo, Brasil
2 Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, Rio de Janeiro, Brasil
3 Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA Gado de Leite), Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil
4 Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA Caprinos e Ovinos), Coronel Pacheco, Minas Gerais, Brasil

*autor correspondente: jeferson.fonseca@embrapa.br

Recebido: 14 de julho de 2025. Aceito: 24 de fevereiro de 2026. Publicado: 02 de abril de 2026.
Editores: Rondineli P. Barbero e José Felipe W. Spricigo

Resumo: Este estudo avaliou a dinâmica folicular ovariana durante a indução do estro para identificar o melhor momento para iniciar a superovulação (SOV) em cabras Toggenburg acíclicas. No Experimento 1, cabras (n = 6) foram submetidas à indução do estro com esponjas (60 mg de acetato de medroxiprogesterona) por seis dias, associada a 37,5 µg de d-cloprostenol via laterovulvar (l.v.) no D0. A ultrassonografia ovariana foi realizada do D0 até a ovulação (D9). A população folicular (Classe 1, ≤ 3,9 mm) aumentou gradualmente, atingindo seu pico máximo no D4, no qual foram observados menos folículos de Classe 3 (5.0 a 5,9 mm) e Classe 4 (≥ 6 mm) em comparação à Classe 1 (P < 0,0001). Considerando o perfil folicular ovariano no Exp. 1, a SOV no Exp. 2 foi iniciada no primeiro dia que apresentou o maior número de folículos ≤ 3,9 mm, com apenas alguns folículos ≥ 6 mm (D4). As cabras foram divididas em dois grupos, superovuladas (G_{SOV}, n = 10) ou não ($G_{não\text{-}SOV}$, n = 10), posteriormente, submetidas à coleta não cirúrgica de embriões (CNCE). Não houve diferença na resposta ao estro entre Gnão-SOV (100 %) e G_{SOV} (90 %) (P > 0,05). G_{SOV} teve maior contagem média de corpos lúteos e maior média de estruturas recuperadas (10,8 ± 0,2 e 6,3 ± 0,8) em comparação com $G_{não\text{-}SOV}$ (1,6 ± 0,3 e 1,0 ± 0,2), respectivamente (P < 0,05). A taxa de estruturas viáveis foi maior em $G_{não\text{-}SOV}$ (60 %) em comparação com G_{SOV} (10,5 %) (P < 0,05). O uso do perfil ovariano para superovulação em cabras acíclicas parece ser apropriado, no entanto, requer mais investigação, particularmente em relação ao momento da administração de hormônio folículo estimulante (FSH) dentro da onda folicular.

Palavras-chave: caprino; FSH; CNCE; progesterona.

Abstract: This study evaluated ovarian follicular dynamics during estrus induction to determine the optimal time to initiate superovulation (SOV) in acyclic Toggenburg goats. In Experiment 1, goats (n = 6) underwent estrus induction using intravaginal sponges containing 60 mg medroxyprogesterone acetate for six days, combined with 37.5 µg d-cloprostenol administered via the laterovulvar (l.v.)

Copyright ©. Este é um artigo em acesso aberto distribuído nos termos da Creative Commons Attribution License que permite o uso irrestrito, a distribuição e reprodução em qualquer meio desde que o artigo original seja devidamente citado.

route on Day 0 (D0). Ovarian ultrasonography was performed daily from D0 until ovulation (D9). The population of Class 1 follicles (≤ 3.9 mm) progressively increased, reaching a maximum on D4. On this day, significantly fewer Class 3 (5.0 - 5.9 mm) and Class 4 (≥ 6.0 mm) follicles were observed compared with Class 1 follicles ($P < 0.0001$). Based on the follicular profile identified in Experiment 1, SOV in Experiment 2 was initiated on D4, the first day characterized by the highest number of follicles ≤3.9 mm and a minimal number of follicles ≥6 mm. Goats were allocated into two groups: superovulated (G_{SOV}, n = 10) and non-superovulated ($G_{non-SOV}$, n = 10), followed by nonsurgical embryo recovery (NSER). No difference in estrus response was observed between $G_{non-SOV}$ (100 %) and GSOV (90 %) ($P > 0.05$). However, G_{SOV} exhibited a greater mean corpora lutea count and a superior mean number of recovered structures (10.8 ± 0.2 and 6.3 ± 0.8, respectively) compared with $G_{non-SOV}$ (1.6 ± 0.3 and 1.0 ± 0.2, respectively). Conversely, the proportion of viable structures was superior in $G_{non-SOV}$ (60 %) than in G_{SOV} (10.5 %) ($P < 0.05$). These findings suggest that ovarian follicular profiling may be a suitable approach for guiding SOV in acyclic goats. However, further investigation is warranted, particularly regarding the optimal timing of follicle-stimulating hormone (FSH) administration within the follicular wave.

Keywords: caprine; FSH; NSER; progesterone.

1. Introdução

A eficiência da produção de embriões *in vivo* em cabras tem sido associada a diversos fatores intrínsecos e extrínsecos [1]. Raça, nutrição, doses, tipos e combinações de gonadotrofinas, duração do tratamento com progestágeno/progesterona e estágio folicular ovariano no início da superovulação (SOV) têm sido amplamente estudados para melhorar a produção de embriões [2]. Apesar dos esforços para controlar essas variáveis, a eficiência da produção de embriões permanece limitada pela variabilidade da resposta da SOV e pela sazonalidade reprodutiva [3].

Cabras leiteiras criadas em condições tropicais, como na região sudeste do Brasil, apresentam sazonalidade reprodutiva demonstrada pela ausência de comportamento sexual e ovulação [4], principalmente cabras leiteiras de raças especializadas, como é o caso da Toggenburg. Nesse contexto, a eficiência dos programas de SOV em cabras ainda representa um desafio, devido à alta variabilidade na resposta aos tratamentos superovulatórios [2]. Consequentemente, a existência de variações na população folicular deve ser considerada ao desenvolver um protocolo de SOV para coleta de embriões. Já está estabelecido que, durante o período de anestro, embora não haja ovulação, a dinâmica folicular continua a ocorrer com o crescimento e desenvolvimento dos folículos, progredindo do estágio antral para o dominante sob a influência do hormônio folículo-estimulante (FSH) [5]. Portanto, a implementação de protocolos de SOV baseados em fases específicas da onda folicular pode melhorar os resultados da coleta de embriões em fêmeas acíclicas.

Em vacas da raça Holandesa, Kim et al. [6] demonstraram que a remoção do folículo dominante 48h antes da superestimulação acelerou o crescimento folicular e aumentou o número de folículos médios e grandes, corpos lúteos e a concentração de progesterona (P_4). Em cabras, Menchaca et al. [7] iniciaram a superestimulação com FSH na ausência de um folículo dominante em comparação com um protocolo convencional, resultando em um maior número de corpos lúteos e uma maior recuperação de embriões. Esses achados apoiam estratégias que visam prevenir a dominância folicular para promover um recrutamento folicular mais homogêneo e aprimorar as respostas ovulatórias e embrionárias.

Estudos de SOV raramente fornecem avaliações simultâneas em doadoras não estimuladas, possivelmente devido ao custo e às restrições logísticas associadas à coleta cirúrgica de embriões. Nesse contexto, a coleta não cirúrgica de embriões (CNCE) pode possibilitar a comparação da eficiência da produção de embriões em animais superovulados e não estimulados em condições equivalentes [8]. Sendo assim, considerando a ultrassonografia transretal em modo B usada para avaliar a dinâmica folicular ovariana, este estudo foi delineado para testar se o conhecimento prévio da dinâmica folicular ovariana, associada à indução do estro, poderia fornecer informações decisivas para a escolha do melhor momento para iniciar o tratamento com SOV durante o ponto mais apropriado da onda de crescimento folicular em cabras Toggenburg acíclicas, bem como para comparar os resultados da produção de embriões após protocolos com e sem SOV.

2. Material e métodos

2.1. Ética, local, período, animais e delineamento experimental

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Fluminense (0116-2011). O estudo foi realizado em uma propriedade de cabras leiteiras em Piau, região da Zona da Mata, Minas Gerais, Brasil (21º 35' S, 43º 15' O, 435 m de altitude), durante o período de anestro (setembro a dezembro). De acordo com Balaro et al. [4], o anestro sazonal em cabras leiteiras em uma região tropical semiúmida ocorre entre o final de agosto e meados de dezembro, com concentrações de P_4 próximas de zero. Durante o experimento, os animais foram alojados em baias coletivas e alimentados com ração concentrada balanceada, silagem de milho, capim-elefante picado (*Pennisetum purpureum*) e/ou cana-de-açúcar, além de água e sal mineral *ad libitum.*

Os animais foram pré-selecionados para o estudo com base na ausência de corpo lúteo em duas avaliações ultrassonográficas consecutivas, realizadas sete dias antes do início dos protocolos hormonais. O estudo incluiu dois experimentos sequenciais (Exp. 1 e 2). No Exp. 1, cabras pluríparas (n = 6, escore de condição corporal (ECC): 2,8 ± 0,1 e peso corporal: 53,1 ± 4,3 kg) foram submetidas à indução do estro utilizando esponjas intravaginais (60 mg de acetato de medroxiprogesterona; MAP; Progespon®, SD Saúde Animal, São Paulo, Brasil) inseridas por seis dias, além da administração de 37,5 µg de d-cloprostenol via laterovulvar (l.v.) no momento da inserção da esponja. O número e o diâmetro dos folículos antrais, bem como o dia de surgimento da onda folicular e da ovulação, foram verificados por ultrassonografia. O estro foi monitorado duas vezes ao dia (08:00 e 18:00) utilizando machos adultos. Com base no perfil da população folicular ovariana do Exp. 1, o dia provável de surgimento da onda folicular foi identificado como o primeiro dia que apresentou o maior número de folículos ≤ 3,9 mm e o menor número de folículos ≥ 6 mm.

O Exp. 2 foi conduzido com base no perfil folicular ovariano identificado no Exp. 1. As cabras (Superovuladas, G_{SOV}, n = 10, ECC: 3,4 ± 0,2 e peso corporal: 61,8 ± 2,9 kg) ou (Não-superovuladas, $G_{não\text{-}SOV}$, n = 10, ECC: 3,2 ± 0,3 e peso corporal: 61,8 ± 5,2 kg) foram submetidas à indução do estro utilizando dispositivo intravaginal de liberação controlada de P_4 (CIDR®, 0,33 g de progesterona; Zoetis, São Paulo, Brasil) por seis dias e 37,5 µg de d-cloprostenol l.v. no Dia 0 (D0). O grupo $G_{não\text{-}SOV}$ recebeu 37,5 µg de d-cloprostenol l.v., além de 200 UI de eCG (Novormon 5000®, Zoetis, São Paulo, Brasil) intramuscular (i.m.) no D6, e o grupo G_{SOV} recebeu 200 mg de FSH (Folltropin-V®, Vetoquinol, Ontário, Canadá) via i.m. em seis doses decrescentes (25-25-15-15-10-10 %), iniciando no D4 (conforme definido no Exp. 1), e duas doses de 37,5 µg

de d-cloprostenol via I.v. (D6 e D6,5). Ambos os grupos receberam três doses de 2,2 mg/kg de flunixin meglumine (Banamine®, Intervet, Rio de Janeiro, Brasil) via i.m. nos dias D9,5, D10,5 e D11,5, e 37,5 µg de d-cloprostenol via i.m. na CNCE no D14.

Após a remoção do dispositivo intravaginal, o comportamento de estro foi monitorado e as fêmeas foram acasaladas a cada 12h até o final do estro. Para o acasalamento, foram utilizados bodes adultos sob monta controlada, respeitando-se uma proporção máxima de 1:4 (bode:cabra). Os bodes foram submetidos a exame andrológico para avaliação da qualidade do sêmen antes de serem submetidos a monta. O procedimento de CNCE foi realizado de acordo com Fonseca et al. [8]. Posteriormente, os oócitos/embriões recuperados foram identificados e classificados de acordo com Mapletoft et al. [9].

2.2 Dinâmica ovariana

No Exp. 1, exames ultrassonográficos (US) foram realizados em intervalos de 24 h do D0 ao D6 e, posteriormente, em intervalos de 12h do D6 ao D9 ou até a ovulação. No Exp. 2, os ovários foram identificados e o número e a localização dos folículos ovarianos foram registrados a cada 12h, começando no dia da primeira dose de FSH e continuando até a ovulação. A primeira ovulação foi definida como o desaparecimento de pelo menos um folículo grande visualizado durante o exame anterior, conforme descrito por Arashiro et al. [10]. O número de corpos lúteos (CL) foi determinado por US 24h antes da CNCE. O monitoramento do padrão de ondas foliculares (Exp. 1) e a avaliação da resposta superovulatória (contagem de CL; Exp. 2) foram identificados por US em modo B (Mindray M5 Vet, Shenzhen, China) com um transdutor linear multifrequencial de 7,5 MHz adaptado para pequenos ruminantes. Os folículos foram classificados de acordo com o diâmetro em quatro categorias: folículos pequenos (Classe 1, ≤ 3,9 mm), folículos médios (Classe 2, 4,0 a 4,9 mm), folículos grandes (Classe 3, 5,0 a 5,9 mm) e folículos pré-ovulatórios (Classe 4, ≥ 6,0 mm). A onda folicular foi definida como uma coorte de folículos emergentes que cresceram de 2,5 a 3,9 mm [11]. O dia selecionado para iniciar o tratamento de SOV foi determinado com base na identificação da onda folicular ovulatória do Exp. 1. Considerou-se prioritariamente o dia com menor número de folículos de Classe 4 e, secundariamente, o dia com o maior número de folículos de Classe 1. Na ocorrência de mais de um dia com o mesmo número de folículos de Classe 3 e 4 (ou seja, de 5,0 a 5,9 e ≥ 6,0 mm). A utilização dessas classes de tamanho folicular (≤ 3,9 mm; 4,0 a 4,9 mm; 5,0 a 5,9 mm; ≥ 6,0 mm) teve como objetivo proporcionar uma distribuição mais precisa dos estágios intermediários do crescimento folicular, permitindo assim uma avaliação mais detalhada da resposta ovariana ao protocolo hormonal empregado.

2.3 Coleta de sangue e análises hormonais

Amostras de sangue foram coletadas por punção venosa jugular em tubos contendo anticoagulante para determinar as concentrações plasmáticas de P_4 do D0 ao D14 e as concentrações de estradiol (E_2) em três momentos: no dia da ovulação, 24h após a ovulação e dia da CNCE. As concentrações plasmáticas de P_4 foram medidas por radioimunoensaio em fase sólida (RIA) (sensibilidade: 0,05 ng/mL, coeficientes de variação intra-ensaio (CV): 10 %) e as concentrações de E_2 foram determinadas por RIA em fase líquida (sensibilidade: 5 pg/mL, CV: 7 %) utilizando kits comerciais (MP Biomedicals, LLC, Diagnostics Division, Orangeburg, NY, EUA).

2.4 Análise estatística

As análises estatísticas dos Experimentos 1 e 2 foram realizadas utilizando o software SIRVAR 5.3. Os dados paramétricos foram analisados por análise de variância (ANOVA), e as médias foram comparadas utilizando o teste t de Student ou o teste post hoc de Student-Newman-Keuls (SNK), conforme apropriado. As variáveis qualitativas dicotômicas foram avaliadas utilizando tabelas de contingência e analisadas pelo teste do qui-quadrado (χ^2). A significância estatística foi definida em $P < 0,05$.

3. Resultados e discussão

Até onde temos conhecimento, este é um dos poucos estudos em cabras que utilizaram o conhecimento prévio dos padrões de ondas foliculares ovarianas para determinar o momento ideal para iniciar a SOV, com o objetivo de evitar folículos dominantes e priorizar o recrutamento de folículos mais jovens.

Embora a administração de d-cloprostenol em fêmeas em anestro com ausência de corpo lúteo detectável por ultrassonografia possa parecer contraditório, sua aplicação se baseia em considerações estratégicas. O anestro pode variar entre indivíduos e ovulações esporádicas podem ocorrer; portanto, o d-cloprostenol garante a lise de qualquer tecido luteal funcional, padronizando assim o estado hormonal do grupo. Além disso, o experimento foi realizado em uma propriedade comercial de cabras leiteiras, em condições de campo, onde o isolamento completo dos machos não foi possível. Isso pode ter induzido um "efeito macho" não intencional, potencialmente desencadeando ovulações silenciosas e a formação de C L não detectados no exame ultrassonográfico inicial. Adicionalmente, o d-cloprostenol pode exercer um efeito benéfico sobre o útero, promovendo sua limpeza e, consequentemente, otimizando o ambiente uterino para a implantação embrionária pós acasalamento ou inseminação artificial. Por fim, deve-se considerar que, em latitudes próximas ao Equador, a sazonalidade reprodutiva é atenuada pelo fotoperíodo constante. Portanto, raças como a Toggenburg, quando submetidas a um plano nutricional adequado, podem apresentar atividade poliéstrica quase contínua, o que corrobora com a justificativa para o protocolo empregado.

No Exp. 1, a população folicular predominante ao longo do período de observação consistiu em folículos pequenos e médios (Classes 1 e 2) em comparação com folículos grandes e pré-ovulatórios (Classes 3 e 4, respectivamente) ($P < 0,0001$) (Fig. 1).

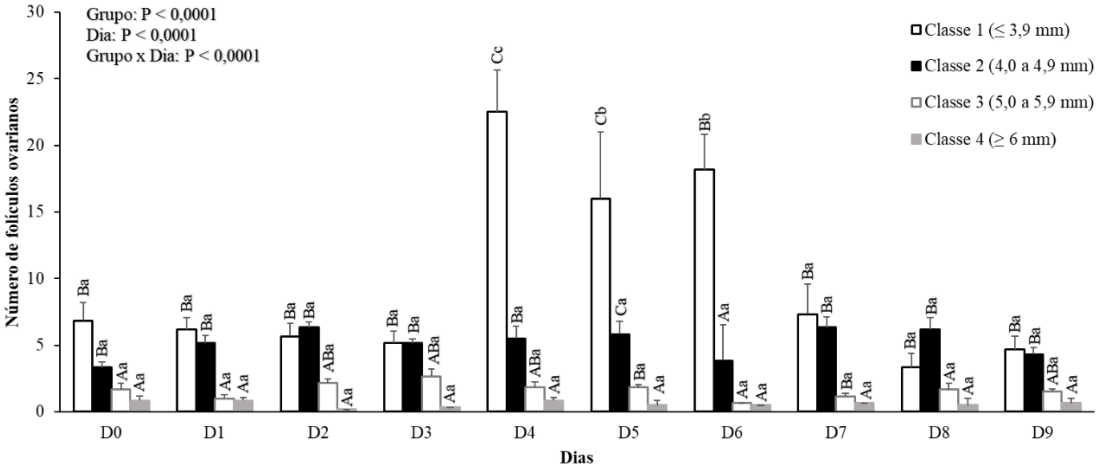

Figura 1. Número médio de folículos identificados e classificados por tamanho (Classe 1, ≤ 3,9 mm; Classe 2, de 4,0 a 4,9 mm; Classe 3, de 5,0 a 5,9 mm e Classe 4, ≥ 6,0 mm) em cabras Toggenburg submetidas à indução do estro (Exp. 1). [A,B] As médias com letras maiúsculas comparam as classes de tamanho folicular em cada dia. [a,b] As médias com letras minúsculas comparam os dias em cada classe de tamanho folicular (teste de Student-Newman-Keuls; P < 0,05).

A população de folículos de Classe 1 variou entre os dias, com um pico significativo no número de folículos (≤ 3,9 mm) observado no D4 em comparação com os outros momentos avaliados (P < 0,0001), indicando recrutamento intenso de pequenos folículos e o surgimento de uma nova onda folicular. Assim, o dia D4 foi selecionado para iniciar o tratamento de SOV, correspondendo a 48 h antes da remoção do dispositivo. No D4, um maior número folículos pequenos (Classe 1), sugeriu que o folículo dominante presente desde o D0, estava em processo de atresia. Esse estado fisiológico favoreceu o recrutamento de uma nova coorte folicular, como evidenciado pelo aumento no número de folículos pequenos. Assim, seis dias de tratamento com progestágeno parecem promover a regressão funcional do folículo dominante, permitindo o recrutamento sincronizado de uma nova onda folicular e definindo um momento mais apropriado para iniciar o tratamento de SOV. A caracterização das populações foliculares para orientar os protocolos de indução do estro e produção de embriões em cabras acíclicas durante a estação de anestro é essencial para otimizar a eficiência reprodutiva ao longo do ano. No entanto, os dados que sustentam essa abordagem ainda são limitados.

Apesar da considerável variabilidade, o Exp. 1 demonstrou um maior número de folículos em D4, D5 e D6. A estratégia de superovulação foi, portanto, concebida para minimizar os efeitos deletérios dos folículos dominantes, que podem suprimir a secreção de FSH e comprometer o crescimento de folículos subordinados, ou alternativamente, para iniciar a suplementação de FSH quando a maioria dos folículos responde à estimulação por gonadotrofinas. Quatro dias após a inserção do dispositivo intravaginal de P_4, observou-se o maior número de folículos pequenos e um número reduzido de folículos grandes. Contudo, a presença de folículos dominantes pode prejudicar o desenvolvimento de folículos gonadotróficos dependentes (3 a 5 mm), suprimindo o FSH e induzindo atresia [12]. No presente estudo, embora o D4 tenha apresentado número elevado de folículos de Classe 1, folículos de Classe 4 ainda estavam presentes e podem ter influenciado o desenvolvimento de folículos menores. Veiga-Lopez et al. [5] relataram que a população folicular ideal o início da SOV consiste na ausência de folículos grandes e um alto número de folículos responsivos a gonadotrofinas. É importante ressaltar que o Exp. 1, utilizou esponjas intravaginais contendo 60 mg de acetato de medroxiprogesterona, enquanto no Exp. 2, o estro foi induzido

utilizando um CIDR contendo 0,33 g de P_4. Diferenças na fonte de P_4 e no perfil de liberação podem ter influenciado a dinâmica folicular entre os protocolos, afetando potencialmente tanto a quantidade quanto a qualidade dos embriões coletados.

No presente estudo, a contagem média de CL das cabras induzidas ao estro sincronizado (n = 1,6) foi considerada dentro da faixa fisiológica e semelhante à das cabras cíclicas acasaladas durante a estação reprodutiva (prolificidade = 1,7; Fonseca et al. [13] ou submetidas à indução do estro sincronizado (ovulação = 1,8; Carvalho-de-Paula et al. [14]. A estratégia de SOV adotada no presente estudo resultou em uma resposta ovariana quase sete vezes maior em cabras superovuladas (10,8 CLs; G_{SOV}) quando comparadas às cabras não superovuladas (1,6 CLs; $G_{não\text{-}SOV}$), o que já era esperado. Além disso, a contagem de CL no G_{SOV} presente estudo (10,8 ± 0,2) foi maior do que a relatada por Camacho et al. [15] (8,5 ± 0,5) em cabras Boer superovuladas, por Maia et al.[16] (8,5 ± 1,3) em cabras leiteiras com protocolos CIDR e por Bruno-Galarraga et al.[3] (9,9 ± 1,3) em cabras Criolla-Neuquina superovuladas com um protocolo baseado em MAP.

Em relação as concentrações plasmáticas de P_4 (Fig. 2A), houve interação entre os tratamentos e os dias de avaliação (P = 0,02). Durante a fase a indução do estro (D0-D6), as concentrações foram semelhantes nos grupos G_{SOV} (3,6 ± 0,5 a 2,7 ± 0,9 ng/mL) e $G_{não\text{-}SOV}$ (2,0 ± 0,5 a 1,4 ± 0,4 ng/mL) respectivamente. Após a remoção do dispositivo, as concentrações de P4 diminuíram no D7 no G_{SOV} (0,3 ± 0,0 ng/mL) em comparação com os dias anteriores. Posteriormente, as concentrações aumentaram progressivamente em ambos os grupos, atingindo valores máximos no D11 no grupo $G_{não\text{-}SOV}$ (14,7 ± 3,3 ng/mL) e no D12 para G_{SOV} (15,0 ± 2,9 ng/mL), seguidos por um declínio acentuado em D13 e D14. Nas comparações entre os grupos em cada dia de avaliação, não foram observadas diferenças (P > 0,05).

Ambos os grupos apresentaram uma diminuição nos níveis de P_4 após a remoção do CIDR; no entanto, o padrão de redução foi diferente. No grupo $G_{não\text{-}SOV}$, as concentrações de P_4 diminuíram abruptamente, sugerindo que a P_4 circulante se originava principalmente do dispositivo intravaginal, e não da secreção endógena do CL. Em contraste, o grupo G_{SOV} apresentou uma redução mais gradual, consistente com a luteólise induzida por prostaglandinas nos CLs ativos, combinada com a retirada do dispositivo.

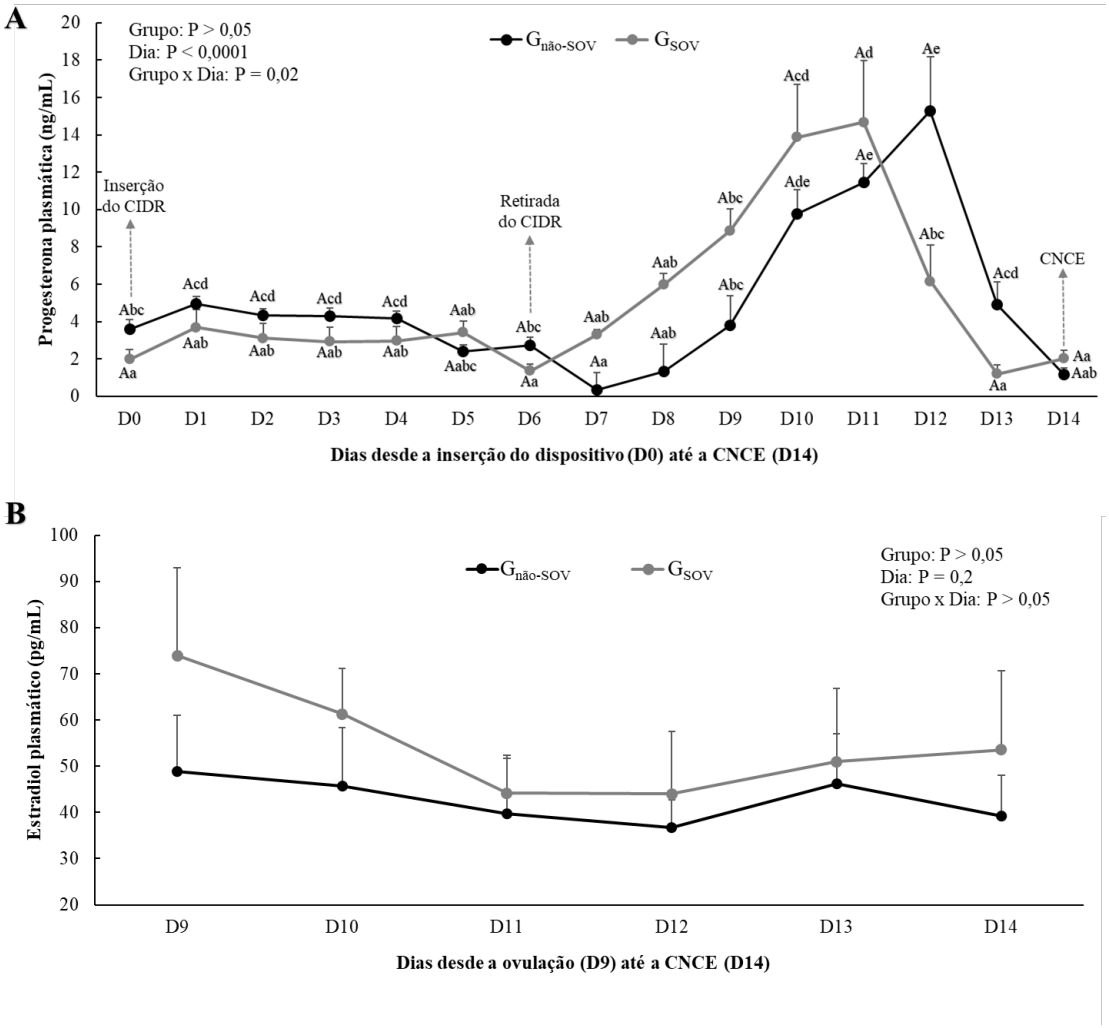

Figura 2. (A) Concentração plasmática de progesterona (ng/mL) e (B) estradiol (pg/mL) de cabras Toggenburg acíclicas superovuladas (G_{SOV}) e não superovuladas ($G_{não\text{-}SOV}$) seguidas de coleta não cirúrgica de embriões (CNCE; D14). [a,b] As médias com letras minúsculas comparam os dias em cada tratamento (teste de Student-Newman-Keuls; P < 0,05).

No presente estudo, foram observadas diferenças na taxa de fertilização entre animais superovulados e não superovulados. No entanto, os resultados de G_{SOV} foram semelhantes aos de Fonseca et al. [8], nos quais eles observaram estruturas não fertilizadas (4,2 ± 3,7 e 6,0 ± 4,2) em cabras Saanen superovuladas com ou sem a aplicação de somatotropina bovina recombinante (rbST). Também foi observado uma queda abrupta de P_4 nos dias D13 e D14 do protocolo para ambos os grupos, nos quais eram esperadas altas concentrações. Essa queda pode estar relacionada à regressão lútea precoce (RLP), resultando em concentrações reduzidas de P_4 e um ambiente uterino subótimo para a implantação do embrião. Sabe-se que concentrações anormais de P_4 afetam negativamente a resposta à superovulação e a qualidade do embrião [17]. No presente estudo, a concentração média de P_4 no dia da CNCE foi de 2,02 ng/mL para $G_{não\text{-}SOV}$ e de 1,15 ng/mL para G_{SOV}. Esses baixos níveis de P_4 podem ter afetado negativamente a qualidade dos embriões. No início do Exp. 2, as concentrações plasmáticas de P_4 ficaram entre 2 e 4 ng/ml, indicando que algumas cabras podem ter apresentado algum CL funcional. Isso provavelmente ocorreu devido ao efeito do macho induzido na detecção do estro no experimento anterior. Em relação as concentrações plasmáticas de E_2 (Fig. 2B), não foram

observadas diferença entre os grupos (P > 0,05), dias (P = 0,2) e possíveis interações (P > 0,05). No entanto, foi possível observar um aumento constante nas concentrações de E_2 do D12 até o dia do CNCE, o que foi inesperado.

Os resultados referentes às respostas de superovulação e indução do estro, bem como à eficiência da CNCE (Exp. 2) são apresentados na Tabela 1. Foram observadas taxas consideráveis de oócitos não fertilizados. Isso pode ser atribuído à superestimulação estrogênica em animais superovulados, o que pode prejudicar o transporte de espermatozoides, induzir assincronia na maturação dos oócitos e promover ovulação prematura [18]. Aplicações sucessivas de FSH podem causar um desequilíbrio na relação E_2/P_4 após a SOV, desencadeado luteinização folicular inadequada [1], comprometendo assim a qualidade e a função do CL e, em última análise, afetando diretamente as taxas de recuperação na CNCE. As taxas de recuperação observadas no presente estudo (G_{SOV} 64,1 a $G_{Não\text{-}SOV}$ 74,1 %) foram superiores às relatadas por Camacho et al. [15], que obtiveram uma taxa de recuperação de 39 % e 41 % em cabras sincronizadas com esponja intravaginal e CIDR, respectivamente. No entanto, foram inferiores às descritas por Maia et al. [16], que relataram uma taxa de recuperação de 81,7 % em cabras saudáveis superovuladas.

É importante também considerar o impacto do período de anestro na qualidade dos oócitos. Souza-Fabjan et al. [19] demonstraram que a sazonalidade reprodutiva afeta a produção de embriões *in vitro* em cabras adultas, observando-se menores taxas de clivagem e formação de blastocistos durante a fase de anestro. Esses achados sugerem uma menor competência dos oócitos fora da estação reprodutiva, o que pode ter contribuído para a maior incidência de oócitos degenerados e não fecundados observado no presente estudo.

O presente estudo não incluiu gonadotrofina coriônica equina (eCG) nos protocolos hormonais. Embora a combinação de P_4 com eCG seja amplamente utilizada para indução e sincronização do estro em fêmeas em anestro, seu uso em protocolos de superovulação permanece incerto. O eCG possui uma meia-vida prolongada e atividade de FSH e do hormônio luteinizante (LH), o que pode interferir na ação do FSH exógeno, especialmente dependendo do momento da administração. O uso concomitante de eCG e FSH pode resultar em crescimento folicular excessivo, heterogeneidade na qualidade folicular e luteinização prematura, comprometendo potencialmente a qualidade dos oócitos e embriões [20]. Portanto, a escolha de um protocolo baseado exclusivamente em P_4 combinada com FSH teve como objetivo garantir maior controle da dinâmica folicular, minimizando interações hormonais que poderiam afetar negativamente os resultados da superovulação. Assim, o protocolo de SOV utilizado foi baseado em outros estudos [18,21].

Tabela 1. Parâmetros reprodutivos de cabras Toggenburg submetidas à superovulação (G_{SOV}) e não superovulação ($G_{não\text{-}SOV}$), seguidas de coleta não cirúrgica de embriões (CNCE), durante o período de anestro (dados expressos em % ou média ± erro padrão da média).

Parâmetros	Grupos experimentais	
	$G_{não\text{-}SOV}$	G_{SOV}
Resposta ao estro (%)	100,0 (10/10)	90,0 (9/10)
Intervalo até o estro* (h)	32,0 ± 2,5^{a} (10)	19,8 ± 0,9^{b} (9)
Cabras que ovularam (%)	90,0 (9/10)	90,0 (9/10)
IEOv** (h)	26,2 ± 2,4 (9)	34,3 ± 3,2 (9)
IROv*** (h)	58,2 ± 3,3 (9)	53,8 ± 3,3 (9)
Contagem de CL	1,6 ± 0,3^{b} (16)	10,8 ± 0,2^{a} (97)
Sucesso da CNCE (%)	100,0 (9/9)	100,0 (9/9)
Duração da CNCE (min)	21,4 ± 2,7	26,8 ± 1,8
Taxa de líquido recuperado (%)	98,2 ± 0,6	96,6 ± 1,0
Taxa de recuperação (%)	74,1 ± 25,7 (10)	64,1 ± 22,0 (57)
Estruturas recuperadas	1,0 ± 0,2^{b} (10)	6,3 ± 0,8^{a} (57)
Estruturas viáveis	0,6 ± 0,3 (6)	0,7 ± 0,8 (6)
Estruturas degeneradas	0,2 ± 0,3 (2)	0,3 ± 0,6 (3)
Estruturas não fertilizadas	0,2 ± 0,3^{b} (2)	5,3 ± 0,8^{a} (48)
Doadoras com estruturas recuperadas (%)	88,8 (8/9)	88,9 (8/9)

*Intervalo até estro: tempo em horas desde a remoção do dispositivo até o início do estro. IEOv**: Intervalo entre o início do estro e a ovulação. IROv***: Intervalo entre a remoção do dispositivo e a ovulação ( ) Número de animais ou estruturas contadas. ^{a,b} As médias com sobrescritos diferentes dentro das linhas diferiram entre si (Tukey ou Kruskal-Wallis-Dunn; $P < 0,05$).

Embora diferentes fontes de progestágeno/progesterona tenham sido utilizadas nos experimentos, a literatura indica que a estabilização das concentrações plasmáticas e a supressão da dominância folicular ocorrem efetivamente, independentemente do dispositivo utilizado (22). Além disso, a frequência de manipulação e contenção das doadoras em condições de fazenda comercial foi intencionalmente minimizada para reduzir o estresse e a potencial interferência no desempenho reprodutivo. Contudo, a ausência de uma avaliação detalhada da dinâmica folicular nas doadoras no Exp. 2 representa uma limitação do presente estudo. Investigações futuras devem incorporar o monitoramento rigoroso da dinâmica folicular antes do início da SOV para aprimorar a padronização do protocolo e melhorar a reprodutibilidade dos resultados.

4. Conclusão

A utilização do perfil folicular ovariano como critério para iniciar o protocolo de SOV em cabras fora da estação reprodutiva ainda precisa ser mais bem investigada, especialmente por meio de estudos que avaliem o início da aplicação de FSH em diferentes momentos da onda folicular.

Declaração de conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Declaração de disponibilidade de dados

O conjunto completo de dados que suporta os resultados deste estudo está disponível mediante solicitação ao autor correspondente.

Contribuições do autor

Metodologia: Gonçalves, J. D., Maia, A. L. R. S., Esteves, L. V., Fonseca, J. F.; Validação: Gonçalves, J. D., Silva, M. R.; Investigação: Gonçalves, J. D., Maia, A. L. R. S., Esteves, L. V., Silva, M. R., Fonseca, J. F.; Análise formal: Gonçalves, J. D., Silva, M. R., Souza-Fabjan, J. M. G., Brandão, F. Z.; Recursos: Fonseca, J. F.; Redação – rascunho original:

Maia, A. L. R. S., Esteves, L. V.; Redação – revisão e edição: Gonçalves, J. D., Souza-Fabjan, J. M. G., Oliveira, M. E. F., Brandão, F. Z., Fonseca, J. F.; Supervisão: Fonseca, J. F.; Administração do projeto: Fonseca, J. F.; Obtenção de financiamento: Fonseca, J. F.

Declaração de uso de IA generativa

Os autores não utilizaram ferramentas ou tecnologias de inteligência artificial generativa na criação ou edição de qualquer parte deste manuscrito.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Dr. José Henrique Bruschi (*in memoriam*) e à Dra. Marlene Bruschi, da Agropecuária Água Limpa, pelo fornecimento dos animais, alojamento e alimentação. Agradecem também à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA; Projeto 20.19.01.004.00.03), à Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG; Projetos CVZ-APQ 01367/09 e CVZ PPM 00119-11) e à Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo apoio financeiro a este estudo. ALRSM, FZB e JMGSF são bolsistas da FAPERJ. JDG, FZB, JFF, JMGSF e MEFO são bolsistas do CNPq.

Referências

1. Gonzalez-Bulnes A, Santiago-Moreno J, Garcia-Garcia MR, Souza CJH. Effect of GnRH antagonists treatment on gonadotrophin secretion, follicular development and inhibin A secretion in goats. Theriogenology. 2004; 61: 977–985. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.07.003

2. Khan S, Jamal MA, Khan IM, Ullah I, Jabbar A, Khan NM, Liu Y. Factors affecting superovulation induction in goats (*Capra hircus*): An analysis of various approaches. Frontiers in Veterinary Science. 2023; 10: 1152103. https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1152103

3. Bruno-Galarraga MM, Fernandez J, Lacau-Mengido IM, Gonzalez-Bulnes A, Gib¬bons A, Cueto M. A simple method to select high superovulatory responder goats. Theriogenology. 2023; 195: 187–191. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.10.032

4. Balaro MFA, De Mello SGV, Santos AS, Cavalcanti LM, Almosny NRP, Fonseca, JF, Brandão FZ. Reproductive seasonality in Saanen goats kept under tropical conditions. Tropical Animal Health and Production. 2019; 51: 345–353. https://doi.org/10.1007/s11250-018-1696-2

5. Veiga-Lopez A, Gonzalez-Bulnes A, Garcia-Garcia RM, Dominguez V,Cocero MJ. The effects of previous ovarian status on ovulation rate and early embryo development in response to superovulatory FSH treatments in sheep. Theriogenology. 2005; 63: 1973–1983. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.09.055

6. Kim IH, Son DS, Yeon SH, Choi SH, Park SB, Ryu IS, Suh GH, Lee DW, Lee CS, Lee HJ, Yoon JT. Effect of dominant follicle removal before superstimulation on follicular growth, ovulation and embryo production in Holstein cows. Theriogenology. 2001; 55: 937–945. https://doi.org/10.1016/s0093-691x(01)00455-1

7. 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. 2007; 68: 1111–1117. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.07.020

8. Fonseca JF, Zambrini FN, Alvim GP, Peixoto MGCD, Verneque RS, Viana JHM. Embryo production and recovery in goats by non-surgical transcervical technique. Small Ruminant Research. 2013; 111: 96–99. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.08.007

9. Mapletoft RJ, Remillard R, Lindsey B. Certification and Identification of Embryos International Embryo Technology Society Manual (5th ed), IETS, Champaign. 2020; 1-12.

10. Arashiro EKN, Pinto PHN, Lima JTM, Henry M, Ascoli FO, Souza-Fabjan JMG, Fonseca JF, Brandão FZ. Three superovulation protocols for in vivo embryo production in Santa Inês sheep. Ciência Rural. 2002; 52: e20210308. https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20210308

11. Oliveira MEF, Fonseca JF, Vicente WRV, Rodrigues NR, Vergani GB, Souza-Fabjan JMG, Jamieson M, Cristescu A, Murawski M, Bartlewski PM. Are the spectral Doppler indices of ovarian arteries indicative of antral follicular development and predictive of ovulatory responses and embryo yields in superovulated ewes? Reproductive Biology. 2019; 19; 394–403. https://doi.org/10.1016/j.repbio.2019.11.004

12. Año-Perello A, Santos-Jimenez Z, Encinas T, Martinez-Ros P, Gonzalez-Bulnes A. Use of GnRH for synchronization of the follicular wave in assisted reproductive technologies in sheep: A preliminary study. Animals. 2020; 10: 1–6. https://doi.org/10.3390/ani10071208

13. Fonseca JF, Bruschi JH, Zambrini FN, Demczuk E, Viana JHM, Palhao M.P. Induction of synchronized estrus in dairy goats with different gonadotrophins. Animal Reproduction. 2018; 2: 50–53.

14. Carvalho-de-Paula CJ, Souza-Fabjan JMG, Gonçalves JD, Dias JH, de Souza GN, Oliveira MEF, Fonseca JF. 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. 2020; 221: 106571. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106571

15. Camacho M, Garza D, Gauly M, Holtz W. Superovulation of Boer goats with different synchronization regimens at different times of the year in the northern temperate zone. Small Ruminant Research. 2019; 177: 106–110. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.06.022

16. Maia ALRS, Arrais AM, Prellwitz L, Batista RITP, Figueira LM, Correia LFL, Fonseca JF, Souza-Fabjan JMG. Embryo development is impaired in goats that are treated for hydrometra and subsequently subjected to superovulation. Veterinary Record. 2020; 187: e88. https://doi.org/10.1136/vr.105906

17. Karakas Alkan K, Alkan H, Kaymaz M. The effect of anti-müllerian hormone and progesterone concentrations on superovulation response and embryo yield in goats. Theriogenology. 2020; 143: 1–9. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.11.041

18. Dias JH, Gonçalves JD, Arrais AM, Souza-Fabjan JMG, Bastos R, Batista RITP, Siqueira LGB, Oliveira MEF, Fonseca JF. Effects of different doses of estradiol benzoate used in a cervical relaxation protocol on the success of non-surgical embryo recovery and luteal function in superovulated ewes. Domestic Animal Endocrinology. 2023; 82: 106751. https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2022.106751

19. Souza-Fabjan JMG, Correia LFL, Batista RITP, Locatelli Y, Freitas VJF, Mermillod P. Reproductive seasonality affects in vitro embryo production outcomes in adult goats. Animals. 2021; 11: 873. https://doi.org/10.3390/ani11030873

20. Luna-Palomera C, Macías-Cruz U, Sánchez-Dávila F. Superovulatory response and embryo quality in Katahdin ewes treated with FSH or FSH plus eCG during non-breeding season. Tropical Animal Health and Production. 2019; 51: 1283–1288. https://doi.org/10.1007/s11250-019-01801-9

21. Dias JH, Gonçalves JD, Arrais AM, Batista RITP, Souza-Fabjan JMG, Bastos R, Siqueira LGB, Oliveira MEF, Fonseca JF. Single dose of 300 IU hCG in the early luteal phase in superovulated ewes: Effects on corpora lutea, progesterone profile, and embryo recovery. Animal Reproduction Science. 2022; 247: 107101. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2022.107101

22. Motlomelo KC, Greyling JPC, Schwalbach LMJ. Synchronisation of oestrus in goats: the use of different progestagen treatments. Small Ruminant Research. 2002; 45: 45–49. https://doi.org/10.1016/S0921-4488(02)00113-X