

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

GRACIELA LUCCA BRACCINI

Resposta morfofuncional em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)  
através do uso do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>

Maringá  
2011

GRACIELA LUCCA BRACCINI

Resposta morfofuncional em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)  
através do uso do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia do Departamento de Zootecnia, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

Área de concentração: Produção Animal

Orientador: Prof. Dr. Lauro Daniel Vargas Mendez

Maringá  
2011

"Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)"  
(Biblioteca Setorial - UEM. Nupélia, Maringá, PR, Brasil)

B796r Braccini, Graciela Lucca, 1969-  
Resposta morfofuncional em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) através do uso do Núcleo Homeopático Homeopatila 100® / Graciela Lucca Braccini. -- Maringá, 2011.  
103 f. : il. (algumas color.).  
Tese (doutorado em Zootecnia)--Universidade Estadual de Maringá, Dep. de Zootecnia, 2011.  
Orientador: Prof. Dr. Lauro Daniel Mendez Vargas.  
Coorientadora: Prof.ª Dr.ª Ângela Teresa Silva e Souza.  
1. *Oreochromis niloticus* (Pisces, Cichlidae) "tilápia do Nilo" - Ectoparasitos - Morfofuncional de fígado e brânquias - Piscicultura. 2. *Oreochromis niloticus* (Pisces, Cichlidae) "tilápia do Nilo" - Homeopatia populacional - Piscicultura. I. Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

CDD 22. ed. - 639.377417857  
NBR/CIP - 12899 AACR/2

# FOLHA DE APROVAÇÃO

GRACIELA LUCCA BRACCINI

Resposta morfofuncional em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)  
através do uso do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia do Departamento de Zootecnia, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Zootecnia pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

## COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Lauro Daniel Vargas Mendez  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia / Universidade Estadual de Maringá  
(Presidente)

Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia / Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dr. Luiz Alexandre Filho  
Universidade Estadual de Maringá / Campus Regional do Noroeste. Diamante do Norte

Prof. Dr. Fabiana Cavichiolo  
Universidade Federal da Grande Dourados - Dourados, MS

Prof. Dr. Márcia Ishikawa  
Embrapa Agropecuária Oeste - Dourados, MS

Aprovada em: 12 de julho de 2011.

Local de defesa: Anfiteatro da Zootecnia, bloco J45, *campus* da Universidade Estadual de Maringá.

## BIOGRAFIA DO AUTOR

GRACIELA LUCCA BRACCINI, filha de Danilo Bracini e Glaci Lucca Braccini, nasceu em Santo Ângelo, Rio Grande do Sul, no dia 05 de maio de 1969.

Em dezembro de 1990, concluiu o curso de Medicina Veterinária pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul-Campus Uruguaiana.

De setembro de 1991 a setembro de 1992 concluiu a primeira especialização na área de parasitologia veterinária, intitulada “Aspectos Epidemiológicos das Endoparasitoses Gastrointestinais de Equinos”, pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul- RS

De outubro de 1992 a março de 1993, concluiu a segunda especialização em parasitologia veterinária, intitulada “Identificação de parasitas localizados nos capilares e arteríolas de bovinos do Estado do Rio Grande do Sul”, pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul- RS

Em março de 2001, foi contratada pela Empresa Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – Campus Uruguaiana/RS, onde exerceu a função de Médica Veterinária do Hospital Veterinário da PUC – Campus Uruguaiana/RS.

Em março de 2005, iniciou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em Mestrado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de piscicultura.

Em abril de 2007, submeteu-se à banca examinadora para defesa da Dissertação de Mestrado, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de sanidade em piscicultura.

No dia 22 de março de 2011, submeteu-se à banca para defesa da Qualificação, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de sanidade em piscicultura.

No dia 12 de julho de 2011, submeteu-se à banca para defesa da Tese para obtenção do título de Doutora em Zootecnia, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá.

EU

Já perdoei erros quase imperdoáveis,  
tentei substituir pessoas insubstituíveis e esquecer pessoas inesquecíveis.  
Já fiz coisas por impulso.  
Já me decepcionei com pessoas quando nunca pensei me decepcionar;  
mas também decepcionei alguém

Já abracei para proteger.  
Já dei risada quando não podia.  
Fiz amigos eternos.  
Amei e fui amado, mas  
também já fui rejeitado.  
Fui amado e não amei.

Já gritei e pulei de tanta felicidade.  
Já vivi de amor e fiz juras eternas.  
“Quebrei a cara”...Muitas vezes!

Já chorei ouvindo música e vendo fotos.  
Já liguei só para escutar uma voz:  
Apaixonei-me por um sorriso.

Já pensei que fosse morrer de tanta saudade e tive medo de perder  
Alguém especial...(e acabei perdendo)!  
Mas vivi!  
E ainda vivo!  
Não passo pela vida...  
Bom mesmo é ir à luta com determinação,  
Abraçar a vida e viver com paixão.  
Perder com classe e vencer com ousadia, porque o mundo pertence a  
Quem se atreve, e a vida é MUITO curta para ser insignificante.

Charlie Chaplin

A

DEUS, pelo dom da vida,  
do espírito,  
pelo livre arbítrio  
e pela presença em minha vida, SEMPRE.

Ao

meu pai e à minha mãe,  
que são os maiores incentivadores,  
e alicerce em minha caminhada.  
Um exemplo de humildade e amor incondicional.

Aos

meus filhos Ney, Gabriela e Guilherme,  
pela alegria de estarmos sempre juntos  
e por serem a razão da minha vida, caminhada e existência.  
São meus presentes de Deus...

Ao

meu Amor João Fábio,  
pelo apoio, dedicação, ajuda, paciência, amizade e amor compartilhado.

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

A Universidade Estadual de Maringá, por ter-me possibilitado desenvolver este trabalho.

Ao Prof. Dr. Lauro Vargas, pela incansável e dedicada orientação, ensinamentos, estímulo e amizade.

A Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ângela Teresa Silva e Souza, pela grandiosa orientação, conhecimentos transmitidos, empenho e amizade.

Ao Departamento de Zootecnia, UEM, em especial o Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro, que muito contribuiu para a realização deste curso, através de seus conhecimentos, colaboração e amizade.

A Médica Veterinária Dr.<sup>a</sup> Lucienne Garcia Pretto Giordano, pela enorme colaboração durante o experimento, sempre incansável e com muita alegria e bom humor.

A Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Raquel Marçal Natali, pela inestimável ajuda, ensinamentos, dedicação, paciência, disposição e amizade.

Ao Prof. Dr. “Carlão”, pela análise dos dados estatísticos, pelo profissionalismo e amizade.

Aos profissionais e amigos da biblioteca do Nupélia, Salete e João Fábio pelo inestimável auxílio prestado.

À Maria Salete Ribelatto Arita, “minha irmã mais velha”, pelos conselhos, desabafos, choros e risadas, força, sabedoria, espiritualidade e amizade.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da UEM, pelos valiosos ensinamentos.

Aos funcionários da secretaria do PPZ, Denílson e Rose, pelo empenho e serviços prestados.

Aos funcionários da secretaria do DZO, Francisco e Bete.

Aos funcionários do Laboratório de Análise de Alimentos, Creuza, Cleuza e Augusto.

A Maria Euride e Maria dos Anjos, técnicas do Laboratório de Histologia do Curso de Biologia da UEM, pelo

A Zeni Maria Barbosa, técnica do Laboratório de Reprodução e Parasitologia Animal do Curso de Zootecnia da UEM, pelo auxílio, ensinamentos, paciência e amizade.

A Estação Experimental da UEM-CODAPAR, pelo fornecimento de seus animais e de suas instalações para a execução deste trabalho.

Aos funcionários do setor de piscicultura, Zé Geraldo, Vitor e Cleiton, que muito me ajudaram durante todo o experimento, sempre dedicados, dispostos e prestativos.

Aos amigos e colegas de curso de Zootecnia, em especial: Mara Pedro, Rafael Riggo, Ricardo Hideo, Daniel Antunes, Melanie Digmaier (Doralice), Marivone Zabott, Jayme Povh, Nelson Lopera, Marco Antônio Zanoni, Leandro Godoy, Wallacy, Luiz Alexandre, Marcela Mataveli, Jerri Cuque, Ana Paula Andretto, Mariana Fusinato, Eliany Batista, Janaina Mello, Joel Santos Filho e aos estagiários... Pela amizade, apoio e demonstração de companheirismo.

Aos novos colegas do Curso de Biologia da UEM. Aprendi muito com vocês...

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos concedida.

Aos meus tios e padrinhos Clóvis e Gladis, Délcio e Tânia, Elci, Hilda e primos, pelo carinho e amizade.

Ao meu grande amigo Saul M. Fagundes, pela cumplicidade, lealdade, por estar sempre presente nas horas boas e ruins e pela amizade incondicional.

Ao amigo Abaetê A. Bridi, essa pessoa incrível, adorável e de grande sabedoria, que foi meu grande incentivador na área da pesquisa.

Aos amigos do Rio Grande do Sul, Gisélida Baquini, Carla Michelena, Têre e Cris Braccini, Vanessa Carvalho, Jurema Depedrini, Saulo Tadeu L. P. Filho, Sandro Ferrão, entre outros, pelos conselhos, presença de espírito e dedicação, que consolidaram a nossa amizade.

Ao Ney Dri Henriques que, de certa forma, continuou contribuindo para a continuação dos meus estudos e pela sua amizade.

Ao Alessandro Braccini, por ter participado, inicialmente, na busca pelo meu ideal.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

## Resposta morfofuncional em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) através do uso do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>

### RESUMO

A pesquisa teve como propósito avaliar o efeito do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup> no desempenho, prevalência de ectoparasitos e análise morfológica hepática e branquial em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), linhagem GIFT. No início, aos 30 dias e no encerramento do experimento, foi estimado o desempenho, a prevalência de ectoparasitos, a categoria de infestação por tricodinídeo e a carga parasitária de Dactylogyridae em brânquias e tegumento em tilápias, através da utilização do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>, com quatro concentrações: T1 (controle): 20 mL de solução hidroalcóolica (álcool 30° GL), T2: 20 mL, T3: 40 mL e T4: 60 mL de *Homeopatila 100*<sup>®</sup> por kg de ração, com quatro repetições para cada tratamento totalizando 16 unidades experimentais, distribuídas aleatoriamente, na densidade de 40 peixes m<sup>-3</sup>. Os juvenis apresentaram peso e comprimento total médio inicial de 44,0 ± 7,9 g e 13,1 ± 0,8 cm, respectivamente, com maior prevalência para parasitismo misto (55,0%), Monogenoidea (38,0%), e Tricodinídeos (5,0%) Ao final do experimento, os valores dos parâmetros físicos e químicos da água estiveram dentro da normalidade e o peso e o comprimento total médio dos peixes de todos os tratamentos foram respectivamente: T1 (98,5 ± 22,9 g e 17,6 ± 2,8 cm), T2 (99,0 ± 21,7 g e 17,5 ± 2,0 cm). T3 (99,2 ± 16,1 g e 16,1 ± 0,9 cm) e T4 (98,9 ± 20,8 g e 20,8 ± 1,6 cm). Não foi observada diferença estatística (p<0,05), entre os tratamentos, em relação aos resultados de conversão alimentar aparente e sobrevivência. Entre a prevalência total final de ectoparasitos nos diferentes tratamentos homeopáticos, a Média da Categoria de Infestação por *Trichodina* e a Intensidade Média por Monogenoidea, tanto no tratamento controle como nos tratamentos homeopáticos, não foram verificadas diferenças estatísticas (p<0,05). Houve diferença significativa para o parasitismo misto, o qual apresentou resultado inferior no tratamento com *Homeopatila 100*<sup>®</sup> na concentração de 40mL por Kg de ração, porém com parasitismo elevado para Monogenoidea. Ao final do experimento foi analisada a morfologia hepática e branquial das tilápias alimentadas com o Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>. O fígado e os arcos branquiais de oito peixes por tratamento foram removidos, e submetidos a procedimentos histológicos padrão. Os fígados foram pesados, feito a média dos valores

da relação hepatosomática e seguiram para rotina histológica padrão para análise morfológica geral e determinação do número de hepatócitos por área, com a coloração HE e para a evidenciação do glicogênio intracelular foi utilizado uma técnica de histoquímica com Ácido Periódico de Schiff (PAS) + Hematoxilina. As brânquias foram coradas com HE, para análise morfológica e técnica histoquímica *Alcian Blue* + PAS para a evidenciação das células produtoras de mucinas neutras e mucinas ácidas. A RHS dos peixes tratados com *Homeopatila 100*<sup>®</sup> foi significativamente inferior ( $p < 0,05$ ), aos peixes do grupo controle (T1). Os melhores resultados encontrados no fígado e nas brânquias foram para os peixes tratados com Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup> na concentração de 40mL por quilo de ração (T3), em relação ao número de hepatócitos/mm<sup>2</sup>, para o comportamento do glicogênio intracelular (área ocupada por glicogênio), para os valores médios das alterações histológicas hiperplasia, fusão lamelar e telangectasia e para o percentual de células produtoras de mucinas neutras e ácidas ( $p < 0,05$ ). Concluiu-se que a *Homeopatila 100*<sup>®</sup> na concentração de 40mL por quilo de ração (T3), apresentou resultados satisfatórios para o desempenho e prevalência parasitária e contribuiu para melhor resposta morfofuncional do fígado e brânquias em juvenis de tilápias do Nilo.

**Palavras-chave:** Piscicultura. Tilapicultura. Homeopatia populacional. Ectoparasitos. Histopatologia.

## Morpho-functional response in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) with homeopathic nucleus *Homeopatila 100*<sup>®</sup>

### ABSTRACT

The effect of Homeopathic Nucleus *Homeopatila 100*<sup>®</sup> on the performance, ectoparasite prevalence, and morphological analysis of liver and gills of Nile tilapias (*Oreochromis niloticus*) of the GIFT strain is evaluated. Performance, ectoparasite prevalence and trichodinid infection category and Dactylogyridae parasite load in the tilapia's gills and skin were evaluated at the beginning, on the 30<sup>th</sup> day, and at the end of the experiment. The Homeopathic Nucleus *Homeopatila 100*<sup>®</sup> was employed at four concentrations: T1 (control): 20 mL of a hydro-alcohol solution (alcohol 30° GL), T2: 20 mL, T3: 40 mL and T4: 60 mL of *Homeopatila 100*<sup>®</sup> per kg of diet, with four repetitions in each treatment, in 16 randomly distributed experimental units, with a density of 40 fish.m<sup>-3</sup>. The weight and total initial average length of the juveniles were respectively 44.0 ± 7.9 g and 13.1 ± 0.8 cm. Mixed parasitism (55.0%), Monogenoidea (38.0%) and Trichodinids (5.0%) had the highest prevalence. At the end of the assay, the physical and chemical parameters of the water were normal and the fish weight and total average length in all treatments were: T1 (98.5 ± 22.9 g and 17.6 ± 2.8 cm), T2 (99.0 ± 21.7 g and 17.5 ± 2.0 cm), T3 (99.2 ± 16.1 g and 16.1 ± 0.9 cm) and T4 (98.9 ± 20.8 g and 20.8 ± 1.6 cm), respectively. No statistical differences (p≤0.05) with regard to results for apparent food conversion and survival were recorded among treatments. Further, no statistical difference (p≤0.05) occurred between the total final prevalence of ectoparasites in the different homeopathic treatments, Infestation Category Average by *Trichodina* and Average Intensity by Monogenoidea, in control and in homeopathic treatments. Although a significant difference occurred in mixed parasitism, with lower results for treatment with *Homeopatila 100*<sup>®</sup> at the concentration of 40 mL per kg of diet, high parasitism occurred in the case of Monogenoidea. The morphology of the liver and gills of Nile tilapias fed with the Homeopathic Nucleus *Homeopatila 100*<sup>®</sup> was evaluated at the end of the experiment. The liver and gill arches were removed from eight fish in each treatment and standard histological procedures were carried out. Liver samples were weighed and mean liver-body ratios were taken. Histological routine was undertaken for general morphology analysis and for the determination of the number of hepatocytes per area with Hematoxylin-Eosin staining. Schiff's Periodic Acid (PAS) + Hematoxylin histochemical technique was employed to detect intracellular glycogen.

Gills were stained with Hematoxylin-Eosin for morphological analysis and Alcian Blue + PAS histochemical technique was used to register neutral and acid mucin-producing cells. RHS of *Homeopatila 100*<sup>®</sup>-treated fish was significantly lower ( $p \leq 0.05$ ) than that of fish in the control group (T1). Best results in liver and gills were recorded in fish treated with Homeopathic Nucleus *Homeopatila 100*<sup>®</sup> at the concentration of 40 mL per kg of diet (T3) when number of hepatocytes/mm<sup>2</sup>, behavior of intracellular glycogen (glycogen-occupied area), histological changes average rates (hyperplasia, lamellar fusion and telangiectasia) and percentage of neutral and acid mucin-producing cells were taken into account ( $p < 0.05$ ). *Homeopatila 100*<sup>®</sup> at 40 mL concentration per kg of diet (T3) provided satisfactory results for the performance and parasite prevalence and contributed towards the best morpho-functional response of the liver and gills of juvenile tilapias.

**Keywords:** Fish culture. Tilapia culture. Population homeopathy. Ectoparasites. Histopathology.

## LISTA DE TABELAS

### **3 EFEITO DO NÚCLEO HOMEOPÁTICO *HOMEOPATILA 100*<sup>®</sup> NO DESEMPENHO E NA PREVALÊNCIA DE ECTOPARASITOS EM TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)**

|   |    |
|---|----|
| Tabela 1 - Composição do núcleo homeopático <i>Homeopatila 100</i> <sup>®</sup> .....   | 54 |
| Tabela 2 - Composição percentual e bromatológica da ração comercial 2,5mm com 42% de PB e da ração comercial 5mm com 32% de PB, utilizado no experimento.....   | 55 |
| Tabela 3 - Valores médios do desempenho nas tilápias do Nilo ( <i>O. niloticus</i> ), alimentadas com ração contendo diferentes níveis do Núcleo Homeopático <i>Homeopatila 100</i> <sup>®</sup> , no início e durante o período experimental.....                            | 57 |
| Tabela 4 - Prevalência de ectoparasitos, em tilápia do Nilo ( <i>O. niloticus</i> ) da linhagem GIFT, no início e durante o experimento, nos diferentes tratamentos com o núcleo homeopático <i>homeopatila 100</i> <sup>®</sup> , no período de janeiro a março de 2010..... | 59 |
| Tabela 5 - Média das categorias de infestação por <i>Trichodina</i> e intensidade média por Monogenoidea, em tilápia do Nilo ( <i>O. niloticus</i> ), da linhagem GIFT, no início do experimento, e nos diferentes tratamentos, no período de janeiro a março de 2010.....    | 60 |

### **4 EFEITO DO NÚCLEO HOMEOPÁTICO *HOMEOPATILA 100*<sup>®</sup> NA ANÁLISE DA HISTOLOGIA HEPÁTICA EM TILÁPIAS DO NILO (*Oreochromis niloticus*)**

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1 - Composição do Núcleo Homeopático <i>Homeopatila 100</i> <sup>®</sup> .....  | 68 |
| Tabela 2 - Composição percentual e bromatológica da ração comercial 2,5mm com 42% de PB e da ração comercial 5mm com 32% de PB, utilizado no experimento.....  | 69 |
| Tabela 3 - Valores médios da Relação Hepatosomática nas tilápias do Nilo ( <i>O. niloticus</i> ), alimentadas com ração contendo diferentes concentrações do Núcleo Homeopático <i>Homeopatila 100</i> <sup>®</sup> , no final do período experimental.....  | 71 |
| Tabela 4 - Valores médios dos hepatócitos (técnica de H.E) e percentual de ocupação de glicogênio (técnica P.A.S.), no tecido hepático de tilápia do Nilo ( <i>O. niloticus</i> ), nos diferentes tratamentos, alimentadas com ração contendo o Núcleo Homeopático <i>Homeopatila 100</i> <sup>®</sup> , durante o período experimental..... | 74 |

**5 EFEITO DO NÚCLEO HOMEOPÁTICO *HOMEOPATILA 100*<sup>®</sup> NA ANÁLISE DA HISTOLOGIA BRANQUIAL EM TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)**

|   |    |
|---|----|
| Tabela 1- Composição do Núcleo Homeopático <i>Homeopatila 100</i> <sup>®</sup> .....  | 86 |
| Tabela 2 - Composição percentual e bromatológica da ração comercial 2,5mm com 42% de PB e da ração comercial 5mm com 32% de PB, utilizado no experimento.....   | 87 |
| Tabela 3 - Valores médios das alterações histológicas na análise das brânquias de tilápia do Nilo ( <i>O. niloticus</i> ), por tratamento, durante o período experimental, avaliadas em V.M.A. (através da coloração de Hematoxilina-Eosina).....   | 90 |
| Tabela 4 - Média do número de células mucosas dos filamentos branquiais de tilápias do Nilo ( <i>O. niloticus</i> ) numa área de 0,2274 mm <sup>2</sup> , evidenciadas pela técnica histoquímica <i>Alcian Blue</i> (pH 2,5) - PAS, modificada em diferentes concentrações do Núcleo Homeopático <i>Homeopatila 100</i> <sup>®</sup> , no final do experimento..... | 95 |

## LISTA DE FIGURAS

### 4 EFEITO DO NÚCLEO HOMEOPÁTICO *HOMEOPATILA 100*<sup>®</sup> NA ANÁLISE DA HISTOLOGIA HEPÁTICA EM TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)

- Figura 1 - Tecido hepático de tilápia do Nilo (*O. niloticus*), HE. **T1** (Controle) e **T2** (20mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração): Veia Centro lobular (\*), cordões dos hepatócitos (setas finas), vacuolização citoplasmática (setas grossas), dois núcleos por hepatócito (pontas de setas azuis), núcleos deslocados para periferia (ponta setas grandes), extravasamento eritrócitos (ponta de seta redonda), (40X)..... 73
- Figura 2 - Tecido hepático de tilápia do Nilo (*O. niloticus*), PAS + Hematoxilina. Veia Centro lobular (\*). **T1** (Controle): vacuolização citoplasmática (setas finas), glicogênio intracelular (círculos); **T2** (20mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração): vacuolização citoplasmática (setas finas), glicogênio intracelular (círculos), (40X)..... 76
- Figura 3 - Comportamento dos hepatócitos (x) em relação ao percentual para evidenciação do glicogênio intracelular (y), no tecido hepático de tilápia do Nilo (*O. niloticus*), nos diferentes tratamentos com o Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>, efetuados no encerramento do experimento..... 77

### 5 EFEITO DO NÚCLEO HOMEOPÁTICO *HOMEOPATILA 100*<sup>®</sup> NA ANÁLISE DA HISTOLOGIA BRANQUIAL EM TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)

- Figura 1 - Histopatologias branquiais de tilápia do Nilo (*O. niloticus*). **A:** Estrutura normal da brânquia -T3 (40mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração); **B:** Hiperplasia de epitélio (círculo) - T3 (40mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração); **C:** fusão lamelar (seta) - T2 (20mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração); **D:** telangectasia (seta) - T4 (60mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração); **E:** Hiperplasia, fusão lamelar e telangectasia (círculo) - T2 (20mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração); **F:** Fusão lamelar e presença de Monogenoidea (seta) - T4 (60mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração). HE, (40X)..... 90
- Figura 2 - Técnica histoquímica *Alcian Blue* (pH 2,5) + PAS, modificada para evidenciação de células produtoras de **mucinas neutras (setas vermelhas)** e **mucinas ácidas (setas azuis)** das brânquias de tilápia do Nilo (*O. niloticus*). **T1** (Controle): **a)** Estrutura da brânquia com a presença de Monogenoidea (seta larga), mucinas neutras e ácidas; **b)** mucinas neutras e Telangectasia (seta larga ponta dupla); **c)** Presença do protozoário *Trichodina* (seta larga), mucinas ácidas; **T2** (20mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração): **a, b)** mucinas neutras e ácidas; **c)** mucinas neutras e ácidas e Telangectasia (seta larga ponta dupla); **T3** (40mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração): **a,b,c)** mucinas neutras e ácidas; **T4** (60mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração): **a)** mucinas neutras e ácidas **b)** mucinas ácidas e Telangectasia (seta larga); **c)** mucinas ácidas. (40X)..... 93

## SUMÁRIO

|  |     |
|--|-----|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....  | 15  |
| 1.1 Aquicultura e Piscicultura.....  | 15  |
| 1.2 Tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ).....  | 18  |
| 1.3 Qualidade da Água .....  | 20  |
| 1.4 Ectoparasitos em tilápias.....   | 21  |
| 1.5 Histologia do fígado.....  | 27  |
| 1.6. Histologia das brânquias.....   | 28  |
| 1.7 Homeopatia.....  | 32  |
| Referências.....   | 38  |
| <b>2 OBJETIVO GERAL</b> .....  | 50  |
| <b>3 EFEITO DO NÚCLEO HOMEOPÁTICO <i>HOMEOPATILA 100</i><sup>®</sup> NO DESEMPENHO E NA PREVALÊNCIA DE ECTOPARASITOS EM TILÁPIA DO NILO (<i>Oreochromis niloticus</i>)</b> ..... | 51  |
| Resumo.....  | 51  |
| Abstract.....  | 52  |
| 3.1 Introdução.....  | 53  |
| 3.2 Material e métodos.....  | 54  |
| 3.2.1 Análise estatística.....   | 56  |
| 3.3 Resultados e discussão.....  | 56  |
| 3.3.1 Desempenho.....  | 57  |
| 3.3.2 Prevalência de ectoparasitos.....  | 59  |
| 3.4 Conclusão.....   | 61  |
| Referências.....   | 61  |
| <b>4 EFEITO DO NÚCLEO HOMEOPÁTICO <i>HOMEOPATILA 100</i><sup>®</sup> NA ANÁLISE DA HISTOLOGIA HEPÁTICA EM TILÁPIAS DO NILO (<i>Oreochromis niloticus</i>)</b> .....              | 65  |
| Resumo.....  | 65  |
| Abstract.....  | 66  |
| 4.1 Introdução.....  | 67  |
| 4.2 Material e métodos.....  | 68  |
| 4.2.1 Análise histológica.....   | 69  |
| 4.2.2 Análise estatística.....   | 70  |
| 4.3 Resultados e discussão.....  | 70  |
| 4.4 Conclusão.....   | 78  |
| Referências.....   | 78  |
| <b>5 EFEITO DO NÚCLEO HOMEOPÁTICO <i>HOMEOPATILA 100</i><sup>®</sup> NA ANÁLISE DA HISTOLOGIA BRANQUIAL EM TILÁPIA DO NILO (<i>Oreochromis niloticus</i>)</b> .....              | 82  |
| Resumo.....  | 82  |
| Abstract.....  | 83  |
| 5.1 Introdução.....  | 84  |
| 5.2 Material e métodos.....  | 85  |
| 5.2.1 Análise histológica.....   | 87  |
| 5.2.2 Análise estatística.....   | 88  |
| 5.3 Resultados e discussão.....  | 89  |
| 5.4 Conclusão.....   | 97  |
| Referências.....   | 97  |
| <b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....  | 103 |

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Aquicultura e Piscicultura

A aquicultura brasileira vem crescendo nos últimos 20 anos, sendo a criação de tilápia a principal responsável por este aumento, representando cerca de 50% da produção nacional. O Brasil tem grande potencial aquícola por causa de suas condições de temperatura, e principalmente, os grandes recursos hidrográficos para o cultivo (FERNANDES JUNIOR et al., 2010).

A produção mundial total da pesca atingiu um novo recorde de 143,6 milhões de toneladas em 2006 sendo 92 milhões de toneladas de capturas da pesca e 51,7 milhões de aquicultura. Desse total, 110,4 milhões de toneladas foram utilizadas para consumo humano, enquanto os outros foram projetados para produtos não alimentares como ração animal e farinha de peixe para aquicultura. O aumento da produção ocorreu no setor da aquicultura, que atualmente contribui com 47% de todos os peixes para consumo humano. A produção da pesca de captura estabilizou e não se espera que aumente para além dos níveis atuais (FAO, 2009).

A aquicultura continental, com uma produção de 191.183,5 t., representa 18,2% da produção total brasileira. Em 2006, a aquicultura continental não apresentou um crescimento homogêneo entre as regiões do País. A região Norte apresentou um crescimento de 12,1% e as regiões que menos cresceram foram: a Centro-Oeste com 1,3%, a Nordeste com 2,1%, a Sul apresentou um crescimento de 6,1% e a que mais cresceu foi a região Sudeste com 13,2%. Da produção total 99,5%, 190.161,5 t. foi oriunda da piscicultura, ficando a carcinicultura e ranicultura com 0,2% (373 t.) e 0,3% (649 t.), respectivamente (FAO, 2009).

A produção por região foi assim apresentada pelo IBAMA (2007): a Região Norte, a produção foi de 22.100,0 t. (11,6%), a Nordeste 36.049,0 t. (18,9%), a Sudeste 36.279,0 t. (19,0%) e a Centro-Oeste 33.932,0 t. (17,7%). A maior produção foi da região Sul com 62.823,5 t (32,9%).

A demanda crescente por alimentos de alta qualidade e a necessidade de produção, cada vez maior de fontes proteicas, faz da aquicultura uma atividade em

ascensão no Brasil, uma vez que, os produtos gerados apresentam características que os colocam como destaque entre os alimentos com potencial de produção em países tanto em desenvolvimento como os mais desenvolvidos (ZIMMERMANN; FITZSIMMONS, 2004). A espécie cujo potencial se destaca na produção mundial é a tilápia do Nilo, com 132.957 toneladas em 2009 (FAO, 2009).

A produção de tilápia no Brasil apresenta um padrão de crescimento contínuo desde 1994. Entre os anos de 2003 a 2009, a produção de tilápia cresceu 105%, de 64.857,5 t para 132.957,8 t. Os maiores aumentos de produção foram em 2002, quando houve um acréscimo de 59% em relação a 2001 e, em 2007, quando a produção aumentou 33% em relação ao ano anterior. Entre 2006 e 2009, a produção aumentou 86%, chegando a ultrapassar 130 mil toneladas. Ressalta-se que do ano de 2007 para 2008, houve crescimento de 17%, de 95.091,0 t para 111.145,3 t. Do ano de 2008 para 2009, houve crescimento de 20% da produção, chegando a 132.957,8 t. A produção de tilápia representa 39% do total pescado proveniente da piscicultura continental (BRASIL, 2010). O filé de tilápia fresco, produzido no Brasil concorre com a produção da China, que é o maior produtor mundial, seguido da Índia (SUSSEL, 2008).

A aquicultura no Brasil tem atraído a atenção de produtores e de proprietários para as atividades de cultivo, produção de pescado e de pesca desportiva. A pesca contribui com pelo menos 50% do total de proteína animal na dieta de muitas regiões costeiras do mundo em desenvolvimento (FAO, 2009). A relação direta, com a geração de trabalho e ampla relação econômica com outras atividades, tem gerado uma renda de U\$ 200 milhões, com mais de 300 mil trabalhadores diretamente envolvidos (KITAMURA et al., 2002).

A substituição da pesca - artesanal, comercial ou esportiva - pela aquicultura é uma estratégia correta, porque estimula uma cadeia produtiva completa que tem inúmeros elos, tais como: cultivo e produção; preservação e estocagem; venda e comercialização. Essa cadeia, pode ainda incentivar, substituir a pesca por outras atividades artesanais e de subsistência. Entretanto, a aquicultura pode ser tanto fortemente impactante quanto fortemente impactada, necessitando de um gerenciamento integrado, preditivo e estratégico, e de um monitoramento permanente (TUNDISI, 2006).

A questão ambiental é um tema cada vez mais recorrente nas discussões relacionadas aos recursos aquáticos, em especial, aos peixes. Este grupo recebe destaque

pela peculiaridade de envolver aspectos econômicos, culturais e ecológicos (AGOSTINHO et al., 2007).

O uso sustentável das águas subterrâneas implica numa profunda relação com as águas superficiais, cuja qualidade vem sendo agredida por incontáveis agentes, entre eles, agrotóxicos, fertilizantes químicos e fármacos veterinários cujas consequências são ainda em grande parte desconhecidas tanto para a saúde humana quanto animal (WOLKMER; SCHEIBE, 2008).

No Brasil, a aquicultura vem se desenvolvendo fundamentada nos princípios técnicos, associada aos órgãos de pesquisa e, se firmando com profissionalismo, tendo em vista a grande quantidade dos recursos hídricos estimados em 5,3 milhões de hectares de água doce, em reservatórios naturais e artificiais, além das favoráveis condições climáticas (AYROZA et al., 2006).

Embora a indústria da aquicultura brasileira tenha crescido 15% a.a., o potencial para a expansão dessa atividade é pouco aproveitada. Isso se deve, entre outras questões, à falta de uma política efetiva para organizar e promover o desenvolvimento da aquicultura como produtora de alimentos (ROTTA, 2003). Esta, ainda é uma atividade complexa o que exige aprendizado constante, dedicação, assistência técnica especializada e contínua, demanda de mercado e, embasamento científico (WILCOX, 2004).

O Brasil possui um grande potencial hídrico e climático, possibilitando o cultivo de várias espécies de peixes. A piscicultura vem despertando interesse crescente por parte de pequenos e médios empresários em todo país por se tratar de um empreendimento que tem seu produto final com alta taxa de aceitação pelo mercado (GAMA, 2008).

É uma atividade zootécnica relacionada com a criação de peixes em condições controladas ou semicontroladas, tendo em vista a qualidade do produto somada à produção em massa. Essa atividade tem sido considerada como a mais promissora quando o objetivo é aumentar a produção de alimentos ricos em proteína (FREITAS, 2002), sendo o cultivo de peixes em viveiros naturais ou artificiais, tendo como finalidades o consumo, a pesca esportiva, o povoamento e o repovoamento, o cultivo ornamental e outras (MARDINI; MARDINI, 2000).

O Brasil apresenta recursos favoráveis ao desenvolvimento da piscicultura, tendo como locais propícios para a criação de peixes em gaiolas ou tanques-rede: lagos, lagoas, grandes reservatórios, viveiros, canais de irrigação, rios, riachos, barragens,

represas formadas por nascentes, grandes açudes, mares e estuários (MARDINI; MARDINI, 2000). É uma atividade de grande interesse nacional, tendo em vista as excelentes condições climáticas, grande extensão territorial e disponibilidade de água (HILSDORF; MOREIRA, 2004).

Com a expansão da piscicultura no Brasil, a partir da década de 1980, observou-se crescente interesse por parte dos criadores no que diz respeito aos prejuízos econômicos causados pela mortalidade de peixes, sendo que um maior número de espécie passou a ser cultivada. Desta maneira, houve a necessidade de aplicação de novas técnicas de tratamento e controle das enfermidades (MARDINI; MARDINI, 2000; ZANOLO; YAMAMURA, 2006).

Como em qualquer criação de organismo vivo, a produção na piscicultura também está, diretamente, ligada ao grau de interferência que o homem exerce sobre um determinado cultivo. Pode-se prever que a piscicultura se tornará cada vez mais intensiva. Para isso, é necessário que haja um desenvolvimento da economia como um todo, além da necessidade de novas tecnologias e investimentos elevados, é preciso um mercado que consuma um produto de alto valor (CERQUEIRA, 2004).

## **1.2 Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**

A tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, (Linnaeus, 1758) vulgarmente conhecida como tilápia nilótica, são ciclídeos nativos do continente Africano e da Palestina, encontram-se difundidos por todo o mundo, em vários países de clima tropical e subtropical, onde foram introduzidos deliberadamente ou acidentalmente. Apesar desta prática ser difundida há vários séculos, somente entre a década de 1920 e 1950 passaram a ser cultivados de forma intensiva (RIBEIRO, 2001).

É considerada uma espécie importante, com grande potencial zootécnico para a piscicultura nacional e mundial e de grande aceitação pelos produtores e consumidores (OSTRENSKY et al., 2000; BOMBARDELLI et al., 2004; ZANIBONI FILHO, 2004; ZANOLO; YAMAMURA, 2006). Por causa de suas características, como plasticidade genética, rusticidade, precocidade, tempo curto de cada geração, facilidade de comercialização, facilidade de adaptação às condições adversas de cultivo, filé de alta qualidade, resistência ao estresse, as parasitoses e a presença de poluentes de natureza variada (BEYRUTH et al., 2004; EL-SAYED, 2006), boa qualidade de textura e sabor da carne, boa conversão alimentar, adaptação de cultivo em altas densidades de

estocagem, facilidade de reprodução em confinamento (AYROZA et al., 2006), utiliza tanto o alimento natural (fitoplâncton) como rações comerciais com baixos teores de proteínas, diminuindo assim, o custo de produção (FITZSIMMONS, 2000), alto valor comercial, com um custo de produção relativamente baixo (ZIMMERMANN; HASPER, 2003).

As tilápias (família Cichidae) foram introduzidas no Brasil, em 1952, sendo a espécie *O. niloticus*, a que apresentou melhores características para o cultivo (STICKNEY, 2000; EL-SAYED, 2006; AGOSTINHO et al., 2007) e para a piscicultura brasileira (ZANIBONI FILHO, 2004), com grande potencial e importância para a aquicultura mundial (STICKNEY, 2000). Vem ocupando um lugar de destaque na piscicultura (MARDINI; MARDINI, 2000) principalmente, no que diz respeito aos países tropicais e subtropicais (CAMPOS-RAMOS et al., 2003; DESPREZ et al., 2003), como o Brasil. E, hoje, propulsiona o que poderá vir a ser uma das principais indústrias de peixes no mundo (KUBITZA, 2003).

As tilápias são os peixes mais cultivados em vários países do mundo (MEURER et al., 2005), entre eles, o Brasil (BOMBARDELLI; HAYASHI, 2005; CYRINO et al., 2005; MEDRI et al., 2005), apresenta características aconselhadas para a piscicultura brasileira e com grande potencial para o cultivo em larga escala no país (BORGHETTI et al., 2003; ZANIBONI FILHO, 2004). A tilápia se tornou um dos produtos mais populares no mercado de produtos aquáticos, dos EUA, tanto em volume quanto em diversidade de apresentação - tilápia eviscerada fresca e congelada, inteira e em filés (JORY et al., 2000).

São reconhecidas 77 espécies de tilápias, sendo que 22 são criadas em escala experimental e/ou produção comercial. Basicamente três gêneros de tilápias são descritos (*Oreochromis*, *Sarotherodon* e *Tilapia*). Porém, poucas delas se destacaram na aquicultura mundial, sendo a do gênero *Oreochromis*, a tilápia do Nilo (*O. niloticus*), com diferencial básico, pelo seu comportamento reprodutivo e alimentar e a mais adaptável ao cultivo intensivo, por isso se tornou a espécie mais cultivada em todo mundo (KUBITZA, 2000; RIBEIRO, 2001; ZANIBONI FILHO, 2004).

A tilápia GIFT (*Genetic Improvement of Farmed Tilapias*) teve seu melhoramento genético iniciado em 1988, no *WorldFish Center*, utilizando a tilápia do Nilo - *O. niloticus* (GUPTA; ACOSTA, 2004).

Esta espécie é conhecida como uma espécie guardadora interna, ou seja, protegem a progênie na boca. Após a fertilização, coletam os ovos em sua boca onde os

incuba, permanecendo sem se alimentar por duas semanas ou mais. Por esta razão, em nível comercial, são comercializados cultivos exclusivos de machos, e a técnica utilizada, consiste na reversão sexual de larvas de tilápias através do uso de rações com hormônios masculinizantes em progênies recém-nascidas por aproximadamente, três a quatro semanas de vida (RIBEIRO, 2001).

As expectativas e os desafios permitem vislumbrar um cenário otimista para a atividade. Os elos da cadeia produtiva já estão suficientemente fortalecidos para que se inicie um promissor crescimento da tilapicultura. Já está na hora de deixar de ser o eterno “País do Potencial Aquícola” (SUSSEL, 2008).

### **1.3 Qualidade da Água**

A Declaração Universal dos Direitos da Água foi proclamada tendo como objetivo atingir todos os povos e todas as nações, para que todos os homens, tendo esta declaração constantemente presente no espírito se esforcem através da educação e do ensino, em desenvolver o respeito nacional, o seu reconhecimento e a sua aplicação efetiva (IFRAH, 1996).

A água é a substância mais importante para a vida no planeta. Sem a existência dela teria sido impossível a evolução dos seres vivos na terra. A presença da água está em todas as funções como absorção de nutrientes, regulação da temperatura corporal e excreção, domina por completo a composição química de todos os organismos, além de ser o meio em que vivem os peixes. Os organismos aquáticos podem suportar temperatura próximo a 0 grau até 40°C. De acordo com a temperatura dos corpos de água, os organismos aquáticos podem ser classificados como peixes de água fria e peixes de água quente, a exemplo da tilápia. A água tem um calor específico muito alto, portanto é uma das substâncias que mais demora, para ser aquecida e, ao mesmo tempo, a que mais demora, para esfriar. Sendo assim, as suas características regulam eficazmente o metabolismo do ecossistema a variações climáticas e geográficas decorrentes da interação (RIBEIRO, 2001; ARANA, 2004).

O conhecimento dos fatores que atuam diretamente na qualidade da água de viveiros de piscicultura é importante para um melhor gerenciamento desse empreendimento. A limnologia é o campo da ciência que fornece informações importantes a respeito dos ecossistemas aquáticos. O uso dos indicadores como temperatura, OD, pH e condutividade auxiliam na identificação dos níveis de poluição

da água. A manutenção de uma boa qualidade da água, aliada à ausência de contaminação, contribui para a manutenção da saúde dos peixes e, para uma melhor produção (MERCANTE et al., 2008).

A qualidade e a quantidade da água são fatores fundamentais para a escolha da área em que se pretende desenvolver um projeto de piscicultura. É importante o conhecimento da origem desta e da vazão da água, incluindo os fatores físico, químicos e biológicos que propiciem condições ótimas para o crescimento dos organismos aquáticos (MARDINI; MARDINI, 2000; TOMAZELLI JUNIOR et al., 2004), associadas a aplicabilidade correta das técnicas de manejo evitando o processo de eutrofização, deteriorando a qualidade da água, causada pela liberação de dejetos pelos peixes (PÁDUA, 2001) como também, pela administração de altas doses de ração e pela fertilização orgânica ou inorgânica (MATSUZAKI et al., 2004).

Os efeitos da qualidade da água na saúde e condições fisiológicas dos peixes variam consideravelmente em função da espécie, tamanho, idade e histórico de exposição a cada elemento em questão. Considera-se a água um ambiente favorável à proliferação de vários agentes patogênicos aos peixes, sendo as parasitoses responsáveis por grandes perdas nas pisciculturas. (URBINATI; CARNEIRO, 2004).

Com o crescente desenvolvimento da piscicultura, a qualidade da água vem tomando impulso de grande interesse nesta linha de atuação, visto que, em um ambiente, água em condições inadequadas acarretará problemas no cultivo, levando os peixes à morte. Os impactos negativos gerados pela aquicultura podem promover, dentre outros agravantes, a formação de florações de algas, afetando diretamente a biota aquática e, assim, promovendo rápidas alterações na qualidade da água (SIPAÚBA-TAVARES et al., 2003; SANTEIRO, 2005; LACHI; SIPAÚBA-TAVARES, 2008).

Para se obter uma boa produção e garantir a saúde dos peixes, é preciso a manutenção de padrões adequados de qualidade da água e dos alimentos fornecidos aos peixes, para se evitar prejuízos financeiros (MERCANTE et al., 2008).

#### **1.4 Ectoparasitos em tilápias**

Os peixes são os vertebrados que apresentam os maiores índices de infecção por parasitos, pelas características próprias do meio aquático que facilitam a propagação, reprodução e complementação do ciclo de vida de cada grupo (MALTA, 1984).

Com o avanço da piscicultura, principalmente na década de 1980, começaram a surgir novas técnicas de criação e espécies de peixes tanto nativas como exóticas são cultivadas. O aumento necessário da produção de peixes depende de vários fatores, entre os quais se destaca a condição sanitária (CRUZ, 2005).

Com a intensificação da piscicultura, fatores relacionados ao manejo e a sanidade ineficientes, somando a falta de informações por parte do produtor; faz com que ocorra o aparecimento de fatores de risco à saúde dos peixes (MARTINS, 2004), predispondo-os a várias doenças, principalmente as parasitárias, em virtude da ausência ou a não execução de medidas profiláticas, facilitando a rápida proliferação dos micro-organismos, causando estresse e desequilíbrio hospedeiro/parasito/meio ambiente, afetando o crescimento das tilápias, podendo causar elevadas taxas de mortalidade de peixes (KUBITZA, 2000; BARKER et al., 2002; MORAES; MARTINS, 2004; RANZANI-PAIVA; SILVA-SOUZA, 2004; PAVANELLI et al., 2008).

Selye (1950) definiu estresse como: “Uma série de reações fisiológicas pelas quais um animal tenta restabelecer seu metabolismo normal frente a agentes externos de origem física ou química”.

As alterações que produzem como respostas ao estresse encontram-se englobadas no que se conhece como síndrome geral de adaptação (GAS - Geral Adaptation Syndrome), aplicado tanto para mamíferos como para peixes, as quais se desenvolvem em três estágios: Alarme. Uma série de alterações fisiológicas é iniciada e o sistema de controle homeostático pode compensar o distúrbio; Resistência. Os processos compensatórios podem restabelecer o balanço fisiológico, mas os custos normalmente envolvem diminuição da “performance”; Exaustão. A duração e a severidade dos distúrbios causados pelos estressores excedem os limites de tolerância biológica, podendo ter efeitos adversos e deletérios (JOBBLING, 1994).

A relação hospedeiro-parasito é determinada por fatores como idade, estrutura genética, hábitat da população de hospedeiros, como também por interações entre as espécies de parasitos (DOBSON; KEYMER, 1990). A rápida proliferação, associada a outros fatores como a má qualidade ambiental, deficiência nutricional e manejo inadequado, favorecem a ocorrência de enfermidades parasitárias (SCHALCH; MORAES, 2005). Os danos causados nos hospedeiros dependem da espécie do parasita, tipo de lesão no tecido do hospedeiro, do número de parasitas e do estado de saúde do hospedeiro (TAVARES-DIAS et al., 1999).

A doença parasitária ocorre em consequência do desequilíbrio entre o ambiente, o hospedeiro e o parasito (NEVES, 2005). Este aspecto, promove a depressão dos mecanismos de defesa permitindo a ação patogênica de agentes oportunistas, mas, a capacidade de defesa do peixe é determinada por sua constituição e condição fisiológica (DALMO et al., 1997). As escamas formam uma capa protetora da pele e esta age como barreira física e o muco possui ácido n-acetil neuramínico e ácido n-glicol neuramínico com propriedades, bactericida e fungicida, inibindo o estabelecimento e desenvolvimento de agentes com potencial patogênico (LEHNINGER et al., 2002).

Os peixes em piscicultura são passíveis de serem infectados por numerosas espécies de parasitas (protozoários e metazoários) que podem ocorrer na superfície, sendo os ectoparasitos ou nos órgãos internos, chamados de endoparasitas, que lhes permitem otimizar a vida parasitária (PAVANELLI et al., 2008).

O ambiente aquático facilita o acesso e a penetração de agentes patogênicos e o confinamento dos peixes favorece o aparecimento de doenças (GOMES et al., 2003), podendo ocorrer elevadas taxas de mortalidade (PAVANELLI et al., 2008), pela falta de conhecimento de manejo, instalações, densidades de estocagem e necessidades nutricionais dos peixes (VAL et al., 2006), como também efeitos causados pelo estresse agudo e crônico em tilápia do Nilo (*O. niloticus*), por causa da interação social e hierárquica entre os peixes (EL-SAYED, 2006).

A persistência das comunidades parasitárias depende da relação entre a taxa de crescimento dos hospedeiros e a patogenicidade dos parasitos e para que essa persistência ocorra é necessário que a taxa de crescimento seja suficientemente alta para compensar a patogenicidade (DOBSON; ROBERTS, 1994; SCHALCH; MORAES, 2005).

O surgimento de enfermidades nos cultivos apresenta um obstáculo ao sucesso da aquicultura, já que várias doenças bacterianas, virais, fúngicas e parasitárias atingem a produção larval dos organismos. Desta forma, uma larvicultura de qualidade necessita de uma boa nutrição, eficientes técnicas de manejo, monitoramento de reprodutores e das próprias larvas e uso de animais selecionados, criando, assim, resistência a essas infecções (BACHÈRE, 2003).

Os peixes vivem em contato direto com o meio aquoso e por isso são afetados pelas alterações causadas por diferentes agentes físico, químicos e biológicos. A incidência de doenças e parasitoses aumenta com a redução da qualidade nutricional dos alimentos e da água, comprometendo todo o sistema do cultivo (MERCANTE et al.,

2008), por isso, a aquicultura no Brasil, como atividade economicamente emergente, encontra-se inteiramente dependente dos ecossistemas nos quais está inserida (VALENTI et al., 2000).

Bekési (1992) registrou os primeiros casos de parasitismo em tilápias criadas no Nordeste do Brasil, onde os parasitos de maior ocorrência foram tricodínídeos e monogenoidea.

Uma série de agentes parasitários pode causar problemas em criações de tilápias, sendo que nenhum parece ser específico para estes peixes. Protozoários do gênero *Trichodina* sp., além de monogenoideos podem ocasionar problemas em criações desta espécie e são de grande importância, principalmente em intensas infestações quando o ambiente se encontra favorável para sua reprodução podendo, assim, causar espoliações junto às brânquias e pele dos animais, predispondo-os a problemas respiratórios e infecções secundárias (ZANOLO; YAMAMURA, 2006).

Os protozoários tricodínídeos são ectoparasitos que causam danos, principalmente em peixes de cativeiro (AL-RASHEID et al., 2000). Apresentam uma coroa de denticulos, podendo medir entre 40mm a 140mm de diâmetro dependendo da espécie. Sua reprodução é por fissão binária, observando-se facilmente ao microscópio seus denticulos e o rápido movimento rotatório (MARTINS et al., 2002). Sem especificidade de hospedeiro, sua patogenicidade varia de acordo com a resistência dos peixes, podendo se reproduzir rapidamente e destruir o epitélio por sua movimentação rotatória (MANCINI et al., 2000). Azevedo (2004) acrescentou que a sua proliferação está relacionada com a alta concentração de matéria orgânica na água. Os estudos realizados por Madsen et al. (2000), reforçaram a relação existente entre os vários parâmetros de qualidade de água e níveis de infestação por tricodínídeos.

Moraes e Martins (2004) verificaram que a tricodíníase se apresenta como enfermidade de caráter crônico com morbidade e mortalidade médias ou baixas. Porém já foram relatados casos severos em cultivos intensivos de tilápias em tanques e viveiros, principalmente em situações em que ocorre deterioração ambiental que condiciona a redução do pH e do oxigênio dissolvido, os ectoparasitos passam a se proliferar. Essas condições favorecem a multiplicação de algumas bactérias que frequentemente estão associadas à parasitose.

A pele e as brânquias são os locais mais comuns de infestação parasitária apesar da associação na função da barreira com o epitélio da mucosa do peixe. Parasitos que habitam a pele e as brânquias causam frequentes mortalidades, particularmente em

peixes criados em sistema de cultivo. Os ciclos de vida são diretos e, portanto, o potencial do parasito em causar aumento rápido e danos enquanto as condições ambientais são conduzidas para uma rápida expansão da população de parasitos. Ectoparasitos apresentam uma taxa de contribuição significativa para o conhecimento da resistência do peixe ao hospedeiro, entre eles os monogenéticos (ANDERSON; MAY, 1979).

Os parasitos monogenéticos estão entre os patógenos de maior ocorrência e frequência na piscicultura brasileira. São ectoparasitos do grupo dos platelmintos, caracterizados pela presença de aparelho de fixação localizado na parte posterior do corpo. Os adultos possuem forma alongada, ovoidal ou circular e medem de um milímetro a três centímetros. O prejuízo causado nos peixes está relacionado com a espécie, local da infestação, tipo de alimentação dos parasitos e com a carga parasitária do peixe (PAVANELLI et al., 1998).

O estudo dos monogenéticos é de grande importância para produção de peixes, realizado por Tavares-Dias (2000) no levantamento efetuado no Estado de São Paulo. Estes parasitos representam um dos principais problemas da piscicultura da região norte e nordeste do Estado de São Paulo (MARTINS et al., 2000). Segundo Whittington (1998) no mundo, pode-se estimar que mais de 25.000 espécies de peixes estejam parasitadas por monogenéticos.

Os monogenoideos também podem trazer graves problemas, principalmente em alevinos de tilápias criados em sistemas superintensivos. Ambientes eutrofizados, com excesso de matéria orgânica, são favoráveis para manutenção e reprodução destes parasitos. Grandes infestações de monogenoideos podem causar prejuízos para os animais pelo seu modo particular de fixação sobre o hospedeiro através de ganchos e âncoras provocando, assim, reações do hospedeiro que podem ser prejudiciais para sua atividade respiratória (ZANOLO; YAMAMURA, 2006).

Os monogenéticos são encontrados comumente na pele, nas brânquias ou nas narinas de peixes marinhos e de água doce. Esses parasitos pertencem à família Dactylogyridae, em que estão incluídos os espécimes ovíparos e a Gyrodactylidae, formada por indivíduos vivíparos. No que se refere às alterações estruturais provocadas por monogenéticos, existem variações quanto à espécie do parasito, seu tipo de alimentação e local de fixação. Alguns se alimentam de células epiteliais e outros de sangue do hospedeiro (PAVANELLI et al., 2008).

As enfermidades causadas por monogenoidea estão entre as mais importantes para a piscicultura, por gerar surtos de mortalidade, principalmente em criações intensivas (PAVANELLI et al., 2002). Esses helmintos são ectoparasitos, com ciclo de vida direto, o qual pode completar todo o seu ciclo de vida em um único hospedeiro, parasitando brânquias, superfície corpórea e fossas nasais (THATCHER, 1991; PAVANELLI et al., 2008). Os adultos são alongados ou circulares, medem de 1 mm a 3 cm de comprimento, apresentam aparelhos de fixação chamados “prohaptor” e “episthaptor” localizados na região anterior e posterior do corpo, respectivamente. O “prohaptor” permite que ocorra o deslocamento do parasito ao longo do hospedeiro, e o “episthaptor” é uma estrutura variada e complexa, em que se reconhecem linhas evolutivas (EIRAS, 1994). Segundo Amlacher (1964) e Pavanelli et al. (2008) em grandes infestações ocorre excessiva produção de muco nos filamentos e destruição do epitélio branquial, com ruptura de vasos sanguíneos, produzindo hipofunção respiratória e a morte dos peixes por asfixia.

As causas do estresse de manejo em peixes estão entre os fatores de maior importância na produção, entre eles: o confinamento, transporte, inadequada densidade populacional e o tratamento das doenças (VAL et al., 2006). Uma profilaxia adequada na criação com o acompanhamento da saúde dos peixes é um aspecto relevante para o sucesso do equilíbrio hospedeiro-parasita-ambiente do sistema (MARTINS et al., 2006).

Em condições que provocam um elevado estado de estresse fisiológico associado a uma forte ou moderada resistência do hospedeiro (MALTA et al., 2001), principalmente na piscicultura intensiva, os peixes se tornam susceptíveis às infestações parasitárias entre outras (PAVANELLI et al., 2008).

A produção sustentável de peixes depende da manutenção do “status” sanitário destes, se for inadequado, doenças podem ocorrer e provocar perda na produção e na comercialização, afetando o desenvolvimento econômico do setor (GRAM et al., 1999).

A melhora no estado sanitário dos peixes é obtida através de dietas balanceadas, utilizadas como imuno estimulantes, melhorando a resistência, aumentando a eficiência no desempenho em crescimento e produtividade (LIM et al., 2005; PORTZ, 2006; VAL et al., 2006).

Na aquicultura uma ampla variedade de produtos químicos é disponibilizada para o controle de ectoparasitos, porém o uso indiscriminado de alguns destes produtos torna os parasitos resistentes, transformando em um risco em potencial para o meio

ambiente, para os organismos aquáticos e para o homem (MARTINS, 2004; MAXIMIANO et al., 2005; SITJÀ-BOBADILLA et al., 2006; WINKALER, 2008).

As doenças de peixes no sistema de cultivo intensivo podem trazer perdas econômicas e riscos sanitários à saúde dos peixes (LIMA; LEITE, 2006), fazendo-se necessário, a avaliação dos impactos ambientais que esta atividade pode causar (MENEZES; BEYRUTH, 2003).

O conhecimento da distribuição sazonal de agentes causadores de enfermidades parasitárias, bem como da complexa relação entre fatores ambientais, hospedeiros e parasitos são importantes para que se possa intervir no sistema com técnicas profiláticas adequadas, criando programas preventivos de controle destas enfermidades (SCHALCH; MORAES, 2005).

Como resultado do desenvolvimento da aquicultura surtos de doenças infecciosas e parasitárias tem ocorrido, nos últimos 10 anos (MARTINS et al., 2002). Como toda a atividade de pesca, a aquicultura no Brasil requer permanente controle das condições sanitárias do cultivo, do pescado e dos produtos que chegam à população (TUNDISI, 2006).

## **1.5 Histologia do fígado**

As alterações histológicas constituem excelentes biomarcadores de exposição a agentes químicos porque são compatíveis às respostas bioquímicas, principalmente às alterações nas cinéticas enzimáticas (RUDNICKI, 2004). Krüger (2001) salientou que o paradigma para o estabelecimento de condições de equilíbrio nos sistemas naturais deve incluir constante monitoramento, que permite o desenvolvimento de ações corretivas e educacionais em população alvo.

A compreensão das funções de órgão e sistemas animais e seus ajustes frente às alterações internas e externas são sustentadas pelo uso de uma abordagem comparativa que permite uma melhor compreensão de como cada animal ou grupo de animais enfrentam as limitações impostas pelo ambiente garantindo a manutenção da vida. Os animais não poderiam existir independentemente do ambiente, ao utilizarem os recursos devem ser também capazes de enfrentar as adversidades que os mesmos apresentam, como, deficiência nos parâmetros físicos e químicos da água (SCHMIDT-NIELSEN, 1996).

Considerando a grande diversidade de espécies de peixes teleósteos e a consequente variação morfofisiológica, o sistema linfoide permite uma grande área de estudos. Apesar de vários estudos terem sido realizados, há ainda, pouca informação e pouco se conhece sobre as estruturas e funções dos órgãos linfo-hematopoético de teleósteos (ROCHA et al., 2001).

O fígado de peixes é um órgão compacto localizado ventralmente na cavidade celomática. Seu tamanho, forma e volume estão adaptados ao espaço utilizado pelos outros órgãos viscerais e varia muito entre as espécies. Apresenta uma coloração vermelho-pardo amarronzado ou avermelhado, ocasionado pela densa vascularização, tendendo para o amarelo quando o estoque de gordura é bastante elevado. Apresenta uma superfície lisa recoberta por uma membrana serosa e alguns tecidos conjuntivos estendem-se pelo parênquima (OSTRANDER, 2000; FISHELSON, 2006)

O fígado de teleósteo fica situado dentro da cavidade visceral, localizada cranialmente da cavidade celomática e é separada da cavidade pericárdica por um septo transversal. Possui formas diversas, com lobos pares e ímpares, de coloração escura, tendo como anexo a vesícula biliar, também de formato diverso, que possui função biliar, glicogênica e adipogênica (LOURES; LIMA, 2001).

Santos et al. (2004) caracterizaram o fígado de teleósteos como sendo um órgão central, com inúmeras funções vitais do metabolismo básico dos vertebrados (GINGERICH; DALICH, 1978; ARIAS et al., 1988), dentre as quais se inclui a capacidade de acumulação, biotransformação e excreção de compostos xenobióticos (MEYERS; HENDRICKS, 1985). Os hepatócitos podem ser considerados o primeiro alvo da toxicidade de uma substância, o que caracteriza o fígado como um órgão biomarcador da poluição ambiental (ZELIKOFF, 1998).

Vicentini et al. (2005) descreveu o fígado de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) como um órgão largo apresentando dois lobos, sendo o lobo esquerdo maior e estendendo-se por quase toda a cavidade corpórea. Em teleósteos desempenha funções metabólicas importantes, em especial, na vitelogênese, apresentando uma menor participação no metabolismo de carboidratos.

## **1.6 Histologia das brânquias**

Pesquisas realizadas com histopatologia dos órgãos responsáveis pelo metabolismo de peixes, como as brânquias (LEONARDO et al., 2001) e o fígado

(CAVICHIOLO, 2005), tem sido de grande relevância nos estudos realizados com tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), relatam patologias observadas nas deficiências vitamínicas, alterações estruturais e celulares (CAVICHIOLO, 2005) e na avaliação de lesões morfológicas, que podem estar interferindo na saúde e no desempenho dos peixes (SCHWAIGER et al., 1997).

A estrutura branquial dos peixes teleósteos apresenta oito arcos branquiais, dispostos quatro a quatro lateralmente na cavidade orofaríngea, protegidos e separados do meio externo pelo opérculo. Na região faríngea, de cada arco branquial, formado pelos ossos epi e ceratobranquial, de onde partem os rastros, direcionando-se para a cavidade orofaríngea. Os rastros possuem células quimiorreceptoras, que são botões gustativos, e dependendo da espécie, da forma, tamanho e quantidade de rastros variam, evidenciando uma estreita relação com os hábitos alimentares dos peixes (STOFELLA, 1994).

As brânquias de tilápia do Nilo (*O. niloticus*) são constituídas por diversos filamentos, que são responsáveis pelas trocas gasosas, envolvidas no processo de osmoregulação, equilíbrio ácido-básico e excreção de compostos nitrogenados. Qualquer alteração na sua conformação acarretará o comprometimento da sua função, causando danos à saúde dos peixes, pelo aumento do estresse, e diminuição de suas defesas (LEONARDO et al., 2001; CAVICHIOLO, 2005).

A organização geral das brânquias de teleósteos se baseia em um sistema de subdivisões sucessivas, e o seu epitélio é constituído por diversos tipos celulares, em particular, por células pavimentosas de revestimento, células de cloro e mucosas (MONTEIRO et al., 2004).

No lado oposto aos rastros, em direção a cavidade opercular, estão dispostos duas fileiras de filamentos branquiais unidos pelo septo interbranquial. Cada filamento, acima e abaixo do seu eixo longitudinal, apresenta lamelas transversais, que fazem as trocas gasosas, ou seja, são os locais em que ocorrem a troca efetiva entre elementos químicos do sangue e da água, sobretudo, promovendo a hematose (LEONARDO et al., 2001). O epitélio branquial tem como função o equilíbrio ácido-base, iônico e a eliminação de produtos nitrogenados, sendo que as estruturas celulares envolvidas na regulação iônica ocorrem no epitélio do filamento branquial. Na regulação iônica foi proposto um modelo molecular para as proteínas de membranas das células-cloro, envolvidas no transporte de íons em água doce (HIROSE et al., 2003; EVANS et al., 2005).

A respiração aquática nos peixes é constituída numa sequência de reações de oxidação, definida por um processo fisiológico, em que o oxigênio é captado pelo sangue ao mesmo tempo, que o dióxido de carbono é liberado para o meio externo. A eficiência dos peixes na extração de oxigênio dissolvido na água (em torno de 80%) deve-se a estrutura branquial e seu sistema de circulação e pelo fluxo contínuo da água feito pelas brânquias (WEST, 1996).

Como meio respiratório, a água é 50 vezes mais viscosa que o ar, a concentração de oxigênio dissolvido na água é cerca de 1/30 do ar, a taxa de difusão do oxigênio na água é  $8 \times 10^3$  menor que a do ar, o aumento da concentração por aumento da pressão parcial de oxigênio, na água é 30 vezes menor que no ar. Em água saturada com O<sub>2</sub>, a 20°C, 1 mL de oxigênio está contido em 200 mL de água. Alterações no ambiente aquático provocadas pelas altas temperaturas, introdução de matéria orgânica e, poluição causada por processos industriais e metais pesados provenientes da agricultura contribui para a redução da disponibilidade de oxigênio para a respiração dos peixes (DIAZ, 2001; MAZON et al., 2002a).

Nos teleósteos, a respiração ocorre nas lamelas dos filamentos dos arcos branquiais. O fluxo de água que passa pelas brânquias depende da frequência de abertura da boca e dos opérculos, cuja pressão da bomba bucal e opercular é sincronizada a um gradiente de pressão buco-opercular que favorece ao ciclo respiratório. O refluxo da água é evitado por uma membrana na margem ventroposterior do opérculo e desta forma a cavidade bucal e a câmara branquial atuam como um sistema de sucção e pressão para manter o fluxo contínuo da água (HUGHES, 1984; ROMER; PARSONS, 1985).

A produção de muco produzido pelos peixes faz parte o seu próprio mecanismo de defesa. O muco contém substâncias que inibem o crescimento e o desenvolvimento de muitos parasitos, bactérias e fungos (MORAES; MARTINS, 2004). As células mucosas são uma proeminente característica do epitélio branquial e apresentam uma importância biológica da interface do muco entre os peixes e seu ambiente. Também participam do processo de osmorregulação, proteção mecânica e imunológica (TAKASHIMA; HIBIYA, 1995).

A presença de ectoparasitos é responsável pela morbidade e mortalidade de peixes induzindo a hiperplasia das brânquias e obstrução da superfície respiratória (SHAHAROM-HARRISON et al., 1990). A ocorrência de ectoparasitos favorece infestações maciças, com alta taxa de mortalidade por causa do comprometimento

branquial. Esse órgão se apresenta hemorrágico, com severa hiperplasia do epitélio de revestimento e de células mucosas com presença de infiltrado inflamatório mononucleares nos filamentos estando associados a baixa qualidade da água (MARTINS et al., 2000; MARTINS et al., 2002).

No epitélio branquial são encontradas as células pavimentosas (CP) que são as mais numerosas; as células mucosas (CM) que são responsáveis pela secreção de mucosubstâncias, e as células-cloreto (CC), que são as responsáveis pela absorção de íons  $\text{Cl}^-$  e  $\text{Ca}^{2+}$  nos peixes de água doce (SAKURAGUI et al., 2003). Alterações que possam comprometer a função respiratória ocorrem em virtude dos efeitos diretos e indiretos de contaminantes do meio aquático (MAZON et al., 2002b; FERNANDES et al., 2007).

O oxigênio da água é extraído por um sistema de contracorrente entre a água, no meio externo, e o sangue que circula no interior das lamelas, assegurando uma alta porcentagem de utilização do oxigênio dissolvido na água de até 80-90% (PIIPER, 1998), em algumas espécies como a tilápia do Nilo, (*O. niloticus*) (FERNANDES, 1996). O oxigênio absorvido pelas brânquias é transportado ao restante do corpo por vasos e capilares, difundindo-se para as células teciduais (HUGHES, 1984).

Svobodová et al. (2005), Garcia-Santos et al. (2007) e Ribeiro (2007) ressaltaram que as brânquias são importantes nas trocas gasosas, na regulação osmótica, no balanço ácido-base e no transporte e excreção de compostos nitrogenados. Essa multifuncionalidade faz das brânquias um órgão chave no monitoramento dos poluentes presentes no meio aquático. Nesse sentido, as alterações histológicas da brânquia são reconhecidas como um método rápido e válido para determinar os danos causados pela exposição a diferentes poluentes nos peixes (ARELLANO et al., 2000).

O epitélio da brânquia é a principal superfície de contato com o ambiente e constitui um importante alvo dos poluentes presentes na água, em razão de sua extensa área superficial (WONG; WONG, 2000). Nesse sentido, a análise das alterações histológicas das brânquias dos peixes teleósteos causadas pela exposição aos metais pesados, por exemplo, tem merecido um interesse crescente em estudos de toxicologia (THOPHON et al., 2003).

Alterações histopatológicas provocadas por água contaminada são quantificadas pela morfometria, método utilizado na análise de espessura dos filamentos branquiais, assim como na contagem do número de células de cloreto e de células mucosas (MONTEIRO et al., 2009).

A exposição de peixes a pesticidas organofosforados resulta em alterações morfológicas de brânquias que têm sido relatadas por diversos autores. O estudo de *Lepomis macrochirus*, exposto a concentração aguda do Malathion levou a necrose, edema, descolamento do epitélio e fusão de lamelas secundárias, acrescidos de deslocamento de epitélio e destruição da integridade lamelar secundária, quando o estudo foi realizado com *Oreochromis niloticus* (RUDNICKI, 2004).

## 1.7 Homeopatia

A palavra homeopatia tem origem no grego: *homeos* (semelhante) e *pathos* (moléstia). Surgiu na Alemanha, há mais de duzentos anos e já conquistou o mundo todo, desde a América do Norte, América do Sul, a maioria dos países europeus, Oceania, África e Oriente Médio (BENEZ et al., 2004).

A homeopatia é um método terapêutico baseado na cura por meio de medicamentos que produzem no organismo sintomas semelhantes aos da doença. Ela trata o indivíduo “de dentro para fora”, ou seja, trabalha primeiro o aspecto mental e, depois, o orgânico. Assim, contribui para a qualidade de vida do paciente, melhorando até mesmo o convívio social e familiar. Há mais de três mil “medicamentos” homeopáticos, produzidos a partir de substâncias do reino animal, vegetal e mineral e são também reconhecidos pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e pelo Ministério da Saúde (CUMMINGS; ULLMAN, 1999).

Christian Frederico Samuel Hahnemann (1755-1843), médico e químico alemão conhecido como o criador da homeopatia, nascido na cidade de Meissen, na Saxônia; estabeleceu um método terapêutico fundamentado em quatro princípios básicos, dispostos no livro “Organon da arte de curar”, em 1810 (BENEZ et al., 2004; GUEDES et al., 2004), tendo como princípios fundamentais:

- a) Lei da semelhança.** Cada paciente apresenta uma forma pessoal da doença que sofre.
- b) Experimentação no homem sadio.** O medicamento a ser prescrito é aquele cujos sintomas manifestados quando ingerido pelo homem sadio, são os mais próximos daqueles manifestados pelo paciente.
- c) Administração do medicamento em doses mínimas.** O medicamento deve ser diluído e dinamizado.
- d) Indicação de medicamento único:** A homeopatia é uma ciência baseada na arte médica do estímulo do organismo doente, na qual a escolha do medicamento é

determinada de acordo com os sintomas produzidos pela doença (Lei dos semelhantes “*Similia Similibus Curantur*”), proporcionando ao indivíduo condições físicas e mentais para alcançar a cura (BENITES, 2002).

A homeopatia se fundamenta na experimentação e na observação científica e, inversamente ao que ocorre com pesquisa no campo da medicina ortodoxa, esta trabalha somente com o ser humano em estado de boa saúde (MAURY; RUDDER, 2002).

Guedes et al. (2004) relataram que o princípio da semelhança se baseia na premissa que medicamentos preparados a partir de substâncias capazes de causar sintomas em um indivíduo sadio, poderiam curar estes mesmos sintomas em um indivíduo doente, quando administrados em doses muito pequenas. Com o objetivo de diminuir a toxicidade de determinadas substâncias, Hahnemann, começou a diluí-las e agitá-las vigorosamente, constituindo assim, o método por diluição e agitação (sucussão), recebendo o nome de “dinamização” (TEIXEIRA, 1998).

A Homeopatia prioriza o tratamento de cada organismo como único, respeitando as suas particularidades. Com base neste princípio, a conduta do médico veterinário homeopata é a de individualizar o paciente, buscando ao máximo todos aqueles sintomas raros, estranhos e peculiares apresentados na moléstia, entendendo que o que é digno de curar é o doente e não a patologia propriamente dita (SOUZA, 2002).

O pai da medicina moderna, Hipócrates (460-370 aC), já adotara entre seus preceitos a frase “...a doença é produzida pelos semelhantes e graças aos semelhantes que se administra ao paciente, esse evolui da doença para a saúde...” (MAURY; RUDDER, 2002).

O médico alemão Samuel Hahnemann, traduzindo obras sobre “*Matérias Médicas*” utilizou o fenômeno homeopático da experimentação das substâncias a serem utilizadas como medicamentos, administrando estas substâncias a indivíduos saudáveis, em pequenas quantidades, diariamente, até que estes manifestassem uma série de sintomas específicos para aquela substância, sendo este um dos princípios da homeopatia (BENITES, 2002; MAURY; RUDDER, 2002; GUEDES et al., 2004).

A medicina homeopática foi introduzida no Brasil em 1840, pelos médicos Beinoit Mure e João Vicente Martins, no Rio de Janeiro, os quais fundaram o Instituto Homeopático do Brasil (BENEZ et al., 2004). Desde então, a homeopatia tem sido prontamente assimilada e implantada com sucesso na rede pública hospitalar, tornando o Brasil um dos países líderes, na utilização desta terapia (PIRES, 2005).

A utilização da homeopatia em animais iniciou com Hahnemann, ao tratar equinos, e por Guilherme Lux, trabalhando com medicamentos dinamizados, através dos conhecimentos obtidos por Hahnemann, o qual afirmou que as leis por ele proclamadas, eram da natureza e válidas para todos os seres vivos (SOUZA, 2002; BENEZ et al., 2004).

Trabalhos realizados com eritrócitos de peixes, tratados com homeopatia (mercúrio clorídrico e *Nux vomica*), revelaram a interação do medicamento com proteínas dos canais de água dos eritrócitos, ocasionando permeabilidade, facilitando o influxo de água nessas células (SUKUL et al., 2003).

A partir da década de 1970, a homeopatia foi elevada à categoria de especialidade médica e a partir de 2000 foi reconhecida como especialidade médica veterinária, no Brasil, pelo Conselho Federal de Medicina Veterinária (SOUZA, 2002).

Wilhem Lux (1777-1849) veterinário homeopata, também contemporâneo de Hahnemann, foi o primeiro a tratar epidemias em animais em caráter coletivo usando isoterápicos, isto é, medicamentos preparados homeopaticamente a partir de produtos patológicos dos doentes. Neste sentido curativo, vários trabalhos foram sucedidos ao longo dos anos. No final da década de 1980, surgiram alguns trabalhos sobre a aplicação de produtos homeopáticos em porcos e aves em lotes de animais não com caráter curativo, mas zootécnico (REAL, 2009).

No Brasil, em 1942, foi publicado pelo Dr. Nilo Cairo o “Guia Prático da Veterinária Homeopática”. Na década de 1950, o médico-veterinário Cláudio Real inicia seus estudos na França, tornando-se o primeiro veterinário homeopata do Brasil. Entre os anos 1970-1980, um grupo de médicos veterinários se dirige às escolas homeopáticas de Curitiba, Ribeirão Preto, e Buenos Aires onde, após frequentarem os cursos de homeopatia humana, dão início, na década seguinte, a cursos de homeopatia veterinária em Campinas, Porto Alegre, Curitiba, São Paulo e Ribeirão Preto. Em 1996, a especialidade foi reconhecida pelo Conselho Federal de Medicina Veterinária e no ano de 2000, o reconhecimento da Homeopatia como especialidade Médico Veterinária, concedendo o título de Especialista àqueles veterinários homeopatas que forem aprovados no exame aplicado pela Associação Médico Veterinária Homeopática Brasileira - AMVHB (SOUZA, 2002; PIRES, 2005).

O novo método de tratamento coletivo com medicamentos homeopáticos adicionados aos suplementos minerais, rações ou proteinados, recebeu o nome de HOMEOPATIA POPULACIONAL. Por seu custo reduzido, eficácia, ausência total de

toxidez e por serem os princípios ativos homeopáticos extremamente diluídos com impossibilidade absoluta de deixar resíduos na carne ou no leite capaz e de prejudicar a saúde humana, a Homeopatia se tornou a medicina ideal em rebanhos. Esta permite levar a muitos animais os benefícios da ação dos produtos homeopáticos, a ação estimulatória e curativa, através da ingestão do produto, pelo menos uma vez ao dia (REAL, 2009).

A procura por produtos de origem animal produzidos em ambientes com a menor interferência de produtos químicos artificiais tem, impulsionado a pecuária orgânica, como uma das mais promissoras da medicina veterinária e zootecnia. A homeopatia é a ciência que pode colaborar com a produção desses produtos, sendo a técnica terapêutica considerada como ideal e recomendada para este tipo de produção animal, por causa da redução de resíduos nos subprodutos (LOPES, 2004).

Os medicamentos homeopáticos não provocam riscos aos animais, aos consumidores dos produtos de origem animal e nem ao meio ambiente, o qual é de contra partida, favorecido pelo menor uso de produtos químicos (LOPES, 2004).

A homeopatia atua no organismo animal de forma natural, tanto do ponto de vista do tratamento individual, como da criação, no caso da homeopatia populacional (LOURES; LIMA, 2001), sendo exclusivamente energética, respeitando e incentivando os mecanismos de cura, através da estimulação imunológica no combate a vírus, bactérias, fungos, tumores e outras doenças; permitindo que se restabeleça o equilíbrio do animal, modulando as respostas orgânicas, na redução do estresse (BENITES, 2002; SERVAIS, 2003; COUTINHO, 2006).

Souza (2002) afirmou que a homeopatia como forma de terapia para rebanhos segue os mesmos passos do tratamento individual, uma vez que o mesmo deve ser encarado como um organismo único e apresenta vantagens:

**Equilíbrio animal:** O caráter energético da terapêutica homeopática confere aos animais tratados a redução do estresse, especialmente no confinamento, por essa situação ser muito diferente do ambiente natural a que estão acostumados. Dessa maneira, esse procedimento em conjunto com um manejo adequado, possibilita o Bem-estar Animal, condição indispensável ao equilíbrio energético e a consequente saúde do rebanho.

Animais criados em condições de pouco estresse desenvolvem melhor suas potencialidades de produção com qualidade.

**Facilidade de administração:** O medicamento homeopático é administrado por via oral, podendo ser colocado na água, ração ou sal mineral possibilitando assim, administração fácil e não invasiva, de forma que os animais não são submetidos à contenção e traumas, como pela aplicação de injeções.

**Inexistência de resíduos:** Os produtos dos animais tratados com homeopatia não apresentam resíduos, motivo pelo qual ela é utilizada em modelos orgânicos de produção.

**Ausência de contaminação do meio ambiente:** A homeopatia não representa risco de contaminação, como o dos parasiticidas usados nos banhos de bovinos de corte que, à semelhança de outras substâncias para controle de parasitos, contaminam água, plantas e solo.

Essa contaminação altera o meio-ambiente, reduzindo os insetos endêmicos que auxiliam no controle biológico de pragas. Um bom exemplo é o besouro "vira-bosta", que controla o desenvolvimento das larvas da "mosca do chifre" que crescem nas fezes dos animais (CAIRO, 2004).

Benez et al. (2004), com base em dados colhidos durante os anos em que se utilizou da homeopatia em rebanhos de gado de corte no Brasil Central, observou que, alguns distúrbios de comportamento são tratados com eficácia e facilidade, visto que o medicamento é administrado via oral na ração ou sal mineral no cocho.

O controle de ectoparasitos como carrapatos, "moscas do chifre", bernes, piolhos é controlado pelo uso da homeopatia nos rebanhos extensivos de gado de corte, especialmente naqueles animais de raças cruzadas (raça nelore x raça europeia). Essa prática mantém o meio ambiente sem contaminação dos parasiticidas usados comumente nos bovinos e propicia uma carne livre de resíduos tóxicos para a alimentação humana (SOUZA, 2002; REAL, 2009).

As vantagens de se tratar animais com produtos naturais são inúmeras: baixo custo, produto atóxico não prejudicando a saúde do animal e não colocando em risco a saúde humana, facilidade de administração no cocho, não há período de carência para o abate do animal ou para descarte do leite; o que é significativo ao produtor, porque quando se faz uso do antibiótico o descarte de leite é muito grande (REAL, 2009).

O medicamento homeopático é preparado a partir da solução-mãe, na proporção de 1:10, que é constituída por um princípio ativo isolado, diluído em um solvente, que pode ser água destilada, álcool absoluto, álcool diluído, glicerina, glóbulo inerte de sacarose pura ou em mistura com lactose e ou amido. As formas farmacêuticas

derivadas guardam entre si concentrações decrescentes fixas, em razão do processo utilizado na sua preparação: método Hahnemanniano na escala centesimal (1:100); método de Hehring na escala decimal (1:10); escala cinquenta milesimal e método korsacoviano (BENITES, 2002; GUEDES et al., 2004).

Para compreender o efeito terapêutico da baixa diluição é preciso admitir que, além de certo limiar, encontra-se em presença de uma manifestação que se deve atribuir a uma ação medicamentosa mais qualitativa do que quantitativa e que vai de encontro à doença em questão. Quando corretamente utilizado, o fármaco homeopático não ocasiona choque terapêutico pela intoxicação medicamentosa e não leva a uma saturação do organismo, o que auxilia ao não estabelecimento da resistência medicamentosa (MAURY; RUDDER, 2002).

Há poucos estudos científicos utilizando a homeopatia em organismos aquáticos. Guedes et al. (2004) realizaram experimentos utilizando um bioterápico à base da glândula tireoide de rãs e obtiveram alterações na taxa de metamorfose dos tratados. O número de animais que atingiram o estágio final da metamorfose foi significativamente menor do que o grupo controle que recebeu somente a solução hidroalcoólica.

Nas espécies de peixes que apresentam precocidade e facilidade de reprodução, como as tilápias, quando se utilizam apenas exemplares do mesmo sexo nos tanques, dificilmente há um desenvolvimento gonadal completo e a energia destinada para o crescimento das gônadas, pode ser quase que inteiramente destinada para o crescimento corporal (BALDISSEROTTO, 2002).

A existência de um apelo mundial pela preservação ambiental, aliado a uma consciência crescente da população sobre as consequências à saúde ocasionadas por uma alimentação com grande quantidade de resíduos tóxicos, tem impulsionado a busca por produtos de origem animal produzidos em ambientes com a menor interferência de produtos químicos artificiais (BENEZ et al., 2004).

Apesar de limitações, a homeopatia está se expandindo, mas necessita de mais pesquisas, divulgação e tempo para ser adotada em ampla escala. O futuro da homeopatia veterinária é promissor, porque ela se insere no ciclo natural da vida (PIRES, 2005).

Uma das ações da homeopatia é restabelecer o equilíbrio (SERVAIS, 2003), reduzindo o estresse e desta forma interfere na taxa de sobrevivência. Souza (2002) afirmou que o caráter energético da terapêutica homeopática confere aos animais tratados a redução do estresse, especialmente nos sistemas intensivos, por ser muito

diferente do ambiente natural. Animais cultivados em condições de baixo estresse desenvolvem melhor as suas potencialidades de produção com qualidade, garantido maior sobrevivência.

Clausen e Albrecht (2010) forneceram uma visão geral do primeiro banco de dados na pesquisa clínica em homeopatia veterinária. A base de dados permite aos pesquisadores e médicos veterinários, os céticos e partidários, ter uma visão geral do estado da investigação clínica veterinária, em homeopatia e alivia a preparação das revisões sistemáticas ou pode estimular reproduções ou mesmo novos estudos.

Bonamin e Endler (2010) trabalhando em estudos de altas diluições realizado em modelos animais verificaram, entre outros resultados que, ambos os modelos isopáticos e Similia parecem úteis para entendimento de alguns fenômenos biológicos complexos, como a interação hospedeiro-parasita. E os efeitos das altas diluições ajudaram a restaurar os sistemas vivos a um “estado estável”, recuperando parâmetros normais similares ao controle.

Pires (2005) ressaltou que, independentemente do modo de ação dos medicamentos, sabe-se que a homeopatia equilibra o organismo pelo estímulo de suas defesas naturais, ajudando-o a se defender melhor. Assim, o objetivo do tratamento é estimular todo o organismo à cura, ao invés de ataques específicos aos micro-organismos.

Vargas (2004) constatou que diversos autores relataram a utilização de produtos químicos no controle e no tratamento contra tricodinídios, monogenéticos e outros parasitos em tilápias, porém sem grande sucesso. Oliveira e Viegas (2004) acrescentaram dos riscos provocados pelo uso de antibióticos na aquicultura, entre eles, a transmissão de bactérias resistentes e a presença de drogas residuais em tecidos comestíveis nos produtos da aquicultura. A busca pela garantia da qualidade do pescado prima por uma melhoria na qualidade sanitária, garantindo a segurança dos alimentos e reduzindo os perigos químicos presentes nos produtos da aquicultura e nas fontes de água.

## Referências

- AGOSTINHO, A.A.; GOMES, L.C.; PELICICE, F.M. **Ecologia e manejo de recursos pesqueiros em reservatórios do Brasil**. Maringá: EDUEM, 2007. 501p.
- AL-RASHEID, K.A.S.; ALI, M.A.; SAKRAN, T.; BAKI, A.A.A.; GHAFAR, F.A.A. Trichodinid ectoparasites (Ciliophora: Peritrichida) of some River Nile fish, Egypt. **Parasitology International**, v.49, no.2, p.131-137, 2000.

- AMLACHER, E. **Manual de enfermedades de los peces**. Zaragoza: Acribia, 1964. 319p.
- ANDERSON, R.M.; MAY, R.M. Population biology of infectious disease: part I. **Nature**, v.280, no.5721, p.361-367, 1979.
- ARANA, L.V. **Fundamentos de aquicultura**. Florianópolis: Ed. UFSC, 2004. 348p.
- ARELLANO, J.M.; BLASCO, J.; ORTIZ, J.B.; CAPETA DA SILVA, D.; NAVARRO, A.; SANCHEZ DEL PINO, M.J.; SARASQUETE, M.C. Accumulation and histopathological effects of copper in gills and liver of Senegales sole, *Solea senegalensis* and toad fish, *Halobatrachus didactylus*. **Ecotoxicology and Environmental Restoration**, v.3, no.1, p.22-28, 2000.
- ARIAS, I.M.; JAKOBY, W.B.; POPPER, H.; SCHACHTER, D.; SHAFRITZ, D.A. (Ed.). **The liver: biology and pathobiology**. 2nd ed. New York: Raven Press, 1988. 1377p.
- AYROZA, L.M.S.; ROMAGOSA, E.; VERANI, J.R.; SALLES, F.A.; AYROZA, D.M.M.R. Efeito da densidade de estocagem e do nível protéico da ração sobre o peso médio, produção e sobrevivência de tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus* criadas em tanques-rede. In: AQUACIÊNCIA, 2006, Bento Gonçalves, RS. **Anais eletrônicos...** Bento Gonçalves: Aquaciência, 2006. 1 CD-ROM.
- AZEVEDO, T.M.P. de. **Parasitofauna e características hematológicas de *Oreochromis niloticus* mantido em sistema de cultivo integrado e intensivo no Vale do Rio Tijucas, Santa Catarina**. 2004. 62f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura)-Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.
- BACHÈRE, E. Anti-infectious immune effectors in marine invertebrates: potential tools for disease control in larviculture. **Aquaculture**, v.227, no.1-4, p.427-438, 2003.
- BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2002. 211p.
- BARKER, D.E.; CONE, D.K.; BURT, M.D.B. *Trichodina murmanica* (Ciliophora) and *Gyrodactylus pleuronecti* (Monogenea) parasitizing hatchery-reared winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum): effects on host growth and assessment of parasite interaction. **Journal of Fish Diseases**, v.25, no.2, p.81-89, 2002.
- BEKÉSI, L. Evaluation of data on ichthyopathological analyses in the Brazilian Northeast. **Ciência e Cultura**, v.44, n.6, p.400-403, 1992.
- BENEZ, S.M.; BOERICKE, S.; CAIRO, N.; JACOBS, P.H.; MacLEOD, G.; SCHROYENS, F.; TIEFENTHALER, A.; VIJNOVSKY, B.; WOLFF, H.G. **Manual de homeopatia veterinária: indicações clínicas e patológicas: teoria e prática**. 2. ed. Ribeirão Preto: Tecmedd, 2004. 595p.
- BENITES, N.R. Homeopatia. In: SPINOSA, H. de S.; GÓRNIAC, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p.700-708.
- BEYRUTH, Z.; MAINARDES-PINTO, C.S.R.; FUSCO, S.M., FARIA, F.C.; SILVA, A.L. Utilização de alimentos naturais por *Oreochromis niloticus* em tanques de terra com arraçoamento. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.30, n.1, p.9-24, 2004.

BOMBARDELLI, R.A.; HAYASHI, C. Masculinização de lavas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) a partir de banhos de imersão com 17 $\alpha$ -Metiltestosterona. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2, p.365-372, 2005.

BOMBARDELLI, R.A.; HAYASHI, C.; MEURER, F.; FORNARI, D.C. Masculinização de larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por banhos de imersão e o andrógeno dissolvido em solução de dimetilsulfóxido (DMSO). **Acta Scientiarum. Animal Science**, v.26, no.2, p.209-215, 2004.

BONAMIN, L.V.; ENDLER, P.C. Animal models for studying homeopathy and high dilutions: conceptual critical review. **Homeopathy**, v.99, no.1, p.37-50, 2010.

BORGHETTI, N.R.B.; OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R. **Aqüicultura: uma visão geral sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no mundo**. Curitiba: Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais, 2003. 129p.

BRASIL. Ministério da Peca e Aquicultura. **Produção pesqueira e aquícola: estatística 2008 e 2009**. Brasília, DF: MPA, ASCOM, 2010. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/mpa/seap/Jonathan/mpa3/dados/2010/Docs/Caderno%20Consolidada%20A7%20A3o%20dos%20dados%20estatisticos%20final%20curvas%20-%20completo.pdf>> Acesso em: 10 out. 2010.

CAIRO, N. Técnica homeopática veterinária: histórico. In: BENEZ, S.M.; BOERICKE, S.; CAIRO, N.; JACOBS, P.H.; MacLEOD, G.; SCHROYENS, F.; TIEFENTHALER, A.; VIJNOVSKY, B.; WOLFF, H.G. **Manual de homeopatia veterinária: indicações clínicas e patológicas: teoria e prática**. 2. ed. Ribeirão Preto: Tecmedd, 2004. p.31-53.

CAMPOS-RAMOS, R.; HARVEY, S.C.; McANDREW, B.J.; PENMAN, D.J. An investigation of sex determination in the Mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus*, using synaptonemal complex analysis, FISH, sex reversal and gynogenesis. **Aquaculture**, v.221, no.1-4, p.125-140, 2003.

CAVICHIOLO, F. **Desempenho e morfologia de brânquias e fígado de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com diferentes níveis e fontes de proteínas**. 2005. 57f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2005.

CERQUEIRA, V.R. Cultivo de peixes marinhos. In: POLI, C.R.; POLI, A.T.B.; ANDREATTA, E.R.; BELTRAME, E. (Org.). **Aqüicultura: experiências brasileiras**. Florianópolis: Multitarefa, 2004. cap. XV, p.369-406.

CLAUSEN, J.; ALBRECHT, H. Database on veterinary clinical research in homeopathy. **Homeopathy**, v.99, no.3, p.189-191, 2010.

COUTINHO, F. **A homeopatia no cultivo das plantas**. Benefícios da homeopatia. Disponível em: <[http://www.homeopatiaonline.com/ver\\_texto.asp?id=46](http://www.homeopatiaonline.com/ver_texto.asp?id=46)> Acesso em: 15 out. 2006.

CRUZ, C. da. **Aspectos toxicológicos de paration metílico e de extrato aquoso de folhas secas de nim (*Azadirachta indica*) para o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e eficácia no controle de monogenea Dactylogyridae**. 2001. 97f. Tese (Doutorado em Aqüicultura de Águas Continentais) - Centro de Aqüicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

- CUMMINGS, S.; ULLMAN, D. **Guia natural de medicina homeopática**: remédios seguros e eficazes para a sua família. Tradução: Henrique Amat Rêgo Monteiro. São Paulo: Madras, c1999. 489p.
- CYRINO, J.E.P.; BICUDO, A.J.A.; SADO, R.Y.; BORGHESI, R.; DAIRIKI, J.K. A nutrição de peixes e o ambiente. In: SIMPÓSIO DE NUTRIÇÃO E SAÚDE DE PEIXES, 1., 2005, Botucatu. **Anais...** Botucatu: UNESP. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia: Aquanutri, 2005. p.103-120.
- DALMO, R.A.; INGEBRIGTSEN, K.; BOGWALD, J. Non-specific defence mechanisms in fish, with particular reference to the reticuloendothelial system (RES). **Journal of Fish Diseases**, v.20, no.4, p. 241-273, 1997.
- DESPREZ, D.; GÉRAZ, E.; HOAREAU, M.C.; MÉLARD, C.; BOSC, P.; BAROILLER, J.F. Production of a high percentage of male offspring with a natural androgen, 11 $\beta$ -hydroxyandrostenedione (11 $\beta$ OHA4), in Florida red tilapia. **Aquaculture**, v.216, no.1-4, p.55-65, 2003.
- DIAZ, R.J. Overview of hypoxia around the world. **Journal of Environmental Quality**, v.30, no.2, p.275-281, 2001.
- DOBSON, A.P.; KEYMER, A.E. Population dynamics and community structure of parasite helminths. In: SHORROCKS, B.; SWINGLAND, I.R. (Ed.). **Living in a patchy environment**. Oxford; New York: Oxford University Press, 1990. chap.7, p.107-126.
- DOBSON, A.P.; ROBERTS, M. The population dynamics of parasite helminth communities. **Parasitology**, v.109, suppl.1, p. S97-S108, 1994.
- EIRAS, J.C. **Elementos de ictioparasitologia**. Porto: Fundação Eng. António de Almeida, 1994. 339p.
- EL-SAYED, A.-F.M. **Tilapia culture**. Wallingford, UK: CABI Publishing, 2006. chap.8, p.139-159.
- EVANS, D.H.; PIERMARINI, P.M.; CHOE, K.P. The Multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. **Physiology Review**, v.85, no.1, p.97-177, 2005.
- FAO. **La pesca mundial necesita prepararse para el cambio climático**. 2 de março de 2009, Roma. Disponível em: <<http://www.fao.org/news/story/es/item/10270/icode/>> Acesso em: 16 ago. 2010.
- FERNANDES, M.N. Morpho-functional adaptations of gills in tropical fish. In: VAL, A.L.; ALMEIDA-VAL, V.M.F. de; RANDALL, D.J. (Ed.). **Physiology and biochemistry of the fishes of the Amazon**. Manaus: INPA, 1996. p.181-190.
- FERNANDES, M.N.; MORON, S.E.; SAKURAGUI, M.M. Gill morphological adjustments to environment and the gas exchange function. In: FERNANDES, M.N.; RANTIN, T.F.; GLASS, M.L.; KAPOOR, B.G. (Ed.). **Fish respiration and environment**. Enfield, NH: Science Publishers, 2007. chap.6, p.93-120.
- FERNANDES JUNIOR, A.C.; BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E.; GUIMARÃES, I.G.; SANTOS, V.G. dos; PADOVANI, C.R. Desempenho produtivo de tilápia do Nilo alimentada com níveis de colina na dieta. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.32, no.2, p.163-167, 2010.

FISHELSON, L. Cytomorphological alterations of the thymus, spleen, head-kidney, and liver in cardinal fish (*Apogonidae, Teleostei*) as bioindicators of stress. **Journal of Morphology**, v.267, no.1, p.57-69, 2006.

FITZSIMMONS, K. Tilapia: the most important aquaculture species of the 21st century. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA AQUACULTURE (ISTA), 5., 2000, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: ISTA, 2000. v.1, p.3-8.

FREITAS, C.E. de C. Recursos pesqueiros amazônicos: status atual da exploração e perspectivas de desenvolvimento do extrativismo e da piscicultura. In: MELLO, A.F. (Org.). **O Futuro da Amazônia: dilemas, oportunidades e desafios no limiar do século XXI**. Belém: EDUFPA, 2002. p.101-129.

GAMA, C. de S. A criação de tilápia no estado do Amapá como fonte de risco ambiental. **Acta Amazônica**, v.38, n.3, p.525-530, 2008.

GARCIA-SANTOS, S.; MONTEIRO, S.M.; CARROLA, J.; FONTAÍNHAS-FERNANDES, A. Alterações histológicas em brânquias de tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* causadas pelo cádmio. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.2, p.376-381, 2007.

GINGERICH, W.H.; DALICH, G.M. An evaluation of liver toxicity in rainbow trout following treatment with monochlorobenzene. **Proceedings of the Western Pharmacology Society**, v.21, p.475-480, 1978.

GOMES, L.C.; ROUBACH, R.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; CHIPARI-GOMES, A.R.; LOPES, N.P.; URBINATI, E.C. Effect of fish density during transportation on stress and mortality of juvenile Tambaqui, *Colossoma macropomum*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.34, no.1, p.76-84, 2003.

GRAM, L.; MELCHIORSEN, J.; SPANGGAARD, B.; HUBER, I.; NIELSEN, T.F. Inhibition of *Vibrio anguillarum* by *Pseudomonas fluorescens* AH2, a possible probiotic treatment of fish. **Applied and Environmental Microbiology**, v.65, no.3, p.969-973, 1999.

GUEDES, J.R.P.; FERREIRA, C.M.; BUENO-GUIMARÃES, H.M. Emprego do tratamento homeopático nos organismos aquáticos. In: RANZANI-PAIVA, M.J.T.; TAKEMOTO, R.M.; LIZAMA, M. de los A.P. **Sanidade de organismos aquáticos**. São Paulo: Liv. Varela, 2004. cap.19, p.383-397.

GUPTA, M.V.; ACOSTA, B.O. From drawing board to dining to table: The success story of the GIFT project. **Naga, Worldfish Center Quarterly**, v.27, no. 3 & 4, p.1-14, 2004.

HILSDORF, A.W.S.; MOREIRA, R.G. Aqüicultura retoma desafios da revolução verde. **Scientific American Brasil**, v.2, no.22, p. 24-29, 2004.

HIROSE, S.; KANEKO, T.; NAITO, N.; TAKEI, Y. Molecular biology of major components of chloride cells. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v.136, no.4, p.593-620, 2003.

HUGHES, G.M. Gills: Anatomy, gas transfer, and acid-base regulation. In: HOAR, W.S.; RANDALL, D.J. (Ed.). **Fish physiology**. New York: Academic Press, 1984. v.10, pte.A, p.1-72.

IBAMA. **Estatística da pesca 2007 - Brasil**. Grandes Regiões e Unidades da Federação. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/recursos-pesqueiros/documentos/estatística-pesqueira>> Acesso em: 09 nov. 2010.

IFRAH, G. Histoire de l'eau. Paris, 1992. In: DECLARAÇÃO Universal dos Direitos da Água. **Panorama da Aqüicultura**, v.6, n.34, p.5, 1996.

JOBLING, M. **Fish bioenergetics**. 1st ed. London: Chapman & Hall, 1994. 309p. (Fish and fisheries series, 13).

JORY, D.E.; ALCESTE, C.; CABRERA, T.R. Mercado y comercialización de tilapia en los Estados Unidos de Norte América. **Panorama Acuicola**, v.5, n.5, p.50-53, 2000.

KITAMURA, P.C.; QUEIROZ, J.F. de; LOPES, R.B.; CASTRO, F.G. de; BOYD, C.E. Environmental and economic assessment of fee-fishing in São Paulo State, Brazil. **Journal of Applied Aquaculture**, v.12, no.4, p.23-41, 2002.

KRÜGER, E.L. Uma abordagem sistêmica da atual crise ambiental. **Desenvolvimento e meio ambiente**, n.4, p.37-43, 2001.

KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. 1. ed. Jundiaí: F. Kubitza, 2000. 287p.

KUBITZA, F. A evolução da tilapicultura no Brasil: produção e mercados. **Panorama da Aqüicultura**, v.13, n.76, p.25-35, 2003.

LACHI, G.B.; SIPAÚBA-TAVARES, L.H. Qualidade da água e composição fitoplanctônica de um viveiro de piscicultura utilizado para fins de pesca esportiva e irrigação. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.34, n.1, p.29-38, 2008.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger princípios de bioquímica**. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2002. 975p.

LEONARDO, J.M.L.O.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R.P.; MOREIRA, H.L.M.; NATALI, M.R.M.; VOLSKI, T.; CAVICHIOLO, F. Histologia das brânquias de larvas da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.), de origem tailandesa, submetidas a diferentes níveis de vitamina C. **Acta Scientiarum**, v.23, n.4, p.863-870, 2001.

LIM, C.; YILDIRIM-AKSOY, M.; KLESIOUS, P.H. Nutrition, immune response and disease resistance in fish. In: SIMPÓSIO DE NUTRIÇÃO E SAÚDE DE PEIXES, 1., 2005, Botucatu. **Anais...** Botucatu: UNESP. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia: Aqvanutri, 2005. p.46-83.

LIMA, L.C.; LEITE, R.C. Boas coletas garantem bons diagnósticos. **Panorama da Aqüicultura**, v.16, n.96, p.24-29, 2006.

LOPES, E.G. Homeopatia aplicada à parasitologia veterinária. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12.; SIMPÓSIO LATINOAMERICANO DE RICKETSIOSES, 1., 2004, Ouro Preto. **Anais...** Ouro Preto: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2004. p.150-155.

LOURES, B.R. da R.; LIMA, S. Anatomia de peixes. In: MOREIRA, H.L.M.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R.P.; ZIMMERMANN, S. (Org.). **Fundamentos da moderna aqüicultura**. Canoas: Ulbra, 2001. cap.2, p.17-22.

MADSEN, H.C.K.; BUCHMANN, K.; MELLERGAARD, S. Treatment of trichodiniasis in eel (*Anguilla anguilla*) reared in recirculation systems in Denmark: alternatives to formaldehyde. **Aquaculture**, v.186, no.3-4, p.221-231, 2000.

MALTA, J.C. de O. Os peixes de um lago de várzea da Amazônia Central (Lago Janauacá, rio Solimões) e suas relações com os crustáceos ectoparasitas (Branchiura: Argulidae). **Acta Amazônica**, v.14, n.3-4, p.355-372, 1984.

- MALTA, J.C. de O.; GOMES, A.L.S.; ANDRADE, S.M.S. de; VARELLA, A.M.B. Infestações maciças por acantocéfalos, *Neoechinorhynchus buttnerae* Golvan, 1956, (Eoacanthocephala: Neoechinorhynchidae) em tambaquis jovens, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) cultivados na Amazônia Central. **Acta Amazônica**, v.31, n.1, p.133-143, 2001.
- MANCINI, M.; LARRIESTRA, A.; SÁNCHEZ, J. Estudio ictiopatólogico en poblaciones silvestres de la región centro-sur de la provincia de Córdoba, Argentina. **Revista de Medicina Veterinaria**, v.81, n.2, p.104-108, 2000.
- MARDINI, C.V.; MARDINI, L.B.L.F. **Cultivo de peixes e seus segredos**. 1. ed. Canoas: ULBRA, 2000. 204p.
- MARTINS, M.L. Manejo sanitário na piscicultura. In: RANZANI-PAIVA, M.J.T.; TAKEMOTO, R.M.; LIZAMA, M.A.P. (Ed.). **Sanidade de organismos aquáticos**. São Paulo: Liv. Varela, 2004. cap.15, p.323-332.
- MARTINS, M.L.; MORAES, F.R.; FUJIMOTO, R.Y.; ONAKA, E.M.; NOMURA, D.T.; SILVA, C.A.H.; SCHALCH, S.H.C. Parasitic infections in cultivated freshwater fishes a survey of diagnosed cases from 1993 to 1998. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.9, n.1, p.23-28, 2000.
- MARTINS, M.L.; ONAKA, E.M.; MORAES, F.R. de; BOZZO, F.R.; PAIVA, A. de M. e F.C.; GONÇALVES, A. Recent studies on parasitic infections of freshwater cultivated fish in the State of São Paulo, Brazil. **Acta Scientiarum**, v.24, n.4, p.981-985, 2002.
- MARTINS, M.L.; GHIRALDELLI, L.; AZEVEDO, T.M.P. de. Ectoparasitos de tilápias (*Oreochromis niloticus*) cultivadas no Estado de Santa Catarina, Brasil. In: SOUZA-SILVA, A.T. (Org.). **Sanidade de organismos aquáticos no Brasil**. Maringá: ABRAPOA, 2006. cap.13, p.253-270.
- MATSUZAKI, M.; MUCCI, J.L.N.; ROCHA, A.A. Comunidade fitoplanctônica de um pesqueiro na cidade de São Paulo. **Revista de Saúde Pública**, v.38, n.5, p.679-686, 2004.
- MAURY, E.A.; RUDDER, C. de. **Guia das plantas medicinais**. São Paulo: Rideel, 2002. 608p.
- MAXIMIANO, A. de A.; FERNANDES, R.O. de; NUNES, F.P.; ASSIS, M.P. de; MATOS, R.V. de; BARBOSA, C.G.S.; OLIVEIRA-FILHO, E.C. Utilização de drogas veterinárias, agrotóxicos e afins em ambientes hídricos: demandas, regulamentação e considerações sobre riscos à saúde humana e ambiental. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.10, n.2, p.483-491, 2005.
- MAZON, A.F.; MONTEIRO, E.A.S.; PINHEIRO, G.H.D.; FERNANDES, M.N. Hematological and physiological changes induced by short-term exposure to copper in the freshwater fish, *Prochilodus scrofa*. **Brazilian Journal of Biology**, v.62, n.4A, p.621-631, 2002a.
- MAZON, A.F.; CERQUEIRA, C.C.C.; FERNANDES, M.N. Gill cellular changes induced by copper exposure in the South American tropical freshwater fish *Prochilodus scrofa*. **Environmental Research**, v.88, no.1, p.52-63, 2002b.
- MEDRI, V.; MEDRI, W.; CAETANO FILHO, M. Desempenho de tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus* L.) alimentadas com diferentes níveis de proteínas de levedura

de destilaria em tanques-rede. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.27, no.2, p.221-227, 2005.

MENEZES, L.C.B.; BEYRUTH, Z. Impactos da aqüicultura em tanques-rede sobre a comunidade bentônica da represa de Guarapiranga - São Paulo - SP. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.29, n.1, p.77-86, 2003.

MERCANTE, C.T.J.; ESTEVES, K.E.; PEREIRA, J.S.; OSTI, J.S. **Limnologia na aqüicultura**: estudo de caso em pesqueiros. Textos técnicos. Disponível em: <[http://www.pesca.sp.gov.br/textos\\_tecnicos.php](http://www.pesca.sp.gov.br/textos_tecnicos.php)> Acesso em: 15 out. 2008.

MEURER, F.; BOMBARDELLI, R.A.; HAYASHI, C.; FORNARI, D.C. Grau de moagem dos alimentos em rações para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o período de reversão sexual. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.27, no.1, p.81-85, 2005.

MEYERS, T.R.; HENDRICKS, J.D. Histopathology. In: RAND, G.M.; PETROCELLI, S.R. (Ed.). **Fundamentals of aquatic toxicology**: methods and applications. Washington: Hemisphere Pub. Corp., 1985. p.283-331.

MONTEIRO, S.M.; FONTAÍNHAS-FERNANDES, A.A.; SOUSA, M. Caracterização morfológica e ultrastrutural do epitélio branquial de peixes teleósteos. **Revista Portuguesa de Zootecnia**, v.11, n.2, p.13-35, 2004.

MONTEIRO, S.M.; ROCHA, E.; MANCERA, J.M.; FONTAÍNHAS-FERNANDES, A.; SOUSA, M. A stereological study of copper toxicity in gills of *Oreochromis niloticus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.72, no.1, p.213-223. 2009.

MORAES, F.R.; MARTINS, M.L. Condições predisponentes e principais enfermidades de teleósteos em piscicultura intensiva. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSSO, D.M.; CASTAGNOLLI, N. (Ed.). **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, 2004. cap.12, p.343-386.

NEVES, D.P. **Parasitologia humana**. 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 494p.

OLIVEIRA, E.R.N. de; VIEGAS, E.M.M. Qualidade do Pescado. In: RANZANI-PAIVA, M.J.T.; TAKEMOTO, R.M.; LIZAMA, M. de los A.P. **Sanidade de organismos aquáticos**. São Paulo: Liv. Varela, 2004. cap.21, p.415-426.

OSTRANDER, G.K. (Ed.). **The laboratory fish**. London: San Diego, USA: Academic Press, 2000. 678p.

OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R.; PEDINI, M. Situação atual da aqüicultura brasileira e mundial. In: VALENTI, W.C.; POLI, C.R.; PEREIRA, J.A.; BORGHETTI, J.R. (Ed.). **Aqüicultura no Brasil**: bases para um desenvolvimento sustentável. Brasília: CNPq/MCT, 2000. p.353-382.

PÁDUA, H.B. Impacto ambiental: um impacto na aqüicultura. **Revista Brasileira de Agropecuária**, v.1, n.12, p.1-66, 2001.

PAVANELLI, G.C.; EIRAS, J. da C.; TAKEMOTO, R.M. **Doenças de peixes**: profilaxia, diagnóstico e tratamento. Maringá: Eduem, 1998. 264p.

PAVANELLI, G.C.; EIRAS, J. da C.; TAKEMOTO, R.M. **Doenças de peixes**: profilaxia, diagnóstico e tratamento. 2. ed. Maringá: Eduem, 2002. 305p.

PAVANELLI, G.C.; EIRAS, J. da C.; TAKEMOTO, R.M. **Doenças de peixes**: profilaxia, diagnóstico e tratamento. 3. ed. Maringá: Eduem, 2008. 311p.

PIIPER, J. Branchial gas transfer models. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v.119, no.1, p.125-130, 1998.

PIRES, M. de F.Á. **A homeopatia para os animais**. 1. ed. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2005. (Comunicado técnico, 46).

PORTZ, L. Recentes avanços na imuno-nutrição de peixes. In: SOUZA-SILVA, A.T. (Org.). **Sanidade de organismos aquáticos no Brasil**. Maringá: ABRAPOA, 2006. cap.11, p.229-237.

RANZANI-PAIVA, M.J.T.; SILVA-SOUZA, A.T. Co-infestation of gills by different parasite groups in the mullet *Mugil platanus* Günther, 1880 (Osteichthyes, Mugilidae): effects on relative condition factor. **Brazilian Journal of Biology**, v.64, no.3b, p.677-682, 2004.

REAL, C.M. **Homeopatia populacional**. 05 de abril de 2009. Disponível em: <<http://www.realh.com.br/artigo.php?id=34>> Acesso em: 17 ago. 2010.

RIBEIRO, R.P. Espécies exóticas. In: MOREIRA, H.L.M.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R.P.; ZIMMERMANN, S. (Org.). **Fundamentos da moderna aqüicultura**. Canoas: Ulbra, 2001. cap.11, p.91-121.

RIBEIRO, E.A. **Efeitos de concentrações subletais dos hidrocarbonetos poliaromáticos específicos BTX (benzeno, tolueno e xileno) no peixe (*Sphoeroides testudineus* Linnaeus, 1758) através de biomarcadores bioquímicos e histológicos**. 2007. 59f. Tese (Doutorado) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

ROCHA, R.M.; LEME-DOS SANTOS, H.S.; VICENTINI, C.A.; DA CRUZ, C. Structural and ultrastructural characteristics of interrenal gland and chromaffin cell of matrinxã, *Brycon cephalus* Gunther 1869 (Teleostei-Characidae). **Anatomy, Histology and Embryology**, v.30, n.6, p.351-355, 2001.

ROMER, A.S.; PARSONS, T.S. **Anatomia comparada dos vertebrados**. São Paulo: Atheneu, 1985. 559p.

ROTTA, M.A. **Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura**. 1. ed. Corumbá, MS: Embrapa Pantanal, 2003. 48p. (Documentos, 53). Disponível em: <<http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/DOC53.pdf>> Acesso em: 16 set. 2010.

RUDNICKI, C.A.M. **Análise qualitativa e quantitativa das histopatologias causadas pelo organofosforado Azodrin®400 sobre o tecido branquial do peixe de água doce *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) após exposição subletal**. 2004. 73f. Dissertação (Mestrado) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

SAKURAGUI, M.M.; SANCHES, J.R.; FERNANDES, M.N. Gill chloride cell proliferation and respiratory responses to hypoxia of the neotropical erythrinid fish *Hoplias malabaricus*. **Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology**, v.173, no.4, p.309-317, 2003.

SANTEIRO, R.M. **Impacto ambiental da piscicultura na qualidade da água e na comunidade planctônica**. 2005. 93f. Tese (Doutorado) - Centro de Aqüicultura, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2005.

- SANTOS, A.A.; RANZANI-PAIVA, M.J.T.; FELIZARDO, N.N.; RODRIGUES, E. de L. Análise histopatológica de fígado de tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus*, criada em tanque-rede na represa de Guarapiranga, São Paulo, SP, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.30, n.2, p.141-145, 2004.
- SCHALCH, S.H.C.; MORAES, F.R. de. Distribuição sazonal de parasitos branquiais em diferentes espécies de peixes em pesque-pague do município de Guariba-SP, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.14, n.4, p.141-146, 2005.
- SCHMIDT-NIELSEN, K. **Fisiologia animal: adaptação e meio ambiente**. 5. ed. São Paulo: Ed. Santos, 1996. 600p.
- SCHWAIGER, J.; WANKE, R.; ADAM, S.; PAWERT, M.; HONNEN, W.; TRIEBSKORN, R. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. **Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery**, v.6, no.1, p.75-86, 1997.
- SELYE, H. Stress and the general adaptation syndrome. **British Medical Journal**, v.1, no.4667, p.1383-1392, 1950.
- SERVAIS, P.M. (Org.). **Larousse da homeopatia**. 1. ed. São Paulo: Larousse do Brasil, 2003. 318p.
- SHAHAROM-HARRISON, F.M.; ANDERSON, I.G.; SITI, A.Z.; SHAZILI, N.A.M.; ANG, K.J.; AZMI, T.I. Epizootics of Malaysian cultured freshwater pond fishes by *Piscinoodinium pillulare* (Schaperclaus 1954) Lom 1981. **Aquaculture**, v.86, no.2-3, p.127-138, 1990.
- SIPAÚBA-TAVARES, L.H.; GOMES, J.P.F. dos S.; BRAGA, F.M. de S. Effect of liming management on the water quality in *Colossoma macropomum* ("Tambaqui"), ponds. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v.15, n.3, p.95-103, 2003.
- SITJÀ-BOBADILLA, A.; REDONDO, M.J.; BERMÚDEZ, R.; PALENZUELA, O.; FERREIRO, I.; RIAZA, A.; QUIROGA, I.; NIETO, J.M.; ALVAREZ-PELLITERO, P. Innate and adaptive immune responses of turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), following experimental infection with *Enteromyxum scophthalmi* (Myxosporea: Myxozoa). **Fish & Shellfish Immunology**, v.21, no.5, p.485-500, 2006.
- SOUZA, M.F.A. Homeopatia Veterinária. In: CONFERÊNCIA VIRTUAL GLOBAL SOBRE PRODUÇÃO ORGÂNICA DE BOVINOS DE CORTE. 1., 2002. **Anais eletrônicos...** Corumbá: Embrapa Pantanal; Concórdia: Universidade do Contestado. Disponível em: <<http://www.cpap.embrapa.br/agencia/congressovirtual/pdf/portugues/02pt02.pdf>> Acesso em: 14 out. 2003.
- STICKNEY, R.R. Status of research on tilapia. In: COSTA-PIERCE, B.A.; RACOCY, J.E. **Tilapia aquaculture in the Americas**. Baton Rouge: World Aquaculture Society, 2000. v.2, chap.2, p.21-33.
- STOFELLA, D.R.E. **Variabilidade morfológica da região faríngea dos arcos branquiais de algumas espécies de peixes (Teleostei), estudada através da microscopia eletrônica de varredura**. 1994. 125f. Tese (Doutorado) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1994.
- SUKUL, N.C.; DE, A.; SINHABABU, S.P.; SUKUL, A. Potentized mercuric chloride and *Nux vomica* facilitate water permeability in erythrocytes of a fresh-water catfish *Clarius batrachus* under acute ethanol intoxication. **Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v.9, no.5, p.719-725, 2003.

SUSSEL, F.R. A cadeia da tilapia se organiza. In: ANUALPEC 2008: Anuário da Pecuária Brasileira. São Paulo: AgraFNP, 2008.

SVOBODOVÁ, Z.; MÁCHOVÁ, J.; DRASTICHOVÁ, J.; GROCH, L.; LUSKOVÁ, V. Haematological and biochemical profiles of carp blood following nitrite exposure at different concentrations of chloride. **Aquaculture Research**, v.36, no.12, p.1177-1184, 2005.

TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. (Ed.). **An atlas of fish histology: normal and pathological features**. 2nd ed. Tokyo: Kodansha; Stuttgart: New York: Gustav Fischer, 1995. 195p.

TAVARES-DIAS, M.; MARTINS, M.L.; KRONKA, S.N. Evaluation of the haematological parameters in *Piaractus mesopotamicus* Holmberg (Osteichthyes, Characidae) with *Argulus* sp. (Crustácea, Branchiura) infestation and treatment with organophosphate. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.16, n.2, p.553-555, 1999.

TAVARES-DIAS, M. **Estudos parasitológico e hematológico em peixes oriundos de "pesque-pagues" do município de Franca, São Paulo**. 2000. 130f. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura), Centro de Aqüicultura, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2000.

TEIXEIRA, M.Z. **Semelhante cura semelhante: o princípio de cura homeopático fundamentado pela nacionalidade médica e científica**. São Paulo: Petrus, 1998. 463p.

THATCHER, V.E. Amazon fish parasites. **Amazoniana**. v.11, no.3-4, p.263-572, 1991.

THOPHON, S.; KRUATRACHUE, M.; UPATHAM, E.S.; POKETHITIYOOK, P.; SAHAPHONG, S.; JARITKHUAN, S. Histopathological alterations of white seabass, *Lates calcarifer*, in acute and subchronic cadmium exposure. **Environmental Pollution**, v.121, no.3, p.307-320, 2003.

TOMAZELLI JUNIOR., O.; CASACA, J. de M.; SMANIOTTO, M.J. Construção de viveiros para piscicultura. In: POLI, C.R.; POLI, A.T.B.; ANDREATTA, E.R.; BELTRAME, E. (Org.). **Aqüicultura: experiências brasileiras**. Florianópolis: Multitarefa, 2004. cap. I, p.1-32.

TUNDISI, J.G. Aqüicultura: impactos, gerenciamento integrado, perspectivas para o Brasil. In: SILVA-SOUZA, A.T. (Org.). **Sanidade de organismos aquáticos no Brasil**. Maringá: ABRAPOA, 2006. cap.16, p.331-339.

URBINATI, E.C.; CARNEIRO, P.C.F. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSI, D.M.; CASTAGNOLLI, N. (Ed.). **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, 2004. cap.6, p.171-193.

VAL, A.L.; MENEZES, A.C.L.; FERREIRA, M.S.; SILVA, M. de N.P. da; ARAÚJO, R.M.; ALMEIDA-VAL, V.M.F. de. Estresse em peixes: respostas integradas para a sobrevivência e a adaptação. In: SOUZA-SILVA, A.T. (Org.). **Sanidade de organismos aquáticos no Brasil**. Maringá: ABRAPOA, 2006. cap. 10, p. 211-228.

VALENTI, W.C.; POLI, C.R.; PEREIRA, J.A.; BORGHETTI, J.R. (Ed.). **Aqüicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável**. Brasília: CNPq/MCT, 2000. 399p.

VARGAS, L. Efeito da vitamina C, da vitamina E, do cloreto de sódio e da formalina na ocorrência de ectoparasitos em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). In:

RANZANI-PAIVA, M.J.T.; TAKEMOTO, R.M.; LIZAMA, M. de los A.P. **Sanidade de organismos aquáticos**. São Paulo: Liv. Varela, 2004. cap.18, p.371-382.

VINCENTINI, C.A.; FRANCESCHINI-VICENTINI, I.B.; BOMBONATO, M.T.S.; BERTOLUCCI, B.; LIMA, S.G.; SANTOS, A.S. Morphological study of the liver in the teleost *Oreochromis niloticus*. **International Journal of Morphology**, v.23, no.3, p.211-216, 2005.

WEST, J.B. **Fisiologia respiratória moderna**. 5. ed. São Paulo: Manole, 1996. 178p.

WHITTINGTON, I.D. Diversity “down under”: monogeneans in the Antipodes (Australia) with a prediction of monogenean biodiversity worldwide. **International Journal for Parasitology**, v.28, no.10, p.1481-1493, 1998.

WILCOX, J. **How to make a small fortune in aquaculture?** Apopka, FL: Aquatic Ecosystems, c2004. Disponível em: <<http://www.aquaticeco.com/index.cfm/fuseaction/popup.techTalkDetail/ttid/38>> Acesso em: 06 set. 2007.

WINKALER, E.U. **Aspectos ecotoxicológicos dos inseticidas diflubenzuron e teflubenzuron para o pacu (*Piaractus mesopotamicus*)**. 2008. 67f. Tese (Doutorado em Aqüicultura de Águas Continentais)-Centro de Aqüicultura, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2008.

WOLKMER; M. de F.S.; SCHEIBE, L.F. Apresentação. In: BOFF, P. (Coord.). **Agropecuária saudável: da prevenção de doenças, pragas e parasitas à terapêutica não residual**. Lages: Epagri: Udesc, 2008. p.3. (Cartilha de apoio à transição ecológica da agropecuária catarinense).

WONG, C.K.C.; WONG, M.H. Morphological and biochemical changes in the gills of Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) to ambient cadmium exposure. **Aquatic Toxicology**, v.48, no.3, p.517-527, 2000.

ZANIBONI FILHO, E. Piscicultura das espécies exóticas de água doce. In: POLI, C.R.; POLI, A.T.B.; ANDREATTA, E.R.; BELTRAME, E. (Org.). **Aqüicultura: experiências brasileiras**. Florianópolis: Multitarefa, 2004. cap. XIII, p.309-336.

ZANOLO, R.; YAMAMURA, M.H. Parasitas em tilápias-do-nilo criadas em sistema de tanques-rede. **Semina. Ciências Agrárias**, v.27, n.2, p.281-288, 2006.

ZELIKOFF, J.T. Biomarkers of immunotoxicity in fish and other non-mammalian sentinel species: predictive value for mammals? **Toxicology**, v.129, no.1, p.63-71, 1998.

ZIMMERMANN, S.; FITZSIMMONS, K. Tilapicultura intensiva. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSSO, D.M.; CASTAGNOLLI, N. (Ed.). **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, 2004. cap.9, p.239-266.

ZIMMERMANN, S.; HASPER, T.O.B. Piscicultura no Brasil: o processo de intensificação da tilapicultura. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2003. CD-ROM.

## **2 OBJETIVO GERAL**

Avaliar o desempenho, prevalência de ectoparasitos e resposta morfofuncional do fígado e das brânquias de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), alimentadas com ração com inclusão do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>, em diferentes concentrações na ração.

### 3 EFEITO DO NÚCLEO HOMEOPÁTICO *HOMEOPATILA 100*<sup>®</sup> NO DESEMPENHO E NA PREVALÊNCIA DE ECTOPARASITOS EM TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)

**RESUMO:** Neste trabalho foi estimado o desempenho, a prevalência de ectoparasitos e carga parasitária nas brânquias e tegumento em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), sob efeito da utilização do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>, em quatro tratamentos: T1 (Controle): 20 mL de solução hidroalcoólica (álcool 30° GL), T2: 20 mL, T3: 40 mL e T4: 60 mL de *Homeopatila 100*<sup>®</sup> por kg de ração, com quatro repetições por tratamento em 16 unidades experimentais, na densidade de 40 peixes m<sup>-3</sup>, durante 57 dias. Os juvenis apresentaram peso e comprimento total médio inicial de 44,0 ± 7,9 g e 13,1 ± 0,8 cm, respectivamente, com maior prevalência para parasitismo misto (55,0%), Monogenoidea (38,0%), e Tricodinídeos (5,0%). Os valores dos parâmetros físicos e químicos da água se mantiveram dentro da normalidade. O desempenho relacionado à sobrevivência, prevalência e cargas parasitárias, verificadas nas condições experimentais para os peixes do T3, apresentaram resultados satisfatórios através da adição do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup> incorporados na ração, em juvenis de tilápias do Nilo.

**Palavras-chave:** homeopatia populacional, *Trichodina*, monogenoidea, piscicultura, tilapicultura.

**Effect of the Homeopathic Nucleus *Homeopatila 100*<sup>®</sup> on the performance and prevalence of ectoparasites in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)**

**ABSTRACT:** The performance and prevalence of ectoparasites and the parasite load of gills and skin of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) were estimated in fish under treatment with Homeopathic Nucleus *Homeopatila 100*<sup>®</sup> at four concentrations: T1 (control): 20 mL of a hydro-alcohol solution (alcohol 30° GL), T2: 20 mL, T3: 40 mL and T4: 60 mL of *Homeopatila 100*<sup>®</sup> per kg of diet, with four repetitions in each treatment, in 16 experimental units, with a density of 40 fish.m<sup>-3</sup>, during 57 days. Initial weight and total average length of juveniles were respectively 44.0 ± 7.9 g and 13.1 ± 0.8 cm, with a high prevalence of mixed parasitism (55.0%), Monogenoidea (38.0%) and Trichodinids (5.0%). Physical and chemical parameters of the water were normal. Performance related to survival, parasite prevalence and load, reported in the experimental conditions for T3 fish provided satisfactory results when Homeopathic Nucleus *Homeopatila 100*<sup>®</sup> was added in the feed of Nile tilapia juveniles.

**Keywords:** population homeopathy, *Trichodina*, Monogenoidea, fish culture, tilapia culture.

### 3.1 Introdução

A espécie tilápia do Nilo (*O. niloticus*) possui vários atributos que a caracterizam como candidata ideal para a piscicultura, especialmente em países em desenvolvimento. O crescimento rápido, tolerância a uma variedade de condições ambientais, resistência ao estresse e doenças, capacidade de reprodução em cultivo, tempo curto de cada geração, alimentação em níveis tróficos baixos e aceitação de alimentos artificiais logo após a absorção do saco vitelino (EL-SAYED, 2006).

O desempenho eficiente de qualquer atividade voltada à produção de organismos aquáticos depende, essencialmente, da qualidade da água. É de fundamental importância o conhecimento dos diferentes fatores que atuam em ecossistemas aquáticos como os fatores bióticos que são os elementos vivos, fitoplâncton, zooplâncton e bactérias e os abióticos que são os não vivos, compostos químicos como nitrogênio, fósforo (MERCANTE et al., 2008).

Ectoparasitos como os monogenóides e os protozoários do gênero *Trichodina* se encontram normalmente nos ambientes de cultivo. Sendo assim, é preciso conviver com estes agentes, tentando manter as boas condições aquáticas através do monitoramento constante dos parâmetros da água, evitando ambientes eutrofizados e com baixas quantidades de oxigênio na água, que são favoráveis à proliferação e disseminação dos ectoparasitos (ZANOLO; YAMAMURA, 2006).

Com o rápido desenvolvimento e crescimento da aquicultura de água doce no Brasil, o cultivo de peixe tem sido acometido por doenças parasitárias e infecciosas, chegando a casos mais severos de mortalidade (MARTINS et al., 2001). A piscicultura no Brasil requer permanente controle das condições sanitárias do cultivo, do pescado e dos produtos que chegam à população (TUNDISI, 2006).

Para minimizar os efeitos dos ectoparasitos, a utilização do método de tratamento coletivo com medicamentos homeopáticos adicionados aos suplementos minerais, rações ou proteinados, recebeu o nome de HOMEOPATIA POPULACIONAL. Por seu custo reduzido, eficácia, ausência total de toxidez e por serem os princípios ativos extremamente diluídos com impossibilidade de deixar resíduos na carne ou no leite, capaz de prejudicar a saúde humana, a Homeopatia se tornou a medicina ideal em rebanhos. Esta permite levar a um número muito grande de animais os benefícios da ação dos produtos homeopáticos, a ação estimuladora e curativa, pela ingestão do produto, pelo menos uma vez ao dia (REAL, 2009).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>, em diferentes concentrações nos resultados do desempenho e na prevalência de ectoparasitos em tilápia do Nilo (*O. niloticus*), da linhagem GIFT.

### 3.2 Material e métodos

O experimento foi realizado na Estação de Piscicultura da Universidade Estadual de Maringá (UEM-CODAPAR), localizada no Distrito de Floriano, município de Maringá, Estado do Paraná (Latitude 23° 31' 25" S e Longitude 52° 03' 12" W), no período de janeiro a março de 2010, com duração de 57 dias.

Foram utilizados 640 juvenis pós-revertidos de tilápia do Nilo (*O. niloticus*), da linhagem GIFT (*Genetic Improvement of Farmed Tilapia*), com peso e comprimento total médio inicial de 44,0g ( $\pm 7,9$ ) e 13,1cm ( $\pm 0,8$ ), obtidos de uma piscicultura comercial.

A utilização de animais foi aprovada pelo Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação da Universidade Estadual de Maringá (Protocolo n° 037/2008).

O experimento foi montado em uma estufa, em que foram colocadas 16 caixas de fibra de vidro (1.000L cada), sendo distribuídos aleatoriamente, 40 animais por caixa, totalizando 160 animais por tratamento. A taxa de renovação de água foi de 30% ao dia com sistema de aeração constante. Foi realizada a sifonagem da água, em cada caixa, três vezes por semana, para facilitar, a remoção da matéria orgânica acumulada.

O tratamento utilizado foi o Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup> com quatro concentrações: T1 (Controle), T2, T3 e T4, quatro repetições para cada tratamento.

O Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup> foi elaborado pela empresa REAL Homeopatia cuja composição se encontram na Tabela 1.

**Tabela 1.** Composição do núcleo homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>.

| Composto                        | /1000g             |
|---------------------------------|--------------------|
| <i>Iodum</i>                    | 10 <sup>-24</sup>  |
| <i>Sulphur</i>                  | 10 <sup>-60</sup>  |
| <i>Natrum muriaticum</i>        | 10 <sup>-400</sup> |
| <i>Streptococinum</i>           | 10 <sup>-60</sup>  |
| Veículo (Álcool etílico 30° GL) | Q.s.p              |

Fonte: REAL Homeopatia - Brasil

Os juvenis foram alimentados com ração extrusada comercial 2,5mm (42% PB), durante os primeiros 28 dias e posteriormente, receberam a mesma ração comercial, porém com 5mm (32% PB), até o final do experimento.

O Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>, foi incorporado na ração, aspergido diretamente na mesma, semanalmente, homogeneizando-se, inicialmente e deixando-a secar ao ar, durante 24 horas. A ração pronta ficou acondicionada em local arejado, sem a incidência da luz solar, produtos químicos e de equipamentos que emitissem campo magnético, até se apresentar solta e sem odor de álcool.

A ração foi oferecida diariamente em três porções (9h, 13h, e 17h), atendendo às exigências nutricionais da espécie nesta fase (HAYASHI et al., 2002).

A ração administrada para os animais durante todo período experimental, demonstrou a seguinte composição percentual e bromatológica (Tabela 2).

**Tabela 2.** Composição percentual e bromatológica da ração comercial 2,5mm com 42% de PB e da ração comercial 5mm com 32% de PB, utilizado no experimento.

| Nutrientes              | Níveis de garantia (%) |              |
|-------------------------|------------------------|--------------|
|                         | 2,5mm (42% PB)         | 5mm (32% PB) |
| Proteína Bruta          | 39,45                  | 30,62        |
| Matéria seca            | 93,11                  | 90,02        |
| Extrato etéreo          | 5,54                   | 4,67         |
| Fibra Bruta             | 1,30                   | 2,35         |
| Cinzas                  | 11,29                  | 8,63         |
| Extrato não nitrogenado | 35,33                  | 43,75        |

PB: Proteína Bruta. Fonte: Laboratório de Nutrição Animal – LANA (Universidade Estadual de Maringá - UEM/PR)

Os valores médios dos parâmetros físicos e químicos da água, como temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica, foram registrados três vezes por semana, aferidos duas vezes ao dia: 9h e 16h, antes da sifonagem e após a alimentação dos peixes e, posteriormente, calculadas as médias.

A primeira determinação de ectoparasitos foi feita na implantação do experimento, com a coleta de amostras de 100 peixes, pelo exame do raspado do primeiro arco branquial e da região dorsal, do lado esquerdo de cada peixe, previamente anestesiado com Benzocaína<sup>1</sup> (1g/10mL de álcool/ 10L de água) (STOSKOPF, 1993).

As demais coletas foram efetuadas aos 30 dias e no encerramento do experimento, aos 57 dias, foram coletadas amostras de oito peixes por repetição, totalizando 32 por tratamento, juntamente com a biometria dos animais.

<sup>1</sup> BENZOCAÍNA – Farmácia de manipulação Botica Ouro Preto. Rua Silva Jardim, 545. Maringá-PR.

Para a determinação dos índices de desempenho, no início e no final do experimento, todos os peixes foram anestesiados com Benzocaína, e registrados os pesos (g) e o comprimento total (cm). Aos 30 dias, foram feitos registros de oito peixes por repetição, 32 por tratamento.

Foi estimada a prevalência de ectoparasitos nos diferentes tratamentos. A carga parasitária de Dactylogyridae foi estimada de acordo com Bush et al. (1997) e as categorias de infestação por tricodinídeos foram estabelecidas pela adaptação da técnica de Madsen et al. (2000).

Ao final do experimento, os peixes permaneceram em jejum prévio de 12 horas, foram eutanasiados com benzocaína e posteriormente sacrificados, por secção da medula espinhal na região cervical.

A taxa de sobrevivência foi avaliada pela diferença entre o número de animais que iniciaram e que finalizaram o experimento em cada tratamento.

O valor da Conversão Alimentar Aparente (CAA) foi determinado através da equação:  $CAA = (\text{Peso da ração fornecida no período}) / (\text{Peso final} - \text{Peso inicial})^{-1}$ .

### 3.2.1 Análise estatística

O experimento foi na forma de delineamento inteiramente casualizado, constituído por quatro tratamentos homeopáticos em diferentes concentrações (20 mL de solução hidroalcoólica (álcool 30° GL), 20 mL, 40 mL e 60 mL de *Homeopatia 100*<sup>®</sup> por kg de ração e quatro repetições por tratamento.

O modelo estatístico utilizado para os parâmetros físicos e químicos da água foi o teste H de *Kruskal-Wallis* ( $p < 0,05$ ) (AYRES et al., 2000), segundo Zar (1996).

Os dados de desempenho dos peixes foram submetidos à análise de variância e quando significativos ( $p < 0,05$ ), comparados pelo teste de *Tukey*, utilizando-se o programa *Statistical Analysis System* (SAS, 2009).

Para analisar as diferenças entre as prevalências parasitárias, categoria de infestação para tricodinídeos e intensidade média para Monogenoidea nas brânquias e no tegumento foi utilizado o Teste H de *Kruskal-Wallis* ( $p < 0,05$ ) (AYRES et al., 2000).

### 3.3 Resultados e discussão

Os valores médios dos parâmetros físicos e químicos da água, nos diferentes tratamentos foram: temperatura (°C)  $26,5 \pm 2,7$ ; pH  $7,5 \pm 0,4$ ; oxigênio dissolvido ( $\text{mg.L}^{-1}$ )  $3,4 \pm 2,1$  e condutividade elétrica ( $\mu\text{S/cm}^{-1}$ )  $88,8 \pm 24,0$ ; encontraram-se adequadas para o cultivo de espécies tropicais de peixes, como a tilápia do Nilo e não diferiram

significativamente ( $p>0,05$ ), conforme Mercante et al. (2011). A temperatura da água, apesar de não estar na faixa ideal para o melhor desempenho das tilápias, que oscila entre 26 e 28°C, podendo chegar a 32°C (ZANIBONI FILHO, 2004), foi satisfatória para a manutenção da vida dos peixes, conforme Arana (2004), Martins (2004) e El-Sayed (2006).

### 3.3.1 Desempenho

O desempenho adequado de qualquer atividade voltada à produção de organismos aquáticos e o conhecimento dos diferentes fatores que atuam em ecossistemas aquáticos é fundamental para quem trabalha no campo da piscicultura (MERCANTE et al., 2008).

Os valores dos parâmetros de desempenho da linhagem GIFT ao final da fase experimental encontram-se na Tabela 3.

**Tabela 3.** Valores médios do desempenho nas tilápias do Nilo (*O. niloticus*), alimentadas com ração contendo diferentes níveis do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>, no início e durante o período experimental.

| Parâmetros Observados    | Tratamentos         |                     |                     |                     |
|--------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|                          | T1                  | T2                  | T3                  | T4                  |
| Peso Inicial (g)         | 43,6 ( $\pm 7,8$ )  | 43,7 ( $\pm 7,5$ )  | 44,2 ( $\pm 7,9$ )  | 44,4 ( $\pm 8,3$ )  |
| Comp. Total Inicial (cm) | 13,2 ( $\pm 0,8$ )  | 13,3 ( $\pm 0,8$ )  | 13,3 ( $\pm 0,8$ )  | 13,2 ( $\pm 0,8$ )  |
| Peso (57 dias)           | 98,5 ( $\pm 22,9$ ) | 99,0 ( $\pm 21,7$ ) | 99,2 ( $\pm 16,1$ ) | 98,9 ( $\pm 20,8$ ) |
| Comp. Total (57 dias)    | 17,6 ( $\pm 2,8$ )  | 17,5 ( $\pm 2,0$ )  | 16,1 ( $\pm 0,9$ )  | 20,8 ( $\pm 1,6$ )  |
| C.A.A.                   | 1,070               | 1,073               | 1,072               | 1,077               |
| Sobrevivência (%)        | 97,5                | 98,8                | 100                 | 99,4                |

T1= Controle, T2= 20mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração, T3= 40mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração, T4= 60mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração. C.A.A: Conversão alimentar aparente. Teste Tukey ( $p<0,05$ ).

No início do experimento os juvenis tinham em média  $44,0 \pm 7,9$ g e, comprimento total de  $13,1 \pm 0,8$ cm. Não foi observada diferença estatística significativa ( $p>0,05$ ), entre os tratamentos, em relação aos resultados médios de peso, comprimento total, conversão alimentar aparente e sobrevivência no encerramento do experimento, realizado aos 57 dias.

Valentim-Zabott et al. (2008), verificaram em alevinos de tilápias do Nilo tratados com o Núcleo Homeopático *Homeopalila RS*, que o comprimento total final e peso total final, apresentaram-se menores, quando comparado ao tratamento com hormônio e com o controle. Entretanto, a taxa de sobrevivência foi significativamente maior no grupo que recebeu *Homeopatila RS*.

Siena et al. (2010) trabalhando com alevinos machos revertidos de tilápias do Nilo (*O. niloticus*), da linhagem *Supreme*, não observaram diferenças entre os tratamentos, em relação aos resultados de comprimento total e peso aos 33 e 61 dias do experimento utilizando *Homeopatila 100*<sup>®</sup> na concentração de 40 mL/kg de ração. Mas, foi verificado nessa mesma concentração um índice de sobrevivência maior que o grupo controle.

Quanto ao manejo alimentar de tilápias, na conversão alimentar aparente, não foi observada diferença significativa ( $p>0,05$ ), através do uso do núcleo homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup> nas rações comerciais dos diferentes tratamentos e concentrações. A otimização do crescimento dos peixes só pode ser alcançada através do manejo concomitante da qualidade da água, nutrição e alimentação (CYRINO et al., 2005) e a conversão alimentar deve estar entre os valores indicados para a espécie tilápia do Nilo, conforme descrito por Furuya (2001) e Ribeiro (2001).

Não foi verificada diferença significativa ( $p>0,05$ ) na taxa de sobrevivência dos peixes, utilizando o Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup> por kg de ração. Ernst et al. (1989) e Watanabe et al. (1990) verificaram em seus estudos realizados com tilápias vermelhas da Flórida ou híbrido de (*Oreochromis* sp) e alevinos de tilápias, que valores próximos de 93,5, 95,8 e 98,2% são considerados altamente significativos para a sobrevivência desses peixes.

Val (2002) ressaltou que o principal fator que afeta a sobrevivência dos alevinos de tilápia do Nilo é o estresse ambiental, associado ao estresse fisiológico. Este pode ter origem natural ou causada pela intervenção do homem; que ocorre com frequência no ambiente natural e, principalmente nos ambientes artificiais. A origem do fator estressante pode chegar, além dos níveis tolerantes, resultando na incapacidade dos peixes em manter sua homeostase orgânica, interferindo na taxa de crescimento, levando a mortalidade desses animais.

Valentim-Zabbott et al. (2008) e Vargas e Ribeiro (2009) registraram resultados semelhantes na sobrevivência de alevinos de tilápias do Nilo, durante a reversão sexual, quando utilizaram a adição do Núcleo Homeopático *Homeopatila RS*, na ração dos peixes.

A agroecologia e a homeopatia fomentam a adoção de metodologias de baixo custo, efeito residual nulo e que favorecem a recomposição das características naturais do meio ambiente (WOLKMER; SCHEIBE, 2008).

### 3.3.2 Prevalência de ectoparasitos

Na implantação do experimento, a prevalência total de ectoparasitos, em 100 peixes, com peso médio de  $44,0 \pm 7,9$  g e comprimento total de  $13,1 \pm 0,8$  cm foi 98%, com maior prevalência para parasitismo misto (55,0%), Monogenoidea (38,0%), e Tricodinídeos (5,0%).

Foram verificadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) no parasitismo por Monogenoidea e no parasitismo misto, nos diferentes tratamentos com o núcleo homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup> (Tabela 4).

**Tabela 4.** Prevalência de ectoparasitos, em tilápia do Nilo (*O. niloticus*) da linhagem GIFT, no início e durante o experimento, nos diferentes tratamentos com o núcleo homeopático *homeopatila 100*<sup>®</sup>, no período de janeiro a março de 2010.

| Tratamentos | <i>Trichodina</i> |                   | Monogenoidea |                   | Parasitismo Misto |                    | Total  |                   |
|-------------|-------------------|-------------------|--------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------|-------------------|
|             | PP/PE             | %PP               | PP/PE        | %PP               | PP/PE             | %PP                | PP/PE  | %PP               |
| Início      | 5/100             | 5,0               | 38/100       | 38,0              | 55/100            | 55,0               | 98/100 | 98,0              |
| T1          | 20/64             | 31,2 <sup>a</sup> | 0/64         | 0 <sup>a</sup>    | 44/64             | 68,8 <sup>ab</sup> | 64/64  | 100 <sup>a</sup>  |
| T2          | 14/64             | 21,9 <sup>a</sup> | 2/64         | 3,1 <sup>a</sup>  | 47/64             | 73,4 <sup>ab</sup> | 63/64  | 98,4 <sup>a</sup> |
| T3          | 14/64             | 21,9 <sup>a</sup> | 10/64        | 15,7 <sup>b</sup> | 38/64             | 59,3 <sup>a</sup>  | 62/64  | 96,9 <sup>a</sup> |
| T4          | 12/64             | 18,8 <sup>a</sup> | 2/64         | 3,1 <sup>a</sup>  | 49/64             | 76,5 <sup>b</sup>  | 63/64  | 98,4 <sup>a</sup> |

PP: peixes parasitados; PE: peixes examinados. Parasitismo misto: *Trichodina* e monogenoidea. T1= Controle, T2= 20mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração, T3= 40mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração, T4= 60mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração. Nas colunas, valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente entre os diferentes tratamentos pelo Teste H de *Kruskal Wallis* ( $p < 0,05$ ).

Ao final do experimento, os peixes mantiveram-se parasitados entre 96,9 a 100%, com maior prevalência para parasitismo misto, com a utilização do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>.

Valentim-Zabott et al. (2008) identificaram, durante a reversão sexual, 100% de parasitismo no início do experimento para *Trichodina* (80,0%) e parasitismo misto (20,0%), porém as análises realizadas no final do período experimental, mostraram-se negativas para a presença de ectoparasitos, com a utilização do Núcleo Homeopático *Homeopatia RS*.

Braccini et al. (2007) também encontraram o protozoário *Trichodina* como o ectoparasito mais prevalente, em juvenis de tilápia do Nilo das linhagens Chitralada e GIFT alimentadas com ração com 25% de proteína bruta.

O uso da homeopatia na produção animal pode colaborar com a produção de produtos para uso no tratamento de doenças, na aquicultura, considerada como técnica terapêutica ideal tem sido utilizada em diversas enfermidades, dentre elas, as parasitárias (ZARDO, 2008) e não provocam riscos aos animais, aos consumidores dos produtos de origem animal e nem causam danos ao meio ambiente (LOPES, 2004).

Na Tabela 5, estão à média da categoria de infestação por *Trichodina* e a intensidade média para Monogenoidea.

**Tabela 5.** Média das categorias de infestação por *Trichodina* e intensidade média por Monogenoidea, em tilápia do Nilo (*O. niloticus*), da linhagem GIFT, no início do experimento, e nos diferentes tratamentos, no período de janeiro a março de 2010.

| TRATAMENTOS      | PP/PE  | % Ecto | Média Cat. Infestação<br>( <i>Trichodina</i> ) | Intensidade Média<br>(Monogenoidea) |
|------------------|--------|--------|--|-------------------------------------|
| Início (n = 100) | 98/100 | 98     | 2,0  | 2,3                                 |
| T1 (n = 64)      | 64/64  | 100    | 3,6  | 3,6                                 |
| T2 (n = 64)      | 63/64  | 98,4   | 3,7  | 3,4                                 |
| T3 (n = 64)      | 62/64  | 96,9   | 3,3  | 3,2                                 |
| T4 (n = 64)      | 63/64  | 98,4   | 3,8  | 3,9                                 |

PP: peixes parasitados; PE: peixes examinados. Categoria Infestação 1 = 1 a 5; 2 = 6 a 10; 3 = 11 a 15; 4 = 16 a 20; 5 = mais do que 20 espécimes de *Trichodina*. Teste H de *Kruskal-Wallis* ( $p < 0,05$ ).

No decorrer do experimento, os peixes tiveram um aumento na Média da Categoria de Infestação por *Trichodina* e na Intensidade Média por Monogenoidea, tanto no tratamento controle como nos tratamentos homeopáticos, mas não foram verificadas diferenças significativas entre os diferentes tratamentos ( $p > 0,05$ ).

Eiras et al. (2006) salientaram especial cuidado que deve ser posto na origem dos peixes comprados de outras pisciculturas, estando amplamente provado, que a distribuição geográfica de grande parte dos parasitos, por vezes com enorme impacto em piscicultura, foi decisivamente influenciada por movimentações artificiais em piscicultura.

Mesmo ocorrendo altas cargas parasitárias no início e no encerramento do experimento, em todos os tratamentos homeopáticos e no grupo controle; a taxa de sobrevivência foi elevada. Essa inferência corrobora com Kubitzka e Kubitzka (2004) que afirmaram que tilápias de maior porte e com melhor nível de arraçoamento toleram infestações mais intensas por monogenéticos.

Estudos em vários campos da fisiologia de peixes têm sido desenvolvidos num esforço para minimizar o estresse causado por situações comuns na prática da piscicultura tais como: condições adversas na qualidade da água, manuseio,

confinamento, transporte, dominância hierárquica, agentes patogênicos, etc. (CHAGAS, 2001; LAMÊGO, 2001; GOMES et al., 2003; BRANDÃO et al., 2004). Dados apresentados por Siena et al. (2010) utilizando *Homeopatila 100*<sup>®</sup> mostraram uma melhor sobrevivência e menor sobrecarga hepática e Merlini (2006) observou uma resposta ao estímulo que permite o peixe reagir contra agentes, buscando manter seu estado homeostático pelo uso de *Homeopatila 100*<sup>®</sup> em dietas para tilápias do Nilo.

A gravidade das doenças depende do protozoários, do número de parasitos que infestam os peixes, dos sistemas de cultura, da espécie, tamanho, sexo e estado de saúde dos peixes. Tricodinídeos são comuns em tilápias nativas e cultivadas, especialmente quando os peixes estão sendo criados em altas densidades de estocagem (EL-SAYED, 2006).

Elevadas concentrações de organismos aquáticos aumentam a exposição a espécies de parasitos e ampliam a distribuição geográfica favorecendo a dispersão de agentes patogênicos. (TUNDISI, 2006). Uma alternativa para controlar o problema seria a utilização da homeopatia na água, através do entendimento da “memória da água”, minimizando o problema sanitário, através da diluição da homeopatia no tanque de cultivo (KORF, 2004).

A homeopatia foi estudada por Chikramane et al. (2010) que pesquisaram a presença de partículas na água usando amostras de metal (ouro, cobre, estanho, zinco, prata e platina), foi demonstrado pela primeira vez em Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM) e a difração de elétrons e análise química por espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-AES) a presença de entidades físicas nestas diluições extremas, sob a forma de nanopartículas, dos metais de partida e seus agregados.

### **3.4 Conclusão**

O desempenho relacionado à sobrevivência, prevalência e cargas parasitárias, verificadas nas condições experimentais para os peixes do T3, apresentaram resultados satisfatórios através da adição do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup> incorporados na ração, em juvenis de tilápias do Nilo.

### **Referências**

- ARANA, L.V. **Fundamentos de aqüicultura**. Florianópolis: Ed. UFSC, 2004. 348p.
- AYRES, M.; AYRES JÚNIOR, M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S. **BioEstat 2.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Tefé, AM: Sociedade Civil Mamirauá; Brasília: MCT/CNPq, 2000. 259p.

BRACCINI, G.L.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R.P.; TAKEMOTO, R.M.; LIZAMA, M.A.P.; FÜLBER, V.M. Ectoparasitos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), das linhagens Chitralada e GIFT, em diferentes densidades e alimentadas com dois níveis de proteína. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.29, no.4, p.441-448, 2007.

BRANDÃO, F.R.; GOMES, L. de C.; CHAGAS, E.C.; ARAÚJO, L.D. de. Densidade de estocagem de juvenis de tambaqui durante a recria em tanques-rede. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.4, p.357-362, 2004.

BUSH, A.O.; LAFFERTY, K.D.; LOTZ, J.M.; SHOSTAK, A.W. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. **Journal of Parasitology**, v.83, no.4, p.575-583, 1997.

CHAGAS, E.C. **Influência da suplementação de ácido ascórbico (vitamina C) sobre o crescimento e resistência ao estresse em tambaqui (*Colossoma macroporum*, Cuvier, 1818)**. 2001. 80f. Dissertação (Mestrado) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia / FUA, Manaus, 2001.

CHIKRAMANE, P.S.; SURESH, A.K.; BELLARE, J.R.; KANE, S.G. Extreme homeopathic dilutions retain starting materials: a nanoparticulate perspective. **Homeopathy**, v.99, no.4, p.231-242, 2010.

CYRINO, J.E.P.; BICUDO, A.J.A.; SADO, R.Y.; BORGHESI, R.; DAIRIKI, J.K. A nutrição de peixes e o ambiente. In: SIMPÓSIO DE NUTRIÇÃO E SAÚDE DE PEIXES, 1., 2005, Botucatu. **Anais...** Botucatu: UNESP. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia: Aquanutri, 2005. p.103-120.

EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R.M.; PAVANELLI, G.C. **Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes**. 2. ed. Maringá: Eduem, 2006. 199p.

EL-SAYED, A.-F.M. **Tilapia culture**. Wallingford, UK: CABI Publishing, 2006. chap.8, p.139-159.

ERNST, D.H.; ELLINGSON, L.J.; OLLA, B.L.; WICKLUND, R.I.; WATANABE, W.O.; GROVER, J.J. Production of Florida red tilapia in seawater pools: nursery rearing with chicken manure and growout with prepared feed. **Aquaculture**, v.80, no.3-4, p.247-260, 1989.

FURUYA, W.M. Nutrição de peixes. In: MOREIRA, H.L.M.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R.P.; ZIMMERMANN, S. (Org.). **Fundamentos da moderna aqüicultura**. Canoas: Ulbra, 2001. cap.8, p.59-68.

GOMES, L.C.; ROUBACH, R.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; CHIPPARI-GOMES, A.R.; LOPES, N.P.; URBINATI, E.C. Effect of fish density during transportation on stress and mortality of juvenile Tambaqui, *Colossoma macropomum*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.34, no.1, p.76-84, 2003.

HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R.; SOARES, C.M.; MEURER, F. Exigência de proteína digestível para larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante a reversão sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, supl.2, p.823-828, 2002.

KORF, L. **Farmacologia homeopática**. Erechim: Biocentrus, [2004]. 63p. (Apostila).

KUBITZA, F.; KUBITZA, L.M.M. **Principais parasitoses e doenças dos peixes cultivados**. 4. ed. Jundiaí: F. Kubitza, 2004. 116p. (Coleção piscicultura avançada).

LAMÊGO, A.P. da S. **Efeito da hipóxia periódica sobre o ganho de peso de alevinos da tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Serrasalminidae): ajustes**

fisiológicos. 2001. 63f. Dissertação (Mestrado) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia / UA, Manaus, 2001.

LOPES, E.G. Homeopatia aplicada à parasitologia veterinária. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12.; SIMPÓSIO LATINOAMERICANO DE RICKETSIOSES, 1., 2004, Ouro Preto. **Anais...** Ouro Preto: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2004. p.150-155.

MADSEN, H.C.K.; BUCHMANN, K.; MELLERGAARD, S. Treatment of trichodiniasis in eel (*Anguilla anguilla*) reared in recirculation systems in Denmark: alternatives to formaldehyde. **Aquaculture**, v.186, n.3-4, p.221-231, 2000.

MARTINS, M.L. Manejo sanitário na piscicultura. In: RANZANI-PAIVA, M.J.T.; TAKEMOTO, R.M.; LIZAMA, M.A.P. (Ed.). **Sanidade de organismos aquáticos**. São Paulo: Liv. Varela, 2004. cap. 15, p. 323-332.

MARTINS, M.L.; MORAES, J.R.E.; ANDRADE, P.M.; SCHALCH, S.H.C.; MORAES, F.R. *Piscinoodinium pillulare* (Schäperclaus, 1954) Lom, 1981 (Dinoflagellida) infection in cultivated freshwater fish from the northeast region of São Paulo state, Brazil. Parasitological and pathological aspects. **Brazilian Journal of Biology**, v.61, n.4. p.639-644, 2001.

MERCANTE, C.T.J.; ESTEVES, K.E.; PEREIRA, J.S.; OSTI, J.S. **Limnologia na aqüicultura**: estudo de caso em pesqueiros. Textos técnicos. Disponível em: <[http://www.pesca.sp.gov.br/textos\\_tecnicos.php](http://www.pesca.sp.gov.br/textos_tecnicos.php)> Acesso em: 15 out. 2008.

MERCANTE, C.T.J.; CARMO C.F. do.; RODRIGUES, C.J.; OSTI, J.A.S.; MAINARDES PINTO, C.S.; VAZ-DOS-SANTOS, A.M.; TUCCI, A.; DI GENARO, A.C. Limnologia de viveiro de criação de tilápias do Nilo: avaliação diurna visando boas práticas de manejo. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.37, n.1, p.73-84, 2011.

MERLINI, L.S. **Utilização de Homeopatia 100® em dieta para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2006. 50f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2006.

REAL, C.M. **Homeopatia populacional**. 05 de abril de 2009. Disponível em: <<http://www.realh.com.br/artigo.php?id=34>> Acesso em: 17 ago. 2010.

RIBEIRO, R.P. Ambiente e água para a piscicultura. In: MOREIRA, H.L.M.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R.P.; ZIMMERMANN, S. (Org.). **Fundamentos da moderna aqüicultura**. Canoas: Ulbra, 2001. cap.5, p.37-44.

SAS Institute Inc. **SAS/STAT 9.2 user's guide**. 2nd ed. Cary, N.C.: SAS Institute Inc., c2009. chap.37. The Genmod procedure.

SIENA, C.E.; NATALI, M.R.M.; BRACCINI, G.L.; OLIVEIRA, A.C. de; RIBEIRO, R.P.; VARGAS, L. Efeito do núcleo homeopático *homeopatia 100®* na eficiência produtiva em alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Semina. Ciências Agrárias**, v.31, n.4, p.985-994, 2010.

STOSKOPF, M.K. **Fish medicine**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1993. 882p.

TUNDISI, J.G. Aqüicultura: impactos, gerenciamento integrado, perspectivas para o Brasil. In: SILVA-SOUZA, A.T. (Org.). **Sanidade de organismos aquáticos no Brasil**. Maringá: ABRAPOA, 2006. cap.16, p.331-339.

VAL, A.L. Estresse em peixes: ajustes fisiológicos e distúrbios orgânicos. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS

AQUÁTICOS, 7., ENCONTRO LATINO-AMERICANO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS, 3., 2002, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: Abrapoa, 2002. p.220.

VALENTIM-ZABOTT, M.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R.P.; PIAU JR, R.; TORRES, M.B.A.; RÖNNAU, M.; SOUZA, J.C. Effects of a homeopathic complex in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) on performance, sexual proportion and histology. **Homeopathy**, v.97, no.4, p.190-195, 2008.

VARGAS, L.; RIBEIRO, R.P. Homeopatia populacional em tilápias do Nilo *Oreochromis niloticus*. In: TAVARES-DIAS, M. (Org.). **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. Macapá: Embrapa Amapá, 2009. CD-ROM. cap.6, p.106-131.

WATANABE, W.O.; ERNST, D.H.; OLLA, B.L.; WICKLUND, R.I. Aquaculture of red tilapia (*Oreochromis sp.*) in marine environments: state of the art. Advances in Tropical Aquaculture, 20 February-4 March, 1989, Tahiti, French Polynesia. **Actes de Colloques**, v.9, p.487-499, 1990.

WOLKMER; M. de F.S.; SCHEIBE, L.F. Apresentação. In: BOFF, P. (Coord.). **Agropecuária saudável: da prevenção de doenças, pragas e parasitas à terapêutica não residual**. Lages: Epagri: Udesc, 2008. p.3. (Cartilha de apoio à transição ecológica da agropecuária catarinense).

ZANOLO, R.; YAMAMURA, M.H. Parasitas em tilápias-do-nilo criadas em sistema de tanques-rede. **Semina. Ciências Agrárias**, v.27, n.2, p.281-288, 2006.

ZANIBONI FILHO, E. Piscicultura das espécies exóticas de água doce. In: POLI, C.R.; POLI, A.T.B.; ANDREATTA, E.R.; BELTRAME, E. (Org.). **Aqüicultura: experiências brasileiras**. Florianópolis: Multitarefa, 2004. cap. XIII, p.309-336.

ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**. 3rd ed. Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 1996.

ZARDO, V.F. Homeopatia em animais de produção. In: BOFF, P. (Coord.). **Agropecuária saudável: da prevenção de doenças, pragas e parasitas à terapêutica não residual**. Lages: Epagri: Udesc, 2008. p.21-30. (Cartilha de apoio à transição ecológica da agropecuária catarinense).

#### **4 EFEITO DO NÚCLEO HOMEOPÁTICO *HOMEOPATILA 100*<sup>®</sup> NA ANÁLISE DA HISTOLOGIA HEPÁTICA EM TILÁPIAS DO NILO (*Oreochromis niloticus*)**

**RESUMO:** O objetivo do trabalho foi analisar a histologia hepática de tilápias do Nilo (*O. niloticus*), através da utilização do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>, com quatro concentrações: T1 (controle): 20 mL de solução hidroalcoólica (álcool 30° GL), T2: 20 mL, T3: 40 mL e T4: 60 mL de *Homeopatila 100*<sup>®</sup> por kg de ração, quatro repetições por tratamento em 16 unidades experimentais, na densidade de 40 peixes m<sup>-3</sup>, durante 57 dias. No encerramento, foram coletados fígados de oito peixes/tratamento, aferidos peso e relação hepatossômática e submetidos a processamento histológico padrão, com colorações Hematoxilina-Eosina, para análise morfológica geral e determinação do número de hepatócitos por área e Histoquímica Ácido Periódico de Schiff (PAS) + Hematoxilina para evidenciação do glicogênio intracelular. Os valores dos parâmetros da água se mantiveram dentro da normalidade. A RHS dos peixes tratados com *Homeopatila 100*<sup>®</sup> foi significativamente inferior ( $p < 0,05$ ), aos peixes do T1. Os melhores resultados foram para os peixes do T3 em relação ao número de hepatócitos/mm<sup>2</sup> e para o comportamento do glicogênio intracelular. Concluiu-se que a *Homeopatila 100*<sup>®</sup> na concentração de 40mL por quilo de ração (T3) contribuiu para a menor RHS e para o melhor efeito na análise morfológica de fígado em juvenis de tilápia do Nilo.

**Palavras-chave:** homeopatia populacional, histopatologia, relação hepatossômática, piscicultura, tilapicultura.

**Effect of Homeopathic Nucleus *Homeopatila 100*<sup>®</sup> on the liver histology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)**

**ABSTRACT:** Liver and gill histology of the Nile tilapia (*O. niloticus*) was analyzed in fish treated with the Homeopathic Nucleus *Homeopatila 100*<sup>®</sup> at four concentrations, namely, T1 (control): 20 mL hydro-alcohol solution (alcohol 30° GL), T2: 20 mL, T3: 40 mL and T4: 60 mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup> per kg of diet, with four repetitions in each treatment in 16 assay units, at a density of 40 fish.m<sup>-3</sup>, during 57 days. At the end of the experiment the livers of eight fish per treatment were removed. The livers and the liver-body ratio were taken and underwent standard histological processing with Hematoxylin-Eosin staining for general morphological analysis and for the determination of the number of hepatocytes per area, and with Schiff's Periodic Acid (PAS) + Hematoxylin histochemical technique for intracellular glycogen. Water parameters were normal. *Homeopatila 100*<sup>®</sup>-treated RHS of fish was significantly lower ( $p < 0.05$ ) than that in T1 fish. Best results were obtained for T3 fish with regard to the number of hepatocytes/mm<sup>2</sup> and to the behavior of intracellular glycogen. Results show that *Homeopatila 100*<sup>®</sup> at the concentration of 40 mL per kg of diet (T3) provides the lowest RHS and the best effect in the histological analysis of juvenile tilapia's liver.

**Keywords:** Population homeopathy. Histopathology. Liver-body relationship. Fish culture. Tilapia culture.

#### 4.1 Introdução

Um dos principais requisitos para o desenvolvimento da piscicultura é o conhecimento adequado da biologia da espécie utilizada no cultivo, o entendimento da fisiologia e o estudo do bom funcionamento dos diferentes sistemas do organismo, como eles interagem e respondem às diversas alterações ambientais e métodos de criação (ROTTA, 2003). As avaliações histopatológicas em tilápias, com as diferenciações das lesões, permitem que se estabeleçam as melhores condições para o cultivo, monitoramento de contaminação ambiental e diagnóstico de doenças (SANTOS et al., 2004).

Pesquisas realizadas com histopatologia dos órgãos de peixes como o fígado (CAVICHIOLO, 2005), tem sido de grande relevância nos estudos realizados com tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), por estarem associadas ao desenvolvimento de alterações estruturais e celulares que possam interferir na saúde e no desempenho dos peixes (SCHWAIGER et al., 1997).

A tilápia do Nilo (*O. niloticus*), destaca-se como peixe de potencial para piscicultura, pela sua rusticidade, crescimento rápido e adaptação ao confinamento, representando a segunda espécie mais criada no mundo (CAVICHIOLO, 2009).

Piau Júnior (2006) e Valentim-Zabott et al. (2008) encontraram um elevado índice de sobrevivência, em alevinos e larvas, respectivamente, de tilápia do Nilo, tratados com adição de um núcleo homeopático na ração durante a reversão sexual. Siena et al. (2010) verificaram que a utilização do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup> na ração de alevinos de tilápias, melhorou a taxa de sobrevivência e a relação hepatossômica, indicando uma menor sobrecarga hepática.

Santos et al. (2004) caracterizaram o fígado de teleósteos como um órgão central, com as funções vitais do metabolismo básico dos vertebrados (GINGERICH; DALICH, 1978; ARIAS et al., 1988), dentre as quais se inclui a capacidade de acumulação, biotransformação e excreção de compostos xenobióticos (MEYERS; HENDRICKS, 1985). Os hepatócitos podem ser considerados o primeiro alvo da toxicidade de uma substância, o que caracteriza o fígado como um órgão biomarcador da poluição ambiental (ZELIKOFF, 1998).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>, em diferentes concentrações na morfologia do fígado em tilápia do Nilo (*O. niloticus*), da linhagem GIFT.

## 4.2 Material e métodos

O experimento foi realizado na Estação de Piscicultura da Universidade Estadual de Maringá (UEM-CODAPAR), localizada no Distrito de Floriano, município de Maringá, Estado do Paraná (Latitude 23° 31' 25" S e Longitude 52° 03' 12" W), no período de janeiro a março de 2010, com duração de 57 dias.

Foram utilizados 640 juvenis pós-revertidos de tilápia do Nilo (*O. niloticus*), da linhagem GIFT (*Genetic Improvement of Farmed Tilapia*), com peso e comprimento total médio inicial de 44,0g ( $\pm 7,9$ ) e 13,1cm ( $\pm 0,8$ ). A utilização de animais foi aprovada pelo Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação da Universidade Estadual de Maringá (Protocolo nº 037/2008).

O experimento foi montado em uma estufa, em que foram colocadas 16 caixas de fibra de vidro (1.000L cada), sendo distribuídos aleatoriamente, 40 animais por caixa, totalizando 160 animais por unidade amostral. A taxa de renovação de água foi de 30% e sendo mantido em sistema de aeração constante. Foi realizada a sifonagem da água, em cada caixa, três vezes por semana, para facilitar, a remoção da matéria orgânica acumulada.

O tratamento utilizado foi o Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup> com quatro concentrações: T1 (Controle), T2, T3 e T4, com quatro repetições para cada tratamento.

O Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup> foi elaborado pela empresa REAL Homeopatia cuja composição se encontra na Tabela 1.

**Tabela 1.** Composição do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>.

| Composto                        | 1000g              |
|---------------------------------|--------------------|
| <i>Iodum</i>                    | 10 <sup>-24</sup>  |
| <i>Sulphur</i>                  | 10 <sup>-60</sup>  |
| <i>Natrum muriaticum</i>        | 10 <sup>-400</sup> |
| <i>Streptococinum</i>           | 10 <sup>-60</sup>  |
| Veículo (Álcool etílico 30° GL) | Q.s.p              |

Fonte: REAL Homeopatia - Brasil

O Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup> foi incorporado na ração, aspergido diretamente na mesma, semanalmente, homogeneizando-se, inicialmente e deixando-a secar ao ar até se apresentar solta e sem odor de álcool, durante 24 horas. A ração pronta ficou acondicionada em local arejado, sem a incidência da luz solar, distante de produtos químicos e equipamentos que emitam campo magnético.

Os juvenis foram alimentados com ração extrusada comercial 2,5mm (42% PB), durante os primeiros 28 dias e posteriormente, receberam a mesma ração comercial, porém com 5mm (32% PB), até o final do experimento.

A quantidade de ração oferecida diariamente foi em três porções diárias (9h, 13h, e 17h), atendendo às exigências nutricionais da espécie nesta fase (HAYASHI et al., 2002).

**Tabela 2.** Composição percentual e bromatológica da ração comercial 2,5mm com 42% de PB e da ração comercial 5mm com 32% de PB, utilizada no experimento.

| Nutrientes              | Níveis de garantia (%)            |                                 |
|-------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|
|                         | Ração extrusada<br>2,5mm (42% PB) | Ração extrusada<br>5mm (32% PB) |
| Proteína Bruta          | 39,45                             | 30,62                           |
| Matéria seca            | 93,11                             | 90,02                           |
| Extrato etéreo          | 5,54                              | 4,67                            |
| Fibra Bruta             | 1,30                              | 2,35                            |
| Cinzas                  | 11,29                             | 8,63                            |
| Extrato não nitrogenado | 35,33                             | 43,75                           |

PB: Proteína Bruta. Fonte: Laboratório de Nutrição Animal – LANA (Universidade Estadual de Maringá - UEM/PR)

Os valores médios dos parâmetros físicos e químicos da água, como temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica, foram registrados três vezes por semana, aferidos duas vezes ao dia: 9h e 16h antes da sifonagem e após a alimentação dos peixes e, posteriormente, calculadas as médias.

#### 4.2.1 Análise histológica

No encerramento do experimento, as tilápias do Nilo (*O. niloticus*) permaneceram em jejum prévio de 12 horas, foram eutanasiadas com benzocaína (1g/10mL de álcool/ 10L de água) (STOSKOPF, 1993) e posteriormente sacrificados por secção da medula espinhal na região cervical, para a determinação da relação hepatossomática (RHS%), com a coleta aleatória de 20 peixes por tratamento, totalizando 80 peixes. A RHS foi calculada pela razão entre o peso do fígado (g) e o peso corporal do peixe (g), multiplicado por 100. Os fígados foram removidos, lavados em solução fisiológica (NaCl 0,9%) e processadas amostras da porção mediana do lobo esquerdo de oito peixes por tratamento (dois peixes/repetição), totalizando 32 peixes.

As amostras de fígado foram fixadas em solução de Bouin aquoso (BEHMER et al., 1976) e posteriormente transferidas para frascos contendo álcool 70°. O material foi desidratado pelas passagens em séries crescentes de alcoóis, diafanizado em xilol e

incluído em parafina, para a obtenção de cortes transversais semisseriados, com 6µm de espessura, com auxílio de micrótomo rotativo LEICA, no Laboratório de Histotécnica Animal do Departamento de Ciências Morfológicas da Universidade Estadual de Maringá.

Amostras do fígado foram processadas e coradas pelo método de Hematoxilina e Eosina - HE (BEHMER et al., 1976) para análise morfológica geral e determinação do número de hepatócitos por área e técnica histoquímica Ácido Periódico de Schiff (PAS) + Hematoxilina (BEÇAK; PAULETE, 1976), para evidenciação do glicogênio intracelular e determinação do percentual ocupado por esta inclusão por área.

As análises morfométricas do fígado, independente da técnica, foram realizadas a partir de imagens capturadas em microscópio óptico Olympus BX41 acoplado com câmera QColor 3 Olympus, utilizando objetiva da 40x em 10 imagens por corte (50 imagens/animal), totalizando 400 imagens/tratamento. Estas mensurações foram realizadas com auxílio de software de análise de imagem *Image Pro Plus*<sup>®</sup> (version 4.5, Media Cybernetics, USA).

#### **4.2.2 Análise estatística**

O experimento foi na forma de delineamento inteiramente casualizado, constituído por quatro tratamentos homeopáticos em diferentes concentrações

O modelo estatístico utilizado para os parâmetros físicos e químicos da água foi o teste H de *Kruskal-Wallis* ( $p < 0,05$ ) (AYRES et al., 2000), segundo Zar (1996).

Para os valores das alterações histológicas do fígado foram calculadas as médias e o desvio padrão, para cada grupo experimental e, os dados foram analisados de acordo com o teste “Pro Mixed” do SAS (2009) e o teste t para a comparação múltipla das médias.

O comportamento da percentagem do glicogênio em função do número de hepatócitos foi ajustado a partir de uma curva de regressão polinomial, utilizando o “ProC mixed” do SAS (2009).

#### **4.3 Resultados e discussão**

Os valores médios dos parâmetros físicos e químicos da água, nos diferentes tratamentos foram: temperatura (°C)  $26,5 \pm 2,7$ ; pH  $7,5 \pm 0,4$ ; oxigênio dissolvido (mg.L<sup>-1</sup>)  $3,4 \pm 2,1$  e condutividade elétrica ( $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$ )  $88,8 \pm 24,0$ ; encontraram-se adequadas para o cultivo de espécies tropicais de peixes, como a tilápia do Nilo e não diferiram significativamente ( $p > 0,05$ ), conforme Mercante et al. (2011).

A avaliação macroscópica, no que se refere à coloração e morfologia do fígado, independentemente da concentração do produto homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>, revelou a presença de dois lobos bem definidos e coloração castanho-clara, conforme Roberts (1981), que descreveu tais características como padrão de normalidade, para peixes teleósteos, em condições normais de cultivo.

Flores-Lopes e Malabarba (2007) relacionaram uma série de funções metabólicas do fígado de teleósteos, dentre as quais se destacam o acúmulo de substâncias de reserva, sob a forma de glicogênio e de lipídios (LOURES; LIMA, 2001). O fígado também atua nos mecanismos de defesa, representado pelo sistema pela produção de imunoglobulinas (POWELL, 2000), com importante função no processo de desintoxicação, biotransformação e excreção de compostos xenobióticos (MEYERS; HENDRICKS, 1985; HASCHEK; ROUSSEAU, 1996), sendo por esta razão, considerado o órgão alvo de vários parâmetros biológicos e ambientais que possam vir a causar alterações na estrutura e metabolismo, como alimentação, parasitos, infecções e toxinas (FREDELLO et al., 2001).

O fígado dos peixes de todos os tratamentos homeopáticos e do tratamento controle, apresentaram-se como uma massa de consistência firme, coloração vermelha amarronzada, com uma superfície lisa e brilhante, corroborando com a descrição encontrada por Santos et al. (2004) e Vicentini et al. (2005), em análise morfológica do fígado em tilápias do Nilo.

Os resultados dos grupos tratados com o Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup> sugeriram um efeito positivo, na avaliação macroscópica da coloração e morfologia do fígado, pois não possibilitaram a caracterização de nenhum processo patológico no fígado das tilápias.

A relação hepatosomática (RHS) dos peixes tratados com *Homeopatila 100*<sup>®</sup> está apresentada na Tabela 3.

**Tabela 3.** Valores médios da Relação Hepatosomática nas tilápias do Nilo (*O. niloticus*), alimentadas com ração contendo diferentes concentrações do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>, no final do período experimental.

| Parâmetros         | Tratamentos               |                           |                           |                           |
|--------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                    | T1                        | T2                        | T3                        | T4                        |
| Peso Peixe (g)     | 91,3 (±13,8) <sup>a</sup> | 92,9 (±19,3) <sup>a</sup> | 99,5 (±17,9) <sup>a</sup> | 96,4 (±14,7) <sup>a</sup> |
| Peso do fígado (g) | 2,05 (±0,50) <sup>a</sup> | 1,74 (±0,45) <sup>b</sup> | 1,74 (±0,77) <sup>b</sup> | 1,69 (±0,59) <sup>b</sup> |
| RHS (%)            | 2,25 (±0,34) <sup>a</sup> | 1,87 (±0,35) <sup>b</sup> | 1,75(±0,26) <sup>b</sup>  | 1,75 (±0,54) <sup>b</sup> |

T1= Controle, T2= 20mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração, T3= 40mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração, T4= 60mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração. RHS: Relação Hepatosomática. Nas linhas valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

Os peixes tratados com o Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup> apresentaram uma relação hepatossomática significativamente inferior ( $p < 0,05$ ), aos peixes do T1. Os tratamentos com homeopatia foram mais satisfatórios para os grupos tratados com 40mL (T3) e 60mL (T4) do Núcleo Homeopático por quilo de ração.

Os valores encontrados neste trabalho concordaram com os resultados apresentados por Valentim-Zabott et al. (2008) que verificaram uma relação hepatossomática do grupo que recebeu o Núcleo Homeopático *Homeopatila RS*, na ração de larvas de tilápias do Nilo durante a reversão sexual, significativamente inferior ao grupo controle e grupo hormonal com 17  $\alpha$ -metiltestosterona.

Concordam também com Siena et al. (2010) que identificaram em alevinos de tilápia do Nilo, valores significativamente inferiores no índice hepatossomático para os peixes que receberam o Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup> com 40 mL/kg de ração, em relação ao grupo controle.

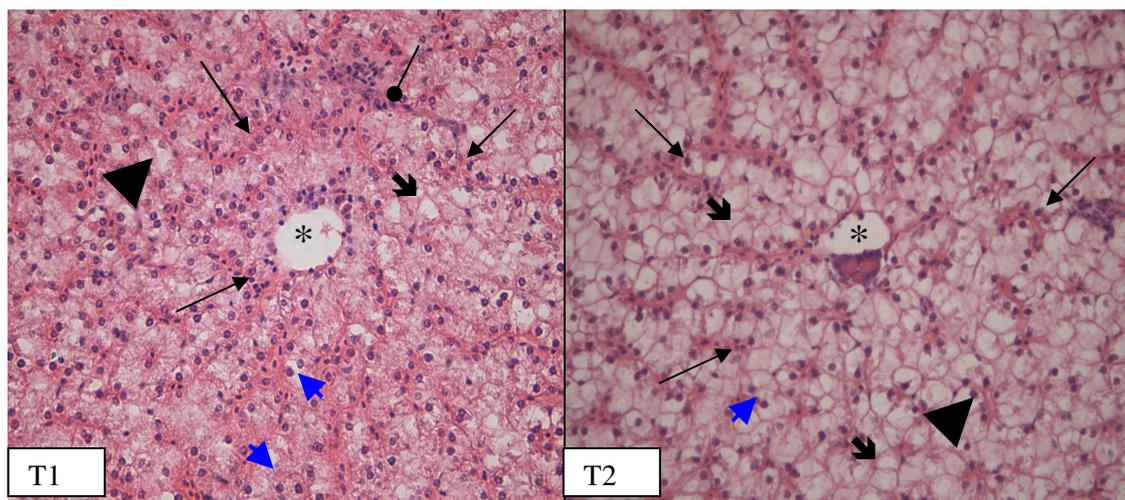
Figueiredo-Fernandes et al. (2007) encontraram em tilápias do Nilo (*O. niloticus*) expostas a diferentes concentrações de cobre, um índice hepatossomático mais elevado nos peixes submetidos a 2,5mg L<sup>-1</sup> de cobre.

Figueiredo-Fernandes et al. (2006) sugeriram uma relação positiva entre o peso relativo do fígado e as enzimas que metabolizam xenobióticos de tilápias expostas a agentes tóxicos e que a alta observada na relação hepatossomática pode ser indicativo de aumento da atividade das enzimas na biotransformação de xenobióticos.

Experimentos realizados com tilápias do Nilo (*O. niloticus*), não relacionados a intoxicações, apontam para diferenças nos índices hepatossomáticos, que podem estar correlacionadas a uma maior ou menor deposição lipídica ou de glicogênio no fígado, dependendo da qualidade e da quantidade do alimento, como também da fase de desenvolvimento dos peixes (LANNA et al., 2004; CAVICHILO, 2005).

A análise em microscopia óptica, realizada no fígado das tilápias, revelou (para T1, T2, T3 e T4) que os hepatócitos se apresentaram ligeiramente arranjados em cordões, podendo ou não apresentar vacuolização citoplasmática com coloração róseo-pálida, ligeiramente acidófila em seu interior. Presença de um ou dois núcleos esféricos e bem desenvolvidos, com moderada condensação de cromatina e nucléolo evidente. A cromatina é granular com heterocromatina condensada, também na periferia da célula. Esses relatos corroboram com Roberts (1981), Salaro (1992), Santos (2003), Santos et al. (2004) e Ferguson (2006), considerados como aspecto normal para peixes teleósteos.

Nos fígados analisados foi observado vacuolização citoplasmática, com estruturas globulares de coloração rósea, ainda em maior quantidade nos hepatócitos dos peixes do T1. No entanto, a intensidade da vacuolização provocou uma hipertrofia dos hepatócitos e maior deslocamento do núcleo para a periferia desta célula. Também foram encontrados alguns sinusoides em descontinuidade com as células endoteliais, e esporadicamente, observou-se o extravasamento de eritrócitos, conforme estudos descritos por Santos et al. (2004) e Henares et al. (2008), dispostos na Figura 1.



**Figura 1.** Tecido hepático de tilápia do Nilo (*O. niloticus*), HE. T1 (Controle) e T2 (20mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração): Veia Centro lobular (\*), cordões dos hepatócitos (setas finas), vacuolização citoplasmática (setas grossas), dois núcleos por hepatócito (pontas de setas azuis), núcleos deslocados para periferia (ponta setas grandes), extravasamento eritrócitos (ponta de seta redonda), (40X).

A tendência do deslocamento do núcleo para a periferia da célula e do extravasamento eritrócitos foi observada com mais intensidade no T1 e T2, do que encontrado no T3 e T4, levando a mudança na disposição dos hepatócitos, sugerindo a ocorrência de um possível processo inflamatório, indicativo de mecanismo compensatório para o restabelecimento da homeostase, corroborando com os estudos de Santos et al. (2004) e Henares et al. (2008).

Takashima e Hibiya (1995) ressaltaram que são necessários estudos mais específicos para esclarecer se a alta vacuolização citoplasmática no fígado dos peixes se constituiu uma alteração histopatológica negativa ou se é um evento comum que só deve ser considerado como alteração quando ocorrer associado a algum tipo de processo degenerativo.

Flores-Lopes e Malabarba (2007) verificaram como principais alterações ocorridas no fígado de lambari (*Astyanax jacuhiensis*), a vacuolização dos hepatócitos e um aumento do volume do órgão. Esses resultados corroboram com os resultados

obtidos neste estudo, o qual foi observado vacuolizações dos hepatócitos, como também um aumento no tamanho do fígado, na média dos exemplares de tilápias do T1 (Tabela 3), os quais obtiveram peso corporal inferior; porém com o maior peso do fígado e maior valor da RHS.

As diferenças causadas pelo uso da *Homeopatila 100*<sup>®</sup> no metabolismo hepático dos juvenis pode ter sido o fator responsável pelas alterações na proporção do fígado em relação ao peso corporal, uma vez que neste experimento os peixes dos diferentes tratamentos se apresentavam na mesma fase de desenvolvimento com dieta e regime de alimentação idênticos, sem apresentar diferença nos parâmetros físicos e químicos da água, concordando com os resultados encontrados por Siena et al. (2010).

Na Tabela 4, estão dispostos os valores médios para o número de hepatócitos e o percentual de glicogênio intracelular, durante o período experimental, através da utilização do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup> na dieta.

**Tabela 4.** Valores médios dos hepatócitos (técnica de H.E) e percentual de ocupação de glicogênio (técnica P.A.S.), no tecido hepático de tilápia do Nilo (*O. niloticus*), nos diferentes tratamentos, alimentadas com ração contendo o Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>, durante o período experimental.

| Tratamentos Homeopáticos | Hepatócitos<br>(n <sup>o</sup> de células) | Glicogênio<br>(%)               |
|--------------------------|--|---------------------------------|
|                          | (área útil: 20914,72 $\mu\text{m}^2$ )     |                                 |
| T1 - Controle (n = 8)    | 372,6 ( $\pm 63,7$ ) <sup>a</sup>          | 12,5 ( $\pm 5,7$ ) <sup>a</sup> |
| T2 - 20mL/Kg (n = 8)     | 387,7 ( $\pm 73,4$ ) <sup>ab</sup>         | 12,7 ( $\pm 6,6$ ) <sup>a</sup> |
| T3 - 40mL/Kg (n = 8)     | 427,8 ( $\pm 74,2$ ) <sup>b</sup>          | 20,8 ( $\pm 8,4$ ) <sup>b</sup> |
| T4 - 60mL/Kg (n = 8)     | 411,6 ( $\pm 97,0$ ) <sup>ab</sup>         | 18,5 ( $\pm 8,0$ ) <sup>c</sup> |

T1= Controle, T2= 20mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração, T3= 40mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração, T4= 60mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração. Nas colunas, para os hepatócitos, valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente pelo Teste t ( $p < 0,06$ ). Nas colunas, para o glicogênio, valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente pelo Teste t ( $p < 0,01$ ).

O T3 apresentou diferença significativa ( $p < 0,06$ ) em comparação ao T1 quanto ao número de hepatócitos/ $\text{mm}^2$ .

Figueiredo-Fernandes et al. (2007) pesquisaram alterações histopatológicas em hepatócitos de tilápia do Nilo (*O. niloticus*), expostas a diferentes concentrações de cobre, observaram que o número dos núcleos dos hepatócitos/ $\text{mm}^2$  do tecido hepático, decresceu com o aumento da concentração do metal pesado na água, bem como outros poluentes, necessitando mais estudos para a compreensão dos seus efeitos deletérios.

Para o glicogênio hepático, o T3, também teve seu maior percentual no fígado; podendo-se inferir que a concentração do Núcleo Homeopático, possivelmente

colaborou com a melhora na absorção de proteína, predispondo uma maior reserva de glicogênio no organismo dos peixes.

O percentual para evidenciação do glicogênio intracelular foi significativamente maior no tratamento T3 em relação ao controle. Inferindo-se que a ação da *Homeopatila 100*<sup>®</sup> na concentração de 40 mL por kg de ração, possivelmente tenha colaborado para a estimulação da resposta a uma injúria, interferindo no processo de armazenamento do glicogênio em juvenis de tilápia, conforme resultados apresentados por Fujimoto et al. (2005) em *Piaractus mesopotamicus*, em que constataram que a diminuição do peso do fígado pode estar relacionada a utilização do glicogênio em resposta a um estímulo estressante.

Em relação aos estoques de glicogênio, que se apresentaram mais elevados no tratamento T3 pode-se inferir que, agentes poluentes e tóxicos no ambiente aquático, são as prováveis causas da diminuição do glicogênio hepático, conforme Meletti et al. (2004), em estudos com *Serrapinnus notomelas*, que é a espécie recomendada para uso em testes de toxicidade aquática e a espécie *Danio rerio* (“paulistinha ou zebra-fish”).

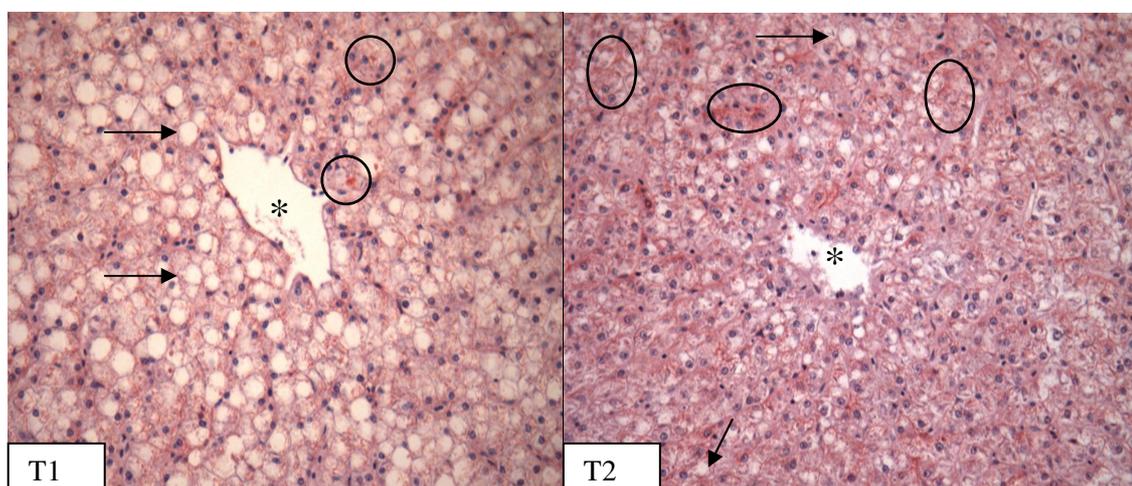
Shiau e Lin (1993) registraram valores mais elevados dos teores de glicogênio hepático em *O. niloticus* alimentadas com dieta suplementada com cromo. A diminuição do peso do fígado pode estar relacionada à utilização do glicogênio em resposta à condição de alta densidade. No entanto, é provável que a diminuição do teor de glicogênio ocorra durante as primeiras horas, e que os níveis sejam repostos e voltem à normalidade rapidamente.

Algumas das alterações hepáticas, ocorridas nos grupos dos animais tratados com o Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>, tais como moderada congestão nos capilares sinusoides, fusão celular e hipertrofia dos hepatócitos em algumas regiões, principalmente, próximo das veias centrais, podem ter ocorrido pela concentração do produto. Outros fatores que podem influenciar as diferentes respostas histopatológicas, à qual foram submetidas às tilápias utilizadas no estudo são: espécie, idade, sexo e estágio de maturidade sexual e período sazonal corroborando com os achados de Bernet et al. (1999).

No T1 e no T2, ocorreram hipertrofia dos hepatócitos que adquiriram formato mais arredondado, com citoplasma claro, diminuição da acidofilia, congestão dos sinusoides próximos a veia central com deslocamento do núcleo para a periferia da célula, concordando com Cruz (2005), que encontrou lesões semelhantes nos fígados de

*Piaractus mesopotamicus* sob tratamento com inseticida paration metílico e do extrato aquoso de folhas secas de nim.

Quanto aos aspectos metabólicos da espécie em estudo, observou-se, pelo método histoquímico de PAS, que no fígado alterado de alguns exemplares do T1 e T2, o teor de glicogênio foi inferior àquele encontrado no fígado normal de outros exemplares, e que havia regiões vacuolizadas em toda a extensão hepática (Figura 2). Essas vacuolizações citoplasmáticas indicam a existência de regiões com provável concentração de lipídios e glicogênio, como observado por Takashima e Hibiya (1995), ou a combinação de agentes tóxicos com os lipídios intracitoplasmáticos (RODRIGUES; FANTA, 1998). Por outro lado, o acúmulo de lipídios e a diminuição do glicogênio podem prejudicar as atividades metabólicas desempenhadas pelos hepatócitos (SANTOS et al., 2004).



**Figura 2.** Tecido hepático de tilápia do Nilo (*O. niloticus*), PAS + Hematoxilina. Veia Centro lobular (\*). **T1** (Controle): vacuolização citoplasmática (setas finas), glicogênio intracelular (círculos); **T2** (20mL *Homeopatia 100*<sup>®</sup>/Kg ração): vacuolização citoplasmática (setas finas), glicogênio intracelular (círculos), (40X).

Sá (1998) verificou que o citoplasma dos hepatócitos pode apresentar aspectos variáveis, dependendo da dieta e do estado nutricional dos peixes. Quando estes estão bem alimentados, os hepatócitos armazenam quantidades significativas de glicogênio e processam grande quantidade de lipídios.

Fredello et al. (2001) verificaram que diferenças na forma do parênquima hepático estariam relacionadas com o tipo de alimentação, estresse, alterações ambientais, tais como temperatura e poluição.

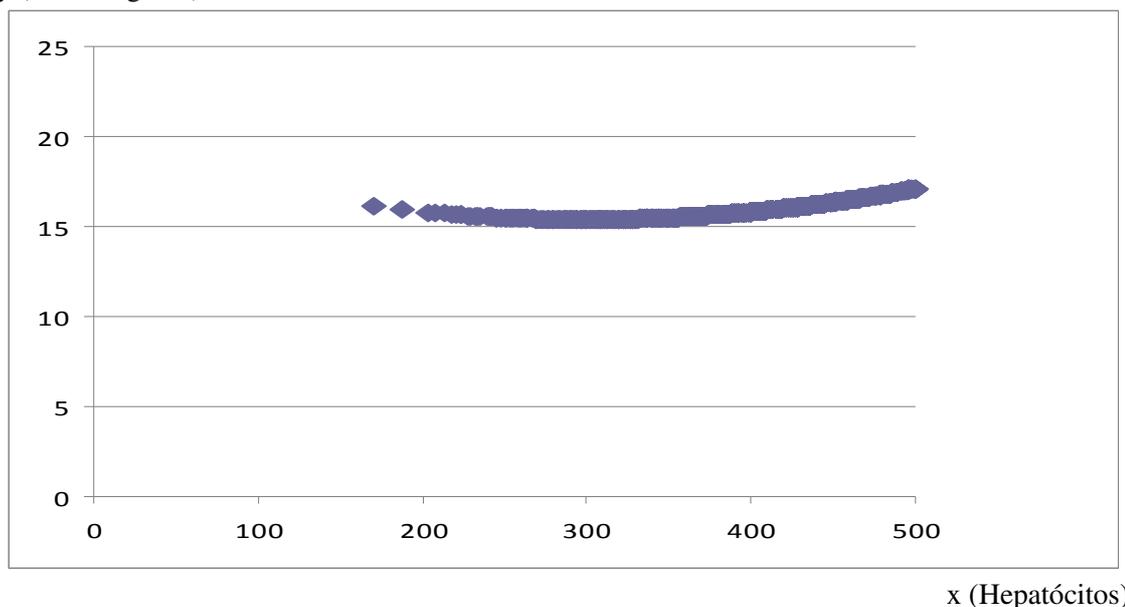
Valentim-Zabott et al. (2008) sugeriram a homeopatia populacional como um “instrumento” importante na produção animal, no sentido de conferir melhores

condições de sobrevivência, para que as tilápias possam melhorar as defesas orgânicas expressando, com êxito, as potencialidades produtivas.

A curva do número de hepatócitos em relação ao percentual de glicogênio, no fígado de tilapia do Nilo, nos diferentes tratamentos, está disposta na Figura 3.

**Figura 3.** Comportamento dos hepatócitos (x) em relação ao percentual para evidênciação do glicogênio intracelular (y), no tecido hepático de tilápias do Nilo (*O. niloticus*), nos diferentes tratamentos com o Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>, efetuados no encerramento do experimento.

y (% Glicogênio)



O número de hepatócitos e a porcentagem para evidênciação do glicogênio intracelular e determinação do percentual ocupado por esta inclusão por área, em tilápias, foram maiores no T3, conforme apresentado anteriormente na Tabela 6. Pode-se inferir que a concentração de 40mL de *Homeopatila 100*<sup>®</sup> por kg de ração, T3 foi o tratamento que armazenou uma quantidade maior de glicogênio quando comparado aos demais tratamentos homeopáticos, inclusive ao grupo controle.

Na Figura 3, pode-se observar o comportamento do glicogênio intracelular, em relação ao número de hepatócitos presentes, por campo. A relação deste comportamento mostra um aumento na inclusão do glicogênio hepático, à medida que ocorre um aumento no número de hepatócitos. Pode-se inferir que o aumento do número de células hepáticas é diretamente proporcional ao aumento da inclusão do glicogênio no interior do hepatócito.

#### 4.4 Conclusão

Recomenda-se o uso de *Homeopatia 100*<sup>®</sup> na concentração de 40 mL por kg de ração (T3) em dietas para juvenis de tilápias do Nilo, para um menor índice hepatossômico e um maior número de hepatócitos e do percentual para evidenciação do glicogênio intracelular, apresentando morfológicamente, um fígado mais preservado.

#### Referências

ARIAS, I.M.; JAKOBY, W.B.; POPPER, H.; SCHACHTER, D.; SHAFRITZ, D.A. (Ed.). **The liver: biology and pathobiology**. 2nd ed. New York: Raven Press, c1988. 1377p.

AYRES, M.; AYRES JÚNIOR, M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S. **BioEstat 2.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Tefé, AM: Sociedade Civil Mamirauá; Brasília: MCT/CNPq, 2000. 259p.

BEÇAK, W.; PAULETE, J. **Técnicas de citologia e histologia**. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 1976. 2v.

BEHMER, O.A.; TOLOSA, E.M.C.; FREITAS NETO, A.G. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. 1. ed. São Paulo: Ed. Edusp/Edart, 1976, 241p.

BERNET, D.; SCHMIDT, H.; MEIER, W.; BURKHARDT-HOLM, P.; WAHLI, T. Histopathology in fish: proposal for protocol to assess aquatic pollution. **Journal of Fish Diseases**, v.22, no.1, p. 25-34, 1999.

CAVICHIOLO, F. **Desempenho e morfologia de brânquias e fígado de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com diferentes níveis e fontes de proteínas**. 2005. 57f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2005.

CAVICHIOLO, F. Histologia: ferramenta relevante para estudos em peixes cultivados. In: TAVARES-DIAS, M. (Org.). **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. Macapá: Embrapa Amapá, 2009. CD-ROM. cap.23, p.602-624.

CRUZ, C. da. **Aspectos toxicológicos de paration metílico e de extrato aquoso de folhas secas de nim (*Azadirachta indica*) para o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e eficácia no controle de monogenea Dactylogyridae**. 2001. 97f. Tese (Doutorado em Aqüicultura de Águas Continentais) - Centro de Aqüicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

FERGUSON, H.W. (Ed.). **Systemic pathology of fish: a text and atlas of normal tissues in teleosts and their responses in disease**. 2nd ed. London: Scotian Press, 2006. 367p.

FIGUEIREDO-FERNANDES, A.; FERREIRA-CARDOSO, J.V.; GARCIA-SANTOS, S.; MONTEIRO, S.M.; CARROLA, J.; MATOS, P.; FONTAÍNHAS-FERNANDES, A. Histopathological changes in liver and gill epithelium of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed to waterborne copper. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.27, n.3, p.103-109, 2007.

FIGUEIREDO-FERNANDES, A.; FONTAÍNHAS-FERNANDES, A.; MONTEIRO, R.; REIS-HENRIQUES, M.A.; ROCHA, E. Effects of the fungicide mancozeb on liver structure of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*: assessment and quantification of

induced cytological changes using qualitative histopathology and the stereological point-sampled intercept method. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v.76, no.2, p.249-255, 2006.

FLORES-LOPES, F.; MALABARBA, L.R. Alterações histopatológicas observadas no fígado do lambarí *Astyanax jacuhiensis* (Cope, 1894) (Teleostei, Characidae) sob influência de efluentes petroquímicos. **Biociências**, v.15, n.2, p.166-172, 2007.

FREDELLO, J.P.; RAQBI, A.; MATTEI, X.; VIALE, D.; MARCHAND, B. Quantification of macrophage aggregates in the liver of *Mugil cephalus*. **Journal of Submicroscopy Cytology and Pathology**, v.33, no.4, p.473-473, 2001.

FUJIMOTO, R.Y.; CASTRO, M.P. de; MORAES, F.R. de; GONÇALVES, F.D. Efeito da suplementação alimentar com cromo trivalente em pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887), mantido em diferentes densidades de estocagem. Parâmetros fisiológicos. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.31, n.2, p.155-162, 2005.

GINGERICH, W.H.; DALICH, G.M. An evaluation of liver toxicity in rainbow trout following treatment with monochlorobenzene. **Proceedings of the Western Pharmacology Society**, v.21, p.475-480, 1978.

HASCHEK, W.M.; ROUSSEAU, C.G. **Handbook of toxicology pathology**. London: Academic Press, 1996. 1080p.

HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R.; SOARES, C.M.; MEURER, F. Exigência de proteína digestível para larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante a reversão sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, supl.2, p.823-828, 2002.

HENARES, M.N.P.; CRUZ, C. da; GOMES, G.R.; PITELLI, R.A.; MACHADO, M.R.F. Toxicidade aguda e efeitos histopatológicos do herbicida diquat na brânquia e no fígado da tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v.30, no.1, p.77-82, 2008.

LANNA, E.A.T.; PEZZATO, L.E.; FURUYA, W.M.; VICENTINI, C.A.; CECON, P.R.; BARROS, M.M. Fibra bruta e óleo em dietas práticas para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, supl.3, p.2177-2185, 2004.

LOURES, B.R. da R.; LIMA, S. Anatomia de peixes. In: MOREIRA, H.L.M.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R.P.; ZIMMERMANN, S. (Org.). **Fundamentos da moderna aqüicultura**. Canoas: Ulbra, 2001. cap.2, p.17-22.

MELETTI, P.C.; ROCHA, O.; MARTINEZ, C.B. dos R. Avaliação da degradação ambiental na bacia do rio Mogi-Guaçu por meio de testes de toxicidade com sedimento e de análises histopatológicas em peixes. In: BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E.L.G. (Org.). **Limnologia fluvial: um estudo no rio Mogi-Guaçu**. São Carlos: RiMa, 2004. cap.9, p.149-180.

MERCANTE, C.T.J.; CARMO C.F. do.; RODRIGUES, C.J.; OSTI, J.A.S.; MAINARDES PINTO, C.S.; VAZ-DOS-SANTOS, A.M.; TUCCI, A.; DI GENARO, A.C. Limnologia de viveiro de criação de tilápias do Nilo: avaliação diurna visando boas práticas de manejo. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.37, n.1, p.73-84, 2011.

MEYERS, T.R.; HENDRICKS, J.D. Histopathology. In: RAND, G.M.; PETROCELLI, S.R. (Ed.). **Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications**. Washington: Hemisphere Pub. Corp., 1985. p.283-331.

- PIAU JÚNIOR, R. **Comportamento morfométrico das fibras musculares brancas e desempenho de alevinos de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), tratados com metiltestosterona ou núcleo homeopático.** 2006. 47f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2006.
- POWELL, D.B. Blood and lymphatic vessels. In: OSTRANDER, G.K. (Ed.) **The laboratory fish.** London; San Diego, USA: Academic Press, 2000. chap.26. Immune system, p.441-448.
- ROBERTS, R.J. **Patologia de Los Peces.** Madrid: Mundi-Prensa, 1981, 366p.
- RODRIGUES, E. de L.; FANTA, E. Liver histopathology of the fish *Brachydanio rerio* Hamilton-Buchman after acute exposure to sublethal levels of the organophosphate Dimethoate 500. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.15, n.2, p.441-450, 1998.
- ROTTA, M.A. **Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura.** 1. ed. Corumbá, MS: Embrapa Pantanal, 2003. 48p. (Documentos, 53). Disponível em: <<http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/DOC53.pdf>> Acesso em: 16 set. 2010.
- SÁ, O.R. de. **Toxicidade do herbicida Roundup (Glifosato) e do acaricida Omite (Propargito) nas fases iniciais da ontogenia do bagre, *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1840) (Pimelodidae, Siluriformes).** 1998. 307f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1998.
- SALARO, A.L. **Desempenho produtivo e alterações anátomo-patológicas de alevinos de tilapia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) e carpa comum (*Cyprinus carpio*, L.), alimentados com ração contendo farinha da semente de leucena (*Leucaena leucocephala*).** 1992. 61f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas - Zoologia) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1992.
- SANTOS, N.P. dos. **Regeneração hepática em bagre africano (*Clarias gariepinus*) após hepatectomia parcial.** 2003. 51 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2003.
- SANTOS, A.A.; RANZANI-PAIVA, M.J.T.; FELIZARDO, N.N.; RODRIGUES, E. de L. Análise histopatológica de fígado de tilápias-do-nilo, *Oreochromis niloticus*, criada em tanque-rede na represa de Guarapiranga, São Paulo, SP, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.30, n.2, p.141-145, 2004.
- SAS. Institute Inc. **SAS/STAT 9.2 user's guide.** 2nd ed. Cary, N.C.: SAS Institute Inc., c2009. chap.37. The Genmod procedure.
- SCHWAIGER, J.; WANKE, R.; ADAM, S.; PAWERT, M.; HONNEN, W.; TRIEBSKORN, R. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. **Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery**, v.6, no.1, p.75-86, 1997.
- SHIAU, S.-Y.; LIN, S.-F. Effect of supplemental dietary chromium and vanadium on the utilization of different carbohydrates in tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. **Aquaculture**, v.110, no.3-4, p.321-330, 1993.
- SIENA, C.E.; NATALI, M.R.M.; BRACCINI, G.L.; OLIVEIRA, A.C. de; RIBEIRO, R.P.; VARGAS, L. Efeito do núcleo homeopático *homeopatila 100*<sup>®</sup> na eficiência

produtiva em alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Semina. Ciências Agrárias**, v.31, n.4, p.985-994, 2010.

STOSKOPF, M.K. **Fish medicine**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1993. 882p.

TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. (Ed.). **An atlas of fish histology: normal and pathological features**. 2nd ed. Tokyo: Kodansha; Stuttgart: New York: Gustav Fischer, 1995. 195p.

VALENTIM-ZABOTT, M.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R.P.; PIAU JR, R.; TORRES, M.B.A.; RÖNNAU, M.; SOUZA, J.C. Effects of a homeopathic complex in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) on performance, sexual proportion and histology. **Homeopathy**, v.97, n.4, p.190-195, 2008.

VINCENTINI, C.A.; FRANCESCHINI-VICENTINI, I.B.; BOMBONATO, M.T.S.; BERTOLUCCI, B.; LIMA, S.G.; SANTOS, A.S. Morphological study of the liver in the teleost *Oreochromis niloticus*. **International Journal of Morphology**, v.23, no.3, p.211-216, 2005.

ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**. 3rd ed. Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 1996.

ZELIKOFF, J.T. Biomarkers of immunotoxicity in fish and other non-mammalian sentinel species: predictive value for mammals? **Toxicology**, v.129, n.1, p.63-71, 1998.

## **5 EFEITO DO NÚCLEO HOMEOPÁTICO *HOMEOPATILA 100*<sup>®</sup> NA ANÁLISE DA HISTOLOGIA BRANQUIAL EM TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)**

**RESUMO:** Neste trabalho objetivou-se avaliar a histologia branquial de tilápias do Nilo (*O. niloticus*), através da utilização do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>, com quatro tratamentos: T1: 20 mL de solução hidroalcoólica (álcool 30° GL), T2: 20 mL, T3: 40 mL e T4: 60 mL de *Homeopatila 100*<sup>®</sup> por kg de ração, com quatro repetições para cada tratamento em 16 unidades experimentais, na densidade de 40 peixes m<sup>-3</sup>, durante 57 dias. No encerramento do experimento, os arcos branquiais foram removidos, de oito peixes por tratamento e se realizou o processamento histológico, através de cortes com 6µm de espessura. As brânquias foram coradas com Hematoxilina-Eosina, para análise morfológica e a reação histoquímica *Alcian Blue + PAS* para a evidenciação das células produtoras de mucopolissacarídeos ácidos e neutros. Verificou-se que os valores dos parâmetros físicos e químicos da água estiveram dentro da normalidade. Os melhores resultados foram para os peixes do T3 em relação aos valores médios das alterações histológicas branquiais e para o percentual de células produtoras de mucinas ácidas e neutras (p<0,05). Recomenda-se o uso de *Homeopatila 100*<sup>®</sup> na concentração de 40mL por quilo de ração (T3) em dietas para juvenis de tilápia do Nilo.

**Palavras-chave:** homeopatia populacional, alterações histológicas, brânquias, piscicultura, tilapicultura.

**Effect of Homeopathic Nucleus *Homeopatila 100*<sup>®</sup> on the gill histology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)**

**ABSTRACT:** Gill histology of the Nile tilapia (*O. niloticus*) was analyzed in fish treated with the Homeopathic Nucleus *Homeopatila 100*<sup>®</sup> at four concentrations, namely, T1: 20 mL hydro-alcohol solution (alcohol 30° GL), T2: 20 mL, T3: 40 mL and T4: 60 mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup> per kg of diet, with four repetitions in each treatment in 16 assay units, at a density of 40 fish/m<sup>-3</sup>, during 57 days. Gill arches of eight fish in each treatment were removed at the end of the experiment and the histological process of 6µm-sections was undertaken. The gills were stained with hematoxylin-eosin for general morphological analysis and neutral and acid mucopolysaccharide cells were verified with Alcian Blue + PAS histochemical technique. The physical and chemical parameters of the water were normal. Best results were provided for T3 fish when mean rates of gill histological changes and percentage of neutral and acid mucin-producing cells ( $p < 0.05$ ) are taken into account. *Homeopatila 100*<sup>®</sup> at the concentration of 40 mL per kg of diet (T3) is recommended in diets for Nile tilapia juveniles.

**Keywords:** population homeopathy, histological changes, gills, fish culture, tilapia culture.

## 5.1 Introdução

Um dos principais requisitos para o bom desenvolvimento da piscicultura é o conhecimento da biologia da espécie utilizada no cultivo. Avaliações histopatológicas de tilápias, diferenciando lesões, permitem que se estabeleçam melhores condições para o cultivo, monitoramento de contaminação ambiental e diagnóstico de doenças (SANTOS et al., 2004). O entendimento da fisiologia dos peixes é de fundamental importância e consiste no estudo do funcionamento dos diferentes sistemas do organismo, como eles interagem e respondem às diversas alterações ambientais e sistemas de criação (ROTTA, 2003).

Pesquisas realizadas com histopatologia dos órgãos de peixes como as brânquias (LEONARDO et al., 2001), tem sido de grande relevância nos estudos realizados com tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), por estarem associadas ao desenvolvimento de alterações estruturais e celulares que interferem na saúde e no desempenho dos peixes (SCHWAIGER et al., 1997).

A tilápia do Nilo (*O. niloticus*), destaca-se como peixe de potencial para aquicultura, pela sua rusticidade, crescimento rápido e adaptação ao confinamento, representando a segunda espécie mais criada no mundo (CAVICHIOLO, 2009).

O efeito do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup> em alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) permitiu confirmar uma frequência relativamente baixa das lesões branquiais nos diferentes tratamentos, segundo o método de classificação adotado (SCHWAIGER et al., 1997), associado a uma boa qualidade da água e das condições sanitárias dos alevinos (SIENA et al., 2010). Independentemente do modo de ação, a homeopatia equilibra o organismo pelo estímulo de suas defesas naturais, ajudando-o a se defender melhor, estimulando-o à cura (PIRES, 2005).

Em teleósteos, como a tilápia do Nilo, as brânquias são os principais órgãos para a respiração estando envolvida nos processos de osmorregulação, equilíbrio ácido-básico, excreção de compostos nitrogenados e desempenham ainda a função de órgão sensorial da gustação e filtração (LOPES, 2006; FIGUEIREDO-FERNANDES et al., 2007; GARCIA-SANTOS et al., 2007; FONTAÍNHAS-FERNANDES et al., 2008).

Em razão de importantes características como grande superfície de absorção, as brânquias são fundamentais na captação e absorção de substâncias dissolvidas na água, desequilíbrios nesse processo resultam em alterações histológicas tais como: elevação epitelial, hiperplasia, telangectasia, fusão lamelar e necrose, comprometendo a eficiência e a função do órgão causando danos à saúde dos peixes (LEONARDO et al.,

2001; CAVICHIOLO, 2005). Essas alterações são reconhecidas como método rápido e válido na caracterização dos danos causados pela exposição dos peixes a diferentes poluentes, agentes tóxicos e infestações parasitárias (MONTEIRO et al., 2005; GARCIA-SANTOS et al., 2006; FONTAÍNHAS-FERNANDES et al., 2008; WILSON; LAURENT, 2002; ROMÃO et al., 2006; FERNANDES et al., 2007; CAVICHIOLO, 2009).

As brânquias constituem interfaces importantes entre o corpo do peixe e o meio ambiente impedindo a entrada de patógenos e agentes irritantes. As superfícies destes tecidos são revestidas por muco, que é secretado pelas células mucosas. Este muco contém um conjunto de substâncias de defesa, como imunoglobulinas, fornecendo propriedades de imunidade (TAKASHIMA; HIBIYA, 1995; NAKAMURA et al., 2002), participam do processo de osmorregulação e proteção mecânica (RAMOS, 2008), inibem o crescimento e o desenvolvimento de muitos parasitos, bactérias e fungos (MORAES; MARTINS, 2004).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>, em diferentes concentrações na morfologia de brânquias em tilápia do Nilo (*O. niloticus*), da linhagem GIFT.

## 5.2 Material e métodos

O experimento foi realizado na Estação de Piscicultura da Universidade Estadual de Maringá (UEM-CODAPAR), localizada no Distrito de Floriano, município de Maringá, Estado do Paraná (Latitude 23° 31' 25" S e Longitude 52° 03' 12" W), no período de janeiro a março de 2010, com duração de 57 dias.

Foram utilizados 640 juvenis pós-revertidos de tilápia do Nilo (*O. niloticus*), da linhagem GIFT (*Genetic Improvement of Farmed Tilapia*), com peso e comprimento total médio inicial de 44,0g ( $\pm 7,9$ ) e 13,1cm ( $\pm 0,8$ ), verificados em balança digital (0,01g) e paquímetro, respectivamente. Toda metodologia que envolve a utilização de animais foi aprovada pelo Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação da Universidade Estadual de Maringá (Protocolo nº 037/2008).

O experimento foi montado em uma estufa, em que foram utilizadas 16 caixas de fibra de vidro, com capacidade de 1.000L cada, com distribuição aleatória de 40 animais por caixa, totalizando 160 animais por tratamento. Em cada uma das caixas havia aeração e circulação constante da água, com uma renovação diária de 30%, com sistema de aeração constante. A sifonagem da água, em cada caixa, foi realizada três vezes por semana.

O tratamento utilizado foi o Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup> com quatro tratamentos: T1 (Controle), T2, T3 e T4, com quatro repetições para cada tratamento.

O Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup> foi elaborado pela empresa REAL Homeopatia cuja composição se encontra na Tabela 1.

**Tabela 1.** Composição do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>.

| Composto                        | /1000g             |
|---------------------------------|--------------------|
| <i>Iodum</i>                    | 10 <sup>-24</sup>  |
| <i>Sulphur</i>                  | 10 <sup>-60</sup>  |
| <i>Natrum muriaticum</i>        | 10 <sup>-400</sup> |
| <i>Streptococinum</i>           | 10 <sup>-60</sup>  |
| Veículo (Álcool etílico 30° GL) | Q.s.p              |

Fonte: REAL Homeopatia - Brasil

Os juvenis foram alimentados com ração extrusada comercial 2,5mm (42% PB), durante os primeiros 28 dias e posteriormente, receberam a mesma ração comercial, porém com 5mm (32% PB), até o final do experimento.

A quantidade de ração oferecida diariamente foi em três porções diárias (9h, 13h, e 17h), atendendo às exigências nutricionais da espécie nesta fase (HAYASHI et al., 2002).

O Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup> foi incorporado na ração, aspergido com um pulverizador manual, semanalmente, homogeneizando-se, inicialmente e deixando-a secar ao ar, revolvendo-se periodicamente, durante 24 horas. A ração pronta ficou acondicionada em local arejado, sem a incidência da luz solar, produtos químicos e de equipamentos que emitissem campo magnético, até se apresentar solta e sem odor de álcool. O mesmo processo de inclusão foi realizado para o tratamento controle.

Após análise bromatológica realizada pelo Laboratório de Nutrição Animal, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá-UEM/PR, a ração administrada para os animais durante todo período experimental, demonstrou a seguinte composição percentual (Tabela 2).

**Tabela 2.** Composição percentual e bromatológica da ração comercial 2,5mm com 42% de PB e da ração comercial 5mm com 32% de PB, utilizado no experimento.

| Nutrientes              | Níveis de garantia (%)            |                                 |
|-------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|
|                         | Ração extrusada<br>2,5mm (42% PB) | Ração extrusada<br>5mm (32% PB) |
| Proteína Bruta          | 39,45                             | 30,62                           |
| Matéria seca            | 93,11                             | 90,02                           |
| Extrato etéreo          | 5,54                              | 4,67                            |
| Fibra Bruta             | 1,30                              | 2,35                            |
| Cinzas                  | 11,29                             | 8,63                            |
| Extrato não nitrogenado | 35,33                             | 43,75                           |

PB: Proteína Bruta. Fonte: Laboratório de Nutrição Animal – LANA (Universidade Estadual de Maringá - UEM/PR).  
Fonte: Laboratório de Nutrição Animal – LANA (Universidade Estadual de Maringá - UEM/PR)

Os valores médios dos parâmetros físicos e químicos da água, como temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica, foram registrados três vezes por semana, aferidos duas vezes ao dia: 9h e 16h, antes da sifonagem e após a alimentação dos peixes e, posteriormente, calculadas as médias.

### 5.2.1 Análise histológica

No encerramento do experimento as tilápias do Nilo (*O. niloticus*) foram sacrificadas por secção da medula cervical, após serem anestesiadas com benzocaína (1g/10mL de álcool/ 10L de água) (STOSKOPF, 1993). Os arcos branquiais foram removidos, lavados em solução fisiológica (NaCl 0,9%) e processadas amostras do segundo arco branquial direito, de oito peixes por tratamento (dois peixes/repetição), totalizando 32 peixes.

As amostras das brânquias foram fixadas em solução de *Bouin* aquoso (BEHMER et al., 1976) e posteriormente transferidas para frascos contendo álcool 70°. O material foi desidratado pelas passagens em séries crescentes de alcoóis, diafanizado em xilol e incluído em parafina, para a obtenção de cortes transversais semisseriados, com 6µm de espessura, com auxílio de micrótomo rotativo LEICA, no Laboratório de Histotécnica Animal do Departamento de Morfologia da Universidade Estadual de Maringá.

Para a avaliação morfológica as brânquias foram coradas pelo método usual de Hematoxilina-Eosina – HE (BEHMER et al., 1976), para análise morfológica e verificação de possíveis alterações branquiais utilizando o método semiquantitativo proposto por Schwaiger et al. (1997), adaptado em escala crescente de valores médios de alteração (V.M.A), dependendo do grau de severidade das lesões, descritas por

Mallatt (1985), de acordo com a seguinte escala: Nível 0 = nenhuma alteração histológica; Nível 1 = alterações leves; Nível 2 = alterações moderadas e pontuais; Nível 3 = alterações severas e extensas.

Com base nesta escala, um valor médio de alteração histológica (VMA) foi conferido para cada animal. A partir dos dados individuais se calculou a média de VMA para cada tratamento. A ocorrência e frequência das alterações: hiperplasia, fusão lamelar e telangectasia foram analisadas em quatro cortes histológicas por animal, em microscópio de luz (Olympus CX31RBSFA) e objetiva de 40x.

Parte das amostras foram submetidas à técnica histoquímica *Alcian Blue* + PAS, modificada (*Alcian Blue* pH 2,5 - PAS Stain/PAB), para a evidenciação das células produtoras de mucinas neutras e mucinas ácidas e posterior análise quantitativa. Esta análise foi realizada a partir de imagens capturadas em microscópio óptico Olympus BX41 acoplado com câmera QColor 3 Olympus, utilizando objetiva de 40x em 20 imagens/corte (80 imagens/animal). Estas medidas foram realizadas com auxílio de software de análise de imagem *Image Pro Plus*<sup>®</sup> (version 4.5, Media Cybernetics, USA).

### 5.2.2 Análise estatística

O experimento foi realizado na forma de delineamento inteiramente casualizado, constituído por quatro tratamentos homeopáticos em diferentes concentrações (Controle: 20 mL de solução hidroalcoólica (álcool 30° GL), 20 mL, 40 mL e 60 mL de *Homeopatila 100*<sup>®</sup> por kg de ração e quatro repetições por tratamento.

O modelo estatístico utilizado para os parâmetros físicos e químicos da água foi o teste H de *Kruskal-Wallis* ( $p < 0,05$ ) (AYRES et al., 2000), segundo Zar (1996).

Para os dados referentes às alterações das brânquias foi utilizado o teste “Proc Genmod - Sistema Computacional SAS (2009), com distribuição Gamma e função de ligação diversa. As comparações múltiplas das médias foram realizadas por meio do teste t ( $p < 0,05$ ). Para a quantificação das células mucosas, foi utilizado o teste “Proc Genmod - Sistema Computacional SAS (2009) com distribuição Binomial e função de ligação logística. As comparações múltiplas da média foram realizadas pelo teste t ( $p < 0,05$ ).

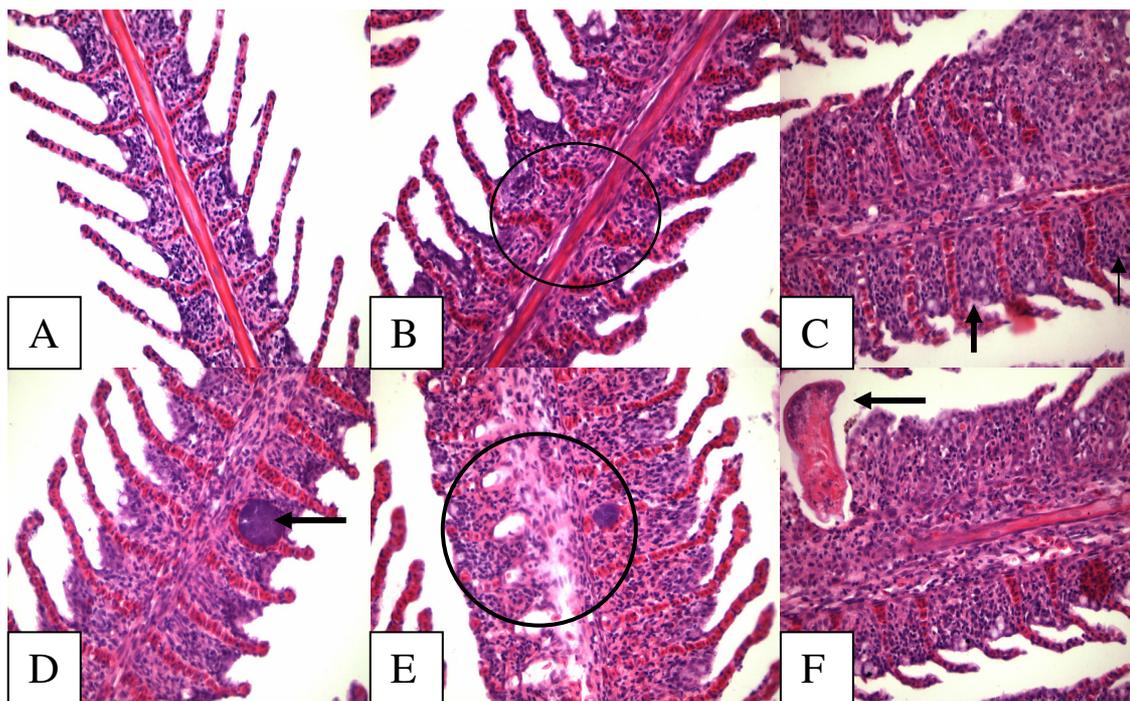
### 5.3 Resultados e discussão

Os valores médios dos parâmetros físicos e químicos da água, nos diferentes tratamentos foram: temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )  $26,5 \pm 2,7$ ; pH  $7,5 \pm 0,4$ ; oxigênio dissolvido ( $\text{mg.L}^{-1}$ )  $3,4 \pm 2,1$  e condutividade elétrica ( $\mu\text{S/cm}^{-1}$ )  $88,8 \pm 24,0$ ; encontraram-se adequadas para o cultivo de espécies tropicais de peixes, como a tilápia do Nilo e não diferiram significativamente ( $p > 0,05$ ), conforme Mercante et al. (2011).

Na avaliação macroscópica da morfologia branquial dos exemplares de tilápia do Nilo, verificou-se que as mesmas apresentavam uma coloração vermelho vivo intenso, protegidas por estruturas chamadas de opérculos. As brânquias apresentam uma base rígida cartilaginosa, com alguns pontos de ossificação, dando estes, origem aos arcos branquiais, representado por quatro pares em cada um dos lados do opérculo. Cranialmente, possuem os rastros, estruturas cartilaginosas espaçadas e relativamente curtos, que funcionam como “filtro”. Caudalmente é composta por filamentos primários, que se dividem em filamentos secundários, que são a estrutura funcional e respiratória dos peixes (WILSON; LAURENT, 2002; CAVICHIOLO, 2005).

Na avaliação microscópica da brânquia foram observadas as lamelas recobertas por epitélio simples, formadas por células epiteliais cuboides, apresentando um núcleo oval bastante evidente e citoplasma pouco denso. Presença também de capilares contendo células sanguíneas no seu interior. As lamelas primárias apresentaram na parte central uma estrutura cartilaginosa de suporte e as lamelas secundárias se apresentaram formadas por tecido conjuntivo na parte central (CAVICHIOLO, 2005).

Nas lâminas submetidas à coloração Hematoxilina-Eosina (HE), foram diagnosticadas três alterações, de acordo com Mallatt (1985) e classificadas de 0 a 3 em valores médios de alteração (V.M.A), sendo as seguintes: hiperplasia (Figura 1B), fusão lamelar (Figura 1C) e telangectasia (Figura 1D), conforme ilustrado na Figura 1 e apresentado na Tabela 3.



**Figura 1.** Histopatologias branquiais de tilápia do Nilo (*O. niloticus*). **A:** Estrutura normal da brânquia -T3 (40mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração); **B:** Hiperplasia de epitélio (círculo) - T3 (40mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração); **C:** fusão lamelar (seta) - T2 (20mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração); **D:** telangectasia (seta) - T4 (60mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração); **E:** Hiperplasia, fusão lamelar e telangectasia (círculo) - T2 (20mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração); **F:** Fusão lamelar e presença de Monogenoidea (seta) - T4 (60mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração). HE, (40X).

**Tabela 3.** Valores médios das alterações histológicas na análise das brânquias de tilápia do Nilo (*O. niloticus*), por tratamento, durante o período experimental, avaliadas em V.M.A. (através da coloração de Hematoxilina-Eosina).

| Tratamentos | Hiperplasia                     | Fusão lamelar                  | Telangectasia                  |
|-------------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| T1          | 2,3 ( $\pm 0,4$ ) <sup>a</sup>  | 2,1 ( $\pm 0,6$ ) <sup>a</sup> | 1,5 ( $\pm 0,9$ ) <sup>a</sup> |
| T2          | 2,7 ( $\pm 0,5$ ) <sup>b</sup>  | 2,5 ( $\pm 0,7$ ) <sup>a</sup> | 1,0 ( $\pm 0,2$ ) <sup>b</sup> |
| T3          | 1,9 ( $\pm 0,5$ ) <sup>c</sup>  | 1,3 ( $\pm 0,5$ ) <sup>b</sup> | 0,6 ( $\pm 0,5$ ) <sup>c</sup> |
| T4          | 2,4 ( $\pm 0,5$ ) <sup>ab</sup> | 1,9 ( $\pm 0,6$ ) <sup>a</sup> | 0,9 ( $\pm 0,3$ ) <sup>d</sup> |

V.M.A.: Valor Médio de alteração, medida semiquantitativa, variando de grau 0 ao 3. Grau 0 = nenhuma alteração histológica; Grau 1 = alterações leves; Grau 2 = alterações moderadas e pontuais; Grau 3 = alterações severas e extensas. T1= Controle, T2= 20mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração, T3= 40mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração, T4= 60mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração. Na coluna, valores seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste t ( $p < 0,05$ ).

No presente experimento, o tratamento homeopático T3 foi o que apresentou os menores valores médios das alterações histológicas para hiperplasia, fusão lamelar e telangectasia, na análise das brânquias de tilápia do Nilo, apresentando diferença significativa quando comparado com os demais tratamentos homeopáticos e o tratamento controle ( $p < 0,05$ ).

A hiperplasia é uma das alterações mais comuns de serem encontradas em tilápias, como também na maioria dos peixes teleósteos, porque se manifesta sempre após a ocorrência de algum tipo de agente agressor, servindo como um mecanismo de

reação e proteção da resposta inflamatória. Na figura 1B, pode-se observar a hiperplasia no epitélio branquial, ocasionada pelo crescimento do tecido, pelo aumento ou proliferação do número de células do epitélio lamelar e fusão lamelar e este regride uma vez cessado o estímulo causador (CAVICHIOLO, 2000; CAVICHIOLO, 2005).

A fusão lamelar (Figura 1C) é uma lesão que ocorre pelo aumento da adesão entre as células epiteliais e o sistema de sustentação das células pilares, acompanhado pelo colapso da integridade da estrutura da lamela secundária (CENGIZ; UNLU, 2002; CRUZ, 2005). Figueiredo-Fernandes et al. (2007) observaram em tilápia do Nilo, que a proliferação das células com espessamento do epitélio do filamento branquial é uma alteração histológica que pode levar à fusão lamelar. Esse efeito pode ser um mecanismo de proteção do peixe, por diminuir a área de exposição das lamelas secundárias ao agente intoxicante. Assim, a tilápia nilótica pode ter desenvolvido este mecanismo para sua proteção e integridade das lamelas secundárias e primárias.

A telangectasia é uma congestão sanguínea com desintegração das estruturas de suporte e o extravasamento do sangue para o interior das lamelas branquiais (Figura 1D) (GENTEN et al., 2009).

Siena et al. (2010) pesquisaram a resposta da homeopatia populacional em alevinos de tilápia do Nilo e verificaram que, apesar da presença de alterações histológicas nos filamentos branquiais, as frequências destas indicaram ausência de diferença significativa para os valores médios de alterações, entre os tratamentos 20mL, 40mL e 60mL do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup> por Kg de ração, como também para o tratamento controle. Discordando dos resultados apresentados no experimento em questão, em que foram encontradas diferenças entre o controle e os tratamentos homeopáticos.

Cavichiolo (2009) citou como alterações mais comuns encontradas nas brânquias dos peixes teleósteos, descritos para tilápia do Nilo: elevação epitelial, hiperplasia, proliferação de células do epitélio filamentar e estas podem conduzir à fusão parcial ou total das lamelas branquiais e telangectasia.

Indutores de irritação branquial têm sido investigados com frequência, através de análises microscópicas, tais como baixa qualidade da água com pH e temperaturas extremas (MALLATT, 1985), agentes tóxicos, poluentes e irritantes como metais pesados e pesticidas (PANE et al., 2004; FIGUEIREDO-FERNANDES et al., 2007; GARCIA-SANTOS et al., 2007; FONTAÍNHAS-FERNANDES et al., 2008), agentes infecciosos e presença de parasitos (PAVANELLI et al., 2008).

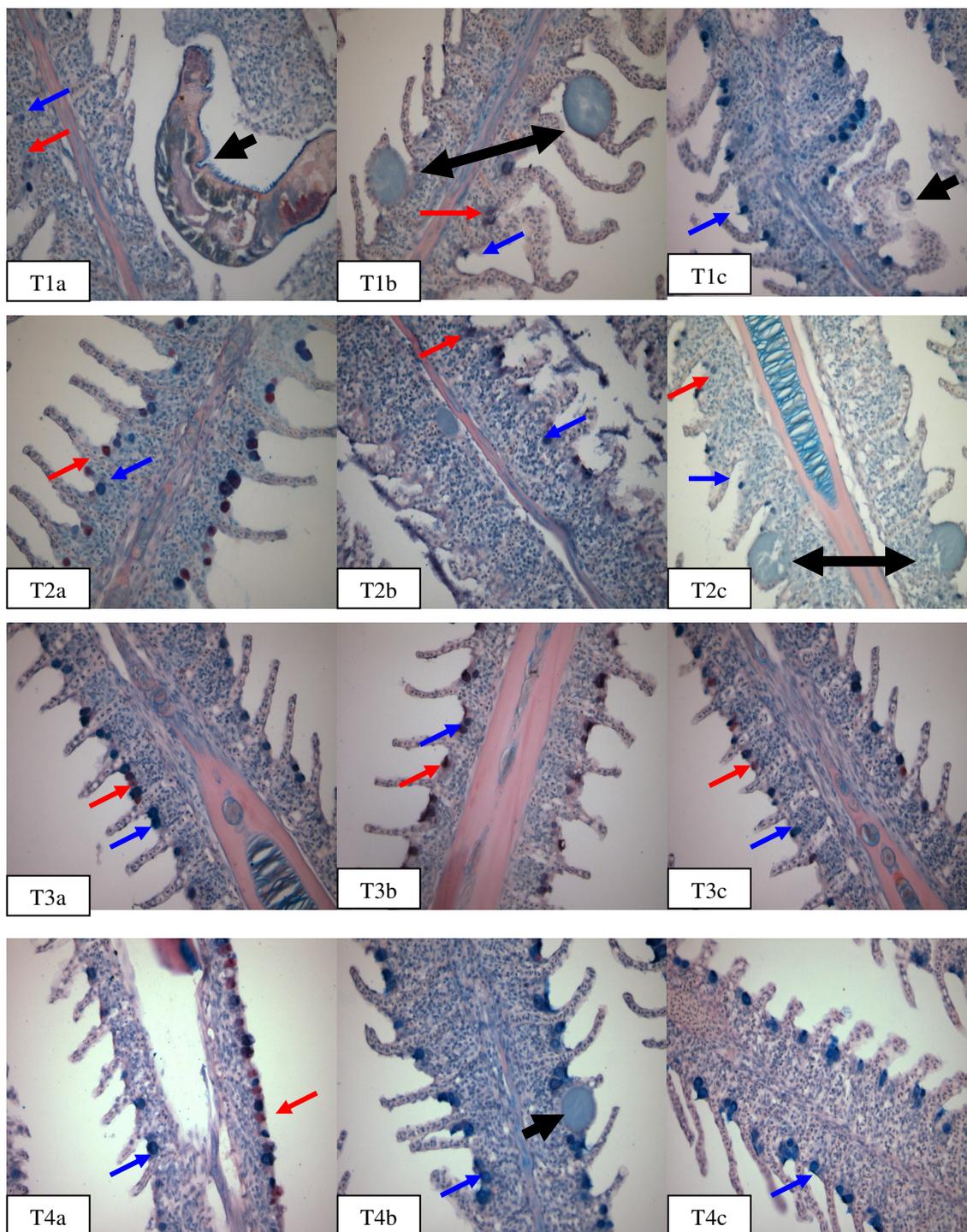
Edema, com levantamento de epitélio lamelar e fusão lamelar são alterações que ocorrem pela exposição a diferentes agentes tóxicos (SCHWAIGER et al., 2004), na qual pode servir como um mecanismo de defesa, que reduz uma área superficial branquial em contato com o meio externo. Estes mecanismos também aumentam a barreira de difusão para o poluente (HEERDEN et al., 2004). A separação das lamelas faz aumentar a distância através da qual, as toxinas presentes no meio aquático devem se difundir para alcançar a corrente sanguínea (ARELLANO et al., 1999).

Cruz (2005) relatou que a análise histológica é um método rápido que determina os efeitos dos agentes químicos em tecidos e órgãos, visto que ocorrem alterações na morfologia em resposta ao estresse subletal ou crônico. Os órgãos de peixes mais comprometidos pelos agentes químicos são as brânquias e a pele, por exibir grande superfície de contato e ambos apresentam células de muco, que possuem papel importante na resistência aos patógenos e às substâncias tóxicas, como também têm atuação sobre o fígado, metabolizando as substâncias tóxicas.

Mallatt (1985) acrescentou que uma das principais alterações estruturais das brânquias expostas aos agentes agressores consiste no aparecimento de edema nos epitélios lamelar e filamentar. Thophon et al. (2003) referem-se à presença de edema acompanhado pelo destacamento do epitélio lamelar como sendo um primeiro sinal de patologia em peixes.

No presente estudo, foi observada uma frequência relativamente baixa das lesões branquiais, nos diferentes tratamentos, principalmente no T3, conforme Schwaiger et al. (1997). Podendo-se inferir que foi empregado um manejo adequado, com boas condições sanitárias e parâmetros ambientais adequados (MELETTI et al., 2004), para o cultivo de tilápia do Nilo (MARTINS, 2004).

Na Figura 2, estão dispostas imagens das brânquias de tilápia do Nilo (*O. niloticus*) submetidas a diferentes concentrações do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>, utilizando-se a técnica histoquímica: *Alcian Blue* (pH 2,5) - PAS - Stain (PAB) (WEBPATH, 2010).



**Figura 2.** Técnica histoquímica Alcian Blue (pH 2,5) + PAS, modificada para evidenciação de células produtoras de **mucinas neutras** (setas vermelhas) e **mucinas ácidas** (setas azuis) das brânquais de tilápia do Nilo (*O. niloticus*). **T1** (Controle): **a)** Estrutura da brânquia com a presença de Monogenoidea (seta larga), mucinas neutras e ácidas; **b)** mucinas neutras e Telangiectasia (seta larga ponta dupla); **c)** Presença do protozoário *Trichodina* (seta larga), mucinas ácidas; **T2** (20mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração): **a, b)** mucinas neutras e ácidas; **c)** mucinas neutras e ácidas e Telangiectasia (seta larga ponta dupla); **T3** (40mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração): **a,b,c)** mucinas neutras e ácidas; **T4** (60mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração): **a)** mucinas neutras e ácidas **b)** mucinas ácidas e Telangiectasia (seta larga); **c)** mucinas ácidas. (40X).

Os peixes do T3 apresentaram um percentual de células mucosas ácidas significativamente maior ( $p < 0,05$ ) e conseqüentemente um percentual de células mucosas neutras ( $p < 0,05$ ) menores; quando comparado com os peixes do grupo T1, como também aos demais tratamentos homeopáticos.

Cavichiolo (2009) explicou que as lamelas são constituídas centralmente por um eixo vascular e por um epitélio composto por células pavimentosas de revestimento e indiferenciadas. Essas são compartimentadas internamente pelas células pilares que suportam e delimitam o compartimento sanguíneo lamelar, em que passa o sangue, sendo revestida externamente, na sua maioria, por células pavimentosas e células cloreto. No epitélio do filamento se encontram também as células mucosas.

Monteiro et al. (2004), Evans et al. (2005) e Genten et al. (2009) caracterizaram o epitélio branquial de peixes como estratificado e constituído por vários tipos celulares, em especial, por três: células pavimentosas (possuem a função de trocas gasosas e estão em maior frequência), células cloreto (função de regulação iônica, equilíbrio ácido-base e excreção de metabólitos nitrogenados) e as células mucosas (são uma característica proeminente do epitélio branquial, estão localizadas dentro da lamela primária perto da base da lamela secundária) e são responsáveis pela produção de muco de revestimento com a função de lubrificação, proteção mecânica e contra infecções bacterianas e abrasão.

As células mucosas exibem características de células secretoras de muco, contendo glicoproteínas importantes para as funções lubrificantes e, a maioria dessas glicoproteínas, pertence à família das mucinas, cuja estrutura contém 70-80% de cadeias de carboidratos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

Os valores médios percentuais das células de muco (mucosubstâncias/mucinas ácidas e mucosubstâncias /mucinas neutras) presentes nas brânquias de tilápia do Nilo (*O. niloticus*), no final da fase experimental, submetidas a diferentes concentrações do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>, são apresentados na Tabela 4, utilizando-se a técnica: *Alcian Blue* (pH 2,5) - PAS - Stain (PAB) (WEBPATH, 2010).

**Tabela 4.** Média do número de células mucosas dos filamentos branquiais de tilápias do Nilo (*O. niloticus*) numa área de 0,2274 mm<sup>2</sup>, evidenciadas pela técnica histoquímica *Alcian Blue* (pH 2,5) - PAS, modificada em diferentes concentrações do Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>, no final do experimento.

| Tratamentos | Células Mucosas    |                     |
|-------------|--------------------|---------------------|
|             | Mucinas Ácidas (%) | Mucinas Neutras (%) |
| T1          | 82,08 <sup>a</sup> | 17,92 <sup>a</sup>  |
| T2          | 75,47 <sup>a</sup> | 24,53 <sup>a</sup>  |
| T3          | 91,55 <sup>b</sup> | 8,45 <sup>b</sup>   |
| T4          | 79,25 <sup>a</sup> | 20,75 <sup>a</sup>  |

T1= Controle, T2= 20mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração, T3= 40mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração, T4= 60mL *Homeopatila 100*<sup>®</sup>/Kg ração /kg. Nas colunas, para as células mucosas, valores seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste t (p<0,05).

Reis et al. (2009) relataram que as mucosubstâncias ácidas são mais solúveis do que as neutras quando entram em contato com o meio aquático, pois possuem maior quantidade de cargas elétricas residuais. Essa baixa viscosidade tem a função de proteger e lubrificar o epitélio branquial contra atritos.

Alberto et al. (2005) citaram que a exposição a agentes poluidores pode influenciar a proliferação de células mucosas com diferentes tipos de mucosubstâncias que proliferam diante da exposição dos peixes a agentes estressores.

Beamish (1972) relataram em seus trabalhos com mucinas em espécies de peixes de água doce (*Catostomus commersoni*) e Shiraishi et al. (2009) pesquisando a dinâmica de secreção de mucinas secretadas pela ação de parasitos, constataram que o muco neutro se apresenta mais denso que o muco ácido, num meio aquoso, atribuindo-se ao muco neutro uma maior capacidade de proteção e lubrificação, quando as células mucosas são expostas a agentes abrasivos, irritantes e tóxicos.

Ramos (2008) verificou que a análise quantitativa do número de células mucosas revelou que estas apresentam uma menor incidência nos animais com aproximadamente 50g, com aumento em animais de 100 a 200g. A partir de 500g, aproximadamente, ocorre apenas um aumento no número de células neutras, enquanto o número de células ácidas se mantém próximo aos peixes com 100 a 200 g, em *Arapiama gigas*, o qual apresenta a respiração branquial, em peixes de aproximadamente 100g.

Reis et al. (2009) trabalharam com densidade populacional de células mucosas do epitélio branquial de tilápia do Nilo e concluíram que foi possível considerar que outros fatores (além dos físico e químicos observados), tais como, a possibilidade da presença de parasitos e agentes tóxicos contidos nos sedimentos possam ter influenciado nos achados apresentados quanto ao número destas células mucosas.

Reis et al. (2009) salientaram que condições de temperatura, pH e concentração de oxigênio dissolvido na água dos tanques de cultivo intensivo das tilápias (*O. niloticus*) avaliados, foram os responsáveis por uma extensão da área lamelar e do número de células mucosas branquiais. A contínua queda destes parâmetros físicos e químicos induziu uma contenção tanto da área lamelar quanto do número de células mucosas. O aumento progressivo de alterações morfológicas do epitélio branquial (hiperplasia interlamelar, fusão lamelar, descolamento epitelial e telangectasias) e presença de ectoparasitos ocorreu quando foram observados os peixes cultivados em tanques com condições ambientais menos favoráveis.

O aumento das células produtoras de mucinas ácidas em relação ao número de células produtoras de mucinas neutras, no T3, indicou que as mucinas ácidas são mais solúveis do que as neutras, em condições de boa qualidade dos parâmetros ambientais (MYERS et al., 2008). Nesses peixes, o muco que recobria as brânquias estava em maior quantidade e mais fluido em relação aos animais dos outros tratamentos homeopáticos e do controle, corroborando com os resultados encontrados por Reis et al. (2009), que salientaram que o muco mais fluido é indicativo de que a fisiologia dos peixes, permitindo uma maior interação do epitélio branquial e do ambiente aquático.

O muco ácido está associado a uma proteção mais eficiente do epitélio, sendo encontrado no epitélio do surubim-pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) em maior quantidade que o muco neutro para proteger a mucosa no trato digestório (CAL, 2006).

Mallatt (1985); Leonardo et al. (2001); Fracácio et al. (2003) e Reis et al. (2009) constataram que a proliferação e hipersecreção das células mucosas nas brânquias podem ser compreendidas como um mecanismo de defesa em função de uma resposta defensiva crônica, podendo comprometer a função branquial dependendo da severidade do processo frente a situações de estresse. Reis et al. (2009) verificaram que a proliferação de células mucosas com diferentes tipos de mucosubstâncias ajuda a proteger o epitélio branquial da ação de contaminantes e agentes patogênicos, auxiliando na osmorregulação. Porém, grande quantidade de secreção de muco, principalmente neutro, pode prejudicar e dificultar as trocas gasosas.

Breseghele et al. (2004) expuseram peixes teleósteos a agentes químicos e observaram hiperplasia das células mucosas com maior intensidade de mucosubstâncias neutras no grupo controle e maior intensidade de mucosubstâncias ácidas no grupo experimental, concordando com os valores encontrados no presente experimento, em que foram constatadas a presença de mucosubstâncias ácidas em maior quantidade para

todos os tratamentos, principalmente para o T3. A diferença estava no percentual das células encontradas para mucosubstâncias ácidas.

O efeito de contaminantes e agentes tóxicos presentes na água é conhecido por causar hipertrofia e hiperplasia de células mucosas e que, um aumento dessas células com mucosubstância ácida participa mais ativamente, atraindo uma maior quantidade de íons, da osmorregulação (SADAUSKAS HENRIQUE, 2008) e por aumentarem a resistência do muco a bactérias, ou seja, proteção imune (MACIEL et al., 2010).

Ramos (2008) considera que o muco secretado pelas células mucosas provavelmente tenha relação com o papel de ajuste iônico, este muco deve permitir que todo o epitélio receba um delgado revestimento que venha a atuar na atração de íons, favorecendo a regulação das trocas iônicas.

Wendelaar Bonga (1997) e Sadauskas Henrique (2008) verificaram uma intensa proliferação celular nas brânquias que pode ser reflexo de alterações no meio aquático, sendo que o aumento e diferenciação das células mucosas são considerados como uma resposta ao estresse ambiental via ação de cortisol e prolactina, liberados durante períodos de estresse dos peixes.

Os poluentes se acumulam na cadeia alimentar e são responsáveis pelos efeitos adversos e a morte em organismos aquáticos (FARKAS et al., 2002). Os peixes são utilizados para avaliar a saúde dos ecossistemas e as alterações fisiológicas. A tilápia do Nilo (*O. niloticus*) é uma das espécies de peixes mais comuns de água doce utilizada nos estudos toxicológicos, servindo como biomarcadores da poluição ambiental (FIGUEIREDO-FERNANDES et al., 2006a; 2006b; GARCIA-SANTOS et al., 2006; FIGUEIREDO-FERNANDES et al., 2007).

#### **5.4 Conclusão**

Recomenda-se o uso de *Homeopatila 100*<sup>®</sup> na concentração de 40 mL por kg de ração (T3) em dietas para juvenis de tilápias do Nilo, tendo em vista os menores valores médios das alterações histológicas. O aumento das células produtoras de mucinas ácidas em relação às mucinas neutras, quando em contato com o meio aquático, está relacionado com a maior lubrificação e a proteção das brânquias.

#### **Referências**

ALBERTO, A.; CAMARGO, A.F.M.; VERANI, J.R.; COSTA, O.F.T.; FERNANDES, M.N. Health variables and gill morphology in the tropical fish *Astyanax fasciatus* from a sewage-contaminated river. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.61, no.2, p.247-255, 2005.

ARELLANO, J.M.; STORCH, V.; SARASQUETE, C. Histological changes and copper accumulation in liver and gills of the Senegales Sole, *Solea senegalensis*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.44, no.1, p.62-72, 1999.

AYRES, M.; AYRES JÚNIOR, M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S. **BioEstat 2.0**: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Tefé, AM: Sociedade Civil Mamirauá; Brasília: MCT/CNPq, 2000. 259p.

BEAMISH, R.J. Lethal pH for the white sucker *Catostomus commersoni* (Lacépède). **Transactions of the American Fisheries Society**, v.101, no.2, p.355-358, 1972.

BEHMER, O.A.; TOLOSA, E.M.C.; FREITAS NETO, A.G. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. 1. ed. São Paulo: Ed. Edusp/Edart, 1976, 241p.

BRESEGHELO, L., CARDOSO, M.P.; BORGES-DE-OLIVEIRA, R.; COSTA, M.F. da; BARRETO, J.C.B.; SABÓIA-MORAIS, S.M.T. de; YAMADA, A.T. Efeitos do fluoreto de sódio no epitélio da brânquia do peixe Guarú (*Poecilia vivipara*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.41, no.4, p.274-280, 2004.

CAL, J.A. **Histologia do trato digestório de surubim-pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*, Agassiz, 1829)**. 2006. 87 f., il. Dissertação (mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

CAVICHIOLO, F. **Efeito da vitamina C (Ácido ascórbico) na ocorrência de ectoparasitas e nas alterações histológicas em alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2000. 48f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2000.

CAVICHIOLO, F. **Desempenho e morfologia de brânquias e fígado de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com diferentes níveis e fontes de proteínas**. 2005. 57f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2005.

CAVICHIOLO, F. Histologia: ferramenta relevante para estudos em peixes cultivados. In: TAVARES-DIAS, M. (Org.). **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. Macapá: Embrapa Amapá, 2009. CD-ROM. cap.23, p.602-624.

CENGIZ, E.I.; UNLU, E. Histopathological changes in the gills of mosquitofish, *Gambusia affinis* exposed to endosulfan. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v.68, no.2, p.290-296, 2002.

CRUZ, C. da. **Aspectos toxicológicos de paration metílico e de extrato aquoso de folhas secas de nim (*Azadirachta indica*) para o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e eficácia no controle de monogenea *Dactylogyridae***. 2001. 97f. Tese (Doutorado em Aqüicultura de Águas Continentais) - Centro de Aqüicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

EVANS, D.H.; PIERMARINI, P.M.; CHOE, K.P. The Multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. **Physiology Review**, v.85, no.1, p.97-177, 2005.

FARKAS, A.; SALÁNKI, J.; SPECZIÁR, A. Relation between growth and the heavy metal concentration in organs of bream, *Abramis brama* L. populating lake Balaton. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v.43, no.2, p.236-243, 2002.

FERNANDES, M.N.; MORON, S.E.; SAKURAGUI, M.M. Gill morphological adjustments to environment and the gas exchange function. In: FERNANDES, M.N.; RANTIN, T.F.; GLASS, M.L.; KAPOOR, B.G. (Ed.). **Fish respiration and environment**. Enfield, NH: Science Publishers, 2007. cap.6, p.93-120.

FIGUEIREDO-FERNANDES, A.; FERREIRA-CARDOSO, J.V.; GARCIA-SANTOS, S.; MONTEIRO, S.M.; CARROLA, J.; MATOS, P.; FONTAÍNHAS-FERNANDES, A. Histopathological changes in liver and gill epithelium of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed to waterborne copper. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.27, n.3, p.103-109, 2007.

FIGUEIREDO-FERNANDES, A.; FONTAÍNHAS-FERNANDES, A.; MONTEIRO, R.; REIS-HENRIQUES, M.A.; ROCHA, E. Effects of the fungicide mancozeb on liver structure of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*: assessment and quantification of induced cytological changes using qualitative histopathology and the stereological point-sampled intercept method. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v.76, no.2, p.249-255, 2006a.

FIGUEIREDO-FERNANDES, A.; FONTAÍNHAS-FERNANDES, A.; PEIXOTO, F.; ROCHA, E.; REIS-HENRIQUES, M.A. Effects of gender and temperature on oxidative stress enzymes in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to paraquat. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.85, no.2, p.97-103, 2006b.

FONTAÍNHAS-FERNANDES, A.; LUZIO, A.; GARCIA-SANTOS, S.; CARROLA, J.; MONTEIRO, S. Gill histopathological alterations in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed to treated sewage water. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.51, no.5, p.1057-1063, 2008.

FRACÁCIO, R.; VERANI, N.F., ESPÍNDOLA, E.L.G.; ROCHA, O.; RIGOLIN-SÁ, O.; ANDRADE, C.A. Alterations on growth and gill morphology of *Danio rerio* (Pisces, Ciprinidae) exposed to the toxic sediments. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.46, no.4, p.685-695, 2003.

GARCIA-SANTOS, S.; FONTAÍNHAS-FERNANDES, A.; WILSON, J.M. Cadmium tolerance in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) following acute exposure: assessment of some ionoregulatory parameters. **Environmental Toxicology**, v.21, no.1, p.33-46, 2006.

GARCIA-SANTOS, S.; MONTEIRO, S.M.; CARROLA, J.; FONTAÍNHAS-FERNANDES, A. Alterações histológicas em brânquias de tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* causadas pelo cádmio. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.2, p.376-381, 2007.

GENTEN, F.; TERWINGHE, E.; DANGUY, A. Respiratory system. In: GENTEN, F.; TERWINGHE, E.; DANGUY, A. **Atlas of fish histology**. Enfield, NH: Science Publishers, 2009. chap.10, p.104-110.

HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R.; SOARES, C.M.; MEURER, F. Exigência de proteína digestível para larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante a reversão sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, supl.2, p.823-828, 2002.

HEERDEN, D. van; VOSLOO, A.; NIKINMAA, M. Effects of short-term copper exposure on gill structure, methallothionein and hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) levels in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquatic Toxicology**, v.69, no.3, p.271-280, 2004.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 524p.

LEONARDO, J.M.L.O.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R.P.; MOREIRA, H.L.M.; NATALI, M.R.M.; VOLSKI, T.; CAVICHIOLO, F. Histologia das brânquias de larvas da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.), de origem tailandesa, submetidas a diferentes níveis de vitamina C. **Acta Scientiarum**, v.23, n.4, p.863-870, 2001.

LOPES, F.F. **Monitoramento ambiental da bacia hidrográfica do lago Guaíba-RS, Brasil, através da utilização de diferentes metodologias aplicadas a taxocenoses de peixes**. 2006. 228f. Tese (Doutorado em Biologia Animal) - Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

MACIEL, C.M.R.R.; MACIEL JÚNIOR, A.; LANNA, E.A.T.; CORREA, M.A.; NASCIMENTO, L.S. Características histológicas e histoquímicas do tegumento das larvas de piracanjuba *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849) (Characiformes, Characidae, Bryconinae). **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, v.6, n.11, p1-9, 2010. Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2010c/caracteristicas%20histologicas.pdf>> Acesso em: 08 maio 2010.

MALLATT, J. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.42, no.4, p.630-648, 1985.

MARTINS, M.L. Manejo sanitário na piscicultura. In: RANZANI-PAIVA, M.J.T.; TAKEMOTO, R.M.; LIZAMA, M.A.P. (Ed.). **Sanidade de organismos aquáticos**. São Paulo: Liv. Varela, 2004. cap. 15, p. 323-332.

MELETTI, P.C.; ROCHA, O.; MARTINEZ, C.B. dos R. Avaliação da degradação ambiental na bacia do rio Mogi-Guaçu por meio de testes de toxicidade com sedimento e de análises histopatológicas em peixes. In: BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E.L.G. (Org.). **Limnologia fluvial: um estudo no rio Mogi-Guaçu**. São Carlos: RiMa, 2004. cap.9, p.149-180.

MERCANTE, C.T.J.; CARMO C.F. do.; RODRIGUES, C.J.; OSTI, J.A.S.; MAINARDES PINTO, C.S.; VAZ-DOS-SANTOS, A.M.; TUCCI, A.; DI GENARO, A.C. Limnologia de viveiro de criação de tilápias do Nilo: avaliação diurna visando boas práticas de manejo. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.37, n.1, p.73-84, 2011.

MONTEIRO, S.M.; FONTAÍNHAS-FERNANDES, A.A.; SOUSA, M. Caracterização morfológica e ultrastrutural do epitélio branquial de peixes teleósteos. **Revista Portuguesa de Zootecnia**, v.11, n.2, p.13-35, 2004.

MONTEIRO, S.M.; MANCERA, J.M.; FONTAÍNHAS-FERNANDES, A.; SOUSA, M. Copper induced alterations of biochemical parameters in the gill and plasma of *Oreochromis niloticus*. **Comparative Biochemistry Physiology. Part C: Toxicology & Pharmacology**, v.141, no.4, p.375-383, 2005.

MORAES, F.R.; MARTINS, M.L. Condições predisponentes e principais enfermidades de teleósteos em piscicultura intensiva. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSSO, D.M.; CASTAGNOLLI, N. (Ed.). **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, 2004. cap.12, p.343-386.

MYERS, R.B.; FREDENBURGH, J.L.; GRIZZLE, W.E. Carbohydrates. In: BANCROFT, J.D.; GAMBLE, M. **Theory and practice of histological techniques**. 6th ed. Philadelpia: Churchill Livingstone, Elsevier, 2008. chap.11, p.161-186.

- NAKAMURA, O.; SAEKI, M.; KAMIYA, H.; MURAMOTO, K.; WATANABE, T. Development of epidermal and mucosal galectin containing cells in metamorphosing leptocephali of Japanese conger. **Journal of Fish Biology**, v.61, no.3, p.822-833, 2002.
- PANE, E.F.; HAQUE, A.; GOSS, G.G.; WOOD, C.M. The Physiological consequences of exposure to chronic, sublethal waterborne nickel in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): exercise vs resting physiology. **Journal of Experimental Biology**, v.207, no.7, p.1249-1261, 2004.
- PAVANELLI, G.C.; EIRAS, J. da C.; TAKEMOTO, R.M. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. 3. ed. Maringá: Eduem, 2008. 311p.
- PIRES, M. de F.Á. **A homeopatia para os animais**. 1. ed. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2005. (Comunicado técnico, 46).
- RAMOS, C.A. **Caracterização morfofuncional das brânquias de *Arapaima gigas*, durante a transição da respiração aquática para respiração aérea**. 2008. 79f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2008.
- REIS, A.B.; SANT'ANA, D. de M.G.; AZEVEDO, J.F. de; MERLINI, L.S.; ARAÚJO, E.J. de A. Alterações do epitélio branquial e das lamelas de tilápias (*Oreochromis niloticus*) causadas por mudanças do ambiente aquático em tanques de cultivo intensivo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, n.4, p.303-311, 2009.
- ROMÃO, S.; DONATTI, L.; FREITAS, M.O.; TEIXEIRA, J.; KUSMA, J. Blood parameter analysis and morphological alterations as biomarkers on the health of *Hoplias malabaricus* and *Geophagus brasiliensis*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.49, no.3, p.441-448, 2006.
- ROTTA, M.A. **Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura**. 1. ed. Corumbá, MS: Embrapa Pantanal, 2003. 48p. (Documentos, 53). Disponível em: <<http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/DOC53.pdf>> Acesso em: 16 set. 2010.
- SADAUSKAS HENRIQUE, H. **Aspectos fisioecológicos de *Astyanax fasciatus* e *Pimelodus maculatus* (Teleósteos) do reservatório da UHE de Furnas, MG: avaliação morfofuncional das brânquias e variáveis hematológicas**. 2008. 134f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2008.
- SANTOS, A.A.; RANZANI-PAIVA, M.J.T.; FELIZARDO, N.N.; RODRIGUES, E. de L. Análise histopatológica de fígado de tilápiá-do-nilo, *Oreochromis niloticus*, criada em tanque-rede na represa de Guarapiranga, São Paulo, SP, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.30, n.2, p.141-145, 2004.
- SAS. Institute Inc. **SAS/STAT 9.2 user's guide**. 2nd ed. Cary, N.C.: SAS Institute Inc., c2009. chap.37. The Genmod procedure.
- SCHWAIGER, J.; FERLING, H.; MALLOW, U.; WINTERMAYR, H.; NEGELE, R.D. Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac: Part I: histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout. **Aquatic Toxicology**, v.68, no.2, p.141-150, 2004.
- SCHWAIGER, J.; WANKE, R.; ADAM, S.; PAWERT, M.; HONNEN, W.; TRIEBSKORN, R. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-

related stress in fish. **Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery**, v.6, no.1, p.75-86, 1997.

SHIRAISHI, C.S.; AZEVEDO, J.F. de; SILVA, A.V. da; SANT'ANA, D. de M.G.; ARAÚJO, E.J. de A. Análise morfométrica da parede intestinal e dinâmica de mucinas secretadas no íleo de frangos infectados por *Toxoplasma gondii*. **Ciência Rural**, v.39, n.7, p.2146-2153, 2009.

SIENA, C.E.; NATALI, M.R.M.; BRACCINI, G.L.; OLIVEIRA, A.C. de; RIBEIRO, R.P.; VARGAS, L. Efeito do núcleo homeopático *homeopatila 100*<sup>®</sup> na eficiência produtiva em alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Semina. Ciências Agrárias**, v.31, n.4, p.985-994, 2010.

STOSKOPF, M.K. **Fish medicine**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1993. 882p.

TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. (Ed.). **An atlas of fish histology: normal and pathological features**. 2nd ed. Tokyo: Kodansha; Stuttgart: New York: Gustav Fischer, 1995. 195p.

THOPHON, S.; KRUATRACHUE, M.; UPATHAM, E.S.; POKETHITIYOOK, P.; SAHAPHONG, S.; JARITKHUAN, S. Histopathological alterations of white seabass, *Lates calcarifer*, in acute and subchronic cadmium exposure. **Environmental Pollution**, v.121, no.3, p.307-320, 2003.

WEBPATH. **Alcian Blue-PAS Stain (PAB)**. Surgical Pathology: Histology. Staining Manual: Carbohydrates. The Internet Pathology Laboratory for Medical Education. Mercer University School of Medicine Savannah. The University of Utah Eccles Health Sciences Library. 2010. Disponível em: <<http://library.med.utah.edu/WebPath/HISTHTML/MANUALS/PAB.PDF>> Acesso em: 14 jun. 2010.

WENDELAAR BONGA, S.E. The stress response in fish. **Physiological Reviews**, v.77, no.3, p.591-625, 1997.

WILSON, J.M.; LAURENT, P. Fish gill morphology: inside out. **Journal of Experimental Zoology**, v.293, no.3, p.192-213, 2002.

ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**. 3rd ed. Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 1996.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Recomenda-se o uso do núcleo Nomeopático *Homeopatila 100*<sup>®</sup>, na concentração de 40 mL por quilo de ração (T3) em dietas para juvenis de tilápias do Nilo, verificando-se os resultados satisfatórios na prevalência e nas cargas parasitárias.

Ficou evidente a menor relação hepatossômica, relacionada ao maior número de hepatócitos e do percentual para evidenciação do glicogênio intracelular no fígado.

Foram encontrados os menores valores das alterações histológicas brônquiais e o aumento das células produtoras de mucinas ácidas em relação às mucinas neutras.

A *Homeopatila 100*<sup>®</sup> contribuiu para uma melhor eficiência no desempenho melhorando a conversão alimentar, o ganho de peso e a sobrevivência, assegurando maior produtividade e rentabilidade podendo ser utilizada em todas as espécies de produção, como promotor de desempenho.