

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA



**Eficiência antiparasitária e toxicidade do levamisol em juvenis
de *Mugil liza* Valenciennes, 1836 submetidos a banhos
terapêuticos**

Jacqueline Cristina de Oliveira Xavier

Rio Grande - RS
2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

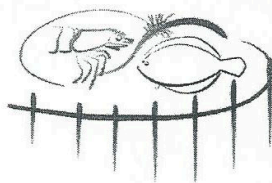
**Eficiência antiparasitária e toxicidade do levamisol em juvenis
de *Mugil liza* Valenciennes, 1836 submetidos a banhos
terapêuticos**

Jacqueline Cristina de Oliveira Xavier

Orientador: Prof. Dr. Joaber Pereira Júnior
Co-orientador: Prof. Dr. Rogério Tubino Vianna

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre em Aquicultura no Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal do Rio Grande.

Rio Grande - RS
2015



Pós Graduação em
AQUICULTURA
Universidade Federal do Rio Grande - FURG

ATA 01/2015

DE DEFESA DA 127ª DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AQUICULTURA

No dia dezoito de fevereiro de dois mil e quinze, às treze horas e trinta minutos, no Auditório da Estação Marinha de Aquicultura da FURG, reuniu-se a Banca Examinadora de Dissertação de Mestrado em Aquicultura, da Zootecnista **JACQUELINE CRISTINA DE OLIVEIRA XAVIER**, orientada pelo Prof. Dr. Joaber Pereira Jr e Co-Orientada pelo Prof. Dr. Rogério Tubino Vianna, composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. Joaber Pereira Jr (Orientador – ICB/FURG), Prof. Dr. Marcelo Borges Tesser (IO/FURG) Dr. Renato Zacarias Silva (ICB/FURG), e a Dra. Ana Luísa Schifino Valente (UFpel). Título da dissertação: **“Eficiência antiparasitária e toxicidade do levamisol em juvenis de *Mugiliza Valenciennes*, 1836 submetidos a banhos terapêuticos.”**. Dando início à defesa, o Coordenador do PPGAq, Prof. Dr. Marcelo Borges Tesser, passou a presidência da sessão ao Prof. Dr. Joaber Pereira Jr, que na qualidade de Orientador, passou a palavra para a candidata apresentar a Dissertação. Após ampla discussão entre os membros da Banca e a candidata, a Banca se reuniu sob a presidência do Coordenador em Exercício. Durante esse encontro ficou estabelecido que as sugestões dos membros da Banca Examinadora devem ser incorporadas na versão final da dissertação, ficando a cargo do Orientador o cumprimento desta decisão. A candidata **JACQUELINE CRISTINA DE OLIVEIRA XAVIER** foi considerada **APROVADA**, devendo a versão definitiva da Dissertação ser entregue a Secretaria do PPGAq, no prazo estabelecido nas Normas Complementares do Programa. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, será assinada pela Banca Examinadora, pela candidata e pelo Coordenador do PPGAq.


PROF. DR. JOABER PEREIRA JR/ORIENTADOR (ICB/FURG)


PROF. DR. MARCELO BORGES TESSER (PPGAq/IO-FURG)


DR. RENATO ZACARIAS SILVA (ICB/FURG)


DRA. ANA LUÍSA SCHIFINO VALENTE (UFpel)


JACQUELINE CRISTINA DE OLIVEIRA XAVIER


PROF. DR. MARCELO BORGES TESSER (Coordenador do PPGAq)

Ficha Catalográfica

Sumário

| | |
|---|-----------|
| Ata de Aprovação | 3 |
| Ficha Catalográfica..... | 4 |
| Sumário..... | 5 |
| Lista de Tabelas | 7 |
| Lista de Figuras | 8 |
| Agradecimentos | 9 |
| RESUMO GERAL | 11 |
| ABSTRACT | 12 |
| INTRODUÇÃO GERAL | 13 |
| REFERÊNCIAS | 15 |
| <u>OBJETIVOS</u> | <u>19</u> |
| Capítulo 1 | 20 |
| RESUMO | 22 |
| ABSTRACT | 22 |
| INTRODUÇÃO..... | 23 |
| MATERIAL E MÉTODOS..... | 25 |
| Obtenção e aclimação dos peixes | 25 |
| Delineamento experimental..... | 25 |
| Teste da CL _{50-24h} do levamisol | 27 |
| Sobrevivência dos hospedeiros (%)..... | 26 |
| Análises estatísticas | 26 |
| Qualidade de água | 26 |
| Experimento 1 – Teste preliminar da CL _{50-24h} do levamisol..... | 27 |
| Experimento 2 – Teste definitivo da CL _{50-24h} do levamisol | 28 |
| Sobrevivência (%) | 28 |
| DISCUSSÃO | 29 |
| REFERÊNCIAS | 31 |
| Capítulo 2 | 35 |
| RESUMO | 37 |
| ABSTRACT | 38 |
| INTRODUÇÃO..... | 39 |
| MATERIAL E MÉTODOS..... | 41 |

| | |
|---|----|
| Análise parasitológica prévia | 42 |
| Delineamento experimental | 42 |
| Sobrevivência | 45 |
| Índices parasitológicos (IP) | 44 |
| Índices parasitológicos | 44 |
| Eficácia (%) | 44 |
| Análise Estatística | 44 |
| RESULTADOS | 44 |
| Análise prévia dos Parasitos | 44 |
| Qualidade de água | 45 |
| Sobrevivência (%) | 45 |
| Índices parasitológicos e eficácia antiparasitária | 46 |
| DISCUSSÃO | 47 |
| REFERÊNCIAS | 51 |
| CONCLUSÕES GERAIS | 57 |
| Sugestões para futuros estudos utilizando levamisol em tainhas, <i>Mugil liza</i> | 58 |

Lista de Tabelas

Capítulo 1

| | |
|---|----|
| Tabela 1- Concentrações de levamisol utilizadas na CL _{50-24H} em juvenis de <i>Mugil liza</i> | 26 |
| Tabela 2- Valores médios e desvio padrão dos parâmetros físicos e químicos da água nos testes de toxicidade aguda de levamisol em <i>Mugil liza</i> | 26 |
| Tabela 3- Mortalidade total e média por tratamento de juvenis de tainhas, <i>Mugil liza</i> 24 horas após a exposição ao levamisol no teste da CL _{50-24h} | 27 |
| Tabela 4 - CL ₅₀ para juvenis de <i>Mugil liza</i> tempo (horas) =TE, concentração letal média (mg/L) CL50 e intervalo de confiança= IC. | 28 |
| Tabela 5- Valores da sobrevivência (%) de juvenis de <i>Mugil liza</i> 24 e 48 horas após o contato com levamisol..... | 29 |

Capítulo 2

| | |
|--|----|
| Tabela 1- Índices parasitológicos, prevalência (%) (P), intensidade média de Infestação (IMI) e Abundância Média (MA) de Infestação de Monogenoidea dos juvenis de <i>Mugil liza</i> (n = 30), em ambiente natural, no Arroio do Navio que desemboca na praia do Cassino (31° 11' 55" S; 52° 11' 14" O). | 45 |
| Tabela 2- Valores médios dos parâmetros físicos e químicos da água no teste da eficiência antiparasitária do levamisol em <i>Mugil liza</i> | 45 |
| Tabela 3 – Valores da sobrevivência (%) de juvenis de <i>Mugil liza</i> 24 e 48 horas após o contato com levamisol. | 46 |
| Tabela 4- Eficácia antiparasitária e índices parasitológicos; Prevalência (P) (%), Intensidade Média de Infestação (IMI) e Abundância Média de Infestação (AX) de juvenis de tainha (<i>Mugil liza</i>), expostos a diferentes concentrações de levamisol..... | 47 |

Lista de Figuras

Capítulo 1

Figura 1- Valores em porcentagem de sobrevivência de tainha (*Mugil liza*) após banhos terapêuticos de longa duração (24 horas) em diferentes concentrações de levamisol.....28

Capítulo 2

Figura 1- *Ligophorus uruguayense* extraídos das brânquias de *Mugil liza* coletadas no Arroio do Navio (31° 11' 55" S; 52° 11' 14" O).45

Agradecimentos

Primeiramente a Deus que permitiu que eu chegasse até aqui me dando forças para superar todos os desafios e por sempre abençoar minha vida.

Ao meu orientador Prof. Joaber Pereira Junior, pela oportunidade de ser sua orientada, pelos diversos ensinamentos, pela imensa compreensão e principalmente pela confiança. Obrigada de coração por todos os momentos que o senhor dedicou para contribuir tanto em minha formação acadêmica quanto em minha formação pessoal.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Rogério Tubino Vianna, pelos conselhos, pelos ensinamentos e pela força que me deu para realização dos trabalhos.

Ao Francis pela amizade e por toda ajuda e apoio que me deu nas coletas, necropsias e execução dos experimentos, tudo isso sempre com um sorriso único no rosto. Você foi essencial para tornar esse trabalho possível.

Ao Prof. Dr. Renato Zacarias Silva (Renatinho) pelos diversos ensinamentos e pelas inúmeras risadas que demos juntos.

Aos colegas do LABIPOA pela convivência agradável ao longo desses dois anos. A Yorleys, Kamila, Marcelo Bruno, Mário, Yuri e Amanda pelos momentos de descontração no laboratório.

Aos meus pais e irmã por sempre me darem força, por estarem sempre presentes mesmo diante da distância, por acreditarem em mim e pelo amor incondicional. Amo muito vocês.

As amigas de república, pelos inúmeros momentos de alegria, companheirismo e amizade, em especial a Mariana Gabriella e Maria Fernanda que hoje considero como irmãs, vocês tornaram meus dias mais leves e divertidos durante essa jornada gaúcha.

Aos meus colegas e amigos da EMA-FURG, Clívea, Alain, Raiza, Hernando, Paola, Juan, Mario e Marta e ao agregado sempre amigo e companheiro Abraão.

A Kátia e ao Cláudio pela acolhida carinhosa, pelos churrascos maravilhosos e por manterem as portas sempre abertas.

A Helena (Lyng) pela amizade sincera e de longa data, por estar sempre ao meu lado e por topar largar tudo para enfrentarmos os desafios de um mestrado.

Aos meus amigos de infância Danillo, Daniela, Bruno e Tullio que mesmo com a distância fizeram com que nossa amizade se tornasse ainda mais forte.

Aos meus queridos colegas de trabalho que me acolheram, obrigada pelo carinho e compreensão nesta última etapa de conclusão do mestrado. Obrigada a Ive, Carol, Marta,

Yngrid, Celso e toda equipe do Centro de Treinamento em Aquicultura de Rio das Flores - FIPERJ.

Ao meu amigo/irmão/parceiro de trabalho/bombeiro hidráulico/eletricista Thiago que tem o dom de deixar meus dias mais leves, agradáveis e divertidos. Sua amizade faz toda diferença na minha vida.

Ao curso de pós-graduação em Aquicultura e cada um dos professores, técnicos e servidores pelas trocas e pela disposição de atender e ajudar todos nós estudantes.

À CAPES e CNPq pelo apoio financeiro.

A todos os que de alguma maneira contribuíram com este trabalho.

RESUMO GERAL

As tainhas (*Mugil* spp.) constituem um dos principais grupos de peixes marinhos com potencial de criação para a aquicultura no Brasil. As elevadas densidades a que os peixes são submetidos nas condições de confinamento aumentam as chances da ocorrência de parasitoses, que podem provocar prejuízos nas pisciculturas e/ou causarem zoonoses transmitidas pelo pescado. No Brasil são escassos os estudos relacionados à eficácia de fármacos antiparasitários para peixes e seus efeitos secundários, sendo por isso necessários estudos para avaliar a eficiência e os impactos destes medicamentos antes que eles possam ser usados em larga escala em pisciculturas comerciais. O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade aguda e a eficiência antiparasitária sobre ectoparasitos branquiais de diferentes concentrações de levamisol em banhos terapêuticos de 24 horas em juvenis de *Mugil liza*. Para o desenvolvimento deste estudo foram utilizadas tainhas com comprimento médio de 2,9 cm, coletadas na natureza em arroio que desemboca na Praia do Cassino (31° 11' 55" S; 52° 11' 14" O), transportadas para o laboratório e aclimatadas em caixas plásticas de 80 litros com aeração constante. Para determinar o nível de toxicidade do levamisol e as concentrações utilizadas no experimento de eficiência antiparasitária foi feito um teste de CL_{50-24h}. Os tratamentos foram realizados em triplicata conduzidos em delineamento inteiramente casualizado. Para o cálculo das CL₅₀ foi utilizado o software "Trimmed Spearman Karber Method" que determinou como CL_{50-24h} de levamisol para juvenis da tainha *M. liza* o valor de 61,63 mg/L. Os índices parasitológicos (Prevalência, Intensidade de Infestação e Abundância Média) das tainhas na natureza foram determinados através de um exame parasitológico realizado previamente em uma amostra contendo 30 peixes. Através das análises parasitológicas pôde-se concluir que, em juvenis de *M. liza* no litoral do Rio Grande do Sul são encontrados *Ligophorus* cf. *uruguayense*, *Solostamenides* sp. e *Gyrodactylus* sp. nas brânquias de juvenis de *M. liza*, que funcionam como sítio da infestação. Com base nos resultados do teste de CL_{50-24h} do levamisol em *M. liza*, foram escolhidas 3 concentrações (0; 7,5; 15 e 22,5 mg/L) que garantissem que a sobrevivência dos peixes fosse superior à 50% em cada tratamento. Todos os tratamentos foram realizados com três repetições. Nas condições em que o experimento foi realizado, foi possível concluir que 15 mg/L de levamisol é indicado no controle de *Gyrodactylus* sp. para juvenis de *M. liza*. Para o controle de *Solostamenides* sp. não foi possível avaliar a eficácia do levamisol devido a prevalência nula encontrada no grupo controle para este parasito. Considerando a baixa eficiência das concentrações testadas nos banhos profiláticos de 24 horas no controle de *L.*

uruguayense, o uso deste método neste tempo de exposição não é recomendado no tratamento contra este Monogenoidea.

PALAVRAS CHAVE: Antiparasitários, Aquicultura, Levamisol, *Mugil*.

ABSTRACT

The mullet (*Mugil* spp.) are one of the major groups of marine fish farming with potential for aquaculture in Brazil. Due to the high densities that fish are submitted in containment conditions increase the chances of the occurrence of parasites, which can cause damage to fish farms and/or cause zoonoses transmitted by fish. In Brazil there are few studies related to the effectiveness of antiparasitic drugs for fish and their side effects, so it is necessary studies to evaluate the effectiveness and impacts of these drugs before they can be used in large-scale commercial fish farms. The objective of this study was to evaluate the acute toxicity and antiparasitic efficiency on gill ectoparasites of different levamisole concentrations in therapeutic baths 24 hours in juvenile of *Mugil liza*. To develop this study we used mullet with 2.9 cm on average, collected in nature in a stream that outfall in Cassino Beach (31°11'55"S; 52°11'14"W), transported to the laboratory and acclimated in plastic boxes of 80 liters with constant aeration. To determine the toxicity level of levamisole and the concentrations used in the antiparasitic efficiency experiment was made a LC_{50-24h} test. The treatments were performed in triplicate conducted in a completely randomized design. For calculation of the LC₅₀ was used the software "Trimmed Spearman Karber Method" that determined the value of 61.63 mg/L as levamisole LC_{50-24h} for juvenile mullet. The parasitological indices (Prevalence of infection intensity and average abundance) of mullet in nature were determined by a parasitological examination that has been performed on a sample containing 30 fish. Through the parasitological analysis it was concluded that, in juveniles of *M. liza* in Rio Grande do Sul coast are found *Ligophorus* cf. *uruguayense*, *Solostamenides* sp. and *Girodactylus* sp. in the gills of juvenile *M. liza*, which act as the infestation site. Based on the results of the LC_{50-24h} levamisole test in *M. liza*, three concentrations were chosen (0, 7.5, 15 and 22.5 mg/L) which would ensure that the fish survival was greater than 50% in each treatment. All treatments were carried out with three replications. In the conditions of this experiment, it was concluded that 15 mg/L of levamisole is indicated on the control of *Gyrodactylus* sp. for juveniles of *M. liza*. To control *Solostamenides* sp. was not possible to assess the effectiveness of levamisole due to zero prevalence in the control group for this parasite. Considering the low efficiency of the

concentrations tested in 24 hours prophylactic baths in control of *L. uruguayense*, the use of this method in this exposure time is not recommended for treatment against this Monogenoidea.

KEYWORDS: Antiparasitic, Aquaculture, Levamisole, *Mugil*.

INTRODUÇÃO GERAL

A produção pesqueira mundial vem se mantendo estável em cerca de 90 milhões de toneladas. Em contrapartida, a aquicultura mundial voltada para produção de peixes destinada à alimentação humana aumentou cerca de 10 vezes nas últimas três décadas (1980-2010), a uma taxa média anual de 8,8 por cento (FAO 2012). De 1970 a 2008 a participação da aquicultura na produção mundial de pescado aumentou de 3,9% para 36,9%, indicando que a aquicultura é uma atividade viável e em pleno crescimento (FAO 2010).

As tainhas (*Mugil spp.*), constituem um dos principais grupos de peixes marinhos, com potencial de cultivo para a aquicultura no Brasil (Miranda-Filho et al. 2010). No cenário mundial, o Egito é o país com maior representatividade na produção desses Mugilidae, seguido da República da Korea e Taiwan (FAO 2011).

Mugil liza Valenciennes, 1836 é facilmente encontrada na região estuarina da Lagoa dos Patos, mas ocorre desde o Rio de Janeiro, no Brasil, até a Argentina. (Vieira 1985). Sua natureza eurihalina, permite criar a tainha em diferentes salinidades (Fonseca Neto & Spach 1999), sua tolerância a diferentes temperaturas, apesar de apresentar melhor conversão alimentar em 30°C (Okamoto et al. 2006) e a sua boa aceitação por alimentos artificiais (Carvalho et al. 2010) fazem da tainha uma espécie apropriada para o cultivo. Na natureza a tainha utiliza o zooplâncton, microalgas e detritos em sua dieta, isso permite que em cativeiro sejam utilizadas formas de fertilização para aumento da produção primária, o que leva a diminuição de custos (Oliveira & Soares 1996). As tainhas podem medir até 50 centímetros de comprimento total e pesar de 6 a 8 quilos, nadam em cardume e habitam a superfície de águas tropicais e subtropicais (Vieira 1985; Vieira et al. 1998).

Os parasitas que utilizam peixes como hospedeiros estão representados especialmente em sete grupos, Protozoa*, Digenea, Monogenea, Cestoda, Acanthocephala, Nematoda e Crustácea (Eiras 1994a).

Os Monogenoidea são ectoparasitos de peixes de água doce como de peixes marinhos e são comumente encontrados nas brânquias e na superfície do corpo dos peixes (Rodhe 1993). Os monogenóides podem causar grandes prejuízos devido à sua elevada

patogenicidade. Em alguns países europeus as altas taxas de parasitismo por *Gyrodactylus salaris*, por exemplo, promove danos às criações de trutas e salmões (Lang & Møllergaard 1999).

Peixes na natureza normalmente apresentam uma fauna parasita associada sem que isso obrigatoriamente represente patologias observáveis para esses animais (Luque 2004). Em condições de confinamento, os peixes são submetidos a elevadas densidades, facilitando a propagação e reprodução dos parasitos no meio aquático. (Thatcher 1981; Malta 1984). Desse modo, a presença de parasitas pode provocar prejuízos nas pisciculturas devido às lesões causadas no hospedeiro que podem desencadear patologias que aumentarão a mortalidade e, portanto perdas na produção (Eiras 1994b; Lima 2007). Além dos prejuízos econômicos, alguns desses parasitos podem causar zoonoses transmitidas pelo pescado, questão que merece atenção, devido ao crescente hábito de consumo de peixe cru ou mal cozido (Citti 2010).

Para entender de que forma os hospedeiros são utilizados por seus parasitos nos diferentes sítios são estimados alguns índices parasitológicos como a prevalência (P %), a Intensidade média de infestação (IMI) e abundância média (AX) (Bush et al. 1997), como observado em “corvina” *Micropogonias furnieri* (Pereira Jr. et al. 2002) e em “tainha” *M. liza* (Pahor-Filho et al. 2012).

Peixes intensamente parasitados, debilitados ou com lesões profundas, dificilmente recuperam sua saúde com os tratamentos (Martins 1998). Desta forma a utilização de programas profiláticos é importante para prevenir parasitoses em peixes de interesse comercial. Medidas profiláticas como a desinfecção dos tanques, o uso de tanques de quarentena, o controle da qualidade da água (oxigênio, temperatura, pH, renovação), da densidade populacional e o uso de substâncias que promovam a sanidade do plantel, fornecidos via oral ou através de banhos profiláticos realizados em tanques com volume previamente conhecido são alternativas que podem ser incluídas nos programas (Luque 2004). Todavia, devido à dificuldade de controlar todas as variáveis em uma criação comercial, podem ocorrer epizootologias, sendo necessária então, a utilização de quimioterápicos para minimizar os impactos de possíveis enfermidades.

O levamisol é uma droga sintética do grupo dos imidatiázóis utilizado como anti-helmíntico em mamíferos (Noga 1996). Seu mecanismo de ação ocorre através do estímulo e posterior bloqueio das junções neuromusculares, o que paralisa os helmintos (Rang et al. 2001). Além da ação antiparasitária, o levamisol age como imunoestimulante restaurando o

número de linfócitos T e estimula os monócitos a realizarem fagocitose, sendo este efeito mais evidente em animais imunodeprimidos (Li 2006).

Estudos sobre o efeito do levamisol em *Clarias fuscus* mostram que os peixes tratados com a droga se tornam mais resistentes ao desafio com *Acinetobacter lwoffii* com aumento da atividade mieloperoxidase em neutrófilos e dos níveis séricos de lisozima (Li et al. 2005). A administração de levamisol por sete dias e a imunização contra *Aeromonas hydrophila* melhoraram parâmetros da imunidade adquirida e inata em Pacus *Piaractus mesopotamicus* (Takahashi 2010).

Schmahl & Taraschewski (1987) descrevem ainda a eficiência do levamisol como antiparasitário em *Gyrodactylus aculeati*, que pertence ao grupo dos Monogenoidea que pode ser de grande importância no cultivo de peixes devido a sua alta patogenicidade.

No Brasil são escassos os estudos relacionados à eficácia de fármacos antiparasitários para peixes estuarinos e seus efeitos secundários, sendo por isso necessários estudos para avaliar a eficiência e os impactos destes. O trabalho determinou a toxicidade causada pelo levamisol nos juvenis de *M. liza* (Capítulo 1) e a eficácia anti-helmíntica deste fármaco através de banhos terapêuticos sobre os ectoparasitos em juvenis de tainha capturados na natureza (Capítulo 2).

REFERÊNCIAS

- BUSH, AO, KD LAFFERTY, JM LOTZ & AW SHOSTAK. 1997. Parasitology meets ecology on terms: Margolis et al. Revisited. *J. Parasitol.*, 83(4):575-583.
- CARVALHO, CVA, A BIANCHINI, MB TESSER, LA SAMPAIO. 2010. The effect of protein levels on growth, post prandia excretion and tryptic activity of juvenile mullet *Mugil platamus* (Gunther). *Aquac. Res.*, 41, 511 – 518.
- CITTI, AL. 2010. Tainhas (*Mugil liza* Valenciennes, 1836) infectadas por *Ascocotyle (Phagícola) longa* em São Paulo: ocorrência, importância na saúde pública, estratégias de controle e sua representatividade cultural, São Paulo, Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências, Universidade de São Paulo, 124p.
- EIRAS, JC. 1994a. - Elementos de Ictioparasitologia. Porto: Fundação Eng. António de Almeida. 339p.
- EIRAS, JC 1994b. A importância econômica dos parasitas de peixes. *Hig. aliment.*, 8(31): 11-13.

- FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. 2010. The State of World Fisheries and Aquaculture. Rome, FAO – Fisheries and Aquaculture Department. 197p.
- FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. 2011. Demand and supply of feed ingredients for farmed fish and crustaceans – Trend and prospects. Rome, 102p.
- FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. 2012. The State of World Fisheries and Aquaculture. Rome, FAO – Fisheries and Aquaculture Department. 209p.
- FONSECA NETO, JC & HL SPACH. 1998/1999. Sobrevivência de juvenis de *Mugil platanus* Günther, 1880 (Pices, Mugilidae) em diferentes salinidades. *Bol. Inst. Pesca*, 25: 13-17.
- LANG, T, & S MELLERGAARD. 1999. The BMB/ICES Sea-Going Workshop “Fish Diseases and Parasites in the Baltic Sea” – introduction and conclusions. *ICES J. Mar. Sci.*, 56:129-133.
- LI, GUIFENG, Y GUO, D ZHAO, PQJ SUN, C XIAO, L LIANG & H WANG. 2005. Effects of levamisole on the immune response and disease resistance of *Clarias fuscus*. *Aquaculture*, 253: 212–217.
- LI, P, X WANG, DM GATLIN III. 2006 Evaluation of levamisole as a feed additive for growth and health management of hybrid striped bass (*Morone chrysops*×*Morone saxatilis*). *Aquaculture*, 251; 201–209.
- LIMA, LC. 2007. Doenças de importância econômica em piscicultura. VII Seminário de aves e suínos – AveSui Regiões. III Seminário de Aqüicultura, Maricultura e Pesca. Belo Horizonte.
- LUQUE, JL. 2004. Biologia, epidemiologia e controle de parasitos de peixes. *Rev. bras. Parasitol. Vet.*, 13: 161-165.
- MALTA, JCO. 1984. Os peixes de um lago de várzea da Amazônia Central (Lago Janauacá, Rio Solimões) e suas relações com os crustáceos ectoparasitas (Branchiura: Argulidae). *Acta Amaz.*, 14(3-4): 355-372.
- MARTINS, ML. 1998. *Doenças infecciosas e parasitárias de peixes*. Boletim Técnico do centro de Aqüicultura da UNESP, n. 3, 66p. MIRANDA-FILHO, MB TESSER, LA SAMPAIO & HM GODINHO. 2010. Tainha. In Balisseroto, BE & LC Gomes (Eds.) 2ª Ed.: Espécies nativas para a piscicultura no Brasil, 21. Santa Maria – RS: Editora UFSM, Brasil, pp. 541-558.

- NOGA, EJ. 1996. Fish Disease. Diagnosis and Treatment. St. Louis, Missouri: Mosby-Year Book. 800p.
- OKAMOTO, MH, LA SAMPAIO & AP MAÇADA. 2006. Efeito da temperatura sobre o crescimento e sobrevivência de juvenis de tainha *Mugil platanus* Günther, 1880. *Atlântica*, 28: 61-66.
- OKAMOTO, MH, LA SAMPAIO & AP MAÇADA. 2006. Efeito da temperatura sobre o crescimento e a sobrevivência de juvenis da tainha *Mugil platanus* Günther, 1880. *Atlântica*, 28: 61-66.
- OLIVEIRA, IR & LSH SOARES. 1996. Alimentação da tainha *Mugil platanus* Gunther, 1880 (Pisces: Mugilidae), da região estuarino-lagunar de Cananéia, São Paulo, Brasil. *Bol. Inst. Pesca*, 23: 95-104.
- PAHOR-FILHO E, KC MIRANDA-FILHO & J PEREIRA JR. 2012. Parasitology of juvenile mullet (*Mugil liza*) and effect of formaldehyde on parasites and host. *Aquaculture*, 354-355: 111-116.
- PEREIRA J. Jr., MAS COSTA, RT VIANNA. 2002. Índices parasitológicos de Cucullanidae (Nematoda: Seratoidea) em *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) no litoral do Rio Grande do Sul, Brasil. *Atlântica*, 24(2): 97-101.
- RANG, HP, MM DALE & JM RITTER. 2001. Farmacologia 4e. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. 703p.
- RHODE, K. 1993. *Ecology of marine parasites*. CAB International, wallingford, U.K., 298p.
- SCHMAHL, G & H TARASCHEWSKI. 1987. Treatment of fish parasites. 2. Effects of Praziquantel, Niclosamide, Levamisole-HCl, and Metrifonate on Monogenea (*Gyrodactylus aculeati*, *Diplozoon paradoxum*). *Parasitol. Res.*, 73:341-351.
- TAKAHASHI, JDB. 2010. Imunomodulação por levamisol na imunidade inata e adquirida de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Tese de doutorado. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, 121 p.
- THATCHER, VE. 1981. Patologia dos peixes da Amazônia Brasileira, Aspectos gerais. *Acta Amaz.*, 11(1): 125-140.
- VIEIRA, JP. 1985. Distribuição, abundância e alimentação dos jovens de Mugilidae no estuário da Lagoa dos Patos e movimentos reprodutivos da “tainha” *Mugil platanus* Günther 1880, no litoral sul do Brasil. Dissertação de Mestrado em Oceanografia Biológica, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, 104p.

VIEIRA, JP, JP CASTELLO & LE PEREIRA. 1998. A Ictiofauna. In: Seeliger, U, C Odebrecht & JP Castello, (Eds). Os ecossistemas costeiro e marinho do extremo sul do Brasil. Rio Grande, Ed. Ecoscientia :60-68.

OBJETIVO

O objetivo geral deste trabalho é avaliar a eficiência antiparasitária sobre ectoparasitos branquiais e a toxicidade de diferentes concentrações de levamisol em banhos terapêuticos em juvenis de tainha, *Mugil liza*.

Para instrumentalizar este objetivo, foram estabelecidos os objetivos específicos:

- Determinação da toxicidade aguda do levamisol através do teste de CL_{50-24h} ;
- Estabelecer em laboratório a taxa de sobrevivência dos hospedeiros submetidos aos banhos com a droga;
- Testar a eficiência antiparasitária de diferentes concentrações do levamisol em banhos terapêuticos;

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

Capítulo 1

Toxicidade aguda do levamisol em juvenis de *Mugil liza*

Valenciennes, 1836 submetidos a banhos terapêuticos

Orientador: Prof. Dr. Joaber Pereira Júnior

Co-orientador: Prof. Dr. Rogério Tubino Vianna

Proponente: Jacqueline Cristina de Oliveira Xavier

Rio Grande-RS

Formatado nas normas da Revista Atlântica

TOXICIDADE AGUDA DO LEVAMISOL EM JUVENIS DE *Mugil liza*
VALENCIENNES, 1836 SUBMETIDOS A BANHOS TERAPÊUTICOS

**Jacqueline Cristina de Oliveira Xavier, Rogério Tubino Vianna, Francis Mattos
Almeida, Renato Zacarias Silva & Joaber Pereira Jr.**

Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Programa de Pós-graduação em Aquicultura,
Instituto de Oceanografia; Laboratório de Parasitologia de Organismos Aquáticos (LABIPOA),
Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Av. Itália, km 8, Campus Carreiros, CEP: 96201-900,
Rio Grande, RS, Brasil. jacquelinexavier@zootecnista.com.br

Título Abreviado: Toxicidade do levamisol em *M. liza*

Palavras – chave: levamisol, toxicidade aguda, CL50, *Mugil liza*.

RESUMO.

As tainhas *Mugil liza* apresentam potencial econômico para aquicultura brasileira, podendo ser criadas em confinamento em densidades mais elevadas do que na natureza. Este modo de criação pode facilitar a disseminação de parasitoses, acarretando perdas econômicas substanciais. Objetivando investigar a toxicidade do anti-helmíntico levamisol, juvenis de *M. liza* foram capturados no extremo sul do Brasil para serem submetidos a banhos terapêuticos agudos (24h) em condições laboratoriais para a determinação da Concentração Letal Média (CL_{50-24h}) do levamisol em um experimento com 7 concentrações (0, 30, 50, 70, 90, 110 e 130 mg/l). Os espécimes (n=210) foram distribuídos aleatoriamente em 21 aquários de 11 litros (10 peixes/aquário). O experimento foi conduzido em triplicata, com alimentação "ad libitum" utilizando ração comercial. Os parâmetros físicos (temperatura) e químicos (amônia, nitrito, pH e salinidade) da água foram monitorados e comparados pela Análise de Variância (ANOVA) (Teste de Tukey; p<0,05) entre os tratamentos. Para o cálculo da CL₅₀ foi utilizado o software "Trimmed Spearman Karber Method" que determinou como CL_{50-24h} do levamisol para juvenis da tainha *M. liza* o valor de 61,63 mg/L. Os resultados indicam o medicamento causa alterações fisiológicas observáveis, mas rapidamente recuperáveis pelos juvenis de tainha *M. liza*.

PALAVRAS CHAVE: levamisol, toxicidade aguda, CL₅₀, *Mugil Liza*.

ABSTRACT

The mullet *Mugil liza* have economic potential for Brazilian aquaculture may be set up in confinement at higher densities than in nature. This farming method may allow the spread of parasites more easily, causing substantial economic losses. In order to investigate the toxicity of anthelmintic levamisole, *M. liza* juveniles were captured in southern Brazil to undergo acute therapeutic baths (24 h) under laboratory conditions to determine the levamisole median lethal dose (DL_{50-24h}) in an experiment with 7 concentrations (0, 30, 50, 70, 90, 110 and 130 mg / l). The specimens (n = 210) were randomly assigned to 21 aquariums of 11 liters (10 fish / aquarium) .The experiment was conducted in triplicate, feeding "ad libitum" using commercial feed. The physical parameters (temperature) and chemical (ammonia, nitrite, pH and salinity) of the water were monitored and compared by analysis of variance (ANOVA) (Tukey test, P <0.05) between treatments. To calculate the DL₅₀ was used the software "Trimmed Spearman Karber Method" which determined how levamisole DL_{50-24h} for juvenile mullet *M. liza* the value of 61.63 mg / L. It was observed

the formation of an acceptable limit of mortality (or survival) of juvenile mullet in culture with boundaries between 30 and 70 mg / L. The results indicate that juvenile mullet *M. liza* adequately tolerate levamisole concentrations between 30 and 70 mg/L; the drug causes observable physiological changes, but quickly recoverable by juveniles.

KEYWORDS: Levamisole, *Mugil*, Acute toxicity, DL50,

INTRODUÇÃO

A tainha *Mugil liza* é pelágica e forma grandes cardumes que se distribuem no Caribe e na costa Atlântica da América do Sul, desde a costa da Venezuela até a Argentina (Menezes et al. 2010). Os Mugilidae, conhecidos popularmente por tainhas e paratis, estão entre os peixes mais abundantes em ambientes costeiros marinhos e estuarinos. Para completar o seu crescimento os juvenis desta família deslocam-se das regiões costeiras para águas estuarinas e lagunares, ricas em alimento, na época de desova, os adultos de tainha migram de volta para o mar (Menezes 1983). *M. liza* altera seus hábitos alimentares de acordo com a fase de vida. Quando jovem possui hábito planctófago e quando adultos são iliófagos (Oliveira & Soares 1996).

As tainhas apresentam grande potencial econômico à pesca artesanal nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, tanto que são consideradas ameaçadas com a sobrepesca. Encontram-se entre os principais recursos pesqueiros do estuário da Lagoa dos Patos juntamente com o camarão e a corvina. A produção desses três grupos de pescado excede em muito a soma das outras espécies (Kalikoski & Vasconcellos 2013). Além do potencial no setor pesqueiro a tainha possui diversas características que fazem com que ela seja uma espécie atrativa e viável também na aquicultura (Miranda-Filho et al. 2010). Entre estas características estão: eurihalinidade (Fonseca Neto & Spach 1999) e termohalinidade (Okamoto et al. 2006), facilidade no manejo alimentar, pois aceita bem dietas inertes (Ito & Barbosa 1997) e tolerância à condições de confinamento (Sampaio et al. 2001). Em vários países como Itália, Israel, Taiwan, Egito, China, Cuba e Colômbia, a criação de diferentes espécies de Mugilidae, em mono e/ou policultivo já vem sendo praticada com sucesso. Estes tipos de cultivo objetivam o desenvolvimento da aquicultura e, ou o povoamento e repovoamento de ambientes esgotados em seus estoques pesqueiros nestes países (Godinho et al. 1988).

Em condições de confinamento os peixes são normalmente submetidos a densidades mais elevadas do que as encontradas em seu habitat natural como forma de obter retorno comercial ao investimento. Esta condição aumenta as chances de propagação e reprodução

dos parasitos em peixes devido à densidade no cultivo destes organismos (Thatcher 1981; Malta 1984). Desse modo, a presença de parasitos pode provocar prejuízos nas pisciculturas devido às patologias decorrentes que aumentarão a mortalidade e perdas econômicas de produção (Eiras 1994b; Lima 2007). Além dos prejuízos econômicos, alguns desses parasitos podem causar zoonoses transmitidas pelo pescado, questão que merece atenção, devido ao crescente hábito de consumo de peixe cru ou mal cozido (Citti 2010).

O levamisol é uma droga sintética do grupo dos imidatiázóis utilizado como anti-helmíntico em mamíferos (Noga 1996) e mais recentemente em peixes (Schalch et al. 2009). Seu mecanismo de ação ocorre através do estímulo e posterior bloqueio das junções neuromusculares que paralisa os helmintos, que são então eliminados nas fezes (Rang et al. 2001). Além da ação antiparasitária, o levamisol age como imunoestimulante aumentando o número de linfócitos T e estimula os monócitos a realizarem fagocitose, sendo este efeito mais evidente em animais imunodeprimidos (Li 2006). Através dos testes de toxicidade, é possível determinar o tempo e as concentrações em que o agente químico é potencialmente prejudicial para o organismo (Fonseca 1991). Sendo assim, considera-se como concentração média letal (CL_{50}) a concentração tóxica que causa mortalidade de 50% dos organismos expostos durante um tempo específico, nas condições de teste (Cesar et al. 1997).

No Brasil são escassos os estudos relacionados à eficácia de fármacos antiparasitários para peixes e seus efeitos secundários (Pahor-Filho et al. 2012, Führ et al. 2012, Pahor-Filho et al. 2014), sendo por isso necessários estudos para avaliar a toxicidade destas drogas para os peixes nativos e de interesse econômico.

O intuito deste trabalho foi determinar a concentração letal média (CL_{50-24h}) do levamisol em banhos de 24 horas em juvenis de *Mugil liza* pelo teste de toxicidade aguda, estabelecer a taxa de mortalidade dos hospedeiros com as diferentes concentrações do fármaco.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção e aclimação dos peixes. Juvenis de *Mugil liza* com comprimento total médio de 2,9 cm ($\pm 0,3$) e com peso médio de 0,29g ($\pm 0,12$) foram capturados com rede de arrasto no Arroio do Navio que desemboca na praia do Cassino (31° 11' 55" S; 52° 11' 14" O) e transportados para o Laboratório de Biologia de Parasitos de Organismos Aquáticos

(LABIPOA) da Universidade Federal do Rio Grande – FURG. Estes animais foram previamente aclimatados às condições de laboratoriais em duas caixas plásticas de 80 litros com temperatura igual a 24°C e com aeração constante com pedras porosas. A aclimação utilizando fotoperíodo de 12 horas teve duração de sete dias período em que as caixas foram sifonadas diariamente para eliminar os resíduos decantados. A reposição de água foi feita utilizando água fornecida pela Companhia Riograndense de Saneamento (CORSAN) tratada com sal marinho a fim alcançar salinidade 5 e eliminar o cloro.

Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia “ad libitum” com ração com 28% de proteína bruta. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC).

Delineamento experimental: Para verificar a faixa letal do levamisol em juvenis de tainha, 210 peixes em foram distribuídos aleatoriamente em 21 tanques de 11 L onde permaneceram em jejum durante 24 horas antes de serem expostos ao levamisol. Cada tanque continha 10 peixes que foram expostos a diferentes concentrações de levamisol na forma de banho durante 24 horas. As concentrações utilizadas foram: 0 (controle), 30, 50, 70, 90, 110 e 130 mg/l (Tabela 1). Antes de adicionar o levamisol nos tanques, o medicamento na concentração a ser utilizada, foi transferido para um pote plástico com volume de 80 ml. Em seguida, a água do próprio tanque que recebeu tratamento foi adicionada ao pote até completar o volume de 80 ml com intuito de fazer uma pré-diluição do levamisol, após esse procedimento a mistura foi adicionada ao tanque em cima da fonte de aeração a fim de proporcionar uma distribuição mais homogênea do fármaco. Cada concentração foi testada em triplicata. Para determinação da concentração letal para 50% dos juvenis de tainha, bem como para realizar o cálculo dos intervalos de confiança de 95%, foi utilizado o *software* “Trimmed Spearman Karber Method”, desenvolvido por Hamilton et al. (1977).

O pH, oxigênio dissolvido (OD) e temperatura da água foram medidos diariamente por meio de sondas multiparamétricas digitais. A salinidade foi mensurada diariamente com o uso de um refratômetro e a concentração de nitrito e amônia-total foi mensurada mediante o uso de kit comercial

Depois de um dia de exposição ao medicamento foi estabelecida a taxa de mortalidade de cada tanque e 100% da água dos tanques foi renovada. Após 48 horas da aplicação do medicamento foi verificada a mortalidade em cada uma das concentrações testadas, os peixes foram medidos, pesados e sacrificados por concussão cerebral.

Tabela 3-Concentrações de levamisol utilizadas na CL_{50-24H} em juvenis de *Mugil liza*

| Concentração de levamisol (mg/L) | Sigla |
|-------------------------------------|-------|
| 0 | L0 |
| 30 | L30 |
| 50 | L50 |
| 70 | L70 |
| 90 | L90 |
| 110 | L110 |
| 130 | L130 |

Sobrevivência dos hospedeiros (%)

A taxa de sobrevivência dos peixes, 24 e 48 horas após o início dos tratamentos, foi calculada através da seguinte fórmula:

$$\text{Sobrevivência (TS\%)} = N_f \times 100/N_i$$

Onde N_f: Número final de indivíduos, N_i: Número inicial de indivíduos.

Análises estatísticas

Para estimar a qualidade da água realizou-se a mensuração do pH, temperatura (°C), OD, amônia (ppm) e salinidade. A estatística dos parâmetros físicos e químicos da água e as taxas de sobrevivência dos peixes nos diferentes tratamentos foi feita para verificar a existência de diferença significativa entre as médias dos resultados empregando-se análise de variância (ANOVA, $\alpha = 0,05$) e teste de Tukey.

RESULTADOS

Qualidade de água

Tanto no experimento 1 (teste preliminar) quanto no experimento 2 (teste definitivo) não houve diferenças significativas ($P > 0,05$) nos valores dos parâmetros mensurados (Tabela 2).

Tabela 4- Valores médios e desvio padrão dos parâmetros físicos e químicos da água nos testes de toxicidade aguda de levamisol em *Mugil liza*.

| Tratamentos | | Parâmetros | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------------|-----|------------------|----|--------------------|------|--------------------|------|---------------|------|-----|------|----------------|----|
| Concentrações de levamisol (mg/l) | | Temperatura (°C) | | Oxigênio (mg/L -1) | | Amônia Total (ppm) | | Nitrito (ppm) | | pH | | Salinidade (‰) | |
| L0 | 0 | 24 | ±0 | 12,06 | ±0,3 | 0,2 | ±0,1 | 0,1 | ±0,1 | 7,4 | ±0,1 | 5 | ±0 |
| L30 | 30 | 24 | ±0 | 11,00 | ±0,5 | 0,3 | ±0,2 | 0,2 | ±0,1 | 7,6 | ±0,1 | 5 | ±0 |
| L50 | 50 | 24 | ±0 | 12,03 | ±0,5 | 0,3 | ±0,2 | 0,2 | ±0,1 | 7,5 | ±0,1 | 5 | ±0 |
| L70 | 70 | 24 | ±0 | 12,24 | ±0,7 | 0,3 | ±0,2 | 0,1 | ±0,1 | 7,6 | ±0,2 | 5 | ±0 |
| L90 | 90 | 24 | ±0 | 11,34 | ±0,4 | 0,2 | ±0,1 | 0,2 | ±0,1 | 7,3 | ±0,0 | 5 | ±0 |
| L110 | 110 | 24 | ±0 | 11,28 | ±0,9 | 0,2 | ±0,1 | 0,2 | ±0,1 | 7,4 | ±0,1 | 5 | ±0 |
| L130 | 130 | 24 | ±0 | 11,46 | ±0,6 | 0,3 | ±0,2 | 0,2 | ±0,1 | 7,5 | ±0,1 | 5 | ±0 |

Teste da CL_{50-24h} do levamisol:

Para definir as concentrações letais de levamisol para as tainhas, os peixes foram expostos a concentrações crescentes do medicamento. As concentrações letais foram observadas nos grupos submetidos às maiores concentrações (90, 110 e 130 mg/L) onde houve maior mortalidade diferindo estatisticamente dos demais tratamentos.

Tabela 3- Mortalidade total e média por tratamento de juvenis de tainhas, *Mugil liza* 24 horas após a exposição ao levamisol no teste da CL_{50-24h}.

| Tratamento (mg/L) | Mortalidade 24h | | |
|-------------------|-------------------|-------|-----------|
| | Porcentagem (%) | Total | Média |
| 0 | 10 ^a | 3 | 1±0 |
| 30 | 36,7 ^b | 11 | 3,67±2,05 |
| 50 | 40 ^b | 12 | 4±0,82 |
| 70 | 60 ^b | 18 | 6±0 |
| 90 | 93,3 ^c | 28 | 9,33±0,47 |
| 110 | 96,7 ^c | 29 | 9,67±0,47 |
| 130 | 100 ^c | 30 | 10±0 |

As letras diferentes significam existência de diferença estatística ($p < 0,05$) entre os valores de mortalidade e as diferentes concentrações de levamisol.

A concentração letal média (CL_{50-24h}) do levamisol para juvenis da tainha *M. liza*, com os comprimentos dos espécimes utilizados no experimento, e sob as condições de qualidade de água descritas é 61,63 mg/L. Os dados da CL₅₀ são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - CL₅₀ para juvenis de *Mugil liza* tempo (horas) =TE, concentração letal média (mg/L) CL50 e intervalo de confiança= IC.

| TE (horas) | CL50 (mg/L) | IC |
|---------------|----------------|---------------|
| 24 | 61,63 | (48,72-77,96) |

Sobrevivência (%)

A toxicidade do levamisol aos peixes pôde ser observada logo nas primeiras 24 horas após a exposição ao medicamento. O grupo controle (L0) foi o que demonstrou maior sobrevivência, diferindo estatisticamente dos outros grupos (L30 a L130). A sobrevivência dos juvenis de tainhas foi diretamente afetada diante da exposição ao levamisol, com formação de três grupos terapêuticos bem estabelecidos. (Figura 1 e Tabela 5).

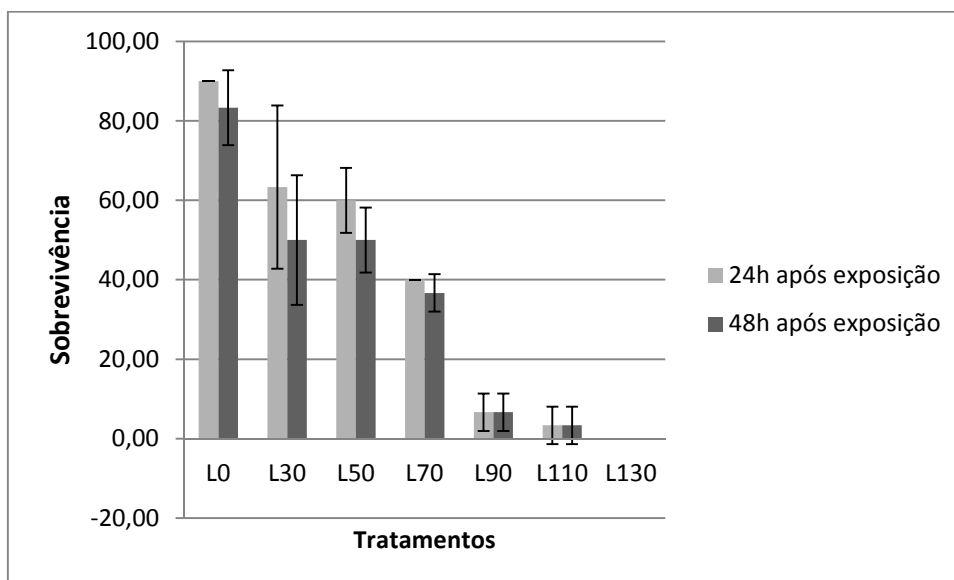


Figura 1-Valores percentuais e desvio padrão da sobrevivência de tainha (*Mugil liza*) após banhos terapêuticos durante 24 horas em diferentes concentrações de levamisol.

Tabela 5- Valores da sobrevivência (%) de juvenis de *Mugil liza* 24 e 48 horas após o contato com levamisol

| Tratamento (mg/L) | Sobrevivência (%) | |
|----------------------|-------------------|-------------------|
| | 24h | 48h |
| 0 | 90,0 ^a | 83,3 ^a |
| 30 | 63,3 ^b | 50,0 ^b |
| 50 | 60,0 ^b | 50,0 ^b |
| 70 | 40,0 ^b | 36,7 ^b |
| 90 | 6,7 ^c | 6,7 ^c |
| 110 | 3,3 ^c | 3,3 ^c |
| 130 | 0 ^c | 0 ^c |

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as médias de sobrevivência das diferentes concentrações de exposição ao levamisol.

DISCUSSÃO

As concentrações de oxigênio, amônia e nitrogênio dissolvidos na água, a salinidade, o pH, a taxa de renovação da água, a temperatura e os regimes de luminosidade são os fatores ambientais críticos à manutenção do equilíbrio fisiológico dos peixes. É sabido que água de má qualidade torna os peixes estressados, tornando-os suscetíveis às enfermidades, desta forma o controle da qualidade da água é um importante fator no sucesso produtivo de peixes (Pavanelli et al. 2008). Em experimentos que utilizam quimioterápicos na água, o acompanhamento desses parâmetros físicos e químicos antes e durante a administração dos fármacos é ainda mais importante, pois qualquer alteração pode interferir na eficácia e toxicidade dos produtos (Gomes, 2001; Schalch et al., 2009). Com os resultados demonstrados na Tabela 1 é possível observar que os valores dos parâmetros hídricos monitorados permaneceram constantes, indicando que a água manteve os padrões adequados para o cultivo de tainhas (Fonseca Neto & Spach 1999, Okamoto et al. 2006, Pahor- Filho et al. 2012) e que não variaram com a aplicação das diferentes concentrações do tratamento. Estes resultados assemelham-se aos encontrados por Onaka (2001) que também não observou influência nos parâmetros de qualidade da água (OD, pH, temperatura e condutividade elétrica) após utilização do levamisol. Por fim, é possível afirmar que nenhum dos parâmetros da qualidade da água avaliados, interferiu nos resultados obtidos como resultado das diferenças de concentração do levamisol.

O grupo controle (L0) apresentou os melhores resultados em relação a sobrevivência dos juvenis de *M. liza* utilizados neste ensaio, 90% de sobrevivência 24 horas após o início do experimento e 83,3% nas 48 horas após o início do teste. Esta mortalidade observada no

grupo controle pode ser explicada pelo estresse que envolve o processo de captura que engloba tanto o esforço físico causado pela tentativa de fuga (Milligan et al., 2000), como a hipóxia temporária gerada pela retirada do peixe da água (Arends et al., 1999) além de eventuais injúrias na superfície do corpo, como a perda de escamas e de muco (Ross e Ross 1999). Essa sequência de estímulos estressantes gera respostas acumulativas (Schreck, 2000) que podem ter influenciado na sobrevivência desses juvenis de *M. liza*. No presente estudo a maior letalidade relacionada ao levamisol para juvenis de tainha foi observada em concentrações superiores a 70mg/L. Durante os primeiros 15 minutos de exposição ao levamisol foi possível observar sinais de intoxicação em todas as concentrações testadas, os peixes apresentaram hiperventilação (aumento do movimento opercular), hiperatividade, desequilíbrio natatorial, dispneia posteriormente, e eventualmente morte. Gaikwad (1989) observou sinais de toxicidade semelhantes em *Etroplus maculatus*, submetidos a teste de toxicidade aguda com selênio.

Ao comparar os dados disponíveis na literatura sobre a toxicidade em peixes causada pela exposição ao levamisol com a concentração letal mediana encontrada neste trabalho, é possível notar variadas respostas nas diferentes espécies hospedeiras. Buchmann et al. (1990) em testes com concentrações inferiores aquelas utilizadas neste ensaio observaram sinais de intoxicação como perda de equilíbrio e mortalidade em *Anguilla anguilla* infectadas com *Pseudodactylogyrus anguillae* expostas a 10 mg/L de levamisol por 25 horas em temperatura semelhante a utilizada neste trabalho. Já Santamarina et al. (1991) não documentaram sinais de toxicidade em *Oncorhynchus mykiss* naturalmente parasitadas por *Gyrodactylus* spp. expostas por 3 horas a 15°C a 100 mg/L de levamisol.

A CL_{50-24h} estimada para juvenis de *M. liza* foi 61,63 mg/L, indicando uma menor tolerância ao levamisol quando comparada a outros peixes de diferentes tamanhos e espécies. Da mesma forma, Taraschewski et al. (1988), com enguias de 20 a 40 cm determinaram a CL_{50-24h} desses animais ao levamisol o valor de 250 mg/L.

A mortalidade dos juvenis foi diretamente influenciada pela concentração de levamisol utilizada em cada tratamento (Tabela 4), pois o aumento da concentração desta substância causou maior mortalidade de juvenis de *M. liza*. A sobrevivência dos juvenis tainhas neste trabalho sugere elevada toxicidade do levamisol sobre os peixes utilizados nos ensaios. No entanto, como sugerido em estudos similares (Führ et al. 2012, Pahor-Filho et al. 2012) esses resultados não devem ser diretamente estendidos a outras espécies de hospedeiros, ou à mesma espécie hospedeira se os espécimes forem de tamanhos distintos àqueles usados neste estudo, ou se estiverem submetidos a condições ambientais diferentes

(temperatura, salinidade, O₂ dissolvido, amônia, nitratos, pH) daquelas usadas neste experimento.

REFERÊNCIAS

- ARENDS, RJ, JM MANCERA, JL MUNOZ, SE WENDELAAR BONGA, G FLIK. (1999). The stress response of the gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) to air exposure and confinement. *J. Endocrinology*, 163: 149-157.
- BUCHMANN, K, CS SZÉKELY, & J BJERREGAARD. 1990. Treatment of *Pseudodactylogyrus* infestations of *Anguilla anguilla* II. Trials with bunamidine, praziquantel and levamisole. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 10: 18-20.
- CESAR, A, SLR SILVA & AR SANTOS. 1997. Testes de Toxicidade Aquática no Controle da Poluição - Universidade Santa Cecília - UNISANTA – Santos, São Paulo, Brasil. 37 p.
- CITTI, AL. 2010. Tainhas (*Mugil liza* Valenciennes, 1836) infectadas por *Ascocotyle (Phagícola) longa* em São Paulo: ocorrência, importância na saúde pública, estratégias de controle e sua representatividade cultural, São Paulo, Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências, Universidade de São Paulo, 124p.
- EIRAS, JC. 1994. A importância econômica dos parasitas de peixes. *Hig. aliment.*, 8(31): 11-13.
- FONSECA NETO, C & HL SPACH. 1999. Sobrevivência de juvenis de *Mugil platanus* Günther, 1880 (Pisces, Mugilidae) em diferentes salinidades. *Bol. Inst. Pesca*, 25: 13-17.
- FONSECA, AL. 1991. A biologia das espécies *Daphnia laevis* e *Ceriodaphnia silvestris* (Crustácea, Cladocera) e *Poecilia reticulata* (Pisces, Poeciliidae) o comportamento destes em testes de toxicidade aquática com efluentes industriais. 210p. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia, Universidade Federal de São Carlos. São Carlos.
- FÜHR, F., J PEREIRA JR., LA. ROMANO & F ALMEIDA. 2012. Gill injury after treatment with mebendazole on mullets *Mugil liza*. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 32(5): 151-158.
- GAIKWAD, SA. 1989. Acute toxicity of mercury, copper and selenium to the fish *Etroplus maculatus*. *Environ. Ecol.*, 7(3): 694-696.
- GODINHO, HM, PCS SERRALHEIRO & JD SCORVO FILHO. 1988. Revisão e discussão de trabalhos sobre as espécies do gênero *Mugil* (TELEOSTEI, PERCIFORMES, MUGILIDAE) da costa brasileira. *B. Inst. Pesca*, 15 (1): 67 – 80.

- GOMES, LC, NPL CHIPARI-GOMES, R ROUBACH & CARM ARAÚJO-LIMA. 2001. Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile Tambaqui, *Colossoma macropomum*. *J. World Aquac. Soc.*, 32: 426-431.
- HAMILTON, MA, RC RUSSO & RV THURSTON. 1977. Trimmed Spearman-Kärber Method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environ. Sci. Technol.*, 11: 714-719.
- ITO, K & JC BARBOSA. 1997. Nível protéico e proporção de proteína de origem animal em dietas artificiais para a tainha, *Mugil platanus*. *B. Inst. Pesca*, 24: 111 – 117.
- KALIKOSKI, DC & M VASCONCELLOS. 2013. Estudo das condições técnicas, econômicas e ambientais da pesca de pequena escala no estuário da Lagoa dos Patos, Brasil: Uma metodologia de avaliação. FAO, Circular de Pesca e Aquicultura Nº. 1075. Roma, FAO. 200 p.
- LI, P, X WANG, DM GATLIN III. 2006 Evaluation of levamisole as a feed additive for growth and health management of hybrid striped bass (*Morone chrysops*×*Morone saxatilis*). *Aquaculture*, v.251, p. 201–209.
- LIMA, LC. 2007. Doenças de importância econômica em piscicultura. VII Seminário de aves e suínos – AveSui Regiões. III Seminário de Aquicultura, Maricultura e Pesca. Belo Horizonte.
- LUQUE, JL. 2004. Biologia, epidemiologia e controle de parasitos de peixes. *Rev. bras. Parasitol. Vet.*, 13: 161-165.
- LUQUE, JL. 2004. Biologia, epidemiologia e controle de parasitas de peixes. *Rev. bras. Parasitol. Vet.*, 13 (1):161-164.
- MALTA, JCO. 1984. Os peixes de um lago de várzea da Amazônia Central (Lago Janauacá, Rio Solimões) e suas relações com os crustáceos ectoparasitas (Branchiura: Argulidae). *Acta Amaz.*, 14(3-4): 355-372.
- MENEZES, NA. 1983. Guia prático para conhecimento e identificação das tainhas e paratis (Pisces, Mugilidae) do litoral brasileiro. *Rev. bras. Zool.*, 2: 1-12.
- MENEZES, NA, C OLIVEIRA & M NIRCHIO. 2010. An old taxonomic dilemma: the identity of the western south Atlantic lebranche mullet (Teleostei: Perciformes: Mugilidae). *Zootaxa*, 2519: 59–68.
- MILLIGAN, CL, GB HOOKE, C JOHNSON. 2000. Sustained swimming at low velocity following a bout of exhaustive exercises enhances metabolic recovery in rainbow trout. *J. Exp. Biol.*, 203: 921-926.

- MIRANDA-FILHO, MB TESSER, LA SAMPAIO & HM GODINHO. 2010. Tainha. In: Balisseroto, BE & LC Gomes (Eds.), 2ª Ed.: Espécies nativas para a piscicultura no Brasil, 21. Santa Maria –RS: Editora UFSM, Brasil, pp. 541-558.
- OKAMOTO, MH, LA SAMPAIO & AP MAÇADA. 2006. Efeito da temperatura sobre o crescimento e sobrevivência de juvenis de tainha *Mugil platanus* Günther, 1880. *Atlântica*, 28: 61-66.
- OLIVEIRA, IR & LSH SOARES. 1996. Alimentação da tainha *Mugil platanus* Günther, 1880 (Pisces: Mugilidae) da região estuarino-lagunar de Cananéia, São Paulo, Brasil. *Bol. Inst. Pesca*, 23: 95-104.
- ONAKA, EM. 2001. Eficácia do mebendazol e do levamisol no controle de parasitos monogenóides e eventuais alterações no hemograma de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae). Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal 210p.
- ONAKA, EM, ML MARTINS & FR MORAES. 2003. Eficácia do albendazol e praziquantel no controle de *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea: Dactylogyridae), parasitos de pacu *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae). I. Banhos terapêuticos. *B. Inst. Pesca*, 29: 101 – 107.
- PAHOR-FILHO E, KC MIRANDA-FILHO & J PEREIRA JR. 2012. Parasitology of juvenile mullet (*Mugil liza*) and effect of formaldehyde on parasites and host. *Aquaculture*, 354-355: 111-116.
- PAHOR FILHO, E; KC MIRANDA FILHO, MC KLOSTERHOFF, LA ROMANO & J PEREIRA JR. 2014. Histopathological and behavior effects of formaldehyde treatment in juvenile mullet (*Mugil liza*). *Aquac. Res.*, 45: 1-6.
- PAVANELLI, GC, JC EIRAS & RM TAKEMOTO. 2008. Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento. Maringá, Eduem. 311 p.
- RANG, HP, MM DALE & JM RITTER. 2001. Farmacologia. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. 703p.
- ROSS, LG, B ROSS. 1999. Anesthetic and sedative techniques for aquatic animals. Blackwell Science, Oxford, UK. 176p.
- SAMPAIO, LA, AH FERREIRA & MB TESSER. 2001. Effect of stocking density on laboratory rearing of mullet fingerlings, *Mugil platanus* (Günther, 1880). *Acta Sci.*, 23: 471-475.

- SANTAMARINA MT, JL TOJO, FM UBEIRA, P QUINTERO & ML SANMARTIN. 1991. Anthelmintic treatment against *Gyrodactylus* sp. infecting rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Dis. aquat. Org.* 10:39-4
- SCHALCH, SHC, FR MORAES & VE SOARES. 2009. Praziquantel, levamisol e diflubenzuron no controle de *Dolops carvalhoi* (Crustacea: Branchiura) e *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea: Dactylogyridae) em *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae). *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 18: 53-59.
- SCHRECK, CB. 2000. Accumulation and long-term effects on stress in fishes. In: Moberg, G. P., Manch, J.A (Eds.). *The biology of animal stress*. CAB International, pp. 147-158.
- TARASCHEWSKI, H, C RENNER & H MEHLHORN. 1988. Treatment of fish parasites. *Parasitol. Res.*, 74: 281-289.
- THATCHER, VE. 1981. Patologia dos peixes da Amazônia Brasileira, aspectos gerais. *Acta Amaz.*, 11(1): 125-140.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA**

Capítulo 2

Eficácia de banhos terapêuticos com levamisol no controle de *Monogenoidea* em juvenis de *Mugil liza* Valenciennes, 1836

Orientador: Prof. Dr. Joaber Pereira Júnior
Co-orientador: Prof. Dr. Rogério Tubino Vianna
Proponente: Jacqueline Cristina de Oliveira Xavier

Formatado nas normas da Revista Atlântica

Rio Grande – RS

EFICÁCIA DE BANHOS TERAPÊUTICOS COM LEVAMISOL NO CONTROLE DE
PARASITOS MONOGENOIDEA EM *MUGIL LIZA* VALENCIENNES, 1836

**Jacqueline Cristina de Oliveira Xavier, Rogério Tubino Vianna, Francis de Mattos
Almeida, Renato Zacarias Silva & Joaber Pereira Jr.**

Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Programa de Pós-graduação em Aquicultura, Instituto de Oceanografia; – Laboratório de Parasitologia de Organismos Aquáticos (LABIPOA), Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Av. Itália, km 8, Campus Carreiros, CEP: 96201-900, Rio Grande, RS, Brazil. jacquelinexavier@zootecnista.com.br

Título Abreviado: Eficácia de banhos terapêuticos com levamisol em *M. liza*

Palavras – chave: Antiparasitário, Banhos Profiláticos, Doenças de Peixes, Levamisol, *Mugil liza*.

RESUMO

No Brasil são escassos os estudos relacionados à eficácia de fármacos antiparasitários para peixes estuarinos, como por exemplo, para a tainha *Mugil liza*. Objetivando investigar a eficácia de diferentes concentrações do levamisol sobre a comunidade de helmintos ectoparasitos branquiais e tegumentares da tainha, juvenis de *M. liza* foram capturados no verão no extremo sul do Brasil para serem submetidos a banhos terapêuticos agudos (24 h) em condições laboratoriais para a estimativa da eficácia do levamisol sob três concentrações (mg/L) do fármaco (7,5; 15; e 22,5 mg/L) e um tratamento controle (sem levamisol). Os espécimes foram monitorados e comparados pela Análise de Variância (ANOVA) (Teste de Tukey; $p < 0,05$) entre os tratamentos. Antes dos banhos terapêuticos 30 espécimes foram necropsiadas para averiguar a comunidade de helmintos ectoparasitos branquiais e tegumentares. Os espécimes previamente necropsiados e os submetidos aos banhos foram desnucados e necropsiados para a estimativa dos Índices Parasitológicos (IP) de Prevalência (P%), Intensidade Média de Infestação (IMI) e Abundância Média (Ax). P% e IMI foram comparados pelo Bootstrap (Bca) e Teste do X^2 no programa “Quantitative Parasitology 3.0”. As espécies parasitas encontradas foram Monogenoidea branquiais *Ligophorus uruguayense*, *Solostamenides sp.* e *Gyrodactylus sp.* A eficácia do levamisol foi aparentemente diferente entre as espécies encontradas. Para *Gyrodactylus sp.* a concentração de 15 mg/L foi eficaz no controle deste parasito, em contrapartida nenhuma das concentrações apresentou bons resultados para *Ligophorus uruguayense*. *Solostamenides sp.* não foi considerado nas estatísticas pois apresentou IP muito baixos para serem testados. O que se pode considerar é que a baixa ou inexistente eficácia do fármaco pode estar relacionada com os efeitos de contração muscular sobre as estruturas haptorais de cada espécie de parasito, mantendo-os mortos e ainda presos nos filamentos branquiais e fornecendo uma falsa noção de baixa ou inexistente eficácia.

PALAVRAS CHAVE: Antiparasitário, Banhos Profilático, Doenças de Peixes, Levamisol, *Mugil liza*.

ABSTRACT

In Brazil there are few studies related to the effectiveness of antiparasitic drugs for estuarine fish, such as mullet *Mugil liza*. Aiming to investigate the efficacy of different concentrations of levamisole on the community of mullet gill and tegument helminths ectoparasites. *M. liza* juveniles were captured in summer in southern Brazil to undergo acute therapeutic baths (24 h) under laboratory conditions to estimate the efficacy of levamisole in three concentrations (mg / L) of the drug (7.5; 15, and 22.5 mg / L) and a control treatment (no levamisole). The specimens were monitored and compared by analysis of variance (ANOVA) (Tukey test, $P < 0.05$) between treatments. Before therapeutic baths 30 specimens were necropsied to determine the helminth community ectoparasites gill and soft tissue. Previously necropsy specimens and submitted to the baths were euthanized and autopsied to estimate the parasitological indexes (IP) prevalence (P%) Average intensity infection (IMI) and Abundance Average (Ax). P% and IMI were compared by Bootstrap (Bca) and X^2 test on "Quantitative Parasitology 3.0". The parasitic species found were gill Monogenoidea *Ligophorus uruguayense*, *Solostamenides* sp. and *Gyrodactylus* spp. The efficacy of levamisole was apparently differs between species found. In *Gyrodactylus* spp. the concentration of 15 mg / L was effective in controlling this parasite; however none of the concentrations showed good results for *Ligophorus uruguayense*. *Solostamenides* sp. was not considered in the statistics as presented IP too low to be tested. What can consider is that low or no efficacy of the drug may be related to the effects of muscle contraction on haptorais structures of each species of parasite, keeping the dead and still stuck in the gill filaments and providing a false sense of low or no efficacy.

KEYWORDS: Antiparasitic, Prophylactic baths, Fish diseases, Levamisole, *Mugil liza*.

INTRODUÇÃO

As tainhas (*Mugil spp.*) constituem um dos principais grupos de peixes marinhos com potencial de cultivo para a aquicultura no Brasil (Miranda-Filho et al. 2010). No Rio Grande do Sul, a presença de juvenis de tainha ao longo do ano na região estuarina da Lagoa dos Patos é comum (Vieira & Scalabrin 1991), além de ser uma espécie com potencial econômico na região (Reis & D'Incao 2000).

Diversos estudos demonstram a alta adaptabilidade da tainha às condições de cultivo. Sua natureza eurihalina, (Fonseca Neto & Spach 1999), e termohalina, sua boa conversão alimentar (Okamoto et al. 2006) e aceitação de alimentos artificiais (Carvalho et al. 2010) demonstram que a espécie apresenta um pacote tecnológico que viabiliza seu cultivo em criações comerciais. Além da disponibilidade de inúmeros estudos que sobre densidade de estocagem de juvenis (Sampaio et al. 2001), facilidade para desova induzida (Godinho et al. 1993), biologia reprodutiva conhecida (Torres et al. 2008) e tolerância aos compostos nitrogenados, nitrato (Poersch et al. 2007), amônia e nitrito (Miranda-Filho et al. 1995).

O cultivo de mugilídeos em mono e/ou policultivo vem sendo praticado com muito sucesso em várias regiões do mundo, objetivando o fomento da aquicultura e, ou o povoamento e repovoamento de ambientes esgotados em seus estoques pesqueiros. O Egito é o país com maior representatividade na produção, seguido da República da Korea e de Taiwan (FAO 2011, Godinho et al. 1988).

Para que haja sucesso da atividade aquícola é de extrema importância monitorar as condições sanitárias dos peixes e do ambiente de criação (Pavanelli et al. 2008). Com a intensificação da produção, a contaminação por patógenos pode trazer severos riscos aos sistemas de cultivo (Ozório et al. 2004, Fonsêca et al. 2000, Lester et al. 2009, FAO 2012).

Mesmo que grande parte dos peixes não apresente nenhum tipo de lesão ou sintomatologia aparente nos ambientes naturais, normalmente apresentam uma fauna

parasita associada, e a ausência de patologia observável ocorre devido ao estado homeostático equilibrado no ambiente que ocupam (Luque 2004, Pavanelli et al. 2008).

As elevadas densidades a que são submetidos, nas condições de confinamento, aumentam as chances de propagação de parasitoses (Thatcher 1981; Malta 1984). Desse modo, a presença de parasitos nas pisciculturas pode provocar prejuízos no hospedeiro, que podem desencadear patologias que aumentarão a mortalidade e, portanto perdas na produção (Eiras 1994b; Lima 2007). Dentre as lesões de maior importância causadas pelos parasitos, destacam-se as branquiais, pois estas são estruturas importantes nos processos vitais dos peixes. Este órgão possui vários mecanismos de reação aos parasitos, como hiperplasia de células epiteliais e mucíparas, o que pode culminar na morte do peixe por asfixia (Noga 2010).

Os Monogenoidea são ectoparasitos de brânquias, narinas e nadadeiras e estão entre os parasitos mais significativos para a piscicultura devido ao seu alto potencial patológico. Em sistemas intensivos, devido às altas densidades, podem ser responsáveis por elevadas taxas de mortalidade, pois possuem ciclo de vida direto, o que faz com que sua transmissão e propagação sejam mais fáceis e rápidas (Pavanelli et al. 2008, Noga 2010).

Para minimizar as implicações que as parasitoses podem causar, o uso de quimioterápicos na aquicultura vem se tornando cada vez mais comum. Quimioterápicos são drogas utilizadas na terapêutica de doenças infecciosas e para serem efetivamente utilizados devem ser eficazes e sem efeitos adversos significativos para o hospedeiro (Hornrr 1983). A administração destas substâncias pode ser realizada por meio de banhos terapêuticos, via oral ou intramuscular. Para realizar os banhos terapêuticos podem-se utilizar altas doses durante um curto período de tempo ou baixas doses por um período mais longo (Hornrr 1983). O levamisol é uma droga sintética do grupo dos imidatiázóis utilizado como anti-helmíntico (Noga 1996). Seu mecanismo de ação ocorre através do estímulo e posterior

bloqueio das junções neuromusculares que paralisam os helmintos (Rang et al. 2001). Além da ação antiparasitária, o levamisol age como imunestimulante restaurando o número de linfócitos T e estimula os monócitos a realizarem fagocitose, sendo este efeito mais evidente em animais imunodeprimidos (Li 2006).

No Brasil são escassos os estudos relacionados à eficácia de fármacos antiparasitários para peixes. Considerando a importância crescente de *Mugil liza* para a piscicultura marinha e a necessidade de estabelecer protocolos de utilização de quimioterápicos, é importante avaliar a ação de quimioterápicos sobre a comunidade de parasitos desta espécie de peixe. Tal importância se relaciona a variedade de espécies parasitas registradas, tais como (*E.g.*: Crustáceos (Copepoda) (Knoff & Boerger 1994), Monogenoidea (*Ligophorus uruguayense*, *Solostamenides platyorchis*) (Pahor-Filho et al. 2012), metacercárias de *Ascocotyle (Phagiola) longa* (Simões et al. 2010, Namba et al. 2012) e *Myxobolus platanus* (Eiras et al. 2007)). O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia de banhos terapêuticos de levamisol sobre a comunidade de ectoparasitas de *Mugil liza*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados juvenis de *Mugil liza* com comprimento total médio de 2,9 cm ($\pm 0,28$) e com peso médio de 0,24g ($\pm 0,08$) coletados no verão de 2013 com rede de arrasto no Arroio do Navio que desemboca na praia do Cassino (31° 11' 55" S; 52° 11' 14" O) e transportados para o Laboratório de Biologia de Parasitos de Organismos Aquáticos (LABIPOA) da Universidade Federal do Rio Grande – FURG. Estes animais foram aclimatados por sete dias em duas caixas plásticas de 80 litros em condições controladas. As caixas foram sifonadas diariamente para eliminar os resíduos decantados. A reposição de água foi feita utilizando água fornecida pela Companhia Riograndense de Saneamento (CORSAN) tratada com sal marinho a fim alcançar 5‰ de salinidade e eliminar o cloro. A aeração foi constante e o fotoperíodo de 12 h. Os Parâmetros da água (pH, oxigênio

dissolvido e temperatura) foram medidos diariamente por meio de sondas multiparamétricas digitais. A salinidade foi mensurada diariamente com o uso de um refratômetro e a concentração de nitrito e amônia-total foi mensurada mediante o uso de kit comercial.

Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia “ad libitum” com ração com 28% de proteína bruta. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC).

Análise parasitológica prévia:

Antes da execução do teste de eficiência antiparasitária com levamisol uma amostra contendo 30 peixes foi necropsiada e submetida a um exame parasitológico de brânquias e superfície corporal para averiguar a comunidade de ectoparasitos e estimar seus índices parasitológicos (IP).

Delineamento experimental:

Com base nos resultados do teste de CL_{50-24h} do levamisol em *Mugil liza* (Capítulo 1), foram escolhidas três concentrações que garantissem boa sobrevivência dos peixes. O teste de eficiência antiparasitária consistiu na exposição de um total de 180 tainhas, 15 por unidade experimental, a três diferentes concentrações de levamisol (7,5; 15 e 22,5 mg/L) e um tratamento controle (sem adição do medicamento). Todos os tratamentos foram realizados com três repetições.

Peixes foram distribuídos aleatoriamente em tanques com volume útil de 11 litros, mantidos em jejum de 24 horas e expostos ao levamisol em banhos de 24 horas. Depois de um dia de exposição ao medicamento, foi estabelecida a taxa de mortalidade de cada tanque e 100% da água dos tanques foi renovada. Após 48 horas da aplicação do medicamento foi verificada novamente a mortalidade dos tanques. Uma parte dos peixes de cada tratamento foi necropsiada (10 peixes) com vistas à análise parasitológica e outra (5 peixes) foi para análise histopatológica das brânquias não incluídos neste estudo.

Sobrevivência (%)

A taxa de sobrevivência dos peixes 48 horas após a exposição ao levamisol foi calculada através da seguinte fórmula:

$$\text{Sobrevivência (TS\%)} = \text{Nf} \times 100/\text{Ni}$$

Onde Nf: Número final de indivíduos, Ni: Número inicial de indivíduos.

Necropsias

Foram realizadas necropsias com exame parasitológico das brânquias e superfície do corpo, para contagem inicial de ectoparasitos. Após, medidos e pesados os peixes foram insensibilizados através de uma perfuração da cabeça com estiletos na área nugal, seccionando a medula e necropsiados para coleta de parasitas. Anestésicos não foram utilizados para evitar a perda de ectoparasitos, o que aumentaria o erro. Os parasitos encontrados foram processados conforme protocolo de Amato et al. (1991).

Parasitos das brânquias foram fixados em formol 5%. Para identificação subamostras dos Monogenoidea foram montados em lâminas permanentes com Hoyer. Os parâmetros para identificação seguiram Boeger & Vianna (2006), Siquier & Núñez (2009), e/ou Marchiori et al. (2015) e Pahor-Filho et al. (2012).

Índices parasitológicos (IP)

Foram estimados os índices parasitológicos de Prevalência (P%), Intensidade Média de Infestação (IMI) e Abundância Média ($A\chi$) (conforme Bush *et al.* 1997) de cada uma das espécies parasitas encontradas.

Eficácia (%)

A eficácia foi verificada 24 horas após o término dos banhos terapêuticos de longa duração, e estimada segundo Martins et al. (2001) e Onaka et al. (2003), através da seguinte fórmula:

$$\text{Eficácia} = \frac{\text{MGC} - \text{MGT}}{\text{MGC}} \times 100$$

Onde: MGC: Média do número de parasitas do grupo controle.

MGT: Média do número de parasitas do grupo tratado

Análise Estatística

Para verificar a existência de diferenças entre as médias dos resultados, dos parâmetros físicos e químicos de água e da sobrevivência dos peixes nos diferentes tratamentos foi feita Análise de Variância (ANOVA, teste de Tukey $p < 0,05$).

Os índices parasitológicos foram comparados usando o programa Quantitative Parasitology (Reiczigel & Rózsa 2005).

RESULTADOS

Análise parasitológica prévia:

Na amostra coletada contendo 30 peixes as espécies de monogenoidea encontradas parasitando brânquias de tainhas, *Mugil liza*, foram *Ligophorus* cf. *uruguayense* (Ancyrocephalidae) (Figura 1) e *Gyrodactylus* sp. sp. (Tabela 1).



Figura 1- *Ligophorus uruguayense* coletado nas brânquias de *Mugil liza* do Arroio do Navio (31° 11' 55" S; 52° 11' 14" O).

Tabela 1- Índices parasitológicos, prevalência (%) (P), intensidade média de Infestação (IMI) e Abundância Média (MA) de Infestação de Monogenoidea dos juvenis de *Mugil liza* (n = 30), em ambiente natural, no Arroio do Navio que desemboca na praia do Cassino (31° 11' 55" S; 52° 11' 14" O).

| Parasitos | p(%) | IMI | MA |
|-------------------------------|------|------|------|
| <i>Ligophorus uruguayense</i> | 26,7 | 18,6 | 4,9 |
| <i>Gyrodactylus</i> sp. | 3,3 | 1 | 0,03 |

Qualidade de água

Não houve diferenças nos valores de pH, temperatura (°C), oxigênio dissolvido (OD), amônia (ppm), nitrito (ppm) e salinidade durante a aclimação e o período experimental (Tabela 2).

Tabela 2- Valores médios dos parâmetros físicos e químicos da água no teste da eficiência antiparasitária do levamisol em *Mugil liza*.

| Tratamentos | | Parâmetros | | | | |
|----------------------|------------------|---------------------|--------------|---------------|---------|----------------|
| Concentrações (mg/L) | Temperatura (°C) | Oxigênio (mg/L - 1) | Amônia (ppm) | Nitrito (ppm) | pH | Salinidade (‰) |
| 0 | 24±0 | 11,9±0,2 | 0,20±0,2 | 0,20±0,1 | 7,3±0,1 | 5±0 |
| 7,5 | 24±0 | 11,6±0,6 | 0,25±0,2 | 0,15±0,1 | 7,5±0,2 | 5±0 |
| 15 | 24±0 | 11,4±0,5 | 0,25±0,2 | 0,20±0,1 | 7,5±0,1 | 5±0 |
| 22,5 | 24±0 | 12,3±0,6 | 0,2±0,1 | 0,15±0,1 | 7,4±0,1 | 5±0 |

Sobrevivência (%)

Em todos os tratamentos a sobrevivência foi superior a 70%. O grupo controle foi o que demonstrou maior sobrevivência nas 48 horas após a exposição ao levamisol, diferindo

estatisticamente dos demais tratamentos. Nos três grupos que os juvenis de tainhas foram expostos ao fármaco, a sobrevivência foi semelhante, não havendo diferença estatística entre esses tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3 – Valores da sobrevivência (%) de juvenis de *Mugil liza* 24 e 48 horas após o contato com levamisol.

| Tratamento mg/L | Sobrevivência | |
|--------------------|--------------------|--------------------|
| | 24h | 48h |
| 0 | 93,3 ^{ab} | 88,9 ^a |
| 7,5 | 100 ^a | 77,78 ^a |
| 15 | 80 ^b | 73,33 ^a |
| 22,5 | 88,9 ^{ab} | 71,11 ^a |

Letras sobrepostas diferentes, na mesma coluna significam diferença estatística ($P < 0,05$) entre os valores de sobrevivência nas diferentes concentrações de levamisol.

Índices parasitológicos e eficácia antiparasitária.

Após o tratamento, dentre os grupos de ectoparasitos encontrados nas brânquias e superfície do corpo dos juvenis de *Mugil liza* utilizados neste trabalho, *Ligophorus uruguayense* foi o que apresentou maior P (43,3%) e IMI (6,7), seguido por *Gyrodactylus* sp. e *Solostamenides* sp. (Tabela 4). Diferentemente do observado na análise parasitológica prévia das brânquias de tainhas juvenis coletadas na natureza, nas análises parasitológicas feitas com os peixes utilizados nos ensaios com levamisol foi possível observar a presença de um único espécime de *Solostamenides* sp. A ausência desse grupo na análise parasitológica prévia e os valores discretos de prevalência (3,4 %) e de intensidade de infestação (1) encontrados neste experimento sugerem que a população parasita de *Solostamenides* sp. em brânquias de juvenis de *M. liza* seja menos expressiva quando comparada aos outros grupos de Monogenoidea encontrados neste trabalho. Desta forma, não foi possível estimar a eficácia antiparasitária do levamisol e os IP para *Solostamenides* sp. nos tratamentos com dosagem inferior a 22,5mg/L de levamisol, pois não foram encontrados a nestes tratamentos.

A vermifugação de *L. uruguayense* utilizando levamisol não foi satisfatória, em todas as dosagens de testadas. A eficácia foi inferior a 22,7%. Chegando a ser negativa (-27,3%) na dosagem mais alta de levamisol utilizada (22,5mg/L). No entanto para *Gyrodactylus* sp. a eficácia parasitária foi diretamente proporcional às dosagens utilizadas, sendo possível alcançar 100% de eficácia nas duas dosagens mais altas (15 e 22,5mg/L) e 50% de eficácia na dosagem mais baixa (7,5 mg/L). Não houve diferenças entre os valores dos índices parasitológicos encontrados no controle e nos diferentes tratamentos aplicados (7,5; 15 e 22,5 mg/L).

Tabela 4- Eficácia antiparasitária e índices parasitológicos; Prevalência (P) (%), Intensidade Média de Infestação (IMI) e Abundância Média de Infestação (AX) de juvenis de tainha (*Mugil liza*), expostos a diferentes concentrações de levamisol.

| Tratamento | Grupo Parasito | IMI | P(%) | AX | Eficácia (%) |
|------------|---------------------------|------|------|------|--------------|
| Controle | <i>L. uruguayense</i> | 5,72 | 37,9 | 2,2 | - |
| | <i>Gyrodactylus</i> sp. | 2 | 10,3 | 0,2 | - |
| | <i>Solostamenides</i> sp. | - | 0 | 0 | - |
| 7,5 mg/L | <i>L. uruguayense</i> | 3,8 | 43,3 | 1,7 | 22,7 |
| | <i>Gyrodactylus</i> sp. | 1,5 | 6,7 | 0,1 | 50 |
| | <i>Solostamenides</i> sp. | - | 0 | 0 | - |
| 15 mg/L | <i>L. uruguayense</i> | 6,2 | 34,5 | 2,13 | 4,5 |
| | <i>Gyrodactylus</i> sp. | - | 0 | 0 | 100 |
| | <i>Solostamenides</i> sp. | - | 0 | 0 | - |
| 22,5 mg/L | <i>L. uruguayense</i> | 6,75 | 41,4 | 2,8 | -27,3 |
| | <i>Gyrodactylus</i> sp. | - | 0 | 0 | 100 |
| | <i>Solostamenides</i> sp. | 1 | 3,4 | 0,03 | - |

Os traços (-) representam ausência de valores nos índices parasitológicos.

DISCUSSÃO

Em ambientes de criação, onde os peixes são mantidos em confinamento, as variáveis de qualidade da água são alteradas com mais facilidade e podem favorecer o desenvolvimento de doenças (Boyd 1982, Kubitzka 2000). Em situações experimentais onde os peixes são mantidos sob tais condições, é importante que haja um controle rígido da qualidade da água, do nível do oxigênio, da temperatura, do pH, do fluxo de água nos tanques

e da densidade de estocagem. Como pode ser observado na Tabela 2, este experimento foi realizado de maneira que a qualidade da água se mantivesse estável durante todo o período experimental, evitando possíveis interferências que a qualidade da água pudesse causar nos resultados obtidos, interferindo inclusive na eficácia e toxicidade do fármaco utilizado (Gomes, 2001, Schalch et al. 2009). Os parâmetros físicos e químicos monitorados não sofreram alteração mesmo diante da aplicação das diferentes concentrações de levamisol, assim como observado por Onaka (2001) após utilização deste medicamento. Isso indica que o fármaco é estável e pode ser utilizado também em ambientes salinos.

A sobrevivência dos juvenis de *M. liza*, 48 horas após a primeira exposição ao levamisol foi superior a 70% em todos os tratamentos. O grupo controle mostrou as taxas de sobrevivência mais elevadas (88,9%). Nos demais tratamentos, a sobrevivência variou de acordo com o aumento da concentração de levamisol, tendo seu resultado mais discreto (71,11% dos peixes sobreviveram) no tratamento de maior concentração testada neste estudo (22,5mg/L). As concentrações de levamisol utilizadas neste ensaio foram calculadas de forma que o valor utilizado na dosagem mais alta (22,5 mg/L) fosse inferior à metade do valor estipulado como concentração média letal - CL_{50} (61,63 mg/L) para garantir que o quimioterápico não fosse aplicado em concentrações tóxicas para os peixes.

Devido ao seu ciclo biológico direto e por utilizarem as brânquias como uma das localizações preferenciais para se fixarem nos peixes, os Monogenoidea merecem atenção devido a sua patogenicidade, já que podem provocar lesões nos tecidos, alterações comportamentais, aumento da produção do muco, hemorragias, hiperplasia nos filamentos brânquias e morte do peixe (Pavanelli et al. 2008). Nas infecções menos intensas as pequenas lesões podem funcionar como portas para infecções secundárias (Luque 2004). Neste estudo *Ligophorus uruguayense* foi o Monogenoidea com maior prevalência, seguido pelos

girodactilídeos e por *Solostamenides* sp. (Tabela 4). Pahor-Filho et al. (2012) verificaram o mesmo padrão em juvenis de tainhas para *L. uruguayense* e *Solostamenides platyorchis*.

Dmitrieva et al. (2007) sugerem que haja uma especificidade de hospedeiro por *Ligophorus* sp. devido aos relatos de infestações deste parasito exclusivamente em espécies de mugilídeos justificando os elevados índices de P(%) e IMI de *Ligophorus* sp. parasitando brânquias de espécimes de *M. liza* no presente estudo e em estudos semelhantes recentes (Führ et al. 2012, Pahor-Filho et al. 2012, Failla Siquier & Ostrowski de Núñez 2009). Os peixes utilizados neste experimento foram coletados em arroios que deságuam na praia, que podem apresentar variações severas da salinidade e temperatura ao longo do dia (Magliocca et al. 1982). Por estarem sob essas condições estressantes, e pela disponibilidade do hospedeiro específico para *Ligophorus* sp. as infestações severas nos juvenis de tainha podem ser justificadas. Além disso, o sistema imune dos juvenis de tainha ainda não está totalmente desenvolvido nesta fase no qual o animal se encontra, tornando-os hospedeiros vulneráveis a altas infestações por Monogenoidea. Essa baixa eficiência do sistema imune é elucidada por Tort et al. (2003) que afirma que a imunocompetência dos peixes é notada nas fases mais avançadas da vida dos peixes, onde o número de células imunocompetentes e o contato com os parasitos também são maiores.

No presente trabalho, os banhos terapêuticos com levamisol só foram 100% eficazes contra *Gyrodactylus* sp. nas dosagens igual ou superior a 15 mg/L. A vermifugação de *L. uruguayense* não apresentou resultados satisfatórios, já que a prevalência (37,9%) e a intensidade média de infestação (5,72) deste parasito no grupo controle foram inferiores as encontradas no tratamento com 22,5 mg/L de levamisol (41,4% e 6,75 respectivamente). Este resultado sugere que os banhos terapêuticos com levamisol nas concentrações e no tempo testados neste trabalho, não influenciaram a infrapopulação de *L. uruguayense* nas brânquias de juvenis de *M. liza*. Schmahl et al. (1988) destacam a necessidade de

investigação específica de antiparasitários devido as diferenças biológicas que existem tanto entre as espécies parasitas como entre os hospedeiros. Essa diversidade pode ser observada nos resultados distintos que são descritos na literatura sobre a eficiência antiparasitária do levamisol. Taraschewsk et al. (1988) reportam a eficiência de banhos terapêuticos com 1 mg/L de levamisol durante 24 horas no controle do nematoide *Anguillicola crassus*, parasita de bexiga natatória de enguia europeia. Contrariando esses resultados Geets et al. (1992) em condições de água salgada, não obtiveram resultados positivos para eliminar *A. crassus* em *Anguilla anguilla* nas dosagens inferiores a 20mg/L de levamisol, os autores ainda afirmam que os resultados obtidos nos banhos de longa duração (6 dias) foram melhores do que os observados nos banhos de curta duração (24 horas), ressaltando a necessidade de focar em testes que avaliem várias dosagens e tempos maiores de exposição ao medicamento possibilitando desprendimento por deterioração dos Monogenoidea nas brânquias. Hartmann (1989), também conduziu um estudo visando à eliminação de nematoides de enguias e relatou que a dosagem de 5mg/L de levamisol por 24 horas foi efetiva em seu estudo.

Uma hipótese a ser considerada é que a baixa ou inexistente eficácia do fármaco pode estar relacionada com os efeitos de contração muscular sobre as estruturas haptorais de cada espécie de parasito, mantendo-os mortos e ainda presos nos filamentos branquiais e fornecendo uma falsa noção de baixa ou inexistente eficácia. Estudando o efeito de tratamentos com anti-helmínticos que controlem os Monogenoidea *Gyrodactylus* sp., Santamarina et al. (1991) observaram que nos testes *in vitro*, 100% dos *Gyrodactylus* sp. não resistiram a 60 minutos de exposição ao levamisol na concentração de 100mg/L, porém essa concentração foi totalmente ineficiente nos testes *in vivo* em que os parasitos mantiveram-se fixados na nadadeira pélvica do hospedeiro, a truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss*, mesmo depois de 3 horas de exposição ao levamisol. Em compensação, Schmahl &

Taraschewsh (1987) reportaram a eficácia do levamisol em testes *in vivo* na dosagem de 50 mg/L no controle das infestações por *Gyrodactylus aculeati*, obtidos de *Gasterosteus aculeatus* e mantidos em truta arco-íris, estes resultados podem indicar que características espécie-específicas, anatômicas e fisiológicas haptorais possam influenciar na eficiência da ancoragem do parasito quando não está em seu hospedeiro adequado.

Por fim, este estudo demonstra que nas condições em que o experimento foi realizado, 15 mg/L de levamisol em banhos de 24 horas é indicado no controle de *Gyrodactylus* sp. em juvenis de *M. liza*. Não foi possível avaliar a eficácia do levamisol para o controle de *Solostamenides* sp. devido a P (%) nula deste parasito no grupo controle. Considerando a baixa eficiência, baseada na presença ou ausência do parasito nas brânquias e superfície do corpo de *M. liza*, nas concentrações testadas nos banhos profiláticos de 24 horas, o uso deste método neste tempo de exposição não é recomendado no controle de *L. uruguayense*.

Os resultados encontrados neste ensaio não se aplicam a outras espécies de peixes, devido aos relatos de diferentes respostas de hospedeiros submetidos a banhos profiláticos com levamisol em estudos similares.

REFERÊNCIAS

- AMATO, JFR, WA BOEGER & SB AMATO. 1991. Protocolos para laboratorio - Coleta e Processamento de Parasitos de Pescado. Rio de Janeiro: Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro. 81p.
- BOEGER, WA & RT VIANNA. 2006. Monogenoidea. In: THATCHER, EV. (Ed.). Amazon Fish Parasites. Sofia-Moscow: Pensoft, 508p.
- BOYD, CE. 1982. Water quality management for pond fish culture. Developments in Aquaculture and Fisheries Science, 9. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B. 317p.
- BUSH, AO, KD LAFFERTY, JM LOTZ & AW SHOSTAK. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *J. Parasitol.*, 83: 575–583.

- CARVALHO, CVA, A BIANCHINI, MB TESSER & LA SAMPAIO. 2010. The effect of protein levels on growth, post pandria excretion and tryptic activity of juvenile mullet *Mugil platanus* (Gunther). *Parasitol Res.*, 41: 511 – 518.
- DMITRIEVA, EV, PI GERASEY, P MERELLA & ON PUGACHEV. 2009. Redescriptions of *Ligophorus cephalis* Rubtsova, Balbuena, Sarabeev, Blasco-Costa & Euzet, 2006 and *L. chabaudi* Euzet & Suriano, 1977 (Monogenea: Ancyrocephalidae), with notes on the functional morphology of the copulatory organ. *Syst. Parasitol.*, 73: 175-191.
- EIRAS, JC. 1994. A importância econômica dos parasitas de peixes. *Hig. aliment.*, 8(31): 11-13.
- EIRAS, JC, PC ABREU, R ROBALDO & J PEREIRA JR. 2007. *Myxobolus platanus* n. sp. (Myxosporidia, Myxobolidae), a parasite of *Mugil platanus* Günther, 1880 (Osteichthyes, Mugilidae) from Lagoa dos Patos, RS, Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 59: 895-898.
- FAILLA SIQUIER, G & M OSTROWSKI DE NÚÑEZ. 2009. *Ligophorus uruguayense* sp. nov. (Monogenea, Ancyrocephalidae), a gill parasite from *Mugil platanus* (Mugiliformes, Mugilidae) in Uruguay. *Act. Parasitol.*, 54: 95-102.
- FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. 2011. Demand and supply of feed ingredients for farmed fish and crustaceans – Trend and prospects. Rome, 102p.
- FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. 2012. The State of World Fisheries and Aquaculture. Rome, FAO – Fisheries and Aquaculture Department. 209p.
- FONSECA NETO, JC & HL SPACH. 1998/1999. Sobrevivência de juvenis de *Mugil platanus* Günther, 1880 (Pisces, Mugilidae) em diferentes salinidades. *B. Inst. Pesca*, 25 (único): 13-17.
- FONSÊCA, FTB, MN PARANAGUÁ & MAM AMADO. 2000. Copépoda parasitas de peixes Mugilidae em cultivo estuarino – Itamaracá – Pernambuco – Brasil. *Trab. Oceanograf. Univ. Federal de PE.*, 28: 157-172.
- FUHR, F, J PEREIRA JR, LA ROMANO & ALMEIDA, F. M. 2012. Gill injury after treatment with mebendazole on mullets *Mugil liza*. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 32(5): 151-158.
- GEETS, A, EW LIEWES, & F OLLEVIER. 1992. Efficacy of some anthelmintics against the swimbladder nematode *Anguillicola crassus* of eel *Anguilla anguilla* under saltwater conditions. *Dis. aquat. Org.*, 13: 123-128.

- GODINHO, HM, PCS SERRALHEIRO & JD SCORVO FILHO. 1988. Revisão e discussão de trabalhos sobre as espécies do gênero *Mugil* (Teleostei, Perciformes, Mugilidae) da costa brasileira. *B. Inst. Pesca*, 15 (1), 67 – 80.
- GODINHO, HM, ET KAVAMOTO, EF ANDRADE TALMELLI, PCS SERRALHEIRO, P PAIVA & EM FERRAZ. 1993. Induced spawning of the mullet *Mugil platanus* Günther, 1880, in Cananéia, São Paulo, Brazil. *Bol. Inst. Pesca*, 20: 59-66.
- GOMES, LC, NPL CHIPARI-GOMES, R ROUBACH & CA LIMA. 2001. Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile Tambaqui, *Colossoma macropomum*. *J. World Aquac. Soc.*, 32: 426-431.
- HARTMANN, F. 1989. Investigations on the effectiveness of levamisol as a medication against the eel parasite *Anguillicola crassus* (Nematoda). *Dis. aquat. Org.*, 7: 185.
- HORNRR, RW. 1983. Chemotherapy, p. 99 – 109. In: Meyer FP, JW Warren & TG Carey (Ed.). A guide to integrated fish health management in the Great Lakes basin. Great Lakes Fishery omission, Ann Arbor. Michigan. Spec. Pub. 83 – 2: 272p.
- KNOFF M & WA BOEGER. 1994. Expanded description of the female of *Lernaeenicus longiventris* Wilson, 1917, (Copepoda, Siphonostomatoidea, Pennellidae) based on specimens from *Mugil platanus* Günther, 1880 (Perciformes, Mugilidae) of the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem. Ist. Oswaldo Cruz*. 89: 313-317.
- KUBITZA, F. 2000 Tilápias: Qualidade da água, sistemas de cultivo, planejamento da produção, manejo nutricional e alimentar e sanidade. *Panorama da Aquicultura*, 10: 44-53
- LI, P, X WANG, DM GATLIN III. 2006 Evaluation of levamisole as a feed additive for growth and health management of hybrid striped bass (*Morone chrysops*×*Morone saxatilis*). *Aquaculture*, 251: 201–209.
- LIMA, LC. 2007. Doenças de importância econômica em piscicultura. VII Seminário de aves e suínos – AveSui Regiões. III Seminário de Aquicultura, Maricultura e Pesca. Belo Horizonte.
- LUQUE, JL. 2004. Biologia, epidemiologia e controle de parasitos de peixes. *Rev. bras. Parasit. Vet.*, 13: 161-164.
- MAGLIOCCA, A, LB MIRANDA & EA PINHEIRO. 1982. Variação sazonal de oxigênio dissolvido, temperatura e salinidade na costa sul brasileira (28°-35°S; 48°-54°W). *Bolm Inst. oceanogr.*, 31(1):1-9.

- MALTA, JCO. 1984. Os peixes de um lago de várzea da Amazônia Central (Lago Janauacá, Rio Solimões) e suas relações com os crustáceos ectoparasitas (Branchiura: Argulidae). *Acta Amaz.*, 14(3-4): 355-372.
- MARTINS, ML, EM, ONAKA, RY FUJIMOTO & FR MORAES. 2001. Mebendazole treatment against *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea: Dactylogyridae) gill parasite of cultivated *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae) in Brazil. Efficacy and haematology. *Acta Parasitol.*, 46:332-336.
- MARCHIORI, NC, APARISELLE, J PEREIRA JR., JF AGNÈSE, JD DURAND & MPM VANHOVE 2015. A comparative study of *Ligophorus uruguayense* and *Ligophorus saladensis* (Monogenea, Ancyrocephalidae) from *Mugil liza* (Teleostei, Mugilidae) in southern Brazil. *Folia. Parasitol.* 62:024
- MIRANDA-FILHO, KC, WFB WASIELESKY JR & AP MAÇADA. 1995. Efeito da amônia e nitrito no crescimento da tainha *Mugil platanus* (Pisces, Mugilidae). *Braz. J. Biol.*, 55: 45-50.
- MIRANDA-FILHO, MB TESSER, LA SAMPAIO & HM GODINHO. 2010. Tainha. In: Balisseroto, BE & LC Gomes (Eds.) 2ª Ed.: Espécies nativas para a piscicultura no Brasil, 21. Santa Maria –RS: Editora UFSM, Brasil, pp. 541-558.
- NAMBA, TK, RR MADI & MT UETA, 2012. *Ascocotyle* sp. metacercariae (Digenea: Heterophyidae) in tissues of mullets *Mugil liza* and *Mugil curena* (Osteichthyes: Mugilidae) collected in the fish trade of the Iguape city, Sao Paulo, Brazil. *Neotrop. Helminthol.*, 6: 2.
- NOGA, EJ. 1996. Fish Disease. Diagnosis and Treatment. St. Louis, Missouri: Mosby-Year Book. 800p.
- OKAMOTO, MH, LA SAMPAIO & AP MAÇADA. 2006. Efeito da temperatura sobre o crescimento e sobrevivência de juvenis de tainha *Mugil platanus* Günther, 1880. *Atlântica*, 28: 61-66.
- ONAKA, EM. 2001. Eficácia do mebendazol e do levamisol no controle de parasitos monogenóides e eventuais alterações no hemograma de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae). Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal 210p.
- ONAKA, EM, ML MARTINS & FR MORAES. 2003. Eficácia do Albendazol e praziquantel no controle de *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea: Dactylogyridae), parasitos de

- pacu *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae). I. Banhos terapêuticos. *B. Inst. Pesca*, 29: 101 – 107.
- OZÓRIO, R, Y AVNIMELECH & N CASTAGNOLLI. 2004. Sistemas intensivos fechados de produção de peixes. *In: Tópicos especiais em piscicultura de água doce Tropical Intensiva*. SP, Brasil. 2:7-23.
- PAHOR-FILHO, E, KC MIRANDA-FILHO & J PEREIRA JR. 2012. Parasitology of juvenile mullet (*Mugil liza*) and effect of formaldehyde on parasites and host. *Aquaculture*, 354–355: 111-116.
- PAVANELLI, G C; JC EIRAS & RM TAKEMOTO. 2008. Doenças de Peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento. Maringá: Eduem, 3ª ed., 311 p.
- POERSCH, LH, MHS SANTOS, KC MIRANDA FILHO & WJ WASIELESKY. 2007. Efeito agudo do nitrato sobre alevinos da tainha *Mugil platanus* (Pisces: Mugilidae). *Bol. Inst. Pesca*, 33: 247-252.
- RANG, HP, MM DALE & JM RITTER. 2001. Farmacologia 4e. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. 703p.
- REICZIGEL, J & L RÓZSA. 2005. *Quantitative Parasitology 3.0*. Budapest. Disponível em <http://www.zoologia.hu/qp/qp.html>. Acesso em: 13/01/2014.
https://docs.google.com/a/zootecnista.com.br/file/d/0B0b2QD3_5bd9ZmJkMWVhMTMtNTEyZC00NTZmLWFjMjQtYTdkYmIzN2U1MGU2/edit?hl=pt_BR
- REIS, EG, & F D'INCAO. 2000. The present status of artisanal fisheries of extreme Southern Brazil: An effort towards community-based management. *Ocean Coast. Manage.*, 43, 585 – 595.
- SAMPAIO, LA, AH FERREIRA & MB TESSER. 2001. Effect of stocking density on laboratory of mullet fingerlings, *Mugil platanus* (Gunther, 1880). *Acta Sci. Biol. Sci.*, 22 (2), 471 – 475.
- SANTAMARINA MT, JL TOJO, FM UBEIRA, P QUINTERO & ML SANMARTIN. 1991. Anthelmintic treatment against *Gyrodactylus* sp. infecting rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Dis. aquat. Org.*, 10:39–43.
- SCHMAHL, G & H TARASCHEWSKI. 1987. Treatment of fish parasites. 2. Effects of praziquantel, niclosamide, levamisole-HCL and metrifonate on Monogenea (*Gyrodactylus aculeati*, *Diplozoon paradoxum*). *Parasitol. Res.*, 73 (4): 341-351.
- SCHMAHL, G, H TARASCHEWSKI & H MEHLHORN. 1988. Chemotherapy of fish parasites. *Parasitol. Res.*, 75: 503-511.

- SCHALCH, SHC, FR MORAES & VE SOARES. 2009. Praziquantel, levamisol e diflubenzuron no controle de *Dolops carvalhoi* (Crustacea: Branchiura) e *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea: Dactylogyridae) em *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae). *Rev. bras. Parasitol. Vet.*, 18: 53-59.
- SIQUIER, GF & MO NÚÑEZ. 2009. *Ligophorus uruguayense* sp. nov. (Monogenea, Ancyrocephalidae), a gill parasite from *Mugil platanus* (Mugiliformes, Mugilidae) in Uruguay. *Acta. Parasitol.*, 54(2): 95–102.
- TARASCHEWSK, H, C RENNER & H MEHLHORN. 1988. Treatment of fish parasites. 3. Effects of levamisole HCl, metrifonate, febendazole, mebendazole and ivermectin on *Anguillicola crassus* (Nematodes) pathogenic in the air bladder of eels. *Parasitol., Res.* 74: 281-289.
- THATCHER, VE. 1981. Patologia dos peixes da Amazônia Brasileira, Aspectos gerais. *Acta Amaz.*, 11(1): 125-140.
- TORRES, CM, P TRAVASSOS, MB FIGUEIREDO, F HAZIN, DF CAMPOS & F ANDRADE. 2008. Biologia reprodutiva de *Mugil curvidens* e *Mugil incilis* no litoral norte de Alagoas. *Rev. bras. Ciênc. Agrar.*, 1: 68-73.
- TORT, L, JC BALASCH & S MACKENZIE. 2003. Fish immune system. A crossroads between innate and adaptive responses. *Inmunología*, 22:277-286.
- VIEIRA, JP, C SCALABRIN C. 1991. Migração reprodutiva da “tainha” (*Mugil platanus* Gunther, 1980) no Sul do Brasil. *Atlântica*, 13: 131 – 141.

CONCLUSÕES GERAIS

A mortalidade de *Mugil liza* causada pelo levamisol é dose-dependente, a maior letalidade relacionada ao levamisol para juvenis de tainha foi observada nos grupos submetidos às maiores concentrações (L90, L110 e L130). A concentração letal média (CL_{50-24h}) do levamisol para juvenis da tainha *M. liza*, com os comprimentos dos espécimes utilizados no experimento, e sob as condições de qualidade de água descritas é 61,63mg/L.

Nos primeiros minutos de exposição o levamisol acarretou sinais clínicos de intoxicação em todos os juvenis de *M. liza*, tais como: hiperventilação opercular, hiperatividade, desequilíbrio natatorial e dispneia e eventualmente morte.

Após o tratamento (7,5, 15 e 22,5 mg/L), dentre os grupos de ectoparasitos encontrados nas brânquias e superfície do corpo dos juvenis de *Mugil liza* utilizados neste trabalho, *Ligophorus uruguayense* foi o que apresentou maior P (43,3%) e IMI (6,7), seguido por *Gyrodactylus* sp. e *Solostamenides* sp.

No presente trabalho, os banhos terapêuticos com levamisol só foram 100% eficazes contra *Gyrodactylus* sp. nas dosagens igual ou superior a 15 mg/L. Não foi possível avaliar a eficácia do levamisol para o controle de *Solostamenides* sp. devido a P (%) nula deste parasito no grupo controle. Considerando a baixa eficiência, baseada na presença ou ausência do parasito nas brânquias e superfície do corpo de *M. liza*, nas concentrações testadas nos banhos profiláticos de 24 horas, o uso deste método neste tempo de exposição não é recomendado no controle de *L. uruguayense*.

Sugestões para futuros estudos utilizando levamisol em tainhas, *Mugil liza*

1. Realizar outro experimento com as mesmas concentrações de levamisol usadas no Capítulo 2 dessa dissertação, porém durante tempos maiores de exposição (7 ou 15 dias por exemplo)
2. Verificar se o tratamento com levamisol (oral ou banho) pode interferir no fator de condição dos peixes.
3. Realizar experimentos com banhos terapêuticos com durações menores e maiores concentrações de levamisol.
4. Verificação da possibilidade dos parasitos morrerem com a ação do levamisol e continuarem presos aos filamentos branquiais
5. Realizar um experimento etológico para documentar os sinais de intoxicação após a exposição das tainhas ao levamisol.
6. Monitorar o período e reinfecção pelos monogénóidea após o tratamento.com levamisol
7. Descrição de possíveis danos branquiais e de uma possível reversão desses danos causados pela exposição ao levamisol.
8. Verificar as alterações hematológicas nas tainhas pelo uso do levamisol como imunoestimulante.
9. Analisar se o efeito imunoestimulante do levamisol pode influenciar na eliminação de parasitos