## UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL CURSO DE DOUTORADO

# VITAMINA A INJETÁVEL EM VACAS DE CORTE

Fernando Henrique Garcia Furtado

CAMPO GRANDE, MS 2022

## UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL CURSO DE MESTRADO

## VITAMINA A INJETÁVEL EM VACAS DE CORTE

Injectable vitamin A in beef cows

## Fernando Henrique Garcia Furtado

Orientador: Prof. Dr. Gumercindo Loriano Franco

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Área de concentração: Produção Animal.



#### Serviço Público Federal Ministério da Educação



### undação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

#### Certificado de aprovação

#### FERNANDO HENRIQUE GARCIA FURTADO

## Vitamina A injetável em vacas de corte Injectable vitamin A in beef cows

Universidade Tese apresentada Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Área de concentração: Produção Animal.

Aprovado em: 31-08-2022 BANCA EXAMINADORA:

> Dr. Gumercindo Loriano Franco (UFMS) - (Presidente) Dr. Cássio José da Silva (UnB) Dr. Fabio Jose Carvalho Faria (UFMS) Dra. Marcella Candia D'Oliveira (UFMS) Dr. Ricardo Garda de Almeida

> > (UFMS)





Documento assinado eletronicamente por Marcella Cândia D' Oliveira, Usuário Externo, em 27/09/2022, às 23:19, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.





Documento assinado eletronicamente por Fabio Jose Carvalho Faria, Professor do Magisterio Superior, em 28/09/2022, às 11:06, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8,539, de 8 de outubro de 2015.





Documento assinado eletronicamente por Gumercindo Loriano Franco, Professor do Magisterio Superior, em 15/12/2022, às 14:09, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8,539, de 8 de outubro de 2015.





Documento assinado el etronicamente por Ricardo Garcia de Almeida, Usuário Externo, em 17/03/2023, às 15:07, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.





Documento assinado eletronicamente por Cássio José da Silva, Usuário Externo, em 04/04/2023, às 12:42, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufms.br/sei/controlador\_externo.php? acao=documento conferir&id orgao acesso externo=0, informando o código verificador 3579981 e o código CRC D9AEC640.

#### COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

Av Costale Silva, s/nº - Cidade Universitária Fone:

CEP 79070-900 - Campo Grande - MS

Referência: Processo nº 23104.001236/2021-33

SEI nº 3579981

#### Dedicatória

Dedico aos meus pais, Alíbio de Souza Furtado e Romilda Garcia de Souza, e à minha esposa Tamara da Cruz Loubet Furtado. Aos meus pais por todo apoio e estrutura desde sempre, e à minha esposa por fazer de tudo para que eu pudesse ter meu tempo livre para execução desse projeto.

#### **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço à Deus e à Nossa Senhora Aparecida, por iluminarem meu caminho e colocarem em minha vida pessoas maravilhosas, as quais quero aqui agradecer;

Ao Dr. Deiler Sampaio Costa, grande amigo, e principal motivador para que eu tivesse ingressado nesse curso de pós-graduação. Sem ele, provavelmente nem o título de mestre eu ousaria ter, imagina de doutor. Muito obrigado pelos ensinamentos e companheirismo;

Ao Prof. Dr Gumercindo Loriano Franco, por ter acreditado em mim quando as coisas pareciam ir para um caminho de fracasso, por ter me dado a oportunidade de participar desse projeto, e por resgatar em mim a vontade que nem eu mesmo sabia que ainda tinha;

Ao Prof. Dr Fábio José Carvalho Faria, por ter me acompanhado na maior parte desse caminho, me orientado da melhor maneira possível.

Por último quero agradecer à instituição Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, em especial ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal por toda estrutura física e de docentes fornecidas.

#### Resumo

FURTADO, F.H.G. Suplementação injetável de vitamina A no início da inseminação artificial em tempo fixo em vacas de corte. Tese- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2022.

*Objetivos:* Capítulo 1) realizar uma revisão de literatura sobre os efeitos da suplementação de vitamina A e β-caroteno sobre o desempenho reprodutivo de vacas; Capítulo 2) avaliar os efeitos da suplementação com vitamina A sobre a concentração plasmática de progesterona, tamanho de folículo dominante, diâmetro e volume e corpo lúteo e taxa de prenhez em vacas de corte da raça Nelore, mantidas em pastagens.

Material e métodos: O experimento foi dividido em 2 etapas: Etapa 1) foram utilizadas 18 vacas multíparas da raça Nelore com escore de condição corporal entre 4 e 6 e folículo dominante maior que 7,0 mm no início do experimento. As vacas tiveram o estro sincronizado com um protocolo de 11 dias, com 3 passagens. Etapa 2) foram utilizadas 365 vacas da raça Nelore com escore corporal entre 2 e 6. Os animais eram pertencentes a 3 diferentes fazendas. As vacas tiveram o estro sincronizado com um protocolo de 11 dias, com 4 passagens. Os animais das duas etapas foram divididos em 2 grupos: Cont. (10 mL por animal de solução salina aplicado via intramuscular); VitA (10 ml de suplemento injetável de vitamina A - Hipovita A®, IBASA, Brasil - por animal aplicado via intramuscular)

Resultados: Capítulo 1) A suplementação com Vitamina A e/ou β-caroteno em vacas com deficiência desses nutrientes aumentou tamanho de corpo lúteo e concentração de progesterona, resultando em maior taxa de prenhez; Capítulo 2) Etapa 1: O tratamento com Vitamina A não apresentou influência no tamanho do folículo dominante (p= 0,16), no volume de corpo lúteo (p= 0,90), na concentração plasmática de progesterona (p= 0,44), nem na taxa de prenhez (p= 0,13). O diâmetro de CL no grupo Vit A apresentou medidas menores do que o grupo Cont (VitA= 16,2 mm ± 1,10; Cont.= 18,7 mm ± 1,10; p= 0,03) 21 dias após a inseminação. O grupo Vit A apresentou uma tendência a aumentar a temperatura retal 21 dias após a inseminação (VitA= 39,9°C ± 0,19; Cont.= 39,4 ± 0,19; p= 0,10). Etapa 2: Não houve diferença significativa na taxa de prenhez geral entre os grupos, porém, quando os animais foram analisados de acordo com seu escore corporal, foi observada uma tendência de redução na taxa de prenhez dos animais com escore corporal entre 5 e 6 do grupo Vit A (VitA= 35,90% ± 7,02; Cont.= 51,90% ± 7,02; p= 0,10).

**Conclusão:** Capítulo 1) A suplementação com Vitamina A e/ou β-caroteno melhora os parâmetros reprodutivos de vacas, especialmente em casos de deficiência desses nutrientes (< 300 μg/dl de β-caroteno e < de 25 μg/dl de vitamina A). Capítulo 2) A suplementação injetável

de vitamina A reduziu o diâmetro do corpo lúteo e aumentou a temperatura retal de vacas Nelore, 21 dias após a inseminação. A taxa de prenhez das vacas com escore entre 5 e 6 que receberam a suplementação de vitamina A apresentou tendência de redução.

Palavras-chave: Antioxidante; carotenoides; fertilidade; estresse oxidativo; reprodução

#### **Abstract**

FURTADO, F, H, G. Injectable supplementation of vitamin A at the beginning of fixed-time artificial insemination in beef cows. 2022. 48f. Tese - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2022. **Objectives:** Chapter 1) to carry out a literature review on the effects of vitamin A and βcarotene supplementation on the reproductive performance of cows. Chapter 2) to evaluate the effects of vitamin A supplementation on plasma progesterone concentration, dominant follicle size, diameter and volume, corpus luteum and pregnancy rate in Nelore beef cows on pastures. Material and methods: The experiment was divided into 2 stages: Stage 1) 18 multiparous Nellore cows with body condition score between 4 and 6 and dominant follicle greater than 7.0 mm were used at the beginning of the experiment. Cows had estrus synchronized with an 11day protocol, with 3 passages. Step 2) 365 Nelore cows with body scores between 2 and 6 were used. The animals belonged to 3 different farms. Cows had estrus synchronized with an 11-day protocol, with 4 passages. The animals of the two stages were divided into 2 groups: Cont. (10 mL per animal of saline solution applied intramuscularly); VitA (10 mL of injectable vitamin A supplement - Hipovita A®, IBASA, Brazil - per animal administered intramuscularly). **Results:** Chapter 1) Vitamin A and/or β-carotene supplementation in cows deficient in these nutrients increased corpus luteum size and progesterone concentration, resulting in a higher pregnancy rate; Chapter 2) Step 1: Treatment with Vitamin A did not influence the size of the dominant follicle (p=0.16), the corpus luteum volume (p=0.90), the plasma concentration of progesterone (p=0.44), nor in the pregnancy rate (p=0.13). The CL diameter in the Vit A group showed smaller measurements than the Cont group (VitA= 16.2 mm  $\pm$  1.10; Cont.= 18.7 mm  $\pm$  1.10; p= 0.03) 21 days after the insemination. The Vit A group showed a tendency to increase rectal temperature 21 days after insemination (VitA= 39.9°C ± 0.19; Cont.= 39.4 ± 0.19; p= 0.10). Stage 2: There was no significant difference in the general pregnancy rate between the groups, however, when the animals were analyzed according to their body score, a tendency towards a reduction in the pregnancy rate of animals with body scores between 5 and 6 was observed. Vit A group (VitA=  $35.90\% \pm 7.02$ ; Cont.=  $51.90\% \pm 7.02$ ; p= 0.10). Conclusion: Chapter 1) Supplementation with Vitamin A and/or β-carotene improves the reproductive parameters of cows, especially in cases of deficiency of these nutrients (< 300 μg/dl of βcarotene and < 25 µg/dl of vitamin A); Chapter 2) Injectable vitamin A supplementation reduced the diameter of the corpus luteum and increased the rectal temperature of Nelore cows 21 days after insemination. The pregnancy rate of cows with a score between 5 and 6 that received vitamin A supplementation showed a tendency to decrease.

Keywords: Antioxidant; carotenoids; fertility; oxidative stress; reproduction

## Lista de tabelas

Tabela 1 — Médias para peso corporal e temperatura retal de vacas Nelores suplementadas com uma única injeção intramuscular (10 ml/vaca) de solução salina ou vitamina A injetável (Vit A) 11 dias antes da IA (d -11; Exp. 1)	47
Tabela 2 – Médias para tamanho de folículo dominante, diâmetro de corpo lúteo, volume de corpo lúteo, concentrações plasmáticas de progesterona e taxa de prenhez de vacas Nelores suplementadas com uma única injeção intramuscular (10 ml/vaca) de solução salina ou vitamina A injetável (Vit A) 11 dias antes da IA (d -11; Exp. 1).	
	48
Tabela 3 - Composição química da forrageira da Fazenda Escola (FAMEZ – UFMS) (etapa 1)	
	49
Tabela 4 - Taxa de prenhez em vacas Nelores suplementadas com uma única injeção	
intramuscular (10 ml/vaca) de solução salina ou vitamina A injetável 11 d antes da IA	
(d-11; etapa 2)	
	49

SUMÁRIO	10
INTRODUÇÃO	
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
CAPÍTULO 1 - SUPLEMENTAÇÃO DE VACAS DE CORTE COM VITAMINA A	
INÍCIO DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO: REVISÃO	
RESUMO	
ABSTRACT	18
INTRODUÇÃO	19
FONTES DE CAROTENOIDES E VITAMINA A NA ALIMENTAÇÃO DE BO	
	20
METABOLISMO DA VITAMINA A E CAROTENOIDES	23
EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE B-CAROTENO E/OU VITAMINA A SOI	3RE O
DESEMPENHO REPRODUTIVO DE VACAS	25
CONCLUSÃO	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
CAPÍTULO 2 – EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO INJETÁVEL DE VITAMINA A	NO
INÍCIO DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO SOBRE O DESEMI	PENHO
REPRODUTIVO EM VACAS DE CORTE	33
RESUMO	35
INTRODUÇÃO	36
MATERIAIS E MÉTODOS	
Etapa 1 – Metabolismo	37
Animais e tratamento	37
Colheita das amostras e procedimentos analíticos	38
Etapa 2 – Desempenho reprodutivo	39
Animais e tratamento	39
Colheita das amostras e procedimentos analíticos	40
Análises estatísticas	40
RESULTADOS	41
Etapa - 1 Peso corporal, temperatura retal, tamanho de folículo dominante, diâmetr	o e
volume de CL, concentração plasmática de progesterona e taxa de prenhez	41
Etapa 2 - Taxa de prenhez.	
DISCUSSÃO	
CONCLUSÃO	

CONFLITO DE INTERESSE	44
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

### INTRODUÇÃO

A vitamina A é uma molécula lipossolúvel essencial na nutrição de bovinos. Diversas funções são dependentes dessa vitamina, desde a manutenção da integridade da pele e mucosas, síntese de hormônios e imunidade. Sua carência pode acarretar em redução do apetite, atraso no crescimento, problemas ósseos e visuais, maior sensibilidade a infecções e problemas reprodutivos, incluindo sinais fracos de cio, atraso na ovulação, baixa taxa de concepção e abortos (NRC, 2016).

A vitamina A pode ser encontrada apenas nos tecidos dos animais, não estando presentes nos vegetais. Dessa forma, para que os herbívoros tenham suas necessidades atendidas, necessitam ingerir carotenoides, que são moléculas percursoras de vitamina A, e são encontrados nos tecidos vegetais. Esses carotenoides podem ou não ser convertidos à vitamina A no intestino delgado, sendo transportados via sistema linfático e armazenados no fígado. As forragens em crescimento vegetativo ativo são normalmente ricas em caroteno, porém a concentração dessa provitamina A tende a diminuir com a senescência da planta (Parker et al., 2017).

Vacas com retenção de placenta apresentaram menores concentrações plasmáticas de β-caroteno em comparação a vacas saudáveis (Akar e Gazioglu, 2006). A suplementação com vitamina A isoladamente ou associada ao β-caroteno em vacas com problemas crônicos de fertilidade aumentou o tamanho de corpo lúteo e concentração de progesterona, resultando em maior taxa de prenhez (Trojačanec et al., 2012). Já a suplementação de vacas que não apresentavam deficiência de β-caroteno, não resultou em efeito positivo sobre os parâmetros reprodutivos (Folman et al., 1983).

Atualmente, a maioria dos estudos avaliando a suplementação com vitamina A foi realizado em rebanhos leiteiros. Desse modo, tornam-se necessários estudos avaliando essa suplementação em momentos específicos do ciclo de produção e reprodução de bovinos de corte. Sendo assim, os objetivos do presente trabalho foram: Cap. 1) realizar uma revisão de literatura sobre os efeitos da suplementação de vitamina A e β-caroteno sobre o desempenho reprodutivo de vacas; Cap. 2) avaliar os efeitos da suplementação com vitamina A sobre a concentração plasmática de progesterona, tamanho de folículo dominante, diâmetro e volume e corpo lúteo e taxa de prenhez em vacas de corte da raça Nelore, mantidas em pastagens.

	^
32	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS
34	REI EREICIAS DIDEICORAI ICAS

- 33 AKAR, Y.; GAZIOGLU, A. Relationship between vitamin A and β-carotene levels
- during the postpartum period and fertility parameters in cows with and without
- retained placenta. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**, v. 50, p. 93-96,
- 36 2006.
- FOLMAN, Y., ROSENBERG, M., ASCARELLI, I., KAIM, M., HERZ, Z. The effect of
- dietary and climatic factors on fertility, and on plasma progesterone and oestradiol-
- 39 17 beta levels in dairy cows. **Journal of Steroid Biochemistry**. v.19, p. 863-868,
- 40 1983.
- 41 NRC Nutrient Requirements of Beef Cattle Eighth revised edition. National
- 42 Academy Press, Washington DC, 2016.
- PARKER, E. M.; GARDINER, C. P.; KESSELL, A. E.; PARKER, A. J. Hypovitaminosis
- A in extensively grazed beef cattle. **Australian Veterinary Journal**, v. 95, n. 3, p.
- 45 80-84, 2017.
- 46 TROJAČANEC, S.; BOBOŠ, S.; PAJIĆ, M. Influence of β-carotene and vitamin A
- supplementation on the ovarian activity of dairy cows with chronic fertility
- 48 impairment. **Veterinarski Arhiv,** v. 82, p. 567-575, 2012.

49	CAPÍTULO 1 - SUPLEMENTAÇÃO DE VACAS DE CORTE COM
50	VITAMINA A NO INÍCIO DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO
51	FIXO: REVISÃO

52	SUPLEMENTAÇÃO DE VACAS DE CORTE COM VITAMINA A NO INÍCIO
53	DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO: REVISÃO
54	FURTADO, Fernando Henrique Garcia <sup>a</sup> , FRANCO, Gumercindo Loriano <sup>a,*</sup>
55	<sup>a</sup> Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Mato
56	Grosso do Sul
57	*Autor correspondente: Endereço de e-mail gumercindo.franco@ufms.br

## 58 SUPLEMENTAÇÃO DE VACAS DE CORTE COM VITAMINA A NO INÍCIO

## DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO: REVISÃO

#### RESUMO

O estresse oxidativo causa impacto negativo sobre a eficiência reprodutiva de diferentes espécies animais, dentre elas a bovina. A vitamina A é uma importante molécula antioxidante, e parece ter uma especial função nos processos oxidativos relacionados às funções reprodutivas, como a luteinização. Em decorrência do processo fermentativo ruminal, a suplementação de vitaminas, por meio de rações, pode levar a degradação deste composto em até 80% do total ingerido. Logo, para reduzir esta perda, a via parenteral pode ser adotada. A suplementação com vitamina A, associada ou não ao β-caroteno, tem proporcionado melhorias nos índices reprodutivos de vacas, principalmente em animais com deficiência nutritiva ou em momentos do ciclo reprodutivo em que a exigências desse nutriente está aumentada. Os principais resultados positivos encontrados foram aumento da concentração sanguínea de vitamina A, aumento da taxa de prenhez, aumento da concentração de progesterona na fase de corpo lúteo e aumento de estrógeno. Porém, em alguns casos, a suplementação com vitamina A não resultou em aumento da taxa de prenhez nem nas concentrações sanguíneas de hormônios ovarianos, como progesterona e estradiol.

Palavras chaves: antioxidante; carotenoides; fertilidade; estresse oxidativo; reprodução

#### **ABSTRACT**

Oxidative stress causes a negative impact on the reproductive efficiency of different animal species, including bovine. Vitamin A is an important antioxidant molecule, and seems to have a special role in oxidative processes related to reproductive functions, such as luteinization. As a result of the ruminal fermentation process, vitamin supplementation, through rations, can lead to the degradation of this compound in up to 80% of the total ingested. Therefore, to reduce this loss, the parenteral route can be adopted. Vitamin A supplementation, associated or not with  $\beta$ -carotene, has provided improvements in the reproductive indices of cows, especially in animals with nutritional deficiency or at times of the reproductive cycle when the requirements of this nutrient are increased. The main positive results found were an increase in the blood concentration of vitamin A, an increase in the pregnancy rate, an increase in estrogen. However, in some cases, vitamin A supplementation did not result in an increase in the pregnancy rate or in the blood concentrations of ovarian hormones such as progesterone and estradiol.

92 Keywords: antioxidant; carotenoids; fertility; oxidative stress; reproduction

## INTRODUÇÃO

A nutrição do animal é fator determinante sobre sua saúde e níveis de produtividade, influenciando no crescimento, reprodução e função imune. Deficiências de macronutrientes, como a energia, proteína e macrominerais, decorrentes de mudanças na condição corporal, estão associadas a problemas reprodutivos e redução de desempenho (Waldner e Uehlinger, 2017). Todavia, esse desempenho animal pode ser comprometido mesmo em situações em que não é observado deficiência de macronutrientes, surgindo questões a respeito de outros fatores nutricionais, como as deficiências de micronutrientes (Elghafghuf et al., 2014).

As vitaminas e os microminerais são micronutrientes associados com a manutenção da saúde e função imune do animal. Deficiências agudas desses nutrientes podem levar a sintomas clínicos clássicos, como crescimento retardado e aparência debilitada. Porém, as deficiências subclínicas são as que mais acontecem, sendo sua detecção mais difícil, o que pode acarretar em perdas econômicas (Kegley et al., 2016).

A vitamina A é um micronutriente essencial ao animal, pois atua em diversas funções, como: manutenção da integridade da pele e mucosas, síntese de hormônios e imunidade. Sua carência pode acarretar em redução do apetite, atraso no crescimento, problemas ósseos e visuais, maior sensibilidade a infecções e problemas reprodutivos, incluindo sinais fracos de cio, atraso na ovulação, baixa taxa de concepção e abortos (NRC, 2016).

A vitamina A não ocorre em tecidos vegetais. Os ruminantes obtêm esse nutriente a partir dos carotenoides, os quais serão convertidos em vitamina A no organismo animal. Cerca de 90% da vitamina A corporal, convertida a partir dos carotenoides, encontra-se armazenada no fígado. As concentrações sanguíneas são controladas com base nesse estoque, que pode servir como proteção contra hipovitaminoses por períodos de 2 a 4 meses. Uma vez depletados esses estoques, as concentrações sanguíneas podem reduzir rapidamente, levando a ocorrência de sinais clínicos de deficiência (NRC, 2016).

Forragens em crescimento vegetativo são normalmente ricas em caroteno, sendo suas concentrações reduzidas com a senescência dos tecidos vegetais. Desse modo, em condições normais de pastejo, a maioria dos ruminantes adultos apresentará reservas adequadas de vitamina A no fígado, que podem ser utilizados durante o período seco, quando a disponibilidade nas forragens é reduzida. Todavia, em animais jovens, em

crescimento, gestantes ou lactantes, quando as exigências se encontram aumentadas, ou quando os níveis de consumo de carotenoides ou reservas corporais de vitamina A são reduzidos, a probabilidade de ocorrência de hipovitaminoses é maior (Parker et al., 2017).

O  $\beta$ -caroteno é o principal precursor de vitamina A ingerido pelos ruminantes. Ele pode ser absorvido intacto e ser temporariamente armazenado no fígado, apresentando um papel importante no organismo animal sem ser convertido em vitamina A. Foram observadas correlações positivas entre a suplementação com  $\beta$ -caroteno e a parâmetros reprodutivos (De Gouvêa et al., 2018), onde baixas concentrações plasmáticas de  $\beta$ -caroteno foram associadas a problemas no ciclo estral e infertilidade (Ay et al., 2012a).

A suplementação com vitamina A é comumente realizada em bovinos de corte para assegurar uma boa saúde e adequado desempenho produtivo. Porém, uma fração considerável da vitamina suplementada é destruída pelos microrganismos ruminais, podendo variar de 20% em dietas a base de forragem até 80% em dietas ricas em concentrado. Assim, uma alternativa seria a suplementação com vitamina A protegida, para minimizar a sua destruição pelos microrganismos ruminais e aumentar a quantidade que chega ao duodeno (Alosilla Jr. et al., 2007).

A suplementação injetável de vitamina A é uma outra alternativa para contornar problemas de absorção e as interações negativas que podem ocorrer durante a fermentação ruminal, permitindo um atendimento de forma mais eficiente à demanda dos animais. Portanto, a presente revisão de literatura tem por objetivo trazer os principais resultados sobre os efeitos da suplementação de vitamina A e  $\beta$ -caroteno sobre os parâmetros reprodutivos em vacas.

# FONTES DE CAROTENOIDES E VITAMINA A NA ALIMENTAÇÃO DE BOVINOS

A vitamina A pode ser encontrada apenas nos tecidos dos animais, não estando presentes nos vegetais. Dessa forma, para que os herbívoros tenham suas necessidades de vitamina A atendidas, necessitam ingerir carotenoides, que são moléculas percursoras de vitamina A, e são encontrados nos tecidos vegetais. Diversos são os carotenoides percursores de vitamina A, como  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -caroteno,  $\gamma$ -caroteno e criptoxantina (presente no grão de milho). De forma geral, esses carotenoides podem ou não ser convertidos à vitamina A no intestino delgado, sendo transportados via sistema linfático e armazenados no fígado (Parker et al., 2017). Além da parede intestinal, o fígado e as

estruturas ovarianas também atuam na conversão dos carotenoides em vitamina A (Çelik t al., 2009).

A composição dos carotenoides dos alimentos, pode ser modificada pelas condições de crescimento, maturidade no momento da colheita, armazenamento póscolheita, altura de corte e processamento da forragem. Avaliando 18 diferentes alimentos comumente utilizados na alimentação de bovinos de corte, Pickworth et al., (2012), observaram que as forragens frescas podem apresentar concentrações de equivalentes de vitamina A (quantidade estimada de vitamina A convertida a partir de carotenoides) acima de 35.000 UI de vitamina A/kg de MS, enquanto os fenos em torno de 2.750 UI de vitamina A/kg de MS. Esses pesquisadores observaram também que a armazenagem de feno de festuca, mesmo que realizada em um galpão seco e coberto, por 4 meses, reduziu em 45% a concentração de equivalentes de vitamina A.

A secagem de forragens ao sol diminui muito a concentração de carotenoides (Park et al., 1983). Essa perda de carotenoides se deve principalmente à radiação solar, já que a exposição aos raios UV (de forma artificial), mesmo no escuro, foi capaz de destruir todos os carotenoides da amostra (Cardinault et al., 2004). Em uma ampla revisão de literatura realizada por Willians et al., (1998), os autores determinaram concentrações médias de β-caroteno de 196, 159, 81 e 36 mg/kg MS para forragem fresca, forragem desidratada (submetida a temperatura de 120°C até que a umidade reduza a 8%), silagem e feno, respectivamente, demonstrando que a forragem que passou pelo processo de fenação (realizado ao sol) foi a que apresentou menor concentração de β-caroteno.

A degradação dos carotenoides durante a ensilagem é dependente do pH, e favorecida por condições aeróbicas. Com o pH em torno de 5, a degradação foi maior em silagens de leguminosas do que de gramíneas, sendo potencializada pelo atraso da vedação do silo e pelo tempo de armazenamento. Em silagens mal feitas, onde havia entrada de oxigênio, as perdas de carotenoides chegaram a 80%, sendo reduzidas para menos de 20% em silagens bem feitas (Nozière et al., 2006). Não houve redução na concentração de carotenoides em silagem com pH de 4,0 – 4,5, porém quando o pH subiu para 4,5 – 4,7 ocorreu uma redução de 10%, acentuando ainda mais essa redução quando o pH passou de 5,0 (Wierzchowski e Basaj, 1966).

O milho, um dos principais ingredientes utilizados na formulação de suplementos concentrados e em dietas de confinamento, apresenta apenas traços de carotenoides.

Torsein et al. (2018), observaram concentrações sanguíneas de β-caroteno menor no soro sanguíneo dos animais alimentados com dietas com alta inclusão de silagem de milho. Diferente do observado em forragens, o processamento apresenta pouco efeito sobre os níveis de carotenoides no grão de milho, com concentrações de 170, 150 e 137 UI/kg de MS de equivalentes de vitamina A para grãos inteiros, triturados ou floculados, respectivamente. O milho em ponto de silagem (alta umidade) apresenta em média 360 UI de vitamina A/kg de MS, o que é 200 UI a mais do que em grãos inteiros secos (Pickworth et al., 2012).

Com a digestão fermentativa no rúmen, a matriz vegetal é degradada e os carotenoides são liberados no fluido ruminal (Mora et al., 1999). Livres no rúmen, as moléculas de carotenoides se tornam susceptíveis a degradação pelos microrganismos ruminais. Mora et al. (1999) encontrou níveis de degradação variando entre 10-25%, já King et al. (1962) chegou a resultados entre 40-55%. Por outro lado, Van Soest (1982) menciona que é possível que os carotenoides escapem para o intestino delgado sem serem degradados no retículo-rúmen. Essa variação encontrada nos diferentes trabalhos provavelmente se deve a fonte e a forma de fornecimento do carotenoide, sendo maior a degradação quando estes foram fornecidos como produtos purificados em comparação ao fornecimento como forragem (Nozière et al., 2006).

O tipo de dieta e consequentemente o perfil de fermentação ruminal podem influenciar na degradação dos carotenoides no rúmen e consequente ineficiência na digestão, absorção e atividade enzimática, associados à digestão e absorção lipídica (NRC, 2016). Em bovinos tratados com uma dieta com relação concentrado: volumoso de 70:30, foram observadas perdas de aproximadamente 80% de provitamina A, enquanto em dietas a base de forragem as perdas foram de aproximadamente 20% (Alosilla Jr. et al., 2007).

A variante raça do animal também tem efeito sobre o metabolismo dos carotenoides, sendo mais eficientes aquelas vacas que contêm mais gordura no leite e maior teor de tecido adiposo branco no intestino (McDowell, 2000). Segundo Noziere et al. (2006), vacas leiteiras da raça Montbeliarde apresentam mais vitamina A no leite e no plasma sanguíneo do que vacas da raça holandesa.

#### METABOLISMO DA VITAMINA A E CAROTENOIDES

As moléculas que possuem atividade de vitamina A podem ser divididas basicamente em dois grupos: aquelas encontradas no tecido animal (retinol, hidro retinol, ácido retinóico e retinal) e os carotenoides, que podem ser encontrados tanto em tecidos animais quanto em vegetais. Os carotenoides ingeridos a partir dos vegetais serão convertidos em vitamina A no intestino delgado e no fígado, por ação da enzima betacaroteno-15,15´-dioxigenase, que converte uma molécula de β-caroteno em duas moléculas de vitamina A. Embora pelo menos 80 provitaminas sejam conhecidas, a mais ativa e mais comum delas é o β-caroteno. Uma UI de vitamina A é equivalente a 0,03 μg de vitamina A ou 0,6 μg de β-caroteno (Ayaşan e Karakozak, 2010).

O animal ingere β-caroteno juntamente com os alimentos, principalmente volumosos, enquanto a vitamina A, na forma de ésteres de retinol, é normalmente suplementada no concentrado. No entanto, nem toda vitamina A e β-caroteno são absorvidos, pois uma parte é destruída no rúmen (Weiss, 1998). Os principais locais de armazenamento de β-caroteno no corpo incluem o plasma sanguíneo, seguido pelo fígado e tecido adiposo. Uma concentração elevada de β-caroteno pode ser encontrada também no corpo lúteo, dando a coloração amarelada a esse tecido (Akar e Gazioglu, 2006).

Os ésteres de retinol são hidrolisados no intestino e convertidos em retinol. Tanto o retinol quanto o  $\beta$ -caroteno são absorvidos pela mucosa intestinal. Uma parte do  $\beta$ -caroteno é transformada nas células da mucosa intestinal em retinal, que passa rapidamente para retinol. O retinol é reesterificado e junto com o  $\beta$ -caroteno não transformado, são "empacotados" em quilomícrons (lipoproteínas sintetizadas nas células epiteliais do intestino e usadas para transportar lipídios no sangue) e secretados no sangue através do sistema linfático. Os quilomícrons são transportados pelo sangue para o fígado, onde são armazenados até serem decompostos. No fígado, os ésteres de retinol são hidrolisados novamente em retinol, ligados a proteínas transportadoras e direcionados via sangue para órgãos-alvo. O  $\beta$ -caroteno, por sua vez, também é liberado e passa para o sangue para ser distribuído pelo organismo (Ikeda et al., 2005).

A principal função da vitamina A e do β-caroteno no organismo, e da qual derivam a maior parte de seus efeitos, é a sua ação antioxidante. Assim, seu papel mais importante é proteger o corpo dos radicais livres produzidos durante o metabolismo oxidativo normal do corpo. Um radical livre é uma molécula (orgânica ou inorgânica), extremamente instável e, portanto, com grande poder reativo que atua alterando a membranas celulares

e atacando o material genético das células. Os radicais livres, como o superóxido  $(O_2^-)$ , peróxido de hidrogênio  $(H_2O_2)$  e hidroxila  $(OH^-)$ , são constantemente produzidos como parte do funcionamento celular normal. O organismo se adaptou para desenvolver um sistema antioxidante que o protege. Quando há um desequilíbrio entre radicais livres e antioxidantes no organismo (glutationa e glutationa peroxidase, vitamina A, E,  $\beta$ -caroteno, etc.), ocorre o chamado estresse oxidativo (Kamiloglu et al., 2005).

A vitamina A é um importante antioxidante e desempenha um papel na captura de radicais livres em tecidos a baixas pressões parciais de oxigênio, complementando o efeito antioxidante da vitamina E, que é eficaz em concentrações mais altas de oxigênio. Por possuírem elevado teor de ácidos graxos poli-insaturados na sua membrana celular, e geralmente produzirem mais espécies reativas de oxigênio, as células do sistema imune são altamente sensíveis ao estresse oxidativo (Chew e Park, 2004).

Os carotenoides atuam na estimulação da atividade dos neutrófilos, proliferação e atividade de linfócitos, resposta de anticorpos, produção de citocinas e na atividade das enzimas citocromo oxidase e peroxidase, proporcionando uma melhora na função imunológica do animal. Essas funções dos carotenoides sempre foram atribuídas a sua conversão em vitamina A. Porém, estudos utilizando carotenoides que não são convertidos em vitamina A (por exemplo, luteína, licopeno, cantaxantina, astaxantina) demonstraram efeitos imunomoduladores dos carotenoides (Chew e Park, 2004),

Os radicais livres e espécies reativas ao oxigênio estão envolvidos em aspectos da biologia reprodutiva e gestacional e podem implicar em uma série de problemas associados à divisão celular, diferenciação e crescimento pré-natal (Agarwal et al., 2006; Aurousseau et al., 2006). Esses radicais podem danificar a membrana das células luteais e afetar a produção de progesterona devido à interrupção do transporte de colesterol, prejudicando os receptores de LH ou a atividade das enzimas citocromo (Agarwal et al., 2005).

Baixas concentrações sanguíneas de  $\beta$ -caroteno têm sido associadas à ocorrência de estro prolongado, atraso na ovulação, redução na intensidade dos sinais de estro, baixas taxas de concepção e baixas concentrações de progesterona. A suplementação com  $\beta$ -caroteno resultou em efeitos positivos sobre a reprodução, involução uterina, redução no intervalo entre o parto e o primeiro estro e maior produção de progesterona pelo corpo lúteo (Kaewlamun et al., 2011).

A vitamina A e o β-caroteno, apesar de atuarem em todos os processos oxidativos do organismo, parecem ter especial relevância naqueles relacionados à reprodução (Rapoport et al., 1998; Young et al., 1995). A regressão natural do corpo lúteo induzida pela PGF2α está associada ao acúmulo de espécies reativas ao oxigênio e o decréscimo das substâncias antioxidantes. A correlação positiva entre a capacidade antioxidante e os níveis de progesterona indica que mecanismos antioxidantes são ativados durante a esteroidogênese no corpo lúteo de bovinos (Pepperell et al., 2003; Stocco et al., 2007).

Existe um acúmulo, dependente da alimentação, de β-caroteno no tecido luteal de bovinos. As concentrações plasmáticas, folicular e no corpo lúteo são influenciadas pelo estágio do ciclo estral e gestação. Esse acúmulo está relacionado a função luteal independentemente da conversão em vitamina A (Arikan et al., 2002; Haliloglu et al., 2002).

Quando o corpo lúteo apresenta atividade metabólica elevada, baixos níveis de retinol podem ser observados, indicando um possível consumo dessa molécula durante a esteroidogênese. Dessa forma, a ingestão de  $\beta$ -caroteno deve ser suficiente para permitir o acúmulo no corpo lúteo, onde atuará como precursor local de retinol (Schweigert, 2003) e também tendo suas funções diretas como molécula de  $\beta$ -caroteno não convertida (Arikan et al., 2002; Haliloglu et al., 2002). A suplementação com  $\beta$ -caroteno também pode afetar de forma positiva a atividade ovariana, tendo sido demonstrado uma melhora no desenvolvimento dos oócitos em bovinos, ovinos e suínos (Hidalgo et al., 2005).

## EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE B-CAROTENO E/OU VITAMINA A SOBRE O DESEMPENHO REPRODUTIVO DE VACAS

As concentrações sanguíneas de  $\beta$ -caroteno devem estar entre 300 e 1200  $\mu g/dl$  de sangue, enquanto de vitamina A entre 25 e 80  $\mu g/dl$ . Valores abaixo de 7  $\mu g/dl$  de vitamina A, ou 100  $\mu g/dl$  de  $\beta$ -caroteno são considerados como uma deficiência grave. Valores intermediários entre 100 e 300  $\mu g/dl$  de  $\beta$ -caroteno são considerados uma deficiência leve (Michael et al., 1994). As exigências de vitamina A foram fixadas em 2.200 UI/kg de MS para bovinos de corte confinados, 2.800 UI/kg de MS para novilhas e vacas prenhez e 3.900 UI/kg de MS para vacas em lactação e animais em reprodução (NRC, 2016).

Durante o período periparto as fêmeas sofrem adaptações fisiológicas e metabólicas devido a transição da gestação para a lactação. Nesse período a produção de

radicais livres usualmente excede a capacidade dos sistemas antioxidantes, desenvolvendo um estresse oxidativo. Esse acúmulo excessivo de espécies reativas de oxigênio pode resultar na ocorrência de mastite, metrite e retenção das membranas fetais (Castilho et al., 2005). Foi observado que vacas com retenção de placenta apresentaram menores concentrações plasmáticas de β-caroteno em comparação a vacas saudáveis (Akar e Gazioglu, 2006).

Vacas que ovularam em até 30 dias pós-parto apresentaram maiores concentrações de β-caroteno quando comparadas a vacas que ovularam em um intervalo mais prolongado (Kawashima et al., 2009). A suplementação oral com 1 g/dia de β-caroteno a vacas leiteiras durante 60 dias pré-parto aumentou os níveis plasmáticos desse percursor da vitamina A. Todavia, não foram observados efeitos positivos sobre a involução uterina e atividade ovariana, podendo os efeitos da suplementação sobre a atividade ovariana ter sido minimizado devido à parada da suplementação no momento do parto (Kaewlamun et al., 2011).

Vacas suplementadas via intra muscular (IM) com β-caroteno (aplicação feita no dia 30 pós-parto) aumentaram a concentração sanguínea já no 1º dia após a aplicação. As vacas suplementadas via oral (suplementação iniciada 30 dias antes do parto e mantida até 120 dias pós-parto) aumentaram a concentração sanguínea de β-caroteno já antes do parto, mantendo-se maiores que o grupo controle durante todo o período de suplementação. O grupo tratado via IM e o via oral apresentaram as mesmas concentrações sanguíneas de β-caroteno após as respectivas suplementações. Todos os grupos tratados apresentaram valores médios de β-caroteno superiores a 300 μg/dl (Aguiar-Zalzano et. al., 2022).

A aplicação de 200 mg de um produto comercial (Carofertin®) contendo  $\beta$ -caroteno, em 3 aplicações, aumentou a concentração plasmática de  $\beta$ -caroteno, mantendose alta até 37 dias após a IA (20 dias após a última aplicação). Melhorou também o tamanho e fluxo sanguíneo do corpo lúteo (Ay et al., 2012a). A suplementação via IM de  $\beta$ -caroteno na dose de 0,4 mg/kg PC de Carofertin® aumentou a taxa de prenhez quando as aplicações foram feitas 15 e 45 dias pós parto e 35 e 45 dias pós parto. Apenas o protocolo 15-45 foi capaz de reduzir significativamente o número de serviços por animal (Ay et al., 2012b).

Trojačanec et al. (2012) aplicou 200 mg de  $\beta$ -caroteno (Carofertin®) isoladamente e associado a vitamina A (50.000 UI) no momento da aplicação de PGF $_{2\alpha}$  (4 dias antes da IA) em vacas Holandesa com problemas crônicos de fertilidade. Os animais que receberam o  $\beta$ -caroteno associado a vitamina A apresentaram maior tamanho de corpo lúteo, maior concentração sanguínea de progesterona e maior taxa de prenhez do que os que receberam o  $\beta$ -caroteno isoladamente. A aplicação de vitamina A isoladamente também resultou em maiores taxas de prenhez do que quando administrado apenas  $\beta$ -caroteno. Todavia, tanto os tratamentos com vitamina A ou  $\beta$ -caroteno isoladamente, ou ambos associados, resultaram em maior tamanho de corpo lúteo, concentração de progesterona e taxa de prenhez, quando comparados ao grupo controle (não receberem nenhum suplemento).

Em um protocolo de sincronização de estro com GnRH e PGF2α, a aplicação de 1 mg/kg de PC de β-caroteno (Dalmavital®) associada a primeira aplicação de GnRH em vacas da raça Holandesa aumentou o diâmetro do folículo e do corpo lúteo, a concentração de progesterona e estradiol e as concentrações plasmáticas de β-caroteno e vitamina A. Porém, tais resultados não levou a aumento nas taxas de ovulação nem nas taxas prenhez (Çelik et al., 2009). Por outro lado, Kaçar et al. (2008) observou aumento na taxa de prenhez ao aplicar β-caroteno associado a vitamina E via parenteral, no momento da primeira aplicação de GnRH.

Trabalhando com um protocolo de superovulação para a colheita de embriões, Sekizawa et al. (2012) observaram que o número de embriões coletados não diferiu entre vacas com níveis plasmáticos de β-caroteno baixos (<150 μ/dL) ou elevados (>150 μ/dl). Porém, o número de embriões transferíveis foi significativamente superior nas vacas com níveis plasmáticos elevados de β-caroteno, demonstrando uma correlação positiva entre o β-caroteno plasmático e os resultados na coleta de embriões após o tratamento de superovulação.

A suplementação via parenteral de  $\beta$ -caroteno e tocoferol em duas aplicações foi capaz de aumentar a quantidade de embriões viáveis em vacas superovuladas. A melhor resposta ocorreu quando a dose foi de 1200 mg por aplicação, com as concentrações séricas de  $\beta$ -caroteno sendo mantidas superiores às do grupo controle até 16 dias após o início do protocolo. Todavia, quando a suplementação foi realizada com novilhas, o resultado observado foi oposto, com o menor número de embriões viáveis ocorrendo no grupo com o maior nível de suplementação (Sales et al., 2008).

### CONCLUSÃO

380

387

- A suplementação com Vitamina A e/ou β-caroteno melhora os parâmetros
- reprodutivos de vacas, especialmente em casos de deficiência desses nutrientes (< 300
- $\mu g/dl$  de β-caroteno e < de 25  $\mu g/dl$  de vitamina A). Essa melhora se deve,
- provavelmente, a ação antioxidante, tanto da vitamina A, quanto do β-caroteno, o que
- resulta em: aumento da produção de progesterona; aumento do tamanho de corpo lúteo e
- redução na incidência de patologias pós-parto como, retenção placentária.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 388 AGARWAL, A., GUPTA, S.; SHARMA, R. K. Role of oxidative stress in female
- reproduction. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 3p. 3-28, 2005.
- AGARWAL, A.; GUPTA, S.; SIKKA, S. The role of free radicals and antioxidants in
- reproduction. **Current Opinion in Obstetrics and Gynecology**, v. 18, p. 325-332,
- 392 2006.
- 393 AGUIAR-ZALZANO, E.; ROJAS-BOURRILLON, A.; MURILLO-BARRANTES, J.
- Efecto de la suplementación de β-caroteno en vacas lecheras sobre concentraciones
- en sangre y calostro, reproducción y salud de la ubre. **Nutrición Animal Tropical**,
- v. 16, n. 1, p. 53-81, 2022.
- 397 AKAR, Y.; GAZIOGLU, A. Relationship between vitamin A and β-carotene levels
- during the postpartum period and fertility parameters in cows with and without
- retained placenta. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**, v. 50, p. 93-96,
- 400 2006.
- 401 ALOSILLA Jr, C. E.; McDOWELL, L. R.; WILKINSON, N. S.; STAPLES, C. R.;
- THATCHER, W. W.; MARTIN, F. G.; BLAIR, M. Bioavailability of vitamin A
- sources for cattle. **Journal of Animal Sciences,** v. 85, p. 1235-1238, 2007.
- 404 ARIKAN, S.; SANDS, H. S.; RODWAY, R. G.; BATCHELDER, D. N. Raman
- spectroscopy and imaging of beta-carotene in live corpus luteum cells. **Animal**
- 406 **Reproduction Science**, v. 71, p. 249-266, 2002.
- 407 AUROUSSEAU, B; GRUFFAT, D.; DURAND, D. Gestation linked radical oxygen
- species fluxes and vitamins and trace mineral deficiencies in the ruminant.
- 409 **Reproduction Nutrition Development**, v. 46, p. 601-620, 2006.
- 410 AY, S. S.; KAYA, D.; KUCUKASLAN, I.; AGAOGLU, A. R.; EMRE, B.; HANDLER,
- J.; FINDIK, M.; ASLAN, S. Beneficial effects of Beta-carotene injections prior to

- treatment with PGF2a on the fertility of postpartum dairy cows. Revue de
- 413 **Médecine Vétérinaire**, v. 163, p. 387-392, 2012b.
- 414 AY, S. S.; KUCUKASLAN, I.; KAYA, D.; MÜLAZIMOĞLU, S. B.; EMRE, B.;
- KAÇAR, C.; KALENDER, H.; FINDIK, M.; BOLLWEIN, H.; RIEGLER, M.;
- SCHÄFER-SOMI, S.; SCHOLBACH, J.; ASLAN, S. The Change in Luteal Blood
- Flow and Luteal Size after Beta Carotene and GnRH Injections in Early Pregnant
- Dairy Cows. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, v. 18, p. 1035-
- 419 1041, 2012a.
- 420 AYAŞAN, C.; KARAKOZAK, E. Use of β-Carotene in Animal Nutrition and Its Effects.
- Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, v. 6, p. 697-705, 2010.
- 422 CARDINAULT, N., DOREAU, M., NOZIERE, P. Fate of carotenoids in the rumen.
- 423 **Rencontres Recherche Ruminants**. V. 11, p. 82, 2004.
- 424 CASTILLO, C.; HERNANDEZ, J.; BRAVO, A.; LOPEZ-ALONSO, M.; PEREIRA, V.;
- BENEDITO, J. L. Oxidative status during late pregnancy and early lactation in
- dairy cows. **The Veterinary Journal**, v. 169, p. 286–292, 2005.
- 427 ÇELİK, H. A.; AVCI, G.; AYDIN, I.; BÜLBÜL, A.; BÜLBÜL, T. Effect of β-carotene
- on Ovarium Functions and Ovsynch Success in Repeat Breeder Cows. Kafkas
- **Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi,** v. 15, p. 87-94, 2009.
- 430 CHEW, B. P.; PARK, J. S. Carotenoid action on the immune response. The Journal of
- **Nutrition,** v. 134, p. 257-261, 2004.
- DE GOUVÊA, V.; COLLI, M.; GONÇALES JUNIOR, W.; MOTTA, J., ACEDO, T.,
- DE VASCONCELLOS, G.; TAMASSIA, L, ELLIFF, F.; MINGOTI, R.;
- BARUSELLI, P. The combination of  $\beta$ -carotene and vitamins improve the
- pregnancy rate at first fixed-time artificial insemination in grazing beef cows.
- 436 **Livestock Science**, v. 217, p.30-36, 2018.
- ELGHAFGHUF, A.; STRYHN, H.; WALDNER, C. A. Cross-classified and multiple
- membership Cox model applied to calf mortality data. **Preventive Veterinary**
- 439 **Medicine**, v. 115, p. 29-38, 2014.
- 440 ELLIOTT, R. Mechanisms of genomic and non-genomic actions of carotenoids.
- **Biochimica et Biophysica Acta,** v. 1740, p. 147-154, 2005.
- HALILOGLU, S.; BASPINAR, N.; SERPEK, B.; ERDEM, H.; BULUT, Z. Vitamin A
- and β- carotene levels in plasma, corpus luteum and follicular fluid of cyclic and
- pregnant cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 37, p. 96-99, 2002.

- 445 HIDALGO, C.; DIEZ, C.; DUQUE, P.; PRENDES, J. M.; RODRIGUEZ, A.;
- GOYACHE, F.; FERNANDEZ, I.; FACAL, N.; IKEDA, S.; ALONSO-MONTES,
- 447 C.; GÓMEZ, E. Oocytes recovered from cows treated with retinal become unviable
- as blastocysts produced in vitro. **Reproduction**, v. 129, p. 411-421, 2005.
- 449 IKEDA, S., KITAGAWA, M., IMAI, H., YAMADA, M. The roles of Vitamin A for
- cytoplasmic maturation of bovine oocytes. Journal of Reproduction and
- **Development**. v. 51, p. 23-35, 2005.
- 452 KAÇAR, C.; KAMİLOĞLU, N. N.; UÇAR, Ö.; ARI, U. Ç.; PANCARCI, Ş. M.;
- 453 GÜNGÖR, Ö. Effect of Ovsynch and Cosynch Synchronisation Programmes
- Combined with β-carotene+ Vitamin E Administration upon the Pregnancy Rates
- in Cows. **Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, v. 14, p. 45-50, 2008.
- 456 KAEWLAMUN, W.; OKOUY, M.; HUMBLOT, P.; TECHAKUMPHU, M.; PONTER,
- 457 A. A. Does supplementing dairy cows with  $\beta$ -carotene during the dry period affect
- postpartum ovarian activity, progesterone, and cervical and uterine involution?.
- **Theriogenology**, v. 75, p. 1029-1038, 2011.
- KAMILOGLU, NN., BEYTUTE, GÜRBULAK, K., OGUN, M. Effects of vitamin A and
- $\beta$ -carotene injection on levels of vitamin E and on glutathione peroxidase activity
- in pregnant tuj sheep. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**. v. 29:
- p. 1033-1038, 2005.
- 464 KAWASHIMA, C.; KIDA, K.; SCHWEIGERT, F. J.; MIYAMOTO, A. Relationship
- between plasma β-carotene concentration during the peripartum period and
- ovulation of the first follicular wave postpartum in dairy cows. Animal
- **Reproduction Science**, v. 111, p.105–111, 2009.
- 468 KEGLEY, E.B.; BALL, J.J.; BECK, P.A. BILL E. KUNKLE INTERDISCIPLINARY
- 469 BEEF SYMPOSIUM: Impact of mineral and vitamin status on beef cattle immune
- function and health. **Journal of Animal Science**, v.94, n.12, p. 5401–5413, 2016.
- KING, T.B., LOHMAN, T.G., SMITH, G.S. Evidence of rumeno-reticular losses of
- Vitamin A and carotene. **Journal of Animal Science**. v. 21, p. 1002, 1962.
- 473 MCDOWELL, L. Vitamins in Animal and Human Nutrition,2nd edn. Iowa State
- 474 University Press, Ames, Iowa, 2000.
- 475 MICHAEL, J.J., HEIRMAN, L.R., WONG, T.S., CHEW, B.P., FRIGG, M., VOLKER,
- L. Modulatory effects of dietary beta-carotene on blood and mammary leukocyte
- function in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 77, p. 1408–
- 478 1421, 1994.

- 479 MORA, O., ROMANO, J.L., GONZALEZ, E., RUIZ, F.J., SHIMADA, A. In vitro and
- in situ disappearance of betacarotene and lutein from lucerne (*Medicago sativa*) hay
- in bovine and caprine ruminal fluids. Journal of the Science of Food and
- 482 **Agriculture**. v. 79, p. 273–276. 1999
- NOZIÈRE, P.; GRAULET, B.; LUCAS, A.; MARTIN, B.; GROLIER, P.; DOREAU, M.
- Carotenoids for ruminants: From forages to dairy products. **Animal Feed Science**
- and Technology, v. 131, p. 418-450, 2006.
- NRC Nutrient Requirements of Beef Cattle Eighth revised edition. National
- 487 Academy Press, Washington DC, 2016.
- PARK, Y.M., ANDERSON, M.J., WALTERS, J.L., MAHONEY, A.W., Effects of
- processing methods and agronomic variables on carotene contents in forages and
- predicting carotene in alfalfa hay with near-infrared-reflectance spectroscopy.
- 491 **Journal of Dairy Science**. v. 66, p. 235–245, 1983.
- PARKER, E. M.; GARDINER, C. P.; KESSELL, A. E.; PARKER, A. J. Hypovitaminosis
- A in extensively grazed beef cattle. **Australian Veterinary Journal**, v. 95, n. 3, p.
- 494 80-84, 2017.
- PEPPERELL, J. R.; PORTERFIELD, D. M.; KEEFE, D. L.; BEHRMAN, H. R.; SMITH,
- 496 P. J. Control of ascorbic acid efflux in rat luteal cells: role of intracellular calcium
- and oxygen radicals. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 285,
- 498 p.642-651, 2003.
- 499 PICKWORTH, C. L.; LOERCH, S. C.; KOPEC, R. E.; SCHWARTZ, S. J.; FLUHARTY,
- F. L. Concentration of pro-vitamin A carotenoids in common beef cattle feedstuffs.
- Journal of Animal Sciences, v. 90, p. 1553-15661, 2012.
- 502 RAPOPORT, R., SKLAN, D., WOLFENSEN, D., SHAHAMALBALANCY. A.,
- 503 HANUKOGLU, I. Antioxidant capacity is correlated with steroidogenic status of
- the corpus luteum during the bovine estrous cycle. **Biochimica et Biophysica Acta**.
- v. 1380, p.133-140, 1998.
- 506 SALES, J. N. S.; DIAS, L. M. K.; VIVEIROS, A. T. M.; PEREIRA, M. N.; SOUZA, J.
- 507 C. Embryo production and quality of Holstein heifers and cows supplemented with
- β-carotene and tocoferol. **Animal Reproduction Science**, v. 106, p. 77-89, 2008.
- SCHWEIGERT, F. J. Research note: changes in the concentration of  $\beta$ -carotene,  $\alpha$ -
- 510 tocopherol and retinol in the bovine corpus luteum during the ovarian cycle.
- **Archives of Animal Nutrition,** v. 57, p. 307-310, 2003.

512	SEKIZAWA, F.; SAWAI, K.; TANAKA, M.; OKUDA, K. Relationship between embryo
513	collection results after superovulation treatment of japanese black cows and their
514	plasma \beta-carotene and vitamin concentrations. Journal of Reproduction and
515	<b>Development,</b> v. 58, p. 377-379, 2012.
516	STOCCO, C.; TELLERIA, C.; GIBORI, G. The molecular control of corpus luteum
517	formation, function, and regression. Endocrine Reviews, v. 28, p. 117-149, 2007.
518	TORSEIN, M., A. LINDBERG, C. SVENSSON, S. KROGH JENSEN, C. BERG Y K.
519	PERSSON WALLER. α-Tocopherol and β-carotene concentrations in feed,
520	colostrum, cow and calf serum in Swedish dairy herds with high or low calf
521	mortality. Acta Veterinaria Scandinavica, v. 60, n. 7, 2018.
522	TROJAČANEC, S.; BOBOŠ, S.; PAJIĆ, M. Influence of β-carotene and vitamin A
523	supplementation on the ovarian activity of dairy cows with chronic fertility
524	impairment. Veterinarski Arhiv, v. 82, p. 567-575, 2012.
525	VAN SOEST, P. Nutritional ecology of the ruminant. O and B Books, Corvallis, Oregon,
526	USA, p. 260-263, 1982.
527	WALDNER, C. L.; UEHLINGER, F. D. Factors associated with serum vitamin A and
528	vitamin E concentrations in beef calves from Alberta and Saskatchewan and the
529	relationship between vitamin concentrations and calf health outcomes. Canadian
530	Journal of Animal Sciences, v. 97, p. 65-82, 2017.
531	WEISS, W. Requirements of fat-soluble vitamins for dairy cows: a review. Journal of
532	<b>Dairy Science.</b> v. 81, p. 2493–2501, 1998.
533	WIERZCHOWSKI, Z.; BASAJ, J. Vitamin value of ensiled green feeds. Rocznik nauk
534	rollniczych. Série B. Zootechnika. v. 88, p.79-92, 1966.
535	WILLIAMS, P.E.V., BALLET, N., ROBERT, J.C. A review of the provision of vitamins
536	for ruminants. In: Proceedings of the Preconference Symposium of the Cornell
537	Nutrition Conference 1998. Provision of Vitamins and Amino Acids for
538	Ruminants, Rhone Poulenc Animal Nutrition, Antony, France, pp. 7–37, 1998.
539	YOUNG, F., LUDERER, W., RODGERS, R. The antioxidant β-carotene prevents
540	covalente cross-linking between cholesterol side-chain cleavege cytochrome P450

and its eléctron donor adrenodoxin in bovine luteal cells. Molecular and Cellular

**Endocrinology**. v.109: p. 113-118, 1995.

546	
547	
548	CAPÍTULO 2 – EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO INJETÁVEL DE
549	VITAMINA A NO INÍCIO DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO
550	FIXO SOBRE O DESEMPENHO REPRODUTIVO EM VACAS DE CORTE

551	EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO INJETÁVEL DE VITAMINA A NO INÍCIO DA
552	INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO SOBRE O DESEMPENHO
553	REPRODUTIVO EM VACAS DE CORTE
554	
555	FURTADO, Fernando Henrique Garcia <sup>a</sup> , FRANCO, Gumercindo Loriano <sup>a,*</sup>
556	
557	<sup>a</sup> Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Mato
558	Grosso do Sul
559	*Autor correspondente: Endereço de email gumercindo.franco@ufms.br

#### **RESUMO**

560

O presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar os efeitos da suplementação 561 com vitamina A sobre a concentração de progesterona, tamanho de folículo dominante, 562 563 diâmetro e volume de corpo lúteo, e taxa de prenhez em vacas de corte da raça Nelore, mantidas em pastagens. Material e métodos: O experimento foi dividido em 2 etapas. 564 Etapa 1) foram utilizadas 18 vacas multíparas da raça Nelore com escore de condição 565 corporal entre 4 e 6 e folículo dominante maior que 7,0 mm no início do experimento. Os 566 animais foram divididos em 2 grupos: Cont. (10 mL por animal de solução salina aplicado 567 via intramuscular); VitA (10 mL de suplemento injetável de vitamina A - Hipovita A<sup>®</sup>, 568 569 IBASA, Brasil - por animal aplicado via intramuscular). As vacas tiveram o estro sincronizado com um protocolo de 11 dias, com 3 passagens. No D0 todas as vacas foram 570 571 inseminadas por um único inseminador e com sêmen do mesmo touro Nelore. A aplicação 572 dos tratamentos foi feita no dia de início do protocolo (d -11). Etapa 2) foram utilizadas 365 vacas da raça Nelore com escore corporal entre 2 e 6. Os animais eram pertencentes 573 a 3 diferentes fazendas, e em cada fazenda os animais foram divididos também em 2 574 grupos, recebendo os mesmos tratamentos da etapa 1. As vacas tiveram o estro 575 sincronizado com um protocolo de 11 dias, com 4 passagens. No D0 todas as vacas foram 576 inseminadas por um único inseminador e com sêmen do mesmo touro Nelore. Os 577 tratamentos foram realizados no dia de início do protocolo (d -11). **Resultados: Etapa 1**) 578 579 O tratamento com Vitamina A não apresentou influência no tamanho do folículo 580 dominante no D0 (p=0,16), no volume de corpo lúteo (p=0,90), concentração plasmática 581 de progesterona (p=0,44), nem na taxa de prenhez (p=0,13). O diâmetro de CL do grupo 582 Vit A apresentou medidas menores do que o grupo Cont (VitA= 16,2 mm  $\pm$  1,10; Cont.= 18,7 mm  $\pm$  1,10; p= 0,03). Já em relação a temperatura retal, o grupo Vit A apresentou 583 584 uma tendência de aumento da temperatura (VitA= 39,9°C  $\pm$  0,19; Cont.= 39,4  $\pm$  0,19; p= 0,10). Etapa 2) Não houve diferença significativa na taxa de prenhez geral entre os 585 586 grupos, porém, quando os animais foram analisados de acordo com seu escore corporal, 587 foi observada uma tendência de redução na taxa de prenhez dos animais com escore entre 588 5 e 6 do grupo Vit A (VitA=  $35,90\% \pm 7,02$ ; Cont.=  $51,90\% \pm 7,02$ ; p= 0,10). Conclusão: A suplementação injetável de vitamina A, não associada ao β-caroteno, realizada em 589 590 animais com um bom escore corporal, não resultou em melhora dos parâmetros 591 reprodutivos de vacas da raça Nelore. Palavras-chave: Antioxidante; carotenoides; fertilidade; estresse oxidativo; reprodução 592

# INTRODUÇÃO

A reprodução de vacas pode ser influenciada por diversos fatores, sendo a nutrição um dos mais importantes. A vitamina A é um elemento fundamental para os ruminantes. Porém, esse composto não ocorre em tecidos vegetais, dessa forma, seu suprimento dietético nos herbívoros é originado a partir dos carotenoides, principalmente  $\beta$ -caroteno. Embora as forragens verdes tenham alta concentração de  $\beta$ -caroteno, esta pode ser reduzidas consideravelmente durante o processo de armazenamento, passando de 300 ppm para 10 ppm na forragem armazenada (Arikan e Rodway, 2001). Kalač et al. (2013) observaram reduções nas concentrações de  $\beta$ -caroteno de 19%, 59% e 82% em forragem desidratada, silagem e feno, respetivamente, em comparação com as concentrações iniciais na forragem verde.

A literatura tem relatado que concentrações plasmáticas de β-caroteno e vitamina A estão diretamente e positivamente correlacionadas a índices reprodutivos positivos (Trojačanec et al., 2012), visto que a deficiência de β-caroteno e vitamina A resultou em duração prolongada do estro, ovulação retardada, desenvolvimento retardado do corpo lúteo e maior incidência de cistos ovarianos resultando em baixas taxas de concepção e abortos no início da gestação (Pethes et al., 1985). Por outro lado, há relatos de que a taxa de concepção e a concentração plasmática de progesterona não foram influenciadas pela injeção de β-caroteno (Gossen e oedemaker, 2005).

A principal função da vitamina A e do β-caroteno no organismo, e da qual derivam a maior parte de seus efeitos, é a sua ação antioxidante. Assim, seu papel mais importante é proteger o corpo dos radicais livres produzidos durante o metabolismo oxidativo normal do corpo. Um radical livre é uma molécula (orgânica ou inorgânica), extremamente instável e, portanto, com grande poder reativo que atua alterando a membranas celulares e atacando o material genético das células (Quintela et al., 2008)

O organismo se adaptou para desenvolver um sistema antioxidante que o protege. Quando há um desequilíbrio entre radicais livres e antioxidantes no organismo (glutationa e glutationa peroxidase, vitamina A, E, β-caroteno, etc.), ocorre o chamado estresse oxidativo (Kamiloglu et al., 2005). O excesso de espécies reativas de oxigênio compromete a função celular causando falência de órgãos. A vitamina A e o β-caroteno, apesar de atuarem em todos os processos oxidativos do organismo, parecem ter especial relevância naqueles relacionados à reprodução (Rapoport et al., 1998; Young et al., 1995).

Com base nisso, podemos dizer que quando o animal não possui um nível suficiente de antioxidantes, haverá um efeito negativo na reprodução. De acordo com Can et al. (1986) e Puls (1994), os níveis normais de vitamina A estão entre 25 e 80  $\mu$ g/dl, enquanto os de  $\beta$ -caroteno estão entre 300 e 1200  $\mu$ g/dL; de tal forma que, níveis de vitamina A abaixo de 7  $\mu$ g/dL ou de  $\beta$ -caroteno abaixo de 100  $\mu$ g/dL, suporiam uma deficiência grave, e níveis intermediários uma deficiência leve.

Existem muitas referências na literatura que relacionam os níveis de vitamina A e β-caroteno, e sua suplementação, à função reprodutiva em vacas leiteiras (Trojačanec et al., 2012; Aguiar-Zalzano et al., 2022; Kawashima et al., 2009). Porém os trabalhos avaliando os resultados dessa suplementação em vacas de corte, criadas em sistemas extensivos são escassos. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos da suplementação com vitamina A sobre a concentração plasmática de progesterona, diâmetro de folículo dominante, diâmetro e volume de corpo lúteo, e taxa de prenhez em vacas de corte da raça Nelore, mantidas em pastagens.

### MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi conduzido de acordo com os padrões éticos aplicados à pesquisa com animais e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) sob o protocolo nº 1.027/2019.

O trabalho foi dividido em 2 etapas, conforme segue:

## Etapa 1 – Metabolismo

#### Animais e tratamento

O experimento foi conduzido na Fazenda Escola da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UFMS, localizada em Terenos-MS, nas coordenadas 20°26′50.8″S, 54°50′21.5″O. Foram selecionadas 18 vacas multíparas da raça Nelore com escore de condição corporal entre 4 e 6 e folículo dominante maior que 7,0 mm no início do experimento. O estudo teve a duração de 41 dias, compreendendo o período de 11 dias anteriores (d -11) a IA (d 0) e 30 dias após esta (d 30).

Os animais ficaram alojados em um único piquete de 12 ha formado com capimmarandu [*Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich) R. D. Webster, cv. Marandu], com livre acesso a água e suplemento mineral.

Os animais foram divididos em dois tratamentos:

- CON – Solução Salina (10 mL por animal aplicado via intramuscular);

- VITA – Suplemento injetável de vitamina A (10 mL por animal aplicado via intramuscular).

A solução injetável de vitamina A apresentava em sua composição 200.000 UI/mL (Hipovita A<sup>®</sup>, IBASA, Brasil). A fonte de vitamina A utilizada pelo composto comercial era o palmitato de retinol.

Todas as vacas tiveram o estro sincronizado para IATF por um protocolo de 11 dias (d -11 ao d 0), sendo selecionados apenas animais que apresentaram folículo dominante com diâmetro > 7 mm na data de início do protocolo de IATF. No dia -11 foi administrado na forma injetável [intramuscular (IM)] 2,0 mg de benzoato de estradiol (IM; Gonadiol®; Zoetis, São Paulo, Brasil) e foi realizada a inserção de dispositivo intravaginal, de primeiro uso, contendo 1,9 g de progesterona (CIDR®; Zoetis, São Paulo, Brasil). No d -2 foi realizada a remoção do dispositivo de progesterona, injeção de 12,5 mg de PGF<sub>2α</sub> (IM; Lutalyse®; Zoetis, São Paulo, Brasil), 1,0 mg de cipionato de estradiol (IM; ECP®; Zoetis, São Paulo, Brasil) e 300 UI de eCG (IM; Novormon®; Zoetis, São Paulo, Brasil). No dia 0 todas as vacas foram inseminadas por um único inseminador e com sêmen do mesmo touro Nelore.

Tanto a solução salina, quanto o suplemento de vitamina A foram aplicados no d-11 do protocolo de IATF.

# Colheita das amostras e procedimentos analíticos

As estruturas ovarianas foram avaliadas por ultrassonografia transretal (Mindray DP 2200 VET com transdutor de 7,5 MHz, Shenzhen, China), sendo mensurados os diâmetros (mm) do folículo dominante também no dia 0 (dia da inseminação) e do corpo lúteo nos dias 0, 7, 14 e 21 após a inseminação. Ainda, no dia 30 após a inseminação foi realizado o diagnóstico de gestação por ultrassonografia transretal (Mindray DP 2200 VET com transdutor de 7,5 MHz, Shenzhen, China).

A composição bromatológica das forrageiras foi avaliada por meio de colheitas manuais, simulando o pastejo, em três momentos (d -11, 0 e 30) e, na sequência, foram secas em estufa de ventilação forçada a 60°C por 5 dias, moídas em peneira de 1 mm, formando uma única amostra composta e posteriormente analisada quimicamente.

O volume (cm³) do corpo lúteo foi calculado utilizando-se a fórmula para volume da esfera [V=4/3 $\pi$ (D/2)3 onde D é o máximo diâmetro (mm) do corpo lúteo (Cooke et al., 2009)].

Foram realizadas avaliações do chute escore (Cooke et al., 2017) e o escore de condição corporal (ECC) (Herd e Sprott, 1986) nos dias -11 e 0 do período experimental por um único avaliador para os tratamentos. O PC foi avaliado nos dias -11, 0, 7, 14 e 21 utilizando balança acoplada ao tronco de contenção. Nos dias -11, 0, 7, 14 e 21 foram tomadas medidas de temperatura retal de cada animal no momento de entrada no tronco de contenção.

Foram colhidas amostras de sangue na veia caudal mediana nos dias 7, 14 e 21 em tubos a vácuo (Vacutainer, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) utilizando tubos contendo heparina sódica (10 mL) para obtenção do plasma e tubos contendo gel separador e ativador de coágulo para a obtenção do soro.

Imediatamente após a colheita os tubos foram armazenados em caixa térmica com gelo e, posteriormente, centrifugados a 1200 X g por 20 min. As amostras de soro e plasma foram armazenadas em tubos tipo Eppendorf<sup>®</sup> a -80°C para posteriores análises das concentrações de hormônios esteroides (progesterona).

A concentração de progesterona no soro foi determinada por meio de um radioimunoensaio (RIA), utilizando-se kits comerciais Coat-A-Count (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA).

### Etapa 2 – Desempenho reprodutivo

#### Animais e tratamento

Foram utilizadas 365 vacas da raça Nelore com escore corporal entre 2 e 6. Os animais eram pertencentes a 3 diferentes fazendas: 1) Fazenda Campo Verde, localizada no município de Jaraguari – MS, nas coordenadas 20°24'29.8"S, 54°05'25.3"O; 2) Fazenda Água Fria, localizada no município de Corguinho – MS, nas coordenadas 19°48'58"S, 54°53'34"O; 3) Fazenda Escola da FAMEZ – UFMS, localizada no município de Terenos – MS, nas coordenadas 20°26'50.8"S, 54°50'21.5"O. Os animais de cada fazenda pertenciam ao mesmo lote, e permaneceram no mesmo piquete, consumindo pastagens de capim-marandu [(Urochloa brizantha Hochst. ex A. Rich) R. D. Webster, cv. Marandu]. O delineamento foi inteiramente casualizado e os animais receberam os seguintes tratamentos:

- CON Solução Salina (10 mL por animal aplicado via intramuscular);
- VITA Suplemento injetável de vitamina A (10 mL por animal aplicado via intramuscular).

A solução injetável de vitamina A apresentava em sua composição 200.000 UI/mL (Hipovita A®, IBASA, Brasil). A fonte de vitamina A utilizada pelo composto comercial era o palmitato de retinol.

As vacas foram sincronizadas com: D-11 - CIDR® (Pfizer Saúde Animal, Brasil) + 2,0 mg de benzoato de estradiol (Estrogin®, Farmavet, Brasil); D-4 - 12,5 mg de dinoprost trometamina (Lutalyse®, Pfizer Saúde Animal, Brasil); D-2 - 0,5 mg de cipionato de estradiol (ECP®, Pfizer Saúde Animal, Brasil) + retirada do CIDR®. D0 foi realizada a inseminação. Os bezerros foram separados das vacas por 48h após a retirada do CIDR®, retornando imediatamente após a IA. No momento da inseminação foi observado o ECC e anotado em uma escala de 1 a 9 (Herd e Sprott, 1986). O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia 30 dias pós-IATF.

A aplicação da vitamina A ou da solução salina foi feita 11 dias antes da realização da IATF, associada ao início do protocolo.

#### Colheita das amostras e procedimentos analíticos

A qualidade do pasto foi monitorada durante o experimento, por meio de colheitas ao acaso, observando-se o hábito e a altura do pastejo através da metodologia de simulação de pastejo descrita por Euclides (1992). As amostras dos pastos foram enviadas ao Laboratório de Nutrição Animal da FAMEZ/UFMS para as análises de acordo com o AOAC (2000): teor de Matéria Seca (MS), método 930.15; Proteína Bruta (PB), método 976.05; Matéria Mineral (MM), método 942.05; Extrato Etéreo (EE), método 920.39; e Fibra em Detergente Neutro (FDN), de acordo com a metodologia de Van Soest et al. (1991).

No dia 30 após a inseminação foi realizado o diagnóstico de gestação por ultrassonografia transretal (Mindray DP 2200 VET com transdutor de 7,5 MHz, Shenzhen, China).

#### Análises estatísticas

Para todas as análises, o animal foi considerado a unidade experimental. Na etapa 1, o peso corporal, temperatura retal, folículo dominante, diâmetro e volume do corpo lúteo e progesterona plasmática foram analisados usando o procedimento MIXED do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA, versão 9.4) e a taxa de prenhez usando o procedimento GLIMMIX do SAS. Para ambos os procedimentos, a aproximação de Satterthwaite foi utilizada para determinar os graus de liberdade do denominador para o

teste de efeitos fixos. Peso corporal, temperatura retal, diâmetro e volume do corpo lúteo e progesterona plasmática foram analisados como medida repetida e testados para efeito fixo de tratamento, dia e tratamento × dia e usando vaca (tratamento) como efeito aleatório e ECC obtido no d -11 como covariável. Os dados do tamanho do folículo dominante e a taxa de prenhez foram analisados usando o tratamento como efeito fixo, vaca (tratamento) como variável aleatória e ECC obtida no d -11 como covariável. Os dados de PC e temperatura retal obtidos no d -11 foram incluídos como covariáveis em cada análise respectiva. A estrutura de covariância autorregressiva de primeira ordem foi selecionada por apresentar o menor valor no critério de informação de Akaike.

A taxa de prenhez na etapa 2 foi testada para efeito fixo de tratamento, usando vaca como efeito aleatório e ECC obtido no d -11 como covariável. As médias foram avaliadas usando PDIFF e todos os resultados foram relatados como LSMEANS seguido por SEM. A significância foi definida quando  $P \le 0.05$ , e tendência quando P > 0.05 e  $\le 0.10$ .

### RESULTADOS

753

754

755

756

757

758

759

760

761

762

763

764

765

766

767

768

- Etapa 1 Peso corporal, temperatura retal, tamanho de folículo dominante, diâmetro e volume de CL, concentração plasmática de progesterona e taxa de prenhez.
- Os dados para peso corporal e temperatura retal estão apresentados na tabela 1.
- Não houve diferença de peso corporal entre os tratamentos (CON = 416 kg; VITA = 416
- kg; p = 0.95). Os animais que receberam vitamina A tiveram uma tendência a apresentar
- maior temperatura retal 21 dias após a aplicação dos tratamentos (CON =  $39.4 \pm 0.19$ ;
- 774 VITA = 39.9°C  $\pm 0.19$ ; p = 0.10).
- Os dados para tamanho de folículo dominante, diâmetro de corpo lúteo, volume
- de corpo lúteo, concentração plasmática de progesterona e taxa de prenhez estão
- apresentados na tabela 2. Os animais que receberam vitamina A apresentaram menor
- diâmetro de corpo lúteo 21 dias após o tratamento, em comparação ao grupo controle
- 779 (CON =  $18.7 \text{mm} \pm 1.10$ ; VITA =  $16.2 \text{mm} \pm 1.10$ ; p = 0.03).
- Não houve efeito de tratamento sobre o tamanho de folículo dominante (CON =
- 781 14,8mm  $\pm$  0,98; VITA = 12,8mm  $\pm$ 0,98; p = 0,16), volume de corpo lúteo (CON =
- 782 3,58mm  $\pm$  0,51; VITA = 3,92mm  $\pm$  0,51; p = 0,90), concentração plasmática de

progesterona (CON = 7,15 ng/ml  $\pm$  0,99; VITA = 8,26 ng/ml  $\pm$  0,99; p = 0,44) nem sobre a taxa de prenhez (CON = 100%  $\pm$  10,4; VITA = 77,1%  $\pm$  10,4; p = 0,13)

#### Etapa 2 - Taxa de prenhez.

Os dados de taxa de prenhez da etapa 2 estão apresentados na tabela 4. Não houve diferença significativa na taxa de prenhez geral entre os grupos vitamina A e controle. Porém, quando os animais foram analisados de acordo com seu escore corporal, os animais com escore entre 5 e 6, tratados com vitamina A, apresentaram uma tendência a redução na taxa de prenhez em comparação ao grupo controle (VitA=  $35,90\% \pm 7,02$ ; Cont.=  $51,90\% \pm 7,02$ ; p= 0,10). Já em animais com escore entre 2 e 4, não houve diferença entre os tratamentos. (p= 0,88).

## **DISCUSSÃO**

O tratamento com Vitamina A injetável em vacas Nelores no início do protocolo de IATF resultou em diminuição do diâmetro de corpo lúteo 21 dias após a IA. Essa diminuição não era esperada, já que a vitamina A é um importante componente do sistema antioxidativo do organismo, com especial relevância nos processos relacionados à reprodução (Rapoport et al., 1998). Nossa hipótese era de que a aplicação de vitamina A levaria a um incremento das substâncias antioxidantes, com consequente redução das espécies reativas de oxigênio, proporcionando um maior desenvolvimento das estruturas ovarianas, dentre elas o corpo lúteo.

Possivelmente, os animais do presente estudo não apresentavam deficiência severa de Vit A e/ou  $\beta$ -caroteno. Pois segundo Trojačanec et al. (2012), a suplementação de vacas da raça Holandesa que apresentavam problemas crônicos de fertilidade (falha em mais de 4 inseminações) com vitamina A isoladamente ou associada com  $\beta$ -caroteno resultou em aumento do tamanho do corpo lúteo apenas em animais com essa deficiência.. Os autores concluíram que a suplementação resultaria em resultado positivo sobre o tamanho de corpo lúteo apenas em animais com severa deficiência de vitamina A e/ou  $\beta$ -caroteno (Trojačanec et al., 2012).

A redução no diâmetro do CL observado no presente trabalho, pode ter sido decorrente de uma reação inflamatória em resposta a aplicação do suplemento injetável. Durante um processo inflamatório, muitas citocinas pró-inflamatórias encontram-se aumentadas, como as interleucinas (IL) - 1, IL -2, IL -6, interferons, e fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), e estas podem levar a alterações fisiológicas no ovário (Norman e

Brannstrom, 1996). Adashi (1990) relatou que a IL – 1 pode funcionar como inibidor da luteinização intraovariana. As vacas do grupo que receberam vitamina A apresentaram uma tendência a apresentar temperatura retal mais elevada em relação ao grupo controle, também 21 dias após a IA. Essa observação reforça a teoria de que um processo inflamatório foi causado pela aplicação do suplemento injetável de vitamina A, levando a prejuízos na função ovariana.

Apesar da diminuição de diâmetro de CL observada no presente estudo, o volume do mesmo, assim como a concentração plasmática de progesterona, tamanho de folículo dominante e taxa de prenhez não foram influenciados pelos tratamentos. A barreira hemato-folicular não permite que a vitamina A penetre no folículo. No entanto, o  $\beta$ -caroteno sim é capaz de passar para o fluido folicular e sua conversão em vitamina A ocorre já dentro do folículo (Perret et al. 1985). Como o suplemento utilizado no presente estudo tinha como fonte a vitamina A na forma de palmitato de retinol, não foi possível que a molécula chegasse ao ovário e desempenhasse a função esperada. Assim, acreditase que o  $\beta$ -caroteno tenha um papel importante na fertilidade das vacas, entrando no ovário para atuar como percursos da vitamina A e para exercer funções independente da conversão em retinol (Brief et al., 1985).

Os animais da etapa 2, com escore corporal entre 5 e 6, suplementados com vitamina A, apresentaram tendência de redução na taxa de prenhez. O mesmo processo inflamatório que resultou na diminuição do diâmetro de CL na etapa 1 do experimento, pode ter levado a essa tendência de redução na taxa de prenhez na etapa 2. As vacas eram criadas em sistemas extensivos de produção, com a dieta a base de forragens e suplementação mineral adequada e contínua, não indicando que os animais apresentassem alguma deficiência nutricional. Trojačanec et al. (2012) demostraram que a suplementação com  $\beta$ -caroteno melhorou o desenvolvimento do tecido lúteo, bem como a produção de progesterona, apenas em animais com deficiência significativa de  $\beta$ -caroteno (171,825 ± 1,039 µg/dl). Além disso, estes mesmos autores concluíram que a vitamina A em combinação com  $\beta$ -caroteno, apresentou melhor efeito sobre os parâmetros reprodutivos do que quando administrada sozinha. Folman et al. (1983), observaram que a suplementação com  $\beta$ - caroteno em animais com deficiência dessa provitamina A (concentração menor que 50 µg/dl de sangue) melhorou a fertilidade, não resultando em efeito positivo quando a concentração era maior que 150 µg/dl.

O sistema de produção, e consequentemente o padrão de dieta dos animais, podem ter grande influência na resposta a suplementação de vitamina A. O processo de desidratação, ensilagem e fenação; resultou em perdas de 19%, 59% e 82%, respectivamente, nas concentrações de β-caroteno (Kalac et al., 2013). Torsein et al. (2018), observaram, que as concentrações sanguíneas de β-caroteno foram menores no soro sanguíneo de animais alimentados com dietas com alta inclusão de silagem de milho. Diante disso, por serem criadas em sistema extensivos de produção, com a dieta a base de forrageiras frescas e acesso irrestrito e contínuo a suplementação mineral, provavelmente as vacas do presente estudo apresentavam concentrações plasmáticas de vitamina A dentro do exigido, e por isso não responderam à suplementação parenteral.

# **CONCLUSÃO**

847

848

849

850

851

852

853

854

855

856

857

858

859

860

861

862

863

864

865

A suplementação injetável de vitamina A, não associada ao β-caroteno, resultou em diminuição do diâmetro de corpo lúteo e aumento de temperatura retal em vacas da raça Nelore criadas a pasto. Ainda, animais com escore corporal entre 5 e 6 tiveram uma tendencia a diminuição da taxa de prenhez quando suplementadas com a vitamina A no início do protocolo de IATF.

#### CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflito de interesse

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR-ZALZANO, E.; ROJAS-BOURRILLON, A.; MURILLO-BARRANTES, J.
- 867 Efecto de la suplementación de β-caroteno en vacas lecheras sobre concentraciones
- en sangre y calostro, reproducción y salud de la ubre. **Nutrición Animal Tropical**,
- v. 16, n. 1, p. 53-81, 2022.
- ADASHI, E. The potential relevance of cytokines to ovarian physiology: the emerging
- role of resident ovarian cells of the white blood cell series. **Endocrinol. Rev.** v. 1,
- p.454-64, 1990.
- 873 AOAC ASSOCIATION OF ANALYTICAL CHEMISTS. Official Methods of
- Analysis. 12. ed. Washington, p. 1094, 1990
- 875 ARIKAN, S., RODWAY, G. Seasonal variation in bovine luteal concentrations of β-
- carotene. **Turk. J. Vet. Anim. Sci.** 25: 165-168, 2001.

- BRIEF, S., CHEW B. Effects of vitamin A and β-carotene on reproductive performance
- in gilts. **J Anim Sci**, v. 60, p. 998–1004, 1985.
- CAN, R., YILMAZ, K., GUL, Y. Une recherche sur les quantities de beta-carotene et de
- vitamine A plasmatiues chez les vaches infertiles. **Turk. J. Vet. Anim. Sci.** v.10:
- p. 18-23, 1986.
- 882 COOKE, R. F.; ARTHINGTON, J. D.; AUSTIN, B. R.; YELICH, J. V. Effects of
- acclimation to handling on performance, reproductive, and physiological responses
- of Brahman-crossbred heifers. **Journal of Animal Sciences**, v. 87, p. 3403-3412,
- 885 2009.
- COOKE, R. F.; SCHUBACH, K. M.; MARQUES, R. S.; PERES, R, F.; SILVA, L. G.;
- CARVALHO, R. S.; CIPRIANO, R. S.; BOHNERT, D. W.; PIRES, A. V.;
- VASCONCELOS, J. L. Effects of temperament on physiological, productive, and
- reproductive responses in beef cows. **Journal of Animal Sciences**, v. 95, p. 1-8,
- 890 2017.
- 891 EUCLIDES, V. P. B. Avaliação de diferentes métodos de amostragem (para estimar o
- valor nutritivo de forragens) sob pastejo. Revista da Sociedade Brasileira de
- **Zootecnia**, v. 21, p. 691-702, 1992.
- FOLMAN, Y., ROSENBERG, M., ASCARELLI, I., KAIM, M., HERZ, Z. The effect of
- dietary and climatic factors on fertility, and on plasma progesterone and oestradiol-
- 17 beta levels in dairy cows. **J. Steroid Biochem**. v.19, p. 863-868, 1983.
- 605 GOSSEN, N., HOEDEMAKER, M. Effect of beta-carotene serum concentration on the
- reproductive performance in dairy cows. **Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr**. v.
- 899 118, p. 326-333, 2005:
- 900 HERD, D.; SPROTT, L. S. Body condition, nutrition, and reproduction of beef cows.
- Texas A&M Univ. Ext. Bull. 1526. Texas A&M AgriLife Extension Service,
- 902 **College Station**, TX, 1986.
- KALAČ, P. Revisión de: Carotenoides, ergosterol y tocoferoles en hierbas frescas y em
- conserva y su transferencia a la grasa y los tejidos adiposos de la leche bovina.
- 905 **Journal of Agrobiology**, v. 29, p. 1–13, 2013.
- 806 KAMILOGLU, NN., BEYTUTE, GÜRBULAK, K., OGUN, M. Effects of vitamin A and
- 907 β-carotene injection on levels of vitamin E and on glutathione peroxidase activity
- 908 in pregnant tuj sheep. **Turk. J. Vet. Anim. Sci.** v. 29: p. 1033-1038, 2005.
- 909 KAWASHIMA, C.; KIDA, K.; SCHWEIGERT, F.; MIYAMOTO, A. Relationship
- between plasma β-carotene concentration during the peripartum period and

- ovulation of the first follicular wave postpartum in dairy cows. Animal
- 912 **Reproduction Science**, v. 111, p.105–111, 2009.
- NORMAN, R., AND M. BRANNSTROM. Cytokines in the ovary: Pathophysiology and
- potential for pharmacological intervention. **Phumacol. Ther.** v. 69: p. 219-236,
- 915 1996.
- PERRET, B., PARINAUD, J., RIBBES, H., MOATTI, J., PONTONNIER, G., CHAP,
- H., DOUSTE-BLAZY, L. Lipoprotein and phospholipid distribution in human
- 918 follicular fluid. **Fert Steril**, v. 43, p. 405–409, 1985.
- 919 PETHES, G., HORVATH, E., KULCSAR, M., HUSZENICZA, G., SOMORJAI, G.,
- VARGA, B., HARASZTI, J. In vitro progesterone production of corpus luteum
- cells of cows fed low and high levels of betacarotene. Zbl. **Vet. Med.** p. 32, p. 289-
- 922 296, 1985.
- 923 PULS, R. Serum vitamin levels. In: Vitamin levels in animal health. Edited by PULS
- **R., Canada, Sherpa International Publishing House**. p. 11-33, 1994.
- 925 QUINTELA, L., DIAZ, C., BECERRA, J., ALONSO, G., GRACIA, S., HERRADÓN,
- Y. Papel del β caroteno y la vitamina A en la reproducción en el ganado vacuno:
- revisión. **Información Técnica Económica Agraria**. v. 104: p. 399-410, 2008.
- 928 RAPOPORT, R., SKLAN, D., WOLFENSEN, D., SHAHAMALBALANCY. A.,
- 929 HANUKOGLU, I. Antioxidant capacity is correlated with steroidogenic status of
- the corpus luteum during the bovine estrous cycle. **Biochim. Biophys. Acta**. v.
- 931 1380, p.133-140, 1998.
- 932 TORSEIN, M., A. LINDBERG, C. SVENSSON, S. KROGH JENSEN, C. BERG Y K.
- PERSSON WALLER. α-Tocopherol and β-carotene concentrations in feed,
- colostrum, cow and calf serum in Swedish dairy herds with high or low calf
- mortality. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 60, n. 7, 2018.
- TROJAČANEC, S.; BOBOŠ, S.; PAJIĆ, M. Influence of β-carotene and vitamin A
- supplementation on the ovarian activity of dairy cows with chronic fertility
- 938 impairment. **Veterinarski Arhiv**, v. 82, p. 567-575, 2012.
- VAN SOEST, P. Nutritional ecology of the ruminant. O and B Books, Corvallis,
- 940 **Oregon, USA**, p. 260-263, 1982.
- VAN SOEST, P.J., ROBERTSON, J.B., LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral
- detergent fiber, and nonstarch polyssacharides in relation to animal nutrition.
- **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.

YOUNG, F., LUDERER, W., RODGERS, R. The antioxidant β-carotene prevents covalente cross-linking between cholesterol side-chain cleavege cytochrome P450 and its eléctron donor adrenodoxin in bovine luteal cells. **Mol. Cel. Endocrinol**. v.109: p. 113-118, 1995.

**Tabela 1**Médias de peso corporal e temperatura retal de vacas Nelores suplementadas com uma única injeção intramuscular (10 mL/vaca) de solução salina ou vitamina A injetável (Vit A) 11 dias antes da IA (d -11; Exp. 1)

Item <sup>a</sup>	Tratamentob			P-value	
	Salina	Vit A	EPM	Trt. × dia	Trt.
Peso corporal, kg				0,22	0,95
d -11	424	423	6,71		
d 0	378	391	6,71		
d 7	415	414	6,71		
d 14	431	425	6,71		
d 21	433	426	6,71		
Média	416	416	5,77		
Temperatura Retal, °C				0,10	0,56
d -11	38,6	38,2	0,19		
d 0	39,2	39,5	0,19		
d 7	39,5	39,7	0,19		
d 14	39,6	39,8	0,19		
d 21	$39,4^{b}$	39,9 <sup>a</sup>	0,19		
Média	39,3	39,4	0,13		

<sup>&</sup>lt;sup>b</sup>Solução salina consistia em 0.9% NaCl, enquanto a solução injetável de vitmina A apresentava 200.000 UI/mL em veículo aquoso (Hipovita A<sup>®</sup>, IBASA, Brasil).

**Tabela 2**Médias de tamanho de folículo dominante, diâmetro de corpo lúteo e volume de corpo lúteo), concentrações plasmáticas de progesterona e taxa de prenhez de vacas Nelores suplementadas com uma única injeção intramuscular (10 mL/vaca) de solução salina ou vitamina A injetável (Vit A) 11 dias antes da IA (d -11; Exp. 1)

	Tratamentob			<i>P</i> -value	
Item <sup>a</sup>	Salina	Vit A	EPM	Trt. × dia	Trt.
Estruturas ovarianas					
Tamanho do folículo dominante	140	12.0	0.00		0.16
(d 0), mm	14,8	12,8	0,98	-	0,16
Diâmetro de CL, mm				0,03	0,95
d 7	20,1	20,9	1,10		
d 14	18,1	19,5	1,10		
d 21	$18,7^{a}$	$16,2^{b}$	1,10		
Média	19,0	18,9	0,92		
Volume de CL, mm <sup>3</sup>				0,13	0,90
d 7	4,61	5,14	0,65		
d 14	3,29	4,03	0,65		
d 21	3,58	2,61	0,65		
Média	3,83	3,92	0,51		
Progesterona ng/mL				0,82	0,44
d 7	7,50	7,50	1,59		
d 14	6,81	8,46	1,59		
d 21	7,13	8,83	1,59		
Média	7,15	8,26	0,99		

Taxa de prenhez.	, %	00 77.	10,4	_	0,13

<sup>b</sup>Solução salina consistia em 0.9% NaCl, enquanto a solução injetável de vitmina A apresentava 200.000 UI/mL em veículo aquoso (Hipovita A<sup>®</sup>, IBASA, Brasil).

961

962

Tabela 3
 Composição química da forrageira da Fazenda Escola (FAMEZ - UFMS) (Etapa 1).

	Fazenda escola
Item <sup>a</sup>	UFMS
Matéria seca, g/kg	325
	g/kg de MS
PB	53,7
FDN	760
FDA	431,30
Lignina	40,10
EE	8,50
MM	100,01
CNF	140,40

Tabela 4

Taxa de prenhez para IA de vacas Nelores suplementadas com uma única injeção intramuscular (10 mL/vaca) de solução salina ou vitamina A injetável 11 d antes da IA (d -11; Exp. 2)

ECC <sup>a</sup>	Tratan	mentos <sup>b</sup>	_ SEM	<i>P</i> -value	
	Salina	Vit A		Tratamento	
2 to 4	55,4	56,4	4,39	0,88	
5 to 6	51,9	35,9	7,02	0,10	
Todas as vacas	54,1	50,9	3,74	0,54	

- <sup>a</sup>Escore de condição corporal (escala 1 9) avaliado no d -11, de acordo com Herd and
- 971 Sprott (1986).
- <sup>b</sup>Solução salina consistia em 0.9% NaCl, enquanto a solução injetável de vitmina A
- 973 apresentava 200.000 UI/mL em veículo aquoso (Hipovita A®, IBASA, Brasil).