

JULIANA MILANI ARAUJO

**AÇÃO IN VITRO DOS FUNGOS DAS ESPÉCIES *Duddingtonia flagrans*,
Monacrosporium thaumasium, *Pochonia chlamydosporia* (syn.
Verticillium chlamydosporium) E *Paecilomyces lilacinus* SOBRE
CÁPSULAS OVÍGERAS DE *Dipylidium caninum* E OVOS DE *Taenia*
saginata.**

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*.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2008**

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

A663a
2008

Araujo, Juliana Milani, 1983-
Ação *in vitro* dos fungos das espécies *Duddingtonia flagrans*,
Monacrosporium thaumasium,
Pochonia chlamydosporia (syn. *Verticillium chlamydosporium*)
e *Paecilomyces lilacinus* sobre cápsulas ovíferas de
Dipylidium caninum e ovos de *Taenia saginata* / Juliana Milani
Araujo. – Viçosa, MG, 2008.
xiv, 59f.: il. (algumas col.) ; 29cm.

Inclui anexo.

Orientador: Jackson Victor de Araújo.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 39-48.

1. *Taenia saginata* - Controle biológico.
2. *Dipylidium caninum* - Controle biológico.
3. Fungos nematófagos. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 592.46

JULIANA MILANI ARAUJO

**AÇÃO IN VITRO DOS FUNGOS DAS ESPÉCIES *Duddingtonia flagrans*,
Monacrosporium thaumasium, *Pochonia chlamydosporia* (syn.
Verticillium chlamydosporium) E *Paecilomyces lilacinus* SOBRE
CÁPSULAS OVÍGERAS DE *Dipylidium caninum* E OVOS DE *Taenia*
saginata.**

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: 09 de Julho de 2008.

Prof. Laércio dos Anjos Benjamin
(Co-orientador)

Prof. Artur Kanadani Campos
(Co-orientador)

Prof. Marcos Pezzi Guimarães

Prof. Walter dos Santos Lima

Prof. Jackson Victor de Araújo
(Orientador)

***A Deus,
por mais esta etapa vencida,
e aos meus Pais,
por tantas vezes sacrificarem seus sonhos
para que eu pudesse realizar os meus.***

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por mais uma etapa vencida e por não me abandonar em momento algum da minha jornada, mesmo que eu, às vezes, tenha me esquecido Dele.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade e acolhimento, contribuindo de forma satisfatória para meu crescimento profissional e pessoal.

Aos meus pais Otacílio e Ana, pelo amor a mim dedicado, pelo incentivo na conquista desse sonho e pela força cedida, me fazendo acreditar que eu conseguiria chegar a mais este objetivo. E mesmo longe, separados pela distância, se faziam presentes em cada momento importante, a cada vitória conquistada. Pela paciência, quando às vezes eu me ausentava, e pela compreensão quando o mundo parecia desabar.

Aos meus irmãos Marcelo e Dayane, pelo carinho e amizade. Por acreditarem em mim mesmo quando eu parecia não crer. Por se tornarem mais amigos quando a distância nos separou.

Ao meu namorado Léo, pelo amor, amizade, compreensão, carinho, e por estar ao meu lado em todos os momentos, mesmo quando eu imaginei que não estivesse. Pelo apoio constante, não me deixando desistir de algo tão importante para mim.

Aos eternos amigos-irmãos Fabio e Cilene. Ao Fabio, pois sem ele talvez meu mestrado não tivesse razão de ser. Pela amizade incondicional dedicada, por me suportar nas vezes que eu estava de mau-humor, por me fazer ver que devemos lutar pelos nossos objetivos ainda que estes sejam grãos de areia no infinito. E à Cilene, pela amizade e confiança, pela simpatia e determinação, pelo carinho e pela força, quando às vezes a estrada parecia comprida demais.

Ao grande amigo Carlos, pois se pode dizer que foi um dos mentores para que eu desse início a esse caminho que estou percorrendo. Por sempre se preocupar com minha pessoa, pela amizade que foi se tornando cada vez mais sólida com o passar do tempo, pelo carinho, pelo incentivo e por ser meu amigo.

Às amigas Jú e Thaís, juntamente com Carlos por me abrigarem em sua casa até que eu encontrasse um lugar para morar, não me deixando desistir desse sonho, quando no começo tudo parecia muito distante do real.

Aos meus amigos (irmãos) Majú e Léo, pelo carinho, pelas risadas, pelas piadas, pelos momentos bons e momentos difíceis divididos. Por me apoiarem sempre em tudo que eu precisava. Por serem amigos, confidentes, irmãos. Uma nova família que conquistei e da qual tenho muito orgulho.

Aos meus amigos que mesmo longe, torceram pela minha vitória: Jamile, Lú, Luiza Helena, José Fernando, Júnior, Michele, Dany, Leidy, Cássia, Pedrito, Marinho, Pequeno, Zé, Nanado, Sérgio, Nega, Rê, Má, enfim... todos que estão sempre no meu coração.

Aos amigos que conquistei nessa jornada, Adriana, Léo Calado, André, Rogério, Paulo, Lucas, Luciane, Kyvia, Luiza, Leandro, Diego, Jú, João Paulo, Jaime, e outros que no momento me falta a memória. Meu muito obrigado pela ajuda, colaboração e amizade.

Ao meu orientador Jackson, pela confiança, pela oportunidade, pela orientação, pelo carinho e paciência nas vezes que eu chegava desanimada, carregando o mundo nas costas e, principalmente, por ter acreditado no meu potencial, pois sem ele seria impossível realizar meu sonho.

Aos professores Joaquim Patarroyo, Marlene, Sérgio da Matta, pois através de suas aulas pude perceber quanto eu podia ir longe e arriscar mais.

Aos co-orientadores, Artur e Laércio, pela ajuda e atenção para com meu trabalho, principalmente no término desta etapa.

Aos técnicos de laboratório, José Geraldo (Tuim) e Ademir, pela amizade e pela ajuda incondicional. Pela seriedade do Tuim para com seu trabalho e ao carisma do Ademir.

À secretária Rosinéia, nossa famosa Rosinha, pela simpatia constante, pelo sorriso meigo e pela paciência por tantas e tantas vezes eu tê-la incomodado com minhas dúvidas.

À querida Isabel (Belzinha), pela simpatia que transborda aos olhos, pelo carisma, e pela paciência quando eu a incomodava.

Aos demais funcionários do Departamento de Veterinária, que de alguma forma contribuíram para o meu crescimento profissional.

BIOGRAFIA

JULIANA MILANI ARAUJO, filha de Otacílio da Costa Araújo e Ana Maria Milani Araújo, nasceu em Muriaé – Minas Gerais, em 05 de Dezembro de 1983.

Em Dezembro de 2005 graduou-se em Ciências Biológicas pela Fic – Faculdades Integradas de Cataguases, em Cataguases – Minas Gerais.

Em Março de 2007, iniciou o curso de Mestrado em Medicina Veterinária pelo Departamento de Veterinária (DVT) da Universidade Federal de Viçosa (UFV) – Minas Gerais, submetendo-se à defesa de dissertação em Julho de 2008.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	x
RESUMO	xi
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Helmintos.....	3
2.2 Cestodas.....	3
2.2.1 <i>Taenia saginata</i> – complexo teníase/cisticercose.....	4
2.2.2 <i>Dipylidium caninum</i>	8
2.3 Fungos nematófagos.....	11
2.3.1 <i>Monacrosporium thaumasium</i>	14
2.3.2 <i>Duddingtonia flagrans</i>	15
2.3.3 <i>Pochonia chlamydosporia</i>	16
2.3.4 <i>Paecilomyces lilacinus</i>	17
2.4 Controle biológico	19
3. OBJETIVOS.....	22
3.1 Objetivo geral.....	22
3.2 Objetivos específicos	22
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
4.1 Obtenção dos isolados fúngicos.....	23
4.2 Obtenção dos ovos de <i>Taenia saginata</i>	23
4.3 Obtenção dos ovos de <i>Dipylidium caninum</i>	23
4.4 Ensaio experimentais.....	23
4.4.1 Ensaio experimental 1.....	23
4.4.1.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	25
4.4.2 Ensaio experimental 2.....	25
4.5 Análises estatísticas.....	26
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.. ..	27
5.1 Ensaio experimental 1.....	27
5.2 Ensaio experimental 2.....	32
6. CONCLUSÕES.....	38
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39
8. ANEXO.....	49
8. Figuras.....	49

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Hifas e clamidósporo de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e ovo de <i>Taenia saginata</i> (seta preta) demonstrando o efeito do tipo 1.	Página 49
Figura 2:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e ovo de <i>Taenia saginata</i> (seta preta) demonstrando o efeito do tipo 1..	Página 49
Figura 3:	Hifas e clamidósporo de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e ovo de <i>Taenia saginata</i> (seta preta) demonstrando o efeito do tipo 1.	Página 49
Figura 4:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e ovos de <i>Taenia saginata</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 2.	Página 50
Figura 5:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e ovos de <i>Taenia saginata</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 2.	Página 50
Figura 6:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e ovos de <i>Taenia saginata</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 2.	Página 50
Figura 7:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e ovos de <i>Taenia saginata</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 2.	Página 50
Figura 8:	Hifas e clamidósporo de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e ovos de <i>Taenia saginata</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 2.	Página 50
Figura 9:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e ovos de <i>Taenia saginata</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 2.	Página 50
Figura 10:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e ovos de <i>Taenia saginata</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 2.	Página 51
Figura 11:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e ovos de <i>Taenia saginata</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 2.	Página 51
Figura 12:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e ovos de <i>Taenia saginata</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3.	Página 51
Figura 13:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e ovos de <i>Taenia saginata</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3.	Página 51
Figura 14:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e ovos de <i>Taenia saginata</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3.	Página 51
Figura 15:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e ovos de <i>Taenia saginata</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3.	Página 51
Figura 16:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e ovos de <i>Taenia saginata</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3.	Página 52
Figura 17:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e ovos de <i>Taenia saginata</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3.	Página 52
Figura 18:	Hifas e clamidósporo de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e ovos de <i>Taenia saginata</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3.	Página 52

Figura 19:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e ovos de <i>Taenia saginata</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3.	Página 52
Figura 20:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e ovos de <i>Taenia saginata</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3.	Página 52
Figura 21:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e ovos de <i>Taenia saginata</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3.	Página 52
Figura 22:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e ovos de <i>Taenia saginata</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3.	Página 53
Figura 23:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e ovos de <i>Taenia saginata</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3.	Página 53
Figura 24:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e ovos de <i>Taenia saginata</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3.	Página 53
Figura 25:	Ovos de <i>Taenia saginata</i> (seta preta), sem fungo (controle).	Página 54
Figura 26:	Ovos de <i>Taenia saginata</i> (seta preta), sem fungo (controle).	Página 54
Figura 27:	Ovos de <i>Taenia saginata</i> (seta preta), sem fungo (controle).	Página 54
Figura 28:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e cápsulas ovíferas de <i>Dipylidium caninum</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 1.	Página 55
Figura 29:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e cápsulas ovíferas de <i>Dipylidium caninum</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 1.	Página 55
Figura 30:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e cápsulas ovíferas de <i>Dipylidium caninum</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 1.	Página 55
Figura 31:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e cápsulas ovíferas de <i>Dipylidium caninum</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 1.	Página 55
Figura 32:	Hifas e clamidósporo de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e cápsulas ovíferas de <i>Dipylidium caninum</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 2.	Página 56
Figura 33:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e cápsulas ovíferas de <i>Dipylidium caninum</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 2.	Página 56
Figura 34:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e cápsulas ovíferas de <i>Dipylidium caninum</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 2.	Página 56
Figura 35:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e cápsulas ovíferas de <i>Dipylidium caninum</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 2.	Página 56
Figura 36:	Hifas e clamidósporos de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e cápsulas ovíferas de <i>Dipylidium caninum</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 2.	Página 56

Figura 37:	Hifas e clamidósporo de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e cápsulas ovíferas de <i>Dipylidium caninum</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 2.	Página 56
Figura 38:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e cápsulas ovíferas de <i>Dipylidium caninum</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3.	Página 57
Figura 39:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e cápsulas ovíferas de <i>Dipylidium caninum</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3.	Página 57
Figura 40:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e cápsulas ovíferas de <i>Dipylidium caninum</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3.	Página 57
Figura 41:	Hifas de <i>Pochonia chlamydosporia</i> (seta branca) e cápsulas ovíferas de <i>Dipylidium caninum</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3.	Página 57
Figura 42:	Cápsulas ovíferas de <i>Dipylidium caninum</i> (seta preta), sem fungo (controle).	Página 57
Figura 43:	Cápsulas ovíferas de <i>Dipylidium caninum</i> (seta preta), sem fungo (controle).	Página 57
Figura 44:	Hifas de <i>Paecilomyces lilacinus</i> (seta branca) e cápsulas ovíferas de <i>Dipylidium caninum</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 1.	Página 58
Figura 45:	Hifas de <i>Paecilomyces lilacinus</i> (seta branca) e cápsulas ovíferas de <i>Dipylidium caninum</i> (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 2.	Página 58
Figura 46:	Cápsulas ovíferas de <i>Dipylidium caninum</i> rompidas (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3.	Página 59
Figura 47:	Cápsulas ovíferas de <i>Dipylidium caninum</i> rompidas (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3.	Página 59
Figura 48:	Cápsulas ovíferas de <i>Dipylidium caninum</i> rompidas (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3.	Página 59
Figura 49:	Cápsulas ovíferas de <i>Dipylidium caninum</i> rompidas (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3.	Página 59

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Percentuais e desvios-padrão da atividade ovicida (Efeitos do tipo 1, 2 e 3) dos fungos nematófagos, *Duddingtonia flagrans* (AC001), *Monacrosporium thaumasium* (NF34) *Pochonia chlamydosporia* (VC1 e VC4), *Paecilomyces lilacinus* e o grupo controle sem fungos, sobre ovos de *Taenia saginata* aos cinco, 10 e 15 dias de interação. **Página 28**
- Tabela 2:** Percentuais e desvios-padrão da atividade ovicida (Efeitos do tipo 1, 2 e 3) dos fungos nematófagos, *Duddingtonia flagrans* (AC001), *Monacrosporium thaumasium* (NF34) *Pochonia chlamydosporia* (VC1 e VC4), *Paecilomyces lilacinus* e o grupo controle sem fungos, sobre ovos de *Dipylidium caninum* aos cinco, 10 e 15 dias de interação. **Página 34**

RESUMO

ARAUJO, Juliana Milani, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Julho de 2008. **Ação *in vitro* dos fungos das espécies *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium*, *Pochonia chlamydosporia* (syn. *Verticillium chlamydosporium*) e *Paecilomyces lilacinus* sobre cápsulas ovíferas de *Dipylidium caninum* e ovos de *Taenia saginata*.** Orientador: Jackson Victor de Araújo. Co-orientadores: Artur Kanadani Campos e Laércio dos Anjos Benjamin.

Com o objetivo de avaliar a ação *in vitro* dos fungos nematófagos *Pochonia chlamydosporia* (VC1 e VC4), *Paecilomyces lilacinus*, *Duddingtonia flagrans* (AC001) e *Monacrosporium thaumasium* (NF34), sobre ovos de *Taenia saginata* e cápsulas ovíferas de *Dipylidium caninum*, foram utilizados cento e cinqüenta mil ovos de *T. saginata* (ensaio experimental 1) e cento e cinqüenta mil cápsulas ovíferas de *D. caninum* (ensaio experimental 2). Esses ovos foram vertidos em placas de Petri contendo os isolados fúngicos e sem fungo (controle), em meio ágar-água 2% (AA2%), onde cresceram por 10 dias, sendo feitas 25 repetições para cada grupo. Nos intervalos de cinco, 10 e 15 dias, cerca de cem ovos foram retirados de cada placa e colocados em lâminas de vidro com uma gota de azul de Amam 1%, para serem avaliados de acordo com os seguintes parâmetros: efeito do tipo 1: efeito fisiológico e bioquímico sem prejuízo morfológico à casca, onde são visualizadas as hifas aderidas à casca do ovo; efeito do tipo 2: efeito lítico com alteração morfológica da casca e embrião; e efeito do tipo 3: efeito lítico com alteração morfológica do embrião e da casca, além de penetração de hifas e colonização interna do ovo. No ensaio experimental 1, os isolados fúngicos *P. chlamydosporia* (VC1 e VC4) e *P. lilacinus*, apresentaram atividade ovicida para todos os efeitos dos tipos 1, 2 e 3 sobre ovos de *T. saginata*, enquanto os isolados fúngicos *D. flagrans* (AC001) e *M. thaumasium* (NF34), só apresentaram efeito do tipo 1. No ensaio experimental 2, os isolados fúngicos *D. flagrans* (AC001) e *M. thaumasium* (NF34), também só apresentaram efeito do tipo 1, para todos os intervalos analisados. Já os isolados fúngicos do fungo *P. chlamydosporia* (VC1 e VC4) e *P. lilacinus*, apresentaram efeitos do tipo 1, 2 e 3 nos intervalos de cinco, 10 e

15 dias. Ao final dos ensaios experimentais 1 e 2, ficou demonstrado que os isolados *P. chlamydosporia* (VC1 e VC4) e *P. lilacinus*, agiram de forma negativa sobre ovos de *T. saginata* e cápsulas ovíferas de *D. caninum*, e desta forma, podem ser considerados candidatos promissores no controle biológico desses helmintos.

ABSTRACT

ARAUJO, Juliana Milani, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2008. ***In vitro* action of the fungi *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium*, *Pochonia chlamydosporia* (syn. *Verticillium chlamydosporium*) and *Paecilomyces lilacinus* on eggs capsules of *Dipylidium caninum* and eggs of *Taenia saginata*.** Adviser: Jackson Victor de Araújo. Co-advisers: Artur Kanadani Campos and Laércio dos Anjos Benjamin.

The *in vitro* action of the nematophagous fungi *Pochonia chlamydosporia* (VC1 and VC4), *Paecilomyces lilacinus*, *Duddingtonia flagrans* (AC001) and *Monacrosporium thaumasium* (NF34), on eggs of *Taenia saginata* and capsules eggs of *Dipylidium caninum* was evaluated. A hundred fifty thousand eggs of *T. saginata* (experimental assay 1) and a hundred fifty thousand eggs capsules of *D. caninum* (experimental assay 2) were used. These eggs were maintained in plates of Petri containing the isolated fungi and without fungi (controls), in medium water-agar 2% (AA2%), where they grew for 10 days, being made 25 repetitions for each group. In of five, 10 and 15 days, about a hundred eggs were removed of each plate and placed in glass sheets with a drop of Amam blue 1%, and evaluated in agreement with the following parameters: type 1, physiologic and biochemical effect without morphological damage to the eggshell, with hyphae adhered to the eggshell; type 2, lytic effect with morphological change of the embryo and eggshell, without hyphal penetration through eggshell; and type 3, lytic effect with morphological change of the embryo and eggshell, besides hyphal penetration and internal egg colonization. In the experimental assay 1, the isolated fungi *P. chlamydosporia* (VC1 and VC4) and *P. lilacinus* presented ovicidal activity for the effects of the types 1, 2 and 3 on eggs of *T. saginata*, while the isolated fungi *D. flagrans* (AC001) and *M. thaumasium* (NF34) only presented effect of the type 1. In the experimental assay 2, the isolated fungi *D. flagrans* (AC001) and *M. thaumasium* (NF34) only presented effect of the type 1 for all the analyzed intervals. The isolated fungi of the *P. chlamydosporia* (VC1 and VC4) and *P. lilacinus*, presented effects of the type 1, 2 and 3 in the intervals of five, 10 and 15 days. At the end of the

experiments 1 and 2, was demonstrated that the isolated *P. chlamydosporia* (VC1 and VC4) and *P. lilacinus* acted in a negative effect on eggs of *T. saginata* and capsules eggs of *D. caninum*, and the effect can be considered promising candidates in the biological control of those helminths.

1. INTRODUÇÃO

As zoonoses são doenças naturalmente transmissíveis entre os animais e os seres humanos onde, na sua maioria, estão relacionadas ao modo de agir inadequado no meio ambiente, passando a acometer a população humana e populações animais, em especial, os animais domésticos (REICHMANN et al., 2000). Atualmente, são conhecidas cerca de 100 zoonoses, e algumas delas possuem parte do seu ciclo biológico ocorrendo no ambiente, como é o caso da infecção causada pelo *Dipylidium caninum* e o complexo teníase / cisticercose causado pela *Taenia* sp. (NASCIMENTO, 2000).

O complexo teníase / cisticercose, caracterizado como uma zoonose de grande importância para a saúde pública em diversos países do mundo (JARDIM et al., 2006), ocorre sob duas formas: a teníase que infecta apenas o ser humano e ocorre no final do ciclo biológico do parasito, e a cisticercose que pode infectar bovinos, suínos e seres humanos. Nos bovinos, o agente etiológico da cisticercose é a *Taenia saginata* (DIAS et al., 1991; PFUETZENREITER & ÁVILA-PIRES, 2000), sendo de grande interesse veterinário e econômico, pois o valor da carne contaminada é reduzido e muitas vezes podem ser impróprias para o consumo humano (FERRER et al., 2003). Segundo Lateef et al. (2007) em todo o mundo, aproximadamente 45 milhões de pessoas sofrem de teníase.

Outro cestóide também considerado zoonótico é o *Dipylidium caninum*, um parasito do intestino delgado de canídeos e felídeos e outros carnívoros, sendo um endoparasito muito comum no Brasil, podendo ocasionalmente afetar o homem, causando a dipilidiose (MIQUEL et al., 1998).

Portanto, o papel de cães e gatos como animais de companhia, embora tragam benefícios para muitas pessoas também representam um risco potencial para a saúde, pois estes animais podem ser um transmissor de infecções parasitárias, direta ou indiretamente (MARTÍNEZ-MORENO et al., 2007).

Tanto para *T. saginata* como *D. caninum*, o principal fator envolvido na transmissão é o ambiente, uma vez que os ovos eliminados pelo hospedeiro definitivo vão contaminar o solo, a água e os alimentos. Portanto, faz-se necessário o desenvolvimento de um programa de sanidade animal para

controlar enfermidades que oferecem riscos a saúde do ser humano e dos animais (PEREIRA et al., 2006).

Estudos sobre os processos naturais de destruição dos ovos de helmintos ainda se encontram em etapas iniciais, mas representam uma alternativa interessante que, utilizada em combinação com outras medidas profiláticas poderá contribuir para o controle de espécies de importância epidemiológica (LYSEK et al., 1982).

Atualmente, pesquisadores de todo mundo têm buscado medidas alternativas para o controle de endoparasitoses de animais domésticos, visando assim a diminuição do emprego de quimioterápicos e, conseqüentemente, a redução dos níveis de poluentes no ambiente e nos produtos de origem animal (MOTA et al., 2003).

O controle biológico realizado com fungos nematófagos é uma alternativa promissora que tem por finalidade o sinergismo com o controle químico (BRAGA et al., 2007). Na prática, o controle biológico não atua sobre estágios internos do parasito. Os fungos nematófagos atuam sobre os hospedeiros intermediários, paratênico, vetores e estágios larvais de vida livre diminuindo assim, a fonte de infecção aos hospedeiros finais, além de causar menos efeitos negativos no ambiente que os métodos químicos (ARAÚJO et al., 2004a). Esses fungos são antagonistas naturais de nematóides, capazes de promover a captura, a morte ou mesmo a destruição desses organismos (BRAGA et al., 2007).

Desta forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar a ação *in vitro* dos isolados fúngicos *Pochonia chlamydosporia*, *Paecilomyces lilacinus*, *Duddingtonia flagrans* e *Monacrosporium thaumasium*, sobre ovos de *Taenia saginata* e *Dipylidium caninum*, buscando dessa forma, encontrar medidas alternativas que sejam eficazes no controle dessas zoonoses.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Helmintos

Os helmintos constituem um grupo bastante numeroso, composto de três filós: Platyhelminthes, Aschelminthes e Acanthocephala, incluindo espécies de vida livre e espécies parasitas (COSTA, 2000).

A ocorrência desses organismos em seres humanos é muito comum. Os filós de grande importância em termos zoonóticos englobam os Platyhelminthes, do qual interessa as classes Trematoda e Cestoda, e o filo Aschelminthes, do qual interessa a classe Nematoda, pois afetam o ser humano e os animais (COSTA, 2000).

2.2 Classe Cestoidea

A classe Cestoda possui duas subclasses: Cestodaria e Eucestoda, essa última possuindo várias ordens, sendo de importância médico-veterinária as ordens, Pseudophyllidea (onde se encontra a família Diphyllobotriidae) e Cyclophyllidea (com as famílias Teniidae, Dilepididae, Hymenolepididae e Davaineidae, Anoplocephalidae) (REY, 2001; COSTA, 2000).

Os cestódeos são endoparasitos, geralmente achatados dorso-ventralmente, com o corpo em forma de fita seguida de várias depressões transversais que o divide em segmentos, ausência de tubo digestivo, hermafroditas, desprovidos de cavidade geral, os órgãos de fixação localizados na porção anterior apresentando três regiões distintas: escólex, região mais anterior; colo ou pescoço segunda região, que suporta o escólex, e sendo o elemento de ligação com a terceira região, o estróbilo (FREITAS, 1980; COSTA, 2000). Variam muito de tamanho, encontrando-se desde os que medem apenas alguns milímetros de comprimento, até os que podem ultrapassar os 10 metros (REY, 2001).

2.2.1 *Taenia saginata* – complexo teníase/cisticercose

De acordo com Nascimento (2000), várias espécies de tênias causam problemas à saúde humana, sendo também responsáveis por perdas econômicas na atividade agropecuária. A teníase é uma parasitose intestinal humana causada pela presença do verme adulto *Taenia saginata* (Goeze, 1782) ou *Taenia solium* (Lineu, 1758) adquirida através da ingestão de carne crua ou mal-cozida, (PFUETZENREITER & ÁVILA-PIRES, 2000) causando também a cisticercose bovina pela *T. saginata* e suína pela *T. solium*, podendo causar também cisticercose humana pela ingestão de ovos de *T. solium*. O gênero *Taenia* pertence à família Taenidae, à classe Cestoidea e à ordem Cyclophyllidea (REY, 2001).

As tênias são vermes achatados, em forma de fita, segmentados e de cor branca. São constituídas de cabeça, (também chamada de rostro ou escólex), colo ou pescoço e estróbilo ou corpo que é composto de uma cadeia de segmentos chamados de anéis ou proglotes. O homem é o único hospedeiro definitivo de ambas as tênias, que se alojam no intestino delgado, enquanto que os hospedeiros intermediários são os bovinos para *T. saginata* e os suínos para *T. solium*, podendo o homem agir como hospedeiro intermediário para a *T. solium*, ao ingerir água ou alimentos contaminados por ovos, adquirindo a cisticercose humana (NASCIMENTO, 2000; REY, 2001; SASAKI & BRIOSCHI, 2004; SILVA, 2005). Existem, portanto, três fases com relação à população de parasitas: parasito adulto no hospedeiro definitivo, ovos no ambiente e cisticercos (fase larval) no hospedeiro intermediário (PFUETZENREITER & ÁVILA-PIRES, 2000).

Os ovos de ambas as tênias (*T. saginata* e *T. solium*) são esféricos, indistinguíveis, medindo cerca de 30µm de diâmetro e constituídos por uma casca protetora, o embrióforo, sendo formado por blocos piramidais de quitina unidos entre si por uma substância resistente ao ambiente (provavelmente protéica), e no interior encontra-se o embrião (oncosfera) provido de três pares de acúleos e dupla membrana (SILVA, 2005). Quando os ovos são ingeridos pelo hospedeiro intermediário, no caso o bovino, ocorre a eclosão e ativação do embrião pela ação dos sucos digestivos e da bile. Conseqüentemente, a oncosfera penetra na mucosa intestinal, chega à circulação sanguínea e, posteriormente irá desenvolver em cisticercos principalmente no tecido

conjuntivo dos músculos cardíacos e esqueléticos (REY, 1992 e 2001; SASAKI & BRIOSCHI, 2004; SILVA, 2005). O homem adquire teníase ao ingerir carne contaminada crua ou mal cozida contendo cisticercos, que são liberados durante a digestão da carne, fixando no intestino delgado após o escólex desinvaginar sob a ação da bile (REY, 1992; PFUETZENREITER & ÁVILA-PIRES, 2000). A teníase é frequentemente assintomática, onde o indivíduo se torna consciente do parasitismo apenas depois de ter ele mesmo constatado a expulsão de proglotes. Em alguns casos mais típicos, surgem algumas perturbações gastrintestinais como dores abdominais e náuseas, podendo ocorrer também outras manifestações clínicas como vertigens, diarréia e prurido anal (REY, 2001).

Os ovos podem permanecer viáveis por períodos de aproximadamente de 4 a 12 meses (PFUETZENREITER & ÁVILA-PIRES, 2000), dependendo das condições ambientais que favorecem maior sobrevivência, como temperaturas amenas (entre 24 a 30°C) e umidade. Reiff (1994) mencionou ainda que os ovos são resistentes ao tratamento convencional de esgotos como coagulação, desinfecção (cloração) e decantação, favorecendo dessa forma maior sobrevida e infectividade desses parasitos.

Fatores econômicos, culturais e religiosos tendem a expor certos grupos de indivíduos em maior ou menor grau, juntamente com hábitos pouco higiênicos das pessoas defecarem diretamente no ambiente, ou sanitários pela ausência de fossas, muitas instaladas sobre córregos e rios, contaminando o ambiente, e assim contribuindo para agravar o problema. A dispersão dos ovos ainda pode ocorrer através do vento, aves, anelídeos e artrópodes (PFUETZENREITER & ÁVILA-PIRES, 2000).

A teníase não é apenas um problema de saúde pública, mas também um problema econômico importante em áreas endêmicas, principalmente em países subdesenvolvidos (LATEEF et al., 2007). O complexo teníase / cisticercose causado por *T. saginata* apresenta distribuição cosmopolita, estando amplamente ligada à maioria dos países onde se tem criação bovina (DORNY et al., 2000; PEREIRA et al., 2006).

A bovinocultura brasileira apresenta um cenário de maior rebanho comercial do mundo, possuindo todas as condições para o setor das indústrias

de carne e derivados alcançarem maior participação no mercado internacional (PEREIRA et al., 2006).

No estado de São Paulo, Ungar & Germano (1992), estudaram a prevalência da cisticercose de bovinos, num período de Janeiro a Dezembro de 1986, em 572 municípios com um total de abate de 896.654 animais e verificaram uma prevalência de 5,46% bovinos registrados com cisticercose.

Estado do Paraná, Souza et al. (2007) estudaram a prevalência da cisticercose bovina num período de Julho a Dezembro de 2000, em um frigorífico inspecionado pelo SIF (Serviço de Inspeção Federal), localizado na região metropolitana de Curitiba, no município de São José dos Pinhais, onde foram inspecionados 26.465 bovinos. Os animais procediam de 137 municípios do Estado do Paraná. A avaliação desses animais permitiu identificar 1.014 animais positivos, apresentando uma ocorrência de 3,83% animais com cisticercose.

Ainda no Paraná, Falavigna-Guilherme et al. (2006) realizaram um estudo durante o período de Janeiro a Dezembro de 2004, no abatedouro de Sabáudia, onde foram encontrados 9,3% de bovinos infectados.

Pereira et al. (2006), determinaram a prevalência da cisticercose bovina, sob inspeção federal, no estado do Rio de Janeiro, no período de 1999 a 2003, em 38 municípios, onde 494.620 animais foram abatidos sendo encontrados 1,95% destes animais infectados.

No estado da Bahia, município de Jequié, Santos et al. (2008), verificaram a prevalência da cisticercose bovina em 142.579 animais abatidos num período de Agosto de 2004 a Julho de 2006 em um matadouro-frigorífico, que possui Serviço de Inspeção Federal.

No município de Minas Gerais, em Uberaba, Esteves et al. (2005) realizaram um inquérito epidemiológico na população que faz parte do grupo Programa Saúde da Família, onde um total de 100.144 pessoas fizeram parte da pesquisa registrando 0,2% de indivíduos com teníase.

Silva & Silva (2007) realizaram um estudo no município de Correia Pinto, no Estado de Santa Catarina, num período de Dezembro de 2003 e janeiro de 2004, onde participaram deste estudo, 628 pessoas, onde foi observada a ocorrência de 2,5% dessas pessoas portadoras de teníase.

A prevalência da cisticercose bovina provém de dados dos serviços de inspeção veterinária em matadouros e frigoríficos. No Brasil esses serviços deveriam funcionar em todos os matadouros e frigoríficos à recomendação da Divisão de Inspeção de Carnes de Brasília e que, todavia até o momento ainda não concretizou essa realidade. As carcaças ou órgãos parasitados podem ter destinos variados, dependendo do grau de infecção, seguindo a salga, conserva (enlatados), congelamento ou perda total da carcaça, causando graves prejuízos a quem cria, recria e/ou engorda o gado para abate. O preço da carcaça estaria em torno de R\$ 850,00 a R\$ 1.000,00 e os prejuízos são estimados em casos de cisticercose viva numa queda de até 30% no preço do bovino abatido (DIAS et al., 1991; PEREIRA et al., 2006).

De acordo com Pereira et al. (2006), no Brasil é difícil quantificar os valores decorrentes dessa perda com precisão, devido ao fato dos estudos a este respeito serem esporádicos e não atualizados e poucos são os Estados na federação que conhecem a taxa de prevalência de cisticercose bovina no seu rebanho.

Outro problema a ser considerado é o abate clandestino, que atinge elevados percentuais, acarretando sério problema à saúde pública e graves danos à indústria. Muitos casos positivos, mesmo no serviço de inspeção, podem passar despercebidos, principalmente onde a infecção é moderada. Há também restrições, em termos comerciais, pois não é permitida incisões em carnes nobres, isto depreciaria seu valor de mercado, mas não excluiria a possibilidade de se encontrarem infectadas, expondo o consumidor ao risco (PEREIRA et al., 2006).

A ocorrência da cisticercose pode ser representada como duplo indicador: a situação da inspeção sanitária e a ocorrência da teníase humana, pois os animais se infectam com os ovos de *Taenia* sp. que são originários das fezes do homem, o hospedeiro definitivo (PEREIRA et al., 2006).

De acordo com Silva (2005), a prevalência do complexo teníase / cisticercose é subestimada em virtude de vários fatores que dificultam o diagnóstico humano e animal. Nos seres humanos, a pesquisa por teníase pode ser feita por métodos rotineiros parasitológicos como sedimentação, Willis, Faust, ou pelo método de fita gomada, mas para um diagnóstico mais específico, há necessidade de se fazer a tamização (lavagem em peneira fina),

mas nem sempre esses métodos detectam os ovos, uma vez que, o parasito pode não ter proglotes maduras para serem liberadas pelo indivíduo. Já o diagnóstico da cisticercose animal é feito apenas no abate, que pode apresentar falhas metodológicas ou nem mesmo serem realizadas.

A aplicação de medidas para o controle da teníase/cisticercose depende das características epidemiológicas da região, incluindo fatores culturais-sócio-econômicos. A estratégia fundamental baseia-se em interromper o ciclo biológico do parasito, evitando assim a infecção nos animais e consequentemente na população humana. As estratégias consistem no melhoramento das condições de saneamento do ambiente, tratamento de toda população, melhorar a criação de animais (evitar acesso dos animais com fezes humanas), evitar abate e comércio clandestino de carnes, educação sanitária com ênfase na adoção de hábitos de higiene (PFUETZENREITER & ÁVILA-PIRES, 2000).

2.2.2 *Dipylidium caninum*

Animais de companhia, em particular cães e gatos, representam um importante papel na sociedade em todo o mundo. Eles contribuem para o desenvolvimento social e emocional das crianças, e principalmente de pessoas idosas ou portadores de necessidades especiais, proporcionando um ótimo bem-estar (ROBERTSON et al., 2000).

Os parasitos gastrintestinais de animais domésticos exercem um papel relevante como espoliadores de nutrientes, atuando como um fator considerado no retardo do desenvolvimento do animal, e algumas espécies de parasitos são de grande interesse para a saúde pública como agentes causadores de zoonoses (ALVES, 2005).

O *Dipylidium caninum* (Lineu, 1758) é um cestóide pertencente à família Dilepididae. Este é parasito comum de cães e gatos, podendo também parasitar o homem. É uma espécie muito comum em nosso país. Habita o intestino delgado de cães, gatos e, embora no ser humano esse parasitismo seja raro, ocorre principalmente em crianças de idade pré-escolar, sendo encontrada habitando também o intestino delgado destas (NEVES et al., 2000 e 2005).

O parasito adulto vive no intestino delgado de canídeos, felídeos e, acidentalmente, do homem. Esses são os hospedeiros definitivos do parasito. O *D. caninum* mede cerca de 15-20cm de comprimento e possui rostró retrátil armado de quatro fileiras de ganchos. Os ovos ficam contidos dentro de uma cápsula ovígera, que alberga cerca de 20 ovos (NEVES et al., 2000,2005). A cápsula ovígera é uma modificação celular da parede uterina. Quantidades de material vitelínico, ácido mucopolissacarídeo-positivo dentro do útero, formam a cápsula. Este material cimenta as cápsulas para formar os agrupamentos de ovos. A cápsula contém uma lâmina fina que separa o material exterior de uma camada interior homogênea de PAS-positivo. A estrutura da cápsula é composta por polissacarídeos ou glicoproteínas. A cápsula ovígera possui de 120 a 200µm, enquanto os ovos quase esféricos, possuem cerca de 26 a 50µm (PENCKE, 1967).

Assim como a *T. saginata*, o *D. caninum* também possui três estágios de vida com relação ao parasito, sendo o parasito adulto no hospedeiro definitivo, ovos no ambiente e larva cisticercóide no hospedeiro intermediário.

As proglotes grávidas são eliminadas para o meio ambiente juntamente com as fezes ou espontaneamente disseminando as cápsulas ovígeras contendo os ovos. Os ovos liberados são ingeridos por larvas de pulgas (*Ctenocephalides* sp., *Pulex* sp.), piolhos (*Trichodectes canis*) ou coleópteros (*Tribolium* sp., *Tenebrium* sp.), que são os hospedeiros intermediários. O embrião hexacanto ou oncosfera eclode no tubo digestivo do inseto, atravessa a parede do trato digestivo atingindo a homocela. A oncosfera então se transforma em larva cisticercóide e, à medida que o hospedeiro intermediário passa pela fase de pupa e adulto, a larva cisticercóide se torna infectante ou madura. O hospedeiro definitivo (cães, gatos e, acidentalmente humanos) se contamina ao ingerir o hospedeiro intermediário infectado. A larva cisticercóide então sofre desinvaginamento no intestino delgado originando o cestóide adulto (URQUHART et al., 1990; FORTES, 1993; NEVES et al., 2000 e 2005).

Desde a ingestão do ovo pelo artrópode, até larva cisticercóide madura, o tempo necessário é cerca de 30 dias, e no intestino dos hospedeiros definitivos a maturação dos vermes é alcançada 30 dias após a infecção (NEVES et al., 2000 e 2005).

Os cães são susceptíveis aos parasitos ao longo da sua vida, mas o nível de infecção tende a ser mais alto em animais jovens devido ao sistema imune imaturo desses animais (OLIVEIRA-SEQUEIRA et al., 2002).

Embora a maioria dos helmintos parasitos gastrintestinais de cães seja cosmopolita, a prevalência varia de uma região para outra e também ao longo do tempo, como resultado de alterações culturais além do desenvolvimento e do uso de vermífugos e técnicas de diagnóstico (ROBERTSON et al., 2000; OLIVEIRA-SEQUEIRA et al., 2002).

É importante ressaltar que para ocorrer o desenvolvimento do *D. caninum* no hospedeiro definitivo, é necessário o hospedeiro intermediário, no caso as pulgas e piolhos, ficando claro que às vezes o controle desses insetos é ineficaz (LABARTHE et al., 2004).

No Brasil, Estado de São Paulo, Silva et al. (2001), analisaram a ocorrência de helmintos parasitos em 28 cães e 11 gatos, provenientes dos canis municipais de Araraquara, Cosmorama, Jaboticabal, Pontal, Sertãozinho e Taiúva. Foram observados que 42,86% dos cães, e 54,54% dos gatos, estudados neste trabalho, se encontravam parasitados por *D. caninum*.

No município de Guarulhos – S.P., Santos & Castro (2006), no período de Setembro de 2002 a Outubro de 2004, analisaram 166 amostras fecais de cães, e observaram uma frequência de 2,41% animais infectados com *D. caninum*.

Na cidade do Rio de Janeiro, Labarthe et al. (2004), encontraram uma prevalência de 52% de gatos infectados com *D. caninum*, em 135 animais pesquisados.

Mundim et al (2004), analisaram a frequência de helmintos parasitos em 50 gatos, no município de Uberlândia – Minas Gerais, num período de Agosto de 2000 a Dezembro de 2001, onde foram observados 14% dos animais que foram necropsiados estavam infectados por *D. caninum*.

No período de Agosto de 2001 a Março de 2002, Alves et al. (2005) analisaram 434 amostras de fezes de cães, no município de Goiânia, e encontraram 0,26% cães infectados com *D. caninum*.

O conhecimento mais acurado sobre a epidemiologia e a profilaxia dos parasitas mais importantes de cães e gatos, particularmente sobre as suas

incidências e prevalências, são fundamentais para a adoção de medidas profiláticas adequadas para a proteção humana (SANTOS & CASTRO, 2006).

Considerando-se os aspectos relacionados à saúde pública e animal, o estudo da prevalência desses parasitos em relação às infecções causadas, deveria ser um trabalho contínuo, com medidas de controle (OLIVEIRA-SEQUEIRA et al., 2002).

2.3 Fungos nematófagos

A grande maioria dos fungos nematófagos é mitospórico e eram classificados na divisão Deuteromycetes, classe Hyphomycetes, ordem Hyphomycetales e família Moliniaceae. A maioria dos fungos era classificada como pertencentes aos gêneros *Arthrobotrys*, *Dactylaria*, *Dactyella* e *Trichothecium*, até 1964. Posteriormente, novos gêneros de fungos foram descritos, incluindo *Monacrosporium*, *Duddingtonia*, *Genicularia* e *Dactylariopsis*. Foi observada reprodução sexuada de algumas espécies destes fungos que estão sendo reconhecidas como pertencentes ao filo Ascomycota (MOTA et al., 2003; ARAÚJO et al., 2004a).

Os fungos nematófagos são organismos saprófitas mundialmente estudados, com capacidade de predação de nematóides produzindo armadilhas ao longo de suas hifas (MOTA et al., 2002) exibindo redução efetiva na população de nematóides em experimentos laboratoriais e também promovendo grande eficácia em experimentos a campo (ARAÚJO et al., 1998). São encontrados em todo o mundo em diferentes habitats, sendo frequentemente encontrados em ambientes ricos de material orgânico (LARSEN, 2000).

Os fungos nematófagos, também chamados de fungos destruidores de nematóides, são divididos em três grupos, e estão catalogados em mais de 150 espécies (MOTA et al., 2003; ARAÚJO et al., 2004a).

O primeiro grupo de fungos é classificado como predadores de nematóides, e são a maioria. Estes produzem estruturas em forma de anéis constritores e não constritores, hifas, botões e redes tridimensionais adesivas ao longo do micélio. Após o aprisionamento pela armadilha, ocorre a penetração das hifas na cutícula do nematóide, seguido de crescimento das hifas no interior do nematóide e digestão dos conteúdos internos (MORGAN-

JONES & RODRIGUEZ-KÁBANA, 1988; MOTA et al., 2003; ARAÚJO et al., 2004a). No grupo dos fungos predadores destacam-se os gêneros *Arthrobotrys*, *Duddingtonia* e *Monacrosporium*, como os mais estudados (DIMANDER et al., 2003; ARAÚJO et al., 2004a). Na espécie do gênero *Arthrobotrys* o tipo mais comum de estruturas de captura são as redes tridimensionais, podendo também ser capazes de produzir clamidósporos. Possui também, conidióforo ereto podendo ter em sua extremidade até seis conídios (BARRON, 1977; MOTA et al., 2003). No Brasil, Araújo et al. (1992, 1993 e 1994) foram os pioneiros no estudo e demonstraram a ação *in vitro* de fungos do gênero *Arthrobotrys*, sobre larvas infectivas de *Haemonchus placei*. A espécie *D. flagrans*, considerada a mais promissora, é a mais estudada no controle das nematodioses dos animais domésticos e produz vários conídios na extremidade dos conidióforos, produzem grande quantidade de clamidósporos em matéria seca, e suas hifas adesivas servem para capturar nematóides (MOTA et al., 2003; ARAÚJO et al., 2004a). As espécies do gênero *Monacrosporium* são caracterizadas por produzirem apenas um único conídio em cada clamidósporo, e são capazes de predação de nematóides por meio de hifas adesivas (BARRON, 1977; ARAÚJO et al., 2004b).

O segundo grupo de fungos é chamado de endoparasitos, capazes de infectar os nematóides através de esporos, que uma vez ingeridos, desenvolvem hifas responsáveis pela absorção do conteúdo interno do nematóide. Estes não produzem hifas vegetativas fora do corpo do hospedeiro, mas hifas férteis ou conidióforos contendo esporos (MORGAN-JONES & RODRIGUEZ-KÁBANA, 1988; MOTA et al., 2003; ARAÚJO et al., 2004a). Alguns pesquisadores sugerem que este grupo de fungos, pode ser um candidato melhor ou mais forte no controle biológico de nematóides, mas apenas algumas espécies, como *Drechmeria coniospora* e *Harposporium anguillulae*, foram testadas contra nematóides gastrintestinais (LARSEN, 2000). Santos & Charles (1995), analisando a ação do fungo *Drechmeria coniospora* contra larvas de *Haemonchus contortus*, enquanto Charles et al., (1996) em estudos laboratoriais observaram a ação do fungo *Harposporium anguillulae* também sobre larvas de *H. contortus*.

O terceiro grupo de fungos são os oportunistas, parasitos de ovos. De acordo com a descrição de Mizobutsi et al. (2000), os fungos que impedem o

desenvolvimento de ovos, são provavelmente mais promissores como biocontroladores, pois quando comparados com fungos endoparasitos e predadores, o efeito do fungo ovicida é mais acentuado na redução da população de nematóide. Lysek & Nigenda (1989) propõem que os fungos predadores de ovos sejam agrupados de acordo com sua forma de ação. Parte desses fungos utiliza metabólitos próprios atuando negativamente no embrião, sem alterar o aspecto morfológico da casca do ovo, e o outro grupo, atua por meio de suas hifas, penetrando ativamente nos ovos atingindo o embrião. O fungo age através de pequenos poros existentes na camada vitelínica da casca do ovo, onde as hifas penetram causando alteração na permeabilidade da casca e expandindo seu volume. A hifa aumenta seu tamanho ao passar pela camada vitelínica e atravessa a camada adjacente quitínica e lipídica. Como resultado desse processo, a camada vitelínica se divide, a camada de quitina se torna vacuolizada e a camada de lipídios se torna dispersa. Do ovo emergem, então, hifas endógenas que produzem conidióforos, funcionando como fonte de conídios. Estes fungos colonizam o conteúdo do ovo, como também a larva em desenvolvimento no interior do ovo (MORGAN-JONES & RODRIGUEZ-KÁBANA, 1988; MOTA et al., 2003; ARAÚJO et al., 2004a). Neste grupo, destacam-se os fungos *Pochonia chlamydosporia* (syn *V. chlamydosporium*) (Goddard), e o *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson (MANKAU, 1980; GRAMINHA, 2001). A atividade ovicida é seguida por três principais tipos medidos através de alguns parâmetros estabelecidos na literatura: Sem alteração; efeito tipo 1: efeito fisiológico e bioquímico sem prejuízo morfológico à casca, onde são visualizadas as hifas aderidas à casca do ovo; efeito do tipo 2: efeito lítico com alteração morfológica da casca e embrião do ovo, sem penetração das hifas através da casca; e efeito do tipo 3: efeito lítico com alteração morfológica da casca e embrião do ovo, com penetração de hifas e colonização interna do ovo (LYSEK, 1976; 1978).

Os estudos se iniciaram na França, no começo do século XX, onde utilizaram fungos nematófagos como controladores biológicos de parasitos gastrintestinais de animais. Recentemente, estes estudos foram retomados, utilizando diferentes espécies de fungos no combate a diversas espécies de parasitos de animais domésticos, sendo observado interações em placas de Petri com meio de cultura (MOTA et al., 2003; ARAÚJO et al., 2004a).

Os fungos nematófagos apresentam esporos bastante diversificados no tamanho, coloração, forma e resistência no ambiente. A maioria apresenta esporos secos que emergem dos conidióforos, que são essenciais na dispersão aérea dos conídios. Podem ser produzidas também estruturas denominadas clamidósporos, que são esporos de parede espessa, diferenciados a partir das hifas, aparecendo em condições de estresse extremo podendo dar origem a hifas, conidióforos e conídios (BARRON, 1977).

Estes fungos são os organismos que têm sido mais amplamente estudados no controle biológico de nematóides parasitos de animais domésticos e, na sua maioria agem efetivamente na redução da população desses parasitos tanto em laboratórios como também nas pastagens (ASSIS & ARAÚJO, 2003; ARAÚJO et al., 2004c; ARAÚJO et al., 2004d).

Experimentos *in vitro* e *in vivo* vêm demonstrando o potencial de ação que estes fungos predadores têm sobre parasitos gastrintestinais, comprovando assim, sua potencialidade como controlador biológico (ARAÚJO et al., 2004d).

2.3.1 *Monacrosporium thaumasium*

Diversos gêneros de fungos nematófagos, dentre eles o gênero *Monacrosporium*, têm sido utilizados no controle biológico das helmintoses (ARAÚJO et al., 2007). Este fungo predador do gênero *Monacrosporium* foi classificado por Cooke & Godfrey em 1964, como pertencendo à divisão *Deuteromycotina* (BARRON, 1977; ARAÚJO et al., 2004a, 2004b).

O fungo *Monacrosporium thaumasium* é capaz de predação de nematóides por meio de hifas adesivas e produzir apenas um único conídio na extremidade do conidióforo (BARRON, 1977). Seus conídios medem cerca de 27-49 µm de comprimento por 15-23 µm de largura e a predação dos nematóides acontece por meio de nódulos e redes adesivas ou anéis constritores (ARAÚJO & RIBEIRO, 2003; ARAÚJO et al., 2004a). Ele é capaz de sobreviver à passagem pelo trato gastrintestinal de ruminantes sem perder sua ação predatória, sendo isto primordial no controle biológico das helmintoses (MELO et al., 2003; ARAÚJO et al., 2007), além de possuir ação comprovada sobre nematóides

gastrointestinais, sendo um candidato promissor a ser empregado no controle biológico desses organismos (ARAÚJO et al., 2004a, ARAÚJO et al., 2006b).

Estudos realizados com bovinos, por Araújo & Ribeiro (2003), Araújo et al. (2004b), Araújo et al. (2004c), Araújo et al., (2006b) demonstraram a eficácia do fungo *Monacrosporium thaumasium* sobre larvas infectantes de *Cooperia* sp. e *Oesophagostomum* sp. Melo et al. (2003) demonstraram a ação deste fungo, sobre larvas de *Haemonchus contortus*, em caprinos, e Araújo et al. (2007), observaram também a ação deste fungo sobre larvas de *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Trichostrongylus axei*, *Oesophagostomum columbianum* e *Strongyloides papillosus*. Em 2003, Assis & Araújo, analisaram a ação desse mesmo fungo em eqüinos, comprovando também sua eficácia sobre ciatostomíneos. Experimento *in vitro* com larvas infectantes de *Ancylostoma* spp. de cães, demonstraram também que este fungo tem ação predatória sobre estes parasitos (MACIEL et al., 2006).

2.3.2 *Duddingtonia flagrans*

O gênero *Duddingtonia* é caracterizado por produzir vários conídios na extremidade dos conidióforos. Os conídios têm formato que varia entre elíptico e ovóide, apresentando um septo mediano, de 25-50 µm de comprimento por 10-15 µm de largura, e produzem grande quantidade de clamidósporos em matéria seca. O fungo *Duddingtonia flagrans* é a espécie mais estudada no controle das helmintoses gastrointestinais de animais domésticos na Europa, mas isso não significa que seja a mais promissora (MOTA et al., 2003; ARAÚJO et al., 2004a).

A capacidade do fungo *Duddingtonia flagrans* em preda nematóides é por meio de hifas adesivas que são induzidas após o contato físico e migração dos nematóides (GRONVOLD et al., 2004).

É importante ressaltar ainda, que este fungo tem capacidade de sobreviver à passagem pelo trato gastrointestinal de ruminantes, sendo uma característica importante na condição de um controlador biológico (WALLER, et al., 2001).

De acordo com Sanyal et al. (2004), *D. flagrans* é empregado com sucesso no controle biológico das helmintoses gastrintestinais em razão da grande produção de clamidósporos e à sua resistência a condições adversas.

No Brasil, vários estudos com esta espécie de fungo tanto *in vitro* como *in vivo*, tem mostrado a eficiência em destruir larvas de nematóides. Araújo et al. (2006b) em estudos laboratoriais, demonstraram a ação do fungo *D. flagrans* sobre larvas infectantes de *Cooperia* sp. e *Oesophagostomum* sp. obtidas de fezes de bezerros, e Araújo et al. (2006a) também comprovaram a ação deste fungo sobre larvas infectantes de *Haemonchus contortus* e *Strongyloides papillosus* de caprinos.

Na Suécia, Waller et al. (2004), avaliaram a ação do fungo em parasitos de ovelhas e concluíram que o controle alternativo com este fungo pode ser eficaz. Paraud et al. (2006), avaliaram a ação do mesmo em parasitos gastrintestinais de ovelhas na França, e verificaram também sua ação contra *Haemonchus contortus*, *Teladorsagia circumcincta* e *Trichostrongylus colubriformis*.

2.3.3 *Pochonia chlamydosporia*

O fungo *Pochonia chlamydosporia*, antes conhecido como *Verticillium chlamydosporium* (GAMS & ZARE, 2001), foi registrado pela primeira vez, segundo descrito por Mo et al. (2005), parasitando um nematóide de planta, *Heterodera schachtii*, por Willcox e Tribe em 1974. A partir de então, estudos vêm demonstrando a ação desse fungo em fêmeas, ovos e cistos de fitonematóides (VERDEJO-LUCAS et al, 2003, MONFORT et al., 2005).

Esse fungo da classe Deuteromiceto, é parasito facultativo de ovos de nematóides, formadores de cistos em raízes e galhas, e como outros fungos nematófagos, possuem uma fase saprófita sendo frequentemente isolado do solo e também encontrando-se associado com vários substratos (GAMS & ZAIRE, 2001; MONFORT et al., 2005; MONFORT et al., 2006).

O fungo parasita os ovos de nematóides, formando um apressório através de hifas indiferenciadas que colonizam a parede dos ovos e sua penetração é devido a uma pressão física e mecânica, e atividade enzimática provocada pela enzima VCP1 (protease-serino-alcalina), caracterizada pela

remoção *in vitro* da membrana vitelínica da casca do ovo (LÓPEZ-LLORCA & ROBERTSON, 1992), que ocorre pelas alterações ultra-estruturais, enfraquecendo assim a camada vitelínica através de enzimas, hidrolíticas, quitinases e proteases, que promovem essa remoção da camada mais externa e degradam a quitina (KERRY, 2000).

Os conídios variam de formato podendo ser elíptico, globoso e às vezes, bacilar. Apresenta conidióforo pequeno e hifas diferenciadas que podem ser eretas (GAMS & ZAIRE, 2001).

No Brasil, estudos recentes vêm demonstrando a capacidade de destruição deste fungo sobre ovos de helmintos gastrintestinais, como *Ascaris lumbricoides* (BRAGA et al., 2007), *Fasciola hepatica* (BRAGA et al., 2008a), *Schistosoma mansoni* (BRAGA et al., 2008b), *Ascaris suum* (ARAÚJO et al., 2008). Desta forma, este fungo pode ser considerado como um potencial agente no controle biológico de helmintos parasitos gastrintestinais.

2.3.4 *Paecilomyces lilacinus*

É fungo Deuteromiceto, da família Moniliales, um hifomiceto, saprófita e distribuído por toda parte do mundo, sendo encontrado com maior frequência em regiões quentes, e são encontrados no solo em profundidades variáveis de 0-40cm ou mais. O *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson é um dos fungos mais estudados a campo, e tem demonstrado um controle efetivo em espécies de fitonematóides do gênero *Meloidogyne* (SANTIAGO et al., 2006).

Possuem conidióforos bem desenvolvidos. Os conídios são elípticos, cilíndricos ou oblongos, medindo cerca de 2 x 4 µm, e ocorrem em cadeias longas não ramificadas. As hifas são hialinas, septadas e muito ramificadas, e clamidósporos também podem ser produzidos (NEUFELD, 1998).

Assim como *P. chlamydosporia*, esse fungo possui como característica a penetração nos ovos de nematóides e destruição do embrião, colonizando e posteriormente, destruindo também fêmeas (SANTIAGO et al., 2006). A atividade ovicida acontece pela atividade mecânica, enzimática ou por ambas (CIARMELA et al., 2005). De acordo com a descrição feita por Araújo et al. (1995), uma vez que a hifa entra em contato com os ovos de nematóides, uma

série de mudanças ultraestruturais acontece no seu envoltório. Isso é devido ao efeito dos metabólitos exógenos e à atividade quitinolítica do fungo.

Alguns trabalhos realizados no Brasil, com ovos de helmintos gastrintestinais de animais domésticos, vêm demonstrando a ação ovicida *in vitro* desse fungo. Araújo et al. (1995), estudaram o efeito em ovos de *Toxocara canis*, onde analisaram resultados promissores, demonstrando assim sua atividade ovicida. Braga et al., (2008c), avaliaram a ação deste isolado sobre ovos de *Moniezia expansa* e também obtiveram resultados promissores. Outros trabalhos com ovos de *Toxocara canis* (BASUALDO et al., 2000) e *Taenia hydatigena* (CIARMELA et al., 2005) também vêm ressaltando a atividade ovicida do fungo *P. lilacinus* comprovando seu potencial como controlador biológico de ovos de helmintos gastrintestinais.

2.4 Controle biológico

Na procura por métodos não químicos, pesquisas vêm sendo realizadas visando a utilização do controle biológico com o uso de inimigos naturais (Barron, 1977). De acordo com Larsen (2000), a pesquisa nessa área vem aumentando nos últimos anos. A principal estratégia do controle biológico não é eliminar o organismo parasito, e sim diminuir e manter a sua população abaixo de um limiar sub-clínico e economicamente aceitável, evitando assim efeitos severos na população hospedeira. Segundo descrito por Araújo et al. (2004a), o controle biológico atua como um regulador de toda população por meio de antagonistas, onde na ausência desses controladores naturais, haveria um aumento indiscriminado na população de um determinado organismo.

Na prática, o controle biológico não atua sobre formas internas dos parasitos, mas sim sobre os hospedeiros intermediários, paratênicos, vetores e estágios larvais de vida livre, como seus ovos, diminuindo dessa forma a fonte de infecção para os hospedeiros finais, além de causarem menos efeitos negativos no ambiente que os métodos químicos (ARAÚJO et al., 2004a).

Os microorganismos selecionados para atuarem como controladores biológicos devem possuir especificidade de ação, alta capacidade reprodutiva e suportar condições ambientais no local onde o controle é realizado (MOTA et al., 2003).

O controle de helmintos gastrintestinais de animais domésticos é realizado principalmente por meio de anti-helmínticos. Contudo, esse método vem apresentando algumas desvantagens, como resíduos químicos na carne e no leite, contribuição no impacto ambiental, e desenvolvimento de resistência por parte dos parasitos, devido ao uso continuado e, muitas vezes, inconveniente, com inúmeras classes químicas que contribuem para a contaminação das pastagens (WALLER & FAEDO, 1993; GRAMINHA et al., 2001). Devido a esses problemas relacionados à resistência e ecotoxicidade, há uma necessidade de integração de programas preventivos que possam diminuir a frequência de tratamentos químicos, reduzindo dessa forma a dependência dos anti-helmínticos (ARAÚJO et al., 2004a).

Programas de controle parasitários eficientes são baseados em informações sobre a disposição de larvas no ambiente, detecção de fontes de infecção, exigências climáticas para eclosão de ovos e viabilidade larvar. Os

requisitos mais importantes no estabelecimento de um controle efetivo são: o conhecimento epidemiológico dos parasitos e as interações destes com os hospedeiros em um determinado ambiente e sistema produtivo, onde a falta de tais informações pode levar à utilização inadequada de tratamentos anti-helmínticos, conduzindo assim a um rápido desenvolvimento de resistência, aumentando os casos clínicos e perdas reprodutivas (MOTA et al., 2003; ARAÚJO et al., 2004a; ARAÚJO et al., 2006b).

Dessa forma, o controle biológico sobre nematóides gastrintestinais vem sendo uma alternativa eficaz, com resultados satisfatórios (BRAGA et al., 2007). Dentre os mais variados antagonistas de nematóides, encontram-se organismos como fungos, bactérias, protozoários, vírus, entre outros, sendo os fungos nematófagos aqueles que apresentam melhores desempenhos em pesquisa de controle biológico de nematóides (ARAÚJO et al., 1998; ARAÚJO et al., 1999; MOTA et al., 2003). A vantagem do sinergismo entre o controle biológico realizado com esses fungos e o controle químico é a atuação promissora sobre as formas infectantes presentes nas fezes assim como os nematóides que estão parasitando o animal (BRAGA et al., 2007). De acordo com Stirling (1991), os fungos são mais promissores para o controle biológico em relação a outros organismos, pois estão em abundância no solo e podem utilizar vários substratos orgânicos e micro-habitats que promovem oportunidades para a interação com nematóides.

Como observado, a grande maioria dos estudos sobre controle biológico de helmintos gastrintestinais tem sido direcionados apenas para a utilização dos fungos nematófagos predadores de larvas infectantes (L3) (MENDONZA-DE-GIVES et al., 1999). No entanto, alguns trabalhos recentes relatam a ação de fungos que impedem a evolução de ovos de helmintos, demonstrando sua capacidade de ação como sendo uma alternativa promissora e viável que vem se destacando (CIARMELA et al., 2002; CIARMELA et al., 2005; BRAGA et al., 2007; BRAGA et al., 2008a).

Mota et al. (2003) mencionam que a administração de fungos nematófagos em animais domésticos é uma proposta promissora e viável, em razão de que esses fungos vêm apresentando resultados satisfatórios no controle dos nematóides em pastagens, reduzindo o número de infestações e reinfestações.

Uma característica importante para que um fungo seja estudado como controlador biológico, é a resistência deste à passagem pelo trato gastrointestinal após a administração oral, sem perder sua capacidade predatória, colonizando o bolo fecal e capturando as larvas parasitas antes que estas migrem para a pastagem (ARAÚJO & RIBEIRO, 2003). De acordo com Kerry (2000), algumas espécies de fungos oocidas produzem clamidósporos que são resistentes à passagem gastrointestinal de animais domésticos e poderiam dessa forma ser empregados no controle das populações de helmintos gastrintestinais.

Segundo alguns autores, a aplicação do fungo como controlador biológico de nematóides vem ajudar no controle químico e deveria ser administrado não somente quando há um prognóstico de uma grande infestação da pastagem por ovos e larvas de helmintos, mas também, quando há condições melhores para o crescimento do fungo no meio ambiente, prevenindo, dessa maneira, o parasitismo clínico e perdas na produtividade, além de fornecer um número suficiente de larvas a permitir que esses animais desenvolvam uma imunidade adquirida naturalmente (GRAMINHA, 2004).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Avaliar a ação *in vitro* de isolados fúngicos sobre ovos de *Taenia saginata* e cápsulas ovíferas de *Dipylidium caninum*.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar *in vitro* a ação ovicida dos fungos *P. lilacinus*, *P. chlamydosporia*, (isolados VC1 e VC4), *D. flagrans* (isolado AC001) e *M. thaumasium* (isolado NF34), sobre de ovos de *Taenia saginata* e cápsulas ovíferas de *Dipylidium caninum*; e
- Observar em qual intervalo de tempo a ação dos isolados fúngicos foi mais eficaz sobre ovos de *T. saginata* e cápsulas ovíferas de *D. caninum* e quais foram os percentuais de atividade ovicida observados.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Obtenção dos isolados fúngicos

Cinco isolados de fungos nematófagos, sendo dois de *P. chlamydosporia* (VC1 e VC4), um de *Paecilomyces lilacinus*, um de *D. flagrans* (AC 001), um de *M. thaumasium* (NF 34), foram mantidos em tubos de cultivo a 4° C contendo corn-meal-ágar 2% (CMA 2%) no escuro e durante 10 dias. Estes isolados foram extraídos de solo brasileiro, localizado no Município de Viçosa, Minas Gerais, Brasil, latitude 20°45'20" e longitude 42°52'40", de acordo com a técnica de Duddington (1955), e encontram-se armazenados no laboratório de Parasitologia do Departamento de Veterinária (DVT) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Minas Gerais.

Discos de cultura de 4 mm de diâmetro foram extraídos de isolados fúngicos mantidos em tubos de cultivo contendo CMA 2% e transferidos para placas de Petri de 9,0 cm de diâmetro contendo 20 mL de batata-dextrose-ágar 2% (BDA 2%) mantidos a 26° C no escuro e durante 10 dias. Após o crescimento dos isolados, novos discos de cultura de 4 mm de diâmetro foram transferidos para placas de Petri de 9,0cm diâmetro contendo 20 mL de ágar-água 2 % (AA 2%) e mantidas no escuro durante 10 dias sob temperatura de 26° C.

4.2 Obtenção dos ovos de *Taenia saginata*

Os ovos de *T. saginata* foram analisados morfológicamente quanto a sua integridade em microscópio de luz utilizando-se objetiva de 10X. Esses ovos foram recuperados a partir da dissecação de proglotes grávidas de um exemplar adulto doado espontaneamente por um paciente humano diagnosticado para teníase.

4.3 Obtenção das cápsulas ovíferas de *Dipylidium caninum*

Os ovos encapsulados de *Dipylidium caninum* foram analisados morfológicamente quanto à sua integridade em microscópio de luz utilizando-se objetiva de 10x. Esses ovos encapsulados foram recuperados a partir da

dissecação de proglotes grávidas coletados em fezes de cães naturalmente infectados, no canil da clínica do Departamento de Veterinária (DVT-UFV).

4.4 Ensaios experimentais

O presente trabalho foi realizado a partir de dois ensaios experimentais *in vitro*, realizados em etapas distintas, com intervalos de cinco, 10 e 15 dias, sendo utilizado nos dois ensaios os isolados dos fungos *P.chlamydosporia* (VC1 e VC4), *P. lilacinus*, *D. flagrans* (AC001) e *M. thaumasium* (NF34) e o grupo controle (sem fungo). No ensaio 1, avaliou-se a ação dos isolados fúngicos sobre ovos de *T. saginata*, e no ensaio 2, a ação destes isolados fúngicos sobre cápsulas ovígeras de *D. caninum*.

4.4.1 Ensaio experimental 1

Os ovos de *T. saginata* foram vertidos sobre a superfície de placas de Petri de 9,0 cm de diâmetro contendo o meio AA 2% e cada um dos isolados fúngicos, *P. chlamydosporia* (VC1 e VC4), *P. lilacinus*, *D. flagrans* (AC001) e *M. thaumasium* (NF34). Estes isolados cresceram sobre este meio 10 dias em temperatura constante de 26° C, tomando toda a superfície das placas. Foram formados cinco grupos tratados com os isolados fúngicos e um controle, sendo feitas 25 repetições por grupo.

Nos tratamentos, cada placa continha mil ovos de *T. saginata* com apenas um dos isolados fúngicos, e no grupo controle as placas continham mil ovos com apenas o meio AA 2%, sem isolado fúngico. Após intervalos de cinco, 10 e 15 dias, cem ovos foram retirados de cada placa contendo um isolado fúngico e do controle (sem fungo), colocados sobre uma lâmina de vidro e corados com uma gota de azul de Aman, de acordo com a técnica descrita por Araújo et al. (1995). Os ovos foram então avaliados em objetiva de 40X de acordo com os parâmetros estabelecidos por Lysek et al. (1982): efeito do tipo 1: efeito fisiológico e bioquímico sem prejuízo morfológico à casca, onde são visualizadas as hifas aderidas à casca do ovo; efeito do tipo 2: efeito lítico com alteração morfológica da casca e embrião do ovo, sem penetração das hifas através da casca; e efeito do tipo 3: efeito lítico com alteração morfológica

da casca e embrião do ovo, com penetração de hifas e colonização interna do ovo.

4.4.1.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizada para os ovos de *T. saginata*, do grupo controle (sem fungo) e do grupo com o fungo *P. chlamydosporia*. O isolado fúngico de *P. chlamydosporia* cresceu sobre uma fina camada de ágar-água 2% (AA 2%), e sobre ela foi colocada uma membrana de diálise. Após o crescimento do isolado sobre a membrana de diálise, foram adicionados os ovos de *T. saginata*, e para o grupo controle, os ovos foram colocados em membrana de diálise sem fungo. Depois do período de leitura, foram retirados 2 cortes da membrana de diálise com a ajuda de uma lâmina de bisturi, e coletados com pinça de ponta. O material foi fixado em glutaraldeído a 2,5% em tampão fosfato 0,05 M, pH 7,4 por 24 h e a seguir, lavado seis vezes no mesmo tampão. Em seguida, o material foi desidratado pela passagem por uma série de etanol (30, 60, 70 e 95%), durante 10 minutos em cada concentração, e por último, passado por três séries de etanol 100% de 10 minutos. Logo após a desidratação, o material foi colocado em secador de ponto crítico BALZERS® utilizando dióxido de carbono. Em seguida, foi recoberto com ouro em metalizador e elétronicamente micrografados em microscópio eletrônico de varredura LEO-VP a 10-15kV.

4.4.2 Ensaio experimental 2

Os ovos encapsulados de *D. caninum* foram vertidos sobre a superfície de placas de Petri de 9,0 cm de diâmetro contendo o meio AA 2% e cada um dos isolados fúngicos, *P. chlamydosporia* (VC1 e VC4), *P. lilacinus*, *D. flagrans* (AC001) e *M. thaumasium* (NF34). Estes isolados cresceram sobre este meio 10 dias em temperatura constante de 26° C, tomando toda a superfície das placas. Foram formados cinco grupos tratados com os isolados fúngicos e um controle, sendo feitas 25 repetições por grupo.

Nos tratamentos, cada placa continha mil cápsulas ovíferas de *D. caninum* com apenas um dos isolados fúngicos, e no grupo controle as placas

continham mil ovos com apenas o meio AA 2%, sem isolado fúngico. Nos intervalos de cinco, 10 e 15 dias, cem cápsulas ovíferas foram retiradas de cada placa contendo um isolado fúngico e do controle (sem fungo) colocados sobre uma lâmina de vidro e corados com uma gota de azul de Aman, de acordo com a técnica descrita por Araújo et al. (1995). As cápsulas ovíferas foram então avaliadas em objetiva de 40x de acordo com os parâmetros estabelecidos por Lysek et al. (1982): tipo 1: efeito do tipo 1: efeito fisiológico e bioquímico sem prejuízo morfológico à casca, onde são visualizadas as hifas aderidas à casca do ovo; efeito do tipo 2: efeito lítico com alteração morfológica da casca e embrião do ovo, sem penetração das hifas através da casca; e efeito do tipo 3: efeito lítico com alteração morfológica da casca e embrião do ovo, com penetração de hifas e colonização interna do ovo.

4.5 Análises estatísticas

Os dados dos ensaios experimentais 1 e 2 foram submetidos ao teste não paramétrico de Friedman com 5% de probabilidade (AYRES et al., 2003). As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software Bioestat 3.0.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Ensaio experimental 1

Os resultados percentuais dos efeitos dos tipos 1, 2 e 3 apresentados pelos fungos *P. chlamydosporia* (VC1 e VC4), *P. lilacinus*, *M. thaumasium* (NF34) e *D. flagrans* (AC001) sobre ovos de *T. saginata* ao longo do ensaio experimental 1, nos intervalos de cinco, 10 e 15 dias estão representados na tabela 1.

O isolado VC1 apresentou os efeitos dos tipos 1, 2 e 3 no decorrer dos intervalos de cinco, 10 e 15 dias. Para o efeito do tipo 1 os valores percentuais encontrados foram 23,9%; 24,0% e 22,3%. Para o efeito do tipo 2 os percentuais encontrados foram 21,7%; 24,2% e 22,2%, e para o efeito do tipo 3 esse isolado apresentou 12,8%; 18,2% e 9,7% respectivamente. Já o isolado VC4 no decorrer destes intervalos demonstrou para o efeito do tipo 1 os percentuais de 18,4%; 17,5% e 17,2%. No efeito do tipo 2, esse isolado apresentou os percentuais de 9,9%; 12,3% e 17,2%, e para o efeito do tipo 3 os valores foram de 2,3%; 7,0% e 8,0% nos dias cinco, 10 e 15 dias. Por meio da microscopia de luz, foram observadas hifas do fungo *P. chlamydosporia* na superfície dos ovos (Figura 1 a 3), caracterizando o efeito tipo 1, hifas desse fungo no interior ovos (Figuras 4 a 9) e rompimento destes (Figuras 12 a 19). Utilizando-se a microscopia eletrônica de varredura, pôde-se observar ovos sendo colonizados pelo fungo (Figuras 10 e 11) e ovos sendo destruídos pelo fungo (Figuras 20 e 21), caracterizando os efeitos do tipo 2 e efeito do tipo 3 (LYSEK, 1976).

Tabela 1 – Percentuais e desvios-padrão da atividade ovicida (efeitos do tipo 1, 2 e 3) dos fungos nematófagos *Duddingtonia flagrans* (AC001), *Monacrosporium thaumasium* (NF34), *Pochonia chlamydosporia* (VC1 e VC4), *Paecilomyces lilacinus*, e o grupo controle sem fungos sobre ovos de *Taenia saginata* nos intervalos de cinco, 10 e 15 dias de interação.

Isolados	Efeito aos cinco dias		
	Efeito do tipo 1*	Efeito do tipo 2**	Efeito do tipo 3***
AC001	65,0 ^A ± 15,3	0 ^B ± 0	0 ^D ± 0
NF34	72,4 ^A ± 16,0	0 ^B ± 0	0 ^D ± 0
VC1	23,9 ^B ± 6,3	21,7 ^A ± 17,9	12,8 ^A ± 11,6
VC4	18,4 ^B ± 6,0	9,9 ^C ± 5,4	2,3 ^B ± 1,9
<i>P. lilacinus</i>	24,8 ^B ± 10,8	26,5 ^A ± 9,5	23,8 ^C ± 11,8
Controle	0 ^C ± 0	0 ^B ± 0	0 ^D ± 0
Isolados	Efeito aos 10 dias		
	Efeito do tipo 1*	Efeito do tipo 2**	Efeito do tipo 3***
AC 001	68,1 ^A ± 15,0	0 ^B ± 0	0 ^C ± 0
NF34	74,4 ^A ± 15,9	0 ^B ± 0	0 ^C ± 0
VC 1	24,0 ^B ± 8,3	24,2 ^A ± 8,5	18,2 ^A ± 9,3
VC 4	17,5 ^B ± 4,9	12,3 ^C ± 5,4	7,0 ^B ± 3,8
<i>P. lilacinus</i>	24,2 ^B ± 7,8	25,5 ^A ± 7,8	25,4 ^A ± 8,1
Controle	0 ^C ± 0	0 ^B ± 0	0 ^C ± 0
Isolados	Efeito aos 15 dias		
	Efeito do tipo 1*	Efeito do tipo 2**	Efeito do tipo 3***
AC001	72,6 ^A ± 16,3	0 ^B ± 0	0 ^C ± 0
NF34	77,3 ^A ± 17,2	0 ^B ± 0	0 ^C ± 0
VC1	22,3 ^B ± 8,4	22,2 ^A ± 8,4	9,7 ^A ± 5,7
VC4	17,2 ^B ± 5,7	17,2 ^C ± 6,3	8,0 ^A ± 4,0
<i>P. lilacinus</i>	25,3 ^B ± 11,2	29,0 ^A ± 8,7	24,8 ^B ± 8,0
Controle	0 ^C ± 0	0 ^B ± 0	0 ^C ± 0

Percentuais seguidos pela mesma letra maiúscula na mesma coluna não diferem estatisticamente ($P > 0,05$) – teste de Friedman. *efeito lítico sem prejuízo morfológico à casca do ovo, onde as hifas são observadas aderidas à casca. **efeito lítico com alteração morfológica da casca do ovo e do embrião, sem penetração de hifas através da casca. ***efeito lítico com alteração morfológica da casca e do embrião, além da penetração de hifas e colonização interna do ovo.

Em relação ao efeito do tipo 1 a ação do isolado VC1 foi maior do que a ação do isolado VC4 ao longo dos três intervalos estudados. Entretanto, não foi observada diferença ($P > 0,05$) entre eles. Já em relação efeito do tipo 2, a ação do isolado VC1 foi maior que o isolado VC4, sendo observada diferença estatística ($P < 0,05$) em todos os intervalos de tempo. Para o efeito do tipo 3, a ação do isolado VC1, foi maior que isolado VC4, apresentando diferença estatística ($P < 0,05$) nos intervalos do quinto e do décimo dias, sendo que no décimo quinto dia, não houve diferença estatística ($P > 0,05$) entre eles. No presente trabalho as ações dos isolados VC1 e VC4 mostraram eficiência em relação ao efeito do tipo 3 que classifica um fungo como potencialmente ovicida (LYSEK, 1976). Em trabalho semelhante, Braga et al. (2008a) avaliaram a eficácia dos isolados VC1 e VC4 sobre ovos de *Fasciola hepatica* e não observaram diferença significativa ($P > 0,01$) nos resultados percentuais do efeito do tipo 3 entre eles. Da mesma forma esses autores em outro trabalho avaliaram a ação desses isolados sobre ovos de *Schistosoma mansoni* e também não registraram nenhuma diferença ($P > 0,01$) para o efeito do tipo 3 ao longo dos intervalos estudados (BRAGA et al., 2008b). Por outro lado, quando se comparam os intervalos estudados de cinco, 10 e 15 dias do presente trabalho, com os intervalos estudados de sete, 14 e 21 dias dos trabalhos de Braga et al. (2008a; 2008b), nota-se que no presente trabalho a ação ovicida do fungo *P. chlamydosporia* (VC1 e VC4) foram bem semelhantes em curto intervalo de tempo, demonstrando com isso que esse fungo possui eficácia em qualquer intervalo de tempo.

O fungo ovicida *Paecilomyces lilacinus*, como pode ser observado na tabela 1, apresentou os seguintes percentuais ao longo dos dias avaliados: para o efeito do tipo 1, 24,8%, 24,2% e 25,3%. Para o efeito do tipo 2: 26,5%, 25,5% e 29,0%, e para o efeito do tipo 3: 23,8%, 25,4% e 24,8%, nos intervalos de cinco, 10 e 15 dias respectivamente. É possível observar, através de microscopia de luz, a ação desse isolado fúngico, sobre os ovos de *T. saginata*. Nas figuras 22, 23 e 24, é evidente os ovos sendo colonizados e destruídos pelo fungo, onde é caracterizado o efeito do tipo 3, que classifica esse fungo como sendo ovicida.

O fungo *P. lilacinus*, foi comparado com os outros dois isolados fúngicos da espécie *P. chlamydosporia* (VC1 e VC4), e foram analisados seus resultados estatisticamente. Quando comparados em relação ao efeito do tipo 1, ambos não apresentaram diferença estatística ($P > 0,05$), mas quando foram comparados em relação ao efeito do tipo 2, o isolado *P. lilacinus* apresentou diferença ($P < 0,05$) em relação ao isolado VC4 em todos os dias observados, onde o *P. lilacinus* obteve maior eficácia, diferente do que foi analisado com o isolado VC1, que não apresentou diferença estatística ($P > 0,05$) para o isolado *P. lilacinus*. Com relação ao efeito do tipo 3, o fungo *P. lilacinus*, apresentou diferença ($P < 0,05$) para o isolado VC1 nos cinco e 15 dias, não sendo observada diferença no décimo dia de leitura. Para o isolado VC4, o fungo *P. lilacinus* apresentou diferença estatística ($P < 0,05$) ao longo de todos os dias de leitura.

No Brasil, em trabalho de Braga et al., (2008c), a ação do fungo *P. lilacinus* sobre ovos de *Moniezia* sp. foi semelhante ao encontrado neste trabalho com *T. saginata*, assim como o trabalho de Araújo et al., (1995), com ovos de *Toxocara canis*, evidenciando dessa forma a ação ovicida desse isolado fúngico.

Na Argentina, Basualdo et al. (2000) trabalhando com o fungo *P. lilacinus* sobre ovos de *Toxocara canis*, também puderam avaliar a ação ovicida deste fungo, assim como Ciarmela et al. (2005), trabalhando com ovos de *Taenia hydatigena*, que também comprovaram o potencial de ação deste fungo.

Para os isolados NF34 e AC001 foram encontrados apenas percentuais para o efeito do tipo 1 ao longo de cinco, 10 e 15 dias. No quinto dia os resultados percentuais do isolado NF34 foram de 72,4%, e no 10° e 15° dias os percentuais registrados foram de 74,4% e 77,3%. Para o isolado AC001, no quinto dia a eficácia foi de 65,0%; no 10° dia de 68,1% e no 15° dia de 72,6%. O isolado NF34 apresentou no decorrer dos intervalos estudados um maior efeito do tipo 1 em relação ao isolado AC001, contudo sem diferença significativa ($P > 0,05$) entre eles.

O fungo *D. flagrans* (AC001) foi estudado sobre ovos de *Ascaris lumbricoides* (BRAGA et al., 2007), *Schistosoma mansoni* (BRAGA et al., 2008b), *Fasciola hepatica* (BRAGA et al., 2008a), no decorrer de sete, 10 e 14

dias, e *Ascaris suum* (ARAÚJO et al., 2008), no decorrer de cinco, 10 e 15 dias, entretanto, para todos os trabalhos avaliados, este fungo apresentou apenas o efeito do tipo 1 sobre esses ovos. Em trabalho de Braga et al. (2007), o fungo *M. thaumasium* (NF34), foi verificado a sua eficácia sobre ovos de *Ascaris lumbricoides*, nos intervalos de sete, 14 e 21 dias, sendo observado também apenas o efeito do tipo 1. Nos trabalhos de Braga et al. (2008a, 2008b), com ovos de *F. hepatica* e *S. mansoni*, e Araújo et al. (2008), com ovos de *A. suum*, testou-se a capacidade da espécie *M. sinense* registrando-se apenas percentuais para o efeito do tipo 1, em todos os intervalos de tempo analisados, assim como apresentou o fungo *M. thaumasium*, no presente trabalho.

Araújo et al. (2007) trabalhando com *M. thaumasium* registraram eficácia significativa ($p < 0,05$) sobre nematóides gastrintestinais de caprinos no semi-árido nordestino, Brasil. Em outro trabalho Araújo et al. (2006a) testou a eficácia de *D. flagrans* quanto à capacidade de passagem pelo trato gastrintestinal de caprinos, observando que houve redução significativa ($P < 0,05$) no número de larvas recuperadas de *Strongyloides papillosus* e *Haemonchus contortus*. No presente trabalho, esses fungos apenas apresentaram hifas aderidas à casca dos ovos de *T. saginata*, sem, contudo provocar o rompimento destes, por isso não sendo classificados como fungos ovicidas de acordo com os critérios de Lysek (1976).

Os ovos de *T. saginata* são bem resistentes quando presentes no meio ambiente, pois possuem uma casca protetora chamada de embrióforo (SILVA, 2005). Ainda, segundo Reiff (1994) os ovos de *T. saginata* podem permanecer viáveis no meio ambiente por períodos de aproximadamente 4 a 12 meses e são resistentes ao tratamento convencional de esgoto. Nas figuras 25, 26 e 27, é possível observar através de fotos de microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura de ovos de *T. saginata* íntegros, do grupo controle.

Braga et al. (2008a) observaram que o fungo *P. chlamydosporia* apresentou eficácia *in vitro* sobre os ovos de *F. hepatica*, mas, por serem também resistentes no meio ambiente, segundo os autores, essa eficácia foi baixa. Portanto, naqueles ovos com casca espessa e mais resistente no meio ambiente a ação ovicida do fungo *P. chlamydosporia* podem ser mais baixa devido a este fator.

O mecanismo de penetração dos fungos ovicidas nos ovos parasitados ainda não está totalmente elucidado. Entretanto, admite-se que a atividade física e mecânica, seguida pela atividade enzimática é um dos principais componentes no processo de ataque e penetração através dos ovos (LYSEK & STERBA, 1991).

Dessa forma, medidas alternativas que possam ser empregadas no combate à disseminação ambiental, deste, e de outros parasitos gastrintestinais e suas formas infectantes são importantes, e dentre essas o controle biológico por meio de fungos antagonistas naturais de helmintos parasitos gastrintestinais que se propagam no ambiente fecal (MOTA et al., 2003).

5.2 Ensaio experimental 2

Os resultados percentuais dos efeitos dos tipos 1, 2 e 3 apresentados pelos fungos *P. chlamydosporia* (VC1 e VC4), *P. lilacinus*, *M. thaumasium* (NF34) e *D. flagrans* (AC001) ao longo do ensaio experimental de cinco, 10 e 15 dias estão representados na tabela 2. É importante ressaltar que, neste ensaio experimental, a ação dos fungos ocorreu sobre cápsulas ovíferas de *Dipylidium caninum*.

Assim como no ensaio experimental 1, os isolados fúngicos, AC001 e NF34, só apresentaram efeito do tipo 1, não sendo observado efeitos do tipo 2 e do tipo 3 ao longo dos intervalos de cinco, 10 e 15 dias, demonstrando assim que esse fungos predadores não apresentaram ação ovicida sobre *D. caninum*.

Para o isolado AC001, os percentuais encontrados para o efeito do tipo 1, ao longo dos cinco, 10 e 15 dias foi de: 12,8%, 25,3% e 16,1%. Para o isolado fúngico NF34, os percentuais ao longo do ensaio experimental para o efeito do tipo 1 foi de: 23,5%, 19,1% e 15,5% respectivamente. Não foi observada nenhuma diferença ($P>0,05$) entre esses isolados ao longo dos dias analisados, assim como também não ocorreu no ensaio experimental 1, demonstrando dessa forma, que ambos isolados obtiveram o mesmo o potencial de ação com relação ao efeito do tipo 1, mas isso não os classifica como fungos ovicidas, de acordo com os critérios estabelecidos por Lysek (1976). Devido ao fato desses isolados fúngicos demonstrarem apenas efeito

do tipo 1, onde as hifas são observadas apenas aderidas à cápsula ovígera dos ovos e, por isso, não provocam necessariamente a destruição das mesmas, ficou evidente que esses isolados não são ovícidas, pois de acordo com a literatura de Lysek et al. (1982), só é considerado ovícida, o fungo que tem a capacidade de demonstrar o efeito do tipo 3, do qual provoca efeito lítico na morfologia do ovo, seguido de penetração e destruição dos mesmos.

Comparando a ação dos fungos NF34 e AC001 com trabalhos recentes de Braga et al. (2007), com o presente trabalho, nota-se que apenas o efeito do tipo 1 foi apresentado em ambos, uma vez que, sobre ovos de *A. lumbricoides*, os percentuais para esse tipo de efeito apresentados foram de: 48,0% e 30,0% (NF34 e AC001); 42,0% e 52,0% (NF34 e AC001) e 62,0% e 68,0% (NF34 e AC001) aos sete, 10 e 14 dias, respectivamente, enquanto que, sobre cápsulas ovígeras de *D. caninum*, os percentuais para o efeito do tipo 1 foram de: 23,5% e 12,8% (NF34 e AC001); 19,1% e 25,3% (NF34 e AC001) e 15,5% e 16,1% (NF34 e AC001), aos cinco, 10 e 15 dias, respectivamente.

O isolado VC1 apresentou os seguintes resultados ao longo dos cinco, 10 e 15 dias: para o efeito do tipo 1 foi observado os percentuais de 23,0%, 5% e 10,7%; efeito do tipo 2: 19,6%, 32,9% e 32,3%; e para o efeito do tipo 3: 19,6%, 44,2% e 49,2%, respectivamente. Já o isolado VC4 apresentou os seguintes resultados: 18,4%, 15,7% e 11,5%, para o efeito do tipo 1; 28,4%, 30,3% e 35%, para o efeito do tipo 2; e 20%, 31,5% e 41,9% para o efeito do tipo 3, ao longo dos intervalos estudados.

Em relação ao efeito do tipo 1, os isolados VC1 e VC4, apresentaram diferença estatística ($P < 0,05$) apenas no décimo dia de leitura, onde o isolado VC4, obteve maior percentual de ação. Para os efeitos do tipo 2 e efeito do tipo 3, esses isolados não apresentaram diferença ($P > 0,05$) entre eles.

Os resultados desse trabalho podem ser ainda comparados com os trabalhos de Braga et al. (2007, 2008a, 2008b) sobre ovos de *A. lumbricoides*, *F. hepatica* e *S. mansoni*, e de Araújo et al. (2008) sobre ovos de *A. suum*, comprovando o potencial de ação desses isolados sobre ovos de helmintos, classificando esses isolados como ovícidas, pois apresentaram efeito do tipo 3.

Tabela 2 – Percentuais e desvios-padrão da atividade ovicida (efeitos do tipo 1, 2 e 3) dos fungos nematófagos *Duddingtonia flagrans* (AC001), *Monacrosporium thaumasium* (NF34), *Pochonia chlamydosporia* (VC1 e VC4), *Paecilomyces lilacinus* e o grupo controle sem fungos sobre cápsulas ovíferas de *Dipylidium caninum* nos intervalos de cinco, 10 e 15 dias de interação.

Isolados	Efeito aos cinco dias		
	Efeito do tipo 1*	Efeito do tipo 2**	Efeito do tipo 3***
AC001	12,8 ^A ± 16,4	0 ^C ± 0	0 ^B ± 0
NF34	23,5 ^A ± 8,3	0 ^C ± 0	0 ^B ± 0
VC1	23,0 ^B ± 33,5	19,6 ^{AB} ± 23,7	19,6 ^A ± 25,6
VC4	18,4 ^B ± 24,1	28,4 ^A ± 23,8	20,0 ^A ± 26,6
<i>P. lilacinus</i>	9,9 ^B ± 10,6	11,7 ^B ± 13,7	28,4 ^A ± 18,2
Controle	0 ^C ± 0	0 ^C ± 0	0 ^B ± 0
Isolados	Efeito aos 10 dias		
	Efeito do tipo 1*	Efeito do tipo 2**	Efeito do tipo 3***
AC 001	25,3 ^A ± 7,4	0 ^C ± 0	0 ^B ± 0
NF34	19,1 ^A ± 5,7	0 ^C ± 0	0 ^B ± 0
VC 1	5,0 ^B ± 16,5	32,9 ^A ± 36,6	44,2 ^A ± 41,2
VC 4	15,7 ^C ± 22,8	30,3 ^A ± 26,6	31,5 ^A ± 32,0
<i>P. lilacinus</i>	9,4 ^{BC} ± 12,8	10,4 ^B ± 12,9	37,1 ^A ± 19,5
Controle	0 ^D ± 0	0 ^C ± 0	0 ^B ± 0
Isolados	Efeito aos 15 dias		
	Efeito do tipo 1*	Efeito do tipo 2**	Efeito do tipo 3***
AC001	16,1 ^A ± 8,3	0 ^C ± 0	0 ^B ± 0
NF34	15,5 ^A ± 6,6	0 ^C ± 0	0 ^B ± 0
VC1	10,7 ^B ± 20,3	32,3 ^A ± 26,0	49,2 ^A ± 36,5
VC4	11,5 ^B ± 21,4	35,0 ^A ± 26,6	41,9 ^A ± 36,4
<i>P. lilacinus</i>	6,4 ^B ± 9,5	9,9 ^B ± 12,8	42,7 ^A ± 32,8
Controle	0 ^C ± 0	0 ^C ± 0	0 ^B ± 0

Percentuais seguidos pela mesma letra maiúscula na mesma coluna não diferem estatisticamente ($P>0,05$) – teste de Friedman. *efeito lítico sem prejuízo morfológico à casca do ovo, onde as hifas são observadas aderidas à casca. **efeito lítico com alteração morfológica da casca do ovo e do embrião, sem penetração de hifas através da casca. ***efeito lítico com alteração morfológica da casca e do embrião, além da penetração de hifas e colonização interna do ovo.

Ao longo do ensaio experimental 2, foram observadas, hifas dos isolados VC1 e VC4 colonizando a superfície das cápsulas ovíferas de *D. caninum* (Figuras 28 a 31), demonstrando o efeito do tipo 1, hifas na superfície e interior das cápsulas ovíferas (Figuras 32 a 37), demonstrando o efeito do tipo 2, e cápsulas ovíferas começando a romper, demonstrando o efeito do tipo 3 (Figuras 38 a 41). Nas figuras 42 e 43, observam-se cápsulas ovíferas de *D. caninum* sem fungo (controle).

O fungo *P. lilacinus* (Tabela 2) manifestou os seguintes resultados ao longo dos intervalos de cinco, 10 e 15 dias: 9,9%, 9,4% e 6,4%, para o efeito do tipo 1; 11,7%, 10,4% e 9,9%, para o efeito do tipo 2, e 28,4%, 37,1% e 42,7% para o efeito tipo 3. Com o auxílio da microscopia de luz, é possível observar a interação desse fungo sobre cápsulas ovíferas de *D. caninum*, demonstrando o efeito do tipo 1 (Figura 44), interação na superfície e interior das cápsulas, demonstrando o efeito do tipo 2 (Figura 45) e rompimento das cápsulas ovíferas, demonstrando o efeito do tipo 3 (Figuras 46 a 49).

O fungo *P. lilacinus* foi comparado com os isolados VC1 e VC4 do fungo *P. chlamydosporia*, ao longo dos intervalos estudados. Com relação ao efeito do tipo 1, ambos isolados não apresentaram diferença estatística ($P > 0,05$) entre eles. Para o efeito do tipo 2, o fungo *P. lilacinus* e o isolado VC1 não apresentaram diferença ($P > 0,05$) no intervalo de cinco dias, mas foi observada diferença ($P < 0,05$) nos intervalos de 10 e 15 dias, onde ação do isolado VC1 foi maior. Para o isolado VC4, quando comparado com o isolado *P. lilacinus*, foi possível observar diferença estatística ($P < 0,05$) ao longo de todos os intervalos de tempo, sendo que ação do isolado VC4 foi maior para todos dos dias analisados. Para o efeito do tipo 3, quando os isolados foram comparados, não houve diferença ($P > 0,05$) entre eles.

A capacidade de ação do fungo *P. lilacinus* foi evidenciada nos trabalhos de Araújo et al. (1995) sobre ovos de *T. canis*, em um intervalo de sete dias, apresentando percentuais de 45% para o efeito do tipo 1; 15% para o efeito do tipo 2 e, 16% para o efeito do tipo 3. No trabalho de Braga et al (2008c), sobre ovos de *Moniezia* sp. avaliando os efeitos com intervalos de cinco, 10 e 15 dias, o fungo *P. lilacinus*, apresentou percentuais de 29%, 33% e 32% para o efeito do tipo 1; 25%, 25% e 26% para o efeito do tipo 2, e 19%, 20% e 23% para o efeito do tipo 3, respectivamente.

Nos trabalhos de Braga et al. (2007, 2008a, 2008b) e de Araújo et al. (2008), as espécies de fungos predadoras, só manifestaram interação, para o efeito do tipo 1. Nos ensaios experimentais 1 e 2, do presente trabalho, também foi observado apenas o efeito do tipo 1, tanto para *T. saginata* como *D. caninum*, não sendo observada nenhuma hifa no interior dos ovos. Já os isolados VC1, VC4 e *P. lilacinus*, apresentaram os efeitos do tipo 2 e 3, que de acordo com Lysek et al. (1982), caracteriza o fungo como ovicida.

Assim como os ovos de *T. saginata*, os ovos de *D. caninum* também são bastante resistentes no ambiente, e isso demonstra que é possível utilizar esses isolados ovicidas (VC1, VC4 e *P. lilacinus*) no controle biológico desses cestóides, pois sendo isolados de fungos nematófagos, possivelmente eles agirão no ambiente fecal. Os isolados fúngicos *P. lilacinus*, VC1 e VC4, podem representar uma alternativa de controle biológico, diminuindo a contaminação ambiental por esses ovos.

É importante ressaltar que ação dos isolados fúngico *P. lilacinus*, VC1 e VC4, para o efeito do tipo 3, que evidenciam esses isolados como ovicidas, acontecem desde o primeiro intervalo observado de cinco dias, para ambos os ensaios realizados neste trabalho.

O presente trabalho pode ainda ser comparado ao trabalho de Mizobutsi et al. (2000), onde foram avaliados a ação de 64 isolados fúngicos sobre ovos dos fitonematóides *Heterodera glycines* e *Meloidogyne javanica*, dos quais as espécies *Pochonia chlamydosporia* e *Paecilomyces lilacinus*, foram promissores atuando sobre esse ovos, comprovando a atividade ovicida destes fungos em relação a outros fungos estudados por estes autores. O mesmo fato ocorreu nos ensaios experimentais 1 e 2 deste trabalho, quando foi comparada a atividade ovicida destes isolados fúngicos com *M. thaumasium* e *D. flagrans*.

De acordo com Lysek (1978), a primeira atividade de um fungo ovicida é a atividade mecânica. Após essa ação, ocorre a atividade enzimática, sobre a casca do ovo, aumentando sua permeabilidade e facilitando a passagem de toxinas, que causam efeito direto sobre o desenvolvimento do embrião (STIRLING & WEST, 1991).

De acordo com Lysek & Sterba (1991), os fungos ovicidas são capazes de produzir um órgão de penetração chamado apressório. Este órgão de penetração pôde ser observado no trabalho de Braga et al. (2008b). De acordo

com Lysek & Sterba (1991), este órgão não seria pré-requisito para penetração do fungo no interior dos ovos, uma vez que a atividade enzimática provocada pelo fungo representa um papel importante no processo de ataque e penetração nos ovos. Esses autores ainda relatam que, no caso de acontecer penetração nos ovos por hifas simples, somente uma hifa não será capaz de produzir uma pressão forte o bastante para perfurar a camada de quitina e proteína dos ovos.

Segundo O'Hara & Jatala (1985), citado por Mizobutsi et al (2000), a frequência e o sucesso da penetração em ovos por fungos são aparentemente dependentes da composição da cutícula do ovo. Provavelmente, devido a esse fato, a ação do fungo ovicida pode ser mais rápida em alguns ovos do que em outros, como pode ser visto no presente trabalho com ovos de *T. saginata* e cápsulas ovíferas de *D. caninum*, quando comparados com outros trabalhos, como, por exemplo, os trabalhos de Braga et al. (2007, 2008a, 2008c) com ovos de *Ascaris lumbricoides*, *Fasciola hepatica* e *Moniezia* sp., demonstrando um percentual diferente de ovos predados, para cada um dos trabalhos.

Neste trabalho foi possível evidenciar a ação de fungos nematófagos no controle *in vitro* de ovos de *T. saginata* e cápsulas ovíferas de *D. caninum*. Foi verificado que os isolados de fungos predadores *M. thaumasium* e *D. flagrans* interagiram com os ovos desses cestóides durante os intervalos avaliados apresentando apenas o efeito do tipo 1, enquanto o isolados do fungo ovicida *P. chlamydosporia* (VC1 e VC4) e *P. lilacinus*, apresentaram os três tipos de efeitos, demonstrando sua ação de destruição.

Diante disso, é importante ressaltar que o controle biológico utilizando fungos nematófagos pode se tornar uma estratégia viável e de suma importância no controle de helmintos parasitos gastrintestinais.

6. CONCLUSÕES

- 1- Os isolados AC001 do fungo *Duddingtonia flagrans* e NF34 do fungo *Monacrosporium thaumasium* não são isolados ovicidas, pois não apresentaram efeito do tipo 3 sobre ovos de *Taenia saginata* e cápsulas ovígeras de *Dipylidium caninum* nos intervalos de cinco, 10 e 15 dias de interação.
- 2- Os isolados VC1 e VC4 do fungo *Pochonia chlamydosporia* são isolados ovicidas, com efeito do tipo 3 sobre os ovos de *Taenia saginata* e cápsulas ovígeras de *Dipylidium caninum* apresentado durante os intervalos de cinco, 10 e 15 dias de interação.
- 3- O fungo *Paecilomyces lilacinus* é ovicida, apresentando efeito do tipo 3 sobre os ovos de *Taenia saginata* e cápsulas ovígeras de *Dipylidium caninum* durante os intervalos estudados.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, O.F.; GOMES, A.G.; SILVA, A.C. Ocorrência de enteroparasitos em cães do município de Goiânia, Goiás: Comparação de técnicas de diagnóstico. **Ciência Animal Brasileira**. v.6, n.2, p.127-133, 2005.

ARAÚJO, J.V.; ASSIS, R.C.L.; ALVES, P.H.; CAMPOS, A.K.; GANDRA, J.R. Controle biológico de tricostrongilídeos (Nematoda: Trichostrongyloidea) gastrintestinais de bovinos pelo fungo *Monacrosporium sinense*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.56, n.4, p.467-471, 2004d.

ARAÚJO, J.V.; ASSIS, R.C.L.; CAMPOS, A.K.; MOTA, M.A. Atividade in vitro dos fungos nematófagos dos gêneros *Arthrobotrys*, *Duddingtonia* e *Monacrosporium* sobre nematóides trichostrongilídeos (Nematoda: Trichostrongyloidea) parasitos gastrintestinais de bovinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.13, n.2, p. 65-71, 2004b.

ARAÚJO, J.V.; ASSIS, R.C.L.; CAMPOS, A.K.; MOTA, M.A. Efeito antagônico de fungos predadores dos gêneros *Monacrosporium*, *Arthrobotrys* e *Duddingtonia* sobre larvas infectantes de *Cooperia* sp. e *Oesophagostomum* sp. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.58, n.3, p.373-380, 2006b.

ARAÚJO, J.V.; BRAGA, F.R ; SILVA, A.R. ; ARAUJO, J. M. ; TAVELA, A.O . *In vitro* evaluation of the effect of the nematophagous fungi *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium sinense* and *Pochonia chlamydosporia* on *Ascaris suum* eggs. **Parasitology Research**. v. 102, p, 2008.

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, n.2, p.76-79, 2006a.

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, n.2, p.117-122, 1998.

ARAÚJO, J.V.; GUIMARÃES, M.P.; CAMPOS, A.K.; SÁ, N.C.; SARTI, P.; ASSIS, R.C.L. Control of bovine gastrointestinal nematode parasites using pellets of the nematode-trapping fungus *Monacrosporium thaumasium*. **Ciência Rural, Santa Maria**. v.34, n.2, p.457-463, 2004c.

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, suplemento 1, 2004a.

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 gastrointestinal de bovinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária e Zootecnia**. v.12, n.2, p.76-81, 2003.

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, n.8, p.1177-1181, 2007.

ARAÚJO, J.V.; SANTOS, M.A.; FERRAZ, S. Efeito ovicida de fungos nematófagos sobre ovos embrionados de *Toxocara canis*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.47, n.1, p.32-42, 1995.

ARAÚJO, J.V.; SANTOS, M.A.; FERRAZ, S.; MAGALHÃES, A.C.M. Controle de larvas infectantes de *Haemonchus placei* por fungos predadores da espécie *Monacrosporium ellypsosporum* em condições de laboratório. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.44 n.6, p.521-526, 1992.

ARAÚJO, J.V.; SANTOS, M.A.; FERRAZ, S. Biological control *in vitro* of infective *Haemonchus placei* larvae by predacious fungi *Arthrobotrys musiformis*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.46, n.3, p.194-204, 1994.

ARAÚJO, J.V.; SANTOS, M.A.; FERRAZ, S.; MAIA, A.S. Antagonistic effect of predacious *Arthrobotrys* fungi on infective *Haemonchus placei* larvae. **The Journal of the Helminthology**, v.67, n.2, p.136-138, 1993.

ARAÚJO, J.V.; STEPHANO, M.A.; SAMPAIO, W.M. Passage of nematode-trapping fungi through the gastrointestinal tract of calves. **Veterinarski Archive**, v.69, n.2, p.69-78, 1999.

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 Medicina Veterinária**. v.12, n.3, 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. 290p., 2003.

BARRON, G.L. (Ed.) **The nematode-destroying fungi**. Canadá: Canadian Biological Publications. p.140, 1977.

BASUALDO, J.A.; CIARMELA, M.L.; SARMIENTO, P.L.; MINVIELLE, M.C. Biological activity of *Paecilomyces lilacinus* genus against *Toxocara canis* eggs. **Parasitology Research**. v.86, n.1, p.854-859, 2000.

BRAGA, F.R.; ARAÚJO, J.V.; ARAUJO, J. M.; CARVALHO, R.O.; SILVA, A.R.; CAMPOS, A.K.; TAVELA, A.O. Ovicidal activity of *Paecilomyces lilacinus* on *Moniezia* sp. eggs. **Journal of Helminthology**. 2008c. (in press).

BRAGA, F.R.; ARAÚJO, J. V.; CAMPOS, A. K.; ARAUJO, J.M.; CARVALHO, R. O.; SILVA, A.R.; CORRÊA, 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 & Biotechnology**. 2008b. (in press).

BRAGA, F.R.; ARAÚJO, J.V.; CAMPOS, A.K.; CARVALHO, R.O.; SILVA, A.R.; TAVELA, A.O.; MACIEL, A.S. Observação *in vitro* da ação dos isolados fúngicos *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* e *Verticillium chlamydosporium* sobre ovos de *Ascaris lumbricoides* (Lineu, 1758). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.40, n.3, p.356-358, 2007.

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

CIARMELA, M.L.; LORI, M.G.; BASUALDO, J.A. Biological interaction between soil fungi and *Toxocara canis* eggs. **Veterinary Parasitology**. v.103, n.3, p.251-257, 2002.

CIARMELA, M.L.; THEVENET, P.S.; ALVAREZ, H.M.; MINVIELLE, M.C.; BASUALDO, J.A. Effect of *Paecilomyces lilacinus* on the viability of oncospheres of *Taenia hydatigena*. **Veterinary Parasitology**. n.131. p.61-64, 2005.

CHARLES, T. P., ROQUE, M. V. C. & SANTOS, C. DE P.Reduction of *Haemonchus contortus* infective larvae by *Harposporium anguillulae* in sheep faecal cultures. **International Journal for Parasitology**. n.26, 509-510, 1996.

COSTA, H.M.A. Helminthos. In: NEVES D.P. (Ed). **Parasitologia Humana**. Editora Atheneu: São Paulo. pp.166-173, 2000.

DIAS, R.M.D.S.; SILVA, M.I.P.G.; MANGINI, A.C.S.; VELLOSA, S.A.G.; TORRES, D.M.A.G.V.; SILVA, R.M.; VAZ, A.J. Ocorrência de *Taenia* sp. Na população atendida no laboratório central do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil (1960-1989). **Revista Instituto de Medicina Tropical, São Paulo**. v.33, n.2, p. 147-151, 1991.

DIMANDER, S. O.; HOGLUND, J.; UGGLA.; SPÖRNDLY, E.; WALLER, P. J. Evaluation of gastro-intestinal nematode parasite control strategies for firstseason grazing cattle in sweden. **Veterinary Parasitology**. v. 11, n. 2, p. 192-209, 2003.

DORNY, P.; VERCAMMEN, F.; BRANDT, J.; VANSTEENKISTE, W.; BERKVEN, D.; GEERTS, S. Sero-epidemiological study of *Taenia saginata* cysticercosis in Belgian cattle. **Veterinary Parasitology**. n.88, p.43-49, 2000.

DUDDINGTON, C.L. Notes on the technique of handling predaceous fungi. **Transactions of British Mycology Society**. n. 38, p. 97-103, 1955.

ESTEVEZ, F.M.; SILVA-VERGARA, M.L.; CARVALHO, A.C.F.B. Inquérito epidemiológico sobre teníase em população do Programa Saúde da Família no Município de Uberaba, MG. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.38, n.6, p.530-531, 2005.

FALAVIGNA-GUILHERME, A.L.; SILVA, K.; ARAÚJO, S.M.; TOBIAS, M.L.; FALAVIGNA, D.L.M. Cisticercose em animais abatidos em Sabáudia, estado do Paraná. **Artigo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.58, n.5, p.950-951, 2006.

FERRER, E.; BENITEZ, L.; FOSTER-CUERVA, M.; BRYCE, D.; WAMAE, L.W.; ONYANGO-ABUJE, J.A.; GARATE, T.; HARRISON, L.J.S.; PARKHOUSE, R.M.V. *Taenia saginata* derived synthetic peptides with potential for the diagnosis of bovine cysticercosis. **Veterinary Parasitology**, n.111, p.83-94, 2003.

FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**. 2ª edição, Editora Julina, p.188-191, 1993.

FREITAS, M.G. **Helminthologia Veterinária**. 4ª edição, Gráfica Rabelo, Belo Horizonte, p.68, 1980.

GAMS, W.; ZARE, R. A revision of *Verticillium* sect. Prostrata. III. Generic classification. **Nova Hedwigia**, v.73, n.3-4, p. 329-337, 2001.

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

GRAMINHA, E.B.N.; MAIA, A.S.; SANTOS, J.M.; CÂNDIDO, R.C.; SILVA, G.S.; COSTA, A.J. Avaliação *in vitro* da patogenicidade de fungos predadores de nematóides parasitos de animais domésticos. Semina: **Ciências Agrárias, Londrina**. v.22, n.1, p.11-16, 2001.

GRØNVOLD, J.; WOLSTRUP, J.; LARSEN, M.; GILLESPIE, A.; GIACOMAZZI, F. Interspecific competition between the nematode-trapping fungus, *Duddingtonia flagrans*, and selected microorganisms and the effect of spore concentration on the efficacy of nematode trapping. **Journal of Helminthology**. n.78, p.41-46, 2004.

JARDIM, E.A.G.V.; LINHARES, G.F.C.; TORRES, F.A.G.; ARAÚJO, J.L.B.; BARBOSA, S.M. Siferenciação específica entre *Taenia saginata* e *Taenia solium* por ensaio de PCR e duplex-PCR. **Ciência Rural, Santa Maria**. V.36, n.1, p.166-172, 2006.

KERRY, B.R. Rhizosphere interactions and the exploitation of microbial agents for the biological control of plant-parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, v.38, n.1, p.323-441, 2000.

LABARTHE, N.; SERRÃO, M.L.; FERREIRA, A.M.R.; ALMEIDA, N.K.O.; GUERRERO, J. A survey of gastrointestinal helminths in cats of the metropolitan region of Rio de Janeiro, Brazil. **Veterinary Parasitology**. n.123, p.133-139, 2004.

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

LATEEF, M.; ZAGAR, S.A.; KHAN, A.R.; NAZIR, M.; SHOUKAT, A. Successful treatment of niclosamide- and praziquantel-resistant beef tapeworm infection with nitazoxanide. **International Journal of Infectious Diseases**, 2007.

LÓPEZ-LLORCA, L.V. Y ROBERTSON, W.N. Immunocytochemical localization of a 32-kDa protease from the nematophagous fungus *Verticillium suchlasporium* in infected nematode eggs. **Experimental Mycology**. v.16, p.261-267, 1992.

LYSEK, H. Classification of ovicide fungi according to type of ovicidity. **Acta University Palackianae Olomueensis**. v.76, n.1, p.9-13, 1976.

LYSEK, H.; CHALUPOVÁ, V. Quantitative determination of activity of ovicidal fung. **Acta Univesity Palackianae Olomucensis**. 1978.

LYSEK, H.; FASSATIOVÁ, O.; PINEDA, N.C.; HERNÁNDEZ, N.LORENZO. Ovicidal fungi in soils of Cuba. **Folia Parasitologica**. v.29, p.265-270, 1982.

LYSEK, H.; NIGENDA, G. Capacidad de autodeshormintización del suelo. **Salud Pública de México**. v.31, n.6, p.763-771, 1989.

LYSEK, H.; STERBA, J. Colonization of *Ascaris lumbricoides* eggs by the fungus *Verticillium chlamydosporium* Goddard. **Folia Parasitologica**. v.38, p.255-259, 1991.

MACIEL, A.S.; ARAÚJO, J.V.; CECON, P.R. Atividade predatória *in vitro* dos fungos *Arthrobotrys robusta*, *Duddingtonia flagrans* e *Monacrosporium thaumasium* sobre larvas infectantes de *Ancyclostoma* spp. de cães. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.15, n.2, p.71-75, 2006.

MANKAU, R. Biological control of nematode pest by natural enemies. **Annual Review of the Phytopathology**, v. 18, p. 415-440, 1980.

MARTÍNEZ-MORENO, F.J.; HERNÁNDEZ, S.; LÓPEZ-COBOS, E.; BECERRA, C.; ACOSTA, I.; MARTÍNEZ-MORENO, A. Estimation of canine intestinal parasites in Córdoba (Spain) and their risk to public health. **Veterinary Parasitology**. n.143, p.7-13, 2007.

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, Santa Maria**. v.33, n.1, p.169-171, 2003.

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

MIQUEL, J.; BÂ, C.T.; MARCHAND, B. Ultrastructure of spermiogenesis of *Dipylidium caninum* (Cestoda, Cyclophyllidea, Dipylidiidae) an intestinal parasite of *Canis familiaris*. **International Journal for Parasitology**. n.28, p.1453-1458, 1998.

MIZOBUTSI, E.H.; FERRAZ, S.; RIBEIRO, R.C.F. Avaliação do parasitismo de diversos isolados fúngicos em ovos de *Heterodera glycines* e *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**. v.24, n.2, p.167-172, 2000.

MO, M.; XU, C.; ZHANG, K. Effects of carbon and nitrogen sources, carbon-to-nitrogen ratio, and initial pH on the growth of nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* in liquid culture. **Mycopathologia**. v.159, p.381-387, 2005.

MONFORT, E.; LOPEZ-LLORCA, L.V.; JANSSON, H-B.; SALINAS, J. In vitro soil receptivity assays to eggs-parasitic nematophagous fungi. **Mycology Progress**. v.5, p.18-23, 2006.

MONFORT, E.; LOPEZ-LLORCA, L.V.; JANSSON, H-B.; SALINAS, J.; PARK, J.O.; SIVASITHAMPARAM, K. Colonisation of seminal roots of wheat and barley by egg-parasitic nematophagous fungi and their effects *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* and development of root-rot. **Soil Biology & Biochemistry**. v.37, p.1229-1235, 2005.

MORGAN-JONES, G.; RODRIGUES KÁBANA R. Infections events in the fungus-nematode system. In: Poinar O.G. & Bome J.H. (ed). **Diseases of nematodes**. CRC Press, Boca Raton, Florida, pg. 59-62, 1988.

MOTA, M.A.; CAMPOS, A.K.; ARAÚJO, J.V. Evaluation of the predatory capacity of the fungi *Arthrobotrys robusta* and *Monacrosporium thaumasium* submitted to different preservation methods against gastrointestinal parasitic nematodes of bovines. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.11, n.1, p.13-17, 2002.

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, n.3, p.93-100, 2003.

MUNDIM, T.C.D.; OLIVEIRA JÚNIOR, S.D.; RODRIGUES, D.C.; CURY, M.C. Freqüência de helmintos em gatos de Uberlândia, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.56, n.4, p.562-563, 2004.

NASCIMENTO, E. Teníase e Cisticercose. In: NEVES D.P. (Ed). **Parasitologia Humana**. Editora Atheneu, São Paulo. pp.207-215, 2000.

NEUFELD, P. M. **Apostila de técnicas básicas em Micologia Clínica**. Universidade Federal do Rio de Janeiro-Faculdade de Farmácia-Laboratório de Micologia Clínica, 1998.

NEVES, D.P. In: NEVES D.P. (Ed). **Parasitologia Humana**. Editora Atheneu, 10ª Edição, São Paulo. pp.226-227, 2000.

NEVES, D.P. In: NEVES D.P. (Ed). **Parasitologia Humana**. Editora Atheneu, 11ª Edição, São Paulo. pp.251-252, 2005.

O'HARA, C.M., JATALA, P. Ultrastructure of Meloidogyne, Globodera and Nacobus eggs shells as related to the activities of biocontrol fungi. **Journal of Nematology**. v.17, n.4, p.508, 1985.

OLIVEIRA-SEQUEIRA, T.C.G.; AMARANTE, A.F.T.; FERRARI, T.B.; NUNES, L.C. Prevalence of intestinal parasites in dogs from São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**. n.103, p.19-27, 2002.

PARAUD, C.; PORS, I.; CHICARD, C.; CHARTIER, C. Comparative efficacy of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* against *Haemonchus contortus*, *Teladorsagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis* in goat faeces: influence of the duration and of the temperature of coproculture. **Parasitology Research**. n.98, p.207-213, 2006.

PENCE, D.B. The fine structure and histochemistry of the infective eggs of *Dipylidium caninum*. **The Journal of Parasitology**. v.53, n.5, p.1041-1054, 1967.

PEREIRA, M.A.V.C.; SCHWANZ, V.S.; BARBOSA, C.G. Prevalência da sistercercose em carcaças de bovinos abatidos em matadouros-frigoríficos do estado de Rio de Janeiro, submetidos ao Controle do Serviço de Inspeção Federal (SIF-RJ), no período de 1997 a 2003. **Arquivo do Instituto de Biologia**. v.73, n.1, p.83-87, 2006.

PFUETZENREITER, M.R.; ÁVILA-PIRES, F.D. Epidemiologia da teníase cisticercose por *Taenia solium* e *Taenia saginata*. **Ciência Rural, Santa Maria**. v.30, n.3, p.541-548, 2000.

REICHMANN, M.L.A.B.; FIGUEIREDO, A.C.C.; PINTO, H.B.F.; NUNES, V.F.P. **Controle de populações de animais de estimação**. Instituto Pasteur, São Paulo. 44p., 2000.

REIFF, F.M. Importance of environmental health measures in the prevention and control of taeniasis and cysticercosis. In: Encontro do Cone Sul e seminário latino-americano sobre teníase e cisticercose, Curitiba. **Anais...** Curitiba: Secretaria da Saúde do Paraná. 191p. p.76-90, 1994.

REY, L. **Bases da Parasitologia Médica**. Editora Guanabara koogan, 2ª edição, Rio de Janeiro. p.186-193, 1992.

REY, L. **Bases da Parasitologia Médica**. Editora Guanabara Koogan, 3ª edição, Rio de Janeiro. p.496-509, 2001.

ROBERTSON, I.D.; IRWIN, P.J.; LYMBERY, A.J.; THOMPSON, R.C.A. The role of companion animals in the emergence of parasitic zoonoses. **International Journal for Parasitology**. n.30, p.1.369-1.377, 2000.

SANYAL, P.K.; CHAUAN, J.B.; MUKHOPADHYAYA. Implications of fungicidal effects benzimidazole compounds of *Duddingtonia flagrans* in integrated nematode parasite management in livestock. **Veterinary Research Communications**. v.28, n.4, p.375-385, 2004.

SANTIAGO, D.C.; HOMECHIN, M.; SILVA, J.F.V.; RIBEIRO, E.R.; GOMES, B.C.; SANTORO, P.H. Seleção de isolados de *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson para controle *Meloydogine paranaensis* em tomateiro. **Ciência Rural, Santa Maria**. v.36, n.4, p.1055-1064, 2006.

SANTOS, S.V.; CASTRO, J.M. Ocorrência De Agentes Parasitários Com Potencial Zoonótico De Transmissão Em Fezes De Cães Domiciliados Do Município De Guarulhos, Sp. **Arquivo Instituto de Biologia**, São Paulo. v.73, n.2, p.255-257, 2006.

SANTOS, C.P.; CHARLES, T. P. Efeito da aplicação de conídios de *Drechmeria coniospora* em cultivos de fezes contendo ovos de *Haemonchus contortus* (Effect of an endoparasitic fungus, *Drechmeria coniospora*, in fecal cultures containing eggs of *Haemonchus contortus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária et Zootecnia**. n.47, p.123-128, 1995.

SANTOS, V.C.R.; RAMOS, E.T.R.; ALMEIDA FILHO, F.S.; PINTO, J.M.S.; MUNHOZ, A.D. Prevalência da cisticercose em bovinos abatidos sob Inspeção Federal no Município de Jequié, Bahia, Brasil. **Ciência Animal Brasileira** . v. 9, n. 1, p. 132-139, 2008.

SASAKI, M.G.; BRIOSCHI, M.L. Teníase. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de Infectologia**. Editora Atheneu, 2ª edição, São Paulo, p.1459-1461, 2004.

SILVA, A.V.M. Teníase e Cisticercose. In: NEVES D.P. (Ed.), **Parasitologia Humana**. Editora Atheneu, 11ª edição, São Paulo, p.227-237, 2005.

SILVA, H.C.; CASTAGNOLLI, K.C.; SILVEIRA, D.M.; COSTA, G.H.N.; GOMES, R.A; NASCIMENTO, A.A. Fauna helmíntica de cães e gatos provenientes de alguns municípios do Estado de São Paulo. Semina: **Ciências Agrárias, Londrina**. v. 22, n.1, p. 67-71, 2001.

SILVA, A.A.P.; SILVA, M.V. Teníase na população do bairro Nossa Senhora Aparecida, município de Correia Pinto - SC, em 2003 e 2004. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**. v. 39, n.2, p.143-145, 2007.

SOUZA, V.K.; PESSÔA-SILVA, M.C.; MINOZZO, J.C.; THOMAZ-SOCCOL, V. Prevalência da cisticercose bovina no estado do Paraná, sul do Brasil: avaliação de 26.465 bovinos inspecionados no SIF 1710. Semina: **Ciências Agrárias, Londrina**. v. 28, n. 4, p. 675-684, 2007.

STIRLING, G.R.; WEST, L.M. Fungal parasites of root-knot nematodes eggs from tropical and sub tropical regions of Austrália. **Australasian Plant Pathology**. v.20, n.4, p.149-154, 1991.

UNGAR, M.L., GERMANO, P.M.L. Prevalência da cisticercose bovina no Estado de São Paulo (Brasil). **Revista Saúde Pública**. v.26, n.3, p.167-172, 1992.

URQUHART, G.M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J.L.; DUNN, A.M.; JENNINGS, F.W. **Parasitologia Veterinária**. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p.104-142, 1990.

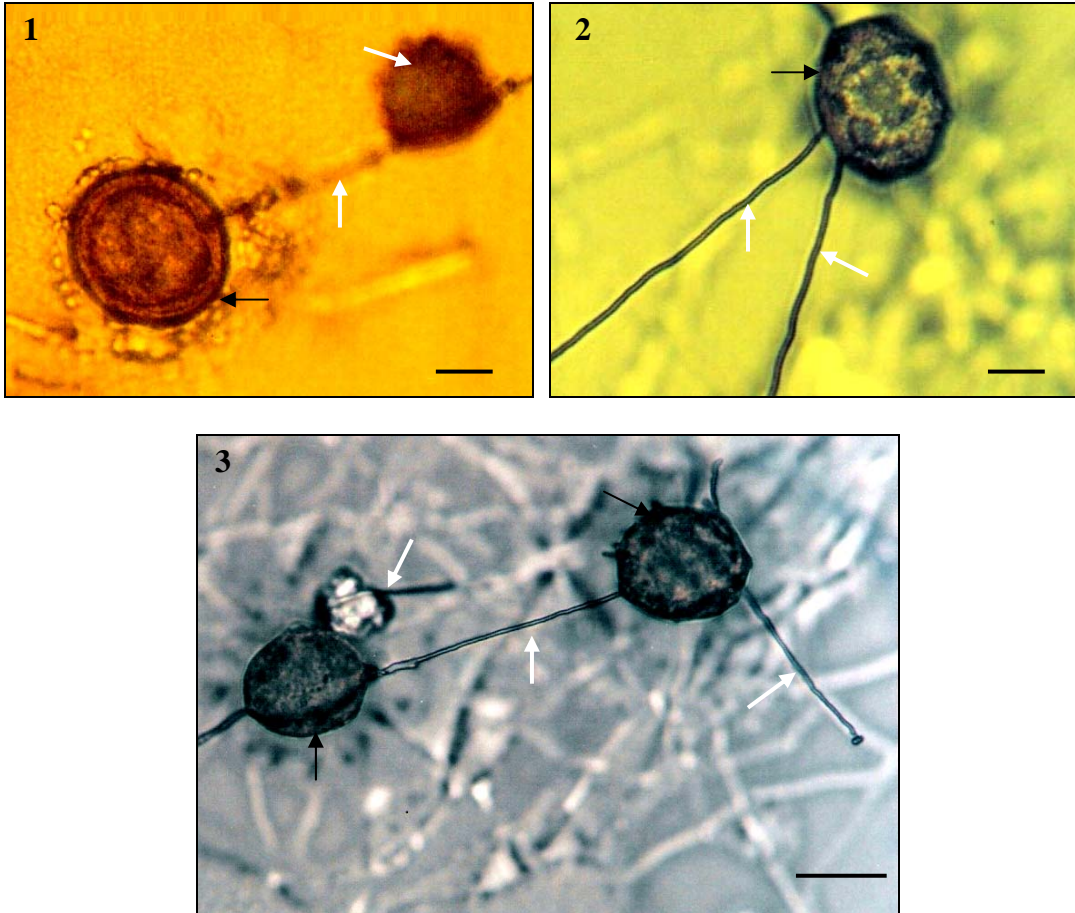
VERDEJO-LUCAS, S.; SORRIBAS, F.J.; ORNAT, C.; GALEANO, M. Evaluating *Pochonia chlamydosporia* in a double-cropping system of lettuce and tomato in plastic houses infested with *Meloidogyne javanica*. **Plant Pathology**. v.52, p.521-528, 2003.

WALLER, P.J.; FAEDO, M. The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematodes parasites of sheep: screening studies. **Veterinary Parasitology**. v.49, n.4, p.285-297, 1993.

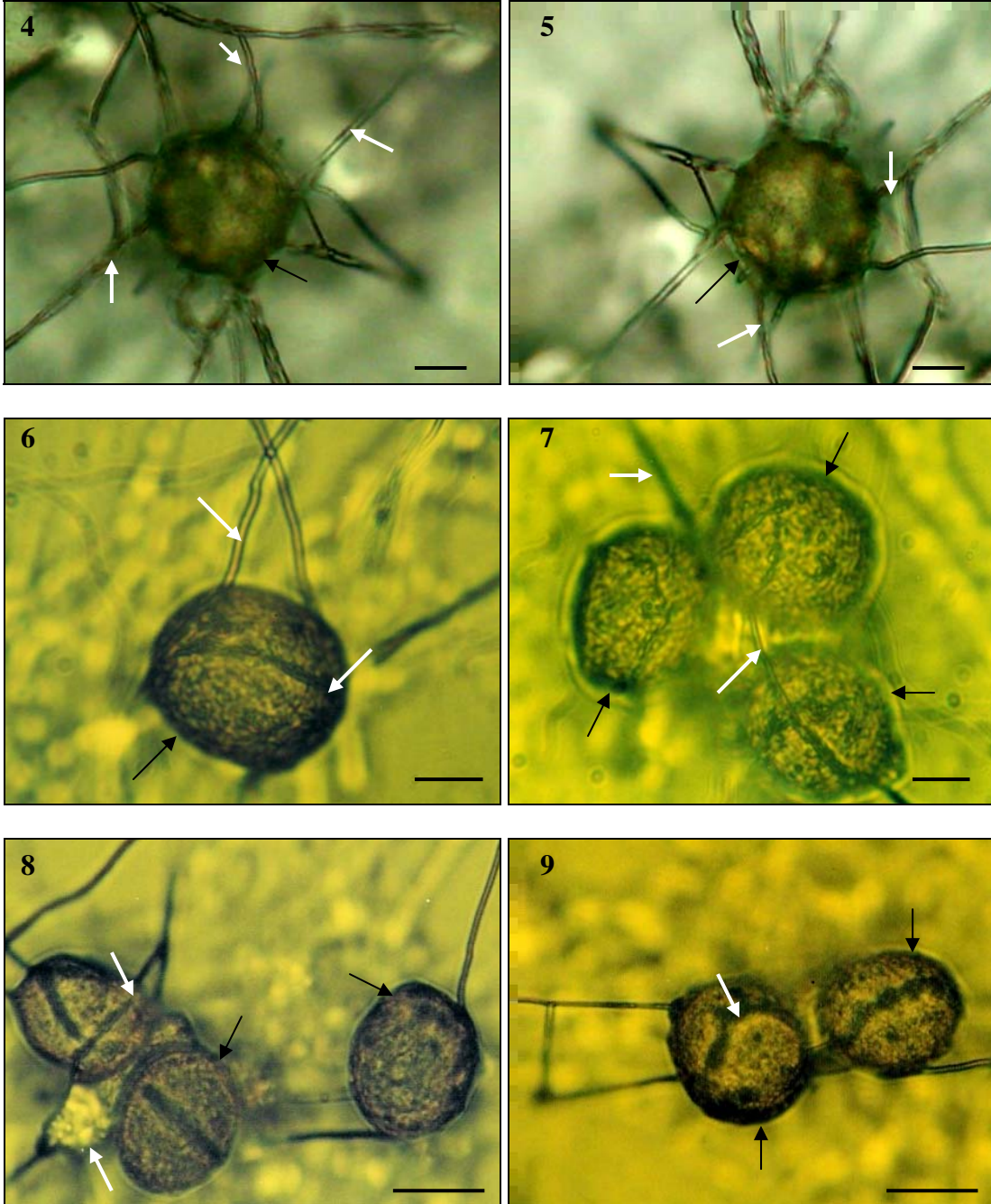
WALLER, P.J.; FAEDO, M.; ELLIS, K. The potential of nematophagous fungi to control the free living stages of nematodes parasites of sheep: towards the development of a fungal controlled release device. **Veterinary Parasitology**, v.102, p.321-330, 2001.

WALLER, P.J.; SCHWAN, O.; LJUNGSTRÖM, B.-L.; RYDZIK, A.; YEATES, G.W. Evaluation of biological control of sheep parasites using *Duddingtonia flagrans* under commercial farming conditions on the island of Gotland, Sweden. **Veterinary Parasitology**. n.126, p.299-315, 2004.

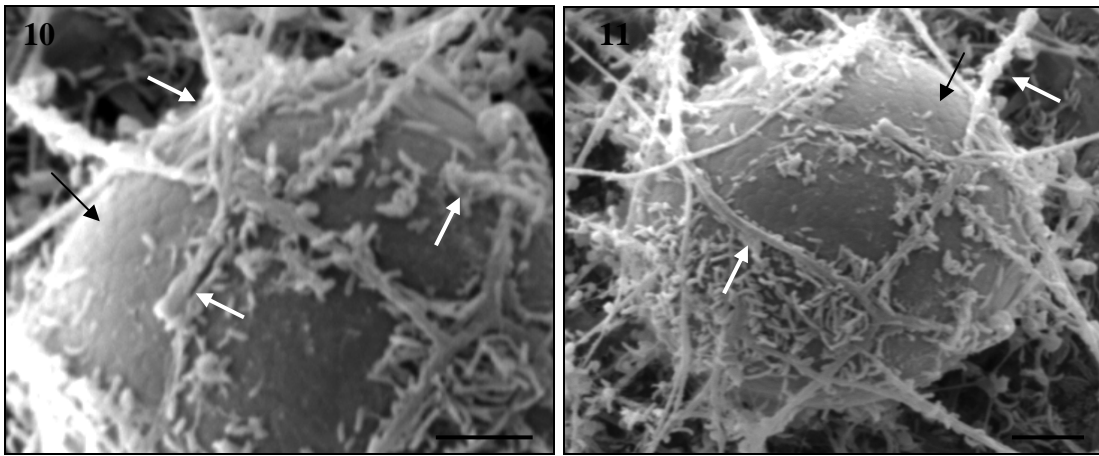
8. ANEXO (FIGURAS)



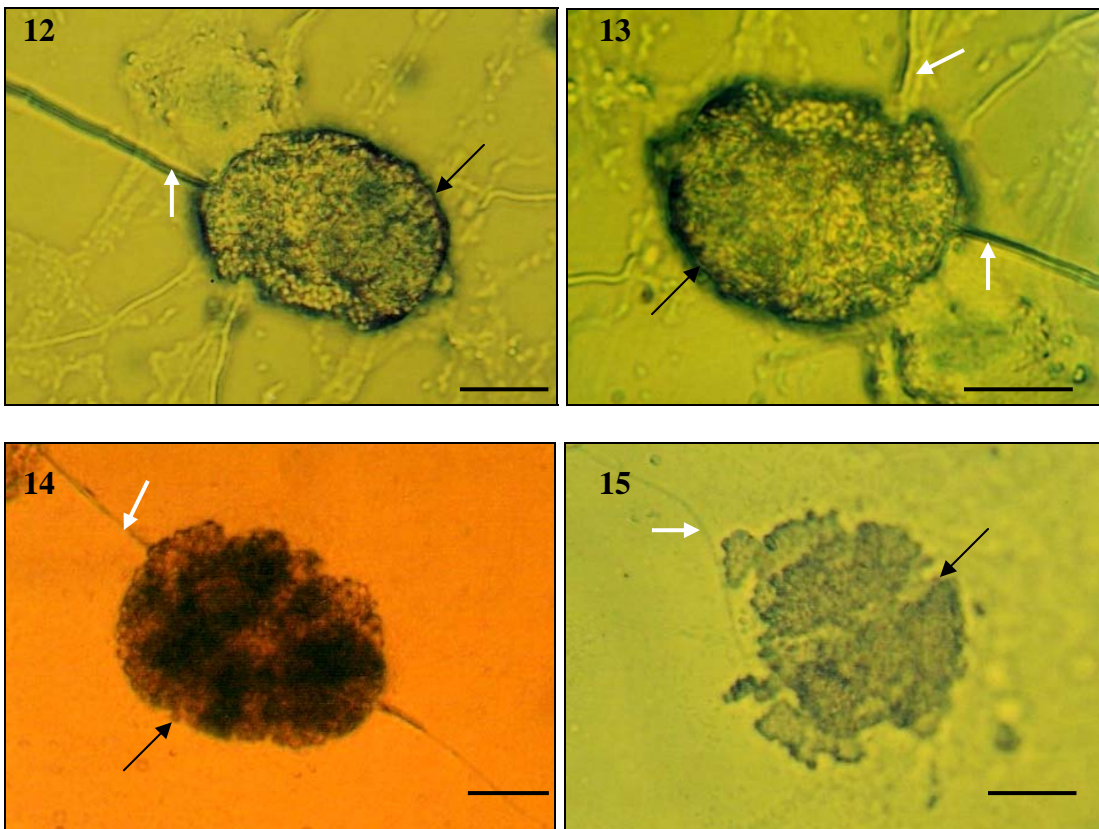
Figuras 1-3 – Hifas e clamidósporo de *Pochonia chlamydosporia* (seta branca) e ovos de *Taenia saginata* (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 1. Barras: 1 e 2 (10 μ m); 3 (20 μ m).



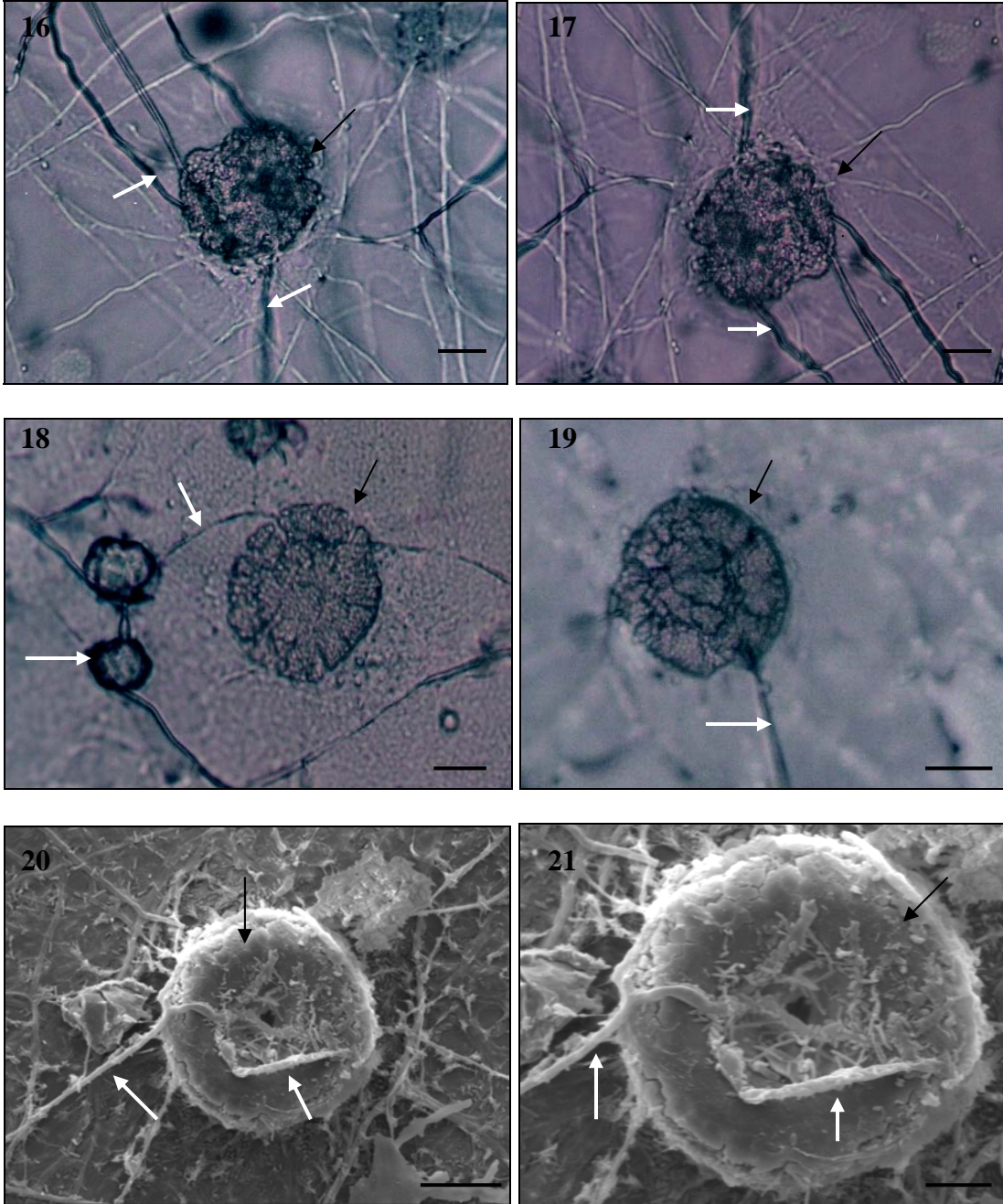
Figuras 4 - 9 – Hifas e clamidósporo de *Pochonia chlamydosporia* (seta branca) e ovos de *Taenia saginata* (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 2. Barras: 4 a 7 (10 μ m); 8 e 9 (20 μ m).



Figuras 10 e 11 – Hifas de *Pochonia chlamydosporia* (seta branca) e ovos de *Taenia saginata* (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 2. Barras: 10 e 11 (5µm).

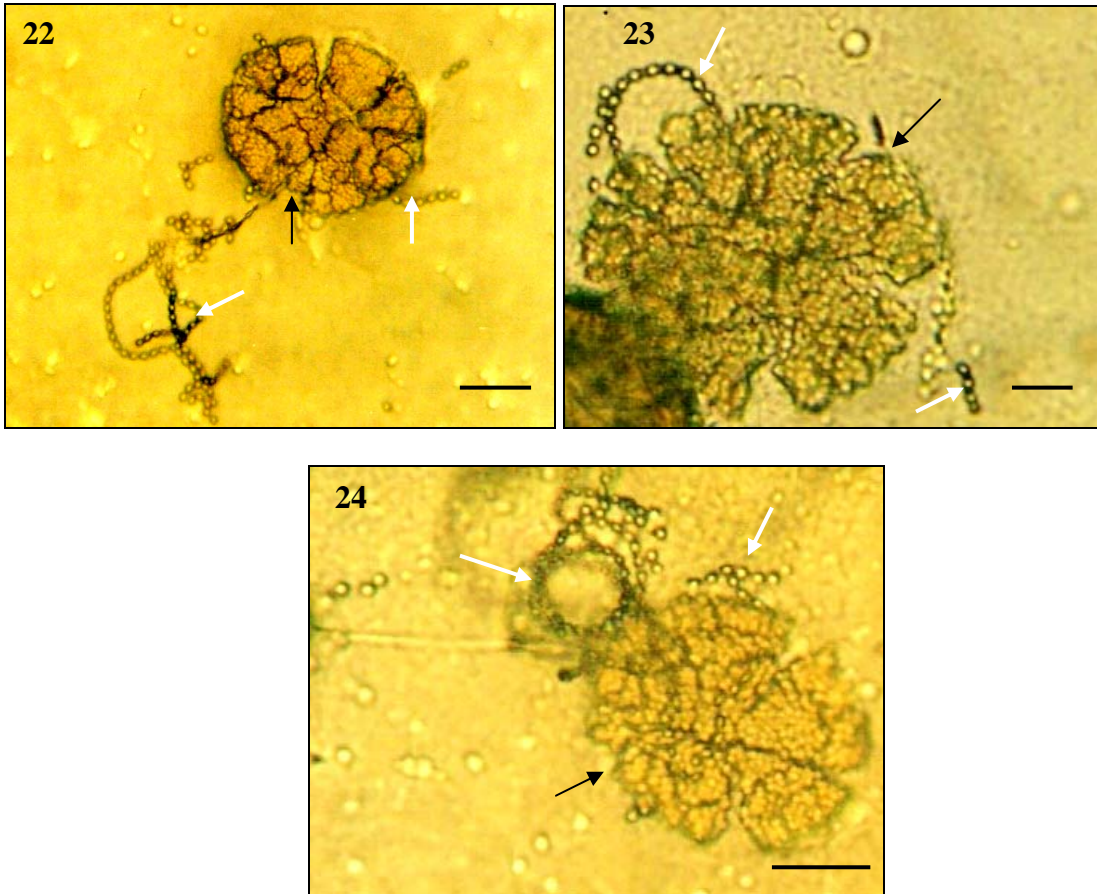


Figuras 12 - 15 – Hifas de *Pochonia chlamydosporia* (seta branca) e ovos de *Taenia saginata* (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3. Barras: 12 a 15 (10µm).

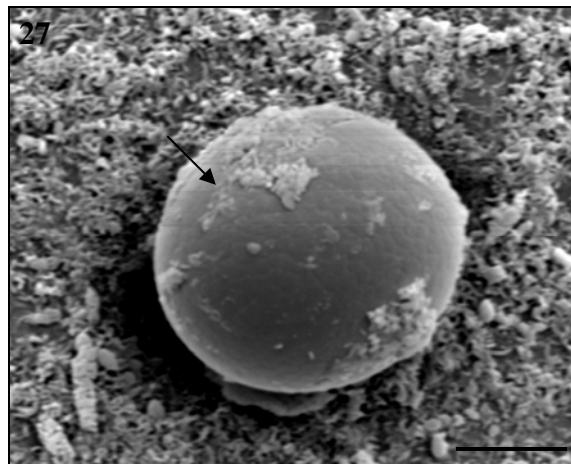
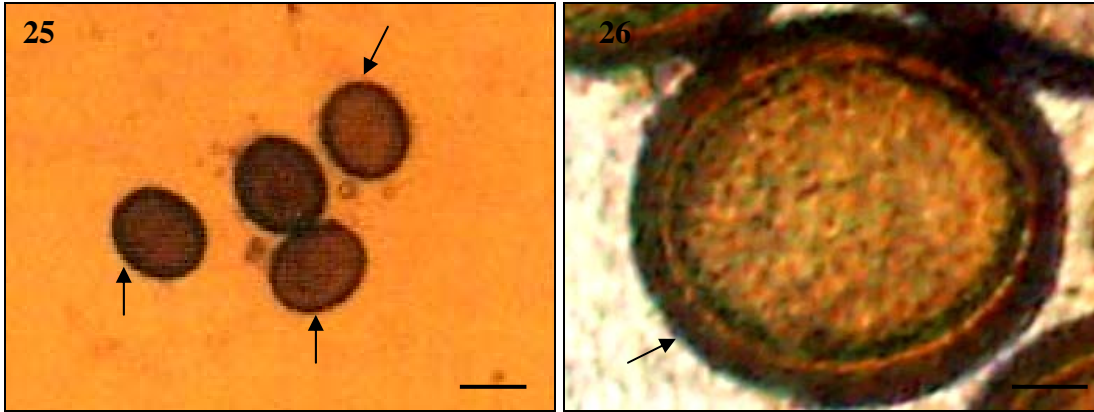


Figuras 16 a 19 – Hifas e clamidósporo de *Pochonia chlamydosporia* (seta branca) e ovos de *Taenia saginata* (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3. Barras: 16 a 19 (10 μ m).

Figuras 20 e 21 – Hifas de *Pochonia chlamydosporia* (seta branca) e ovos de *Taenia saginata* (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3. Barras: 20 (10 μ m) e 21 (5 μ m).

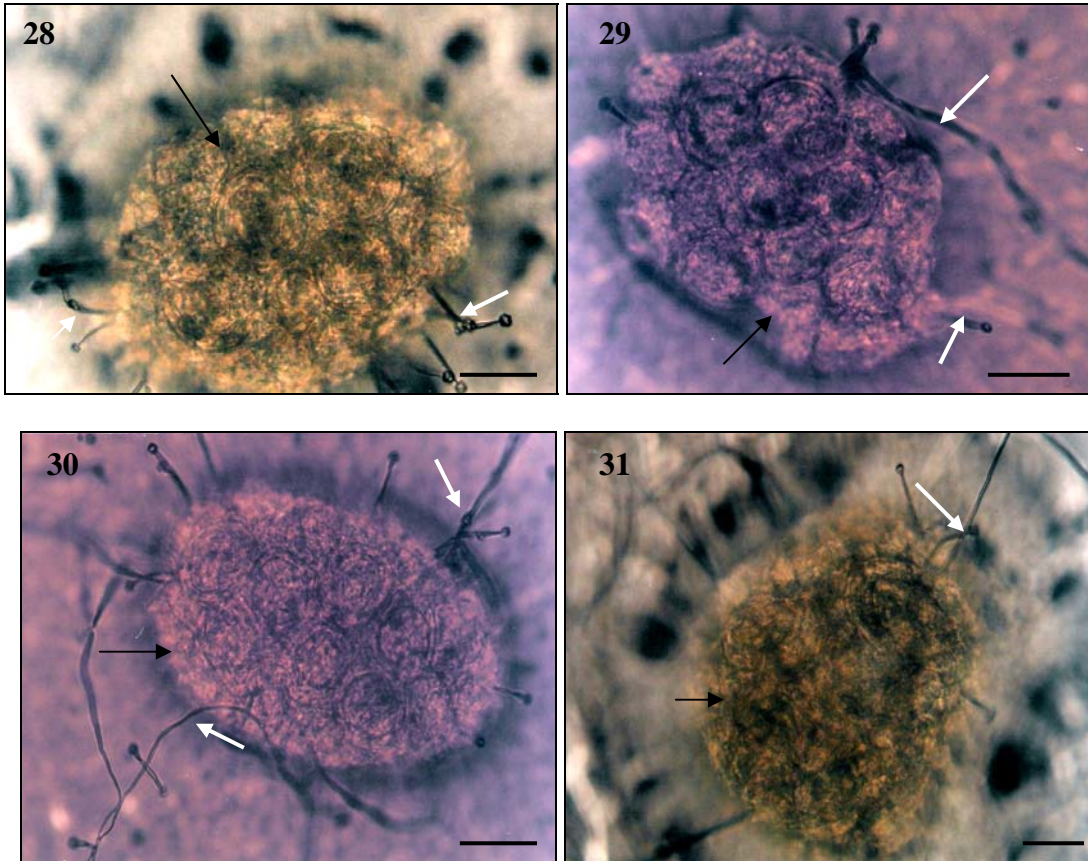


Figuras 22 - 24 – Hifas de *Paecilomyces lilacinus* (seta branca) e ovos de *Taenia saginata* (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3. Barras: 22 a 24 (10 μ m).

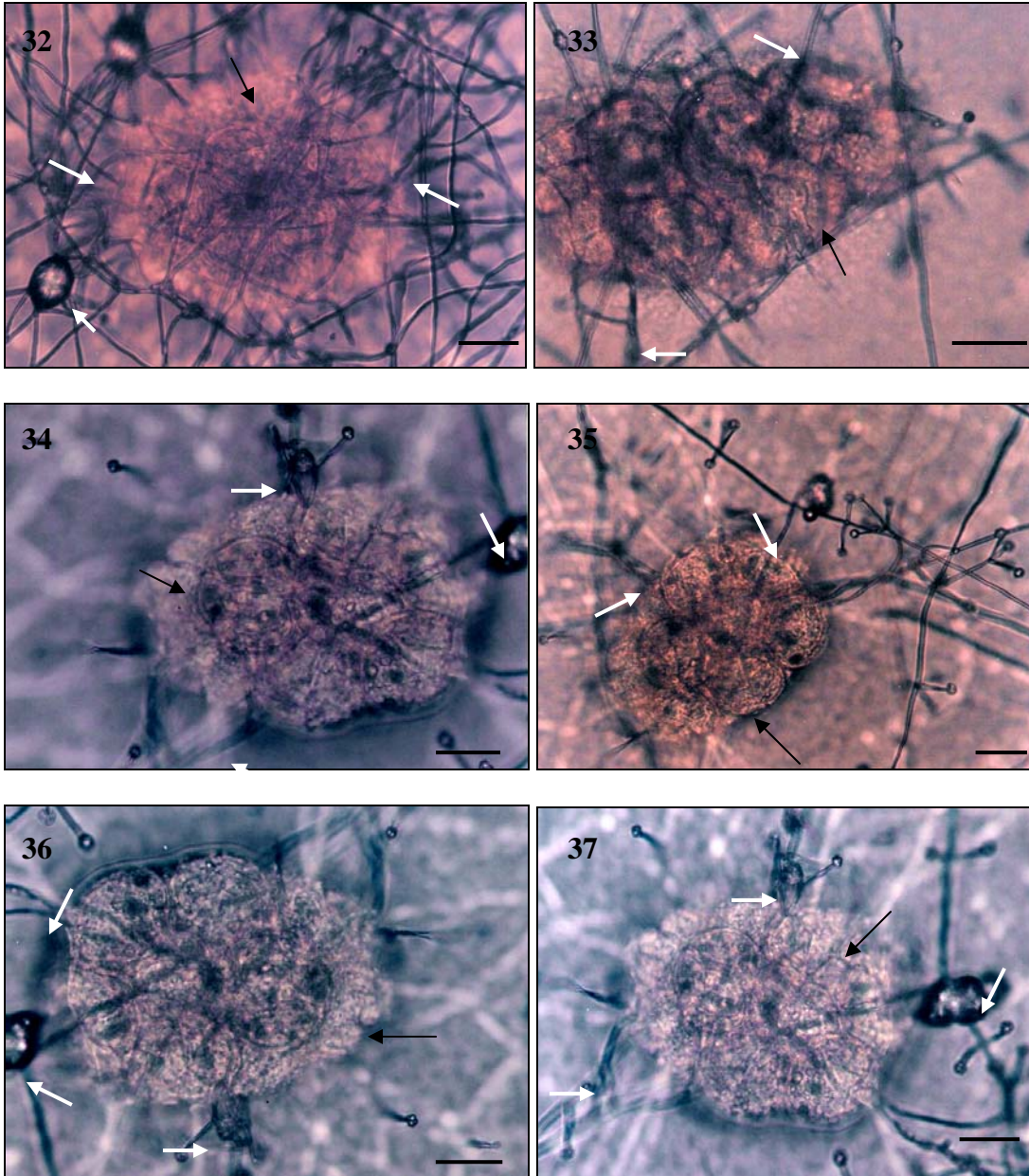


Figuras 25 e 26 – Ovos de *Taenia saginata* (seta preta), sem fungo (controle). Barras: 25 (20 μ m) e 26 (5 μ m).

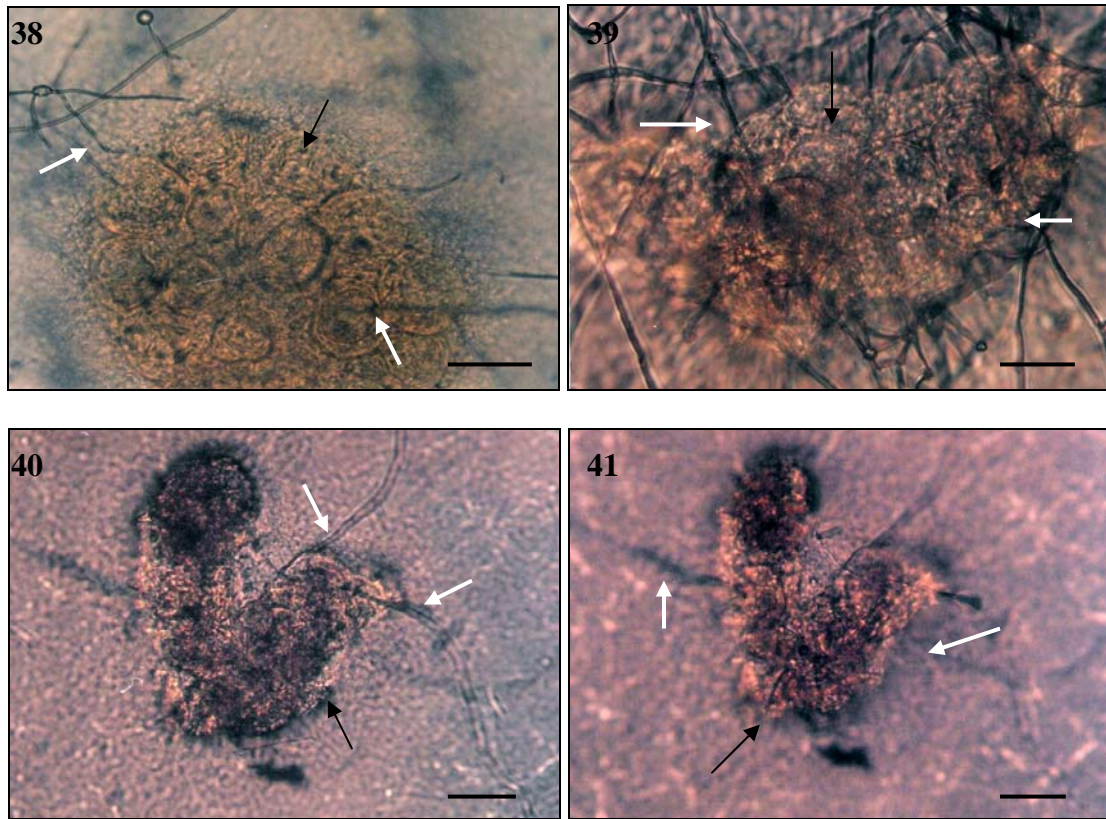
Figura 27 – Ovos de *Taenia saginata* (seta preta), sem fungo (controle). Barra: 27 (10 μ m).



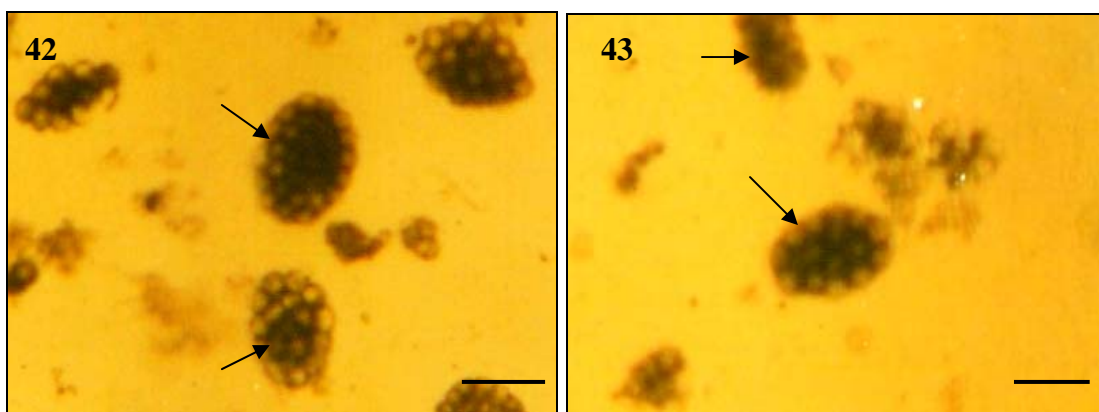
Figuras 28 - 31 – Hifas de *Pochonia chlamydosporia* (seta branca) e cápsulas ovíferas de *Dipylidium caninum* (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 1. Barras: 28 a 31 (30µm).



Figuras 32 a 37 – Hifas e clamidósporos de *Pochonia chlamydosporia* (seta branca) e cápsulas ovíferas de *Dipylidium caninum* (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 2. Barras: 32 a 37 (30µm).



Figuras 38 - 41 – Hifas de *Pochonia chlamydosporia* (seta branca) e cápsulas ovíferas de *Dipylidium caninum* (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3. Barras: 38 a 41 (30µm).



Figuras 42 e 43 – Cápsulas ovíferas de *Dipylidium caninum* (seta preta), sem fungo (controle). Barras: 42 e 43 (100µm).

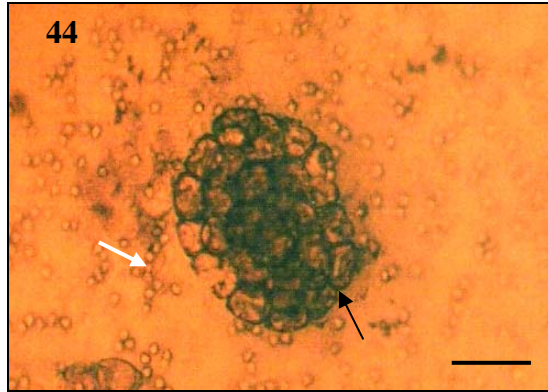


Figura 44 – Hifa de *Paecilomyces lilacinus* (seta branca) e cápsulas ovígeras de *Dipylidium caninum* (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 1. Barra: 44 (50 μ m).

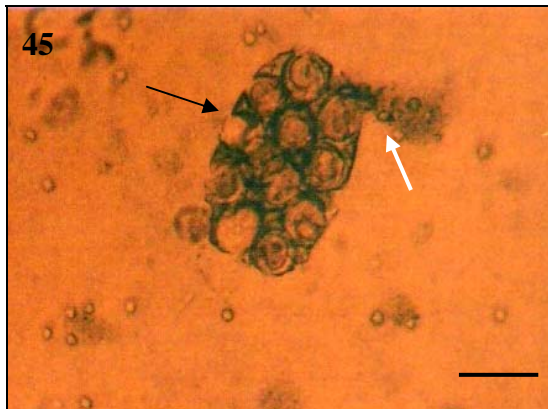
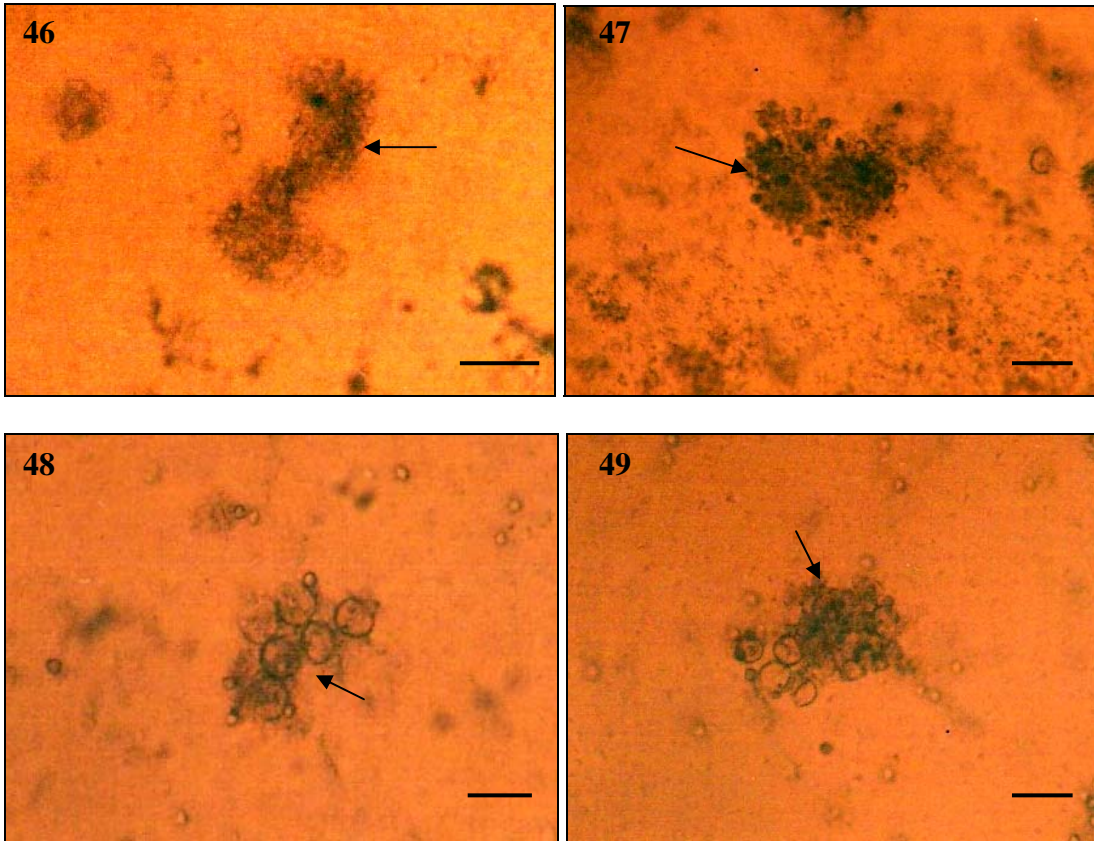


Figura 45 – Hifa de *Paecilomyces lilacinus* (seta branca) e cápsulas ovígeras de *Dipylidium caninum* (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 2. Barra: 45 (50 μ m).



Figuras 46 a 49 – Cápsulas ovígeras de *Dipylidium caninum* rompidas (seta preta), demonstrando o efeito do tipo 3. Barras: 46 a 49 (50 μ m).