

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

USO DE HOMEOPATIA EM PROGRAMAS DE TRANSFERÊNCIA DE
EMBRIÕES BOVINOS

Luiz Carlos Cesar da Costa Filho

CAMPO GRANDE, MS

2013

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

USO DE HOMEOPATIA EM PROGRAMAS DE TRANSFERÊNCIA DE
EMBRIÕES BOVINOS

USE OF HOMEOPATHY IN PROGRAMS OF EMBRYO TRANSFER BOVINE

Luiz Carlos Cesar da Costa Filho

Orientadora: Profa. Dra. Eliane Vianna da Costa e Silva

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de concentração: Produção Animal

CAMPO GRANDE, MS

2013

AGRADECIMENTOS

À Deus...

Por ser minha fonte inesgotável de fé e sabedoria, por me dar força, coragem e tranquilidade para crescer como ser humano. Obrigado, pois mesmo com todas as minhas imperfeições acompanha meus passos com muito amor.

À minha família e amigos...

Aos meus pais, Luiz Carlos e Christiane, pelo apoio incondicional em cada momento de minha vida, me levantando e me cuidando sempre que necessário, pelo incentivo para que eu possa alçar meus vãos o mais longe que consiga chegar. Amo vocês.

À minha irmã e cunhado, Tatiana e Rodrigo, aos meus sobrinhos e afilhado, Felipe e Thiago, pela amizade, companheirismo e apoio incondicional. Amo vocês.

Aos meus grandes amigos, por sempre estarem ao meu lado me apoiando e incentivando.

A meus amigos...

À minha orientadora Professora Lili, pelo apoio, amizade, incentivo, puxadas de orelha, compromisso e aprendizado. Aprender a trabalhar em grupo, paixão pela pesquisa e saber o verdadeiro valor ético da nossa profissão são aprendizados que irei levar para a vida toda.

À Professora Inês, por todos os ensinamentos, amizade e pelo auxílio nas análises hormonais. A todos os professores do curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal.

Às minhas duas grandes amigas, Lorena e Vanessa, que me aguentaram, ajudaram e sempre me apoiaram em todos os meus passos no mestrado.

Aos grandes amigos que fiz no mestrado: Cynthia, Gabizinha e Vitor. A execução do trabalho só foi possível com a ajuda de vocês.

A todos os colegas de mestrado.

Aos técnicos de laboratório, Luiz e Ludomir, pela ajuda e ensinamentos.

Ao Edgar, pelo auxílio e disposição em ajudar sempre.

À Sigo Homeopatia, em especial a Médica Veterinária Homeopata Mônica, pelo apoio, aprendizado e pelo fornecimento de toda homeopatia para execução dos trabalhos.

À equipe da Embriza Biotecnologia LTDA.

E a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho!

LUIZ CARLOS CESAR DA COSTA FILHO

"HOMEOPATIA E EFICIÊNCIA DE PROGRAMAS DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO"

"USE OF HOMEOPATHY IN PROGRAMS OF EMBRYO TRANSFER BOVINE"

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal para obtenção do título de Mestre.

APROVADO: 19/02/2013

Área concentração: Produção Animal



Dra. Eliane Vianna da Costa e Silva
Orientadora



Dra. Alessandra Corallo Nicaccio



Dr. Erikliis Nogueira

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS

Tabela 1.	Produção brasileira de embriões bovinos e sua participação mundial, durante o período de 2000 a 2009.....	10
Tabela 2.	Resultados médios consolidados de quatro empresas brasileiras produtoras de embriões <i>in vitro</i> , no período de um ano.....	10
Tabela 3.	Concentração de progesterona, taxa de prenhez de acordo com a área do corpo lúteo no dia 6 do ciclo estral de receptoras de embrião bovino (<i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i>).....	13
Tabela 4.	Influência da dose de gonadadotrofina coriônica equina no tratamento de receptoras bovinas, entre os dias 7 e 12 do ciclo estral, sobre a taxa de prenhez, número de corpos lúteos e concentração plasmática de progesterona.....	13
Tabela 5.	Taxa de prenhez em relação à concentração plasmática de progesterona no dia da inovulação de receptoras de embrião.....	14
Tabela 6.	Taxa de prenhez em relação a qualidade dos embriões transferidos à fresco, oriundos das técnicas de produção <i>in vitro</i> de embriões e superovulação da raça Holandesa.....	15
Tabela 7.	Influência da qualidade do embrião, à fresco ou congelado, no momento da inovulação na taxa de prenhez de receptoras.....	16
Tabela 8.	Concentração plasmática de progesterona (ng/dL), diâmetro do corpo lúteo (cm) e taxa de prenhez (%) de receptoras de embrião bovino de diferentes raças.....	19
Tabela 9.	Resultados individuais e médios de doadoras bovinas de ovócitos, obtidos por aspiração folicular transvaginal guiada por ultrassom.....	23
Tabela 10.	Taxa de blastocisto e prenhez de acordo com o acasalamento utilizado na produção <i>in vitro</i> de embriões bovinos.....	24
Tabela 11.	Produção <i>in vitro</i> de embriões nas diferentes raças bovinas.....	24
Tabela 12.	Frequência observada do número de embriões viáveis por aspiração para a raça Nelore.....	25

CAPÍTULO II – AVALIAÇÃO DE UM COMPLEXO HOMEOPÁTICO NA EFICIÊNCIA REPRODUTIVA DE RECEPTORAS DE EMBRIÃO BOVINO

Tabela 1.	Comparação do diâmetro do ovário direito (OvD), em mm, no dia 15 de coleta (D15) de receptoras de embrião bovinas, tratadas ou não com homeopatia durante os períodos chuvoso e seco.....	46
Tabela 2.	Morfometria genital, no dia 30 de coleta (D30) de receptoras de embrião bovinas, tratadas ou não com homeopatia.....	46

CAPÍTULO III – PRODUÇÃO OVOCITÁRIA E EMBRIONÁRIA DE DOADORAS DA RAÇA NELORE TRATADAS COM UM COMPLEXO HOMEOPÁTICO

Tabela 1.	Resultados das aspirações foliculares e classificação dos ovócitos, por tratamento de sete doadoras bovinas da raça Nelore (média $\pm$ erro padrão, n).....	58
Tabela 2.	Produção de embriões e taxa de prenhez, por tratamento e resultados médios de sete doadoras bovinas da raça Nelore (média $\pm$ erro padrão, n).....	59

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS

- Figura 1. Influência da subnutrição sobre a atividade ovariana..... 21
Figura 2. Alguns efeitos da carência alimentar na reprodução..... 21

CAPÍTULO III – PRODUÇÃO OVOCITÁRIA E EMBRIONÁRIA DE DOADORAS DA RAÇA NELORE TRATADAS COM UM COMPLEXO HOMEOPÁTICO

- Figura 1. Desenho experimental adotado em doadoras Nelore de ovócitos submetidas a tratamento homeopático..... 57

SUMÁRIO

	“Páginas”
CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS	
1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1 Fatores que interferem na eficiência reprodutiva de receptoras de embrião bovino.....	11
2.1.1 Fatores intrínsecos.....	12
2.1.1.1 Corpo lúteo.....	12
2.1.1.2 Progesterona.....	14
2.1.1.3 Embrião.....	15
2.1.1.4 Sincronia doadora x receptora.....	16
2.1.1.5 Protocolos de sincronização de estro.....	16
2.1.1.6 Dificuldades na inovulação.....	17
2.1.1.7 Ordem na inovulação.....	18
2.1.2 Fatores extrínsecos.....	18
2.1.2.1 Manejo e ambiente.....	18
2.1.2.2 Raça e categoria animal.....	19
2.1.2.3 Nutricionais.....	19
2.2 Fatores que influenciam na produção <i>in vitro</i> de embriões em bovinos.....	21
2.2.1 Influência do folículo dominante na competência ovocitária.....	22
2.2.2 Efeito do corpo lúteo na qualidade ovocitária.....	22
2.2.3 Efeito animal.....	23
2.2.4 Alternativas para melhorar a produção <i>in vitro</i> de embriões.....	25
2.3 Homeopatia.....	26
2.3.1 Homeopatia na produção animal.....	26
REFERÊNCIAS.....	31
 CAPÍTULO II–AVALIAÇÃO DE UM COMPLEXO HOMEOPÁTICO NA EFICIÊNCIA REPRODUTIVA DE RECEPTORAS DE EMBRIÃO BOVINO	
Resumo.....	39
Abstract.....	40
Introdução.....	41
Materiais e Métodos.....	42
Resultados.....	45
Discussão.....	46
Conclusões.....	50
Referências.....	51
 CAPÍTULO II– PRODUÇÃO OVOCITÁRIA E EMBRIONÁRIA DE DOADORAS DA RAÇA NELORE TRATADAS COM UM COMPLEXO HOMEOPÁTICO	
Resumo.....	54
Abstract.....	54
Introdução.....	55
Materiais e Métodos.....	56

Resultados.....	58
Discussão.....	59
Conclusões.....	61
Referências.....	61

1. INTRODUÇÃO

A partir da década de 80 a multiplicação genética populacional dos bovinos, pelo uso de biotecnologias da reprodução, deixou de ser exclusividade dos machos, pela inseminação artificial (IA). A genética das matrizes passou a ser amplamente multiplicada com a produção de embriões, primeiramente *in vivo* (TE - transferência de embriões) e mais recentemente e em maior escala embriões produzidos *in vitro* (PIV - produção *in vitro* de embriões), possibilitando melhorias na eficiência reprodutiva das fêmeas bovinas (Oyueda & Jimenez, 2010).

A produção nacional e mundial de embriões bovinos vem crescendo ano após ano (Tabela 1). O Brasil se destaca por sua produção de embriões, principalmente quando considera-se os produzidos pela técnica de PIV. A produção nacional em 2009 aproximou-se de 300 mil embriões bovinos (Viana et al., 2010). No entanto, apenas os valores brutos não revelam a eficiência da técnica, pois é necessário analisar as taxas de recuperação de ovócitos na PIV, a produção de embriões e a taxa de prenhez (Tabela 2).

Os custos de produção com a PIV ainda são elevados e um dos motivos para que isso aconteça é a grande variação nos resultados. O valor médio cobrado por prenhez é de R\$ 1.200,00, quando a receptora já se encontra na propriedade, chegando a R\$ 2.500,00 para receptoras adquiridas de centrais, valores referentes ao Estado de Mato Grosso do Sul, no primeiro semestre de 2013.

Tabela 1. Produção brasileira de embriões bovinos e sua participação mundial, durante o período de 2000 a 2009

Ano	<i>In vivo</i>			<i>In vitro</i>			Total		
	Mundo	Brasil	%	Mundo	Brasil	%	Mundo	Brasil	%
2009		42.397			255.993			298.390	
2008	746.250	69.527	9,3	330.953	220.425	67	1.077.203	289.952	26,9
2005	789.972	122.210	15,5	330.647	137.042	41	1.120.619	259.252	23,1
2002	629.689	86.858	13,8	160.695	48.670	30	790.382	135.528	17,1
2000	664.320	59.453	8,9	139.372	12.527	9	803.692	71.980	9

Adaptado de Viana et al. (2010)

Tabela 2. Resultados médios consolidados de quatro empresas brasileiras produtoras de embriões *in vitro*, no período de um ano

Variáveis	Média	Mínimo - máximo
Ovócitos recuperados por aspiração (n)	19,9	15,2 - 24,4
Embriões produzidos (%)	35,4	32,9 - 41,2
Taxa de prenhez (%)	38,5	36 - 41

Adaptado de Viana et al. (2010)

Apesar das pesquisas já desenvolvidas e o progresso conseguido com a PIV, os resultados médios de produção de embriões transferíveis ainda são baixos (Pivato et al., 2000).

Para que o sucesso da produção de embriões seja completo é necessário a utilização de fêmeas receptoras, as quais irão gestar o bezerro e criá-lo até o seu desmame. Os cuidados com essas receptoras devem ser iniciados bem antes da TE propriamente dita. O manejo das doadoras e receptoras, bem como sua saúde reprodutiva são pontos importantes para os resultados finais. Entretanto, nos programas de TE, a atenção despendida é especialmente voltada para a doadora, deixando as receptoras em segundo plano de manejo, o que se reflete em baixas taxas de gestação e alta taxa de mortalidade embrionária (Fernandes, 1999).

Uma das possibilidades para melhorar os índices das biotecnologias da reprodução em bovinos é o uso de terapias alternativas, como a homeopatia. Poucos são os resultados encontrados na literatura, abrindo um grande horizonte para pesquisas na área.

Sob essa perspectiva, o objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos do uso de compostos homeopáticos sobre a eficiência reprodutiva de doadoras de ovócitos e receptoras de embrião bovino.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Fatores que interferem na eficiência reprodutiva de receptoras de embrião bovino

Vários aspectos interferem na taxa de prenhez das receptoras. Os fatores extrínsecos podem ser basicamente nutricionais, manejo, ambiente e suas interações. Já os intrínsecos são mais complexos e envolvem hormônios, morfologia e qualidade de corpo lúteo (CL), produção de progesterona (P_4), contratilidade uterina, embrião, estágio de desenvolvimento embrionário, sincronia entre doadora e receptora além das possíveis interações entre os fatores (Oyueda & Jimenez, 2010).

As receptoras de embriões utilizadas no Brasil, normalmente, são animais obtidos de cruzamento (*Bos taurus* x *Bos indicus*), o que as torna um pouco mais susceptíveis as variações climáticas (Peixoto et al., 2004).

A manutenção da gestação em bovinos é um processo bastante complexo envolvendo muitas interações, e a principal delas é estabelecida entre o embrião, o ambiente uterino e o CL (Mann et al., 1995). Por isso, as receptoras precisam estar prontas e aptas a receberem o embrião no dia da inovulação, para conseguir levar a gestação a termo.

Um ponto de estrangulamento para a eficiência de um programa de TE é o custo fixo de manutenção de um grande número de receptoras por doadora. É necessário entender os problemas que acontecem com as variações nos programas de TE para, então, aumentar a taxa de aproveitamento e prenhez, diminuindo perdas com protocolos e, assim, reduzir custos de produção (Fuck et al., 2002).

2.1.1 Fatores Intrínsecos

2.1.1.1 Corpo Lúteo

A formação do CL ocorre a partir de alterações morfológicas e bioquímicas nas células da teca e da granulosa do folículo pré-ovulatório, fenômeno resultante da elevação (pico) nos níveis do hormônio luteinizante (LH). A principal função do CL é a produção de P_4 , a qual exerce vários efeitos biológicos nos tecidos alvo do organismo (Vieira et al., 2002).

O trabalho de Viana (1996) demonstrou que a escolha de receptoras de embrião pela projeção do CL na superfície ovariana não é adequada, pois grande parte desta estrutura poderá estar localizada internamente. Assim nem sempre a projeção está relacionada com o tamanho luteal (Fernandes & Barros, 1996).

Trabalhando com palpação transretal no dia da inovulação, Vieira et al. (2002) não encontraram diferenças na taxa de prenhez quando compararam CLs, classificados como pequeno, médio e grande. A alternativa para minimizar esse descarte das receptoras é a ultrassonografia, por permitir uma completa visualização da estrutura luteal e mensuração objetiva das dimensões do CL. O tamanho do CL está relacionado com a produção de P_4 , mas esse incremento pode apresentar resultados distintos quanto à taxa de gestação.

Utilizando o protocolo “Ovulation Synchronization” (Ovsynch) para receptoras, Baruselli et al. (2000a) encontraram maior taxa de prenhez para fêmeas que apresentaram CL com maiores áreas e concentração de P_4 circulante no dia 6 do ciclo estral (Tabela 3). Da mesma forma, Binelli et al. (2001) observaram que a presença de CL maiores em receptoras de embrião obteve um maior número de animais prenhes nos programas de TE.

O tamanho do CL não interferiu significativamente na taxa de prenhez de receptoras de embrião, pois CLs classificados por Leal et al. (2009) como pequenos (<15 mm), médios (≥ 15 a < 25 mm) e grandes (≥ 25 mm), resultaram em 60%, 38,9%, 70% de prenhez, respectivamente. Por outro lado, Nogueira et al. (2012) encontraram diferença significativa na taxa de prenhez de receptoras que apresentaram maior diâmetro de CL ($2,03 \pm 0,41$ cm) no

momento da ovulação, quando comparadas àquelas não gestantes ($1,86 \pm 0,34$ cm), ao diagnóstico de gestação.

Tabela 3. Concentração de progesterona, taxa de prenhez de acordo com a área do corpo lúteo no dia 6 do ciclo estral de receptoras de embrião bovino (*Bos taurus* x *Bos indicus*)

Área do Corpo Lúteo (cm ²)	n	Concentração de P ₄ (ng/mL)	Área média do CL (cm ²)	Taxa de prenhez (%)
CL1 (>2,0)	77	$2,44 \pm 0,86^a$	$2,66 \pm 0,51$	$58,4^d$
CL2 (1,5 a 2,0)	41	$1,75 \pm 0,69^b$	$1,74 \pm 0,10$	$41,5^e$
CL3 (< 1,5)	22	$0,96 \pm 0,56^c$	$1,19 \pm 0,20$	$31,8^f$

Adaptado de Baruselli et al. (2000a). a, b, c (P<0,01); d, e, f (P<0,05)

Outro ponto de questionamento é o efeito da estrutura macroscópica dos CLs, cavitários ou compactos, sobre a taxa de prenhez de receptoras de embrião. Trabalhos mostram não haver diferença na taxa de gestação das fêmeas com CLs de distintas morfologias (Marques et al., 2002; Barreiros et al., 2006; Nogueira et al., 2012). Nesse sentido, fêmeas que apresentaram CL compacto (120) e CL cavitário (34) não observaram taxa de prenhez estatisticamente diferentes, 38,3 vs 41,1%, respectivamente (Barreiros et al., 2006).

Utilizando 77 novilhas (64 inovuladas) de 18 a 30 meses, mestiças Simental, com peso médio de 400 kg, Fuck et al. (2002) administraram diferentes doses de eCG, entre os dias 7 a 12 do ciclo estral e encontraram número crescente de CL, quando aplicaram até 400 UI). O nível plasmático de P₄ aumentou significativamente em função do número de CL, porém não se observou relação entre a concentração de P₄ e prenhez (Tabela 4). A dose de 200 UI de eCG mostrou-se suficiente para sincronizar as fêmeas e resultar em prenhez.

Estratégias para aumentar a taxa de prenhez de receptoras foram testadas por Nasser et. al. (2004) por meio da formação de CL acessórios ou CLs de maior tamanho, utilizando 400 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG) nos dias 5 ou 8 do protocolo de sincronização das receptoras. A taxa de prenhez não aumentou significativamente com essa técnica 47 vs 40,7%, respectivamente.

Tabela 4. Influência da dose de gonadotrofina coriônica equina no tratamento de receptoras bovinas, entre os dias 7 e 12 do ciclo estral, sobre a taxa de prenhez, número de corpos lúteos e concentração plasmática de progesterona

Parâmetros	Tratamentos			
	Controle	200 UI	400 UI	600 UI
n	25	17	19	16
Receptoras inovuladas	21 (84%)	14 (82,3%)	16 (84,2%)	13 (81,2%)
Taxa de prenhez (%)	$52,4 \pm 0,51$	$71,4 \pm 0,47$	$56,2 \pm 0,51$	$53,8 \pm 0,52$
CL (n)	$1,05 \pm 0,22^a$	$1,28 \pm 1,07^a$	$2,20 \pm 2,34^b$	$1,00 \pm 0,00^a$
Progesterona (ng/ml)	$2,80 \pm 1,88$	$3,70 \pm 1,95$	$5,80 \pm 5,76$	$3,11 \pm 2,90$

Adaptado de Fuck et al. (2002). Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (P<0,05) pelo teste F.

2.1.1.2 Progesterona

Apesar do conhecimento de que a P_4 é fundamental para manutenção da gestação, os resultados quanto à relação entre sua concentração plasmática e a prenhez de bovinos ainda são muito controversos (Reis et al., 2004).

Caldas et al. (1996) dosaram a concentração plasmática de P_4 em receptoras bovinas, no dia da inovulação, e encontraram 100% de prenhez para fêmeas que apresentaram 4 ng/mL. Dividindo grupos de vacas de acordo com a concentração de P_4 no momento da inovulação Reis et al. (2004) verificaram taxa de prenhez superior em receptoras à medida que a concentração de P_4 circulante foi aumentada (Tabela 5), em 542 transferências, realizadas em três propriedades diferentes.

Os níveis plasmáticos de P_4 , no momento da inovulação influenciaram significativamente a prenhez de receptoras no experimento de Costa e Silva et al. (2010), os valores encontrados para fêmeas gestantes e não gestantes foram de $35,78 \pm 19,07$ e $28,59 \pm 17,55$ ng/mL respectivamente, trabalhando com novilhas mestiças.

Leal et al. (2009), Costa et al. (2011) e Nogueira et al. (2012) não encontraram valores significativos na concentração plasmática de P_4 no momento da inovulação de receptoras gestantes comparadas com as não gestantes.

Tabela 5. Taxa de prenhez em relação à concentração plasmática de progesterona no dia da inovulação de receptoras de embrião

P_4 (ng/mL)	Prenhez (%)
0 a 0,99	39,2 ^a
1,00 a 1,99	44,6 ^{ab}
2,00 a 2,99	46,0 ^{ab}
3,00 a 3,99	55,7 ^b
$\geq 4,00$	52,3 ^b

Adaptado de Reis et al. (2004). Letras diferentes na coluna indicam diferenças significativas em nível de ($P < 0,05$) pelo teste de Qui-quadrado.

Taxa de prenhez significativamente maior foi encontrada em receptoras de embrião por Baruselli et al. (2000b), trabalhando com sincronização de estro utilizando protocolo com eCG no D5. As fêmeas tratadas apresentaram $4,2 \pm 3,7$ ng/mL de P_4 e taxa de prenhez de 42%, e o grupo controle 1,3 ng/mL e 10%, respectivamente.

No intuito de aumentar o tamanho do CL e, conseqüentemente os níveis circulantes de P_4 , Nogueira et al. (2004) trataram receptoras, submetidas a TE em tempo fixo (TETF), com

diferentes doses (200, 400 e 600 UI) de eCG, a taxa de prenhez não foi influenciada pelo aumento do nível de P₄.

Uma alternativa é suplementar as receptoras com ácidos graxos poli-insaturados (AGPs), na tentativa de aumentar o tamanho do CL e a concentração de P₄. O uso de AGPs (ácido linoleico n-6 e ácido linolênico n-3) na suplementação de receptoras de embrião aumentou o tamanho e o volume do CL (Jones & Lamb, 2008). Lopes et al. (2009b) encontraram acréscimo de prenhez de 11,9% para fêmeas tratadas com AGPs pós protocolo de sincronização até 21 dias da inovulação, evidenciando a necessidade, apenas nesse período, do fornecimento de AGPs para as novilhas.

Em experimento utilizando o acetato de buserelina, um agonista de GnRH, com aproximadamente 40 vezes a potência do GnRH endógeno, não houve diferença significativa na taxa de gestação das receptoras, ainda que o nível de P₄ nas novilhas tratadas tenha sido maior (Galimberti et al., 2001).

2.1.1.3 Embrião

A TE a fresco ou congelado, o estágio de desenvolvimento, a qualidade e a origem do embrião são fatores que podem interferir nos índices reprodutivos de receptoras dos programas (Jones & Lamb, 2008).

Dados de 4.296 TEs mostram que receptoras inovuladas com embriões de qualidade excelente (classe excelente, bom e regular) apresentaram aumento na taxa de prenhez da ordem de 33,26% (Peixoto et al., 2004). Chabel et al. (2008) utilizaram vacas Holandesas e encontraram resultados similares, Tabela 6.

Tabela 6. Taxa de prenhez em relação a qualidade dos embriões transferidos à fresco, oriundos das técnicas de produção *in vitro* de embriões e superovulação da raça Holandesa

Embriões	Inovulações	Prenhez	
		N	%
Grau I	746	443	59,4 ^a
Grau II	292	157	53,8 ^b
Grau III	145	51	35,2 ^c

Adaptado de Chebel et al. (2008). a, b, c (P<0,01)

Na mesma linha de pesquisa Hasler (2001) observou variação na taxa de prenhez de novilhas da raça Holandesa, usadas como receptoras, de acordo com a qualidade dos embriões, congelados e a fresco (Tabela 7).

Tabela 7. Influência da qualidade do embrião, à fresco ou congelado, no momento da inovulação na taxa de prenhez de receptoras

Embriões Qualidade	Fresco		Congelados	
	Inovulações	%	Inovulações	%
Grau I	4163	73,2 ^a	2482	62,8 ^a
Grau II	3156	68,3 ^b	2329	56,8 ^b
Grau III	1641	56,3 ^c	454	43,6 ^c
Grau IV	61	47,5 ^c	22	36,4 ^c

Adaptado de Hasler (2001). a, b, c na mesma coluna ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey

2.1.1.4 Sincronia doadora x receptora

A manipulação do ciclo estral das receptoras permite melhorar os resultados da TE, pois é possível ter um CL funcional no momento da inovulação, aumentando a concentração plasmática de P_4 e conseguindo um ambiente mais propício para manter a gestação (Jones & Lamb, 2008).

É essencial a sincronia do ciclo estral de doadoras e receptoras para que o embrião da doadora e o útero da receptora a ser inovulada estejam no mesmo estágio fisiológico de desenvolvimento. Essa sincronia garante bons resultados de prenhez. Quando o estro das receptoras e doadoras e/ou aspiração das doadoras coincidem é esperada maior taxa de gestação. As taxas começam a cair quando a assincronia do estro entre doadoras e receptoras é maior que 24 horas (Spell et al., 2001).

Em um trabalho feito com 4.296 inovulações de embriões produzidos *in vivo*, Peixoto et al. (2004) encontraram prenhez significativamente maior para receptoras que apresentaram estro um dia antes ou depois das doadoras (incremento de 46,62%).

2.1.1.5 Protocolos de sincronização do estro

Um dos maiores custos das biotécnicas da reprodução como a TE e PIV é a manutenção de um grande número de receptoras por doadora, e muitas vezes as mesmas não são utilizadas. No entanto, o uso de protocolos de sincronização pode possibilitar um maior aproveitamento das receptoras, diminuindo o custo fixo (Fuck et al., 2002).

O custo-benefício de um protocolo pode ser considerado satisfatório, quando resulta em taxa de prenhez entre 45 a 50%, principalmente pelo fato de que este tratamento elimina a necessidade de identificação de estro (Bó et al., 2004).

Protocolos que utilizam benzoato de estradiol (BE), prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), implantes intravaginais de P_4 e eCG têm apresentado bons resultados na taxa de prenhez de receptoras de embrião (Baruselli et al., 2000b).

O uso de eCG em protocolos de sincronização de receptoras é amplamente difundido, e possui resultados consolidados. Rigolon et al. (1999) compararam as receptoras tratadas com 330 UI de eCG com o grupo controle e observaram um aumento de 12,8% na taxa de prenhez das fêmeas tratadas (68,9%; n=30) em relação ao controle, que apresentaram 56%. O número de CLs também foi afetado pelo tratamento (2,1 vs 1 CL para tratadas e controle, respectivamente).

Nasser et al. (2004) obtiveram melhores resultados de prenhez e aproveitamento de receptoras ao utilizarem TETF, adotando protocolo com BE, dispositivo de liberação de P₄ no D0 e eCG no D5.

Bó et al. (2002) avaliaram um protocolo com 400 UI de eCG, e verificaram que apenas 2% das ovulações foram duplas em receptoras cruzadas. No entanto, esse tratamento formou CL únicos maiores, com 57,6% das receptoras prenhes e 41,7% não gestantes. O uso de eCG no momento esperado da emergência de uma nova onda folicular é eficaz para superestimular o crescimento folicular e o desenvolvimento de um ou mais folículos dominantes de maior diâmetro e determinar, além de maior número de CL (ou CL único maior), maior concentração plasmática de P₄ e maior taxa de prenhez (Baruselli et al., 2000b, Baruselli et al., 2008). Taxa de gestação significativamente maior foi encontrada por Baruselli et al., (2000b) para fêmeas tratadas com 800 UI de eCG quando comparadas com o grupo controle (42 vs 10%) respectivamente.

Trabalhando com 154 receptoras, Bó et al. (2004) observaram maior número de CL ($1,4 \pm 0,1$) e maior concentração plasmática de P₄ ($2,4 \pm 0,3$ ng/mL) no dia 17 (dia da inovulação) em novilhas tratadas com eCG no D5 do protocolo, comparadas às novilhas que receberam eCG no D8 ($1,1 \pm 0,1$ CL e $1,7 \pm 0,2$ ng/mL de P₄), evidenciando que o momento da aplicação do eCG tem efeito nos resultados do protocolo, sugerindo que a utilização de eCG no D5 tende a aumentar a prenhez. A variação nos níveis de P₄, em função do número de CL, foi linear, com incremento de 2,15 ng/mL para cada CL adicional, promovido pelo eCG.

2.1.1.6 Dificuldades na inovulação

Resultados significativamente maiores na taxa de prenhez foram verificados nos animais que não tiveram efeito da dificuldade no momento da inovulação de embriões de PIV (Barcélo-Fimbre et al., 2009). O grupo (n=40) que não teve problemas na inovulação atingiu 53% de prenhez, enquanto as que apresentaram dificuldade (n=33) tiveram 21%.

Em um trabalho com 337 animais Ribeiro Filho et al. (2011) observaram taxa de gestação significativamente maior para novilhas inovuladas sem dificuldade de transposição

cervical (54,36%) quando comparadas com as que apresentaram dificuldade (36,21%). Porém, quando as fêmeas com e sem dificuldade foram tratadas com inibidor da $\text{PGF}_2\alpha$ não houve diferença nas taxas de prenhez.

2.1.1.7 Ordem de inovulação

As receptoras de embrião são inovuladas, antes de serem descartadas, por até três vezes. Nasser et al. (2004) relatam que as novilhas transferidas por duas vezes não apresentam perdas significativas nas taxas de prenhez, porém na terceira inovulação observa-se uma queda de 20%. Looney et al. (2006) relataram que já na segunda inovulação existem perdas significativas de 12%.

2.1.2 Fatores Extrínsecos

2.1.2.1 Manejo e ambiente

O manejo das receptoras normalmente é mais complexo que o das doadoras, pois aquelas devem estabelecer uma gestação e parir um bezerro saudável (Jones & Lamb, 2008).

Uma das principais causas ambientais de variação nos resultados na TE é o estresse térmico (ET) sofrido pelas receptoras. Fatores como alta temperatura, umidade e radiação podem reduzir a eficiência do animal em perder calor, levando ao estresse por calor (ETC), comprometendo a reprodução (Silva et al., 2006). Novilhas que passam por ETC momentos antes e durante o processo de inovulação podem apresentar queda na taxa de prenhez (Costa e Silva et al., 2010).

Estudos feitos com embriões de PIV e de SOV, da raça Holandesa, encontraram diferença significativa na porcentagem de novilhas prenhes em relação a estação do ano. Durante a estação mais quente a taxa de prenhez foi menor (52%) quando comparada com a estação mais amena (55,8%). Já, em vacas, esta diferença não foi observada, mostrando uma variação na adaptabilidade dos animais mais jovens e ainda em crescimento, os quais sofrem mais com o ETC (Chebel et al., 2008).

Receptoras que não gestaram apresentaram a temperatura de pele mais alta ($37,78 \pm 1,05^\circ\text{C}$) no momento da inovulação, quando comparadas com as prenhes ($37,31 \pm 0,63^\circ\text{C}$) (Costa e Silva et al., 2010), mostrando que o ETC afeta significativamente a taxa de prenhez. Os resultados de gestação de Katayama et al. (2004) verificaram variação significativamente menor para receptoras que esperaram, sem sombra e sem água sob condições tropicais, por mais tempo no curral, para serem inovuladas (3h e 28 min. vs 2h e 50 min, não gestantes vs

gestantes, respectivamente). Esse mesmo efeito não foi relatado por Costa e Silva et al. (2010), pois as receptoras aguardaram em piquetes para serem inovuladas, diminuindo os efeitos provocados pelo ETC, e aumentando a probabilidade de prenhez. As fêmeas que foram inovuladas mais tarde não tiveram influência do ETC, pois os horários coincidiram com as temperaturas mais amenas.

2.1.2.2 Raça e categoria animal

Looney et al. (2006) destacam que para novilhas a raça da receptora parece não influenciar os resultados de prenhez. Porém, quando são utilizadas vacas pluríparas de origem leiteira os resultados são inferiores quando comparados com fêmeas de raças de corte.

Os melhores resultados são observados quando novilhas são utilizadas como receptoras de embrião em bovinos, porém a taxa de partos distócicos aumenta (Tribulo & Cutaia, 2008).

A raça da novilha utilizada como receptora influenciou a taxa de prenhez em experimento realizado por Nogueira et al. (2012) no pantanal sul matogrossense. A raça Angus apresentou os menores valores quando comparada com as demais raças, Tabela 8, para características de tamanho de CL e P₄ circulante, no momento da inovulação, não houve interferência da raça das receptoras.

Tabela 8. Concentração plasmática de progesterona (ng/dL), diâmetro do corpo lúteo (cm) e taxa de prenhez (%) de receptoras de embrião bovino de diferentes raças

Raça	N	P ₄ ¹	CL ¹	Taxa de Prenhez (%) ²
Marchigiana	22	1,58 ± 1,30 ^a	2,10 ± 0,29 ^a	59,2 ^a
Caracu	32	1,50 ± 1,11 ^a	1,88 ± 0,39 ^a	40,6 ^{ab}
Nelore	34	1,48 ± 1,05 ^a	1,92 ± 0,44 ^a	41,1 ^{ab}
Cruzadas	29	1,41 ± 0,89 ^a	2,10 ± 0,42 ^a	48,3 ^{ab}
Angus	30	1,07 ± 0,40 ^a	1,96 ± 0,33 ^a	33,3 ^b

Adaptado de Nogueira et al. (2012)

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (P>0,05) pelo teste de Tukey¹ e Qui-quadrado².

2.1.2.3 Nutricionais

A nutrição já é reconhecidamente um dos fatores que podem alterar a fisiologia reprodutiva de fêmeas bovinas. Deficiências vitamínicas e/ou minerais, efeitos deletérios de compostos nitrogenados e altos níveis energéticos, balanço energético negativo, queda de escore de condição corporal (ECC) são alguns dos aspectos negativos relacionados à reprodução de bovinos (Oyueda & Jimenez, 2010; Sartori & Guardieiro, 2010).

Fêmeas com ECC intermediários 2 e 3 (escala de 1 caquético a 5 obeso) apresentam melhores resultados de prenhez (Stroud & Hasler, 2006).

O alto consumo de energia para tentar suprir deficiências de manejo pode afetar negativamente a fertilidade de fêmeas bovinas. A alta ingestão de matéria seca (IMS)/energia pode alterar o metabolismo de hormônios esteróides, aumentando as concentrações plasmáticas de insulina e fator de crescimento semelhante a insulina (IGF-I), o que pode levar a um reflexo negativo nos resultados de gestação (Sartori & Guardieiro, 2010). O IGF-I é correlacionado com a nutrição e atua na reprodução aumentando a sensibilidade dos folículos ao FSH e LH, sendo também necessário à formação e funcionalidade do CL (Pires & Ribeiro, 2006), muito importante nas receptoras.

A proteína e os nitrogênios não proteicos, quando utilizados em alta concentração, podem levar a efeitos negativos sobre a eficiência reprodutiva, uma vez que elevam as concentrações plasmáticas de uréia e amônia, diminuindo o pH luminal uterino durante a fase lútea inicial, alterando também a secreção de glândulas endócrinas (Sartori & Guardieiro, 2010).

A suplementação com AGPs pode potencializar as funções reprodutivas das fêmeas, provavelmente por inibir as respostas luteolíticas e aumentar a concentração circulante de P_4 , o que contribui positivamente para a manutenção da gestação (Sartori & Guardieiro, 2010). Os AGPs podem elevar a fertilidade em bovinos, aumentando o número e tamanho foliculares e o tamanho do CL (Bilby et al., 2006).

Em experimento com receptoras mestiças Lopes et al. (2009b) adicionaram à dieta desde o pós-protocolo de sincronização até 21 dias da inovulação, Megalac-E[®] e encontraram acréscimo na taxa de prenhez de 11,9% (49,6% vs 37,7%) quando compararam ao grupo controle.

Quando a dieta apresenta uma baixa qualidade de nutrientes e as receptoras de embrião passam por um período de subnutrição, ocorrem problemas que podem ser severamente relacionados a baixa ou a variação da fertilidade observada em programas de TE (Figura 1). A produção hormonal fica comprometida, pois a subnutrição pode influenciar a atividade ovariana (Ferreira, 1993).

Pires & Ribeiro (2006) se reportam às publicações da década de 80, mostrando que fêmeas bovinas que passam por restrição alimentar durante o ciclo estral, apresentam problemas reprodutivos nos ciclos seguintes, diminuindo a concentração de P_4 circulante, produzida pelo CL. Os autores ainda explicam que as baixas concentrações de insulina e glicose no período de restrição afetam a função hipofisária e luteal.

Uma carência alimentar pode ocasionar diversos efeitos na taxa de concepção e na sua manutenção, Figura 2 (Ferreira, 1993).

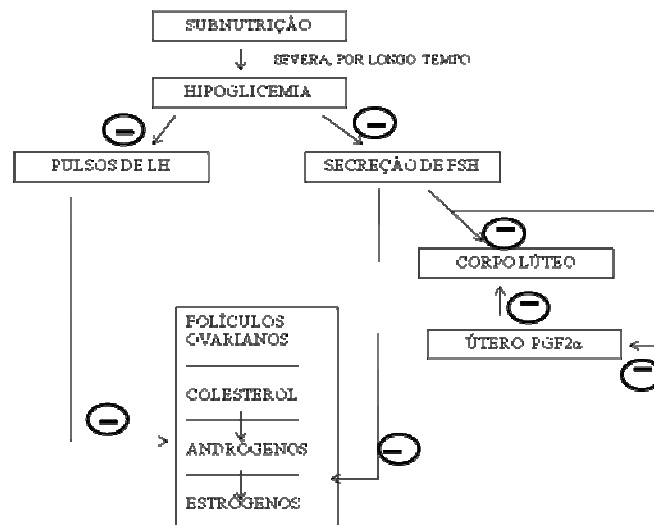


Figura 1. Influência da subnutrição sobre a atividade ovariana (- = inibe) (Adaptado de Ferreira, 1993).

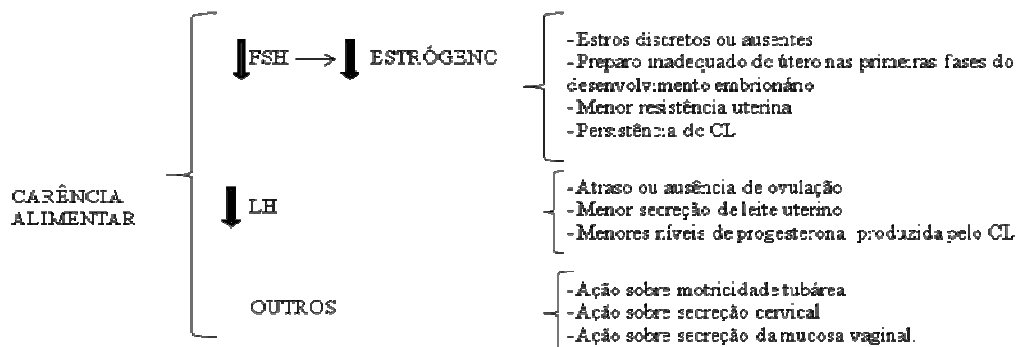


Figura 2. Alguns efeitos da carência alimentar na reprodução (Adaptado de Ferreira, 1993).

2.2 Fatores que influenciam na PIV em bovinos

Em 1982 nasceu o primeiro bezerro produzido por fecundação *in vitro* nos Estados Unidos (Brackett et al., 1982). Desde então a pesquisa vem buscando melhorar a eficiência da PIV pelo desenvolvimento de novos meios, utilização de hormônios e estudos nas diversas áreas da fisiologia e biotecnologia, para entender a função, metabolismo e desenvolvimento dos gametas e embriões. Com o maior aperfeiçoamento da técnica, hoje é possível produzir embriões bovinos sem levar em consideração o estágio do ciclo estral das doadoras, podendo-se repetir o procedimento sem alterar negativamente o número de ovócitos recuperados (Varago et al., 2008).

As aplicações da PIV incluem o melhoramento genético animal, maior produção de embriões para uso comercial, principalmente com vacas de alto valor genético, porém com algum distúrbio reprodutivo que as impossibilitem de manter a gestação, podendo a técnica servir ainda, para produção de animais transgênicos (Brackett & Zuelke, 1993).

Na literatura é possível encontrar trabalhos que sugerem tratamentos hormonais para doadoras de ovócitos, sincronizando a emergência da onda folicular, tendo uma maior recuperação ovocitária, além da tentativa de melhorar a qualidade dos ovócitos (Looney et al., 1994, Greve et al., 1995)

Os procedimentos para PIV já estão bem definidos existindo apenas algumas variações entre laboratórios. Entretanto, as taxas de recuperação de ovócitos e produção de embriões, a qualidade e a capacidade de produzir uma gestação apresentam uma variação individual de equipe até dentro do mesmo laboratório, havendo diferenças sensíveis de cada indivíduo (Varago et al., 2008).

2.2.1 Influência do folículo dominante na competência ovocitária

O desenvolvimento e competência ovocitária são influenciados por alguns fatores durante seu crescimento no interior do folículo. Esses fatores incluem diâmetro folicular, dia do ciclo estral, níveis de atresia e influência do folículo dominante (FD). Um maior número de blastocistos é observado quando os ovócitos são aspirados durante a fase de crescimento folicular comparado com os aspirados durante a fase de dominância (Hagemann, 1999). O FD tem efeito inibitório no desenvolvimento dos folículos subordinados, principalmente através da inibina e 17β estradiol (Wolfsdorf et al., 1997).

A taxa de desenvolvimento e a competência *in vitro* de ovócitos aspirados durante a fase de crescimento de folículos de 3 a 5, 6 a 8, 9 a 12 e 13 mm foram de 44, 47, 55 e 70% respectivamente, sendo essas taxas mais elevadas quando os folículos aspirados, nas mesmas medidas, encontravam-se na fase de dominância: 31, 27, 30 e 44% de acordo com cada intervalo de tamanho (Hagemann et al., 1999).

2.2.2 Efeito do corpo lúteo na qualidade ovocitária

Alguns estudos mostram que a P_4 plasmática tem efeito sobre a qualidade ovocitária (Hagemann et al., 1999; Pfeifer et al., 2009), pois ovócitos aspirados na fase tardia do diestro são mais competentes que ovócitos coletados no início do diestro ou na fase folicular do ciclo estral, quando a concentração de P_4 é baixa (Machatkova et al., 2004).

Doadoras anteriormente superovuladas, apresentam melhor qualidade dos ovócitos aspirados quando comparadas com vacas não protocoladas hormonalmente, o que pode ser devido à presença de maior número de CLs formados quando as fêmeas passam por protocolos de SOV. Pfeifer et al. (2011) aspiraram dois grupos de vacas, um lote submetido a SOV e outro de fêmeas cíclicas não protocoladas, as doadoras estimuladas apresentaram melhor qualidade ovocitária com 28,6% de ovócitos Grau I e II e o grupo controle apresentou 6,4% de Grau I e II.

2.2.3 Efeito animal

Diversos fatores que influenciam os resultados da PIV como o efeitos da doadora, do touro e a interação entre ambos podendo causar grande variação no resultado final (Watanabe et al., 2008), desde o número de folículos aspirados e ovócitos recuperados, taxa de clivagem e produção de blastocistos, até a taxa de prenhez (Watanabe et al., 2001).

Segundo Watanabe et al. (2008), em estudo com 23 doadoras, as médias encontradas foram 24 ovócitos por aspiração (6 a 50), 41% de blastocistos (21 a 73%) e 35% de prenhez (20 a 46%), porém os resultados individuais apresentam variações expressivas (Tabela 9).

Tabela 9. Resultados individuais e médios de doadoras bovinas de ovócitos, obtidos por aspiração folicular transvaginal guiada por ultrassom

Doadoras	Média/OPU ¹				
	Ovócitos (n)	Blastocistos (n)	% Blastocisto	Prenhes (n)	% Prenhez
1	9	6	67	1	17
2	44	32	73	10	31
3	17	9	53	1	11
4	19	10	53	3	30
5	33	16	48	5	31
6	17	8	47	2	25
7	35	16	46	6	38
8	58	25	43	8	32
9	15	6	40	1	17
10	46	20	43	8	40
Média	29,3	14,8	51,3	4,5	27,2

Adaptado de Watanabe et al. (2008).1 - OPU- *ovum pick up* (aspiração folicular)

O touro escolhido para realizar a PIV é um fator potencial, no qual, demonstra variação nos resultados finais. Watanabe et al. (2008) demonstraram, em uma compilação de dados de 20 animais que existe diferenças individuais na taxa de formação de blastocisto e prenhez, sendo a formação média de blastocisto de 36% (22 a 44%), já a taxa de prenhez foi de 34% (18 a 42%).

A interação entre doadoras e touros também ocorre no processo de PIV, em que uma mesma doadora apresenta resultado diferente quando acasalada com distintos touros na produção de embriões e prenhez. Em projeto com a raça Senepol, 54 doadoras foram utilizadas para multiplicação rápida do material genético, sendo acasaladas com vários touros, Watanabe et al. (2008) registraram uma expressiva variação entre touros nos resultados desde a taxa de blastocistos até a prenhez, Tabela 10.

Tabela 10. Taxa de blastocisto e prenhez de acordo com o acasalamento utilizado na produção *in vitro* de embrião bovino

Doadora	Touro	Ovócitos (n)	% Blastocistos	% Prenhez
1	2	67	34	33
1	3	116	48	14
2	1	75	53	53
2	3	253	34	32
3	6	113	44	42
3	7	181	35	24
4	1	41	17	75
4	5	30	17	0

Adaptado de Watanabe et al. (2008)

Desigualdades nos resultados de acordo com a raça da doadora de ovócito foram observados numa empresa brasileira, verificando-se a variação na formação de blastocistos (Watanabe et al., 2008; Tabela 11).

Tabela 11. Produção *in vitro* de embriões nas diferentes raças bovinas

Raça	Ovócitos	% Blastocistos
Angus	2.149	24
Brangus	963	22
Gir	28.619	33
Nelore	568.896	31
Senepol	28.706	28

Adaptado de Watanabe et al. (2008)

Dentro da mesma raça a variação individual também pode ser notada. A produção média de embriões em Nelore foi demonstrada por Beltrame et al. (2010) a partir de 71.602 resultados de OPU (Tabela 12).

Tabela 12. Frequência observada do número de embriões viáveis por aspiração folicular para a raça Nelore

Embriões viáveis	Frequência %
0	0,6
1 a 3	35,62
4 a 10	41,42
11 a 15	11,71
16 a 20	5,72
mais de 20	4,93

Adaptado de Beltrame et al. (2010)

2.2.4 Alternativas para melhorar a produção *in vitro* de embriões

Ward et al. (2000) identificaram que a pressão de vácuo à aspiração, utilizando a OPU guiada por ultrassom, para obter mais ovócitos e de melhor qualidade, deve ser mantida em até 50 mm Hg, pois pressão acima deste limite diminui a quantidade de ovócitos recuperados e de estruturas classificadas como Grau I, além de aumentar os ovócitos desnudos.

O tratamento com diferentes doses de FSH, antes da aspiração, pode aumentar o número de ovócitos recuperados e a produção de embriões, em comparação às doadoras não estimuladas (Walton et al., 1993; Stubbings & Walton, 1995; Guyarder et al., 1997).

Nonato Jr. et al. (2006) compararam quatro protocolos de OPU em vacas Nelore e encontraram variação na produção de embriões de $6,1 \pm 1,0$ a $12,0 \pm 2,6$, sendo este último resultado do protocolo com a utilização de P₄.

O intervalo entre as sessões de aspiração pode alterar a taxa de produção de embriões. A melhor taxa de recuperação de ovócitos ocorre quando o intervalo é de três a quatro dias, no entanto, a taxa de produção de embriões/ovócitos é diminuída, pela menor viabilidade ovocitária (Merton et al., 2003). A OPU realizada duas vezes por semana produz um número máximo de ovócitos recuperados com a qualidade adequada para a realização da PIV (Galli et al., 2001).

Segundo Stubbings & Walton (1995) o método de OPU contínua, duas vezes por semana, pode trazer prejuízos para a matriz, por modificar algumas funções endócrinas e mecanismos de crescimento folicular, levando a intervalos irregulares de estro, ou ausência do mesmo (Boni et al., 1997). As punções frequentes podem resultar na não formação e/ou disfunção do CL e produção inadequada de P₄ (Petyim et al., 2001).

Existem várias formas para tentar melhorar a eficiência e os resultados da PIV, porém ainda não foi possível estabelecer uma metodologia completa que seja compatível com a eficaz e constante PIV (Pfeifer et al., 2008).

2.3 Homeopatia

2.3.1 Homeopatia na produção animal

A Homeopatia é uma ciência da saúde que propõe abordagem clínica e terapêutica para o tratamento do indivíduo doente, desenvolvida por Christian Friedrich Samuel Hahnemann no final do século XVIII, quem primeiro a empregou em animais (Kent, 1993). Pode ser utilizada na terapêutica, assim como na prevenção de diversas afecções.

No Brasil, a homeopatia foi introduzida por Benoit Mure, em 1840, tornando-se uma nova opção de tratamento. Em 1979, fundou-se a Associação Médica Homeopática Brasileira (AMHB). Em 1980, a homeopatia tornou-se uma especialidade médica pelo Conselho Federal de Medicina (Costa et al., 2010). Na medicina veterinária a homeopatia passa a ser especialidade apenas em 1995, através da Resolução nº 625/95 do Conselho Federal de Medicina Veterinária e Zootecnia (Brasil, 1995).

Como princípio básico tem-se a utilização de medicamentos dinamizados, ou seja, preparados a partir de substâncias animais, vegetais, minerais ou tecidos doentes. A matéria oriunda destes elementos impregna as moléculas do álcool (ou açúcar) utilizado, determinando nesta suas impressões energéticas, sem alterar sua forma química (Arenales, 2002).

Existem duas leis que sustentam a homeopatia como parte da medicina. A primeira é a Lei dos Semelhantes - “*Similia similibus curentur*”- (os semelhantes que se curem pelos semelhantes) e, a segunda, a Lei do Vitalismo (Benites, 2006).

A Lei dos Semelhantes trata-se de uma lei natural que foi observada durante a evolução das moléstias quando, junto a elas, instala-se outro processo mórbido semelhante que interrompe ou cura o processo inicial. Um dos exemplos clássicos que Hahnemann utiliza no livro *Organon* é a não infecção de crianças por coqueluche quando as mesmas já haviam sido acometidas por sarampo, pois as duas doenças guardam grande semelhança na natureza de sua febre e tosse (Benites, 2006).

Hipócrates já citava a cura por similaridade, o qual denominava reação homeostática curativa, que encontra embasamento científico no estudo do “efeito rebote” ou “reação paradoxal” das drogas modernas. Por exemplo, drogas utilizadas no controle da hipertensão arterial podem provocar uma hipertensão arterial de rebote, como reação secundária do organismo ao estímulo primário. Porém, existe pouca divulgação pela farmacologia moderna,

pois entra em conflito com o modelo terapêutico vigente que utiliza princípios terapêuticos dos contrários ou enantiopáticos (Teixeira, 2006).

Sua segunda lei é explicada pela condição que rege e harmoniza o ser vivo, fenômeno imaterial que inexiste na substância mortal e que caracteriza a vida, na sua essência diferencia as matérias vivas das não vivas. Também em *Organon*, Hahnemann descreve que no estado de saúde, a força vital de natureza espiritual, que dinamicamente anima o corpo material, reina com poder ilimitado e mantém todas as suas partes em atividade harmônica, nas suas sensações e funções (Benites, 2006).

A partir das duas leis surgiram três princípios essenciais à prática da homeopatia: 1) Experimentação no indivíduo: sendo o principal pilar de sustentação da ciência, pois determina quais respostas dos diferentes organismos surgem ao estímulo de um mesmo medicamento; 2) Individualização: uma vez já conhecido os efeitos do medicamento é necessário conhecer o indivíduo, para decidir qual medicamento deve ser ministrado em um determinado momento; 3) Dinamização: é o princípio das pequenas doses ou infinitesimal (Benites, 2006)

Com a dinamização dos medicamentos são gerados dois outros processos: a diluição e a sucussão. A diluição possui três escalas diferentes, as hahnemannianas são centesimais (C ou CH) e a cinquenta milésimal (LM) e a escala decimal (D, X ou DH) que foram introduzidas na homeopatia por Hering. A sucussão corresponde à agitação do medicamento após cada diluição. A potência medicamentosa de cada composto é derivada de cada etapa do processo de dinamização (Benites, 2006).

Na prática a utilização de produtos homeopatizados necessita de comparações entre os sintomas apresentados pelo doente e os apresentados nas experimentações medicamentosas, permitindo assim a escolha correta em cada caso. Porém, apenas alguns experimentos foram conduzidos com animais e, embora a grande maioria da literatura médica seja humana, as adaptações devem ser feitas para tratar as demais espécies (Benites, 2006).

A escolha dos componentes homeopáticos do bionúcleo pode ser realizada com base no princípio hipocrático que determina o diagnóstico do enfermo através da sua totalidade de sintomas: comportamentais, gerais e locais (físicos), obtendo-se desta forma um medicamento, como princípio da terapêutica homeopática unicista (Eizayaga, 1992).

A terapêutica utilizada nos princípios homeopáticos é a do estímulo do organismo para agir por si só, e não uma terapêutica que age no organismo, contrapondo-se a alguma ação dele ou mimetizando substância que ele mesmo produz. Neste sentido, o meio, e suas interações, que rodeiam o animal são importantes (Amaral, 2002).

A homeopatia é uma ciência que individualiza o paciente, promovendo a integração entre seus sintomas físicos e suas características mentais. No entanto, ao aplicar-se a populações extensas, 100 animais ou mais, o tratamento pode ser realizado com segurança, pois o princípio denominado *Genius epidemius*, criado por Hahnemann, estará sendo aplicado (Arenales, 2002).

A técnica é simples, pois todos os indivíduos que compõem o grupo, os animais tratados, são considerados como um único ser, como se um lote de bovinos fosse um colméia de abelhas, onde cada indivíduo não representa a si, porém parte de um todo. Os sintomas são considerados a partir da estatística de importância, selecionados homeopaticamente. Os sintomas mentais são considerados a partir da movimentação do grupo e não de indivíduos isolados. Desta forma, o medicamento indicado é fornecido a todo o grupo. Esta técnica é importante na solução de epidemias humanas e hoje utilizada pelo Médico Veterinário Homeopata como instrumento para curar e prevenir doenças no gado de corte (Arenales, 2002).

O tratamento homeopático de um rebanho apresenta algumas vantagens citadas por Souza (2002) e Lopes (2004), como equilíbrio animal (diminuição de estresse), facilidade de administração, inexistência de resíduos e ausência de contaminação do meio ambiente.

Trabalhando com terapia populacional, Macedo e Real (2008) testaram dois lotes de ovelhas Corriedale, em uma fazenda do Rio Grande do Sul, em que um grupo consumiu, durante o período de monta, composto homeopático e os animais controle apenas sal mineral. A taxa de nascimento do grupo tratado foi 18,67% (84,69% vs 66,01%) maior que o não tratado, demonstrando ser vantajosa a prática homeopática populacional em ovinos.

Moncayo (2000) observou redução na contagem de células somáticas de vacas tratadas com homeopatia. Resultados satisfatórios no tratamento coletivo de mastite em vacas leiteiras na Índia foram relatados por Varshney & Naresh (2005), quando a comparação do tratamento homeopático foi feita ao uso de antibióticos. Por outro lado, Silva et al. (2011) não obtiveram diferença na contagem de células somáticas do leite para vacas Holandesas tratadas e não tratadas com homeopatia.

Martins et al. (2007) relataram redução da frequência de mastite subclínica desde o primeiro mês de tratamento, mantendo-se em queda durante os dois meses subsequentes.

Trabalhando com bovinos machos castrados e anelados confinados, Ferreira (2005) observou que o grupo tratado com homeopatia, *Calcarea carbonica* 30 CH e *Calcarea phosphorica* 30 CH na proporção de 1:1, veiculadas em carbonato de cálcio, apresentou um menor peso visceral ao abate e um vantajoso deslocamento dos depósitos de gordura interna

para a região subcutânea. Nos dados de ganho de peso e consumo de matéria seca não foram encontradas diferenças significativas para os animais tratados ou não.

Soares Filho e Caetano (2000) relataram que bovinos de corte tratados com núcleo homeopático reduziram o consumo diário de matéria seca, prejudicando assim o seu desempenho, com diminuição no ganho de peso. Em ovinos, Chabel et al. (2009) também não encontraram evidências suficientes para atribuir ao complexo homeopático o resultado do ganho de peso de ovinos machos inteiros tratados com Convert H[®].

A prática homeopática contempla o bem-estar animal podendo ser considerada uma alternativa aos medicamentos alopáticos, tendo menor custo e sua administração facilitada junto a água, rações ou sal mineral. Há uma diminuição das contenções e traumas, como pela aplicação de injeções e no manejo excessivo dos animais (Arenales, 2002).

Em testes de laboratório com camundongos sob estresse por restrição alimentar, Teixeira et al. (2003) encontraram maior ganho de peso para fêmeas que receberam complexo homeopático quando comparadas com o grupo controle.

Chabel et al. (2009) identificaram uma redução significativa nos níveis de cortisol em ovinos submetidos a restrição alimentar quando os mesmos consumiram Convert H[®].

Quando o complexo homeopático Convert H[®] foi testado em camundongos machos, para verificar o efeito diante do estresse agudo, o produto não apresentou efeito significativo na diminuição do estresse dos roedores. O grupo que não foi submetido ao tratamento estressante apresentou efeito sobre o comportamento dos camundongos, o que reduziu a movimentação espontânea e aumentou o nível de ansiedade e de agressividade (Lopes et al., 2009a).

Zorzatto et al. (2005) adicionaram a 500 ml de água 5 ml de Convert H[®] durante dez gerações de uma colônia de camundongos Swiss Webster (*Mus musculus*), enquanto a colônia controle não recebeu produto homeopatizado. Na avaliação dos parâmetros reprodutivos, as médias obtidas dos números de filhotes nascidos e números de filhotes desmamados de camundongos foram significativamente maiores nas gerações da Colônia Convert H[®] quando comparada a colônia não tratada. Porém, para o número de partos essa diferença não foi encontrada.

Benites (2006) descreve um caso clínico de uma vaca Holandesa com 10 anos de idade, a qual tratada com um composto homeopático (*Calcarea carbônica*, *Nux vomica*, *Sepia* e *Sulphur*) após apresentar prolapso uterino. A matriz foi inseminada por sete vezes sem diagnóstico de prenhez. Iniciou-se o tratamento da mesma com o composto homeopático inicialmente com *Sepia* 6 CH *plus* e, trinta dias após, com *Sepia* 30 CH em dose única. A

vaca foi submetida a SOV resultando em três embriões viáveis, e três prenhez. A vaca foi novamente inseminada, levando desta vez a gestação a termo.

No tratamento de ovariopatias císticas de bovinos de leite, Castilho et al. (2003) verificaram efeitos significativos do tratamento homeopático vs Ovsynch[®] em vacas mestiças holandesas. O complexo homeopático utilizado foi composto por *Thuya occidentalis* 6CH, *Apis mellifera* 6CH e *Oophorinum* 6CH, escolhidos de acordo com o princípio da lei dos semelhantes. A homeopatia apresentou melhores resultados na taxa de gestação que o tratamento hormonal após a primeira (62,5% vs 22,22%) e segunda inseminação artificial (IA), 87,5% vs 55,56%, para homeopatia e Ovsynch[®], respectivamente.

Em um trabalho com búfalas e vacas, Kumar et al. (2004) induziram o estro em 50% das fêmeas bubalinas e 68% das bovinas utilizando medicamentos homeopatizados (*Calcarea phosphorica*, *Aletris farinosa*, *Pulsatilla*, *Aurum muriaticum natronatum*, *Sepia* e *Phosphorus* todos a uma potência de 30 dinamizações).

Rajkumar et al. (2006), buscando minimizar e tratar o anestro em vacas, utilizaram o mesmo composto homeopático já testado por Kumar et al. (2004), e observaram a eficiência do medicamento, por promover uma indução de 100% de estro nas fêmeas, além de demonstrar um aumento na concentração de estradiol no grupo tratado. Os autores explicam que, talvez, este fato deva-se a presença de *Pulsatilla* e *Aletris farinosa* composto, os quais já foram descritos como indutores de crescimento folicular.

A utilização de *Pulsatilla nigricans* possibilitou uma redução no puerpério de 127 vacas de corte e leite das 353 fêmeas utilizadas no experimento de Silva et al. (2001).

Lima (2011) utilizou FSH dinamizado (dFSH) no cultivo *in vitro* de folículos pré antrais de ovinos inclusos em fragmentos de tecido ovariano, e encontrou que, na dinamização 6, com o dFSH adicionado a cada 24 horas após o início do cultivo, houve crescimento folicular após sete dias de cultivo, mantendo a integridade ultraestrutural e a viabilidade dos folículos.

Conduzindo um experimento em uma granja de suínos por dois anos Soto et al. (2008) observaram diferença significativa nos resultados dos tratamentos homeopáticos (H) e alopáticos (A). As porcentagens encontradas foram: repetição de cio (13,7% H vs 30,1% A), número de leitões nascidos vivos (90,1% H vs 87,1% A), natimortos (9,6% H vs 12,3% A) e taxa de mortalidade na maternidade (14,9% H vs 19,4 % A). De forma similar Vuaden (2005) obteve aumento significativo no número de partos e taxa de nascimento após tratamento de porcas com produtos homeopáticos.

A utilização de princípios homeopáticos já vem sendo testada na reprodução de machos (Lobreiro, 2007; Souza et al., 2012), demonstrando que podem trazer respostas positivas. A

utilização de tratamentos alternativos em animais dos quais se processa material biológico como sêmen, pode ser extremamente interessante principalmente no sentido de contornar os efeitos negativos que o manejo intensivo de um Centro de Coleta e Processamento de Sêmen (CCPS) pode acarretar no perfil seminal ou para melhorar a congelabilidade, característica esta não necessariamente vinculada à capacidade reprodutiva intrínseca do indivíduo. Souza et al. (2012), utilizando diversos princípios homeopáticos conseguiram melhorar a eficiência de coleta e congelabilidade do sêmen de bovinos mantidos em CCPS. A *Avena sativa* é um medicamento homeopático utilizado em dinamizações mais baixas que, adicionado aos diluentes para resfriamento de sêmen suíno, melhorou a motilidade e vigor até 48 e 72 horas pós-colheita (Soto et al., 2009).

Lobreiro (2007) tratou com *Pulsatilla nigricans* um touro da raça Nelore que apresentava infertilidade a três anos. Após o tratamento a qualidade seminal foi aumentada, diminuindo os defeitos espermáticos totais, aumentando a motilidade e volume do ejaculado. Entretanto, com apenas um animal observado, não é possível concluir que a mudança observada foi devida somente a esse tratamento.

Soto et al. (2010) realizaram a IA em fêmeas bovinas com sêmen tratado com *Avena sativa*, e encontraram melhora significativa no número de partos, com menos matrizes retornando ao estro após a inseminação. Este estudo demonstra um grande impacto econômico na produção do rebanho, melhorando a taxa de nascimento e diminuindo custos.

No desenvolvimento de projetos de pesquisa com a utilização de princípios homeopáticos, tentativas devem ser realizadas, para que a substância dinamizada em teste possa ser adaptada ao desenho do estudo proposto, pois as informações devem ser ajustadas de acordo com a variação de cada espécie segundo inúmeros parâmetros (Teixeira, 2006).

REFERÊNCIAS

- AMARAL, M.T.C.G. Homeopatia veterinária: estratégias de ação. **International Journal of High Dilution Research**, v. 1, p.8-10, 2002. Disponível em: <<http://www.feg.unesp.br/~ojs/index.php/ijhdr/article/viewFile/64/47>>. Acesso em: 22/08/2012.
- ARENALES, M.D.C. **Homeopatia em gado de corte. I Conferência virtual global sobre produção orgânica de bovinos de corte** – via internet. p. 1-11. 2002. Disponível em: <http://www.arenales.com.br/biblioteca/HOMEOPATIA_EM_GADO_DE_CORTE.pdf>. Acesso em: 15/07/2012.
- BARCELÓ-FIMBRE, M.; BRINK, Z.; SEIDEL, G.E.JR. Effects of phenazine ethosulfate during culture of embryos on pregnancy rate, prenatal and postnatal development. **Theriogenology**, v.71, p.355-368, 2009.

- BARREIROS, T.R.R.; BLASCHI, W.; BORSATO, E.A.; LUDWIG, H.E.; SILVA, D.R.M.; SENEDA, M.M. Comparação das taxas de prenhez entre receptoras com corpo lúteo cavitário ou compactos após protocolo de sincronização com cloprostenol ou transferência de embrião em tempo fixo. **Semina: Ciência Agrária**, v.27, n.4, p.657-664, 2006.
- BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; CARVALHO, N.A.T.; VALENTIM, R.; BEBER, R.C.A.; CARVALHO FILHO, A.F.; MADUREIRA, E.A.; COSTA NETO, W.P. Aumento da taxa de prenhez em receptoras de embrião bovino pela utilização do protocolo “ovsynch” com inovulação em tempo fixo. **Arqui. da Facul. de Vet. UFRGS**, v.28, p.218, 2000a.
- BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; MADUREIRA, E.H.; BÓ, G.A.; COSTA NETO, W.P.; GRANDINETTI, R.R. Superestimulação ovariana de receptoras de embriões bovinos visando o aumento de corpos lúteos, concentração de P4 e taxa de prenhez. **Arqui. da Facul. de Vet. UFRGS**, v.28, p.218, 2000b.
- BARUSELLI, P.S.; JACOMINI, J.O.; SALES, J.N.S.; CREPALDI, G.A. Importância do emprego da eCG em protocolos de sincronização para IA, TE e SOV em tempo fixo. In: **Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, III, p.146-167, 2008.
- BELTRAME, R.T.; QUIRINO, C.R.; BARIONI, L.G.; DIAS, A.J.B.; SOUZA, P.M. Análise da produção de embriões na fertilização *in vitro* e transferência de embriões para doadoras Nelore. **Ciê. Ani. Bras.**, v.11, n.1, p.17-23, 2010.
- BENITES, N.R. **Homeopatia**. In: Farmacologia aplicada a Medicina Veterinária. 4. ed., 15 seção, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 827-835, 2006.
- BILBY, T.R.; BLOCK, J.; DO AMARAL, B.C.; SA FILHO, O.; SILVESTRE, F.T.; HANSEN, P.J.; STAPLES, C.R.; THATCHER, W.W. Effects of dietary unsaturated fatty acids on oocyte quality and follicular development in lactating dairy cows in summer. **Jour. of Dairy Sci.**, v.89, p.3891-3903, 2006.
- BINELLI, M.; THATCHER, W.W.; MATTOS, R. BARUSELLI, P.S. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, v.56, n.9, p.1451-1463, 2001.
- BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; CACCIA, M.; TRÍBULO, R.; TRÍBULO, H.; MAPLETOFT, R.J. The control of follicular wave development for self-pointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology**, v.57, p.53-72, 2002.
- BÓ, G.A.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L. Manipulação hormonal do ciclo estral em doadoras e receptoras de embrião bovino. **Acta Sci. Vet.**, v.32 (Supl), p. 1-22, 2004.
- BONI, R.; ROELOFSEN, M.W.M.; PIETERSE, M.C.; KOGUT, J.; KRUIP, T.A.M. Follicular dynamics, repeatability and predictability of follicular retirement in cows undergoing repeat follicular puncture. **Theriogenology**, v.48, p.277-289, 1997.
- BRACKETT, R.G.; BOUSQUET, D.; BOICE, M.L.; DONAWICK, W.J.; EVANS DRESSEL, M.A. Normal development following *in vitro* fertilization in the cow. **Bio. Repro.**, v.27, p.147-158, 1982.
- BRACKETT, B.G.; ZUELKE, K.A. Analysis of factors involved in the *in vitro* production of bovine embryos. **Theriogenology**, v.39, p.43-64, 1993.
- BRASIL Conselho Federal de Medicina Veterinária e Zootecnia- CFMV. **Resolução n.º 625, 16/03/1995**, Regulamenta o registro de título de especialidades (homeopatia), Brasília, DF, 1995. Disponível em: <<http://citeacupuntura.com.br/crmv625.htm>>. Acesso em: 22/08/2012.

- CALDAS, M.C.S.; NOGUEIRA, M.F.G.; PUPIM, F.P.V.; ROSA E SILVA, A.A.M. Concentração de progesterona plasmática em receptoras no dia da inovulação de embrião bovino descongelado, um indicativo de futura prenhez. **Arqui. da Facul. de Vet. UFRGS**, v.24, (Supl.), p 33-37, 1996.
- CASTILHO, L.R.; SOUZA, J.C.; PINTO, L.F.; ALBUQUERQUE, F.T.; FILGUEIRA, E.P. Avaliação da terapêutica homeopática nas ovariopatias císticas de bovinos leiteiros. **Homeopatia Brasileira**, v.9, n.1, p.5-15, 2003.
- CHEBEL, R.C.; DEMÉTRIO, D.G.B.; METZGER, J. Factor affecting success of embryo collection and transfer in large dairy herds. **Theriogenology**, v.69, p.98-106, 2008.
- CHABEL, J.C.; VAN ONSELEN, V.J.; MORAIS, M.G.; NETO, I.M.C.; TEDESCHI, B.P. Efeito de um complexo homeopático “Homeobase Convert H[®]” em ovinos sob condição de restrição alimentar. **Braz. Jour. of Vet. Res. and Ani. Sci.**, v.46, n.5, p.412-423, 2009.
- COSTA, N.C.; ARAUJO, R.L.; FREITAS, G.B.L. Homeopatia: um campo terapêutico fundamental no cuidado veterinário de animais de produção. **Revista Saulos-Guarapuava**, v.3, n.2, p. 75-89, 2010.
- COSTA, E.P.; MARQUES, P.A.F.; FERNANDES, C.A.C.; MACEDO, G.G.; SANTOS, G.M.; ALMEIDA NETO, J.R.M.; PEREIRA, E.C.M. Uso da rbST no dia do estro em receptoras de embrião bovino criopreservados. **Ciê. Ani. Bras.**, v.12, n.4, p.712-717, 2011.
- COSTA E SILVA, E.V.; KATAYAMA, K.A.; MACEDO, G.G.; RUEDA, P.M.; ABREU, U.G.P.; ZÚCCARI, C.E.S.N. Efeito do manejo e de variáveis bioclimáticas sobre a taxa de gestação em vacas receptoras de embrião. **Ciê. Ani. Bras.**, v.11, n.2, p.280-291, 2010.
- EIZAYAGA, F.X. **Tratado de Medicina Homeopática**, 3.ed., Buenos Aires: Ediciones Marecel, 1992. 399p.
- FERNANDES, C.A.C., BARROS, J.N.P. Características do corpo lúteo e taxa de gestação de receptoras de embrião. **Arq. da Facul. de Vet. da UFRGS**, v.24, p.205, 1996.
- FERNANDES, C.A.C. Inovulação não cirúrgica e taxa de gestação de receptoras de embrião. **Arq. Bras. de Med. Vet. e Zootec.**, v.51, p.263-266, 1999.
- FERREIRA, A.M. Nutrição e atividade ovariana em bovinos: uma revisão. **Pesq. Agrop. Bras.**, v.28, p.1077-1093, 1993.
- FERREIRA, L.C. **Avaliação da qualidade de carcaça e da composição corporal de dois grupos genéticos, tratados ou não, com uma mistura de “calcárea carbônica” 30CH e “calcarea phosphorica” 30CH**. 2005. 22 f. Monografia (Especialização em Zootecnia) - Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Aquidauana, 2005.
- FUCK, E.J.; MORAES, G.V.; MARTINS, E.N.; FALCÃO, A.J.S.; RODRIGUES, C.M.; CARDOZO, M.R.; BARROS, C.M. Uso da gonadotrofina coriônica eqüina em receptoras de embrião para avaliar o incremento da progesterona endógena no dia da inovulação e sua correlação com a taxa de prenhez. **Acta Scientiarum**, v.24, n.4, p.1119-1126, 2002.
- GALIMBERTI, A.M.; FONSECA, F.A.; ARAUJO, M.C.C.; COSTA, E.P.; FREITAS, C.; GUIMARÃES, J.D.; FERREIRA, A.M. Taxa de gestação e níveis plasmáticos de progesterona, em receptoras de embrião bovino, tratadas com Buserelina após a inovulação. **Ver. Bras. de Zootec.**, v.30, n.2, p.353-359, 2001.
- GALLI, C.; CROTTI, G.; NOTARI, C.; TURINI, P.; LAZZARI, G. Embryo production by ovum pick-up from live donors. **Theriogenology**, v.55, p.1341-1357, 2001.

- GREVE, T.; HYTTTEL, P.; ASSEY, R. The effects of exogenous gonadotropins on oocyte and embryo quality in cattle. **Theriogenology**, v.43, p.41-50, 1995.
- GUYARDER, J.C.; PONCHON, S.; THUARD, J.M.; DURAND, M.; NIBART, M.; MARQUANT, L.E.; GUIENNE, B.; HUMBLLOT, P. Effect of superovulation on repeated ultrasound guided oocyte collection and *in vitro* embryo production in pregnant heifers. **Theriogenology**, v.47, p.157, 1997.
- HAGEMANN, L.J. Influence of the dominant follicle on oocytes from subordinate follicles. **Theriogenology**, v.51, p.449-459, 1999.
- HAGEMANN, L.J.; BEAUMONT, S.; BERG, M.; DONNISON, M.; LEDGERD, A.; PETERSON, A.J.; SCHURMANN, A.; TERVIT, H.R. Development during single IVP of bovine oocytes from dissected follicles: interactive effects of estrous cycle stage, follicle size and atresia. **Mol. Repro. and Devel.**, v.53, p.451-458, 1999.
- HASLER, J. Factors affecting and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle. **Theriogenology**, v.56, p.1401-1415, 2001.
- JONES, A.; LAMB, G. Nutrition, synchronization, and management of beef embryo transfer recipients. **Theriogenology**, v.69, p.107-115, 2008.
- KATAYAMA, K.A.; MACEDO, G.G.; TZEIMAZIDES, S.P.; RUEDA, P.M.; REZENDE, C.R.L.; ZÚCCARI, C.E.S.N.; COSTA E SILVA, E.V. Manejo de receptoras bovinas em programa de transferência de embriões e taxas de gestação: resultados preliminares. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande-MS. **Anais...** Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2004. CD-ROM. Ambiente, Bioclimatologia e Etologia. AMB048. Disponível em: <www.sbz.org.br/cds.SB2004.rar>.
- KENT, J.T. **Filosofia Homeopática**, Curitiba: Editorial Nova Época, 1993, 248p.
- KUMAR, H.; SRIVASTAVA, S.K.; YADAV, M.C.; VARSHNEY, J.P. Management of postpartum anoestrus in dairy animals with a homeopathic combination remedy. **Indian Jour. of Ani. Scie.**, v.74, p.739-740, 2004.
- LEAL, L.S.; OBA, E.; FERNANDES, C.A.C.; SÁ FILHO, O.G. Avaliação do corpo lúteo, contratilidade uterina e concentrações plasmáticas de progesterona e estradiol em receptoras de embriões bovinos. **Ciê. Ani. Bras.**, v.10, n.1, p.174-183, 2009.
- LIMA, L.F. **Utilização do hormônio folículo estimulante (FSH) homeopático no cultivo *in vitro* de folículos pré-antrais ovinos incluídos em fragmentos de tecido ovariano**. 2011, 119p. Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2011.
- LOBREIRO, J. Homeopathic treatment for infertility in a prize Nelore bull. **Homeopathy**, v.96, p.49-51, 2007.
- LOPES, E.G. Homeopatia aplicada à parasitologia veterinária. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12 & SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE RICKETSIOSES, L.; 2004, Ouro Preto-MG. **Anais...** Ouro Preto: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, p.150-55, 2004.
- LOPES, H.C.; ONSELEN, V.J.V.; SOUZA, A.S. Homeopatia no comportamento de camundongos sob estresse agudo. **Rev. Bras. de Saúde e Prod. Ani.**, v.10, n.4, p.840-851, 2009a.
- LOPES, C.N.; SCARPA, A.B.; CAPPELOZZA, B.I.; COOKE, R.F.; VASCONCELOS, J.L. Effects of rumen protected polyunsaturated fatty acid supplementation on reproductive performance of *Bos indicus* beef cow. **Jour. of Ani. Scie.**, v.87, p.3935-3943, 2009b.

- LOONEY, C.R.; LINDSEY, B.R.; GONSETH, C.L.; JHONSON, D.L. Commercial aspects of oocyte retrieval and *in vitro* fertilization (IVF) for embryo production in problem cows. **Theriogenology**, v.41, p.67-72, 1994.
- LOONEY, C.R.; NELSON, J.S.; SCHNEIDER, H.J.; FORREST, D.W. Improving fertility in beef cow recipients. **Theriogenology**, v.65, n.1, p.201-9, 2006.
- MACEDO, N.; REAL, C.M. **Homeopatia populacional na melhoria da fertilidade ovina em campo nativo, no Rio Grande do Sul**. 2008. Disponível em: <<http://www.produzamelhor.com.br/publicacoestecnicas.php?menu=artigos&codigo=13>>. Acesso em: 10/08/2012.
- MACHATKOVA, M.; KRAUSOVA, K.; JOKESOVA, E.; TOMANEK, M. Developmental competence of bovine oocytes: effects of follicle size and the phase of follicular wave on *in vitro* embryo production. **Theriogenology**, v.61, p.329-335, 2004.
- MANN, G.E.; LAMMING, G.E.; FRAY, M.D. Plasma oestradiol and progesterone during early pregnancy in the cow and the effects of treatment with buserelin. **Ani. Reprod. Scie.**, v.37, p.121-131, 1995.
- MARQUES, M.O.; ARRUDA, R.P.; MADUREIRA, E.H.; OLIVEIRA, C.A.; BARUSELLI. Efeito da cavidade do corpo lúteo na concentração plasmática de progesterona em novilhas *Bos taurus* x *Bos indicus* receptoras de embrião. **Rev. Bras. de Reprod. Ani.**, v.26, p.238-240, 2002.
- MARTINS, C.R.; VIEIRA, E.C.; GAZIM, Z.C.; MASSABANI, C. Tratamento de mastite subclínica por meio de suplementação mineral homeopática da dieta de vacas leiteiras em lactação – Estudo de Caso. **Cultura Homeopática**, n.19, p.16-19, 2007.
- MERTON, J.S.; DE ROOS, A.P.W.; MULLAART, E.; DE RUIGH, L.; KAAL, L.; VOS, P.L.A.M.; DIELEMAN, S.J. Factors affecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry. **Theriogenology**, v.59, p.651-674, 2003.
- MONCAYO, F. Efficacy of homeopathic preparations of autogenous mastitis causing organisms in the prevention of mastitis in dairy cattle. **Organic Farming Research Foundation Project Report**, v. 99, p.30, 2000.
- NASSER, L.F.; REIS, E.L.; OLIVEIRA, M.A.; BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S. Comparison of four synchronization protocols for fixed time embryo transfer in *Bos indicus* x *Bos taurus* recipients. **Theriogenology**, v.62, n.9, p.1577-84, 2004.
- NOGUEIRA, M.F.G.; MELO, D.S.; CARVALHO, L.M.; FUCK, E.J.; TRINCA, L.A.; BARROS, C.M. Do high progesterone concentration decrease pregnancy rates in embryo recipients synchronized with PGF2 α and eCG? **Theriogenology**, v.61, p.1283-90, 2004.
- NOGUEIRA, E.; CARDOSO, G.S.; MARQUES JUNIOR, H.R.; DIAS, A.M.; ITAVO, L.C.V.; BORGES, J.C. Effect of breed and corpus luteum on pregnancy rate of bovine embryo recipients. **Rev. Bras. de Zootec.**, v.41, n.9, p.2129-2133, 2012.
- NONATO, J.R.I.; PONTES, J.H.F.; ERENO, J.R.J.C.; GIMENES, B.L.U.G.; TORRES, J.R.J.R.S.; BARUSELLI, P.S. Utilização de progesterona exógena em protocolos de OPU de vacas Nelore: resultados preliminares. **Acta Scie. Vet.**, v.34, Supl. 1, p.452, 2006.
- OYUEDA, L.A.; JIMENEZ, C. Factores que afectan La tasa de preñes en programas de transferencia de embriones. **Ver. del Med. Vet. y Zootec.**, v.57, p. 191-200, 2010.
- PEIXOTO, M.G.C.D.; BERGMANN, J.A.G.; ALVIM, M.T.T.; PENNA, V.M. Fatores quem influenciaram a prenhez de embriões zebuínos em receptoras mestiças. IN: SIMPÓSIO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MELHORAMENTO ANIMAL, 5, 2004, Pirassununga-SP, **Anais...V Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal**, 2004.

- PETYIM, S.; BAGE, R.; FORSBER, G.M.; RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, H.; LARSSON, B. Effects of repeated follicular puncture on ovarian morphology and endocrine parameters in dairy heifers. **Jour. of Vet. Med. Ani.**, v.48, p.449-463, 2001.
- PFEIFER, L.F.M.; SCHNEIDER, A.; CORREA, M.N. Factors that affect the in vitro production of bovine embryos: A review. **Rev. Colombiana de Ciencia Pecuaria**, v.21, p.109-120, 2008.
- PFEIFER, L.F.M.; SARTORI, R.; PIVATO, I.; RUMPF, R.; NOGUEIRA, G.P.; XAVIER, E.; DIONELLO, N.J.; CORREA, M.N. Effect of circulating progesterone on in vitro developmental competence of bovine oocytes. **Ani. Reprod.**, v.6, p.473-478, 2009.
- PFEIFER, L.F.M.; CAMPOS, H.; MIGUEL JR., J.C.; SILVEIRA, L.L.; SCHNEIDER, A.; CORREA, M.N.; RUMPF, R. Aumento da qualidade de ovócitos recuperados por punção folicular de vacas submetidas previamente à superovulação. **Rev. Bras. de Repro. Ani.**, v.36, n.3, p.363-367, 2011.
- PIRES, A.V.; RIBEIRO, C.V.D.M. Aspectos da nutrição relacionados à reprodução. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006, p.513-538.
- PIVATO, I.; SOUZA, R.V.; PEREIRA, D.C.; DESCHAMPS, J.C.; DODE, M.A.N.; RUMPF, R. Influência de diferentes tratamentos hormonais em doadoras de ovócito na relação macho:fêmea de embriões bovinos produzidos *in vitro*. **Arq. da Facul. de Vet. da UFRGS**, v.28, n.1, p.315, 2000.
- RAJKUMAR, R.; SRIVASTAVA, S.K.; YADAV, M.C.; VARSHNEY, V.P.; VARSHNEY, J.P.; KUMAR, H. Effect of a homeopathic complex on oestrus induction and hormonal profile in anoestrus cows. **Homeopathy**, v.95, p.131-135, 2006.
- REIS, E.L.; MARQUES, M.O.; CARVALHO, N.A.T.; NASSER, L.F.; COSTA NETO, W.P.; BARUSELLI, P.S. Aumento da taxa de concepção em receptoras de embrião bovino com maiores concentrações plasmáticas de progesterona no dia da inovulação. **Acta Scie. Vet.**, (suplemento), v.32, 2004.
- RIBEIRO FILHO, A.L.; FREITAS, D.S.; RODRIGUES, A.S.; CHALHOUB, M.; FERRAZ, P.A.; LOIOLA, M.V.G.; ANDRADE, B.H.A. Uso de inibidor da síntese de prostaglandinas em receptoras bovinas com ou sem dificuldade de transposição cervical. **Rev. Bras. de Saúde e Produção Animal**, v.12, n.3, p.819-827, 2011.
- RIGOLON, L.P.; CAVALIERI, F.L.B.; BETINI, C.M. Utilização do PMSG na sincronização do cio em receptoras, no número de corpo lúteo e taxa de prenhez pós inovulação com embriões a fresco. Resultados preliminares. **Arq. da Facul. de Vet. da UFRGS**, v.27, n.1, 1999.
- SARTORI, R.; GUARDIEIRO, M.M. Fatores nutricionais associados à reprodução da fêmea bovina. **Rev. Bras. de Zootec.**, v.39, p.422-432, 2010 (suplemento).
- SILVA, C.T.L.; MCMANNUS, C.; RUNPE, R. Efeito da *Pulsatilla nigricans* aplicada em um ponto de acupuntura na redução do puerpério bovino. **Homeopatia Brasileira**, v.7, n.1, p.13 - 21, 2001.
- SILVA, R.G.; MORAIS, P.A.E.F.; GUILHERMINO, M.M. Evaluation of thermal stress indexes for dairy cows in tropical regions. **Rev. Bras. de Zootec.**, (suplemento), v.36, n.4, p.1192-1198 2006.
- SILVA, J.R.M.; BITENCOURT, L.L.; OLIVEIRA, B.M.L.; DIAS JUNIOR, G.S.; LOPES, F.; CAPORALES, G.M.M.; SCHEFFER, K.C.; PEREIRA, RAN.; PEREIRA, M.N. Suplementação de vacas leiteiras com homeopatia: células somáticas do leite, cortisol e imunidade. **Arq. Bras. de Med. Vet. e Zootec.**, v.63, n.4, p.805-813, 2011.

- SOARES FILHO, V.C.; CAETANO, H. **Desempenho de bovinos de corte suplementados com Cr-levedura e produto homeopático**. Araçatuba: UNESP, 21p, 2000. Disponível em: <http://www.foa.unesp.br/pesq/centros_e_nucleos/asp>. Acesso em: 15/07/2012.
- SOTO, F.R.M, VUADEN, E.R.; BENITES, N.R.; AZEVEDO, S.S.; PINHEIRO, S.R.; COELHO, C.P.; VASCONCELOS, S.A. Avaliação dos índices zootécnicos de uma granja comercial de suínos com a utilização do tratamento homeopático. **Veterinária e Zootecnia**, v.15, n.3, p.577-86, 2008.
- SOTO, F.R.M.; VUADEN, E.R.; COELHO, C.P; BONAMIN, L.V.; AZEVEDO, S.S.; BENITES, N.R. Efeito da *Avena Sativa* CH6 no metabolismo do sêmen diluído de suínos. **Veterinária e Zootecnia**, v.16, n.2, p.367-72, 2009.
- SOTO, F.R.M.; VUADEN, E.R.; COELHO, C.P.; BONAMIN, L.V.; AZEVEDO, S.S.; BENITES, N.R.; VISINTIN, J.A.; BARROS, F.R.O.; GOISSIS, M.D.; ASSUMPÇÃO, M.; MARQUES, M.G. Reproductive performance of sows inseminated with diluted semen treated with homeopathic medicine. **Internat. Jour. of High Dilution Research**, v.9, n.30, p.51-57, 2010.
- SOUZA, M.F.A. **Homeopatia Veterinária**. – via internet. 2002. Disponível em: <<http://canildw.com.br/tecnica/medicinaalternativa/HOMEOPATIA%20VETERINARIA.pdf>>. Acesso em: 10/06/2012.
- SOUZA, M.F.A; COSTA-E-SILVA, E.V; GUERINO, G.G; SOARES, B.D; ZÚCCARI, C.E.S.N. The effect of homeopathy on the fertility of bulls with previous reproductive disorders. **Homeopathy**, v.101, p.243-245, 2012.
- SPELL, A.; BEAL, W.E.; CORAH, L.R.; LAMB, G.C. Evaluating recipients and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. **Theriogenology**, v.56, p.287-299, 2001.
- STROUD, B.; HASLER, J.F.; Dissecting why superovulation and embryo transfer usually work on some farms but not on other. **Theriogenology**, v.65, n.1, p.65-76, 2006.
- STUBBINGS, R.B.; WALTON, J.S. Effect of ultrasonically-guided follicle aspiration on estrous cycle and follicular dynamics in Holstein cows. **Theriogenology**, v.43, p.705-712, 1995.
- TEIXEIRA, M.A.; CARVALHO, T.B.S.; LUCENA, G.A.R.; ONSELEN, V.J.; REAL, M.R.; REAL, C.M. **Effect of a bio stimulatory homeopathic complex in mice subjected to feed stress**. In: International Congress in the future of animal research, I, Rio de Janeiro, 2003.
- TEIXEIRA, M.Z. Homeopatia: ciência, filosofia e arte da cura. **Revista de Medicina**, v.85, n.2, p.30-43, 2006.
- TRIBULO, H.; CUTAIA, L. Selección y manejo de receptoras de embriones bovinos. In: Palma, G. **Biotechnología de La Reproduccion**. Mar Del Plata: Reprobiotec, p.171-188, 2008.
- VARAGO, F.C.; MENDONÇA, L.F.; LAGARES, M.A. Produção *in vitro* de embriões bovinos: estado da arte e perspectiva de uma técnica em constante evolução. **Rev. Bras. de Reprod. Ani.**, v.32, n.2, p.100-9, 2008.
- VARSHENEY, J.P.; NARESH, R. Comparative efficacy of homeopathic and allopathic systems of medicine in the managements of Indian dairy cows. **Homeopathy**, v.94, p.81-85, 2005.
- VIANA, J.H.M. **Avaliação ultra-sonográfica de estruturas ovarianas em doadoras e receptoras de embrião**. Viçosa, 1996. 120 f. Dissertação (Mestrado) – Departamento de

- Zootecnia, Viçosa, MG. Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1996.
- VIANA, J.H.M; SIQUEIRA, L.G.B; PALHÃO, M.P; CAMARGO, S.A. Use of *in vitro* fertilization technique in the last decade and its effect on brazilian embryo industry and animal production. **Acta Scie. Vet.**, v.38, n.2, p.661-674, 2010.
- VIEIRA, R.C.; FRANCO, R.V.R.; DINIZ, E.G.; JACOMINI, J.O. Relação entre a morfologia do corpo lúteo e índice de prenhez em receptoras de embrião bovinos. **Biosci. Jour.**, v.18, n.2, p.99-102, 2002.
- VUADEN, E.R. **Homeopatia na Suinocultura**. Monografia (Especialização e Homeopatia Veterinária) – Faculdade de Ciências da Saúde de São Paulo, Centro de Ensino Superior de Homeopatia, São Paulo, 97p., 2005.
- WALTON, J.S.; CHRISTIE, K.A.; STUBBINGS, R.B. Evaluation of frequency of ultrasonically guided follicle aspiration on bovine ovarian dynamics. **Theriogenology**, v.39, p.336, 1993.
- WARD, F.A.; LONERGAN, P.; ENRIGHT, B.P.; BOLAND, M.P. Factors affecting recovery and quality of oocytes for bovine embryo production *in vitro* using ovum pick-up technology. **Theriogenology**, v.54, p.433-446, 2000.
- WATANABE, Y.F.; DAYAN, A.; MEIRELLES, F.V.; WATANABE, M.R. Pre and pos implantation development of IVP bovine embryos. **Theriogenology**, v.55, p.441, 2001.
- WATANABE, Y.F.; ACCORSI, M.F.; WATANABE, M.R.; DAYAN, A.; MEIRELLES, F.V. Aspectos Comerciais de embriões bovinos produzidos *in vitro*. In: GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. São Paulo: Roca, 2008, p.293-303.
- WOLFSDORF, K.E.; DIAZ, T.; SCHMITT, E.J.P.; THATCHER, M.J.; DROST, M.; THATCHER, W.W. The dominant follicle exerts an interovarian inhibition on FSH-induced follicular development. **Theriogenology**, v.48, p.435-447, 1997.
- ZORZATTO, C.; TEIXEIRA, M.A.; CARVALHO, T.B.S. Efeito do Convert H® -Complexo homeopático bioestimulatório - em gerações de camundongos (*Mus musculus*). **Rev. da Univer. Rural, Série e Ciência da Vida**. Seropédica, RJ, EDUR, suplemento, v. 25, p.7-9, 2005.

Avaliação de complexo homeopático na eficiência reprodutiva de receptoras de embrião bovino

Evaluation of homeopathic complex in the reproduction efficiency of bovine embryo recipients

Resumo

Um gargalo no sucesso dos programas de transferência de embriões (TE) é a fêmea receptora. Uma estratégia ainda pouco explorada é o uso da homeopatia nos programas de TE. O objetivo deste trabalho foi testar o complexo homeopático comercial FertSigo[®], sobre os parâmetros reprodutivos e taxa de prenhez de receptoras de embrião bovino nos períodos chuvoso e seco. Utilizou-se 140 novilhas (*Bos taurus* x *Bos indicus*), com peso superior a 300 kg, sendo divididas em dois tratamentos em cada época do ano (inverno e verão), da seguinte forma: Cc- novilhas (n=30) controle no período chuvoso recebendo apenas o veículo inerte – carbonato de cálcio; Hc- novilhas (n=30) consumindo núcleo homeopático no período chuvoso; Cs- novilhas (n=40) controle no período seco recebendo veículo inerte; Hs- novilhas (n=40) consumindo núcleo homeopático no período seco. O núcleo homeopático foi oferecido na dose de 10 g/animal/dia, em formulação comercial FertSigo[®] (*Seppia succus* 15 CH, *Sulphur* 10 CH e carbonato de cálcio). Foram avaliados o diâmetro uterino (UT), tamanho dos ovários direitos (OvD) e esquerdos (OvE), presença e tamanho de corpo lúteo (CL), presença e tamanho do folículo dominante (FD), tamanho do CL no momento da inovulação (CLI), taxa de expressão de estro, taxa de inovulação, taxa de anovulação e peso corporal. O tratamento homeopático melhorou a morfoanatomia do OvD no D15 durante o período seco. O diâmetro uterino foi maior no D30 para fêmeas tratadas com composto homeopático. As demais variáveis estudadas não foram afetadas pela utilização da homeopatia. A taxa de

prenhez não foi influenciada pelo tratamento, no grupo controle foi de 46,15% e o homeopatizado 45,71%.

Palavras Chave: bovinos; inovulação; receptoras de embrião; terapias alternativas

Abstract

A bottleneck in the success programs of embryo transfer (ET) is the female recipient. A yet little explored strategy is the use of homeopathy in ET programs. The aim of this study was to test the homeopathic complex commercial FertSigo[®] in reproductive parameters and pregnancy rates of bovine embryo recipients in the rainy and dry times. Were used 140 nulliparous heifers (*Bos taurus x Bos indicus*), weighing more than 300 kg, being divided into two treatments in each periods (rainy and dry), in the following way: Cr-control rainy period heifers (n=30) receiving only the inert vehicle – calcium carbonate; Hr- heifers (n=30) consuming homeopathic rainy period nucleus; Cd-control heifers (n=40) receiving dry period vehicle in dry period; Hd- heifers (n=40) consuming homeopathic dry period nucleus. The homeopathic nucleus was provided (10 g / animal / day), in commercial formulation: FertSigo[®] (*Seppia Succus* 15 CH, *Sulphur* 10 CH and calcium carbonate). Were evaluated the uterine diameter (UT), right ovaries sizes (OvR) and left ovaries sizes (OvL), the presence and size of the corpus luteum (CL), the presence and size of the dominant follicle (DF), size of CL at the time of embryo transfer (CLI), expression of estrus rate, embryo transfer rate, anovulation rate and body weight. The homeopathy group improved morphoanatomy in the OvR in D15 during in the dry period. The uterine diameter was higher in D30 in females treated with homeopathic compound. The other studied variables were not affected by the utilization of homeopathy. The pregnancy rate was not affected by treatment in the control group was 46.15% and 45.71% by the utilization of homeopathy.

Keywords: bovine; inovulation; embryo recipients; alternative therapies

Introdução

O desenvolvimento das técnicas de transferência de embriões (TE) e produção *in vitro* de embriões (PIV) possibilita o aumento nos índices reprodutivos das fêmeas bovinas proporcionando uma seleção mais intensa, permitindo que matrizes de alto valor zootécnico sejam utilizadas com eficiência (Oyueda e Jimenez, 2010).

A produção mundial de embriões bovinos vem crescendo ano após ano e no Brasil, principalmente, pela técnica de PIV. Em 2009, o Brasil atingiu uma produção aproximada de 300 mil embriões bovinos, no entanto, apenas os valores absolutos de produção não revelam a eficiência da técnica sendo necessário analisar-se a taxa de recuperação de ovócitos na PIV, embriões viáveis e taxa de prenhez das receptoras. Os resultados consolidados de quatro empresas brasileiras no período de um ano revelam os seguintes valores médios: 19,9 ovócitos recuperados por aspiração, 35,4% de embriões produzidos e 38,5% de taxa de prenhez (Viana et al., 2010).

Um fator de estrangulamento no sucesso dos programas de TE é a fêmea receptora. O manejo, bem como sua saúde reprodutiva são pontos importantes para o resultado final. Entretanto, nos programas de TE a atenção despendida é especialmente voltada para a doadora, o que se reflete em baixa taxa de gestação e alta taxa de mortalidade embrionária (Fernandes, 1999).

Uma estratégia ainda pouco explorada é o uso da homeopatia nos programas de TE como terapia alternativa para melhorar a fertilidade. Esta é uma ciência da saúde desenvolvida por Christian Friedrich Samuel Hahnemann, que foi o pioneiro a empregá-la na Medicina Veterinária (Kent, 1993).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o impacto do complexo homeopático comercial FertSigo[®] sobre os parâmetros reprodutivos e taxa de prenhez de receptoras de embrião bovino em diferentes períodos do ano.

Materiais e Métodos

A propriedade onde alocou-se as receptoras situa-se no município de Dois Irmãos do Buriti, Mato Grosso do Sul (20°41'23''S, 55°16'43''W, altitude de 310 metros, precipitação pluviométrica anual variando de 1000 a 1500 mm). As fêmeas foram mantidas em pastagem de *Brachiaria sp.* em sistema rotacionado, com piquetes de 2 ha, e receberam água *ad libitum* em praças de alimentação. A mineralização era fornecida diariamente, sendo oferecidos 300 g/cabeça/dia de mineral proteico com 25% de PB no período chuvoso e com 40% de PB no período seco, ao qual o núcleo homeopático era misturado.

Utilizou-se 140 novilhas nulíparas cruzadas (*Bos taurus* x *Bos indicus*), com peso superior a 300 kg, e com todos os manejos sanitários já realizados previamente, randomizadas, de acordo com o peso, em quatro tratamentos por um delineamento inteiramente casualizado. Adotaram-se dois tratamentos em cada período do ano chuvoso e seco, sendo 30 indivíduos em cada grupo nas chuvas e 40 na seca, da seguinte forma: **Cc**- novilhas controle no período chuvoso recebendo apenas o veículo inerte – carbonato de cálcio (CaCO_3 proveniente de rochas como os calcários); **Hc**- novilhas consumindo núcleo homeopático no período chuvoso; **Cs**- novilhas controle na seca recebendo veículo inerte; **Hs**- novilhas consumindo núcleo homeopático na seca. A identificação das novilhas foi feita através de brincos e tatuagem com uma sequência numérica única e crescente.

O período chuvoso correspondeu aos meses de janeiro a abril e a coleta de dados da seca realizou-se nos meses de julho a outubro do mesmo ano, sendo os animais submetidos a 21 dias de adaptação ao consumo do complexo homeopático antes do início do período experimental.

O núcleo homeopático (10 g/animal/dia) em formulação comercial FertSigo[®] (*Seppia succus* 15 CH, *Sulphur* 10 CH e carbonato de cálcio) foi oferecido a todos os animais por um período de 51 dias. Os medicamentos escolhidos para elaboração do complexo baseou-se no

Tratado de Matéria Médica Homeopática III (Vijnovsky, 1992), no qual a *Seppia sp.* é indicada para transtornos ligados ao trato reprodutivo feminino e o *Sulphur* é utilizado como precursor, podendo potencializar a ação dos demais componentes homeopáticos, adequando o organismo a ser tratado. A utilização de mais de um princípio homeopático no mesmo produto seguiu a escola homeopática do complexismo, a qual prescreve dois ou mais princípios (Lopes, 2006), e o princípio do *Genius epidemius* criado por Hahnemann para tratar um grupo de animais como um único indivíduo (Arenales, 2002).

Após 21 dias de adaptação ao produto homeopático iniciou-se o período experimental, com a primeira avaliação ginecológica dos parâmetros reprodutivos sendo feita por meio de ultrassonografia transretal (C0), 15 dias (C15) e 30 dias após a primeira coleta (C30). Avaliaram-se diâmetro uterino (UT), maior diâmetro dos ovários direito (OvD) e esquerdo (OvE), presença e diâmetro de corpo lúteo (CL), presença e diâmetro de folículo dominante (FD), todos expressos em mm. O UT foi calculado a partir da média do diâmetro de cada um dos cornos uterinos obtidos na porção média, das fêmeas não gestantes. Todas as mensurações foram realizadas apenas com as fêmeas não inovuladas no período experimental.

Os animais foram pesados em balança eletrônica, individualmente, em todas as coletas com o peso expresso em quilogramas, calculou-se a partir da pesagem inicial e final dividida pelo tempo em dias o ganho médio diário (GMD).

Observou-se a manifestação de estro das receptoras em dois períodos do dia, manhã e tarde, por um tempo de 20 minutos por período/tratamento, durante todos os dias que envolviam o experimento no verão.

As receptoras foram inovuladas com ± 24 horas de sincronia com a fertilização *in vitro* dos embriões, sendo que no período chuvoso trabalhou-se apenas com as fêmeas que manifestaram estro naturalmente e, no período seco utilizou-se um protocolo de sincronização de estro. No momento da inovulação coletou-se sangue através da punção da veia ou artéria

coccígea e alocado em frascos, sendo que cada animal teve sua amostra em duplicata para dosagem plasmática de progesterona (P_4). Em seguida centrifugou-se as amostras a 3.000 rpm por 10 minutos, o plasma obtido acondicionado em microtubos tipo *eppendorf* e armazenado em freezer a -18°C até posterior dosagem de P_4 , por radiomunoensaio, utilizando *kits* comerciais para P_4 fase sólida (*Coat A Count Diagnostics Products Corporation*), no Laboratório de Endocrinologia do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, FMVZ-UNESP-Campus de Botucatu.

A sincronização seguiu o protocolo: (D0) aplicação de 2 mg de benzoato de estradiol (BE) (Sincrodiol[®] Ourofino) e dispositivo intra vaginal de 1g P_4 (Sincrogest[®] Ourofino). No dia 7 (D7) aplicou-se 5 mg de cloprostenol sódico (Sincrocio[®] Ourofino) e 400 UI de eCG (Novormon[®] - Intervet). No dia 9 (D9) foi retirado o dispositivo de P_4 e aplicado 1 mg de BE. A ovulação ocorreu no dia 18 (D18) do início do protocolo (Figura 1). No momento da ovulação realizou-se a aferição do maior diâmetro do CL (CLI).

No período chuvoso foram realizadas ovulações em dois dias distintos, com nove e dezesseis dias após o período de adaptação. No período seco, as ovulações ocorreram nos dias onze e vinte cinco pós-adaptação.

O diagnóstico de gestação (DG) foi realizado pela utilização da ultrassonografia transretal, 45 dias após a fertilização *in vitro* (FIV) dos ovócitos. Todos os embriões utilizados no experimento eram à fresco de procedência da Embriza biotecnologia Ltda., adotando-se a mesma metodologia para todos.

A análise estatística foi realizada por meio de análise de variância em um delineamento de blocos ao acaso, considerando-se como variáveis independentes o tratamento (TMT), coleta (COL) e período do ano (PA) e as interações de TMT*COL e TMT*PA e variáveis dependentes UT, OvD, OvE, CL, FD, CLI, P_4 e peso. As médias foram comparadas, considerando-se a diferença significativa em nível de 5%, utilizando-se teste t de *Student* para

médias ajustadas. As variáveis taxa de gestação, expressão de estro, taxa de ovulação e taxa de anovulação foram analisadas por meio do teste de Q-quadrado, de acordo com o tratamento, considerando-se níveis de significância de 5%.

Resultados

O GMD durante todo o período experimental foi de 0,7 kg/animal/dia, sem diferença significativa entre tratamentos e período do ano.

A expressão de estro das receptoras não apresentou variação significativa em função do tratamento no período chuvoso, sendo a média geral de manifestação de estro das receptoras de 92,09%, 91,30% e 92,86% para o controle e o grupo homeopatizado, respectivamente.

Foram inovuladas 50% das fêmeas do grupo homeopatizado e 57,35% das novilhas do controle, não havendo diferença significativa entre tratamentos. A taxa de receptoras que apresentaram estro e não ovularam (anovulação) também não variou significativamente em função dos tratamentos, 8,82% e 18,57% para os tratamentos controle e homeopatizado, respectivamente.

A taxa de prenhez não foi influenciada pelo tratamento, com média, nos dois períodos, de 45,95%. O grupo controle resultou em 46,15% de prenhez e o tratamento com homeopatia em 45,71%, em ambos os períodos.

O CLI não interferiu na taxa de prenhez das receptoras, não havendo também diferença significativa entre tratamentos, porém variou significativamente em função da época do ano, atingindo 22,01 e 18,00 mm, para período seco e chuvoso, respectivamente. A média do CLI encontrada para o grupo homeopatizado foi de $21,57 \pm 0,48$ mm e para o grupo controle $20,86 \pm 0,57$ mm, entretanto a diferença encontrada não foi significativa, resultado dos dois períodos.

A dosagem de P_4 não diferiu significativamente para as fêmeas gestantes e não gestantes e entre tratamentos. As receptoras gestantes apresentaram $7,72 \pm 0,45$ ng/mL e as não

gestantes $8,08 \pm 0,46$ ng/mL, enquanto para os tratamentos os valores foram de $8,64 \pm 0,45$ ng/mL e $7,23 \pm 0,43$ ng/mL para controle e homeopatizado, respectivamente.

Os resultados obtidos para as variáveis independentes estudadas não apresentaram diferença significativa, com exceção do diâmetro do OvD no C15 (Tabela 1) e UT no C30 (Tabela 2). Verificou-se que as fêmeas do grupo controle no inverno apresentaram menores medidas ovarianas por ultrassonografia. As medidas de UT foram maiores para o grupo tratado com homeopatia.

Tabela 1. Comparação do diâmetro do ovário direito (OvD), em mm, no dia 15 de coleta (D15) de receptoras de embrião bovinas, tratadas ou não com homeopatia durante os períodos chuvoso e seco

Tratamento	Ovário Direito		
	Período chuvoso	Período seco	Total
Controle	$27,21 \pm 0,50^a$	$23,98 \pm 0,64^b$	$25,81 \pm 0,42$
Homeopatia	$25,75 \pm 0,67^a$	$26,25 \pm 0,61^a$	$25,98 \pm 0,45$
Total	$27,03 \pm 0,80$	$24,70 \pm 0,63$	$25,90 \pm 0,31$

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($P > 0,05$) para médias ajustadas, para teste de t de Student.

Tabela 2. Morfometria genital, no dia 30 de coleta (D30) de receptoras de embrião bovinas, tratadas ou não com homeopatia

	Controle	Homeopatia
OvD (mm)	$27,03 \pm 0,80^a$	$27,21 \pm 1,51^a$
OvE (mm)	$24,13 \pm 0,68^a$	$23,66 \pm 1,87^a$
FD (mm)	$12,20 \pm 0,49^a$	$11,93 \pm 1,01^a$
CL (mm)	$19,54 \pm 0,97^a$	$19,22 \pm 1,52^a$
UT (mm)	$15,92 \pm 0,41^b$	$17,57 \pm 0,46^a$

Ovário Direito (OvD), Ovário Esquerdo (OvE), Folículo Dominante (FD), Corpo Lúteo (CL), Diâmetro Uterino (UT); Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa para médias ajustadas, para teste de t de Student.

Discussão

O GMD das novilhas durante o período experimental ($0,7$ kg/animal/dia) não foi influenciado pela utilização da homeopatia, porém o mesmo foi satisfatório, quando comparado com dados da literatura que mostram um GMD de $0,58$ kg/animal/dia para novilhas cruzadas (*Bos taurus* x *Bos indicus*) e Nelore mantidas no manejo rotacionado em

pastagem de *coast cross*. Já, quando as fêmeas foram suplementadas, o GMD chegou a 0,7 kg/animal/dia (Rodrigues et al., 2001).

A taxa de prenhez encontrada neste trabalho está dentro dos valores médios descritos na literatura que variam de 31,8 até 71,4% para receptoras de embrião (Baruselli et al., 2000^a; Fuck et al., 2002; Nogueira et al., 2004; Reis et al., 2004). Em 542 receptoras inovuladas Reis et al. (2004) verificaram 47,56% de animais gestantes, enquanto Nogueira et al. (2004) utilizando receptoras cruzadas obtiveram prenhez de 44,36%.

O uso da homeopatia não interferiu no diâmetro do CLI das receptoras. A obtenção de CL maiores em receptoras de embrião aumentou a taxa de prenhez (Binelli et al., 2001), contrariando alguns artigos que não encontraram diferença de gestação quando compararam o tamanho do CL (Marques et al., 2002; Barreiros et al., 2006; Leal et al., 2009).

Receptoras com CL considerados pequenos (< 15 mm) foram diagnosticadas como prenhes em 31,8% do lote, enquanto novilhas com CL médios (>15 mm e <20 mm) e grandes (>20 mm) apresentaram 41,5% e 54,4% de prenhez ($P<0,05$), respectivamente (Baruselli et al., 2000a).

Diferença significativa foi encontrada na taxa de prenhez de receptoras que apresentaram maior diâmetro de CL (20,9 mm) no momento da inovulação, quando comparadas as receptoras que não estavam gestantes, com 18,8 mm (Nogueira et al., 2012).

A diferença encontrada para o maior diâmetro do CLI na seca pode ser explicada pela utilização do protocolo de sincronização com eCG, pois no período chuvoso apenas as receptoras que apresentaram estro natural foram inovuladas. O uso de eCG estimula o crescimento folicular e o desenvolvimento de um ou mais folículos dominantes de maior diâmetro e determinar, além de maior número de CL ou CL único maior (dependendo da fase da onda folicular em que é aplicado), maior concentração plasmática de progesterona e maior taxa de prenhez (Baruselli et al., 2000b; Baruselli et al., 2008).

O eCG é um hormônio de meia vida longa, três dias, que se liga aos receptores de FSH e LH dos folículos, com maior atividade biológica semelhante ao FSH e em menor escala ao de LH (Baruselli et al., 2008). Devido às suas características em estimular o desenvolvimento folicular, consequência, um maior CL será formado e a produção de P_4 será incrementada (Duffy et al., 2004; Baruselli et al., 2008). Quando o eCG é aplicado antes da retirada do progestágeno e, em doses baixas, o folículo dominante adquire maiores dimensões após a suspensão do tratamento com P_4 (Duffy et al., 2004).

Valores mais altos foram encontrados, 71,4 % de prenhez quando Fuck et al. (2002) trataram novilhas com 200 UI de eCG durante o protocolo de sincronização. Em experimento avaliando um protocolo com 400 UI de eCG, os autores verificaram que o tratamento formou CL significativamente maiores e incrementou a taxa de prenhez, alcançando 57,6% de prenhez para novilhas tratadas com eCG e 41,7% para receptoras controle (Bó et al., 2002).

Apesar do conhecimento de que a P_4 é fundamental para a manutenção da gestação, os resultados quanto à relação entre sua concentração plasmática e a taxa de prenhez de bovinos ainda são muito controversos (Reis et al., 2004). A P_4 no momento da inovulação não influenciou a taxa de prenhez das receptoras. De forma semelhante Leal et al. (2009) e Costa et al. (2011) também não encontraram valores significativos na concentração plasmática de P_4 no momento da inovulação de receptoras gestantes comparadas com as não gestantes.

Diversos fatores podem interromper o ciclo reprodutivo causando infertilidade, temporária ou definitiva e esterilidade (Moreira et al., 2005), podendo, no entanto, estes distúrbios serem revertidos com a utilização de medicamentos homeopáticos. Um dos compostos homeopáticos mais utilizados para estimular o trato reprodutivo de fêmeas bovinas é a *Seppia sp* (Kumar et al., 2004; Benites, 2006; Rajkumar et al., 2006).

Foi descrito um caso clínico de uma vaca Holandesa com 10 anos de idade tratada com um composto homeopático (*Calcarea carbônica*, *Nux vomica*, *Seppia* e *Sulphur*) após

apresentar prolapso uterino e várias tentativas de inseminação artificial sem sucesso. Depois de iniciado o tratamento, a matriz apresentou melhora reprodutiva com três embriões viáveis obtidos por superovulação e prenhez subsequente (Benites, 2006).

No tratamento de búfalas e vacas com medicamentos homeopatizados (*Calcarea phosphorica*, *Aletris farinosa*, *Pulsatilla nigricans*, *Aurum muriaticum natronatum*, *Seppia e Phosphorus* todos a uma potência de 30 dinamizações), Kumar et al. (2004) obtiveram 50% das fêmeas bubalinas e 68% das fêmeas bovinas manifestando estro. Utilizando o mesmo composto homeopático para verificar a tentativa de minimizar e tratar o anestro em vacas, Rajkumar et al. (2006) constataram a eficiência do medicamento por apresentar uma indução de estro em 100% das fêmeas, além de demonstrar um aumento significativo na concentração de estradiol no grupo tratado.

O maior tamanho de OvD do grupo com suplementação homeopática no período seco quando comparado ao grupo controle, pode estar relacionado a um período de restrição na qualidade da forragem, em que a utilização do complexo homeopático ajudou a manter as funções reprodutivas, pois um menor tamanho do OvD pode ser reflexo de um menor *pool* de folículos, no entanto novas investigações são necessárias para uma maior precisão dessas avaliações.

O tamanho de OvD ($25,90 \pm 0,31\text{mm}$) e OvE ($23,62 \pm 0,28 \text{ mm}$) encontrados neste trabalho foi menor do que o descrito na literatura de 28,7 mm para OvD e 28,05 mm para OvE (Nascimento et al., 2003), porém essas medidas são de ovários provenientes de abatedouro, em que se desconhece a idade das fêmeas, podendo inclusive ser originários de vacas e não de novilhas. O FD médio ($12,42 \pm 0,25 \text{ mm}$) encontrado foi maior do que os descritos no mesmo trabalho 9,44 mm em média. O tamanho do OvD também foi significativamente maior para novilhas, 31,3 mm, e vacas, 28,4mm, Nelore (*Bos indicus*) para comprimento do OvD e OvE, respectivamente (Monteiro et al., 2008). Uma das possíveis

explicações para o efeito do composto homeopático ter ocorrido apenas no OvD é o fato da *Seppia sp.* apresentar lateralidade, fenômeno associado à maior expressão da resposta esperada em um lado do organismo (Ribeiro Filho, 1995).

Verificou-se que as medidas de UT no D30 foram maiores para o grupo tratado com homeopatia, evidenciando que as receptoras homeopatizadas podem apresentar uma maior ciclicidade em relação ao grupo controle. Trabalhando com fêmeas bovinas pesquisadores demonstraram uma relação entre o diâmetro dos cornos uterinos e resultados de um programa de indução da puberdade. Desta forma, novilhas que apresentavam diâmetro inferior a 15 mm, refletiram em menor resposta à indução de ciclicidade (Valentin et al., 2008).

Conclusões

A utilização de homeopatia, com *Seppia succus* 15CH, *Sulphur* 10CH, pode ter aumentado o diâmetro do OvD no D15 durante o período de inverno. O diâmetro uterino foi maior no D30 para fêmeas tratadas com composto homeopático. As demais variáveis estudadas não foram afetadas pela utilização da homeopatia. O tratamento homeopático não influenciou a fertilidade das receptoras.

Comitê de Ética e Biossegurança

A manipulação dos animais durante a fase experimental foi realizada dentro de um projeto maior aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, intitulado “Utilização de homeopatia em biotécnicas da reprodução aplicadas a ruminantes” sob o número de protocolo 373/2011.

Agradecimentos

Os autores agradecem a empresa SIGO PROCEDIMENTOS HOMEOPÁTICOS Ltda. pelo apoio e fornecimento do produto homeopático, à FUNDECT/SEBRAE pelo apoio

financeiro, à CAPES pela bolsa de estudo em nível de pós-graduação e aos acadêmicos estagiários e de iniciação científica.

Referências

- ARENALES MDC.** 2002. Homeopatia em gado de corte. I Conferência virtual global sobre produção orgânica de bovinos de corte – via internet, p. 1-11. Disponível em: <http://www.arenales.com.br/biblioteca/HOMEOPATIA_EM_GADO_DE_CORTE.pdf>. Acesso em: 15/07/12.
- BARREIROS TRR, BLASCHI W, BORSATO EA, LUDWIG HE, SILVA DRM, SENEDA MM.** 2006. Comparação das taxas de prenhez entre receptoras com corpo lúteo cavitário ou compactos após protocolo de sincronização com cloprostenol ou transferência de embrião em tempo fixo. *Semina: Ciência Agrária*, 27(4): 657-664.
- BARUSELLI PS, MARQUES MO, CARVALHO NAT, VALENTIM R, BEBER RCA, CARVALHO FILHO AF, MADUREIRA EA, COSTA NETO WP.** 2000a. Aumento da taxa de prenhez em receptoras de embrião bovino pela utilização do protocolo “ovsynch” com inovulação em tempo fixo. *Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS*, 28: 218p.
- BARUSELLI PS, MARQUES MO, MADUREIRA EH, BO GA, COSTA NETO WP, GRANDINETTI RR.** 2000b. Superestimulação ovariana de receptoras de embriões bovinos visando o aumento de corpos lúteos, concentração de P4 e taxa de prenhez. *Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS*, 28:218p.
- BARUSELLI PS, JACOMINI JO, SALES JNS, CREPALDI GA.** 2008. Importância do emprego da eCG em protocolos de sincronização para IA, TE e SOV em tempo fixo. In: *Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada*. In 3º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 2008, Londrina, PR, 1:146-167.
- BENITES NR.** 2006. Homeopatia. In: *Farmacologia aplicada a medicina veterinária* (4 ed) Rio de Janeiro, Brasil. pp.827-835.
- BINELLI M, THATCHER WW, MATTOS R, BARUSELLI PS.** 2001. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. *Theriogenology*, 56(9): 1451-1463.
- BÓ GA, BARUSELLI PS, MORENO D, CUTAIA L, CACCIA M, TRIBULO R, TRIBULO H, MAPLETOFT RJ.** 2002. The control of follicular wave development for self-pointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology*, 57: 53-72.
- COSTA EP, MARQUES PAF, FERNANDES CAC, MACEDO GG, SANTOS GM, ALMEIDA NETO JRM, PEREIRA ECM.** 2011. Uso da rbST no dia do estro em receptoras de embrião bovino criopreservados. *Ciência Animal Brasileira*, 12(4): 712-717.
- DUFFY P, CROWE MM, AUSTIN EJ, MIHM M, BOLAND MP, ROCHE JF.** 2004. The effect of eCG or estradiol at or after norgestomet removal on follicular dynamics, estrus and ovulation in early post-partum beef cows nursing calves. *Theriogenology*, 61: 725-734.
- FERNANDES CAC.** 1999. Inovulação não cirúrgica e taxa de gestação de receptoras de embrião. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 51: 263-266.
- FUCK EJ, MORAES GV, MARTINS EM, FALCÃO AJS, RODRIGUES CM, CARDOZO MR, BARROS CM.** 2002. Uso da gonadotrofina coriônica equina em receptoras de embrião para avaliar o incremento da progesterona endógena no dia da inovulação e sua correlação com a taxa de prenhez. *Acta Scientiarum*, 24(4): 1119-1126.
- KENT JT.** 1993. *Filosofia Homeopática*. Curitiba: Editorial Nova Época.
- KUMAR H, SRIVASTAVA SK, YADAV MC, VARSHNEY JP.** 2004. Management of postpartum anoestrus in dairy animals with a homeopathic combination remedy. *Indian Journal of Animal Sciences*, 74: 739-740.

- LEAL LS, OBA E, FERNANDES CAC, SÁ FILHO OG.** 2009. Avaliação do corpo lúteo, contratilidade uterina e concentrações plasmáticas de progesterona e estradiol em receptoras de embriões bovinos. *Ciência Animal Brasileira*, 10(1): 174-183.
- LOPES AC.** 2006. Diagnóstico e Tratamento. Disponível em: <<http://books.google.com.br/books?id=l2RzNWwHJTMC&pg=PA419&dq=complexismo+Homeopatia&hl=ptBR&sa=X&ei=JV4TT4WrGouutwf50pH0AQ&ved=0CEcQ6AEwAA#v=onepage&q=complexismo%20Homeopatia&f=false>>. Acesso em: 06/10/2012.
- MARQUES MO, ARRUDA RP, MADUREIRA EH, OLIVEIRA CA, BARUSELLI PS.** 2002. Efeito da cavidade do corpo lúteo na concentração plasmática de progesterona em novilhas *Bos taurus* x *Bos indicus* receptoras de embrião. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 26: 238-240.
- MONTEIRO CRM, PERRI SHV, CARVALHAL R, CARVALHO RG.** 2008. Estudo morfológico comparativo dos ovários de vacas e novilhas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*). *Ars Veterinaria*, 24(2): 122-126.
- MOREIRA SNT, LIMA JG, SOUSA MBC, AZEVEDO GD.** 2005. Estresse e função reprodutiva feminina. *Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil*, 5(1): 119-125.
- NASCIMENTO AA, PINHEIRO NL, SALES A, VIANA JHM.** 2003. Correlação morfométrica do ovário de fêmeas bovinas em diferentes estádios reprodutivos. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 40: 126-132.
- NOGUEIRA MFG, MELO DS, CARVALHO LM, FUCK EJ, TRINCA LA, BARROS CM.** 2004. Do high progesterone concentration decrease pregnancy rates in embryo recipients synchronized with PGF2 α and eCG? *Theriogenology*, 61: 1283-90.
- NOGUEIRA E, CARDOSO GS, MARQUES JUNIOR HR, DIAS AM, ITAVO LCV, BORGES JC.** 2012. Effect of breed and corpus luteum on pregnancy rate of bovine embryo recipients. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41(9): 2129-2133.
- OYUEDA LA, JIMENEZ C.** 2010. Factores que afectan la tasa de preñes em programas de transferencia de embriones. *Revista de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, 57: 191-200.
- RAJKUMAR R, SRIVASTAVA SK, YADAV MC, VARSHNEY VP, VARSHNEY JP, KUMAR H.** 2006. Effect of a Homeopathic complex on oestrus induction and hormonal profile in anoestrus cows. *Homeopathy*, 95: 131-135.
- REIS EL, MARQUES MO, CARVALHO NAT, NASSER LF, COSTA NETO WP, BARUSELLI PS.** 2004. Aumento da taxa de concepção em receptoras de embrião bovino com maiores concentrações plasmáticas de progesterona no dia da inovulação. *Acta Scientiae Veterinariae*, 32(supl).
- RIBEIRO FILHO A.** 1995. Repertório de sintomas homeopáticos. São Paulo-SP: Editora Robe, pp.1582-83.
- RODRIGUES AA, CRUZ GM, ALENCAR MM, BARBOSA RT, CORREA LA, OLIVEIRA GP.** 2001. Desempenho de novilhas de diferentes grupos genéticos, suplementadas ou não, em pastagens rotacionadas de *coastcross*. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPPSE/13852/1/PROCIAAR2001.00139PDF>. Acesso em: 17/10/2012.
- VALENTIN R, MARQUES MO, CREPALDI GA, BARUSELLI PS.** 2008. Efeito do tratamento com FSH na retirada do dispositivo intravaginal de progesterona sobre a taxa de prenhez de primíparas Nelore inseminadas em tempo fixo. In: 36 REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 2008, Guarujá: SBTE, p.597 (supl. 2).
- VIANA JHM, SIQUEIRA LGB, PALHÃO MP CAMARGO SA.** 2010. Use of in vitro Fertilization Technique in the Last Decade and its Effect on Brazilian Embryo Industry and Animal Production. *Acta Scientiae Veterinariae*, 38(2): 661-674.

VIJNOVSKY B. 1992. Tratado de Matéria Medica Homeopatica III. Buenos Aires, pp. 422-437.

Produção ovocitária e embrionária de doadoras da raça Nelore tratadas com um complexo homeopático

Oocytes and embryonary production of Nelore donors treated with a homeopathic complex

Resumo

Uma estratégia ainda pouco explorada é o uso da homeopatia nos programas de produção *in vitro* de embriões (PIV) como terapia alternativa para melhorar o resultado final. O objetivo do trabalho foi avaliar o impacto do complexo homeopático *Pulsatilla nigricans* 12 CH e *Apis mellifera* 6 CH sobre as taxas de recuperação de ovócito, clivagem, produção de embriões e prenhez de doadoras Nelore. Utilizou-se sete doadoras de ovócito pluríparas, com idade média de seis anos. As fêmeas foram submetidas a três tratamentos, em que todos os animais (n=7 doadoras) passaram por todos os tratamentos (Controle, Veículo e Homeopatia). Avaliou-se a produção e a qualidade ovocitária e embrionária das doadoras, além da taxa de prenhez das receptoras inovuladas com os embriões produzidos. Os resultados demonstraram uma produção média de $20,14 \pm 3,15$ ovócitos viáveis e $44,31 \pm 4,12\%$ de embriões viáveis. Não houve diferença significativa para as variáveis estudadas. O composto homeopático estudado não melhorou a eficiência reprodutiva das doadoras de ovócito da raça Nelore.

Palavras Chaves: bovino, doadoras, embriões, reprodução animal, terapias alternativas

Abstract

A strategy yet little explored is to use homeopathy in PIV programs as an alternative therapy to improve the outcome. The objective of this study was to evaluate the impact of homeopathic complex *Pulsatilla nigricans* 12 CH and 6 CH *Apis mellifera* on reproductive performance of Nelore in ET programs. The study involved seven pluriparous oocyte donors with an average age of six years. Females were submitted to three treatments, wherein all

animals (n = 7 donors) will pass through all treatments (Control, Vehicle and Homeopathy). It's registered the production and quality of the oocyte and embryo donors, beyond the pregnancy rate of anovulatory recipients with embryos produced. The mean results exhibit an average production of viable oocytes $20,14 \pm 3,15$. For production of viable embryos, the rate was $44,31 \pm 4,12\%$. There was no significant effect of treatment on these variables. The homeopathic compound studied did not improve the reproductive performance of donors of oocyte Nelore.

Keywords: cattle, embryo, donors, animal reproduction, alternative therapies

Introdução

A produção brasileira de embriões bovinos pelas técnicas de transferência de embriões (TE) e pela produção *in vitro* de embriões (PIV), alcançou valores próximos a 300 mil embriões em 2009 (Viana et al., 2010). As duas biotecnologias possibilitam o aumento nos índices reprodutivos das fêmeas bovinas proporcionando uma seleção mais intensa e rápida (Oyueda & Jimenez, 2010).

Os resultados consolidados de quatro empresas brasileiras no período de um ano revelam os seguintes valores médios de produção: 19,9 ovócitos recuperados por aspiração, 35,4% de embriões produzidos e 38,5% de taxa de prenhez (Viana et al., 2010).

Apesar de todas as pesquisas já desenvolvidas e o progresso conseguido com a PIV, os resultados médios de produção de embriões transferíveis ainda são baixos (Pivato et al., 2000). A maior limitação da PIV na produção animal, principalmente em bovinos, é a inconsistência dos resultados (Gonçalves et al., 2008). Uma estratégia ainda pouco explorada é o uso da homeopatia nos programas reprodutivos como terapia alternativa para melhorar o resultado final. Esta é uma ciência da saúde desenvolvida por Christian Friedrich Samuel Hahnemann, que foi o pioneiro a empregá-la na Medicina Veterinária (Kent, 1993).

O objetivo do trabalho foi avaliar o impacto do complexo homeopático *Pulsatilla nigricans* 12 CH e *Apis mellifera* 6 CH sobre as taxas de recuperação de ovócito, clivagem, produção de embriões e prenhez de doadoras Nelore.

Materiais e Métodos

Utilizou-se sete doadoras de ovócito da raça Nelore (*Bos indicus*) pluríparas, com idade média de seis anos. Os animais foram mantidos em pastagem de *Brachiaria sp.* Suplementadas diariamente com sal mineral proteico, 300 g/animal/dia com 25% de PB.

Todos os animais (n=7 doadoras) passaram por todos os tratamentos, assim dispostos:

- C- Controle, animal suplementado apenas com mineral
- V- Veículo (carbonato de cálcio)
- H- 10 gramas/animal/dia do núcleo homeopático

A distribuição dos tratamentos foi sequencial em que, C, V e H, para que não houvesse interferência residual do composto homeopático, sendo que cada animal consumia o produto 20 dias antes da aspiração. O núcleo homeopático adicionado à mistura mineral era composto de *Pulsatilla nigricans* 12 CH, *Apis mellifera* 6 CH e carbonato de cálcio (CaCO_3 proveniente de rochas como os calcários), individualmente.

Os produtos escolhidos para elaboração do complexo baseou-se no Tratado de Matéria Médica Homeopática III (Vijnovsky, 1992). A utilização de mais de um componente homeopático no mesmo produto seguiu a escola homeopática do complexismo a qual prescreve dois ou mais princípios (Lopes, 2006), e o princípio do *Genius epidemius* criado por Hahnemann para tratar um grupo de animais como um único indivíduo (Arenales, 2002).

Para a recuperação dos ovócitos foi usada a aspiração folicular transvaginal guiada por ultrassonografia (Rodrigues & Garcia, 2000).

A Figura 1 mostra como foram distribuídos os tratamentos das doadoras e o momento das aspirações.

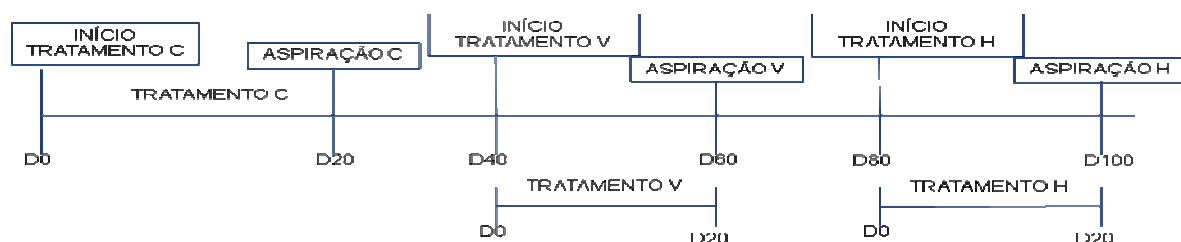


Figura 1. Desenho experimental adotado em doadoras Nelore de ovócitos submetidas ao tratamento homeopático. C= controle, V= veículo (CaCO_3) e H= homeopatia.

Após cada aspiração classificou-se os ovócitos de acordo com sua qualidade. Os complexos *cumulus-oócito* (COC's) foram contados e separados em três categorias, de acordo com as características de compactação, número de camadas e transparência das células do *cumulus* e homogeneidade e transparência do ooplasma, utilizando o sistema de classificação descrito por Leibfried e First (1979). Consideraram-se viáveis os COC's classificados de I a III, sendo os COC's de classe IV descartados.

Sequencialmente a classificação dos ovócitos, encaminhou-se o material ao laboratório de fertilização *in vitro* (FIV), onde passaram pelo processo completo de PIV. No D7 após a fertilização os embriões eram classificados, segundo a Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (IETS). Todos os embriões utilizados no experimento foram produzidos pela Embriza Biotecnologia Ltda., adotando-se a mesma metodologia.

Os embriões produzidos e classificados como blastocisto inicial (Bi), blastocisto (Bl) e blastocisto expandido (Bx), com grau de qualidade variando de I a III, foram transferidos à fresco para receptoras cruzadas (*Bos taurus* x *Bos indicus*), as quais apresentaram sincronia de até 24 horas com a FIV. Foi utilizado protocolo de sincronização comercial e as inovulações realizadas pelo mesmo técnico. Todas as receptoras passaram por diagnóstico de gestação (DG), através da utilização da ultrassonografia transretal 45 dias após FIV dos ovócitos.

O sêmen utilizado foi de um único reprodutor e da mesma partida, durante cada ciclo de tratamento e aspirações, para todas as doadoras, de modo a controlar o efeito touro/partida sobre os resultados de fertilidade do processo.

A análise estatística foi realizada por meio de análise de variância, considerando-se como variáveis independentes os tratamentos (TMT). As variáveis dependentes, classificação dos ovócitos quanto sua qualidade (GI, GII, GIII), ovócitos viáveis (Vv), ovócitos desnudos (SC), ovócitos expandido (EXP), ovócitos degenerado (DEG), ovócitos atrésicos (ATR), classificação dos embriões de acordo com seu grau de desenvolvimento (Bi, Bl, Bx), embriões clivados (CLV), taxa de produção de embriões viáveis (embvv), embriões transferidos (Transf), prenhez de acordo com o desenvolvimento embrionário (PBi, PBl e PBx) e taxa de gestação geral (Txdg). As médias comparadas, considerando-se a diferença significativa em nível de 5%, utilizando-se o teste t de *Student* para médias ajustadas. A CLV foi calculado pela porcentagem de ovócitos clivados sobre os Vv.

Resultados

Quando realizada a comparação das médias entre os tratamentos não foram encontradas diferenças significativas entre os mesmos, para as variáveis estudadas, tanto para classificação dos ovócitos (Tabela 1) quanto para resultados relativos à produção de embriões e taxa de prenhez (Tabela 2).

Tabela 1. Resultados das aspirações foliculares e classificação dos ovócitos, por tratamento de sete doadoras bovinas da raça Nelore (média $\pm$ erro padrão, n)

	Controle (C)	Veículo (V)	Homeopatia (H)	Média Geral
GI (n)	2.85 $\pm$ 0.70 ^a (20)	1.85 $\pm$ 1.07 ^a (13)	3.57 $\pm$ 1.04 ^a (25)	2.76 $\pm$ 0.54 (58)
GII (n)	9.71 $\pm$ 2.18 ^a (68)	5.71 $\pm$ 1.67 ^a (40)	9.28 $\pm$ 2.88 ^a (65)	8.23 $\pm$ 1.32 (173)
GIII (n)	6.57 $\pm$ 1.86 ^a (46)	12.85 $\pm$ 3.98 ^a (90)	8.00 $\pm$ 3.07 ^a (56)	9.14 $\pm$ 1.80 (192)
SC (n)	4.00 $\pm$ 1.61 ^a (28)	3.57 $\pm$ 0.94 ^a (25)	3.85 $\pm$ 1.20 ^a (27)	3.80 $\pm$ 0.70 (80)
EXP (n)	0 $\pm$ 0 ^a (0)	0.42 $\pm$ 0.29 ^a (3)	0.14 $\pm$ 0.14 ^a (1)	0.19 $\pm$ 0.11 (4)
DEG (n)	2.85 $\pm$ 0.63 ^a (20)	7.00 $\pm$ 3.13 ^a (49)	3.85 $\pm$ 1.14 ^a (27)	4.57 $\pm$ 1.14 (96)
ATR (n)	0.57 $\pm$ 0.42 ^a (4)	1.71 $\pm$ 1.24 ^a (12)	1.00 $\pm$ 0.69 ^a (7)	1.09 $\pm$ 0.48 (23)
Vv (n)	19.14 $\pm$ 4.54 ^a (134)	20.42 $\pm$ 6.02 ^a (143)	20.85 $\pm$ 6.50 ^a (146)	20.14 $\pm$ 3.15 (423)

P>0,05 para teste de t de *Student*.

GI- ovócitos Grau I; GII- ovócitos Grau II; GIII- ovócitos Grau III; SC- ovócitos desnudos; EXP- ovócitos expandidos; DEG- ovócitos degenerados; ATR- ovócitos atresicos; Vv- ovócitos viáveis.

Tabela 2. Produção média de embriões e taxa de prenhez, por tratamento de doadoras bovinas da raça Nelore (média $\pm$ erro padrão, n)

	Controle (C)	Veículo (V)	Homeopatia (H)	Média Geral
CLV (%)	17.28 $\pm$ 4.60 ^a (121)	19.57 $\pm$ 6.12 ^a (137)	18.28 $\pm$ 6.94 ^a (128)	18.38 $\pm$ 3.27 (386)
embvv (%)	44.76 $\pm$ 6.56 ^a	46.41 $\pm$ 5.72 ^a	41.77 $\pm$ 9.61 ^a	44.31 $\pm$ 4.12
Transf (n)	8.71 $\pm$ 2.41 ^a (61)	9.71 $\pm$ 3.37 ^a (68)	9.28 $\pm$ 3.55 ^a (65)	9.23 $\pm$ 1.73 (194)
BI (n)	1.85 $\pm$ 0.63 ^a (13)	0.85 $\pm$ 0.34 ^a (6)	0.71 $\pm$ 0.47 ^a (5)	1.14 $\pm$ 0.29 (24)
PBI (n)	0.85 $\pm$ 0.34 ^a (6)	0.71 $\pm$ 0.35 ^a (5)	0.42 $\pm$ 0.29 ^a (3)	0.66 $\pm$ 0.18 (14)
BL (n)	1.85 $\pm$ 0.59 ^a (13)	3.00 $\pm$ 1.46 ^a (21)	2.42 $\pm$ 1.08 ^a (17)	2.42 $\pm$ 0.61 (51)
PBL (n)	0.57 $\pm$ 0.29 ^a (4)	1.28 $\pm$ 0.68 ^a (9)	0.71 $\pm$ 0.42 ^a (5)	0.85 $\pm$ 0.27 (18)
BX (n)	5.00 $\pm$ 1.64 ^a (35)	5.85 $\pm$ 2.25 ^a (41)	6.00 $\pm$ 2.16 ^a (42)	5.61 $\pm$ 1.12 (118)
PBX (n)	2.57 $\pm$ 0.81 ^a (18)	2.42 $\pm$ 0.75 ^a (17)	3.28 $\pm$ 1.52 ^a (23)	2.76 $\pm$ 0.60 (58)
Txdg (%)	52.32 $\pm$ 9.63 ^a	44.96 $\pm$ 9.93 ^a	39.95 $\pm$ 7.62 ^a	45.74 $\pm$ 5.12

P>0,05 para teste de t de Student.

CLV- número de embriões clivados; embvv- taxa de embriões viáveis; Transf- número de embriões transferidos; Bi- número de Blastocisto Inicial no D8; PBI- número de vacas prenhes de Blastocistos Inicial; BL- número de Blastocisto no D8; PBL- número de vacas prenhes de Blastocistos; Bx- número de Blastocisto Expandidos no D8; PBX- número de vacas prenhes de Blastocistos Expandidos.

Discussão

A transferência de embriões, o estágio de desenvolvimento embrionário, a qualidade e a origem embrionária são fatores que podem interferir na taxa de prenhez de receptoras e nos índices de eficiência dos programas de reprodução assistida (Jones & Lamb, 2008).

A PIV apresenta diversos fatores que podem influenciar muito os resultados finais como por exemplo, o efeito doadora, touro e a interação entre os dois (Watanabe et al., 2008), variando desde o número de folículos aspirados e ovócitos recuperados, taxa de clivagem e produção de blastocistos, até a taxa de prenhez (Watanabe et al., 2001). Os resultados médios apresentaram uma produção de 20,14 $\pm$ 3,15 ovócitos viáveis (Vv) por tratamento e uma taxa de 44,31 $\pm$ 4,12% embriões viáveis.

A taxa de prenhez por tratamento foi de 39,95 $\pm$ 7,62% para H, 44,96 $\pm$ 9,93% para V e 52,32 $\pm$ 9,63% para C, porém não se observou diferenças significativas, com taxa de gestação média de 45,74 $\pm$ 5,12%.

Os dados encontrados no trabalho, de 9,23 embriões viáveis/doadora/aspiração, estão dentro dos parâmetros médios citados por Beltrame et al. (2010), que utilizaram dados de 71.602 resultados de OPU da raça Nelore e demonstraram que 35,62% das doadoras

produzem de 1 a 3 embriões viáveis/aspiração e 41,42% das vezes são produzidos de 4 a 10 embriões viáveis/aspiração.

Existem várias alternativas para tentar melhorar a eficiência e os resultados da PIV, porém ainda não foi possível estabelecer uma metodologia completa que seja compatível com uma eficaz e constante produção *in vitro* de embriões (Pfeifer et al., 2008). Uma das grandes vantagens da PIV é a de não haver necessidade de utilização de tratamentos hormonais para recuperação de ovócitos (Bueno e Beltrame, 2008).

A utilização de compostos homeopáticos pode ser uma alternativa, porém cada componente ainda precisa ser mais avaliado por estudos científicos.

No presente trabalho o composto utilizado não teve efeito sobre nenhuma das características estudadas, porém os componentes do complexo homeopático não podem ser descartados, pois existem várias diluições possíveis de serem realizadas e formas distintas de administração não testadas neste trabalho. Tanto a *Pulsatilla nigricans* quanto a *Apis mellifera* têm sido utilizadas para melhorar respostas reprodutivas em vacas, pois o Tratado de Matéria Médica Homeopática III (Vijnovsky, 1992) as indicam como promotoras de melhoras no quadro clínico reprodutivo feminino.

Em 127 (35%) vacas de corte e leite das 353 fêmeas utilizadas no experimento de Silva et al. (2001) a utilização de *Pulsatilla nigricans* possibilitou uma redução no puerpério.

No tratamento de búfalas e vacas com medicamentos homeopatizados (*Calcarea phosphorica*, *Aletris farinosa*, *Pulsatilla nigricans*, *Aurum muriaticum natronatum*, *Seppia* e *Phosphorus* todos na potência de 30) Kumar et al. (2004) obtiveram 50% das fêmeas bubalinas e 68% bovinas manifestando estro. Utilizando o mesmo composto homeopático na tentativa de minimizar e tratar o anestro em vacas, Rajkumar et al. (2006) verificaram a eficiência do medicamento por apresentar uma indução de estro em 100% das fêmeas, além de demonstrar um aumento significativo na concentração de estradiol no grupo tratado.

Conclusões

O composto homeopático, *Pulsatilla nigricans* 12 CH, *Apis mellifera* 6 CH e CaCO₃, não aumentou a eficiência da taxa de recuperação de ovócitos, produção de embriões viáveis e taxa de prenhez do programa de PIV de doadoras da raça Nelore, não melhorando sua fertilidade. Mais estudos com novas diluições e incorporação de novos compostos devem ser testados.

Comitê de Ética e Biossegurança

A manipulação dos animais durante a fase experimental foi realizada dentro de um projeto maior aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, intitulado “Utilização de homeopatia em biotécnicas da reprodução aplicadas a ruminantes”, sob número de protocolo 373/2011.

Agradecimentos

Os autores agradecem a empresa SIGO PROCEDIMENTOS HOMEOPÁTICOS Ltda. pelo apoio e fornecimento do produto homeopático, à FUNDECT/SEBRAE pelo apoio financeiro, à CAPES pela bolsa de estudo em nível de pós-graduação e aos acadêmicos estagiários e de iniciação científica.

Referência

- ARENALES MDC.** 2002. Homeopatia em gado de corte. I Conferência virtual global sobre produção orgânica de bovinos de corte – via internet, p. 1-11. Disponível em: <http://www.arenales.com.br/biblioteca/HOMEOPATIA_EM_GADO_DE_CORTE.pdf>. Acesso em: 15/07/2012.
- BELTRAME RT, QUIRINO CR, BARIONI LG, DIAS AJB, SOUZA PM.** 2010. Análise da produção de embriões na fertilização *in vitro* e transferência de embriões para doadoras Nelore. *Ciência Animal Brasileira*, 11(1): 17-23.
- BUENO AP, BELTRAME MP.** 2008. Produção *in vitro* de embriões bovinos. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, 4(11). Disponível em: <http://www.revista.inf.br/veterinaria11/revisao/edic-vi-n11-RL83.pdf>. Acesso em: 20/08/2012.

- GONÇALVES PBD, OLIVEIRA MAL, MAZZALIRA A, MONTAGNER MM, VISINTIN JÁ, COSTA LFS.** 2008. Produção *In Vitro* de Embriões. In: GONÇALVES PBD, FIGUEIREDO JR, FREITAS VJF. Biotécnicas aplicadas à reprodução animal. São Paulo: Roca, 2008, pp. 261-291.
- JONES A, LAMB G.** 2008. Nutrition, synchronization, and management of beef embryo transfer recipients. *Theriogenology*, 69: 107-115.
- KENT JT.** 1993. Filosofia Homeopática. Curitiba: Editorial Nova Época.
- KUMAR H, SRIVASTAVA SK, YADAV MC, VARSHNEY JP.** 2004. Management of postpartum anoestrus in dairy animals with a homeopathic combination remedy. *Indian Journal of Animal Science*, 74: 739-740.
- LEIBFRIED-RUTLEDGE ML, FIRST NL.** 1979. Characterization of bovine follicular oocytes 496 and their ability to mature in vitro. *Journal of Animal Science*, 48: 76-86.
- LOPES AC.** 2006. Diagnóstico e Tratamento. Disponível em: <http://books.google.com.br/books?id=l2RzNWwHJTMc&pg=PA419&dq=complexismo+Homeopatia&hl=ptBR&sa=X&ei=JV4TT4WrGouutwf50pH0AQ&ved=0CEcQ6AEwAA#v=onepage&q=complexismo%20Homeopatia&f=false>. Acesso em: 06/10/2012.
- OYUEDA LA, JIMENEZ C.** 2010. Factores que afectan la tasa de preñes em programas de transferencia de embriones. *Revista de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, 57: 191-200.
- PFEIFER LFM, SCHNEIDER A, CORREA MN.** 2008. Factores that affect the in vitro production of bovine embryos: A review. *Revista Colombiana de Ciencia Pecuaria*, 21: 109-120.
- PIVATO I, SOUZA RV, PEREIRA DC, DESCHAMPS JC, DODE MAN, RUMPF R.** 2000. Influência de diferentes tratamentos hormonais em doadoras de ovócito na relação macho:fêmea de embriões bovinos produzidos *in vitro*. *Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS*, 28(1): 315.
- RAJKUMAR R, SRIVASTAVA SK, YADAV MC, VARSHNEY VP, VARSHNEY JP, KUMAR H.** 2006. Effect of a homeopathic complex on oestrus induction and hormonal profile in anoestrus cows. *Homeopathy*, 95: 131-135.
- RODRIGUES CFM, GARCIA JM.** 2000. Fecundação in vitro em bovinos: aplicação comercial. *Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS Suplemento*, 28: 186-187.
- SILVA CTL, MCMANNUS C, RUNPE R.** 2001. Efeito da Pulsatilla nigricans aplicada em um ponto de acupuntura na redução do puerpério bovino. *Homeopatia Brasileira*, 7(1): 13-21.
- STRINGFELLOW DA, SEIDEL SM.** 1998. Manual da sociedade internacional de transferência de embriões. IETS, p.112-113.
- VIANA JHM, SIQUEIRA LGB, PALHÃO MP, CAMARGO SA.** 2010. Use of in vitro fertilization technique in the last decade and its effect on brazilian embryo industry and animal production. *Acta Scientiae Veterinariae*, 38(2): 661-674.
- VIJNOVSKY B.** 1992. Tratado de Matéria Medica Homeopática III. Buenos Aires, pp. 422-437.
- WATANABE YF, DAYAN A, MEIRELLES FV, WATANABE MR.** 2001. Pre and pos implantation development of IVP bovine embryos. *Theriogenology*, 55: 441.
- WATANABE YF, ACCORSI MF, WATANABE MR, DAYAN A, MEIRELLES FV.** 2008. Aspectos comercial de embriões bovinos produzidos *in vitro*. In: GONÇALVES PBD, FIGUEIREDO JR, FREITAS VJF. Biotécnicas aplicadas à reprodução animal. São Paulo: Roca, pp. 293-303.