

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

NÚCLEO HOMEOPÁTICO *HOMEPATILA 100*[®] NO CULTIVO DE
TILÁPIAS DO NILO (*Oreochromis niloticus*) EM TANQUES-REDE

Autor: Juliana Alice Lösch Nervis
Orientador: Prof. Dr. Lauro Daniel Vargas Mendez
Coorientador: Prof. Dr. Wilson Rogério Boscolo

MARINGÁ
Estado do Paraná
agosto – 2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

NÚCLEO HOMEOPÁTICO *HOMEPATILA 100*[®] NO CULTIVO DE
TILÁPIAS DO NILO (*Oreochromis niloticus*) EM TANQUES-REDE

Autor: Juliana Alice Lösch Nervis
Orientador: Prof. Dr. Lauro Daniel Vargas Mendez
Coorientador: Prof. Dr. Wilson Rogério Boscolo

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTORA EM ZOOTECNIA, no programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração Produção animal.

MARINGÁ
Estado do Paraná
agosto – 2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

N456n 2016	Nervis, Juliana Alice Lösch Núcleo homeopático <i>Homeopatila 100</i> [®] no cultivo de tilápias do nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) em tanques-rede / Juliana Alice Lösch Nervis ; orientador, Lauro Daniel Vargas Mendez ; co-orientador, Wilson Rogério Boscolo. – 2016. 72 f.: il.; 30 cm
	Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2016. Inclui Bibliografia
	1. Homeopatia. 2. Peixe - Criação. 3. Peixe - Histologia. 4. Tilápia (Peixe). I. Mendez, Lauro Daniel Vargas. II. Boscolo, Wilson Rogério. III. Universidade Estadual Maringá. Programa de Pós-Graduação Zootecnia. IV. Título.
	CDD 20. ed. – 639.3758



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS


**NÚCLEO HOMEOPÁTICO HOMEOPATILA
100® NO CULTIVO DE TILÁPIAS DO NILO
(*Oreochromis niloticus*) EM TANQUES-REDE**

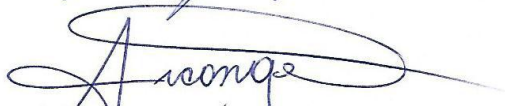
Autora: Juliana Alice Lösch Nervis
Orientador: Prof. Dr. Lauro Daniel Vargas Mendez

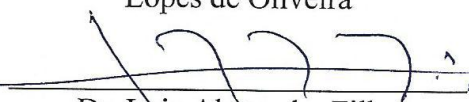
TITULAÇÃO: Doutora em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

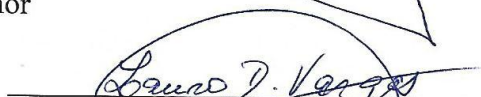
APROVADA em 11 de agosto de 2016.


Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro


Prof. Dr. Carlos Antonio
Lopes de Oliveira


Prof. Dr. Arcângelo Augusto
Signor


Dr. Luiz Alexandre Filho


Prof. Dr. Lauro Daniel
Vargas Mendez
(Orientador)

*As pessoas esquecerão o que você disse...
Esquecerão o que você fez...
Mas nunca esquecerão como você as tratou!*

(Autor desconhecido)

*Dedico esse trabalho:
Aos meus pais Enio e Edi Lösch,
Ao meu marido Fernando Nervis,
Aos meus irmãos Erondir e Evandro Lösch e suas famílias.
Essa conquista é nossa!!!*

Dedico!

AGRADECIMENTOS

À Deus, por permitir que vivenciasse todos esses momentos;

À Universidade Estadual de Maringá (UEM), ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (PPZ) e ao Departamento de Zootecnia (DZO);

À CAPES, pelo auxílio da bolsa;

À Empresa Real H, pelo fornecimento do núcleo homeopático *Homeopatila 100*[®] e pelo material bibliográfico;

Aos meus pais Enio e Edi Lösch, por todo apoio, carinho, incentivo, confiança, por serem meus alicerces. Meu eterno respeito, gratidão, admiração e amor. Esse título é de vocês;

Ao meu marido Fernando Nervis, por todo carinho, amor dedicação e paciência, durante todos esses anos. Obrigado por todas as vezes que secou minhas lágrimas, você é meu porto seguro;

Aos meus irmãos Erondir e Evandro Lösch, e minhas cunhadas Andreia e Vanessa Lösch por todo apoio e incentivo e aos meus sobrinhos Ana Julia, Isabeli e Ezequiel por tornar minha vida mais alegre;

Ao Professor, orientador e amigo, Dr. Lauro Daniel Vargas Mendez, pela confiança, ensinamentos que levarei para minha vida e profissão, pela amizade e incentivo, e por ser um “ser tão humano”;

À minha amiga e colega de experimento Ana Paula Andretto, você tornou tudo muito mais fácil, guardarei nossa amizade para sempre. Admiro-te por sua responsabilidade;

Ao Professor coorientador Dr. Wilson Rogério Boscolo e aos Professores Dr. Aldi Feiden, Altevir Signor e Fábio Bittencourt, pelo auxílio e apoio durante todos esses anos de vida acadêmica;

Aos Professores Ricardo P. Ribeiro, Carlos A. L. Oliveira, Luiz P. Rigolon e Luiz Alexandre Filho pelas valiosas críticas e sugestões durante a qualificação;

Aos amigos Graciela, Mariana, Denise e Douglas pela amizade e auxílio durante o período experimental;

Às Técnicas Eurides e Maria dos Anjos, pelo apoio, atenção e ajuda nas análises histológicas;

Aos funcionários da Codapar e da base em Diamante do Norte, pela amizade, auxílio e dedicação;

Ao grupo Peixegen pela disponibilidade de equipamentos, estrutura e pessoal qualificado para auxiliar;

Ao Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura - GEMAQ, durante todos esses anos foram tantos amigos, que não vou citar nomes para não correr o risco de esquecer alguém.

Obrigada a todos pela ajuda, ensinamentos e festas;

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste, *campus* Toledo, pela estrutura disponibilizada para realização de algumas análises;

Às amigas Micheli, Taciana e Marília, pelos momentos de descontração em Maringá;

E a todos que de maneira direta ou indireta tornaram essa conquista possível.

MUITO OBRIGADO!

BIOGRAFIA DO AUTOR

JULIANA ALICE LÖSCH NERVIS, filha de Enio Edgar Lösch e Edi Lösch, nasceu em Santa Helena - PR, no dia 02 de julho de 1987.

Em março de 2005, iniciou o Curso de Graduação em Engenharia de Pesca pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná, no campus de Toledo - PR, concluindo em dezembro de 2010.

Em março de 2011, iniciou o Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, Nível Mestrado, pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon - PR, submetendo-se a defesa de dissertação em fevereiro de 2013.

Em março de 2013, iniciou o Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, em Nível de Doutorado, na Universidade Estadual de Maringá. Submeteu-se ao Exame Geral de Qualificação em abril de 2016 e, em agosto de 2016, submeteu-se à defesa da Tese.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xiii
I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
1.1 Origem, características e mercado da tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)	14
1.2 Criação de peixes em tanques-rede	15
1.3 Ectoparasitos em peixes	17
1.4 Hematologia em peixes	18
1.5 Histologia hepática	20
1.7 Homeopatia	23
1.8 Referências bibliográficas	28
II - NÚCLEO HOMEOPÁTICO <i>HOMEOPATILA 100</i> [®] NO CULTIVO DE TILÁPIAS DO NILO (<i>Oreochromis niloticus</i>) EM TANQUES-REDE	38
Abstract	39
Introdução	40
Material e métodos	41
<i>Local e período</i>	41
<i>Animais e instalações</i>	41
<i>Dietas e regime de alimentação</i>	41
<i>Parâmetros físicos e químicos da água</i>	43
<i>Avaliação do desempenho</i>	43
<i>Prevalência de ectoparasitos</i>	44
<i>Parâmetros sanguíneos</i>	44
<i>Histologia hepática</i>	45
<i>Histologia branquial</i>	46

<i>Análise estatística</i>	47
Resultados e discussão	47
<i>Desempenho zootécnico</i>	47
<i>Prevalência de ectoparasitos</i>	49
<i>Hematologia</i>	52
<i>Histologia hepática</i>	54
<i>Histologia branquial</i>	57
Conclusão.....	60
Referências bibliográficas	60
APÊNDICE I.....	67

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1. Composição do núcleo homeopático <i>Homeopatila 100</i> [®]	42
TABELA 2. Valores médios \pm erro padrão da média do desempenho zootécnico e rendimento de filé de tilápias do nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>), alimentadas com ração contendo núcleo homeopático <i>Homeopatila 100</i> [®] , no início e durante o período experimental.....	48
TABELA 3. Valores médios \pm erro padrão da média da prevalência de ectoparasitos, em tilápia do nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) da linhagem gift, no início e durante o experimento, no tratamento controle e com o núcleo homeopático <i>Homeopatila 100</i> [®]	50
TABELA 4. Média \pm erro padrão da média das categorias de infestação por <i>trichodina</i> e intensidade média por monogenoidea, em tilápia do nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>), no início e durante o experimento, no tratamento controle e com o núcleo homeopático <i>Homeopatila 100</i> [®]	51
TABELA 5. Valores médios \pm erro padrão da média dos parâmetros bioquímicos e hematológicos de tilápias do nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>), alimentadas com ração contendo núcleo homeopático <i>Homeopatila 100</i> [®] , cultivadas em tanques-rede.	52
TABELA 6. Valores médios \pm erro padrão da média de leucócitos, trombócitos e diferencial de linfócitos, neutrófilos, monócitos, CGE e LI de tilápia do nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>), alimentadas com ração contendo núcleo homeopático <i>Homeopatila 100</i> [®] , cultivadas em tanques-rede.	53
TABELA 7. Valores médios \pm erro padrão da média do índice hepatossomático (IHS), hepatócitos e percentual de ocupação de glicogênio, no tecido hepático de tilápias do	

nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>), alimentadas com ração contendo núcleo homeopático <i>Homeopatila 100</i> [®] , cultivadas em tanques-rede.	55
TABELA 8. Valores médios \pm erro padrão da média das alterações histológicas na análise das brânquias de tilápia do nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>), alimentadas com ração contendo núcleo homeopático <i>Homeopatila 100</i> [®] , cultivadas em tanques-rede, avaliadas em valor médio de alteração (V.M.A), pelo método de coloração hematoxilina-eosina (HE).	58
TABELA 9. Valores médios \pm erro padrão da média da porcentagem de células mucosas produtoras de mucinas ácidas e de mucinas neutras, presentes na região apical, intermediária e basal de filamentos branquiais de tilápia do nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>), alimentadas com ração contendo núcleo heomopático <i>Homeopatila 100</i> [®] , cultivadas em tanques-rede, evidenciadas pela técnica histoquímica alcian bleu (pH 2,5) (PAS).....	59

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. Cortes histológicos de brânquias de tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>). (A) Visão geral (4X, alcian blue + PAS), onde: 1 - rastros branquiais, 2 - estrutura cartilaginosa, 3 - filamentos branquiais. (B) Estrutura normal (10X HE) e (C) (40X, alcian blue + PAS). 4 - suporte cartilaginoso, 5 - epitélio respiratório, 6 - célula mucosa, 7- espaço de passagem da água e (D) (20X, HE) 8 - telangectasia, 9 – elevação epitelial (Cavichiolo, 2009).....	22
FIGURA 2. Cortes histológicos de brânquias de tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>). (A) 1 - células de muco (20X, alcian blue + PAS). (B) fusão lamelar (30X, HE). (C) 2 - elevação epitelial (30X, HE). (D) hiperplasia (40X, HE) (Cavichiolo, 2009).....	22
FIGURA 3. Índice de lesão histopatológica no tecido hepático de tilápias do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>), alimentadas com ração contendo núcleo homeopático <i>Homeopatila 100[®]</i> , cultivadas em tanques-rede.....	56

I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Origem, características e mercado da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), (Linnaeus, 1758), é uma espécie de peixe da família dos ciclídeos, originária do continente africano, mais especificamente do rio Nilo, no Leste da África, e está amplamente distribuída por todo o mundo, devido a sua facilidade de adaptação aos climas tropical e subtropical [1, 2].

É uma das espécies aquícolas de maior potencial zootécnico, representando a segunda espécie de peixe mais produzida no mundo [3]. Possui grande aceitação pelos produtores [4, 5], devido algumas características, como: rusticidade, adaptação as variações climatológicas, facilidade na reprodução, melhoramento genético, rápido crescimento, versatilidade para cultivo em tanques escavados e tanques-rede, hábito alimentar onívoro, consumo de ração durante todo ciclo de cultivo, boa conversão alimentar, baixo custo de produção, tolerante ao cultivo em altas densidades de estocagem, entre outras características [6-12].

Outro fator que determina a grande aceitação da tilápia, entre as espécies aquícolas, é a grande aceitação e apreciação pelos consumidores, pois apresenta alto rendimento de filé, com valores variando entre 35 a 40%, carne saborosa e de boa qualidade, com baixo teor de gordura e de calorias, não possui espinhas em “Y” no filé, tornando-a apropriada para industrialização [13-15]. A carne de tilápia é encontrada no mercado em uma grande diversidade de apresentações: inteira, eviscerada fresca ou congelada e em filés com e sem pele, sendo o filé a opção de maior interesse [16], tornando-a um dos produtos mais populares no comércio de peixes [17].

Segundo Ribeiro [18], apesar de ser uma espécie difundida há vários séculos, apenas entre a década de 1920 e 1950, passou a ser cultivada de forma intensiva. No Brasil, a tilápia do Nilo foi introduzida em 1971, pelo Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS), juntamente com outras espécies de peixes e crustáceos

exóticos, que vinham sendo introduzidas no país, para povoamento de açudes públicos da região do nordeste brasileiro [19, 20], com a finalidade de incentivar a produção e consumo de proteínas de alto valor biológico. Mas foi no ano de 1996, com a introdução de 20.000 exemplares de tilápia do Nilo (*Chitralada*) originárias da Tailândia, e com novas técnicas de reprodução, que impulsionou a produção da espécie no Brasil [21], de tal forma, que a partir do ano de 2002, o cultivo de tilápia superou as carpas, passando a ser a espécie de água doce mais cultivada no país [22].

Em 2005, a Estação Experimental em Piscicultura da Universidade Estadual de Maringá (UEM-CODAPAR) recebeu 30 famílias da linhagem GIFT, através de um projeto elaborado em parceria com a Wordfish Center e apoio da Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca (SEAP), e assim o Brasil tornou-se o primeiro país na América Latina a receber esta linhagem geneticamente melhorada [23].

A variedade GIFT (Genetic Improvement of Farmed Tilapias) é fruto de pesquisas iniciadas na Malásia em 1988, com a liderança da Wordfish Center [24] órgão não governamental, sendo composta por quatro linhagens comerciais de tilápias cultivadas na Ásia e outras quatro linhagens silvestres de cultivo Africano. A combinação destas linhagens puras foi feita com finalidade de aumentar a variabilidade genética, e com o resultado obtido foi realizado a seleção das primeiras gerações desta linhagem. Segundo a Wordfish Center e seus parceiros, a linhagem deverá ser testada em diferentes ambientes de cultivo e em muitos outros países até que possa se expandir plenamente [25].

Sendo a tilápia do Nilo uma das espécies de peixes mais cultivadas no mundo, diversas pesquisas buscam de forma contínua novas tecnologias e alternativas com o objetivo de melhorar o sistema de produção dessa espécie [26].

1.2 Criação de peixes em tanques-rede

A criação de peixes em tanques-rede tem crescido nos países como China, Indonésia e Brasil e com tendência a tornar-se o mais importante sistema de criação de peixes, devido às vantagens que apresenta em relação aos sistemas convencionais de cultivo [27], como menor variação dos parâmetros de qualidade da água, maior facilidade para despesca e menor investimento inicial, 60 a 70% menor quando comparados ao sistema semi-intensivo, em viveiros escavados, considerando também a infraestrutura necessária [28].

Apesar de ser bastante difundida em todo o mundo, a piscicultura em tanque-rede é recente no Brasil, data da década de 1990, sendo inicialmente praticada de forma mais intensiva nas regiões sudeste e nordeste do país [15], mas com tendência para crescer e com possibilidade de implantação em diversas regiões do Brasil, principalmente para criação de tilápias [29], que tem se destacado por ser uma espécie precoce e apresentar bom desempenho em sistemas intensivos de produção [30].

O cultivo de peixes em tanques-rede é classificada como um sistema intensivo de produção, com alta e contínua renovação de água, que promove a remoção dos metabólitos e dejetos produzidos pelos peixes, mantendo a qualidade da água, e considerada uma alternativa para o aproveitamento de corpos d'água já existentes [31, 32]. Esse sistema proporciona maior produtividade por área, permitindo produção de proteína animal em menor espaço disponível [33].

Porém devemos destacar que esse sistema também apresenta algumas desvantagens, como risco de rompimento da tela ou rede e consequente perda dos animais, impossibilidade de instalação em águas de baixa qualidade, dependência total dos animais por ração completa e enriquecida [34] e possibilidade de manifestação de doenças, em virtude do maior estresse [35].

A piscicultura é uma atividade agropecuária que ocorre em um meio que possui grandes particularidades, quando comparado a outros sistemas intensivos de produção, exigindo um amplo conhecimento na área [36]. O ecossistema aquático é muito dinâmico, e a produção intensiva de peixes, favorece alterações complexas na qualidade da água, tornando um meio susceptível para o desenvolvimento acelerado de patógenos [37], e estes fatores aliados ao manejo zootécnico intensivo, predispõem os peixes ao ataque por estes organismos patogênicos [38].

Em sistemas aquícolas intensivos as situações de estresse são muito comuns, devido às variáveis naturais, como as condições ambientais e climáticas, gerando consequências negativas para a produção de peixes, como: redução no desempenho, aparecimento de doenças e até alterações morfológicas que comprometam estruturas vitais dos peixes [39]. Assim, os estudos de prevalência de ectoparasitos, hematológicos e histológicos podem ser excelentes ferramentas para o monitoramento e diagnóstico de alterações na saúde, estado nutricional e o desempenho dos peixes.

1.3 Ectoparasitos em peixes

Um dos grandes desafios da piscicultura brasileira é reduzir as perdas produtivas relacionadas ao manejo inadequado nos sistemas de criação que acabam promovendo o desenvolvimento de doenças infecciosas e parasitárias [40, 41] principalmente nos sistemas intensivos. Estudos relacionados à presença de parasitos de peixes em pisciculturas intensivas tem recebido grande atenção devido às implicações econômicas, pois um grande número de parasitos pode causar grande mortalidade, reduzir taxas de crescimento, além de diminuir o valor final do produto, sendo que o tratamento é um processo caro e difícil para o produtor [42, 38, 43].

Os primeiros casos de parasitismo em tilápias cultivadas no Brasil foram registrados por Bekési [44], na região Nordeste. Entre os mais importantes ectoparasitos descritos em tilápia do Nilo, destacam-se os tricodinídeos e monogenóides [45, 46], sendo caracterizados como indicadores de qualidade do ambiente de cultivo [47].

Altas infestações por *Trichodina* sp., ocorrem principalmente em sistemas intensivos de cultivo de tilápias [48]. A *Trichodina* sp. (Ehrenberg, 1830) é um protozoário ciliado que apresenta formato circular e um disco adesivo com uma série de dentículos, com o qual fixa-se nas brânquias e tegumento, e apresenta movimentos giratórios que acabam danificando as células epiteliais [49]. Sua alimentação está baseada nas células epiteliais do hospedeiro, provocando hipersecreção de muco e principalmente, ação abrasiva das estruturas esqueléticas do disco adesivo, destruindo as células epiteliais [50]. Os sinais patológicos incluem a perda de apetite, letargia, excesso de produção de muco no epitélio branquial e pele, eritema, e às vezes hemorragias cutâneas [49].

Os monogenóides são helmintos que desempenham o papel de ectoparasitas na superfície do corpo, brânquias, cavidade nasal e sistema urinário de peixes [51]. Caracterizam-se pela presença de um aparelho de fixação localizado na parte posterior do corpo chamada haptor. Esta estrutura é formada por ganchos, barras e âncoras que são introduzidos no corpo dos peixes para fixação, provocando uma série de reações, culminando na morte por asfixia [38].

As doenças causadas por monogenóides estão entre as mais importantes para a piscicultura, uma vez que provocam elevadas taxas de mortalidade nos peixes. Sua ocorrência nas brânquias dos peixes pode ocasionar hiperplasia celular, hipersecreção de muco e, em alguns casos, fusão de filamentos das lamelas das brânquias. A produção excessiva de muco pode ocasionar uma impermeabilização das brânquias, dificultando a

respiração causando morte por asfixia. Quando esses ectoparasitas encontram-se aderidos ao tegumento, geralmente causam lesões mais brandas, porém, podem abrir portas de entrada para eventuais infecções secundárias [38].

1.4 Hematologia em peixes

A hematologia estuda a morfologia, bioquímica e função das células sanguíneas e dos órgãos que as produzem, bem como, o efeito de doenças nos parâmetros sanguíneos. Os estudos dos componentes sanguíneos e suas funções são importantes para o conhecimento das condições de equilíbrio normais e patológicas [52], e permitem avaliar as condições de defesa orgânica e identificar as respostas dos peixes diante dos desafios de criação de forma eficaz [53].

Assim, este tipo de avaliação auxilia na determinação da influência de condições fisiopatológicas que afetam a homeostase dos organismos, auxiliando no diagnóstico de condições adversas e na compreensão da relação entre as características sanguíneas e a saúde dos peixes, e sua interação com o meio ambiente [54-56].

Quando o peixe está sofrendo efeito de algum agente estressor, são desencadeadas respostas ao estresse, que são divididas em primárias, aquelas medidas pelos hormônios catecolaminas e cortisol que atingem todo o organismo e acabam provocando os efeitos secundários [57]. As respostas secundárias que compreendem os efeitos bioquímicos e fisiológicos associados com o estresse, como: hiperglicemia, aumento das proteínas totais e modificação hematológica [58, 59], e as respostas terciárias que atingem o organismo como um todo, comprometendo o crescimento, a reprodução e o sistema imunológico do organismo [60].

O sangue é um tecido líquido, do tipo conjuntivo, contido no sistema circulatório animal, e mantido em movimento regular e unidirecional, devido às contrações rítmicas do coração. É constituído por células em suspensão em um fluido intercelular denominado, plasma (fase líquida), formado por 90% de água, 10% de substâncias sólidas, entre as quais encontram-se proteínas, sais minerais, glicose, uréia, aminoácidos, colesterol, gorduras, gases respiratórios, hormônios, enzimas, anticorpos, etc [61, 62]. A fase sólida é composta por glóbulos vermelhos (eritrócitos) e os glóbulos brancos (leucócitos e trombócitos), entre as avaliações que podem ser realizadas a partir das coletas sanguíneas, os parâmetros relacionados a série vermelha, auxiliam na identificação de processos anêmicos e o leucograma no diagnóstico de processos infecciosos [54].

O hemograma é o conjunto de análises realizadas para determinar o número das diferentes células existentes no sangue, o volume que as células vermelhas ocupam e a quantidade de hemoglobina dentro delas, e pode ser dividido em três partes: eritrograma, leucograma e trombograma [53].

O eritrograma é composto pelas seguintes análises: contagem de eritrócitos, determinação do hematócrito e da taxa de hemoglobina, cálculo dos índices hematimétricos de volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). No leucograma é realizada a contagem relativa e absoluta dos diferentes leucócitos e no trombograma a contagem de trombócitos[53].

Os eritrócitos são as células mais abundantes e possuem função de transporte de oxigênio e gás carbônico [61]. Os leucócitos fazem parte do sistema imune do organismo e os trombócitos são células com papel importante no processo de coagulação sanguínea [63]. A contagem diferencial de leucócitos é o método que permite ao pesquisador conhecer a porcentagem dos tipos de células existentes no sangue [64].

A composição bioquímica do plasma e soro sanguíneo é uma importante ferramenta no diagnóstico da higidez dos peixes, através da qual é possível detectar alterações no funcionamento dos órgãos e a adaptação do animal perante os desafios fisiológicos e desequilíbrios metabólicos, específicos ou de origem nutricional [65].

É importante ter o conhecimento dos valores médios dos parâmetros hematológicos, tanto em ambiente natural e em cativeiro e nos diferentes sistemas de criação comercial, sob condições de homeostase e de estresse, para a identificação das alterações fisiológicas, derivadas da nutrição e de fatores ambientais, que possam interferir na hematopoiese [66, 54]. Análises hematológicas em pesquisas com animais são bem aceitas e consideradas como procedimento de rotina em diagnósticos, pois as enfermidades em humanos e animais, de modo geral, estão relacionadas às alterações do hemograma [64, 54].

Em peixes, estes diagnósticos vêm sendo estudados e aperfeiçoados desde a década de 90, mas novos estudos ainda são necessários, por tratar-se de uma importante ferramenta para o diagnóstico, do estado patológico e nutricional dos peixes [67]. E, segundo Neu et al. [68] os valores de referência para os parâmetros bioquímicos para peixes, ainda não estão totalmente padronizados, apresentando grande variação em tilápias.

1.5 Histologia hepática

Nos peixes, os estudos histopatológicos são realizados em diferentes órgãos, especialmente naqueles responsáveis pelo metabolismo de substâncias tóxicas, como o fígado, que pode sofrer alterações estruturais e metabólicas, mediante a exposição de poluentes, alterações na alimentação, as toxinas, os parasitos e os microrganismos [69-72]. Dependendo da severidade dessas alterações, pode refletir em uma grande variedade de processos patológicos levando até a morte do animal [73].

Os vertebrados possuem fígado bem definido, sendo o órgão mais volumoso do corpo, ocupando uma área considerável na parte ventral e anterior do abdômem [74]. O fígado de tilápia do Nilo é um órgão grande e tem apenas dois lobos. O lobo esquerdo é maior e se espalha ao longo de quase toda a cavidade corporal, na face visceral tem relação com o intestino. Possui uma vesícula biliar bem desenvolvida e de forma arredondada [75].

O fígado dos teleósteos apresenta-se como o órgão principal, controlando muitas funções vitais. O tecido hepático tem inúmeras funções importantes nos peixes, participando da síntese de proteínas, lipídios, carboidratos e vitelogenina. Possui função catabólica e de excreção de nitrogênio e glicogênio, e ainda é responsável pela detoxificação de compostos tóxicos produzidos pelo metabolismo do animal, bem como de xenobióticos administrados ou descartados no ambiente aquático, como drogas, metais pesados, pesticidas, entre outros, eventualmente absorvidos pelos peixes [76-78].

Entre as funções do fígado, está a sua capacidade de acumular substâncias de reserva, especialmente sob a forma de glicogênio e lipídios, as variações no armazenamento dessas substâncias dependem da espécie, idade, sexo, condição nutricional, maturação gonadal e de aclimação térmica [79, 80]. De forma resumida, a função principal do fígado dos peixes é preparar as substâncias nutritivas, provenientes da absorção intestinal, para o aproveitamento pelo organismo e ainda, a produção de sais biliares que fazem emulsificação ou solubilização das gorduras, facilitando a ação das enzimas [81].

A alimentação e a qualidade do alimento podem influenciar na estrutura do fígado e podem provocar lesões ao tecido hepático [82]. A qualidade do ambiente também pode provocar algumas alterações, como: vacuolização dos hepatócitos, redução do estoque de glicogênio, inflamação, alteração no formato dos capilares sinusóides e neoplasmas, essas variáveis podem ser interpretadas como respostas ao estresse ambiental, sendo, considerados indicadores histopatológicos da qualidade do ambiente [83].

1.6 Histologia branquial

As brânquias, na maioria dos teleósteos, é o principal órgão responsável pelas trocas gasosas e desempenha papel essencial nos processos de osmorregulação, equilíbrio ácido-básico e excreção de compostos nitrogenados [84, 85].

Nos peixes teleósteos, as brânquias apresentam uma morfologia básica, geometricamente organizada, com as lamelas distribuídas regularmente ao longo de todo o filamento, e nos espaços entre as lamelas flui a água [86]. A estrutura branquial é composta por oito arcos branquiais, estando alocados quatro de cada lado da cavidade orofaríngea, e protegidos do meio externo pelo opérculo [87].

No epitélio branquial podem ser encontrados diversos tipos de células envolvidas no controle do equilíbrio hídrico e iônico [88], como as células pavimentosas que são as mais numerosas, as células mucosas responsáveis pela secreção de mucosubstâncias e as células-cloreto que são responsáveis pela absorção de íons de Cl^- e Ca^{2+} nos peixes de água doce [89].

As células mucosas são característica proeminente do epitélio branquial e apresentam importância biológica na interface do muco entre os peixes e o ambiente, participando também do processo de osmorregulação, proteção mecânica e imunológica [90]. A produção de muco pelos peixes faz parte do mecanismo de defesa, pois o muco contém substâncias que inibem o crescimento e o desenvolvimento de muitos parasitos, bactérias e fungos [37, 80].

As brânquias encontram-se em contato direto com o ambiente e na presença de agentes estressores podem exibir modificações que são consideradas respostas de defesa, pois algumas levam ao aumento da distância entre o meio externo e o meio interno, diminuindo a área da superfície em contato com o meio. Os agentes estressores que podem ser: químicos, físicos ou biológicos, induzem reações no tecido branquial, causando distúrbios circulatórios como: congestão, telangectasia, edema e a proliferação de células como a hiperplasia epitelial e de células mucosas, além de processos inflamatórios que podem levar a necrose desses tecidos [91, 84, 92] (Figura 1 e 2).

As alterações histopatológicas branquiais podem interferir na saúde e no desempenho dos peixes [93], essas alterações podem ser quantificadas através da morfometria branquial e contagem do número de células de cloreto e de células mucosas [94].

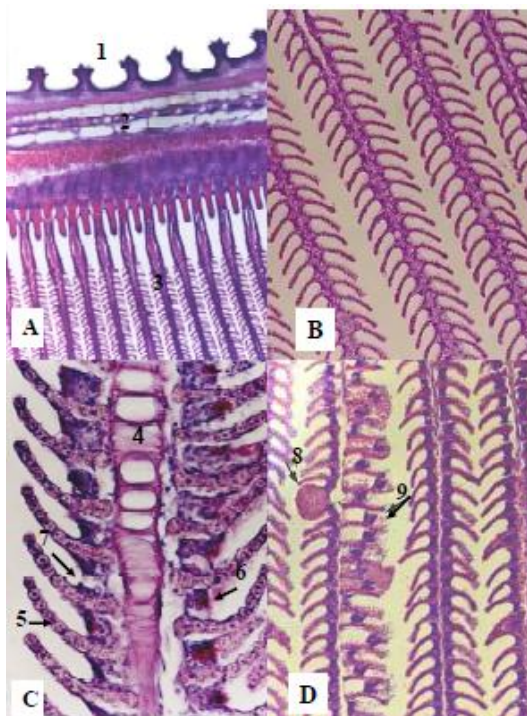


Figura 1. Cortes histológicos de brânquias de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). (A) Visão geral (4X, alcian blue + PAS), onde: 1 - rastros branquiais, 2 - estrutura cartilaginosa, 3 - filamentos branquiais. (B) Estrutura normal (10X HE) e (C) (40X, alcian blue + PAS). 4 - suporte cartilaginoso, 5 - epitélio respiratório, 6 - célula mucosa, 7- espaço de passagem da água e (D) (20X, HE) 8 - telangectasia, 9 - elevação epitelial (Cavichiolo, 2009).

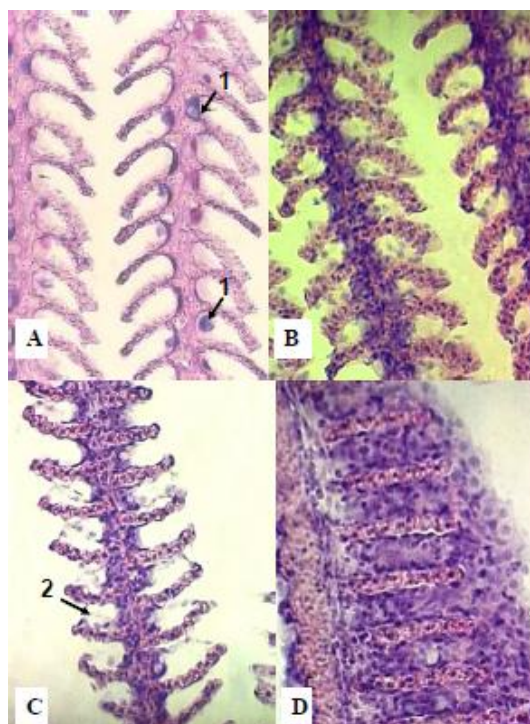


Figura 2. Cortes histológicos de brânquias de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). (A) 1 - células de muco (20X, alcian blue + PAS). (B) fusão lamelar (30X, HE). (C) 2 - elevação epitelial (30X, HE). (D) hiperplasia (40X, HE) (Cavichiolo, 2009).

1.7 Homeopatia

O aumento da demanda mundial por proteína de origem animal com alto valor biológico exige uma intensificação nos sistemas de produção com ciclos produtivos cada vez mais curtos. Isto causa alterações complexas no ambiente de cultivo, tornando cada vez mais susceptível o desenvolvimento acelerado de inúmeros patógenos [37, 38], sendo comum o uso de fármacos, que muitas vezes não estão licenciados e liberados para uso em peixes [95]. Atualmente existe uma tendência para produção com princípios de sustentabilidade, preservação do ecossistema aquático, com racionalização do uso de medicamentos, visando uma produção de alimentos mais seguros [96], e a homeopatia atende esses princípios, pois os medicamentos homeopáticos não apresentam riscos aos animais, aos manipuladores do medicamento e ao meio ambiente [97].

O termo homeopatia tem origem das palavras em latim, *Homeos*, que significa semelhante e *pathos*, que significa moléstia. Surgiu na Alemanha, com os trabalhos de Samuel Hahnemann (1755-1843), um médico insatisfeito com sua profissão e com as formas de tratamento da época, e que em 1796, com seus estudos, descobriu que “o semelhante cura o semelhante”, sendo essa a primeira lei do tratamento que passou a desenvolver [97], ou seja, para se obter sucesso no restabelecimento de uma enfermidade, é necessário administrar um princípio medicamentoso que produza no organismo sadio os sintomas da moléstia que se quer tratar [98].

Em 1810, Hahnemann escreveu o livro *Organon da arte de curar*, onde descreve os quatro princípios básicos deste método terapêutico [99], os princípios fundamentais são:

- 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.

Hipócrates (460-377a.C.), considerado o Pai da medicina, defendia que dois métodos terapêuticos poderiam ser usados com sucesso. O primeiro era “cura pelos

contrários” (*Contraria Contrariis Curentur*), em que sintomas são tratados com medidas contrárias, e que foi consolidada por Galeno (129-199 d.C.) e Avicena (980-1037), considerada a base da medicina alopática. O segundo é a “cura pelos semelhantes” (*Similia Similibus Curentur*), em que a doença pode ser tratada com a aplicação de medidas semelhantes a mesma, reavivada no século XVI por Paracelso (1493-1591) [100]. Com relação a lei dos semelhantes, Hipócrates se referia, dizendo: “o que produz estrangúria, cura estrangúria; o que causa o vômito, cura o vômito; o que dá febre a um homem são, cura um homem que tem febre” [101]. Este princípio evidenciado por Hipócrates foi experimentalmente confirmado por Samuel Hahnemann e é posto em prática por inúmeros clínicos até a atualidade [102].

A experimentação teve início, após a tradução da “Matérias médicas” de William Culler, na qual era considerado o efeito curativo de China (*Cortex piravianis*) no tratamento da malária. Então Hahnemann decidiu experimentar China em si mesmo, para perceber os efeitos, e percebeu que a intoxicação causada por China, causava sintomas semelhantes aos que a malária induzia. Desta sua experimentação, concluiu também que cada impacto medicamentoso é diferente dos outros medicamentos, sendo único, e que testando cada medicamento com cuidado em pessoas saudáveis, conheceria os verdadeiros efeitos de cada medicamento no corpo [103].

No Brasil, esta terapia foi introduzida em 1840 pelos médicos Beinoit Mure e João Vicente Martins, que fundaram no Rio de Janeiro, o Instituto Homeopático do Brasil [97]. No ano de 1966, durante o governo do presidente Castello Branco, foi decretada a inclusão da Farmacologia Homeopática em todas as faculdades de farmácia do Brasil, e em 1977, foi publicada a primeira edição oficial da Farmacopéia Homeopática Brasileira. Porém, a homeopatia só foi reconhecida oficialmente como especialidade médica, pelo Conselho Federal de Medicina, no ano de 1980, deixando de ser uma “terapia alternativa” [104].

O medicamento homeopático pode ser preparado a partir de diversas substâncias que são extraídas da natureza. Muitos estudos foram realizados por Hahnemann e outros estudiosos, sobre o poder curativo de cada substância, obtendo-se assim um largo espectro de medicamentos que podem ser utilizados [101]. O produto é preparado através da diluição dessas substâncias, seguida do processo de dinamização, que é a liberação da energia dinâmica por meio da vibração molecular, as sucussões. Além de ser extremamente diluído, o produto homeopático, passa por sucussões através de agitações, e cada vez que é diluído e passado para uma potência mais alta ele é agitado cem vezes. Essa agitação, que a princípio parece não ter importância, na verdade é extremamente necessária, porque muitos

medicamentos simplesmente diluídos são inertes, porém, depois de agitados passam a ter um poder medicamentoso extraordinário, ou seja, a dinamização do medicamento desperta nele uma energia. O medicamento homeopático age principalmente por energia, não por peso, não por massa. A escala centesimal é obtida com a diluição de uma parte da substância em cem partes de solução hidroalcoólica. Em sua nomenclatura, a letra C é adicionada depois do número de diluições, e a letra H é usada em seguida da letra C referindo-se a Hahnemann, portanto trata-se de diluições hahnemannianas. As substâncias também podem ser dinamizadas em potências decimais ou milésimas [100].

A homeopatia tem como prioridade o tratamento de cada organismo como único, respeitando suas particularidades. Baseado neste princípio, o paciente deve ser individualizado, 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 [17].

O equilíbrio da energia vital, ou seja, estado de saúde, reflete na integridade dos órgãos e na regulação de suas funções, nos costumes e comportamento de cada animal de acordo com a sua espécie. Portanto, a saúde representa a energia que flui no corpo controlando suas funções vitais de forma dinâmica e harmoniosa, que, e ao encontrar-se em desequilíbrio implica no aparecimento da doença [105].

O estresse é um dos principais fatores que provocam a quebra da homeostase, estado de equilíbrio e conservação de elementos fisiológicos e do metabolismo, o qual provoca uma série de alterações metabólicas, iônicas, hematológicas e imunológicas, favorecendo o aparecimento de doenças e até mortalidade [106]. Segundo Hahnemann [107], é necessário conhecer as causas que quebram a homeostase do animal, tanto de maneira direta quanto indireta, e que propiciam uma enfermidade, para que a saúde possa ser preservada.

Para o reestabelecimento da homeostase, uma terapêutica importante que pode ser utilizada com segurança para o tratamento de doenças em peixes, é a homeopatia, terapêutica de reposição e regulação, que fornece ao organismo suporte para restabelecer o equilíbrio orgânico quebrado [108]. O caráter energético da terapêutica homeopática proporciona aos animais tratados, a redução do estresse, principalmente nos sistemas intensivos, como é o caso do cultivo de peixes em tanques-rede. Animais cultivados em condições de baixo estresse apresentam melhora nas suas potencialidades de produção com qualidade e maior sobrevivência [17].

O tratamento homeopático também está vinculado ao sistema imunológico, pois, além do poder de cura, pode propiciar a imunização indireta, inespecífica e natural, capacitando assim o organismo para se defender contra os agentes infecciosos [109]. No século XIX e início do século XX, vários relatos de homeopatas clássicos, demonstraram a homeopatia como um instrumento eficaz no controle de epidemias [110].

A homeopatia animal foi iniciada por Hahnemann, e tem se fortalecido com o passar do tempo, pois a resistência a antibióticos tem se tornado um problema de saúde pública, enquanto o uso de produto homeopático é considerado “ecologicamente correto”, uma vez que esses medicamentos não trazem riscos aos animais, aos manipuladores do produto e nem ao meio ambiente [97].

A homeopatia aplicada em lotes de animais ficou conhecida como homeopatia populacional, e segue os mesmos princípios da homeopatia clássica. Uma população é caracterizada quando todos os animais sofrem os mesmos desafios como um organismo único, devendo ser animais da mesma espécie, do mesmo lote e mantidos nas mesmas condições de criação [109]. É considerada como uma terapia de regulação, aproveitando a tendência natural do organismo de restabelecer a homeostase [107]. A homeopatia populacional se diferencia pela sua facilidade de administração, que no caso dos peixes, pode ser administrada via ração.

Ainda são poucos os estudos e medicamentos homeopáticos testados em animais de produção, principalmente em espécies aquícolas, porém, aos poucos tem despertado o interesse de pesquisadores por essa área, gerando vários trabalhos de mestrado, doutorado e artigos, com dados científicos interessantes à cadeia produtiva.

Alguns autores observaram efeitos benéficos com a utilização da homeopatia em tilápias do Nilo:

- Valentim-Zabott et al. [112] estudando o efeito do núcleo homeopático *Homeopatila RS*[®], observaram maior sobrevivência, menor índice hepatossomático e menor inclusão lipídica no fígado de tilápias tratadas com o núcleo homeopático.

- Siena et al. [113], avaliaram diferentes níveis de inclusão do núcleo homeopático *Homeopatila 100*[®], e concluíram que o uso de 40mL/kg de ração do núcleo homeopático em dietas para alevinos de tilápias do Nilo, proporcionou um menor índice hepatossomático e maior taxa de sobrevivência.

- Piau Júnior et al. [114] avaliaram a ação do núcleo homeopático *Homeopatila RS*[®] sobre o comportamento morfométrico das fibras musculares brancas de tilápia do Nilo, e concluíram que os alevinos tratados com homeopatia apresentaram maior hipertrofia das

fibras musculares e maior sobrevivência, quando comparados aos alevinos do tratamento controle e aos que receberam 17- α -metiltestosterona.

- Braccini et al. [115] também avaliaram diferentes níveis de inclusão do núcleo homeopático *Homeopatila 100*[®], e concluíram que o uso de 40 mL/kg de ração do núcleo homeopático proporcionou maior número de hepatócitos e concentração de glicogênio intracelular no fígado, menos alterações branquiais com maior produção de células mucinas ácidas, em juvenis de tilápia do Nilo, sem interferir no desempenho zootécnico.

- Merline et al. [116] estudaram os efeitos do medicamento *Homeopatila 100*[®] sobre os indicadores de estresse em tilápia-do-Nilo e concluíram que os animais tratados com a homeopatia apresentaram níveis de cortisol, glicose e hemoglobina plasmática significativamente inferiores e maior percentual de células de defesa orgânica (trombócitos e linfócitos) aos animais do grupo controle.

- Fuzinato et al. [117] observaram maior peso final para tilápias alimentadas com ração contendo 40 mL do núcleo homeopático *Homeopatila 100*[®]/kg de ração, sem apresentar diferença na conversão alimentar.

Com base nas informações apresentadas, a proposta deste estudo foi avaliar as respostas de desempenho produtivo, presença de ectoparasitos, hematologia, histologia hepática e branquial em tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo ou não inclusão do núcleo homeopático *Homeopatila 100*[®] e cultivadas em tanques-redes. A maioria das pesquisas com núcleos homeopáticos para peixes até o momento foram realizadas em laboratório, com condições de execução que podem ser monitoradas e controladas, necessitando-se de estudos a campo, onde não há controle algum sobre as condições e interferências do ambiente, e onde os animais estão sob o manejo diário como em uma produção comercial.

Os resultados do presente estudo obtidos até o momento, são apresentados em um capítulo – Capítulo II, intitulado “Núcleo homeopático *Homeopatila 100*[®] no cultivo de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em tanques-rede” – redigido de acordo com as normas de publicação da revista Biomed Research International (APÊNDICE I).

1.8 Referências bibliográficas

- [1] J. Hatton and J. Balarin: "Tilapia - a Guide to Their Biology & Culture in Africa". , 1979.
- [2] F. Kubitz: "Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial". F. Kubitz, Jundiaí, 2000.
- [3] FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. “The State of World Fisheries and Aquaculture”, Rome, 2014.
- [4] A. Ostrensky, J. R. Borghetti e M. Pedini, “Situação atual da aquicultura brasileira e mundial”, in *Aqüicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável*, W. C. Valenti, C. R. Poli, J. A. Pereira and J. R. Borghetti, pp. 353-382, CNPq/MCT, Brasília, 2000.
- [5] H. Massago, N. Castagnolli, E. B. Malheiros, T. C. R. D. Kiberstein, M. A. Santos, e R. P. Ribeiro, “Crescimento de quatro linhagens de tilápia *Oreochromis niloticus*”, *Revista Acadêmica Ciências Agrárias e Ambientais*, vol.8, no. 4, pp. 397-403, 2010.
- [6] W. O. Watanabe, J. H. Clark, J. B. Dunham, R. I. Wicklund, and B. L. Olla, “Culture of Florida red tilapia in marine cages: The effect of stocking density and dietary protein on growth”, *Aquaculture*, vol. 90, pp. 123-124, 2002.
- [7] F. Meurer, C. Hayashi, W. R. Boscolo and C. M. Soares, “Lipídeos na alimentação de alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.)”, *Revista Brasileira de Zootecnia*, vol. 31, no. 2, pp. 566-573, 2002.
- [8] Z. Beyruth, C. S. R. MainardeS-Pinto, S. M. Fusco, F. C. Faria e A. L. Silva, “Utilização de alimentos naturais por *Oreochromis niloticus* em tanques de terra com arraçoamento”, *Boletim do Instituto de Pesca*, vol. 30, no.1, pp.9-24, 2004.
- [9] A. El-Sayed: "Tilapia culture". CABI Pub., Wallingford, UK , 2006.
- [10] C. S. A. Gama, “A criação de tilápia no estado do Amapá como fonte de risco ambiental”, *Acta Amazonica*, vol. 38, no. 3, pp. 525-530, 2008.
- [11] P. M. F. Ferreira, J. M. Barbosa, E. L. Santos, R. N. Souza e s. R. Souza, “Avaliação do consumo de oxigênio da tilápia do Nilo submetidas a diferentes estressores”, *Revista Brasileira de Engenharia de Pesca*, vol. 6, no. 1, pp. 56-62, 2011.
- [12] N. M. Lopera-Barrero, R. P. Ribeiro, J. A. Povh, L. D. Vargas Mendez, A. R. Poveda-Parra e M. Digmayer, As principais espécies produzidas no Brasil. In: N. M. Lopera-Barrero, R. P. Ribeiro, J. A. Povh, L. D. Vargas Mendez, A. R. Poveda-Parra, Produção de organismos aquáticos: uma visão geral no Brasil e no mundo. Guaíba: Agrolivros, 2011. p. 143-206.

- [13] F. Vieira e Silva, N. L. A. F. Sarmiento, J. S. Vieira, A. J. A. Tessitore, L. L. Santos Oliveira e E. P. Saraiva, “Características morfológicas, rendimento de carcaça, filé, vísceras e resíduos em tilápias-do-nilo em diferentes faixas de peso”, *Revista Brasileira de Zootecnia*, vol. 38, no. 8, pp. 1407-1412, 2009.
- [14] W. M. Furuya, D. Botaro, R. M. G. Macedo, V. G. Santos, L. C. R. Silva, T. C. Silva, V. R. B. Furuya e P. J. P. Sales, “Aplicação do conceito de proteína ideal para redução dos níveis de proteína em dietas para tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)”, *Revista Brasileira de Zootecnia*, vol. 34, no. 5, pp. 1433-1441, 2005.
- [15] E. A. Ono e F. Kubitzka, “Cultivo de peixe em tanques-rede”, 2003.
- [16] C. C. V. Melo, “Efeitos diretos e indiretos das medidas e razões morfológicas sobre os rendimentos corporais da tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus*”, Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Lavras, 2012.
- [17] M. L. R. Souza, “Comparação de Seis Métodos de Filetagem, em Relação ao Rendimento de Filé e de Subprodutos do Processamento da Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)”, *Revista Brasileira de Zootecnia*, vol. 31, no. 3, pp. 1076-1084, 2002.
- [18] R. P. Ribeiro, “Espécies exóticas”, in *Fundamentos da moderna aquicultura*, H. L. M. Moreira, L. Vargas, R. P. Ribeiro e S. Zimmermann, pp. 91-121, Ulbra, Canoas, 2001.
- [19] J. L. Attayde, N. Okum, J. Brasil, R. Menezes e P. Mesquita, “Impactos da introdução de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, sobre a estrutura trófica dos ecossistemas aquáticos do bioma caatinga”, *Oecologia Brasiliensis*, vol. 11, no. 3, pp. 450-461, 2007.
- [20] C. A. Figueiredo Júnior e A. S. Valente Júnior, “Cultivo de tilápias no Brasil, origens e cenário atual”, in *XLVI Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural*, Rio Branco, AC, 2008.
- [21] S. Zimmermann e K. Fitzsimmons, “Tilapicultura intensiva”, in *Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva*, J. E. P. Cyrino, E. C. Urbinati, D. M. Fracalossi e N. Castagnolli, pp. 239-266, Tecart, São Paulo: Tecart, 2004.
- [22] N. R. Boscardin, “Potencial para o desenvolvimento da aquicultura no Brasil”, in *Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer*, A. Ostrensky, J. R. Borguetti and D. Soto, Brasília, 2008.
- [23] E. Lupchinski Júnior, L. Vargas, J. A. Povh, R. P. Ribeiro, C. A. Mangolim e N. M. Lopera Barrero, “Avaliação da variabilidade das gerações G0 e F1 da linhagem GIFT de tilapia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por RAPD”, *Acta Scientiarum Animal Science*, vol. 30, no. 2, pp. 233-240, 2008.
- [24] S. F. Li, X. J. He, G. C. Hu, W. Q. Cai, X. W. Deng and P. Y. Zhou, P. “Improving growth performance and caudal fin stripe pattern in selected F6-F8 generations of

- gift Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) using mass selection”, *Aquaculture Research*, vol. 37, no. 12, pp. 1165-1171, 2006.
- [25] M. V. Gupta, and B. O. Acosta, “From drawing board to dining table: The success story of the GIFT project”, *NAGA - Worldfish Center Quarterly*, vol. 27, pp. 4-14, 2004.
- [26] G. C. Veras, L. D. S. Murgas, M. G. Zangeronino, P. V. Rosa, J. A. S. Leon and A. L. Salaro, “Photoperiod on physiological parameters related to stress in Nile tilapia fingerlings”, *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, vol. 65, no. 5, pp. 1434-1440, 2013.
- [27] E. Zaniboni Filho, A. P. O. Nuñez, R. M. Guerreschi e S. Hermes-Silva, “Cultivo de peixes em tanques-rede e impactos ambientais”, in *Cultivo de peixes em tanques-rede: desafios e oportunidades para um desenvolvimento sustentável*, EPAMIG, Belo Horizonte, 2005.
- [28] J. E. Cyrino e L. Conte, “Tilapicultura em Gaiolas: produção e economia”, 2006.
- [29] N. L. Silva, J. L. Moletta, A. P. Minho, L. F. Filippesen, “Use of biotherapeutic in the control of natural infestation by *Boophilus microplus*: pilot study”, *International Journal of High Dilution Research*, vol.7, no. 22, pp.35-37, 2008.
- [30] F. P. B. Furlaneto, D. M. M. R Ayroza e L. M. S Ayroza, “Custo e rentabilidade da produção de tilápia (*Oreochromis spp.*) em tanques-rede no Médio Paranapanema, Estado de São Paulo, safra 2004/05”, *Informações Econômicas*, vol.36, no.3, pp.63-69, 2006.
- [31] J. Colt and J. M. Montgomery, “Aquaculture production systems”, *Journal of Animal Science*, vol. 69, pp. 4183-4192, 1991.
- [32] E. L. Cardoso, R. M. A. Ferreira, T. A. Pereira e M. M. F. Cardoso, “Cultivo de peixes em tanques-rede: EPAMIG/IEF”, in *Cultivo de peixes em tanques-rede: desafios e oportunidades para o desenvolvimento sustentável*, E. L. Cardoso e R. M. A. Ferreira, p.9-22, EPAMIG, Minas Gerais, 2005.
- [33] E. C. S. Maciel, K. C. O. Feitosa, C. Corrêa Neto, F. F. Macedo, W.O. Mattioli, E. G. Abimorad e J. S. Abreu, “Desempenho produtivo e parâmetros fisiológicos de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) criados em tanques-rede em diferentes densidades de estocagem”, *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, vol.14, no.1, pp.185-194, 2013.
- [34] W. O. Watanabe, T. M. Losordo, K. Fitzsimmons and F. Hanley, “Tilapia production system in the americas: technological advances, trends, and challenges”, *Reviews in Fisheries Science*, vol. 10, no. 384, pp. 465-598, 2003.
- [35] L. J. G.; Barcellos, L. C. Kreutz, R. M. Quevedo, I. Fioreze, L. Cericato, A. B. Soso, M. Fagundes, J. Conrad, R. K. Baldissera, A. Bruschi and F. Ritter, “Nursery rearing of jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard) in cages: cage type, stocking

- density and stress response to confinement”, *Aquaculture*, vol. 232, pp. 383-394, 2004.
- [36] N. Castagnolli, “Criação de peixes de água doce”, Jaboticabal, 1992.
- [37] F. R. Moraes e M. L. Martins, “Condições predisponentes e principais enfermidades de teleósteos em piscicultura intensiva”, in *Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva*, J. E. P. Cyrino, E. C. Urbinati, D. M. Fracalossi e N. Castagnolli, p.343-386, TecArt, São Paulo, 2004.
- [38] G. C. Pavanelli, J. C. Eiras e R. M. Takemoto, “Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento”, Maringá, 2008.
- [39] F. Cavichiolo, “Histologia: ferramenta relevante para estudos em peixes cultivados”, in *Manejo e sanidade de peixes em cultivo*, M. Tavares-Dias, pp. 602-624, Embrapa Amapá, 2009.
- [40] W. C. Valenti, “Introdução”, in *Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável*, W. C. Valenti, C. R. Poli, J. A. Ferreira e J. R. Borghetti, pp. 25-32, CNPq: Ministério de Ciência e Tecnologia, Brasília, 2000.
- [41] M. L. Martins, E. M. Onaka, F. R. Moraes, F. R. Bozzo, A. M. F. C. Paiva e A. Gonçalves, “Recent studies on parasitic infections of freshwater cultivated fish in the state of São Paulo, Brazil”, *Acta Scientiarum*, vol. 24, no. 4, pp. 981-985, 2002.
- [42] J. C. Eiras, “Elementos da Ictioparasitologia”, Porto, 1994.
- [43] M. L. Martins, T. M. P. Azevedo, L. Ghiraldelli, L. e N. Bernardi, “Can the parasitic fauna on Nile tilapias be affected by different production systems?”, *Anais da Academia Brasileira de Ciência*, vol. 82, no. 2, pp. 493-500, 2010.
- [44] L. Bekési, “Evaluation of data on ichthyopathological analyses in the Brazilian Northeast”, *Ciência e Cultura*, vol. 44, no. 6, pp. 400-403, 1992.
- [45] M. L. Martins, F. Pilarsky, M. E. Onaka, T. D. Nomura, J. Fenerick, K. Ribeiro, D. Makoto, Y. Myiazaki, P. M. Castro and E. B. Malheiros, “Hematologia e resposta inflamatória aguda em *O. niloticus* submetidas aos estímulos único e consecutivos de estresse de captura”, *Boletim do Instituto de Pesca*, vol. 30, no. 1, pp. 71-80, 2004.
- [46] G. C. Pavanelli, J. C. Eiras e R. M. Takemoto, “Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento”, Maringá, 2002.
- [47] L. Ghiraldelli, M. L. Martins, T. G. Jerônimo, M. M. Yamashita e W. B. Adamante, “Comunidades de ectoparasitas de *Oreochromis niloticus* cultivada no Estado de Santa Catarina, Brasil”, *Journal Fish Aquatic Science*, vol. 1, pp. 181-190, 2006.
- [48] R. Zanol e M. H. Yamamura, “Parasitas em tilápias-do-nilo criadas em sistema de tanques-rede”. *Semina Ciências Agrárias*, vol. 27, no. 2, pp. 281-288, 2006.

- [49] R. Heckmann, "Protozoan Parasites of Fish", *Aquaculture Magazine*, pp. 56-59, 1996.
- [50] G. C. Pavanelli, J. C. Eiras e R. M. Takemoto, "Doenças de Peixes. Profilaxia, Diagnóstico e Tratamento", Maringá, 1998.
- [51] R. M. Takemoto, "Parasitos de peixes de águas continentais", in *Sanidade de Organismos Aquáticos*, M. J. T. RANZANI-PAIVA, pp. 179-197, São Paulo, 2004.
- [52] A. Soivio and M. Nikinmaa, "The Swelling of erythrocytes in relation to the oxygen affinity of the blood of the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson", in *Stress and Fish*, A. D. Pickering, pp. 103-118, London, 1981.
- [53] M. J. Ranzani-Paiva, S. B. Pádua, M. Tavares-Dias e M. Egami, "Métodos para análise hematológica em peixes", Maringá, 2013.
- [54] M. Tavares-Dias e F. R. Moraes, "Hematologia de peixes teleósteos", Ribeirão Preto, 2004.
- [55] A. J. A. Bicudo, R. Y. Sado and J. E. P. Cyrino, "Growth and haematology of pacu, *Piaractus mesopotamicus*, fed diets with varying protein to energy ratio", *Aquaculture Research*, vol. 40, no. 4, pp. 486-495, 2009.
- [56] C. S. O Araújo, M. Tavares-Dias, A. L. S. Gomes, S. M. S. Andrade, J. R. G. Lemos, A. T. Oliveira, W. R. Cruz e E. G. Affonso, "Infecções parasitárias e parâmetros sanguíneos em *Arapaima gigas* Schinz, 1822 (Arapaimidae) cultivados no estado do Amazonas, Brasil", in *Manejo e sanidade de peixes em cultivo*, pp. 389-424, M. Tavares-Dias, Embrapa Amapá, 2009.
- [57] B. A. Barton, "Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids", *Integrative and Comparative Biology*, vol. 42, pp. 517-525, 2002.
- [58] E. G. Affonso, V. L. P. Polez, C. F. Corrêa, A. F. Mazon, M. R. R. Araújo, G. Moraes and F. T. Rantin, "Blood parameters and metabolites in the teleost fish *Colossoma macropomum* exposed to sulfide or hypoxia", *Comparative Biochemistry Physiology*, vol. 133, no. 3, pp. 375-382, 2002.
- [59] J. I. A. Andrade, E. A. Ono, G. C. Menezes, , E. M. Brasil, R. Roubach, E. C. Urbinati, M. Tavares-Dias, J. L. Marcon and E. G. Affonso, "Influence of diet supplemented with vitamin C and E on pirarucu (*Arapaima gigas*) blood parameters", *Comparative Biochemistry Physiology*, vol. 146, no. 4, pp. 576-580, 2007.
- [60] E. G. Affonso, F. P. Barros, E. M. Brasil, M. Tavares-Dias e E. A. Ono, "Indicadores fisiológicos de estresse em peixes expostos ao peróxido de hidrogênio (H₂O₂)" in *Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo*, M. Tavares-Dias, Embrapa Amapá, 2009.
- [61] M. J. T. Ranzani-Paiva, "Hematologia como ferramenta para avaliação da saúde de peixes", in *Anais do 2º Simpósio de Nutrição e Saúde de Peixes*, Botucatu, São Paulo, 2007.

- [62] L. C. Junqueira e J. Carneiro, “Histologia Básica”, Rio de Janeiro, 2011.
- [63] J. C. Correa Negrete, A. A. Garrido Correa, M. J. Prieto Guevara, V. J. ATencio García e S. C. Pardo Carrasco, “Caracterización de células sanguíneas y parâmetros hematológicos em blanquillo *Sorubin cuspicaudus*”, *Zootecnia Tropical*, vol. 27, no. 4, pp. 393-405, 2009.
- [64] M. J. T. Ranzani-Paiva e A. T. Silva-Souza, “Hematologia de peixes brasileiros”, in *Sanidade de organismos aquáticos*, M. J. T. Ranzani-Paiva, R. M. Takemoto e M. Lizama, pp. 89-120, São Paulo, 2004.
- [65] F. H. D. González e J. F. S. Scheffer, “Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional”, in *Anais do Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil*, F. H. D. González e R. Campos, pp. 73-89, Porto Alegre, 2003.
- [66] D. M. Araujo, A. C. Pezzato, M. M. Barros, L. E. Pezzato, e F. K. Nakagome, “Hematologia de tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas com óleos vegetais e estimuladas pelo frio”, *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, vol. 46, no. 3, pp. 294-302, 2011.
- [67] B. F. Feldman, J. G. Zinkl and C. N. Jain, “Schalm’s veterinary hematology”, Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2006.
- [68] D. H. Neu, W. M. Furuya, W. R. Boscolo, F. R. Potrich, T. A. Lui, and A. Feiden, “Glycerol inclusion in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles”, *Aquaculture Nutrition*, vol. 19, pp. 211-217, 2013.
- [69] J. M. Arellano, V. Storch and C. Sarasquete, “Histological changes and copper accumulation in liver and gills of the Senegales Sole, *Solea senegalensis*”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 44, no. 1, pp. 62-72, 1999.
- [70] M. Gernhöfer, M. Pawert, M. Schramm, E. Müller and R. Tribskorn, “Ultrastructural biomarkers as tools to characterize the health status of fish in contaminated streams”, *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*, vol. 8, no. 3-4, pp. 241-260, 2001.
- [71] E. Fanta, F. S. Rios, S. Romão, A. C. C. Vianna and S. Freiberger, “Histopathology of fish *Corydoras paleatus* contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water and food”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 54, no. 2, pp. 119-130, 2003.
- [72] D.W.T. Au, “The application of histo-cytopathological biomarkers in marine pollution monitoring: a review”, *Marine Pollution Bulletin*, vol. 48, no. 9-10, pp. 817-834, 2004.
- [73] T. Hibiya, “An atlas of fish histology: normal and pathological features”, New York: Kodansha Tokyo, 1982.

- [74] M. Hildebrand, “Análise da Estrutura dos Vertebrados”, São Paulo, 1995.
- [75] C. A. Vicentini, I. B. Franceschini-Vicentini, M. T. S. Bombonato, B. Bertolucci, S. G. Lima e A. S. Santos, “Morphological study of the liver in teleost *Oreochromis niloticus*”, *International Journal of Morphology*, vol. 23, no. 3, pp. 211-216, 2005.
- [76] J. Bruslé and G. G. Anadon, “The structure and function of fish liver”, in *Fish Morphology*, Science Publishers, 1996.
- [77] L. C. Junqueira e J. Carneiro, “Histologia Básica”. Rio de Janeiro, 1991.
- [78] M. Jobling, “Osmotic and ionic regulation: water and salt balance”, *Environmental Biology Fishes*, vol. 16, pp. 211-249, 1995.
- [79] H. W. Ferguson, “Systemic pathology of fish: a text and atlas of normal tissues in teleosts and their responses in disease”, London: Scotian, 2006.
- [80] F. Genten, E. Terwinghe and A. Danguy, “Atlas of fish histology”, Enfield, 2009.
- [81] B. Baldisseroto, “Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura”, Santa Maria, 2002.
- [82] M. J. Caballero, G. López-Calero, J. Socorro, F. J. Roo, M. S. Izquierdo, and A. J. Fernandez, “Combined effect of lipid level and fish meal quality on liver histology of gilthead seabream (*Sparus aurata*)”, *Aquaculture*, vol. 179, no. 1-4, pp. 277-290, 1999.
- [83] S. J. Teh, S. M. Adams and D. E. Hinton, “Histopathological biomarkers in feral freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress”, *Aquatic Toxicology*, vol. 37, no. 1, pp. 51-70, 1997.
- [84] A. Fontainhas-Fernandes, A. Luzio, S. Garcia-Santos, J. Carrola and S. Monteiro, “Gill histopathological alterations in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed to treated sewage water”, *Brazilian Archives of Biology and Technology*, vol. 51, no. 5, pp. 1057-1063, 2008.
- [85] R. G. A. Torres, P. S. González and S. E. Peña, Anatomical, “Histological and Ultrastructural Description of the Gills and Liver of the Tilapia (*Oreochromis niloticus*)”, *International Journal of Morphology*, vol. 28, pp. 703-712, 2010.
- [86] B. Baldisserotto, J. E. P. Cyrino e E. C. U. Urbinati, “Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce”, Jaboticabal, 2014.
- [87] D. R. E. Stofella, “Variabilidade morfológica da região faríngea dos arcos branquiais de algumas espécies de peixes (Teleostei), estudada através da microscopia eletrônica de varredura” Tese (Doutorado) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1994.
- [88] C. D. Moyes e P. M. Schulte, “Princípios de fisiologia animal”, Porto Alegre, 2010.

- [89] M. M. Sakuragui, J. R. Sanches and M. N. Fernandes, "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*, vol. 173, no. 4, pp. 309-317, 2003.
- [90] F. Takashima and T. Hibiya, "An atlas of fish histology: normal and pathological features", Tokyo: Kodansha; Stuttgart: New York: Gustav Fischer, 1995.
- [91] S. Garcia-Santos, S. M. Monteiro, J. Carrola e A. Fontainhas Fernandes, "Alterações histológicas em brânquias de tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* causadas pelo cádmio", *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, vol. 59, no. 2, pp. 376-381, 2007.
- [92] E. Schram, J. A. C. Roques, W. Wout Abbin, T. Spanings, P. Vries, S. Biermana, H. Vis, and G. Flik, "The impact of elevated water ammonia concentration on physiology, growth and feed intake of African Catfish (*Clarias gariepinus*)", *Aquaculture*, vol. 306, pp. 108-115, 2010.
- [93] J. Schwaiger, R. Wanke, S. Adam, M. Pawert, W. Honnen and R. Triebkorn, "The use of histopathological indicators to evaluate contaminant related stress in fish", *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*, vol. 6, no. 1, pp.75-86, 1997.
- [94] S. M. Monteiro, E. Rocha, J. M. Mancera, A. Fontainhas-Fernandes and M. Sousa, "A stereological study of copper toxicity in gills of *Oreochromis niloticus*", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 72, no. 1, pp. 213-223, 2009.
- [95] F. Pilarski e R. Sakabe, "Principais enfermidades diagnosticadas no Estado de São Paulo: profilaxia ou tratamento?", in *Palestras do Simpósio Internacional de Nutrição e Saúde de Peixes*, Botucatu, São Paulo, 2009.
- [96] S. G. O. Camargo and J. L. O. F. Pouey, "Aqüicultura: um mercado em expansão", *Revista Brasileira de Agrociência*, vol. 11, no. 4, pp. 393-396, 2005.
- [97] S. M. Benez, S. Boericke, N. Cairo, P. H. Jacobs, G. MacLeod, F. Schroyens, A. Tiefenthaler, B. Vijnovsky and H. G. Wolff, "Manual de homeopatia veterinária: indicações clínicas e patológicas: teoria e prática", Ribeirão Preto, 2004.
- [98] S. Hahnemann, "Organon da arte de curar", São Paulo, 2001.
- [99] J. R. P. Guedes, C. M. FerreirA e H. M. Bueno-Guimarães, "Emprego do tratamento homeopático nos organismos aquáticos", in *Sanidade de organismos aquáticos*, M. J. T. Ranzani-Paiva, R. M. Takemoto e A. P. Lizama, pp. 383-397, São Paulo, 2004.
- [100] M. Castro, "Homeopathy: a theoretical framework and clinical application", *Journal of Nurse-Midwifery*, vol. 44, no.3, 1999.
- [101] N. R. Benites, "Homeopatia", in *Farmacologia aplicada à medicina veterinária*, H. S. Spinosa, S. L. Górnaiak e M. M. Bernardi, p.700-708, Rio de Janeiro, 2002

- [102] E. A. MAURY e C. Rudder, “Guia das plantas medicinais”, São Paulo, 2002.
- [103] D. Hamilton, “Homeopathic Care for Cats and Dogs – Small Doses for Small Animals”, California, 1999.
- [104] A. D. Corrêa, R. Siqueira-Batista e L. E. M. Quintas, “*Similia similibus curentur*: notação histórica da medicina homeopática”, *Revista da Associação Médica Brasileira*, vol. 43, no. 4, pp. 346-51, 1997.
- [105] A. Kossak- Romanach, “Homeopatia em 1000 conceitos”, São Paulo, 2003.
- [106] N. Levy-pereira, “Beta-glucano e mananoligossacarídeo na alimentação de tilápias-do-nylo (*Oreochromis niloticus*) sobre as respostas hematológica, imunológica e desempenho produtivo”. Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2013.
- [107] S. Hahnemann, “Organon da arte de curar”, São Paulo, 2008.
- [108] P. M. Servais, “Larousse da homeopatia”, São Paulo: Larousse do Brasil, 2003.
- [109] N. R. Benites, “Comparação entre tratamento homeopático de mastite bovina clínica e subclínica”, Tese (Livre docência) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
- [110] C. R. Barollo, M. P. S. Carvalho e B. Metzner, “Gênio epidêmico da dengue: uma construção coletiva durante a jornada sobre dengue”, in *XXVIII Proceedings of Brazilian Congress of Homeopathy*. Florianópolis, Brazil, 2006.
- [111] C. M. Real, “Homeopatia populacional”. Campo Grande: REAL H Nutrição e Saúde Animal, 2009. Disponível em: <<http://www.realh.com.br/artigo.php?id=34>>
- [112] M. Valentim-zabott, L. Vargas, R. P. Ribeiro, R. Piau Jr, M. B. A. Torres, M. Rönnau and J. C. Souza, “Effects of a homeopathic complex in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) on performance, sexual proportion and histology”, *Homeopathy*, vol. 97, no. 4, pp. 190-195, 2008.
- [113] C. E. Siena, M. R. M. Natali, G. L. Braccini, A. C. de Oliveira, R. P. Ribeiro e L. Vargas, “Efeito do núcleo homeopático *homeopatila 100®* na eficiência produtiva em alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)”, *Semina: Ciências Agrárias*, vol. 31, no. 4, pp. 985-994, 2010.
- [114] R. Piau Jr, L. Vargas, M. Valentim-Zabott, R. P. Ribeiro, A. V. Silva and L. K. Otutumi, “Morphometry of White muscle fibers and performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings treated with methyltestosterone or a homeopathic complex”, *Homeopathy*, vol. 101, pp. 154-158, 2012.
- [115] G. L. Braccini, M. R. M. Natali, R. P. Ribeiro, R. H. Mori, R. Riggo, C. A. L. Oliveira, J. F. H. Hildebrandt and L. Vargas, “Morpho-functional response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to a homeopathic complex”, *Homeopathy*. vol. 102, pp. 233-241, 2013.

- [116] L. S. Merlini, L. Vargas, R. Piau Jr, R. P. Ribeiro and N. B. Merlini, "Effects of a homeopathic complex on the performance and cortisol levels in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)", *Homeopathy*, vol. 103, pp. 139-142, 2014.
- [117] M. M. Fuzinato, D. P. Lima, A. P. Andretto, L. A. Menezes, A. H. P. Souza, M. L. S. Franco, N. C. Steinmacher, S. N. T. G. Mendonça and L. Vargas, "Influence of a homeopathic product on performance and on quality flour and cookie (Grissini) of Nile tilapia". *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 9, no. 27, pp. 675-683, 2015.

II - NÚCLEO HOMEOPÁTICO *HOMEOPATILA 100*[®] NO CULTIVO DE TILÁPIAS DO NILO (*Oreochromis niloticus*) EM TANQUES-REDE*

Resumo: O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do produto *Homeopatila 100*[®] sobre o desempenho zootécnico, resposta hematológica, prevalência de parasitos, histologia hepática e branquial em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivadas em tanques-rede. O experimento durou 91 dias e foram utilizados 1240 juvenis de tilápia do Nilo (50,15±8,52 g), distribuídos em 10 tanques-rede de 1,2m³, e alimentados com ração extrusada comercial. Os tratamentos consistiam em, um tratamento controle sem a inclusão do produto homeopático e um tratamento com a inclusão de 40 mL de *Homeopatila 100*[®]/kg de ração. Foi observado diferença significativa apenas para a prevalência de ectoparasitos, apresentando redução ao longo do tempo para ambos os tratamentos, e nas avaliações histológicas hepáticas, no qual o tratamento com produto homeopático apresentou maior número de hepatócitos e maior concentração de glicogênio hepático, sem apresentar diferença entre os tratamentos para o índice hepatossomático. Portanto, conclui-se que o núcleo homeopático *Homeopatila 100*[®] na concentração de 40 mL/kg de ração, apresentou resultados significativos na histologia hepática, com maior número de hepatócitos e maior concentração de glicogênio por área, sem interferir no desempenho zootécnico, hematologia, prevalência de parasitos e histologia branquial de tilápias do Nilo cultivadas em tanques-rede.

Palavras-chave: homeopatia populacional; histologia; tilapicultura; sanidade; protetor hepático.

*Artigo redigido de acordo com as normas de publicação da revista *Biomed Research International*. Fator de impacto = 1,579. <http://www.hindawi.com/journals/bmri/siguidelines/>

II - HOMEOPATHIC COMPLEX *HOMEOPATILA 100*[®] IN CAGE CULTURE OF NILE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*)

Abstract: The aim of this study was to evaluate the effect of the product *Homeopatila 100*[®] on growth performance, hematological response, parasites prevalence, and hepatic and branchial histology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in cages. The experiment took 91 days. 1240 juvenile Nile tilapia (50.15±8.52 g) were used, distributed in 10 cages of 1.2m³, and fed with commercial extruded feed. The treatments consisted of a control treatment with 40 mL of *Homeopatila 100*[®]/kg of feed, and a control treatment without inclusion of the homeopathic product. A significant difference was observed only in the prevalence of ectoparasites, presenting a decrease over time for both treatments, and in hepatic histological evaluations, in which the treatment with homeopathic product presented a higher number of hepatocytes and a higher concentration of hepatic glycogen, whereas no difference was found between treatments for liver somatic index. Therefore, we concluded that the homeopathic complex *Homeopatila 100*[®] at a concentration of 40 mL/kg of feed presented significant results in hepatic histology, with a higher number of hepatocytes and a higher concentration of glycogen per area, not interfering on the growth performance, hematology, prevalence of parasites and branchial histology of Nile tilapia farmed in cages.

Keywords: populational homeopathy; histology; tilapia culture; sanity; liver protector.

Introdução

Segundo a FAO [1], a produção pesqueira e da aquicultura mundial no ano de 2012, gerou 10 milhões de toneladas a mais que em 2010, chegando ao patamar dos 158 milhões de toneladas. A origem desse crescimento ocorreu devido principalmente, ao rápido desenvolvimento da aquicultura e ao aumento do consumo *per capita* de pescado. Este último fator, que na década de 60 foi de apenas 10 kg/habitante/ano, praticamente dobrou para os dias atuais, chegando aos 19,2 kg/habitante/ano. É importante destacar que o peixe representa aproximadamente 17% do consumo de proteína no mundo [1].

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) tem ocupado lugar de destaque no cenário da piscicultura mundial, devido a suas características produtivas potenciais e pela boa aceitação do mercado consumidor [2], representando a segunda espécie de peixe mais produzida no mundo [1]. Dessa forma, diversas pesquisas buscam continuamente novas tecnologias e alternativas com o objetivo de melhorar o sistema de produção dessa espécie [3].

Existe uma tendência para produção com princípios de sustentabilidade, preservação do ecossistema aquático, com racionalização do uso de medicamentos, visando uma produção de alimentos mais seguros [4]. Segundo palavras do Diretor Geral da FAO, no prefácio da publicação *The State of World Fisheries and Aquaculture* [1], deve-se ter respeito pelo meio ambiente para assegurar a prosperidade sustentável, afirmando que “A saúde do nosso planeta, bem como a nossa própria saúde e a segurança alimentar no futuro, dependerá de como nós tratamos o mundo azul”. A homeopatia vem de encontro com esses princípios, pois os medicamentos homeopáticos não apresentam riscos aos animais, aos manipuladores do medicamento e ao meio ambiente [5].

A homeopatia estimula o sistema de defesa dos organismos de modo que resistam às doenças, aos insetos-praga e aos impactos dos fatores climáticos ou ambientais, promovendo o equilíbrio sem extinguir vírus, fungos, bactérias, insetos e outros tipos de agentes patogênicos [6]. Os peixes são os vertebrados mais parasitados, e quando são submetidos a manejos inadequados, a homeostase entre o hospedeiro e a sua fauna parasitária é quebrada, desencadeando surtos parasitários [7, 8].

Estudos realizados através da histopatologia dos órgãos de peixes, como fígado e brânquias e análises hematológicas, tem grande relevância em pesquisas com tilápia, por estarem associadas ao desenvolvimento de alterações estruturais e celulares, que podem interferir na saúde e desempenho dos peixes [9-12].

A maioria dos estudos com núcleos homeopáticos para peixes [13-21], foram realizadas em laboratório, com condições de execução que podem ser monitoradas e controladas. Portanto, necessita-se de estudos a campo, onde não há controle algum sobre as condições e interferências do ambiente, e onde os animais estão sob o manejo diário como em uma produção comercial.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do núcleo homeopático *Homeopatila 100*[®] sobre o desempenho zootécnico, prevalência de parasitos, resposta hematológica, histologia hepática e branquial em tilápias do Nilo cultivadas em tanques-rede.

Material e métodos

Local e período

O experimento foi realizado no rio do Corvo, afluente do rio Paranapanema, tributário do reservatório da hidrelétrica de Rosana no limite entre os municípios de Diamante do Norte e Terra Rica-PR, acesso no km 52 da PR 557. O período experimental foi de 91 dias (março a junho de 2014).

Os procedimentos experimentais adotados para execução do presente estudo foram aprovados pelo Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação da Universidade Estadual de Maringá, sob o Protocolo nº 010/2014.

Animais e instalações

Foram utilizados 1.240 juvenis pós-revertidos de tilápia do Nilo, da linhagem GIFT (*Genetic Improvement of Farmed Tilapia*), com peso inicial médio de $50,15 \pm 8,52$ g e comprimento inicial médio de $13,27 \pm 1,05$ cm, obtidos de uma piscicultura comercial, distribuídos em 10 tanques-rede com capacidade de 1 m^3 (1,0 x 1,0 x 1,2 m de altura), totalizando 124 animais por tanque-rede, sendo este considerado uma unidade experimental.

Dietas e regime de alimentação

Os juvenis foram alimentados com ração extrusada comercial de 2,5mm (42% PB), durante os primeiros 30 dias e posteriormente, ração comercial de 5 mm (32% PB), até o

final do experimento, ambas as rações provenientes do mesmo fornecedor. Amostras das rações foram coletadas para análise da composição bromatológica, e encaminhadas para o Laboratório de Qualidade de Alimentos da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste/*Campus* Toledo-PR. Os resultados da análise de composição bromatológica das rações extrusadas comercial de 2,5 mm (42% PB) e de 5 mm (32% PB), apresentaram valores próximos aos níveis de garantia informados pelo fornecedor, sendo que os níveis de proteína bruta verificados foram de 41,38 e 32,87% de PB, respectivamente.

A ração foi fornecida três vezes ao dia (8h00, 13h00 e 17h00). Foram realizadas biometrias mensais para ajuste do cálculo de ração, feito de acordo com a biomassa de cada tanque-rede. O tratamento utilizado foi o Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*[®] na concentração de 40 ml/kg de ração determinado por Braccini et al. [17], em comparação com o tratamento controle 0 ml/kg de ração. O Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*[®] foi elaborado pela empresa REAL H de Campo Grande - MS, e sua composição oficial está descrita na Tabela 1. O produto está cadastrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Tabela 1. Composição do núcleo homeopático *Homeopatila 100*[®].

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

Fonte: Real Homeopatia – Brasil. Q.s.p: Quantidade Suficiente Para.

O núcleo homeopático *Homeopatila 100*[®], foi incorporado na ração por aspersão, em seguida homogeneizado e deixado secar naturalmente ao ar na sombra por um período de 24 horas para que o álcool utilizado como veículo evaporasse totalmente e a ração se apresentasse solta e sem odor de álcool. Depois de preparada a ração ficou acondicionada em local arejado, sem incidência de luz solar, produtos químicos e de equipamentos que emitissem campo magnético. A ração foi preparada semanalmente em quantidade suficiente para uma semana de alimentação.

Parâmetros físicos e químicos da água

Os valores médios dos parâmetros físicos e químicos da água (pH, oxigênio dissolvido) foram registrados semanalmente com valores de $8,33 \pm 0,50$ e $9,28 \pm 2,06$ mg/L respectivamente, e a temperatura foi monitorada diariamente (9h e 16h) apresentando valor médio de $25,79 \pm 2,99$ °C. Os parâmetros de qualidade da água mantiveram-se dentro dos valores considerados ideais para condições de bem estar da espécie e de acordo com as normas da resolução CONAMA 357/05 para águas interiores.

Avaliação do desempenho

Para determinação dos índices de desempenho produtivo, no início e no final do experimento, todos os peixes foram anestesiados com benzocaína (1g/10 mL de álcool/10 L de água) [22], e registrados o peso (g) e o comprimento total (cm). Ao final do experimento, os peixes permaneceram em jejum prévio de 12 horas, foram eutanasiados com overdose de benzocaína e posteriormente sacrificados por secção da medula espinhal na região cervical.

Os dados de desempenho avaliados foram o peso médio (g) inicial e final; comprimento médio (cm) inicial e final; ganho em peso (g) = (peso corporal final – peso corporal inicial); ganho em peso diário (g/dia) = ((peso corporal final – peso corporal inicial)/dias de experimento); conversão alimentar aparente = (dieta consumida/ganho em peso); sobrevivência (%) = $(100 * (\text{número de peixes final} / \text{número de peixes inicial}))$; fator de condição = $((\text{peso corporal final} / (\text{comprimento final})^3) * 100)$; gordura visceral (%) = $(100 * (\text{peso gordura visceral} / (\text{peso corporal final})))$; e rendimento filé (%) = $(100 * (\text{peso filé} / (\text{peso corporal final})))$. Para avaliação da uniformidade em peso dos lotes de peixes em cada tanque-rede, foi adaptada uma equação proposta por Furuya et al. [23]. Para este cálculo foram usadas as medidas de peso corporal individual dos peixes de cada unidade experimental, calculada a média, em seguida quantificado o número de indivíduos que apresentavam o peso dentro do intervalo correspondente a 20% acima e abaixo da média de peso de cada unidade experimental.

Prevalência de ectoparasitos

A primeira identificação da prevalência de ectoparasitos foi realizada na implantação do experimento, com a coleta de amostras de 100 peixes, através do exame do raspado do primeiro arco branquial e da região dorsal, do lado esquerdo de cada peixe, previamente anestesiado com benzocaína (1g/10 mL de álcool/10 L de água) [22]. As coletas seguintes foram realizadas aos 30, 60 e 90 dias, sendo coletadas amostras de oito peixes por repetição, totalizando 40 peixes por tratamento.

A carga parasitária de Dactylogyridae foi estimada de acordo com Bush et al. [24] e as categorias de infestação por tricodinídeos foram estabelecidas pela adaptação da técnica de Madsen et al. [25], estimando a prevalência de ectoparasitos nos diferentes tratamentos.

Parâmetros sanguíneos

Ao final do período experimental foram realizadas coletas sanguíneas de três peixes de cada unidade experimental, capturados aleatoriamente e anestesiados com benzocaína (1 g/10 mL de álcool/10 L de água), totalizando 15 animais por tratamento. De cada animal foi retirada uma alíquota 0,5 mL com seringa heparinizada, para as análises hematológicas e outra alíquota de 1,5 ml com seringa sem heparina, para as análises bioquímicas.

No sangue total foram realizadas as análises de contagem total de eritrócitos com utilização de câmara de Neubauer, taxa de hemoglobina realizada por meio da metodologia descrita por Collier [26], percentual de hematócrito seguindo a metodologia de Goldenfarb et al. [27], e os índices hematimétricos como volume corpuscular médio (VCM (fL) = ((hematócrito × 10))/eritrócitos), hemoglobina corpuscular média (HCM (μg) = ((hemoglobina × 10))/eritrócitos) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM (gdL⁻¹) = ((hemoglobina × 100))/ hematócrito).

Foram preparadas extensões sanguíneas em lâminas de vidro que foram secas ao ar e coradas pelo método de Rosenfeld [28]. A leitura foi realizada em microscópio óptico, com objetiva de 100x, utilizando óleo de imersão. A contagem total de leucócitos e trombócitos foi realizada pelo método indireto [29]: Leucócitos totais (μL) = ((número de leucócitos contados na extensão* número de eritrócitos em câmara de Neubauer)/2000); e trombócitos totais (μL) = ((número de trombócitos contados na extensão* número de eritrócitos em câmara de Neubauer)/ 2000).

A contagem do diferencial de leucócitos consistiu em determinar a proporção existente entre as distintas variedades de leucócitos: linfócitos, neutrófilos e monócitos.

Em microscópio de luz comum, com objetiva 100 vezes foram contados 100 leucócitos. Para a contagem, percorreu-se todo o esfregaço, movimentando a lâmina em “zig-zag”. O número de cada elemento foi expresso em porcentagem. Posteriormente, foram realizadas análises bioquímicas de proteínas totais (g.dL^{-1}), triglicerídeos (mg.dL^{-1}), colesterol total (mg.dL^{-1}) e glicose (mg.dL^{-1}). As amostras foram centrifugadas a 2.500 rpm por cinco minutos para obtenção do soro. Para a realização das análises utilizaram-se “kits” específicos Gold Analisa Diagnóstica[®], sendo a leitura processada em espectrofotômetro e procedida conforme instruções do fabricante.

Histologia hepática

Ao final do período experimental foram coletados os fígados de oito animais por repetição para a determinação da relação hepatossomática ($\text{RHS}\%$) = $(100(\text{peso fígado})/(\text{peso corporal final}))$, no total de 40 peixes por tratamento. Posteriormente, dois fígados de cada repetição (10 peixes por tratamento), foram lavados com água destilada e conservadas amostras da porção mediana do lobo esquerdo.

As amostras de fígado foram fixadas em solução de *Bouin* aquoso [30] e, posteriormente, transferidas para frascos contendo álcool 70°. O material foi desidratado pela passagem em série crescente de álcoois, diafanizado em xilol e incluído em parafina, para a obtenção de cortes transversais semisseriados, com 6 μm de espessura, com auxílio de micrótomo rotativo (Microm HM 340 E Thermo Scientific - Alemanha). Essas análises foram realizadas no Laboratório de Histologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste/*Campus* Toledo-PR.

Amostras do fígado foram coradas no Laboratório de Histotécnica Animal do Departamento de Ciências Morfológicas da Universidade Estadual de Maringá-PR. As características morfológicas foram analisadas através de um índice de lesões calculado segundo Bernet et al. [30]. Para análise morfológica e determinação do número de hepatócitos por área (área útil de contagem: $20914,7228\mu\text{m}^2$), as lâminas foram coradas pelo método de Hematoxilina e Eosina - HE [31], e para evidenciação do glicogênio intracelular e determinação do percentual ocupado por esta inclusão por área (área útil de contagem: $20914,7228\mu\text{m}^2$), foram coradas através da técnica histoquímica Ácido Periódico de Schiff (PAS) + Hematoxilina [32].

As análises histológicas do fígado, independentemente da técnica de coloração, foram realizadas a partir de imagens capturadas em microscópio óptico (P1 *Olympus* BX

50 - Manila, Filipinas) acoplado a uma câmera (*Olympus* PMC 35 B - Berlim, Alemanha), utilizando objetiva de 40x, em 10 imagens por corte (30 imagens/animal), totalizando 300 imagens/tratamento. Estas mensurações foram realizadas com auxílio de software de análise de imagem *Image Pro Plus*[®] (version 4.5, Media Cybernetics, USA).

Histologia branquial

O segundo e terceiro arco branquial do lado direito dos mesmos dois peixes que foram retirados os fígados, foram removidos para avaliação histológica. As brânquias foram lavadas com água destilada e coletada amostra do segundo arco branquial direito, de dois peixes por repetição, totalizando 10 peixes por tratamento.

As amostras das brânquias foram fixadas em solução de *Bouin* aquoso [31] e, posteriormente, transferidas para frascos contendo álcool 70°. O material foi desidratado pelas passagens em séries crescentes de álcoois, diafanizado em xilol e incluído em parafina, para a obtenção de cortes transversais semisseriados, com 6 µm de espessura, com auxílio de micrótomo rotativo (Microm HM 340 E Thermo Scientific - Alemanha). Essas análises foram realizadas no Laboratório de Histologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste/*Campus* Toledo-PR.

As brânquias foram coradas no Laboratório de Histotécnica Animal do Departamento de Ciências Morfológicas da Universidade Estadual de Maringá-PR. Foi utilizado o método de coloração com Hematoxilina-Eosina – HE [31], para análise morfológica e verificação de possíveis alterações branquiais utilizando o método semiquantitativo proposto por Schwaiger et al. [33], adaptado em escala crescente de valores médios de alteração (V.M.A), dependendo do grau de severidade das lesões, descritas por Mallatt [34], 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 foi calculada a média de VMA para cada tratamento. A ocorrência e frequência das alterações: hiperplasia, fusão lamelar e telangectasia foram analisadas em três cortes histológicos por animal em microscópio óptico (P1 *Olympus* BX 50 - Manila, Filipinas) acoplado a uma câmera (*Olympus* PMC 35 B - Berlim, Alemanha), utilizando objetiva de 40x. Para a evidenciação das células produtoras de mucinas neutras e mucinas ácidas e posterior análise quantitativa as amostras

de brânquias foram submetidas à técnica histoquímica *Alcian Blue* + PAS, modificada (*Alcian Blue* pH 2,5 - PAS Stain/PAB) [35]. Esta análise foi realizada a partir de imagens capturadas em microscópio óptico (P1 *Olympus* BX 50 - Manila, Filipinas) acoplado a uma câmera (*Olympus* PMC 35 B - Berlim, Alemanha), utilizando objetiva de 40x. Foram capturadas 10 imagens de cada região da brânquia (apical, intermediária e basal), no total de 30 imagens por região, totalizando 90 imagens por animal (450 imagens por tratamento). Estas mensurações foram realizadas com auxílio de software de análise de imagem *Image Pro Plus*[®] (version 4.5, Media Cybernetics, USA).

Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos aos testes de normalidade *Shapiro-Wilk* e, quando constatada distribuição normal, procedeu-se ANOVA seguida de teste de *Tukey* para comparação de médias ou do teste *t*. Para os dados que não seguiram distribuição normal, aplicou-se a análise não paramétrica de *Kruskal-Wallis*, seguida do próprio teste de médias. As análises foram realizadas utilizando o ambiente estatístico R (versão 1.8.1) [36].

Resultados e discussão

Desempenho zootécnico

Os tratamentos com e sem o produto homeopático, não proporcionaram diferenças ($P > 0,05$) no desempenho zootécnico bem como no rendimento de filé dos animais (Tabela 2). Os valores observados estão de acordo com os resultados descritos por Braccini et al. [17], que trabalharam com o mesmo produto homeopático em diferentes níveis de concentração e não observaram diferença para peso final, comprimento final, conversão alimentar aparente e sobrevivência de juvenis de tilápia do Nilo que receberam o produto durante 57 dias. Siena et al. [20] também não observaram diferença no peso final e comprimento final de alevinos machos revertidos de tilápia do Nilo, linhagem *Supreme*, que receberam *Homeopatila 100*[®] durante 61 dias, porém verificaram maior sobrevivência para aqueles peixes que receberam 40 mL/kg do produto na ração.

Fuzinatto et al. [13], observaram maior ganho em peso para juvenis de tilápia do Nilo que receberam 40mL de *Homeopatila 100*[®]/kg de ração durante 84 dias, sem que houvesse diferença na conversão alimentar. Em trabalho realizado com diferentes níveis de

Homeopatila 100[®] em tambaqui (*Colossoma macropomum*), Pinheiro et al. [14], observaram menor ganho em peso para os animais que receberam 60mL/kg de ração, sem interferência na sobrevivência. Valentim-Zabott et al. [21] observaram que os valores de comprimento e peso final, foram menores para alevinos de tilápia tratados com o núcleo homeopático *Homeopatila RS*, quando comparados ao tratamento com hormônio e o controle. Porém, a sobrevivência foi significativamente maior para os animais que receberam o produto homeopático.

Tabela 2. Valores médios \pm erro padrão da média do desempenho zootécnico e rendimento de filé de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), alimentadas com ração contendo núcleo homeopático *Homeopatila 100*[®], no início e durante o período experimental.

Variáveis	Tratamentos	
	Controle	<i>Homeopatila 100</i> [®]
Peso inicial (g)	50,22 \pm 0,39	50,03 \pm 0,39
Comprimento total inicial (cm)	13,25 \pm 0,03	13,28 \pm 0,06
Peso final (g)	350,27 \pm 4,68	340,00 \pm 4,49
Comprimento total final (cm)	25,33 \pm 0,09	24,96 \pm 0,09
Ganho em peso (g)	300,05 \pm 3,74	289,97 \pm 4,13
Ganho em peso diário (g/dia)	3,23 \pm 0,04	3,12 \pm 0,04
Conversão alimentar aparente	1,23 \pm 0,02	1,28 \pm 0,02
Sobrevivência (%)	94,17 \pm 0,76	93,33 \pm 0,90
Fator de condição	2,10 \pm 0,04	2,12 \pm 0,02
Uniformidade (%)	52,46 \pm 2,85	53,10 \pm 0,90
Gordura visceral (%)	1,90 \pm 0,13	2,08 \pm 0,13
Rendimento de filé (%)	30,42 \pm 0,42	31,52 \pm 0,24

Teste *t* (P<0,05).

A sobrevivência no presente estudo foi bem elevada em ambos os tratamentos, estando os valores próximos ao observado por Valentim-Zabott et al. [21], Siena et al. [20] e Braccini et al. [17], que avaliaram o uso de produtos homeopáticos para tilápias do Nilo, porém em fases diferentes. Contudo, ressalta-se que os altos valores observados no atual estudo também podem estar relacionados ao manejo adequado, à qualidade de água em que os animais permaneceram, bem como regime alimentar.

A uniformidade dos lotes não foi influenciada pelo uso do núcleo homeopático. Normalmente no cultivo de tilápias, observa-se uma grande heterogeneidade do lote, que

se deve ao comportamento hierárquico da espécie. Os ciclídeos apresentam comportamento territorialista e sua criação necessita maiores cuidados para manter a uniformidade do lote. Quanto maior a diferença, maior o prejuízo na comercialização devido à presença de peixes pequenos [40].

Todas variáveis de desempenho zootécnico ficaram dentro dos valores considerados normais para o cultivo de tilápias em tanques-rede, não diferindo entre os peixes que receberam o núcleo homeopático *Homeopatila 100*[®] e o grupo controle.

Prevalência de ectoparasitos

Os peixes em pisciculturas podem ser infestados por inúmeras espécies de parasitos, que podem ocorrer em sua superfície, os ectoparasitos, e os que ocorrem nos órgãos internos, os endoparasitos [41]. As perdas causadas por esses organismos representam fator determinante para o sucesso na produção de peixes, pois, além de disseminar agentes patogênicos para o ambiente podem representar um risco à saúde pública [42].

Vários estudos realizados com produtos homeopáticos em outros animais apresentaram diminuição de infestação por parasitos [43-47]. Na composição da formulação do *Homeopatila 100*[®], um dos componentes é o *Sulphur*, indicado segundo Rezende [6], para o controle de ectoparasitos em animais.

Na implantação do experimento a prevalência de ectoparasitos em 100 peixes capturados aleatoriamente foi de 85,0%, com maior prevalência para Monogenoidea (42,0%), seguido do parasitismo misto (34,0%) e por último *Trichodina* (9,0%). Ao final do período experimental, não foram observadas diferenças significativas ($P > 0,05$) para a prevalência de ectoparasitos entre os tratamentos, porém houve diferença significativa ($P < 0,05$) na prevalência dos ectoparasitos ao longo do tempo, e ao final do experimento, cerca de 27,5 a 32,5% dos peixes encontravam-se parasitados (Tabela 3).

Pinheiro et al. [14], avaliando *Homeopatila 100*[®] para tambaqui não observaram diferença significativa ($P > 0,05$) para prevalência de ectoparasitos. Diferindo de Braccini et al. [17] que verificaram diferença significativa ($P < 0,05$) para Monogenoidea e parasitismo misto, no qual o tratamento com 40 mL de *Homeopatila 100*[®] apresentou menor prevalência de parasitismo misto, porém maior prevalência de Monogenoidea. Já Valentim-Zabott et al. [21], assim como no presente estudo, também verificaram redução

na prevalência de ectoparasitos utilizando o núcleo homeopático *Homeopatila RS* durante a fase de reversão sexual.

Valentim-Zabott et al. [21] verificaram durante a reversão sexual, 100% de parasitismo no início do experimento, com 80% para *Trichodina* e 20% para parasitismo misto, e ao final do período experimental, não foi verificada presença de ectoparasitos tanto para tratamento controle e com hormônio, quanto para o núcleo homeopático *Homeopatila RS*.

Tabela 3. Valores médios \pm erro padrão da média da prevalência de ectoparasitos, em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) da linhagem GIFT, no início e durante o experimento, no tratamento controle e com o núcleo homeopático *Homeopatila 100*[®].

<i>Trichodina</i> (%)				
Tratamento	Período			
	Inicial	30 dias	60 dias	90 dias
Controle		22,50 \pm 8,29 ^{aA}	30,0 \pm 9,35 ^{aA}	7,50 \pm 3,06 ^{aA}
<i>Homeopatila 100</i> [®]	9,00	7,50 \pm 3,06 ^{aB}	32,5 \pm 5,00 ^{aA}	10,00 \pm 6,12 ^{aB}
<i>Monogenoidea</i> (%)				
Tratamento	Período			
	Inicial	30 dias	60 dias	90 dias
Controle		10,00 \pm 4,68 ^{aA}	7,50 \pm 7,50 ^{aA}	20,00 \pm 5,00 ^{aA}
<i>Homeopatila 100</i> [®]	42,00	17,50 \pm 6,37 ^{aA}	10,00 \pm 4,68 ^{aA}	10,00 \pm 4,68 ^{aA}
Parasitismo Misto (%)				
Tratamento	Período			
	Inicial	30 dias	60 dias	90 dias
Controle		27,50 \pm 7,29 ^{aA}	22,50 \pm 10,00 ^{aAB}	5,00 \pm 3,06 ^{aB}
<i>Homeopatila 100</i> [®]	34,00	45,00 \pm 12,87 ^{aA}	25,00 \pm 7,91 ^{aAB}	7,50 \pm 3,06 ^{aB}
Total (%)				
Tratamento	Período			
	Inicial	30 dias	60 dias	90 dias
Controle		65,00 \pm 15,00 ^{aA}	60,00 \pm 9,19 ^{aAB}	32,50 \pm 6,37 ^{aB}
<i>Homeopatila 100</i> [®]	85,00	70,00 \pm 12,25 ^{aA}	67,50 \pm 8,48 ^{aA}	27,50 \pm 9,19 ^{aB}

Parasitismo misto: *Trichodina* + monogenoidea. Valores seguidos por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente ($P > 0,05$) entre os diferentes tratamentos pelo teste não paramétrico de *Kruskal-Wallis*. Valores seguidos por letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem significativamente ($P < 0,05$) entre os diferentes períodos pelo teste não paramétrico de *Kruskal-Wallis*.

A gravidade das doenças causadas por protozoários pode variar dependendo do número de parasitos na infestação, do sistema de cultivo, da espécie, tamanho, sexo e estado de saúde dos peixes. *Trichodina* e monogenéticos são os ectoparasitos mais comumente encontrados em peixes. Os casos de infestação intensa ocorrem geralmente, devido a alterações ambientais como eutrofização, oscilações de temperatura e pH, favorecendo assim, a reprodução desses protozoários [48-50].

Quanto à infestação por *Trichodina* e intensidade média por Monogenoidea (Tabela 4), não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos, e a intensidade média por Monogenoidea diminuiu ao longo do tempo para ambos os tratamentos. Os valores observados estão próximos dos valores descritos por Braccini et al. [49], para a mesma área experimental, no período de abril a agosto de 2006.

Tabela 4. Média \pm erro padrão da média das categorias de infestação por *Trichodina* e intensidade média por Monogenoidea, em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), no início e durante o experimento, no tratamento controle e com o núcleo homeopático *Homeopatila 100*[®].

Média Categoria Infestação (<i>Trichodina</i>)				
Tratamento	Período			
	Inicial	30 dias	60 dias	90 dias
Controle		1,59 \pm 0,26 ^{aA}	1,77 \pm 0,26 ^{aA}	1,00 \pm 0,45 ^{aA}
<i>Homeopatila 100</i> [®]	1,72 \pm 0,20	1,90 \pm 0,29 ^{aA}	1,45 \pm 0,17 ^{aA}	1,14 \pm 0,14 ^{aA}
Intensidade média (Monogenoidea)				
Tratamento	Período			
	Inicial	30 dias	60 dias	90 dias
Controle		2,08 \pm 0,31 ^{aA}	1,07 \pm 0,31 ^{aAB}	1,22 \pm 0,10 ^{aB}
<i>Homeopatila 100</i> [®]	4,51	1,94 \pm 0,19 ^{aA}	1,39 \pm 0,26 ^{aAB}	1,10 \pm 0,33 ^{aB}

Categoria de 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*. Valores seguidos por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente ($P > 0,05$) entre os diferentes tratamentos pelo teste não paramétrico de *Kruskal-Wallis*. Valores seguidos por letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem significativamente ($P < 0,05$) entre os diferentes períodos pelo teste não paramétrico de *Kruskal-Wallis*.

A diminuição de infestação por ectoparasitos em ambos os tratamentos ao longo do tempo pode ter relação com o fato de que os peixes foram adquiridos em uma produção comercial da região e encontravam-se estocados em viveiros escavados, e foram transferidos para os tanques-rede no período experimental, passando por um processo de adaptação, e entrando em equilíbrio com o ambiente ao longo dos 91 dias de experimento.

Braccini et al. [49], avaliaram a infestação parasitária em tilápias do Nilo cultivadas em diferentes densidades de estocagem e observaram uma diminuição na infestação parasitária à medida que os peixes foram crescendo, e a menor incidência de ectoparasitos foi observada no período onde as temperaturas são mais amenas, fato relatado também por Vargas et al. [50] e Vargas et al. [51]. O mesmo talvez possa ter ocorrido com o presente estudo, pois durante o período experimental, houve uma redução na temperatura da água, o que é normal para a estação do ano.

Hematologia

Em peixes, as oscilações dos valores hematológicos podem ser influenciadas por diversos fatores biológicos e ambientais, e também por estresse. A variação ocorre não só entre espécies, mas entre indivíduos da mesma espécie, de acordo com as condições fisiológicas dos animais [11, 12].

Tabela 5. Valores médios \pm erro padrão da média dos parâmetros bioquímicos e hematológicos de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), alimentadas com ração contendo núcleo homeopático *Homeopatila 100*[®], cultivadas em tanques-rede.

Parâmetros	Tratamento	
	Controle	<i>Homeopatila 100</i> [®]
<i>Bioquímicos</i>		
Triglicerídeos (mg.dL ⁻¹)	197,21 \pm 14,26	221,62 \pm 22,15
Colesterol total (mg.dL ⁻¹)	117,71 \pm 11,88	106,92 \pm 9,64
Glicose (mg.dL ⁻¹)	54,89 \pm 5,12	43,89 \pm 4,79
Proteína total (g.dL ⁻¹)	3,27 \pm 0,08	3,35 \pm 0,28
<i>Hematológicos</i>		
Eritrócitos (10 ⁶ . μ L ⁻¹)	1,52 \pm 0,05	1,56 \pm 0,05
Hemoglobina (g.dL ⁻¹)	7,95 \pm 0,23	8,07 \pm 0,29
Hematócrito (%)	32,21 \pm 1,01	34,86 \pm 1,09
VCM (fL)	155,99 \pm 4,70	164,10 \pm 4,17
HCM (μ g)	38,49 \pm 1,09	38,18 \pm 1,60
CHCM (g.dL ⁻¹)	24,85 \pm 0,79	23,41 \pm 0,81

VCM = volume corpuscular médio; HCM = hemoglobina corpuscular média; CHCM = concentração de hemoglobina corpuscular média; Teste não paramétrico de *Kruskal-Wallis* (P<0,05).

Não foram observadas diferenças ($P>0,05$) para os parâmetros bioquímicos do sangue das tilápias do Nilo que receberam ou não o produto *Homeopatila 100*[®] (Tabela 5). Segundo Neu et al. [52], os valores de referência para os parâmetros bioquímicos para peixes, ainda não estão totalmente padronizados, apresentando grande variação em tilápias.

O padrão hematológico dos peixes em função da utilização do produto homeopático não foi alterado, estando todos os valores próximos aos observados em outros trabalhos com a espécie, sugerindo-se que os animais apresentaram médias dentro da faixa considerada normal para a espécie [53, 11].

Os tratamentos ofertados não alteraram os valores de leucócitos totais, trombócitos totais e no diferencial de leucócitos, permanecendo dentro da amplitude de variação e aceitos como normais para peixes teleósteos como descrito por Tavares-Dias e Moraes [11].

Com relação ao diferencial de leucócitos não foi observada diferença ($P>0,05$) entre as variáveis analisadas. A maior parcela encontrada nos peixes foi de linfócitos, com valores médios de 89,64% para tratamento controle e 88,00% para tratamento homeopático (Tabela 6). Os linfócitos são as células de maior concentração e variação, encontradas em tilápias, e os monócitos são os menos discrepantes. Os valores encontram-se dentro da faixa de variação para espécie, citadas na literatura e observadas nos mais diversos experimentos [11].

Tabela 6. Valores médios \pm erro padrão da média de leucócitos, trombócitos e diferencial de linfócitos, neutrófilos, monócitos, CGE e LI de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), alimentadas com ração contendo núcleo homeopático *Homeopatila 100*[®], cultivadas em tanques-rede.

Variáveis	Tratamento	
	Controle	<i>Homeopatila 100</i> [®]
Leucócitos (μL^{-1})	46738 \pm 4259,36	40930 \pm 4431,63
Trombócitos (μL^{-1})	33297 \pm 3516,56	33941 \pm 3058,64
Linfócitos (%)	89,64 \pm 1,15	88,00 \pm 0,99
Neutrófilos (%)	4,86 \pm 0,69	6,23 \pm 0,92
Monócitos (%)	1,50 \pm 0,29	1,85 \pm 0,38
CGE (%)	1,14 \pm 0,25	0,77 \pm 0,29
LI (%)	3,29 \pm 0,74	3,15 \pm 0,34

CGE: célula granulocítica especial; LI: leucócitos imaturos. Teste não paramétrico de *Kruskal-Wallis* ($P<0,05$).

Em tilápias do Nilo, o tratamento homeopático com *Homeopatila 100*[®], alterou os níveis de cortisol, glicose e parâmetros hematológicos, como percentual de linfócitos, neutrófilos, eosinófilos e trombócitos, quando comparados com o grupo controle [16]. Tambaquis alimentados durante 60 dias com ração contendo 20 e 60 mL de *Homeopatila 100*[®] tiveram maior hematócrito e maior VCM, enquanto os níveis de proteína plasmática, concentração de hemoglobina, hematócrito, número de eritrócitos e CHCM não foram influenciados pelo tratamento com produto homeopático [14].

Histologia hepática

Em geral, pela avaliação macroscópica dos fígados, independentemente do tratamento, foi possível observar que os mesmos encontravam-se bem desenvolvidos, com superfície lisa, brilhante e coloração vermelha com tendência ao marrom, sem nenhuma evidência da presença de estriações ou lesões esbranquiçadas típicas de esteatose hepática.

O fígado é um órgão hematopoiético, mas destaca-se pela sua capacidade de acumular substâncias de reserva, principalmente sob a forma de glicogênio e lipídios [54], e estas reservas podem influenciar em seu peso e conseqüentemente no índice hepatossomático [55]. As variações no armazenamento de substâncias no fígado dependem da espécie, idade, sexo, condição nutricional, ambiente, período de reprodução e de aclimatação térmica, porém as diferenças observadas no presente estudo não podem ser atribuídas a estas variáveis, pois todos os peixes eram machos revertidos, com peso inicial e final semelhantes, e permaneceram em jejum por mesmo período de tempo.

Apesar de ser observado maior número de hepatócitos e maior porcentagem de glicogênio naqueles que receberam *Homeopatila 100*[®], o índice hepatossomático não apresentou diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos (Tabela 7), diferindo do observado por Braccini et al. [17] e Siena et al. [20] que verificaram menor índice hepatossomático para os peixes que receberam 40mL de *Homeopatila 100*[®]/kg de ração.

Microscopicamente foi observado o parênquima hepático constituído por hepatócitos dispostos em cordões contínuos permeados por sinusóides convergindo para a veia centro-lobular. Apresentando hepatócitos típicos, com núcleos arredondados de posição central, com nucléolo evidente e citoplasma levemente acidófilo e vacuolizado, hepatócitos maiores com núcleos deslocados para a periferia, independentemente do tratamento. As observações sobre o fígado de tilápia conferem com a descrição histológica

de Vicentini et al. [56], permitindo caracterizar a histologia do fígado desses peixes como padrão estrutural para a espécie.

Tabela 7. Valores médios \pm erro padrão da média do índice hepatossomático (IHS), hepatócitos e percentual de ocupação de glicogênio, no tecido hepático de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), alimentadas com ração contendo núcleo homeopático *Homeopatila 100*[®], cultivadas em tanques-rede.

Variáveis	Tratamento	
	Controle	<i>Homeopatila 100</i> [®]
IHS (%)	2,17 \pm 0,08 ^a	2,22 \pm 0,07 ^a
Hepatócitos*	149,31 \pm 1,43 ^b	169,15 \pm 1,48 ^a
Glicogênio (%)*	17,19 \pm 0,73 ^b	23,26 \pm 0,94 ^a

IHS = Índice hepatossomático. * Área útil de contagem: 20914,7228 μ m². Valores seguidos por letras diferentes na mesma linha diferem significativamente entre os diferentes tratamentos pelo Teste *t* (P<0,05).

Os peixes que recebem *Homeopatila 100*[®], apresentou um maior número de hepatócitos, estando de acordo com o observado por Braccini et al. [17] para tilápias, porém Pinheiro et al. [14] observou uma diminuição no número de hepatócitos para tambaquis que receberam 40mL do produto.

Em estudo realizado por Figueiredo-Fernandes et al. [57], pesquisando alterações histopatológicas no fígado de tilápias do Nilo que foram expostas a diferentes concentrações de cobre, observaram uma diminuição do número de hepatócitos nos cortes histológicos conforme o aumento da concentração do metal pesado na água.

Segundo Zelikoff [58], 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. A detoxificação é considerada uma função hepática importante, onde muitas substâncias tóxicas são neutralizadas e posteriormente excretadas na bile [59].

Foi observada maior concentração de glicogênio hepático para os peixes que receberam produto homeopático, corroborando com Braccini et al. [17], porém para tambaquis, Pinheiro et al. [14], não observou diferença na concentração de glicogênio, independente do nível de *Homeopatila 100*[®] incorporado na ração.

O núcleo homeopático utilizado proporcionou 35,3% a mais de reserva de glicogênio quando comparado ao tratamento controle. A maior concentração de glicogênio hepático no tratamento com produto homeopático pode estar relacionada ao maior número de hepatócitos observados no tratamento, pois uma das funções dos hepatócitos é acumular glicogênio [59].

Uma maior concentração de glicogênio hepático representa um fator positivo na criação intensiva de peixes, pois as maiores reservas de glicogênio encontram-se no fígado e nos músculos, e são mobilizadas para atender às necessidades energéticas que aumentam principalmente em condições estressantes, tanto no ambiente natural quanto nas criações intensivas.

Em estudo sobre toxicidade crônica do Roundap em piauços (*Leporinus macrocephalus*), os autores observaram que os peixes expostos ao herbicida apresentam depleção do estoque de glicogênio hepático [60]. Segundo Santos et al. [61], o acúmulo de lipídios e a diminuição de glicogênio hepático prejudicam as atividades metabólicas. Parece existir uma relação inversa entre a toxicidade de substâncias e o número de hepatócitos [57], e isso possivelmente possa caracterizar um efeito hepatoprotetor ao produto homeopático *Homeopatila 100*[®].

Na comparação do índice de lesão dos fígados, calculado com base em Bernet et al. [30], foi encontrada diferença significativa entre os tratamentos, sendo que os fígados dos peixes que receberam o núcleo homeopático *Homeopatila 100*[®] apresentaram menos alterações histopatológicas (Figura 3).

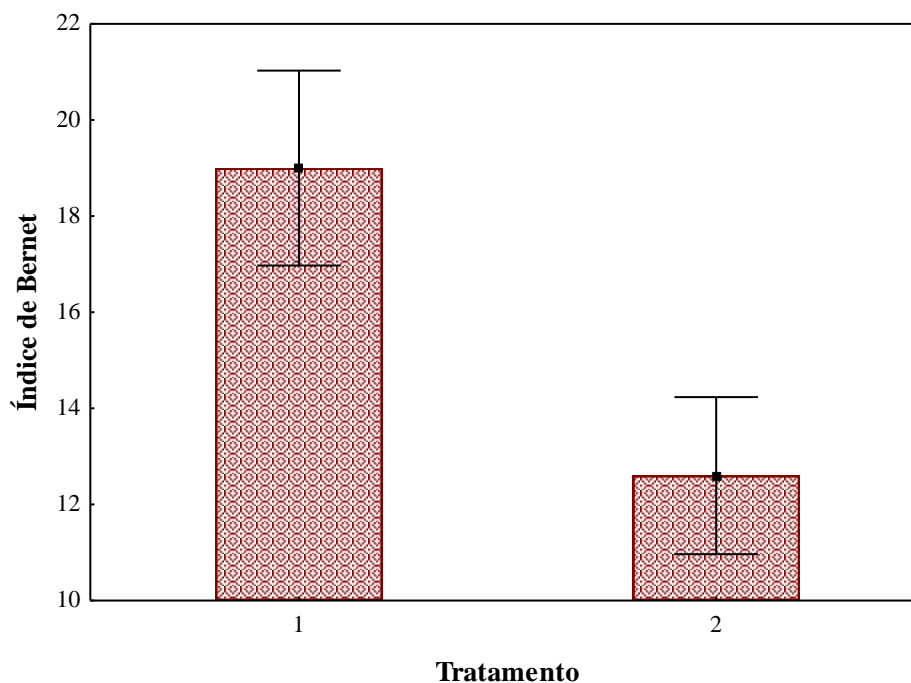


Figura 3. Índice de lesão histopatológica no tecido hepático de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), alimentadas com ração contendo núcleo homeopático *Homeopatila 100*[®], cultivadas em tanques-rede.

As alterações observadas no fígado foram: dilatação de sinusóides, infiltração leucocitária, centro de melanomacrófagos, congestão de sinusóides, estas as alterações

mais prevalentes, sendo observado também a perda do limite celular e vacuolização do citoplasma, porém com menor incidência.

Para verificar a saúde geral dos peixes, pode-se utilizar a classificação de Zimmerli et al. [62], em que os índices histopatológicos são utilizados para classificar a severidade de lesão no tecido hepático: classe 1 (índice < 10), estrutura normal do tecido com leves alterações; classe 2 (índice 10-25), estrutura normal do tecido com moderadas alterações; classe 3 (índice 26-35), tecido hepático com alterações pronunciadas; e classe 4 (índice >35), tecido hepático com alterações severas. Portanto, mesmo havendo diferença estatística entre os dois tratamentos, os índices de ambos, enquadram-se na classe 2, apresentando estrutura normal do tecido com moderadas alterações.

As alterações histopatológicas poderiam ter sido mais expressivas, se os animais recebessem por um período maior de tempo o produto homeopático e se o fornecimento de alimento não tivesse sido restringido (3% da biomassa do tanque), ou seja, se o alimento tivesse sido fornecido à vontade, até a saciedade aparente dos animais, pois haveria uma exigência maior do metabolismo do fígado, podendo ficar mais evidente algumas das alterações histopatológicas. Assim, é de grande importância à realização de mais estudos e diferentes avaliações do fígado em futuros trabalhos, para uma melhor compreensão do efeito do produto homeopático sobre este órgão.

Histologia branquial

Na avaliação morfológica das lamelas branquiais, foram observadas as seguintes alterações: hiperplasia, fusão lamelar e telangectasia, que são as alterações mais encontradas nas brânquias de teleósteos [10].

Segundo Morgan e Tovell [63] qualquer alteração nas brânquias poderá causar um desequilíbrio orgânico, comprometendo a sobrevivência e desempenho dos peixes. A alteração branquial mais comum encontrada em tilápia e na maioria dos peixes teleósteos é a hiperplasia, pois ela se manifesta após a ocorrência de algum agente estressor, servindo como um mecanismo de reação e proteção da resposta inflamatória [10]. A fusão lamelar funciona como um mecanismo de defesa, diminuindo a área de superfície da brânquia ou aumentando a barreira de difusão ao agente poluente ou estressor, porém a maior dificuldade respiratória pode induzir à vasodilatação, podendo levar ao aparecimento de edemas e descolamento do epitélio branquial [64]. A telangectasia se caracteriza pela

congestão sanguínea com desintegração das estruturas de suporte e o extravasamento do sangue para o interior das lamelas branquiais [65].

Apesar da presença de alterações histológicas branquiais, não foram observadas diferenças significativas ($P>0,05$) (Tabela 8) entre os tratamentos, corroborando com os resultados observados por Siena et al. [20], e discordando com o observado por Braccini et al. [17], que verificaram menores valores para as alterações branquiais para tilápias que receberam 40mL de *Homeopatila 100*[®]/kg de ração. O grau das alterações observadas ficou entre alterações leves à alterações moderadas e pontuais, caracterizando um bom manejo e boa qualidade de água, no período experimental.

Tabela 8. Valores médios \pm erro padrão da média das alterações histológicas na análise das brânquias de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), alimentadas com ração contendo núcleo homeopático *Homeopatila 100*[®], cultivadas em tanques-rede, avaliadas em Valor Médio de Alteração (V. M. A), pelo método de coloração Hematoxilina-Eosina (HE).

Variáveis	Tratamento	
	Controle	<i>Homeopatila 100</i> [®]
Hiperplasia	2,33 \pm 0,09	2,22 \pm 0,12
Fusão lamelar	1,41 \pm 0,22	1,15 \pm 0,21
Telangectasia	0,93 \pm 0,08	0,74 \pm 0,08

V.M.A.: Valor Médio de alteração, medida semiquantitativa, variando de grau 0 a 3. Grau 0 = nenhuma alteração histológica; Grau 1 = alterações leves; Grau 2 = alterações moderadas e pontuais; Grau 3 = alterações severas e extensas. *Kruskal-Wallis* ($P<0,05$).

Os resultados das análises de frequência na produção de muco ácido e neutro nas diferentes áreas e quantidade total de células mucosas nos filamentos branquiais de tilápia do Nilo não foram influenciados ($P>0,05$) pelo uso do produto homeopático, apresentando-se distribuídas de forma uniforme (Tabela 9).

As células caliciformes são responsáveis pela secreção do muco que serve de proteção ou defesa da estrutura branquial [66], sua frequência pode variar nas diferentes regiões das brânquias [67]. Porém, Çinar et al. [68], observaram distribuição de forma uniforme nos arcos branquiais, ao avaliarem diferentes técnicas histoquímicas através de reações de coloração para a caracterização de glicoproteínas secretadas de muco neutro e ácido no segundo arco branquial de carpa capim (*Cyprinus carpio*).

Braccini et al. [17] observou menor número de células mucinas ácidas e neutras para o tratamento que recebeu produto homeopático, e com porcentagens de células mucinas ácidas superiores as observadas no presente experimento, e conseqüentemente porcentagens inferiores na produção de células mucina neutras.

Reis et al. [69] ao avaliarem as alterações do epitélio branquial e das lamelas de tilápias, causadas por mudanças do ambiente aquático em tanques de cultivo intensivo, 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. As mucinas neutras são mais densas que as mucinas ácidas, promovendo maior proteção e lubrificação das células epiteliais branquiais em ambientes contendo substâncias abrasivas, tóxicas ou irritantes [70].

Tabela 9. Valores médios \pm erro padrão da média da porcentagem de células mucosas produtoras de mucinas ácidas e de mucinas neutras, presentes na região apical, intermediária e basal de filamentos branquiais de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), alimentadas com ração contendo núcleo homeopático *Homeopatila 100*[®], cultivadas em tanques-rede, evidenciadas pela técnica histoquímica alcian Bleu (pH 2,5) (PAS).

Posição	Ácidas (%)	
	Tratamento	
	Controle	<i>Homeopatila 100</i> [®]
Apical	49,45 \pm 3,27	49,94 \pm 3,78
Intermediária	51,32 \pm 2,78	51,27 \pm 3,86
Basal	49,63 \pm 4,21	50,59 \pm 4,22
Total	50,13 \pm 1,89	50,60 \pm 2,15
Posição	Neutras (%)	
	Tratamento	
	Controle	<i>Homeopatila 100</i> [®]
Apical	50,55 \pm 3,27	50,07 \pm 3,78
Intermediária	48,68 \pm 2,78	48,74 \pm 3,86
Basal	50,37 \pm 4,21	49,41 \pm 4,22
Total	49,87 \pm 1,89	49,40 \pm 2,15
Quantificação total das células produtoras de muco ácido e neutro		
Total	2595,84 \pm 189,21	2636,84 \pm 141,90

Teste de Tukey (P>0,05).

Segundo Breseguelo et al. [71], que ao analisar a produção de mucinas em brânquias de peixe guaru (*Poecilia vivipara*), constataram que alterações do epitélio branquial podem indicar uma adaptação ao meio para o retorno a homeostasia, caracterizando mais uma proteção às superfícies teciduais.

De maneira geral, observou-se que o uso do *Homeopatila 100*[®] não apresentou efeito sobre a maioria dos parâmetros avaliados, exceto para histologia hepática. Um fator que pode ter contribuído para a similaridade observada entre os dados, poderia ser a falta de condições estressantes, de forma a forçar os peixes a reagirem, alterando seu estado de homeostase, pois neste experimento a ração fornecida atendia as exigências da espécie, a qualidade de água do local era ideal para o cultivo de tilápia e a densidade de estocagem utilizada, é considerada moderada, com uma média final de aproximadamente 43,4 kg/m³, já em cultivos comerciais a estocagem geralmente é superior a 100 kg/m³. Outro fator, pode ser que o nível do núcleo homeopático testado seja incipiente neste meio de cultivo e para um período tão longo, podendo talvez ser necessário níveis diferenciados entre as várias fases de crescimento animal.

Informações relacionadas ao uso de produtos homeopáticos em peixes ainda são escassos, necessitando de mais pesquisas, principalmente, que reproduzam a realidade dos sistemas de cultivo da cadeia produtiva de tilápias.

Conclusão

Conclui-se que o núcleo homeopático *Homeopatila 100*[®] na concentração de 40 mL/kg de ração, apresentou resultados significativos na histologia hepática, com maior número de hepatócitos e maior concentração de glicogênio por área, fator positivo para o cultivo intensivo de peixes, sem interferir no desempenho zootécnico e saúde das tilápias.

Referências bibliográficas

- [1] FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations, “The State of World Fisheries and Aquaculture”, Rome, 2014.
- [2] H. Massago, N. Castagnolli, E. B. Malheiros, T. C. R. D. Kiberstein, M. A. Santos e R. P. Ribeiro, “Crescimento de quatro linhagens de tilápia *Oreochromis niloticus*”, *Ciências Agrárias e Ambientais*, vol. 8, no. 4, pp. 397-403, 2010.
- [3] G. C. Veras, L. D. S. Murgas, M. G. Zangeronino, P.V. Rosa, J. A. S. Leon and A. L. Salaro, “Photoperiod on physiological parameters related to stress in Nile tilapia fingerlings”, *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, vol. 65, pp. 1434-1440, 2013.
- [4] S. G. O. Camargo and J. L. O. F. Pouey, “Aqüicultura: um mercado em expansão”, *Revista Brasileira de Agrociência*, vol. 11, no. 4, pp. 393-396, 2005.

- [5] S. M. Benez, S. Boericke, N. Cairo, P. H. Jacobs, G. MacLeod, F. Schroyens, A. Tiefenthaler, B. Vijnovsky and H. G. Wolff, “Manual de homeopatia veterinária: indicações clínicas e patológicas: teoria e prática”, Ribeirão Preto, 2004.
- [6] J. M. Rezende, “Caderno de Homeopatia”, Viçosa, 2009.
- [7] J. C. O. Malta, A. L. S. Gomes, S. M. S. Andrade and A. M. B. Varella, “Infestações maciças por acantocéfalos, *Neoechinorhynchus buttnerae* Colvan, 1956, (Eoacanthocephala: Neoechinorhynchidae) em tambaquis jovens, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) cultivados na Amazônia central”, *Acta Amazonica*, vol. 31, no. 1, pp. 133-143, 2001.
- [8] E. D. Carvalho, R. J. Silva, I. P. Ramos, J. V. K. Paes, H. Brandão, A. B. Nobile, A. A. Acosta and G. S. David, “Ecological features of large neotropical reservoirs related to health of cage reared fish”, in *Health and Environment in Aquaculture*, E. D. Carvalho, R. J. Silva and G. S. David, pp. 361-382, Rijeka: Intech Open Science, 2012.
- [9] C. A. Honorato, M. Assano, C. Cruz, D. J. Carneiro and M. R. F. Machado “Histologia do intestino de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes fontes de proteína”, *Nucleus Animalium*, vol. 5, no. 1, pp. 85-92, 2013.
- [10] F. Cavichiolo, “Histologia: ferramenta relevante para estudos em peixes cultivados”, in *Manejo e sanidade de peixes em cultivo*, M. Tavares-Dias, pp. 602-624, Macapá: Embrapa Amapá, 2009.
- [11] M. Tavares-Dias e F. R. Moraes, *Hematologia de peixes teleósteos*. Ribeirão Preto: Willimpress Complexo Gráfico, 144p, 2004.
- [12] M. J. Ranzani-Paiva, S. B. Pádua, M. Tavares-Dias e M. Egami, “Métodos para análise hematológica em peixes”, Maringá, 2013.
- [13] M. M. Fuzinato, D. P. Lima, A. P. Andretto, L. A. Menezes, A. H. P. Souza, M. L. S. Franco, N. C. Steinmacher, S. N. T. G. Mendonça and L. Vargas, “Influence of a homeopathic product on performance and on quality flour and cookie (Grissini) of Nile tilápia”. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 9, no. 27, pp. 675-683, 2015.
- [14] D. A. Pinheiro, B. A. S. Cavero, L. Vargas, G. L. Braccini, E. T. O. Yoshioka, M. S. B. Oliveira and M. Tavares-Dias, “Performance, parasitic infections, hematology and hepatic histology of *Colossoma macropomum* (tambaqui) fed on homeopathic product”, *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 9, no. 4, pp. 82-90, 2015.
- [15] A. P. Andretto; M. M. Fuzinato, E. G. Bonafe, G. L. Braccini, R. H. Mori, R. R. Pereira, C. A. Oliveira, J. V. Visentainer and L. Vargas, “Effect of na homeopatic complexo n fatty acids in muscle and performance of the Nile tilápia (*Oreochromis niloticus*)”, *Homeopathy*, vol. 103, pp. 178-185, 2014.

- [16] L. S. Merlini, L. Vargas, R. Piau Jr, R. P. Ribeiro and N. B. Merlini, "Effects of a homeopathic complex on the performance and cortisol levels in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)", *Homeopathy*, vol. 103, pp. 139-142, 2014.
- [17] G. L. Braccini, M. R. M. Natali, R. P. Ribeiro, R. H. Mori, R. Riggo, C. A. L. Oliveira, J. F. H. Hildebrandt and L. Vargas, "Morpho-functional response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to a homeopathic complex", *Homeopathy*, vol. 102, pp. 233-241, 2013.
- [18] R. Piau Jr, L. Vargas, M. Valentim-Zabott, R. P. Ribeiro, A. V. Silva and L. K. Otutumi, "Morphometry of White muscle fibers and performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings treated with methyltestosterone or a homeopathic complex", *Homeopathy*, vol. 101, pp. 154-158, 2012.
- [19] B. G. Santos, "Uso do medicamento homeopático *sulphur* no controle do *amyloodinium sp. brown* (1931) em bijupirá (*rachycentron canadum* linnaeus, 1766)". Dissertação, 2011.
- [20] C. E. Siena, M. R. M. Natali, G. L. Braccini, A. C. de Oliveira, R. P. Ribeiro e L. Vargas, "Efeito do núcleo homeopático *homeopatila 100®* na eficiência produtiva em alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)", *Semina: Ciências Agrárias*, vol. 31, no. 4, pp. 985-994, 2010.
- [21] M. Valentim-zabott, L. Vargas, R. P. Ribeiro, R. Piau Jr, M. B. A. Torres, M. Rönnau and J. C. Souza, "Effects of a homeopathic complex in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) on performance, sexual proportion and histology", *Homeopathy*, vol. 97, no. 4, pp. 190-195, 2008.
- [22] M. K. Stoskopf, "Fish medicine", Philadelphia, 1993.
- [23] W. M. Furuya, S. P. Souza, V. R. B. Furuya, C. Hayashi and R. P. Ribeiro, "Dietas peletizada e extrusada para machos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) na fase de terminação", *Ciência Rural*, vol. 28, no. 3, pp. 483-487, 1998.
- [24] A. O. Bush, K. D. Lafferty, J. M. Lotz and A. W. Shostak, "Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited". *Journal of Parasitology*, v.83, no. 4, pp. 575-583, 1997.
- [25] H. C. K. Madsen, K. Buchmann and S. Møllergaard, "Treatment of trichodiniasis in eel (*Anguilla anguilla*) reared in recirculation systems in Denmark: alternatives to formaldehyde", *Aquaculture*, vol. 186, no. 3, pp. 221-231, 2000.
- [26] H. B. Collier, "The standardization of blood haemoglobin determinations", *Canadian Medical Association Journal*, vol. 50, pp. 550-552, 1944.
- [27] P. B. Goldenfarb, F. P. Bowyer, E. Hall and E. E. Brosius, "Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determinations", *American Journal Clinical of Pathology*, vol. 56, pp. 35-39, 1971.

- [28] G. Rosenfeld, “Corante pancrômico para hematologia e citologia clínica. Nova combinação dos componentes do May-Grünwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido”, *Memórias do Instituto Butantan*, vol. 20, pp. 329-334, 1947.
- [29] M. L. Martins, F. Pilarsky, M. E. Onaka, T. D. Nomura, J. Fenerick, K. Ribeiro, D. Makoto, Y. Myiazaki, P. M. Castro and E. B. Malheiros, “Hematologia e resposta inflamatória aguda em *O. niloticus* submetidas aos estímulos único e consecutivos de estresse de captura”, *Boletim do Instituto de Pesca*, vol. 30, pp. 71-80, 2004.
- [30] D. Bernet, “Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution”, *Journal of Fish Diseases*, vol. 22, pp. 25-34, 1999.
- [31] O. A. Behmer, E. M. C. Tolosa and A.G. Freitas Neto, “Manual de técnicas para histologia normal e patológica”, São Paulo, 1976.
- [32] W. Beçak and J. Paulete, “Técnicas de citologia e histologia”, Rio de Janeiro, 1976.
- [33] J. Schwaiger, R. Wanke, S. Adam, M. Pawert, W. Honnen and R. Triebkorn, “The use of histopathological indicators to evaluate contaminant related stress in fish”, *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*, vol. 6, no. 1, pp.75-86, 1997.
- [34] J. Mallatt, “Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review”, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, vol. 42, no. 4, pp. 630-648, 1985.
- [35] 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, 2010, Disponível em: <http://library.med.utah.edu/WebPath/HISTHTML/MANUALS/PAB.PDF>
- [36] R Core Team, “R: A language and environment for statistical computing”. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, URL <https://www.R-project.org/>, 2015.
- [37] C. E. BOYD, “Water quality in ponds for aquaculture”, Thailand, 1996.
- [38] A. El-Sayed: "Tilapia culture". *CABI Pub.*, Wallingford, UK , 2006.
- [39] Conselho Nacional de Meio Ambiente. *Resolução Conama nº 357, de 17 de março de 2005*. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e os padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>.
- [40] G. Hein, M. L. V. Parizotto and R. H. Brianese, “Tilápia, referência modular para o oeste do Paraná. Agricultor familiar, semi-intensivo, tanques escavados - Uma atividade que agrega renda à propriedade em áreas marginais”, EMATER, Toledo, 2004.

- [41] G. C. Pavanelli, J. C. Eiras e R. M. Takemoto, “Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento”, Maringá, 2008.
- [42] M. L. Martins, E. M. Onaka, F. R. Moraes and R. Y. Fujimoto, “Mebendazole treatment against *Anacanthorus penilabiatu*s gill parasite of cultivated *Piaractus mesopotamicus* in Brazil: efficacy and hematology”, *Acta Parasitologica*, vol. 46, no. 4, pp. 332-336, 2001.
- [43] H. H. Neves, M. J. Hotzel, L. A. Honorato, C. E. M. Fonseca, M. G. F. Mata e J. B. Silva, “Controle de verminose gastrintestinais em caprinos utilizando preparados homeopáticos”, *Revista Brasileira de Agroecologia*, vol. 7, pp. 45-151, 2012.
- [44] L. M. Costa-Júnior and J. Furlong, “Efficiency of Sulphur in garlic extract and non-sulphur homeopathy in the control of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*”, *Medical and Veterinary Entomology*, vol. 25, pp. 7-11, 2011.
- [45] R. D. Signoretti, C. J. Veríssimo, F. H. M. Souza, E. M. Oliveira e V. Dib, “Aspectos produtivos e sanitários de vacas mestiças leiteira tratadas com produtos homeopáticos”, *Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo*, vol. 77, no. 4, pp. 625-633, 2010.
- [46] Z. C. Gazim, F. B. P. Ferreira, A. V. Silva, K. C. Bolognese, E. Merlin, V. Messa, R. A. Jesus, C. A. Coutinho and L. C. M. Silva, “Efficiency of tick biotherapeutic on the control of infestation by *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in Dutch dairy cows”, *International Journal High Dilution Research*, pp. 156- 164, 2010.
- [47] N. L. Silva, J. L. Moletta, A. P. Minho, L. F. Filippesen, “Use of biotherapeutic in the control of natural infestation by *Boophilus microplus*: pilot study”, *International Journal of High Dilution Research*, vol.7, no. 22, pp.35-37, 2008.
- [48] H. Ogut and H. W. Palm, “Seasonal dynamics of *Trichodina* spp. on whiting (*Merlangius merlangus*) in relation to organic pollution on the eastern Black Sea coast of Turkey”, *Parasitol Research*, vol. 96, pp. 149-153, 2005.
- [49] G. L. Braccini, L. Vargas, R. P. Ribeiro, L. A. Filho e M. Digmayer, “Ectoparasitos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivados em tanques-rede nos Rios do Corvo e Guairacá, Paraná, Brasil”, *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, vol. 17, Supl. 1, pp. 24-29, 2008.
- [50] L. Vargas, J. A. Povh, R. P. Ribeiro, H. L. M. Moreira, B. T. R. Rocha Loures, M. S. Maroneze, “Efeito do tratamento com cloreto de sódio e formalina na ocorrência de ectoparasitas em alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) revertido sexualmente”, *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoológicas da Unipar*, vol. 6, no. 1, pp. 39-48, 2003.
- [51] L. Vargas, R. H. S. Faria, R. P. Ribeiro, L. S. Merlini, H. L. M. Moreira e J. C. Tonitato, “Ocorrência sazonal de ectoparasitos em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em um “pesque-pague” de Umuarama, Paraná”, *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoológicas da Unipar*, vol. 6, no. 1, pp. 61-66, 2003.

- [52] D. H. Neu, W. M. Furuya, W. R. Boscolo, F. R. Potrich, T. A. Lui and A. Feiden, "Glycerol inclusion in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles", *Aquaculture Nutrition*, vol. 19, pp. 211-217, 2013.
- [53] T. C. Hrubec, J. L. Cardinale and S. A. Smith, "Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured tilapia (*Oreochromis hybrid*)", *Veterinary Clinical Pathology*, vol. 29, pp. 7-12, 2000.
- [54] H. W. Ferguson, "Systemic pathology of fish: a text and atlas of normal tissues in teleosts and their responses in disease", London: Scotian, 2006.
- [55] M. C. Barbosa, A. Jatobá and F.N. Vieira, "Cultivation of juvenile fat snook (*Centropomus parallelus* Poey, 1860) fed probiotic in laboratory conditions", *Brazilian Archives of Biology Technology*, vol. 54, pp. 795-801, 2011.
- [56] C. A. Vicentini, I. B. Franceschini-Vicentini, M. T. S. Bombonato, B. Bertolucci, S. G. Lima and A. S. Santos, "Morphological study of the liver in teleost *Oreochromis niloticus*", *International Journal of Morphology*, vol. 23, pp. 211-216, 2005.
- [57] A. Figueiredo-Fernandes, J. V. Ferreira-Cardoso, S. Garcia-Santos, S. M. Monteiro, J. Carrola, P. Matos and A. Fontainhas-Fernandes, "Histopathological changes in liver and gill epithelium of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed to waterborne copper", *Pesquisa Veterinária Brasileira*, vol. 27, no. 3, pp. 103-109, 2007.
- [58] J.T. Zelikoff, "Biomarkers of immunotoxicity in fish and other non-mammalian sentinel species: predictive value for mammals?" *Toxicology*, vol. 129, no. 1, pp. 63-71, 1998.
- [59] L. C. Junqueira and J. Carneiro, "Histologia Básica", Rio de Janeiro, 2011.
- [60] A. C. L. Albinati, E. L. T. Moreira, R. C. B. Albinati, J. V. Carvalho, A. D. De Lira, G. B. SANTOS and L. V. O. Vidal, "Biomarcadores histológicos - toxicidade crônica pelo Roundup em piauçu (*Leporinus macrocephalus*)", *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, vol. 61, no. 3, pp. 621-627, 2009.
- [61] A. A. Santos, M. J. T. Ranzani-Paiva, N. N. Felizardo e E. de L. Rodrigues, "Análise histopatológica de fígado de tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus*, criadas em tanque-rede na represa de Guarapiranga, São Paulo, SP, Brasil", *Boletim do Instituto de Pesca*, vol. 30, pp.141-145, 2004.
- [62] S. Zimmerli, D. Bernet, P. Burkhardt-Holm, H. Schmidt-Posthaus, P. Vonlanthen, T. Wahli, H. Segner, "Assessment of fish health status in four Swiss rivers showing a decline in brown trout catches", *Aquatic Sciences*, vol. 69, pp. 11-25, 2007.
- [63] M. Morgan and P. W. A. Tovell, "The structure of the gill of the trout *Salmo gairdneri* (Richardson)", *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie*, vol. 142, pp. 147-162, 1973.

- [64] B. Erkmen and D. Kolankaya, "Effects of water quality on epithelial morphology in the gill of *Capoeta tinca* living in two tributaries of Kizilirmak River, Turkey", *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 64, pp. 418-425, 2000.
- [65] F. Genten, E. Terwinghe and A. Danguy, "Cellular components of blood", in *Atlas of fish histology*, F. Genten, E. Terwinghe and A. Danguy, pp. 47-48, Science Publishers, Enfield, 2009.
- [66] R. J. Roberts, "Fish Pathology", Wiley & Sons, 2012.
- [67] N. Srivastava, U. Kumari, A. Kumari Rai, S. Mittal, A. K. Mittal, "Histochemical analysis of glycoproteins in the gill epithelium of an Indian major carp, *Cirrhinus mrigala*", *Acta Histochemica*, vol. 114, pp. 626-635, 2012.
- [68] K. Çınar, N. Senol and M. Özen, "Histochemical characterization of glycoproteins in the gills of the carp (*Cyprinus carpio*)", *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, vol. 55, pp. 61-64, 2008.
- [69] A. B. Reis, D. M. G. Sant'ana, J. F. Azevedo, L. S. Merlini e E. J. A. Araújo "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*, vol. 29, pp. 303-311, 2009.
- [70] C. S. Shiraishi, J. F. Azevedo, A. V. Silva, D. M. G. Sant'Ana e E. J. A. Araújo, "Morphometric analysis of the intestinal wall and the dynamic of mucins secreted in the chicken ileum infected with *Toxoplasma gondii*", *Ciência Rural*, vol. 39, pp. 2146-2153, 2009.
- [71] L. Breseghelo, M. P. Cardoso, R. Borges-de-Oliveira, M. F. Costa, J. C. B. Barreto, S. M. T. Sabóia-Morais and A. T. Yamada, "Effects of sodium fluoride in gill epithelium of Guppy fish (*Poecilia vivipara*)". *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, vol. 46, pp. 685-695, 2004.

APÊNDICE I

Revista: Biomed Research International

About this Journal

BioMed Research International is a peer-reviewed, open access journal that publishes original research articles as well as review articles in several areas of life sciences. The journal's Editorial Board is divided into the 55 subject areas included within the journal's scope.

BioMed Research International was founded in 2001 by Professor Abdelali Haoudi who served as the Editor-in-Chief of the journal between 2001 and 2008.

The most recent Impact Factor for BioMed Research International is 1.579 according to 2014 Journal Citation Reports released by Thomson Reuters in 2015.

BioMed Research International currently has an acceptance rate of 31%. The average time between submission and final decision is 52 days and the average time between acceptance and publication is 27 days.

Author Guidelines

Submission

Manuscripts should be submitted by one of the authors of the manuscript through the online Manuscript Tracking System. Regardless of the source of the word-processing tool, only electronic PDF (.pdf) or Word (.doc, .docx, .rtf) files can be submitted through the MTS. There is no page limit. Only online submissions are accepted to facilitate rapid publication and minimize administrative costs. Submissions by anyone other than one of the authors will not be accepted. The submitting author takes responsibility for the paper during submission and peer review. If for some technical reason submission through the MTS is not possible, the author can contact bmri@hindawi.com for support.

Terms of Submission

Papers must be submitted on the understanding that they have not been published elsewhere and are not currently under consideration by another journal published by Hindawi or any other publisher. The submitting author is responsible for ensuring that the article's publication has been approved by all the other coauthors. It is also the authors' responsibility to ensure that the articles emanating from a particular institution are submitted with the approval of the necessary institution. Only an acknowledgment from the editorial office officially establishes the date of receipt. Further correspondence and proofs will be sent to the author(s) before publication unless otherwise indicated. It is a condition of submission of a paper that the authors permit editing of the paper for readability. All inquiries concerning the publication of accepted papers should be addressed to bmri@hindawi.com.

Peer Review

All manuscripts are subject to peer review and are expected to meet standards of academic excellence. If approved by the editor, submissions will be considered by peer-reviewers, whose identities will remain anonymous to the authors.

Microarray Data Submission

Before publication, the microarray data should be deposited in an appropriate database such as Gene Expression Omnibus (GEO) or Array Express, and an entry name or accession number must be included in the manuscript prior to its publication. Microarray data should be MIAME compliant. During the reviewing process, submitting authors are committed to provide the editor and the reviewers handling his/her manuscript with the login information by which they can access this information in the database.

Concurrent Submissions

In order to ensure sufficient diversity within the authorship of the journal, authors will be limited to having two manuscripts under review at any point in time. If an author already has two manuscripts under review in the journal, he or she will need to wait until the review process of at least one of these manuscripts is complete before submitting another

manuscript for consideration. This policy does not apply to Editorials or other non-peer reviewed manuscript types.

Article Processing Charges

BioMed Research International is an open access journal. Open access charges allow publishers to make the published material available for free to all interested online visitors. For more details about the article processing charges of BioMed Research International, please visit the [Article Processing Charges](#) information page.

Units of Measurement

Units of measurement should be presented simply and concisely using System International (SI) units.

Title and Authorship Information

The following information should be included

- Paper title
- Full author names
- Full institutional mailing addresses
- Email addresses

Abstract

The manuscript should contain an abstract. The abstract should be self-contained and citation-free and should not exceed 200 words.

Introduction

This section should be succinct, with no subheadings.

Materials and Methods

This part should contain sufficient detail so that all procedures can be repeated. It can be divided into subsections if several methods are described.

Results and Discussion

This section may each be divided by subheadings or may be combined.

Conclusions

This should clearly explain the main conclusions of the work highlighting its importance and relevance.

Acknowledgments

All acknowledgments (if any) should be included at the very end of the paper before the references and may include supporting grants, presentations, and so forth.

References

Authors are responsible for ensuring that the information in each reference is complete and accurate. All references must be numbered consecutively and citations of references in text should be identified using numbers in square brackets (e.g., “as discussed by Smith [9]”; “as discussed elsewhere [9, 10]”). All references should be cited within the text; otherwise, these references will be automatically removed.

Preparation of Figures

Upon submission of an article, authors are supposed to include all figures and tables in the PDF file of the manuscript. Figures and tables should not be submitted in separate files. If the article is accepted, authors will be asked to provide the source files of the figures. Each figure should be supplied in a separate electronic file. All figures should be cited in the paper in a consecutive order. Figures should be supplied in either vector art formats (Illustrator, EPS, WMF, FreeHand, CorelDraw, PowerPoint, Excel, etc.) or bitmap formats (Photoshop, TIFF, GIF, JPEG, etc.). Bitmap images should be of 300 dpi resolution at least unless the resolution is intentionally set to a lower level for scientific reasons. If a bitmap image has labels, the image and labels should be embedded in separate layers.

Preparation of Tables

Tables should be cited consecutively in the text. Every table must have a descriptive title and if numerical measurements are given, the units should be included in the column heading. Vertical rules should not be used.

Proofs

Corrected proofs must be returned to the publisher within 2-3 days of receipt. The publisher will do everything possible to ensure prompt publication. It will therefore be appreciated if the manuscripts and figures conform from the outset to the style of the journal.

Copyright

Open Access authors retain the copyrights of their papers, and all open access articles are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution and reproduction in any medium, provided that the original work is properly cited.

The use of general descriptive names, trade names, trademarks, and so forth in this publication, even if not specifically identified, does not imply that these names are not protected by the relevant laws and regulations.

While the advice and information in this journal are believed to be true and accurate on the date of its going to press, neither the authors, the editors, nor the publisher can accept any legal responsibility for any errors or omissions that may be made. The publisher makes no warranty, express or implied, with respect to the material contained herein.

Disclosure Policy

A competing interest exists when professional judgment concerning the validity of research is influenced by a secondary interest, such as financial gain. We require that our authors reveal any possible conflict of interest in their submitted manuscripts.

If there is no conflict of interest, authors should state that “The author(s) declare(s) that there is no conflict of interest regarding the publication of this paper.”

Clinical Study

When publishing clinical studies, Hindawi aims to comply with the recommendations of the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) on trials registration. Therefore, authors are requested to register the clinical trial presented in the manuscript in a public trials registry and include the trial registration number at the end of the abstract. Trials initiated after July 1, 2005 must be registered prospectively before patient recruitment has begun. For trials initiated before July 1, 2005, the trial must be registered before submission.

Ethical Guidelines

In any studies that involve experiments on human or animal subjects, the following ethical guidelines must be observed. For any experiments on humans, all work must be conducted in accordance with the Declaration of Helsinki (1964). Papers describing experimental work which carries a risk of harm to human subjects must include a statement that the experiment was conducted with the human subjects' understanding and consent, as well as a statement that the responsible Ethical Committee has approved the experiments. In the case of any animal experiments, the authors must provide a full description of any anesthetic or surgical procedure used, as well as evidence that all possible steps were taken to avoid animal suffering at each stage of the experiment.

