

EVOLUÇÃO HISTOPATOLÓGICA EM BRÂNQUIAS DE TAINHAS *Mugil liza* EXPOSTAS À BANHOS TERAPÊUTICOS COM FORMALINA

Tamyris RAMOS^{1*}; Luis Alberto ROMANO²; Joaber PEREIRA JR.¹

¹ Laboratório de Biologia de Parasitos de Organismos Aquáticos – LABIPOA – Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Rio Grande – ICB – FURG

² Laboratório de Imunologia e Patologia de Organismos Aquáticos – LIPOA – Estação Marinha de Aquicultura da Fundação Universidade Federal do Rio Grande – EMA – FURG

*email: t.bi0@hotmail.com

Recebido em 11/ 02/2014

Resumo - A formalina é eficaz na eliminação de ectoparasitos de peixes e sua utilização ainda é discutida devido às alterações histológicas ocasionadas nas brânquias. Em tainhas, *Mugil liza*, a formalina é capaz de eliminar Monogenoidea, porém podem ocorrer lesões histológicas. Esse estudo testou concentrações de formalina consideradas eficazes na eliminação de ectoparasitos (60, 90, 120 e 150 mg/L de formalina à 37% e um controle) para observar a ocorrência de alterações histológicas. Juvenis de tainhas foram obtidos da natureza e, após aclimatação, foram submetidos à banhos de uma hora com as concentrações de formalina descritas acima. Após os banhos, os peixes foram mantidos durante duas semanas (experimento I) e quatro semanas (experimento II) em 15 tanques (3 réplicas por tratamento) de 12 L com água com salinidade e parâmetros controlados. Amostras foram retiradas antes do tratamento (n=5) e 24 hs, 1, 2, 3 e 4 semanas após os banhos (n= 9 por tratamento). Após preparação histológica das amostras de brânquias, foi observado que todos os animais tratados apresentaram alguma alteração histológica, assim como os animais do controle e da aclimatação. As lesões encontradas nos peixes tratados foram relacionadas com o uso de formalina. Observaram-se hiperplasia (leve à grave), telangiectasia, desprendimento do epitélio respiratório e necrose. As lesões agravaram-se ao longo do tempo e com o aumento das concentrações durante os dois experimentos e, na terceira e quarta semanas posteriores ao banho, todos os peixes estavam parasitados por monogenóides, sugerindo uma possível re-infestação. A possibilidade de um segundo banho deve ser estudada entre as concentrações de 60 e 90 mg/L de formalina na tentativa de impedir a re-infestação e para observar se, esse tipo de medida profilática, pode interferir na integridade e sobrevivência dos peixes tratados.

Palavras-Chave: Aquicultura, Ectoparasitos; Histopatologia, Formalina

HISTOPATOLOGICAL EVOLUTION IN GILLS OF MULLET *MUGIL LIZA* EXPOSED TO FORMALIN THERAPEUTIC BATHS

Abstract - Formalin is efficient on the elimination of fish ectoparasites, but its utilization is still argued due to the histological changes on gills. In mullets, *Mugil liza*, formalin may have the capacity to eliminate Monogenoidea, however it can produce histological injury. This study tested formalin concentrations considered effective on the elimination of ectoparasites (60, 90, 120 and 150 mg/L of formalin and a control group) to observe the incident of histological alterations. Juvenile mullets were acquired from nature and after a week of acclimation, the fishes were submitted to one hour bath with the concentrations of formalin described above. Afterwards, the fishes were kept for 2 weeks (experiment I) and 4 weeks (experiment II) on fifteen (3 per treatment) 12L tanks with water with salinity and controlled parameters. Samples were taken before treatment (n=5) and 24h, 1, 2, 3 and 4 weeks after baths (n= 3 per treatment). After histological preparation of the gills, was observed that all animals treated presented some histological lesion due to the use of formalin, the same was observed in fish from acclimation and control group. The lesions were hyperplasia (light to hard), telangiectasia, detachment of the respiratory

epithelium and necrosis. No regeneration of the epithelium was observed. The lesions were heavier during the time and with the increased of formalin concentrations in both experiments (I and II) and, on the third and fourth week after bath, all fishes had monogenean on gills suggesting a re-infection. The possibility of a second bath must be studied between concentrations 60 and 90 mg/L formalin as a trial to prevent reinfestation and to observe if this prophylaxis method can interfere on the integrity and survival of treated fish.

Keywords: Aquaculture, Ectoparasites, Histopathology, Formalin

INTRODUÇÃO

Das seis espécies de mugilídeos conhecidas na costa brasileira, *Mugil liza* distribui-se pela costa ocidental do Atlântico (WHITFIELD et al., 2012) e encontram-se durante todo o ano na Lagoa dos Patos, no litoral sul do Brasil (VIEIRA, 1991).

A tainha *M. liza* pode atingir 1m de comprimento e até 8Kg (VIEIRA & SCALABRINI, 1991) é eurihalina e suporta bem a manipulação (EIRAS-STOFELLA et al., 2001). Na Lagoa dos Patos, são peixes valorizados e conhecidos no mercado consumidor (SANCHES et al., 2008), representando um recurso pesqueiro importante, sustentando pequenas comunidades (CASTRO et al., 2009). Com essas características, *M. liza* tem potencial para a aquicultura no sul e sudeste do Brasil (GODINHO et al., 1988).

A intensificação da piscicultura oferece condições para o surgimento de enfermidades aos animais cultivados com consequências diretas no valor e qualidade do produto final (MANERA et al., 2003). Dentre os patógenos possíveis causadores de doenças estão os Monogenoidea (Platyhelminthes), ectoparasitos, em sua maioria, caracterizados pela presença de uma estrutura de fixação com estruturas esclerotizadas, o haptor, e pelo ciclo biológico direto, sendo encontrados preferencialmente nas brânquias, narinas e superfície corporal dos peixes (LUQUE, 2004).

A brânquia é um órgão multifuncional responsável pela respiração, o principal local para excreção de produtos nitrogenados e possui um importante papel no balanço de íons (EVANS et al., 2006 & NOGA, 2010). A presença de monogenóides nesse órgão pode causar hiperplasia, edema, hemorragias, inflamação, aumentar a produção de muco, ocasionar o desprendimento de células das lamelas, necrose, emagrecimento do animal e até morte por asfixia, por infecções secundárias e por anorexia (LUQUE, 2004, DEZFULI et al., 2007 & RIO-ZAGAROZA et al., 2010). Com isso, se evidencia a necessidade de estudos sobre tratamentos adequados para a eliminação dos parasitos com o mínimo de danos para os peixes hospedeiros, normalmente já imunocomprometidos pela condição de cultivo (KLOSTERHOFF et al., 2015).

A formalina é uma solução aquosa de 37-50% de formol gasoso dissolvido em água (FRANCIS-FLOYD, 1996 & CHINABUT et al., 1998) geralmente utilizada na aquicultura na forma de banhos de curta ou longa duração (STOSKOPF, 1988 & FRANCIS-FLOYD, 1996) para eliminação de ectoparasitos em várias espécies de peixes cultivados no mundo. O emprego da formalina é liberado pelas agências de saúde dos Estados Unidos (FRANCIS-FLOYD, 1996 & FAJER-ÁVILA et al., 2003), porém no Brasil não há legislação regulamentando o seu uso

(ARAÚJO et al., 2004).

O uso terapêutico da formalina pode influenciar no ganho de peso dos peixes (OMOREGIE et al., 1998), causar estresse aos animais (ARAÚJO et al., 2004) e lesões nas brânquias (KECK & BLANC, 2002). Pahor-Filho et al. (2014), trataram juvenis de *M. liza* com diferentes concentrações de formalina e observaram que 50 mg/L, apesar de eficaz contra as espécies de monogenóides reportadas por estes autores, causa hiperplasia leve nas brânquias das tainhas tratadas. Esses autores mostram que concentrações mais elevadas causam hiperplasia moderada ou grave, necrose e desprendimento das células epiteliais das lamelas secundárias nos peixes.

Nesse contexto, observa-se que os valores das concentrações de formalina e o tempo dos banhos variam com o grupo parasito a ser eliminado, da espécie e do tamanho (comprimento e peso) do hospedeiro demonstrando que estudos sobre os efeitos secundários do uso dessa droga ainda devem ser ampliados. Além disso, há relatos de casos de re-infestação de peixes tratados com formalina por diferentes motivos (ROWLAND et al., 2006). Considerando então que esse tratamento pode resultar em alterações patológicas nos peixes tratados (PAHOR-FILHO et al., 2014) é coerente questionar se estes peixes são capazes de apresentar um processo de regeneração dos tecidos lesionados e em quanto tempo isso ocorre.

Neste trabalho são investigadas as possíveis alterações histológicas nas brânquias de tainhas *Mugil liza* tratadas com formalina em uma faixa de concentração considerada eficaz na eliminação de duas espécies de monogenóides já reportadas para esse hospedeiro (PAHOR-FILHO et al. 2012).

MATERIAL E MÉTODOS

ANIMAIS UTILIZADOS NO EXPERIMENTO

Juvenis de tainha *M. liza* (2,4 – 3,4 cm de comprimento total) foram obtidos em um arroio que deságua na Praia do Cassino (Rio Grande – RS) (32°11'55"S, 52°11'14"W) através de arraste com rede de 3 m x 1,5 m e malha de 5mm. Os peixes foram coletados em novembro de 2011 (experimento I) e em fevereiro de 2012 (experimento II).

LOCAL DO EXPERIMENTO

A aclimação, o cultivo e os banhos terapêuticos com formalina dos juvenis de tainha

Mugil liza foram realizados no Laboratório de Biologia de Parasitos de Organismos Aquáticos (LABIPOA) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Rio Grande (FURG). As lâminas histológicas foram preparadas no Laboratório de Patologia de Organismos Aquáticos, localizado na Estação Marinha de Aquicultura (EMA – FURG), Cassino, Rio Grande – RS, Brasil.

EXPERIMENTO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os peixes coletados foram levados para o LABIPOA e distribuídos em 15 tanques plásticos (3 tanques por tratamento, incluindo tratamento controle) com capacidade de 12 L e mantidos a uma densidade de 2 peixes/L, conforme orientação de Sampaio et al. (2001). Os juvenis foram aclimatados durante uma semana e alimentados com ração comercial com 30% de proteína bruta, três vezes ao dia. Durante esse período, uma amostra de 5 peixes de cada aquário foi separada para exame histológico. Os parâmetros da água (salinidade, pH, temperatura e O₂ dissolvido) durante a aclimação foram monitorados diariamente. O fotoperíodo foi de 12 horas, com aeração constante em cada tanque, com o uso de pedra porosa, e foram realizados diariamente limpeza dos tanques através de sifonamento e a renovação de 50% da água, onde água com salinidade e parâmetros controlados foi utilizada.

Com as mesmas condições, foram realizados dois experimentos, separados apenas por limitações operacionais: o experimento I ocorreu em novembro de 2011 e o experimento II em fevereiro de 2012. Em ambos os experimentos, os tratamentos foram feitos com quatro concentrações de formalina dissolvidas na água: T 60, T 90, T 120 e T 150 mg/L de formalina à 37% da marca MERCK® e mais um controle T 0, com água sem o composto. As concentrações foram estabelecidas na faixa considerada eficaz para as espécies de monogênóides, *Solostamenides platyorchis*, *Ligophorus uruguayense* e *L. saladensis* encontradas em tainhas *M. liza* da mesma região do estudo, segundo dados de Pahor-Filho et al. (2012) e Marchiori et al. (2015). Os banhos tiveram duração de uma hora e foram realizados em tanques separados para cada concentração. Os parâmetros de qualidade da água durante o banho foram medidos e a aeração foi constante. Após os banhos, os peixes foram recolocados nos tanques com água limpa.

EXPERIMENTO I. ACOMPANHAMENTO DAS 24HRS, 1ª E 2ª SEMANA POSTERIORES AO BANHO COM FORMALINA

Para constatar a ocorrência de alterações histológicas nas brânquias das tainhas após o banho com formalina, uma amostra de três peixes foi coletada de cada um dos tanques (T 0, T 60,

T 90, T 120 e T 150) após 24 hs, uma e duas semanas do tratamento, e levada para análise histológica. Brânquias obtidas desta forma foram tratadas para exame histológico. Considerando que diferenças no tamanho dos peixes podem resultar em diferenças na resposta dos peixes ao tratamento, os peixes amostrados foram medidos (comprimento total e comprimento padrão) e pesados.

EXPERIMENTO II. ACOMPANHAMENTO DA 3ª E 4ª SEMANA POSTERIORES AO BANHO COM FORMALINA

Procedimento idêntico ao descrito acima foi seguido, porém, neste caso, as amostras (três peixes por tanque por tratamento) foram retiradas após três e quatro semanas, respectivamente. O cuidado com a medição dos peixes também foi observado.

1. ANIMAIS UTILIZADOS NO EXPERIMENTO PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DA ÁGUA

Diariamente, durante os experimentos I e II, foram monitorados os parâmetros da água: O₂ dissolvido e temperatura (°C) e Ph, além de testes semanais para amônia. Da mesma forma, os parâmetros físicos da água foram medidos durante os banhos em ambos os experimentos.

2. ANÁLISE HISTOLÓGICA

Para análise histológica das brânquias, os peixes foram mortos com perfuração da cabeça com instrumento pontiagudo até a zona da primeira vértebra, seccionando a medula e então os arcos branquiais foram retirados e fixados em líquido de Bouin durante 24 horas e após em álcool 70%. As amostras foram emblocadas em parafina, e feitos cortes histológicos de 5 µm, corados com hematoxilina e eosina, sendo analisados posteriormente em microscópios. As intensidades das lesões foram classificadas de acordo Romano & Cueva (1988) e Randi et al. (1996), conforme metodologia utilizada por Pahor-Filho et al. (2014).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a estatística dos parâmetros físicos e químicos da água entre os tratamentos, foi utilizada a análise de variância ANOVA, com probabilidade de 95%. Para processamento de dados foi utilizado o programa Statistica 7.0.

RESULTADOS

EXPERIMENTO I

Foram observadas alterações histológicas nas brânquias dos juvenis de *M. liza* tratadas no experimento I. Durante a aclimação a salinidade foi mantida em 5, a média da temperatura foi de $19,3 \pm 2,86$ °C; pH = $7,42 \pm 0,04$ e oxigênio dissolvido = $7,22 \pm 0,10$ ppm. A amônia durante as semanas do experimento I não ultrapassou o valor de 0,003 mg/L. Nenhum dos parâmetros de qualidade de água durante os experimentos apresentou diferenças.

Uma amostra de 5 peixes foi coletada durante a aclimação e os peixes tiveram média do comprimento total de $2,78 \pm 0,08$ cm; comprimento padrão = $2,34 \pm 0,11$ cm e peso = $0,22 \pm 0,04$ gr. Os valores de comprimento e peso dos peixes obtidos nos períodos subsequentes ao banho terapêutico (24 horas, uma e duas semanas) do experimento I, estão na Tabela 1.

Tabela 1. Média das medidas dos juvenis de *Mugil liza* utilizados no experimento I. 24 horas após o banho com formalina; 1ª semana e 2ª semanas após o banho com formalina. CT = comprimento total (cm); CP = comprimento padrão (cm) e P = peso (gr). T 0 = controle. Tratamentos: T 60, T 90, T 120 e T 150 mg/L de formalina. N = 9 peixes por tratamento.

	24 horas			1ª semana			2ª semana		
	CT	CP	P	CT	CP	P	CT	CP	P
T0	2,8 $\pm 0,1$	2,2 $\pm 0,15$	0,22 $\pm 0,05$	2,8 $\pm 0,15$	2,3 $\pm 0,20$	0,25 $\pm 0,03$	2,6 $\pm 0,05$	2,1 $\pm 0,05$	0,19 $\pm 0,01$
T60	2,8 $\pm 0,2$	2,3 $\pm 0,15$	0,26 $\pm 0,06$	2,9 ± 0	2,4 ± 0	0,19 $\pm 0,04$	2,8 $\pm 0,11$	2,4 $\pm 0,1$	0,17 $\pm 0,02$
T90	2,7 $\pm 0,11$	2,2 $\pm 0,1$	0,19 $\pm 0,01$	2,8 $\pm 0,26$	2,2 $\pm 0,2$	0,20 $\pm 0,05$	2,9 $\pm 0,1$	2,3 $\pm 0,1$	0,18 $\pm 0,02$
T120	2,7 $\pm 0,3$	2,2 $\pm 0,11$	0,21 $\pm 0,05$	3,0 $\pm 0,37$	2,5 $\pm 0,37$	0,35 $\pm 0,17$	2,9 $\pm 0,20$	2,4 $\pm 0,20$	0,28 $\pm 0,1$
T150	2,6 $\pm 0,05$	2,2 $\pm 0,05$	0,19 $\pm 0,06$	2,8 $\pm 0,11$	2,2 $\pm 0,05$	0,24 ± 0	-	-	-

Durante o período de aclimação, alguns animais apresentaram hiperplasia leve à grave e telangiectasia. Os peixes do controle (T 0) após 24 hs apresentaram os mesmos sinais e alguns peixes estavam parasitados por Monogenoidea. O mesmo padrão ocorreu nas amostras coletadas na primeira e segunda semanas seguintes ao tratamento.

No tratamento T 60, 24 hs após banho, 100% dos peixes apresentaram hiperplasia leve e um peixe ainda estava parasitado por Monogenoidea. Na primeira semana seguinte, 100% dos peixes apresentaram hiperplasia leve à moderada e, duas semanas após o tratamento, 100% dos peixes continuaram a apresentar hiperplasia moderada.

Em T 90 24 hs pós banho, 100% dos peixes apresentaram hiperplasia leve e

desprendimento do epitélio respiratório. O mesmo ocorreu na primeira e segunda semanas após o tratamento. No tratamento seguinte, T 120, os peixes apresentaram hiperplasia de leve à moderada nas 24 hs após banho com formalina e da mesma forma, na primeira e segunda semanas seguintes ao tratamento.

No tratamento T 150, 24 hs após o banho, os peixes apresentaram hiperplasia moderada e grave e, na primeira semana seguinte ao tratamento, hiperplasia grave e telangiectasia. Não houve sobreviventes na segunda semana após o tratamento T 150.

EXPERIMENTO II

No experimento II os juvenis de *M. liza* apresentaram alterações que podem estar relacionadas ao uso de formalina. A salinidade foi mantida em 5 durante a aclimação, a média da temperatura foi de $24,06 \pm 3,03$ °C; pH = $7,32 \pm 0,05$ e oxigênio dissolvido = $6,84 \pm 0,57$ ppm. A amônia durante as semanas do experimento II não ultrapassou o valor de 0,003 mg/L. Os parâmetros da água durante o experimento não tiveram diferença significativa. Uma amostra de 5 peixes foi coletada durante a aclimação e os peixes tiveram a média do comprimento total de $2,62 \pm 0,13$ cm; comprimento padrão = $2,08 \pm 0,14$ cm e peso = $0,2 \pm 0,02$ gr. O restante das médias dos peixes amostrados por tratamento estão na Tabela 2.

Tabela 2. Média das medidas dos juvenis de *Mugil liza* utilizados no experimento II. 3 e 4 semanas após o banho com formalina. CT = comprimento total (cm); CP = comprimento padrão (cm) e P = peso (gr). T 0 = controle. Tratamentos: T 60, T 90, T 120 e T 150 mg/L de formalina. N = 9 peixes por tratamento.

	3 semanas			4 semanas		
	CT	CP	P	CT	CP	P
T0	$2,8 \pm 0,31$	$2,3 \pm 0,33$	$0,42 \pm 0,2$	$2,9 \pm 0,25$	$2,4 \pm 0,2$	$0,48 \pm 0,11$
T60	$2,8 \pm 0,19$	$2,3 \pm 0,11$	$0,42 \pm 0,06$	$2,8 \pm 0,39$	$2,3 \pm 0,18$	$0,62 \pm 0,18$
T90	$2,6 \pm 0,28$	$2,2 \pm 0,21$	$0,3 \pm 0,08$	$2,9 \pm 0,38$	$2,3 \pm 0,26$	$0,35 \pm 0,19$
T120	$2,7 \pm 0,25$	$2,2 \pm 0,34$	$0,44 \pm 0,14$	$2,9 \pm 0,27$	$2,4 \pm 0,22$	$0,34 \pm 0,12$
T150	$2,7 \pm 0,23$	$2,1 \pm 0,13$	$0,36 \pm 0,07$	$2,9 \pm 0,24$	$2,4 \pm 0,19$	$0,32 \pm 0,10$

Todos os peixes amostrados no período de aclimação apresentaram hiperplasia moderada à grave, telangiectasia e desprendimento do epitélio respiratório. Nas semanas seguintes, os peixes do controle continuaram a apresentar hiperplasia moderada à grave e 100% dos peixes estavam parasitados por Monogenoidea. Não houve peixes sobreviventes no controle ao final do experimento II.

No tratamento T 60, três semanas após o banho terapêutico com formalina, foi detectado presença de Monogenoidea. As lesões observadas foram hiperplasia leve à moderada e desprendimento do epitélio respiratório. Quatro semanas após o tratamento, 100% dos peixes apresentaram hiperplasia grave e desprendimento do epitélio.

DISCUSSÃO

Nos experimentos I e II, os peixes no período de aclimação e do controle apresentaram alterações histológicas como hiperplasia e telangiectasia. A hiperplasia é uma reação do epitélio à irritação crônica por agentes químicos (ROMANO & CUEVA, 1988). Também pode ser reação à uma lesão típica pela infestação de monogenóides Gyrodactyloidea e Dactylogyroides (THONEY & HARGIS Jr, 1991 & RIO-ZAGAROZA et al., 2010) e agrava-se com uma combinação de fatores dentro de um sistema artificial (THONEY & HARGIS JR, 1991 & RIO-SAGAROZA et al., 2010).

Rio-Zagarozza et al. (2010), após infecção experimental em *Lutjanus guttatus* por monogenóides dactilogirídeos, em condições de cultivo, observou uma resposta severa do epitélio branquial, como fusão lamelar. Da mesma forma, Pahor-Filho et al. (2014) observaram hiperplasia leve nas tainhas do controle do estudo realizado com formalina, pode estar atribuída à presença de monogenóides. Respostas hiperplásicas para a infestação de monogenóides também foram encontradas em *Gerres inereus*, *Lutjanus griseus* e *Strongylura timucu* (SKINNER, 1982), *Hemibagrus nemurus* (MODU et al., 2012) e *Bidyanus bidyanus* (ROWLAND et al., 2006). Para esses últimos autores, a baixa qualidade da água do ambiente onde os peixes foram coletados pode atuar como estressores, diminuindo a resistência à infestação por Monogenoidea (HARMS, 1996) e aumentando a possibilidade de infecções secundárias por outros patógenos.

Na natureza, alterações histológicas nas brânquias podem ser respostas a fatores, como presença de metais pesados e contaminantes na água, além da infestação por ectoparasitos (SKINNER, 1982, THONEY & HARGIS Jr, 1991, GONZO et al., 1995 & FERNANDES et al., 2007). Uma das respostas possíveis para essas injúrias ao tecido branquial é a telangiectasia, encontrada nas tainhas do controle deste estudo e em diversas espécies de peixes como: *Odonthestes bonariensis* (ROMANO & CUEVA, 1988); *Pimelodus albicans*, *Leporinus obtusidens*, *Hoplias malabaricus* (GONZO et al., 1995); *Macropsobrycon uruguayanae* (RANDI et al., 1996), *Liza saliens* (FERNANDES et al., 2007) e *Hemibagrus nemurus* (MODU et al., 2012). A telangiectasia relatada por esses autores está relacionada à resposta do tecido branquial ao contato com contaminantes orgânicos e/ou presença de ectoparasitos. Neste estudo, apenas a

presença de Monogenoidea pode ser sugerida como causa da telangiectasia juntamente com a resposta hiperplásica encontrada nas tainhas. Isso é sugerido pois a análise da água da coleta não foi realizada e a rotina de medição dos parâmetros da água dos aquários durante o cultivo não mostrou diferenças significativas entre os tratamentos as quais poderiam exercer influência nos resultados.

As alterações histológicas encontradas nas brânquias das tainhas pós-tratamento deste estudo podem estar relacionadas com o tratamento com formalina. Alterações histológicas similares encontradas por outros autores corroboram essa afirmação (PERERA & PATHIRATNE, 2005 & PAHOR-FILHO et al., 2014). Perera & Pathiratne (2005) observaram hiperplasia e desprendimento do epitélio respiratório em sub-adultos de *Oreochromis niloticus* após banhos de uma hora de duração com 150 mg/L e 250 mg/L de formalina. Em juvenis de *O. niloticus*, expostos às mesmas concentrações, as alterações histológicas foram mais severas quando tratados com 250 mg/L de formalina. Neste trabalho, somente tainhas tratadas apresentaram desprendimento do epitélio respiratório e lesões similares às descritas por Perera & Pathiratne (2005), quando expostas à concentrações bem inferiores, o que pode levar à desconsiderar a informação de Tonguthai (1997) o qual sugere o uso de concentrações testadas para outras espécies de peixes.

Banhos de até uma hora com 250 mg/l de formalina à temperatura superiores à 21°C, são recomendados para eliminação de ectoparasitos (FRANCIS-FLOYD, 1996). Katharios et al. (2006), trataram *Pagrus pagrus* com 200 mg/l de formalina com 100% de eficiência para *Microcotyle* sp., porém os autores não analisaram os efeitos dessa concentração nas brânquias dos peixes. Para *M. liza* tratadas com concentrações acima de 135 mg/l de formalina, também houve 100% de eficácia na eliminação de monogenóides (PAHOR-FILHO et al., 2012). A análise histológica realizada por Pahor-Filho (2012) nos peixes tratados com concentrações superiores à 135 mg/l comprova danos às brânquias e também a ocorrência de mortalidade dos juvenis de tainha. Neste experimento, a concentração de 150 mg/l de formalina, ocasionou hiperplasia grave e telangiectasia a partir da primeira semana e nenhuma tainha sobreviveu após a segunda semana de tratamento. Apesar de apresentar os mesmos sinais, além de necrose e desprendimento do epitélio das lamelas secundárias, as tainhas do T 150 foram amostradas até a quarta semana de cultivo durante o experimento II.

Sabe-se que a especificidade entre hospedeiro-parasito quando em cultivo pode ser perdida e os monogenóides em condições de confinamento fecham seu ciclo rapidamente (THONEY & HARGIS JR, 1991). Córdova et al., (1996), observaram alterações hiperplásicas nas lamelas de brânquias de juvenis de tilápia (*Oreochromis* sp.) devido à presença de monogenóides

associadas ao confinamento em aquários ao longo do tempo. Estas informações podem explicar fatos encontrados neste experimento como: a) agravamento das lesões nas terceira e quarta semanas de todos os tratamentos realizados e b) persistência de monogenóides nas lamelas branquiais em todas as amostras do experimento II (terceira e quarta semana após banhos profiláticos).

Rowland et al. (2006) utilizaram concentrações de 20, 25, 30 e 40 mg/l de formalina para *Bidyanus bidyanus* e observaram que a re-infestação por monogenóides ocorreu nos três primeiros tratamentos. Katharios et al. (2006) sugerem que o banho de formalina deve ser repetido para casos de re-infestação e em peixes altamente infestados. Porém, como também descrito por Rowland et al. (2006), a repetição do tratamento com banhos de formalina pode agravar o estado das lesões provocadas por esse quimioterápico.

CONCLUSÕES

Neste estudo, em todos os tratamentos os peixes *M. liza* observados apresentaram algum tipo de alteração histológica nas condições físicas e químicas em que foram submetidas. Além disso, ao longo do tempo, apresentaram re-infestação e agravamento das patologias sugerindo que não ocorre um processo de cicatrização dos tecidos lesados com o uso da formalina. A recomendação de Pavanelli et al. (1998) de que pode ser mais conveniente e econômico não realizar o tratamento pode ser de fato a mais adequada diante desses achados. Com isso, percebe-se a necessidade de novos estudos com a utilização de um segundo banho com concentrações entre 60 mg/L e 90 mg/L de formalina para eliminar a possibilidade de re-infestação e observar se as lesões podem interferir na integridade e sobrevivência dos peixes cultivados. Além disso, conclui-se que a alternativa de utilizar banhos com concentrações mais baixas, porém em períodos mais longos, deve ser considerada nesses estudos.

AGRADECIMENTOS

A autora agradece à Biól. MSc. Marta Klosterhoff e estagiários do Laboratório de Histopatologia (EMA-FURG) pela preparação histológica e ao Dr. Renato Zacarias e ao Biól. MSc. Francis Almeida pelo auxílio científico e metodológico na elaboração desse trabalho. À CAPES (Processo: 23038.005284/2011-60) e ao CNPq (300753/2012-8) pelo apoio a JPJr. e LAR.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, D.L.; CHAGAS E.C.; GOMES, L.V. & BRANDÃO, F.R. (2004). Efeito de banhos terapêuticos com formalina sobre indicadores de estresse em tambaqui. *Pesq. Agropec. Bras.*, 39: 217-221.

CASTRO, M.G.; ABACHIAN V. & PERROTTA, R.G. (2009). Age and growth of the striped mullet, *Mugil platanus* (Actinopterygii, Mugilidae), in a southwestern Atlantic coastal lagoon (37°32'S–57°19'W): a proposal for a life-history model. *J. Appl. Ichthyol.*, 25: 61–66.

CHINABUT, S.; LIMSUWAN, C.; TOGUNTAL, K. & PUNGKACHONBOON, K. (1998). Toxic and sublethal effect of formalin on freshwater fishes. *Network Aquaculture Centres Asia.*, 73. 871p.

CÓRDOVA, S.M.; AURÓ A. & BUEN, N. (1996). Lesiones histopatológicas producidas em la tilapia (*Oreochromis* sp.) por el confinamiento experimental em acuario. *Vet. Méx.*, 27(2): 143-148.

DEZFULI, B.S.; GIARI, L.; SIMON, E.; MENEGATTI, R.; SCHINN, A.P. & MANERA, M.J. (2007). Gill histopathology of cultured european sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.), infected with *Diplectanum aequans* (Wagener, 1857) Diesing, 1958 (Diplectanidae: Monogenea). *Parasitol. Res.*, 100: 707–713.

EIRAS-STOFELLA, D.R.; CHARVET-ALMEIDA; P., FANTA, E. & VIANNA, A.C.C. (2001). Surface ultrastructure of the gills of the mullets *Mugil curema*, *M. liza* and *M. platanus* (Mugilidae, Pisces). *Jour. Morph.*, 247: 122–133.

EVANS, J.J.; KLESIUS, P.H. & SHOWMAKER, C.A. (2006). Therapeutic and prophylactic immunization against *Streptococcus iniae* infection in hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*). *Aquaculture Res.*, 37: 742-750.

FAJER-AVILA, E.J.; PARRA, I., AGUILAR-ZARATE; G., CONTRERAS-ARCE; R., ZALDIVAR-RAMIREZ; J. & BETANCOURT-LOZANO, M. (2003). Toxicity of formalin to bullseye puffer fish (*Sphoeroides annulatus* Jenyns, 1843) and its effectiveness to control ectoparasites. *Aquaculture*, 223: 41-50.

FERNANDES, C.; FONTAÍNHAS-FERNANDES, A.; MONTEIRO, S.M. & SALGADO, M.A. (2007). Histopathological gill changes in wild leaping grey mullet (*Liza saliens*) from the Esmoriz-Paramos coastal lagoon, Portugal. *Inc. Environ. Toxicol.*, 22: 443-448.

FRANCIS-FLOYD, R. (1996). Use of formalin to control fish parasites. Cooperative Extension Service. *Inst. Food Agricult. Scienc.*, 77: 1-3.

- GODINHO, H.M.; SERRALHAREIRO, P.C.S. & SCORVO FILHO, J.D. (1988). Revisão e discussão de trabalhos sobre as espécies do gênero *Mugil* (Teleostei, Perciformes, Mugilidae) da costa brasileira (lat.3°S-33°S). *Bol. Inst. Pesca*, 5(1): 67-80.
- GONZO, G.A.M.; MARTÍNEZ, V.H. & OSCAR, L. (1995). Estudio histopatológico de branquias de peces del río Juramento, Provincia de Salta. Argentina. *Rev. Assoc. Cienc. Nat. Litoral*, 26(2): 9-13.
- HARMS, C.A. (1996). Treatments for parasitic diseases of aquarium and ornamental fish. *Semin. in Avian and Exotic Pet Med.*, 5(2): 54-63.
- KATHARIOS, P.; PAPANDROULAKIS, N. & DIVANACH, P. 2006. Treatment of *Microcotyle* sp. (Monogenea) on the gills of cage-cultured red porgy, *Pagrus pagrus* following baths with formalin and mebendazole. *Aquaculture*, 251: 167-171.
- KECK, N. & BLANC, G. (2002). Effects of formalin chemotherapeutic treatments on biofilter efficiency in a marine recirculating fish farming system. *Aquat. Living Resour.*, 15: 361–370.
- KLOSTERHOFF, M.C.; PEREIRA JR.; J., RODRIGUES, R.V.; GUSMÃO, E.P.; SAMPAIO, L.A.; TESSER, M.B. & ROMANO, L.A. (2015). Ontogenic development of kidney, thymus and spleen and phenotypic expression of CD3 and CD4 receptors on the lymphocytes of cobia (*Rachycentron canadum*). *An. Acad. Bras. Cienc.*, 87(4):2111 -2121.
- LUQUE, J.L. (2004). Biología, epidemiología e controle de parasitos de peixes. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 13(1): 161-164.
- MANERA M.; VISCIANO, P.; LOSITO, P. & IANIERI, A. (2003). Farmed Fish Pathology: Quality Aspects. *Vet. Res. Com.*, 27(1): 695–698.
- MARHIORI, N.C.; PARISELLE, A.; PEREIRA JR., J.; AGNÈSE, J.F.; DURAND, J.D. & VANHOVE, M.P.M. (2015). A comparative study of *Ligophorus uruguayense* and *L. saladensis* (Monogenea: Ancyrocephalidae) from *Mugil liza* (Teleostei: Mugilidae) in southern Brazil. *Folia Parasit.*, 62 (24): 1 – 10.
- MODU, B.M.; SAIFUL, M.; KARTINI, M.; KAZIM, Z.; HASSAN, M. & SHAHAROM-HARRISON, F.M. (2012). Effects of water quality and monogenean parasite in the gills of freshwater cat fish *Hemibagrus nemurus* Valenciennes, 1840. *Res. J. Biol. Sci.*, 4(3): 242-246.
- NOGA, E.J. (2010). Fish Disease: Diagnosis and Treatment. Iowa: Wiley-Blackwell. 378p.
- OMOREGIE, E.; OFOJEKWU, P.C. & AMALI, E.I. (1998). Effects of sublethal concentrations of formalin on weight gain in the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Trewavas). *Asian Fish. Sci.*, 10: 323-327.

PAHOR-FILHO, E.; MIRANDA, K.C. & PEREIRA JR, J. (2012). Parasitology of juvenile mullet (*Mugil liza*) and effect of formaldehyde on parasites and host. *Aquaculture*, 354(355): 11-116.

PAHOR-FILHO, E.; MIRANDA, K.C.; KLOSTERHOFF, M.; ROMANO, L.A. & PEREIRA JR., J. (2014). Histopathological and behaviour effects of formaldehyde treatment in juvenile mullet, *Mugil liza* (Valenciennes). *Aquac. Res.*, 2014, 1–6.

PAVANELLI, G.C.; EIRAS, J.C. & TAKEMOTO, R.M. (1998). Doenças de peixes – profilaxia, diagnóstico e tratamento. Nupélia. 264p.

PERERA, H.A.C.C. & PATHIRATNE, A. (2005). Effects of short-term exposure to therapeutic levels of formalin on health status of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *J. Natn. Sci.*, 33(4): 239-245.

RANDI, A.S.; MONSERRAT, J.M.; RODRIGUEZ, E.M. & ROMANO, L.A. (1996). Histopathological effects of cadmium on the gills of the freshwater fish, *Macropsobrycon uruguayanae* Eigenmann (Pisces, Atherinidae). *J. Fish Diseases*, 19: 311- 322.

RIO-ZAGAROZA, O.B.; FAJER-AVILA, E.J. & ALMAZAN-RUEDA, P. (2010). Haematological and gill responses to an experimental infection of dactylogyrid monogeneans on the spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). *Aquaculture Res.*, 41: 1592-1601.

ROMANO, L.A. & CUEVA, Y.F.O. (1988). Lesiones histológicas branquiales atribuibles a tóxicos en *Odonthestes bonariensis* (Pisces, Atherinidae). *Rev. Assoc. Cienc. Nat.*, 19(2): 35-142.

ROWLAND, S.J.; NIXON, M.; LANDOS, M.; MIFSUD, C.; READ, P. & BOYD, P. (2006). Effects of formalin on water quality and parasitic monogeneans on silver perch (*Bidyanus bidyanus* Mitchell) in earthen ponds. *Aquaculture Res.*, 37: 869-876.

SAMPAIO, L.A.; FERREIRA, A.H. & TESSER, M.B. (2001). Effect of stocking density on laboratory rearing of mullet fingerlings, *Mugil platanus* (Günther, 1880). *Acta Sci.*, 23: 471-475.

SANCHES, E.G.; PANNUTI, C.V. & SEBATICI, S.F. (2008). A piscicultura marinha como opção para a carcinicultura brasileira. *Aquicultura & Pesca*, 36: 12-19.

SKINNER, R.H. (1982). The interrelation of water quality, gill parasites, and gill pathology of some fishes from south Biscayne Bay, Florida. *Bull. Fish.*, 80(2): 269-280.

STOSKOPF, M.K. (1988). Fish Chemoterapeutics. *Vet. Clin. North Am.*, 18: 329-346.

THONEY, D.A. & HARGIS, W.J. (1991). Monogenea (Platyhelminthes) as hazards for fish in confinement. *Annual Rev. of Fish Diseases*, 1: 133-153.

TONGUTHAI, K. (1997). Control of Freshwater Fish Parasites: a Southeast Asian Perspective. *Int. J. Parasitol.*, 21(10): 1185-1191.

VIEIRA, J.P. (1991). Juvenile mullets (Pisces: Mugilidae) in the estuary of Lagoa dos Patos, RS, Brazil. *Copeia*, 2: 409-418.

VIEIRA, J.P. & SCALABRINI, S. (1991). Migração reprodutiva da tainha *Mugil platanus* Günther, 1880 no sul do Brasil. *Atlântica*, 13: 131-141.

WHITFIELD, A.K.; PANFILI, J. & DURAND, J.D. (2012). A global review of the cosmopolitan flathead mullet *Mugil cephalus* Linnaeus, 1758 (Teleostei: Mugilidae), with emphasis on the biology, genetics, ecology and fisheries aspects of this apparent species complex. *Rev. Fish Biol. Fisheries*, 22: 641-681.