

**UTILIZAÇÃO DE VITAMINA A INJETÁVEL EM
DIFERENTES CONCENTRAÇÕES NA
PRODUÇÃO E QUALIDADE DE EMBRIÕES
BOVINOS**

BRUNO CESAR DO AMARAL

2003

BRUNO CESAR DO AMARAL

**UTILIZAÇÃO DE VITAMINA A INJETÁVEL EM
DIFERENTES CONCENTRAÇÕES NA QUALIDADE
DE EMBRIÕES BOVINOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal, para obtenção do título de "Mestre"

Orientador

Prof. José Camisão de Souza

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2003

BRUNO CESAR DO AMARAL

**UTILIZAÇÃO DE VITAMINA A INJETÁVEL EM
DIFERENTES CONCENTRAÇÕES NA PRODUÇÃO E
QUALIDADE DE EMBRIÕES BOVINOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal
de Lavras, como parte das exigências do Curso de
Mestrado em Zootecnia, área de concentração em
Produção Animal, para obtenção do título de
"Mestre"

APROVADA em 17 de Fevereiro de 2003

Prof. Antônio Gilberto Bertechini UFLA

Prof. Júlio Cesar Teixeira UFLA

Prof. Ana Tereza de Mendonça Viveiros UFLA

Prof. José Camisão de Souza UFLA

(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

Os meus avós maternos, “vô Zé” (*in memorian*) e “vó Landa”;

E os meus avós paternos, João (*in memorian*) e Emília,

HOMENAGEIO

Aos meus irmãos Marco e Alexandre e

À minha cunhada Sônia

OFEREÇO

À minha esposa Michelle pelo amor,
carinho e incentivo e

Aos meus pais, João e Penha, pela
criação, educação e exemplo de vida

DEDICO

À vó Vica e à Tia Dete
pelo carinho e amor
dispensados nestes anos
de convivência

AGRADEÇO

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras pela oportunidade de realização do curso de Mestrado.

Ao professor José Camisão de Souza pela confiança em meu trabalho, pelos ensinamentos transmitidos e pela amizade compartilhada durante este tempo de trabalho.

Ao professor Marcos Neves Pereira pelo exemplo de profissionalismo, pelos profundos ensinamentos transmitidos, pelo incentivo e amizade.

À madrinha Renata pelo apoio e sugestões na execução do experimento.

Ao coordenador do Curso de Pós-graduação, professor Elias Tadeu Fialho, pela colaboração, confiança e atenção dispensadas.

Ao professor Antônio Gilberto Bertechini pela disponibilidade e auxílio na conquista da vitamina A.

Ao professor e amigo Júlio Cesar Teixeira pelas sugestões e orientação no trabalho.

A professora e co-orientadora Ana Tereza de Mendonça Viveiros pelas correções e sugestões à esta dissertação.

Aos professores que auxiliaram no enriquecimento de meu conhecimento durante o curso de Mestrado.

A Keila, secretária do Departamento de Zootecnia, pela ajuda em todos os momentos e pela amizade dispensada.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia pelo auxílio durante este período, pela amizade e pelos cafezinhos.

Ao Robson, por me indicar aos veterinários da Cauembryo para a realização do experimento.

Aos veterinários João Everton (Lilico), Tônico e Evandro, pela confiança e por ceder os animais da Cauembryo para a realização do experimento, pela amizade, pelas coletas e classificações dos embriões.

Aos grandes AMIGOS que encontrei na Cauembryo e que muito me ajudaram: Chico, Fátima, Ney, Ramon, Marcele, Andréa, Jadir, Marcelo, Jadirzinho, Valci, Adalgiso, Ronaldo, Rodrigo, Daniela, André, Tertoliano, Magela, Adalgisa, Toninho, Adevan, Hercílio, Célia, Juliana, Acácio, Diney, Rogério (Cunhado), Benízio, Arlindo, Joana, Negão, Cuiu, Giovana e Zé Maria.

Ao meu cumpadre Manoel e à cumadre Zazá pelos finais de semana compartilhados durante a execução do experimento de campo, pela força em todos os momentos e pelos tambores que se tornaram bebedouros de moderno design.

À minha ‘prima’ Lílian que gentilmente me recepcionou em vários finais de semana me dando a oportunidade de matar a saudade da Michelle.

À minha grande AMIGA Jú Mayumi pela enorme ajuda na aquisição dos artigos para a execução desta dissertação além da sincera e verdadeira amizade.

Aos amigos da pós-graduação: Lílian Rangel de Castilhos e Alexandre Francisco Amaral Arantes em especial, pelos dois anos de convivência, amizade, sugestões e auxílios. Kaneo, Érica, Anamaria, Oiti, Paulo, Gustavo, Henrique, Pedro, Flávio, Joadil e Afrânio, entre outros, pela amizade e pelas sugestões na realização do experimento.

Ao Dr. Gabriel e Dr. Chagas (Roche Vitaminas) pela doação da vitamina A, pelas sugestões e pelo auxílio na condução do experimento.

Ao amigo Flávio (Ganso) pelas dicas sobre a coleta e centrifugação das amostras de sangue das doadoras que infelizmente não puderam ser analisadas.

Às doadoras, que gentilmente aceitaram receber as injeções de vitamina A, responderam de forma genial com mais embriões viáveis e muito contribuíram para a realização deste trabalho.

A Alaska e a Sharon que muito me ajudaram nos momentos de estresse com suas brincadeiras com o osso e a bolinha.

À minha esposa Michelle por sempre me apoiar, pelos momentos de compreensão em minhas ausências e pelo incentivo.

Aos meus pais que muito me apoiaram na realização deste trabalho.

Àqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

A Deus e a Nossa Senhora da Aparecida por me darem força, iluminando e abençoando meu caminho nos momentos mais difíceis.

SUMÁRIO

LISTA DE SÍMBOLOS	i
RESUMO	ii
ABSTRACT	iv
1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO DE LITERATURA	02
2.1 Transferência de embriões.	02
2.2 Ciclo estral da doadora e superovulação.....	05
2.3 Vitamina A.....	10
2.4 Vitamina A na reprodução.	17
2.4.1 Vitamina A e qualidade folicular.....	18
2.4.2 Vitamina A e produção de esteróides.	19
2.4.3 Vitamina A e superovulação.	23
3 MATERIAL E MÉTODOS.	25
3.1 Coleta de embriões e Classificação.....	27
3.2 Análise Estatística.....	28
3.3 Modelo Estatístico.	30
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.	32
5 CONCLUSÕES.	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	38

LISTA DE SÍMBOLOS

CRBP	Proteína celular de ligação do retinol
CSCCE	Enzima de clivagem da cadeia lateral do colesterol
E ₂	Estrógeno
ER	Número de estruturas recuperadas
ERA	Número de estruturas recuperadas da coleta anterior (realizada antes do início do experimento)
FSH	Hormônio folículo estimulante
IA	Inseminação artificial
IAs	Inseminações artificiais
IETS	Sociedade internacional de transferência de embriões (International Embryo Transfer Society)
i.m.	intra muscular
LH	Hormônio Luteinizante
P4	Progesterona
PGF _{2α}	Prostaglandina
RBP	Proteína de ligação do retinol (Retinol Binding Protein)
RE	Retinol Equivalente
UI	Unidade Internacional
V	Número de embriões viáveis
VA	Número de embriões viáveis da coleta anterior (realizada antes do início do experimento)

RESUMO

Amaral, Bruno Cesar do. **Utilização de vitamina A injetável em diferentes concentrações na produção e qualidade de embriões bovinos.** Lavras: UFLA, 2003. 48p. (Dissertação – Mestrado em Zootecnia)¹.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de quatro diferentes dosagens de palmitato de retinol (0 - (n=14), 500.000 (n=15), 1.000.000 (n=17) e 1.500.000 (n=16) Unidades Internacionais (UI) de vitamina A na forma de palmitato de retinol) na produção e qualidade de embriões coletados de vacas doadoras das raças Nelore (n=52), Guzerá (n=7) e Gir (n=5). O experimento foi realizado na Central de Transferência de Embriões Cauembryo no município de Funilândia – MG. As vacas foram superovuladas no 10^o (n=18) ou 11^o (n=10) ou 12^o (n=26) ou 13^o (n=10) dia após a data do cio com 20 ml de Folltropin® (Vetrepharm, Belleville, Canada) ou 10 ml Pluset® (I.F. Serono, Roma, Itália) distribuídos em dosagens decrescentes (4,0, 4,0, 3,0, 3,0, 2,0, 2,0, 1,0 e 1,0 ml para o Folltropin and 2,0, 2, 0, 1,5, 1,5, 1,0, 1,0, 0,5 e 0,5 ml para o Pluset) durante quatro dias em duas aplicações diárias (intercaladas de doze horas). Os tratamentos com vitamina A foram iniciados juntamente com a primeira dose de FSH. A luteólise foi induzida no quarto dia do tratamento de FSH através de uma aplicação de 0,75 mg de cloprostenol sódico (Ciosin®, Coopers do Brasil, São Paulo, Brasil) e as doadoras observadas em cio foram inseminadas às 12 e 24 horas após o seu início, usando sêmen de diferentes touros de fertilidade comprovada. As análises estatísticas foram feitas utilizando o procedimento GENMOD do SAS (SAS, 1995). O número de embriões viáveis aumentou significativamente ($P < 0,0001$), apresentando valores de 3,6, 6,1, 6,5 e 6,7 para as dosagens de 0, 500.000, 1.000.000 e 1.500.000 UI de vitamina A, respectivamente. A proporção de embriões viáveis em relação ao número de

estruturas recuperadas (V/ER) também aumentou ($P < 0,01$), resultando nos valores de 0,51, 0,57, 0,63 e 0,60 para o aumento do nível de aplicação de vitamina A aplicada. Já o número de estruturas recuperadas não foi diferente ($P > 0,05$) entre as doadoras suplementadas (9,5, 8,3 e 10,5, respectivamente para 500.000, 1.000.000 e 1.500.000 UI de vitamina A) e não suplementadas (8,2). Estes dados indicam que a suplementação de vitamina A injetável antes da coleta melhora a qualidade dos embriões coletados sem interferir na quantidade de estruturas produzidas, o que pode ser vantajoso para a indústria de Transferência de Embriões.

¹ Comitê Orientador: José Camisão de Souza – UFLA (orientador); Antônio Gilberto Bertechini – UFLA; Júlio César Teixeira – UFLA; Ana Tereza de Mendonça Viveiros – UFLA.

ABSTRACT

Amaral, Bruno Cesar do. **Utilization of vitamin A injection in different concentrations on production and quality of cattle embryos.** Lavras: UFLA, 2003. 48p. (Dissertation – Master in Animal Science)¹.

The objective of this work was to evaluate the effect of four different dosage of retinol palmitate (0 – (n=14), 500.000 (n=15), 1.000.000 (n=17) and 1.500.000 (n=16) International Units (IU) of vitamin A in the form of retinol palmitate on production and quality of embryos recovered from donor cows of Nelore (n=52), Guzerá (n=7) and Gir (n=5) breeds. The experiment was carried out in the Embryo Transfer Company Cauembryo in the county of Funilândia – MG. Cows were superovulated on 10th (n=18) or 11th (n=10) or 12th (n=26) or 13th (n=10) day after the onset of estrus with a injection of 20 ml of Folltropin® (Vetrepharm, Belleville, Canada) or 10 ml of Pluset® (I.F. Serono, Roma, Itália) administered in decreasing doses (4,0, 4,0, 3,0, 3,0, 2,0, 2,0, 1,0 and 1,0 ml for Folltropin and 2,0, 2, 0, 1,5, 1,5, 1,0, 1,0 0,5 and 0,5ml for Pluset) for four days twice daily (each 12 h). Vitamin A treatments were initialized together the first dosage of FSH. Luteolysis was induced on the 4th day of FSH treatment by giving 0,75 mg of cloprostenol sódico (Ciosin®, Coopers do Brasil, São Paulo, Brasil) and donors observed in estrus were artificially inseminated 12 and 24 hours after the onset of estrus using semen of different bulls of proved fertility. Statistical analysis were carried out using the GENMOD procedure of SAS (SAS, 1995). The number of viable embryos increased significantly ($P < 0,0001$), showing values of 3,6, 6,1, 6,5 and 6,7 for the dosage of 0, 500.000, 1.000.000 e 1.500.000 IU of vitamin A, respectively. The proportion of viable embryos in relation to the number of total structures recovered (V/ER) also increased ($P < 0,01$), resulting in values of 0,51, 0,57,

0,63 and 0,60 for the increase in the level of vitamin A injection. The number of total structures recovered (ER) were not different ($P>0,05$) for donor supplemented (9,5, 8,3 e 10,5 respectively for 500.000, 1.000.000 e 1.500.000 IU of vitamin A) and not supplemented (8,2). This data indicate that supplementation of vitamin A i.m. before flushing improve embryo quality without interfere in the quantity of embryos recovered what can be advantageous for Embryo Transfer Industry.

¹ Guidance Committee: José Camisão de Souza – UFLA (advisor); Antônio Gilberto Bertechini – UFLA; Júlio César Teixeira – UFLA; Ana Tereza de Mendonça Viveiros – UFLA.

1 INTRODUÇÃO

A seleção genética em bovinos proporcionou animais com alta produção de leite e carne. No entanto, estes animais de alto potencial genético não conseguem produzir naturalmente mais de uma cria por ano.

A utilização mais efetiva de animais geneticamente superiores implica na necessidade de utilização da superovulação como ferramenta importante para aumentar a produção de embriões. Quanto maior o número de embriões viáveis produzidos, maior será o número de crias geradas por ano.

Juntamente com a superovulação, vários fatores contribuem para as variáveis produção e qualidade de embriões. Dentre eles, os fatores nutricionais são expressivos e seus efeitos na superovulação são pouco entendidos.

Dentre os fatores nutricionais, a vitamina A se destaca e sua importância na reprodução animal é bem conhecida. A suplementação de vitamina A i.m. na dosagem de 1.000.000 UI de palmitato de retinol melhora a qualidade de embriões bovinos. No entanto, não há informação na literatura sobre o efeito de diferentes dosagens de vitamina A na produção e qualidade de embriões bovinos. Além disso, há uma grande escassez de trabalhos avaliando efeito nutricional, especialmente vitamina A, na superovulação de bovinos.

Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo principal avaliar o efeito de diferentes dosagens de vitamina A injetável sobre a quantidade e qualidade de embriões produzidos.

Há a hipótese que a suplementação de vitamina A injetável aumenta indistintamente o número de embriões viáveis sem, no entanto, interferir na produção dos mesmos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES

A transferência de embriões em bovinos vem crescendo nos últimos anos segundo a Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (IETS). A partir da Figura 1 podemos ver o crescimento em termos de número de doadoras coletadas, número de embriões viáveis e número de embriões transferidos.

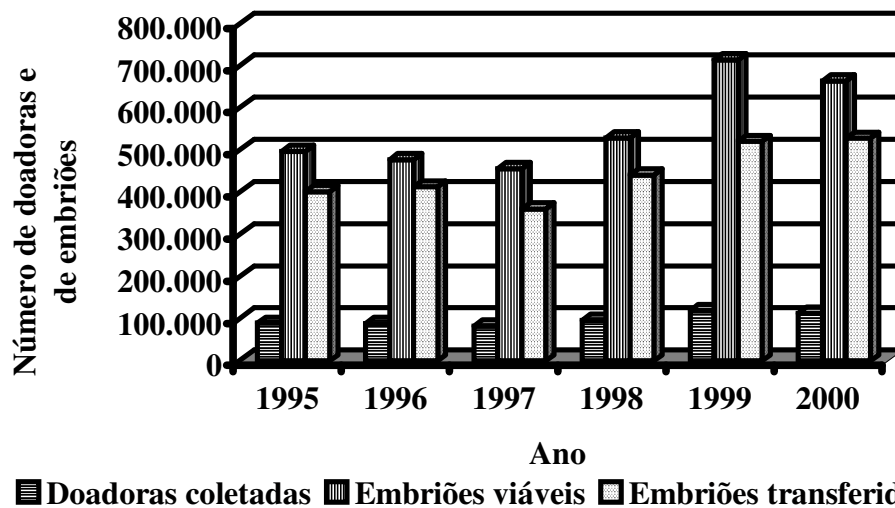


Figura 1- Número de doadoras coletadas, embriões viáveis e embriões transferidos no mundo nos anos de 1995 à 2000 (IETS, 2001).

De todos estes dados, o mais interessante é a produção média de embriões viáveis obtidos por coleta (Figura 2). Este valor está no intervalo entre 5 e 6. Já no Brasil, a média é um pouco menor e varia de autor para autor (Figura 3). Santiago et al. (2000), trabalhando com novilhas nelore, obtiveram uma média de 4,16 embriões viáveis por coleta. No ano seguinte, a média encontrada

pelo mesmo grupo de pesquisadores, em outro trabalho com novilhas nelore, foi de 2,54. Já Kanzaki et al. (2001), trabalhando com vacas Nelores adultas e secas, obtiveram média de 4,20 embriões viáveis por doadora. Em novilhas Red Angus, Lopes e colaboradores obtiveram 3,75 e 2,6 embriões viáveis por doadora coletada em dois trabalhos no ano de 2002.

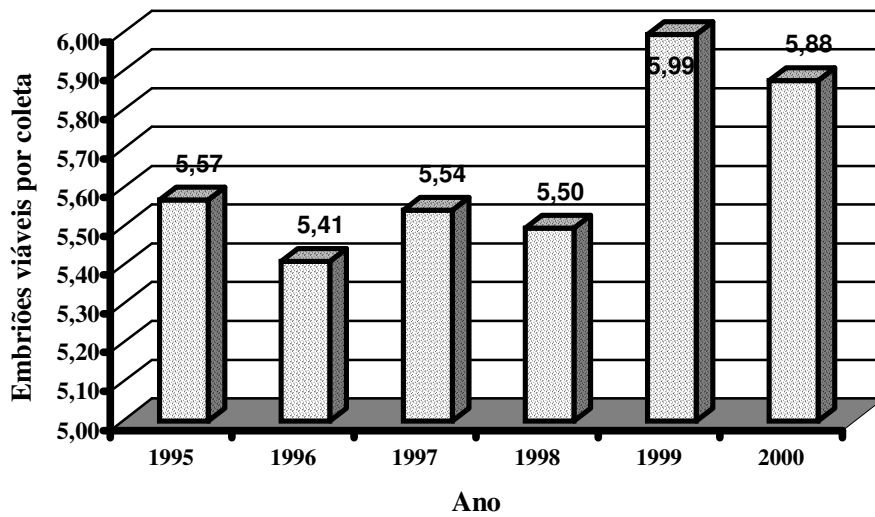


Figura 2- Produção média mundial de embriões viáveis por coleta de 1995 a 2000 (IETS, 2001).

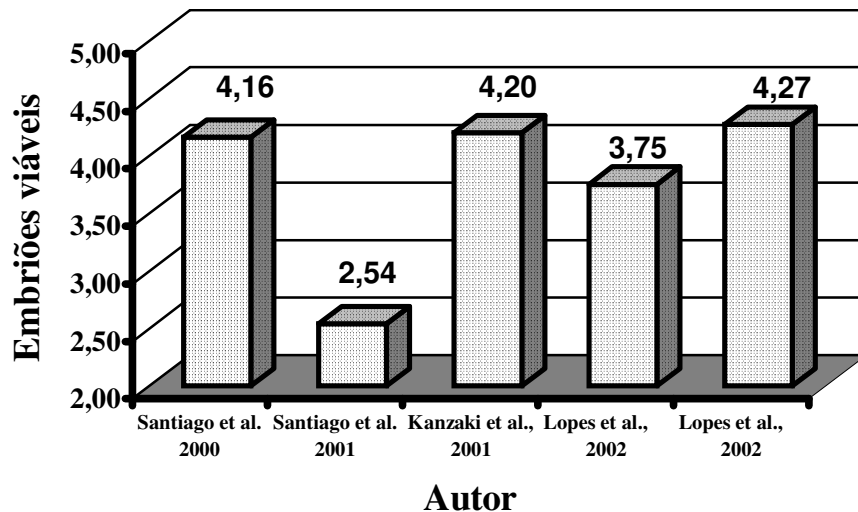


Figura 3- Produção média brasileira de embriões viáveis por coleta segundo vários autores.

A transferência de embriões resume-se no esquema representado na Figura 4.

Inicialmente é feita a escolha de uma vaca de alto valor genético e de um touro de comprovada fertilidade e que confere características desejáveis para a vaca escolhida. A seguir é feita a superovulação da vaca (doadora) para que ela produza vários óvulos. Daí, faz-se a inseminação artificial desta doadora com o sêmen do reprodutor escolhido. Há a fecundação e inicia-se o desenvolvimento embrionário (vários embriões). Após 6 a 8 dias de desenvolvimento do embrião, a doadora é coletada através da lavagem uterina e os embriões coletados são avaliados (morfologia, estágio de desenvolvimento e qualidade) microscopicamente. Depois estes embriões são transferidos para as receptoras de potencial genético inferior que estejam em sincronização com o ciclo estral da doadora, ou seja, que tenha entrado em cio no mesmo dia (com uma variação de um dia antes e um dia depois) do cio superovulatório da doadora. Depois de 283

dias (variação de 278 a 288 dias) as receptoras começam a parir os filhos das doadoras.

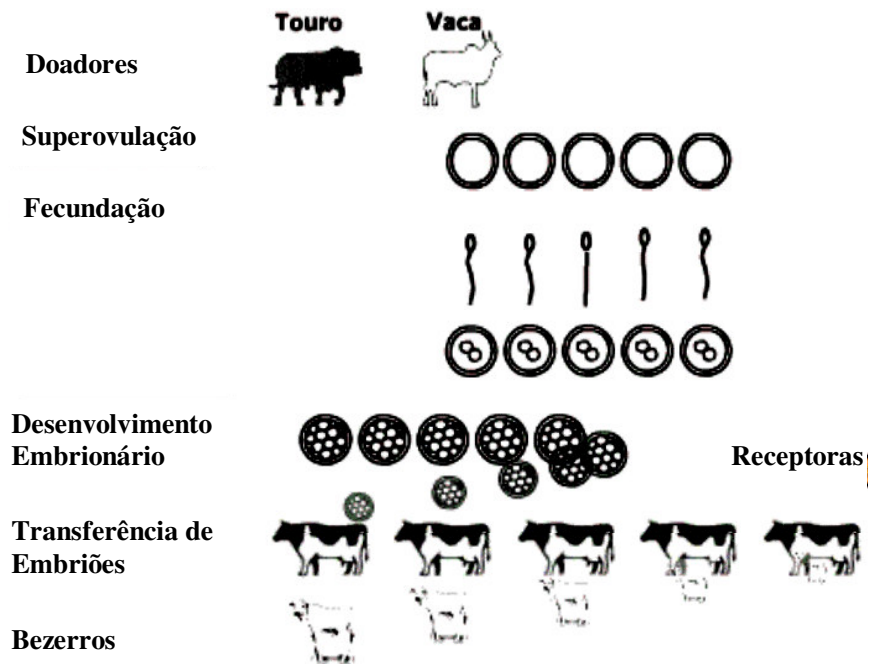


Figura 4- Etapas envolvidas na transferência de embriões.

2.2 Ciclo estral da doadora e superovulação

O emprego da transferência de embriões exige o domínio do ciclo estral. O ciclo estral bovino é definido como o período compreendido dois estros e tem duração média de 21 dias, considerando fisiológico as variações entre os 18 e 24 dias.

No meio da gestação, o ovário do feto bovino contém todo o seu complemento de oogônia. As oogônias estão contidas nos folículos primordiais e os estágios iniciais de desenvolvimento folicular se iniciam antes do nascimento (Erickson, 1966). No nascimento, existem cerca de 500.000 folículos no ovário

bovino. Os folículos começam a crescer continuamente e possuem dois destinos: ovulação ou atresia. No ciclo estral ocorrem, normalmente, duas ondas de crescimento folicular, porém há casos em que existem três.

No início de cada onda folicular há um recrutamento de folículos. A seguir há o desvio e uma conseqüente dominância de um folículo dominante, o qual, em caso de altas concentrações sorológicas de progesterona, entra em atresia. Quando a segunda onda acontece e o folículo dominante continua crescendo em concentrações sorológicas de progesterona que estão abaixando com um concomitante aumento na produção de estradiol e pico de LH, há ovulação (Figura 5).

As diferentes fases que caracterizam o ciclo estral são:

- **Estro:** é a fase em que a fêmea aceita ser copulada pelo macho e dura em geral de 8 a 24 horas. Além do aceita de monta, o edema de vulva e o corrimento vaginal mucoso são sinais característicos. Sob o aspecto endocrinológico, existe uma dominância da ação de estrógenos, produzidos pela teça interna do folículo, que estimulando centro sexual o hipotálamo, são os responsáveis pelas manifestações clínicas do estro. No início desta fase ocorre o pico de LH que é responsável pelo final da maturação do ovócito e pela ocorrência da ovulação.
- **Metaestro:** é a fase compreendida entre o final do estro e o diestro e dura de 1 a 4 dias. A ovulação, a fecundação e o desenvolvimento embrionário até o estágio de mórula não compactada são eventos que ocorrem nesta fase. A luteinização das células da fossa ovulatória dá origem ao corpo lúteo, responsável pela produção de progesterona, que aumentando progressivamente os seus níveis séricos, alcança um platô a partir do dia 6 após a ovulação. As concentrações circulantes de estrógeno decrescem após a ovulação e sob a influência da

progesterona o endométrio passa da fase de proliferação para a fase de secreção, preparando-se para receber o embrião em desenvolvimento.

- **Diestro:** é a fase mais longa do ciclo estral. Dura em média 10 a 12 dias e caracteriza-se pela ação da progesterona. O útero apresenta-se relaxado e em um dos ovários está presente o corpo lúteo. Ao redor do 16º dia do ciclo estral ocorre a liberação da prostaglandina pelo endométrio, a qual, chegando ao ovário através da anastomose da veia uterina com a artéria ovárica, promove luteólise, o que caracteriza o final do diestro.
- **Proestro:** tem início a partir da luteólise, ocorrendo entre o 17º e o 20º do ciclo estral, onde acontecem os eventos que permitirão que o folículo dominante siga desenvolvendo-se e produzindo estrógenos, fazendo com que a fase de secreção do endométrio, presente no diestro, assumas as características de proliferação. Esta fase constitui-se em uma preparação dos órgãos genitais para o estro. O limite entre o proestro e o estro é o momento em que a fêmea passa a aceitar a monta.

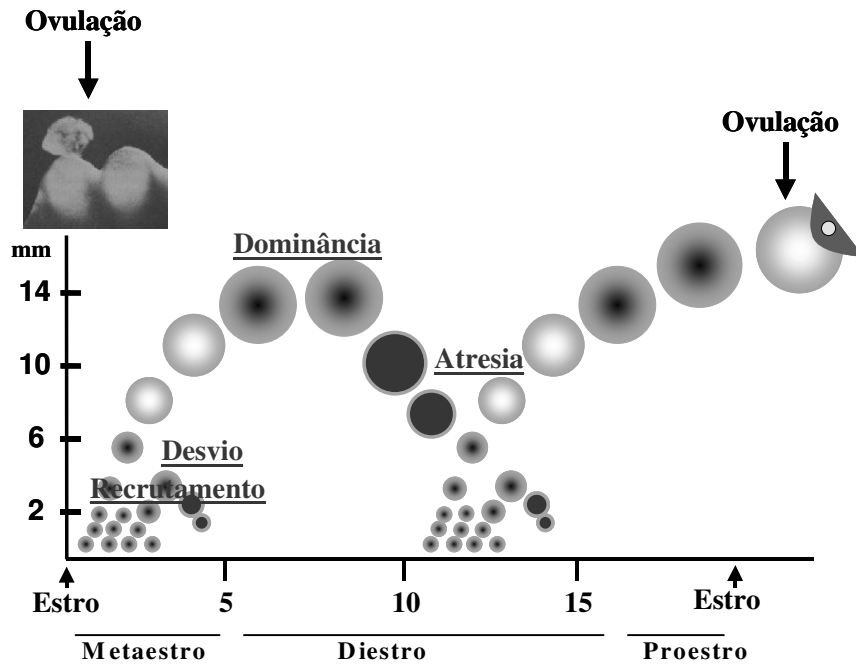


Figura 5- Desenvolvimento folicular durante as diferentes fases do estro

Superovulação

A superovulação se baseia no seguinte:

- O dia zero é considerado como o dia do cio do animal. Conforme Figura 6, as concentrações de progesterona estão altas no 10^o, 11^o, 12^o e 13^o dias do ciclo estral. Neste momento, nova onda folicular se inicia (Figura 5). A aplicação de FSH em dosagens decrescentes tem o objetivo de estimular continuamente o crescimento de um número maior de folículos. O estímulo é feito em dosagens decrescentes durante quatro dias intercaladas de 12 horas. Os animais que respondem ao estímulo apresentam um maior número de folículos dominantes nos ovários (Figura 7a). Para que estes folículos sejam ovulados (Figura 7b), as concentrações séricas de progesterona precisam ser diminuídas.

Então, é feita uma aplicação de prostaglandina juntamente com a aplicação da última dose de FSH. Dessa forma, há uma inibição da progesterona e um aumento nas concentrações de estradiol que estimulam a liberação de LH. O pico de LH promove a ovulação. Então os animais observados em cio são inseminados às 12 e 24 horas após o início do cio. Acontece a fecundação e dá-se início ao desenvolvimento embrionário. Quando os embriões estão com 6 a 8 dias de vida eles são coletados das doadoras e transferidos para as receptoras.

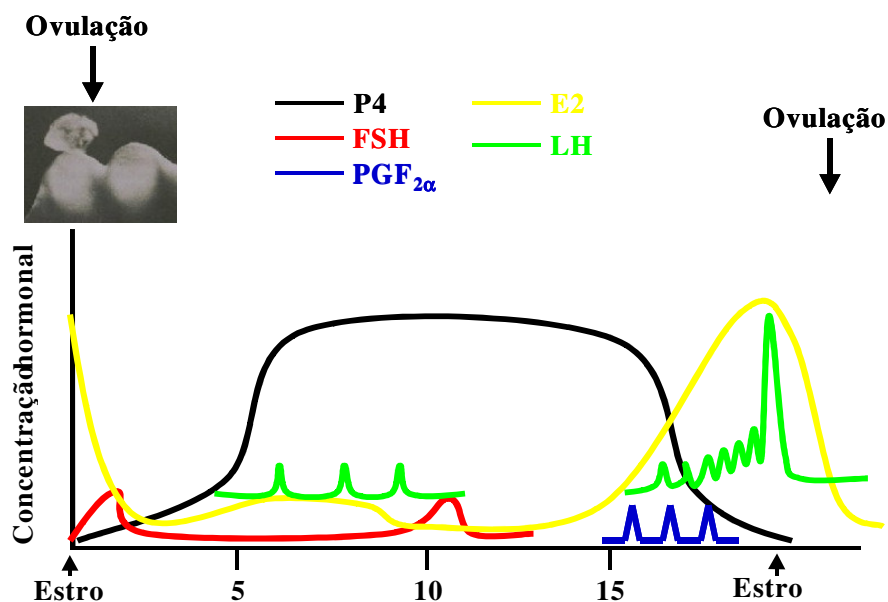
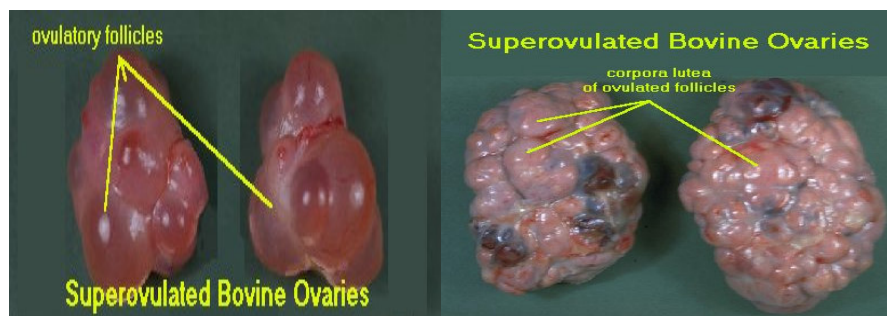


Figura 6- Comportamento hormonal dos principais hormônios reguladores do ciclo estral. Após a ovulação, há a formação do corpo lúteo devido à luteinização das células da fossa ovulatória do folículo. O corpo lúteo produz progesterona, que é responsável pela manutenção da gestação. O hormônio folículo estimulante (FSH), responsável pelo estímulo do crescimento folicular, é secretado no início de cada onda folicular. O endométrio bovino secreta prostaglandina (PGF_{2α}), responsável pela inibição da progesterona. Daí, há um aumento na produção de estrógeno, o qual, por sua vez, estimula o hipotálamo a liberar GnRH, promovendo o pico de LH e a conseqüente ovulação.



7a **7b**
Figura 7a- Ovário bovino superovulado. As setas amarelas estão mostrando os folículos ovulatórios. **Figura 7b-** Ovários bovinos superovulados. As setas amarelas mostram os corpos lúteos formados a partir dos folículos ovulados.

2.3 VITAMINA A

A vitamina é definida como um grupo de compostos orgânicos complexos presentes em quantidades pequenas em gêneros alimentícios que são essenciais para o metabolismo normal (McDowell, 1989). Dentre as vitaminas lipossolúveis, a vitamina A é de suma importância para visão (Dräger et al., 1998; Nelson & Cox, 2000), manutenção das células epiteliais (De Luca et al., 1994; De Luca et al., 1997; Duester, 1998), regulação gênica (Maden et al., 1998; Silveira & Moreno, 1998), embriogênese (Maden, 1994; Duester, 1998; Smith et al, 1998; Zile, 1998), função celular imune (Wolf, 1984; Chew, 1987; McDowell, 1989; Weiss, 1998; Combs, 1998; Napoli, 1999; National Academy of Sciences, 2002), crescimento (Ganguly et al., 1971a, b; Ganguly et al., 1980; Blomhoff et al., 1991; Erdman, 1992; Ross et al., 2000) e reprodução (Thompson et al., 1964; Thompson, 1970; Ganguly et al., 1971; Talavera & Chew, 1988; Hurley & Doane, 1989; Balbach, 1993; Duester, 1998; Roche, 2000; Ashworth & Antipatis, 2001; Krause, 2002; Mohan et al., 2002). A partir

do conhecimento da nomenclatura, atividade bioquímica, propriedades físicas, metabolismo, transporte e armazenamento da vitamina A e provitaminas A, pode-se entender melhor sua importância na realização das suas funções.

A vitamina A pertence à família das moléculas de 20 carbonos com um anel β -ionona e uma cadeia lateral tetraeno com um grupo hidroxila (retinol – Figura 8a) ou aldeído (retinal ou retinaldeído – Figura 8b) ou um grupo ácido (ácido retinóico – Figura 8c) no carbono 15 (National Academy of Sciences, 2002).

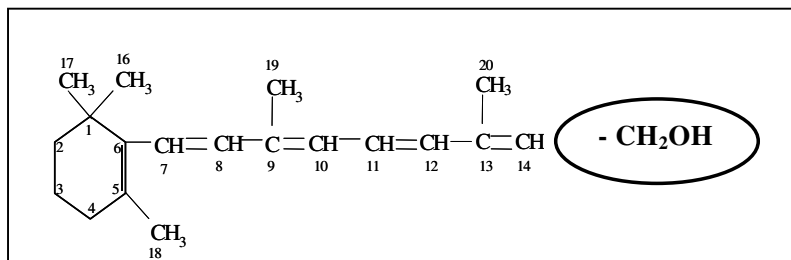


Figura 8a- Estrutura do retinol

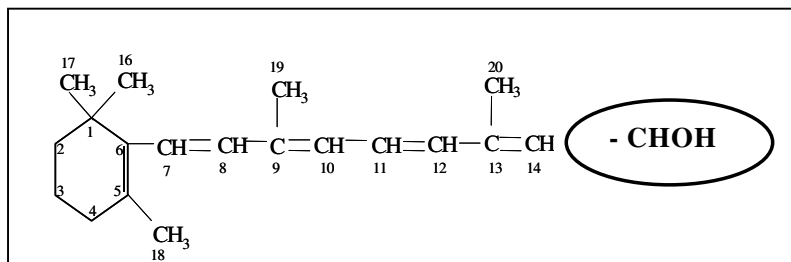


Figura 8b- Estrutura do retinal

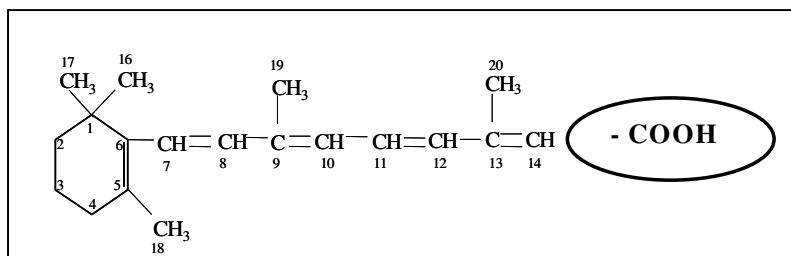


Figura 8c- Estrutura do ácido retinóico

O retinol (forma mais comum da vitamina A) ainda apresenta uma forma estrutural chamada de vitamina A₂, que está intimamente relacionada à vitamina A, mas contém uma dupla ligação adicional no anel β-ionona (McDowell, 1989) entre os carbonos 3 e 4, conferindo, dessa forma, uma redução de 40% da atividade biológica do transretinol (Islabão, 1982) (Figura 9).

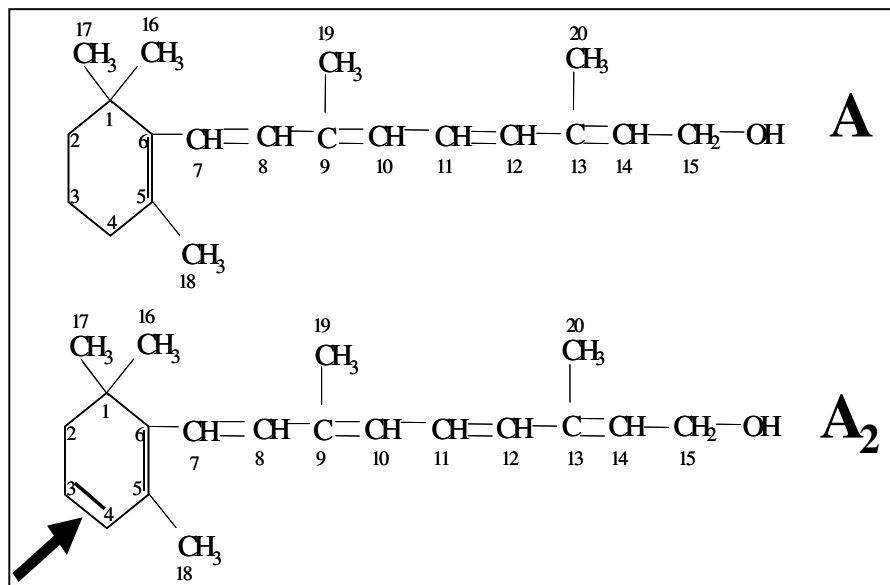


Figura 9- Diferença estrutural entre a vitamina A e a Vitamina A₂ (dupla ligação entre o carbono 3 e 4 do anel β-ionona)

O termo vitamina A inclui os carotenóides provitamina A (Figura 10), que são os precursores dietéticos do retinol. Os carotenóides são pigmentos isoprenóides produzidos por plantas, dos quais mais de 600 formas existem na natureza e somente cerca de 60 possuem atividade de vitamina A, ou seja, podem ser clivados pelo animal para produzir uma molécula de retinol (o retinol é convertido no fígado a retinal, que por sua vez é transformado em ácido retinóico). Entretanto, somente alguns são comumente encontrados nos alimentos (Combs, 1998) e dentre eles o β-caroteno é o que possui maior

atividade de vitamina A (Silveira & Moreno, 1998). Na natureza, os carotenóides ocorrem quase que exclusivamente na forma all-trans (McDowell, 1989), porém muitos isômeros cis podem existir (National Academy of Sciences, 2002), ocorrendo, dessa forma, uma diminuição na sua atividade de vitamina A (McDowell, 1989). Já o termo “retinóides” refere-se ao retinol, seus metabólitos e análogos sintéticos (Figura 11) que têm uma estrutura semelhante (Napoli, 1999) e são compostos isoprenóides encontrados nos produtos animais (Combs, 1998).

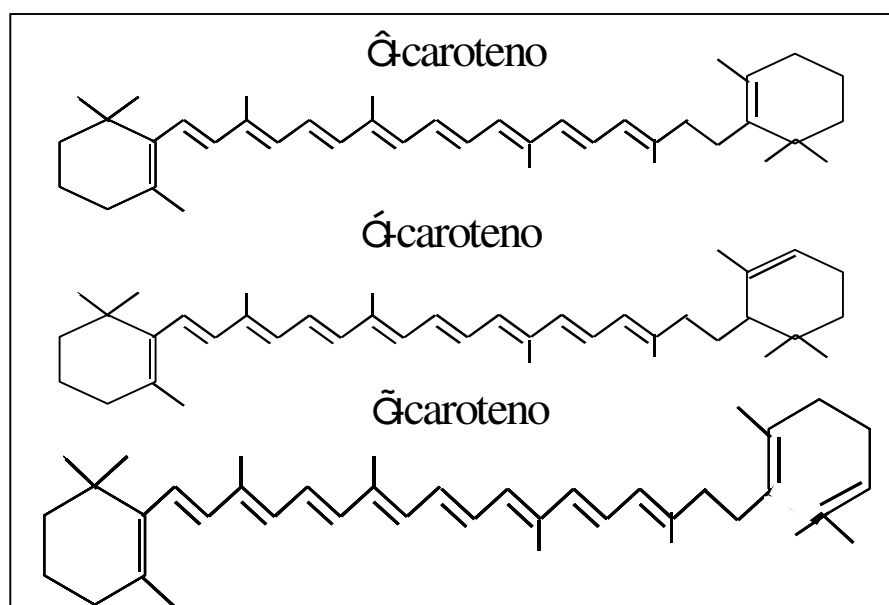


Figura 10- Principais carotenóides provitaminas A

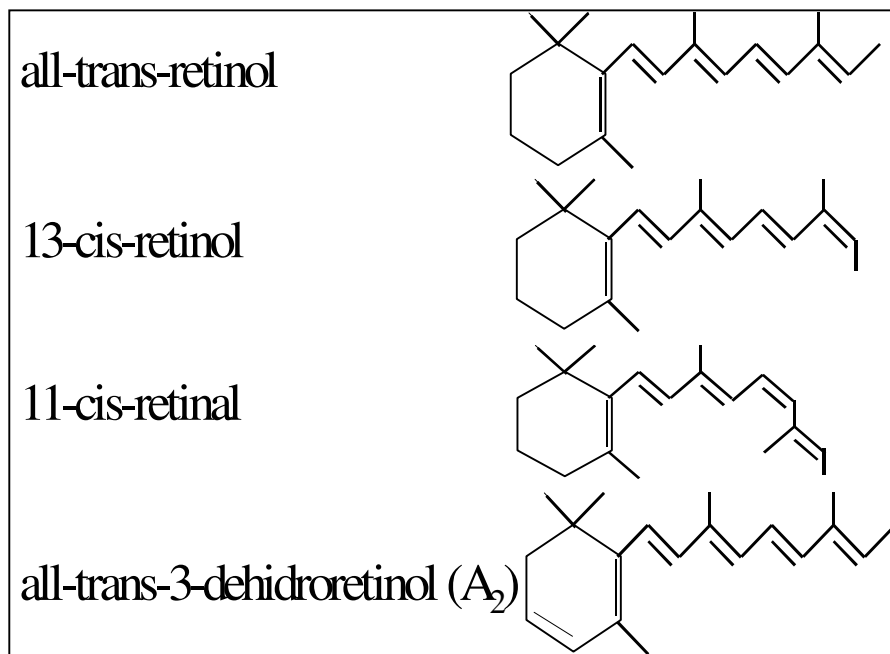


Figura 11- Principais retinóides

Para descrever a atividade de vitamina A das várias formas encontradas exige-se uma padronização e dois sistemas são usados para este propósito: Unidades Internacionais (UI) e Retinol Equivalente (RE) (Tabela 1).

Tabela 1- Atividade de vitamina A

1 Unidade Internacional (UI)	= 0,3 µg de retinol = 0,344 µg de retinil acetato = 0,6 µg de β -caroteno = 1,2 µg de outros carotenóides provitamina A
1 Retinol Equivalente (RE)	= 1 µg de retinol = 6 µg de β -caroteno = 12 µg de outros carotenóides provitamina A

* Estes valores são calculados em ratos e aves que possuem 100% de atividade de vitamina A (calculada a partir do β -caroteno). Em bovinos, a atividade de vitamina A é de 24%. Dessa forma, 1 UI = 2,5 µg de β -caroteno e 1 UI = 5 µg de outros retinóides provitamina A.

Embora uma molécula de β -caroteno possa, teoricamente, ser quebrado (pela clivagem da ligação dos carbonos C15=C15' pela enzima caroteno 15-15' dioxigenase) para produzir duas moléculas de retinal (Figura 12a), a eficiência fisiológica deste processo parece ser de somente 50% e produz somente uma molécula de retinal (Figura 12b). Assim, na conversão de beta-caroteno a RE e UI emprega-se este desconto para a ineficiência da clivagem. Na unidade de RE ainda emprega-se um desconto de dois terços para a eficiência média de absorção intestinal (Combs, 1998).

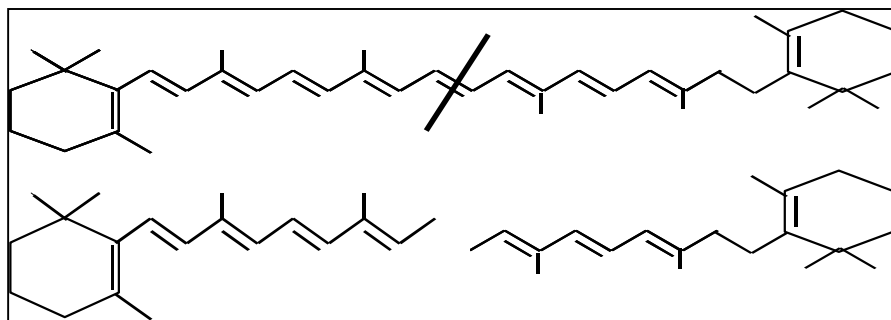


Figura 12a – Conversão de β -caroteno em retinal pela enzima caroteno 15 – 15' dioxigenase se a eficiência da conversão fosse de 100%.

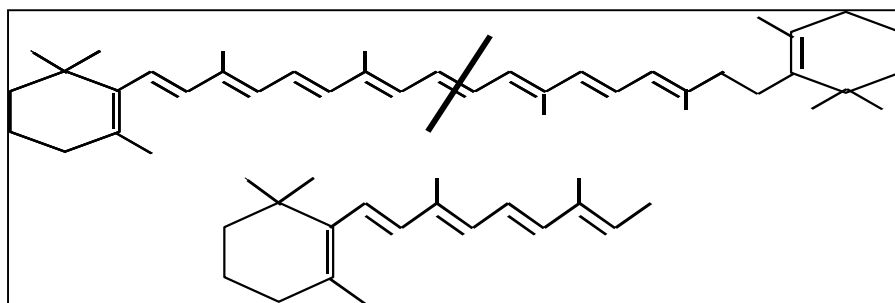


Figura 12b – Conversão real (com 50% de eficiência) de β -caroteno em retinal pela enzima caroteno 15 – 15' dioxigenase.

A diferentes formas de vitamina A apresentam diferentes propriedades físicas (Tabela 2).

Tabela 2- Propriedades físicas das diferentes formas da vitamina A (adaptado de Combs, 1991)

Forma da Vitamina A	Peso Molecular (g/mol)	Absorção máxima (nm)	Ponto de fusão ($^{\circ}$ C)	Cor – forma
Retinol	286,4	325	62 - 64	Amarelo – cristal
Retinal	284,4	373	61 - 64	Laranja – cristal
Ácido Retinóico	300,4	351	180 - 182	Amarelo – Cristal

Após a aplicação intramuscular (i.m.) da vitamina A (palmitato de retinol), o retinol atinge a corrente sanguínea ligado a uma enzima específica chamada RBP (Retinol Binding Protein), que é responsável, principalmente, pelo transporte intercelular (Wolf, 1984; Ward et al., 1997; Ross et al., 2000; Ulven et al., 2000; Raila et al., 2001; National Academy os Sciences, 2002; Mohan et al., 2002). Devido à falta de solubilidade do retinol em água, ele se

liga intracelularmente a uma segunda proteína, chamada RBP celular (CRBP), que ajuda a solubilizá-lo no ambiente celular aquoso (Mohan et al., 2002) e está envolvida na conversão hepática do retinol a ácido retinóico via retinaldeído (Napoli, 1993). O retinol ligado à proteína transportadora (RBP) pode então suprir as exigências de vitamina A do organismo e o restante será armazenado nas células hepáticas na forma de palmitato de retinol (Islabão, 1982). Além do fígado, a vitamina A também é encontrada em diversos órgãos em ordem decrescente de concentração: rim, tecido adiposo e tecidos da adrenal (Hidiroglou & Batra, 1996). No entanto, quando a vitamina A oral é usada, a principal forma de armazenamento no fígado é a de retinil ésteres em 98% dos casos (Blomhoff et al., 1991; Silveira & Moreno, 1998).

2.4 Vitamina A na reprodução

A vitamina A é um nutriente essencial e sua necessidade na reprodução dos animais está bem estabelecida (Ganguly et al., 1980). Ela influencia a formação de espermatozoides (Thompson, 1970) em várias espécies, dentre elas ratos (Howell et al., 1963; Zhuang et al., 1997) e bovinos (Sutton et al., 1940; Hogson et al., 1946; Rode et al., 1995). A sua importância nas fêmeas é bem documentada em bovinos no que diz respeito à qualidade folicular e à eficiência reprodutiva em geral (Schweigert et al., 1988; Schweigert & Zucker, 1988; Graves-Hoagland et al., 1989; Weiss, 1998; Haliloglu et al., 2002), em ovinos na viabilidade embrionária (Eberhardt et al., 1999), em camundongos na produção de hormônios esteróides (Elmarimi et al., 1990; Wellik and DeLuca, 1996), em suínos na viabilidade embrionária (Britt et al., 1992; Coffey & Britt, 1993; Whaley et al., 1997; Da Silveira et al., 1998; Whaley et al., 2000), em coelhos na melhora de embriões viáveis (Besenfelder et al., 1993; Besenfelder et al., 1996), em aves na produção de melhores embriões (Thompson et al., 1969) e

em crustáceos na melhor eficiência reprodutiva (Pangantihon-Kühlmann et al., 1998).

2.4.1 Vitamina A e qualidade folicular

A única forma de vitamina A encontrada no fluido folicular de bovinos é o retinol e sua concentração intrafolicular está intimamente correlacionada com a qualidade morfológica do folículo e com a concentração intrafolicular de estradiol-17 β . Maiores concentrações de retinol são encontradas em folículos não atrésicos quando comparados com os atrésicos, que apresentam as menores concentrações (Schweigert et al., 1988). As maiores concentrações de vitamina A nos folículos não atrésicos podem sugerir um papel da vitamina A no desenvolvimento folicular. O papel mais provável seria um efeito na síntese de proteína através da modulação da expressão genética no núcleo da célula de uma maneira semelhante à de um hormônio esteróide. Isto influenciaria a maturação citoplasmática dos oócitos assim como a síntese de enzimas (Roberts & Sporn, 1984). Suporte para tal fato vem dos estudos sobre a importância do status nutricional de vitamina A na esteroidogênese, pois a síntese de hormônios esteróides é marcadamente diminuída em ratos deficientes em vitamina A, comparados com ratos normais (Jayaram et al., 1973). A influência da vitamina A na síntese protéica e hormonal pode indicar seu potencial para modulação local do desenvolvimento folicular. Dessa forma, postula-se que a vitamina seja um dos principais fatores controladores do recrutamento, seleção e crescimento dos folículos dominantes em bovinos (Schweigert and Zucker, 1988).

Em programas de transferência de embriões com coelhas, concentrações altas (>625 $\mu\text{g/l}$) de vitamina A plasmática foram positivamente relacionadas ao aumento no número de oócitos, assim como a melhor qualidade dos embriões produzidos (Besenfelder et al., 1996).

Além disso, a vitamina A é de suma importância na manutenção da integridade estrutural das células epiteliais e em casos de deficiência há ocorrência de hiperqueratose folicular (Chase et al., 1971; Sauberlich et al., 1974).

2.4.2 Vitamina A e produção de esteróides

A vitamina A é necessária para a produção eficiente de esteróide (Juneja et al., 1966, Ganguly et al., 1971a, b; Bazer, 1982; Talavera & Chew, 1988) e está presente nas glândulas produtoras de esteróides de quase todos os vertebrados (Juneja et al., 1969).

Em ratos deficientes de vitamina A, a enzima de clivagem da cadeia lateral do colesterol (CSCCE), enzima limitante na biosíntese de esteróides (Ganguly et al., 1980), possui atividade diminuída e pode ser restaurada quando os animais são suplementados com retinil acetato, mas não com suplementação de ácido retinóico (Jayaram et al., 1973). Isto indica que a CSCCE tem uma exigência de retinol para sua síntese e/ou atividade nos ovários de ratos, pois as células ovarianas regeneram-se em intervalos freqüentes, o que pode indicar a exigência de vitamina A em etapas fundamentais da diferenciação celular (Hayes, 1971; Cores & Hayes, 1972; Jayaram et al., 1973).

Além disso, a vitamina A modula a atividade da enzima 5β -hidroxiesteróide desidrogenase que catalisa a conversão de pregnenolona em progesterona (segunda etapa na biosíntese de esteróides – Figura 13) nas gônadas (Islabão, 1982). A ausência de retinol bloqueia a síntese de progesterona a partir de pregnenolona (Juneja et al., 1966).

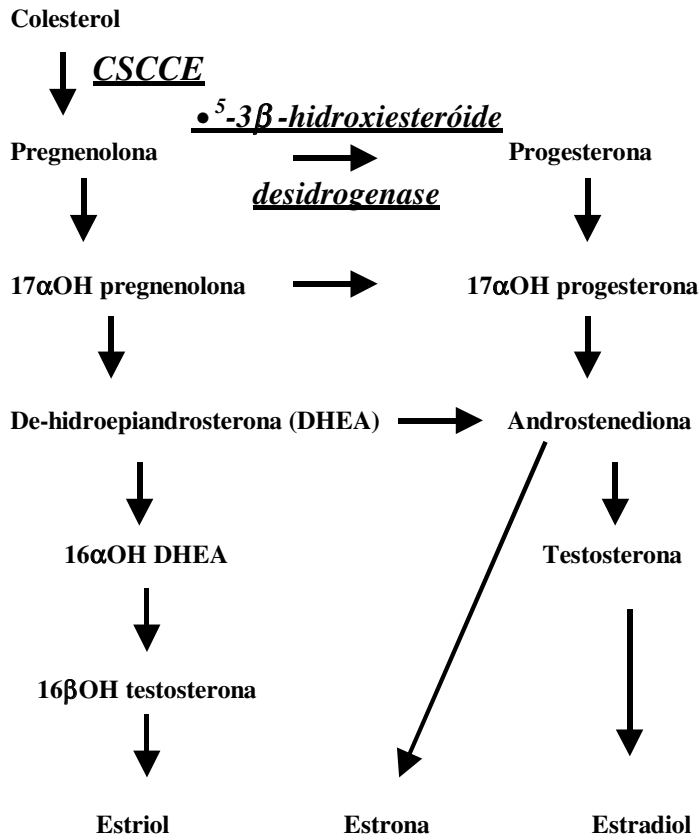


Figura 13- Síntese de hormônios esteróides e enzimas influenciadas pela vitamina A: CSCCE (enzima de clivagem da cadeia lateral do colesterol) e \bullet^5 - 3β -hidroxiesteróide desidrogenase (adaptado de Hafez, 2000).

O retinol *in vitro* aumenta de 3 a 10 vezes, a produção de progesterona pelas células luteais (Talavera & Chew, 1987; Talavera & Chew, 1988). Juneja et al. (1969) reportaram que altas taxas de progesterona não podem ser mantidas em ratos deficientes em vitamina A. Portanto, estas observações sugerem que há uma exigência de vitamina A no ovário para suportar a produção de progesterona (Talavera & Chew, 1988).

Embora as diferentes formas de vitamina A (retinol e ácido retinóico) atuem de forma distinta, Talavera & Chew (1988) encontraram efeito estimulatório do ácido retinóico na produção de progesterona pelas células luteais. Esta descoberta foi inesperada, pois estudos têm demonstrado que o ácido retinóico não atua na reprodução (Ganguly et al., 1971a, b; Juneja et al., 1969), embora tenha efeito significativo no crescimento. Ganguly et al. (1971a, b) observaram que ratos alimentados com dietas deficientes em vitamina A e suplementados com ácido retinóico exibiram concentração de progesterona ovariana diminuída, o que foi correlacionado com aumentos na sua reabsorção fetal. Porém, Sundelin et al. (1985) sugeriram que o retinol pode ser oxidado primeiro a ácido retinóico antes de ser transferido para a proteína transportadora de ácido retinóico celular (RABPc) a fim de exercer uma resposta fisiológica. Além disso, sugere-se que as barreiras sangüíneas (pelo menos no olho e nos órgãos reprodutivos) previnem que o ácido retinóico chegue ao seu local de ação.

A vitamina A pode alterar a sobrevivência embrionária inicial através do aumento da produção de progesterona em suínos (Dyck et al., 1980; Pharazyn et al., 1991; Jindal et al., 1996; Whaley et al., 1997).

É aceito que perfis baixos de progesterona estejam negativamente relacionados à resposta superovulatória, produção e qualidade de embriões (Callensen et al., 1986, 1988; Greve et al., 1995). Allen and Foote, 1988 e Callensen et al. (1988) reportaram que baixas concentrações de progesterona observadas no sangue ou no leite têm sido correlacionadas à fraca resposta ao tratamento superovulatório e produção de oócito / embrião de qualidade ou ainda para excluir as doadoras potencialmente ruins. Chagas e Silva et al. (2002) encontraram maiores concentrações de progesterona em novilhas do que em vacas no quinto e sétimo dia após o cio superovulatório e maiores concentrações de progesterona por embriões produzidos no dia 7 pós cio superovulatório em

novilhas. Entretanto, os autores ressaltam que não é possível concluir se as concentrações de progesterona estão associadas ou são causas das diferenças na produção e qualidade de embrião.

Como a vitamina A melhora a qualidade dos embriões produzidos (Elmarimi et al., 1990; Shaw et al., 1995) e a maior produção de progesterona está associada à suplementação de vitamina A (Juneja et al., 1966, Ganguly et al., 1971a, b; Bazer, 1982; Talavera & Chew, 1987; Talavera & Chew, 1988), possivelmente maiores concentrações de progesterona estejam associadas à melhora na qualidade dos embriões.

Além disso, a progesterona estimula a secreção de RBP uterina (Adams et al., 1981; Clawitter, 1989) e os retinóides estimulam a secreção de RBP pelo saco vitelínico visceral de ratos (Soprano et al., 1988). Parece provável que a síntese e secreção da RBP pelo endométrio bovino seja aumentada pela progesterona. Isso pode indicar que a progesterona tem função regulatória das secreções uterinas, promovendo suporte nutricional para o desenvolvimento do concepto (Thomas et al., 1992). Embora estes autores tenham estudado o efeito da progesterona 17 dias após a cobertura natural, é possível que este efeito possa estar sendo exercido em período anterior ou mais próximo da implantação.

Outro aspecto importante é a relação entre a disponibilidade de vitamina A para o animal e a concentração plasmática de RBP. A síntese de RBP no fígado é dependente do status nutricional e fisiológico do animal. Em baixo consumo de proteína, as concentrações plasmáticas de RBP declinam até mesmo quando o fígado contém um suprimento adequado de retinol. Isto sugere que a liberação de retinol do fígado para a circulação é determinada pela extensão de síntese de RBP neste órgão (Ganguly et al., 1980).

Através do uso da técnica de radioimunoensaio em ratos, Muto et al. (1972) mostraram que concentrações sorológicas de vitamina A declinam gradualmente após o início da restrição de vitamina A na dieta. Ao mesmo

tempo, entretanto, a RBP é sintetizada e acumulada no fígado quando esses ratos recebem suplementação de retinol e as concentrações sorológicas de RBP são aumentadas enquanto a quantidade de RBP no fígado é diminuída.

2.4.3 Vitamina A e superovulação

Trabalhos sobre a influência da vitamina A na superovulação são escassos na literatura. Em bovinos, Shaw et al. (1995), avaliando a influência da administração de palmitato de retinol na taxa de ovulação e qualidade de embriões de 48 vacas superovuladas, verificaram que a vitamina A aumentou ($P < 0,04$) o número de embriões transferíveis (5,87) em comparação ao das doadoras que não receberam vitamina A (3,13). A número total de embriões produzidos não foi alterado (11,1 vs 8,2, respectivamente para vitamina A e controle).

Já em programas de transferência de embrião em coelhas, Besenfelder et al. (1996) reportaram que altos níveis ($>625 \mu\text{g/l}$) de vitamina A sorológica são positivamente relacionados com maior número de embriões viáveis.

Em ovelhas superovuladas, a administração de diferentes formas de vitamina A (*all-trans* retinol, *all-trans* ácido retinóico, *9-cis* ácido retinóico e o controle) no primeiro e último dia da aplicação de FSH não afeta a taxa de ovulação das ovelhas. No entanto, o retinol aumentou significativamente a viabilidade embrionária (medida pela formação de blastocisto *in vitro*). Os embriões dos animais suplementados com retinol tiveram formação de blastocisto *in vitro* duas vezes maior do que os dos animais tratados com ácido retinoico trans, ácidos retinóico cis e controle (72% vs. 27%, 33% e 32%; $P < 0,05$).

Amaral et al. (2001), trabalhando com suplementação de abóbora (3kg/doadora/dia) em bovinos durante vinte dias antes da coleta de embriões,

encontraram uma melhora de 1,1 embrião viável nas doadoras suplementadas em comparação com as do grupo controle (sem suplementação). Possivelmente esta melhora tenha ocorrido devido à conversão do β -caroteno em vitamina A nos ovários das doadoras.

Apesar de existirem muitos estudos sobre a importância fisiológica da vitamina A, os trabalhos referentes principalmente aos seus efeitos no padrão superovulatório em bovinos ainda são escassos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Central de Transferência de Embriões Cauembryo, no município de Funilândia, Minas Gerais, no período de Junho a Setembro de 2002. Foram utilizadas 64 vacas adultas (doadoras de embriões) e não lactantes das raças Nelore (n=52), Guzerá (n=7) e Gir (n=5). Todas as doadoras estavam em piquetes de *Brachiaria decumbens* com suplementação de silagem de milho no cocho para manter o escore corporal (na escala de 1 a 9, o escore dos animais variou de 5 a 7). Água e sal mineral foram fornecidos à vontade durante todo o período do experimento.

Após a detecção de cio foi feita a avaliação ovariana das doadoras por palpação retal e aquelas que apresentaram corpo lúteo normal foram superovuladas no 10^o (n=18) ou 11^o (n=10) ou 12^o (n=26) ou 13^o (n=10) dia após a data do cio com 20 ml de Folltropin® (Vetrepharm, Belleville, Canada) ou 10 ml Pluset® (I.F. Serono, Roma, Itália), distribuídos em dosagens decrescentes (4,0, 4,0, 3,0, 3,0, 2,0, 2,0, 1,0 e 1,0 ml para o Folltropin and 2,0, 2, 0, 1,5, 1,5, 1,0, 1,0, 0,5 e 0,5 ml para o Pluset) durante quatro dias em duas aplicações diárias (intercaladas de doze horas). O Folltropin® é um extrato de hormônio folículo estimulante (FSH) obtido de glândulas pituitárias suínas, enquanto o Pluset® é uma mistura com relação definida e constante de FSH e LH extraída de pituitária suína na proporção FSH:LH de 1:1, sendo que a atividade biológica do FSH é de 100%, enquanto a do LH é de 25%. Os tratamentos foram designados aleatoriamente às doadoras, segundo um delineamento inteiramente casualizado.

As diferentes dosagens de vitamina A (0, 500.000, 1.000.000 e 1.500.000 UI de vitamina A na forma de palmitato de retinol) foram diluídas em 10 ml de óleo de milho estéril e aplicadas em dose única juntamente com a

primeira dose de FSH. A aplicação da vitamina A foi realizada no músculo semi membranoso ou semi tendinoso, porém no lado oposto à injeção superovulatória, ou seja, se a aplicação de FSH fosse feita no músculo semi membranoso do lado esquerdo, a vitamina A seria aplicada no músculo semi membranoso do lado direito. As doadoras foram distribuídas aleatoriamente nos respectivos tratamentos, de acordo com a Tabela 3.

Tabela 3- Número de doadoras distribuídas de acordo com os tratamentos e hormônios aplicados.

Hormônios	Tratamentos (UI de vitamina A) ¹				Total
	0*	500.000	1.000.000	1.500.000	
Folltropin [®]	11	13	13	9	46
Pluset [®]	4	3	4	7	18
Total	14	15	17	16	64

¹ UI de vitamina A na forma de palmitato de retinol (Roche[®], São Paulo, SP) aplicados i.m. diluídos em 10 ml de óleo de milho estéril

* O tratamento com 0 UI de vitamina A consistiu da aplicação de 10 ml de óleo de milho i.m. (grupo controle).

A luteólise foi induzida no quarto dia do tratamento de FSH, através de uma aplicação de 0,75 mg de cloprostenol sódico (Ciosin[®], Coopers do Brasil, São Paulo, Brasil), e as doadoras observadas em cio foram inseminadas 12 e 24 horas após o início do cio. Todas as doadoras foram inseminadas pelo mesmo inseminador, usando sêmen de fertilidade comprovada. O processo da superovulação e aplicação da vitamina A está descrito na Figura 14.

Esquema da superovulação:

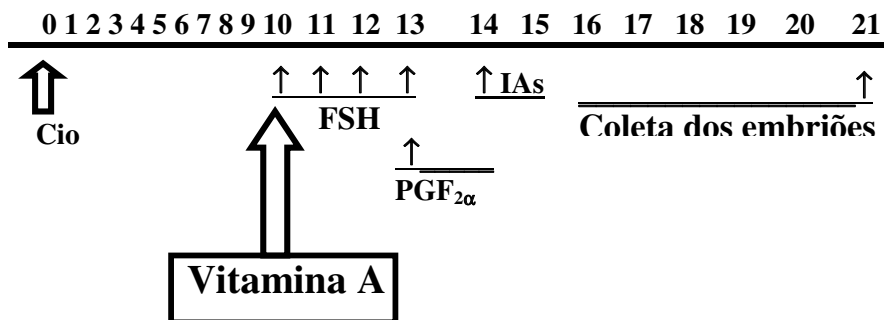


Figura 14- Esquema de superovulação, aplicação da vitamina A e coleta dos embriões (neste caso representada 7 dias após o cio superovulatório – dia em que é feita as IAs)

3.1 Coleta de embriões e classificação

Das 64 doadoras superovuladas, 10, 46 e 8 doadoras foram coletadas, respectivamente, 6, 7 e 8 dias após o cio, através da coleta não cirúrgica (Elsden et al., 1976). O útero de cada doadora foi lavado com 1,0 l de Dulbecco Modificado (DPBS) (Cultilab, Campinas, SP) e os embriões coletados em recipientes com filtros de 100 μ m. Todas as coletas foram realizadas pelo mesmo técnico. A seguir, os embriões foram classificados da segundo a Figura 15: o número de estruturas recuperadas compreendeu as seguintes estruturas: óvulos, embriões degenerados, mórula, blastocisto inicial, blastocisto, blastocisto expandido e blastocisto eclodido. Deste total de estruturas, os embriões viáveis foram: mórula, blastocisto inicial, blastocisto, blastocisto expandido e blastocisto eclodido. Todos os embriões foram classificados por um técnico experiente. Para evitar erros na coleta e classificação dos embriões, nem

o técnico que coletou os embriões nem o que lhes classificou estavam cientes dos tratamentos que a doadora recebeu.

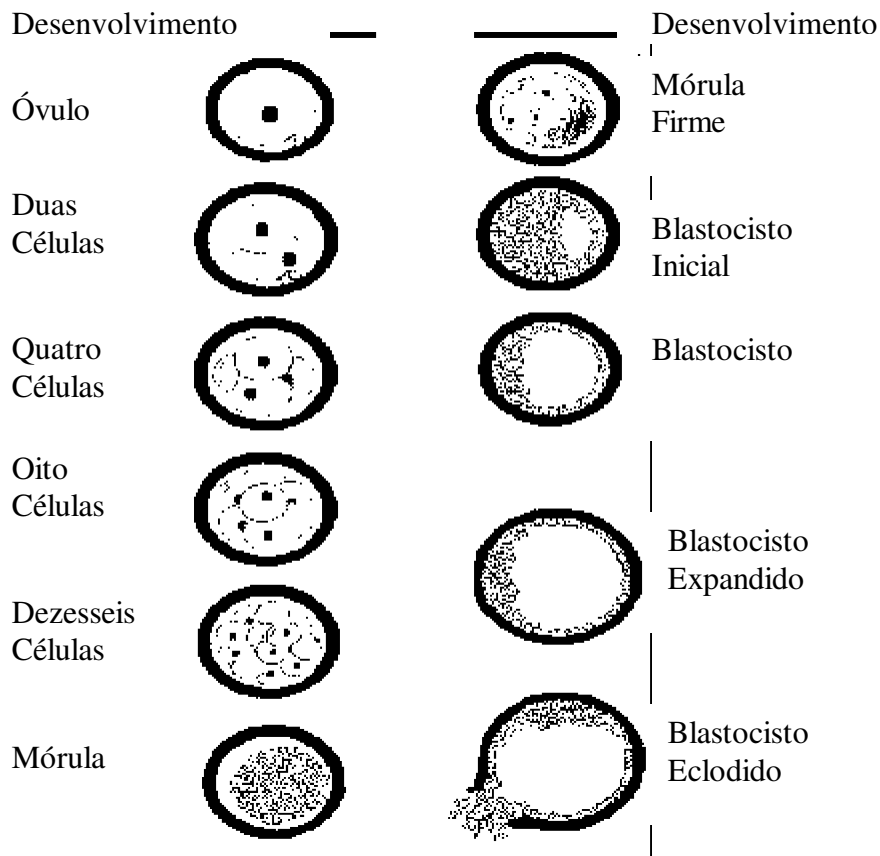


Figura 15- Classificação dos embriões.

3.2 Análise Estatística

A análise do efeito das diferentes dosagens de vitamina A sobre o número de estruturas recuperadas (ER), número de embriões viáveis (V) e a proporção (V/ER) foi realizada pelo procedimento GENMOD (SAS, 1995),

visto que os dados seguem a distribuição de Poisson (Figuras 16 e 17). Pelas Figuras 16 (dados do experimento) e 17 (dados coletados de 161 doadoras antes do início do experimento), podemos ver que a distribuição dos dados não segue a distribuição normal. Como todas as doadoras já haviam sido coletadas na central antes do início do experimento, utilizou-se a proporção entre o número de embriões viáveis da coleta anterior (VA) e o número de estruturas recuperadas da coleta anterior (ERA). A esta proporção deu-se o nome de GPA, que foi usada como covariável para ajustar o modelo. As médias dos tratamentos foram comparadas por contraste (SAS, 1995).

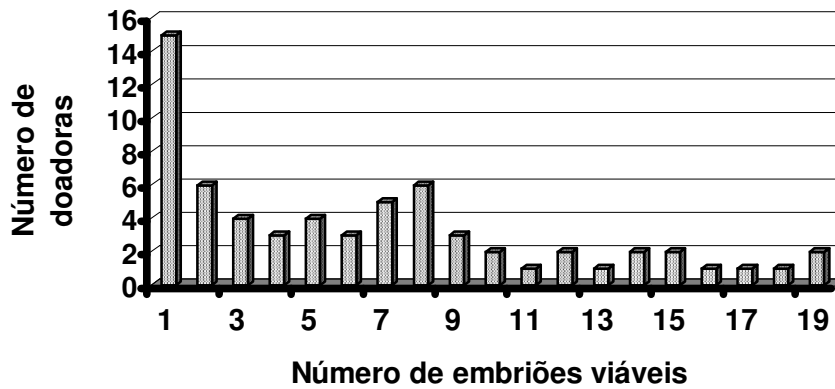


Figura 16- Distribuição de produção de embriões viáveis das 64 doadoras do experimento.

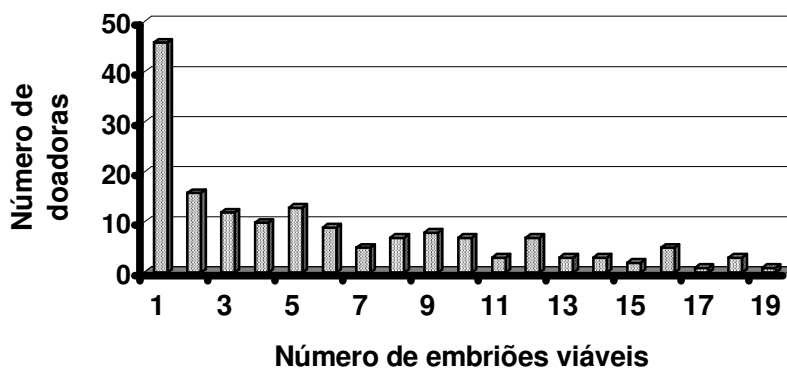


Figura 17- Distribuição de produção de embriões viáveis de 161 doadoras coletadas antes do início do experimento na central e que não foram suplementadas.

3.3 Modelo Estatístico

O modelo estatístico para explicar o efeito das dosagens de vitamina A sobre o número de embriões viáveis (V) e sobre o número de embriões produzidos (ER) incluiu somente os efeitos das dosagens de vitamina A e do GPA como descrito abaixo:

$$Y_{ij} = \mu + GPA_i + V_j + e_{ij} \text{ e}$$

onde:

Y_{ij} é a resposta das doadoras que apresentaram um GPA j e receberam a dosagem de Vitamina i ;

μ é a constante associada a todas as observações;

GPA_i é a proporção V/ER da coleta anterior de todas as doadoras, com $i = 1, 2, 3, \dots, 64$;

V_j é a dosagem de vitamina A, com $j = 0, 500.000, 1.000.000$ e $1.500.000$ UI de vitamina A na forma de palmitato de retinol;

e_{ij} é o erro experimental associado a Y_{ij} , que por hipótese tem distribuição de Poisson, onde a média é igual a variância.

Como em todos os modelos utilizados para avaliar o efeito de diferentes dosagens de vitamina A o GPA foi significativo, é de fundamental importância, na execução de experimentos com superovulação, que seja feito o agrupamento dos animais que irão receber os tratamentos de acordo com a produção de embriões anterior (VA/ERA).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número de embriões viáveis das doadoras que receberam vitamina A foi maior ($P < 0,0001$) do que as do tratamento controle (Figura 18). O número de embriões viáveis produzidos pelas doadoras que receberam 0 UI de vitamina A é condizente com vários trabalhos (Figura 4), o que demonstra que este resultado está de acordo com a realidade.

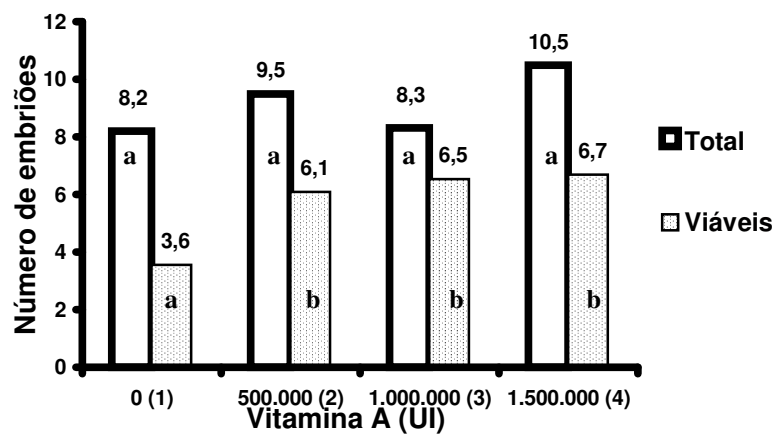
Este aumento de até 3 embriões viáveis é altamente significativo e mostra o efeito da vitamina A na qualidade embrionária. Em épocas de seca, como a da realização do experimento, vemos que suplementação de VA surge para suprir algo que a natureza não consegue, principalmente para animais que estão sendo estressados fisiologicamente (superovulação). Por isso, há esta grande diferença na qualidade de embriões produzidos.

A proporção do número de embriões viáveis e o número de embriões totais produzidos ($P < 0,01$) das doadoras que receberam vitamina A foram maiores do que os do tratamento controle (Figura 19). A resposta na qualidade de embriões também foi encontrada por Shaw et al. (1995) com a dosagem de 1.000.000 UI de palmitato de retinol, em programas de transferência de embriões em ratas suplementadas com vitamina A (Elmarimi et al., 1990) e em bovinos suplementados com abóbora (Amaral et al., 2001). Várias podem ser as causas para esta melhora na qualidade: primeiro, a suplementação de vitamina A injetável pode melhorar a qualidade do folículo (Schweigert & Zucker, 1988; Schweigert et al., 1988) e, conseqüentemente, a qualidade dos embriões das doadoras superovuladas; segundo, a vitamina pode estimular a CSCCE (Hayes, 1971; Cores & Hayes, 1972; Jayaram et al., 1973; Ganguly et al., 1980), aumentando a produção de pregnenolona, precursor da progesterona; terceiro, a vitamina A pode modular a atividade da enzima $\bullet^5\text{-}3\beta\text{-hidroxiesteróide}$

desidrogenase (Juneja et al., 1966; Islabão, 1982) para a maior conversão de pregnenolona em progesterona, que possivelmente está associada à melhor qualidade embrionária (Dyck et al., 1980; Pharazyn et al., 1991; Jindal et al., 1996; Whaley et al., 1997) e, por último, a progesterona pode aumentar a produção da RBP uterina, possivelmente promovendo suporte nutricional para o desenvolvimento do concepto (Thomas et al., 1992).

As células ovarianas regeneram-se em intervalos freqüentes o que ocasiona maior demanda de vitamina A em etapas fundamentais da diferenciação celular (Hayes, 1971; Cores & Hayes, 1972; Jayaram et al., 1973). Em animais superovulados, devido à maior produção de óvulos, pode ocorrer exigência ainda maior de vitamina A nas células ovarianas. Em animais sem suplementação de vitamina A, é possível que a exigência dessa vitamina não seja suprida e, conseqüentemente, haja menor número de embriões viáveis (Figura 18).

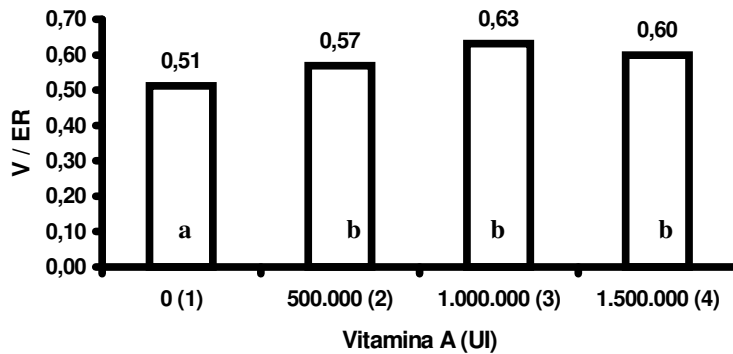
No entanto, o número de embriões produzidos das doadoras que receberam as diferentes dosagens de vitamina A não foi diferente ($P>0,05$) daquele das doadoras que receberam o tratamento controle (Figura 18), mostrando que a vitamina A não interfere na resposta superovulatória (Elmarimi et al., 1990; Shaw et al., 1995).



* Contrastes para embriões totais: 1 vs. 2, 3 e 4 ($P=0,167$); 1 vs. 2 ($P=0,239$) e 1 vs. 3 ($P=0,917$). Letras iguais nas colunas de embriões totais não diferem entre si ($P>0,05$).

* Contrastes para embriões viáveis: 1 vs. 2, 3 e 4 ($P=0,001$); 1 vs. 4 ($P=0,001$) e 2 vs. 4 ($P=0,284$). Letras iguais nas colunas de embriões viáveis não diferem entre si ($P>0,05$).

Figura 18- Número de embriões viáveis (V) produzidos pelas doadoras que receberam as diferentes dosagens de vitamina A injetável.

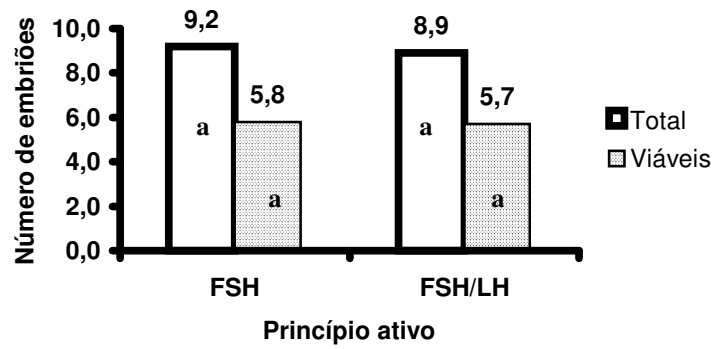


* Contrastes: 1 vs. 2, 3 e 4 (P=0,004); 1 vs. 4 (P=0,001) e 2 vs. 4 (P=0,295). Letras iguais nas colunas não diferem entre si (P>0,05).

Figura 19. Proporção entre número de embriões viáveis (V) e número de estruturas produzidas (ER) das doadoras que receberam as diferentes dosagens de vitamina A injetável.

A produção e a qualidade de embriões bovinos não foram afetadas (P>0,05) pelos diferentes princípios ativos (Figura 20). Embora os princípios ativos sejam diferentes, tanto a presença quanto a ausência de LH foram efetivos na indução da superovulação. É importante lembrar a atividade biológica do LH (25%).

A produção de embriões viáveis de doadoras induzidas à superovulação com FSH está dentro da variação (4,5 – 7,0) encontrada na literatura (Rodrigues, 2001).



* Letras iguais na coluna de número de embriões total não diferem entre si ($P>0,05$). Letras iguais na coluna de número de embriões viáveis não diferem entre si ($P>0,05$).

Figura 20- Produção de embriões totais e viáveis das doadoras foram superovuladas com FSH ou FSH/LH.

5 CONCLUSÕES

A vitamina A aumenta o número de embriões viáveis e a proporção entre embriões viáveis e embriões produzidos, sem interferir na quantidade produzida.

A vitamina A mostra-se como uma importante fonte de nutriente para animais que estão sendo estressados fisiologicamente (superovulados) principalmente na época da seca, em que a principal fonte de provitamina A (β -caroteno) está escassa. Com o suporte nutricional adicional, a melhora no número de embriões viáveis produzidos é significativa.

A dose de 500.000 UI de vitamina A na forma de palmitato de retinol é a mais indicada para utilização injetável em doadoras de embriões na época seca, tendo como objetivo aumentar o número de embriões viáveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, K. L.; BAZER, F. W.; ROBERTS, R. M. Progesterone-induced secretion of a retinal-binding protein in the pig uterus. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 62, n. 1, p. 39-47, Jan. 1981
- ALLEN, S. E.; FOOTE, R. H.; An enzyme-linked immunoassay of milk progesterone as diagnostic aid in embryo transfer programs. **Theriogenology**, Woburn, v. 29, n. 4, p. 893-903, Apr. 1988
- AMARAL, B. C. do; SOUZA, J. C. de; LEMOS, F. O. Efeito da suplementação de 3 kg de abóbora (*Cucúrbita maxima*) na quantidade e qualidade de embriões coletados de vacas doadoras. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 25, n. 3, p. 331-333, 2001
- ASHWORTH, C. J.; ANTIPATIS, C. Micronutrient programming of development throughout gestation. **Reproduction**, Cambridge, v. 22, n. 4, p. 527-535, Oct. 2001
- BALBACH, A.; BOARIN, D. S. As hortaliças na medicina natural. Itaquaquecetuba, SP: Editora Missionária, 1993 p. 74-80
- BAZER, F. W. **Vitamins in reproduction**. In: Proceedings of the Meeting of the Florida Nutrition Conference. St. Petersburg Beach, Florida, pp. 177-197. 1982
- BESENFELDER, U.; SOLTY, L. SEREGI, J.; BREM, G. Influence of β -carotene on fertility when using embryo transfer programs. **Theriogenology**, Woburn, v. 39, n. 5, p. 1093-1109, May 1993.
- BESENFELDER, U.; SOLTY, L. SEREGI, J.; MULLER, M.; BREM, G. Different roles for β -carotene and vitamin A in the reproduction of rabbits. **Theriogenology**, Woburn, v. 45, n. 8, p. 1583-1591, June 1996.
- BLOMHOFF, R.; GREEN, M. H.; GREEN, J. B.; BERG, T.; NORUM, K. R. Vitamin A metabolism: New perspectives on absorption, transport and storage. **Physiological Reviews**, New York, v. 71, n. 4, 951-990, Oct. 1991

BOLAND, M. P.; FERGUSON, J.; LOVE, L.; TAKEDA, T.; HENDERSON, B.; HASLER, J.; CHALUPA, W. Effect of dietary crude protein type on fertilization and embryo quality in dairy cattle. **American Journal of Veterinary Research**, Schanmburg, v. 50, n. 6, p. 905-908, June 1990.

BRITT, J. H.; WHALEY, S. L.; HEDGPETH, V. S. Improvement of embryo survival by injection of vitamin A in gilts fed normal or high –energy diets before and after mating. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, p. 271, 1992. Supplement, 1.

CALLENSEN, H.; GREVE, T.; HYTTEL, P. Preovulatory endocrinology and oocyte maturation in superovulated cattle. **Theriogenology**, Woburn, v. 25, n. 3, p. 71-86, Jan. 1986

CALLENSEN, H.; GREVE, T.; HYTTEL, P. Preovulatory evaluation of the superovulatory response in donor cattle. **Theriogenology**, Woburn, v. 30, n. 3, p. 477-488, Sept. 1988

CHAGAS E SILVA, J.; LOPES DA COSTA, L.; ROBALO SILVA, J. Embryo yield and plasma progesterone profiles in superovulated dairy cows and heifers. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 69, n. 1, p. 1-8, 2002.

CHASE, H. P. KUMAR, K.; DODDS, J. M.; SAUBERLICH, H. E.; HUNTER, R. M. BURTON, R. S.; SPALDING, V. Nutritional status of preschool Mexican-American migrant farm children. **American Journal of Diseases Children**, Chicago, v. 122, n. 4, p. 316-324, 1971.

CHEW, B. P. Vitamin A and β -carotene in host defense. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 70, n. 12, p. 2732-2743, Dec. 1987.

CLAWITTER, J. A novel family of progesterone-responsive, retinal-binding proteins from uterine secretions of the pig. **Biology of Reproduction**, Madison v. 40, p. 132, July 1989. Supplement, 1.

COFFEY, M. T.; BRITT, J. H. Enhancement of sow reproductive performance by β -carotene or vitamin A. **Journal of Animal Science**, Champaign v. 71, n. 5, p. 1198-1202, May 1993

COMBS, G. F. JR. **The vitamins**: fundamental aspects in nutrition and health. 2. ed . New York: Academic Press, 1998.

COREY, J. E.; HAYES, K. C. Cerebrospinal fluid pressure, growth and hematology in relation to retinol status of the rat in acute vitamin a deficiency. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 102, n. 12, p. 1585-1593, Dec. 1972.

DA SILVEIRA, P. R. S.; FERNANDES, L. C. O.; MORAES FILHO, J. C.; BARIONI JUNIOR, W. Efeito da vitamina A no desempenho reprodutivo de porcas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 27, n. 4, 743-748, jul./ago. 1998

DRÄGER, U. C.; WAGNER, E.; MCCAFFERY, PETER. Aldehyde dehydrogenases in the generation of Retinoic Acid in the developing vertebrate: A central role of the eye. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 128, p.463S-466S, 1998.

DE LUCA, L. M.; DARWICHE, N.; CELLI, G. KOSA, K.; JONES, C. ROSS, S.; CHEN, L. Vitamin A in epithelial differentiation and skin carcinogenesis. **Nutrition Reviews**, Laurence, v. 52, n. 2, p. S45-S52, Feb. 1994.

DE LUCA, L. M.; KOSA, K.; ANDREOLA, F. The role of vitamin A in differentiation and skin carcinogenesis. **Nutritional Biochemistry**, New York, v. 8, n. 8, p. 426-437, Aug. 1997.

DUSTER, G. Alcohol dehydrogenase as a critical mediator for retinoic acid synthesis from vitamin A in the mouse embryo. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 128, p. 459S-462S, 1998.

DYCK, G. W.; PALMER, W. M.; SIMARAKS, S. Progesterone and luteinizing hormone concentration of pregnant gilts on different levels of feed consumption. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 63, n. 4, p. 877-884, Dec. 1980.

EBERHARDT, D. M.; WILL, W. A.; GODKIN, J. D. Retinol administration to superovulated ewes improves *in vitro* embryonic viability. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 60, n. 6, p. 1483-1487, June 1999.

ELMARIMI, A. A.; HOLDAS JR.; S.; VÉN, E. AND IMRIK, P. Effect of vitamin a supplementation on mice embryo production and viability. **Reproduction in Domestic Animal**, Berlin, v. 25, n. 5, 247-248, Oct. 1990.

ELSDEN, R. P.; HASLER, J. F.; SEIDEL, G. E. JR. Nonsurgical recovery of bovine eggs. **Theriogenology**, Woburn, v. 6, p. 523-532, 1976.

ERDAM, R. A. Vitamins. In: Van HORN, H. H.; WILCOX, C. J. (Ed.). **Large Dairy erd Management**. American Dairy Science Association, 1992. p. 297-308.

ERICKSON, B. H. Development and senescence of the postnatal bovine ovary. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 25, p. 800, 1966

GANGULY, J.; POPE, G. S.; THOMPSON, S. Y.; TOOTHILL, J.; EDWARDS-WEBB, J. D.; WAYNFORTH, H. B. Studies on the metabolism of vitamin A: the effects of vitamin A status on the concept of some steroids in the ovaries of pregnant rats. **Biochemical Journal**. London, v. 123, n. 4, 669-670, Aug. 1971a.

GANGULY, J.; POPE, G. S.; THOMPSON, S. Y.; TOOTHILL, J.; EDWARDS-WEBB, J. D.; WAYNFORTH, H. B. Studies on the metabolism of vitamin A: the effects of vitamin A status on the secretion rates of some steroids into the ovarian venous blood of pregnant rats. **Biochemical Journal**, London, v.122, n. 2, p. 235-239, Aug. 1971b.

GANGULY, J.; RAO, M. R. S.; MURTHY, S. K.; SARADA, K. Systemic mode of action of vitamin A. **Vitamin and Hormones**, New York, v. 38, p.1, 1980.

GRAVES-HOAGLAND, R. L.; HOAGLAND, T. A.; WOODY, C. O. Relationship of plasma β -carotene and vitamin A to luteal function in postpartum cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 72, n. 7, p. 1854-1858, July, 1989.

GREVE, T.; CALLENSSEN, H.; HYTTEL, P.; HOIER, R.; ASSEY, R. The effects of exogenous gonadotropins on oocyte maturation and embryo quality in cattle.

Theriogenology, Woburn, v. 43, n. 3/4, p. 41-50, Feb. 1995

HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. **Reproduction in Farm Animals**. Maryland: Lipcott Williams e Wilkins, 2000.

HALILOGLU, S.; BASPINAR, N.; SERPEK, B.; ERDMEM, H.; BULUT, Z. Vitamin A and β -carotene levels in plasma, corpus luteum and follicular fluid of cyclic and pregnant cattle. **Reproduction in Domestic Animal**, Berlin, v. 37, n. 2, p. 96-99, Apr. 2002.

HAYES, K. C. **Nutrition Reviews**, Amsterdam, v. 29, p. 3-6, 1971.

HIDIROGLOU, M.; BATRA, T. R. Parenteral supply of vitamin A to sheep. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 19, n. 3, p. 227-232, Mar. 1996

HOGSON, R. E.; HALL, S. R.; SWEETMAN, W. J.; WISEMAN, H. G.; CONVERSE, H. T. The effect of vitamin A deficiency on reproduction in dairy bulls. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 29, n. 10, p. 669-687, Oct. 1946.

HOWELL, J. M.; THOMPSON, J. N.; PITT, G. A. Histology of the lesions produced in the reproductive tract of animals fed a diet deficient in vitamin A alcohol but containing vitamin A acid. I The male rat. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 5, n. 2, p. 159-167, 1963.

HURLEY, W. L.; DOANE, R. M. Recent Developments in the Roles of Vitamins and Minerals in Reproduction. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 72, n. 3, p. 784-804, Mar. 1989

INTERNATIONAL EMBRYO TRANSFER SOCIETY -**IETS**. v. 19, n. 4, p. 36, Dec. 2001.

ISLABÃO, N.. **Vitaminas**: seu metabolismo no homem e nos animais domésticos. 2. ed. São Paulo, Nobel, 1982. 201 p.

JAYARAM, M.; MURTHY, S. K.; GANGULY, J. Effect of vitamin A deprivation on the cholesterol side-chain cleavage enzyme activity of testes and ovaries of rats. **Biochemical Journal**, London, v. 136, n. 1, p. 221-223, 1973.

JINDAL, R.; COSGROVE, J. R.; AHERNE, F. X.; FOXCROFT, G. R. Effect of nutrition on embryonal mortality in gilts: Association with progesterone. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 74, n. 3, p. 620, Mar. 1996.

JUNEJA, H. S.; MURTHY, S. K.; GANGULY, J. The effect of vitamin A deficiency on the biosynthesis of steroid hormones in rats. **Biochemical Journal**, London, v. 99, n. 1, p.138, 1966.

JUNEJA, H. S.; MOUDGAL, N. R.; GANGULY, J. Studies on the metabolism of vitamin A: The effect of hormones on gestation in retinoate-fed female rats. **Biochemical Journal**, London, v. 111, n. 1, p. 91-105, 1969.

KANZAKI, M. T.; RESENDE, J.; OLIVEIRA, J. V. L.; ANDRADE MOURA, J. C. RIBEIRO FILHO, A. L.; CHALHOUB, M.; GUSMÃO, A. L. Superovulação de vacas nelores através de uma única injeção subcutânea de FSH dissolvido em polivinilpirrolidona. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 25, n. 3, p. 329-331, 2001.

KRAUSE. **Alimentos, nutrição & dietoterapia**. 10. ed. São Paulo: Roca, 2002. p. 65-72

LOPES, H. C. B. S.; NOGUEIRA, L. A. G.; BORGES, J. R. L.; REIS, J. L.; MONTEIRO, A. B. S.; RODRIGUES, C. F. M.; ALMOSNY, N. R. P. Blood serum glucose and embryo production in red angus heifers. **Proceedings Annual IETS Conference**. In: **Theriogenology**, Woburn, v. 57, n. 1, p. 547, 2002.

LOPES, H. C. B. S.; NOGUEIRA, L. A. G.; BORGES, J. R. L.; REIS, J. L.; MONTEIRO, A. B. S.; RODRIGUES, C. F. M.; ALMOSNY, N. R. P. Blood serum cholesterol and embryo production in red angus heifers. **Proceedings Annual IETS Conference**. In: **Theriogenology**, Woburn, v. 57, n. 1, p. 557, 2002

MADEN, M. Vitamin A in embryonic development. **Nutrition Reviews**, v. 52, n. 2, p. S3-S12, Feb. 1994.

MADEN, M.; GALE, E.; ZILE, M. The Role of Vitamin A in the Development of the Central Nervous System. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 128, n. 2, p. 471S-475S, Feb. 1998.

MCDOWELL, L. R. **Vitamins in animal nutrition**: comparative aspects to human nutrition. San Diego: Academic Press, 1989. p. 486.

MOHAN, M.; MALAYER, J. R.; GEISERT, R. D.; MORGAN, G. L. Expressions patterns of retinoid X receptors, retinaldehyde dehydrogenase, and peroxisome proliferator activated receptor gamma in bovine preattachment embryos. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 66, n. 3, 692-700, Mar. 2002.

MUTO, Y.; SMITH, J. E.; MILCH, P. O.; GOODMAN, D. S. Regulation of retinol-binding protein-metabolism by vitamin-A status in rat. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 247, n. 8, p. 25-42, 1972.

NAPOLI, J. L. Biosynthesis and metabolism of retinoic acid: roles of CRBP and CRABP in retinoic: Roles of CRBP and CRABP in retinoic acid homeostasis. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 123, n. 2, p. 362-366, Feb.1993

NAPOLI, J. L. Interactions of retinoids and enzymes in retinoid metabolism. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1440, 139-162, 1999

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, 2002. **Vitamin A**: Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. 2002, cap. 4, p82-161. Disponível em: www.nap.edu/openbook/0309072794/html/110.html

NELSON, D. L.; COX, M. M. *Lehninger Principles of Biochemistry*. Third Edition. New York: Worth Publishers. 2000, 1152 p.

NEVES, E. F.; MARQUES JUNIOR, A. P. FARIA, F. J. C.; VIEIRA, F. A. P, FONTES, D. O.; CURY, F. P.; SANTANA, C. V. Pré-tratamento com somatotropina bovina (BST) em vacas holandesas superovuladas doadoras de embriões: Piracicaba, SP. Anais . . . SBZ, 2001.

PANGANTIHON-KÜHLMANN, M. P.; MILLAMENA, O.; CHERN, Y. Effect of dietary astaxanthin and vitamin A on the reproductive performance of

Penaeus monodon broodstock. **Aquatic Living Resource**, Paris, 11, n. 6, p. 403-409, Nov./Dec. 1998.

PHARAZYN, A.; DEN HARTOG, L. A.; FOXCROFT G. R.; AHERN, F. X. Dietary energy and protein intake, plasma progesterone and embryo survival in early pregnancy in the gilt. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 71, n. 3, p. 949, Sept. 1991.

RAILA, J.; MATHEWS, U.; SCHWEIGERT, F. J. Plasma transport and tissue distribution of β -carotene, vitamin A and retinal binding protein in domestic animals. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, New York, v. 130, n. 4, p. 849-856, Nov. 2001.

ROBERTS, A. B.; SPORN, M. B. Cellular biology and biochemistry of retinoids. In: SPORN, M. B.; ROBERTS, A. B.; GOODMAN, D. S. (Ed.). **The retinoids**. New York: Academic Press, p. 209-286.

ROCHE. **Vitamin nutrition compendium**. New Jersey, 2000. 1 CD

RODE, L. M.; COULTER, G. H.; KASTELIC, J. P.; BAILEY, D. R. C. Seminal quality and sperm production in beef bulls with chronic dietary vitamin A deficiency and subsequent re-alimentation. **Theriogenology**, Woburn, v. 43, n. 7, 1269-1277, 1995.

RODRIGUES, J. L. Transferência de embriões em bovinos – histórico e perspectivas atuais. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 25, n. 2, p. 102-107, 2001.

ROSS, S. A.; MCCAFFERY, P. J.; DRAGER, U. C.; DE LUCA, L. Retinoids in Embryonal Development. **Physiological Reviews**, New York, v. 80, n. 3, 1021-1054, July 2000.

SANTIAGO, L. L.; TORRES, C. A. A.; NOGUEIRA, E. T.; SANTOS, A. D. F.; DE OLIVEIRA, R. J.; GOMES, L. G.; NETO, O. A. C.; MAFFILI, V. L. Classificação das estruturas coletadas em novilhas nelore confinadas superovuladas com doses diferentes de FSH: Viçosa, MG. Anais . . . SBZ, 2000.

SANTIAGO, L. L.; TORRES, C. A. A.; COSTA, E. P.; NOGUEIRA, E. T.; SANTIAGO, S. L. Influência do folículo dominante na resposta superovulatória de novilhas nelore: Piracicaba, SP. Anais . . . SBZ, 2001.

SAS Institute. *SAS/STAT User's Guide*. Version 6. 12. 4. ed. ed. Cary, 1995. v. 2, 1686 p.

SAUBERLICH, H. E.; HODGES, H. E.; WALLACE, D. L. KOLDER, H.; CANHAM, J. E.; HOOD, J. RAICA, N.; LOWRY, L. K. Vitamin A metabolism and requirements in the human studied with the use of radiolabeled retinal. **Vitamin and Hormones**, New York, v. 32, p. 251-275, 1974.

SCHWEIGERT, F. J.; WIERICH, M.; RAMBECK, W. A.; ZUCKER, H. Carotene cleavage activity in bovine ovarian follicles. **Theriogenology**, Woburn, v. 30, n. 5, p. 923-930, Nov. 1988.

SCHWEIGERT, F. J.; ZUCKER, H. Concentrations of vitamin A, β -carotene and vitamin E in individual bovine follicles of different quality. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 82, n. 2, p. 575-579, Mar. 1988.

SHAW, D. W.; FARIN, P. W.; WASHBURN, S. P.; BRITT, J. H. Effect of retinal palmitate on superovulation rate and embryo quality in superovulated cattle. **Theriogenology**, Woburn, v. 44, n. 1, p. 51-58, July 1995.

SILVEIRA, E. R.; MORENO, F. S. Natural retinoids and β -carotene: From food to their actions on gene expression. **Journal of Nutritional Biochemistry**, New York, v. 9, n. 8, p. 446-456, Aug. 1998.

SMITH, S. M.; DICKMAN, E. D.; POWER, S.; LANCMAN, J. Retinoids and their receptors in vertebrate embryogenesis. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 128, n. 2, p. 467S-470S, Feb. 1998

SOPRANO, D. R.; WYATT, M. L.; DIXSON, J. L.; SOPRANO, K. J.; GOODMAN, D. S. Retinol-binding protein synthesis and secretion by rat visceral yolk sac. **Journal of Biology Chemistry**, Baltimore, v. 263, n. 6, p. 2934-2938, Feb. 1988

SUNDELIN, J.; ERIKSON, U.; MELHUS, H.; NILSON, M.; LUNDVALL, J.; BAVIK, CO.; HASSON, E.; LAURENT, B.; PETERSON, P. A. Cellular retinoid binding protein. **Chemistry and Physics Lipids**, Clare, v. 38, n. 1/2, p. 175-185, 1985

SUTTON, T. S.; KRAUSS, W. E.; HANSARD, S. L. The effect of vitamin A deficiency on the Young male bovine. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 23, n. 6, p. 574, June 1940.

TALAVERA, F. T.; CHEW, B. P. In vitro interactions of lipoproteins with retinol, retinoic acid and β -carotene on progesterone secretion by bovine luteal cells. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 70, p. 119, 1987. Supplement, 1.

TALAVERA, F.; CHEW, B. P. Comparative role of retinol, retinoic acid and β -carotene on progesterone secretion by pig corpus luteum *in vitro*. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 82, n. 2, p. 611-615, Mar. 1988.

THOMAS, P. G. A.; LESLIE, M. V.; HANSEN, P. J. Retinol binding protein is produced by bovine endometrium and accumulates in uterine secretions in a progesterone-dependent manner. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 27, n. 1, p. 55-66, Feb. 1992.

THOMPSON, J. N.; HOWELL, M. C. C.; PITT, G. A. Vitamin A and reproduction in rats. **Proceedings Royal Society London B**, London, v. 159, p. 510-535, 1964.

THOMPSON, J. N.; HOWELL, M. C. C.; PITT, G. A.; MCLAUGHLIN, C. I. Biological activity of retinoic acid in domestic fowl and the effects of vitamin A deficiency on the chick embryo. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 23, n. 4, p. 471-485, 1969.

THOMPSON, J. N.; **The Role of Vitamin A in Reproduction**. In: DE LUCA, H. F.; SUTLE, J. W. (Ed.). **The fat soluble vitamins**. Madison: The University of Wisconsin Press, 1970. 531 p

ULVEN, S. T.; GUNDERSEN, T. E.; WEEDON, M. S.; LANDAAS, V. Ø.; SAKHI, A. K.; FROMM, S. H.; GERONIMO, B. A.; MOSKAUG, J. O.; BLOMHOFF, R. Identification of endogenous retinoids, enzymes, binding proteins, and receptors during early postimplantation development in mouse: important roles of retinal dehydrogenase type 2 in syntheses of all-trans-retinoic acid. **Developmental Biology**, San Diego, v. 220, n. 2, p. 379-391, Apr. 2000.

YAAKUB, H.; O'CALLAGHAN, D.; BOLAND, M. P. Effect of type and quantity of concentrates on superovulation and embryo yield in beef heifers. **Theriogenology**, Woburn, v. 51, n. 8, p. 1259-1266, June 1999.

WARD, S. J.; CHAMBON, P.; ONG, D. E.; BAVIK, C. A retinal-binding protein receptor-mediated mechanism for uptake of vitamin A to postimplantation rat embryos. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 57, n. 4, p. 751-755, Oct. 1997

WEISS, W. P. Requirements of Fat-soluble Vitamins for Dairy Cows: A Review. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 9, p. 2493-2501, Sept. 1998.

WELLIK, D.; DE LUCA, H. F. Metabolites of all-*trans*-retinol in day 10 conceptus of vitamin A – deficient rats. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 330, n. 2, 355-362, June 1996.

WHALEY, S. L.; HEDGPETH, V. S.; BRITT, J. H. Evidence that injection of vitamin A before mating may improve embryo survival in gilts fed normal or high-energy diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 4, p. 1071-1077, Apr. 1997.

WHALEY, S. L.; HEDGPETH, V. S.; FARIN, C. E.; MARTUS, N. S.; JAYES, F. C. L.; BRITT, J. H. Influence of vitamin A injection before mating on oocyte development, follicular hormones and ovulation in gilts fed high-energy diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, n. 6, p. 1598-1607, June 2000.

WOLF, G. Multiple Functions of Vitamin A. **Physiological Reviews**, New York, v. 64, n. 3, 873-937, 1984.

ZHUANG, Y. H.; BLÄUER, M.; YLIKOMI, T.; TUOHIMAA, P. Spermatogenesis in the vitamin A – deficient rat: Possible interplay between retinoic acid receptors, androgen receptor and inhibin α -subunit. **Journal of the Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 60, n. 1/2, p. 67-76, Jan. 1997.

ZILE, M. H. Vitamin A and embryonic development: An Overview. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 128, n. 2, p. 455S-458S, Feb. 1998.