

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

AVALIAÇÃO DE *Homeopatila RS*, EM TILÁPIAS DO NILO, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758), FASE DE LARVICULTURA, NO DESENVOLVIMENTO, PROPORÇÃO SEXUAL E HISTOLOGIA DE BRÂNQUIAS E FÍGADO.

Autora: Marivone Valentim Zabott
Orientador: Prof. Dr. Lauro Vargas
Co-orientador: Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro

“Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTORA EM ZOOTECNIA, no Curso de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração Produção Animal.”

MARINGÁ
Estado do Paraná
Novembro-2006

Deus é nosso refúgio e a nossa força, socorro que não falta em tempos de aflição.

Por isso, não teremos medo, ainda que a terra seja abalada e as montanhas caiam nas profundezas do oceano.

Não teremos medo, ainda que os mares se agitem e rujam e os montes tremam violentamente.

Há um rio que alegra a cidade de Deus, a casa sagrada do Altíssimo.

Deus vive nessa cidade, e ela nunca será destruída; de manhã bem cedo, Deus a ajudará.

As nações ficam apavoradas, e os reinos são abalados.

Deus troveja e a terra se desfaz.

O Senhor Todo-Poderoso está do nosso lado; o Deus de Jacó é o nosso refúgio.

Venham, vejam o que o Senhor tem feito!

Vejam que coisas espantosas ele tem feito na terra!

Ele acaba com as guerras no mundo inteiro; quebra os arcos, despedaça as lanças e destrói os escudos de fogo.

Ele diz: “Parem de lutar e fiquem sabendo que eu sou Deus. Eu sou o rei das nações, o Rei do mundo inteiro”.

O Senhor Todo-Poderoso está do nosso lado; o Deus de Jacó é o nosso refúgio.

Salmo 46

À minha amada família dedico!...

AGRADECIMENTOS

A Deus, por nos ter enviado seu filho, Jesus, lâmpada para nossos pés e luz para nossos caminhos e, por ter possibilitado encontrar na minha caminhada, as pessoas e as oportunidades necessárias à realização deste trabalho.

Aos animais pelo seu inestimável valor e servidão ao homem.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Estadual de Maringá.

Ao querido professor Dr. Lauro Vargas, pela compreensão e amizade na orientação da tese. Pela dedicação pessoal e estímulo na realização deste trabalho.

Ao professor Dr. Ricardo Pereira Ribeiro, pelo auxílio como co-orientador dos trabalhos executados.

A todos colegas de curso, pela amizade, apoio e demonstração de companheirismo.

Aos alunos do Colégio Agrícola Oeste do Paraná e ao professor Alcyr Ferreira Braga, pela colaboração voluntária e dedicada na realização dos pilotos deste experimento.

Aos queridos amigos: Simone, Eliane, Jovanir, Walfrido, Marise, Ranulfo, Merlini, Cleuza, Regina, Elis Regina e Luciana, pela mão estendida, sempre pronta a colaborar e apoiar em todos os momentos da realização deste trabalho e na nossa convivência pessoal.

As companheiras e amigas de pensão, Márcia, Mariana, Fabiane, Ana Cristina e Tamara, pelo carinho e solidariedade com que “nos” acolheram em suas vidas.

Ao amigo Ari Sgarbi, pelo fornecimento dos animais, ração e pelos valorosos conselhos muito importantes para execução deste trabalho.

Ao professor Dr. Júlio César de Souza, pela amizade e apoio na realização das análises estatísticas.

Ao técnico Milton, estagiária Luzia e a professora Dra. Márcia Bersame de Araújo, do Laboratório de Patologia da UFPR, pelo auxílio na realização das análises histológicas.

Aos empresários Mário Real e Cláudio Real, da REAL H, pelo suporte técnico e fornecimento dos produtos homeopáticos.

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

BIOGRAFIA DO AUTOR

MARIVONE VALENTIM ZABOTT, filha de Lotar Valentim e Nair de Lourdes Guerreiro, nasceu em Clevelândia, Estado do Paraná, no dia 18 de novembro de 1967.

Em dezembro de 1989, concluiu o curso de Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Paraná.

Em março de 1990 foi contratada pela Fazenda CAMPOLAT (Campo Largo-PR), onde exerceu a função de responsável técnico até janeiro de 1992, sendo posteriormente contratada como responsável técnico da Empresa LATCO-Industrial de Laticínios (Cruzeiro do Oeste-PR), até setembro de 1996.

Em outubro de 1996, iniciou na função de professora efetiva do Departamento de Patologia Básica da Universidade Federal do Paraná, com lotação no Campus de Palotina.

Em maio de 2001, recebeu o título de Mestre no programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração Produção Animal, da Universidade Estadual de Maringá.

Em março de 2002, assumiu a direção do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná -Campus de Palotina.

Em março de 2003, iniciou o curso de pós-graduação em Zootecnia, em nível de Doutorado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
I INTRODUÇÃO GERAL.....	01
II REVISÃO DE LITERATURA.....	03
III REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	18
IV OBJETIVOS GERAIS.....	22
V DESENVOLVIMENTO, PROPORÇÃO SEXUAL E HISTOLOGIA DE BRÂNKUIAS E FÍGADO DE TILÁPIAS DO NILO, <i>Oreochromis niloticus</i> (Linnaeus, 1758), COM A UTILIZAÇÃO DE 17 α - METILTESTOSTERONA, OU DO NÚCLEO HOMEOPÁTICO <i>HOMEPATILARS</i> , DURANTE A FASE DE DIFERENCIAÇÃO GONADAL.....	23
Resumo.....	23
Abstract.....	24
Introdução.....	25
Material e Métodos.....	27
Resultados.....	34
Discussão.....	41
Conclusão.....	46
Referências Bibliográficas.....	46
VII CONCLUSÕES GERAIS.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Tratamentos utilizados, durante o período de diferenciação gonadal, de pós-larvas de tilápias do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i> L.)	28
Tabela 2	Composição do núcleo homeopático <i>Homeopatila RS</i>	28
Tabela 3	Composição da dieta experimental, de tilápias do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i> L.), na fase de diferenciação gonadal	29
Tabela 4	Valores médios da temperatura ambiente e da água, variação semanal	34
Tabela 5	Valores médios dos parâmetros físico-químicos da água nos tratamentos	34
Tabela 6	Valores médios e desvio padrão de desempenho de tilápias do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i> L.), submetidas aos tratamentos: controle, álcool 30°GL (C); hormonal, 17 α -metiltestosterona (H); homeopático, <i>Homeopatila RS</i> , solução hidroalcoólica (HH), no período de diferenciação gonadal	35
Tabela 7	Valores médios e desvio padrão de alterações histológicas nas brânquias de tilápias do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i> L.), submetidas aos tratamentos: controle, álcool 30°GL (C); hormonal, 17 α -metiltestosterona (H); homeopático, <i>Homeopatila RS</i> , solução hidroalcoólica (HH), durante o período de diferenciação gonadal, avaliadas em VMA	36
Tabela 8	Valores médios e desvio padrão de alterações histológicas no fígado de tilápias do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i> L.), submetidas aos tratamentos: controle, álcool 30°GL (C); hormonal, 17 α -metiltestosterona (H); homeopático, <i>Homeopatila RS</i> , solução hidroalcoólica (HH), durante o período de diferenciação gonadal, avaliadas em VMA	38
Tabela 9	Proporção gonadal de tilápias do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i> L.), submetidas aos tratamentos: controle, álcool 30°GL (C); hormonal, 17 α -metiltestosterona (H); homeopático, <i>HomeopatilaRS</i> , solução hidroalcoólica (HH), no período de diferenciação gonadal	41

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Setor de Aqüicultura Experimental da Universidade Paranaense (UNIPAR), Umuarama-PR. Vista externa, esq.; Vista interna, dir.	27
Figura 2	Avaliação do desenvolvimento de alevinos de tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i> L.). A: medição com uso de paquímetro. B: pesagem através de balança de precisão.	31
Figura 3	Remoção das gônadas de tilápias do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i> L.). A: abertura lateral; B: vísceras vistas macroscopicamente; C: gônadas femininas na cavidade; D: gônadas femininas removidas; E: gônadas masculinas na cavidade; F: gônadas masculinas removidas. Fíg, Fígado; GF, Gônadas Femininas; GM, Gônadas Masculinas. Estereomicroscópio Olympus TL3 (10x). G: gônadas masculinas; H: gônada feminina. Microscópio Olympus CX41 (100x).	33
Figura 4	Tecido branquial de tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i> L.), HE. A: sem alterações, 400x, Homeopatila RS (HH); B: hiperplasia e vacuolização (setas), de células epiteliais, 400x, controle (C); C: hiperplasia e fusão lamelar focal (setas), 400x, controle (C); D: hiperplasia e fusão lamelar, 400x, controle(C); E: áreas de telangiectasia (setas) 100x, 17 α -metiltestosterona (H); F: telangiectasia (seta), 400x, 17 α -metiltestosterona (H).	37

- Figura 5 Tecido hepático de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), HE. **A:** visão geral, hepatopâncreas (setas), 100x, controle (C); **B:** área de intensa vacuolização (setas), 400x, controle (C); **C:** veia centro lobular (estrela), cordões hepatócitos, 400x, *Homeopatila RS* (HH); **D:** vacuolização moderada, 400x, controle (C); **E:** intensa vacuolização, 400x, 17 α -metiltestosterona (H); **F:** veia centro lobular, presença de infiltrado leucocitário (seta), 400x, 17 α -metiltestosterona (H). 39
- Figura 6 Tecido hepático de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), PAS. **A:** visão geral, 100x, controle (C); **B:** inclusão lipídica (setas), 400x, controle(C); **C:** intensa inclusão lipídica, maior deposição de glicogênio na periferia da veia centro lobular (setas), 400x, 17 α -metiltestosterona (H); **D:** pequena quantidade de glicogênio armazenado, 400x, controle (C); **E,F:** moderada a grande deposição de glicogênio, 400x, *Homeopatila RS* (HH). 40

RESUMO

As tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, nativas da África, são peixes cultivados mundialmente e que apresentam grande rusticidade e adaptabilidade aos mais diversos sistemas de cultivo. Do ponto de vista reprodutivo, são precoces sendo que os machos são maiores que as fêmeas. Populações exclusivas de machos são desejadas nesta espécie, por apresentarem melhor desempenho e uniformidade. No Brasil, atualmente, grande parte dos alevinos comercializados é de machos obtidos por reversão sexual utilizando hormônios esteróides. Com o escopo de avaliar os efeitos do núcleo homeopático *Homeopatila RS*, que tem como base a dinamização do iodo e do extrato de gônadas masculinas e hipófise de tilápias, foi realizado um estudo, com tilápias do Nilo, durante o período de diferenciação gonadal para: a) avaliar o desenvolvimento e proporção sexual; b) averiguar os aspectos histológicos das brânquias e do fígado de alevinos. Foram avaliados três tratamentos: a) controle, álcool 30°GL (C); b) hormonal 17 α -metiltestosterona (H); c) homeopático, *Homeopatila RS*, solução hidroalcoólica (HH). O experimento foi realizado, no Setor de Aqüicultura da Universidade Paranaense-UNIPAR, Umuarama-PR, de fevereiro a abril de 2006, com duração de 45 dias. Utilizaram-se 4.800 pós-larvas, distribuídas em 12 caixas de água contendo 500L. Cada tratamento apresentou quatro repetições, totalizando 12 unidades experimentais. Os resultados obtidos demonstraram que em relação à proporção sexual, não houve efeito significativo ($p>0,05$) de *Homeopatila RS*, quando observadas as frequências de gônadas masculinas e femininas em relação ao grupo controle. O tratamento hormonal apresentou frequência significativamente superior de gônadas

masculinas e intersexo em relação aos demais tratamentos, sendo ausente à frequência de gônadas femininas neste tratamento. A análise dos dados de desempenho zootécnico dos animais demonstrou diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$). O grupo que recebeu o tratamento homeopático apresentou taxa de sobrevivência superior e índice hepatossomático inferior, aos demais grupos. As análises histológicas demonstraram que houve diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores médios de alterações hepáticas, para inclusão lipídica, nos animais tratados com homeopatia, sendo inferior, em relação aos demais tratamentos. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos, quando considerados os valores médios de alterações histológicas nas brânquias. Concluiu-se, portanto que, a adição do núcleo homeopático *Homeopatila RS*, na ração de tilápias do Nilo, durante a fase de diferenciação gonadal, não promoveu alteração na proporção sexual, no sentido da masculinização das mesmas, porém apresentou efeito positivo na sobrevivência. Os animais tratados com homeopatia apresentaram nível de inclusão lipídica hepática inferior aos demais grupos.

ABSTRACT

The Nile tilapias, *Oreochromis niloticus*, natives from Africa, are fishes worldily cultivated and they are characterized by great rusticity and adaptability to the most several cultivation systems. Considering the reproductive aspect they are precocious and males are larger than females. Exclusive populations of males are desired in this species due to the fact of having better performance and uniformity. In Brazil, the majority of the market demands for male fingerlings and they are obtained by sexual reversion using steroids hormones. The objective of this paper was to evaluate the effects of the homeopathic nucleus *Homeopatila RS*. This compound has as base the iodine, male gonads and Pituitary gland extract dinamization, so, an experiment were accomplished, with Nile tilapias during the period of gonadal differentiation for: a) evaluate the development and sexual proportion; b) investigate gills and liver fingerlings histological alterations. There were three distinct treatments: a) control, alcohol 30°GL (C); b) hormonal, 17 α -metilttestosterone (H); c) homeopathic, *Homeopatila RS*, in hidroalcoholic solution (HH). The experiment was realized at the aquaculture center of Universidade Paranaense-UNIPAR, Umuarama-PR, from February to April 2006, for 45 days. It was used 4.800 post-larvae, distributed in 12 water boxes (500L). Each treatment had 4 replications totalizing twelve units. The results showed that there is not an effect ($p>0.05$) correlation between sexual proportion and use of *Homeopatila RS*, when observing the male and female gonads frequencies in relation to the control group. The hormonal treatment, showed a higher significantly frequency male gonads and intersex in relation to the other treatments, being absent the females frequency in this treatment. The animals' performance data analysis revealed significant differences

among the treatments ($p < 0.05$). The homeopathy treated group had a higher survival rate and a lower liver-somatic index, when compared with other groups. The histological analysis showed a significant difference ($p < 0.05$), for the medium values of hepatic alterations, to lipidic inclusion, being lower than other treatments. There were not differences ($p > 0.05$), for gills histological alterations. As conclusion, the homeopathic nucleus *Homeopatila RS*, added in Nile tilapias ration, during the gonadal phase differentiation, did not induce a sexual proportion alteration, in terms of masculinization, but showed a positive effect in the survival. The animals treated with homeopathy had smaller hepatic lipidic inclusion compared with other treated groups.

I. INTRODUÇÃO GERAL

A tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, é atualmente uma das espécies de maior potencial para a piscicultura nacional e mundial. Apresenta características importantes, como rusticidade, facilidade de adaptação às condições adversas no cultivo, resistência as parasitoses e filé de alta qualidade, as quais a tornam um peixe de grande aceitação pelos criadores e consumidores.¹

As tilápias apresentam grande precocidade sexual, atingindo maturidade sexual muitas vezes antes de atingirem o tamanho comercial, podendo, com suas desovas parceladas e assincrônicas causar uma superpopulação no tanque de cultivo e reduzir o crescimento dos animais em reprodução, afetando o rendimento final do lote.¹

A produção de populações monossexo é desejável em uma variedade de peixes nos mais diversos sistemas de produção em aquíicultura. As vantagens de seu uso podem incluir fatores como: melhores taxas de crescimento; eliminação da reprodução; redução do comportamento sexual territorialista, na variação de tamanho dentro dos lotes e do risco de impacto ambiental devido ao escape de espécies exóticas.²

Devido ao seu melhor desempenho, populações exclusivas de machos são desejadas nos cultivos de tilápias e para atingir este objetivo, são utilizados diferentes métodos no sentido de promover a reversão sexual das larvas, sendo que a incorporação de hormônios esteróides à ração é o método tradicionalmente utilizado.³

A existência de um apelo mundial pela preservação ambiental, aliado a uma consciência crescente da população sobre as conseqüências à saúde ocasionadas por

uma alimentação com grande quantidade de resíduos tóxicos, tem movido grandes potências consumidoras de alimentos como o Mercado Comum Europeu e o Japão a buscarem produtos animais e vegetais isentos de resíduos de agrotóxicos e ou antibióticos.⁴

A resistência aos antibióticos é um problema de saúde pública global. O uso indiscriminado destas drogas tanto em humanos como em animais destinados ao consumo tem sido incriminado como uma das principais condições para o estabelecimento desta condição. Estudos clínicos mostram que a homeopatia pode ser utilizada em seres humanos como terapia alternativa ao uso dos antibióticos, podendo acontecer o mesmo em relação aos animais, sem o agravante de resíduos e desenvolvimento de resistência.⁵

Atualmente, a pecuária orgânica é uma das áreas mais promissoras da medicina veterinária e zootecnia, tanto do ponto de vista do mercado nacional, como internacional. A procura por produtos de origem animal produzidos em ambientes com a menor interferência de produtos químicos artificiais tem impulsionado este setor. A homeopatia é uma ciência que pode colaborar com a produção dos produtos orgânicos, sendo uma técnica terapêutica considerada como ideal e recomendada para este tipo de produção animal, devido à redução de resíduos nos subprodutos. Os medicamentos homeopáticos não provocam riscos aos animais, aos consumidores dos produtos de origem animal e nem ao meio ambiente, o qual é de contra partida, favorecido pelo menor uso de produtos químicos.⁴

II. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos reprodutivos em tilápias

2.1.1. Diferenciação sexual das gônadas

Os peixes, como um grupo, possuem um sistema de determinação sexual bastante diversificado, de considerável interesse biológico e de grande significado para estudos de biologia embrionária.²

O processo reprodutivo nos peixes apresenta variados mecanismos, como a partenogênese, a bissexualidade e o hermafroditismo. O mecanismo reprodutivo e a forma de desenvolvimento mais comuns nos peixes são, respectivamente, a bissexualidade e a ovuliparidade, onde a fecundação e desenvolvimento ocorrem externamente.⁶

As interações que podem ocorrer entre a carga genética e fatores ambientais como temperatura, ou da posição social, podem ativar ou inibir mecanismos que podem determinar o sexo em peixes. Antes da diferenciação das gônadas, as células germinais ainda indiferenciadas podem dar origem às gônadas masculinas ou femininas, dependendo da substância liberada pelo peixe ou fornecida a ele, podendo ser

andrógenos ou estrógenos. Neste caso, ocorreria uma reversão sexual induzida artificialmente, porém ocorrem reversões naturais, bem como o hermafroditismo.⁷

Na gametogênese, os esteróides gonadais atuam na diferenciação e manutenção dos tecidos somáticos (ductos gonadais), estimulam o desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários e o comportamento reprodutivo. Outros hormônios podem atuar na reprodução dos peixes, como por exemplo, os tireoidianos, o hormônio do crescimento (GH), a prolactina, entre outros.⁷

Normalmente, a diferenciação sexual nos peixes é bastante difícil, sendo que algumas espécies não apresentam dimorfismo sexual tão evidente fora do período reprodutivo, fase em que se pode diferenciar melhor o macho da fêmea.⁶ Existem peixes que mesmo sem apresentar diferenciação morfológica de características sexuais secundárias entre os sexos, exibem clara relação entre sexo e crescimento, podendo ser maiores os machos ou as fêmeas, dependendo da espécie. Nestas espécies, em que este dimorfismo ocorre, são focados os estudos de diferenciação sexual com o intuito de produzir populações monossexo, as quais seriam mais produtivas.^{6,8}

A tilápia do Nilo apresenta dimorfismo sexual permanente, onde os machos são maiores que as fêmeas e apresentam papila genital afilada e com um orifício urogenital, sendo que na fêmea esta papila é menos afilada e com dois orifícios genital e urinário.^{6,9}

As tilápias atingem sua maturidade sexual por volta de seis meses de idade. O crescimento das mesmas é bastante variável em função da espécie e de características individuais, dependendo também da dieta e do tipo de sistema de cultivo utilizado na criação.¹⁰

O período de diferenciação sexual varia de espécie para espécie e em *Oreochromis niloticus* tem início entre o 9º e 10º dia após eclosão (DPE) e término entre o 30º e 33º DPE, enquanto, em *Oreochromis mossambicus*, este período tem término entre 16º e 20º DPE.¹

2.1.2. Alteração da proporção sexual (reversão sexual)

Em tilápias, a maturidade sexual precoce associada com a atividade reprodutiva contínua e assincrônica, muitas vezes resulta numa reprodução não desejada e

superpopulação em tanques onde o suprimento de alimento é limitado. Esta constitui a maior limitação na criação de tilápias. Ainda, nesta espécie, o crescimento divergente ligado ao sexo é regularmente observado, sendo que os machos apresentam-se maiores que as fêmeas.¹¹

Na fase inicial do desenvolvimento embrionário dos peixes, os embriões já têm definido, geneticamente, se vão originar machos ou fêmeas, mas ainda não apresentam os sexos definidos morfológicamente. Isto ocorre na fase larval, sob a ação de hormônios, ou mesmo através de fatores ambientais. Portanto, a mudança de sexo pode ser obtida nesta fase, pela alteração do balanço hormonal ou de fatores ambientais.⁷

A reversão sexual é uma prática utilizada na aquicultura que tem como objetivo a produção de uma progênie monossexo, que no caso das tilápias o desejado é 100% de machos, destinados aos cultivos.¹⁰

Dentro da tilapicultura, o período de reversão sexual corresponde à fase de larvicultura e é de fundamental importância para o cultivo racional da tilápia do Nilo, em função da necessidade de obtenção de indivíduos machos para a engorda, sendo que estes crescem mais que as fêmeas e, evitando-se problemas provenientes dos gastos energéticos com a cópula e desova e o excesso populacional nos viveiros.¹²

Embora chamada de reversão/inversão sexual, os tratamentos podem não alterar o genótipo do peixe, mas direcionar a expressão do fenótipo e como resultado pode-se obter peixes fenotipicamente machos que são geneticamente fêmeas e vice e versa.³

Existe uma grande variabilidade da proporção sexual entre e dentro das variadas espécies de peixes e suas linhagens, com algumas muito pouco estudadas. Como consequência, muitas falhas podem ocorrer na tentativa de se produzir populações monossexo, com muitos resultados imprevisíveis.²

2.1.2.1. Utilização de hormônios

Os andrógenos naturais ou sintéticos quando utilizados em peixes, durante o estágio em que as gônadas ainda estão indiferenciadas, podem atuar diretamente sobre a fisiologia destes e determinar a masculinização dos mesmos. Estes esteróides podem ser incorporados à ração ou utilizados em banhos de imersão. O hormônio mais utilizado

neste processo, devido ao seu potencial androgênico, facilidade de obtenção e baixo custo, é o andrógeno sintético 17 α -metiltestosterona.³

Os mecanismos endócrinos e moleculares envolvidos nas alterações que ocorrem devido ao uso de esteróides exógenos permanecem não esclarecidos. Fêmeas de tilápia tratadas com metiltestosterona apresentam alterações na expressão de enzimas esteroidogênicas importantes, como 3 β -hidroxiesteróide desidrogenase (3- β -HSD) e citocromo P450 aromatase (P450 arom), podendo ocorrer decréscimo ou supressão da expressão das mesmas. Desta forma, a ausência de enzimas esteroidogênicas ou a presença de andrógenos são responsáveis pela diferenciação das gônadas masculinas de tilápias.¹³

O processo de reversão sexual com a utilização de hormônios pode ter seus resultados alterados em função de fatores como a concentração do hormônio e no caso de utilização dos mesmos na ração, em função da qualidade, disponibilidade e consumo da mesma.¹⁴

A eficiência da reversão sexual com a utilização dos esteróides em banhos de imersão parece estar relacionada, entre outros fatores, à fase ontogênica de maior sensibilidade das gônadas a este tipo de tratamento.¹

Vários aspectos do tratamento hormonal em peixes têm sido discutidos, uma vez que, embora, em muitos casos apresente altas taxas de reversão sexual, inclusive com maximização do crescimento dos peixes, apresenta sérios problemas, como, por exemplo, elevado estresse dos animais, produção de resíduos ao meio ambiente, perigos aos manipuladores e problemas de fertilidade nos animais.^{15,16}

Segundo Mair *et al.*¹⁷ o método de masculinização hormonal de tilápias tem produzido resultados inconstantes, sendo utilizado como método de pesquisa nos países desenvolvidos. Ainda segundo os autores, o sucesso da adoção desta técnica em países em desenvolvimento é seriamente limitado pelo número e complexidade de fatores envolvidos na sua eficiência e pelos riscos que apresentam tanto à saúde humana como ao animal.

2.1.2.2. Utilização de inibidores enzimáticos

A enzima citocromo P450 aromatase atua na produção de estrógenos, utilizando precursores androgênicos, comuns aos hormônios masculinos e femininos para conversão em estrógenos. É possível reduzir a produção de estrógenos inibindo a atividade desta enzima.³

Hein³, ao utilizar o produto vorozol, inibidor não esteroide da aromatase, concluiu que o mesmo atuou na reversão sexual dos alevinos de tilápia, no sentido da masculinização, sem alterar o desenvolvimento normal destes.

O Fadrozole, comercialmente um inibidor enzimático da aromatase, tem sido utilizado em uma série de pesquisas em peixes e outros vertebrados, para reversão sexual no sentido da masculinização destes, uma vez que a produção de estrógenos estaria comprometida pela supressão desta enzima, bem como para estudar os efeitos da inibição da produção de estrógenos em machos, com relação aos níveis de hormônios androgênicos e sobre a produção espermática.^{18,19}

2.1.2.3. Alteração de fatores genéticos

A principal característica que possibilita, com certa facilidade, a manipulação cromossomal na maioria dos peixes, é a fertilização externa. Algumas técnicas podem produzir peixes haplóides, triploides, tetraploides e indivíduos que possuam apenas os cromossomos maternos (ginogênese) ou paternos (androgênese). Essas técnicas podem ser agrupadas em três classes conforme o princípio que é empregado: choque de temperatura, pressão ou químico.²⁰

As alterações cromossomais podem ser utilizadas para produzir populações monossexo de fêmeas e machos, peixes estéreis e possibilitar estudos sobre o sistema de determinação cromossomal e, criar linhagens altamente endocruzadas. Em tilápias esta tecnologia possibilitou a criação do GMT (*Genetically Male Tilapia*), tilápia geneticamente macho, macho-YY ou super macho.²⁰

Populações criadas através de alterações cromossomais induzidas podem ser limitadas pelo número de animais produzidos, pela baixa sobrevivência, pela esterilidade ou por apresentarem o desempenho produtivo questionável.^{11,17,20}

A manipulação cromossomal apresenta ainda, problemas de aplicabilidade comercial em muitas espécies de peixes, devido a grande diversidade de sistemas de determinação sexual envolvendo não somente os cromossomos sexuais, como também os autossômicos.²

2.1.2.4. Alteração de fatores ambientais

A plasticidade da diferenciação gonadal foi relatada em 1930 quando do emprego de esteróides exógenos em peixes, mas a demonstração de que fatores ambientais, tais como temperatura, pH, densidade e interações sociais, podem influenciar na taxa sexual é relativamente recente. Em peixes, como em répteis e anfíbios, estudos sobre a influência de fatores ambientais na determinação do sexo demonstram que, o principal fator é a temperatura, podendo ser consideradas as tilápias como termosensíveis, entre outras espécies.²¹

Segundo Baroiller e D'Cotta²¹, peixes mostram particularidades nos níveis de temperaturas onde ocorrem a determinação sexual, uma vez que populações monossexo normalmente não são obtidas em temperaturas extremas, sugerindo uma grande interação entre temperatura/genótipo. Em répteis, anfíbios e peixes os tratamentos térmicos devem ser aplicados no período crítico sensível, similarmente, como ocorre no período hormônio sensível.

Na busca de melhor qualidade e eficiência no processo de reversão, com a diminuição dos custos e riscos e, principalmente com redução do impacto ambiental, pesquisadores têm realizado estudos sobre os efeitos da temperatura sobre a proporção sexual em peixes.^{16,22,23}

Têm sido utilizadas, em tilápias, temperaturas superiores ou iguais a 34-35°C (tilápia azul) e maiores ou iguais a 36-37°C (tilápia nilótica), em várias fases do desenvolvimento ontogênico, visando à alteração da proporção sexual. Observou-se que altas temperaturas, como citadas anteriormente, promovem populações com maiores

índices de machos, porém com menor sobrevivência e desenvolvimento. Somente para algumas linhagens houve letalidade a altas temperaturas, o que sugere uma possível seleção das linhagens mais resistentes visando minimizar os efeitos da elevação da temperatura no desempenho e sobrevivência das mesmas. A eficiência na produção de exemplares machos com baixo custo de produção, poderia compensar as perdas na fase de reversão.^{22,24}

A salinidade e baixas temperatura (25-26°C) parecem não afetar a proporção sexual no caso de tilápias nilóticas.²⁴

A temperatura pode afetar a diferenciação sexual dos peixes, principalmente logo após a fertilização e enquanto ocorre a incubação dos ovos. Em *Ictalurus punctatus* (bagre-de-canal), a manutenção dos exemplares a 34°C, entre os dias 10 e 24 após a fertilização, aumenta a proporção de fêmeas.⁷

Borges¹⁶, ao estudar os efeitos de altas temperaturas na fase de reversão sexual de tilápias, identificou diferenças significativas na proporção de sexos, sendo maior a porcentagem de machos quando as larvas, a partir de 10° DPE, foram expostas à temperatura de 35°C, durante 28 dias, em comparação com o grupo controle, a 27°C.

Mecanismos moleculares de termosensibilidade têm sido investigados, em tilápias, na tentativa de demonstrar como a temperatura age na determinação sexual e um destes mecanismos parece estar relacionado à expressão gênica de importantes enzimas que atuam na diferenciação sexual e reprodução, como por exemplo, a P450 aromatase.²¹

2.2. Homeopatia

2.2.1. Histórico

O pai da medicina moderna, Hipócrates (460-370 aC), já anotara entre seus aforismos a seguinte frase, “... a doença é produzida pelos semelhantes e graças aos semelhantes que se administra ao paciente, esse evolui da doença para a saúde...” e segue... “a febre é suprimida pelo que a provoca e produzida pelo que a suprime”.²⁵

O médico alemão Samuel Hahnemann, ao traduzir para a língua alemã a obra sobre “Matérias médicas” de Cullen, professor da Faculdade de Medicina de Glasgow, interessou-se em particular pelos efeitos do extrato obtido da casca de quina, para o tratamento da febre palustre, passando, então, a experimentar doses crescentes do medicamento, observando que seu organismo apresentava temperatura elevada, frio intenso, calafrios, tremores, transpiração abundante e dores articulares, sintomas semelhantes ao da malária. A partir de então, passou Hahnemann a experimentar em si próprio e em pessoas sadias os princípios medicamentosos, observando os principais sintomas, para depois empregá-los na tentativa de curar os doentes. Iniciou ainda tratamentos utilizando doses diluídas dos medicamentos, sendo este um dos princípios da homeopatia.^{25,26}

No Brasil, esta terapia teve impulso em 1840 através dos médicos Beinoit Mure e João Vicente Martins, que fundaram no Rio de Janeiro, o Instituto Homeopático do Brasil. A homeopatia veterinária, por sua vez, iniciou ainda com Hahnemann, ao tratar animais, utilizando esta técnica e, ao afirmar em seus escritos que se as leis por ele proclamadas eram as da natureza, seriam válidas, então, para todos os seres vivos.²⁷

2.2.2. Conceito

A palavra homeopatia tem origem no grego: *homeos* = semelhante; *pathos*, moléstia. Surgiu, portanto, na Alemanha, criada por Hahnemann e divulgada através da publicação de suas bases e princípios no livro “Organon da arte de curar”, em 1810.²⁷

A homeopatia é uma ciência baseada na arte médica que tem como finalidade dar ao indivíduo condições físicas e mentais para livremente vir alcançar os seus mais altos desígnios, através de leis e princípios determinados, segundo uma técnica e arte próprias.²⁶ Fundamenta-se na experimentação e na observação científica e, inversamente ao que ocorre com a pesquisa no campo da medicina ortodoxa, no caso da homeopatia trabalha-se somente com o ser humano em estado de boa saúde.²⁵

A homeopatia é baseada no princípio dos semelhantes, isto é, que medicamentos curam as doenças cujo conjunto sintomático se assemelha ao conjunto de seus efeitos fisiológicos ou farmacodinâmicos no organismo sadio, princípio este evidenciado por

Hipócrates, experimentalmente confirmado por Samuel Hahnemann e posto em prática por inúmeros clínicos até a atualidade.²⁵

2.2.3. Princípios gerais

De acordo com Hahnemann (1810), em seus primeiros relatos, publicados no livro “Organon da arte de curar”, para se obter sucesso no restabelecimento de uma enfermidade, é mister administrar um princípio medicamentoso que produza no organismo sadio os sintomas da moléstia que se quer tratar.²⁸

A homeopatia é considerada uma ciência relativamente complexa em seus conceitos e filosofia, possuindo, porém suas bases e parâmetros de avaliação bastante específicos e experiências práticas desenvolvidas durante muitos anos. Apresenta duas leis básicas que são:²⁶

- 1ª Lei: Lei dos semelhantes, “*Similia similibus curentur*” (os semelhantes que se curam pelos semelhantes), consiste em se comparar os sintomas do paciente e àqueles descritos pelo uso do medicamento no indivíduo sadio, na busca da medicação ideal;

- 2ª Lei: Vitalismo, que é a força vital equilibrada, para impulsionar um organismo a apresentar também equilíbrio de suas funções fisiológicas. Entretanto, quando algum estímulo desequilibrar a força vital, será o organismo material que apresentará as disfunções e, conseqüentemente, manifestará os sinais clínicos oriundos deste desequilíbrio.

A partir das duas leis, surgiram três princípios essenciais à prática da Homeopatia, sendo estes:²⁶

- Experimentação no homem sadio, onde o indivíduo sadio experimenta o medicamento e reporta os sintomas objetivos e subjetivos que apresenta e, o conjunto destes sintomas, é descrito para àquele medicamento como sua *Patogenesia*;
- Individualização, priorizando cada organismo como único, respeitando suas particularidades, analisando o conjunto de sintomas particulares de cada indivíduo frente ao desequilíbrio de sua força vital;

- Dinamização, princípio infinitesimal ou das pequenas doses. A preparação do medicamento implica em dois processos discutidos posteriormente, a diluição e a sucussão (agitação vigorosa). Ao se utilizar em doses mínimas, permite-se trabalhar de forma mais segura e duradoura no restabelecimento da saúde, sem o risco de agravos das prescrições não diluídas.²⁶

Na homeopatia não se determina um tratamento para uma doença em particular. Os sintomas são mais importantes para se estabelecer o medicamento de eleição do que a afecção propriamente dita. Muitas vezes ocorrem dificuldades no estabelecimento da triagem clínica destes sintomas.^{29,30}

A redação e catalogação das patogenesias, citadas anteriormente, resultaram na publicação das chamadas “Matérias médicas”, e servem como base de pesquisa do medicamento que cubra a maior parte dos sintomas provocados pela afecção a ser tratada.²⁷

2.2.4. Medicamentos homeopáticos

Os medicamentos homeopáticos podem ser elaborados de matérias primas de origem vegetal, animal e mineral, os quais são solubilizados em água e álcool. As diluições são obtidas em três escalas, as Hahnemanianas que são: centesimal (C ou CH) e cinqüenta milesimal (LM) e as de Hering: decimal (D, X ou DH). Após cada diluição o medicamento sofre um processo de sucussão (agitação vigorosa) podendo ser manual ou mecânico (equipamento) e, a cada 100 sucussões obter-se-a uma potência superior, sendo este o processo de dinamização dos medicamentos homeopáticos.²⁶

A dinamização é um método que possibilita liberação de energia diferente da substância pura. Essa energia é diferente para cada medicamento e pode ser mensurada através de métodos físicos de detecção de campos de energia. Essa energia age no organismo, estimulando o equilíbrio da energia vital, auxiliando no processo de cura e na manutenção da homeostasia. Nas dinamizações 6CH (seis diluições de 1/100 em solução de água e álcool), existe muito pouca matéria prima. A quantidade de matéria é menor que o número de avogadro, de $6,54 \times 10^{-12}$. Praticamente não existem moléculas da substância ativa. Em medicamentos elaborados com microrganismos vivos

(bioterápicos e nosódios) sabe-se que a partir da potência 12CH não existem mais estruturas vivas.²⁷

Os bioterápicos (nosódios) são medicamentos elaborados com os agentes causadores das doenças, expandindo novos caminhos para pesquisa, podendo-se atualizar e aprimorar os conhecimentos e técnicas preconizadas por Hahnemann e seus colaboradores.⁴

Os medicamentos homeopáticos podem ser apresentados na forma líquida ou sólida (glóbulos, tabletes, pós e comprimidos). São acondicionados em recipientes próprios, protegidos da luz solar. Os veículos utilizados podem ser álcool etílico, água destilada, glicerina, lactose e sacarose. São, portanto, elaborados segundo o “Manual de normas técnicas – Farmácia homeopática”, editado pela Associação Brasileira de Farmacêuticos Homeopatas.²⁷

Quanto à prescrição destes, existem, atualmente, três formas diferentes de fazê-la, baseada nos seguintes princípios:²⁷

- Unicismo, tendo como base o uso de apenas um medicamento;
- Pluralismo que preconiza o uso de dois ou mais medicamentos para cobrir a totalidade dos sintomas do paciente;
- Complexismo que conduz a medicação, prescrevendo vários medicamentos manipulados no mesmo frasco.²⁷

2.2.5. Mecanismo de ação

Para compreender o efeito terapêutico da baixa diluição é preciso admitir que, além de certo limiar, encontra-se em presença de uma manifestação que se deve atribuir a uma ação medicamentosa mais qualitativa do que quantitativa e que vai de encontro à doença em questão. A utilização dos medicamentos homeopáticos, com sucesso, em crianças com pouca idade e em animais, pode afastar a possibilidade de um possível efeito devido à sugestão do paciente. Quando corretamente utilizado, o fármaco homeopático não ocasiona choque terapêutico devido intoxicação medicamentosa e não leva a uma saturação do organismo o que auxilia ao não estabelecimento da resistência medicamentosa.²⁵

Quando comparados aos placebos, alguns trabalhos demonstraram que os produtos homeopáticos apresentam resultados significativamente diferentes daqueles, demonstrando um modo de ação e ou intensidade diferenciada.^{29,31}

A atividade biológica de soluções de alta diluição é extremamente controversa, muitos dos experimentos apresentam problemas de reprodutibilidade e os autores, na maioria das vezes, têm dificuldades para discutir seus achados.³²

Khuda-Bukhsh²⁹ discute que, mesmo com o avanço da Física no sentido de encontrar modelos que demonstrem como os veículos, no caso água e etanol, podem reter as propriedades medicinais dos produtos homeopáticos, verificando até mesmo que existem diferenças estruturais entre aquele e as potências homeopáticas, as pesquisas com experimentos biológicos, apesar de evidenciarem efeitos em modelos animais *in vivo* e *in vitro*, apresentam dificuldades no sentido de elucidar os mecanismos de ação destas altas potências.

Estudos conduzidos em animais com a utilização de preparados homeopáticos em processos inflamatórios sugerem que o mecanismo antiinflamatório não pode ser correlacionado com o de antiinflamatórios convencionais. O controle da inflamação pode ser realizado através da ativação de mecanismos endógenos regulatórios num fenômeno que pode ser chamado de “lei do semelhante”.³³⁻³⁵

Piemonte e Buchi³⁶ trabalhando com macrófagos de camundongos, *in vivo* e *in vitro*, tratados com homeopatia (Canova), concluíram que, ocorreram alterações na capacidade de espraiamento destes sobre superfícies plásticas e matrigel e na capacidade de fagocitose dos mesmos, a qual apresentou-se aumentada no grupo tratado com homeopatia.

Khuda-Bukhsh²⁹, ao referir-se aos resultados de seus experimentos, com a utilização de produtos com altas diluições com regulação de expressão gênica, avaliado pelo conteúdo de proteínas, enzimas, DNA e RNA, sugeriu que o principal mecanismo de ação destes está na regulação da expressão de alguns genes específicos em determinadas circunstâncias, mecanismo este que pode nortear as respostas biológicas aos produtos homeopáticos.

2.2.6. Homeopatia veterinária

A utilização da homeopatia, em animais, data da época em que foi testada por Hahnemann, em equinos e, por Guilherme Lux (1773-1849), trabalhando com medicamentos dinamizados, através de conhecimentos obtidos com Hahnemann, em animais.³⁷

A partir da década de 1970, a Homeopatia foi elevada à categoria de especialidade médica e a partir do ano de 2000 foi reconhecida como especialidade médica – veterinária, no Brasil, pelo Conselho Federal de Medicina Veterinária.³⁷

A homeopatia veterinária é responsável por novos rumos nos conceitos de criação e manutenção da saúde e bem estar animal, tanto do ponto de vista do tratamento individual, como da criação, no caso da homeopatia populacional.²⁷

Entre as muitas vantagens da homeopatia, está a de utilizar fármacos homeopáticos na criação de animais de produção, de forma racional, tratando e mantendo a saúde destes, sem deixar resíduos nos alimentos derivados. A homeopatia em animais pode ser utilizada como forma terapêutica ou para manutenção da saúde e promoção de crescimento e produção, onde os medicamentos homeopáticos podem ser agregados ao sal mineral, água ou aos concentrados.^{27,30}

A homeopatia prioriza o tratamento de cada organismo em particular, pelo princípio da individualização. No tratamento de rebanhos, a particularização é feita entendendo que cada grupo de animais apresenta suas características próprias como: raça, temperamento, ocorrência geográfica entre outros e pode ser considerado como um organismo único. Todos os fatores que caracterizam o referido rebanho como único devem ser levados em consideração ao defini-lo como tal e suas moléstias como particulares. Foi a partir dessa conduta que Hahnemann tratou casos de epidemias e o medicamento eleito era denominado de gênio epidêmico.³⁷

A Homeopatia como forma de terapia para rebanhos segue os mesmos passos do tratamento individual, uma vez que o mesmo deve ser encarado como um organismo único e apresenta vantagens como:³⁷

- Equilíbrio animal, uma vez que a terapêutica confere aos animais uma redução do estresse, especialmente, o de confinamento e, em conjunto com o manejo adequado

colabora para o bem estar animal, influenciando diretamente na saúde destes e no desenvolvimento de suas potencialidades produtivas;

- Facilidade de administração por via oral, adicionado à água, ração ou sal mineral, sendo menos invasivo, não necessitando de contenção, evitando-se assim possíveis traumatismos, possibilitando redução do estresse;

- Inexistência de resíduos, motivo pelo qual pode ser utilizada em modelos orgânicos de produção;

- Ausência de contaminação ambiental, pois o uso reduz a poluição ambiental, promovendo a preservação de suas potencialidades biológicas para o controle natural e equilibrado de pragas.³⁷

A terapêutica homeopática não visa tratar uma doença em particular, mas o conjunto de sintomas que o indivíduo apresenta, quando estes são comuns a certas doenças, seu tratamento poderá empregar o mesmo medicamento.³⁰

Os sintomas objetivos e subjetivos traduzem-se em sinais exteriores apresentados pelos animais, portanto, a terapêutica em animais deverá basear-se em grande parte na humana uma vez que os sintomas subjetivos, não podem ser observados no animal.³⁰

Os equinos respondem muito bem ao uso de medicamentos homeopáticos e os animais silvestres toleram bem devido à redução do estresse de captura e administração, uma vez que pode ser adicionada a água ou aos alimentos, apresentando também menor índice de reações de hipersensibilidade, muito comum ao uso de medicamentos alopáticos devido ao baixo contato destes animais com as terapias convencionais.³⁷

Alguns casos descritos na literatura, tratam do uso da homeopatia para evitar o estresse de desmama em bezerros, casos de sodomia em machos bovinos não castrados confinados ou juntos em piquetes e no controle de ectoparasitos e endoparasitos de bovinos.^{37,38}

A terapêutica homeopática pode ser utilizada como elemento auxiliar no restabelecimento de inúmeras afecções gastrintestinais, hepáticas e pancreáticas em animais, expandindo assim as opções de tratamento ao clínico veterinário, podendo ser indicada em conjunto com as terapias convencionais na busca do processo de cura.³⁹

Os medicamentos homeopáticos têm sido prescritos na clínica veterinária para tratamento de inúmeras afecções em equinos⁴⁰, bovinos^{41,42}, cães e gatos^{37,39,40}. Experimentos com produtos homeopáticos e bioterápicos têm sido realizados visando à

produção e sanidade animal, como por exemplo, estudos de viabilidade do sêmen bovino⁴³, indução ao estro e prevenção do anestro em vacas⁴⁴, prevenção de parasitoses³⁸, com muitos dos produtos testados e comercializados nacionalmente.

Pinto *et al.*³⁸ conduziram estudos utilizando nosódios agregados ao sal mineral de animais de produção, visando o controle de nematódeos gastrintestinais e ectoparasitos como: *Haematobia irritans* (mosca-dos-chifres), *Dermatobia hominis* (mosca-do-berne) e *Boophilus microplus* (carrapato-dos-bovinos).

Cuesta *et al.*⁴¹ realizando experimentos com animais afetados pela mastite subclínica identificaram uma prevalência menor, no grupo de vacas tratadas com homeopatia (nosódio) em relação ao grupo que recebeu somente solução hidroalcoólica e àquele que não recebeu medicamento na alimentação.

Varshney e Naresh⁴² realizaram um estudo sobre a eficácia e o custo do tratamento da mastite clínica, em bovinos, com um composto homeopático quando comparado ao uso de antibióticos e concluíram que o produto homeopático foi eficaz e economicamente viável para o tratamento desta patologia.

Guedes *et al.*⁴⁵ realizaram experimentos utilizando um bioterápico preparado a base de glândula tireóide de rãs e obtiveram alterações na taxa de metamorfose dos animais tratados, onde o número de animais que atingiram o estágio final da metamorfose foi significativamente menor que o grupo controle que recebeu somente a solução hidroalcoólica.

Sukul *et al.*⁴⁶ avaliaram a permeabilidade dos eritrócitos de peixes, tratados com produtos homeopáticos, como mercúrio clorídrico e *nux vomica* e concluíram que devido a interação destes medicamentos com proteínas dos canais de água dos eritrócitos, houve uma facilitação do influxo de água nestas células.

III. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Bombardelli RA. Reversão sexual em larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) com diferentes idades através de banho de imersão. 2003. 70f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2003.
- 2 Beardmore JA, Mair GC, Lewis RI. Monosex male production in finfish as exemplified by tilapia: applications, problems and prospects. *Aquaculture* 2001; **197**: 283-301.
- 3 Hein G. Avaliação do vorozol, um inibidor não esteroide específico da aromatase, em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). I. Reversão sexual de alevinos.II. Desempenho nas fases de crescimento e engorda. 2003. 43f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2003.
- 4 Lopes EG. Homeopatia aplicada à Parasitologia Veterinária. In: XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária & I Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses, 13, 2004, Ouro Preto. *Anais...* Ouro Preto: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2004; 150-155.
- 5 Viksveen P. Antibiotics and development of resistant microorganisms. Can homeopathy be an alternative? *Homeopathy* 2003; **92**(2): 99-107.
- 6 Furuya WM, Furuya VRB. Reprodução de peixes. In: Moreira HLM, Vargas L, Ribeiro RP, Zimmermann S. *Fundamentos da Moderna Aqüicultura*. Canoas: Ed. ULBRA, 2001, pp 69-76.
- 7 Baldisserotto B. *Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura*. Santa Maria: Ed.UFSM, 2002.
- 8 Piferrer F, Blásquez M, Navarro L, Gonzáles A. Genetic, endocrine, and environmental components of sex determination and differentiation in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Gen Comp Endocrinol* 2005; **124**: 102-110.
- 9 Lima S, Loures BRR. Fisiologia de peixes. In: Moreira HLM, Vargas L, Ribeiro RP, Zimmermann S. *Fundamentos da Moderna Aqüicultura*. Canoas: Ed. ULBRA, 2001, pp 23-28.

- 10 Ribeiro RP. Espécies exóticas. In: Moreira HLM, Vargas L, Ribeiro RP, Zimmermann S. *Fundamentos da Moderna Aqüicultura*. Canoas: Ed. ULBRA, 2001, pp 91-115.
- 11 Toguyeni A, Fauconneau B, Fostier A, Abucay J, Mair G, Baroiller JF. Influence of sexual phenotype and genotype, and sex ratio on growth performances in tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 2002; **207**: 249-261.
- 12 Meurer F, Hayashi C, Boscolo WR, Schamber CR, Bombardelli RA. Fontes protéicas suplementadas com aminoácidos e minerais para a tilápia do Nilo durante a reversão sexual. *Rev Bras Zoot* 2005; **34**(1): 1-6.
- 13 Bhandari RK, Nakamura M, Kobayashi T, Nagahana Y. Supression of steroidogenic enzyme expression during androgen-induced sex reversal in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Gen Comp Endocrinol* 2005. Online: www.sciencedirect.com
- 14 Mainardes-Pinto CSR, Fenerich-Verani N, Campos BES, Silva AL. Masculinização da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, utilizando diferentes rações e diferentes doses de 17 α -metilttestosterona. *Rev Bras Zoot* 2000; **29**: 654-659.
- 15 Pandian T, Sheela SG. Hormonal induction of sex reversal in fish. *Aquaculture* 1995; **138**: 1-22.
- 16 Borges AM. Produção de populações monossexo macho de tilápia-do-Nilo da linhagem Chitralada. *Pesq Agrop Bras* 2005; **40**(2): 153-159.
- 17 Mair GC, Abucay JS, Beardmore JA, Skibinski DOF. Growth performance trials of genetically male tilapia (GMT) derived from YY-males in *Oreochromis niloticus* L.: On station comparisons with mixed sex and sex reversed male populations. *Aquaculture* 1995; **137**: 313-322.
- 18 Afonso LOB, Iwama GK, Smith J, Donaldson EM. Effects of the aromatase inhibitor Fadrozole on reproductive steroids and spermiation in male coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) during sexual maturation. *Aquaculture* 2000; **188**: 175-187.
- 19 Fenske M, Segner H. Aromatase modulation alters gonadal differentiation in developing zebrafish (*Danio rerio*). *Aquat Toxicol* 2004; **67**: 105-126.
- 20 Moreira HLM. Genética e Melhoramento de Peixes. In: Moreira HLM, Vargas L, Ribeiro RP, Zimmermann S. *Fundamentos da Moderna Aqüicultura*. Canoas: Ed. ULBRA, 2001, pp 91-115.
- 21 Baroiller JF, D'Cotta H. Environment and sex determination in farmed fish. *Comp Biochem Physiol* 2001; **130**: 399-409.
- 22 Baras E, Jacobs B, Mélard C. Effect of water temperature on survival, growth and phenotypic sex of mixed (XX-XY) progênies of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 2001; **192**: 187-199.
- 23 Luckenbach JA, Godwin J, Daniels HV, Borski RJ. Gonadal differentiation and effects of temperature on sex determination in southern flounder (*Paralichthys lethostigma*). *Aquaculture* 2003; **216**: 315-327.
- 24 Abucay JS, Mair GC, Skibinski DOF, Beardmore JA. Environmental sex determination the effect of temperature and salinity on sex ratio in *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture* 1999; **173**: 219-234.
- 25 Maury E A. *Guia das plantas medicinais*. São Paulo: Rideel, 2002.
- 26 Benites NR. Homeopatia. In: Spinosa HS, Gorniak SL, Bernardi MM. *Farmacologia aplicada à medicina veterinária*. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, pp 700-708.
- 27 Benez SM, Jacobs PH, Cairo N, et al. *Manual de Homeopatia Veterinária*. Ribeirão Preto: Tecmedd, 2004.

- 28 Hanemann S. *Organon da arte de curar*. São Paulo: Robe editorial, 2001.
- 29 Khuda-Bukhsh AR. Towards understanding molecular mechanisms of action of homeopathic drugs: An overview. *Mol Cell Biochem* 2003; **253**: 339-345.
- 30 Cairo N. Técnica Homeopática Veterinária-Histórico. In: Benez SM, Jacobs PH, Cairo N, et al. *Manual de Homeopatia Veterinária*. Ribeirão Preto: Tecmedd, 2004, pp 31-53.
- 31 Schmidt JM, Ostermayr B. Does a homeopathic ultramolecular dilution of *Thyroidinum* 30 CH affect the rate of body weight reduction in fasting patients...A randomized placebo-controlled double-blind clinical trial. *Homeopathy* 2002; **91**(4): 197-206.
- 32 Falus A. Homeopathy and high dilutions-is there a real effect? *Inflamm Res* 2004; **53**: 179-180.
- 33 Bertani S, Lussignoli S, Andrioli G, Bellavite P, Conforti A. Dual effects of homeopathic mineral complex on carrageenan-induced oedema in rats. *Homeopathy* 1999; **88**(3): 101-105.
- 34 Bonamin LV, Martinho KS, Nina AL, Caviglia F, Do Rio RGW. Very high dilutions of dexamethasone inhibit its pharmacological effects *in vivo*. *Homeopathy* 2001; **90**(4): 198-203.
- 35 Macêdo SB, Ferreira LR, Perazzo FF, Tavares Carvalho JC. Anti-Inflammatory Activity of *Arnica montana* 6cH: preclinical study in animals. *Homeopathy* 2004; **93**(2): 84-87.
- 36 Piemonte MR, Buchi DF. Analysis of IL-2, IFN-g and TNF-alpha production, a5 b1 integrins and actin filaments distribution in peritoneal mouse treated with homeopatic medicament. *J Submicr Cytol Path* 2002; **34**(3): 255-263.
- 37 Souza MFA. Homeopatia veterinária. In: I Conferência sobre produção orgânica de bovinos de corte set-out 2002. via internet. Embrapa Pantanal-Corumba. Online: www.cpap.embrapa.br/agencia/congressovirtual/pdf/portugues/02pt02.pdf.
- 38 Pinto SB, Valentim-Zabott M, Rochadelli R, et al. Eficácia de núcleo homeopático na prevenção da infestação por *Dermatobia hominis* e *Haematobia irritans* em bovinos. *Arch Vet Sci* 2005; **10**(1): 57-62.
- 39 Berschneider HM. Complementary and alternative veterinary medicine and gastrointestinal disease. *Clin Tech Small An P* 2002; **17**(1): 19-24.
- 40 Elliot M. Cushing's disease: a new approach to therapy in equine and canine patients. *Homeopathy* 2001; **90**(1): 33-36.
- 41 Cuesta M, Valera R, Linares F, Fragoso B. Nosodes, terapia homeopatica de la mastitis subclinica bovina. *Anais... XVIII Congresso Panamericano de Ciências Veterinárias*. La Habana. Cuba nov. 2002. Online: www.ucf.edu.cu/publicaciones/anuario2002/agraria/articulo8.pdf.
- 42 Varshney JP, Naresh R. Comparative efficacy of homeopathic and allopathic systems of medicine in the management of clinical mastitis of indian dairy cows. *Homeopathy* 2005; **94**(2): 81-85.
- 43 Aziz DM, Enbergs H. Stimulation of bovine sperm mitochondrial activity homeopathic dilutions of monensin. *Homeopathy* 2005; **94**(4): 229-232.
- 44 Rajkumar R, Srivastava SK, Yadav MC et al. Effect of a homeopathic complexo n oestrus induction and hormonal profile in anoestrus cows. *Homeopathy* 2006; **95**: 131-135.

- 45 Guedes JRP, Ferreira CM, Guimarães HMB, Saldiva PHN, Capelozzi VL. Homeopathically prepared dilution of *Rana catesbeiana* thyroid glands modifies its rate of metamorphosis. *Homeopathy* 2004; **93**(3): 132-137.
- 46 Sukul NC, De A, Sinhababu SP, Sukul A. Potentized chloride and nux vomica facilitate permeability in erythrocytes of freshwater catfish *Clarias batrachus* under acute ethanol intoxication. *J Altern Complement Med* 2003; **5**: 719-725.

IV OBJETIVOS GERAIS

Este estudo foi realizado com o escopo de avaliar os efeitos da adição do núcleo homeopático, *Homeopatila RS*, na alimentação de pós-larvas de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), em fase de diferenciação gonadal. Foi realizado um experimento, para avaliar o desempenho, proporção sexual e histologia de brânquias e fígado de pós-larvas de tilápias do Nilo submetidas aos tratamentos: a) controle, com álcool 30°GL; b) hormonal, com 17 α -metiltestosterona e c) homeopático, com *Homeopatila RS*, solução hidroalcoólica.

V. DESENVOLVIMENTO, PROPORÇÃO SEXUAL E HISTOLOGIA DE BRÂNQUIAS E FÍGADO DE TILÁPIAS DO NILO, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758), COM A UTILIZAÇÃO DE 17 α -METILTESTOSTERONA, OU DO NÚCLEO HOMEOPÁTICO *HOMEOPATILA RS*, DURANTE A FASE DE DIFERENCIAÇÃO GONADAL

Resumo: Objetivou-se neste estudo avaliar os efeitos do núcleo homeopático *Homeopatila RS*, no desenvolvimento, histologia de brânquias e fígado e proporção sexual de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). Utilizaram-se 12 caixas de água (500 litros), com densidade de 0,8 larvas/L, instaladas numa estufa, durante 45 dias. Foram utilizados três tratamentos: controle, álcool 30°GL (C); hormonal, 17 α -metiltestosterona (H); homeopático, *Homeopatila RS* em solução hidroalcoólica (HH). Foram determinados os valores médios de comprimento, peso, índice hepatossomático, fator de condição, taxa de sobrevivência, valores médios de alterações histológicas e proporção sexual. A análise dos dados revelou diferenças significativas ($p < 0,05$) no crescimento, sobrevivência, índice hepatossomático e valores médios de alterações histológicas hepáticas entre os tratamentos. Concluiu-se que a adição de *Homeopatila RS*, na ração de tilápias do Nilo, durante a fase de diferenciação gonadal, não promoveu alteração na proporção sexual, no sentido da masculinização, porém os animais apresentaram sobrevivência superior e índice hepatossomático inferior, com menor inclusão lipídica hepática, quando comparados com os grupos controle e tratados com 17 α -metiltestosterona.

Palavras-chave: *Oreochromis niloticus*, homeopatia, índice hepatossomático, sobrevivência, histologia, proporção sexual

V. DEVELOPMENT, SEXUAL PROPORTION AND HISTOLOGY OF GILLS AND LIVER IN NILE TILAPIA, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758), USING THE 17 α -METILTESTOSTERONE, OR THE HOMEOPATHIC NUCLEUS *HOMEOPATILA RS*, DURING THE GONADAL'S PHASE DIFFERENTIATION

Abstract: The objective of this paper was to evaluate the homeopathic nucleus *Homeopatila RS* effects, on the development, gills and liver histology and sexual proportion of Nile tilapias (*Oreochromis niloticus* L.). Twelve circular boxes of water (500 liters) were used, with density of 0.8 larvae/L installed in a stove, during 45 days. There were three distinct treatments: control, alcohol 30°GL (C); hormonal, 17 α -metiltestosterone (H); homeopathic, *Homeopatila RS* in hidroalcoholic solution (HH). The length, weight, liver-somatic index, condition factor, survival rate, histological alterations and sexual proportion values were evaluated. The data analysis showed differences ($p < 0.05$), in growth, survival, liver-somatic index and medium values of hepatic alterations, among the treatments. As conclusion, *Homeopatila RS* added in the Nile tilapias rations, during the gonadal phase differentiation, did not induce a sexual proportion alteration in terms of masculinization, but animals had a higher survival and a lower liver-somatic index, with lower hepatic lipidic inclusion when compared to control and 17 α -metiltestosterone treated groups.

Keywords: *Oreochromis niloticus*, homeopathy, liver-somatic index, survival, histology, sexual proportion

1. Introdução

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) tem se destacado, atualmente, como uma das espécies de maior potencial para a piscicultura, tanto mundialmente como nacionalmente. Nos últimos anos, diversas técnicas foram utilizadas para produzir populações totalmente masculinas deste peixe, devido ao fato de que além dos machos apresentarem taxa de crescimento superior a das fêmeas, a espécie apresenta problemas reprodutivos, como por exemplo, maturidade sexual precoce com desovas parceladas e assincrônicas, ocasionando superpopulação e redução da taxa de crescimento nos tanques de cultivo.¹

Nas espécies de peixes que apresentam precocidade e facilidade de reprodução, como no caso das tilápias, quando se utilizam apenas exemplares do mesmo sexo nos tanques, dificilmente há um desenvolvimento gonadal completo e a energia destinada para o crescimento das gônadas, pode ser quase que inteiramente destinada para o crescimento corporal.²

Na reversão sexual de tilápias, o método tradicionalmente utilizado, atualmente, no Brasil, devido a sua maior praticidade e baixo custo, é a incorporação de hormônios esteróides à ração. Esse método apresenta inconveniente, tais como: intensa mão de obra, longa manipulação direta dos hormônios pelos funcionários, resíduos ambientais e baixas taxas de sobrevivência dos peixes, por tornar-se um processo estressante aos mesmos.^{1,2}

A existência de um apelo mundial pela preservação ambiental, aliado a uma consciência crescente da população, sobre as conseqüências à saúde ocasionadas por uma alimentação com grande quantidade de resíduos tóxicos, tem impulsionado a busca por produtos de origem animal, produzidos em ambientes com a menor interferência de produtos químicos artificiais.³

A homeopatia, segundo Hahnemann, estimula a energia vital do organismo, produzindo reações energéticas que se refletem no estado físico. Neste sentido, a homeopatia animal, até então utilizada para tratamento de doenças de modo individual, está avançando no tratamento de rebanhos, utilizando o princípio que considera os mesmos como uma unidade animal, portanto, sujeitos as mesmas leis que regem a homeopatia individual. A homeopatia vem sendo utilizada em animais não somente

para tratamento de afecções, mas para prevenção de doenças e modulação de respostas orgânicas, principalmente relacionadas ao estresse.⁴

Investigações histopatológicas de órgãos responsáveis pelo metabolismo de peixes, como as brânquias⁵⁻⁷ e fígado^{5,6} e, pelas respostas imunes como o baço^{8,9}, são de grande relevância para se avaliar lesões morfológicas importantes, muitas vezes não evidenciadas macroscopicamente e que podem estar interferindo na saúde e no desempenho dos animais^{5,6}.

O fígado, em teleósteos, é um órgão de considerável volume em relação ao corpo, podendo apresentar, em seu parênquima, tecido pancreático exócrino^{10,11}. Desempenha importantes funções metabólicas e tem papel fundamental na vitelogenese. Quando comparado ao dos mamíferos, o fígado dos peixes, apresenta uma menor participação no metabolismo de carboidratos¹².

É considerado um modelo muito interessante quando se realizam estudos de interações entre fatores ambientais e estruturas hepáticas e funções¹². As pesquisas relacionadas ao fígado de peixes têm se expandido especialmente no campo dos problemas causados pelas condições de manejo na aquicultura ou por poluentes no ambiente aquático^{5,6,12}.

As brânquias são estruturas das mais delicadas do organismo dos peixes, responsáveis pelas trocas gasosas, osmorregulação, equilíbrio ácido-básico e excreção, são extremamente vulneráveis devido a sua localização externa e contato íntimo com a água^{2,11}. Manifestações histopatológicas nas brânquias podem ocorrer em função de organismos patogênicos como bactérias, vírus, fungos e parasitos, como resposta a agentes poluentes irritantes ou devido as alterações metabólicas de origem nutricional^{6,7,13}.

Poucos são os trabalhos publicados, utilizando a homeopatia em organismos aquáticos e, neste contexto, o objetivo do presente experimento, foi o de avaliar o desenvolvimento, a histologia de brânquias e fígado e a resposta gonadal de tilápias do Nilo, na fase de diferenciação gonadal, ao uso do núcleo homeopático *Homeopatila RS* em comparação aos tratamentos que utilizam 17 α -metiltestosterona (controle positivo) e controle negativo com a administração de 30°GL, na ração.

2. Material e Métodos

2.1 Local e período

O experimento foi realizado no Setor de Aqüicultura Experimental da Universidade Paranaense-UNIPAR, Umuarama-PR, no período de fevereiro a abril de 2006, com duração de 45 dias.

2.2 Animais, instalações e condições experimentais

Foram utilizadas 4.800 pós-larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), com comprimento total médio inicial de $0,82 \pm 0,04$ cm, originadas de desova em tanque de terra da Piscicultura Sgarbi, Palotina-PR.

As pós-larvas foram distribuídas, aleatoriamente, em 12 caixas circulares de polipropileno, com capacidade individual de 1000L, contendo 500L de água cada uma, sendo a densidade utilizada de 0,8 larvas/L. As caixas de água foram instaladas numa estufa, medindo 12 x 6m, com cobertura plástica superior e um sistema de cortinas laterais (Figura 1).

As caixas foram drenadas com intervalos regulares de dois dias, para remoção das excretas e resíduos de ração. O sistema de renovação de água foi individual (20%/dia), sob aeração constante por meio de mangueiras plásticas acopladas a uma linha de ar comprimido dotada de válvulas individuais de regulagem da vazão de ar.



Figura 1 Setor de Aqüicultura Experimental da Universidade Paranaense (UNIPAR), Umuarama-PR. Vista externa (esq.), Vista interna (dir).

2.3 Tratamentos e dietas

Neste experimento foram utilizados três tratamentos, cada um com quatro repetições, conforme discriminado na Tabela 1, totalizando 12 unidades experimentais.

Tabela 1 Tratamentos utilizados, durante o período de diferenciação gonadal de pós-larvas de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.)

Tratamentos	Dose / Kg de ração
(C) Álcool 30°GL (controle)	50mL
(H) 17 α -metiltestosterona	60mg
(HH) <i>Homeopatila RS</i> solução hidroalcoólica	50mL

A composição do núcleo homeopático *Homeopatila RS* encontra-se na Tabela 2.

Tabela 2 Composição do núcleo homeopático *Homeopatila RS*

Composto	Diluições
<i>Iodium</i>	10 ⁻²⁴
Extrato de hipófise de carpa	10 ⁻²⁴
Extrato de testículos de tilápia	10 ⁻⁶⁰

Fonte: REAL Homeopatia.

O núcleo homeopático *Homeopatila RS* foi elaborado especialmente para este estudo, pela empresa REAL Homeopatia. Na composição de *Homeopatila RS*, tem-se o *iodium* (iodo dinamizado) e os bioterápicos obtidos do extrato de testículos de tilápias do Nilo e da hipófise de carpas.

O núcleo homeopático foi adicionado, semanalmente na ração, sob forma de uma solução hidroalcoólica (álcool 30°GL), aspergida sobre a mesma, homogeneizando-se, inicialmente e, deixando-a secar ao ar, revolvendo-se periodicamente, a cada 30 minutos, durante 24 horas, ao abrigo da luz solar e de produtos químicos, até apresentar-se solta e sem odor de álcool. O mesmo processo de inclusão foi realizado para o tratamento controle utilizando somente o álcool 30°GL.

Para o tratamento hormonal foi utilizado a 17 α -metiltestosterona, fornecida, semanalmente, na ração, na dosagem de 60 mg/kg de ração, conforme a técnica descrita por Ribeiro ¹.

A ração farelada comercial utilizada foi a Anhambi Peixes 40%[®], cuja composição encontra-se na Tabela 3.

Tabela 3 Composição da dieta experimental, de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), na fase de diferenciação gonadal.

Nutrientes	Níveis de garantia
Proteína Bruta (Min.)	40,00 %
Extrato Etéreo (Min.)	3,00 %
Fibra Bruta (Máx.)	6,00 %
Matéria Mineral (Máx.)	13,00 %
Cálcio (Máx.)	4,30 %
Fósforo (Mín.)	1,20 %
Umidade (Máx.)	12,50 %

Fonte: ANHAMBI Alimentos Ltda

A taxa de alimentação foi reajustada semanalmente em função do comprimento total de peixes amostrados, segundo Ribeiro ¹. A dieta diária total foi distribuída cinco vezes/dia, às 7:00, 10:00, 13:00, 16:00, e 19:00 horas. A ração diferenciada anteriormente para os tratamentos controle, hormonal e homeopático foi fornecida até 28 dias, após este período, por mais 16 dias, os alevinos permaneceram recebendo ração não medicada.

2.4 Coleta de dados

2.4.1 Parâmetros físico-químicos

Foram aferidos diariamente, pela manhã e à tarde, os registros da temperatura do ambiente e da água e, semanalmente os parâmetros de pH, através de phmetro digital, oxigênio dissolvido (mg/L), amônia (mg/L) e nitrito (ppm) através do Kit ALFAKIT da Alfa Tecnoquímica[®] para análises de qualidade de água.

2.4.2 Exame parasitológico externo

Inicialmente e antes da distribuição das pós-larvas nas respectivas caixas, foram coletadas 100 pós-larvas, que foram pesadas, medidas e submetidas a exame parasitológico externo, segundo metodologia descrita por Eiras *et al.*¹⁴, para identificação de ectoparasitos. A ocorrência foi calculada como sendo o número de hospedeiros infectados/número de hospedeiros examinados, como realizado por Tavares-Dias *et al.*¹⁵.

Semanalmente, foram coletados três peixes de cada caixa (12 peixes/tratamento), anestesiados com benzocaína na dosagem de 1g/L de água, verificando-se o peso e o comprimento total dos mesmos, para ajuste da taxa de alimentação, sendo ainda eutanasiados, por secção da medula espinhal cervical, para realização do exame parasitológico externo, como descrito anteriormente.

2.4.3 Biometria

Ao final do período experimental de 45 dias, os peixes permaneceram em jejum antecipado de 24 h, para serem realizados procedimentos de anestesia (benzocaína 1g/10L de água), medição, pesagem, eutanásia por secção da medula espinhal cervical e acondicionamento no formol.

Para determinação dos índices de desempenho, foram medidos e pesados 40 peixes de cada repetição (160 peixes/tratamento), com auxílio de paquímetro Chalimex®, Figura 2A e, de uma balança de precisão (ou analítica 0,001g), modelo BG 440 da GEHAKA®, Figura 2B, respectivamente.

Para determinação do índice hepatossomático, foram coletadas quatro amostras de cada repetição (16 peixes/tratamento) e o peso do fígado dos animais foi obtido pela diferença entre o peso vivo total e o peso depois da retirada do órgão e o respectivo índice foi calculado através da fórmula: $IHS = (\text{peso do fígado}/\text{peso vivo total}) \times 100$.

A taxa de sobrevivência final foi avaliada pela diferença entre o número de animais que iniciaram e que finalizaram o experimento em cada tratamento, levando-se em consideração os animais retirados para análises parasitológicas no decorrer do período.

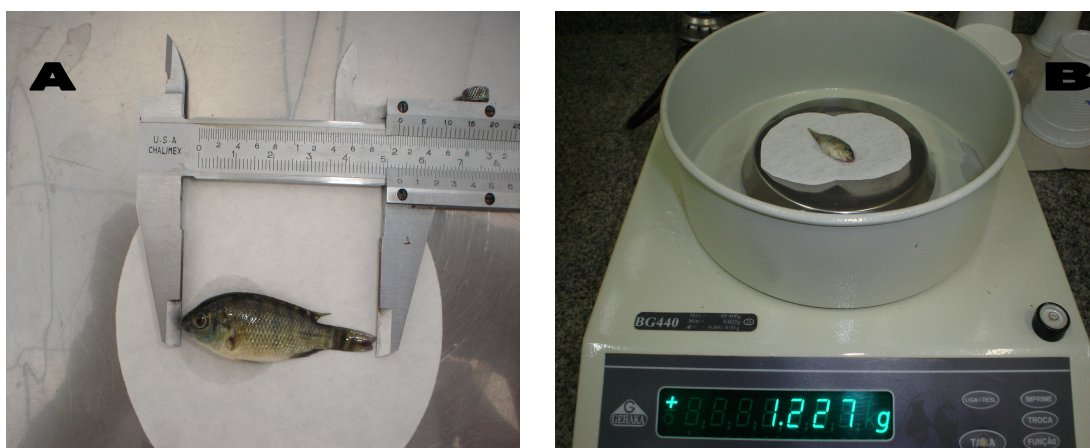


Figura 2 Avaliação do desenvolvimento de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). **A**: medição com uso de paquímetro; **B**: pesagem através de balança de precisão.

2.4.4 Análise histológica

Foram retiradas amostras de fígado e brânquias, de 16 peixes/tratamento (quatro peixes/repetição) acondicionados no formol tamponado a 10%, que posteriormente foram desidratadas pelo processo de passagens em séries crescentes de álcool, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina, para a obtenção de cortes transversais, em micrótomo rotativo, com 7 μ m de espessura para as brânquias e 6 μ m para o fígado.

As amostras de brânquias foram coradas com Hematoxilina/Eosina (HE) e amostras de fígado foram coradas pelo HE e pelo Ácido Periódico – Reagente de Schiff (PAS) + Hematoxilina, para evidenciação de glicogênio. Os cortes foram analisados em Microscópio Olympus CX 41 e fotografados com a câmera Olympus D-520.

Nas análises das brânquias foram observados todos os filamentos branquiais do segundo arco branquial direito, de cada animal, presentes no campo. Nas análises de fígado, foram observados dez campos próximos à veia centro lobular, por corte histológico. As alterações histológicas foram avaliadas semiquantitativamente, segundo Shwaiger *et al.*⁵, ordenando-se o grau de severidade das lesões de acordo com a seguinte escala: grau 1 = nenhuma alteração histológica; grau 2 = alterações moderadas e pontuais; grau 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 calculou-se a média de VMA para cada tratamento.

2.4.5 Análise de gônadas

Os peixes destinados às análises de gônadas, 60 amostras de cada repetição (240 peixes/tratamento), foram eutanasiados por secção da medula espinhal cervical e mantidos em formol a 5%.

O trabalho de remoção e identificação das gônadas foi realizado através da técnica do aceto-carmin proposta por Popma & Green (1990) e utilizada por Wassermann e Afonso¹⁶.

Os peixes a serem analisados foram abertos ventralmente, com auxílio de uma tesoura de íris (uso oftálmico), da papila genital até a base da nadadeira peitoral, sendo que esta foi ampliada lateralmente, retirando-se a pele e provocando a formação de uma janela lateral. Com o auxílio do estereomicroscópio (10x), as vísceras foram removidas, podendo-se, assim, visualizar e retirar as gônadas (Figuras 3A-G). O material foi então depositado numa lâmina, foi adicionada a solução de aceto-carmin, e recoberto com lamínula e observado em microscopia de luz (Figuras 3H e 3I).

2.5 Avaliação estatística

Os dados de desempenho dos animais foram submetidos à análise de variância e, quando significativos ($p < 0,05$), comparados pelo teste de Tukey. Os dados de proporção sexual foram submetidos à análise de chi-quadrado (χ^2). Utilizou-se o programa Statistical Analysis System –SAS¹⁷, para realização das referidas análises estatísticas.

Para os valores das alterações histológicas foi calculado a média e o desvio padrão, para cada grupo experimental e os dados foram analisados de acordo com o teste de Mann-Whitney, para amostras independentes.

O nível de significância considerado para os testes foi de 5% ($p < 0,05$).

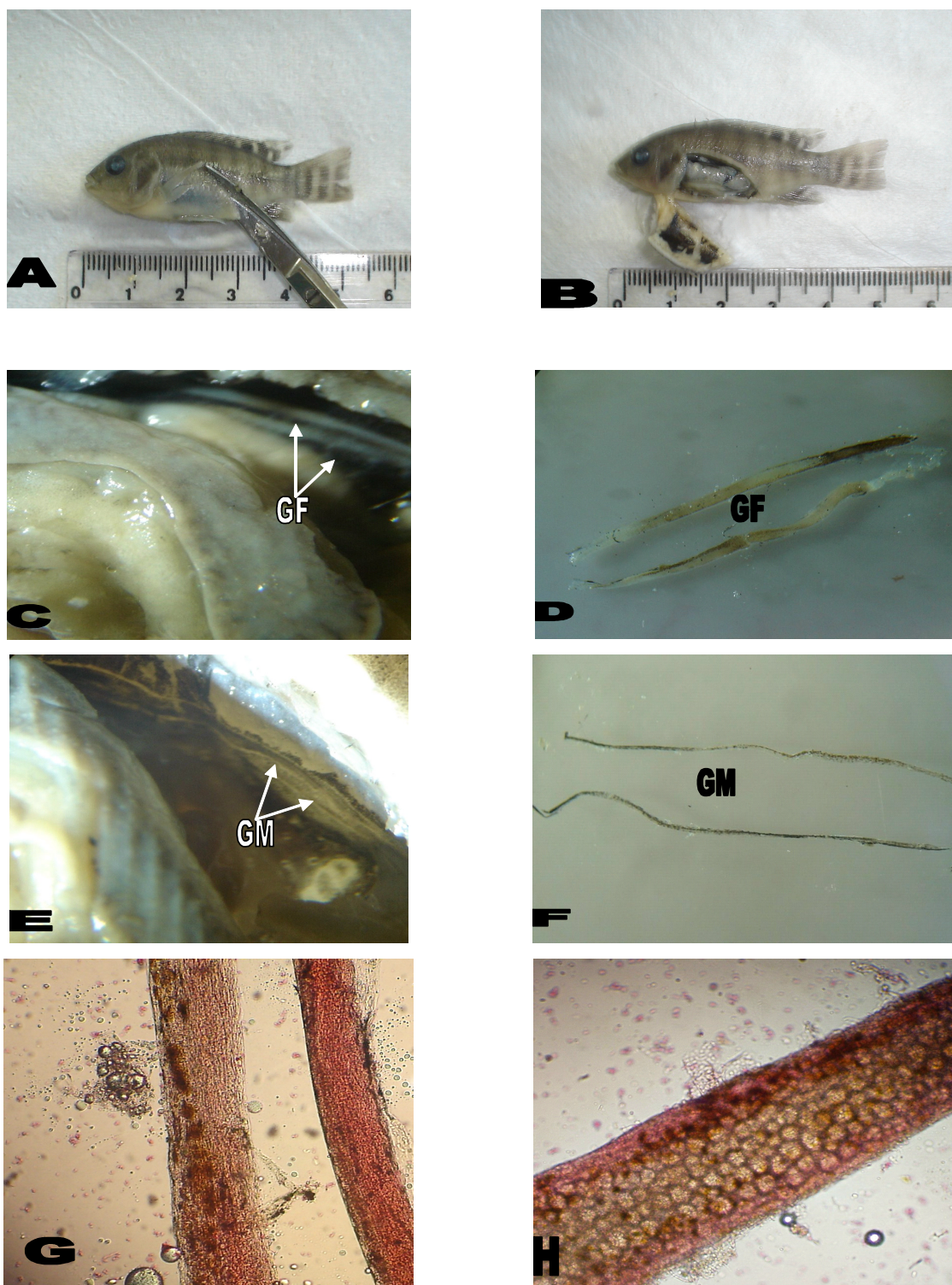


Figura 3 Remoção das gônadas de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). **A**: abertura lateral; **B**: vísceras vistas macroscopicamente; **C**: gônadas femininas na cavidade; **D**: gônadas femininas removidas; **E**: gônadas masculinas na cavidade; **F**: gônadas masculinas removidas. Fíg, Fígado; GF, Gônadas Femininas; GM, Gônadas Masculinas. Estereomicroscópio Olympus TL3 (10x). **G**: gônadas masculinas; **H**: gônada feminina. Microscópio Olympus CX41 (100x).

3. Resultados

3.1 Parâmetros físico-químicos

Os valores médios da temperatura ambiente e da água, durante o período experimental, foram respectivamente de $30,53 \pm 4,16^\circ\text{C}$ e $26,77 \pm 2,81^\circ\text{C}$. Na Tabela 4, encontram-se os valores médios da temperatura ambiente e da água, variação semanal, durante o período experimental.

Tabela 4 Valores médios da temperatura ambiente e da água, variação semanal

Temp. ($^\circ\text{C}$)	Semana					
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a
Ambiente	29,33 ($\pm 4,16$)	32,59 ($\pm 3,35$)	31,97 ($\pm 2,74$)	31,18 ($\pm 1,56$)	29,26 ($\pm 3,93$)	28,85 ($\pm 3,10$)
Água	27,62 ($\pm 0,78$)	28,21 ($\pm 2,81$)	27,05 ($\pm 1,20$)	27,50 ($\pm 1,37$)	25,03 ($\pm 1,58$)	25,19 ($\pm 1,79$)

Na Tabela 5 podem-se observar os parâmetros físico-químicos da água durante o período experimental, nas unidades experimentais.

Tabela 5 Valores médios dos parâmetros físico-químicos da água nos tratamentos

Parâmetro	Tratamentos		
	C	H	HH
pH	$6,76 \pm 0,43$	$6,57 \pm 0,41$	$6,63 \pm 0,29$
Oxigênio dissolv. (mg/L)	$6,71 \pm 0,33$	$6,76 \pm 0,40$	$6,53 \pm 0,35$
Nitrito (ppm)	$0,029 \pm 0,009$	$0,030 \pm 0,010$	$0,030 \pm 0,010$
Amônia (mg/L)	$0,85 \pm 0,37$	$0,81 \pm 0,32$	$0,79 \pm 0,29$

C=controle; H=metiltestosterona; HH= *Homeopatia RS*

3.2 Ocorrência de ectoparasitos

As pós-larvas amostradas, antes de serem distribuídas nos tratamentos, apresentavam-se 100% parasitadas, por protozoários do gênero *Trichodina* com

ocorrência de 80% e monogênicos girodactilídeos + *Trichodina* (parasitismo misto), com 20% de ocorrência.

As análises realizadas uma semana após a análise inicial e as demais realizadas posteriormente até o final do período experimental, mostraram-se negativas para a presença de ectoparasitos em todos os tratamentos.

3.3 Desenvolvimento dos peixes

Na Tabela 6 encontram-se os valores médios de desempenho dos peixes nos diferentes tratamentos.

Tabela 6 Valores médios e desvio padrão de desempenho de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), submetidas aos tratamentos: controle, álcool 30°GL (C); hormonal, 17 α -metiltestosterona (H); homeopático, *Homeopatila*, solução hidroalcoólica (HH), no período de diferenciação gonadal

Variáveis	TRATAMENTOS		
	C (n=160)	H (n=160)	HH (n=160)
CT inicial (cm)	0,82 \pm 0,04	0,82 \pm 0,04	0,82 \pm 0,04
CT final (cm)	4,57 \pm 0,69a	4,70 \pm 0,44a	3,82 \pm 0,60b
CP final (cm)	3,65 \pm 0,57a	3,81 \pm 0,35a	3,03 \pm 0,51b
Peso final (g)	1,81 \pm 0,84a	1,93 \pm 0,61a	1,07 \pm 0,75b
Fator de condição	1,75 \pm 0,22a	1,78 \pm 0,26a	1,70 \pm 0,22a
IHS (%)	7,80 \pm 1,63a	7,54 \pm 1,32a	5,48 \pm 1,42b
Sobrevivência (%)	54,1a	50,3a	87,8b
* Biomassa est. (g)	1.495,06	1.484,17	1.434,87

CT: comprimento total; CP: comprimento padrão; Fator de condição = (peso final/CT final³)x100; (IHS) Índice hepatossomático = (peso do fígado/peso vivo)x 100; Sobrevivência = 100x N final/(N inicial - N coletado); * Biomassa total estimada = [(N inicial- N coletado) x sobrevivência(%)]x peso médio final(g); valores seguidos de letras diferentes, indicam diferenças significativas entre os grupos, valores de sobrevivência pelo teste Chi-quadrado e os demais pelo teste de Tukey , para um nível de significância de 5%.

Os dados contidos na Tabela 6 demonstram que, para o grupo tratado com *Homeopatila RS*, os parâmetros de comprimento total final, comprimento padrão e peso final apresentaram-se significativamente inferiores, quando comparados aos demais tratamentos. Contudo, a taxa de sobrevivência nesse tratamento, foi significativamente superior aos demais.

Os dados obtidos denotam que o índice hepatossomático do grupo que recebeu *Homeopatila RS* foi significativamente inferior aos demais grupos tratados. Não houve diferença significativa, quando observado o fator de condição dos animais, entre os tratamentos.

3.4 Análise histológica

Na Tabela 7 encontram-se os resultados referentes aos valores médios de alterações (VMA), das brânquias de alevinos de tilápia do Nilo, nos diferentes tratamentos.

Tabela 7 Valores médios e desvio padrão das alterações histológicas nas brânquias de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), submetidas aos tratamentos: controle, álcool 30°GL (C); hormonal, 17 α -metiltestosterona (H); homeopático, *Homeopatila*, solução hidroalcoólica (HH), durante o período de diferenciação gonadal, avaliadas em VMA

Tratamentos	Hiperplasia	Fusão lamelar	Telangiectasia
C (n=16)	1,68 (\pm 0,60)a	1,25 (\pm 0,44)a	1,25 (\pm 0,44)a
H (n=16)	1,62 (\pm 0,80)a	1,18(\pm 0,40)a	1,18 (\pm 0,40)a
HH (n=16)	1,56 (\pm 0,72)a	1,18 (\pm 0,55)a	1,00 (\pm 0,0)a

V.M.A:Valor Médio de Alteração, medida semiquantitativa, variando de grau 1 ao 3, grau 1 = nenhuma alteração histológica; grau 2 = alterações moderadas e pontuais; grau 3 = alterações severas e extensas; valores seguidos de letras diferentes, indicam diferenças significativas entre os grupos, pelo teste de Mann-Whitney, para um nível de significância de 5%.

Os dados obtidos da análise histológica das brânquias demonstram que, não houve diferença significativa entre os tratamentos para os valores médios de alterações encontrados.

Na Figura 4 podem ser observadas as alterações histológicas, visualizadas nas brânquias, de alevinos de tilápia do Nilo, nos diferentes grupos tratados.

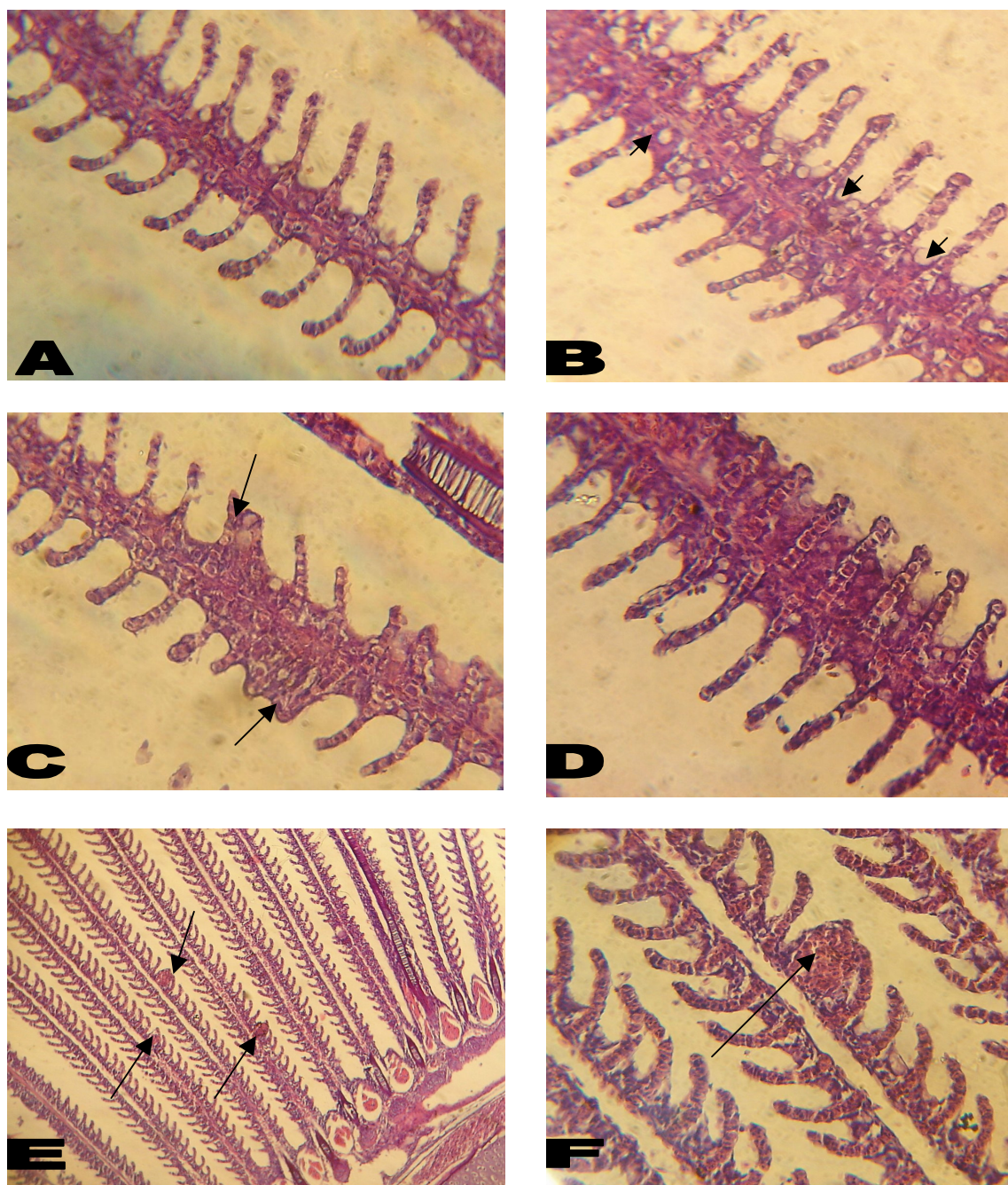


Figura 4 Tecido branquial de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), HE. **A**: sem alterações, 400x, *Homeopatia RS* (HH); **B**: hiperplasia e vacuolização (setas), de células epiteliais, 400x, controle (C); **C**: hiperplasia e fusão lamelar focal (setas), 400x, controle (C); **D**: hiperplasia e fusão lamelar, 400x, controle(C); **E**: áreas de telangiectasia (setas) 100x, 17 α -metiltestosterona (H); **F**: telangiectasia (seta), 400x, 17 α -metiltestosterona (H).

Na Tabela 8 encontram-se os resultados referentes aos valores médios de alterações (VMA), do fígado de alevinos de tilápias do Nilo, nos diferentes tratamentos.

Tabela 8 Valores médios e desvio padrão dos achados histológicos no fígado de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), submetidas aos tratamentos: controle, álcool 30°GL (C); hormonal, 17 α -metiltestosterona (H); homeopático, *Homeopatila RS*, solução hidroalcoólica (HH), durante o período de diferenciação gonadal, avaliados em VMA

Tratamentos	Inclusão lipídica	Infiltrado leucocitário
C (n=160)	2,12 (\pm 0,80)a	1,12 (\pm 0,34)a
H (n=160)	2,25 (\pm 0,68)a	1,12 (\pm 0,50)a
HH (n=160)	1,43 (\pm 0,72)b	1,06 (\pm 0,25)a

V.M.A: Valor Médio de Alteração, medida semiquantitativa, variando de grau 1 ao 3, grau 1 = nenhuma alteração histológica; grau 2 = alterações moderadas e pontuais; grau 3 = alterações severas e extensas; valores seguidos de letras diferentes, indicam diferenças significativas entre os grupos, pelo teste de Mann-Whitney, para um nível de significância de 5%.

Os dados contidos na Tabela 8 demonstram que, os valores médios no fígado, para inclusão lipídica foram significativamente inferiores no grupo que recebeu *Homeopatila RS*, quando comparado aos outros grupos, não havendo diferença significativa entre os tratamentos em relação à presença de infiltrado leucocitário.

Na Figura 5 podem ser observados os achados histológicos visualizados no fígado, de alevinos de tilápia do Nilo, pelos cortes corados em HE e na Figura 6 corados pelo PAS + Hematoxilina, nos diferentes grupos tratados.

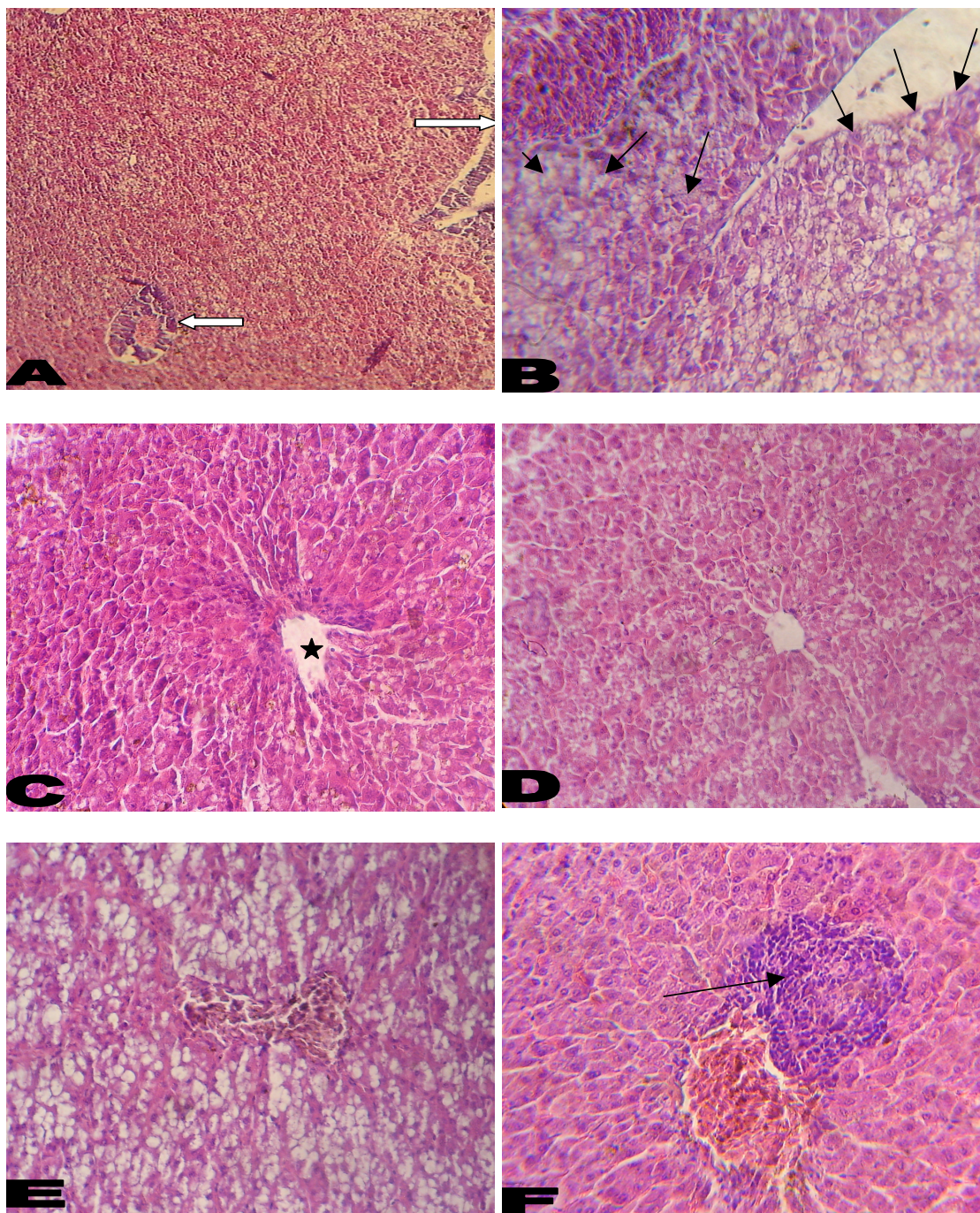


Figura 5 Tecido hepático de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), HE. **A:** visão geral, hepatopâncreas (setas), 100x, controle (C); **B:** área de intensa vacuolização (setas), 400x, controle (C); **C:** veia centro lobular (estrela), cordões hepatócitos ,400x, *Homeopatila RS* (HH); **D:** vacuolização moderada, 400x, controle(C); **E:** intensa vacuolização, 400x, 17 α -metilttestosterona (H); **F:** veia centro lobular, presença de infiltrado leucocitário (seta), 400x, 17 α -metilttestosterona (H).

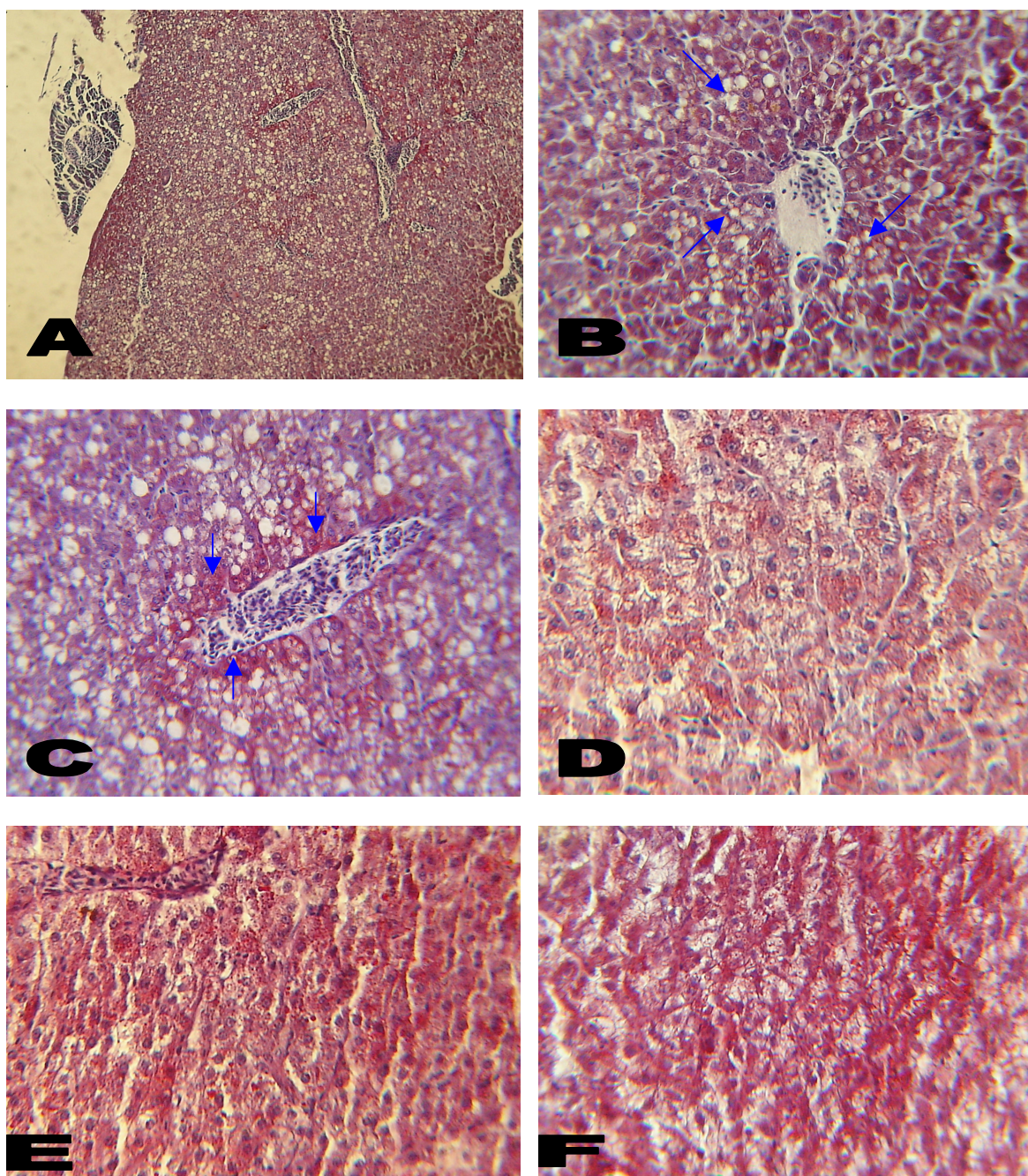


Figura 6 Tecido hepático de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), PAS. **A:** visão geral, 100x, controle (C); **B:** inclusão lipídica (setas), 400x, controle(C); **C:** intensa inclusão lipídica, maior deposição de glicogênio na periferia da veia centro lobular (setas), 400x, 17 α -metiltestosterona (H); **D:** pequena quantidade de glicogênio armazenado, 400x, controle; **E, F:** moderada a grande deposição de glicogênio, 400x, *Homeopatia RS* (HH).

3.5 Proporção sexual

Na Tabela 9 encontram-se os resultados da análise gonadal, demonstrados pela frequência de diferentes tipos de gônadas encontradas nos tratamentos.

Tabela 9 Proporção gonadal de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), submetidas aos tratamentos: controle, álcool 30°GL (C); hormonal, 17 α -metiltestosterona (H); homeopático, *HomeopatilaRS*, solução hidroalcoólica (HH), no período de diferenciação gonadal

Tratamentos	Gônadas		
	Masculinas (%)	Femininas (%)	Intersexo (%)
C (n=240)	52,5 b	47,5 a	0,0
H (n=240)	95,0 a	0,0 b	5,0
HH (n=240)	52,5 b	45,0 a	2,5

Valores seguidos de letras diferentes indicam diferenças significativas entre os grupos, pelo teste de Chi-quadrado, para um nível de significância de 5%.

Como demonstram os dados da Tabela 9, no grupo tratado *Homeopatila RS* a proporção de gônadas masculinas não apresentou diferença estatística significativa em relação ao grupo controle, sendo porém significativamente inferior, quando comparada ao tratamento com 17 α -metiltestosterona.

4. Discussão

Os valores médios de temperatura, pH, oxigênio dissolvido, amônia e nitrito da água das caixas (Tabelas 4 e 5), obtidos durante o período experimental, mantiveram-se dentro da faixa de relativo conforto para a espécie estudada, segundo Ribeiro¹, evitando-se, assim, uma possível interferência da qualidade da água no desempenho e saúde dos animais.

As pós-larvas amostradas no início do experimento, antes da distribuição nos tratamentos, apresentaram-se parasitadas por ectoparasitos protozoários do gênero *Trichodina* e monogenéticos girodactilídeos. Essas pós-larvas eram originárias de desovas em tanques de terra, onde a água não recebeu tratamento visando controle de parasitos e onde as fêmeas mantiveram suas progênes alojadas na boca, propiciando a infecção destes por ectoparasitos.

Os ectoparasitos que mais se destacam, causando doenças em tilápias, são os protozoários que pertencem aos gêneros *Ichthyophthirius* e *Trichodina* e os helmintos monogenéticos¹⁸⁻²⁰. Os parasitos do gênero *Trichodina*, encontram-se distribuídos no tegumento e nas brânquias e, em altas cargas parasitárias, causam graves lesões no epitélio respiratório, podendo levar a intensa mortalidade, principalmente em animais jovens. Já os monogenéticos, girodactilídeos, parasitam principalmente o tegumento, causando distúrbios, quando em número elevado, propiciando portas de entrada para infecções secundárias, por fungos, bactérias e vírus, principalmente em peixes jovens e imunologicamente comprometidos^{18,21}.

Os gêneros de parasitos encontrados no exame inicial manifestam-se, principalmente, quando existem condições ambientais que favoreçam a reprodução do parasito e debilitem o hospedeiro como: altas densidades de estocagem, alimento de baixa qualidade e/ou palatabilidade e nas condições de baixa qualidade da água, principalmente, em relação à temperatura, oxigênio dissolvido e compostos tóxicos¹⁸⁻²¹.

A ausência de ectoparasitos nos exames posteriores à análise inicial pode estar correlacionada a qualidade da água, evidenciada pelos dados obtidos das análises dos parâmetros físico-químicos, a qual foi utilizada na criação dos animais experimentais.

Quanto ao desenvolvimento dos alevinos, Tabela 6, pode-se observar que houve diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$), em relação aos resultados médios de comprimento total final, comprimento padrão final e peso final, sendo que os animais tratados com *Homeopatila RS* apresentaram valores inferiores aos demais tratamentos quando observadas essas variáveis. Porém, quando se observa a taxa de sobrevivência dos animais tratados com *Homeopatila RS*, pode-se verificar que foi superior quando comparada os demais grupos. Portanto, a densidade final neste tratamento, pode ter implicado num crescimento médio inferior dos animais.

Vera Cruz e Mair²², estudando os efeitos da densidade, em tilápias nilóticas, com 2.000, 6.000 e 10.000 larvas/m³, em hapas, durante o período de reversão sexual, verificaram que com o aumento da densidade de estocagem ocorreu redução no crescimento, ganho de peso e sobrevivência destas.

Segundo Popma e Lovshin²³, 70% a 80% de sobrevivência final de larvas, são considerados valores normais para a fase de reversão sexual de tilápias, onde a mortalidade é considerada elevada, podendo ser encontrados valores de sobrevivência abaixo de 50%. O principal fator que afeta a sobrevivência destas é o estresse ambiental,

associado ao estresse fisiológico quando a reversão é obtida através de hormônios esteróides.

Segundo Martins²⁴, a qualidade da resposta orgânica pode variar em função de que peixes e outros animais, quando menos estressados, apresentam condições imunológicas superiores, sendo que essa resposta reflete de sobremaneira na sobrevivência. Adams²⁵, descreve que peixes quando submetidos a estresse ambiental apresentam como resposta aguda, a mortalidade crônica e baixo desenvolvimento.

Apesar da baixa qualidade inicial das pós-larvas, onde 100% apresentavam-se parasitadas, ser um fator importante no desempenho das mesmas, respostas fisiológicas diferenciadas podem ter ocorrido nas larvas tratadas com homeopatia e que poderiam justificar uma sobrevivência superior neste tratamento.

O núcleo homeopático *Homeopatia RS* possui na sua composição os bioterápicos de hipófise e testículos de tilápias, associados ao *iodium*. Atribui-se ao *iodium*, como medicamento homeopático, uma ação correlacionada ao metabolismo da tireóide e seus hormônios³. A tireóide é uma glândula importante ao crescimento de anfíbios, interferindo segundo Guedes *et al.*²⁶, na metamorfose dos mesmos. Em peixes, segundo Lima e Loures²⁷, apresenta-se como folículos associados à aorta ventral, já presente nos embriões, desempenhando importante papel, além do crescimento dos ossos, cartilagens e músculos, no metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídios, ativando os eventos do ciclo sexual e a maturação das gônadas.

Guedes *et al.*²⁶ trabalhando com um bioterápico dinamizado preparado a base de glândula tireóide de rãs (1:10²⁶), obtiveram alterações na taxa de metamorfose dos animais tratados, onde o número de animais que atingiram o estágio final da metamorfose foi significativamente menor que o grupo controle que recebeu somente a solução hidroalcoólica.

Soares *et al.*²⁸, estudando a reprodução induzida em matrinhã, observaram que as larvas oriundas de fêmeas tratadas com extrato de pituitária de carpa (EPC) associado a triiodotironina (T₃), apresentaram tempo de eclosão inferior e crescimento inicial e sobrevivência superiores, quando comparadas à prole de fêmeas do grupo controle que receberam somente EPC.

Nos peixes ocorrem transmissão materna dos hormônios tireoidianos através dos ovos, sendo que esses são fundamentais para: embriogênese, crescimento, transição de

larvas para juvenis e sobrevivência^{28,29}. Na maioria dos teleósteos os folículos tireoidianos já estão presentes no embrião antes da eclosão²⁹.

Baldisserotto², referindo-se a estudos utilizando larvas de tilápia (*Oreochromis mossambicus*), *Chanos chanos* e enguia européia (*Anguilla anguilla*) imersas em tiroxina, descreve que as mesmas apresentaram crescimento e sobrevivência aumentados, sendo observado que, em peixes, os efeitos dos hormônios da tireóide são dose e espécie dependentes.

Os animais tratados com *Homeopatila RS*, além da sobrevivência superior aos demais tratamentos, apresentaram um índice hepatossomático significativamente inferior, Tabela 6, aos demais grupos tratados.

Experimentos realizados em tilápias, não relacionados a intoxicações, apontam para diferenças nos índices hepatossomáticos, que podem estar correlacionadas a uma maior ou menor deposição lipídica ou de glicogênio neste órgão, dependendo da qualidade e quantidade da alimentação, bem como da fase de desenvolvimento dos peixes^{6,12,30}. Portanto, diferenças no metabolismo hepático, nos animais tratados com homeopatia, podem ser consideradas como fatores que poderiam alterar a proporção do fígado em relação ao peso corporal, uma vez que neste experimento os animais dos diferentes tratamentos apresentavam-se na mesma fase de desenvolvimento.

A presença de inclusão lipídica e infiltrado leucocitário, Tabela 7, foi observada no fígado dos animais em todos os grupos estudados, porém, houve redução significativa nos valores médios de inclusão lipídica no grupo tratado com *Homeopatila RS*, em relação ao grupo controle e ao tratado com 17 α -metiltestosterona. Sendo que, esses dados podem explicar o menor índice hepatossomático nesse grupo.

Varghese e Oommen³¹, estudando os efeitos dos hormônios da tireóide na regulação do metabolismo lipídico no teleósteo *Anabas testudineus*, concluíram que estes hormônios causam uma redução significativa da lipogênese hepática, baixando as taxas de triglicerídeos, ácidos graxos livres e colesterol, não ocorrendo, porém, alteração na taxa de fosfolípideos quando os animais tratados foram comparados com os controles sem medicação hormonal e os que apresentavam hipotireoidismo induzido.

As alterações histológicas evidenciadas nas brânquias dos animais analisados neste estudo, Tabela 8, foram hiperplasia das células dos filamentos, fusão lamelar e telangiectasia.

Embora não tenha sido observado telangiectasia, na análise branquial de peixes que receberam tratamento com *Homeopatila RS*, a análise estatística revelou não haver diferença significativa entre os diferentes grupos tratados em relação à respectiva lesão.

No presente trabalho, a frequência, relativamente baixa, de lesões branquiais nos diferentes grupos, pode ser explicada, entre outros fatores, pelos parâmetros físico-químicos da água de cultivo encontrarem-se dentro dos valores considerados ideais para a tilápia do Nilo e a condição sanitária dos animais, no decorrer do período, como revelada pelos exames parasitológicos. As lesões encontradas nas brânquias podem ser seqüelas decorrentes do parasitismo apresentado pelas pós-larvas ao iniciarem o experimento.

As lesões observadas nas brânquias, no presente estudo, foram igualmente descritas por Leonardo *et al.*⁷, em larvas de tilápia do Nilo, suplementadas com vitamina C, durante a reversão sexual, sendo que a frequência das alterações, nesse experimento, foi semelhante aos tratamentos que receberam adição de 1000 e 2000 mg/Kg de vitamina C de ração e, inferior ao controle que não recebeu vitamina C.

Alterações severas da estrutura branquial foram descritas, por autores que trabalharam com agentes tóxicos, poluentes e irritantes, como evidenciadas por Schwaiger *et al.*⁵, Mallatt³², Neskovic *et al.*³³, Chun-Yao *et al.*³⁴, Tavares-Dias *et al.*³⁵ e Winkaler *et al.*³⁶ ou pela presença de agentes patogênicos, como ectoparasitos, fungos e bactérias, como descritos por Schwaiger³⁷, Chun-Yao *et al.*³⁴ e Martins *et al.*³⁸.

Conforme apresentado por Takashima e Hybiya¹³ as alterações morfológicas nas brânquias, como hiperplasia epitelial e fusão lamelar podem ser encontradas, principalmente, na exposição crônica a agentes irritantes químicos ou biológicos e são evidenciadas por achados macroscópicos, quando severas, ou por meio de microscopia de luz ou eletrônica, quando leves a moderadas.

Segundo Wood *et al.*³⁹, culturas de células branquiais podem ser modelos importantes na investigação de alterações fisiológicas nas brânquias em resposta a hormônios, traços de agentes tóxicos e, como uma ferramenta para estudos toxicológicos que não empreguem o modelo animal.

Chun-Yao *et al.*³⁴ comparando alguns parâmetros sanguíneos com alterações histológicas em tilápias expostas a agentes infecciosos e tóxicos, concluíram que parâmetros como hematócrito, ferro, glicose, sódio e cloro, podem ser bons indicadores da deterioração da saúde nestes peixes, uma vez que apresentaram significativa

alteração na maioria dos tratamentos, mesmo quando estes apresentavam somente moderadas alterações histológicas. Portanto, em pesquisas utilizando produtos homeopáticos, outros métodos de estudo de alterações branquiais, como as culturas branquiais, podem ser aplicados, para detectar modificações fisiológicas que não possam ser reveladas pela microscopia de luz.

Não houve efeito significativo, do tratamento homeopático, quando observadas as proporções entre gônadas masculinas e femininas em relação ao grupo controle, Tabela 9, sendo que a porcentagem de machos neste grupo (52,5%) foi relativamente inferior à observada por Hein⁴⁰ de 61,5% e 64,3% e por Mainardes-Pinto *et al.*⁴¹ de 62 e 64%, quando não foram utilizados produtos para reversão sexual. Em relação ao tratamento, utilizando-se 17 α -metiltestosterona, foram observadas diferenças significativas, sendo que a taxa de gônadas masculinas de 95%, esta próxima de valores encontrados por Hein⁴⁰ de 99,75% e 100% e de Mainardes-Pinto *et al.*⁴¹ 96 e 100% e superior ao observado por Mair *et al.*⁴² de 71,60%, quando utilizado o hormônio 17 α -metiltestosterona na reversão sexual de alevinos de tilápias do Nilo.

Outros estudos utilizando *Homeopatila RS*, com tilápias do Nilo poderão ser conduzidos em diferentes fases de desenvolvimento, permitindo a realização de diferentes avaliações, como por exemplo, as hematológicas, que possam auxiliar na elucidação dos mecanismos envolvidos, nas importantes, respostas biológicas encontradas no presente trabalho.

5. Conclusão

A adição do núcleo homeopático *Homeopatila RS* (solução hidroalcoólica), na ração de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), na fase de diferenciação gonadal, não promoveu alteração na proporção sexual, no sentido da masculinização das mesmas, porém, apresentou efeito positivo na sobrevivência dos alevinos e interferiu no índice hepatossomático dos mesmos, onde os animais tratados com homeopatia apresentaram valor médio para inclusão lipídica hepática, inferior aos demais grupos tratados.

6. Referências Bibliográficas

- 1 Ribeiro RP. Espécies exóticas. In: Moreira HLM, Vargas L, Ribeiro RP, Zimmermann S. *Fundamentos da Moderna Aqüicultura*. Canoas: Ed. ULBRA, 2001, pp 91-115.
- 2 Baldisserotto B. *Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura*. Santa Maria: Ed.UFSM, 2002.

- 3 Benez SM, Jacobs PH, Cairo N, et al. *Manual de Homeopatia Veterinária*. Ribeirão Preto: Tecmedd, 2004.
- 4 Benites NR. Homeopatia. In: Spinosa HS, Gorniak SL, Bernardi MM. *Farmacologia aplicada a Medicina Veterinária*. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, pp 700-708.
- 5 Schwaiger J, Wanke R, Adam S, Pawer M, Honnen W, Tribskorn R. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. *J Aquat Ecosyst Stress Recov* 1997; **6**: 75-86.
- 6 Cavichiolo F. Desempenho e morfologia de brânquias e fígado de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com diferentes níveis e fontes de proteínas. 2005. 57f. tese (Doutorado em zootecnia)- Universidade Estadual de Maringá, 2005.
- 7 Leonardo JMLO, Vargas L, Ribeiro RP, et al. Histologia de brânquias e tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) de origem tailandesa, submetidas a diferentes níveis de vitamina C (ácido ascórbico). *Acta Sci* 2001; **24**(4): 863-870.
- 8 Hart LJ, Smith AS, Smith BJ, Robertson J, Halladay SD. Exposure of tilapian fish to the pesticide lindane results in hypocellularity of the primary hematopoietic organ (pronephros) and the spleen without altering activity of phagocytic cells in these organs. *Toxicology* 1997; **118**: 211-221.
- 9 Garcia-Abiado MA, Mbahinzireki G, Rinchar J, Lee KJ, Dabrowski K. Effect of diets containing gossypol on blood parameters and spleen structure in tilapia, *Oreochromis* sp., reared in a circulating system. *J Fish Dis* 2004; **27**: 359-368.
- 10 Vicentini CA, Francesquini-Vicebntini IB, Bombonato MTS, Bertoluci B, Lima SG, Santos AS. Morphological study of liver in the teleost *Oreochromis niloticus*. *Int J Morphol* 2005; **23**(3): 211-216.
- 11 Roberts JR. *Patologia de los Peces*. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 1981, 366 p.
- 12 Bruslé J, Anadon GGI. The structure and function of fish liver. In: Munshi JSD, Dutta HM. *Fish Moerphology, Horizon of New Research*. Enfield, New Hampshire: Science Publisher Inc., 1996, pp 77-266.
- 13 Takashima F, Hibiya T. *An Atlas of Fish Histology, Normal and Pathological Features*. 2nd EDD. Tokio: Kodanaska; Stuttgart, New York: Giustav Fisher Verlag, 1995.
- 14 Eiras JE, Takemoto RM, Pavanelli GC. *Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes*. Maringá: EDUEM, 2000.
- 15 Tavares-Dias M, Martins ML, Moraes FR. Fauna parasitária de peixes oriundos de “pesque-pague” do município de Franca, São Paulo, Brasil. I Protozoários. *Rev Bras Zool* 2001; **18**(1):67-69.
- 16 Wassermann GJ, Afonso LOB. Validation of the aceto-carmine technique for evaluating phenotypic sex in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry. *Cienc Rural* 2002; **32**(1): 133-139.
- 17 SAS –Statistical Analysis System. User Guide: Start, Cary (NC: SAS INSTITUTE INC.) 2002.
- 18 Pavanelli GC, Eiras JC, Takemoto RM. *Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento*. Maringá: EDUEM, 1998.
- 19 Vargas L. Efeito da vitamina C, da vitamina E, do cloreto de sódio e da formalina na ocorrência de ectoparasitos em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). In: Ranzani-Paiva MJ, Takemoto RM, Lizama M de los AP. *Sanidade de Organismos Aquáticos*. São Paulo: Varela, 2004, pp 371-382.
- 20 Cavichiolo F, Vargas V, Ribeiro RP, Moreira HLM, Leonardo JM. Níveis de suplementação de vitamina C na ração sobre a ocorrência de ectoparasitos,

- sobrevivência e biomassa em alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). *Acta Sci* 2002; **24**(4): 957-964.
- 21 Lim C, Webster CD. *Nutrition and fish health*. New York: Food Products Press, 2001.
 - 22 Vera Cruz EM, Mair GC. Conditions for effective androgen sex reversal in *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture* 1994; **122**: 237-248.
 - 23 Popma TJ, Lovhin LL. *Worldwide prospects for commercial production of tilapia*. Auburn: Auburn University, Center for Aquaculture and Aquatic Environments, Department of Fisheries and Allied Aquaculture, 1994.
 - 24 Martins M L, Moraes FR, Moraes JRE, Malheiros EB. Falha na resposta do cortisol ao estresse por captura e por carragenina em *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae). *Acta Sci* 2000; **22**(2): 545-552.
 - 25 Adams SM. Status and use of biological indicators for evaluating the effects of stress in fish. In: Adams SM. *Biological indicators of stress in fish*. Bethesda: American Fisheries Society: Symposium 8, 1990, pp 1-8.
 - 26 Guedes JRF, Ferreira CM, Guimarães HMB, Saldiva PHN, Capelozzi VL Homeopathically prepared dilution of *Rana catesbeiana* thyroid glands modifies its rate of metamorphosis. *Homeopathy* 2004; **93**(3): 132-137.
 - 27 Lima S, Loures, BRR. Fisiologia de peixes. In: Moreira HLM, Vargas L, Ribeiro RP, Zimmermann S. *Fundamentos da Moderna Aqüicultura*. Canoas: Ed. ULBRA, 2001, pp 23-28.
 - 28 Soares Soares MCF, Urbinati EC, Senhorini JA. Variação periódica da Triiodotironina (T₃) plasmática e sua ação na reprodução induzida do matrinhã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) em cativeiro. *Rev Bras Zoot* 2003; **32**(6): 1825-1834.
 - 29 Yamano K. The role of thyroid hormone in fish development with reference to aquaculture. *JARQ* 2005; **39**(3): 161-168.
 - 30 Lanna EAT, Pezzato LE, Furuya WM, et al. Fibra bruta e óleo em dietas práticas para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Rev Bras Zoot* 2004; **33**(6): 2177-2185.
 - 31 Varghese S, Oommen OV. Thyroid hormones regulate lipid metabolism in a teleost *Anabas testudineus* (Bloch). *Comp Biochem Physiol* 1999; **124**: 445-450.
 - 32 Mallatt J. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants.: A statistical review. *Can J Fish Aquat Sci* 1985; **42**: 630-648.
 - 33 Neskovic NK, Poleksic V, Elezovic, Karan V, Budimir M. Biochemical and histopathological effects of glyphosate on carp, *Cyprinus carpio* L. *Bull Environ Contam Toxicol* 1996; **56**(2) : 295-302.
 - 34 Chun-Yao C, Wooster GA, Browser PR. Comparative blood chemistry and histopathology of tilapia infected with *Vibrio vulnificus* or *Streptococcus iniae* or exposed to carbon tetrachloride, gentamicin, or copper sulfate. *Aquaculture* 2004; **239**: 421-443.
 - 35 Tavares-dias M, Martins ML, Schalch SHC, et al. Alterações hematológicas e histopatológicas em pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes, Characidae), tratado com sulfato de cobre (CuSO₄). *Acta Sci* 2002; **24**(2): 547-554.
 - 36 Winkaler EU, Silva AG, Galindo HC, Martinez CBR. Biomarcadores histológicos e fisiológicos para monitoramento da saúde de peixes de ribeirões de Londrina, Estado do Paraná. *Acta Sci* 2001; **23**(2): 507-514.
 - 37 Schwaiger J. Histopathological alterations and parasite infection in fish: indicators of multiple stress factors. *J Aquat Ecosyst Stress Recov* 2001; **8**: 231-240.

- 38 Martins ML, Souza VN, Moraes JRE, Moraes FR, Costa AJ. Comparative evaluation of the susceptibility of cultivated fishes to the natural infection with myxosporean parasites and tissue changes in the host. *Rev Brasil Biol* 1999; **59**(2): 263-269.
- 39 Wood CM, Kelly SP, Zhou B, *et al.* Cultured gill epithelia as models for the freshwater fish gill. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1566: 72-83.
- 40 Hein G. Avaliação do vorozol, um inibidor não esteroide específico da aromatase, em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). I. Reversão sexual de alevinos. II. Desempenho nas fases de crescimento e engorda. 2003. 43f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2003.
- 41 Mainardes-Pinto CSR, Fenerich-Verani N, Campos BES, Silva AL. Masculinização da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, utilizando diferentes rações e diferentes doses de 17 α -metiltestosterona. *Rev Bras Zoot* 2000; **29**: 654-659.
- 42 Mair GC, Abucay JS, Beardmore JA, Skibinski DOF. Growth performance trials of genetically male tilapia (GMT) derived from YY-males in *Oreochromis niloticus* L.: On station comparisons with mixed sex and sex reversed male populations. *Aquaculture* 1955; **137**: 313-322.

VII CONCLUSÕES GERAIS

A adição do núcleo homeopático *Homeopatila RS* (solução hidroalcoólica), na ração de tilápias do Nilo (*O. niloticus*), durante a fase de diferenciação gonadal, não promoveu alteração na proporção sexual, no sentido da masculinização das mesmas, porém apresentou efeito positivo na sobrevivência dos alevinos, sendo que, os animais apresentaram nível de inclusão lipídica hepática inferior aos demais grupos tratados.

A homeopatia pode ser utilizada em peixes como uma ferramenta importante na produção animal, no sentido de conferir melhores condições de sobrevivência aos animais, para que os mesmos possam expressar, com maior êxito, suas potencialidades produtivas.