

**RAUL RIO RIBEIRO**

**ATIVIDADE PREDATÓRIA SOBRE LARVAS DE  
TRICHOSTRONGILÍDEOS DE ISOLADOS FÚNGICOS DO  
GÊNERO *Monacrosporium* APÓS A PASSAGEM PELO TRATO  
GASTRINTESTINAL DE BOVINOS**

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

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2003

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

T

R484a  
2003

Ribeiro, Raul Rio, 1976-

Atividade predatória sobre larvas de trichostrongilídeos de isolados fúngicos do gênero *Monacrosporium* após a passagem pelo trato gastrointestinal de bovinos / Raul Rio Ribeiro. – Viçosa : UFV, 2003

46p. : il.

Orientador: Jackson Victor de Araújo

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Viçosa

1. Bovino - Doenças - Controle biológico. 2. Fungos nematófagos no controle biológico. 3. Nematóides em bovinos. 3. *Monacrosporium*. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 19.ed. 636.20896

CDD 20.ed. 636.20896

**RAUL RIO RIBEIRO**

**ATIVIDADE PREDATÓRIA SOBRE LARVAS DE  
TRICHOSTRONGILÍDEOS DE ISOLADOS FÚNGICOS DO GÊNERO  
*Monacrosporium* APÓS A PASSAGEM PELO TRATO  
GASTRINTESTINAL DE BOVINOS**

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

APROVADA: 27 de fevereiro de 2003.

---

Prof. Joaquin Hérnan Patarroyo  
(Conselheiro)

---

Prof. Marcos Pezzi Guimarães

---

Prof. Walter dos Santos Lima

---

Prof. Robert Weingart Barreto

---

Prof. Jackson Victor de Araújo  
(Orientador)

## A Deus

Aos meus pais José Maria Rio Roda e  
Vitália Ribeiro Rodrigues, pelo  
amor incondicional, pelos nobres  
ensinamentos formadores de caráter  
e por suas histórias de vida

Aos meus irmãos Joselito e  
Rafael pela grandiosa  
cumplicidade que caracteriza o  
nosso convívio

Aos meus amigos pelas  
alegrias

"...curar por vezes, aliviar com frequência,  
confortar sempre."

Edward Trudeau

## **AGRADECIMENTO**

Aos meus amigos Jackson Victor, Guilherme Cadinelli, Roberta Alessandra, Guilherme Donagemma, Oldair Vinhas, Everton Takahara e Artur Kanadani pela inestimável solidariedade, pelos inúmeros conselhos e inesquecíveis momentos partilhados.

Aos meus amigos Weverton Marcos, Pablo Fabrício, Richard Filgueiras, André Furtado, Pedro Richardson, Leidy Zulis, Neilor Batista, Luis Neno e Tadashi Kaneko por participarem da minha vida.

À Juliana De Luca pela compreensão, dedicação e amor.

À minha tia Guiomar Ribeiro e meus primos Paula Vanessa e Marcius José, por acompanharem as minhas caminhadas.

Aos funcionários do laboratório de Parasitologia, Waldir Soares e José Geraldo, pela contribuição no desenvolvimento deste trabalho.

Aos Professores Joaquin Hernán Patarroyo e Marlene Vargas, pela representação digna do ensino.

À cidade de Viçosa, pelos prazeres sociais e culturais proporcionados.

À Universidade Federal de Viçosa, pela estrutura disponibilizada.

A todos os funcionários do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior  
(CAPES), pelo apoio financeiro.

## **BIOGRAFIA**

**RAUL RIO RIBEIRO**, filho de Vitália Ribeiro Rodrigues e José Maria Rio Roda, nasceu em 25 de fevereiro de 1976, em Santos, São Paulo.

Iniciou o curso de Medicina Veterinária na Universidade Federal de Pelotas em 1995, onde desenvolveu trabalho de iniciação científica no laboratório de Histologia do Departamento de Biologia durante a sua permanência na instituição. No segundo semestre de 1996, foi transferido para a Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, onde concluiu o curso em janeiro de 2000. Durante a graduação em Viçosa, foi bolsista de iniciação científica pelo Laboratório de Parasitologia Veterinária e pelo Setor de Cirurgia Veterinária.

Ingressou no curso de Mestrado em Medicina Veterinária pelo Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa em agosto de 2001.

## ÍNDICE

	Página
RESUMO .....	vii
ABSTRACT .....	ix
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
3. OBJETIVOS GERAIS.....	12
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
4.1. Organismos.....	13
4.1.1. Fungos.....	13
4.1.2. Nematóides.....	14
4.1.3. Animais.....	14
4.2. Delineamento Experimental.....	15
4.3. Ensaio Experimental.....	15
4.3.1. Experimento “A”.....	15
4.3.2. Experimento “B” .....	17
4.4. Análise Estatística.....	19
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	20
5.1. Experimento “A”.....	20
5.2. Experimento “B” .....	26
6. CONCLUSÕES GERAIS.....	33
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34
8. APÊNDICE.....	44

## RESUMO

RIBEIRO, Raul Rio, M.S., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2003. *Atividade predatória sobre larvas de trichostrongilídeos de isolados fúngicos do gênero Monacrosporium após a passagem pelo trato gastrintestinal de bovinos*. Orientador: Jackson Victor de Araújo. Conselheiros: Joaquin Hernán Patarroyo Salcedo e Paulo Roberto Cecon.

Três isolados de fungos predadores do gênero *Monacrosporium* (*M. sinense* SF-53, *M. appendiculatum* CGI e *M. sinense* SF-139) foram avaliados *in vivo* quanto à capacidade de suportar a passagem pelo trato gastrintestinal de bezerros sem perda da habilidade para predação de larvas infectantes de *Cooperia* sp. e *Haemonchus* sp. Os isolados SF-53 e CGI foram administrados por via oral, separadamente aos bezerros, na forma de micélio fresco em dose única de 100 g. Amostras fecais coletadas 12, 18, 24, 48, 72 e 96 horas após os tratamentos foram alocadas em placas de Petri com 5 cm de diâmetro, adicionadas de 750 larvas infectantes de *Cooperia* sp. e *Haemonchus* sp. Ao final do experimento, estruturas reprodutivas (conídios) de ambos isolados foram visualizadas em todos os tempos estudados. Houve redução significativa do número médio de larvas de nematóides recuperadas das placas de Petri quando comparado com o grupo controle. Tais evidências confirmam o trânsito destes fungos pelo trato digestivo dos bezerros sem perda da viabilidade predatória.

Não existem evidências de que o isolado SF-139 tenha passado pelo trato gastrointestinal do bezerro após administração oral, na forma de micélio fresco, em dose única de 87 g.

## ABSTRACT

RIBEIRO, Raul Rio, M.S., Universidade Federal de Viçosa, February 2003. ***Predatory activity of isolates fungi of the genus Monacrosporium on trichostrongylids larvae after passage through the gastrointestinal tract of bovine.*** Adviser: Jackson Victor de Araújo. Committee Members: Joaquin Hernán Patarroyo Salcedo and Paulo Roberto Cecon.

Three isolates of predators fungi of the genus *Monacrosporium* (*M. sinense* SF-53, *M. appendiculatum* CGI and *M. sinense* SF-139) were evaluated *in vivo* regarding the capacity of supporting passage through the gastrointestinal tract of calves without losing the ability to entrap infective *Cooperia* sp. and *Haemonchus* sp. larvae. The isolates SF-53 and CGI were managed orally, separately to the calves, fresh mycelium form at dose only of 100 g. Collected fecal Samples 12, 18, 24, 48, 72 and 96 hours after the treatments were allocated in Petri dishes with 5-cm diameter, added of 750 infective *Cooperia* sp. and *Haemonchus* sp. larvae. At the end of the experiment, reproductive structures (conidia) from both isolates were visualized in every the studied times. There was significant reduction of the average number of nematodes larvae recovered of the Petri dishes when compared with the control group. Such evidences confirm the transit of these fungi by the digestive tract of the calves without loss of the predatory viability. There are no evidences that the isolated SF-139 has passed by the gastrointestinal tract of calf after oral administration, fresh mycelium form at dose only of 87 g.

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é inegavelmente uma potência agropecuária, as suas dimensões continentais, os seus abundantes recursos hídricos, o clima favorável ao longo de todo o ano e os determinantes fatos históricos que incluíram a atividade rural no perfil econômico nacional, contribuíram de forma significativa para a estruturação desta realidade. Atualmente o setor agropecuário responde por 33% da economia nacional, possuindo, portanto, grande responsabilidade na estabilidade financeira do país. Com as relações mundiais globalizadas, eficiência produtiva passou a ser sinônimo de sobrevivência profissional em qualquer ramo de produção neste novo milênio.

Diminuição da produção animal, gastos excessivos com medicamentos profiláticos e curativos e morte de animais seriamente afetados, são algumas das perdas atribuídas à verminose (GOMES, 1998). É difícil determinar os reais danos econômicos gerados pelas helmintoses gastrintestinais. Os animais jovens representam a categoria mais sensível, porém a maioria dos animais acometidos estabelece uma forma sub-clínica de apresentação (VERCRUYSSSE e DORNY, 1999) que afeta a produtividade do rebanho.

Desde que o conhecimento científico permitiu a compreensão dos efeitos negativos das helmintoses sobre os animais, em particular das nematodioses gastrintestinais, que os laboratórios empenharam-se em desenvolver compostos químicos com específica ação anti-helmíntica. Os anti-helmínticos seguem atuando há muitos anos, como método barato e efetivo de redução das perdas produtivas dos animais de pastagem causadas por parasitas internos (WAGHORN et al., 2002), constituindo-se também, através da larga variedade de produtos disponíveis, como a base dos programas de controle dos parasitas de ruminantes (LANUSSE, 1996). Este

tipo de controle tem sido realizado com aplicações estratégicas das drogas, visando à redução da contaminação das pastagens (BRUNDSO, 1980). Entretanto, numerosas são as razões para o desenvolvimento de medidas alternativas para o controle das helmintoses. A expressão “organic farming” agrega o conceito de criação animal sustentável bem próxima da produção agrícola (THAMSBORG et al., 1999), enfatizando atitudes profiláticas não-químicas sobre os procedimentos terapêuticos. Esta tendência de mercado crescente provém de uma demanda consumidora diferenciada e de fazendeiros com admirável visão empresarial. Além disso, a experiência demonstrou que os compostos anti-helmínticos oferecem apenas uma solução provisória para as infecções parasitárias, pois não diminuem o risco de reinfecção dos animais, que continuam sendo mantidos em pastagens contaminadas (STEFFAN e FIEL, 1994). Outros inconvenientes associados ao uso destes compostos relacionam-se à crescente e global resistência de populações de parasitas (WALLER, 1997), à ocorrência de resíduos químicos nos alimentos (GRØNVOLD et al., 1996; PADILHA, 1996) e aos seus indesejáveis efeitos eco-tóxicos (McKELLAR, 1997; THOMPSON, 1999).

As pesquisas alternativas para o controle das helmintoses de ruminantes concentram-se hoje no desenvolvimento de vacinas (EMERY, 1996; MEEUSEN, 1996), no manejo das pastagens, na compreensão da dieta como elemento influenciador da farmacocinética dos anti-helmínticos e do estabelecimento de nematóides (ALI e HENNESSY, 1993; HENNESSY, 1993; HENNESSY et al., 1994; PETKEVICIUS et al., 1995, 1996), na seleção de animais geneticamente resistentes aos parasitas (WOOLASTON e BAKER, 1996) e no controle biológico (ARAÚJO et al., 1996, 1998; GRØNVOLD et al., 1993).

O controle biológico descreve situações em que o homem utiliza agentes antagonistas naturais na tentativa de reduzir uma população de

pragas causadora de perdas para a produção de plantas e animais (GRØNVOLD et al., 1996). No passado, diversos antagonistas naturais dos nematóides, entre eles minhocas, bactérias, vírus, protozoários, besouros, ácaros e fungos, foram descritos como controladores biológicos em potencial. Apesar desta vasta gama de opções o inimigo natural que mais causou admiração e, portanto, avanços consistentes nas pesquisas, foram os fungos nematófagos. Estes organismos pertencem a um grupo heterogêneo de microfungos caracterizados pela sua habilidade de capturar e utilizar nematóides como fonte principal de nutrientes ou ainda apenas como suplementação para a sua existência saprófita (WALLER e FAEDO, 1996). A respeito do seu efeito sobre os nematóides parasitas de bovinos, numerosos trabalhos já demonstraram que os fungos nematófagos são capazes de reduzir o número de larvas infectivas nas pastagens, por conseguinte, o número de nematóides estabelecidos nos animais criados em campo.

Um requisito essencial para que qualquer isolado fúngico nematófago seja possivelmente explorado como um controlador biológico dos nematóides parasitas de ruminantes, é que ele possua a habilidade de suportar a passagem pelo trato gastrintestinal dos ruminantes após administração oral e uma vez presente nas fezes seja capaz de germinar, colonizar o bolo fecal e capturar as larvas de parasitas recém eclodidas dos ovos antes que elas migrem para a pastagem.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

Os fungos nematófagos são organismos de distribuição cosmopolita, passíveis de serem encontrados nos ambientes mais distintos, do trópico ao ártico (KERRY, 1984), presente nas plantas, no esterco e no solo (HASHMI e CONNAN, 1989). Existem no momento aproximadamente 200 espécies de fungos nematófagos conhecidos. De acordo com a sua morfologia e características funcionais associadas à produção de estruturas especializadas para a captura de nematóides, eles podem ser divididos em três grupos, a saber: fungos parasitas de ovos (NORDBRING-HERTZ, 1988), fungos endoparasitas e fungos predadores (BARRON, 1977a).

LYSEK e NIGENDA (1989), sugerem que os fungos parasitas de ovos sejam agrupados com base no seu modo de ação. Sabe-se que uma parte destes fungos utiliza metabólitos próprios que atuam negativamente sobre o embrião, sem alterar o aspecto morfológico da parede do ovo, e outro grupo atua penetrando ativamente nos ovos, através das suas hifas, atingindo o embrião. Estes microorganismos podem atuar de forma significativa no combate de parasitas de animais que possuam um longo período de desenvolvimento e/ou durabilidade no ambiente sob o estágio de ovo.

Os fungos endoparasitas desenvolvem um ínfimo sistema de hifas, sobrevivendo no ambiente praticamente sob a forma de esporos. Quando estas formas de resistência aderem à cutícula do parasita ou são ingeridos por ele, o processo de infecção do nematóide está instaurado (WALLER e FAEDO, 1996). É patente a carência intelectual existente no que se refere a metodologias práticas para o cultivo deste grupo de fungos no âmbito laboratorial, assim, reduzem-se de forma significativa as pretensões de uma exploração comercial em escala industrial.

Os fungos nematófagos predadores são capazes de desenvolver

estruturas especializadas, denominadas armadilhas, ao longo de suas hifas que permitem o aprisionamento e morte das larvas de nematóides. GRAY (1988) relatou a existência de seis tipos de armadilha: hifas adesivas não-modificadas; redes adesivas tridimensionais; ramificações adesivas, formando redes simples ou bidimensionais; nódulos adesivos; anéis constritores; e anéis não-constritores. A formação destas estruturas responde à presença de nematóides ou substâncias por ele excretadas, a substâncias de origem biológica, ou ainda a condições adversas de ambiente, como restrição à água e nutrientes (BALAN e GERBER, 1972). A diferenciação da hifa para a produção das armadilhas ocorre dentro de 24 horas após o contato do nematóide com o fungo (PRAMER, 1964), e independentemente da armadilha utilizada para a captura, o fungo penetra e se desenvolve no interior do parasita, consumindo o seu conteúdo e lançando para o meio externo as suas estruturas vegetativas e reprodutivas (BARRON, 1977; GRAY, 1987).

O processo de penetração da hifa no nematóide é considerado complexo e envolve proteínas e polímeros de superfície do fungo (TUNLID et al., 1991). O nematóide é mantido aderido à armadilha através de uma substância fibrilar adesiva. Estudos de microscopia eletrônica evidenciaram a presença de organelas eletrondensas localizadas nas imediações das armadilhas, responsáveis pela produção de substâncias adesivas e pelo transporte de enzimas líticas, associadas possivelmente no processo de penetração e digestão do nematóide, (DOWSETT e REID, 1977; DOWSETT et al., 1977; NORDBRING-GERTZ e STAHLAMMAR-CARLEMALM, 1978; VEENHUIS et al., 1985a,b; ARAÚJO e PATARROYO, 1995). Ações mecânicas estão aparentemente presentes nas etapas finais de penetração da cutícula (VEENHUIS, et al., 1985a).

Dentre as espécies de fungos antagonistas, os predadores apesar de manifestarem variação em sua capacidade de capturar nematóide, são os

mais estudados e aqueles que apresentam maior potencial de comercialização, visto serem facilmente isolados e cultivados em laboratório (ARAÚJO, 1999).

O gênero *Monacrosporium* foi primeiramente descrito por Oudermans em 1885. As suas espécies produzem apenas um conídio em cada extremidade do conidióforo (SUBRAMANIAN, 1963), possuem hifas vegetativas septadas e ramificadas, conidióforos eretos, hialinos e usualmente únicos, os conídios são hialinos, fusiformes, com dois ou mais septos transversais, com uma célula, geralmente a intermediária, maior que as demais. Realizam a captura de nematóides através de nódulos adesivos, que são células redondas cobertas com material adesivo e localizadas no ápice de uma hifa não adesiva e/ou em redes tridimensionais, também cobertas com material adesivo (BARRON, 1977).

Fresenius em (1850) foi responsável pelo isolamento e descrição do primeiro fungo nematófago, *Arthrobotrys oligospora*, naquela época foi considerado pelo pesquisador como um simples fungo saprófita. Em 1870, Woronin, observou que este fungo era capaz de formar uma rede tridimensional a partir das hifas. Somente em 1888, Zopf observou a captura de nematóides vivos pelo fungo *A. oligospora* através da sua rede de armadilhas.

DRESCHLER (1937) contribuiu imensamente para o estudo destes microorganismos quando publicou um trabalho detalhado sobre as espécies de fungos nematófagos já conhecidas incluindo outras 15 espécies nunca antes descritas. COOKE e GODFREY (1964) formularam uma chave de classificação reconhecendo quase todos os fungos nematófagos predadores como hipomicetos dos gêneros *Arthrobotrys* Corda, *Dactylaria* Saccardo, *Dactylella* Grove e *Trichothecium* Link. Diversos novos gêneros foram criados mais tarde, entre eles *Duddingtonia* Cooke, *Monacrosporium* Oudem, *Genicularia* Rifai & Cooke e *Dactylariopsis* Mekhtieva (GRAY,

1987).

Os ensaios pioneiros do efeito antagonista de fungos nematófagos para o controle de parasitos gastrintestinais de animais foram realizados na França por DESCAZEUX (1939a,b), DESCAZEUX e CAPELLE (1939), DESCHIENS (1939a,b e 1941), ROUBAUD e DESCAZEUX (1939) e ROUBAUD e DESCHIENS (1939 e 1941). Estes pesquisadores avaliaram a atividade predatória dos fungos *A. oligospora*, *Monacrosporium elliposporum*, *Monacrosporium bembicoides* e *Dactylaria brochopagas* sobre larvas de *Strongyloides papillosus* e *Bunostomum* sp. em condições de laboratório. PARNELL e GORDON (1963) utilizaram um fungo predador do gênero *Acrostalagmus* para avaliar o seu comportamento contra larvas de *Haemonchus contortus*. PANDEY (1973), trabalhando em condições de laboratório, avaliou o efeito antagônico de diversos fungos predadores dos gêneros *Arthrobotrys*, *Dactylaria*, *Monacrosporium* e *Trichothecium* sobre larvas infectantes (L3) de *Ostertagia ostertagi* e *Trichostrongylus axei*. A redução da população de larvas de *Cooperia* spp. e *O. ostertagi* *in vitro* foi creditada à ação de *A. oligospora* (GRØNVOLD et al., 1985; GRØNVOLD, 1989). HASHMI e CONNAN (1989) utilizaram fungos predadores com sucesso, ao administrarem oito milhões de conídios de *A. oligospora*, por via oral, duas vezes por semana durante três meses, a bezerros infectados com *O. ostertagi* e *Cooperia oncophora*. Como resultados, observaram uma menor carga parasitária, maior ganho de peso e menor número de larvas infectantes nas pastagens, quando comparado ao grupo controle. Ovinos foram tratados oralmente com 500 g de *Duddingtonia flagrans*, havendo assim redução do número de larvas recuperadas das coproculturas, quando comparado ao grupo controle (PELOILLE, 1991). SANTOS (1996), avaliando fungos nematófagos em condições de estufa, evidenciou que somente o isolado pertencente ao gênero *Monacrosporium*, demonstrou

habilidade para o controle do fitonematóide *Meloidogyne incognita*. Um isolado de *M. ellipso sporum* foi eficiente no controle de larvas infectantes de *Haemonchus placei*, sob condições de laboratório (ARAÚJO et al., 1992). MENDONZA-DE-GIVES et al. (1992 e 1994) testaram em laboratório a atividade de isolados do gênero *Arthrobotrys* na presença de larvas infectantes de *H. contortus* e *Nacobus aberrans*. ARAÚJO et al. (1993 e 1994) avaliaram a predação de *H. placei* por isolados de *Arthrobotrys* sp. SANTOS et al. (1995) obtiveram redução do número de larvas de ciatostomíneos em fezes de eqüinos utilizando conídios de *A. oligospora* e *D. flagrans*. O efeito ovicida dos fungos nematófagos *Paecylomyces lilacinus*, *Arthrobotrys robusta* e *Arthrobotrys conoides* foi testado com ovos embrionados de *Toxocara canis* (ARAÚJO et al., 1995b). ARAÚJO (1996) administrou por via oral dois milhões de conídios de um isolado de *A. robusta* a bezerros infectados naturalmente e experimentalmente. As aplicações foram realizadas duas vezes por semana, durante um período de trinta dias. Os resultados demonstraram uma redução de 53,81% no OPG ( $P < 0,05$ ) e 70,45% nas culturas de fezes ( $P < 0,05$ ), quando comparadas ao grupo não tratado. Um trabalho realizado *in vitro* (GOMES et al., 1999), evidenciou que a maioria dos nove isolados de *Monacrosporium* testados demonstrou afinidade predatória preferencial para os nematóides de vida livre, depois para os fitonematóides e por último para os nematóides gastrintestinais de bovinos. MOTA et al. (2000) constataram que um isolado de *Monacrosporium thaumasium* foi mais eficaz na predação de larvas de *H. contortus*, em condições de laboratório, quando comparado a um isolado de *A. conoides*. *M. thaumasium* mostrou-se viável por mais de 16 semanas de estocagem, quando conservado sob a forma de *pellets* de alginato de sódio sem parafina a 4°C (ARAÚJO et al., 2000). Um tratamento utilizando a combinação entre *D. flagrans*, *Monacrosporium gephyropagum* e *Harposporium helicóides* promoveu

redução de 93% no número de larvas recuperadas de *Ostertagia circumcincta* em fezes de ovelhas (WAGHORN et al., 2002). CIARMELA et al. (2002) isolaram e identificaram dois isolados fúngicos de áreas públicas da Argentina, submetendo-os a uma interação biológica com ovos de *T. canis in vitro*. Sob estas condições, o isolado *Fusarium pallidroseum* exibiu uma alta atividade ovicida, ao passo que o isolado *Mucor hiemalis* não produziu efeito antagônico.

O grande acervo de resultados positivos presentes nos trabalhos publicados respalda o entendimento de que os fungos predadores são excelentes biocontroladores dos parasitos gastrintestinais de bovinos, porém, para que estes microorganismos possam ser incluídos como francos candidatos ao processo futuro de produção industrial e comercialização, eles devem preencher as expectativas exploratórias empresariais de um sistema de produção, por exemplo, apresentarem uma atividade predatória competente, exigências simples de estocagem, uma taxa de crescimento laboratorial satisfatória, aceitabilidade de associação com outros isolados para a realização de formulações conjuntas, entre outros. Contudo, como a proposta do controle biológico de nematóides parasitas de animais concentra-se na redução preventiva das formas infectivas disponíveis nas pastagens, a condição básica que pressupõe toda e qualquer etapa de seleção de isolados predadores é a avaliação da capacidade destes microorganismos de suportar o trânsito pelo trato gastrintestinal dos ruminantes, quando administrado sob a forma de conídio, micélio ou clamidósporos, preservando a sua habilidade predatória nas fezes. Isto porque a forma mais apropriada para a administração dos fungos aos animais é pela via oral, através de suplementos alimentares, apresentação *in natura* ou mecanismos de liberação lenta, propiciando enfim um íntimo contato, ocorrido nas fezes, entre as larvas de parasitas recém eclodidas dos ovos e o fungo predador. Enorme ênfase tem sido dada pelos pesquisadores

para a seleção de isolados fúngicos portadores desta qualidade. DESCAZEAUX e CAPELLE (1939) forneceram conídios e micélio de *A. oligospora* e *Duddingtonia bembicodes* em cultura de farelos para cavalos e cobaios. Ao final do experimento constataram que estes isolados não passaram pelo trato digestivo das espécies pesquisadas. Entretanto, SOPRUNOV (1958) trabalhando com *A. oligospora* obteve sucesso em sua passagem pelo trato digestivo de asininos, sem que houvesse perda da atividade predatória. Conídios de *A. oligospora* também foram encontrados nas fezes de bovinos após sua administração oral (HASHMI e CONNAN, 1989). *D. flagrans* mostrou-se capaz de suportar a adversidade do trato alimentar de ovelhas quando fornecido pela via oral (PELOILLE, 1991). Diferentes linhagens do fungo *D. flagrans* foram isolados por pesquisadores envolvidos em um programa dinamarquês para seleção de fungos hábeis na passagem pelo sistema digestivo de bovinos, posteriormente, as linhagens mais promissoras foram utilizadas em experimentos com bezerros (WOLSTRUP et al., 1994; LARSEN et al., 1996a), cavalos (LARSEN et al., 1996b) e suínos (NANSEN et al., 1996), apresentando excelentes resultados. Quando foram testados três isolados do gênero *Arthrobotrys* (um de *Arthrobotrys musiformis* e dois de *A. robusta*), somente um dos representantes da espécie *A. robusta* sobreviveu à passagem através do trato gastrintestinal dos bezerros, exibindo logo após, efeito antagônico frente às larvas infectantes de *H. placei* (ARAÚJO et al., 1996). *D. flagrans* foi considerado superior ao *Arthrobotrys* spp. quando avaliados em sua capacidade de sobreviver à passagem pelo trato digestivo de ovelhas (FAEDO et al., 1997). ARAÚJO et al. (1999) testaram a passagem de três isolados de fungos predadores (um de *M. ellypsosporum* um de *M. thaumasium* e um de *Monacrosporium sinense*) e observaram que somente o isolado de *M. thaumasium* passou pelo trato gastrintestinal de bezerros sem perder a sua habilidade predatória.

O mercado agrícola já dispõe de formulações comerciais, à base de fungos predadores, destinadas ao controle de fitonematóides. A preparação comercial baseada no fungo *A. robusta* foi comercializada com o nome de Royal<sup>®</sup> 300 e propunha-se ao controle do fitonematóide de cogumelo *Ditylenchus myceliophagous*. O produto Royal<sup>®</sup> 350, por sua vez, continha o fungo *Arthrobotrys superba*, e foi desenvolvido para o controle de fitonematóides do gênero *Meloidogyne* spp. em tomateiro. Atualmente estes produtos não estão sendo mais comercializados. Nematus<sup>®</sup> contém o fungo *A. conoides*, esta apresentação quando avaliada em âmbito nacional, demonstrou eficiência no combate do *M. incognita* (DIAS e FERRAZ, 1994; FERRAZ e SANTOS, 1995). Pesquisas permitiram o desenvolvimento de uma formulação contendo o fungo *P. lilacinus*, denominada Bioact<sup>®</sup>, manufaturada nas Filipinas e recomendada para o controle de *Meloidogyne* spp. em tomateiro, *Globodera rotochiensis* em batata, *Radopholus similis*, em bananeira, *Rotylenchulus reniformis* em abacaxi e *Pratylenchus* spp. em milho (KERRY, 1989).

Apesar do conhecimento científico já adquirido sobre o controle biológico e os resultados experimentais favoráveis obtidos com a utilização de fungos nematófagos como antagonistas dos parasitas de animais domésticos, nenhum produto comercial à base de fungo destinado ao controle de nematóides parasitas de animais foi desenvolvido. Este pioneirismo industrial será alcançado em breve com a integração dos interesses financeiros empresariais ao conhecimento científico proveniente dos grupos de pesquisas dispersos no mundo.

### 3. OBJETIVOS GERAIS

- Avaliar a passagem de três isolados fúngicos do gênero *Monacrosporium* (*Monacrosporium appendiculatum* CGI, *M. sinense* SF-53 e *M. sinense* SF-139) pelo trato gastrintestinal de bezerros, após administração oral.
  
- Avaliar a atividade predatória destes isolados fúngicos, após a passagem pelo trato gastrintestinal de bezerros, frente a larvas infectantes de *Cooperia* sp. e *Haemonchus* sp.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Organismos

#### 4.1.1. Fungos

Os três isolados de fungos predadores utilizados no experimento, SF-53 (*M. sinense*), SF-139 (*M. sinense*) e CGI (*M. appendiculatum*), foram mantidos no laboratório a 4<sup>o</sup>C no escuro e em tubos de cultivo contendo o meio de cultura corn-meal-agar (CMA). Repicagens para estocagem e preservação dos isolados fúngicos ocorreram ao longo do trabalho com periodicidade bimestral.

A produção da massa micelial foi obtida separadamente para cada isolado, transferindo-se inicialmente fragmentos do meio de cultura contendo micélio, proveniente dos tubos de cultura, para placas de Petri de 9 cm de diâmetro, preenchidas com 20 mL de CMA, assim foram mantidas no escuro a 26<sup>o</sup>C durante 7 dias. Após o cumprimento deste período, discos de meio de cultura com 4 mm de diâmetro contendo os isolados foram transferidos das placas para frascos de Erlenmeyer contendo 150 mL de meio líquido composto por glicose, peptona e extrato de levedura (GPY), e assim permaneceram em agitação de 120 rpm no escuro e em temperatura de 26<sup>o</sup>C, durante 10 dias. A massa micelial produzida foi extraída com o auxílio de um funil de Buchner, o excesso de umidade foi eliminado através da prensagem manual do material fúngico em folha de papel de filtro. Posteriormente a massa micelial fresca foi pesada em balança de alta precisão.

#### **4.1.2. Nematóides**

Larvas infectantes (L3) de nematóides (*Cooperia* sp. e *Haemonchus* sp.) foram obtidas das fezes de bezerros mestiços holandês X zebu, criados em campo e naturalmente infectados, através de coprocultura e posterior técnica de Baermann.

Para obtenção de parasitos livres de bactérias fecais e fungos, eles foram lavados 10 vezes com água destilada por centrifugação a 1000 rpm, durante 5 minutos, desprezando sempre ao final de cada centrifugação o sobrenadante. Posteriormente, os nematóides permaneceram estocados em solução contendo 0,05% de sulfato de estreptomicina, 0,05% de cloranfenicol e 0,05% de anfotericina B (ARAÚJO, 1996).

A determinação do número de nematóides por mL de solução foi alcançada através da contagem de cinco alíquotas de 20 µL, com o auxílio de um microscópio óptico em objetiva de 10 x, obtendo-se uma média entre elas e extrapolando o resultado para o volume final total. Por fim, 300 larvas da amostra total foram identificadas segundo critério estabelecido por KEITH (1953).

#### **4.1.3. Animais**

A avaliação da passagem dos isolados fúngicos pelo trato gastrointestinal de bezerros foi realizada utilizando-se cinco bezerros machos criados em campo, mestiços holandês X zebu, com 10 meses de idade e de aproximadamente 150 kg de peso vivo. Estes animais foram separados através de sorteio em 2 ensaios experimentais, identificados como experimento "A" (contendo 3 animais) e experimento "B" (contendo 2 animais).

## **4.2. Delineamento experimental**

O presente trabalho é constituído por dois ensaios experimentais, denominados experimento "A" e experimento "B".

O experimento "A" foi composto por um esquema de parcelas subdivididas, tendo nas parcelas os tratamentos (fungo *M. Sinense* SF-53, fungo *M. appendiculatum* CGI e Controle) e nas subparcelas os tempos em horas (horário de coleta das fezes) no delineamento inteiramente casualizado com 3 repetições.

O experimento "B" foi composto por um esquema de parcelas subdivididas, tendo nas parcelas os tratamentos (fungo *M. sinense* SF-139 e controle) e nas subparcelas os tempos em horas (horário de coleta das fezes) no delineamento inteiramente casualizado com 3 repetições para as placas e 5 repetições para as coproculturas.

## **4.3. Ensaio experimentais**

### **4.3.1. Experimento "A"**

Os três animais utilizados no experimento "A" receberam um tratamento anti-helmíntico prévio de ivermectin (IVOMEC®- Merial Saúde Animal Ltda) na dose de 200 µg/kg de peso vivo, foram confinados e separados ao acaso. Após 21 dias os animais receberam ração especial autoclavada composta por 1 kg de milho triturado e 3 kg de capim *Pennisetum purpureum* durante 5 dias antes e 5 dias depois da data determinada para a realização dos tratamentos.

Tratamento 1 (SF-53) - O bezerro recebeu um preparado fúngico, administrado por via oral com o auxílio de uma sonda, composto de 600 mL de água potável e 100 g de micélio fresco do isolado de *M. sinense* SF-

53. O preparado foi homogeneizado utilizando-se um liquidificador doméstico Arno® em 12 sessões breves de rotação no modo “pulsar”.

Tratamento 2 (CGI) - O bezerro recebeu um preparado fúngico, administrado por via oral com o auxílio de uma sonda, composto de 600 mL de água potável e 100 g de micélio fresco do isolado de *M. appendiculatum* CGI. O preparado foi homogeneizado utilizando-se um liquidificador doméstico Arno® em 12 sessões breves de rotação no modo “pulsar”.

Tratamento 3 (CONTROLE) - O bezerro recebeu um volume de 600 mL de água potável administrado por via oral com o auxílio de uma sonda.

Amostras fecais foram coletadas diretamente do reto de cada animal às 12, 18, 24, 48, 72 e 96 horas após a administração oral. Dois gramas de fezes foram removidos individualmente destas amostras homogeneizadas e colocadas em placas de Petri com 5 cm de diâmetro contendo agar-água a 2%. Sobre a superfície destas placas foram gotejados 750 µL de solução, contendo 750 larvas infectantes de nematóides (*Cooperia* sp. e *Haemonchus* sp.). Posteriormente foram conservadas em estufa a 25<sup>0</sup>C e no escuro durante 16 dias. Após 24 horas da colocação do material fecal nas placas utilizou-se microscópio óptico para pesquisa diária de estruturas reprodutivas (conidióforos e conídios), com características morfológicas condizentes com o isolado testado, analisadas com a chave proposta por LIU e ZHANG (1994). Ao final, as larvas infectantes de nematóides foram recuperadas em tubos de hemólise com auxílio do aparelho de Baermann após 12 horas e água a 42<sup>0</sup>C.

Uma pipeta de Pasteur acoplada a uma bomba de vácuo permitiu a drenagem cuidadosa do volume contido nos tubos de hemólise até um valor padrão de 1 ml. Este volume foi posteriormente distribuído na sua totalidade em diversas lâminas de vidro para a contagem das larvas infectantes de nematóides gastrintestinais recuperadas, utilizando-se um

microscópio óptico em objetiva de 10 x.

Os ensaios realizados foram repetidos três vezes.

#### **4.3.2. Experimento “B”**

A intensidade do parasitismo, naturalmente adquirido, nos animais do experimento “B” foi avaliada através da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) segundo técnica modificada de GORDON e WHITLOCK (1939), descrita por LIMA (1989), realizada com 2 g de fezes coletadas diretamente do reto de cada animal, adicionadas e homogeneizadas a uma solução saturada de NaCl e água (14,5 mL de água de torneira e 14,5 mL de solução saturada de NaCl), contida em um copo Griffin. Posteriormente este conteúdo foi transferido para outro copo Griffin através de uma peneira com malhas de plástico de 1 mm<sup>2</sup>. Esta solução foi homogeneizada e destinada, com o auxílio de pipeta, a preencher a câmara de McMaster, após 3 minutos realizou-se a leitura em microscópio óptico com objetiva de 10 x.

Os animais selecionados foram confinados e aleatoriamente separados, receberam ração especial autoclavada composta por 1 kg de milho triturado e 3 kg de capim *Pennisetum purpureum* durante 5 dias antes e 5 dias depois do início do experimento.

Tratamento 1 (SF-139) – O bezerro recebeu um preparado fúngico, administrado por via oral com o auxílio de uma sonda, composto de 600 mL de água potável e 87 g de micélio fresco do isolado de *M. sinense* SF-139. O preparado foi homogeneizado utilizando-se um liquidificador doméstico Arno® em 12 sessões breves de rotação no modo “pulsar”.

Tratamento 2 (CONTROLE) – O bezerro recebeu um volume de 600 mL de água potável administrado por via oral com o auxílio de uma sonda.

Fezes foram coletadas diretamente do reto de cada animal às 12, 18,

24, 48, 72 e 96 horas depois da administração oral. Após serem homogeneizadas individualmente, alíquotas foram extraídas para a realização das coproculturas e das placas. Para as coproculturas misturaram-se 10 g de fezes a 10 g de serragem autoclavada, este conteúdo foi umedecido e acondicionado em copos plásticos de 300 mL cobertos com papel alumínio perfurado. Para o preparo das placas, espalharam-se 2 g de fezes em placas de Petri com 5 cm de diâmetro preenchidas com agar-água 2%.

As culturas de fezes permaneceram durante 16 dias em estufa a 26<sup>0</sup>C ao abrigo da luz, as larvas infectantes de nematóides foram recuperadas em tubos de hemólise com auxílio do aparelho de Baermann em 12 horas com água inicialmente a 42<sup>0</sup>C. As placas foram conservadas em estufa a 25<sup>0</sup>C e no escuro durante 16 dias, após 24 horas da colocação do material fecal, utilizou-se microscópio óptico, em objetiva de 10 x , para pesquisa diária de estruturas reprodutivas (conidióforos e conídios), com características morfológicas condizentes com o isolado testado, analisadas pela chave de classificação de LIU e ZHANG (1994). Ao final, as larvas infectantes de nematóides foram recuperadas em tubos de hemólise com auxílio do aparelho de Baermann em 12 horas com água inicialmente a 42<sup>0</sup>C.

Uma pipeta de Pasteur acoplada a uma bomba de vácuo permitiu a drenagem do volume contido nos tubos de hemólise até um valor padrão de 1 mL. Este volume foi posteriormente distribuído na sua totalidade em diversas lâminas de vidro para a contagem das larvas infectantes vivas de nematóides gastrintestinais recuperadas, utilizando-se um microscópio óptico em objetiva de 10 x. A identificação e proporção das larvas recuperadas foram obtidas pela observação e contagem de 300 larvas amostradas por tempo, segundo critério estabelecido por KEITH (1953).

Os ensaios foram repetidos cinco vezes para cultura de fezes e três vezes para montagem das placas.

#### **4.4. Análise estatística**

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e de regressão. Para o fator qualitativo, as médias foram comparadas utilizando-se o teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Para o fator quantitativo, os modelos foram escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão, utilizando-se o teste t e adotando-se o nível de até 5% de probabilidade no coeficiente de determinação e no fenômeno em estudo.

Todas as análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa computacional "Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas" (SAEG), desenvolvido pela Universidade Federal de Viçosa.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Experimento “A”

Os isolados de fungos predadores testados, *M. Sinense* (SF-139) e *M. appendiculatum* (CGI), foram capazes de suportar as condições adversas impostas durante o trânsito pelo trato gastrintestinal dos bezerros.

Conídios foram primeiramente visualizados, ao 14<sup>o</sup> dia de observação, nas placas dos tempos 12, 18, 24 e 48 horas para o isolado CGI e do tempo 12 horas para o isolado SF-53. A presença de conídios em todos os tempos testados foi alcançada pelo isolado *M. appendiculatum* ao 15<sup>o</sup> dia de avaliação, neste momento, o fungo *M. sinense* era passível de confirmação apenas nos tempos 12, 18 e 24 horas, manifestando-se nos demais tempos, somente, ao 16<sup>o</sup> dia.

Não foi detectada a presença de fungos nematófagos nas placas pertencentes ao tratamento controle.

O tempo médio necessário para a passagem de material fúngico pelo sistema digestivo dos ruminantes é muito variável. WALLER et al. (1994) registraram o período de 24 horas, trabalhando com ovinos. MELO et al. (2003) encontraram o fungo *M. thaumasium* em placas confeccionadas com fezes de caprinos coletadas 21 e 24 horas após a inoculação. ARAÚJO et al. (1999) administraram por via oral a bezerros micélio e conídios de dois isolados de *A. robusta*, um isolado de *A. conoides*, um isolado de *M. ellypsosporum* e um isolado de *M. thaumasium*. Os autores relataram a observação dos fungos nas placas de Petri preenchidas com fezes amostradas às 15, 18, 21, 24, 48, 72, 96 e 110 horas após o fornecimento oral. O presente estudo demonstrou que os isolados SF-53 e CGI foram capazes de atravessar o sistema digestivo de bezerros em 12 horas, sendo eliminados por estes até 96 horas após administração oral.

Neste experimento, os isolados SF-53 e CGI mantiveram a capacidade de predação de larvas infectantes de *Cooperia* sp. e *Haemonchus* sp. após atravessarem o trato gastrintestinal de bezerros. Esta habilidade predatória já havia sido comprovada por GOMES et al. (1999), ao perceberem um comportamento patogênico semelhante dos isolados, aqui testados, frente a larvas infectantes de *Cooperia punctata* durante 7 dias de estudo. Quando estes fungos foram testados com larvas infectantes de *H. placei*, o isolado SF-53 exibiu uma patogenicidade ligeiramente superior ao isolado CGI.

A TABELA 1 exibe os valores médios do número de larvas infectantes de *Cooperia* sp. e *Haemonchus* sp. recuperadas das placas de Petri nos respectivos tempos e diferentes tratamentos avaliados neste experimento. Observou-se que os últimos tempos avaliados (72 e 96 horas) foram aqueles que apresentaram os menores números médios de larvas infectantes recuperadas, significando uma maior atividade predatória. MOTA (2002) relatou que o pico de atividade predatória dos isolados de *A. robusta* e *M. thaumasium* submetidos a diferentes métodos de estocagem ocorreu 24 horas depois da aplicação oral de 20 g de micélio.

Os períodos de maior eliminação fúngica por parte dos animais relacionam-se diretamente aos tempos de maior predação larval dentro de um mesmo tratamento. O tipo e a quantidade de alimento fornecido durante o experimento, assim como, a dose de fungo testada, podem eventualmente influenciar a dinâmica de eliminação fúngica. Não existe atualmente consenso sobre uma dose fúngica ideal (FERNÁNDEZ et al., 1999). Neste ensaio científico utilizaram-se 100 g de micélio fresco para cada isolado testado, durante a produção da massa micelial, o isolado CGI sobressaiu-se comparado ao isolado SF-53 em características desejáveis no processo industrial de produção, apresentando maior velocidade de crescimento em meio líquido GPY e menor susceptibilidade a contaminações.

O fornecimento de até 500 g de grãos cereais sob os quais membros

TABELA 1 - Valores médios do número de larvas infectantes de *Cooperia* sp. e *Haemonchus* sp. recuperadas das placas de Petri preenchidas com fezes de bezerros amostradas nos tempos 12, 18, 24, 48, 72 e 96 horas após os tratamentos com o isolado *M. sinense* (SF-53) e o isolado *M.appendiculatum* (CGI)

TRATAMENTO	TEMPO (horas)					
	12	18	24	48	72	96
SF-53	36,0 b	26,0 b	65,7 a	24,3 a	15,0 b	14,0 a
CGI	101,3 b	146,3 a	45,0 a	25,7 a	25,7 a b	12,0 a
CONTROLE	278,7 a	153,3 a	140,0 a	111,0 a	140,3 a	90,7 a

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

do gênero *Arthrobotrys* foram cultivados, resultou na presença dos fungos nas fezes das ovelhas e na redução do número de larvas infectantes recuperadas das culturas de fezes (GRUNER et al., 1985; PELOILLE, 1991). Outros estudos (LARSEN et al., 1992; GRØNVOLD et al., 1993) demonstraram reduções significativas do número de larvas infectantes extraídas da cultura de fezes e de amostras de pastagens onde bezerros foram mantidos, alimentados com 200 g de cereais contendo *Arthrobotrys* spp. ou *D. flagrans*. WALLER et al. (2001) fornecendo diariamente a ovelhas 5 g de grãos colonizados por *D. flagrans* eliminaram virtualmente o número de larvas das coproculturas.

A variação das curvas de recuperação de larvas entre tratamentos pode sofrer ainda a influência da afinidade predatória dos fungos aos nematóides testados. A solução de nematóides utilizada neste experimento apresentou proporções larvais de 58% e 42% para *Cooperia* sp. e *Haemonchus* sp. respectivamente. Uma vez que os isolados SF-53 e CGI apresentam comportamento patogênico parecido para os parasitas utilizados, os resultados dos tratamentos presentes na TABELA 1 devem ter sofrido pouca influência desse aspecto. GOMES et al. (2001) recordam, no entanto, que os estudos *in vitro* podem superestimar o potencial dos fungos, uma vez que as placas de Petri limitam as opções de escape dos nematóides.

Nota-se através das curvas de regressão dispostas na FIGURA 1 que os isolados fúngicos (SF-53 e CGI) apresentaram comportamentos semelhantes ao longo do tempo, diferindo claramente do tratamento controle através do interstício gerado no gráfico, entre as linhas de tendências, representativo da ação predatória dos fungos. Contudo, é possível que a proximidade estatística de dados exibida pelos tratamentos fúngicos (SF-53 e CGI) testados neste trabalho, derive do fato destes isolados terem sido eliminados em quantidades pouco discrepantes para

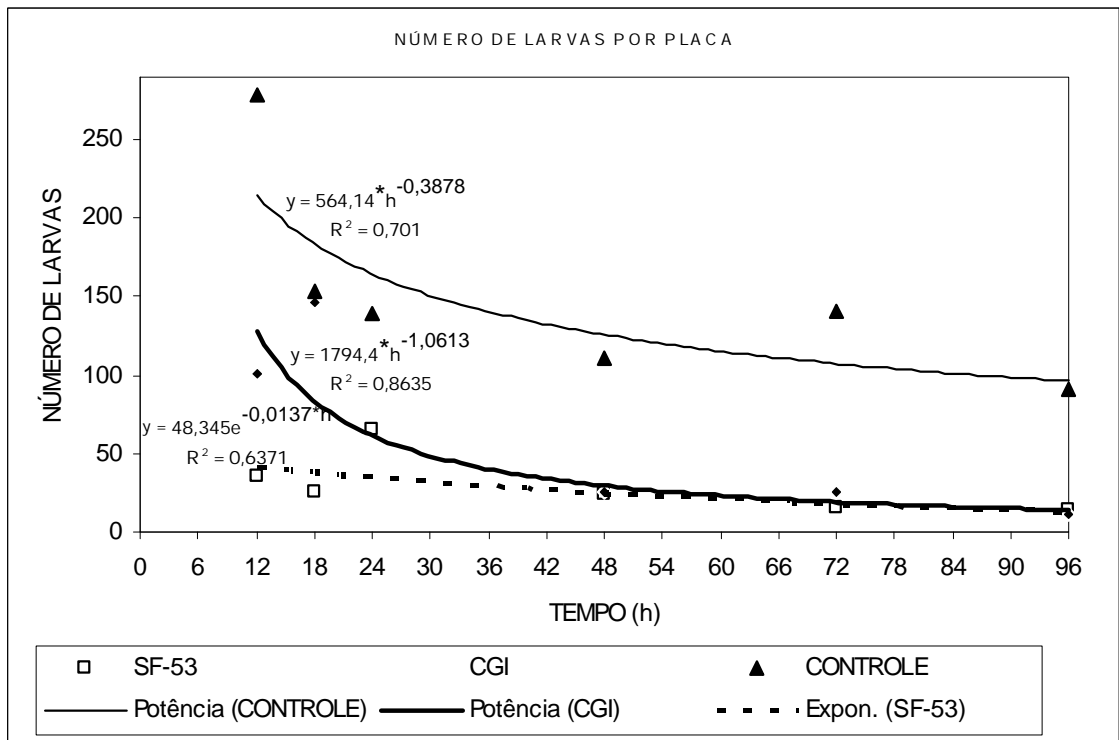


FIGURA 1- Estimativa média do número de larvas infectantes de *Cooperia* sp. e *Haemonchus* sp. recuperadas das placas de Petri nos tratamentos com o isolado *M. sinense* (SF-53), isolado *M.appendiculatum* (CGI) e CONTROLE em função do tempo.

todos os tempos analisados e por possuírem semelhante atividade predatória para as larvas testadas.

Conclui-se que os isolados de fungos predadores *M. sinense* (SF-53) e *M. appendiculatum* (CGI) constituem opções igualmente eficientes para posteriores testes de campo, no intuito de angariar maior conhecimento a respeito destes microorganismos para emprega-los, futuramente, no controle biológico de nematóides gastrintestinais de ruminantes.

## 5.2. Experimento “B”

No presente estudo não houve evidências de que o fungo predador *M. sinense* (SF-139) tenha sido capaz de atravessar o trato gastrointestinal de bezerros após administração oral. As observações diárias das placas de todos os tempos não notificaram a presença de nenhuma estrutura reprodutiva de característica morfológica compatível com a do fungo pesquisado.

Não foi detectada a presença de fungos nematófagos nas placas pertencentes ao tratamento controle.

A habilidade deste isolado em preda larvas infectantes de *Cooperia* sp. e *Haemonchus* sp. já tinha sido comprovada por trabalhos anteriores (GOMES et al.,1999).

As TABELAS 2 e 3 compreendem os dados do número médio de larvas de *Cooperia* sp. e *Haemonchus* sp. recuperadas das coproculturas e das placas respectivamente nos diferentes tratamentos em tempos distintos, observa-se que apenas o tempo de 48 horas para as coproculturas apresentou diferença.

Os bezerros utilizados neste experimento apresentaram OPG médio idênticos de 1100, esta intensidade coincidente de parasitismo desejada na metodologia foi determinada pelo método modificado de GORDON e WHITLOCK (1939) descrito por LIMA (1989), porém, como todo exame microscópico quantitativo ele é incapaz de expressar a real infecção do hospedeiro, prestando-se apenas para determinar a intensidade do parasitismo (HOFFMANN, 1987). Além do número de parasitos existentes, diversos outros fatores ainda influenciam a quantidade de ovos eliminados nas fezes, como por exemplo: hora do dia da coleta, nutrição e imunidade animal, relação de parasitos machos e fêmeas, idade do parasito e patogenicidade das espécies de parasitos (HOFFMANN, 1987). Estas

diversas variáveis explicam uma possível eliminação de ovos inconstante

TABELA 2 - Valores médios do número de larvas infectantes de *Cooperia* sp. e *Haemonchus* sp. recuperadas das coproculturas realizadas com fezes de bezerros amostradas nos tempos 12, 18, 24, 48, 72 e 96 horas após o tratamento com o isolado *M. sinense* (SF-139).

TRATAMENTO	TEMPO (horas)					
	12	18	24	48	72	96
SF-139	559,6 a	656,8 a	907,0 a	1471,2 b	1458,0 a	2063,2 a
CONTROLE	421,8 a	1225,0 a	999,0 a	3047,4 a	1625,8 a	2585,8 a

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

TABELA 3 - Valores médios do número de larvas infectantes de *Cooperia* sp. e *Haemonchus* sp. recuperadas das placas de Petri preenchidas com fezes de bezerros amostradas nos tempos 12, 18, 24, 48, 72 e 96 horas após o tratamento com o isolado *M. sinense* (SF-139)

TRATAMENTO	TEMPO (horas)					
	12	18	24	48	72	96
SF-139	421,7 a	746,7 a	287,3 a	349,0 a	386,3 a	518,7 a
CONTROLE	198,0 a	365,3 a	639,7 a	719,0 a	514,0 a	899,0 a

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

por parte dos animais do experimento, que se refletiu mais tarde nos dados de número de larvas infectantes recuperadas, permitindo até que ocorresse uma diferença, entre o animal tratado (SF-139) e o animal controle, no tempo 48 horas das coproculturas (TABELA 2).

O isolado *M. sinense* (SF-139) já havia sido avaliado por ARAÚJO et al. (1999), quando administrado por via oral a bezerros na forma de conídios, em dose de  $20 \times 10^6$ , e na forma de micélio com presença de armadilha (100 g) e sem presença de armadilha (100 g). Ao final do trabalho, os autores constataram que o fungo não passou pelo sistema digestivo dos animais. Muitos isolados fúngicos sucumbem durante o trânsito pelo trato alimentar dos ruminantes devido as severas condições térmicas, enzimáticas e anaeróbias impostas a eles (GRØNVOLD et al., 1993; LARSEN et al., 1992, 1998). Os resultados contraditórios entre isolados de uma mesma espécie de fungo com respeito à habilidade de suportar a passagem pelo sistema digestivo podem ser explicados pela existência de características diferentes inerentes às linhagens testadas (GRØNVOLD et al., 1996). No presente trabalho, dois isolados da mesma espécie (*M. sinense*) foram testados, o isolado SF-53 resistiu à passagem pelo trato digestivo dos bezerros, diferentemente do isolado SF-139 que não obteve êxito. Uma variabilidade genética entre as amostras, pode, naturalmente, determinar características físicas importantes relacionadas à capacidade de resistência. LARSEN (1999) credita os excelentes resultados obtidos na passagem do fungo *D. flagrans* pelo sistema digestivo de ruminantes à sua capacidade de produzir muitos esporos resistentes, de parede espessa, conhecidos por clamidósporos. Esta capacidade justificou também a sua melhor performance, quando comparado a fungos do gênero *Arthrobotrys* que possuem conídios de parede fina (LARSEN et al., 1992; GRØNVOLD et al., 1993). Segundo LIU e ZHANG (1994), o fungo *M.*

*sinense* é capaz de produzir clamidósporos, e apesar de existirem dificuldades na tentativa de se desenvolverem metodologias eficientes para a produção massal destas estruturas (MOTA, 2002). Um trabalho visando determinar as condições ideais para a produção de clamidósporos destes fungos, seria de grande valor científico.

As curvas de regressão e suas respectivas equações com coeficientes testados, dispostas nas FIGURAS 2 e 3, permitem evidenciar o comportamento irregular dos tratamentos ao longo do tempo.

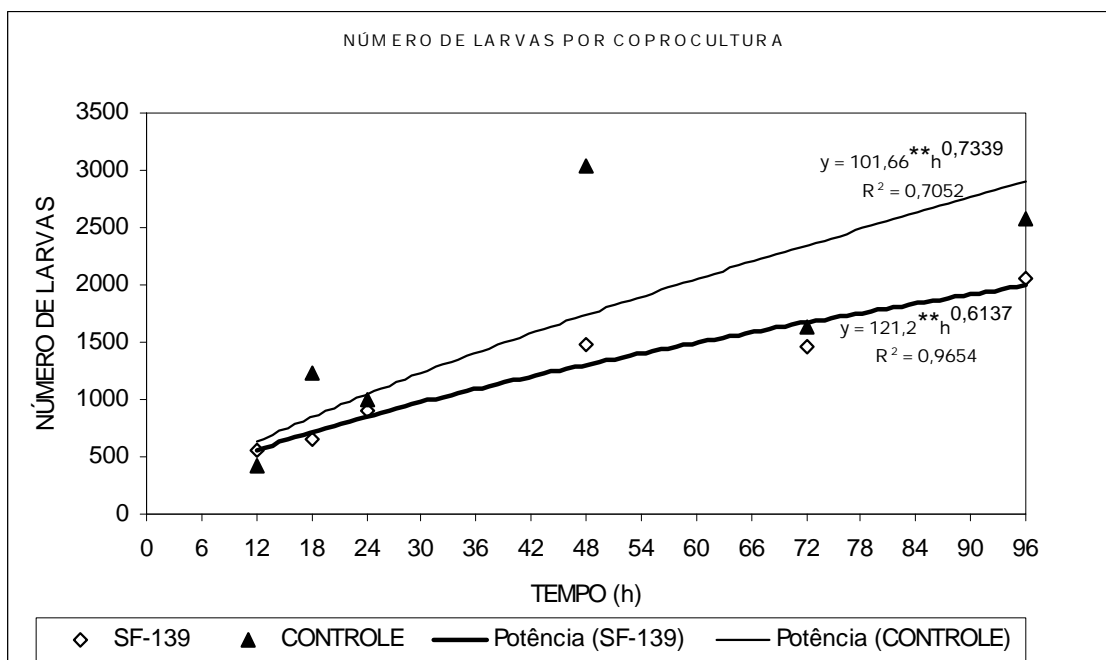


Figura 2- Estimativa média do número de larvas infectantes de *Cooperia* sp. e *Haemonchus* sp. recuperadas das coproculturas nos tratamentos com o isolado *M. sinense* (SF-139) e CONTROLE em função do tempo.

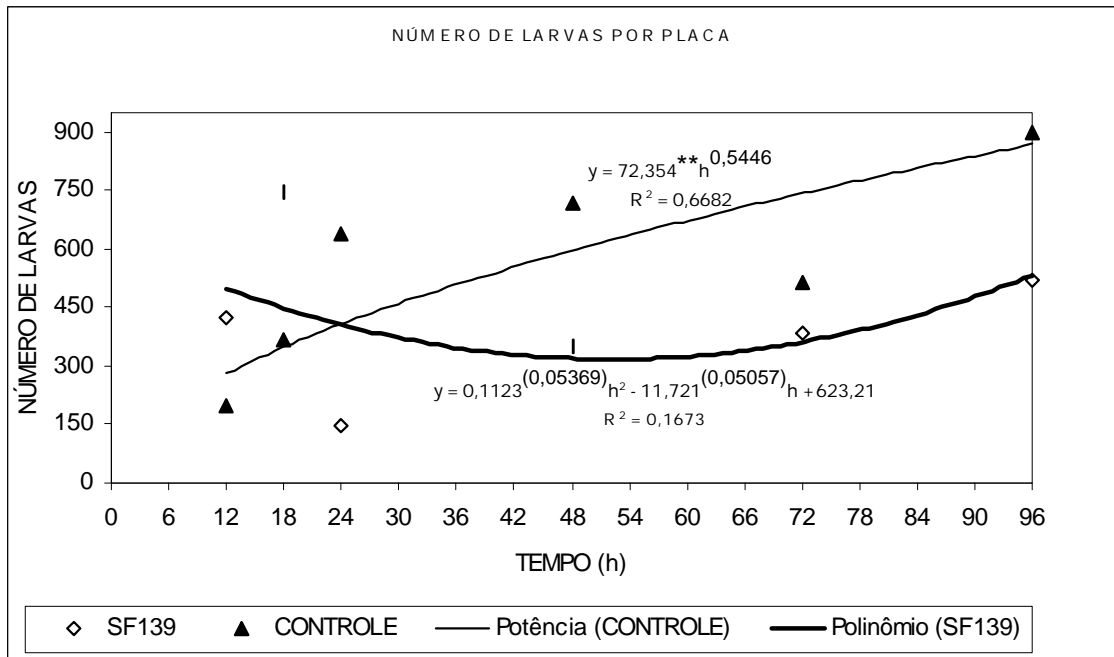


Figura 3- Estimativa média do número de larvas infectantes de *Cooperia* sp. e *Haemonchus* sp. recuperadas das placas de Petri nos tratamentos com o isolado *M. sinense* (SF-139) e CONTROLE em função do tempo.

## 6. CONCLUSÕES GERAIS

- Os isolados de fungos predadores, *M. sinense* (SF-53) e *M. appendiculatum* (CGI), suportam a passagem pelo trato gastrintestinal de bezerros, após administração oral, germinando em amostras fecais coletadas 12, 18, 24, 48, 72 e 96 horas após os tratamentos.
- Os isolados de fungos predadores, *M. sinense* (SF-53) e *M. appendiculatum* (CGI), preservam a capacidade de predação de larvas infectantes dos gêneros *Cooperia* sp. e *Haemonchus* sp., após a passagem pelo trato digestivo de ruminantes.
- Os isolados de fungos predadores, *M. sinense* (SF-53) e *M. appendiculatum* (CGI), apresentam eficácia semelhante em predação de larvas infectantes dos gêneros *Cooperia* sp. e *Haemonchus* sp., após a passagem pelo trato digestivo de ruminantes.
- O isolado de fungo predador *M. sinense* (SF-139) não foi observado nas fezes do bezerro após administração oral na forma de micélio fresco.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, D.N.; HENESSY, D.R. The effect of feed intake on the rate of flow of digesta and the disposition and activity of oxfendazole in sheep. *Int. J. Parasitol.*, **23**: 477-484, 1993.

ARAÚJO, J.V. Controle de nematóides parasitas de bovinos por fungos nematófagos. Uma nova alternativa? *Cad. Tec. Vet. Zoot.*, **30**: 75-88, 1999.

ARAÚJO, J.V. **Interação entre larvas infectantes de *Cooperia punctata* e fungos predadores do gênero *Arthrobotrys*, caracterização de isolados de *Arthrobotrys* e seu uso no controle biológico de nematóides gastrintestinais de bovinos.** Tese (Doutorado) Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. 1996.

ARAÚJO, J.V.; GOMES, A.P.S.; GUIMARÃES, M.P. Biological control of bovine gastrointestinal nematode parasites in southern Brazil by the namatode-trapping fungus *Arthrobotrys robusta*. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, **7**: 117-122, 1998.

ARAÚJO, J.V.; NETO, A.P.; AZEVEDO, M.H.F. Screening parasitic nematode-trapping fungi *Arthrobotrys* for passage through the gastrointestinal tract of calves. *Arq. Bras. Vet. Zoot.*, **48**: 543-552, 1996.

ARAÚJO, J.V.; PATARROYO, J.H. Initial interaction between *Haemonchus placei* infective larvae and different *Arthrobotrys* isolates. *Arq. Bras. Vet. Zoot.*, **48**: 733-738, 1995.

ARAÚJO, J.V.; SANTOS, M.A.; FERRAZ, S. Efeito ovicida de fungos nematófagos sobre ovos embrionados de *Toxocara canis*. *Arq. Bras. Vet. Zoot.*, **47**: 37-42, 1995b.

ARAÚJO, J.V.; SANTOS, M.A.; FERRAZ, S.; MAIA, A.S. Antagonistic effect of predacious *Arthrobotrys* fungi on infective *Haemonchus placei* larvae. *J. Helmentol.*, **67**: 136-138, 1993.

ARAÚJO, J.V.; SANTOS, M.A.; FERRAZ, S.; MAIA, A.S. Biological control in vitro of infective *Haemonchus placei* larvae by predacious fungi *Arthrobotrys musiformis*. *Arq. Bras. Vet. Zoot.*, **46**: 194-204, 1994.

ARAÚJO, J.V.; SANTOS, M.A.; FERRAZ, S.; MAIA, A.S.; MAGALHÃES, A.C.M. Controle de larvas infectantes de *Haemonchus placei* por fungos predadores da espécie *Monacrosporium ellypsosporum* em condições de laboratório. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.* **44**: 521-526, 1992.

ARAÚJO, J. V.; SAMPAIO, W.M.; VASCONCELLOS, R.S.; CAMPOS, A.K. Effects of different temperatures and mineral salt on pellets of *Monacrosporium thaumasium* - a nematode-trapping fungus. *Vet. Arhiv.*, **70**: 181-190, 2000.

ARAÚJO, J.V.; STEPHANO, M.A.; SAMPAIO, W.M. Passage of nematode-trapping fungi through the gastrointestinal tract of calves. *Vet. Arhiv*, **2**: 69-78, 1999.

BALAN, J.; GERBER, N. Attraction and killing of the nematode *Panagrellus redivivus* by the predacious fungus *Arthrobotrys dactiloides*. *Nematol.* **18**: 163-173, 1972.

BARRON, G.L. Observations on predatory fungi. *Canad. J. Botanic.* **57**: 187-193, 1977.

BARRON, G.L. **The nematode-destroying fungi.** Topics in Microbiology. N<sup>o</sup>1 Canadian Biological Publications Ltd, Guelph, Canada, 140pp., 1977a.

BRUNDSON, R.V. Principles of helminth control. *Vet. Parasitol.*, **6**: 185-215, 1980.

CIARMELA, M.L.; MINVIELLE, M.C.; LORI, G.; BASUALDO, J.A. Biological interaction between soil fungi and *Toxocara canis* eggs. *Vet. Parasitol.*, **130**: 251-257, 2002.

COOKE, R.C.; GODFREY, B.E.S. A key of nematode-destroying fungi. *Trans. Br. Mycol. Soc.* , **47**: 61-74, 1964.

DESCAZEUX, J. Action de champignons Hypomicètes prédateurs sur les larves de certains nématodes parasites des ruminants. *B. Soc. Pathol. Exotique*, **32**: 457-459, 1939a.

DESCAZEUX, J. Stérilisation biologique du crottin parasité par des larves de nématodes. *B. Acad. Vet. Fr.*, **12**: 136-139, 1939b.

DESCAZEUX, J; CAPELLE, R. Contribution à l'étude des champignons prédateurs des larves de nématodes parasites des animaux domestiques. *B. Acad. Vet. Fr.*, **12**: 284-288, 1939.

DESCHIENS, R. Capture et destruction de larves de *Strongyloides* du singe et du bouet par des Hyphomycetes. *Bullet. de la Soc. Pathol. Exotiq.*, **32**:

394-398, 1939a.

DESCHIENS, R. Conditions de capture des larves de *Dictyocaulus* par des Hyphomycetes prédateurs. *Bullet. de la Soc. Pathol. Exotiq.*, **32**: 698-700, 1939b.

DESCHIENS, R. Innocuité des Hyphomycetes prédateurs de nématodes pour la végétation des pâturage et pour le bétail. *Com. Rendus Seances de la Soc. Biol.*, **135**: 830-832, 1941.

DIAS, W.P.; FERRAZ, S. Avaliação das espécies de *Arthrobotrys* para o controle de *Meloidogyne incognita*. *Fitopatol. Bras.*, **19**: 189-192, 1994.

DRECHSLER, C. Some Hyphomycetes that prey on free living terricolous nematode. *Mycologia*, **23**: 447-552, 1937.

DOWSETT, J.A.; REID, J. Transmission and scanning electron microscope observations on the trapping of nematodes by *Dactylaria candida*. *Canad. J. Botanic*. **55**: 2963-2970, 1977.

DOWSETT, J.A.; REID, J.; VAN CAESELE, L. Transmission and scanning electron microscope observations on the trapping of nematodes by *Dactylaria brochopaga*. *Canad. J. Botanic*. **55**: 2945-2955, 1977.

EMERY, D.L. Vaccination against worm parasites of animals. *Vet. Parasitol.*, **64**: 31-45, 1996.

FAEDO, M.; LARSEN, M.; WALLER, J.P. The potential of nematophagous fungi to control free-living stages of nematodes parasites of sheep: comparison between Australian isolates of *Arthrobotrys* spp. and *Dudingtonia flagrans*. *Vet. Parasitol.*, **72**: 149-155, 1997.

FERNÁNDEZ, A.S.; LARSEN, M.; NANSEN, P.; GRØNVOLD, J.; HENRIKSEN, S.A.; BJØRN, H.; WOLSTRUP, J. The efficacy of two isolates of the nematode-destroying fungus *Dudingtonia flagrans* against *Dictyocaulus viviparus* larvae in faeces. *Vet. Parasitol.*, **85**: 289-304, 1999.

FERRAZ, S.; SANTOS, M.A.S. Controle biológico de fitonematóides pelo uso de fungos. *Rev. Anual Fitopatol.*, **3**: 283-314, 1995.

GOMES, A. S. **Controle biológico *in vivo* de nematóides parasitos gastrintestinais de bovinos pelo fungo *Arthrobotrys robusta* e atividade *in vitro* de isolados do fungo *Monacrsporium* sobre nematódeos.** Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 1998.

GOMES, A. S.; ARAÚJO, J.V.; RIBEIRO, R.C.F. Differential *in vitro* pathogenicity of predatory fungi of the genus *Monacrosporium* for phytonematodes, free-living nematodes and parasitic nematodes of cattle. *Braz. J. Med. Biol. Res.* **32**: 79-83, 1999.

GOMES, A.P.S.; VASCONCELOS, R.S.; RAMOS, M.L.; GUIMARÃES, M.P.; YATSUDA, A.P.; VIEIRA-BRESSAN, M.C.R. *In vitro* interaction of Brazilian strains of the nematode-trapping fungi *Arthrobotrys* spp. on *Panagrellus* spp. and *Cooperia punctata*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **6**: 891-864, 2001.

GORDON, H.M.; WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *J. C. Sci. Ind. Res.*, **12**: 50-52, 1939.

GRAY, N.F. Fungi attacking vermiform nematodes. In: **Diseases of nematodes**. POINAR, O.G.; BORNE, J.H. Eds., CRC press, Boca Raton, USA, pp.3-38, 1988.

GRAY, N.F. Nematophagous fungi with particular reference to their ecology. *Biol. Rev.*, **62**: 245-304, 1987.

GRØNVOLD, J. Induction of nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora* (Hyphomycetales), by infective larvae of *Ostertagia ostertagi* (Trichostrongilidae). *Acta Vet. Scand.*, **30**: 77-87, 1989.

GRØNVOLD, J.; HENRIKSEN, S.A.; LARSEN, M. ; NANSEN, P.; WOLSTRUP, J. Aspects of biological control with special reference to arthropods, protozoans and helminths of domesticated animals. *Vet. Parasitol.*, **64**: 47-64, 1996.

GRØNVOLD, J.; KORSHOLM, L. WOLSTRUP, J.; NANSEN, P.; HENRIKSEN, S.A. Laboratory experiments to evaluate the ability of *Arthrobotrys oligospora* to destroy larvae of *Cooperia* species, and to investigate the effect of physical factors on the growth of the fungus. *J. Helminthol.*, **59**: 119-125, 1985.

GRØNVOLD, J.; WOLSTRUP, J.; NANSEN, P.; HENRIKSEN, S.A. Nematode-trapping fungi against parasitic cattle nematodes. *Parasitol. Today*, **9**: 137-140, 1993.

GRUNER, L.; PELLOILE, M.; SAUVÉ, C.; CORTET, J. Survie et conservation de activité prédatrice-vis-à-vis de nematodes trichostrongules après ingestion par de ovnis de trois hypomicetes predateurs. *C. R. Acad. Sci.*,

300: 525-528,1985.

HASHMI, H.A.; CONNAN, R.M. Biological control of ruminant trichostrongylidae by *Arthrobotrys oligospora*, a predacious fungus. *Parasitol. Today.*, **5**: 28-30,1989.

HENNESSY , D.R. Pharmacokinetic disposition of benzimidazole drugs in the ruminant gastrointestinal tract. *Parasitol. Today.*, **9**: 329-333,1993.

HENNESSY , D.R.; ALI. D.N.; TREMAIN, S. The partition and fate of oxfendazole in soluble and particulate digesta material in the gastrointestinal tract of sheep. *Int. J. Parasitol.* **24**: 327-333,1994.

HOFFMAN, R.P. **Diagnóstico de Parasitismo Veterinário**. Porto Alegre, Brasil. 156pp., 1987.

KEITH, R.K. The differentiation on the infective larvae of some common nematode parasites of cattle. *Aust. J. Zool.* **1**: 223-235, 1953.

KERRY, B.R. Fungi as biological control agents for plant parasitic nematodes. In: WHIPPS, J.M.; LUMDSEN, R.D. Eds., **Biotechnology of fungi for improving plant growth**. CAB International, Cambridge, United Kingdom, pp. 153-170, 1989.

KERRY, B.R. Nematophagus Fungi and the regulation of nematode populations in soil. *Helminthological Abstracts.*, **53**: 1-10, 1984.

LANUSSE, C. Farmacologia dos compostos anti-helínticos. In: Padilha, T.P. Ed., **Controle da verminose em ruminantes**. EMBRAPA, CNPGL. Coronel Pacheco, Brasil, pp. 1-54, 1996.

LARSEN, M. Biological control of helminths. *Int. J. Parasitol.* **29**: 139-146, 1999.

LARSEN, M.; FAEDO, M.; WALLER, P.J.; HENNESSY, D.R. The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: Studies with *Duddingtonia flagrans*. *Vet. Parasitol.*, **76**: 121-128, 1998.

LARSEN, M.; NANSEN, P.; WOLSTRUP, J.; GRONVOLD, J.; HENRIKSEN, S. A.; ZORN, A. Biological control of *trichostrongyles* in calves by the fungus *Duddingtonia flagrans* fed to animals under natural grazing conditions. *Vet. Parasitol.*, **60**: 321-330, 1996a.

LARSEN, M.; NANSEN, P.; GRONDAHL, C.; THAMSBORG, S. M.; GRONVOLD, J.; WOLSTRUP, J.; HENRIKSEN, S. A.; MONRAD, J. The capacity of fungus *Duddingtonia flagrans* to prevent *strongyle* infections in foals on pasture fed to animals under natural grazing conditions. *Parasitol.*, **113**: 1-6, 1996b.

LARSEN, M.; WOLSTRUP, J.; HERIKSEN, S.A. *In vivo* passage through calves of nematophagous fungi selected for biocontrol of parasitic nematodes. *J. Helmentol.*, **66**: 137-141, 1992.

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

LIU, X.; ZHANG, K. Nematode-trapping species of *Monacrosporium* with special reference to two new species. *Mycol. Res.* **8**: 862-868, 1994.

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

MCKELLAR, Q.A. Ecotoxicology and residues of antihelmintic compounds. *Vet. Parasitol.*, **72**: 413-435, 1997.

MEEUSEN, E. Rational design of nematode vaccines-natural antigens. *Int. J. Parasitol.*, **26**: 813-818, 1996.

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. *Ciênc. Rural*, **33**: 169-171, 2003.

MENDONZA DE GIVES, P.; ZAVALA-MIEJA HERRERA-RODRIGUES, D.; PERDOMO-ROLDAN, F. Interaction between the nematode-destroying fungus *Arthrobotrys robusta* (Hyphomycetales) and *Haemonchus contortus* infective larvae *in vitro*. *Vet. Parasitol.*, **41**: 101-107, 1992.

MENDONZA DE GIVES, P.; ZAVALA-MIEJA, E.; HERRERA-RODRIGUES, D.; QUIROZ-ROMERO, H. *In vitro* trapping capability of *Arthrobotrys* spp. on infective larvae of *Haemonchus contortus* and *Nacobbus aberrans*. *J. Helmentol.*, **68**: 223-229, 1994.

MOTA, M.A. **Efeitos de processos de preservação sobre os fungos *Arthrobotrys robusta* e *Monacrosporium thaumasium* predadores de nematóides.** Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 2002.

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

NANSEN, P.; LARSEN, M.; ROEPSTORFF, A.; GRØNVOLD, J.; WOLSTRUP, J.; HERIKSEN, S.A. Control of *Oesophagostomum dentatum* and *Hyostrongylus rubidus* in outdoor-reared pigs by daily feeding with microfungus *Duddingtonia flagrans*. *Parasitol. Res.*, **82**: 580-584, 1996.

NORDBRING-HERTZ, B. Nematophagus fungi: strategies for nematode exploitation and for survival. *Microbiol. Sci.*, **5**: 108-168, 1988.

NORDBRING-HERTZ, B.; STÅLHAMMAR-CARLEMALM, M. Capture of nematode by *Arthrobotrys oligospora*: an electron microscope study. *Can. J. Botan.*, **56**: 1297-1307, 1978.

PADILHA, T. **Controle de nematódeos gastrintestinais em ruminantes.** Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 258p., 1996.

PANDEY, V.S. Predatory activity of nematode trapping fungi against the larvae of *Trichostrongylus axei* and *Ostertagia ostertagi*: a possible method of biological control. *J. Helmintol.*, **47**: 35-48, 1973.

PARNELL, I.W.; GORDON, H.M.L. Predacious fungi: a possible method of biological control of parasitic nematodes. *J. Helmintol.*, **37**: 339-342, 1963.

PELLOILE, M. Selection of nematode-trapping for use in biological control. In: KERRY, B.R.; CRUMP, D.H. Eds., **Methods for studying nematophagus fungi.** London: p. 13-17. 1991.

PETKEVICIUS, S.; BACH KNUDSEN, K.E.; NANSEN, P.; ROEPSTORFF, A.; SKJOTH, F.; JENSEN, K. The impact of diets varying in carbohydrates resistant to endogenous enzymes and lignin on populations of *Ascaris suum* and *Oesophagostomum dentatum* in pigs. *Parasitol.*, **111**: 395-402, 1996.

PETKEVICIUS, S.; BJORN, H.; ROEPSTORFF, A.; NANSEN, P.;

BACH KNUDSEN, K.E.; BARNES, E.H.; JENSEN, K. The effect of two types of diet on populations of *Ascaris suum* and *Oesophagostomum dentatum* in experimentally infected pigs. *Parasitol.*, **111**: 395-402, 1995.

PRAMER, D. Nematode trapping fungi. *Science*, **144**: 382-388, 1964.

ROUBAUD, E.; DESCAZEUX, J. Action des certains champignons prédateurs sur les larves de *Strongylidés* du cheval. *Bullet. Soc. Pathol. Exotique*, **32**: 290-294, 1939.

ROUBAUD, E.; DESCHIENS, R. . Destruction des larves infectieuses d'Anguillules intestinales par *Dactylella ellipsospora*. *Bullet. Soc. Pathol. Exotique*, **32**: 160-165, 1939.

ROUBAUD, E.; DESCHIENS, R. Action des Hyphomycetes prédateurs sur les larves de *Synthétocaulés* et de *Bunostomes*. *Bullet. Soc. Pathol. Exotique*, **34**: 127-130, 1941.

SANTOS, C.P.; CHARLES, T.P.; RODRIGUES, M.L.A. Atividade predatória de *Arthrobotrys oligospora* e *Duddingtonia flagrans* em estádios pré parasitários de ciatostomíneos em diferentes temperaturas. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, **4**: 113-117, 1995.

SANTOS, M.A.; **Estudo de alguns fungos endoparasitos e predadores no controle de fitonematóides**. Tese (Doutorado) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 1996.

SOPRUNOV, F.F. **Predacious hyphomycetes and their application in the control of pathogenic nematodes**. Israel: Ashkhabad, 292p., 1958.

STEFFAN, P.; FIEL, C. Efectos en producción y control de nematodes gastrointestinales en bovinos. In: NARI, A.; FIEL, C. Eds., **Enfermidades parasitárias de importância econômica em bovinos, bases epidemiológicas para su prevención y control**. Uruguay: p. 131-153. 1994.

SUBRAMANIAN, C. *Dactylella*, *Monacrosporium* and *Dactylina*. *J. Indian Bot. Soc.*, **42**: 291-300, 1963.

THAMSBORG, S.M.; POEPSTORFF, A.; LARSEN, M. Integrated and biological control of parasites in organic and conventional production systems. *Vet. Parasitol.*, **84**: 169-186, 1999.

THOMPSON, R.C.A. Veterinary Parasitology: looking to the next millennium. *Parasitol. Today.*, **15**: 320-325, 1999.

TUNLID, A.; JOHANSSON, T.; NORBRING-HERTZ, B. Surface polymers of the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*. *J. Gen. Microb.*, **137**: 1231-1240, 1991.

VEEHNIUS, M.; NORDBRING-HERTZ, B.; HARDER, W. An electron microscopical analysis of capture and initial stages of penetration of nematodes by *Arthrobotrys oligospora*. *Antonie van Leeuwenhoek*, **51**: 385-398, 1985a.

VEEHNIUS, M.; NORDBRING-HERTZ, B.; HARDER, W. Development and fate of electrodense microbodies in trap cells of the nematophagous fungus *Arthrobotrys oligospora*. *Antonie van Leeuwenhoek*, **51**: 339-407, 1985b.

VERCRUYSSSE, J.; DORNY, P. Integrated control of nematode infections in cattle: A reality ? A need ? A future ? *Int. J. Parasitol.* **29**: 165-175, 1999.

WAGHORN, T.S.; LEATHWICK, D.M.; CHEN, L.-Y.; GRAY, R.A.J.; SKIPP, R.A. Influence of nematophagous fungi, earthworms and dung burial on development of the free-living stages of *Ostertagia* (Teladorsagia) *circumcincta* in New Zealand. *Vet. Parasitol.* **104**: 119-129, 2002.

WALLER, P.J. Sustainable helminth control of ruminants in developing countries. *Vet. Parasitol.* **71**: 195-207, 1997.

WALLER, P.J.; FAEDO, M. The prospect for biological control of the free-living stages of nematode parasite of livestock. *Int. J. Parasitol.* **26**: 915-925, 1996.

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

WALLER, P.J.; LARSEN, M.; FAEDO, M.; HENNESSY, D.R. The potential of nematophagous fungi to control free-living stages of nematodes parasites of sheep: *in vitro* and *in vivo* studies. *Vet. Parasitol.* **51**: 289-299, 1994.

WOLSTRUP, J.; GRØNVOLD, J.; HENRIKSEN, S.A.; NANSEN, P.; LARSEN, M.; BØGH, O.; ILØE, B. An attempt to implement the nematode-destroying fungus *Duddingtonia flagrans* in biological control of

trichostrongyle infections of first grazing calves. *J. Helmentol.*, **68**: 175-180, 1994.

WOOLASTON, R.R.; BAKER, R.L. Prospects of breeding for parasite resistance. *Int. J. Parasitol.* **26**: 845-855, 1996.

## 8. APÊNDICE

TABELA 4 – Resumo da análise de variância do número de larvas infectantes de *Cooperia* sp. e *Haemonchus* sp. recuperadas das placas de Petri preenchidas com fezes de bezerros amostradas nos tempos 12, 18, 24, 48, 72 e 96 horas após os tratamentos com o isolado *M. sinense* (SF-53) e o isolado *M. appendiculatum* (CGI).

FONTES DE VARIAÇÃO	GRAU LIBERDADE	QUADRADO MÉDIO
TRATAMENTO	2	73273,17**
**ERRO (A)**	6	3611,056
HORÁRIOS	5	12668,30**
HORARIO*TRATAMENTO	10	4961,23 <sup>n.s.</sup>
RESÍDUO	30	3354,144

<sup>n.s.</sup> - F não-significativo em nível de 5% de probabilidade.

\*\* - F significativo em nível de 1% de probabilidade.

TABELA 5 – Resumo da análise de variância do número de larvas infectantes de *Cooperia* sp. e *Haemonchus* sp. recuperadas das coproculturas realizadas com fezes amostradas nos tempos 12, 18, 24, 48, 72 e 96 horas após o tratamento com o isolado *M. sinense* (SF-139).

FONTES DE VARIAÇÃO	GRAU LIBERDADE	QUADRADO MÉDIO
TRATAMENTO	1	3241050 <sup>n.s.</sup>
**ERRO (A)**	8	1381590
HORÁRIOS	5	5697226**
HORARIO*TRATAMENTO	5	919779.0**
RESÍDUO	40	143664.4

<sup>n.s.</sup> - F não-significativo em nível de 5% de probabilidade.

\*\* - F significativo em nível de 1% de probabilidade.

TABELA 6 – Resumo da análise de variância do número de larvas infectantes de *Cooperia* sp. e *Haemonchus* sp. recuperadas das placas de Petri preenchidas com fezes amostradas nos tempos 12, 18, 24, 48, 72 e 96 horas após o tratamento com o isolado *M. sinense* (SF-139).

FONTES DE VARIAÇÃO	GRAU LIBERDADE	QUADRADO MÉDIO
TRATAMENTO	1	97760,44 <sup>n.s.</sup>
**ERRO (A)**	4	346983,6
HORÁRIOS	5	105359,0**
HORARIO*TRATAMENTO	5	165677,8**
RESÍDUO	20	20351,91

<sup>n.s.</sup> - F não-significativo em nível de 5% de probabilidade.

\*\* - F significativo em nível de 1% de probabilidade.