

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 13/05/2026.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS JABOTICABAL

**EFEITOS DA GONADOTROFINA CORIÔNICA HUMANA NOS
PARÂMETROS REPRODUTIVOS DE BODES DURANTE A
CONTRA ESTAÇÃO REPRODUTIVA**

Gabriel Brun Vergani

Médico Veterinário

2024

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS JABOTICABAL**

**EFEITOS DA GONADOTROFINA CORIÔNICA HUMANA NOS
PARÂMETROS REPRODUTIVOS DE BODES DURANTE A
CONTRA ESTAÇÃO REPRODUTIVA**

Discente: Gabriel Brun Vergani

Orientadora: Profa. Dra. Maria Emilia Franco Oliveira

Coorientador: Prof. Dr. Jeferson Ferreira da Fonseca

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária (Área: Reprodução Animal) no dia 13/05/2024.

V493e

Vergani, Gabriel Brun

Efeitos da gonadotrofina coriônica humana nos parâmetros reprodutivos de bodes durante a contra estação reprodutiva / Gabriel Brun Vergani. -- Jaboticabal, 2024

35 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientadora: Maria Emilia Franco Oliveira

Coorientador: Jeferson Ferreira da Fonseca

1. Reprodução Animal. 2. Andrologia Veterinária. 3. Caprinos. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: EFEITOS DA GONADOTROFINA CORIÔNICA HUMANA NOS PARÂMETROS REPRODUTIVOS DE BODES DURANTE A CONTRA ESTAÇÃO REPRODUTIVA

AUTOR: GABRIEL BRUN VERGANI
ORIENTADORA: MARIA EMILIA FRANCO OLIVEIRA
COORIENTADOR: JEFERSON FERREIRA DA FONSECA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Medicina Veterinária,
área: Reprodução Animal pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
gov.br MARIA EMILIA FRANCO OLIVEIRA
Data: 13/05/2024 12:08:03-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profa. Dra. MARIA EMILIA FRANCO OLIVEIRA (Participação Virtual)
Departamento de Patologia Reproducão e Saúde Única / FCAV UNESP Jaboticabal

Prof. Dr. RODOLFO UNGERFELD (Participação Virtual)
Departamento de Biociências Veterinárias / Universidad de la República de Uruguay (UdelaR) -
Montevideo/Uruguay

Documento assinado digitalmente
gov.br FELIPE ZANDONADI BRANDÃO
Data: 13/05/2024 14:17:06-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. FELIPE ZANDONADI BRANDÃO (Participação Virtual)
Departamento de Patologia e Clínica Veterinária / Universidade Federal Ruriminese (URF) - NITERÓI/RJ

Pesquisador Dr. FABIO MORATO MONTEIRO (Participação Virtual)
Instituto de Zootecnia / Sertãozinho/SP

Documento assinado digitalmente
gov.br FABIO MORATO MONTEIRO
Data: 14/05/2024 09:31:34-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profa. Dra. MAÍRA BIANCHI RODRIGUES ALVES (Participação Virtual)
Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
gov.br MAIRA BIANCHI RODRIGUES ALVES
Data: 13/05/2024 16:01:03-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Jaboticabal, 13 de maio de 2024

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

GABRIEL BRUN VERGANI – nascido em Toledo – PR, aos 22 dias do mês de novembro de 1994. Graduiu-se em Medicina Veterinária, na Universidade Federal do Paraná – UFPR Setor Palotina - PR, em 2018. cursou Pós-graduação em Medicina Veterinária, nível de Mestrado e área de concentração de Reprodução Animal, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP Câmpus de Jaboticabal-SP, de março de 2018 a julho de 2020, sob orientação da Profa. Dra. Maria Emilia Franco Oliveira e coorientação do Prof. Dr. Jeferson Ferreira da Fonseca, como bolsista do CNPQ. Ingressou no curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, nível de Doutorado e área de concentração de Reprodução Animal, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP Câmpus de Jaboticabal-SP, em agosto de 2020, sob orientação da Profa. Dra. Maria Emilia Franco Oliveira, como bolsista da CAPES.

“O progresso é impossível sem mudanças, e aqueles que não conseguem mudar as suas mentes não conseguem mudar nada”

George Bernard Shaw

Dedico esse trabalho aos meus pais,
Rafael Bergamaschi Vergani e Vania
Maria Brun Vergani. Amo vocês!

Agradecimentos

Agradeço a Deus pela dádiva da vida, orientação e apoio neste caminho cheio de bênçãos.

À minha orientadora, Profa. Maria E. F. Oliveira, por ter me recebido como aluno de mestrado e agora de doutorado, agradeço por toda orientação, conselhos e conhecimentos transmitidos. Possuo grande admiração pela excelente professora, orientadora e pessoa que és.

Ao meu coorientador Prof. Jeferson F. Fonseca, por ter me recebido lá em 2017 no meu estágio final da graduação e ter sido responsável por possibilitar tantas oportunidades na minha trajetória como pós-graduando, muito obrigado por acreditar em mim. Possuo grande admiração pelo excelente pesquisador e pessoa que és.

Agradeço imensamente aos meus pais Vania e Rafael, sem vocês nada seria possível. Minha família por todo incentivo, apoio e suporte em especial durante a minha pós-graduação, são nossas bases e origens que definem que somos. Amo vocês.

A minha namorada Leticia, um presente na minha vida, obrigado por todo carinho, amor e apoio, amo você.

A Embrapa Caprinos e Ovinos e Embrapa Gado de Leite e aos funcionários do Laboratório Multiusuário de Bioeficiência e Sustentabilidade, em especial ao grande Carlos Juarez. Por ceder os animais, equipamentos, laboratório e material para a condução deste estudo.

Aos meus amigos e parceiros de pesquisa Jean, Luana, Nathália, Rachel e Alice, que participaram durante algumas etapas do experimento, obrigado pela ajuda!

Ao Professor Felipe Zandonadi Brandão, por suas contribuições ao projeto durante todas as etapas.

A Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp Campus Jaboticabal, por ter me acolhido tão bem por esses 6 anos de pós-graduação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

	Página
CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	ii
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE FIGURAS	vi
CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais	7
1. INTRODUÇÃO	7
2. REVISÃO DE LITERATURA	9
2.1. Os efeitos da sazonalidade na fisiologia reprodutiva do reprodutor caprino	9
2.2. Síntese de testosterona e sazonalidade	12
2.3. Gonadotrofinas exógenas em reprodutores	15
3. REFERÊNCIAS	17
CAPÍTULO 2 – Artigo elaborado conforme as normas da revista Animal Reproduction Science	20

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



Comissão de Ética
no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Programa de Melhoramento Genético de Caprinos Leiteiros (Capragene) - Fase 2 (20.19.01.004.00.00) □ Estratégias de para a elevação da taxa de gestação de cabras acasaladas naturalmente ou inseminadas artificialmente durante diferentes estações do ano", protocolada sob o CEUA nº 5755150721, sob a responsabilidade de **Jeferson Ferreira da Fonseca e equipe; Gabriel Brun Vergani; Juliana Nascimento Duarte Rodrigues; Luiz Gustavo Bruno Siqueira; Maria Emilia Franco Oliveira; Tarcilla Dutra Barbosa Caldas; Antônio Cândido de Cerqueira Leite Ribeiro** - 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 07/10/2021.

We certify that the proposal "Dairy Goats Genetic Improvement Program (Capragene) - Phase 2 (20.19.01.004.00.00) □ Strategies to increase the pregnancy rate of naturally mated or artificially inseminated goats during different seasons", utilizing 208 Caprines (30 males and 178 females), protocol number CEUA 5755150721, under the responsibility of **Jeferson Ferreira da Fonseca and team; Gabriel Brun Vergani; Juliana Nascimento Duarte Rodrigues; Luiz Gustavo Bruno Siqueira; Maria Emilia Franco Oliveira; Tarcilla Dutra Barbosa Caldas; Antônio Cândido de Cerqueira Leite Ribeiro** - 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 10/07/2021.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **10/2021 a 10/2023** Área: **Núcleo Produção E Bem Estar Animal**

Origem:	Campo Experimental José Henrique Bruschi		
Espécie:	Caprinos	sexo: Fêmeas	idade: 08 a 84 meses N: 178
Linhagem:	Leiteira		Peso: 30 a 80 kg
Origem:	Campo Experimental José Henrique Bruschi		
Espécie:	Caprinos	sexo: Machos	idade: 18 a 84 meses N: 30
Linhagem:	Leiteira		Peso: 45 a 80 kg

Local do experimento: Campo Experimental José Henrique Bruschi / Embrapa Gado de Leite / Coronel Pacheco - MG

Juiz de Fora, 08 de outubro de 2021

Dra. Naiara Zoccal Saraiva
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Embrapa Gado de Leite

Virginia de Souza Columbiano Barbosa
Vice-Cordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Embrapa Gado de Leite

EFEITOS DA GONADOTROFINA CORIÔNICA HUMANA NOS PARÂMETROS REPRODUTIVOS DE BODES DURANTE A CONTRA ESTAÇÃO REPRODUTIVA

RESUMO – O estudo tem como objetivo investigar se o uso da administração repetida de hCG durante a contra estação reprodutiva melhora as concentrações de testosterona, os parâmetros escrotais/testiculares e a qualidade do sêmen em caprinos machos. Vinte bodes foram divididos em dois grupos (G-Control, n = 10; e G-hCG, n = 10) para receber quatro administrações (im) de 1 mL de solução salina ou 300 UI de hCG, respectivamente, em intervalos de 14 dias. (D0, D14, D28 e D42). Nos dias D-7, D0, D14, D28, D42 e D56 foram coletadas amostras de sêmen com vagina artificial para avaliação antes e após a criopreservação. Os parâmetros biométricos foram avaliados um dia antes da coleta de sêmen. Amostras de sangue foram obtidas nos dias de coleta de sêmen e nos dias D1, D7, D15, D21, D29, D35, D43 e D49 para dosagem hormonal. Os dados foram analisados com o software SAS, utilizando modelos mistos com medidas repetidas no tempo, sendo considerado o tratamento e a interação entre tratamento e tempo como efeitos principais, o D-7 foi utilizado como covariável. As concentrações séricas de testosterona foram maiores ($P = 0,0005$) no G-hCG ($9,6 \pm 0,6$ ng/mL) em comparação com o G-Control ($6,3 \pm 0,6$ ng/mL). Não houve efeito do tratamento ($P > 0,05$) para a biometria escrotal/testicular, parâmetros do sêmen fresco, bem como na cinética do sêmen pós-descongelamento. Maior número de células vivas com alto potencial de membrana mitocondrial (MMP) foram observadas ($P < 0,05$) no último dia de avaliação (D56) para os animais do G-hCG ($49,0 \pm 6,6$ %) em comparação aos animais G-Control ($26,5 \pm 7,4$ %). Além disso, o status de capacitação espermática foi observado interação entre os efeitos sendo observado maior valor ($P = 0,0001$) no D56 para os machos G-hCG ($36,5 \pm 8,8$ %) em comparação ao G-Control ($11,5 \pm 9,0$ %). Em conclusão, quatro administrações de 300 UI de hCG em intervalos de 14 dias durante a contra estação reprodutiva são eficazes para melhorar as concentrações séricas de testosterona e promover maior estado de capacitação espermática e espermatozoides vivos com alto potencial de membrana mitocondrial em caprinos machos.

Palavras-chave: Gonadotrofina coriônica humana, potencial de membrana mitocondrial, integridade da membrana plasmática, criopreservação de sêmen, cinética espermática, status de capacitação espermática.

EFFECTS OF HUMAN CHORIONIC GONADOTROPHIN ON THE REPRODUCTIVE PARAMETERS OF MALE GOATS DURING THE NON-REPRODUCTIVE SEASON

ABSTRACT – The study aims to investigate if the use of repeated administration of hCG during the non-breeding season improves testosterone concentrations, scrotal/testicular parameters, and sperm quality in male goats. Twenty bucks are divided into two groups (G-Control, n = 10; and G-hCG, n = 10) to receive four administrations (im) of 1 mL of saline or 300 IU of hCG, respectively, at 14-day intervals (D0, D14, D28, and D42). On D-7, D0, D14, D28, D42, and D56 semen samples with artificial vagina were collected to be evaluated before and after cryopreservation. Biometric parameters were evaluated the day before the semen collection. Blood samples were obtained on the days of semen collection and on the days D1, D7, D15, D21, D29, D35, D43, and D49 to hormonal dosage. The data was analyzed with the SAS software, using mixed models with repeated measures over time, considering treatment and the interaction between treatment and time as main effects, D-7 was used as a covariate. Serum testosterone concentrations were higher ($P = 0.0005$) in G-hCG (9.6 ± 0.6 ng/mL) compared with G-Control (6.3 ± 0.6 ng/mL). There were no treatment effects ($P > 0.05$) for scrotal/testicular biometry, fresh semen parameters as well as post-thawing semen kinetic characteristics. High mitochondrial membrane potential (MMP) cells were observed ($P < 0.05$) on the last day of evaluation (D56) for G-hCG animals (49.0 ± 6.6 %) compared to G-Control ones (26.5 ± 7.4 %). Furthermore, the sperm capacitation status was observed an interaction between the effects, with a higher value ($P = 0.0001$) observed on D56 for G-hCG males (36.5 ± 8.8 %) compared to G-Control (11.5 ± 9.0 %). In conclusion, four administrations of 300 IU of hCG at 14-day intervals during the non-breeding season are effective in improving the serum testosterone concentrations and promoting higher sperm capacitation status and live sperm with high mitochondrial membrane potential in male goats.

Keywords: Human Chorionic Gonadotropin, mitochondrial membrane potential, plasma membrane integrity, semen cryopreservation, sperm kinetics, sperm capacitation status.

LISTA DE TABELAS

Página

Table 1. Mean \pm SEM of variables related to the male goats biometric/semen status one week before (Day -7) the start of the study used as covariate for statistical analysis, from G-Control and G-hCG animals.....	47
--	----

LISTA DE FIGURAS

Página

Capítulo 1 – Considerações Gerais

Figura 1. Representação esquemática das inter-relações entre o hipotálamo, a hipófise e os testículos. Liberação de gonadotrofina hormônio (GnRH) estimula a liberação das gonadotrofinas hipofisárias hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo-estimulante (FSH). O hormônio luteinizante atua na espermatogênese via testosterona produzido pelas células de Leydig. FSH atua nas células de Sertoli que atuam diretamente na espermatogênese..... 10

Figura 2. Esquematisação da síntese de esteroides nos testículos. Fonte: adaptado de (Zirkin e Papadopoulos, 2018) 12

Capítulo 2 – Artigo científico

Figure 1. Experimental study design that tests the use of four doses of hCG (300 IU, im) with 14 days of interval in male goats during the non-breeding season. On days 0, 14, 28 and 42, either 300 UI of hCG or 1 mL saline solution were administrated (im) in G-hCG and G-Control, respectively. Semen collections were performed on days -7, 0, 14, 28, 42 and 56 for fresh semen analysis, cryopreservation and posterior post-thawing semen analysis. One day before each semen collection, biometric parameters were measured. Also, blood samples were obtained for serum testosterone evaluations..... 42

Figure 2. LSMeans (\pm SEM) of serum testosterone concentrations of samples collected during the non-breeding season from male goats that were treated (white triangle) or not treated (black circle) with hCG..... 43

Figure 3. LSMeans (\pm SEM) of biometrics and fresh semen characteristics from sperm samples collected during the non-breeding season from male goats treated (white triangle) or not treated (black circle) with hCG..... 44

Figure 4. LSMeans (\pm SEM) of pos-thawing sperm kinetics characteristics from sperm samples collected during the non-breeding season from male goats treated (white triangle) or not treated (black circle) with hCG..... 45

Figure 5. LSMeans (\pm SEM) of capacitation status, mitochondrial membrane potential, hypoosmotic test, plasma membrane integrity and morphology from post-thawing sperm samples collected during the non-breeding season from male goats treated (white triangle) or not treated (black circle) with hCG..... 46

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais

1. INTRODUÇÃO

Pequenos ruminantes apresentam uma característica denominada de ciclo reprodutivo sazonal, demonstrando esse comportamento em locais onde há alterações da duração do dia ao longo do ano. Assim, com esse ciclo reprodutivo, são capazes de manifestar períodos aptos à reprodução em momentos do ano que permitirão que ao nascimento de seus descendentes, sejam épocas com melhor disponibilidade de alimento e temperatura (Goldman, 2001). Dentre as alternativas para reduzir esses efeitos da sazonalidade, temos a suplementação de melatonina, manejo de luz artificial e aplicações de gonadotrofinas exógenas, possibilitando diferentes resultados e durações de protocolos para melhorar a qualidade seminal e libido dos machos durante a contra estação.

Os estudos relacionados a compreender as alterações reprodutiva em machos durante a contra estação são essenciais para o manejo e eficiência zootécnica da produção a campo. Ao se conhecer o processo reprodutivo sazonal de uma determinada espécie, pode-se fazer a correta escolha do reprodutor para estação de monta de um rebanho, além de identificar as melhores técnicas e períodos para a coleta e criopreservação do sêmen utilizado nas biotecnologias reprodutivas. Portanto, ao se compreender as variáveis reprodutivas dos animais sazonais podem ser criadas alternativas para diminuir ou eliminar os períodos de montas restritas, e aumentar a produção de produtos de origem animal/ano.

A hipótese do presente estudo é de que a administração seriada de hCG em machos caprinos durante a contra estação reprodutiva induz aumento nas concentrações séricas de testosterona e, conseqüentemente, induz efeitos positivos sobre as características biométricas testiculares/escrotais e qualidade seminal. O objetivo do presente estudo é avaliar a utilização de quatro doses de hCG (300 UI), em intervalos de 14 dias, em machos caprinos adultos durante a contra estação reprodutiva nas características biométricas escrotais/testiculares,

concentrações séricas de testosterona e características do sêmen fresco e pós criopreservação.

Acknowledgments

We thank the Caprine and Ovine Laboratory of the Embrapa Multi-User Bioefficiency and Sustainability Laboratory (LMBS) for the location, employees, and animals available for experimentation.

References

- Abdelrahman, S. S., Abdalla, M. S. A., Darderi, T. M., & Ali, E. A. E. (2019). Development of hormonal profiles of Nubian bucks at puberty in Sudan. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*, 11(6), 106-114.
- De Rensis, F., Valentini, R., Gorrieri, F., Bottarelli, E., & Lopez-Gatius, F. (2008). Inducing ovulation with hCG improves the fertility of dairy cows during the warm season. *Theriogenology*, 69(9), 1077-1082. doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.01.020
- Gallelli, M. F., Bianchi, C., Zampini, E., Bertuzzi, M., Aba, M., Neild, D., & Miragaya, M. (2022). Effect of hCG administration on Day 7 post-mating on accessory corpus luteum development and progesterone concentration in llamas. *Theriogenology*, 180, 154-160. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.12.026>.
- Agnihotri, S. K., Agrawal, A. K., Hakim, B. A., Vishwakarma, A. L., Narender, T., Sachan, R., & Sachdev, M. (2016). Mitochondrial membrane potential (MMP) regulates sperm motility. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal*, 52, 953-960. doi.org/10.1007/s11626-016-0061-x.
- Alfradique V.A.P., Batista R.I.T.P., Souza-Fabjan J.M.G., Côrtes L.R., Bragança G.M., Souza C.V., Costa L.C., Brandão F.Z., 2018. Supplementation of 17 β -estradiol and progesterone in the co-culture medium of bovine oviductal epithelial cells and ovine

- spermatozoa reduces the sperm kinematics and capacitation. *Reproductive Biology* 18, 368-379. doi.org/10.1016/j.repbio.2018.10.004
- Andrabi, S. W., Makker, G. C., Makker, R., Mishra, G., & Singh, R. (2022). Human chorionic gonadotropin therapy in hypogonadic severe-oligozoospermic men and its effect on semen parameters. *Clinical and Experimental Reproductive Medicine*, 49(1), 57. doi.org/10.5653/cerm.2021.04742
- Asturiano, J. F., Marco-Jiménez, F., Pérez, L., Balasch, S., Garzón, D. L., Peñaranda, D. S., ... & Jover, M. (2006). Effects of hCG as spermiation inducer on European eel semen quality. *Theriogenology*, 66(4), 1012-1020. doi.org:10.1016/j.theriogenology.2006.02.041
- Barkawi, A. H., Elsayed, E. H., Ashour, G., & Shehata, E. (2006). Seasonal changes in semen characteristics, hormonal profiles and testicular activity in Zaraibi goats. *Small ruminant research*, 66(1-3), 209-213. doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.09.007.
- Beracochea, F., Viera, M.N., Santiago-Moreno, J. et al. (2020). Treatment of male goats with equine chorionic gonadotrophin during the non-breeding season does not affect their sperm characteristics during the subsequent breeding season. *Trop Anim Health Prod* 52, 211–215. doi.org/10.1007/s11250-019-02004-y
- Blom, E. (1973). The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. *Nordisk Veterinae Medicin*, v. 25, n. 7, p. 383-391.
- CBRA – Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 3. ed. CBRA. Belo Horizonte-MG, p. 47-50, 2013
- Chemineau, P., & Delgadillo, J. A. (1993). Neuroendocrinología de la reproducción en el caprino. *Reproductive neuroendocrinology in goats. Revista Científica*, 3, 113–121.

- Cormier N., Sirard M.-A., Bailey J.L., 1997. Premature capacitation of bovine spermatozoa is initiated by cryopreservation. *Journal of Andrology* 18, 461-468
- Dias, J. C. O., Veloso, C. M., Santos, M. C. D. R., Oliveira, C. T. S. A. M. D., Silveira, C. O., Iglesias, E., ... & Sanglard, L. M. P. (2017). Seasonal variation in the reproductive activity of male goats raised under tropical climate conditions. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46, 192-201.
- Druart, X., Cognié, J., Baril, G., Clément, F., Dacheux, J.-L., Gatti, J.-L., 2009. In vivo imaging of in situ motility of fresh and liquid stored ram spermatozoa in the ewgenital tract. *Reproduction* 138, 45–53. <https://doi.org/10.1530/REP-09-0108>
- E. Ruiz-Pesini, A.C. Lapeña, C. Díez-Sanchez, E. Alvarez, J.A. Enríquez, M.J. López-Pérez Seminal quality correlates with mitochondrial functionality *Clin Chim Acta*, 300 (2000), pp. 97-105.
- Ezcurra D., Humaidan D. (2014) A review of luteinising hormone and human chorionic gonadotropin when used in assisted reproductive technology. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 12:95 p. DOI: 10.1186/1477-7827-12-95.
- Falvo, R. E., Buhl, A. E., Reimers, T. J., Foxcroft, G. R., Dunn, M. H., & Dziuk, P. J. (1975). Diurnal fluctuations of testosterone and lh in the ram: effect of hcg and gonadotrophin-releasing hormone. *Reproduction*, 42(3), 503-510. Retrieved Nov 30, 2023, from
- Fonseca, J. F., Vergani, G. B., Côrtes, L. R., Rodrigues, J. N. D., Siqueira, L. G. B., Souza-Fabjan, J. M., & Oliveira, M. E. F. (2021). Induction of accessory corpus luteum in goats and sheep: From physiological basis to reproductive effects.
- França, L. R., Becker-Silva, S. C., & Chiarini-Garcia, H. (1999). The length of the cycle of seminiferous epithelium in goats (*Capra hircus*). *Tissue and Cell*, 31(3), 274-280

- García-Cruz, O. U., Tejada, L. M., Flores, M. J., Nava-Rivera, L. E., López-Magaña, N., Hernández, H., ... & Delgadillo, J. A. (2022). A semi-extensive management system reduces plasma testosterone concentrations, sexual behaviour and sperm production in male goats from subtropical latitudes. *Animal Production Science*, 62(17), 1683-1691. doi.org/10.1071/AN22066.
- Guais, A., Solhonne, B., Melaine, N., Guellaen, G., & Bulle, F. (2004). Goliath, a ring-H2 mitochondrial protein, regulated by luteinizing hormone/human chorionic gonadotropin in rat leydig cells. *Biology of reproduction*, 70(1), 204-213. DOI 10.1095/biolreprod.103.018820.
- Huhtaniemi, I., Martikainen, H., & Tikkala, L. (1978). hCG-induced changes in the number of rat testis LH/hCG receptors. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 11(1), 43-50. [https://doi.org/10.1016/0303-7207\(78\)90031-X](https://doi.org/10.1016/0303-7207(78)90031-X)
- Samir, H., Sasaki, K., Ahmed, E., Karen, A., Nagaoka, K., El Sayed, M., ... & Watanabe, G. (2015). Effect of a single injection of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and human chorionic gonadotropin (hCG) on testicular blood flow measured by color doppler ultrasonography in male Shiba goats. *Journal of Veterinary Medical Science*, 77(5), 549-556.
- Skinner, M.K. (1987) Cell-cell interactions in the testis. *Ann NY Acad Sci* 513: 158-17.
- Stocco, D.M. (1997) A StAR search: Implications in controlling steroidogenesis. *Biol Reprod* 56:328–336. doi.org/10.1095/biolreprod56.2.328
- Sundby, A., Farahat, A. Plasma Testosterone in Bulls: Response to various doses of HCG and PMSG, *Acta Endocrinologica (Norway)*, Volume 88, Issue 4, Aug 1978, Pages 793–800. <https://doi.org/10.1530/acta.0.0880793>

Sundby, A., Ulstein, T. Plasma Concentrations of Testosterone in the Male Dog and Plasma Testosterone Profile Following Single Intramuscular Injection of HCG. *Acta Vet Scand* 22, 409–416 (1981). <https://doi.org/10.1186/BF03548666>.

Walsh, S. W., Williams, E. J., & Evans, A. C. O. (2011). A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Animal reproduction science*, 123(3-4), 127-138.

World Health Organization (WHO). Laboratory manual for the examination and processing human semen. 6. ed. Geneva: WHO: 2021. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240030787>. Viewed: 15/12/2023

Stenman, U. H., Tiitinen, A., Alfthan, H., Valmu, L. (2006). The classification, functions and clinical use of different isoforms of HCG. *Human reproduction update*, 12(6), 769-784. <https://doi.org/10.1093/humupd/dml029>

Zirkin, B. R., and Papadopoulos, V. "Leydig cells: formation, function, and regulation." *Biology of reproduction* 99.1 (2018): 101-111. <https://doi:10.1093/biolre/ioy059>