

ALEXANDRE DE OLIVEIRA TAVELA

**CONTROLE BIOLÓGICO DE CIATOSTOMÍNEOS DE EQUINOS RESISTENTES A
IVERMECTINA E PAMOATO DE PIRANTEL COM O FUNGO *Monacrosporium
thaumasium***

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Viçosa como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2010

ALEXANDRE DE OLIVEIRA TAVELA

**CONTROLE BIOLÓGICO DE CIATOSTOMÍNEOS DE EQUINOS
RESISTENTES A IVERMECTINA E PAMOATO DE PIRANTEL
COM O FUNGO *Monacrosporium thaumasium***

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Medicina
Veterinária, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

APROVADA: 26 de março de 2010.

Prof. José Dantas Ribeiro Filho

Prof. Luís Augusto Nero

Prof. Walter dos Santos Lima

Prof. Marcos Pezzi Guimarães

Prof. Jackson Victor Araújo
(Orientador)

A minha família,
Aos meus amigos,
Aos meus colegas de trabalho.

AGRADECIMENTOS

Á Deus, pela proteção e a vida, por iluminar meus caminhos, tornando possível essa vitória.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realização do curso de graduação e de mestrado em Medicina Veterinária.

Ao professor Jackson Victor de Araújo, pela orientação, credibilidade, liberdade e confiança durante a graduação e o mestrado.

Ao CNPq e a CAPES, pela concessão de bolsas de estudos e financiamento.

Aos professores do Departamento de Veterinária, pela formação acadêmica, apoio e credibilidade.

Aos funcionários do DVT/UFV, sobretudo José Geraldo e Ademir Alves, pelo companheirismo, amizade e colaboração nas análises laboratoriais e a campo.

A minha família, sobretudo Maria Cristina e Sebastião Alexandre, meus pais, e Natali, minha namorada, por todo amor, carinho, incentivo e compreensão.

Aos amigos Moacir, Ayisa, Vinícius, Filipe, Rodrigo e Alice pela valiosa amizade, o que contribuiu para a realização deste trabalho.

Aos companheiros do Laboratório de Parasitologia DVT/UFV, sobretudo Fábio, pelo auxílio e ensinamentos.

Aos amigos do CETAS, sobretudo ao professor Tarcízio, Marcos, Juliano, Mariana, Natasha, Gediendson, Thyara, Rafael, Antônio Carlos, Grazi, Letícia, Leanes, Hazel, Isabela e a todos os colegas de graduação e pós-graduação, pelo aprendizado e pelos bons momentos vividos durante este período.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

Alexandre de Oliveira Tavela, filho de Sebastião Alexandre Tavela e Maria Cristina de Oliveira Tavela, nasceu em 1985 em Juiz de Fora, MG.

Em março de 2004, ingressou na Universidade Federal de Viçosa, onde, em janeiro de 2009, obteve o título de Médico Veterinário.

Em março de 2009, iniciou o curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, na Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na área de Parasitologia.

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT.....	vii
1.INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Nematóides	3
2.1.1 Pequenos estrongilídeos.....	4
2.2 Fungos nematófagos	5
2.2.1 <i>Monacrosporium thaumasium</i> (NF34a).....	6
2.3 Biocontrole de parasitos de eqüinos.....	7
2.4 Mecanismo de ação dos fungos predadores de nematóides.....	9
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	11
4. ARTIGO	
“CONTROLE BIOLÓGICO DE CIATOSTOMÍNEOS (NEMATODA: CYATHOSTOMINAE) COM O FUNGO NEMATÓFAGO <i>Monacrosporium thaumasium</i> NA REGIÃO TROPICAL DO SUDESTE DO BRASIL.”	19
RESUMO	19
ABSTRACT	20
4.1.Introdução	21
4.2. Material e métodos	22
4.3. Resultados	23
4.4. Discussão	27
4.5 Conclusão	32
4.6. Referências bibliográficas	33
5. Anexos	40

RESUMO

TAVELA, Alexandre de Oliveira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2010. **Controle biológico de ciatostomíneos de eqüinos resistentes a ivermectina e pamoato de pirantel com o fungo *Monacrosporium thaumasium*.** Orientador: Jackson Victor de Araújo. Coorientadores: Artur Kanadani Campos e Giovanni Ribeiro de Carvalho.

A viabilidade de uma formulação do fungo predador de nematóides *Monacrosporium thaumasium* foi avaliada no controle biológico de ciatostomíneos de eqüinos. Dois grupos (tratado com o fungo e controle) constituídos por seis éguas em cada grupo, mestiças, com idade entre 2,5 a 3,5 anos, foram colocados em pastagens de *Cynodon* sp. naturalmente infectadas com larvas de ciatostomíneos de eqüinos. No grupo tratado, cada animal recebeu 1g/10 kg de peso corporal (0,2g/10kg de peso vivo de fungo) de péletes em matriz de alginato de sódio contendo o fungo *M. thaumasium* via oral, duas vezes por semana e durante seis meses. No grupo controle, os animais receberam 1g/10 kg de peso corporal de péletes sem o fungo. As contagens de ovos por grama de fezes demonstraram diferença ($p<0,01$) no grupo de animais tratados com o fungo em relação aos animais do grupo controle em todos os meses do experimento. Os percentuais de redução do OPG foram de 87,5%, 89,7%, 68,3%, 58,7%, 52,5% e 35,2% nos meses de junho, julho, agosto, setembro, outubro e novembro, respectivamente. Nas coproculturas foi encontrada diferença ($p<0,05$) entre os animais do grupo tratado com o fungo em relação aos animais do grupo controle em todos os meses do experimento, com percentuais de redução de 67,5%, 61,4% e 31,8% para setembro, outubro e novembro, respectivamente. Diferença ($p<0,01$) foi observada na recuperação de larvas infectantes das pastagens que foram coletadas até 20 cm de distância do bolo fecal no pasto do grupo tratado com o fungo em relação ao grupo controle com uma redução de 60,9% e, entre 20 e 40 cm do bolo fecal a redução ($p<0,01$) foi de 56% no pasto do grupo tratado com o fungo *M. thaumasium* em relação ao pasto do grupo controle. Não foi observada diferença ($P>0,05$) entre as médias de ganho de peso dos animais dos dois grupos. O tratamento de eqüinos com péletes contendo o fungo nematófago *M. thaumasium*, pode ser efetivo no controle de ciatostomíneos em região tropical do sudeste do Brasil.

ABSTRACT

TAVELA, Alexandre de Oliveira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March of 2010. **Biological control of horse cyathostomin resistent to ivermectina e pamoato de pirantel with the fungus *Monacrosporium thaumasium*.** Adviser: Jackson Victor de Araújo. Co-advisers: Artur Kanadani Campos and Giovanni Ribeiro de Carvalho.

The viability of a formulation using the nematode-trapping fungus *Monacrosporium thaumasium* was assessed for the biological control of free living stages of horse cyathostomin. Two groups (fungus-treated and control without fungus treatment) consisted of six crossbred mares in each group, aged between 2.5 and 3.5 years, were fed in *Cynodon* sp. naturally infected with larvae living stages of equine cyathostomin. Each animal of the treated group received oral doses of sodium alginate mycelial pellets 1 g/10 kg live weight per week), during 6 months. In the control group, animals received 1g/10 kg live weight per week of pellets without the fungus. Significant reduction ($p < 0.01$) in the number of eggs per gram of feces was found for animals of the fungus-treated group compared with the control group in all months of the experiment. The percentage of reduction of EPG were 87.5%, 89.7%, 68.3%, 58.7%, 52.5% and 35.2% during June, July, August, September, October and November, respectively. In coprocultures difference was found ($p < 0.05$) among animals in the group treated with the fungus compared to the control group in all months of the experiment, with percentage reductions of 67.5%, 61.4% and 31.8% for September, October and November, respectively. There was a difference ($p < 0.01$) of 60.9% reduction in herbage samples collected up to 20 cm from fecal pats between the fungus-treated group and the control group, during the experimental period (May–October). Difference of 56% ($p < 0.01$) was found between the fungus-treated group and the control group in the sampling distance 20–40 cm from fecal pats. There was no difference ($p > 0.05$) between the mean weight gain of animals in both groups. The treatment with sodium alginate pellets containing the nematode-trapping fungus *M. thaumasium* reduced cyathostomin in tropical southeastern Brazil and could be an effective tool for biological control of this parasitic nematode in horses.

INTRODUÇÃO

As criações de animais com finalidade produtiva apresentam grandes perdas econômicas associadas ao parasitismo, sobretudo por nematóides gastrintestinais. Os diversos prejuízos ocasionados por essas infecções estão relacionados principalmente com a queda na produtividade, retardo no crescimento dos animais, elevados custos com tratamentos veterinários, com os recursos terapêuticos a serem empregados e em algumas situações com os prejuízos advindos do óbito desses animais (Araújo et al.; 2006a).

Segundo dados do IBGE (2002) (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), o rebanho eqüino nacional corresponde a 36 milhões de animais, sendo assim o terceiro maior criador mundial. Entretanto, grande parte da criação eqüina brasileira ainda é realizada sob regime extensivo, no qual os animais permanecem a pasto durante todo o ano, o que favorece as constantes infecções por parasitos presentes nas pastagens (ANUALPEC, 2003; Braga et al., 2009b).

Os nematóides estrongilídeos possuem alta prevalência em eqüinos, sendo a subfamília Cyathostominae a mais freqüentemente encontrada entre os registros de parasitismo por nematóides de eqüinos brasileiros, representando um grupo de grande importância médico-veterinária (Castro et al., 2003; Anjos & Rodrigues, 2006; Braga et al., 2009a).

Ao longo de várias décadas o controle dos parasitos do tubo digestivo de eqüinos foi realizado através do uso de antihelmínticos químicos, muitas vezes de maneira indiscriminada e sem a associação de estratégias de controle adequadas, fato que conduziu a resistência destes parasitos à maior parte das classes de medicamentos disponíveis para seu combate (Matthews et al., 2004).

Os problemas relacionados à resistência e ecotoxicidade enfatizam a necessidade de serem implantados programas integrados de controle parasitário que assegurem saúde e segurança dos organismos vivos, por meio de tratamentos estratégicos baseados na epidemiologia, eliminação de vermifugações desnecessárias, utilização de pastoreio alternado e higienização de pastagens. Além disso, devem ser evitados o uso continuado de uma mesma classe de anti-helmíntico, assim como, a rápida rotação de compostos e a utilização de doses superiores às recomendadas (Mota et al., 2003).

No contexto das criações comerciais da atualidade, o controle das parasitoses é fundamental, uma vez que resulta em melhor desempenho dos animais, especialmente quando há elevada carga animal por área (Molento, 2005). Partindo desse princípio, há uma preocupação mundial dos pesquisadores na busca por medidas alternativas e eficazes para serem utilizadas no controle das endoparasitoses dos animais domésticos, visando à diminuição do emprego de quimioterápicos e, conseqüentemente, a redução dos níveis de poluentes no ambiente e nos produtos de origem animal.

Portanto, pode-se afirmar que existe a necessidade de desenvolvimento de medidas alternativas de controle das nematodioses gastrintestinais que possam contribuir para o emprego maciço de quimioterápicos, que até o momento despontam como meio de controle realmente eficaz (Graminha, 2004).

A aplicação do controle biológico tornou-se uma alternativa sustentável de combate as parasitoses (Cezar et al., 2008) e tem apresentado resultados promissores *in vitro* e *in vivo* (Larsen, 2000; Graminha et al., 2005; Cezar et al., 2008). Dentre os inúmeros controladores biológicos, os fungos nematófagos aparecem como a alternativa mais promissora. Sua ação está concentrada no ambiente fecal e direcionada ao combate das larvas de vida livre dos parasitos (Araújo et al., 1998; Castro et al., 2003).

Recentemente, formulações a base de alginato de sódio têm sido avaliadas experimentalmente no controle de nematóides parasitos gastrintestinais de animais domésticos. Estas formulações têm demonstrado bons resultados em condições laboratoriais e a campo (Araújo & Sampaio, 2000; Araújo et al. 2000; Araújo et al., 2007; Dias et al., 2007). Por outro lado, poucos trabalhos a campo foram realizados com eqüinos utilizando fungos nematófagos até o momento.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Nematóides

De acordo com sua fonte de alimento, os nematóides são classificados em: nematóides de vida livre, os quais se nutrem através de bactérias, fungos e protozoários e nematóides que adquirem os nutrientes necessários a manutenção de suas funções vitais parasitando organismos como animais ou plantas. (Mendoza-De Gives, 1999; Maciel, 2005).

Os nematóides parasitos dos animais domésticos são invertebrados que possuem corpo cilíndrico e alongado, simétrico bilateralmente, não segmentado e envolvido por uma cutícula externa que pode ser acinzentada ou avermelhada dependendo da presença ou não de sangue (Freitas, 1982; Maciel, 2005). Usualmente, os nematóides inibem o apetite dos hospedeiros, sobretudo quando os adultos se fixam ao longo do tubo digestivo. Além disso, reduzem o aproveitamento dos alimentos ao competirem diretamente por nutrientes ou por lesionarem as mucosas, comprometendo a absorção dos mesmos. O parasitismo, contudo, não é necessariamente sinônimo de doença, uma vez que os hospedeiros desenvolveram ao longo de sua cadeia evolutiva mecanismos imunológicos que permitem manter a população de endoparasitos sobre controle (Amarante, 2005).

Entretanto, muitos são os fatores determinantes das nematodioses. Além dos fatores inerentes aos parasitas e ao hospedeiro, ainda pode-se citar os fatores relacionados às condições ambientais. As pastagens brasileiras, por exemplo, apresentam, durante todas as estações do ano, condições favoráveis a sobrevivência de larvas de nematóides. Por outro lado, uma vez na pastagem, o bolo fecal exerce a função de reservatório, protegendo as larvas infectantes da dissecação, fazendo com que algumas perdurem no pasto por vários meses, ou até mais de um ano (Lima, 1989; Armour, 1989). Quando em condições ambientais favoráveis, as larvas abandonam as massas fecais migrando horizontal e verticalmente para a fração da vegetação que será ingerida por seu hospedeiro definitivo, dando assim continuidade ao seu ciclo evolutivo. A temperatura e a umidade relativa do ambiente são fatores importantes no desenvolvimento e no mecanismo de infecção das larvas infectantes (L₃), uma vez que o sentido e a

velocidade de sua migração dependerão sobretudo da umidade presente na vegetação. (Amarante et al., 1996; Amarante et al., 2004).

2.1.1 Pequenos strongilídeos

Os eqüinos são hospedeiros de uma grande variedade de nematóides, entre esses, os mais prevalentes e importantes economicamente são os ciatostomíneos, conhecidos também como pequenos strongilídeos (Reinemeyer, 1986).

Lichtenfels (1975) simplificou a taxonomia dos pequenos strongilídeos, reclassificando-os na família Cyathostominae, descrevendo seis gêneros e 29 espécies na América do Norte. Reinemeyer (1986) citou mais de 40 espécies de ciatostomíneos em eqüinos domésticos, sendo morfológicamente similares, especialmente na fase larval. Todas as espécies descritas têm ciclo direto, envolvendo um período de desenvolvimento externo, usualmente no pasto. Os ovos postos pelas fêmeas adultas, presentes no ceco e intestino grosso, são eliminados nas fezes do hospedeiro, e se desenvolvem no ambiente, passando por dois estágios larvais intermediários até atingir a fase infectante, ou L3. Ao ser ingerida, as L3 invadem a parede do intestino alojando-se na mucosa ou sub-mucosa, levando a um acúmulo de fibroblastos ao seu redor, tornando-se, portanto, encistadas. Uma vez encistada, a larva poderá se desenvolver em L4, também encistada. Abandonando, posteriormente, o cisto e evoluindo a L5/adultos machos e fêmeos no lúmen intestinal, acasalando-se e produzindo ovos, reiniciando assim o ciclo (Ogbourne, 1978). As larvas encistadas podem ainda entrar em desenvolvimento retardado, ou hipobiose (Klei, 1994). A persistência da larva L3 por um longo estágio inibindo a fase L4, quando hipobiótica, pode durar de 2 a 30 meses. Em situações normais, o ciclo evolutivo desse parasito é de aproximadamente 60 dias (Reinemeyer, 1986).

Os pequenos strongilídeos, em moderadas ou altas cargas parasitárias podem causar anemia, emaciação, distúrbios intestinais como diarreia e má absorção, diminuição da resistência imunológica, episódios de cólicas e até a morte do hospedeiro (Assis & Araújo, 2003; Braga et al., 2009b). As lesões intestinais incluem enterite catarral ou fibrinosa no cólon maior e ceco, com numerosos focos de hemorragia, necrose ou formação de granulomas na mucosa e submucosa. Essas lesões são associadas a larvas de ciatostomíneos. Outras lesões intestinais

incluem edema da parede intestinal e aumento de volume dos linfonodos mesentéricos (Pierezan et al., 2009).

Dados de campo sugerem que os eqüinos adquirem resistência aos pequenos estrongilídeos com a idade, sendo os mais jovens e os mais velhos mais susceptíveis. Isso pode ser verificado através da redução da carga parasitária e da contagem de ovos nas fezes, porém esta resposta é lenta e inconsistente na maioria dos animais e não tem relação com a intensidade do contato parasitário anterior (Anjos & Rodrigues, 2006).

2.2 Fungos nematófagos

Diversos antagonistas naturais de nematóides, entre eles, bactérias, vírus, protozoários, besouros, ácaros e fungos, são descritos como controladores biológicos em potencial, entretanto os fungos nematófagos são os inimigos naturais cujas pesquisas apresentaram resultados mais promissores no controle de nematóides (Maciel, 2005).

Os fungos nematófagos, em sua maioria, são Deuteromycetes pertencentes a família Moliniaceae. São organismos que apresentam micélio septado e bem desenvolvido, reproduzem-se agamicamente por esporos exógenos formados sobre ramificações das hifas (Araújo et al., 2004a).

Diferentes tipos de fungos interagem com os nematóides, sendo os primeiros caracterizados como predadores, endoparasitas de nematóides e oportunistas ou parasitos de ovos. Eles são cosmopolitas, ocorrendo em solos naturais, solos agricultáveis e em todos os tipos de matéria orgânica em decomposição (Araújo et al., 2006b).

As espécies de fungos predadores variam em sua capacidade de capturar os nematóides; são os organismos mais estudados e que apresentam maior potencial de serem comercializados, principalmente por sua facilidade de isolamento e cultivo em laboratório quando comparado às outras categorias (Mota et al., 2003). Os fungos predadores formam armadilhas ao longo das hifas, separadas por pequenos intervalos. Essas estruturas são produzidas em resposta à presença de nematóides ou de substâncias por eles secretadas, dessa forma, as culturas puras apresentam dificuldade na produção ou não produzem armadilhas. A diferenciação de uma hifa pode ocorrer em 24 horas, onde numerosas estruturas de captura podem ser

produzidas. Nesse grupo destaca-se a espécie *Monacrosporium thaumasium* como importante controlador biológico de nematóides parasitos gastrintestinais (Araújo et al., 2004b; Araújo et al., 2007).

Os fungos endoparasitas persistem principalmente como esporos, liberados no solo a partir de nematóides desintegrados. Não há extensivo desenvolvimento de hifas para o exterior do corpo dos nematóides infectados, mas apenas prolongamento de tubos de liberação de esporos (Araújo et al., 2004b). As espécies de fungos endoparasitas são pouco estudadas devido ao alto grau de dificuldade de cultivo e manutenção, sobretudo por requererem meios de cultivo complexos (Gray, 1987).

O grupo de fungos parasitos de ovos é formado por indivíduos oportunistas, portanto, independem da presença de ovos dos nematóides no solo para sua sobrevivência. Dentre as espécies promissoras desse grupo destacam-se os fungos *Pochonia chlamydosporia* e *Paecilomyces lilacinus*, como potenciais agentes de biocontrole (Braga et al., 2008a, 2008b, 2008c).

2.2.1 *Monacrosporium thaumasium* (NF34a)

Os fungos do gênero *Monacrosporium* foram classificados por Cooke e Dickson como pertencentes à subdivisão *Deuteromycotina*. As espécies desse gênero são caracterizadas por produzirem apenas um conídio na extremidade do conidióforo. Os conídios são hialinos, fusiformes, com dois a quatro septos transversais. A predação ocorre por meio de nódulos e redes tridimensionais adesivas ou anéis constritores, suas hifas são septadas e ramificadas (Castro, 2000; Araújo e Ribeiro, 2003). Espécies do fungo predador de helmintos *Monacrosporium* spp. têm eficácia comprovada sobre fitonematóides, nematóides de vida livre e helmintos parasitas de mamíferos domésticos (Melo et al., 2003; Campos et al., 2007; Braga et al., 2009a; Carvalho et al., 2009; Silva et al., 2009), sendo que a espécie *Monacrosporium thaumasium* demonstra capacidade *in vitro* de redução das L3 de ciatostomíneos de eqüinos (Rodrigues et al., 1999; Castro et al., 2003; Braga et al., 2009a) de *Haemonchus* sp. de bezerros (Mota et al., 2000; Alves et al., 2003), de *H. contortus* de caprinos (Melo et al., 2003) e *Ancylostoma* sp. de cães (Maciel, 2005; Carvalho et al., 2009).

Além da comprovada predação *in vitro* das larvas de nematóides, estudos de passagem do *Monacrosporium thaumasium* pelo trato gastrintestinal de animais domésticos e de sua viabilidade a campo obtiveram resultados promissores (Rédua, 2002; Araújo et al. 2004b).

O isolado fúngico NF34a da espécie *M. thaumasium* apresenta desempenho *in vitro* homogêneo nas temperaturas de 25, 28 e 30 °C que são comuns nas zonas intertropicais, supondo-se que esta espécie se adapte bem às condições ambientais do sudeste do Brasil (Castro et al., 2003; Maciel, 2005).

2.3 Biocontrole de parasitos de equinos

O controle das parasitoses em equinos tem sido realizado ao longo das décadas pela utilização de antihelmínticos, os quais não têm sido totalmente eficazes no controle de diversas espécies de nematóides, sobretudo os pequenos estrongilídeos devido à sua ação restrita aos parasitos adultos. (Matthews et al., 2004).

O quase exclusivo uso de tratamentos antihelmínticos tem resultado em populações de nematóides resistentes a múltiplas classes desses medicamentos, o que tem contribuído para que as pastagens estejam sempre contaminadas por nematóides (Sangster, 1999).

O ciclo biológico dos nematóides de importância médica veterinária se divide em duas fases: a fase de parasitismo, na qual os vermes adultos estão fixados no tubo digestivo do hospedeiro e a fase ambiental, na qual se encontram diversos estádios do parasita (Maciel, 2005).

Com base nesses conhecimentos, a utilização de antagonistas de nematóides na fase ambiental pode possibilitar um controle sustentável desses helmintos, com uma possível redução do emprego de agentes químicos (Thamsborg et al., 1999; Campos, 2002). Sendo assim, a função dos controladores biológicos seria de auxiliar, e não substituir os agentes químicos, uma vez que os primeiros atuam no ambiente, impedindo uma superpopulação, sobretudo de larvas infectantes, interrompendo o processo de infecção e os últimos atuam nos nematóides adultos presos ao tubo digestivo dos hospedeiros (Waller e Larsen, 1993). Para tal, o fungo deve estar presente, ativo e em condições plenas de

desenvolvimento nas fezes, solo e ambiente ao mesmo tempo que as formas larvais (Maciel, 2005).

Segundo Araújo et al. (1999), a forma mais prática de se fornecer estes fungos aos animais é pela administração oral. Após a passagem pelo trato gastrintestinal e a eliminação junto às fezes no meio ambiente, o fungo coloniza o bolo fecal, estabelece contato com as larvas eclodidas e produz armadilhas, levando-as, posteriormente à morte (Larsen, 1999; Graminha, 2004). Além disso, as fezes frescas dos animais a pasto representam um ambiente rico em nutrientes e bem menos competitivo para os fungos predadores do que o solo fértil (Juniper, 1957).

Sendo assim, para empregar um fungo no controle biológico de nematóides a campo deve-se primeiramente observar se este é capaz de capturar as larvas do parasita alvo *in vitro* e atravessar o trato gastrintestinal do hospedeiro alvo mantendo suas características de crescimento e predação de larvas nas fezes (Waller et al., 1999; Araújo et al., 2004b).

A peletização do micélio fúngico em matriz de alginato de sódio protege as estruturas fúngicas importantes para o mecanismo de infecção, permitindo seu armazenamento sob refrigeração por curtos períodos e facilita sua administração oral, podendo ser misturada na ração dos animais. Além disso, não interfere na ação predatória do fungo e pode ser uma ferramenta importante no biocontrole de nematóides gastrintestinais (Araújo et al. 2000b).

Uma vez implantado e estabelecido, o controle biológico possui especificidade, pois quando inserido em ecossistema, não induz profundas transformações no mesmo; fácil multiplicação e dispersão no ambiente; efeito prolongado ou secundário afetando gerações subseqüentes da praga-alvo, sendo, portanto, um efeito mais duradouro; possibilidade de emprego em associações medicamentosas sem resíduos ou toxicidade; baixo custo e pequena possibilidade de indução de resistência (Araújo et al., 2004b). Todavia existe certa preocupação quanto ao emprego dos fungos nematófagos e os possíveis efeitos adversos ao microambiente como a predação não-específica de nematóides de vida livre, microartrópodes e competição com outros fungos predadores de nematóides (Knox et al., 2002), entretanto, alguns estudos não indicam tais efeitos (Yeates et al., 1997; Gronvold et al., 2000; Knox et al., 2002; Maciel, 2005).

2.4 Mecanismos de ação dos fungos predadores de nematóides

Os fungos nematófagos são capazes de promover diferenciação de suas hifas vegetativas em estruturas de armadilha, apreensão e eliminação de nematóides. O processo de diferenciação pode ser induzido por fatores como a presença do nematóide ou de seus metabólitos no meio. Após a identificação quimiotática das presas, ocorre o ataque a cutícula do nematóide, seguido por imobilização, penetração, crescimento, possível intoxicação, digestão do conteúdo interno e desintegração da larva. (Mendoza-De Gives, 1999; Araújo et al., 2004a; Maciel, 2005). As estruturas diferenciadas mais observadas ao longo do micélio são anéis constritores não adesivos, anéis não constritores, botões e redes tridimensionais adesivas (Araújo et al., 2004a).

Estudos sobre a micro-estrutura do processo de penetração das hifas revelaram os principais mecanismos envolvidos na interação entre os fungos e os nematóides. O fungo inicialmente se adere ao nematóide por meio de uma substância fibrilar adesiva, que também é responsável pela degradação da cutícula externa. O processo de penetração está associado à ação de estruturas densas, ricas em enzimas, as quais possuem forma semelhante aos peroxissomos. Estas estruturas são encontradas apenas nas armadilhas e nunca em hifas vegetativas e normalmente são produzidas apenas na primeira hora do processo de penetração. (Mota et al., 2003).

Diversas enzimas já foram identificadas durante essa fase da predação, entre elas, collagenases, quitinases (Sontirat, 1996), proteases (Tunlid e Janson, 1991), lípases, fosfatases, esterases e glicosidases (Mendoza-De Gives, 1999). A fase final de penetração da cutícula parece ser resultado de força mecânica (Maciel, 2005).

Ao infectar as larvas de primeiro e segundo estádios, os fungos predadores normalmente obtém rápido sucesso na destruição das mesmas. Entretanto, as larvas de terceiro estágio permanecem nas armadilhas por mais de 20 horas ainda móveis, possivelmente pela dificuldade de penetração em função da cutícula dupla presente nesse estágio e não presente nos estádios anteriores (Gronvold et al. 1993).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, P.H.; ARAÚJO, J.V.; GUIMARÃES, M.P.; ASSIS, R.C.L.; SARTI, P.; CAMPOS, A.K. Aplicação de formulação do fungo predador de nematóides *Monacrosporium thaumasium* (Dreshsler, 1937) no controle de nematóides de bovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, n.6, p.568-573, 2003.

AMARANTE, A.F.T.; PADOVANI, C.R.; BARBOSA, M.A. Contaminação de larvas de nematóides gastrintestinais parasitos de bovinos e ovinos em Botucatu-SP. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.5, p.65-73, 1996.

AMARANTE, A.F.T. Controle integrado de helmintos de bovinos e ovinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, p.68-71, 2004.

AMARANTE, A.F.T. Controle da verminose ovina. **Revista do Conselho Regional de Medicina Veterinária**, v.140, n.34, p.19-30, 2005.

ANJOS, D.H.S.; RODRIGUES, M.L.A. Diversity of the infracommunities of strongylid nematodes in the ventral colon of *Equus caballus* from Rio de Janeiro state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 136, p. 251-257, 2006.

ANUALPEC 2003: Anuário estatístico da produção animal. São Paulo: **FNP Consultoria & Comércio**. 2003. p.380.

ARAÚJO, J.V.; GOMES, A.P.S.; GUIMARÃES, M.P. Biological control of bovine gastrointestinal nematode parasites in southern Brazil by the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys robusta*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.7, p.117-122, 1998.

ARAÚJO, J.V.; STEPHANO, M.A.; SAMPAIO, W.M. Passage of nematode trapping fungi through the gastrointestinal tract of calves. **Veterinarski Arhiv**. Zagreb, v.69, p.69-78, 1999.

ARAÚJO J.V., SAMPAIO, W.M.; VASCONCELOS, R.S.; CAMPOS, A.K.; Effects of different temperatures and mineral salt on pellets of *Monacrosporium thaumasium* - a nematode-trapping fungus. **Veterinarski Arhiv**, v. 80, p.181-190, 2000a.

ARAÚJO, J.V.; SAMPAIO, W.M. Effects of temperature, mineral salt and passage through gastrointestinal tract of calves on alginate formulation of *Arthrobotrys robusta*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.9, p. 55-59, 2000b.

ARAÚJO, J.V.; RIBEIRO, R.R. Atividade predatória sobre larvas de tricostrongilídeos (Nematoda: Trichostrongyloidea) de isolados fúngicos do gênero *Monacrosporium* após a passagem pelo trato gastrintestinal de bovinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.12, p.76-81, 2003.

ARAÚJO, J.V.; MOTA, M. A, CAMPOS, A.K. Controle biológico de helmintos parasitos de animais por fungos nematófagos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, p.165- 170, 2004a.

ARAÚJO, J.V.; GUIMARÃES, M.P.; CAMPOS, A.K.; SÁ, N.C. de; SARTI, P.; ASSIS, R.C.L. Control of bovine gastrintestinal nematode parasites using pellets of the nematode trapping fungus *Monacrosporium thaumasium*. **Ciência Rural**, v.34, p.457-463, 2004b.

ARAÚJO, J.V. **Diagnostico das helmintoses**. Universidade Federal de Viçosa, 2006a. p. 9-46 (Caderno didático, 113).

ARAÚJO, J.V.; FREITAS, B.W.; VIEIRA, T.C., CAMPOS, A.K. Avaliação do fungo predador de nematóides *Duddingtonia flagrans* sobre larvas infectantes de *Haemonchus contortus* e *Strongyloides papillosus* de caprinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 15, p.76-79, 2006b.

ARAÚJO, J.V.; RODRIGUES, M.L.A.; SILVA, W.W.; VIEIRA, L.S. Controle biológico de nematóides gastrintestinais de caprinos em clima semi-árido pelo

fungo *Monacrosporium thaumasium*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, p.1177-1181, 2007.

ARMOUR, J. The influence of host immunity on the epidemiology of trichostrongyle infections in cattle. **Veterinary Parasitology**, v.32, p.5-19, 1989.

ASSIS, R.C.L.; ARAÚJO J.V. Avaliação da viabilidade de duas espécies de fungos predadores do gênero *Monacrosporium* sobre ciatostomíneos após a passagem pelo trato gastrointestinal de eqüinos em formulação de alginato de sódio. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 12, p. 109-113, 2003.

BRAGA, F.R ; ARAÚJO, J.V ; CAMPOS, A.K ; SILVA, A. R. ; ARAUJO, J. M ; CARVALHO, R.O ; CORREA, D.N ; PEREIRA, C.A.J. In vitro evaluation of the effect of the nematophagous fungi *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium sinense* and *Pochonia chlamydosporia* on *Schistosoma mansoni* eggs. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, p. 2713-2716, 2008a.

BRAGA, F.R.; ARAÚJO, J.V.; CAMPOS, A.K.; CARVALHO, R.O.; SILVA, A.R.; TAVELA, A.O. In vitro evaluation of the effect of the nematophagous fungi *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium sinense* and *Pochonia chlamydosporia* on *Fasciola hepatica* eggs. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.24, p.0972-1573, 2008b.

BRAGA, F.R.; ARAÚJO, J.V.; CAMPOS, A.K.; CARVALHO, R.O.; SILVA, A.R.; TAVELA, A.O. In vitro evaluation of the effect of the nematophagous fungi *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium sinense* and *Pochonia chlamydosporia* on *Moniezia* sp eggs. **Journal of Helminthology**, v. 10, p. 1-3, 2008c.

BRAGA, F.R.; ARAÚJO, J.V.; CARVALHO, R.O.; ARAUJO, J. M; SILVA, A.R.; CAMPOS, A.K.. Controle in vitro de larvas infectantes de ciatostomíneos (Nematoda: Cyathostominae de eqüinos utilizando os fungos predadores *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* e *Arthrobotrys robusta*. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, n. 3, p. 887-892, jul./set. 2009a.

BRAGA, F.R.; ARAÚJO, J.V.; SILVA, A.R.; ARAUJO, J. M; CARVALHO, R.O.; TAVELA, A.O.; CAMPOS, A.K.; CARVALHO, G.R.. Biological control of horse cyathostomin (Nematoda: Cyathostominae) using the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in tropical southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.163, n. 4, p. 335-340, 2009b.

CAMPOS, A.K. **Efeito da criopreservação e de formulações sobre a viabilidade do fungo nematófago *Monacrosporium* spp.** Viçosa: UFV, 2002, 48p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Viçosa, 2002.

CAMPOS, A. K.; ARAÚJO, J.V.; ASSIS, R. C.L.; Gandra, J R.; GUIMARÃES, M. P. Viabilidade de formulação peletizada do fungo nematófago *Monacrosporium* sinense no controle biológico de nematóides parasitos gastrintestinais de bezerros. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, p. 14-20, 2007.

CARVALHO, R.O.; ARAÚJO, J.V.; BRAGA, F.R.; FERREIRA, S.R.; ARAUJO, J.M.; SILVA, A.R.; FRASSY, L.N.; ALVES, C.D.F. Biological control of Ancylostomosis in dogs using the nematode-trapping fungus *Monacrosporium thaumasium* in southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 165, n. 1-2, p. 179-183, 2009.

CASTRO, A.A. Avaliação de fungos Deuteromycetos sobre as fases pré-parasíticas de Cyathostominae (Nematoda– Strongylidae). 2000, 115 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2000.

CASTRO, A.A., OLIVEIRA, C.R.C.; ANJOS, D.H.S.; ORNELLAS, E.I.; BITTENCOURT, V.R.E.P.; ARAÚJO, J.V.; SAMPAIO, I.B.M.; RODRIGUES M.L.A. Potencial dos fungos nematófagos *Arthrobotrys* sp. E *Monacrosporium thaumasium* para o controle de larvas de ciatostomíneos de eqüinos (Nematoda: Cyathostominae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 12, p. 49-53, 2003.

CEZAR, A.S.; CATTO, J.B.; BIANCHIN I.. Controle alternativo de nematódeos gastrintestinais dos ruminantes: atualidade e perspectivas. **Ciência Rural**, v.38, n.7, p. 2083-2089, 2008.

DIAS, A.S.; ARAÚJO, J.V.; CAMPOS, A.K.; BRAGA, F.R.; FONSECA, T.A. Application of a formulation of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in the control of cattle gastrointestinal nematodiosis. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.28, p.10.1007, 2007.

FREITAS, M.G. **Helmintologia Veterinária. 6 ed. Belo Horizonte:** Precisa Editora Gráfica LTDA., 1992. 396p.

GRAMINHA, E.B.N. Isolamento e atividade predatória de fungos nematófagos sobre nematóides gastrintestinais de ovinos da micro-região de Jaboticabal-SP. Jaboticabal, SP, Unesp, 2004 (Tese de Doutorado), 72p. Universidade Estadual Paulista, 2004.

GRAMINHA, E.B.; COSTA, A.J.; OLIVEIRA, G.P.; MONTEIRO, A.C.; PALMEIRA, S.B.S. Biological control of sheep parasite nematodes by nematode-trapping fungi: *in vitro* activity and after passage through the gastrointestinal tract. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.21, p. 717-722, 2005.

GRONVOLD, J.; WOLSTRUP, J.; NANSEN, P.; HENRIKSEN, S.A.; LARSEN, M.; BRESCIANI, J. Biological control of nematode parasites in cattle with nematode-trapping fungi: survey of Danish studies. **Veterinary Parasitology**, v.48, p.311-325, 1993.

GRONVOLD, J.; WOLSTRUP, J.; NANSEN, P.; LARSEN, M.; BJORN, H. Absence of obvious short term impact of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* on survival and growth of the earthworm *Aporrectodea longa*. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.41, p.147-151, 2000.

GRAY, N.F. Nematophagous fungi with particular reference to their ecology. **Biological Reviews**, v.62, p. 245-304, 1987

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA (IBGE), 2002. **Anuário Estatístico**.

JUNIPER, A.J. Dung as a source of predacious fungi. Transaction British Mycological Society, v.40, p.346-348, 1957.

KNOX, M.R.; JOSH, P.F.; ANDERSON, L.J. Deployment of *Duddingtonia flagrans* in an improved pasture system: dispersal, persistence and effects on free-living soil nematodes and microarthropods. **Biological Control**, v.24, p.176-182, 2002.

LARSEN, M. Biological control of helminthes. **International Journal for Parasitology**, v.29, p.139-146, 1999.

LARSEN, M. Prospects for controlling animal parasitic nematodes by predacious micro fungi. **Parasitology**, v.120, p.121-131, 2000.

LICHTENFELS, J.R. Helminths of domestic equids. Illustrated keys to genera and species with emphasis on North American forms. **Proceedings Helminthology Soc. Wash**, v. 42, p. 1-92, 1975.

LIMA, W.S. **Dinâmica das populações de nematóides parasitos gastrintestinais em bovinos de corte, alguns aspectos da relação parasito-hospedeiro e do comportamento dos estádios de vida livre na região do Vale do Rio Doce, MG, Brasil**. 1989. 178 p. Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas-Gerais, Belo Horizonte, 1989.

MACIEL, A.S. **Atividade *in vitro* dos fungos *Arthrobotrys robusta*, *Duddingtonia flagrans* e *Monacrosporium thaumasium* sobre larvas infectantes de *Ancylostoma* spp. de cães e sua esporulação em meios de**

cultura. 2005. 93 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.

MATTHEWS, J.B.; HODGKINSON, J.E.; DOWDALL, S.M.J.; PROUDMAN, C.J. Recent developments in research into the Cyathostominae and *Anoplocephala perfoliata*. **Veterinary Research**, v. 35, p. 371 – 381, 2004.

MELO, L.M.; BEVILAQUA, C.M.L.; ARAÚJO, J.V.; MELO, A.C.F.L. Atividade predatória do fungo *Monacrosporium thaumasium* contra o nematóide *Haemonchus contortus*, após passagem pelo trato gastrointestinal de caprinos. **Ciência Rural**, v.33, p.169-171, 2003.

MENDOZA-DE GIVES, P. **Interracion between nematodes and biocontrol agents with potential for use in biomanagement systems**. United Kingdom: University of Nottingham, 1999. 219p. Thesis (Doctor of Philosophy) – University of Nottingham, 1999.

MOLENTO, M.B. Resistência parasitária em helmintos de eqüídeos e propostas de manejo. **Ciência Rural**, v.35, p.1469-1477, 2005.

MOTA, M.A.; BEVILAQUA, C.M.L.; ARAUJO, J.V. Atividade predatória de fungos *Arthrobotrys conoides* e *Monacrosporium thaumasium* sobre larvas infectantes de *Haemonchus contortus* de caprinos. **Ciência Animal**, v.10, p.37-41, 2000.

MOTA, M.A.; CAMPOS, A.K.; ARAÚJO, J.V. Controle biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e perspectivas futuras. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.23, p.93-100, 2003.

OGBOURNE, C.P. Pathogenesis of cyathostome (*Trichonema*) infection of the horse. A review. **Commonwealth Institute of Helminthology**. Micellaneous publication n. 5, 25 p., 1978.

PIEREZAN, F.; RISSI, D.R.; OLIVEIRA FILHO, J.C.; LUCENA, R.B.; TOCHETTO, C.; FLORES, M.M.; ROSA F.B.; BARROS, C.S.L. Enterite granulomatosa associada a larvas de ciatostomíneos em eqüinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 5, 2009.

RÉDUA, C.R.O. **Avaliação do fungo *Monacrosporium thaumasium* sobre nematóides estrongilídeos de Eqüinos**. 2002, 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2002.

REINEMEYER, C.R. Small strongyles – Recent advances. **Veterinary Clinics of North American: Equine Practice**, v.2, n.2 , p.281-312, 1986.

RODRIGUES, M.L.A.; CASTRO, A.A.; ANJOS, D.H.S.; ARAÚJO, M.M.; OLIVEIRA, C.R.C.; BITTENCOURT, V.R.E.P.; ARAÚJO, J.V. Avaliação da capacidade predatória de *Monacrosporium thaumasium* (NF 34A) sobre larvas infectantes de Cyathostominae (observações preliminares). In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11, 1999, Salvador. Anais... Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999. p. 164.

SANGSTER, N.C. Anthelmintic resistance: past, present and future. **International Journal for Parasitology**, v.29, p.115-124, 1999.

SILVA, A.R.; ARAÚJO, J.V.; BRAGA, F.R.; FRASSY, L.N.; TAVELA, A.O.; CARVALHO, R.O.; CASTEJON, F.V. Biological control of sheep gastrointestinal nematodiasis in a tropical region of the southeast of Brazil with the nematode predatory fungi *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium*. **Parasitology Research**. v. 105, n. 6, p. 1707-1713, 2009.

SONTIRAT, S. Relationship between infection efficiency and enzymatic activity of *Paecilomyces lilacinus*. **Kazetsart Journal Natural Sciences**, v.30, p.175-184, 1996.

THAMSBORG, S.M.; POEPSTORFF, A.; LARSEN, M. Integrated and biological control of parasites in organic and conventional production systems. **Veterinary Parasitology**, v.84, p. 169-186, 1999.

TUNLID, A.; JANSON, S. Proteases and their involvement in the infection and immobilization of nematodes by the nematophagous fungus *Arthrobotrys oligospora*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.57, p.2868-2872, 1991.

WALLER, P.J.; LARSEN, M. The role of nematophagous fungi in the biological control of nematode parasites of livestock. **International Journal for Parasitology**, v.23, n.8, p.539-546, 1993.

WALLER, P.J. International approaches to the concept of integrated control of nematode parasites of livestock. **International Journal for Parasitology**, v. 29, p.155-164, 1999.

YEATES, G.W.; WALLER, P.J.; KING, K.L. Soil nematodes as indicators of the effects of management on grasslands in the New England Tablelands (NSW): effect of measures for control of parasites of sheep. **Pedobiologia**, v.41, p.537-548, 1997.

4. Capítulo único

Controle biológico das nematodioses gastrintestinais de eqüinos com o fungo *Monacrosporium thaumasium*.

RESUMO

A viabilidade de uma formulação do fungo predador de nematóides *Monacrosporium thaumasium* foi avaliada no controle biológico de ciatostomíneos de eqüinos. Dois grupos (tratado com o fungo e controle) constituídos por seis éguas em cada grupo, mestiças, com idade entre 2,5 a 3,5 anos, foram colocados em pastagens de *Cynodon* sp. naturalmente infectadas com larvas de ciatostomíneos de eqüinos. No grupo tratado, cada animal recebeu 1g/10 kg de peso corporal (0,2g/10kg de peso corporal de fungo) de péletes em matriz de alginato de sódio contendo o fungo *M. thaumasium* via oral, duas vezes por semana e durante seis meses. No grupo controle, os animais receberam 1g/10 kg de peso vivo de péletes sem o fungo. As contagens de ovos por grama de fezes demonstraram diferença ($p<0,01$) no grupo de animais tratados com o fungo em relação aos animais do grupo controle em todos os meses do experimento. Os percentuais de redução do OPG foram de 87,5%, 89,7%, 68,3%, 58,7%, 52,5% e 35,2% nos meses de junho, julho, agosto, setembro, outubro e novembro, respectivamente. Nas coproculturas foi encontrada diferença ($p<0,05$) entre os animais do grupo tratado com o fungo em relação aos animais do grupo controle em todos os meses do experimento, com percentuais de redução de 67,5%, 61,4% e 31,8% para setembro, outubro e novembro, respectivamente. Diferença ($p<0,01$) foi observada na recuperação de larvas infectantes das pastagens que foram coletadas até 20 cm de distância do bolo fecal no pasto do grupo tratado com o fungo em relação ao grupo controle com uma redução de 60,9% e, entre 20 e 40 cm do bolo fecal a redução ($p<0,01$) foi de 56% no pasto do grupo tratado com o fungo *M. thaumasium* em relação ao pasto do grupo controle. Não foi observada diferença ($P>0,05$) entre as médias de ganho de peso dos animais dos dois grupos. O tratamento de eqüinos com péletes contendo o fungo nematófago *M. thaumasium*, pode ser efetivo no controle de ciatostomíneos em região tropical do sudeste do Brasil.

Palavras-chave: Fungos nematófagos, *Monacrosporium thaumasium*, ciatostomíneos, eqüinos, controle biológico.

ABSTRACT

The viability of a formulation using the nematode-trapping fungus *Monacrosporium thaumasium* was assessed for the biological control of free living stages of horse cyathostomin. Two groups (fungus-treated and control without fungus treatment) consisted of six crossbred mares in each group, aged between 2.5 and 3.5 years, were fed in *Cynodon* sp. naturally infected with larvae living stages of equine cyathostomin. Each animal of the treated group received oral doses of sodium alginate mycelial pellets 1 g/10 kg live weight per week), during 6 months. In the control group, animals received 1g/10 kg live weight per week of pellets without the fungus. Significant reduction ($p < 0.01$) in the number of eggs per gram of feces was found for animals of the fungus-treated group compared with the control group in all months of the experiment. The percentage of reduction of EPG were 87.5%, 89.7%, 68.3%, 58.7%, 52.5% and 35.2% during June, July, August, September, October and November, respectively. In coprocultures difference was found ($p < 0.05$) among animals in the group treated with the fungus compared to the control group in all months of the experiment, with percentage reductions of 67.5%, 61.4% and 31.8% for September, October and November, respectively. There was a difference ($p < 0.01$) of 60.9% reduction in herbage samples collected up to 20 cm from fecal pats between the fungus-treated group and the control group, during the experimental period (May–October). Difference of 56% ($p < 0.01$) was found between the fungus-treated group and the control group in the sampling distance 20–40 cm from fecal pats. There was no difference ($p > 0.05$) between the mean weight gain of animals in both groups. The treatment with sodium alginate pellets containing the nematode-trapping fungus *M. thaumasium* reduced cyathostomin in tropical southeastern Brazil and could be an effective tool for biological control of this parasitic nematode in horses.

Keywords: Nematophagous fungi, *Monacrosporium thaumasium*, cyathostomin, horses, biological control.

4.1 INTRODUÇÃO

Os eqüinos são hospedeiros de uma grande variedade de helmintos, entre esses os mais importantes são os nematóides, destacando-se os ciatostomíneos, conhecidos também como pequenos strongilídeos (Anjos et al., 2006). São parasitas muito prevalentes em animais jovens de 12 a 14 meses e adultos acima de 60 meses de idade e estão presentes durante todo o ano nas pastagens (Molento, 2005). Além disso, causam anemia, perda de peso, distúrbios intestinais como cólicas, diminuição da resistência e morte (Quinelato et al., 2008).

De acordo com Matthews et al. (2004), o controle destes parasitos foi feito ao longo de décadas através do uso de anti-helmínticos, muitas vezes de maneira indiscriminada e sem estratégias adequadas, fato que induziu a resistência destes parasitos a grande parte das classes de anti-helmínticos disponíveis, principalmente aos benzimidazóis. Dessa forma, alternativas de controle dos ciatostomíneos e de outros parasitos gastrintestinais dos eqüídeos são requeridas, e, dentre estas está o controle biológico, realizado com fungos nematófagos (Braga et al., 2009a).

Esses organismos são caracterizados como predadores, endoparasitas e oportunistas. Sua ação está concentrada no ambiente fecal e direcionada ao combate das larvas infectantes e de ovos dos parasitos (Araújo et al., 2009). No grupo dos fungos predadores destaca-se a espécie *M. thaumasium* que tem sido utilizado com sucesso em condições laboratoriais e a campo no controle das nematodioses gastrintestinais de animais domésticos (Silva et al., 2009; Braga, et al., 2009b).

De acordo com Araújo et al. (2000a; 2000b), fungos nematófagos tem sido utilizados com sucesso em formulações a base de alginato de sódio no combate das nematodioses gastrintestinais, contudo, poucos trabalhos tem sido realizados com o fungo *M. thaumasium* nessas formulações e em condições naturais.

O presente estudo teve por objetivo testar o fungo *M. thaumasium* em formulação peletizada a base de alginato de sódio no controle de nematóides gastrintestinais de eqüinos criados em condições naturais.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Organismos

Panagrellus sp. (nematóides de vida livre) foram mantidos em placas de Petri com meio de aveia em flocos, umedecida e amassada. Esses nematóides foram extraídos do meio de cultura através da imersão de pequenas quantidades de aveia em água destilada no funil de Baermann e coletados em tubos de hemólise após seis horas de decantação. Os *Panagrellus* sp. foram utilizados para testar e estimular a efetividade predatória das culturas do isolado fúngico.

Um isolado do fungo predador de nematóides do gênero *Monacrosporium thaumasium* (*M. thaumasium* – NF 34a), foi mantido a 4°C, ao abrigo da luz e em tubos de ensaio contendo corn-meal-ágar, 2% (CMA 2%). Este isolado foi obtido pela equipe do Laboratório de Parasitologia do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa e é proveniente de solos brasileiros.

Para induzir a formação de micélio fúngico, discos de cultura do fungo em CMA 2% com aproximadamente 5 mm foram transferidos, para frascos erlenmeyers de 250 mL, contendo 150 mL de meio líquido batata-dextrose (Difco), pH 6,5, sob agitação de 120 rpm, no escuro em temperatura de 26°C e por dez dias. Após este período, o micélio foi retirado para a confecção dos péletes, que foram feitos em matriz de alginato de sódio de acordo com técnica descrita por Walker e Connick (1983) e modificada por Lackey *et al.* (1993).

Ensaio experimental *in vivo*

O experimento foi desenvolvido no setor de Equideocultura da Universidade Federal de Viçosa, localizado no Município de Viçosa, Minas Gerais, Brasil, latitude 20°45'20" e longitude 42°52'40", no período de maio a novembro de 2008.

No início do experimento (maio) os equinos, fêmeas, mestiças, com idade entre 2,5 a 3,5 anos, foram tratadas previamente com uma dose de antihelmíntico para equinos por via oral e na dose de 200 µg por quilograma de peso corporal de ivermectina 1% e 6,6mg/kg de peso corporal de pamoato de pirantel (Centurion Vallé®, Brazil).

Após 14 dias do tratamento anti-helmíntico, as éguas foram divididas em dois grupos (grupo tratado com o fungo e controle) de seis animais em cada grupo com peso médio de 345 (±47,11) e 345 (±54,95), respectivamente nos grupos de animais

tratado com o fungo e controle. Posteriormente, as éguas foram colocadas em dois pastos de 2,5 hectares cada um com pastagem constituída de capim *Cynodon* sp. (tífton), naturalmente infestadas com larvas de ciatostomíneos de eqüinos, mediante ao prévio histórico de pastejo de animais jovens e adultos. No grupo tratado, cada animal recebeu 1 grama de péletes para cada 10kg de peso corporal contendo o fungo *M. thaumasium* (0,2 gramas de fungo para cada 10kg de peso corporal), misturados em 100 gramas de ração comercial para eqüinos, duas vezes por semana de acordo com Assis e Araújo (2003) e, por um período de seis meses a partir de maio de 2008. No grupo controle, os animais receberam 1 grama de péletes para cada 10kg de peso vivo sem fungo (controle). Durante o experimento os animais foram alimentados diariamente com 2 kg de ração comercial para eqüinos constituída de 14% de farelo de soja, 83,1 % de farelo de milho, 14,5% de sal, 1,5% de calcário e 14% de proteína.

Após 72 horas dos tratamentos foram colhidas amostras de fezes diretamente da ampola retal, para serem determinadas as contagens de ovos por grama de fezes (OPG), segundo técnica de Gordon & Withlock (1938) e modificada por Lima (1989).

Paralelamente as contagens de OPG, foram realizadas as coproculturas, em que 20g de fezes dos animais foram misturadas com vermiculita fragmentada e umedecida (NS Barbosa Ind. Com.®), levadas à estufa a 26°C e durante 8 dias, para se obter larvas de ciatostomíneos. Estas larvas foram identificadas de acordo com os critérios estabelecidos por Bevilaqua et al. (1993). O percentual de redução do OPG e das larvas recuperadas das coproculturas dos grupos tratado e controle foi determinado de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Redução (\%)} = \frac{\text{Média de L3 recuperadas do grupo controle} - \text{Média de L3 recuperadas do grupo tratado}}{\text{Média de L3 recuperadas do grupo controle}} \times 100$$

A cada quinze dias nos pastos dos grupos tratado e controle, foram coletadas duas amostras de pastagem, em W, sempre às 8 horas da manhã, de pontos variados e alternados até 0-20 cm do bolo fecal e de 20-40 cm distante do bolo fecal de acordo com Amarante et al. (1996). Em seguida, foi pesado 500g de pastagem, de onde se recuperaram as larvas de nematóides parasitos de eqüinos, segundo técnica descrita por Lima (1989). As amostras de pastagem foram colocadas em

estufa de secagem a 100°C, por três dias, para se obter a matéria seca. Os dados obtidos foram transformados em número de larvas por quilograma de matéria seca.

Diariamente, foram registrados dados meteorológicos em estação especializada na região, referentes às médias das temperaturas máxima, média e mínima mensais, à umidade relativa do ar e à precipitação pluvial mensais.

As curvas dos dados de OPG, das coproculturas, número de larvas L₃ recuperadas das pastagens, a correlação entre o OPG e as L₃ recuperadas e o peso foram comparadas durante os meses do experimento. Os dados obtidos foram convertidos para log x+1 e submetidos às análises de variância (ANOVA). Todas as análises foram realizadas com ajuda do Software Bioestat 5.0 (Ayres et al., 2003).

4.3 RESULTADOS

Em relação ao OPG, as contagens demonstraram diferença ($P < 0,01$) dos animais do grupo tratado com o fungo *M. thaumasium* em relação aos animais do grupo controle, a partir do início do experimento (maio). No presente trabalho foram observados os seguintes percentuais de redução para o OPG: 87,5%, 89,7%, 68,3%, 58,7%, 52,5% e 35,2% (junho, julho, agosto, setembro, outubro e novembro), respectivamente (Fig 1).

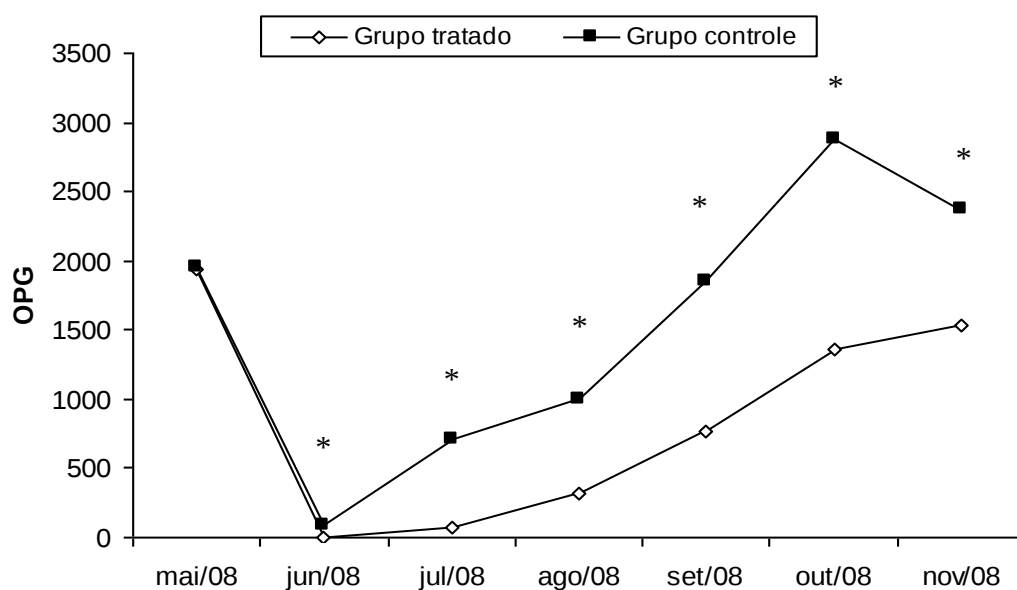


Figura 1: Médias mensais de ovos por grama de fezes (OPG) dos animais dos grupos tratado e controle observadas de maio a novembro de 2008, Viçosa, MG, Brazil. Diferença significativa ($p<0.01$) entre os grupos tratado e controle foi assinalada com asterisco – ANOVA.

Nas coproculturas foi encontrada diferença ($P<0,05$) entre os animais do grupo tratado com o fungo em relação aos animais do grupo controle em todos os meses do experimento. Os percentuais de redução observados foram de 100%, 50,6%, 57,3%, 67,5%, 61,4% e 31,8% para junho, julho, agosto, setembro, outubro e novembro, respectivamente (Fig. 2).

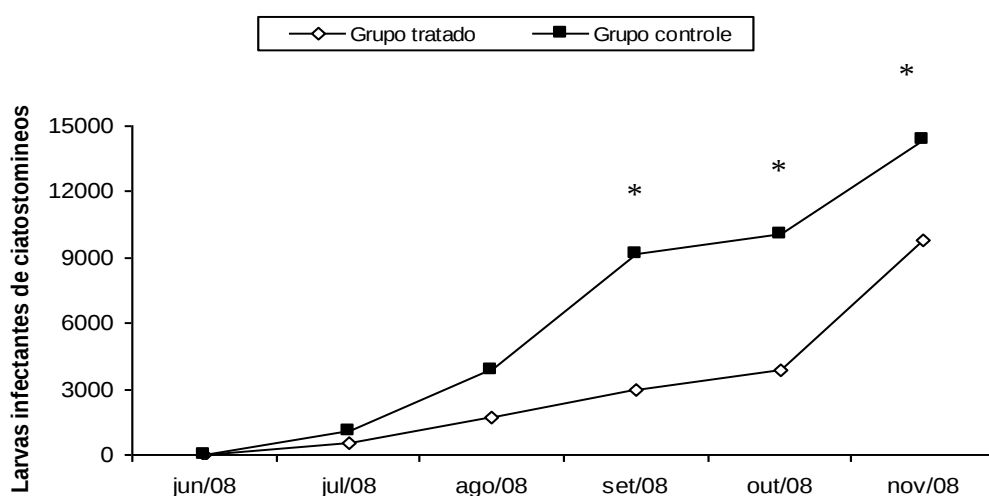


Figura 2: Médias mensais do número de larvas de ciatostomíneos recuperadas das coproculturas dos equinos tratados com o fungo e controle observadas de junho a novembro de 2008, Viçosa, MG, Brasil. Diferença significativa ($p<0.01$) entre os grupos tratado e controle foi assinalada com asterisco – ANOVA.

Diferença ($p<0,01$) foi observada na recuperação das L3 nas pastagens que foram coletadas nas distâncias de até 0-20 cm do bolo fecal no pasto do grupo tratado com o fungo em relação ao grupo controle, com redução de 60,9%. Para a distância entre 20 e 40 cm do bolo fecal houve redução ($p<0,01$) de 56% no pasto do grupo tratado com *M. thaumasium* em relação ao pasto do grupo controle (Fig. 3).

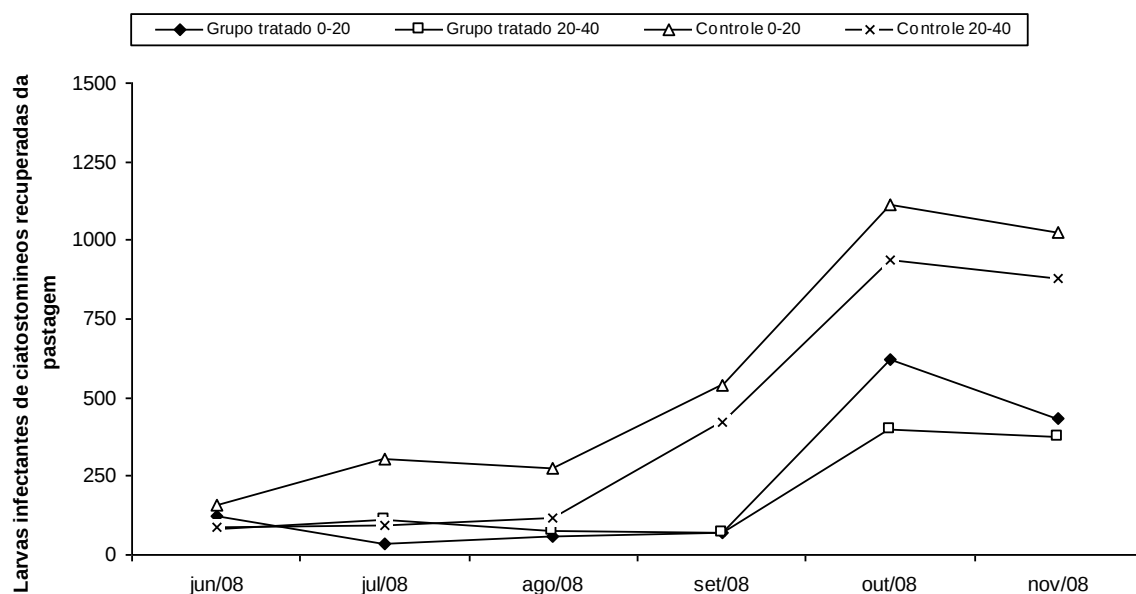


Figura 3: Contagem mensal do número de larvas infectantes de ciatostomíneos por quilograma de matéria seca recuperadas das pastagens dos eqüinos tratados com o fungo e controle coletadas em distâncias amostrais de até 20 cm do bolo fecal e 20-40 cm do bolo fecal de junho a novembro de 2008, Viçosa, MG, Brasil.

Em relação ao peso dos animais não foi observada diferença ($p>0,05$) no ganho de peso entre os animais dos grupos tratado com o fungo e controle (Fig. 4).

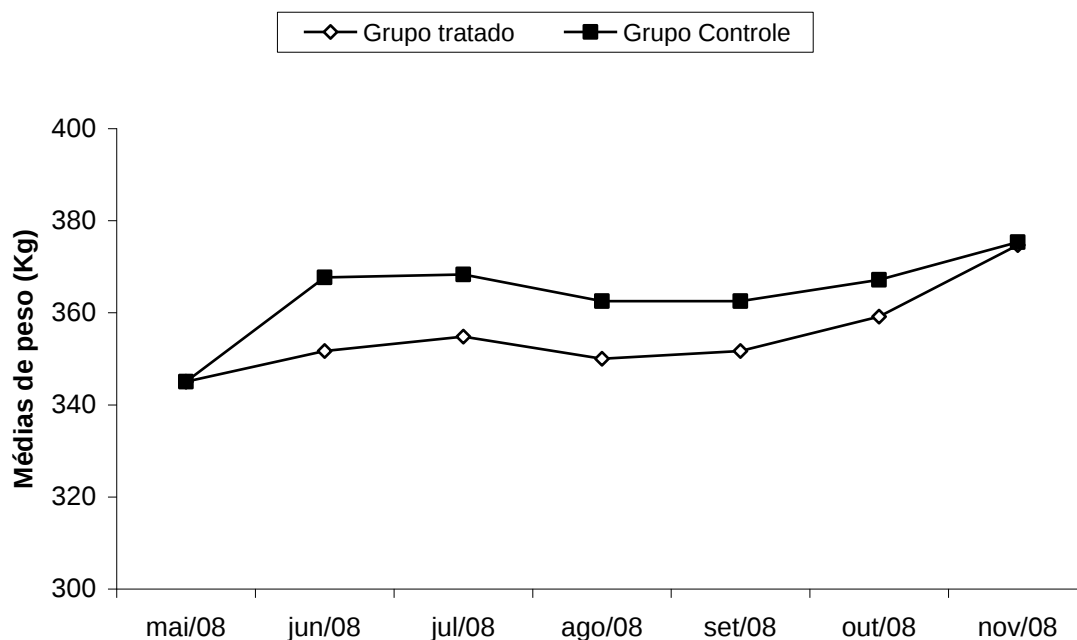


Figura 4: Média mensal do peso dos eqüinos tratados com o fungo e controle de junho a novembro de 2008, Viçosa, MG, Brasil.

4.4 Discussão

As contagens de OPG constituem um parâmetro que permite avaliar os níveis de infecção dos animais e o de infestação das pastagens por nematóides parasitos gastrintestinais (Amarante et al. 1996). Alguns trabalhos utilizando o fungo *M. thaumasium* em eqüinos e ruminantes registraram valores médios mensais das contagens OPG menores nos animais tratados em relação aos animais do grupo controle (Araújo et al., 2000a; Alves et al., 2003; Silva et al. 2009). Carvalho et al. (2009) demonstraram o efeito da aplicação desse fungo (março a setembro de 2008) sobre nematóides gastrintestinais de animais domésticos, onde foi registrado um percentual médio na redução do OPG de 68,86% nos animais do grupo tratado em relação aos do grupo controle. Esses resultados são semelhantes, aos apresentados no presente trabalho, uma vez que observou-se redução média de 65,31% ao final do experimento, comprovando que a ação desse fungo ocorre no ambiente fecal sobre as formas infectantes, refletindo na diminuição da carga parasitária dos animais. No presente trabalho demonstrou-se a eficácia do fungo *M. thaumasium* no controle de ciatostomíneos em condições naturais. Esses resultados corroboram com Braga et al. (2009a) que utilizaram o fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* observando sua eficácia no controle desses parasitos também em condições naturais.

Todavia, poucos são os trabalhos envolvendo fungos nematófagos e ciatostomíneos de eqüinos (Bird & Herd, 1995; Baudena et al., 2000b; Braga et al. 2009a).

Em relação as coproculturas, no presente trabalho, foi observada diferença ($p < 0,05$) nos percentuais registrados dos animais do grupo tratado com o fungo em relação aos animais do grupo controle em todos os meses do experimento. No mês de junho foi observado um percentual de redução de larvas recuperadas das coproculturas de 100%, no entanto, os autores sugerem que possivelmente essa redução pode ter sido influenciada pela aplicação do anti-helmíntico no início do experimento. Contudo, a partir desse mês os percentuais observados foram de 50,6%, 57,3%, 67,5%, 61,4% e 31,8% para junho, julho, agosto, setembro, outubro e novembro, respectivamente. Esses resultados sugerem que, nos animais do grupo tratado houve ação direta do fungo *M. thaumasium* sobre as larvas infectantes de ciatostomíneos presentes na pastagem e, por conseguinte, uma menor infecção

parasitária nos animais. Araújo et al., 2006; Carvalho et al., 2009; Silva et al., 2009; e Braga et al. 2009a também observaram significativa redução das larvas recuperadas nas coproculturas quando utilizaram espécies de fungos nematófagos no controle biológico de helmintoses de animais domésticos criados em condições naturais.

Seguindo os parâmetros descritos por Bevilaqua et al. (1993), observou-se apenas a ocorrência de pequenos estrongilídeos (cyathostominae) após as coproculturas, no presente trabalho. De acordo com Silva et al. (1993), a subfamília Cyathostominae tem grande prevalência em boa parte do território brasileiro. Carvalho et al. (1998), demonstraram a ocorrência de pequenos estrongilídeos em eqüinos submetidos a necropsia provenientes do estado de Minas Gerais, diagnosticando dezenove espécies, e com isso demonstrando sua ocorrência. Em outro trabalho, Braga et al. (2009a) também observaram 100% de prevalência de pequenos estrongilídeos em eqüinos provenientes do mesmo estado. A importância desses parasitos para os eqüinos está diretamente relacionada com o aparecimento da “ciatostomíase larvar”, uma síndrome potencialmente fatal na maioria dos casos e, a grande resistência da maioria dos nematóides parasitos gastrintestinais aos anti-helmínticos utilizados na rotina (Reinemeyer, 1986a, 1986b).

No presente trabalho observou-se diferença ($p < 0,01$) nas amostras de 0-20 cm do grupo tratado com fungo quando comparada com o grupo controle, com uma redução de 60,9%. Esse resultado possivelmente tem relação direta com a utilização de fungos nematófagos que agem diretamente sobre as L₃ presentes nas pastagens. Por outro lado, quando se analisou a distância de 20-40 cm do bolo fecal entre os dois grupos de animais (tratado com o fungo e controle) foi observada diferença ($p < 0,01$) com uma redução de 56%. Esses resultados também sugerem que a ação do fungo *M. thaumasium* foi satisfatória diminuindo a contaminação ambiental (Araújo et al., 2004a; 2004b). Em trabalho desenvolvido para avaliar a sobrevivência e a migração de ciatostomíneos em gramíneas *Cynodon* spp. em três horários de coleta (8, 13 e 17h), Bezerra et al. (2007) registraram que o maior número de ciatostomíneos recuperado foi no horário das 8 horas da manhã, contudo a partir da análise estatística não foi observada diferença ($p < 0,01$) entre os três horários. Langrová et al. (2003) em estudo semelhante realizado na República Tcheca, evidenciou uma diferença entre os horários de coleta, com uma recuperação maior de ciatostomíneos nos horários de 8, 7 e 6 horas da manhã

respectivamente. Segundo Hasslinger e Bittner (1984), a temperatura e a umidade no horário da manhã favorecem o alto número de L₃ recuperadas das pastagens. No presente trabalho o maior número de larvas infectantes recuperadas foi na distância de 0-20 cm do bolo fecal e este resultado está de acordo com os resultados demonstrados por Quinelato et al. (2008) e por Dias et al. (2007) que registraram maior número de larvas recuperadas da pastagem na distância de até 0-20 cm do bolo fecal, demonstrando que as poucas larvas que advêm das fezes para as pastagens realizam a migração além de 0-20 cm do bolo fecal. Ainda, segundo Stromberg (1997) a temperatura e a umidade são essenciais para que ocorra o desenvolvimento das larvas infectantes. Durante todo o período do experimento houve presença de larvas nas pastagens e apenas foram encontrados ciatostomíneos. Em trabalho realizado por Braga et al. (2009a) foi registrado um maior número de L₃ de ciatostomíneos na distância entre 0-20cm do bolo fecal. Estes resultados estão de acordo com o presente trabalho.

As condições climáticas, tais como a temperatura, umidade relativa e índice pluviométrico favoreceram o desenvolvimento dos estádios de vida livre e a migração para as pastagens (Figs. 5 e 6). As mais baixas taxas de precipitação pluvial foram observadas nos meses de julho e setembro com 8,49 e 20,05 mm³, respectivamente, observando-se uma contagem baixa do número de larvas de ciatostomíneos recuperadas das pastagens. Contudo, nos meses de agosto, outubro e novembro foram registradas as maiores taxas de precipitação pluvial de 34,85, 32,40 e 189,56 mm³, respectivamente, sendo que um número maior de larvas de ciatostomíneos foi recuperado em outubro e novembro. Couto et al. (2009) também observaram que nos meses com maior índice pluviométrico e temperaturas mais elevadas o OPG dos animais e o número de larvas recuperadas da pastagem eram mais altos, o que pode estar relacionado com a maior eliminação de ovos pelas fêmeas, uma vez que as condições climáticas são mais favoráveis, facilitando inclusive a migração das L₃ da massa fecal para a gramínea. Nesse período a gramínea está mais palatável para os animais, aumentando a ingestão da mesma e, conseqüentemente, das larvas infectantes.

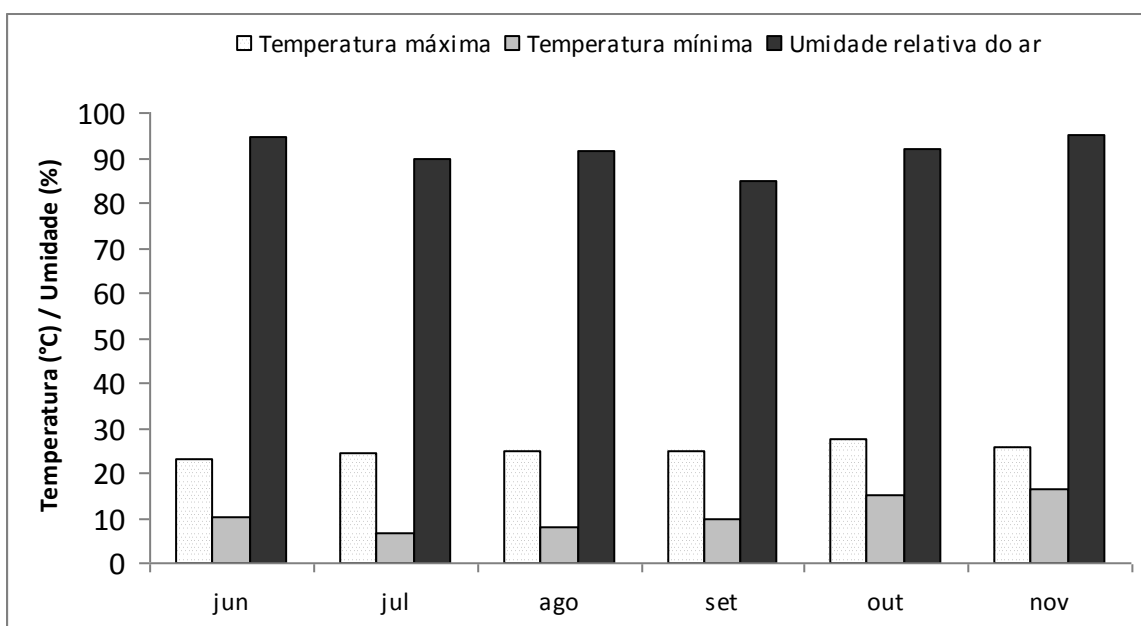


Figura 5: Médias mensais das temperaturas máxima, média, mínima (°C) e umidade relativa do ar (%) aferidas de junho a novembro de 2008, Viçosa, MG, Brasil.

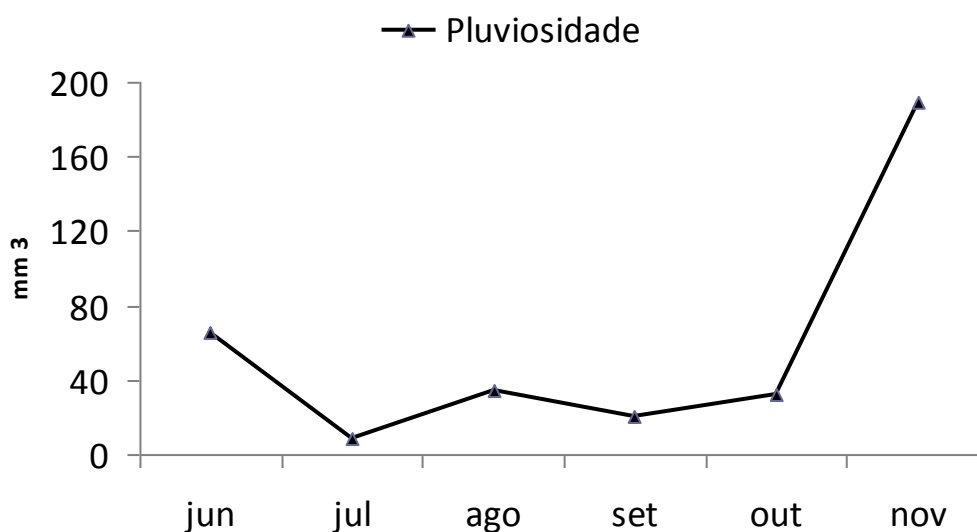


Figura 5: Pluviosidade mensal (mm3) aferida de junho a novembro de 2008, Viçosa, MG, Brasil.

Quinelato et al. (2008), em trabalho desenvolvido na região tropical do sudeste do Brasil registraram no período seco uma maior recuperação de larvas de ciatostomíneos das pastagens e posteriormente nas fezes e, que as condições ambientais foram favoráveis para a recuperação dessas larvas. Estes autores mencionam ainda que, em climas tropicais os equinos podem se infectar durante todo o ano devido a presença de L₃ nas pastagens e que o tipo de pastagem pode

influenciar na sua recuperação. Em experimento realizado na Europa central, Langrová et al. (2003) sugeriram que as L₃ respondem a chuva através da sua dispersão na vegetação, existindo uma correlação moderada entre a presença de umidade e o número de L₃ na pastagem. Contudo, Couto et al. (2009) demonstraram uma maior recuperação de L₃ das pastagens no período chuvoso, mencionado ainda a importância das condições climáticas sobre a disponibilidade das larvas. Esses resultados estão de acordo com o presente trabalho. Por outro lado, Braga et al. (2009a) recuperaram um maior número de L₃ de ciatostomíneos no período seco.

Segundo Coutney (1999), no período seco o desenvolvimento é mais lento, porém as L₃ sobrevivem por mais tempo. Fernández et al. (1997) e Baudena et al. (2000a) relatam ainda que possivelmente a sobrevivência desses parasitos no ambiente tem forte relação com a temperatura e nos meses de verão poucas larvas seriam encontradas nas fezes. Esses autores registraram dados a campo no sul do estado de Lousiana, Estados Unidos, região com clima subtropical, sugerindo que nos meses com temperatura mais amena um maior número de larvas infectantes estaria presente nas pastagens. Essas informações estão de acordo com os resultados encontrados no presente trabalho, onde o maior número de larvas recuperadas nas pastagens foi observado durante os meses de temperatura mais amena.

Silva et al. (2009) demonstraram a ação de *M. thaumasium* que foi capaz de reduzir mais de 61,1% das larvas infectantes presentes no bolo fecal de ovinos. Carvalho et al. (2009), mencionam ainda que, esse fungo além de provocar a diminuição das formas infectantes de nematóides parasitos gastrintestinais nas pastagens, evitaria futuras contaminações nos animais que por ventura sejam introduzidos nesses locais.

O coeficiente de correlação entre o OPG dos animais e larvas infectantes recuperadas nas pastagens do grupo tratado com o fungo na distância de até 0-20 cm do bolo fecal foi de 0,85; e o coeficiente de correlação para distância de 20-40 cm foi de 0,88. Para os animais do grupo controle, o coeficiente de correlação entre o OPG e larvas infectantes recuperadas nas pastagens na distância de 0-20 cm do bolo fecal foi de 0,96 e para a distância entre 20-40 cm foi de 0,94. Esses resultados demonstraram que todas as correlações foram positivas e fortes, próximas de um, sendo muito significativas. Dias et al. (2007b) relataram que pode haver

dependência entre o OPG e larvas infectantes recuperadas das pastagens mesmo quando as correlações forem nulas. Contudo, no presente trabalho, fortes correlações entre o OPG e as larvas recuperadas das pastagens podem indicar que a contaminação ambiental foi um fator importante no aumento da carga parasitária dos animais ao longo do experimento.

A espécie *M. thaumasium* é considerada uma das mais promissoras no uso do controle biológico para o combate dos nematóides parasitos gastrintestinais de animais domésticos (Carvalho et al., 2009; Silva et al., 2009). Rodrigues et al. (1999) avaliaram a capacidade predatória de *M. thaumasium* sobre as larvas infectantes de ciatostomíneos *in vitro* e observaram 99% de redução no número de larvas. Silva et al., (2009) demonstraram que o fungo *M. thaumasium* em formulação peletizada de alginato de sódio na dose de 1g/10kg PV por via oral, duas vezes por semana foi eficaz no controle das nematodioses gastrintestinais de pequenos ruminantes na região tropical do sudeste brasileiro. Esse resultado está de acordo com o presente trabalho, no qual foi utilizada a mesma dose por via oral, em eqüídeos, no Brasil.

Em relação ao ganho de peso dos animais dos grupos tratado com o fungo e controle não foi observada diferença ($p>0,05$) entre os animais. Entretanto Braga et al. (2009) em trabalho a campo com eqüinos utilizando o fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* observaram diferenças significativas no ganho de peso entre os grupos tratado com o fungo e controle.

Os resultados do presente trabalho sugerem que o fungo nematófago *M. thaumasium* poderia ser utilizado em um programa integrado de combate aos ciatostomíneos de eqüinos na região sudeste do Brasil. Entretanto, seria interessante realizar um tratamento anti-helmíntico prévio para provocar a queda da carga parasitária presente nos animais e, por conseguinte no OPG e a partir disso fornecer o fungo na alimentação dos animais para controlar as formas larvais presentes no meio ambiente prevenindo, com isso, a reinfecção.

4.5 CONCLUSÃO

O fungo nematófago *M. thaumasium* é um agente biocontrolador promissor e o tratamento de eqüinos a campo com péletes contendo este fungo pode ser efetivo no controle de ciatostomíneos em região tropical do sudeste do Brasil.

4.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARANTE, A.F.T.; PADOVANI, C.R.; BARBOSA, M.A. Contaminação de larvas de nematóides gastrintestinais parasitos de bovinos e ovinos em Botucatu-SP. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.5, p.65-73, 1996.

ANJOS, D.H.S.; RODRIGUES, M. L. A. Diversity of the infracommunities of strongylid nematodes in the ventral colon of *Equus caballus* from Rio de Janeiro state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 136, p. 251-257, 2006.

ARAÚJO J.V., SAMPAIO, W.M.; VASCONCELOS, R.S.; CAMPOS, A.K.; Effects of different temperatures and mineral salt on pellets of *Monacrosporium thaumasium* - a nematode-trapping fungus. **Veterinarski Arhiv**, v. 80, p.181-190, 2000a.

ARAÚJO, J.V.; SAMPAIO, W.M. Effects of temperature, mineral salt and passage through gastrointestinal tract of calves on alginate formulation of *Arthrobotrys robusta*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.9, p. 55-59, 2000b.

ARAÚJO, J.V.; MOTA, M. A, CAMPOS, A.K. Controle biológico de helmintos parasitos de animais por fungos nematófagos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, p.165- 170, 2004a.

ARAÚJO, J.V.; GUIMARÃES, M.P.; CAMPOS, A.K.; SÁ, N.C. de; SARTI, P.; ASSIS, R.C.L. Control of bovine gastrintestinal nematode parasites using pellets of the nematode trapping fungus *Monacrosporium thaumasium*. **Ciência Rural**, v.34, p.457-463, 2004b.

ARAÚJO, J.V.; FREITAS, B.W.; VIEIRA, T.C., CAMPOS, A.K. Avaliação do fungo predador de nematóides *Duddingtonia flagrans* sobre larvas infectantes de *Haemonchus contortus* e *Strongyloides papillosus* de caprinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 15, p.76-79, 2006.

ARAÚJO, J.M.; ARAÚJO, J.V.; BRAGA, F.R.; CARVALHO, R.O.; SILVA, A.R.; CAMPOS, A.K. Interaction and ovicidal activity of nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* on *Taenia saginata* eggs. **Experimental Parasitology**, v. 121, p. 338–341, 2009.

ASSIS, R.C.L.; ARAÚJO J.V. Avaliação da viabilidade de duas espécies de fungos predadores do gênero *Monacrosporium* sobre ciatostomíneos após a passagem pelo trato gastrointestinal de eqüinos em formulação de alginato de sódio. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 12, p. 109-113, 2003.

AYRES, M.; AYRES, J.R.M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S. Aplicações estatísticas nas áreas de ciências biológicas. Belém: Sociedade civil mamirauá: Brasília CNPQ, 290pp, 2003.

BAUDENA, M.A., CHAPMAN, M.R., LARSEN, M., KLEI, R.R. Efficacy of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in reducing equine cyathostome larvae on pasture in south Louisiana. **Veterinary Parasitology**, v. 89, p. 219-230, 2000a.

BAUDENA, M.A., CHAPMAN, M.R., FRENCH, D.D., KLEI, R.R. Seasonal development and survival of equine cyathostome larvae on pasture in south Louisiana. **Veterinary Parasitology**, v. 88, p. 51-60, 2000b.

BEVILAQUA, C.M.L.; RODRIGUES, M.L.; COCORDET, D. Identification of infective larvae of some common Eqüinos strongylids of horses. **Revue of Médecine Veterinaire**, v. 144, p.989-995, 1993.

BEZERRA, S.Q., COUTO, M.C.M., SOUZA, T.M., BEVILAQUA, C.M.L., ANJOS, D.H.S., SAMPAIO, I.B.M., RODRIGUES, M.L.A. Cyathostominae (strongylidae-cyathostominae) horse parasites: experimental ecology of free living stages on pasture tifton 85 (*cynodon* spp. cv. tifton 85) in baixada fluminense, RJ, **Brazil. F v. Latinoameric.** v. 62, p. 27-34, 2007.

BIRD, J., HERD, R.P. In vitro assessment of two species of nematophagous fungi (*Arthrobotrys oligospora* and *Arthrobotrys flagrans*) to control the

development of infective cyathostome larvae from naturally infected horses. **Veterinary Parasitology**, v. 56, p. 181-187, 1985.

BRAGA, F.R.; ARAÚJO, J.V.; SILVA, A.R.; ARAUJO, J.M.; CARVALHO, R.O.; TAVELA, A.O.; CAMPOS, A.K.; CARVALHO, G.R. Biological control of horse cyathostomin (Nematoda: Cyathostominae) using the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in tropical southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 163, p. 335–340, 2009a.

BRAGA, F.R., CARVALHO, R.O., ARAUJO, J.M., SILVA, A.R., ARAÚJO, J.V., LIMA, W.S., TAVELA, A.O., FERREIRA, S.R. Predatory activity of the fungi *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium*, *Monacrosporium sinense* and *Arthrobotrys robusta* on *Angiostrongylus vasorum* first stage larvae. **Journal of Helminthology**, v. 83, p. 1–7, 2009b.

CARVALHO, R.O., SILVA, A.V.M., SANTOS, H.A.; COSTA, H.M.A. Nematodes Cyathostominae parasites of *Equus caballus* in the state of Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 7, p. 165-168, 1998.

CARVALHO, R.O.; ARAÚJO, J.V.; BRAGA, F.R.; FERREIRA, S.R.; ARAUJO, J.M.; SILVA, A.R.; FRASSY, L.N.; ALVES, C.D.F. Biological control of Ancylostomosis in dogs using the nematode-trapping fungus *Monacrosporium thaumasium* in southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 165 p. 179–183, 2009.

COUTO, M.C.M.; QUINELATO, S.; SOUZA, T.M.; SANTOS, C.M.; BEVILAQUA, C.M.L.; ANJOS, D.H.S; SAMPAIO, I.B.M.; RODRIGUES, M.L.A. Desenvolvimento e migração de larvas infectantes de ciatostomíneos (Nematoda: Cyathostominae) em gramínea coast cross (*Cynodon dactylon*) em clima tropical, na Baixada Fluminense, RJ, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 2, p. 31-37, 2009.

COUTTNEY, C.H. Seasonal transmission of equine cyathostomes in warm climates. **Veterinary Parasitology**, v. 85, p. 173-80, 1999.

DIAS, A.S.; ARAÚJO, J.V.; CAMPOS, A.K.; BRAGA, F.R.; FONSECA, T.A. Application of a formulation of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in the control of cattle gastrointestinal nematodioses. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.28, p.1000-1007, 2007a.

DIAS, A.S., ARAÚJO, J.V., CAMPOS, A.K., BRAGA, F.R., FONSECA, T.A., Relação entre larvas recuperadas da pastagem e contagem de ovos por grama de fezes (OPG) de nematóides gastrintestinais de bovinos na microrregião de Viçosa, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 16, p. 33-36, 2007b.

DUDDINGTON, C.L. Notes on the thecnique of handling predaceous fungi. **Transactions Brithish Mycology Society**, v. 38, p. 97-103, 1955.

FERNÁNDEZ, A.S., LARSEN, M., NANSEN, P., GRONVOLD, J., HENRIKSEN, S.A., WOLSTRUP, J. Effect of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* on the free-living stages of horse parasitic nematodes: a plot study. *Veterinary Parasitology*, v. 73, p. 257-266, 1997.

GORDON, H.M., WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the Council for Scientific Industrial Research**, v. 12, p. 50-52, 1939.

HASSLINGER, M.A., BITTNER, G. Zur saisondynamik gives larven von pferdestrongyliden und deren beziehung zoom infektiosrisiko auf weid. Zent. **Fur.Veterinary**, v. 31, p. 25-31, 1984.

LACKEY, B.A., MULDOON, A.E., JAFFE, B.A. Alginate pellet formulation of *Hirsutella rossiliensis* for biological control of plant-parasitic nematodes. **Biological Control**, v. 3, p. 155-160, 1993.

LANGROVÁ, I., JANKOVSKÁ, I., BOROVSÝ, M., FIALA, T. Effect of climatic influences on the migrations of infective larvae of Cyathostominae. **Veterinary Medicine**, v. 48, p. 18-24, 2003.

LIMA, W.S. **Dinâmica das populações de nematóides parasitos gastrintestinais em bovinos de corte, alguns aspectos da relação parasito-hospedeiro e do comportamento dos estádios de vida livre na região do Vale do Rio Doce, MG, Brasil.** 1989. 178 p. Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas-Gerais, Belo Horizonte, 1989.

MATTHEWS, J. B.; HODGKINSON, J. E.; DOWDALL, S. M. J.; PROUDMAN, C.J. Recent developments in research into the Cyathostominae and *Anoplocephala perfoliata*. **Veterinary Research**, v. 35, p. 371 – 381, 2004.

MELO, L.M.; BEVILAQUA, C.M.L.; ARAÚJO, J.V.; MELO, A.C.F.L. Atividade predatória do fungo *Monacrosporium thaumasium* contra o nematóide *Haemonchus contortus*, após passagem pelo trato gastrintestinal de caprinos. **Ciência Rural**, v.33, p.169-171, 2003.

MENDOZA-DE GIVES, P., DAVIES, K.G., CLARCK, S.J., BEHNKE, J.M. Predatory behaviour of trapping fungi against srf mutants of *Caenorhabditis elegans* and different plant and animal parasitic nematodes. **Parasitology**, v. 119, p. 95-104, 1999.

MOLENTO, M.B. Resistência parasitária em helmintos de eqüídeos e propostas de manejo. **Ciência Rural**, v.35, p.1469-1477, 2005.

QUINELATO, S., COUTO, M.C.M., RIBEIRO, B.C., SANTOS, C.N., SOUZA, L.S., ANJOS, D.H.S., SAMPAIO, I.B.M., RODRIGUES, L.M.A. The ecology of cyathostomin infective larvae (Nematoda-Cyathostominae) in tropical southeast Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 53, n. 6-7, p. 100-107, 2008.

REINEMEYER, C.R. Small strongyles – Recent advances. **Veterinary Clinics of North American: Equine Practice**, v.2, n.2 , p.281-312, 1986a.

REINEMEYER, C.R., HERD, R.P. Anatomic distribution of cyathostome larvae in the horse. **American Journal of Veterinary Research**, v. 47, p. 510-513, 1986b.

RODRIGUES, M.L.A.; CASTRO, A.A.; ANJOS, D.H.S.; ARAÚJO, M.M.; OLIVEIRA, C.R.C.; BITTENCOURT, V.R.E.P.; ARAÚJO, J.V. Avaliação da capacidade predatória de *Monacrosporium thaumasium* (NF 34A) sobre larvas infectantes de Cyathostominae (observações preliminares). In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11, 1999, Salvador. Anais... Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999. p. 164.

SANTOS, M., FERRAZ, S., MUCHOVEJ, J. Detection and ecology of nematophagous fungi from Brazil soils. **Nematologia Brasileira**, v. 15, p. 121-134, 1991.

SILVA, A.V.M., COSTA, H.M.A., SANTOS, H.A., CARVALHO, R.O., Cyathostominae (Nematoda) parasites of *Equus caballus* in some Brazilian states. **Veterinary Parasitology**, v. 86, p. 15-21, 1993.

SILVA, A.R.; ARAÚJO, J.V.; BRAGA, F.R.; FRASSY, L.M.; TAVELA, A.O.; CARVALHO R.O; CASTEJON, F.V. Biological control of sheep gastrointestinal nematodiasis in a tropical region of the southeast of Brazil with the nematode predatory fungi *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium*. **Parasitology Research**, v. 105, p. 1707-1713, 2009.

STROMBERG, B.E. Enviromental factors influencing transmission. **Veterinary Parasitology**, v. 72, p. 247-264, 1997.

WAGHORN, T.S., LEATHWICK, D.M., CHEN, L.Y., SKIPP, R.A.. Efficacy of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* against three species of

gastro-intestinal nematodes in laboratory faecal cultures from sheep and goats. **Veterinary Parasitology**, v. 118, p. 227-234, 2003.

WALKER, H.L., CONNICK, W.J. Sodium alginate for production and formulation of mycoherbicides. **Weed Science Journal**, v. 31, p. 333-338, 1983.

5. ANEXOS

Tabela 1: Valores mensais de peso (Kg) dos animais do grupo tratado pelo fungo*.

Animal	Peso (Kg)						
	Início	Jun/08	Jul/08	Ago/08	Set/08	Out/08	Nov/08
1	310	320	320	316	315	325	335
2	395	413	415	410	420	430	450
3	310	314	320	318	315	320	335
4	320	333	334	326	325	330	345
5	320	320	320	315	310	320	335
6	415	410	420	415	425	430	448
Média	345	351,67	354,83	350	351,67	359,17	374,67

*Ganho de peso médio por animal ao final do experimento (novembro) = 29,67.

Tabela 2: Valores mensais de peso (Kg) dos animais do grupo controle**.

Animal	Peso (Kg)						
	Início	Jun/08	Jul/08	Ago/08	Set/08	Out/08	Nov/08
7	340	360	360	350	355	360	365
8	320	341	354	345	350	360	362
9	435	450	430	430	420	425	430
10	380	400	400	390	395	398	410
11	280	308	315	315	310	315	325
12	315	347	351	345	345	345	360
Média	345	367,67	368,33	362,5	362,5	367,17	375,33

*Ganho de peso médio por animal ao final do experimento (novembro) = 30,33.

Grupo tratado: OPG x Recuperação de larvas da pastagem 0-20	
N (pares)	6
R (Pearson)	0.8482
IC 95%	0.12 a 0.98
IC 99%	-0.24 a 0.99
R ²	0.7194
t	3.2025
GL	4
(p)	0.0328
Poder 0.05	0.6983
Poder 0.01	0.4358

Figura 6: Análise estatística da correlação entre os valores mensais de OPG e de larvas de ciatostomíneos recuperadas do pasto onde o grupo tratado foi alojado na distância de até 20 cm do bolo fecal pelo método de Baermann. As análises foram realizadas com auxílio do Software Bioestat 5.0.

Grupo tratado: OPG x Recuperação de larvas da pastagem 20-40	
N (pares)	6
R (Pearson)	0.8773
IC 95%	0.23 a 0.99
IC 99%	-0.12 a 0.99
R ²	0.7697
t	3.6567
GL	4
(p)	0.0216
Poder 0.05	0.7635
Poder 0.01	0.5146

Figura 7: Análise estatística da correlação entre os valores mensais de OPG e de larvas de ciatostomíneos recuperadas do pasto onde o grupo tratado foi alojado na distância de 20 a 40 cm do bolo fecal pelo método de Baermann. As análises foram realizadas com auxílio do Software Bioestat 5.0.

Grupo controle: OPG x Recuperação de larvas da pastagem 0-20	
N (pares)	6
R (Pearson)	0.9567
IC 95%	0.65 a 1.00
IC 99%	0.39 a 1.00
R ²	0.9152
t	6.5704
GL	4
(p)	0.0028
Poder 0.05	0.9510
Poder 0.01	0.8349

Figura 8: Análise estatística da correlação entre os valores mensais de OPG e de larvas de ciatostomíneos recuperadas do pasto onde o grupo controle foi alojado na distância até 20 cm do bolo fecal pelo método de Baermann. As análises foram realizadas com auxílio do Software Bioestat 5.0.

Grupo controle: OPG x Recuperação de larvas da pastagem 20-40	
N (pares)	6
R (Pearson)	0.9442
IC 95%	0.57 a 0.99
IC 99%	0.28 a 1.00
R ²	0.8915
t	5.7331
GL	4
(p)	0.0046
Poder 0.05	0.9236
Poder 0.01	0.7731

Figura 9: Análise estatística da correlação entre os valores mensais de OPG e de larvas de ciatostomíneos recuperadas do pasto onde o grupo controle foi alojado na distância até 20 cm do bolo fecal pelo método de Baermann. As análises foram realizadas com auxílio do Software Bioestat 5.0.