

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS SANGUÍNEOS E DESEMPENHO
REPRODUTIVO DE TILÁPIA DO NILO TRATADAS COM
HOMEOPATILA 100[®]

Autor: Douglas Anadias Pinheiro
Orientador: Prof. Dr. Lauro Vargas

MARINGÁ
Estado do Paraná
Outubro 2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS SANGUÍNEOS E DESEMPENHO
REPRODUTIVO DE TILÁPIA DO NILO TRATADAS COM
HOMEOPATILA 100[®]

Autor: Douglas Anadias Pinheiro
Orientador: Prof. Dr. Lauro Vargas

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

MARINGÁ
Estado do Paraná
Outubro 2017



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS SANGUÍNEOS E DESEMPENHO
REPRODUTIVO DE TILÁPIA DO NILO TRATADAS COM
HOMEOPATILA 100[®]

Autor: Douglas Anadias Pinheiro
Orientador: Lauro Vargas

Titulação: Doutor em Zootecnia – Área de Concentração Produção Animal

APROVADO em 05 de outubro de 2017.

Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro

Prof. Dr. Carlos Antonio Lopes de
Oliveira

Prof. Dr. Luiz Paulo Rigolo

Profa. Dra. Denise Pastore de Lima

Prof. Dr. Lauro Vargas

Dedico esse trabalho a Deus, pelo dom da vida,
à minha esposa Mariana Fuzinatto
e aos meus pais, Agnaldo e Gorete Pinheiro,
pela confiança e apoio, mas principalmente
pelo amor que sempre me proporcionam
incondicionalmente.

AGRADECIMENTOS

- ✓ A Deus, por disponibilizar essa oportunidade e por colocar pessoas certas em meu caminho;
- ✓ À Universidade Estadual de Maringá (UEM), ao programa de Pós-graduação em Zootecnia (PPZ), ao departamento de zootecnia (DZO) e a meus professores;
- ✓ À CAPES, pela bolsa;
- ✓ À empresa RealH, pelo fornecimento do núcleo homeopático e pela confiança no nosso trabalho;
- ✓ À minha família, por estar sempre presente em todos os momentos me apoiando e acreditando em meus sonhos. Em especial, à minha mãe Gorete e ao meu pai Agnaldo Pinheiro, que em meio a tantas dificuldades nunca mediram esforços para que eu pudesse estudar;
- ✓ À minha esposa Mariana Fuzinato, por todo carinho, amor, dedicação e principalmente paciência durante todos esses anos: você é minha grande inspiração.
- ✓ Ao professor, orientador e amigo Lauro Vargas, pela confiança, dedicação e ensinamentos que levarei para a vida inteira.

- ✓ Aos professores, Carlos A.L. Oliveira pelo auxílio com a análise estatística e professor Ricardo P. Ribeiro por fornecer toda estrutura e apoio;
- ✓ Aos colegas do grupo PeixeGen, que contribuíram durante o experimento.
- ✓ Aos funcionários da CODAPAR, Vitor Moises, Cleiton dos Santos, Zé Geraldo e Nelson Palmeira, por toda ajuda e companheirismo durante todo o experimento.

MUITO OBRIGADO!

BIOGRAFIA DO AUTOR

DOUGLAS ANADIAS PINHEIRO, filho de Agnaldo Pinheiro e Maria Gorete Anadias Pinheiro, nasceu em 22 de agosto de 1987 em Capanema – PA.

Em julho de 2007, iniciou o curso de graduação em Engenharia de Pesca pela Universidade Estadual do Amapá, Macapá, Estado do Amapá, concluindo-o em 2011.

Em março de 2012, iniciou o curso de Pós-graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos, em nível de mestrado, na Universidade Federal do Amazonas, Manaus, estado do Amazonas, concluindo-o em 2014.

Em março de 2014, iniciou o curso de Pós-graduação em Zootecnia, em nível de doutorado, na Universidade Estadual de Maringá. Submeteu-se ao exame geral de qualificação em abril de 2017 e, em outubro de 2017, submeteu-se à defesa da tese.

ÍNDICE

| | Página |
|---|-----------|
| LISTA DE TABELAS | ix |
| LISTA DE FIGURAS | x |
| RESUMO | xi |
| ABSTRACT | xiii |
| I - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 15 |
| Piscicultura | 15 |
| 1.2 TILÁPIA DO NILO | 17 |
| 1.3 REPRODUÇÃO DE TILÁPIAS | 19 |
| 1.4 HEMATOLOGIA | 21 |
| 1.5 HOMEOPATIA VETERINÁRIA | 23 |
| 1.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 27 |
| II - Avaliação dos parâmetros sanguíneos e desempenho reprodutivo de tilápias do Nilo tratadas com Homeopatila100® | 39 |
| Resumo | 40 |
| Introdução | 411 |
| Material e métodos | 43 |
| Local e período | 43 |
| Parâmetros físicos e químicos da água | 44 |
| Delineamento experimental | 44 |
| Preparação da dieta com produto homeopático | 44 |
| Procedimentos de coleta e análises dos parâmetros sanguíneos | 45 |
| Avaliação Reprodutiva | 46 |
| Análise estatística | 46 |
| Resultados | 47 |
| Discussão | 50 |
| Conclusão | |
| Referências Bibliográficas | 54 |
| Apêndice I | 56 |

LISTA DE TABELAS

| | Página |
|--|--------|
| Tabela 1. Composição do núcleo homeopático <i>Homeopatila 100</i> [®] | 45 |
| Tabela 2. Valores médios \pm desvio padrão dos parâmetros físicos e químicos da água dos tanques de tilápias do Nilo alimentadas com <i>Homeopatila 100</i> [®] durante período de reprodução..... | 47 |
| Tabela 3. Valores hematológicos de tilápias do Nilo tratadas com <i>Homeopatila 100</i> [®] durante período de reprodução. Hemog (hemoglobina, g/dL), Hemat (hematócrito %), RBC (Eritrócito, 10 ⁶ / μ L), Glicose (mg/dL), Proteína (mg/dL), VCM (volume corpuscular médio, g/dL), CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média, g/dL), Tromb (trombócitos, μ L), Leuc (leucócitos, μ L), Linf (linfócitos, μ L), Mon (monócitos, μ L), Neut (neutrófilos, μ L)..... | 48 |
| Tabela 4. Média de leucócitos, neutrófilos e Monócitos de tilápias do Nilo tratadas com <i>Homeopatila 100</i> [®] . Interação significativa..... | 49 |
| Tabela 5. Valores absolutos de número de desova, eclosão e número de fêmeas que desovaram de tilápias do Nilo tratadas com <i>Homeopatila 100</i> [®] | 50 |

LISTA DE FIGURAS

PÁGINA

Figura1. Relação número de ovos/coletas ao longo do período (A) e volume de ovos (B) de tilápias do Nilo tratadas com *Homeopatila 100*[®] durante o período reprodutivo.....49

RESUMO

O presente trabalho foi realizado na Estação Experimental de Piscicultura da Universidade Estadual de Maringá (UEM/CODAPAR), no Distrito de Floriano, município de Maringá, Estado do Paraná, no período de novembro a janeiro de 2014, com duração de 90 dias. Um total de 160 tilápias do Nilo do programa de melhoramento genético da UEM foram distribuídas em quatro hapas de polietileno com volume de 10 m³ cada um. Os tratamentos consistiam em Tratamento 1 (controle) (40 mL de solução hidroalcoólica 30%/kg de ração e Tratamento 2 (40 mL Homeopatila 100[®]/kg de ração). Foram distribuídos 40 peixes em cada hapa, seguindo a proporção de três fêmeas para um macho.. Os peixes foram alimentados quatro vezes ao dia *ad libitum*, com ração comercial. No tempo 0, aos 45 e 90 dias de experimento, 10 peixes (cinco fêmeas e cinco machos) de cada hapa dos diferentes tratamentos foram anestesiados com eugenol para a coleta de sangue. De cada peixe, foi coletada uma alíquota de sangue por punção do vaso caudal para identificar o número de eritrócitos totais em câmara de Neubauer, a concentração da hemoglobina usando reagente de Drabkin, a leitura em espectrofotômetro em 540 nm de absorbância e o hematócrito pelo método do microhematócrito. Foram calculados os índices hematimétricos: VCM e CHCM e confeccionadas extensões sanguíneas, em duplicata, para a contagem diferencial de leucócitos em até 200 células de interesse. Uma parte do sangue foi centrifugada para obtenção do plasma e determinação das concentrações de glicose e proteínas totais. A desova das fêmeas foi verificada semanalmente, restringindo os reprodutores a uma pequena área da hapa e quando era observada a presença de ovos na cavidade bucal, eram coletados para a mensuração do volume total e para identificar o número de ovos por mL produzido por cada fêmea. As informações de ocorrência ou não das desovas foram utilizadas para estimar a probabilidade de desova e desovas múltiplas. A

hemoglobina, RBC, glicose, CHCM, trombócitos, leucócitos e monocitos apresentaram diferença estatística entre os tratamentos. Na variável sexo, não foi observada diferença porém, foi observada interação significativa entre os sexos para o número de monócitos. Nos tempos 0, 45 e 90 dias foi observada diferença significativa nos parâmetros hemoglobina, RBC, VCM, CHCM, trombócitos e linfócitos. Verificou-se interação significativa entre os tempos e o número de leucócitos e neutrófilos. Os modelos estatísticos testados continham os efeitos de tratamento e de peso inicial dos reprodutores como covariável para a probabilidade de desova e desovas múltiplas e não foi observado efeito de tratamento considerando o peso inicial como covariável. O número de ovos por mL apresentou redução ao longo do tempo para ambos os tratamentos e os resultados indicaram redução mais acentuada na quantidade de ovos das fêmeas que receberam o núcleo homeopático *Homeopatila 100*[®]. Foi observado o incremento do volume de ovos ao longo do período experimental, porém, não foram verificadas diferenças estatísticas entre os tratamentos. Esses resultados demonstram que o produto *Homeopatila 100*[®], na concentração de 40mL/kg de ração, causou oscilações nas células de defesa durante o período experimental, indicando que o mesmo atua no organismo do animal como imunostimulador e poderia preparar melhor os peixes para enfrentar uma futura situação de estresse. Os peixes do tratamento com o produto homeopático apresentaram maior número de desovas e posterior eclosão, porém, o número de ovos por mL diminuiu ao longo das coletas, mesmo assim, manteve-se o incremento do volume de ovos, pois os ovos eram maiores.

Palavras-chave: homeopatia populacional, homeopatia em tilápias do Nilo, hematologia de tilápias do Nilo, reprodução de tilápias do Nilo.

ABSTRACT

The present work was carried out at the Experimental Station of Fisheries of the State University of Maringá (UEM), in Floriano District, municipality of Maringá, State of Paraná, from November to January 2014, lasting 90 days. A total of 160 Nile tilapia from the genetic improvement program of UEM were distributed in four polyethylene hapas with a volume of 10 m³ each. The treatments consisted of Treatment 1 (control) (40 mL of hydroalcoholic solution 30% /kg of feed and Treatment 2 (40 mL Homeopatia 100[®] / kg of feed). 40 fish were distributed in each hapa, following the proportion of three females for a male. The fish were fed four times daily ad libitum with commercial feed. At time 0, at 45 and 90 days of experiment, 10 fish (five females and five males) from each hapa of the different treatments were anesthetized with A blood aliquot was collected from each fish by puncturing the caudal vessel to identify the number of total erythrocytes in the Neubauer chamber, the hemoglobin concentration using Drabkin's reagent, the spectrophotometer reading at 540 nm of absorbance and hematocrit by the microhematocrit method The hematimetric indexes: VCM and CHCM were calculated and blood extensions were made, in duplicate, for differential leukocyte count in up to 200 cells of interest. A portion of the blood was centrifuged for plasma collection and determination of glucose and total protein concentrations. Females spawning were checked weekly by restricting broodstock to a small area of the hapa and when eggs were observed in the buccal cavity were collected to measure the total volume and to identify the number of eggs per mL produced by each female. Information on the occurrence or not of spawnings was used to estimate the probability of spawning and multiple spawning. Hemoglobin, RBC, glucose, CHCM, thrombocytes, leukocytes, and monocytes presented statistical differences

between treatments. In the sex variable, no difference was observed ($p \geq 0.05$), however, a significant interaction between the sexes was observed for the number of monocytes. At 0, 45 and 90 days, a significant difference ($p \geq 0.05$) was observed in the parameters hemoglobin, RBC, VCM, CHCM, thrombocytes, and lymphocytes. There was a significant interaction between the time and the number of leukocytes and neutrophils. The statistical models tested contained the effects of treatment and the initial weight of the reproducers as a covariate for the spawning probability and multiple spawnings and no treatment effect was observed considering the initial weight as a covariate. The number of eggs per mL presented reduction over time for both treatments and the results indicated a more marked reduction in a number of eggs of the females that received the homeopathic nucleus Homeopatila 100[®]. It was observed the increase of egg volume throughout the experimental period, however, no statistical differences between treatments were observed ($p < 0.05$). These results show that the product, 40 mg/kg of feed, caused fluctuations in the defense cells during the experimental period, indicating that it acts in the body of the animal as an immunostimulatory and could better prepare the fish to face a future stress situation. The fish from the treatment with the homeopathic product had a higher number of spawning and subsequent hatching, but the number of eggs per mL decreased during the collection, even so, the egg volume increase was maintained because the eggs were larger.

Keywords: homeopathy, homeopathy in Nile tilapia, hematology of Nile tilapia, reproduction of Nile tilapia.

1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Piscicultura

Em 2014, a produção mundial de pescados proveniente da aquicultura foi de aproximadamente 73,8 milhões de toneladas, representando 44,1% da produção total de pescado. Os maiores produtores mundiais são a China (45,5 milhões de toneladas) representando mais de 60% da produção aquícola mundial, seguido pela Índia (4,8 milhões de toneladas), Indonésia (4,2 milhões de toneladas) e Vietnã (3,3 milhões de toneladas) (FAO, 2016).

A exploração indiscriminada do estoque pesqueiro natural, contaminação e degradação do meio ambiente aquático têm levado, de forma geral, à estabilização da pesca extrativa (LOPERA-BARRERO et al., 2011; SONODA et al., 2012). Segundo a Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO), a pesca extrativa (continental e marinha) teve um crescimento de 4,3 milhões de toneladas entre os anos de 2010-2014 (de 89,1 milhões de toneladas em 2010 para 93,4 milhões de toneladas em 2014), em contra partida, a aquicultura (continental e marinha) apresentou um crescimento 10 vezes maior nesse mesmo período, 14,8 milhões de toneladas (59,0 milhões de toneladas em 2010 para 73,8 milhões de toneladas em 2014) (FAO, 2016).

Embora tenha ocorrido estabilização das capturas, é crescente a demanda por pescados. Em 2014, o consumo mundial *per capita* foi de 20,1 kg (FAO, 2016). Devido a essa crescente demanda, se fez necessário e mesmo imperativo que se encontrassem alternativas para formas de cultivo de peixes que complementassem a produção natural e que tivessem capacidade de saciar a demanda mundial de pescado, buscando também envolver três elementos essenciais: a produção lucrativa, a preservação do meio ambiente e o desenvolvimento social (ELER e MILLANI, 2007).

Neste caso, foi necessário desenvolver tecnologias para produção em grande escala de peixes cultivados em águas interiores e no mar. Assim, hoje no mundo todo, um grande número de espécies de água doce e salgada é cultivado em diferentes sistemas de produção e níveis tecnológicos (ANDRADE e YASUI, 2003).

A produção de organismos aquáticos vem se firmando como uma das atividades zootécnicas que mais se desenvolve no mundo, tornando-se uma das principais responsáveis pela oferta de proteína de origem animal. A elevada taxa de crescimento da aquicultura, especificamente da piscicultura, pode ser explicada simultaneamente pela tendência do aumento da demanda mundial por carnes brancas, bem como a busca por alimentos mais saudáveis (CAMARGO e POUHEY, 2005; MATTHIENSEN, 2009).

No Brasil, os primeiros registros de criação de peixes datam da década de 1930, quando foram feitas as experiências iniciais para obter a desova de espécies nativas em cativeiro, como o dourado (*Salminus brasiliensis*). No entanto, a piscicultura como atividade econômica é muito mais recente (NOGUEIRA e RODRIGUES, 2007; TURRA et al., 2009). Somente a partir de 1950, a piscicultura nacional começou a ser usada para fins comerciais, com a introdução de espécies exóticas como as carpas, cultivadas em viveiros de pequenas propriedades (FAO, 2006).

O grande potencial hídrico do Brasil tanto de água doce, salobra e marinha, clima favorável, grande oferta de insumos (alevinos e rações comerciais), disponibilidade de recursos humanos especializados, criação de linhas de crédito específica, incentivo governamental às exportações, diversidade de espécies nativas com potencial zootécnico e de interesse para o mercado e a produção comercial de peixes em tanques-redes, podem fazer do país um dos maiores produtores do mundo nos próximos anos (ROTTA e QUEIROZ, 2003; ONO, 2005).

A piscicultura no Brasil, somente teve a possibilidade de se expandir no momento em que as técnicas de reprodução natural e artificial de peixes em cativeiro se consolidaram. A partir do domínio do processo reprodutivo ficou evidente a importância da escolha de espécies condizentes com as características físicas do ambiente, bem como a adoção do manejo adequado para cada espécie (ANDRADE E YASUI, 2003).

Junto com o crescimento da piscicultura e a profissionalização da atividade, surge a necessidade de aperfeiçoar as instalações de produção, gerando o aumento da densidade de estocagem nos sistemas de cultivo intensivo e, com isso, os problemas relacionados ao estresse dos peixes, redução na qualidade ambiental (alterações do pH,

aumento de amônia, diminuição de oxigênio dissolvido) e surgimento de doenças, devido à falta de boas práticas de manejo (MARTINS, 2004; EIRAS et al., 2006). Neste panorama, a hematologia clínica desempenha fundamental importância, atuando como ferramenta que permite a avaliação das condições de defesa orgânica e permitindo ao pesquisador e/ou criador identificar as respostas dos peixes frente ao desafio de criação de forma eficaz e sem desperdício de recursos onerosos (RANZANI-PAIVA et al., 2013).

1.2 TILÁPIA DO NILO

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) pertence à família *Cichlidae* originária da África, é uma espécie economicamente importante em diversos países, principalmente aqueles de clima temperado e subtropical, e a produção global da espécie vem crescendo a cada ano (FURUYA et al., 2010).

É uma espécie importante para aquicultura mundial, por apresentar grande potencial zootécnico além de grande aceitação pelos produtores e consumidores (ZANOLO E YAMAMURA, 2006). Isso acontece devido a suas características: rusticidade, precocidade, grande aceitação no mercado consumidor, facilidade de adaptação às condições adversas de cultivo, filé sem espinhos intramusculares em forma de “Y” com rendimento entre 35 a 40%, resistência ao estresse, parasitoses e variações na qualidade da água, apresenta boas características organolépticas, boa conversão alimentar, adaptação ao cultivo em altas densidades de estocagem e facilidade de reprodução em confinamento (EL-SAYED, 2006; SCORVO FILHO et al., 2010.; LOPERA-BARRERO et al., 2011).

Apesar de apresentar hábito alimentar fitoplanctófago, possui grande capacidade de aceitar alimento artificial, seja na forma farelada, peletizada ou extrusada, ocupando um baixo nível trófico na cadeia alimentar do ambiente aquático, o que a confere à capacidade de produzir proteína de alta qualidade com o uso de fontes alternativas de proteína (RIBEIRO, 2001.; FURUYA et al., 2010).

O. niloticus é cultivada em diversos sistemas de produção, como: viveiros escavados, tanques-rede e *raceway's*. Em sistemas intensivos, as tilápias do Nilo se destacam pelo rápido ritmo de crescimento (LOPERA-BARRERO et al 2011; FAO, 2014). São animais que se reproduzem naturalmente em confinamento, o que possibilita a obtenção de grande número de juvenis para as fases posteriores do ciclo de produção. A inversão sexual durante a fase larval para a obtenção de populações monosexo

masculinas tem sido amplamente utilizada para controle populacional e incremento dos níveis de produtividade, uma vez que fêmeas direcionam parte dos nutrientes ingeridos na forma de alimento para produção de gametas e apresentam ritmo de crescimento menor que os machos (MEURER et al., 2008; FURUYA et al., 2010).

No Brasil, a tilápia foi introduzida em 1953 com a importação da *Tilapia rendalli* do Congo (TAVARES-DIAS e MORAES, 2003). Em 1971, o Departamento Nacional de Obras Contra Seca (DNOCS) introduziu tilápias do Nilo nos açudes do Nordeste e posteriormente difundiu-se pelo Brasil todo (AYROZA, 2009). As linhagens comerciais brasileiras têm origens distintas, sendo a Bouaké originária da Costa do Marfim e introduzida no Brasil em 1971 (CASTAGNOLLI, 1992), a Chitralada ou Tailandesa originária do Egito, desenvolvida no Japão, melhorada na Tailândia e importada para o Brasil em 1996 (ZIMMERMANN, 1999) e a GIFT (*Genetically Improved Farmed Tilapia*), resultado do programa de melhoramento genético de tilápias do *Worldfish Center*, na Malásia (GUPTA e ACOSTA, 2004), sendo importada pelo Centro de Pesquisa em Aquicultura da Universidade Estadual de Maringá, em 2005 (FÜLBER et al., 2010).

Em 2005, a Estação Experimental em Piscicultura da Universidade Estadual de Maringá (UEM-CODAPAR) recebeu 30 famílias da linhagem GIFT, através de um projeto elaborado em parceria com a *Worldfish Center* e com o apoio da Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca (SEAP) e o Brasil tornou-se o primeiro país na América Latina a receber esta linhagem geneticamente melhorada (LUPCHINSKI JUNIOR et al., 2008; MASSAGO et al., 2010). A variedade GIFT é fruto de pesquisas iniciadas na Malásia em 1988, com a liderança do *Worldfish Center* (LI et al., 2006) órgão não governamental, sendo composta por quatro linhagens comerciais de tilápias cultivadas na Ásia e outras quatro linhagens silvestres de cultivo na África. A combinação destas linhagens puras foi realizada com a finalidade de aumentar a variabilidade genética, e com o resultado obtido foi realizada a seleção das primeiras gerações. Segundo o *Worldfish Center* e seus parceiros, a linhagem deverá ser testada em diferentes ambientes de cultivo e em muitos outros países até que possa se expandir plenamente (GUPTA et al., 2004.; MASSAGO et al., 2010).

A tilápia do Nilo é a espécie mais produzida no Brasil, com produção de 198.664 toneladas em 2014, representando 42% do total produzido no país (IBAMA, 2014). Sendo a tilápia do Nilo uma das espécies de peixes mais cultivadas no mundo, diversas

pesquisas buscam de forma contínua novas tecnologias e alternativas com o objetivo de melhorar o sistema de produção dessa espécie (MPA, 2013; VERAS et al., 2013).

1.3 REPRODUÇÃO DE TILÁPIAS

A reprodução dos peixes é imprescindível para a cadeia do pescado e o sucesso reprodutivo dependente da ontogênese gonadal (STRÜSSMANN e NAKAMURA, 2002). As gônadas são compostas por dois compartimentos: o intersticial que contém as células de Leydig, vasos sanguíneos e linfáticos, macrófagos e mastócitos, tecidos conjuntivos e células neurais, e o compartimento tubular que é delimitado por uma membrana basal e por células mióides peritubulares contendo o epitélio germinativo, composto pelas células germinativas em diversos estágios de desenvolvimento e pelas células de Sertoli (KOULISH et al., 2002; SCHULZ et al., 2010). Em teleósteos, a espermatogênese se desenvolve em cistos localizados dentro dos túbulos seminíferos, sendo estes cistos formados quando as células de Sertoli se associam à espermatogônia (VILELA et al., 2003). Apesar do arranjo cístico, a espermatogênese dos teleósteos é semelhante a dos mamíferos (LACERDA et al., 2006).

Todas as espécies de peixes, no período reprodutivo, sofrem influência de fatores externos, necessitando assim, de uma adequada fonte de alimentação para sua sobrevivência e para desenvolvimento reprodutivo adequado. A grande maioria dos peixes teleósteos possui reprodução sazonal e este fato indica que a reprodução é regulada, pelo menos em parte, por fatores ambientais, sendo o sistema endócrino, o elo entre o ambiente interno e externo (NAVARRO et al., 2010).

O sistema endócrino e o sistema imune comunicam-se e cooperam entre si para a manutenção da homeostasia do organismo (HARRIS e BIRD, 2000). Desta maneira, comunicações bidirecionais incluem a regulação das funções do sistema endócrino por meio de moléculas sinalizadoras derivadas do sistema imune e a regulação das funções do sistema imune por meio de moléculas sinalizadoras do sistema endócrino (WEYTS et al., 1999). Os efeitos do estresse no sistema imune de peixes reduzem a concentração sorológica de imunoglobulina M, enquanto os impactos ambientais influenciam o sistema endócrino (BOWDEN, 2008).

A tilápia do Nilo é um peixe que se reproduz naturalmente em confinamento, o que possibilita a obtenção de grande número de juvenis para as fases posteriores do ciclo de produção (EL-EBIARY et al., 2013). A técnica comumente utilizada para a inversão

sexual é a adição na ração do hormônio sintético 17- α -metiltestosterona e a alimentação das pós-larvas com esta ração por até 30 dias (POPMA e GREEN, 1990). A utilização do hormônio masculinizante tem como função principal a inversão de fêmeas genotípicas em machos fenotípicos, ou seja, a produção de lotes monossexuais masculinos. Esta técnica impede a reprodução precoce das fêmeas, pois as fêmeas com 30 gramas já se apresentam aptas para reprodução (EL-SAYED et al., 2003), acarretando desvio de energia para a reprodução, quando esta deveria ser utilizada para o crescimento (MEURER et al., 2005; BAROILLER et al., 2014).

Na reprodução de tilápias, a genética apresenta grande importância. Contudo, os fatores ambientais desempenham papel fundamental na expressão do potencial genético dos animais (DUPONCHELLE et al., 1997). Desta forma, os níveis de oxigênio dissolvido, temperatura da água, pH, salinidade, fotoperíodo, pluviosidade e alimentação são os fatores ambientais que mais influenciam no desempenho reprodutivo de tilápias (EL-SAYED et al., 2003; PEREIRA et al., 2009; NASCIMENTO, 2010). Fatores relacionados ao manejo, como a densidade de estocagem dos reprodutores, têm grande influência na porcentagem de desova (LOVSHIN, 1982). A baixa densidade de estocagem e a adequada razão entre machos:fêmeas resultam na alta produção de alevinos (HUGHES e BEHRENDTS, 1983). Quando se trata da razão entre machos:fêmeas é sugerido 1:2 ou 1:3 para a maximização da produção de ovos (HUGHES e BEHRENDTS, 1983; SIDDIQUI e AL-HARBI, 1997).

Em ambientes de cultivo, na maioria dos casos, os ovos são incubados artificialmente, utilizando-se de metodologias que propiciam condições similares ao desenvolvimento natural. No caso de tilápias (gêneros *Oreochromis* sp e *Sarotherodon* sp), a incubação é realizada em aparatos específicos para ovos de alta densidade, promovendo oxigenação semelhante ao observado na incubação natural, realizada na cavidade oral (CALADO et al., 2008). Essa técnica de incubação proporciona a padronização em tamanho e idade dos animais, possuindo, inclusive, aplicações em tecnologias de indução de sexo fenotípico e manipulação cromossômica (YASUI et al., 2006).

No entanto, alguns problemas como a baixa fecundidade e desovas assíncronas podem ser observados em fêmeas de tilápias do Nilo (LITTLE et al., 1993). Para contornar esta situação e em razão do aumento da demanda de alevinos de tilápias, tem sido utilizado número elevado de reprodutores no plantel (CAMPOS-MENDOZA et al., 2004) e a utilização de tanques escavados ou hapas de polietileno instaladas nos

viveiros para a reprodução causando assim o aumento do estresse durante o período reprodutivo. Portanto, é possível que a Homeopatia 100[®] atue no organismo dos peixes como forma de regulação, restabelecendo o equilíbrio orgânico quebrado.

1.4 HEMATOLOGIA

O sangue é um tecido conjuntivo formado por plasma e células, tais como eritrócitos, leucócitos e trombócitos. Ele está em equilíbrio com praticamente todos os outros tecidos, além de possuir substâncias intersticiais que são grandes forças homeostáticas do organismo (TAVARES-DIAS E MORAES, 2004; DAMATTA et al., 2009; RANZANI-PAIVA et al., 2013). O sangue distribui calor, transporta os gases respiratórios, nutrientes e produtos em degradação, que flui através de tecidos sensoriais especializados, capazes de reagir seletivamente a fatores tais como pressão osmótica, pH, temperatura e certos hormônios (RANZANI-PAIVA et al., 2013).

O estudo da composição e da função dos componentes do sangue dos peixes é de fundamental importância na avaliação das condições fisiológicas e bioquímicas, pois há variação morfológica e quantitativa dos elementos sanguíneos frente a condições endógenas, como: sexo, estágio de maturação gonadal, peso, comprimento, estado nutricional, atividade muscular intensa ou doenças (TAVARES-DIAS E MORAES, 2004; AZEVEDO et al., 2006; SERIANI et al., 2010 a,b; TAVARES-DIAS et al., 2011; RANZANI-PAIVA et al., 2013) ou condições exógenas, como: temperatura, concentração de O₂ e CO₂ na água, ciclo sazonal, estresse e poluentes, entre outros fatores (STOSKOPF, 2010; SERIANI et al., 2011).

Informações sobre o estado de saúde dos organismos são obtidas estudando-se o sangue por meio da fisiologia, bioquímica e outros métodos. Junto com a determinação do número de indicadores da parte líquida do sangue (plasma e soro), o estudo da sua morfologia tem também um papel importante na hematologia (HASHIMOTO et al., 2016). Em peixes, como em outros vertebrados, a presença, quantidade e proporção das diferentes células no sangue periférico (vascular) refletem o estado fisiológico específico do organismo em um dado momento, durante certo período da vida. Em outras palavras, a composição e quantidade dos elementos padrão no sangue estão extremamente relacionadas ao estado funcional do peixe (RANZANI-PAIVA et al., 2013; HASHIMOTO et al., 2016).

Quando o peixe está sofrendo efeito de algum agente estressor, são desencadeadas respostas ao estresse, que são divididas em primárias, secundárias e terciárias. As respostas primárias são aquelas medidas pelos hormônios catecolaminas e cortisol que atingem todo o organismo e acabam provocando os efeitos secundários (BARTON et al., 2002; SILVA et al., 2012). As respostas secundárias compreendem os efeitos bioquímicos e fisiológicos associados com o estresse, como: hiperglicemia, aumento das proteínas totais e modificação hematológica (AFFONSO et al., 2002; ANDRADE et al., 2007). As respostas terciárias atingem o organismo como um todo, comprometendo o crescimento, a reprodução e o sistema imunológico (AFFONSO et al., 2009).

Com a intensificação da produção de peixes, os problemas de ordem sanitária se tornam mais frequentes, fazendo-se necessário o monitoramento periódico das condições de higiene dos peixes quando em ambientes de criação (EIRAS et al., 2006; TAVARES-DIAS et al., 2013). Neste panorama, a hematologia desempenha fundamental importância atuando como ferramenta que permite prognósticos das condições mórbidas dos peixes, a exemplo de outros animais. Permite, algumas vezes, identificar de maneira rápida a resposta dos peixes a doenças ou situações de estresse (TAVARES-DIAS E MORAES, 2004; GARCIA-NAVARRO E PACHALY, 2005; SATAKE et al., 2009; RANZANI-PAIVA et al., 2013).

É importante ter o conhecimento dos valores médios dos parâmetros hematológicos, tanto em ambiente natural como em cativeiro, sob condições de homeostase e de estresse, para a identificação das alterações fisiológicas, derivadas da nutrição e de fatores ambientais, que possam interferir na hematopoiese (TAVARES-DIAS E MORAES, 2004; ARAUJO et al., 2011). Análises hematológicas em pesquisas com animais são bem aceitas e consideradas como procedimento de rotina em diagnósticos, pois as enfermidades em humanos e animais, de modo geral, estão relacionadas às alterações do hemograma (RANZANI-PAIVA E SILVA-SOUZA, 2004; TAVARES-DIAS E MORAES, 2004).

Em tilápias do Nilo alimentadas com ração contendo o produto homeopático Homeopatila 100[®], houve redução nos níveis plasmáticos de cortisol, glicose e hemoglobina, porém o percentual de trombócitos e linfócitos aumentou. A redução dos níveis de cortisol indica um baixo estresse no cultivo desses animais (VARGAS E RIBEIRO, 2009). Em juvenis de *Rachycentron canadum* parasitados por *Amyloodinium* o hematócrito, contagem de eritrócitos, hemoglobina, Volume Corpuscular Médio (VCM), Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM), níveis

plasmáticos de proteína total, trombócitos e leucócitos totais não foram influenciados pelo tratamento com o produto homeopático Sulphur (SANTOS, 2011). Em Tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com diferentes concentrações de Homeopatila 100[®], a glicose, trombócitos, neutrófilos e eosinófilos foram maiores no tratamento com adição de 40 ml de Homeopatila 100[®] por quilo de ração, demonstrando uma melhoria na imunidade dos animais (PINHEIRO et al., 2015).

Embora haja literatura sobre a hematologia e bioquímica de teleósteos, pouco se conhece sobre a influência da reprodução nos parâmetros sanguíneos de *O. niloticus*. Desse modo, informações sobre esses parâmetros podem apresentar uma resposta rápida com baixo custo para o produtor (SILVA et al., 2012).

1.5 HOMEOPATIA VETERINÁRIA

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

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

- Lei da semelhança: Cada paciente apresenta uma forma pessoal da doença que sofre.

- Experimentação no homem sadio: O medicamento a ser prescrito é aquele cujos sintomas manifestados quando ingerido pelo homem sadio, são os mais próximos daqueles manifestados pelo paciente.

- Administração do medicamento em doses mínimas: O medicamento deve ser diluído e dinamizado.

- Indicação de medicamento único: A homeopatia é uma ciência baseada na arte médica do estímulo do organismo doente, na qual a escolha do medicamento é determinada de acordo com os sintomas produzidos pela doença (Lei dos semelhantes

“*Similia Similibus Curantur*”), proporcionando ao indivíduo condições físicas e mentais para alcançar a cura (BENITES, 2005).

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

No Brasil a homeopatia foi introduzida em 1840 pelo médico francês Benoit Jules Mure. Entretanto, somente a partir da década de 1980, conquistou status de especialidade médica, tendo sido reconhecida pelo Conselho Federal de Medicina (Resolução N° 1.000 de 1980; Conselho de Farmácia, Resolução N° 232 de 1992) (VALENTIN-ZABOTT, 2008). A homeopatia veterinária foi reconhecida no Brasil em 1995 (Resolução N° 625 de 16 de março), e a partir de 14 de julho de 2000 (Resolução N° 662 do CFMV), a Associação Médica Veterinária Homeopática Brasileira (AMVHB) foi habilitada a conceder título de especialista em Homeopatia Veterinária a médicos veterinários (FILIPPESEN, 2011).

A homeopatia veterinária vem fortalecendo-se com o passar do tempo. A resistência a antibióticos é um problema de saúde pública, enquanto o uso de produto homeopático tem sido considerado “ecologicamente correto”, uma vez que esses medicamentos não provocam riscos aos animais, aos manipuladores desses produtos e nem ao meio ambiente (BENEZ et al., 2004; SANTOS, 2011). Além disso, pode diminuir o uso de produtos quimioterápicos (BENEZ et al., 2004).

Os produtos homeopáticos podem atuar nos animais, estimulando o sistema imunológico, permitindo o restabelecimento do equilíbrio, estimulando respostas orgânicas na redução do estresse. A utilização de tais produtos, além de contribuir para a profilaxia por meio da redução do estresse, pode reduzir a utilização de quimioterapia e antibióticos, evitando riscos para o ambiente, para os animais e os consumidores (SIENA et al., 2010).

A Homeopatia é recomendada pela União Europeia na produção orgânica de animais, sendo utilizada por um número significativo de produtores (VIKSVEEN, 2003).

A aplicação da Homeopatia aos rebanhos constitui-se na Homeopatia Populacional. A Homeopatia Populacional tornou-se a medicina ideal para rebanhos devido ao seu custo reduzido, a sua eficácia, pela ausência de toxidez e por serem os princípios ativos extremamente diluídos, apresentando absoluta impossibilidade de deixarem resíduos na carne ou leite, portanto incapazes de prejudicar a saúde humana (REAL, 2007).

A homeopatia veterinária prioriza o tratamento de cada organismo como único, respeitando as suas particularidades. Com base nessa premissa, a conduta é individualizar o paciente, buscando conhecer ao máximo todos os sintomas. No tratamento de rebanhos, a particularização é feita entendendo que o rebanho pode ser considerado um organismo único. Portanto, a homeopatia pode ser utilizada nas mais diversas espécies animais como bovinos, caprinos, suínos, aves, equinos e peixes (SOUZA, 2002; NEVES et al., 2012).

A homeopatia é uma forma de medicina complementar que utiliza altas diluições de substâncias provenientes de plantas, minerais ou animais (KHUDA-BUKHSH e PATHAK, 2008). Bell e Koithan, (2012) propuseram um modelo inovador para a ação dos medicamentos homeopáticos em organismos vivos. A pesquisa indica que os medicamentos homeopáticos são constituídos por nanopartículas e este modelo proporciona uma base para orientar pesquisas na função dos nanomateriais em sistemas vivos, no mecanismo de ação dos remédios homeopáticos e na utilização em nanomedicina.

O estresse é um dos principais fatores que provocam a quebra da homeostase, estado de equilíbrio e conservação de elementos fisiológicos e do metabolismo, o qual provoca uma série de alterações metabólicas, iônicas, hematológicas e imunológicas, favorecendo o aparecimento de doenças e até mortalidade (LEVY-PEREIRA, 2013). Segundo Hahnemann, (2008), é necessário conhecer as causas que quebram a homeostase do animal, tanto de maneira direta quanto indireta, e que propiciam uma enfermidade, para que a saúde possa ser preservada.

A homeopatia é uma terapêutica importante que pode ser utilizada com segurança para o tratamento de doenças em peixes, agindo no organismo como forma de reposição e regulação, que fornece suporte para restabelecer o equilíbrio orgânico quebrado (SERVAIS, 2003). O caráter energético da terapêutica homeopática proporciona aos animais tratados a redução do estresse, principalmente nos sistemas intensivos, como é o caso do cultivo de peixes. Animais cultivados em condições de baixo estresse

apresentam melhora nas suas potencialidades de produção com qualidade e maior sobrevivência (SOUZA, 2002).

Com pouca quantidade de matéria-prima é possível fazer grande quantidade do produto homeopático, diminuindo sensivelmente o consumo dos princípios ativos, os quais não deixam resíduos tóxicos nos animais tratados (SANTOS, 2011). Além disso, em peixes tem sido demonstrada, recentemente, a viabilidade de produtos homeopáticos, incluindo o produto Homeopatila 100[®] (VALENTIM- ZABOTT et al., 2008; SIENA et al., 2010; MERLINI et al., 2013; SANTOS et al., 2011; PIAU-JUNIOR et al., 2012; BRACCINI, et al., 2013; PINHEIRO et al., 2015).

Em tilápia do Nilo, foram avaliados os efeitos do Homeopatila 100[®], no desempenho, histologia do fígado, relação hepatossomática, proporção sexual, morfometria das fibras musculares e parâmetros hematológicos, ocorrendo maior sobrevivência, melhoria na conversão alimentar e redução do estresse nos peixes tratados com esse produto o homeopático (MERLINI et al., 2013; VARGAS E RIBEIRO, 2009; SIENA et al., 2010; BRACCINI et al., 2013). Em tambaqui (*Colossoma macropomum*) foi observada melhoria na imunidade dos peixes alimentados com ração contendo diferentes concentrações de Homeopatila 100[®] (PINHEIRO et al., 2015). Em bijupirá (*Rachycentron canadum*), o uso do produto homeopático Sulphur mostrou efeitos positivos na sobrevivência e conversão alimentar aparente (CAA), porém não apresentou eficácia no controle do protozoário *Amyloodinium* sp. (SANTOS, 2011).

É possível que o produto homeopático *Homeopatila 100[®]* estimule o sistema imunológico, favorecendo o restabelecimento do equilíbrio animal e a redução da resposta orgânica ao estresse proporcionando melhor equilíbrio fisiológico, resultando em desenvolvimento gonadal completo o que contribuiria para o desempenho reprodutivo.

1.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFFONSO, E.G.; POLEZ, V.L.P.; CORRÊA, C.F.; MAZON, A.F.; ARAÚJO, M.R.R.; MORAES, G.; RANTIN, F. “Blood parameters and metabolites in the teleost fish *Colossoma macropomum* exposed to sulfide or hypoxia”, **Comparative Biochemistry. Physiology**, vol. 133, no. 3, pp. 375-382, 2002.

AFFONSO, E.G.; BARROS, F.P.; BRASIL, E.M.; M. TAVARES-DIAS, M.; ONO, E.A. “Indicadores fisiológicos de estresse em peixes expostos ao peróxido de hidrogênio (H₂O₂)” in Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo, M. Tavares-Dias, **Embrapa Amapá**, 2009.

ANDRADE, D.R.; YASUI, G.S. O manejo da reprodução natural e artificial e sua importância na produção de peixes no Brasil. **Revista Brasileira de reprodução animal**. v. 27, n.2, p. 166-172, 2003.

ANDRADE, J.I.A.; ONO, E.A.; MENEZES, G.C.; BRASIL, E.M.; ROUBACH, R.; URBINATI, R.E.C.; TAVARES-DIAS, M.; MARCON, J.L.; AFFONSO, E.G. “Influence of diet supplemented with vitamin C and E on pirarucu (*Arapaima gigas*) blood parameters”, **Comparative Biochemistry Physiology**, vol. 146, n. 4, p. 576-580, 2007.

ARAÚJO, D.M.; PEZZATO, A.C.; BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E.; NAKAGOME, E.F.K. “Hematologia de tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas com óleos vegetais e estimuladas pelo frio”, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, vol. 46, no. 3, pp. 294- 302, 2011.

AYROZA, L.M.S. Criação de tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus* em tanques-rede, na usina hidrelétrica de Chavantes, Rio Paranapanema, SP/PR. Tese (doutorado) – Centro de aquicultura. Universidade Estadual Paulista. 2009.

AZEVEDO, T.M.P.; MARTINS, M.L.; YAMASHITA, M.M.; FRANCISCO CJ. Hematologia de *Oreochromis niloticus* comparação entre peixes mantidos em

piscicultura consorciada com suínos e pesque-pague no vale do rio Tijucas, Santa Catarina, Brasil. **Boletim do instituto de Pesca**. v.32 p.41-49, 2006.

BARTON, B.A. “Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids”, **Integrative and Compartmental Biology**, vol. 42, pp. 517-525, 2002.

BELL, I.R.; KOITHAN, M. A model for homeopathic remedy effects: low dose nanoparticles, allostatic cross-adaptation, and time-dependent sensitization in a complex adaptive system. **BMC Complementary and Alternative Medicine**. v.12, p.191. 2012.

BENEZ, S.M.; BOERICKE, S.; CAIRO, N.; JACOBS, P.H.; MacLEOD, G.; SCHROYENS, F.; TIEFENTHALER, A.; VIJNOVSKY, B.; WOLFF, H.G. Manual de homeopatia veterinária: indicações clínicas e patológicas: teoria e prática. 2. ed. Ribeirão Preto: **Tecmedd**. P. 595. 2004.

BENITES, N.R. “Comparação entre tratamento homeopático de mastite bovina clínica e subclínica”, Tese (Livre docência) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

BOWDEN, T.J. Modulation of the immune system of fish by their environment. **Fish & Shellfish Immunology**, v.25, n.4, p.373-383, 2008.

CALADO, L.L.; YASUI, S.G.; FILHO, O.P.R.; SANTOS, L.C.; SHIMODA, E.; JUNIOR, M.V.V. Densidade de incubação de ovos de tilapias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em sistema alternativo. **Ciência Animal**, v. 18(2), p. 75-80. 2008

CAMARGO SGO, POUEY JLOF. Aquicultura – um mercado e expansão. **Revista Brasileira de Agrociência**. v.11, p.393-396. 2005.

CAMPOS-MENDOZA, A., MCANDREW, B.J., COWARD, K., BROMAGE, N. Reproductive response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to photoperiodic manipulation; effects on spawning periodicity, fecundity and egg size. **Aquaculture**. v. 231(1), p. 299-314. 2004.

CASTAGNOLLI, N. “Criação de peixes de água doce”, **Jaboticabal**, 1992.

DAMATTA, R.A.; RIBEIRO, M.L.S.; CARVALHO, T.M.U.; NASCIMENTO JLM. Caracterização morfológica e funcional de leucócitos de peixes. In: Tavares-Dias M. editor. Manejo e sanidade de peixes em cultivo. Macapá. **Embrapa Amapá**. p.330-345, 2009.

DUPONCHELLE, F., POUYAUD, L., LEGENDRE, M. Variation in reproductive characteristics of *Oreochromis niloticus* populations: genetic or environmental effects. In: FITZSIMMONS, K. Ed., Tilapia Aquaculture: Proceedings from the 4th International Symposium on Tilapia in Aquaculture, NRAES-106, **Northeast Regional Agricultural Engineering Service**, Ithaca, NY, 808 pp. 1997.

EIRAS, J.C, TAKEMOTO, R.M, PAVANELLI GC. Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes. **2ª Ed. Maringá: Ed. EDUEM**. p.199, 2006.

ELER, M.N.; MILLANI, T.J. Métodos de estudos de sustentabilidade aplicados à aquicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.36. p.33-44. 2007.

EL-EBIARY, E.H.; WAHBI, O.M.; EL-GREISY. Influence of dietary Cadmium on sexual maturity and reproduction of Red Tilapia. **Egyptian Journal of Aquatic Research**. v. 39, p. 313-317, 2013.

EL-SAYED, A.F.M. Effects of fermentation methods on the nutritive value of water hyacinth for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings. **Aquaculture**. v. 218, 471– 478. 2003.

FAO. State of world aquaculture. Rome. (Fisheries Technical Paper 500). 145pp, 2006.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. “The State of World Fisheries and Aquaculture”, Rome, 2014.

FAO. Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. **Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos**. Roma. p. 224, 2016.

FILIPPSEN, LF. Homeopatia na medicina veterinária. In: CARNEIRO, S.M.T.P.G. Editor. Homeopatia: princípios e aplicações na agroecologia. Londrina: **IAPAR**. p.116-126. 2011.

FÜLBER, V.M.; RIBEIRO, R.P.; VARGAS, L.D.; BRACCINI, G.L.; MARENGONI, N.G.; DE GODOY, L.C. Desempenho produtivo de três linhagens de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dois níveis de proteína. **Acta Scientiarum: Animal Sciences**, v.32, n.1, p.77-83, 2010.

FURUYA, E.M.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; BOSCOLO, W.R.;CYRINO, J.E.P.; FURUYA, V.R.B.; FEIDEN, A. Tabelas brasileiras para nutrição de tilápias. Toledo: **GFM**, p.98, 2010.

GARCIA-NAVARRO, C.E.K.; PACHALY, J.R. Manual de hematologia veterinária. 2^a ed. **Editora Varela**; 2005.

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

GUPTA, M.V.; ACOSTA, B.O. “From drawing board to dining table: The success story of the GIFT project”, **NAGA - Worldfish Center Quarterly**, v. 27,p. 4-14, 2004.

HAHNEMANN, S. “Organon da arte de curar”, São Paulo, 2008.

Harris, J.; Bird, D.J. Modulation of the fish immune system by hormones. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.77, n.3, p.163-176, 2000.

HASHIMOTO, G.S.O.; NETO, F.M.; RUIZ, M.L.; ACCHILE, M.; CHAGAS, E.C.; CHAVES, F.C.M.; MARTINS, M.L. Essential oils of *Lippia sidoides* end *Mentha piperita* against monogenean parasites end their influence on the hematology of Nilo tilapia. **Aquaculture**. v. 450. p. 182-186, 2016.

HUGHES, D.G., BEHRENDTS, L.L. Mass production of *Tilapia nilotica* seed in suspended net enclosures. In: Fishelson, L., Yaron, Z. (Eds.), *Tilapia Aquaculture*. Proceedings of the International Symposium on Tilapia Aquaculture, Israel **Tel Aviv University**, Nazareth, p. 394 – 401, 1983.

KHUDA-BUKHSH, A.R.; PATHAK, S. Homeopathic drug discovery: theory update and methodological aspect. **Expert Opin Drug Discov**. v. 3, p.979-990, 2008.

KOULISH, S.; KRAMER, C. R.; GRIER, H. J. Organization of the male gonad in a protogynous fish, *Thalassoma bifasciatum* (Teleostei: Labridae). **Journal of Morphology**, v.254, p.292-311, 2002.

LEVY-PEREIRA, N. “Beta-glucano e mananoligossacarídeo na alimentação de tilápiasdo-nilo (*Oreochromis niloticus*) sobre as respostas hematológica, imunológica e desempenho produtivo”. Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2013.

LI, S.F.; HE, X.J.; HU, G.C.; CAI, W.Q.; DENG, X.W.; ZHOU, P.Y. “Improving growth performance and caudal fin stripe pattern in selected F6-F8 generations of gift Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) using mass selection”, **Aquaculture Research**, v. 37, no. 12, p. 1165-1171, 2006.

LOPERA-BARRERO, N.M.; RIBEIRO, R.P.; POVH, J.A.; MENDEZ, L.D.V.; POVEDA-PARRA, A.R. Produção de organismos aquáticos, uma visão geral no Brasil e no mundo. **Agrolivros**. p. 320, 2011.

LOVSHIN, L.L. Tilapia hybridization. p. 279–308. In: Pullin, R.S.V., LoweMcConnell, R.H. Eds., *Thebiology and culture of tilapias*, ICLARM Conference Proceedings 7,

International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines, 432 pp. 1992.

LUPCHINSKI JÚNIOR, E.; VARGAS, L.; POVH, J.A.; RIBEIRO, R.P.; C. A. MANGOLIM, C.A.; LOPERA BARRERO, N.M. “Avaliação da variabilidade das gerações G0 e F1 da linhagem GIFT de tilapia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por RAPD”, **Acta Scientiarum Animal Science**, v. 30, p. 233-240, 2008.

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

MARTINS, M.L.; GHIRALDELLI, L.; AZEVEDO, T.M.P. de. Ectoparasitos de tilápias (*Oreochromis niloticus*) cultivadas no Estado de Santa Catarina, Brasil. In: SOUZA-SILVA, A.T. (Org.). Sanidade de organismos aquáticos no Brasil. Maringá: **ABRAPOA**. V.13, p.253-270. 2006.

MASSAGO, H.; CASTAGNOLLI, N.; E. B. MALHEIROS, E.B.; KIBERSTEIN, T.C.R.D.; SANTOS, M.A.; RIBEIRO, E.R.P. “Crescimento de quatro linhagens de tilápia *Oreochromis niloticus*”, **Revista Acadêmica Ciências Agrárias e Ambientais**, vol.8, no. 4, pp. 397-403, 2010.

MATTHIENSEN, A.; CHAGAS, E.A.; DUARTE, O.R.; KAMINSKI, P.E; ALBURQUERQUE, T.C.S. Compatibilização de demanda para o uso das águas no Estado de Roraima: Piscicultura. Boa Vista: **Embrapa Roraima**, p.24. 2009.

MERLINI, L.S.; VARGAS, L.; PIAU, R.JR.; RIBEIRO, R.P.; MERLINI, N.B. Effects of a homeopathic complex on the performance and cortisol levels in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Homeopathy. V. 103, n. 2, p. 139-143. 2013.

MEURER, F., HAYASHI, C., BOSCOLO, W.R., SCHAMBER, C.R., BOMBARDELLI, R.A. Fontes protéicas suplementadas com aminoácidos e minerais

para tilápia do Nilo durante a reversão sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p. 1-6, 2005.

MEURER, F.; HAYASHI, C.; BARBERO, L.M.; SANTOS, L.D.; BOMBARDELLI.; COLPINI, L.M.S. Farelo de soja na alimentação de tilápias do Nilo durante o período de reversão sexual. **Revista brasileira de zootecnia**. v. 37, p. 791-794, 2008.

Ministério da Pesca E Aquicultura – MPA. Boletim estatístico da pesca e aquicultura, Brasília 2011; 2013.

NASCIMENTO, T.S.R. Vitamina E em dietas para reprodutoras de tilápiado-nilo. 2010. 59 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2010.

NAVARRO, R.D.; NAVARRO, F.K.S.P.; FILHO, J.T.S.; FILHO, O.P.R. Nutrição e alimentação de reprodutores de peixes. **Revista Augustus**. V. 30, p.108-118. 2010.

NEVES, H.H.; HOTZEL, M.J.; HONORATO, L.A.; FONSECA, C.E.M.; MATA M.G.F.; SILVA, J.B. Controle de verminose gastrintestinal em caprinos utilizando preparados homeopáticos. **Revista Brasileira de Agroecologia**. V. 7, p. 145-151, 2012.

NOGUEIRA, A.; RODRIGUES, T. Criação de tilápias em tanques-rede. Salvador: **Sebrae**, 23p. 2007.

ONO, E.A. Criação de peixes em tanques-rede. In: Anais do congresso brasileiro de zootecnia; 2005; Campo Grande, MS. p.-14. 2005.

PEREIRA, T.S., FABREGAT, T.E.H.P., FERNANDES, J.B.K., BOSCOLO, C.N., CASTILLO, J.D.A., KOBERSTEIN, T.C.R.D. Selênio orgânico na alimentação de matrizes de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum Animal Sciences**. v. 31, p. 433-437. 2009.

PIAU-JUNIOR, R.P.; VARGAS, L.; VALENTIM-ZABOTT, M.; RIBEIRO, R.P.; SILVA, A.V.; OTUTUMI, L.K. Morphometry of white muscle fibers and performace of

Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings treated with methyltestosterone or a homeopathic complex. **Homeopathy**. v. 101, p.154-158. 2012.

PINHEIRO, D.A.; CAVERO, B.A.S.; VARGAS, L.; BRACCINI, G.L.; YOSHIOKA, E.T.O.; OLIVEIRA, M.S.B.; TAVARES-DIAS, M. Performance, parasitic infections, hematology and hepatic histology of *Colossoma macropomum* (Tambaqui) fed on homeopathic product. **African Journal of pharmacy and pharmacology**. V.9(4). p. 82-90, 2015.

POPMA, T.J., GREEN, B.W. Sex reversal of tilapia in earthen ponds: aquaculture production manual. Alabama: Auburn University, **Research and development series**. 35). 1990.

RANZANI-PAIVA MJT, TAVARES-DIAS M. Eritrograma, relação viscerossomática, hepatossomática e esplenossomática em tainhas *Mugil platanus* Günther (Osteichthyes, Mugilidae) parasitadas. **Revista Brasileira Zoologia**. v.19. p.807-818, 2002.

RANZANI-PAIVA, M.J.T.; SILVA-SOUZA, E.A.T. “Hematologia de peixes brasileiros”, in **Sanidade de organismos aquáticos**, M. J. T. Ranzani-Paiva, R. M. Takemoto e M. Lizama, pp. 89-120, São Paulo, 2004.

RANZANI-PAIVA, M.J.T.; PADUA, S.B.; TAVARES-DIAS, M.; EGAMI, M.I. Métodos para análises hematológicas em peixes. **EDUEM**: Maringá; 2013.

REAL, C. M. Homeopatia populacional (homeopatia de resultados). Disponível em: <www.realh.com.br/index_br.php?idcanal=43>. Acesso em: 19 agosto 2017. 2007.

RIBEIRO RP. Espécies exóticas. In: MOREIRA HLM, VARGAS L, RIBEIRO RP E ZIMMERMANN S. Fundamentos da aquicultura moderna, Canoas: Ulbra, Canoas, RS, p. 91-121, 2001.

ROTTA, M.A. Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura. **Embrapa Pantanal**, (Documentos/Embrapa Pantanal ISSN 1517-1973). p.48, 2003.

SANTOS, B.G. Uso de um medicamento homeopático Sulphur no controle do *Amyloodinium* sp. Brown (1931) em bijupirá (*Rachycentron canadum* Linnaeus, 1766). Dissertação de mestrado; **Universidade Federal da Bahia**, 2011.

SCORVO FILHO JD, FRASCÁ-SCORVO CMD, ALVES JMC E SOUZA FRA. A tilapicultura e seus insumos, relações econômicas. **Revista brasileira de zootecnia**. v.39, p. 112-118, 2010.

SERIANI, R.; MOREIRA, L.B.; ABESSA, D.M.S.; MARINHO, L.A.; ABUJAMARA, L.D.; CARVALHO, N.S.B.; KIRSCHBAUM, A.A.; RANZANI-PAIVA, M.J.T. Hematological analysis of *Micropogonias furnieri* from two estuaries of Baixada Santista, São Paulo, Brazil. **Brazilian journal of Oceanography**. V. 58. p. 87-89, 2010a.

SERIANI, R.; RANZANI-PAIVA, M.J.T.; NAPOLEÃO, S.R.; SILVA-SOUZA, A.T. Hematological characteristics, frequency of micronuclei and nuclear abnormalities in peripheral of fish from São Francisco river Basin, Minas Gerais State, Brazil. **Acta Scientiarum, Biological Sciences**. V. 33, n. 1. p. 107-112, 2010b.

SERVAIS, P.M. “Larousse da homeopatia”, São Paulo: **Larousse do Brasil**, 2003.

SILVA, R.D.; ROCHA, L.O.; FORTES, B.D.A.; VIEIRA, D.; FIORAVANTI, M.C.S. Parâmetros hematológicos e bioquímicos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) sob estresse por exposição ao ar. **Pesquisa veterinária brasileira**. v. 32. p. 99-107, 2012.

SIDDIQUI, A.Q., AL-HARBI, A.H. Effects of sex ratio, stocking density and age of hybrid tilapia on seed production in concrete tanks in Saudi Arabia. **Aquaculture International**. v.. 5, p. 207-216. 1997.

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

SONODA DY, CAMPOS SK, CYRINO JEP. Demand for fisheries products in Brazil. **Scientia Agricola**. v.69. p.313-319, 2012.

SOUZA, M.L.R. “Comparação de Seis Métodos de Filetagem, em Relação ao Rendimento de Filé e de Subprodutos do Processamento da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)”, **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, p. 1076- 1084, 2002.

STAKE, F.; PÁDUA, S.B.; ISHIKAWA, M. M. Distúrbios morfológicos em células sanguíneas de peixes em cultivo: uma ferramenta prognóstica. In: Tavares-Dias M. Editor. Manejo e sanidade de peixes em cultivo. Macapá: **Embrapa Amapá**, p.330-345, 2009.

STRÜSSMANN, C.A.; NAKAMURA, M. Morphology, endocrinology, and environmental modulation of gonadal sex differentiation in teleost fishes. **Fish Physiology and Bio-chemistry**, v.26, n.1, p.13-29, 2002.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, E.F.R. “**Hematologia de peixes teleósteos**”, Ribeirão Preto, 2004.

TAVARES-DIAS, M.; NEVES, L.R.; SANTOS, E.F.; DIAS, M.K.R.; MARINHO, R.G.B.; ONO, E.A. *Perulernaea gamitanae* (Copepoda: Lernaeidae) parasitizing tambaqui (*Colossoma macropomum*) (Characidae) and the hybrids tambacu and tambatinga, cultured in Northern Brazil. **Arquivo Brasileira Medicina Veterinária e Zootecnia**. V.63. p.988-995, 2011.

TAVARES-DIAS, M.; ARAUJO, C.S.O.; PORTO, S.M.A.; VIANA, G.M.; MONTEIRO, P.C. Sanidade de tambaqui *Colossoma macropomum* na fase de larvicultura e alevinagem. Macapá, **Embrapa Amapá: Manaus, Universidade Nilton Lins, Institutos de pesquisa da Amazônia**. p. 41, 2013.

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

TURRA, E. M.; FARIA, P. M. C.; TEIXEIRA, E. A.; CREPALDI, D. V.; Ribeiro, P. L.; PRADO, S. A. ; MELO, D. C. ; QUEIROS, B. M. ; Sousa, A. B. Aquacultura brasileira: O foco disperso em muitas espécies. **Pubvet**, v. 3, p. 27, 2009.

VALENTIM-ZABOTT, M.; VARGAS. L.; RIBEIRO, R.P.R.; PIAU-JUNIOR, R.; TORRES, M.B.A, RONNAU, M.; SOUZA, J.C. Effects of a homeopatic complex in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus) on performace, sexual proportion and histology. **Homeopathy**. v.97, p.190-195. 2008.

VARGAS, L.; RIBEIRO, R.P. Homeopatia populacional em tilápias do Nilo *Oreochromis niloticus*. In: Tavares-Dias M. Editor. Manejo e sanidade de peixes em cultivo. **Embrapa Amapá**. p.106-131, 2009.

VERAS, G.C.; MURGAS, L.D.S.; ZANGERONINO, M.G.; ROSA, P.V.; LEON, J.A.S.; SALARO, D.A.L. “Photoperiod on physiological parameters related to stress in Nile tilapia fingerlings”. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 5, p. 1434-1440, 2013.

VIKSVEEN, P. Antibiotics and development of resistant microorganisms. Can homeopathy be an alternative? **Homeopathy**, v. 92, n. 2, p. 99-107, 2003

WEYTS, F.A.A.; COHEN, N.; FLIK, G. Interactions between the immune system and the hypothalamo-pituitary-interrenal axis in fish. **Fish & Shellfish Immunology**, v.9, n.1, p.1-20, 1999.

YASUI, G. S.; SANTOS, L. C.; RIBEIRO FILHO, O. P.; SHIMODA, E.; ARIASRODRIGUEZ, L. Cultivo monossexual de tilápias: importância e obtenção por sexagem e inversão sexual. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, v. 51, p. 37-51, 2006.

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

ZIMMERMANN, S.; FITZSIMMONS, E. “Tilapicultura intensiva”, in Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva, J. E. P. Cyrino, E. C. Urbinati, D. M. Fracalossi e N. Castagnolli, p. 239-266, Tecart, São Paulo: **Tecart**, 2004.

Avaliação dos parâmetros sanguíneos e desempenho reprodutivo de tilápia do Nilo tratadas com Homeopatila 100[®]

Douglas Anadias Pinheiro¹, Carlos Antônio Lopes de Oliveira¹, Ricardo Pereira Ribeiro¹, Marcos Tavares-Dias², Lauro Vargas¹

¹ Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Av Colombo, 5790 – Zona 07, 87020-900, Maringá, PR, Brasil.

² Embrapa Amapá, Laboratório de Aquicultura e Pesca. Rodovia Juscelino Kubitschek, Km 5, 2600, 68903-419, Macapá, AP, Brasil.

Autor para correspondência: Lauro Vargas

Universidade Estadual de Maringá, Av Colombo, 5790 – Zona 07, 87020-900, Maringá, PR, Brasil.

E-mail: lvargas@uem.br

Resumo

Neste trabalho, foi avaliado o efeito da Homeopatila 100[®] sobre as variáveis hematológicas e o desempenho reprodutivo de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o período de reprodução de 90 dias. Foram utilizados dois tratamentos, um tratamento controle, sem a inclusão do produto homeopático e um tratamento com a inclusão de 40 mL Homeopatila 100[®]/kg de ração. O material biológico foi coletado no tempo 0, com 45 e 90 dias de experimento e a coleta para determinar o desempenho reprodutivo foi realizada semanalmente. Os resultados de hemoglobina, RBC, glicose, CHCM, trombócitos, leucócitos e monócitos apresentaram diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$). Na variável sexo, não foi observada diferença significativa, porém foi observada interação significativa entre os sexos para o número de monócitos. Quando comparados na variável tempo, foi observada diferença significativa nos parâmetros hemoglobina, RBC, VCM, CHCM, trombócitos e linfócitos. Verificou-se interação significativa entre os tempos e o número de leucócitos e neutrófilo. *Homeopatila 100[®]* causou oscilações nas células de defesa durante o período experimental, indicando que o mesmo atua no organismo do animal como imunostimulador e poderia preparar melhor os peixes para uma futura situação de estresse. Os peixes do tratamento com *Homeopatila 100[®]* apresentaram maior número de desova e eclosão, porém o número de ovos por mL diminuiu ao longo das coletas, mas o produto homeopático manteve o incremento do volume de ovos, ou seja, ovos maiores.

Palavras-chave: homeopatia populacional, homeopatia na tilapicultura, *Oreochromis niloticus*, reprodução de tilápias, hematologia de tilápias.

Abstract

In this work the effect of Homeopatila 100[®] on hematological variables and the reproductive performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) during the 90 day breeding period was evaluated. Two treatments, one control treatment, without an inclusion of the homeopathic product and one treatment with the inclusion of 40 mL Homeopatila 100[®] / kg of ration were used. The biological material was collected at time 0, with 45 and 90 days of experiment and the collection to determine the reproductive performance was performed weekly. The results of hemoglobin, RBC, glucose, CHCM, thrombocytes, leukocytes and monocytes presented a significant difference between treatments ($p < 0.05$). In the sex variable, no significant difference was observed, but a significant interaction between the sexes was observed for the number of monocytes. When compared to the variable time, a significant difference was observed in the parameters hemoglobin, RBC, VCM, CHCM, thrombocytes and lymphocytes. There was a significant interaction between the time and the number of leukocytes and neutrophils. Homeopatila 100[®] caused oscillations in the defense cells during the experimental period, indicating that it acts in the animal's body as an immunostimulatory and could better prepare the fish for a future stress situation. The fish of the treatment with Homeopatila 100[®] presented a bigger number of spawning and hatching, but the number of eggs per mL decreased during the collections, but the homeopathic product maintained the increase of the volume of eggs, that is, bigger eggs.

Keywords: population homeopathy, homeopathy in tilapia farming, *Oreochromis niloticus*, tilapia reproduction, tilapia hematology.

Introdução

Em 2014, a produção aquícola nacional foi de 628.704,3 toneladas, desse montante 70,2%, ou seja, 474,33 toneladas foram provenientes da produção de peixes (IBAMA, 2014). A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é a espécie de água doce mais cultivada no Brasil, com produção de 198.664 toneladas em 2014, representando 42% do total produzido no país (IBAMA, 2014). Isso se dá pelas vantagens que a espécie apresenta, tornando-a de interesse mundial: alimentam-se da base da cadeia trófica, aceitam variedade de alimentos e apresentam resposta positiva à fertilização em viveiros, além de serem bastante resistentes a doenças, ao superpovoamento e a baixos níveis de oxigênio dissolvido e são cultivadas nos mais diversos sistemas de produção (Moreira et al., 2007).

A reprodução de tilápias do Nilo tem sido realizada comumente em tanques escavados, hapas e tanques de concreto. Apesar do maior custo com a aquisição das hapas, problemas com colmatção e níveis baixos de oxigênio, este é o sistema mais utilizado no Brasil, em razão da fácil identificação de problemas com os animais e melhoria na sincronia da desova (Campos-Mendoza et al., 2004). Todavia, a utilização de hapas com alta densidade pode reduzir a frequência de desovas e a quantidade de ovos/desova, se não for utilizado o manejo correto.

O estudo da composição e da função dos componentes do sangue de peixes é de fundamental importância na avaliação das condições fisiológicas, bioquímicas e patológicas, pois há uma variação morfológica e quantitativa dos elementos sanguíneos frente às modificações induzidas por poluentes e outros fatores ambientais anormais como temperatura, concentração CO₂ e O₂ dissolvido, sazonalidade, estresse ou diante de condições intrínsecas como: sexo, estágio de maturação gonadal, peso, comprimento corporal, doenças, atividades musculares, alimentação e idade (Ranzani-Paiva e Godinho, 2000).

Segundo Tavares-Dias e Moraes (2004), os parâmetros hematológicos são susceptíveis às alterações de acordo com mudanças do ambiente aquático, os mesmos podem ajudar a compreender as adaptações dos processos dos animais em seu ambiente e obter alguns valores de referências que permitirão identificar as variações e comprometimentos na saúde, assim como estado fisiológico, controle de patologias e estresse durante o período reprodutivo.

A homeopatia estimula a energia vital do organismo dos animais, permitindo a profilaxia, o tratamento de doenças e a modulação de respostas orgânicas, principalmente, relacionadas ao estresse (Valentim-Zabott et al., 2008). Os princípios da homeopatia indicam que a toxicidade ou agentes inibitórios derivados de plantas, animais e minerais, tornam-se estimuladores ou protetores, quando utilizados em altas diluições (Aziz e Enbergs, 2005; Vargas e Ribeiro, 2009).

Valentim-Zabott et al. (2008) ressaltaram que em tilápias do Nilo, dificilmente há desenvolvimento gonadal completo, sendo a energia destinada ao crescimento das gônadas direcionadas ao crescimento corporal, comprometendo seu desempenho reprodutivo. Contudo, a homeopatia estimula o sistema imunológico, favorecendo o restabelecimento do equilíbrio animal e a redução da resposta orgânica ao estresse. Desta maneira, é possível que o produto homeopático *Homeopatila 100*[®] proporcione melhor equilíbrio fisiológico, resultando em desenvolvimento gonadal completo melhorando o desempenho reprodutivo da tilápia do Nilo.

Embora existam dados na literatura a respeito de parâmetros hematológicos em teleosteos, pouco se conhece sobre a influência da reprodução nas características hematológicas de *O. niloticus*. As informações e conhecimento sobre essas variáveis podem proporcionar relevantes indicações de alterações em seu estado fisiológico. No presente trabalho, objetivou-se avaliar as características hematológicas de tilápias do Nilo tratadas com *Homeopatila 100*[®] sobre a reprodução.

Material e métodos

Local e período

O experimento foi realizado na Estação Experimental de Piscicultura da Universidade Estadual de Maringá (UEM) – CODAPAR, no Distrito de Floriano (23°31'25" S e 52°03'12" W), município de Maringá, Estado do Paraná, no período de novembro de 2013 a janeiro de 2014, com duração de 90 dias.

A utilização dos animais foi aprovada pelo Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação da Universidade Estadual de Maringá (Protocolo CEUA nº 4880250215).

Parâmetros físicos e químicos da água

Os valores médios dos parâmetros físicos e químicos da água como temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica, foram registrados três vezes por semana e aferidos duas vezes ao dia (09:00 e 16:00h).

Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com dois tratamentos e duas repetições: Tratamento 1 (controle) (40 mL de solução hidroalcoólica 30° GL/kg de ração) e Tratamento 2 (40 mL Homeopatila 100[®]/kg de ração).

Um total de 160 tilápias (T1 = 626,1±172,4 g e T2 = 670,4±158,3 g) do programa de melhoramento genético da Universidade Estadual de Maringá foram distribuídas em quatro hapas de polietileno com volume de 10 m³ (1 m de profundidade x 2 m de largura x 5 m de comprimento), com malha de abertura de 1 mm², mantidas em dois viveiros escavados de 140 m² com 7x20x1m em média de profundidade (um para cada tratamento) e profundidade média de 1 m. Foram distribuídos aleatoriamente 40 peixes por hapa, seguindo a proporção de três fêmeas para um macho (30 fêmeas e 10 machos por hapa). Os peixes foram alimentados quatro vezes ao dia (09:00, 11:00, 14:00 e 17:00 h) *ad libitum*, ou seja, até a saciedade aparente, com ração comercial durante 90 dias.

Preparação da dieta com produto homeopático

Foi utilizada ração comercial extrusada contendo 32% de proteína bruta, 3.000 kcal/kg, 5,0% de extrato etéreo, 2,5% de cálcio, 1,0% de fósforo, 300 mg/kg de vitamina C e 12,0% de umidade, onde o produto homeopático foi incorporado semanalmente. O produto foi aspergido com um pulverizador manual sob forma de solução hidroalcoólica. Em seguida, a ração foi homogeneizada e seca em temperatura ambiente, removendo-a periodicamente, durante 24 horas. A ração foi acondicionada em local seco e arejado, sem qualquer incidência de luz solar, produtos químicos e equipamentos que emitissem campo magnético, até apresentar-se solta e sem odor de álcool (Siena et al., 2010). O mesmo processo de inclusão foi realizado para o tratamento controle utilizando 40 mL de solução hidroalcoólica 30° GL/kg de ração.

O Núcleo Homeopático *Homeopatila 100*[®] foi elaborado pela empresa RealH de Campo Grande - MS, e sua composição oficial está descrita na Tabela 1. O produto está cadastrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

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

| Composto | /1000 mL |
|--------------------------------|----------|
| <i>Iodum 12CH</i> ¹ | 250 mL |
| <i>Sulphur 30CH</i> | 250 mL |
| <i>Natrum muriaticum 200CH</i> | 250 mL |
| <i>Streptococcinum 30CH</i> | 250 mL |

¹ Diluição centesimal hahnemanniana.

Procedimentos de coleta e análises dos parâmetros sanguíneos

No tempo 0, aos 45 e 90 dias de experimento, 10 peixes (cinco fêmeas e cinco machos) de cada hapa dos dois tratamentos foram anestesiados com eugenol (15 mg/L de água) (Inoue et al., 2011), para a coleta de sangue. De cada peixe, foi coletada uma alíquota de sangue por punção do vaso caudal, com auxílio de seringas contendo EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) na concentração de 10%. O sangue foi utilizado para a determinação do número de eritrócitos totais em câmara de Neubauer, concentração de hemoglobina, usando reagente de Drabkin e leitura em espectrofotômetro em 540 nm de absorbância e o hematócrito pelo método do microhematócrito. De posse desses dados, foram calculados os índices hematimétricos de Wintrobe: volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM).

Foram confeccionadas extensões sanguíneas, em duplicata, pancronicamente coradas com uma combinação de May Grünwald-Giemsa-Wright (Ranzani-Paiva et al., 2013), para contagem diferencial de leucócitos em 200 células de interesse, em cada extensão. Os leucócitos foram identificados e classificados em linfócitos, monócitos, neutrófilos e eosinófilos. A determinação do número de leucócitos e trombócitos totais seguiram recomendações prévias (Ranzani-Paiva et al., 2013).

Uma parte do sangue foi centrifugado para obtenção do plasma e determinação das concentrações de glicose e proteínas totais usando kits da Doles (GO, Brasil) e leitura em espectrofotômetro.

Avaliação reprodutiva

A verificação da desova das fêmeas foi realizada semanalmente restringindo os reprodutores a uma pequena área da hapa. De cada fêmea capturada, foi anotado o número de identificação, utilizando o equipamento de leitura de microchips e, quando observada a presença de ovos na cavidade bucal, estes foram coletados por meio de lavagem para a mensuração do volume total de ovos produzidos por fêmea por desova, concomitantemente foi coletado um mL de ovos do volume total produzido pela fêmea para contagem do número de ovos por mL.

O volume total de ovos foi medido utilizando uma proveta volumétrica e o número de ovos por mL foi aferido a partir de uma amostra coletada aleatoriamente, utilizando pipeta de Pasteur e seringa, sendo armazenada em um eppendorf com solução de formol a 5%. Posteriormente, estas amostras foram drenadas para a contagem do número de ovos.

As informações de ocorrência ou não das desovas foram utilizadas para estimar a probabilidade de desova (ocorrência ou não de desovas) e desovas múltiplas (fêmeas que apresentaram mais de uma desova durante o período experimental).

Análise estatística

Todos os dados foram previamente avaliados nos pressupostos de normalidade e homocedasticidade usando Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente. Para os dados com distribuição normal, foi utilizado análise de variância (ANOVA - One Way) seguido do teste de Tukey, para comparação entre médias. Para os dados que não seguiram esse padrão de distribuição, foi utilizado a análise de Kruskal-Wallis seguido pelo teste Dunn, para comparação entre medianas.

Foi elaborado um conjunto de dados para a realização das análises estatísticas para estimar a probabilidade de desova e desovas múltiplas, número e volume de ovos utilizando o Proc Mixed do SAS. O modelo estatístico continha os efeitos de tratamento, semana de coleta e a interação semana coleta *versus* tratamento, para o teste adequado de semana de coleta e da interação semana de coleta *versus* tratamento. Considerou-se as informações de um mesmo animal como medidas repetidas.

Resultados

As médias dos parâmetros físicos e químicos da qualidade da água dos tanques de cultivo de tilápias do Nilo alimentadas com *Homeopatila 100*[®] durante todo o período experimental estão apresentadas na Tabela 2. Os valores mantiveram-se estáveis durante o experimento não apresentando diferença significativa entre os tratamentos ($p \leq 0,05$).

Tabela 2. Valores médios \pm desvio padrão dos parâmetros físicos e químicos da água dos tanques de tilápias do Nilo alimentadas com *Homeopatila 100*[®], durante período de reprodução.

| | Temperatura (°C) | Oxigênio (mg/L) | pH | Condutividade elétrica ($\mu\text{s/cm}$) |
|---------------|---------------------|--------------------|----------------|---|
| Hapa 1 | 27,0 \pm 1,3a | 2,4 \pm 0,7a | 7,9 \pm 1,3a | 0,54 \pm 0,1a |
| Hapa 2 | 26,9 \pm 1,0a | 2,4 \pm 0,9a | 7,9 \pm 0,8a | 0,56 \pm 0,2a |
| Hapa 3 | 26,9 \pm 1,0a | 2,5 \pm 0,8a | 7,9 \pm 0,5a | 0,54 \pm 0,1a |
| Hapa 4 | 26,8 \pm 1,1a | 2,4 \pm 1,1a | 7,8 \pm 1,2a | 0,54 \pm 0,1a |

Tratamento 1 (Hapa 1 e 2) = controle (40 mL de solução hidoalcoólica 30° GL/Kg de ração), Tratamento 2 (Hapa 3 e 4) (40 mL de homeopatila 100[®]/Kg de ração).

Médias seguidas de letras diferentes, na mesma coluna, indicam diferença entre os tratamentos pelo teste de Tukey. Valores expressam as médias \pm desvio padrão.

Os resultados de hemoglobina, RBC, glicose, CHCM, trombócitos, leucócitos e monocitos apresentaram diferença estatística entre os tratamentos (Tabela 3).

Na variável sexo, não foi observada diferença ($p > 0,05$), porém, foi observada interação significativa entre os sexos para o número de monócitos.

Nos tempos 0, 45 e 90 dias, foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) nos parâmetros hemoglobina, RBC, VCM, CHCM, trombócitos e linfócitos. Verificou-se interação significativa entre os tempos e o número de leucócitos e neutrófilo.

Tabela 3. Valores hematológicos de tilápias do Nilo tratadas com *Homeopatila 100*[®] durante período de reprodução. Hemog (hemoglobina, g/dL), Hemat (hematócrito %), RBC (Eritrócito, 10⁶/μL), Glicose (mg/dL), Proteína (mg/dL), VCM (volume corpuscular médio, g/dL), CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média, g/dL), Tromb (trombócitos, μL), Leuc (leucócitos, μL), Linf (linfócitos, μL), Mon (monócitos, μL), Neut (neutrófilos, μL).

| | | Hemog. | Hemat. | RBC | Glicose | Proteína | VCM | CHCM | Tromb | Leuc | Linf | Mon | Neut |
|-----------------------------------|-----------|-------------------------|------------|------------------------|-------------------------|-----------|-------------------------|------------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|-----------|
| Trat | 1 | 28,60±0,40 ^b | 32,57±0,48 | 2,56±0,04 ^b | 63,26±0,85 ^b | 4,15±0,57 | 12,83±0,22 | 0,86±0,01 ^b | 45050±1194 ^b | 27660±5321 ^a | 16924±814 | 36216±1280 ^b | 4420±200 |
| | 2 | 30,31±0,40 ^a | 32,79±0,48 | 2,72±0,04 ^a | 66,17±0,85 ^a | 4,01±0,55 | 12,75±0,22 | 0,92±0,01 ^a | 49040±1188 ^a | 26031±5295 ^b | 18996±810 | 42934±1273 ^a | 4357±199 |
| Sexo | 1 | 29,87±0,41 | 32,77±0,49 | 2,64±0,04 | 64,15±0,87 | 4,26±0,51 | 12,75±0,23 | 0,89±0,02 | 47527±1221 | 26635±5440 | 17939±832 | 39489±1234* | 4385±204 |
| | 2 | 29,05±0,39 | 32,59±0,47 | 2,63±0,04 | 65,29±0,83 | 4,89±0,49 | 12,83±0,22 | 0,89±0,01 | 46564±1161 | 27056±5173 | 17981±791 | 37842±1256* | 4392±194 |
| Tempo | 0 | 26,13±0,51 ^c | 32,28±0,50 | 2,26±0,06 ^c | 65,96±0,97 | 4,69±0,62 | 13,29±0,23 ^a | 0,80±0,02 ^b | 43564±1353 ^b | 20688±5162* | 16038±954 ^b | 40662±1213 | 4310±201* |
| | 45 | 32,67±0,51 ^a | 32,12±0,50 | 3,12±0,06 ^a | 63,36±0,97 | 4,13±0,62 | 12,12±0,23 ^b | 1,01±0,02 ^a | 48863±1353 ^{ac} | 33478±5162* | 21431±954 ^a | 37735±1213 | 3925±201* |
| | 90 | 29,58±0,51 ^b | 33,64±0,50 | 2,53±0,06 ^b | 64,83±0,97 | 4,01±0,62 | 12,97±0,23 ^a | 0,86±0,02 ^b | 48709±1353 ^c | 23933±5162* | 16410±954 ^b | 40327±1213 | 4837±201* |
| INTERAÇÕES | | | | | | | | | | | | | |
| Sexo * Trat | | 0,6952 | 0,8836 | 0,1489 | 0,9232 | 0,3725 | 0,8866 | 0,5545 | 0,4029 | 0,8464 | 0,5951 | 0,5700 | 0,3535 |
| Tempo *Trat | | 0,1005 | 0,9172 | 0,3989 | 0,3167 | 0,4461 | 0,2500 | 0,4238 | 0,3148 | 0,0137* | 0,1477 | 0,6969 | 0,0065* |
| Tempo * sexo | | 0,9736 | 0,4871 | 0,7960 | 0,7094 | 0,4453 | 0,4870 | 0,9730 | 0,9779 | 0,3911 | 0,4786 | 0,0083* | 0,3646 |
| Tempo * Trat* Sexo | | 0,3032 | 0,2123 | 0,3847 | 0,0624 | 0,4486 | 0,6720 | 0,0609 | 0,1125 | 0,3392 | 0,4104 | 0,5076 | 0,9348 |

Médias seguidas de letras diferentes, na mesma coluna (na mesma análise), diferem entre si a pelo teste de Tukey (p<0,05). Valores expressam as médias ± desvio padrão. Sexo1 – macho, Sexo 2 - fêmea. *Indica que houve interação significativa. *Valores das interações entre sexo/tratamento, tempo/tratamento, tempo/sexo, tempo/tratamento/sexo.

A Tabela 4 apresenta as médias de leucócitos, neutrófilos e monócitos que, realizando a análise estatística, apresentaram interação significativa entre tratamento, tempo e sexo, ou seja, indicando que ocorreu uma dependência entre os efeitos dos fatores.

Tabela 4. Média de leucócitos, neutrófilos e Monócitos de tilápias do Nilo tratadas com *Homeopatila 100*[®]. Interação significativa.

| | Leucócito | | Neutrófilo | | Monócito | |
|-----------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
| | T1 | T2 | T1 | T2 | Sexo1 | Sexo2 |
| 0 | 24587 ^{Aa} | 20688 ^{Ba} | 5382 ^{Aa} | 4310 ^{Aa} | 39723 ^{Aa} | 41600 ^{Aa} |
| 45 | 31871 ^{Ab} | 33478 ^{Ab} | 2990 ^{Ab} | 3925 ^{Aa} | 35981 ^{Ab} | 39489 ^{Ba} |
| 90 | 26522 ^{Aa} | 23933 ^{Aa} | 4887 ^{Aa} | 4837 ^{Aa} | 42813 ^{Aa} | 37842 ^{Aa} |

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes, na mesma coluna e Médias seguidas de letras minúsculas na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Valores expressam as médias \pm desvio padrão.

Os modelos estatísticos testados continham os efeitos de tratamento e de peso inicial dos reprodutores como covariável para a probabilidade de desova e desovas múltiplas, no entanto não foi observado efeito de tratamento considerando o peso inicial como covariável.

O número de ovos por ml apresentou redução ao longo do período para ambos os tratamentos, os resultados indicaram redução mais acentuada na quantidade de ovos das fêmeas que receberam o núcleo homeopático *Homeopatila 100*[®] (Figura 1A).

Foi observado o incremento do volume de ovos ao longo do período experimental, porém, não foram verificadas diferenças estatísticas entre os tratamentos ($p \leq 0,05$) (Figura 1).

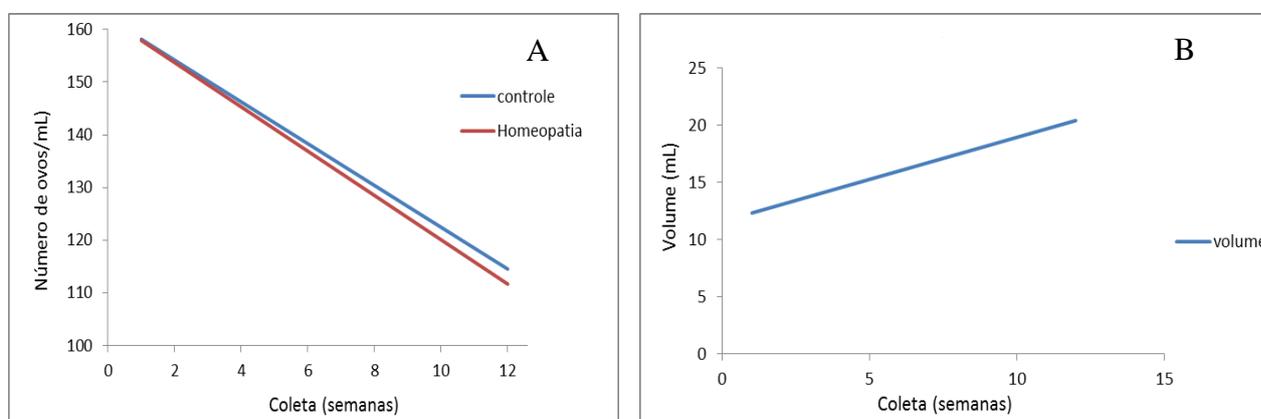


Figura1. Relação número de ovos/coletas ao longo do período (A) e volume de ovos (B) de tilápias do Nilo tratadas com *Homeopatila 100*[®] durante o período reprodutivo.

Foram observados, ao final de 12 coletas, os maiores valores absolutos para número de desova (217) e porcentagem de eclosão (54%) no tratamento com 40mL de *Homeopatila 100*[®]/kg de ração (Tabela 5).

Tabela 5. Valores absolutos de número de desova, eclosão e número de fêmeas que desovaram de tilápias do Nilo tratadas com *Homeopatila 100*[®].

| | Número de Desova \bar{x} (SD) | Eclosão (%) \bar{x} (SD) | Nº fêmeas que desovaram |
|-----------|---------------------------------|----------------------------|-------------------------|
| T1 | 209 | 46 | 51 |
| T2 | 217 | 54 | 50 |

Discussão

As oscilações dos valores hematológicos em peixes são influenciadas por diversos fatores, entre eles a temperatura, oxigênio dissolvido, salinidade e pH, assim como por estresse, ciclo sazonal e fatores endógenos como sexo, idade, estágio de maturação gonadal, estado nutricional e doenças (Ranzani-Paiva, 1991). As células vermelhas do sangue transportam Oxigênio e gás carbônico por meio da hemoglobina, como relatam Tavares-Dias e Moraes (2004). A concentração de hemoglobina e a contagem total do número de eritrócitos podem ser indicadores da capacidade de transporte de oxigênio dos peixes. De acordo com Vosyliené (1999), quando a contagem de eritrócitos decresce é indicativo de anemia e de agravamento do estado de saúde do peixe, ocasionando a diminuição da concentração de hemoglobina.

No presente estudo, os peixes do tratamento *Homeopatila 100*[®] apresentaram maiores níveis de hemoglobina, RBC, glicose, CHCM, trombócito, leucócito e monócito, enquanto os níveis de hematócrito, proteína, VCM, linfócitos e neutrófilo não foram influenciados pelo produto homeopático. Em tilápias do Nilo alimentadas com *Homeopatila 100*[®] durante 60 dias, também apresentaram redução dos níveis plasmáticos de glicose, hematócrito, hemoglobina, número de eritrócitos e CHCM quando comparadas ao tratamento controle (Vargas e Ribeiro, 2009).

A glicose plasmática é um bom indicador de estresse, pois as alterações são facilmente detectáveis e sua avaliação pode ser realizada com medidores de glicose de fácil execução, para diagnosticar a ocorrência de estresse fisiológico (Silva et al., 2012). Neste estudo, os níveis de glicose foram maiores no tratamento com *Homeopatila 100*[®], Merlini et al., (2013) identificaram uma diminuição nos níveis de glicose em tilápias do Nilo alimentadas com o mesmo produto homeopático aos 35 dias de experimento, sugerindo que o efeito do produto não é imediato.

Os peixes que foram alimentados com ração contendo *Homeopatila 100*[®] apresentaram maior número de células de defesa orgânica como trombócitos e monócitos, resultado semelhante foi encontrado por Vargas e Ribeiro (2009), em que tilápias alimentados com *Homeopatila 100*[®] apresentaram aumento do número de trombócitos e linfócitos durante todo período experimental (60 dias). Pinheiro et al. (2015) alimentaram tambaquis (*Colossoma macropomum*) com ração comercial contendo diferentes concentrações de *Homeopatila 100*[®] durante 60 dias, e também observaram que no tratamento contendo 40 mL de *Homeopatila 100*[®]/kg de ração, houve um aumento no número de trombócitos quando comparado ao tratamento controle. O aumento dessas células de defesa orgânica, a resposta leucocitária, tem um papel importante para a análise do estado de saúde dos peixes e no desenvolvimento da imunidade humoral e celular (Tavares-Dias e Moraes 2007; Ranzani-Paiva, 2013). O aumento do número dessas células nos peixes que receberam *Homeopatila 100*[®] poderia prepará-los melhor para uma futura situação de estresse.

Braccini et al. (2013) analisaram os efeitos da *Homeopatila 100*[®] na resposta morfo-funcional em tilápias do Nilo e os animais tratados com 40 mL desse produto apresentaram, nas brânquias, maior hiperplasia das células mucosas, que são responsáveis pela lubrificação e fornecem proteção contra agentes infecciosos, concluindo que o produto *Homeopatila 100*[®] atuou nos animais como imunoprotetor. No presente estudo, os peixes alimentados com ração contendo *Homeopatila 100*[®] apresentaram um aumento significativo, aos 45 dias, na hemoglobina, RBC, glicose, CHCM e número de linfócitos, seguido da diminuição desses valores aos 90 dias, fortalecendo a hipótese desse produto homeopático ter efeito imunoprotetor nos peixes.

O número de leucócitos, neutrófilos e monócitos apresentaram interação significativa para o tempo e sexo, respectivamente. A contagem de leucócitos em peixes é uma ferramenta importante para inferir o sistema imunológico e o estado de saúde, devido às inúmeras funções dessas células (Costa et al., 2014). Os animais utilizados neste estudo apresentaram no tratamento com *Homeopatila 100*[®] diminuição no número de leucócitos (leucopenia), em relação ao tratamento controle, similarmente Pinheiro et al., (2015) também observaram diminuição dessas células no tratamento com 40 mL de *Homeopatila 100*[®]/kg de ração em tambaqui (*C. macropomum*) durante 60 dias.

A reprodução é um processo fisiológico que ocorre no organismo do animal, exigindo mobilização de energia para a gametogênese e liberação de gametas maduros. Embora a desova seja um processo natural nos peixes, ela acaba causando estresse o que

pode ter influenciado na diminuição no número de leucócitos no presente experimento (Ranzani-Paiva e Godinho 1985).

Quando os leucócitos foram comparados com a variável tempo, foi verificado para o tratamento com o produto homeopático, um aumento acentuado dessas células aos 45 dias (tempo 0 – 20.688, 45 dias – 33.478) seguido pela diminuição aos 90 dias (23.933). Essa variação nas células de defesa pode indicar que o *Homeopatia 100*[®] atua no organismo do animal como imunostimulador, ou seja, poderia preparar melhor os peixes para uma situação de estresse, já que houve uma recuperação nos níveis hematológicos dos animais na coleta final aos 90 dias.

Os neutrófilos são as principais células responsáveis pela defesa do organismo contra infecções bacterianas, realizando a fagocitose de agentes infecciosos e substâncias estranhas (Ranzani-Paiva et al., 2013). Na coleta final, aos 90 dias de experimento, os peixes que receberam o produto homeopático apresentaram valores maiores para o número de neutrófilos. Resultados semelhantes foram observados por Vargas e Ribeiro (2009), em tilápias tratadas com o mesmo produto homeopático após 35 e 60 dias de experimento.

No presente trabalho, ocorreu a diminuição do número de ovos ao longo do período experimental (12 coletas) para ambos os tratamentos, observando-se uma diminuição mais acentuada no tratamento com *Homeopatia 100*[®], mas verificou-se incremento do volume ao longo do período experimental, indicando que mesmo com a diminuição da quantidade de ovos por MI, a *Homeopatia 100*[®] foi capaz de manter o incremento do volume ou seja, ovos maiores. Bonislawski, Formicki e Winnicki (2000) descreveram que o tamanho de ovos em peixes pode ser influenciado pelas condições físicas e fisiológicas dos reprodutores, devido à idade, qualidade e quantidade nutricional, digestibilidade, valor biológico dos alimentos incluído nas dietas, critérios de seleção e diferentes sistemas de cultivo.

Em sistemas de produção utilizando hapas instaladas em viveiros escavados, semelhante ao utilizado neste trabalho, Bombardelli et al. (2009) obtiveram percentual de fêmeas desovantes variando de 44 a 66% ao utilizar animais da variedade Tailandesa e alimentá-las com ração contendo diferentes níveis energéticos. Neste experimento, foram encontrados valores maiores onde 83,3% das fêmeas do tratamento com *Homeopatia 100*[®] e 85,0% do tratamento controle desovaram durante o período experimental.

De acordo com Chapman (2000), a taxa de eclosão para ovos de tilápias varia entre 70 a 90%, no presente estudo o percentual de eclosão para os peixes tratados com *Homeopatila 100*[®] foi de 54%, valor maior ao do tratamento controle (46%). Calado et al. (2008) utilizaram diferentes densidades de estocagens na linhagem Chitralada e e verificaram a taxa de eclosão de ovos de 85,3% no tratamento com menor densidade (250 ovos/L). Há necessidade da realização de novos estudos para verificar a qualidade dos ovos e dos alevinos após eclosão.

Conclusão

O produto homeopático *Homeopatila 100*[®], na concentração de 40mL/kg de ração, causou oscilações no número das células de defesa durante o período experimental, indicando que o produto atua no organismo do animal como imunostimulador, podendo preparar melhor os peixes para uma futura situação de estresse.

Os peixes do tratamento com *Homeopatila 100*[®] apresentaram maior número de desova e eclosão, o número de ovos por mL diminuiu ao longo das coletas, mas o produto homeopático manteve o incremento do volume de ovos permitindo a desova de ovos de maiores.

Referências Bibliográficas

- Aziz, D.M.; Enbergs, H. 2005. Stimulation of bovine sperm mitochondrial activity by homeopathic dilutions of monensin. *Homeopathy*, v.94, n.4, p.229-232.
- Bombardelli, R.A.; Hayashi, C.; Natali, M.R.M.; Sanches, E.A.; Piana, P.A. 2009. Desempenho reprodutivo e zootécnico e deposição de lipídios nos hepatócitos de fêmeas de tilápia-do-Nilo alimentadas com rações de diversos níveis energéticos. *Revista Brasileira de Zootecnia* 38(8), 1391-1399.
- BONISLAWSKA, M.; FORMICKI, K.; WINNICKI A. 2000. Size of eggs and duration of embryogenesis in fishes. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, v. 30, n. 1, p. 61-71.
- Braccini, G.L., Natali, M.R.M.; Ribeiro, R.P.; Mori, R.H.; Riggo, R.; Oliveira, C.A.L.; Hildebrandt, J.F.; Vargas, L. 2013. Morpho-functional response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to a homeopathic complex. *Homeopathy*. 102: 233-241.
- CAMPOS-MENDOZA, A., MCANDREW, B.J., COWARD, K., BROMAGE, N. 2004. Reproductive response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to photoperiodic manipulation; effects on spawning periodicity, fecundity and egg size. *Aquaculture* v. 231(1), p. 299-314.
- El-Sayed, A. 2006. "Tilapia culture". CABI Pub., Wallingford, UK.
- Inoue, L.A.K.A.; Boijink, C.L.; Ribeiro, P.T.; Silva, A.M.D.; Affonso, E.G. 2011. Avaliação de respostas metabólicas do tambaqui exposto ao eugenol em banhos anestésicos. *Acta Amazonica*. 41:327-332.
- Lima, L.C.; Ribeiro, L.P.; Leite, R.C. 2006. Estresse em peixes. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.30, n.3/4, p.113-117.
- Martins, M.L.; Ghiraldelli, L.; Azevedo, T.M.P. de. 2006. Ectoparasitos de tilápias (*Oreochromis niloticus*) cultivadas no Estado de Santa Catarina, Brasil. In: SOUZA-SILVA, A.T. (Org.). Sanidade de organismos aquáticos no Brasil. Maringá: ABRAPOA. V.13, p.253-270.
- Ministério da Pesca e Aquicultura – MPA. 2013. Boletim estatístico da pesca e aquicultura, Brasília 2011; 2013.
- Merlini, L.S.; Vargas, L.; Piau JR, R.; Ribeiro,R.P end Merlini, N. B. 2013. “Effects of a homeopathic complex on the performance and cortisol levels in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)”, *Homeopathy*, vol. 103, pp. 139-142.
- Moreira, A.A.; Hilsdorf, A.W.; Silva, J.V.; Souza, V.R. 2007. Variabilidade genética de duas variedades de tilápia nilótica por meio de marcadores microssatélites. *Pesquisa agropecuária brasileira*, v.42, n.4, p.521-526.

- Pinheiro, D.A.; Cavero, B.A.S.; Vargas, L.; Braccini, G.L.; Yoshioka, E.T.O.; Oliveira, M.S.B.; Tavares-Dias, M. 2015. Performance, parasite infections, hematology and hepatic histology of *Colossoma macropomum* (Tambaqui) fed on homeopathic product. African Journal of pharmacy and pharmacology. V.9(4). p. 82-90.
- Ranzani-Paiva, M.J.T.; Padua, S.B.; Tavares-Dias, M.; Egami, M.I. 2013. Métodos para análises hematológicas em peixes. EDUEM: Maringá.
- Ranzani-Paiva, M.J.T. & Godinho, H. M. 2000. Estudos hematológicos em Curimbatá, *Prochilodus scrofa* Steindachner, 1881 (Osteichthyes, Cypriniformes, Prochilodontidae). Série vermelha. Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo, v.12, n. 2, p.25-35.
- Ranzani-Paiva, M.J.T. 1991. Hematologia de peixes, p.65-70. In: Santos H.S.L. (Ed), Histologia de Peixes. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, São Paulo.
- Ranzani-Paiva, M.J.T.; GODINHO. H.M. 1985. Estudos hematológicos em Curimbatá, *Prochilodus scrofa* Steindachner, 1881 (Osteichthyes, Cypriniformes, Prochilodontidae). Série vermelha. Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo. v.12, n.2, p. 25-35.
- Siena, C.E.; Natali, M.R.M.; Braccini, G.L.; Oliveira, A.C.; Ribeiro, R.P.; Vargas, L. 2010. Efeito de um núcleo homeopático Homeopatia 100[®] na eficiência produtiva em alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Ciências Agrárias. 31:985-994.
- Silva, R.D.; Rocha, L.O.; Fortes, B.D.A.; Vieira, D.; Fioravanti, M.C.S. 2012. Parâmetros hematológicos e bioquímicos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) sob estresse por exposição ao ar. Pesquisa veterinária brasileira. v. 32. p. 99-107.
- Tavares-Dias, M.; Moraes, F.R. 2007. Haematological and biochemical reference intervals for farmed channel catfish. Journal of Fish Biology, v. 71, p. 383-388.
- Tavares-Dias, M.; Moraes, F.R. 2004. Hematologia de peixes teleósteos. Ribeirão Preto: M. Tavares-Dias, 144 p.
- Vargas, L.; Ribeiro, R.P. 2009. Homeopatia populacional em tilápias do Nilo *Oreochromis niloticus*. In: Tavares-Dias M. Editor. Manejo e sanidade de peixes em cultivo. Embrapa Amapá. p.106-131.
- Valentim-Zabott, M.; Vargas, L.; Ribeiro, R.P.R.; Piau-Junior, R.; Torres, M.B.A.; Ronnau, M; Souza J.C. 2008. Effects of a homeopathic complex in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus) on performance, sexual proportion and histology. Homeopathy. 97:190-195.

African Journal of Pharmacy and Pharmacology

Instructions for Authors

Introduction

Authors should read the editorial policy and publication ethics before submitting their manuscripts. Authors should also use the appropriate reporting guidelines in preparing their manuscripts.

Research Ethics

Studies involving human subjects should be conducted according to the World Medical Association (WMA) Declaration of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects.

Studies involving non human animals should follow appropriate ethical guidelines such as the Animal Welfare Act, The Animals (Scientific Procedures) Act (Amendment) Order 1993, The EU parliament directive on the protection of animals used for scientific purposes, ARRPP policies and guidelines, etc.

Reporting guideline

Responsible reporting of research studies, which includes a complete, transparent, accurate and timely account of what was done and what was found during a research study, is an integral part of good research and publication practice and not an optional extra.

Preparing your manuscript

The type of article should determine the manuscript structure. However, the general structure for articles should follow the IMRAD structure.

Title

The title phrase should be brief.

List authors' full names (first-name, middle-name, and last-name).

Affiliations of authors (department and institution).

Emails and phone numbers**Abstract**

The abstract should be less than 300 words. Abstract may be presented either in unstructured or structured format. The keywords should be less than 10.

Abbreviations

Abbreviation should be used only for non standard and very long terms.

The Introduction

The statement of the problem should be stated in the introduction in a clear and concise manner.

Materials and methods

Materials and methods should be clearly presented to allow the reproduction of the experiments.

Results and discussion

Results and discussion maybe combined into a single section. Results and discussion may also be presented separately if necessary.

Disclosure of conflict of interest

Authors should disclose all financial/relevant interest that may have influenced the study.

Acknowledgments

Acknowledgement of people, funds etc should be brief.

Tables and figures

Tables should be kept to a minimum.

Tables should have a short descriptive title.

The unit of measurement used in a table should be stated.

Tables should be numbered consecutively.

Tables should be organized in Microsoft Word or Excel spreadsheet.

Figures/Graphics should be prepared in GIF, TIFF, JPEG or PowerPoint.

Tables and Figures should be appropriately cited in the manuscript.

References

References should be listed in an alphabetical order at the end of the paper. DOIs, PubMed IDs and links to referenced articles should be stated wherever available.

Examples:

Baumert J, Kunter M, Blum W, Brunner M, Voss T, Jordan A, Klusmann U, Krauss S, Neubrand M, Tsai YM (2010). Teachers` mathematical knowledge, cognitive activation in the classroom, and student progress. *Am. Educ. Res. J.* 47(1):133-180.
<http://dx.doi.org/10.3102/0002831209345157>

Christopoulous DK, Tsionas EG (2004). "Finacial Development and Economic Growth: Evidence from Panel Unit Root and Cointegration Tests" *J. Dev.Econ.* pp.55-74
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jdeveco.2003.03.002>

Goren A, Laufer J, Yativ N, Kuint J, Ben Ackon M, Rubinshtein M, Paret G, Augarten A (2001). Transillumination of the palm for venipuncture in infants. *Pediatric. Emerg. Care* 17:130-131.
<http://dx.doi.org/10.1097/00006565-200104000-00013> PMID:11334094

Mishra A, Mishra SC (2001). Cost-effective diagnostic nasal endoscopy with modified otoscope. *J. Laryngol. Otol.* 115:648-649.
<http://dx.doi.org/10.1258/0022215011908739> PMID:11535147

Acceptance Certificate

Authors are issued an Acceptance Certificate for manuscripts that have been reviewed and accepted for publication by an editor.

Payment of manuscript handling fee

Once a manuscript has been accepted, the corresponding author will be contacted to make the necessary payment of the manuscript handling fee. Kindly note that on the manuscript management system, the payment option is only enabled for manuscripts that have been accepted for publication.

Proofs

Prior to publication, a proof is sent to the corresponding author. Authors are advised to read the proof and correct minor typographical or grammatical errors. Authors should promptly return proofs to the editorial office.

Publication

Once proofs are received at the editorial office, the manuscripts are usually included in the next issue of the journal. The article will thereafter be published on the journal's website

Publication Notification

After the article is made available on the journal's website, a publication notice is sent to the corresponding author with links to the issue and article.