

JOÃO VICTOR FACCHINI RODRIGUES

Fungos Helmintofagos *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* e *Arthrobotrys robusta* no controle de *Oesophagostomum* spp. parasito intestinal de suínos

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
2016**

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

R696f
2016
Rodrigues, João Victor Facchini, 1989-
Fungos helmintófagos *Duddingtonia flagrans*,
Monacrosporium thaumasium e *Arthrobotrys robusta* no
controle de *Oesophagostomum* spp. parasito intestinal de suínos /
João Victor Facchini Rodrigues. – Viçosa, MG, 2016.
xiii, 51f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Jackson Victor de Araújo.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Suínos - Doenças. 2. Intestinos - Parasito - Controle
biológico. 3. Fungos. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Veterinária. Programa de Pós-graduação em
Medicina Veterinária. II. Título.


CDD 22. ed. 636.40896962

JOÃO VICTOR FACCHINI RODRIGUES


FUNGOS HELMINTÓFAGOS *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thummasium* E *Arthrobotrys robusta* NO CONTROLE DE *Oesophagostomum* spp.
PARASITO INTESTINAL DE SUÍNOS

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: 19 de fevereiro de 2016.



Rogério Oliva Carvalho



Artur Kanadani Campos
(Coorientador)



Jackson Victor de Araújo
(Orientador)

“Fé é acreditarmos no que não
vemos, e a recompensa dessa fé é
vermos aquilo em que acreditamos”
Sto. Agostinho

AGRADECIMENTOS

A Deus, aquele que me sustenta diariamente iluminando meu caminho dando-me forças para ir à busca de mais uma realização.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos.

À Universidade Federal de Viçosa pela estrutura disponibilizada.

Aos meus pais, João Augusto e Rita Emilia, que sempre se mantiveram ao meu lado, obrigado por creditar a mim todo amor e respeito.

Ao meu irmão e amigo Caio, que sempre se preocupou em estar ao meu lado e colaborando sempre para o meu crescimento.

A Mariana Brettas, sempre disposta a me ajudar e colaborar para que tudo pudesse se concretizar, estando ao meu lado em momentos decisivos, através de atenção, companheirismo, carinho e amor.

A Ariane Tibúrcio (*in memorian*), que foi a maior incentivadora e a principal responsável para essa realização.

Ao meu Orientador Jackson Victor, agradeço toda confiança depositada, a condução nos ensinamentos e acima de tudo, pelo respeito e um grande exemplo a ser seguido pela singular orientação.

Ao meu co-orientador Artur Kanadani, que abraçou o projeto, sempre transmitindo conhecimentos e ensinamentos, atenção e amizade, sendo auxílio fundamental para realização e conclusão deste trabalho.

Aos amigos e colegas de trabalho do Laboratório de Parasitologia – UFV Lorendane, Juliana, Guilherme, Fernanda, Wendeo, Mariana, Thiago, Fabio, Thais, Marisa, Hector, Janvievi, pela ajuda, apoio e por compartilhar momentos especiais durante esses dois anos.

Aos amigos e irmãos Lorena Aguiar e kelvin Lima, pela ajuda fundamental.

Aos funcionários e amigos do Laboratório de Parasitologia – UFV, Tuim, Ademir, Samuel e Calsinho, pelo apoio fundamental

A Granja de Nutrição de Suínos do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, Professor Aloizio Soares Ferreira, e aos amigos e colaboradores Fernando e Dedeco, pela confiança depositada para que esse trabalho viesse a se realizar.

Secretária do programa de pós-graduação em Medicina Veterinária
Rosinea Cunha, pelo apoio, carinho e incentivo.

Ao Professor Paulo Roberto Cecon do setor de Estatística do
Departamento de Informática pelo auxílio com as análises estatísticas.

A todos os professores, funcionários e amigos do Departamento de
Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, por todo respeito,
conhecimento e confiança durante o decorrer dessa jornada.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	VIII
LISTA DE TABELAS	IX
LISTA DE ABREVIATURAS	X
RESUMO.....	XI
ABSTRACT	XIII
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Mercado e consumo da carne suína no Brasil e no Mundo.....	3
2.2. Helmintoses que acometem os suínos	3
2.3. <i>Oesophagostomum</i> spp.	4
2.4. Controle Biológico	5
2.5. Fungos helmintófagos	6
3. OBJETIVOS.....	8
3.1. Objetivo Geral	8
3.2. Objetivos Específicos	8
4. Revisão Bibliográfica.....	9
Capítulo 1: Fungos Helmintófagos <i>Duddingtonia flagrans</i>, <i>Monacrosporium</i> <i>thausasium</i> e <i>Arthrobotrys robusta</i> no controle de larvas infectantes de <i>Oesophagostomum</i> spp. parasito intestinal de suínos	16
Resumo.....	17
Abstract	18
1. INTRODUÇÃO.....	19

2. Material e Métodos	20
2.1. Obtenção de larvas infectantes de <i>Oesophagostomum</i> sp. de suínos	20
2.2. Isolados Fúngicos	20
2.3. Ensaio Experimental	20
2.4. Análise estatística	21
3. Resultados	21
4. Discussão	22
5. Conclusão	23
6. Referência Bibliográfica	24

Capítulo 2: Fungo Helminatófago <i>Duddingtonia flagrans</i> formulado em farelo de arroz no controle de <i>Oesophagostomum</i> spp. parasito intestinal de suíno	27
Resumo.....	28
ABSTRACT.....	30
1. Introdução	31
2. Material e Métodos	32
2.1. Ensaios experimentais	32
2.2. Formulação fúngica	32
2.3. Obtenção de larvas infectantes de <i>Oesophagostomum</i> . de suínos	33
2.4. Animais.....	33
2.5. Teste <i>in vitro</i> da formulação fúngica contendo o fungo <i>Duddingtonia flagrans</i> sobre L ₃ de <i>Oesophagostomum</i> spp.:	33
2.6. Teste utilizando a formulação fúngica contendo o fungo <i>Duddingtonia flagrans</i> em coproculturas positivas para <i>Oesophagostomum</i> spp.	34

2.7. Teste de passagem pelo trato gastrintestinal de suínos da formulação fúngica contendo o fungo <i>Duddingtonia flagrans</i> :	36
2.8. Análise estatística	37
3. Resultados	37
3.1. Teste <i>in vitro</i> da formulação fúngica contendo o fungo <i>Duddingtonia flagrans</i> sobre L ₃ de <i>Oesophagostomum</i> spp.	37
3.2. Teste utilizando a formulação fúngica contendo o fungo <i>Duddingtonia flagrans</i> em coproculturas positivas para <i>Oesophagostomum</i> spp.	39
3.3. Teste de passagem pelo trato gastrintestinal de suínos da formulação fúngica contendo o fungo <i>Duddingtonia flagrans</i>	40
4. Discussão	42
4.1. Teste <i>in vitro</i> da formulação fúngica contendo o fungo <i>Duddingtonia flagrans</i> sobre L ₃ de <i>Oesophagostomum</i> spp.	42
4.2. Teste utilizando a formulação fúngica contendo o fungo <i>Duddingtonia flagrans</i> em coproculturas positivas para <i>Oesophagostomum</i> spp.	43
4.3. Teste de passagem pelo trato gastrintestinal de suínos da formulação fúngica contendo o fungo <i>Duddingtonia flagrans</i>	44
5. Conclusão	45
6. Referência Bibliográfica.....	46

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1: Percentuais de redução de larvas infectantes (L3) de *Oesophagostomum* spp. pelos fungos helmintófagos *Duddingtonia flagrans* (AC001), *Monacrosporium thaumasium* (NF34) e *Arthrobotrys robusta* (I31) sobre L3 de *Oesophagostomum* sp. e grupo controle sem presença de fungo, ao 7º dia de interação.

Capítulo 2

Figura. 1 – Esporos fúngicos do fungo *Duddingtonia flagrans* crescidos a partir da formulação fungica feita em farela de arroz semeados em placas de Petri de 9cm de diâmetro. Estruturas de reprodução fúngica formadas (▲ clamidósporos, ▲ conídios e ■ hifas) são evidenciados por setas pretas.

Figura 2 – (A) Presença de esporos fúngicos de *Duddingtonia flagrans* em placas de Petri de 9cm de diâmetro após recuperadas pela técnica de Baermann, com estruturas formadas como os conídios nas pontas dos conidiofaros; (B) Larvas de *Oesophagostomum* spp. presas em armadilhas.

Figura 3 – Presença de esporos fúngicos (▲ clamidósporos e ▼ conídios) e Larvas de *Oesophagostomum* spp. presas em armadilhas (▲) em placas de Petri de 9 cm de diâmetro em Ágar-Água 2% feitas com fezes dos animais referentes do grupo tratado, sobre a superfície de Ágar-Água 2% após 14 dias de interação.

Figura 4 – Larvas de *Oesophagostomum* spp. em placas de Petri de 9 cm de diâmetro sobre a superfície de Ágar-Água 2% referente ao grupo controle em ausência de fungos em 21 dias de interação.

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1: Valores médios de larvas infectantes recuperadas (NL_{3r}) por placas (N=10) e percentual de redução após sete dias de interação entre os isolados fúngicos *Duddingtonia flagrans* (AC001), *Monacrosporium thaumasium* (NF34) e *Arthrobotrys robusta* (I31) e L₃ de *Oesophagostomum* spp.

Capítulo 2

Tabela 1: Valores médios de larvas infectantes recuperadas (NL_{3r}) por placas (N=12) e percentual de redução (%R) após sete dias de interação entre *Oesophagostomum* spp. e formulação fúngica contendo o fungo AC001.

Tabela 2: Valores médios de larvas infectantes recuperadas (NL_{3r}) nas coproculturas (N=12) e percentual de redução (%R) após 21 dias de interação entre formulação fúngica contendo o fungo *Duddingtonia flagrans* (Isolado AC001) em farelo de arroz e ovos (9.200) pertencentes a *Oesophagostomum* spp.

Tabela 3: Valores médios e desvio padrão de larvas infectantes recuperadas (NL_{3r}) de *Oesophagostomum* spp. em placas de Petri de 9 cm de diâmetro nos períodos de tempo 12, 24, 36, 48, 60, entre grupo tratado com a presença do isolado fúngico *Duddingtonia flagrans* (AC001) formulado em farelo de arroz e grupo controle (sem fungo).

LISTA DE ABREVIATURAS

%R	Porcentagem de redução
µL	Microlitros
AA 2%	Ágar-água 2%
AC001	<i>Duddingtonia flagrans</i>
cm	Centímetros
CMA 2%	Corn-meal-ágar 2%
CV	Coeficiente de Variação
<i>D. flagrans</i>	<i>Duddingtonia flagrans</i>
DZO	Departamento de Zootecnia
g	Gramas
h	Horas
I31	<i>Arthrobotrys robusta</i>
Kg	Quilogramas
L ₃	Larvas infectantes
mL	Mililitros
NF34	<i>Monacrosporium thaumasium</i>
NL ₃ R	Número média de larvas infectantes recuperadas
OPG	Ovos por grama de fezes
RPM	Rotação por minuto
UFV	Universidade Federal de Viçosa

RESUMO

RODRIGUES, João Victor Facchini, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2016. **Fungos Helmintófagos *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* e *Arthrobotrys robusta* no controle de *Oesophagostomum* spp. parasito intestinal de suínos.** Orientador: Jackson Victor de Araújo. Coorientador: Artur Kanadani Campos.

A produção de suínos em sistemas semi-intensivo e extensivo constitui uma alternativa aos sistemas tradicionais de criação, entretanto, a infecção por helmintos parasitas pode ser favorecida. Dentre as parasitoses que acometem os suínos, se destacam os helmintos pertencentes aos gêneros *Ascaris*, *Strongyloides*, *Hyostrongylus* e *Oesophagostomum*, que apresentam suas formas infectantes presentes no ambiente, causando perdas econômicas no rebanho. Diante disso, esse trabalho teve como objetivos: Avaliar a eficácia *in vitro* da formulação fúngica contendo o fungo helmintófago *Duddingtonia flagrans* sobre larvas infectantes de *Oesophagostomum* spp.; Observar a dinâmica de eliminação de esporos do fungo helmintófago *Duddingtonia flagrans* e avaliar a viabilidade após a passagem pelo trato gastrintestinal de suínos; Avaliar a eficácia *in vitro* dos isolados dos fungos helmintófagos *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* e *Arthrobotrys robusta*, sobre larvas infectantes de *Oesophagostomum* spp. O trabalho foi dividido em dois capítulos, onde o primeiro verificou a eficácia *in vitro* dos isolados de *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* e *Arthrobotrys robusta*, sobre larvas infectantes de *Oesophagostomum* spp., onde todos os isolados demonstraram capacidade predatória eficaz sobre larvas infectantes. O segundo capítulo foi subdividido em três ensaios, que foi verificado a predação *in vitro* da formulação fúngica sobre larvas infectantes de *Oesophagostomum* spp. em placas de Petri, em coproculturas, e após a passagem pelo trato gastrintestinal de suínos. Ambos os ensaios obtiveram resultados satisfatórios, quanto a predação das larvas infectantes, e os isolados fúngicos suportaram a passagem pelo trato gastrintestinal, sem perder a capacidade de predação sobre as larvas infectantes. Os resultados apresentados nesse trabalho demonstram alta eficiência da formulação fúngica feita a partir do isolado de *Duddingtonia flagrans* em farelo de arroz, e dos isolados *Monacrosporium thaumasium* e *Arthrobotrys robusta* na predação de larvas infectantes de *Oesophagostomum* spp., podendo

ser uma alternativa no controle de formas infectantes de nematoides parasitas de suínos.

ABSTRACT

RODRIGUES, João Victor Facchini, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2016. **Helminthofagos fungi, *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* and *Arthrobotrys robust* in control of *Oesophagostomum* spp. of intestinal parasite of pigs.** Advisor: Jackson Victor de Araújo. Co-advisor: Artur Kanadani Campos.

The pigs production in semi-intensive and extensive systems constitute an alternative to traditional farming systems, however, infection with parasitic helminths can be favored. Among the parasites that affect pigs, stand out helminths belonging to the genera *Ascaris*, *Strongyloides*, *Hyostrogylus* and *Oesophagostomum*, which present their infective forms present in the environment causing economic losses in the herd. Thus, this study aimed: To evaluate the in vitro efficacy of fungi isolated from helminthofagos *Duddingtonia flagrans* on infective larvae of the *Oesophagostomum* spp.; Observing the dynamics of elimination of spores and assessing the viability after passage through the gastrointestinal tract of pigs; and to assess the in vitro efficacy of fungi isolated helminthofagos *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* and *Arthrobotrys robust* on infective larvae of the *Oesophagostomum* spp. The study was divided in two chapters, where the first verified in vitro efficacy of isolated *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* and *Arthrobotrys robust* on infective larvae of *Oesophagostomum* spp., where all isolates showed predatory capacity. The second chapter subdivided into three tests, to verified in vitro predation of fungal formulation rises infective larvae of *Oesophagostomum* spp. in Petri dishes in fecal cultures and after passage through the gastrointestinal tract of pigs. Both assays obtained satisfactory results, and predation of infective larvae, and supporting the passage through the gastrointestinal tract without losing predation capacity. The results presented in this study demonstrate high efficiency of the fungal formulation made from the isolated *Duddingtonia flagrans* in rice bran, and isolated *Monacrosporium thaumasium* and *Arthrobotrys robust* in predation infective larvae of the *Oesophagostomum* spp., could be an alternative to control infective forms of nematode parasites pigs.

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, a suinocultura é uma das atividades econômicas responsáveis pelo desenvolvimento econômico e social de muitos municípios (ABIPECS, 2012), contudo, esse setor vem sofrendo mudanças com exigências de mercado ligadas ao sistema de produção, como a visão do bem-estar animal e uma produção orgânica, que permite a exploração desta atividade em sistema extensivo (DILL et al., 2009).

Segundo a FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), a suinocultura dentre as explorações agropecuárias é responsável por aproximadamente 69% do consumo mundial de água (FAO, 2002), reconhecida como atividade altamente poluente, sendo tema de debates e discussões em eventos por todo o mundo (HIGARASHI et al., 2006).

Em busca do “suíno verde”, a produção de suínos ao ar livre tem se expandido, o que pode favorecer infecções por helmintos parasitas (NANSEN & ROEPSTORFF, 1999). Durante muito tempo o controle de helmintos se baseou unicamente no tratamento anti-helmíntico. Com o aumento na taxa de contaminação do rebanho confinado, ou das pastagens dos rebanhos criados ao ar livre, os anti-helmínticos passaram a ser vantajosamente combinados com medidas alternativas e sustentáveis como: utilização de genéticas mais resistentes, carboidratos fermentáveis na dieta e a fungos helmintófagos para eliminação de ovos do ambiente (ROEPSTORFF et al., 2011, FERREIRA et al., 2010).

As parasitoses intestinais constituem um dos principais fatores limitantes a produção animal. Em suínos o problema se torna mais relevante quando o sistema de produção é extensivo, pois os animais estão mais expostos aos agentes parasitários. Entre as parasitoses, destacam-se as nematodioses, cujos danos à saúde animal estão relacionados aos agentes etiológicos e susceptibilidade do hospedeiro (MACRAE, 1993; ARAÚJO, 2004). As nematodioses produzem efeitos deletérios que influenciam na capacidade produtiva, conversão alimentar, taxa de crescimento e também elevam os custos com tratamentos profilático e curativo e em casos extremos, a morte dos animais (NANSEN & ROEPSTORFF, 1999; EIJCK & BORGSTEEDE, 2005).

Problemas relacionados à resistência dos parasitos aos anti-helmínticos, resíduos em produtos alimentícios de origem animal e efeitos adversos no ambiente justificam a busca por métodos alternativos de controle parasitário que assegurem saúde e segurança dos organismos vivos, por meio de tratamentos estratégicos baseados na epidemiologia e eliminação de vermifugações desnecessárias. Dentre as alternativas de controle, se encaixa o controle biológico de helmintos por fungos helmintófagos (MOTA et al., 2003; BRAGA & ARAÚJO, 2014).

O controle biológico, não tem atuação sobre estágios internos do parasito, demonstra a capacidade de atuação sobre os hospedeiros intermediários, paratênico, vetores, e os fungos nematófagos sobre estágios larvais de vida livre, que diminuem a fonte de infecção aos hospedeiros finais (ARAÚJO et al., 2004). Os fungos nematófagos são classificados como antagonistas naturais não somente de nematoides, mas também de cestoides e trematódeos, onde Braga e Araújo, 2014, propuseram uma nova classificação, helmintófagos, devido vários trabalhos já publicados que provam a eficácia sobre esses organismos, não se restringindo somente a nematoides, mas sim aos helmintos. Esses fungos são capazes de promover a captura, a morte ou até mesmo a destruição desses organismos (BRAGA et al., 2007), além disso, seu uso ocasiona menos efeito negativo no ambiente que os métodos químicos utilizados (ARAÚJO et al., 2004),

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Mercado e consumo da carne suína no Brasil e no Mundo

O setor suinícola é uma cadeia produtiva responsável por gerar empregos no campo e na indústria, com mais de quatro milhões de postos de trabalho sendo o setor que oferece o maior número de empregos no agronegócio brasileiro, gerando mais de quatro milhões de postos de trabalho (ABIPECS, 2012; USDA/ABIPECS, 2013).

O Brasil ocupa o quarto lugar na produção e exportação mundial da carne suína (ABIPECS, 2013), sendo o maior produtor a China, somando quase 50% da produção mundial (GERVÁSIO, 2013). A União Europeia e Estados Unidos são o segundo e terceiro maior produtor, respectivamente (ABIPECS, 2013).

A produção no Brasil está concentrada respectivamente nos estados de Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Paraná, Minas Gerais, Mato grosso, Goiás e São Paulo quase na mesma proporção (ABIPECS, 2013).

O Programa Nacional de Desenvolvimento da Suinocultura (PNDS) criado pela Associação Brasileira dos Criadores de Suínos (ABCS) traz novos desafios para a suinocultura. O programa busca novos caminhos de sustentabilidade aumentando a eficiência produtiva, objetivando aumentar o consumo per capita de carne suína (LOPES, 2013).

2.2 Helmintoses que acometem os suínos

As parasitoses ocupam lugar de destaque na suinocultura, provocando perdas difíceis de serem mensuradas, pois aumentam a morbidade e suas consequências como o emagrecimento, retardo no crescimento e aumento do índice de consumo alimentar, podendo levar a morte. Economicamente, diminuem a qualidade dos produtos obtidos e aumentam os custos com anti-helmínticos e tratamentos terapêuticos complementares (RAYNAUD, 1984). A prevalência e os graus de infecções helmínticas em suínos estão diretamente relacionados com a higiene e o sistema de manejo (ROEPSTORFF & NILSSON, 1991). Infecção por helmintos são significativamente mais baixas nas granjas em que as fezes são removidas diariamente (KAGIRA et al. 2008), no entanto, além

da remoção das fezes, a desinfecção do piso reduz a ocorrência de coprofagia, reduzindo a taxa de infecção dos animais e a contaminação na granja (ROEPSTORFF & NILSSON 1991).

Os helmintos parasitas intestinais mais relevantes em suínos são: *Ascaris* spp., *Strongyloides* spp., *Hyostrongylus* spp., *Oesophagostomum* spp. e *Trichuris* spp. (WAGNER E POLLEY, 1997; NANSEN E ROEPSTORFF, 1999; EIJCK E BORGSTEEDE, 2005).

2.3. *Oesophagostomum* spp.

Oesophagostomum spp. é um gênero de nematoide estrogilídeo, pertence a superfamília Strongyloidea. Em suínos, a oesofagostomose deve-se, às espécies *O. dentatum* e *O. quadrispinulatum* e caracteriza-se por provocar enterites com lesões nodulares no intestino grosso, os quais interferem na digestão e absorção de nutrientes e afeta principalmente animais de recria, engorda e adultos (KAUFMANN, 1996; URQUHART ET AL., 1998; SOBESTIANSKY E BARCELLOS, 2007; DURO, 2010).

Oesophagostomum spp. possui um ciclo direto, pela ingestão de larvas infectantes (L₃) (DURO, 2010), a Infecção por penetração cutânea também é possível em suínos (URQUHART et al. 1998). Os ovos são eliminados nas fezes, e ainda dentro do ovo ocorre a formação de larva de primeiro estágio (L₁) que em seguida saem para o ambiente, que depois de duas mudas dará origem às L₃ (KAUFMANN, 1996). Após a ingestão das larvas infectantes (L₃), as larvas penetram na mucosa intestinal (em qualquer segmento entre o intestino delgado e intestino grosso). Algumas espécies, como *O. quadrispinulatum*, ficam no interior de nódulos. Entre cinco e sete dias seguintes ocorre o desenvolvimento larval para o quarto estágio (L₄). Posteriormente, as L₄ voltam ao lúmen do intestino onde maturam e se tornam adultos, 40 a 50 dias após a infecção. Na reinfecção, as larvas podem permanecer nos nódulos por um período de até um ano (DURO, 2010). No periparto, pode ocorrer o aumento na produção de ovos de *Oesophagostomum* spp. devido a alterações hormonais, atingindo o máximo de postura cerca de seis a sete semanas pós-parto (DUNN; 1978). Este fenômeno tem a máxima importância na infecção dos leitões lactantes.

O diagnóstico pode ser feito através de exame coprológico, por técnicas de sedimentação ou flutuação, e complementado por cultura larval (SOBESTIANSKY & BARCELLOS, 2007). Também pode ser feita a identificação do parasita através das lesões post-mortem, onde na necropsia encontram-se vermes adultos e nódulos na mucosa intestinal (DURO, 2010).

O controle é feito com anti-helmínticos, usando drogas como piperazina, levamizol, oxibendazole ou fenbendazole. Somada a esta prática, é indicado como medida profilática, a implantação de programas de limpeza e desinfecção, com o objetivo de reduzir a possibilidade de sobrevivência de larvas de terceiro estágio (SOBESTIANSKY & BARCELLOS, 2007).

Trabalhos de prevalência de helmintos que relatam a presença do *Oesophagostomum* spp. há em todo o mundo. Aguiar (2009), em um trabalho epidemiológico de parasitoses gastrintestinais de suínos feita a partir de fezes de suínos naturalmente infectados de criações subsistentes, obteve como resultado a presença de 51,6% de larvas de *Oesophagostomum* em coprocultura, já estudo realizado em Ghana, coproculturas revelaram a frequência de 53,3% de *Oesophagostomum* (PERMIN et al., 1999) e no Brasil, 85% (LIGNON, et al., 1981).

Pigi (2007), notou grande diferença na prevalência do helminto em criações intensiva (< 17%) para criações extensivas (100%) na França. Porém D'Alencar et al. (2011), em trabalho epidemiológico na Zona da Mata do Estado de Pernambuco, Brasil, que também demonstra em seus resultados a presença de *Oesophagostomum* em fezes de suínos, demonstra que a ocorrência ocorreu apenas nas criações subsistentes, não havendo a presença do helminto em criações tenrificadas.

Considerando que parte do ciclo de vida desse nematoide se passa no ambiente, medidas alternativas para controlar formas infectantes desses nematoides são necessárias. Dentre essas medidas, o controle biológico através de fungos helmintófagos merece destaque (FERREIRA, 2011).

2.4. Controle Biológico

O termo controle biológico se aplica à utilização de antagonistas naturais disponíveis no ambiente, para diminuir a um limiar subclínico e economicamente

aceitável a população de um agente causador de perdas produtivas à atividade pecuária ou agrícola (ARAUJO et al., 2004). Fungos helmintófagos, demonstram uma alternativa promissora na profilaxia das helmintoses gastrintestinais parasitárias, através da produção de armadilhas responsáveis pela captura e destruição dos estádios infectantes dos nematoides. O controle biológico não atua sobre estágios internos de parasitos, concentra suas ações sobre os hospedeiros intermediários, paratênicos, vetores e estágios larvais de vida livre, diminuindo a fonte de infecção para os hospedeiros finais e diminuindo a contaminação ambiental causando menos efeitos negativos no ambiente que os métodos químicos (MOTA et al., 2003).

O controle biológico apresenta vantagens como a especificidade de organismo-alvo, fácil multiplicação e dispersão no ambiente, efeito prolongado afetando até gerações subsequentes, associação com drogas sem deixar resíduos ou toxicidade para animais e ambiente, menor custo e a diminuição do aparecimento de resistência (HONER & BIANCHIN, 1987).

2.5. Fungos helmintófagos

Fungos helmintófagos são organismos saprófitas, que podem atuar no controle de ovos e larvas infectantes de helmintos parasitos dos animais domésticos. A atividade predatória sobre os ovos e a larvas é direcionada para o ambiente fecal, com produção de armadilhas que capturam e eliminam as formas de vida livre, diminuindo as recidivas infecções (LARSEN, 1999; ARAÚJO et al., 2008; BRAGA et al., 2009; BRAGA et al., 2010). Podem ser classificados em: endoparasitas, predadores e oportunistas (parasitas de ovos) de acordo com o modo de ação, captura e forma de eliminação das formas infectantes.

Fungos helmintófagos predadores de larvas e destruidores de ovos (oportunistas) têm sido amplamente estudados, no controle biológico dos helmintos gastrintestinais, em condições laboratoriais e a campo (BRAGA et al., 2009; BRAGA et al., 2010). Fungos predadores produzem estruturas em forma de anéis constritores e não constritores, hifas, botões e redes bidimensionais e tridimensionais adesivas ao longo do micélio. O aprisionamento à armadilha é seguido pela penetração das hifas na cutícula do nematóide (TUNLID et al, 1992)

Dentro do nematóide, ocorre o crescimento das hifas e a digestão dos conteúdos internos (TUNLID et al, 1992; MORGAN E KÁBANA, 1988)

Apesar de todos os avanços realizados na pesquisa de utilização de fungos nematófagos como controladores biológicos de parasitos gastrintestinais de animais domésticos, alguns obstáculos impedem a sua completa implementação. Empresas produtoras de fármacos anti-helmínticos são relutantes em investir em pesquisas emergentes, a menos que possuam a certeza de retorno investido e propriedade intelectual sobre os conhecimentos gerados (MOTA et. al., 2003).

As espécies de fungos *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* e *Arthrobotrys robusta* são classificadas como nematófagos (BARRON, 1977) e têm sido estudadas em todo o mundo por pesquisadores que avaliam seu potencial como agentes controladores biológicos de helmintos gastrintestinais de animais domésticos (ARAÚJO et al., 1998; 1999; ALVES et al., 2003; DIMANDER et al., 2003).

O gênero *Duddingtonia* é caracterizado por produzir vários conídios na extremidade dos conidióforos (VAN OORSCHOT, 1985). Os conídios apresentam um formato variando entre elíptico e ovóide apresentando um septo mediano. A espécie *D. flagrans* é a mais estudada no controle das helmintoses gastrintestinais dos animais domésticos. Esse fungo possui hifas adesivas, produzem conídios com morfologia de 25-50 µm de comprimento por 10-15 µm de largura (COOKE & GODFREI, 1964) e produzem grande quantidade de clamidósporos em matéria seca.

As espécies do gênero *Monacrosporium* são caracterizadas pela produção de apenas um conídio na extremidade do conidióforo. Os conídios possuem características fusiformes, com dois a quatro septos transversais, sendo que a célula intermediária é maior que as da extremidade. A espécie *M. thaumasium* preda nematóides por meio de redes adesivas, produz conídios medindo entre 27-49 µm de comprimento por 15-23 µm de largura (LIU & ZHANG, 1994).

O gênero *Arthrobotrys* possui um grande número de espécies de fungos nematófagos, sendo originário de amostras de solo, contudo, sua capacidade de preda os nematóides não foi mencionada. Todos os isolados pertencentes ao gênero são capazes de produzir armadilhas na presença de nematóides de vida

livre, como *Panagrellus redivivus* ou *Turbatrix aceti*. As espécies pertencentes ao gênero formam conídios blásticos de até três septos, com formato ovóide, proliferando-se na extremidade dos conidióforos (ZHANG et al., 1996).

Braga e Araújo, 2014, propuseram a classificação dos fungos em hemintófagos em substituição ao termo nematófago. Essa nova classificação vem a ser mais propícia em função dos trabalhos já publicados que provam a eficácia desses fungos sobre cestóides, trematódeos e nematóides, sendo assim sua ação não restrita a nematóides, e sim a helmintos.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

- Avaliar a eficácia *in vitro* das espécies de fungos helmintófagos *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* e *Arthrobotrys robusta* sobre larvas infectantes de *Oesophagostomum* spp.; Avaliar a eficácia de predação *in vitro* da formulação fúngica contendo a espécie de fungo helmintófago *Duddingtonia flagrans* sobre larvas infectantes de *Oesophagostomum* spp., e a dinâmica de eliminação de esporos após a passagem pelo trato gastrointestinal de suínos.

3.2. Objetivos Específicos

- Avaliar *in vitro* a predação dos isolados *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* e *Arthrobotrys robusta* individualmente sobre larvas infectantes de *Oesophagostomum* spp;
- Avaliar *in vitro* a predação do fungo *Duddingtonia flagrans* crescido a partir de formulação em farelo de arroz sobre larvas infectantes de *Oesophagostomum* spp.;
- Avaliar a predação do fungo *Duddingtonia flagrans* crescido em formulação de farelo de arroz em coproculturas de fezes contaminadas por ovos de *Oesophagostomum* spp.;

- Avaliar a passagem e viabilidade do isolado fúngico *Duddingtonia flagrans* presente na formulação em farelo de arroz, após passarem pelo trato gastrointestinal de suínos

4. Referências Bibliográficas

AGUIAR, P.C. **Aspectos Epidemiológicos das Parasitoses gastrintestinais de Suínos Naturalizados de Criações Familiares do Distrito Federa.** 100p. Dissertação de Mestrado em Saúde Animal – Universidade de Brasília – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília. 2009

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

ARAÚJO, J.V.;BRAGA, F.R.; ARAÚJO, J.M.; SILVA, A.R. and TAVELA A.O. *In vitro* evaluation of the effect of the nematophagous fungi *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium sinense* and *Pochonia chlamydosporiaon Ascaris suum* eggs. **Parasitology Research**, v.102, p.787–790, 2008.

ARAÚJO, J.V.; MOTA, M.A; CAMPOS, A.K. Controle Biológico de helmintos parasitos de animais por fungos nematófagos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.** v.13, p.165-171, 2004

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

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

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA PRODUTORA E EXPORTADORA DE CARNE SUÍNA (ABIEPCS). **Relatórios Anuais ABIEPCS, 2011/2012**. São Paulo. 2012. Disponível em: <http://www.abiepcs.org.br/uploads/relatorios/relatorios-associados/ABIEPCS_relatorio_2011_pt.pdf>. Acessado em: 12/05/2015

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA PRODUTORA E EXPORTADORA DE CARNE SUÍNA (ABIEPCS). **Relatórios Anuais ABIEPCS, 2012/2013**. São Paulo. 2013. Disponível em: <http://www.abiepcs.org.br/uploads/relatorios/relatorios-associados/ABIEPCS_relatorio_2012_pt.pdf>. Acessado em: 12/05/2015

BARRON G.L. The Nematode-destroying Fungi. **Topics in Mycobiology**. Guelph, Canada: Canadian Biological Publications, p.140, 1977.

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

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

BRAGA, F.R. & ARAÚJO, J.V.; Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals. **Applied Microbiology and Biotechnology**. v.98, p.71-82, 2014.

BRAGA, F.R.; ARAÚJO, J.V.; SILVA, A.R.; ARAUJO, J.M.; CARVALHO, R.O.; CAMPOS, A.K.; TAVELA, A.O.; FERREIRA, S.R.; FRASSY, L.N.; ALVES, C.D.F. *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* and *Pochonia*

chlamydosporia as possible biological control agents of *Oxyuris equi* and *Austroxyuris finlaysoni*. **Journal of Helminthology**, v.84, p.21, 2010.

COOKE R.C. & GODFREY B.E.S. A key of nematode destroying fungi. **Transactions of the British Mycological Society**. v.47, p.61-74, 1964.

D'ALENCAR, S.D., FARIAS, M.P.O., ROSAS, E.O., LIMA, M.M., ALVES, L.C., FAUSTINO, M.A.G. Influência do manejo higiênico-sanitário na infecção por helmintos gastrintestinais em suínos de granjas tecnificadas e de Subsistência abatidos na região metropolitana de Recife e zona da mata do estado de Pernambuco, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 78, p.207-215, 2011.

DILL, M.D.; RÉVILLION, J.P.P.; BARCELLOS, J.O.J; CEOLIN, A.C. Cadeia produtiva da carne suína. **Anais. 48° congresso Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural**. v.48, p.1-18, 2009.

DIMANDER, S.O.; HÖGLUND, J.; UGGLA, A.; SPÖRNDLY, E.; WALLER, P.J. Evaluation of gastro-intestinal nematode parasite control strategies for first season grazing cattle in Sweden. **Veterinary Parasitology**, v.111, p.192-209, 2003.

DURO, L.S.L. **Parasitismo Gastrintestinal em Animais da Quinta Pedagógica dos Olivais: Especial Referência aos Mamíferos Ungulados**. 155p. Tese -Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa. 2010.

DUNN, A. M. *Veterinary Helminthology*.Glasgow: William Heinemann. **Medical Books Ltd**. 1978.

EIJCK, I.A.J.M & BORGSTEED, F.H.M. A survey of gastrointestinal pig parasites on free-range, organic and conventional pig farms in the Netherlands. **Veterinary Research Communications**. v.209, p.407-414, 2005.

FAO. **Crops and drops – making the best use of water for agriculture**. Roma: FAO, v. 6, 22p., 2002.

FERREIRA S.R. **Atividade Ovicida do Fungo *Pochonia chlamydosporia* sobre ovos de *Ascaris suum* e atividade predatória de fungos nematófagos sobre formas infectantes de *Oesophagostomum* spp.** Viçosa: UFV, 2011. 66p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Universidade Federal de Viçosa, 2011.

FERREIRA S.R., ARAÚJO, J.V., BRAGA F.R., ARAUJO., J.M., CARVALHO R.O., SILVA A.R., FRASSY L.N., FREITAS L.G. Ovicidal activity of seven *Pochonia chlamydosporia* fungal isolates on *Ascaris sunn* egg. **Tropical Animal Health and Production**. v.43, p.639-642. DOI: 10.1007/s11250-010-9744-6. 2010.

FOLADOR, V. **PNDS Sustentabilidade: novas estratégias da suinocultura brasileira**. Blog do Suíno. 2013 Disponível em: <<http://blogs.ruralbr.com.br/valdecirfolador/2013/04/18/pnds-sustentabilidade-novas-estrategias-da-suinocultura-brasileira/>>. Acesso em: 19/04/2015.

GERVÁSIO, E.W. **Suinocultura - Análise da Conjuntura Agropecuária**. DERAL - Departamento de Economia Rural. 16p. 2013. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/SuinoCultura_2012_2013.pdf>. Acesso em: 22/04/2015.

HIGARASHI, M. M.; OLIVEIRA, P. A. V.; SILVA, V. S.; AMARAL, A. L. **Recomendações de manejo de sistema de cama sobreposta nas fases de crescimento e terminação**. Concórdia: Embrapa CNPSA, Comunicado Técnico. v.430, 8p., 2006.

HONER, M.R. & BIANCHIN, I. **Considerações básicas para um programa de controle estratégico da verminose bovina em gado de corte no Brasil**. Campo Grande: EMBRAPA/CNPGC, (EMBRAPA/CNPGC. Circular Técnico) v.20, 53p., 1987.

KAGIRA, J.M.; KANYARI, P.W.N.; MUNYUA, W.K.; WARUIRU, R.M. **Relationship between the prevalence of gastrointestinal nematode infections and management practices in pig herds in the Trika District, Kenya.** *Livestock Research for Rural Development*, v.20, n.10, 2008. Disponível em: <<http://www.lrrd.org/lrrd20/10/Kagira20161.htm>>. Acesso em: 13/04/2015

KAUFMANN, J. **Parasitic infections of domestic animals – A Diagnostic manual.** Basel, Boston, Berlin: Birkhäuser. 1996.

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

LIGNON, G. B. et al. Prevalência e aspectos do controle de nematódeos gastrintestinais em suínos. **CT/Embrapa-CNPISA**. v.17, p.1-3, 1981.

LIU X. & ZHANG K. Nematode-trapping species of *Monacrosporium* with special reference to two new species. **Mycological Research**. v.8, p.862-868, 1994.

LOPES, M. Projeto de lei, nº 7.416/2010: **Mais uma fase para o desenvolvimento da suinocultura brasileira.** *Suinocultura Brasileira*. 18/04/2013. Disponível em: <<http://blogs.ruralbr.com.br/suinoculturabrasileira/2013/04/01/projeto-de-lei-in%C2%BA-7-4162010-mais-uma-fase-para-o-desenvolvimento-da-suinocultura-brasileira/>>. acesso em: 12/04/2015.

MACRAE, J.C. Metabolic consequences of intestinal parasitismo. **Proceedings of the Nutrition Society**. v.52, p.121-130, 1993.

MORGAN-JONES & RODRÍGUEZ-KÁBANA. Infections events in the fungus-nematode system. In: Poinar O.G. & Borne J.H. (ed.) **Diseases of Nematodes.** CRC Press, Boca Raton, Florida. p. 59-62, 1988.

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

NANSEN, P & ROEPSTORFF, A. Parasitic helminths of the pig: factors influencing transmission and infection levels. **International Journal for Parasitology**. v.29, p.877-891. DOI:10.1016/S0020-7519(99)00048-X. 1999.

PERMIN, A.; YELIFARI, L.; BLOCH, P. Parasites in cross-bred pigs in the Upper East region of Ghana. **The Royal Veterinary and Agricultural University**, v. 87, p.63-71, 1999.

PIGI. Parasite Alert. **Pig International**, v.37, p.25-26, 2007

RAYNAUD, N.P. Les parasites de porc. Que sontils? Que fontils? Aspects economique sactualisés de lapreventionparasitaire. **L'Eleveur de Porc**, n.163, p.75-80, 1984.

ROEPSTORFF, A.; MEJER, H.; NEJSUM, P.; THAMSBORG, S.M. Helminth parasites in pigs: New challenges in pig production and current research highlights. **Veterinary Parasitology**. v.80, p.72– 81, 2011.

ROEPSTORFF, A & NILSSON, O. En faelles nordisk praevalensun dersogelse. Países Baixos In: ERIKSEN, L; ROEPSTORFF, A; NANSEN, P. (Ed.). **Parasitaere Infektioner hos Svin**. NKJ, Kobenhavn. v.59, p.16-53. 1991.

USDA/ABIPECS. **Consumo Mundial de Carne Suína**. Disponível em:< <http://www.abipecs.org.br/pt/estatisticas/mundial/consumo-2.html>> Acesso em: 03/08/2013.

SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D.E.S.N. et al. **Doenças dos Suínos**. 1 ed., Goiânia: Cãnone Editorial. 768p., 2007.

TUNLID A, HANS-BORJE J. NORDBRING-HERTZ B.2 **Fungal attachment to nematodes**. **Mycology Research**. v.96, p.401-412, 1992.

URQUHART, G.M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J.L.; DUNN, A.M.; JENNINGS, F.W.
Parasitologia Veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara e Koongan, p.273, 1998.

VAN OORSCHOT C.A.N.. Taxonomy of the Dactylaria complex. A review of
Arthrobotrys and allied genera. **Studies in Mycology**, v. 26, p. 61-95, 1985.

WAGNER, B & POLLEY, L. *Ascaris suum*: Seasonal egg development in rats in
a Saskatchewan pig barn. **Veterinary Parasitology** v.85, p.71-78.
DOI:10.1016/S0305-4017(99)00102-8. 1997.

ZHANG K.; LIU X.; CAO L.; REN-HEN G.. A new species of *Arthrobotrys* from
China. **Mycology Research**, v.100, p.527-530, 1996.

Capitulo 1

Fungos Helmintófagos *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* e *Arthrobotrys robusta* no controle de larvas infectantes de *Oesophagostomum* spp. parasito intestinal de suínos

Resumo

Trabalho *in vitro* foi realizado com os isolados dos fungos helmintófagos *Duddingtonia flagrans* (AC001), *Monacrosporium thaumasium* (NF34) e *Arthrobotrys robusta* (I31), tendo como objetivo avaliar a eficácia de predação sobre larvas infectantes (L3) de *Oesophagostomum* spp. Uma suspensão contendo 2000 L3 de *Oesophagostomum* spp. foi gotejada sobre placa de Petri com os fungos crescidos na superfície de Ágar-água. Houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os isolados testados quando comparados ao grupo controle sem presença de fungo. O Isolado NF34 apresentou um percentual de 74,07%, já o isolado I31, 70,7% de redução, o que estatisticamente não houve diferença ao nível 5% pelo teste Tukey, com o isolado NF34. Já o isolado AC001 apresentou 51,6% de predação, sendo o menos efetivo, tendo diferença estatística significativa ($p < 0,05$) quando comparado aos isolados NF34 e I31. A partir desses resultados, os isolados fúngicos AC001, NF34 e I31 foram eficazes na predação de L₃ de *Oesophagostomum* spp. nos testes realizados *in vitro*, o que indicam que o controle biológico utilizando esses fungos helmintófagos é uma alternativa para o controle de *Oesophagostomum* spp. A diferença entre os percentuais de predação de cada isolado nos mostram que há variações na capacidade predatória de diferentes isolados e espécies fúngicas sobre L₃ de *Oesophagostomum* spp.

Abstract

In vitro study was conducted to evaluate the effectiveness of the isolates of helminthofagos fungi *Duddingtonia flagrans* (AC001), *Monacrosporium thaumasium* (NF34) and *Arthrobotrys robusta* (I31), aiming to assess the effectiveness of predation on infective larvae (L3) of *Oesophagostomum* spp. A suspension containing 2000 L3 of *Oesophagostomum* spp. It was dripped onto petri dishes with fungi grown on the surface of agar-water. There was a statistically significant difference ($p < 0.05$) between the tested isolates compared with the control group without presence of fungus. The Isolated NF34 presents a percentage of 74.07%. The Isolated I31, 70.7% reduction, which statistically no difference to the level 5% by Tukey test, with isolated NF34. But the isolated AC001 showed 51.6% of predation, being the least effective, with statistically significant difference ($p < 0.05$) when compared to NF34 and I31 isolated. Based on these results, the fungal isolates AC001, NF34 and I31 were effective in predation L3 *Oesophagostomum* spp. *in vitro* tests, which indicate that the biological control fungi using these helmintófagos is an alternative to the control L3 of *Oesophagostomum* spp. The difference between the percentage of predation of individual show us that there are variations in the predatory ability of different isolates and fungal species on L3 *Oesophagostomum* spp.

1. Introdução

O controle biológico se aplica à utilização de antagonistas naturais disponíveis no ambiente, para diminuir a um limiar sub clínico e economicamente aceitável a população de um agente causador de perdas produtivas à atividade pecuária ou agrícola (ARAÚJO et al., 2004), e apresenta vantagens como a especificidade de organismo-alvo, fácil multiplicação e dispersão no ambiente, efeito prolongado afetando até gerações subsequentes, associação com drogas sem deixar resíduos ou toxicidade para animais e ambiente, menor custo e a diminuição do aparecimento de resistência (HONER E BIANCHIN, 1987).

Dentre os antagonistas mais utilizados tem-se destaque para os fungos nematófagos, no qual, são capazes de predação larvas e ovos de helmintos através de armadilhas produzidas pelas hifas (ARAÚJO et al., 2004). Várias espécies de fungos nematófagos estão sendo estudadas, entre elas, as espécies de fungos *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* e *Arthrobotrys robusta* como agentes controladores biológicos de helmintos gastrintestinais de animais domésticos (ARAÚJO et al., 1998; 1999; ALVES et al., 2003; DIMANDER et al., 2003).

Em suínos, a oesofagostomose deve-se, às espécies *O. dentatum* e *O. quadrispinulatum* e caracteriza-se por provocar enterites com lesões nodulares no intestino grosso, os quais interferem na absorção de nutrientes e afeta principalmente animais de recria, engorda e adultos (KAUFMANN, 1996 ; SOBESTIANSKY & BARCELLOS, 2007; DURO, 2010). A suinocultura é uma das atividades econômicas responsáveis pelo desenvolvimento econômico e social de muitos municípios brasileiros, ocupando o quarto lugar na produção e exportação mundial da carne (ABIPECS, 2012; 2013). Contudo, esse setor vem sofrendo mudanças com exigências de mercado ligadas ao sistema de produção, como a visão do bem-estar animal e uma produção orgânica, que permite a exploração desta atividade em sistema extensivo, o que favorece a contaminação dos animais por helmintos (MACRAE, 1993; DILL et al., 2009).

O presente trabalho teve como objetivo, avaliar a eficácia *in vitro* dos isolados fungos helmintófagos *Duddingtonia flagrans* (AC001), *Monacrosporium thaumasium* (NF34) e *Arthrobotrys robusta* (I31), sobre L3 de *Oesophagostomum* spp.

2. Material e Métodos

2.1. Obtenção de larvas infectantes de *Oesophagostomum* sp. de suínos

Fezes de fêmeas suínas com 18 meses de idade provenientes da zona rural de Santana de Cataguases, Minas Gerais, Latitude: 21° 16' 59" Sul e Longitude: 42° 33' 31" Oeste, naturalmente infectadas com *Oesophagostomum* spp., foram coletadas diretamente da ampola retal. Coproculturas com 20g de fezes foram confeccionadas em copos plásticos através da mistura de vermiculita com fezes na proporção de 2:1 e água destilada. Após a homogeneização do material, as coproculturas foram incubadas em BOD a 25 °C por 14 dias. As larvas infectantes foram recuperadas através do método de Baermann.

2.2. Isolados Fúngicos

Discos de cultura dos isolados fúngicos AC001, NF34 e I31 foram retirados dos tubos de cultivo mantido em laboratório de parasitologia do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, e repicados para placas de Petri com nove cm de diâmetro, contendo meio corn-meal-ágar 2% (CMA 2%). As placas foram incubadas em estufa BOD a 25°C, em ausência de luz. Após sete dias, das bordas das colônias crescidas, discos de aproximadamente quatro mm de diâmetro foram repicados para placas de Petri com 5 cm de diâmetro contendo agar-água 2% (AA 2%).

2.3. Ensaio experimental:

Foram formados 3 grupos tratados, com 10 repetições para cada isolado fúngico. Estas placas foram mantidas em estufa BOD por sete dias a 25°C e em ausência de luz. No sétimo dia, 400 microlitros (µl) de uma suspensão contendo 2000 larvas infectantes (L₃) de *Oesophagostomum* spp. foi gotejada sobre o meio de cultura. O grupo controle foi constituído por placas de Petri contendo AA 2% sem presença de material fúngico, também com 10 repetições.

As placas foram incubadas novamente em BOD a 25°C em ausência de luz durante sete dias, para promover a interação das L₃ com os esporos presentes. Ao final, as placas foram retiradas da incubação, e a suspensão contendo AA 2% com as L₃ não predadas foram retiradas com auxílio de uma espátula metálica e submetido a técnica de Baermann em um funil com água a 37°C após 24 horas de sedimentação espontânea. O conteúdo foi centrifugado três vezes em tubos de ensaio por cinco minutos a 1.500 rotação por minuto (rpm). Em seguida, foi descartado o sobrenadante sem a presença de larvas, e o volume dos tubos igualado para três mililitros (mL). Após a agitação da suspensão de L₃, o número de larvas foi estimado em cinco alíquotas de 50µl. A taxa de predação foi estimada comparando-se a média do número de larvas recuperadas nos grupos tratado e controle.

2.4. Análise estatística

Foram realizados os testes paramétricos de Tukey e Dunnett ao nível de 5% de significância pelo programa SAEG – Sistema para Análises Estatísticas, Versão 9.1. A porcentagem de redução (%R) das médias de L₃ recuperadas (NL_{3r}) foi calculado a partir da formula:

$$\% R = \frac{(NL_{3r} \text{ grupo controle} - NL_{3r} \text{ grupo tratado}) \times 100}{NL_{3r} \text{ grupo controle}}$$

3. Resultados

Na Figura 1 e tabela 1 estão apresentados os números médios de larvas recuperadas por placa e os respectivos percentuais de redução para cada isolado.

Tabela 1: Valores médios de larvas infectantes recuperadas (NL_{3r}) por placas (N=10) e percentual de redução após sete dias de interação entre os isolados fúngicos *Duddingtonia flagrans* (AC001), *Monacrosporium thaumasium* (NF34) e *Arthrobotrys robusta* (I31) e L₃ de *Oesophagostomum* spp.

Tratamento	NL _{3r}	% Redução
Controle	1925a	-
AC001	930*b	51,6
I31	564*c	70,70
NF34	499*c	74,07
CV %	27,01	

As médias com asteriscos na coluna diferem da testemunha ao nível de 5% pelo teste de Dunnett.

As média que apresentam uma mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

CV – Coeficientes de Variação

O Isolado NF34 apresentou um percentual de 74,07% de redução de L₃ de *Oesophagostomum* spp. aos sete dias de interação. O Isolado I31 apresentou aos sete dias 70,7% de redução, o que estatisticamente não houve diferença ($p > 0,05$) com o isolado NF34. Já o isolado AC001 apresentou 51,6% de predação, sendo o menos efetivo, apresentando diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparado aos tratamentos NF34 e I31. No entanto, quando os tratamentos com os isolados foram comparados com o grupo controle, sem presença de fungos, todos apresentaram diferença significante.

4. Discussão

Os resultados do presente trabalho demonstram que, o isolado AC001, foi menos eficaz na predação de L₃ de *Oesophagostomum* spp, demonstrando diferença estatística significativa ($p < 0,05$) quando comparados aos tratamentos com NF34 e I31. Ferreira (2011), trabalhou com o mesmo gênero de nematoide, em teste *in vitro*, com os isolados AC001, I31 e SF53 (*Monacrosporium sinense*),

e não foi observado diferença ($p>0,01$) entre os tratamentos, o que não corrobora com o presente trabalho, no qual apesar de o isolado SF53 não ter sido utilizado, este, pertence ao mesmo gênero que o isolado NF34.

Em estudo *in vitro* sobre L₃ de *Strongyloides westeri*, Araujo et al, (2010), utilizando os mesmos isolados dos mesmos gêneros, observaram que não houve diferença ($p>0,05$) para os três tratamentos, apresentando diferença apenas quando os mesmos foram comparados ao grupo controle, o que não se assemelha aos resultados do presente trabalho

Diferenças em resultados de predação por fungos helmintófagos podem ser justificados, pela diferença nos nematoides utilizados em ensaios experimentais, onde diversos estudos demonstram variações na atividade predatória de fungos sobre nematoides (GRONVOLD et al., 1996; Larsen et al., 2000). Particularidades individuais de cada nematoide, como características de cutículas podem interferir na predação de fungos helmintófagos sobre as L₃ (MENDOZA-de-GIVES et al., 1999)

De acordo com Nansen et al. (1988), quanto maior a mobilidade dos nematoides, maior é o estímulo para o fungo produzir armadilhas. Dependendo da espécie de nematoide, o mesmo pode ter mais ou menos mobilidade, o que pode ter contribuído para que um dos isolados produzissem menos armadilhas. No entanto, o presente trabalho não conciliou isso por trabalhar apenas com L₃ de *Oesophagostomum* spp.

5. Conclusão

Os isolados fúngicos AC001, NF34 e I31 foram eficazes na predação de L₃ de *Oesophagostomum* spp. nos testes realizados *in vitro*, porém esses resultados nos mostram que pode haver variações na capacidade predatória de diferentes isolados e espécies fúngicas sobre L₃ de *Oesophagostomum* spp. A partir desses resultados, novos estudos com esses isolados e outros devem ser realizados para identificação do melhor fungo na predação de parasitas intestinais de suínos

6. Referências Bibliográficas

ARAUJO, J.M.; ARAÚJO, J.V.; BRAGA, F.R.; CARVALHO, R. In vitro predatory activity of nematophagous fungi and after passing through gastrointestinal tract of equine on infective larvae of *Strongyloides westeri*. **Parasitology Research**. v.107, p.103–108. DOI 10.1007/s00436-010-1841-y. 2010.

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

ARAUJO, J.V.; MOTA, M.A; CAMPOS, A.K. Controle Biológico de helmintos parasitos de animais por fungos nematófagos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.13, p.165-171, 2004

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

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

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA PRODUTORA E EXPORTADORA DE CARNE SUÍNA (ABIPECS). **Relatórios Anuais ABIPECS, 2011/2012**. São Paulo. 2012. Disponível em: <http://www.abipecs.org.br/uploads/relatorios/relatorios-associados/ABIPECS_relatorio_2011_pt.pdf>. Acessado em: 12/05/2015.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA PRODUTORA E EXPORTADORA DE CARNE SUÍNA (ABIPECS). **Relatórios Anuais ABIPECS, 2012/2013**. São

Paulo. 2013. Disponível em:
<http://www.abipecs.org.br/uploads/relatorios/relatorios-associados/ABIPECS_relatorio_2012_pt.pdf>. Acessado em: 12/05/2015.

DILL, M.D.; RÉVILLION, J.P.P.; BARCELLOS, J.O.J; CEOLIN, A.C. Cadeia produtiva da carne suína. **Anais. 48º congresso Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural**. v. 48, p.1-18. 2009.

DIMANDER, S.O.; HÖGLUND, J.; UGGLA, A.; SPÖRNDLY, E.; WALLER, P.J. Evaluation of gastro-intestinal nematode parasite control strategies for firstseason grazing cattle in Sweden. **Veterinary Parasitology**, v.111, n.2, p.192-209, 2003.

DURO, L.S.L. **Parasitismo Gastrintestinal em Animais da Quinta Pedagógica dos Olivais: Especial Referência aos Mamíferos Ungulados**. 155p. Tese -Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa. 2010.

FERREIRA S.R. **Atividade Ovicida do Fungo *Pochonia chlamydosporia* sobre ovos de *Ascaris suum* e atividade predatória de fungos nematófagos sobre formas infectantes de *Oesophagostomum* spp.** Viçosa: UFV, 2011. 66p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Universidade Federal de Viçosa, 2011.

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.

HONER, M.R. & BIANCHIN, I. **Considerações básicas para um programa de controle estratégico da verminose bovina em gado de corte no Brasil**. Campo Grande: EMBRAPA/CNPGC, 53p. (EMBRAPA/CNPGC. Circular técnica, 20), 1987.

KAUFMANN, J. Parasitic infections of domestic animals – **A Diagnostic manual**. Basel, Boston, Berlin: Birkhäuser. 1996.

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

MACRAE, J.C. Metabolic consequences of intestinal parasitismo. **Proceedings of the Nutrition Society**. v.52, p.121-130, 1993.

MENDOZA-de-GIVES, P. Interaction between nematodes and biocontrol agents with potencial for use in biomanagement systems. Nottingham: University of Nottingham, 1999. p. 219 (Doctor of Philosophy Thesis)

NANSEN, P.; GRONVOLD, J.; HENRIKSEN, S.A.; WOLSTRUP, J. Interactions between the predacious fungus *Arthrobotrys oligospora* and third-stage larvae of a series of animal-parasitic nematodes. **Veterinary Parasitology**. v.26, p.329-337, 1988.

SOBESTIANSKY, J. & BARCELLOS, D. E. S. N. **Doenças dos Suínos**. 1 ed., Goiânia: Cãnone Editorial, 2007.

Capitulo 2

Fungo Helmintófago *Duddingtonia flagrans* formulado em farelo de arroz no controle de *Oesophagostomum* spp. parasito intestinal de suínos

Resumo

Foram realizados 3 ensaios experimentais com uma formulação fúngica em farelo de arroz, com a espécie do fungo helmintófago *Duddingtonia flagrans*, isolado AC001, na concentração de 1×10^6 clamidósporos/g. Ensaio 1 avaliou o crescimento do gênero *Duddingtonia* presente na formulação, e a predação do mesmo em placas de Petri sobre larvas infectantes (L₃) de *Oesophagostomum* spp, onde foi semeado 0,1g da formulação contendo 100.000 clamidósporos e gotejada uma suspensão de 2000 larvas em cada placa de Petri. No ensaio 2, foi avaliada a capacidade predatória do isolado *Duddingtonia flagrans* presente na formulação em coproculturas a partir de massa fecal contendo 9200 ovos de *Oesophagostomum* spp.. A concentração da formulação utilizada foi padronizada para 100 clamidósporos por ovo, totalizando 92.000 clamidósporos por coprocultura. No ensaio 3, foi realizado o teste de passagem da formulação fúngica pelo trato gastrointestinal dos leitões, avaliando-se a capacidade predatória do isolado *Duddingtonia flagrans* sobre L₃ de *Oesophagostomum* spp. Foram utilizados 24 suínos machos, 12 indivíduos para cada grupo, sendo um grupo tratado, onde cada animal recebeu uma dosagem de 5g da formulação para 10kg de peso vivo, equivalente a dose de 9.500.000 clamidósporos por animal. No grupo controle os animais receberam a formulação autoclavada a 120 °C por 15 minutos. Após o fornecimento da formulação, foram coletadas fezes nos intervalos de tempo: 12, 24, 36, 48, 60, e montado 5 placas por animal para cada coleta, totalizando 60 amostras. Em cada placa de petri, foi gotejada uma suspensão de 1000 larvas e 2g de fezes de cada animal. Os ensaios 1 e 2 tiveram diferença estatística em nível significância ($p < 0,01$) pelo teste F quando comparados o grupo tratado ao grupo controle, onde foi observado no grupo tratado de ambos os ensaios um percentual de redução de larvas infectantes de 74,18% e 88,38 respectivamente. No ensaio 3 foi observada diferença estatística entre o grupo tratado e o grupo controle em todos os horários de coleta, em nível significância ($p < 0,01$). Com relação aos períodos de coleta, não houve diferença estatística ao longo do tempo no grupo tratado ($p > 0,05$). Os resultados obtidos, demonstram que o isolado fúngico AC001 formulado em farelo de arroz teve eficácia na predação de L₃ de *Oesophagostomum* spp. nos testes realizados *in*

vitro, e após a passagem pelo trato gastrintestinal, sem perda de viabilidade, sendo assim uma alternativa no controle de *Oesophagostomum* spp. de suínos.

Abstract

It was made three experimental tests carried out with a fungal formulation rice bran, with the species of fungus helmintófago *Duddingtonia flagrans* isolated AC001, in concentration 1×10^6 chlamydospores / g. On assay 1 evaluated the growth of the genus *Duddingtonia* present in the formulation, and the predation even in Petri plates on infective larvae (L3) of *Oesophagostomum* spp, which was sown 0.1g of the formulation containing 100,000 chlamydospores and dripped a 2000-larvae suspension each Petri dish. In assay 2 was evaluated predatory ability of the fungal isolate *Duddingtonia flagrans* present in the formulation in stool cultures from fecal mass containing 9200 eggs of *oesophagostomum* spp., the concentration of the formulation used was standardized to 100 chlamydospores per egg, totaling 92,000 chlamydospores by fecal culture. In assay 3, it was carried out the walk test of fungal formulation from the gastrointestinal tract of piglets, evaluating the predatory capacity of the fungal isolate *Duddingtonia flagrans* gender over L3 *Oesophagostomum* spp. were used 24 male pigs, 12 individuals for each group, and a group treated where each animal received a dose of 5 g of formulation for 10 kg live weight equivalent dose of 9,500,000 chlamydospores per animal. In the control group animals received the formulation autoclaved at 120°C for 15 minutes. After delivery the formulation, feces were collected at time intervals: 12, 24, 36, 48, 60, and mounted five boards per animal for each collection, totaling 60 samples. In each petri plate, a suspension was dripped 1000 larvae and 2 g of feces of each animal. The assays 1 and 2 have statistical difference in level of significance ($p < 0,01$) by the F test when comparing the group treated with the control group, which was observed in the group treated both tests several infective larvae reduction percentage of 74.18% and 88, 38 respectively. In assay 3 was observe a statistical difference between the treated group and the control group in all collection times in significance level ($p < 0.01$). Regarding the collection periods, there was no statistical difference over time in the treatment group ($p > 0,05$). The results demonstrate that the fungal isolate AC001 formulated in rice bran have efficacy in killing L3 *Oesophagostomum* spp. in vitro tests, and after passing through the gastrointestinal tract without loss of viability, as well as an alternative in control of *Oesophagostomum* spp of the pigs.

1. Introdução

No Brasil, o setor suinícola gera empregos no campo e na indústria, com mais de quatro milhões de postos de trabalho, um setor que oferece o maior número de empregos no agronegócio brasileiro (ABIEPCS, 2012; USDA/ABIEPCS, 2013).

As parasitoses intestinais são um agravo na produção animal, em suínos o problema se torna mais relevante quando o sistema de produção é extensivo, pois os animais estão mais expostos aos agentes parasitários (Macrae, 1993; Araújo, 2004). Entre as parasitoses, destacam-se as nematodioses, como a Oesofagostomose, causada pelo *Osephagostomum* spp., cujos danos à saúde animal estão relacionados à susceptibilidade do hospedeiro (Macrae, 1993; Araújo, 2004).

As nematodioses produzem efeitos deletérios que influenciam na capacidade produtiva, conversão alimentar, taxa de crescimento e também elevam os custos com tratamentos profilático e curativo e em casos extremos, a morte dos animais (Nansem e Roepstorff, 1999; Eijck e Borgsteede, 2005). Durante muito tempo o controle de helmintos se baseou unicamente no tratamento anti-helmíntico. Com o aumento na taxa de contaminação do rebanho confinado, ou das pastagens dos rebanhos criados ao ar livre, os anti-helmínticos passaram a ser vantajosamente combinados com medidas alternativas e sustentáveis como: utilização de genéticas mais resistentes, carboidratos fermentáveis na dieta e a microfungos para eliminação de ovos do ambiente (Roepstorff et al., 2011, Ferreira et al., 2010).

Fungos helmintófagos são estudados no controle de ovos e larvas infectantes de helmintos parasitos dos animais domésticos. A atividade predatória é direcionada para o ambiente fecal, com produção de armadilhas que capturam e eliminam as formas de vida livre, diminuindo as recidivas infecções (Larsen, 1999; Araújo et al., 2008; Braga et al., 2009; Braga et al., 2010). A espécie *Duddingtonia flagrans* é caracterizada por produzir conídios na extremidade dos conidióforos e produzem grande quantidade de clamidósporos em matéria seca (Van Oorschot, 1985), sendo a espécie mais estudada no controle das helmintoses gastrintestinais dos animais domésticos.

O presente trabalho teve como objetivo, avaliar a eficácia *in vitro* da formulação fúngica contendo o fungo helmintófago *Duddingtonia flagrans*, e a dinâmica de eliminação de esporos após a passagem pelo trato gastrointestinal de suínos.

2. Material e Métodos

2.1. Ensaio experimentais

Três ensaios experimentais, foram realizados. No ensaio experimental 1, avaliou-se o crescimento da espécie *Duddingtonia flagrans* presente na formulação fúngica feita a partir de farelo de arroz, e a predação do mesmo em Placas de Petri sobre larvas infectantes (L₃) *Oesophagostomum* spp. No ensaio experimental 2, avaliou-se a capacidade predatória da espécie *Duddingtonia flagrans* presente na formulação fúngica em coproculturas feitas a partir de fezes coletadas de animais naturalmente infectados por *Oesophagostomum* spp. Já o ensaio experimental 3, foi realizado a passagem pelo trato gastrointestinal da formulação fúngica, avaliando-se a capacidade predatória da espécie *Duddingtonia flagrans* presente na formulação sobre *Oesophagostomum* spp.

2.2. Formulação fúngica

Foi utilizado um isolado do fungo *Duddingtonia flagrans* (AC001) mantido na micoteca do laboratório de parasitologia do departamento de veterinário da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil, mantido em tubos de ensaio a 4°C contendo o meio corn-meal-ágar 2% (CMA 2%) em ausência de luz durante 10 dias. Para a formação de micélios foi retirado discos de cultura que foram repassados para frascos Erlenmeyers contendo 50 microlitros (mL) do meio líquido dextrose 2% de acordo com técnica descrita por Silva et. al (2013a).

Posteriormente, o micélio foi filtrado e colocado juntamente com grãos de arroz em bandejas plásticas de tamanho 30x30 centímetros (cm), mantidos a 26°C e, após 21 dias, triturado para a formação de uma farinha de arroz. Os clamidósporos contidos na formulação foram contados em uma câmara de Neubauer de acordo com técnica descrita por Silva et al., (2015), obtendo uma

concentração final de 1×10^6 esporos/grama (g) de farelo de arroz. Durante o período de realização dos ensaios experimentais, a formulação foi mantida em sacos plásticos fechados, sob refrigeração a 7°C.

2.3. Obtenção de larvas infectantes de *Oesophagostomum* sp. de suínos

Após a contenção física, fezes de fêmeas suínas com 18 meses de idade provenientes da zona rural do Santana de Cataguases, Minas Gerais, naturalmente infectadas com *Oesophagostomum* spp., foram coletadas diretamente da ampola retal. Coproculturas com 20g de fezes foram confeccionadas em copos plásticos através da mistura de vermiculita com fezes na proporção de 2:1 e água destilada. Após a homogeneização do material, as coproculturas foram incubadas em BOD a 25°C por 14 dias. As larvas infectantes foram recuperadas através do método de Baermann com água a 37°C após 24 horas.

2.4. Animais

Foram utilizados 24 suínos machos com 60 dias de idade, peso médio de 19Kg, fornecidos pela Granja de Nutrição de Suínos do Departamento de Zootecnia (DZO) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), 12 utilizados para formação de grupo tratado e 12 para o grupo controle. Estes animais foram alocados em gaiolas individuais da Granja de Nutrição da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

2.5. Teste *in vitro* da formulação fúngica contendo o fungo *Duddingtonia flagrans* sobre L₃ de *Oesophagostomum* spp.

O crescimento de esporos e predação da formulação fungica contendo o fungo helmintófago *Duddingtonia flagrans* foi realizado em superfície de placas de Petri com cinco cm de diâmetro preenchidas com Ágar-Água 2% (AA 2%). O experimento foi realizado com dois grupos: tratado, contendo farelo de arroz mais esporos fúngicos (formulação fúngica), e controle, contendo apenas farelo de arroz autoclavado. Para cada grupo foram realizadas 12 repetições.

A formulação fúngica contendo *D. flagrans*, foi semeada sobre a superfície de AA 2% no volume de 0,1g, tendo uma concentração de 100.000 clamidósporos para o grupo tratado. Para o grupo controle, a formulação passou por três processos de autoclavagem para garantir a ausência de esporos. Em seguida, as placas foram incubadas a $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ em BOD por 14 dias. No 14º dia, 653 microlitros (μL) de uma suspensão contendo 2000 mil L_3 de *Oesophagostomum* spp. foi gotejada sobre o meio de cultura. Além disso, no grupo controle foi realizada a visualização das placas para a confirmação da ausência de esporos.

As placas foram incubadas novamente em BOD a $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante sete dias para promover a interação das L_3 com o fungo crescido após 24 dias de incubação. Ao final dos sete dias, as placas foram retiradas da incubação, e a suspensão contendo AA 2% com as L_3 não predadas foram retiradas com auxílio de uma espátula metálica e submetido a técnica de Baermann com água a 37°C que promove a migração das larvas do meio de cultura para a água permitindo a concentração destas em tubos de ensaio acoplados em um funil após 24 horas de sedimentação espontânea. O conteúdo foi centrifugado por três vezes em tubos de ensaio por cinco minutos a 1.500 rotação por minuto (rpm). Em seguida, foi descartado o sobrenadante sem a presença de larvas, e o volume dos tubos igualado para três mL, e o número de larvas estimado em cinco alíquotas de $50\mu\text{l}$. A taxa de predação foi estimada comparando-se a média do número de larvas recuperadas nos grupos tratado e controle.

2.6. Teste utilizando a formulação fúngica contendo o fungo *Duddingtonia flagrans* em coproculturas positivas para *Oesophagostomum* spp.:

Foram coletadas fezes suínas diretamente da ampola retal de animais naturalmente infectadas com *Oesophagostomum* spp.. Em seguida, foi realizado a técnica de contagem de ovos por grama de fezes (OPG) de acordo com Gordon & Whitlock para verificar a presença de ovos nas fezes coletadas. Foi realizado para se estimar a quantidade de ovos, cinco repetições da técnica de OPG, obtido em seguida uma média final de 920 ovos/g de fezes.

Coproculturas de 10g de fezes com 9.200 ovos foram confeccionadas em copos plásticos através da mistura com 10g de vermiculita.

Para a formação do grupo tratado, foi adicionado às coproculturas, a formulação fúngica na concentração de 100 clamidósporos/ovo de acordo como descrito por Bird e Herd (1995), totalizando 92.000 clamidósporos por coprocultura em 0,9g de formulação fúngica, mais água destilada. O cálculo para estimar a concentração da formulação a ser inoculada nas coproculturas foi baseada na concentração estimada de 1×10^6 de clamidósporos/g. Para o grupo controle foi adicionado às coprocultura, 0,9g da formulação autoclavada, sem presença de esporos fúngicos e água destilada. Cada grupo teve 12 repetições.

Após a homogeneização do material, as coproculturas foram incubadas em BOD em ausência de luz a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ por 21 dias. Ao final dos 21 dias, as L_3 foram recuperadas através do método de Baermann. O conteúdo foi centrifugado três vezes em tubos de ensaio por cinco minutos a 1.500 rpm. Em seguida, foi descartado o sobrenadante sem a presença de larvas, e o volume dos tubos igualado para três mL, e o número de larvas estimado em cinco alíquotas de 50 μl . A taxa de predação foi estimada comparando-se a média do número de larvas recuperadas nos grupos tratado e controle.

Após a recuperação das L_3 não predadas pela técnica de Baermann, foi retirado do grupo tratado, 1g de cada coprocultura feita, e colocado em placas de Petri com 6cm de diâmetro contendo AA 2% para verificar a presença do fungo crescido nas coproculturas. As placas foram incubadas em BOD a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ durante sete dias em ausência de luz. Ao final dos sete dias, foi realizado a leitura das placas em microscópio de luz (10x).

As L_3 recuperadas das coproculturas do grupo controle pelo método de Baermann com funial e água a 37°C , que não tiveram contato com esporos fúngicos, foram utilizadas para testar a predação dos esporos crescidos nas placas de Petri feitas a partir das amostras retiradas das coprocultura referente ao grupo tratado, que tinha a presença da formulação fúngica com o isolado AC001.

2.7. Teste de passagem pelo trato gastrointestinal de suínos da formulação fúngica contendo o fungo *Duddingtonia flagrans*:

Para o teste de passagem pelo trato gastrointestinal nos suínos, foi utilizada a formulação fúngica produzida a partir de farelo de arroz composto pelo isolado AC001 na concentração de 1×10^6 clamidósporos/g da formulação.

Foram selecionados para o experimento 24 suínos machos com média de peso de 19 quilogramas (Kg), sendo 12 utilizados para formação de grupo tratado e 12 para o grupo controle.

Antes de iniciar o experimento, foi coletado fezes de todos animais, e realizado o teste de OPG para verificar se havia presença de infecção parasitaria, sendo o resultado negativo para todos. Estes animais foram mantidos por três dias em gaiolas suspensas individuais, essas com gavetas na parte traseira para coleta de fezes, tendo assim separação de local para fezes e urina. Os animais tinham acesso a água a vontade e ração fornecida duas vezes ao dia, sendo a quantidade semelhante a todos. A ração fornecida aos animais era livre de qualquer produto químico, para que não houvesse interferência nos resultados, sendo essa fabricada em níveis nutricionais indicada a fase de produção em que os animais estavam.

A formulação foi fornecida aos animais na proporção de 5g para 10Kg de peso vivo. Para o grupo tratado, essa proporção gerou uma quantidade total fornecida aos animais de 9,5g, equivalente a 9.500.000 clamidósporos, visto que a concentração estimada foi de 1×10^6 clamidósporos/g. Para o grupo controle, foi fornecido a mesma quantidade em gramas, de 9,5, porém de farelo de arroz autoclavado, sem presença de esporos fúngicos.

Os animais receberam a formulação uma única vez, no primeiro dia de confinamento, sendo referenciado como dia 0 (D0), e em seguida dado sequencia o fornecimento diário de ração aos animais. Posteriormente foram realizadas coletas de fezes nos intervalos de 12; 24; 36; 48; 60 horas (h) após a administração da formulação fúngica. As fezes coletadas em cada intervalo foram homogeneizadas e colocado 2g no centro da Placa de Petri contendo AA 2%, juntamente com uma alíquota de 385µl de suspensão contendo 1000 L₃. Foi confeccionado cinco placas por animal por intervalo de coleta, totalizando 60

amostras por intervalo por grupo. As placas foram incubadas em BOD a 26±1°C em ausência de luz por 21 dias.

Ao final, as placas foram retiradas da incubação, e a suspensão contendo AA 2% com as L₃ não predadas foram retiradas com auxílio de uma espátula metálica e submetido a técnica de Baermann, O conteúdo foi lavado e centrifugado por três vezes em tubos de ensaio por cinco minutos a 1.500 rpm. Em seguida, foi descartado o sobrenadante sem a presença de larvas, e o volume dos tubos igualado para 3 mL, e o número de larvas estimado em cinco alíquotas de 50µl. A taxa de predação foi estimada comparando-se a média do número de larvas recuperadas nos grupos tratado e controle.

2.8. Análise estatística

No ensaio experimental 1 e 2, para análise das médias de L₃ recuperadas comparando grupo tratado com grupo controle, foi realizado o teste F ao nível de 5% de significância. Para o ensaio experimental 3, foram realizados o teste paramétrico de Tukey ao nível de 1% de significância, e análise de regressão para os intervalos de períodos de coletas (12, 24, 36, 48, 60) pelo programa SAEG – Sistema para Análises Estatísticas, Versão 9.1. A porcentagem de redução (%R) das médias de L₃ recuperadas (NL_{3r}) foi calculado a partir da formula:

$$\% R = \frac{(NL_{3r} \text{ grupo controle} - NL_{3r} \text{ grupo tratado}) \times 100}{NL_{3r} \text{ grupo controle}}$$

3. Resultados

3.1. Teste *in vitro* da formulação fúngica contendo o fungo *Duddingtonia flagrans* sobre L₃ de *Oesophagostomum* spp.

Ao final dos 14 dias de incubação com ausência de luz, verificou-se o crescimento fúngico sobre a superfície de Ágar no grupo tratado, já no grupo controle que havia sido semeado a formulação autoclavada, ausência de

esporos fúngicos e contaminação. No grupo tratado, foi visualizado em 100% das placas a presença do fungo *Duddingtonia flagrans*. (Figura 1).

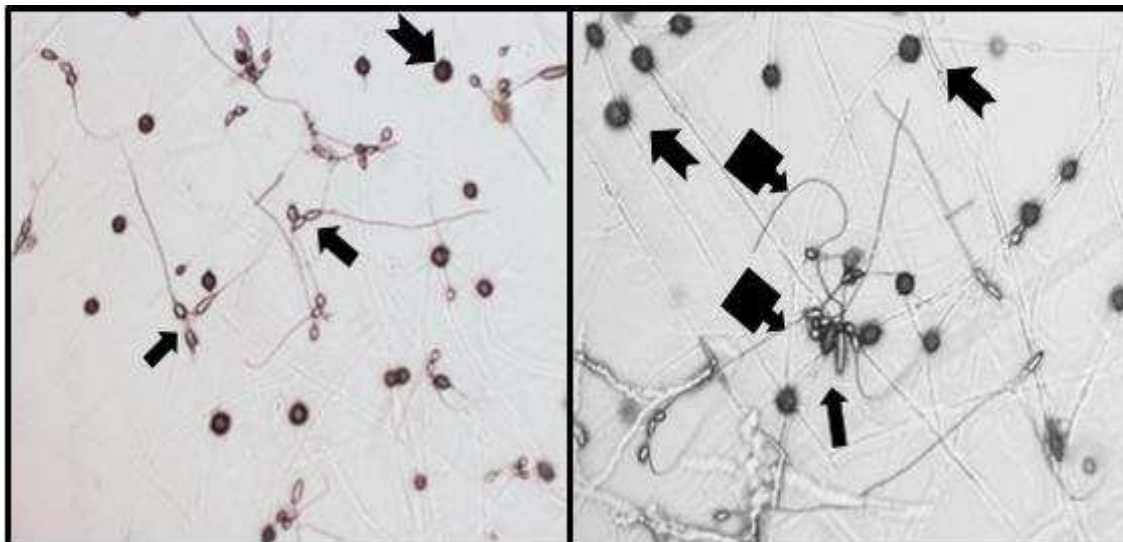


Figura. 1 – Esporos fúngicos do fungo *Duddingtonia flagrans* crescidos a partir da formulação fúngica feita em farela de arroz semeados em placas de Petri de 9cm de diâmetro. Estruturas de reprodução fúngica formadas (↗ clamidósporos, ↗ conídios e ↗ hifas) são evidenciados por setas pretas.

O número médio de larvas recuperadas do grupo tratado e controle, e os respectivos percentuais de redução para cada tratamento são demonstrados na Tabela 1. Após sete dias de interação entre *Oesophagostomum* spp. e a formulação fúngica, foram observados diferença em valores absolutos e estatísticos ao nível de significância ($p < 0,01$) no número médio de larvas recuperadas entre os grupos tratado e controle.

Tabela 1: Valores médios de larvas infectantes recuperadas (NL3R) por placas (N=12) e percentual de redução (%R) após sete dias de interação entre *Oesophagostomum* spp. e formulação fúngica contendo o fungo AC001.

Tratamento	NL3R	% R
Controle	1445a	-
Formulação Fúngica	373b	74,18
CV %	31,06	

As médias diferem entre si pelo teste F ao nível de significância ($p < 0,01$)

CV – Coeficiente de Variação

Ao longo dos sete dias de interação entre fungo e L₃ de *Oesophagostomum* spp. foi possível observar larvas presas em armadilhas em leitura feita por microscopia de luz (10x).

3.2. Teste utilizando a formulação fúngica contendo o fungo *Duddingtonia flagrans* em coproculturas positivas para *Oesophagostomum* spp.

Na tabela 2, está apresentado o número médio de larvas recuperadas por repetições e os respectivos percentuais de redução para cada tratamento.

Tabela 2: Valores médios de larvas infectantes recuperadas (NL₃R) nas coproculturas (N=12) e percentual de redução (%R) após 21 dias de interação entre formulação fúngica contendo o fungo *Duddingtonia flagrans* (Isolado AC001) em farelo de arroz e ovos (9.200) pertencentes a *Oesophagostomum* spp.

Tratamento	NL ₃ R	% R
Controle	7734a	-
Formulação Fúngica	898b	88,38
CV %	84,94	

As médias diferem entre si pelo teste F ao nível de significância (p<0,01)

CV – Coeficiente de variação

Diferenças estatisticamente significativas (p<0,01) foram observadas na capacidade predatória da formulação fúngica quando comparado ao grupo controle, sem presença de fungo, evidenciada pelo NL₃R das coprocultura.

Quando retirado a amostragem da coprocultura para verificação do crescimento de esporos, foi observado a presença de esporos do gênero *Duddingtonia* (Figura 2 A). Após ser verificado que houve crescimento de esporos, e a interação de 7 dias com as L₃ recuperadas do grupo controle, foi observado L₃ presas em armadilhas (Figura 2 B).

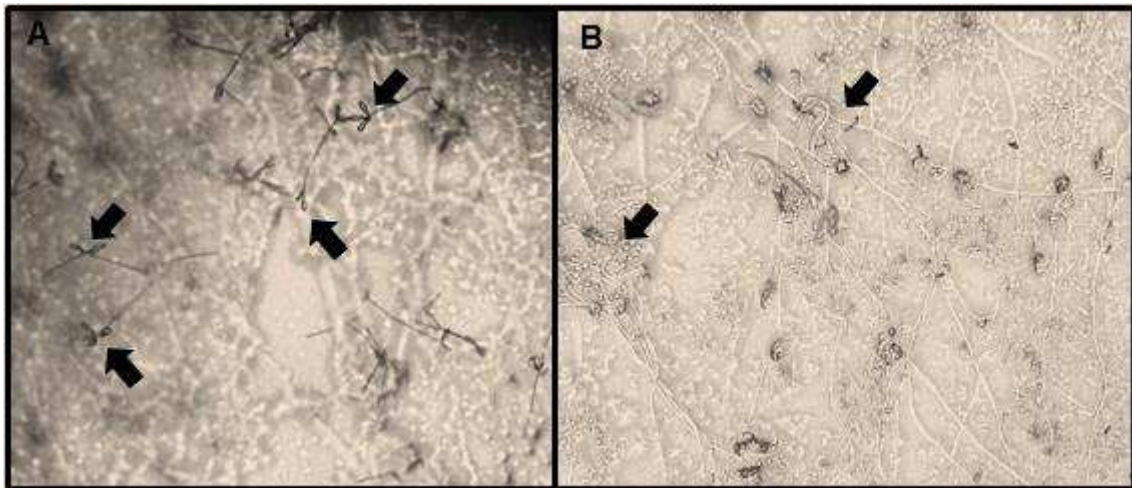


Figura. 2 – (A) Presença de esporos fúngicos de *Duddingtonia flagrans* em placas de Petri de 9cm de diâmetro após recuperadas pela técnica de Baermann, com estruturas formadas como os conídios nas pontas dos conidiofaros; (B) Larvas de *Oesophagostomum* spp. presas em armadilhas

3.3. Teste de passagem pelo trato gastrintestinal de suínos da formulação fúngica contendo o fungo *Duddingtonia flagrans*

A presença do fungo *Duddingtonia flagrans* foi observada nas placas feitas com fezes dos animais do grupo tratado, juntamente com L₃ presas em armadilhas e já predadas (Fig. 3), e nas referentes ao grupo controle a ausência do fungo, com L₃ livre sobre a superfície do A.A 2% (Fig. 4). Após a passagem da formulação fúngica contendo o AC001 pelo trato gastrintestinal de suínos, foi verificado a eficácia de predação de L₃ de *Oesophagostomum* spp. em todos os intervalos de tempo em que as fezes foram coletadas. O percentual de redução verificado foi de: 46,97% (12h), 63,25% (24h), 44,4% (36h), 47,67% (48h), 55,87% (60h). Diferença estatística foi observada quando comparado o grupo tratado ao grupo controle, em nível significância ($p < 0,001$). Nas placas de Petri referente ao grupo tratado, foi observado em todas as placas referente a todos os horários a presença do isolado fúngico *D. flagrans*, enquanto no grupo controle não foi verificado presença desse fungo helmintóforo.

Com relação aos períodos de coleta, não houve diferença estatística ao longo do tempo no grupo tratado ($p = 0,05$).

Na tabela 3 estão apresentados os números médios de larvas recuperadas por placa e os respectivos percentuais de redução.

Tabela 3: Valores médios e desvio padrão de larvas infectantes recuperadas (NL3R) de *Oesophagostomum* spp. em placas de Petri de 9 cm de diâmetro nos períodos de tempo 12, 24, 36, 48, 60, entre grupo tratado com a presença do isolado fúngico *Duddingtonia flagrans* (AC001) formulado em farelo de arroz e grupo controle (sem fungo).

Tratamentos	Tempo (H)				
	12	24	36	48	60
Formulação	333,33 ± 108,32 ^{a*}	183,33 ± 104,38 ^{a*}	283,33 ± 148,16 ^{a*}	236,67 ± 165,03 ^{a*}	263,33 ± 114,99 ^{a*}
Controle	628,33 ± 279,8 ^b	498 ± 150,02 ^b	509,09 ± 128,87 ^b	451,91 ± 154,53 ^b	596,36 ± 215,3 ^b

Médias que apresentam letra diferente na mesma coluna, diferem entre si ao nível de 1% de significância pelo teste de Tukey. Médias com asteriscos na mesma linha não diferem entre si ao nível de 1% de significância pelo teste de Tukey

O presente trabalho, relata pela primeira vez dentre ensaios realizados, a passagem da espécie *D. flagrans* formulada em farelo de arroz pelo trato gastrointestinal de suínos.

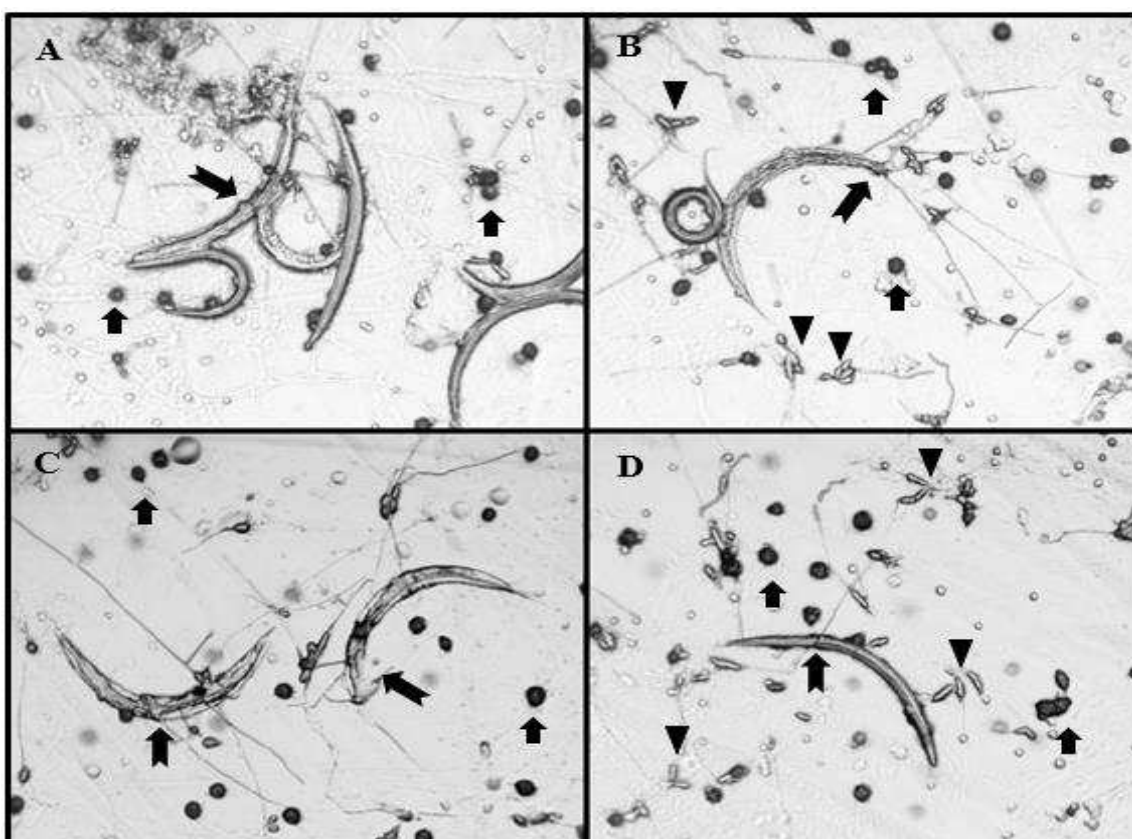


Fig. 3 – Presença de esporos fúngicos (↑ clamidósporos e ▼ conídios) e Larvas de *Oesophagostomum* spp. presas em armadilhas (⬆) em placas de Petri de 9 cm de diâmetro em Ágar-Água 2% feitas com fezes dos animais referentes do grupo tratado, sobre a superfície de Ágar-Água 2% após 14 dias de interação.

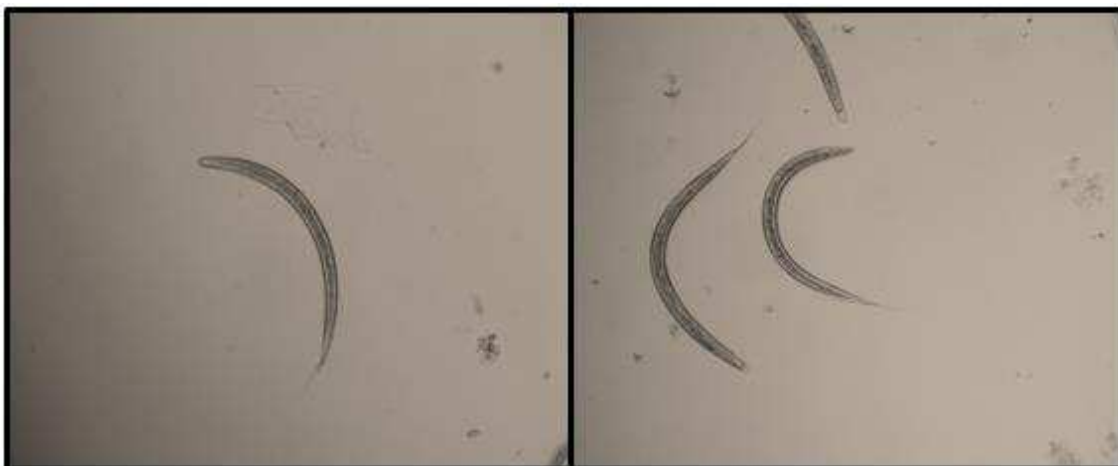


Fig. 4 – Larvas de *Oesophagostomum* spp. em placas de Petri de 9 cm de diâmetro sobre a superfície de Ágar-Água 2% referente ao grupo controle em ausência de fungos em 21 dias de interação.

4. Discussão

4.1. Teste *in vitro* da formulação fúngica contendo o fungo *Duddingtonia flagrans* sobre L₃ de *Oesophagostomum* spp.

O resultado do ensaio, demonstrou que a formulação fúngica foi eficaz na predação de L₃ de *Oesophagostomum* spp, com percentual de predação de 74,18%, sugerindo que essa formulação pode ser utilizado no controle de *Oesophagostomum* spp.

Para obtenção desse percentual de predação, o presente trabalho utilizou uma concentração da formulação de 100.000 clamidósporos para 2000 L₃ de *Oesophagostomum* spp. Braga et al (2009), utilizando 1000 conídios do isolado AC001 sobre 1000 L₃ de Ciastotomíneos demonstraram uma eficiência de predação de 93,64%. Apesar do presente trabalho utilizar mais larvas infectantes e uma quantidade maior de clamidósporos, não demonstrou um percentual de redução maior, porém são trabalhos com nematoides diferentes. Segundo os autores Jansson & Nordbrig-Hertz (1980), Balan & Gerber (1972), fungos nematófagos podem formar armadilhas em respostas a diversos fatores, como por exemplo a presença de nematoides ou das substâncias liberadas por eles,

condições de cultivo e fontes de nutrição e água. Campos, (2006), também utilizando a mesma espécie de fungo, porém com isolado diferente, obteve resultados de percentual de redução de larvas infectantes de *Haemonchus contortus* e *Strongyloides papillosus* de 81,52% e 99,51%. No presente trabalho, essa foi a primeira interação observada entre o fungo *D. flagrans* formulada em farelo de arroz e parasitos de suínos.

A atividade predatória de fungos helmintófagos apresenta variações, que são comuns e observadas em diversos estudos (ARAÚJO et al., 1993, 1994). Nematoides possuem particularidades diferentes em suas cutículas, o que pode ser um fator determinante na habilidade do fungo em predá-los (MENDOZA-de-GIVES et al., 1999)

4.2. Teste utilizando a formulação fúngica contendo o fungo *Duddingtonia flagrans* em coproculturas positivas para *Oesophagostomum* spp.

Nesse ensaio utilizou a formulação fúngica contendo o fungo *D. flagrans* na concentração de 100 clamidósporos por ovo, em coproculturas de suínos naturalmente infectados para *Oesophagostomum* spp., os resultados demonstraram redução de 88,38% de L3 recuperadas por método de Baermann após 21 dias de interação. Ainda foi feito um pool das coproculturas e retirado uma pequena amostra para visualização dos isolados fúngicos em placas.

Os resultados do presente trabalho, são similares ao descrito por Bird e Herd (1995), onde o resultado encontrado foi de 93,9% de redução, utilizando a mesma concentração de esporos de *D. flagrans* sobre L3 de ciatostomíneos.

Em outro trabalho, no qual também foi utilizado esporos de AC001 em coproculturas naturalmente infectadas com ovos de *Oesophagostomum* spp. o percentual de redução foi de 75,3% (FERREIRA, 2011). Quando comparamos os resultados deste trabalho ao do presente trabalho, é observado que a formulação fúngica foi bastante efetiva em controlar L3 de *Oesophagostomum* spp. em matéria orgânica. No entanto, é importante lembrar, que no trabalho de Ferreira, (2011), a interação foi feita utilizando uma concentração de 1000 esporos de AC001 por coprocultura, enquanto que no presente trabalho, a interação foi de 9000 clamidósporos por coprocultura, podendo este fato, ter contribuído para um maior percentual de predação.

A eficácia do isolado AC001 presente na formulação na predação de L₃ nas coproculturas feitas a partir de fezes contaminadas pode ser explicada por Cooke & Godfrei (1964), que mencionam que fungos helmintófagos produzem grande quantidade de clamidósporos quando presentes em matéria seca.

4.3. Teste de passagem pelo trato gastrointestinal de suínos da formulação fúngica contendo o fungo *Duddingtonia flagrans*

Nesse ensaio foi demonstrado que o isolado fúngico AC001 formulado em farelo de arroz foi eficiente na predação de L₃ após a passagem pelo trato gastrointestinal de suínos, sem perder a viabilidade. Os resultados obtidos, corroboram com estudo realizado por Ferreira (2011), que também realizou o teste de passagem do isolado AC001 no controle de *Oesophagostomum* spp. em suínos, porém o micélio fúngico do isolado, foi administrado em formulação de pélete, sendo confeccionado em matriz de alginato de sódio, enquanto no presente trabalho, o isolado foi administrado em farelo de arroz, formulado com clamidósporos na concentração de 9.500.000 por animal.

Em relação à comparação realizada no grupo tratado ao longo dos horários em que as coletas foram feitas, foi observado que não houve diferença estatística entre os horários de coleta, após administração da formulação fúngica. Dessa forma, observamos que desde o primeiro horário (12h) de coleta até a última (60h) o fungo demonstrou ação na predação de L₃. Dentre alguns estudos realizados com testes de passagem pelo trato gastrointestinal em animais domésticos, Araujo et al. (2010) (Equinos), Silva et al. (2013b) (Bovinos), Tavela et al. (2013) (Equinos), Carvalho et al. (2009) (Cães), ambos não avaliaram se houve ou não diferença estatística significativa na média de redução de L₃ entre os horários do mesmo grupo, sendo o presente estudo o primeiro a realizar tal análise.

Tavela et al. (2013), avaliou a eficácia *in vitro* da predação de Ciatostomíneos pelos fungos *Duddingtonia flagrans* e *Monacrosporium thaumasium*, associados em dois grupos de tratamento, um em concentração de 50g contendo cada fungo, e outro em 100g, após passagem pelo trato gastrointestinal de equinos. Ambos os grupos avaliados tiveram diferença

significativa quando comparado ao grupo controle, porém, ao ser avaliado os dois grupos tratados, não houve diferença significativa ($p > 0,01$) entre as diferentes concentrações administradas. No presente trabalho, o intervalo de coleta de fezes de 24h obteve o melhor resultado de redução de L₃ (63,25%) quando comparado aos outros intervalos de coleta, enquanto Tavela et al. (2013) no grupo tratado de concentração de 50g obteve no intervalo de coleta de 48h sua melhor redução, e no grupo de concentração de 100g, o intervalo melhor foi de 60h, ambos com 92% de redução.

Carvalho et al. (2009), trabalharam com diferentes isolados fúngicos em passagem trato gastrointestinal em cães, dentre eles o isolado AC001, também utilizado no presente trabalho. Nesse trabalho, os autores observaram que o intervalo de melhor redução de L₃ de *Ancylostoma* spp. foi de 48h após a passagem do fungo pelo trato gastrointestinal, obtendo 50,8%, enquanto o presente trabalho no mesmo intervalo de coleta de 48h obteve um percentual de redução de 47,7%, sendo o melhor intervalo o de 24h, com redução de 63,25%.

O presente trabalho utilizou suínos de aproximadamente 50 dias de vida, e segundo Chamone et al., (2010), a habilidade do suíno de cumprir funções de digestão e absorção dependerá da capacidade física do intestino, da natureza e quantidade de secreções, que aumentam com o avançar da idade do animal. Sendo assim, animais de idade mais avançadas que os dos utilizados no presente trabalho, podem apresentar valores diferentes de eliminação de esporos fúngicos. Ainda assim, de acordo com Zanotto et al. (1995), o tempo de passagem de volume pelo trato gastrointestinal dos suínos, juntamente com a eficiência da digestão, é sempre influenciado pelo grau de moagem dos alimentos e a composição da nutrição fornecida.

5. Conclusão

O isolado fúngico AC001 formulado em farelo de arroz teve eficácia na predação de L₃ de *Oesophagostomum* spp. nos testes realizados *in vitro*, onde demonstrou excelente atuação no teste realizado em coprocultura, feita a partir de fezes contaminadas.

A formulação fornecida aos animais, tem ação *in vitro* sobre L₃ de *Oesophagostomum* spp. após a passagem pelo trato gastrointestinal, sem perda

de viabilidade. Novos trabalhos devem ser realizados utilizando a formulação a partir de isolados fúngicos na predação de parasitas gastrintestinais de suínos.

6. Referência Bibliográfica

ARAÚJO, J.V.; BRAGA, F.R.; ARAÚJO, J.M.; SILVA, A.R.; TAVELA A.O. *In vitro* evaluation of the effect of the nematophagous fungi *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium sinense* and *Pochonia chlamydosporia* on *Ascaris suum* eggs. **Parasitology Research**, v.102, p.787–790, 2008.

ARAÚJO, J.V.; MOTA, M.A; CAMPOS, A.K. Controle Biológico de helmintos parasitos de animais por fungos nematófagos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.13, p.165-171, 2004

ARAÚJO, J.V.; SANTOS, M.A.; FERRAZ, S.; MAIA, A.S. Biological control “in vitro” of infective *Haemonchus placei* larvae by predacious fungi *Arthrobotrys musiformis*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.**, v.46, p.197-204, 1994.

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

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA PRODUTORA E EXPORTADORA DE CARNE SUÍNA (ABIPECS). **Relatórios Anuais ABIPECS, 2011/2012**. São Paulo. 2012. Disponível em: <http://www.abipecs.org.br/uploads/relatorios/relatorios-associados/ABIPECS_relatorio_2011_pt.pdf>. Acessado em: 12/05/2015

BALAN, J. & GERBER, N. Attraction and Killing of the nematode *Panagrellus redivivus* by the predacious fungus *Athrobotrys dactyloides*. **Nematology**. v.18, p.163-173, 1972.

BIRD, J. & HERD, R.P. In vitro assessment of two species of nematophagous fungi (*Arthrobotrys oligospora* and *Arthrobotrys flagrans*) to control the development of infective cyathostome larvae from naturally infected horses. **Veterinary Parasitology**, v.56, p.1-3, 181-7, 1995.

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

BRAGA, F.R.; ARAÚJO, J.V.; SILVA, A.R.; ARAUJO, J.M.; CARVALHO, R.O.; CAMPOS, A.K.; TAVELA, A.O.; FERREIRA, S.R.; FRASSY, L.N.; ALVES, C.D.F. *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* and *Pochonia chlamydosporia* as possible biological control agents of *Oxyuris equi* and *Austroxyuris finlaysoni*. **Journal of Helminthology**, v. 84, p.21, 2010.

CAMPOS, A.K. **Fungos nematófagos no controle de nematoides gastrintestinais de Ruminantes**. Belo Horizonte, UFMG, 2006. Tese (Doutorado) Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. 2006

CARVALHO, R.O.; ARAÚJO, J.V.; BRAGA, F.R.; ARAUJO, J.M.; SILVA, A.R.; TAVELA, A.O. Predatory activity of nematophagous fungi on infective larvae of *Ancylostoma* sp.: evaluation in vitro and after passing through the gastrointestinal tract of dogs. **Journal of Helminthology**. v.00, p.1–6, 2009.

COOKE R.C. & GODFREY B.E.S. A key of nematode destroying fungi. **Transactions of the British Mycological Society**, v.47, p.61-74, 1964.

CHAMONE, J.M.A.; MELO, M.T.P.; AROUCA, C.L.C.; BARBOSA, M.M.; SOUZA, F.A.; SANTOS, D. Fisiologia digestiva de leitões. **Revista Eletronica – Nutritime**. v.07, p.1353-1363, 2010.

EIJCK, I.A.J.M & BORGSTEED, F.H.M. A survey of gastrointestinal pig parasites on free-range, organic and conventional pig farms in the Netherlands. **Veterinary Research and Communications**. v.209, p.407-414, 2005.

FERREIRA S.R. **Atividade Ovicida do Fungo *Pochonia chlamydosporia* sobre ovos de *Ascaris suum* e atividade predatória de fungos nematófagos sobre formas infectantes de *Oesophagostomum* spp.** Viçosa: UFV, 2011. 66p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Universidade Federal de Viçosa, 2011.

FERREIRA S.R.; ARAÚJO, J.V.; BRAGA F.R.; ARAUJO., J.M.; CARVALHO R.O.; SILVA A.R.; FRASSY L.N.; FREITAS L.G. Ovicidal activity of seven *Pochonia chlamydosporia* fungal isolates on *Ascaris suum* egg. **Tropical animal health and production**. v.43, p.639-642. DOI: 10.1007/s11250-010-9744-6. 2010.

HONER, M.R. & BIANCHIN, I. **Considerações básicas para um programa de controle estratégico da verminose bovina em gado de corte no Brasil.** Campo Grande: EMBRAPA/CNPGC, 53p. (EMBRAPA/CNPGC. Circular técnica, 20), 1987.

JANSSON, H.B., NORDBRING-HERTZ, B. Interactions between nematophagous fungi and plant parasitic nematodes: Attraction, induction of trap formation and capture. **Nematology**. v. 26, p.383-389, 1980

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

MACRAE, J.C. Metabolic consequences of intestinal parasitism. **Proceedings of the Nutrition Society**. v.52, p.121-130, 1993.

MENDOZA-de-GIVES, P. Interaction between nematodes and biocontrol agents with potencial for use in biomanegement systems. Nottingham: University of Nottingham, 1999. p. 219 (Doctor of Philosophy Thesis)

NANSEN, P.; & ROEPSTORFF, A. Parasitic helminths of the pig: factors influencing transmission and infection levels. **International Journal for Parasitology** v.29, p.877-891. DOI:10.1016/S0020-7519(99)00048-X. 1999.

ROEPSTORFF, A.; MEJER, H.; NEJSUM, P.; THAMSBORG, S.M. Helminth parasites in pigs: New challenges in pig production and current research highlights. **Veterinary Parasitology**. v.180, p.72– 81, 2011.

SILVA, M.E.; BRAGA, F.R.; DE GIVES, P.M.; OROZCO, J.M.; URIOSTEGUI, M.A.M.; MARCELINO, L.A.; SOARES, F.E.F.; ARAÚJO, A.L.; VARGAS, T.S.; AGUIAR, A.R.; SENNA, T.; RODRIGUES, M.G.; FROES, F.V.; ARAÚJO, J.V. Fungal Antagonism Assessment of Predatory Species and Producers Metabolites and Their Effectiveness on *Haemonchus contortus* Infective Larvae. **BioMed Research International**. v.22, p.1-6. 2015.

SILVA, M.E.; ARAÚJO, J.V.; BRAGA, F.R.; BORGES, L.A.; SOARES, F.E.F.; LIMA, W.S.; GUIMARÃES, M.P. Mycelial mass production of fungi *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* under different culture conditions. **BMC Research Notes**. v.6, p.340 , 2013. a

SILVA, M.E.; ARAÚJO, J.V.; BRAGA, F.R.; BORGES, L.A.; SOARES, F.E.F.; RODRIGUES, D.S. Control of infective larvae of gastrointestinal nematodes in heifers using different isolates of nematophagous fungi. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.22, p.78-83. 2013. b

TAVELA A.O.; ARAÚJO, J.V.; BRAGA, F.R.; SILVEIRA, W.F.; SILVA, V.H.D.; JÚNIOR, M.C.; 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.

USDA/ABIPECS. **Consumo Mundial de Carne Suína**. Disponível em:<
<http://www.abipecs.org.br/pt/estatisticas/mundial/consumo-2.html>> Acesso em:
03/08/2013.

VAN OORSCHOT C.A.N.. Taxonomy of the Dactylaria complex. A review of
Arthrotrys and allied genera. **Studies in Mycology**. v. 26, p.61-95, 1985.

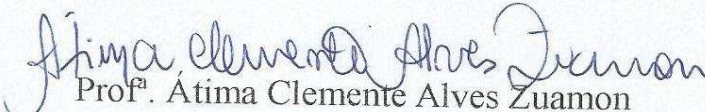
ZANOTTO, D.L.; NICOLAIEWSKY, S.; FERREIRA, A.S. et al. Granulometria do
milho na digestibilidade das dietas para suínos em crescimento e
terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.4, p.428-436, 1995.

CERTIFICADO

A Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/UFV certifica que o processo nº 100/2014, intitulado “Eficácia de crescimento e predação dos fungos helmintófagos *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* e *Arthrobotrys robusta*, e teste de passagem gastrointestinal em suínos”, coordenado pelo professor Jackson Victor de Araújo do Departamento de Veterinária, está de acordo com a Legislação vigente (Lei Nº 11.794, de 08 de outubro de 2008), as Resoluções Normativas editadas pelo CONCEA/MCTI, a DBCA (Diretriz Brasileira de Prática para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos) e as Diretrizes da Prática de Eutanásia preconizadas pelo CONCEA/MCTI, portanto sendo aprovado por esta Comissão em 10/03/2015, com validade de 12 meses.

CERTIFICATE

The Ethic Committee in Animal Use/UFV certify that the process number 100/2014, named “Growth efficiency and predation helmintófagos fungi *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* and *Arthrobotrys robusta*, and gastrointestinal path test in pigs”, is in agreement with the actual Brazilian legislation (Lei Nº 11.794, 2008), Normative Resolutions edited by CONCEA/MCTI, the DBCA (Brazilian Practice Guideline for the Care and Use of Animals for Scientific Purposes and Teaching) and the Guidelines of Practice the Euthanasia recommended by CONCEA/MCTI therefore being approved by the Committee on March 10, 2015 valid for 12 months.


Prof. Atima Clemente Alves Zuamon

Presidente

Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFV