

WENDEO FERREIRA DA SILVEIRA

**ASSOCIAÇÃO DE FUNGOS NEMATÓFAGOS DOS GÊNEROS
DUDDINGTONIA, *MONACROSPORIUM* E *ARTHROBOTRYS* NO CONTROLE
BIOLÓGICO DE NEMATOIDES GASTRINTESTINAIS DE PEQUENOS
RUMINANTES**

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
2013

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

T

S587a
2013 Silveira, Wendeo Ferreira da, 1987-
Associação de fungos nematófagos dos gêneros
Duddingtonia, *Monacrosporium* e *Arthrobotrys* no controle
biológico de nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes
/ Wendeo Ferreira da Silveira. – Viçosa, MG, 2013.
xi, 70f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Jackson Victor de Araújo.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Bezerro. 2. Fungos nematófagos. 3. Nematoda - Controle
biológico. 4. Bezerro - Doenças. I. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Veterinária. Programa de
Pós-Graduação em Medicina Veterinária. II. Título.

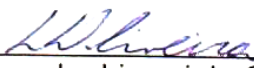
CDD 22 ed. 632.2

WENDEO FERREIRA DA SILVEIRA


**ASSOCIAÇÃO DE FUNGOS NEMATÓFAGOS DOS GÊNEROS
Duddingtonia, *Monacrosporium* E *Arthrobotrys* NO CONTROLE
BIOLÓGICO DE NEMATÓIDES GASTRINTESTINAIS DE
PEQUENOS RUMINANTES**

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*.

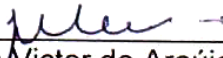
APROVADA: 29 de julho de 2013.



Leandro Licursi de Oliveira



Rogério Oliva Carvalho



Jackson Victor de Araújo
(Orientador)

DEDICATÓRIA

Ao meu pai *in memoriam*, que mesmo de longe continua acompanhando a mim e minha família.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelas bênçãos, por sempre me guiar pelo melhor caminho e fazer de mim uma pessoa melhor a cada dia

À Universidade Federal de Viçosa, por me proporcionar a vivência acadêmica e possibilitar meu crescimento pessoal e profissional.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de estudos que possibilitou a realização do projeto e aperfeiçoamento profissional.

Ao Professor Jackson Victor de Araújo, pela oportunidade e confiança depositada, pela brilhante orientação e pelo modelo de profissional.

Ao professor e amigo Fabio Ribeiro Braga, pela orientação, amizade e extrema boa vontade de me ajudar e pelo exemplo de postura profissional e pessoal.

Ao professor José Lucio dos Santos e Lucas Fernando dos Santos que gentilmente cederam os animais e o espaço na Granja Piglandia, sem os quais não seria possível a realização deste projeto.

A todos os professores, servidores e amigos do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa. Em especial a secretária Rosinéia Aparecida da Cunha Andrade pelo carinho, atenção e imensa boa vontade em resolver todos os problemas.

Aos meus grandes amigos do laboratório José Geraldo de Oliveira (Tuim) pela boa vontade e disposição, sem a qual não seria possível realizar este projeto. Ademir Alves, pela amizade respeito e boa vontade.

Aos meus amigos da pós-graduação Alexandre Tavela, Anderson, Manoel, Fernanda, Amara, Rogerio, Sebastião, Juliana, Tiago (Guedão), Ingrid, Alessandra, Lorendane, Rosane, Rafaela, Fabio Luns pela amizade e por dividirem experiências que possibilitaram meu crescimento pessoal e profissional.

A minha mãe Maria Helena Ferreira Silveira pelo amor incondicional e por sempre acreditar e apoiar minhas decisões.

Aos Meus irmãos Alirio, Aginaldo, Aldair, Alan, Wallace e Weyller pelo carinho, amor e incentivo.

A Amanda Carla Rodrigues pela compreensão, boa vontade, incentivo e companheirismo.

A Danielle e Jorge Rafael, que são como irmãos e sempre me incentivaram.

Em especial a Maria Lucia e José Roberto (Beto Russo) pelo carinho, acolhimento e lições de vida.

Aos meus amigos das repúblicas Ponto de Carona (Lucas, Diogo, Henrique, André e Ivan Célio) e Matadouro 2.2 (Esteferson, Alison, Gustavo, Gabriel e Adam) pela amizade, ótima convivência e companheirismo.

BIOGRAFIA

Wendeo Ferreira da Silveira, filho de Ildeu Antônia da Silveira e Maria Helena Ferreira Silveira, nasceu em 01 de setembro de 1987, em Silveirania, Minas Gerais.

Em Dezembro de 2008, graduou-se em Ciências Biológicas pela Faculdade de Filosofia Ciências e Letras Santa Marcelina, Muriaé-MG .

Entre 2009 e 2010 trabalhou na Rede Estadual de Educação lecionando disciplina de Biologia.

Em Agosto de 2011 ingressou no Programa de Mestrado em Medicina Veterinária, no Departamento de Veterinária – UFV, submetendo-se à defesa de dissertação em julho de 2013.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1. Situação da Caprinovinocultura	2
2.2. Helmintos parasitos gastrintestinais de ruminantes.....	3
2.3 Ciclo biológico dos nematoides parasitos gastrintestinais.....	4
2.4 Estratégias de controle dos nematoides gastrintestinais	5
2.4.1 Controle biológico	6
2.4.2 Fungos nematófagos	7
2.4.3 <i>Duddigtonia flagrans</i>	9
2.4.4 <i>Monacrosporium</i> spp.	9
2.4.5 <i>Arthrobotrys</i> spp.	10
2.4.6 Referências.....	12
3. OBJETIVOS.....	23
3.1 Objetivo geral.....	23
3.2 Objetivos específicos	23
Capítulo 1. Viabilidade da associação de fungos nematófagos após a passagem pelo trato gastrintestinal de caprinos estabulados	24
4.1 Resumo	25
4.2 Introdução.....	26
4.3 Material e Métodos	28
4.3.1 Obtenção de conídios e clamidósporos	28
4.3.2 Animais	28
4.3.3 Ensaio experimental.....	29
4.3.5 Ensaio A	29
4.3.6 Ensaio B	30
4.3.6 Análise estatística	30
4.4 Resultados.....	31
4.4.1 Ensaio A	31
4.4.2 Ensaio B	32
4.5 Discussão	35
4.6 Referências.....	38
Capítulo 2. Controle biológico a campo dos nematoides parasitos gastrintestinais de ovinos com fungos nematófagos associados	42
5.1 Resumo	43
5.2 Introdução.....	44

5.3 Material e Métodos	45
5.3.1 Organismos	45
5.3.2 Produção de massa micelial e confecção de péletes	45
5.3.3 Dose de inoculação	45
5.3.4 Local do experimento e Animais	46
5.3.5 Ensaio experimental	46
5.3.6 Análise dos dados	47
5.4 Resultados.....	47
5.5 Discussão	51
5.6 Referências.....	65
6. Conclusões	70

RESUMO

SILVEIRA, Wendee Ferreira da, M.Sc. Universidade Federal de Viçosa, julho de 2013. **Associação de fungos nematófagos dos gêneros *Duddingtonia*, *Monacrosporium* e *Arthrobotrys* no controle biológico de nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes.** Orientador: Jackson Victor de Araújo. Co-orientador: Fabio Ribeiro Braga.

As nematodioses gastrintestinais causadas principalmente pelos gêneros: *Trichostrongylus* spp., *Cooperia* spp., *Oesophagostomum* spp, *Strongyloides* spp e *Haemonchus* spp. são um entrave para a criação de pequenos ruminantes (caprinos e ovinos). O controle destes parasitos tem sido realizado com drogas anti-helmínticas, porém há muitos relatos do aparecimento de resistência. Nesse contexto, a utilização de fungos nematófagos, surge como uma alternativa viável no combate aos nematoides gastrintestinais. Os isolados de fungos nematófagos *Duddingtonia flagrans* (AC001), *Monacrosporium thaumasium* (NF34), *Arthrobotrys robusta* (I31) e *A. conoides* (I40) foram utilizados de forma associada (AC001+I31) e (NF34+I40) com o objetivo de avaliar *in vitro* a viabilidade da associação de fungos nematófagos após a passagem pelo trato gastrintestinal de caprinos. Para tal, foram utilizadas associações de fungos nematófagos acima na concentração de 1×10^6 conídios e clamidósporos/ kg de peso vivo (PV), administrado em dose única por via oral. Posteriormente foi avaliada a viabilidade das associações dos isolados fúngicos (AC001 + I31) e (NF34 + I40) em péletes de matriz de alginato de sódio no controle biológico de nematoides de ovinos criados a campo. Neste sentido, foram avaliados o número de larvas infectantes de nematoides gastrintestinais recuperadas nas pastagens nas distancias de 0 a 20 cm do bolo fecal e de 20 a 40 cm do bolo fecal, contagem do número de ovos por grama de fezes (OPG) nos grupos tratados e controle, prevalência dos gêneros de estrongilídeos recuperados nas coproculturas, hematócrito e contagem de proteínas totais no sangue. Estruturas fúngicas associadas foram capazes de passar pelo trato gastrintestinal de caprinos e reduzir o número de Larvas infectantes (L3) de nematoides gastrintestinais *in vitro*. Para a associação entre os isolados AC001 e I31, houve diferenças entre o grupo tratado e controle nos horários de 12h ($P < 0,01$) e 48h ($P < 0,05$), com percentagem de redução L3 nematoides gastrintestinais de 53% e 68% respectivamente. Já para a associação entre os isolados NF34 e I40, diferenças ($P < 0,01$) foram observadas nos tempos de 24, 48 e 72 horas, com percentagem de redução de larvas de 56%,

61% e 48% respectivamente. A associação entre os isolados AC001 e I31 em matriz de alginato de sódio não foi capaz de reduzir a contagem de ovos por grama de fezes (OPG) de ovinos criados a campo. Por outro lado, a associação entre os isolados NF34 e I40 nas mesmas condições demonstrou diferença ($P < 0,01$) no OPG em relação ao grupo controle. Houve diferença ($P < 0,05$) entre o número de L3 recuperadas na distância de 0-20 cm do bolo fecal, com maior prevalência dos gêneros *Haemonchus* ssp., *Cooperia* spp., *Trichostrongylus* spp. e *Oesophagostomum* spp. Os resultados demonstraram que as associações dos isolados de fungos nematófagos AC001+I31 e NF34+I40 podem ser utilizadas como forma de controle biológico de nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes tanto em condições laboratoriais quanto a campo.

Abstract

SILVEIRA, Wendee Ferreira da, M.Sc. Universidade Federal de Viçosa, July 2013. **Association of Nematophagous fungi of *Duddingtonia*, *Monacrosporium* and *Arthrobotrys* genus in the biological control of gastrointestinal nematodes of small ruminants.** Adviser: Jackson Victor de Araújo. Co-advisers: Fabio Ribeiro Braga.

The gastrointestinal nematodes caused mainly by the genus: *Trichostrongylus* spp., *Cooperia* spp., *Oesophagostomum* spp, *Strongyloides* spp and *Haemonchus* spp. are a deadlock to raise small ruminants (caprine and ovine). The control of these parasites has been done by anti-helminthic drugs, however there are many reports about the occurrence of resistance. In this context, the use of nematophagous fungi, come as a viable alternative in the fight against gastrointestinal nematodes. The isolated of nematophagous fungi of the genus *Duddingtonia flagrans* (AC001), *Monacrosporium thaumasium* (NF34), *Arthrobotrys robusta* (I31) and *A. conoides* (I40) were used in an associated form (AC001+I31) and (NF34+I40) aiming to evaluate *in vitro* the viability of association of nematophagous fungi after passing through the gastrointestinal tract of goats. In order to do so, it was used association of nematophagous fungi above the concentration of 1×10^6 conidium and chlamidospore / kg of live weight (LW), given in a single dose. And after, evaluate the viability of the associations of fungi isolated (AC001 + I31) and (NF34 + I40) in pellet matrix of sodium alginate in the biological control of nematodes of sheeps under field conditions. Therefore, were evaluated number of infective larvae recovered in distances 0-20 cm and 20-40 cm from the fecal matter, Egg counts per gram of faeces (EPG), in groups treated and control, prevalence of genus strongylis recovered in fecal cultures, hematocrit and total protein count in the blood.

Fungi structures associated were capable of passing through the gastrointestinal tract of goats and reduce the number of infected larvae (L3) of gastrointestinal nematodes *in vitro*. For the association among the isolates AC001 and I31, there were differences between the treated group and the control of the interval of 12h ($P < 0,01$) and 48h ($P < 0,05$), L3 percentage of reduction in gastrointestinal nematodes of 53% and 68% respectively. On the other hand, the association of the isolates NF34 and I40), differences ($P < 0,01$) were observed in the interval of 24, 48 and 72 hours, with percentage reduction of larvae of 56%, 61% and 48% respectively. The association among the isolated AC001 and I31 in matrix of sodium alginate was

not able to reduce the counting of eggs by grams of feces (EPG) of sheep under field conditions. On the other hand, the association among the isolates NF34 and I40 in the same conditions showed a difference ($P < 0,01$) in EPG compared to the control group. There was a difference ($P < 0,05$) between the number of L3 recovered in the distance of 0-20 cm from fecal pats, with a higher predominance of the genus *Haemonchus* spp., *Cooperia* spp., *Trichostrongylus* spp. and *Oesophagostomum* spp. The results showed that the associations of the isolated of nematophagous fungi AC001+I31 and NF34+I40 can be used as a way of biological control of gastrointestinal nematodes of small ruminants at lab conditions as well as field conditions.

1. INTRODUÇÃO

A criação de ruminantes é uma atividade relevante para o Brasil. Os bovinos, caprinos e ovinos representam uma das principais fontes de proteínas consumidas pela população. Em contrapartida, as nematodioses gastrintestinais têm sido um entrave a produção desses animais, principalmente os destinados ao consumo, e tem sido referenciadas como um sério obstáculo a sua criação (Araújo et al., 1996; Amarante, 2009).

O controle químico, por meio da utilização de produtos anti-helmínticos corresponde a estratégia mais utilizada pelos produtores de todo o mundo. Esse modelo de controle tem ação sobre as formas parasitárias dos nematoides e nenhum sobre as formas de vida livre, o que não diminui as recidivas infecções, de modo que em longo prazo favorece a seleção de cepas de nematoides resistentes a estes produtos (Bartley et al., 2003; Skuce et al., 2010; Skresby et al., 2010; Kenyon et al., 2013)

Dessa forma, medidas alternativas que possam ajudar no controle das fases de vida livre têm sido cada vez mais entendidas como importantes, e nesse sentido, uma delas é a utilização de fungos nematófagos que tem se mostrado eficazes na descontaminação ambiental e com isso diminuindo as recidivas das infecções helmínticas que causam danos a criação de animais domésticos de produção e em especial de ovinos e caprinos (Araújo et al., 2007; 2008; Braga et al., 2011).

Fungos nematófagos dos grupos predadores e em especial os gêneros *Duddingtonia*, *Monacrosporium* e *Arthrobotrys* tem sido utilizados com sucesso no controle de nematoides dos animais domésticos em condições laboratoriais (Esteves et al., 2009; Soares et al., 2012, Braga et al., 2013). Do mesmo modo, em condições naturais a utilização de formulações contendo massa micelial desses fungos tem mostrado ser uma ferramenta interessante a ser empregada no controle estratégico da verminose como um todo (Silva et al., 2009; Silva et al., 2010).

O sucesso do controle biológico a campo se deu a partir da incorporação dos fungos em pélete de matriz de alginato de sódio (Araújo et al., 2000), tal incorporação promoveu vantagens que viabilizaram pesquisas em condições ambientais. Dentre as vantagens podemos citar: garante proteção aos isolados fúngicos durante a passagem pelo trato gastrintestinal dos animais, podem ser

mantidos por longos períodos de tempo em baixas temperaturas, além de ter baixo custo de produção (Araújo e Sampaio, 2001).

Contudo, estas formulações são utilizadas de forma isolada e não existem relatos na literatura da associação desses fungos em péletes de matriz de alginato de sódio a serem administrados a pequenos ruminantes como objeto de estudo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Situação da Caprinovinocultura

A criação de ovinos e caprinos é uma atividade que vem ganhando grande importância no cenário socioeconômico e que nos últimos anos vem crescendo e se desenvolvendo no estado de Minas Gerais. Porém, muitos são os entraves que dificultam o desenvolvimento do setor, como pouca procura do consumidor, autovalor dos derivados, sazonalidade na produção de leite, necessidades de pesquisas científicas especializadas, carência de profissionais especializados, dificuldades em diagnósticos para controle sanitário (ausência de manejo integrado) e desconhecimento da situação soroepidemiológica do rebanho (Cepa, 2007).

Apesar da redução do número de ovinos e caprinos no mundo, a produção de carne aumentou. O tamanho do rebanho não está diretamente relacionado com a maior produção de carne. Diferenças no sistema de criação e nível tecnológico podem garantir maior produção de carne e derivados com menor número de animais (Holanda Junior et al., 2004; Guimarães, 2006).

Apesar das dificuldades, a demanda por consumo de carne de ovinos e caprinos está estimulando à produção no Brasil. A valorização destes animais no mercado nacional é maior que a de outros seguimentos como bovinos e suínos (FarmPoint, 2011).

O Brasil com sua grande dimensão territorial apresenta condições ambientais variadas e favoráveis ao desenvolvimento de diversas raças, porém o número de cabeças de ovinos (17,6 milhões) e caprinos (9,3 milhões) ainda é muito pequeno quando comparado ao dos bovinos (212, 798 milhões) (IBGE, 2012). A maior parte das raças de ovinos criados no país são animais deslanados, destinados à produção de leite, carne e pele, situada nas regiões tropicais, sendo a região nordeste a que possui o maior efetivo, seguida da região sul apresentando clima temperado com

destaque aos ovinos de raças laneiras e mistas que possibilitam também a produção de carne.

O sudeste representa o quarto maior efetivo de ovinos do país, sendo o estado de Minas Gerais responsável por apenas 1,3% do total de ovinos do Brasil (IBGE, 2010).

A ovinocultura está presente em praticamente todos os continentes. A ampla difusão da espécie ovina se deve principalmente ao seu poder de adaptação aos diferentes climas, relevos e vegetações. Países como a China, Austrália, Índia, Irã e Sudão, concentram a maioria dos rebanhos ovinos (ANCO, 2009), em contrapartida, a criação de outros seguimentos como a bovinocultura, criação de aves e caprinocultura são menos desenvolvidos (Guimarães, 2006).

Os caprinos estão agrupados em maior número na região nordeste, o que corresponde a quase 91% do rebanho nacional. Estes animais são de grande importância econômica e cultural para essa região, uma vez que apresentam demandas energéticas inferiores aos grandes ruminantes e rusticidade característica que os possibilita viver em condições diferenciadas de outros animais (Holanda Júnior e Araújo, 2004).

As nematodioses gastrintestinais ocupam lugar de destaque entre os fatores que inviabilizam o desenvolvimento pleno da atividade pecuária. Os prejuízos estão relacionados ao retardo na produção, custos com tratamentos profiláticos e curativos e em casos extremos com a morte de animais (Amarante, 2005, Taylor et al., 2007).

Nesse contexto, os nematoides gastrintestinais são os responsáveis na maioria das vezes por causarem danos diretos e indiretos aos pequenos ruminantes, destacando-se os gêneros *Haemonchus* spp., *Cooperia* spp., *Trichostrongylus* spp. e *Oesophagostomum* spp., dentre outros (Urquhart et al., 1998).

2.2. Helmintos parasitos gastrintestinais de ruminantes

Devido a facilidade de percepção, as ectoparasitoses chamam mais a atenção dos produtores do que as helmintoses gastrintestinais (Delgado, 2009). Por outro lado, parasitos gastrintestinais acometem ovinos e caprinos durante toda a vida, sendo os seus efeitos mais evidentes em animais jovens, pois estes ainda não desenvolveram resistência imunológica (Amarante, 2004; Amarante et al., 2009).

Estes parasitos são frequentes em todos os sistemas de criação de ruminantes sendo responsável por perdas econômicas decorrentes da debilidade do animal parasitado como anemia e hipoproteïnemia, anorexia e perda de peso, redução na produção de carne e leite e em alguns casos até a morte devido à carga parasitária, além de altos custos com medidas de controle (Waller e Larsen 1993; Amarante, 2004).

De acordo com Lima (1989), as larvas infectantes das principais espécies de nematoides parasitos estão disponíveis nas pastagens praticamente durante o ano todo, servindo de fonte de infecção contínua para os animais tornando impossível sua eliminação nos animais em regime de pastoreio.

Em relação a este fato, os principais nematóides encontrados em ovinos e caprinos correspondem aos gêneros *Trichostrongylus* spp., *Cooperia* spp., *Oesophagostomum* spp. *Strongyloides* spp. e *Haemonchus* spp (Gastaldil 1999, Melo et al., 2003, Quadros, 2004). Helmintos parasitos gastrintestinais pertencentes a superfamília Strongiloidea podem parasitar o abomaso e/ou intestino. São amplamente estudados em todo o mundo devido os danos causados a pecuária. Os hábitos alimentares (hematofagismo) desses parasitos promovem escarificações no epitélio e alterações na mucosa (ação mecânica). Também estão relacionados a processos inflamatórios (Urquhart et al., 1998; Taylor et al., 2007).

2.3 Ciclo biológico dos nematoides parasitos gastrintestinais de ruminantes

O ciclo biológico dos nematóides gastrintestinais de ovinos e caprinos é direto, sem migração corporal e pode ser dividido em fase parasitária e fase de vida livre. As fêmeas dos parasitos realizam diariamente a postura de centenas de ovos que atingem o meio ambiente junto com as fezes. No bolo fecal, na presença de umidade (75 a 85% quando eliminado), aeração e temperatura adequada (20°C a 30°C) em um período de 24 a 48 horas ocorre a eclosão dos ovos liberando larvas de primeiro estágio (L1), que posteriormente se desenvolve em larva de segundo estágio (L2). Essas formas larvais habitam obrigatoriamente o bolo fecal, onde obtêm as condições necessárias à sobrevivência, temperatura, umidade e oxigênio. Alimentam-se de microrganismos (fungos e bactérias); posteriormente transformam-se em larvas de terceiro estágio (L3), infectantes (Andersen et al., 1968; Amarante et al., 1996; Fortes, 2004)

As L3 possuem maior capacidade de resistência às condições ambientais, pois retêm a cutícula da fase L2, apresentando assim dupla cutícula. Sob circunstâncias ideais, o desenvolvimento do ovo à L3 pode acontecer dentro de até uma semana. As larvas L3 não se alimentam, sobrevivem de reservas armazenadas durante as fases de L1 e L2 (Taylor et al., 2010; Monteiro, 2011)

Com o ressecamento do bolo fecal, as larvas são forçadas a deixá-lo e migram para a pastagem próxima a ele, podendo migrar até 40 cm do bolo fecal (Soulsby, 1965, Couto et al., 2009). Nas pastagens, podem movimentar-se na posição horizontal e vertical, onde nos momentos de temperaturas mais amenas alcançam a ponta das folhas que compõem a vegetação, podendo ser ingerido pelo hospedeiro dando continuidade ao ciclo (Castro et al., 2002).

A duração do período pré-patente depende de cada espécie de nematoide parasito, segundo Taylor et al, (2010), sendo de duas a três semanas tanto para *Haemonchus* spp. como para *Trichostrongylus* spp.. Após a ingestão das larvas infectantes (L3) durante o pastoreio, as larvas alcançam o rumem, passam em seguida para o abomaso, penetrando na mucosa, onde atinge o quarto estágio (L4) após 48 horas. A partir da L4 este nematoide alimenta-se de sangue trazendo potencial risco de anemia ao hospedeiro (Santa Rosa, 1996). As larvas de quarto estágio retornam ao lume do abomaso e mudam para larvas de quinto estágio (L5), em seguida atinge o estágio adulto, diferenciado em macho e fêmea. Em alguns casos específicos como *Haemonchus* spp., as fêmeas podem produzir diariamente grandes quantidades de ovos que variam de 5000 a 10000 ovos por dia (Ueno e Gonçalves, 1998) que são lançados no ambiente junto as fezes.

2.4 Estratégias de controle dos nematoides gastrintestinais

As estratégias de controle podem ser baseadas na utilização de produtos químicos, realizados com medicamentos anti-helmínticos. Contudo, essas drogas não têm sido totalmente eficazes, uma vez que deve-se atentar para o problema iminente da resistência parasitária que tem sido observada, não somente no Brasil, (Amarante, 2004; Araújo et al., 2007, Skrebsky et al., 2010) mas também em todo o mundo (Chartier et al., 1998; Papadopoulos, 2008; Torres-Acosta et al., 2012).

Existem diversas técnicas e métodos para minimizar ou quem sabe controlar os danos causados pelo parasitismo nos animais e no ambiente, porém o sucesso

do controle parasitário não depende somente de um esquema de tratamento eficaz, mas da combinação de práticas de manejo que podem ser adotadas em diferentes circunstâncias (Monteiro, 2011). Métodos de controle baseados na não utilização de produtos químicos objetivam principalmente a redução da contaminação das pastagens e conseqüentemente nos animais, deste modo o controle biológico por meio da utilização de fungos nematófagos têm se mostrado como uma alternativa viável e promissora.

2.4.1 Controle biológico

O controle biológico pode ser definido como um mecanismo pelo qual se utilizam de antagonistas naturais, disponíveis no ambiente, para controlar ou diminuir a um limiar aceitável uma população de organismos considerados nocivos ou indesejados, tanto na pecuária quanto na agricultura (Gronvold et al., 1996; Lazarovits et al., 2007). Entre os numerosos organismos que atacam nematoides destacam-se: bactérias, vírus, ácaros, besouros, fungos nematófagos, nematoides predadores dentre outros (Gaugler e Bilgrami, 2004).

De acordo com Verdejo (2005) os organismos com potencialidades para atuarem como controladores biológicos devem cumprir algumas premissas, tais como: ser virulento para o nematoide, ter rápida colonização do solo, facilidade de produção, baixo custo de produção e manutenção, possuir características que permitam o armazenamento, garantir a inocuidade para os organismos do solo e dos animais.

O controle biológico utilizando fungos nematófagos surge como uma alternativa promissora no combate as helmintoses gastrintestinais de ruminantes. A utilização de fungos nematófagos não busca abolir a utilização de anti-helmínticos, mas, sim realizar o controle de maneira sinérgica (Larsen, 1999). O emprego destes agentes antagonistas tem como objetivo diminuir a carga parasitária dos animais com a redução das formas infectantes de vida livre, reduzir os gastos com tratamentos químicos e conseqüentemente preservar a inocuidade do alimento, além de garantir melhoras no bem estar animal (Araújo et al., 2004; Braga et al., 2011; Paz-Silva et al., 2011).

2.4.2 Fungos nematófagos

Segundo Dreschsler (1937) os fungos nematófagos apresentam micélio septado e bem desenvolvido, reproduzem-se agamicamente por esporos, deste modo estão classificados na divisão Deuteromycetes, classe Hyphomycetes, ordem Hyphomycetales e família Moliniaceae. Van Ooij, (2011) menciona existir cerca de 700 espécies desses fungos. Estádios de reprodução sexuada de *Arthrobotrys* spp. foram observados por Griffin (1994), passando posteriormente a pertencer ao filo Ascomycota.

Fungos nematófagos são cosmopolitas, ocorrendo em forma saprófita em solos naturais ou agricultáveis e em todo tipo de matéria orgânica em decomposição (Silva et al., 2010). A atividade predadora destes fungos se dá mediante a presença de ovos e larvas de helmintos. Braga et al. (2009) relatam que quanto maior o número de nematoides no ambiente, maior será a proliferação de hifas e formação de estruturas de captura produzidas por esses fungos.

Os fungos nematófagos podem ser classificados em quatro grupos: endoparasitas, predadores, oportunistas (parasitos de ovos) e produtores de metabólitos tóxicos (Araújo et al., 2004, Braga, 2008). Mencionam também que essa divisão equivale à sua morfologia e as características funcionais que estão associadas com a produção de estruturas especializadas para a captura de helmintos.

A maior parte dos estudos são realizados com fungos predadores (Faedo et al., 2002; Araújo et al., 2004; Braga et al., 2010, Paz-Silva et al., 2011; Assis et al., 2012). O ciclo biológico dos fungos nematófagos predadores é composto por duas fases: 1) Uma fase saprófita, na qual os fungos alimentam-se de matéria orgânica do solo ou outros materiais em decomposição e 2) uma fase predadora, na qual formam armadilhas para capturar nematoides dos quais se alimenta (Nordbring-Hertz et al. 2006).

Fungos nematófagos predadores, podem produzir até seis tipos de armadilhas, conforme a figura 1: 1) botões adesivos não diferenciados; 2) ramificações de hifas que sofrem anastomose, formando redes adesivas tridimensionais; 3) ramificações adesivas, onde em algumas vezes podem se unir formando redes adesivas simples bidimensionais; 4) hifas adesivas; 5) anéis constritores; 6) anéis não constritores.

Diferentes gêneros de fungos nematófagos podem produzir mais ou menos armadilhas em velocidades variáveis. O gênero *Arthrobotrys* spp. produz pouco ou nenhum clamidósporo, porém seus conídios tem alta capacidade de germinação (Dackman e Nordbring-Hertz, 1992). *Monacrosporium* spp. produzem apenas um conídio na extremidade do conidióforo (Barron, 1977), o que torna sua dispersão e colonização do ambiente mais lenta. Gêneros que possuem alta produção de conídios e clamidósporos levam vantagem na dispersão e colonização do ambiente, conseqüentemente terão maior sucesso como controlador de nematoides de vida livre. O fungo nematófago *D. flagrans* atende essa premissa (Mota et al., 2003; Sanyal et al., 2004).

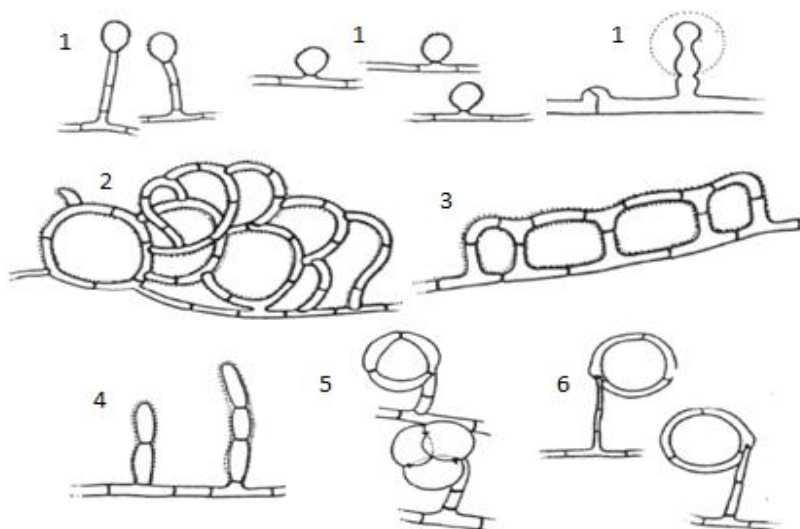


Figura 1. Estruturas de captura produzidas por fungos nematófagos predadores. Figura adaptada de Barron, 1977.

Após o aprisionamento, independente do tipo de armadilha, ocorrerá a penetração das hifas na cutícula do nematoide, ganhando seu interior e conseqüentemente, digestão do conteúdo interno (Larsen et al., 1999; Araújo et al., 2004). Estudos recentes indicam que a penetração e digestão da cutícula do nematoide se dá por meio da liberação de enzimas hidrolíticas (Proteases e quitinases) logo após a captura do nematoide (Lopez-Llorca et al., 2008, Esteves et al., 2009, Braga et al., 2012, Soares et al., 2012).

2.4.3 *Duddigtonia flagrans*

Anteriormente, a espécie *Duddingtonia flagrans* havia sido descrita como *Tricothecium flagrans* e *Arthrobotrys flagrans*. Duddington, (1950), observou que tanto sua forma, quanto desenvolvimento eram diferentes do gênero *Arthrobotrys* e que não havia presença de conídios dispostos de forma aglomerada formando correntes de anéis para *Tricothecium flagrans*, deste modo a espécie passou a ser chamada de *Duddingtonia flagrans*.

Este fungo, *D. flagrans* apresenta dois tipos de esporos: conídios com paredes delgadas em conidióforos eretos em número limitado, apresentam formato que pode variar de elíptico a ovoide com septo mediano (Mota et al., 2003), ou clamidósporos (esporos de paredes grossas mais resistentes). Esses clamidósporos são estruturas altamente resistentes as condições adversas, capazes de passar pelo trato gastrointestinal de ruminantes, germinar e colonizar as fezes, reduzindo então as L3 nas pastagens (Faedo et al., 2002; Braga et al., 2009).

D. flagrans é a espécie de fungo mais estudada e que tem apresentado melhor resultado no controle biológico das helmintoses gastrintestinais de animais domésticos (Araújo et al., 2004, Santurio et al., 2011; Braga et al., 2013)

2.4.4 *Monacrosporium* spp.

As espécies do gênero *Monacrosporium* spp. produzem apenas um conídio em cada extremidade do conidióforo (Barron, 1977). 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 (Araújo e Ribeiro, 2003). Podem utilizar redes tridimensionais cobertas com material adesivo para capturar larvas de nematoides, ou nódulos adesivos, que são células redondas cobertas com material adesivo e localizadas no ápice de uma hifa.

Muitas espécies do gênero *Monacrosporium* spp. são capazes de produzir armadilhas espontaneamente a partir de ramificações do micélio (Dijksterhuis et al., 1994), no entanto, o potencial de predação pode ser maximizado na presença de nematoides (Braga et al., 2010).

Logo após o aprisionamento do nematoide pelas armadilhas ocorre penetração da cutícula, e acredita-se que a liberação de serino-proteases possam promover o rompimento da cutícula permitindo que as hifas ganhem o interior do nematóide (Liang et al., 2011; Soares et al., 2012).

2.4.5 *Arthrobotrys* spp.

Fresenius, (1850) foi responsável pelo isolamento e descrição do primeiro fungo nematófago, *Arthrobotrys oligospora*, sendo considerado um simples fungo saprófita. O primeiro relato de captura de larvas de nematoides através de redes de armadilhas aconteceu muito tempo depois por Zopf, (1888).

Segundo Ramirez, (2012) podem apresentar conidióforos simples ou com varias proliferações, apresentam conídios ovoides, possuem um septo ligeiramente inferior a metade. Apresentam anéis e redes adesivas tridimensionais.

Estes fungos não são predadores exclusivos, na maior parte do tempo são saprófitos. No entanto a presença de nematóides induz a formação de armadilhas, que caracteriza mudança da fase saprófita para fase predadora (Nordbring-Hertz et al., 2006).

A maioria dos gêneros de *Arthrobotrys* spp. produz armadilhas em forma de redes adesivas simples ou tridimensionais que promovem a adesão, imobilização, penetração e conseqüentemente destruição das larvas (Nordbring-Hertz, 2004; Nordbring-Hertz et al., 2006) .

Rosén et al. (1997) e Araújo et al. (2001) mencionaram a presença de lectinas citoplasmáticas de baixo peso molecular em *A. oligospora* (AOL) como um mecanismo de reconhecimento durante a interação fungo-nematoide. As lectinas ligam-se a carboidratos específicos presentes na membrana dos nematóides promovendo a adesão. Grandes quantidades de lectinas são acumuladas nas extremidades das hifas que crescem no interior do nematoide. Após a destruição do nematoide a lectina é transportada para outras partes do micélio, onde pode ser degradada e promover o crescimento do fungo.

Yang et al. (2012) investigaram mecanismos que poderiam dar início a mudança da fase saprófita para a fase predadora do fungo nematófago *Arthrobotrys oligospora*. Para isso, analisaram o genoma de *A. oligospora* e compararam com fungos patogênicos e não patogênicos encontrando similaridade com ambos.

Acredita-se que alterações nesses genes poderiam dar início ao processo de mudança nos hábitos alimentares do fungo na presença de nematoides.

2.4.6 Referências

AMARANTE, A. F. T. Controle da verminose ovina. **Revista Conselho Federal de Medicina Veterinária**, V. 34, p.19-30, 2005.

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

AMARANTE, A. F. T.;SUSIN, I.; ROCHA, R. A.; SILVA, M. B.; MENDES, C. Q.; PIRES, A. V. Resistance of Santa Ines and crossbred ewes to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v. 165, p. 273-280, 2009.

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

ANDERSEN, F.L.; WANG, G.; LEVINE, N. D. Effect of desiccation on survival of the free-living stages of *Trichostrongylus colubriformis*. **Journal Nematology**, V. 54, p. 117-128, 1968.

ARAUJO, J. V. Inibição da captura de larvas infectantes de *Cooperia punctata* por fungos do gênero *Arthrobotrys*, utilizando carboidratos e lectinas. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 10, p. 7-12, 2001.

ARAUJO, J .V.; ASSIS, R. C. L. ; CAMPOS, A. K.; MOTA, M. 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, p. 65-71, 2004.

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

ARAÚJO, J. V.; STEPHANO, M. A.; SAMPAIO, W. M. Effects of temperature, mineral salt and passage through the gastrointestinal tract of calves on sodium alginate formulation of *Arthrobotrys robusta* - a nematode-trapping fungus. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v. 9, p. 55-60, 2000.

ARAÚJO, J. V.; AZEVEDO, M. H. F.; NETO, A.P. Screening Of Parasitic Nematode-Trapping Fungi *Arthrobotrys* To Pass Through The Gastrointestinal Tract Of Calves. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 48, p. 543-552, 1996.

ARAÚJO, J. V.; RODRIGUES, M. L. A.; SILVA, W. W.; VIEIRA, L. S. Controle biológico de nematóides gastrintestinais de caprinos em clima semi-árido pelo fungo *Monacrosporium thaumasium*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, p. 1177-1181, 2007.

ASSIS, R. C. L.; LUNS, F. D.; ARAÚJO, J. V.; BRAGA, F. R. Biological control of trichostrongyles in beef cattle by the fungus *Duddingtonia flagrans* in alginate pellets formulation under natural grazing conditions in Brazil. **Experimental Parasitology**, v. 132, p. 373-377, 2012.

BARTLEY, D. J.; JACKSON, E.; JOHNSTON, K.; COOP, R. L.; MITCHELL, G. B. B.; SALES, J.; JACKSON, F. A survey of anthelmintic resistant nematode parasites in Scottish sheep flocks. **Veterinary Parasitology**, v. 117 p. 61–71, 2003.

BARRON, G. L. The nematode-destroying fungi. Ontario: **Canadian Biological Publications**, p. 140, 1977.

BRAGA, F. R. **AÇÃO IN VITRO DE FUNGOS DAS ESPÉCIES *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium sinense* E *Pochonia chlamydosporia* SOBRE OVOS DE *Fasciola hepatica* E *Schistosoma mansoni***. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2008.

BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; SOARES, F. E. F.; ARAUJO, J. M.; GENIÊR, H. L. A.; SILVA, A. R.; CARVALHO, R. O.; QUEIROZ, J. H.; FERREIRA, S. R. Optimizing protease production from an isolate of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* using response surface methodology and its larvicidal activity on horse cyathostomin. **Journal of Helminthology**, v. 85, p. 164-170, 2011.

BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; SOARES, F. E. F.; ARAUJO, J. M.; FERREIRA, S. R.; TAVELA, A. O.; SILVEIRA, W. F.; QUEIROZ, J. H. Proteolytic action of the crude extract *Duddingtonia flagrans* on Cyathostomin (Nematoda: Cyathostominae) in coprocultures. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, p. 143-146, 2013.

BRAGA, F. R.; SILVA, A. R.; CARVALHO, R. O.; ARAÚJO, J. V.; GUIMARÃES, P. H. G.; FUJIWARA, R. T.; FRASSY, L. N. In vitro predatory activity of the fungi *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium*, *Monacrosporium sinense* and *Arthrobotrys robusta* on *Ancylostoma ceylanicum* third stage larvae. **Veterinary Microbiology**, v. 146, p. 183-186, 2010.

BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; SOARES, F. E. F.; ARAUJO, J. M.; TAVELA, A. O.; MELLO, I. N. K.; CARVALHO, L. M.; PAULA, A. T.; LELIS, R. T.; QUEIROZ, J. H. Interaction of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* on *Amblyomma cajannense* engorged females and enzymatic characterisation of its chitinase. **Biocontrol Science and Technology**, v. 23, p. 584-594, 2013.

BRASIL. Lei Delegada nº 105 de 29 de janeiro 2003. **CONSELHO ESTADUAL DE POLÍTICA AGRÍCOLA (CEPA). PLANO SETORIAL DE OVINOCAPRINOCULTURA. GOVERNO DO ESTADO DE MINAS GERAIS. MINAS GERAIS**, 2007 .

BRASIL. MINISTERIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA), AGENCIA DE NOTÍCIAS DE CAPRINOS E OVINOS (ANCO), OLIVEIRA, J. A. **Caprinos e ovinos: maiores rebanhos do mundo**. 2009. Disponível em: <http://anco.cnpc.embrapa.br/noticias.php?sequencia=217> Acesso em 13/03/2013.

CASTRO, A. A.; ALMEIDA, L. R.; GUEDES JÚNIOR, D. S.; FARIA, M. F. R.; FONSECA, A. H. Migração vertical de larvas infectantes de nematoides gastrintestinais de ruminantes em pastagens, durante a estação chuvosa, no município de Seropédica, RJ, Brasil. In: Anais.; **CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA**, Rio de Janeiro, 2002.

CHARTIER, C.; PORS, I.; HUBERT, J.; ROCHETEAU, D.; BENOIT, C.; BERNARD, N. Prevalence of anthelmintic resistant nematodes in sheep and goats in Western France . **Small Ruminant Research**, v. 29, p. 33–41, 1998.

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

DACKMAN, C.; NORDBRING-HERSTZ, B. Conidial traps-a new survival structure of nematode trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*. **Mycology Research**, v. 96, p.1 94-198, 1992.

DELGADO, F.; LIMA, W. S.; LEITE, R. C. Verminoses dos bovinos: percepção de pecuaristas em Minas Gerais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, p. 29-33, 2009.

DIJKSTERHUIS, J.; VEENHUIS, M.; HARDER, W.; NORDBRING-HERTZ, B. Nematophagous fungi: physiological aspects and structure-function relationships. **Microbiology and Physiology**. v. 36, p. 111-143, 1994.

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

DUDDINGTON, C. L. A. New predacious species of *Trichotecium*. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 32, p. 284-287, 1950.

ESTEVEES, I.; PETEIRA, B.; ATKINS, S. D.; MAGAN, N.; KERRY, B. Production of extracellular enzymes by different isolates of *Pochonia chlamydosporia*. **Mycological Research**, v. 113, p. 867-876, 2009.

FAEDO, M.; LARSEN, M.; DIMANDER, S. O.; YEATES, G. W.; HÖGLUND, J.; WALLER, P. J. Growth of the Fungus *Duddingtonia flagrans* in soil surrounding feces deposited by cattle or sheep fed the fungus to control nematode parasites. **Biological Control**, v. 23, p. 64-70, 2002.

FERREIRA NETO, J. M.; VIANA E. S.; MAGALHÃES, L. M. **Patologia Clínica Veterinária**. Rabelo, Belo Horizonte. P. 79, 1981.

FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**. Ed. Ícone, 2004

FRANCISCO, I.; ARIAS, M., CORTINAS, F. J.; FRANCISCO, R.; MOCHALES, E.; SÁNCHEZ, J. A.; SUÁREZ, J. L.; MORRONDO, P.; URIARTE, J.; SÁNCHEZ-ANDRADE, R.; DÍEZ-BANOS, P.; PAZ-SILVA, A. Silvopastoralism and autochthonous equine livestock. Analysis of the infection by endoparasites. **Veterinary Parasitologist**, v. 164, p. 357–362, 2009.

GAUGLER, R.; BILGRAMI, L. A. **Nematode Behavior**. CAB Publishing. Wallingfords, Oxforshire. UK. p. 219, 2004

GASTALDI, K. A. **Utilização do pastejo integrado como controle de nematodíases em ovinos**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo, 1999

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

GRIFFIN, D. H. Fungal Physiology. New York: **Wiley-Liss**, 1994.

GRONVOLD, 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. **Veterinary Parasitology**, v. 64, p.47-64. 1996.

GUIMARÃES. A. S. **Caracterização da caprinovinocultura em minas gerais**. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2006.

HOLANDA JÚNIOR, E. V.; ARAÚJO, G. G. L. O papel dos caprinos e dos ovinos deslanados na agricultura familiar. In: **Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia**, 41, 2004, Campo Grande, MS. Anais, Campo Grande: SBZ, Embrapa Gado de Corte, 2004. p. 43-54, 2004.

INSTITUO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). , Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária, Pesquisa da Pecuária Municipal 2012. Disponível em: <http://saladeimprensa.ibge.gov.br/noticias?view=noticia&id=1&busca=1&idnoticia=2241>

KENYON, F.; MCBEAN, D.; GREER, A. W.; BURGESS, C. G. S.; MORRISON, A.; BARTLEY, D. J.; BARTLEY, Y.; DEVIN, L.; NATH, M.; JACKSON, F. A comparative study of the effects of four treatment regimes on ivermectin efficacy, body weight and pasture contamination in lambs naturally infected with gastrointestinal nematodes in Scotland. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**. v. 3 p. 77–84, 2013

KEITH, R. K. The differentiation on the infective larvae of some common nematode parasites of cattle. **Australian Journal Zoology**, v. 1, p. 223-235, 1953.

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

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

LAZAROVITS, G.; GOETTEL, S.M.; VINCENT, C. **Adventures in Biocontrol**. En: Biological control. A Global Perspective. Case Studies from Around the World. CAB International. Wallingford, Oxfordshire, UK, p 1 -6, 2007.

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

LOPEZ-LLORCA, L. V.; MACIÁ-VICENTE, J. G.; JANSSON, H. B. Mode of action and interactions of nematophagous fungi. In: Ciancio, A., Mukerji, K.G. (Eds.), **Integrated Management and Biocontrol of Vegetable and Grain Crops Nematodes**. Springer, Dordrecht, p. 51–76, 2008.

MELO, A. C. F.L. Nematódeos resistentes a anti-helmíntico em rebanhos de ovinos e caprinos no estado do Ceará, Brasil. **Ciência Rural**, v. 33, n. 2, p. 339-344, 2003.

MONTEIRO, S. G. **Parasitologia na Medicina Veterinária**. 1. ed. São Paulo: Ed. Roca, v. 1. P. 344, 2011.

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

NORDBRING-HERTZ, B. Morphogenesis in the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*-an extensive plasticity of infection structures. **Mycologist** v. 18, p. 125–133, 2004.

NORDBRING-HERTZ, B.; JANSSON, H. B.; TUNLID, A. Nematophagous Fungi. En: Encyclopedia of Life Science(c). Weinheim: Macmillan Publishers Ltd, **Nature Publishing**, p. 1-11. 2006.

PAZ-SILVA, A.; FRANCISCO, I.; VALERO-COSS, R. O.; CORTINASA, F. J.; SÁNCHEZ, J.A.; FRANCISCO, R.; ARIAS, M.; SUÁREZ, J. L.; LÓPEZ-ARELLANO, M. E.; SÁNCHEZ-ANDRADE, R.; MENDOZA DE GIVES, P. Ability of the fungus

Duddingtonia flagrans to adapt to the cyathostomin egg-output by spreading chlamydospores. **Veterinary Parasitology**, v. 79, p. 277–282, 2011.

PAPADOPOULOS, E. Anthelmintic resistance in sheep nematodes. **Small Ruminant Research**. V. 76, p. 99–103, 2008.

QUADROS, D. G. **NEMATODIOSES DE OVINOS E CAPRINOS MANTIDOS EM PASTAGENS NO OESTE DA BAHIA**. Tese (Doutorado) Universidade Estadual Paulista “Julio De Mesquita Filho”, Jaboticabal, São Paulo, 2004.

RAMÍREZ, G.S.C. **IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE HONGOS NEMATÓFAGOS DE LA ZONA NORTE DEL MUNICIPIO DE CUERNAVACA CON USO BIOTECNOLÓGICO PARA LA INDUSTRIA AGROPECUARIA**. Tese (Doutorado) Universidad Politécnica del Estado De Morelos, JIUTEPEC, México, 2012

RAYNAUD, J. P.; GRUNER, L. Feasibility of herbage sampling in large extensive pastures and availability of cattle nematode infective larvae in mountain pastures. **Veterinary Parasitology**, v. 10, p. 57-64, 1982.

RODRIGUES, R. M. C. Análise do desenvolvimento do rebanho ovino e caprino no Brasil em 2011. **FarmPoint**. Disponível em: <http://www.farmpoint.com.br/cadeia-produtiva/especiais/analise-do-desenvolvimento-do-rebanho-ovino-e-caprino-no-brasil-em-2011-81339n.aspx> Acesso em 09/07/13

ROSÉNN, S.; SJOLLEMA, K.; VEENHUIS, M.; TUNLID, A. A cytoplasmic lectin produced by the fungus *Arthrotrichum oligospora* functions as a storage protein during saprophytic and parasitic growth. **Microbiology**, v. 143, p. 2593–2604, 1997.

SANTA ROSA, J. Enfermidades em Caprinos: diagnóstico, patogenia, terapêutica e controle – **Embrapa Caprinos**- Brasília – SPI/ Sobral, p. 101- 105,1996.

SANTURIO, J. M.; ZANETTE, R. A.; DA SILVA, A. S.; FANFA, V. R.; FARRET, M. H.; RAGAGNIN, L.; HECKTHEUER, P. A.; MONTEIRO, S. G. A suitable model for the utilization of *Duddingtonia flagrans* fungus in small-flock-size sheep farms. **Experimental Parasitology**, v. 127, p. 727–731, 2011.

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.

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

SILVA, B. F.; CARRIJO-MAUAD, J. R.; BRAGA, F. R.; CAMPOS, A. K.; ARAÚJO, J. V.; AMARANTE, A. F. T. Efficacy of *Duddingtonia flagrans* and *Arthrobotrys robusta* in controlling sheep parasitic gastroenteritis. **Parasitology Research**, v. 106, p. 1343-1350, 2010.

SILVA, M. E.; LIMA, W. S. Controle e aspectos epidemiológicos das helmintoses de bovinos. Boletim Técnico - **Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais**, v. 93, p. 1-40, 2009.

SKUCE, P.; LINDSAY, STENHOUSE.; JACKSON, F.; VÁCLAV HYPŠA, V.; GILLEARD, J. Benzimidazole resistance allele haplotype diversity in United Kingdom isolates of *Teladorsagia circumcincta* supports a hypothesis of multiple origins of resistance by recurrent mutation. **International Journal for Parasitology**, v. 40 p. 1247–1255, 2010

SOARES, F. E. F.; BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; LIMA, W. S.; MOZER, L. R.; QUEIROZ, J. H. In vitro activity of a serine protease from *Monacrosporium thaumasium* fungus against first-stage larvae of *Angiostrongylus vasorum*. **Parasitology Research**. v. 110, p. 2423-2427, 2012.

SOULSBY, E. J. L. **Textbook of veterinary clinical parasitology. Volume I Helminths**. Oxford: Blackwell, p. 1120, 1965.

SKREBSKY, A. C.; TOSCAN, G.; CAMILO, G.; SANGUIONI, L. A.; RIBAS, H. O.; VOGEL, F. S. F. Multiple resistance of gastrointestinal nematodes to nine different

drugs in a sheep flock in southern Brazil. **Veterinary Parasitology**, V 173, p. 157-160, 2010.

TAVELA, A. O.; ARAÚJO, J. V.; BRAGA, F. R.; ARAUJO, J. M.; MAGALHÃES, L. Q.; SILVEIRA, W. F.; BORGES, L. A. In vitro association of diferente nematophagus fungi to control cyatostomin (Nematoda: Strongylidae). **Biocontrol Science and technology**. v. 22, p. 607-610, 2012.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. **Parasitologia Veterinária**. Guanabara Koogan, 3ªed, 2010

TORRES-ACOSTA, J. F. J.; MENDOZA-DE-GIVES, P.; AGUILAR-CABALLEROA, A. J.; CUÉLLAR-ORDAZ, J. A. Anthelmintic resistance in sheep farms: Update of the situation in the American continent. **Veterinary Parasitology**. V. 189, p. 89–96. 2012.

UENO, H.; GONÇALVES, P.C., **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. Porto Alegre, RS: Janpan International Cooperation Agency, p 143, 1998.

URQUHART, G. M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J. L.; DUNN, A. M.; JENNINGS, F. W. **Parasitologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, p. 292, 1998.

VAN OOIJ, C. Fungal pathogenesis: Hungry fungus eats nematode. **Nature Reviews Microbiology**. v. 9, p. 766-767 , 2011.

VERDEJO S. Control Biológico de nematodos fitoparásitos. En: **El control Biológico de Plagas y Enfermedades. La sostenibilidad de la agricultura Mediterránea. Castelló de la Plana**: Universidad Jaume I.D.L., Castelló, Pamplona, España. p. 153-169. 2005.

YANG, J.; WANG, L.; JI, X.; FENG, Y.; LI, X.; ZOU, C.; XU, J.; REN, Y.; MI, Q.; WU, J.; LIU, S.; LIU, Y.; HUANG, X.; WANG, H.; NIU, X.; LI, J.; LIANG, L.; LUO, Y.; JI, K.; ZHOU, W.; YU, Z.; LI, G.; LIU, Y.; LI, L.; QIAO, M.; FENG, L.; ZHANG, K.Q. Genomic and proteomic analyses of the fungus *Arthrobotrys oligospora* provide insights into nematode-trap formation. **PLoS Pathogens**, v. 7, p. 1002179, 2011.

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

ZOPF, W. Zur Kenntnis der Infektions-Krankheiten niederer Thiere und Pflanzen. **Nova Acta der Kaiserlichen Leopoldinischen- Carolinischen Akademie der Naturforscher**, v. 52, p. 314-376, 1888.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a associação de fungos nematófagos dos gêneros *Duddingtonia*, *Mocacrosporium* e *Arthrobotrys* no controle biológico de nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes.

3.2 Objetivos específicos

1. Avaliar a eficácia da associação dos isolados fúngicos *Duddingtonia flagrans* + *Arthrobotrys robusta* e *Monacrosporium thaumasium* + *Arthrobotrys conoides* na redução das L3 de nematoides gastrintestinais *in vitro*.
2. Determinar se as associações de conídios e clamidósporos dos fungos *Duddingtonia flagrans*, isolado AC001 + *Arthrobotrys robusta*, isolado I31 e *Mocacrosporium thaumasium*, isolado NF34 + *Arthrobotrys conoides*, isolado I40, serão capazes de suportar a passagem pelo trato gastrintestinal de caprinos, desenvolverem nas fezes e capturar as larvas infectantes (L3) de nematoides gastrintestinais em condições laboratoriais.
3. Avaliar a eficácia e viabilidade da associação dos isolados fúngicos *Duddingtonia flagrans* + *Arthrobotrys robusta* e *Monacrosporium thaumasium* + *Arthrobotrys conoides* em péletes de Matriz Alginato de Sódio, na redução da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) e no número de L3 de ovinos a campo.

Capítulo 1

Viabilidade da associação de fungos nematófagos após a passagem pelo trato gastrointestinal de caprinos estabulados

4.1 Resumo

Os isolados de fungos nematófagos *Duddigtonia flagrans* (AC001), *Monacrosporium thaumasium* (NF34), *Arthobotrys robusta* (I31) e *A.conoides* (I40) foram utilizados de forma associada (AC001+I31) e (NF34+I40) no controle biológico de nematóides gastrintestinais de caprinos. Foram realizados dois ensaios. O ensaio A, teve o objetivo avaliar as associações de fungos predadores em Ágar-água 2% para verificar sua capacidade de predação de forma associada. No ensaio B, foi avaliada a viabilidade da associação de fungos nematófagos (1×10^6 conídios e clamidósporos/ Kg de peso vivo) após a passagem pelo trato gastrintestinal de caprinos estabulados. No ensaio A, foram observadas diferenças ($P < 0.01$) entre os grupos tratados com as associações dos isolados AC001 + I31, NF34+I40 e o controle com redução do número de L3 de 93% e 98% respectivamente. Já no ensaio B, estruturas fúngicas associadas foram capazes de passar pelo trato gastrintestinal de caprinos e reduzir o número de larvas infectantes de nematóides. A associação entre os isolados AC001 e I31, apresentou diferenças entre o número de L3 recuperadas no grupo tratado e controle nos tempos de 12h ($P < 0.01$) e 48h ($P < 0.05$), com redução de 42,8% e 73,8% respectivamente. Já para a associação entre (NF34+I40), diferenças ($P < 0.01$) foram observadas nos tempos de 24, 48 e 72 horas, com percentagem de redução de larvas de 56%, 61% e 48% respectivamente. As associações de fungos nematófagos demonstraram ser capazes de reduzir de L3 de nematóides, esse resultado é importante para futuras pesquisas a campo.

Palavras-chave: Associação de fungos nematófagos, *Duddigtonia*, *Monacrosporium* *Arthobotrys*

4.2 Introdução

As pesquisas envolvendo organismos antagonistas que podem complementar o controle químico devem ser cada vez mais exploradas. Nesse sentido, deve-se reconhecer que a aplicabilidade do controle biológico é uma realidade que tem por objetivo atuar justamente na fase de vida livre dos nematóides parasitos gastrintestinais de animais e humanos, e dessa forma a diminuir a recidiva das infecções (Mello et al., 2013; Tavela et al., 2013).

Por outro lado, o controle das nematodioses, independente do nível de conhecimento ou condição econômica tem sido realizado por meio de aplicações de produtos químicos, conhecidos como anti-helmínticos que não estão obtendo o resultado esperado e havendo a necessidade de interação entre o controle químico e o controle biológico (Gronvold et al., 1996 a). Outro ponto importante é reconhecer o problema das verminoses de uma forma geral e mais globalizada e nesse sentido, o controle biológico pode vir a ser uma ferramenta futura no combate a fome no mundo, gerando pesquisas biosustentáveis (FAO, 2007).

Desta forma, a criação de pequenos ruminantes possui uma grande importância social, por atuar como uma alternativa viável de fonte de renda para pequenas e médias propriedades rurais, pois possibilita o aproveitamento de áreas inadequadas para criação de outras espécies animais ou cultivo de lavoura, tanto pelo seu tamanho quanto pela topografia acidentada (Ribeiro, 1997, Quadros, 2005; Ahid et al., 2008). Relata-se ainda que as nematodioses gastrintestinais têm sido um sério entrave na criação de animais destinados ao consumo humano e conseqüentemente provocando o aparecimento da resistência dos parasitos, uma vez que as medidas de controle químico não tem se mostrado eficazes no controle

de parasitoses dos animais domésticos (Mota et al., 2003; Kaplan, 2004; Sanyal et al., 2008; Molento et al., 2013).

A utilização de fungos nematófagos como possíveis controladores biológicos de nematóides de animais foi o primeiro “passo” como um modelo experimental (Pandey, 1973; Lysek, 1976; Braga et al., 2007), que a partir dos últimos 5 anos vem sendo testado em geohelmintos (Carvalho et al., 2009; Maciel et al., 2010; Silva et al., 2011; Fernandes et al., 2012; Mello et al., 2013). Contudo, um grande obstáculo à administração destes organismos seria qual a melhor forma e qual a melhor dose a ser administrada aos animais. Partindo-se dessa premissa é que se realiza o controle biológico clássico, ou seja, do tipo a inundar o ambiente (Larsen 1999; Araújo et al., 2004; Silva et al., 2009).

Algumas pesquisas têm demonstrado que a administração oral destes organismos “encapsulados” em matriz de alginato de sódio é bastante eficaz quando utilizados duas vezes por semana em animais criados a campo (Dias et al., 2007; Silva et al., 2010; Assis et al., 2013), contudo, ainda não foi avaliado sua eficácia de forma associada. Nesse âmbito há poucos relatos na literatura que discrimina a atividade predatória *in vitro* a partir das associações de distintos grupos de fungos (Tavela et al., 2012; Tavela et al., 2013).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar *in vitro* a capacidade predatória das associações de fungos nematófagos isolados AC001 + I31 e NF34 + I40, em seguida avaliar a viabilidade das associações após a passagem pelo trato gastrointestinal de caprinos estabelecidos. .

4.3 Material e Métodos

4.3.1 Obtenção de conídios e clamidósporos

Foram utilizados os isolados fúngicos, *Duddingtonia flagrans* (AC001), *Monacrosporium thaumasium* (NF34), *Arthrobotrys robusta* (I31) e *Arthrobotrys conoides* (I40) pertencentes ao Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, os quais são mantidos em tubos de ensaio a 4° C contendo Corn-Meal-Ágar 2% e no escuro. A seguir, discos de cultura de 4 mm de diâmetro foram extraídos de cada isolado fúngico das diferentes espécies e repicados em placas de Petri de 9,0 cm de diâmetro contendo 20 ml de Batata-Dextrose-Ágar 2% com 5 repetições e mantidos a 25° C, no escuro e durante 10 dias. Após o crescimento dos isolados, as placas foram umedecidas com água destilada e feitas raspagens da superfície com espátula de aço depositando cada conteúdo em recipientes separados.

4.3.2 Animais

Foram utilizados 6 caprinos machos da raça pardo alpino com idade entre 12 e 18 meses, pertencentes ao Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, os animais desde nascidos cresceram em piso de cimento. Durante o período experimental, os animais foram alimentados com capim Elefante (*Pennisetum purpureum*) picado, ração comercial para caprinos (RAC-caprinos® Rações Agrárias - Brasil) e água *ad libitum*.

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética e Uso de Animais em experimentos (CEUA) da Universidade Federal de Viçosa.

4.3.3 Ensaio experimentais

O trabalho foi realizado em duas etapas distintas denominadas de A e B. No ensaio A, testou-se em Agar-Água 2% a atividade predatória das associações dos isolados de fungos nematófagos AC001 + I31 e NF34 + I40 no intervalo de 7 dias. O ensaio B, avaliou a passagem e viabilidade de estruturas fúngicas na dose de inoculação de 1×10^6 conídios e clamidósporos/kg de peso vivo (PV) das associações acima pelo trato gastrintestinal de caprinos estabulados.

4.3.4 Obtenção de larvas Infectantes (L3) de nematóides gastrintestinais

As larvas foram obtidas a partir de coproculturas de fezes de caprinos contaminados. A coproculturas foi confeccionada com 20g de fezes dos animais misturadas a vermiculita e mantidas em câmara de demanda de oxigênio (BOD) por 12 dias. Após esse período foi realizada a recuperação das larvas infectantes (L3) por meio da técnica do funil de Baermann, seguido pela identificação seguindo os critérios de Keith (1953).

4.3.5 Ensaio A

No presente ensaio, testou-se em placas de Petri a atividade predatória das associações de fungos acima descrita no intervalo de 7 dias. Discos de cultura de aproximadamente 5 mm de diâmetro contendo micélio e conídios dos isolados AC001 + I31 e NF34 + I40 foram colocados em placas de Petri de 9 cm, contendo meio Ágar-Água 2%, a uma distância de aproximadamente 1,0 cm da borda, com 6 repetições cada e grupo tratado controle (sem fungo). As culturas associadas foram incubadas em estufa BOD por 10 dias a 25° C, e no escuro. Ao término deste período, 1000 L3 de nematóides parasitos gastrintestinais foram adicionadas nas placas dos grupos tratados e controle. Novamente foram levadas a estufa BOD, nas mesmas condições por 7 dias. A seguir realizou-se a recuperação das larvas não

predadas pela técnica do funil de Baermann e percentagem de redução calculada conforme Mendoza-de-Gives et al. (1999).

5.3.6 Ensaio B

As associações dos fungos AC001 + I31 e NF34 + I40 foram testadas em caprinos estabulados. Os grupos tratados constituíram cada um deles de 3 caprinos que receberam aproximadamente 1×10^6 conídios e clamidósporos/kg PV em dose única por via oral, das associações dos isolados (AC001 + I31) grupo tratado 1; e dos isolados (NF34 + I40) grupo tratado 2. O grupo de animais controle recebeu água destilada. A seguir, nos intervalos de 12, 24, 48 e 72 horas após a administração foram coletadas fezes diretamente da ampola retal dos animais dos grupos tratados e controle. As amostras de fezes foram distribuídas em placas de Petri contendo o meio de cultura Agar-Água 2%. Após o crescimento e identificação das estruturas fúngicas dos isolados testados foram inoculadas aproximadamente cerca de 1000 larvas infectantes (L3) de nematóides parasitos gastrintestinais de caprinos e novamente mantidas em estufa BOD por 10 dias a 26°C e no escuro. Diariamente as placas de Petri dos grupos experimentais foram observadas para a comprovação da produção de armadilhas e atividade predatória.

Após o intervalo de 10 dias foram recuperadas das placas de Petri as larvas não predadas pelo método de Baermann, e contadas com auxílio de microscópio de luz no aumento de 10X, para verificar a taxa de predação segundo Mendoza-de-Gives et al. (1999)

4.3.6 Análise estatística

O numero de L3 não predadas (ensaios A e B), recuperadas pela técnica de funil de Baermann foram transformados em $\text{Log } x+1$, em seguida submetidos a

análise de variância (ANOVA) e avaliados pelo teste de Tukey a 1 e 5 % de probabilidade. Foi utilizado o programa estatístico BioEstat 5.0 para as análises estatísticas (Ayres et al., 2003).

4.4 Resultados

4.4.1 Ensaio A

Os resultados da predação de L3 de nematóides gastrintestinais estão representados na figura 1. Houve diferença ($P < 0.01$) entre os grupos tratados com as associações dos isolados AC001 + I31, NF34 + I40 e o controle com redução do número de L3 de 93% e 98% respectivamente.

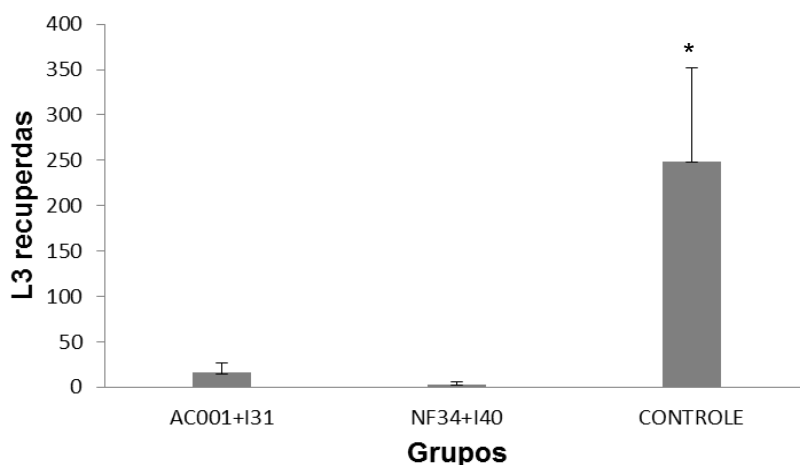


Figura 1: Médias e desvios padrão (barras) de larvas infectantes (L3) não predadas de nematóides gastrintestinais de caprinos recuperadas pelo método de Baermann após 7 dias de tratamento com as associações dos fungos *Duddingtonia flagrans* isolado AC001 a *Arthrobotrys robusta* isolado I31 (grupo 1), e *Monacrosporium thaumasium* isolado NF34 a *Arthrobotrys conoides* isolado I40 (grupo 2) e grupo controle (sem fungo).

* Demonstra diferença ($P < 0,01$) entre os grupos tratados com as associações fungicas e grupo controle- Teste de Tukey a 1% de probabilidade.

4.4.2 Ensaio B

Foi observada a comprovação da atividade predatória das associações utilizadas, por meio da produção de armadilhas e de estruturas fúngicas foi possível determinar a viabilidade da passagem dos fungos pelo aparelho gastrointestinal de caprinos e a destruição de larvas. As duas modalidades de associação fúngicas dos isolados AC001+I31 e NF34+I40 foram capazes de passar pelo trato gastrointestinal dos caprinos e posteriormente, reduzir o número de L3 de nematóides gastrintestinais em placas de Petri no período de 10 dias (Fig. 2 e 3).

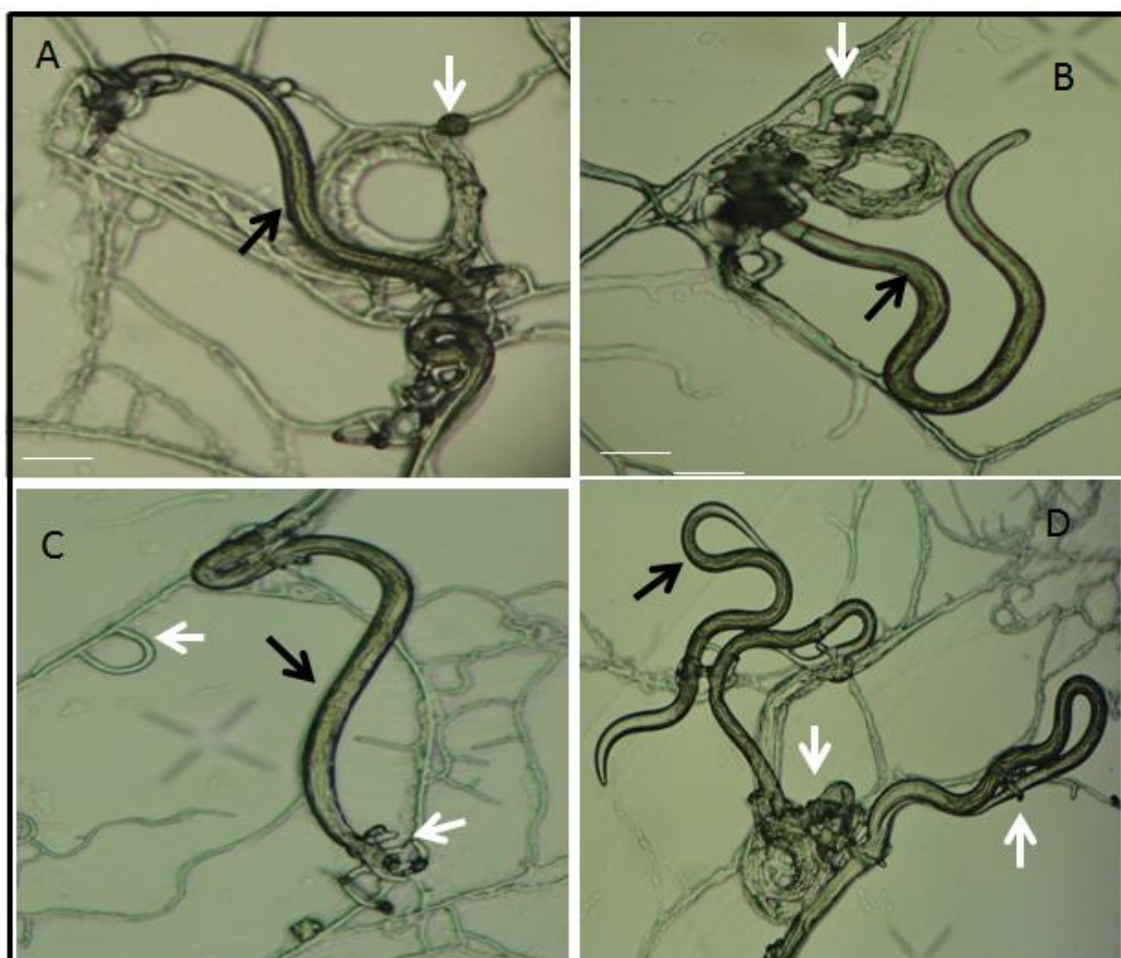


Figura 2: A-B, larvas infectantes (L3) (seta preta) e armadilha do fungo nematófago *Duddingtinia flagrans* isolado AC001 (seta branca). C-D: larvas infectantes (L3) (seta preta) e armadilha do fungo nematófago *Arthrobotrys robusta* isolado I31 (seta branca).

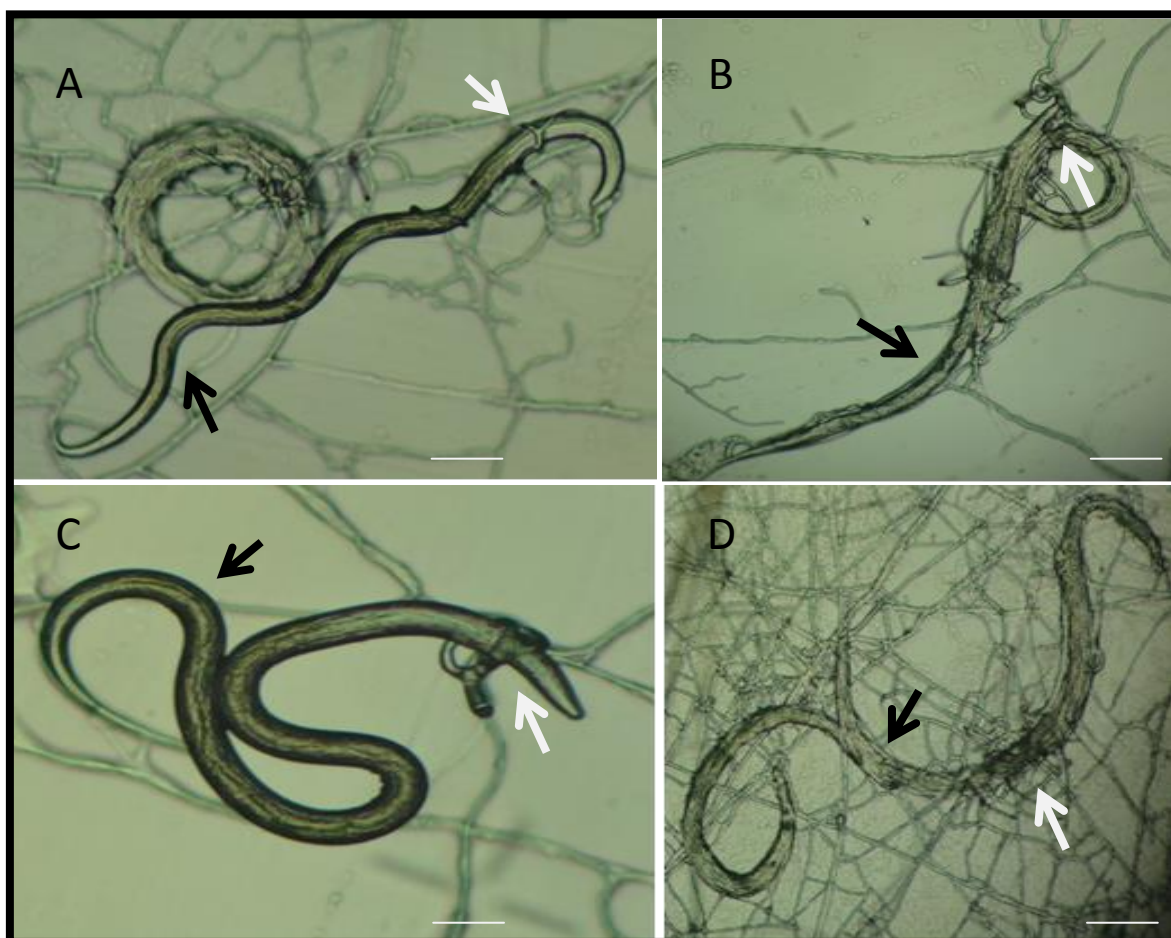


Figura 3: A, larvas infectantes (L3) (seta preta) e armadilha do fungo nematófagos *Monacrosporium thumasiium* isolado NF34 (seta branca) após 5 dias de interação (B). C: Larva infectante (L3) (seta preta) e armadilha do fungo nematófagos *Arthrobotrys conoides* isolado I40 (seta branca) após 5 dias de interação (D).

Ao final do experimento houve menor recuperação de larvas nos grupos tratados com as associações fúngicas, comparando com o grupo controle. Para o grupo tratado com os isolados AC001+I31, diferenças foram observadas em relação ao grupo controle nos tempos de 12h ($P < 0.01$) e 48h ($P < 0.05$), com redução do número de larvas recuperadas em 53 e 68% respectivamente (Tabela 1).

Tratamento	Tempo (horas)			
	12	24	48	72
AC001+I31	49±76 ^A	24±35 ^A	17± 37 ^A	68± 75 ^A
Controle	104± 94 ^B	87± 97 ^A	65± 84 ^B	65± 70 ^A

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 1 - Média e desvio padrão (\pm) do número de larvas infectantes (L3) de nematóides gastrintestinais não predados, recuperados pela técnica de Baermann de placas de Petri com fezes de caprinos tratados com dose de inoculação de 1×10^6 conídios e clamidósporos/kg de peso vivo (PV) da associação de *Duddingtonia flagrans* isolado AC001 a *Arthrobotrys robusta* isolado I31 e controle (sem fungo), amostradas nos tempos de 12, 24, 48 e 72 horas após o tratamento.

Diferenças ($P < 0.01$) foram observadas no grupo tratado com os isolados NF34+I40 para os tempos de 24, 48 e 72 horas, com percentagem de redução de larvas de 56%, 61% e 48% respectivamente (Tabela 2).

Comparando os dois grupos tratados, diferença ($P < 0.01$) também foi observada nos tempos de 12, 24 e 48 horas.

Tratamento	Tempo (horas)			
	12	24	48	72
NF34+I40	237± 70 ^A	104 ±110 ^A	153± 147 ^A	119 ±130 ^A
Controle	257± 61 ^A	235 ±106 ^B	232± 97 ^B	228± 80 ^B

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si a 1% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 2 – Média e desvio padrão (\pm) do número de larvas infectantes (L3) de nematóides gastrintestinais não predados, recuperados pela técnica de Baermann de placas de Petri com fezes de caprinos tratados com dose de inoculação de 1×10^6 conídios e clamidósporos/kg de peso vivo (PV) da associação de *Monacrosporium thaumasium* isolado NF34 a *Arthrobotrys conoides* isolado I40 e controle (sem fungo), amostradas nos tempos de 12, 24, 48 e 72 horas após o tratamento.

4.5 Discussão

Foi observado que os fungos foram capazes de passar pelo trato gastrintestinal dos caprinos e posteriormente, reduzir o número de L3 de nematóides gastrintestinais em placas de Petri no período de 10 dias. Os fungos nematófagos que conseguem atravessar o aparelho gastrintestinal e posteriormente apresentar atividade predatória podem ser considerados como potenciais controladores biológicos e com premissas de produção industrial (Larsen, 1999; Araújo et al., 2000; Mota et al., 2002). Durante os intervalos estudados a redução dos nematóides foi maior para a associação dos isolados NF34 + I40, no entanto, deve ser mencionado que a alta produção de clamidósporos foi melhor observada pela espécie *D. flagrans*. Foi observado que os melhores tempos de redução percentual do número de L3 de nematóides gastrintestinais foram a partir do intervalo de 24 horas se estendendo até 72 horas, resultado semelhante aos de Tavela et al. (2013).

Para a associação dos isolados AC001+I31, foi possível observar a presença de armadilhas e predação de larvas a partir das 12h em concordância com trabalho de Campos et al. (2009). Estes resultados podem ser comparados a uma série de trabalhos que justificam a utilização de fungos nematófagos em testes de passagem nos mesmos horários (Araújo e Ribeiro, 2003; Campos et al., 2009; Tavela et al., 2013), no entanto, vale ressaltar que a maioria dos trabalhos utilizou apenas um único isolado fúngico.

Em relação a comparação entre os isolados fúngicos observou-se haver diferença entre a associação do grupo 1 (AC001 + I31) e do grupo 2 (NF34 + I40) demonstrando que possivelmente poderiam ser utilizadas a campo com sucesso, podendo atuar não somente no controle de nematóides de caprinos como também de nematóides potencialmente zoonóticos (Maciel et al., 2010; Fernandes et al., 2012; Mello et a., 2013).

Nesse sentido, deve-se discutir que existe uma carência de trabalhos que possam elucidar possíveis mecanismos de antagonismos entre os distintos grupos de fungos e demais organismos do ambiente (Waller et al., 2007). Contudo, o que já está a muito comprovado é a sua atividade inofensiva sobre demais organismos presentes no ambiente (Gronvold et al., 2006 b).

Fungos nematófagos predadores têm sido utilizados com sucesso como forma alternativa de controle de geohemintos e helmintos gastrintestinais de animais domésticos em condições ambientais (Paz-Silva et al., 2011; Braga et al., 2009; Araújo e Ribeiro, 2003; Araujo et al., 2012) e de laboratório (Silva et al., 2011 b; Braga et al., 2012). O período de coleta de fezes do presente trabalho compreendeu intervalos entre 12 a 72 h após a administração das estruturas fúngicas em

conformidade com Araújo e Ribeiro, (2003), Campos et al. (2009) e Tavela et al. (2013).

Os resultados das taxas de predação das associações fúngicas dos isolados AC001+I31 (93%) e NF34+I40 (98%) apresentadas no ensaio B indicam a possibilidade de não haver antagonismo ou competição entre as diferentes espécies de fungos nematófagos predadores, podendo essas associações serem utilizadas em pesquisas sob condições ambientais no futuro.

No presente trabalho, as associações de *D. flagras* a *A. robusta* e *M. thaumasium* a *A. conoides* demonstraram ser capazes de passar pelo trato gastrointestinal de caprinos e reduzir L3 de nematóides parasitos gastrintestinais, e tal resultado é interessante para o futuro das pesquisas a campo.

4.6 Referências

AHID, S. M. M.; SUASSUNA, D.A.C.; MAIA, M.B.; COSTA, V.M.M.; SOARES, H.S. Parasitos gastrintestinais em caprinos e ovinos da região oeste do Rio Grande do Norte, Brasil. **Ciência Animal Brasileira** v. 9, p. 212–218,2008.

ARAÚJO, J. M.; ARAÚJO, J.V.; BRAGA, F. R.; ARAUJO, D. M.; FERREIRA, S. R.; SOARES, F. E. F.; BENJAMIN, L. A. Survival of Pochonia chlamydosporia in the gastrointestinal tract of experimentally treated dogs. **Research in Veterinary Science**, v. 93, p. 803-806, 2012.

ARAÚJO, J. V.; ASSIS, R. C. L.; CAMPOS, A.K.; MOTA, M. 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, p. 65-71, 2004.

ARAÚJO, J. V.; RIBEIRO, R. R. Atividade predatória sobre larvas de trichostrongilídeos (Nematoda: Trichostrongyloidea) de isolados fúngicos do gênero *Monacrosporium* após a passagem pelo trato gastrintestinal de bovinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 12, n.2, p. 76-81, 2003.

ARAÚJO, J. V.; STEPHANO, M. A.; SAMPAIO, W. M. Effects of temperature, mineral salt and passage through the gastrointestinal tract of calves on sodium alginate formulation of *Arthrobotrys robusta* - a nematode-trapping fungus. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v. 9, p. 55-60, 2000.

ASSIS, R. C. L.; LUNS, F. D.; ARAÚJO, J. V.; BRAGA, F. R. Comparison between the action of nematode predatory fungi *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* in the biological control of bovine gastrointestinal nematodiasis in tropical southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 193, p. 134-140, 2013.

AYRES, M.; AYRES, J. R. M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. S. Aplicações estatísticas nas áreas de ciências biológicas. **Sociedade Civil, Mamirauá**, Belém, p. 290. 2003

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

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

BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; SOARES, F. E. F.; ARAUJO, J. M.; FERREIRA, S. R.; QUEIROZ, J. H. Use of statistical tools in the study of the conditions of predation of *Duddingtonia flagrans* versus *Panagrellus* sp. **Biocontrol Science and Technology** (Print), v. 22, p. 559-565, 2012.

CAMPOS, A. K.; ARAÚJO, J.V.; GUIMARÃES, M. P.; DIAS, A. S. Resistance of different fungal structures of *Duddingtonia flagrans* to the digestive process and predatory ability on larvae of *Haemonchus contortus* and *Strongyloides papillosus* in goat feces. **Parasitology Research**, v. 105, p. 913-919, 2009.

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

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

FERNANDES, F. M.; ARAÚJO, J. V.; BRAGA, F. R.; GUIMARÃES, P. H. G.; ARAUJO, J. M.; FERREIRA, S. R.; CARVALHO, R. O.; MELLO, I. N. K.; FUJIWARA, R. T. In vitro biological control of infective larvae of *Ancylostoma ceylanicum*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, p. 283-286, 2012.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Alternative Utilisation of Agricultural Land. Scientific Monograph, 2007.

GRONVOLD, J.; NANSEN, P.; HENRIKSEN, S. A.; LARSEN, M.; WOLSTRUP, J.; BRECIANI, J.; RAWATE H, FRIBERT, L. Induction of traps by *Ostertagia ostertagi* larvae, chlamydospore production and growth rate in the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans*. **Journal of Helminthology**, v. 70, p.291–297, 1996. (A)

GRONVOLD, J.; HENRIKSEN, S. A.; LARSEN, M.; NANSEN, P.; WOLSTRUP, J. Biological control. Aspects of Biological Control – with special reference to arthropods, protozoa and helminths of domesticated animals. **Veterinary Parasitology**, v. 64, p. 47-64, 1996 (B)

KAPLAN, R. M. 'Drug Resistance in Nematodes of Veterinary Importance: A Status Report', **Trend Parasitology**, v. 20, p. 477-481, 2004

LARSEN, M. Biological control of helminths. **Institute Journal of Parasitology**, v. 29, p. 139–146, 1999.

LYSEK, H. NIGENDA G. **Capacidad de deshelminización del suelo**. Salud Publica Mexico, v. 31p. 763-771, 1989.

MACIEL, A. S.; FREITAS, L. G.; CAMPOS, A. K.; LOPES, E. A.; ARAÚJO, J. V. The biological control of *Ancylostoma* spp. dog infective larvae by *Duddingtonia flagrans* in a soil microcosm. **Veterinary Parasitology**, v.173, p.262-270, 2010.

MELLO, I. N.K.; BRAGA, F. R.; MONTEIRO, T. S. A.; FREITAS, L. G.; ARAUJO, J. M.; SOARES, F. E. F.; ARAÚJO, J. V. Biological Control of infective larvae of *Ancylostoma* spp. in beach sand. **Revista Iberoamericana de Micologia**. V. 30, p. 1-10, 2013.

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

MENDOZA-DE-GIVES, P.; FLORES-CRESPO, J.; HERRERA-RODRIGUES, D.; VASQUEZ-PRATS, V.; LIEBANO HERNANDEZ, E.; ONTIVEROS-FERNADEZ, G. E. Biological control of *Haemonchus contortus* infective larvae in ovine faeces by administering an oral suspension of *Duddingtonia flagrans* chlamydospores to sheep. **Journal of Helminthology**, v. 72, p. 343-347, 1998.

MOLENTO, M. B.; VERÍSSIMO, C. J. ; AMARANTE, A. T.; VAN WYK, J. A.; CHAGAS, A. C. S.; ARAÚJO, J. V.; BORGES, F. A. Alternativas para o controle de nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v.80, n.2, p.253-263, 2013.

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

MOTA, M.; 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**, Rio de Janeiro-RJ, v. 11, p. 13-17, 2002.

PANDEY, V. S. Predatory activity of nematode trapping fungi against the larvae of *Trichostrongylus axei* and *Ostertagia ostertagi*: a possible method of biological control. **Journal of Helminthology**, v.57, p. 35-48, 1973.

PAZ-SILVA, A.; FRANCISCO, I.; , VALERO-COSS, R. O.; CORTINASA, F. J.; SÁNCHEZ, J.A.; FRANCISCO, R.; ARIAS, M.; SUÁREZ, J. L.; LÓPEZ-ARELLANO, M. E.; SÁNCHEZ-ANDRADE, R.; MENDOZA DE GIVES, P. Ability of the fungus *Duddingtonia flagrans* to adapt to the cyathostomin egg-output by spreading chlamydospores. **Veterinary Parasitology**, v.79, p. 277–282. 2011.

QUADROS, D. G. **Sistemas de produção de Ovinos e caprinos de corte**. Núcleo de estudos e pesquisas em produção animal. Universidade Federal da Bahia, 2005

RIBEIRO, S. D. A. **Caprinocultura: Criação racional de caprinos**. Nobel, São Paulo, 1997

SANYAL, P. K.; SARKAR, A. K.; PATEL, N. K.; MANDAL, S. C.; PAL, S. Formulation of a strategy for the application *Duddingtonia flagrans* to control caprine parasitic gastroenteritis. **Journal of Helminthology**, v. 82, p. 169–174, 2008.

SILVA, A. R.; ARAÚJO, J. V.; BEJAMIN, L. A.; BRAGA, F. R.; CARVALHO, R. O.; SOUZA, D. L. Comparative analysis of destruction of the infective forms of *Trichuris trichiura* and *Haemonchus contortus* by nematophagous fungi *Pochonia chlamydosporia*, *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* by scanning electron microscopy. **Veterinary Microbiology**, v. 147, p. 214-219, 2011. (A)

SILVA, A. R. E.; ARAÚJO, J.V.; BRAGA, F. R.; ALVES, C. D. F.; FRASSY, L. N. Activity in vitro of fungal conidia of the *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* on *Haemonchus contortus* infective larvae. **Journal of Helminthology**, v. 85, p. 138-141, 2011. (B)

SILVA, B. F.; MAUAD, J. R. C.; BRAGA, F.B.; AMARANTE, A. F. T.; ARAÚJO, J. V.; CAMPOS, A. K. Efficacy of *Duddingtonia flagrans* and *Arthrobotrys robusta* in controlling sheep parasitic gastroenteritis. **Parasitology Research**, v. 106, p. 1346-1350, 2010.

TAVELA, A. O.; ARAÚJO, J. V.; BRAGA, F. R.; ARAUJO, J. M.; QUEIROZ, J. H. In vitro association of nematophagous fungi *Duddingtonia flagrans* (AC001), *Monacrosporium thaumasium* (NF34) and *Pochonia chlamydosporia* (VC1) to control

horse cyathostomin (Nematoda: Strongylidae). **Biocontrol Science and Technology**, v. 22, p. 607-610, 2012.

TAVELA, A. O.; ARAÚJO, J. V.; BRAGA, F. R.; SILVEIRA, W. F.; SILVA, V. H. D. E.; CARRETA JUNIOR, M.; BORGES, L. A.; ARAUJO, J. M.; BENJAMIN, L. A.; CARVALHO, G. R.; PAULA, A. T. Coadministration of sodium alginate pellets containing the fungi *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* on cyathostomin infective larvae after passing through the gastrointestinal tract of horses. **Research in Veterinary Science**, v. 94, p. 568-572, 2013.

WALLER, P. J.; ECHEVARRIA, F.; EDDI, C.; MACIEL, S.; NARI, A.; HANSEN, J. W. The prevalence of anthelmintic resistance in nematodes parasites of sheep in Southern Latin America: General over view. **Veterinary Parasitology**, v. 62, p. 181-187, 1996.

Capítulo 2

Controle biológico a campo dos nematoides parasitos gastrintestinais de ovinos com fungos nematófagos associados

5.1 Resumo

Fungos nematófagos tem sido usados com sucesso no controle das fases de vida livre de nematóides gastrintestinais de pequenos ruminantes. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o controle biológico a campo das nematodioses de ovinos com associações de fungos nematófagos em matriz de alginato de sódio. Quatro isolados de fungos nematófagos foram utilizados: *Duddigtonia flagrans* (AC001), *Monacrosporium thaumasium* (NF34), *Arthrobotrys robusta* (I31) e *A. conoides* (I40). O tratamento consistiu da associação de massa micelial de cada fungo em matriz de alginato de sódio: grupo 1 isolados (AC001 + I31), grupo 2 isolados (NF34+ I40) e controle (sem fungo). Foram utilizados 3 grupos com 8 ovelhas da raça Santa Inês. Cada animal foi tratado com aproximadamente 1g/10kg de peso vivo de péletes em matriz de alginato de sódio contendo as associações citadas acima e o controle recebeu pélete sem fungo, também foram avaliados a contagem de ovos por grama de fezes (OPG), número de larvas recuperadas das coproculturas e das pastagens e hematócrito dos animais no período de junho a novembro de 2012, totalizando 26 semanas. O grupo 2 associação dos isolados NF34+I40 demonstrou diferença estatística ($P < 0.05$) no OPG, comparado com o grupo controle (grupo 3) no mes de outubro. Houve diferença ($P < 0,05$) entre o número de larvas recuperadas na distância de 0-20 cm do bolo fecal nos pastos dos animais dos grupos tratados 1 e 2 em relação ao grupo controle. Não houve diferença ($P > 0,05$) no volume globular (VG) e contagem de proteínas plasmáticas dos animais tratados e controle durante o período experimental. A associação de fungos (NF34+ I40) apresentou ser eficaz quando administrada por via oral em ovinos naturalmente infectados.

Palavras-chave: Associação de fungos nematófagos, *Duddingtonia*, *Monacrosporium*, *Arthrobotrys*

5.2 Introdução

Um dos grandes entraves na criação de ovinos são as nematodioses gastrintestinais, responsáveis por grandes perdas na produção, devido as espoliações causadas por nematóides parasitos gastrintestinais (Bricarello et al., 2005; Amarante et al. 2011). Dentre as nematodioses, as principais doenças helmínticas observadas em ovinos são a haemoncose, a tricostrongilose, a cooperiose e a oesofagostomose (Amarante, 2005). Nesse sentido, o controle das nematodioses dos animais se faz necessário, e dessa forma, é entendido que tal atividade exige uma série de medidas de manejo, controle e prevenção, que na maioria das vezes são realizados de forma ineficiente (Silva et al., 2010).

O controle das helmintoses gastrintestinais com frequência é realizado por meio de produtos químicos anti-helmínticos, os quais não tem atingido o resultado esperado (Torres-Acosta et al., 2012). Aliado a este fato, é crescente a busca por produtos de origem animal livres de contaminação e resíduos químicos pelos consumidores, que estão cada vez mais exigentes. Alternativas ao controle químico que apresentem baixa toxicidade para a população consumidora de produtos de origem animal, assim como baixo impacto ambiental devem ser priorizadas (Nicola et al., 2012).

Uma alternativa viável e promissora no combate as nematodioses gastrintestinais de ovinos é a utilização de fungos nematófagos (Mota et al., 2003, Campos et al., 2008; Silva et al., 2009). Braga et al. (2009) e Vilela et al. (2013) mencionam que o potencial de utilização de tais fungos como controlador biológico se dá pela atuação na redução do número de larvas infectantes disponíveis nas pastagens. Contudo, o grande entrave a pesquisa científica é extrapolar os resultados para a rotina de manejo e dessa forma, várias pesquisas tem objetivado encontrar a melhor dose e ou mesmo a melhor formulação para a incorporação destes organismos em um sistema de manejo integrado (Araújo et al., 2000; Araújo e Sampaio, 2000). Um dos veículos de inoculação desses fungos se da por sua adição em matriz de alginato de sódio. Nesse contexto, a literatura é vasta em resultados promissores de estudos realizados a campo (Vilela et al., 2012a, b). Os gêneros de fungos nematófagos *Duddingtonia*, *Monacrosporium* e *Arthrobotrys* têm sido testados como excelentes controladores de nematoides de ruminantes (Araújo et al., 2006; Araújo et al., 2007).

Até o momento, não existem relatos de pesquisas envolvendo a utilização da associação dos fungos *Duddingtonia flagrans*, *Arthrobotrys robusta*, *Monacrosporium thaumasium* e *A. conoides* no controle biológico a campo das nematodioses de ovinos sendo este o objetivo do presente estudo.

5.3 Material e Métodos

5.3.1 Organismos

Quatro isolados de fungos nematófagos, sendo um de *Duddingtonia flagrans* isolado AC001, um de *Monacrosporium thaumasium* (NF34), a um de *Arthrobotrys robusta* (I31) e um de *A. conoides* (I40) armazenados em meio de cultura a base de Corn-Meal-Ágar 2% na micoteca do Laboratório de Parasitologia do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

5.3.2 Produção de massa micelial e confecção de péletes

Discos de cultura de aproximadamente 5 mm foram transferidos para frascos Erlenmeyer de 250 ml, contendo 150 ml de meio líquido GPY, pH 6,5, sob agitação de 120 rpm, no escuro e mantidos em estufa BOD em temperatura de 26°C e, por dez dias para induzir a formação de massa micelial dos fungos testados. A seguir, realizou-se a pesagem e posterior filtração do micélio e procedeu-se a confecção de péletes em matriz de alginato de sódio de acordo com Walker e Connick (1983) e modificada por Lackey et al. (1993).

5.3.3 Dose de inoculação

Após a obtenção da massa micelial foram pesados 8,5g de cada isolado dos fungos (AC001, I31, NF34 e I40). A seguir, realizou-se a mistura das massas miceliais e inoculação em matriz de alginato de sódio, totalizando 17g, conforme metodologia descrita por Araújo et al. (2000). Ao final obteve-se um pélete associado com as seguintes constituições: isolados (AC001+I31) e (NF34+I40).

5.3.4 Local do experimento e Animais

O experimento foi realizado em uma fazenda na região de Coimbra, Minas Gerais-Brasil, Latitude: 20°49'49" e longitude: 42°49'05". Foram utilizados 24, ovelhas da raça Santa Inês, com idade entre 2 e 3 anos, divididos de acordo com a média de peso. A seguir, esses animais foram previamente vermifugados com Farmazole®-Fagra do Brasil (Albendazol 1,9%; 2 mL/10kg de peso vivo) para ovinos a quinze dias antes do início do experimento.

5.3.5 Ensaio experimental

Foram formados 3 grupos com 8 animais cada que foram distribuídos em piquetes contendo *Brachiaria decumbens* com prévio histórico de pastejo por animais contaminados.

No grupo 1, cada animal foi tratado com aproximadamente 1 g/10kg de peso vivo de péletes contendo os fungos associados dos isolados AC001e I31. No grupo 2 cada animal recebeu a mesma concentração de péletes, contendo os fungos dos isolados NF34 e I40; e no grupo 3 os animais foram tratados com péletes sem fungo (controle). Os péletes foram administrados 2 vezes por semana juntamente com a ração fornecida aos animais, durante 26 semanas, no período de junho a novembro de 2012.

Semanalmente, após a introdução dos animais, foi realizada a coleta de amostras de fezes diretamente da ampola retal de todos os animais tratados e controle. A seguir, foi realizada a contagem de ovos por grama de fezes (OPG) de acordo com a técnica descrita por Gordon e Whitlock (1939). A partir da verificação das amostras de fezes foram confeccionadas as coproculturas que foram mantidas em câmara de demanda de oxigênio (BOD) por 12 dias a 26°C. Após esse período foi realizada a recuperação das larvas infectantes (L3) por meio da técnica do funil de Baermann, e por conseguinte a sua identificação seguindo os critérios de Keith (1953).

A cada 15 dias, foram coletadas nos 3 piquetes amostras das pastagens (aproximadamente 500 g), no sentido de formar um W no piquete, em pontos equidistantes percorrendo todo o piquete, nas distâncias entre 0 e 20 e 20 e 40 cm do bolo fecal de acordo com Amarante et al., (2006).

A cada 30 dias, foram coletadas amostras de sangue por punção da veia jugular externa dos animais dos grupos tratados e controle em tubos vacutainer® contendo EDTA (ácido etileno diamino tetracético). Em seguida foram determinados o volume globular (VG) e a concentração de proteínas totais do soro, e as contagens total e diferencial de leucócitos, de acordo com Ferreira Neto et al. (1981).

Foram registrados, diariamente, os dados meteorológicos colhidos em estação especializada no município de Viçosa - MG, referentes às temperaturas máxima, média e mínima mensais, umidade relativa do ar e às precipitações pluviais mensais durante o período do experimento.

5.3.6 Análise dos dados

Os dados obtidos durante os meses do ensaio experimental referentes ao OPG, recuperação de larvas das coproculturas e recuperação de larvas das pastagens foram transformados para $(\log x+1)$ a seguir foi realizada análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ao nível de 1 e 5 % de probabilidade. Os dados referentes ao hematócrito (VG) e proteína total não foram transformados.

5.4 Resultados

A média do OPG dos animais dos grupos tratados e controle durante os meses do experimento foram descritos na figura 1. Foi verificada diferença ($P < 0.05$) entre os animais do grupo 2 (NF34+I40) em relação aos animais do grupo 1 (AC001+I31) nos meses de agosto e setembro. As médias de OPG dos animais do grupo 2 foram menores que os animais do grupo controle nos meses de julho, 30,43%; agosto 33,88%; setembro 53,75%, outubro 71,68% e novembro 9,91%. Não foi verificada diferença no OPG dos animais do grupo tratado 1 em relação aos do grupo controle ($P > 0.05$).

Por outro lado, a associação de fungos no grupo 2 (NF34+I40) demonstrou diferença ($P < 0.05$) em relação ao grupo o controle no mês de outubro.

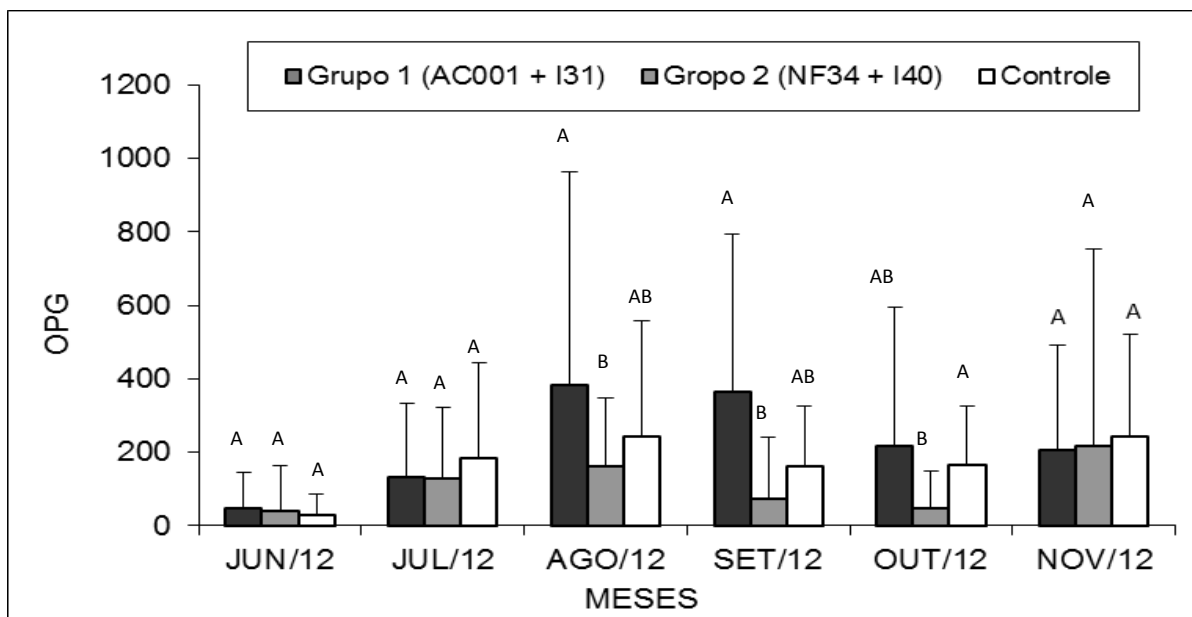
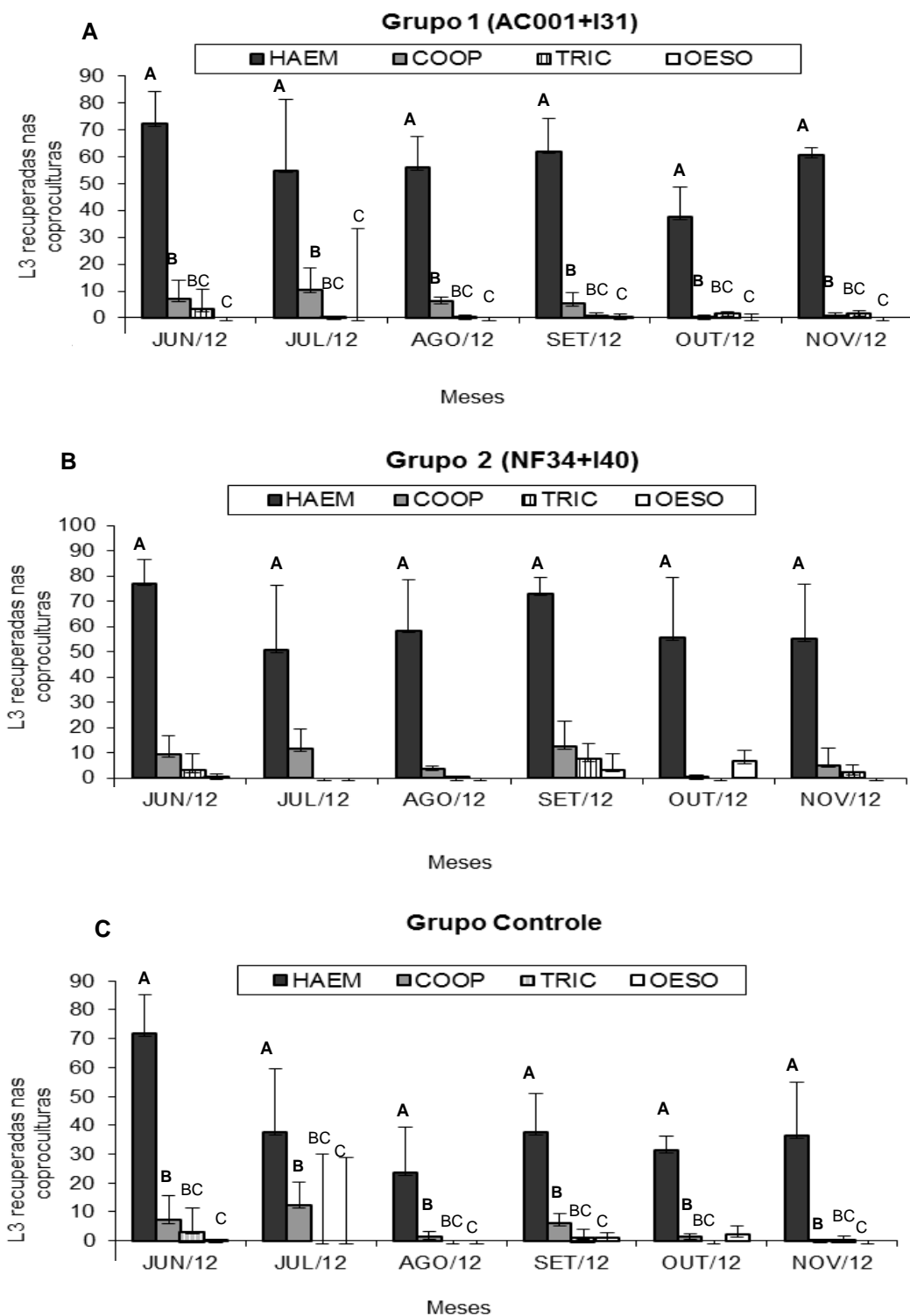


Figura 1: Médias mensais e desvio padrão do número de ovos por grama de fezes (OPG) dos animais do grupo 1 tratado com associação fúngica de AC001+I31 (barras pretas), grupo 2 NF34+I40 (barras cinza) e grupo controle (barras brancas) no período de junho a novembro de 2012.

Médias com a mesma letra nas colunas dos grupos tratados com o fungo e grupo controle não diferiram estatisticamente uma das outras - Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em relação à recuperação de larvas infectantes nas coproculturas (Figuras 2, A, B e C), diferenças ($P < 0,01$) foram observadas entre componentes da Superfamília *Strongyloidea*, durante todo o experimento. Diferenças ($P < 0,05$) foram observadas entre as larvas recuperadas dos gêneros *Cooperia* spp. e *Oesophagostomum* spp. no grupo controle. No grupo 1 (AC001+I31) os gêneros mais prevalentes foram *Haemonchus* spp. (89,79%) seguido pelos gêneros *Cooperia* spp. (7,85%), *Trichostrongylus* spp. (2,09%) e *Oesophagostomum* spp. (0,27%). No grupo 2 (NF34+I40), assim como no grupo 1, *Haemonchus* spp. (84,47%) foi o mais prevalente, seguido pelos gêneros *Cooperia* spp. (9,81%), *Trichostrongylus* spp. (2,96%) e *Oesophagostomum* spp. (2,76%). Para o grupo controle (sem tratamento), as prevalências dos gêneros seguiu a mesma ordem do grupo 1 (AC001+I31) e 2 (NF34+I40), no entanto, *Haemonchus* spp. apresentou (86,23%) de prevalência, seguido pelos gêneros *Cooperia* spp. (10,5%), *Trichostrongylus* spp. (2,10%) e *Oesophagostomum* spp. (1,17%).



Figuras 2: Média mensal e desvio padrão de larvas de nematóides parasitos gastrintestinais (*Haemonchus* spp., *Cooperia* spp., *Trichostrongylus* spp., *Oesophagostomum* spp.) recuperadas de coproculturas dos animais do grupo 1 tratado com associação de *Duddigtonia flagrans* (AC001) a *Arthrobotrys robusta* (I31) (A); grupo 2 tratado com associação de *Monacrosporium thaumasium* (NF34) a *A. conoides* (I40) (B) e grupo controle (pélete sem fungo) (C) coletadas no período de junho a novembro de 2012.

Médias com a mesma letra nas colunas dos grupos tratados com o fungo e grupo controle não diferiram estatisticamente uma das outras - Teste de Tukey a1 e 5% de probabilidade

Em relação ao número de L3 recuperadas das pastagens, os resultados foram apresentados na figura 3. Houve diferença ($P < 0.05$) entre o número de L3 recuperadas na distância de 0-20 cm do bolo fecal nas pastagens dos animais dos grupos tratados 1 (AC001+I31) e 2 (NF34+I40) em relação aos do grupo controle. As médias de L3 recuperadas nas pastagens dos grupos tratados 1 e 2 foram reduzidas nas distâncias de 0-20 e 20-40cm centímetros do bolo fecal a partir de julho apresentando redução de 83% em julho (0-20 cm do bolo fecal) e em setembro não foram encontradas L3 nas pastagens na distância de 20-40 cm do bolo fecal dos animais do grupo 1 (AC001+I31). Para o grupo 2 (NF34+I40), ocorreu redução de 91% no meses de julho (0-20 cm do bolo fecal) e de 86% em agosto (20-40 cm do bolo fecal). No mês de novembro, no grupo 1 houve um percentual de 63.3% menor no número de larvas recuperadas em relação ao grupo controle. No mesmo mês, no piquete do grupo 2 demonstrou um percentual de 80,2% no número de larvas recuperadas em relação ao grupo controle. Contudo, não foi observada diferença ($P > 0,05$) entre o número de larvas recuperadas da distância de 20-40 cm do bolo fecal nos pastos dos animais dos grupos tratados (1 e 2) e controle.

Na comparação do volume globular (VG) dos animais dos grupos tratado e controle; variações discretas foram observadas durante o experimento, sem no entanto apresentar diferença ($P > 0,05$). As medias de VG dos grupos tratados 1 e 2 foram de 32%, o controle apresentou VG de 33%. Na comparação total das proteínas plasmáticas, as médias dos grupos tratados com as duas associações e controle mantiveram-se praticamente constantes durante todo o experimento, com media de 8% para os animais dos grupos tratados 1 e 2 (AC001+I31 e NF34+I40) e 7,2 % para o controle.

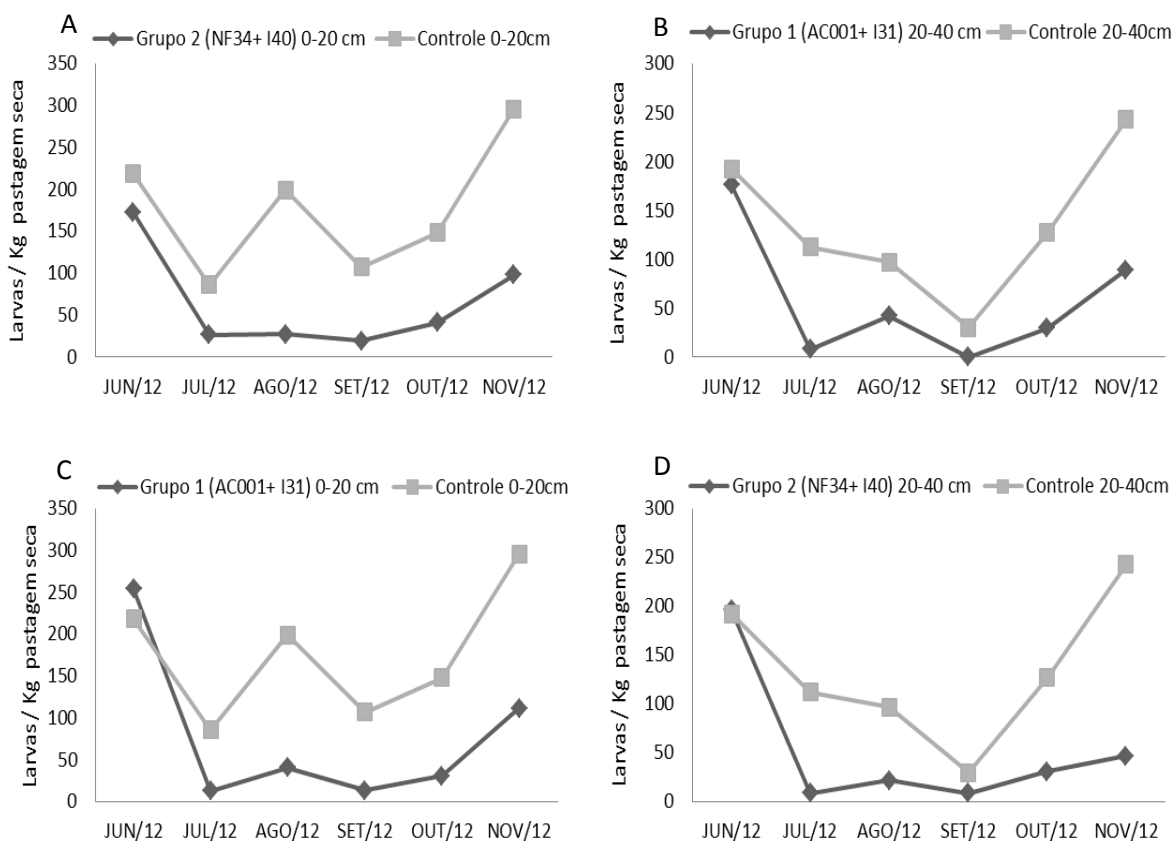


Figura 3: Média mensal do número de larvas infectantes de nematóides por Kg de pastagem seca coletados dos grupos tratados com associações fúngicas e controle. Comparação entre a associação de *Duddingtonia flagrans* (AC001) a *Arthrobotrys robusta* (I31) e controle nas distâncias de 0 a 20 cm (A) e de 20 a 40 cm bolo fecal (B). Comparação entre a associação de *Monacrosporium thaumasium* (NF34) a *A. conoides* (I40) e controle nas distâncias de 0 a 20 cm (C) e de 20 a 40 cm do bolo fecal (D); avaliados no período de junho a novembro de 2012.

As maiores médias para a temperatura máxima foram observadas nos últimos três meses do experimento. Os dados climáticos apresentaram nos meses de outubro e novembro as maiores médias de pluviosidade (89 mm³ e 235 mm³) respectivamente.

5.5 Discussão

A associação de fungos nematófagos predadores, grupo 1 *Duddingtonia flagrans* e *Arthrobotrys robusta* (AC001+I31) e do grupo 2 *Monacrosporium thaumasium* e *A. conoides* (NF34+I40) não foi eficaz na redução da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) de ovinos criados a campo ($P > 0.05$) em relação ao controle.

No entanto, a associação dos isolados (NF34 e I40) apresentou média de OPG menor que o controle no período de julho a novembro. Destacando-se o mês de outubro (final experimental) na qual foi verificado OPG desse grupo 81,50% menor que o controle. Esse fato demonstra que possivelmente não existiu antagonismo significativo entre os isolados testados no grupo 2 e, nesse caso mais estudos são necessários.

Os resultados apresentados para o OPG demonstraram não haver diferença ($P>0,05$) entre os animais tratados com as duas associações. Ao longo das últimas décadas uma grande quantidade de trabalhos tem demonstrado que a utilização de fungos a partir da formulação de alginato de sódio pode ser uma alternativa a mais de controle dos nematodioses de pequenos ruminantes (Silva et al. 2009; Silva et al., 2010; Vilela et al., 2012). Contudo, a associação de distintos fungos utilizados de forma conjunta ainda é carente de pesquisas e nesse sentido o presente trabalho é pioneiro.

Na figura 1, os autores demonstraram os resultados para a associação entre os fungos e observa-se claramente que os animais do grupo 1 (AC001+ I31) não apresentou menores médias em relação ao controle. Esse fato pode ser explicado devido a algumas situações; (1) dosificação, este, possivelmente um fator a ser amplamente estudado e que pode ter interferido diretamente nos resultados do OPG; (2) o isolado AC001 (*Duddingtonia flagrans*) produz um grande quantidade de clamidósporos, mas, nesse caso específico pode ter possivelmente ocorrido um antagonismo entre os isolados e (3) a associação (NF34+ I40) que produziram pouco ou nenhum clamidósporo e possuem características semelhantes, o que pode ter contribuído para seu melhor desempenho comparado a associação entre AC001 e I31.

A dosagem utilizada em trabalhos anteriores sugere-se utilizar um único isolado fúngico na concentração de (0,2g de micélio fúngico/10 kg de peso vivo), ou seja, 1g de péletes para cada 10 kg de peso vivo Araújo et al. (2000). Dessa forma, os autores do presente trabalho chamam a atenção para o fato do fracionamento da concentração de fungos, o que pode ter interferido nos resultados.

Estes resultados podem ser comparados em parte com os resultados de Rocha et al. (2007) que mencionaram nenhuma eficácia do fungo *D. flagrans* no

controle de nematóides de ovinos criados a campo. Naquele trabalho os autores propuseram ser a dosificação um fator limitante a sua utilização.

Nesse sentido, Tavela et al. (2013) utilizaram péletes de alginato de sódio contendo os fungos *D. flagrans* e *M. thaumasium* associados separadamente e administrados por via oral em equinos estabulados, mencionaram que o resultado foi satisfatório e com 80% de redução no número de L3 de ciatostomíneos recuperadas. Contudo, resultados semelhantes negativos para a diminuição do OPG em animais tratados com fungos nematófagos também foram observados por Faessler et al. (2007) e Silva et al. (2010).

Resultados das recuperações de L3 das coproculturas (figuras 2, A, B e C) e das pastagens (figura 3) revelaram a ocorrência dos nematóides *Haemonchus* spp; *Cooperia* spp; *Trichostrongylus* spp; *Oesophagostomun* spp, durante todo o período experimental. Estes resultados estão de acordo com Dias et al. (2007), Silva et al. (2009), Silva et al. (2010) e Assis et al. (2012) e demonstram que os nematoides gastrintestinais mais prevalentes são os mais importantes por perdas econômicas provocadas na ovinocultura brasileira.

Na figura 3 foi demonstrado que o número de L3/kg matéria seca na distancia de 0-20 cm do bolo fecal possivelmente poderia estar relacionada a ação predadora das associações de fungos utilizadas, sugerindo que a associação entre os isolados testados pode ser uma boa alternativa para reduzir a contaminação das pastagens. Partindo-se dessa premissa, a maior recuperação de larvas (0-20 cm) ocorreu no início do experimento (junho) e pode ser atribuída a carga acumulada anterior ao experimento.

Braga et al., (2009) mencionam que a permanência das formas infectantes nas pastagens dependem de boas condições atmosféricas, tais como a temperatura, a unidade relativa do ar, e a precipitação pluvial. Na primeira metade do experimento (junho, julho e agosto) foram observadas taxas de precipitação pluvial muito baixas de 8,4; 0,2; e 5,5 mm³ respectivamente. Posteriormente foi verificada alguma oscilação com maior índice em novembro, 235 mm³. Este fato pode justificar a maior recuperação de L3 nas pastagens ao final do experimento, quando as condições ambientais favoreceram seu desenvolvimento.

O alto número de larvas recuperadas em junho pode ser atribuído a altas cargas acumuladas em períodos anteriores ao experimento. Horner e Biachini (1987)

mencionam que em períodos secos do ano o número de larvas infectantes nas pastagens tenderia a serem reduzidos devido as condições climáticas desfavoráveis e que a população de helmintos sobreviveria quase que exclusivamente dentro dos hospedeiros e no período chuvoso ocorreria o contrário.

Foi verificado que os animais permaneceram parasitados durante todo o período experimental.

A contaminação das pastagens e conseqüentemente a recidiva das infecções é um fator aceitável nesses animais (Amarante et al. 1992, Gennari et al., 2002; Pinto et al. 2008). Todavia, ambos os grupos mostraram volume globular (VG) e concentração de proteínas totais regulares para os valores de referencia estabelecidos por Gonzáles et al. (2000).

Neste sentido, Vilela et al. (2012) demonstraram que o volume globular de animais tratados com o fungo *D. flagrans* foi maior do que os outros grupos de animais não tratados. Naquele trabalho os autores propuseram que o grupo de animais tratados demonstrou uma melhor resposta fisiológica contra o parasitismo gastrointestinal. Contudo, os resultados do presente trabalho, concordam com as observações de Silva et al. (2010) que mencionaram não haver melhora no volume globular de animais tratados com esse mesmo fungo.

Todavia, os autores do presente trabalho concordam que uma menor recidiva de infecções por nematoides gastrintestinais está diretamente relacionada com o aspecto fisiológico de animais criados a campo e conseqüentemente um melhor padrão do volume globular.

A associação de *D. flagrans* (AC001) e *A. robusta* (I31) em condições naturais não apresentou resultados significativos no controle de nematóides de ovinos, no entanto, fatores limitantes, como descritos anteriormente podem ter sido responsáveis por esse fato. Por outro lado, a associação dos fungos nematófagos *M. thaumasium* (NF34) e *A. conoides* (I40) em matriz de alginato de sódio, na concentração de 0,2g de micélio fúngico/10 kg peso vivo, quando administrado duas vezes por semana, mostrou-se eficaz no controle das nematodioses gastrintestinais de ovinos.

Este foi o primeiro relato da associação de fungos nematófagos em matriz de alginato de sódio no controle de nematóides gastrintestinais de ovinos criados a campo. Dessa forma, sugerem-se mais estudos que possam elucidar os

mecanismos de antagonismo entre grupos de fungos e qual a melhor dose a ser administrada em condições naturais. Todavia, pelo menos uma associação de fungos apresentou ser interessante quando administrada por via oral em ovinos naturalmente infectados.

5.6 Referências

- AMARANTE, F.T.; Why is it important to correctly identify *Haemonchus* species?. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** (Impresso), v. 20, p. 263-268, 2011.
- AMARANTE, A. F. T. **Resistência genética a helmintos gastrintestinais**. V Simpósio da sociedade brasileira de melhoramento animal. Pirassununga-SP. 2004
- AMARANTE, A.; BARBOSA, M. A.; OLIVEIRA, M.; SIQUEIRA, E. R. Eliminação de ovos de nematódeos gastrintestinais por ovelhas de quatro raças durante diferentes fases reprodutivas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.27, n.1, p.47-51, 1992.
- ARAUJO, J. V.; ASSIS, R. C. L.; CAMPOS, A. K. ; MOTA, M. DE 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**, Belo Horizonte-MG, v. 58, p. 373-380, 2006.
- 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-RS, v. 34, p. 457-463, 2004.
- ARAUJO, 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. **Veterinarski Arhiv** (Tisak), Zagreb, v. 70, p. 181-190, 2000. A
- ARAUJO, J. V.; STEPHANO, M. A.; SAMPAIO, W. M. Effects of temperature, mineral salt and passage through the gastrointestinal tract of calves on sodium alginate formulation of *Arthrobotrys robusta* - a nematode-trapping fungus. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 9, p. 55-60, 2000. B
- ARAUJO, J. V.; RODRIGUES, M. L. A.; SILVA, W. W.; VIEIRA, L. S. Controle biológico de nematóides gastrintestinais de caprinos em clima semi-árido pelo fungo

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

ASSIS, R. C. L.; LUNS, F. D.; ARAÚJO, J. V.; BRAGA, F. R. Biological control of trichostrongyles in beef cattle by the fungus *Duddingtonia flagrans* in alginate pellets formulation under natural grazing conditions in Brazil. **Experimental Parasitology**, v. 132, p. 373-377, 2012.

BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; SILVA, A. R. ; CARVALHO, R. O.; ARAUJO, J. M.; FERREIRA, S. R. ; CARVALHO, G. R. . Viability of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* after passage through the gastrointestinal tract of horses. **Veterinary Parasitology**, v. 168, p. 264-268, 2010.

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

BRICARELLO, P. A.; GENNARI, S. M.; OLIVEIRA-SEQUEIRA, T. C.G.; et al. Worm burden and immunological responses in Corriedale and Crioula Lanada sheep following natural infection with *Haemonchus contortus*. **Small Ruminant Research**, v.51, p.75-83, 2004.

CAMPOS, A. K ; ARAÚJO, J. V. ; GUIMARÃES, M. P. ; DIAS, A. S. . Resistance of different fungal structures of *Duddingtonia flagrans* to the digestive processes and predatory ability on larvae of *Haemonchus contortus* and *Strongyloides papillosus* in goat feces. **Parasitology Research**, v. 105, p. 913-919, 2009.

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

FAESSLER, H., TORGERSON, P. R., HERTZBERG, H. Failure of *Duddingtonia flagrans* to reduce gastrointestinal nematode infections in dairy ewes. **Veterinary Parasitology**. V.147, Issues 1–2, p. 96–102. 2007

FERREIRA NETO, J. M.; VIANA E. S.; MAGALHÃES, L. M. **Patologia Clínica Veterinária**. Rabelo, Belo Horizonte. 79p. 1981.

GENNARI, S. M.; BLASQUES, L. S.; RODRIGUES, A. A.; CILENTO, M. C.; SOUZA, S. L.; FERREIRA, F. Determinação da contagem de ovos de nematódeos no período peri-parto em vacas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.39, p.32-37, 2002.

GONZALEZ, F. H. D.; BARCELLOS, J.; PATIÑO, H.O.; RIBEIRO, L.A. **Perfil metabólico em ruminantes. Seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: UFRGS, p. 108, 2000

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

HONER, M. R.; BIANCHIN, I. Considerações básicas para um programa de controle estratégico da verminose em gado de corte no Brasil. **Circular técnica, EMBRAPA-CNPGC**. 20, p 53.1987.

KEITH, R. K. The differentiation on the infective larvae of some common nematode parasites of cattle. **Australian Journal Zoology**, 1, 223-235, 1953.

LACKEY, B. A.; MULDOON, A. E.; JAFFE, B. A. Alginate pellet formulation of *Hirsutiella rossiliensis* for biological control of plant-parasitic nematodes. **Biological Control**, v. 3, n. 2, p. 155-160, 1993

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

NICOLA, L.; TOSI, S.; SAVINI, D. In vitro evaluation of nematophagous activity of fungal isolates. **Journal Basic Microbiology**. v. 00, p. 1–5, 2013

PINTO, J. M. S.; OLIVEIRA, M. A. L.; ÁLVARES, C. T.; COSTA-DIAS, R.; SANTOS, M. H. Relação entre o parto e a eliminação de ovos de nematóides gastrintestinais em cabras Anglo Nubiana naturalmente infectadas em sistema semiextensivo de produção. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 17, Supl. 1, 138-143. 2008

ROCHA, R. A.; ARAUJO, J. V.; AMARANTE, A. F. T. Efficacy of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* against infections by *Haemonchus* and *Trichostrongylus* species in lambs at pasture. **Journal of Helminthology**, v. 81, p. 387-392, 2007.

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

SILVA, B. F.; MAUAD, J. R. C.; BRAGA, F. R.; AMARANTE, A. F. T.; ARAÚJO, J. V.; CAMPOS, A. K. Efficacy of *Duddingtonia flagrans* and *Arthrobotrys robusta* in controlling sheep parasitic gastroenteritis. **Parasitology Research**, v. 106, p. 1346-1350, 2010.

TAVELA, A. O.; ARAUJO, J. V.; BRAGA, F. R.; SILVEIRA, W. F.; SILVA, V. H. D. E.; CARRETA JUNIOR, M.; BORGES, L. A. ; ARAUJO, J. M.; BENJAMIN, L. A.; CARVALHO, G. R.; PAULA, A. T. Coadministration of sodium alginate pellets containing the fungi *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* on cyathostomin infective larvae after passing through the gastrointestinal tract of horses. **Research in Veterinary Science**, 2013.

TAVELA, A. O.; ARAÚJO, J. V.; BRAGA, F. R.; SILVA, A. R.; CARVALHO, R. O.; ARAUJO, J. M.; FERREIRA, S. R.; CARVALHO, G. R. Biological control of cyathostomin (Nematoda: Cyathostominae) with nematophagous fungus *Monacrosporium thaumasium* in tropical southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 175, p. 92-96, 2011.

TORRES-ACOSTA, J. F. J.; MENDOZA-DE-GIVES, P.; AGUILAR-CABALLEROA, A. J.; CUÉLLAR-ORDAZ, J. A. Anthelmintic resistance in sheep farms: Update of the situation in the American continent. **Veterinary Parasitology**. v. 189, p. 89–96. 2012.

VILELA, V. L. R.; FEITOSA, T. F.; BRAGA, F. R.; Araújo, J. V.; LUCENA, S. C.; DANTAS, E. S.; ATHAYDE, A. C. R.; SILVA, W. W. Biological control of goat gastrointestinal helminthiasis by *Duddingtonia flagrans* in a semi-arid region of the northeastern Brazil. (a) **Veterinary Parasitology**, v. 188, p. 127-133, 2012.

WALKER, H. L.; CONNICK, JR. Sodium Alginate for production and formulation of mycoherbicides. **Weed Science**, v. 31, n. 8, p. 333-338, 1983.

6. Conclusões

As associações dos fungos nematófagos *Duddingtonia flagrans* (AC001) a *Arthrobotrys robusta* (I31) e *Monacrosporium thaumasium* (NF34) a *Arthrobotrys conoides* (I40) mostrara-se eficazes no controle biológico de nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes em condições laboratoriais e ambientais.

Estruturas fúngicas (conídios e clamidósporos) das associações (AC001+I31) e (NF34+I40) na concentração de 1×10^6 conídios e clamidósporos/kg PV, foram capazes de suportar a passagem pelo trato gastrintestinal de caprinos e reduzir o número de larvas infectantes de nematóides gastrintestinais em condições laboratoriais.

O tratamento com associações de fungos nematófagos (AC001+I31 e NF34+I40) em pélete de matriz de alginato de sódio foram capazes de reduzir o numero de larvas infectantes de nematóides gastrintestinais nas pastagens. A associação entre os fungos nematófagos *Monacrosporium thaumasium* (NF34) a *Arthrobotrys conoides* (I40) apresentaram resultados satisfatório na diminuição do OPG dos animais tratados.

Associações entre os fungos predadores *Duddingtonia flagrans* (AC001) a *Arthrobotrys robusta* (I31) e *Monacrosporium thaumasium* (NF34) a *Arthrobotrys conoides* (I40) podem ser utilizadas como forma alternativa de controle das fases de vida livre de nematóides gastrintestinais de ovinos, reduzindo assim as recidivas das infecções, contribuindo para melhoras no bem estar dos animais e diminuindo gastos dos produtores com tratamento profilático.